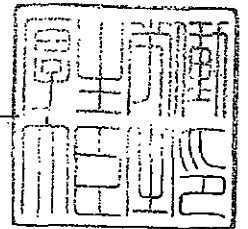


厚生労働省発食安第1017002号
平成19年10月17日

薬事・食品衛生審議会
会長 望月 正隆 殿

厚生労働大臣 舩添 要



諮 問 書

食品衛生法（昭和22年法律第233号）第11条第1項の規定に基づき、下記の事項について、貴会の意見を求めます。

記

次に掲げる農薬の食品中の残留基準設定について

アミスルプロム

平成19年11月6日

薬事・食品衛生審議会
食品衛生分科会長 吉倉 廣 殿

薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会
農薬・動物用医薬品部会長 大野 泰雄

薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会
農薬・動物用医薬品部会報告について

平成19年10月17日厚生労働省発食安第1017002号をもって諮問された、食品衛生法（昭和22年法律第233号）第11条第1項の規定に基づくアミスルブロムに係る食品規格（食品中の農薬の残留基準）の設定について、当部会で審議を行った結果を別添のとおり取りまとめたので、これを報告する。

(別添)

アミスルブロム

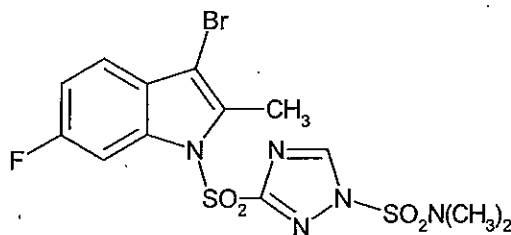
1. 品目名：アミスルブロム (Amisulbrom)

2. 用途：殺菌剤

スルファモイルトリアゾール骨格を有する殺菌剤である。作用機構としては、卵菌類のミトコンドリア内電子伝達系複合体ⅢのQ_iサイトの阻害であると考えられている。

3. 化学名：3- (3-ブromo-6-フルオロ-2-メチルインドール-1-イルスルホニル) -N, N-ジメチル-1, 2, 4-トリアゾール-1-スルホンアミド

4. 構造式及び物性



分子式 $C_{13}H_{13}BrFN_5O_4S_2$

分子量 466.31

水溶解度 0.11 mg/L (20°C)

分配係数 $\log_{10}P_{ow}=4.4$ (カラム温度 40°C)

(メーカー提出資料より)

5. 適用病害虫の範囲及び使用方法

本薬の適用病害虫の範囲及び使用方法是以下のとおり。

17.7%アミスルブロムフロアブル

作物名	適用病害虫名	希釈倍数	使用液量	使用時期	本剤の使用回数	使用方法	アミスルブロムを含む農薬の総使用回数
ばれいしょ	疫病	2000～3000倍	100～300 L/10a	収穫7日前まで	4回以内	散布	4回以内
だいず	べと病	2000倍			3回以内		3回以内
トマト ミニトマト	疫病	2000～4000倍	200～700 L/10a	収穫前日まで	4回以内		4回以内
きゅうり	べと病	2000倍					
メロン		3000～4000倍					

6. 作物残留試験

(1) 分析の概要

① 分析対象の化合物

アミスルブロム

② 分析法の概要

磨砕した試料を含水アセトニトリルで振とう抽出する（乾燥子実の場合は粉碎した試料を水で膨潤させた後アセトニトリルで抽出する）。抽出液は溶媒を留去し、ミニカラム（C₁₈、グラファイトカーボン、陰イオン交換及びシリカゲル）で精製し、必要に応じてさらにフロリジルミニカラムを用いて精製した後、高速液体クロマトグラフ（UV）を用いて定量する。

定量限界 0.01ppm

(2) 作物残留試験結果

①ばれいしょ

ばれいしょ（塊茎）を用いた作物残留試験（2例）において、17.7%フロアブル剤の2,000倍希釈液を計4回散布（150, 250L/10a）したところ、散布後7～14日の最大残留量は<0.01、<0.01 ppmであった。

②だいず

だいず（乾燥子実）を用いた作物残留試験（2例）において、17.7%フロアブ

ル剤の 2,000 倍希釈液を計 3 回散布 (300, 150L/10a) したところ、散布後 7～14 日の最大残留量は 0.08、0.02 ppm であった。

③ トマト

トマト (果実) を用いた作物残留試験 (2 例) において、17.7%フロアブル剤の 2,000 倍希釈液を計 4 回散布 (300L/10a) したところ、散布後 1～14 日の最大残留量は 0.38、0.42 ppm であった。

④ ミニトマト

ミニトマト (果実) を用いた作物残留試験 (2 例) において、17.7%フロアブル剤の 2,000 倍希釈液を計 4 回散布 (300L/10a) したところ、散布後 1～14 日の最大残留量は 0.43、0.66 ppm であった。

⑤ きゅうり

きゅうり (果実) を用いた作物残留試験 (2 例) において、17.7%フロアブル剤の 2,000 倍希釈液を計 4 回散布 (150～200, 300L/10a) したところ、散布後 1～7 日の最大残留量は 0.17、0.21 ppm であった。

⑥ メロン

メロン (果実) を用いた作物残留試験 (2 例) において、17.7%フロアブル剤の 2,000 倍希釈液を計 4 回散布 (300, 265L/10a) したところ、散布後 1～7 日の最大残留量は <0.01、<0.01 ppm であった。

⑦ ぶどう

大粒種ぶどう (果実) を用いた作物残留試験 (1 例) において、17.7%フロアブル剤の 3,000 倍希釈液を計 3 回散布 (300L/10a) したところ、散布後 14～42 日の最大残留量は 0.36 ppm であった。

小粒種ぶどう (果実) を用いた作物残留試験 (1 例) において、17.7%フロアブル剤の 3,000 倍希釈液を計 3 回散布 (350L/10a) したところ、散布後 14～60 日の最大残留量は 1.20 ppm であった。

これらの試験結果の概要については、別紙 1 を参照。

注) 最大残留量：当該農薬の申請の範囲内で最も多量に用い、かつ最終使用から収穫までの期間を最短とした場合の作物残留試験 (いわゆる最大使用条件下の作物残留試験) を実施し、それぞれの試験から得られた残留量。

7. ADIの評価

食品安全基本法（平成15年法律第48号）第24条第1項第1号の規定に基づき、平成18年4月3日付け厚生労働省発食安第0403001号により食品安全委員会あて意見を求めたアミスルブロムに係る食品健康影響評価について、以下のとおり評価されている。

無毒性量：10 mg/kg 体重/day

（動物種）	イヌ
（投与方法）	強制経口投与
（試験の種類）	慢性毒性試験
（期間）	1年間

安全係数：100

ADI：0.1 mg/kg 体重/day

8. 諸外国における状況

JMPR における毒性評価はなされておらず、国際基準も設定されていない。

米国、カナダ、欧州連合（EU）、オーストラリア及びニュージーランドについて調査した結果、いずれの国及び地域においても基準値が設定されていない。

9. 基準値案

（1）残留の規制対象

アミスルブロム本体

なお、食品安全委員会によって作成された食品健康影響評価においては、暴露評価対象物質としてアミスルブロムを設定している。

（2）基準値案

別紙2のとおりである。

（3）暴露評価

各食品について基準値案の上限まで又は作物残留試験成績等のデータから推定される量のアミスルブロムが残留していると仮定した場合、国民栄養調査結果に基づき試算される、1日当たり摂取する農薬の量（理論最大摂取量（TMDI））のADIに対する比は、以下のとおりである。詳細な暴露評価は別紙3参照。

なお、本暴露評価は、各食品分類において、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おこなった。

	TMD I / AD I (%) ^{注)}
国民平均	1.8
幼小児 (1~6 歳)	4.0
妊婦	1.4
高齢者 (65 歳以上)	1.5

注) TMD I 試算は、基準値案×摂取量の総和として計算している。

アミスルブロム作物残留試験一覧表

農作物	試験圃 場数	試験条件			経過日数	最大残留量 (ppm)
		剤型	使用量・使用方法	回数		
ばれいしょ (塊茎)	2	17.7% フロアブル	2000倍散布 150, 250L/10a	4回	7, 14日	圃場A:<0.01 圃場B:<0.01
だいず※ (乾燥子実)	2	17.7% フロアブル	2000倍散布 300, 150L/10a	3回	7, 14日	圃場A:0.08 圃場B:0.02 (3回、14日)
トマト (果実)	2	17.7% フロアブル	2000倍散布 300L/10a	4回	7, 14日	圃場A:0.38 (4回、7日) 圃場B:0.42
ミニトマト (果実)	2	17.7% フロアブル	2000倍散布 300L/10a	4回	7, 14日	圃場A:0.43 圃場B:0.66
きゅうり※ (果実)	2	17.7% フロアブル	2000倍散布 150-200, 300L/10a	4回	3, 7日	圃場A:0.17 圃場B:0.21
メロン (果実)	2	17.7% フロアブル	2000倍散布 300, 265L/10a	4回	3, 7日	圃場A:<0.01 圃場B:<0.01
大粒種ぶどう※ (果実)	1	17.7% フロアブル	3000倍散布 300L/10a	3回	14, 21, 28, 42日	圃場A:0.36
小粒種ぶどう※ (果実)	1	17.7% フロアブル	3000倍散布 350L/10a	3回	14, 28, 60日	圃場A:1.20

最大使用条件下の作物残留試験条件に、アンダーラインを付している。

※で示した作物は、作物残留試験成績のばらつきを考慮し、試験が行われた範囲内で最も大きな残留値を考慮した。

なお、食品安全委員会農薬専門調査会の農薬評価書(案)「アミスルブロム」に記載されている作物残留試験成績は、各試験条件における残留農薬の最高値及び各試験場、検査機関における最高値の平均値を示したものであり、上記の最大残留量の定義と異なっている。

農産物名	基準値 案 ppm	基準値 現行 ppm	登録 有無	参考基準値		作物残留試験成績 ppm
				国際 基準 ppm	外国 基準値 ppm	
大豆	0.3		申			0.08(\$), 0.02
ばれいしょ	0.05		申			<0.01, <0.01
トマト	2		申			0.38, 0.42(トマト)、 0.43, 0.66(ミニマト)
きゅうり	0.7		申			0.17, 0.21(\$)
メロン類果実	0.05		申			<0.01, <0.01
ぶどう	3		申			0.36, 1.20(\$)

(\$)で示した作物は、作物残留試験成績のばらつきを考慮し、試験が行われた範囲内で最も大きな残留値を考慮した。
注) トマトについては、品種の相違による偏差を考慮し、作物残留量の高いミニマトの作物残留試験成績を基準値策定の根拠とした。

(別紙3)

アミスルブロム推定摂取量 (単位: $\mu\text{g}/\text{人}/\text{day}$)

食品群	基準値案 (ppm)	国民平均 TMDI	幼小児 (1~6歳) TMDI	妊婦 TMDI	高齢者 (65歳以上) TMDI
大豆	0.3	16.8	10.1	13.7	17.6
ばれいしょ	0.05	1.8	1.1	2.0	1.4
トマト	2	48.6	33.8	49.0	37.8
きゅうり	0.7	11.4	5.7	7.1	11.6
メロン類果実	0.05	0.0	0.0	0.0	0.0
ぶどう	3	17.4	13.2	4.8	11.4
計		96.1	63.9	76.5	79.8
ADI比 (%)		1.8	4.0	1.4	1.5

TMDI: 理論最大1日摂取量 (Theoretical Maximum Daily Intake)

(参考)

これまでの経緯

- 平成18年 3月24日 農薬登録申請（ばれいしょ、だいず等に係る新規登録申請）
平成18年 4月 3日 厚生労働大臣から食品安全委員長あてに残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請
平成18年 4月 6日 食品安全委員会（要請事項説明）
平成18年 8月28日 第3回農薬専門調査会総合評価第二部会
平成19年 7月27日 第13回農薬専門調査会総合評価第二部会
平成19年 9月 5日 第26回農薬専門調査会幹事会
平成19年 9月20日 食品安全委員会における食品健康影響評価（案）の公表
平成19年10月17日 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会へ諮問
平成19年10月23日 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
平成19年10月25日 食品安全委員会（報告）
平成19年10月25日 食品安全委員会委員長から厚生労働大臣あてに食品健康影響評価について通知

●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

[委員]

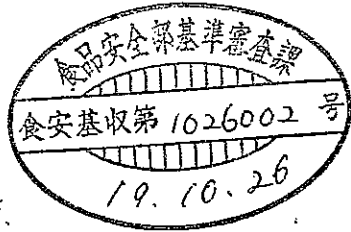
- | | |
|---------|-----------------------------------|
| 青木 宙 | 東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科教授 |
| 井上 松久 | 北里大学副学長 |
| ○大野 泰雄 | 国立医薬品食品衛生研究所副所長 |
| 尾崎 博 | 東京大学大学院農学生命科学研究科教授 |
| 加藤 保博 | 財団法人残留農薬研究所理事 |
| 斉藤 貢一 | 星薬科大学薬品分析化学教室准教授 |
| 佐々木 久美子 | 国立医薬品食品衛生研究所客員研究員 |
| 志賀 正和 | 元独立行政法人農業技術研究機構中央農業総合研究センター虫害防除部長 |
| 豊田 正武 | 実践女子大学生生活科学部生活基礎化学研究室教授 |
| 米谷 民雄 | 国立医薬品食品衛生研究所食品部長 |
| 山内 明子 | 日本生活協同組合連合会組織推進本部 本部長 |
| 山添 康 | 東北大学大学院薬学研究科医療薬学講座薬物動態学分野教授 |
| 吉池 信男 | 独立行政法人国立健康・栄養研究所研究企画評価主幹 |
| 鰐淵 英機 | 大阪市立大学大学院医学研究科都市環境病理学教授 |

(○：部会長)

答申 (案)

アミスルブロム

食品名	残留基準値
	ppm
大豆	0.3
ばれいしよ	0.05
トマト	2
きゅうり	0.7
メロン類果実	0.05
ぶどう	3

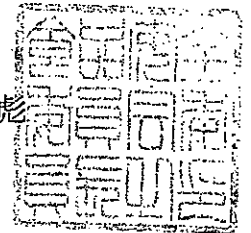


資料 3-12-3

府 食 第 1055 号
平成 19 年 10 月 25 日

厚生労働大臣
舛添 要一 殿

食品安全委員会
委員長 見上 彪



食品健康影響評価の結果の通知について

平成 18 年 4 月 3 日付け厚生労働省発食安第 0403001 号をもって貴省から当委員会に意見を求められたアミスルブロムに係る食品健康影響評価の結果は下記のとおりですので、食品安全基本法（平成 15 年法律第 48 号）第 23 条第 2 項の規定に基づき通知します。
なお、食品健康影響評価の詳細は別添のとおりです。

記

アミスルブロムの一 日 摂 取 許 容 量 を 0.1 mg/kg 体 重 / 日 と 設 定 す る。

農薬評価書

アミスルブロム

2007年10月

食品安全委員会

目 次

○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. 評価対象農薬の概要	6
1. 用途	6
2. 有効成分の一般名	6
3. 化学名	6
4. 分子式	6
5. 分子量	6
6. 構造式	6
7. 開発の経緯	6
II. 試験結果概要	7
1. 動物体内運命試験	7
(1) 薬物動態	7
(2) 排泄	8
(3) 胆汁排泄	8
(4) 体内分布 (単回投与)	9
(5) 代謝物同定・定量	10
(6) 反復投与後の排泄・分布・代謝	12
(7) 腸肝循環	13
2. 植物体内運命試験	14
(1) ぶどう	14
(2) ばれいしょ	15
(3) トマト	16
3. 土壌中運命試験	17
(1) 好氣的土壌中運命試験	17
(2) 土壌表面光分解試験	18
(3) 土壌吸着試験 (アミスルプロム)	18
(4) 土壌吸着試験 (土壌中分解物 D)	18
4. 水中運命試験	18
(1) 加水分解試験	18
(2) 水中光分解試験 (滅菌緩衝液)	19
(3) 水中光分解試験 (滅菌自然水)	19
5. 土壌残留試験	20
6. 作物残留試験	21
7. 一般薬理試験	22

8. 急性毒性試験	22
9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験	23
10. 亜急性毒性試験	23
(1) 90日間亜急性毒性試験(ラット)	23
(2) 90日間亜急性毒性試験(イヌ)	24
(3) 21日間亜急性経皮毒性試験(ラット)	25
11. 慢性毒性試験及び発がん性試験	25
(1) 1年間慢性毒性試験(イヌ)	25
(2) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験(ラット)	26
(3) 18カ月間発がん性試験(マウス)	29
12. 生殖発生毒性試験	31
(1) 2世代繁殖試験(ラット)	31
(2) 発生毒性試験(ラット)	32
(3) 発生毒性試験(ラット・高用量・確認試験)	33
(4) 発生毒性試験(ウサギ)	33
13. 遺伝毒性試験	34
14. その他の試験	35
(1) 肝における催腫瘍性に関する検討試験	35
(2) 胃における催腫瘍性に関する検討試験	40
(3) 繁殖成績低下に関する検討試験	41
Ⅲ. 総合評価	43
・別紙1: 代謝物/分解物略称	48
・別紙2: 検査値等略称	50
・別紙3: 推定摂取量	51
・参照	52

<審議の経緯>

- 2006年 3月 24日 農林水産省から厚生労働省へ登録申請に係る連絡及び基準設定依頼（新規：ばれいしょ、だいず等）
- 2006年 4月 3日 厚生労働大臣より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 0403001 号）（参照 1～61、65）
- 2006年 4月 4日 同接受
- 2006年 4月 6日 食品安全委員会第 138 回会合（要請事項説明）（参照 66）
- 2006年 8月 28日 農薬専門調査会総合評価第二部会第 3 回会合（参照 67）
- 2007年 6月 28日 追加資料受理（参照 68～74）
- 2007年 7月 27日 農薬専門調査会総合評価第二部会第 13 回会合（参照 75）
- 2007年 9月 5日 農薬専門調査会幹事会第 26 回会合（参照 76）
- 2007年 9月 20日 食品安全委員会第 207 回会合（報告）
- 2007年 9月 20日 より 10月 19日 国民からの御意見・情報の募集
- 2007年 10月 23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
- 2007年 10月 25日 食品安全委員会第 212 回会合（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>

(2006年6月30日まで)	(2006年12月20日まで)	(2006年12月21日から)
寺田雅昭 (委員長)	寺田雅昭 (委員長)	見上 彪 (委員長)
寺尾允男 (委員長代理)	見上 彪 (委員長代理)	小泉直子 (委員長代理*)
小泉直子	小泉直子	長尾拓
坂本元子	長尾拓	野村一正
中村靖彦	野村一正	畑江敬子
本間清一	畑江敬子	廣瀬雅雄**
見上 彪	本間清一	本間清一

