

## 8. 急性毒性試験

メトコナゾール（原体①）の Fischer ラット及び ICR マウスを用いた急性経口毒性試験、Fischer ラット及びニュージーランド白色ウサギを用いた急性経皮毒性試験及び SD ラットを用いた急性吸入毒性試験が実施された。

急性経口 LD<sub>50</sub> はラットの雄で 727 mg/kg 体重、雌で 595 mg/kg 体重、マウスの雄で 718 mg/kg 体重、雌で 410 mg/kg 体重、経皮 LD<sub>50</sub> はラットの雌雄で >2000 mg/kg 体重、ウサギの雌雄で >2000 mg/kg 体重、吸入 LC<sub>50</sub> はラットの雌雄で >5.60 mg/L であった。（参照 24～28）

代謝物 M1、M11、M12、M34 及び M35 について SD ラットを用いた急性経口毒性試験が実施された。LD<sub>50</sub> はラットの雌雄で順に >2000 mg/kg 体重、>5000 mg/kg 体重、>2000 mg/kg 体重、>2000 mg/kg 体重及び >2000 mg/kg 体重であった。（参照 29～33）

## 9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性

メトコナゾール（原体①）のニュージーランド白色ウサギを用いた皮膚刺激性試験及び眼刺激性試験が実施された。皮膚に対する刺激性は認められなかったが、眼に対する軽度の刺激性を認めた。（参照 34、35）

メトコナゾール（原体①）のモルモットを用いた皮膚感作性試験（Buehler 法）、メトコナゾール（原体②）のモルモット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 36～37、67）

## 10. 亜急性毒性試験

### (1) 90 日間亜急性毒性試験（マウス）

ICR マウス（1 群雌雄各 12 匹）を用いた混餌 [原体①：0、30、300 及び 2000 ppm（第 1 週のみ 3000：体重の減少が認められたため）（雄 0、4.6、50.5、341 mg/kg 体重/日、雌 0、6.5、60.7、439 mg/kg 体重/日に相当）] 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。各投与群で認められた主な所見を表 7 に示した。

表 7 マウス 90 日間亜急性毒性試験で認められた毒性所見

2000 ppm 投与群雌雄	体重増加抑制、摂餌量減少、MCV、MCH 減少、血清中 ALP 増加、肝腫大、脾腫大、白脾髄リンパ球過形成
2000 ppm 投与群雄	血清中塩素、無機リン増加、副腎比重量増加、脾臓比重量増加、精巣比重量増加、びまん性肝細胞肥大/空胞化、肝白血球集簇
2000 ppm 投与群雌	Ht 値、リンパ球減少、総白血球数、好中球増加、血清中 AST、ALT 及びカリウム増加、血清中カルシウム、総ビリルビン減少、卵巣重量減少
300 ppm 以上投与群雌雄	血清中総蛋白、総コレステロール減少、肝臓比重量増加
300 ppm 以上投与群雄	血清中 ALT、AST 及びクレアチニン増加、血清中総ビリルビン減少、脳比重量増加

300 ppm 以上投与群雌	脾比重量増加、肝細胞肥大/空胞化
30 ppm 以上投与群雄	AST 増加

臓器重量で、雄における心臓、脳、精巣重量の比重量及び雌における心臓、卵巣の実重量に有意差が認められたが、これらは体重差の影響と考えられた。

300 ppm 以上投与群雄、2000 ppm 投与群雌で血清中 AST、ALT 増加が認められ、肝細胞の単細胞壊死、食細胞色素沈着を伴っていることから、肝細胞障害が加わっていると考えられた。

30 ppm 投与群の雄では、肝細胞肥大/空胞化といった組織学的変化は認められなかったが、血清中 AST 増加が認められた。

本試験における無毒性量は、30 ppm 投与群の雄で AST 増加、300 ppm 投与群の雌で脾比重量増加等が認められたため、雄は 30 ppm 未満 (4.6 mg/kg 体重/日未満)、雌は 30 ppm (6.5 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 38、67、69)

