

農薬評価書

モリネート

2013年3月

食品安全委員会

目次

	頁
○ 審議の経緯.....	4
○ 食品安全委員会委員名簿.....	4
○ 食品安全委員会農薬専門調査会専門委員名簿.....	5
○ 要約.....	9
I. 評価対象農薬の概要.....	10
1. 用途.....	10
2. 有効成分の一般名.....	10
3. 化学名.....	10
4. 分子式.....	10
5. 分子量.....	10
6. 構造式.....	10
7. 開発の経緯.....	10
II. 安全性に係る試験の概要.....	12
1. 動物体内運命試験（ラット）.....	12
(1) 吸収.....	12
(2) 分布.....	13
(3) 代謝.....	13
(4) 排泄.....	14
2. 植物体内運命試験.....	15
(1) 稲①.....	15
(2) 稲②.....	15
3. 土壌中運命試験.....	16
(1) 好氣的湛水土壌中運命試験.....	16
(2) 嫌氣的湛水土壌中運命試験.....	16
(3) 好氣的湛水土壌及び好氣的土壌中運命試験①.....	17
(4) 好氣的湛水土壌及び好氣的土壌中運命試験②.....	17
(5) 土壌吸着試験.....	18
4. 水中運命試験.....	18
(1) 加水分解試験.....	18
(2) 水中光分解試験（緩衝液）.....	18
(3) 水中光分解試験（自然水）.....	18
5. 土壌残留試験.....	18
6. 作物等残留試験.....	19
(1) 作物残留試験.....	19

(2) 魚介類における最大推定残留値	19
7. 一般薬理試験	19
8. 急性毒性試験	21
(1) 急性毒性試験	21
(2) 急性神経毒性試験(ラット)	23
(3) 急性遅発性神経毒性試験(ニワトリ)	24
9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験	24
10. 亜急性毒性試験	24
(1) 90日間亜急性毒性試験(ラット)①	24
(2) 90日間亜急性毒性試験(ラット)②	25
(3) 90日間亜急性毒性試験(ラット)③	25
(4) 90日間亜急性毒性試験(マウス)	26
(5) 90日間亜急性毒性試験(イヌ)	26
(6) 90日間亜急性神経毒性試験(ラット)	27
(7) 21日間亜急性経皮毒性試験(ラット)	27
11. 慢性毒性試験及び発がん性試験	28
(1) 1年間慢性毒性試験(イヌ)	28
(2) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験(ラット)①	29
(3) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験(ラット)②	30
(4) 18か月間発がん性試験(マウス)	31
(5) 2世代慢性毒性試験(マウス)〈参考資料〉	32
12. 生殖発生毒性試験	33
(1) 2世代繁殖試験(ラット)①	33
(2) 2世代繁殖試験(ラット)②	33
(3) 3世代繁殖試験(ラット)〈参考資料〉	35
(4) 発生毒性試験(ラット)	35
(5) 発生毒性試験(マウス)〈参考資料〉	36
(6) 発生毒性試験(ウサギ)	36
(7) 発達神経毒性試験(ラット)	37
13. 遺伝毒性試験	38
14. その他の試験	39
(1) 雄ラットの腎腫瘍の発生機序検討試験	39
(2) ラットの兎動物における膈開口評価試験(ラット)	39
(3) ラットの卵巣、副腎及び精巣に及ぼす形態学的影響	40
(4) 雄ラットの繁殖能に及ぼす影響に関する検討試験①	41
(5) 雄ラットの繁殖能に及ぼす影響に関する検討試験②	42
(6) 雌ラットの卵巣に及ぼす影響に関する検討試験	46
(7) マウス、ウサギ、サル及びヒトにおける繁殖能への影響に関する検討試験	47

(8) モリネートの代謝に関する検討試験	50
Ⅲ. 食品健康影響評価	54
▪ 別紙1：代謝物/分解物略称	62
▪ 別紙2：検査値等略称	64
▪ 別紙3：作物残留試験成績	66
▪ 参照	67

<審議の経緯>

ー清涼飲料水関連ー

- 1971年 11月 13日 初回農薬登録
- 2003年 7月 1日 厚生労働大臣から清涼飲料水の規格基準改正に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安第0701015号）
- 2003年 7月 3日 関係書類の接受（参照1）
- 2003年 7月 18日 第3回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2003年 10月 8日 追加資料受理（参照2）
（モリネートを含む要請対象93農薬を特定）
- 2003年 10月 27日 第1回農薬専門調査会
- 2004年 1月 28日 第6回農薬専門調査会
- 2005年 1月 12日 第22回農薬専門調査会

ーポジティブリスト制度及び魚介類の残留基準設定関連ー

- 2005年 11月 29日 残留農薬基準告示（参照3）
- 2007年 10月 1日 農林水産省から厚生労働省へ基準値設定依頼（魚介類）
- 2007年 10月 12日 厚生労働大臣から残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安第1012002号）、関係書類の接受（参照4～6）
- 2007年 10月 18日 第211回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2007年 10月 26日 第10回農薬専門調査会確認評価第一部会
- 2008年 11月 5日 追加資料受理（参照7、8）
- 2008年 12月 2日 第28回農薬専門調査会総合評価第一部会
- 2009年 10月 14日 第56回農薬専門調査会幹事会
- 2011年 2月 2日 追加資料受理（参照9、10）
- 2012年 10月 16日 第21回農薬専門調査会評価第一部会
- 2012年 12月 12日 第89回農薬専門調査会幹事会
- 2013年 1月 21日 第460回食品安全委員会（報告）
- 2013年 1月 22日から2月20日まで 国民からの御意見・情報の募集
- 2013年 2月 27日 農薬専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
- 2013年 3月 4日 第465回食品安全委員会（報告）
（同日付け厚生労働大臣へ通知）

<食品安全委員会委員名簿>

(2006年6月30日まで)	(2006年12月20日まで)	(2009年6月30日まで)
寺田雅昭（委員長）	寺田雅昭（委員長）	見上 彪（委員長）
寺尾允男（委員長代理）	見上 彪（委員長代理）	小泉直子（委員長代理*）

小泉直子
坂本元子
中村靖彦
本間清一
見上 彪

小泉直子
長尾 拓
野村一正
畑江敬子
本間清一

長尾 拓
野村一正
畑江敬子
廣瀬雅雄**
本間清一

* : 2007年2月1日から

** : 2007年4月1日から

(2011年1月6日まで)

小泉直子 (委員長)
見上 彪 (委員長代理*)
長尾 拓
野村一正
畑江敬子
廣瀬雅雄
村田容常

* : 2009年7月9日から

(2012年6月30日まで)

小泉直子 (委員長)
熊谷 進 (委員長代理*)
長尾 拓
野村一正
畑江敬子
廣瀬雅雄
村田容常

* : 2011年1月13日から

(2012年7月1日から)

熊谷 進 (委員長)
佐藤 洋 (委員長代理)
山添 康 (委員長代理)
三森国敏 (委員長代理)
石井克枝
上安平冽子
村田容常

<食品安全委員会農業専門調査会専門委員名簿>

(2006年3月31日まで)

鈴木勝士 (座長)
廣瀬雅雄 (座長代理)
石井康雄
江馬 眞
太田敏博

小澤正吾
高木篤也
武田明治
津田修治*
津田洋幸

出川雅邦
長尾哲二
林 眞
平塚 明
吉田 緑

* : 2005年10月1日から

(2007年3月31日まで)

鈴木勝士 (座長)
廣瀬雅雄 (座長代理)
赤池昭紀
石井康雄
泉 啓介
上路雅子
臼井健二
江馬 眞
大澤貫寿

三枝順三
佐々木有
高木篤也
玉井郁巳
田村廣人
津田修治
津田洋幸
出川雅邦
長尾哲二

根岸友恵
林 眞
平塚 明
藤本成明
細川正清
松本清司
柳井徳磨
山崎浩史
山手丈至

太田敏博
大谷 浩
小澤正吾
小林裕子

中澤憲一
納屋聖人
成瀬一郎
布柴達男

與語靖洋
吉田 緑
若栗 忍

(2008年3月31日まで)

鈴木勝士 (座長)
林 真 (座長代理*)
赤池昭紀
石井康雄
泉 啓介
上路雅子
臼井健二
江馬 眞
大澤貫寿
太田敏博
大谷 浩
小澤正吾
小林裕子

三枝順三
佐々木有
代田眞理子****
高木篤也
玉井郁巳
田村廣人
津田修治
津田洋幸
出川雅邦
長尾哲二
中澤憲一
納屋聖人
成瀬一郎***

西川秋佳**
布柴達男
根岸友恵
平塚 明
藤本成明
細川正清
松本清司
柳井徳磨
山崎浩史
山手丈至
與語靖洋
吉田 緑
若栗 忍

* : 2007年4月11日から

** : 2007年4月25日から

*** : 2007年6月30日まで

**** : 2007年7月1日から

(2010年3月31日まで)

鈴木勝士 (座長)
林 真 (座長代理)
相磯成敏
赤池昭紀
石井康雄
泉 啓介
今井田克己
上路雅子
臼井健二
太田敏博
大谷 浩
小澤正吾
川合是彰

佐々木有
代田眞理子
高木篤也
玉井郁巳
田村廣人
津田修治
津田洋幸
長尾哲二
中澤憲一*
永田 清
納屋聖人
西川秋佳
布柴達男

平塚 明
藤本成明
細川正清
堀本政夫
松本清司
本間正充
柳井徳磨
山崎浩史
山手丈至
與語靖洋
義澤克彦**
吉田 緑
若栗 忍

小林裕子
三枝順三***

根岸友恵
根本信雄

* : 2009年1月19日まで
** : 2009年4月10日から
*** : 2009年4月28日から

(2012年3月31日まで)

納屋聖人 (座長)
林 真 (座長代理)
相磯成敏
赤池昭紀
浅野 哲**
石井康雄
泉 啓介
上路雅子
臼井健二
太田敏博
小澤正吾
川合是彰
川口博明
桑形麻樹子***
小林裕子
三枝順三

佐々木有
代田眞理子
高木篤也
玉井郁巳
田村廣人
津田修治
津田洋幸
長尾哲二
永田 清
長野嘉介*
西川秋佳
布柴達男
根岸友恵
根本信雄
八田稔久

平塚 明
福井義浩
藤本成明
細川正清
堀本政夫
本間正充
増村健一**
松本清司
柳井徳磨
山崎浩史
山手文至
與語靖洋
義澤克彦
吉田 緑
若栗 忍

* : 2011年3月1日まで
** : 2011年3月1日から
*** : 2011年6月23日から

(2012年4月1日から)

・ 幹事会

納屋聖人 (座長)
西川秋佳 (座長代理)
赤池昭紀
上路雅子

三枝順三
永田 清
長野嘉介
本間正充

松本清司
吉田 緑

・ 評価第一部会

上路雅子 (座長)
赤池昭紀 (座長代理)
相磯成敏

津田修治
福井義浩
堀本政夫

山崎浩史
義澤克彦
若栗 忍

・ 評価第二部会

吉田 緑 (座長)

桑形麻樹子

藤本成明

松本清司 (座長代理)	腰岡政二	細川正清
泉 啓介	根岸友恵	本間正充
・評価第三部会		
三枝順三 (座長)	小野 敦	永田 清
納屋聖人 (座長代理)	佐々木有	八田稔久
浅野 哲	田村廣人	増村健一
・評価第四部会		
西川秋佳 (座長)	代田眞理子	森田 健
長野嘉介 (座長代理)	玉井郁巳	山手丈至
川口博明	根本信雄	與語靖洋

<第 21 回農薬専門調査会評価第一部会専門参考人名簿>

林 真 平塚 明

<第 89 回農薬専門調査会幹事会専門参考人名簿>

林 真 小澤 正吾

要 約

チオカーバメート系除草剤である「モリネート」(CAS No. 2212-67-1)について、農薬抄録並びに EC、米国及び豪州が行った評価を基に食品健康影響評価を実施した。

評価に用いた試験成績は、動物体内運命(ラット)、植物体内運命(稲)、作物等残留、亜急性毒性(ラット、マウス及びイヌ)、慢性毒性(イヌ)、慢性毒性/発がん性併合(ラット)、発がん性(マウス)、2世代繁殖(ラット)、発生毒性(ラット及びウサギ)、遺伝毒性等の試験成績である。

各種毒性試験結果から、モリネート投与による影響は、主に神経系(脱髄、変性等)、骨格筋(萎縮等)、卵巣(卵胞膜/間質細胞空胞化等)及び精巣(精細管萎縮等)に認められた。催奇形性及び生体にとって問題となる遺伝毒性は認められなかった。

発がん性試験において、ラットの雄で腎腫瘍及び精巣間細胞腫の発生頻度が増加したが、発生機序は遺伝毒性によるものとは考え難く、評価に当たり閾値を設定することは可能であると考えられた。

繁殖試験において、ラットで精子運動性低下、交配成功率低下等が認められた。機序検討試験の結果、雄の繁殖能への影響の主要因は代謝物 M3 と考えられ、毒性の発生機序は Chol 代謝障害によるステロイド合成阻害であることが示唆された。

各試験で得られた無毒性量のうち最小値は、ラットを用いた 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験①の 0.21 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 0.0021 mg/kg 体重/日を一日摂取許容量 (ADI) と設定した。

1. 評価対象農薬の概要

1. 用途

除草剤

2. 有効成分の一般名

和名：モリネート

英名：molinate (ISO名)

3. 化学名

IUPAC

和名：*S*-エチル ペルヒドロアゼピン-1-カルボチオアート 又は
S-エチル ペルヒドロアゼピン-1-チオカルボキシレート 又は
S-エチル アゼパン-1-カルボチオアート

英名：*S*ethyl perhydroazepine-1-carbothioate 又は
*S*ethyl perhydroazepine-1-thiocarboxylate 又は
*S*ethyl azepane-1-carbothioate

CAS (No. 2212-67-1)

和名：*S*-エチル ヘキサヒドロ-1*H*-アゼピン-1-カルボチオエート

英名：*S*ethyl hexahydro-1*H*-azepine-1-carbothioate

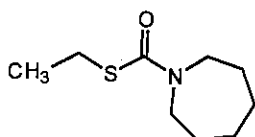
4. 分子式

$C_9H_{17}NOS$

5. 分子量

187.30

6. 構造式



7. 開発の経緯

モリネートは、米国ストウファー・ケミカル社により開発された水稲用チオカーバメート系除草剤である。作用機構は、雑草の幼芽部、茎葉部及び根部から吸収されて生長点に移行し、脂肪酸生合成を阻害することにより細胞分裂及び伸長を阻止し、枯死させるとされている。我が国では、1971年に初めて登録された。海外では、欧州、米州等で登録されている。

ポジティブリスト制度導入に伴う残留基準値が設定されており、今回、魚介類への残留基準の設定が要請されている。

II. 安全性に係る試験の概要

農薬抄録（2010年）、EC資料（2003年）、米国資料（2001年）及び豪州資料（2003年）等を基に、毒性に関する主な科学的知見を整理した。（参照 6、10～13）

各種運命試験 [II.1~4] は、モリネートのアゼピン環の2位炭素を¹⁴Cで標識したもの（以下「[aze-¹⁴C]モリネート」という。）、エチル基のメチレン部位を¹⁴Cで標識したもの（以下「[met-¹⁴C]モリネート」という。）及び代謝物M3のアゼピン環の2位炭素を¹⁴Cで標識したもの（以下「[aze-¹⁴C]M3」という。）を用いて実施された。放射能濃度及び代謝物濃度は、特に断りがない場合は比放射能（質量放射能）からモリネートに換算した値（mg/kg 又はµg/g）を示した。代謝物/分解物略称及び検査値等略称は別紙1及び2に示されている。なお、各代謝物の位置異性体については、置換基の位置を「2-M1」（2位）、「2-M1+3-M1」（2位及び3位）のように記した。

1. 動物体内運命試験（ラット）

(1) 吸収

① 血中濃度推移

SDラット（一群雌雄各12匹）に[aze-¹⁴C]モリネートを10 mg/kg 体重（以下 [1.] において「低用量」という。）又は100 mg/kg 体重（以下 [1.] において「高用量」という。）で単回経口投与し、血中濃度推移について検討された。薬物動態学的パラメータは表1に示されている。

血漿及び全血中放射能濃度推移に顕著な性差はみられなかった。全血中放射能の平均濃度は、血漿中と比べて高値であり、赤血球への放射能分布が高いことが示唆された。また、全血中のT_{1/2}が高用量で長くなることから、高用量では赤血球からの解離又は流出が遅くなることが示唆された。（参照 10）

表1 薬物動態学的パラメータ

試料	血漿				全血			
	10		100		10		100	
投与量(mg/kg 体重)								
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
T _{max} (hr)	1	2	0.5	0.5	6	2	24	24
C _{max} (µg/g)	2.09	2.54	10.4	9.15	3.24	3.19	26.4	30.0
T _{1/2} (hr)	30.9	35.6	31.6	38.7	128	167	178	192
AUC (hr・µg/g)	52.2	53.1	328	338	562	733	7,240	8,970

② 吸収率

尿及び糞中排泄試験 [1. (4) ①] における尿中排泄率、呼気中排泄率、ケージ

洗浄液及び組織中放射能の合計から、投与後 96 時間における体内吸収率は 74.6～77.9%と算出された。(参照 10)

