

表 14 土壌残留試験成績

試験		濃度*	土壌	推定半減期（日）
				ピメトロジン
容器内試験	水田	0.5 mg/kg	火山灰土・壤土	5.2
			沖積土・埴壌土	5.0
	畑地		火山灰土・軽埴土	7.0
			沖積土・埴壌土	6.8
圃場試験	水田	300 ^G g ai/ha	火山灰土・壤土	12.4
			沖積土・埴壌土	5.4
	畑地	375 ^{WP} g ai/ha	火山灰土・軽埴土	33.3
			沖積土・埴壌土	3.2

注) *: 容器内試験では純品、圃場試験では G: 粒剤、WP: 水和剤を使用

6. 作物残留試験

水稻、野菜及び果実を用いて、ピメトロジン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。ピメトロジンの可食部における最高値は、最終散布 1 日後に収穫したししとう（果実）の 0.8 mg/kg であった。

また、水稻、ばれいしょ及びトマトを用い、代謝物 K 及び M を分析対象化合物とした作物残留試験の結果が、別紙 3 に示されている。K 及び M は本来植物が含有している化合物であるが、処理区の残留値が、対照区（処理回数 0 回）と同程度であったことから、ピメトロジン由来の代謝物 K 及び M は少量であることが示唆された。（参照 13）

7. 後作物残留試験

はくさい及びだいこんを用いて、分解物 P を分析対象とした後作物残留試験が実施された。その結果は表 15 に示されている。残留値はすべて定量限界未満であった。（参照 13）

表 15 後作物残留試験成績

作物名 (分析部位) 実施年度	試験 圃場 数	使用量 (g ai/ha)	回数 (回)	PHI (日)	残留値 (mg/kg)	
					社内分析機関	
					P	
					最高値	平均値
はくさい (茎葉) 1998 年度	1	375 ^{WP}	1	101	<0.005	<0.005
だいこん (根部) 1998 年度	1		3	103	<0.005	<0.005

WP: 水和剤

・ 定量限界未満のデータは定量限界値にくを付した。

8. 一般薬理試験

マウス、ラット及びモルモット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 13)

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)	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)	ICR マウス	雄 3 0、50、150 300、500、 1,500、5,000 (経口)	150	300	反応性及び自発運動低下、姿勢及び歩行異常、散瞳、眼瞼裂狭小、立毛、体温低下
		Wistar ラット	雄 3 0、50、150 500、1,500、 5,000 (経口)	150	500	反応性及び自発運動低下、体姿勢及び歩行異常、瞳孔散大、眼瞼裂狭小、立毛、体温低下
	睡眠誘発作用	ICR マウス	雄 8 0、30、 100、300 (経口)	100	300	睡眠時間の延長
	痙攣誘発作用 (電撃)	ICR マウス	雄 10 0、30、 100、300 (経口)	300	—	投与による影響なし
	正常体温	Wistar ラット	雄 6 0、150、 500、1,500 (経口)	150	500	体温低下作用あり
自律神経系	摘出回腸	Hartley モルモット	雄 4 10^{-7} 、 10^{-6} 、 10^{-5} 、 10^{-4} g/mL (<i>in vitro</i>)	10^{-4} g/mL	—	投与による影響なし
循環器系	血圧、心拍数	Wistar ラット	雄 6 0、150、 500、1,500 (経口)	1,500	—	投与による影響なし
消化器系	腸管輸送能	ICR マウス	雄 8 0、30、 100、300 (経口)	300	—	投与による影響なし
骨格筋	摘出横隔膜	Wistar ラット	雄 4 10^{-7} 、 10^{-6} 、 10^{-5} 、 10^{-4} g/mL (<i>in vitro</i>)	10^{-4} g/mL	—	投与による影響なし

試験の種類		動物種	動物数 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
血液	血液凝固能	Wistar ラット	雄 6	0、150、 500、1,500 (経口)	1,500	—	投与による影響 なし
	溶血性	Wistar ラット	雄 6	0、150、 500、1,500 (経口)	1,500	—	投与による影響 なし

—：最小作用量を設定できなかった。

注) 溶媒は、経口投与試験では精製水、*in vitro* 試験では DMSO を用いた。

9. 急性毒性試験

(1) 急性毒性試験

ピメトロジン（原体）、分解物 P の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 4～5、7、13）