* : 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>

(2007年3月31日まで)

鈴木勝士 (座長)	太田敏博	津田修治
廣瀬雅雄 (座長代理)	大谷 浩	津田洋幸
赤池昭紀	小澤正吾	出川雅邦
石井康雄	小林裕子	長尾哲二
泉 啓介	三枝順三	中澤憲一
上路雅子	佐々木有	納屋聖人
臼井健二	高木篤也	成瀬一郎
江馬 眞	玉井郁巳	布柴達男
大澤貫寿	田村廣人	根岸友恵

林 真
平塚 明
藤本成明
細川正清

松本清司
柳井徳磨
山崎浩史
山手丈至

與語靖洋
吉田 緑
若栗 忍

(2007年4月1日から)

鈴木勝士 (座長)
林 真 (座長代理*)
赤池昭紀
石井康雄
泉 啓介
上路雅子
臼井健二
江馬 真
大澤貫寿
太田敏博
大谷 浩
小澤正吾
小林裕子

三枝順三
佐々木有
代田眞理子****
高木篤也
玉井郁巳
田村廣人
津田修治
津田洋幸
出川雅邦
長尾哲二
中澤憲一
納屋聖人
成瀬一郎***

西川秋佳**
布柴達男
根岸友恵
平塚 明
藤本成明
細川正清
松本清司
柳井徳磨
山崎浩史
山手丈至
與語靖洋
吉田 緑
若栗 忍

* : 2007年4月11日から
** : 2007年4月25日から
*** : 2007年6月30日まで
**** : 2007年7月1日から

要 約

スルファモイルトリアゾール骨格を有する殺菌剤である「アミスロブロム」(IUPAC : 3-(3-ブromo-6-フルオロ-2-メチルインドール-1-イルスルホニル)-*N,N*-ジメチル-1,2,4-トリアゾール-1-スルホンアミド) 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。

評価に供した試験成績は、動物体内運命 (ラット)、植物体内運命 (ぶどう、ばれいしょ及びトマト)、土壌中運命、水中運命、土壌残留、作物残留、急性毒性 (ラット)、亜急性毒性 (ラット及びイヌ)、慢性毒性 (イヌ及びラット)、発がん性 (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)、遺伝毒性試験等である。

試験結果から、アミスロブロム投与による影響は、主に肝臓、腎臓及び胃に認められた。催奇形性及び遺伝毒性は認められなかった。

発がん性試験において、ラットで肝細胞腫瘍及び前胃腫瘍、マウスで前胃腫瘍が増加したが、発生機序は遺伝毒性メカニズムとは考え難く、評価にあたり閾値を設定することは可能であると考えられた。

各試験の無毒性量の最小値が、イヌを用いた 1 年間慢性毒性試験の 10 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 0.1 mg/kg 体重/日を一日摂取許容量 (ADI) と設定した。

1. 評価対象農薬の概要

1. 用途

殺菌剤

2. 有効成分の一般名

和名：アミスルブロム

英名：amisulbrom (ISO 名)

3. 化学名

IUPAC

和名：3-(3-ブロモ-6-フルオロ-2-メチルインドール-1-イルスルホニル)-
N,N-ジメチル-1,2,4-トリアゾール-1-スルホンアミド

英名：3-(3-bromo-6-fluoro-2-methylindol-1-ylsulfonyl)-
N,N-dimethyl-1,2,4-triazole-1-sulfonamide

CAS(No. 348635-87-0)

和名：3-[(3-ブロモ-6-フルオロ-2-メチル-1*H*-インドール-1-イル)スルホニル]-
N,N-ジメチル-1*H*-1,2,4-トリアゾール-1-スルホンアミド

英名：3-[(3-bromo-6-fluoro-2-methyl-1*H*-indol-1-yl)sulfonyl]-
N,N-dimethyl-1*H*-1,2,4-triazole-1-sulfonamide

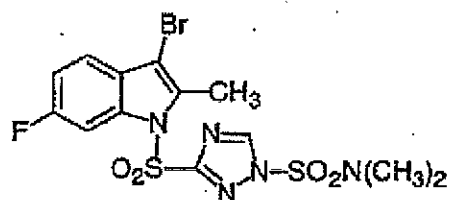
4. 分子式

$C_{13}H_{13}BrFN_5O_4S_2$

5. 分子量

466.31

6. 構造式



7. 開発の経緯

アミスルブロムは、1999年に日産化学工業株式会社により開発されたスルファモイルトリアゾール骨格を有する新規殺菌剤である。本剤は、卵菌類に属する疫病菌やべと病菌に低薬量で殺菌活性を示すことが確認された。作用機序は卵菌類のミトコンドリア内電子伝達系複合体 III_Qi サイトの阻害であることから、既存薬剤（フェニルアマイド系、ストロビルリン系殺菌剤等）に耐性を示す系統の菌株にも有効な殺菌剤であることが示唆されている。

日産化学工業株式会社より農薬取締法に基づく登録申請（新規：ばれいしょ、だいず等）がなされ、参照 1~61、68~74 の資料が提出されている。

II. 試験結果概要

各種運命試験（II.1~4）は、インドール環の6員環の全炭素を¹⁴Cで標識したもの（ind-¹⁴C-アミスルブロム）及びトリアゾール環の5位炭素を¹⁴Cで標識したもの（tri-¹⁴C-アミスルブロム）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アミスルブロムに換算した。代謝物/分解物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) 薬物動態

Wistar ラットに ind-¹⁴C-アミスルブロム及び tri-¹⁴C-アミスルブロムを低用量（10 mg/kg 体重）及び高用量（1000 mg/kg 体重）で単回経口投与する薬物動態試験が実施された。

血漿中放射能濃度推移は表1に、血液中放射能濃度推移は表2に示されている。ind-¹⁴C-アミスルブロム及び tri-¹⁴C-アミスルブロムを低用量投与した時の血漿中薬物動態は、投与2~6時間後に C_{max} に達し、血漿中からの T_{1/2} は、18~35時間であった。高用量投与した時は、6~12時間後に C_{max} に達し、T_{1/2} は、8~13時間であった。血漿中 C_{max} は雄よりも雌の方が、tri-¹⁴C-アミスルブロムより ind-¹⁴C-アミスルブロムの方が高かった。

血液中では、低用量投与した時、投与2~6時間後に C_{max} に達し、T_{1/2} は、23~121時間であった。高用量投与した時は、6~24時間後に C_{max} に達し、T_{1/2} は、18~121時間であった。血液中においても、C_{max} は雄よりも雌の方が、tri-¹⁴C-アミスルブロムより ind-¹⁴C-アミスルブロムの方が高かった。また、tri-¹⁴C-アミスルブロムを投与した場合に、血漿中と比較して T_{1/2} が長かったが、C_{max} は血漿中とほぼ同様の結果であった。（参照2）

表1 血漿中放射能濃度推移

投与量	10 mg/kg 体重				1000 mg/kg 体重			
	ind- ¹⁴ C-アミスル ブロム		tri- ¹⁴ C-アミスル ブロム		ind- ¹⁴ C-アミスル ブロム		tri- ¹⁴ C-アミスル ブロム	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
T _{max} (hr)	2	2	3	6	12	12	6	12
C _{max} (mg/L)	4.80	5.96	2.07	3.27	22.0	30.4	12.4	21.8
T _{1/2} (hr)	34.5	19.5	25.7	17.5	13.1	12.9*	8.3	8.3

*：各群の個別データのばらつきにより薬物動態解析のデータ処理で定義した許容範囲に適合していない。

表2 血液中放射能濃度推移

投与量	10 mg/kg 体重		1000 mg/kg 体重	
	ind- ¹⁴ C-アミスル ブロム	tri- ¹⁴ C-アミスル ブロム	ind- ¹⁴ C-アミスル ブロム	tri- ¹⁴ C-アミスル ブロム
性別				

性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
T _{max} (hr)	2	2	4	6	24	24	6	12
C _{max} (mg/L)	2.25	2.85	1.38	2.12	14.0	19.7	11.6	17.8
T _{1/2} (hr)	53.1*	22.6	121*	32.4*	18.8*	17.5*	121*	63.2*

*：各群の個別データのばらつきにより薬物動態解析のデータ処理で定義した許容範囲に適合していない。

(2) 排泄

Wistar ラットに ind-¹⁴C・アミスルブロム及び tri-¹⁴C・アミスルブロムを低用量 (10 mg/kg 体重) 及び高用量 (1000 mg/kg 体重) で単回経口投与した排泄試験が実施された。投与後 120 時間の尿、糞及びケージ洗浄液を採取し、放射能濃度を測定した。

投与後 120 時間の尿及び糞中排泄率は表 3 に示されている。

両標識体を低用量で投与した時の尿及び糞中への排泄はそれぞれ総投与放射能 (TAR) の 10.1~15.0% 及び 79.7~97.8% であった。全体の回収率は 93% 以上であった。両標識体を高用量で投与した時の投与後 120 時間までの尿及び糞中への排泄はそれぞれ 0.9~2.8% TAR 及び 88.9~99.8% TAR であった。全体の回収率は 90% 以上であった。雌雄間及び標識位置の違いによる大きな差は認められなかった。(参照 2)

表 3 尿及び糞中排泄率 (投与量に対する割合、%TAR)

投与量	10 mg/kg 体重				1000 mg/kg 体重			
	雄		雌		雄		雌	
性別	尿*	糞	尿*	糞	尿*	糞	尿*	糞
試料	尿*	糞	尿*	糞	尿*	糞	尿*	糞
ind- ¹⁴ C・アミスル ブロム	10.1	97.8	13.1	85.3	2.8	99.8	1.4	96.8
tri- ¹⁴ C・アミスル ブロム	14.0	79.7	15.0	81.8	0.9	91.2	1.4	88.9

※)ケージ洗浄液を含む。

(3) 胆汁排泄

SD ラット (胆管カニューレ処理) に ind-¹⁴C・アミスルブロムを低用量 (10 mg/kg 体重) 及び高用量 (1000 mg/kg 体重) で単回経口投与し、投与後 48 時間までの胆汁、尿、ケージ洗浄液、消化管 (内容物を含む)、肝臓及びカーカスを採取し放射能濃度を測定した。

各試料における放射能量は表 4 に示されている。

低用量投与群における胆汁中への排泄は雌雄ともに約 40% TAR であった。吸収率は胆汁、尿、肝臓及びカーカス中の放射能を基に計算したところ (吸収率=胆汁+尿+肝臓+カーカス)、49.4~49.8% (ケージ洗浄液を含まない) であった。残りの放射能は糞中に検出され (44% TAR)、全体の回収率は 94% 以上であった。

高用量投与群における胆汁中への排泄率は 3% 未満と雌雄ともに低かった。吸収率は 4.7~4.9% (ケージ洗浄液を含まない) であった。残りの放射能は糞中に検出され

(84.6~86.1%TAR)、全体の回収率は92%以上であった。(参照2)

表4 各試料における放射能量(投与量に対する割合、%TAR)

標識体	投与量 (mg/kg 体重)	性別	胆汁	尿及び ケージ洗浄液	糞	消化管 (内容物を含む)	肝臓	カーカス
ind- ¹⁴ C- アミスル ブロム	10	雄	40.8	9.3	44.0	0.2	0.2	0.3
		雌	39.5	9.9	44.0	2.7	0.09	0.6
	1000	雄	2.9	1.2	84.6	2.8	0.03	0.8
		雌	1.2	3.3	86.1	4.8	0.02	0.7

(4) 体内分布(単回投与)

SD ラットに ind-¹⁴C-アミスルブロム及び tri-¹⁴C-アミスルブロムを低用量(10 mg/kg 体重)及び高用量(1000 mg/kg 体重)で単回経口投与し、投与後120時間まで定期的に解剖し(tri-¹⁴C-アミスルブロム投与群は投与120時間後のみ)、臓器・組織中の放射能濃度を測定した。

低用量及び高用量の単回投与における組織分布は表5に示されている。

ind-¹⁴C-アミスルブロムの低用量投与群の T_{max} 付近では、体内残留放射能の大部分が消化管(内容物を含む、109~120 µg/g、85.9~96.7%TAR)に存在した。また、肝臓(4.52~4.72 µg/g、1.6~1.8%TAR)、腎臓(1.71~3.40 µg/g、0.1~0.2%TAR)及び血漿(1.71~2.47 µg/g、0.7~1.0%TAR)から放射能が検出された。その他の組織中の濃度は、全て血漿中濃度より低かった。投与24時間後、放射能濃度は減衰したが、消化管、肝臓、腎臓及び血漿中の放射能濃度は他の組織と比べると高かった。投与120時間後、放射能濃度はさらに減衰したが、肝臓(0.11~0.22 µg/g、0.06~0.1%TAR)及び腎臓(0.07~0.10 µg/g、0.01%TAR)から放射能が認められた。消化管、全血、血球及び血漿からは、低濃度の放射能が検出された。その他の組織は全て検出限界未満であった。

ind-¹⁴C-アミスルブロムの高用量群の T_{max} 付近では、体内残留放射能の大部分が消化管(2620~6380 µg/g、34~50%TAR)に存在した。また、肝臓、腎臓及び血漿から放射能が検出された。その他の組織中の濃度は、全て血漿中濃度より低かった。投与72時間後、放射能濃度は減衰したが、肝臓、消化管及び腎臓中の放射能濃度は他の組織と比べると高かった。その他の組織中の濃度は、全て血漿中濃度より低かった。投与120時間後では、特に肝臓及び血球から放射能が認められた。腎臓、全血(雄)及び血漿(雄)からは、低濃度の放射能が検出された。その他の組織は全て検出限界未満であった。tri-¹⁴C-アミスルブロムの低用量投与群で投与120時間後では、ind-¹⁴C-アミスルブロムと同様に、肝臓(0.28~0.49 µg/g、0.1~0.2%TAR)及び腎臓(0.09~0.1 µg/g、0.01%TAR)において放射能濃度が高かった。また、全血及び血球中における濃度が ind-¹⁴C-アミスルブロム投与の場合より高かった。

tri-¹⁴C-アミスルブロムの高用量投与群で投与120時間後では、肝臓、全血及び血球における放射能濃度が高かったが腎臓では検出限界未満であった。(参照2)

表5 ind-¹⁴C-アミスルブロム投与後の主要組織中の残留放射能濃度 (μg/g)

投与量	性別	T _{max} 付近 ¹⁾	最終試料採取時間 ²⁾
10 mg/kg 体重	雄	消化管 (109), 肝 (4.52), 腎 (1.71), 血漿 (1.71), 副腎 (1.54), 下垂体 (1.19), 全血 (0.94)	肝 (0.222), 腎 (0.068), 血漿 (0.025), 全血 (0.016), 血球 (0.014), 消化管 (0.010), その他検出せず
	雌	消化管 (120), 肝 (4.72), 血漿 (2.47), 腎 (3.40), 副腎 (1.14), 全血 (1.27)	肝 (0.110), 腎 (0.102), 血漿 (0.024), 全血 (0.011), 消化管 (0.009), 肺 (0.007), 血球 (0.004), その他検出せず
1000 mg/kg 体重	雄	消化管 (2620), 肝 (33.4), 血漿 (11.7), 腎 (10.9), 全血 (7.05)	肝 (6.63), 血球 (1.87), 腎 (0.705), 血漿 (0.358), 全血 (0.900), その他検出せず
	雌	消化管 (6380), 肝 (39.5), 血漿 (28.0), 腎 (26.9), 全血 (14.2)	肝 (2.07), 腎 (1.24), その他検出せず

注) 消化管は内容物を含む。

1) 10 mg/kg 体重投与群は 2 時間後、1000 mg/kg 体重投与群は 12 時間後。

2) 120 時間後。

(5) 代謝物同定・定量

SD ラットに ind-¹⁴C-アミスルブロム及び tri-¹⁴C-アミスルブロムを低用量 (10 mg/kg 体重) 及び高用量 (1000 mg/kg 体重) で単回経口投与し、糞、尿及び胆汁試料中のアミスルブロムの代謝物の同定・定量試験が実施された。

尿、胆汁、糞、肝臓及び血漿中における代謝物は表 6 に示されている。

尿中からは H 及び J が同定されたが、いずれも 0.8% TAR 以下であった。H 及び J について酵素 (β-グルクロニターゼ) 処理を行ったが、実質的な変化はなかった。これにより、グルクロン酸抱合体及び硫酸抱合体は存在しないことが示唆された。

胆汁からは主に X (D の N-グルクロン酸抱合体) 及び V (B の抱合体) が検出された。酵素処理の結果、C が増加したことから、W (C の抱合体) の存在が示唆された。

糞抽出液中の代謝物プロファイルは、いずれの用量群でも質的には類似しており、雌雄間及び標識位置の違いによる差は実質的には認められなかった。主要な糞中成分はアミスルブロムであり、低用量群及び高用量群でそれぞれ 40.5~52.4% TAR 及び 83.2~89.3% TAR を占めていた。その他 B、C、D、E、F、H 及び M が検出されたが、全て 3% TAR 以下であった。

肝臓抽出液中の代謝物プロファイルはいずれの用量群でも質的には類似しており、性差は実質的には認められなかった。主要な肝臓中成分は D 及び E であり、それぞれ肝臓中放射能の 10.4~19.6% を占めた。その他 F (2.6~2.7%) が微量成分として検出された。

血漿中の代謝物プロファイルは、いずれの用量群でも質的には類似しており、性差は実質的には認められなかった。主要な血漿中成分は D 及び E であった。D は低用量群及び高用量群でそれぞれ血漿中放射能の 20.5~21.8% 及び 13.8~18.2%、E は 21.9~23.1% 及び 42.5~55.7% を占めた。その他、F (1.6~2.2%) 及び H (1.1~4.0%) が微量成分として検出された。

以上より、ラットにおけるアミスルブロムの代謝反応は、主にトリアゾール環側鎖の脱離 (D)、インドール環 2 位のメチル基の水酸化 (B)、これらの両反応 (E)、インドール環の酸 (I)/水酸化 (C) 及びグルクロン酸抱合化 (V、W 及び X) と考えられた。また、インドール環の開裂 (H、M 及び T)、トリアゾール環の転位 (J) 等の反応も推定された。(参照 2)

表 6 尿、胆汁、糞、肝臓及び血漿中における代謝物 (投与量に対する割合、%TAR)

