

Freundlich の吸着係数 K_{ads} は 121~4,700、有機炭素含有率により補正した吸着係数 K_{oc} は 16,000~461,000 であった。(参照 18)

4. 水中運命試験

(1) 加水分解試験①

[p¹⁴C]EPN または [n¹⁴C]EPN を、pH 4 (フタル酸緩衝液)、pH 7 (リン酸緩衝液) 及び pH 9 (ホウ酸緩衝液) の各滅菌緩衝液に 0.5 mg/L となるようにそれぞれ添加し、25°C、暗所条件下で 30 日間インキュベートする加水分解試験が実施された。

EPN は pH 4 の酸性条件下では加水分解に対し安定で、30 日後で 93.1% TAR が残存しており、推定半減期の算出はできなかった。pH 7 及び 9 の各緩衝液中での推定半減期は、それぞれ 38.7 及び 3.6 日であった。EPN の加水分解は pH に依存するが、分解様式は同一であり、リン酸エステルの開裂によって生成する C、E 及び I が主要分解物と推定された。(参照 19)

(2) 加水分解試験②

非標識の EPN を、滅菌した pH 7 及び 9 のブリットン-ロビンソン緩衝液¹に 0.5 mg/L となるようにそれぞれ添加し、25°C、暗所条件下で一定期間 (pH 7 緩衝液 : 35 日、pH 9 緩衝液 : 5 日間) インキュベートする加水分解試験が実施された。また、pH 4 に調整したブリットン-ロビンソン緩衝液を、50°C または 60°C で一定期間 (50°C : 35 日、60°C : 20 日) インキュベートする加水分解試験も、あわせて実施された。

pH 4、7 及び 9 の各緩衝液中での推定半減期はそれぞれ 70.7 (50 及び 60°C での数値から換算)、22.1 及び 3.5 日であった。EPN はアルカリ性では速やかに分解するが、pH の低下とともに分解は遅くなる傾向が認められた。(参照 20)

(3) 水中光分解試験 (自然水及び蒸留水) ①

[p¹⁴C]EPN または [n¹⁴C]EPN を、滅菌自然水 (pH 8.14~8.17、河川水、茨城) または滅菌蒸留水 (pH 6.26) に 0.5 mg/L の濃度でそれぞれ添加し、25±2°C、キセノンランプ光 (光強度 : 700 W/m²、測定波長 : 290~800 nm) を 120 時間連続照射する水中光分解試験が実施された。

滅菌自然水中または滅菌蒸留水中のいずれにおいても EPN は光照射時間の経過とともに速やかに減少し、主要分解物の最高検出量は C (120 時間後、38.1~63.9% TAR)、E (48 時間後、19.0~36.2% TAR) 及び I (24 時間後、14.6~22.4% TAR) であった。他には微量ではあるが、B、D、H 及び K が検出された。滅菌自然水中暗所条件下では、pH の影響により EPN が加水分解し、主要

¹ リン酸、酢酸及びホウ酸を混合した緩衝液に NaOH 水溶液を添加して、それぞれの pH に調整。

分解物としてE及びIが120時間後にそれぞれ23.8及び31.7% TAR 検出された。滅菌蒸留水中暗所条件下では、EPNはほとんど分解しなかった。

滅菌自然水及び滅菌蒸留水中のEPNの推定半減期は1.01及び1.07日、東京における春の太陽光下に換算した推定半減期は7.16及び7.58日であった。暗所対照区では9.28及び34.7日であった。

EPNの水中における光分解反応は、滅菌自然水及び滅菌蒸留水ともに同様の分解速度及び分解様式であった。EPNはリン酸エステルの開裂によりC、E及びIに分解した。C及びEはさらにD等の極性化合物に分解し、Iは速やかにCO₂まで分解することが示唆された。(参照21)

(4) 水中光分解試験(自然水及び蒸留水)②

非標識のEPNを、滅菌自然水(pH 7.8、河川水、埼玉)または滅菌蒸留水(pH 6.3)に0.5 mg/Lの濃度でそれぞれ添加し、20±5℃でキセノンランプ光(光強度: 48~51 W/m²、測定波長: 310~400 nm)を24時間連続照射する水中光分解試験が実施された。

滅菌自然水及び滅菌蒸留水中のEPNの推定半減期は11.2及び12.6時間、暗所対照区ではいずれも100時間超であった。(参照22)

5. 土壌残留試験

火山灰・埴壤土(①栃木、②東京)、沖積・埴壤土(埼玉)、洪積・砂壤土(愛知)、沖積・埴壤土(埼玉)、沖積・砂壤土(茨城)及び火山灰・壤土(茨城)を用いて、EPNを分析対象化合物とした土壌残留試験(容器内及び圃場)が実施された。推定半減期は表11に示されている。(参照23)

表11 土壌残留試験成績(推定半減期)