表 17 急性毒性試験結果概要

化合物	投与 経路	動物種	LD ₅₀ (mg/kg 体重)		観察された症状
			雄	雌	
原体	経口	SD ラット 雌雄各 5 匹	5,690	5,960	自発運動量の低下、軟便、顔面 被毛の汚れ、泌尿生殖器周囲被 毛の汚れ、呼吸困難、振戦、体 温低下 雌雄：5,000 mg/kg 体重以上で 死亡例
		ICR マウス 雌雄各 5 匹	1,730	3,040	体重の軽度な減少、自発運動量 の低下、よろめき歩行、体温低 下、呼吸困難、強直性痙攣、振 戦 雄：1,500 mg/kg 体重以上、雌： 2,000 mg/kg 体重以上で死亡例
	経皮	SD 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)		立毛、呼吸困難 死亡例なし
分解物 P	経口	Wistar ラット 雌雄各 5 匹	>2,000	>2,000	症状及び死亡例なし

(2) 急性神経毒性試験

SD ラット（一群雌雄各 10 匹）を用いた強制経口（原体：0、125、500 及び 2,000 mg/kg 体重、溶媒：蒸留水）投与による急性神経毒性試験が実施された。

2,000 mg/kg 体重投与群の雄 2 例が瀕死状態で切迫と殺され、1 例が死亡した。

剖検で3例とも両側に腎盂拡張が認められた。

各投与群で認められた毒性所見は表18に示されている。

2,000 mg/kg 体重投与群の雄で被毛の汚れ、体温低下及び振戦が認められた。

FOBにおいて、500 mg/kg 体重以上投与群の雌雄で覚醒状態の低下等の症状が観察された。神経組織の病理組織学的検査では、検体投与の影響は認められなかった。

本試験において、2,000 mg/kg 体重投与群の雄で腎臓の病理組織学的所見が認められたので、一般毒性に関する無毒性量は雄で500 mg/kg 体重、雌で2,000 mg/kg 体重であると考えられた。また、500 mg/kg 体重以上投与群の雌雄で、FOBにおける所見及び自発運動量の低下が認められたので、神経毒性に関する無毒性量は雌雄とも125 mg/kg 体重であると考えられた。(参照13)

表18 急性神経毒性試験(ラット)で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
2,000 mg/kg 体重	・切迫と殺及び死亡(3例) ・尾を持ったときの後肢の位置異常 ・腎盂拡張、尿細管拡張、腎盂炎、腎乳頭尿細管壊死	・尾を持ったときの後肢の位置異常
500 mg/kg 体重以上	・振戦、覚醒状態の低下、立ち上がり回数の減少、正向反射の不良、後肢開脚幅の減少、体温低下 ・自発運動量の低下	・覚醒状態の低下、立ち上がり回数の減少、痛覚反応低下、体温低下 ・自発運動量の低下
125 mg/kg 体重	毒性所見なし	毒性所見なし

10. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

NZW ウサギを用いた眼刺激性試験及び皮膚刺激性試験が実施された。その結果、ピメトロジンは眼に対し極めて軽度の刺激性を示したが、皮膚に対しては刺激性を示さなかった。

モルモットを用いた皮膚感作性試験において、ピメトロジンは皮内感作に対しては軽度の皮膚感作性を示したが、経皮感作に対しては陰性であった。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4~5、7、13)

1.1. 亜急性毒性試験

(1) 90 日間亜急性毒性試験（ラット）

SD ラット（一群雌雄各 10 匹）を用いた混餌（原体：0、50、500 及び 5,000 ppm）投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。対照群及び 5,000 ppm 投与群には、4 週間の回復期間が設けられた。

5,000 ppm 投与群の雌雄で体重増加抑制、摂餌量及び飲水量の減少、WBC 及び PLT 増加、T.Bil、T.Chol 及び ALP 増加、A/G 比増加（雄：Alb 増加、雌：Glob 減少）、無機リン増加、尿量減少、肝及び脾比重量³増加、胸腺絶対重量減少並びに胸腺軽度萎縮が、同群の雄で MCV、MCH 及び MCHC 増加、Glu 及びカリウム減少並びに小葉中心性肝細胞肥大が、同群の雌でビリルビン尿が認められた。

5,000 ppm 投与群の雌では、回復期間終了時にも WBC 増加が認められたが、対照群との差は小さくなっており、回復傾向を示した。また、同群の雄では、回復期間終了時にも胸腺軽度萎縮が認められた。他の変化は、回復期間終了時にはほとんど対照群と同等の値を示した。

本試験において、5,000 ppm 投与群の雌雄で体重増加抑制等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 500 ppm（雄：32.5 mg/kg 体重/日、雌：33.9 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 4、7、13）

(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、100、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。

各投与群に認められた毒性所見は表 19 に示されている。

2,500 ppm 投与群の雌 1 例は、重篤な貧血症状を示したため、切迫と殺された。

肉眼的病理検査において、2,500 ppm 投与群の雌 2 例で全身が黄色又は蒼白を示した。これは血液学的検査結果及び病理組織学的所見より、黄疸又は貧血と考えられた。