標識体	投与量	性別	部位	アミスル ブロム	代謝物
ind- ¹⁴ C- アミスル ブロム	10 mg/kg 体重	雄	尿	—	H(0.6), J(0.6)
			胆汁	—	Y(2.5), 成分 29(1.4), V(5.3), B(0.3), C(0.5), D(0.3), X(3.4), E(0.4), I(<0.1)
			糞	52.4	B(1.8), C(1.4), D(1.9), E(1.6), F(1.4), M(0.4)
			肝臓	—	D(13.6), E(11.6), F(2.6), その他(41.8)
			血漿	—	D(21.8), E(21.9), F(2.2), H(4.0), その他(12.4)
		雌	尿	—	H(0.5), J(0.8)
			胆汁	—	Y(3.7), 成分 29(1.3), V(5.3), B(<0.1), C(0.2), D(<0.1), X(3.4), E(0.4), I(<0.1)
			糞	44.7	B(3.0), C(1.5), D(2.8), E(2.1), F(1.3), M(0.1)
			肝臓	—	D(19.6), E(14.7), F(2.7), その他(42.2)
			血漿	—	D(20.5), E(23.1), F(1.6), H(1.1), その他(10.1)
	1000 mg/kg 体重	雄	糞	88.0	B(<0.5), C(<0.5), D(<0.5), E(<0.5)
			肝臓	—	D(10.4), E(≤19.3), F(≤12.3), その他(23.5)
			血漿	—	D(18.2), E(42.5), F(<0.1), H(<0.1), その他(2.9)
		雌	糞	89.3	B(1.3), C(<0.9), D(<0.9), E(<0.9)
			肝臓	—	D(15.5), E(≤36.3), F(≤11.8), その他(≤18.0)
血漿			—	D(13.8), E(55.7), F(<0.1), H(<0.1), その他(<0.1)	
tri- ¹⁴ C- アミスル ブロム	10 mg/kg 体重	雄	尿	—	H(≤0.4), J(0.1)
			糞	40.5	B(1.0), C(1.3), D(2.3), E(1.2), F(1.2), H(<0.3)
		雌	尿	—	H(0.1), J(0.1)
			糞	42.5	B(2.1), C(1.1), D(2.1), E(1.7), F(0.9), H(<0.3)

	1000 mg/kg 体重	雄	糞	86.0	B(0.5), C(<0.5), D(<0.5), E(<0.5)
		雌	糞	83.2	B(0.4), C(<0.4), D(<0.4), E(<0.4)

(6) 反復投与後の排泄・分布・代謝

Wistar ラット（一群雌雄各 4 匹）に非標識体を低用量（10 mg/kg 体重）で 13 日間反復強制経口投与し、14 日目に tri-¹⁴C-アミスルブロムを低用量（10 mg/kg 体重）で経口投与した（単回投与試験において投与 120 時間後の血液中放射能濃度は ind-¹⁴C-アミスルブロムよりも tri-¹⁴C-アミスルブロムの方が高かった。トリアゾール環のみを有する代謝物の血液への残留性を明らかにすることも考慮し、本試験では tri-¹⁴C-アミスルブロムを使用した）。試験期間中、定期的に尿、糞及びケージ洗浄液を採取した。最終投与 120 時間後に採血後、供試動物を解剖し、臓器・組織中の放射能濃度を測定した。

14 日間反復投与後 120 時間の尿、糞及び投与 120 時間後のカーカス中放射能は表 7 に示されている。投与後 120 時間に雄及び雌の尿中に排泄された放射能は 11～13% TAR（ケージ洗浄液含まず）、糞中に排泄された放射能は 82.5～84.0% TAR であり、投与 120 時間後のカーカス中放射能は 0.2% TAR 未満であった。全体の回収率は 94% TAR であった。72 時間以内に 90% TAR 以上が排泄された。性差は認められなかった。

投与 120 時間後における主要な臓器・組織中における放射能の分布は表 8 に示されている。放射能濃度は、血球、肝臓、全血及び腎臓で高かった。次いで、副腎、カーカス、脂肪、消化管、心臓、腎臓、肺、卵巣、皮膚、脾臓、子宮及び血漿から低濃度の放射能が検出された。各組織中の濃度及び分布率は、単回投与と類似しており、投与 120 時間後における組織残留は、0.4% TAR 未満と少なかった。

14 日間反復投与後の尿及び糞中における代謝物は表 9 に示されている。アミスルブロムが主要な成分であり、その他の代謝物として、B、C、D、E、F、H 及び J が同定された。また T が暫定的に同定された。尿試料を酵素処理したが、HPLC プロファイルには実質的に変化がなく、グルクロン酸抱合体及び硫酸抱合体は尿中に存在しないことが示唆された。これらの定量値は単回投与での結果と類似しており、連続投与しても代謝速度及びパターンに大きな変化はないことが示唆された。（参照 3）

表 7 14 日間反復投与後の尿、糞及びカーカス中放射能 (%TAR)

標識体	投与量 (mg/kg 体重)	性別	尿*	糞	カーカス
ind- ¹⁴ C- アミスルブロム	10	雄	11.9	82.5	0.09
		雌	14.3	84.0	0.16

※：ケージ洗浄液を含む。

表 8 投与 120 時間後の主要組織中の残留放射能濃度 (µg/g)

標識体	性別	最終投与後 120 時間
ind- ¹⁴ C-アミスル ブロム	雄	血球(0.449), 肝(0.388), 全血(0.207), 腎(0.078), 脾(0.044), 肺(0.038), 血漿(0.032), 消化管(0.015), カーカ ス(0.012), 皮膚(0.011), 心臓(0.008), その他検出せず
	雌	血球(0.315), 肝(0.246), 全血(0.148), 腎(0.109), 血漿(0.053), 肺(0.031), 脾(0.030), カーカス(0.023), 消化管 (0.022), 脂肪(0.014), 心臓(0.012), 卵巣(0.010), 子宮(0.010), その他検 出せず

表 9 14 日間反復投与後の尿及び糞中における代謝物 (投与量に対する割合、%TAR)

標識体	投与量	部位	アミスル ブロム	代謝物
ind- ¹⁴ C- アミスル ブロム	10 mg/kg 体重	尿	—	F(0.2), H(1.1), J(0.4-0.5), T(0.1)
		糞	38.4-42.3	B(1.0-1.5), C(1.5-2.3), D(1.5-1.9), E(1.4-1.8), F(3.2)

数値の幅は雌雄の値を示す。

(7) 腸肝循環

胆管カニューレ処置を施した Wistar ラット (雄) に ind-¹⁴C-アミスルブロムを経口投与し (達成投与量 11.3~11.5 mg/kg 体重、投与放射能量 0.94 MBq/匹)、投与後 6 時間に排泄された胆汁を採取した。この採取した胆汁を投与液とし、約 1g (32-37 kBq) の胆汁を胆管カニューレ処置したラットの十二指腸内に注入した。その後 24 時間に排泄された、胆汁、尿及び糞を採取し、投与 24 時間後に屠殺、消化管及び肝臓を採取した。

投与後 6 時間に排泄された胆汁は 16~19%TAR であった。

投与後 24 時間の胆汁、尿、糞中排泄率及び投与 24 時間後の消化管、肝臓、カーカス中残存率は表 10 に示されている。

表 10 胆汁、尿、糞中排泄率及び消化管、肝臓、カーカス中残存率 (%TAR)

標識体	試料	時間	平均値	±	標準偏差
ind- ¹⁴ C-アミス ルブロム	胆汁	0-24	34.1	±	6.6
	尿	0-24	9.5	±	1.6
	糞	0-24	14.2	±	4.7
	消化管	24	39.0	±	10.1
	肝臓	24	0.9	±	0.1
	カーカス	24	3.6	±	1.0

投与後 24 時間の胆汁に 34%TAR が排泄され、尿及び糞中にはそれぞれ 9.5%TAR 及び 14%TAR が排泄された。肝臓、消化管及びカーカス中の残存率はそれぞれ 0.9% TAR、39.0%TAR 及び 3.6%TAR であり、全体で 101%TAR が回収された。胆汁中排泄、尿中排泄、肝中残存及びカーカス中残存の合計より、消化管からの胆汁の再吸収率は 48%と計算された。

胆汁、尿及び糞中代謝物は表 11 に示されている。

¹⁴C-胆汁投与後の胆汁中に確認された代謝物は、I、V、X 及び Y であった。また、酵素処理によりアグリコンとして B、C、D、E、F 及び I が検出された。これらの代謝物の組成は、ind-¹⁴C-アミスルブロム投与後の胆汁とほぼ同様であった。糞では B、C、D、E 及び F が、尿では F 及び H が検出された。

表 11 胆汁、尿及び糞中代謝物(投与量に対する割合、%TAR)

代謝物	ind- ¹⁴ C-アミスルブロム 投与後胆汁		再吸収後胆汁		糞	尿
	無処理	酵素処理	無処理	酵素処理		
B	<0.1	1.3	<0.1	0.7	0.3	<0.1
C	0.1	0.8	<0.1	2.4	0.3	<0.1
D	<0.1	0.6	<0.1	1.7	0.4	<0.1
E	0.2	0.6	<0.1	1.5	0.7	<0.1
F	<0.1	0.2	<0.1	0.8	0.5	0.1
H	—	—	—	—	<0.1	0.1
I	0.6	0.7	0.7	1.0	—	—
V	1.8#	<0.1#	2.8#	<0.1#	—	—
X	0.9#	0.9#	4.7#	3.7#	—	—
Y	1.0	0.5	1.5	0.7	—	—

—：検出されず。

#：HPLC 及び TLC による定量値を基に申請者が算出。

ラットに投与されたアミスルブロムは吸収後代謝を受け、主に胆汁中に B、C、D 及び E の抱合体として排泄されるが、その約半分が消化管より再吸収された後、再び主に胆汁中に排泄された。再吸収後の胆汁中代謝物は概ねアミスルブロム投与後の胆汁中代謝物と類似していたが、B の抱合体が減少して、C、E 及び F の抱合体比率が増加しており、再吸収によりさらに代謝を受けるものと考えられた。(参照 4)

2. 植物体内運命試験

(1) ぶどう

ind-¹⁴C-アミスルブロムあるいは tri-¹⁴C-アミスルブロムを含む 20%フロアブル製剤を水で 2000 倍に希釈した散布液をぶどう(品種：Thompson)試験樹に散布し、

植物体内運命試験が実施された。1回の散布量は100 g ai/ha、散布間隔は10日、回数は3回であった(実測値は91.4~96.6 g ai/ha)。最終散布直後及び最終散布から7日後に果実を、14日後(収穫期)に果実及び葉を採取した。

ind-¹⁴C-アミスルブロム及びtri-¹⁴C-アミスルブロムのブドウ果実中における総残留放射能(TRR)は、散布直後でそれぞれ0.460 mg/kg及び0.971 mg/kg、14日後(収穫期)に0.289 mg/kg及び0.537 mg/kgであった。放射能の大部分(89.1~96.9%TRR)は洗浄液中に回収され、洗浄後の果実中の残留放射能はほとんどが抽出された。抽出されなかった放射能は収穫期のブドウ果実の場合で1.5~2.7%TRR(0.008 mg/kg)であった。

ind-¹⁴C-アミスルブロム及びtri-¹⁴C-アミスルブロムを散布した収穫期の果実で83.4~84.3%TRRがアミスルブロムであった。収穫期の果実中に、スルホニル架橋を維持したB、C、D、E、G、H、J及びスルホニル架橋が開裂したM、Rが少量検出された(0.0005~0.006 mg/kg; <0.05%TRR~1.2%TRR)。

葉部では、最終散布14日後に6.08~9.19 mg/kgの残留放射能を検出した。ind-¹⁴C-アミスルブロム及びtri-¹⁴C-アミスルブロムを散布した葉部の主残留放射能はアミスルブロムであり、それぞれ58.3%TRR及び52.1%TRRを占めた。果実と同様の代謝物が<0.05~3.0%TRRの範囲で検出された。

tri-¹⁴C-アミスルブロムを散布した葉の抽出物の水溶性画分に10.8%TRR(0.994 mg/kg)の残留放射能が検出された(ind-¹⁴C-アミスルブロム散布した葉では0.5%TRR)。この画分から4成分を分離し、0.3~4.3%TRR(0.024~0.395 mg/kg)の3成分及び5.0%TRR(0.454 mg/kg)の高極性成分より構成され、いずれも未同定であった。

散布時に被覆したブドウ果実では、tri-¹⁴C-アミスルブロム散布区で0.0001 mg/kgの残留放射能を抽出残渣から検出した。ind-¹⁴C-アミスルブロム散布区の被覆果実からは放射能は検出されなかった。トリアゾール部分は若干移行性が認められた。(参照5)

(2) ばれいしょ

ind-¹⁴C-アミスルブロムあるいはtri-¹⁴C-アミスルブロムを含む20%フロアブル製剤を野外のポット栽培のばれいしょ(品種: Maris piper)の茎葉部に7日間隔で5回散布し、植物体内運命試験が実施された。1回の散布量は100 g ai/haとした(実測値は98.9~103 g ai/ha)。最終散布直後、最終散布から7日後及び14日後(収穫期)に茎葉及び塊茎を採取した。

ind-¹⁴C-アミスルブロムを散布した茎葉部の残留放射能濃度は、最終散布直後の6.03 mg/kgから14日後には3.11 mg/kgへ減少した。収穫期の茎葉部の残留放射能は、洗浄液から72.3%TRR、抽出液に9.9%TRR、残渣に17.8%TRRが検出された。

ind-¹⁴C-アミスルブロムを散布した収穫期の茎葉の残留放射能(3.11 mg/kg)のうち74.9%TRR(2.33 mg/kg)をアミスルブロムが占め、代謝物としてB、C、D、E、F、G、H、J、M及び多数の未同定代謝物が0.1~1.4%TRR検出された。

tri-¹⁴C-アミスルブロムを散布した茎葉部の残留放射能濃度は最終散布直後で8.48

mg/kg、最終散布 14 日後で 6.04 mg/kg であった。収穫期の残留放射能は、洗浄液から 77.0%TRR、抽出液に 14.7%TRR、残渣に 8.3%TRR が検出された。

tri-¹⁴C・アミスルブロム散布区の収穫期の茎葉の残留放射能 (6.04 mg/kg) のうち 77.8%TRR (4.70 mg/kg) をアミスルブロムが占め、代謝物として B、C、D、G、H、I が 0.1~1.5%TRR 検出されたほか、未同定代謝物群が最大 3.4%TRR 検出された。

ind-¹⁴C・アミスルブロムを散布した収穫期の茎葉及び tri-¹⁴C・アミスルブロム散布区の収穫期の茎葉抽出液の水溶性画分には、それぞれ 2.3%TRR 及び 6.4%TRR の放射能が含まれ、未同定の 4~6 成分が分離された。残渣中の残留放射能をソックスレー抽出、酸あるいはアルカリ加水分解、酵素加水分解することにより大半の放射能が可溶化し、0.5~1.2%TRR が抽出できなかった。

ind-¹⁴C・アミスルブロム及び tri-¹⁴C・アミスルブロムを散布したばれいしょの塊茎中の残留放射能は、それぞれ 0.005~0.008 mg/kg 及び 0.013~0.022 mg/kg であった。ind-¹⁴C・アミスルブロムを散布したばれいしょの塊茎中の残留放射能は極めて低かったのでこれ以上の分析を実施しなかった。

tri-¹⁴C・アミスルブロム散布区の収穫期塊茎より 82.2%TRR が抽出されたが、60.1%TRR が水溶性画分に存在した。この画分には極性の高い 4 つの成分が分離された。茎葉に散布されたアミスルブロムのトリアゾール環部分が分解代謝されて植物成分中に取り込まれたことを示している。これらの成分は、クロマトグラム上で糖類とは異なる挙動をし、第 1 級アミンの誘導化試薬 (Fmoc) と反応せず、トリアゾールアラニンやトリアゾール酢酸に似た挙動をするが、クロマトグラム上で一致はしなかった。また、LC/MS 分析で想定代謝物と一致するピークを検出することはできなかった。非抽出成分 24.9%TRR (0.005 mg/kg) から分離したでん粉中から 3.1%TRR の放射能が検出された。非抽出成分からは、ソックスレー抽出、酸あるいはアルカリ加水分解、酵素加水分解などにより可溶化した放射性成分から有機溶媒に抽出される成分はなかった。(参照 6)

(3) トマト

ind-¹⁴C・アミスルブロム及び tri-¹⁴C・アミスルブロムを含む 20%フロアブル製剤を水で希釈してプラスチックトンネル内のポット栽培トマト (品種: Moneymaker) に散布し、植物体内運命試験が実施された。1 回の散布量は 120 g ai/ha (散布濃度 120 ppm) で、7 日間隔で 3 回散布した。最終散布直後及び最終散布から 3 日後に果実を、7 日後 (収穫期) に果実及び葉を採取した。

ind-¹⁴C・アミスルブロム及び tri-¹⁴C・アミスルブロムを散布した果実の残留放射能濃度は、アミスルブロム換算で最終散布当日にそれぞれ 0.300 mg/kg 及び 0.302 mg/kg であり、7 日後にそれぞれ 0.241 mg/kg 及び 0.182 mg/kg に減少した。

ind-¹⁴C・アミスルブロム及び tri-¹⁴C・アミスルブロムを散布した収穫期トマト果実の残留放射能は 91.5~92.0%TRR が表面洗浄液中に、6.0~6.6%TRR が洗浄後の抽出液中に、1.4~2.5%TRR が残渣中に分布した。収穫期の果実中の残留放射能の化学形態は、親化合物が 91.3~91.9%TRR を占めた。代謝物としてスルホニル架橋を維持しているものとして B、C、D、F、G、H 及び I、スルホニル架橋が開裂した代謝物と

して L 及び M、その他未同定の 10 種類以上の代謝物が検出されたが、いずれも $<0.05\%TRR$ ($<0.0005 \text{ mg/kg}$) $\sim 1.1\%TRR$ (0.003 mg/kg) であった。

ind- ^{14}C -アミスルブロム及び tri- ^{14}C -アミスルブロムを散布した茎葉の残留放射能濃度は、アミスルブロム換算で最終散布当日にそれぞれ 4.91 mg/kg 及び 5.04 mg/kg であった。

ind- ^{14}C -アミスルブロム及び tri- ^{14}C -アミスルブロムを散布したトマト茎葉の残留放射能は $85.3\sim 88.1\%TRR$ が表面洗浄液中に、 $8.1\sim 8.9\%TRR$ が洗浄後の抽出液中に、 $3.8\sim 5.8\%TRR$ が残渣中に分布した。収穫期の果実中の残留放射能の化学形態は、アミスルブロムが $86.3\sim 90.1\%TRR$ を占めた。代謝物としてスルホニル架橋を維持しているものとして B、C、D、F、G、H 及び I、スルホニル架橋が開裂した代謝物として L 及び M、その他未同定の 10 種類以上の代謝物が検出されたが、いずれも $<0.05\%TRR$ ($\leq 0.0005 \text{ mg/kg}$) から $1.1\%TRR$ (0.066 mg/kg) であった。

