

μg/mLの用量で添加し、25°Cでキセノンランプ光(平均光強度:約600 W/m²、測定波長:290~800 nm)を120時間連続照射する水中光分解試験が実施された。

光照射区において、ピリプチカルブは速やかに減衰し、推定半減期は滅菌蒸留水中では1.4日、滅菌自然水中では1.2日であった。自然太陽光(北緯35度(東京)、春)換算による推定半減期は、滅菌蒸留水中で8.3日、滅菌自然水中で7.3日であった。主な光分解物はチオカーバメート部位の加水分解によって生じた分解物Bであった。試験期間中にBの減衰が認められなかったが、¹⁴CO₂の生成が認められていることから、生成したBも次第に減衰すると考えられた。

対照区として設定した暗所区においては、ピリプチカルブは滅菌自然水及び滅菌蒸留水中で減衰せず、処理120時間後で97.7及び98.6% TAR 残存していた。(参照20)

(4) 水中光分解試験(蒸留水及び自然水)②

[pyr-¹⁴C]ピリプチカルブを滅菌蒸留水(pH 6.30)及び滅菌自然水(神奈川県酒匂川、pH 8.07)に0.058(滅菌蒸留水)または0.06(滅菌自然水)μg/mLの用量で添加し、25°Cでキセノンランプ光(平均光強度:約603.5 W/m²、測定波長:290~800 nm)を120時間連続照射する水中光分解試験が実施された。

光照射区において、ピリプチカルブは速やかに減衰し、推定半減期は滅菌蒸留水中では1.1日、滅菌自然水中では1.2日であった。自然太陽光(北緯35度(東京)、春)換算による推定半減期は、滅菌蒸留水中で6.9日、滅菌自然水中で7.6日であった。主な光分解物はN及びOであった。Oはチオカーバメート部位で酸化、開裂して生じた、ピリジン環部分に由来する分解物と推定し、Nは開裂して生じたピリジン環部分を持つ分解物が2つ結合したものと推定された。その他に未知分解物が最大8.8% TAR 検出された。これらの推定および未知分解物においても、試験期間中に14.1% TAR の¹⁴CO₂が生成していることから次第に減衰すると考えられた。

異なる標識化合物間でのピリプチカルブの推定半減期は太陽光換算で7~8日とほぼ一致した。(参照21)

5. 土壌残留試験

火山灰・軽埴土(茨城)、洪積・埴壤土(大阪)及び沖積・埴壤土(山口)を用い、ピリプチカルブ及び分解物Eを分析対象化合物とした土壌残留試験(水田状態の圃場及び容器内試験)が実施された。推定半減期は表14に示されている。(参照22、23)

表 14 土壌残留試験成績(推定半減期)

試験	濃度*	土壌	ピリブチカルブ	ピリブチカルブ +分解物 E
容器内試験	4 mg/kg	火山灰・軽埴土	57 日	76 日
		洪積・埴壤土	21 日	/
		沖積・埴壤土	/	
圃場試験	1.32 kg ai/ha	火山灰・軽埴土	18 日	46 日
		洪積・埴壤土	13 日	31 日

*：容器内試験では原体を使用、圃場試験では 3.3%粒剤。

6. 作物等残留試験

(1) 作物残留試験

水稻を用い、ピリブチカルブ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。可食部（玄米）では、ピリブチカルブは定量限界未満であった。（参照 24~27）

(2) 魚介類における最大推定残留値

ピリブチカルブの公共用水域における予測濃度である水産動植物被害予測濃度（水産 PEC）及び生物濃縮係数（BCF）を基に、魚介類の最大推定残留値が算出された。

ピリブチカルブの水産 PEC は 0.12 µg/L、BCF は 572（試験魚種：コイ）、魚介類における最大推定残留値は 0.343 mg/kg であった。（参照 64）

上記の魚介類における最大推定残留値に基づき算出した、ピリブチカルブを暴露評価対象化合物とした際に食品中から摂取される推定摂取量が表 15 に示されている。なお、本推定摂取量の算定は、魚介類への残留が上記の最大推定残留値を示し、加工・調理による残留農薬の増減が全くないとの仮定の下に行った。

