

7. 乳汁移行試験

ホルスタイン種の泌乳牛（各2頭）を用い、エチプロールを4 mg/頭/日及び代謝物 B を2.8 mg/頭/日、両者を4 mg/頭/日、またはエチプロールを20 mg/頭/日の用量で7日間連続強制経口投与して乳汁移行試験が実施された。

いずれの試験においても、投与開始1日後から最終投与5日後まで、搾乳した試料からエチプロール及び代謝物 B は検出されなかった。（参照 20、74、75）

8. 一般薬理試験

ラット、マウス及びウサギを用いた一般薬理試験が実施された。結果は表5に示されている。（参照 63）

表5 一般薬理試験概要

試験の種類	動物種	動物数/群	投与量 (mg/kg 体重) (投与経路)	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	一般症状 (Irwin 法)	ICR マウス	雄 3	50、120、500、2,000 (経口)	50	120	120 mg/kg 体重以上で痙攣、500 mg/kg 体重以上で探索行動、自発運動抑制、2,000 mg/kg 体重以上で体姿勢、歩行異常、振戦、散瞳、1 例死亡、生存動物の症状は翌日に消失
	自発運動量	ICR マウス	雄 6	10、25、50、120、500、2,000 (経口)	25	50	50mg/kg 体重以上で投与後30分~1時間に抑制
	痙攣誘発	ICR マウス	雄 10	50、120、500、2,000 (経口)	2,000	—	影響なし
循環器系	呼吸 血圧 心拍数 心電図	日本白色種 ウサギ (麻酔下)	雄 4	500、1,000、2,000 (十二指腸内)	2,000	—	影響なし
腎機能	尿量 電解質排泄 浸透圧	Wistar ラット	雄 6	50、120、500、2,000 (経口)	50	120	120 mg/kg 体重以上で尿量有意に増加

注) 溶媒として 0.5% CMC 水溶液を使用した。

— : 作用量が設定できない。

9. 急性毒性試験

エチプロールのラットを用いた急性経口、急性経皮及び急性吸入毒性試験が実施された。

結果は表6に示されている。（参照 22~25）

表 6 急性毒性試験概要 (原体)

投与経路	動物種	LD ₅₀ (mg/kg 体重)		観察された症状
		雄	雌	
経口	Wistar ラット 雌雄各 5 匹	>7,080	>7,080	自発運動低下、眼瞼下垂、円背位 5,000 mg/kg 体重以上で死亡例
経皮	Wistar ラット 雌雄各 5 匹	>2,000	>2,000	症状及び死亡例なし
吸入	SD ラット 雌雄各 5 匹	LC ₅₀ (mg/L)		被毛湿潤、円背、立毛、眼瞼下垂、 頭部、眼及び鼻周囲の赤/褐色変化、 呼吸数減少、運動失調、振戦、嗜眠 死亡例なし
		>5.21	>5.21	

エチプロールの代謝物 (B、C、D、E、F、K、N 及び P) のラットを用いた急性経口毒性試験が実施された。

結果は表 7 に示されている。(参照 26~33)

表 7 急性経口毒性試験概要 (代謝物)

被験物質	動物種	LD ₅₀ (mg/kg 体重)		観察された症状
		雄	雌	
B	Wistar ラット 雌雄各 5 匹	>2,000	>2,000	症状及び死亡例なし
C	Wistar ラット 雌雄各 5 匹	>5,000	>5,000	症状及び死亡例なし
D	Wistar ラット 雌雄各 5 匹	>5,000	>5,000	症状及び死亡例なし
E	Wistar ラット 雌雄各 5 匹	>2,000	>2,000	症状及び死亡例なし
F	SD ラット 雌雄各 5 匹	>2,000	>2,000	症状及び死亡例なし
K	Wistar ラット 雌雄各 5 匹	>5,000	>5,000	症状及び死亡例なし
N	SD ラット 雌雄各 5 匹	439	423	自発運動低下、腹臥、呼吸促拍、強直性痙攣、チアノーゼ 300 mg/kg 体重以上の雄、500 mg/kg 体重以上の雌に死亡例
P	SD ラット 雌雄各 5 匹	>2,000	>2,000	症状及び死亡例なし

10. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

NZW 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ており、眼及び皮膚に対する刺激性は認められなかった。(参照 34~35)

Hartley モルモットを用いた皮膚感作性試験 (Maximization 法) が実施されており、皮膚感作性は認められなかった。(参照 36)

1.1. 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、5、20、500 及び 2,500 ppm）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 8 に示されている。

2,500 ppm 投与群で雄 8 例、500 ppm 投与群で雄 1 例及び雌 3 例、5 ppm 投与群で雌 1 例に死亡が認められた。2,500 ppm 投与群の雄では、死亡動物の剖検所見に不特定多数の臓器で出血及び重度の肝細胞壊死が認められたこと、生存動物では PT の延長が認められたことなどから、最大耐量を超える高用量による肝傷害の結果血液凝固系が障害をうけて出血傾向が生じ、全身状態が悪化することにより死亡したと考えられた。500 ppm 投与群の雄で認められた死亡例も、肝の病変を伴った出血性病変を呈し、投与に関連していると考えられた。500 ppm 投与群及び 5 ppm 投与群の雌にみられた死亡例では、雄に共通してみられた肝の病変は認められず、偶発的なものと考えられた。

本試験において、500 ppm 以上投与群の雌雄に小葉中心性肝細胞肥大等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 20 ppm（雄：1.2 mg/kg 体重/日、雌：1.5 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 3、37）

表 8 90 日間亜急性毒性試験（ラット）で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
2,500 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・立毛、運動活性変動 ・体重増加抑制、摂餌量減少 ・PLT、TG、カリウム及び T₃ 増加 ・MCHC 減少 ・Ht、Hb 及び T.Chol 減少 ・ALT 増加 ・肝細胞壊死 	<ul style="list-style-type: none"> ・立毛、運動活性変動 ・PLT、TG、カリウム及び T₃ 増加 ・MCHC 減少 ・腎黄褐色色素沈着
500 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・死亡 ・MCV、MCH 及び T₄ 減少 ・TP、カルシウム及び TSH 増加 ・肝及び甲状腺絶対・比重量増加 ・肝及び甲状腺肥大 ・肝及び腎暗色化 ・小葉中心性肝細胞肥大 ・肝細胞肥大（全体） ・甲状腺濾胞上皮細胞肥大/過形成 ・PT 延長 	<ul style="list-style-type: none"> ・MCV、MCH 及び T₄ 減少 ・TP、カルシウム及び TSH 増加 ・肝及び甲状腺絶対・比重量増加 ・肝及び甲状腺肥大 ・肝及び腎暗色化 ・小葉中心性肝細胞肥大 ・肝細胞肥大（全体） ・甲状腺濾胞上皮細胞肥大/過形成 ・Ht、Hb、ALP 及びクロール減少 ・T.Chol 増加
20 ppm 以下	毒性所見なし	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）を用いた混餌（原体：0、30、90 及び 200 ppm）投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

200 ppm 投与群の雌雄で肝グリコーゲン枯渇が、雌で死亡（1例）、体重増加抑制（有意差なし）、ALP 増加が、90 ppm 以上投与群の雄で体重増加抑制（90 ppm で有意差なし）、精巣絶対重量の減少、肝小葉中心性肝細胞肥大、胸腺萎縮、前立腺未成熟が、30 ppm 以上投与群の雄で前立腺比重量の減少、精巣上体内の無精子が認められた。ただし、対照群を含む全投与群において精巣の未成熟及び精巣上体内の精子減少が認められた。