(2) 分布

① 単回経口投与

SD ラット (一群雌雄各 5 匹) に [aze-¹⁴C] モリネートを低用量又は高用量で単回経口投与し、体内分布試験が実施された。

投与 96 時間後の組織における残留放射能濃度は、低用量群では血液又は肝臓 (1.89～2.15 µg/g 又は 1.38～2.28 µg/g) で最も高く、次いで肺、腎臓で高かった。高用量群では血液 (22.0～23.4 µg/g) で最も高く、次いで肝臓、肺、腎臓、脾臓 (いずれも 8.80 µg/g 以下) であった。血漿中濃度 (低用量群で 0.07～0.08 µg/g、高用量群で 0.70～0.80 µg/g) は、測定したいずれの組織よりも低かった。

放射能濃度は血液で高く、血漿で著しく低かったことから、血液中放射能の大部分が血球画分に結合していることが示唆され、組織における放射能の大部分は、各臓器に残留していた血球に由来するものと考えられた。(参照 10)

② 反復経口投与

SD ラット (一群雌雄各 5 匹) に、非標識モリネートを低用量で 14 日間連続投与後、[aze-¹⁴C] モリネートを低用量で単回経口投与し、体内分布試験が実施された。

最終投与 96 時間後の組織内分布は、低用量単回投与時とほぼ同様であり、反復投与前処置による影響は認められなかった。(参照 10)

③ 静脈内投与

SD ラット (一群雌雄各 5 匹) に [aze-¹⁴C] モリネートを 1 mg/kg 体重の用量で静脈内投与し、体内分布試験が実施された。

投与 168 時間後の組織における残留放射能濃度は、雌雄ともに肝臓 (0.27～0.33 µg/g) で最も高く、次いで雄では肺、腎臓、胃の順、雌では胃、肺、腎臓の順に高かった。その他の組織ではいずれも血液中濃度 (雌雄とも 0.10 µg/g) 未満であり、血漿で最も低かった (0.01 µg/g 未満)。(参照 10)

(3) 代謝

単回経口投与による排泄試験 [1. (4) ①] の投与後 96 時間の尿及び糞 (糞は高用量群のみ)、反復経口投与による排泄試験 [1. (4) ②] の投与後 96 時間の尿並びに静脈内投与による排泄試験 [1. (4) ③] の投与後 168 時間の尿を用いた代謝物同定・定量試験が実施された。

尿中の主要代謝物は、いずれの投与群においても M10 であり、経口投与群及び静脈内投与群でそれぞれ 36.9～51.3%TRR 及び 21.2～25.8%TRR を占めた。

次いで 4-M14 が 5.6~9.9%TRR 及び 6.8~15.0%TRR、M6 が 6.9~13.1%TRR 及び 10.6~12.4%TRR 検出されたほか、3-M14、3-M1+4-M1、3-M7、4-M8 及び M11 が検出された。モリネートは 0.5~3.3%TRR であった。

高用量経口投与群の糞では、モリネート及び 3-M1+4-M1 を含む化合物が 48.8~65.8%TRR を占めた。他に M10 (7.6~17.0%TRR)、M6 (3.3~12.6%TRR) 及び 3-M7+4-M7 (計 5.2~5.4%TRR) が検出された。

ラット体内におけるモリネートの主要代謝経路は、硫黄原子の酸化により M3 が生成され、M3 が加水分解されてヘキサメチレンイミン (M6) となる又はグルタチオン抱合を受け最終的に M10 になる経路と、アゼピン環の 3 位又は 4 位での水酸化 (M1 の生成) とそれに続くグルクロン酸抱合により M14 になる経路が考えられた。(参照 10)

(4) 排泄

① 尿及び糞中排泄 (単回経口投与)

SD ラット (一群雌雄各 5 匹) に [aze-¹⁴C]モリネートを低用量又は高用量で単回経口投与し、尿及び糞中排泄試験が実施された。

投与後 96 時間における尿及び糞中排泄率は表 2 に示されている。

いずれの投与群においても、主要排泄経路は尿中であり、投与後 96 時間で 69.2~73.5%TRR が尿中に排泄された。糞中排泄は雌より雄で高かった。排泄は速やかであり、投与後 36 時間で尿及び糞中へ大部分 (87~94%) が排泄された。呼気中排泄率には軽度の性差が認められた。(参照 10)

表 2 投与後 96 時間における尿及び糞中排泄率 (%TRR)

投与量 (mg/kg 体重)	10		100	
	雄	雌	雄	雌
尿	69.2	73.5	70.7	71.6
糞	8.12	5.33	10.6	4.80
ケージ洗浄液	0.89	1.06	1.87	2.82
呼気	1.18	0.66	1.38	0.81
組織 (カーカス ¹ を含む)	3.31	2.70	2.12	1.95

② 尿及び糞中排泄 (反復経口投与)

SD ラット (一群雌雄各 5 匹) に、非標識モリネートを低用量で 14 日間連続投与後、[aze-¹⁴C]モリネートを低用量で単回経口投与し、尿及び糞中排泄試験が実施された。

雌雄ともに主要排泄経路は尿中であり、[aze-¹⁴C]モリネート投与後 96 時間で

¹ 組織・臓器を取り除いた残渣のことをカーカスという (以下同じ)。

尿中に 78.9~82.7%TAR、糞中に 4.6~5.8%TAR が排泄された。排泄プロフィールは、低用量単回投与時とほぼ同様の結果が得られ、反復投与前処置による影響は認められなかった。(参照 10)

③ 尿及び糞中排泄（静脈内投与）

SD ラット（一群雌雄各 5 匹）に[aze-¹⁴C]モリネートを 1 mg/kg 体重の用量で静脈内投与し、尿及び糞中排泄試験が実施された。

雌雄ともに主要排泄経路は尿中であり、投与後 168 時間で尿中に 73.7~76.6%TAR、糞中に 3.7~5.6%TAR が排泄された。排泄プロフィールは低用量単回投与時と同様の結果であった。(参照 10)

2. 植物体内運命試験

(1) 稲①

稲（品種：M-202）に[aze-¹⁴C]モリネートを 5,490 g ai/ha の用量で植付け前に土壌混和（第 1 回散布）し、さらに 5,830 g ai/ha の用量で成熟期の約 30 日前に散布（第 2 回散布）した後、成熟期に収穫して植物体内運命試験が実施された。

成熟期の稲試料における放射能分布は表 3 に示されている。

玄米、稲わら及びもみ殻に、それぞれ稲体全体の残留放射能の 3.3、92.4 及び 4.0%が分布した。主要代謝物は、玄米中では 4-M7、M6 及び M15、稲わら中では 4-M7、4-M1、M6 及び M15 であった。モリネートは、玄米及び稲わらでそれぞれ 0.01 mg/kg 未満及び 0.06 mg/kg 検出された。玄米において 10%TRR を超える代謝物は認められなかった。(参照 10)

表 3 成熟期の稲試料における放射能分布

分析部位	総残留放射能濃度	モリネート	主要代謝物				未同定残留物	
			4-M1	M6	4-M7	M15		
玄米	%TRR	100	0.2	0.7	5.2	7.5	3.6	30.9
	mg/kg	3.6	<0.01	0.02	0.19	0.23	0.13	1.38
稲わら	%TRR	100	0.2	15.3	13.7	25.1	7.1	25.4
	mg/kg	23.8	0.06	3.64	3.26	5.97	1.69	6.1
もみ殻	mg/kg	10.4						

(2) 稲②

稲（品種：Calora）の幼苗（砂耕栽培した播種 3 週間後の幼苗、草丈 9 cm）に[met-¹⁴C]モリネートを 6,720 g ai/ha の用量で根部に処理して、処理 3 及び 7 日後に稲を採取して、又は砂耕栽培した草丈 4 cm の幼苗に[aze-¹⁴C]モリネートを 6,720 g ai/ha の用量で根部に処理して、処理 3、7 及び 14 日後に稲を採取して、植物体内運命試験が実施された。

[met-¹⁴C]モリネート処理区では、処理後 6 日で 4%TAR が、[aze-¹⁴C]モリネート処理区では処理後 13 日で 11.4%TAR が ¹⁴CO₂として捕捉された。根部と葉鞘部の分析では、[met-¹⁴C]モリネート処理区でアスパラギン、グリシン、スレオニン等の 7 種類のアミノ酸と未同定のアミノ酸と思われる物質が検出された。また、乳酸、グルコール酸及び未同定の有機酸を含む数種の植物性有機酸が検出された。[aze-¹⁴C]モリネート処理区においても、アミノ酸及び有機酸が検出された。処理 3 日後の試料では、セルロースを含む不溶性画分に放射活性が認められ、細胞質中のタンパク質にも ¹⁴C が検出された。(参照 10)

稲におけるモリネートの推定代謝反応は、①アゼピン環の水酸化に続くグルコース抱合、②硫黄原子の酸化による M3 及び M5 の生成、③S-エチル基の酸化による M15 の生成、④S-エチル基のグルコースによる置換又はイミン結合を経由したグルコースへの直接抱合、⑤アゼピン環の開裂に続く CO₂ への無機化及びその後起こる植物構成成分への取り込みと考えられた。

3. 土壌中運命試験

(1) 好氣的湛水土壌中運命試験

埴土(米国)の乾燥土 250 g を 300 mL の水道水で湛水した後、[aze-¹⁴C]モリネートを 4.2 mg/kg 乾土になるように添加し、30 日間、30°C、暗所下でインキュベートして好氣的湛水土壌中運命試験が実施された。

揮発により、処理 30 日後には 7.2%TAR が消失した。水相、土壌相への配分は、処理当日には 51.4 : 43.8 であったが、その後、土壌相への配分が徐々に増加し、処理 30 日後には 23.6 : 61.7 になった。水相におけるモリネートの推定半減期は 28 日であり、主要分解物として M3 及び M6 がそれぞれ最大で 6.6%TAR (処理 14 日後) 及び 9.2%TAR (処理 7 日後) 認められ、ほかには 4-M2 及び M15 が認められた。土壌相においては、試験期間中にモリネートが 32.1 ~ 56.3%TAR を占めた。M3、M6 等も検出されたが、4.1%TAR を超えるものは認められなかった。(参照 10)

(2) 嫌氣的湛水土壌中運命試験

埴土(米国)の乾燥土 250 g を 300 mL の水道水で湛水し、窒素ガス気流下で嫌気状態とした後、[aze-¹⁴C]モリネートを 5.1 mg/kg 乾土になるように添加し、365 日間、30°C、暗所下でインキュベートして嫌氣的湛水土壌中運命試験が実施された。

揮発によりモリネートは、365 日後には 23.7%TAR が消失した。水相、土壌相への配分は、処理当日には 41.4 : 51.1 であったが、その後、土壌相への配分が徐々に増加し、処理 23 日後には 21.1 : 53.5 になった。主要分解物として 4-M1 及び 4-M2 がそれぞれ最大 2.6%TAR (処理 95 日後) 及び 1.2%TAR (処理 23

日後)認められ、ほかには M15、M16 及び M20 が認められた。試験終了時(処理 365 日後)には $^{14}\text{CO}_2$ が 43.2% TAR 認められ、試験の後半に増加していることから、土壌中での分解により無機化が進むと考えられた。

モリネートの推定半減期は、水相では 27 日、土壌相では 159 日、系全体では 129 日であった。(参照 10)

(3) 好氣的湛水土壌及び好氣的土壌中運命試験①

3 種類の国内土壌 [砂質埴壤土 (愛知)、埴壤土 (長野) 及びシルト質壤土 (栃木)] に、[aze- ^{14}C]モリネート又は[met- ^{14}C]モリネート (砂質埴壤土のみ) を 10 mg/kg 乾土になるように添加し、80 日間インキュベートして好氣的湛水土壌 (水深 1 cm) 及び好氣的土壌中運命試験が実施された。また、滅菌した各土壌についても、非標識モリネートを用いて同様に実施された。

推定半減期は、好氣的湛水土壌では 40~160 日、好氣的土壌では 8~25 日であった。好氣的土壌では、処理直後には約 91~95% TAR 認められたモリネートは急速に減少し、処理 80 日後には約 5~14% TAR になった。これに伴い、処理 80 日後には約 57~77% TAR の $^{14}\text{CO}_2$ が発生した。一方、好氣的湛水土壌では、モリネートは処理直後で約 97% TAR、処理 80 日後で約 34~75% TAR 認められ、処理 80 日後の $^{14}\text{CO}_2$ の発生は約 5~13% TAR と僅かであった。また、滅菌土壌におけるモリネートの分解は非常に緩慢であったことから、モリネートは土壌微生物により分解されると考えられた。

好氣的湛水土壌及び好氣的土壌ともに、3 種類の土壌における分解物の生成に大差はなく、分解物として M3、M5、4-M1、2-M2+4-M2、M6、M16 及び M15 が検出されたが、いずれも 10% TAR 未満であった。

モリネートの好氣的土壌における推定分解経路は、①硫黄原子の酸化によりスルホキシド及びスルホンが生じ、加水分解により M6 を生成する経路、②アゼピン環の 2 位及び 4 位の水酸化により M1 が生じ、さらに M2 を生成する経路、③ S-エチル基が酸化されて M16 及び M15 を生成する 3 つの経路が考えられた。(参照 10)

(4) 好氣的湛水土壌及び好氣的土壌中運命試験②

砂壤土 (米国) に[aze- ^{14}C]モリネートを 4.2 mg/kg 乾土になるように添加し、32 週間、21~26°C、暗所下でインキュベートして好氣的湛水土壌 (水深 6 cm) 及び好氣的土壌中運命試験が実施された。

好氣的湛水土壌では、水相中の放射能は試験期間中 3~4% TAR であった。土壌中の抽出性放射能は、処理 32 週間後には 33.3% TAR に減衰し、22.7% TAR が土壌残渣であった。残渣中の放射能の多くはヒューミン、フルボ酸及びフミン酸画分に分布していた。処理 8 週間後の有機溶媒抽出液の TLC 分析では、モリネートが 94.3% TAR 検出され、分解物として 4-M1 (0.29% TAR) 及び 4-M2 (0.67% TAR)

が同定された。

好氣的土壤では、土壤中の抽出性放射能は処理 32 週後には 5.9%TAR に減衰し、残渣は 29.3%TAR であった。残渣中放射能の多くは湛水条件と同様にヒューミン、フルボ酸及びフミン酸画分に分布していた。処理 8 週後の有機溶媒抽出液の TLC 分析では、モリネートが 67.9%TAR 検出され、分解物として 4-M1 (0.4%TAR)、4-M2 (3.1%TAR)、M20 (9.3%TAR) 及び M21 (8.8%TAR) が同定された。

モリネートの推定半減期は、好氣的湛水土壤では 10 週、好氣的土壤では 3 週であった。(参照 10)

(5) 土壤吸着試験

4 種類の水田土壤〔軽埴土（宮城、新潟及び茨城）及び砂壤土（宮崎）〕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 2.62~5.34 であり、有機炭素含有率により補正した吸着係数 K_{oc} は 101~362 であった。(参照 10)

4. 水中運命試験

(1) 加水分解試験

pH 5（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）の各緩衝液に、モリネートを 100 mg/L になるように添加し、25 及び 40°C で 30 日間インキュベートして加水分解試験が実施された。

試験期間中にモリネートの分解は認められず、安定であった。(参照 10)

(2) 水中光分解試験（緩衝液）

pH 7（リン酸緩衝液）の滅菌緩衝液にモリネートを 89.8 mg/L になるように添加し、 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ で 14 日間、キセノンアークランプ照射（光強度：508 W/m²、波長：300~800 nm）して水中光分解試験が実施された。

モリネートの分解は認められず、光に対し安定であった。(参照 10)

(3) 水中光分解試験（自然水）

pH 8.1 の自然水（河川水、英国）にモリネートを 5.0 mg/L になるように添加し、 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ で 6 日間、キセノンアークランプ照射（光強度：45.1 W/m²、波長：300~400 nm）して水中光分解試験が実施された。

モリネートの分解は認められず、光に対し安定であった。(参照 10)

5. 土壤残留試験

沖積土・壤土（千葉）、火山灰土・埴壤土（栃木）及び沖積土・埴壤土（茨城）を用いて、モリネートを分析対象化合物とした土壤残留試験が実施された。

推定半減期は表 4 に示されている。(参照 10)

表 4 モリネートの土壌残留試験成績

試験		濃度 ^a	土壌	推定半減期(日)
圃場試験	水田状態	2,400 g ai/ha	沖積土・壤土	24.9
			沖積土・埴壤土	26.5
容器内試験	湛水状態	3.2 mg/kg	沖積土・壤土	約 51
			火山灰土・埴壤土	約 185

^a 容器内試験では純品、圃場試験では 6.0%粒剤を使用

6. 作物等残留試験

(1) 作物残留試験

水稻を用いて、モリネート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。

玄米では全ての試験で定量限界未満であり、稲わらにおける最大残留値は最終散布 87 日後における 0.060 mg/kg であった。(参照 10)

(2) 魚介類における最大推定残留値

モリネート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。

モリネートの水産 PEC は 1.5 µg/L、BCF は 65 (試験魚種:ブルーギル)、魚介類における最大推定残留値は 0.488 mg/kg であった。

7. 一般薬理試験

ラット、ウサギ、ネコ、モルモット及びマウスを用いた一般薬理試験が実施された。結果は表 5 に示されている。(参照 10)

表 5 一般薬理試験概要

試験の種類	動物種	動物数/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	Wistar ラット	雄 10	0、15、 50、150 (経口)	15	50	50 mg/kg 体重以上で瞬き、群居行動の欠如、闘争行動、過敏反応 150 mg/kg 体重で流涙、腹這、常同行動(咬みつき及び舐め)、尾先端部脱落

