

農薬評価書

パクロブトラゾール (第2版)

2016年9月
食品安全委員会

目 次

	頁
○ 審議の経緯	4
○ 食品安全委員会委員名簿	4
○ 食品安全委員会農薬専門調査会専門委員名簿	5
○ 要 約	8
I. 評価対象農薬の概要	9
1. 用途	9
2. 有効成分の一般名	9
3. 化学名	9
4. 分子式	9
5. 分子量	9
6. 構造式	9
7. 開発の経緯	9
II. 安全性に係る試験の概要	11
1. 動物体内運命試験	11
(1) ラット	11
(2) ヤギ	14
(3) ニワトリ	15
2. 植物体内運命試験	17
(1) 水稻	17
(2) りんご	17
(3) なたね	18
(4) トマト	18
3. 土壌中運命試験	19
(1) 好氣的湛水土壌中運命試験①	19
(2) 好氣的湛水土壌中運命試験②	19
(3) 好氣的土壌中運命試験①	20
(4) 好氣的土壌中運命試験②	20
(5) 嫌氣的湛水土壌中運命試験	21
(6) 土壌吸脱着試験	21
4. 水中運命試験	22
(1) 加水分解試験	22
(2) 水中光分解試験 (緩衝液)	22
(3) 水中光分解試験 (自然水) ①	22

(4) 水中光分解試験 (自然水) ②	22
5. 土壌残留試験	22
6. 作物等残留試験	23
(1) 作物残留試験	23
(2) 後作物残留試験	24
(3) 畜産物残留試験	24
(4) 魚介類における最大推定残留値	24
(5) 推定摂取量	24
7. 一般薬理試験	25
8. 急性毒性試験	26
(1) 急性毒性試験	26
(2) 急性神経毒性試験 (ラット)	29
9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験	30
10. 亜急性毒性試験	30
(1) 90日間亜急性毒性試験 (ラット) ①	30
(2) 90日間亜急性毒性試験 (ラット) ②	31
(3) 90日間亜急性毒性試験 (イヌ)	31
(4) 21日間亜急性経皮毒性試験 (ウサギ)	31
11. 慢性毒性試験及び発がん性試験	32
(1) 1年間慢性毒性試験 (イヌ)	32
(2) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット)	32
(3) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験 (マウス)	33
12. 生殖発生毒性試験	34
(1) 2世代繁殖試験 (ラット)	34
(2) 発生毒性試験 (ラット) ①	35
(3) 発生毒性試験 (ラット) ② (追加試験)	35
(4) 発生毒性試験 (ウサギ) ①	36
(5) 発生毒性試験 (ウサギ) ② <参考資料>	36
13. 遺伝毒性試験	36
III. 食品健康影響評価	39
・別紙1: 代謝物/分解物/原体混在物略称	48
・別紙2: 検査値等略称	49
・別紙3: 作物残留試験成績	50
・別紙4: 後作物残留試験成績	53
・別紙5: 畜産物 (乳牛) 残留試験成績	54
・別紙6: 推定摂取量	55

· 参照 56

＜審議の経緯＞

－第1版関係－

1989年	3月	24日	初回農薬登録
2005年	11月	29日	残留農薬基準告示（参照1）
2007年	10月	4日	農林水産省から厚生労働省へ基準設定依頼（魚介類）
2007年	12月	4日	厚生労働大臣から残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安第1204002号）、関係書類の接受（参照2～4）
2007年	12月	6日	第218回食品安全委員会（要請事項説明）
2008年	1月	28日	第11回農薬専門調査会確認評価第三部会
2008年	8月	19日	第42回農薬専門調査会幹事会
2009年	2月	19日	第274回食品安全委員会（報告）
2009年	2月	19日	から3月20日 国民からの意見・情報の募集
2009年	4月	1日	農薬専門調査会座長より食品安全委員会委員長へ報告
2009年	4月	2日	第280回食品安全委員会（報告） （同日付け厚生労働大臣へ通知）（参照5）
2010年	12月	13日	残留農薬基準告示（参照6）

－第2版関係－

2015年	7月	30日	農林水産省から厚生労働省へ農薬登録申請に係る連絡及び基準設定依頼（適用拡大：トマト）
2016年	2月	5日	厚生労働大臣から残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発生食0205第5号）
2016年	2月	9日	関係書類の接受（参照7～31）
2016年	2月	16日	第595回食品安全委員会（要請事項説明）
2016年	4月	15日	第136回農薬専門調査会幹事会
2016年	6月	22日	第137回農薬専門調査会幹事会
2016年	7月	12日	第614回食品安全委員会（報告）
2016年	7月	13日	から8月11日まで 国民からの意見・情報の募集
2016年	8月	31日	農薬専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
2016年	9月	6日	第621回食品安全委員会（報告） （同日付け厚生労働大臣へ通知）

＜食品安全委員会委員名簿＞

（2009年6月30日まで）

見上 彪（委員長）
小泉直子（委員長代理*）
長尾 拓
野村一正
畑江敬子
廣瀬雅雄**

（2015年7月1日から）

佐藤 洋（委員長）
山添 康（委員長代理）
熊谷 進
吉田 緑
石井克枝
堀口逸子

本間清一

村田容常

* : 2007年2月1日から

** : 2007年4月1日から

<食品安全委員会農薬専門調査会専門委員名簿>

(2008年3月31日まで)

鈴木勝士 (座長)	三枝順三	布柴達男
林 真 (座長代理)	佐々木有	根岸友恵
赤池昭紀	代田眞理子	平塚 明
石井康雄	高木篤也	藤本成明
泉 啓介	玉井郁巳	細川正清
上路雅子	田村廣人	松本清司
臼井健二	津田修治	柳井徳磨
江馬 眞	津田洋幸	山崎浩史
大澤貫寿	出川雅邦	山手丈至
太田敏博	長尾哲二	與語靖洋
大谷 浩	中澤憲一	吉田 緑
小澤正吾	納屋聖人	若栗 忍
小林裕子	西川秋佳	

(2010年3月31日まで)

鈴木勝士 (座長)	佐々木有	根本信雄
林 真 (座長代理)	代田眞理子	平塚 明
相磯成敏	高木篤也	藤本成明
赤池昭紀	玉井郁巳	細川正清
石井康雄	田村廣人	堀本政夫
泉 啓介	津田修治	松本清司
今井田克己	津田洋幸	本間正充
上路雅子	長尾哲二	柳井徳磨
臼井健二	中澤憲一*	山崎浩史
太田敏博	永田 清	山手丈至
大谷 浩	納屋聖人	與語靖洋
小澤正吾	西川秋佳	吉田 緑
川合是彰	布柴達男	若栗 忍
小林裕子	根岸友恵	

* : 2009年1月19日まで

(2016年3月31日まで)

・幹事会

西川秋佳 (座長)	小澤正吾	林 眞
納屋聖人 (座長代理)	三枝順三	本間正充
赤池昭紀	代田眞理子	松本清司
浅野 哲	永田 清	與語靖洋
上路雅子	長野嘉介	吉田 緑*

- 評価第一部会

上路雅子（座長）	清家伸康	藤本成明
赤池昭紀（座長代理）	林 真	堀本政夫
相磯成敏	平塚 明	山崎浩史
浅野 哲	福井義浩	若栗 忍
篠原厚子		
- 評価第二部会

吉田 緑（座長）*	腰岡政二	細川正清
松本清司（座長代理）	佐藤 洋	本間正充
小澤正吾	杉原数美	山本雅子
川口博明	根岸友恵	吉田 充
桑形麻樹子		
- 評価第三部会

三枝順三（座長）	高木篤也	中山真義
納屋聖人（座長代理）	田村廣人	八田稔久
太田敏博	中島美紀	増村健一
小野 敦	永田 清	義澤克彦
- 評価第四部会

西川秋佳（座長）	佐々木有	本多一郎
長野嘉介（座長代理）	代田眞理子	森田 健
井上 薫**	玉井郁巳	山手丈至
加藤美紀	中塚敏夫	與語靖洋

* : 2015年6月30日まで

** : 2015年9月30日まで

(2016年4月1日から)

- 幹事会

西川秋佳（座長）	三枝順三	長野嘉介
納屋聖人（座長代理）	代田眞理子	林 真
浅野 哲	清家伸康	本間正充
小野 敦	中島美紀	與語靖洋
- 評価第一部会

浅野 哲（座長）	桑形麻樹子	平林容子
平塚 明（座長代理）	佐藤 洋	本多一郎
堀本政夫（座長代理）	清家伸康	森田 健
相磯成敏	豊田武士	山本雅子
小澤正吾	林 真	若栗 忍
- 評価第二部会

三枝順三（座長）	高木篤也	八田稔久
小野 敦（座長代理）	中島美紀	福井義浩
納屋聖人（座長代理）	中島裕司	本間正充
腰岡政二	中山真義	美谷島克宏
杉原数美	根岸友恵	義澤克彦

・評価第三部会

西川秋佳（座長）	加藤美紀	高橋祐次
長野嘉介（座長代理）	川口博明	塚原伸治
與語靖洋（座長代理）	久野壽也	中塚敏夫
石井雄二	篠原厚子	増村健一
太田敏博	代田眞理子	吉田 充

<第 136、137 回農業専門調査会幹事会専門参考人名簿>

赤池昭紀	永田 清	松本清司
上路雅子		

要 約

トリアゾール系の植物成長調整剤である「パクロブトラゾール」(CAS No. 76738-62-0)について、各種試験成績等を用いて食品健康影響評価を実施した。なお、今回、動物体内運命試験(ヤギ及びニワトリ)、植物体内運命試験(トマト)、作物残留試験(ミニトマト)、畜産物残留試験(乳牛)、急性神経毒性試験(ラット)、発生毒性試験(ウサギ)、遺伝毒性試験の成績等が新たに提出された。

評価に用いた試験成績は、動物体内運命(ラット、ヤギ及びニワトリ)、植物体内運命(水稻、りんご等)、作物等残留、亜急性毒性(ラット及びイヌ)、慢性毒性(イヌ)、慢性毒性/発がん性併合(ラット及びマウス)、2世代繁殖(ラット)、発生毒性(ラット及びウサギ)、遺伝毒性等の試験成績である。

各種毒性試験結果から、パクロブトラゾール投与による影響は、主に体重(増加抑制)及び肝臓(重量増加、肝細胞脂肪変性等)に認められた。発がん性、繁殖能に対する影響、催奇形性及び遺伝毒性は認められなかった。

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パクロブトラゾール(親化合物のみ)と設定した。

各試験で得られた無毒性量の最小値は、ラットを用いた2年間慢性毒性/発がん性併合試験の2.0 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0.02 mg/kg 体重/日を一日摂取許容量(ADI)と設定した。

パクロブトラゾールの単回経口投与等により生ずる可能性のある毒性影響に対する無毒性量のうち最小値は、ラットを用いた急性神経毒性試験の30 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0.3 mg/kg 体重を急性参照用量(ARfD)と設定した。

I. 評価対象農薬の概要

1. 用途

植物成長調整剤

2. 有効成分の一般名

和名：パクロブトラゾール

英名：paclobutrazol (ISO 名)

3. 化学名

IUPAC

和名：(2*RS*,3*RS*)-1-(4-クロロフェニル)-4,4-ジメチル-2-(1*H*-1,2,4-トリアゾール-1-イル)ペンタン-3-オール

英名：(2*RS*,3*RS*)-1-(4-chlorophenyl)-4,4-dimethyl-2-(1*H*-1,2,4-triazole-1-yl)pentan-3-ol

CAS (No. 76738-62-0)

和名：(*R**, *R**)-(±)-β-[(4-クロロフェニル)メチル]-α-(1,1-ジメチルエチル)-1*H*-1,2,4-トリアゾール-1-エタノール

英名：(*R**, *R**)-(±)-β-[(4-chlorophenyl) methyl]-α-(1,1-dimethylethyl)-1*H*-1,2,4-triazole-1-ethanol

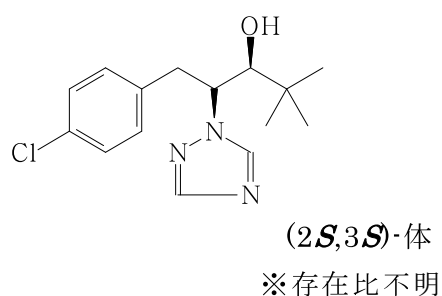
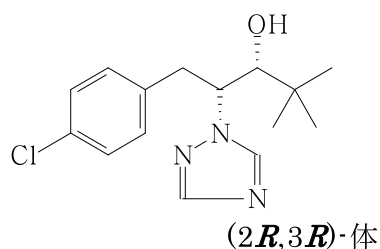
4. 分子式

C₁₅H₂₀ClN₃O

5. 分子量

293.5

6. 構造式



7. 開発の経緯

パクロブトラゾールは、英国 ICI 社（現 シンジェンタ社）によって開発されたトリアゾール系植物成長調整剤であり、植物体内のジベレリン生合成を阻害することにより、植物に矮化作用を示す。国内では 1989 年 3 月に初

回農薬登録されており、海外では米国、EU等で登録されている。

今回、農薬取締法に基づく農薬登録申請（適用拡大：トマト）がなされている。

II. 安全性に係る試験の概要

各種運命試験 [II. 1~4] は、パクロブトラゾールのトリアゾール環の 3 及び 5 位の炭素を ^{14}C で標識したもの（以下「[tri- ^{14}C]パクロブトラゾール」という。）、3-ペンタノールの 2 位の炭素を ^{14}C で標識したもの（以下「[pen- ^{14}C]パクロブトラゾール」という。）並びにフェニル基の炭素を ^{14}C で均一に標識したもの（以下「[phe- ^{14}C]パクロブトラゾール」という。）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比放射能（質量放射能）からパクロブトラゾールの濃度（mg/kg 又は $\mu\text{g/g}$ ）に換算した値として示した。

代謝物/分解物/原体混在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) ラット

①吸収

a. 血中濃度推移

Wistar ラット（一群雌雄各 3 匹）に [phe- ^{14}C]パクロブトラゾールを 5 mg/kg 体重（以下[1. (1)]において「低用量」という。）又は 250 mg/kg 体重（以下[1. (1)]において「高用量」という。）で単回経口投与し、血中濃度推移について検討された。

全血中薬物動態学的パラメータは表 1 に示されている。（参照 2）

表 1 全血中薬物動態学的パラメータ

投与量 (mg/kg 体重)	5		250	
	雄	雌	雄	雌
T_{\max} (hr)	2	2	4	8
C_{\max} ($\mu\text{g/g}$)	0.784	1.72	57.0	27.6
$T_{1/2}$ (hr)	8.4	6.2	8.9	12
AUC (hr \cdot $\mu\text{g/g}$)	10.4	36.9	1,010	448

注) $T_{1/2}$ は、分布試験 [1. (1)②a] で得られた全血中の放射能濃度を用いて算出された。

b. 吸収率

胆汁中排泄試験 [1. (1)④c] より得られた投与後 96 時間の胆汁及び尿中の放射能から推定した吸収率は、81.2~94.8%であった。（参照 2）

②分布

a. 分布-1（単回投与）

Wistar ラット（一群雌雄各 3 匹）に [phe- ^{14}C]パクロブトラゾールを低用量又は高用量で単回経口投与し、投与 96 時間後まで経時的に試料を採取し

て、体内分布試験が実施された。

低用量群では、ほとんどの組織で投与 2 又は 8 時間後に放射能濃度が最高値に達し、その後減少した。高用量群の雄では全ての組織で投与 6 時間後の放射能濃度が最も高く、雌では肝臓及び全血で投与 26 時間後に最高値となったほかは、投与 7～16 時間後に最高値に達した。

いずれの投与群においても、放射能濃度は肝臓で高く、最高値は低用量群では 6.71～12.0 µg/g、高用量群では 120～137 µg/g であった。放射能濃度はその後減少し、肝臓における推定消失半減期は、それぞれ 13.3～13.5 及び 12.7～13.7 時間と算出された。高用量群では脂肪組織の放射能濃度も高く、最高で 144～212 µg/g に達したが、消失は速やかであった。

その他の組織では、低用量群では雌雄の腎臓のほか、雌で性腺、副腎及び脂肪組織、高用量群では雌雄で副腎に残留放射能が比較的多く認められた。(参照 2)

b. 分布-2 (単回投与)

排泄試験 [1. (1)④a] で得られた投与 96 時間後の肝臓、腎臓、生殖腺、脂肪組織、全血及び血漿を用いて、体内分布試験が実施された。

組織中残留放射能濃度は、肝臓で 0.08～0.18 µg/g (0.05～0.08% TAR) 認められたが、他の組織においてはいずれも 0.04 µg/g 以下 (0.01% TAR 未満) であった。(参照 2)

c. 分布-3 (反復投与)

SD ラット (一群雌雄各 3 匹) に [tri-¹⁴C] パクロブトラゾールを低用量で最長 49 日間反復経口投与し、最終投与 1 日後まで経時的に肝臓、腎臓、腎周囲脂肪及び血液を採取して、体内分布試験が実施された。

投与期間を通じた残留放射能濃度の最大値は、肝臓では 2.55 µg/g、腎臓では 1.05 µg/g、腎周囲脂肪では 0.148 µg/g、血液では 0.158 µg/g であった。各組織の残留放射能は投与終了後には減少し、最終投与 28 日後には検出限界未満となった。(参照 8、12)

③代謝

排泄試験 [1. (1)④b 及び d] で得られた高用量で単回投与後 72 時間の尿及び糞並びに投与後 96 時間の胆汁を用いて、代謝物同定・定量試験が実施された。

未変化のパクロブトラゾールは、雌雄とも尿及び胆汁中には痕跡程度、糞中には 5% TAR 認められた。

尿中に認められた代謝物は B の抱合体 (グルクロン酸抱合体及び未同定抱合体) 及び C であり、雄では C (39% TAR) が最も多く、B の抱合体が

7%TAR 存在した。雌では代謝物 B の抱合体 (31%TAR) が最も多く、C は 14%TAR であった。

糞中には代謝物 B (1~6%TAR)、B の抱合体 (7~26%TAR) 及び C (2~13%TAR) が認められ、性差は認められなかった。

胆汁中には、雌雄とも代謝物 B の抱合体 (50~51%TAR) 及び C (2~6%TAR) が認められたほか、雄で C の抱合体 (10%TAR) が検出された。

ラットにおけるパクロブトラゾールの代謝経路は、*tert*-ブチル基の酸化による代謝物 B 及び C 並びにそれらの抱合体の生成と考えられた。(参照 2)

④排泄

a. 尿及び糞中排泄-1

Wistar ラット (雌雄各 3 匹) に [tri-¹⁴C]パクロブトラゾールを 10 mg/kg 体重で単回経口投与して、尿及び糞中排泄試験が実施された。

投与放射能は速やかに尿及び糞中に排泄され、尿及び糞中排泄率は投与後 48 時間の雄で 87.1% TAR、雌で 80.0% TAR、投与後 96 時間の雄で 93.4% TAR、雌で 90.3% TAR であった。投与後 96 時間では雄の尿中で 39.2%TAR、糞中で 53.5%TAR、雌の尿中で 52.6%TAR、糞中で 37.0%TAR であり、尿及び糞中への排泄比率は雌雄で異なっていた。投与後 48 時間の呼気中へは ¹⁴CO₂ として 0.03%TAR が排泄された。(参照 2)

b. 尿及び糞中排泄-2

Wistar ラット (一群雌雄各 4 匹) に [tri-¹⁴C]パクロブトラゾールを低用量又は高用量で単回経口投与して、尿及び糞中排泄試験が実施された。

尿及び糞中排泄率は、投与後 48 時間においては、低用量の雄で 80.1% TAR、雌で 73.9% TAR、高用量の雄で 56.8% TAR、雌で 57.8% TAR、投与後 96 時間においては、低用量の雄で 91.1% TAR、雌で 89.3% TAR、高用量の雄で 90.6% TAR、雌で 92.1% TAR であった。

