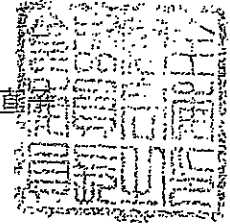




府食第 126号
平成23年2月10日

厚生労働大臣
細川 律夫 殿

食品安全委員会
委員長 小泉 直



食品健康影響評価の結果の通知について

平成22年2月22日付け厚生労働省発食安0222第2号をもって厚生労働大臣から食品安全委員会に意見を求められたベンチアバリカルブイソプロピルに係る食品健康影響評価の結果は下記のとおりですので、食品安全基本法（平成15年法律第48号）第23条第2項の規定に基づき通知します。

なお、食品健康影響評価の詳細は別添のとおりです。

記

ベンチアバリカルブイソプロピルの一日摂取許容量を0.069 mg/kg体重/日と設定する。

農薬評価書

ベンチアバリカルブイソプロピル

(第3版)

2011年2月

食品安全委員会

目 次

	頁
○ 審議の経緯.....	3
○ 食品安全委員会委員名簿.....	4
○ 食品安全委員会農薬専門調査会専門委員名簿.....	4
○ 要 約.....	6
 I. 評価対象農薬の概要.....	 7
1. 用途.....	7
2. 有効成分の一般名.....	7
3. 化学名.....	7
4. 分子式.....	7
5. 分子量.....	7
6. 構造式.....	7
7. 開発の経緯.....	7
 II. 安全性に係る試験の概要.....	 8
1. 動物体内運命試験.....	8
(1) 吸収.....	8
(2) 分布.....	9
(3) 代謝.....	11
(4) 排泄.....	12
2. 植物体内運命試験.....	13
(1) ばれいしょ.....	13
(2) トマト.....	14
(3) ぶどう.....	14
(4) トマト幼苗.....	15
(5) はくさい.....	15
3. 土壌中運命試験.....	16
(1) 好氣的土壌中運命試験①.....	16
(2) 好氣的土壌中運命試験②.....	17
(3) 分解物の土壌中運命試験.....	17
(4) 土壌吸着試験.....	17
4. 水中運命試験.....	17
(1) 加水分解試験.....	17
(2) 水中光分解試験.....	18
5. 土壌残留試験.....	18
6. 作物残留試験.....	18

7. 一般薬理試験.....	19.
8. 急性毒性試験.....	20
(1) 急性毒性試験.....	20
(2) 急性神経毒性試験.....	21
9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験.....	21
10. 亜急性毒性試験.....	22
(1) 90 日間亜急性毒性試験 (ラット)	22
(2) 90 日間亜急性毒性試験 (イヌ)	22
(3) 28 日間亜急性毒性試験 (ラット)	23
(4) 28 日間亜急性毒性試験 (マウス)	24
(5) 28 日間亜急性神経毒性試験 (ラット)	25
(6) 28 日間亜急性経皮毒性試験 (ラット)	25
11. 慢性毒性試験及び発がん性試験.....	26
(1) 1 年間慢性毒性試験 (イヌ)	26
(2) 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット)	26
(3) 2 年間発がん性試験 (マウス)	27
12. 生殖発生毒性試験.....	29
(1) 2 世代繁殖試験 (ラット)	29
(2) 発生毒性試験 (ラット) ①.....	29
(3) 発生毒性試験 (ラット) ②.....	30
(4) 発生毒性試験 (ウサギ)	30
13. 遺伝毒性試験.....	30
14. その他の毒性試験.....	33
(1) 肝腫瘍のメカニズム試験.....	33
(2) 甲状腺腫瘍発生メカニズム試験.....	35
(3) 子宮腫瘍発生メカニズム試験.....	36
Ⅲ. 食品健康影響評価.....	37
・別紙 1: 代謝物/分解物/原体混在物略称	41
・別紙 2: 検査値等略称	42
・別紙 3: 作物残留試験成績	44
・別紙 4: 推定摂取量	46
・参照.....	47

<審議の経緯>

第1版関係

- 2003年 12月 19日 農林水産省から厚生労働省へ農薬登録申請に係る連絡及び基準設定依頼（新規：きゅうり、トマト及びばれいしょ）
- 2003年 12月 25日 厚生労働大臣から残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安第1225008号）
- 2003年 12月 26日 関係書類の接受（参照1～77、82）
- 2004年 1月 8日 第26回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2004年 1月 14日 第5回農薬専門調査会
- 2004年 6月 2日 追加資料受理（参照78）
- 2004年 6月 30日 第13回農薬専門調査会
- 2004年 12月 16日 追加資料受理（参照79）
- 2004年 3月 2日 第25回農薬専門調査会
- 2005年 8月 19日 追加資料受理（参照80）
- 2005年 10月 12日 第37回農薬専門調査会
- 2006年 3月 6日 追加資料受理（参照81）
- 2006年 9月 6日 第4回農薬専門調査会総合評価第一部会
- 2006年 9月 25日 第3回農薬専門調査会幹事会
- 2006年 10月 5日 第162回食品安全委員会（報告）
- 2006年 10月 5日 から2006年11月3日まで国民からの御意見・情報の募集
- 2006年 11月 15日 農薬専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
- 2006年 11月 16日 第168回食品安全委員会（報告）
（同日付け厚生労働大臣に通知）
- 2007年 4月 26日 残留農薬基準告示（参照83）
- 2007年 4月 26日 初回農薬登録

第2版関係

- 2007年 11月 29日 農林水産省から厚生労働省へ適用拡大申請に係る連絡及び基準設定依頼（適用拡大：なす、キャベツ等）
- 2007年 12月 18日 厚生労働大臣から残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安第1218003号）、関係書類の接受（参照84、85）
- 2007年 12月 20日 第220回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2008年 3月 5日 第37回農薬専門調査会幹事会
- 2008年 3月 12日 農薬専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
- 2008年 3月 13日 第230回食品安全委員会（報告）
（同日付け厚生労働大臣に通知）
- 2009年 6月 4日 残留農薬基準告示（参照86）

第3版関係

- 2009年 11月 2日 農林水産省から厚生労働省へ適用拡大申請に係る連絡及び基準設定依頼（適用拡大：すいか）

2010 年 2 月 22 日 厚生労働大臣から残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安 0222 第 2 号）、関係書類の接受（参照 87～98）

2010 年 2 月 25 日 第 321 回食品安全委員会（要請事項説明）

2010 年 11 月 24 日 農林水産省から厚生労働省へ適用拡大申請に係る連絡及び基準設定依頼（適用拡大：かぼちゃ及びアスパラガス）

2010 年 12 月 2 日 適用拡大に係る関係資料の接受（参照 100～102）

2011 年 2 月 1 日 第 70 回農薬専門調査会幹事会

2011 年 2 月 7 日 農薬専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告

2011 年 2 月 10 日 第 366 回食品安全委員会（報告）
（同日付け厚生労働大臣へ通知）

<食品安全委員会委員名簿>

(20011 年 1 月 6 日まで) (2011 年 1 月 7 日から)

小泉直子（委員長）	小泉直子（委員長）
見上 彪（委員長代理*）	熊谷 進（委員長代理*）
長尾 拓	長尾 拓
野村一正	野村一正
畑江敬子	畑江敬子
廣瀬雅雄	廣瀬雅雄
村田容常	村田容常

