

## II. 安全性に係る試験の概要

各種運命試験 (II. 1~6) は、ルフェヌロンのジクロロフェニル基を  $^{14}\text{C}$  で均一に標識したもの ([dic- $^{14}\text{C}$ ]ルフェヌロン) 及びジフルオロフェニル基を  $^{14}\text{C}$  で均一に標識したもの ([dif- $^{14}\text{C}$ ]ルフェヌロン) 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ルフェヌロンに換算した。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。

### 1. 動物体内運命試験

#### (1) 血中濃度推移・排泄① (単回投与)

Wistar ラット (一群雄 4 匹) に [dic- $^{14}\text{C}$ ]ルフェヌロンを単回経口 (0.1、1、10 及び 100 mg/kg 体重) または単回静脈内 (0.1 及び 10 mg/kg 体重) 投与し、血中濃度推移・排泄試験が実施された。

血中放射能濃度推移は表 1 に示されている。

AUC<sub>0-120h</sub> が投与量に伴って増加したが、100 mg/kg 体重投与群では投与量に比例せず、吸収過程の飽和が示唆された。

表 1 血中放射能濃度推移

投与経路	経口投与				静脈内投与	
	0.1	1.0	10	100	0.1	10
投与量 (mg/kg 体重)	0.1	1.0	10	100	0.1	10
AUC <sub>0-120h</sub> ( $\mu\text{g} \cdot \text{時間}/\text{g}$ )	0.40	4.37	41.3	83.9	0.56	60.7
T <sub>max</sub> (時間)	8	8	8	8	2	2
C <sub>max</sub> ( $\mu\text{g}/\text{g}$ )	0.008	0.097	0.89	1.34	0.02	1.91

投与後 1 及び 21 日における尿及び糞中排泄率ならびに T<sub>1/2</sub> は表 2 に示されている。

ルフェヌロンは経口投与後、主に糞中に排泄され、排泄率は投与後 1 日以内に最も高くなり、0.1、1.0、10 及び 100 mg/kg 体重投与群でそれぞれ総投与放射能 (TAR) の 32.8、31.1、40.8 及び 77.7% が排泄された。静脈内投与後も糞中に排泄されたが、同一投与量の経口投与後に比べて 24 時間以内の排泄率はかなり低かった (0.1 及び 10 mg/kg 体重投与群でそれぞれ 10.7 及び 7.0% TAR)。このことより、経口投与したルフェヌロンの一部が吸収されずに排泄されると考えられた。また、表 1 の経口投与時と静脈内投与時の AUC の比較から、吸収率は 0.1 mg/kg 体重投与群で 71.4%、10 mg/kg 体重投与群で 68% となると考えられた。糞中への 21 日間の排泄率から算出した T<sub>1/2</sub> は、195~308 時間であり、排泄は緩やかであると考えられた。(参照 5)

表2 尿及び糞中排泄率 (%TAR) ならびに  $T_{1/2}$  (時間)

投与経路	投与量 (mg/kg 体重)	投与後 1 日		投与後 21 日		$T_{1/2}$	
		尿	糞	尿	糞	尿 <sup>1)</sup>	糞
経口投与	0.1	0.13	32.8	<0.02	0.97	454	255
	1.0	0.10	31.1	0.01	1.2	452	265
	10	0.11	40.8	0.01	0.84	348	195
	100	0.04	77.7	<0.01	0.25	238	308
静脈内投与	0.1	0.13	10.7	0.02	1.4	346	197
	10	0.14	7.0	0.03	1.7	382	267

1) : 尿中への排泄割合は 1% 以下のため、 $T_{1/2}$  の誤差は大きい。

## (2) 血中濃度推移・排泄② (反復投与)

Wistar ラット (雄 4 匹) に [dic-<sup>14</sup>C] ルフェヌロンを 0.5 mg/kg 体重 (以下、[1.] において「低用量」という。) で 14 日間反復経口投与し、血中濃度推移・排泄試験が実施された。各投与後 24 時間の血液、尿及び糞を採取して試料とした。

尿及び糞中排泄率は表 3 に示されている。

血中放射能濃度は、投与を重ねるごとに増加したが、0.17 µg/g 付近で定常状態となった。14 日間の投与終了後は緩慢に低下し、最終投与後 7 日には 0.11 µg/g となった。 $T_{1/2}$  は投与終了後約 9 日と推定された。

尿及び糞中排泄率は、投与開始 6 日以内に定常状態に達し、その後、投与終了までほぼ一定であった (1 日投与量に対し尿及び糞でそれぞれ約 1 及び 50%)。投与開始後 1 日から最終投与後 7 日までの合計で、糞中に約 58%TAR、尿中に約 1.2%TAR が排泄された。(参照 7)

表3 尿及び糞中排泄率 (%TAR)

試料	排泄率 <sup>1)</sup>				
	投与開始後 1 日	投与開始後 6 日	投与開始後 11 日	最終投与後 1 日 (投与開始後 14 日)	最終投与後 7 日 (投与開始後 20 日)
尿	0.04(0.51)	0.05(0.76)	0.08(1.2)	0.08(1.1)	0.04(0.55)
糞	2.0(27.8)	3.3(46.5)	3.4(47.8)	4.0(55.6)	1.9(26.6)

1) : 14 日間の総投与量に対する排泄率 (カッコ内は、1 日投与量に対する排泄率)

### (3) 排泄

SD ラット（一群雌雄各 5 匹）に [dic-<sup>14</sup>C] ルフェヌロンを低用量または 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、あるいは非標識体を低用量で 14 日間反復経口投与した後に [dic-<sup>14</sup>C] ルフェヌロンを低用量で単回経口投与する排泄試験が実施された。

投与後 168 時間の吸収率及び尿排泄率は表 4 に示されている。

吸収率に性差は認められず、低用量群においては 43.6~53.5% TAR、高用量群では約 10% TAR が腸管から体循環系へと吸収された。

表 4 投与 168 時間後の吸収率及び尿排泄率 (%TAR)

投与量	0.5 mg/kg 体重				100 mg/kg 体重	
	単回経口		反復経口		単回経口	
投与方法						
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌
尿 (0-168 時間)	0.82	0.72	0.60	0.75	0.26	0.28
組織 (0-168 時間)	5.4	5.0	5.9	8.4	2.0	1.5
カーカス <sup>1</sup> (0-168 時間)	38.1	43.8	37.1	44.4	9.7	7.4
吸収率 <sup>*</sup>	44.3	49.5	43.6	53.5	11.9	9.2

※吸収率=尿排泄率+組織内残留+カーカス内残留

投与後 24 及び 168 時間の尿及び糞中排泄率ならびに投与後 24 時間の呼気中排泄率は、表 5 に示されている。

投与後 24 時間以内に低用量単回経口投与群の雌雄で 23.7~26.0% TAR が、高用量単回経口投与群の雌雄で 66.9~73.2% TAR が糞中に排泄された。投与後 168 時間には、低用量単回または反復投与群の雌雄で 44.0~55.3% TAR、高用量単回投与群の雌雄で 80% TAR 強が糞中に排泄された。（参照 2）

表 5 投与後 24 及び 168 時間の尿及び糞ならびに投与後 24 時間の呼気中排泄率 (%TAR)