排泄パターンに投与量及び性別による差は認められず、投与後 168 時間で尿中に 51.3~64.9%TAR、糞中に 28.4~44.7%TAR が排泄された。(参照 2)

c. 尿及び糞中排泄-3

分布試験 [1. (1) ②c] で得られた初回投与後 24 時間及び最終回投与後 24 時間の糞尿を用いて、尿及び糞中排泄試験が実施された。尿及び糞中排泄率は、それぞれ 41.5 及び 28.8%TAR、43.8 及び 14.1%TAR であった。(参照 8、12)

d. 胆汁中排泄

胆管カニューレを挿入した Wistar ラット（雌雄各 2 匹）に、[tri-¹⁴C]パクロブトラゾールを高用量で単回経口投与して、胆汁中排泄試験が実施された。

大部分は投与後 72 時間で排泄され、投与後 96 時間には雄で 73.0～76.3%TAR、雌で 46.4～63.7%TAR が胆汁中に排泄された。尿中へは、雄で 18.2～21.9%TAR、雌で 30.3～34.9%TAR が排泄され、糞中排泄率は、雄で 2.50～2.96%TAR、雌で 3.60～9.39%TAR と低値であった。

尿及び糞中排泄試験 [1. (1)④a 及び b] 並びに本試験の結果から、主に胆汁を経て糞中に排泄されると考えられた。また、腸肝循環が認められ、雌より雄の方が顕著であった。（参照 2）

(2) ヤギ

泌乳期ヤギ（ブリティッシュザーネン、一群雌 1 頭）に[tri-¹⁴C]パクロブトラゾールを 9.3 mg/kg 体重/日、又は[pen-¹⁴C]パクロブトラゾールを 6.8 mg/kg 体重/日（いずれも 10 mg/kg 飼料相当）で 1 日 2 回、7 日間反復カプセル経口投与して、動物体内運命試験が実施された。

最終投与 16 時間後の組織及び試験期間中の乳汁中の残留放射能濃度は表 2、組織及び乳汁中の代謝物は表 3 にそれぞれ示されている。

組織中では、未変化のパクロブトラゾールは肝臓中の 31.5%TRR（抱合体を含む）が最大で、他の組織では僅かであった。組織中で 10%TRR を超える代謝物として、腎臓で B の抱合体が 54.5%TRR（0.044 µg/g）、脂肪及び肝臓で B 及び B の抱合体の含量が 26.1%TRR（0.002 µg/g）並びに脂肪で G が 20.3%TRR（0.002 µg/g）認められた。

乳汁中では、未変化のパクロブトラゾールは 0.1%TRR 認められ、10%TRR を超える代謝物として、B の抱合体が 24.2%TRR（0.0029 µg/g）及び G が 37.2%TRR（0.0045 µg/g）認められた。

最終投与後 16 時間の尿及び糞中排泄率は、[tri-¹⁴C]パクロブトラゾール及び[pen-¹⁴C]パクロブトラゾール投与群で 103 及び 90%TAR であり、93 及び 80%TAR が糞中へ排泄された。（参照 8、13）

表 2 最終投与 16 時間後の組織及び試験期間中の乳汁中の残留放射能濃度
($\mu\text{g/g}$)

投与群		[tri- ^{14}C]パクロブトラゾール	[pen- ^{14}C]パクロブトラゾール
筋肉	前部	0.006	<0.005
	後部	0.005	<0.005
	横隔膜	0.008	<0.005
脂肪	皮下	0.012	<0.005
	腎周囲	0.011	<0.005
	腹腔内	0.007	<0.005
腎臓		0.060	0.082
肝臓		0.084	0.057
乳汁		0.012~0.022	0.002~0.005

注：乳汁は 1 日 2 回、午前及び午後に採取された。

表 3 組織及び乳汁中の代謝物

標識化合物	試料成分	腎臓		脂肪		肝臓		乳汁	
		%TRR	$\mu\text{g/g}$	%TRR	$\mu\text{g/g}$	%TRR	$\mu\text{g/g}$	%TRR	$\mu\text{g/g}$
[tri- ^{14}C]パクロブトラゾール	パクロブトラゾール	-	-					0.1	-
	パクロブトラゾールの抱合体	12.5	0.01	5.8	<0.001	21.5	0.018	1.4	0.0002
	代謝物 B	3.7	0.003	26.1	0.002	11.9	0.010	0.4	-
	代謝物 B の抱合体	54.5	0.044					24.2	0.0029
	代謝物 C	0.6	-	1.5	<0.001	-	-	-	-
	代謝物 G	-	-	20.3	0.002	7.4	0.006	37.2	0.0045
[pen- ^{14}C]パクロブトラゾール	パクロブトラゾール	-	-						
	パクロブトラゾールの抱合体	9.3	0.009			31.5	0.017		
	代謝物 B	5.4	0.005			17.8	0.010		
	代謝物 B の抱合体	61.3	0.061						
代謝物 C	0.3	<0.001			-	-			

/: 分析せず -: 検出せず

(3) ニワトリ

産卵鶏（イサブラウン、対照群雌 1 羽、投与群雌 3 羽）に [tri- ^{14}C]パクロブトラゾール又は [pen- ^{14}C]パクロブトラゾールを 10 mg/kg 体重/日で 14 日間反復カプセル経口投与し、動物体内運命試験が実施された。

最終投与 16 時間後の組織並びに試験期間中の卵黄及び卵白の残留放射能濃度は表 4、組織、卵黄及び卵白中の代謝物は表 5 にそれぞれ示されている。

未変化のパクロブトラゾールは、脂肪、肝臓、卵黄及び卵白の残留放射能中に認められ、脂肪中の 37.5%TRR (0.004 $\mu\text{g/g}$) が最大であった。

10%TRR を超えて認められた代謝物は、B の抱合体及び G で、B の抱合体は肝臓及び卵黄中にそれぞれ最大 40.3 及び 31.5%TRR (0.027 及び 0.017 µg/g)、G は筋肉、肝臓、卵黄及び卵白中にそれぞれ 63.4、31.5、11.3 及び 52.5%TRR (0.013、0.021、0.006 及び 0.015 µg/g) 認められた。
(参照 8、14)

表 4 最終投与 16 時間後の組織並びに試験期間中の卵黄及び卵白の残留放射能濃度 (µg/g)

試料	投与群	[tri- ¹⁴ C]パクロブトラゾール	[pen- ¹⁴ C]パクロブトラゾール
脂肪 (皮下)		0.006	0.011
脂肪 (腹腔内)		0.006	0.010
肝臓		0.081	0.047
胸筋		0.019	<0.005
肢筋肉		0.021	<0.005
卵黄		0.004~0.057	0.002~0.043
卵白		0.015~0.031	0.003~0.007

表 5 組織、卵黄及び卵白中の代謝物

標識化合物	試料成分	脂肪		筋肉		肝臓		卵黄		卵白	
		%TRR	µg/g	%TRR	µg/g	%TRR	µg/g	%TRR	µg/g	%TRR	µg/g
[tri- ¹⁴ C]パクロブトラゾール	パクロブトラゾール	/	/	-	-			9.4	0.005	7.1	0.002
	パクロブトラゾールの抱合体	/	/	-	-	0.7	<0.001	6.0	0.003	0.9	<0.001
	代謝物 B	/	/	-	-			-	-	8.5	0.002
	代謝物 B の抱合体	/	/	-	-	7.0	0.005	31.5	0.017	2.5	0.001
	代謝物 G	/	/	63.4	0.013	31.5	0.021	11.3	0.006	52.5	0.015
[pen- ¹⁴ C]パクロブトラゾール	パクロブトラゾール			/	/			9.9	0.004	/	/
	パクロブトラゾールの抱合体	37.5	0.004	/	/	3.4	0.002	7.4	0.003	/	/
	代謝物 B			/	/			4.2	0.002	/	/
	代謝物 B の抱合体	3.8	<0.001	/	/	40.3	0.027	29.6	0.012	/	/
	代謝物 C の抱合体	-	-	/	/	2.0	0.001	-	-	/	/

/: 分析せず -: 検出せず

注)脂肪については、報告書中に抱合体についての記載はなかった。肝臓におけるパクロブトラゾール及び代謝物 B については、全て抱合体として検出された。

2. 植物体内運命試験

(1) 水稲

水稲（品種：イシカリ）を湛水したポットに移植し、粒剤に調製した [tri-¹⁴C]パクロブトラゾール、[pen-¹⁴C]パクロブトラゾール又は[phe-¹⁴C]パクロブトラゾールを出穂 26 日前に 190 g ai/ha の用量で散布処理し、処理 83 日後（収穫期）に試料を採取して、植物体内運命試験が実施された。

処理 83 日後の水稲試料中放射能分布は表 6 に示されている。

表 6 水稲試料中放射能分布 (mg/kg)

標識体	玄米	稲わら
[tri- ¹⁴ C]パクロブトラゾール	0.21	2.40
[pen- ¹⁴ C]パクロブトラゾール	0.05	1.69
[phe- ¹⁴ C]パクロブトラゾール	0.04	1.36

玄米中では、いずれの処理区でも未変化のパクロブトラゾール並びに代謝物 B（遊離体及び抱合体の合計）及び D が存在した。[pen-¹⁴C]パクロブトラゾール及び[phe-¹⁴C]パクロブトラゾール処理区では代謝物 B が 20.0～22.2%TRR (0.009～0.010 mg/kg)、未変化のパクロブトラゾールが 16.4～17.3%TRR (0.008～0.009 mg/kg)、代謝物 D が 0.6～1.0%TRR (0.001 mg/kg 未満) 認められた。[tri-¹⁴C]パクロブトラゾール処理区では未変化のパクロブトラゾール及び代謝物 B はそれぞれ 3.7 及び 2.3%TRR 認められ、ほかに代謝物 E、F 及び G が、それぞれ 34.5%TRR (0.072 mg/kg)、31.9%TRR (0.067 mg/kg) 及び 1.0%TRR (0.002 mg/kg) 認められた。

稲わら中では、いずれの処理区でも未変化のパクロブトラゾール並びに代謝物 B 及び D が認められ、このうち代謝物 B(遊離体及び抱合体の合計)が最も多く、46.4～50.9% TRR (0.68～1.22 mg/kg) 認められた。未変化のパクロブトラゾールは 18.3～27.8%TRR、代謝物 D は 0.2～0.6%TRR であった。[tri-¹⁴C]パクロブトラゾール処理区では、代謝物 E 及び F がそれぞれ 1.6 及び 1.9%TRR 認められた。（参照 2）

(2) りんご

りんご（品種：Cox's Orange Pippin）樹に、フロアブル剤に調製した [tri-¹⁴C]パクロブトラゾール又は[phe-¹⁴C]パクロブトラゾールを 600 g ai/ha の用量で緑化期、650 g ai/ha の用量で落花 3、9 週後及び収穫 21 日前に散布し、最終処理 21 日後に果実を採取して、植物体内運命試験が実施された。

最終散布 21 日後のりんご果実試料中放射能分布は表 7 に示されている。

表 7 りんご果実試料中放射能分布 (mg/kg)

標識体	果実全体	果皮	果肉	種子
[tri- ¹⁴ C]パクロブトラゾール	0.32	0.99	0.12	0.42
[phe- ¹⁴ C]パクロブトラゾール	0.23	0.83	0.079	0.11

果実全体では、54～66%TRR が未変化のパクロブトラゾールであった。また、いずれの処理区でも代謝物として B、C 及び D が検出され、このうち最も多かったのは代謝物 B (6～9%TRR) であり、代謝物 C 及び D は 0.4～1%TRR であった。ほかに、[tri-¹⁴C]パクロブトラゾール処理区では代謝物 E 及び F がそれぞれ 6 及び 10%TRR 認められた。(参照 2)

(3) なたね

なたね (品種: Global) の茎の伸長期から花蕾出現期に、フロアブル剤に調製した [tri-¹⁴C]パクロブトラゾール又は [phe-¹⁴C]パクロブトラゾールを 60.4 又は 59.7 g ai/ha の用量で散布し、処理 90 日後に植物体、117 又は 125 日後に成熟種子を採取して、植物体内運命試験が実施された。

なたね試料中放射能分布は表 8 に示されている。

表 8 なたね試料中放射能分布 (mg/kg)

標識体	植物体	成熟種子 ^a
[tri- ¹⁴ C]パクロブトラゾール	0.199	0.167
[phe- ¹⁴ C]パクロブトラゾール	0.030	0.004

^a: [tri-¹⁴C]パクロブトラゾール処理区では処理 117 日後、[phe-¹⁴C]パクロブトラゾール処理区では処理 125 日後

処理 90 日後の植物体中には、未変化のパクロブトラゾールが 0.003～0.005 mg/kg (2.7～10.9%TRR) 認められた。

成熟種子中の代謝物は、[tri-¹⁴C]パクロブトラゾール処理区の種子でのみ分析され、未変化のパクロブトラゾールはごく少量 (0.0001 mg/kg、0.03%TRR) 検出された。代謝物は多数存在したが、最も多かったのは代謝物 E (0.058 mg/kg、31.1%TRR) であり、ほかに同定された代謝物はなかった。(参照 2)

(4) トマト

トマト (品種: HYB TOMATO FRESH/SEBRING) の種子を、フロアブル剤に調製した [tri-¹⁴C]パクロブトラゾール又は [phe-¹⁴C]パクロブトラゾール 0.001 mg/種子 (通常量) 又は 0.01 mg/種子 (10 倍量) の用量で処理した後に播種し、苗をポットに移植し、処理 93～145 日後の果実を採取して、植物体内運命試験が実施された。

いずれの処理区及び処理用量においても果実中の残留放射能は 0.001 mg/kg 未満であった。(参照 8、15)

植物におけるパクロブトラゾールの主要代謝経路は、*tert*-ブチル基の酸化による代謝物 B の生成、続いて代謝物 B の抱合体、代謝物 E 及び F の生成と考えられた。また、代謝物 E は、代謝物 G とセリンの抱合によっても生成すると考えられた。

3. 土壌中運命試験

(1) 好氣的湛水土壌中運命試験①

砂壤土(茨城)を湛水(約 2.6 cm)し、25°C、暗条件下で約 1 か月プレインキュベーションした後、[tri-¹⁴C]パクロブトラゾールを 0.145 mg/kg 乾土となるように添加し、25°C、暗条件下で、最長 120 日間インキュベートする好氣的湛水土壌中運命試験が実施された。

土壌中の残留放射能は、処理 0 日後に 96.1% TAR であり、水層から土壌中への移行は急速であった。処理 120 日後では 96.2% TAR であった。

水層中の残留放射能は、処理 0 日後に 4.5% TAR、処理 120 日後には 0.9% TAR であった。揮発性物質は検出されなかった。

残留放射能の主要成分は未変化のパクロブトラゾールで、処理 120 日後の土壌中で 83.6% TAR、水層中で 0.6% TAR 認められた。土壌中には分解物 D が処理 63 及び 120 日後に 0.9 及び 0.7% TAR、分解物 G が痕跡程度検出された。

パクロブトラゾールの土壌中及び系全体での推定半減期は、734 及び 639 日と算出された。(参照 2)

(2) 好氣的湛水土壌中運命試験②

砂壤土(英国)及びシルト質埴壤土(茨城)の水分含量を最大容水量の 40%に調整し、砂壤土に[tri-¹⁴C]パクロブトラゾール若しくは[pen-¹⁴C]パクロブトラゾール又はシルト質埴壤土に[tri-¹⁴C]パクロブトラゾールを 1 kg ai/ha 土壌となるよう添加後、湛水(2 cm)し、20±1°Cで 12 か月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。

処理 12 か月後の残留放射能は土壌抽出物中に 73.2~83.5% TAR、水層中に 1.6~6.1% TAR 認められた。処理後 12 か月の¹⁴CO₂生成量は 4.6% TAR 以下であった。残留放射能中の主な成分は未変化のパクロブトラゾールであり、処理 12 か月後の水層及び土壌抽出物中の合計は 60.5~73.4% TAR であった。土壌及び水層中では分解物 D が経時的に増加し、合計で処理 12 ヶ月後に最大 8.4% TAR 認められた。ほかに[tri-¹⁴C]パクロブトラゾール処理区の土壌抽出物中には分解物 G 及び高極性代謝物が検出された。

パクロブトラゾールの推定半減期は、[tri-¹⁴C]パクロブトラゾール及び[pen-¹⁴C]パクロブトラゾール処理区の砂壌土で 1,470 及び 759 日、[tri-¹⁴C]パクロブトラゾール処理区のシルト質埴壌土で 728 日と算出された。

また、シルト質埴壌土（茨城）の水分含量を最大容水量の 40%に調整し [tri-¹⁴C]パクロブトラゾールを 1 kg ai/ha 土壌となるよう添加後、湛水（2 cm）し、20±1℃で通気せず静置したまま 12 か月間インキュベートして湛水土壌中運命試験が実施された。

処理 12 か月後の残留放射能は、土壌抽出物中に 89.6%TAR、非抽出性放射能として 6.5%TAR、水層中放射能として 1.8%TAR 認められた。

残留放射能中の主な成分は未変化のパクロブトラゾールであり、処理 12 か月後の土壌抽出物中に 78.6%TAR 認められた。ほかに土壌中には分解物 D が 1.8%TAR 認められた。パクロブトラゾールの推定半減期は 1,340 日と算出された。（参照 2）

（3）好氣的土壌中運命試験①

砂質壤土及び石灰質埴壌土（ともに英国）の水分含量を最大容水量の 40%に調整し、[tri-¹⁴C]パクロブトラゾールを 1.91 mg/kg 土壌となるように添加し、25℃で 20 週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。

土壌抽出物中の未変化のパクロブトラゾールは、砂質壤土及び石灰質埴壌土で処理 2 時間後に 80.6 及び 80.4%TAR、処理 20 週間後には 52.0 及び 17.0%TAR であった。土壌抽出物中には、未変化のパクロブトラゾールのほかに分解物 D が最大で 14.5%TAR 認められた。砂質壤土及び石灰質埴壌土における処理後 20 週間の ¹⁴CO₂ 発生量は 0.8 及び 11.0%TAR、処理 20 週間後の非抽出性放射能は、17.0 及び 36.9%TAR であった。

パクロブトラゾールの推定半減期は、砂質壤土及び石灰質埴壌土で、214 及び 63.5 日と算出された。（参照 2）

（4）好氣的土壌中運命試験②

砂壌土（英国）の水分含量を最大容水量の 40%に調整し、[tri-¹⁴C]パクロブトラゾール又は[pen-¹⁴C]パクロブトラゾールを 1 kg ai/ha 土壌となるよう添加し、20±1℃で 12 か月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 12 か月後の残留放射能は、[tri-¹⁴C]パクロブトラゾール及び[pen-¹⁴C]パクロブトラゾール処理区において、土壌抽出物中に 83.7 及び 72.2%TAR 認められ、非抽出性放射能は 5.4 及び 4.4%TAR であった。処理後 12 か月の ¹⁴CO₂ 生成量は 1.0 及び 10.5%TAR であった。

土壌抽出物中には主に未変化のパクロブトラゾールが認められ、処理 12 か月後の[tri-¹⁴C]パクロブトラゾール及び[pen-¹⁴C]パクロブトラゾール処理区で 54.0 及び 53.3% TAR であった。ほかに分解物 D が経時的に増加し、処理 12 か月後に 16.8 及び 15.8% TAR 認められた。[tri-¹⁴C]パクロブトラゾール処理区では分解物 G が処理 12 か月後に 2.3% TAR 認められた。

パクロブトラゾールの推定半減期は、[tri-¹⁴C]パクロブトラゾール及び[pen-¹⁴C]パクロブトラゾール処理区の砂壤土で、558 及び 445 日と算出された。（参照 2）

