

### (3) 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、40、200 及び 1,000 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、1,000 ppm 投与群の雌雄で ALP 増加、肝絶対及び比重量増加ならびにび慢性肝細胞肥大が認められたので、無毒性量は雌雄とも 200 ppm (雄: 5.08 mg/kg 体重/日、雌: 5.51 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(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、40、200 及び 1,000 ppm) 投与による 1 年間慢性毒性試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 9 に示されている。

本試験において、200 ppm 以上投与群の雌雄でび慢性肝細胞肥大が認められたので、無毒性量は雌雄とも 40 ppm (雄: 0.96 mg/kg 体重/日、雌: 0.97 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 2)

表 9 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
1,000 ppm	・ALP 増加 ・TG、GGT 増加 ・肝絶対重量増加	・ALP 増加 ・Alb 減少、Glob 増加、 A/G 比減少 ・肝絶対及び比重量増加
200 ppm 以上	・び慢性肝細胞肥大	・び慢性肝細胞肥大
40 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

### (2) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット)

Fischer ラット [一群雌雄各 85 匹 (主群 50 匹、衛星群 35 匹)] を用いた混餌 (原体: 0、25、200 及び 1,600 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 (非腫瘍性病変) は表 10 に、精巣及び肝臓における腫瘍性病変の発生頻度は表 11 に示されている。

1,600 ppm 投与群の雄において、精巣間細胞過形成及び肝細胞腺腫の発生頻度が有意に増加した。精巣間細胞過形成の増加については、対応する腫瘍である間細胞腫の発生頻度は 1,600 ppm 投与群ではむしろ少なく、検体投与による精巣への増殖性病変の誘発を示すものではないと考えられた。肝細胞腺腫に関しては、同群で変異肝細胞巣 (好酸性細胞) も有意に増加しており、検体投与に関連した変化と考えられた。

本試験において、200 ppm 以上投与群の雌雄で近位尿細管褐色色素沈

着等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 25 ppm (雄: 0.85 mg/kg 体重/日、雌: 1.10 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 2)

表 10 2年間慢性毒性/発がん性併合試験(ラット)で認められた毒性所見(非腫瘍性病変)

投与群	雄	雌
1,600 ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制、摂餌量減少傾向、食餌効率低下</li> <li>・MCV減少、MCHC増加、Ht、RBC減少、PLT増加</li> <li>・GGT、BUN増加、TG、クロール減少</li> <li>・TP、Alb、A/G比増加、T.Chol減少</li> <li>・肝絶対及び比重量、腎比重量、脾比重量増加</li> <li>・肝臓：暗調化、腫大、び慢性肝細胞脂肪化、小葉中心性肝細胞肥大</li> <li>・副腎束状帯細胞空胞化</li> <li>・精巢間細胞過形成</li> <li>・甲状腺小型ろ胞増加</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制、摂餌量減少傾向</li> <li>・MCV減少、MCHC増加、Ht、RBC減少、PLT増加</li> <li>・GGT、BUN増加、TG、クロール減少</li> <li>・Alb、A/G比減少、T.Chol増加</li> <li>・肝絶対及び比重量、腎比重量、脾比重量増加</li> <li>・肝臓：暗調化、腫大、斑点、小葉中心性肝細胞肥大、肝小肉芽腫、変異肝細胞巢(好酸性細胞)</li> <li>・甲状腺小型ろ胞増加</li> </ul>
200 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・近位尿細管褐色色素沈着</li> <li>・変異肝細胞巢(好酸性細胞)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・近位尿細管褐色色素沈着</li> <li>・び慢性肝細胞脂肪化</li> </ul>
25 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

表 11 精巢及び肝臓における腫瘍性病変の発生頻度

所見		投与量 (ppm)			
		0	25	200	1,600
精巢間細胞腫	雄	41/80	45/80	42/80	38/80
肝細胞腺腫	雄	0/80	1/80	1/80	8/80**
肝細胞癌	雄	0/80	0/80	1/80	2/80