投与量	0.5 mg/kg 体重				100 mg/kg 体重		
	単回経口		反復経口		単回経口		
投与方法							
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	
尿	0-24 時間	0.27	0.29	0.19	0.31	0.10	0.14
	0-168 時間	0.82	0.72	0.60	0.75	0.26	0.28
糞	0-24 時間	26.0	23.7	38.8	23.3	66.9	73.2
	0-168 時間	52.0	47.7	55.3	44.0	82.4	83.3
呼気	0-24 時間					<0.01	<0.01

<sup>1</sup> 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）。

#### (4) 胆汁中排泄

胆管カニユーレを挿入した SD ラット (雄 5 匹) に、[dic-<sup>14</sup>C]ルフェノロンを低用量で単回投与し、胆汁中排泄試験が実施された。

投与後 0~48 時間の胆汁、尿及び糞中排泄率は表 6 に示されている。

投与後 48 時間の排泄率は、糞中が 51.6%TAR 排泄であったのに対し、尿中では 0.17%TAR、胆汁中では 1.7%TAR であった。(参照 2)

表 6 投与後 0~48 時間の胆汁、尿及び糞中排泄率 (%TAR)

性別	雄		
投与条件	0.5 mg/kg 体重・単回経口投与		
投与後	8 時間	24 時間	48 時間
胆汁	0.33	0.87	1.70
尿	—	0.09	0.17
糞	—	8.57	51.6
合計	—	9.53	53.5

#### (5) 体内分布①

血中濃度推移・排泄試験①[1. (1)]及び排泄試験[1. (3)]の投与 168 時間後のラットを用いて体内分布試験が実施された。

投与 168 時間後の主要組織の残留放射能濃度は表 7 に示されている。

低用量及び高用量の雌雄で最も残留濃度が高い組織は脂肪であった。反復経口投与群の残留量は、単回経口投与の同投与量群とほぼ同じであった。(参照 2)

表 7 投与 168 時間後の主要組織の残留放射能濃度 (µg/g)

投与条件	性別	残留放射能濃度
0.5 mg/kg 体重 単回経口	雄	脂肪(1.91)、甲状腺(0.220)、肝臓(0.129)、肺(0.0942)、腎臓(0.0879)、心臓(0.0802)、胸腺(0.0560)、脾臓(0.0465)、骨格筋(0.0404)、骨(0.0398)、精巣(0.0260)、脳(0.0131)、血漿(0.0104)
	雌	脂肪(2.40)、卵巣(0.439)、子宮(0.231)、甲状腺(0.162)、肝臓(0.147)、肺(0.107)、腎臓(0.102)、心臓(0.0930)、胸腺(0.0812)、脾臓(0.0624)、骨(0.0551)、骨格筋(0.0413)、脳(0.0136)、血漿(0.0133)
0.5 mg/kg 体重 反復経口	雄	脂肪(1.76)、甲状腺(0.234)、肝臓(0.118)、肺(0.0866)、腎臓(0.0739)、心臓(0.0722)、胸腺(0.0693)、脾臓(0.0418)、骨(0.0349)、骨格筋(0.0322)、精巣(0.0178)、脳(0.0129)、血漿(0.0103)

	雌	脂肪(2.68)、卵巣(0.502)、甲状腺(0.369)、肝臓(0.178)、胸腺(0.143)、肺(0.127)、腎臓(0.116)、心臓(0.110)、子宮(0.0693)、脾臓(0.0690)、骨格筋(0.0463)、骨(0.0431)、血漿(0.0157)、脳(0.0131)
100 mg/kg 体重 反復経口	雄	脂肪(92.1)、甲状腺(12.8)、肝臓(6.65)、心臓(4.12)、腎臓(4.10)、肺(4.08)、胸腺(3.49)、脾臓(2.35)、骨格筋(1.90)、骨(1.72)、精巣(1.61)、血漿(0.609)、脳(0.551)
	雌	脂肪(79.4)、卵巣(19.2)、甲状腺(17.6)、子宮(9.75)、肝臓(4.85)、肺(3.47)、腎臓(3.18)、心臓(3.13)、胸腺(2.70)、脾臓(2.25)、骨格筋(1.49)、骨(1.35)、血漿(0.490)、脳(0.466)

## (6) 体内分布②

血中濃度推移・排泄試験②[1. (2)]で使用したラット及び[ $^{14}\text{C}$ ]ルフェノロンを低用量で単回経口投与あるいは7または14日間反復経口投与したWistarラット(一群雄4匹)を用いて体内分布試験が実施された。

主要組織の残留放射能濃度は表8に示されている。

組織中放射能濃度は投与回数の増加に伴い増加し、14日間投与後1日に最高値に達した。最高濃度は脂肪で、次いで副腎、脾臓、甲状腺であった。

組織中半減期は概ね7~12日であったが、甲状腺ではやや早く4日、一方、精巣、肺及び脂肪ではやや遅く14~16日であった。14日間の投与終了7日後の組織中濃度は、体内分布試験①[1. (5)]の単回投与7日後と比較した場合、10倍の値であり、総投与量の約38%が組織及び臓器に残留していた。(参照7)

表8 主要組織の残留放射能濃度 ( $\mu\text{g/g}$ )

投与条件	組織採取時点	残留放射能濃度
0.5 mg/kg 体重 単回	投与1日後	脂肪(3.48)、副腎(0.742)、脾臓(0.596)、肝臓(0.462)、甲状腺(0.413)、肺(0.299)、腎臓(0.292)、心臓(0.261)、胸腺(0.173)、脾臓(0.160)、骨格筋(0.156)、骨(0.0957)、精巣(0.0822)、血漿(0.0395)、脳(0.0313)
0.5 mg/kg 体重 反復7日間	最終投与1日後	脂肪(21.2)、甲状腺(2.44)、副腎(2.38)、脾臓(2.16)、肝臓(1.60)、腎臓(1.07)、心臓(0.926)、肺(0.827)、胸腺(0.728)、骨格筋(0.576)、脾臓(0.548)、精巣(0.367)、骨(0.302)、血漿(0.139)、脳(0.111)
0.5 mg/kg 体重 反復14日間	最終投与1日後	脂肪(29.2)、副腎(4.19)、脾臓(3.17)、甲状腺(3.02)、肝臓(2.12)、腎臓(1.35)、心臓(1.25)、肺(1.10)、胸腺(1.09)、脾臓(0.72)、骨格筋(0.637)、骨(0.330)、精巣(0.279)、血漿(0.232)、全血(0.166)、脳(0.137)

	最終投与 7 日後	脂肪(22.7)、副腎(2.39) <sup>1)</sup> 、脾臓(2.17)、肝臓(1.35)、甲状腺(1.10)、腎臓(0.885)、肺(0.834)、脳(0.0816) <sup>1)</sup> 、心臓(0.775)、胸腺(0.619)、脾臓(0.513)、骨格筋(0.396)、骨(0.235)、精巣(0.208)、血漿(0.131)
--	-----------	--

