

表 13 90 日間亜急性毒性試験（マウス）②で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
5,000 ppm	・ 体重減少	・ 体重増加抑制、食餌効率減少
2,500 ppm 以上	・ 膀胱移行上皮細胞増殖	・ 膀胱移行上皮細胞増殖
1,000 ppm 以上	・ 体重増加抑制、食餌効率減少 ・ 肝絶対及び比重量増加 ・ 肝細胞肥大、肝細胞細胞質空胞化、炎症 ・ 膀胱移行上皮過形成、炎症	・ 肝絶対及び比重量増加 ・ 腎絶対及び比重量減少 ・ 肝細胞肥大、肝細胞細胞質空胞化、炎症 ・ 膀胱移行上皮過形成、炎症

(6) 90 日間亜急性毒性試験（イヌ）

ビーグル犬（一群雌雄各 4 匹）を用いた混餌（原体：0、25、125 及び 750/500 ppm）投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。なお、最高投与群については、試験開始後 1 週間は 750 ppm 飼料が投与されたが、顕著な体重減少及び飼料摂取量減少が認められたため、試験開始後 2 週以降は 500 ppm 飼料が投与された。

各投与群で認められた毒性所見は表 14 に示されている。

本試験において、25 ppm 以上投与群の雄で胃幽門腺粘膜リンパロ胞過形成、125 ppm 以上投与群の雌で胃幽門腺粘膜過形成が認められたので、無毒性量は雄で 25 ppm（0.9 mg/kg 体重/日）未満、雌で 25 ppm（0.9 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 3）

表 14 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
750/500 ppm	・ 衰弱及び振戦 ・ 体重増加抑制 ・ 摂餌量減少 ・ WBC 及び Mon 減少 ・ T.Chol、TP 及び Alb 減少 ・ 肝絶対及び比重量増加	・ 衰弱及び振戦 ・ 体重減少 ・ 摂餌量減少 ・ ALT 増加 ・ 膀胱移行上皮過形成 ・ T.Chol、TP 及び Alb 減少 ・ 肝絶対及び比重量増加
125 ppm 以上	・ ALT 増加 ・ 膀胱移行上皮過形成	・ 胃幽門腺粘膜過形成
25 ppm 以上	・ 胃幽門腺粘膜リンパロ胞過形成	25 ppm 投与群毒性所見なし

(7) 21 日間亜急性経皮毒性試験（ウサギ）

NZW ウサギ（一群雌雄各 5 匹）を用いた経皮（原体：0、1、5、25 及び 200 mg/kg 体重/日、6 時間/日暴露）投与による 21 日間亜急性経皮毒性試験が実施された。

検体投与に関連した毒性所見は認められなかった。

皮膚刺激性に関しては、200 mg/kg 体重/日暴露群で軽度の紅斑が、25 mg/kg 体重/日以上暴露群の雌雄において、び慢性上皮過形成及び肥厚（軽微

から軽度) が認められた。

本試験における一般毒性に対する無毒性量は、雌雄とも 200 mg/kg 体重/日であると考えられた。皮膚刺激性に対する無毒性量は、5 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 3)

1 2. 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 5 匹) を用いた混餌 (原体: 0、5、20 及び 75 ppm) 投与による 1 年間慢性毒性試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 15 に示されている。

本試験において、20 ppm 以上投与群の雌雄において、小葉中心性肝細胞肥大等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 5 ppm (雄: 0.14 mg/kg 体重/日、雌: 0.14 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 3)

表 15 1 年間慢性毒性試験 (イヌ) で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
75 ppm	<ul style="list-style-type: none">・ WBC 増加・ ALP 増加、T.Chol 及び TP 減少・ 肝比重量増加・ 肝小葉中心性細胞浸潤、小葉中心性肝細胞空胞化	<ul style="list-style-type: none">・ WBC 増加・ 肝比重量増加・ 腎重量増加・ 肝小葉中心性細胞浸潤
20 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none">・ Alb 減少・ 小葉中心性肝細胞肥大・ 胃粘膜リンパ細胞過形成	<ul style="list-style-type: none">・ 小葉中心性肝細胞肥大
5 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

