

処理した大部分が土壌表層にとどまっていると考えられた。(参照 9)

### (3) トマト (幼植物における吸収移行性試験)

[ben-<sup>14</sup>C]シアゾファミド及び[imi-<sup>14</sup>C]シアゾファミドを用いた散布液 (125~127 µg/mL) 40 µL を 6~7 葉期の水耕栽培トマト (品種: ポンテローザ) の第 4 葉表面に塗布し、処理 3、7 及び 14 日後に採取された試料を用いたトマト幼植物における吸収移行性試験が行われた。

処理 7 及び 14 日後におけるトマト幼植物体の処理葉では、表面洗浄液から 87.1~115% TAR が検出され、洗浄後には 0.3~0.5% TAR が検出された。処理葉以外の茎葉からは、放射能はほとんど検出されなかった。シアゾファミドは葉表面からはほとんど吸収されず、また、吸収されたとしても、他の部位への移行はほとんどせずに葉表面にそのまま残っていると考えられた。(参照 10)

### (4) ばれいしょ

圃場栽培又は温室栽培のばれいしょ (品種、圃場: Kennebec、温室: Superior) に、[ben-<sup>14</sup>C]シアゾファミド及び[imi-<sup>14</sup>C]シアゾファミドを用いた散布液を、1 回あたり 100 g ai/ha (以下 [2. (4)] において「低濃度」という。) 又は 400 g ai/ha (代謝物同定用、以下 [2. (4)] において「高濃度」という。)、1 週間間隔で低濃度処理群 (圃場のみ) には 2~3 回、高濃度処理群の圃場栽培では 3 回、温室栽培では 5 回散布し、最終散布 1 週間後に収穫された塊茎及び茎葉を用いた植物体内運命試験が行われた。

塊茎中の総残留放射能は、低濃度処理群で 0.8~1.9 µg/kg、高濃度処理群で 16.5~21.7 µg/kg であった。親化合物は、低濃度及び高濃度処理群とも 2 µg/kg 以下であり、可溶性生体成分に取り込まれた極性代謝物画分は 19.7~55.6% TRR を占めた。結合性残渣は 16.5~60.9% TRR を占めたが、主に塊茎中のデンプンに存在しており、シアゾファミドは植物体内で生体成分に取り込まれる程度にまで分解されると考えられた。

茎葉の総残留放射能は、高濃度処理・温室栽培群で 64.3~66.5 mg/kg であり、親化合物が 95.0~95.2% TRR を占め、主要代謝物は B (1.8~2.3% TRR) であった。(参照 11)

### (5) ぶどう

圃場栽培のぶどう (品種: Pinot Noir) に [ben-<sup>14</sup>C]シアゾファミド及び [imi-<sup>14</sup>C]シアゾファミドを用いた散布液を 1 回あたり 100 g ai/ha、21~25 日間隔で計 5 回散布し、最終散布 44 日後に収穫してジュース、フリーランワイン<sup>1</sup>及びワイン

に加工した試料を用いた植物体内運命試験が行われた。

果実中の総残留放射能は 0.44~0.50 mg/kg であった。この果実を磨砕して果実と残渣に分別したところ、ジュースで 0.073~0.077 mg/kg (15.4~16.4% TRR)、パルプで 0.36~0.41 mg/kg (81.6~81.7% TRR)、ブレンダーの洗浄液で 0.009~0.015 mg/kg (2.0~2.9% TRR) 検出された。パルプ、ジュース及びブレンダー洗浄液の中に含まれる親化合物は、合計で 56.8~57.9% TRR であり、主要代謝物は極性物質 (糖及びクエン酸を含む。以下同じ。) が約 10% TRR、B が 4.5~6.6% TRR 認められた。少量代謝物として B の抱合体、C、F、G、K 及び M が検出された。極性代謝物を含む糖を再結晶化したところ放射活性があったため、シアゾファミドは十分小さな化合物に分解し、生体成分に再吸収されたと考えられた。