表 15 食品中から摂取されるピリブチカルブの推定摂取量

作物等名	残留値 (mg/kg)	国民平均 (体重：53.3 kg)		小児（1~6 歳） (体重：15.8 kg)		妊婦 (体重 56.6 kg)		高齢者（65 歳以上） (体重：54.2 kg)	
		ff	摂取量	ff	摂取量	ff	摂取量	ff	摂取量
魚介類	0.343	94.1	32.3	42.8	14.7	94.1	32.3	94.1	32.3
合計	/	/	32.3	/	14.7	/	32.3	/	32.3

・残留値は最大推定残留値を用いた。

・玄米のデータは全て定量限界未満であったため、摂取量の計算はしていない。

- ・「ff」：平成 10 年～12 年の国民栄養調査（参照 71～73）の結果に基づく摂取量（g/人/日）
- ・妊婦及び高齢者の魚介類の ff は国民平均の ff を用いた。
- ・「摂取量」：残留値から求めたピリブチカルブの推定摂取量（μg/人/日）

7. 一般薬理試験

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 16 に示されている。（参照 29）

表 16 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	一般状態 (Irwin 法)	ICR マウス	雌雄 3 雄：0、78.1、 156、313、 625、1,250、 2,500、5,000 雌：0、78.1、 313、1,250、 5,000 (腹腔内)	雄：156 雌：1,250	雄：313 雌：5,000	雄：313 mg/kg 体重以上投与群で筋緊張低下 2,500 mg/kg 体重以上投与群で運動性の低下、自律神経系の異常、死亡。 5,000 mg/kg 体重投与群で認知力の低下、運動失調、反射の抑制 雌：5,000 mg/kg 投与群で自発運動の低下
	一般状態	日本白色種 ウサギ	雄 3 0、313、 1,250、5,000 (経口)	1,250	5,000	軟便
呼吸循環器系	呼吸 血圧 心電図	日本白色種 ウサギ	雄 4 0、5,000 (経口)	<5,000	5,000	心拍数減少

*：検体は全て 5%アラビアゴム水溶液に懸濁して投与した。

8. 急性毒性試験

ピリブチカルブ原体、原体混在物 P 体及び代謝物 E を用いた急性毒性試験が実施された。結果は表 17 に示されている。（参照 30～39）

表 17 急性毒性試験結果概要

検体	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	
原体	経口	Wistar ラット 雌雄各 10 匹	>5,000	>5,000	自発行動量の減少 死亡例なし
	経口	ICR マウス 雌雄各 10 匹	>5,000	>5,000	自発行動量の減少 死亡例なし
	経皮	Wistar ラット 雌雄各 10 匹	>5,000	>5,000	症状及び死亡例なし
	吸入	Wistar ラット 雌雄各 10 匹	LC ₅₀ (mg/L) >6.52 >6.52		雌雄：閉眼、眼角部の血様物付着 雄：遅くて深い呼吸 死亡例なし
	皮下	Wistar ラット 雌雄各 10 匹	LD ₅₀ (mg/kg 体重) >5,000 >5,000		自発行動量の減少、飲水量の増加、立毛、外陰部及び下腹部の湿潤、脱毛(投与部位)、潰瘍(脱毛部) 死亡例なし
	皮下	ICR マウス 雌雄各 10 匹	>5,000	>5,000	自発行動量の減少、立毛、脱毛(投与部位)、潰瘍(脱毛部) 死亡例なし
	腹腔内	Wistar ラット 雌雄各 10 匹	>5,000	>5,000	自発行動量の減少、立毛、軟便、軟便付着による被毛の汚れ、眼瞼周囲への暗赤色眼瞼の膠着、外陰部及び下腹部の湿潤、腹部膨満 死亡例なし
	腹腔内	ICR マウス 雌雄各 10 匹	>5,000	>5,000	自発行動量の減少、立毛、軟便、軟便の付着による被毛の汚れ、外陰部及び下腹部の湿潤、腹部膨満 死亡例なし
原体混在物 P 体	経口	SD ラット 雌雄各 10 匹	>5,000	>5,000	症状及び死亡例なし
代謝物 E	経口	SD ラット 雌雄各 10 匹	>5,000	>5,000	症状及び死亡例なし