90 ppm 以上投与群で認められた前立腺及び精巣の重量減少、精巣上体の無精子は、本試験と同月齢（約6カ月齢）より開始された慢性毒性試験の解剖時では認められないこと（30、90 ppm 投与群）、前立腺及び精巣の重量減少は背景データの範囲内であること（200 ppm 投与群の1例の前立腺を除く）から、投与による体重増加抑制又はそれに起因する性成熟遅延によるものと考えられる。

30 ppm 投与群の雄で認められた前立腺比重量の減少（背景データの範囲内）及び精巣上体の無精子（1例）は病理組織学的変化が認められないこと、本試験における投与期間（開始時5~6カ月齢）が動物の生殖器官の成長及び成熟時期と一致することから、偶発的な軽度の性成熟遅延によるものであり毒性学的意義はないものと考えられる。

本試験において、90 ppm 以上投与群の雄で小葉中心性肝細胞肥大等が、200 ppm 投与群の雌でALP 増加等が認められたので、無毒性量は雄で30 ppm（1.0 mg/kg 体重/日）、雌で90 ppm（3.6 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照3、38）

（3）90日間亜急性神経毒性試験（ラット）

SD ラット（一群雌雄各10匹）を用いた混餌（原体：0、20、100及び400 ppm）投与による90日間亜急性神経毒性試験が実施された。

400 ppm 投与群の雌雄で肝重量増加が、雌で甲状腺重量増加が、100 ppm 以上投与群雄で甲状腺重量増加が認められた。最高投与群で末梢神経の軽微な軸索変性が認められたが、背景データの範囲内にあること、慢性毒性/発がん性併合試験ではこれらの病変が認められないことから、投与による影響ではないと考えられた。

本試験での無毒性量は雄で20 ppm（1.4 mg/kg 体重/日）、雌で100 ppm（8.4 mg/kg 体重/日）であると考えられた。神経毒性は認められなかった。（参照3、39）

1.2. 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5匹）を用いた混餌（原体：0、9、30及び90 ppm）投与による1年間慢性毒性試験が実施された。

本試験において、90 ppm 投与群の雌雄で体重増加抑制が認められたので、無

毒性量は雌雄とも 30 ppm (雄：0.70 mg/kg 体重/日、雌：0.76 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 40)

(2) 2 年間慢性毒性／発がん性併合試験 (ラット)

Wistar ラット (発がん性試験群：一群雌雄各 60 匹、衛星群：一群雌雄各 10 匹、回復群：一群雌雄各 15 匹) を用いた混餌 (原体：0、5、20、75 及び 250 ppm) 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。

各投与群で認められた毒性所見 (非腫瘍性病変) は表 9 に、甲状腺腫瘍の発生頻度は表 10 に示されている。

250 ppm 投与群の雌雄において、有意差はないものの甲状腺限局性濾胞細胞過形成及び濾胞細胞腺腫が認められた。これは、その他の毒性試験[15. (1)]の結果から、エチプロール投与によりフェノバルビタールと同様に、β-グルクロニルトランスフェラーゼなどの肝臓薬物代謝酵素の誘導により、T₄の胆汁中排泄が促進されることで血中濃度が減少し、その結果、視床下部一下垂体-甲状腺軸系に変化が生じ血中 TSH 濃度が増加し、甲状腺を持続的かつ過剰に刺激することで生じる間接的な原因によるものと考えられた。

発がん性試験群の 20 ppm 以上投与群の雌の死亡・途中切迫と殺動物において、坐骨神経のミエリン変性が増加したが、最終と殺動物及び全動物では有意差は認められなかった。この増加は、対照群の動物がやや若齢で死亡したため、同病変の発生が少なく、その結果、投与群で有意に増加したものであり、投与による影響ではないと考えられた。

本試験において 75 ppm 以上投与群の雄で MCV 増加等が、雌で肝絶対・比重量増加等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 20 ppm (雄：0.85 mg/kg 体重/日、雌：1.17 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 41、59~61)

表 9 2 年間慢性毒性／発がん性併合試験 (ラット) で認められた毒性所見 (非腫瘍性病変)