(2) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット) ①

SD ラット (一群雌雄各 70 匹) を用いた混餌 (原体: 0、10、50 及び 250 ppm) 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。各群雌雄 10 匹が投与 6 及び 12 カ月後に剖検された。投与 6 カ月後に剖検された動物については膀胱病変のみ検索された。また、投与約 100 日後に各群雌雄 20 匹を用いて交配し、2 世代繁殖試験 [13. (2)] に供され、児動物の離乳後、交配した動物は試験系に戻された。

各投与群で認められた毒性所見は表 16 に示されている。

検体投与により増加した腫瘍性病変は認められなかった。250 ppm 投与群の雄において、口腔及び鼻腔の扁平上皮癌の発生頻度がわずかに増加した (0、10、50 及び 50 ppm 投与群でそれぞれ 0/66、1/63、0/67 及び 3/64)。しかし、背景データとの比較により、本試験における鼻腔腫瘍の発生は偶発性であると考えられた。

本試験において、50 ppm 以上投与群の雄で水腎症、雌で腎盂腎炎が認め

られたので、無毒性量は雌雄とも 10 ppm（雄：0.4 mg/kg 体重/日、雌：0.5 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 3）

表 16 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験（ラット）①で認められた毒性所見
（非腫瘍性病変）

投与群	雄	雌
250 ppm		<ul style="list-style-type: none"> ・肝比重量増加 ・小葉中心性肝細胞肥大、肝細胞多核化、変異肝細胞巣（好酸性細胞）、び慢性肝細胞脂肪化
50 ppm 以上	・水腎症	・腎盂腎炎
10 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

（3）2 年間慢性毒性/発がん性併合試験（ラット）②

SD ラット（一群雌雄各 65 匹）を用いた混餌（原体：0、125、375 及び 750 ppm）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。各群雌雄 10 匹が投与 12 カ月後に剖検された。

各投与群で認められた毒性所見は表 17、膀胱移行上皮乳頭腫・癌及び精巣間細胞腫の発生頻度は表 18 に示されている。

腫瘍性病変については、750 ppm 投与群の雌雄で膀胱の移行上皮乳頭腫・癌、雄で精巣の間細胞腫が増加した。

本試験において、125 ppm 以上投与群の雌雄で肝細胞肥大等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 125 ppm（雄：5.03 mg/kg 体重/日、雌：6.83 mg/kg 体重/日）未満であると考えられた。（参照 3）

表 17 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験（ラット）②で認められた毒性所見
（非腫瘍性病変）

投与群	雄	雌
750 ppm	・肝細胞脂肪化	
375 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・膀胱移行上皮過形成 ・肝絶対及び比重量増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・膀胱移行上皮過形成 ・肝絶対及び比重量増加
125 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・肝細胞肥大（小葉周辺性、層状構造を伴う） ・変異肝細胞巣（混合型） 	・肝細胞肥大（小葉中心性、好酸性細胞質）

表 18 膀胱移行上皮乳頭腫・癌及び精巣間細胞腫の発生頻度

投与群 (ppm)		0	125	375	750
膀胱：移行上皮乳頭腫・癌	雄	0/45	0/45	1/45	5/51↑
	雌	0/47	1/49	0/49	13/53↑
精巣：間細胞腫	雄	2/53	4/51	2/53	9/53↑

Fisher の直接確率計算法：↑；p<0.05、↑↑；p<0.01

(4) 18 カ月間発がん性試験 (マウス) ①

ICR マウス (一群雌雄各 80 匹) を用いた混餌 (原体：0、5、25 及び 200 ppm) 投与による 18 カ月間発がん性試験が実施された。なお、各群雌雄 10 匹が投与 6 カ月後に剖検された。

各投与群で認められた毒性所見は表 19 に示されている。

腫瘍性病変において、検体投与の影響は認められなかった。

本試験において、200 ppm 投与群の雌雄で肝細胞脂肪化等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 25 ppm (雄：3.4 mg/kg 体重/日、雌：4.6 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 3)

表 19 18 カ月間発がん性試験 (マウス) で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
200 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・肝絶対及び比重量増加 ・肝細胞脂肪化 ・肺及び膀胱リンパ球浸潤 	<ul style="list-style-type: none"> ・肝絶対及び比重量増加 ・腎絶対重量増加 ・肝細胞脂肪化
25 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

