

2. 植物体内運命試験

(1) レタス

砂壤土を充填したポットにレタス（品種名：New Fire Red MI）の種子を播き、 ^{14}C -スピネトラム-J(I) を 900 g ai/ha 又は ^{14}C -スピネトラム-L(II) を 300 g ai/ha の用量で 1 回（3 回処理試料の 3 回目処理日と同じ日に全量を 1 度に処理）又は 3 回（1/3 量ずつを収穫予定日の 2 週間前より開始して、7 日間隔で処理）茎葉に散布し、植物体内運命試験が実施された。1 回処理を行ったポットからは、処理 0（処理約 1 時間後）、0.25、1、3 及び 7 日後に、3 回処理を行ったポットからは最終処理 3 及び 7 日後に、植物の土壌表面より約 2~3 cm 上をハサミで切り取るにより試料採取された。なお、処理 7 日後の試料には一部乾燥したものがあつたことから、処理 7 日後のデータは評価に用いられなかった。

レタス中の親化合物及び代謝物の放射能濃度は表 13 に示されている。

植物体の残留放射能は、いずれの試料においても、そのほとんどが有機溶媒による洗浄液及び抽出液中に存在し、抽出残渣に 5.2%TRR 以下、水溶性画分には 3.4%TRR 以下しか認められなかった。また、処理 3 日後の残留放射能濃度は 3 回処理試料（スピネトラム-J：6.1 mg/kg、スピネトラム-L：3.4 mg/kg）の方が、1 回処理試料（スピネトラム-J：36.4 mg/kg、スピネトラム-L：10.8 mg/kg）よりも顕著に低かった。

スピネトラム-J 1 回処理試料において、主要成分は親化合物であつた（17.6~63.6%TRR、6.4~31.7 mg/kg）。主要代謝物として、B（8.9~19.6%TRR、4.4~11.6 mg/kg）及び D（6.6~11.2%TRR、3.3~5.9 mg/kg）が認められた。3 回処理試料では、これらの成分はいずれも 1 mg/kg 未満であつた。

スピネトラム-L 処理試料においても、親化合物と、主要代謝物として C 及び E が認められたが、残留濃度はスピネトラム-J 処理試料と比べ、かなり低かつた。スピネトラム-L 試料では、放射能の大部分が多成分の極性混合物であつた。

レタスにおける主要代謝経路として、forosamine 糖部分が変化し、*N*-脱メチル化及び *N*-formyl 化代謝物が生成される経路及び親化合物やこれら代謝物のマクロライド骨格が開裂又は開環し、多数の極性成分を生成する経路が考えられた。スピネトラム-J については、forosamine 糖の変化を含む経路の方が、マクロライド骨格の変化を含む経路よりやや優位であり、スピネトラム-L ではその逆であつた。この違いは、スピネトラム-J のマクロライド骨格の 5,6 位に二重結合がないことによるものと推察された。（参照 6）

表 13 レタス中の親化合物及び代謝物の放射能濃度

スピネトラム-J 処理試料								
	スピネトラム-J		B		D		多成分混合物	
	TRR(%)	mg/kg	TRR(%)	mg/kg	TRR(%)	mg/kg	TRR(%)	mg/kg
1 回処理*	17.6~ 63.6	6.4~ 31.7	8.9~ 19.6	4.4~ 11.6	6.6~ 11.2	3.3~ 5.0	16.0~ 36.5	8.0~ 13.6
3 回処理**	8.5	0.5	7.2	0.4	14.8	0.9	51.1	3.1
スピネトラム-L 処理試料								
	スピネトラム-L		C		E		多成分混合物	
	TRR(%)	mg/kg	TRR(%)	mg/kg	TRR(%)	mg/kg	TRR(%)	mg/kg
1 回処理*	5.1~ 52.4	0.6~ 6.2	3.5~ 17.6	0.4~ 2.1	2.0~ 5.9	0.2~ 0.7	13.4~ 74.6	1.6~ 8.0
3 回処理**	2.8	0.1	1.5	0.1	1.1	0.04	77.5	2.6

*: 処理 0~3 日後の値、**: 最終処理 3 日後の値

(2) かぶ

砂壌土を充填したポットで栽培したかぶ（品種名：Purple Top White Globe）に、 ^{14}C -スピネトラム-J(I) を 900 g ai/ha 又は ^{14}C -スピネトラム-L(II) を 300 g ai/ha の用量で 1 回（全量を 1 度に処理）又は 3 回（1/3 量ずつを収穫予定日の 2 週間前より開始して、7 日間隔で処理）茎葉処理し、植物体内運命試験が実施された。1 回処理を行ったポットからは、処理 0（処理約 1 時間後）、0.25、1、3 及び 7 日後に、3 回処理を行ったポットからは最終処理 3 及び 7 日後に植物を採取し、かぶの茎葉部を塊根のすぐ上で切り取り、茎葉部と根部に分けて試料とした。

かぶ茎葉部及び根部試料中の親化合物及び代謝物の放射能濃度は表 14 及び 15 に示されている。

茎葉部試料では、スピネトラム-J 処理試料で 86.3~99.3%TRR、スピネトラム-L 処理試料で 73.5~97.3%TRR が有機溶媒による洗浄液及び抽出液中に存在し、水溶性画分では 8.6%TRR を超えることはなかった。処理 7 日後までの残留放射能濃度は 3 回処理試料（スピネトラム-J：4.9~7.2 mg/kg、スピネトラム-L：1.1~2.2 mg/kg）の方が、1 回処理試料（スピネトラム-J：7.6~11.8 mg/kg、スピネトラム-L：2.0~5.3 mg/kg）よりも低かった。

根部試料では、スピネトラム-J 処理試料で 87%TRR 以上、スピネトラム-L 試料で 75%TRR 以上が有機溶媒による洗浄液及び抽出液中に存在した。処理 7 日後までの残留放射能濃度は 3 回処理試料（スピネトラム-J：0.03~0.098 mg/kg、スピネトラム-L：0.015~0.016 mg/kg）と、1 回処理試料（スピネトラム-J：0.004~0.123 mg/kg、スピネトラム-L：0.004~0.031 mg/kg）とで顕著な差はなかった。

スピネトラム-J を 1 回処理した茎葉部試料において、処理 3 日後に親化合物（9.4%TRR、1.1 mg/kg）、B（8.5%TRR、1.0 mg/kg）及び D（11.2%TRR、1.3 mg/kg）が認められ、合計で 29%TRR を占めていた。3 回処理試料では

これらの 3 成分が合計で 20%TRR を占め、D が主要代謝物であった。スピネトラム-L を処理した茎葉部試料においては、親化合物、C 及び E の残留放射能濃度はスピネトラム-J 処理試料よりもかなり低く、処理 3 日後で、合計 4.6%TRR であった。スピネトラム-L 処理試料においては、放射能の大部分が多成分の極性混合物であった。

根部試料では、スピネトラム-J の 1 回処理 3 日後に、親化合物、B 及び D が合計で約 50%TRR を占めていた。スピネトラム-L の 1 回処理 3 日後では親化合物及び E が合計で 17.8%TRR を占めていた。

かぶにおける主要代謝経路として、レタスにおける代謝経路と同様に、forosamine 糖部分が変化し *N*-脱メチル化及び *N*-formyl 化代謝物が生成される経路及び親化合物やこれら代謝物のマクロライド骨格が開裂又は開環し、多数の極性成分を生成する経路が考えられた。(参照 7)

