

[oxa- ¹⁴ C] チアメト キサム	26.4	処理 84 日後	茎葉	42.0	—	—	18.2
			塊茎	1.16	22.1	a	36.7
		処理 106 日後	茎葉	41.9	—	—	28.3
			塊茎	0.853	16.0	a	36.7
	6.3	処理 84 日後	茎葉	7.25	—	—	24
			塊茎	0.215	26.5	B(13.1)	14.5
		処理 106 日後	茎葉	8.95	—	—	37.8
			塊茎	0.130	10.3	a	19.9
33.4	処理 84 日後	茎葉	26.4	—	—	23.5	
		塊茎	1.02	35.1	a	13.2	
	処理 106 日後	茎葉	37.2	—	—	34.7	
		塊茎	0.857	22.9	a	15.6	

— : 測定せず。

a : 同定された代謝物で 10%TRR を超えるものは認められなかった。

以上の試験 [2. (1)~(7)] の結果より、植物におけるチアメトキサムの主要代謝経路は、オキサジアジン環の開裂による B とそれに続く脱メチル体 M の生成、B の脱ニトロ体 E と C-N 結合の切断による Y の生成、親化合物の脱ニトロによる C と酸化による F の生成とオキサジアゾン環の開裂による G の生成と考えられた。

3. 土壌中運命試験

(1) 好氣的湛水土壌中運命試験

[thi-¹⁴C]チアメトキサム又は[oxa-¹⁴C]チアメトキサムをそれぞれ 660 g ai/ha の用量で湛水状態の沖積・埴壤土（兵庫）の水相に添加後、25℃の暗所で 363 日間インキュベーションし、好氣的湛水土壌中運命試験が実施された。

水相での抽出性残留放射能は経過日数とともに減少し、処理 363 日後には 0.26~0.31%TAR となった。土壌相での抽出性残留放射能は、処理 42 日後に 74.7~75.7%TAR まで増加したが、その後減少し、処理 363 日後には 30.6~34.0%TAR となった。揮発性放射能は、処理 363 日後に 2.2~3.6%TAR であった。非抽出性残留放射能は徐々に増加し、363 日後には 61.9~62.8%TAR に達した。主要な分解物は、C 及び F（[thi-¹⁴C]チアメトキサム処理区のみ）であり、処理 120 日後にそれぞれ 37.1~39.1%TAR 及び 0.85%TAR まで増加したが、処理 363 日後に C は 26.9~30.8%TAR に減少し、F は検出限界未満となった。チアメトキサムの推定半減期及び 90%減衰期間は、水相で 3.32~3.35 及び 43.7~47.1 日、土壌相で 39.2~46.6 及び 130~155 日であり、試験系全体では 51.6~51.8 及び 162~170 日であった。

チアメトキサムは水相から土壌相に移行し、ニトロ基の脱離を経て、最終的に二酸化炭素まで分解されると考えられた。（参照 11、12）

(2) 好氣的土壤中運命試験

[thi-¹⁴C]チアメトキサム又は[oxa-¹⁴C]チアメトキサムをそれぞれ 200 g ai/ha (低用量：分解速度試験用) 又は 10,000 g ai/ha (高用量：分解物単離用) の用量で畑地土壌 (米国) に添加後、非滅菌/滅菌条件下で、25°Cの暗所で 365 日間インキュベーションし、好氣的土壤中運命試験が実施された。

抽出性放射能は経過日数とともに減少し、処理 365 日後には 40.7~52.0% TAR となった。そのうち、親化合物は 42.2~46.2% TAR であった。非抽出性残留放射能は徐々に増加し、処理 365 日後には非滅菌条件下で 44.7~47.1% TAR であった。揮発性放射能は処理 365 日後までには低用量で 10.2~10.7% TAR、高用量で 13.8~15.3% TAR となり、二酸化炭素への分解が示唆された。主要な分解物は、B、F、G、Q 及び U であった。分解物 F が高用量で 268 日後に 7.4% TAR 検出されたが、その他の分解物は試験期間中に 5% TAR 未満であった。

チアメトキサムは非滅菌条件下では、2 相性の減衰を示し、推定半減期は 254~353 日 (第 1 相で 4.7~7.0 日、第 2 相で 471~521 日) であった。滅菌条件下での推定半減期は 286~318 日であった。

チアメトキサムは好氣的土壌中で分解を受け、最終的に二酸化炭素まで分解されると考えられた。(参照 13、14)

(3) 嫌氣的土壤中運命試験

[thi-¹⁴C]チアメトキサム又は[oxa-¹⁴C]チアメトキサムをそれぞれ 200 g ai/ha (低用量) 又は 10,000 g ai/ha (高用量) の用量で湛水土壌 (米国) に添加し、嫌氣的土壤中運命試験が実施された。試験土壌は 25°Cの暗所で試験 21 日までは連続して、それ以降は揮発性放射能捕集の際に窒素を通気し、365 日間インキュベーションした。

チアメトキサムは経過日数とともに減少し、120 日後には 3.9~4.0% TAR となった。主要分解物は C 及び F で、C は試験 120 日前後に 58.9~63.4% TAR、F は試験 21 日前後に 5.4~4.8% TAR に達した後、緩やかに減少した。その他の分解物は 5% TAR 以下であった。揮発性放射能は最大で低用量で 2.7~7.1% TAR、高用量で 4.4~6.7% TAR 生成し、大半が二酸化炭素であった。非抽出性放射能は徐々に増加し、最大で 272 日後に 19.5% TAR に達した。

嫌氣性条件下でのチアメトキサムの推定半減期は 23.5~24.2 日であった。

嫌氣的土壌中におけるチアメトキサムの主要分解経路はニトロ基の脱離であり、さらに加水分解等を受けると考えられた。(参照 15、16)

(4) 土壌吸着試験

チアメトキサムの土壌吸着試験が 4 種類の国内土壌 (細粒強グライ土：宮城、灰色低地土：高知、淡色黒ボク土：茨城、洪積・埴壤土：和歌山) を用いて実施された。

Freundlich の吸着係数 K_{ads} は 0.218~1.02、有機炭素含有率により補正した吸着

係数 K_{oc} は 16.4~32.0 であった。(参照 17)

4. 水中運命試験

(1) 加水分解試験

[thi-¹⁴C]チアメトキサム又は[oxa-¹⁴C]チアメトキサムを pH 1 (希塩酸)、pH 5 (酢酸緩衝液)、pH 7 (リン酸緩衝液) 及び pH 9 (ホウ酸緩衝液) の各緩衝液に 10 mg/L になるように添加した後、遮光、脱酸素条件下、25、40 及び 60°C でインキュベーションし、加水分解試験が実施された。本試験で用いた試験設計概要は表 26 に示されている。

表 26 加水分解試験の試験設計概要

	pH	温度	試験期間
条件 1-1	1、5、7	60°C	5 日間
条件 1-2	9		24 時間
条件 2	5	25°C	30 日間
条件 3	7	25、40、60°C	
条件 4	9		

チアメトキサムは、条件 1-1 の pH 1 及び pH 5 では分解は認められず、pH 7 では 27~36% TAR が分解した。また、条件 1-2 では 24 時間後の残存率は 0.64~0.74% TAR となり、チアメトキサムはアルカリ性条件下で加水分解が促進された。主要分解物は F、N 及び Q であった。25°C、pH 7 の緩衝液中でチアメトキサム、F、N 及び Q は処理 30 日後に 93.4~94.1、2.3~2.5、1.1~1.3 及び 0.63% TAR であり、25°C、pH 9 の緩衝液中でチアメトキサム、F、N 及び Q は処理 30 日後に 0.68~8.5、27.9~33.3、53.6~59.7 及び 9.1% TAR であった。チアメトキサムの推定半減期は pH 1 及び pH 5 では測定不可能であり、pH 7 で 1,110~1,250 日、pH 9 では 7.3~15.6 日であった。(参照 18、19)

(2) 水中光分解試験 (非標識体)

チアメトキサムを滅菌蒸留水及び河川水 (神奈川、pH 7.7) にそれぞれ約 1 mg/L になるように加えた後、25±1°C で 14 日間キセノン光を連続照射し [測定波長: 300~400 nm、光強度: 47.9 W/m² (滅菌蒸留水)、49.4 W/m² (河川水)]、水中光分解試験が実施された。

暗所対照区において、チアメトキサムは僅かに分解し、処理 14 日後には 0.91~0.92 mg/L 程度まで減少した。光照射により、チアメトキサムは急速に分解した。処理 3 日後に、滅菌蒸留水、河川水とも、検出限界未満となった。主要分解物は W で、処理 14 日後に、滅菌蒸留水で 0.80 mg/L 及び河川水で 0.32 mg/L 生成した。チアメトキサムの推定半減期は滅菌蒸留水で 4.4 時間及び河川水で 4.3 時間であった。(参照 20)

(3) 水中光分解試験 (標識体)

[thi-¹⁴C]チアメトキサム又は[oxa-¹⁴C]チアメトキサムを用い、pH 5 (酢酸緩衝液) の滅菌緩衝液に 10 mg/L になるように加えた後、25°C で 30 日間、1 日 12 時間キセノンアーク光を照射し (測定波長: 290~700 nm、光強度: 410 W/m²)、水中光分解試験が行われた。