Fisher の直接確率計算法 \*\* : p<0.01

### (3) 18カ月間発がん性試験(マウス)

ICR マウス(一群雌雄各 52 匹)を用いた混餌(原体: 0、25、100 及び 400 ppm) 投与による 18カ月間発がん性試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見(非腫瘍性病変)は表 12 に、肝細胞腺腫及び肝細胞癌の発生頻度は表 13 に示されている。

400 ppm 投与群の雌雄及び 100 ppm 投与群の雄で、肝細胞腺腫の発生頻度が有意に増加し、肝細胞癌の発生頻度もやや増加する傾向にあった。さらに、雄では肝細胞腺腫の初発時期の早期化傾向も認められ、本検体はマウスの肝臓に対して催腫瘍性を有するものと考えられた。

本試験において、100 ppm 以上投与群の雄で肝細胞腺腫の増加、400 ppm 投与群の雌でび慢性肝細胞脂肪化等が認められたので、無毒性量は雄で 25 ppm (2.54 mg/kg 体重/日)、雌で 100 ppm (9.84 mg/kg 体重/日)

であると考えられた。(参照 2)

表 12 18 カ月間発がん性試験 (マウス) で認められた毒性所見 (非腫瘍性病変)

投与群	雄	雌
400 ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制</li> <li>・食餌効率低下</li> <li>・肝絶対及び比重量増加</li> <li>・肝臓：斑点、腫瘤増加、び慢性肝細胞脂肪化、クッパー細胞褐色色素沈着、肝細胞単細胞壊死、変異肝細胞巢 (好酸性細胞、明細胞)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制</li> <li>・食餌効率低下</li> <li>・肝絶対及び比重量増加</li> <li>・肝臓：小葉像明瞭、腫大、腫瘤増加、び慢性肝細胞脂肪化、肝細胞単細胞壊死、変異肝細胞巢 (好酸性細胞)</li> </ul>
100 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

表 13 肝細胞腺腫及び肝細胞癌の発生頻度

所見		投与量 (ppm)			
		0	25	100	400
肝細胞腺腫	雄	12/52	10/52	22/52*	26/52**
	雌	1/52	1/52	1/52	12/52**
肝細胞癌	雄	2/52	3/52	3/52	7/52
	雌	0/52	0/52	1/51	3/52

Fisher の直接確率計算法 \* :  $p < 0.05$  \*\* :  $p < 0.01$

## 12. 生殖発生毒性試験

### (1) 2 世代繁殖試験 (ラット)

SD ラット (一群雌雄各 24 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、20、130 及び 800 ppm) 投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 14 に示されている。

800 ppm 投与群の親動物では、F<sub>1</sub> 雄の精巢上体比重量及び F<sub>1</sub> 雌の腎絶対及び比重量の増加もみられたが、病理組織学的変化は認められず、投与とは関連のない変化と考えられた。

本試験において、親動物では 130 ppm 以上投与群で P 雌に卵巣比重量増加等、F<sub>1</sub> 雄に包皮分離日齢早期化、F<sub>1</sub> 雌に膈開口日齢遅延及び下垂体絶対重量増加が認められ、児動物では 800 ppm 投与群で生存率 (4 日) 低下等が認められたので、無毒性量は、親動物の一般毒性及び性成熟を含む繁殖能に対して 20 ppm (P 雄 : 1.25 mg/kg 体重/日、P 雌 : 1.42 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub> 雄 : 1.48 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub> 雌 : 1.63 mg/kg 体重/日)、児動物では 130 ppm (P 雄 : 8.25 mg/kg 体重/日、P 雌 : 9.00 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub> 雄 : 9.71 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub> 雌 : 10.5 mg/kg 体重/日) と考えられた。

(参照 2)