好氣的土壌中におけるパクロブトラゾールの主要分解経路は、酸化による分解物 D から分解物 G の生成、土壌結合残留物又は CO₂ への分解と考えられた。

（5）嫌氣的湛水土壌中運命試験

砂壤土（英国）及び軽埴土（宮城）を湛水（約 1.5cm）し、窒素気流下、21°C の暗条件下で 3 週間のプレインキュベーションにより嫌氣条件に変換した後、[tri-¹⁴C]パクロブトラゾールを 0.6 mg/kg 乾土となるように添加し、21°C、暗条件下で、120 日間インキュベートして嫌氣的湛水土壌中運命試験が実施された。

未変化のパクロブトラゾールは、添加 2 時間後には砂壤土及び軽埴土でそれぞれ水層中に 44.1 及び 23.6% TRR、土壌抽出物中に 55.3 及び 75.8% TRR 認められた。処理 120 日後には水層中に 4.3 及び 1.5% TRR、土壌抽出物中に 91.5% TRR 認められた。処理 120 日後の非抽出性放射能は 4.2 及び 7.0% TRR であった。分解物は検出されず、嫌氣的条件下でパクロブトラゾールは安定であることが示された。（参照 2）

（6）土壌吸脱着試験

4 種類の土壌 [砂壤土（米国）、シルト質埴壤土（英国）、埴壤土（鹿児島及び英国）] を用いたパクロブトラゾールの土壌吸脱着試験が実施された。

Freundlich の吸着係数 K^{ads} は 0.790～2.66、有機炭素含有率により補正した吸着係数 K^{ads}_{oc} は 40.4～263 であった。また、Freundlich の脱着係数 K^{des} は、3.81～14.2、有機炭素含有率により補正した脱着係数 K^{des}_{oc} は 229～1,270 であった。

パクロブトラゾールは土壌中で中程度から高い移行性を示すと考えられた。（参照 2）

4. 水中運命試験

(1) 加水分解試験

pH 4、7 及び 9 の各滅菌緩衝液（組成不明）に[tri-¹⁴C]パクロブトラゾールを 10.2 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。

パクロブトラゾールはいずれの pH 条件下においても試験期間中安定であり、分解されなかった。（参照 2）

(2) 水中光分解試験（緩衝液）

pH 7 の滅菌緩衝液（組成不明）に[tri-¹⁴C]パクロブトラゾールを 10.4 mg/L となるように添加し、29~40°C でキセノン光（光強度：1.94~2.50 W/m²、測定波長：420 nm）を 10 日間照射（東京における春の太陽光下での 40 日間に相当すると推定）し、水中光分解試験が実施された。

光照射 10 日後に未変化のパクロブトラゾールは 93.5% TAR 認められ、ほかに分解物は認められなかったことから、パクロブトラゾールはキセノン光の連続照射によって分解を受けないものと考えられた。（参照 2）

(3) 水中光分解試験（自然水）①

滅菌自然水（池水、スイス、pH 8.4）に[tri-¹⁴C]パクロブトラゾールを 1.15 mg/L となるように添加し、23.9±0.3°C でキセノン光（光強度：39.9 W/m²、測定波長：300~400 nm）を 20 日間照射して、水中光分解試験が実施された。

未変化のパクロブトラゾールは処理直後の 97.5% TAR から光照射 20 日後には 55.0% TAR まで減少した。多くの分解物が存在し、最も放射能の多かった画分（光照射 30 日後に最大 14.4% TAR）には分解物 H が含まれていた。

パクロブトラゾールの推定半減期は 23.9 日、東京における春の太陽光換算で 123 日と算出された。（参照 2）

(4) 水中光分解試験（自然水）②

滅菌自然水（河川水、英国、pH 7.46）にパクロブトラゾールを 2.0 mg/L となるように添加し、25±2°C でキセノン光（光強度：37.6 W/m²、測定波長：300~400 nm）を 7 日間照射して、水中光分解試験が実施された。

パクロブトラゾールの推定半減期は 12.4 日、東京における春の太陽光下換算で 59.9 日と算出された。（参照 2）

5. 土壌残留試験

沖積土・壤土（富山）、洪積土・埴壤土（①大分及び②三重）、火山灰土・

軽埴土（茨城）、沖積土・砂壤土（香川）及び火山灰土・砂壤土（千葉）を用いて、パクロブトラゾール及び分解物 D を分析対象化合物とした土壌残留試験が実施された。

結果は表 9 に示されている。（参照 2）

表 9 土壌残留試験成績

試験		濃度※	土壌	推定半減期（日）	
				パクロブトラゾール	パクロブトラゾール ＋分解物 D
容器内 試験	水田	0.3 mg/kg	沖積土・壤土	約 191	
			洪積土・埴壤土①	361 以上	
		0.2 mg/kg	火山灰土・軽埴土	280 以上	280 以上
			沖積土・砂壤土	280 以上	280 以上
	畑地	2.5 mg/kg	火山灰土・砂壤土	40	約 59
			洪積土・埴壤土②	120	約 146
ほ場 試験	水田	240 ^G g ai/ha	沖積土・壤土	約 30	
			洪積土・埴壤土①	約 64	
			火山灰土・軽埴土	約 19	約 21
			沖積土・砂壤土	約 178	約 198
	畑地	71.7～ 6,450 ^{SC} g ai/ha	火山灰土・砂壤土	約 47	100 以内
			洪積土・埴壤土②	45	100 以内
		7,500 ^G g ai/ha	火山灰土・砂壤土	約 16	約 18
			洪積土・埴壤土②	約 136	約 139

※：ほ場試験では G：粒剤、SC：フロアブル、容器内試験では純品を使用
/：実施せず

6. 作物等残留試験

(1) 作物残留試験

野菜、果実等を用いて、パクロブトラゾール並びに代謝物 B、D、E 及び F 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。

パクロブトラゾール並びに代謝物 B、E 及び F の最大残留値は、それぞれ最終散布 24 日後に収穫したもも（果皮）の 1.02 mg/kg、最終散布 31 日後に収穫したもも（果皮）の 0.19 mg/kg、散布 261 日後に収穫した温州みかん（果肉）の 0.98 mg/kg、散布 261 日後に収穫した温州みかん（果皮）の 0.07 mg/kg であった。可食部におけるパクロブトラゾール及び代謝物 B の最大残留値は、散布 60 日後に収穫したやまもも（果実）の 0.06 mg/kg、最終散布 24 日後に収穫したもも（果肉）の 0.04 mg/kg であった。代謝物 D は全て定量限界未満であった。（参照 2、8、16）

(2) 後作物残留試験

パクロブトラゾール及び代謝物 D を分析対象とした後作物残留試験が実施された。

結果は別紙 4 に示されている。

残留値は全て定量限界未満であった。(参照 2)

(3) 畜産物残留試験

乳牛(ホルスタイン種、対照群：雌 1 頭、投与群：雌 3 又は 5 頭)にパクロブトラゾールを飼料中濃度 0、5、15 及び 50 mg/kg 相当量で 28~30 日間反復カプセル経口投与し、乳汁は 1 日 1 回、臓器及び組織は最終投与 17~24 時間後、2 及び 5 日後にそれぞれ採取して、パクロブトラゾール及び代謝物 B を分析対象化合物として、畜産物残留試験が実施された。

結果は別紙 5 に示されている。

パクロブトラゾールは、乳汁では検出限界未満、臓器及び組織中の最大残留値は肝臓の 0.05 µg/g であった。乳汁及び腎臓中の代謝物 B が測定されたが、全て検出限界未満であった。(参照 8、17)

(4) 魚介類における最大推定残留値

パクロブトラゾールの公共用水域における水産動植物被害予測濃度(水産 PEC)及び生物濃縮係数(BCF)を基に、魚介類の最大推定残留値が推定された。

パクロブトラゾールの水産 PEC は 0.21 µg/L、BCF は 34 (試験魚種：ブルーギル)、魚介類における最大推定残留値は 0.036 mg/kg であった。(参照 4)

(5) 推定摂取量

別紙 3 の作物残留試験の分析値及び魚介類における最大推定残留値を用いて、パクロブトラゾールを暴露評価対象物質として食品より摂取される推定摂取量が表 10 に示されている(別紙 6 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パクロブトラゾール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、かつ魚介類への残留が上記の最大推定残留値を示し、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 食品中より摂取されるパクロブトラゾールの推定摂取量

	国民平均 (体重：55.1 kg)	小児 (1～6 歳) (体重：16.5 kg)	妊婦 (体重：58.5 kg)	高齢者(65 歳以上) (体重：56.1 kg)
摂取量 ($\mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$)	3.42	1.51	1.99	4.21

7. 一般薬理試験

ラット、モルモット、イヌ、マウス及びウサギ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 2)

表 11 一般薬理試験概要

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	一般状態	Wistar ラット	雄 2	0、100、500、 1,000 (経口) ¹⁾	1,000	—	影響なし
	前後肢 握力	Wistar ラット	雄 10	0、100、500、 1,000 (経口) ¹⁾	1,000	—	影響なし
	ハロタン 麻酔睡眠 時間	Wistar ラット	雌 3	0、100、500、 1,000 (経口) ¹⁾	100	500	睡眠時間の延長 (20%程度)が認められた
末梢神経系	摘出 輸精管	Wistar ラット	雄 4	2.94 mg/L (<i>in vitro</i>)	2.94 mg/L	—	影響なし
	摘出回腸	Hartley モルモット	雄 4	2.94 mg/L (<i>in vitro</i>)	2.94 mg/L	—	影響なし
	摘出気管	Hartley モルモット	雄 4	2.94 mg/L (<i>in vitro</i>)	2.94 mg/L	—	影響なし
末梢 神経 筋接 合部	摘出 横隔膜	Wistar ラット	雄 4	2.94 mg/L (<i>in vitro</i>)	2.94 mg/L	—	影響なし
呼吸・ 循環器系	血圧 心拍数 心電図 呼吸	ビーグル 犬	雄 3	300 (カプセル経口)	300	—	影響なし
消化器系	炭末輸 送能	Swiss マウス	雄 10	100 (経口) ²⁾	100	—	影響なし

血液	溶血作用	NZW ウサギ	1 ³⁾	0.01、0.03、 0.1%(w/v) (<i>in vitro</i>)	0.03 %(w/v)	0.1 %(w/v)	溶血が認められ た
----	------	------------	-----------------	--	----------------	---------------	--------------

—：最小作用量を設定できなかった。

1¹⁾：溶媒は 0.5%Tween80 を用いた。 2²⁾：溶媒は 0.5%CMC 溶液を用いた。

3³⁾：1 匹の動物（性別不明）より採取した。

8. 急性毒性試験

(1) 急性毒性試験

パクロボトラゾール（原体）を用いた急性毒性試験が実施された。結果は表 12 に示されている。（参照 2、8、18、20、21）

表 12 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	SD ラット (雌 5 匹)	/		投与量：2,000 mg/kg 体重 糞量減少及び活動性低下(投与 1~3 日後)
	Wistar ラット (一群雌雄各 10 匹)	3,630	2,880	投与量：889 (雌のみ)、1,333、2,000、 3,000、4,500、6,750 mg/kg 体重 4,500 mg/kg 体重 (雌)：削瘦 (1 例、投 与 2 日後以降) 1,333 mg/kg 体重以上 (雌雄)：行動の不 活発化、無力性歩行、歩行困難、昏睡及び 流涙 (投与 3 時間後以降) 雄：2,000 mg/kg 体重以上で死亡例 (投与 6 時間~4 日後) 雌：1,333 mg/kg 体重以上で死亡例 (投与 6 時間~4 日後)
	Wistar ラット (一群雌雄各 5 又は 10 匹)	1,950	1,340	投与量：400、500、640、800、1,000、 1,260、1,600、2,000、3,200、4,000、5,000 mg/kg 体重 500 mg/kg 体重以上 (雄) 及び 400 mg/kg 体重以上 (雌)：自発運動低下、よろめき 歩行、正向反射消失、体温低下、昏睡、立 毛、呼吸困難及び尿失禁 (投与 1 時間~9 日後) 雄：500 mg/kg 体重以上で死亡例 (投与 5 時間~4 日後) 雌：640 mg/kg 体重以上で死亡例 (投与 5 時間~3 日後)

	ICR マウス (一群雌雄各 10 匹)	>5,000	>5,000	<p>投与量：3,900、5,070、6,591 mg/kg 体重</p> <p>6,591 mg/kg 体重投与群（雄）：鎮静（投与 3 時間後以降）</p> <p>5,070 mg/kg 体重以上投与群（雄）：行動の不活発化（投与 1 時間後以降）</p> <p>3,900 mg/kg 体重以上投与群（雌雄）：立毛（投与 30 分後以降）</p> <p>雄：5,070 mg/kg 体重以上で死亡例（投与 1 日後）</p> <p>雌：3,900 mg/kg 体重以上で死亡例（投与 1 日～5 日後）</p>
	Alpk マウス (一群雌雄各 5 又は 10 匹)	490	1,220	<p>投与量：雄：250、320、400、500、640、800 mg/kg 体重、雌：400、500、640、800、1,000、1,260、2,000、2,500、3,200</p> <p>250 mg/kg 体重以上（雄）及び 400 mg/kg 体重以上（雌）：自発運動低下、立毛、よろめき歩行、体温低下及び昏睡（投与 1 時間～6 日後）</p> <p>雄：320 mg/kg 体重以上で死亡例（投与 5 時間～2 日後）</p> <p>雌：400 mg/kg 体重以上で死亡例（投与 5 時間～3 日後）</p>
	NZW ウサギ (一群雌雄各 5 匹)	835	937	<p>投与量：250、500、1,000、2,300 mg/kg 体重</p> <p>250 mg/kg 体重以上（雌雄）：体重増加抑制、自発運動低下、よろめき歩行、呼吸困難、流涙、低体温及び昏睡（投与 1 時間～12 日後）</p> <p>雄：500 mg/kg 体重以上で死亡例（投与 18 時間～3 日後）</p> <p>雌：500 mg/kg 体重以上で死亡例（投与 18 時間～5 日後）</p>
	Hartley モルモット (一群雌雄各 5 匹)	542	400～ 640*	<p>投与量：320、400、500、640、800（雄のみ）mg/kg 体重</p> <p>400 mg/kg 体重以上（雄）及び 320 mg/kg 体重以上（雌）：自発運動低下、よろめき歩行、流涙及び昏睡（投与 3 時間～3 日後）</p> <p>雄：400 mg/kg 体重で死亡例（投与 18 時間～2 日後）</p> <p>雌：500 mg/kg 体重で死亡例（投与 18 時</p>

				間～3日後)
経皮	SD ラット (雌雄各 5 匹)	>2,000	>2,000	症状及び死亡例なし
	Wistar ラット (雌雄各 5 匹)	>2,000	>2,000	尿失禁、脊椎弯曲、適用部位の痂皮形成及 び落屑 死亡例なし
	Wistar ラット (一群雌雄各 10 匹)	>5,000	>5,000	症状及び死亡例なし
	Wistar ラット (雌雄各 5 又は 10 匹)	>1,000	>1,000	症状及び死亡例なし
	NZW ウサギ (雌雄各 5 匹)	>1,000	>1,000	症状及び死亡例なし
腹腔内	Wistar ラット (雌雄各 5 又 は 10 匹)	160～ 250*	99	自発運動低下、流涙、体温低下、昏睡、立 毛、呼吸困難及び尿失禁 雄：200 mg/kg 体重以上で死亡例 雌：80 mg/kg 体重以上で死亡例
吸入 ¹⁾	Wistar ラット (雌雄各 5 匹)	LC ₅₀ (mg/L)		反応性亢進
		>2.02		死亡例なし
	Wistar ラット (一群雌雄各 5 匹)	4.79	3.13	体重増加抑制、呼吸数の減少、呼吸深度の 増加及び音に対する反応性の鈍化、肺絶対 及び比重量の増加 雌雄：1.84 mg/L 以上で死亡例

*：LD₅₀は算出不能であったので、95%信頼限界値の推定値を示した。

1)：ダスト

/：実施せず

代謝物 D、E、F 及び原体混在物①を用いた急性毒性試験が実施された。
結果は表 13 に示されている。

表 13 急性毒性試験概要（原体混在物及び代謝物）

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	
代謝物 D	経口	Wistar ラット (一群雌雄各 5 匹)	713 ^a	568	800 mg/kg 体重：削瘦、 剖検時に肝臓の異常 800 mg/kg 体重（雄）及 び 400 mg/kg 体重以上 （雌）：安定性の低下、 正向反射の遅れ、異常呼 吸等 雄：800 mg/kg 体重で死 亡例（投与 3 日～4 日後） 雌：400 mg/kg 体重で死 亡例（投与 2 日～4 日後）
代謝物 E	経口	Wistar ラット (一群雌雄各 10 匹)	>5,000	>5,000	5,000 mg/kg 体重（雄）： 排尿増加、呼吸促迫、運 動失調及び立毛 死亡例なし
		NMRI マウス (一群雌雄各 10 匹)	>5,000	>5,000	症状及び死亡例なし
	腹腔内	Wistar ラット (一群雌雄各 10 匹)	>5,000	>5,000	雌雄：痙攣性歩行、立毛、 嗜眠及び下痢、剖検時に 肝の結合組織様被膜 死亡例なし
代謝物 F	経口	SD ラット (一群雌雄各 3 匹)	>5,000	>5,000	雌雄：呼吸困難、眼球突 出、立毛及び背彎姿勢 死亡例なし
原体混在物 ①	経口	Wistar ラット (一群雌 3 匹)	/	>250	症状及び死亡例なし
	経皮	Wistar ラット (一群雌 3 匹)	/	>1,000	症状及び死亡例なし

^a：95%信頼限界上限値は算出不能のため下限値を示した。

/：実施せず

（2）急性神経毒性試験（ラット）

Wistar ラット（一群雌雄各 10 匹）を用いた単回経口（原体：0、30、150 及び 500 mg/kg 体重）投与による急性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 14 に示されている。

神経病理組織学的検査において、検体投与による影響は認められなかった。

本試験において、500 mg/kg 体重投与群の雄で体重増加抑制等、150

mg/kg 体重以上投与群の雌で自発運動量減少が認められたので、無毒性量は雄で 150 mg/kg 体重、雌で 30 mg/kg 体重であると考えられた。明らかな急性神経毒性は認められなかった。（参照 8、22）

表 14 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	雌
500 mg/kg 体重	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制（投与 1 日後） ・ 体温低下（投与 3～4 時間後） 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体温低下（投与 3～4 時間後） ・ 自発運動量（水平運動）減少（投与 3～4 時間後）
150 mg/kg 体重以上	150 mg/kg 体重以下 毒性所見なし	<ul style="list-style-type: none"> ・ 自発運動量（立ち上がり回数）減少（投与 3～4 時間後）
30 mg/kg 体重		毒性所見なし

9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

パクロブトラゾール（原体）の NZW ウサギを用いた眼刺激性試験及び皮膚刺激性試験並びに Wistar ラットを用いた皮膚刺激性試験が実施された。その結果、ウサギの眼に対して軽度～中等度の刺激性が認められた。また、ウサギの皮膚に対し軽微～軽度、ラットの皮膚に対し軽度の刺激性が認められた。

CBA/Ca/Ola/Hsd マウスを用いた局所リンパ節増殖試験が実施され、皮膚感作性は認められず、また、Hartley モルモットを用いた皮膚感作性試験（Maximization 法）においても皮膚感作性は認められなかった。

パクロブトラゾールの原体混在物①の NZW ウサギを用いた眼刺激性試験が実施された結果、軽度の刺激性が認められた。また、Hartley モルモットを用いた皮膚感作性試験(stevens の耳/脇腹法の改良法)が実施された結果、皮膚感作性は陰性であった。（参照 2、8、23、24、25）

10. 亜急性毒性試験

(1) 90 日間亜急性毒性試験（ラット）①

Wistar ラット（一群雌雄各 20 匹）を用いた混餌（原体：0、50、250 及び 1,250 ppm：平均検体摂取量は表 15 参照）投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 15 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		50 ppm	250 ppm	1,250 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	5.46	27.7	139
	雌	8.15	39.6	205

