

④ 排泄

a. 尿及び糞中排泄

Fischer ラット（一群雌雄各 4 匹）に[pht-¹⁴C]フルベンジアミドを低用量で 14 日間反復経口投与し、尿及び糞中排泄試験が実施された。

最終投与後 24 及び 168 時間の尿及び糞中排泄率は表 8 に示されている。雌雄ともにほとんどが糞中に排泄された。（参照 3）

表 8 尿及び糞中排泄率 (%TAR)

投与量	2 mg/kg 体重			
	雄		雌	
性別				
試料	尿	糞	尿	糞
最終投与後 24 時間	0.48	102	0.20	101
最終投与後 168 時間	0.57	103	0.31	104

注) 最終投与後 168 時間の尿はケージ洗浄液を含む。

2. 植物体内運命試験

(1) りんご

りんご（品種：ふじ）に[pht-¹⁴C]フルベンジアミド又は[ani-¹⁴C]フルベンジアミドを 200 g ai/ha で散布し、散布 0、7、14、28 及び 56 日後（成熟期）に採取された果実及び葉を試料とした植物体内運命試験が実施された。収穫された果実及び葉は、表面洗浄液、抽出液及び未抽出残渣に分画された。

りんご試料中放射能濃度は表 9 に示されている。

総残留放射能濃度は、果実及び葉のいずれも処理当日に最高値を示し、その後は経時的に漸減した。

果実では、親化合物及び B の他、未同定代謝物が処理直後に 6.3%TRR 未満（0.002 mg/kg 未満）、処理 56 日後に 18.2%TRR 未満（0.002 mg/kg 未満）検出された。

葉では、親化合物、B、C、E、H、P 及び Q の他、未同定代謝物が処理直後で 0.5～3.1%TRR（0.024～0.139 mg/kg）、処理 56 日後で 1.6～13.0%TRR（0.021～0.188 mg/kg）検出された。

りんごにおけるフルベンジアミドの主要代謝経路は、光分解によりヨウ素原子が脱離した代謝物 B 及び C の生成、トリイジン環メチル基の酸化による代謝物 E 及び H の生成と考えられた。（参照 5）

表9 りんご試料中放射能濃度

標識体	[pht- ¹⁴ C]フルベンジアミド							
試料	果実				葉			
処理後日数	0日		56日		0日		56日	
	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg
総残留放射能	100	0.016	100	0.011	100	4.51	100	1.44
親化合物	93.8	0.015	54.5	0.006	106	4.76	52.9	0.763
B	-	-	<18.2	<0.002	0.8	0.035	7.2	0.104
C	-	-	-	-	-	-	0.7	0.010
E	-	-	-	-	0.1	0.004	2.1	0.031
H	-	-	-	-	0.4	0.017	3.5	0.050
P	-	-	-	-	0.2	0.011	-	-
Q	-	-	-	-	-	-	2.1	0.030
標識体	[ani- ¹⁴ C]フルベンジアミド							
試料	果実				葉			
処理後日数	0日		56日		0日		56日	
	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg
総残留放射能	100	0.043	100	0.010	100	4.45	100	1.64
親化合物	81.4	0.035	50.0	0.005	104	4.61	62.4	1.03
B	<4.7	<0.002	<10.0	<0.001	1.5	0.069	6.9	0.114
C	-	-	-	-	-	-	4.4	0.072
E	-	-	-	-	0.3	0.013	2.6	0.043
H	-	-	-	-	0.3	0.013	3.3	0.054
P	-	-	-	-	2.3	0.103	-	-

(2) キャベツ

キャベツ (品種: YR-晴徳) に [pht-¹⁴C]フルベンジアミド又は [ani-¹⁴C]フルベンジアミドを1個体あたり0.3 mgで処理し、処理21及び42日後(成熟期)に植物体を結球部、外葉部及び根部の部位毎に分割して採取された試料を用いた植物体内運命試験が実施された。外葉部は洗浄液、抽出液及び未抽出残渣に分画された。

処理21及び42日後ともに、処理放射能のほとんど(101~108%TRR)は外葉部で検出され、表面洗浄画分に77.5%TRR以上が検出された。

キャベツ外葉部における放射能濃度は表10に示されている。

外葉部では、親化合物、代謝物B、C、E及びHの他、未同定代謝物が0.2%TRR以下(0.012 mg/kg以下)検出された。

結球中の放射能濃度は低く、0.001 mg/kg以下であった。

キャベツにおけるフルベンジアミドの主要代謝経路は、光分解によりヨウ素原子が脱離した代謝物B及びCの生成、トルイジン環メチル基の酸化による代謝物E及びHの生成と考えられた。(参照6)

表 10 キャベツ外葉部における放射能濃度

試料	[pht- ¹⁴ C]フルベンジアミド				[ani- ¹⁴ C]フルベンジアミド			
	21 日		42 日		21 日		42 日	
	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg
総残留放射能	100	0.59	100	0.59	100	0.70	100	0.61
親化合物	90.2	0.53	90.2	0.54	90.7	0.64	89.3	0.54
B	1.3	0.008	1.5	0.009	1.3	0.009	1.5	0.009
C	0.7	0.004	1.3	0.008	1.0	0.007	1.5	0.009
E	0.3	0.002	0.5	0.003	0.4	0.003	0.7	0.005
H	0.1	0.001	0.3	0.002	0.2	0.002	0.5	0.003