表 14 2 世代繁殖試験（ラット）で認められた毒性所見

投与群	親：P、児：F <sub>1</sub>		親：F <sub>1</sub> 、児：F <sub>2</sub>		
	雄	雌	雄	雌	
親動物	800 ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制、摂餌量減少</li> <li>・肝比重量増加</li> <li>・肝臓：暗調化、小葉中心性肝細胞肥大、び慢性肝細胞脂肪化</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加量増加（哺育期間中）</li> <li>・肝、副腎絶対及び比重量増加、卵巣絶対重量増加</li> <li>・肝臓：暗調化、腫大、小葉中心性肝細胞肥大</li> <li>・副腎束状層肥厚</li> <li>・子宮大型着床痕、卵巣大型黄体、子宮脂肪顆粒細胞大型集簇巢</li> <li>・出産率低下（分娩時死亡 4 例、死産 2 例）</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制</li> <li>・小葉中心性肝細胞肥大、び慢性肝細胞脂肪化</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加量増加（哺育期間中）</li> <li>・肝、副腎及び卵巣絶対及び比重量増加</li> <li>・肝臓：暗調化、腫大、小葉中心性肝細胞肥大</li> <li>・副腎束状層肥厚</li> <li>・子宮大型着床痕、卵巣大型黄体、子宮脂肪顆粒細胞大型集簇巢</li> </ul>
	130 ppm 以上	130 ppm 以下 毒性所見なし	<ul style="list-style-type: none"> <li>・摂餌量減少</li> <li>・卵巣比重量増加</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・包皮分離日齢早期化</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・下垂体絶対重量増加</li> <li>・膣開口日齢遅延</li> </ul>
	20 ppm		毒性所見なし	毒性所見なし	毒性所見なし
児動物	800 ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・生存率（4 日）低下</li> <li>・腎盂拡張</li> <li>・上顎切歯萌出日齢遅延</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>・生存率（4 日）低下</li> <li>・腎盂拡張</li> <li>・上顎切歯萌出日齢遅延</li> </ul>	
	130 ppm 以下	毒性所見なし		毒性所見なし	

(2) 発生毒性試験（ラット）

SD ラット（一群雌 24 匹）の妊娠 6～15 日に強制経口（原体：0、5、20 及び 100 mg/kg 体重/日、溶媒：1%CMC 水溶液）投与して発生毒性試験が実施された。

100 mg/kg 体重/日投与群で、母動物に体重増加抑制、摂餌量減少及び補正体重<sup>2</sup>の低下がみられた。同群の胎児では、胚・胎児死亡率が 11%とやや高かった。これは統計学的に有意ではなかったが、背景データの範囲（2.2～10.0%）を超えており、さらに、用量設定試験においても 100 mg/kg 体重/日以上投与群で有意に高かったことから、検体投与との関連が示唆された。また、100 mg/kg 体重/日投与群では、胎盤重量の増加及び骨格変異（頸肋、腰肋等）の出現頻度の有意な増加が認められた。これらの所

<sup>2</sup> 妊娠 20 日の体重から妊娠子宮重量を減じた重量

見も用量設定試験で得られた結果と一致しており、検体投与に関連した変化と考えられた。一方、外表、内臓及び骨格奇形ならびに内臓変異の出現頻度には、検体投与に関連した影響は認められなかった。

本試験において、100 mg/kg 体重/日投与群の母動物で体重増加抑制等が、胎児で死亡率の上昇等が認められたので、無毒性量は母動物及び胎児で20 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照2)

### (3) 発生毒性試験 (ウサギ)

日本白色種ウサギ (一群雌 17~18 匹) の妊娠 6~18 日に強制経口 (原体: 0、5、30 及び 150 mg/kg 体重/日、溶媒: 1%CMC 水溶液) 投与して発生毒性試験が実施された。

150 mg/kg 体重/日投与群で、母動物に軽度の体重増加抑制がみられ、統計学的な有意差はなかったが、投与期間中継続的に認められたことから、投与に関連した変化と考えられた。胎児に対しては、いずれの投与群においても投与の影響は認められなかった。

本試験において、150 mg/kg 体重/日投与群の母動物で体重増加抑制が認められ、胎児ではいずれの投与群においても影響が認められなかったので、無毒性量は母動物で 30 mg/kg 体重/日、胎児で本試験の最高用量 150 mg/kg 体重/日と考えられた。催奇形性は認められなかった。(参照2)

### 1.3. 遺伝毒性試験

シメコナゾール (原体) の細菌を用いた DNA 修復試験、復帰突然変異試験、チャイニーズハムスター肺由来 (CHL) 細胞を用いた染色体異常試験及びマウスを用いた小核試験が実施された。試験結果は表 15 に示されているとおりにすべて陰性であった。(参照2)