表 14 かぶ茎葉部試料中の親化合物及び代謝物の放射能濃度

処理回数	スピネトラム-J 処理試料							
	スピネトラム-J		B		D		多成分混合物	
	TRR(%)	mg/kg	TRR(%)	mg/kg	TRR(%)	mg/kg	TRR(%)	mg/kg
1 回処理*	9.4	1.1	8.5	1.0	11.2	1.3	51.0	6.0
3 回処理*	4.9	0.4	4.1	0.3	11.4	0.8	53.3	3.8
処理回数	スピネトラム-L 処理試料							
	スピネトラム-L		C		E		多成分混合物	
	TRR(%)	mg/kg	TRR(%)	mg/kg	TRR(%)	mg/kg	TRR(%)	mg/kg
1 回処理*	2.9	0.06	1.0	0.02	0.6	0.01	73.8	1.6
3 回処理*	3.0	0.07	1.1	0.02	0.5	0.01	68.8	1.5

*: 処理 3 日後 (1 回処理) 及び最終処理 3 日後 (3 回処理) の値

表 15 かぶ根部試料中の親化合物及び代謝物の放射能濃度

処理回数	スピネトラム-J 処理試料							
	スピネトラム-J		B		D		多成分混合物	
	TRR(%)	mg/kg	TRR(%)	mg/kg	TRR(%)	mg/kg	TRR(%)	mg/kg
1 回処理*	22.3	0.03	10.0	0.01	16.6	0.02	9.9	0.01
処理回数	スピネトラム-L 処理試料							
	スピネトラム-L		C		E		多成分混合物	
	TRR(%)	mg/kg	TRR(%)	mg/kg	TRR(%)	mg/kg	TRR(%)	mg/kg
1 回処理*	14.8	0.01	—	—	3.0	0.001	13.1	0.004

*: 処理 3 日後の値 —: 検出されず

(3) りんご

戸外で栽培したりんご樹（品種名：Granny Smith）に、 ^{14}C -スピネトラム-J(I) を 1,810 g ai/ha 又は ^{14}C -スピネトラム-L(II) を 1,110 g ai/ha の用量で 1 回葉面処理し、植物体内運命試験が実施された。処理前に、りんご果樹の処理する 1 本の枝以外のすべての枝をプラスチックで覆い、移行性確認用試料とされた。未成熟期のりんご果実及び葉が処理 0（処理約 5 時間後）、1、3、7 及び 14 日後に、成熟期のりんご果実が処理 30 日後に、処理 3 日後に覆いをした果実が処理 7 日後に採取された。

果実の残留放射能は、試験期間を通して 96%TRR 以上が表面洗浄液と果皮に存在し、果肉には 4.0%TRR 未満が存在した。移行性確認用果実試料の残留放射能は定量限界未満であり、移行性確認用葉試料の残留放射能が処理葉の 0.2%未満であったことから、親化合物及び代謝物ともに枝を介して容易に移行しないことが示された。

果実試料において、親化合物は処理 0 日後にスピネトラム-J 処理試料の 82.2%TRR (0.72 mg/kg) 及びスピネトラム-L 処理試料の 42.6%TRR (0.18 mg/kg) 認められたが、処理 30 日後にはスピネトラム-J 処理試料の 22.2%TRR (0.16 mg/kg)、処理 14 日後にはスピネトラム-L 処理試料の 0.9%TRR (0.005 mg/kg) に減少した。主要代謝物として、スピネトラム-J 処理試料では B（処理 7 日後で最大 13.5%TRR、0.16 mg/kg）及び D（処理 3 日後で最大 4.9%TRR、0.07 mg/kg）、スピネトラム-L 処理試料では C（処理 0 日後で最大 8.0%TRR、0.03 mg/kg）及び E（処理 3 日後の暗所で最大 2.7%TRR、0.04 mg/kg）が検出された。スピネトラム-J 処理試料では、その他に微量代謝物として F 及び H が検出された。

葉試料において、親化合物は処理 0 日後にスピネトラム-J 処理試料の 80.2%TRR (105 mg/kg) 及びスピネトラム-L 処理試料の 26.8%TRR (18.6 mg/kg) から、処理 30 日後にはスピネトラム-J 処理試料の 19.9%TRR (27.8 mg/kg) 及びスピネトラム-L 処理試料の 0.2%TRR (0.12 mg/kg) に減少した。主要代謝物として、スピネトラム-J 処理試料では B（処理 3 日後で最大 13.9%TRR、23.3 mg/kg）及び D（処理 3 日後で最大 4.1%TRR、6.91 mg/kg）、スピネトラム-L 処理試料では C（処理 1 日後で最大 3.2%TRR、1.53 mg/kg）及び E（処理 3 日後の暗所で最大 2.5%TRR、1.47 mg/kg）が検出された。

りんごにおける主要代謝経路として、forosamine 糖部分が変化し *N*-脱メチル化及び *N*-formyl 化代謝物が生成される経路、ラムノース部分が変化し F 及び H を生成する経路及び親化合物やこれら代謝物のマクロライド骨格が開裂又は開環し、多数の極性成分を生成する経路が考えられた。（参照 8）

(4) 水稻

^{14}C -スピネトラム-J(I)又は ^{14}C -スピネトラム-L(II)を 100 g ai/ha の用量で植穴の有効成分を含まない粒剤に添加し、2～4 葉期の水稻(品種名: Japonica M202)を定植後湛水し栽培した。処理 7、14、28、72 (青刈り稲)、149 (もみ、もみ殻及び玄米) 及び 162 (稲わら) 日後に植物を採取し、植物体内運命試験が実施された。

各試料における総残留放射能濃度は表 16、水稻試料中の親化合物及び代謝物の放射能濃度は表 17 に示されている。

スピネトラム-J 及びスピネトラム-L を処理した水稻の両方において、残留放射能濃度は速やかに減少した。処理 162 日後の稲わらにおける残留量は、処理 72 日後の青刈り稲における量より 2～4 倍高かったが、これは乾燥した稲わら中の水分含量が青刈り稲中の水分含量より低かったためと考えられた。玄米及びもみ殻中の残留量が低かったことから、スピネトラム-J 及びスピネトラム-L が稲のもみ中に移行して残留する可能性は低いことが示された。

稲植物体において、スピネトラム-J は処理 7 日後に 63.2%TRR であったが、処理 162 日後には 11.3%TRR まで減少した。スピネトラム-L は処理 7 日後に 54.5%TRR であったが、処理 162 日後に 3.3%TRR まで減少した。

スピネトラム-J 及びスピネトラム-L とも同様の代謝を受け、それぞれの *N*-demethyl 体 (B 及び C) 及び *N*-formyl 体 (D 及び E) が生成された。それぞれの最大検出量は、B が 25.5%TRR (5.23 mg/kg)、D が 10.6%TRR (0.009 mg/kg)、C が 10.7%TRR (1.12 mg/kg)、E が 1.7%TRR (0.057 mg/kg) であった。成熟期の稲わらではいずれの代謝物も 3.4%TRR 以下に減少していた。

水稻における主要代謝経路として、レタスと同様に、forosamine 糖部分が変化し *N*-脱メチル化及び *N*-formyl 化代謝物が生成される経路及び親化合物やこれら代謝物のマクロライド骨格が開裂又は開環し、多数の極性成分を生成する経路が考えられた。(参照 9)

表 16 各試料における総残留放射能濃度 (mg/kg)

処理化合物	スピネトラム-J					
採取時期	処理 7 日後	処理 72 日後	処理 162 日後	処理 149 日後		
試料	全体	青刈り稲	稲わら	もみ	もみ殻	玄米
残留放射能濃度	20.5	0.09	0.21	0.004	0.015	0.001*
処理化合物	スピネトラム-L					
採取時期	処理 7 日後	処理 72 日後	処理 162 日後	処理 149 日後		
試料	全体	青刈り稲	稲わら	もみ	もみ殻	玄米
残留放射能濃度	10.4	0.02	0.08	0.002*	0.004*	0.002*

