

	<ul style="list-style-type: none"> ・肺の泡沫肺胞マクロファージ増加 ・小葉中心性肝細胞肥大 ・腎皮質尿管好塩基性化 ・脾の髄外造血増加[§] 	<ul style="list-style-type: none"> ・肺の泡沫肺胞マクロファージ増加 ・小葉中心性肝細胞肥大 ・腎皮質尿管好塩基性化、髄質鉍質沈着 ・脾へモジデリン沈着増加[§]
2,000 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

§：有意差はないが毒性所見と判断した。

(2) 90日間亜急性毒性試験（イヌ）①

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、20、100及び500/300 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。高用量群では痙攣、散瞳、黄疸等の症状が認められ状態が悪化した（投与5日目に雄1例が切迫と殺）ため、投与11日目から用量を300 mg/kg 体重/日に減じ、一部の動物（雄3例及び雌2例）には休薬期間が設けられた。

各投与群で認められた毒性所見は表22に示されている。

本試験において、100 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で肝臓の炎症性細胞巣等の所見が認められたので、無毒性量は20 mg/kg 体重/日であると考えられた。（参照28）

表22 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
500/300 mg/kg 体重/日*	<ul style="list-style-type: none"> ・切迫と殺（全例）** ・体重増加抑制 ・摂餌量減少 ・Ht、Hb及びRBC減少 ・網状赤血球数及びMCV増加 ・Neu及びWBC増加、PLT減少、APTT短縮 ・肝の炎症性細胞巣（全例） 	<ul style="list-style-type: none"> ・切迫と殺（1例）** ・体重増加抑制 ・摂餌量減少 ・Ht、Hb、及びRBC減少 ・網状赤血球数及びMCV増加、赤血球大小不同症、大赤血球症 ・Neu及びWBC増加、PLT減少、APTT短縮 ・Alb、及びA/G比低下 ・ナトリウム及び塩素低下 ・肝の炎症性細胞巣（1例）
100 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> ・肝比重量²及び補正重量³増加 ・肝の炎症性細胞巣（1例） 	<ul style="list-style-type: none"> ・肝の炎症性細胞巣（1例）
20 mg/kg 体重/日	毒性所見なし	毒性所見なし

*：投与11日目より300 mg/kg 体重/日に変更。従って500/300 mg/kg 体重/日投与群の毒性所見は、当該用量のみの所見を示した。

**：状態の悪化により投与5~45日に切迫と殺された。

²体重比重量のことを比重量という（以下同じ）

³最終体重を基に補正された重量を補正重量という（以下同じ）

(3) 90日間亜急性毒性試験 (イヌ) ②

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、30、85 及び 250 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 23 に示されている。

本試験において、85 mg/kg 体重/日以上投与群の雄で肝臓の炎症性細胞巣、雌で肝及び脾臓の髓外造血が認められたので、無毒性量は雌雄ともに 30 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 29)

表 23 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
250 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> ・ 摂餌量減少[§] ・ 体重増加抑制 ・ Alb、及び A/G 比低下 ・ カルシウム低下 ・ 肝腫大 (2 例) ・ 肝炎症性細胞巣 (2 例) ・ 甲状腺ろ胞上皮細胞肥大 (3 例) 	<ul style="list-style-type: none"> ・ Ht、Hb、及び RBC 減少 ・ 尿比重及び尿たんぱく質低下 ・ 甲状腺ろ胞上皮細胞肥大 (2 例)
85 mg/kg 体重/日以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ T.Chol 低下 ・ 肝炎症性細胞巣 (1 例) 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 摂餌量減少[§] ・ 体重増加抑制 ・ T.Chol、Alb、及び A/G 比低下 ・ 肝腫大 (各群 1 例) ・ 肝及び脾の髓外造血 (各群 1 例)
30 mg/kg 体重/日	毒性所見なし	毒性所見なし

§ : 有意差はないが毒性所見と判断した。

(4) 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、2,000、4,500 及び 10,000 ppm : 平均検体摂取量は表 24 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 24 ラット 90 日間亜急性神経試験の平均検体摂取量

投与群 (ppm)		2,000	4,500	10,000
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	136	308	692
	雌	153	365	775

FOB、肉眼的病理検査及び病理組織学的検査において検体投与に関する所見は認められなかった。

本試験において、4,500 ppm 以上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無毒性量は雌雄ともに 2,000 ppm (雄 136 mg/kg 体重/日、雌

153 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 30)

(5) 21 日間亜急性経皮毒性試験 (ラット)

SD ラット(一群雌雄各 6 匹)を用いた経皮(原体:0、100、300 及び 1,000 mg/kg/日) 投与による 21 日間亜急性経皮毒性試験が実施された。

投与の影響による毒性は見られなかったことから無毒性量は雌雄ともに本試験の最高用量 1,000 mg/kg/日であると判断された。(参照 31)

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、50、125 及び 250 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。250 mg/kg 体重投与群の雄では発熱、食欲不振、削瘦等の一般状態の悪化により投与 4~14 週に切迫と殺され、残りの生存個体は動物愛護の観点から試験継続の意義がないと判断され、投与 15 週に途中と殺された。

各投与群で認められた毒性所見は表 25 に示されている。

本試験において、50 mg/kg 体重/日以上投与群の雄でカルシウムの低下、雌で胆嚢嚢胞性過形成 (Cystic Hyperplasia) が認められたので、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 32、54)

