

された。散布 1 時間後、21 及び 120 日後（成熟時）に植物体試料が採取された。

各部位における残留放射能濃度は表 24 に示されている。

茎葉散布されたグルホシネートは植物全体にほぼ均一に移行した。

散布 1 時間後の植物全体から、主要成分として未変化のグルホシネートが 72.9%TRR、Z が 18.2%TRR 検出された。散布 21 日後の茎葉部では、Z が 60.2%TRR に増加し、未変化のグルホシネート 20.7%TRR に減少し、少量の B (6.7%TRR) が認められた。

散布 120 日後（成熟時）の種子及びさやにおける主要代謝物は B (12~58%TRR) であり、ほかに Z が 2~18%TRR 認められた。種子では未変化のグルホシネートも 20%TRR 以上検出された。（参照 2、13）

表 24 各部位における残留放射能濃度

試料	植物全体	茎葉部		根部		種子	さや
		21 日	120 日	21 日	120 日		
散布後経過時間	1 時間						
残留放射能濃度 (mg/kg)	145	4.3	0.04	4.5	0.17	0.07	0.14

以上の試験 [2. (1)~(10)] の結果より、非遺伝子組換え作物におけるグルホシネートの主要代謝反応は、酸化的脱アミノ化及び脱炭酸による B の生成であり、グルホシネート耐性遺伝子組み換え作物における主要代謝反応は、Nアセチル化による Z の生成及び脱炭酸による B の生成と考えられた。

3. 土壌中運命試験

(1) 好氣的湛水土壌中運命試験

湛水した 2 種類のドイツ土壌（シルト質埴壌土及び壤質砂土）に、¹⁴C-グルホシネートを 2,000 g ai/ha の濃度で添加し、22°C の暗条件下で 94 日間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。

各土壌中における放射能分布は表 25 に、抽出放射能の主要成分は表 26 に示されている。

グルホシネートは好氣的湛水条件下で比較的速やかに分解された。推定半減期は、シルト質埴壌土で約 49 日、壤質砂土で約 32 日であった。

主要分解物は B 及び F であり、ほかに E も少量検出された。主要分解経路は、酸化的脱アミノ化、それに続く脱炭酸による B の生成であり、B はさらにβ酸化、脱炭酸等を受け、最終的には CO₂ 等まで分解されると考えられた。（参照 2）

表 25 各土壌における放射能分布 (%TAR)

供試土壌		シルト質埴壌土			壤質砂土		
処理後経過日数 (日)		0	64	94	0	64	94
水相		76.2	52.2	24.9	89.5	79.6	60.6
土壌	抽出画分	19.0	27.0	35.1	9.7	15.0	20.1
	非抽出画分	3.5	9.0	6.3	1.8	4.3	6.0
揮発性物質	¹⁴ CO ₂	—	5.1	8.7	—	2.8	4.0
	その他	—	0.3	0.4	—	<0.1	<0.1
合計		98.7	93.6	75.4	101	102	90.8

—: 検出されず

表 26 抽出放射能の主要成分 (%TAR)

供試土壌	シルト質埴壌土						壤質砂土					
	0		64		94		0		64		94	
処理後経過日数	水相	土壌	水相	土壌	水相	土壌	水相	土壌	水相	土壌	水相	土壌
グルホシネート	76.2	19.0	25.8	18.0	8.4	18.4	89.5	9.7	19.8	3.4	16.1	6.5
B	—	—	12.7	3.4	8.0	7.3	—	—	46.4	8.6	26.9	8.6
E	—	—	2.4	0.3	0.6	—	—	—	—	0.6	4.8	0.2
F	—	—	11.8	5.2	7.6	9.4	—	—	13.3	2.6	12.8	4.9

—: 検出されず

(2) 好氣的土壌中運命試験

2 種類のドイツ土壌 (壤質砂土及び砂壌土) に、¹⁴C-グルホシネート (遊離酸体) を 10,000 g ai/ha の濃度で混合し、22℃の暗条件で 35 日間インキュベートして、好氣的土壌中運命試験が実施された。

処理 35 日後における土壌中放射能分布及び抽出放射能の主要成分は表 27 に示されている。

グルホシネート (遊離酸体) の好氣的土壌中での分解は速やかで、推定半減期は 35 日以内であった。抽出放射能の主要成分は未変化のグルホシネート及び分解物 B であった。試験期間内に無機化も認められ、処理 35 日までに約 8%TAR が ¹⁴CO₂ として検出された。(参照 2)

表 27 処理 35 日後における土壌中放射能分布及び抽出放射能の主要成分 (%TAR)

供試土壌	壤質砂土	砂壌土
抽出画分	74.9	81.4
グルホシネート	45.7	28.0
B	25.1	53.4
未同定分解物	4.1	—

非抽出画分	13.2	9.2
-------	------	-----

—：検出されず

(3) 土壤吸着試験

4種類の国内土壤 [シルト質壤土 (茨城、高知) シルト質埴壤土 (茨城)、軽埴土 (和歌山)] を用いて、土壤吸着試験が実施された。

各土壤における Freundlich の吸着係数 K_{ads} は 1.7~33.0、有機炭素含有率により補正した吸着係数 K_{oc} は 102~788 であった。(参照 2)

4. 水中運命試験

(1) 加水分解試験

pH 5 (クエン酸緩衝液)、pH 7 (リン酸緩衝液) 及び pH 9 (ホウ酸緩衝液) の各緩衝液に、非標識のグルホシネートを 240 mg/L となるように添加し、25°C の暗条件下で 30 日間インキュベートして加水分解試験が実施された。

いずれの緩衝液においても分解物は認められなかった。(参照 2)

(2) 光分解試験 (緩衝液)

pH 5 (酢酸緩衝液)、pH 7 (リン酸緩衝液) 及び pH 9 (ホウ酸緩衝液) の各緩衝液に、 ^{14}C -グルホシネートを 1.5 mg/L となるように添加し、25°C で 192 時間 (pH 9 の緩衝液のみ 216 時間) キセノンランプ (光強度: $523 \pm 66 \text{ W/m}^2$ 、波長範囲: 290~490 nm) を照射して水中光分解試験が実施された。

いずれの緩衝液中においても分解物は認められなかった。(参照 2)

(3) 光分解試験 (自然水)

自然水 (砂利採掘溝より採取した表層水) に、 ^{14}C -グルホシネートを 1.5 mg/L となるように添加し、25°C で 118 時間キセノンランプ (光強度: $844 \pm 30 \text{ W/m}^2$ 、波長範囲: 290~490 nm) を照射して水中光分解試験が実施された。

自然水中では分解物 B が同定されたが生成量は少なく、試験終了時においても 4.2% TAR であった。グルホシネートの推定半減期は 95 日、北緯 35° (東京) の春期太陽光換算で 3 年以上 (1,200 日) であった。(参照 2)

5. 土壤残留試験

火山灰土・埴壤土 (①茨城、②岩手)、沖積土・埴壤土 (①埼玉、②岡山)、洪積土・砂壤土 (福島)、火山灰土・壤土 (茨城) 及び沖積土・埴土 (佐賀) を用いて、グルホシネート及び分解物 B を分析対象化合物とした土壤残留試験 (容器内及び圃場) が実施された。結果は表 28 に示されている。(参照 2)

