

ルベンゾイル基の分子内転位による AB-7 の生成、ニトリル基の加水分解後の 2-トリフルオロメチルベンゾイル基の分子内転位による AB-6 の生成であり、これらは植物表面での光化学反応や加水分解によるものと考えられた。植物体内に浸透した後、分子の開裂により A-12 及び B-1 が生成した。みかんではこれらの代謝物の抱合化は観察されなかった。(参照 4)

表 6 みかんの果実及び葉試料中の残留放射能及び代謝物

試料	標識体	散布後 日数	総残留 放射能 (mg/kg)	シフルメ トフェン (%TRR)	代謝物 (%TRR)				
					AB-7	AB-6	A-12	B-1	その他
果実	[ter- ¹⁴ C] シフルメ トフェン	1	0.578	89.8	0.7	1.1	1.9	/	5.9
		30	0.571	54.0	7.2	7.5	4.4	/	24.8
	[tri- ¹⁴ C] シフルメ トフェン	1	0.617	88.4	0.5	1.0	/	4.7	4.8
		30	0.574	43.9	8.5	8.6	/	11.2	25.9
葉	[ter- ¹⁴ C] シフルメ トフェン	1	36.1	90.1	0.6	1.1	2.3	/	5.5
		14	30.0	81.1	1.2	3.0	3.6	/	10.5
	[tri- ¹⁴ C] シフルメ トフェン	1	35.1	88.7	0.5	0.9	/	4.8	4.8
		14	43.1	73.3	1.5	4.2	/	9.1	11.4

(2) なす

なす (品種 : Japanese Long Purple) の収穫期に [ter-¹⁴C]シフルメトフェン又は [tri-¹⁴C]シフルメトフェンを 600 g ai/ha の用量で茎葉散布し、散布 1、7 及び 14 日後の果実並びに散布 14 日後の葉を採取して植物体内運命試験が実施された。

なすの果実及び葉試料中の残留放射能及び代謝物は表 7 に示されている。

果実の残留放射能の大部分は表面に存在し、散布 1 日後で 86.5~92.0%TRR、14 日後で 56.4~81.3%TRR が表面洗浄液から回収された。散布 14 日後の果実抽出液から 14.6~40.9%TRR が検出され、果実内部への若干の移動がみられた。

葉では、散布 14 日後の表面洗浄液から 68.7~83.4%TRR、抽出液から 14.1~26.6%TRR、残渣から 2.5~4.7%TRR が回収された。

果実における残留放射能の主要成分は親化合物であり、少量代謝物として AB-6、AB-7 及び U4 が認められた。この他に [tri-¹⁴C]シフルメトフェン散布区では、10%TRR を超える代謝物として B-1 及び U1、少量代謝物として U2 が検出された。U1 及び U2 は、表面洗浄液には含まれていなかったことから、植物体内で生成すると考えられ、酸加水分解により B-1 を生成したことから、B-1 の抱合体と推定された。これらは果実中に蓄積される傾向があった。

葉における残留放射能の主要成分も親化合物であった。その他に、果実と

同じ代謝物が検出されたが、10%TRRを超えるものはなかった。(参照5)

表7 なすの果実及び葉試料中の残留放射能及び代謝物

試料	標識体	散布後 日数	総残留 放射能 (mg/kg)	シフルメ トフェン (%TRR)	代謝物 (%TRR)						
					AB-7	AB-6	U4	B-1	U2	U1	その他
果実	[ter- ¹⁴ C] シフルメ トフェン	1	0.323	95.0	—	—	—	/	/	/	4.0
		14	0.315	62.2	5.1	5.1	3.5	/	/	/	20.0
	[tri- ¹⁴ C] シフルメ トフェン	1	0.488	91.2	—	—	—	2.5	—	—	5.5
		14	0.413	42.4	3.6	3.4	1.2	14.8	6.3	16.2	9.4
葉	[ter- ¹⁴ C] シフルメ トフェン	14	23.0	57.6	6.8	8.1	3.7	/	/	/	21.2
	[tri- ¹⁴ C] シフルメ トフェン	14	17.5	47.4	5.7	8.1	4.3	4.6	1.4	4.0	19.6

—: 検出されず

(3) りんご

収穫期のりんご果樹(品種: Pink Lady)に[ter-¹⁴C]シフルメトフェン又は[tri-¹⁴C]シフルメトフェンを600 g ai/haの用量で茎葉散布し、散布1、7及び30日後の果実並びに散布7及び30日後の葉を採取して植物体内運命試験が実施された。

りんごの果実及び葉試料中の残留放射能及び代謝物は表8に示されている。

果実の残留放射能の大部分が表面に存在し、散布1日後で95~95.6%TRR、散布30日後で66.7~70.9%TRRが表面洗浄液から回収された。散布30日後の果実抽出液には21.5~28.1%TRRが分布し、若干の浸透がみられた。

葉においても、残留放射能の大部分が表面に分布し、散布7日後で86.8~90.8%TRR、30日後で72.0~82.0%TRRが表面洗浄液から回収された。

果実及び葉における残留放射能の主要成分は親化合物であり、他に少量代謝物としてAB-7、AB-6及びB-1が検出された。(参照6)