試験	条件	濃度*	土壌	EPN
容器内試験	湛水	5.0 mg/kg	火山灰・埴壤土①	3日
			沖積・埴壤土	3日
	畑		火山灰・埴壤土①	16日
			洪積・砂壤土	16日
圃場試験	湛水	0.9 kg ai/ha	沖積・埴壤土	5日
			沖積・砂壤土	1日以内
	畑		火山灰・埴壤土②	15日
			火山灰・壤土	17日

※容器内試験では原体、圃場試験では乳剤を使用。

6. 作物等残留試験

(1) 作物残留試験

水稻、小麦、かんしょ等を用いて、EPNを分析対象化合物とした作物残留試験

が実施された。結果は別紙3に示されている。EPNの最高値は、水稻（稲わら）を除くと、最終散布45日後に収穫したかぼちゃ（果実）及び最終散布46日後に収穫したしょうが（茎塊）の0.024 mg/kgであった。（参照24）

(2) 魚介類における最大推定残留値

EPNの公共用水域における予測濃度である水産動植物被害予測濃度（水産PEC）及び生物濃縮係数（BCF）を基に、魚介類の最大推定残留値が算出された。

EPNの水産PECは0.046 µg/L、BCFは1,232（試験魚種：コイ）、魚介類における最大推定残留値は0.28 mg/kgであった。（参照25）

上記の作物残留試験の分析値及び魚介類における最大推定残留値を用いて、EPNを暴露評価対象化合物とした際に食品中より摂取される推定摂取量が表12に示されている。なお、本推定摂取量の算定には、登録に基づく使用方法から、EPNが最大の残留を示す使用条件ですべての適用作物に使用され、かつ、魚介類への残留が上記の最大推定残留値を示し、加工及び調理による残留農薬の増減が全くないとの仮定の下に行った。

表12 食品中より摂取されるEPNの推定摂取量

作物名	残留値 (mg/kg)	国民平均 (体重：53.3 kg)		小児（1~6歳） (体重：15.8 kg)		妊婦 (体重：55.6 kg)		高齢者（65歳以上） (体重：54.2 kg)	
		ff (g/人/日)	摂取量 (µg/人/日)	ff (g/人/日)	摂取量 (µg/人/日)	ff (g/人/日)	摂取量 (µg/人/日)	ff (g/人/日)	摂取量 (µg/人/日)
小麦	0.022	117	2.57	82.3	1.81	123	2.71	83.4	1.83
かんしょ	0.009	15.7	0.14	17.7	0.16	13.8	0.12	16.8	0.15
キャベツ	0.021	22.8	0.48	9.8	0.21	22.9	0.48	19.9	0.42
ねぎ	0.018	11.3	0.20	4.5	0.081	8.2	0.15	13.5	0.24
かぼちゃ	0.023	9.4	0.22	5.8	0.13	6.9	0.16	11.8	0.27
しょうが	0.024	0.6	0.01	0.2	0.005	0.7	0.02	0.7	0.02
魚介類	0.28	94.1	26.3	42.8	12.0	94.1	26.3	94.1	26.3
合計			29.9		14.4		29.9		29.2

- ・残留値は、申請されている使用時期及び回数のうち各試験区の平均残留値の最大値を用いた。
- ・玄米、カリフラワー、ブロッコリー、すいか及びメロンのデータはすべて定量限界未満であったため、摂取量の計算に含めていない。
- ・「ff」：平成10年~12年の国民栄養調査（参照68~70）の結果に基づく摂取量（g/人/日）
- ・妊婦及び高齢者の魚介類のffは国民平均のffを用いた。
- ・「摂取量」：残留値から求めたEPNの推定摂取量（µg/人/日）

7. 一般薬理試験

ラット、マウス、ウサギ及びモルモットを用いた一般薬理試験が実施された。結果は表13に示されている。（参照26）

表 13 一般薬理試験概要

試験の種類	動物種	動物数 匹/群	投与量 (mg/kg 体重) (投与経路)	最大 無作用量 (mg/kg 体重)	最小作用量 (mg/kg 体重)	結果の概要	
中枢神経系	一般症状 (Irwin 法)	ICR マウス	雌雄各 5	0、3、5、8、12、 18 (経口)	3	5	流涎、躯体の緊張、自発運動増加に続く減少 12 mg/kg 体重投与群で雄 1 例及び雌 2 例死亡 18 mg/kg 体重投与群の雌雄で全例死亡
	脳波	日本白色種 ウサギ	雄 3	2、5 (腹腔内)	5	—	投与による影響なし
	自発運動量	ICR マウス	雄 10	0、3、5、8 (経口)	5	8	自発運動量増加
	最大電撃痙攣	ICR マウス	雄 10	0、3、5、8 (経口)	8	—	投与による影響なし
	Pentetrazol 痙攣	ICR マウス	雄 10	0、3、5、8 (経口)	8	—	投与による影響なし
	協調運動 (回転棒法)	ICR マウス	雄 10	0、3、5、8 (経口)	5	8	協調運動抑制
	体温	日本白色種 ウサギ	雄 3	0、12.5、25、50 (経口)	12.5	25	低下
	睡眠時間	ICR マウス	雄 10	0、3、5、8 (経口)	8	—	投与による影響なし
	鎮痛作用	ICR マウス	雄 10	0、3、5、8 (経口)	8	—	投与による影響なし
	筋弛緩作用 (傾斜板法)	ICR マウス	雄 10	0、3、5、8 (経口)	5	8	筋弛緩
筋弛緩作用 (懸垂法)	ICR マウス	雄 10	0、3、5、8 (経口)	5	8	筋弛緩	
呼吸・循環器系	呼吸及び循環器	日本白色種 ウサギ (麻醉下)	雄 6	2、5 (腹腔内)	2	5	心拍数の減少