暗所対照区において、チアメトキサムは僅かに分解し、処理 30 日後には 93.1~93.7% TAR まで減少した。光照射により、チアメトキサムは速やかに分解した。主要分解物は、[thi-¹⁴C]チアメトキサムでは揮発性成分の硫化カルボニルとイソシアン酸であり、処理 30 日後には合計値が 54.3% TAR に達した。[oxa-¹⁴C]チアメトキサムでは W が 65.8% TAR 生成した。その他、B、C 及び F で、処理 30 日後に、0.68~2.9% TAR、検出限界未満~1.9% TAR 及び 3.3~8.5% TAR 生成した。揮発性放射能は[oxa-¹⁴C]チアメトキサムでは 1.5% TAR であり、二酸化炭素であると考えられた。チアメトキサムの推定半減期は 2.29~3.08 日であった。(参照 21、22)

5. 土壌残留試験

火山灰・壤土 (岩手)、沖積・埴壤土 (三重)、火山灰・軽埴土 (茨城) 及び沖積・埴壤土 (高知) を用いて、チアメトキサム、分解物 B、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) が実施された。

結果は表 27 に示されている。(参照 23~26)

表 27 土壌残留試験成績 (推定半減期)

試験	土壌	濃度	推定半減期	
			チアメトキサム	チアメトキサム + 分解物 B、C
容器内試験 (湛水状態)	火山灰・壤土 (岩手)	純品	約 10 日	約 35 日
	沖積・埴壤土 (三重)	0.5 mg/kg	約 11 日	約 53 日
容器内試験 (畑地状態)	火山灰・軽埴土 (茨城)	純品	約 34 日	約 66 日
	沖積埴・壤土 (高知)	0.5 mg/kg	約 89 日	約 144 日
圃場試験 (水田状態)	火山灰・壤土 (岩手)	粒剤	約 1 日	約 1 日
	沖積埴・壤土 (三重)	300 g ai/ha	約 2.5 日	約 3 日
圃場試験 (畑地状態)	火山灰・軽埴土 (茨城)	顆粒水溶剤	約 48 日	約 50 日
	沖積・埴壤土 (高知)	133 g ai/ha	約 37 日	約 38 日

6. 作物等残留試験

(1) 作物残留試験

チアメトキサム及び代謝物 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、その結果は別紙 3 に示されている。チアメトキサムの最大残留値は、最終散布 7 日後に収穫した茶 (荒茶) の 9.78 mg/kg であった。代謝物 B の最大残留値は、

最終散布 3 日後に収穫したほうれんそうの 1.42 mg/kg (チアメトキサムの 35%程度) であった。(参照 27~33、90)

(2) 畜産物残留試験

① 乳牛

ホルスタイン種泌乳牛を用い、チアメトキサム及び代謝物 B を分析対象とした畜産物残留試験について、結果が別紙 5 に示されている。チアメトキサムの最大残留値は、乳汁では投与 7 及び 14 日後の 0.17 mg/kg、骨格筋では投与 29 日後の 0.06 mg/kg、代謝物 B の最大残留値は乳汁では投与 7 日後の 0.07 mg/kg、肝臓では投与 30 日後の 0.384 mg/kg であった。(参照 91)

② ニワトリ

白色レグホン種産卵期ニワトリを用い、チアメトキサム、代謝物 B 及び M を分析対象とした畜産物残留試験について、結果が別紙 6 に示されている。チアメトキサムは、卵及び臓器・組織中で投与後 28 日のいずれにおいても定量限界未満であった。代謝物 B 及び M は卵で検出されたが、その最大残留値は代謝物 B で投与 28 日後の 0.01 mg/kg、M で投与 14 及び 28 日後の 0.04 mg/kg 投与であった。代謝物 B 及び M は、臓器・組織中では投与後 28 日のいずれにおいても定量限界未満であった。(参照 92)

(3) 推定摂取量

別紙 3 の作物残留試験の分析値を用いて、チアメトキサムを暴露評価対象物質として国内で登録のある農産物からの推定摂取量を表 28 に示した(別紙 4 参照)。

なお、本推定摂取量の算定は、申請された使用方法からチアメトキサ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、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 28 食品中より摂取されるチアメトキサムの推定摂取量

	国民平均 (体重:53.3 kg)	小児(1~6 歳) (体重:15.8 kg)	妊婦 (体重:55.6 kg)	高齢者(65 歳以上) (体重:54.2 kg)
摂取量 (µg/人/日)	265	155	239	279

7. 一般薬理試験

ラット、マウス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 29 に示されている。(参照 34)

表 29 一般薬理試験概要

試験の種類	動物種	動物数 匹/群	投与量 ^a (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)	結果概要
中枢 神経系	一般状態	Wistar ラット	雄 5 0, 500、 1,000、 2,000 (経口)	—	500	500 mg/kg 体重以上投与 群で眼裂の狭少 2,000 mg/kg 体重投与群 で死亡 1 例
		ICR マウス	雄 5 0, 250、 500, 1,000 (経口)	250	500	500 mg/kg 体重以上投与 群で自発運動の抑制 1,000 mg/kg 以上投与群 で受動性発現、握力の減 退、眼裂の狭少
	ヘキサバル タル睡眠	ICR マウス	雄 8 0, 125、 250, 500 (経口)	250	500	500 mg/kg 体重投与群 で延長傾向
	電撃痙攣	ICR マウス	雄 10 0, 125、 250, 500 (経口)	500	—	投与による影響なし
	正常体温	ICR ラット	雄 6 0, 250、 500, 1,000 (経口)	500	1,000	1,000 mg/kg 体重投与群 で体温低下
循環 器系	血圧	Wistar ラット	雄 6 0, 250、 500, 1,000 (経口)	500	1,000	1,000 mg/kg 体重投与群 で血圧低下
	心拍数	Wistar ラット	雄 6 0, 250、 500, 1,000 (経口)	1,000	—	投与による影響なし
消化 器系	摘出回腸 <i>in vitro</i>	Hartley モルモット	雄 4 0, 1×10 ⁻⁷ 、 1×10 ⁻⁶ 、 1×10 ⁻⁵ 、 1×10 ⁻⁴ M	1×10 ⁻⁴ M	—	投与による影響なし
	腸管輸送能	ICR マウス	雄 8 0, 125、 250, 500 (経口)	125	250	250 mg/kg 体重投与群で 腸管輸送能抑制
骨 格 筋	懸垂動作	ICR マウス	雄 8 0, 125、 250, 500 (経口)	500	—	投与による影響なし
血 液	血液凝固能	Wistar ラット	雄 6 0, 250、 500, 1,000 (経口)	1,000	—	投与による影響なし

溶血性	Wistar ラット	雄 6	0,250, 500,1,000 (経口)	1,000	—	投与による影響なし
-----	---------------	-----	-----------------------------	-------	---	-----------

※：検体はすべて0.5%MC水溶液に懸濁して投与した。

—：無作用量又は作用量が設定できない。

8. 急性毒性試験

(1) 急性毒性試験

チアメトキサムのSDラットを用いた急性経口、経皮及び吸入毒性試験が、ICRマウスを用いた急性経口毒性試験が実施された。

結果は表30に示されている。(参照35~38)

表30 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	SDラット 雌雄各5匹	1,560	1,560	雌雄：眼瞼下垂、自発運動の低下、硬直性痙攣、体重増加抑制(投与翌日~2日後まで) 雌雄：2,000 mg/kg 体重以上で死亡例
	ICRマウス 雌雄各5匹	783	964	雌雄：自発運動の低下、間代性痙攣、伏臥 雌：体重増加抑制(投与翌日) 雌：800 mg/kg 体重以上で死亡例 雄：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)		症状及び死亡例なし
		>3.72	>3.72	

代謝物B及びCのWistar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31に示されている。(参照39、93)

表31 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	震え、立毛、屈曲位 死亡例なし

C	Wistar ラット 雌雄各 5 匹	500<LD ₅₀ <1,000	500<LD ₅₀ <1,000	腹臥位、自発運動低下、振戦、運動失調、立毛、円背位 雌雄：1,000 mg/kg 体重以上で死亡例
---	-----------------------	--------------------------------	--------------------------------	--

(2) 急性神経毒性試験 (ラット)

SD ラット (一群雌雄各 10 匹) を用いた強制経口 (原体: 0、100、500 及び 1,500 mg/kg 体重) 投与による急性神経毒性試験が実施された。

各投与群で認められた主な毒性所見は表 32 に示されている。

1,500 mg/kg 体重投与群の雌で死亡例 (3 例) が認められた。

100 mg/kg 体重投与群では神経毒性を示す所見は認められなかった。

1,500 mg/kg 体重投与群では神経組織の病理組織学的変化及び持続性の神経毒性は認められなかった。

本試験において、500 mg/kg 体重以上投与群の雌雄で正向反射への影響、直腸体温低下等が認められたので、神経毒性に関する無毒性量は雌雄とも 100 mg/kg 体重であると考えられた。(参照 40)