*: 検出限界 (スピネトラム-J: 0.001 mg/kg、スピネトラム-L: 0.002 mg/kg) と定量限界 (スピネトラム-J: 0.003 mg/kg、スピネトラム-L: 0.006 mg/kg) の間の値であった。

表 17 稲試料中の親化合物及び代謝物の放射能濃度

処理後日数 及び試料	スピネトラム-J 処理試料							
	総残留放射能		スピネトラム-J		B		D*	
	TRR(%)	mg/kg	TRR(%)	mg/kg	TRR(%)	mg/kg	TRR(%)	mg/kg
処理 7 日後	96.1	19.7	63.2	13.0	25.5	5.2	3.3	0.66
処理 72 日後 青刈り稲	52.6	0.05	27.8	0.03	5.2	0.005	10.6	0.01
処理 162 日後 稲わら	38.1	0.08	11.3	0.02	3.4	0.007	2.1	0.005
処理後日数 及び試料	スピネトラム-L 処理試料							
	総残留放射能		スピネトラム-L		C**		E**	
	TRR(%)	mg/kg	TRR(%)	mg/kg	TRR(%)	mg/kg	TRR(%)	mg/kg
処理 7 日後	92.9	9.7	54.5	5.7	10.7	1.12	1.6	0.17
処理 14 日後	72.1	2.4	29.3	0.99	6.0	1.7	1.8	0.06
処理 162 日後 稲わら	15.5	0.01	3.3	0.003	—	—	0.30	0.00

*: D は検出されたピークの約 91%を占めていたので、総残留放射能の 91%の値を示した。

** : C は検出されたピークの約 74%、E は約 23%を占めていたので、それぞれの総残留放射能の 74 及び 23%の値を示した。

— : 放射能は検出されず。

3. 土壤中運命試験

(1) 好氣的湛水土壤中運命試験

^{14}C -スピネトラム-J(I)又は ^{14}C -スピネトラム-L(II)を水深約 1.0 cm の湛水状態にした非滅菌土壌〔砂質埴壌土（茨城）〕に乾土あたり 1 mg/kg の用量で水相に混和し、25℃、暗条件下で 180 日間インキュベートして好氣的湛水土壤中運命試験が実施された。

各抽出相における放射能分布は表 18 に示されている。

スピネトラム-J を処理した土壌試料において、アルカリ性及び酸性溶媒抽出液中の放射能は処理 0 日後の 24%TAR から、処理 30 日後の 84%TAR に増加した後、試験終了時には 82%TAR に減少した。土壌残渣中の放射能は、処理 0 日後の 1%TAR から、試験終了時には 14%TAR に増加した。親化合物は、水相中では処理 0 日後の 66%TAR から、試験終了時に 0.2%TAR まで減少し、土壌中では処理 0 日後の 24%TAR から、処理 30 日後に 76%TAR に増加した後、試験終了時には 45%TAR に減少した。分解物として、B が水相中に最大 1.3%TAR、土壌中に最大 30%TAR 認められた。

スピネトラム-L を処理した土壌試料において、アルカリ性及び酸性溶媒抽出液中の放射能は処理 0 日後の 32%TAR から、処理 30 日後に 87%TAR に増加した後、試験終了時には 78%TAR に減少した。土壌残渣中の放射能は、処理 0 日後の 1%TAR から、試験終了時には 14%TAR に増加した。親化合物は、水相中では処理 0 日後の 56%TAR から、試験終了時に 0.3%TAR まで減少し、土壌中では試験 0 日後の 31%TAR から、処理 30 日後に 79%TAR に増加した後、試験終了時には 65%TAR に減少した。分解物として、C が水相中に最大

2.6%TAR、土壤中に最大 11%TAR 認められた。

スピネトラム-J の推定半減期は 193 日、スピネトラム-L の推定半減期は 456 日であった。(参照 10)

表 18 各抽出相における放射能分布 (%TAR)

スピネトラム-J 処理試料					
抽出相	抽出物	処理後日数 (日)			
		0	30	180	
水相	スピネトラム-J	66.2	3.6	0.2	
	B	1.3	0.9	1.3	
土壌抽出相*	抽出物合計	24.4	83.9	81.9	
	スピネトラム-J	23.8	75.8	44.7	
	B	nd	4.9	29.6	
土壌残渣		0.7	9.5	14.3	
スピネトラム-L 処理試料					
抽出相	抽出物	処理後日数			
		0	30	100	180
水相	スピネトラム-L	55.8	1.8	0.5	0.3
	C	2.6	0.9	0.4	0.5
土壌抽出相*	抽出物合計	31.6	87.3	83.1	78.4
	スピネトラム-L	30.5	78.6	65.4	65.0
	C	nd	6.3	11.0	8.9
土壌残渣		0.9	8.2	11.4	13.8

*: アルカリ性溶媒抽出相と酸性溶媒抽出相の合計、nd: 検出されず

(2) 好氣的土壤中運命試験

^{14}C -スピネトラム-J(I)又は ^{14}C -スピネトラム-L(II)を 4 種類の米国土壤[壤土 (ミシシッピ州及びバージニア州)、シルト質壤土 (アイオワ州)、砂壤土 (カリフォルニア州)] に乾土あたり 0.2 mg/kg の用量で土壤混和し、25℃ の暗条件下で 12 カ月間インキュベートして好氣的土壤中運命試験が実施された。

スピネトラム-J 及びスピネトラム-L は、4 種類のいずれの土壤においても経時的に分解し、試験終了時には 3%TAR 以下に減少した。スピネトラム-J 処理土壤からは、主要分解物として B が 4 種類の土壤について最大 45.2～68.1%TAR 検出されたが、試験終了時には 6.3～44.5%TAR に減少した。スピネトラム-L 処理土壤からは、主要分解物として C が 4 種類の土壤について最大 12.2～41.0%TAR 検出されたが、試験終了時には 9.1%TAR 以下に減少した。その他に 2%TAR 以下の微量分解物が多数認められた。揮発性放射能として $^{14}\text{CO}_2$ が認められ、試験終了時にはスピネトラム-J 処理土壤で 5.0～35.2%TAR、スピネトラム-L 処理土壤で 9.5～36.2%TAR に達した。

推定半減期はスピネトラム-J で 8～29 日、スピネトラム-L で 3～17 日であった。(参照 11)

(3) 土壌表面光分解試験

^{14}C -スピネトラム-J(I)又は ^{14}C -スピネトラム-L(II)を壤土（ミシシッピ州）に乾土あたり 20 mg/kg の用量で土壌表面に均一に処理し、25℃の暗条件下で 15 日間（スピネトラム-J）又は 18 日間（スピネトラム-L）キセノンランプ光〔光強度：44 W/m²（波長：300～400 nm）及び 399 W/m²（波長：290～800 nm）〕を連続照射する土壌表面光分解試験が実施された。

スピネトラム-Jは光照射により経時的に減少し、処理直後の 97.1%TAR から試験終了時には 58.2%TAR まで減少した。分解物は多数認められたが、いずれも 5%TAR 未満であった。

スピネトラム-Lは光照射により経時的に減少し、処理直後の 93.2%TAR から、試験終了時には 25.7%TAR まで減少した。分解物は多数認められたが、いずれも 7%TAR 未満であった。