自律神経系	瞳孔	日本白色種ウサギ	雄 3	0、12.5、25、50 (経口)	50	—	投与による影響なし
	摘出回腸	Hartley モルモット	雄 3	0、 1×10^{-9} ~ 1×10^{-3} g/mL (in vitro)	1×10^{-3} g/mL	—	投与による影響なし
神経筋	横隔膜神経—筋標本	SD ラット	雄 3	0、 1×10^{-7} ~ 1×10^{-3} g/mL (in vitro)	1×10^{-3} g/mL	—	投与による影響なし
骨格筋	前脛骨筋収縮	日本白色種ウサギ	雄 6	2、5 (腹腔内)	5	—	投与による影響なし
消化器系	小腸輸送能	SD ラット	雄 6	0、6、12.5、25、50 (経口)	6	12.5	小腸輸送能低下
血液	溶血性試験 (Parpart 法)	日本白色種ウサギ	雄 2	0、12.5、25、50 (経口)	50	—	投与による影響なし
	血液凝固 (APTT 法)	日本白色種ウサギ	雄 3	0、12.5、25、50 (経口)	50	—	投与による影響なし

—：最小作用量は設定できなかった。

検体は経口投与試験ではオリーブ油、腹腔内投与試験では 1% Tween80 溶液に懸濁して用いた。

8. 急性毒性試験

(1) 急性毒性試験

EPN 及び代謝物 D を用いた急性毒性試験が実施された。各試験の結果は表 14 に示されている。(参照 27~30)

表 14 急性毒性試験結果概要

検体	投与経路	動物種	LD ₅₀ (mg/kg 体重)		観察された症状
			雄	雌	
原体	経口	SD ラット (雌雄各 10 匹)	36	24	流涎、嗜眠、振戦、立毛、円背位、下痢、頬・鼻・泌尿生殖器・肛門周囲の被毛の汚れ、呼吸困難及び紅涙の増加 全投与群で死亡例
		ICR マウス (雌雄各 10 匹)	94.8	59.4	立毛、円背位、協調不能、嗜眠、振戦、痙攣、体温低下、全身衰弱、脱毛、鼻及び眼周囲の汚れ 32 mg/kg 体重以上投与群の雌雄で死亡例

	経皮	SD ラット (雌雄各 10 匹)	2,850	538	立毛、自発運動の低下、鼻周囲の被毛の汚れ、協調不能、円背位、振戦、呼吸困難、頻呼吸、頭部または全身の被毛の汚れ、側臥位、虚脱及び削瘦 181 mg/kg 体重以上投与群の雌で死亡例
	吸入*	SD ラット (雌雄各 5 匹)	LC ₅₀ (mg/L)		振戦、流涎、流涙、鼻汁、虚脱、運動失調、呼吸困難及び眼球突出 0.35 mg/L 以上投与群の雄及び 0.13 mg/L 以上投与群の雌で死亡例
代謝物 D	経口	SD ラット (雌雄各 5 匹)	>2,000	>2,000	症状及び死亡例なし

* : EPN 純品の融点は 34.6~36.0°Cのため、原体の形状が安定せず、原体による正しい吸入暴露条件の設定が難しいと判断されたことから、45%乳剤を用いた急性吸入毒性試験で代替した。

(2) 急性神経毒性試験 (ラット)

SD ラット (一群雌雄各 10 匹) を用いた強制経口 (原体 : 0、2、5 及び 10 mg/kg 体重、溶媒 : コーン油) 投与による急性神経毒性試験が実施された。

10 mg/kg 体重投与群の雌で 3 例の死亡が認められた。

本試験において、5 mg/kg 体重以上投与群の雌雄で副交感神経節後シナプスにおける過剰 ACh に対する反応として、流涎、流涙、排尿の増加、低血圧及び呼吸緩徐、中枢作用として、顕著な活動低下、感覚受容の低下及び立毛、神経筋作用として、落下開脚度のわずかな増加、握力低下及び振戦、2 mg/kg 体重以上投与群の雌雄で立毛及び低活動が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 2 mg/kg 体重未満であると考えられた。神経毒性は認められたが、神経組織学的所見はなく、神経系への永続的な障害作用の事実は認められなかった。(参照 31)

(3) 急性遅発性神経毒性試験 (ニワトリ) ①

Hybrid Brown Laying ニワトリ (EPN 投与群雌 40 羽、陽性対照投与群雌 10 羽) を用いた単回強制経口 (原体 : 175 mg/kg 体重、陽性対照リン酸トリ-σクレジル (TOCP) : 500 mg/kg 体重、溶媒 : コーン油) 投与による急性遅発性神経毒性試験が実施された。