## (2) 90 日間亜急性毒性試験 (ラット)

Fischer ラット (主群：対照群雌雄各 20 匹、投与群雌雄各 10 匹、衛星群：対照群・投与各群雌雄 10 匹) を用いた混餌投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。メトコナゾール [原体③：0、30、100、300、1000、3000 ppm (雄 0、1.94、6.40、19.2、64.3、193 mg/kg 体重/日、雌 0、2.13、7.19、22.1、71.4、208 mg/kg 体重/日に相当)] は 30、100 及び 300 ppm 投与群については飼料 1 kg あたり 5 ml のアセトンにより溶解した後、1000 及び 3000 ppm 投与群については乾燥状態で混入した。

各投与群で認められた主な所見を表 8 に示した。

表 8 ラット 90 日間亜急性毒性試験で認められた毒性所見

3000 ppm 投与群雌雄	食餌効率の減少、Ht 減少、MCV 減少、血小板数減少、プレートレットクリット減少、血漿中 ALP、AST 増加、限局性クッパー細胞色素沈着、脾髄外造血低下、白脾髄辺縁帯食細胞増生、白脾髄萎縮
3000 ppm 投与群雄	餌こぼし、Hb、MCH 及び MCHC 減少、平均赤血球直径減少、APTT 短縮、 $\gamma$ -GTP 増加、血漿中クレアチニン減少、脾体重比重量 (以下「比重量」という) 増加、精巣絶対重量 (以下「実重量」という) 減少、前立腺及び精囊の小型化、中等度の副腎皮質空胞化頻度増加、前胃/境界隆線部過形成/角化症増加
3000 ppm 投与群雌	体重増加抑制、摂餌量の減少、血漿中 TG、グルコース減少、血漿中 $\beta$ グロブリン増加、卵巣実重量減少、肝臓小葉像明瞭、肝臓腫大、脾臓表面粗ぞう、子宮壁萎縮性菲薄化、小葉中心性肝細胞肥大、ごく軽度の副腎皮質空胞化頻度増加、子宮萎縮
1000 ppm 以上投与群雌雄	肝比重量増加、肝臓退色

1000 ppm 以上投与群雄	体重増加抑制、摂餌量減少、PT 延長、血漿中 ALT 増加、血漿中コレステロール・TG 減少、血漿中 $\beta$ グロブリン増加、肝臓小葉像明瞭、肝臓腫大、肝臓小葉中心性肝細胞肥大
1000 ppm 以上投与群雌	餌こぼし、Hb、MCH 及び MCHC 減少、平均赤血球直径減少、血漿中 $\gamma$ -GTP 増加、肝細胞脂肪化
300 ppm 以上投与群雄	肝細胞脂肪化
300 ppm 以上投与群雌	脾比重量増加

前胃/境界隆線部過形成/角化症増加については、メトコナゾールの粘膜刺激性によるものと考えられた。

3000 ppm 投与群で認められた、子宮壁萎縮性菲薄化はメトコナゾール投与による aromatase 活性抑制あるいは肝臓の薬物代謝酵素アイソザイム誘導による  $17\beta$ -エストラジオール代謝亢進による血中  $17\beta$ -エストラジオール低下によりもたらされた可能性が示唆されたが、原因については明らかにならなかった。

本試験における無毒性量は、300 ppm 以上投与群の雄で肝細胞脂肪化が、雌で脾比重量増加が認められたため、雌雄とも 100 ppm (雄：6.40 mg/kg 体重/日、雌：7.19 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 39、69)

### (3) 90 日間亜急性毒性試験 (イヌ)

ビーグル犬 (一群雌雄各 5 匹) を用いた混餌 [原体①：0, 60, 600, 6000 ppm (雄 0, 2.38, 23.1, 229 mg/kg 体重/日、雌 0, 2.47, 23.4, 212 mg/kg 体重/日に相当)] 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

6000 ppm 投与群の雌雄で体重増加量及び摂餌量減少、水晶体の変性 (白内障)、Hb、RBC 及び MCV 減少、PT 延長、血漿中 AST、ALP の増加、血漿中アルブミン、A/G 比の低下、水晶体の腫脹及び膨化、肝肥大及び脾臓の造血亢進及び血液残留が、雄で血小板数の増加、WBC 減少、血漿中  $\gamma$ -GTP 増加、尿中ビリルビンの検出、肝比重量の増加が、雌で APTT の短縮、血漿中グルコースの低下、脾比重量及び甲状腺比重量増加が認められた。