9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

NZW ウサギを用いた眼及び皮膚一次刺激性試験が実施された。その結果、眼及び皮膚に対する刺激性は認められなかった。(参照 40、41)

Hartley モルモットを用いた皮膚感作性試験 (Maximization 法) が実施された結果、皮膚感作性は陰性であった。(参照 42)

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 12 匹）を用いた混餌（原体：0、50、500 及び 5,000 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 90 日間亜急性毒性試験(ラット)の平均検体摂取量

投与群		50 ppm	500 ppm	5,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	3.29	32.3	330
	雌	3.66	35.4	367

各投与群で認められた毒性所見は表 19 に示されている。

本試験において、500 ppm 以上投与群の雄で RBC、Ht 及び Hb の減少が、雌で体重増加抑制及び摂餌量の減少等が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 50 ppm（雄：3.29 mg/kg 体重/日、雌：3.66 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 43）

表 19 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
5,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ GGT 増加、Glu 減少 ・ 尿 pH 低下 ・ 肝絶対及び比重量¹増加 ・ び慢性肝細胞肥大 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 食餌効率減少 ・ GGT 増加、Glu 減少 ・ 血漿 ChE 減少 ・ 尿 pH 低下 ・ 肝絶対及び比重量増加 ・ び慢性肝細胞肥大
500 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ RBC、Ht、Hb 減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ 摂餌量減少
50 ppm	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、50、500 及び 5,000 ppm：平均検体摂取量は表 20 参照）投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 20 90 日間亜急性毒性試験(イヌ)の平均検体摂取量

投与群		50 ppm	500 ppm	5,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	1.47	15.3	144
	雌	1.48	15.0	134

¹：体重比重量を比重量という(以下同じ)。

各投与群に認められた毒性所見は表 21 に示されている。

本試験において、500 ppm 以上投与群の雄で肝比重量増加が、雌で RBC、Ht 減少等が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 50 ppm (雄：1.47 mg/kg 体重/日、雌：1.48 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 44)

表 21 90 日間亜急性毒性試験(イヌ)で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
5,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ RBC、Ht、Hb 減少、棘状赤血球及び標的赤血球増加 ・ Alb 減少、T.Chol 及び TG 増加 ・ 肝絶対重量増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ 摂餌量減少 ・ Hb 減少、PLT 及び棘状赤血球増加 ・ Alb 及び TP 減少、TG 増加 ・ 肝比重量増加
500 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ 肝比重量増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・ RBC 及び Ht 減少 ・ T.Chol 増加
50 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

(3) 90 日間亜急性神経毒性試験 (ラット)

Wistar ラット (一群雌雄各 10 匹) を用いた混餌 (原体：0、200、1,000 及び 5,000 ppm：平均検体摂取量は表 22 参照) 投与による 90 日間亜急性神経毒性試験が実施された。

表 22 90 日間亜急性神経毒性試験(ラット)の平均検体摂取量

投与群		200 ppm	1,000 ppm	5,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	12.2	61.7	314
	雌	14.2	70.0	358

いずれの投与群においても検体投与による影響は認められなかった。

本試験において、5,000 ppm 投与群の雌雄で毒性影響が認められなかったことから、無毒性量は雌雄とも 5,000 ppm (雄：314 mg/kg 体重/日、雌：358 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 45)

1.1. 慢性毒性試験及び発がん性試験

(1) 1 年間慢性毒性試験 (イヌ)

ビーグル犬 (一群雌雄各 4 匹) を用いた混餌 (原体：0、50、500 及び 2,500 ppm：平均検体摂取量は表 23 参照) 投与による 1 年間慢性毒性試験が実施された。

表 23 1年間慢性毒性試験(イヌ)の平均検体摂取量

投与群		50 ppm	500 ppm	2,500 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	1.46	14.2	70.3
	雌	1.31	14.3	68.0

各投与群に認められた毒性所見は表 24 に示されている。

本試験において、500 ppm 以上投与群の雄で Alb の減少及び T.Chol の増加、雌で T.Chol の増加が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 50 ppm (雄 : 1.46 mg/kg 体重/日、雌 : 1.31 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 46)