アミスルブロムの植物における主代謝経路は、①トリアゾール環のスルホニルアミノ基の脱離、②脱臭素、③酸化/水酸化、④インドール環及びトリアゾール環のスルホニル架橋の開裂、⑤インドール環の開裂であり、多数の代謝物が生成した。(参照 7)

3. 土壌中運命試験

(1) 好氣的土壌中運命試験

森林土壌(砂壤土:米国ノースダコタ州)を用いてアミスルブロムの好氣的土壌中運命試験を実施した。試験土壌をガラス容器に取り、土壌の水分を圃場含水量(0.33 バール)の 75%に調整した。この土壌の表面に ind- ^{14}C -アミスルブロム及び tri- ^{14}C -アミスルブロムを 0.5 mg/kg (乾土換算)の用量で均一に添加し、 $25\pm 2^\circ C$ の暗所で 365 日間インキュベートした。

アミスルブロムの試験土壌における放射能濃度は 365 日後に $1.8\%TAR$ に減少した。ind- ^{14}C -アミスルブロム及び tri- ^{14}C -アミスルブロム処理土壌中で分解物 D が、31 日後に最大 $30.8\sim 33.3\%TAR$ に達し、365 日後に $10.9\sim 14.2\%TAR$ に減衰した。E は、273 日後に最大 $4.9\sim 5.7\%TAR$ に達した後、365 日後にやや減衰して $4.7\sim 5.0\%TAR$ となった。K は 365 日後に $7.7\sim 8.2\%TAR$ に達した。その他、B、F、G、H、I の生成量は $5\%TAR$ 以下であった。極性分解物及び 4 個の未同定分解物を検出したが、その生成量は $1.2\%TAR$ 以下であった。

365 日間の累積二酸化炭素発生量は、ind- ^{14}C -アミスルブロム及び tri- ^{14}C -アミスルブロムで異なり、それぞれ $3.4\%TAR$ 及び $0.6\%TAR$ であった。

土壌から抽出された放射能は時間の経過とともに減少し、結合性残留放射能が増加して 365 日後には ind- ^{14}C -アミスルブロムで $69.4\%TAR$ 、tri- ^{14}C -アミスルブロムで $54.8\%TAR$ となった。

アミスルブロムの推定半減期及び 90%減衰期はそれぞれ 17 日及び 56 日であり、D のそれらはそれぞれ 34 日及び 114 日であった。

アミスルブロムの主要分解経路は、トリアゾール環上のスルホニルアミノ側鎖の開裂による D の生成であった。それに加え、脱臭素、酸化、メチル化及びインドール環の開裂等の反応の組み合わせの結果、その他の低濃度分解物が生成した。(参照 8)

(2) 土壌表面光分解試験

ind-¹⁴C-アミスルブロム又は tri-¹⁴C-アミスルブロムを使用し、砂壤土（米国ノースダコタ州）における土壌表面光分解試験が実施された。土壌 5 g（乾土換算）をガラス製シャーレに入れ、土壌水分を調節し（最大容水量の 24.9%に相当）、ind-¹⁴C-アミスルブロム又は tri-¹⁴C-アミスルブロムのアセトニトリル溶液の 500 g ai/ha 相当量を均一に処理した。照射区用試料には、キセノンランプ（光強度：425 W/m²、測定波長：290～800 nm）の光を 25±2℃で 15 日間照射した。

ind-¹⁴C-アミスルブロム又は tri-¹⁴C-アミスルブロムを添加した土壌中のアミスルブロムは、処理直後にはそれぞれ 93.9% TAR (0.505 mg/kg) 及び 93.8% TAR (0.505 mg/kg) が回収され、分解物 D は処理 15 日後に照射区で最大 21.4～30.7% TAR、暗所で 33.0～35.9% TAR に達した。その他、照射区から B、E、G、I、Q 及び数種類の未知分解物、暗所区から B、E、G、I、K 及び 2 種類の未知分解物が検出されたが、生成量はいずれも 10% TAR 未満であった。照射によって G 及び I の生成率が若干高くなった。

アミスルブロムの推定半減期は、照射区で 12.5 日、暗所区で 10.9 日であり、光照射による消失速度への影響は小さかった。

分解物 D の生成は光分解に起因しないことが示唆された。光分解経路は脱臭素、酸化/水酸化、インドール環の開裂及び両環の開裂であった。これらの代謝物の更なる分解の結果、フルボ酸、腐植酸及びヒューミン画分への結合、そして少量（15 日間の累積で 1.2～2.0%）の二酸化炭素が発生した。（参照 9）

(3) 土壌吸着試験（アミスルブロム）

アミスルブロムの土壌吸着試験が 5 種類の土壌 [砂壤土（米国）、壤土（日本）、壤質砂土（英国）、埴壤土（英国）、埴土（スペイン）] を用いて実施された。

Freundlich の吸着温等式による吸着係数は $K_{ads}=147\sim378$ 、有機炭素含量による補正吸着係数は $K_{oc}=8160\sim44200$ であった。アミスルブロムは 5 種類全ての土壌において非移動性と判断された。（参照 10）

(4) 土壌吸着試験（土壌中分解物 D）

土壌中分解物 D の土壌吸着試験が 4 種類の土壌 [埴壤土（英国）、砂壤土（米国）、壤土（日本）、壤質砂土（英国）] を用いて実施された。

Freundlich の吸着温等式による吸着係数は $K_{ads}=25.5\sim108$ 、有機炭素含量による補正吸着係数は $K_{oc}=821\sim11400$ であった。移動性区分は低移動性～非移動性であった。（参照 11）

4. 水中運命試験

(1) 加水分解試験

ind-¹⁴C-アミスルブロムまたは tri-¹⁴C-アミスルブロムを pH4 (0.01M 酢酸緩衝液)、7 (0.01M ホウ酸緩衝液) 及び 9 (0.01M ホウ酸緩衝液) の緩衝液に溶解して 50 µg/L

の溶液を調製した。この溶液を 25°C の暗所で、30 日間 (pH9 においては 20 日間) にわたり加水分解試験が実施された。

30 日後の pH4 及び 7 の緩衝液、20 日後の pH9 の緩衝液におけるアミスルブロムの残存率は、ind-¹⁴C-アミスルブロムにおいてはそれぞれ 75.3、69.9 及び 5.9% TAR であり、tri-¹⁴C-アミスルブロムにおいてはそれぞれ 72.6、75.0 及び 6.9% TAR であった。アミスルブロムの推定半減期は pH4、7 及び 9 の緩衝液において、それぞれ 78.5 日、76.5 日及び 5.0 日であった。pH4 及び 7 における主要分解物は D であった。pH9 において 10% 以上検出された分解物は D、L 及び Q であった。以上の結果、pH4 及び 7 ではトリアゾール環側鎖の開裂による D の生成が主要であり、pH が 7 及び 9 では D の生成に加え、インドール環とトリアゾール環の間のスルホニル結合の開裂 (L 及び Q の生成) が生じた。pH9 では L 及び Q の生成速度は D の生成速度よりも高くなり、アミスルブロムの推定半減期が pH4 及び 7 に比べると著しく短くなった。(参照 12)

(2) 水中光分解試験 (滅菌緩衝液)

ind-¹⁴C-アミスルブロム及び tri-¹⁴C-アミスルブロムを pH4 (0.01M 酢酸緩衝液) の滅菌緩衝液に溶解して 50 µg/L とし、25 ± 2°C でキセノンランプ (光強度: 425 W/m²、測定波長: 290~800 nm) を 48 時間照射した。

滅菌緩衝液中において、アミスルブロムは光照射時間の経過とともに速やかに減少し、照射 48 時間後には検出されなかった。10% TAR 以上の主要な分解物として M、O、P、U 及び Q が検出された。M は照射 48 時間後に 52.2% TAR に増加した。O は照射 48 時間後に 19.6% TAR に増加した。P は照射 6 時間後に 21.3% TAR に増加し、48 時間後には 2.8% TAR に減少した。U は照射 6 時間後に 26.8% TAR に増加し、48 時間後には 3.7% TAR に減少した。Q は照射 48 時間後に 67.1% TAR に増加した。少量の分解物として I、J、L、S、T 及び少なくとも 6 個の未知分解物が検出された。二酸化炭素の 48 時間の累積発生量は ind-¹⁴C-アミスルブロムの場合 4.5% TAR、tri-¹⁴C-アミスルブロムの場合 0.4% TAR であった。一方、暗所ではアミスルブロムは安定であり、分解物は検出されなかった。

以上より、アミスルブロムの光分解により、脱臭素と酸化/水酸化による I の生成、転位による J の生成、2 種類の環の間の開裂による置換インドール及び置換トリアゾール系化合物の生成が認められた。L は酸化/水酸化及び二量化により P を生成したほか、インドール環が開裂して M 及び O を生成した。また、トリアゾール環上の側鎖は転位や脱離を受け、U 及び Q を経由して S と T が生成し、これらはさらに分解されて極性物質及び二酸化炭素を生成した。

以上の結果から算出したアミスルブロム、P 及び U の推定半減期はそれぞれ 6.1 時間、14.1 時間及び 14.6 時間であり、90% 減衰期はそれぞれ 20.4 時間、46.8 時間及び 48.5 時間であった。また、自然太陽光 (北緯 35°、春) 換算値による半減期はそれぞれ 26.2 時間、60.6 時間及び 62.8 時間と推定された。(参照 13)

(3) 水中光分解試験 (滅菌自然水)

ind-¹⁴C-アミスルブロム及び tri-¹⁴C-アミスルブロムを滅菌自然水（小貝川河川水）に溶解して 50 µg/L 溶液を調製した。この溶液に 25±2°C でキセノンランプ（光強度：425 W/m²、測定波長：290~800 nm）の光を 48 時間照射した。

滅菌自然水中において、アミスルブロムは光照射時間の経過とともに速やかに減少し、照射 48 時間後には検出されなかった。10% TAR 以上の主要な分解物として M、Q、S 及び T が検出された。M は照射 24 時間後に 51.7% TAR に増加し、次いで 48 時間後には 44.0% TAR に減少した。Q は照射 9 時間後に 22.8% TAR に増加し、48 時間後には 13.3% TAR に減少した。S は照射 48 時間後に 50.6% TAR に増加した。T は照射 24 時間後に 15.2% TAR に増加し、48 時間後には 12.8% TAR に減少した。その他の分解物として、D、I、J、L、N、R 及び少なくとも 3 個の未知分解物が検出された。二酸化炭素の 48 時間の累積発生量は ind-¹⁴C-アミスルブロムの場合 2.9% TAR、tri-¹⁴C-アミスルブロムの場合 0.1% TAR であった。暗所下ではアミスルブロムが分解し、分解物として D、I、L、Q 及び S（いずれも 6% TAR 未満）が検出された。

アミスルブロムへの光照射により、主に 2 種類の環の間の開裂による L 及び Q が生成した。また、インドール環の脱臭素と酸化/水酸化により I が、トリアゾール環の分子内転位により J が、スルファモイル基が脱離して D が生成した。L は I-5（推定される分解物）を経由して M へ変換された。M は加水分解反応により N へ変換された。Q はスルホニル基あるいはスルファモイル基の脱離により、R、S 及び T へ変換された。最終的にはいずれの分解物も極性化合物及び二酸化炭素へ変換された。

アミスルブロム、M、Q 及び T の推定半減期は、それぞれ 4.7 時間、103 時間、52.3 時間及び 97.8 時間であり、自然太陽光（北緯 35°、春）の換算値による半減期は、それぞれ 20.2 時間、442 時間、225 時間及び 420 時間であった。（参照 14）

5. 土壌残留試験

火山灰・埴土（茨城）、沖積・埴壤土（高知）及び沖積・砂壤土（埼玉）を用いて、アミスルブロム及び分解物 D を分析対象とした土壌残留試験（容器内及び圃場試験）が実施された。

推定半減期は表 12 に示されており、アミスルブロムとして容器内では 7.3~78.0 日、圃場では 24.5~28.2 日、アミスルブロムと分解物 D の合量として容器内では 23.4~210 日、圃場では 32.6~43.8 日であった。（参照 15）

表 12 土壌残留試験成績（推定半減期）

試験	濃度*	土壌	アミスルブロム	アミスルブロム +分解物D
容器内試験	0.27 mg/kg	火山灰・埴土	32.6 日	146 日
		沖積・埴壤土	78.0 日	210 日
	1.4 mg/kg	沖積・砂壤土	7.3 日	23.4 日
圃場試験	531 g ai/ha	火山灰・埴土	28.2 日	43.8 日

		沖積・埴壌土	24.5 日	32.6 日
--	--	--------	--------	--------

* : 容器内試験で原体、圃場試験で 17.7%フロアブル剤を使用

6. 作物残留試験

野菜及び果実等を用いて、アミスルブロムを分析対象化合物とした作物残留試験が実施された。分析は含水アセトニトリルで抽出した試料を精製後、UV 検出器付き高速液体クロマトグラフ (HPLC/UV) を用いて定量するものであった。

結果は表 13 に示されている。アミスルブロムの最高値は、ぶどう (小粒種) の最終散布 21 日後における 1.21 mg/kg であった。(参照 16)

表13 作物残留試験成績

作物名 (栽培形態) (分析部位) 実施年	試験圃場数	使用量 (g ai/ha)	回数 (回)	PHI (日)	残留値 (mg/kg)	
					アミスルブロム	
					最高値	平均値
ばれいしょ (露地) (塊茎) 2003年	2	133- 221	4	3	<0.01	<0.01
				7	<0.01	<0.01
				14	<0.01	<0.01
だいず (露地) (乾燥子実) 2004年	2	133- 266	3	3	0.10	0.07
				7	0.08	0.04
				14	0.03	0.02*
トマト (施設) (果実) 2003年	2	266	4	1	0.42	0.34
				7	0.39	0.28
				14	0.22	0.17
ミニトマト (施設) (果実) 2004年	2	266	4	1	0.67	0.50
				7	0.65	0.42
				4	0.29	0.28
きゅうり (施設) (果実) 2004年	2	133- 266	4	1	0.22	0.18
				3	0.16	0.14*
				7	0.04	0.03
メロン (露地) (果実) 2004年	2	375- 700	4	1	<0.01	<0.01
				3	<0.01	<0.01
				7	<0.01	<0.01
ぶどう 大粒種 (施設) (果実) 2003年	1	177	3	14	0.36	0.29
				21	0.23	0.20
				28	0.25	0.21
				42	0.11	0.11
ぶどう 小粒種 (施設) (果実) 2004年	1	207	3	14	0.83	0.77
				21	1.21	1.10
				28	1.14	0.91
				60	0.35	0.33

- 注) ・ 散布には25%フロアブル剤を使用した。
 ・ 一部に定量限界未満を含むデータの平均を計算する場合は定量限界値を検出したものとして計算し、*印を付した。

・全てのデータが定量限界未満の場合は定量限界値の平均に<を付して記載した。

表 13 の作物残留試験の分析値を用いて、アミスルブロム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が表 14 に示されている（別紙 3 参照）。

なお、本推定摂取量の算定は、申請された使用方法からアミスルブロム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、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 14 食品中より摂取されるアミスルブロムの推定摂取量

	国民平均 (体重：53.3kg)	小児（1~6歳） (体重：15.8kg)	妊婦 (体重：55.6kg)	高齢者(65歳以上) (体重：54.2kg)
摂取量 ($\mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$)	22.2	14.9	17.5	18.0

7. 一般薬理試験

ラット及びイヌを用いた一般薬理試験が実施された。結果は表 15 に示されている。（参照 17）

表 15 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 (Irwin 法)	ラット	雄 5	0, 200, 600, 2000 (経口)	2000	—	投与による影響なし
呼吸・ 循環器系	呼吸数・ 血圧・ 心拍数・ 心電図	イヌ	雄 3*	0, 200, 600, 2000 (経口)	2000	—	投与による影響なし

*：最初に 0 及び 200 mg/kg 体重投与群の検査を実施した後、1 週間以上の休薬期間を設けて、同じ動物を 600 及び 2000 mg/kg 体重投与群として使用した。

8. 急性毒性試験

アミスルブロムのラットを用いた急性経口毒性試験、急性経皮毒性試験及び急性吸入毒性試験が実施された。

各試験の結果は表 16 に示されている。（参照 18~20）

表 16 急性毒性試験概要（原体）

投与 経路	動物種 性別・匹数	LD ₅₀ (mg/kg 体重)		観察された症状
		雄	雌	

経口	SD ラット 雌雄各 3 匹	>5000	>5000	死亡例及び症状なし
経皮	SD ラット 雌雄各 5 匹	>5000	>5000	死亡例及び症状なし
吸入	SD ラット 雌雄各 5 匹	LC ₅₀ (mg/L)		雌雄：過呼吸、鼻/顎周囲の汚れ (褐色)
		>2.85	>2.85	

土壤中主要分解物 D 及び植物固有代謝物 G のラット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 17 に示されている。(参照 21、22)

表 17 急性毒性試験概要 (代謝物)

投与経路	化合物	動物種 性別・匹数	LD ₅₀ (mg/kg 体重)	観察された症状
経口	分解物 D	Wistar ラット 雌各 3 匹	雌：50~300	50 で全動物生存、300 で全動物死亡、死亡例のみ軟便、腹側部陥凹、運動失調、呼吸困難
経口	代謝物 G	Wistar ラット 雌各 6 匹	雌：>2000	1 匹に嗜眠及び円背位

9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

NZW 雄ウサギを用いた眼刺激性試験及び皮膚刺激性試験が実施された。その結果、皮膚刺激性は認められなかったが、軽度の眼刺激性が認められた。(参照 23、24)

Hartley 雌モルモットを用いた皮膚感作性試験 (Maximization 法) が実施された。その結果、皮膚感作性は陰性であった。(参照 25)

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、2000、6300 及び 20000 ppm: 平均検体摂取量は表 18 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 18 ラット 90 日間亜急性毒性試験の平均検体摂取量

投与群		2000 ppm	6300 ppm	20000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	171	525	1720
	雌	187	587	1880

各投与群で認められた毒性所見は表 19 に示されている。

眼科学的検査において、20000 ppm 投与群の雄でゴースト血管の発生数が増加したが、ゴースト血管は血管新生の名残であり、毒性学的意義はないと判断された。

血液学的検査において雄で認められた Hb 及び MCHC の低下及び雌で認められた

WBC及びLymの増加、血液生化学的検査において雄で認められたナトリウム、塩素、カルシウムの減少、A/G比の増加、雌で認められた塩素の増加については、その変化が軽微であり、用量あるいは雌雄間で一貫性が認められなかったことから、検体投与による影響ではないと判断された。リンについては、20000 ppm投与群雌雄の他に、2000及び6300 ppm投与群の雌においても増加したが、用量相関性もないことから検体投与による影響ではないと判断された。