試験の種類		動物種	動物数 /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
	体温	日本 白色種 ウサギ	雄 5	0、15、 50、150 (経口)	150	—	影響なし
	脳波・ 睡眠覚醒 周期	日本 白色種 ウサギ	雄 3	0、15、 50、150 (経口)	15	50	50 mg/kg 体重のみで安静 時の減少
呼吸・ 循環器系	呼吸・血圧 心拍数・ 心電図	雑種 ネコ	雌 3	0、15、 50、150 (経口)	—	15	15及び150 mg/kg 体重で呼 吸数減少、全投与群で血圧 降下及び心拍数低下がみら れたが、作用の程度及び発 現数に用量依存性なし 心電図に対する影響なし
自律 神経系	瞳孔径	日本 白色種 ウサギ	雄 5	0、15、 50、150 (経口)	150	—	影響なし
	摘出回腸	日本 白色種 ウサギ	雄 3	0、10 ⁻⁸ 、 10 ⁻⁷ 、10 ⁻⁶ (g/mL) (<i>in vitro</i>)	10 ⁻⁸ g/mL	10 ⁻⁷ g/mL	収縮高増加
	摘出回腸に おける 各作動薬 [§] に対する 影響	Hartley モルモット	雄 5	0、10 ⁻⁸ 、 10 ⁻⁷ 、10 ⁻⁶ (g/mL) (<i>in vitro</i>)	—	10 ⁻⁸ g/mL	BaCl ₂ でのみ全投与群で収 縮高の軽度増加 他の作動薬で影響なし
消化器系	炭末輸送能	ddY マウス	雄 10	0、15、 50、150 (経口)	—	15	全投与群で炭末輸送能の抑 制
	炭末輸送能 (確認試験)	ddY マウス	雄 10	0、15、 50、150 (経口)	150	—	影響なし
	胃腸粘膜 刺激作用	Wistar ラット	雄 6	0、15、 50、150 (経口)	15	50	50 mg/kg 体重以上で腺胃 部びらん 150 mg/kg 体重で点状出血
骨格筋	坐骨神経 腓腹筋	Wistar ラット	雄 5~6	0、15、 50、150 (経口)	150	—	影響なし

試験の種類		動物種	動物数 /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
血液	血液凝固	Wistar ラット	雄 6	0、15、 50、150 (経口)	150	—	影響なし
	溶血	日本 白色種 ウサギ	雄 3	0、10 ⁻⁵ 、 10 ⁻⁴ 、10 ⁻³ (g/mL) (<i>in vitro</i>)	10 ⁻⁴ g/mL	10 ⁻³ g/mL	97.5%の溶血
腎機能	尿量・ 尿中電解質	Wistar ラット	雄 6	0、15、 50、150 (経口)	—	15	全投与群で用量依存性の Na ⁺ /K ⁺ 比低下 15 及び 150 mg/kg 体重で Na ⁺ 及び Cl ⁻ 排泄量増加 50 mg/kg 体重以上で尿量 及び K ⁺ 排泄量増加

注) 溶媒は、経口投与では 0.5%CMC-Na、*in vitro*では DMSO が用いられた。

— : 最大無作用量又は最小作用量は設定できなかった。

§ : 作動薬は、ACh、His 及び BaCl₂ が用いられた。

8. 急性毒性試験

(1) 急性毒性試験

モリネートの急性毒性試験が実施された。結果は表 6 に示されている。(参照 10)

表 6 急性毒性試験概要

投与 経路	動物種	LD ₅₀ (mg/kg 体重)		観察された症状
		雄	雌	
経口	SD ラット 雄 5 匹	584	/	鎮静及び頻尿 雄：464 mg/kg 体重以上で死亡例
	SD ラット 雌 7 匹	/	660	運動量低下、鎮静、流涎、流涙、呼吸困難、頻尿、 体温低下 雌：200 mg/kg 体重以上で死亡例
	SD ラット 雄 5 匹	722	/	鎮静、運動機能低下、流涎、過度の咀嚼運動及び 流涙、死亡例で運動失調、間欠性の振戦、眼周囲 の血液滲出、頻尿及び体温低下 雄：1,060 mg/kg 体重以上で死亡例
	Wistar ラット 雌雄各 8 匹	614	560	後肢痙攣、眼脂分泌 死亡時に間代性痙攣又は振戦 雄：600 mg/kg 体重以上で死亡例 雌：500 mg/kg 体重以上で死亡例
	dd マウス 雌雄各 10 匹	522	588	雄：552 mg/kg 体重以上で死亡例 雌：383 mg/kg 体重以上で死亡例

投与経路	動物種	LD ₅₀ (mg/kg 体重)		観察された症状
		雄	雌	
	dd マウス 雄 10 匹	550		鎮静、うずくまり、間代性痙攣の後衰弱死 雌：400 mg/kg 体重以上で死亡例
	Swiss マウス 雄 7 匹	795		雄：700 mg/kg 体重以上で死亡例
	白色レグホン ニワトリ 雌 5 羽		1,930	全投与群に下痢、運動失調及び体重減少、3.5 mg/kg 体重以上で用量相関性の血漿 ChE 活性低下 硫酸アトロピン 10 mg/kg 体重を前処置（皮下投与）した群の LD ₅₀ は 2,300 mg/kg 体重であり、アトロピン前投与により軽減されず 雌：630 mg/kg 体重以上で死亡例
経皮	dd マウス 雄 10 匹	1,220		鎮静 雄：887 mg/kg 体重以上で死亡例
	白色ウサギ (系統・性別不明) 2 匹	>2,000		死亡例なし
腹腔内	SD ラット 雌雄各 5 匹	316	316	鎮静、あえぎ呼吸、振戦及び運動失調 雌雄：464 mg/kg 体重以上で死亡例
	Donryu ラット 雄 10 匹	385		脱力状態、間代性痙攣、悲鳴、鼻出血、眼出血、眼球突出、流涎、流涙、下痢、後肢麻痺、腹部のガス貯留 雄：318 mg/kg 体重以上で死亡例
	Swiss マウス 雄 5 匹	501		鎮静、あえぎ呼吸及び振戦 雄：464 mg/kg 体重以上で死亡例
	Swiss マウス 雌 5 匹		501	鎮静 雌：464 mg/kg 体重以上で死亡例
	ICR マウス 雄 10 匹	440		歩行困難、腹臥、脱力、閉眼、呼吸困難、間代性痙攣、眼球突出、鼻出血、眼出血 雄：423 mg/kg 体重以上で死亡例
皮下	SD ラット 雌雄各 5 匹	422	794	鎮静、運動失調、あえぎ呼吸及び振戦 雄：464 mg/kg 体重以上で死亡例 雌：1,000 mg/kg 体重以上で死亡例
	Donryu ラット 雄 10 匹	540		脱力、腹臥、鼻出血、眼出血、眼球突出、流涎、流涙、下痢、眼球混濁、後肢麻痺 雄：482 mg/kg 体重以上で死亡例
	ICR マウス 雄 10 匹	730		歩行困難、腹臥、うずくまり、軽度の後肢麻痺、鼻出血、眼出血、眼球突出、死亡例では死亡直前に痙攣 雄：579 mg/kg 体重以上で死亡例

投与経路	動物種	LD ₅₀ (mg/kg 体重)		観察された症状
		雄	雌	
	Swiss マウス 雄 5 匹	1,080		鎮静、運動失調、あえぎ呼吸及び振戦 雄：1,000 mg/kg 体重以上で死亡例
	Swiss マウス 雌 5 匹		1,260	鎮静 雌：1,000 mg/kg 体重以上で死亡例
静脈内	SD ラット 雌雄各 5 匹	233	233	鎮静 雌雄：215 mg/kg 体重以上で死亡例
吸入	Wistar 系 (Alpk:APfSD) ラット 雌雄各 5 匹	LC ₅₀ (mg/L)		流涎、流涙、鼻漏、音に対する反応性の低下、呼吸深度増加、呼吸数減少、反射反応低下、鎮静、運動量低下、呼吸速度低下及び呼吸深度増加、振戦、歩幅拡大、うずくまり、運動機能低下、異常呼吸音（上気道に対する軽微な刺激） 雄の剖検時に精巢の退色及び形状の縮小、腎肥大及び淡色化、雌では剖検所見に異常なし 病理組織学的検査では精巢に両側性の梗塞、精巢上体の精子数減少 雄：2.59 mg/L 以上で死亡例 雌：1.09 mg/L 以上で死亡例
		2.91	1.39	

(2) 急性神経毒性試験 (ラット)

Wistar 系 (Alpk:APfSD) ラット (一群雌雄各 12 匹) を用いた強制経口 (原体：0、25、100 及び 350 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。

各投与群で認められた毒性所見は表 7 に示されている。

投与群において、体重、摂餌量、活動性及び自発運動量の低下、尿失禁兆候、尾刺激回避反応時間延長が認められたが、いずれも 14 日間の観察期間中に回復した。

本試験において、350 mg/kg 体重投与群の雄で赤血球 ChE 活性阻害 (20%以上) 等、雌で脳 ChE 活性阻害 (20%以上) 等が認められたので、一般毒性及び急性神経毒性に対する無毒性量は雌雄で 100 mg/kg 体重であると考えられた。

(参照 10)

表 7 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
350 mg/kg 体重	<ul style="list-style-type: none"> ・体重及び摂餌量低下 ・赤血球 ChE 活性阻害 (20%以上) ・精巢萎縮 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重低下 ・脳 ChE 活性阻害 (20%以上) ・脳梨状皮質及び歯状回神経細胞の壊死 (1 例)
100 mg/kg 体重 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

(3) 急性遅発性神経毒性試験 (ニワトリ)

白色レグホン種ニワトリ (産卵盛期の雌: 一群 10~30 羽) にモリネートを 0、20、63、200、630 及び 2,000 mg/kg 体重 (溶媒: コーン油、ただし 2,000 mg/kg 体重は希釈せず) で 2 回強制経口 (0 日及び 21 日) 投与し、急性遅発性神経毒性試験が実施された。また、陽性対照として、TOCP を 500 mg/kg 体重で検体同様 2 回投与した。

2,000 mg/kg 体重投与群では 37/55 例が死亡又は切迫と殺され、平均死亡率は 67%であった。630 mg/kg 体重投与群では 2/15 例が死亡した。200 mg/kg 体重以下投与群では死亡はみられなかった。

検体投与群では、遅発性の脚弱又は運動失調はみられなかったが、630 mg/kg 体重以上投与群で、脳、脊髄及び末梢神経に病理組織学的変化 (髄質及び頸髄の著明な軸索及びミエリン鞘変性、シュワン細胞過形成等) が認められた。しかし、検体投与による病変は、脳及び脊髄上位で高度に発生したにもかかわらず、一般状態の変化はみられなかった。また、運動を司る神経にも影響はみられなかった。これに対して、陽性対照群では遅発性神経毒性の症状 (麻痺、歩行不全等) 及び脊髄の全部位に重篤な神経病変 (軸索損傷、反応性神経膠症等) が認められた。検体が誘発した病変は 120 日間の回復期間に可逆的であったが、陽性対照群の脳及び脊髄病変は回復期間終了時にも明白に認められた。

本試験において、630 mg/kg 体重以上投与群で脳、脊髄及び末梢神経に病理組織学的変化が認められたので、無毒性量は 200 mg/kg 体重であると考えられた。

(参照 10)

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。ウサギの眼に対し中等度~強度の刺激性、皮膚に対し軽度の刺激性が認められた。

Hartley モルモットを用いた皮膚感作性試験が実施され、感作性は陰性であった。(参照 10)

10. 亜急性毒性試験

(1) 90 日間亜急性毒性試験 (ラット) ①

白色ラット (系統不明、一群雌雄各 15 匹) を用いた混餌 (原体: 0、35、70 及び 140 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。

140 mg/kg 体重/日投与群の雄 1 例が呼吸器系感染症によると思われる症状で死亡した。各投与群で認められた毒性所見は表 8 に示されている。

本試験において、70 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で体重増加抑制等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 35 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 10)

表 8 90 日間亜急性毒性試験（ラット）①で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
140 mg/kg 体重/日	・精子無形成を伴う精細管の退行性変化	・卵巣萎縮 ・副腎皮質細胞空胞化
70 mg/kg 体重/日以上	・体重増加抑制 ・尿細管細胞変性 ・副腎皮質細胞空胞化	・体重増加抑制
35 mg/kg 体重/日	毒性所見なし	毒性所見なし

(2) 90 日間亜急性毒性試験（ラット）②

アルビノラット（系統不明、一群雌雄各 14～16 匹）を用いた混餌（原体：0、8、16 及び 32 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。各投与群で認められた毒性所見は表 9 に示されている。

本試験において、16 mg/kg 体重/日以上投与群の雄で体重増加抑制、雌で卵巣間質細胞泡沫空胞形成が認められたので、無毒性量は雌雄とも 8 mg/kg 体重/日であると考えられた。（参照 10）

表 9 90 日間亜急性毒性試験（ラット）②で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
32 mg/kg 体重/日	・摂餌量減少	・体重増加抑制 ・副腎絶対及び比重量 ² 増加 ・副腎皮質細胞空胞化
16 mg/kg 体重/日以上	・体重増加抑制	・卵巣間質細胞泡沫空胞形成
8 mg/kg 体重/日	毒性所見なし	毒性所見なし

(3) 90 日間亜急性毒性試験（ラット）③

Wistar ラット（一群雌雄各 15 匹）を用いた混餌（原体：0、450、900 及び 1,800 ppm：平均検体摂取量は表 10 参照）投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 10 90 日間亜急性毒性試験（ラット）③の平均検体摂取量

投与群		450 ppm	900 ppm	1,800 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	32.9	68.7	163
	雌	39.9	81.2	195

各投与群で認められた毒性所見は表 11 に示されている。

本試験において、900 ppm 以上投与群の雄で体重増加抑制、精巣萎縮等が、雌

² 体重比重量を比重量という（以下同じ）。

で体重増加抑制等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 450 ppm (雄：32.9 mg/kg 体重/日、雌：39.9 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 10)

表 11 90 日間亜急性毒性試験 (ラット) ③で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
900 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制及び摂餌量減少 ・ 精巣絶対及び比重量減少 ・ 精巣萎縮 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制及び摂餌量減少
450 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

(4) 90 日間亜急性毒性試験 (マウス)

ddY マウス (一群雌雄各 15~16 匹) を用いた混餌 (原体：0、450、900 及び 1,800 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 (マウス) の平均検体摂取量

投与群		450 ppm	900 ppm	1,800 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	72.8	156	241
	雌	65.6	122	252

対照群の雄 1 例が事故死した以外、死亡例は認められなかった。

本試験において、1,800 ppm 投与群の雄で体重増加抑制、脾絶対及び比重量増加並びに精巣萎縮が、雌で A/G 比低下並びに脾絶対及び比重量増加が認められたので、無毒性量は雌雄とも 900 ppm (雄：156 mg/kg 体重/日、雌：122 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 10)

(5) 90 日間亜急性毒性試験 (イヌ)

ビーグル犬 (一群雌雄各 2 匹) を用いた混餌 (原体：0、450、900 及び 1,800 ppm：平均検体摂取量は表 13 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 13 90 日間亜急性毒性試験 (イヌ) の平均検体摂取量

投与群		450 ppm	900 ppm	1,800 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雌雄	15	30	60

本試験において、1,800 ppm 投与群の雌雄で BUN 増加及び甲状腺絶対重量増加が認められたので、無毒性量は雌雄とも 900 ppm (雌雄：30 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 10)

(6) 90日間亜急性神経毒性試験（ラット）

Wistar系（Alpk:APfSD）ラット（一群雌雄各12匹）を用いた混餌（原体：0、50、150及び450 ppm：平均検体摂取量は表14参照）投与による90日間亜急性神経毒性試験が実施された。

表14 90日間亜急性神経毒性試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群		50 ppm	150 ppm	450 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	4.0	11.7	35.5
	雌	4.5	13.9	41.0

各投与群で認められた毒性所見は表15に示されている。

50 ppm 投与群の雄1匹で鼻損傷による呼吸困難及び体重減少が認められたため、切迫と殺された。

450 ppm 投与群の雌雄で握力低下が、雌で自発運動量のわずかな低下が認められたが、神経学的機能低下を示すような一貫した所見は認められなかった。

全投与群の雌雄において、神経障害標的エステラーゼ（NTE）活性が用量相関的に低下した。

本試験において、450 ppm 投与群の雄及び150 ppm 以上投与群の雌で脳及び赤血球 ChE 活性阻害（20%以上）等が認められたので、亜急性神経毒性に対する無毒性量は雄で150 ppm（11.7 mg/kg 体重/日）、雌で50 ppm（4.5 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照10）

表15 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
450 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制及び摂餌量減少 ・食餌効率低下 ・脳絶対重量減少 ・脳及び赤血球 ChE 活性阻害（20%以上） 	<ul style="list-style-type: none"> ・摂餌量減少 ・自発運動量低下 ・脳絶対重量減少
150 ppm 以上	150 ppm 以下毒性所見なし	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・食餌効率低下 ・脳及び赤血球 ChE 活性阻害（20%以上）
50 ppm		毒性所見なし

(7) 21日間亜急性経皮毒性試験（ラット）

Wistar系（Alpk:APfSD）ラット（一群雌雄各5匹）を用いた経皮（原体：0、10、25及び50 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。