表 32 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
1,500 mg/kg 体重	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・体緊張の異常 ・踏み出すまでの時間延長 ・振戦 ・覚醒状態の低下 ・立ち上がり回数減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・3 例死亡 ・流涙 ・体緊張の異常 ・呼吸異常 ・踏み出すまでの時間延長 ・歩行異常 ・振戦 ・覚醒状態の低下 ・立ち上がり回数減少 ・うずくまり姿勢 ・着地開脚幅減少
500 mg/kg 体重以上	<ul style="list-style-type: none"> ・眼瞼閉鎖 ・呼吸異常 ・歩行異常 ・正向反射への影響 ・直腸体温低下 	<ul style="list-style-type: none"> ・眼瞼閉鎖 ・正向反射への影響 ・直腸体温低下
100 mg/kg 体重	毒性所見なし	毒性所見なし

注) 500mg/kg 体重投与群でみられた所見はいずれも投与後 2~3 時間の観察でのみ認められた。

9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

日本白色種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た。眼及び皮膚に対し刺激性は認められなかった。(参照 41、42)

Pirbright White モルモットを用いた皮膚感作性試験 (Maximization 法) が実施された。ごく軽度の皮膚感作性が認められた。(参照 43)

10. 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、25、250、1,250、2,500及び5,000 ppm：平均検体摂取量は表33参照）投与による90日間亜急性毒性試験が実施された。

表33 90日間亜急性毒性試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群		25 ppm	250 ppm	1,250 ppm	2,500 ppm	5,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	1.74	17.6	84.9	168	329
	雌	1.88	19.2	92.5	182	359

各投与群で認められた主な毒性所見は表34に示されている。

本試験において、1,250 ppm以上投与群の雄で体重増加抑制等が、2,500 ppm以上投与群の雌で肝リンパ球組織球浸潤等が認められたので、無毒性量は雄で250 ppm (17.6 mg/kg 体重/日)、雌で1,250 ppm (92.5 mg/kg 体重/日) であると考えられた。（参照44、45）

表34 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"> ・RBC増加、ヘモグロビン濃度幅低下、PLT増加傾向 ・BUN、Chol及びカルシウム増加 ・肝、腎、副腎比重量³増加 ・好塩基性尿細管増加 ・心、脾比重量増加 ・精巣絶対重量減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・Hb、Ht、Mon増加 ・肝細胞肥大
2,500 ppm以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ナトリウム低下 ・無機リン増加 ・尿細管急性病変⁴ ・肝細胞肥大 ・肝リンパ球組織球浸潤 	<ul style="list-style-type: none"> ・単球比増加 ・Glob増加、ナトリウム及びクロール減少 ・肝リンパ球組織球浸潤 ・尿細管慢性病変 ・副腎皮質細胞脂肪化
1,250 ppm以上	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・摂餌量減少 ・Cre増加、Glu及びクロール減少 	1,250 ppm以下 毒性所見なし

³：体重比重量を比重量という（以下同じ）。

⁴：急性尿細管病変は、硝子滴沈着が高まり上皮細胞が壊死に至った組織像であり、尿細管慢性病変は、上皮細胞が壊死・脱落后、塩基性細胞質になり再生・増生過程に進行した組織像を示している。これらの変化は、慢性腎症へと進行する過程を示したものとする。

	<ul style="list-style-type: none"> ・尿細管硝子滴沈着 ・尿細管慢性病変 	
250 ppm 以下	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、250、1,000 及び 2,500/2,000 ppm⁵ : 平均検体摂取量は表 35 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 35 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	250 ppm	1,000 ppm	2,500/2,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	1.58	8.23	32.0	54.8
	雌	1.80	9.27	33.9	50.5

各投与群で認められた主な毒性所見は表 36 に示されている。

本試験において、1,000 ppm 以上投与群の雄で Glu 増加等が、雌で PT 延長等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 250 ppm (雄 : 8.23 mg/kg 体重/日、雌 : 9.27 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 46)

表 36 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
2,500/2,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・MCH、単球比、Mon 減少、リンパ球比増加、ヘモグロビン濃度分布幅低下、PT 延長 ・CK 増加 ・リン脂質減少 ・精巣絶対及び比重量減少 ・精子形成低下 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・MCHC、好酸球比増加 ・Ht、RBC、Hb、MCV、MCH、WBC、好中球比、Neu、Baso、Lym、単球比、Mon 減少 ・A/G 比、カルシウム減少 ・腎比重量増加 ・卵巣比重量減少
1,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・摂餌量減少 ・Glu 増加 ・Alb 減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・摂餌量減少 ・PT 延長
250 ppm 以下	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 : 雄 0、10、30、500 及び 1,500 ppm、雌 0、10、30、1,000 及び 3,000 ppm : 平均検体摂取量は表 37 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。

⁵ : 投与当初、2,500 ppm 投与群に著しい飼料摂取量低下及び体重減少が認められたため、試験 15~18、26 日目以降は 2,000 ppm 投与し、試験 19~25 日目は投与を中断した。

表 37 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		10 ppm	30 ppm	500 ppm	1,000 ppm	1,500 ppm	3,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	0.7	1.9	31.8		95.4	
	雌	0.7	2.1		73.2		216

検体投与に関連する神経毒性は認められなかった。

本試験での神経毒性に関する無毒性量は、雄で 1,500 ppm (95.4 mg/kg 体重/日)、雌で 3,000 ppm (216 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 47)

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、25、150、750 及び 1,500 ppm：平均検体摂取量は表 38 参照）投与による 1 年間慢性毒性試験が実施された。

表 38 1 年間慢性毒性試験（イヌ）の平均検体摂取量

投与群		25 ppm	150 ppm	750 ppm	1,500 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	0.70	4.05	21.0	42.0
	雌	0.79	4.49	24.6	45.1

各投与群で認められた毒性所見は表 39 に示されている。

750 ppm 以上投与群で組織学的所見として未成熟な精細管がみられたが、この変化は 1,500 ppm 投与群では期間を通して、750 ppm 投与群では試験初期に体重増加抑制がみられたことから、成長抑制による二次的影響として生じた成熟の遅延と解釈され、チアメトキサムが精巣に影響を及ぼしたものではないと判断された。

750 ppm 以上投与群雌及び 150 ppm 以上投与群雄で認められた PT 延長は、投与後の値と投与開始前の値と比較がそれほど大きな差ではないので、投与に関連した変化とは考えられなかった。

本試験において、750 ppm 以上投与群の雌雄で BUN 増加等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 150 ppm（雄：4.05 mg/kg 体重/日、雌：4.49 mg/kg 体重/日）であると考えられた。(参照 48)

表 39 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
1,500 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ 血中の分類不能な細胞数減少 ・ 赤血球粒度分布幅及び好中球比増加、Baso 及びリンパ球比減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ MCV、Mon 減少 ・ Alb、A/G 比、CK 増加 ・ 無機リン減少
750 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制（投与開始初期） 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制（投与開始初期）

	・BUN、Cre 増加	・BUN、Cre 増加
150 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: 雄 0、10、30、500 及び 1,500 ppm、雌 0、10、30、1,000 及び 3,000 ppm: 平均検体摂取量は表 40 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 40 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		10 ppm	30 ppm	500 ppm	1,000 ppm	1,500 ppm	3,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	0.41	1.29	21.0		63.0	
	雌	0.48	1.56		50.3		155

各投与群で認められた主な毒性所見 (非腫瘍性病変) は表 41 に示されている。

1,000 ppm 以上投与群雌で認められた WBC 増加、リンパ球比減少及び好中球比増加、10 ppm 以上投与群雌で認められた副腎比重量増加及び 50 ppm 以上投与群雌で認められた甲状腺比重量増加は、重量増加を裏付ける組織学的所見も観察されず、平均値及び個体別値も背景データの範囲内であったので、投与による影響とは考えられなかった。

雌で認められた肝変異細胞巢のほとんどが明細胞性細胞巢であった。

1,500 ppm 投与群雄で認められた腎臓の変化は、 α -2u-グロブリンの蓄積によるものと考えられた。

肉眼的病理検査では、投与に関連した変化は観察されなかった。

表 41 2 年間慢性毒性/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
3,000 ppm		<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・Ht 増加、好酸球比増加、Lym 減少 ・Cre、ナトリウム増加、A/G 比減少 ・心絶対重量減少 ・肝比重量増加
1,500 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・Ht 増加 ・BUN、Cre、AST、ALP 増加 ・甲状腺比重量減少 ・腎リンパ球浸潤増加 ・慢性腎症増加 	
1,000/500 ppm 以下	500 ppm 以下 毒性所見なし	1,000 ppm 以下 毒性所見なし

脳悪性星状膠細胞腫及び皮膚/皮下脂肪腫の発生頻度が表 42 に示されている。

1,500 ppm 投与群雄に認められた脳悪性星状膠細胞腫(2/50 例)、皮膚/皮下組織の

脂肪腫(3/50 例)は背景データに近い値かその範囲内であった(脳悪性星状膠細胞腫の背景データ:0~3.3%、皮膚/皮下脂肪腫の背景データ:0~6.7%)。また、これらの腫瘍はSD ラットに自然発生的に認められる腫瘍であり、さらに、所見がみられたのは最終と殺時であり、発生時期の早期化もみられなかった。以上より、これらの所見は投与に関連したものではないと考えられた。