暗所対照区において、試験終了時に 87.7%TAR（スピネトラム-J）及び 82.9%TAR（スピネトラム-L）が親化合物として残存していた。

スピネトラム-Jの推定半減期は 63 日、北緯 35 度（東京）、春の自然太陽光換算で 170 日、スピネトラム-Lの推定半減期は 15 日、北緯 35 度（東京）、春の自然太陽光換算で 63 日であった。（参照 12）

(4) 土壌吸着試験

7 種類の土壌〔埴壤土（英国）、壤土（イタリア）、壤質砂土（ドイツ及び英国）、砂質埴壤土（ドイツ）及び砂壤土（日本及び英国）〕を用い、スピネトラム（スピネトラム-J 及びスピネトラム-L）、代謝物 B 及び C の土壌吸着試験が実施された。結果は表 19 に示されている。（参照 13）

表 19 土壌吸着試験結果概要

化合物	Freundlich の 吸着係数 (K_{ads})	有機炭素含有率により 補正した吸着係数 (K_{oc})
スピネトラム-J	21～55	1,200～3,438
スピネトラム-L	15～121	1,100～7,563
代謝物 B	24～65	1,233～4,063
代謝物 C	17～76	1,278～4,750

4. 水中運命試験

(1) 加水分解試験

pH 5（酢酸緩衝液）、pH 7（トリスアミノメタン酸緩衝液）及び pH 9（ホウ酸緩衝液）の各滅菌緩衝液に ^{14}C -スピネトラム-J (D5) 又は ^{14}C -スピネトラム-L (D5) を 0.5 µg/mL となるように添加し、25℃の恒温槽中で 30 日間、暗条件下でインキュベートして、加水分解試験が実施された。

スピネトラム-J は、pH 5 及び 7 の緩衝液中ではほとんど分解せず、安定であった。pH 9 の緩衝液中では徐々に分解した(処理 30 日後に 89.1% TAR)。分解物として B が検出された(処理 30 日後に最大 6.7% TAR)。

スピネトラム-L は、pH 5 及び 7 の緩衝液中ではほとんど分解せず、安定であった。pH 9 の緩衝液中では徐々に分解した(処理 30 日後に 81.6% TAR)。分解物として C が検出された(処理 30 日後に最大 11.9% TAR)。

スピネトラム-J の pH 9 の緩衝液中における推定半減期は、算出不能であった。スピネトラム-L の推定半減期は 154 日であると考えられた。(参照 14)

(2) 水中光分解試験(滅菌緩衝液)

^{14}C -スピネトラム-J(I)又は ^{14}C -スピネトラム-L(II)を滅菌緩衝液(pH 7、トリスアミノメタン酸緩衝液)に $0.3\text{ }\mu\text{g/mL}$ (スピネトラム-J)又は $0.5\text{ }\mu\text{g/mL}$ (スピネトラム-L)の用量で添加し、 $25\pm 2^\circ\text{C}$ で 19 日間キセノンランプ光(光強度： 454 W/m^2 、波長：290～800 nm)を連続照射する水中光分解試験が実施された。

スピネトラム-J は光照射により経時的に減少し、処理直後の 98.4% TAR から、処理 4 日後には検出限界未満となった。主要分解物として、未同定の MW813 が処理 7 日後に最大 11% TAR 検出されたが、試験終了時(処理 19 日後)には約 1% TAR に減少した。他に B が検出された(処理 0.33 日後に最大 7% TAR)。

スピネトラム-L は光照射により経時的に減少し、処理直後の 94.9% TAR から処理 2 日後には検出限界未満となった。主要分解物として C が処理 0.17 日後に最大 12% TAR 検出されたが、処理 2 日後には 1% TAR 未満に減少した。

暗所対照区では、試験終了時に 90% TAR 以上が親化合物として残存しており、分解物は認められなかった。

スピネトラム-J の推定半減期は 0.38 日、北緯 35 度(東京)、春の自然太陽光換算で 2.21 日、スピネトラム-L の推定半減期は 4.1 時間(0.17 日)、北緯 35 度(東京)、春の自然太陽光換算で 23.8 時間(0.99 日)であった。(参照 15)

(3) 水中光分解試験(滅菌自然水)

^{14}C -スピネトラム-J 又は ^{14}C -スピネトラム-L を滅菌自然水(米国アイオワ州、河川水、pH 8.5)に $1\text{ }\mu\text{g/mL}$ (スピネトラム-J)又は $2\text{ }\mu\text{g/mL}$ (スピネトラム-L)の用量で添加し、 $25\pm 2^\circ\text{C}$ で 16 日間キセノンランプ光(光強度： 482 W/m^2 、波長：290～800 nm)を連続照射する水中光分解試験が実施された。

スピネトラム-J は光照射により経時的に減少し、処理直後の 96.5% TAR から処理 4 日後には検出限界未満となった。主要分解物として、B が処理 0.33

日後に最大 28%TAR 検出されたが、処理 4 日後には検出限界未満に減少した。

スピネトラム-L は光照射により経時的に減少し、処理直後の 98.1%TAR から処理 1 日後には検出限界未満となった。主要分解物として、L が処理 0.33 日後に最大 23%TAR 検出されたが、処理 8 日後には検出限界未満に減少した。その他に C が検出された（処理 0.13 日後に最大 8.8%TAR）。

暗所対照区では、試験終了時に 94%TAR 以上が親化合物として残存しており、分解物は認められなかった。

スピネトラム-J の推定半減期は 0.13 日、北緯 35 度（東京）、春の自然太陽光換算で 0.94 日、スピネトラム-L の推定半減期は 0.07 日、北緯 35 度（東京）、春の自然太陽光換算で 12 時間（0.50 日）であった。（参照 16）

5. 土壌残留試験

火山灰土・軽埴土（茨城）、砂質埴壤土（大分）及び風積土・砂土（宮崎）を用い、スピネトラム（スピネトラム-J 及びスピネトラム-L）及び分解物（B 及び C）を分析対象化合物とした土壌残留試験（容器内及び圃場試験）が実施された。結果は表 20 に示されている。（参照 17）

表 20 土壌残留試験成績

試験	状態	濃度*	土壌	推定半減期（日）	
				スピネトラム	スピネトラム +分解物 B、C
容器内 試験	湛水	0.21 mg/kg	火山灰土・軽埴土	203	222
			砂質埴壤土	226	227
	畑水分	0.34 mg/kg	火山灰土・軽埴土	25	126
			風積土・砂土	82	361
圃場 試験	水田	250 g ai/ha ¹⁾	火山灰土・軽埴土	1(1)	1(1)
			砂質埴壤土	95(116)	105(161)
	畑地	360 g ai/ha ²⁾	火山灰土・軽埴土	14(13)	108(96)
			風積土・砂土	9(9)	17(17)

*：容器内試験では原体、圃場試験では 1)0.5%粒剤、2)12%水和剤を使用。

()：計算式から求められた推定半減期。

6. 作物残留試験

(1) 作物残留試験

① 作物残留試験（国内）

水稻、茶、野菜及び果物を用い、スピネトラム-J 及びスピネトラム-L 並びに代謝物 B、C、D 及び E 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。最高値は、スピネトラム-J 及びスピネトラム-L ではそれぞれ最終散布 1 日後に収穫したサラダ菜の 3.35 及び 0.96 mg/kg、B 及び C ではそれぞれ最終散布 1 日後に収穫したレタスの 0.643 及び 0.061 mg/kg、D では最終散布 7 日後の茶（荒茶）の 0.725 mg/kg、E では最終散布 1 日後に収穫したサラダ菜の 0.029 mg/kg であった。（参照 18）