一般状態及び ChE 活性に検体投与の影響は認められなかった。

本試験において、25 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で軽度から中等度の皮膚刺激症状（病理組織学的には炎症性細胞浸潤を伴わない表皮肥厚症）が認められたので、皮膚刺激性に対する無毒性量は雌雄とも 10 mg/kg 体重/日であると考えられた。（参照 10）

1.1. 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 4 匹）を用いたカプセル経口（原体：0、1、10、50 及び 100 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。ただし、100 mg/kg 体重/日投与群では重篤な毒性作用がみられたため、投与開始 106 日目に投与を中止し、その後の期間は空のカプセルを投与し、回復群とした。

各投与群で認められた毒性所見は表 16 に示されている。

50 mg/kg 体重/日以上投与群では、神経学的検査における異常所見が多数認められた。これらは用量相関的に重篤化し、雌より雄で重篤であった。また、50 mg/kg 体重/日投与群では経時的に重篤化したが、100 mg/kg 体重/日投与回復群では重篤化しなかった。

50 及び 10 mg/kg 体重/日投与群では溶血性貧血を示す所見が認められた。50 mg/kg 体重/日投与群ではより重篤化するとともに、代償性の造血亢進が起こったことを裏付ける血液学的及び病理組織学的所見が認められた。100 mg/kg 体重/日投与回復群にはこれらの所見は認められず、明白な回復がみられた。

本試験において、10 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で脾ヘモジデリン沈着等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 1 mg/kg 体重/日であると考えられた。

（参照 10）

表 16 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
100 mg/kg 体重/日 (回復群) ¹⁾	<ul style="list-style-type: none"> 運動失調、運動性低下、後肢開帳、呼吸困難 体重低下及び体重増加抑制 神経学的検査における異常所見 (姿勢反応異常及び運動異常) 	<ul style="list-style-type: none"> 運動失調、運動性低下、後肢開帳 神経学的検査における異常所見 (姿勢反応異常及び運動異常)
50 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> 運動失調、運動性低下、後肢開帳 体重低下及び体重増加抑制 精液及び運動能力のある精子減少 神経学的検査における異常所見 (姿勢反応異常及び運動異常) Hb 及び RBC 減少 PLT 及び赤血球浸透圧脆弱性増加 T.Chol 及び ALP 増加 脳絶対重量減少 	<ul style="list-style-type: none"> 運動失調、運動性低下、後肢開帳 神経学的検査における異常所見 (姿勢反応異常) Ht、Hb 及び RBC 減少 PLT、網状赤血球数及び赤血球浸透圧脆弱性増加 脳の髄質及び橋における好酸性小体又は空胞化 大脳軟化症

投与群	雄	雌
	<ul style="list-style-type: none"> ・脳の髄質及び橋における好酸性小体又は空胞化 ・脊髄及び末梢神経の脱髄 ・脾髄外造血 ・肝へモジデリン沈着クッパー細胞の出現 	<ul style="list-style-type: none"> ・脊髄及び末梢神経の脱髄 ・肝へモジデリン沈着クッパー細胞の出現 ・腎皮質の慢性炎症
10 mg/kg 体重/日 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・Ht 減少 ・脾へモジデリン沈着 	<ul style="list-style-type: none"> ・腎比重量増加 ・脳絶対重量減少 ・脾へモジデリン沈着
1 mg/kg 体重/日	毒性所見なし	毒性所見なし

¹⁾ 投与開始 106 日目に検体投与を中止し、その後の期間は空のカプセルを投与。

(2) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット) ①

Wistar ラット (一群雌雄各 70 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、5、50、100 及び 200 ppm : 平均検体摂取量は表 17 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 17 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット) ①の平均検体摂取量

投与群		5 ppm	50 ppm	100 ppm	200 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	0.21	1.97	3.90	7.90
	雌	0.25	2.55	5.13	10.5

各投与群で認められた毒性所見 (非腫瘍性病変) は表 18 に、精巣間細胞腫の発生頻度は表 19 に示されている。

腫瘍性病変については、200 ppm 投与群の雄において、試験 84~106 週の最終と殺及び途中死亡動物でのみ精巣間細胞腫の発生頻度が有意に増加した。

本試験において、50 ppm 以上投与群の雄で精細管萎縮等が、雌で骨格筋の筋線維変性等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 5 ppm (雄 : 0.21 mg/kg 体重/日、雌 : 0.25 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 10)

表 18 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
200 ppm	・骨格筋の衛星細胞過形成	・卵巣絶対重量増加
100 ppm 以上		<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・網膜の限局性萎縮
50 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・眼検査における網膜異常 ・精巣絶対及び比重量減少 ・精細管萎縮 ・骨格筋の筋線維変性 	<ul style="list-style-type: none"> ・眼検査における網膜異常 ・骨格筋の筋線維変性
5 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

表 19 精巣間細胞腫の発生頻度

投与群 (ppm)		0	5	50	100	200
55~83 週 中間計画と殺及び 途中死亡動物	検査動物数	12	17	9	15	13
	精巣間細胞腫	0	0	1	0	0
84~106 週 最終計画と殺及び 途中死亡動物	検査動物数	40	37	47	36	36
	精巣間細胞腫	0	0	0	1	11**

** : p<0.01 (Fisher の直接確率検定)

(3) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット) ②

SD ラット (対照群 : 雌雄各 70 匹、投与群 : 一群雌雄各 60 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、7、40 及び 300 ppm : 平均検体摂取量は表 20 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。なお、衛星群として、投与期間 1 年の 600 ppm 投与群 (雌雄各 20 匹) を設け、全頭を他の中間と殺群と同様の評価に用いた。

表 20 2年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット) ②の平均検体摂取量

投与群		7 ppm	40 ppm	300 ppm	600 ppm ¹⁾
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	0.3	1.8	13	29
	雌	0.4	2.0	15	35

¹⁾ 投与期間 1 年の衛星群

各投与群で認められた毒性所見 (非腫瘍性病変) は表 21 に、腎腫瘍の発生頻度は表 22 に示されている。

腫瘍性病変については、300 ppm 投与群の雄で腎細胞腺腫が 2 例、腎細胞癌が 3 例認められ、腺腫と癌を合計した発生頻度は対照群と比較して統計学的に有意であった。この変化は検体投与に関連するものと考えられた。

本試験において、7 ppm 以上投与群の雄及び 40 ppm 以上投与群の雌で骨格筋の萎縮、衛星細胞過形成等が認められたので、無毒性量は雄で 7 ppm (0.3 mg/kg 体重/日) 未満、雌で 7 ppm (0.4 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 10)

(腎腫瘍の発生機序に関しては [14. (1)] を参照。)

表 21 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
600 ppm （衛星群） ¹⁾	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制及び摂餌量減少 ・赤血球 ChE 活性阻害（20%以上） ・坐骨神経の変性及び脱髄 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制及び摂餌量減少 ・赤血球 ChE 活性阻害（20%以上） ・卵巣比重量増加 ・坐骨神経の変性及び脱髄 ・脳の好酸性小体 ・卵巣の卵胞膜/間質細胞空胞化/肥大
300 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・後肢内転、後肢の運動失調 ・体重増加抑制及び摂餌量減少 ・赤血球 ChE 活性阻害（20%以上） ・精巣上体の精子減少 ・脊髄の好酸性小体及び変性 	<ul style="list-style-type: none"> ・後肢内転及び後肢の運動失調 ・体重増加抑制及び摂餌量減少 ・赤血球 ChE 活性阻害（20%以上） ・卵巣比重量増加 ・脊髄の好酸性小体 ・卵巣の卵胞膜/間質細胞空胞化/肥大
40 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・坐骨神経の変性及び脱髄 	<ul style="list-style-type: none"> ・坐骨神経の変性及び脱髄 ・骨格筋の萎縮及び衛星細胞過形成
7 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・骨格筋の萎縮及び衛星細胞過形成 	7 ppm 毒性所見なし

¹⁾ 投与期間 1 年の衛星群

表 22 腎腫瘍の発生頻度

性別	雄					雌				
	0	7	40	300	600 ¹⁾	0	7	40	300	600 ¹⁾
投与群 (ppm)	0	7	40	300	600 ¹⁾	0	7	40	300	600 ¹⁾
検査動物数 ²⁾	70	60	60	60	20	69	60	60	60	20
腎細胞腺腫	0	0	0	2	0	1	0	0	0	0
腎細胞癌	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0
腺腫+癌	0	0	0	5*	0	1	0	0	0	0

¹⁾ 投与期間 1 年の衛星群

²⁾ 対照群及び 7 ppm 投与群で 3 例、300 ppm 投与群で 1 例については自己融解により標本の観察ができなかった。

* : p=0.02 (Fisher の直接確率検定)、p<0.001 (傾向検定)

(4) 18 か月間発がん性試験（マウス）

ICR マウス（一群雌雄各 50 匹）を用いた混餌（原体：0、10、100、1,000 及び 2,000 ppm：平均検体摂取量は表 23 参照）投与による 18 か月間発がん性試験が実施された。

表 23 18 か月間発がん性試験（マウス）の平均検体摂取量

投与群		10 ppm	100 ppm	1,000 ppm	2,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	1.0	10.4	105	200
	雌	1.3	13.9	133	249

各投与群で認められた毒性所見は表 24 に示されている。

検体投与に関連した腫瘍性病変の増加は認められなかった。

本試験において、100 ppm 以上投与群の雄で精巣の変性が、1,000 ppm 以上投与群の雌で坐骨神経の脱髄等が認められたので、無毒性量は雄で 10 ppm (1.0 mg/kg 体重/日)、雌で 100 ppm (13.9 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 10)

表 24 18 か月間発がん性試験 (マウス) で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
2,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・後肢筋衰弱、後肢内転及び運動失調 ・体重増加抑制及び摂餌量減少 ・精巣絶対及び比重量減少 ・小葉中心性肝細胞肥大 ・肺のクララ細胞過形成 ・脊髄の好酸性小体 	<ul style="list-style-type: none"> ・後肢筋衰弱及び萎縮、後肢内転、運動失調、後肢開帳 ・摂餌量減少 ・副腎絶対及び比重量増加 ・後肢筋萎縮、脱毛症 ・肺のクララ細胞過形成 ・乳腺及び子宮の萎縮
1,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・RBC、Hb 及び Ht 減少 ・MCHC 増加 ・副腎のセロイド又はリポフスチン沈着、石灰化 ・脳的好酸性小体増加 ・坐骨神経の脱髄、シュワン細胞過形成 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・RBC、Hb 及び Ht 減少 ・MCHC 増加 ・WBC 減少 ・副腎のセロイド又はリポフスチン沈着、石灰化 ・脳及び脊髄の好酸性小体増加 ・卵巣の卵胞膜/間質細胞過形成 ・坐骨神経の脱髄、シュワン細胞過形成
100 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・精巣の精細管変性 	100 ppm 以下毒性所見なし
10 ppm	毒性所見なし	

(5) 2 世代慢性毒性試験 (マウス) <参考資料³⁾>

CAF₁ マウス (親動物: 一群雌雄各 19~20 匹、児動物: 一群雌雄各 27~46 匹) の 2 世代にわたって (P 世代: 99~101 週間、F₁ 世代: 78~80 週間) 混餌 (原体: 0、3.6、7.2 及び 14.4 mg/kg 体重/日、検体純度不明) 投与し、2 世代慢性毒性試験が実施された。

14.4 mg/kg 体重/日投与群の F₁ 児動物で生存率が僅かに低下した。ほかには検体投与に関連した毒性所見は認められなかった。(参照 10)

³⁾ 本試験は標準的な慢性毒性試験ではないため参考資料とした。

12. 生殖発生毒性試験

(1) 2世代繁殖試験（ラット）①

SD ラット（一群雌 25 匹）を用いた混餌（原体：0、6、50 及び 450 ppm：平均検体摂取量は表 25 参照）投与による 2 世代繁殖試験が実施された。なお、交配は検体投与していない雄と 1 対 1 で行われた。

表 25 2 世代繁殖試験（ラット）①の平均検体摂取量

投与群		6 ppm	50 ppm	450 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	P 世代 雌	0.44	3.7	32
	F ₁ 世代 雌	0.44	3.7	35

各投与群で認められた毒性所見は表 26 に示されている。

50 ppm 投与群 P 世代及び 6 ppm 投与群 F₁ 世代で各 1 例が死亡した。これらは、剖検時の子宮に胎児又は自己融解した胎児を含む着床痕が認められ、出産の失敗が原因であると考えられた。

本試験において、親動物では 50 ppm 以上投与群で卵胞膜/間質細胞空胞化肥大等、児動物では 450 ppm 投与群で哺育 0 及び 4 日の生存児数減少等が認められたので、無毒性量は親動物で 6 ppm（P 雌及び F₁ 雌：0.44 mg/kg 体重/日）、児動物及び繁殖能に対しては 50 ppm（P 雌及び F₁ 雌：3.7 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 10）

表 26 2 世代繁殖試験（ラット）①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	450 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・摂餌量減少 ・副腎絶対及び比重量増加 ・着床数減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・摂餌量減少 ・副腎絶対及び比重量増加 ・着床数減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・卵胞膜/間質細胞の空胞化肥大[§] 	
	50 ppm 以上				<ul style="list-style-type: none"> ・卵胞膜/間質細胞の空胞化肥大[§]
	6 ppm				毒性所見なし
児動物	450 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・生存児数（哺育 0 及び 4 日）減少 ・体重増加抑制 	<ul style="list-style-type: none"> ・生存児数（哺育 0 及び 4 日）減少 ・体重増加抑制 		
	50 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし		

[§] 50 ppm 投与群では統計学的有意差はないが毒性影響と判断した。

(2) 2世代繁殖試験（ラット）②

SD ラット（一群雌雄各 40 匹）を用いた混餌〔原体（雄/雌）：0/0、5/20、10/50 及び 15/300 ppm：平均検体摂取量は表 27 参照〕投与による 2 世代繁殖試験が実施された。なお、交配期間（最長 14 日間）中は、雌雄 1 対 1 で夜間のみ同居

させ、この間は毎晩雄用の飼料が与えられた。

表 27 2 世代繁殖試験 (ラット) ②の平均検体摂取量

投与群 (雄/雌)		5 / 20ppm	10 / 50 ppm	15 / 300 ppm	
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	P 世代	雄	0.4	0.8	1.3
		雌	1.9	4.7	28.8
	F ₁ 世代	雄	0.5	1.1	1.6
		雌	2.2	5.6	34.5

対照群を含めたほぼ全群で途中死亡が発生し、P 世代では計 5 匹、F₁ 世代では計 12 匹が死亡 (切迫と殺を含む) したが、いずれも検体投与によるものとは考えられなかった。

各投与群で認められた毒性所見は表 28 に示されている。

雄の親動物において、10 ppm 投与群で異常精子数の増加が認められた。また、5 及び 10 ppm 投与群では精子数又は精子運動性に影響はみられなかった。

本試験において、親動物では 10 ppm 以上投与群の雄で異常精子数増加等が、50 ppm 以上投与群の雌で副腎束状帯のび慢性微細脂肪変性等が、児動物では 10 ppm 以上投与群の雄で脾及び精巣絶対及び比重量減少が、300 ppm 投与群の雌で生存児数減少等が認められたので、無毒性量は親動物の雄で 5 ppm (P 雄 : 0.4 mg/kg 体重/日、F₁ 雄 : 0.5 mg/kg 体重/日)、雌で 20 ppm (P 雌 : 1.9 mg/kg 体重/日、F₁ 雌 : 2.2 mg/kg 体重/日)、児動物の雄で 5 ppm (P 雄 : 0.4 mg/kg 体重/日、F₁ 雄 : 0.5 mg/kg 体重/日)、雌で 50 ppm (P 雌 : 4.7 mg/kg 体重/日、F₁ 雌 : 5.6 mg/kg 体重/日) であると考えられた。また、15 ppm 投与群の雄で精子運動能低下等が、300 ppm 投与群の雌で交配成功率低下等が認められたので、繁殖能に対する無毒性量は雄で 10 ppm (P 雄 : 0.8 mg/kg 体重/日、F₁ 雄 : 1.1 mg/kg 体重/日) 及び雌で 50 ppm (P 雌 : 4.7 mg/kg 体重/日、F₁ 雌 : 5.6 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 10)

(膣開口遅延の発生機序に関しては [14. (2)]、繁殖毒性の標的臓器の検討に関しては [14. (3)]、雄の繁殖能に及ぼす影響作用に関しては [14. (4)、(5)]、雌の卵巣に及ぼす影響作用に関しては [14. (6)] を参照。)