表 28 土壤残留試験成績

試験		濃度 ¹⁾	土壌	推定半減期 (日)	
				グルホシネート	グルホシネート+B
容器内試験	畑水分状態	4 mg/kg	火山灰土・埴壤土①	約 2	
			沖積土・埴壤土①	約 1.5	
			火山灰土・壤土	約 1.5	約 5
			洪積土・砂壤土	約 1.5	約 6
	湛水状態		火山灰土・壤土	約 1.5	約 4
			沖積土・埴壤土②	約 4	約 56
圃場試験	畑地状態	4,000 g ai/ha	火山灰土・埴壤土②	11	
		3,330 g ai/ha	沖積土・埴壤土①	11	
		3,700 g ai/ha	火山灰土・埴壤土②	約 5	約 37
			洪積土・砂壤土	約 7	約 8
	水田状態	1,850 g ai/ha	火山灰土・壤土	約 3	約 13
			沖積土・埴土	約 6	約 11

¹⁾ 容器内試験では純品、圃場試験では 20 又は 18.5%液剤を使用、/: 測定されず

6. 作物等残留試験

(1) 作物残留試験

水稻、小麦等を用いて、グルホシネート及び代謝物 B を分析対象化合物とした作物残留試験が実施された。結果は別紙 3 に示されている。

グルホシネートの最大残留値は、散布 7 日後に収穫したはつかだいこん(葉部)で認められた 0.06 mg/kg であった。代謝物 B の最大残留値は、散布 121 日後に収穫した稲わらで認められた 0.17 mg/kg、可食部では散布 21 及び 35 日後に収穫したさんしょう(果実)で認められた 0.16 mg/kg であった。(参照 2, 24)

(2) 乳汁移行試験

ホルスタイン種泌乳牛(3頭)に、グルホシネートを 2 ppm の濃度で 4 週間混餌投与して乳汁移行試験が実施された。

投与開始時から投与 28 日まで、いずれの採取時点においても乳汁試料のグルホシネートは定量限界(0.01 µg/g)未満であった。(参照 21)

(3) 畜産物残留試験

LW・D 種ブタ(雌)、アーバーエーカー種ブロイラー(雌)及びデカルブ TX 種採卵鶏を用い、グルホシネート及び代謝物 B を分析対象とした畜産物残留試験が実施された。結果は表 29 に示されている。

ブタ及びブロイラーの筋肉及び脂肪並びに採卵鶏の卵黄では、いずれの投与群においてもグルホシネートは検出されなかった(検出限界: 0.01 µg/g)。ブタ及びブロイラーの肝臓では、2 ppm 以上投与群でグルホシネートの移行が認められ、

その検出量は投与量に対応して増加し、最大残留値はブロイラーの肝臓の 0.1 µg/g であった。(参照 21)

表 29 臓器、組織及び卵黄へのグルホシネートの移行量¹⁾ (µg/g)

投与量 (ppm)	ブタ			ブロイラー			採卵鶏
	肝臓	筋肉	脂肪	肝臓	筋肉	脂肪	卵黄
0.1	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
0.5	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
2	0.01±0.00	<0.01	<0.01	<0.01~0.03	<0.01	<0.01	<0.01
10	0.07±0.02	<0.01	<0.01	0.10±0.02	<0.01	<0.01	<0.01

¹⁾ グルホシネート及び代謝物 B (グルホシネートに換算) の合計値

(4) 推定摂取量

別紙 3 の作物残留試験の分析値を用いて、グルホシネート及び B を暴露評価対象物質として国内で登録のある農産物からの推定摂取量を表 30 に示した (別紙 4 参照)。

なお、本推定摂取量の算定は、登録されている又は申請された使用方法からグルホシネート及び B の含量が最大の残留を示す使用条件で、全ての適用作物に使用され、加工・調理による残留農薬の増減が全くないとの仮定の下に行った。

表 30 食品中より摂取されるグルホシネート及び B の推定摂取量

	国民平均 (体重:53.3 kg)	小児(1~6 歳) (体重:15.8 kg)	妊婦 (体重:55.6 kg)	高齢者(65 歳以上) (体重:54.2 kg)
摂取量 (µg/人/日)	22.8	12.7	18.7	22.7

7. 一般薬理試験

グルホシネートアンモニウム塩 (原体) の一般薬理試験が実施された。結果は表 31 に示されている。(参照 2、3)

表 31 一般薬理試験

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	ICR マウス	雄 3 雌 3	0、200、400、 800、1,600 (経口) ^a	200	400	投与 8 時間後以降で痙攣等の神経症状、生存個体は投与 2~3 日後には回復

		日本 白色種 ウサギ	雄 3	0, 25, 10, 40 (静脈内) ^a	10	40	投与 8 時間後以降で痙攣等の神経症状、生存個体は 3 日目には回復
	ヘキソバル ビタール誘 発睡眠時間	ICR マウス	雄 10	0, 200, 400, 800, 1,600 (経口) ^a	400	800	ヘキソバルビタール誘発睡眠時間延長
	脳波	日本 白色種 ウサギ	雄 3	0, 2.5, 10, 40 (静脈内) ^a	2.5	10	投与 4 時間後以降痙攣を示唆する異常脳波、生存個体は投与 4 日目までに正常に回復
	体温	日本 白色種 ウサギ	雄 3	0, 2.5, 10, 40 (静脈内) ^a	10	40	3 例中 2 例に 1~2℃の体温上昇
呼吸 循環 器系	呼吸 血圧 心電図	日本 白色種 ウサギ	雄 3	0, 2.5, 10, 40 (静脈内) ^a	10	40	呼吸数減少、呼吸振幅増加、血圧、心電図に影響なし
	骨格筋	日本 白色種 ウサギ	雄 3	0, 2.5, 10, 40 (静脈内) ^a	40	—	影響なし
血液 系	溶血作用 血液凝固 (PT、APTT)	日本 白色種 ウサギ	雄 4	0, 10 ⁻⁵ , 10 ⁻⁴ , 10 ⁻³ g/mL (<i>in vitro</i>) ^a	10 ⁻³ g/mL	—	影響なし
自律 神経 系	摘出輸精管 摘出回腸	Hartley モルモット	雄 4	0, 10 ⁻⁵ , 10 ⁻⁴ , 10 ⁻³ g/mL (<i>in vitro</i>) ^b	10 ⁻⁴	10 ⁻³	摘出輸精管: ノルアドレナリン、高カリウム誘発収縮増加 摘出回腸: 筋緊張及び自発運動亢進

注) 溶媒として、^aは生理食塩液、^bは Krebs Ringer を用いた。

—: 最小作用量が設定できない。

8. 急性毒性試験

(1) 急性毒性試験

グルホシネートアンモニウム塩 (原体) を用いた急性毒性試験が実施された。

結果は表 32 に示されている。(参照 2、17)

表 32 急性毒性試験概要 (原体)