② 作物残留試験（海外）

a. 比較試験

スピノサド²の残留データをスピネトラムに読み替えることが適切か検討するため、比較試験が実施された。フロアブル剤を複数回、茎葉処理した後のりんご、てんさい、芝草、リーフレタス、オレンジ及びトマトにおけるスピネトラム、スピノサド及びそれらの代謝物の残留量を測定した。

結果は別紙 4 に示されている。最高値及び平均値は、芝草以外のすべての作物で、スピネトラムの方がスピノサドよりも低かった。芝草の最高値は、スピネトラムとスピノサドで同等であった。したがって、スピノサドの残留データをスピネトラムに読み替えることが適切であることが示された。（参照 19）

b. 作物残留試験

りんご、オレンジ、グレープフルーツ及びレモンを用い、スピノシン A、スピノシン D、代謝物であるスピノシン B、スピノシン K 及び *N*-demethyl spinosyn D を分析対象化合物とした米国における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。分析対象化合物の合計の最高値は、最終散布 1 日後に収穫したグレープフルーツの 0.152 mg/kg であった。（参照 20）

（2）後作物残留試験

水田後作物として小麦（玄麦）及びだいこん（葉及び根部）、畑地後作物としてかぶ（葉及び根部）及びきゅうりを用い、スピネトラム-J、スピネトラム-L、代謝物 B、C、D 及び E を分析対象化合物とした後作物残留試験が実施された。

スピネトラム-J、スピネトラム-L 及び代謝物は、すべての試験において定量限界未満であった。（参照 21）

² スピノサドは、ダウ・アグロサイエンス社が開発した殺虫剤であり、スピネトラムと同じマクロライド骨格を有する。スピノサドは、スピノシン A 及びスピノシン D の混合物で、原体中にはそれぞれ 72 及び 4%以上含まれる。なお、日本では 1999 年に初回農薬登録され、ポジティブリスト制度導入に伴う暫定基準が設定されている。

(3) 推定摂取量

国内における作物残留試験[6. (1)①]の分析値における最大推定残留値を用いて、スピネトラムを暴露評価対象化合物として食品中から摂取される推定摂取量が表 21 に示されている。詳細は別紙 5 に示されている。

なお、本推定摂取量の算定は、登録に基づく使用方法からスピネトラムが最大の残留を示す使用条件で、すべての適用作物に使用され、かつ、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 21 食品中から摂取されるスピネトラムの推定摂取量

	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)
摂取量(μg/人/日)	61.3	25.3	48.8	40.0

7. 一般薬理試験

ラット及びビヌを用いた一般薬理試験が実施された。結果は表 22 に示されている。(参照 22)

表 22 一般薬理試験概要

試験の種類		動物種	動物数 匹/群	投与量* (mg/kg 体重) (投与経路)	最大 無作用量 (mg/kg 体重)	最小作用量 (mg/kg 体重)	結果の概要
中枢神経系	一般状態 (Irwin 法)	SD ラット	雌雄 各 3	0、200、600、 2,000 (経口)	2,000	—	投与による影響なし
	自発運動量	SD ラット	雄 5	0、200、600、 2,000 (経口)	600	2,000	自発運動量減少
	痙攣誘発 及び 抑制作用 (ペンテトラゾ ル誘発痙攣)	SD ラット	雄 10	0、200、600、 2,000 (経口)	2,000	—	投与による影響なし
腎機能	尿量、 Na ⁺ 、K ⁺ 、Cl ⁻ 濃度、 Na ⁺ /K ⁺ 比、 浸透圧	SD ラット	雄 10	0、200、600、 2,000 追加試験： 0、50、 100、150 (経口)	50	100	100 mg/kg 体重以上で尿 中 K ⁺ 排泄量の減少 200 mg/kg 体重以上投与 群で尿量の減少、600 mg/kg 体重以上投与群で 尿中 Cl ⁻ 排泄量の減少、 2,000 mg/kg 体重投与群 で Na ⁺ 排泄量の減少及び 浸透圧の増加
呼吸器系	呼吸数、 1 回換気量、 分時換気量	SD ラット	雄 6	0、200、600、 2,000 (経口)	2,000	—	投与による影響なし

試験の種類		動物種	動物数 匹/群	投与量* (mg/kg 体重) (投与経路)	最大 無作用量 (mg/kg 体重)	最小作用量 (mg/kg 体重)	結果の概要
循環器系	血圧、 心拍数、 心電図	ビーグル 犬	雄 4	0、200、600、 2,000 (経口)	2,000	—	投与による影響なし

*：溶媒として 0.5%MC 溶液を用いた。

8. 急性毒性試験

(1) 急性毒性試験

スピネトラム原体〔純度：85.8%（スピネトラム-J：64.6%、スピネトラム-L：21.2%）〕を用いた急性毒性試験が実施された。結果は表 23 に示されている。（参照 23～25）

表 23 急性毒性試験結果概要（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*	Fischer ラット 雌 3 匹		>5,000	水様便、会陰部及び口周囲の汚れ 死亡例なし
経皮	Fischer ラット 雌雄各 5 匹	>5,000	>5,000	会陰部、口周囲、鼻周囲又は眼周囲 の汚れ 死亡例なし
吸入	SD ラット 雌雄各 5 匹	LC ₅₀ (mg/L)		被毛の汚れ、眼、会陰部又は広範囲 に及ぶ身体の汚れ 死亡例なし
		>5.5	>5.5	

*：溶媒として 0.5%MC 水溶液を用いた。

代謝物 B、D 及び E 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 24 に示されている。（参照 26～27）

表 24 急性毒性試験結果概要（代謝物）

被験物質	投与 経路*	動物種 性別・匹数	LD ₅₀ (mg/kg 体重)	観察された症状
			雌	
代謝物 B	経口	Fischer ラット 雌 13 匹	3,130	活動低下、肛門性器の汚れ、 下痢、顔面汚れ、軟便、便量 の減少及び円背姿勢 5,000 mg/kg 体重で死亡例
代謝物 D	経口	Fischer ラット 雌 5 匹	>5,000	症状及び死亡例なし
代謝物 E	経口	Fischer ラット 雌 3 匹	>5,000	症状及び死亡例なし

*：溶媒として 0.5%MC 水溶液を用いた。

(2) 急性神経毒性試験

Fischer ラット (一群雌雄各 10 匹) を用いた強制経口 [原体 (純度 85.5%) : 0、200、630 及び 2,000 mg/kg 体重、溶媒 : 0.5%MC 水溶液] 投与による急性神経毒性試験が実施された。

死亡率、一般状態、体重変化、詳細な状態の観察、機能検査、剖検及び病理組織学的検査 (神経組織) のいずれにおいても、検体投与の影響は認められなかった。

本試験において、毒性所見は認められなかったもので、無毒性量は雌雄とも本試験の最高用量 2,000 mg/kg 体重であると考えられた。神経毒性は認められなかった。(参照 28)

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刺激性試験が実施された [純度 : 85.8% (スピネトラム-J : 64.6%、スピネトラム-L : 21.2%)]。眼に対しては刺激性あり (米国 EPA の基準) 又はごく軽度の刺激性あり (Kay and Calandra の方法) と判定されたが、皮膚に対する刺激性は認められなかった。(参照 29、30)

BALB/cAnNCrl マウスを用いた皮膚感作性試験 (LLNA 試験) が実施された [純度 : 85.8% (スピネトラム-J : 64.6%、スピネトラム-L : 21.2%)]。弱い皮膚感作性が認められた。(参照 31)

10. 亜急性毒性試験

(1) 90 日間亜急性毒性試験 (ラット)