肝 APDM 活性の増加が 1,250 ppm 投与群の雄及び 250 ppm 以上投与群の雌で認められた。

本試験において、1,250 ppm 投与群の雄で ALT 増加、尿タンパク増加及び肝絶対重量増加、同群の雌で体重増加抑制（投与 6 週以降）、摂餌量減少及び T. Chol 増加、250 ppm 以上投与群の雌で肝絶対及び比重量¹増加が認められたので、無毒性量は雄で 250 ppm（27.7 mg/kg 体重/日）、雌で 50 ppm（8.15 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 2）

（2）90 日間亜急性毒性試験（ラット）②

Wistar ラット（一群雌雄各 20 匹）を用いた混餌（原体：0、50、250 及び 1,250 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。

表 16 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		50 ppm	250 ppm	1,250 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	3.21	16.0	81.6
	雌	3.54	17.9	90.7

本試験において、1,250 ppm 投与群の雌雄で肝絶対重量増加、同群の雄で肝比重量増加、腎絶対及び比重量増加並びに肝細胞脂肪変性、同群の雌で T.Chol、TP 及び Alb 増加が認められ、250 ppm 以上投与群の雌で肝比重量増加、50 ppm 以上投与群の雌で肝細胞脂肪変性が認められたので、無毒性量は雄で 250 ppm（16.0 mg/kg 体重/日）、雌で 50 ppm 未満（3.54 mg/kg 体重/日未満）であると考えられた。（参照 2）

（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）を用いたカプセル経口（原体：0、3、15 及び 450 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。

450 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で肝 APDM 活性の増加が認められた。

本試験において、450 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で体重増加抑制（雄：投与 1 週以降、雌：投与 2 週以降）、Alb 減少、ALP 増加、肝絶対及び比重量増加、同群の雄で TG 増加及び肝細胞脂肪変性が認められたので、無毒性量は雌雄とも 15 mg/kg 体重/日であると考えられた。（参照 2）

（4）21 日間亜急性経皮毒性試験（ウサギ）

NZW ウサギ（一群雌雄各 10 匹）を用いた経皮（原体：0、10、100 及

¹ 体重比重量を比重量という（以下同じ。）。

び 1,000 mg/kg 体重/日、6 時間/日、5 日/週) 投与による 21 日間亜急性経皮毒性試験が実施された。各群の雌雄 5 匹については投与部位に週に 1 回擦過処理した後に投与された。

検体投与による全身的な影響は認められなかった。投与部位の皮膚では 1,000 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で、重度の刺激性変化(紅斑及び浮腫)、痂皮形成、潰瘍、過角化、真皮表層の炎症性細胞浸潤及び浮腫、100 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で、軽度の刺激性変化(紅斑及び浮腫)が認められた。これらの変化に擦過処理の有無による大きな違いは認められなかった。

本試験における一般毒性の無毒性量は雌雄とも本試験の最高用量 1,000 mg/kg 体重/日であると考えられた。皮膚に対する無毒性量は雌雄とも 10 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 6 匹)を用いたカプセル経口(原体: 0、15、75 及び 300 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 17 に示されている。

15 mg/kg 体重/日以上投与群の雄及び 75 mg/kg 体重/日以上投与群の雌で肝 APDM 活性の増加が認められた。

本試験において、75 mg/kg 体重/日以上投与群の雄で肝絶対及び比重量増加等、雌で肝細胞腫大等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 15 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 2)

表 17 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
300 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> ・ 消瘦 ・ 体重増加抑制 (投与 4 週以降) ・ TG 増加、TP、Alb 及びカルシウム減少 ・ 肝細胞腫大^a 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 消瘦 ・ Alb 及びカルシウム減少 ・ 副腎絶対重量、肝絶対及び比重量増加
75 mg/kg 体重/日以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ ALP 増加 ・ 肝絶対及び比重量増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・ ALP、TG 増加 ・ 肝細胞腫大^a
15 mg/kg 体重/日	毒性所見なし	毒性所見なし

^a: 有意差はないが、投与の影響と判断した。

(2) 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット)

SD ラット(慢性毒性試験群: 一群雌雄各 10 匹、発がん性試験群: 一群雌雄各 50 匹)を用いた混餌(原体: 0、50、250 及び 1,250 ppm: 平均検体摂取量は表 18 参照)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。

表 18 2年間慢性毒性/発がん性併合試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群		50 ppm	250 ppm	1,250 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	2.0	10.0	50.2
	雌	2.6	13.3	69.0

対照群と投与群で死亡率に有意な差は認められなかった。

50 ppm 以上投与群の雌で、子宮内膜間質ポリープの発生頻度が傾向検定及び対照群との比較において統計学的に有意に増加したが、これは対照群における発生頻度（0%）が背景データ（1.1~10%、平均 4.05%）に比べ、偶発的に低い値であったことに起因するもので、検体投与の影響によるものではないと考えられた。

本試験において、1,250 ppm 投与群の雌雄で肝比重量増加、同群の雄で肝絶対重量増加、同群の雌で体重増加抑制（投与 1 週以降）、摂餌量及び飲水量の減少、TG 減少、BUN 増加並びに脂肪変性を伴う肝細胞肥大、また、250 ppm 以上投与群の雄で脂肪変性を伴う肝細胞肥大が認められたので、無毒性量は雄で 50 ppm（2.0 mg/kg 体重/日）、雌で 250 ppm（13.3 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）2年間慢性毒性/発がん性併合試験（マウス）

ICR マウス（発がん性試験群：一群雌雄各 51 匹、慢性毒性試験群：一群雌雄各 12 匹）を用いた混餌（原体：0、25、125 及び 750 ppm：平均検体摂取量は表 19 参照）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。

表 19 2年間慢性毒性/発がん性併合試験（マウス）の平均検体摂取量

投与群		25 ppm	125 ppm	750 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	3.0	15.0	90.4
	雌	3.8	19.6	119

対照群と投与群で死亡率に有意な差は認められず、また、検体投与に関連して発生頻度が増加した腫瘍性病変は認められなかった。

本試験において、750 ppm 投与群の雌雄で TG 減少並びに肝絶対及び補正重量²増加が、同群の雄で T.Chol 減少及び肝細胞脂肪変性の程度の増加が認められたので、無毒性量は雌雄とも 125 ppm（雄：15.0 mg/kg 体重/日、雌：19.6 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）

² 最終体重を共変量とし、共分散分析した臓器重量を補正重量という（以下同じ。）。

12. 生殖発生毒性試験

(1) 2世代繁殖試験（ラット）

Wistar ラット（一群雄各 15 匹、雌 30 匹）を用いた混餌（原体：0、50、250 及び 1,250 ppm：平均検体摂取量は表 20 参照）投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

表 20 2 世代繁殖試験（ラット）における平均検体摂取量

投与群			50 ppm	250 ppm	1,250 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	P 世代	雄	4.85	24.4	121
		雌	5.13	25.9	126
	F ₁ 世代	雄	4.72	23.2	117
		雌	5.14	24.8	124

各投与群で認められた毒性所見は表 21 に示されている。

本試験において、親動物では 1,250 ppm 投与群の雌雄で体重増加抑制等が、児動物では 250 ppm 以上の雌雄で紅涙、眼瞼肥厚等が認められたので、無毒性量は親動物で雌雄とも 250 ppm（P 雄：24.4 mg/kg 体重/日、P 雌：25.9 mg/kg 体重/日、F₁ 雄：23.2 mg/kg 体重/日、F₁ 雌：24.8 mg/kg 体重/日）、児動物で雌雄とも 50 ppm（P 雄：4.85 mg/kg 体重/日、P 雌：5.13 mg/kg 体重/日、F₁ 雄：4.72 mg/kg 体重/日、F₁ 雌：5.14 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）

表 21 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 _{1a} 、F _{1b}		親：F _{1a} 、児：F _{2a}	
		雄	雌	雄	雌
親動物	1,250 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・摂餌量減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・摂餌量減少 ・肝絶対及び比重量増加 ・小葉中心性肝脂肪変性^a 	1,250 ppm 以下 毒性所見なし	<ul style="list-style-type: none"> ・紅涙^a、眼瞼肥厚^a ・体重増加抑制 ・肝絶対及び比重量増加
	250 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし		毒性所見なし
児動物	1,250 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・肝絶対及び比重量増加（雌雄） ・低体重（雌） ・不整咬合^a ・小葉中心性肝脂肪変性（雌雄）^a 		<ul style="list-style-type: none"> ・肝絶対重量増加（雌雄）、比重量増加（雌） ・体重増加抑制（雌雄） ・不整咬合^a ・小葉中心性肝脂肪変性（雌雄）^a 	
	250 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・紅涙^a及び眼瞼肥厚^a 		<ul style="list-style-type: none"> ・紅涙^a及び眼瞼肥厚^a ・肝比重量増加（雄） 	
	50 ppm	毒性所見なし		毒性所見なし	

注：親動物及び児動物の病理組織学的検査は対照群及び 1,250 ppm 投与群のみで実施された。

^a：有意差はないが、投与の影響と判断した。

(2) 発生毒性試験（ラット）①

Wistar ラット（一群雌 24 匹）の妊娠 6～15 日に強制経口（原体：0、40、100 及び 250 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。

母動物では、250 mg/kg 体重/日投与群の 5 例が死亡（5 回投与まで）した。同群では死亡した 5 例を含め、生殖器周辺及び腹部の被毛の汚れの増加が認められた。また、同群で体重増加抑制（妊娠 6～9 日）、摂餌量減少（妊娠 6～9 日以降）、食餌効率の低下（妊娠 6～9 日）並びに肝の退色、小葉明瞭化及び肥大が認められた。

胎児では、250 mg/kg 体重/日投与群で骨化の程度の異常が認められ、全投与群で骨格変異の発生率が用量相関性に増加した。

本試験において、250 mg/kg 体重/日以上投与群の母動物で死亡、体重増加抑制等、40 mg/kg 体重/日以上投与群の胎児で骨格変異の発生率の増加が認められたので、無毒性量は母動物で 100 mg/kg 体重/日、胎児で 40 mg/kg 体重/日未満であると考えられた。（参照 2）

(3) 発生毒性試験（ラット）②（追加試験）

発生毒性試験（ラット）① [12. (2)] で胎児の無毒性量が得られなかったため、追加試験として Wistar ラット（一群雌 24 匹）の妊娠 6～15 日に強制経口（原体：0、2.5、10、40 及び 100 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。

母動物では、検体投与の影響は認められなかった。

胎児では、100 mg/kg 体重/日投与群で内臓異常（水尿管）、40 mg/kg 体重/日以上投与群で内臓異常（腎盂拡張、尿管拡張及び尿管屈曲）及び骨格変異が認められた。

本試験において、母動物ではいずれの投与用量においても検体投与による影響は認められず、40 mg/kg 体重/日以上投与群の胎児で内臓異常及び骨格変異が認められたので、無毒性量は、母動物で本試験の最高用量 100 mg/kg 体重/日、胎児で 10 mg/kg 体重/日であると考えられた。（参照 2）

発生毒性試験（ラット）①及び② [12. (2) 及び (3)] より、発生毒性試験（ラット）の無毒性量は、母動物で 100 mg/kg 体重/日、胎児で 10 mg/kg 体重/日であると考えられた。

発生毒性試験（ラット）② [12. (3)] で認められた内臓異常（水尿管、腎盂拡張、尿管拡張及び尿管屈曲）については、より高い用量が設定された発生毒性試験（ラット）① [12. (2)] においては認められず再現性がなかったため、検体投与による影響ではないと考えられた。催奇形性は認められなかった。

(4) 発生毒性試験 (ウサギ) ①

NZW ウサギ (一群雌 18 匹) の妊娠 6~18 日に強制経口 (原体 : 0、25、75 及び 125 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。

母動物では、125 mg/kg 体重/日投与群で体重減少 (妊娠 6~9 日) 及び摂餌量減少 (妊娠 6~9 日) が認められた。

胎児では、125 mg/kg 体重/日投与群で、前肢屈曲及び骨格変異 (過剰肋骨) の発生率増加が認められた。

本試験において、125 mg/kg 体重/日投与群の母動物で体重減少等、同群の胎児で前肢屈曲等が認められたので、無毒性量は母動物及び胎児で 75 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) 発生毒性試験 (ウサギ) ②<参考資料³>

NZW ウサギ (一群雌 18 匹) の妊娠 6~18 日に強制経口 (原体 : 0、25、75 及び 125 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。

75 mg/kg 体重/日投与群の胎児で骨格異常が認められた。(参照 8、26)

1 3. 遺伝毒性試験

パクロブトラゾール (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、ヒトリンパ球細胞を用いた染色体異常試験、ラットを用いた *in vivo* UDS 試験及び染色体異常試験並びにマウスを用いた小核試験及び優性致死試験が実施された。結果は表 22 に示されているとおり、全て陰性であったことから、パクロブトラゾールに遺伝毒性はないものと考えられた。(参照 2、8、27~31)

³ 対照群及び最高用量群での妊娠動物数が少なかったため、参考資料とした。

表 22 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> (H17、M45 株)	10～5,000 µg/ディスク	陰性
	復帰突然 変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、 TA1537、TA1538 株) <i>Escherichia coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)	10～5,000 µg/プレート (+/-S9)	陰性
		<i>S. typhimurium</i> (①及び②：TA98、 TA100、TA1535、 TA1537、TA1538 株) (③：TA98 株)	①及び② 1.6～5,000 µg/プレート (+/-S9) ③ 100～5,000 µg/プレート (+/-S9)	陰性
	遺伝子突 然変異試 験	マウスリンパ腫細胞 (L5178Y TK ^{+/+})	①1.0～100 µg/mL (+/-S9) ②60～140 µg/mL (+/-S9)	陰性
	染色体異 常試験	ヒト末梢血リンパ球細胞	50～500 µg/mL (+/-S9) (処理時間 3 時間)	陰性
<i>in vivo</i>	UDS 試験	Wistar ラット (一群雄 2 又は 3 匹)	40、200、400 mg/kg 体重 (単回経口投与)	陰性
	小核試験	C57BL/6JfBL10/Alpk マ ウス (骨髄細胞) (一群雌雄各 5 匹)	233、375 mg/kg 体重 (単回経口投与) (投与 24、48 及び 72 時間後と 殺)	陰性
		C57BL/6J マウス (骨髄細胞) (一群雌雄各 5 匹)	87.5、140 mg/kg 体重 (単回経口投与) (投与 24、48 及び 72 時間後と 殺)	陰性
	染色体 異常試験	Wistar ラット (骨髄細胞) (一群雄 6 匹)	250 mg/kg 体重 (1 日 1 回 5 日間連続経口投与)	陰性
		Wistar ラット (骨髄細胞) (一群雌雄各 8～12 匹)	①300 mg/kg 体重 (単回経口投与) (投与 12 及び 48 時間後と殺) ②30、150、300 mg/kg 体重 (単回経口投与) (投与 24 時間後と殺)	陰性
優性致死 試験	ICR マウス (一群雄 15 匹、雌 30 匹)	25、100、300 mg/kg 体重 (1 日 1 回 5 日間連続経口投与)	陰性	

注) +/-S9：代謝活性化系存在下及び非存在下

主として植物及び土壌由来の代謝物 D、植物由来の代謝物 E 及び F の細菌を用いた DNA 修復試験及び復帰突然変異試験が実施された。

結果は表 23 に示されているとおり、試験結果は全て陰性であった。（参照 2）

表 23 遺伝毒性試験概要（代謝物）

被験物質	試験	対象	処理濃度	結果
代謝物 D	DNA 修復試験	<i>B. subtilis</i> (H17、M45 株)	20～5,000 µg/ディスク (+/-S9)	陰性
	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)	10～5,000 µg/プレート (+/-S9)	陰性
代謝物 E	DNA 修復試験	<i>E. coli</i> (pol A ⁺ 、pol A ⁻ 株)	62.5～1,000 µg/ディスク (+/-S9)	陰性
	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、 TA1535、TA1537、 TA1538 株)	20～12,500 µg/プレート (+/-S9)	陰性
代謝物 F	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、 TA1535、TA1537 株)	20～5,120 µg/プレート (+/-S9)	陰性

注) +/-S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下

Ⅲ. 食品健康影響評価

参照に挙げた資料を用いて、農薬「パクロブトラゾール」の食品健康影響評価を実施した。なお、今回、動物体内運命試験（ヤギ及びニワトリ）、植物体内運命試験（トマト）、作物残留試験（ミニトマト）、畜産物残留試験（乳牛）、急性神経毒性試験（ラット）、発生毒性試験（ウサギ）、遺伝毒性試験の成績等が新たに提出された。

¹⁴C で標識したパクロブトラゾールのラットを用いた動物体内運命試験の結果、単回投与後の胆汁及び尿中放射能の合計から、パクロブトラゾールの吸収率は投与後 72 時間で 79.9～94.6%と考えられた。投与 96 時間後までに 90%TAR 以上が尿及び糞中へ排泄され、そのほとんどが投与 72 時間後までに排泄された。主に胆汁を経て糞中に排泄されると考えられた。

¹⁴C で標識したパクロブトラゾールの畜産動物（ヤギ及びニワトリ）を用いた動物体内運命試験の結果、10%TRR を超える代謝物として、B（抱合体を含む）が最大で 54.5%TRR（0.044 µg/g、ヤギ腎臓）及び G が最大で 31.5 %TRR（0.021 µg/g、ニワトリ肝臓）認められた。

¹⁴C で標識したパクロブトラゾールを用いた植物体内運命試験の結果、10%TRR を超える代謝物として B、E 及び F が認められた。

パクロブトラゾール並びに代謝物 B、D、E 及び F を分析対象化合物とした作物残留試験の結果、可食部における最大残留値は、パクロブトラゾールがやまもも（果実）の 0.06 mg/kg、代謝物 B がもも（果肉）の 0.04 mg/kg、代謝物 E が温州みかん（果肉）の 0.98 mg/kg 及び代謝物 F が温州みかん（果皮）の 0.07 mg/kg であった。代謝物 D は全て定量限界未満であった。

乳牛を用いた畜産物残留試験の結果、パクロブトラゾールの最大残留値は 0.05 µg/g（肝臓）、代謝物 B は全て検出限界未満であった。また、魚介類における最大推定残留値は 0.036 mg/kg であった。

各種毒性試験結果から、パクロブトラゾール投与による影響は、主に体重（増加抑制）及び肝臓（重量増加、肝細胞脂肪変性等）に認められた。発がん性、繁殖能に対する影響、催奇形性及び遺伝毒性は認められなかった。

植物体内運命試験の結果、10%TRR を超える代謝物として B、E 及び F が認められた。代謝物 B はラットにおいても検出されたこと、代謝物 E 及び F の急性経口毒性は弱く（LD₅₀：5,000 mg/kg 体重超）、遺伝毒性の結果が陰性であったことから、農産物及び魚介類中の暴露評価対象物質をパクロブトラゾール（親化合物のみ）と設定した。

各試験における無毒性量等は表 24、単回経口投与等により惹起されると考えられる毒性影響等は表 25 に示されている。

ラットを用いた発生毒性試験①において、胎児に対する無毒性量が設定できなかったが、より低用量の濃度を設定した発生毒性試験②の結果を考慮すると、胎児に対する無毒性量は 10 mg/kg 体重/日であると考えられた。

ラットを用いた 90 日間亜急性毒性試験②において雌の無毒性量が設定できなかったが、90 日間亜急性毒性試験①では雌の無毒性量は 8.15 mg/kg 体重/日であり、また、各試験で得られた無毒性量の最小値は、ラットを用いたより長期の 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験の 2.0 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 0.02 mg/kg 体重/日を一日摂取許容量 (ADI) と設定した。

パクロブトラゾールの単回経口投与等により生ずる可能性のある毒性影響に対する無毒性量のうち最小値は、ラットを用いた急性神経毒性試験の 30 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 0.3 mg/kg 体重を急性参照用量 (ARfD) と設定した。