投与経路	動物種	LD ₅₀ (mg/kg 体重)		観察された症状
		雄	雌	
経口	Fischer ラット 雌雄各 10 匹	1,660	1,510	鎮静、神経過敏、流涎、流涙、腹臥、立毛 雌雄: 1,170 mg/kg 体重以上で死亡例
	Wistar ラット 雌雄各 10 匹	2,000	1,620	活動性低下、平衡失調、うずくまり、腹臥、横臥、振戦、痙攣、間代性痙攣、痙攣性横転、反射亢進、立毛、ダルリンプル徴候、眼球突出、眼及び口吻部の赤色痂皮形成、不規則呼吸 雄: 1,000 mg/kg 体重以上で死亡例 雌: 1,600 mg/kg 体重以上で死亡例
	ICR マウス 雌雄各 10 匹	436	464	自発運動減少、間代性痙攣、腹臥、横臥、失調性歩行、立毛、被毛光沢消失 雄: 300 mg/kg 体重以上で死亡例 雌: 390 mg/kg 体重以上で死亡例
	NMRI マウス 雌雄各 10 匹	431	416	運動失調、異常運動、うずくまり、腹臥、間代性痙攣、痙攣性跳躍、痙攣性横転、シュトラウプ反応、痙攣性不規則呼吸、流涎、立毛 雌雄: 315 mg/kg 体重以上で死亡例
	イヌ	200~400		詳細不明
腹腔内	Fischer ラット 雌雄各 10 匹	96	83	鎮静、接触に対する過敏反応、流涎、流涙、腹臥、立毛 雌雄: 58 mg/kg 体重以上で死亡例
	ICR マウス 雌雄各 10 匹	103	82	自発運動減少、間代性痙攣、腹臥、横臥、失調性歩行、立毛、被毛光沢消失 雌雄: 81 mg/kg 体重以上で死亡例
皮下	Fischer ラット 雌雄各 10 匹	73	61	鎮静、接触に対する過敏反応、流涎、流涙、腹臥、立毛 雄: 62 mg/kg 体重以上で死亡例 雌: 43 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	
	ICR マウス 雌雄各 10 匹	88	104	自発運動減少、間代性痙攣、腹臥、 横臥、失調性歩行、立毛、被毛光沢 消失 雄：62 mg/kg 体重以上で死亡例 雌：81 mg/kg 体重以上で死亡例
経皮	Wistar ラット 雌雄各 6 匹	>4,000	4,000	過敏反応、鎮静、痙攣、昏迷、平衡 失調、うずくまり、爪先歩き、腹位、 振戦、ひきつり、腹部退縮、腹側部 退縮、痙攣性跳躍、挙尾、立毛、眼 瞼拡大、流涎、血尿、攻撃的挙動、 咀嚼行動、削瘦 雄：死亡例なし 雌：2,000 mg/kg 体重以上で死亡例
吸入 (ダスト)	Wistar ラット 雌雄各 5 匹	LC ₅₀ (mg/L)		眼瞼下垂、断続的振戦、間代性痙攣、 機能亢進、立毛、流涎、鎮静 雄：0.19 mg/L 以上で死亡例 雌：0.38 mg/L 以上で死亡例
吸入 (エアロゾル)	ラット	0.62	0.62	詳細不明

代謝物 B、F 及び Z の急性毒性試験が実施された。結果は表 33 に示されてい
る。(参照 2、17)

表 33 急性毒性試験概要 (代謝物)

被験 物質	投与 経路	動物種	LD ₅₀ (mg/kg 体重)		観察された症状
			雄	雌	
B	経口	Wistar ラット 雌雄各 5 匹	2,840	1,900	活動低下、歩行異常、呼 吸異常、うずくまり 雄：2,500 mg/kg 体重以 上で死亡例 雌：1,600 mg/kg 体重以 上で死亡例
		NMRI マウス 雌雄各 5 匹	3,050	3,070	活動低下、うずくまり、 立毛、呼吸不整、歩行異 常 雄：2,500 mg/kg 体重以 上で死亡例 雌：2,000 mg/kg 体重以 上で死亡例

	腹腔内	Wistar ラット	275	250~500	経口投与試験で認められた所見と類似した症状
F	経口	SD ラット 雌雄各 5 匹	>2,000	>2,000	下痢 死亡例なし
Z	経口	Wistar ラット 雌雄各 5 匹	>2,900	>2,900	不規則呼吸、うずくまり 姿勢、活動性低下 死亡例なし
		NMRI マウス 雌雄各 5 匹	>2,900	>2,900	活動性低下、うずくまり 姿勢 死亡例なし
	腹腔内	Wistar ラット	>1,160	>1,160	詳細不明
		NMRI マウス	>2,030	>579	詳細不明

(2) 急性神経毒性試験 (FOB 観察)

Wistar ラット (一群雌雄各 10 匹) を用いた強制経口 (原体: 0、10、100 及び 500 mg/kg 体重) 投与による急性神経毒性試験 (FOB 観察) が実施された。

本試験において、500 mg/kg 体重投与群の雌 1 例で、頻呼吸、円背位、立毛及びるい瘦が認められたので、一般毒性に対する無毒性量は 100 mg/kg 体重であると考えられた。本試験は用量設定が低かったために神経毒性を検出できなかった。(参照 2)

(3) 急性神経毒性試験 (水迷路試験)

Wistar ラット (一群雌雄各 10 匹) を用いた強制経口 (原体: 0、10、100 及び 500 mg/kg 体重) 投与による急性神経毒性試験 (水迷路試験) が実施された。

本試験において、検体投与に関連した毒性所見は認められなかったので、一般毒性に対する無毒性量は、本試験の最高用量 500 mg/kg 体重であると考えられた。神経毒性は認められなかった。神経毒性が認められない低用量においては水迷路試験に対する影響は検出できなかった。(参照 2)

(4) 急性遅発性神経毒性試験

白色レグホン種ニワトリ (一群雌 6 羽) を用いた強制経口 (原体: 0 及び 10,000 mg/kg 体重) 投与による急性遅発性神経毒性試験が実施された。試験群として、検体投与群、検体投与前にアトロピン、トキソゴニンを翼下注射した解毒剤投与群、TOCP を経口投与した陽性対照群及び溶媒のみを投与した対照群が設定され、検体投与は 2 回 (第 2 回投与は第 1 回投与 21 日後) 行われた。

本試験において、検体投与群では解毒剤投与の有無に関係なく、投与に関連した変化は認められなかったので、急性遅発性神経毒性誘発性はないものと考えられた。(参照 2)

9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

グルホシネートアンモニウム塩（原体）の NZW ウサギを用いたを用いた眼刺激性試験及び皮膚刺激性試験が実施された。その結果、ウサギの眼粘膜及び皮膚に対する刺激性は認められなかった。

ピルブライト白色種モルモットを用いた皮膚感作性試験（Buehler 法及び Maximization 法）が実施され、結果は陰性であった。（参照 2、17）

代謝物 B 及び Z のピルブライト白色種モルモットを用いた皮膚感作性試験（Maximization 法）が実施された。その結果、代謝物 B 及び Z のモルモットに対する皮膚感作性は陰性であった。（参照 2、17）

10. 亜急性毒性試験

(1) 90 日間亜急性毒性試験（ラット）①

Fischer ラット（一群雌雄各 30 匹）を用いた混餌（原体：0、8、64、500 及び 4,000 ppm：平均検体摂取量は表 34 参照）投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 34 90 日間亜急性毒性試験（ラット）①の平均検体摂取量

投与群		8 ppm	64 ppm	500 ppm	4,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	0.52	4.1	32	263
	雌	0.63	4.8	39	311

各投与群で認められた毒性所見は表 35 に示されている。

本試験において、500 ppm 以上投与群の雄及び 4,000 ppm 投与群の雌で腎絶対及び比重量⁴増加が認められたので、無毒性量は雄で 64 ppm（4.1 mg/kg 体重/日）、雌で 500 ppm（39 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 2、3）

表 35 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
4,000 ppm	・体重増加抑制	・体重増加抑制 ・腎絶対及び比重量増加
500 ppm 以上	・腎絶対及び比重量増加	500 ppm 以下 毒性所見なし
64 ppm 以下	毒性所見なし	

(2) 90 日間亜急性毒性試験（ラット）②

Wistar ラット（一群雌雄各 10 匹）を用いた混餌（原体：0、7,500、10,000

⁴ 体重比重量を比重量という（以下同じ）。

及び 20,000 ppm : 平均検体摂取量は表 36 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 36 90 日間亜急性毒性試験 (ラット) ②の平均検体摂取量