*：2009 年 7 月 9 日から *：2011 年 1 月 13 日から

<食品安全委員会農薬専門調査会専門委員名簿>

(2006 年 3 月 31 日まで)

鈴木勝士（座長）	小澤正吾	出川雅邦
廣瀬雅雄（座長代理）	高木篤也	長尾哲二
石井康雄	武田明治	林 真
江馬 眞	津田修治*	平塚 明
太田敏博	津田洋幸	吉田 緑

*：2005 年 10 月 1 日から

(2007 年 3 月 31 日まで)

鈴木勝士（座長）	三枝順三	根岸友恵
廣瀬雅雄（座長代理）	佐々木有	林 真
赤池昭紀	高木篤也	平塚 明
石井康雄	玉井郁巳	藤本成明
泉 啓介	田村廣人	細川正清
上路雅子	津田修治	松本清司
臼井健二	津田洋幸	柳井徳磨
江馬 眞	出川雅邦	山崎浩史
大澤貫寿	長尾哲二	山手丈至

太田敏博
大谷 浩
小澤正吾
小林裕子

中澤憲一
納屋聖人
成瀬一郎
布柴達男

與語靖洋
吉田 緑
若栗 忍

(2010年3月31日まで)

鈴木勝士 (座長)
林 真 (座長代理*)
赤池昭紀
石井康雄
泉 啓介
上路雅子
臼井健二
江馬 真
大澤貫寿
太田敏博
大谷 浩
小澤正吾
小林裕子
三枝順三

佐々木有
代田眞理子****
高木篤也
玉井郁巳
田村廣人
津田修治
津田洋幸
出川雅邦
長尾哲二
中澤憲一
納屋聖人
成瀬一郎***
西川秋佳**
布柴達男

根岸友恵
平塚 明
藤本成明
細川正清
松本清司
柳井徳磨
山崎浩史
山手丈至
與語靖洋
吉田 緑
若栗 忍

*: 2007年4月11日から

** : 2007年4月25日から

*** : 2007年6月30日まで

**** : 2007年7月1日から

(2010年4月1日から)

納屋聖人 (座長)
林 真 (座長代理)
相磯成敏
赤池昭紀
石井康雄
泉 啓介
上路雅子
臼井健二
太田敏博
小澤正吾
川合是彰
川口博明
小林裕子
三枝順三
佐々木有

代田眞理子
高木篤也
玉井郁巳
田村廣人
津田修治
津田洋幸
長尾哲二
永田 清
長野嘉介
西川秋佳
布柴達男
根岸友恵
根本信雄
八田稔久
平塚 明

福井義浩
藤本成明
細川正清
堀本政夫
本間正充
松本清司
柳井徳磨
山崎浩史
山手丈至
與語靖洋
義澤克彦
吉田 緑
若栗 忍

要 約

アミノ酸アミドカーバメート系殺菌剤である「ベンチアバリカルブイソプロピル」(CAS No.177406-68-77)について、各種試験成績等を用いて、食品健康影響評価を実施した。

評価に用いた試験成績は、動物体内運命(ラット)、植物体内運命(ばれいしょ、トマト、ぶどう及びトマト幼苗)、はくさい、土壤中運命、水中運命、土壌残留、作物残留、急性毒性(ラット及びマウス)、亜急性毒性(ラット、マウス及びイヌ)、慢性毒性(イヌ)、慢性毒性/発がん性(ラット)、発がん性(マウス)、2世代繁殖(ラット)、発生毒性(ラット及びウサギ)、遺伝毒性等の試験成績である。

試験結果から、ベンチアバリカルブイソプロピル投与による影響は主に肝臓(肝細胞肥大等)、甲状腺(ろ胞上皮細胞過形成)及び血液(貧血)に認められた。繁殖能に対する影響、催奇形性及び生体において問題となる遺伝毒性は認められなかった。

発がん性試験では、肝臓(ラット及びマウス)、子宮(ラット)、甲状腺(マウス)に腫瘍の増加が認められたが、いずれも発生機序は遺伝毒性によるものとは考え難く、評価にあたり閾値を設定することは可能であると考えられた。

各試験で得られた無毒性量のうち最小値は、ラットを用いた2世代繁殖試験の6.9 mg/kg 体重/日であったので、これを根拠として、安全係数100で除した0.069 mg/kg 体重/日を一日摂取許容量(ADI)と設定した。

1. 評価対象農薬の概要

1. 用途

殺菌剤

2. 有効成分の一般名

和名：ベンチアバリカルブイソプロピル

英名：benthiavalicarb-isopropyl (ISO 名)

3. 化学名

IUPAC

和名：イソプロピル[(*S*)-1-{{(*R*)-1-(6-フルオロ-1,3-ベンゾチアゾール-2-イル)-エチル}カルバモイル}-2-メチルプロピル]カーバメート

英名：isopropyl[(*S*)-1-{{(*R*)-1-(6-fluoro-1,3-benzothiazol-2-yl)-ethyl}carbamoyle}-2-methylpropyl]carbamate

CAS (No.177406-68-7)

和名：[(1*S*)-1-[[[(1*R*)-1-(6-フルオロ-2-ベンゾチアゾリル)エチル]アミノ]カルボニル]-2-メチルプロピル]カルバミン酸

英名：[(1*S*)-1-[[[(1*R*)-1-(6-fluoro-2-benzothiazolyl)ethyl]amino]carbonyl]-2-methylpropyl]carbamic acid

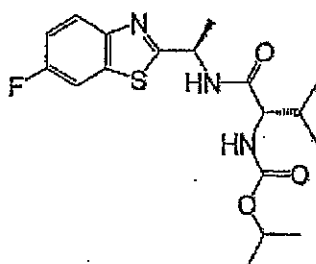
4. 分子式

C₁₈H₂₄FN₃O₃S

5. 分子量

381.46

6. 構造式



7. 開発の経緯

ベンチアバリカルブイソプロピルは、1992年に株式会社ケイ・アイ研究所により開発されたアミノ酸アミドカーバメート系殺菌剤であり、作用機構はリン脂質の生合成系阻害である。

今回、農薬取締法に基づく適用拡大申請（すいか、かぼちゃ及びアスパラガス）がなされている。

II. 安全性に係る試験の概要

各種運命試験[II. 1~4]は、ベンチアバリカルブイソプロピルのフェニル環炭素を¹⁴Cで均一に標識したもの（以下「[phe-¹⁴C]BVI」という。）及びバリン部のα-炭素を¹⁴Cで標識したもの（以下「[val-¹⁴C]BVI」という。）を用いて実施された。放射能濃度及び代謝物濃度は特に断りがない場合はベンチアバリカルブイソプロピルに換算した。代謝物／分解物／原体混在物略称及び検査値等略称は別紙1及び2に示されている。

1. 動物体内運命試験

(1) 吸収

① 血中濃度推移

Fischer ラット（一群雌雄各2又は5匹）に[phe-¹⁴C]BVI若しくは[val-¹⁴C]BVIを5 mg/kg 体重（以下[1.]において「低用量」という。）又は400 mg/kg 体重（以下[1.]において「高用量」という。）で単回経口投与し、血中濃度推移について検討された。