(3) トマト

ミニトマト（品種：千果）に、[pht-¹⁴C]フルベンジアミド又は[ani-¹⁴C]フルベンジアミドを果実に1枝あたり0.125 mg、葉に1枝あたり0.80 mg 処理し、処理0、7、14及び28日後に採取された処理部位の果実及び葉、処理28日後ではその他の部位全体（根部含む）を試料として採取し、植物体内運命試験が実施された。収穫した果実及び葉は、表面洗浄液、抽出液及び未抽出残渣に分離された。

放射能は、果実では処理直後の99.1～99.3%TRR（3.24～3.38 mg/kg）から処理28日後の65.9～68.7%TRR（1.32～1.49 mg/kg）と緩やかに減少した。葉では、いずれの時期においても89.9～106%TRR（14.9～45.4 mg/kg）とほぼ定量的に回収された。処理28日後におけるその他の部位全体への分布は、1.1%TRR¹とわずかであった。果実及び葉とも、表面洗浄液に94.4%TRR以上が検出された。

トマト果実及び葉における放射能濃度は表11に示されている。

果実では、処理直後に親化合物及びCが検出された他、未同定代謝物が総和で0.43～0.46%TRR（0.0146～0.0150 mg/kg）検出された。[pht-¹⁴C]フルベンジアミド処理区ではさらにBが検出された。処理28日後には、親化合物、B、C、E及びHが検出された他、未同定代謝物が総和で2.3%TRR（0.0306～0.0336 mg/kg）検出された。

葉では、処理直後に親化合物が検出された他、未同定代謝物が0.83～0.84%TRR（0.365～0.381 mg/kg）検出された。[pht-¹⁴C]フルベンジアミド処理区ではさらにB及びCが検出された。処理28日後では、親化合物、B、C、E、H及びNが検出された。

トマトにおけるフルベンジアミドの主要代謝経路は、光分解によりヨウ素原子が脱離した代謝物B及びCの生成、トルイジン環メチル基の酸化による代謝物E及びHの生成と考えられた。（参照7）

¹ その他の部位における放射能量は、果実及び葉への処理放射能量の合計に対する割合。

表 11 トマト試料中放射能濃度

標識体	[pht- ¹⁴ C]フルベンジアミド							
試料	果実				葉			
処理後日数	0日		28日		0日		28日	
	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg
総残留放射能	100	3.24	100	1.32	100	44.1	100	16.5
親化合物	99.5	3.22	96.2	1.27	99.1	43.7	90.9	15.0
B	0.05	0.0016	0.50	0.0066	0.04	0.0165	0.53	0.087
C	0.04	0.0013	0.23	0.003	0.05	0.0022	0.24	0.039
E	-	-	0.38	0.005	-	-	0.40	0.066
H	-	-	0.26	0.0034	-	-	0.33	0.055
N	-	-	0.07	0.0009	-	-	0.10	0.017
標識体	[ani- ¹⁴ C]フルベンジアミド							
試料	果実				葉			
処理後日数	0日		28日		0日		28日	
	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg
総残留放射能	100	3.38	100	1.49	100	45.4	100	14.9
親化合物	99.5	3.36	96.6	1.43	99.1	45.0	95.2	14.2
B	-	-	0.32	0.0048	-	-	0.36	0.054
C	0.04	0.0012	0.18	0.0027	-	-	0.20	0.030
E	-	-	0.32	0.0048	-	-	0.32	0.0478
H	-	-	0.29	0.0043	-	-	0.36	0.053

3. 土壌中運命試験

(1) 好氣的土壌中運命試験

[pht-¹⁴C]フルベンジアミド又は[ani-¹⁴C]フルベンジアミドを埴壤土（高知）に乾土あたり約 0.4 mg/kg となるように添加後、25℃の暗条件下で 180 日間インキュベートし、好氣的土壌中運命試験が実施された。

親化合物は、処理 56 日後で 98.9～100% TAR、試験終了時（処理 180 日後）で 98.0～99.0% TAR 検出された。微量ではあるが、分解物 B、E 及び H が試験終了時にそれぞれ 0.2、0.2～0.4 及び 0.4～0.7% TAR 検出された。

フルベンジアミドの分解は極めて緩やかであり、推定半減期は 180 日以上であった。（参照 8）

(2) 土壌表面光分解試験

[pht-¹⁴C]フルベンジアミド又は[ani-¹⁴C]フルベンジアミドを砂土（米国カリフォルニア州）で調製した厚さ 1～2 mm の土壌薄層に、乾土あたり 1.3 µg/g となるように添加後、20℃±1℃でキセノンアークランプ（光強度：583 W/m²、波長：300～800 nm）を 11 日間連続照射して土壌表面光分解試験が実施された。

光照射区において、親化合物は経時的に減少し、処理 11 日後には 47.9～49.7% TAR になった。また、分解物 B 及び M がそれぞれ 15.5～17.6 及び 1.5

～8.2% TAR 検出された。暗所対照区では、処理 11 日後においても親化合物はほとんど分解されず、92.6～99.9% TAR が残存していた。

フルベンジアミドの推定半減期は、本試験条件下では 11.0～11.4 日、米国における太陽光下では 33.6～34.9 日と換算²された。

土壌表面において、フルベンジアミドは速やかに分解物 B へ分解されることが示された。また、分解物 B も土壌中では安定ではなく、分解物 M を経由し速やかに CO₂ 及び未抽出残渣にまで分解されることが示された。(参照 9)