フリーランワイン及びワイン中の総残留放射能はそれぞれ 0.19~0.21 mg/kg、0.26~0.32 mg/kg であった。フリーランワイン中には親化合物、極性物質、F、B 及び B の抱合体がそれぞれ 5.4~7.2、17.9~23.6、4.9~7.5、28.4 及び 2.3~3.3% TRR、ワイン中にはそれぞれ 10.2~10.9、14.3~18.9、2.5~5.6、30.4~31.1 及び 1.5~3.7% TRR 含まれていた。また、ワインを蒸留して得られたエタノール中の残留放射能は 1.1~1.3% TRR であった。茎葉中の総残留放射能は 0.43~0.68 mg/kg であり、親化合物、極性物質及び B がそれぞれ 34.2~41.1、5.5~8.9 及び 2.6~3.1% TRR 含まれていた。(参照 12)

## 3. 土壌中運命試験

### (1) 好氣的土壌中運命試験

壤質砂土 (米国オハイオ州) に [ben-<sup>14</sup>C]シアゾファミド及び [imi-<sup>14</sup>C]シアゾファミドをそれぞれ 100 g ai/ha の用量で添加後、20 ± 2°C の暗所で 59 日間インキュベーションし、好氣的土壌運命試験が実施された。

59 日間の <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> の発生量は 11.9~14.1% TAR であった。

土壌結合性放射能は処理 15~20 日後に最高となり、その後減少した後再び増加し、処理 59 日後には 47.6~50.4% TAR となった。主要分解物は B、C 及び J であり、B は処理 5 日後に最大 (14.9~16.3% TAR) に達した。C は、[ben-<sup>14</sup>C]シアゾファミド処理区では処理 26 日後に 11.0% TAR、[imi-<sup>14</sup>C]シアゾファミド処理区では処理 15 日後に 13.2% TAR に達し、J は処理 44 日後に 9.2~9.8% TAR に達したが、その後減衰し、処理 59 日後にはそれぞれ 3.9~4.7、5.9~8.8 及び 7.3~8.4% TAR となった。シアゾファミドの推定半減期及び 90% 分解期間はそれぞれ 5 日以下及び 33~44 日であった。

シアゾファミドは好気性土壌中で分解を受け、B、J 等を経て結合性残渣に取り込まれ、最終的に CO<sub>2</sub> まで分解されると考えられた。(参照 13)

<sup>1</sup> 参照 13 では、フリーランワインは「発酵の終了時に、圧搾することなく、ろ過のみで得られたワイン」と定義されている。

## (2) 嫌氣的湛水土壤中運命試験

砂壤土（米国オハイオ州）に[ben-<sup>14</sup>C]シアゾファミド及び[imi-<sup>14</sup>C]シアゾファミドをそれぞれ 100 g ai/ha の用量で添加後、嫌氣的条件下、20±2℃の暗所で 360 日間インキュベーションし、嫌氣的土壤中運命試験が実施された。

360 日間の <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> の発生量は 2.9～3.4% TAR であった。

土壤結合性放射能は処理 360 日後までに 80.1～82.6%TAR となった。主要分解物は B、C 及び J であり、B は処理 7 日後に 20.7～27.2%TAR に、C は処理 7 日後に 10.3～14.1%TAR に、J は処理 56 日後 18.9～21.3%TAR に達し、その後減衰して、処理 360 日後にはそれぞれ 0.5～1.0、1.6～2.1、10.8～12.1%TAR となった。シアゾファミドの推定半減期及び 90%分解期間はそれぞれ 4.75～6.80 及び 28.0～37.6 日であった。

シアゾファミドは嫌氣性土壤中中で分解を受け、B、J 等を経て結合性残渣に取り込まれ、CO<sub>2</sub> まで分解されると考えられた。（参照 14）

## (3) 土壤吸着試験（国内土壤）

4 種類の国内土壤〔砂壤土（滋賀）、軽埴土（茨城）、埴壤土（愛知）及び砂質埴壤土（三重）〕を用いた土壤吸着試験が実施された。

Freundlich の吸着係数  $K_{ads}$  は 4.92～15.4、有機炭素含有率により補正した吸着係数  $K_{oc}$  は 375～615 であった。（参照 15）