検体投与群 28 羽及び陽性対照群 3 羽で死亡が認められた。

本試験において、全投与群 (陽性対照群を含む。) でよろめき、嗜眠、流涎、振戦、あえぎ、虚弱、起立不能、体重増加抑制、摂餌量減少及び脊髄頸部で軸索変性が認められた。EPN は、ニワトリに 175 mg/kg 体重 (LD₅₀ 値 : 171 mg/kg 体重) を単回強制経口投与した場合、遅発性神経毒性を有すると考えられた。(参照 32)

(4) 急性遅発性神経毒性試験 (ニワトリ) ②

Sterling Ranger ニワトリ (検体投与群雌 15 羽、陽性対照投与群雌 9 羽、溶媒対照群 9 羽) を用いた単回強制経口 (原体: 150 mg/kg 体重、陽性対照 TOCP: 696 mg/kg 体重、溶媒: コーン油) 投与による急性遅発性神経毒性試験が実施された。

検体投与群 1 羽で死亡が認められた。

本試験において、脳、脊髄の双方で NTE 活性及び脳 AChE 活性の顕著な阻害 (脳 NTE: 約 50%、脊髄 NTE: 約 70%、脳 AChE: 20%以上) が認められた。また、12 羽中 2 羽で遅発性神経毒性による運動失調が認められ、このうち 1 羽で神経組織に軸索の変性を主とする神経病理学的変化が認められた。(参照 33)

9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

NZW ウサギを用いた眼刺激性試験及び皮膚刺激性試験が実施された。その結果、EPN は眼粘膜に対して結膜刺激性を有するが、速やかに回復するものと判断された。また、皮膚に対してわずかな刺激性が認められた。(参照 34、35)

Hartley モルモットを用いた皮膚感作性試験 (Buehler 法) が実施された。その結果、皮膚感作性は認められなかった。(参照 36)

10. 亜急性毒性試験

(1) 90 日間亜急性毒性試験 (ラット)

SD ラット (一群雌雄各 10 匹) を用いた混餌 (原体: 0、1、5、25 及び 125 ppm: 平均検体摂取量は表 15 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 15 90 日間亜急性毒性試験 (ラット) の平均検体摂取量

投与群		1 ppm	5 ppm	25 ppm	125 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	0.06	0.30	1.48	7.34
	雌	0.07	0.38	1.89	11.6

投与に関連した死亡は認められなかった。各投与群で認められた毒性所見は表 16 に示されている。

25 ppm 投与群の雌雄において、赤血球 ChE 活性阻害 (20%以上) が認められた。投与に起因すると考えられる臨床症状、体重増加量、摂餌量、血液学的検査項目、生化学的検査項目及び臓器重量に影響が無く、赤血球 ChE 活性阻害は可逆的で、4 週間の回復期間終了後には正常であった。同群の雌では脾のヘモジデリン沈着の亢進が認められたが、代償性反応としての骨髄における造血亢進は認められなかった。

本試験において、25 ppm 投与群の雌雄で赤血球 ChE 活性阻害 (20%以上) 等が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 5 ppm (雄: 0.30 mg/kg 体重/日、

雌：0.38 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 37)

表 16 90 日間亜急性毒性試験 (ラット) で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
125 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・RBC 減少 ・脳 ChE 活性阻害 (20%以上) 	<ul style="list-style-type: none"> ・RBC、Hb、Ht 及び Glu 減少 ・脳 ChE 活性阻害 (20%以上) ・脾のヘモジデリン沈着
25 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・赤血球 ChE 活性阻害 (20%以上) 	<ul style="list-style-type: none"> ・赤血球 ChE 活性阻害 (20%以上)
5 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

(2) 90 日間亜急性毒性試験 (マウス)

ICR マウス (一群雌雄各 10 匹) を用いた混餌 (原体:0、1、5、25 及び 125 ppm : 平均検体摂取量は表 17 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 17 90 日間亜急性毒性試験 (マウス) の平均検体摂取量

投与群		1 ppm	5 ppm	25 ppm	125 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	0.19	0.92	4.70	23.9
	雌	0.22	1.18	5.93	30.2

25 ppm 投与群の雄 1 例で死亡が認められたが、これは精囊の膿瘍に起因する敗血症によるものであった。また、125 ppm 投与群の雌 2 例で死亡が認められた。

本試験において、25 ppm 以上投与群の雌雄で赤血球 ChE 活性阻害 (20%以上) が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 5 ppm (雄:0.92 mg/kg 体重/日、雌:1.18 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 38)

(3) 90 日間亜急性毒性試験 (イヌ)

ビーグル犬 (一群雌雄各 4 匹) を用いたカプセル経口 (原体:0、0.3、1.0 及び 3.0 mg/kg 体重/日) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

投与に関連した死亡は認められなかった。各投与群で認められた毒性所見は表 18 に示されている。

本試験において、3.0 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で脳及び赤血球 ChE 活性阻害 (20%以上) 等が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 1.0 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 39)