表 8 りんごの果実及び葉試料中の残留放射能及び代謝物

試料	標識体	散布後 日数	総残留 放射能 (mg/kg)	シフルメ トフェン (%TRR)	代謝物 (%TRR)				
					AB-7	AB-6	B-1	極性物質	その他
果実	[ter- ¹⁴ C] シフルメ トフェン	1	0.100	89.0	—	5.0	/	—	1.0
		30	0.079	53.2	6.3	5.1	/	2.5	25.3
	[tri- ¹⁴ C] シフルメ トフェン	1	0.113	94.7	—	—	—	—	0.9
		30	0.057	64.9	5.3	5.3	1.8	1.8	15.8
葉	[ter- ¹⁴ C] シフルメ トフェン	7	6.10	84.9	3.6	2.7	/	/	7.4
		30	4.93	60.2	4.8	6.8	/	/	23.3
	[tri- ¹⁴ C] シフルメ トフェン	7	7.27	77.2	4.3	4.7	3.6	/	8.7
		30	9.56	43.8	5.6	8.6	4.8	/	30.6

— : 検出されず

3. 土壌中運命試験

(1) 好氣的土壌中運命試験

砂壤土 (英国) に [ter-¹⁴C]シフルメトフェン又は [tri-¹⁴C]シフルメトフェンを乾土あたり 0.93 mg/kg (慣行施与量の約 1,400 g ai/ha に相当) となるように混和処理し、25℃の暗条件下で、非滅菌土壌は 181 日間、滅菌土壌は 30 日間インキュベートして、好氣的土壌中運命試験が実施された。

非滅菌土壌では、処理後 181 日で 27.6~39.3% TAR が ¹⁴CO₂ として消失し、抽出液に 29.9~30.7% TAR、抽出残渣に 30.7~37.9% TAR 認められた。シフルメトフェンの推定半減期は 2.76 日であった。

[ter-¹⁴C]シフルメトフェンからは、親化合物を除いて約 10 種類の分解物が分離されたが、10% TAR を超す分解物はなく、AB-6 が 59 日後で最大 8.3% TAR に達したが、181 日後には 3.8% TAR に減少した。

[tri-¹⁴C]シフルメトフェンからは、親化合物を除いて約 10 種類の分解物が分離され、B-1 が 6 日後に最大 22.9% TAR に達したが、181 日後には 2.7% TAR に減少した。AB-1 は 30 日後に最大 7.8% TAR に達し、181 日には 5.1% TAR に減少した。

滅菌土壌では、処理後 30 日における ¹⁴CO₂ への分解は 0.1 未満~4.1% TAR であり、抽出液に 61.0~83.6% TAR、抽出残渣に 19.7~42.7% TAR 認められた。(参照 7)

(2) 土壌吸着試験

本剤は水溶解度が低く、加水分解に不安定であることからバッチ吸着法による土着吸着試験は実施困難と判断し、HPLC 法により、8 種の参照化合物の *k*_d 値 (キャパシティーファクター) と K_{oc} (土壌吸着係数) 値から相関式

を求め、シフルメトフェンの k' 値を代入して Koc 値を算出した。シフルメトフェンの Koc 値は 13,200 であった。(参照 8)

4. 水中運命試験

(1) 加水分解試験 (滅菌緩衝液)

pH 4.0 (クエン酸緩衝液)、pH 5.0 (酢酸緩衝液)、pH 7.0 (リン酸緩衝液) 及び pH 9.0 (ホウ酸緩衝液) の各滅菌緩衝液に [ter- 14 C]シフルメトフェン又は [tri- 14 C]シフルメトフェンを 0.01 mg/L となるように添加した後、25°C の暗条件下で最長 30 日間インキュベートして加水分解試験が実施された。

シフルメトフェンの加水分解は酸性条件下では穏やかに進行し、中性からアルカリ性条件下で速やかに進行した。半減期は、pH 4.0 で 7.7 日、pH 5.0 で 6.0 日、pH 7.0 で 9.8 時間、pH 9.0 で 10.3 分であった。

各滅菌緩衝液中における分解物は、A-1、A-2、A-18、B-1 及び AB-1 であった。放射能の回収率は 94.2~104% TAR であった。 14 CO₂ の発生はなかった。

シフルメトフェンの加水分解経路は、2-トリフルオロメチルベンゾイル基の脱離による A-1 及び B-1 の生成並びに 2-メトキシエトキシカルボニル基の脱離による AB-1 の生成であり、A-1 はさらに 2-メトキシエトキシカルボニル基のエステルの加水分解による A-18 を経て、その後脱カルボキシル化した A-2 へ加水分解された。A-1 から A-2 への分解は酸性条件下で速やかに進行し、A-18 から A-2 への分解はアルカリ条件下で緩やかに進行した。(参照 9)

(2) 加水分解試験 (緩衝液)

pH 4.0 (酢酸緩衝液)、pH 7.0 (リン酸緩衝液) 及び pH 9.0 (ホウ酸緩衝液) の各緩衝液に [ter- 14 C]シフルメトフェン又は [tri- 14 C]シフルメトフェンを 0.01 mg/L になるように添加し、暗所条件下、25±2°C 又は 40±2°C で、最長 30 日間インキュベートして加水分解試験が実施された。

pH 4.0、7.0 及び 9.0 の各緩衝液中のシフルメトフェンの半減期は、25°C でそれぞれ 9 日、5 時間及び 12 分であった。40°C では、pH 4.0 及び 7.0 でそれぞれ 3 日及び 3 時間となり、pH 9.0 においては計算不能であった。(参照 10)