投与群		7,500 ppm	10,000 ppm	20,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	522	686	1,350
	雌	574	741	1,440

各投与群で認められた毒性所見は表 37 に示されている。

本試験において、7,500 ppm 以上投与群の雌雄で縮腫、無気力等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 7,500 ppm (雄 : 522 mg/kg 体重/日、雌 : 574 mg/kg 体重/日) 未満であると考えられた。(参照 2、3、17)

表 37 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
20,000 ppm	・鎮静、横臥、円背位、喘ぎ呼吸、 削瘦、粗毛	・2 例死亡 (胸腺萎縮) ・鎮静、横臥、円背位、喘ぎ呼吸、 削瘦、粗毛
10,000 ppm 以上	・血清 LDH 及び CK 活性低下 (約 20%) ・カルシウム増加	・RBC 減少 ・血清 LDH 及び CK 活性低下 (約 20%)
7,500 ppm 以上	・RBC 減少 ・縮腫、無気力、注意力低下及び 毛づくろい減少、体幹緊張性及 び発声増加等	・縮腫、無気力、注意力低下及び 毛づくろい減少、体幹緊張性及 び発声増加等

(3) 90 日間亜急性毒性試験 (マウス) ①

NMRI マウス (一群雌雄各 10 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、80、320 及び 1,280 ppm : 平均検体摂取量は表 38 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 38 90 日間亜急性毒性試験 (マウス) ①の平均検体摂取量

投与群		80 ppm	320 ppm	1,280 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	17	67	278
	雌	19	87	288

各投与群で認められた毒性所見は表 39 に示されている。

本試験において、320 ppm 以上投与群の雄でカリウム増加、雌で RBC 及び Ht 減少が認められたので、無毒性量は雌雄とも 80 ppm (雄 : 17mg/kg 体重/日、雌 : 19 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 2、3)

表 39 90 日間亜急性毒性試験（マウス）①で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
1,280 ppm	・AST 増加	・ALP 増加
320 ppm 以上	・カリウム増加	・RBC、Ht 減少
80 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）②

NMRI マウス（一群雌雄各 10 匹）を用いた混餌（原体：0、1,750、3,500 及び 7,000 ppm：平均検体摂取量は表 40 参照）投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 40 90 日間亜急性毒性試験（マウス）②の平均検体摂取量

投与群		1,750 ppm	3,500 ppm	7,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	274	561	—
	雌	356	644	—

—：7,000 ppm 投与群では全例が投与 8 日目まで死亡したため、検体摂取量は算出されなかった。

各投与群で認められた毒性所見は表 41 に示されている。

本試験において、1,750 ppm 以上投与群の雌雄で体重及び摂餌量減少等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 1,750 ppm 未満（雄：274 mg/kg 体重/日未満、雌：356 mg/kg 体重/日未満）であると考えられた。（参照 2、4）

表 41 90 日間亜急性毒性試験（マウス）②で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
7,000 ppm	・全例死亡 ・側臥、衰弱	・全例死亡 ・側臥、衰弱
3,500 ppm 以上	・半数死亡（3,500 ppm のみ） ・円背位、痙攣、腹臥位、歩行失調、呼吸困難	・半数死亡（3,500 ppm のみ） ・円背位、痙攣、腹臥位、歩行失調、呼吸困難
1,750 ppm 以上	・粗毛、鎮静、削瘦 ・体重及び摂餌量減少	・1 例死亡（1,750 ppm のみ） ・粗毛、鎮静、削瘦 ・体重及び摂餌量減少

(5) 90 日間亜急性毒性試験（イヌ）

ビーグル犬（一群雌雄各 4 匹）を用いた混餌（原体：0、4、8、16、64 及び 256 ppm：平均検体摂取量は表 42 参照）投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 42 90 日間亜急性毒性試験（イヌ）の平均検体摂取量

投与群		4 ppm	8 ppm	16 ppm	64 ppm	256 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	0.13	0.26	0.57	2.1	8.0
	雌	0.13	0.26	0.49	2.0	7.6

本試験において、256 ppm 投与群の雌雄で摂餌量の減少傾向がみられ、雌で体重増加抑制が認められたので、無毒性量は雌雄とも 64 ppm（雄：2.1 mg/kg 体重/日、雌：2.0 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 2）

(6) 28 日間亜急性吸入毒性試験（ラット）①

Wistar ラット（一群雌雄各 15 匹）を用いた鼻部吸入（原体：0、12、25 及び 50 mg/m³、6 時間/日）暴露による 28 日間亜急性吸入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 43 に示されている。

本試験において、25 mg/m³ 以上暴露群の雄で鎮静状態及び緊張性/間代性痙攣等が認められたので、無毒性量は 12 mg/m³（雌に関する記載なし）であると考えられた。（参照 17）

表 43 28 日間亜急性吸入毒性試験（ラット）①で認められた毒性所見

暴露群	雄	雌
50 mg/m ³	・ 2 例死亡（肺炎、胸腺・骨髄・脾臓萎縮）	・ 2 例死亡（肺炎、胸腺・骨髄・脾臓萎縮） ・ 鎮静状態、緊張性/間代性痙攣、振戦、よろめき歩行、興奮、攻撃性、血尿
25 mg/m ³ 以上	・ 鎮静状態、筋調整/間代性痙攣、振戦、よろめき歩行、興奮、攻撃性、血尿	25 mg/m ³ 投与群の雌に関する記載なし
12 mg/m ³	毒性所見なし	毒性所見なし

(7) 28 日間亜急性吸入毒性試験（ラット）②

SD ラット（一群雌雄各 5 匹）を用いた鼻部吸入（原体：0、50 及び 100 mg/m³、6 時間/日、5 日/週）暴露による 28 日間亜急性吸入毒性試験が実施された。

本試験において、100 mg/m³ 暴露群の雌雄で易刺激性、不穏及び活動性低下、反復性の頭部の動きが認められ、雌の 1 例は切迫と殺されたので、無毒性量は雌雄とも 50 mg/m³ であると考えられた。（参照 2）

(8) 29 日間亜急性経皮毒性試験（ラット）

Wistar ラット（一群雌雄各 12 匹、125 mg/kg 体重/日投与群のみ一群雌雄各 6 匹）を用いた経皮（原体：0、125、250、500 及び 1,000 mg/kg 体重/日）投与に

よる 29 日間亜急性経皮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 44 に示されている。

本試験において、250 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で APTT 短縮が認められたので、無毒性量は雌雄とも 125 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 17)

表 44 29 日間亜急性経皮毒性試験 (ラット) で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
1,000 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> 鎮静状態、異常呼吸音、不規則呼吸、うずくまり、流涎、緊張性/間代性痙攣、振戦、活動低下、よろめき歩行、鼻及び眼瞼に血様物付着、皮膚への影響(荒れ、乾燥、硬化、変色)、痂皮形成 表皮肥厚、過角化症、潰瘍 	<ul style="list-style-type: none"> 鎮静状態、異常呼吸音、不規則呼吸、うずくまり、流涎、緊張性/間代性痙攣、振戦、活動低下、よろめき歩行、鼻及び眼瞼に血様物付着、皮膚への影響(荒れ、乾燥、硬化、変色)、痂皮形成 表皮肥厚、過角化症、潰瘍
500 mg/kg 体重/日以上		<ul style="list-style-type: none"> 心比重量減少
250 mg/kg 体重/日以上	<ul style="list-style-type: none"> APTT 短縮 	<ul style="list-style-type: none"> APTT 短縮
125 mg/kg 体重/日	毒性所見なし	毒性所見なし