表 42 脳悪性星状膠細胞腫及び皮膚/皮下脂肪腫の発生頻度

性別	雄					雌				
	0	10	30	500	1,500	0	10	30	1,000	3,000
投与量(ppm)	0	10	30	500	1,500	0	10	30	1,000	3,000
検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	49	50	50
脳悪性星状膠細胞腫	0	0	0	1	2*	0	0	1	0	0
皮膚/皮下脂肪腫	0	1	0	1	3*	0	0	0	0	0

Fisher の直接確率計算法では有意差なし、Peto の検定、* : p<0.05

本試験において、1,500 ppm 投与群の雄で慢性腎症増加等が、3,000 ppm 投与群の雌で Lym 減少等が認められたので、無毒性量は雄で 500 ppm (21.0 mg/kg 体重/日)、雌で 1,000 ppm (50.3 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 49)

(3) 18 か月間発がん性試験 (マウス)

ICR (Tif:MAGf) マウス (一群雌雄各 60 匹) を用いた混餌 (原体:0、5、20、500、1,250 及び 2,500 ppm : 平均検体摂取量は表 43 参照) 投与による 18 か月間発がん性試験が実施された。

表 43 18 か月間発がん性試験 (マウス) の平均検体摂取量

投与群		5 ppm	20 ppm	500 ppm	1,250 ppm	2,500 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	0.65	2.63	63.8	162	354
	雌	0.89	3.68	87.6	215	479

各投与群で認められた主な毒性所見 (非腫瘍性病変) は表 44 に示されている。

中間と殺群では、投与に関連した肉眼的病理所見は認められなかったが、発がん性試験群 (最終と殺群) では、500 ppm 以上投与群の雌雄で肝臓に腫瘍及び小結節が高頻度で観察された。

表 44 18 か月間発がん性試験 (マウス) で認められた毒性所見 (非腫瘍性病変)

投与群	雄	雌
2,500 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・MCH 増加 ・WBC 及び Lym 減少 ・腺胃上皮過形成 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・MCH 及び PLT 増加 ・脾絶対及び比重量減少 ・腺胃上皮過形成

1,250 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ Mon 減少 ・ 肝、腎絶対及び比重量増加 ・ 腎絶対及び比重量減少 ・ 肝変異細胞巢 ・ 肝細胞核分裂増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・ クッパー細胞色素沈着 ・ 肝変異細胞巢 ・ 肝細胞核分裂増加
500 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ 肝炎症性細胞浸潤 ・ 肝単細胞壊死 ・ クッパー細胞色素沈着 ・ 肝細胞肥大 ・ 肝細胞脂肪化 ・ 脾髄外造血充進 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 肝比重量増加 ・ 肝炎症性細胞浸潤 ・ 肝単細胞壊死 ・ 肝細胞肥大
20 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

肝細胞腺腫、肝細胞癌及び肝変異細胞巢の発生頻度が表 45 に示されている。

500 ppm 以上投与群の雌雄で肝細胞腺腫の増加と 2,500 ppm 投与群の雄及び 1,250 ppm 以上投与群の雌で肝細胞癌の増加が認められた。肝腫瘍の発生時期は大部分が最終と殺時に観察されており、腫瘍発生時期の早期化はみられなかった。さらに、1,250 ppm 以上投与群の雌雄で肝変異細胞巢が高頻度にみられた。

表 45 肝細胞腺腫、肝細胞癌及び肝変異細胞巢の発生頻度

投与量(ppm)	雄						雌					
	0	5	20	500	1,250	2,500	0	5	20	500	1,250	2,500
検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
肝細胞腺腫	9	5	8	17*	21**	39**	0	0	0	5**	8**	28**
肝細胞癌	3	3	2	4	4	16**	0	0	0	0	2*	3*
肝変異細胞巢	7	4	4	11	22**	32**	2	2	2	2	14**	37**

* : p<0.05 (Peto の検定)、# : p<0.05 (Fisher の直接確率計算法)

本試験において、500 ppm 以上投与群の雌雄で肝細胞腺腫増加等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 20 ppm (雄 : 2.63 mg/kg 体重/日、雌 : 3.68 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 50)

(肝腫瘍の発生機序に関しては [14. (1)] を参照。)

12. 生殖発生毒性試験

(1) 2世代繁殖試験 (ラット) ①

SD ラット (一群雌雄各 30 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、10、30、1,000 及び 2,500 ppm : 平均検体摂取量は表 46 参照) 投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

表 46 2 世代繁殖試験（ラット）①の平均検体摂取量

投与群		10 ppm	30 ppm	1,000 ppm	2,500 ppm	
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	P 世代	雄	0.61	1.84	63.3	158
		雌	0.8	2.37	76.2	202
	F ₁ 世代	雄	0.69	2.07	68.9	181
		雌	0.88	2.63	88.2	236

各投与群で認められた毒性所見は表 47 に示されている。

10 ppm 以上投与群の雄で運動精子率減少（P 雄、F₁ 雄）が認められたが、精子数の減少及び精子の形態に異常は認められなかったこと、各群内において運動活性を示す精子数の個体別変動が大きいこと、病理組織学的に生殖器系に影響がみられないこと、さらに交尾率及び受精率低下が認められないことから、毒性学的意義はないものと考えられた。また、F₁ 雌の 30 ppm 以上投与群で胸腺絶対重量減少、1,000 及び 2,500 ppm 投与群で胸腺比重量減少が観察されたが、病理組織学的検査では異常はみられず、すべての群における雌の胸腺絶対重量及び比重量の値は背景データの範囲内であったことから、投与に関連した影響とは考えられなかった。

本試験において、親動物では 1,000 ppm 以上投与群の P 及び F₁ 雄で尿細管硝子滴沈着増加、2,500 ppm 投与群の F₁ 雌で体重増加抑制、児動物では 1,000 ppm 以上投与群の F₂ 雌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 30 ppm（P 雄：1.84 mg/kg 体重/日、F₁ 雄：2.07 mg/kg 体重/日）、雌で 1,000 ppm（P 雌：76.2 mg/kg 体重/日、F₁ 雌：88.2 mg/kg 体重/日）、児動物で 30 ppm（P 雄：1.84 mg/kg 体重/日、P 雌：2.37 mg/kg 体重/日、F₁ 雄：2.07 mg/kg 体重/日、F₁ 雌：2.63 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 51）

表 47 2 世代繁殖試験（ラット）①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	2,500 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・摂餌量減少 ・脾比重量増加 ・心比重量増加 ・肝比重量増加 ・尿細管円柱出現 	2,500 ppm 以下 毒性所見なし	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・脾比重量増加 ・肝比重量増加 ・精巣絶対重量減少 ・尿細管円柱出現 	・体重増加抑制	
	1,000 ppm 以上	・尿細管硝子滴沈着増加		・尿細管硝子滴沈着増加		1,000 ppm 以下 毒性所見なし
	30 ppm 以下	毒性所見なし		毒性所見なし		
児動物	2,500 ppm	・体重増加抑制	・体重増加抑制	・体重増加抑制		
	1,000 ppm 以上	1,000 ppm 以下 毒性所見なし	1,000 ppm 以下 毒性所見なし	1,000 ppm 以下 毒性所見なし	・体重増加抑制	
	30 ppm 以下				毒性所見なし	

(2) 2世代繁殖試験 (ラット) ②

SD ラット (一群雌雄各 26 匹) を用いた混餌 (原体: 0、20、50、1,000 及び 2,500 ppm: 平均検体摂取量は表 48 参照) 投与による 2 世代繁殖試験が実施された。本試験は精巣に関して、精子検査及び病理組織学的検査でより詳細に検討することを目的として実施された。

表 48 2 世代繁殖試験 (ラット) ②の平均検体摂取量

投与群		20 ppm	50 ppm	1,000 ppm	2,500 ppm	
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	P 世代	雄	1.2	3.0	61.7	156
		雌	1.7	4.3	84.4	209
	F ₁ 世代	雄	1.5	3.7	74.8	192
		雌	2.1	5.6	110	277

各投与群で認められた毒性所見は表 49 に示されている。

精子検査において、P 雄では精子数、運動性精子率、直線及び曲線速度、平均経路速度に投与の影響はみられなかった。F₁ 雄では、2,500 ppm 投与群で精巣上体尾部の精子数が有意に増加したが、精巣上体に関連する組織所見は認められず、精子形態にも影響はみられなかったことから、毒性学的意義は低いと考えられた。精巣精子数は、50 ppm 以上投与群の F₁ 雄で有意に減少したが、用量依存性はみられず、50 及び 2,500 ppm 投与群の値は背景データと同等であったことから、検体投与に関連した変化ではないと考えられた。速度に関しては、2,500 ppm 投与群の F₁ 雄で直線速度、曲線速度及び平均経路速度に有意な低値がみられたが、対照群との差は約 5% 以下であり、直線性に影響はみられず、背景データ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。いずれの世代においても精子の形態に影響はみられなかった。

臓器重量に関しては、F₁ 雄の 1,000 ppm 以上投与群で精巣上体の絶対重量及び補正重量⁶の有意な増加、20、1,000 及び 2,500 ppm 投与群で精巣の絶対重量及び補正重量の有意な増加がみられたが、変動は背景データの範囲内にあり、重量増加に関連した組織所見は認められなかったことから、毒性影響とは考えられなかった。