表 25 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
250 mg/kg 体重/日	・切迫又は途中と殺 (全例) *	・切迫と殺 1 例 ・PLT の増加 ・ALT [§] 、AST 及び CK [§] 増加 ・尿比重低下 ・肝肥大
125 mg/kg 体重/日以上	・切迫と殺 1 例 (125 mg/kg 体重/日) ・ALP 増加、Alb、及び A/G 比の低下	・体重増加抑制 ・ALP 増加 [§] 及びカルシウム低下 ・肝及び腎の補正及び比重量増加
50 mg/kg 体重/日以上	・切迫と殺 1 例 (50 mg/kg 体重/日) ・カルシウム低下	・胆嚢嚢胞性過形成
10 mg/kg 体重/日	毒性所見なし	毒性所見なし

* : 投与 15 週までに全例が切迫と殺又は途中と殺された。

§ : 有意差はないが毒性所見と判断した。

(2) 1 年間慢性毒性/2 年間発がん性併合試験 (ラット)

Wistar ラット (慢性毒性群 : 一群雌雄各 20 匹 ; 52 週間暴露、発がん性群 :

一群雌雄各 50 匹；104 週間暴露）を用いた混餌（原体：0、50、150（慢性毒性群のみ）、1,500、7,500（発がん性群のみ）、15,000 ppm：平均検体摂取量は表 26 参照）投与による 1 年間慢性毒性/2 年間発がん性併合試験が実施された。

表 26 1 年間慢性毒性試験/2 年間発がん性併合試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群 (ppm)		50	150	1,500	7,500	15,000	
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	慢性毒性群 (1-52 週)	雄	2.75	8.13	82.7	-	874
		雌	3.60	10.4	106	-	1,070
	発がん性群 (1-104 週)	雄	2.29	-	68.9	362	755
		雌	3.10	-	94.2	488	963

-：該当なし

各投与群で認められた慢性毒性群の毒性所見は表 27 に、発がん性群の毒性所見は表 28 及び表 29 に示されている。

発がん性群では 15,000 ppm 投与群の雌で子宮内膜腺癌（6/50 例）が有意に増加した。

本試験において慢性毒性試験の 150 ppm 以上投与群の雄で泡沫肺胞マクロファージの増加が、雌で尿量低下及び比重増加が認められたので、無毒性量は雌雄ともに 50 ppm（雄 2.75 mg/kg 体重/日、雌 3.60 mg/kg 体重/日）と考えられた。（参照 33）

表 27 1 年間慢性毒性試験（ラット）で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
15,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・摂餌量減少 ・Hb、Ht、RBC、MCH、MCHC 増加、網状赤血球数減少 ・Lym、Baso、大型非染色球数及び WBC 増加 ・ALT、AST、Ure、Cre、無機リン及び A/G 比増加、Glu、T. Chol 及び TP 低下 ・尿量低下、比重増加 ・小葉中心性肝細胞肥大 ・門脈域炎症 ・脾・髓外造血亢進 ・脾へモジデリン沈着 ・腸間膜リンパ節・洞赤血球増加/赤血球貪食 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・摂餌量減少 ・Hb、MCHC 増加、網状赤血球数及び PLT 減少 ・Lym、Baso、Neu、Mon 及び WBC 増加 ・ALT、AST、Cre、カリウムの増加、T.Chol、TG、TP、Alb の低下 ・尿蛋白増加 ・小葉中心性肝細胞肥大 ・門脈域炎症 ・胆管過形成 ・尿細管色素沈着 ・肝マクロファージ色素沈着 ・脾へモジデリン沈着
1,500 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・TG 低下 	<ul style="list-style-type: none"> ・APTT 延長 ・カルシウム低下 ・尿 pH 増加
150 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・泡沫肺胞マクロファージ増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・尿量低下及び比重増加

50 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし
--------	--------	--------

表 28 2年間発がん性試験（ラット）で認められた毒性所見
（非腫瘍性病変）

投与群	雄	雌
15,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ Lym 増加 ・ 胆管過形成 ・ 肝マクロファージ色素沈着 ・ 網膜外顆粒層消失 ・ 脂肪組織・空胞大小不同[§] 	<ul style="list-style-type: none"> ・ Lym 増加 ・ 泡沫肺胞マクロファージ増加 ・ 胆管のう胞 ・ 胆管過形成 ・ 脾へモジデリン沈着 ・ 腸間膜リンパ節・洞赤血球増加/ 赤血球貪食 ・ 卵巣セルトリ細胞様・間質過形成 ・ 脂肪組織・褐色脂肪集簇[§]
7,500 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ 摂餌量減少 ・ 小葉中心性肝細胞肥大 ・ 門脈域炎症 ・ 脾へモジデリン沈着 ・ 坐骨神経線維変性 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ 摂餌量減少 ・ 門脈域炎症 ・ 肝マクロファージ色素沈着 ・ 尿細管色素沈着 ・ 下顎リンパ節へモジデリン沈着 ・ 脂肪組織空胞大小不同[§] ・ 坐骨神経線維変性 ・ 卵巣嚢胞
1,500 ppm 以上	1,500 ppm 以下毒性所見なし	
50 ppm	毒性所見なし	