投与群	雄	雌
250 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ MCHC 減少 ・ TP 増加 ・ Hb 及び T₄ 減少 ・ Alb 及び TSH 増加 ・ 肝絶対・比重量増加 ・ 甲状腺絶対・比重量増加 ・ 甲状腺濾胞細胞肥大 ・ 甲状腺コロイド鉍質沈着 ・ 肝好塩基性変異細胞巢増加 ・ 限局性好酸性細胞変化 ・ 進行性慢性腎症 	<ul style="list-style-type: none"> ・ MCHC 減少 ・ TP 増加 ・ MCV 及び MCH 減少 ・ RBC、PLT、T.Chol 及びカルシウム増加 ・ 甲状腺絶対・比重量増加 ・ 甲状腺濾胞細胞肥大 ・ 小葉中心性肝細胞肥大 ・ 胆管線維化 ・ 甲状腺びまん性濾胞細胞肥大 ・ 肝限局性類洞拡張 ・ 腎動脈炎/動脈周囲炎 ・ 肺胞大食細胞浸潤巣

75 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ MCV 増加 ・ PT 延長 ・ 胆管線維化 	<ul style="list-style-type: none"> ・ PT 短縮 ・ T₄ 減少 ・ TSH 増加、 ・ 肝絶対・比重量増加 ・ 甲状腺コロイド鉍質沈着 ・ 胆管過形成
20 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

表 10 2年間慢性毒性/発がん性併合試験(ラット)で認められた甲状腺腫瘍の発生頻度

性別	雄					雌				
	0	5	20	75	250	0	5	20	75	250
投与群(ppm)	0	5	20	75	250	0	5	20	75	250
検査動物数	60	60	59	60	59	59	59	60	60	60
限局性濾胞細胞過形成	2	1	0	1	5	0	1	0	1	2
濾胞細胞腺腫	0	0	0	0	4	0	0	0	0	2
濾胞細胞癌	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
限局性増殖性病変合計	2	1	0	1	9	0	1	1	2	4

Fisher の直接確率検定で有意差無し

(3) 18カ月間発がん性試験(マウス)

C57BL/6 マウス(一群雌雄各 50 匹)を用いた混餌(原体:0、10、50、150 及び 300 ppm)投与による 18カ月間発がん性試験が実施された。

300 ppm 投与群の雄で ALT 増加、肝絶対・比重量増加、肝淡明性変異細胞巣、肝脂肪変性、雌で肝細胞腺腫が(表 11 参照)、150 ppm 以上投与群の雌で肝比重量増加が認められた。

300 ppm 投与群の雌で認められた肝細胞腺腫は、その他の毒性試験[15. (2)]の結果から、エチプロールがフェノバルビタールと同様な作用機序によって発がんプロモーターとして作用したことが原因と考えられた。

本試験において、300 ppm 投与群の雄で ALT 増加等が、150 ppm 投与群の雌で肝比重量増加が認められたので、無毒性量は雄で 150 ppm (25.6 mg/kg 体重/日)、雌で 50 ppm (12.5 mg/kg 体重/日)であると考えられた。(参照 42、62)

表 11 18カ月間発がん性試験(マウス)で認められた肝腫瘍の発生頻度

性別	雄					雌				
	0	10	50	150	300	0	10	50	150	300
投与群 (ppm)	0	10	50	150	300	0	10	50	150	300
検査動物数	49	50	50	50	50	50	50	50	50	50
肝細胞腺腫	5	5	4	1	1	0	2	1	2	6*
肝細胞癌	0	3	1	0	1	0	0	0	0	0

※: Fisher の直接確率検定、 $p < 0.05$

13. 生殖発生毒性試験

(1) 2世代繁殖試験 (ラット)

SD ラット (一群雌雄各 30 匹) を用いた混餌 (原体: 0、10、75 及び 500 ppm) 投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