(3) 土壌吸脱着試験

4 種類の国内土壌 [軽埴土 (高知)、壤土 (北海道)、軽埴土 (和歌山) 及び砂土 (宮崎)] を用いた土壌吸脱着試験が実施された。

Freundlich の吸着係数 K_{ads} は 26.9～54.6 であり、有機炭素含有率により補正した吸着係数 K_{oc} は 1,550～3,660 であった。また、脱着係数 K_{des} は 36.2～52.1 であった。

フルベンジアミドは、土壌においてわずかな移行性があると考えられた。(参照 10)

4. 水中運命試験

(1) 加水分解試験

[pht-¹⁴C]フルベンジアミド又は[ani-¹⁴C]フルベンジアミドを pH 4 (酢酸緩衝液)、pH 5 (酢酸緩衝液、25°C 試験区のみ)、pH 7 (リン酸緩衝液) 及び pH 9 (ホウ酸緩衝液) の各緩衝液に 12.1 µg/L となるように加えた後、25°C で 30 日間又は 50°C で 5 日間インキュベートし、加水分解試験が実施された。

各処理区において、親化合物は 90.5～101% TAR 回収された。フルベンジアミドは、本試験条件下で加水分解に対し安定であった。(参照 11)

(2) 水中光分解試験

[pht-¹⁴C]フルベンジアミド又は[ani-¹⁴C]フルベンジアミドを蒸留水 (pH 6.0～6.2)、自然水 [地下水 (大阪)、pH 7.4] 及び光増感剤として 1% アセトンを含む蒸留水 (いずれの試験水も滅菌後に使用) に 12.5 µg/L となるように加えた後、25°C でキセノンアークランプ (光強度: 623～640 W/m²、波長: 280～800 nm) を 7 日間連続照射し、水中光分解試験が実施された。

親化合物は光照射により速やかに分解され、処理 7 日後に検出されたのは 31.3～46.7% TAR であった。

光分解物としては B、C 及び D が同定され、処理 7 日後にはそれぞれ 10.1～31.9、0.6～2.2 及び 0.2～11.6% TAR 検出された。

² 米国の隣接する 48 州の年間平均の太陽光強度 190 W/m² を基準として換算した。

各水中の光照射区において、初期の主要分解物は B 及び C であり、C は後期に D へと分解されるものと推定された。暗所対照区においては、定量的な親化合物の回収が認められ、顕著な分解物は検出されなかった。

自然水中では、蒸留水中に比べ、親化合物の若干速やかな減衰が認められた。

フルベンジアミドの推定半減期は光照射区において 4.3～6.5 日であり、北緯 35 度（東京）春の自然太陽光下では 25.2～32.5 日と推定された。（参照 12）

5. 土壌残留試験

火山灰土・軽埴土（熊本）及び沖積土・埴壤土（高知）を用いて、フルベンジアミド、分解物 B、C 及び D（圃場のみ）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。結果は表 12 に示されている。（参照 13）

表 12 土壌残留試験成績

試験	濃度*	土壌	推定半減期	
			フルベンジアミド	フルベンジアミド+ 分解物
容器内 試験	0.4 mg/kg	火山灰土・軽埴土	1 年以上	1 年以上
		沖積土・埴壤土	1 年以上	1 年以上
圃場 試験	300 g ai/ha	火山灰土・軽埴土	247 日	250 日
		沖積土・埴壤土	34 日	34 日

※容器内試験で純品、圃場試験で顆粒水和剤を使用

6. 作物等残留試験

(1) 作物残留試験

野菜、果実、豆類及び茶を用いて、フルベンジアミド、代謝物 B 及び C（C の分析は国内のみ）を分析対象化合物とした作物残留試験が実施された。

今回、適用拡大申請されている作物（ばれいしょ、さといも、かんしょ、はつかだいこん、ブロッコリー、アスパラガス、ミニトマト、すいか、えだまめ、すもも及びかき）を含む国内での適用作物については別紙 3、インポートトレランス申請されている作物（とうもろこし、カリフラワー、ブロッコリー、セロリ、かぼちゃ、メロン類、もも、あんず、すもも、綿実、くり、ペカン、アーモンド、くるみ及びその他のハーブ）を含む海外での試験結果については別紙 4 に示されている。

国内で栽培されている農産物におけるフルベンジアミドの最高値は、最終散布 7 日後に収穫した茶（荒茶）の 29.0 mg/kg であった。代謝物 B の最高値は、最終散布 1 日後に収穫したリーフレタスの 0.20 mg/kg であったが、ほとんど定量限界未満であった。代謝物 C は全データが定量限界未満であった。

海外で栽培されている農産物におけるフルベンジアミドの最高値は、最終散布 1 日後に収穫したほうれんそうの 6.72 mg/kg であった。代謝物 B は、最終

散布3及び7日後に収穫したマスタードグリーン¹の0.04 mg/kgであったが、ほとんど定量限界未満であった。(参照14~15、45、47、48)

(2) 後作物残留試験

フルベンジアミドを600 g ai/haで3回散布して栽培したキャベツの後作物となるレタス及びだいこん(葉、根部)を用いて、フルベンジアミド、代謝物B及びCを分析対象化合物とした後作物残留試験が実施された。

結果は別紙5に示されており、いずれの作物でもフルベンジアミドは定量限界未満であった。(参照16)

(3) 推定摂取量

別紙3の作物残留試験の分析値を用いて、フルベンジアミド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表13に示されている。詳細は別紙6に示されている。