6000 ppm 投与群の雌雄で水晶体の変性 (白内障) が認められたが、カニクイザルにおける 13 週間亜急性眼毒性試験 (14.(2)参照) 及びラット、マウスの各種毒性試験でも水晶体の変性 (白内障) は認められないため、眼の水晶体の異常は、イヌに特有な症状と考えられた。また、6000 ppm 投与群雌雄で血漿中 ALP 増加が認められたが、これはびまん性肝細胞障害によるものと考えられた。甲状腺比重量増加、脾臓における血液残留は偶発的変化と考えられた。

本試験における無毒性量は、6000 ppm 投与群の雌雄で体重増加量減少が認められたため、雌雄とも 600 ppm (雄：23.1 mg/kg 体重/日、雌：23.4 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 40、67、69)

#### (4) 28日間亜急性神経毒性試験(ラット)

SDラット(一群雌雄各10匹)を用いた混餌[原体④:0, 50, 170, 500 ppm(雄0, 4.84, 15.7, 47.1 mg/kg 体重/日、雌0, 5.10, 17.6, 49.8 mg/kg 体重/日に相当)]投与による28日間亜急性神経毒性試験が実施された。

500 ppm投与群の雌雄で投与開始～第1週で体重増加量の減少が認められた。170 ppm以上投与群の雌雄で食餌効率のわずかな減少が認められた。全投与群で神経毒性は認められなかった。

本試験における無毒性量は、170 ppm投与群の雌雄で食餌効率減少が認められたため、雌雄ともに50 ppm(雄:4.84 mg/kg 体重/日、雌:5.10 mg/kg 体重/日)であると考えられた。(参照41)

### 1.1. 慢性毒性試験及び発がん性試験

#### (1) 1年間慢性毒性試験(イヌ)

ビーグル犬(一群雌雄各4匹)を用いた混餌[原体①:0, 30, 300, 1000, 3000 ppm(雄0, 1.1, 12.1, 39.0, 111 mg/kg 体重/日、雌0, 1.1, 10.5, 36.8, 114 mg/kg 体重/日に相当)]投与による1年間慢性毒性試験が実施された。

3000 ppmの雌雄で血小板数増加、眼球混濁、水晶体変性、肝クッパー細胞色素沈着、肝細胞肥大、脾造血充進、脾色素沈着増加が、雄で体重増加量の低下、MCH、MCHC減少、WBC増加、血漿中クレアチニンホスホキナーゼ増加が、雌でHb、Ht値減少、血漿中ALP及びγ-GTP増加、眼の癒着、虹彩のう胞、気管扁平上皮化生が認められた。1000 ppm以上投与群の雌雄で血漿中ALP増加が認められた。

本試験における無毒性量は、1000 ppm以上投与群の雌雄でALP増加が認められたことから、雌雄ともに300 ppm(雄:12.1 mg/kg 体重/日、雌:10.5 mg/kg 体重/日)であると考えられた。(参照42、67)

#### (2) 2年間慢性毒性試験(ラット)

Fischerラット(主群:対照群雌雄各40匹、投与群雌雄各20匹、衛星群:対照群雌雄各20匹、投与群雌雄各10匹)を用いた混餌投与による2年間慢性毒性試験が実施された。メトコナゾール[原体①:0, 10, 100, 300, 1000 ppm(雄0, 0.44, 4.29, 13.1, 44.0 mg/kg 体重/日、雌0, 0.52, 5.27, 16.0, 53.8 mg/kg 体重/日に相当)]を飼料1kgあたり5mlのアセトンにより溶解して混餌投与した。各投与群で認められた主な所見を表9に示した。

表9 ラット2年間慢性毒性試験で認められた毒性所見

1000 ppm 投与群雌雄	体重増加抑制、摂餌量減少、血漿中TG減少、脾比重量増加、小葉中心性肝細胞肥大、脾組織球集簇増加
1000 ppm 投与群雄	グルコース・血漿中コレステロール・ビリルビン減少、血漿中蛋白・アルブミン増加、腎比重量増加、肝色素沈着(クッパー細胞性)、肺限局性リンパ球増生、肝細胞小増殖巣(空胞)
1000 ppm 投与群雌	血漿中コレステロール減少、血漿中γ-GTP増加、脳比重量減少、