§：有意差はなかったが投与の影響と判断した。

表 29 子宮内膜腺腫及び子宮内膜腺癌の発生頻度

投与量 (ppm)	0	50	1,500	7,500	15,000
検査動物数 (全動物)	50	50	50	50	50
子宮内膜腺腫	0	2	0	0	0
子宮内膜腺癌	0	2	1	1	6**

Peto 検定：*：p<0.05

Fisher 検定：#：p<0.05

(3) 18 か月間発がん性試験（マウス）

ICR マウス（一群雌雄各 51 匹）を用いた混餌（原体：0、80、800、4,000 及び 8,000 ppm：平均検体摂取量は表 30 参照）投与による 18 か月間発がん性試験が実施された。

表 30 マウス 18 か月間発がん性試験の平均検体摂取量

投与群 (ppm)		80	800	4,000	8,000
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	9.89	89.1	475	948
	雌	11.5	104	564	1,170

各投与群で認められた毒性所見は表 31 に示されている。

本試験において、800 ppm 投与群の雄で小葉中心性肝細胞肥大等、雌で肝マクロファージ内色素沈着が認められたので、無毒性量は雌雄とも 80 ppm (雄 : 9.89 mg/kg 体重/日、雌 : 11.5 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 34)

表 31 マウス 18 か月間発がん性試験で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
8,000 ppm	・肝絶対及び比重量増加	
4,000 ppm 以上	・体重増加抑制 ・肝マクロファージ色素沈着	・肝絶対及び比重量増加 ・小葉中心性肝細胞肥大
800 ppm 以上	・小葉中心性肝細胞肥大、肝細胞空胞化	・肝マクロファージ色素沈着 [§]
80 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

§ : 4,000 ppm 投与群で有意差はなかったが投与の影響と判断した。

12. 生殖発生毒性試験

(1) 2世代繁殖試験(ラット)

Wistar ラット (P 世代 : 一群雌雄各 28 匹、F₁ 及び F₂ 世代 : 一群雌雄各 24 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、150、500、1,500 及び 3,000 ppm : 平均検体摂取量は表 32 参照) 投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

表 32 2 世代繁殖試験 (ラット) の平均検体摂取量

投与群 (ppm)			150	500	1,500	3,000
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	P 世代	雄	11	37	112	223
		雌	12	42	128	247
	F ₁ 世代	雄	14	47	141	287
		雌	15	49	145	300

* : F₂ 世代は性成熟まで

各投与群で認められた毒性所見は表 33 に示されている。

500 ppm 以上投与群の F₁ 雌及び 1,500 ppm 以上投与群の F₂ 雌において、膈開口の早期化が認められた。500 ppm 以上投与群の F₁ 雌の変化は、F₂ 雌で同様の変化がなく世代間で再現性を欠くことと、F₁ 及び F₂ 世代開口日が背景データ (32~35 日) の範囲内であったことから、検体投与の影響ではないと考えられ

た。

3,000 ppm 投与群 F₁ 雄及び F₂ 雌で、生後 1 日の肛門・生殖結節間距離に僅かな影響 (F₁ 雄：延長、F₂ 雌：短縮) が認められたが、各世代では片性の影響であり、また世代間で再現性を欠くことから、投与による影響とは考えられなかった。

本試験において、親動物では 500 ppm 以上投与群の雄で肝絶対及び比重量増加、1,500 ppm 投与群の雌で体重増加抑制が認められ、児動物では 3,000 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、親動物の雄で 150 ppm (P 雄：11 mg/kg 体重/日、F₁ 雄：14 mg/kg 体重/日)、雌で 500 ppm (P 雌：42 mg/kg 体重/日、F₁ 雌：49 mg/kg 体重/日) であり、児動物の雌雄で 1,500 ppm (P 雄：112 mg/kg 体重/日、P 雌：128 mg/kg 体重/日、F₁ 雄：141 mg/kg 体重/日、F₁ 雌：145 mg/kg 体重/日) であると判断された。繁殖能に対する影響は認められなかった。(参照 35)

(膈開口の早期化に関するメカニズム試験は[14. (1)～(6)]参照)

表 33 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	3,000 ppm		・体重増加抑制	・子宮 (卵管を含む) 絶対及び比重量増加
	1,500 ppm 以上	・体重増加抑制	・体重増加抑制	1,500 ppm 以下で毒性所見なし
	500 ppm 以上	・肝絶対及び比重量増加	500 ppm 以下毒性所見なし	500 ppm 以下毒性所見なし
	150 ppm	毒性所見なし		
児動物	3,000 ppm	・体重増加抑制		・体重増加抑制
	1,500 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 22 匹) の妊娠 6～19 日に強制経口 (原体：0、100、300 及び 1,000 mg/kg 体重/日、溶媒：1%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 300 mg/kg 体重/日以上投与群において体重増加量、摂餌量の減少、1,000 mg/kg 体重/日投与群において体重増加量、摂餌量、子宮重量及び胎盤重量の減少が認められた。胎児では 300 mg/kg 体重/日群で体重低下傾向 (有意差なし) と、低体重に関連した骨化への影響 (骨格変異、骨化遅延) が認められた。1,000 mg/kg 体重/日投与群では低体重、皮膚の光沢、内臓変異、骨格変異、骨化