臓器重量測定において、6300及び20000 ppm投与群の雌で、肝比重量¹が増加した。しかし、血液生化学的及び病理組織学的検査等においては肝毒性を示唆する変化が認められないため、これらの変化は検体投与による毒性影響ではないと考えられた。

本試験において、6300 ppm以上投与群の雄及び20000 ppm投与群の雌で、体重増加抑制、摂餌量減少等が認められたことから、無毒性量は雄で2000 ppm (171 mg/kg体重/日)、雌で6300 ppm (587 mg/kg体重/日) であると考えられた。(参照 26)

表 19 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
20000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ PLT 増加 ・ ALP、AST、GGT、URE、リン増加、TP 低下 ・ 肝比重量増加 ・ 小葉中心性肝細胞肥大、下顎リンパ節洞赤血球増加/赤血球貪食、腸間膜リンパ節洞血球増加/赤血球貪食 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ 摂餌量減少、食餌効率低下 ・ PLT 増加 ・ TG 低下、リン増加、URE 増加
6300 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ 摂餌量減少、食餌効率低下 	6300 ppm 以下毒性所見なし
2000 ppm	毒性所見なし	

(2) 90 日間亜急性毒性試験 (イヌ)

ビーグル犬 (一群雌雄各 4 匹) を用いたカプセル経口 (原体: 0、100、300 及び 1000 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。

各投与群で認められた毒性所見は表 20 に示されている。

血液生化学的検査において、投与 6 週に全投与群の雌雄で T.Bil が有意に増加した。しかし、対照群を含む全動物が背景データを超える異常な高値を示しており、RBC 及び尿中ビリルビンには影響がなかったこと、投与 13 週に同様の変化が認められなかったことから、検体投与による影響とは考えられなかった。その他の血液生化学的検査項目及び血液学的検査項目において有意な変化が認められたが、いずれの変化も軽微であり、用量あるいは雌雄間で一貫性が認められなかったことから、検体投与の影響ではないと判断された。

¹ : 体重比重量のことを比重量という (以下同じ)。

尿検査において、1000 mg/kg 体重/日投与群の雌で尿量の有意な減少が投与 6 及び 13 週に認められたが、投与開始前の傾向を反映しており、検体投与の影響ではないと判断された。

本試験において、1000 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で体重増加抑制及び摂餌量減少等が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 300 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 28)

表 20 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
1000 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ 摂餌量減少(投与4週まで) 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ 摂餌量減少(投与4週まで) ・ ALP 増加
300 mg/kg 体重/日 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

(3) 21 日間亜急性経皮毒性試験 (ラット)

SD ラット (1 群雌雄各 10 匹) を用いた経皮 (原体 : 0、100、300 及び 1000 mg/kg 体重/日) 投与 (1 日 1 回 6 時間、閉塞貼付) による 21 日間亜急性経皮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 21 に示されている。

血液学的及び血液生化学的検査において、いくつかの項目で統計学的に有意な変化が認められたが、いずれの変化も軽微であり、用量あるいは雌雄間で一貫性が認められなかったことから、検体投与の影響ではないと判断された。

病理組織学的検査において、300 mg/kg 体重/日投与群雌及び 1000 mg/kg 体重/日投与群雌雄の投与部位の表皮過形成の程度の増強が認められたが、検体投与方法に起因した物理的刺激による変化と考えられ、毒性学的意義はないと判断された。

本試験において、1000 mg/kg 体重/日投与群の雄において体重増加抑制及び食餌効率の減少が認められ、雌では検体投与の影響は認められなかったことから、無毒性量は雄で 300 mg/kg 体重/日、雌で 1000 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 29)

表 21 ラット 21 日間亜急性経皮毒性試験で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
1000 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ 食餌効率減少 	・ 毒性所見なし
300 mg/kg 体重/日 以下	・ 毒性所見なし	

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）を用いたカプセル経口（原体：0、10、100、300 及び 1000 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 22 に示されている。

一般症状において、液状便が 1000 mg/kg 体重/日投与群雌雄で投与期間を通じて認められ、300 mg/kg 体重/日投与群においても断続的に認められた。しかし、本所見に関連した消化器の病理組織学的変化（炎症等）が認められなかったことから、毒性学的意義はないと考えられた。

体重増加量においては、雄の 100 mg/kg 体重/日以上投与群及び雌の 1000 mg/kg 体重/日投与群で投与 0～4 週、雌の 100 mg/kg 体重/日以上投与群の 0～13 週で有意な低値が認められた。

血液学的、血液生化学的検査（TP 及び Alb 以外）、尿検査において、いくつかの項目に有意な変化がみられたが、それらの変化は軽微であり、投与前と同様の傾向を示すか、用量、雌雄あるいは検査時期間で一貫性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。

臓器重量測定において、100、300 及び 1000 mg/kg 体重/日投与群の雄で、副腎の比重量が有意に増加した。この変化は、300 及び 1000 mg/kg 体重/日投与群では病理組織学的検査で認められた皮質細胞肥大と関連していたが、100 mg/kg 体重/日投与群では関連する病理組織学的変化は認められないため、同群における副腎比重量増加には毒性学的意義はないと判断された。

剖検において、食道の退色が 300 及び 1000 mg/kg 体重/日投与群の雄で認められたが、関連する病理組織学的変化は認められなかった。雌雄の投与群で、胸腺の小型化が認められ、病理組織学的検査で認められた退縮/萎縮の程度と関連していた。

本試験において、100 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で体重増加抑制が認められたことから、無毒性量は雌雄ともに 10 mg/kg 体重/日であると考えられた。（参照 30）

表 22 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
1000 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> ・ 摂餌量減少 ・ TP 低下、Alb 低下 ・ 小葉中心性肝細胞肥大 	<ul style="list-style-type: none"> ・ TP 低下、Alb 低下
300 mg/kg 体重/日 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ 副腎比重量増加 ・ 副腎皮質細胞肥大(2 匹) 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 摂餌量減少 (1-4 週(有意差は 1000 mg/kg 体重/日投与群のみ))
100 mg/kg 体重/日 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制
10 mg/kg 体重/日	毒性所見なし	毒性所見なし

(2) 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット)

Wistar ラット（一群雌雄各 70 匹：発がん性群一群雌雄各 50 匹、慢性毒性群一群雌雄各 20 匹）を用いた混餌（原体：0、200（慢性毒性群のみ）、2000、10000 及び 20000 ppm：平均検体摂取量は表 23 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 23 ラット 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験の平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)

投与群		200 ppm	2000 ppm	10000 ppm	20000 ppm
慢性毒性群 (1-52 週)	雄	11.1	112	568	1160
	雌	14.3	147	753	1500
発がん性群 (1-104 週)	雄	—	96.0	496	1000
	雌	—	129	697	1440

各投与群で認められた毒性所見は表 24 に示されている。

発がん性群において、最後の 13 週に 10000 及び 20000 ppm 投与群の雌で死亡が増加し、20000 ppm 投与群では生存率が有意に低下した。

血液学的検査では、検体投与の影響は認められなかった。

血液生化学的検査において、URE、Cre、Glu、T.Chol 及び TG に統計学的に有意な変動が認められたが、いずれの個体値も背景データの範囲内にあり、用量関連性ないし検査時期間での一貫性が認められなかったことから、検体投与の影響ではないと判断した。

尿検査において、尿量が 20000 ppm 投与群雄で投与 12 週に低下し、投与 51 週に雌の投与群で低下した。これらの変化は、軽度で用量相関性のない変化であり、実施機関の背景データの範囲内の変動であったことから、検体投与による影響とは考えられなかった。

病理組織学的検査の結果、前胃の扁平上皮癌が 20000 ppm 投与群雌 1 匹で、扁平上皮乳頭腫が 10000 ppm 投与群雌 1 匹及び 20000 ppm 投与群雌 2 匹で認められた(表 25 参照)。10000 及び 20000 ppm 投与群の雌では、前胃に炎症性及び過形成性変化が認められており、前胃に認められた腫瘍は、慢性炎症性変化に起因すると考えられた。

非腫瘍性病変のうち、検体投与の影響と考えられる病変が、肝臓、腎臓、前胃、盲腸、十二指腸、甲状腺及び腸間膜リンパ節に認められた。

腎臓の皮質尿細管色素沈着が慢性毒性群及び発がん性群の雌雄で認められ、この色素はシュモール反応陽性であり、リポフスチンであることが証明された。

本試験において、2000 ppm 以上投与群の雌雄に体重増加抑制、肝比重量増加及び小葉中間帯肝細胞空胞化の増加等が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 200 ppm (雄: 11.1 mg/kg 体重/日、雌: 14.3 mg/kg 体重/日) であると考えられた。10000 ppm 以上投与群の雌雄で肝細胞腺腫が増加し、10000 ppm 以上投与群の雌で前胃腫瘍が低頻度ながら発生した。(参照 32)

表 24 ラット 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験で認められた毒性所見

投与群	試験群	雄	雌
20000	両群	・腎皮質尿細管色素沈着	・小葉中心性肝細胞肥大

ppm	慢性 毒性	<ul style="list-style-type: none"> ・肝外胆管拡張 ・肝門脈周囲炎症 	<ul style="list-style-type: none"> ・肝外胆管拡張
	発がん 性	<ul style="list-style-type: none"> ・肝嚢胞 ・甲状腺濾胞細胞肥大 	<ul style="list-style-type: none"> ・生存率低下 ・背部脱毛 ・肝小葉像明瞭化、骨格筋萎縮 ・甲状腺濾胞細胞肥大、甲状腺嚢胞状濾胞細胞過形成 ・子宮筋層萎縮、子宮筋層線維化 ・膈上皮粘液分泌低下 ・前胃扁平上皮癌
10000 ppm 以上	両群	<ul style="list-style-type: none"> ・摂餌量減少 ・食餌効率減少 ・小葉中心性肝細胞肥大 	<ul style="list-style-type: none"> ・食餌効率減少 ・肝比重量増加 ・腎比重量増加
	慢性 毒性	<ul style="list-style-type: none"> ・腸間膜リンパ節洞赤血球増加/赤血球貪食、肥満細胞症 (有意差は20000ppmのみ) 	<ul style="list-style-type: none"> ・GGT 増加(26週時) ・尿 pH 上昇、尿蛋白増加 ・肝内胆管過形成 ・腎皮質尿細管好塩基性化(有意差は20000ppmのみ) ・腸間膜リンパ節洞赤血球増加/赤血球貪食(有意差は20000ppmのみ)、肥満細胞症
	発がん 性	<ul style="list-style-type: none"> ・腹部脱毛 ・肝絶対重量増加 ・肝嚢胞性変性 ・腎皮質尿細管色素沈着、慢性腎症 (有意差は20000 ppmのみ)、皮質尿細管好塩基性化、腎乳頭鉍質沈着、尿円柱減少 ・腸間膜リンパ節洞赤血球増加/赤血球貪食(有意差は20000ppmのみ)、肥満細胞症 ・肝細胞腺腫 	<ul style="list-style-type: none"> ・削瘦、立毛、円背位、過剰咀嚼、歯牙退色 ・肝絶対重量増加 ・腸間膜リンパ節うっ血、子宮非薄化 ・小葉中心性肝細胞肥大、小葉中間帯肝細胞空胞化 ・慢性腎症、腎乳頭鉍質沈着 ・腸間膜リンパ節洞赤血球増加/赤血球貪食、肥満細胞症(有意差は10000ppmのみ)、洞組織球症 ・前胃上皮過形成/角化亢進/潰瘍/粘膜下織炎症/粘膜下織浮腫(有意差は20000ppmのみ)、漿膜炎 ・前胃扁平上皮乳頭腫 ・盲腸粘膜下織浮腫(有意差は20000ppmのみ) ・角膜炎

			・肝細胞腺腫
2000 ppm 以上	両群	・体重増加抑制 ・肝比重量増加 ・肝内胆管過形成	・体重増加抑制 ・摂餌量減少 ・腎皮質尿細管色素沈着(リポフスチン)
	慢性毒性	・GGT 増加 ・尿 pH 上昇 ・腎比重量増加 ・小葉中間帯肝細胞空胞化	・肝比重量増加 ・小葉中間帯肝細胞空胞化 (有意差は 10000ppm 以上)
	発がん性	・小葉中心性肝細胞肥大	・肝内胆管過形成 ・腎皮質尿細管好塩基性化(2000 ppm 群のみ)
200 ppm	慢性毒性	毒性所見なし	毒性所見なし

表 25 ラットの 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験において認められた
肝臓及び前胃腫瘍発生数

性別		雄				雌			
投与群 (ppm)		0	2000	10000	20000	0	2000	10000	20000
検査動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
肝・肝細胞 腺腫	最終と殺動物	0	2	9↑	12↑	0	1	16↑	10↑
	死亡動物	0	0	1	1	0	0	8↑	18↑
	全動物	0	2	10↑	13↑	0	1	24↑	28↑
肝・肝細胞 癌	最終と殺動物	0	0	1	0	0	0	2	1
	死亡動物	0	0	0	0	0	0	0	0
	全動物	0	0	1	0	0	0	2	1
前胃・扁平 上皮乳頭腫	最終と殺動物	0	0	0	0	0	0	0	0
	死亡動物	0	0	0	0	0	0	1	2
	全動物	0	0	0	0	0	0	1	2
前胃・扁平 上皮癌	最終と殺動物	0	0	0	0	0	0	0	1
	死亡動物	0	0	0	0	0	0	0	0
	全動物	0	0	0	0	0	0	0	1

Fisher 直接確率法、↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01

(3) 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、100、800、4000 及び 8000 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 カ月間発がん性試験の平均検体摂取量

投与群		100 ppm	800 ppm	4000 ppm	8000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	11.6	97.8	494	1040
	雌	13.5	121	594	1260

各投与群で認められた毒性所見は表 27 に示されている。

非腫瘍性病変について、盲腸では、粘膜、粘膜下織及び粘膜下織細静脈壁の細胞内色素沈着が、800 ppm 以上投与群の雌雄に認められた。この色素については、ヘモジリン、リポスチン、胆汁色素等が疑われ特殊染色を試みたが同定できなかった。

腫瘍性病変については、800 ppm 以上投与群の雄において、肝細胞腺腫の発生数が有意に増加した (表 28 参照)。

本試験において、800 ppm 以上投与群の雌雄で、盲腸粘膜、粘膜下織及び粘膜下織細静脈壁細胞内色素沈着の増加等が認められたことから、無毒性量は、雌雄とも 100 ppm (雄 : 11.6 mg/kg 体重/日、雌 : 13.5 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 31)

表 27 マウス 18 カ月間発がん性試験で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
8000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・食餌効率低下 ・巣状肝細胞壊死 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制
4000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 	<ul style="list-style-type: none"> ・肝絶対及び比重量増加 ・腎皮質尿細管好塩基性化(有意差は 4000 ppm のみ)
800 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・肝絶対及び比重量増加 ・盲腸粘膜細胞内色素沈着、盲腸粘膜下織及び粘膜下織細静脈壁細胞内色素沈着(有意差は 4000 及び 8000 ppm) ・肝細胞腺腫 	<ul style="list-style-type: none"> ・盲腸粘膜細胞内色素沈着(有意差は 4000 ppm のみ)、盲腸粘膜下織及び粘膜下織細静脈壁細胞内色素沈着(有意差は 4000 及び 8000 ppm) ・腎血管周囲性リンパ球細胞集簇(有意差は 8000 ppm のみ)
100 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・毒性所見なし 	<ul style="list-style-type: none"> ・毒性所見なし

表 28 マウス 18 カ月間発がん性試験で認められた肝細胞腺腫の発生数

性別		雄				
投与群 (ppm)		0	100	800	4000	8000
検査動物数		50	50	50	50	50
肝細胞腺腫	78 週最終と殺動物	7	11	12	20↑	17
	死亡動物	1	1	5↑	3	1
	全動物	8	12	17↑	23↑	18↑
	腫瘍数/匹	0.22	0.34	0.50	0.80	0.60

Fisher 直接確率法、↑ ↓ : p<0.05、↑ ↓ : p<0.01

12. 生殖発生毒性試験

(1) 2世代繁殖試験（ラット）

Wistar ラット（一群雌雄各 28 匹（P 世代）または 24 匹（F₁ 世代））を用いた混餌（原体：0、120、600、3000 及び 15000 ppm：平均検体摂取量は表 29 参照）投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

表 29 ラット 2 世代繁殖試験における平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)

投与群		120 ppm	600 ppm	3000 ppm	15000 ppm
P 世代	雄	9.8	48.5	240	1200
	雌	10.5	53.0	261	1290
F ₁ 世代	雄	11.7	59.0	307	1690
	雌	13.0	64.6	338	1810

親動物及び児動物における各投与群で認められた毒性所見は、それぞれ表 30 に示されている。

親動物において P 世代では繁殖性に関する検査項目には検体投与の影響は認められなかったが、F₁ 世代の 15000 ppm 投与群において性周期延長、交尾率低下、卵巣萎縮、卵胞数減少、子宮筋層非薄化、子宮扁平上皮化生等が観察され、15000 ppm 投与群の F₁ では妊娠雌が 2 例しか得られず、F₂ 出生児の評価は不可能となった。F₁ 雄の交配実験で繁殖性には異常がみられなかったことから、F₁ 雌に繁殖性の低下の原因があると考えられた。本試験において、3000 ppm 以上投与群の親動物雌雄において体重増加抑制及び摂餌量減少が、児動物において体重増加抑制及び胸腺の絶対及び比重量の低下等が認められたことから、親動物及び児動物雌雄の無毒性量は 600 ppm (P：雄 48.5 mg/kg 体重/日、雌 53.0mg/kg 体重/日、F₁：雄 59.0 mg/kg 体重、雌 64.6mg/kg 体重/日) と判断された。(参照 33)

表 30 ラット 2 世代繁殖試験で認められた所見

投与群	親：P、児：F ₁		親：F ₁ 、児：F ₂	
	雄	雌	雄	雌

親動物への影響	15000 ppm	・体重増加抑制	・卵巢絶対及び比重量低下	・腹部膨満 ・副腎比重量増加	・腹部膨満 ・育成中体重増加抑制及び摂餌量低下(妊娠中及び授乳中は評価せず) ・性周期延長 ・交尾率低下、受胎率低下、繁殖率低下 ・卵巢絶対及び比重量低下、副腎絶対及び比重量増加、腎絶対及び比重量低下、下垂体絶対及び比重量増加、子宮絶対及び比重量低下 ・卵巢小型化 ・卵巢萎縮、卵胞数減少 ・子宮ヘモジデリン沈着減少、血管壁フィブリノイド壊死減少、筋層菲薄化、扁平上皮化生 ・下垂体前葉細胞空胞化
	3000 ppm 以上	・摂餌量減少	・体重増加抑制 ・摂餌量減少	・体重増加抑制 ・摂餌量減少	・妊娠中体重増加抑制(3000 ppm 群のみ)(授乳中は体重増加) ・摂餌量減少(妊娠及び授乳中)(3000ppm群のみ)
	600 ppm 以下	毒性所見なし		毒性所見なし	
児動物への影響	15000 ppm	・腹部膨満 ・性成熟遅延	・腹部膨満 ・子宮絶対及び比重量低下	(十分な産児数が得られなかったため評価不可能)	
	3000 ppm 以上	・低体重及び体重増加抑制 ・胸腺絶対及び比重量低下	・低体重及び体重増加抑制 ・性成熟遅延 ・胸腺絶対及び比重量低下	・低体重及び体重増加抑制 ・胸腺絶対及び比重量低下	・低体重及び体重増加抑制 ・胸腺絶対及び比重量低下、子宮絶対及び比重量低下
	600 ppm 以下	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 22 匹) の妊娠 6 ~19 日に強制経口 (原体 : 0、100、300 及び 1000 mg/kg 体重/日、溶媒 : 0.5%MC 水溶液) 投与して発生毒性試験が実施された。