(3) 水中光分解運命試験 (緩衝液及び河川水)

pH 5.0 の酢酸緩衝液及び pH 7.5 の河川水 (茨城) に [ter- 14 C]シフルメトフェン又は [tri- 14 C]シフルメトフェンを 0.01 mg/L となるように添加した後、25±1°C でフィルター付のキセノンショートアークランプ (光強度: 180 W/m²、波長範囲: 290~800 nm) を 48 時間連続照射し、水中光分解試験が実施された。

緩衝液中及び河川水中でのシフルメトフェンの光分解半減期は、自然太陽光に換算するとそれぞれ 3.3 及び 2.7 時間であった。

pH 5.0 の緩衝液中の光分解により、シフルメトフェンは AB-15 を生成した。AB-15 の生成量は 2 日間で 50%TAR を超えた。その他の主要分解物として AB-7 及び B-1、微量分解物として AB-1 及び AB-6 が生成した。

pH 7.5 の河川水中で、シフルメトフェンは AB-15 を生成すると同時に、分解物 AB-1、A-18、A-2、A-1 及び B-1 が速やかに生成された。これらの分解物は、B-1 を除き、光分解を受けて速やかに減少した。最終的に [ter-¹⁴C] シフルメトフェンは A-14 と A-12 に、[tri-¹⁴C] シフルメトフェンは B-1 にまで分解された。また、河川水中では AB-15 の減衰が認められた。

暗所の河川水中では、シフルメトフェンは 4 時間後には半減し（半減期は 3.4 時間）、2 日後には約 1%TAR に減少した。主な分解物として A-18 (27%TAR)、A-2 (16%TAR)、AB-1 (43~44%TAR) 及び B-1 (52%TAR) が生成された。河川水の pH が 7.5 であったことが暗所での分解が比較的速かった原因と考えられた。（参照 11）

5. 土壌残留試験

火山灰土・軽埴土（茨城）及び沖積土・埴壌土（高知）を用いて、シフルメトフェン及び代謝物 B-1 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。また、土壌及び水中運命試験における主要分解物である AB-1、AB-7、A-12 及び B-1 を分析対象化合物とした土壌残留試験（容器内試験）も実施された。結果は表 9 及び 10 に示されている。（参照 12）

表 9 土壌残留試験成績（原体及び分解物 B-1）

試験		濃度 1)	土壌	推定半減期 (日)	
				シフルメトフェン	シフルメトフェン +B-1
容器内試験	畑地状態	0.6 mg/kg	火山灰土・軽埴土	0.8	1.4
			沖積土・埴壌土	1.4	8.3
圃場試験	畑地状態	600 g/ha	火山灰土・軽埴土	3.9	14.6
			沖積土・埴壌土	5.1	5.7

1) 容器内試験では原体、圃場試験では 20%フロアブル剤を使用

表 10 土壌残留試験成績(分解物)

試験		濃度 1)	土壌	推定半減期 (日)			
				AB-1	AB-7	A-12	B-1
容器内試験	畑地状態	0.5 mg/kg	火山灰土・軽埴土	≤0.5	≤0.5	4	4.5
			沖積土・埴壌土	≤0.5	≤0.5	4	11.2

1) いずれの分解物も純品を使用、分解物 B-1 の濃度のみ 0.3 mg/kg

6. 作物等残留試験

(1) 作物残留試験

野菜、果実及び茶を用いて、シフルメトフェン及び代謝物 B-1 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。

シフルメトフェンの最大残留値は、散布 1 日後に収穫したみかん（果皮）で認められた 10.8 mg/kg、代謝物 B-1 の最大残留値は、散布 7 日後に収穫した茶（荒茶）の 4.7 mg/kg、シフルメトフェン及び代謝物 B-1 の含量の最大残留値は、散布 7 日後に収穫した茶（荒茶）の 8.98 mg/kg であった。

また、同様の作物を用いて、代謝物 AB-6 及び AB-7 を分析対象化合物とした作物残留試験が実施された。その結果、いずれの作物においても代謝物 AB-6 及び AB-7 の残留値は定量限界未満であった。（参照 13）

(2) 推定摂取量

別紙 3 の作物残留試験の分析値を用いて、シフルメトフェン及び代謝物 B-1 を暴露評価対象化合物とした際に食品中より摂取される推定摂取量が表 11（詳細は別紙 4）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、シフルメトフェン及び代謝物 B-1 の含量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 11 食品中より摂取されるシフルメトフェン及び代謝物 B-1 の含量の推定摂取量

	国民平均 (体重：58.3 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 ($\mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$)	92.2	66.7	85.6	106

7. 一般薬理試験

ラット及びイヌを用いた一般薬理試験が実施された。結果は表 12 に示されている。（参照 14）

表 12 一般薬理試験

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)	ラット	雄 6	0、2,000 (経口) ^a	2,000	—	影響なし
呼吸・ 循環器系	呼吸数、血圧、 心拍数、心電図	イヌ	雄 4	0、2,000 (経口) ^b	2,000	—	影響なし

注) 溶媒として、a は 5%アラビアゴム・0.4%Tween 80 水溶液、b はゼラチンカプセルを用いた。

8. 急性毒性試験

シフルメトフェンのラットを用いた急性経口毒性試験、急性経皮毒性試験及び急性吸入毒性試験が実施された。結果は表 13 に示されている。(参照 15～17)