Fischer ラット (一群雌雄各 10 匹) を用いた混餌 [原体 (純度 : 83.0%、スピネトラム-J : 62.0%、スピネトラム-L : 21.0%) ; 雄 : 0、120、500、1,000 及び 2,000 ppm、雌 : 0、120、500、1,000、2,000 及び 4,000 ppm : 平均検体摂取量は表 25 参照] 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。なお、0 及び 1,000 ppm 投与群については別途回復群が設けられ、4 週間の回復期間が設定された。

表 25 90 日間亜急性毒性試験 (ラット) の平均検体摂取量

投与群		120 ppm	500 ppm	1,000 ppm	2,000 ppm	4,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	7.92	32.4	65.8	128	311
	雌	9.50	39.6	79.3	159	

／：該当なし

各投与群で認められた毒性所見は表 26、回復群に認められた毒性所見は表 27 に示されている。

回復群においても、投与群において認められた病変と同様の病変が認めら

れたが、雌の腸間膜におけるマクロファージ又は組織球集簇以外の病変は、その程度が軽減し、回復性が認められた。雌の肝臓では、肝小葉の門脈周囲領域に褐色色素を含有するマクロファージ又は組織球の集簇が認められた。この色素は特殊染色の結果、リポフスチン及びヘモジデリンから成り、その程度はヘモジデリンの方がリポフスチンより顕著に沈着していた。また、この色素は 90 日間投与試験群では認められないことから、活性化マクロファージによる細胞膜の正常な処理の結果であり、回復の進行を示していると考えられた。

0、2,000 及び 4,000 ppm 投与群の雌（それぞれ 5、3 及び 2 匹）の腎臓（皮質）について、電子顕微鏡的検査が実施された。2,000 ppm 投与群の雌の尿細管上皮細胞内に、電子密度の低い不定形物質及び稀に渦巻き状の膜構造を含む不均一なリソゾームが認められた。4,000 ppm 投与群の雌では尿細管上皮細胞内に不定形物質又は膜の渦を含有する空胞の存在が示唆された。これらの変化は CAD として知られている薬剤を投与した動物で観察されるものと類似しており、本剤が CAD である可能性が示唆された。

本試験において、1,000 ppm 以上投与群の雄及び 500 ppm 以上投与群の雌でマクロファージ又は組織球の集簇等が認められたので、無毒性量は雄で 500 ppm (32.4 mg/kg 体重/日)、雌で 120 ppm (9.50 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 32)

表 26 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
4,000 ppm		・摂餌量減少 ・MCHC 減少 ・ALP 増加 ・尿中 Bil 増加 ・骨格筋（後肢）筋線維変性
2,000 ppm 以上	・体重増加抑制 ・摂餌量減少 ・AST 増加 ・脾絶対及び比重量³増加、肝及び甲状腺比重量増加 ・マクロファージ又は組織球の集簇（骨髄及び肝） ・多核肝細胞 ・腎近位尿細管硝子滴減少 ・骨格筋（背中及び頭部）筋線維変性	・体重増加抑制 ・MCHC 減少 ・AST 増加 ・T₃ 減少 ・甲状腺、腎、心絶対及び比重量増加、肝絶対重量増加 ・マクロファージ又は組織球の集簇（骨格筋） ・空腸及び回腸固有層内組織球空胞化 ・骨格筋（頭部及び喉頭）筋線維変性
1,000 ppm 以上	・ALT 増加 ・マクロファージ又は組織球の集簇（縦隔リンパ節、腸間膜リンパ節、脾臓、胸腺、空腸、回腸） ・甲状腺ろ胞上皮細胞空胞化 ・骨格筋（喉頭）筋線維変性	・Hb、Ht、MCV 及び MCH 減少、WBC 及び網状赤血球数増加 ・脾絶対及び比重量増加、肝比重量増加 ・マクロファージ又は組織球の集簇（縦隔リンパ節、胸腺及び回腸） ・骨格筋（背中）筋線維変性
500 ppm 以上	500 ppm 以下 毒性所見なし	・TG 減少 ・T₄ 減少 ・マクロファージ又は組織球の集簇〔腸間膜リンパ節、脾臓、骨髄（胸骨、後肢及び脊椎）、空腸及び肝臓〕 ・腎尿細管上皮細胞空胞化 ・甲状腺ろ胞上皮細胞空胞化、コロイド枯渇
120 ppm		毒性所見なし

表 27 90 日間亜急性毒性試験（ラット）の回復群で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
1,000 ppm	・ALT 増加 ・腎近位尿細管硝子滴形成減少 ・マクロファージ又は組織球の集簇（縦隔リンパ節、腸間膜リンパ節） ・甲状腺ろ胞上皮細胞空胞化	・脾比重量増加 ・マクロファージ又は組織球の集簇〔縦隔リンパ節、腸間膜リンパ節、空腸、回腸及び骨髄（後肢及び胸骨）〕 ・肝門脈周囲リポフスチン*含有マクロファージ及び組織球集簇 ・甲状腺ろ胞上皮細胞空胞化

*：ヘモジデリンとリポフスチンが同時に含まれる。

³ 体重比重量を比重量という（以下同じ）。

(2) 90 日間亜急性毒性試験 (イヌ)

ビーグル犬 (一群雌雄各 4 匹) を用いた混餌 [原体 (純度 : 85.8%、スピネトラム-J : 64.6%、スピネトラム-L : 21.2%) : 0、150、300 及び 900 ppm : 平均検体摂取量は表 28 を参照] 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 28 90 日間亜急性毒性試験 (イヌ) の平均検体摂取量

投与群		150 ppm	300 ppm	900 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	5.73	9.82	27.1
	雌	4.97	10.2	31.0

各投与群で認められた毒性所見は表 29 に示されている。

300 ppm 以上投与群の雌雄において、血液学的検査で赤血球系パラメーターが変化し、正球性低色素性再生性貧血が示唆されたが、赤血球系パラメーターの変化は軽度であった。また、イヌを用いた 1 年間慢性毒性試験で同様の变化は認められず、投与の長期化により重篤化はしないものと考えられた。

150 ppm 投与群の雄で回腸、空腸及び鼻腔組織並びに直腸のリンパ組織内及びリンパ節内マクロファージの空胞化のみが認められたが、生理学的免疫応答の範囲内と考えられた。

本試験において、300 ppm 以上投与群の雌雄で骨髓壊死等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 150 ppm (雄 : 5.73 mg/kg 体重/日、雌 : 4.97 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 33)