なお、本推定摂取量の算定は、申請された使用方法からフルベンジアミドが最大の残留を示す使用条件で、今回申請された作物(ばれいしょ、さといも、かんしょ、はつかだいこん、ブロッコリー、アスパラガス、ミニトマト、すいか、えだまめ、すもも及びかき)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13 食品中より摂取されるフルベンジアミドの推定摂取量

	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)	222.73	102.50	205.32	236.67

8. 一般薬理試験

マウス及びラットを用いた一般薬理試験が実施された。結果は表14に示されている。(参照17)

表 14 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)	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 (Irwin 法)	ICR マウス	雌雄各 3	0、200、600、 2,000	2,000	—	投与による影響なし。
	一般状態 (FOB)	SD ラット	雄 5	0、200、600、 2,000	2,000	—	投与による影響なし。
	睡眠時間	ICR マウス	雄 8	0、200、600、 2,000	2,000	—	投与による影響なし。
循環器系	血圧・ 心拍数	SD ラット	雄 5	0、200、600、 2,000	2,000	—	投与による影響なし。
消化器系	小腸 輸送能	ICR マウス	雄 8	0、200、600、 2,000	600	2,000	炭末輸送能の抑制が認められた。
腎臓	腎機能	SD ラット	雄 5	0、200、600、 2,000	2,000	—	投与による影響なし。
血液	溶血と凝固	SD ラット	雄 5	0、200、600、 2,000	2,000	—	投与による影響なし。

*: いずれの試験においてもフルベンジアミド原体を 0.5% CMC-Na 水溶液に懸濁した検体を経口投与した。

—: 最小作用量は求められなかった。

9. 急性毒性試験

フルベンジアミドの急性毒性試験が実施された。

結果は表 15 に示されている。なお、急性吸入毒性試験では 0.07 mg/L が暴露可能な最高濃度であった。(参照 18~20)

表 15 急性毒性試験結果概要 (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	SD ラット 雌雄各 5 匹	>2,000	>2,000	症状及び死亡例なし
経皮	SD ラット 雌雄各 5 匹	>2,000	>2,000	症状及び死亡例なし
吸入	SD ラット 雌雄各 5 匹	LC ₅₀ (mg/L)		症状及び死亡例なし
		>0.07	>0.07	

フルベンジアミドの代謝物 B 及び C の急性経口毒性試験が実施された。

結果は表 16 に示されている。代謝物 C において、投与 30 分後から軟便及

び肛門周囲の被毛汚染がみられたが、投与 1 日後には消失した。(参照 21～22)

表 16 急性経口毒性試験結果概要 (代謝物)

被験物質	動物種	LD ₅₀ (mg/kg 体重)		観察された症状
		雄	雌	
B	SD ラット 雌 6 匹	>2,000	>2,000	症状及び死亡例なし
C	SD ラット 雌 6 匹	>2,000	>2,000	軟便及び肛門周囲の被毛汚染 死亡例なし

10. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

日本白色種ウサギ (雄) 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。皮膚刺激性は認められなかったが、軽度の眼刺激性が認められた。(参照 23～24)

Hartley モルモット (雌) を用いた皮膚感作性試験 (Maximization 法) が実施された。皮膚感作性は認められなかった。(参照 25)

11. 亜急性毒性試験

(1) 90 日間亜急性毒性試験 (ラット)

Fischer ラット (一群雌雄各 10 匹) を用いた混餌 (原体: 0、20、50、200、2,000 及び 20,000 ppm: 平均検体摂取量は表 17 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 17 90 日間亜急性毒性試験 (ラット) の平均検体摂取量

投与群		20 ppm	50 ppm	200 ppm	2,000 ppm	20,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	1.15	2.85	11.4	116	1,190
	雌	1.30	3.29	13.1	128	1,320

各投与群で認められた毒性所見は表 18 に示されている。

20,000 ppm 投与群の雌で散見された立ち上がり姿勢スコアの増加は、慢性毒性試験においてもほぼ同時期に観察されており、投与との関連は否定できないと判断したが、他の検査項目の変化を伴わないこの所見単独での軽微かつ一時的な変化について毒性学的意義を認めることは難しいと考えられた。

本試験において、2,000 ppm 以上投与群の雄で PLT 増加が、200 ppm 以上投与群の雌で小葉周辺性肝細胞脂肪化等が認められたので、無毒性量は雄で 200 ppm (11.4 mg/kg 体重/日)、雌で 50 ppm (3.29 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 26)

表 18 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
20,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ MCV 減少 ・ TP 及び Alb 増加 ・ 肝絶対及び比重量³増加 ・ 肝暗調化及び腫大 	<ul style="list-style-type: none"> ・ MCH 減少 ・ TP 及び Alb 増加 ・ Glob 増加、T.Chol 及び TBA 減少 ・ 副腎、卵巣絶対及び比重量増加 ・ 肝暗調化
2,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ PLT 増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・ PLT 増加、Ht 及び Hb 減少 ・ GGT 及びカリウム増加、TG 減少、ChE 活性低下 ・ 腎絶対及び比重量増加 ・ 肝腫大 ・ び慢性肝細胞肥大 ・ 甲状腺ろ胞上皮細胞肥大
200 ppm 以上	200 ppm 以下毒性所見なし	<ul style="list-style-type: none"> ・ MCV 減少 ・ 肝絶対及び比重量増加 ・ 小葉周辺性肝細胞脂肪化
50 ppm 以下		毒性所見なし

(2) 90 日間亜急性毒性試験（マウス）

ICR マウス（一群雌雄各 10 匹）を用いた混餌（原体：0、50、100、1,000 及び 10,000 ppm：平均検体摂取量は表 19 参照）投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。なお、本試験は発がん性試験（マウス）の予備試験であり、試験ガイドラインには準拠していない。