遅延の発現増加が認められた。同群では少数例の胎児で心臓・大動脈の異常（心臓異常回転、右大動脈弓、心室中隔欠損）、頸肋の発生頻度増加、肋骨の肥厚・結節及び骨化遅延（頭蓋骨、胸椎、胸骨分節等）が認められ、検体投与の影響と推察された。本試験における無毒性量は、親動物及び胎児ともに 100 mg/kg 体重/日と考えられた。（参照 36）

（3）発生毒性試験（ウサギ）

NZW ウサギ（一群雌 24 匹）の妊娠 6～28 日に強制経口（原体：0、20、40、80 及び 160 mg/kg 体重/日、溶媒：1%MC 水溶液）投与して発生毒性試験が実施された。

本試験において、母動物では 160 mg/kg 体重/日投与群で飲水量及び排糞量の減少、体重及び摂餌量の減少並びに流産及び早産（妊娠後期）が認められ、胎児では投与に関連した毒性は認められなかったため、無毒性量は母動物で 80 mg/kg 体重/日、胎児で本試験の最高用量 160 mg/kg 体重/日であると判断された。催奇形性は認められなかった。（参照 37）

13. 遺伝毒性試験

（1）遺伝毒性試験（原体）

メタゾスルフロン原体の、細菌を用いた復帰突然変異試験、ヒトリンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験、マウスの骨髄細胞を用いた小核試験及びラットを用いた肝臓及び子宮におけるコメットアッセイが実施された。結果は表 34 に示されておりすべて陰性であったことからメタゾスルフロンに遺伝毒性はないと考えられた。（参照 38～41）

表 34 遺伝毒性試験結果概要（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)	5～5,000 µg/プレート (+/-S 9)	陰性
	染色体異常試験	ヒトリンパ球	560-4,760 µg/ml	陰性
<i>in vivo</i>	小核試験	ICR マウス骨髄細胞 (一群雄 6 匹)	0、500、1,000 及び 2,000 mg/kg 体重 (2 回強制経口投与)	陰性
	コメットアッセイ	ラット：肝臓及び子宮 (一群雌 5 匹)	0、500、1,000 及び 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

(2) 遺伝毒性試験（代謝物及び原体混在物）

メタゾスルフロンの代謝物及び原体混在物を用いた遺伝毒性試験が実施された。結果は表 35 に示されておりすべて陰性であったことからメタゾスルフロンの代謝物及び原体混在物に遺伝毒性はないと考えられた。（参照 42～46）

表 35 遺伝毒性試験結果概要（代謝物及び原体混在物）

試験		対象	処理濃度・投与量	結果
<i>in vitro</i>	原体混在物 H	復帰突然変異試験 <i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、 TA1535、TA1537 株) <i>E. coli</i> (WP2uvrA 株)	5～5,000 µg/プレート (+/-S9)	陰性
	代謝物 K	復帰突然変異試験 <i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、 TA1535、TA1537 株) <i>E. coli</i> (WP2uvrA 株)	5～5,000 µg/プレート (+/-S9)	陰性
	代謝物 Q	復帰突然変異試験 <i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、 TA1535、TA1537 株) <i>E. coli</i> (WP2uvrA 株)	313～5,000 µg/プレート (+/-S9)	陰性
<i>in vivo</i>	原体混在物 H	小核試験 ICR マウス骨髄細胞 (一群雄 6 匹)	0、500、1,000、2,000 mg/kg 体重 (2 回強制経口投与)	陰性
	代謝物 K	小核試験 ICR マウス骨髄細胞 (一群雄 6 匹)	0、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

1.4. その他の試験

ラットを用いた 2 世代繁殖試験において、F₁ 及び F₂ 雌動物で膈開口の早期化が認められたため、機序確認を目的として以下の試験が実施された。

(1) エストロゲン受容体結合能試験

in vitro におけるヒト由来エストロゲン受容体 α (ER α) 及び β (ER β) への結

合能の有無を確認する目的で、メタゾスルフロンを 2.88、8.65、25.9、77.8、233、700 及び 2,100 μM (DMSO 溶液) で処理し、試験が実施された。

本試験において、本剤はいずれの用量においても ER α 及び β への結合能を示さず、*in vitro*においてエストロゲン受容体への結合能を有しないものと考えられた。(参照 47)

(2) ラットを用いた子宮肥大試験 (エストロゲン作用)

エストロゲン作用の有無を確認する目的で、Wistar Hannover GALAS (一群雌 6 匹 (卵巣摘出成熟動物)) に 3 日間強制経口 (原体: 0、300 及び 1,000 mg/kg 体重/日) 投与し、試験が実施された。

本試験において、子宮及び膣の検査項目に著変は認められず、エストロゲン作用はないと考えられた。(参照 48)

(3) ラットを用いた子宮肥大試験 (抗エストロゲン作用)

抗エストロゲン作用の有無を確認する目的で、Wistar Hannover GALAS (一群雌 6 匹 (卵巣摘出成熟動物)) に 3 日間強制経口 (原体: 0、100、300 及び 1,000 mg/kg 体重/日) 投与後、エチニルエストラジオールを 0.6 mg/kg 体重/日で 3 日間皮下投与し、試験が実施された。

本試験において、子宮及び膣の検査項目に抑制作用は認められず、抗エストロゲン作用はないと考えられた。(参照 49)

(4) ラットを用いたハーシュバーガー試験 (アンドロゲン作用)