表 18 90 日間亜急性毒性試験（イヌ）で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
3.0 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> ・RBC 減少 ・脳及び赤血球 ChE 活性阻害 (20%以上) ・脾の腺房細胞萎縮、肝のクッパー細胞色素沈着 	<ul style="list-style-type: none"> ・RBC 及び Ht 減少 ・脳及び赤血球 ChE 活性阻害 (20%以上)
1.0 mg/kg 体重/日 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

(4) 90 日間亜急性吸入毒性試験（ラット）

SD ラット（一群雌雄各 15 匹）を用いた吸入（原体：0、0.008、0.08、0.8 及び 8 µg/L/日）投与による 90 日間亜急性吸入毒性試験が実施された。

0.8 µg/L/日投与群の雌及び 8 µg/L/日投与群の雄で流涎、振戦及び運動失調等が認められ、そのうち雌 2 例が死亡したが、これらの動物を収容したケージは EPN による局所的汚染が認められており、これを経口的に摂取したことによる影響の可能性も否定できなかった。

本試験において、8 µg/L/日投与群の雄及び 0.8 µg/L/日以上投与群の雌で赤血球 ChE 活性阻害（20%以上）が認められたことから、無毒性量は雄で 0.8 µg/L/日、雌で 0.08 µg/L/日であると考えられた。（参照 40）

(5) 21 日間亜急性経皮毒性試験（ラット）

SD ラット（一群雌雄各 5 匹）を用いた経皮（原体 雄：0、2.5、7.5、25.0 及び 75.0 mg/kg 体重/日、雌：0、0.5、1.5、5.0 及び 15.0 mg/kg 体重/日）投与による 21 日間亜急性経皮毒性試験が実施された。

投与に関連した死亡は認められなかった。各投与群で認められた毒性所見は表 19 に示されている。

本試験において、2.5 mg/kg 体重/日以上投与群の雄及び 1.5 mg/kg 体重/日以上投与群の雌で赤血球 ChE 活性阻害（20%以上）が認められたことから、無毒性量は雄で 2.5 mg/kg 体重/日未満、雌で 0.5 mg/kg 体重/日であると考えられた。（参照 41）

表 19 21 日間亜急性経皮毒性試験（ラット）で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
雄：75.0/ 雌：15.0 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> ・振戦、被毛の汚れ、円背位、鼻及び眼周囲の血様付着物、削瘦 ・体重増加抑制 ・Hb 減少 ・多巣性肝細胞変性及び壊死 	<ul style="list-style-type: none"> ・振戦、被毛の汚れ、円背位、鼻及び眼周囲の血様付着物、削瘦 ・体重増加抑制、摂餌量減少 ・多巣性肝細胞変性及び壊死
雄：25.0/ 雌：5.0 mg/kg 体重/日以上		・脳 ChE 活性阻害（20%以上）
雄：7.5/ 雌：1.5 mg/kg 体重/日以上	・脳 ChE 活性阻害（20%以上）	・赤血球 ChE 活性阻害（20%以上）
雄：2.5/ 雌：0.5 mg/kg 体重/日以上	・赤血球 ChE 活性阻害（20%以上）	毒性所見なし

(6) 90 日間亜急性神経毒性試験（ラット）

SD ラット（一群雌雄各 10 匹）を用いた混餌（原体：0、0.5、2.2 及び 10.0 mg/kg 体重/日）投与による 90 日間亜急性神経毒性試験が実施された。

投与に関連した死亡は認められなかった。各投与群で認められた毒性所見は表 20 に示されている。

本試験において、10.0 mg/kg 体重/日投与群の雄で尿量増加、2.2 mg/kg 体重/日以上投与群の雌で立毛が認められたことから、無毒性量は雄で 2.2 mg/kg 体重/日、雌で 0.5 mg/kg 体重/日であると考えられた。（参照 42）

表 20 90 日間亜急性神経毒性試験（ラット）で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
10.0 mg/kg 体重/日	・尿量増加	<ul style="list-style-type: none"> ・振戦、眼球突出、呼吸異常、円背位、異常歩行 ・体重増加抑制
2.2 mg/kg 体重/日以上	2.2 mg/kg 体重/日以下毒性所見なし	・立毛
0.5 mg/kg 体重/日		毒性所見なし

(7) 28 日間亜急性遅発性神経毒性試験（ニワトリ）

Sterling Ranger ニワトリ（一群雌 9 羽 [最高用量群のみ 12 羽]、中間と殺群 [投与 2 日後にと殺]：一群 3 羽）を用いた強制経口（原体：0、0.5、1.0、2.5 及び 6.3 mg/kg 体重/日、陽性対照群（TOCP）：23.2 mg/kg 体重/日）投与による 28 日間亜急性遅発性神経毒性試験が実施された。

6.3 mg/kg 体重/日投与群で 2 例の死亡が認められた。各投与群で認められた毒性所見は表 21 に示されている。

本試験において、2.5 mg/kg 体重/日以上投与群で脳 AChE 及び NTE 活性阻害（脳 AChE：20%以上、NTE：[脳：約 20%、脊髄：約 10%]）が認められたこ