本試験において、500 ppm 以上投与群の雌雄で肝炎症性細胞浸潤、胆管増生等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 100 ppm（雄：3.12 mg/kg 体重/日、雌：3.24 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 4、7、13）

（精巣への影響に関しては[15. (6)]参照）

³ 体重比重量を比重量という（以下同じ）。

表 19 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
2,500 ppm	・体重増加抑制、摂餌量減少 ・RBC、Hb、Ht 減少、PT 延長 ・ALT、AST、ALP、GGT、T.Bil 増加、T.Chol、PL 減少 ・ビリルビン尿 ・甲状腺、胸腺及び精巣絶対重量減少 ・精巣精子形成減少	・切迫と殺（1 例） ・軽度の無気力、横臥、伏臥 ・体重増加抑制、摂餌量減少 ・RBC、Hb、Ht 減少、PT 延長 ・T.Bil、AST、TP、Glob 増加 ・ビリルビン尿 ・脾絶対及び比重量増加 ・甲状腺及び胸腺絶対重量減少 ・子宮萎縮 ・自律神経節炎症性細胞浸潤
500 ppm 以上	・PLT 減少 ・肝絶対及び比重量増加 ・肝炎症性細胞浸潤 ・肝胆管増生 ・胃炎症性細胞浸潤 ・骨格筋ミオパチー ・甲状腺リンパ球/組織球浸潤 ・唾液腺リンパ球/組織球浸潤 ・前立腺のう胞性拡張、リンパ球/組織球浸潤 ・精巣精細管萎縮	・PLT 減少 ・ALT、ALP 増加 ・肝絶対及び比重量増加 ・肝炎症性細胞浸潤 ・肝細胞壊死 ・肝胆管増生 ・大腸炎症性細胞浸潤 ・甲状腺リンパ球/組織球浸潤 ・唾液腺リンパ球/組織球浸潤 ・骨格筋ミオパチー
100 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）

SD ラット（一群雌雄各 10 匹）を用いた混餌（原体：0、500、1,000 及び 3,000 ppm）投与による 90 日間亜急性神経毒性試験が実施された。

3,000 ppm 投与群の雌雄で体重増加抑制及び摂餌量減少が認められた。FOB において、同群の雄 3 例で常同行動（過度に臭いを嗅ぐ、頭を絶えず動かす）が、雌で爪先歩行が認められた。

自発運動量、脳絶対及び比重量並びに神経組織の病理組織学的検査において、検体投与の影響は認められなかった。

本試験において、3,000 ppm 投与群の雌雄で体重増加抑制及び摂餌量減少が認められたので、一般毒性に関する無毒性量は雌雄とも 1,000 ppm（雄：68 mg/kg 体重/日、雌：81 mg/kg 体重/日）であると考えられた。また、3,000 ppm 投与群の雄で常同行動が、雌で爪先歩行が認められたので、神経毒性に関する無毒性量は雌雄とも 1,000 ppm（雄：68 mg/kg 体重/日、雌：81 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 5、13）

12. 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、20、200及び1,000 ppm）投与による1年間慢性毒性試験が実施された。対照群及び1,000 ppm 投与群ではそれぞれ雌雄各2匹を追加し、これらの個体は試験終了後4週間の回復期間が設けられた。

各投与群に認められた毒性所見は表20に示されている。

1,000 ppm 投与群の雄1例が死亡したが、これは気管支肺炎によるもので、検体投与の影響によるものではなかった。1,000 ppm 投与群の雌1例で低色素性及び大球性の赤血球が観察され、重度の貧血が認められた。この個体では、PLT 減少、PT 延長、T.Bil、D.Bil、Glob 及び TP 増加、Alb 減少、ALT 及び ALP 増加並びに T₃ 及び T₄ の減少が認められた。

回復期間終了時、1,000 ppm 投与群の雄で脾へモジデリン沈着が、同群の雌で T.Chol 及び PL の軽度の増加並びに肝へモジデリン沈着が認められた以外、対照群との差は認められなかった。

本試験において、1,000 ppm 投与群の雄で RBC、Hb 及び Ht 減少、PT 延長等が、雌で体重増加抑制等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 200 ppm（雄：5.33 mg/kg 体重/日、雌：5.03 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照5、7、13）

表20 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
1,000 ppm	・ 摂餌量減少 ・ RBC、Hb、Ht 減少、PT 延長 ・ ALT、ALP、CK 増加 ・ 骨格筋ミオパチー ・ 胃、小腸、大腸ミオパチー ・ 肝炎症性細胞浸潤 ・ 肝胆管増生 ・ 脾へモジデリン沈着	・ 体重増加抑制、摂餌量減少 ・ 重度の貧血、T.Bil、D.Bil、Glob、TP、ALT、ALP 増加、Alb 減少、T₃、T₄ 増加 ・ T.Chol、PL 増加 ・ ビリルビン尿 ・ 肝へモジデリン沈着（重度） ・ 脾へモジデリン沈着（重度）
200 ppm 以下	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）