アンドロゲン作用の有無を確認する目的で、Wistar Hannover GALAS (一群雄 6 匹 (精巣及び精巣上体摘出成熟動物)) に 10 日間強制経口 (原体: 0、300 及び 1,000 mg/kg 体重/日) 投与し、試験が実施された。

本試験において、いずれの副生殖腺にも検体投与の影響は認められず、アンドロゲン作用はないと考えられた。(参照 50)

(5) ラットを用いたハーシュバーガー試験 (抗アンドロゲン作用)

抗アンドロゲン作用の有無を確認する目的で、Wistar Hannover GALAS (一群雄 6 匹 (精巣及び精巣上体摘出成熟動物)) に 10 日間強制経口 (原体: 0、300 及び 1,000 mg/kg 体重/日) 投与後、テストステロンプロピオネートを 0.4 mg/kg 体重/日で 10 日間皮下投与し、試験が実施された。

本試験において、いずれの副生殖腺にも検体投与の影響は認められず、抗アンドロゲン作用はないと考えられた。(参照 51)

(6) ラットを用いた 28 日間反復投与によるホルモン測定試験

性ホルモンへの影響の有無を確認する目的で、Wistar Hannover GALAS ラッ

ト（一群雌 10 匹）を用いた混餌（原体：0、150 及び 3,000 ppm：平均検体摂取量は 0、14.0、267 mg/kg 体重/日）投与試験が実施された。

本試験において、エストラジオール、プロゲステロン、FSH、LH、プロラクチンに対する影響は認められなかった。（参照 52）

以上より、ラット 2 世代繁殖試験において雌で膣開口早期化が認められたが、雌雄動物に繁殖への影響は認められないこと、また本剤に直接的性ホルモン様作用、ホルモンに対する影響は認められなかった。これらのことから、膣開口早期化については毒性学的意義は低いと判断された。

Ⅲ. 食品健康影響評価

参照に挙げた資料を用いて農薬「メタゾスルフロン」の食品健康影響評価を実施した。

^{14}C で標識したメタゾスルフロンのラットを用いた動物体内運命試験の結果、経口投与されたメタゾスルフロンの投与後 48 時間における吸収率は 83~95%、低用量では血中放射能濃度の T_{\max} は 1 時間、 $T_{1/2}$ は 2.2~6.9 時間であった。 T_{\max} 以降、臓器及び組織中残留放射能濃度は経時的に減少し、残留傾向は認められなかった。排泄は速やかであり、投与後 120 時間で 95%TAR 以上が尿糞中へ排泄された。尿中の主要代謝物は用量にかかわらず雌雄に顕著に差がみられ、雌では親化合物及び水酸化体 B が主であったが、雄では低用量では親化合物はほとんど見られず B が主要代謝物であり、ほかに脱メチル体 D が認められた。糞中代謝物は雌雄間に差はなく、低用量では主に J 及び O が認められ親化合物はほとんど見られなかった一方、高用量では J 及び O は認められなかった。尿糞中ともに高用量での親化合物は低用量に比べて顕著に多かった。

^{14}C で標識したメタゾスルフロンのイヌを用いた動物体内運命試験の結果、経口投与されたメタゾスルフロンの吸収率は約 90%と推測された。血中放射能濃度の T_{\max} は 1~2 時間、 $T_{1/2}$ は 4.6~6.4 時間であった。特定の臓器及び組織への残留傾向は認められず、排泄は速やかであり、投与後 120 時間で 91%TAR 以上が尿糞中へ排泄された。尿及び血漿中の主要化合物は親化合物、糞中では親化合物及び B であった。

^{14}C で標識したメタゾスルフロンの稲を用いた植物体内運命試験の結果、田面水処理されたメタゾスルフロンの大部分はわらに留まり、玄米中への移行は僅かであった。親化合物はどの試料からも検出されず、主要代謝物は K (10.4~36.1%TRR) であった。

メタゾスルフロン及び代謝物 K を分析対象化合物とした水稻における作物残留試験の結果、玄米中のメタゾスルフロン及び代謝物の残留値はいずれも定量限界未満であった。

各種毒性試験結果から、メタゾスルフロン投与による影響は、主に体重（増加抑制）、血液（貧血）及び肝臓（肝細胞肥大等）に認められた。神経毒性、繁殖能に対する影響及び遺伝毒性は認められなかった。ラット発生毒性試験において、母動物に毒性の認められる用量で胎児体重低下、骨格変異、骨化遅延の発生頻度増加等が認められたが、ウサギでは胎児に毒性所見は認められなかったことから、催奇形性はないと考えられた。

発がん性試験において、15,000 ppm 投与群の雌で子宮内膜腺癌（6/50 例）が有意に増加したが、遺伝毒性は認められなかったことから、その発生機序は遺伝毒性メカニズムによるものとは考え難く、評価に当たり閾値を設定することは可能であると考えられた。

各種試験結果から、農産物中の暴露評価対象物質をメタゾスルフロン（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 36 に示されている。