表 28 2 世代繁殖試験 (ラット) ②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	15(雄)/300(雌) ppm	<ul style="list-style-type: none"> 精子運動能低下 精巢上体尾部精子数減少 	<ul style="list-style-type: none"> 体重増加抑制 摂餌量減少 卵胞嚢胞 脾へモジデリン沈着 脾絶対及び比重量減少 	<ul style="list-style-type: none"> 交配成功率低下 精巢上体絶対及び比重量減少 精子運動能低下 精細管の限局性変性 精巢上体における精子前駆細胞出現 	<ul style="list-style-type: none"> 体重増加抑制 摂餌量減少 交配成功率低下 膻開口遅延 脾へモジデリン沈着
	10(雄)/50(雌) ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> 精巢上体絶対及び比重量減少 異常精子(主に頭部の異常)数増加 	<ul style="list-style-type: none"> 卵巣間質細胞空胞化及び肥大 副腎束状帯のび慢性微細脂肪変性 	<ul style="list-style-type: none"> 異常精子(主に頭部の異常)数増加 	<ul style="list-style-type: none"> 副腎束状帯のび慢性微細脂肪変性 卵巣間質細胞空胞化及び肥大
	5(雄)/20(雌) ppm	毒性所見なし	毒性所見なし	毒性所見なし	毒性所見なし
児動物	15(雄)/300(雌) ppm	<ul style="list-style-type: none"> 生存児数(出生時及び哺育期)減少 体重増加抑制 	<ul style="list-style-type: none"> 生存児数(出生時及び哺育期)減少 体重増加抑制 脾、胸腺及び卵巣絶対及び比重量減少 	<ul style="list-style-type: none"> 生存児数(出生時及び哺育期)減少 体重増加抑制 脾、胸腺及び精巣絶対及び比重量減少 	<ul style="list-style-type: none"> 生存児数(出生時及び哺育期)減少 体重増加抑制 脾及び胸腺絶対及び比重量減少
	10(雄)/50(雌) ppm 以上	脾及び精巣絶対及び比重量減少	50 ppm 以下 毒性所見なし	10 ppm 以下 毒性所見なし	50 ppm 以下 毒性所見なし
	5(雄)/20(雌) ppm	5 ppm 毒性所見なし			

(3) 3 世代繁殖試験 (ラット) <参考資料>

SD ラット (一群雌雄各 23~27 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、0.063、0.2 及び 0.632 mg/kg 体重/日) 投与による 3 世代繁殖試験が実施された。

本試験において、0.632 mg/kg 体重/日投与群で出産率の低下が認められたが、出産時に暖房装置の故障で温度の急激な低下を起し、児動物に悪影響を及ぼしたことが考えられたことから、食品安全委員会は、本試験を評価に用いることは不適切であると判断した。(参照 10)

(4) 発生毒性試験 (ラット)

SD ラット (一群雌 26 匹) の妊娠 6~15 日に強制経口 (原体 : 0、2.2、35 及び 140 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。

140 mg/kg 体重/日投与群の母動物 1 匹が切迫と殺され、剖検では副腎の中等度の肥大及び胃粘膜の褪色がみられた。

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、140 mg/kg 体重/日投与群の母動物で赤血球 ChE 活性阻害 (20%以上) 等、胎児で低体重等が認められたので、無毒性量は母動物及び胎児で 35 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 10)

表 29 発生毒性試験 (ラット) で認められた毒性所見

投与群	母動物	胎児
140 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> ・流涎 ・体重体重増加抑制 ・摂餌量減少 ・赤血球 ChE 活性阻害 (20%以上) 	<ul style="list-style-type: none"> ・早期及び中期吸収胚数増加 ・生存胎児数減少 ・低体重 ・外表、内臓及び骨格変異増加
35 mg/kg 体重/日 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

(5) 発生毒性試験 (マウス) <参考資料⁴>

ICR マウス (一群雌 10~20 匹) の妊娠 6~18 日 (帝王切開日) 又は妊娠 6 日~分娩日に混餌 (原体: 0、53 及び 160 ppm: 平均検体摂取量は表 30 参照) 投与して発生毒性試験が実施された。

表 30 発生毒性試験 (マウス) の平均検体摂取量

投与群	53 ppm	160 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	8	24

母動物、妊娠 18 日の胎児及び自然分娩させた新生児のいずれにおいても毒性所見は認められなかった。(参照 10)

(6) 発生毒性試験 (ウサギ)

NZW ウサギ (一群雌 16~17 匹) の妊娠 7~19 日に強制経口 (原体: 0、2、20 及び 200 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。

各投与群で認められた毒性所見は表 31 に示されている。

母動物では、20 mg/kg 体重/日投与群の 1 匹が死亡したが、死因は不明であった。本試験において、200 mg/kg 体重/日投与群の母動物で体重増加抑制等、胎児で骨格変異である胸骨分節の不完全骨化等が認められたので、無毒性量は母動物及び胎児とも 20 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 10)

⁴ 本試験は、供試動物数が少ないこと、投与群が 2 群しか設けられていないこと及び最高用量が低いために親動物・胎児に毒性がみられないことから適切な評価ができないため参考資料とした。

表 31 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
200 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> ・流産（4 例） ・体重増加抑制 ・肝絶対及び比重量増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・胸骨分節不完全骨化[§] ・第 15 肋骨短小化[§]
20 mg/kg 体重/日 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

[§] 統計学的有意差はないが毒性影響と判断した。

(7) 発達神経毒性試験（ラット）

SD ラット（一群雌 30 匹）の妊娠 7 日～哺育 11 日に混餌（原体：0、20、75 及び 300 ppm：平均検体摂取量は表 32 参照）投与して発達神経毒性試験が実施された。

表 32 発達神経毒性試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群		20 ppm	75 ppm	300 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	妊娠期間	1.8	6.9	26.1
	哺育期間	2.7	10.0	36.1

対照群、20 及び 75 ppm 投与群の各 1 匹が死産したため、妊娠 23～24 日にと殺された。

各投与群で認められた毒性所見は表 33 に示されている。

児動物で認められた毒性所見は試験初期に最も顕著であり、試験終了時に回復していたことから、これらの影響が可逆性であり、発育分化の遅延を表していることが示唆された。剖検及び病理組織学的検査では検体投与の影響は認められなかった。

本試験において、300 ppm 投与群の母動物で体重増加抑制及び摂餌量減少、児動物で驚愕時振幅の低下等が認められたので、無毒性量は母動物及び児動物とも 75 ppm (6.9 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 10)

(膣開口遅延の発生機序に関しては [14. (2)] 参照。)

表 33 発達神経毒性試験（ラット）で認められた毒性所見

投与群	母動物	児動物	
		雄	雌
300 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制及び摂餌量減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・包皮分離遅延 ・驚愕時振幅の低下及び最大振幅までの時間延長 ・脳絶対重量減少 ・脳の長さ減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・膣開口遅延 ・驚愕時振幅の低下及び最大振幅までの時間延長 ・脳絶対及び補正重量減少 ・脳の長さ及び幅減少

		・脳の形態計測値の減少 (海馬及び小脳領域)	・脳の形態計測値の減少 (海馬及び小脳領域)
75 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし	毒性所見なし

13. 遺伝毒性試験

モリネート（原体）の細菌を用いた DNA 修復試験及び復帰突然変異試験、マウスリンフォーマ TK 試験、マウス白血病細胞を用いた染色体異常試験及び姉妹染色分体交換試験、ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験、ラット肝細胞を用いた UDS 試験、マウス及び細菌を用いた復帰突然変異試験（宿主経由試験）、マウス骨髄細胞を用いた *in vivo* 小核試験が実施された。結果は表 34 に示されている。

マウスリンフォーマ TK 試験の代謝活性化系存在下で弱い陽性の結果が得られたが、*in vivo* におけるマウスの小核試験を含め、その他の試験では全て陰性であったことから、生体において特に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 10）

表 34 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> (H17, M45 株)	200~20,000 µg/7° ^イ	陰性
	復帰突然変異試験①	<i>Salmonella typhimurium</i> (TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538 株)	10~3,000 µg/7° ^レ ト (+/-S9)	陰性
		<i>Escherichia coli</i> (WP2 <i>hcr</i> 株)		
	復帰突然変異試験②	<i>S. typhimurium</i> (TA98, TA100, TA1538 株)	1.6~5,000 µg/7° ^レ ト (+/-S9)	陰性
		<i>S. typhimurium</i> (TA1535, TA1537 株)	1.6~5,000 µg/7° ^レ ト (-S9) 0.032~5,000 µg/7° ^レ ト (+S9)	陰性
	遺伝子突然変異試験	L5178Y マウスリンパ腫細胞 (TK+/-)	0.0125~0.28 µg/mL (-S9) 0.01~0.10 µg/mL (+S9)	+S9 で 弱い陽性
	染色体異常試験①	L5178Y-3.7.2 マウス白血病細胞	1.33~21.3 µg/mL (-S9)	陰性
			2.66~42.5 µg/mL (+S9)	
	染色体異常試験②	ヒトリンパ球	24~190 µg/mL (+/-S9)	陰性
姉妹染色分体交換試験	L5178Y-3.7.2 マウス白血病細胞	1.33~21.3 µg/mL (-S9)	陰性	
		2.66~42.5 µg/mL (+S9)		
UDS 試験	SD ラット肝細胞	0.00187~18.7 µg/mL	陰性	
宿主経由	マウス(系統不明) <i>S. typhimurium</i> (G46 株、腹腔内投与)	30, 100 mg/kg 体重 (2 回経口投与)	陰性	
<i>in vivo</i>	小核試験	B6C3F ₁ マウス(骨髄細胞) (一群雌雄各 5 匹)	雄 : 200, 400, 600 mg/kg 体重 雌 : 100, 200, 400 mg/kg 体重 (単回経口投与)	陰性

+/-S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下

14. その他の試験

(1) 雄ラットの腎腫瘍の発生機序検討試験

ラットを用いた2年間慢性毒性/発がん性併合試験② [11. (3)] において、最高用量の雄ラットで低頻度ではあるが腎腫瘍（腎細胞腺腫及び腎細胞癌）が認められた。本試験は、この腎腫瘍が α_{2u} -Glob を伴うげっ歯類特有のメカニズムによるものかを検討するために実施された。

SD ラット（一群雄8匹）にモリネート（原体：0、10及び50⁵ mg/kg 体重/日、溶媒：コーン油）及び陽性対照のTMP（20及び50 mg/kg 体重/日、溶媒：コーン油）を、90又は28日間強制経口投与し、腎臓への影響が検討された。

モリネート投与群では、好塩基性尿細管及びBrdU免疫染色による近位尿細管曲部の細胞増殖（28日試験では有意、90日試験では増加傾向）が確認されたが、 α_{2u} -Glob 量に検体投与の影響は認められなかった。一方、TMP投与群では、硝子滴の増加、皮髄境界部の顆粒円柱、好塩基尿細管、 α_{2u} -Glob の用量相関的な増加、BrdU染色による近位尿細管曲部の細胞増殖（対照群の2~3倍以上の有意な増加）が認められた。

以上より、モリネート投与による α_{2u} -Glob の増加は認められなかった。また、近位尿細管曲部における細胞増殖が増加したが、得られた各毒性試験結果から、尿細管傷害は認められなかった。したがって、高用量群に認められた腎腫瘍増加の原因については不明であった。（参照10）

(2) ラットの児動物における膈開口評価試験（ラット）

ラットを用いた2世代繁殖試験② [12. (2)] 及びラットを用いた発達神経毒性試験 [12. (7)] において、モリネートの300 ppm 投与群では児動物に膈開口の遅延が認められた。膈開口遅延の回復を検討する目的で、ラットの生後28日目に安息香酸エストラジオールを単回投与する試験が実施された。

SD ラットに、母動物（一群雌各20匹）には妊娠7日から児動物の離乳時（児動物22日齢）まで、児動物（一群雌雄各40匹）には離乳時（22日齢）から膈開口が認められるまで（30~48日齢）、モリネートを0及び300 ppm の濃度で混餌投与し、さらに児動物（28日齢時）の半数には0.5 μ g/mL の安息香酸エストラジオールを単回皮下投与（投与量の記載なし）した。児動物の群設定は表35に示されている。

⁵ 90日間試験開始当初は100 mg/kg 体重/日であったが、投与開始後3日以内に体重及び摂餌量が激減し、また、1匹は下肢に異常をきたし切迫と殺されたため、3日間投与を中止後、投与量を50 mg/kg 体重/日に減少して再開された。

表 35 児動物の群設定

群番号	モリネート (混餌投与)	安息香酸エストラジオール (単回皮下投与)	動物数
I 群	0 ppm	投与せず	40
II 群	0 ppm	0.5 µg/mL	40
III 群	300 ppm	投与せず	40
IV 群	300 ppm	0.5 µg/mL	40

I 群では、児動物の膣開口平均日は他の試験でみられた同系ラットの膣開口日と差がなかった。II 群の児動物では膣開口日が約 3 日早まった。III 群の児動物では、膣開口平均日は対照群に比較して遅延した。IV 群の児動物の膣開口日は第 III 群よりも約 6 日早まった。

以上の結果から、親動物への検体投与によってみられる児動物の膣開口遅延は、児動物に安息香酸エストラジオールを投与することによって回復することが示された。このことから、検体投与による膣開口の遅延は、この発達段階におけるエストロゲンの欠如によるものと考えられた。(参照 10)

(3) ラットの卵巣、副腎及び精巣に及ぼす形態学的影響

本試験は、モリネート投与による繁殖毒性の標的臓器を明らかにし、この作用の動物種間差の理由を説明する目的で実施された。

SD ラットの雌（一群 5 匹）に 7 日間強制経口（原体：0、10、40、100 及び 150 mg/kg 体重/日、溶媒：コーン油）又は雄（一群 15 匹）に 35 日間強制経口（原体：0、10、30 及び 60 mg/kg 体重/日）投与して、ラットの卵巣、副腎及び精巣に及ぼす形態学的影響について検討された。

雌では、100 mg/kg 体重/日以上投与群で副腎皮質及び卵巣間質細胞に脂質の蓄積及び肥大が認められた。10 及び 40 mg/kg 体重/日投与群の副腎及び卵巣には形態学的変化は認められなかった。

雄では、30 mg/kg 体重/日以上投与群の精巣で精細管萎縮、変性、多核精子細胞の形成及びセルトリ細胞の細胞質空胞化が認められた。精巣上体では、精細管管腔中に成熟精子が認められず、多数の円形及び多核精子細胞が認められた。精子は、頭部と尾部が分離したものが多く、モリネート投与動物から採取した精子に特徴的な鏡検所見である背面彎曲頭部の他に、頭部尾部結合部分近くの膜が破裂しマイクロフィラメントの膜外突出が認められた。これらの所見は用量相関的に重篤化していた。

以上より、モリネートの標的臓器は卵巣、副腎及び精巣であると考えられた。(参照 10)

(4) 雄ラットの繁殖能に及ぼす影響に関する検討試験①

ラットを用いた毒性試験では、雌雄ともに生殖器に対して種々の影響がみられ、繁殖能への影響が認められた。雄ラットの繁殖能に及ぼすモリネートの影響作用を解明するため、モリネート及び4種類の代謝物(4-M1、M3、M5及びM6)を用いた試験が実施された。

① 血漿及び精巣間質液中のテストステロン濃度に及ぼす影響

SDラット(一群雄6匹)に、コーン油に溶解したモリネート、代謝物4-M1、M3、M5及びM6を単回経口又は腹腔内投与し、投与2、6及び24時間後における血漿及び精巣間質液中のステロイドホルモン濃度が測定された。

モリネートを50、100及び200 mg/kg体重で経口投与した群では、血漿及び精巣間質液中のテストステロン濃度が用量依存的かつ経時的に低下した。特に投与6時間後までの低下が著しかったが、その後、血漿中テストステロン濃度は回復する傾向がみられた。

モリネートを40 mg/kg体重又はM3を10及び20 mg/kg体重で腹腔内投与した群では、血漿及び精巣間質液中のテストステロン濃度の顕著な低下が認められた。

4-M1、M5及びM6を腹腔内投与した群では、最高用量の10 mg/kg体重投与群でも血漿及び精巣間質液中のテストステロン濃度に影響はみられなかった。(参照10)

② 精子の形態に及ぼす影響

SDラット(雄)に、コーン油に溶解したモリネート(40及び140 mg/kg体重)、M3(10及び20 mg/kg体重)、4-M1、M5及びM6(それぞれ10 mg/kg体重)を注入した浸透ミニポンプを7日間皮下に埋設し、埋設日から28日後に精巣及び精巣上体を摘出して精子の形態が観察された。

モリネートを140 mg/kg体重で投与した群に精細管萎縮が認められた。その他の投与群では、精巣及び精巣上体に特記すべき所見は認められなかった。また、モリネート投与群及びM3投与群に精子頭部の後方屈曲がみられたが、その他の投与群の精子には異常は認められなかった。(参照10)

③ ライディッヒ細胞中のエステル加水分解に及ぼす影響 (*in vivo*)

SDラット(雄)に、コーン油に溶解したモリネート(10、40、100及び150 mg/kg体重)を7日間経口投与し、精巣中のカルボキシエステラーゼの確認が行われた。

モリネートを40 mg/kg体重で投与した群では、精巣ライディッヒ細胞中のエステラーゼ活性の低下が最終投与6時間後にみられ、24時間後にはある程度回復し、48時間後にはほとんど回復した。(参照10)

④ ライディッヒ細胞中のエステル加水分解に及ぼす影響 (*in vitro*)

1×10⁷ 個/mL に調製したライディッヒ細胞液に、リン酸カリウム緩衝液で希釈したモリネート、M3 及び M5 を加えて 5 分間培養し、エステル加水分解に及ぼす影響について検討された。

名目上 50% 活性阻害濃度 (IC₅₀) は、モリネートで 4 µM 超、M3 で 2.5 µM、M5 で 25 pM であり、M5、M3、モリネートの順でエステル加水分解阻害作用が大きかった。(参照 10)

⑤ ³H-モリネートの精巣内局在試験

SD ラット (雄) に、コーン油に溶解した ³H-モリネート (標識位置不明) を 40 mg/kg 体重で単回経口投与し、オートラジオグラフィで放射性標識物の存在の確認が行われた。