SD ラット（一群雌雄各 80 匹）を用いた混餌（原体：0、10、100、1,000 及び 3,000 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。

各投与群に認められた毒性所見は表 21 に、肝増殖性病変の発生頻度は表 22 に示されている。3,000 ppm 投与群の雄で対照群より死亡率が低かった他は、対照群と投与群で死亡率に差は認められなかった。

3,000 ppm 投与群の雌で肝細胞腺腫の発生頻度の増加が認められた。

100 ppm 投与群の雌で変異肝細胞巢の発生頻度が軽度ながら増加し、傾向検定にて有意な増加を示したため、定量解析試験（肝臓の単位面積あたりの変異肝細胞巢の数、変異肝細胞巢の面積及び変異肝細胞巢の面積率）により詳細な解析を含む再評価を実施した⁴。

結果は表 23 に示されている。

再評価の結果、100ppm 群の雌における変異肝細胞巢を動物数、動物あたりの変異肝細胞巢の総数及び単位面積あたりの変異肝細胞巢数等、表 23 に示すいずれの指標についても対照群と同等であったことから、100 ppm 投与群の雌で認められた変異肝細胞巢の発生頻度増加は、検体投与の影響ではないと結論した。

本試験において、1,000 ppm 以上投与群の雌雄で肝細胞肥大等が認められたので、無毒性量は雌雄で 100 ppm（雄：3.73 mg/kg 体重/日、雌：4.45 mg/kg 体重/日）であると判断した。（参照 13）

表 21 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
3,000 ppm	・体重増加抑制、摂餌量減少 ・RBC 減少、MCV、MCH 増加 ・T.Bil、Alb、T.Chol、PL 増加、Glu、クロール減少 ・肝斑紋増加 ・脾うつ血 ・変異肝細胞巢	・体重増加抑制、摂餌量減少 ・PLT 増加 ・T.Chol、PL、無機リン増加、 ・肝腫瘍、のう胞増加 ・子宮、卵巢小結節 ・胆管のう胞 ・甲状腺ろ胞上皮過形成 ・脾うつ血
1,000 ppm 以上	・肝細胞肥大 ・甲状腺ろ胞上皮過形成	・肝細胞肥大
100 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

⁴ 定量解析試験は、2009 年 3 月 12 日から 4 月 10 日まで実施された国民からの御意見・情報の募集の際に寄せられた意見に基づき、食品安全委員会農薬専門調査会から追加提出を求め、第 29 回確認評価第二部会で評価されたものである。

表22 肝増殖性病変の発生頻度（全動物）

性別	雄					雌				
投与群(ppm)	0	10	100	1,000	3,000	0	10	100	1,000	3,000
検査動物数	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
肝細胞腺腫	2	0	2	0	2	0	0	0	2	7 ^c
肝細胞癌	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0
腺腫+癌	3	0	3	0	2	0	0	0	3	7 ^{**c}
変異肝細胞巣	10	15	16	12	30 ^{**}	9	8	14 ^a	19 ^{*b}	35 ^{**c}

Fisherの直接確率計算法 *: $p<0.05$ 、**: $p<0.01$ Peto Gratzらの方法、a: $p<0.05$ 、b: $p<0.01$ 、c: $p<0.001$

表23 雌動物における変異肝細胞巣の定量的解析結果

解析方法	A. 検査動物数を母数に用いた解析				
投与量 (ppm)	0	10	100	1,000	3,000
検査動物数	50 ^{a)}	50 ^{a)}	50 ^{a)}	50 ^{a)}	50 ^{a)}
変異肝細胞巣を持つ動物数 ¹⁾	9	8	13 ^{d)}	19 [*]	32 ^{b)**}
1mm ² あたりの変異肝細胞巣数 ²⁾	0.0031	0.0020	0.0048	0.0104	0.0405 ^{##}
変異肝細胞巣の面積 ²⁾ (mm ²)	0.09	0.06	0.08	0.21	0.24 ^{##}
変異肝細胞巣の面積率 ²⁾ (%)	0.10	0.06	0.11	0.51 [#]	1.37 ^{##}
1匹あたりの変異肝細胞巣数 ³⁾	0.40	0.26	0.46	1.46 [#]	5.12 ^{##}
変異肝細胞巣の総数 ^{d)}					
動物あたりの肝総面積 (mm ²) ^{d)}					
解析方法	B. 変異肝細胞巣がみられた動物数を母数に用いた解析				
投与量 (ppm)	0	10	100	1,000	3,000
検査動物数	9	8	13 ^{d)}	19	32 ^{b)}
変異肝細胞巣を持つ動物数 ¹⁾	9	8	13 ^{d)}	19 [*]	32 ^{b)**}
1mm ² あたりの変異肝細胞巣数 ²⁾	0.0174	0.0125	0.0186	0.0275 ⁺⁺	0.0633 ^{+++##}
変異肝細胞巣の面積 ²⁾ (mm ²)	0.52	0.40	0.33	0.55	0.37
変異肝細胞巣の面積率 ²⁾ (%)	0.56	0.39	0.42	1.34 ⁺	2.14 ^{+++##}
1匹あたりの変異肝細胞巣数 ³⁾	2.22	1.63	1.77	3.84	8.00 ^{##}
変異肝細胞巣の総数 ^{d)}	20	13	23	73	256
動物あたりの肝総面積 (mm ²) ^{d)}	128	133	103	146	132