表 29 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
900 ppm	・ 消瘦、円背位、自発運動減少、反応性減少、無便及び尿による外陰部汚れ（1 匹） ・ Hb、RBC、Ht、MCH 及び MCHC 減少、網状赤血球数及び大型非染色性細胞*増加 ・ AST 及び Alb 増加 ・ 肝絶対及び比重量増加 ・ マクロファージの空胞化（肺） ・ 動脈炎又は血管周囲炎（大動脈、脳、心臓、肺、腸間膜リンパ節、鼻腔組織、胃及び精巣）	・ 体重増加抑制 ・ Hb、WBC、RBC、Ht、PLT、MCH 及び MCHC 減少、大型非染色性細胞*及び Mon 増加 ・ AST 及び Glob 増加、Alb 減少 ・ 肝絶対及び比重量増加 ・ 胸腺比重量減少 ・ マクロファージの空胞化（十二指腸、空腸、喉頭、肺及び胃のリンパ組織内、扁桃） ・ 動脈炎又は血管周囲炎（腎臓、縦隔リンパ節、腸間膜リンパ節及び膈）
300 ppm 以上	・ 体重増加抑制 ・ WBC、PLT 及び Eos 減少 ・ ALP 及び Glob 増加 ・ 胸腺絶対及び比重量減少 ・ マクロファージの空胞化（盲腸、結腸、回腸、空腸、喉頭、鼻腔組織、直腸及び胃のリンパ組織内、脾臓、縦隔及び腸間膜リンパ節、扁桃、骨髓） ・ 心房心筋線維変性 ・ 骨髓壊死 ・ 肝クッパー細胞増生、肥大及び空胞化 ・ 胸腺皮質萎縮	・ 円背位、自発運動減少及び無便（1 匹） ・ 網状赤血球数増加 ・ 胸腺絶対重量減少 ・ マクロファージの空胞化（盲腸、結腸、回腸、鼻腔組織及び直腸のリンパ組織内、脾臓、縦隔及び腸間膜リンパ節、扁桃腺、骨髓） ・ 骨髓壊死 ・ 膵腺房萎縮及び腺房細胞壊死 ・ 肝クッパー細胞増生、肥大及び空胞化 ・ 肝及び脾髄外造血
150 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

*：白血球分類においてペルオキシダーゼ活性が低く、大型の細胞のことを称す。芽球、異型リンパ球、一部の大型リンパ球及び単球が含まれる。本試験においては、リンパ球の空胞化、すなわち、リン脂質症に起因した変化と考えられた。

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（純度：85.8%、スピネトラム-J：64.6%、スピネトラム-L：21.2%）：0、50、100 及び 200 ppm：平均検体摂取量は表 30 参照〕投与による 1 年間慢性毒性試験が実施された。

表 30 1 年間慢性毒性試験（イヌ）の平均検体摂取量

投与群		50 ppm	100 ppm	200 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	1.57	2.96	5.36
	雌	1.31	2.49	5.83

臓器重量測定において、200 ppm 投与群の雄で肝絶対及び比重量の増加が認められた。肝重量の高値は、対照群と比べ有意差はなかった。

病理組織学的検査において、200 ppm 投与群の雄 1 例で精巣上体、雌 1 例

で胸腺、甲状腺、喉頭及び膀胱に動脈炎が認められた。血管壁の壊死を伴う結節性動脈炎はビーグル犬に自然発生性にしばしば認められ、化合物により顕在化する可能性が示唆されている。本剤のビーグル犬への投与においても、増悪化されて発現した可能性があると考えられた。

本試験において、200 ppm 投与群の雌雄で動脈炎等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 100 ppm（雄：2.96 mg/kg 体重/日、雌：2.49 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 34）

（2）2 年間慢性毒性/発がん性併合試験（ラット）

SD ラット（発がん性群：一群雌雄各 50 匹、慢性毒性群（投与 12 カ月後に中間と殺）：一群雌雄各 10 匹）を用いた混餌〔原体（純度：85.8%、スピネトラム-J：64.6%、スピネトラム-L：21.2%）：0、50、250、500 及び 750 ppm：平均検体摂取量は表 31 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 31 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		50 ppm	250 ppm	500 ppm	750 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	2.12	10.8	21.6	32.9
	雌	2.63	13.2	26.6	40.0

各投与群で認められた毒性所見は表 32 に示されている。

500 ppm 以上投与群の雌で心絶対及び比重量増加が認められた。また、同群の雌では投与 12 カ月後に肝比重量の増加が認められた。これらの変化に関連すると考えられる病理組織学的変化は認められなかったが、検体投与に起因した変化と考えられた。

腫瘍性病変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、500 ppm 以上投与群の雌雄で甲状腺ろ胞上皮細胞細胞質空胞化等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 250 ppm（雄：10.8 mg/kg 体重/日、雌：13.2 mg/kg 体重/日）であると考えられた。発がん性は認められなかった。（参照 35）

表 32 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

投与群	雄	雌
750 ppm	・マクロファージ又は組織球の集簇 （腸間膜リンパ節）	・肺泡マクロファージ又は組織球の集簇 ・網膜変性及び空胞化
500 ppm 以上	・体重増加抑制 ・甲状腺ろ胞上皮細胞細胞質空胞化	・心絶対及び比重量増加 ・肝比重量増加(投与 12 カ月後のみ) ・甲状腺ろ胞上皮細胞細胞質空胞化 ・マクロファージ又は組織球の集簇 [腸 間膜リンパ節、縦隔リンパ節、脾（白髄） 及び回腸（パイエル板）]
250 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

（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（純度：85.8%、スピネトラム-J：64.6%、スピネトラム-L：21.2%）：0、25、80、150 及び 300 ppm：平均検体摂取量は表 33 参照] 投与による 18 カ月間発がん性試験が実施された。

表 33 18 カ月間発がん性試験（マウス）の平均検体摂取量

投与群		25 ppm	80 ppm	150 ppm	300 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	3.0	10.0	18.8	37.5
	雌	4.0	12.8	23.9	46.6

各投与群で認められた毒性所見は表 34 に示されている。

腫瘍性病変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、300 ppm 投与群の雌雄で腺胃部粘膜過形成及び腺胃部粘膜腺腔拡張等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 150 ppm（雄：18.8 mg/kg 体重/日、雌：23.9 mg/kg 体重/日）であると考えられた。発がん性は認められなかった。（参照 36）

表 34 18 カ月間発がん性試験（マウス）で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
300 ppm	・腺胃部粘膜過形成（多発及び限局性） ・腺胃部粘膜腺腔拡張（多発及び限局性） ・腺胃部粘膜下組織慢性炎症（多発及び限局性） ・肺泡マクロファージ集簇 ・精巢上体頭部上皮細胞空胞化	・体重増加抑制 ・摂餌量減少 ・腺胃部粘膜過形成（多発及び限局性） ・腺胃部粘膜腺腔拡張（多発及び限局性） ・腺胃部粘膜下組織慢性炎症（多発及び限局性） ・肺泡マクロファージ集簇
150 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

(4) 1年間慢性神経毒性試験（ラット）

Fischer ラット（一群雌雄各 10 匹）を用いた混餌〔原体（純度：85.8%、スピネトラム-J：64.6%、スピネトラム-L：21.2%）：0、50、250、500 及び 750 ppm：平均検体摂取量は表 35 参照〕投与による 1 年間慢性神経毒性試験が実施された。

表 35 1 年間慢性神経毒性試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群		50 ppm	250 ppm	500 ppm	750 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	2.4	12.0	24.4	36.7
	雌	2.9	14.7	29.6	44.3

死亡率、一般状態、体重変化、詳細な状態の観察、機能検査、剖検及び病理組織学的検査（神経組織）のいずれにおいても、検体投与の影響は認められなかった。

本試験において、いずれの投与群においても毒性所見が認められなかったので、無毒性量は雌雄とも本試験の最高用量 750 ppm（雄：36.7 mg/kg 体重/日、雌：44.3 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 37）

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 27 匹）を用いた混餌〔原体（純度：85.8%、スピネトラム-J：64.6%、スピネトラム-L：21.2%）：0、3、10 及び 75 mg/kg 体重/日：平均検体摂取量は表 36 参照〕投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

表 36 2 世代繁殖試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群 (mg/kg 体重/日)			3	10	75
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	P 世代	雄	3.24	10.8	80.8
		雌	3.13	10.5	78.4
	F ₁ 世代	雄	3.16	10.5	79.0
		雌	2.97	9.87	74.9