³H-モリネートから生成した化合物はライディッヒ細胞内に集積し、48 時間以上滞留していることが示された。(参照 10)

(5) 雄ラットの繁殖能に及ぼす影響に関する検討試験②

① 受精能力に対する検討試験<参考資料⁶>

SD ラット (一群雄 10~20 匹) にモリネートを 9 日間混餌した後に、交配期間中の 5 日間は強制経口 (原体: 0、0.2、1.0 及び 5.0 mg/kg 体重/日: 試験設計は表 36 参照) 投与した。各群 10 匹の雄を同系の雌 2 匹と交配させ、雄の受精能力について検討された。

IV 群のうち、2 週間回復群の雄との交配で妊娠した雌では、着床数、吸収胚数及び生存胎児数の減少がみられた。同じ IV 群の 4 週間回復群ではこれらの影響はみられなかったが、この群の雄では、統計学的有意差はないものの、精子の生存率低下、異常率及び精子凝集の増加が認められた。VI 群においても、精子の生存率低下、異常率及び精子凝集の増加が認められ、特に精子異常率は統計学的に有意であったが、対照群である V 群とともに交尾率が低下し、出産雌数が減少したため、これ以上の評価はできなかった。原因は不明であった。(参照 10)

⁶ 本試験は試験設計が変則であり、対照群での交尾率低下、投与量のミス等により十分な評価ができないため参考資料とした。

表 36 雄の受精能力に対する検討試験の試験設計

試験群	動物数 (匹)	投与量 (mg/kg 体重/日)	投与方法	
			生育期間 (9 日間)	交配期間 (5 日間)
I 群 ³⁾	20	対照 (コーン油 : 10)	強制経口	強制経口
II 群	10	0.2	混餌	強制経口 ¹⁾
III 群	10	1.0	混餌	強制経口 ¹⁾
IV 群 ³⁾	20	5.0	混餌	強制経口 ^{1) 2)}
V 群	10	対照 (基礎飼料のみ)	—	—
VI 群	10	5.0	混餌	混餌

¹⁾ 溶媒にはコーン油が用いられた。

²⁾ 交配期間中の投与量はミスにより 2.0 mg/kg 体重/日であった。

³⁾ 10 匹は 14 日間の投与後、2 及び 4 週間の回復期間を設けた後に交配し、回復群とした。

② 血漿及び精巣間質液中のステロイドホルモン濃度に及ぼす影響 (*in vivo*)

SD ラット (一群雄 6 匹) に、コーン油に溶解したモリネートを単回経口 (0、50、100 及び 200 mg/kg 体重) 若しくは単回腹腔内 (40 mg/kg 体重) 投与、又は代謝物 4-M1 (1、5 及び 10 mg/kg 体重)、M3 (1、10 及び 20 mg/kg 体重)、M5 (1、2、5 及び 10 mg/kg 体重) 若しくは M6 (5 及び 40 mg/kg 体重) を単回腹腔内投与し、血漿中及び精巣間質液中のステロイド濃度に及ぼす影響について検討された。

投与 6 時間後における各ホルモン濃度の変化は表 37 に示されている。

モリネート及び M3 投与により、血漿中のテストステロン及びアンドロステンジオン、精巣間質液中のテストステロン、アンドロステンジオン、17 α -ヒドロキシプロゲステロン (17OHP) 及びプロゲステロン濃度が低下したが、血漿中 17OHP、プロゲステロン及び Chol⁷⁾は低下しなかった。これらの作用は、モリネートよりも M3 の方が強かった。M5 投与では、精巣間質液中のテストステロン及び 17OHP が低下したが、それ以外は低下しなかった。4-M1 投与では、いずれの項目にも影響はみられなかった。M6 投与では、精巣間質液の 17OHP 及び Chol 以外の濃度が低下したが、M3 よりも弱い作用であった。

以上より、モリネート投与後に生じるステロイド産生阻害を誘発する主要因は M3 であり、モリネートの硫黄の酸化がこの作用に必須であることが示唆された。また、この阻害作用は、ステロイド産生経路におけるプロゲステロン合成前の段階で生じることが示され、モリネート投与によって生じた雄ラットの繁殖障害に関連すると考えられた。(参照 10)

⁷⁾ Chol は血漿中のみ測定。

表 37 投与 6 時間後における各ホルモン濃度の変化

検査部位		血漿			精巣間質液			
モリ ネート (経口)	投与量 (mg/kg 体重)	50	100	200	50	100	200	
	テストステロン	37	3	71	21	11	37	
	アンドロステンジオン	9	5	10	8	9	9	
	17OHP	177	123	183	38	25	26	
	プロゲステロン	49	95	319	36	32	33	
	Chol	100	113	115				
モリ ネート (腹腔内)	投与量 (mg/kg 体重)	40				40		
	テストステロン	2				13		
	アンドロステンジオン	5				10		
	17OHP	97				19		
	プロゲステロン	100				26		
	Chol	111						
4-M1 (腹腔内)	投与量 (mg/kg 体重)	1	5	10	1	5	10	
	テストステロン	55	55	68	81	60	80	
	アンドロステンジオン	51	79	70	145	85	141	
	17OHP	59	47	94	113	68	96	
	プロゲステロン	49	49	119	112	76	90	
	Chol	91	99	95				
M3 (腹腔内)	投与量 (mg/kg 体重)	1	10	20	1	10	20	
	テストステロン	57	2	3	56	10	12	
	アンドロステンジオン	85	6	5	27	6	4	
	17OHP	60	136	140	109	21	22	
	プロゲステロン	113	182	196	77	25	28	
	Chol	104	107	111				
M5 (腹腔内)	投与量 (mg/kg 体重)	1	5	10	1	5	10	
	テストステロン	51	50	87	84	84	42	
	アンドロステンジオン	59	69	111	65	144	124	
	17OHP	71	117	216	21	22	19	
	プロゲステロン	73	123	177	87	99	102	
	Chol	109	97	93				
M6 (腹腔内)	投与量 (mg/kg 体重)	5	40				5	40
	テストステロン	54	19				73	15
	アンドロステンジオン	40	28				160	51
	17OHP	40	30				109	182
	プロゲステロン	32	83				101	29
	Chol	90	102					

注) 表中の数値 (投与量を除く。) は対照群を 100 とした値。

③ ライディッヒ細胞における作用機序 (*in vitro*)

SD ラットの精巣から単離したライディッヒ細胞に、モリネート、代謝物 M3 及び M5 を添加して、ステロイドホルモン産生に及ぼす影響について検討された。

ライディッヒ細胞培養液へのモリネート及び M3 (いずれも 400 μ M) の添加により、テストステロン産生が低下した。その程度は M3 の方が顕著であった。

さらに、テストステロンの前駆体である種々のステロイド (1~100 ng/mL) を添加し、テストステロン産生量をステロイド添加の有無によって比較すると、プレグネノロン、プロゲステロン、17OHP 及びアンドロステンジオンの添加では添加量に依存して増加したが、22-ヒドロキシコレステロール添加では僅かに増加し、オレイン酸コレステロールの添加では増加しなかった。

また、ライディッヒ細胞培養液に、モリネート (3.125~400 μ M)、M3 (0.008~10 μ M) 及び M5 (0.30~50 μ M) を添加し、コレステロールエステラーゼ (CholE) 活性を測定した結果、モリネート添加では僅かな阻害であったが、M3 及び M5 添加では顕著に阻害された。

以上より、モリネート及び M3 によるテストステロン合成阻害はプロゲステロン産生の前の段階であることが示され、その主要因は、M3 (及び M5) によるライディッヒ細胞の CholE 活性阻害に起因することが示唆された。(参照 10)

④ 精巣及び精子形態への影響

SD ラット (一群雄 3~5 匹) に、モリネート (原体: 40 及び 140 mg/kg 体重/日、溶媒: コーン油)、M3 (10 及び 20 mg/kg 体重/日)、4-M1 及び M6 (それぞれ 10 mg/kg 体重/日) を注入した浸透圧ミニポンプを皮下に埋設して 7 日間供給し、精巣及び精子形態への影響が調べられた。

投与による精巣重量への影響はなかった。モリネート及び M3 投与により、精子の脱離頭部、中片部異常及び尾部異常が高い割合で認められた。4-M1 及び M6 投与では影響はみられなかった。(参照 10)

⑤ 精巣エステラーゼ活性及びテストステロンに及ぼす影響

モリネートを 40 mg/kg 体重以上の用量で経口投与すると、血漿及び精巣間質液中テストステロン濃度のいずれもが減少した [14. (4)①及び(5)②] ことから、本試験では、SD ラット (一群雄 6 匹) に、より低用量のモリネート (原体: 6、12 及び 25 mg/kg 体重、溶媒: コーン油) を単回経口投与し、投与 6 時間後にと殺して、精巣エステラーゼ活性、血漿及び精巣間質液中テストステロン濃度が測定された。

投与 6 時間後における精巣エステラーゼ活性、血漿及び精巣間質液中テストステロン濃度は表 38 に示されている。

モリネート投与により、精巣エステラーゼ活性、血漿及び精巣間質液中テストステロン濃度の全てが用量相関的に大幅に減少した。本試験の結果から、精巣エステラーゼ活性の減少は血漿及び精巣間質液中のテストステロン値の減少と並行することが示された。(参照 10)

表 38 投与 6 時間後における精巢エステラーゼ活性及びテストステロン濃度 (平均値)

投与量 (mg/kg 体重)	0	6	12	25
精巢エステラーゼ活性 (nmol/min/mg タンパク)	596	61.7	56.0	24.3**
血漿中テストステロン濃度 (ng/kg)	4.65	1.58	0.461**	0.402**
精巢間質液中テストステロン濃度 (ng/kg)	665	457	229**	141**

** : p<0.01 (Dunnett 型の多重比較検定、両側)

⑥ 精巢に及ぼす影響

SD ラット (一群雄 20 匹) にモリネート (原体 : 0 及び 30 mg/kg 体重/日、溶媒 : コーン油) を最長 5 日間連続強制経口投与し、精巢組織に及ぼす影響について検討された。

血漿中のテストステロン、プロゲステロン、LH 及び FSH の濃度並びに精巢及び下垂体の組織には、検体投与に関連する変化は認められなかった。投与群の大部分の動物において、副腎束状帯脂肪空胞形成がみられた。(参照 10)

(6) 雌ラットの卵巣に及ぼす影響に関する検討試験

① 卵巣エステラーゼ活性に及ぼす影響

SD ラット (反復投与試験 : 一群雌 3 匹、単回投与試験 : 一群雌 10 匹) にモリネートを 7 日間反復強制経口 (原体 : 0、10、40、100 及び 150 mg/kg 体重、溶媒 : コーン油) 投与又は単回強制経口 (原体 : 0 及び 40 mg/kg 体重、溶媒 : コーン油) 投与して、卵巣エステラーゼ活性に及ぼす影響について検討された。

検体を投与された全動物で卵巣エステラーゼ活性が阻害され、投与量に応じて、対照群の 25~51%まで阻害された。モリネート投与により、ラットの精巢エステラーゼ活性が阻害されたのと同様、雌の卵巣エステラーゼ活性も阻害されることが示された。(参照 10)

② 卵巣間質細胞に及ぼす影響 (妊娠ラット)

SD ラット (一群雌 5 匹) の妊娠 7~20 日 (I 群とする) 又は妊娠 7 日~分娩後 28 日 (出産日は除く、II 群とする) にモリネートを強制経口 (原体 : 0 及び 30 mg/kg 体重/日、溶媒 : コーン油) 投与して、妊娠及び授乳期のラットの卵巣間質細胞に及ぼす影響について検討された。

I 群の検体投与群では、胎児数に検体投与による影響は認められなかった。病理組織学的検査 (卵巣、副腎、下垂体) では、全例に副腎皮質脂肪空胞形成が認められた。副腎皮質の変化は、皮質三層で同様の影響がみられ、これらの細胞は肥大し、その結果、類洞が消失していた。また、無数の空胞の存在により、細胞質は泡沫状を呈していた。また、卵巣間質細胞におけるごく軽度の脂肪空胞形成が 2 例に認められた。

II 群の検体投与群では、出産後 11 日に死亡 1 例（死因不明）、児動物の生存率低下、副腎皮質及び卵巣間質細胞における脂肪空胞形成が認められた。脂肪空胞形成により、卵巣間質細胞は肥大していた。卵胞及び黄体の発達は正常範囲内と考えられ、脂質量の増加は認められなかった。

いずれの群においても、血漿中エストラジオール及びプロゲステロン値には、検体投与による影響はみられなかった。（参照 10）

③ 卵巣間質細胞に及ぼす影響（非妊娠ラット）

SD ラット（一群雌 8 匹）にモリネートを 28 日間連続強制経口（原体：0 及び 30 mg/kg 体重/日、溶媒：コーン油）投与して、非妊娠ラットの卵巣間質細胞に及ぼす影響について検討された。

検体投与群において、体重増加抑制、副腎皮質及び卵巣間質細胞における脂肪空胞形成が認められた。副腎皮質及び卵巣間質細胞における変化は、妊娠ラットにおける試験 [14. (6) ②] と同様の变化であった。血漿中エストラジオール及びプロゲステロン値には、検体投与による影響はみられなかった。（参照 10）

(7) マウス、ウサギ、サル及びヒトにおける繁殖能への影響に関する検討試験

① 雄マウスの繁殖能への影響試験

投与開始前に妊性を確認した ICR マウス（一群雄 20 匹）に、モリネートを 1 日 1 回 7 週間強制経口（原体：0、2、20、100 及び 200 mg/kg 体重/日、溶媒：コーン油）投与し、投与開始 2、4 及び 6 週間後並びに 4 週間の回復期間終了後に各雄を 2 匹の未処置雌と交配し、雄の繁殖能について検討された。

いずれの投与群においても、交尾率には投与による影響は認められなかった。100 mg/kg 体重/日以上投与群で、雄の授胎率及び雌の受胎率の有意な低下、着床数又は生存胎児数の有意な減少が認められたが、回復期間終了後の交配ではいずれの指標にも有意差はみられなかった。精巣及び精巣上体の重量並びに精巣、精巣上体、甲状腺及び下垂体の病理組織学的所見には、検体投与による影響は認められなかった。（参照 10）

② 雄ウサギの繁殖能への影響試験①

投与開始前に妊性を確認した Dutch Belted ウサギ（一群雄 9～10 匹）に、モリネートを 1 日 1 回 6 週間カプセル経口（原体：0、2、20、100 及び 200 mg/kg 体重/日）投与し、投与開始 6 週間後及び 5 週間の回復期間終了後に各雄を 2 匹の未処置雌と交配し、雄の繁殖能について検討された。

検体投与に関連した死亡はなかった。各投与群の交尾率、雄の授胎率、雌の受胎率、産児数、児動物の体重、妊娠期間及び生存児数には検体投与による影響は認められなかった。また、精巣、甲状腺、副腎及び下垂体の重量及び病理組織学的所見にも検体投与に関連した変化は認められなかった。（参照 10）

③ 雄ウサギの繁殖能への影響試験②<参考資料⁸>

NZW ウサギ（一群雄 10 匹）に、モリネートを 1 日 1 回 8 週間強制経口（原体：0、10、100 及び 200 mg/kg 体重/日）投与し、投与開始前及び投与 4 週目に未処置雌に人工授精して、雄の繁殖能について検討された。なお、当初 12 週間の投与期間が予定されていたが、100 及び 200 mg/kg 体重/日投与群で多数の死亡が認められたため、投与期間が 8 週間に変更された。

200 及び 100 mg/kg 体重/日投与群の雄では、それぞれ 6 及び 4 例が死亡又は瀕死状態のため切迫と殺されたが、死因については解明されなかった。100 mg/kg 体重/日投与群の投与 4 週目の交配で、着床前胚損失率の有意な増加及び生存胎児数の有意な減少がみられた。しかし、同群の雄では多数の死亡又は切迫と殺動物がみられたため、検体の繁殖能に対する影響について適切な評価ができなかった。（参照 10）

④ 雄ウサギの繁殖能への影響試験③<参考資料⁹>

本試験は前述の雄ウサギの繁殖能への影響試験② [14. (7) ③] で多数の死亡又は切迫と殺動物がみられ、適切な評価ができなかったため実施された。

NZW ウサギ（一群雄 10 匹）に、モリネートを 1 日 1 回 12 週間強制経口（原体：0、10、100 及び 200 mg/kg 体重/日）投与し、投与開始 1 週間前、投与 4、8 及び 12 週目に未処置雌に人工授精して、雄の繁殖能について検討された。

200 及び 100 mg/kg 体重/日投与群の雄では、それぞれ 5 及び 2 例が死亡又は切迫と殺され、そのうち 200 mg/kg 体重/日投与群の死亡 2 例及び 100 mg/kg 体重/日投与群の切迫と殺 1 例は検体投与によるものと考えられたが、死因については解明されなかった。それ以外の動物は誤投与又は骨折により切迫と殺された。200 mg/kg 体重/日投与群の投与 12 週目の交配で、着床前胚損失率の増加及び生存胎児数の減少が認められた。しかし、同群では検査雌数が少なく、雄の死亡率が高かったため、検体の繁殖能に対する影響について適切な評価ができなかった。（参照 10）

⑤ 雄ウサギの繁殖能への影響試験④

本試験は前述の雄ウサギの繁殖能への影響試験②及び③ [14. (7) ③及び④] において、多数の死亡、低い妊娠率のため適切な評価ができなかったことから実施された。