全血及び血漿中薬物動態学的パラメータは表1に示されている。

[val-¹⁴C]BVIのC_{max}及びT_{1/2}は[phe-¹⁴C]BVIに比べ高い値が認められた。

（参照2）

表1 全血及び血漿中薬物動態学的パラメータ

標識体		[phe- ¹⁴ C]BVI				[val- ¹⁴ C]BVI			
投与量 (mg/kg 体重)		5		400		5		400	
性別		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
全血	T _{max} (時間)	3.4	9.2	9.5	9.6	5.4	6.8	12.0	12.0
	C _{max} (μg/g)	0.32	0.42	6.55	7.18	0.56	0.50	26.2	20.6
	T _{1/2} (時間)	15.1	34.9	10.4	35.7	312	363	259	214
	AUC _{0-t} (μg・h/g)	4.52	10.7	107	126	32.8	29.9	2,000	1,410
血漿	T _{max} (時間)	2.0	4.4	10.5	10.4	6.0	6.0	13.6	9.6
	C _{max} (μg/g)	0.53	0.55	7.50	8.06	0.68	0.65	34.7	25.7
	T _{1/2} (時間)	16.3	20.6	15.2	14.4	149	127	103	109
	AUC _{0-t} (μg・h/g)	6.86	12.7	140	190	27.2	24.0	1,830	1,170

② 吸収率

胆汁中排泄試験[1.(4)②]より得られた総放射能回収率から、糞中排泄率及びケージ残渣中放射エネルギーの合計量を減じて算出された吸収率は低用量群で88.7～97.2%で、高用量群で41.1～53.6%であった。（参照2）

(2) 分布

① 単回投与

Fischer ラット（一群雌雄各 12 匹）に[phe-¹⁴C]BVI 若しくは[val-¹⁴C]BVI を低用量又は高用量で単回経口投与し、体内分布試験が実施された。

主要臓器及び組織における残留放射能濃度は表 2 に示されている。

いずれの試験群においても組織中放射能は速やかに減少し、肝臓及び腎臓を含む全組織で投与 168 時間後には、[val-¹⁴C]BVI の低用量群の雄及び高用量群の雌雄におけるカーカス¹を除き 1% TAR を超える組織はなかった。（参照 2）

表 2 主要臓器及び組織における残留放射能濃度 (µg/g)

投与量	検体	性別	Tmax 付近 ¹⁾	投与 168 時間後
低用量 5 mg/kg 体重	[phe- ¹⁴ C]	雄	膀胱(8.43)、胆管(6.45)、肝臓(3.46)、脳下垂体(1.76)、前立腺(1.34)、甲状腺(1.18)、副腎(1.11)、リンパ節(1.10)、大動脈(1.08)、脂肪(0.97)、腎臓(0.95)、その他(0.7 未満)	肝臓(0.14)、その他(0.1 未満)
		雌	胆管(3.22)、肝臓(2.78)、膀胱(2.27)、リンパ節(2.25)、脳下垂体(1.69)、脂肪(1.40)、副腎(1.22)、腎臓(1.12)、卵巣(1.00)、その他(1.0 未満)	肝臓(0.11)、その他(0.10 未満)
	[val- ¹⁴ C]	雄	胆管(7.19)、膀胱(4.51)、肝臓(3.99)、脾臓(1.64)、甲状腺(1.42)、副腎(1.30)、リンパ節(1.17)、腎臓(1.14)、脂肪(1.06)、その他(1.0 未満)	肝臓(0.34)、大動脈(0.22)、腎臓(0.20)、副腎(0.16)、心臓(0.15)、甲状腺(0.14)、肺(0.14)、前立腺(0.12)、膀胱(0.12)、皮膚(0.11)、気管(0.11)、血液(0.11)、その他(0.1 未満)
		雌	胆管(4.99)、リンパ節(4.12)、肝臓(3.21)、脾臓(1.82)、脂肪(1.56)、子宮(1.54)、副腎(1.38)、卵巣(1.38)、甲状腺(1.24)、腎臓(1.12)、褐色脂肪(1.09)、ハーダー腺(1.04)、大動脈(1.00)、その他(0.9 以下)	骨(0.35)、肝臓(0.29)、胆管(0.15)、腎臓(0.14)、副腎(0.12)、大動脈(0.10)、その他(0.1 未満)
高用量 400 mg/kg	[phe- ¹⁴ C]	雄	膀胱(330)、胆管(176)、リンパ節(103)、肝臓(91.0)、副腎(81.1)、大動脈(80.5)、甲状腺	肝臓(3.24)、肺(2.62)、脾臓(2.51)、その他(0.9 未満)

¹組織・臓器を取り除いた残渣のことをカーカスという（以下同じ）。

体重			(68.2)、脂肪(57.7)、前立腺(55.2)、その他(45.0未満)	
		雌	膀胱(158)、リンパ節(142)、脂肪(129)、胆管(122)、脳下垂体(112)、肝臓(92.6)、副腎(91.5)、褐色脂肪(90.2)、大動脈(83.9)、骨髄(64.5)、卵巣(63.3)、甲状腺(54.3)、脾臓(51.2)、その他(50未満)	肝臓(4.21)、その他(2.3未満)
	[val- ¹⁴ C]	雄	膀胱(282)、リンパ節(159)、胆管(154)、肝臓(109)、脳下垂体(88.2)、甲状腺(79.9)、副腎(77.5)、脾臓(69.7)、前立腺(66.4)、大動脈(53.9)、脂肪(50.6)、その他(45未満)	胆管(18.6)、肝臓(18.1)、腎臓(12.5)、副腎(11.4)、大動脈(9.87)、心臓(9.61)、膀胱(8.70)、肺(8.19)、その他(8未満)
		雌	胆管(158)、脳下垂体(144)、膀胱(125)、リンパ節(123)、肝臓(100)、副腎(85.1)、大動脈(82.9)、脾臓(71.4)、褐色脂肪(70.0)、卵巣(67.5)、骨髄(65.8)、甲状腺(53.9)、脂肪(53.3)、ハーダー腺(52.1)、その他(50未満)	肝臓(15.7)、胆管(12.7)、腎臓(10.3)、大動脈(8.51)、副腎(7.64)、膀胱(6.50)、その他(6未満)

1) : 低用量群は投与 6 時間後、高用量群は投与 8 時間後。

② 反復投与

Fischer ラット (一群雌雄各 4 匹) に[¹⁴C]BVI を低用量で 7 又は 14 日間反復強制経口投与し、組織内分布試験が実施された。試料は最終投与 1、3、7 及び 14 日後に採取された。

表 3 に組織内分布の消長が示されている。

7 日投与群の最終投与 1 日後で、組織中には雌雄それぞれ 1.9 及び 3.3% TAR の残留放射能が認められた。14 日投与群の最終投与 1 日後で、組織中に雌雄それぞれ 1.0 及び 2.4% TAR の残留放射能が認められた。組織内残留放射能は時間経過とともに減少し、14 日投与群の投与 14 日後で雌雄ともに皮膚及び血液を除き概ね 0.1% TAR 以下となった。組織内残留放射能は、いずれの時期においても雌に比較して雄に高い傾向が認められた。