母体ではいずれの群にも死亡は認められず、検体投与に起因する一般状態の変化も認められなかった。体重変化、摂餌量、剖検所見、妊娠子宮重量、黄体数、着床数、

吸収胚/死亡胎児数、生存胎児数、胎児の性比、胎児体重に検体投与の影響は認められなかった。

胎児では、各群に奇形、変異及び骨化遅延が散見されたが、その発生頻度はいずれも低く、対照群と検体投与群との間に差はみられなかった。1000 mg/kg 体重/日投与群の2母体の12胎児に口蓋裂が認められたが、口蓋裂は実施施設においてこの系統のラットで自然発生奇形として観察されており、本試験における発生頻度は実施施設における背景データ(0~3.5%)の上限とほぼ同様であることから、口蓋裂発現は検体投与によるものではないと考えられた。さらに、本試験で口蓋裂を有する胎児の母動物と交配した雄ラットは他の試験においても口蓋裂を有する胎児の親であったことから、本試験における口蓋裂発生には遺伝的要素が関わっている可能性が考えられた。

本試験において、いずれの投与群にも検体投与の影響が認められなかったことから、無毒性量は母動物及び胎児とも1000 mg/kg 体重/日であると考えられた。催奇形性は認められなかった。(参照 34)

(3) 発生毒性試験(ラット・高用量・確認試験)

ラットを用いた発生毒性試験[12. (2)]において、1000 mg/kg 体重/日投与群の胎児に観察された口蓋裂は検体投与によるとは考えられなかったため、Wistar ラット(一群雌20匹)の妊娠6~19日により高用量の本剤を強制経口(原体:0及び1500 mg/kg 体重/日、溶媒:0.5%MC水溶液)投与して催奇形性をさらに検討した。

母体では、いずれの群においても死亡は認められず、検体投与に起因すると考えられる一般状態の変化も認められなかった。1500 mg/kg 体重/日投与群において、投与期間中の摂餌量が減少したが、体重変化、剖検所見、妊娠子宮重量、黄体数、着床数、吸収胚/死亡胎児数、生存胎児数、胎児の性比、胎児重量に検体投与の影響は認められなかった。

胎児については、いずれの群にも奇形は認められなかった。1500 mg/kg 体重/日投与群の内臓及び骨格の変異を有する胎児の発現頻度には対照群との差は認められなかった。骨化進行度では、本剤投与群で中手骨の骨化数の減少が認められたが、この変化は背景データの範囲内であったことから、骨化数減少は検体投与の影響ではないと考えられた。

また、胸骨分節、後頭骨、仙尾椎及びその他の四肢骨における骨化状態には投与による影響は認められなかった。

本試験における無毒性量は、母動物及び胎児とも1500 mg/kg 体重/日であると考えられた。

ラット発生毒性試験[12. (2)]で認められた口蓋裂は本剤投与によるものではないと考えられた。(参照 35)

(4) 発生毒性試験(ウサギ)

NZW ウサギ(一群各雌24匹)の妊娠6~28日に強制経口(原体:0、30、100及び300 mg/kg 体重/日、溶媒:0.5%MC水溶液)投与して発生毒性試験が実施された。

母動物については300 mg/kg 体重/日投与群で体重が低値を示し、妊娠子宮重量を除

いた補正体重は 100 及び 300 mg/kg 体重/日投与群で低値を示した。摂餌量は 100 mg/kg 体重/日投与群では投与期間前半に、300 mg/kg 体重/日投与群では投与期間を通じて低かった。剖検及び着床所見（妊娠子宮重量、黄体数、着床数、吸収胚数、生存胎仔数、胎盤重量）に検体投与の影響は認められなかった。

胎児では、胎児体重、生存胎児数、胎児の性比、奇形を有する胎児の発生頻度に検体投与の影響は認められなかった。

本試験において、100 mg/kg 体重/日投与群の母動物に体重増加抑制及び摂餌量減少が認められ、胎児には検体投与の影響が認められなかったことから、無毒性量は母動物で 30 mg/kg 体重/日、胎児で 300 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 36）

13. 遺伝毒性試験

アミスルブロムの細菌を用いた復帰突然変異試験、マウスリンパ腫由来 L5178Y 細胞を用いた遺伝子突然変異試験、ヒト末梢血リンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験、マウス骨髄細胞を用いた小核試験、ラット肝細胞を用いた小核試験、ラット肝細胞を用いた不定期 DNA 合成試験、マウス肝細胞を用いたコメットアッセイ、ラットの肝、前胃及び腺胃細胞を用いたコメットアッセイが実施された。

試験結果は表 31 に示されている。全ての試験において陰性であったことから、アミスルブロムに遺伝毒性はないものと考えられた。（参照 37～41）

表 31 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>	復帰突然変異試験 (参照 37)	<i>S. typhimurium</i> (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) <i>E. coli</i> (WP2uvrA 株)	5~5000 µg/プレート (+/-S9)	陰性
	遺伝子突然変異試験 (参照 38)	マウスリンパ腫由来 L5178Y 細胞	2.5~20 µg/mL (-S9) 5~70 µg/mL (+S9)	陰性
	染色体異常試験 (参照 39)	ヒト末梢血リンパ球	5.04~123 µg/mL (-S9) 73.4~240 µg/mL (+S9)	陰性
<i>in vivo</i>	小核試験 (参照 40)	ICR マウス骨髄細胞	雄：0, 500, 1000, 2000 mg/kg 体重(単回経口投与)	陰性
	小核試験 (参照 54)	Fischer ラット肝細胞	雌：0, 500, 2000 mg/kg 体重 (単回経口投与)	陰性
	不定期 DNA 合成 (UDS) 試験 (参照 41)	Fischer ラット肝細胞	雄：0, 400, 2000 mg/kg 体重 (単回経口投与)	陰性
	コメットアッセイ (参照 56)	ICR マウス肝細胞	雄：0, 500, 2000 mg/kg 体重 (単回経口投与)	陰性

コメットアッセイ (参照 55)	Wistar ラット肝細胞	雌：0, 500, 2000 mg/kg 体重 (単回経口投与)	陰性
コメットアッセイ (参照 57)	Wistar ラット前胃及 び腺胃細胞	雌：0, 500, 2000 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

土壌中分解物 D 及び植物固有代謝物 G について、細菌を用いた復帰突然変異試験及びマウス骨髄細胞を用いた小核試験が実施された。結果は表 32 に示されている。全ての試験において陰性であった。(参照 42~45)

表 32 遺伝毒性試験概要 (代謝物)

被験物質	試験	対象	投与量	結果
分解物 D	復帰突然変異試験 (参照 42)	<i>S. typhimurium</i> (TA98,TA100,TA1535, TA1537) <i>E. coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)	0.064~5000 µg/プレー ト (+/-S9)	陰性
	小核試験 (参照 44)	ICR マウス骨髄細胞	雄：53.0~210 mg/kg 体重/日(2 回経口投与)	陰性
代謝物 G	復帰突然変異試験 (参照 43)	<i>S. typhimurium</i> (TA98,TA100,TA1535, TA1537 株) <i>E. coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)	50~5000 µg/プレー ト (+/-S9)	陰性
	小核試験 (参照 45)	ICR マウス骨髄細胞	雄：2000 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

14. その他の試験

(1) 肝における催腫瘍性に関する検討試験

マウス及びラットを用いた発がん性試験[11. (2)及び(3)]の結果、高用量群の肝臓において催腫瘍性が認められたため、本剤の催腫瘍性に関する作用機序を解明するため、以下の試験を追加実施した。

追加実施した肝小核試験 (ラット) 及びコメットアッセイ (ラット及びマウス) の結果がいずれも陰性であったことから、本剤には遺伝子障害作用のないことが確認された。

i) 中期肝発がん性試験 (ラット)

イニシエーション処理 (N-ニトロソジエチルアミン (DEN) を 2000 mg/kg 体重/日の用量で 1 回腹腔内投与) した Fisher ラット(1 群雄 20 匹、DEN 無処理群は 10 匹)を用いて、6 週間混餌 (原体：0、200、2000 及び 20000 ppm：平均検体摂

取量は表 33 参照) 投与による肝中期発がん性試験が実施された。

表 33 ラットの中期肝発がん性試験における検体摂取量

投与群 (ppm)	200	2000	20000	20000
イニシエーション処理	DEN	DEN	DEN	—
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	12.0	120	1450	1800

20000 ppm 投与群及び DEN 無処理 20000 ppm 投与群で投与期間を通じて有意な体重増加抑制が認められた。摂餌量においては、20000 ppm 投与群及び DEN 無処理 20000 ppm 投与群で投与期間の大半で有意差はないものの高値傾向が認められた。2000、20000 及び DEN 無処理 20000 ppm 投与群において、肝絶対重量及び比重量が有意に増加し、検体投与の影響と考えられた。全動物について剖検したが、肉眼的に検体投与に起因する変化は認められなかった。200 ppm 投与群では肝比重量の軽度な増加が認められた。本試験の結果、GST-P 陽性細胞巢の数及び面積は、ともに DEN 処置を施した 2000 ppm 以上の投与群では DEN 単独処置群と比較して有意に増加した。なお、DEN 無処置 20000 ppm 投与群では GST-P 陽性細胞巢の発生は認められなかった。

以上の結果より、本剤は 2000 ppm (120 mg/kg 体重/日) 以上で肝発がんプロモーション作用を有するが、200 ppm (12.0 mg/kg 体重/日) では作用しないことが示された。(参照 46)

ii) 肝薬物代謝酵素誘導試験 (ラット)

Wistar ラット (一群雌雄各 5 匹、肝薬物代謝酵素活性測定用には一群雌雄各 4 匹) に 7 日間検体を混餌 (原体 : 0、200 及び 20000 ppm : 平均検体摂取量は表 34 参照) 投与し、肝薬物代謝酵素誘導試験が実施された。なお、陽性対照群として、フェノバルビタール (PB) (50 mg/kg 体重/日) を 7 日間強制経口投与する群を設けた。

表 34 ラット肝薬物代謝酵素誘導試験における平均検体摂取量

投与群		200 ppm	20000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	21.1	1950
	雌	20.6	2080

20000 ppm 投与群雄では、投与開始 3 及び 7 日に体重増加抑制が認められ、摂餌量も有意に低下した。同群においては、剖検時、雌雄で肝絶対重量及び比重量が有意に増加した。肝薬物代謝酵素活性の測定において、雌雄の 20000 ppm 投与群で、PB 投与により特徴的に強く誘導される PROD 活性の顕著な増加 (13-15 倍) が認められた。また、EROD 活性、MFCOD 活性、T-OH 活性も陽性対照群

と同様に有意に増加した。一方、200 ppm 投与群では全ての測定項目で有意な変化は認められなかった。

以上の結果から、本剤は 20000 ppm (雄: 1950 mg/kg 体重/日、雌: 2080 mg/kg 体重/日) の用量で、雌雄のラットに PB に類似した肝薬物代謝酵素活性誘導能を示したが、200 ppm (雄: 21.1 mg/kg 体重/日、雌: 20.6 mg/kg 体重/日) 投与では誘導は認められなかった。(参照 47)

iii) 肝薬物代謝酵素誘導試験 (マウス)

ICR マウス (一群雌雄各 5 匹、肝薬物代謝酵素活性測定用には一群雌雄各 4 匹) に 7 日間検体を混餌 (原体: 0、100 及び 8000 ppm: 平均検体摂取量は表 35 参照) 投与し、その後、肝臓の薬物代謝酵素活性を測定する肝薬物代謝酵素誘導試験が実施された。なお、陽性対照群として、PB (50 mg/kg 体重/日) を 7 日間強制経口投与する群を設けた。

表 35 マウス肝薬物代謝酵素誘導試験における平均検体摂取量

投与群		100 ppm	8000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	13.4	1080
	雌	16.9	1310

体重変化において、検体投与群では有意な変化は認められなかった。陽性対照群では雌雄とも有意な体重増加抑制が認められた。摂餌量において、8000 ppm 投与群雌雄及び陽性対照群雌で、投与 3 日目に有意な低下が認められた。剖検時の臓器重量測定において、8000 ppm 投与群及び陽性対照群の雌雄の肝比重量が有意に増加した。肝薬物代謝酵素活性測定では、8000 ppm 投与群雌雄においてフェノバルビタール投与で特徴的に強く誘導される PROD 活性の有意な増加 (1.6~1.9 倍) が認められた。また、雌雄で EROD 活性が有意に増加し、有意差はないものの雄で T-OH 活性が増加した。

以上の結果より、本剤は 8000 ppm (雄: 1080 mg/kg 体重/日、雌: 1310 mg/kg 体重/日) の用量で、雌雄マウスにフェノバルビタールに類似した肝薬物代謝酵素活性誘導能を示したが、100 ppm (雄: 13.4 mg/kg 体重/日、雌: 16.9 mg/kg 体重/日) では誘導は認められなかった。(参照 48)

iv) 複製 DNA 合成 (RDS) 試験

Wistar ラット及び ICR マウスを用いて、検体を単回強制経口投与ないし反復投与 (混餌) し、その後、単回投与では投与 24、39 及び 48 時間後、反復投与では 0、3 及び 7 日後に剖検し、肝臓での BrdU 取り込みを指標とした RDS 誘発率を測定した。なお、陽性対照群には、PB (50 mg/kg 体重/日) を経口投与した。

試験結果は表 36 に示されている。(参照 49~51)

表 36 RDS 試験概要

投与方法 試験期間	供試 動物	1群当 り供試数	投与量 (mg/kg 体重)	試験成績	結果及び無毒性量 (mg/kg 体重)
単回投与 (強制 経口) 48 時間 観察	ラット (参照49)	雌雄 各 5	0, 1000, 2000	2000 mg/kg 体重群雄で 肝重量増加 1000 mg/kg 体重以上の 投与群雌雄で RDS 誘発 率増加	RDS 誘発能あり
反復投与 (混餌 投与) 7 日間	ラット (参照50)	雌雄 各 4	0, 200, 2000, 10000 ppm 雄 : 14.6, 136, 572 雌 : 16.6, 150, 656	10000 ppm 群雄で3 日 目に体重増加抑制 2000 ppm 群雄及び 10000 ppm 群雌雄で3 日に、10000 ppm 群雄 及び2000 ppm 群雌は7 日に摂餌量減少 2000 ppm 以上の群で3 日目に RDS 誘発率増加	RDS 誘発能あり(3 日をピークとする 一過性の変化) 雄 : 14.6 (200 ppm) 雌 : 16.6 (200 ppm)
	マウス (参照51)	雌雄 各 4	0, 100, 8000 ppm 雄 : 15.3, 1020 雌 : 16.6, 1230	8000 ppm 群雌雄で 3 日目に摂餌量減 少、8000 ppm 群雄 で RDS 誘発率増加	RDS 誘発能あり (雄のみ) 雄 : 15.3 (100 ppm) 雌 : 16.6 (100 ppm)

v) 肝臓での 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) の免疫組織化学染色及び
8-OHdG 測定試験及び活性酸素種測定試験

Wistar ラット (一群雌各 3 匹) に 7 日間検体を混餌 (原体 : 0 及び 10000 ppm) 投与した後、剖検し肝臓を用いて酸化ストレスマーカーである 8-OHdG の免疫組織化学染色を行い、8-OHdG 陽性率を算出した。マウスについては、7 日間反復経口投与による RDS 試験 (参照 51) のホルマリン固定標本を用いて試験が実施された。陽性対照群には、PB をラットには 500 及び 1500 ppm の濃度で 7 日間混餌投与し、マウスには 50 mg/kg 体重/日を 1 日 1 回、7 日間強制経口投与した。

また、Wistar ラット (一群雌雄各 5 匹) 及び ICR マウス (一群雌雄各 5 匹) に 7 日間検体を混餌 (原体 : 0 及び 10000 (ラット)、8000 (マウス) ppm) 投与した後、剖検し、各動物から摘出した肝臓の DNA を調製し、HPLC/ECD を用いて 8-OHdG を測定した。さらに、これらの動物の肝臓試料を用いて活性酸素種 (ROS) を測定した。

試験結果は表 37 に示されている。

8-OHdG 免疫染色の結果、雌ラットの 7 日間混餌投与において、10000 ppm の用量で 8-OHdG 陽性率に変化は認められず、肝臓に酸化ストレスを誘発しなかった。雌雄マウスの 7 日間混餌投与では、8000 ppm の用量で 8-OHdG 陽性率に増加傾向がみられたが、有意差は認められなかった。また、8-OHdG を HPLC/ECD を用い

で測定した結果、ラット及びマウスにおいても 8-OHdG 量に有意な増加は認められなかった。同じ動物の肝臓を用いて ROS を測定した結果、雌ラットでは有意な増加認められなかったが、雄ラット及び雄マウスでは有意な増加が認められた。

表 37 肝臓での酸化ストレス解析試験概要

投与方法 試験期間	供試動物	1群当たり 供試数	投与量 (mg/kg 体重)	試験成績
反復投与 (混餌) 7日間	ラット (参照52)	雌 3	0, 10000 ppm	10000 ppm 群で 3 日に摂餌量減少。
			雌 : 1010	10000 ppm 群雌で 8-OHdG 陽性率変化なし。(免疫染色法)
	マウス (参照53)	雌雄各 4	0, 8000 ppm	8000 ppm 群雌雄で 8-OHdG 陽性率変化なし。(免疫染色法)
			雄 : 1020 雌 : 1230	
	ラット (参照 70)	雌雄各 5	0, 10000 ppm	8-OHdG 誘発なし。 (HPLC/ECD 法)
			雄 : 1240 雌 : 1050	
	マウス (参照71)	雌雄各 5	0, 10000 ppm	8-OHdG 誘発なし。 (HPLC/ECD 法)
雄 : 1423 雌 : 1570				
ラット (参照72)	雌雄各 5	0, 10000 ppm	雄で ROS 産生増加。	
		雄 : 1240 雌 : 1050		
マウス (参照73)	雄 5	0, 8000 ppm	ROS 産生増加。	
			雄 : 1420	

vi) 肝小核試験 (ラット)

