

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 精巣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 精巣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 精巣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 膈開口遅延 脾へモジデリン沈着
	10(雄)/50(雌) ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> 精巣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° イソ	陰性
	復帰突然変異試験①	<i>Salmonella typhimurium</i> (TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538 株) <i>Escherichia coli</i> (WP2 <i>hcr</i> 株)	10~3,000 µg/7° V-ト (+/-S9)	陰性
	復帰突然変異試験②	<i>S. typhimurium</i> (TA98, TA100, TA1538 株)	1.6~5,000 µg/7° V-ト (+/-S9)	陰性
		<i>S. typhimurium</i> (TA1535, TA1537 株)	1.6~5,000 µg/7° V-ト (-S9) 0.032~5,000 µg/7° V-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) 2.66~42.5 µg/mL (+S9)	陰性
	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) 2.66~42.5 µg/mL (+S9)	陰性
	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 µg/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、ライディッチ細胞培養液に、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) によるライディッチ細胞の 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）、兎動物の生存率低下、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、兎動物の体重、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
					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	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	
					雄：体重増加抑制、精 巣萎縮等 雌：体重増加抑制等	雄：体重増加抑制、精 巣萎縮等 雌：体重増加抑制等	雄：体重増加抑制、精 巣萎縮等 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	
					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	雄：坐骨神経の変性/脱 髓等 雌：卵巣病変	雄：坐骨神経の変性/脱 髓等 雌：卵巣病変	雄：坐骨神経の変性/脱 髓等 雌：卵巣病変	雄：坐骨神経の変性/脱 髓等 雌：卵巣病変
	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	親動物 P 雌：0.44 F ₁ 雌：0.44
		P 雌：0、0.44、3.7、 32 F ₁ 雌：0、0.44、 3.7、35				児動物及び繁殖能 P 雌：3.7 F ₁ 雌：3.7	児動物及び繁殖能 P 雌：3.7 F ₁ 雌：3.7
				親動物：卵巣の空胞化/ 肥大等 児動物：卵巣の病変 繁殖能：繁殖率低下		雌親動物：卵胞膜/間質 細胞空胞化/肥大等 児動物：哺育0及び4 日の生存児数減少等	雌親動物：卵胞膜/間質 細胞空胞化/肥大等 児動物：哺育0及び4 日の生存児数減少等

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)
		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		雄：0、1.0、10.4、 105、200 雌：0、1.3、13.9、 133、249		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				雌雄：0、15、30、 60	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⁾	オキシモリネート 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)