とから、無毒性量は 1.0 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 44)

表 21 28 日間亜急性遅発性神経毒性試験 (ニワトリ) で認められた毒性所見

EPN 投与群	雌	TOCP 投与群	雌
6.3 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> ・死亡 (2 例) ・運動失調 (1 例: 遅発性神経毒性症状、4 例: ChE 活性阻害に伴う症状) ・脊髄の軸索変性及びシュワン細胞の増生 (主として頸部及び胸部脊髄) 	23.2 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> ・運動失調 (1 例: 遅発性神経毒性症状) ・脳 AChE 及び NTE 活性阻害 (脳 AChE : 20% 以上、NTE : [脳: 約 80%、脊髄: 約 70%])
2.5 mg/kg 体重/日以上	<ul style="list-style-type: none"> ・脳 AChE 及び NTE 活性阻害 (脳 AChE : 20% 以上、NTE : [脳: 約 20%、脊髄: 約 10%]) 		<ul style="list-style-type: none"> ・脊髄の軸索変性及びシュワン細胞の増生 (主として頸部及び胸部脊髄)
1.0 mg/kg 体重/日以下	毒性所見なし		

(8) 90 日間亜急性遅発性神経毒性試験 (ニワトリ)

Warren Sex Sal Link F 種ニワトリ (一群雌 20 羽、回復群: 一群 10 羽) を用いた強制経口 (原体: 0、0.01、0.1、0.5、1.0、2.5 及び 5.0 mg/kg 体重/日、陽性対照群 (TOCP): 0、1.0、5.0 及び 10.0 mg/kg 体重/日) 投与による、90 日間亜急性遅発性神経毒性試験が実施された。

各投与群で投与に関連した死亡が認められたが、その死亡率は用量に依存したパターンを示さなかった。各投与群で認められた毒性所見は表 22 に示されている。

本試験において、1.0 mg/kg 体重/日以上投与群で脊髄神経の軸索変性等が認められたことから、無毒性量は 0.5 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 43)

表 22 90 日間亜急性遅発性神経毒性試験 (ニワトリ) で認められた毒性所見

EPN 投与群	雌	TOCP 投与群	雌
5.0 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・産卵停止 ・筋萎縮 ・末梢神経の軸索変性 	10.0 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> ・摂餌量減少 ・産卵停止 ・筋萎縮
2.5 mg/kg 体重/日以上	<ul style="list-style-type: none"> ・遅発性運動失調 	5.0 mg/kg 体重/日以上	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・遅発性運動失調 ・脊髄神経の軸索変性 ・末梢神経の軸索変性
1.0 mg/kg 体重/日以上	<ul style="list-style-type: none"> ・摂餌量減少 ・脊髄神経の軸索変性 	1.0 mg/kg 体重/日以上	毒性所見なし
0.5 mg/kg 体重/日以下	毒性所見なし		

1.1. 慢性毒性試験及び発がん性試験

(1) 6カ月間慢性毒性試験（ラット）

SD ラット（一群雌雄各 10 匹）を用いた混餌（原体：0、1、3、10、50、150 及び 450 ppm：平均検体摂取量は表 23 参照）投与による 6 カ月間慢性毒性試験が実施された。

表 23 6 カ月間慢性毒性試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群		1 ppm	3 ppm	10 ppm	50 ppm	150 ppm	450 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	0.06	0.18	0.60	3.10	9.32	31.1
	雌	0.07	0.20	0.69	3.37	11.4	—

—：全例死亡のため算出せず。

450 ppm 投与群の雄で投与 3 週までに 6 例が死亡、雌で投与 1 週までに全例が死亡した。各投与群で認められた毒性所見は表 24 に示されている。

本試験において、10 ppm 以上投与群の雌雄で赤血球 ChE 活性阻害 (20%以上) が認められたので、無毒性量は雌雄とも 3 ppm (雄：0.18 mg/kg 体重/日、雌：0.20 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 45)

表 24 6 カ月間慢性毒性試験（ラット）で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
450 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・死亡 (6 例) ・体重増加抑制、摂餌量減少、飲水量減少 ・Mon 増加 ・脳 ChE 活性阻害 (20%以上) ・脳絶対重量減少及び比重量増加²、胸腺比重量増加、心絶対重量減少及び対脳重量増加³、肺絶対及び対脳重量減少、精巣絶対及び比重量減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・死亡 (全例)
150 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・RBC 減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制、摂餌量減少 ・RBC 減少 ・脳 ChE 活性阻害 (20%以上) ・脳絶対重量減少及び比重量増加、甲状腺絶対重量減少、胸腺絶対及び対脳重量減少、腎絶対重量減少及び比重量増加、脾絶対重量減少及び比重量増加
50 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・Hb 減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・Hb 減少 ・ALP 増加、A/G 比低下
10 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・赤血球 ChE 活性阻害 (20%以上) 	<ul style="list-style-type: none"> ・赤血球 ChE 活性阻害 (20%以上)
3 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

