

抱合体は検出されなかった。(参照 2)

表 4 糞、尿及び胆汁中における代謝物 (%TAR)

投与条件	性別	部位	スピロメシフェン	代謝物
低用量・ 単回経口	雄	糞	40.7	M1(2.3)
		尿	-	M2(8.9),M3(5.3),M7(4.8),M1(4.2), M4(3.6),M6(2.8),M5(2.0)
		胆汁	-	M2(0.7),M4(0.6),M3(0.4),M7(0.4), M1(0.2),M5(0.2),M6(0.1)
	雌	糞	34.3	M1(2.1)
		尿	-	M1(9.1),M2(6.5),M3(5.2),M6(4.4), M7(3.6),M4(2.7),M5(2.5)
		胆汁	-	-
低用量・ 反復経口	雄	糞	33.5	M1(1.8)
		尿	-	M2(10.8),M4(6.6),M5/M7(5.5),M3(5.4),M6(3.1), M1(2.5)
	雌	糞	37.6	M1(2.8)
		尿	-	M1(8.1),M2(5.5),M5/M7(5.3),M3(3.8),M6(3.6), M4(2.8)
高用量・ 単回経口	雄	糞	80.8	M1(3.8)
		尿	-	M2(2.6),M4(1.9),M1(1.3),M3(0.9),M7(0.7), M5(0.2),M6(0.2)
	雌	糞	73.4	M1(5.7)
		尿	-	M1(2.5),M4(1.2),M2(1.0),M6(0.5),M3(0.4), M5(0.2),M6(0.1)

- : 検出されず

※低用量単回投与試験の尿は投与後 24 時間の合計、高用量単回投与試験の糞は投与後 6~24 時間の合計、他は投与後 0~24 時間の合計

(2) 定量的全身オートラジオグラフィ (ラット)

Wistar ラットに dhy-¹⁴C-スピロメシフェンを単回経口投与 (雄 1.84 mg/kg 体重、雌 1.41 mg/kg 体重 : 一群雌雄各 7 匹) して、全身オートラジオグラフィが実施された。

投与後 72 時間で放射能は尿及び糞を經由してほとんど完全に排泄された。大部分の組織及び臓器で投与 1 時間後に最大濃度が検出され、全ての組織及び臓器中における放射能濃度は投与 1 時間後から 72 時間後にかけて顕著に減少した。いずれの時間でも肝、腎及び褐色脂肪の放射能濃度は血液中の放射能濃度より高かったが、ホルモン制御を司る腺臓器及び副腎、精巣、子宮あるいは甲状腺等の組織で強い黒化は認められなかった。

本試験の結果より、スピロメシフェン及びその代謝物はラットの組織及び臓器に蓄積しないと考えられた。(参照 3)

(3) 排泄物、臓器及び組織における残留放射能の測定及び代謝物の分析 (ラット)

Wistar ラットに dhy-¹⁴C-スピロメシフェンを単回経口投与 (2 mg/kg 体重: 一群雌雄各 4 匹) して、尿、腎臓、肝臓等における残留放射能の測定及び代謝物の分析が実施された。

組織分布は表 5 に示されている。投与 1.5 時間後の雄及び雌ラットでは、それぞれ 32.3 及び 14.4% TAR が胃腸管を除く臓器及び組織で検出され、それぞれ 40.2 及び 61.0% TAR が胃腸管及び糞中で、それぞれ 28.3 及び 13.7% TAR が尿中で検出された。投与 24 時間後には、胃腸管を除く体内における残留量は雄及び雌で 6.34 及び 1.48% TAR まで減少し、一方、尿に排泄された残留量の割合は 57.9 及び 48.2% TAR まで増加した。雌ラットの吸収率は雄ラットより低い、その一方で分布は速やかであることが示唆された。

糞を含む胃腸管を除き、放射能濃度の最高値は投与 1.5 時間後の肝臓で検出された (雄: 8.62 µg/g (16.4% TAR)、雌: 3.10 µg/g (5.13% TAR))。

表 5 主要組織及び臓器の残留放射能濃度 (µg/g)

投与条件	性別	投与 1.5 時間後	投与 24 時間後
低用量・ 単回経口	雄	胃腸管+糞(9.39), 肝臓(8.62), 腎臓(2.43), 血漿(1.76), その他(0.7 未満)	胃腸管+糞(5.91), 肝臓(1.71), その他(0.4 未満)
	雌	胃腸管+糞(13.9), 肝臓(3.10), 腎臓(1.56), 血漿(1.05), その他(0.5 未満)	胃腸管+糞(7.23), その他(0.01 未満)

スピロメシフェンの主要臓器及び尿中における代謝物は表 6 に示されている。(参照 4)

表 6 主要臓器及び尿中における代謝物 (%TAR)

投与条件	性別	部位	スピロメシフェン	代謝物 1)
低用量・ 単回経口	雄	尿	-	M2(16.5), M7(11.4), M4(8.7), M3(7.2), M6(5.3), M1(1.6), その他(0.3 以下)
		血漿	-	M1(0.80), M3(0.17), M2(0.14), M4(0.11), その他(0.03 以下)
		肝臓	-	M1(9.44), M2(4.10), M3(0.67), M4(0.41), M7(0.33), その他(0.2 以下)
		腎臓	-	M1(0.29), M2(0.29), M3C(0.10), その他(0.07 以下)
	雌	尿	-	M1(12.8), M7(10.2), M2(7.1), M3(5.4), M6(5.4), M4(3.2), その他(0.2 以下)
		血漿	-	M1(0.20), M3(0.17), その他(0.1 以下)
		肝臓	≤0.1	M1(2.75), M3(0.51), M7(0.41), M2(0.37), M4(0.22), その他(0.2 以下)
		腎臓	≤0.1	M7(0.12), M1(0.10), その他(0.07 以下)

- : 検出されず

1) : 尿については投与後 24 時間、血漿、肝臓及び腎臓については投与後 1.5 時間の測定値。

2. 植物体内運命試験

(1) トマト

dhy-¹⁴C-スピロメシフェンを収穫前 31 及び 7 日のトマト (品種 : Moneymaker) に 2 回散布 (409 g ai/ha) し、最終散布 7 日後にトマト果実 (成熟及び未成熟) 及び葉を採取してトマトにおける植物体内運命試験と移行性試験が実施された。

収穫時の成熟果実中の総残留放射能 (TRR) は 0.844 mg/kg であり、表面洗浄液及び抽出液中放射能がそれぞれ 79.3%TRR (0.669 mg/kg) 及び 16.9%TRR (0.143 mg/kg) であった。未抽出残渣中放射能は 3.8%TRR (0.032 mg/kg) であった。収穫時に採取した未成熟果実中の総残留放射能は 0.496 mg/kg であり、表面洗浄液と抽出液中放射能がそれぞれ 73.5%TRR (0.365 mg/kg) 及び 24.7%TRR (0.123 mg/kg)、未抽出残渣中放射能は 1.8%TRR (0.032 mg/kg) であった。

また、散布中に薬液がかからないように防護した果実中の残留放射能は 0.021 mg/kg であり、移行はごく僅かであると考えられた。

成熟果実の表面洗浄液中に認められた主要成分は親化合物 (77.3%TRR ; 0.652 mg/kg) であった。抽出液中からは、親化合物 (9.0%TRR ; 0.076 mg/kg) 及び 4-ヒドロキシメチル体のグルコシドである代謝物 M9 (5.4%TRR ; 0.046 mg/kg) が検出された他、エノール体 (代謝物 M1) 及び 4-ヒドロキシメチル体 (代謝物 M2) もそれぞれ 0.7%TRR (0.006 mg/kg) 及び 0.5%TRR (0.004 mg/kg) 検出された。未成熟果実においても成熟果実と同様の分布を示した。有効成分の大部分は果実中に浸透しないことが示唆された。

スピロメシフェンのトマトにおける代謝経路は、エステルの開裂によるエノール体 (代謝物 M1) の生成、続いてエノール体 (代謝物 M1) のベンゼン環のパラ位のメチル基の水酸化による 4-ヒドロキシメチル体 (代謝物 M2) の生成、さらに抱合化による 4-ヒドロキシメチル-グルコシド (代謝物 M9) の生成と考えられた。(参照 5)

(2) りんご

dhy-¹⁴C-スピロメシフェンをりんご (品種不明) 果実の成熟始期に 1 回散布 (1050 g ai/ha) し、りんご果実の成熟期に相当する処理 7 日後にりんご果実及び葉を採取してりんごにおける植物体内運命試験が実施された。

りんご果実における総残留放射能は、0.723 mg/kg であった。大部分 (96.8%TRR ; 0.700 mg/kg) の放射能が表面洗浄液に認められ、残りの放射能 (3.0%TRR ; 0.022 mg/kg) が果実から抽出された。表面洗浄液からは親化合物のみが同定された。りんご果実中には親化合物 (97.4%TRR ; 0.704 mg/kg)、代謝物 M2 (1.7%TRR ; 0.012 mg/kg)、代謝物 M9 (0.2%TRR ; 0.001 mg/kg)、代謝物 M1 (0.1%TRR ; 0.001 mg/kg) が同定された。