(5) 18 カ月間発がん性試験 (マウス) ②

ICR マウス (一群雌雄各 100 匹) を用いた混餌 [原体：0、100、500 及び 1,000 ppm (雄) または 0、100、1,000 及び 2,000 ppm (雌)] 投与による 18 カ月間発がん性試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 20、肝細胞腺腫・癌の発生率は表 21 に示されている。

腫瘍性病変において、肝細胞腺腫・癌の発生率が雌の 1,000 ppm 以上投与群で増加した。

本試験において、100 ppm 以上投与群の雄及び 1,000 ppm 以上投与群の雌で膀胱移行上皮過形成等が認められたので、無毒性量は雄で 100 ppm (雄：14.3 mg/kg 体重/日) 未満、雌で 100 ppm (雌：19.4 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 3)

表 20 18 カ月間発がん性試験（マウス）で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
2,000 ppm		・死亡率増加
1,000 ppm	・死亡率増加	・肝絶対及び比重量増加 ・腎絶対及び比重量減少 ・変異肝細胞巢増加 ・肝細胞肥大（小空胞または空胞変性を伴う） ・膀胱及び尿道の移行上皮過形成
500 ppm 以上	・肝絶対及び比重量増加 ・腎比重量減少 ・変異肝細胞巢増加 ・肝細胞肥大（小空胞または空胞変性を伴う）	
100 ppm 以上	・腎絶対重量減少 ・肝巢状壊死 ・膀胱移行上皮過形成	100 ppm 投与群毒性所見なし

注) 斜線部分：群設定なし

表 21 肝細胞腺腫・癌の発生率

投与群 (ppm)		0	100	500	1,000	2,000	背景データ
肝細胞腺腫・癌	雄	13/80 (16.3%)	23/79↑ (29.1%)	20/80 (25.0%)	18/78 (23.1%)		6.3~13.8%
	雌	1/79 (1.3%)	3/80 (3.8%)		11/77↑ (14.3%)	43/76↑ (56.6%)	0~2.6%

Fisher の直接確率計算法：↑；p<0.05、↑↑：p<0.01

1 3. 生殖発生毒性試験

(1) 1 世代繁殖試験（ラット）＜参考データ＞

SD ラット（一群雌雄各 6 匹）を用いた混餌（原体：0、25、125 及び 375 ppm）投与による 1 世代繁殖試験が実施された。

対照群を含めすべての群で受胎率が低かった。特に対照群では 6 匹中 3 匹が妊娠しただけであった（67.7%）。375 ppm 投与群では妊娠率の低下、児動物の生存率低下、生後 4 日の児動物の体重低下が認められた。しかし、一群の動物数が少ないこと、個体別データがいくつかの項目で欠けていることから、本試験を繁殖毒性の評価に用いることは不適切であると考えられた。

（参照 3）

(2) 2 世代繁殖試験（ラット）①

SD ラット（一群雌雄各 20 匹）を用いた混餌（原体：0、10、50 及び 250 ppm）投与による 2 世代繁殖試験が実施された。本試験は、ラットを用いた 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験[12. (2)]の一部の動物を用いて実施され

た。

投与約 100 日後に各群雌雄 20 匹 (P 世代) について 1 対 1 で 15 日間交配され、膣栓確認後雌が個別飼育され、児動物が得られた (F_{1a})。F_{1a} 児動物の離乳約 1 週間後に P 雌親動物が同じ投与群の別の P 世代雄と交配され、F_{1b} 児動物が得られた。F_{1b} 児動物の離乳後、一群雌雄各 20 匹が F₁ 親動物として選択され、F₂ 児動物が得られた。F₁ 親動物は P 世代動物と同じ飼料で 90 日間育成され、F_{2a} 及び F_{2b} 児動物が得られた。

親動物においては、250 ppm 投与群の雄 (F₁) において、育成期間中 (交配前) に体重増加抑制が認められた。

児動物においては、250 ppm 投与群のすべての世代及び 50 ppm 投与群の F_{2a} 世代において、死産児数の増加及び 4 日生存率の減少が認められた。離乳後 F_{2b} 雌児動物において、水腎症が認められた (0、10、50 及び 250 ppm 投与群で、それぞれ 1/10、4/10、3/10 及び 5/10 例) が、その程度及び発生頻度に用量依存性は認められなかった。