## (4) 土壤吸着試験（海外土壤）

4 種類の海外土壤〔壤質砂土（米国）、pH 7.6 の砂壤土（英国）、pH 6.9 の砂壤土（英国）及び砂土（ドイツ）〕を用いた土壤吸着試験が実施された。

Freundlich の吸着係数  $K_{ads}$  は 4.14～87.0、有機炭素含有率により補正した吸着係数  $K_{oc}$  は 657～2,900 であった。（参照 16）

## (5) カラムリーチング試験（熟成土壤）

壤質砂土（英国）に[ben-<sup>14</sup>C]シアゾファミド及び[imi-<sup>14</sup>C]シアゾファミドを 100 g ai/ha の用量で添加した後 90 時間インキュベートし、土壤層を 30 cm とした同じ土壤の上端に添加後、48 時間、200 mm の降雨に相当する量（181 mL/日×2 回）の 0.01 M 塩化カルシウム水溶液を流し、熟成土壤におけるカラムリーチング試験が実施された。

溶出液から 0.8%TAR 検出された。土壤層の 0～5 cm から 86.6～90.3%TAR 検出され、他はどの画分についても 4.0%TAR 未満であった。0～5 cm の土壤中の主な成分は親化合物、B 及び C であり、それぞれ 39.8～43.2、22.3～28.4 及び 10.8～12.0%TAR 検出された。（参照 17）

## (6) カラムリーチング試験（非熟成土壤）

4 種類の土壤〔壤質砂土（米国）、砂質壤土、壤質砂土及び砂土（ドイツ）〕に [ben-<sup>14</sup>C]シアゾファミド及び[imi-<sup>14</sup>C]シアゾファミドを 100 g ai/ha の用量で添加し、土壤層を 30 cm とした同じ土壤の上端に添加後、48 時間、200 mm の降雨に相当する量（181 mL/日×2 回）の 0.01 M 塩化カルシウム水溶液を流し、非熟成土壤におけるカラムリーチング試験が実施された。

回収放射能は 84.7～95.0%TAR であり、そのうち 0.1～0.4%TAR は溶出液から検出された。土壤層の 0～5 cm から 81.9～93.5%TAR の放射能が検出され、他はどの画分についても 6.0%TAR 以下であった。土壤層の 0～5 cm 中の主な成分は親化合物、B 及び C であり、当該土壤抽出物全体の放射能に対する割合として、それぞれ 45.9～72.3、11.0～41.3 及び不検出～8.5%であった。（参照 18）

## (7) 土壤表面光分解試験

壤質砂土（英国、乾燥重量約 10 g）に、[ben-<sup>14</sup>C]シアゾファミド及び[imi-<sup>14</sup>C]シアゾファミドの処理液 50 µL（約 1 µg のシアゾファミドを含む）を加え、約 3 mm の厚さに広げた後、20±3℃でキセノン光（波長：250～750 nm）照射及び非照射処置をそれぞれ 12 時間交互に 30 日間繰り返し、土壤表面光分解試験が実施された。

シアゾファミドの分解は照射区及び暗所対照区ともに速やかであり、主要分解物は B 及び G であった。B の生成は暗所対照区及び照射区ともに急速であったが、G への変換は暗所対照区の方が速かった。

シアゾファミドの推定半減期は、照射区で 93～104 時間、暗所対照区で 95～113 時間、90%分解期間は照射区で 310～345 時間、暗所対照区で 315～376 時間であった。本試験では、照射の作用が水中光分解試験〔4. (2) 及び (3)〕ほど顕著には観察されなかった。（参照 19）

## 4. 水中運命試験

### (1) 加水分解試験

[ben-<sup>14</sup>C]シアゾファミド及び[imi-<sup>14</sup>C]シアゾファミドを、pH 4（酢酸緩衝液）、pH 5（酢酸緩衝液）、pH 7（リン酸緩衝液）及び pH 9（ホウ酸緩衝液）の各滅菌緩衝液にそれぞれ 70 µg/L となるように添加後、25±1℃で 30 日間インキュベーションする加水分解試験が実施された。