表 24 1年間慢性毒性試験(イヌ)で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
2,500 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ TG 増加 ・ 肝比重量増加 ・ 肝細胞質内封入体様物質 	<ul style="list-style-type: none"> ・ Alb 減少、TG 増加 ・ 甲状腺絶対及び比重量増加 ・ 肝比重量増加 ・ 肝細胞質内封入体様物質
500 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ Alb 減少、T.Chol 増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・ T.Chol 増加
50 ppm	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 80 匹)を用いた混餌(原体 : 0、20、500 及び 5,000 ppm : 平均検体摂取量は表 25 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 25 2年間慢性毒性/発がん性併合試験(ラット)の平均検体摂取量

投与群		20 ppm	500 ppm	5,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	0.75	18.7	197
	雌	0.88	22.2	233

各投与群に認められた毒性所見は表 26 に示されている。

病理組織学的検査では、非腫瘍性病変において、5,000 ppm 投与群雄で坐骨神経の神経線維変性の発生頻度が対照群に比し有意に増加した。この病変は老齢ラットに自然発生する病変であり、見られた病変の程度は限局性で軽度なものであり、その発生頻度増加に明確な用量相関が認められないことから、検体投与の影響とは考えられなかった。

腫瘍性病変において、5,000 ppm 投与群の雄では精巣間細胞腫が対照群に

比べ有意に増加した (表 27 参照)。同群の発生頻度 (16.3%) は、背景データのうち最も高い発生を示したロット (5.7%) と比較しても高かった。従って、その発生機序は不明であるが、5,000 ppm 投与群の精巣間細胞腫増加は検体投与により誘発されたものと考えられた。

5,000 ppm 投与群の雌では甲状腺 C 細胞腺腫の発生頻度が有意に増加した。この背景データのうちで最も高い発生を示したロット (7/69、10.1%) と比較した場合、同群の発生頻度 (12.5%) は統計学的に有意ではなかった。また、前腫瘍性病変とみなされる甲状腺 C 細胞過形成の総発生頻度の増加は、5,000 ppm 投与群では明確ではなかった。従って、5,000 ppm 投与群雌に見られた C 細胞腺腫の増加は、検体投与によるものとは考えられなかった。

本試験において、5,000 ppm 投与群の雄及び 500 ppm 以上投与群の雌で体重増加抑制、飲水量減少及び尿比重増加等が認められたことから、無毒性量は雄で 500 ppm (雄: 18.7 mg/kg 体重/日)、雌で 20 ppm (雌: 0.88 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 47)

表 26 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
5,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ 外陰部被毛汚濁 ・ 体重増加抑制 ・ 摂餌量減少、飲水量減少 ・ 尿比重増加 ・ RBC、Hb、Ht 減少 ・ GGT 及び T.Chol 増加 ・ 尿量減少 ・ 肝絶対及び比重量増加 ・ 小葉周辺性肝細胞腫大、肝変異細胞巢 (好酸性細胞)、肝細胞スポンジ様嚢胞化 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 外陰部被毛汚濁 ・ 摂餌量減少 ・ RBC、Hb、Ht 減少 ・ GGT 及び T.Chol 増加 ・ 尿量減少 ・ 肝絶対及び比重量増加 ・ 小葉周辺性肝細胞腫大、肝変異細胞巢 (明細胞)
500 ppm 以上	500 ppm 以下毒性所見なし	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ 飲水量減少 ・ 尿比重増加
20 ppm		毒性所見なし

表 27 雄の精巣間細胞腫、雌の甲状腺 C 細胞腫瘍及び過形成の発生数

投与群 (ppm)		0	20	500	5,000	背景データ
検査動物数		80	80	80	80	(3ロット)
精巣 (雄)	間細胞腫	3 (3.8)	3 (3.8)	2 (2.5)	13↑ (16.3)	8/224 (3.6)
	C 細胞腺腫	3 (3.8)	3 (3.8)	7 (8.8)	10↑ (12.5)	10/223 (4.5)
甲状腺 (雌)	C 細胞癌	1 (1.3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0/223 (0)
	C 細胞腫瘍	4 (5.0)	3 (3.8)	7 (8.8)	10 (12.5)	10/223 (4.5)
	合計	4 (5.0)	3 (3.8)	7 (8.8)	10 (12.5)	10/223 (4.5)
	C 細胞過形成	1 (1.3)	8↑ (10.0)	7↑ (8.8)	0 (0)	14/223 (6.3)