表 13 急性毒性試験結果概要 (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	Wistar ラット 雌 5 匹	/		軟便 死亡例なし
経皮	Wistar ラット 雌雄各 5 匹	>5,000	>5,000	症状及び死亡例なし
吸入	Wistar ラット 雌雄各 5 匹	LC ₅₀ (mg/L)		症状及び死亡例なし
		>2.65	>2.65	

代謝物 B-1 及び原体混在物 AB-13 のラットを用いた急性経口毒性試験、代謝物 AB-6 及び AB-7 並びに原体混在物 AB-8、AB-11 及び AB-12 の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 14 に示されている。(参照 18～24)

表 14 急性毒性試験結果概要 (代謝物及び原体混在物)

被験物質	動物種	LD ₅₀ (mg/kg 体重)	観察された症状
B-1 (代謝物)	Wistar ラット 雌 3 匹	>2,000	嗜眠、円背位、非協調性行動、立毛 死亡例なし
AB-13 (原体混在物)	Wistar ラット 雌 3 匹	>2,000	円背位、非協調性行動、浅速呼吸 死亡例なし
AB-6 (代謝物)	ICR マウス 雌 3 匹	>2,000	症状及び死亡例なし
AB-7 (代謝物)	ICR マウス 雌 3 匹	>2,000	自発運動低下、不整呼吸、肛門周囲被毛汚れ 死亡例なし
AB-8 (原体混在物)	ICR マウス 雌 3 匹	>2,000	症状及び死亡例なし
AB-11 (原体混在物)	ICR マウス 雌 3 匹	>2,000	症状及び死亡例なし
AB-12 (原体混在物)	ICR マウス 雌 3 匹	>2,000	症状及び死亡例なし

9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性

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。軽度の眼刺激性が認められたが、皮膚刺激性は認められなかった。(参照 25、26)

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。その結果、皮膚感作性が認められた。(参照 27)

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:0、100、300、1,000 及び 3,000 ppm:平均検体摂取量は表 15 参照)投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 15 90日間亜急性毒性試験(ラット)の平均検体摂取量

投与群		100 ppm	300 ppm	1,000 ppm	3,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	5.40	16.5	54.5	167
	雌	6.28	19.0	62.8	193

各投与群で認められた毒性所見は表 16 に示されている。

1,000 ppm 以上投与群の雌でみられた WBC の減少及び 1,000 ppm 投与群の雌でみられた顆粒球系/赤芽球系比の減少、3,000 及び 300 ppm 投与群の雄でみられた心臓重量の減少は、投与量との明確な関連性が認められず、対応する病理組織学的変化が認められないことから、投与の影響ではないものと考えられた。

本試験において、1,000 ppm 以上投与群の雄で肝比重量¹増加及び副腎び慢性皮質細胞空胞化、雌で副腎比重量増加、副腎び慢性皮質細胞肥大及び卵巣間質細胞空胞化が認められたので、無毒性量は雌雄で 300 ppm (雄:16.5 mg/kg 体重/日、雌:19.0 mg/kg 体重/日)であると考えられた。(参照 28)

表 16 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
3,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> PT 時間延長 肝絶対重量増加 腎比重量²増加 	<ul style="list-style-type: none"> 肝及び腎比重量増加 副腎絶対重量増加 副腎肥大及び白色化 卵巣間質細胞空胞化*
1,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> 肝比重量増加 副腎び慢性皮質細胞空胞化* 	<ul style="list-style-type: none"> Glob 減少、A/G 比増加 副腎比重量増加 副腎び慢性皮質細胞肥大 卵巣間質細胞空胞化*(有意差なし)
300 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

*:これらの空胞は大型の脂肪滴であること、皮質細胞の肥大は小型の脂肪滴の蓄積であることが確認されている。

¹ 体重比重量のことを比重量という(以下同じ)。

(2) 90日間亜急性毒性試験 (マウス)

ICR マウス (一群雌雄各 10 匹) を用いた混餌 (原体: 0、300、1,000、3,000 及び 10,000 ppm: 平均検体摂取量は表 17 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 17 90日間亜急性毒性試験 (マウス) の平均検体摂取量

投与群		300 ppm	1,000 ppm	3,000 ppm	10,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	35.4	117	348	1,200
	雌	45.0	150	447	1,510

各投与群で認められた毒性所見は表 18 に示されている。

3,000 ppm 投与群の雌で認められた MCHC の増加は、投与量との明確な関連性がないこと及び他の赤血球関連項目に異常がみられないことから、検体投与の影響ではないと考えられた。また、1,000 ppm 以上の投与群の雄で AST 減少、1,000 及び 3,000 ppm 投与群の雄で ALT 減少がみられたが、これらの変動に用量との明らかな関連性及び肝毒性を示唆するような病理組織学的変化は認められなかった。さらに、これらの項目の有意な減少は、対照群の測定値が背景データと比較し明らかな高値を示していたことに起因することが判明したため、検体投与の影響ではないと考えられた。3,000 ppm 投与群の雄で BUN 減少がみられたが、投与量との明らかな関連性がないこと及び BUN 減少の毒性学的意義が明らかではないことから、検体投与の影響ではないと考えられた。