本試験において、250 ppm 投与群の親動物の雄 (F₁) で体重増加抑制、50 ppm 投与群の児動物 (F_{2b}) で死産児数増加及び生存率減少が認められたので、無毒性量は親動物の雄で 50 ppm (雄: 3 mg/kg 体重/日)、雌で本試験の最高用量 250 ppm (雌: 20 mg/kg 体重/日)、児動物の雌雄で 10 ppm (雄: 1 mg/kg 体重/日、雌: 1 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 3)

(3) 2 世代繁殖試験 (ラット) ②

SD ラット (一群雌雄各 30 匹) を用いた混餌 (原体: 0、5、50 及び 250 ppm) 投与による 2 世代繁殖試験が実施された。なお、F₂ 世代の親動物に 2 産させ、F_{2a} 及び F_{2b} 児動物が得られた。

親動物において、250 ppm 投与群の F₁ 雌で体重増加抑制、P 及び F₁ 雌で分娩中の死亡率及び妊娠期間延長 (対照群 22.4~22.6 日に対し、22.9~23.2 日) が認められた。

50 ppm 以上投与群の雄で肝細胞内の SER 増加及び雌では肝細胞肥大が認められた。

児動物において、250 ppm 投与群では、同腹児数減少及び腹ごとの死産児数増加 (F_{1a}、F_{2a} 及び F_{2b}) 及び哺育 14 及び 21 日の胎児体重増加抑制が (F_{2a}) が認められた。

本試験において、50 ppm 以上投与群の親動物の雄で肝細胞内 SER 増加、雌で肝細胞肥大、250 ppm 投与群の児動物で同腹児数減少等が認められたので、無毒性量は親動物の雌雄で 5 ppm (雄: 0.34 mg/kg 体重/日、雌: 0.40 mg/kg 体重/日)、児動物の雌雄で 50 ppm (雄: 3.46 mg/kg 体重/日、雌: 4.04 mg/kg 体重/日) であると考えられた。繁殖能に対しては 50 ppm 以下では影響は認められなかった。(参照 3)

(4) 発生毒性試験 (ラット) ①

SD ラット (一群雌 25 匹) の妊娠 6~15 日⁴に強制経口 (原体: 0、10、50 及び 250 mg/kg 体重/日、溶媒: コーン油) 投与する発生毒性試験が実施された。

母動物においては、250 mg/kg 体重/日投与群で、死亡率増加及び毒性症状 (紅涙、紅色鼻汁、会陰部周囲の湿潤及び汚れ、膺からの赤色分泌物及び汚れ、部分的脱毛) が 23 例に認められた。

50 mg/kg 体重/日以上投与群で体重増加抑制及び摂餌量減少が認められた。10 mg/kg 体重/日では母動物に対する影響は認められなかった。

胎児においては、10 mg/kg 体重/日以上投与群において、骨格変異 (胸骨分節の不整、肋骨の過剰骨化中心、胸骨分節骨化遅延) が用量依存性に増加した。50 mg/kg 体重/日投与群では腹ごとの生存胎児数減少、矮小児の合計数増加及び痕跡状過剰肋骨が認められた。250 mg/kg 体重/日投与群ではさらに、吸収胚数増加、腹ごとの胎児体重減少、過剰肋骨、口蓋裂及び腎乳頭の欠損が認められた。

水頭症及び側脳室の拡張の高い発生頻度が対照群を含めたすべての群で認められたが、発生毒性試験②[13. (5)]においては認められなかった。

本試験における無毒性量は、母動物で 10 mg/kg 体重/日、胎児で 10 mg/kg 体重/日未満であると考えられた。(参照 3)

(5) 発生毒性試験 (ラット) ②

SD ラット (一群雌 24 匹) の妊娠 6~15 日⁴に強制経口 (原体: 0、0.4、2、10、50 及び 250 mg/kg 体重/日、溶媒: コーン油) 投与する発生毒性試験が実施された。

母動物において、250 mg/kg 体重/日投与群では毒性症状 (脱毛、顔及び手足の褐色汚れ、肛門周囲の汚れ) が認められた。50 mg/kg 体重/日以上投与群で体重増加抑制及び摂餌量減少が認められた。

胎児において、250 mg/kg 体重/日投与群では口蓋裂が認められた。10 mg/kg 体重/日以上投与群で、中期及び後期の吸収胚数増加及び矮小胎児合計数増加、内臓 (腎盂拡張及び腎乳頭小型化) 及び骨格 (肋骨) の異常及び骨化遅延 (胸骨及び椎弓) が認められた。水頭症は認められなかった。