Fischer ラット (一群雌 4 匹) を用いて、検体を単回経口 (原体 : 500 及び 2000 mg/kg 体重) 投与し、肝臓をコラゲナーゼ還流法により採取し、肝細胞を AO-DAPI (アクリジン (AO) 溶液と 4,6-diamino-2-phenylindole dihydrochloride (DAPI) 溶液の混合液) 染色液にて染色し、蛍光顕微鏡下で小核を有する肝細胞を計数する、小核試験が実施された。

その結果、いずれの処理群においても、溶媒対照群と比べ、小核を有する肝細胞の出現頻度に有意な増加は認められなかった。2000 mg/kg 体重投与群では、3 日目に分裂頻度が溶媒対照群に比べ有意に減少したが、5 日目には完全に回復した。

本試験において、肝細胞の分裂頻度に有意な減少が認められたことから、肝細胞は十分に暴露されており、このような条件下で小核を有する肝細胞の出現頻度がい

ずれの処理群においても有意に増加しなかったことから、本剤は *in vivo* 染色体異常誘発性を有しないものと判断された。(参照 54)

vii) コメットアッセイ

Wistar ラット及び ICR マウスに検体を単回強制経口投与又は 1 週間混餌投与した後、肝細胞を採取し、コメット標本を作製し、画像解析装置を用いてテールモーメントを計測するコメットアッセイが実施された。試験成績は表 38 に示されている。

本試験の結果、本剤はラット及びマウスの肝臓において DNA 損傷性を有しないものと判断された。(参照 55 及び 56、74 及び 75)

表 38 コメットアッセイの試験概要

採取部位	供試動物	1群当たり供試数	投与方法	投与量 (mg/kg 体重)	試験成績	結果
肝臓	ラット (参照55)	雌 4	単回強制経口	0, 500, 2000	テールモーメントの有意な増加なし	陰性
	マウス (参照56)	雄 4	単回強制経口	0, 500, 2000	テールモーメントの有意な増加なし	陰性
	ラット (参照74)	雌雄各 5	混餌 (1 週間)	0, 20000 ppm	テールモーメントの有意な増加なし	陰性
	マウス (参照75)	雄 5	混餌 (1 週間)	0, 8000 ppm	テールモーメントの有意な増加なし	陰性

以上の結果より、本剤の肝臓に認められた催腫瘍性は、本剤の遺伝子障害性に起因するものでなく、プロモーション作用によるものであり、ROS による酸化ストレス及び細胞増殖活性の亢進が関与している可能性が示唆された。よって、本剤は非遺伝毒性発がん物質に分類され、催腫瘍性には閾値が設定できるものと考えられた (肝腫瘍に関する無毒性量：ラット 2000 ppm；雄 96.0 mg/kg 体重/日、雌 129.2 mg/kg 体重/日、マウス 100 ppm；雄 11.6 mg/kg 体重/日)。

(2) 胃における催腫瘍性に関する検討試験

ラット前胃において認められた催腫瘍性の作用機序解明のため、コメットアッセイを追加実施した。

追加実施したコメットアッセイで陰性であり、その他の変異原性試験においても陰性であったことから、本剤には遺伝子障害作用のないことが確認された。

ラットにおける 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験[11. (2)]において、前胃腫瘍は雌の 10000 及び 20000 ppm 投与群でのみ認められ、これらの群では前胃粘膜の炎症、

潰瘍及び過形成が多発していた。これに対し、前胃腫瘍の認められなかった雌 2000 ppm 投与群及び雄投与群ではこれらの変化は認められなかった。従って、本剤の投与により誘発された前胃腫瘍は慢性的な炎症性刺激に起因した二次的作用によるものであると考えられた。

前胃におけるびらん・潰瘍は、化学物質や絶食等により極めて短期間で発現することが知られている。本試験において 52 週間投与の慢性毒性群ではこれらの病変が認められていないことから、発がん性群において認められた前胃の非腫瘍性病変は本剤の直接作用によるものとは考えられなかった。

以上の結果から、ラット前胃における催腫瘍性は、遺伝子障害性に起因するものではなく、本剤の長期間投与により動物の前胃に潰瘍等が誘発され、それによる二次的なものと考えられた。

1) コメットアッセイ

Wistar ラットに検体を単回強制経口投与した後、胃（前胃及び腺胃）粘膜上皮細胞を採取し、コメット標本を作製し、画像解析装置を用いてテールモーメントを計測するコメットアッセイが実施された。

試験成績は表 39 に示されている。

本試験の結果、本剤はラットの胃（前胃及び腺胃）において DNA 損傷性を有しないものと判断された。（参照 57）

表 39 コメットアッセイの試験概要

採取部位	供試動物	1群当たり供試数	投与方法	投与量 (mg/kg 体重)	試験成績	結論
胃 (前胃及び腺胃)	ラット	雌 4	経口	0, 500, 2000	テールモーメントの有意な増加なし	陰性

(3) 繁殖成績低下に関する検討試験

2 世代繁殖試験[12. (1)]の 3000 及び 15000 ppm 投与群において、雌雄の性成熟遅延及び雌の卵巣機能低下が認められ、15000 ppm 投与群 F₁ 雌では繁殖能の顕著な低下が認められた。これらの動物では哺育期に明瞭な体重増加抑制が認められたことなどから、これらの影響は発育抑制に関連した変化と考えられた。一方、性成熟及び生殖器の発達に各種性ホルモンも関連することから、本剤の性ホルモンへの影響を検討した。また、卵巣影響時期を推定するため、発生毒性試験（高用量・確認試験）[12. (3)]で得られた胎児卵巣の組織学的検査を実施した。

試験結果は表 40 に示されている。

試験結果から、本剤は抗エストロゲン作用及び抗アロマトラーゼ作用を有せず、器官形成期のラット胎児卵巣に対し卵胞形成には影響を与えないことから、生殖器、性ホルモン及び胎児卵胞に直接影響しないことが確認された。従って、2 世代繁殖試験

における F₁ 動物の性成熟及び雌性生殖器への影響は、出生後に上記以外の要因によりもたらされたものと推察された。即ち、哺育期における著明な体重増加抑制により正常な発育が抑制された結果発現したものと判断された。(参照 58~61)

表 40 繁殖成績低下に関する検討試験概要

試験の種類 期間	供試 動物	1 群当 たり供試数	投与 方法	投与量 (mg/kg 体重)	試験成績及び 無毒性量(mg/kg 体重)
ホルモン 測定 28 日間 (参照 58)	ラット	雌雄各 8	混餌	0, 600, 20000 ppm 雄: 47.7, 1510 雌: 54.0, 1760	20000 ppm 群雌雄で体重増加抑制、摂餌量減少、食餌効率減少、雌肝比重量増加 生殖器及び性ホルモンに影響なし。 雄: 47.7、雌: 54.0
子宮肥大 抑制 4 日間 (参照 59)	ラット	雌 6	経口	0、60、 300、1500	1500 ppm 群で体重増加抑制、子宮絶対及び比重量、子宮粘膜上皮細胞増殖活性(RDS 誘発性)に変化なし。 抗エストロジェン作用なし。 雌: 300
アロマトー ゼ活性阻害 5 日間 (参照 60)	ラット	雌 6	経口	0、300、1500	抗アロマトーゼ活性なし 雌: 1500
胎児卵巣へ の影響 (参照 61)	ラット	雌 20	経口	0、1500	原始卵胞数及びアポトーシス小体数に変化なし。 胎児の卵巣の卵胞形成に影響なし。 雌: 1500

III. 総合評価

参照に挙げた資料を用いて農薬「アミスルブロム」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、血漿中では C_{max} は 2~12 時間、 $T_{1/2}$ は 8~35 時間であった。血液中では C_{max} は 2~24 時間、 $T_{1/2}$ は 18~121 時間であった。血漿及び血液中の C_{max} は雄よりも雌の方が、また、 $tri\text{-}^{14}C\text{-}$ アミスルブロムより $ind\text{-}^{14}C\text{-}$ アミスルブロムの方が高かった。投与量及び標識位置に係わらず、投与後 120 時間に 79.7% TAR 以上が糞中に排泄された。胆汁中への排泄率は低用量投与時で約 40% TAR、高用量投与時で 1~3% TAR であった。

アミスルブロムの単回投与後、投与量によらず、投与放射能の大部分は消化管から検出され、次いで肝臓、腎臓、血漿に主に分布していた。時間の経過に伴い、それらの比率は減少した。120 時間後では、肝臓、腎臓、消化管（低用量投与時）、全血、血球及び血漿からは低濃度の放射能が検出されたが、その他の組織は全て検出限界未満であった。主要代謝経路は、トリアゾール環側鎖の脱離 (D) 及びインドール環 2 位のメチル基の水酸化 (B) と、これらの両反応 (E) であった。また、これらの代謝物は胆汁中ではグルクロン酸抱合体として検出された。胆汁中の代謝物はその約半分が消化管より再吸収された後、更に代謝を受け再び主として胆汁中に排泄された。

ぶどう、ばれいしょ及びトマトを用いた植物体内運命試験が実施された。標識したアミスルブロム散布後の総残留放射能のほとんどは、果実及び（茎）葉の表面洗浄液中から検出された。いずれの作物においても、残留放射能のほとんどはアミスルブロムであり、ぶどう果実で 83.4~84.3% TRR、ばれいしょ塊茎で 82.2% TRR、トマト果実で 91.5~92.0% TRR、ぶどう葉で 52.1~58.3% TRR、ばれいしょ茎葉で 74.9~77.8% TRR、トマト茎葉で 85.3~88.1% TRR を占めた。その他の代謝物として、B、C、D、G、H 及び I が検出されたが、ぶどう及びトマト果実で 1.2% TRR 以下、ぶどう葉及びばれいしょ及びトマト茎葉で 3.0% TRR 以下であった。植物間の代謝様式に大きな差はみられなかった。

土壌中運命試験を実施したところ、好氣的土壌におけるアミスルブロムの推定半減期は 17 日で、主な分解物は D であった。

土壌表面光分解試験では、推定半減期は照射区で 12.5 日、暗所区で 10.9 日であり、光照射による消失速度への影響は小さいことが示唆された。主要分解物は D であった。

アミスルブロムの土壌吸着試験を 5 種類の土壌を用いて実施したところ、吸着係数は $K_{ads}=147\sim378$ 、有機炭素含量による補正吸着係数は $K_{oc}=8160\sim44200$ であった。アミスルブロムは 5 種類全ての土壌において非移動性と判断された。

加水分解運命試験においては、アミスルブロムは、アルカリ性条件下で加水分解され、その半減期は pH 4、7 及び 9 の緩衝液において、それぞれ 78.5 日、76.5 日及び 5.0 日であった。主要分解物は、pH 4 及び 7 では D、pH 9 では D、L 及び Q であった。

滅菌緩衝液及び滅菌自然水で実施した水中光分解試験において、いずれの標識体においてもアミスルブロムは光照射により速やかに分解し、半減期は滅菌緩衝液中で 6.1 時間、滅菌自然水中で 4.7 時間と算出された。主な光分解物は、2 種類の環の間の開裂によって生成した M、O、P、Q、S、T 及び U であった。また、自然太陽光（北緯 35°、春）下でのアミスルブロムの半減期は滅菌緩衝液を用いた場合には 26.2 時間、滅菌自然

水を用いた場合は 20.2 時間と推定された。

火山灰・埴土、沖積・埴壤土及び沖積・砂壤土を用いて、アミスルブロム及び分解物 D を分析対象とした土壌残留試験（容器内及び圃場試験）を実施したところ、アミスルブロムの推定半減期は 7.3~78.0 日、アミスルブロムと分解物 D の含量として 23.4~210 日であった。

野菜及び果実を用いて、アミスルブロムを分析対象化合物とした作物残留試験が実施され、アミスルブロムの最高値は、最終散布 21 日後に収穫したぶどう（小粒種）の 1.21 mg/kg であった。

ラットの急性経口及び急性経皮 LD₅₀ は雌雄でそれぞれ 5000 mg/kg 体重超、急性吸入 LC₅₀ は雌雄で 2.85 mg/L/超であった。

分解物 D の急性経口 LD₅₀ はラットの雌で 50~300 mg/kg 体重、代謝物 G の急性経口 LD₅₀ はラットの雌で 2000mg/kg 体重超であった。

ウサギを用いた眼刺激性試験及び皮膚刺激性試験では、皮膚刺激性は認められなかったが、軽度の眼刺激性が認められた。また、モルモットを用いた皮膚感作性試験では陰性であった。

亜急性毒性試験で得られた無毒性量は、ラットで 171 mg/kg 体重/日、イヌで 300 mg/kg 体重/日であった。

慢性毒性試験及び発がん性試験で得られた無毒性量は、ラットで 11.1 mg/kg 体重/日、マウスで 11.6 mg/kg 体重/日、イヌで 10 mg/kg 体重/日であった。

腫瘍性病変に関しては、ラットでは 10000 ppm 以上投与群雌雄で、マウスでは 800 ppm 投与群の雄で肝細胞腺腫が増加し、ラットの 10000 ppm 以上投与群雌では、前胃の扁平上皮乳頭腫及び扁平上皮癌が低頻度ながら発生した。

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 48.5 mg/kg 体重/日であった。繁殖能に関しては、15000 ppm 投与群 F₁ 雌の繁殖率が著しく低下した。

発生毒性試験で得られた無毒性量は、ラットの母動物及び胎児とも 1000 mg/kg 体重/日、ウサギの母動物で 30 mg/kg 体重/日、胎児で 300 mg/kg 体重/日であると考えられる。催奇形性は認められなかった。

遺伝毒性試験として、細菌を用いた復帰突然変異試験、マウスリンパ腫由来 L5178Y 細胞を用いた遺伝子突然変異試験、ヒト末梢血リンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験、マウス骨髄細胞を用いた小核試験、ラット肝細胞を用いた小核試験、ラット肝細胞を用いた不定期 DNA 合成試験、マウス肝細胞を用いたコメットアッセイ、ラットの肝、腺胃及び前胃細胞を用いたコメットアッセイが実施された。その結果、全ての試験において陰性であったことから、アミスルブロムに遺伝毒性はないものと考えられた。

土壌中分解物 D 及び植物固有代謝物 G の細菌を用いた復帰突然変異試験及びマウス骨髄細胞を用いた小核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。

発がん性試験の結果、高用量群のラット及びマウスの肝臓で肝細胞腺腫が増加し、本剤の催腫瘍性に関する作用機序を解明するため、ラットを用いた中期肝発がん性試験、ラット及びマウスを用いた薬物代謝酵素誘導試験、ラット及びマウスを用いた RDS 試験、ラット及びマウスの肝臓での 8-OHdG 免疫組織化学染色及び測定試験、肝での ROS 測定試験、ラットを用いた肝小核試験、ラット及びマウスを用いたコメットアッセイが

実施された。その結果、肝小核試験及びコメットアッセイで陰性であったことから、本剤には遺伝子障害作用はないことが確認された。ラット中期肝発がん性試験において GST-P 陽性細胞巢の発現が増加したこと、ラット及びマウスの薬物代謝酵素誘導試験において PB で誘導される薬物代謝酵素と類似の薬物代謝酵素活性が誘導されたこと、ラット及びマウスの RDS 試験において肝細胞増殖が認められたことから、本剤は肝発がんプロモーション作用を有することが確認された。さらに 8-OHdG の免疫染色及び測定結果から、本剤はマウス及びラットいずれにおいても 8-OHdG を増加させなかった。一方、ROS 産生の増加が認められ、本剤は肝臓において軽度に酸化ストレスを増加させることが示され、この増加は肝薬物代謝酵素の誘導に関連したものと考えられた。

ラット前胃における催腫瘍性の作用機序解明のため、ラットの胃を用いたコメットアッセイを実施したが、陰性であった。本剤は、他の変異原性試験においても陰性であったことから、遺伝子障害作用のないことが確認された。よって、本剤の投与により誘導された前胃腫瘍は慢性的な炎症性刺激に起因した二次的作用によるものであると考えられた。

以上のメカニズム試験及び遺伝毒性試験結果から、ラット及びマウスに認められた、肝細胞腺腫、前胃扁平上皮癌及び扁平上皮乳頭腫の発生機序は遺伝毒性メカニズムとは考え難く、アミスルブロムの評価にあたり閾値を設定することは可能であると考えられた。

2 世代繁殖試験の 3000 及び 15000 ppm 投与群において、雌雄の性成熟遅延及び雌の卵巣機能低下が認められ、15000 ppm 投与群 F₁ 雌では繁殖能の顕著な低下が認められた。性成熟及び生殖器の発達には各種性ホルモンも関連することから、本剤の性ホルモンへの影響を検討するために、ラットを用いたホルモン測定試験、子宮肥大抑制確認試験、抗アロマターゼ活性確認試験、ラット胎児の卵巣影響確認試験を実施した。これらの試験結果から、本剤は抗エストロゲン作用及び抗アロマターゼ作用を有せず、器官形成期のラット胎児卵巣に対し卵胞形成には影響を与えないことから、生殖器、性ホルモン及び胎児卵胞に本剤投与が直接影響しないことが確認された。従って、繁殖毒性試験における F₁ 動物の性成熟及び雌性生殖器への影響は、哺育期における著明な体重増加抑制により正常な発育が抑制された結果、発現したものと判断された。

各種試験結果から、アミスルブロム投与による影響は、主に肝臓、腎臓及び胃に認められた。

各種試験結果から農産物中の暴露評価対象物質をアミスルブロム（親化合物のみ）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 41 に示されている。

表 41 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：171 雌：587	雄：525 雌：1880	雌雄：体重増加抑制、摂餌量減少等
	2年間 慢性毒性 /発がん 性併合試験	雄：11.1 雌：14.3	雄：96.0 雌：129	雌雄：体重増加抑制、肝比重量増加、小葉中間帯肝細胞空胞化増加等
	2世代 繁殖 試験	親・児動物 P雄：48.5 P雌：53.0 F ₁ 雄：59.0 F ₁ 雌：64.6	親・児動物 P雄：240 P雌：261 F ₁ 雄：307 F ₁ 雌：338	親動物：体重増加抑制、摂餌量減少 児動物：体重増加抑制、胸腺絶対及び比重量低下等
	発生毒性 試験	母動物：1000 胎児：1000	母動物：－ 胎児：－	母動物：毒性所見なし 胎児：毒性所見なし (催奇形性は認められない)
	発生毒性 試験(高 用量のみ)	母動物：1500 胎児：1500	母動物：－ 胎児：－	母動物：毒性所見なし 胎児：毒性所見なし (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：11.6 雌：13.5	雄：97.8 雌：121	雌雄：盲腸粘膜、粘膜下織及び 粘膜下織細静脈壁細胞内色素 沈着増加等
イヌ	90日間 亜急性 毒性試験	雄：300 雌：300	雄：1000 雌：1000	雌雄：体重増加抑制、摂餌量減少等
	1年間 慢性毒性 試験	雄：10 雌：10	雄：100 雌：100	雌雄：体重増加抑制
ウサギ	発生毒性 試験	母動物：30 胎児：300	母動物：100 胎児：－	母動物：体重増加抑制、摂餌量減少 胎児：毒性所見なし (催奇形性は認められない)