表 19 90 日間亜急性毒性試験（マウス）の平均検体摂取量

投与群		50 ppm	100 ppm	1,000 ppm	10,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	6.01	11.9	123	1,210
	雌	7.13	14.7	145	1,420

各投与群で認められた毒性所見は表 20 に示されている。

本試験において、1,000 ppm 投与群以上の雌雄で小葉中心性肝細胞肥大等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 100 ppm（雄：11.9 mg/kg 体重/日、雌：14.7 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 42）

³ 体重比重量を比重量という（以下同じ）。

表 20 90 日間亜急性毒性試験（マウス）で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
10,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・肝比重量増加 ・肝暗調化 	<ul style="list-style-type: none"> ・T.Bil 増加 ・卵巣比重量増加
1,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・小葉中心性肝細胞肥大 ・小葉中心性肝細胞脂肪化 	<ul style="list-style-type: none"> ・肝絶対及び比重量増加 ・小葉中心性肝細胞肥大 ・小葉中心性肝細胞脂肪化
100 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

(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、100、2,000、40,000 ppm：平均検体摂取量は表 21 参照）投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 21 90 日間亜急性毒性試験（イヌ）の平均検体摂取量

投与群		100 ppm	2,000 ppm	40,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	2.58	52.7	1,080
	雌	2.82	59.7	1,140

各投与群で認められた毒性所見は表 22 に示されている。

40,000 ppm 投与群の雄でみられた軟便は検体投与の影響によるものと考えられたが、40,000 ppm 投与群の雌を含めた他の投与群でみられた軟便は、発生個体数が少なく、また、観察された週も少なかったことから、検体投与には関連しない症状であると考えられた。

40,000 ppm 投与群の雄の 2 例に肝臓の小肉芽腫が認められたが、この病変の程度は軽く、また、雌では用量に関連なく観察された所見であったため、検体投与とは関連しないものと考えられた。

本試験において、2,000 ppm 以上投与群の雌雄で副腎絶対及び比重量増加等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 100 ppm（雄：2.58 mg/kg 体重/日、雌：2.82 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 27）

表 22 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
40,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・軟便 ・体重増加抑制 ・Hb 及び RBC 増加 ・ALP 増加、T.Chol 減少 ・副腎皮質細胞肥大 	
2,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・APTT 短縮 ・副腎絶対及び比重量増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・APTT 短縮 ・ALP 及び TG 増加 ・副腎絶対及び比重量増加 ・副腎皮質細胞肥大
100 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

12. 慢性毒性試験及び発がん性試験

(1) 1年間慢性毒性試験（ラット）

Fischer ラット（一群雌雄各 25 匹）を用いた混餌（原体：0、20、50、2,000、20,000 ppm：平均検体摂取量は表 23 参照）投与による 1 年間慢性毒性試験が実施された。

表 23 1 年間慢性毒性試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群		20 ppm	50 ppm	2,000 ppm	20,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	0.781	1.95	79.3	822
	雌	0.960	2.40	97.5	998

各投与群で認められた毒性所見は表 24 に示されている。

20,000 ppm 投与群の雌で散見された立ち上がり姿勢スコアの増加は、亜急性毒性試験においてもほぼ同時期に観察されており投与との関連は否定できないと判断したが、他の検査項目の変化を伴わないこの所見単独での軽微かつ一時的な変化について毒性学的意義を認めることは難しいと考えられた。

本試験において、2,000 ppm 以上投与群の雌雄で甲状腺ろ胞上皮細胞肥大等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 50 ppm（雄：1.95 mg/kg 体重/日、雌：2.40 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 28）

表 24 1年間慢性毒性試験（ラット）で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
20,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ Ht、Hb、RBC、MCV 及び MCH 減少、PLT 増加 ・ TP 増加 ・ 甲状腺絶対及び比重量増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 卵巣絶対及び比重量増加
2,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ 網状赤血球数増加、PT 及び APTT 延長 ・ GGT 及び Alb 増加 ・ 肝比重量増加 ・ 甲状腺ろ胞上皮細胞肥大 	<ul style="list-style-type: none"> ・ Ht、Hb、RBC、MCV 及び MCH 減少 ・ GGT、TP、Alb 及びリン増加、TBA、T.Chol 及び TG 減少 ・ 肝、腎及び心絶対及び比重量増加 ・ 副腎比重量増加 ・ 脾絶対及び比重量減少 ・ 肝暗調化及び腫大 ・ 甲状腺ろ胞上皮細胞肥大 ・ 小葉周辺性肝細胞脂肪化及びび慢性肝細胞肥大
50 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

(2) 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、100、1,500、20,000 ppm：平均検体摂取量は表 25 参照）投与による 1 年間慢性毒性試験が実施された。

表 25 1年間慢性毒性試験（イヌ）の平均検体摂取量

投与群		100 ppm	1,500 ppm	20,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	2.21	35.2	484
	雌	2.51	37.9	533

各投与群で認められた毒性所見は表 26 に示されている。

本試験において、1,500 ppm 以上投与群の雄で肝比重量増加等、雌で ALP 増加等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 100 ppm（雄：2.21 mg/kg 体重/日、雌：2.51 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 29）

表 26 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
20,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ALP 及び ALT 増加、Alb 及び A/G 比減少 ・肝クッパー細胞褐色色素沈着 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・ALT、GGT 及び TG 増加、Glu 減少 ・肝絶対重量増加 ・肝クッパー細胞褐色色素沈着
1,500 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・APTT 短縮 ・ナトリウム減少 ・肝比重量増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・APTT 短縮、PLT 増加 ・ALP 増加
100 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）