(9) 5 週間亜急性神経毒性試験 (ラット) (原体及び代謝物 Z)

Wistar ラット (神経毒性観察群: 一群雌雄各 10 匹、グルタミン合成酵素活性測定群: 一群雌雄各 5 匹) を用いた混餌 (原体又は代謝物 Z: 0、20、200 及び 2,000 ppm: 平均検体摂取量は表 45 参照) 投与による 5 週間亜急性神経毒性試験が実施された。

表 45 5 週間亜急性神経毒性試験 (ラット) の平均検体摂取量

被験物質 投与群	原体			代謝物 Z			
	20 ppm	200 ppm	2,000 ppm	20 ppm	200 ppm	2,000 ppm	
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	1.5	14.9	143	1.6	15.5	159
	雌	1.8	17.1	162	1.75	17.7	179

グルタミン合成酵素活性に関して、原体では全投与群で肝臓 (雌雄) 及び腎臓 (雄) で有意な阻害が認められた。また、200 ppm 以上投与群の雄及び 2,000 ppm 投与群の雌では脳で有意な阻害が認められた。代謝物 Z では阻害の程度は軽く、肝臓 (200 ppm 以上投与群の雄及び 2,000 ppm 投与群の雌) 及び腎臓 (20 及び 2,000 ppm 投与群) で有意差が認められた。

以上の結果から、肝臓におけるグルタミン合成酵素阻害に対する無影響量は、原体では 20 ppm 未満、代謝物 Z では 20 ppm と考えられた。しかし、肝臓、腎

臓又は脳における相関的な病理組織学的変化が認められないことから、このグルタミン合成酵素活性阻害は毒性所見ではないと考えられた。

本試験において、いずれの投与群でも検体投与に関連した毒性所見は認められなかったので、無毒性量は雌雄とも本試験の最高用量 2,000 ppm (原体：雄で 143 mg/kg 体重/日、雌で 162 mg/kg 体重/日；代謝物 Z：雄で 159 mg/kg 体重/日、雌で 179 mg/kg 体重/日) であると考えられた。神経毒性は認められなかった。(参照 2)

(10) 14 週間亜急性毒性試験 (ラット) (L 体⁵) <参考資料>

Wistar ラット (一群雌雄各 10 匹) を用いた混餌 (L 体：0、250、1,250 及び 2,500 ppm) 投与による 14 週間亜急性毒性試験が実施された。

本試験において、1,250 ppm 以上投与群の雌雄で血漿及び尿中アンモニア濃度増加が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 250 ppm (雄：18.5 mg/kg 体重/日、雌：19.8 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 5)

(11) 90 日間亜急性毒性試験 (イヌ) (L 体⁵) <参考資料>

ビーグル犬 (一群雌雄各 6 匹) を用いた混餌 (L 体：0、2、5 及び 8.5 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。

本試験において、5 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で血漿アンモニア濃度増加、同群の雌で腎臓中アンモニア濃度の増加が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 2 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 5)

(12) 28 日間亜急性毒性試験 (ラット) (代謝物 B)

Wistar ラット (一群雌雄各 5 匹) に混餌 (代謝物 B：0、50、500、2,500 及び 5,000 ppm) 投与して 28 日間亜急性毒性試験が実施された。

本試験において、5,000 ppm 投与群の雄で血中尿酸値増加、雌で血中 TG 増加及び肝比重量増加が認められたので、無毒性量は雌雄とも 2,500 ppm (雄：286 mg/kg 体重/日、雌：282 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 17)

(13) 90 日間亜急性毒性試験 (ラット) (代謝物 B)

Wistar ラット (一群雌雄各 10~20 匹) を用いた混餌 (代謝物 B：0、400、1,600 及び 6,400 ppm) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

本試験において、いずれの投与群にも検体投与に関連した毒性所見は認められなかったので、無毒性量は雌雄とも本試験の最高用量 6,400 ppm (雄：546 mg/kg 体重/日、雌：570 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 2、17)

⁵ [11. (10) 及び (11)] の試験は、L-グルホシネートアンモニウム塩を用いて実施された。

(14) 90日間亜急性毒性試験(マウス)(代謝物B)

NMRI マウス(一群雌雄各10匹)を用いた混餌(代謝物B:0、320、1,600、3,200及び8,000 ppm)投与による90日間亜急性毒性試験が実施された。

本試験において、いずれの投与群にも検体投与に関連した毒性所見が認められなかったため、無毒性量は雌雄とも本試験の最高用量8,000 ppm(雄:1,290 mg/kg 体重/日、雌:1,540 mg/kg 体重/日)であると考えられた。(参照2)

(15) 90日間亜急性毒性試験(イヌ)(代謝物B)

ビーグル犬(一群雌雄各2~6匹)を用いた混餌(代謝物B:0、100、400及び1,600 ppm)投与による90日間亜急性毒性試験が実施された。

本試験において、いずれの投与群にも投与に関連した毒性所見は認められなかったため、無毒性量は雌雄とも本試験の最高用量1,600 ppm(雄:115 mg/kg 体重/日、雌:103 mg/kg 体重/日)であると考えられた。(参照2、10、17)

(16) 90日間亜急性毒性試験(ラット)(代謝物F)

Wistar ラット(一群雌雄各10匹)を用いた混餌(代謝物F:0、500、2,000及び10,000 ppm)投与による90日間亜急性毒性試験が実施された。

本試験において、いずれの投与群にも投与に関連した毒性所見は認められなかったため、無毒性量は雌雄とも本試験の最高用量10,000 ppm(雄:684 mg/kg 体重/日、雌:772 mg/kg 体重/日)であると考えられた。(参照2)

(17) 90日間亜急性毒性試験(ラット)(代謝物Z)

Wistar ラット(一群雌雄各10~20匹)を用いた混餌(代謝物Z:0、400、2,000及び10,000 ppm)投与による90日間亜急性毒性試験が実施された。

本試験において、いずれの投与群にも検体投与に関連した毒性所見は認められなかったため、無毒性量は雌雄とも本試験の最高用量10,000 ppm(雄:738 mg/kg 体重/日、雌:800 mg/kg 体重/日)であると考えられた。(参照2)

(18) 90日間亜急性毒性試験(マウス)(代謝物Z)

NMRI マウス(一群雌雄各20匹)を用いた混餌(代謝物Z:0、500、2,000及び8,000 ppm)投与による90日間亜急性毒性試験が実施された。

本試験において、いずれの投与群にも検体投与に関連した毒性所見は認められなかったため、無毒性量は雌雄とも本試験の最高用量8,000 ppm(雄:1,300 mg/kg 体重/日、雌:1,740 mg/kg 体重/日)であると考えられた。なお、グルタミン合成酵素活性阻害作用は全投与群の雌雄で認められ、無影響量は得られなかった。(参照2)

(19) 90日間亜急性毒性試験 (イヌ) (代謝物 Z)

ビーグル犬 (一群雌雄各 4~6 匹) を用いた混餌 (代謝物 Z: 0、500、2,000 及び 8,000 ppm) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

本試験において、いずれの投与群にも検体投与に関連した毒性所見は認められなかったため、無毒性量は雌雄とも本試験の最高用量 8,000 ppm (雄: 289 mg/kg 体重/日、雌: 300 mg/kg 体重/日) であると考えられた。なお、グルタミン合成酵素活性阻害作用は全投与群の雌雄で認められ、無影響量は得られなかった。(参照 2)