－：最小毒性量は設定できなかった。

²：備考に最小毒性量で認められた所見の概要を示す。

食品安全委員会は、各試験の無毒性量の最小値がイヌを用いた 1 年間慢性毒性試験の 10 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 0.1 mg/kg 体重/日を一日摂取許容量 (ADI) と設定した。

ADI	0.1 mg/kg 体重/日
(ADI 設定根拠資料)	慢性毒性試験
(動物種)	イヌ
(期間)	1 年間
(投与方法)	強制経口投与
(無毒性量)	10 mg/kg 体重/日
(安全係数)	100

<別紙1：代謝物/分解物略称>

略称	化学名
B	3-(3-プロモ-6-フルオロ-2-ヒドロキシメチルインドール-1-イルスルホニル)- <i>N,N</i> -ジメチル-1,2,4-トリアゾール-1-スルホンアミド
C	3-(3-プロモ-6-フルオロ-5-ヒドロキシ-2-ヒドロキシメチルインドール-1-イルスルホニル)- <i>N,N</i> -ジメチル-1,2,4-トリアゾール-1-スルホンアミド
D	3-プロモ-6-フルオロ-2-メチル-1-(1 <i>H</i> -1,2,4-トリアゾール-3-イルスルホニル)インドール
E	3-プロモ-6-フルオロ-2-ヒドロキシメチル-1-(1 <i>H</i> -1,2,4-トリアゾール-3-イルスルホニル)インドール
F	3-プロモ-6-フルオロ-5-ヒドロキシ-2-ヒドロキシメチル-1-(1 <i>H</i> -1,2,4-トリアゾール-3-イルスルホニル)インドール
G	2-[(1- <i>N,N</i> -ジメチルアミノスルホニル-1,2,4-トリアゾール-3-イル)スルホニルアミノ]-4-フルオロ安息香酸
H	2-[(1 <i>H</i> -1,2,4-トリアゾール-3-イル)スルホニルアミノ]-4-フルオロ安息香酸
I	3-(6-フルオロ-2-ヒドロキシ-2-メチル-3-オキソインドリン-1-イルスルホニル)- <i>N,N</i> -ジメチル-1,2,4-トリアゾール-1-スルホンアミド
J	3-(1 <i>H</i> -1,2,4-トリアゾール-3-イルスルホニル)-6-フルオロ-2-メチルインドール
K	3-プロモ-6-フルオロ-2-メチル-1-(1-メチル-1,2,4-トリアゾール-3-イルスルホニル)インドール
L	3-プロモ-6-フルオロ-2-メチルインドール
M	2-アセチルアミノ-4-フルオロ安息香酸
N	2-アミノ-4-フルオロ安息香酸
O	2-アセチルアミノ-4-フルオロ-ヒドロキシ安息香酸
P	2,2'-オキシビス(6-フルオロ-2-メチルインドリン-3-オン)
Q	1-(<i>N,N</i> -ジメチルアミノスルホニル)-1,2,4-トリアゾール-3-スルホン酸
R	1-(<i>N,N</i> -ジメチルアミノスルホニル)-1,2,4-トリアゾール
S	1 <i>H</i> -1,2,4-トリアゾール-3-スルホン酸
T	1 <i>H</i> -1,2,4-トリアゾール
U	5-(<i>N,N</i> -ジメチルアミノスルホニル)-1 <i>H</i> -1,2,4-トリアゾール
V	3-(3-プロモ-6-フルオロ-2-ヒドロキシメチルインドール-1-イルスルホニル)- <i>N,N</i> -ジメチル-1,2,4-トリアゾール-1-スルホンアミド, <i>O</i> -抱合体
W	3-(3-プロモ-6-フルオロ-5-ヒドロキシ-2-ヒドロキシメチルインドール-1-イルスルホニル)- <i>N,N</i> -ジメチル-1,2,4-トリアゾール-1-スルホンアミド, <i>O</i> -抱合体

略称	化学名
X	6-(3-(3-ブロモ-6-フルオロ-2-メチルインドール-1-イルスルホニル)-1,2,4-トリアゾール-1-イル)-3,4,5-トリヒドロキシ-テトラヒドロ-2 <i>H</i> -ピラン-2-カルボン酸
Y	3-ブロモ-6-フルオロ-2-ヒドロキシメチル-1-(1 <i>H</i> -1,2,4-トリアゾール-3-イルスルホニル)インドール, <i>O</i> -抱合体

<別紙 2 : 検査値等略称>

略称	名称
A/G 比	アルブミン/グロブリン比
ai	有効成分量
Alb	アルブミン
ALP	アルカリホスファターゼ
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
BrdU	5-ブロモ-2'-デオキシウリジン
C _{max}	最高血中薬物濃度
Cre	クレアチニン
DEN	ニトロソジエチルアミン
EROD	エトキシレゾルフィン O-デエチラーゼ
Fmoc	9-フルオレニルメチルオキシカルボニル
GGT	γ-グルタミルトランスぺプチターゼ
Glu	グルコース (血糖)
GST-P	胎盤型グルタチオン S-トランスフェラーゼ
Hb	ヘモグロビン (血色素量)
HPLC	高速液体クロマトグラフ
HPLC/ECD	電気化学検出器付き高速液体クロマトグラフ
HPLC/UV	UV 検出器付き高速液体クロマトグラフ
LC ₅₀	半数致死濃度
LC/MS	高速液体クロマトグラフ質量分析計
LD ₅₀	半数致死量
Lym	リンパ球数
MC	メチルセルロース
MCHC	平均赤血球血色素濃度
MFCOD	7-Methoxy-4-trifluoromethylcoumarin-O-demethylation
8-OHdG	8-ヒドロキシ 2'-デオキシグアノシン
PB	フェノバルビタール
PHI	最終使用から収穫までの日数
PLT	血小板数
PROD	ペントキシレゾルフィン O-デペンチラーゼ
RBC	赤血球数
RDS	複製 DNA 合成
ROS	活性酸素種
T _{1/2}	消失半減期
TAR	総投与(処理) 放射能
T.Bil	総ビリルビン
T.Chol	総コレステロール
TG	トリグリセリド
TLC	薄層クロマトグラフ
T _{max}	最高血中薬物濃度到達時間
T-OH	テストステロン 6β-水酸化
TP	総蛋白質
TRR	総残留放射能
URE	尿素
WBC	白血球数

<別紙3：推定摂取量>

作物名	残留値 (mg/kg)	国民平均 (体重：53.3kg)		小児(1~6歳) (体重：15.8kg)		妊婦 (体重：55.6kg)		高齢者(65歳以上) (体重：54.2kg)	
		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)
大豆 ※加工品	0.04	56.1	2.24	33.7	1.35	45.5	1.82	58.8	2.35
ばれいしょ	0.01	36.6	0.37	21.3	0.21	39.8	0.40	27	0.27
トマト	0.5	24.3	12.15	16.9	8.45	24.5	12.25	18.9	9.45
きゅうり(含 ガーキン)	0.18	16.3	2.93	8.2	1.48	10.1	1.82	16.6	2.99
メロン類(果実)	0.01	0.4	0.00	0.3	0.00	0.1	0.00	0.3	0.00
ブドウ	0.77	5.8	4.47	4.4	3.39	1.6	1.23	3.8	2.93
合計			22.2		14.9		17.5		18.0

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

- ・ff：平成10年～12年の国民栄養調査(参照62～64)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アミスルプロムの推定摂取量(μg/人/日)。
- ・トマトの残留値はミニトマトの値を用いた。
- ・ぶどうの残留値は、小粒種の値を用いた。

<参照>

- 1 農薬抄録アミスルプロム：日産化学工業株式会社、2005年、未公表
- 2 ラット体内における代謝試験（単回経口投与）（GLP対応）：Huntingdon Life Sciences Ltd.、2004年、未公表
- 3 ラット体内における代謝試験（反復投与）（GLP対応）：Huntingdon Life Sciences Ltd.、2005年、未公表
- 4 ラットにおける腸肝循環：日産化学工業株式会社、2004年、未公表
- 5 ぶどうにおける代謝試験（GLP対応）：Huntingdon Life Sciences Ltd.、2004年、未公表
- 6 ばれいしょにおける代謝試験（GLP対応）：Huntingdon Life Sciences Ltd.、2004年、未公表
- 7 トマトにおける代謝試験（GLP対応）：Huntingdon Life Sciences Ltd.、2004年、未公表
- 8 好氣的土壌中運命試験（GLP対応）：Huntingdon Life Sciences Ltd.、2004年、未公表
- 9 土壌表面光分解試験（GLP対応）：Huntingdon Life Sciences Ltd.、2004年、未公表
- 10 NC-224の土壌吸脱着試験（GLP対応）：Huntingdon Life Sciences Ltd.、2004年、未公表
- 11 土壌中主要分解物IT-4の土壌吸脱着試験（GLP対応）：Huntingdon Life Sciences Ltd.、2005年、未公表
- 12 加水分解運命試験（GLP対応）：Huntingdon Life Sciences Ltd.、2004年、未公表
- 13 水中光分解運命試験（1）滅菌緩衝液中光分解運命試験（GLP対応）：Huntingdon Life Sciences Ltd.、2004年、未公表
- 14 水中光分解運命試験（2）滅菌自然水中光分解運命試験（GLP対応）：日産化学工業株式会社、2004年、未公表
- 15 土壌残留試験結果：日産化学工業株式会社、2003、2004年、未公表
- 16 作物残留試験結果：日産化学工業株式会社、2003、2004年、未公表
- 17 ラット及びイヌを用いた生体機能への影響に関する試験（GLP対応）：(財)食品農医薬品安全性評価センター、2005年、未公表
- 18 ラットを用いた急性経口毒性試験（GLP対応）：Huntingdon Life Sciences Ltd.、2003年、未公表
- 19 ラットを用いた急性経皮毒性試験（GLP対応）：Huntingdon Life Sciences Ltd.、2003年、未公表
- 20 ラットを用いた急性吸入毒性試験（GLP対応）：Huntingdon Life Sciences Ltd.、2003年、未公表
- 21 土壌中主要代謝物Dのラットを用いた急性経口毒性試験（GLP対応）：Covance Laboratories Ltd.、2005年、未公表
- 22 植物固有代謝物Gのラットを用いた急性経口毒性試験（GLP対応）：Safeparm Laboratories Ltd.、2005年、未公表
- 23 ウサギを用いた皮膚刺激性試験（GLP対応）：Huntingdon Sciences Ltd.、2003年、未公表

- 24 ウサギを用いた眼刺激性試験 (GLP 対応) : Huntingdon Sciences Ltd.、2003 年、未公表
- 25 モルモットを用いた皮膚感作性試験 (GLP 対応) : Huntingdon Sciences Ltd.、2002 年、未公表
- 26 ラットを用いた飼料混入投与による 13 週間反復経口投与毒性試験 (GLP 対応) : Huntingdon Life Sciences Ltd.、2003 年、未公表
- 27 マウスを用いた飼料混入投与による 13 週間反復経口投与毒性試験 (GLP 対応) : Huntingdon Life Sciences Ltd.、2003 年、未公表
- 28 イヌを用いたカプセル投与による 13 週間反復経口投与毒性試験 (GLP 対応) : Huntingdon Life Sciences Ltd.、2003 年、未公表
- 29 ラットを用いた 21 日間反復経皮投与毒性試験 (GLP 対応) : Huntingdon Life Sciences Ltd.、2004 年、未公表
- 30 イヌを用いた 1 年間反復経口投与毒性試験 (GLP 対応) : Huntingdon Life Sciences Ltd.、2005 年、未公表
- 31 マウスを用いた発がん性試験 (GLP 対応) : Huntingdon Life Sciences Ltd.、2005 年、未公表
- 32 ラットを用いた 1 年間反復経口投与毒性/発がん性併合試験 (GLP 対応) : Huntingdon Life Sciences Ltd.、2005 年、未公表
- 33 ラットを用いた 2 世代繁殖毒性試験 (GLP 対応) : Huntingdon Life Sciences Ltd.、2005 年、未公表
- 34 ラットを用いた催奇形性試験 (GLP 対応) : Huntingdon Life Sciences Ltd.、2004 年、未公表
- 35 ラットを用いた催奇形性試験 (高用量・確認試験) : 日産化学工業株式会社、2003 年、未公表
- 36 ウサギを用いた催奇形性試験 (GLP 対応) : Huntingdon Life Sciences Ltd.、2004 年、未公表
- 37 細菌を用いた復帰変異性試験 (GLP 対応) : Huntingdon Life Sciences Ltd.、2002 年、未公表
- 38 マウス L5178Y 細胞を用いた遺伝子突然変異試験 (GLP 対応) : Covance Laboratories Ltd.、2004 年、未公表
- 39 ヒト末梢血リンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験 (GLP 対応) : Covance Laboratories Ltd.、2004 年、未公表
- 40 マウスを用いた小核試験 (GLP 対応) : Huntingdon Life Sciences Ltd.、2003 年、未公表
- 41 ラットを用いた *in vivo-in vitro* 肝・不定期 DNA 合成 (UDS) 試験 (GLP 対応) : (株) 三菱化学安全科学研究所、2005 年、未公表
- 42 土壌中主要代謝物 D の細菌を用いた復帰変異性試験 (GLP 対応) : Covance Laboratories Ltd.、2005 年、未公表
- 43 植物固有代謝物 G の細菌を用いた復帰変異性試験 (GLP 対応) : Safeparm Laboratories Ltd.、2005 年、未公表
- 44 土壌中主要代謝物 D のマウスを用いた小核試験 (GLP 対応) : Covance Laboratories Ltd.、2005 年、未公表
- 45 植物固有代謝物 G のマウスを用いた小核試験 (GLP 対応) : Safeparm Laboratories Ltd.、

2005年、未公表

- 46 ラットを用いた肝中期発がん性試験 (GLP 対応) : 株式会社 DIMS 医科学研究所、2005年、未公表
- 47 ラットを用いた肝薬物代謝酵素誘導試験 : 日産化学工業株式会社、2005年、未公表
- 48 マウスを用いた肝薬物代謝酵素誘導試験 : 日産化学工業株式会社、2005年、未公表
- 49 ラットを用いた単回投与による複製 DNA 合成試験 : 日産化学工業株式会社、2005年、未公表
- 50 ラットを用いた1週間反復経口投与による複製 DNA 合成試験 : 日産化学工業株式会社、2005年、未公表
- 51 マウスを用いた1週間反復経口投与による複製 DNA 合成試験 : 日産化学工業株式会社、2005年、未公表
- 52 雌ラットを用いた1週間反復投与による肝臓での酸化ストレス解析 : 日産化学工業株式会社、2005年、未公表
- 53 マウスを用いた1週間反復投与による肝臓での酸化ストレス解析 : 日産化学工業株式会社、2005年、未公表
- 54 幼若ラットを用いた肝小核試験 : 日産化学工業株式会社、2004年、未公表
- 55 ラットを用いた肝コメットアッセイ : 日産化学工業株式会社、2005年、未公表
- 56 マウスを用いた肝コメットアッセイ : 日産化学工業株式会社、2005年、未公表
- 57 ラットを用いた胃コメットアッセイ : 日産化学工業株式会社、2005年、未公表
- 58 ラットを用いたホルモン測定試験 : 日産化学工業株式会社、2005年、未公表
- 59 ラットを用いた子宮肥大抑制確認試験 : 日産化学工業株式会社、2005年、未公表
- 60 ラットを用いた抗アロマトーゼ活性確認試験 : 日産化学工業株式会社、2005年、未公表
- 61 ラット胎児を用いた卵巣影響確認試験 : 日産化学工業株式会社、2005年、未公表
- 62 国民栄養の現状－平成10年国民栄養調査結果－ : 健康・栄養情報研究会編、2000年
- 63 国民栄養の現状－平成11年国民栄養調査結果－ : 健康・栄養情報研究会編、2001年
- 64 国民栄養の現状－平成12年国民栄養調査結果－ : 健康・栄養情報研究会編、2002年
- 65 食品健康影響評価について : 食品安全委員会第138回会合資料1-1 (URL : <http://www.fsc.go.jp/iinkai/i-dai138/dai138kai-siryou1-1.pdf>)
- 66 「アミスブルーム」の食品衛生法 (昭和22年法律第233号) 第11条第1項の規定に基づく、食品中の残留基準設定に係る食品健康影響評価について : 食品安全委員会第138回会合資料1-2 (URL : <http://www.fsc.go.jp/iinkai/i-dai138/dai138kai-siryou1-2.pdf>)
- 67 食品安全委員会農薬専門調査会総合評価第二部会第3回会合 (URL : http://www.fsc.go.jp/senmon/nouyaku/sougou2_dai3/index.html)
- 68 食品健康影響評価に係る追加資料 : 日産化学工業株式会社、2007年、未公表
- 69 ラットを用いた1週間反復投与による肝臓での8-OHdG測定試験、日産化学工業株式会社、産業医科大学 産業生態科学研究所 職業性腫瘍学教室、2006年、未公表
- 70 マウスを用いた1週間反復投与による肝臓での8-OHdG測定試験、日産化学工業株式会社、産業医科大学 産業生態科学研究所 職業性腫瘍学教室、2006年、未公表
- 71 ラットを用いた1週間反復投与による肝臓での活性酸素種測定試験、日産化学工業株式会社、2006年、未公表
- 72 マウスを用いた1週間反復投与による肝臓での活性酸素種測定試験、日産化学工業株式会社、

2006年、未公表

- 73 ラットを用いた1週間反復投与による肝コメットアッセイ、日産化学工業株式会社、2006年、未公表
- 74 マウスを用いた1週間反復投与による肝コメットアッセイ、日産化学工業株式会社、2006年、未公表
- 75 食品安全委員会農薬専門調査会総合評価第二部会第13回会合
(URL : http://www.fsc.go.jp/senmon/nouyaku/sougou2_dai13/index.html)
- 76 食品安全委員会農薬専門調査会幹事会第26回会合
(URL : http://www.fsc.go.jp/senmon/nouyaku/kanjikai_dai26/index.html)