Fischer ラット（一群雌雄各 50 匹）を用いた混餌（原体：0、50、1,000、20,000 ppm：平均検体摂取量は表 27 参照）投与による 2 年間発がん性試験が実施された。

表 27 2年間発がん性試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群		50 ppm	1,000 ppm	20,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	1.70	33.9	705
	雌	2.15	43.7	912

各投与群で認められた毒性所見は表 28 に示されている。

腫瘍性病変において、対照群と投与群の間に発生頻度の有意な差は認められなかった。

本試験において、1,000 ppm 以上投与群の雌雄で小葉周辺性肝細胞脂肪化等が認められたので、無毒性量は雌雄で 50 ppm（雄：1.70 mg/kg 体重/日、雌：2.15 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 30）

表 28 2年間発がん性試験（ラット）で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
20,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・肝絶対及び比重量増加 ・甲状腺絶対重量増加 ・肝小葉明瞭及び表面粗造 ・脾暗調化 ・甲状腺ろ胞上皮細胞肥大 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・甲状腺、副腎及び卵巣絶対及び比重量増加
1,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・小葉周辺性肝細胞脂肪化 ・慢性腎症 	<ul style="list-style-type: none"> ・肝絶対及び比重量増加 ・腎比重量増加 ・肝暗調化及び腫大 ・脱毛 ・小葉周辺性肝細胞脂肪化、び慢性肝細胞脂肪化及びび慢性肝細胞肥大 ・慢性腎症 ・甲状腺ろ胞上皮細胞肥大 ・皮膚毛包炎又は毛嚢炎
50 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

(4) 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、50、1,000 及び 10,000 ppm：平均検体摂取量は表 29 参照）投与による 18 カ月間発がん性試験が実施された。

表 29 18 カ月間発がん性試験（マウス）の平均検体摂取量

投与群		50 ppm	1,000 ppm	10,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	4.85	94	988
	雌	4.44	93	937

各投与群で認められた毒性所見は表 30 に示されている。

腫瘍性病変において、対照群と投与群の間に発生頻度の有意な差は認められなかった。

本試験において、1,000 ppm 以上投与群の雌雄で甲状腺ろ胞上皮細胞肥大等が認められたので、無毒性量は雌雄ともに 50 ppm（雄：4.85 mg/kg 体重/日、雌：4.44 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 31)

表 30 18 カ月間発がん性試験（マウス）で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
10,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> 肝、甲状腺及び副腎絶対及び比重量増加 甲状腺コロイド変性 変異肝細胞巢（空胞細胞及び好塩基性細胞） 	<ul style="list-style-type: none"> 甲状腺絶対及び比重量増加 肝暗調化 小葉周辺性肝細胞脂肪化（大型脂肪滴） 甲状腺コロイド変性及びろ胞上皮過形成
1,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> 肝暗調化 甲状腺腫大 小葉中心性肝細胞肥大、小葉中心性肝細胞脂肪化及びび慢性肝細胞脂肪化（小型脂肪滴） 甲状腺水腫様変性を伴うろ胞上皮細胞肥大及び大型ろ胞増加 	<ul style="list-style-type: none"> 肝絶対及び比重量増加 甲状腺腫大 小葉中心性肝細胞肥大、小葉中心性肝細胞脂肪化及びび慢性肝細胞脂肪化（小型脂肪滴） び慢性肝細胞脂肪化（大型脂肪滴） 甲状腺水腫様変性を伴うろ胞上皮細胞肥大及び大型ろ胞増加
50 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

13. 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 24 匹）を用いた混餌（原体：0、20、50、2,000 及び 20,000 ppm：平均検体摂取量は表 31 参照）投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

表 31 2 世代繁殖試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群		20 ppm	50 ppm	2,000 ppm	20,000 ppm	
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	P 世代	雄	1.30	3.30	131	1,310
		雌	1.59	3.95	159	1,580
	F ₁ 世代	雄	1.64	4.05	162	1,640
		雌	1.84	4.59	176	1,810

各投与群で認められた毒性所見は表 32 に示されている。

親動物において、2,000 及び 20,000 ppm 投与群の P 世代雌各 1 例が出産時に臨床症状を示すことなく死亡した。このうち 20,000 ppm 投与群の 1 例では、重度の肝細胞脂肪化及び塊状肝細胞壊死が認められたので、肝臓障害が死亡に至らせる要因の一つであったと考えられた。なお、追加実施された 1 世代繁殖試験 [13. (2)] の 20,000 ppm 投与群においても出産時死亡が認められたことから、20,000 ppm 投与群における死亡は検体投与に関連すると考えられたが、2,000 ppm 投与群での死亡は本試験のみで認められ、偶発的なものである可能性が高いと考えられた。

2,000 ppm 以上投与群の F₁ 及び F₂ 世代児動物で腫大が認められた眼球では、

ほぼ全例に虹彩癒着が認められ、眼房水の流出阻害が眼球腫大に至ったと考えられた。また、これらの眼球では出血、角膜上皮基底細胞の水腫様変性、角膜上皮細胞の空胞化、角膜炎、虹彩炎及び白内障も観察された。