NZW ウサギ（一群雄 15 匹）に、モリネートを 1 日 1 回 13 週間強制経口（原

⁸ 本試験では 100 mg/kg 体重/日以上投与群の雄で多数の死亡又は切迫と殺動物がみられたため適切な評価ができなかったことから参考資料とした。

⁹ 本試験では 200 mg/kg 体重/日投与群における検査雌数が少なく、雄の死亡率が高かったため適切な評価ができなかったことから参考資料とした。

体：0、40、80 及び 160/120¹⁰ mg/kg 体重/日) 投与し、投与開始 7 週間前、投与 5、9 及び 13 週目に未処置雌に人工授精して、雄の繁殖能について検討された。なお、投与は原則として 1 日 1 回としたが、投与当日の摂餌量に顕著な減少が認められた場合は投与を休止し、摂餌量が回復してから投与を再開した。雄 1 例当たりの最大投与休止日数は、0、40、80 及び 160/120 mg/kg 体重/日投与群でそれぞれ 5、16、13 及び 12 日であった。

160/120 及び 80 mg/kg 体重/日投与群の雄では、それぞれ 3 及び 2 例が死亡し、160/120 及び 40 mg/kg 体重/日投与群の雄では各 1 例が瀕死状態により切迫と殺された。これらは検体投与に関連した死亡であり、160/120 及び 80 mg/kg 体重/日は最大耐量を超える用量であると考えられた。

160/120 及び 80 mg/kg 体重/日投与群では、精子頭部の染色異常の発生率増加がみられたが、繁殖能に関する指標との相関は認められなかった。

いずれの投与群においても、繁殖能に関する各指標、精子検査結果、精巣及び精巣上体の重量、剖検所見には検体投与による影響は認められなかった。(参照 10)

⑥ サルにおける精子形態評価試験

カニクイザル(一群雄 10 匹)に、モリネートを 1 日 1 回 12 週間強制経口(原体：0、0.2、10 及び 50 mg/kg 体重/日)投与し、投与開始前、投与 4、8 及び 12 週に精液を採取して、精子検査が実施された。また、投与開始前、投与 4 及び 11 週に血液を採取して赤血球 AChE が、剖検時には脳 AChE が測定された。

いずれの投与群においても、射出精液量、精子数及び精子形態には検体投与による影響は認められなかった。精巣上体、前立腺、精囊及び精巣の重量にも変化はみられず、これらの組織に、検体投与に関連すると考えられる病理組織学的変化は認められなかった。

AChE の測定では、10 mg/kg 体重/日以上投与群で、投与 11 週に赤血球 AChE 活性の有意な低下(20%以上)が認められた。(参照 10)

⑦ ヒト男性の生殖能に関する疫学的評価

モリネート原体及び製剤製造工場(3 工場)の男性従業員を対象として、精子検査、血清中ホルモン(FSH、LH 及びテストステロン)濃度の測定並びに家族歴及び生殖能に関するアンケート調査が実施された。

各工場の従業員におけるモリネートの平均推定暴露量は表 39 に示されている。

いずれの工場の男性従業員においても、精子及び血清中ホルモン濃度のパラメータへのモリネート暴露の影響は認められなかった。また、従業員の妻の出産率

¹⁰ 160 mg/kg 体重/日投与群で多数の死亡が認められたため、投与 5 週目から用量を 120 mg/kg 体重/日に引き下げられた。

及び出産の季節性パターンに関する調査結果から、モリネートの影響は示唆されなかった。(参照 10)

表 39 各工場の従業員におけるモリネートの平均推定暴露量 ($\mu\text{g}/\text{M}^3 \times \text{時間}$)

調査期間	1	2	3	4
工場 1	製造期間 (4)	製造期間 (4)	休止期間 (5)	製造期間 (6)
	870	17,610	2,139	2,459
工場 2	製造期間 (7)	休止期間 (5)	製造期間 (6)	休止期間 (4)
	3,864	1,637	7,451	633
工場 3	製造期間 (8)	休止期間 (6)	製造期間 (5)	休止期間 (6)
	7,932	291	10,878	133

注) 調査期間は 1980 年～1982 年、()内の数値は月数

(8) モリネートの代謝に関する検討試験

① ラットにおける硫黄原子の酸化による代謝試験

ラットを用いた動物体内運命試験 [1. (3)] において、モリネートの主要代謝経路は、硫黄原子の酸化、アゼピン環の水酸化及びチオカーバメートの開裂であった。本試験は、種々の投与量において、硫黄原子の酸化によるモリネートの代謝割合を明らかにする目的で実施された。

SD ラット (一群雄 1～4 匹) にモリネートを単回強制経口 (原体: 1, 16, 40 及び 200 mg/kg 体重、溶媒: コーン油) 投与して、尿中代謝物が検討された。

その結果、投与後 24 時間で尿中に 38.4～50.3% TAR が排泄され、尿中から検出された 2 種のメルカプツール酸代謝物 (M10 及び M11) の合計は、1, 16, 40 及び 200 mg/kg 体重投与群でそれぞれ 17.6, 23.9, 25.5 及び 29.4% TRR であった。M10 及び M11 は硫黄の酸化により生成する代謝物であり、その生成量は硫黄の酸化によるモリネート代謝量の指標となり得る。ラットにおいては、投与量の増加に伴い硫黄原子の酸化による代謝量が増加することが示された。(参照 10)

② サルにおける動物体内運命試験

カニクイザル (一群雄 3 匹) に、[aze- ^{14}C]モリネートを 6 及び 60 mg/kg 体重の用量で単回経口投与又は 6 mg/kg 体重の用量で単回静脈内投与して、動物体内運命試験が実施された。

各投与群の尿及び糞中排泄率は表 40 に、60 mg/kg 体重経口投与群における尿中代謝物は表 41 に示されている。

排泄は速やかであり、主要排泄経路は尿中であった。

経口投与群の血中放射能濃度は投与後 1～2 時間でピークに達し、その後二相性の消失を示した ($T_{1/2}$: 第一相で 3 時間、第二相で 100～120 時間)。静脈内投与群においても同様に二相性の消失を示した ($T_{1/2}$: 第一相で 0.7 時間、第二

相で 90 時間)。

赤血球及び血漿中放射能濃度の測定の結果、いずれの投与経路においても血球成分への結合は示唆されなかった。

尿中から 8 種類の代謝物が同定され、モリネートの酸化によって生成する M1 及びその抱合体 (M14 及び M27) の合計は 42.6%TRR を占め、硫黄原子の酸化による M9 及び M10 の生成量は合計 21.9%TRR であった。(参照 10)

表 40 各投与群の尿及び糞中排泄率 (%TAR)

投与経路	経口投与				静脈内投与	
	6		60		6	
投与量 (mg/kg 体重)						
試料	尿	糞	尿	糞	尿	糞
投与後 24 時間	48.2	<0.1	79.0	0.2	87.4	<0.1
投与後 192 時間	50.5	0.5	81.2	1.8	95.8	1.2

表 41 60 mg/kg 体重経口投与群における尿中代謝物

尿中代謝物	4-M1	M6	M9	M10	M14 ^b	4-M14	3-M14	M15	4-M27	合計
%TRR ^a	0.3	0.7	11.7	10.2	1.9	33.3	4.7	3.2	2.4	67.7

^a 尿中総放射能を 100%TRR とした値

^b 水酸化の位置不明

③ ヒトにおける代謝試験

ラットを用いた動物体内運命試験 [1. (3)] で認められた尿中代謝物 M1 及び M10 が、ヒトへの暴露においても認められるかどうかを検討するため、ヒトボランティア (男性 6 名、18~55 歳、単一民族、体重 60~90 kg) にモリネートを 5 mg/人 (0.06~0.08 mg/kg 体重相当) で単回カプセル経口投与して代謝試験が実施された。

毒性徴候はみられなかった。尿中から M1 の抱合体が 22~49%TAR (平均 39%TAR)、M10 が 0.5~1.5%TAR (平均 0.9%TAR) 検出された。M1 の排泄は投与後 4 時間以内に最大となり、投与後 24 時間までにほぼ完了した。M10 は投与後 8 時間以内に最大となり、投与 24 時間後には検出されなかった。血漿中のモリネートは、投与 30 分後にのみ僅かに検出 (2~2.6 µg/L) された。(参照 10)

④ モリネートの代謝における動物種間比較

a. ラット、マウス、ウサギ及びビヌにおける代謝比較試験

SD ラット (雄、匹数不明) に [aze-¹⁴C]モリネートを 1、40 及び 200 mg/kg 体重で、ICR マウス、NZW ウサギ及びビーグル犬 (いずれも雄、匹数不明) に

[aze-¹⁴C]モリネートを 40 mg/kg 体重で単回強制経口（イヌではカプセル経口）投与して、代謝比較試験が実施された。また、SD ラットに[aze-¹⁴C]M3 を 40 mg/kg 体重で単回強制経口投与して、M3 の代謝試験が実施された。

40 mg/kg 体重のモリネートを投与した各動物の尿中代謝物は表 42 に、ラット及びマウスの組織中残留放射能濃度は表 43 に示されている。

投与された[aze-¹⁴C]モリネートは、全ての動物種においてより極性の高い物質に広範囲に代謝され、未変化のモリネートは検出されなかった。尿中代謝物の分析結果より、以下の 4 つの代謝経路、①硫黄原子の酸化、②*S*-エチルカルボニル側鎖の水酸化、③アゼピン環の水酸化、④チオカーバメートの開裂が考えられた。

ラットに[aze-¹⁴C]M3 を投与した結果、投与後 24 時間で 72%TAR が尿中に排泄された。尿中では 3 種類の代謝物、すなわち M10 (86%TRR)、M11 (9%TRR) 及び M11 のグルクロニド抱合体と推定される代謝物 (5%TRR) が検出された。

体内分布に関しては、ラット及びマウスで全血中放射能濃度に顕著な種差が認められた。ラットでは全血中放射能濃度が最も高く、血漿中濃度が低かったのに対して、マウスでは全血中放射能濃度は低かった。（参照 10）

表 42 40 mg/kg 体重のモリネートを投与した各動物の尿中代謝物 (%TAR)

代謝物	ラット	マウス	ウサギ	イヌ
4-M1	ND	1	4	ND
M6	18	9	5	14
抱合化 M6	15	14	ND	14
M9	ND	21	ND	26
M10	5	ND	2	7
4-M11	4	ND	5	ND
M12	ND	2	ND	10
4-M13	ND	ND	20	ND
4-M14	8	34	27	14
3-M14	1	1	6	ND
M14 ^a	7	3	ND	ND
M15	4	5	1	6
未同定合計	3	6	26	ND

^a : 水酸化の位置不明、ND : 未検出

表 43 ラット及びマウスの組織中残留放射能濃度 (nmol/g)

動物種	雄	雌
ラット	全血(53.8)、肝臓(44.7)、腎臓(30.2)、肺(19.2)、脾臓(15.2)、副腎(14.5)、心臓(12.7)、精巣(10.7)、脳(6.8)、カーカス(6.4)、腹部脂肪(5.7)、骨(3.8)、筋肉(3.7)、血漿(2.3)	全血(56.4)、肝臓(35.2)、腎臓(29.1)、肺(18.7)、脾臓(15.9)、副腎(15.8)、心臓(15.5)、卵巣(7.8)、脳(7.3)、カーカス(6.3)、腹部脂肪(3.9)、筋肉(3.8)、骨(3.0)、血漿(2.3)

マウス	肝臓(24.4)、副腎(12.9)、腎臓(8.8)、肺(7.5)、精巣(5.3)、心臓(4.0)、脾臓(3.2)、脳(2.3)、カーカス(2.3)、筋肉(2.1)、全血(1.6)	肝臓(44.2)、副腎(14.0)、腎臓(10.7)、肺(10.2)、心臓(5.2)、卵巣(4.2)、脾臓(3.8)、腹部脂肪(3.1)、カーカス(3.1)、全血(2.8)
-----	---	--

b. モリネートの代謝における動物種間比較

種々の哺乳動物を用いて実施された代謝試験 [14. (8) ②、③及び④. a] の結果に基づいて、モリネートの代謝における種差について検討された。

代謝経路を①硫黄原子の酸化、②炭素原子の酸化及び③チオカーバメートの開裂に区分し、代謝経路別に代謝物の生成量が推定された。結果は表 44 に示されている。

M3 の代謝生成経路である硫黄原子の酸化の割合は、ラット、マウス、イヌ及びサル (19~33% TAR) ではウサギ及びヒト (1~7% TAR) と比較して高いものであった。特にヒトでは、モリネートの主要代謝経路は炭素原子の酸化であり、硫黄原子の酸化は 0.5~1% TAR であった。(参照 10)

表 44 尿中代謝物の代謝経路別推定生成量 (%TAR)

主要代謝経路	ラット	マウス	ウサギ	イヌ	サル	ヒト
硫黄原子の酸化	29	21	7	33	19	1
炭素原子の酸化	32	50	63	36	43	39
チオカーバメートの開裂	33	23	5	28	1	未定量

III. 食品健康影響評価

参照に挙げた資料を用いて、農薬「モリネート」の食品健康影響評価を実施した。

¹⁴C で標識したモリネートを用いた動物体内運命試験の結果、ラットに投与されたモリネートは、主に尿中（69.2～82.7% TAR）に速やかに排泄されたが、体内では主に血液中に分布し、その大部分が血球画分に結合していることが示唆された。投与後 96 時間における体内吸収率は 74.6～77.9% と算出された。尿中の主要代謝物は M6、M10 及び 4-M14 であった。糞中の主要成分はモリネート、3-M1+4-M1、M6 及び M10 であった。

¹⁴C で標識したモリネートを用いた稲における植物体内運命試験の結果、主要代謝物は M6、4-M7 及び M15 であった。玄米において 10% TRR を超える代謝物は認められなかった。

水稻を用いて、モリネートを分析対象化合物とした作物残留試験が実施された。玄米では全ての試験で定量限界未満であり、稲わらにおける最大残留値は 0.060 mg/kg であった。また、魚介類における最大推定残留値は 0.488 mg/kg であった。

各種毒性試験結果から、モリネート投与による影響は、主に神経系（脱髄、変性等）、骨格筋（萎縮等）、卵巣（卵胞膜/間質細胞空胞化等）及び精巣（精細管萎縮等）に認められた。催奇形性及び生体において問題となる遺伝毒性は認められなかった。

モリネート投与により ChE 活性に対する阻害作用が認められ、供試動物に対する種々の神経毒性症状の発現に関与していることが示唆された。

発がん性試験において、ラットの雄で腎腫瘍及び精巣間細胞腫の発生頻度が増加したが、発生機序は遺伝毒性によるものとは考え難く、評価に当たり閾値を設定することは可能であると考えられた。

繁殖試験において、ラットで精子運動性低下、交配成功率低下等が認められた。機序検討試験の結果、雄の繁殖能への影響の主な原因物質は代謝物 M3 と考えられ、毒性の発生機序は Chol 代謝障害によるステロイド合成阻害であることが示唆された。

各種試験結果から、農産物及び魚介類中の暴露評価対象物質をモリネート（親化合物のみ）と設定した。

評価に用いた各評価機関の評価結果及び各試験における無毒性量等は表 45 に示されている。

ラットを用いた 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験②の雄において、最小毒性量 7 ppm で骨格筋の萎縮及び衛星細胞過形成の有意な増加が認められ、無毒性量が得られなかった。しかし、雄の最小毒性量でみられたこの変化は、大部分が軽微ないし軽度であり、中等度以上の病変の増加は高用量群のみに観察されたこと、7 ppm 投与群の雌では影響がみられず、無毒性量が得られていることから、雄の無毒性量は 7 ppm (0.3 mg/kg 体重/日) 近傍であると考えられた。

したがって、食品安全委員会は、各試験で得られた無毒性量のうち最小値が、ラ

ットを用いた2年間慢性毒性/発がん性併合試験①の5 ppm (0.21 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0.0021 mg/kg 体重/日をADIと設定した。

ADI	0.0021mg/kg 体重/日
(ADI 設定根拠資料)	慢性毒性/発がん性併合試験①
(動物種)	ラット
(期間)	2年間
(投与方法)	混餌
(無毒性量)	0.21 mg/kg 体重/日
(安全係数)	100

暴露量については、当評価結果を踏まえて暫定基準値の見直しを行う際に確認することとする。

表 45 各評価機関の評価結果及び各試験における無毒性量等

動物種	試験	投与量 (mg/kg体重/日)	無毒性量 (mg/kg体重/日) ①				参考 (農薬抄録)
			EU	米国	豪州 ²⁾	食品安全委員会	
ラット	90日間 亜急性 毒性試験①	0、35、70、140	E.U. 標的臓器：精巣、腎、 肝及び副腎	/	/	雄：35 雌：35	雄：35 雌：35
						雌雄：体重増加抑制等	雌雄：体重増加抑制等
	90日間 亜急性 毒性試験②	0、8、16、32	/	/	雄：8 雌：8	雄：8 雌：8	雄：8 雌：8
					雌雄：体重増加抑制 雌：卵巣間質細胞泡沫 空胞形成	雌雄：体重増加抑制 雌：卵巣間質細胞泡沫 空胞形成	雄：体重増加抑制 雌：卵巣間質細胞泡沫 空胞形成
90日間 亜急性 毒性試験③	0、450、900、 1,800 ppm 雄：0、32.9、68.7、 163 雌：0、39.9、81.2、 195	/	/	/	雄：32.9 雌：39.9	雄：32.9 雌：39.9	
					雌雄：体重増加抑制、精 巢萎縮等 雌：体重増加抑制等	雌雄：体重増加抑制、精 巢萎縮等 雌：体重増加抑制等	雄：体重増加抑制、精 巢萎縮等 雌：体重増加抑制等
90日間 亜急性神経 毒性試験	0、50、150、450 ppm 雄：0、4.0、11.7、 35.5 雌：0、4.5、13.9、 41.0	/	/	/	雄：11.7 雌：4.5	雄：35.5 雌：41.0	
					雌雄：脳及び赤血球 ChE 活性阻害 (20%以 上) 等	雌雄：脳及び赤血球 ChE 活性阻害、NTE 低下	雌雄：脳及び赤血球 ChE 活性阻害 (20%以 上) 等 (神経毒性は認められ ない)