本試験において、親動物では 1,000 ppm 以上投与群の F₁ 雄で尿細管上皮硝子滴沈着等、2,500 ppm 投与群の F₁ 雌で肝補正重量増加が認められたが、児動物ではいずれの世代においても毒性所見は認められなかったため、無毒性量は親動物の雄で 50 ppm (P 雄: 3.0 mg/kg 体重/日、F₁ 雄: 3.7 mg/kg 体重/日)、雌で 1,000 ppm (P 雌: 84.4 mg/kg 体重/日、F₁ 雌: 110 mg/kg 体重/日)、児動物で本試験の最高用量 2,500 ppm (P 雄: 156 mg/kg 体重/日、P 雌: 209 mg/kg 体重/日、F₁ 雄: 192 mg/kg 体重/日、F₁ 雌: 277 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 94)

⁶ 最終体重を共変量とした調整平均値

表 49 2 世代繁殖試験 (ラット) ②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	2,500 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・摂餌量減少 ・腎補正重量増加 ・腎臓：尿細管上皮硝子滴沈着、好酸性硝子円柱、皮髄境界部に好酸性顆粒状円柱を伴う尿細管拡張 	2,500 ppm 以下 毒性所見なし	<ul style="list-style-type: none"> ・肝及び脾補正重量増加 ・精巣：胚細胞の消失/崩壊、セルトリ細胞の空胞化 ・腎臓：皮髄境界部に好酸性顆粒状円柱を伴う尿細管拡張、間質の単核細胞浸潤 	・肝補正重量増加
	1,000 ppm 以上	1,000 ppm 以下 毒性所見なし	毒性所見なし	<ul style="list-style-type: none"> ・腎臓：尿細管上皮硝子滴沈着、好酸性硝子円柱、尿細管好塩基性化 	1,000 ppm 以下 毒性所見なし
	50 ppm 以下			毒性所見なし	
児動物	2,500 ppm 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

(3) 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、5、30、200 及び 750 mg/kg 体重/日、溶媒 : 0.5%CMC-Na) 投与して、発生毒性試験が実施された。

母動物では、750 mg/kg 体重/日投与群で一過性の活動低下、立毛、吐出及びカーカス重量の低下が、200 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、750 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で低体重、骨格変異として後頭骨骨化不整、第 13 肋骨短小、胸骨分節、中足骨、指節骨及び趾節骨等の未骨化又は骨化不全が認められた。200 mg/kg 体重/日以下の投与群においては投与による影響は認められなかった。

本試験において、母動物では 200 mg/kg 体重/日以上投与群で体重増加抑制等が、胎児では 750 mg/kg 体重/日投与群で低体重等が認められたので、無毒性量は母動物で 30 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 52)

(4) 発生毒性試験 (ウサギ)

ロシアンウサギ (一群雌 19 匹) の妊娠 7~19 日に強制経口 (原体: 0、5、15、50 及び 150 mg/kg 体重/日、溶媒: 0.5%CMC) 投与して、発生毒性試験が実施された。

母動物では 150 mg/kg 体重/日投与群で会陰部又は膣に血液様分泌物及び体重減少、50 mg/kg 体重/日投与群で摂餌量減少及び体重増加抑制が認められた。

胎児では 150 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で体重減少、胸骨分節癒合及び指節骨未化骨の増加が認められた。

本試験において、母動物の 50 mg/kg 体重/日以上投与群で体重増加抑制等が、胎児の 150 mg/kg 体重/日投与群で体重減少等が認められたので、無毒性量は母動物で 15 mg/kg 体重/日、胎児で 50 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 53)

(5) 発達神経毒性試験 (ラット)

Wistar ラット (一群雌 30 匹) の妊娠 7 日から哺育 22 日まで混餌 (原体: 0、50、400 及び 4,000 ppm: 平均検体摂取量は表 50 参照) 投与し、哺育 23 日以降は基礎飼料を与え、生後 63 日まで観察して、発達神経毒性試験が実施された。

表 50 発達神経毒性試験 (ラット) の平均検体摂取量

投与群		50 ppm	400 ppm	4,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	妊娠期間中 (妊娠 7~22 日)	4.3	34.5	299

4,000 ppm 投与群の母動物では、妊娠期間及び哺育期間を通じて体重増加抑制及び摂餌量の低値が認められた。児動物では、4,000 ppm 投与群の雌雄で出生時に低体重が認められ、試験期間を通じて体重は有意な低値を示した。4,000 ppm 投与群の児動物では雌雄の脳絶対重量が減少したが、補正重量に影響はみられなかった。また、同群では雄の包皮分離日齢の遅延が認められた。

脳の形態計測では、4,000 ppm 投与群で生後 12 日に雄で小脳の錐体前裂・分子層の厚さ及び小脳の幅に低値がみられた。生後 63 日では同群の雌雄で背側皮質の厚さ、視床と皮質全体の幅及び海馬全体の幅に低値がみられた。しかし、脳及び神経系組織の病理組織学的検査で異常はみられず、機能検査でも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、母動物及び児動物とも 400 ppm (34.5 mg/kg 体重/日) であると考えられた。発達神経毒性は認められなかった。(参照 95)

1.3. 遺伝毒性試験

チアメトキサムの細菌を用いた復帰突然変異試験、マウス肝初代培養細胞及びラット肝初代培養細胞を用いた *in vitro* 不定期 DNA 合成 (UDS) 試験、チャイニーズハ

ムスター肺由来培養細胞(V79)を用いた遺伝子突然変異試験、チャイニーズハムスター卵巣由来培養細胞(CHO)を用いた染色体異常試験、マウスの骨髄細胞を用いた小核試験が実施された。

試験結果はすべて陰性であり(表51)、チアメトキサムに遺伝毒性はないものと考えられた。(参照54~59、96)

表51 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、TA102、 TA1535、TA1537株) <i>Escherichia coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)	313~5,000 µg/7 ^o レット (+/-S9)	陰性
		<i>Salmonella typhimurium</i> (TA98、TA100、TA102、 TA1535、TA1537株)	313~5,000 µg/7 ^o レット (+S9)	陰性
	UDS 試験	マウス肝初代培養細胞	7.33~235 µg/mL	陰性
		ラット肝初代培養細胞	13.0~1,670 µg/mL	
	遺伝子突然変異試験	チャイニーズハムスター肺由来細胞(V79)	61.7~2,220 µg/mL (-S9)	陰性
			123~3,330 µg/mL (+S9)	
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)	284~2,270 µg/mL (-S9)	陰性	
		1,140~4,540 µg/mL (+S9)		
<i>in vivo</i>	小核試験	ICR マウス(骨髄細胞) (一群雌雄各5匹)	313, 625, 1,000 ¹⁾ 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⁾ 雌の24及び48時間後群については、1,250 mg/kg 体重投与した。

代謝物B及びCの細菌を用いた復帰突然変異試験において、試験結果は陰性であった(表52)。(参照60、97)

表52 遺伝毒性試験概要(代謝物)

被験物質	試験	対象	処理濃度・投与量	結果
B	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/7 ^o レット (+/-S9)	陰性
C		<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA102、 TA1535、TA1537株) <i>E. coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)	313~5,000 µg/7 ^o レット (+/-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) 肝腫瘍の発生機序検討試験

マウスを用いた発がん性試験 [11. (3)] において、500 ppm 以上投与群の雌雄で肝腫瘍の発生頻度増加が認められたことから、機序検討試験が実施された。

① マウスを用いた 14 日間投与における肝酵素誘導試験

ICR (Tif:MAGf) マウス (一群雌雄各 6 匹) を用いて、14 日間混餌 [原体 : 0、100、500 及び 2,500 ppm (雄 : 0、17、74 及び 376 mg/kg 体重/日、雌 : 0、20、92 及び 486 mg/kg 体重/日に相当)] 投与し、チアメトキサムの肝酵素誘導試験が実施された。

2,500 ppm 投与群の雌雄で肝比重量増加、CYP 濃度増加、GST 及びエポキシドヒドラーゼ活性増加及びテストステロン水酸化体増加が、雄で PROD 及び BROD 活性増加が、雌でラウリン酸 11-ヒドロキシラーゼ及び UDP-GT 活性増加が認められた。500 ppm 以上投与群の雌で EROD 及び BROD 活性増加が、100 ppm 以上投与群の雌で PROD 活性増加が認められた。

チアメトキサムの 500 ppm 以上の投与により、生体異物代謝酵素が中程度に誘導された。(参照 61)

② マウスを用いた 60 日間投与における肝細胞増殖能の検討試験

ICR (Tif:MAGf) マウス (一群雌雄各 5 匹) を用いて、60 日間混餌 [原体 : 0、100、500 及び 2,500 ppm (雄 : 0、15.8、71.6 及び 386 mg/kg 体重/日、雌 : 0、19.9、86.6 及び 463 mg/kg 体重/日に相当)] 投与し、投与 3、7、13、27 及び 59 日後にと殺し、BrdU 標識率を指標としてチアメトキサムの肝細胞増殖能について検討された。

2,500 ppm 投与群雌雄で、肝比重量増加、肝細胞壊死及びアポトーシス、リポフスチンと考えられる色素沈着が、雌で肝細胞グリコーゲン蓄積/脂肪化及び BrdU 標識率増加が認められた。500 ppm 以上投与群の雄で肝細胞グリコーゲン蓄積/脂肪化及び BrdU 標識率増加が認められた。