統計解析法:

1) A、BともにFisherの検定 (* $p<0.05$ 、** $p<0.01$)。2) A、BともにDunnettの検定 (# $p<0.05$ 、## $p<0.01$)。Bのみ傾向検定 (+ $p<0.05$ 、++ $p<0.01$ 、+++ $p<0.001$)3) A、BともにDunnettの検定 (# $p<0.05$ 、## $p<0.01$)。

a) 中間と殺動物を除外した。

b) 3匹の中間と殺動物を除外した。

c) 慢性毒性/発がん性試験の報告書中では14匹と記載されているが、うち1匹では定量的解析試験の再鏡検時に変異肝細胞巣が観察されなかった。したがってこの動物は定量的解析には供さなかった。

d) 統計解析を実施していない。

(3) 18 カ月間発がん性試験 (マウス)

Tif : MAGf マウス (一群雌雄各 60 匹) を用いた混餌 (0、10、100、2,000 及び 5,000 ppm) 投与による 18 カ月間発がん性試験が実施された。

各投与群に認められた毒性所見は表 24 に、肝増殖性病変の発生頻度は表 25 に示されている。5,000 ppm 投与群の雄で死亡率が低かった他は、対照群と投与群で死亡率に差は認められなかった。

2,000 ppm 以上投与群の雄で肝細胞癌の発生頻度の増加が、5,000 ppm 投与群の雌で肝細胞腺腫及び肝細胞癌の発生頻度の増加が認められた。肝細胞腺腫及び肝細胞癌の合計では、5,000 ppm 投与群の雌雄で発生頻度の増加が認められた。

本試験において、2,000 ppm 以上投与群の雌雄で体重増加抑制等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 100 ppm (雄 : 12.0 mg/kg 体重/日、雌 : 11.4 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 4~5、7、13)

(肝薬物代謝酵素誘導に関しては[15. (3)]参照)

表 24 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	・脾比重量増加 ・肝結節、斑紋 ・脾腫大 ・脾ヘモジデリン沈着 ・胃慢性炎症 ・胃粘膜過形成	・摂餌量減少 ・腎比重量増加 ・肝腫瘍、結節、斑紋 ・子宮拡張 ・下垂体腫大 ・肝細胞壊死 ・骨髓細胞増生
2,000 ppm 以上	・体重増加抑制 ・肝及び副腎絶対及び比重量増加 ・肝腫瘍及び腫大 ・小葉中心性肝細胞肥大 ・脾髄外造血亢進 ・骨髓細胞増生	・体重増加抑制 ・肝絶対及び比重量増加 ・肝腫大 ・小葉中心性肝細胞肥大 ・脾髄外造血亢進 ・脾ヘモジデリン沈着
100 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

表 25 肝増殖性病変の発生頻度 (全動物)

	雄					雌				
投与群 (ppm)	0	10	100	2,000	5,000	0	10	100	2,000	5,000
検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
肝細胞腺腫	10	3*	12	9	11	4	5	4	1	14** ^b
肝細胞癌	5	5	5	9 ^a	23** ^c	0	0	0	0	4 ^c
腺腫+癌	15	8	17	18	34** ^c	4	5	4	1	18** ^c
変異肝細胞巢	2	0	0	4	3	1	2	0	4	3

Fisher の直接確率計算法 * : $p < 0.05$ 、** : $p < 0.01$

Peto らの方法、a : $p < 0.05$ 、b : $p < 0.01$ 、c : $p < 0.001$

1 3. 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、20、200 及び 2,000 ppm) 投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