F₁世代児動物の雄において、50 ppm 以上投与群で包皮分離完了の遅延がみられ、対照群との間に有意差が認められた。しかし、50 及び 2,000 ppm 投与群の平均完了日（42.5 及び 43.0 日）は試験施設における同系統ラットの背景データ（40.9～43.4 日）の範囲内にあり、多重比較検定で解析した場合、平均完了日の有意な遅延は 2,000 ppm 以上投与群で認められ、50 ppm 投与群に有意差はなかった。また、追加実施された 1 世代繁殖試験においても、200 ppm 以下の投与群では包皮分離完了日に変動はみられなかったことから、50 ppm 投与群でみられた包皮分離完了の遅延は偶発的であると考えられた。

本試験において、親動物では 2,000 ppm 以上投与群の雌雄で甲状腺ろ胞上皮細胞肥大等が、児動物では 2,000 ppm 以上投与群の雌雄で肝絶対及び比重増加等が認められたので、無毒性量は親動物及び児動物の雌雄で 50 ppm（P 雄：3.30 mg/kg 体重/日、P 雌：3.95 mg/kg 体重/日、F₁ 雄：4.05 mg/kg 体重/日、F₁ 雌：4.59 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 32）

（包皮分離完了遅延の検討については [13. (2)]、眼球腫大の検討については [15. (3)] を参照）

表 32 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 ₁		親：F ₁ 、児：F ₂		
	雄	雌	雄	雌	
親動物	20,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・甲状腺腫大及び褐色化 ・肝及び甲状腺絶対及び比重量増加 ・副腎絶対重量増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・甲状腺腫大 ・肝胆管増生及び多核肝細胞 ・副腎び慢性皮質細胞肥大 ・卵巣間質細胞の空洞化 	<ul style="list-style-type: none"> ・甲状腺腫大及び褐色化 ・肝及び甲状腺絶対及び比重量増加 ・肝細胞脂肪化及び肝細胞肥大 ・精細胞数減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・甲状腺腫大 ・子宮絶対重量増加 ・肝胆管増生
	2,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・甲状腺ろ胞上皮細胞肥大 	<ul style="list-style-type: none"> ・肝腫大及び暗調化 ・甲状腺褐色化 ・肝、甲状腺、腎及び子宮絶対及び比重量増加 ・副腎及び卵巣絶対重量増加 ・脾比重量減少 ・肝細胞脂肪化、肝細胞肥大及び肝褐色色素沈着 ・甲状腺ろ胞上皮細胞肥大 ・腎尿管好塩基性化及び尿管柱 	<ul style="list-style-type: none"> ・下垂体比重量減少 ・肝褐色色素沈着 ・甲状腺ろ胞上皮細胞肥大 ・包皮分離完了遅延 	<ul style="list-style-type: none"> ・肝腫大及び暗調化 ・甲状腺褐色化 ・肝、甲状腺及び腎絶対及び比重量増加 ・脾絶対及び比重量減少 ・下垂体比重量減少 ・肝細胞脂肪化、肝細胞肥大及び肝褐色色素沈着 ・甲状腺ろ胞上皮細胞肥大
	50 ppm 以下	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	20,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・甲状腺比重量増加 ・肝胆管増生 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・胸腺絶対重量減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・胸腺絶対重量減少 ・肝胆管増生 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制
	2,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・肝暗調化 ・眼球腫大 ・肝絶対及び比重量増加 ・脾及び胸腺絶対及び比重量減少 ・肝細胞脂肪化、肝細胞肥大及び肝褐色色素沈着 ・甲状腺ろ胞上皮細胞肥大 	<ul style="list-style-type: none"> ・肝暗調化 ・眼球腫大 ・肝絶対及び比重量増加 ・子宮比重量増加 ・脾比重量減少 ・肝細胞脂肪化、肝細胞肥大、肝褐色色素沈着及び胆管増生 ・甲状腺ろ胞上皮細胞肥大 	<ul style="list-style-type: none"> ・肝暗調化 ・眼球腫大 ・肝絶対及び比重量増加 ・脾比重量減少 ・肝細胞脂肪化、肝細胞肥大及び肝褐色色素沈着 ・甲状腺ろ胞上皮細胞肥大 	<ul style="list-style-type: none"> ・肝暗調化 ・眼球腫大 ・肝絶対及び比重量増加 ・脾及び胸腺絶対及び比重量減少 ・肝細胞脂肪化、肝細胞肥大、肝褐色色素沈着及び胆管増生 ・甲状腺ろ胞上皮細胞肥大
	50 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし	毒性所見なし	毒性所見なし

(2) 1 世代繁殖試験（ラット）＜追加試験＞

先に実施された 2 世代繁殖試験 [13. (1)] において、50 ppm 以上投与群の F₁ 児動物雄で認められた包皮分離完了の遅延を再確認するため、Wistar ラット（一群雌雄各 24 匹）を用いた混餌（原体：0、50、200、2,000 及び 20,000 ppm；平均検体摂取量は表 33 参照）投与による 1 世代繁殖試験が実施された。

F₁ 世代親動物に関しては、雄で離乳後約 10 週間、雌で離乳後約 5 週間を試験期間とした。

表 33 1 世代繁殖試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群		50 ppm	200 ppm	2,000 ppm	20,000 ppm	
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	P 世代	雄	3.25	12.9	127	1,290
		雌	3.84	15.0	149	1,490
	F ₁ 世代	雄	4.05	15.9	160	1,610
		雌	5.28	21.0	206	2,090