りんごの葉における総残留放射能は、26.6 mg/kg であった。親化合物が主要残留物 (91.4%TRR ; 24.3 mg/kg) で、代謝物 M1、M9 及び M2 も少量 (3%TRR 未満) 認

められた。

スピロメシフェンのりんごにおける代謝は、果実及び葉のいずれでも類似しており、トマトで認められた代謝物がりんごにおいても検出された。スピロメシフェンのりんごにおける代謝経路は、エステルの開裂によるエノール体（代謝物 M1）の生成、続いて代謝物 M1 のベンゼン環のパラ位のメチル基の水酸化による 4-ヒドロキシメチル体（代謝物 M2）の生成、さらに抱合化による 4-ヒドロキシメチル-グルコシド（代謝物 M9）の生成と考えられた。（参照 6）

(3) レタス

dhy-¹⁴C-スピロメシフェンを播種 26 日後及び収穫 7 日前のレタス（品種：ヴェガス）に、標準施用量（400 g ai/ha）及び標準施用量の 0.75 倍または 1.25 倍で 2 回散布処理し、最終処理後 7 日に採取してレタスにおける植物体内運命試験が実施された。

標準施用量で最終処理 7 日後のレタスの総残留放射能は 0.411 mg/kg であり、そのうち 98.6% TRR (0.405 mg/kg) が抽出物中に存在し、未抽出残渣中放射能は 1.4% TRR (0.006 mg/kg) であった。

レタス抽出液の主要成分は親化合物で 57.6% TRR (0.237 mg/kg) であり、エノール体（代謝物 M1）が 1.5% TRR (0.006 mg/kg) 検出された。HPLC 分析で認められた画分から代謝物 M8（ジヒドロキシエノール）、M9、M2、M4（3-ペンタノール）等が同定された（代謝物 M8: 6.2% TRR (0.025 mg/kg)、M9: 13% TRR (0.053 mg/kg)、M2: 2.8% TRR (0.012 mg/kg)、M4: 2.1% TRR (0.009 mg/kg)）。

標準施用量の 0.75 倍及び 1.25 倍で施用したレタスにおける残留成分の分布は標準施用量での残留成分の分布と類似し、親化合物が 65.8~69.1% TRR を占めた。9% TRR に達した代謝物は代謝物 M9 のみであった。

スピロメシフェンのレタスにおける主要な代謝経路は、エステルの開裂によるエノール体（代謝物 M1）の生成、続いて代謝物 M1 のベンゼン環のパラ位のメチル基の水酸化による 4-ヒドロキシメチル体（代謝物 M2）の生成、さらに抱合化による 4-ヒドロキシメチル-グルコシド（代謝物 M9）の生成と考えられた。（参照 7）

(4) ワタ

dhy-¹⁴C-スピロメシフェンをワタ（品種：Acala Maxxa）に、標準施用量の約 1.5 倍量（303 g ai/ha）をフロアブル製剤として 7 日間隔で 3 回散布し、最終処理後 21 日の成熟期に「開花した綿花」、「開花していない綿花」、「茎葉及びがく」を採取して、ワタにおける植物体内運命試験が実施された。

種子における総残留放射能は 0.051 mg/kg であった。薬液がかからないように防護した綿花から採取した種子から 0.0046 mg/kg を検出したが、移行性は少ないことが示唆された。

「茎葉及びがく」における総残留放射能は 6.33 mg/kg であった。アセトニトリルにより 92.2% TRR (5.84 mg/kg) が抽出され、7.8% TRR (0.49 mg/kg) が未抽出であった。さらに、未抽出残留物をセルラーゼ、ペロナーゼ及びβ-グルコシダーゼ処理後に酸及びアルカリにて加熱還流抽出を行ったところ、アルカリ条件での還流抽出で最も

多くの放射能が抽出され（参考：2M 水酸化ナトリウムの加熱還流抽出で 7.3%TRR (0.46 mg/kg)が抽出された。酵素類の処理では抽出効率の改善はなかった）、アセトニトリル抽出物と併せると 99.5%TRR (6.30 mg/kg) が回収された。

種子の抽出液から親化合物 (0.029 mg/kg、56.2%TRR) とエノール体である代謝物 M1 (0.019 mg/kg、38%TRR) が同定された。「茎及びがく」の抽出液からは親化合物が 26.3%TRR、代謝物 M1 が 49.4%TRR、M2 が 6.9%TRR、M8 が 3.6%TRR、その他代謝物 M4、M9、M6 (4-ヒドロキシメチル-3-ペンタノール) が 1%TRR 以下検出された。抽出残渣の 2M 水酸化ナトリウムの加熱還流抽出液からは、7.3%TRR (0.46 mg/kg) の放射能が遊離した。このうち、代謝物 M1 が 3.8%TRR (0.24 mg/kg) 検出されたほか、未同定の代謝物が 0.7~1.5%TRR 検出された。親化合物は 0.3%TRR 未満であったが、代謝物 M1 はアルカリ条件下で加水分解された可能性があると考えられた。

スピロメシフェンのワタにおける代謝経路は、エステルの開裂によるエノール体 (代謝物 M1) の生成、続いて代謝物 M1 のベンゼン環のパラ位のメチル基の水酸化による 4-ヒドロキシメチル体 (代謝物 M2) の生成、さらに抱合化による 4-ヒドロキシメチル-グルコシド (代謝物 M9) の生成と考えられた。その他、代謝物 M4、M6 及び M8 も生成すると考えられた。(参照 8)

3. 土壌中運命試験

(1) 好氣的土壌 (dhy-¹⁴C-スピロメシフェン)

dhy-¹⁴C-スピロメシフェンをシルト質堆積土 (Claude 土壌：米国)、砂壤土 (Fresno 土壌：米国)、シルト (Hoefchen 土壌：ドイツ)、砂壤土 (Laacherhof 土壌：ドイツ) に乾土あたり 0.32 mg/kg 添加し、20°C の暗条件で 120 日間 (Claude 土壌及び Fresno 土壌については 365 日間) インキュベートし、スピロメシフェンの好氣的土壌中運命試験が実施された。

抽出性放射能はいずれの土壌でも経時的に減少し、それに伴い結合性残留物及び揮発性物質が増加した。結合性残留物は、いずれの土壌でも処理 30~120 日後には最大に達したが、25%TAR を超えることはなく、その後、減少し CO₂ の発生量が増加したことから結合性残留物も無機化を受けることが推定された。CO₂ は経時的に増加し、試験終了時には約 70%TAR に達した。

4 種類の土壌におけるスピロメシフェンの残存量は 120 または 365 日の試験終了時点で 1%以下に減少した。スピロメシフェンの半減期は 2.9~17.9 日であった。スピロメシフェンはエノール体 (分解物 M1) に速やかに分解された。分解物 M1 の最大値は、Claude 土壌及び Fresno 土壌では処理 14 日後にそれぞれ 32 及び 28%TAR、Hoefchen 土壌及び Laacherhof 土壌では、処理 7 日後にそれぞれ 49 及び 58%TAR であり、いずれの土壌においても、実験終了時までには、2%TAR 以下に減少した。分解物 M3 の最大値は、Claude 土壌では処理 30 日後に 7.5%TAR、Fresno 土壌では 14 日後に 2.8%TAR であった。Hoefchen 及び Laacherhof 土壌では、それぞれ処理 14 日後に 10.6%TAR、処理 30 日後に 11.4%TAR であり、その後減少した。分解物 M5 については、Claude 土壌及び Fresno 土壌で、処理 30 日後にそれぞれ 7 及び

4%TAR に増加し、Hoefchen 土壌及び Laacherhof 土壌では、試験期間を通じて 2%TAR 未満であった。50 倍過剰量で処理した Claude 土壌からは、分解物 M10 及びその加水分解物である分解物 M11 が同定された。

スピロメシフェンの好氣的土壌における代謝経路は、エステルの開裂による分解物 M1 の生成、分解物 M1 の 4-メチルフェニル部分あるいはシクロペンチル環の水酸化及び酸化による 4-カルボン酸体（分解物 M3）あるいはペンタノン（分解物 M5）の生成、また、カルボキシペンチルエステル（分解物 M10）及びその加水分解物グリオキシル酸体（分解物 M11）を経て、最終的に CO₂ まで完全に無機化される経路と考えられた。（参照 9）

(2) 好氣的土壌 (phe-¹⁴C-スピロメシフェン)

phe-¹⁴C-スピロメシフェンを砂壤土 (Fresno 土壌：米国) に乾土あたり 0.4 mg/kg (900 g ai/ha に相当) となるように添加し、20°C の暗条件下で 120 日間インキュベートし、スピロメシフェンの好氣的土壌運命試験が実施された。