ADI	0.02 mg/kg 体重/日
(ADI 設定根拠資料)	慢性毒性/発がん性併合試験
(動物種)	ラット
(期間)	2 年間
(投与方法)	混餌
(無毒性量)	2.0 mg/kg 体重/日
(安全係数)	100

ARfD	0.3 mg/kg 体重
(ARfD 設定根拠資料)	急性神経毒性試験
(動物種)	ラット
(期間)	単回
(投与方法)	経口
(無毒性量)	30 mg/kg 体重
(安全係数)	100

参考

< JMPR、1998 年 >

ADI	0.1 mg/kg 体重/日
(ADI 設定根拠資料)	発生毒性試験
(動物種)	ラット
(期間)	妊娠 6～15 日
(投与方法)	強制経口
(無毒性量)	10 mg/kg 体重/日
(安全係数)	100

< EPA、2015 年 >

cRfD	0.11 mg/kg 体重/日
(cRfD 設定根拠資料)	慢性毒性/発がん性併合試験

(動物種)	ラット
(期間)	2年間
(投与方法)	混餌
(無毒性量)	10.8 mg/kg 体重/日
(不確実係数)	100

※一般の集団

aRfD	0.30 mg/kg 体重
(aRfD 設定根拠資料)	急性神経毒性試験
(動物種)	ラット
(期間)	単回
(投与方法)	経口
(無毒性量)	30 mg/kg 体重
(不確実係数)	100

※13～49歳の女性

aRfD	0.10 mg/kg 体重
(aRfD 設定根拠資料)	発生毒性試験
(動物種)	ラット
(期間)	妊娠 6～15 日
(投与方法)	強制経口
(無毒性量)	10 mg/kg 体重/日
(不確実係数)	100

< EU、2010年 >

ADI	0.022 mg/kg 体重/日
(ADI 設定根拠資料)	慢性毒性/発がん性併合試験
(動物種)	ラット
(期間)	2年間
(投与方法)	混餌
(無毒性量)	2.2 mg/kg 体重/日
(安全係数)	100

ARfD	0.1 mg/kg 体重
(ARfD 設定根拠資料)	発生毒性試験
(動物種)	ラット
(期間)	妊娠 6～15 日
(投与方法)	強制経口
(無毒性量)	10 mg/kg 体重/日
(安全係数)	100

(参照 9～11)

表 24 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⁾				農薬抄録 (参考)
			JMPR ²⁾	EPA	EFSA	食品安全委員会	
ラット	90日間 亜急性 毒性試験①	0、50、250、1,250 ppm 雄：0、5.46、27.7、 139 雌：0、8.15、39.6、 205	/	雌雄：18.8	雌雄：20	雄：27.7 雌：8.15 雄：肝絶対重量増 加等 雌：肝絶対及び比 重量増加	雄：27.7 雌：39.6 雄：肝小葉中心性 の脂肪化 雌：体重増加抑制
				雌雄：肝重量増加 等	雌雄：肝脂肪変性 等	雄：16.0 雌：— 雄：肝絶対及び比 重量増加等 雌：肝細胞脂肪変 性	雄：16.0 雌：17.9 雌雄：肝の脂肪化 等
ラット	90日間 亜急性 毒性試験②	0、50、250、1,250 ppm 雄：0、3.21、16.0、 81.6 雌：0、3.54、17.9、 90.7	/	/	/	/	/
				雌雄：10.8	雌雄：2.2	雄：2.0 雌：13.3 雄：脂肪変性を伴 う肝細胞肥大 雌：体重増加抑制、 脂肪変性を伴う肝 細胞肥大等	雄：10.0 雌：13.3 雌雄；肝細胞肥大 等
マウス	2年間 慢性毒性/ 発がん性併 合試験	0、50、250、1,250 ppm 雄：0、2.0、10.0、 50.2 雌：0、2.6、13.3、 69.0	雌雄：11	雌雄：肝細胞肥大 及び脂肪変性等	雌雄：肝細胞脂肪 変性等	雄：2.0 雌：13.3 雄：脂肪変性を伴 う肝細胞肥大 雌：体重増加抑制、 脂肪変性を伴う肝 細胞肥大等	雄：10.0 雌：13.3 雌雄；肝細胞肥大 等
			雌雄：肝細胞肥大 等	雌雄：肝細胞肥大 及び脂肪変性等	雌雄：肝細胞脂肪 変性等	雄：2.0 雌：13.3 雄：脂肪変性を伴 う肝細胞肥大 雌：体重増加抑制、 脂肪変性を伴う肝 細胞肥大等	雄：10.0 雌：13.3 雌雄；肝細胞肥大 等

無毒性量(mg/kg体重/日) ¹⁾							
動物種	試験	投与量 (mg/kg体重/日)	JMPR ²⁾	EPA	EFSA	食品安全委員会	農薬抄録 (参考)
	2世代 繁殖試験	0、50、250、1,250 ppm P雄：0、4.85、 24.4、121 P雌：0、5.13、 25.9、126 F ₁ 雄：0、4.72、 23.2、117 F ₁ 雌：0、5.14、 24.8、124	親動物：12.5 見動物：12.5 親動物 雌雄：体重増加 抑制等 見動物：小葉中心性 肝脂肪変性等	親動物：23.2 見動物：23.2 親動物：肝重量増 加等 見動物：紅涙等	親動物：23.2 見動物：23.2 親動物：小葉中心 性肝脂肪変性等 見動物：体重増加 抑制等	親動物 P雄：24.4 F ₁ 雄：23.2 P雌：25.9 F ₁ 雌：24.8 見動物 P雄：4.85 F ₁ 雄：23.2 P雌：5.13 F ₁ 雌：5.14 親動物 雌雄：体重増加抑 制等 見動物：紅涙、眼 瞼肥厚等	親動物 P雄：24.4 F ₁ 雄：23.2 P雌：25.9 F ₁ 雌：24.4 親動物 雌雄：体重増加 抑制等 見動物：肝小葉中 心性脂肪化
			(繁殖能に対する 影響は認められな い)	(繁殖能に対する 影響は認められな い)	(繁殖能に対する 影響は認められな い)	(繁殖能に対する 影響は認められな い)	(繁殖能に対する 影響は認められな い)
	発生毒性 試験①	0、40、100、250	発生毒性：－ 発生毒性：骨格変 異等	母動物：100 発生毒性：－ 母動物：死亡等 発生毒性：骨格変 異等	母動物：100 胎児：－ 母動物：体重増加 抑制等 胎児：骨格変異	母動物：100 胎児：－ 母動物：体重増加 抑制等 胎児：骨格変異	母動物：40 胎児：－ 母動物：体重増加 抑制等 胎児：骨格変異 (催奇形性は認め 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)	JMPR ²⁾	EPA	EFSA	食品安全委員会
	発生毒性 試験②	0、2.5、10、40、 100	発生毒性：10 発生毒性：骨格変 異等	母動物：100 発生毒性：10 母動物：毒性所見 なし 発生毒性：骨格変 異等	母動物：100 発生毒性：10 母動物：毒性所見 なし 発生毒性：骨格変 異等	母動物：100 胎児：10 母動物：毒性所見 なし 胎児：腎盂拡張等 (催奇形性は認め られない)
	発生毒性 試験①及び ②の総合評 価					
マウス	2年間 慢性毒性/ 発がん性併 合試験	0、25、125、750 ppm 雄：0、3.0、15.0、 90.4 雌：0、3.8、19.6、 119	雌雄：15 雌雄：肝重量増加 等 (発がん性は認め られない)	雌雄：18.85 雌雄：肝絶対及び 比重量増加等	雌雄：14 雌雄：肝細胞脂肪 変性等 (発がん性は認め られない)	雄：15.0 雌：19.6 雌雄：肝重量増加 等 (発がん性は認め られない)
ウサギ	発生毒性 試験①	0、25、75、125	発生毒性：75 発生毒性：骨格変 異等	母動物及び発生毒 性：75 母動物：体重減少 等 発生毒性：過剰肋 骨	母動物：75 発生毒性：125 母動物：体重増加 抑制等 発生毒性：毒性所 見なし	母動物及び胎児： 25 母動物：体重増加 量軽度低下 胎児：骨格変異等 (催奇形性は認め 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)	JMPR ²⁾	EPA	EFSA	食品安全委員会	農薬抄録 (参考)
イヌ	90日間 亜急性 毒性試験	0、3、15、450	/	/	雌雄：15 雌雄：肝重量増加 等	雌雄：15 雄：肝細胞脂肪変 性等 雌：体重増加抑制、 肝絶対及び比重量 増加等	雌雄：15 雌雄：体重増加抑 制等
					雌雄：75 雌雄：肝重量増加 等	雌雄：15 雌雄：肝重量増加 等	雌雄：15 雄：肝絶対及び比 重量増加等 雌：肝細胞腫大等
	ADI (cRfD)	0、15、75、300	NOAEL：10 SF：100 ADI：0.1	NOAEL：10.8 UF：100 cRfD：0.11	NOAEL：2.2 SF：100 ADI：0.022	NOAEL：2.0 SF：100 ADI：0.02	NOAEL：2.0 SF：100 ADI：0.02
	ADI (cRfD) 設定根拠資料		ラット発生毒性試 験	ラット2年間慢性 毒性/発がん性併 合試験	ラット2年間慢性 毒性/発がん性併 合試験	ラット2年間慢性 毒性/発がん性併 合試験	ラット2年間慢性 毒性/発がん性併 合試験

ADI：一日摂取許容量 cRfD：慢性参照用量 UF：不確実係数 SF：安全係数

NOAEL：無毒性量 ー：最小毒性量は設定できなかった。 /：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等を記した。

2)：JMPR ではイヌを用いた1年間慢性毒性試験で無毒性量、それ以外の試験では無影響量が設定されている。

表 25 単回経口投与等により惹起されると考えられる毒性影響等

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重又は mg/kg 体重/日)	無毒性量及び急性参照用量設定に関連する エンドポイント ¹⁾ (mg/kg 体重又は mg/kg 体重/日)
ラット	急性毒性 試験	2,000	雌：－ 雌：糞量減少及び活動性低下
		雄：1,333、2,000、 3,000、4,500、6,750	雄：－ 雌：889
		雌：889、1,333、2,000、 3,000、4,500、6,750	雌雄：行動の不活発化、無力性歩行、歩行困難、昏睡及び流涙
		400、500、640、800、 1,000、1,260、1,600、 2,000、3,200、4,000、 5,000	雄：400 雌：－ 雌雄：自発運動低下、よろめき歩行、正向反射消失、体温低下、昏睡、立毛、呼吸困難及び尿失禁
	急性神経 毒性試験	0、30、150、500	雄：150 雌：30 雄：体重増加抑制及び体温低下 雌：自発運動量低下
発生毒性 試験①	0、40、100、250	母動物：100 母動物：死亡及び体重増加抑制	
マウス	急性毒性 試験	3,900、5,070、6,591	雄：－ 雌：－ 雌雄：立毛
		雄：250、320、400、 500、640、800	雄：－ 雌：－
		雌：400、500、640、 800、1,000、1,260、 2,000、2,500、3,200	雌雄：自発運動低下、立毛、よろめき歩行、体温低下及び昏睡
ウサギ	急性毒性 試験	250、500、1,000、 2,300	雄：－ 雌：－ 雌雄：自発運動低下、よろめき歩行、流涙及び昏睡
	発生毒性 試験①	0、25、75、125	母動物：75 母動物：体重減少（妊娠 6～9 日）及び摂餌量減少（妊娠 6～9 日）

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重又は mg/kg 体重/日)	無毒性量及び急性参照用量設定に関連する エンドポイント ¹⁾ (mg/kg 体重又は mg/kg 体重/日)
モルモット	急性毒性 試験	雄：320、400、500、 640、800 雌：320、400、500、 640	雄：320 雌：－ 雌雄：自発運動低下及びよろめき歩行
ARfD			NOAEL：30 SF：100 ARfD：0.3
ARfD 設定根拠資料			ラット急性神経毒性試験

ARfD：急性参照用量 SF：安全係数 NOAEL：無毒性量

- ¹⁾ 最小毒性量で認められた主な毒性所見を記した。
－：無毒性量は設定できない。

<別紙 1 : 代謝物/分解物/原体混在物略称>

記号	略称	化 学 名
B	パクロブトラゾールジオール	5-(4-クロロフェニル-2,2-ジメチル-4-(1 <i>H</i> 1,2,4- トリアゾール-1-イル) ペンタン-1,3-ジオール
C	パクロブトラゾール酸	5-(4-クロロフェニル)-3-ヒドロキシ-2,2-ジメチル -4-(1 <i>H</i> 1,2,4-トリアゾール-1-イル) ペンタン酸
D	パクロブトラゾールケトン	1-(4-クロロフェニル)-4,4-ジメチル-2-(1 <i>H</i> 1,2,4- トリアゾール-1-イル) ペンタン-3-オン
E	トリアゾールアラニン	2-アミノ-3-(1 <i>H</i> 1,2,4-トリアゾール-1-イル) プロピオン酸
F	トリアゾリル酢酸	3-(1 <i>H</i> 1,2,4-トリアゾール-1-イル) 酢酸
G		1 <i>H</i> 1,2,4-トリアゾール
H		4 <i>H</i> 1,2,4-トリアゾール
原体混在物①		

<別紙 2 : 検査値等略称>

略称	名称
ai	有効成分量 (active ingredient)
Alb	アルブミン
ALP	アルカリホスファターゼ
APDM	アミノピリン <i>N</i> -デメチラーゼ
AUC	薬物濃度曲線下面積
BCF	生物濃縮係数
BUN	血液尿素窒素
C _{max}	最高濃度
CMC	カルボキシメチルセルロース
CK	クレアチンキナーゼ
Ht	ヘマトクリット値 [=血中血球容積 (PCV)]
LC ₅₀	半数致死濃度
LD ₅₀	半数致死量
PEC	環境中予測濃度
PHI	最終使用から収穫までの日数
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
TG	トリグリセリド
T _{max}	最高濃度到達時間
TP	総蛋白質
TRR	総残留放射能
UDS	不定期 DNA 合成

作物名 (分析部位) 実施年度	試験 ほ場 数	使用量 (g ai/ha) 処理方法	回 数 (回)	PHI (日)	残留値 (mg/kg)												
					パクロブトラゾール			抱合体*		B		D		E		F	
					公的分析機関 最高値	社内分析機関 最高値	社内分析機関 平均値	公的分析機関 最高値	公的分析機関 平均値	公的分析機関 最高値	公的分析機関 平均値	公的分析機関 最高値	公的分析機関 平均値	公的分析機関 最高値	公的分析機関 平均値	社内分析機関 最高値	社内分析機関 平均値
やまもも (果実) 1994年度	1	1,290 ^{SC}	1	60	0.02	0.02	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
			1	75	<0.01	<0.01	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
	1		1	60	0.06	0.06	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
			1	75	<0.01	<0.01	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/

*: パクロブトラゾールを抱合体を含めて分析したもの

• G: 粒剤、SC: フロアブル剤

• 定量限界未満のデータは定量限界値にくを付した。

• /: 該当なし

• 農薬の使用量、使用回数又は使用時期 (PHI) が、登録又は申請された使用方法から逸脱している場合は、使用量、回数又は PHI に^aを付した。

<別紙 4 : 後作物残留試験成績>

前作			作物名 (分析部位) 実施年度	試験 ほ場 数	PHI (日)	残留値(mg/kg)			
作物名	使用量 (g ai/ha)	回数 (回)				パクロブトラゾール (抱合体を含む)		D	
						最高値	平均値	最高値	平均値
水稲	180 ^G	1 (単年)	にんじん (根部) 1988年度	1	279	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02
			さやえんどう (さや) 1988年度	1	279	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02
		4 (4年 連続)	にんじん (根部) 1988年度	1	279	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02
			さやえんどう (さや) 1988年度	1	279	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02

注) G : 粒剤

- ・ 定量限界未満のデータは定量限界値にくを付した。

<別紙 5 : 畜産物 (乳牛) 残留試験成績>

乳汁、臓器及び組織中の最大残留値 (µg/kg)

分析部位		投与量 (ppm)	分析対象化合物	
			パクロブトラゾール	代謝物 B
乳汁		50	ND	ND
腎臓		0	ND	ND
		15	ND	/
		50	0.02	ND
肝臓		0	ND	/
		5	0.01	/
		15	0.01	/
		50	0.05	/
筋肉	大内転筋	0	ND	/
		15	0.03	/
		50	0.02	/
	胸筋	0	ND	/
		50	ND	/
脂肪	皮下脂肪	0	ND	/
		50	ND	/
	腹腔内脂肪	0	ND	/
		50	ND	/

ND : 検出せず / : 測定せず

<別紙 6 : 推定摂取量>

作物名	残留値 (mg/kg)	国民平均 (体重 : 55.1 kg)		小児 (1~6 歳) (体重 : 16.5 kg)		妊婦 (体重 : 58.5 kg)		高齢者 (65 歳以上) (体重 : 56.1 kg)	
		ff (g/人/日)	摂取量 (μ g/人/日)	ff (g/人/日)	摂取量 (μ g/人/日)	ff (g/人/日)	摂取量 (μ g/人/日)	ff (g/人/日)	摂取量 (μ g/人/日)
もも	0.012	3.4	0.04	3.7	0.04	5.3	0.06	4.4	0.05
おうとう (チェリー を含む。)	0.05	0.4	0.02	0.7	0.04	0.1	0.01	0.3	0.02
その他のベ リー類果実	0.06	0.1	0.01	0.1	0.01	0.2	0.01	0.1	0.01
魚介類	0.036	93.1	3.35	39.6	1.43	53.2	1.92	114.8	4.13
合計			3.42		1.51		1.99		4.21

注) ・残留値は、登録又は申請されている使用時期・使用回数による各試験区の平均値のうち、パクロブトラゾールの最大値を用いた(参照 別紙 3)。

- ・ff : 平成 17~19 年の食品摂取頻度・摂取量調査(参照 32)の結果に基づく農産物摂取量 (g/人/日)
- ・摂取量 : 残留値及び農産物残留量から求めたパクロブトラゾールの推定摂取量 (μ g/人/日)
- ・水稻(玄米)、ミニトマト及び温州みかんのデータは全て定量限界未満であったため、摂取量の計算には用いなかった。
- ・その他のベリー類果実については、やまももの値を用いた。

<参照>

- 1 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、厚生労働省告示第 499 号）
- 2 農薬抄録パクロブトラゾール（植物成長調整剤）（平成 19 年 7 月 31 日改定）：シンジェンタジャパン株式会社、一部公表
- 3 食品健康影響評価について（平成 19 年 12 月 4 日付、厚生労働省発食安 1204 第 002 号）
- 4 パクロブトラゾールの魚介類における最大推定残留値に係る資料
- 5 食品健康影響評価の結果の通知について（平成 21 年 4 月 2 日付け府食第 312 号）
- 6 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 22 年 12 月 13 日付、平成 22 年厚生労働省告示第 417 号）
- 7 食品健康影響評価について（平成 28 年 2 月 5 日付、厚生労働省発生食 0205 第 5 号）
- 8 農薬抄録パクロブトラゾール（植物成長調整剤）（平成 26 年 2 月 19 日改定）：シンジェンタジャパン株式会社、一部公表
- 9 JMPR: “Paclbutrazol”, Pesticide residues in food-1988 evaluations Part II Toxicology (1988)
- 10 US EPA : Paclbutrazol :Final Human Health Risk Assesment for Rsgistration Review (2015)
- 11 EFSA: Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance ,paclobutrazol (2010)
- 12 ラットにおける代謝試験 [反復経口投与 ; 排泄および分布 (蓄積性)] : Haezleton Laboratories Europe Ltd., 1984 年、未公表
- 13 ヤギにおける代謝試験 : Jealott’s Hill research Station,PPD ICI、1987 年、未公表 ; Huntingdon Research Centre Ltd., 1986 年、未公表
- 14 家禽における代謝試験 : Jealott’s Hill research Station,PPD ICI、1987 年、未公表 ; Huntingdon Research Centre Ltd., 1985 年、未公表
- 15 トマト（種子処理）における代謝試験（GLP 対応） : Syngenta Crop Protection Inc、2005 年、未公表
- 16 作物残留試験成績 : シンジェンタジャパン株式会社、未公表
- 17 乳牛における残留試験 : Jealott’s Hill research Station, ICI、1989 年、未公表 ; Huntingdon Research Centre Ltd., 1986 年、未公表
- 18 ラットにおける急性経口毒性試験（GLP 対応） : Eurofinf/Product Safety Laboratories、2006 年、未公表
- 19 ラットにおける急性経皮毒性試験（GLP 対応） : Eurofinf/Product Safety Laboratories、2006 年、未公表
- 20 ラットにおける急性経皮毒性試験（GLP 対応） : Central Toxicology Laboratory ICI、2006 年、未公表
- 21 ラットにおける急性吸入毒性試験（GLP 対応） : Central Toxicology Laboratory ICI、2006 年、未公表