無毒性量 (mg/kg 体重/日) 1)

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	EU	米国	豪州 ²⁾	食品安全委員会	参考 (農薬抄録)
	2年間 慢性毒性/ 発がん性 併合試験①	0、5、50、100、200 ppm				雄：0.21 雌：0.25	雄：0.21 雌：0.25
		雄：0、0.21、1.97、 3.90、7.90 雌：0、0.25、2.55、 5.13、10.5				雄：精細管萎縮等 雌：骨格筋の筋線維変 性等 (精巢間細胞腫増加)	雄：精細管萎縮等 雌：骨格筋の筋線維変 性等 (精巢間細胞腫増加)
	2年間 慢性毒性/ 発がん性 併合試験②	0、7、40、300、 (600) ppm	雄：— (LOAEL：0.3) 雌：0.4	雄：— (LOAEL：0.3) 雌：0.4	雄：— (LOAEL：0.3) 雌：0.4	雄：— (LOAEL：0.3) 雌：0.4	雄：— 雌：0.4
		雄：0、0.3、1.8、 13、(29) 雌：0、0.4、2.0、 15、(35)	雄：坐骨神経の変性/脱 髓等 雌：卵巣病変 (腎腫瘍)	雄：坐骨神経の変性/脱 髓等 雌：卵巣病変 (腎腫瘍)	雄：坐骨神経の変性/脱 髓等 雌：卵巣病変 (腎腫瘍)	雄：坐骨神経の変性/脱 髓等 雌：卵巣病変 (腎腫瘍)	雄：坐骨神経の変性/脱 髓等 雌：卵巣病変 (腎腫瘍)
	2世代 繁殖試験①	0、6、50、450 ppm		親動物、児動物及び繁 殖能 雌：0.34 (6 ppm)		親動物 P 雌：0.44 F ₁ 雌：0.44 児動物及び繁殖能 P 雌：3.7 F ₁ 雌：3.7	親動物 P 雌：0.44 F ₁ 雌：0.44 児動物及び繁殖能 P 雌：3.7 F ₁ 雌：3.7
		P 雌：0、0.44、3.7、 32 F ₁ 雌：0、0.44、 3.7、35					

無毒性量 (mg/kg体重/日) ①							
動物種	試験	投与量 (mg/kg体重/日)	EU	米国	豪州 ²⁾	食品安全委員会	参考 (農薬抄録)
		雄：0、5、10、15 ppm 雌：0、20、50、300 ppm	0.8 (10 ppm) 妊娠率低下	親動物、児動物及び繁殖能 雄：0.4 雌：1.9	親動物 P雄：0.4 P雌：1.9 F ₁ 雄：0.5 F ₁ 雌：2.2	親動物 P雄：0.4 P雌：1.9 F ₁ 雄：0.5 F ₁ 雌：2.2	親動物 P雄：0.4 P雌：1.9 F ₁ 雄：0.5 F ₁ 雌：2.2
		P雄：0、0.4、0.8、 1.3 P雌：0、1.9、4.7、 28.8 F ₁ 雄：0、0.5、1.1、 1.6 F ₁ 雌：0、2.2、5.6、 34.5		親動物 雄：異常精子数増加等 雌：卵巣及び副腎の顕微鏡的病変	児動物 P雄：0.4 P雌：4.7 F ₁ 雄：0.5 F ₁ 雌：5.6	児動物 P雄：0.4 P雌：4.7 F ₁ 雄：0.5 F ₁ 雌：5.6	児動物 P雄：0.4 P雌：4.7 F ₁ 雄：0.5 F ₁ 雌：5.6
	2世代 繁殖試験②			児動物 雄：精巣及び脾臓重量低下 雌：脳重量減少等 繁殖能 生産児数減少等	繁殖能 P雄：0.8 P雌：4.7 F ₁ 雄：1.1 F ₁ 雌：5.6	繁殖能 P雄：0.8 P雌：4.7 F ₁ 雄：1.1 F ₁ 雌：5.6	繁殖能 P雄：0.8 P雌：4.7 F ₁ 雄：1.1 F ₁ 雌：5.6
				親動物 雄：異常精子数増加等 雌：副腎束状帯のび漫性微細脂肪変性等	親動物 雄：異常精子数増加等 雌：副腎束状帯のび漫性微細脂肪変性等	親動物 雄：異常精子数増加等 雌：副腎束状帯のび漫性微細脂肪変性等	親動物 雄：異常精子数増加等 雌：副腎束状帯のび漫性微細脂肪変性等
				児動物 雄：脾及び精巣絶対及び比重量減少 雌：生存児数減少等	児動物 雄：脾及び精巣絶対及び比重量減少 雌：生存児数減少等	児動物 雄：脾及び精巣絶対及び比重量減少 雌：生存児数減少等	児動物 雄：脾及び精巣絶対及び比重量減少 雌：生存児数減少等

無毒性量 (mg/kg体重/日) 1)						
動物種	試験	投与量 (mg/kg体重/日)	EU	米国	豪州 ²⁾	食品安全委員会 参考 (農薬抄録)
	発生毒性 試験	0、2.2、35、140		母動物：35 発生：2.2 母動物：赤血球 ChE 活 性阻害等 発生：矮小児増加		母動物：35 胎児：35 母動物：赤血球 ChE 活性阻害 (20%以上) 等 胎児：低体重等 (催奇形性は認められ ない)
	発達神経 毒性試験	0、20、75、300 ppm 妊娠期間：0、1.8、 6.9、26.1 哺育期間：0、2.7、 10.0、36.1		母動物：6.9 発達神経毒性：－ (LOAEL：1.8) 母動物：体重及びびび餌 量低下 発達神経毒性：驚愕時 振幅の低下		母動物：6.9 児動物：6.9 母動物：体重増加抑制 及びびび餌量減少 児動物：驚愕時振幅の 低下等
マウス	90日間 亜急性 毒性試験	0、450、900、 1,800 ppm 雄：0、72.8、156、 241 雌：0、65.6、122、 252				雄：156 雌：122 雄：精巣萎縮等 雌：脾絶対及び比重量 増加等

		無毒性量 (mg/kg 体重/日) 1)					
動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	EU	米国	豪州 2)	食品安全委員会	参考 (農薬抄録)
	18 か月間 発がん性 試験	0、10、100、 1,000、2,000 ppm	/	雄：1.0 雌：13.9 雄：精巣の変性 雌：坐骨神経の病変等 (発がん性は認められ ない)	/	雄：1.0 雌：13.9 雄：精巣の変性 雌：坐骨神経の脱髄等 (発がん性は認められ ない)	雄：1.0 雌：13.9 雄：精巣の変性 雌：坐骨神経の脱髄等 (発がん性は認められ ない)
		雄：0、1.0、10.4、 105、200 雌：0、1.3、13.9、 133、249					
ウサギ	発生毒性 試験	0、2、20、200	20 母体毒性がみられる用 量で胎児毒性 (催奇形性は認められ ない)	母動物：20 発生毒性：20 母動物：流産増加等 発生毒性：胸骨分節不 完全骨化	/	母動物：20 胎児：20 母動物：体重増加抑制 等 胎児：胸骨分節の不完 全骨化等 (催奇形性は認められ ない)	母動物：20 胎児：20 母動物：体重増加抑制 等 胎児：胸骨分節の不完 全骨化等 (催奇形性は認められ ない)
イヌ	90 日間 亜急性 毒性試験	0、450、900、 1,800 ppm	/	/	/	雄：30 雌：30 雌雄：BUN 増加等	雄：30 雌：30 雌雄：BUN 増加等
		雌雄：0、15、30、 60					
	1 年間 慢性毒性 試験	0、1、10、50、100	1 標的臓器：中枢神経系 及び赤血球	10 体重増加減少、貧血、 精液量減少、精子運動 率低下、副腎重量増加	/	雄：1 雌：1 雌雄：脾へモジデリン 沈着等	雄：1 雌：1 雌雄：脾へモジデリン 沈着等

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	無毒性量 (mg/kg 体重/日) ¹⁾				参考 (農薬抄録)
			EU	米国	豪州 ²⁾	食品安全委員会	
	ADI (cRfD)		NOAEL : 0.8 SF : 100 ADI : 0.008	LOAEL : 0.3 UF : 300 cRfD : 0.001	NOEL : 0.2 SF : 100 ADI : 0.002	NOAEL : 0.21 SF : 100 ADI : 0.0021	
	ADI 設定根拠資料		ラット繁殖試験	ラット2年間慢性毒性/ 発がん性併合試験	ラット3世代繁殖試験	ラット2年間慢性毒性/ 発がん性併合試験①	ラット2年間慢性毒性/ 発がん性併合試験①

ADI : 一日摂取許容量 cRfD : 慢性参照用量 SF : 安全係数 UF : 不確実係数 NOAEL : 無毒性量 LOAEL : 最小毒性量

— : 無毒性量は設定できない / : 記載なし

¹⁾ 無毒性量欄には、最小毒性量で認められた主な毒性所見を記した。

²⁾ 豪州資料では ADI のみを参照した。

<別紙1：代謝物/分解物略称>

略称	名称	化学名
M1 ¹⁾	ヒドロキシモリネート XV(4位)	S-ethyl hydroxyhexahydro-1 <i>H</i> -azepine-1-carbothioate
M2 ¹⁾	オキソモリネート 又は ケトモリネート	S-ethyl hexahydro-oxo-1 <i>H</i> -azepine-1-carbothioate
M3	モリネートスルホキシド	1-[(ethylsulfinyl)carbonyl]-hexahydro-1 <i>H</i> -azepine
M5	モリネートスルホン	1-[(ethylsulfonyl)carbonyl]-hexahydro-1 <i>H</i> -azepine
M6	ヘキサメチレンイミン I	Hexamethyleneimine
M7 ¹⁾	ヒドロキシヘキサメチレン イミン	Hydroxyl hexamethyleneimine
M8 ¹⁾	4-ケトヘキサメチレンイミン	4-ketohexamethyleneimine
M9	システイン抱合体 XIII、III	S-(hexahydro-1 <i>H</i> -azepine-1-carbonyl) cysteine
M10	モリネート メルカプツール酸 III、XVI	S-(hexahydro-1 <i>H</i> -azepine-1-carbonyl) -N-acetyl cysteine
M11 ²⁾	ヒドロキシモリネート メルカプツール酸 V(4位)	S-(hydroxyhexahydro-1 <i>H</i> -azepine-1-carbonyl) -N-acetyl cysteine
M12	S/O-グルクロニド抱合体 VII	Hexahydro-1 <i>H</i> -azepine-1-thiocarbonyl glucuronide
M13 ²⁾	4-ヒドロキシモリネートサフ フェート VIII(4位)	Hydroxyhexahydro-1 <i>H</i> -azepine-1-carbothioethane sulfate
M14 ³⁾	ヒドロキシモリネート グルクロニド XI(4位)、XII(3位)、XIV	Hydroxyhexahydro-1 <i>H</i> -azepine-1-carbothioethane glucuronide
M15	モリネート酸 XVIII	S-carboxymethyl hexahydro-1 <i>H</i> -azepine-1-carbthioate
M16	モリネートアルコール XX	S-2-hydroxyethyl hexahydro-1 <i>H</i> -azepine-1-carbothioate
M17	ホルミルモリネート XXI	S-formylmethyl hexahydro-1 <i>H</i> -azepine-1-carbothioate
M20	メチルモリネート 又は S-メチルモリネート	S-methyl hexahydro-1 <i>H</i> -azepine-1-carbothioate
M21	ヒドロキシ N-アセチルモリ ネート アセチル化ヒドロキシヘキサ メチレンイミン X	N-acetyl hydroxyhexamethyleneimine

M27	4-ヒドロキシモリネートグルクロニドメチルエステル V	4-Hydroxyhexahydro-1 <i>H</i> azepine-1-carbothioethane glucuronide methylester
-----	--------------------------------	---

注) 各代謝物の位置異性体については、本文中では置換基の位置を「2-M1」(2位)、「2-M1+3-M1」(2位及び3位)のように記した。

- 1) 2-, 3-, 4-位の位置異性体が存在する。
- 2) 4-位の位置異性体が存在する。
- 3) 3-, 4-位の位置異性体が存在する。

<別紙2：検査値等略称>

略称	名称
17OHP	17 α -ヒドロキシprogesterone
ACh	アセチルコリン
AChE	アセチルコリンエステラーゼ
A/G比	アルブミン/グロブリン比
ai	有効成分量
ALP	アルカリホスファターゼ
AUC	血中薬物曲線下面積
BCF	生物濃縮係数
BrdU	5-プロモ-2'-デオキシウリジン
BUN	血液尿素窒素
ChE	コリンエステラーゼ
Chol	コレステロール
Chole	コレステロールエステラーゼ
C _{max}	最高濃度
CMC	カルボキシメチルセルロース
DMSO	ジメチルスルホキシド
FOB	機能観察総合検査
FSH	卵胞刺激ホルモン
Glob	グロブリン
Hb	ヘモグロビン (血色素量)
His	ヒスタミン
Ht	ヘマトクリット値
IC ₅₀	50%阻害濃度
LH	黄体形成ホルモン
LC ₅₀	半数致死濃度
LD ₅₀	半数致死量
MCHC	平均赤血球血色素濃度
NTE	神経障害標的エステラーゼ
PEC	環境中予測濃度
PHI	最終使用から収穫までの日数
PLT	血小板数
RBC	赤血球数
T _{1/2}	消失半減期
TAR	総投与 (処理) 放射能

T.Chol	総コレステロール
T _{max}	最高濃度到達時間
TMP	2,2,4-トリメチルペンタン
TOCP	リン酸トリ- σ クレジル
TRR	総残留放射能
UDS	不定期 DNA 合成
WBC	白血球数

<別紙3：作物残留試験成績>

作物名 (栽培形態) (分析部位) 実施年度	使用量 (g ai/ha)	使用 回数 (回)	PHI (日)	残留値(mg/kg)			
				モニネート			
				公的分析機関		社内分析機関	
				最高値	平均値	最高値	平均値
水稻 (露地) (玄米) 1971年度	3,200	1	104	<0.02	<0.02	<0.03	<0.03
	4,000 4,800	2	124	<0.02	<0.02	<0.03	<0.03
水稻 (露地) (玄米) 1973年度	3,200	1	58	<0.01	<0.01		
		1	95	<0.01	<0.01		
水稻 (露地) (稲わら) 1973年度	3,200	1	58	<0.01	<0.01		
		1	95	0.014	0.013		
水稻 (露地) (玄米) 1975年度	3,200	1	89	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
		2	89	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
		1	87	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
		2	87	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
水稻 (露地) (稲わら) 1975年度	3,200	1	89	<0.001	<0.001	0.006	0.006
		2	89	<0.001	<0.001	<0.004	<0.004
		1	87	0.007	0.007	0.034	0.032
		2	87	0.039	0.038	0.060	0.058

・使用方法は散布とし、8%粒剤が用いられた。

<参照>

1. 諮問書（平成 15 年 7 月 1 日付け厚生労働省発食安第 0701015 号）
2. 7 月 1 日に厚生労働省から意見の聴取要請のあった、清涼飲料水の規格基準の改正について：食品安全委員会農薬専門調査会第 1 回会合資料 6 及び参考資料 1～6
3. 食品、添加物等の規格基準（昭和 34 年厚生省告示第 370 号）の一部を改正する件（平成 17 年 11 月 29 日付け厚生労働省告示第 499 号）
4. 農薬抄録 モリネート（除草剤）（平成 19 年 9 月 20 日作成）：協友アグリ株式会社、2007 年、一部公表予定
5. 食品健康影響評価について（平成 19 年 10 月 12 日付け厚生労働省発食安第 1012002 号）
6. モリネートの魚介類における最大推定残留値に係る資料
7. モリネート 要求事項に対する回答資料：協友アグリ株式会社、2008 年、未公表
8. 農薬抄録 モリネート（除草剤）（平成 20 年 9 月 12 日改訂）：協友アグリ株式会社、2008 年、一部公表予定
9. モリネート 要求事項に対する回答資料：協友アグリ株式会社、2010 年、未公表
10. 農薬抄録 モリネート（除草剤）（平成 22 年 12 月 14 日改訂）：協友アグリ株式会社、2009 年、一部公表予定
11. EC, Health & Consumer Protection Directorate-General: Review report for the active substance molinate (2003)
12. US EPA : MOLINATE-Revised Human Health Risk Assessment (2001)
13. APVMA : The Reconsideration of Approvals and Registrations Relating to Molinate, Review scope document (2003)