残留放射能濃度は雌に比べ雄で高い傾向を示した。いずれの時期においても雌雄ともに消化管に最も高い濃度が認められ、14 日投与群の最終投与 14 日後には、雄ではハーダー腺及び心臓を除いて血液中濃度(0.934 µg/g)以下であり、雌では全ての組織において血液中濃度 (0.575 µg/g) 以下であり、特に放射能の残留す

る組織はないものと考えられた。(参照 93)

表 3 組織内分布及び残留放射能の消長 (μg/g)

群		雄	雌
7日間 投与群	投与 1 日後	盲腸(7.97)、回腸(5.84)、空腸(3.68)、肝臓(3.13)、胆管(3.01)、結腸(2.61)、皮膚(2.58)、十二指腸(1.74)、下垂体(1.63)、骨髓(1.61)、その他 (1.5 未満)	回腸(15.3)、盲腸(14.7)、結腸(6.72)、空腸(5.82)、肝臓(3.65)、十二指腸(3.13)、胆管(2.55)、甲状腺(1.53)、ハーダー腺(1.01)、その他(1.0 未満)
14日間 投与群	投与 1 日後	回腸(18.6)、盲腸(12.3)、空腸(7.55)、胆管(5.22)、肝臓(5.11)、結腸(4.93)、十二指腸(4.92)、ハーダー腺(2.66)、下垂体(2.54)、腎臓(2.43)、甲状腺(2.13)、骨髓(2.12)、その他 (2.0 未満)	盲腸(7.94)、回腸(7.37)、結腸(4.60)、肝臓 (4.30)、胆管(4.24)、胃(2.57)、空腸(2.19)、十二指腸(1.69)、下垂体(1.67)、甲状腺(1.28)、その他(1.2 未満)
	投与 7 日後	肝臓(1.58)、ハーダー腺(1.24)、腎臓(1.17)、心臓(1.13)、甲状腺(1.12)、副腎(1.07)、動脈(1.06)、血液(0.96)、脾臓(0.96)、筋肉(0.96)、その他(0.96 未満)	肝臓(1.38)、腎臓(0.78)、甲状腺(0.77)、ハーダー腺(0.76)、胆管(0.72)、心臓(0.70)、血液(0.65)、その他(0.6 未満)
	投与 14 日後	心臓(1.04)、ハーダー腺(0.96)、血液(0.93)、筋肉(0.88)、肝臓(0.81)、皮膚(0.78)、腎臓(0.78)、動脈(0.78)、脾臓(0.68)、顎下腺(0.68)、肺(0.66)、甲状腺(0.65)、十二指腸(0.61)、その他 (0.6 未満)	血液(0.58)、心臓(0.57)、ハーダー腺(0.53)、肝臓(0.53)、腎臓(0.51)、脾臓(0.47)、十二指腸(0.44)、筋肉(0.40)、小脳(0.40)、顎下腺(0.39)、甲状腺(0.39)、その他(0.35 未満)

(3) 代謝

① 単回投与

尿及び糞中排泄試験[1.(4)①]で得られた尿及び糞、胆汁中排泄試験[1.(4)②]で得られた尿、糞及び胆汁並びに体内分布試験[1.(2)①]で得られた血漿、肝臓及び腎臓を試料として代謝物同定・定量試験が実施された。

尿中からはベンチアバリカルブイソプロピルは検出されず、主要代謝物として M-15、M-18 及び M-19 が、投与後 72 時間にそれぞれ 0.4～1.2% TAR、0.1～0.7% TAR、0.6～1.2% TAR 検出された。

投与後 120 時間に糞中からは、低用量群ではベンチアバリカルブイソプロピルが 0.3～2.2% TAR、主要代謝物として M-15 が 21.1～31.5% TAR、高用量群ではベンチアバリカルブイソプロピルが多く割合を占め、12.1～22.2% TAR が検出された。

血漿中、肝臓中及び腎臓中からは、ベンチアバリカルブイソプロピルのほか、主要代謝物として M-15 及び M-18 が認められた。

胆汁中からはベンチアバリカルブイソプロピルは検出されず、主要代謝物として M-15 のグルクロン酸抱合体である B11 が検出された。その他、M-3、M-15 及び多くの微量代謝物が認められた。

ベンチアバリカルブイソプロピルの主要代謝経路は、基本骨格の水酸化及びその抱合であり、アミド結合の開裂も認められた。ベンチアバリカルブイソプロピルはエポキシド中間体を経てグルタチオン抱合を受け代謝されると推定された。さらに各代謝物のグルタチオン抱合体はシステイニルグリシン、システイン抱合体を経てメルカプツール酸抱合体に代謝変換され、さらにメルカプツール酸はチオール体に分解され、次いでメチルスルフィドを経てメチルスルホンに酸化されるものと推定された。(参照 2)

② 反復投与における代謝物の同定・定量

ラットを用いた試験[1.(2)②]で得られた血漿、尿及び糞を試料として代謝物同定・定量試験が実施された。

血漿中代謝物の分析は微量のため分析できなかった。尿中には少量の M-15、M-18 及び M-19 が確認された。単回投与試験と異なる代謝物として、尿中に M-19 の異性体と考えられる代謝物が認められた。(参照 93)

③ ラット肝 S-9 における代謝試験

[phe-¹⁴C]BVI 又は[val-¹⁴C]BVI を 7.1~7.6 µmol/g protein でラット肝 S-9 溶液(約 2 mg protein/mL を含有)に添加し、ベンチアバリカルブイソプロピルの代謝速度の測定及び代謝物の同定試験が実施された。

ベンチアバリカルブイソプロピルは経時的に減少し、消失半減期は 1.8~1.9 分であった。主要代謝物はグルタチオン抱合体及びベンゾチアゾール体が水酸化された M-15 と同定された。

主要代謝経路はグルタチオン抱合化と M-15 への変換であると考えられた。(参照 3)

(4) 排泄

① 尿及び糞中排泄

Fischer ラット(一群雌雄各 5 匹)に[phe-¹⁴C]BVI 若しくは[val-¹⁴C]BVI を低用量又は高用量で単回経口投与して、尿及び糞中排泄試験が実施された。

投与後 168 時間の尿及び糞中排泄率は表 4 に示されている。

排泄経路及び速度において、性差及び標識体の差は無く、いずれの試験群でも放射能の排泄は早く、投与後 48 時間で 72% TAR 以上が排泄された。(参照 2)

表 4 投与後 168 時間の尿及び糞中排泄率 (%TAR)

標識体 投与量	[phe- ¹⁴ C]BVI				[val- ¹⁴ C]BVI			
	5 mg/kg		400 mg/kg		5 mg/kg		400 mg/kg	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
尿	14.3	24.9	8.41	13.1	9.0	22.3	7.1	11.5
糞	81.8	67.3	79.0	78.0	79.2	62.7	83.1	80.6
ケージ洗浄液	2.7	4.2	1.6	2.1	2.3	5.0	2.7	2.5
ケージ残渣	0.1	0.7	0.01	0.1	0.02	1.2	0.2	0.2
カーカス	0.1	0.03	0.2	0.4	1.5	0.8	1.5	1.1
組織	1.5	0.4	0.2	0.2	1.4	0.7	0.5	0.3
総回収率	100	97.5	89.4	93.8	93.4	92.7	95.0	96.3