1) : 1 例で異常値がみられたため、2 例の平均値を示す

### (7) 代謝物同定・定量

排泄試験[1. (3)]及び体内分布試験②[1. (6)]で採取した糞及び組織(脂肪、肝臓、腎臓、肺及びカーカス)ならびに胆汁中排泄試験[1. (4)]で得られた胆汁を用いて代謝物同定・定量試験が行われた。尿については放射能の回収率が1%未満であったため用いなかった。

糞中の代謝パターンには、性差や反復投与による影響は認められなかった。主要代謝物は親化合物であり、低用量群及び高用量群の糞中にそれぞれ36.8~48.4及び76.8~78.5% TAR 検出された。

各組織(脂肪、肝臓、腎臓、肺及びカーカス)からの抽出物を分析した結果、ほとんどが親化合物であった。

胆汁中からは7種類の分画が得られ、ほとんどの放射能は極性が高く原点にとどまっていた。親化合物が0.1% TAR、Bが0.1% TAR、Cは0.1% TAR 未満検出された。

ルフェヌロンの代謝経路として、アミド部分の開裂によるB及びDまたはC及びEの生成、Bのウレイド部分の開裂によるCの生成が考えられた。(参照2、3)

### (8) 分布、代謝物同定・定量

SD ラット(一群雌雄各2匹)に[ $^{14}\text{C}$ ]ルフェヌロンを低用量で14日間反復経口投与し、脳における分布、代謝物同定・定量試験が実施された。

脳のラジオルミノグラムでは、14日間の投与終了8時間後をピークに脳内濃度が低下した。大脳への分布はわずかであり、脳内の分布はほぼ均一であった。大脳以外では、下垂体、松果体及びハーダー腺への分布が認められた。

大脳中の代謝物分析の結果、親化合物(総残留放射能(TRR)の92%以上)及び代謝物B(0.23~1.1% TRR)が検出された。

SD ラット(一群雌雄各3匹)に[ $^{14}\text{C}$ ]ルフェヌロンを低用量で単回経口投与、あるいは7または14日間反復経口投与し、代謝物同定・定量試験が実施された。

血漿中の代謝物分析の結果、親化合物(69.5~79.8% TRR)、B(13.0~16.7% TRR)及びC(0.37~1.6% TRR)が検出された。投与回数、経過時間による差は認められなかった。

、大脳中の代謝物分析の結果、親化合物（92%TRR 以上）及び B（0.23～1.1%TRR）が検出された。（参照 6）

## 2. 植物体内運命試験

### (1) わた（吸収、分布及び分解）

乳剤に調製した[di-<sup>14</sup>C]ルフェヌロンをわた（品種不明）に 30 g ai/ha の用量で 2 週間間隔で 3 回散布、あるいは 100 µg ai/茎の用量で 2 週間間隔で 3 回注入し、植物体内運命試験が実施された。採取した試料は、第 1 回散布 1 時間、1、3、7 日後ならびに第 3 回散布 14、28 及び 84 日後の葉、第 3 回散布 84 日後の綿花全体、第 1 回注入処理 101 日後の綿花全体であった。また、第 3 回散布 84 日後に土壌を採取した。

葉において、第 1 回目の散布 1 時間後（播種 68 日後）では 2.45 mg/kg の残留放射能が検出され、その 98%が洗浄液中に回収された。また、散布 7 日後では回収率は 76.9%に低下した。第 3 回目散布 84 日後では 4.91 mg/kg の残留放射能が検出され、洗浄液からその 42.5%の放射能が回収された。すべての葉の試料において 88.8～98.1%TRR が親化合物であった。また、未知代謝物が葉面上及び葉中透過放射能から 0.4 及び 1.9%TRR 検出された。

綿花の各部位における残留放射能濃度は外皮 0.092 mg/kg、線維<0.001 mg/kg、種子<0.001 mg/kg、さや0.001 mg/kg と低かった。抽出残渣中放射能の割合は低く、2.7%TRR 以上にはならなかった。ルフェヌロンの代謝は非常に緩慢で、分析した植物体各部位の 95%TRR 以上を占めた。

注入処理によって、処理時展開葉及び茎ならびに処理後展開葉への放射能のわずかな移行性が認められ、それぞれで親化合物が 0.102 mg/kg（3.9%TRR）、0.099 mg/kg（13.3%TRR）及び 0.005 mg/kg（1.6%TRR）検出された。さや、外皮、繊維及び種子にはほとんど移行しなかった。薬剤注入及び移行部位について親化合物は、各部位の 84%TRR 以上を占めた。特に薬剤注入部位では、98.1%TRR が親化合物として存在していた。

全土壌中放射能が土壌の最上層 0～5 cm に留まり、その量は 0.003 mg/kg であった。

ルフェヌロンをわたに散布したところ葉面上あるいは植物体に浸透した物質のほとんどが代謝されないことが考えられた。また、移行性がほとんどないことが示された。（参照 8）

### (2) わた（分布及び分解）

乳剤に調製した[di-<sup>14</sup>C]ルフェヌロンを温室栽培したわた（品種不明）に 30 g ai/ha の用量で 2 週間間隔で 3 回散布し、植物体内運命試験が実施された。各散布 2 時間後の葉及び収穫期（第 3 回目散布 52 日後）のわた全体を採取し、試料とした。

第1回目、第2回目及び第3回目散布2時間後の残留放射能濃度は、それぞれ3.24、4.62及び2.98 mg/kgであった。葉の表面洗浄液中の放射能は、第1回目散布後では91.4%TRRであったが、収穫期における葉面抽出量、葉中抽出量及び非抽出量はそれぞれ53.5、45.2及び1.4%TRRであった。試験期間を通して親化合物は92%TRR以上であった。

収穫期において、処理葉の残留放射能濃度は2.1 mg/kgであり、うち親化合物は1.95 mg/kg (93.3%TRR)であった。展開葉の残留放射能濃度は0.005 mg/kgと非常に少なく、本剤は移行性がほとんどなかった。収穫期の茎における残留放射能濃度は0.124 mg/kgで、うち親化合物は0.103 mg/kgであった。成熟外皮の残留放射能濃度は0.687 mg/kgで、うち親化合物が0.541 mg/kgであった。繊維での残留放射能濃度は極めて低く、0.028 mg/kgであった。このうち、親化合物は0.023 mg/kgであった。成熟した種子中の残留放射能濃度は0.003 mg/kgと低かった。

各部位とも溶媒抽出によりほぼ抽出され、残留量の大部分が親化合物であった。(参照9)

### (3) キャベツ

乳剤に調製した[ $^{14}\text{C}$ ]ルフェヌロンを温室栽培したキャベツ(品種: Hilena)に20 g ai/haの用量で2週間間隔で3回散布し、第1回目散布直後、第3回目散布直後(1回目散布27日後)及び収穫期(1回目散布55日後)に結球を試料として採取し、植物体内運命試験が実施された。

残留放射能は、第3回散布直後において、外葉に1.66 mg/kg及び結球葉に0.301 mg/kg、収穫期では外葉に1.79 mg/kg及び結球葉に0.195 mg/kg検出された。

親化合物は、収穫時に採取したキャベツの結球葉及び外葉の95%TRR以上を占めた。収穫時に代謝物Bが検出されたが、結球葉で0.6%TRR、外葉で3.3%TRRとその割合は低かった。(参照10)