25℃において、pH 4、5 及び 7 の各緩衝液での主要分解物は B のみであった。pH 9 では、B の他に C が生成した。処理 30 日後の各緩衝液中における親化合物、B 及び C（pH 9 のみ）は 14～21、74～83 及び 9～10%TAR であった。シアゾファミドの推定半減期は 10.6～13.3 日であった。（参照 20）

## (2) 水中光分解試験（蒸留水及び自然水）

[ben-<sup>14</sup>C]シアゾファミド及び[imi-<sup>14</sup>C]シアゾファミドを非滅菌蒸留水及び非滅菌自然水（滋賀、琵琶湖水及び日野川水）にそれぞれ約 70 µg/L となるように添加し、21±3℃で 12 時間キセノン光を照射（光強度：646 W/m<sup>2</sup>、波長：290～800 nm）後、12 時間非照射のまま静置し、蒸留水及び自然水における水中光分解試験が実施された。

暗所対照区におけるシアゾファミドの分解は緩やかであり、処理 1 日後には 90%程度存在した。光照射によってシアゾファミドは急速に分解し、処理 1 時間後のシアゾファミドは全供試水中で不検出であった。推定半減期は 3.7～5.0 分であり、これは北緯 35 度（東京）春期の太陽光換算で 24～33 分であった。主要分解物は B、K、L 及び M であり、K は処理 10～30 分後に約 40%TAR を占めた後、処理 24 時間後には 2～3%TAR に減少した。B は処理 20～60 分後に 40～45%TAR を占め、処理 24 時間後には 9～25%TAR に減少した。L 及び M は徐々に増加し、処理 24 時間後にそれぞれ 3.9～14.9 及び 11.5～18.3%TAR であった。処理 24 時間後には、さらに分解が進んだ極性分解物群が、[ben-<sup>14</sup>C]シアゾファミド処理区で 55～61%TAR、[imi-<sup>14</sup>C]シアゾファミド処理区で 28～42%TAR 認められた。なお、[imi-<sup>14</sup>C]シアゾファミド処理区では放射能の損失が認められたが、これは <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> の発生によるものと考えられた。（参照 21）

## (3) 水中光分解試験（緩衝液）

[ben-<sup>14</sup>C]シアゾファミド及び[imi-<sup>14</sup>C]シアゾファミドを殺菌した pH 5 の酢酸緩衝液に約 70 µg/L になるように添加後、25±2℃で[ben-<sup>14</sup>C]シアゾファミドは 36 日間、[imi-<sup>14</sup>C]シアゾファミドは 30 日間キセノン光を照射（光強度：12.0 W/m<sup>2</sup>、波長：290～398 nm）し、緩衝液における水中光分解試験が実施された。

暗所対照区では、シアゾファミドは緩やかに分解し、処理 26 日後に 21%まで減少した。光照射によりシアゾファミドは急速に分解した。推定半減期は 28～34 分であり、これは北緯 35 度（東京）春期の太陽光換算で 43～52 分であった。主要分解物は B、K 及び M であり、推定半減期はそれぞれ 20.7～25.6、2.1～2.3 及び 41.6～46.1 日であった。（参照 22）

## 5. 土壌残留試験

火山灰淡色黒ボク土・軽埴土（茨城）、沖積細粒灰色低地灰褐色壤土（長野）を用いて、シアゾファミド及び 3 種類の分解物（B、C 及び J）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。結果は表 7 に示されている。（参照 23）

表 7 土壌残留試験成績

試験	濃度	土壌	推定半減期（日）	
			シアゾファミド	シアゾファミド +分解物
容器内 試験	純品 0.2 mg/kg 乾土	火山灰淡色黒ボク土・軽埴土	5	8
		沖積細粒灰色低地灰褐色壤土	8	26
圃場 試験	水和剤 752 g ai/ha	火山灰淡色黒ボク土・軽埴土	6	14
		沖積細粒灰色低地灰褐色壤土	3	7

## 6. 作物残留試験

### (1) 作物残留試験

果実、野菜等を用いて、シアゾファミド及び代謝物 B を分析対象化合物とした作物残留試験が実施された。

今回、適用拡大申請されている作物（キャベツ及びはくさい）を含む国内での適用作物については別紙 3、インポートトレランス設定の要請がされている作物（にんじん及びパパイア）を含む海外での試験結果については別紙 4 に示されている。