親動物では、500 ppm 投与群の P 雌雄で肝及び甲状腺絶対・比重量の増加が、P 雌で体重増加抑制、副腎比重量の増加、肝細胞肥大、甲状腺濾胞細胞肥大、肝及び腎臓の暗褐色化が、F₁ 雌雄で肝、甲状腺及び下垂体比重量の減少、甲状腺濾胞細胞肥大が、F₁ 雄で肝細胞肥大が、F₁ 雌で体重増加抑制、脾絶対重量の増加、肝細胞肥大、肝及び腎臓の暗褐色化が認められた。また、500 ppm 投与群の F₁ 雄で包皮分離、F₁ 雌で膈開口の遅延が認められた。

児動物では、500 ppm 投与群の F₁ 及び F₂ 雌雄で低体重、胸腺、脾絶対重量、腎比重量の低下、肝及び脳比重量の増加が認められた。

本試験の親動物及び児動物に対する無毒性量は雌雄で 75 ppm (P 雄: 4.77 mg/kg 体重/日、P 雌: 5.82 mg/kg 体重/日、F₁ 雄: 6.03 mg/kg 体重/日、F₁ 雌: 6.76 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 3、43)

(2) 発生毒性試験 (ラット)

SD ラット (一群雌 25 匹) の妊娠 6~21 日に強制経口 (原体: 0、3、10 及び 30 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。

母動物では、30 mg/kg 体重/日投与群で体重増加抑制、摂餌量減少、肝の小葉像明瞭化が、10 mg/kg 体重/日以上投与群で肝重量の増加が認められた。胎児では、30 mg/kg 体重/日投与群でダンベル状胸椎体、第 1 中足骨未骨化の発現頻度の上昇が認められた。

本試験における無毒性量は母動物で 3 mg/kg 体重/日、胎児で 10 mg/kg 体重/日であると考えられた。催奇形性は認められなかった。 (参照 44)

(3) 発生毒性試験 (ウサギ)

NZW ウサギ (一群雌 30 匹) の妊娠 6~28 日に強制経口 (原体: 0、0.25、0.5、2.0 及び 4.0 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。

母動物では、2.0 mg/kg 体重/日以上投与群で、流産、体重増加抑制、摂餌量減少が認められた。胎児では、2.0 mg/kg 体重/日以上投与群で第 1 中手骨不完全骨化/未骨化、前肢第 4、5 中節骨未骨化の発現頻度の上昇が認められた。

本試験における無毒性量は母動物及び胎児で 0.5 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 45)

14. 遺伝毒性試験

エチプロールの細菌を用いた復帰突然変異性試験、ヒト末梢血リンパ球培養細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験、ラット肝細胞を用いた *in vivo/in vitro* 不定期 DNA 合成試験、マウスを用いた小核試験が実施された。結果は表 12 に示されている。試験結果は全て陰性であったことから、エチプロールに遺伝毒性はないものと考えられた。

マウスを用いた小核試験では、操作手順的な疑問はあるものの、全体的には十分な匹数の雌雄のマウスを用いて試験されており、試験結果を陰性と評価することに問題はないと考えられた。(参照 46~50)

表 12 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 <i>Salmonella typhimurium</i> (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) <i>Escherichia coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)	8~5,000 µg/プレート (+/-S9)	陰性
	復帰突然変異試験 <i>S. typhimurium</i> (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) <i>E. coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> /pKM101 株)	39~2,500 µg/プレート (+/-S9)	陰性
	染色体異常試験 ヒト末梢血リンパ球 培養細胞	253~800 µg/mL (-S9) 450~800 µg/mL (+S9)	陰性
<i>in vivo/in vitro</i>	不定期 DNA 合成試験 Wistar ラット (肝細胞) (一群雄 4 匹)	800, 2,000 mg/kg 体重 (単回経口投与)	陰性
<i>in vivo</i>	小核試験 ICR マウス (骨髄細胞) (一群雌雄各 5 匹)	500, 1,000, 2,000 mg/kg 体重 (単回経口投与)	陰性