本試験において、3,000 ppm 投与群で発生頻度は低いものの、雄で副腎び漫性皮質細胞肥大、雌で副腎び漫性皮質細胞空胞化が認められたので、無毒性量は雌雄で 1,000 ppm (雄: 117 mg/kg 体重/日、雌: 150 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 29)

表 18 90日間亜急性毒性試験 (マウス) で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
10,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・副腎絶対及び比重量増加 ・副腎肥大 ・副腎び漫性皮質細胞肥大 (1 例) 	<ul style="list-style-type: none"> ・副腎び漫性皮質細空胞化
3,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・副腎び漫性皮質細胞肥大 (1 例) 	<ul style="list-style-type: none"> ・副腎び漫性皮質細空胞化 (2 例)
1,000 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

(3) 90日間亜急性毒性試験 (イヌ)

ビーグル犬 (一群雌雄各 3 匹) を用いたカプセル経口 (0、30、300 及び 1,000 mg/kg 体重/日) 投与による 90 日月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 19 に示されている。

1,000 mg/kg 体重/日投与群の雄で投与後 7 週に MCHC の高値、雌で投与後 13 週に BUN の高値、300 mg/kg 体重/日投与群の雌で投与後 13 週に PT 時間の延長、30 及び 1,000 mg/kg 体重/日投与群の雄で投与後 13 週に単球比率の高値、投与後 7 及び 13 週に γ Glob 比率の高値、30 mg/kg 体重/日投与群の雄で投与後 13 週に Cre の低値が認められた。しかし、いずれの検査値も同群の投与開始前の値と比べ変動率は大きな差ではなく、投与量との明確な関連性も認められないことから、検体投与の影響ではないと考えられた。また、300 mg/kg 体重/日以上投与群の雌で下垂体の絶対及び比重量増加、300 mg/kg 体重/日投与群の雌で甲状腺及び膵臓の比重量増加がみられたが、病理組織学的検査ではこれらの臓器に関連した所見が認められなかったことから、検体投与の影響ではないと考えられた。

本試験において、1,000 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で体重増加抑制傾向、副腎皮質細胞の微細空胞化及び束状帯細胞の大型空胞が認められたので、無毒性量は雌雄で 300 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 30)

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
1,000 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制傾向 (有意差なし) ・副腎大型化 (1 例) ・副腎比重量増加 ・副腎皮質細胞の微細空胞化及び束状帯細胞の大型空胞* 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制傾向 (有意差なし) ・副腎皮質細胞の微細空胞化及び束状帯細胞の大型空胞* (2 例で顕著)
300 mg/kg 体重/日以下	毒性所見なし	毒性所見なし

* : 微細空胞が癒合したものが大型空胞と考えられる。

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 (ラット)

Fischer ラット (一群雌雄各 50 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、50、150、500 及び 1,500 ppm : 平均検体摂取量は表 20 参照) 投与による 1 年間慢性毒性試験が実施された。

表 20 1 年間慢性毒性試験 (ラット) の平均検体摂取量

投与量		50 ppm	150 ppm	500 ppm	1,500 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	1.90	5.63	18.8	56.8
	雌	2.31	6.92	23.3	69.2

各投与群で認められた毒性所見は表 21 に示されている。

検体投与に関連した死亡率の増加は認められなかった。

1,500 ppm 投与群の雄で、投与 29 週に立ち上がり姿勢が増加したが、他

の時期では観察されず、単発的であったことから偶発的な変化と考えられた。全投与群の雌で、投与4週に尿 pH の低下がみられたが、投与量との相関性が明らかでないこと、28日間反復経口投与毒性試験（予備試験）では異常が認められなかったことから、検体投与の影響ではないものと考えられた。

1,500 ppm 投与群において、雄では投与4及び26週に、雌では投与13週に血小板数の減少がみられたが、骨髓細胞形態検査では異常が認められず、予備試験及び90日間亜急性毒性試験[10. (1)]においても血小板数に異常が認められていないため、検体投与による影響ではないと考えられた。同群の雄では、投与26週に精巣上体重量が減少したが、精巣及び精巣上体に病理組織学的変化が認められなかったことから、偶発的な変化であると考えられた。150 ppm 以上投与群の雌において、投与52週に FIB 濃度が減少したが、明らかな投与量との相関性が認められないことから、検体投与の影響ではないと考えられた。1,500 ppm 投与群の雄では投与13週に Alb 及びカルシウムの増加が認められたが、一過性の反応であることから検体投与の影響ではないと考えられた。血液生化学的検査ではその他の項目において、また、骨髓細胞形態検査では種々の項目に有意な変動が認められたが、投与量との明らかな関連性が認められないこと、又は毒性学的に意義の乏しい変化であることから、検体投与の影響ではないものと考えられた。

病理組織学的検査では、1500 ppm 投与群において肝臓のび慢性肝細胞肥大が投与4週後の雄、卵巣の間質細胞空胞化が投与後13、26及び52週後の雌にそれぞれみられた。これらの所見の発生頻度に統計学的有意差は認められなかったが、予備試験及び90日間亜急性毒性試験[10. (1)]で同様の所見がみられていることから、検体投与の影響であると考えられた。1,500 ppm 投与群の雄では、投与52週に副腎び慢性皮質細胞肥大がみられたが、1例のみの所見であり、他の雄にはみられなかったため検体投与の影響ではないものと考えられた。