② 胆汁中排泄

胆管カニューレを挿入した Fischer ラット（一群雌雄各 3 匹）に [phe-¹⁴C]BVI 若しくは [val-¹⁴C]BVI を低用量又は高用量で単回経口投与して、胆汁中排泄試験が実施された。

投与後 48 時間の胆汁、尿及び糞中排泄率は表 5 に示されている。

投与後 48 時間の胆汁中排泄では、用量間で明らかな差が認められ、低用量では 63.6～90.4%TAR が、高用量では 27.8～40.3%TAR が排泄された。ラット体内において、ベンチアバリカルブイソプロピルは、低用量群では胆汁中排泄を経由し、高用量群では直接糞中に排泄されると考えられた。（参照 2）

表 5 投与後 48 時間の胆汁、尿及び糞中排泄率 (%TAR)

標識体 投与量	[phe- ¹⁴ C]BVI				[val- ¹⁴ C]BVI			
	5 mg/kg		400 mg/kg		5 mg/kg		400 mg/kg	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
尿	5.96	4.2	10.3	2.1	9.3	19.1	13.1	3.8
糞	1.1	1.9	32.2	60.9	1.5	3.8	42.2	54.0
ケージ洗浄液	1.1	1.6	2.4	0.3	0.9	3.9	4.5	2.3
ケージ残渣	NS	0.2	0.01	0.01	0.01	ND	0.04	2.1
胆汁	86.6	90.4	37.4	40.3	78.1	63.6	27.8	30.7
カーカス	2.28	1.0	3.4	3.8	2.1	2.1	3.8	4.3
総回収率	97.1	99.3	85.8	107	91.8	92.5	91.5	97.2

NS：試料なし、ND：検出せず

2. 植物体内運命試験

(1) ばれいしょ

[phe-¹⁴C]BVI 又は [val-¹⁴C]BVI を 100 g ai/ha の用量で、ばれいしょ（品種：Wilja）の種芋の発芽 15 日後に土壤に散布し（土壌処理試験区）90 日後に成熟した塊茎と茎葉を採取し、又は種芋の発芽後、7 日間隔で茎葉に 6 回散布し（茎

葉試験区) 最終散布から 14 日後に成熟した塊茎と茎葉を採取して、植物体内運命試験が実施された。

土壌処理試験区では、茎葉部で 0.0411~0.0781 mg/kg、塊茎で 0.0009~0.0010 mg/kg の残留放射能が検出された。茎葉部では、ベンチアバリカルブイソプロピルが総残留放射能 (TRR) の 10.2~10.9%、主要代謝物として、未同定代謝物 (1、2、3、6) が検出され、そのうち最大は未同定代謝物 1 の 29.5%TRR であった。茎葉処理試験区では、茎葉部で 4.57~5.86 mg/kg、塊茎で 0.0026~0.0145 mg/kg の残留放射能が検出された。茎葉部では、ベンチアバリカルブイソプロピルが 87.8~90.3%TRR、主要代謝物は未同定代謝物 1、2 及び 6 が検出されたが、いずれも 3.2%TRR 以下であった。これらの代謝物は糖抱合体であり、アグリコン部分は未同定代謝物 1 がベンチアバリカルブイソプロピルのベンチアゾール環に水酸基が導入された化合物でその位置が特定されていないもの、未同定代謝物 2 がベンチアバリカルブイソプロピルのベンチアゾール環の 5 位に水酸基が導入されたもの、未同定代謝物 6 がベンチアバリカルブイソプロピルのベンチアゾール環 6 位のフッ素が脱離し、その位置に水酸基が導入されたものの各糖抱合体であると推定された。ベンチアバリカルブイソプロピルの光学異性体は検出されなかった。(参照 4)

(2) トマト

[phe-¹⁴C]BVI を各 100 g ai/ha の用量で、発芽後、7~14 日間隔で計 6 回トマト (品種: Ailsa Craig) に散布し、最終処理 14 日後、28 日後、35 日後、42 日後、49 日後及び 56 日後に採取した果実及び葉部を検体とし、植物体内運命試験が実施された。

果実における総残留放射能濃度は、最終散布 14 日後で 0.0181~0.0212 mg/kg、56 日後で 0.0067~0.0072 mg/kg であった。14 日後の果実中の残留物は、ベンチアバリカルブイソプロピルが 88.8%TRR、総未同定代謝物が 8.2%TRR であり、未同定代謝物は最大で 4.2%TRR 検出された。56 日後の果実中の残留物は、ベンチアバリカルブイソプロピルが 54.7%TRR、総未同定代謝物が 40.9%TRR であり、未同定代謝物は最大で 9.4%TRR 検出された。

葉部の残留放射能測定は 56 日後の試料についてのみ行われており、総残留放射能濃度は 2.33 mg/kg であり、主要残留物としてベンチアバリカルブイソプロピルが 95.1%TRR を占めた。

ベンチアバリカルブイソプロピルはトマトにおいてほとんど代謝されず、ベンチアバリカルブイソプロピルがトマトにおける主要残留物であった。(参照 5)

(3) ぶどう

[phe-¹⁴C]BVI 又は[val-¹⁴C]BVI を各 100 g ai/ha の用量で、7~14 日間隔で計 6 回ぶどう (品種: Reichensteiner) の茎葉に散布し、最終散布後 17 日以内に

採取した果実及び葉部を検体とし、植物体内運命試験が実施された。

果実中における総残留放射能濃度は 0.241~0.327 mg/kg であった。残留物はベンチアバリカルブイソプロピルが 95.8~96.5%TRR、未同定代謝物の総量が 1.5~2.0%TRR であり、最も多かった未同定代謝物は 0.7~1.0%TRR であった。

葉部中の総残留放射能濃度は 14.0~23.1 mg/kg であった。残留物はベンチアバリカルブイソプロピルが 94.0~94.6%TRR、未同定代謝物の総量が 0.9~1.0%TRR であり、最も多かった未同定代謝物は 0.3~0.5%TRR であった。葉部抽出液からベンチアバリカルブイソプロピルの他の光学異性体は検出されなかった。

ベンチアバリカルブイソプロピルはぶどうにおいてほとんど代謝されず、ベンチアバリカルブイソプロピルがぶどうにおける主要残留物であった。(参照 6)

(4) トマト幼苗

[phe-¹⁴C]BVI 又は[val-¹⁴C]BVI を、①トマト幼苗(品種:ポンテローザ)の水耕液に 0.443~0.553 µg/mL の用量で添加した根部吸収試験、②0.177~1.6 µg/mL の用量でトマト幼苗の葉面局部塗布後の吸収・移行・代謝を観察した試験が実施された。

ベンチアバリカルブイソプロピルは水耕液から速やかに吸収され、処理 7 日後に茎葉部に 34.3~39.1%TRR が、根部に 9.2~15.0%TRR が分布した。茎葉中の主要残留物はベンチアバリカルブイソプロピルであり、89.5~90.6%TRR を占めた。代謝物として M-11 及び M-15 が微量検出された。根での主要残留物はベンチアバリカルブイソプロピルであり、73.8~87.3%TRR を占めた。代謝物として M-3 が 11.0%TRR、M-11 及び M-15 が微量検出された。