チアメトキサムは、肝細胞障害に対する再生性反応を示すものと考えられた。(参照 62)

③ マウスを用いた肝アポトーシスの組織化学的検査

肝細胞増殖能の検討試験 [14. (1)②] 及びマウスを用いた 18 か月間発がん性試験 [11. (3)] の 35 週中間と殺動物の肝臓を用い、TUNEL 法にて肝アポトーシスを同定し、定量的解析が行われた。

500 ppm 及び 2,500 ppm の用量での 59 日間投与により、肝細胞アポトーシス増加が認められた。(参照 63)

④ マウスを用いた 60 日間投与における酸化ストレス検討試験（過酸化脂質と抗酸化物質の測定）

ICR (Tif:MAGf) マウス（一群雄 10 匹）を用いて、60 日間混餌 [原体：0、2,500 及び 5,000 ppm (0、448 及び 976 mg/kg 体重/日に相当)] 投与し、投与 7、14、28 及び 60 日後にと殺して、過酸化脂質及び抗酸化物質が測定された。

チアメトキサムの 2,500 又は 5,000 ppm の用量での 60 日間投与により、GSH 濃度増加が認められた。過酸化物質である総 8-イソプロスタン F_{2a} 濃度、マロンジアアルデヒド濃度及び抗酸化物質である α -トコフェロール濃度には変化はみられなかった。

チアメトキサムを雄マウスに 2,500 ppm 又は 5,000 ppm で 60 日間投与しても、肝臓において酸化ストレスの影響を示唆する変化は認められなかった。（参照 64）

⑤ マウスを用いたグルタチオン合成及び調節に関する酵素の測定

マウスを用いた酸化ストレス検討試験 [14. (1)④] において、2,500 及び 5,000 ppm 投与群で肝臓中の GSH 濃度の増加がみられたことから、この試験で得られた肝臓試料を用いて、グルタチオンの合成及び調節に関する酵素に及ぼす影響について検討された。

タンパク量、 γ -グルタミルシステイン合成酵素 (γ -GCS)、グルタチオン還元酵素 (GR)、グルコース-6-リン酸脱水素酵素 (G6PDH) 及びグルタチオン S-トランスフェラーゼ (GST) について測定した結果、チアメトキサムを 2,500 及び 5,000 ppm の用量で混餌投与した雄マウスの肝臓では、投与 7 日後から γ -GCS 及び GST が用量依存的に増加した。GR 及び G6PDH には影響はみられなかった。

グルタチオン合成の律速酵素である γ -GCS の増加は、酸化ストレス検討試験 [14. (1)④] における GSH 濃度の増加と一致した変化であった。GST の増加は肝酵素誘導試験 [14. (1)①] でも認められており、チアメトキサム投与により、マウスの肝臓で第 II 相薬物代謝酵素が誘導されることが確認された。（参照 98）

⑥ マウスを用いた 50 週間投与における肝細胞増殖能及びアポトーシスの検討試験

ICR (Tif:MAGf) マウス（一群雄 15 匹）を用いて、50 週間混餌 [原体：0、50、200、500、1,250、2,500 及び 5,000 ppm (0、6.3、25.1、61.5、151、314 及び 684 mg/kg 体重/日に相当)] 投与し、投与 10、20、30、40 及び 50 週にと殺して、肝臓への影響、肝細胞増殖能及びアポトーシスの定量的解析が行われた。各投与群で認められた所見は表 53 に示されている。

1,250 ppm 以上投与群で BrdU 標識率は有意に高く、肝細胞増殖能の亢進が認められた。また、500 ppm 以上投与群で肝細胞アポトーシス数の有意な高値が認められた。（参照 99）

表 53 肝細胞増殖能及びアポトーシスの検討試験で認められた毒性所見

投与群	雄
5,000 ppm	・肝臓：脂肪化の発生頻度及び程度の低下
2,500 ppm 以上	・体重増加抑制、摂餌量減少 ・肝比重量増加 ・肝細胞肥大（小葉中心性/中間帯）
1,250 ppm 以上	・AST 及び ALT 増加
500 ppm 以上	・肝臓：肝細胞壊死（主に小葉中心性）、炎症性細胞浸潤、色素沈着、脂肪化、肝細胞アポトーシス（主に小葉中心性）
200 ppm 以下	毒性所見なし

⑦ マウスを用いた肝小葉中心域の肝細胞増殖能の検討試験

肝細胞増殖能及びアポトーシスの検討試験 [14. (1)⑥] で作製した投与 40 週時の BrdU 免疫組織化学/Feulgen 染色標本を用いて、細胞死が発生した肝小葉中心領域について BrdU 標識率を測定し、肝細胞増殖能の定量的解析が実施された。

500 ppm 以上投与群において、BrdU 標識率の用量依存的で有意な増加が認められた。（参照 100）

⑧ マウスを用いた 50 週間投与における酸化ストレスの検討試験

ICR (Tif:MAGf) マウス（一群雄 10 匹）を用いて、50 週間混餌 [原体：0、2,500 及び 5,000 ppm (0、318 及び 693 mg/kg 体重/日に相当)] 投与し、投与 10、20、30、40 及び 50 週にと殺して、過酸化脂質（総 8-イソプロスタニン $F_{2\alpha}$ 、遊離 8-イソプロスタニン $F_{2\alpha}$ ）、抗酸化物質（ α -トコフェロール、GSH 及び酸化型グルタチオン (GSSG)）、グルタチオン生合成及び調節に関与する酵素（ γ -GCS 及び GST）の測定を行い、酸化ストレスの検討試験が実施された。

2,500 ppm 以上投与群では、GSH、GSSG、 γ -GCS 及び GST は用量依存的に増加した。肝臓中の総 8-イソプロスタニン $F_{2\alpha}$ 濃度は、5,000 ppm 投与群で 20 週以降僅かに低下したが、血漿中の遊離 8-イソプロスタニン $F_{2\alpha}$ 濃度に対する影響は認められなかった。 α -トコフェロールに対する影響もみられなかった。

本試験で肝臓にみられた病理組織学的所見は、肝細胞肥大、肝細胞壊死、肝細胞アポトーシス及び色素沈着であり、マウスを用いた他の試験でみられた所見と一致していた。

肝臓及び血漿中の 8-イソプロスタニン $F_{2\alpha}$ 濃度が増加しなかったこと、細胞質内抗酸化剤である GSH 及び α -トコフェロールが減少していなかったことから、肝臓内活性酸素種の増加はなかったことが示された。したがって、チアメトキサムを雄マウスに 2,500 及び 5,000 ppm で 50 週間投与した場合、肝において酸化ストレスの影響は認められなかった。（参照 101）

⑨ ラットを用いた 50 週間投与における肝細胞増殖及びアポトーシスの検討試験

SD (Tif:RAIf) ラット (主群：一群雌 15 匹、衛星群：一群雌 10 匹) を用いて、50 週間混餌 [原体：0、1,000 及び 3,000 ppm (0、58.9 及び 181 mg/kg 体重/日に相当)] 投与し、投与 1、10、20、30、40 及び 50 週にと殺して、主群では臓器重量測定、肝細胞増殖能 (BrdU 標識率) 及び肝細胞アポトーシスの定量的解析 (TUNEL 法) 並びに肝臓の病理組織学的検査、衛星群では血液生化学的検査及び尿検査が実施された。

その結果、3,000 ppm 投与群では試験期間を通して僅かな体重増加抑制がみられたが、臨床化学検査、臓器重量及び病理組織学的検査で投与に関連した所見は認められなかった。また、細胞増殖能の指標である肝細胞 BrdU 標識率への影響はなく、肝細胞アポトーシス数の増加もみられなかった。(参照 102)

⑩ ラットを用いた 1 及び 10 週投与後における肝酵素誘導の検討試験

ラットを用いた 50 週間投与における肝細胞増殖及びアポトーシスの検討試験 [14. (1)⑨] で得られた 1 及び 10 週投与後の肝臓を用いて、肝酵素誘導能、抗酸化物質、 γ -GCS 活性の測定及びチトクローム P450 分子種の検出が行われた。

3,000 ppm 投与群では、投与 10 週後で 1α -、 2β -、 15α -及び 16α -位のテストステロン水酸化、エポキシドヒドラーゼ (EH)、ペルオキシソーム脂肪酸 β -酸化及び GST の軽度な増加がみられ、CYP1A2 及び CYP3A の軽度な誘導が認められた。CYP2B の誘導は低かった。肝臓中のグルタチオン (GSH 及び GSSG) 濃度及び γ -GCS 活性には影響はみられなかった。(参照 103)

⑪ ラット及びマウスにおける血漿中代謝物濃度の比較試験

ラット及びマウスの代謝試験において、代謝物 M の尿中濃度に種差がみられ、ラットよりもマウスで高かったこと、マウスで肝腫瘍がみられたこと及び代謝物 M への代謝がラットよりマウスで高かったことを踏まえ、ラット及びマウスにチアメトキサム又は代謝物を投与した試験 [14. (1)⑥、⑨、⑫、⑬] から得られた血漿又は肝臓中の親化合物及び代謝物の濃度が比較された。

1) チアメトキサムを 2,500 ppm の濃度で混餌投与したマウスの、投与 10 週時における肝臓及び血漿中の親化合物及び代謝物濃度は表 54 に示されている。代謝物の肝臓中濃度は血漿中濃度よりも高く、代謝物 M では 1.6 倍であった。