² 体重比重量のことを比重量という (以下同じ)。

³ 脳重量に比した重量のことを対脳重量という (以下同じ)。

(2) 1年間慢性毒性試験 (イヌ)

ビーグル犬 (一群雌雄各 4 匹) を用いたカプセル経口 (原体 : 0、0.1、1.0 及び 3.0 mg/kg 体重/日、溶媒 : コーン油) 投与による 1 年間慢性毒性試験が実施された。

3.0 mg/kg 体重/日投与群の雄 1 例で投与 27 週に嘔吐、振戦、脱水、低体温等の症状が認められ、瀕死状態に陥ったため、切迫と殺した。

本試験において、3.0 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で赤血球 ChE 活性阻害 (20% 以上) が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 1.0 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 46)

(3) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット)

SD ラット (一群雌雄各 50 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、3、15 及び 75 ppm : 平均検体摂取量は表 25 参照) 投与による 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験が実施された。

表 25 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット) の平均検体摂取量

投与群		3 ppm	15 ppm	75 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	0.14	0.73	3.63
	雌	0.18	0.91	4.94

検体投与による死亡率の上昇は認められなかった。また、腫瘍性病変に検体投与に関連した発生頻度の増加は認められなかった。各投与群で認められた毒性所見は表 26 に示されている。

本試験において、15 ppm 以上投与群の雌雄で赤血球 ChE 活性阻害 (20% 以上) が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 3 ppm (雄 : 0.14 mg/kg 体重/日、雌 : 0.18 mg/kg 体重/日) であると考えられた。発がん性は認められなかった。(参照 47)

表 26 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット) で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
75 ppm	・RBC 及び Hb 減少 ・脳 ChE 活性阻害 (20% 以上)	・脳 ChE 活性阻害 (20% 以上)
15 ppm 以上	・赤血球 ChE 活性阻害 (20% 以上)	・赤血球 ChE 活性阻害 (20% 以上)
3 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

(4) 18 カ月間発がん性試験 (マウス)

ICR マウス (一群雌雄各 50 匹) を用いた混餌 (原体: 0、5、25 及び 125 ppm : 平均検体摂取量は表 27 参照) 投与による 18 カ月間発がん性試験が実施された。

表 27 18 カ月間発がん性試験 (マウス) の平均検体摂取量

投与群		5 ppm	25 ppm	125 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	0.8	3.9	19.6
	雌	1.0	4.8	24.9

検体投与による死亡率の上昇は認められなかった。また、腫瘍性病変に検体投与に関連した発生頻度の増加は認められなかった。

125 ppm 投与群の雌雄で脳 ChE 活性阻害 (20%以上) が認められた。

本試験において、25 ppm 以上投与群の雌雄で赤血球 ChE 活性阻害 (20%以上) が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 5 ppm (雄: 0.8 mg/kg 体重/日、雌: 1.0 mg/kg 体重/日) であると考えられた。発がん性は認められなかった。(参照 48)

1 2. 生殖発生毒性試験

(1) 2 世代繁殖試験 (ラット)

SD ラット (一群雌雄各 26 匹 [P 世代]、各 30 匹 [F₁ 世代]) を用いた混餌 (原体: 0、3、15 及び 75 ppm : 平均検体摂取量は表 28 参照) 投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

表 28 2 世代繁殖試験 (ラット) の平均検体摂取量

投与群		3 ppm	15 ppm	75 ppm	
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	P 世代	雄	0.2	1.0	5.0
		雌	0.2	1.2	6.7
	F ₁ 世代	雄	0.2	1.0	5.6
		雌	0.3	1.4	8.2

各投与群で認められた毒性所見は表 29 に示されている。

本試験において、親動物では 75 ppm 投与群の F₁ 世代雄で体重増加抑制、15 ppm 以上投与群の P 世代及び F₁ 世代雌で体重増加抑制、児動物では 75 ppm 投与群の F₁ 世代及び F₂ 世代で生存率低下等が認められたことから、無毒性量は親動物の雄で 15 ppm (P 雄: 1.0 mg/kg 体重/日、F₁ 雄: 1.0 mg/kg 体重/日)、雌で 3 ppm (P 雌: 0.2 mg/kg 体重/日、F₁ 雌: 0.3 mg/kg 体重/日)、児動物の雌雄とも 15 ppm (P 雄: 1.0 mg/kg 体重/日、P 雌: 1.2 mg/kg 体重/日、F₁ 雄: 1.0 mg/kg 体重/日、F₁ 雌: 1.4 mg/kg 体重/日) であると考えられた。繁殖能に対する影響は認められなかった。(参照 49)