### (4) トマト

乳剤に調製した[ $^{14}\text{C}$ ]ルフェヌロンを室内栽培したトマト(品種: ROTER GNOM)に30 g ai/haの用量で1週間間隔で3回散布(茎葉処理)、あるいは34  $\mu\text{g}$  ai/個で播種95日後の果実に注入(果実内注入)し、植物体内運命試験が実施された。茎葉処理では第1回目散布1時間後、第3回目散布1時間後、12日後に果実を、第3回目散布28日後(成熟期)には果実及び茎葉を、果実内注入では注入18及び33日後(成熟期)に果実を試料として採取した。

茎葉処理では、収穫期に採取されたトマト果実において、73.7~93.6%TRRが果実表層に認められ、28日間経過しても少量の放射能しか浸透しないこと



が示された。また、収穫期に採取した果実及び茎葉では 92.8~97.7%TRR が親化合物であった。また、代謝物 B が微量検出された。

果実内注入では、成熟期において親化合物が 90%TRR 検出され、本剤は果実内でほとんど代謝されないと考えられた。また、代謝物 B が 2.0%TRR 検出された。(参照 11)

### 3. 土壤中運命試験

#### (1) 好氣的、好氣的/嫌氣的、滅菌好氣的土壤中運命試験

[dic-<sup>14</sup>C]ルフェヌロンまたは[dif-<sup>14</sup>C]ルフェヌロンを砂壤土(スイス、Collombey)及び壤土(スイス、Les Evouettes)に乾土あたり 1 mg/kg となるように添加後、一部は滅菌条件(好氣的)とするためにオートクレーブ滅菌し、20±2°Cの暗条件下でインキュベートし、好氣的、好氣的/嫌氣的及び滅菌好氣的土壤中運命試験が実施された。インキュベート開始 31 日後に一部を嫌氣的条件とするため、蒸留水で 2~3 cm の深さに湛水した。インキュベート期間中に、好氣的土壌では加湿空気を連続供給し、嫌氣的土壌では 15 分間 1 日 4 回窒素ガスを供給した。

ルフェヌロンの推定半減期は、好氣的条件下で 13.0~23.7 日、好氣/嫌氣的条件下では 121~147 日であった。滅菌好氣的条件下では分解は全く認められず、ルフェヌロンの分解は土壌微生物によるものであると考えられた。

好氣的条件下での分解物として、[dic-<sup>14</sup>C]ルフェヌロン処理区では、最初分解物 B が検出され、処理 14 日後で総処理放射能(TAR)の 23.1~24.3% 検出された。その後、さらに分解が進み分解物 C となり、処理 59 日後には分解物 C が 21.6~26.9%TAR 検出されたが、試験終了時(処理 361 日後)にはいずれも 2~5%TAR となった。また、試験終了時には <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> が 9.9~15.1%TAR 検出され、[dic-<sup>14</sup>C]ルフェヌロンが無機化することが示された。一方、[dif-<sup>14</sup>C]ルフェヌロン処理区では主要分解物は <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> であり、試験終了時(処理 360 日後)には 58.6%TAR を占めた。分解物 B 及び C の砂壤土及び壤土における推定半減期は、32~41 及び 107~118 日であった。

好氣的条件下での[dic-<sup>14</sup>C]ルフェヌロン及び[dif-<sup>14</sup>C]ルフェヌロン処理区では、土壌中の非抽出性放射能の割合が処理 240 及び 60 日に最高となったが(70.7~78.6 及び 36.1%TAR)、1 年後には 66.8~74.9 及び 28.3%TAR とやや減少し、ルフェヌロン由来の非抽出成分が緩やかに土壌から消失することを示した。(参照 12)

#### (2) 好氣的土壤中運命試験

[dic-<sup>14</sup>C]ルフェヌロンを微砂質壤土(スイス、Les Barges)に乾土あたり 0.1 または 1.0 mg/kg となるように添加後、10±2°Cまたは 20±2°Cでインキュベートし、好氣的土壌中運命試験が実施された。土壌水分は、圃場容水量の 30 または 60%とした。

ルフェヌロンの推定半減期は、施用濃度の差にかかわらず、土壤水分 60% の 20°C で約 2 週間、10°C または土壤水分 30% の条件下で約 1 カ月であった。

分解物 B 及び分解物 C が一過性の分解物として検出され、 $^{14}\text{CO}_2$  の発生が認められたことからルフェヌロンは最終的に無機化されることが示された。

(参照 13)

### (3) 各種施用方法による分解速度

[dif- $^{14}\text{C}$ ]ルフェヌロンを微砂質壤土 (スイス、Les Barges) に乾土あたり 0.1 mg/kg となるように添加後、20°C の好氣的条件下でインキュベートし、土壤中運命試験が実施された。なお、添加方法として、土壤混和施用、土壤表面施用及び土壤表面施用 14 日後に土壤混和する 3 パターンを設けた。

ルフェヌロンの推定半減期は、土壤に直接混和した場合は 9.1 日であり、速やかに分解したが、土壤表面施用においては 32.5 日と分解が遅かった。しかし、土壤表面施用後に土壤混和した結果、推定半減期は 13.8 日となり、分解が促進された。このことより、土壤微生物が分解促進に寄与していると考えられた。(参照 14)

### (4) 土壤吸着試験

4 種類の国内土壤 [埴壤土 (北海道)、微砂質埴壤土 (茨城)、砂質埴壤土 (愛知) 及び軽埴土 (和歌山)] を用いて土壤吸脱着試験が実施された。

本試験では検体標準溶液の濃度が極めて低く、かつ、16 時間振盪後の検体の大部分が土壤に存在していたため、土壤吸着係数が求められなかった。(参照 15)

### (5) 土壤中移行性試験

[dic- $^{14}\text{C}$ ]ルフェヌロンを 4 種類の土壤 [壤質砂土 (Collmbey)、微砂質壤土 (Les Evouettes)、微砂質壤土 (Vetroz)、砂土 (Lakeland)] に添加し、土壤カラムリーチング試験が実施された。

ルフェヌロンは 4 種類の土壤に対してわずか 2~8 cm の深さしか浸透しなかった。また、モニユロンを基準とした RMF (相対的移動指数) 値は平均で 0.28 未満であり、ルフェヌロンは土壤中ではほとんど移動しない物質に分類された。(参照 16)

### (6) 土壤カラムリーチング試験 (200 mm 人工降雨)

[dic- $^{14}\text{C}$ ]ルフェヌロンまたは[dif- $^{14}\text{C}$ ]ルフェヌロンをスイスの 2 土壤 [壤質砂土 (Collmbey) 及び壤土 (Les Evouettes)] に添加後、 $20 \pm 2^\circ\text{C}$  の暗条件下で 59 日間インキュベートし、200 mm の人工降雨を行う土壤カラムリーチング試験が実施された。

[dic-<sup>14</sup>C]ルフェヌロンまたは[dif-<sup>14</sup>C]ルフェヌロンを施用した各土壌カラムからの放射能回収率は、それぞれ 93.9~99.1 及び 74.5~83.9%TAR であった。