表中の分数は発生数/検査動物数、()内に発生率を示す。

Fisher の直接確率計算法 ↑: 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 60 匹) を用いた混餌 (原体: 0、50、500 及び 5,000 ppm: 平均検体摂取量は表 28 参照) 投与による 18 カ月間発がん性試験が実施された。

表 28 18 カ月間発がん性試験(マウス)の平均検体摂取量

投与群		50 ppm	500 ppm	5,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	4.75	49.4	513
	雌	4.88	47.5	536

各投与群に認められた毒性所見は表 29 に示されている。

病理組織学的検査において、非腫瘍性病変では、5,000 ppm 投与群雄で精囊及び凝固腺の肥大の発生頻度が減少したが、低体重による二次的変化と考えられた。

腫瘍性病変において、5,000 ppm 投与群雌雄で肝細胞腺腫及び癌の合計の発生頻度が、対照群に比べ有意に増加した (表 30)。

本試験において、500 ppm 以上投与群の雄で小葉中心性肝細胞肥大が、5,000 ppm 投与群の雌で体重増加抑制、肝絶対及び比重量増加等が認められたことから、無毒性量は雄で 50 ppm (4.75 mg/kg 体重/日)、雌で 500 ppm (47.5 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 48)

表 29 18 カ月間発がん性試験(マウス)で認められた毒性所見(非腫瘍性病変)

投与群	雄	雌
5,000 ppm	・ 肝絶対及び比重量増加 ・ び慢性肝細胞肥大、変異肝細胞巢	・ 体重増加抑制 ・ 肝絶対及び比重量の増加 ・ び慢性肝細胞肥大、小葉中心性肝細胞肥大、変異肝細胞巢
500 ppm 以上	・ 小葉中心性肝細胞肥大	500 ppm 以下毒性所見なし
50 ppm	毒性所見なし	

表 30 肝細胞腺腫・癌の発生数

肝臓所見		投与群 (ppm)			
		0	50	500	5,000
肝細胞腺腫	雄	9/60 (15.0)	9/60 (15.0)	13/60 (21.7)	15/60 (25.0)
	雌	0/60 (0)	2/60 (3.3)	1/59 (1.7)	5/60↑ (8.3)
肝細胞癌	雄	8/60 (13.3)	7/60 (11.7)	8/60 (13.3)	14/60 (23.3)
	雌	1/60 (1.7)	1/60 (1.7)	0/59 (0)	4/60 (6.7)
肝細胞腺腫及び癌の合計	雄	17/60 (28.3)	16/60 (26.7)	21/60 (35.0)	29/60↑ (48.3)
	雌	1/60 (1.7)	3/60 (5.0)	1/59 (1.7)	9/60↑ (15.0)

表中の分数は発生数/検査動物数、()内に発生率を示す。

Fisher の直接確率計算法 ↑: P<0.05、↑↑: P<0.01。

1.2. 生殖発生毒性試験

(1) 2 世代繁殖試験 (ラット)

SD ラット (一群雌雄各 25 匹) を用いた混餌 (原体: 0、50、500 及び 5,000 ppm: 平均検体摂取量は表 31 参照) 投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

表 31 2世代繁殖試験(ラット)の平均検体摂取量

投与群			50 ppm	500 ppm	5,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	P 世代	雄	4.09	42.2	408
		雌	4.77	47.6	453
	F ₁ 世代	雄	7.18	73.5	760
		雌	7.65	75.7	803

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 32 に示されている。

本試験において、5,000 ppm 投与群の親動物 (P 及び F₁) 雌雄で体重増加抑制及び摂餌量減少が、児動物で総出生児数及び生存児数減少 (F₁) 及び低体重 (F₂) が認められたことから、親動物及び児動物の雌雄の無毒性量は 500 ppm (P: 雄 42.2 mg/kg 体重/日、雌 47.6 mg/kg 体重/日、F₁ 世代雄 73.5 mg/kg 体重/日、雌 75.7 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 49)