表 36 各試験における無毒性量及び最小毒性量

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	無毒性量 (mg/kg 体重/日)	最小毒性量 (mg/kg 体重/日)	備考
ラット	90 日間 亜急性 毒性試験	0、200、2,000、 10,000、20,000 ppm	雄：150 雌：165	雄：780 雌：932	雌雄：体重増加 抑制；肺・肝・ 脾・腎における 病理変化等
		雄：0、14.9、150、 780、1,596 雌：0、17.9、105、 932、1,950			
	90 日間 亜急性神 経毒性試 験	0、2,000、4,500、 10,000 ppm	雄：136 雌：153	雄：308 雌：365	雌雄：体重増加 抑制；摂餌量減 少 (神経毒性は認 められない)
		雄：0、136、308、 692 雌：0、153、365、 775			
	1 年間慢 性毒性/2 年間発が ん性併合 試験	(1 年間慢性毒性 試験群) 0、50、150、 1,500、15,000 ppm	(1 年間慢性毒性 試験群) 雄：2.75 雌：3.60	(1 年間慢性毒性 試験群) 雄：8.13 雌：10.4	(1 年間慢性毒 性試験群) 雄：肺の泡沫肺 胞マクロファ ージの増加 雌：尿量の低下 及び比重の増 加
		雄：0、2.75、8.13、 82.7、874 雌：0、3.60、10.4、 106、1,070			
		(2 年間発がん性 試験群) 0、50、1,500、 7,500、15,000 ppm	(2 年間発がん性 試験群) 雄：68.9 雌：3.10	(2 年間発がん性 試験群) 雄：362 雌：94.2	
	2 世代 繁殖試験	0、150、500、 1,500、3,000 ppm	親動物 P 雄：11 P 雌：42	親動物： P 雄：37 P 雌：128	親動物 雌雄：体重増加 抑制 児動物 雌雄：体重増加
		P 雄：0、11、37、 112、223	F ₁ 雄：14 F ₁ 雌：49	F ₁ 雄：47 F ₁ 雌：145	

		P 雌 : 0、12、42、128、247 F ₁ 雄 : 0、14、47、141、287 F ₁ 雌 : 0、15、49、145、300	児動物 P 雄 : 112 P 雌 : 128 F ₁ 雄 : 141 F ₁ 雌 : 145	児動物 P 雄 : 223 P 雌 : 247 F ₁ 雄 : 287 F ₁ 雌 : 300	抑制 (繁殖能に対する影響は認められない)
	発生毒性試験	0、100、300、1,000	母動物 : 100 胎児 : 100	母動物 : 300 胎児 : 300	母動物 : 体重増加量、摂餌量及び胎盤重量の減少 胎児 : 体重減少と骨格変異の増加及び骨化遅延
マウス	18 か月間発がん性試験	0、80、800、4,000、8,000 ppm 雄 : 0、9.89、89.1、475、948 雌 : 0、11.5、103.5、564、1,169	雄 : 9.89 雌 : 11.5	雄 : 89.1 雌 : 103.5	雌雄 : 肝臓の病理組織学的変化(小葉中心性の肝細胞肥大、空胞化並びにマクロファージ色素沈着の増加) (発がん性は認められない)
ウサギ	発生毒性試験	0、20、40、80、160	母動物 : 80 胎児 : 160	母動物 : 160 胎児 : -	母動物 : 飲水量及び排糞量の減少、体重及び摂餌量の減少並びに流産及び早産 胎児 : - (催奇形性は認められない)
イヌ	90 日間亜急性毒性試験 ①	0、20、100、500/300	雄 : 20 雌 : 20	雄 : 100 雌 : 100	雌雄 : 肝臓の炎症性細胞巣等
	90 日間亜急性毒性試験 ②	0、30、85、250	雄 : 30 雌 : 30	雄 : 85 雌 : 85	雌雄 : 肝機能障害性の生化学的所見、肝臓及び腎臓の重量増加等

1年間慢性毒性試験	0、10、50、125、250	雄：10 雌：10	雄：50 雌：50	雄：カルシウムの低下 雌：胆嚢嚢胞性過形成
-----------	-----------------	--------------	--------------	--------------------------

ー：最小毒性量は設定できなかった。

食品安全委員会は、各試験の無毒性量の最小値が、ラットを用いた1年間慢性毒性/2年間発がん性併合試験における2.75 mg/kg 体重/日であったことから、これを安全係数100で除した0.027 mg/kg 体重/日を一日摂取許容量(ADI)と設定した。

ADI	0.027 mg/kg 体重/日
(ADI 設定根拠資料)	慢性毒性/発がん性併合試験のうちの慢性毒性試験
(動物種)	ラット
(期間)	12か月
(投与方法)	経口投与(混餌)
(無毒性量)	2.75 mg/kg 体重/日
(安全係数)	100