表 29 2 世代繁殖試験（ラット）で認められた毒性所見

投与群		親：P、児：F ₁		親：F ₁ 、児：F ₂	
		雄	雌	雄	雌
親動物	75 ppm	75 ppm 以下毒性所見なし		・体重増加抑制	・脱毛、振戦及び被毛の汚れ
	15 ppm 以上		・体重増加抑制	15 ppm 以下毒性所見なし	・体重増加抑制
	3 ppm		毒性所見なし		毒性所見なし
児動物	75 ppm	・生存率低下 ・体重増加抑制		・生存率低下 ・体重増加抑制	
	15 ppm 以下	毒性所見なし		毒性所見なし	

(2) 発生毒性試験（ラット）

SD ラット（一群雌 25 匹）の妊娠 6~15 日に強制経口（原体：0、0.3、0.6、1.2 及び 2.4 mg/kg 体重/日、溶媒：コーン油）投与して、発生毒性試験が実施された。

本試験において、母動物では 2.4 mg/kg 体重/日投与群で振戦、虚脱、円背位、鼻汁及び流涙が認められ、胎児では投与に関連した毒性所見が認められなかったことから、無毒性量は母動物で 1.2 mg/kg 体重/日、胎児で 2.4 mg/kg 体重/日であると考えられた。催奇形性は認められなかった。（参照 50）

(3) 発生毒性試験（ウサギ）

NZW ウサギ（一群雌 15 匹）の妊娠 7~19 日に強制経口（原体：0、1、3、6 及び 9 mg/kg 体重/日、溶媒：コーン油）投与して、発生毒性試験が実施された。

9 mg/kg 体重/日投与群で 9 例が死亡、3 例が瀕死状態になりと殺された。また、6 mg/kg 体重/日投与群で 2 例が死亡した。各投与群で認められた毒性所見は表 30 に示されている。

本試験において、母動物では 3 mg/kg 体重/日以上投与群で体重増加抑制等、胎児では 6 mg/kg 体重/日以上投与群で低体重が認められことから、無毒性量は母動物で 1 mg/kg 体重/日、胎児で 3 mg/kg 体重/日であると考えられた。催奇形性は認められなかった。（参照 51）

表 30 発生毒性試験（ウサギ）で認められた毒性所見

投与群	母動物	胎児
9 mg/kg 体重/日	・不活発、削瘦、振戦、虚脱、被毛の汚れ及び流涎	
6 mg/kg 体重/日以上	・摂餌量減少	・低体重
3 mg/kg 体重/日以上	・体重増加抑制 ・食欲不振	3 mg/kg 体重/日以下毒性所見なし
1 mg/kg 体重/日	毒性所見なし	

(4) 発達神経毒性試験 (ラット)

SD ラット (一群雌 22 匹) の妊娠 6 日から哺育 10 日に強制経口 (原体: 0, 0.5, 1.4 及び 4.0 mg/kg 体重/日、溶媒: コーン油) 投与して、発達神経毒性試験が実施された。

本試験において、母動物では 4.0 mg/kg 体重/日投与群で振戦及び体重増加抑制、胎児でも体重増加抑制が認められことから、無毒性量は母動物及び胎児で 1.4 mg/kg 体重/日であると考えられた。発達神経毒性は認められなかった。(参照 52)

1.3. 遺伝毒性試験

EPN (原体) の細菌を用いた DNA 修復試験及び復帰突然変異試験、HeLa S3 細胞を用いた不定期 DNA 合成 (UDS) 試験、マウスリンフォーマ TK 試験、ヒトリンパ球培養細胞を用いた染色体異常試験、マウスを用いた宿主経路試験及び小核試験が実施された。

試験結果は表 31 に示されているとおり、マウスリンフォーマ TK 試験の代謝活性化系存在下及びヒトリンパ球培養細胞を用いる染色体異常で陽性が認められた。細菌を用いる復帰突然変異試験が陰性であることも含めて考察すると、マウスリンフォーマ TK 試験での陽性結果は、染色体異常誘発性に基づくものである可能性が高い。ただし、染色体異常誘発性を、*in vivo* で調べる小核試験において陰性であったことから、*in vitro* で認められた染色体異常誘発性が生体内で起こるとは考え難く、EPN に生体において問題となるような遺伝毒性はないものと考えられた。(参照 53~59)

表 31 遺伝毒性試験概要

試験	対象	処理濃度・投与量	結果	
<i>in vitro</i>	DNA 修復試験	<i>Bacillus subtilis</i> (H-17, M-45 株)	20~2,000 µg/ディスク	陰性
	復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) <i>Escherichia coli</i> (WP2 hcr^+ , WP2 hcr^- 株)	200~5,000 µg/プレート (-S9) 100~1,000 µg/プレート (+S9)	陰性
	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株)	4~2,500 µg/プレート (+/-S9)	陰性
	UDS 試験	HeLa S3 細胞	0.0064~500 µg/mL (+/-S9)	陰性
	マウスリンフォーマ TK 試験	マウスリンパ腫細胞 (L5178Y)	7.9~250 µg/mL (+/-S9)	陽性 (+S9)
	染色体異常試験	チャイニーズハムスター卵巣細胞 (CHO)	625~5,000 µg/mL (+/-S9)	陰性
	染色体異常試験	ヒトリンパ球培養細胞	3.13~25 µg/mL (+/-S9)	陽性