注) +/-S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下

エチプロールの代謝物 B、C、D、E、F、K、N 及び P の細菌を用いた復帰突然変異試験が実施されており、試験結果は全て陰性であった (表 13)。

代謝物 B の試験では、S9 mix 存在下での陽性対照が全菌株について実施されていない問題点が見られたが、原体に変異原性が認められていないことを考慮すると特に問題ないものと考えられた。(参照 51~58)

表 13 遺伝毒性試験概要 (代謝物)

代謝物	試験	対象	処理濃度 (µg/プレート)	結果
B	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) <i>E. coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)	4.10~5,000 (+/-S9)	陰性

C	復帰突然 変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、TA1537 株) <i>E. coli</i> (WP2/pKM101、WP2 <i>uvrA</i> /pKM101 株)	1.6~5,000 (+/-S9)	陰性
D	復帰突然 変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、TA1537 株) <i>E. coli</i> (WP2/pKM101、WP2 <i>uvrA</i> /pKM101 株)	1.6~5,000 (+/-S9)	陰性
E	復帰突然 変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、TA1537 株) <i>E. coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)	0.16~5,000 (-S9) 1~5,000 (+S9)	陰性
F	復帰突然 変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、TA1537、 TA1538 株)	250~5,000 (+/-S9)	陰性
K	復帰突然 変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、TA1537 株) <i>E. coli</i> (WP2/pKM101、WP2 <i>uvrA</i> /pKM101 株)	1.6~5,000 (+/-S9)	陰性
N	復帰突然 変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、TA1537 株) <i>E. coli</i> (WP2/pKM101、WP2 <i>uvrA</i> /pKM101 株)	0.32~1,000 (+/-S9)	陰性
P	復帰突然 変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、TA1537 株) <i>E. coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> /pKM101 株)	5~5,000 (+/-S9)	陰性

注) +/-S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下

15. その他の試験

(1) ラットを用いた甲状腺腫瘍発生メカニズム試験

① 過塩素酸塩放出試験による甲状腺影響評価

Wistar ラット(一群雄 24 匹)を用い 14 日間強制経口(原体:0 及び 20 mg/kg 体重/日)投与した後、24 時間後に ¹²⁵I ヨウ化ナトリウムを尾静脈内に投与し、さらに過塩素酸カリウム (KClO₄) を腹腔内投与することにより、甲状腺におけるヨウ素 (¹²⁵I) の取り込みを測定する過塩素酸塩放出試験が実施された。(陽性対照薬物; PTU: 200 mg/kg 体重/日 強制経口投与)

エチプロール投与群では対照群に比べ甲状腺放射能濃度の増加が認められたが、甲状腺重量に差は認められなかった。過塩素酸投与後エチプロール投与群では甲状腺重量及び全血中放射能濃度に変化は認められなかったが、PTU 投与群では甲状腺放射能濃度が減少し、全血中放射能濃度が増加した。エチプロールは陽性対照の PTU と異なり、甲状腺に対して直接影響を及ぼすことはないと考えられた。(参照 59)

② T₄の血中動態に対する影響試験

Wistar ラット（一群雄 8 匹）を用い 14 日間強制経口（原体：0 及び 20 mg/kg 体重/日）投与後、¹²⁵I-T₄ を尾静脈内に投与し、T₄ の血中動態に対する影響試験が実施された。（対照薬物；フェノバルビタール：80 mg/kg 体重/日 腹腔内投与）

エチプロール投与群は、フェノバルビタール投与群と血中動態に類似性が認められ、対照群に比べクリアランス及び定常状態分布容積の上昇が認められたが、その影響はフェノバルビタール投与より少なかった。

エチプロールはフェノバルビタールと同様β-グルクロニルトランスフェラーゼの誘導物質であるが、作用はフェノバルビタールよりも弱いと考えられた。（参照 60）

③ T₄の胆汁排泄に対する影響試験

Wistar ラット（一群雄 7 匹）を用い 14 日間強制経口（原体：0 及び 20 mg/kg 体重/日）投与後、¹²⁵I-T₄ を尾静脈内に投与し、T₄ の胆汁排泄に対する影響試験が実施された。（対照薬物；フェノバルビタール：80mg/kg 体重/日 腹腔内投与）