表 15 遺伝毒性試験概要 (原体)

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> (H-17、M-45 株) 100~5,000 µg/7 <sup>+</sup> 1株 1~200 µg/7 <sup>+</sup> 1株 20~150 µg/7 <sup>+</sup> 1株 (+/-S9)	陰性
	復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、TA1537 株) 7.8~500 µg/7 <sup>+</sup> 1-10 (+/-S9、各 2 回)	陰性
		<i>Escherichia coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株) 78~5,000 µg/7 <sup>+</sup> 1-10 (+/-S9、各 2 回)	陰性

試験		対象	処理濃度・投与量	結果
	染色体異常試験	チャイニーズハムスター肺由来 (CHL) 細胞	10~160 µg/mL (24 時間処理、-S9) 5~80 µg/mL (48 時間処理、-S9) 15.6~250 µg/mL (6 時間処理、+S9)	陰性
<i>in vivo</i>	小核試験	ICR マウス (骨髄細胞) (一群雌雄各 5 匹)	0、125、250、500 mg/kg 体重 (単回強制経口投与)	陰性

注) +/-S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下

代謝物 (B、C、D、F、K 及び L) ならびに原体混在物 (M、N、O、P 及び Q) の細菌を用いた復帰突然変異試験が実施された。この他に、原体混在物 N については CHL 細胞を用いた染色体異常試験が実施された。試験結果は表 16 に示されている。

原体混在物 N は、TA98 株においてのみ代謝活性化系非存在下で弱い復帰突然変異誘発性を示したが、菌株の生育阻害が認められる直前の投与量のみで対照群の 2 倍程度の反応であること、代謝活性化系の導入により陰性となること、含有量が 0.2% 以下の原体混在物であり暴露量は非常に少ないと想定されることから、生体にとって特段問題となるものではないと考えられた。その他の原体混在物及び代謝物の試験結果はすべて陰性であった。(参照 2)

表 16 遺伝毒性試験概要 (代謝物及び原体混在物)

被験物質	試験	対象	処理濃度・投与量	結果
B	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA100、TA1535、TA98、TA1537 株) <i>E. coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)	156~5,000 µg/7 <sup>+</sup> ℓ <sup>-</sup> (+/-S9、各 2 回)	陰性
C	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA100、TA1535、TA98、TA1537 株) <i>E. coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)	20~5,000 µg/7 <sup>+</sup> ℓ <sup>-</sup> 313~5,000 µg/7 <sup>+</sup> ℓ <sup>-</sup> (+/-S9)	陰性
D	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA100、TA1535、TA1537 株)	100~5,000 µg/7 <sup>+</sup> ℓ <sup>-</sup> 156~5,000 µg/7 <sup>+</sup> ℓ <sup>-</sup> (+/-S9)	陰性
		<i>S. typhimurium</i> (TA98 株)	100~5,000 µg/7 <sup>+</sup> ℓ <sup>-</sup> (-S9) 200~5,000 µg/7 <sup>+</sup> ℓ <sup>-</sup> (+S9) 156~5,000 µg/7 <sup>+</sup> ℓ <sup>-</sup> (+/-S9)	
		<i>E. coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)	200~5,000 µg/7 <sup>+</sup> ℓ <sup>-</sup> 313~5,000 µg/7 <sup>+</sup> ℓ <sup>-</sup> (+/-S9)	