- 22 ラットを用いた急性神経毒性試験 (GLP 対応) : Harlan Laboratories、2006 年、未公表
- 23 ウサギにおける眼刺激性試験 (GLP 対応) : Eurofinf/Product Safety Laboratories、2006 年、未公表
- 24 ウサギにおける皮膚刺激性試験 (GLP 対応) : Eurofinf/Product Safety Laboratories、2006 年、未公表
- 25 マウスを用いた皮膚感作性試験 (局所リンパ節試験法) (GLP 対応) : Syngenta Central Toxicology、2006 年、未公表
- 26 ウサギを用いた催奇形性試験 : Central Toxicology Laboratory ICI、1983 年、未公表
- 27 細菌を用いた復帰突然変異試験 : Central Toxicology Laboratory ICI、1982 年、未公表
- 28 マウスのリンパ腫細胞を用いた *in vitro* 突然変異誘発性試験 : Inveresk Research International、1983 年、未公表
- 29 マウスの骨髄細胞を用いた *in vivo* 小核試験 : Central Toxicology Laboratory ICI、1983 年、未公表
- 30 ラットの肝細胞を用いた *in vivo* 不定期 DNA 合成試験 : Central Toxicology Laboratory ICI、1986 年、未公表
- 31 マウスを用いた優性致死試験 : Central Toxicology Laboratory ICI、1983 年、未公表
- 32 平成 17~19 年の食品摂取頻度・摂取量調査 (薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会資料、2014 年 2 月 20 日)

トリアゾール 共通代謝物

本資料はトリアゾール系農薬の暴露評価対象物質の検討において参考資料として利用するため、現時点で得られている科学的知見のとりまとめを行ったものである。

目次

	頁
○ 審議の経緯	3
○ 食品安全委員会委員名簿	3
○ 食品安全委員会農薬専門調査会専門委員名簿	3
○ 要約	5
I. 検討対象物質の概要	6
1. 一般名	6
2. 化学名	6
3. 分子式	6
4. 分子量	6
5. 構造式	7
6. 経緯	7
II. 安全性に係る試験の概要	8
II-1. 【1, 2, 4-トリアゾール】	8
1. 動物体内運命試験	8
(1) ラット①	8
(2) ラット②	8
(3) ラット③	9
2. 急性毒性試験	9
3. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験	10
4. 亜急性毒性試験	10
(1) 90日間亜急性毒性試験(ラット)	10
(2) 90日間亜急性毒性/神経毒性併合試験(ラット)	11
(3) 28日間亜急性毒性試験(マウス)	12
(4) 90日間亜急性毒性試験(マウス)	12
5. 生殖発生毒性試験	13
(1) 2世代繁殖試験(ラット)	13
(2) 発生毒性試験(ラット)	15
(3) 発生毒性試験(ラット)	15
(4) 発生毒性試験(ラット)	15
(5) 発生毒性試験(ウサギ)	15
6. 遺伝毒性試験	16
7. その他の試験	16
(1) エストロゲン生合成	16
(2) ラット培養胎児を用いた <i>in vitro</i> 試験	16

II-2. 【トリアゾール酢酸】	17
1. 動物体内運命試験	17
(1) ラット①	17
(2) ラット②	17
2. 急性毒性試験	17
3. 亜急性毒性試験	18
(1) 14日間亜急性毒性試験(ラット)	18
4. 遺伝毒性試験	18
II-3. 【トリアゾールアラニン】	18
1. 動物体内運命試験	19
(1) ラット①	19
(2) ラット②	19
2. 急性毒性試験	19
3. 亜急性毒性試験	20
(1) 28日間亜急性毒性試験(ラット)	20
(2) 90日間亜急性毒性試験(ラット)	20
(3) 2週間亜急性毒性試験(ラット) <参考資料>	21
(4) 90日間亜急性毒性試験(イヌ)	21
4. 生殖発生毒性試験	21
(1) 2世代繁殖試験(ラット)	21
(2) 2世代繁殖試験(ラット) <参考資料>	21
(3) 発生毒性試験(ラット)	22
5. 遺伝毒性試験	22
III. 【トリアゾール系化合物】	23
1. フルコナゾールの咽頭弓異常誘発に対するレチノイン酸合成阻害剤の作用 (<i>in vitro</i>)	23
2. タラロゾールのマウス胚及びニワトリ胚の形態形成に対する作用	24
3. レチノイン酸の形態形成に関する CYP 酵素活性の作用	24
4. トリアゾール系殺菌剤による形態異常誘発経路	25
IV. まとめ	26
・別紙1: 検査値等略称	31
・参照	32

<審議の経緯>

2012年 2月 14日 第14回農薬専門調査会評価第一部会
2012年 3月 7日 第15回農薬専門調査会評価第一部会
2012年 8月 24日 第85回農薬専門調査会幹事会
2012年 9月 3日 第445回食品安全委員会（報告）
2012年 9月 4日 から10月3日まで 国民からのご意見・情報の募集
2012年 10月 11日 農薬専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
2012年 10月 15日 第449回食品安全委員会（報告）
2013年 5月 31日 第93回農薬専門調査会幹事会
2013年 7月 25日 農薬専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
2013年 7月 29日 第483回食品安全委員会（報告）

<食品安全委員会委員名簿>

(2012年6月30日まで)	(2012年7月1日から)
小泉直子（委員長）	熊谷 進（委員長）
熊谷 進（委員長代理*）	佐藤 洋（委員長代理）
長尾 拓	山添 康（委員長代理）
野村一正	三森国敏（委員長代理）
畑江敬子	石井克枝
廣瀬雅雄	上安平冽子
村田容常	村田容常

* : 2011年1月13日から

<食品安全委員会農薬専門調査会専門委員名簿>

(2012年3月31日まで)		
納屋聖人（座長）	佐々木有	平塚 明
林 真（座長代理）	代田眞理子	福井義浩
相磯成敏	高木篤也	藤本成明
赤池昭紀	玉井郁巳	細川正清
浅野 哲**	田村廣人	堀本政夫
石井康雄	津田修治	本間正充
泉 啓介	津田洋幸	増村健一**
上路雅子	長尾哲二	松本清司
臼井健二	永田 清	柳井徳磨
太田敏博	長野嘉介*	山崎浩史
小澤正吾	西川秋佳	山手丈至
川合是彰	布柴達男	與語靖洋

川口博明
桑形麻樹子***
小林裕子
三枝順三

根岸友恵
根本信雄
八田稔久

義澤克彦
吉田 緑
若栗 忍

* : 2011年3月1日まで

** : 2011年3月1日から

*** : 2011年6月23日から

(2012年4月1日から)

・幹事会

納屋聖人 (座長)
西川秋佳 (座長代理)
赤池昭紀
上路雅子

三枝順三
永田 清
長野嘉介
本間正充

松本清司
吉田 緑

・評価第一部会

上路雅子 (座長)
赤池昭紀 (座長代理)
相磯成敏

津田修治
福井義浩
堀本政夫

山崎浩史
義澤克彦
若栗 忍

・評価第二部会

吉田 緑 (座長)
松本清司 (座長代理)
泉 啓介

桑形麻樹子
腰岡政二
根岸友恵

藤本成明
細川正清
本間正充

・評価第三部会

三枝順三 (座長)
納屋聖人 (座長代理)
浅野 哲

小野 敦
佐々木有
田村廣人

永田 清
八田稔久
増村健一

・評価第四部会

西川秋佳 (座長)
長野嘉介 (座長代理)
川口博明

代田眞理子
玉井郁巳
根本信雄

森田 健
山手丈至
與語靖洋

<第85回農薬専門調査会幹事会専門参考人名簿>

小澤正吾

林 真

<第93回農薬専門調査会幹事会専門参考人名簿>

小澤正吾

林 真

要 約

トリアゾール系農薬の共通代謝物である 1,2,4-トリアゾール(CAS No. 288-88-01)、トリアゾールアラニン(CAS No. 10109-05-4)及びトリアゾール酢酸(CAS No. 28711-29-7)について、JMPR 及び米国が行った評価結果等を検討したところ、食品安全委員会では、参照した資料は十分なものとは言えないが、現時点で得られている科学的知見がまとめられたものであり、トリアゾール系農薬を評価する際の参考資料としては利用可能であると判断した。

検討に用いた試験成績は、動物体内運命（ラット）、急性毒性（ラット、マウス及びウサギ）、亜急性毒性（イヌ、ラット及びマウス）、2 世代繁殖（ラット）、発生毒性（ラット及びウサギ）、遺伝毒性等の試験成績である。

試験結果から、1,2,4-トリアゾール投与による影響として、主に精巣（アポトーシス小体、絶対重量減少）、体重増加抑制が認められた。ラットを用いた発生毒性試験において、親動物に体重増加抑制が認められた用量において口蓋裂の発生頻度増加、骨格変異の増加が認められ、ラットを用いた 90 日亜急性毒性/神経毒性併合試験において、振戦、脳絶対重量減少、小脳組織の変性/壊死、末梢神経線維変性等が認められた。遺伝毒性は認められなかった。

トリアゾールアラニン投与による影響として体重増加抑制が認められたが、繁殖に対する影響、催奇形性及び遺伝毒性は認められなかった。

トリアゾール酢酸投与においても遺伝毒性は認められなかった。

I. 検討対象物質の概要

1. 一般名

和名：1,2,4-トリアゾール

英名：1,2,4-triazole

和名：トリアゾール酢酸

英名：Triazole acetic acid

和名：トリアゾールアラニン

英名：Triazole alanine

2. 化学名

1,2,4-トリアゾール (CAS No. 288-88-01)

IUPAC

和名：1*H*1,2,4-トリアゾール

英名：1*H*1,2,4-triazole

トリアゾール酢酸 (CAS No. 28711-29-7)

IUPAC

和名：1*H*-1,2,4-トリアゾール-1-イル-酢酸

英名：1*H*-1,2,4-triazole-1-yl-acetic acid

トリアゾールアラニン (CAS No. 10109-05-4)

IUPAC

和名：1,2,4-トリアゾリル-3-アラニン

英名：1,2,4-triazolyl-3-alanine

3. 分子式

1,2,4-トリアゾール：C₂H₃N₃

トリアゾール酢酸：C₄H₅N₃O₂

トリアゾールアラニン：C₅H₈N₄O₃

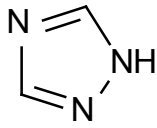
4. 分子量

1,2,4-トリアゾール：69.07

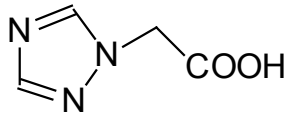
トリアゾール酢酸：127.10

トリアゾールアラニン：172.14

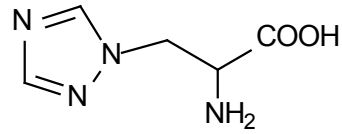
5. 構造式



1,2,4-トリアゾール



トリアゾール酢酸



トリアゾールアラニン

6. 経緯

1,2,4-トリアゾール、トリアゾールアラニン及びトリアゾール酢酸は、トリアゾール系農薬の共通代謝物であり、植物及び土壌中で生成される。トリアゾールアラニンは1989年にJMPRにおいて評価され、毒性はないと結論された。

これらの結果を受け、食品安全委員会では、トリアゾールアラニン及びトリアゾール酢酸を毒性上問題ないとしてきたところであるが、1,2,4-トリアゾール、トリアゾールアラニン及びトリアゾール酢酸について、2006年に米国で、2008年にJMPRで評価されADIが設定された。

II. 安全性に係る試験の概要

II-1. 【1,2,4-トリアゾール】

JMPR 資料（2008 年）及び米国資料（2006 年）を基に、毒性に関する主な科学的知見を整理した。（参照 1、2）

各種運命試験 [II-1.] は、トリアゾール環の 3 位及び 5 位の炭素を ^{14}C で標識したもの（以下「 ^{14}C -トリアゾール」という。）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 1,2,4-トリアゾールに換算した。検査値等略称は別紙 1 に示されている。

1. 動物体内運命試験

(1) ラット①

SD ラット（一群雌雄各 2 匹）に ^{14}C -トリアゾールを 0.4、48.8、865.7 mg/kg 体重で単回経口投与し、動物体内運命試験が実施された。

投与後 168 時間における尿及び糞中排泄率は表 1 に示されている。

1,2,4-トリアゾールは速やかに吸収され、24 時間以内にほとんどが排泄された。吸収率は、尿中排泄率及び組織残留率から少なくとも 80%と推定された。（参照 1）

表 1 投与後 168 時間における尿及び糞中排泄率（%TAR）

投与量 (mg/kg 体重)	0.4		48.8		865.7	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
尿	93.5	90.6	80.0	92.4	87.6	91.9
ケージ洗浄液	0.0	0.5	0.3	0.8	1.0	1.2
糞	8.7	7.4	19.9	10.4	6.5	9.2
組織残留	0.8	0.6	0.8	0.9	1.6	1.3
排泄合計	103	99.1	101	105	96.7	104

(2) ラット②

SD ラット（一群雄各 5 匹）に ^{14}C -トリアゾールを 1.0 mg/kg 体重で単回経口投与し、0.1、1、10 若しくは 100 mg/kg 体重で静脈内投与し、動物体内運命試験が実施された。

投与後 48 時間における尿及び糞中排泄率は表 2 に示されている。

経口又は静脈内投与後 30 時間で、約 0.1%TAR が呼気中に排泄された。主要排泄経路は尿中であつた。

静脈内投与 8 時間後に体内残留濃度は 55%TAR に、3 日後に 1.9%TAR に減少した。放射能は体内に均一に分布し、投与 30 分後に筋肉及び肺で最も高く（1.2 $\mu\text{g/g}$ ）、腎脂肪で最も低かつた（0.48 $\mu\text{g/g}$ ）。

表 2 投与後 48 時間における尿及び糞中排泄率 (%TAR)

投与経路 投与量 (mg/kg 体重)	静脈内投与				経口投与
	0.1	1	10	100	1
尿	93.9	92.6	92.1	93.9	91.9
糞	3.9	5.0	5.0	3.6	5.4
排泄合計	97.8	97.6	97.1	97.5	97.3
組織残留	1.7	2.1	2.4	2.0	2.2
消化管残留	0.51	0.44	0.51	0.47	0.47

また、胆管カニューレを挿入した SD ラット（一群雄各 4 匹）に ^{14}C -トリアゾールを 1.0 mg/kg 体重で静脈又は十二指腸内投与し、動物体内運命試験が実施された。

静脈又は十二指腸内投与後 24 時間で胆汁中に約 12%TAR、尿中に 60～65%TAR 及び糞中に 3.5～4%TAR が排泄された。また組織に 14～18%TAR、消化管に 6～9%TAR の残留が認められた。（参照 1）

(3) ラット③

SD ラット（一群雄 10 匹）に ^{14}C -トリアゾールを 10 mg/kg 体重で単回経口投与し、動物体内運命試験が実施された。

尿中残留放射能の 95.3%は 1,2,4-トリアゾールであった。（参照 1）

2. 急性毒性試験

1,2,4-トリアゾールのラット及マウスを用いた急性毒性試験が実施された。結果は表 3 に示されている。（参照 1、2）

表3 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	SD ラット 一群雄 3 匹	500<LD ₅₀ <5,000		5,000 mg/kg 体重投与群で全例死亡
	Wistar ラット 一群雌雄各 15 匹	1,650	1,650	鎮静、呼吸障害、一般状態の悪化、腹臥位又は側臥位 1,250 mg/kg 体重以上投与群で死亡例
	マウス (性別及び匹数不明)	3,650		参照した資料に記載なし
	ウサギ (性別及び匹数不明)	666		参照した資料に記載なし
経皮	Wistar ラット 一群雌雄各 5~20 匹	4,200	3,130	鎮静、呼吸障害、一般状態の悪化、腹臥位又は側臥位 2,500 mg/kg 体重以上投与群で死亡例
	NZW ウサギ 一群雄 2 匹	200<LD ₅₀ <5,000		腹式呼吸、透明の鼻汁、黄色い鼻汁、あえぎ、虹彩炎、瀕死、流涎、軟便、振戦 2,000 mg/kg 以上投与群で全例死亡
吸入	Wistar ラット 一群雌雄 5 匹	LC ₅₀ (mg/m ³)		参照した資料に記載なし
		2,050 mg/m ³		
	NMRI マウス 一群雄 10 匹	2,200 mg/m ³		参照した資料に記載なし

3. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

1,2,4-トリアゾールの NZW ウサギを用いた眼刺激性及び皮膚刺激性試験が実施された。その結果、眼に対して重度の眼刺激性、皮膚に対して軽度の刺激性が認められた。

Hartley モルモットを用いた皮膚感作性試験（Magnusson&Kligman 法）が実施され、結果は陰性であった。（参照 1）

4. 亜急性毒性試験

(1) 90 日間亜急性毒性試験（ラット）

Wistar ラット（一群雌雄各 15 匹）を用いた混餌（1,2,4-トリアゾール：0、100、500 及び 2,500 ppm：検体摂取量は表 4 参照）投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 4 90 日間亜急性毒性試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群		100 ppm	500 ppm	2,500 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	7.8	37.9	212
	雌	10.2	54.2	267

2,500 ppm 投与群の雌雄で痙攣（雌雄各 2 例）及び体重増加抑制、同群雄で小球性低色素性貧血及び肝実質細胞脂肪蓄積が認められたので、無毒性量は雌雄とも 500 ppm（雄：37.9 mg/kg 体重/日、雌：54.2 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 1）

（2）90 日間亜急性毒性/神経毒性併合試験（ラット）

Wistar ラット（一群雌雄各 20 匹）を用いた混餌（1,2,4-トリアゾール：0、250、500、3,000 及び 1,000/4,000 ppm¹：検体摂取量は表 5 参照）投与による 90 日間亜急性神経毒性試験が実施された。

表 5 90 日間亜急性毒性/神経毒性試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群		250 ppm	500 ppm	3,000 ppm	1,000/4000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	16	33	183	210
	雌	19	41	234	275

各投与群で認められた毒性所見は表 6 に示されている。

雄の全投与群で TSH の減少が認められたが（500 ppm 以上投与群で有意差あり）、T₃及び T₄に投与の影響はなく、甲状腺に病理所見も認められなかったことから、毒性学的意義は低いと考えられた。

本試験において、3,000 ppm 以上投与群の雌雄で体重増加抑制、振戦、運動量減少、網膜変性、並びに末梢・中枢神経系の病理組織学的変化等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 500 ppm（雄：33 mg/kg 体重/日、雌：41mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 1）