本試験における無毒性量は、母動物で 10 mg/kg 体重/日、胎児で 2 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 3)

(6) 発生毒性試験 (ラット) ③

SD ラット (一群雌 24 匹) の妊娠 6~15 日⁴に混餌 (原体: 0、50、100、

⁴ 参照 3 においては交尾確認日を妊娠 1 日としている (以下発生毒性試験 (ラット) ④まで同じ)。

300 及び 900 ppm) 投与する発生毒性試験が実施された。

母動物において、300 ppm 以上の投与群において、体重増加抑制及び摂餌量減少が認められた。

胎児において、100 ppm 以上の投与群において、中期及び後期吸収胚数増加、同腹児数減少 (1 腹あたり 10 匹以下)、胸骨の過剰骨化を伴う骨格変異が認められた。さらに、矮小胎児、痕跡状過剰肋骨、頸椎の過剰骨化及び頸椎椎弓の骨化遅延が認められた。

本試験における無毒性量は、母動物で 100 ppm (9.0 mg/kg 体重/日)、胎児で 50 ppm (4.6 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 3)

(7) 発生毒性試験 (ラット) ④

SD ラット [一群雌 24 匹: 第 I 相試験 (出産前検査)、一群雌 22 匹: 第 II 相試験 (出産後検査)] の妊娠 6~15 日⁴に強制経口 (原体: 0、0.2、0.4、2、10 及び 100 mg/kg 体重/日、溶媒: 0.5%MC) 投与する発生毒性試験が実施された。第 I 相試験において、子宮内容を観察するために妊娠 20 日に母動物が剖検された。さらに、追加の対照群及び 100 mg/kg 体重/日投与群が妊娠 21 日に剖検され、腎乳頭の欠損が投与による影響なのか、奇形なのか検討された。第 II 相試験において、母動物は自然分娩させ、児動物を離乳まで育てさせ、哺乳 21 日に母動物、児動物とも剖検された。

第 I 相試験においては、使用したはじめの数本の投与液の濃度が、名目濃度の 1~19% しかなく、75~110% を示したのは投与 7 日の分析のみであったため、この試験結果からは明確な結論は得られなかった。

母動物において、100 mg/kg 体重/日投与群で、症状 (鼻吻部汚れ及び会陰部湿潤)、体重増加抑制、摂餌量減少ならびに肝絶対及び比重量増加が認められた。

胎児において、100 mg/kg 体重/日投与群では、中期及び後期吸収胚数増加及び腹ごとの生存胎児数減少が認められた。投与に関連した奇形 (腎乳頭欠損) が、2 腹の母動物から 3 匹の胎児に認められた。10 mg/kg 体重/日以上投与群で、矮小胎児及び内臓異常 (腎乳頭小型化及び尿管拡張) が認められた。

第 II 相試験においては、投与液は適切に調製された。母動物において、100 mg/kg 体重/日投与群で死亡率増加 (対照群 0/22 例に対し 5/22 例)、難産の徴候 (4 例の母動物で分娩及び哺乳中に蒼白、重積、衰弱及び呼吸困難)、体重増加抑制及び摂餌量減少 (投与初期) が認められた。

100 mg/kg 体重/投与群で妊娠期間の延長が用量依存性に認められ、さらに、同腹児平均数減少、腹ごとの生存児数減少、小数の同腹児を有する母動物の増加 (腹ごとの同腹数 10 匹未満) が認められた。

児動物において、100 mg/kg 体重/投与群で腎盂及び尿管拡張が離乳時に認

められた。さらに腹ごとの平均死亡胎児数増加、4日生存率低下（対照群及び10 mg/kg 体重/日以下投与群で98～99%に対し、82%）が認められた。生存児に投与に関連した奇形は認められなかった。42匹の死亡胎児のうち、29匹が100 mg/kg 体重/投与群であった。このうち、2匹に腎盂欠損、4匹に腎盂の小型化が認められた。