葉面塗布 7 日後、処理部位から 93.6~99.7%TRR が回収され、ほとんどがベンチアバリカルブイソプロピルであり、代謝物として M-11 が微量検出された。他の部位への移行はごく微量であった。

トマト幼苗における主たる残留物はベンチアバリカルブイソプロピルであり、70%TRR 以上を占めた。代謝物は少数で、微量検出されたのみであった。

[phe-¹⁴C]BVI を添加した水耕処理の根部の主要代謝物は M-3 抱合体(X)で、M-3 として 0.26 mg/kg(11.0%TRR)検出された。[val-¹⁴C]BVI 処理では M-11 及び M-15 が微量検出された。

ベンチアバリカルブイソプロピルは、トマト幼苗に吸収されると主にベンゾチアゾリルエチルカルバモイル部位の加水分解又は酸化により M-3 に代謝された。イソプロピル基の水酸化により M-11、ベンゾチアゾール環 5 位の水酸化により M-15(抱合体として存在)に代謝された。これら代謝物は、グルコース、セルロース等の植物構成成分に取り込まれるものと推定された。(参照 7)

(5) はくさい

ファイトトロン内で栽培されたはくさい(品種:舞風白菜)に、[phe-¹⁴C]BVI

を 225 g ai/ha の用量で定植 75 日後に 1 回散布し、最終散布 21 及び 56 日後に外葉部及び結球部を採取して、植物体内運命試験が実施された。

結球部及び外葉部ともに放射能濃度はほぼ同等であり、結球部に 73%、外葉に 27% の放射能が存在した。

はくさい中放射能の約 90% TRR は親化合物であった。代謝物 M-14、M-15 及び M-11 が検出されたが、ごく微量であった。その他、M-3 の糖抱合体、M-11 以外のバリリン側鎖の水酸化物の糖抱合体が少量検出された。

ベンチアバリカルブイソプロピルは、一部がバリリン側鎖の水酸化を受け又は開裂 (M-3 の生成) し糖抱合を受けるものの、大部分は未変化の親化合物として存在すると考えられた。(参照 94)

3. 土壤中運命試験

(1) 好氣的土壤中運命試験①

[phe-¹⁴C]BVI を英国の砂壤土及び埴壤土に、[val-¹⁴C]BVI を英国の砂壤土にそれぞれ 2 mg/kg の濃度で添加後、好氣的条件下、20°C の暗所で 120 又は 365 日間 (365 日間は砂壤土のみ) インキュベーションして、土壤中運命試験が実施された。

砂壤土の 365 日試験における抽出放射エネルギーは経時的に減少したが、[phe-¹⁴C]BVI 処理区 (120 日後 34.9% TAR、365 日後 13.6% TAR) より [val-¹⁴C]BVI 処理区 (120 日後 5.0% TAR、365 日後 4.0% TAR) が速やかに減少した。120 日試験では、抽出放射能は 120 日後に砂壤土で 61.9% TAR、埴壤土で 23.7~33.2% TAR であった。

揮発性物質は経時的に増加し、[val-¹⁴C]BVI 処理区では 120 日後に 44.8% TAR、365 日後に 54.0% TAR に達した。¹⁴CO₂ の発生量が多かったことから、¹⁴CO₂ 捕集能力を増強させた 120 日間の追加試験を行ったところ、120 日後の ¹⁴CO₂ の捕集率が 53% であり、先の試験では CO₂ は完全に捕集できていなかったものと考えられた。[phe-¹⁴C]BVI 処理区では、砂壤土に処理した 365 日の試験で、365 日後 20.1% TAR の ¹⁴CO₂ を回収した。

抽出残渣中放射エネルギーは、[val-¹⁴C]BVI 処理区の 365 日試験では 59 日後に 41.2% TAR まで増加し、365 日後では 26.5% TAR まで低下した。[phe-¹⁴C]BVI 処理区では、抽出残渣放射能は徐々に増加し、365 日後に 61.6% TAR に達した。120 日間試験では、砂壤土及び埴壤土ではそれぞれ 22.5% TAR 及び 45.5~58.2% TAR に達した。

[val-¹⁴C]BVI 処理土壌から抽出されたベンチアバリカルブイソプロピルは、30 日後に 28.3% TAR、365 日後には 1% TAR 以下であった。[phe-¹⁴C]BVI 処理区では、ベンチアバリカルブイソプロピルが 120 日試験で 1.3~2.4% TAR、365 日試験で 0.3% TAR であった。主要分解物は M-1、M-3、M-4 及び M-5 であり、最大量は土壌の種類により多少異なるが、それぞれ M-1 が 9.8~27.7% TAR、

M-3 が 2.2~12.3% TAR、M-4 が 7.6~9.8% TAR、M-5 が 12.1~26.8% TAR であった。

ベンチアバリカルブイソプロピルの土壌中での推定半減期は 10.6~21.9 日であった。主要分解物 M-5 の推定半減期は 17.4~40.4 日であった。

ベンチアバリカルブイソプロピルの土壌中での分解経路は、①ベンチアゾール環側のアミド結合が加水分解されて M-5 が生成し、②M-5 は脱アミノ化して M-4 が生成し、③M-4 のケトン部分がアルコールに還元されて M-3 を生成し、④さらに、エタノール側鎖が加水分解されて M-1 を生成する経路と考えられた。(参照 8)

(2) 好氣的土壌中運命試験②

[phe-¹⁴C]BVI を軽埴土(茨城)及び埴壤土(静岡)の非滅菌又は滅菌土壌に 0.75 mg/kg で添加後、好氣的条件下で、30℃の暗所で 56 日間インキュベーションして、土壌中運命試験が実施された。

非滅菌土壌では、ベンチアバリカルブイソプロピルは経時的に減少し、56 日後に 0.8~3.8% TAR、主要分解物として M-1、M-3、M-4 及び M-5 が、いずれも 7~28 日後に最大となった後に減少し、56 日後は最も多かった M-5 で 6.0% TAR であった。¹⁴CO₂ の累積発生量は 6.1~17.5% TAR であった。

ベンチアバリカルブイソプロピルの推定半減期は 3.1~7.2 日、主要分解物のうち M-5 の推定半減期は 16~29 日であった。(参照 9)

(3) 分解物の土壌中運命試験

分解物 M-1、M-3 及び M-4 について埴壤土又は砂壤土を用いて好氣的条件下における土壌中運命試験が実施された。推定半減期は M-1 については 4~13 日、M-3 は 2~7 日、M-4 は 0.06~0.18 日であった。(参照 10~12)

(4) 土壌吸着試験

土壌吸着試験が 4 種類の国内土壌(2 種類の黒ボク土：群馬及び茨城、造成土：静岡、灰色低地土：静岡)を用いて実施された。

Freundlich の吸着係数 K_{ads} は 0.90~10.8、有機炭素含有率により補正した吸着係数 K_{oc} は 219~470 であった。(参照 13)

4. 水中運命試験

(1) 加水分解試験

[phe-¹⁴C]BVI を pH 5 (クエン酸ナトリウム)、pH 7 (トリスマレイン酸ナトリウム) 及び pH 9 (四ホウ酸ナトリウム) の各緩衝液に濃度が 4 mg/L になるように加え、25℃±0.5℃において 30 日間インキュベーションし、加水分解試験が実施された。