国内で栽培されている農産物におけるシアゾファミドの最高値は、最終散布 3 日後に収穫したほうれんそうの 16.3 mg/kg であった。B の最高値は、最終散布 3 日後に収穫したほうれんそうの 0.46 mg/kg であった。B は、ほうれんそう及びこまつなでシアゾファミドの 2～3%程度検出された以外は定量限界未満又は 0.1 mg/kg 未満であった。

海外で栽培されている農産物におけるシアゾファミドの最高値は、最終散布 9 及び 12 日後に収穫したパパイアの 0.10 mg/kg であった。B は、すべての試験で定量限界未満であった。（参照 24、59、60、65、70、71、78、79）

### (2) 推定摂取量

別紙 3 の作物残留試験の分析値を用いて、シアゾファミドを暴露評価対象化合物とした際に食品中から摂取される推定摂取量が表 8 に示されている。詳細は別紙 5 に示されている。

なお、本推定摂取量の算定は、予想される使用方法からシアゾファミドが最大の残留を示す使用条件で、今回申請されたキャベツ及びはくさいを含むすべての適用作物に使用され、加工・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8 食品中より摂取されるシアゾファミドの推定摂取量

	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)
推定摂取量 ( $\mu$ g/人日)	417	231	336	445

7. 一般薬理試験

マウス及びラットを用いた一般薬理試験が実施された。結果は表9に示されている。(参照25)

表9 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	一般状態 (Irwin法)	ICR マウス	雄 3	0, 320, 800, 2,000, 5,000 (腹腔内)	800	2,000	自発運動能低下及 び体重減少
	ヘキソ バルビタール 睡眠	ICR マウス	雄 8	0, 51.2, 128, 320, 800, 2,000, 5,000 (腹腔内)	51.2	128	睡眠時間延長
呼吸・循環器	血圧、 心拍数	SD ラット	雄 5	0, 2,000, 5,000 (経口)	5,000	—	影響なし
自律神経系	体温、 瞳孔径	SD ラット	雄 5	0, 800, 2,000, 5,000 (経口)	5,000	—	影響なし
消化器	炭末輸送	ICR マウス	雄 8	0, 51.2, 128, 320, 800, 2,000, 5,000 (腹腔内)	128	320	炭末輸送抑制
骨格筋	握力	SD ラット	雄 5	0, 800, 2,000, 5,000 (経口)	5,000	—	影響なし
腎機能	尿量、 尿中電解質、 pH、浸透圧、 潜血、蛋白、 ケトン体、 グルコース	SD ラット	雄 5	0, 2,000, 5,000 (経口)	5,000	—	影響なし

—: 最小毒性量は設定できない。  
・検体を 0.5%CMC-Na 水溶液に懸濁したものが用いられた。

8. 急性毒性試験

(1) 急性毒性試験

シアゾファミド(原体)の急性毒性試験が実施された。結果は表10に示されている。(参照26~29)

表10 急性毒性試験結果概要(原体)

投与経路	動物種	LD <sub>50</sub> (mg/kg 体重)		観察された症状
		雄	雌	
経口	SDラット 雌雄各5匹	>5,000	>5,000	症状及び死亡例なし
	ICRマウス 雌雄各5匹	>5,000	>5,000	症状及び死亡例なし
経皮	SDラット 雌雄各5匹	>2,000	>2,000	症状及び死亡例なし 投与部に軽微な紅斑(投与3日後以降消失)
吸入	SDラット 雌雄各5匹	LC <sub>50</sub> (mg/L)		暴露終了後、雌雄各1例にラ音(翌日には消失)、 雌に一過性の軽度(1%)な体重増加抑制 死亡例なし
		>5.5	>5.5	

シアゾファミドの代謝物B、C及びJ並びに推定代謝物Uの急性経口毒性試験が実施された。結果は表11に示されている。(参照30~32、80)

表11 急性毒性試験結果概要(代謝物)