2) チアメトキサムを 3,000 ppm の濃度で混餌投与したラット及び 2,500 ppm の濃度で混餌投与したマウスにおける血漿中の代謝物濃度は表 55 に示されている。代謝物の血漿中濃度はラットよりもマウスで顕著に高く、投与 10 週時で代謝物 M はラットの約 140 倍、代謝物 D は 15 倍を示した。

3) 2 系統の雄マウスにチアメトキサム、代謝物 B 又は M を 20 週間混餌投与した試験 [14. (1)⑫] で得られた血漿を用いて、代謝物濃度が測定された結果、代謝に系統差は認められなかった (表 56)。

4) マウスに代謝物 D を 1 週間混餌投与した試験 [14. (1)⑬] で得られた血漿中

からは、D 及びその代謝物である M のみが検出された。(参照 104)

表 54 マウスにおける肝臓及び血漿中の代謝物濃度

試料	濃度 (µg/mL)			
	チアメトキサム	代謝物 B	代謝物 D	代謝物 M
肝臓	4.60	3.75	0.64	8.68
血漿	3.81	3.03	0.53	5.40
比率 (肝臓/血漿)	1.21	1.24	1.21	1.60

注) 試料として、試験 [14. (1)⑥] で得られた 2,500 ppm 投与群の 10 週時におけるマウスの肝臓及び血漿が用いられた。

表 55 ラット及びマウスにおける血漿中の代謝物濃度

動物 (性別) 投与量	投与期間 (週)	血漿中濃度 (µg/mL)			
		チアメトキサム	代謝物 B	代謝物 D	代謝物 M
ラット (雌) 3,000 ppm	1	7.01	0.96	0.14	0.09
	10	19.2	0.63	0.10	0.05
	50	7.91	1.20	0.12	0.05
マウス (雄) 2,500 ppm	1	11.8	2.54	0.86	0.98
	10	14.9	5.31	1.50	7.05
	50	9.71	3.38	1.12	4.20

注) 試料として、試験 [14. (1) ⑨] で得られた 3,000 ppm 投与群の雌ラットの血漿及び試験 [14. (1) ⑥] で得られた 2,500 ppm 投与群の雄マウスの血漿が用いられた。

表 56 2 系統の雄マウスにおける投与 20 週時の血漿中代謝物濃度 (µg/mL) の比較

被験物質 (投与量)	血漿中代謝物	マウスの系統	
		Tif:MAGf	CD-1
チアメトキサム (2,500 ppm)	チアメトキサム	9.66	3.67
	B	4.79	2.71
	D	0.89	0.46
	M	5.99	5.42
代謝物 B (2,000 ppm)	B	7.35	1.65
	M	7.96	5.17
代謝物 M (500 ppm)	M	3.99	2.56

注) 試料として、試験 [14. (1)⑫] で得られた血漿が用いられた。

⑫ 2 系統のマウスを用いたチアメトキサム、代謝物 B 及び M の肝臓への影響に関する系統差検討試験

マウスの代謝試験 [1. (3)、(4)] の結果から、マウスの尿中主要代謝物は B (クロチアニジン) 及び M であった。Tif:MAGf 系マウスを用いたチアメトキサムの発がん性試験では肝腫瘍が認められている一方、B では CD-1 系マウスにおける肝腫瘍の増加は認められていない (参照 117)。本試験は、両系統のマウスにおけるチ

アメトキサム、代謝物 B 及び M の肝臓への影響を比較する目的で実施された。

Tif:MAGf 及び CD-1 系マウス（一群雄 17 匹）にチアメトキサムを 2,500 ppm、代謝物 B を 2,000 ppm 及び代謝物 M を 500 ppm の濃度で 20 週間混餌投与して、系統差検討試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 57 に示されている。

マウスの系統間の比較では、Tif:MAGf よりも CD-1 の方が体重変化について感受性が高く、代謝物 B の投与でより顕著であった。

チアメトキサム投与では、両系統のマウスで肝臓への影響が認められたが、代謝物 B 及び M の投与では、両系統とも肝臓に影響は認められなかった。（参照 105）

表 57 各投与群で認められた毒性所見

被験物質 (投与量)	マウスの系統	
	Tif:MAGf	CD-1
チアメトキサム (2,500 ppm)	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 (2、3 週) ・TP、Chol 及び Alb 減少 ・ALT 増加 ・肝絶対及び補正重量増加 ・腎絶対及び補正重量減少 ・BrdU 標識率増加 (20 週間投与後) ・肝細胞アポトーシス、肝細胞肥大、肝細胞壊死、炎症性細胞浸潤 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 (2~5、7~9、13 週) ・摂餌量減少 (3、4 週) ・TP、Chol 及び Alb 減少 ・ALT 増加 ・腎絶対及び補正重量減少 ・BrdU 標識率増加 (10 及び 20 週間投与後) ・肝細胞アポトーシス、肝細胞肥大、肝細胞壊死、炎症性細胞浸潤、色素沈着
代謝物 B (2,000 ppm)	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 (2~6、8~11 週) ・摂餌量減少 (1、3~6、10 週) ・腎絶対及び補正重量減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 (全期間) ・摂餌量減少 (1、3~15、20 週) ・食餌効率低下 ・腎絶対及び補正重量減少
代謝物 M (500 ppm)	毒性所見なし	毒性所見なし

⑬ マウス及びラットを用いた代謝物 B、M 及び D の肝臓への影響に関する種差検討試験

代謝物 B をマウスに 20 週間投与しても肝臓に影響はみられなかった[14. (1) ⑫] ことから、代謝物 B ではなく、チアメトキサムから生成された別の代謝物がマウスに肝腫瘍の発生をもたらす可能性が考えられた。本試験では、尿及び血漿中の主要代謝物である B、M 及び D の肝臓に対する影響を明らかにし、チアメトキサムのマウスにおける肝腫瘍発生の要因を検討するとともに、ラットとの比較検討が行われた。

1) ICR (Tif:MAGf) マウス（一群雄 12 匹）に、代謝物 D を 0、500 及び 1,000 ppm の濃度で 1 及び 10 週間混餌投与した結果、Chol が投与量及び投与期間に依存して

低下し、1,000 ppm 投与群で TP 及び Alb 減少、BrdU 標識率の増加、小葉中心性肝細胞肥大、肝細胞の単細胞壊死又はアポトーシスの発生頻度増加が認められた。単位面積当たりの肝細胞アポトーシス数に影響は認められなかった。

2) ICR (TifMAGf 及び CD-1) マウス (一群雄 17 匹) に、チアメトキサム、代謝物 B 及び M を 20 週間混餌投与した試験 [14. (1)⑫] では、チアメトキサム投与で両系統のマウスに Chol 減少、ALT 増加、肝細胞肥大、肝細胞壊死及び炎症性細胞浸潤の発生頻度増加、細胞増殖能の亢進がみられたが、代謝物 B 及び M では肝臓に影響は認められなかった。

3) SD (TifRaIf) ラット (一群雌 17 匹) に代謝物 D を 0、500 及び 1,000 ppm の濃度で 1 週間混餌投与した結果、Chol の軽度低下、ALT 及び AST の有意な低下がみられた。肝臓重量に投与の影響はみられなかった。

以上より、チアメトキサムのマウスを用いた発がん性試験で認められた肝腫瘍の増加に関して、代謝物 D の関与が考えられた。また、代謝物 B については、マウスで肝腫瘍の増加は認められていない (参照 117) こと、代謝物 D がチアメトキサムの N-脱メチル化により生成された代謝物であり、B 及び M のいずれからも生成しないことと一致した結果であった。さらに、チアメトキサム投与のラットにおいて肝腫瘍の増加はみられず、D の血漿中濃度がラットよりマウスで高いこと [1. (5)] とも一致した結果であった。(参照 106)

⑭ マウス離乳児及び成獣を用いたチアメトキサムの肝臓への影響に関する比較検討試験

チアメトキサムのマウスを用いた 50 週間混餌投与により、肝臓への影響が認められたが、肝細胞の増殖は、2,500 ppm の投与量で投与開始後 10 週間は認められず、30 週から 50 週の間で発現した [14. (1)⑥]。また、チアメトキサムをマウスに 1 週間投与した試験 [14. (1)⑬] では血漿中 Chol の低下がみられた。

本試験は、離乳児及び成獣の Chol への影響を比較することを目的として実施された。

ICR (TifMAGf) マウス (21 日齢の離乳児：一群雄 6 匹、15～17 週齢の成獣：一群雄 6 匹) に、チアメトキサムを 0、500、1,250 及び 2,500 ppm の濃度で 7 日間混餌投与して、肝臓への影響について比較検討された。

7 日間投与後の血漿中のチアメトキサム、代謝物 B、D 及び M の濃度は、成獣に比べて離乳児で高かった。しかし、血漿中 Chol 濃度は、成獣ではすべての投与群で有意に低下 (対照群の値の 68～78%) したのに対して、離乳児では 1,250 及び 2,500 ppm 投与群で有意に低下 (対照群の値の 79～85%) し、成獣に比べて低下の程度は軽度であった。また、肝臓の病理組織学的検査では、成獣では 1,250 ppm 以上、離乳児では 2,500 ppm 投与群で小葉中心領域に肝細胞の細胞質好酸性減少及び空胞増加が観察され、離乳児の方が影響が低い結果が得られた。以上より、離乳児の感受性が成獣より高くはないことが示唆された。(参照 107)