表 32 2世代繁殖試験(ラット)で認められた毒性所見

	投与群	親 : P、児 : F ₁		親 : F ₁ 、児 : F ₂	
		雄	雌	雄	雌
親動物	5,000 ppm	・ 体重増加抑制 ・ 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	・ 体重増加抑制 ・ 摂餌量減少
	500 ppm 以下	毒性所見なし		毒性所見なし	
児動物	5,000 ppm	・ 総出生児数及び生存児数減少		・ 低体重	5,000 ppm 以下毒性所見なし
	500 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)

SD ラット (一群雌 24 匹) の妊娠 6~15 日に強制経口 (原体 : 0、100、300 及び 1,000 mg/kg 体重/日、溶媒 : 1% CMC 水溶液) 投与する発生毒性試験が実施された。

母動物及び胎児に投与に関連した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で 1,000 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。(参照 50)

(3) 発生毒性試験 (ウサギ)

JW-NIBS ウサギ (一群雌 16 匹) の妊娠 6~18 日に強制経口 (原体 : 0、

20、65 及び 200 mg/kg 体重/日、溶媒：1%CMC ナトリウム水溶液) 投与する発生毒性試験が実施された。

母動物では、200 mg/kg 体重/日投与群で有意な体重減少及び摂餌量減少が認められた。65 mg/kg 体重/日以上投与群で食欲減退または食欲廃絶及び流産 (200 mg/kg 体重/日投与群で 5 例、65 mg/kg 体重/日投与群で 1 例) が認められた。

胎児では検体投与の影響は認められなかった。

本試験における無毒性量は、母動物で 20 mg/kg 体重/日、胎児で 200 mg/kg 体重/日であると考えられた。催奇形性は認められなかった。(参照 51)

1.3. 遺伝毒性試験

ピリブチカルブの細菌を用いた DNA 修復試験及び復帰突然変異試験、チャイニーズハムスター肺線維芽細胞を用いた染色体異常試験、マウス骨髄細胞を用いた小核試験が実施された。試験結果は表 33 に示すとおり、全ての試験において陰性であった。(参照 52~55)

表 33 遺伝毒性試験概要(原体)

試験	対象	処理濃度・投与量	結果	
in vitro	DNA 修復試験	<i>Bacillus subtilis</i> (H17, M45 株)	50~5,000 µg/disc (+/-S9)	陰性
	復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> (TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538 株) <i>Escherichia coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)	10~5,000 µg/plate (+/-S9)	陰性
	染色体異常試験	チャイニーズハムスター肺線維芽細胞 (CHL 株)	0.11~33 µg/mL (+/-S9)	陰性
in vivo	小核試験	ICR マウス (骨髄細胞) (一群雄 5 匹)	500, 1,000, 2,000 mg/kg 体重 (2 回強制経口投与)	陰性

注) +/-S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下

代謝物 E、F 及び原体混在物 P 体の細菌を用いた DNA 修復試験及び復帰突然変異試験が実施された。試験結果はすべて陰性であった (表 34)。(参照 56~61)

表 34 遺伝毒性試験概要(代謝物及び原体混在物)

検体	試験	対象	処理濃度・投与量	結果
代謝物 E	DNA 修復試験	<i>B. subtilis</i> (H17、M45 株)	100~5,000 µg/disc (+/-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> 株)	200~5,000 µg/plate (+/-S9)	陰性
代謝物 F	DNA 修復試験	<i>B. subtilis</i> (H17、M45 株)	20~1,000 µg/disc (+/-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> 株)	313~5,000 µg/plate (+/-S9)	陰性
原体混在物 P 体	DNA 修復試験	<i>B. subtilis</i> (H17、M45 株)	100~5,000 µg/disc (+/-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> 株)	200~5,000 µg/plate (+/-S9)	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) マウスを用いた肝薬物代謝酵素誘導及び細胞増殖活性試験

ICR マウス (一群雄各 5 匹) を用いて 7 日間混餌 (原体 : 0、50、500 及び 5,000 ppm : 平均検体摂取量は表 35 参照) 投与し、マウスの肝臓における薬物代謝酵素誘導及び細胞増殖活性について検索した。なお、フェノバルビタール (PB) を 500 ppm の濃度で混餌投与する群を設けた。