動物種	被験物質	LD <sub>50</sub> (mg/kg 体重)		観察された症状
		雄	雌	
SDラット 雌雄各5匹	代謝物B	324	443	雌雄で腹臥位、自発運動能低下、はいずり 歩行、深大呼吸、沈静、振戦、眼瞼下垂、 流涎及び鼻吻部被毛汚染 雌で円背位(翌日には消失) 雌雄とも256 mg/kg 体重以上で死亡例
	代謝物C	>3,000	>3,000	症状及び死亡例なし
	代謝物J	2,950	1,860	雌雄で削瘦、円背位、自発運動能低下又は 消失、呼吸緩徐、沈静、昏迷、体温低下、 眼瞼下垂、鼻吻部及び肛門周囲部被毛汚染 雄は3,130 mg/kg 体重以上、雌は1,220 mg/kg 体重以上で死亡例
	推定代謝物 U	3,240	2,950	伏臥位、側臥位、自発運動の低下又は消失、 緩徐呼吸、異常呼吸音、沈静、昏迷、体温 低下、流涎、眼瞼下垂、鼻吻部及び肛門周 周囲部被毛汚染 雄は4,090 mg/kg 体重以上、雌は2,560 mg/kg 体重以上で死亡例

(2) 急性神経毒性試験 (ラット)

SD ラット (一群雌雄各 10 匹) を用いた強制単回経口 (原体: 0、80、400 及び 2,000 mg/kg 体重、溶媒: MC) 投与による急性神経毒性試験が実施された。

400 mg/kg 体重投与群の雌で平均着地開脚度に増加が認められたが、投与前から高い平均着地開脚度を示していたため、投与によるものとは考えられなかった。いずれの投与群においてもシアゾファミドの投与による神経毒性影響は認められなかった。

本試験において、いずれの投与群においても検体投与に起因する毒性所見が認められなかったため、一般毒性、神経毒性及び神経病理組織学的変化に対する無毒性量は、雌雄とも本試験の最高用量 2,000 mg/kg 体重であると考えられた。(参照 33)

9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

NZW ウサギを用いた眼一次刺激性試験及び皮膚一次刺激性試験が実施された。眼に対し弱い刺激性、皮膚に対し非常に軽度の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 (Maximization 法) が実施された。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)

Fischer ラット (一群雌雄各 12 匹) を用いた混餌 (原体、雄: 0、10、50、500 及び 5,000 ppm、雌: 0、50、500、5,000 及び 20,000 ppm: 平均検体摂取量は表 12 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 12 90 日間亜急性毒性試験 (ラット) の平均検体摂取量

投与群		10 ppm	50 ppm	500 ppm	5,000 ppm	20,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	0.597	2.91	29.5	295	
	雌		3.30	33.3	338	1,360

各投与群で認められた毒性所見は表 13 に示されている。

本試験において、5,000 ppm 投与群の雄で尿中タンパク量の増加等、5,000 ppm 以上投与群の雌で腎比重量<sup>2</sup>増加が認められたので、無毒性量は雌雄とも 500 ppm (雄: 29.5 mg/kg 体重/日、雌: 33.3 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 37)

<sup>2</sup> 体重比重量を比重量という (以下同じ)。

表 13 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
20,000 ppm		・肝比重量増加
5,000 ppm 以上	・尿量及び尿中タンパク量増加 ・血漿中クロール増加 ・T.Chol 及び TG 減少 ・好塩基性尿管増加	・腎比重量増加
500 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 (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、40、200 及び 1,000 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。

検体投与に起因する毒性所見は認められなかった。

本試験において、検体投与に起因する毒性所見は認められなかったため、無毒性量は雌雄とも本試験の最高用量 1,000 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 38)

(3) 28 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: 0、250、500 及び 1,000 mg/kg 体重/日) 投与による 28 日間亜急性毒性試験が実施された。

いずれの投与群においても、検体投与による影響は認められなかった。

本試験において、毒性所見は認められなかったため、無毒性量は雌雄とも本試験の最高用量 1,000 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 81)

11. 慢性毒性試験及び発がん性試験

(1) 1 年間慢性毒性試験 (イヌ)