カラム土壌を分析した結果、ルフェヌロン及び分解物 B が表層から、分解物 C が表層及び表層に隣接する土壌層で検出された。

ルフェヌロン及び分解物は土壌カラムの上層部に留まっており、いずれの土壌においても移動は認められなかった。(参照 17)

#### (7) 土壌カラムリーチング試験 (508 mm 人工降雨)

[dic-<sup>14</sup>C]ルフェヌロンまたは[dif-<sup>14</sup>C]ルフェヌロンをスイスの 2 土壌 [壤質砂土 (Collmbey) 及び壤土 (Les Evouettes)] に添加し、20±2°C の暗条件下で 30 日間インキュベートし、508 mm の人工降雨を行う土壌カラムリーチング試験が実施された。

[dic-<sup>14</sup>C]ルフェヌロンまたは[dif-<sup>14</sup>C]ルフェヌロンを施用した各土壌カラムからの放射能回収率は、それぞれ 95.6~100.4 及び 51.2~62.7%TAR であった。

カラム土壌を分析した結果、ルフェヌロン及び分解物 B が表層から、分解物 C が表層及び表層に隣接する土壌層で検出された。

ルフェヌロン及び分解物は土壌カラムの上層部に留まっており、いずれの土壌においても移動は認められなかった。(参照 18)

### 4. 水中運命試験

#### (1) 加水分解試験

pH 1 (塩酸水溶液)、pH 5 (酢酸緩衝液)、pH 7 (リン酸緩衝液)、pH 9 (ホウ酸緩衝液) 及び pH 13 (水酸化ナトリウム水溶液) の各緩衝液に、[dic-<sup>14</sup>C]ルフェヌロンを 2.38 µg/L あるいは[dif-<sup>14</sup>C]ルフェヌロンを 1.98 または 1.74 µg/L となるように加えた後、25°C (pH 5、7、9 及び 13)、50°C (pH 7、9 及び 13) 及び 70°C (pH 1、5、7、9 及び 13) でインキュベートし、加水分解試験が実施された。

ルフェヌロンは、25°C の pH 5 及び 7 では 30 日間安定で分解は認められなかった。pH 9 では推定半減期が 378~646 日、pH 13 では推定半減期が 1.26~1.65 日であった。ルフェヌロンは、酸性条件下では安定であり、アルカリ性条件下で加水分解されやすい傾向が認められた。

分解物として、[dic-<sup>14</sup>C]ルフェヌロンで分解物 B 及び C が、[dif-<sup>14</sup>C]ルフェヌロンで分解物 D 及び E が検出された。(参照 19)

#### (2) 緩衝液中光分解試験 ([dif-<sup>14</sup>C]ルフェヌロン)

[dif-<sup>14</sup>C]ルフェヌロンを pH 7 の 10 mM リン酸緩衝液に 51.4 µg/L となる

ように加えた後、 $24.9 \pm 0.4^\circ\text{C}$ でキセノンアークランプ ( $7.04 \text{ W/m}^2$ 、測定波長：300~400 nm) を 22.3 日間連続照射し、水中光分解試験が実施された。

ルフェヌロンは光照射による分解が認められ、推定半減期は 10.3 日であり、東京春季自然太陽光換算では 9.3 日相当であると推定された。

主要分解物は分解物 E であり、試験終了時には 62.1% TAR 検出された。他に未同定物質が数種類認められた。(参照 20)

### (3) 緩衝液中光分解試験 ([dic- $^{14}\text{C}$ ]ルフェヌロン)

[dic- $^{14}\text{C}$ ]ルフェヌロンを pH 7 の 10 mM リン酸緩衝液に  $52.0 \mu\text{g/L}$  となるように加えた後、 $25 \pm 0.2^\circ\text{C}$ でキセノンアークランプ ( $7.89 \text{ W/m}^2$ 、測定波長：300~400 nm) を 28 日間連続照射し、水中光分解試験が実施された。

ルフェヌロンは光照射による分解が認められ、推定半減期は 16 日であり、東京春季自然太陽光換算では 16.2 日相当であると推定された。

主要分解物は分解物 C であり、最大で 21.3% TAR 検出された。他に未同定物質が数種類認められた。(参照 21)

### (4) 自然水中光分解試験

[dic- $^{14}\text{C}$ ]ルフェヌロンを自然水(スイス、池水、滅菌後 pH 8.4)に  $50.0 \mu\text{g/L}$  となるように加えた後、 $25.4 \pm 0.3^\circ\text{C}$ でキセノンアークランプ ( $39.2 \text{ W/m}^2$ 、測定波長：300~400 nm) を 17 日間連続照射し、水中光分解試験が実施された。

ルフェヌロンは光照射による分解が認められ、推定半減期は 4.5 日であり、東京春季自然太陽光換算では 22.7 日相当であると推定された。

放射能の大部分が  $^{14}\text{CO}_2$  として認められた(最大 23.6% TAR)。また、分解物として分解物 B が認められた他、多くの未同定物質が検出された。

ルフェヌロンは多くの物質に分解して、浮遊粒子や溶解した有機物に結合するか、 $\text{CO}_2$  になると考えられ、親化合物及びその分解物は水中には長く存在しないと考えられた。(参照 22)

## 5. 土壌残留試験

火山灰土・軽埴土(茨城)及び沖積鈹質土・植埴土(高知)を用いて、ルフェヌロン、分解物 B 及び C を分析対象化合物とした土壌残留試験(容器内及び圃場)が実施された。推定半減期は表 9 に示されている。(参照 23)

表9 土壤残留試験成績（推定半減期）

試験	濃度*	土壌	ルフェヌロン+ B+C
容器内試験	0.1 mg/kg	火山灰土・軽壇土	70 日
		沖積鈳質土・壇壤土	273 日
圃場試験	50 g ai/ha ×3 回	火山灰土・軽壇土	15 日
		沖積鈳質土・壇壤土	13 日

※容器内試験で純品、圃場試験で5.0%乳剤を使用

## 6. 作物残留試験

### (1) 作物残留試験

野菜、果実、豆類及び茶を用いて、ルフェヌロンを分析対象化合物とした作物残留試験が実施された。

その結果は別紙3①に示されている。また、今回インポートトレランス申請されているとうがらしについては別紙3②に示されている。国内で栽培される農産物におけるルフェヌロンの最高値は茶（荒茶）の最終散布7日後における4.70 mg/kgであった。（参照26、27、59）

別紙3の作物残留試験の分析値を用いて、ルフェヌロンを暴露評価対象化合物とした際に、食品中から摂取される推定摂取量が別紙4及び表10に示されている。

なお、本推定摂取量の算定は、想定される使用方法からルフェヌロンが最大の残留を示す使用条件で、今回申請されたたけのこ、えだまめ、レタス及びきゅうりを含むすべ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10 食品中から摂取されるルフェヌロンの推定摂取量

	国民平均 (体重：53.3kg)	小児（1～6歳） (体重：15.8kg)	妊婦 (体重：55.6kg)	高齢者（65歳以上） (体重：54.2kg)
摂取量 (µg/人/日)	193	123	176	205