¹ 最初の 4 週間は 1,000 ppm、その後は 4,000 ppm で投与された。

表 6 90 日間亜急性毒性/神経毒性試験（ラット）で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
1,000/4,000 ppm		
3,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ TG 及び尿酸減少 ・ 網膜変性 ・ 脳絶対重量減少 ・ 毛づくろいの減少、赤色鼻汁及び染色涙、着色尿、筋攣縮、振戦、歩行失調、オープンフィールドでの活動量減少、立ち上がり行動の減少、立ち直り反射の消失、開脚幅増大 ・ 運動量及び自発運動量減少 ・ 末梢神経線維変性（坐骨、腓腹、脛骨、脊髄神経根） ・ 小脳組織の変性/壊死 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ 網膜変性 ・ 黄体のう胞 §1 ・ 脳絶対重量減少 §2 ・ 毛づくろいの減少、赤色鼻汁及び染色涙、着色尿、筋攣縮、振戦、歩行失調、オープンフィールドでの活動量減少、立ち上がり行動の減少、立ち直り反射の消失、開脚幅増大 ・ 運動量及び自発運動量減少 ・ 末梢神経線維変性（坐骨、腓腹、脛骨、脊髄神経根） §1 ・ 小脳組織の変性/壊死
500 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

§1：有意差はないが投与の影響と判断した。

§2：1,000/4,000 ppm 投与群では有意差がないが、投与の影響と判断した。

(3) 28 日間亜急性毒性試験（マウス）

ICR マウス（一群雌雄各 15 匹）を用いた混餌（1,2,4-トリアゾール：0、50、250、500 及び 2,000 ppm：検体摂取量は表 7 参照）投与による 28 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 7 28 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	250 ppm	500 ppm	2,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	9	47	90	356
	雌	12	60	120	479

2,000 ppm 投与群の雄で精巣の変性、精細管萎縮等が認められた。雌では投与に関連した毒性所見は認められず、無毒性量は雄で 500 ppm（90 mg/kg 体重/日）、雌で本試験の最高用量 2,000 ppm（479 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 1）

(4) 90 日間亜急性毒性試験（マウス）

ICR マウス（一群雌雄各 20 匹）を用いた混餌（1,2,4-トリアゾール：0、500、1,000、3,000 及び 6,000 ppm：検体摂取量は表 8 参照）投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 8 90 日間亜急性毒性試験（マウス）の平均検体摂取量

投与群		500 ppm	1,000 ppm	3,000 ppm	6,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	80	161	487	988
	雌	105	215	663	1,350

各投与群で認められた毒性所見は表 9 に示されている。

6,000 ppm 投与群の雌雄で肝臓の P450 活性増加及び UDPGT 活性の僅かな増加、3,000 ppm 以上投与群の雌雄で ECOD、EROD 及び ALD 活性の増加が認められた。

本試験において、3,000 ppm 以上投与群の雄で振戦、脳絶対重量減少、精上皮細胞にアポトーシス様の変化が認められ、6,000 ppm 投与群の雌で振戦、脳絶対重量減少等が認められたので、無毒性量は雄で 1,000 ppm (161 mg/kg 体重/日)、雌で 3,000 ppm (663 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 1)

表 9 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
6,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・粗毛 ・体重増加抑制、摂餌量減少 ・精巣絶対重量減少 ・プルキンエ細胞減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・振戦 ・体重増加抑制 ・脳絶対重量減少 ・プルキンエ細胞減少
3,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・振戦 ・脳絶対重量減少 ・精巣アポトーシス様小体、精子細胞変性/枯渇、精細管萎縮 	3,000 ppm 以下、毒性所見なし
1,000 ppm 以下	毒性所見なし	

5. 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（1,2,4-トリアゾール：0、250、500 及び 3,000 ppm²：検体摂取量は表 10 参照）投与による 2 世代繁殖試験が実施された。3,000 ppm 投与群では F₁ 児動物が十分に得られなかったため、F₁ 親世代は 250 及び 500 ppm 投与群のみ試験が行われた。

² 授乳期間中の 0~7 日/7~21 日は、被験物質を一定量摂取させるため、全投与群の検体混餌濃度が 139/104、278/207 及び 1,666/1,245 ppm に減じられた。

表 10 2 世代繁殖試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群			250 ppm	500 ppm	3,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	P 世代	雄	15.4	30.9	189
		雌	17.5	36.2	218
	F ₁ 世代	雄	16.0	32.0	/
		雌	18.9	37.5	/

各投与群で認められた毒性所見は表 11 に示されている。

本試験において、親動物で 250 ppm 投与群の F₁ 雄で体重増加抑制が認められたので、一般毒性に対する無毒性量は親動物で 250 ppm 未満 (P 雄 : 15.4 mg/kg 体重/日未満、P 雌 : 17.5 mg/kg 体重/日未満、F₁ 雄 : 16.0 mg/kg 体重/日未満、F₁ 雌 : 18.9 mg/kg 体重/日未満)、児動物ではいずれの世代においても影響が認められなかったため、無毒性量は本試験の最高用量である 500 ppm (P 雄 : 30.9 mg/kg 体重/日、P 雌 : 36.2 mg/kg 体重/日、F₁ 雄 : 32.0 mg/kg 体重/日、F₁ 雌 : 37.5 mg/kg 体重/日) であると考えられた。500 ppm 投与群の雄で異常精子増加、雌で黄体数減少、膈開口の遅れが認められたので、繁殖能に対する無毒性量は 250 ppm (P 雄 : 15.4 mg/kg 体重/日、P 雌 : 17.5 mg/kg 体重/日、F₁ 雄 : 16.0 mg/kg 体重/日、F₁ 雌 : 18.9 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 1)

表 11 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	3,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ 脳絶対重量減少 ・ 小脳組織の変性/壊死 ・ 精子数減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ 脳絶対重量減少 ・ 小脳組織の変性/壊死 ・ 受胎率低下 ・ 着床数減少 ・ 卵巣重量増加 ・ 黄体数増加 ・ 子宮拡張 	/	/
	500 ppm 以上	・ 異常精子増加	500 ppm 以下毒性所見なし	<ul style="list-style-type: none"> ・ 異常精子増加 ・ 脳絶対重量減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 黄体数減少 ・ 膈開口の遅れ
	250 ppm 以上	250 ppm 毒性所見なし		<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 	250 ppm 毒性所見なし
児動物	3,000 ppm	/		/	
	500 ppm 以下	毒性所見なし		毒性所見なし	

／ : F₁ 児動物が十分に得られなかったため、試験群を設定せず。

(2) 発生毒性試験 (ラット)

Wistar ラット (一群雌 10 匹) の妊娠 7~17 日に強制経口 (1,2,4-トリアゾール: 0、25 及び 100 mg/kg 体重/日) 投与して、発生毒性試験が実施された。

本試験において、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 100 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 1)

(3) 発生毒性試験 (ラット)

Wistar ラット (一群雌 25 匹) の妊娠 6~15 日に強制経口 (1,2,4-トリアゾール: 0、10、30 及び 100 mg/kg 体重/日) 投与して、発生毒性試験が実施された。

100 mg/kg 体重/日投与群において、母動物で体重増加抑制、胎児で低体重及び発育不良が認められたため、無毒性量は母動物及び胎児で 30 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 1)

(4) 発生毒性試験 (ラット)

Wistar ラット (一群雌 25 匹) の妊娠 6~15 日に強制経口 (1,2,4-トリアゾール: 0、100 及び 200 mg/kg 体重/日) 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/日以上投与群で体重増加抑制 (100 mg/kg 体重/日では有意差なし) が認められた。

胎児では、200 mg/kg 体重/日投与群で、腹当たりの生存胎児数減少、100 mg/kg 体重/日以上投与群で胎児体重及び胎盤重量減少が認められた。また、200 mg/kg 体重/日投与群で口蓋裂及び後肢奇形の発生頻度増加、100 mg/kg 体重/日で骨格変異が増加した。

本試験における無毒性量は、母動物、胎児とも 100 mg/kg 体重/日未満と考えられた。(参照 1)

(5) 発生毒性試験 (ウサギ)

NZW ウサギ (一群雌 25 匹) の妊娠 6~28 日に強制経口 (1,2,4-トリアゾール: 0、5、15、30 及び 45 mg/kg 体重/日) 投与して、発生毒性試験が実施された。

45 mg/kg 体重/日投与群の母動物では、妊娠 7 日から摂餌量減少及び体重増加抑制が認められた 5 例は妊娠 16~24 日に切迫と殺された。また、同投与群では妊娠子宮重量減少、自発運動量低下、眼瞼下垂、糞量の減少、軟便、液状便、鼻汁及び流涎が認められた。

胎児では、45 mg/kg 体重/日投与群で低体重及び尿路奇形 (腎小型化、腎欠損及び輸尿管欠損) が認められた。

本試験における無毒性量は、母動物、胎児とも 30 mg/kg 体重/日と考えられた。(参照 1)

6. 遺伝毒性試験

1,2,4-トリアゾールの細菌を用いた復帰突然変異試験、チャイニーズハムスター卵巣由来細胞を用いた遺伝子突然変異試験 (*Hgprt* 遺伝子)、ラットリンパ球細胞を用いた染色体異常試験が実施された。

結果は表 12 に示されているとおり、すべて陰性であった。(参照 1)

表 12 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>	<i>Salmonella typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535 TA1537 株)	10~5,000 $\mu\text{g}/7^\circ$ レット (+/-S9)	陰性	
	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535 TA1537 株)	100~7,500 $\mu\text{g}/7^\circ$ レット (+/-S9)	陰性	
	遺伝子突然 変異試験	チャイニーズハムスター 卵巣由来細胞 (<i>Hgprt</i> 遺伝子)	43.2~691 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (+/-S9)	陰性
	染色体異常 試験	ラットリンパ球細胞	10.8~691 $\mu\text{g}/\text{mL}$	陰性

注) +/- S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下

7. その他の試験

(1) エストロゲン生合成

1,2,4-トリアゾールのエストロゲン生合成に対する影響を検討するため、ラット顆粒膜細胞に 1,2,4-トリアゾールを 10^{-5} mol/L で添加し、37°C で 48 時間培養後、エストラジオール及びプロゲステロンが測定された。

その結果、1,2,4-トリアゾールはアロマターゼ活性阻害を示さなかった。(参照 1)

(2) ラット培養胎児を用いた *in vitro* 試験

ラットの培養胎児 (9.5 日齢) に 1,2,4-トリアゾールを 500 又は 5,000 $\mu\text{mol}/\text{L}$ で処理し、*in vitro* で発生毒性が検討された。

処理 48 時間後に、卵黄嚢の直径、頭臀長、頭長及び体節数の測定並びに Brown 及び Fabio の方法による形態スコアリングが実施され、5,000 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 処理群において、卵黄嚢径、頭臀長、体節数及び総スコアが有意に減少した。胎児の DNA 及びタンパク質含量に影響は認められなかった。

本試験において 5,000 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 処理群で軽度な発達遅延が認められた。(参照 1)

II-2. 【トリアゾール酢酸】

JMPR 資料（2008 年）及び米国資料（2006 年）を基に、毒性に関する主な科学的知見を整理した。（参照 2）

各種運命試験 [II-2.] は、トリアゾール環を ^{14}C で標識したもの（以下「 ^{14}C -トリアゾール酢酸」という。）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トリアゾール酢酸に換算した。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) ラット①

SD ラット（一群雌雄各 2 匹）に ^{14}C -トリアゾール酢酸を 0.58、58.6 及び 1,030 mg/kg 体重で単回経口投与し、動物体内運命試験が実施された。

トリアゾール酢酸は速やかに吸収され、24 時間以内にほとんどが排泄された。主要排泄経路は尿中で、投与後 168 時間で尿中に 87.3~103.7%TAR、糞中に 1.2~7.4%TAR が排泄され、組織中に 0.8~3.1%TAR の残留が認められた。排泄パターンに性差は認められなかった。投与後 168 時間の尿中排泄率から、ほぼ全量が吸収されたと考えられた。（参照 1）

(2) ラット②

ラット（一群雌雄各 2 匹）に ^{14}C -トリアゾール酢酸を 0.58、58.6 及び 1,030 mg/kg 体重で単回経口投与し（詳細不明）、尿中代謝物の同定・定量試験が実施された。

経口投与されたトリアゾール酢酸は、用量及び性別に関係なく 24 時間以内に尿中に排泄された。尿中の主要成分はトリアゾール酢酸であった。（参照 1）

2. 急性毒性試験

トリアゾール酢酸のラットを用いた急性毒性試験が実施された。結果は表 13 に示されている。（参照 1）

表 13 急性毒性試験概要（トリアゾール酢酸）

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 一群雌雄各 3 匹	>5,000	>5,000	呼吸困難、眼球突出、立毛、 背彎姿勢 死亡例なし

3. 亜急性毒性試験

(1) 14日間亜急性毒性試験（ラット）

SD ラット（一群雌雄各 5 匹）を用いた混餌（トリアゾール酢酸：0、100、1,000 及び 8,000 ppm：検体摂取量は表 14 参照）投与による 14 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 14 14 日間亜急性毒性試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群		100 ppm	1,000 ppm	8,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	10.6	103	788
	雌	10.1	97.2	704

いずれの投与群でも投与による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：788 mg/kg 体重/日、雌：704 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 1）

4. 遺伝毒性試験

トリアゾール酢酸の細菌を用いた復帰突然変異試験、マウスリンパ腫細胞を用いた前進突然変異試験及びヒトリンパ球細胞を用いた染色体異常試験が実施された。結果は表 15 に示されているとおり、すべて陰性であった。（参照 1）

表 15 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>	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、TA1537 株) <i>Escherichia coli</i> (WP2P、WP2P <i>uvrA</i> 株)	20~5,120 µg/プレート	陰性
	遺伝子突然変異試験	マウスリンパ腫細胞 (L5178Y)	0.0801~1.27 mg/mL (+/-S9)	陰性
	染色体異常試験	ヒトリンパ球細胞	0.318~1.27 mg/mL (+/-S9)	陰性

注) +/- S9：代謝活性化系存在下及び非存在下

II-3. 【トリアゾールアラニン】

JMPR 資料（2008 年）及び米国資料（2006 年）を基に、毒性に関する主な科学的知見を整理した。（参照 2）

各種運命試験 [II-3.] は、トリアゾール環の 3 位及び 5 位の炭素を ¹⁴C で標識したもの（以下「¹⁴C-トリアゾールアラニン」という。）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トリアゾールアラニンに換算し

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) ラット①

SD ラット(一群雌雄各 4 匹)に ^{14}C -トリアゾールアラニン を 0.5 及び 50 mg/kg 体重で単回経口投与し、動物体内運命試験が実施された。

投与後 24 時間でほとんど(雄: 96.1~97.7%TAR、雌: 92.0~99.0%TAR)が尿中に排泄された。投与後 168 時間の糞中排泄率は 3~7%TAR、呼気中への排泄は 0.5%TAR 未満であった。0.5 mg/kg 体重投与群では、投与後 168 時間で組織への残留は認められず、50 mg/kg 体重投与群では、主に肝臓、腎臓及び血液中に 0.022 $\mu\text{g/g}$ 以下認められた。尿中の主要成分は未変化のトリアゾールアラニンで 86%TAR 認められた。また尿中に 2 種類の代謝物が検出され、それぞれ回収放射能の 72~86 及び 8~19%であった。

また、本試験で得られた排泄物を用いて排泄物中の代謝物同定・定量試験が実施された。

尿中代謝物の 69~89%TAR 及び糞中の 1~2%TAR はトリアゾールアラニンであり、尿中の 8~19%TAR 及び糞中の 1%未満はアセチル誘導体 (*N*-acetyl-D,L-triazole alanine) であった。(参照 1)

(2) ラット②

SD ラット(一群雌雄各 2 匹)に ^{14}C -トリアゾールアラニン を 0.56、54.4 及び 993.7 mg/kg 体重で単回経口投与し、動物体内運命試験が実施された。

主要排泄経路は尿中で、投与後 48 時間で尿中に 87.4~97.4%TAR 排泄され、糞中には投与後 168 時間で 6~18%TAR 排泄された。投与 168 時間後の組織残留濃度は低かった。

また、本試験で得られた排泄物を用いて尿中の代謝物同定・定量試験が実施された。

尿中代謝物の 82~93%TAR 及び糞中の 1~2%TAR はトリアゾールアラニンであり、13~30%TAR はアセチル誘導体 (*N*-acetyl-D,L-triazole alanine) であった。(参照 1)

2. 急性毒性試験

トリアゾールアラニンのラット及マウスを用いた急性毒性試験が実施された。結果は表 16 に示されている。(参照 1)

表 16 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	Wistar ラット 一群雌雄各 10 匹	>5,000	>5,000	立毛、頻尿、呼吸切迫、運動失調 死亡例なし
	Wistar ラット 一群雌雄各 5 匹	>2,000	>2,000	症状及び死亡例なし
	NMRI マウス 一群雌雄各 5 匹	>5,000	>5,000	症状及び死亡例なし

3. 亜急性毒性試験

(1) 28 日間亜急性毒性試験 (ラット)

Bor:WISW 系ラット (一群雌雄各 20 匹) を用いた強制経口 (トリアゾールアラニン : 0、25、100 及び 400 mg/kg 体重/日) 投与による 28 日間亜急性毒性試験が実施された。一群各 10 匹は 28 日間の回復試験に用いられた。

400 mg/kg 体重/日投与群の雄で血中尿素及び Cre の減少並びに尿濃度の低下が認められたが、腎臓の病理組織学的検査及び他の血液生化学値に変化は認められなかったことから毒性所見とは考えられなかった。また、400 mg/kg 体重/日投与群の雌で肝絶対及び比重量³増加が認められたが、病理組織学的検査及び血液生化学値に変化は認められなかったことから、毒性所見とは考えられなかった。

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 400 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 1)

(2) 90 日間亜急性毒性試験 (ラット)

Bor:WISW 系ラット (一群雌雄各 20 匹) を用いた混餌 (トリアゾールアラニン : 0、1,250、5,000 及び 20,000 ppm : 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		1,250 ppm	5,000 ppm	20,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	90	370	1,510
	雌	160	400	1,680

20,000 ppm 投与群の雄で TG、Bil 及び血中尿素濃度が、また、5,000 ppm 以上投与群の雌で TG が有意に減少したが、変化の程度が小さいこと、一過性のものであったこと及び体重増加抑制に起因するものであったことから、毒性所見とは考えられなかった。

本試験において、20,000 ppm 投与群の雄で体重増加抑制が認められ、雌では投与に関連した毒性所見は認められなかったため、無毒性量は雄で 5,000 ppm

³ 体重比重量を比重量という。

(370 mg/kg 体重/日)、雌で本試験の最高用量 20,000 ppm (1,680 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 1)

(3) 2 週間亜急性毒性試験 (ラット) <参考資料⁴>

Bor:WISW 系ラット (一群雄 10 匹) を用いた飲水 (トリアゾールアラニン: 0、3,000 及び 10,000 ppm: それぞれ 0、448 及び 1,490 mg/kg 体重/日に相当) 投与による 2 週間亜急性毒性試験が実施された。

投与に関連した毒性所見は認められなかったため、無毒性量は本試験の最高用量である 10,000 ppm (1,490 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 1)

(4) 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 (トリアゾールアラニン: 0、3,200、8,000 及び 20,000 ppm: 検体摂取量は表 18 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

20,000 ppm 投与群の雌で体重増加抑制が認められ、雄では投与に関連した毒性所見は認められなかったため、無毒性量は雄で本試験の最高用量である 20,000 ppm (850 mg/kg 体重/日)、雌で 8,000 ppm (345 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 1)

表 18 90 日間亜急性毒性試験 (イヌ) の平均検体摂取量

投与群		3,200 ppm	8,000 ppm	20,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	144	322	850
	雌	150	345	902

4. 生殖発生毒性試験

(1) 2 世代繁殖試験 (ラット)

Wistar ラット (一群雄各 15 匹、雌 30 匹) を用いた混餌 (トリアゾールアラニン: 0、500、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。

親動物では投与に関連した毒性所見は認められなかった。児動物では、10,000 ppm 投与群の F_{1a} で体重増加抑制及び同腹児重量減少、F_{2b} で同腹児重量の減少が認められたため、無毒性量は親動物で雌雄とも本試験の最高用量である 10,000 ppm (929 mg/kg 体重/日)、児動物で 2,000 ppm (192 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 1)