腫瘍性病変については、その発生頻度に対照群と検体投与群との間で差は認められなかった。

本試験において、1,500 ppm 投与群の雄で副腎び慢性皮質細胞空胞化等が、雌で副腎び慢性皮質細胞肥大、卵巣間質細胞空胞化等が認められたので、無毒性量は雌雄で500 ppm（雄：18.8 mg/kg 体重/日、雌：23.3 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32）

表 21. 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
1,500 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・尿量増加 ・RBC 増加 ・MCH、MCV 及び FIB 濃度減少 ・Alb 及びカルシウム増加 ・肝絶対及び比重量増加 ・腎比重量増加 ・副腎び慢性皮質細胞空胞化 ・肝び慢性肝細胞肥大（有意差なし） 	<ul style="list-style-type: none"> ・腎比重量増加 ・副腎絶対及び比重量増加 ・副腎び慢性皮質細胞肥大 ・卵巣間質細胞空胞化（有意差なし）
500 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

(2) 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（0、30、300 及び 1,000 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。

各投与群で認められた毒性所見は表 22 に示されている。

1,000 mg/kg 体重/日投与群の雄 1 例において、軟便が投与初期、嘔吐が投与期間を通じて高頻度でみられた。軟便や嘔吐はビーグル犬のカプセル投与試験において一定の頻度で観察されるものの、高頻度であることから検体投与に起因した変化であると考えられた。1,000 mg/kg 体重/日投与群の雌雄において、投与後 26 及び 52 週に TG が減少し、300 mg/kg 体重/日投与群雄の 1 例においても投与 52 週に顕著に減少した。これらの変動に統計学的有意差は認められないものの、投与期間を通じてみられることから、検体投与の影響と考えられた。

1,000 mg/kg 体重/日投与群の雄で投与後 26 週に尿中ナトリウムの減少、雌で投与後 26 週に WBC の増加及び血中 α_3 Glob 比率の減少がみられた。しかし、いずれの値も投与開始前の値と同等であること、投与量との明らかな関連性が認められないこと、又は一過性のものであることなどから、検体投与の影響ではないと考えられた。1,000 mg/kg 体重/日投与群の雄で肝及び前立腺絶対重量減少がみられたが、明らかな投与量との関連性が認められないこと及び病理組織学的検査において関連した所見がみられなかったことから、検体投与の影響ではないと考えられた。病理組織学的検査において、30 mg/kg 体重/日投与群の雌雄にみられた副腎皮質細胞の空胞形成（微細空胞形成及び大型空胞形成が、雄では各 1 例、雌では 2 及び 3 例）は、対照群にも認められる程度であること、変性所見あるいは変性所見に対する反応性所見を伴っていないことから、生体の生理的な範囲内の変化と考えられ、検体投与の影響とは考えられなかった。

本試験において、300 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で副腎皮質細胞の微細空胞形成及び大型空胞出現、副腎皮質細胞の変性並びに副腎束状帯から網状帯への限局性リンパ球浸潤が、さらに雄で TG 減少及び副腎皮質での褐色

色素含有マクロファージ浸潤が認められたので、無毒性量は雌雄で 30 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 31)

表 22 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 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> ・軟便、嘔吐 (1 例) ・副腎絶対及び比重量増加 ・副腎大型化 ・副腎間質線維化 ・精巣間質細胞腫大 (1 例) (軽度、び慢性、両側性) 	<ul style="list-style-type: none"> ・TG 減少 (有意差なし) ・副腎絶対及び比重量増加
300 mg/kg 体重/日 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・TG 減少 (有意差なし) ・副腎皮質細胞の微細空胞形成 ・副腎皮質細胞に大型空胞出現 ・副腎束状帯から網状帯に限局性リンパ球浸潤 ・副腎皮質細胞の変性* ・副腎皮質に褐色色素含有マクロファージ浸潤 	<ul style="list-style-type: none"> ・副腎大型化 ・副腎皮質細胞の微細空胞形成 ・副腎皮質細胞に大型空胞出現 ・副腎束状帯から網状帯に限局性リンパ球浸潤 ・副腎皮質細胞の変性* ・副腎間質線維化
30 mg/kg 体重/日	毒性所見なし	毒性所見なし

*: 核崩壊又は空胞の極度な増加・増大による細胞腫大を特徴としていた。

(3) 2 年間発がん性試験 (ラット)

Fischer ラット (一群雌雄各 50 匹) を用いた混餌 (原体: 0、150、500 及び 1500 ppm: 平均検体摂取量は表 23 参照) 投与による 2 年間発がん性試験が実施された。

表 23 2 年間発がん性試験 (ラット) の平均検体摂取量

投与群		150 ppm	500 ppm	1,500 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	4.92	16.5	49.5
	雌	6.14	20.3	61.9

検体投与に関連した死亡率の増加は認められなかった。

1,500 及び 150 ppm 投与群の雄にみられたリンパ球の減少は、投与量との明確な関連性がみられず、病理組織学的検査で胸腺及び脾臓に関連した所見が認められないこと、また、1,500 ppm 投与群の雄にみられた好酸球の減少は、好酸球が絶対数の少ない細胞種でありその減少には毒性学的意義が低いと考えられることから、いずれも検体投与による影響ではないと考えられた。