水及びアセトニトリルで抽出された放射エネルギーは、経時的に減少し、それに伴い結合性残留物（処理後 0 及び 120 日でそれぞれ 5.8 及び 20.5%TAR）及び CO₂（処理 120 日後には約 30%TAR）が増加した。

スピロメシフェンは速やかに分解され、分解物 M1 は処理 7 日後に 77.1%TAR まで増加した後、処理 120 日後には 22%TAR まで減少した。分解物 M3 は処理 3 日後に増加し始め、90 日後に 11.3%TAR に達し、試験終了時で 11.1%TAR であった。分解物 M5 は処理 3 日後から認められ、62 日後に 5.1%TAR まで増加し、試験終了時には 4.6%TAR に減少した。

スピロメシフェンの半減期及び 90%消失期間はそれぞれ 2.6 及び 8.6 日であった。

スピロメシフェンの好氣的土壌における代謝経路は、エステルの開裂による分解物 M1 の生成、分解物 M1 の 4-メチルフェニル部分あるいはシクロペンチル環の水酸化及び酸化による 4-カルボン酸体（分解物 M3）あるいはペンタノン（分解物 M5）の生成、最終的に CO₂ まで完全に無機化されると考えられた。（参照 10）

(3) 好氣的土壌 (cyc-¹⁴C-スピロメシフェン)

cyc-¹⁴C-スピロメシフェンを砂壤土 (Fresno 土壌：米国) に乾土あたり 0.401 mg/kg の濃度(900 g ai/ha に相当)で 20°C の暗条件下で 90 日間インキュベートし、スピロメシフェンの好氣的土壌中運命試験が実施された。

水及びアセトニトリルで抽出された放射エネルギーは処理当日の 99.1%TAR から経時的に減少し、試験終了時点で 67.2%TAR に減少した。結合性残留物及び CO₂ は経時的に増加し、それぞれ処理 90 日後に 13.9%TAR 及び試験終了時に 14.3%TAR であった。

スピロメシフェンは速やかに分解され、分解物 M1 は処理 30 日後に 82.2%TAR まで増加した後、処理 90 日後には 45.3%TAR まで減少した。分解物 M3 は経時的に増加し、90 日後に 14.1%TAR に達した。分解物 M5 及び M12 (2-ヒドロキシメチル体) を含むそのほかの分解物の量は 5%TAR 未満であった。

スピロメシフェンの半減期は 3.8 日と考えられた。

スピロメシフェンの好氣的土壤における代謝経路は、エステルの開裂による分解物 M1 の生成、分解物 M1 の 4-メチルフェニル部分あるいはシクロペンチル環の水酸化及び酸化による 4-カルボン酸体（分解物 M3）あるいはペンタノン（分解物 M5）の生成、最終的に CO₂ まで完全に無機化される経路と考えられた。（参照 11）

（4）土壤表面光分解

dhy-¹⁴C-スピロメシフェンを砂壤土（Fresno 土壤：米国）に乾土あたり 2 μg/g となるように加えた後、20±1°C でフィルター付のキセノンランプ（680W/m²、測定波長：300-800nm）を 10 日間連続照射し、スピロメシフェンの土壤表面光分解試験が実施された。なお、土壤中の微生物活性を維持するために土壤の水分含量を 1/3 バール含水量の 75% に維持した。

スピロメシフェンは光照射により、処理 0 日の 98.9% TAR から処理 10 日後には 72.9% TAR まで減少した。分解物 M1 は 10 日後に 11.6% TAR まで増加した。その他に主要分解物は認められなかった。結合性残留物は処理 10 日後に最大で 7.4% TAR に達した。

暗対照試料において、スピロメシフェンは処理 10 日後には 73.9% TAR まで減少した。分解物 M1 が検出された唯一の分解物で、処理 10 日後には 24.1% TAR まで増加した。

半減期は、照射及び暗条件ともに 23.1 日（外部環境下では 5.8 日に相当）と考えられ、スピロメシフェンの土壤での分解に光は寄与しないことが示唆された。

スピロメシフェンの土壤における分解経路は、分解物 M1 への変換であり、その他の分解は認められなかった。（参照 12）

（5）土壤吸着試験

dhy-¹⁴C-スピロメシフェン（4 種類の土壤 [砂壤土（青森）、砂壤土（埼玉）、砂壤土（茨城）及びシルト質砂土（Lufa Speyer 土壤：ドイツ）] 使用）、分解物 M1（4 種類の土壤 [砂壤土（岡山）、砂土（宮崎）、壤土（茨城）及びシルト（埼玉）] 使用）の土壤吸着試験が実施された。吸着係数 K_{ads} はスピロメシフェンで 175~7220、分解物 M1 で 0.0228~0.535 であった。有機炭素含有率により補正した吸着係数 K_{oc} はスピロメシフェンで 5050~179000、分解物 M1 で 0.527~31.8 であった。（参照 13、14）

4. 水中運命試験

（1）加水分解試験（滅菌緩衝液）

dhy-¹⁴C-スピロメシフェンを pH4（酢酸緩衝液）、7（Tris 緩衝液）及び 9（ホウ酸緩衝液）の各滅菌緩衝液に 0.065 mg/L となるように加えた後、暗条件、25 及び 50°C で 30 日間インキュベートし、スピロメシフェンの加水分解試験が実施された。

50°C における試験では、スピロメシフェンは pH4 緩衝液中で 6 日後に 15.1% TAR にまで減少し、pH7 及び 9 ではそれぞれ 3 日後に 30.5% TAR 及び定量限界以下に減少した。

25℃における試験では、スピロメシフェンは処理 30 日後に pH4、7 及び 9 では 71.0% TAR、42.9% TAR 及び定量限界以下に減少した。

スピロメシフェンの半減期は pH 及び温度の上昇とともに減少した。pH4、7、9 での半減期は 50℃でそれぞれ 2.2 日、1.7 日及び 2.6 時間、25℃では 53.3、24.8 及び 4.3 日、20℃ではそれぞれ 107、44.7 及び 4.8 日であった。

加水分解での主要分解物は分解物 M1 (エノール体) であった。分解物 M1 は、50℃では pH4、7 及び 9 で処理 3 日後に 54.9、68.3 及び 96.8% TAR に達した。25℃では、処理 30 日後にそれぞれ 27.5、54.3 及び 95.7% TAR に達した。その他少量の分解物が検出されたが、いずれの温度、pH でも 3% TAR を超える成分は認められなかった。

(参照 15)

(2) 水中光分解試験 (自然水/dhy-¹⁴C-スピロメシフェン)

dhy-¹⁴C-スピロメシフェンを自然水 (ライン川; ドイツマンハイム、pH7.6) に 0.06 mg/L となるように加えた後、25±1℃でキセノンランプ (914 W/m²、測定波長: 300-800 nm) を 8 日間連続照射し、スピロメシフェンの自然水での水中光分解試験が実施された。

光照射によりスピロメシフェンは分解し半減期は 1.8 日 (東京の 4~6 月の太陽光換算で約 17 日) であった。8 日間の照射により 2.6% TAR の揮発性成分、0.3% TAR の CO₂ が発生し、溶液中では分解物 M1 が試験開始 1 日後に最大 26.9% TAR に達し、試験終了時点で 11.4% TAR まで減少した。それ以外に 10% TAR を超える分解物は認められなかった。このほか、光照射区では分解物 M12 が 3 日後に最大値 8.8% TAR に達し、8 日後に 7.2% TAR が検出された。このほか分解物 M13 (8 日後に最大値 5.6% TAR) および分解物 M14 (3 日後に最大値 4.6% TAR) が検出された。照射試料において、スピロメシフェンは処理 0 時間で既に 95.5% TAR であり、分解物 M1 が 4.1% TAR 生成していた。処理 6 日後には、スピロメシフェンは 5% TAR 未満になり、以後、処理 8 日後まで 3.7~4.9% TAR であった。

暗対照区の処理 8 日後におけるスピロメシフェンの残存量は 27.3% TAR で、一方、分解物 M1 は約 70% TAR に達した。

自然水における水中光分解により、スピロメシフェンは分解物 M13 (シクロブチル光異性体) 及び M14 (エノール光異性体) に直接光分解した。また、スピロメシフェンの加水分解により、分解物 M1 (エノール体) が生成、続いて分解物 M12 (2-ヒドロキシメチル体) が生成した。また少量の CO₂ も生成した。(参照 16)

(3) 水中光分解試験 (自然水/phe-及び cyc-¹⁴C-スピロメシフェン)

phe-及び cyc-¹⁴C-スピロメシフェンを自然水 (ライン川; ドイツマンハイム、pH7.9) に 0.06 mg/L となるように加えた後、25±1℃でキセノンランプ (949W/m²、測定波長: 300-800nm) を 96 時間連続照射し、スピロメシフェンの自然水での水中光分解試験が実施された。