## (2) 後作物残留試験

### ① 施設

[dif-<sup>14</sup>C]ルフェヌロンを 150 g ai/ha の割合で混合した土壌 [埴壤土 (スイス)] 1 kg を、バケツに入れた土壌の表層に広げ、処理 2 カ月後にレタスを移植、あるいは春小麦、とうもろこし及びにんじんを播種し、輪作における残留試験 (施設) が行われた。試料として、所定期間ごとに土壌 (地表下 0~5、5~10、10~20 及び 20~30 cm) 及び各作物を採取した。

各作物で検出された放射能は、にんじん (処理 126 日後、根部) で 0.023 mg/kg、春小麦 (処理 161 日後、わら) で 0.023 mg/kg 及びレタス (処理 126 日後) で 0.047 mg/kg であった以外はすべて 0.01 mg/kg 以下であった。

残留放射能は地表層 (0~5 cm) に 89%以上が存在し、土壌層の 5~10 cm の層に存在したものはレタスの試験で 10%TRR が検出されたのを例外としてほぼ 1%TRR 以下であり、大部分が地表層に留まっていた。

ルフェヌロンの土壌における推定半減期は約 140 日と考えられた。(参照 24)

### ② 圃場

[dic-<sup>14</sup>C]ルフェヌロンを 150 g ai/ha の割合で裸地に散布し、散布 76 日後にレタスを移植、126 日後に冬小麦、306 日後にてんさいまたは 331 日後にとうもろこしを播種し、輪作における残留試験 (圃場) が行われた。試料として、所定期間毎に土壌 (地表下 0~5、5~10、10~20 及び 20~30 cm) 及び各作物を採取した。

各作物で検出された放射能は、成熟期においては冬小麦のわらで 0.004 mg/kg 及びとうもろこしの茎で 0.003 mg/kg だった以外はすべて 0.001 mg/kg 以下であった。

地表層 (0~5 cm) の残留放射能は、散布 1 時間後には 0.279 mg/kg であったが散布 15 日後には 0.208 mg/kg、散布 519 日後には 0.134 mg/kg まで低下した。ルフェヌロンの推定半減期は 154 日と推定された。また、分解物として分解物 B 及び C が認められた。

1 年後、放射能の大部分は土壌表面から 0~20 cm の土壌層において認められ、20~30 cm の深さの土壌層における残留は、常に 0.006 mg/kg 以下であった。よって、ルフェヌロン及びその分解物の移動性が小さいことが考えられた。(参照 25)

## 7. 一般薬理試験

マウス、ウサギ、ラット及びモルモットを用いた一般薬理試験が実施された。結果は表 11 に示されている。(参照 28)

表 11 一般薬理試験概要

試験の種類	動物種	動物数 匹/群	投与量 (mg/kg 体重) (投与方法)	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	ddY マウス	雄 3 雌 3 50、250、 500、1,250 (腹腔内)	—	50	全投与群で認知力、運動性及び筋緊張の抑制。1,250 mg/kg 体重投与群で認知力の抑制、異常歩調。いずれの所見も 360～1,440 分で回復。	
		日本白色種 ウサギ	雄 3	0、10、 50、100 (静脈内)	100	—	対照群、投与群ともに投与時にわずかな興奮を示したが、時間経過とともに鎮静し、顕著な症状はみられなかった。
	運動協調性	ddY マウス	雄 10 雌 10 0、50、250、 500、1,250 (腹腔内)	500	1,250	1,250 mg/kg 体重投与群でロータロッド法 <sup>※</sup> により落下した例が認められた。	
	体温	日本白色種 ウサギ	雄 3	0、10、 50、100 (静脈内)	100	—	投与による影響なし。
呼吸循環器系	血圧・ 心拍数・ 呼吸数	日本白色種 ウサギ	雄 3	0、10、25、 50、100 (静脈内)	100	—	血圧の低下する例と上昇する例あり。60 分後、それぞれの血圧を持続。心拍数は 10 mg/kg 体重投与群の 1 例で増加。呼吸数は対照群、投与群ともに 30 分まで増減があったが、それ以降はそれぞれの呼吸数を維持。

試験の種類	動物種	動物数 匹/群	投与量 (mg/kg 体重) (投与方法)	最大無作用量 (mg/kg 体重)	最小作用量 (mg/kg 体重)	結果の概要
自律神経系	生体位 子宮運動	日本白色種 ウサギ	雌 3 0, 10, 50, 100 (静脈内)	—	10	生体位子宮収縮率が減少する傾向。収縮回数、収縮率とも用量依存性はなかった。
	瞳孔	日本白色種 ウサギ	雄 3 0, 10, 50, 100 (静脈内)	—	10	散瞳を認めたが、用量依存性は示さなかった。
	摘出腸管	モルモット	雄 6 $3.3 \times 10^4$ g/mL	$3.3 \times 10^4$ g/mL	—	AChの収縮は低濃度のAChに対し弱い抑制、高濃度は抑制なし。Hisの収縮に対しては抑制作用なし。
	摘出輸精管	モルモット	雄 6 $3.3 \times 10^4$ g/mL	$3.3 \times 10^4$ g/mL	—	投与による影響なし。
消化器系	小腸 輸送能	ddY マウス	雄 3 雌 3 0, 50, 250, 500, 1,250 (経口)	—	50	雌雄とも抑制と亢進の作用を示したが、用量依存性は示さなかった。
腎臓	尿排泄	Wister ラット	雄 3 雌 3 0, 50, 250, 500, 1,250 (経口)	50	250	雄の 500 mg/kg 体重以上投与群で潜血反応が疑陽性。雌の 250, 500 mg/kg 体重投与群で pH が酸性。Na <sup>+</sup> 及び K <sup>+</sup> は、雄 1,250 mg/kg 体重投与群で減少し、雌の 250 mg/kg 体重投与群では K <sup>+</sup> の増加、500 mg/kg 体重投与群では Na <sup>+</sup> 及び K <sup>+</sup> が増加。

\*:5回転/分で回転する棒から落下する個体数を調べる方法。

—: 最小作用量または最小無作用量が設定できなかった。



## 8. 急性毒性試験

ルフェヌロンのラット及びマウスを用いた急性毒性試験が実施された。各試験の結果は表 12 に示されている。(参照 29~34)

表 12 急性毒性試験概要

投与経路	動物種 性別・匹数	LD <sub>50</sub> (mg/kg 体重)		観察された症状
		雄	雌	
経口	SD ラット 雌雄各 5 匹	>5,000	>5,000	症状及び死亡例なし
	SD ラット 雌雄各 5 匹	>2,000	>2,000	粗毛、呼吸困難、円背位及び 眼球突出
	ICR マウス 雌雄各 5 匹	>5,000	>5,000	症状及び死亡例なし
	ICR マウス 雌雄各 5 匹	>2,000	>2,000	立毛、円背位及び呼吸困難
経皮	SD ラット 雌雄各 5 匹	>2,000	>2,000	粗毛、呼吸困難、異常姿勢及 び自発運動低下
吸入	SD ラット 雌雄各 5 匹	LC <sub>50</sub> (mg/L)		立毛、円背位及び呼吸困難
		>2.35	>2.35	