被験物質	試験	対象	処理濃度・投与量	結果
F	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA100、TA1535、 TA98、TA1537株) <i>E. coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)	21~5,000 $\mu\text{g}/\text{7}^{\circ}\text{v}$ - 156~5,000 $\mu\text{g}/\text{7}^{\circ}\text{v}$ - (+/-S9)	陰性
K	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA100、TA1535、 TA98、TA1537株) <i>E. coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)	200~5,000 $\mu\text{g}/\text{7}^{\circ}\text{v}$ - 313~5,000 $\mu\text{g}/\text{7}^{\circ}\text{v}$ - (+/-S9)	陰性
L	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA100、TA1535、 TA98、TA1537株) <i>E. coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)	20~5,000 $\mu\text{g}/\text{7}^{\circ}\text{v}$ - 313~5,000 $\mu\text{g}/\text{7}^{\circ}\text{v}$ - (+/-S9)	陰性
M	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA100、TA1535、 TA98、TA1537株) <i>E. coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)	62~5,000 $\mu\text{g}/\text{7}^{\circ}\text{v}$ - 313~5,000 $\mu\text{g}/\text{7}^{\circ}\text{v}$ - (+/-S9)	陰性
N	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA100、TA1535、 TA1537株) <i>E. coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)	21~5,000 $\mu\text{g}/\text{7}^{\circ}\text{v}$ - 156~5,000 $\mu\text{g}/\text{7}^{\circ}\text{v}$ - (+/-S9)	陰性
		<i>S. typhimurium</i> (TA98株)	21~5,000 $\mu\text{g}/\text{7}^{\circ}\text{v}$ - 500~4,000 $\mu\text{g}/\text{7}^{\circ}\text{v}$ - (+/-S9)	-S9 : 弱陽性 +S9 : 陰性
	染色体異常試験	チャイニーズハムスタ ー肺由来培養細胞 (CHL)	254~2,030 $\mu\text{g}/\text{mL}$ <sup>1)</sup> (+/-S9)	陰性
O	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA100、TA1535、 TA98、TA1537株) <i>E. coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)	18.5~4,500 $\mu\text{g}/\text{7}^{\circ}\text{v}$ - 125~4,000 $\mu\text{g}/\text{7}^{\circ}\text{v}$ - (+/-S9)	陰性
P	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA100、TA1535、 TA98、TA1537株) <i>E. coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)	7.4~1,800 $\mu\text{g}/\text{7}^{\circ}\text{v}$ - 56.3~1,800 $\mu\text{g}/\text{7}^{\circ}\text{v}$ - (+/-S9)	陰性
Q	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA100、TA1535、 TA98、TA1537株) <i>E. coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)	21~5,000 $\mu\text{g}/\text{7}^{\circ}\text{v}$ - 156~5,000 $\mu\text{g}/\text{7}^{\circ}\text{v}$ - (+/-S9)	陰性

注) +/-S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下

<sup>1)</sup> : 2,030  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ではすべての系列で細胞毒性のため観察ができなかった。

#### 14. その他の試験

##### (1) 肝腫瘍発現機序検討試験

ラットの2年間慢性毒性/発がん性併合試験[11. (2)]で認められた肝細胞腫瘍の発生機序を解明するために、肝薬物代謝酵素誘導及び細胞増殖能について検討された。

##### ① 雄 Fischer ラットを用いた肝薬物代謝酵素誘導及び細胞増殖能試験

Fischer ラット (一群雄 12 匹) を用いた混餌 (原体: 0、25、200 及び 1,600 ppm) 投与による7日間肝薬物代謝酵素誘導及び細胞増殖能試験が実施された。

1,600 ppm 投与群で肝絶対及び比重量増加、肝腫大及びび慢性肝細胞肥大が認められ、ミクロソーム蛋白量、P450 量及び PROD 活性が有意に増加した。また、CYP2B1 及び CYP3A2 含量が有意に増加し、CYP1A2 及び CYP4A1 含量が有意に減少した。200 ppm 投与群においても PROD 活性の有意な増加がみられた。これらの変化はフェノバルビタール (PB) による酵素誘導パターンと類似しており、シメコナゾールの肝薬物代謝酵素誘導能が確認された。肝細胞増殖活性検査では、1,600 ppm 投与群の投与3日後において PCNA 標識率の有意な増加がみられたが、投与7日後では有意差はみられなかった。一般に、非変異原性肝発がん物質による細胞増殖効果は、投与開始後2~3日でピークに達し、その後は投与を継続しても消失することが知られており、本試験においても同様な傾向が認められた。

本試験において、200 ppm 以上投与群に PROD 活性の有意な増加が認められたので、無影響量は 25 ppm (1.5 mg/kg 体重/日) であり、肝薬物代謝酵素誘導あるいは細胞増殖作用に閾値があると考えられた。(参照2)