本試験条件下では顕著な分解は認められなかった。複数の未同定分解物が検出され、主要分解物は未同定分解物-1であり、生成量は1.1% TAR (pH5、21日)であった。異性化は認められなかった。分解が緩慢であったため、正確な推定半減期は算出できなかった。(参照 14)

(2) 水中光分解試験

ベンチアバリカルブイソプロピルを滅菌した蒸留水及び自然水(静岡県大井川)に濃度が2 µg/mLになるように加え、24.8℃で14日間キセノン光照射(300~800 nmの範囲で400 W/m²; 太陽光換算約80日)し、水中光分解試験が実施された。

光照射区における物質収支は、蒸留水において93.5%、自然水において97.1%であり、ベンチアバリカルブイソプロピルはキセノン光照射により分解され難く、分解速度は極めて緩やかであった。太陽光に換算した推定半減期は、蒸留水で740日、自然水で1,700日であった。(参照 15)

5. 土壌残留試験

火山灰・軽埴土(茨城)、造成・埴埴土(静岡)及び沖積・埴土(長野)を用いて、ベンチアバリカルブイソプロピル、分解物(M-1、M-3、M-4及びM-5)及び原体混在物(S-L:ベンチアバリカルブイソプロピルの異性体)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6に示されている。(参照 16)

表6 土壌残留試験成績(推定半減期)

試験	濃度	土壌	推定半減期(日)	
			ベンチアバリカルブ イソプロピル	ベンチアバリカルブ イソプロピル +分解物
容器内試験	0.75 mg/kg	火山灰・軽埴土	7.2 日	22 日
		造成・埴壤土	3.1 日	6.6 日
圃場試験 1	225 g ai/ha	火山灰・軽埴土	26 日	28 日
		沖積・壤土	15 日	16 日
圃場試験 2		火山灰・軽埴土	41.1 日	112 日
		沖積・壤土	19.3 日	105 日

注) 容器内試験では純品、圃場試験では顆粒水和剤(15%)の2,000倍希釈液を用いた。
分析対象化合物: 容器内試験及び圃場試験2(M-1、M-3、M-4、M-5、S-L)
圃場試験1(M-3、S-L)

6. 作物残留試験

大豆、ばれいしょ、はくさい等を用いて、ベンチアバリカルブイソプロピル、原

体混在物 S-L 及び代謝物 M-3 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。ベンチアバリカルブイソプロピルの最高値は、最終散布 30 日後に収穫したぶどうの 0.877 mg/kg であった。原体混在物 S-L と代謝物 M-3 では定量限界未満か、検出されても少量であった。(参照 17～19、94～97、101～102)

上記の作物残留試験に基づき、ベンチアバリカルブイソプロピルを暴露評価対象化合物とした際に食品より摂取される推定摂取量が表 7 に示されている。なお、本推定摂取量の算定は、登録されている又は申請された使用方法からベンチアバリカルブイソプロピルが最大の残留を示す使用条件で、今回申請されたすいか等を含む全ての作物に使用され、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 7 食品中より摂取されるベンチアバリカルブイソプロピルの推定摂取量

	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 ($\mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$)	32.9	18.7	26.6	29.7

7. 一般薬理試験

ラット、マウス及びウサギを用いた一般薬理試験が実施された。結果は表 8 に示されている。(参照 20)

表 8 一般薬理試験

試験の種類		動物種	動物数 匹/群	投与量 (mg/kg 体重) (投与経路)	最大無作用量 (mg/kg 体重)	最小作用量 (mg/kg 体重)	結果の概 要
中 枢 神 経 系	一般状態	SD ラット	雄 5	0, 200, 600, 2,000 (経口)	2,000	—	投与による影 響なし
	自発運動量	ICR マウス	雄 8	0, 200, 600, 2,000 (経口)	2,000	—	投与による 影響なし
	痙攣誘発	ICR マウス	雄 8	0, 200, 600, 2,000 (経口)	600	2,000	2,000 mg/kg 体重投与群 で強直性屈 曲痙攣の抑 制が認めら れた。
呼 吸 循	収縮期血圧	SD ラット	雄 6	0, 200, 600, 2,000 (経口)	2,000	—	投与による 影響なし

試験の種類		動物種	動物数 匹/群	投与量 (mg/kg 体重) (投与経路)	最大無作用量 (mg/kg 体重)	最小作用量 (mg/kg 体重)	結果の概 要
環 器 系	心拍数	SD ラット	雄 6	0, 200, 600, 2,000 (経口)	2,000	—	投与による 影響なし
腎 機 能	尿量、尿中 電解質、尿 浸透圧	SD ラット	雄 6	0, 200, 600, 2,000 (経口)	600	2,000	2,000 mg/kg 体重 投与群で尿 浸透圧の上 昇が認めら れた。
血 液 系	溶血作用	JW ウサギ	雄 6	1×10^6 g/mL 1×10^5 g/mL 1×10^4 g/mL (<i>in vitro</i>)	1×10^4 g/mL	—	投与による 影響なし

・マウス及びラットについてはベンチアバリカルブイソプロピル原体を CMC・Na 水溶液(0.5%w/v)に懸濁したものを検体として単回強制経口投与した。

・—：最小作用量は設定できず

8. 急性毒性試験

(1) 急性毒性試験

ベンチアバリカルブイソプロピルの Wistar ラット及び ICR マウスを用いた急性経口毒性試験、Wistar ラットを用いた急性経皮毒性試験及び SD ラットを用いた急性吸入毒性試験が実施された。

各試験の結果は表 9 に示されている。(参照 21～31、88)

表 9. 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 雌雄各 5 匹	>5,000	>5,000	症状、死亡例なし
経口	ICR マウス 雌雄各 5 匹	>5,000	>5,000	症状、死亡例なし
経口*	Wistar ラット 雌 3 匹	/		不活発状態、円背位及び立毛、 死亡例なし
経皮	Wistar ラット 雌雄各 5 匹			症状、死亡例なし
吸入	SD ラット 雌雄各 5 匹	LC ₅₀ (mg/L)		呼吸困難、喘ぎ、自発運動低 下、白色物質付着、赤色物質 付着等 死亡例：4.6 mg/L
		>4.6	>4.6	

*：原体混在物の混在率を改善した原体を使用。

代謝物 M-1、M-3、M-4、M-5 及び M-15 並びに原体混在物 S-L、I-1 (R)、I-1 (S)、I-4、I-12 及び I-13 の Fischer ラットを用いた急性経口毒性試験が実施された。

各試験の結果は表 10 に示されている。

表 10 急性毒性試験結果概要 (代謝物及び原体混在物)

被験物質	LD ₅₀ (mg/kg 体重)	
	雄	雌
代謝物 M-1	545	467
代謝物 M-3	>2,000	>2,000
代謝物 M-4	>2,000	>2,000
代謝物 M-5	605	545
代謝物 M-15	>2,000	>2,000
原体混在物 S-L	>2,000	>2,000
原体混在物 I-1 (R)	>2,000	>2,000
原体混在物 I-1 (S)	>2,000	>2,000
原体混在物 I-4	>2,000	>2,000
原体混在物 I-12	1,200	840
原体混在物 I-13	>2,000	>2,000