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) を用いた混餌 (原体: 0、2、5 及び 8.5 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。

各投与群で認められた毒性所見は表 46 に示されている。

本試験において、8.5 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で一般状態の変化が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 5 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 2、3、14、17)

(中枢神経系への影響の発現機序については[14. (1)]参照)

表 46 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
8.5 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> ・死亡 [1 例] (心筋壊死による心及び循環器系の衰弱) ・咬痙、流涎、運動亢進、嗜眠、自発運動低下、振戦、失調性歩行、頻尿、強直性/間代性痙攣 	<ul style="list-style-type: none"> ・死亡 [1 例] (誤嚥性肺炎、軽度心筋壊死) ・歯軋り、流涎、運動亢進、嗜眠、自発運動低下、振戦、失調性歩行、頻尿、強直性/間代性痙攣
5 mg/kg 体重/日以下	毒性所見なし	毒性所見なし

(2) 2年6か月間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット)

Wistar ラット (一群雌雄各 80 匹) を用いた混餌 (原体: 0、40、140 及び 500 ppm: 平均検体摂取量は表 47 参照) 投与による 2 年 6 か月間慢性毒性/発がん性併合試験が実施された。

表 47 2 年 6 か月間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット) の平均検体摂取量

投与群		40 ppm	140 ppm	500 ppm	
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	慢性毒性試験群	雄	2.1	7.6	26.7
		雌	2.5	8.9	31.5
	発がん性試験群	雄	1.9	6.8	24.4
		雌	2.4	8.2	28.7

各投与群で認められた毒性所見は表 48 に示されている。

本試験において、140 ppm 以上投与群の雄で腎絶対及び比重量増加が、雌で死亡率増加が認められたので、無毒性量は雌雄とも 40 ppm (雄：1.9 mg/kg 体重/日、雌：2.4 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 2)

表 48 2年6か月間慢性毒性/発がん性併合試験(ラット)で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
500 ppm		・腎絶対及び比重量増加
140 ppm 以上	・腎絶対及び比重量増加	・死亡率増加(投与130週後)
40 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

(3) 2年間発がん性試験(ラット)

Wistar ラット(一群雌雄各 60 匹)を用いた混餌(原体：0、1,000、5,000 及び 10,000 ppm：平均検体摂取量は表 49 参照)投与による 2 年間発がん性試験が実施された。

表 49 2年間発がん性試験(ラット)の平均検体摂取量

投与群		1,000 ppm	5,000 ppm	10,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	45.4	229	466
	雌	57.1	282	579

10,000 ppm 投与群の雄において、稀な腫瘍である皮膚腫瘍(毛包腫)の発生頻度増加が認められたが、毛包由来と考えられる腫瘍(毛母腫、毛包上皮腫、毛包腫及び角化棘細胞腫)の発生頻度の合計に統計学的な有意差は認められず、これらの毛包系腫瘍の発現は投与に関連した影響ではないと考えられた。

本試験において、10,000 ppm 投与群の雌で背景データを超える網膜萎縮の発生頻度増加が、全投与群の雌雄で腎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 1,000 ppm 未満(雄：45.4mg/kg 体重/日未満、雌：57.1 mg/kg 体重/日未満)であると考えられた。発がん性は認められなかった。(参照 2)

(4) 2年間発がん性試験(マウス)

NMRI マウス(一群雌雄各 50 匹)を用いた混餌[原体：0、20、80 及び 160 (雄)/320 (雌) ppm：平均検体摂取量は表 50 参照]投与による 2 年間発がん性試験が実施された。

表 50 2年間発がん性試験（マウス）の平均検体摂取量

投与群		20 ppm	80 ppm	160 ppm	320 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	2.8	10.8	22.6	
	雌	4.2	16.2		64

各投与群で認められた毒性所見は表 51 に示されている。

本試験において、160 (雄) /320 (雌) ppm 投与群の雌雄で体重増加抑制等が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 80 ppm (雄: 10.8 mg/kg 体重/日、雌: 16.2 mg/kg 体重/日) であると考えられた。発がん性は認められなかった。(参照 2、3、14、17)

表 51 2年間発がん性試験（マウス）で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
320 ppm		<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・Glu、AST 増加 ・脾絶対及び比重量増加
160 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・死亡率増加 ・体重増加抑制 ・Glu 増加 ・全血中 GSH 減少 	
80 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

(5) 1年間慢性毒性試験（イヌ）（代謝物 Z）

ビーグル犬（一群雌雄各 6 匹）を用いた混餌（代謝物 Z : 0、100、1,000 及び 8,000 ppm）投与による 1 年間慢性毒性試験が実施された。

本試験において、いずれの投与群にも検体投与による悪影響は認められなかったため、無毒性量は雌雄とも本試験の最高用量 8,000 ppm (雄: 325 mg/kg 体重/日、雌: 346 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 2)

(6) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験（ラット）（代謝物 Z）

SD ラット（一群雌雄各 100 匹）を用いた混餌（代謝物 Z : 0、200、2,000 及び 20,000 ppm）投与による 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 52 に示されている。

本試験において、20,000 ppm 投与群の雌雄で体重増加抑制等が認められたため、無毒性量は雌雄とも 2,000 ppm (雄: 91 mg/kg 体重/日、雌: 108 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 2)

表 52 2年間慢性毒性/発がん性併合試験（ラット）（代謝物 Z）で認められた
毒性所見

投与群	雄	雌
20,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・軟便、摂餌量増加、体重増加抑制 ・腎絶対及び比重量増加 ・腎盂結石 ・脾臓髓外造血亢進 	<ul style="list-style-type: none"> ・軟便、摂餌量増加、体重増加抑制 ・腎絶対及び比重量増加 ・腎盂結石 ・脾臓髓外造血亢進
2,000 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

(7) 2年間発がん性試験（マウス）（代謝物 Z）

ICR マウス（一群雌雄各 90 匹）を用いた混餌（代謝物 Z：0、100、1,000 及び 8,000 ppm）投与による 2 年間発がん性試験が実施された。

本試験において、いずれの投与群にも検体投与に関連した毒性所見は認められなかったため、無毒性量は雌雄とも本試験の最高用量 8,000 ppm（雄：1,190 mg/kg 体重/日、雌：1,460 mg/kg 体重/日）と考えられた。発がん性は認められなかった。（参照 2）

12. 生殖発生毒性試験

(1) 2 世代繁殖試験（ラット）

Wistar ラット（一群雌雄各 30 匹）を用いた混餌（原体：0、40、120 及び 360 ppm：平均検体摂取量は表 53 参照）投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

表 53 2 世代繁殖試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群		40 ppm	120 ppm	360 ppm	
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	P 世代	雄	2.7	8.1	24
		雌	4.2	12	36
	F ₁ 世代	雄	2.7	8.1	24
		雌	3	12	33

本試験において、親動物では雄で毒性所見が認められず、360 ppm 投与群の雌（P 及び F₁）で哺育期間中の摂餌量の減少、児動物では 360 ppm 投与群の全世代で生産児数の減少が認められたため、無毒性量は親動物の雄で本試験の最高用量 360 ppm（P 雄：24 mg/kg 体重/日、F₁ 雄：24 mg/kg 体重/日）、雌で 120 ppm（P 雌：12 mg/kg 体重/日、F₁ 雌：12 mg/kg 体重/日）、児動物で 120 ppm（P 雄：8.1 mg/kg 体重/日、P 雌：12 mg/kg 体重/日、F₁ 雄：8.1 mg/kg 体重/日、F₁ 雌：12 mg/kg 体重/日）であると考えられた。繁殖能に対する影響は認められなかった。（参照 2）