ビーグル犬 (一群雌雄各 6 匹) を用いたカプセル経口 (原体: 0、4、200 及び 1,000 mg/kg 体重/日) 投与による 1 年間慢性毒性試験が実施された。

1,000 mg/kg 体重/日投与群の雄で脾絶対及び比重量低下が認められたが、病理組織学的変化が認められなかったことから、毒性学的に意義はないものと考えられた。

検体投与に関連する毒性所見は認められなかった。

本試験において、検体投与に関連する毒性所見は認められなかったため、無毒性量は雌雄とも本試験の最高用量 1,000 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 39、40)

(2) 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット)

Fischer ラット (一群雌雄各 85 匹: 主群 50 匹、残り 35 匹から無作為抽出した 10 匹ずつを中間と殺群) を用いた混餌 (原体、雄: 0、10、50、500 及び 5,000

ppm、雌：0、50、500、5,000及び20,000 ppm：平均検体摂取量は表 14 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 14 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		10 ppm	50 ppm	500 ppm	5,000 ppm	20,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	0.336	1.68	17.1	171	
	雌		2.01	20.2	208	856

各投与群で認められた毒性所見は表 15 に示されている。投与に関連する病理組織学的変化は認められなかった。

全投与群で精巣軟化の増加（各群 80 匹中、対照群で 10 例、投与群で 17~23 例）が認められたが、病理組織学的検査において精巣軟化に対応する特定の病変は観察されなかったことから、偶発性のものと考えられた。

本試験において、5,000 ppm 投与群の雄及び5,000 ppm 以上投与群の雌で腎比重量増加等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 500 ppm（雄：17.1 mg/kg 体重/日、雌：20.2 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 41）

表 15 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
20,000 ppm		<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制</li> <li>・RBC 減少</li> <li>・尿量増加</li> <li>・脳及び肝比重量増加</li> <li>・白内障</li> </ul>
5,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・血漿中コレロール増加</li> <li>・T.Chol 低下</li> <li>・尿量増加</li> <li>・肝及び腎絶対及び比重量増加</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・腎比重量増加</li> </ul>
500 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

### (3) 18 カ月間発がん性試験（マウス）

ICR マウス（一群雌雄各 60 匹）を用いた混餌（原体：0、70、700 及び 7,000 ppm：平均検体摂取量は表 16 参照）投与による 18 カ月間発がん性試験が実施された。

表 16 18 カ月間発がん性試験（マウス）の平均検体摂取量

投与群		70 ppm	700 ppm	7,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	9.5	94.8	985
	雌	12.2	124	1,200

7,000 ppm 投与群の雌で腎絶対及び比重量増加が認められたが、腎臓に関する病理組織学的所見が認められなかったことから、毒性学的に意義のある所見ではないと考えられた。

本試験において、検体投与に関連する毒性所見は認められなかったので、無毒性量は雌雄とも本試験の最高用量 7,000 ppm（雄：985 mg/kg 体重/日、雌：1,200 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 42）

### 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 30 匹）を用いた混餌（原体：0、200、2,000 及び 20,000 ppm：平均検体摂取量は表 17 参照）投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

表 17 2 世代繁殖試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群			200 ppm	2,000 ppm	20,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	P 世代	雄	9.5	94.2	958
		雌	13.4	134	1,340
	F <sub>1</sub> 世代	雄	8.9	89.2	936
		雌	13.7	138	1,400

親動物では、20,000 ppm 投与群の雌（P、F<sub>1</sub>）で平均体重低下が認められたが、体重増加量には対照群との差は認められなかった。児動物では、20,000 ppm 投与群の雌雄で平均体重低値が認められた。

本試験において、親動物の雄では検体投与に関連する毒性所見は認められず、雌では 20,000 ppm 投与群の雌で平均体重低下が認められたので、親動物の無毒性量は雄で本試験の最高用量 20,000 ppm（P 雄：958 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub> 雄：936 mg/kg 体重/日）、雌で 2,000 ppm（P 雌：134 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub> 雌：138 mg/kg 体重/日）であると考えられた。児動物では、20,000 ppm 投与群の雌雄で平均体重低値が認められたので、無毒性量は雌雄とも 2,000 ppm（P 雄：94.2 mg/kg 体重/日、P 雌：134 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub> 雄：89.2 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub> 雌：138 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 43）