各投与群で認められた毒性所見は表 37 に示されている。

親動物では F₁ 雌雄において、肝絶対及び比重量が増加し、検体投与に関連した変化と考えられたが、この変化に対応する病理組織学的変化は認められ

ず、毒性学的意義は不明であった。また、両世代雌雄において、甲状腺ろ胞上皮細胞細胞質空胞化が認められたが、血清中 TSH、T₃ 及び T₄ レベルには、投与に関連した影響は認められなかった。

親動物の繁殖能に関しては、75 mg/kg 体重/日投与群の P 雌 4 例及び F₁ 雌 3 例で難産が認められ、そのほとんどでは数日間にわたり分娩が遅延した。

児動物においては、75 mg/kg 体重/日投与群 P 世代で分娩時生存率が低下し、統計学的に有意差はないものの着床後死亡率も軽度増加した。F₁ 世代でも有意差はないものの同様の変化がみられ、再現性が認められたので、検体投与の影響と考えられた。

本試験において、75 mg/kg 体重/日投与群の親動物の雌雄で甲状腺ろ胞上皮細胞細胞質空胞化等、児動物で分娩時生存率の低下が認められたので、無毒性量は親動物及び児動物の雌雄とも 10 mg/kg 体重/日 (P 雄: 10.8 mg/kg 体重/日、P 雌: 10.5 mg/kg 体重/日、F₁ 雄: 10.5 mg/kg 体重/日、F₁ 雌: 9.87 mg/kg 体重/日) であると考えられた。また、75 mg/kg 体重/日投与群の雌で難産が認められたことから繁殖能に対する無毒性量は 10 mg/kg 体重/日 (P 雄: 10.8 mg/kg 体重/日、P 雌: 10.5 mg/kg 体重/日、F₁ 雄: 10.5 mg/kg 体重/日、F₁ 雌: 9.87 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 38)

表 37 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	75 mg/kg 体重/日	甲状腺ろ胞上皮細胞細胞質空胞化 (び漫性)	- 切迫と殺 (1 例、難産) - 着床後胎児死亡率増加 - 難産、分娩遅延 - 外陰部分泌物、鼻周囲汚れ、皮膚及び粘膜蒼白化^{a)} - 子宮片側限局性肥厚^{b)}及び胎児組織遺残^{b)}(各 1 例) - 甲状腺ろ胞上皮細胞細胞質空胞化 (び漫性) - 腎近位尿細管褐色色素沈着 (多発性) - 子宮筋層肉芽腫性炎 (限局性)^{b)}、慢性活動性炎^{b)}(各 1 例)	- 肝絶対及び比重量増加 - 甲状腺ろ胞上皮細胞細胞質空胞化 (び漫性) - 腎近位尿細管褐色色素沈着 (多発性)	- 切迫と殺 (1 例、胎児遺残) - 着床後胎児死亡率増加 - 難産、分娩遅延 - 外陰部分泌物、鼻、口周囲及び下腹部の汚れ、皮膚及び粘膜蒼白化^{a)} - 子宮胎児組織遺残^{b)}(1 例) - 肝絶対及び比重量増加 - 甲状腺ろ胞上皮細胞細胞質空胞化 (び漫性) - 腎近位尿細管褐色色素沈着 (多発性) - 子宮慢性活動性炎^{b)}(1 例)
	10 mg/kg 体重/日以下	毒性所見なし	毒性所見なし	毒性所見なし	毒性所見なし
児	75 mg/kg 体重/日	・分娩時生存率減少		・分娩時生存率減少	

動物	10 mg/kg 体重/日 以下	毒性所見なし	毒性所見なし
----	------------------------	--------	--------

a) これらの症状は難産を示した動物に認められた。

b) これらの病変は、子宮内に遺残していた後期死亡胎児に関連した病変である。

(2) 発生毒性試験 (ラット)

SD ラット (一群雌 26 匹) の妊娠 6~20 日に強制経口 [原体 (純度: 85.8%、スピネトラム-J: 64.6%、スピネトラム-L: 21.2%): 0、30、100 及び 300 mg/kg 体重/日、溶媒: 0.5% METHOCEL®A4M 水溶液] 投与する発生毒性試験が実施された。

母動物において、300 mg/kg 体重/日投与群で体重増加抑制及び摂餌量減少が認められた。

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 100 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 39)

(3) 発生毒性試験 (ウサギ)

NZW ウサギ (一群雌 22 匹) の妊娠 7~27 日に強制経口 [原体 (純度: 83.0%、スピネトラム-J: 62.0%、スピネトラム-L: 21.0%): 0、2.5、10 及び 60 mg/kg 体重/日、溶媒: 0.5% METHOCEL®A4M 水溶液] 投与する発生毒性試験が実施された。

母動物において、60 mg/kg 体重/日投与群の 1 例で検体投与に関連していると考えられる飢餓状態による衰弱及び体重減少が認められたため、妊娠 21 日に切迫と殺された。同群のその他の動物において、体重増加抑制、摂餌量及び排糞量減少並びに肝絶対及び比重量増加が認められた。

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 10 mg/kg 体重/日、胎児で 60 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 40)

13. 遺伝毒性試験

スピネトラム (原体: 純度 85.8%) の細菌を用いた復帰突然変異試験、ラットリンパ球を用いた染色体異常試験、チャイニーズハムスター卵巣由来細胞 (CHO) を用いた遺伝子突然変異試験 (HGPRT 遺伝子座) 及びマウスを用いた小核試験が実施された。

試験結果は表 38 に示されているとおり、すべて陰性であった。スピネトラムに遺伝毒性はないと考えられた。(参照 41~43、52)

表 38 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)	1.0～5,000 µg/7° レート (+/-S9) ¹⁾	陰性
	遺伝子突然変異試験 (HGPRT 遺伝子座) チャイニーズハムスター 卵巣由来細胞 (CHO)	①10～80 ²⁾ µg/mL (-S9) 10～320 ²⁾ µg/mL (+S9) ②10～80 ²⁾ µg/mL (-S9) 20～240 ²⁾ µg/mL (+S9)	陰性
	染色体異常試験 ラットリンパ球	4 時間処理： 10～80 µg/mL (+/-S9) 24 時間処理： 10～30 µg/mL (-S9)	陰性
<i>in vivo</i>	小核試験 ICR マウス（骨髄細胞） （一群雄 6 匹）	500、1,000、2,000 mg/kg 体重 (2 回経口投与)	陰性

注) +/-S9：代謝活性化系存在下及び非存在下

- 1) 代謝活性化系存在下及び非存在下で、菌株によって 100 µg/7° レート以上で生育阻害が、1,000 µg/7° レート以上で検体の析出が認められた。
- 2) 代謝活性化系存在下及び非存在下で、50 µg/mL 以上で検体の析出が認められた。

スピネトラムの代謝物 B、D 及び E の細菌を用いた復帰突然変異試験が実施された。

結果は表 39 に示されているとおり、すべて陰性であった。（参照 44～45）

表 39 遺伝毒性試験概要（代謝物）

被検物質	試験	対象	処理濃度・投与量	結果
代謝物 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)	0.33～3,330 µg/7° レート (+/-S9) ¹⁾	陰性
代謝物 D			33.3～5,000 µg/7° レート (+/-S9) ²⁾	陰性
代謝物 E			33.3～5,000 µg/7° レート (+/-S9) ²⁾	陰性

注) +/-S9：代謝活性化系存在下及び非存在下

- 1) 代謝活性化系存在下及び非存在下で、菌株によって 33.3 µg/7° レート以上でバックグラウンドの菌の減少が認められた。
- 2) 代謝活性化系存在下及び非存在下で、菌株によって 1,000 µg/7° レート以上で検体の析出を認めた。