本試験における無毒性量は、母動物で10 mg/kg 体重/日、児動物で2 mg/kg 体重/日であると考えられた。（参照3）

（8）発生毒性試験（ウサギ）①

NZW ウサギ（一群雌18匹）の妊娠7～19日に強制経口（原体：0、2、5及び12 mg/kg 体重/日、溶媒：コーン油）投与する発生毒性試験が実施された。

母動物において、いずれの投与群にも検体投与の影響は認められなかった。

胎児において、水頭症の発生頻度が増加した〔0、2、5、及び12 mg/kg 体重/日投与群で、それぞれ1例（1腹）、2例（1腹）、4例（2腹）及び4例（3腹）〕。しかし、他の発生毒性試験〔14.（9）及び（11）〕で発生頻度の増加は認められず（35 mg/kg 体重/日投与群で1例のみ）、検体投与の影響ではないと考えられた。その他の検査項目においても、検体投与の影響は認められなかった。

本試験における無毒性量は、母動物及び胎児で本試験の最高用量12 mg/kg 体重/日（分析濃度で10.1 mg/kg 体重/日）と考えられた。（参照3）

（9）発生毒性試験（ウサギ）②

NZW ウサギ（一群雌20匹）の妊娠7～19日に強制経口（原体：0、12及び35 mg/kg 体重/日）投与する発生毒性試験が実施された。

母動物において、35 mg/kg 体重/日投与群で膺からの赤色分泌物、尾の汚れ及び定期的な食欲不振が認められた。2/13例が流産し（対照群0/16例）、10/13匹に初期吸収胚（対照群1/16例）が認められた。この群において、生存胎児は1腹しか認められなかったため、催奇形性について評価できなかった。

12 mg/kg 体重/日投与群においては、母動物及び胎児で検体投与の影響は認められなかった。

本試験における無毒性量は、母動物及び胎児で12 mg/kg 体重/日（分析濃度で11.2 mg/kg 体重/日）であると考えられた。12 mg/kg 体重/日では催奇形性は認められなかった。（参照3）

（10）発生毒性試験（ウサギ）③<参考データ>

NZW ウサギ（一群雌20匹）の妊娠7～19日に混餌（原体：0、300、

600 及び 1,200 ppm) 投与する発生毒性試験が実施された。さらに、追加試験として、NZW ウサギ [一群雌 18 または 25 (300 ppm 投与群) 匹] に混餌 (原体 : 0、30、100 及び 300 ppm) 投与する試験が実施された。

母動物においては、1,200 ppm 投与群で体重増加抑制及び摂餌量減少が認められた。

すべての投与群で、妊娠率減少が認められた (300、600 及び 1,200 ppm 投与群で、それぞれ 9/20、10/20 及び 7/20 例)。

600 ppm 以上投与群で全胚吸収が増加した。さらに、同群では小数の同腹児を有する母動物 (各群 3 腹) が認められ、これらの投与群における催奇形性の評価が不可能となった。

追加試験において、対照群を含めたすべての群で、妊娠率が低かった (対照群 8/18)。また、全胚吸収が 0 及び 300 ppm でそれぞれ 25 及び 29% となり、その他の投与群では低下は認められなかった。生存した児動物が少数だったため、胎児毒性及び催奇形性の評価はできなかった。

本試験において、母動物では、1,200 ppm 投与群で体重増加抑制及び摂餌量減少が認められたので、無毒性量は 600 ppm (21.2 mg/kg 体重/日) であると考えられた。胎児に対する無毒性量は設定できなかった。(参照 3)

(1 1) 発生毒性試験 (ウサギ) ④

NZW ウサギ (一群雌 18 匹) の妊娠 7~19 日に強制経口 (原体 : 0、7、15 及び 30 mg/kg 体重/日、溶媒 : 0.5%MC) 投与する発生毒性試験が実施された。

母動物において妊娠率は、すべての群において適切であった (0、7、15、及び 30 mg/kg 体重/日でそれぞれ 12/18、14/18、16/18、16/18)。

30 mg/kg 体重/日投与群では摂餌量減少が認められた。

15 mg/kg 体重/日以上投与群で症状 (赤色分泌物及び尾の黄褐色汚れ)、流産 (各群 1 腹) 及び全胚吸収 (15 及び 30 mg/kg 体重/日投与群でそれぞれ 4/16 及び 12/16) が認められた。

胎児においては、いずれの投与群においても検体投与の影響は認められなかった。しかし、胎児毒性及び催奇形性評価は、対照群及び 15 mg/kg 体重/日投与群では 11~12 腹の生存胎児のデータを基に実施されたのに対し、最高投与群では 3 腹のみの生存胎児のデータを基に実施されたことを考慮すべきである。データ数が少ないことからこの群の観察から得られた結論の信頼性は低いと考えられた。