スピロメシフェンは光照射により分解し処理 96 時間後には 8.0% TAR で半減期は 1.1 日であった (東京の 4~6 月期の太陽光換算で 11 日)。

96 時間後に 0.6% TAR の揮発性成分と 0.1% TAR の CO₂ が発生した。分解物 M1 は 48 時間後に 31.8% TAR まで増加し、試験終了時まで維持された。

分解物 M13 及び M14 も照射試料中から検出され、処理 72 時間後にそれぞれ 8.3 及び 9.3% TAR 認められた。少量分解物として分解物 M12 が 24 時間後に 1.9 % TAR 認められ、試験終了時には 9.0% TAR に達した。その他の少量分解物は 7.9% TAR 未満であった。

また、暗条件では処理 96 時間後に、スピロメシフェンが 37.1%、分解物 M1 は 54.1% TAR 確認された。

水中光分解試験条件下では、スピロメシフェンは分解物 M13 (シクロブチル光異性体) 及び M14 (エノール光異性体) に直接光分解した。また、スピロメシフェンの加水分解により生成した分解物 M1 (エノール体) から、光分解により分解物 M12 (2-ヒドロキシメチル体) が生成した。また少量の CO₂ も生成した。(参照 17)

(4) 水中光分解試験 (緩衝液/dhy-¹⁴C-スピロメシフェン)

dhy-¹⁴C-スピロメシフェンを pH4 の酢酸緩衝液に 0.065 mg/L となるように加えた後、25±1°C でキセノンランプ (680 W/m²、測定波長: 300-800nm) を 5 日間連続照射し、スピロメシフェンの緩衝液中での水中光分解試験が実施された。

スピロメシフェンは光照射 5 日後に 11.1% TAR まで減少した。分解物 M13 は照射 3 時間後に 1.2% TAR 生成し、5 日後に 35.8% まで増加した。分解物 M14 は、照射 1 日後に 12.3% TAR 存在し、試験終了時には 36.6% TAR まで増加した。分解物 M1 は照射 5 日後に 12.3% TAR まで増加した。

暗対照試料において、スピロメシフェンは試験 9 日後に 79.7% TAR であった。分解物 M1 が検出された唯一の分解物であり、試験 9 日後に 13.9% TAR 検出された。

本試験条件下でのスピロメシフェンの半減期は 1.7 日、暗条件下での半減期は 23.1 日と考えられた。4~6 月の東京の自然太陽光下における水中光分解半減期は約 12 日と考えられた。

水中光分解試験条件下では、スピロメシフェンは分解物 M13 (シクロブチル光異性体) 及び M14 (エノール光異性体) に直接光分解した。分解物 M1 (エノール体) も生成したが、M1 は照射及び暗対照のいずれからも同程度生成したことから、光分解ではなく加水分解により生成したと推定された。(参照 18)

5. 土壌残留試験

火山灰軽埴土 (茨城)、沖積埴土 (高知) を用いて、スピロメシフェン、代謝物 M1 及び M3 を分析対象とした土壌残留試験 (容器内及び圃場) が実施された。

推定半減期は表 7 に示されており、スピロメシフェンとしては、容器内で 10~11 日、圃場では 8~10 日であった。スピロメシフェンと分解物 M1 及び M3 の合計では、容器内で 39~45 日、圃場では 13~16 日であった。(参照 19)

表 7 土壌残留試験成績 (推定半減期)

試験	土壌	濃度 ¹⁾	スピロメシフェン	親化合物+分解物
----	----	------------------	----------	----------

容器内試験	火山灰軽埴土	1.2 mg/kg	10日	39日
	沖積埴壤土		11日	45日
圃場試験	火山灰軽埴土	1050 g ai/ha	8日	16日
	沖積埴壤土		10日	13日

1) : 容器内試験で原体、圃場試験でフロアブルを使用

6. 作物残留試験

トマト、りんご、なし、おうとう及び茶を用いて、スピロメシフェン、エノール体（代謝物 M1）及び代謝物 4-ヒドロキシメチル体（代謝物 M2）とその抱合体 4-ヒドロキシメチルグルコシド（代謝物 M9）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。スピロメシフェンの最高値は、600 g ai/ha で 1 回散布し、最終散布後 7 日目における茶（荒茶）の 14.8 mg/kg であった。

代謝物 M1 及び M2+M9 の作物残留試験の最高値は、いずれも 600 g ai/ha で 1 回散布した茶（荒茶）で、代謝物 M1 については、最終散布後 7 日目の 8.05 mg/kg、代謝物 M2+M9 については、最終散布後 14 日目の 12.0 mg/kg であった。（参照 20）

別紙 3 の作物残留試験の分析値を用いて、スピロメシフェン及び代謝物 M1 を暴露評価対象化合物として農産物から摂取される推定摂取量を表 8 に示した。

なお、本推定摂取量の算定は、申請された使用方法からスピロメシフェンが最大の残留を示す使用条件で、今回登録申請のあったトマト、りんご、なし、おうとう及び茶に使用され、加工・調理による残留農薬の増減が全くないとの仮定のもとに行った。

表 8 食品中より摂取されるスピロメシフェン（代謝物を含む）の推定摂取量

作物名	残留値 (mg/kg)	国民平均 (平均体重:53.3kg)		小児(1~6歳) (平均体重:15.8kg)		妊婦 (平均体重:55.6kg)		高齢者(65歳以上) (平均体重:54.2kg)	
		ff (g/人/日)	摂取量 (μg/人/日)	ff (g/人/日)	摂取量 (μg/人/日)	ff (g/人/日)	摂取量 (μg/人/日)	ff (g/人/日)	摂取量 (μg/人/日)
トマト	0.16*	24.3	3.89	16.3	2.61	25.1	4.02	25.0	4.00
りんご	0.56*	35.3	19.8	36.2	20.3	30.0	16.8	35.6	19.9
なし	0.41*	5.2	2.13	4.5	1.84	5.4	5.81	3.2	1.31
おうとう	2.28*	0.1	0.23	0.1	0.23	0.1	0.23	0.1	0.23
茶	13.8	3.0	41.4	1.4	19.3	3.5	48.3	4.3	59.3
合計			67.4		45.3		75.2		84.7

注) ・残留値は、申請されている使用時期・回数のうち最大値を示す各試験区の平均残留値を用いた（参照 別紙 3）。

・ff: 平成 10 年~12 年の国民栄養調査（参照 57~59）の結果に基づく農産物摂取量（g/人/日）

・摂取量: 残留値及び農産物摂取量から求めたスピロメシフェン及び代謝物 M1 の推定摂取量（μg/人/日）

・一部に検出限界未満のデータを含む場合は、検出限界値を検出したものとして計算し、

*を付した。

7. 一般薬理試験

マウス、ラット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 9 に示され

ている。(参照 21)

表 9 一般薬理試験

試験の種類	動物種	動物数 匹/群	投与量 mg/kg 体重 (投与経路)	無作用量 mg/kg 体重	作用量 mg/kg 体重	結果の概要	
中枢神経系	一般状態	マウス	雄 5	0,200,600, 2000(経口)	2000	-	投与による影響なし。
	自発運動	マウス	雄 5	0,200,600, 2000(経口)	2000	-	投与による影響なし。
	痙攣誘発	マウス	雄 5	0,200,600, 2000(経口)	2000	-	投与による影響なし。
	体温	ラット	雄 5	0,200,600, 2000(経口)	2000	-	投与による影響なし。
循環器系	呼吸数・ 血圧・ 心拍数・ 心電図	ウサギ	雄 3~4	0,200,600, 2000(経口)	2000	-	投与による影響なし。
自律神経系	瞳孔	ウサギ	雄 5	0,200,600, 2000(経口)	2000	-	投与による影響なし。
腎臓	尿量,尿中 電解質, 尿浸透圧	ラット	雄 5	0,200,600, 2000(経口)	2000	-	投与による影響なし。

8. 急性毒性試験

(1) 急性毒性試験 (ラット)

スピロメシフェンの Wistar ラットを用いた急性経口毒性試験及び急性経皮毒性試験、SD ラットを用いた急性吸入毒性試験が実施された。

各試験の結果は表 10 に示されている。(参照 22~24)

表 10 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	Wistar ラット	>2500	>2500	症状なし
経皮	Wistar ラット	>2000	>2000	症状なし
吸入	SD ラット	LC ₅₀ (mg/L)		症状なし
		>4.87	>4.87	

代謝物 M1 及び原体混在物 MA(メシチル酢酸エステル体)の Wistar ラット (雌) を用いた急性経口毒性試験が実施された。各試験の結果は表 11 に示されている。(参照 25、26)