(2) 発生毒性試験 (ラット) ①

Wistar ラット (一群雌 20 匹) の妊娠 6~15 日に強制経口 (原体: 0、10、50 及び 250 mg/kg 体重/日、溶媒: 蒸留水) 投与して、発生毒性試験が実施された。

全投与群の母動物で活動性の亢進が認められ、50 mg/kg 体重/日以上投与群では臏出血、粗毛等が、250 mg/kg 体重/日投与群では 1 例の死亡が認められた。

胎児では、全投与群で腎盂又は尿管拡張の発生頻度増加がみられ、250 mg/kg 体重/日投与群では、腎盂及び尿管の両部位の拡張がみられた胎児数が統計学的に有意に増加した。

本試験において、10 mg/kg 体重/日以上投与群の母動物で活動性の亢進等が、胎児で腎盂又は尿管拡張の発生頻度増加が認められたので、無毒性量は母動物及び胎児で 10 mg/kg 体重/日未満であると考えられた。(参照 2、17)

(3) 発生毒性試験 (ラット) ②

前述のラットを用いた発生毒性試験①[12. (2)]において、最低用量で母動物及び胎児に影響がみられ、無毒性量が得られなかったため、本試験は無毒性量を求める目的で追加試験として実施された。

Wistar ラット (一群雌 21~24 匹) の妊娠 6~15 日に強制経口 (原体: 0、0.5、2.2 及び 10 mg/kg 体重/日、溶媒: 蒸留水) 投与して、発生毒性試験が実施された。

10 mg/kg 体重/日投与群において、母動物には試験①[12. (2)]で観察されたような臨床症状はみられず、胎児に腎盂及び尿管拡張は認められなかった。

いずれの投与群の母動物及び胎児にも検体投与に関連した毒性所見は認められなかったため、無毒性量は母動物及び胎児で本試験の最高用量 10 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 2)

(4) 発生毒性試験 (ラット) ③

Wistar ラット (一群雌 20~25 匹) の妊娠 6~15 日に強制経口 (原体: 0、0.5、2.2 及び 10 mg/kg 体重/日、溶媒: 蒸留水) 投与して、発生毒性試験が実施された。母動物には自然分娩させ、その後 21 日間児動物を哺育させた。

本試験において、いずれの投与群の母動物及び児動物においても検体投与に関連した毒性所見は認められなかったため、無毒性量は母動物及び児動物で本試験の最高用量 10 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 2、3)

以上、試験①[12. (2)]の 10 及び 50 mg/kg 体重/日投与群でみられた腎盂又は尿管拡張の発生頻度増加 (統計学的有意差なし) は、試験②[12. (3)]において認められなかったことから、検体投与の影響とは考えられなかった。よって、ラットを用いた発生毒性試験①~③[12. (2)~(4)]の総合評価として、母動物では 50

mg/kg 体重/日以上投与群で臍出血、粗毛等が、胎児では 250 mg/kg 体重/日投与群で腎盂及び尿管拡張の発生頻度増加が認められたので、無毒性量は母動物で 10 mg/kg 体重/日、胎児で 50 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。

(5) 発生毒性試験 (ウサギ)

ヒマラヤウサギ (一群雌 15 匹) の妊娠 7~19 日に強制経口 (原体 : 0、2、6.3 及び 20 mg/kg 体重/日、溶媒 : 蒸留水) 投与して、発生毒性試験が実施された。

本試験において、20 mg/kg 体重/日投与群の母動物で体重増加抑制、胎児で死亡率増加が認められたので、無毒性量は母動物及び胎児で 6.3 mg/kg 体重/日であると考えられた。催奇形性は認められなかった。(参照 2、14、17)

(6) 発達神経毒性試験 (ラット)

SD ラット (一群雌 25 匹) の妊娠 6 日から分娩 21 日後まで混餌 (原体 : 0、200、1,000 及び 4,500 ppm : 平均検体摂取量は表 54 参照) 投与して、発達神経毒性試験が実施された。

表 54 発達神経毒性試験 (ラット) の平均検体摂取量

投与群	200 ppm	1,000 ppm	4,500 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	14	69	292

各投与群で認められた毒性所見は表 55 に示されている。

本試験において、1,000 ppm 以上投与群の母動物で体重増加抑制等が、児動物で自発運動量増加等が認められたので、無毒性量は母動物及び児動物で 200 ppm (14 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 2)

表 55 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
4,500 ppm	・淡色便	・出生後死亡数増加
1,000 ppm 以上	・体重増加抑制 ・摂餌量減少	・体重増加抑制 ・自発運動量、移動運動量増加
200 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

(7) 発生毒性試験 (ラット) (代謝物 B)

Wistar ラット (一群雌 20 匹) の妊娠 6~15 日に強制経口 (代謝物 B : 0、100、300 及び 900 mg/kg 体重/日、溶媒 : 蒸留水) 投与して、発生毒性試験が実施された。

900 mg/kg 体重/日投与群の母動物で、死亡が 1 例、排尿行動増加、立毛、体

重増加抑制、腎絶対重量増加、全同腹児死亡（3腹）が認められた。同群の胎児では、波状肋骨及び肋骨肥厚の発生頻度が有意に増加（14.6%）したが、この発生頻度は背景データ（0～18.6%）の範囲内であり、また、この変異を持つ胎児を有する母動物数（各群4～6例）には有意な増加はみられなかったことから、これは検体投与によるものとは考えられなかった。

本試験において、900 mg/kg 体重/日投与群の母動物で体重増加抑制等が認められ、胎児には悪影響は認められなかったため、無毒性量は母動物で300 mg/kg 体重/日、胎児で本試験の最高用量900 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2）

(8) 発生毒性試験（ウサギ）（代謝物B）

ヒマラヤウサギ（一群雌15匹）の妊娠6～18日に強制経口（代謝物B：0、50、100及び200 mg/kg 体重/日、溶媒：蒸留水）投与して、発生毒性試験が実施された。

100 mg/kg 体重/日以上投与群の母動物で、糞排泄減少、うずくまり、赤色尿排泄、摂餌及び飲水行動減少が認められ、100 mg/kg 体重/日投与群では流産が1例、死亡が1例、200 mg/kg 体重/日投与群では流産が4例、死亡が5例認められた。胎児ではいずれの投与群でも毒性影響は観察されなかった。

本試験において、100 mg/kg 体重/日以上投与群の母動物で流産、死亡等が認められ、胎児では投与に関連した毒性所見が認められなかったため、無毒性量は母動物で50 mg/kg 体重/日、胎児で本試験の最高用量200 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2）

(9) 2世代繁殖試験（ラット）（代謝物Z）

SDラット（一群雌雄各30匹）に混餌（代謝物Z：0、200、2,000及び10,000 ppm）投与による2世代繁殖試験が実施された。

本試験において、いずれの投与群の親動物及び児動物においても投与に関連した毒性所見が認められなかったため、無毒性量は親動物及び児動物で本試験の最高用量10,000 ppm（P雄：702 mg/kg 体重/日、P雌：890 mg/kg 体重/日、F₁雄：821 mg/kg 体重/日、F₁雌：1,010 mg/kg 体重/日）であると考えられた。繁殖能に対する影響は認められなかった。（参照2）

(10) 発生毒性試験（ラット）（代謝物Z）

Wistarラット（一群雌20～21匹）の妊娠6～15日に強制経口（代謝物Z：0及び1,000 mg/kg 体重/日、溶媒：脱イオン水）投与し、発生毒性試験が実施された。