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 26 に示されている。

本試験において、親動物では 200 ppm 以上投与群の雄で肝細胞肥大等が、雌で肝、副腎及び脳比重量増加が、児動物では 2,000 ppm 投与群で低体重等が認められたので、無毒性量は親動物で雌雄とも 20 ppm (P 雄 : 1.30 mg/kg 体重/日、P 雌 : 1.59 mg/kg 体重/日、F₁ 雄 : 1.51 mg/kg 体重/日、F₁ 雌 : 1.82 mg/kg 体重/日)、児動物で雌雄とも 200 ppm (P 雄 : 12.9 mg/kg 体重/日、P 雌 : 16.0 mg/kg 体重/日、F₁ 雄 : 15.2 mg/kg 体重/日、F₁ 雌 : 17.1 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 5、7、13)

表 26 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	2,000 ppm	・ 体重増加抑制、 摂餌量減少	・ 体重増加抑制、 摂餌量減少 ・ 肝及び脾絶対及 び比重量増加 ・ 肝細胞肥大	・ 体重増加抑制、 摂餌量減少 ・ 腎、胸腺及び心 絶対重量減少 ・ 下垂体前葉好塩 基性細胞肥大	・ 体重増加抑制、 摂餌量減少 ・ 腎及び胸腺絶対 重量減少 ・ 肝細胞肥大
	200 ppm 以上	・ 肝細胞肥大	200 ppm 以下毒 性所見なし	・ 肝及び腎比重量 増加 ・ 肝細胞肥大	・ 肝、副腎及び脳 比重量増加
	20 ppm	毒性所見なし		毒性所見なし	毒性所見なし
児動物	2,000 ppm	・ 低体重 ・ 眼瞼開裂遅延		・ 低体重 (雌雄) ・ 眼瞼開裂遅延	
	200 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、30、100 及び 300 mg/kg 体重/日、溶媒 : 0.5% CMC 水溶液) 投与し、発生毒性試験が実施された。

母動物では 100 mg/kg 体重/日以上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 100 mg/kg 体重/日以上投与群で骨化遅延及び骨格変異 (300 mg/kg 体重/日投与群における第 13 肋骨短縮、第 1 中足骨未骨化、前肢第 5 指と後肢第 2～5 趾の基節骨未骨化、100 mg/kg 体重/日投与群における亜鈴型頸椎椎体骨化核の増加) 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 30 mg/kg 体重/日であると考えら

れた。(参照 4、13)

(3) 発生毒性試験 (ラット：追加試験)

先に実施した発生毒性試験[13. (2)]において、全投与群で頸椎椎体骨化核分離が認められたため、SD ラット (一群雌 15 匹) の妊娠 6～15 日に強制経口 (原体：0、3 及び 30 mg/kg 体重/日、溶媒：0.5%CMC 水溶液) 投与し、骨格所見の確認のための追加試験が実施された。

母動物及び胎児で、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、母動物及び胎児で本試験の最高用量 30 mg/kg 体重/日であると考えられた。催奇形性は認められず、ラットを用いた発生毒性試験[13. (2)]で認められた頸椎椎体骨化核分離は、検体投与による骨化異常及び骨化遅延に関連した変化ではないと考えられた。(参照 13)

(4) 発生毒性試験 (ウサギ)

ロシアンウサギ (一群雌 20 匹) の妊娠 7～19 日に強制経口 (原体：0、10、75 及び 125 mg/kg 体重/日、溶媒：0.5%CMC 水溶液) 投与し、発生毒性試験が実施された。

母動物では、125 mg/kg 体重/日投与群で死亡が 2 例、流産が 1 例及び腹あたり平均胎児数減少が、75 mg/kg 体重/日以上投与群で体重増加抑制、摂餌量減少及び初期胚吸収の増加が認められた。

胎児では、125 mg/kg 体重/日投与群で前肢位置異常、胸骨分節癒合並びに第 1 中手骨、距骨及び前肢第 5 指中節骨の骨化遅延及び尾椎椎体過剰骨化核の発生増加が、75 mg/kg 体重/日以上投与群で恥骨低形成及び過剰肋骨が認められた。

本試験における無毒性量は、母動物及び胎児で 10 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 4、5、7、13)

1 4. 遺伝毒性試験

ピメトロジンの細菌を用いた復帰突然変異試験、チャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 由来培養細胞を用いた染色体異常試験、ラット肝細胞を用いた UDS 試験、マウスを用いた小核試験が実施された。

結果は表 27 に示されており、すべて陰性であったことから、ピメトロジンに遺伝毒性はないものと考えられた。(参照 13)

表 27 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	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)	313~5,000 µg/プレート (+/-S9)	陰性
	染色体異常試験 チャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 由来細胞	82.5~330 µg/mL (+/-S9)	陰性
	UDS 試験 ラット肝初代培養細胞	2.78~300 µg/mL	陰性
in vivo	小核試験 Tif: MAGf マウス (骨髓細胞) (一群雌雄各 8 匹)	①4,000 mg/kg 体重 (単回経口投与) (処理 16、24 及び 48 時間後にと殺) ②1,000、2,000、4,000 mg/kg 体重 (単回経口投与) (処理 24 時間後にと殺)	陰性