##### ② 雌 Fischer ラットを用いた肝薬物代謝酵素誘導及び細胞増殖能試験

前述[14. (1)①]の追加試験として、Fischer ラット (一群雌 12 匹) を用いた混餌 (原体: 0、25、200 及び 1,600 ppm) 投与による7日間肝薬物代謝酵素誘導及び細胞増殖能試験が実施された。

1,600 ppm 投与群で肝絶対及び比重量増加、肝腫大及びび慢性肝細胞肥大が認められ、ミクロソーム蛋白量、P450 量及び PROD 活性が有意に増加した。また、CYP2B1、CYP3A2 及び CYP4A1 含量が有意に増加した。200 ppm 投与群では CYP1A2、CYP2B1 及び CYP3A2 含量の有意な増加が認められた。これらの変化は PB による酵素誘導パターンと類似しており、シメコナゾールの肝薬物代謝酵素誘導能が確認された。肝細胞増殖活性検査では、200 ppm 以上の投与群の投与3日後において PCNA 標識率



の有意な増加がみられたが、投与 7 日後では有意差はみられず、雄と同様であった。

本試験において、200 ppm 以上の投与群で CYP2B1 及び CYP3A2 含量の有意な増加が認められたので、無影響量は 25 ppm (1.5 mg/kg 体重/日) であり、肝薬物代謝酵素誘導あるいは細胞増殖作用には閾値があることが、雄ラットの場合と同様に示唆された。(参照 2)

以上のことから、Fischer ラットにおける肝細胞腫瘍の発生頻度の増加には、肝薬物代謝酵素誘導及び細胞増殖活性の増加が関連していると考えられ、これらの作用には閾値があることが示唆された。

## (2) 分娩異常発現機序検討試験

### ① 雌 SD ラットを用いた血清中ホルモン測定試験

ラットの 2 世代繁殖試験 [12. (1)] において認められた分娩異常の原因を考察するために、SD ラット (一群雌 12 匹) に原体を 0、20、130 または 800 ppm の用量で 28 日間混餌投与して、血清中ホルモンが測定された。

800 ppm 投与群で、黄体化ホルモンが有意に増加し、プロゲステロンが上昇傾向を示した。これらのホルモンは分娩時に低下することが知られており、繁殖試験でみられた分娩時死亡及び死産は、検体投与によってこれらのホルモン濃度の低下が阻害されたため、一部の母動物に分娩遅延が生じて分娩異常が惹起された可能性が考えられた。(参照 2)

## (3) 腎盂拡張発現機序検討試験

SD ラットの 2 世代繁殖試験 [12. (1)] において、児動物に腎盂拡張が認められたのに対し、SD ラットの発生毒性試験 [12. (2)] では認められなかった原因を考察するため、母動物の血圧調節及び血管収縮に及ぼす影響、ならびに胎児または哺育児の腎臓に及ぼす影響に関する試験が実施された。

### ① 妊娠 SD ラットにおける血圧調節に及ぼす影響に関する試験

SD ラット (一群雌 12 匹) に原体を 0、20、130 または 800 ppm の用量で約 7 週間 (交配前 3 週間及び妊娠 20 日まで) 混餌投与し、妊娠ラットにおける血圧調節に及ぼす影響について検討した結果、800 ppm 投与群で母動物の血中レニン活性に低下傾向がみられたが、血圧及び心拍数には群間で差は認められず、本試験における用量では血圧や心拍数に対して影響はないと考えられた。(参照 2)

② 血管収縮反応に及ぼす影響に関する試験

SD ラット（一群雄 6 匹）の頸動脈を用いて、アンギオテンシン I 及びアンギオテンシン II の血管収縮反応に対するシメコナゾール投与の影響について検討された。

シメコナゾールは、 $3.4 \times 10^{-7} \sim 3.4 \times 10^{-5} \text{ M}$  の濃度範囲において、アンギオテンシン I 及びアンギオテンシン II による両収縮反応を同等に濃度依存的に抑制したことから、アンギオテンシン I からアンギオテンシン II に変換するアンギオテンシン変換酵素活性に対する作用は有さず、受容体に対する直接的な拮抗作用を有するものと考えられた。（参照 2）