臓器重量測定において、1,500 ppm 投与群の雄の副腎の比重量が増加したが、各群から副腎腫瘍を有する個体を除外した雄の副腎重量には用量相関性は認められなかった。したがって、この副腎重量の変化は検体投与の影響とは考えられなかった。1,500 ppm 投与群の雌では脾臓の絶対及び比重量が、

500 ppm 投与群の雌では脾臓絶対重量が減少したが、これらはいずれも対照群の 1 例に発生した単核細胞性白血病に起因するものであり、検体投与の影響とは考えられなかった。剖検により、150 ppm 以上の投与群の雄の死亡・切迫殺動物において、精巣の腫瘍の発生頻度増加がみられた。この精巣腫瘍に対応する病理組織学的所見は精巣の間細胞腫であり、間細胞腫の発生頻度には、対照群と各投与群との間で有意差がなかったため、剖検時における精巣腫瘍の発生頻度増加は偶発的なものと考えられた。1,500 ppm 投与群の雄の最終と殺動物において、精巣上体の萎縮、眼球の混濁及びリンパ節腫大の発生頻度が増加したが、これらの肉眼的所見に対応する病理組織学的所見がみられなかったため、偶発的なものと考えられた。

投与に関連すると考えられる腫瘍性病変の増加は認められなかった。

本試験において、1,500 ppm 投与群の雌雄で副腎び慢性皮質細胞肥大が、さらに雌では子宮角の腺腔拡張が認められたので、無毒性量は雌雄で 500 ppm (雄: 16.5 mg/kg 体重/日、雌: 20.3 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 33)

(4) 18 カ月間発がん性試験 (マウス)

ICR マウス (一群雌雄各 52 匹) を用いた混餌 (原体: 0、150、500、1,500 及び 5,000 ppm: 平均検体摂取量は表 24 参照) 投与による 18 カ月間発がん性試験が実施された。

表 24 18 カ月間発がん性試験 (マウス) の平均検体摂取量

投与群		150 ppm	500 ppm	1,500 ppm	5,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	15.5	54.3	156	537
	雌	14.3	48.1	144	483

各投与群とも検体投与に起因する死亡率の増加を示さなかった。

5,000 ppm 投与群の雄で大型非染色球の減少が認められたが、大型非染色球はもともと変動が大きい項目であること、病理組織学的検査を含めた他の検査項目に関連した異常がみられないこと、及び非染色球の減少には毒性学的意義が乏しいと考えられることから、検体投与の影響ではないと考えられた。

肉眼的病理検査及び病理組織学的検査において、その発生頻度に統計学的な有意差を示す所見が、5,000 ppm 投与群を含めた雌雄の投与群で認められたが、いずれも投与量との相関性が認められない、あるいは対照群と比較して検体投与群の発生頻度が低いものであることから検体投与の影響ではないと考えられた。

腫瘍性病変について、その発生頻度に統計学的な有意差を示す所見はな

かった。

本試験において、5,000 ppm 投与群の雌雄で副腎び慢性皮質細胞空胞化が認められたので、無毒性量は雌雄で 1,500 ppm (雄: 156 mg/kg 体重/日、雌: 144 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)

12. 生殖発生毒性試験

(1) 2 世代繁殖試験 (ラット)

Wistar ラット (一群雌雄各 24 匹) を用いた混餌 (原体: 0、150、500 及び 1,500 ppm: 平均検体摂取量は表 25 参照) 投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

表 25 2 世代繁殖試験 (ラット) の平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)

投与群		150 ppm	500 ppm	1,500 ppm	
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	P 世代	雄	9.21	30.6	89.4
		雌	13.8	46.6	141
	F ₁ 世代	雄	10.0	33.2	99.8
		雌	14.0	49.3	141

各投与群で認められた毒性所見は、表 26 に示されている。

150 ppm 投与群において、P 世代の雄親動物の精子運動率及び F₁ 児動物の性比に統計学的に有意な変動がみられたが、用量相関性が明確ではなく、さらに他の世代で同様の変化がみられないことから検体投与の影響ではないと考えられた。

親動物の臓器重量に関して、1,500 ppm 投与群の P 世代の雌にみられた甲状腺比重量増加、F₁ 世代の雄の前立腺絶対重量減少及び 500 ppm 投与群の P 世代の雄にみられた肝比重量増加は、いずれも用量反応関係が明確ではなく、さらに他の世代に同様な変化がみられず、病理組織学的変化もみられないことから偶発的な変化と考えられた。また、150 ppm 投与群において、P 世代の雄の下垂体並びに副腎の絶対及び比重量増加、P 世代の雌の甲状腺絶対及び比重量増加、F₁ 世代の雌の下垂体及び子宮の絶対重量増加についても投与量に依存した変化ではなく、さらに他の世代に同様な変化がみられず、病理組織学的変化もみられないことから偶発的な変化と考えられた。

児動物の臓器重量に関して、F₂ 児動物の雌でみられた全投与群の胸腺絶対重量減少、500 ppm 投与群の胸腺比重量減少、150 及び 500 ppm 投与群の脾絶対重量減少及び 150 ppm 投与群の脾比重量減少は、F₁ 児動物では同様の変化がみられず、用量反応関係が明確ではなく、病理組織学的変化もみられないことから、偶発的な変化と考えられた。1,500 ppm 投与群の F₂ 児動物の雌雄でみられた脳比重量増加は、重量が対照群とほぼ同じであったことか