注) すべて一用量による試験である。

## 9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

NZW ウサギ (雄) を用いた眼刺激性試験及び NZW ウサギ (雌) を用いた皮膚刺激性試験が実施された。

ルフェヌロン原体には、軽度の眼刺激性及び皮膚刺激性が認められたが、いずれの反応も投与 48 及び 24 時間後までに消失し、EEC 分類では非刺激性物質であった。

Pirbright White 系モルモット (雌雄) を用いた皮膚感作性試験 (Maximization 法) が実施され、ルフェヌロン原体に中程度の感作性が認められた。(参照 35~37)

## 10. 亜急性毒性試験

### (1) 90 日間亜急性毒性試験 (ラット)

SD ラット (一群雌雄各 10 匹、対照群及び 15,000 ppm 投与群は一群雌雄各 20 匹) を用いた混餌 (原体: 0、25、150、1,500 及び 15,000 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。対照群及び 15,000 ppm 投与群の雌雄各 10 匹は、90 日間投与後 1 カ月間の

回復試験に供した。

表 13 90 日間亜急性毒性試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群		25 ppm	150 ppm	1,500 ppm	15,000 ppm
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	1.60	9.68	101	998
	雌	1.70	10.2	103	1,050

15,000 ppm 投与群の雌 1 例が回復試験期間中に死亡した。150 ppm 投与群の雌雄各 1 例の死亡は、採血中の事故によるものであった。本試験で認められた痙攣発生率を表 14 に示す。

表 14 90 日間亜急性毒性試験（ラット）で認められた痙攣発生率

投与量 (ppm)	雄		雌	
	痙攣発生数/動物数	発生率(%)	痙攣発生数/動物数	発生率(%)
0	0/20	0	0/20	0
25	0/10	0	0/10	0
150	0/10	0	0/10	0
1,500	0/10	0	1/10	10
15,000	9/20	45	8/20	40

各投与群で認められた毒性所見は表 15 に示されている。

15,000 ppm 投与群の雌で認められた WBC の増加は、正常範囲の上限であったため、投与による影響とは考えられなかった。

雌の全群で Cre の上昇が認められたが、対照群の値が低値であったこと、腎機能関連項目に一貫した変化が認められないことから、投与の影響とは考えられなかった。

25 及び 1,500 ppm 投与群の雄で精巢の絶対及び脳比重量<sup>2</sup>低下がみられたが、用量相関性はみられず、測定値も背景データの範囲内であり、関連する組織学的所見も観察されなかったことから、投与の影響とは考えられなかった。

検体の脂肪中濃度は、投与量に依存した増加を示し、1,500 ppm 投与群で定常状態（脂肪中濃度 3,000～4,000 mg/kg）に達した。また、1 カ月間の回復期間で脂肪中濃度は 60%以下に減少した。性差は認められなかった。

本試験において、1,500 ppm 以上投与群の雌雄で体重増加抑制等が認められたので、無毒性量は雌雄で 150 ppm（雄：9.68 mg/kg 体重/日、雌：10.2 mg/kg

<sup>2</sup> 体重比重量のことを比重量という（以下、同じ）。

体重/日) であると考えられた。(参照 38)

表 15 90 日間亜急性毒性試験 (ラット) で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
15,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・強直性/間代性痙攣</li> <li>・T.Chol 増加</li> <li>・肝比重量、副腎絶対及び比重量増加</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・死亡(1 例)</li> <li>・強直性/間代性痙攣</li> <li>・血中ナトリウム及びクロール減少、TP 減少</li> <li>・ALT、ALP 上昇</li> <li>・肝絶対及び比重量増加</li> </ul>
1,500 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制</li> <li>・摂餌量減少</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・強直性/間代性痙攣(1 例)</li> <li>・体重増加抑制</li> <li>・摂餌量減少</li> <li>・Ht 増加、PT 延長</li> <li>・Alb 減少、A/G 比減少</li> <li>・無機リン増加</li> <li>・副腎絶対及び比重量増加</li> </ul>
150 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

(2) 90 日間亜急性毒性試験 (イヌ)

ビーグル犬 (一群雌雄各 4 匹、対照群及び 50,000 ppm 投与群は一群雌雄各 6 匹) を用いた混餌 (原体: 0、200、3,000 及び 50,000 ppm: 平均検体摂取量は表 16 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。対照群及び 50,000 ppm 投与群の雌雄各 2 匹は、90 日間投与後 1 カ月間の回復試験に供した。

表 16 90 日間亜急性毒性試験 (イヌ) の平均検体摂取量

投与群		200 ppm	3,000 ppm	50,000 ppm
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	7.8	122	2,020
	雌	7.9	123	1,930

各投与群で認められた毒性所見は表 17 に示されている。

50,000 ppm 投与群の雄で RBC 及び Ht の減少がみられたが、正常範囲内かその下限に近く、ヘモグロビン濃度と関連がなかったことから、投与の影響とは考えられなかった。

3,000 ppm 以上投与群の雄にみられた PLT の増加は、異常な高値を示した 1 例以外は、いずれも正常値の範囲内であったことから、投与の影響とは考

えられなかった。

3,000 ppm 以上投与群の雌で投与 6 週時に分葉核好中球比の増加及びリンパ球比の低下がみられたが、13 週時にはこれらの変化は認められず、総白血球数に影響がなかったことから、投与による影響とは考えられなかった。

3,000 ppm 投与群の雌では 6 週時に 1 例、13 週時に 3 例、50,000 ppm 投与群の雌では 13 週時に 1 例で背景データを超えての ALP 上昇が認められた。200 ppm 投与群の雌でも ALP 上昇が認められたが背景データの範囲内であったため、投与の影響とは考えなかった。

50,000 ppm 投与群の雄で尿量の増加及び尿比重の低下が認められたが、投与前の個体別データと比較して差は認められなかったことから、投与の影響とは考えられなかった。

本試験において、3,000 ppm 以上投与群の雌雄で肝絶対及び比重量増加等が認められたので、無毒性量は雌雄で 200 ppm (雄: 7.8 mg/kg 体重/日、雌: 7.9 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 39)

表 17 90 日間亜急性毒性試験 (イヌ) で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
3,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ T.Chol 増加、無機リン減少</li> <li>・ 肝絶対及び比重量増加</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ T.Chol 増加、ALP 上昇</li> <li>・ 血中カリウム、無機リン減少</li> <li>・ 肝絶対及び比重量増加</li> </ul>
200 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

### (3) 4 カ月間亜急性神経毒性試験 (ラット)

SD ラット (一群雄 10 匹、対照群及び 500 ppm 投与群は一群雄各 20 匹) を用いた混餌 (原体: 0、5、25、100 及び 500 ppm: 平均検体摂取量は表 18 参照) 投与による 4 カ月間亜急性神経毒性試験が実施された。対照群及び 500 ppm 投与群の雌雄各 10 匹は、4 カ月間投与後 2 カ月間の回復試験に供した。

表 18 4 カ月間亜急性神経毒性試験 (ラット) の平均検体摂取量

投与群	5 ppm	25 ppm	100 ppm	500 ppm
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	0.26	1.22	5.43	27.0

各投与群で認められた毒性所見は表 19 に示されている。

500 ppm 投与群では、1 例にハンドリングに対する過反応 (13 週) と攣縮 (18 週) が、他の 1 例に強直性/間代性痙攣 (16 週) がみられたが、発現回