	肝比重量増加、小葉中心性肝細胞脂肪性大空胞、肝小葉中心性肝細胞脂肪空胞、単球増加
300 ppm 以上投与群雄	肝比重量増加、肝びまん性褪色、肝肥大/斑紋様、中間帯肝細胞脂肪性大空胞
300 ppm 以上投与群雌	平均血小板容積減少、血漿中コレステロール、蛋白及びアルブミン減少

統計学的に有意な腫瘍性病変の発生頻度の増加は認められなかった。

本試験における無毒性量は、300 ppm 以上投与群の雄で肝比重量増加等が、雌でアルブミン減少等が認められたため、雌雄ともに 100 ppm (雄：4.29 mg/kg 体重/日、雌：5.27 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 43、67、69)

### (3) 91 週間発がん性試験 (マウス)

ICR マウス (主群雌雄各 51 匹、衛星群雌雄各 12 匹) を用いた混餌 [原体①をアセトンにより溶解の後混入：0、30、300、1000 ppm (雄 0、4.2、40.3、144 mg/kg 体重/日、雌 0、5.2、52.5、178 mg/kg 体重/日に相当)] 投与による 91 週間発がん性試験が実施された。腫瘍性病変以外では、表 10 の所見が認められた。

表 10 マウスを用いた 91 週間発がん性試験で認められた毒性所見 (腫瘍性病変以外)

1000 ppm 投与群雌雄	体重増加抑制、摂餌量減少、血漿中 TG 減少、肝 (腫大、斑状化、褪色部増加、多発性腫瘍増加)、脾 (萎縮、退色)、肝卵円形細胞過形成増加、胆管増生、肝細胞小増殖巣
1000 ppm 投与群雄	血漿中 AST、ALT 増加、脾実重量減少、肝比重量増加、肝褪色域増加、胸骨骨髓球過形成、大腿骨骨髓球過形成、肝臓洞内細胞数増加/単細胞壊死/色素沈着
1000 ppm 投与群雌	総白血球数増加、腎糸球体腎症、のう胞減少、膀胱白血球集簇増加、肺白血球集簇増加
300 ppm 以上投与群雌雄	血漿中総コレステロール減少、肝細胞空胞化、肝臓肥大、脾萎縮/脾柱・間質明瞭化、副腎皮髄境界部色素沈着
300 ppm 以上投与群雄	総白血球数増加
300 ppm 以上投与群雌	血漿中 AST・ALT 増加、肝比重量増加、肝洞内細胞数増加/単細胞壊死/色素沈着、副腎アミロイド沈着

1000 ppm 投与群の雄に認められた精囊腫大、300 ppm 投与群の雌に認められた脾臓萎縮は、軽微であるか、用量相関性を欠く変化であったため、毒性学的意義はないものと考えられた。

腫瘍性病変では、1000 ppm 投与群の雌雄で肝臓の肝細胞腺腫又は肝細胞癌の発生頻度の増加が認められた。肝細胞腺腫及び肝細胞癌の合計発生頻度で評価した場合、1000 ppm 群の雄及び 300 ppm 以上投与群の雌で、表 11 に示すとおり、統計学的に有意な差が認められた。

表 11 マウス肝細胞腫瘍発生率

性別	雄				雌			
	0	30	300	1000	0	30	300	1000
投与群 (ppm)	0	30	300	1000	0	30	300	1000
検査動物数	62	63	63	62	62	63	63	63
肝細胞腺腫	11	17	16	35**	0	1	4*	50**
肝細胞癌	4	4	7	7	0	1	0	20**
担肝細胞腫瘍動物	13	17	19	38**	0	2	4*	52**

Fisher の直接確率計算法、\*\* :  $p < 0.001$ 、\* :  $p < 0.05$

マウス発がん試験において増加した肝細胞腫瘍の発生に関しては、自然発生性の変異細胞に加え、代謝活性に伴う二次的酸化ストレスにより惹起された細胞壊死、再生を介して出現した変異細胞に有利な環境を提供されたことにより腫瘍発生が促進されたものと解釈された。