③ 胎児または哺育児の腎臓に及ぼす影響に関する試験（1 世代繁殖試験）

SD ラット（一群雌 16 匹）に、妊娠 0～20 日または哺育 0～21 日に原体を 0、20、130 または 800 ppm の用量で混餌投与し、胎児または哺育児の腎臓に及ぼす影響について検討された。

妊娠期暴露試験では、800 ppm 投与群で離乳児の腎盂拡張の出現頻度（8.9%）が、統計学的に有意ではないが対照群値（1.6%）を上回り、腎盂内に貯留する尿量も増加し、検体投与による腎盂拡張の誘発が示唆された。哺育期暴露試験では、母動物全例に肝腫大が認められたが、哺育児の腎臓に異常はみられなかった。（参照 2）

腎盂拡張については、妊娠期（特に後期）に検体投与された母動物から産まれた児動物において哺育中期から後期にかけて発生する（遅発性の催奇形性作用）ので、胎児期及び離乳期以前では検出されない。よって、発生毒性試験における胎児及び本試験における哺育期暴露群の哺育児においては腎盂拡張が認められなかったものと考えられる。血圧調節に及ぼす影響に関する試験 [14. (3) ①] 及び血管収縮反応に及ぼす影響に関する試験 [14. (3) ②] の結果から、この腎盂拡張は、シメコナゾールのレニン/アンギオテンシン系に対する循環調節阻害（特に、アンギオテンシン受容体拮抗作用）に起因すると考えられた。本所見に対する無毒性量は 130 ppm（妊娠期：8.7 mg/kg 体重/日、哺育期：19.2 mg/kg 体重/日）と考えられた。

### Ⅲ. 食品健康影響評価

参照に挙げた資料を用いて、農薬「シメコナゾール」の食品健康影響評価を実施した。

動物体内において、シメコナゾールは速やかに吸収及び排泄された。ラットでは主な排泄経路は胆汁中で、投与後 72 時間で 80%TAR 以上が糞尿中に排泄された。組織及び器官への残留性は認められなかった。糞尿中に親化合物は認められず、主要代謝物として雄では尿中に I が、雌では糞尿中に D の硫酸抱合体が検出された。胆汁中の主要代謝物は D のグルクロン酸抱合体であった。主な代謝経路は代謝物 D への酸化で、さらに硫酸抱合やグルクロン酸抱合を受ける経路であった。マウスにおいてもラットと同様にシメコナゾールの吸収及び排泄は速やかで、組織及び器官への残留性も認められなかった。主要代謝物は雌雄とも D のグルクロン酸抱合体であった。

植物体内における主要代謝物は D の糖抱合体であった。

シメコナゾール、代謝物 D 及び F を分析対象化合物とした作物残留試験の結果、シメコナゾールの最高値は、もも（果皮）を除くと、最終散布 7 日後に収穫した茶（荒茶）の 8.30 mg/kg であった。また、魚介類における最大推定残留値は 0.154 mg/kg であった。

各種毒性試験結果から、シメコナゾール投与により主に肝臓に影響が認められた。遺伝毒性は認められなかった。発がん性試験において、雄ラット及び雌雄マウスで肝細胞腺腫の発生頻度の増加がみられたが、発生機序は遺伝毒性メカニズムとは考え難く、本剤の評価にあたり閾値を設定することは可能であると考えられた。催奇形性については、2 世代繁殖試験においてラットの児動物に腎盂拡張が認められたが、追加で実施された「胎児または哺育児の腎臓に及ぼす影響に関する試験（1 世代繁殖試験）」等の結果、これはレニン/アンギオテンシン系に対する循環調節阻害によるものであり、この変化には閾値が存在すると考えられた。また、発生毒性試験において、ラットでは骨格変異の増加が認められたが、奇形の増加は認められなかった。ウサギでは胎児に影響は認められなかった。したがって、安全係数は 100 が妥当であると判断された。

各種試験結果から、食品中の暴露評価対象物質をシメコナゾール（親化合物のみ）と設定した。

評価に用いた各試験の無毒性量等は表 17 に示されている。

食品安全委員会は、各試験の無毒性量の最小値がラットを用いた 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験の 0.85 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 0.0085 mg/kg 体重/日を一日摂取許容量（ADI）と設定した。