表 11 急性毒性試験結果概要

検体	LD ₅₀ (mg/kg 体重)		観察された症状
	雄	雌	
代謝物 M1	—	1000	運動低下、歩行失調、痙攣、努力呼吸、流涎、眼瞼亀裂、死亡動物で肺の軽度な虚脱、脾臓及び腎臓の退色化
混在物 MA	—	>5000	影響なし

— : 試験実施せず

(2) 急性神経毒性試験 (ラット)

Wistar ラット (一群雌雄各 12 匹) を用いた強制単回経口 (原体 : 0、200、700 及び 2000 mg/kg 体重) 投与による急性神経毒性試験が実施された。

雌の 700 及び 2000 mg/kg 体重投与群でそれぞれ 1 及び 3 例に尿の着色が認められたが、それ以外の検体投与の影響と考えられる所見は認められなかった。神経毒性は認められなかった。(参照 27)

9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

ヒマラヤンウサギ (雄) を用いた眼一次刺激性試験及び皮膚一次刺激性試験が実施された。スピロメシフェンには眼刺激性及び皮膚刺激性は認められなかった。(参照 28、29)

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、膨疹及び痂皮が認められ、感作率は惹起後 48 時間で 100%、72 時間後で 90% であり、皮膚感作性が認められた。(参照 30)

10. 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 10 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、100、500 及び 3000 ppm : 平均検体摂取量は表 12 参照) 投与による 90 日間の亜急性毒性試験が実施された。

表 12 ラット 90 日間亜急性毒性試験の平均検体摂取量

投与群		100 ppm	500 ppm	3000 ppm	3000 ppm ¹⁾
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	6.3	31.7	204	209
	雌	7.7	36.6	232	246

1) : 回復群

3000 ppm 投与群の雌 3 例に死亡が認められた (うち 1 例は瀕死によりと殺、1 例

は事故死)。

各投与群で認められた主な所見は表 13 に示されている。3000 ppm 投与群に認められた脳比重量¹増加 (雌雄)、副腎絶対重量減少 (雄)、心臓絶対重量減少 (雄)、精巣比重量増加、脾臓絶対重量減少 (雌雄)、腎臓比重量増加 (雌雄) は、低体重に関連したものと考えられた。

本試験において、3000 ppm 投与群の雄で体重増加抑制等が、500 ppm 以上投与群の雌で空腸粘膜上皮細胞質空胞化等が認められたので、無毒性量は雄で 500 ppm (31.7 mg/kg 体重/日)、雌で 100ppm (7.7 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 31)

表 13 ラット 90 日間亜急性毒性試験で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
3000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ 飲水量減少 ・ TP 延長、WBC・Lym 減少、Neu 増加 ・ ALT、ALP 上昇、T.Chol、TG、T.Bil 減少、 ・ T3、T4 減少、TBC、TSH 増加 ・ 尿量、Cre 減少 ・ 脾臓内細胞数減少、CD2^{total}、CD5^{total}、CD4^{total} 減少 ・ IgA、IgG 減少 ・ 脾臓内 B 細胞活性化マーカー増加、脾臓細胞のマクロファージ活性化 ・ 肝比重量増加、胸腺比重量減少 ・ 十二指腸/空腸粘膜上皮細胞質空胞化、肝臓の脂肪貯蔵減少 (門脈周囲)、甲状腺ろ胞細胞肥大及びコロイド凝集、胸腺萎縮、 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 鼻口部の出血、硬い便、一般状態不良、うずくまり、攻撃性、神経過敏、よろめき歩行、間代性跳躍痙攣 ・ 体重増加抑制 ・ 飲水量減少 ・ TP 延長 ・ ALT、AST、ALP 増加、T.Chol、TG 減少 ・ TBC 増加、T.Bil 減少 ・ 尿量、Cre 減少 ・ 尿蛋白、尿比重増加 ・ CD2^{total}、CD5^{total}、CD4^{total} 減少 ・ IgA、IgG 減少 ・ 脾臓細胞のマクロファージ活性化 ・ 肝比重量増加、胸腺比重量減少 ・ 十二指腸粘膜上皮細胞質空胞化、腸間膜リンパ節の泡沫細胞、甲状腺ろ胞細胞肥大及びコロイド凝集、子宮角低形成、胸腺萎縮、脾臓ヘモジデリン及び髓外造血増加、骨髓脂肪細胞数増加、副腎好酸性細胞質
500 ppm 以上	500 ppm 以下毒性所見なし	<ul style="list-style-type: none"> ・ TSH 増加 ・ 空腸粘膜上皮細胞質空胞化
100 ppm		毒性所見なし

¹ : 体重比重量を比重量という (以下同じ)。

(2) 90 日間亜急性毒性試験 (イヌ) ①

ビーグル犬 (一群雌雄各 4 匹) を用いた混餌 (原体: 0、20、50、250 及び 2000 ppm : 平均検体摂取量は表 14 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 14 イヌ 90 日間亜急性毒性試験の平均検体摂取量

投与群		20 ppm	50 ppm	250 ppm	2000 ppm
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	0.71	1.81	9.19	70.9
	雌	0.78	1.88	9.29	71.4

各投与群で認められた主な所見は表 15 に示されている。

血漿中エノール体 (代謝物 M1) 濃度を測定した結果、全ての群で検出され用量依存的に増加したが、本検体はいずれの投与群においても定量限界 (5 μ mol/L) 以下であった。

250 ppm 投与群で認められた肝薬物代謝酵素の変動 (雄: *N*-Demeth 増加、*O*-Demeth 増加、ECOD 増加、雌: ECOD 増加、ALD 増加、EH 増加) 及び肝臓の細胞質の変化は、きわめて軽度であり、肝重量にも変化がないことから、生体の適応反応の範囲にとどまるものと判断し、検体投与による毒性影響とは考えられなかった。

本試験において、2000 ppm 投与群の雌雄で肝比重量増加等が認められたため、無毒性量は雌雄とも 250 ppm (雄: 9.19 mg/kg 体重/日、雌: 9.29 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 32)

表 15 イヌ 90 日間亜急性毒性試験で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
2000ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ ALP 上昇 ・ TBC 増加、T4 減少 ・ <i>N</i>-Demeth、<i>O</i>-Demeth、P450、ECOD、ALD、EH、UDPGT 増加 ・ 肝比重量増加 ・ 小葉中心性肝細胞変化 	<ul style="list-style-type: none"> ・ ALP 上昇 ・ T4 減少、T3 減少 ・ <i>N</i>-Demeth、<i>O</i>-Demeth、P450、ECOD、ALD、EH、UDPGT 増加 ・ 肝比重量増加 ・ 小葉中心性肝細胞変化
250ppm 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) ②

イヌの 90 日間亜急性毒性試験 (評価書 10.(2)) において最高用量群でも著しい毒性徴候が認められなかったことから、より高用量におけるビーグル犬 (一群雌雄各 4 匹) を用いた混餌 (原体: 0、3000 及び 5000 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 イヌ 90 日間亜急性毒性試験の平均検体摂取量

投与群		3000 ppm	5000 ppm
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	98.4	173
	雌	103	171

各投与群で認められた主な所見は表 17 に示されている。

いずれの投与群においても血漿中から親化合物は認められず、主に代謝物 M1 で、投与 24 時間以内には血漿中からの減衰はみられず、投与開始 4 週間後においても定常状態には達していなかった。(参照 33)

表 17 イヌ 90 日間亜急性毒性試験で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
5000ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・嘔吐 ・肝比重量増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・嘔吐 ・GST 低下
3000ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ALP 上昇、T4 減少 ・N-Demeth、O-Demeth、P450、ECOD、ALD、EH 増加 ・肝細胞細胞質均質化/密度増加、びまん性肝細胞肥大 	<ul style="list-style-type: none"> ・ALP 上昇、TSH 増加、T4 減少 ・N-Demeth、O-Demeth、P450、ECOD、ALD、EH 増加 ・肝比重量増加 ・肝細胞細胞質均質化/密度増加、びまん性肝細胞肥大

(4) 90 日間亜急性神経毒性試験 (ラット)

Wistar ラット(一群雌雄各 12 匹)を用いた混餌(原体:0、100、500 及び 2000 ppm:平均検体摂取量は表 18 参照)投与による 90 日間の亜急性神経毒性試験が実施された。

表 18 ラット 90 日間亜急性神経毒性試験の平均検体摂取量

投与群		100 ppm	500 ppm	2000 ppm
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	6.4	31.8	123
	雌	7.9	38.3	149

各投与群で認められた主な所見は表 19 に示されている。

2000 ppm 投与群の雌 1 例で攻撃行動が認められた。

本試験において、2000 ppm 投与群の雌雄で体重増加抑制等が認められたため、無毒性量は雌雄で 500 ppm (雄:31.8 mg/kg 体重/日、雌:38.3 mg/kg 体重/日)であると考えられた。(参照 34)

表 19 ラット 90 日間亜急性神経毒性試験で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
-----	---	---