(2) 発生毒性試験 (ラット)

SD ラット (一群雌 25 匹) の妊娠 0~19 日に強制経口 (原体: 0、30、100 及び 1,000 mg/kg 体重/日、溶媒: MC) 投与する発生毒性試験が実施された。

母動物、胎児ともにいずれの投与群においても検体投与による毒性影響は認められなかった。

本試験において、いずれの投与群においても毒性影響は認められなかったので、無毒性量は母動物及び胎児で本試験の最高用量 1,000 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 44)

(3) 発生毒性試験 (ウサギ)

NZW ウサギ (一群雌 24 匹) の妊娠 4~28 日に強制経口 (原体: 0、30、100 及び 1,000 mg/kg 体重/日、溶媒: MC) 投与する発生毒性試験が実施された。

母動物では、1,000 mg/kg 体重/日投与群で妊娠 4~15 日の平均摂餌量減少が認められたが、妊娠期間を通じた摂餌量は対照群と同様であった。また、体重増加抑制傾向が妊娠前半で認められ、その後は増加傾向にあった。摂餌量及び体重増加量の所見は毒性学的に意義のある変化とは考えられなかった。

胎児には、検体投与の影響は認められなかった。

本試験において、いずれの投与群においても検体投与による毒性影響は認められなかったので、無毒性量は母動物及び胎児で本試験の最高用量 1,000 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 45)

13. 遺伝毒性試験

シアゾファミドの細菌を用いた DNA 修復試験及び復帰突然変異試験、マウスリンパ腫細胞を用いた遺伝子突然変異試験、ヒトリンパ球培養細胞を用いた染色体異常試験、マウスを用いた小核試験が実施された。

結果は表 18 に示されているとおり、すべて陰性であった。シアゾファミドに遺伝毒性はないものと考えられた。(参照 46~49、82)

表 18 遺伝毒性試験概要 (原体)

試験	対象	処理濃度・投与量	結果	
in vitro	DNA 修復試験	<i>Bacillus subtilis</i> (H17、M45 株)	250~8,000 µg/7 <sup>+</sup> 日 (+/-S9)	陰性
	復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、TA1537 株) <i>Escherichia coli</i> (WP2uvrA/pKM101 株)	5~5,000 µg/7 <sup>+</sup> 日 (+/-S9)	陰性
	遺伝子突然変異試験	マウスリンパ腫細胞 (L5178Y TK <sup>+/+</sup> )	1~100 µg/mL (+/-S9)	陰性
	染色体異常試験	ヒトリンパ球培養細胞	50~200 µg/mL (+/-S9)	陰性
in vivo	小核試験	ICR マウス (骨髄細胞) (一群雌雄各 5 匹)	0、500、1,000、2,000 mg/kg 体重 (単回強制経口投与)	陰性

注) +/-S9: 代謝活性化系存在下及び非存在下

代謝物 B、C 及び J 並びに推定代謝物 U の細菌を用いた復帰突然変異試験が実施された。結果は表 19 に示されているとおり、すべて陰性であった。(参照 50~53、81)

表 19 遺伝毒性試験概要 (代謝物)

被験物質	試験	対象	処理濃度	結果
代謝物 B	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、TA1537 株) <i>E. coli</i> (WP2uvrA 株)	20~5,000 µg/7 <sup>+</sup> 日 (+/-S9)	陰性
代謝物 C	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、TA1537 株) <i>E. coli</i> (WP2uvrA 株)	20~5,000 µg/7 <sup>+</sup> 日 (+/-S9)	陰性
代謝物 J	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、TA1537 株) <i>E. coli</i> (WP2uvrA 株)	20~5,000 µg/7 <sup>+</sup> 日 (+/-S9)	陰性
推定代謝物 U	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、TA1537 株) <i>E. coli</i> (WP2uvrA 株)	313~5,000 µg/7 <sup>+</sup> 日 (+/-S9)	陰性

注) +/-S9: 代謝活性化系存在下及び非存在下