本試験における無毒性量は、300 ppm 投与群の雄で総白血球数増加が、雌で肝比重量増加が認められたことから、雌雄とも 30 ppm (雄 : 4.2 mg/kg 体重/日、雌 : 5.2 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 44、67、69)

#### (4) 24 ヶ月間発がん性試験 (ラット)

Fischer ラット (一群雌雄各 50 匹) を用いた混餌 [原体① : 0, 100, 300, 1000 ppm (雄 0, 4.61, 13.8, 46.5 mg/kg 体重/日、雌 0, 5.51, 16.6, 56.2 mg/kg 体重/日に相当)] 投与による 24 ヶ月間発がん性試験が実施された。

腫瘍性病変以外では、表 12 の所見が認められた。

表 12 ラットを用いた発がん性試験で認められた毒性所見 (腫瘍性病変以外)

投与群	所見
1000 ppm 雌雄	体重増加量抑制、摂餌量減少、小赤血球症、肝比重量増加、肝細胞小増殖巣増加 (明細胞)、脾臓組織球集簇増加
1000 ppm 雄	副腎・腎比重量増加、肝細胞小増殖巣増加 (好酸性細胞)、小葉中心性肝細胞空胞化、肝脂肪性空胞巣、精巣限局性間細胞過形成
1000 ppm 雌	脾比重量増加、脾腫大
300 ppm 以上雄	副腎皮質空胞化、小葉中心性肝細胞肥大、肝クッパー細胞色素沈着、腎退色

腫瘍性病変について、顆粒性大リンパ球白血病 (LGL : Large granular lymphocytic) の発生頻度が全動物数を対象とした場合、1000ppm 投与群雌にのみ有意に増加した (表 13)。

しかし、雄の発生頻度に対照群との差がないこと、当該試験実施施設の背景データ (5 ~ 28%) の上限をわずかに上回るのみであること、公表文献における同系統ラットの背景データ (6 ~ 31%) の範囲内にあること、また 2 年間慢性毒性試験の 1000ppm 群雌雄

における本腫瘍あるいは前腫瘍病変の発生頻度の増加が観察されなかったことから、偶発性の変化と判断した。

表 13 LGL 白血病の発生頻度

性別	雄				雌			
	0	100	300	1000	0	100	300	1000
投与群 (ppm)	0	100	300	1000	0	100	300	1000
検査例数	50	50	50	50	50	50	50	50
発生動物数	17	22	21	14	5	8	7	15*P

\*:Willams の多重比較法、 $p < 0.05$ 、

P:Peto 検定、 $p < 0.01$

本試験における無毒性量は、300 ppm 以上投与群の雄で副腎皮質空胞化が、1000 ppm 投与群の雌で脾比重量増加が認められたため、雄で 100 ppm (4.61 mg/kg 体重/日)、雌で 300 ppm (16.6 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 45、46、67)

## 1.2. 生殖発生毒性試験

### (1) 2 世代繁殖試験 (ラット)

SD ラット (一群雌雄各 24 匹) を用いた混餌 (原体④ : 0, 30, 150, 750 ppm : 表 14) 投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

表 14 2 世代繁殖試験 (ラット) 投与量一覧 (mg/kg 体重/日)

投与群		30 ppm	150 ppm	750ppm
P 世代	雄	1.73	8.49	43.2
	雌	2.54	12.9	63.2
F <sub>1</sub> 世代	雄	1.81	9.05	45.7
	雌	2.51	12.7	62.1

表 15 の所見が認められた。

表 15 ラットを用いた 2 世代繁殖試験で認められた毒性所見

		750ppm 投与群	
親動物	P	雌雄	低体重、肝比重量増加、
		雄	小葉中心性肝細胞脂肪増加
		雌	卵巣比重量増加、小葉性肝細胞肥大、発情周期長延長、妊娠期間延長、分娩時死亡・出産率低下
	F <sub>1</sub>	雌雄	低体重、脳実重量減少、腎比重量減少、
		雄	下垂体実重量減少、精囊比重量増加、小葉中心性肝細胞脂肪増加
		雌	肝比重量増加、卵巣比重量増加、小葉性肝細胞肥大、脾うっ血増加、分娩時死亡・出産率低下
児	F <sub>1</sub>	雌雄	脾比重量増加