2000ppm	・体重増加抑制、摂餌量減少	・攻撃行動 ・体重増加抑制、摂餌量減少 ・テイルピンチに対する反応亢進、ハンドリング中の身体緊張増加
500ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

11. 慢性毒性試験及び発がん性試験

(1) 1年間慢性毒性試験（イヌ）

ビーグル犬（一群雌雄各4匹）を用いた混餌（原体：0、50、400及び4000 ppm：平均検体摂取量は表20参照）投与による1年間の慢性毒性試験が実施された。

表20 イヌ1年間慢性毒性試験の平均検体摂取量

投与群		50 ppm	400 ppm	4000 ppm
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	1.4	11.5	109
	雌	1.4	10.8	117

各投与群で認められた主な所見は表21に示されている。

50 ppm 以上投与群の雄及び4000 ppm 投与群の雌で体重増加抑制が認められたが、用量相関性が認められないこと、試験終了時には背景データの範囲内であったことから、毒性学的な意義があるとは考えられなかった。

血漿中からスピロメシフェンは検出されず、急速にエノール体（代謝物 M1）に代謝されることが示唆された。4000 ppm 投与群での代謝物 M1 の濃度は、投与24時間以内に減少しなかった。しかし、試験終了時において代謝物 M1 の血漿中濃度は12週よりも低値を示したことから、検体及び代謝物 M1 の蓄積性は無視できるものと考えた。

本試験において、4000 ppm 投与群の雌雄において肝比重量増加等が認められたため、無毒性量は雌雄とも400 ppm（雄：11.5 mg/kg 体重/日、雌：10.8 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照35）

表21 イヌ1年間慢性毒性試験で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
4000 ppm	・ALP 上昇 ・T4 減少 ・肝比重量増加 ・肝細胞細胞質均質化/密度増加、肝細胞封入体様物形成/空胞化	・ALP 上昇 ・T4 減少 ・肝比重量増加 ・肝細胞細胞質均質化/密度増加、肝細胞封入体様物形成/空胞化
400 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（ラット）

Wistar ラット（一群雌雄各 25 匹）を用いた混餌（原体：0、50、125、300 及び 800 ppm：平均検体摂取量は表 22 参照）投与による 1 年間の慢性毒性試験が実施された。

表 22 ラット 1 年間慢性毒性試験の平均検体摂取量

投与群		50 ppm	125 ppm	300 ppm	800 ppm
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	2.6	6.5	15.9	42.4
	雌	3.0	7.6	19.3	51.7

検体投与に関連した死亡率の増加は認められなかった。

各投与群で認められた主な所見は表 23 に示されている。

800 ppm 投与群の雄で認められた水晶体変性性病変（後囊混濁及び皮質水性裂）については、ラットの 2 年間発がん性試験（評価書 11.(3)）において発現頻度の増加が認められなかったことから、検体投与の影響とは考えられなかった。

検体投与に関連して発生頻度が増加した腫瘍はなかった。本試験において、300 ppm 以上投与群の雄及び 800 ppm 投与群の雌で甲状腺ろ胞細胞肥大等が認められたため、無毒性量は雄で 125ppm (6.5 mg/kg 体重/日)、雌で 300ppm (19.3 mg/kg 体重/日) であると考えられた。（参照 36）

表 23 ラット 1 年間慢性毒性試験で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
800 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ T3 増加、TSH 増加 ・ T.Bil 減少 ・ 肝肥大 ・ 甲状腺コロイド変化 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ T.Bil 減少 ・ TSH 増加 ・ 両側副腎の褐色化 ・ 甲状腺ろ胞細胞肥大及びコロイド変化、副腎束状帯の細胞質好酸性化
300 ppm 以上	・ 甲状腺ろ胞細胞肥大	300 ppm 以下毒性所見なし
125 ppm 以下	毒性所見なし	

(3) 2 年間発がん性試験（ラット）

Wistar ラット（一群雌雄各 50 匹）を用いた混餌（原体：0、50、125、300 及び 800 ppm：平均検体摂取量は表 24 参照）投与による 2 年間の発がん性試験が実施された。

表 24 ラット 2 年間発がん性試験の平均検体摂取量

投与群		50 ppm	125 ppm	300 ppm	800 ppm
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	2.5	6.1	14.8	40.0
	雌	3.3	8.2	19.5	53.6

検体投与に関連した死亡率の増加は認められなかった。

各投与群で認められた主な所見は表 25 に示されている。

剖検により、800 ppm 投与群の雄で肺の部分的暗赤色化が認められたが、病理組織学的検査において関連所見がないこと及び用量相関性がないことから偶発的なものと考えられた。また、800 ppm 投与群の雄で精巣に少数の結節が認められたが、病理組織学的検査においてライディッヒ細胞腺腫の増加が認められないため、毒性学的な意義があるとは考えられなかった。

剖検及び病理組織学的検査において 800 ppm 投与群の雌で子宮拡張及び子宮の結節が増加し、それに伴う腹部膨満が認められた。子宮内腔拡張を示した多くの例では、分泌物貯留、大きな卵泡、子宮内膜間質ポリープ等の所見を伴っていた。これらの病変は加齢ラットで好発することが知られているが、これらの病変の発生頻度には用量相関性は認められなかった。さらに、関連性のある変化が卵巣、卵管、膈及び乳腺で認められていないことから、子宮の変化は偶発的なものであると考えられた。

白内障の発現率は雄において対照群よりも僅かに高かったが、用量相関性が認められず、自然発生的な加齢に伴う病変であると考えられた。

検体投与に関連して発生頻度が増加した腫瘍はなかった。

本試験において、800 ppm 投与群の雌雄で体重増加抑制等が認められたため、無毒性量は雌雄とも 300 ppm (雄：14.8 mg/kg 体重/日、雌：19.5 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 37)

表 25 ラット 2 年間発がん性試験で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
800 ppm	・ 体重増加抑制	・ 体重増加抑制 ・ TSH 増加 ・ 甲状腺コロイド変化
300 ppm 以下	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 50 匹) を用いた混餌 (原体：0、20、140、1000 及び 2000 ppm：平均検体摂取量は表 26 参照) 投与による 18 カ月間発がん性試験が実施された。

表 26 マウス 18 ヶ月間発がん性試験の平均検体摂取量

投与群		20 ppm	140 ppm	1000 ppm	2000 ppm
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	3.3	21.7	157	335
	雌	3.8	29.9	201	401

各投与群とも死亡率に関して影響はみられなかった。

各投与群で認められた主な所見は表 27 に示されている。

2000 ppm 投与群の雌では、子宮の硬さの変化が認められ、対応する病理組織学的変化として子宮内膜のう胞状過形成が認められた。また、2000 ppm 投与群の雄 4 例

に認められた腎臓における小結節は顕微鏡学的には腎アミロイドーシスとして、腎表面に認められた結節様変化は慢性腎症として観察された。しかし、これらの病変には統計学的有意差がなく投与に関連した影響とは考えられなかった。

1000 ppm 以上投与群の雌で認められた副腎比重量増加は、副腎皮質のアミロイドーシスに関連しているものと考えられた。アミロイドーシスは加齢性病変であり、本系統のマウスでは自然発生的に認められる全身性疾患である。アミロイドーシスを発症した個体数の比較においては有意差が認められなかったことから、検体の影響とは考えられなかった。

腫瘍性病変について、傾向検定で統計学的な有意差がいくつか認められたが、対照群との違いは僅かであり、背景データの範囲内にあるか、あるいは群間比較では統計学的有意差が認められないことから、投与に関連した影響とは考えられなかった。

本試験において、140 ppm 以上投与群の雌雄で副腎束状帯細胞質の好酸性化等が認められたため、無毒性量は、20 ppm（雄：3.3 mg/kg 体重/日、雌：3.8 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 38）

表 27 マウス 18 ヶ月間発がん性試験で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
2000 ppm	・ 体重増加抑制	
1000 ppm 以上		
140 ppm 以上	・ 副腎束状帯細胞質の好酸性化 ・ 副腎皮質び慢性脂肪滴減少	・ 副腎の変色 ・ 副腎束状帯細胞質の好酸性化 ・ 副腎皮質び慢性脂肪滴減少
20 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

1.2. 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 25 匹）を用いた混餌（原体：0、30、120 及び 500 ppm：平均検体摂取量は表 28 参照）投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

表 28 ラット 2 世代繁殖試験の平均検体摂取量

投与群		30 ppm	120 ppm	500 ppm	
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	P 世代	雄	2.2	8.8	36.6
		雌	3.8	14.2	64.2
	F ₁ 世代	雄	3.3	13.2	76.2
		雌	4.6	18.0	90.9

親動物及び児動物において各投与群で認められた主な所見はそれぞれ表 29 に示されている。

F₁世代の雌の500 ppm投与群において原始卵胞数増加が認められたが、全身性の毒性による二次的反応あるいは、発育卵胞、成熟卵胞に生物学的意義のある変動はみられないこと、繁殖にも変動が認められないことから、検体投与に関連した変化とは考えられなかった。