(2) 2 世代繁殖試験 (ラット) <参考資料⁵>

Wistar ラット (一群雄各 6 匹、雌 12 匹) を用いた混餌 (トリアゾールアラニ

⁴ 本試験は用量設定のための試験であり、投与期間も 2 週間と短いことから参考資料とした。

⁵ 本試験は動物数が少ないため、参考資料とした。

ン：0、150、625、2,500 及び 10,000 ppm) 投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

親動物では投与に関連した毒性所見は認められなかった。10,000 ppm 投与群の児動物で低体重が認められ、同群では交尾所要日数の延長が認められたので、無毒性量は親動物で雌雄とも本試験の最高用量である 10,000 ppm (1,000 mg/kg 体重/日⁶⁾、児動物で 2,500 ppm (250 mg/kg 体重/日)、繁殖能に対して 2,500 ppm (250 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 1)

(3) 発生毒性試験 (ラット)

Wistar ラット (一群雌 24 匹) の妊娠 7~16 日に強制経口 (原体：0、100、300 及び 1,000 mg/kg 体重/日) 投与して、発生毒性試験が実施された。

母動物では投与に関連した毒性所見は認められなかった。胎児では、1,000 mg/kg 体重/日投与群で第 7 頸椎横突起骨化遅延及び第 13 胸椎骨化遅延、300 mg/kg 体重/日以上投与群で歯状突起の骨化遅延が認められた。

本試験における無毒性量は母動物で本試験の最高用量である 1,000 mg/kg 体重/日、胎児で 100 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 1)

5. 遺伝毒性試験

トリアゾールアラニンの細菌を用いた DNA 修復試験及び復帰突然変異試験、チャイニーズハムスター細胞 (V79) を用いた遺伝子突然変異試験、マウス線維芽細胞 (BALB/3T3) を用いた細胞形質転換試験、マウス及びチャイニーズハムスターを用いた小核試験が実施された。

結果は表 19 に示されているとおり、すべて陰性であった。(参照 2)

表 19 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>	<i>E. coli</i> (pol A ⁺ 、pol A ₁ ⁻)	62.5~1,000 µg/プレート (+/-S9)	陰性
	<i>Bacillus subtilis</i> (H17、M45 株)	20~1,000 µg/ディスク (+/-S9)	陰性
	ラット肝細胞	80~10,000 µg/mL (+/-S9)	陰性
復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA102、TA1535、TA1537 株)	20~5,000 µg/プレート (+/-S9)	陰性

⁶ 文献に基づく平均値から求めた検体摂取量 (参照 3)。以下同じ

試験	対象	処理濃度・投与量	結果	
	<i>S. typhimurium</i> (TA98, TA100, TA1535 TA1537 株) <i>Escherichia coli</i> (WP2uvrA 株)	313~5,000 µg/7° レット (+/-S9)	陰性	
	<i>S. typhimurium</i> (TA98, TA100, TA1535 TA1537 株, TA1538 株)	20~12,500 µg/7° レット (+/-S9)	陰性	
	遺伝子突然 変異試験	チャイニーズハムスター細胞 (V79)	500~10,000 µg/0.1mL in water (+/-S9)	陰性
	遺伝子突然 変異試験	チャイニーズハムスター細胞 (CHO)	500~10,000 µg/mL (+/-S9)	陰性
	細胞形質転 換試験	マウス線維芽細胞 (BALB/3T3)	62.5~1,000 µg/mL (+/-S9)	陰性
<i>in vivo</i>	小核試験	NMRI マウス (匹数不明)	8,000 mg/kg 体重 (単回経口投与)	陰性
		CBC F1 マウス (匹数不明)	2,500、5,000 mg/kg 体重 (腹腔内投与)	陰性
		チャイニーズハムスター (匹数不明)	5,000 mg/kg 体重 (単回経口投与)	陰性

注) +/- S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下

Ⅲ. 【トリアゾール系化合物】

公表文献を基に、トリアゾール系化合物の生殖発生毒性に関して得られた情報を整理した。(参照 4~7)

1. フルコナゾールの咽頭弓異常誘発に対するレチノイン酸合成阻害剤の作用 (*in vitro*)

SD ラットの培養胚 (9.5 日齢 ; 胚形成期 (1~3 体節)) にフルコナゾールを 125 µM 若しくはシトラールを 200 µM の濃度で、又は同濃度のフルコナゾール及びシトラールを併用で処理し、*in vitro* で催奇形性が検討された。

処理 48 時間後に、卵黄囊の直径、頭臀長、頭長及び体節数の測定並びに奇形の発生状況が観察された。シトラール処理群の発達の程度は対照群と同様であった。フルコナゾール処理群では頭臀長の有意な減少が認められた。フルコナゾール及びシトラールの併用処理群では、体節数の有意な減少が認められ、フルコナゾール単独処理群で認められた頭臀長の減少に対する影響はなかった。

また、培養胎児における異常の発生率は、対照群及びシトラール処理群でそれぞれ 2.7% 及び 0.0% であったのに対して、フルコナゾール処理群では 72% であった。

フルコナゾールにおける異常は主に第一及び第二咽頭弓に認められた。フルコナゾール及びシトラールの併用処理群では、フルコナゾール単独処理群で認められた異常胎児と咽頭弓の異常の発生率が減少したが、頭部と心臓異常の発生率は変化しなかった。

処理 60 時間後に脳神経の免疫染色が行われ、フルコナゾール処理群では、神経組織変化が認められたが、フルコナゾール及びシトラールの併用処理群では対照群と同等であった。(参照 4)

2. タラロゾールのマウス胚及びニワトリ胚の形態形成に対する作用

トリアゾール系化合物であるタラロゾール (CYP26 阻害剤) を用いてマウス胚及びニワトリ胚の形態形成に対する作用が検討されている。野生型と *Tbx1* 欠損型のマウス胚(9.5 日齢)を用いたリアルタイム PCR の結果、*Tbx1* 欠損型の *CYP26b1* 及び *CYP26c1* の発現量は野生型に比べて減少した。また、咽頭胚 (9.5~10.5 日齢) を用いた *CYP26a1*、*CYP26b1* 及び *CYP26c1* の *in situ* ハイブリダイゼーション分析においても、*Tbx1* 欠損型の *CYP26a1*、*CYP26b1* 及び *CYP26c1* の発現は野生型に対して減少した。

タラロゾールを処理後、24~48 時間培養されたニワトリ胚 (ステージ 10 又は 14) では、頭間充織の欠損、小耳胞、尾部そのもの及び咽頭弓の欠損、前脳組織欠損、心臓循環異常、心臓周囲浮腫等が認められた。これらの異常の多くは *Tbx1* 欠損型のマウス及び過剰なレチノイン酸で処理された胚で表現型模写された。

タラロゾール処理した胚において、レチノイン酸合成酵素の *Raldh2* の発現量が上昇した。また、レチノイン酸処理した胚において、内胚葉及び中胚葉の *Hoxb1* の発現が誘発された。

Tbx1 欠損マウスにおける CYP26 酵素の特異的な阻害の結果から、レチノイン酸によって調節される形態発生の異常調節は、*Tbx1* の機能表現型の損失に寄与するとの仮説が支持された。(参照 5)

3. レチノイン酸の形態形成に関する CYP 酵素活性の作用

C57BL/6J マウスの妊娠 9 日にレチノイン酸酢酸を強制経口 (0、10、25、50 及び 100 mg/kg 体重/日 ; それぞれ 0、29,000、72,500、145,000 及び 290,000 IU/kg 体重/日に相当) 投与し、1、2、4、6、12 及び 24 時間後に胚及び血漿を採取、若しくは妊娠 18 日にと殺して胎児を摘出し、頭蓋骨及び胸腺組織が採取された。

頭蓋顔面欠損は 25 mg/kg 体重/日以上投与群で認められ、用量に相関して異常の程度が増加し、下顎及び口蓋突起の低形成が有意に増加した。心臓の異常は 25 mg/kg 体重/日以上投与群で認められたが、各用量とも異常胎児の発生率が約 25% で、用量相関性は確認できなかった。50 mg/kg 体重/日以上投与群で小縦隔遺残が、100 mg/kg 体重/日投与群で無胸腺、又は単葉及び胸腺の低形成が認められた。(参照 6)

4. トリアゾール系殺菌剤による形態異常誘発経路

トリアゾール系化合物はげっ歯類の *in vitro* 培養胚に対して催奇形性作用があり、抗真菌性のトリアゾール化合物の催奇形性作用は胚の CYP 阻害に関連し、誘発経路は、外因性の *trans*-レチノイン酸暴露によるものと同様であると考えられた。観察された異常がレチノイン酸の暴露によるものと極めて類似していたことから、レチノイン酸の代謝に関与する特定の CYP26 酵素活性がトリアゾール化合物により変化し、レチノイン酸による形態形成過程に間接的に影響したものと考えられた。
(参照 7)

IV. まとめ

参照に挙げた資料を用いて、トリアゾール系農薬の共通代謝物である「1,2,4-トリアゾール、トリアゾールアラニン及びトリアゾール酢酸」について JMPR 及び米国が行った評価結果等を検討したところ、食品安全委員会では、参照した資料は十分なものとは言えないが、現時点で得られている科学的知見がまとめられたものであり、トリアゾール系農薬を評価する際の参考資料としては利用可能であると判断した。

¹⁴C で標識した 1,2,4-トリアゾール、トリアゾール酢酸及びトリアゾールアラニンのラットを用いた動物体内運命試験の結果、経口投与された 1,2,4-トリアゾール、トリアゾール酢酸及びトリアゾールアラニンは速やかに吸収され、24 時間以内にほとんどが排泄された。主要な排泄経路は尿中で、吸収率は少なくとも 80% TAR と推定された。

各種試験結果から、1,2,4-トリアゾール投与による影響として、主に精巣（アポトーシス小体、絶対重量減少）、体重増加抑制が認められた。ラットを用いた発生毒性試験において、親動物に体重増加抑制が認められた用量において口蓋裂の発生頻度増加、骨格変異の増加が認められ、ラットを用いた 90 日亜急性毒性/神経毒性併合試験において、振戦、脳絶対重量減少、小脳組織の変性/壊死、末梢神経線維変性等が認められた。遺伝毒性は認められなかった。

トリアゾールアラニン投与による影響として体重増加抑制が認められたが、繁殖に対する影響、催奇形性及び遺伝毒性は認められなかった。

トリアゾール酢酸投与においては、得られた情報からは遺伝毒性も含め、影響は認められなかった。

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 20 に示されている。

表 20 各試験における無毒性量 (1, 2, 4-トリアゾール)

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	無毒性量(mg/kg 体重/日) ¹⁾		
			JMPR	EPA	食品安全委員会
ラット	90日間 亜急性 毒性試験	0、100、500、 2,500 ppm	雄：37.9 雌：54.2	雌雄：38	雄：37.9 雌：54.2
		雄：0、7.8、37.9、 212 雌：0、10.2、 54.2、267	雌雄：体重増加抑制 等	雌雄：体重増加抑制 等	雌雄：体重増加抑制 等
	90日間 亜急性 神経毒 性試験	0、250、500、 3,000、 1,000/4,000 ppm	雄：33 雌：41 雌雄：体重増加抑制 等	雌雄：16 雌雄：TSH 減少等	雄：33 雌：41 雌雄：体重増加抑制 等
2世代 繁殖試験	0、250、500、 3,000 ppm*	親動物 P雄：－ P雌：－ F ₁ 雄：－ F ₁ 雌：－	親動物 雌雄：－ 児動物 雌雄：19	親動物 P雄：－ P雌：－ F ₁ 雄：－ F ₁ 雌：－	
	P雄：0、15.4、 30.9、 189 P雌：0、17.5、 36.2、 218 F ₁ 雄：0、16.0、 32.0 F ₁ 雌：0、18.9、 37.5	児動物 P雄：30.9 P雌：36.2 F ₁ 雄：32.0 F ₁ 雌：37.5 親動物 雄：異常精子増加 雌：黄体数減少 児動物： 毒性所見なし	繁殖能：15 親動物 雌雄：体重増加抑 制、脾臓重量減 少等 児動物：体重減少、 脾臓重量 減少等 繁殖能：異常精子	児動物 P雄：30.9 P雌：36.2 F ₁ 雄：32.0 F ₁ 雌：37.5 親動物 雄：異常精子増加 雌：黄体数減少 児動物： 毒性所見なし	
発生毒 性 試験	0、25、100	母動物、胎児：100 母動物、胎児： 毒性所見なし (催奇形性は認めら れない)		母動物、胎児：100 母動物、胎児： 毒性所見なし (催奇形性は認めら れない)	

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	無毒性量(mg/kg 体重/日) ¹⁾		
			JMPR	EPA	食品安全委員会
	発 生 毒 性試験	0、10、30、100	母動物、胎児：30 母動物： 体重増加抑制 胎児：低体重 (催奇形性は認めら れない)	母動物：30 胎児：30 母動物： 体重増加抑制等 胎児： 胎児体重減少等	母動物、胎児：30 母動物： 体重増加抑制 胎児：低体重 (催奇形性は認めら れない)
	発 生 毒 性試験	0、100、200	母動物、胎児：－ 母動物： 体重増加抑制 胎児： 胎児体重減少		母動物、胎児：－ 母動物： 体重増加抑制 胎児： 胎児体重減少
マウス	28 日間 重急性 毒 性 試 験	0、50、250、500 2,000 ppm	雄：90 雌：479	雌雄：90	雄：90 雌：479
		雄：0、9、47、 90、356 雌：0、12、60、 120、479	雄：精巣変性 雌：毒性所見なし	雌雄：精巣変性	雄：精巣変性 雌：毒性所見なし
マウス	90 日間 重急性 毒 性 試 験	0、500、1,000、 3,000、6,000 ppm	雄：161 雌：633	雌雄：80	雄：161 雌：663
		雄：0、80、161、 487、988 雌：0、105、 215、663、 1,350	雌雄： 脳絶対重量減少	雌雄： 精巣重量減少等	雌雄： 脳絶対重量減少
ウサギ	発 生 毒 性 試験①	0、5、15、30、45	母動物：30 胎児：30 母動物：瀕死、体重 増加抑制等 胎児：胎児体重減 少、尿路奇形等	母動物：30 胎児：30 母動物：瀕死、臨床 症状 胎児：胎児体重減少	母動物：30 胎児：30 母動物：瀕死、体重 増加抑制等 胎児：胎児体重減 少、尿路奇形等

1)：最小毒性量で認められた毒性所見を記した。

－：無毒性量は設定できなかった。

*：3,000 ppm 投与群では F₁ 児動物が十分に得られなかったため、F₁ 親は 250 及び 500 ppm 投与群のみ試験を実施した。

表 20 各試験における無毒性量（トリアゾールアラニン及びトリアゾール酢酸）

	動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	無毒性量(mg/kg 体重/日) ¹⁾		
				JMPR	EPA	食品安全委員会
トリアゾールアラニン	ラット	28日間 亜急性 毒性試験	雌雄：25、100、 400	雌雄：400	雌雄：400	雌雄：400
				雌雄：毒性所見なし	雌雄：毒性所見なし	雌雄：毒性所見なし
		90日間 亜急性 毒性試験	0、1,250、 5,000、20,000 ppm 雄：0、90、370、 1,510 雌：0、160、 400、1,680	雄：370 雌：1,680	雄：90 雌：160	雄：370 雌：1,680
	雄：体重増加抑制 雌：毒性所見なし			雄：WBC減少 雌TG減少	雄：体重増加抑制 雌：毒性所見なし	
	2世代 繁殖試験	0、500、2,000 10,000 ppm FO 雄：0、50、 213、1,100 FO 雌：0、51、 223、1,110 F1 雄：0、47、 192、929 F1 雌：0、49、 199、988	親動物：929 児動物：192	親動物 雄：929 雌：988 児動物 雄：192 雌：199	親動物 雄：929 雌：988 児動物 雄：192 雌：199	
			親動物： 毒性所見なし 児動物： 同腹児重量の減少	親動物： 毒性所見なし 児動物： 同腹児重量の減少 (繁殖能に対する 影響なし)	親動物： 毒性所見なし 児動物： 同腹児重量の減少 (繁殖能に対する 影響なし)	
	発生毒 性 試験	0、100、300、 1,000	母動物：1,000 胎児：100	母動物：1,000 胎児：100	母動物：1,000 胎児：100	
母動物： 毒性所見なし 胎児：骨化遅延 (催奇形性は認めら れない)			母動物： 毒性所見なし 胎児：骨化遅延 (催奇形性は認めら れない)	母動物： 毒性所見なし 胎児：骨化遅延 (催奇形性は認めら れない)		
イヌ	90日間 亜急性 毒性試験	0、3,200、 8,000、20,000、 ppm 雄：0、144、322、 850 雌：0、150、 345、902	雄：850 雌：345	雄：850 雌：345	雄：850 雌：345	
			雄：毒性所見なし 雌：体重増加抑制	雄：毒性所見なし 雌：摂餌量減少	雄：毒性所見なし 雌：体重増加抑制	

	動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	無毒性量(mg/kg 体重/日) ¹⁾		
				JMPR	EPA	食品安全委員会
トリア ゾール 酢酸	ラット	14日間 亜急性 毒性試 験	0、100、1,000 8,000 ppm	雌雄：703.5	雄：788.3 雌：703.5	雄：788 雌：704
			雄：10.6、103、 788 雌：10.1、97.2、 704	雌雄：毒性所見なし	雌雄：毒性所見なし	雌雄：毒性所見なし

1)：最小毒性量で認められた毒性所見を記した。
 -：無毒性量は設定できなかった。

<別紙 1 : 検査値等略称>

略称	名称
ALD	アルドリンエポキシダーゼ
Bil	ビリルビン
Cre	クレアチニン
ECOD	エトキシマリン <i>O</i> -デエチラーゼ
EROD	エトキシレゾルフィン <i>O</i> -デエチラーゼ
FOB	機能観察総合検査
UDPGT	UDP-グルクロノシルトランスフェラーゼ
LC ₅₀	半数致死濃度
LD ₅₀	半数致死量
T ₃	トリヨードサイロニン
T ₄	サイロキシン
TAR	総投与 (処理) 放射能
TG	トリグリセリド
TSH	甲状腺刺激ホルモン

<参照>

- 1 Jmpr: “Triazole fungicide metabolites”, Pesticide Residues in food-2008 evaluations. Part II. Toxicological. p437-490(2008)
- 2 US EPA: 1,2,4-Triazole, Triazole Alanine, Triazole Acetic Acid: Human Health Aggregate Risk Assessment in Support of Reregistration and Registration Actions for Triazole-derivative Fungicide Compound (2006)
- 3 Jmpr: Guidelines for the preparation of toxicological working papers for the WHO Core Assessment Group of the Joint Meeting on Pesticide Residues (2000)
- 4 Renzo FD, Broccia ML, Giavini E, Menegola E: Citral, an inhibitor of retinoic acid synthesis, attenuates the frequency and severity of branchial arch abnormalities induced by triazole-derivative fluconazole in rat embryos cultured *in vivo*. Reproductive Toxicology, 2007;24:326-332
- 5 Roberts C, Ivins S, Cook A C, Baldini A, Scambler P J: Cyp26 genes a1, b1 and c1 are down-regulated in Tbx1 null mice and inhibition of Cyp26 enzyme function produces a phenocopy of DiGeorge Syndrome in the chick. Human Molecular Genetics, 2006; Vol.15, No.23:3394-3410
- 6 Mulder GB, Manley N, Grant J, Schmidt K, Zeng W, Eckhoff C, et al: Effects of excess vitamin A on development of cranial neural crest-derived structures: A neonatal and embryologic study. Teratology, 2000;62:214-226
- 7 Menegola E, Broccia ML, Renzo FD, Giavini E: Postulated pathogenic pathway in triazole fungicide induced dysmorphogenic effects. Reproductive Toxicology, 2006;22:186-195