動物		雄	-
		雌	-
	F <sub>2</sub>	雌雄	死産児数増加、生存児体重減少
		雄	-
		雌	脾比重量増加

本試験における無毒性量は、親動物では750 ppm 投与群の雌雄で低体重が、児動物ではF<sub>1</sub>雌雄で脾比重量増加が、F<sub>2</sub>雌雄で生存児体重減少等が認められたため、親動物、児動物ともに雌雄で150ppm (P雄: 8.49mg/kg 体重/日、P雌: 12.9 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub>雄: 9.05 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub>雌: 12.7 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照47)

### (2) 発生毒性試験 (ラット)

SD ラット (一群雌 22 匹) の妊娠 6-19 日の 14 日間にメトコナゾール (原体④、1% メチルセルロース溶液に懸濁: 0, 1, 4, 16, 64 mg/kg 体重/日) を強制経口投与して発生毒性試験が実施された。

母動物では 64 mg/kg 体重/日投与群で摂餌量減少、体重増加抑制、補正体重減少、妊娠子宮重量減少、着床後胚死亡率増加、吸収胚数増加、生存胎児数減少、同腹児重量減少、低胎児体重が認められた。16 mg/kg 体重/日以上投与群で胎盤重量増加が認められた。

胎児では 64mg/kg 投与群で、心室中隔膜性部の極めて狭小な穿孔、肋骨変異及び、胸骨分節不完全骨化の発生頻度の増加が認められた。

16 mg/kg 体重/日投与群で認められた胎盤重量の増加は、対照群との比較で5%増とわずかであり、剖検時の肉眼所見及び他の検査項目の異常が検出されなかったため、有害影響とは判断されなかった。

本試験における無毒性量は、64 mg/kg 体重/日投与群の母動物で生存胎児数減少が、胎児で肋骨変異等が認められたため、母動物及び胎児で 16mg/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 48)

### (3) 発生毒性試験 (ウサギ) ①

ニュージーランド白色ウサギ (一群雌 25 匹) の妊娠 6~28 日の 23 日間にメトコナゾール (原体⑤、0.5%カルボキシメチルセルロース溶液に懸濁: 0, 5, 10, 20, 40 mg/kg 体重/日) を強制経口投与して発生毒性試験が実施された。

母動物では 40 mg/kg 体重/日投与群で体重増加抑制、Hb、Ht 及び MCV 減少、血小板数増加、血清中 ALP 増加が認められた。胎児では 40 mg/kg 体重/日投与群で死亡・吸収胚率増加が認められた。

本試験における無毒性量は、40 mg/kg 体重/日投与群の母動物で体重増加抑制等が、胎児で死亡・吸収胚率増加が認められたため、母動物及び胎児で 20 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 49)



#### (4) 発生毒性試験 (ウサギ) ②

ニュージーランド白色ウサギ (一群雌 6 匹) の妊娠 7~19 日の 13 日にメトコナゾール (原体⑥、⑦ : 0, 10, 28, 80 mg/kg 体重/日、⑧ : 0, 10, 20, 40 mg/kg 体重/日、1%メチルセルロース溶液に懸濁) を強制経口投与して発生毒性予備試験が実施された。

##### 1) 原体⑥

母動物では 80 mg/kg 体重/日投与群で体重減少、食欲不振、排糞減少が、28 mg/kg 体重/日以上投与群で耳介温度低下が観察された。胎児では 80 mg/kg 体重/日投与群で流産増加、同腹児総体重及び平均胎児体重の低値、28 mg/kg 体重/日投与群で同腹児数減少、胚・胎児死亡が認められた。

##### 2) 原体⑦

母動物では 80 mg/kg 体重/日投与群で体重減少、食欲不振、排糞減少が、28 mg/kg 体重/日以上投与群で耳介温度低下が観察された。胎児では 80 mg/kg 体重/日投与群で胚吸収、流産、同腹児数減少、同腹児総体重の低値が認められた。