本試験における無毒性量は、母動物で 7 mg/kg 体重/日であると考えられた。胎児に対する無毒性量は 15 mg/kg 体重/日以上であると考えられた。(参照 3)

1.4. 遺伝毒性試験

フルシラゾール（原体）の細菌を用いた復帰突然変異試験、チャイニーズハムスター卵巣由来細胞を用いた前進突然変異試験、ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験、ラット肝初代培養細胞を用いた不定期 DNA 合成（UDS）試験、ラットを用いた染色体異常試験及びマウスを用いた小核試験が実施された。

試験結果は表 23 に示されているとおり、すべての試験において陰性であり、フルシラゾールに遺伝毒性はないと考えられた。（参照 3）

表 23 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	復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株)	1~250 µg/7 ⁺ レト (+/-S9)	陰性
		<i>S. typhimurium</i> (TA97, TA98, A100, TA1535 株)	5~250 µg/7 ⁺ レト (+/-S9)	陰性
		<i>S. typhimurium</i> (TA97, TA98, TA100, TA1535 株)	10~300 µg/7 ⁺ レト (+/-S9)	陰性
	前進突然変異試験	チャイニーズハムスター卵巣由来細胞 (KI/BH4)	0.04~0.275 mM	陰性
	染色体異常試験	ヒトリンパ球	1.7~100 µg/mL (+/-S9)	陰性
	UDS 試験	ラット肝初代培養細胞	1×10 ⁻⁵ ~1.1×10 ² mM	陰性
in vivo	染色体異常試験	SD ラット (骨髄細胞)	50~500 mg/kg 体重 (単回強制経口投与)	陰性
	小核試験	ICR マウス (骨髄細胞)	375 mg/kg 体重 (単回強制経口投与)	陰性

注) +/-S9 : 代謝活性化系非存在下及び存在下

1.5. その他の試験

(1) 雄の精巣間細胞腫の発生メカニズム試験

SD ラット（一群雄 10 匹）に皮下（原体：0、20、50、150 及び 250 mg/kg 体重/日、一回半分の投与量で 2 回/日、溶媒：コーン油）投与する 14 日間毒性試験が実施された。0 及び 250 mg/kg 体重/日投与群においては、剖検 1 時間前にヒト絨毛性ゴナドトロピン（hCG）を投与する群（一群雄 10 匹）が追加された。ケトコナゾール（17β-ヒドロキシラーゼ阻害剤）が陽性対照群に用いられ、一群雄 10 匹にケトコナゾールが 14 日間皮下（0、20、50、

100 及び 200 mg/kg 体重/日、1 回半分の投与量で 2 回/日、溶媒：生理食塩水) 投与された。0 及び 200 mg/kg 体重/日投与群には、剖検 1 時間前に hCG を投与する群（一群雄 10 匹）が追加された。投与 15 日後に全群の動物が剖検され、精巣の間質液及び血清が採取された。精巣の間質液については、テストステロン、hCG が投与されていないラットの血清については、テストステロン、エストラジオール、黄体形成ホルモン (LH) 及び卵胞刺激ホルモン (FSH)、hCG が投与されたラットの血清については、テストステロン、アンドロステンジオン、17 β -ヒドロキシプロゲステロン及びプロゲステロンについて分析された。

20 mg/kg 体重/日以上投与群において、肝絶対及び比重量増加ならびに用量依存性の血清テストステロン (150 mg/kg 体重/日以上投与群で有意) 及びエストラジオール濃度減少が認められた。150 mg/kg 体重/日以上投与群では症状 (痛み、被毛の汚れ、脱水症及び下痢)、体重減少、体重増加抑制及び摂餌量減少が認められた。hCG を投与された 250 mg/kg 体重/日投与群の動物には、血清テストステロン濃度の有意な減少が認められた。その他のホルモン濃度に有意差は認められなかった。陽性対照群ではテストステロン、アンドロステンジオン及び 17 β -ヒドロキシプロゲステロンの有意な減少と、プロゲステロンの増加が認められ、17 β -ヒドロキシラーゼの阻害が示唆された。(参照 3)

(2) 雄の精巣間細胞腫の発生メカニズム試験 (*in vitro*)