エチプロール投与群及びフェノバルビタール投与群では、対照群と比較して肝臓重量の増加傾向、放射能の胆汁中排泄量及び速度定数の増加が、フェノバルビタール投与群では、対照群と比較して肝臓中の放射能濃度及び総量の増加が認められた。各群とも放射能の 50~60%が ¹²⁵I-T₄ の抱合体で、約 20%が遊離 ¹²⁵I 又は同定できない ¹²⁵I-T₄ 代謝物であった。

エチプロール投与により、¹²⁵I-T₄ の胆汁排泄が促進され、胆汁放射能の約 60% が抱合化した ¹²⁵I-T₄ であった。したがって、エチプロールはβ-D-グルクロニルトランスフェラーゼなどの肝臓薬物代謝酵素の誘導物質であると考えられた。（参照 61）

(2) マウスを用いた肝毒性試験

C57BL/6 マウス（一群雌 15 匹、中間と殺群：一群雌 15 匹）を用い 28 日間混餌（原体：0、100、300 及び 1,000ppm）投与し、肝毒性試験が実施された。（対照薬物；フェノバルビタール：80 mg/kg 体重/日 強制経口投与）

1,000ppm 投与群の中間と殺（8 日）及び最終と殺（29 日）群で肝臓比重量の増加、びまん性全小葉性肝細胞肥大、肝肥大及び暗色化が、中間と殺群で飲水量の減少が、CYP 分子種の酵素活性を測定した肝臓毒性試験で EROD 活性が認められた。BrdU 免疫組織染色による肝細胞標識指数は中間と殺群では有意に増加したが、最終と殺群では対照群と比べ差は認められなかった。

300 ppm 以上投与群で総チトクローム P450 含有量の増加、BROD 及び PROD 活性の増加が認められた。

フェノバルビタール投与群では総チトクローム P450 含有量の増加、BROD、EROD 及び PROD 活性の増加が認められ、BROD 及び PROD は顕著に誘導が認められた。

エチプロールは、フェノバルビタールと同様な薬物代謝酵素活性の誘導や投与初期に一過性の肝細胞増殖促進を示したことから、マウス発がん性試験の 300 ppm 投与群雌で認められた肝細胞腺腫の増加は、エチプロールがフェノバルビタールと同様な作用機序によって発がんプロモーターとして作用した結果と考えられた。(参照 62)

Ⅲ. 食品健康影響評価

参照に挙げた資料を用いて農薬「エチプロール」の食品健康影響評価を実施した。

ラットを用いた動物代謝試験において、単回投与後の血中濃度は8時間後（低用量群）及び24～48時間後（高用量群）に最高に達した。主な排泄経路は糞中であつた。組織内では肝、腎臓、腎脂肪、甲状腺、副腎及び皮膚・被毛から比較的高濃度で検出された。尿中からは代謝物 F、I、J、Q、R 及び S が、糞中からはエチプロール及び代謝物 B、E、H、I、J が検出された。主要代謝経路はスルホニル基の酸化または還元、アルキル基の酸化である。

稲、綿及びピーマンを用いた植物体内運命試験が実施されており、玄米、綿実及びピーマン果実における放射能分布は0.2～1.3%TRRと低かつた。また、エチプロール、代謝物 B などが検出され、主要代謝経路はスルホキシドの酸化によるスルホン体 (B) の生成であつた。

土壌中運命試験が実施されており、土壌中半減期は5～71日であつた。代謝物 B の湛水土壌中半減期は535日であつた。

水中光分解試験が実施されており、北緯35度、春における自然太陽光下の半減期は、1.3～2.0日であつた。

火山灰土及び鉍質土を用いて土壌残留試験が実施されており、エチプロールの半減期は3.9～28日、エチプロールと代謝物 B、C、D、E との合量では最長254日であつた。