<別紙 1 : 代謝物/分解物略称>

記号	略称	化学名
B	620-2	3-chloro- <i>N</i> (5-hydroxy-4,6-dimethoxypyrimidin-2-ylcarbamoyl)-1-methyl-4-(5-methyl-5,6-dihydro-1,4,2-dioxazin-3-yl)pyrazole-5-sulfonamide
C	620-3	3-chloro-5-(<i>N</i> (4,6-dimethoxypyrimidin-2-ylcarbamoyl)sulfamoyl)-1-methylpyrazole-4-carboxamide
D	620-4	3-chloro- <i>N</i> (4-hydroxy-6-methoxypyrimidin-2-ylcarbamoyl)-1-methyl-4-(5-methyl-5,6-dihydro-1,4,2-dioxazin-3-yl)pyrazole-5-sulfonamide
E	620-5	3-chloro- <i>N</i> (4,6-dihydroxypyrimidin-2-ylcarbamoyl)-1-methyl-4-(5-methyl-5,6-dihydro-1,4,2-dioxazin-3-yl)pyrazole-5-sulfonamide
F	620-8	<i>N</i> (3-chloro-1-methyl-4-(5-methyl-5,6-dihydro-1,4,2-dioxazin-3-yl)pyrazol-5-yl)-4,6-dimethoxypyrimidin-2-amine
G	620-10 (620-2-glucuronide)	3-chloro- <i>N</i> (5-glucronidyl-4,6-dimethoxypyrimidin-2-ylcarbamoyl)-1-methyl-4-(5-methyl-5,6-dihydro-1,4,2-dioxazin-3-yl)pyrazole-5-sulfonamide
I	620-22	1-hydroxypropan-2-yl 3-chloro-5-(<i>N</i> (4,6-dimethoxypyrimidin-2-ylcarbamoyl)sulfamoyl)-1-methylpyrazole-4-carboxylate
J	620-27	3-(<i>N</i> (3-chloro-1-methyl-4-(5-methyl-5,6-dihydro-1,4,2-dioxazin-3-yl)pyrazol-5-yl)sulfonylcarbamoyl)carbamimidoylimino)-3-methoxy-2-oxopropanoic acid
K	620Pz-1	(<i>RS</i>)-3-chloro-1-methyl-4-(5-methyl-5,6-dihydro-1,4,2-dioxazin-3-yl)pyrazole-5-sulfonamide
L	620Pz-5	3-(3-chloro-1-methylpyrazol-4-yl)-5-methyl-5,6-dihydro-1,4,2-dioxazine
M	620Pz-6	3-chloro-1-methyl-5-sulfamoylpyrazole-4-carboxamide
O	620Pz-12	<i>N</i> (carbamimidoylcarbamoyl)-3-chloro-1-methyl-4-(5-methyl-5,6-dihydro-1,4,2-dioxazin-3-yl)pyrazole-5-sulfonamide
P	620Pz-13	3-chloro-1-methyl-5-sulfamoylpyrazole-4-carboxylic acid
Q	620Pd-1	4,6-dimethoxypyrimidin-2-amine
原体混在物H	620-21	—

— : 該当せず

<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
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ [=グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT)]
APTT	活性化部分トロンボプラスチン時間
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ [=グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT)]
AUC	薬物濃度曲線下面積
Baso	好塩基球数
CK	クレアチンキナーゼ
C _{max}	最高濃度
Cre	クレアチニン
DMSO	ジメチルスルホキシド
Eos	好酸球数
ER	エストロゲン受容体
FOB	機能観察総合検査
FSH	卵胞刺激ホルモン
Glu	グルコース (血糖)
Hb	ヘモグロビン (血色素量)
Ht	ヘマトクリット値
LC ₅₀	半数致死濃度
LD ₅₀	半数致死量
LH	黄体形成ホルモン
Lym	リンパ球数
MC	メチルセルロース
MCH	平均赤血球血色素量
MCHC	平均赤血球血色素濃度
Mon	単球数
Neu	好中球数
PLT	血小板数
RBC	赤血球数
T _{1/2}	消失半減期
TAR	総投与 (処理) 放射能
T.Chol	総コレステロール
TG	トリグリセリド

略称	名称
T _{max}	最高濃度到達時間
TP	総蛋白質
TRR	総残留放射能
Ure	尿素

<別紙3：作物残留試験成績>

作物名 [栽培体系] (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)							
					メタゾスルフロン				代謝物 K			
					公的分析機 関		社内分析機 関		公的分析機 関		社内分析機 関	
					最高 値	平均 値	最高 値	平均 値	最高 値	平均 値	最高 値	平均 値
水稻 [露地] (玄米) 2008年度	1	100 ^G	2	81	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	1			103	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
水稻 [露地] (稲わら) 2008年度	1	100 ^G	2	81	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	1			103	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

注) G：粒剤

・すべてのデータが検出限界未満の場合は検出限界値の平均に<を付して記載した。

<参照>

- 1 農薬抄録 メタゾスルフロロン (除草剤) (2010年) : 日産化学工業㈱、未公表
- 2 ラット体内における代謝試験 (GLP 対応) : ハンティンドン・ライフサイエンス社、2009年、未公表
- 3 ラットにおける腸肝循環試験 : 日産化学工業㈱、2009年、未公表
- 4 イヌ体内における代謝試験 (GLP 対応) : ハンティンドン・ライフサイエンス社、2009年、未公表
- 5 水稲における代謝試験 (GLP 対応) : 日産化学工業㈱、2009年、未公表
- 6 水稲中代謝物の特徴付け : 日産化学工業㈱、2009年、未公表
- 7 好氣的湛水土壤中運命試験 (GLP 対応) : 日産化学工業㈱、2009年、未公表
- 8 土壤中未知分解物の同定 : 日産化学工業㈱、2009年、未公表
- 9 土壤中のメタゾスルフロロン及び650Pz-1のキラル分析 : 日産化学工業㈱、2009年、未公表 を追加
- 10 メタゾスルフロロンの土壌吸脱着試験 (GLP 対応) : ハンティンドン・ライフサイエンス社、2009年、未公表
- 11 分解物 K の土壌吸脱着試験 (GLP 対応) : ハンティンドン・ライフサイエンス社、2009年、未公表
- 12 加水分解運命試験 (GLP 対応) : 日産化学工業㈱、2009年、未公表
- 13 水中光分解運命試験 (GLP 対応) : 日産化学工業㈱、2009年、未公表
- 14 土壌残留試験成績 : 日産化学工業㈱、2008年、未公表
- 15 作物残留試験成績 : (財)残留農薬研究所/日産化学工業㈱、2008年、未公表
- 16 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、2008年、未公表
- 17 ラットを用いた急性経口毒性試験 (GLP 対応) : ハンティンドン・ライフサイエンス社、2008年、未公表
- 18 ラットを用いた急性経皮毒性試験 (GLP 対応) : ハンティンドン・ライフサイエンス社、2008年、未公表
- 19 ラットを用いた急性吸入毒性試験 (GLP 対応) : セイフファーム社、2008年、未公表
- 20 代謝物 K のラットを用いた急性経口毒性試験 (GLP 対応) : ハンティンドン・ライフサイエンス社、2009年、未公表
- 21 代謝物 Q のラットを用いた急性経口毒性試験 (GLP 対応) : ヘイゼルトン ラボラトリーズ アメリカ社、1988年、未公表
- 22 原体混在物 H のラットを用いた急性経口毒性試験 (GLP 対応) : ハンティンドン・ライフサイエンス社、2009年、未公表
- 23 ラットを用いた急性神経毒性試験 (GLP 対応) : ハンティンドン・ライフサ