精巣間細胞腫の発生メカニズム試験 [15. (1)] で試験終了時に剖検されたすべてのラットの精巣から間細胞が採取され、フルシラゾールまたはケトコナゾール (0.05~100 μ M) を加えマイクロプレートで 2 時間培養され、培養液中のテストステロン、アンドロステンジオン、17 β -ヒドロキシプロゲステロン及びプロゲステロンについて分析した。

結果は、精巣間細胞腫の発生メカニズム試験 [15. (1)] の *in vivo* で認められたホルモンの変化が裏づけられた。フルシラゾールとともに培養した間細胞においては、テストステロン及びアンドロステンジオン濃度が用量依存性に減少し、ステロイド生合成に関与する酵素の阻害が示唆された。テストステロンに対する IC₅₀ は、3.475 \pm 1.455 μ M (hCG 投与なし) または 2.774 \pm 0.646 μ M (hCG 投与あり) であった。

陽性対照群として用いられたケトコナゾールでは、テストステロンに対する IC₅₀ は、0.97 \pm 0.83 mM (hCG 投与なし) または 0.154 \pm 0.065 μ M (hCG 投与あり) であった。(参照 3)

Ⅲ. 食品健康影響評価

参照に挙げた資料を用いて、農薬「フルシラゾール」の食品健康影響評価を実施した。

^{14}C で標識したフルシラゾールのラットを用いた動物体内運命試験において、 $[\text{phe-}^{14}\text{C}]$ フルシラゾールの主要排泄経路は糞中、 $[\text{tri-}^{14}\text{C}]$ フルシラゾールは尿中であった。主要組織中の残留放射能濃度は、いずれの組織においても 3%TAR 未満であった。糞中における主要代謝物は D、E、F 及び D の脂肪酸抱合体であり、尿中では E であった。ラットにおける主要代謝経路は、ケイ素-メチレン炭素結合部の開裂、その後の水酸化及び縮合であると考えられた。

小麦、りんご、ぶどう及びてんさいを用いた植物体内運命試験において、主要成分は親化合物であった。代謝経路はいずれの植物においても質的に同じであると考えられ、ケイ素-メチレン炭素結合部の結合における開裂 (D 及び J の生成) 及びその後水酸化または縮合が生じる経路、親化合物または D のフェニル基が水酸化及びその後抱合体を形成する経路が考えられた。

レモン、マンダリン、オレンジ及びとうがらしを用い、フルシラゾールを分析対象化合物とした作物残留試験の結果、フルシラゾールの最大残留値は、散布 1 日後に収穫したとうがらし (葉) で認められた 7.01 mg/kg であった。

各種毒性試験結果から、フルシラゾール投与による影響は主に肝臓及び膀胱に認められた。遺伝毒性は認められなかった。発がん性試験において、ラットで膀胱移行上皮乳頭腫及び癌 (雌雄)、精巣間細胞腫 (雄)、マウスで肝細胞腺腫及び癌 (雌) の増加が認められ、これらの臓器における腫瘍発生機序は不明であったが、遺伝毒性メカニズムとは考えがたく、評価にあたり閾値を設定することは可能であると考えられた。また、ラットを用いた 2 世代繁殖試験②の 250 ppm 投与群及びラットを用いた発生毒性試験④の 100 mg/kg 体重/日で妊娠期間延長、ラットを用いた発生毒性試験①の 250 mg/kg 体重/日投与群で口蓋裂の増加及び腎乳頭の欠損が認められたが、いずれも閾値を設定することは可能であると考えられた。

各種試験結果から、農産物中の暴露評価対象物質をフルシラゾール (親化合物のみ) と設定した。

各試験における無毒性量等は表 24 に示されている。

イヌを用いた 90 日間亜急性毒性試験において、雄の無毒性量が設定できなかったが (0.9 mg/kg 体重/日未満)、より長期の 1 年間慢性毒性試験において、亜急性毒性試験の最小毒性量より低い無毒性量 (0.14 mg/kg 体重/日) が得られているので、イヌの無毒性量は得られていると考えられた。

食品安全委員会は、各試験で得られた無毒性量の最小値がイヌを用いた 1 年間慢性毒性試験の 0.14 mg/kg 体重/日であったことから、これを根拠として、安全係数 100 で除した 0.0014 mg/kg 体重/日を一日摂取許容量 (ADI) と設定した。