F₁離乳児において、500 ppm投与群では、包皮分離及び膈開口の遅延が認められたが、この用量において体重が低下したことの結果であると考えられた。

本試験において、親動物では120 ppm以上投与群の雌雄(F₁)で体重増加抑制等が認められたので、無毒性量は親動物の雌雄とも30 ppm(P雄:2.2 mg/kg体重/日、P雌:3.8 mg/kg体重/日、F₁雄:3.3 mg/kg体重/日、F₁雌:4.6 mg/kg体重/日)、児動物では120 ppm以上投与群の雌雄(F₁、F₂)で体重増加抑制等が認められたので、無毒性量は児動物の雌雄とも30 ppm(F₁雄:2.2 mg/kg体重/日、F₁雌:3.8 mg/kg体重/日、F₂雄:3.3 mg/kg体重/日、F₂雌:4.6 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39)

表 29 ラット2世代繁殖試験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	500 ppm	毒性所見なし	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・甲状腺比重量増加 ・脾比重量減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・甲状腺比重量増加 ・肝絶対重量減少 ・甲状腺コロイド変化(凝集) 	<ul style="list-style-type: none"> ・肝比重量増加 ・脾絶対重量減少 ・甲状腺ろ胞細胞肥大及びコロイド変化(凝集)、小葉中心性肝細胞肥大
	120 ppm以上		120 ppm以下 毒性所見なし	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・脾絶対重量減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制
	30 ppm			毒性所見なし	毒性所見なし
児動物	500 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・脾比重量増加 ・包皮分離遅延 	<ul style="list-style-type: none"> ・脾比重量増加 ・脾及び胸腺絶対重量減少 ・膈開口遅延 	<ul style="list-style-type: none"> ・脾比重量増加 ・脾及び胸腺絶対重量減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・脾比重量増加 ・脾及び胸腺絶対重量減少
	120 ppm以上	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・脾及び胸腺絶対重量減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制
	30 ppm	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) 発生毒性試験 (ラット)

Wistar ラット (一群雌 25 匹) の妊娠 6~19 日に強制経口 (原体: 0、10、70 及び 500 mg/kg 体重/日) 投与して発生毒性試験が実施された。

500 mg/kg 体重/日投与群の 4 例に跳躍性痙攣がみられ、その内の 1 例が妊娠 15 日に死亡した。頭部打撲による頭蓋腔出血が死亡の原因と考えられた。

70 mg/kg 体重/日以上投与群において、摂餌量の減少、体重増加抑制が認められた。

生存児を有する母動物の割合、着床後死胚、胎児数、性比、胎盤重量及び外観に検体の影響は認められなかった。

胎児の発生に対する影響は 500 mg/kg 体重/日投与群でも認められなかった。

本試験において、母動物では 70 mg/kg 体重/日以上投与群において体重増加抑制等が認められたので、母動物に対する無毒性量は 10 mg/kg 体重/日、胎児では 500 mg/kg 体重/日投与群において投与の影響は認められなかったので、胎児に対する無毒性量は 500 mg/kg 体重/日投与群であると考えられた。催奇形性は認められなかった。(参照 40)

(3) 発生毒性試験 (ウサギ)

HM ヒマラヤンウサギ (一群雌 22 匹) の妊娠 6~28 日に強制経口 (原体: 0、5、35 及び 250 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、35 mg/kg 体重/日以上投与群で摂餌量の減少、糞量の減少、体重増加抑制がみられた。250 mg/kg 体重/日投与群の 4 例では、耳介の冷感、摂餌量、体重、飲水量、糞便及び尿量の減少を示したあと、妊娠 20~25 日の間に流産した。これらの雌の剖検では、2 例に膨満した胃がみられ、このうち 1 例に小腸の淡明化 (病理組織学的検査: 絨毛先端の著明な空胞形成) が認められた。その他の 250 mg/kg 体重/日投与群では、耳介の冷感、脱毛、尿量減少とそれに伴う尿の赤色化、飲水量の減少が認められた。

250 mg/kg 体重/日投与群では流産 (4 例) 及び総吸収胚 (2 例) により、生存胎児を有する母動物数の割合の低下がみられた。

胎盤重量及び外観、着床後死胚数、生存胎児数、胎児の性比、胎児体重に投与の影響は認められなかった。

胎児の外表面、内臓、骨格検査では投与による影響は認められなかった。

本試験において、母動物の 35 mg/kg 体重/日以上投与群で体重増加抑制等が認められたため、母動物に対する無毒性量は 5 mg/kg 体重/日、胚/胎児には投与による影響がみられなかったことから、胎児に対する無毒性量は 250 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 41)

13. 遺伝毒性試験

スピロメシフェン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肺由来培養細胞 (V79) を用いた染色体異常試験、NMRI マウスを用いた小核試験が実施された。いずれの試験結果も陰性であった (表 30)。(参照 42~44)

表 30 遺伝毒性試験結果概要 (原体)

	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 (参照 42)	<i>S. typhimurium</i> TA98,TA100,TA1535, TA1537,TA102 株	16~5000 μ g/7 [°] レート (+/-S9)	陰性
	染色体異常試験 (参照 43)	チャイニーズハムスター 肺由来培養細胞 (V79)	1~10 μ g/mL (-S9) 10~40 μ g/mL (+S9)	陰性
<i>in vivo</i>	小核試験 (参照 44)	NMRI マウス	0、100、200、400 mg/kg 体重 (腹腔内投与、2 日間連 続投与)	陰性

注) +/-S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下

代謝物 M1 及び原体混在物 MA の細菌を用いた復帰突然変異試験が実施されており、いずれの試験結果も陰性であった (表 31)。

スピロメシフェン、代謝物 M1 及び原体混在物 MA に遺伝毒性は認められなかった。(参照 45、46)

表 31 遺伝毒性試験結果概要 (代謝物・混在物)

被験物質	試験	対象	処理濃度・	結果
代謝物 M1	復帰突然変異試験 (参照 45)	<i>S. typhimurium</i> TA98,TA100,TA1535, TA1537,TA102 株	16~5000 μ g/7 [°] レート (+/-S9)	陰性
混在物 MA	復帰突然変異試験 (参照 46)	<i>S. typhimurium</i> TA98,TA100,TA1535, TA1537,TA102 株	16~5000 μ g/7 [°] レート (+/-S9)	陰性

注) +/-S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下

Ⅲ. 総合評価

参照に挙げた資料を用いて農薬「スピロメシフェン」の食品健康影響評価を実施した。

ラットを用いた動物体内運命試験において、雌雄ともに主な排泄経路は糞中であり、投与された放射能の大部分が投与後 24 時間以内に速やかに排泄された。最も高濃度の残留放射能は肝臓で検出された。糞中からは、親化合物と代謝物 M1 のみが検出され、ほぼ全てが親化合物であった。スピロメシフェンは、加水分解を受け代謝物 M1 に代謝された後、ベンゼン環のメチル基及びシクロペンチル環の水酸化、さらに酸化によりカルボン酸等に代謝され、尿及び胆汁中に排泄された。グルクロン酸あるいは硫酸抱合体は認められなかった。

トマト、りんご、レタス及びワタを用いた植物体内運命試験が実施された。抽出液中に認められた主要成分は親化合物であり、主要代謝物は代謝物 M1、M2 及び M9 であった。スピロメシフェンの植物における主な代謝経路は、エステルの開裂による代謝物 M1 の生成、続いて代謝物 M1 のベンゼン環のパラ位のメチル基の水酸化による代謝物 M2 の生成、さらに抱合化による代謝物 M9 の生成と考えられた。スピロメシフェンの移行性はごく僅かであった。

土壌中運命試験が実施され、スピロメシフェンの 20℃の暗条件での好氣的土壌中半減期は 2.6～17.9 日であった。スピロメシフェンは土壌中でエステルの開裂による分解物 M1 の生成、4-メチルフェニル部分あるいはシクロペンチル環の水酸化及び酸化による分解物 M3 あるいは分解物 M5 の生成、さらに分解物 M10 及び分解物 M11 を経て最終的に CO₂ まで完全に無機化されると考えられた。土壌表面光分解試験において、スピロメシフェンの土壌での分解に光は寄与しないことが示唆された。

加水分解及び水中光分解試験が実施され、スピロメシフェンの滅菌緩衝液 (pH4、7 及び 9) 中における半減期は、25℃でそれぞれ 53.3、24.8 及び 4.3 日であった。主要分解物は分解物 M1 であった。水中光分解試験における半減期は自然水で 1.1～1.8 日 (4～6 月の東京の自然太陽光下における半減期は 11～17 日) であり、分解物 M13 及び M14 (直接光分解)、分解物 M1 (加水分解)、続いて分解物 M12 (光分解) が生成した。