ら、体重の低下に起因したものであると考えられた。

病理組織学的検査では、150 及び 500 ppm 投与群の P 世代の雄にみられた副腎束状帯のび慢性細胞空胞化は、その発生頻度に統計学的有意差が認められたが、1,500 ppm 投与群の発生頻度に有意差がないこと、P 及び F₁ 世代の対照群においても同様な所見がみられていることから、検体投与の影響ではないと考えられた。

すべての F₂ 児動物について哺育 4 日に実施された肛門生殖突起間距離の測定の結果、雌雄ともに絶対値に統計学的な有意差は認められなかった。体重比³においては、150 及び 1,500 ppm 投与群の雄で有意な高値が認められた。このことから、本剤に抗アンドロゲン作用はないものと考えられた。

150 ppm 投与群の F₁ 世代の雌親動物において、血中プロゲステロン濃度の低下が認められたが、繁殖能を含めた他の検査項目に検体投与の影響は認められなかった。

本試験において、親動物では 1,500 ppm 投与群の雄及び 500 ppm 以上投与群の雌、児動物では 500 ppm 以上投与群の雌雄で副腎絶対及び比重量増加等が認められたので、無毒性量は親動物の雄で 500 ppm (P 雄 : 30.6 mg/kg 体重/日、F₁ 雄 : 33.2 mg/kg 体重/日)、雌で 150 ppm (P 雌 : 13.8 mg/kg 体重/日、F₁ 雌 : 14.0 mg/kg 体重/日)、児動物で 150 ppm (P 雄 : 9.21 mg/kg 体重/日、P 雌 : 13.8 mg/kg 体重/日、F₁ 雄 : 10.0 mg/kg 体重/日、F₁ 雌 : 14.0 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 35)

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 1,500 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・副腎絶対及び比重量増加 ・下垂体比重量増加 ・副腎白色化 ・副腎球状帯び慢性細胞肥大 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・下垂体絶対及び比重量増加 ・卵巢絶対及び比重量増加 ・副腎束状帯び慢性細胞肥大 	<ul style="list-style-type: none"> ・包皮分離遅延 ・副腎比重量増加 ・副腎白色化 ・副腎球状帯び慢性細胞肥大 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・平均発情周期延長 ・下垂体比重量増加 ・副腎束状帯び慢性細胞肥大 ・卵巢間質細胞空胞化 ・17β-エストラジオール濃度低下

³ 肛門生殖突起間距離を哺育 4 日における体重の三乗根で除した値 (以下同じ)。

	500 ppm 以上	500 ppm 以下 毒性所見なし	<ul style="list-style-type: none"> 副腎白色化及び肥大 副腎絶対及び比重増加 副腎球状帯び慢性細胞肥大 	500 ppm 以下 毒性所見なし	<ul style="list-style-type: none"> 臍開口遅延 副腎白色化及び肥大 副腎絶対及び比重増加 副腎球状帯び慢性細胞肥大 卵胞刺激ホルモン及びプロゲステロン濃度低下
	150 ppm		毒性所見なし		毒性所見なし
児動物	1,500 ppm	<ul style="list-style-type: none"> 副腎束状帯び慢性細胞肥大 	<ul style="list-style-type: none"> 体重増加抑制 副腎球状帯び束状帯び慢性細胞肥大 	<ul style="list-style-type: none"> 肛門生殖突起間距離の体重比高値 副腎球状帯び慢性細胞肥大 副腎白色化 	<ul style="list-style-type: none"> 体重増加抑制 副腎白色化（有意差なし） 副腎球状帯び束状帯び慢性細胞肥大
	500 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> 副腎絶対及び比重増加 副腎球状帯び慢性細胞肥大 	<ul style="list-style-type: none"> 副腎絶対及び比重増加 	<ul style="list-style-type: none"> 副腎絶対及び比重増加 副腎束状帯び慢性細胞肥大 	<ul style="list-style-type: none"> 副腎絶対及び比重増加
	150 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし	毒性所見なし	毒性所見なし

(2) 発生毒性試験 (ラット)

Wistar ラット (一群雌 25 匹) の妊娠 6~19 日に強制経口 (原体: 0、50、250 及び 1,000 mg/kg 体重/日、溶媒: 5%アラビアゴム・0.4%Tween80 水溶液) 投与して発生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 27 に示されている。

50 及び 250 mg/kg 体重/日投与群でみられた妊娠 15~18 日の体重増加量の増加、肝又は右腎比重量減少は、投与量との関連性が明らかではないため、検体投与による影響ではないと考えられた。

胎児の骨格変異として、50 mg/kg 体重/日投与群において、頸肋を有する胎児数に有意な増加がみられたが、投与量との明らかな関連性が認められないことから、検体投与による影響ではないものと考えられた。また、1,000 mg/kg 体重/日投与群において、波状肋骨を有する胎児数が増加したが、この変異のみられた胎児を有する母動物数に有意差が認められないことから、検体投与による影響ではないものと考えられた。

本試験において、250 mg/kg 体重/日以上投与群の母動物で副腎絶対及び比重量増加、副腎皮質細胞空胞化が、胎児で胸骨分節不完全骨化の胎児を有する母動物数増加が認められたので、無毒性量は母動物及び胎児で 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 36)