表 35 マウスを用いた肝薬物酵素誘導及び細胞増殖活性試験の平均検体摂取量

投与物質		ピリプチカルブ			PB
投与群		50 ppm	500 ppm	5,000 ppm	500 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	7.56	85.4	813	76.2

5,000 ppm 投与群においては肝絶対及び比重量が増加した。

チトクローム遺伝子 (Cyp 1a2、Cyp 2b10、Cyp 3a11、Cyp 4a14) の発現量について定量したが、5,000 ppm 投与群で、Cyp 3a11 が減少したのみで、その他に変化は認められなかった。肝の薬物代謝酵素測定において、ミ

クロソーム及びペルオキシソーム蛋白、P450、EROD (基質は 7-エトキシレゾルフィン)、PROD (基質は 7-ペントキシレゾルフィン)、UDP-GT (基質は p-ニトロフェノール) 及び FAOS 活性 (基質はパルミトイル CoA) について測定した。その結果、5,000 ppm 投与群においては、UDP-GT が増加した。ミクロソーム蛋白は全投与群で増加したが、軽微な変化であり、P450 量も対照群と変わらないため、検体投与と関連のない変化と考えられた。RPOD は 500 ppm 投与群で増加したが、5,000 ppm 投与群では変化は認められず、投与との関連は認められなかった。500 ppm 以上の投与群で FAOS 活性が増加したが、チトクローム遺伝子の Cyp 4a14 に変化が認められなかったため、FAOS 活性増加の意義は不明であった。

肝臓については、病理組織学的検査を実施し、さらに PCNA 免疫染色により、PCNA 標識率を求めた。その結果、5,000 ppm 投与群の全例に小葉中心性肝細胞肥大が認められ、PCNA 標識率も増加した。

なお、PB 投与群においては、Cyp 1a2、Cyp 2b10、Cyp 3a11、ミクロソーム蛋白量、P450 量、EROD、PROD、UDP-GT、ペルオキシソーム蛋白量、FAOS 活性、PCNA 標識率の増加及び全例に小葉中心性肝細胞肥大が認められた。

本試験において、500 ppm 以上投与群で FAOS 活性が増加したので、無影響量は 50 ppm であると考えられた。(参照 62)

(2) ヒト肝癌由来培養細胞等を用いた肝薬物代謝酵素誘導試験<参考データ>

Cyp3A4 の reporter gene を安定して発現しているヒト肝癌由来培養細胞に、ピリブチカルブを 0.3~30 μM で 48 時間処理し、Cyp3A4 遺伝子発現が活性化されるか検討された。その際、5 種の殺虫剤、5 種の殺菌剤、及び 7 種の除草剤、陽性対照物質としてリファンピシン (RIF) を処理し、活性化の程度が比較された。

その結果、ピリブチカルブの 0.3 及び 1 μM 処理が、除草剤のなかでは一番高い活性を示し、陽性対照の RIF より強い Cyp3A4 誘導化合物であることが示された。

また、このピリブチカルブによる Cyp3A4 遺伝子発現が、核内受容体 hPXR (ヒト pregnane X receptor) 依存性であるか検討するため、アデノウイルスに hPXR-small interfering RNA [hPXR-siRNA (低分子干渉 RNA)] を導入し、そのアデノウイルスを培養細胞に感染させることにより、hPXR の mRNA 発現を減少させ、その結果 Cyp3A4 発現が抑制されるか検討された。その結果、同時に検索した殺虫剤及び RIF 処理と同様に、ピリブチカルブ処理においても hPXR-siRNA 導入アデノウイルスの力価に依存して、Cyp3A4 mRNA の発現が阻害された。

このピリブチカルブの Cyp3A4 遺伝子誘導が、マウスの生体内で生じるか検討した。通常のマウスにピリブチカルブを投与しても Cyp3A4 レポーター

遺伝子活性は増加しなかったが、hPXRを導入したマウスではピリブチカルブにより Cyp3A4 レポーター遺伝子活性が増加した (623 倍)。以上から、ピリブチカルブによる Cyp3A4 の誘導には、hPXR が必要であることが示された。(参照 63)