本試験において、母動物及び胎児に投与に関連した毒性所見が認められなかったため、無毒性量は母動物及び胎児とも1,000 mg/kg 体重/日であると考えられ

た。催奇形性は認められなかった。(参照 2、17)

(11) 発生毒性試験 (ウサギ) (代謝物 Z)

ヒマラヤウサギ (一群雌 15 匹) の妊娠 6~18 日に強制経口 (代謝物 Z: 0、64、160 及び 400 mg/kg 体重/日、溶媒: 蒸留水) 投与して、発生毒性試験が実施された。

本試験において、160 mg/kg 体重/日以上投与群の母動物で摂餌量減少が、胎児で片側性または両側性の腰肋の発生頻度増加が認められたので、無毒性量は母動物及び胎児とも 64 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 2、5、17)

1.3. 遺伝毒性試験

グルホシネートアンモニウム塩 (原体) の細菌を用いた DNA 修復試験及び復帰突然変異試験、出芽酵母を用いた遺伝子変換/DNA 修復試験、分裂酵母及びマウスリンパ球細胞を用いた前進突然変異試験、ヒトリンパ球細胞及びヒト末梢血培養細胞を用いた染色体異常試験、ラット初代培養肝細胞を用いた UDS 試験及びマウスを用いた小核試験が実施された。

表 56 に示されているとおり、いずれの試験においても結果は全て陰性であったことから、グルホシネートアンモニウム塩 (原体) に遺伝毒性はないものと考えられた。(参照 2、3)

表 56 遺伝毒性試験概要 (原体)

試験	対象	処理濃度・投与量	結果
in vitro	DNA 修復試験 <i>Bacillus subtilis</i> (H-17、M-45 株)	50~10,000 µg/7 [°] イタ	陰性
	遺伝子変換/DNA 修復試験 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (D4)	1,000~10,000 µg/7 [°] V-ト (+/-S9)	陰性
	復帰突然変異試験 <i>Salmonella typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、 TA1537、TA1538 株) <i>Escherichia coli</i> (WP2hcr 株)	5~1,000 µg/7 [°] V-ト (+/-S9)	陰性 D)
	復帰突然変異試験 <i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、 TA1537 株) <i>E. coli</i> (WP2uvrA 株)	0.08~250 µg/7 [°] V-ト (+/-S9)	陰性
	遺伝子突然変異試験 <i>Schizosaccharomyces pombe</i>	125~1,000 µg/mL (+/-S9)	陰性
	前進突然変異試験 マウスリンパ球細胞 (L51784Y TK+/-)	50~5,000 µg/mL (+/-S9)	陰性

試験		対象	処理濃度・投与量	結果
	染色体異常試験	ヒトリンパ球細胞	1~1,000 µg/mL (+/-S9)	陰性
	染色体異常試験	ヒト末梢血培養細胞	46.4~10,000 µg/mL (+/-S9)	陰性
	UDS 試験	ラット初代培養肝細胞	26.2~5,240 µg/mL	陰性
<i>in vivo</i>	小核試験	NMRI マウス (骨髄細胞) (一群雌雄各 5 匹)	0、100、200、350 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、¹⁾ 500µg/7^レト以上で致死作用

代謝物 B (動物、植物、土壌及び水中由来)、F (動物、植物及び土壌由来) 及び Z (動物及び植物由来) について、細菌を用いた復帰突然変異試験、分裂酵母を用いた前進突然変異試験、チャイニーズハムスターV79 細胞を用いた遺伝子突然変異試験、ヒト A549 細胞を用いた UDS 試験、ヒトリンパ球細胞、チャイニーズハムスターV79 細胞及び骨髄細胞を用いた染色体異常試験、NMRI マウス骨髄細胞を用いた小核試験が実施された。

表 57 に示されているとおり、いずれの試験においても結果は全て陰性であったことから、代謝物 B、F 及び Z に遺伝毒性はないものと考えられた。(参照 2、17)

表 57 遺伝毒性試験概要 (代謝物)

被験物質	試験	対象	処理濃度・投与量	結果	
B	<i>in vitro</i>	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、 TA1535、TA1537、 TA1538 株) <i>E. coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)	4~5,000 µg/7 ^レ ト (+/-S9)	陰性 ¹⁾	
		<i>S. pombe</i> (P1 株)	313~10,000 mg/mL (+/-S9)	陰性	
		チャイニーズハムスター V79 細胞	100~1,000 µg/mL (+/-S9)	陰性	
		UDS 試験	ヒト A549 細胞	1~2,000 µg/mL (+/-S9)	陰性
		染色体異常試験	ヒトリンパ球細胞	0.1~1.52 mg/mL : 24 時間 (+/-S9) 1.52 mg/mL : 48 時間 (+/-S9)	陰性
	<i>in vivo</i>	染色体異常試験	チャイニーズハムスター (骨髄細胞) (一群雌雄各 6 匹)	0、100、333、1,000mg/kg 体重 (単回経口投与)	陰性
		小核試験	NMRI マウス (骨髄細胞) (一群雌雄各 5 匹)	0、200、600、2,000mg/kg 体重 (単回経口投与)	陰性

被験物質	試験		対象	処理濃度・投与量	結果
F	in vitro	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、TA1537株) <i>E. coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)	1.6~5,000 µg/7 ^o レト (+/-S9)	陰性
		染色体異常試験	ヒトリンパ球細胞	24.3~1,820 µg/mL (+/-S9)	陰性
Z	in vitro	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538株) <i>E. coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)	2.3~5,820 µg/7 ^o レト (+/-S9)	陰性
		遺伝子突然変異試験	チャイニーズハムスターV79細胞	582~1,550 µg/mL (+/-S9)	陰性
		遺伝子突然変異試験	チャイニーズハムスターV79細胞	444~1,190 µg/mL (+/-S9)	陰性
		UDS試験	ヒト A549細胞	1.3~1,330 µg/mL (+/-S9)	陰性
		UDS試験	ヒト A549細胞	0.6~582 µg/mL (+/-S9)	陰性
		染色体異常試験	ヒトリンパ球細胞	0.6~5.0 mg/mL : 24時間 (+/-S9) 5.0 mg/mL : 48時間 (+/-S9)	陰性
		染色体異常試験	ヒトリンパ球細胞	3~5,000 mg/mL (-S9) 3~4,750 mg/mL (+S9)	陰性
		染色体異常試験	チャイニーズハムスターV79細胞	154~1,550 µg/mL (+/-S9)	陰性
	in vivo	小核試験	NMRI マウス (骨髄細胞) (一群雌雄各 5 匹)	222~2,220 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、¹⁾ 500 µg/7^oレト以上で弱い抗菌性あり

1.4. その他の試験

(1) 28日間強制経口投与毒性及びメカニズム試験 (イヌ)

イヌを用いた1年間慢性毒性試験[11. (1)]において、8.5 mg/kg 体重/日以上投与群で間代性・強直性痙攣などの症状がみられ死亡例もみられたことから、本試験は検体の中枢神経系への作用を含めた毒性発現機序を解明する目的で実施された。

ビーグル犬 (一群雌雄各 6 匹) に原体を 0、1 及び 8 mg/kg 体重/日の用量で、最初の 1~18 日間は非標識体を、19~28 日までは ¹⁴C-グルホシネートを反復経口投与して、一般毒性の他に神経毒性検査、脳内伝達物質を含む各種物質の動態の測定、グルタミン合成酵素活性の測定が実施された。また、検体の組織中レベルの変化と生体恒常性の生理的変動との関連性をみるために、検体の体内分布及