- イエンス社、2009年、未公表
- 24 ウサギを用いた皮膚刺激性試験 (GLP 対応) : ハンティンドン・ライフサイエンス社、2008年、未公表
 - 25 ウサギを用いた眼刺激性試験 (GLP 対応) : ハンティンドン・ライフサイエンス社、2008年、未公表
 - 26 モルモットを用いた皮膚感作性試験 (GLP 対応) : リサーチ トキシコロジー センター社、2008年、未公表
 - 27 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) : ハンティンドン・ライフサイエンス社、2008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) : ハンティンドン・ライフサイエンス社、2009年、未公表
 - 29 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) : ハンティンドン・ライフサイエンス社、2009年、未公表
 - 30 ラットを用いた 13 週間反復経口神経毒性試験 (GLP 対応) : ハンティンドン・ライフサイエンス社、2009年、未公表
 - 31 ラットを用いた 21 日間反復経皮投与毒性試験 (GLP 対応) : ボゾリサーチ センター、2008年、未公表
 - 32 イヌを用いた 1 年間反復経口投与毒性試験 (GLP 対応) : ハンティンドン・ライフサイエンス社、2009年、未公表
 - 33 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) : ハンティンドン・ライフサイエンス社、2009年、未公表
 - 34 マウスを用いた発がん性試験 (GLP 対応) : ハンティンドン・ライフサイエンス社、2009年、未公表
 - 35 ラットを用いた 2 世代繁殖試験 (GLP 対応) : ハンティンドン・ライフサイエンス社、2009年、未公表
 - 36 ラットを用いた催奇形性試験 (GLP 対応) : ハンティンドン・ライフサイエンス社、2009年、未公表
 - 37 ウサギを用いた催奇形性試験 (GLP 対応) : ハンティンドン・ライフサイエンス社、2008年、未公表
 - 38 細菌を用いた復帰突然変異試験 (GLP 対応) : ハンティンドン・ライフサイエンス社、2007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) : (財) 食品農医薬品安全性評価センター、2009年、未公表
 - 40 マウスを用いた小核試験 (GLP 対応) : ハンティンドン・ライフサイエンス社、2007年、未公表
 - 41 ラットを用いたコメットアッセイ (子宮、肝) : 日産化学工業㈱、2009年、未公表
 - 42 原体混在物 H の細菌を用いた復帰突然変異試験 (GLP 対応) : ハンティンド

- ン・ライフサイエンス社、2009年、未公表
- 43 代謝物 K の細菌を用いた復帰突然変異試験 (GLP 対応) : ハンティンドン・ライフサイエンス社、2009年、未公表
 - 44 代謝物 Q の細菌を用いた復帰突然変異試験 (GLP 対応) : (財) 化学品検査協会、1989年、未公表
 - 45 原体混在物 H のマウスを用いた小核試験 (GLP 対応) : ハンティンドン・ライフサイエンス社、2009年、未公表
 - 46 代謝物 K のマウスを用いた小核試験 (GLP 対応) : ハンティンドン・ライフサイエンス社、2009年、未公表
 - 47 エストロゲン受容体結合能試験 : 日産化学工業㈱、2009年、未公表
 - 48 ラットを用いた子宮肥大試験 (エストロゲン作用) : 日産化学工業㈱、2009年、未公表
 - 49 ラットを用いた子宮肥大試験 (抗エストロゲン作用) : 日産化学工業㈱、2009年、未公表
 - 50 ラットを用いたハーシュバーガー試験 (アンドロゲン作用) : 日産化学工業㈱、2009年、未公表
 - 51 ラットを用いたハーシュバーガー試験 (抗アンドロゲン作用) : 日産化学工業㈱、2009年、未公表
 - 52 ラットを用いた性ホルモン測定試験 : 日産化学工業㈱、2009年、未公表
 - 53 食品健康影響評価について (平成 22 年 12 月 10 日付け厚生労働省発食安 1210 第 3 号)
 - 54 メタゾスルフロンの食品健康影響評価に係る資料の提出 : 日産化学工業㈱、2011年、未公表