注) +/-S9: 代謝活性化系存在下及び非存在下

分解物 P 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 28 に示されており、試験結果は陰性であった。(参照 13)

表 28 遺伝毒性試験概要 (分解物 P)

試験	対象	処理濃度	結果
復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98, TA100, TA102, TA1535, TA1537 株) <i>E. coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)	313~5,000 µg/プレート (+/-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) 肝薬物代謝酵素誘導試験 (ラット)

ラットを用いた 90 日間亜急性毒性試験[11. (1)]又は 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験[12. (2)]において、肝細胞肥大、肝腫瘍等が認められたので、ピメトロジンの肝への影響を明らかにするために、SD ラット (一群雌 5 匹) にピメトロジンを 14 日間混餌 (原体: 0、20、100、1,000 及び 3,000 ppm) 投与し、肝薬物代謝酵素誘導試験が実施された。対照群及び 3,000 ppm 投与群は、別に 1 群ずつ設け、14 日間混餌投与後、28 日間の回復期間が置かれた。

3,000 ppm 投与群で体重増加抑制、摂餌量減少、肝比重量増加及び GST 活性増加が、1,000 ppm 以上投与群で UDPGT 活性増加が認められた。3,000 ppm 投与群における EROD 活性及び PROD 活性は、それぞれ対照群に対し約 3.5 及び 2.6 倍の増加が認められた。CYP1A2 は対照群に対し約 5.2 倍の増加であった。

また、電子顕微鏡による観察において、3,000 ppm 投与群の肝細胞に、滑面小胞

体の中等度の増殖が認められた。(参照 13)

(2) 甲状腺刺激ホルモン及び甲状腺ホルモンに対する影響(ラット)

ラットを用いた2年間慢性毒性/発がん性併合試験[12. (2)]において、雌雄で甲状腺ろ胞上皮過形成が認められたので、SD ラット(一群雌5匹)にピメトロジンを混餌投与し、甲状腺刺激ホルモン(TSH)及び甲状腺ホルモン(T_3 、 T_4 及び rT_3)の濃度への影響が検討された。

試験群ごとの試験条件は表29に示されている。

表29 試験群及び試験条件

群	投与量(ppm)	投与期間(日)	回復期間(日)
A	0, 3,000	4	—
B	0, 20, 100, 1,000, 3,000	14	—
C	0, 20, 100, 1,000, 3,000	42	—
D	0, 3,000	14	28

—: 回復期間なし

3,000 ppm 投与群で摂餌量減少及び肝比重量増加が、1,000 ppm 以上投与群で体重増加抑制が認められた。

TSH は、A 群の 3,000 ppm 投与群において、統計学的有意差はないものの、増加が認められた。また、B 群の 1,000 ppm 以上投与群では統計学的に有意な増加が認められた。しかし、C 及び D 群では対照群と同等であった。

T_3 、 T_4 及び rT_3 は、C 群の 1,000 ppm 以上投与群で T_3 の有意な増加が認められた他は、いずれの投与群でも対照群と同等であった。また、1,000 ppm (72.1 mg/kg 体重/日) 以上投与群で体重増加抑制が認められた。(参照 7、13)

(3) 肝薬物代謝酵素誘導試験(マウス)

マウスを用いた18カ月間発がん性試験[12. (3)]において、肝細胞肥大、肝腫瘍等が認められたので、ピメトロジンの肝への影響を明らかにするために、Tif:MAGF マウス(一群雄6匹)にピメトロジンを14日間混餌(原体: 0、10、100、500、2,000 及び 5,000 ppm) 投与し、肝薬物代謝酵素誘導試験が実施された。対照群及び 5,000 ppm 投与群は、別に1群ずつ設け、14日間混餌投与後、28日間の回復期間が置かれた。

5,000 ppm 投与群で、体重増加抑制、摂餌量減少、肝絶対重量増加並びに GST 活性及びラウリン酸 11-ヒドロキシラーゼ活性増加が、2,000 ppm 以上投与群で肝比重量増加、CYP、CYP1A2、EROD 活性及び1-ナフトール UDPGT 活性増加並びに CYP3A タンパク誘導が認められた。

また、電子顕微鏡による観察において、5,000 ppm 投与群の肝細胞に、滑面小胞

体に中等度の増殖及びグリコーゲン顆粒の沈着が認められた。(参照 7、13)

(4) 肝臓及び甲状腺中期発がん性試験(ラット)