⑮ マウス及びラットを用いたチアメトキサムの血漿中 Chol への影響に関する比較検討試験

Chol 又は脂質を低下させる多くの化合物が、げっ歯類、特にマウスに肝腫瘍を発生させることが知られていることから、本試験では、チアメトキサム又は代謝物を投与したマウス及びラットにおける Chol への影響並びに Chol 生合成阻害について検討された。

a. Chol への影響について

1) マウスを用いたチアメトキサムの 50 週間投与試験 [14. (1)⑥] で得られた血漿 (一群雄 5 匹を対象とした) を用いて、Chol が経時的 (投与 10、20、30、40 及び 50 週時) に測定された。

血漿中 Chol の低値は、投与用量に関連して投与 10 週後から認められ、500 ppm 以上投与群で統計学的有意差がみられた。

2) ICR (Tif:MAGf) マウス (一群雄 5 匹) にチアメトキサムを 0 及び 350 mg/kg 体重/日の用量で 1 日 1 回 7 日間強制経口投与し、血漿中の T.Chol、HDL 及び LDL が測定された。

チアメトキサム投与群では、T.Chol は投与 1 日後から低下し、投与 4 及び 7 日後の測定値には有意差が認められた。HDL 及び LDL についても投与 4 及び 7 日の測定で有意な低値を示した。

3) 2 系統のマウスにチアメトキサム、代謝物 B 及び M を 20 週間混餌投与した系統差検討試験 [14. (1)⑫] において、チアメトキサムを投与した両系統のマウスに Chol の有意な低下がみられたが、代謝物 B 及び M では Chol の低下は認められなかった。Chol への影響に系統差はみられなかった。

4) マウスに代謝物 D を 10 週間混餌投与した試験 [14. (1)⑬] において、投与 1 週後から Chol の低下が認められた。

5) ICR (Tif:MAGf) マウス (一群雄 18 匹) にチアメトキサムを 0 及び 2,500 ppm の濃度で 4 週間混餌投与し、その後 4 週間基礎飼料を与えた回復群を設けて、肝臓への影響について検討された。

その結果、チアメトキサムの投与 4 週後に Chol は低値を示した (対照群の 69%) が、回復 2 週後に対照群と同等となった。ALT 及び AST には影響はみられなかった。肝重量は投与 4 週後に対照群の 109%、回復 2 週後で 108% と高値を示したが、回復 4 週後に対照群と同等となった。肝臓の病理組織学的検査では、投与 4 週後で肝小葉中心性の肝細胞に細胞質好酸性減少が認められたが、回復 2 及び 4 週後の肝臓の変化は対照群と同様であった。

6) ラットにチアメトキサムを 50 週間混餌投与した試験 [14. (1)⑨] では、血漿中 Chol に投与に関連した影響は認められなかった。

b. Chol の生合成阻害について

1) マウスにチアメトキサムを 20 週間混餌投与した試験 [14. (1)⑫] で得られた肝臓試料を用いて、ミクロソーム中の HMG-CoA 還元酵素活性が測定された。

チアメトキサム 2,500 ppm を 20 週間投与した後の HMG-CoA 還元酵素活性は対照群と同程度であり、チアメトキサムは HMG-CoA 還元酵素活性に影響を及ぼさないと考えられた。

2) 雄マウス (Tif:MAGf) から取り出した肝ミクロソーム画分に基質として HMG-CoA を添加し、チアメトキサム、代謝物 D 及び M をそれぞれ加えてインキュベートした後に HMG-CoA 還元酵素活性が測定された。

チアメトキサム、代謝物 D 及び M は HMG-CoA 還元酵素活性に影響を及ぼさず、HMG-CoA 還元酵素による HMG-CoA のメバロン酸への合成は阻害されなかった。

3) ICR (Tif:MAGf) マウス (一群雄 5 匹) にチアメトキサムを 0 及び 5,000 ppm の濃度で 7 日間混餌投与し、試験 8 日に ^3H 標識・メバロン酸を腹腔内投与して、 ^3H 標識・メバロン酸の *in vivo* での取り込みについて検討された。

肝臓の脂質画分の主要成分は、スクアレン及び Chol であった。Chol 量は投与群と対照群でほぼ同等であったが、スクアレン量はチアメトキサム投与群で対照群の約 4 倍であった。スクアレン量の増加から、Chol 生合成経路におけるスクアレンの律速酵素であるスクアレンモノオキシゲナーゼの阻害が示唆された。(参照 108)

⑩ マウスの肝毒性における一酸化窒素の役割に関する検討試験

1) マウスにおけるチアメトキサムの主要代謝物である M は、既知の一酸化窒素合成酵素 (NOS) を阻害する化合物と構造的に類似していること、2) チアメトキサムの代謝経路内に、アルギニンからシトルリンと一酸化窒素 (NO) への変換に類似した反応があり (代謝物 H から O への変換)、チアメトキサムの代謝物が誘導型 NO 合成酵素 (iNOS) に対する基質として働く可能性が考えられること、3) チアメトキサム投与でみられたマウスの肝腫瘍の発生に NO が関与している可能性が考えられたことから、本試験では、チアメトキサム及び代謝物の NO の役割について *in vitro* 及び *in vivo* の条件で検討された。

その結果、マウスにおける主要代謝物 M は、iNOS を *in vitro* で阻害し、生体内の基質であるアルギニンに対する拮抗的阻害剤として作用することが認められた。

in vivo 試験では、マウスにおいて四塩化炭素 (CCl_4) の腹腔内投与で腫瘍壊死因子

($\text{TNF}\cdot\alpha$) は増加し、NO 産生マーカーとして測定した亜硝酸濃度も増加した。代謝物 M の投与後に CCl_4 を単回投与した場合、 CCl_4 単独投与でみられた肝への影響

(ALT 及び AST 増加、肝細細胞の空胞化、被膜下の壊死) が増加した。このことから、 CCl_4 投与で肝への影響が引き起こされ、放出される $\text{TNF}\cdot\alpha$ による作用は、iNOS から NO が産生されて抑制されるはずであるが、代謝物 M の iNOS 阻害により NO の産生が抑制されるため、肝への影響が促進されることが示された。さらに、代謝物 M の血漿中濃度は、マウス発がん性試験の最高用量 (2,500 ppm) の血漿濃度と同程度であった。

したがって、代謝物 M の iNOS 阻害により NO の産生が抑制されることは、チアメトキサムがもたらした肝毒性を促進させる可能性が示唆された。（参照 109）

(2) ラットの精子に対する影響に関する検討試験

ラットを用いた 2 世代繁殖試験 [12. (1)] において、10 ppm 以上の投与群で精子運動性の低下が観察されたことから、精子への影響について検討された。

SD ラット（一群雄 30 匹）を用いて、10 週間混餌（原体：0、10、30、1,000 及び 2,500 ppm（0、0.64、1.97、65.3 及び 165 mg/kg 体重/日に相当））投与し、ラットの精子に対する影響に関する検討試験が実施された。

2,500 ppm 投与群で摂餌量減少、精巣比重量（左右）及び精巣上体尾部（右）比重量増加が認められた。精子の運動性、形態及び数のいずれもラットにおける正常値の範囲内であった。2,500 ppm まで精子に対する影響は認められなかった。（参照 65）

(3) ラットの胸腺への影響に関する検討試験

ラットを用いた 2 世代繁殖試験 [12. (1)] において、30 ppm 以上投与群の F₁ 雌で胸腺重量の低下が観察されたことから、胸腺に及ぼす影響について検討された。

① ラットにおける免疫毒性試験（胸腺への影響）

SD ラット（一群雌雄各 12 匹）を用いて、P 雄に 4 週間、P 雌に 12 週間、F₁ 雌雄に 8 週間にわたり混餌（原体：0、30、1,000 及び 2,500 ppm：平均検体摂取量は表 58 参照）投与し、ラット F₁ における免疫毒性試験（胸腺への影響）が実施された。

胸腺重量、胸腺細胞数、抗ヒツジ赤血球（SRBC）抗体価、幼若胸腺細胞と成熟胸腺細胞の解析、胸腺の TUNEL 標識率には、いずれの用量群においても検体の影響は観察されず、F₁ 雌の胸腺に対する影響は認められなかった。（参照 66）

表 58 免疫毒性試験（ラット）の検体摂取量

投与群		30 ppm	1,000 ppm	2,500 ppm	
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	P 世代	雄	2.08	73.1	175
		雌	3.21	106	260
	F ₁ 世代	雄	3.44	116	295
		雌	3.28	108	260

② F₁ 世代雌のリンパ節及び脾臓の病理組織学的検査

2 世代繁殖試験 [12. (1)] の F₁ 世代の雌ラットから得られたリンパ節及び脾臓について、組織標本を作製し、病理組織学的検査が実施された。

腋窩リンパ節、腸管間膜リンパ節、膝窩リンパ節及び脾臓には、検体投与に関連した組織学的変化は認められなかった。特に T-細胞領域（リンパ節の傍皮質、動脈