火山灰軽植土、沖積埴壌土を用いて、スピロメシフェン、分解物 M1 及び M3 を分析対象とした土壌残留試験 (容器内及び圃場) が実施された。圃場における半減期は、スピロメシフェンとしては 8～10 日、スピロメシフェンと分解物 M1 及び M3 の合計では 13～16 日であった。

トマト、りんご、なし、おうとう及び茶を用いて、スピロメシフェン、代謝物 M1、M2 及び M9 を分析対象化合物とした作物残留試験が実施された。スピロメシフェンの最高値は、600 g ai/ha で 1 回散布し、最終散布後 7 日目における茶 (荒茶) の 14.8 mg/kg であった。代謝物 M1 及び M2+M9 の作物残留試験の最高値は、いずれも 600 g ai/ha で 1 回散布した茶 (荒茶) で、代謝物 M1 については最終散布後 7 日目の 8.05 mg/kg、代謝物 M2+M9 については最終散布後 14 日目の 12.0 mg/kg であった。

ラットの急性経口 LD₅₀ は雌雄で 2500 mg/kg 体重超、経皮 LD₅₀ は雌雄で 2000 mg/kg 体重超、吸入 LC₅₀ は雌雄で 4.87 mg/L 超であった。

代謝物 M1 の急性経口 LD₅₀ はラットの雌で 1000 mg/kg 体重であった。また混在物 MA の急性経口 LD₅₀ はラットの雌で 5000 mg/kg 体重超であった。

Wistar ラットを用いた強制経口投与によるスピロメシフェンの急性神経毒性試験が実施され、神経毒性は認められなかった。

ウサギを用いた眼一次刺激性試験及び皮膚一次刺激性試験が実施され、スピロメシフェンには皮膚刺激性及び眼刺激性は認められなかった。また、モルモットを用いた皮膚感作性試験が実施され、スピロメシフェンに皮膚感作性が認められた。

亜急性毒性試験で得られた無毒性量は、ラットで 7.7 mg/kg 体重/日、イヌで 9.19 mg/kg 体重/日であった。

慢性毒性試験で得られた無毒性量は、ラットで 6.5 mg/kg 体重/日、イヌで 10.8 mg/kg 体重/日であると考えられた。

発がん性試験で得られた無毒性量は、ラットで 14.8 mg/kg 体重/日、マウスで 3.3 mg/kg 体重/日であった。発がん性は認められなかった。

2 世代繁殖試験で得られた無毒性量は、ラットの親動物及び児動物とも 2.2 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。

発生毒性試験で得られた無毒性量は、ラットの母動物で 10 mg/kg 体重/日、胎児で 500 mg/kg 体重/日、ウサギの母動物で 5 mg/kg 体重/日、胎児で 250 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。

遺伝毒性試験として、スピロメシフェン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肺由来培養細胞 (V79) を用いた染色体異常試験、NMRI マウスを用いた小核試験が実施された。いずれの試験結果も陰性であった。代謝物 M1 及び原体混在物 MA の細菌を用いた復帰突然変異試験が実施され、いずれの試験結果も陰性であった。遺伝毒性は認められなかった。

各種毒性試験結果から、主な毒性所見は、肝、甲状腺、副腎及び消化管に認められた。各種試験結果から、農産物中の暴露評価対象物質をスピロメシフェン及び代謝物 M1 と設定した。

各試験における無毒性量及び最小毒性量は表 32 に示されている。

表 32 各試験における無毒性量及び最小毒性量

動物種	試験	無毒性量 (mg/kg 体重/日)	最小毒性量 (mg/kg 体重/日)	備考 ²
ラット	90 日間亜急性毒性試験	雄：31.7 雌：7.7	雄：204 雌：36.6	雄：体重増加抑制等 雌：空腸粘膜上皮細胞質空胞化等
	90 日間亜急性神経毒性試験	雄：31.8 雌：38.3	雄：123 雌：149	雌雄：体重増加抑制等
	1 年間慢性毒性試験	雄：6.5 雌：19.3	雄：15.9 雌：51.7	雌雄：甲状腺ろ胞細胞肥大等

² 備考に最小毒性量で認められた所見の概要を示す。

動物種	試験	無毒性量 (mg/kg 体重/日)	最小毒性量 (mg/kg 体重/日)	備考 ²
	2 年間発がん性試験	雄：14.8 雌：19.5	雄：40.0 雌：53.6	雌雄：体重増加抑制等 (発がん性は認められない)
	2 世代繁殖試験	親動物及び児動物 P 雄：2.2 P 雌：3.8 F ₁ 雄：3.3 F ₁ 雌：4.6	親動物及び児動物 P 雄：8.8 P 雌：14.2 F ₁ 雄：13.2 F ₁ 雌：18.0	親動物及び児動物：体重増加抑制等 (繁殖能に対する影響は認められない)
	発生毒性試験	母動物：10 胎児：500	母動物：70 胎児：-	母動物：体重増加抑制等 胎児：- (催奇形性は認められない)
マウス	18 カ月間発がん性試験	雄：3.3 雌：3.8	雄：21.7 雌：29.9	雌雄：副腎束状帯細胞質の好酸性化等 (発がん性は認められない)
ウサギ	発生毒性試験	母動物：5 胎児：250	母動物：35 胎児：-	母動物：体重増加抑制等 (催奇形性は認められない)
イヌ	90 日間亜急性毒性試験 ①	雄：9.19 雌：9.29	雄：70.9 雌：71.4	雌雄：肝比重量増加等
	90 日間亜急性毒性試験 ②	雄：- 雌：-	雄：98.4 雌：103	雌雄：ALP 上昇等
	1 年間慢性毒性試験	雄：11.5 雌：10.8	雄：109 雌：117	雌雄：肝比重量増加等

—：無毒性量または最小毒性量が設定できなかった

食品安全委員会は、各試験の無毒性量の最小値がラットを用いた 2 世代繁殖試験の 2.2 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 0.022 mg/kg 体重/日を一日摂取許容量 (ADI) と設定した。

ADI	0.022 mg/kg 体重/日
(ADI 設定根拠資料)	繁殖試験
(動物種)	ラット
(期間)	2 世代
(投与方法)	混餌投与
(無毒性量)	2.2 mg/kg 体重/日
(安全係数)	100

<別紙 1 : 代謝物/分解物等略称>

略称	名称、化学名
M1 1)	4-ヒドロキシ-3-メシチル-1-オキサスピロ[4,4]ノナ-3-エン-2-オン
M2	4-ヒドロキシ-3-(4-ヒドロキシメシチル-2,6-ジメチル-フェニル)-1-オキサ-スピロ[4,4]ノナ-3-エン-2-オン
M3	4-(4-ヒドロキシ-2-オキソ-1-オキサスピロ[4,4]ノナ-3-エン-3-イル)-3,5-ジメチル-安息香酸
M4	4,7-ジヒドロキシ-3-メシチル-1-オキサスピロ[4,4]ノナ-3-エン-2-オン
M5	4-ヒドロキシ-3-メシチル-1-オキサスピロ[4,4]ノナ-3-エン-2,7-ジオン 又は 4-ヒドロキシ-3-メシチル-1-オキサスピロ[4,4]ノナ-3-エン-2,6-ジオン
M6	4,7-ジヒドロキシ-3,4-(ヒドロキシメチル-2,6-ジメチルフェニル)-1-オキサスピロ[4,4]ノナ-3-エン-2-オン
M7	4-(4,7-ジヒドロキシ-2-オキソ-1-オキサスピロ[4,4]ノナ-3-エン-3-イル)-3,5-ジメチル-安息香酸
M8	代謝物 A のジヒドロキシエノール
M9	代謝物 A のグルコース抱合体 (4-ヒドロキシメチルグルコシド)
M10	1-[2-オキソ-2-(2,4,6-トリメチル-フェニル)-アセトキシ]-シクロペンタンカルボン酸
M11	オキソ-(2,4,6-トリメチル-フェニル)-酢酸
M12	4-ヒドロキシ-3-(2-ヒドロキシメチル-4,6-ジメチルフェニル)-1-オキサスピロ[4,4]ノナ-3-エン
M13	スピロ[ビスイクル[4.2.0]オクタ-1,3,5-トリエン-7,3'(2'H)-フラン]-2'-オン,4',5'-ジヒドロ-3,5-ジメチル-4'-3,3'-ジメチル-ブチル-カルボニル-オキシ)-5'-スピロ-シクロペンチル
M14	3H-インデノ[1,2-c]フラン-3-オン,1,3a,8,8a-テトラヒドロ-1-スピロシクロペンチル-4,6-ジメチル-8-ヒドロキシ
MA 2)	3-メシチル-2-オキソ-1-オキサスピロ[4,4]ノナ-3-エン-4-イルメシチルアセタート

1) : 原体混在物としても存在する。

2) : 原体混在物である。