ピメトロジンの発がん促進作用の有無を検討するために、Fischer ラット(一群雄 8~16 匹)にイニシエーション物質を投与⁵した後、ピメトロジンを混餌(原体: 0、25、50、100 及び 1,000 ppm)投与し、20 週間の発がん性試験が実施された。また、同様にイニシエーション物質を投与した後、PB を混餌(500 ppm)投与した群、イニシエーション物質を投与せず、ピメトロジン(原体: 0 及び 1,000 ppm)又は PB (500 ppm)を混餌投与した群が設けられた。

各投与群で認められた毒性所見は表 30 に示されている。

死亡例はなく、体重及び摂餌量にピメトロジン投与の影響は認められなかった。

肝 GST-P 陽性細胞巢は、イニシエーション処置群の全群(対照群を含む)で認められたが、ピメトロジン投与群では、GST-P 陽性細胞数及び陽性細胞巢面積は対照群と同等であった。

以上の結果、本実験条件下では、ピメトロジンはラットの肝臓に対し、発がん促進作用を示さなかったが、投与量が低かった可能性が示唆された。甲状腺に対しては、弱い発がん促進作用を有すると考えられた。(参照 7、13)

表 30 肝及び甲状腺中期発がん性試験(ラット)で認められた毒性所見

投与群	イニシエーション処置群		イニシエーション非処置群	
	ピメトロジン	PB	ピメトロジン	PB
1,000 ppm (PB : 500 ppm)	・肝絶対重量増加 ・甲状腺ろ胞上皮過形成	・肝絶対及び比重量増加 ・肝 GST-P 陽性細胞増加	・肝絶対及び比重量増加	・体重増加 ・肝絶対及び比重量増加
100 ppm 以上	・肝比重量増加 ・甲状腺ろ胞上皮腺腫(100 ppm でのみ有意に増加)			
50 ppm 以下	毒性所見なし			

斜線: 試験実施せず

(5) 精巣に対する影響(ラット)

ラットを用いた 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験[12. (2)]において、毒性所見と認められなかったものの精巣比重量増加、精細管萎縮の減少及びライディッヒ細胞過形成増加が認められたので、ピメトロジンの精巣への影響を明らかにするために、SD ラット(一群雄 6 匹)にピメトロジンを 4 週間混餌(原体: 0、100、1,000、3,000

⁵ DEN を 100 mg/kg 体重で腹腔内投与し、また、DHPN を 0.1%で飲料水に混ぜ、2 週間飲水投与した。

及び 5,000 ppm) 投与し、血中ホルモン濃度及び精巣に対する影響が検討された。

5,000 ppm 投与群で血中テストステロン、DHT 及び LH 減少、 T_4 増加並びに肝の暗調化が、3,000 ppm 以上投与群で体重増加抑制、摂餌量及び食餌効率減少、肝比重量増加並びに小葉中心性肝細胞肥大が認められた。

精子形成サイクル・ステージⅦを示す精細管における各精細胞の数を測定したところ、5,000 ppm 投与群でプレレプトテン期精母細胞数及びパキテン期精母細胞数の減少が認められた。

本試験において、3,000 ppm (163 mg/kg 体重/日) 以上投与群で体重増加抑制等が認められた。精巣に対する影響としては、5,000 ppm (255 mg/kg 体重/日) 投与群で LH 減少を伴うテストステロン及び DHT の減少等が認められた。(参照 7、13)

(6) 精巣及び甲状腺に対する影響 (イヌ)

イヌを用いた 90 日間亜急性毒性試験[11. (2)]において、精巣絶対重量減少、精細管萎縮等が認められたので、ピメトロジンの精巣への影響を明らかにするために、ビーグル犬 (一群雄 6 匹) にピメトロジンを 4 週間混餌 (原体 : 0、100、500 及び 2,000 ppm) 投与し、精巣に対する影響が検討された。また、ラットにおける肝薬物代謝酵素誘導並びに TSH 及び甲状腺ホルモンに対する影響と比較するために、イヌにおける肝薬物代謝酵素誘導及び甲状腺への影響も検討された。

2,000 ppm 投与群で ALP 増加、肝絶対及び比重量増加、UDPGT 活性増加、肝炎症性細胞浸潤、精巣巨細胞形成、精巣上体精子減少並びに変性造精細胞増加が認められた。

2,000 ppm 投与群では、DHT が検出限界値に近い値を示した個体が 5 例認められ、検体投与の影響と考えられた。

本試験において、2,000 ppm (61.0 mg/kg 体重/日) 投与群において DHT 減少及び精巣巨細胞形成等が認められた。甲状腺に対する影響は最高用量である 2,000 ppm (61.0 mg/kg 体重/日) でも認められなかった。(参照 13)