水稻、りんご及び茶を用いて、エチプロール及び代謝物 B を分析対象化合物とした作物残留試験が実施されており、最高値は200 g ai/ha で1回散布し、最終散布7日後に収穫した茶の3.18 mg/kg であつたが、14日後、21日後にはそれぞれ2.45 mg/kg、0.35 mg/kg と減衰した。玄米からのエチプロール及び代謝物 B の検出値は全ての条件下で0.05 mg/kg 以下であつた。また、魚介類における最大推定残留値は0.087 mg/kg であつた。

ホルスタイン種の泌乳牛を用いて、7日間連続強制経口投与による乳汁移行試験が実施されており、乳汁からエチプロール及び代謝物 B は検出されなかつた。

エチプロールの急性経口 LD₅₀ はラットで7,080 mg/kg 体重超、経皮 LD₅₀ はラットで2,000 mg/kg 体重超、吸入 LC₅₀ はラットで5.2 mg/L 超であつた。

亜急性毒性試験で得られた無毒性量は、ラットで1.2 mg/kg 体重/日、イヌで1.0 mg/kg 体重/日であつた。神経毒性は認められなかつた。

ラットの慢性毒性/発がん性併合毒性試験で甲状腺腫瘍が、マウスの発がん性試験で肝腫瘍が認められたことから、甲状腺腫瘍及び肝腫瘍についてのメカニズム試験が実施された。

甲状腺腫瘍は、エチプロールの投与により肝薬物代謝酵素が誘導され、T₄ の胆汁排泄が促進された結果、視床下部—下垂体—甲状腺軸系に変化が生じ、TSH が増加し甲状腺を持続的かつ過剰に刺激することで生じる間接的な原因によるものと考えられる。肝腫瘍は、エチプロールがフェノバルビタールと同様な作用機序に

よって発がんプロモーターとして作用したことが原因で生じたと考えられる。

甲状腺腫瘍及び肝腫瘍のメカニズムは上記のように考えられ、遺伝毒性試験においても生体において問題となる遺伝毒性はないことから、これらの腫瘍は非遺伝毒性メカニズムであり、閾値が存在すると考えられる。

慢性毒性及び発がん性試験で得られた無毒性量は、ラットで0.85 mg/kg 体重/日、マウスで12.5 mg/kg 体重/日、イヌで0.70 mg/kg 体重/日であった。

2世代繁殖試験で得られた無毒性量は、ラットで4.77 mg/kg 体重/日であった。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3 mg/kg 体重/日、胎児で10 mg/kg 体重/日、ウサギの母動物及び胎児で0.5 mg/kg 体重/日であった。いずれも催奇形性は認められない。

遺伝毒性試験は細菌を用いた復帰突然変異性試験、培養ヒト末梢血リンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験、ラット肝培養細胞を用いた *in vivo/in vitro* 不定期DNA 合成試験、マウスを用いた小核試験が実施されており、結果は全て陰性であった。

各種毒性試験結果から、エチプロール投与による影響は主に肝臓に認められた。

各種試験結果から、食品中の暴露評価対象物質はエチプロール（親化合物のみ）と設定した。

各試験における無毒性量等は表14に示されている。

食品安全委員会は、各試験で得られた無毒性量の最小値がウサギを用いた発生毒性試験の0.5 mg/kg 体重/日であったので、これを根拠として、安全係数100で除した0.005 mg/kg 体重/日を一日許容摂取量（ADI）と設定した。

ADI	0.005 mg/kg 体重/日
(ADI 設定根拠資料)	発生毒性試験
(動物種)	ウサギ
(期間)	23日間
(投与方法)	強制経口投与
(無毒性量)	0.5 mg/kg 体重/日
(安全係数)	100

暴露量については、当評価結果を踏まえて暫定基準値の見直しを行う際に再確認することとする。