##### 3) 原体⑧

母動物、胎児ともに、投与に関連した毒性所見は観察されなかった。

本試験における無毒性量は、28 mg/kg 体重/日投与群の母動物で体重増加抑制等が、胎児で死亡・吸収胚率増加等が認められたため、母動物及び胎児で 10 mg/kg 体重/日であると考えられた。催奇形性は認められなかった。(参照 50)

#### (5) 発生毒性試験 (ウサギ) ③

ニュージーランド白色ウサギ (一群雌 16~17 匹) の妊娠 7~19 日の 13 日にメトコナゾール (原体⑨ : 0, 4, 10, 25, 62.5 mg/kg 体重/日、1%メチルセルロース溶液に懸濁) を強制経口投与して発生毒性試験が実施された。

母動物では、62.5 mg/kg 体重/日投与群で体重減少、生存胎児数減少、胚死亡合計数増加、同腹児総体重低下、耳介温度低下、25 mg/kg 体重/日以上投与群で摂餌量減少が観察された。胎児では、62.5 mg/kg 体重/日投与群で骨格異常増加が明瞭に観察されたほか、25 mg/kg 体重/日以上投与群で後期胚死亡及び着床後胚死亡率増加が認められたほか、同群では 2 例の胎児に無肢症/奇肢症、4 例に水頭症が認められた。

本試験における無毒性量は、25 mg/kg 体重/日投与群の母動物で摂餌量減少が、胎児で着床後胚死亡率増加等が認められたため、母動物及び胎児で 10 mg/kg 体重/日であると考えられた。催奇形性は認められなかった。(参照 51)

#### (6) 発生毒性試験 (ウサギ) ④

ニュージーランド白色ウサギ (一群雌 16 匹) の妊娠 7~19 日の 13 日にメトコナゾール (原体⑩ : 0, 2, 4, 10, 40 mg/kg 体重/日、1%メチルセルロース溶液に懸濁) を強制経口投与して発生毒性試験が実施された。

母動物では、40 mg/kg 体重/日投与群で耳介温度低下、着床後胚死亡率増加、生存胎児数減少、同腹児総体重減少、胎児平均体重減少が、10 mg/kg 体重/日以上投与群で摂餌量減少、体重増加量抑制、黄体数及び着床数増加が観察された。胎児では、40 mg/kg 体重/日投与群で過剰胸/腰椎、肝臓異常増加が、10 mg/kg 体重/日以上投与群で水頭症の

増加が認められた。

本試験における無毒性量は、10 mg/kg 体重/日投与群の母動物で体重増加抑制等が、胎児で偶発性奇形（水頭症等）の増加が認められたため、母動物及び胎児で4 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 52）

### （7）発生毒性試験（ウサギ）⑤

ニュージーランド白色ウサギ（一群雌 18～19 匹）の妊娠 7～19 日の 13 日にメトコナゾール（原体⑥）：0, 0.5, 1, 2, 10, 40 mg/kg 体重/日、1%メチルセルロース溶液に懸濁）を強制経口投与して発生毒性試験が実施された。

母動物では、40 mg/kg 体重/日投与群で摂餌量減少、体重減少、着床後胚死亡率増加、生存胎児数減少、同腹児総体重減少、平均胎児体重減少が認められた。胎児では、40 mg/kg 体重/日投与群で水頭症増加、肢/指低形成、前肢湾曲/後肢回転異常、頬骨上顎骨結合異常、頸部椎骨成分不整骨化が観察された。

本試験における無毒性量は、40 mg/kg 体重/日投与群の母動物で体重減少等が、胎児で頬骨上顎骨結合異常等が認められたため、母動物及び胎児で10 mg/kg 体重/日であると考えられた。催奇形性は認められなかった。（参照 53）

## 1.3. 遺伝毒性試験

メトコナゾール（原体①）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（CHO）を用いた *in vitro* 染色体異常試験及びメトコナゾール（原体②）のラット肝初代培養肝細胞を用いた *in vivo/in vitro* 不定期 DNA 合成試験、マウスを用いた小核試験が実施されている。チャイニーズハムスターCHO 培養細胞において S9mix 存在下で弱い染色体の構造異常誘発性が認められたが、細菌を用いる復帰突然変異試験、小核試験を含め、その他の試験はすべて陰性であった。（表 16）

ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験での陽性結果は最高用量のみでわずかな上昇を認めたものであり、また、一段階低い用量では陰性対照との差は無くなっており、毒性学的な意義が疑われる程度のものである。さらに、同じ指標を *in vivo* で試験するげっ歯類を用いる小核試験においては、ガイドラインで規定されている最高用量(2000 mg/kg)まで試験がなされており、陰性の結果が得られている。さらに、ラットの肝臓を用い、遺伝毒性の初期過程である DNA 損傷性を検討する不定期 DNA 合成試験においても限界用量まで試験されており陰性の結果であった。以上を総合的に判断すると、生体において特に問題となるような遺伝毒性はないものと考えられた。（参照 54～57、71）

表 16 遺伝毒性試験結果概要（原体）

試験		対象	用量	結果
<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験 (+/-S9) (参照 54)	<i>Styphimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538 株 <i>E.coli</i> WP2uvr-4/pKM101 株	31.25～5000 ( $\mu$ g/プレート)	陰性

	染色体異常試験 (+/-S9) (参照 55)	チャイニーズハムスター卵巣 細胞 (CHO)	-S9mix : 1.56~5.0 +S9mix : 6.25~35.0 ( $\mu$ g/プレート)	陽性 (+S9)
<i>in vivo</i> <i>in vitro</i>	不定期 DNA 合成 試験 (参照 56)	SD ラット一群雄 3 匹(肝細胞)	400, 1000, 2000 (mg/kg 体重、単回経 口投与)	陰性
<i>in vivo</i>	小核試験 (参照 57)	CD1 マウス雌雄各 5 匹	400, 1000, 2000 (mg/kg 体重、単回経 口投与)	陰性

メトコナゾールの代謝物 M1、M12、M34、M35 の細菌を用いた復帰突然変異試験は、すべて陰性であった。(表 17) (参照 58~61、71)

表 17 遺伝毒性試験結果概要 (代謝物)

被験物質	試験	対象	用量 ( $\mu$ g/プレート)	結果
代謝物 M1 (参照 58)	復帰突然 変異試験 (+/-S9)	<i>S.typhimurium</i> TA100, TA98, TA1535, TA1537 株 <i>E.coli</i> WP2uvrA 株	15~5000	陰性
代謝物 M12 (参照 59)			15~5000	陰性
代謝物 M34 (参照 60)			15~5000	陰性
代謝物 M35 (参照 61)			156~5000	陰性

注) +/-S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下、+S9 存在下

#### 14. その他の毒性試験

##### (1) 急性毒性試験 (ラット・異性体間比較)

メトコナゾール(*cis* 96.9%、*trans*<0.1% (以下「*cis* (ラセミ体)」という))、メトコナゾール (*cis* 0.3%、*trans* 99.7% (以下「*trans*(ラセミ体)」という)) 及びメトコナゾール ((-) *cis* 91% (以下「(-) *cis*」という)) をそれぞれ 300, 600, 900 mg/kg 体重の用量でコーン油に懸濁し Fischer ラット (一群雄 3 匹) に経口投与し急性毒性試験が実施された。死亡例の認められなかった最高投与量が、*trans* (ラセミ体) で 300 mg/kg 体重、*cis* (ラセミ体) で 600 mg/kg 体重及び (-) *cis* で 900mg/kg 体重の順であったことから、3種の被験物質の急性経口毒性は毒性の強い順に、*trans* (ラセミ体) > *cis* (ラセミ体) > *cis* (-) とランク付けされた。(参照 62)

##### (2) 13 週間亜急性眼毒性試験 (カニクイザル)

カニクイザル (一群雌 3 匹) を用いた経鼻胃内 (原体④ : 25mg/kg 体重/日) 投与による 13 週間眼毒性試験が実施された。

全例に被験物質投与に起因すると考えられる変化は見られなかった。(参照 63)

##### (3) ラットの妊娠後期における血清中ステロイドホルモン濃度及び肝薬物代謝酵素含量の