各投与群で認められた毒性所見は表 34 に示されている。

2,000 ppm 以上投与群の F₁ 雄動物において包皮分離完了の遅延が認められたが、同世代雄動物で測定した肛門生殖突起間距離 (AGD) の短縮がなく、むしろこれらの群では大きい値を示しており、少なくとも検体が抗アンドロゲン作用によって性成熟を遅延させているのではないと考えられた。

本試験において、親動物では 2,000 ppm 以上投与群の雄で包皮分離完了遅延等、200 ppm 以上投与群の雌で腎絶対及び比重量増加等が認められ、児動物では 2,000 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、無毒性量は親動物の雄で 200 ppm (P 雄: 12.9 mg/kg 体重/日、F₁ 雄: 15.9 mg/kg 体重/日)、雌で 50 ppm (P 雌: 3.84 mg/kg 体重/日、F₁ 雌: 5.28 mg/kg 体重/日)、児動物で 200 ppm (F₁ 雄: 12.9 mg/kg 体重/日、F₁ 雌: 15.0 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 33)

表 34 1 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 ₁		親：F ₁	
		雄	雌	雄	雌
親動物	20,000 ppm	・甲状腺腫大及び褐色化 ・肝絶対及び比重量増加	・甲状腺絶対及び比重量増加	・肝暗調化 ・甲状腺褐色化 ・肝絶対及び比重量増加	・肝腫大 ・甲状腺比重量増加
	2,000 ppm 以上	2,000 ppm 以下 毒性所見なし	・肝腫大 ・甲状腺褐色化 ・肝絶対及び比重量増加 ・腎、卵巣及び子宮絶対重量増加	・下垂体絶対及び比重量減少 ・包皮分離完了遅延	・肝暗調化 ・肝及び卵巣絶対及び比重量増加
	200 ppm 以上		・肝暗調化	200 ppm 以下 毒性所見なし	・腎絶対及び比重量増加 ・下垂体絶対及び比重量減少
	50 ppm		毒性所見なし		毒性所見なし
児動物	20,000 ppm	・眼球腫大 ・体重増加抑制 ・胸腺絶対重量減少	・眼球腫大 ・体重増加抑制 ・甲状腺絶対重量減少		
	2,000 ppm 以上	・肛門生殖突起間距離増加 ・肝暗調化 ・肝絶対及び比重量増加 ・脾絶対及び比重量減少 ・甲状腺絶対重量減少	・肝暗調化 ・肝絶対及び比重量増加 ・脾及び胸腺絶対及び比重量減少		
	200 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし		

(3) 発生毒性試験（ラット）

Wistar ラット（一群雌 24 匹）の妊娠 6～19 日に強制経口（原体：0、10、100 及び 1,000 mg/kg 体重/日、溶媒：1%CMC）投与して発生毒性試験が実施された。

母動物では、100 mg/kg 体重/日以上投与群で肝絶対及び比重量増加が認められた。

胎児には、検体投与の影響は認められなかった。

本試験において、母動物の 100 mg/kg 以上投与群で肝絶対及び比重量増加が認められ、胎児では毒性所見は認められなかったため、無毒性量は母動物で 10 mg/kg 体重/日、胎児で本試験の最高用量 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 34）

(4) 発生毒性試験 (ウサギ)

日本白色種ウサギ (一群雌 25 匹) の妊娠 6~27 日に強制経口 (原体: 0、20、100 及び 1,000 mg/kg 体重/日、溶媒: 1%CMC) 投与して発生毒性試験が実施された。

母動物では、1,000 mg/kg 体重/日投与群において、妊娠末期に摂餌量減少及び軟便が認められた。

胎児には、検体投与の影響は認められなかった。

本試験において、母動物の 1,000 mg/kg 体重/日投与群で摂餌量減少等が認められ、胎児では毒性所見は認められなかったため、無毒性量は母動物で 100 mg/kg 体重/日、胎児で本試験の最高用量 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 35)

(5) 発達神経毒性試験 (ラット)

Wistar ラット (一群雌 30 匹) の妊娠 6 日~哺育 21 日に混餌 (原体: 0、120、1,200 及び 12,000 ppm: 平均検体摂取量はそれぞれ 0、9.9、99.5 及び 980 mg/kg 体重/日) 投与して発達神経毒性試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 35 に示されている。

12,000 ppm 投与群の雄で水迷路検査における所要時間の高値 (17.3 秒) がみられたが、対照群との差はわずかであり、雌で同様な変化はなく、さらに背景データ (11.3~21.4 秒) の範囲内であったことから、検体投与とは関係しないと考えられた。神経病理組織学的検査では、検体投与に関連する変化はみられなかった。

本試験において、母動物では 1,200 ppm 以上投与群で小葉中心性肝細胞肥大等、児動物では 1,200 ppm 以上投与群で包皮分離発現日遅延等が認められたため、無毒性量は母動物及び児動物で 120 ppm (9.9 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 50)

表 35 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
12,000 ppm		・眼の異常 ¹⁾ (眼赤色化、眼球腫大、角膜混濁、眼球突出、虹彩腫大、対光反射の消失、網膜変性、角膜炎、鉍質沈着、虹彩前癒着、ブドウ膜炎、白内障及び視神経の萎縮) ・陰開口発現日遅延
1,200 ppm 以上	・肝絶対及び比重量増加 ・小葉中心性肝細胞肥大	・体重増加抑制 ²⁾ ・包皮分離発現日遅延
120 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

1): 眼の異常については、発生頻度に有意差のない所見もあったが、いずれも検体投与に関連した変化と考えられた。

2): 1,200 ppm については有意差がみられなかったが、検体投与に関連した変化と考えられた。