数は両動物とも1回であった。

500 ppm 投与群で強直性/間代性痙攣がみられ、ペンチレンテトラゾール誘発性全身性痙攣が助長されたが、回復期間中には痙攣の発現は認められず、ペンチレンテトラゾール誘発性全身性痙攣も軽減したことから、ルフェヌロンの痙攣誘発性作用は回復性であると考えられた。神経機能検査、自発運動量及び認識能力への障害を示唆する変化は認められず、神経系組織の病理学的検査の結果、末梢神経系、中枢神経系及び骨格筋への影響は認められなかった。

脂肪中検体濃度は、5、25、100 及び 500 ppm 投与群でそれぞれ 16、150、660 及び 2,600 mg/kg であり、血中濃度はそれぞれ、0.1、0.6、2.6 及び 17 mg/L であった。2カ月の回復期間終了時の 500 ppm 投与群の脂肪中及び血中検体濃度は、それぞれ 1,600 mg/kg 及び 4.3 mg/L であり、本剤は脂肪に蓄積され、徐々に消失すると考えられた。

本試験において、500 ppm 投与群で強直性/間代性痙攣がみられ、ペンチレンテトラゾール誘発性全身性痙攣の助長が認められたので、神経毒性に対する無毒性量は雄で 100 ppm (5.43 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 40)

表 19 4カ月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
500 ppm	・過反応、攣縮(1例)、強直性/間代性痙攣(1例) (一般状態/ペンチレンテトラゾール増強反応)
100 ppm 以下	毒性所見なし

## 11. 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）①

ビーグル犬（一群雌雄各4匹）を用いた混餌（原体：0、100、2,000 及び 50,000 ppm：平均検体摂取量は表 20 参照）投与による1年間慢性毒性試験が実施された。

表 20 1年間慢性毒性試験（イヌ）①の平均検体摂取量

投与群		100 ppm	2,000 ppm	50,000 ppm
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	3.97	65.4	1,880
	雌	3.64	78.3	1,980

2,000 ppm 投与群の動物のうち全身性痙攣が認められた雄1例が第33週に死亡し、雌雄各1例が第37週に切迫と殺された。

各投与群で認められた毒性所見は表 21 に示されている。

50,000 ppm 投与群の雌にみられた MCH 及び MCV の増加は、関連する赤血球項目に変動がみられないことから、投与に関連したものとは考えられなかった。

2,000 ppm 以上投与群の雄及び 50,000 ppm 投与群の雌に認められたカルシウムの減少は、用量相関性が見られない変化であったため、検体投与に関連したものとは考えられなかった。

34、37 及び 52 週に血液を採取し、検体濃度を測定したところ、34 週の濃度は、37 及び 52 週の検体濃度とあまり差がなく、34 週ですでにプラトーに達していたことが示された。また、2,000 ppm 投与群と 50,000 ppm 投与群では、血中、脂肪中及び脳中の検体濃度がほぼ同じであったことから、2,000 ppm で飽和に達すると考えられた。性差は認められなかった。

本試験において、100 ppm 以上投与群の雄で甲状腺ろ胞拡張等が、2,000 ppm 以上投与群の雌で肝細胞肥大、甲状腺ろ胞拡張、副腎皮質過形成等が認められたので、無毒性量は雄で 100 ppm (3.97 mg/kg 体重/日) 未満、雌で 100 ppm (3.64 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 41)

表 21 1 年間慢性毒性試験 (イヌ) ①で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
50,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ PL 増加、ALP 上昇</li> <li>・ 副腎絶対重量増加</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 嘔吐</li> <li>・ PLT 増加</li> <li>・ T.Chol、PL 増加</li> </ul>
2,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 振戦、痙攣、流涎、自発運動低下、不規則性歩行</li> <li>・ 体重増加抑制</li> <li>・ PLT 増加</li> <li>・ T.Chol 増加</li> <li>・ 副腎比重量増加</li> <li>・ 副腎腫大 (2,000 ppm のみ)</li> <li>・ 肺部分的退色</li> <li>・ 肝細胞肥大</li> <li>・ 副腎皮質過形成</li> <li>・ 肺組織球浸潤</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 振戦、痙攣、流涎、自発運動低下、不規則性歩行</li> <li>・ 体重増加抑制</li> <li>・ 副腎絶対及び比重量増加</li> <li>・ 肝及び甲状腺比重量増加</li> <li>・ 副腎腫大 (2,000 ppm のみ)</li> <li>・ 肺部分的退色</li> <li>・ 肝細胞肥大</li> <li>・ 甲状腺ろ胞拡張</li> <li>・ 副腎皮質過形成</li> <li>・ 肺組織球浸潤</li> </ul>
100 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 肝及び甲状腺比重量増加</li> <li>・ 甲状腺ろ胞拡張</li> </ul>	100 ppm 毒性所見なし

## (2) 1年間慢性毒性試験 (イヌ) ②

ビーグル犬 (一群雌雄各 4 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、10、50、250 及び 1,000 ppm ; 平均検体摂取量は表 22 参照) 投与による 1 年間慢性毒性試験が実施された。

表 22 1 年間慢性毒性試験 (イヌ) ②の平均検体摂取量

投与群		10 ppm	50 ppm	250 ppm	1,000 ppm
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	0.31	1.42	7.02	29.8
	雌	0.33	1.55	7.72	31.8

1,000 ppm 投与群の動物のうち全身性痙攣が認められた雌 1 例が第 31 週に死亡、雌 1 例及び雄 2 例をそれぞれ第 28、48 及び 49 週に切迫と殺した。これらの動物では、痙攣、振戦、失調性歩行、自発的運動低下、攻撃性、神経過敏、呼吸障害、嘔吐、流涎等が認められた。

各投与群で認められた毒性所見は表 23 に示されている。

10、50 及び 250 ppm 投与群の雄に RBC 減少、Hb 及び Ht 減少等が認められたが、明確な用量相関性がないこと、継続した変化ではないことから、検体投与による影響とは考えられなかった。

10、50 及び 250 ppm 投与群の雄に腎比重量増加がみられたが、用量相関性がみられなかったことから、投与の影響とは考えられなかった。

250 ppm 以上投与群の雄で心に多発性動脈炎がみられたが、実験用ビーグル犬に自然発生することが知られている所見であることから、投与による影響とは考えられなかった。

250 ppm 以上投与群の雄の唾液腺に組織球浸潤がみられたが、大部分が片側性で軽度であったことから、投与による影響とは考えられなかった。

検体の 52 週後の血中濃度は、26 週後の値と同等かやや高く、26 週までにほぼ定常状態に達したと考えられた。脂肪中濃度の対血中比は、約 100~150 であった。脑中濃度の対血中比は 10 及び 50 ppm 投与群においては約 1 であったが、高投与量群ほど高く、1,000 ppm 投与群では約 5 であった。性差は認められなかった。

本試験において、250 ppm 以上投与群の雌雄で肝細胞肥大等が認められたので、無毒性量は雌雄で 50 ppm (雄 : 1.42 mg/kg 体重/日、雌 : 1.55 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 42)