(2) 急性神経毒性試験

SD ラット (一群雌雄各 5 匹) を用いた強制経口 (原体: 2,000 mg/kg 体重、溶媒: 0.5%カルボキシメチルセルロース) 投与による急性神経毒性試験が実施された。

全群死亡例はなかった。一般状態の変化及び詳細な症状観察、FOB 及び自発運動量測定において、投与による影響は認められなかった。

神経病理組織学的検査では、雄 5 例中 1 例に側脳室の拡張、他の 1 例に坐骨神経線維変性が認められ、雌 5 例中 1 例に坐骨神経及び腓骨神経の神経線維変性が認められたが、軽微な変化であり、他の検査に影響が認められないことから、本剤の毒性影響ではないと考えられた。

本試験における無毒性量は、雌雄とも本試験の最高用量 2,000 mg/kg 体重であると考えられた。神経毒性は認められなかった。(参照 89)

9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

NZW ウサギを用いた眼一次刺激性試験及び皮膚一次刺激性試験が実施された。眼粘膜に対してはわずかな刺激性を有し、皮膚刺激性は認められなかった。(参照 32~33)

Dunkin-Hartley モルモットを用いた皮膚感作性試験が実施された。Buehler 法では陰性であったが、Maximization 法では陽性であった。(参照 34～35)

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 又は 20 匹) を用いた混餌 (原体: 0、50、200、5,000 及び 20,000 ppm: 平均検体摂取量は表 11 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 11 90 日間亜急性毒性試験 (ラット) の平均検体摂取量

投与群		50 ppm	200 ppm	5,000 ppm	20,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	3.5	14.1	353	1,440
	雌	3.9	15.3	379	1,550

各投与群で認められた毒性所見は表 12 に示されている。

本試験において、5,000 ppm 以上投与群の雌雄で肝比重量増加、GGT の増加等が認められたため、無毒性量は雌雄とも 200 ppm (雄: 14.1 mg/kg 体重/日、雌: 15.3 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 36)

表 12 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
20,000 ppm	・ RBC 減少、PLT 増加 ・ 遊離 Chol、PL 及び Alb 増加 ・ 肝肥大、肝黒色化及び肝細胞肥大 ・ 腎及び精巣比重量²増加	・ Alb 増加 ・ 血清中 TP 及びカルシウム増加 ・ 肝肥大、肝黒色化及び肝細胞肥大 ・ 心絶対重量増加
5,000 ppm 以上	・ Ht 及び Hb 減少 ・ 血清中 T.Chol 及び GGT 増加 ・ 血清中 TP 及びカルシウム増加 ・ 肝、副腎比重量増加	・ Ht 及び Hb 減少 ・ PLT、血清中 T.Chol、血清中総遊離 Chol、PL の増加及び GGT 増加 ・ A/G 比減少 ・ 肝比重量、腎及び副腎絶対重量増加
200 ppm 以下	毒性所見なし	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) を用いたカプセル経口 (原体: 0、40、200 及び 1,000 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。

² 体重比重量を比重量という (以下同じ)。

各投与群で認められた毒性所見は表 13 に示されている。

40 ppm 以上投与群の雌で胸腺比重量減少が認められたが、背景データの範囲内であり、胸腺の病理組織学的所見では生理的退縮像と同様であったので、投与による影響とは考えられなかった。

本試験において、1,000 mg/kg 体重/日投与群の雄、200 mg/kg 体重/日以上投与群の雌で Alb の減少等が認められたので、無毒性量は雄で 200 mg/kg 体重/日、雌で 40 mg/kg 体重/日であると考えられた。（参照 37）

表 13 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	・ RBC、Hb、Ht、MCHC 及び血清中カルシウム減少 ・ PLT、MCV、網状赤血球率、血清中 TP 及び Alb 減少、血清中 ALP、T.Bil 及び GGT 増加 ・ 貧血による結膜蒼白 ・ 肝比重量増加、肝細胞肥大及び肝クッパー細胞色素沈着	・ RBC、Hb、Ht、MCHC 及び血清中カルシウム減少 ・ PLT、MCV、網状赤血球率、血清中 ALP、T.Bil 及び GGT 増加 ・ 肝細胞肥大及び肝クッパー細胞色素沈着
200 mg/kg 体重/日以上	200 mg/kg 体重/日以下毒性所見なし	・ 血清中 TP、Alb、血清中 Alb 分画及び分画量減少、A/G 比減少 ・ 肝比重量増加
40 mg/kg 体重/日以下		毒性所見なし

（3）28 日間亜急性毒性試験（ラット）

Fischer ラット（一群雌雄各 5 匹）を用いた混餌（原体：0、50、500、7,000、20,000 及び 50,000 ppm：平均検体摂取量は表 14 参照）投与による 28 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 14 28 日間亜急性毒性試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群		50 ppm	500 ppm	7,000 ppm	20,000 ppm	50,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	4.5	45.1	621	1,870	4,920
	雌	4.6	47.8	656	1,860	4,890

各投与群で認められた毒性所見は表 15 に示されている。

本試験において、7,000 ppm 以上投与群の雌雄で PLT 増加等が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 500 ppm(雄：45.1 mg/kg 体重/日、雌：47.8 mg/kg 体重/日)であると考えられた。（参照 40, 79）

表 15 28 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
50,000 ppm	- 死亡（1 例） - 体重増加抑制 - 血清中 T.Chol、コレステロールエステル及び PL 増加 - 甲状腺ろ胞細胞過形成	- Ht 及び Hb 減少 - 甲状腺ろ胞細胞過形成
20,000 ppm 以上	- Hb、MCV、MCH 及び MCHC 減少 - 血清中遊離 Chol 増加 - 肝肥大、小葉中心性肝細胞肥大、肝細胞単細胞壊死、肝細胞分裂像増加及び肝細胞空胞化 腎、精巣比重量増加	- MCV 減少 - TP、GGT、血清中遊離 Chol 増加、T.Chol 及び PL 増加 - 肝比重量増加、肝肥大、小葉中心性肝細胞肥大、肝細胞単細胞壊死、肝細胞分裂像増加 - 腎比重量増加
7,000 ppm 以上	- PLT 増加 - 血清中 TP 増加 - 肝比重量増加	- PLT 増加 - コレステロールエステル増加 - 遊離脂肪酸減少
500 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

（4）28 日間亜急性毒性試験（マウス）

B6C3F1 マウス（一群雌雄各 5 匹）を用いた混餌（原体：0、50、500、7,000、20,000 及び 50,000ppm：平均検体摂取量は表 16 参照）投与による 28 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 16 28 日間亜急性毒性試験（マウス）の平均検体摂取量

投与群		50 ppm	500 ppm	7,000 ppm	20,000 ppm	50,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	10.7	105	1,410	3,970	9,470
	雌	12.7	120	1,610	4,380	10,800

各投与群で認められた毒性所見は表 17 に示されている。

本試験において、500 ppm 以上投与群の雌雄で肝細胞単細胞壊死等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 50 ppm（雄：10.7 mg/kg 体重/日、雌：12.7 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 39, 79）

表 17 28 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
50,000 ppm	・ 摂餌量減少、体重増加抑制 ・ MCV 及び MCH 減少 ・ 副腎比重量増加及び副腎皮質/髄質細胞肥大 ・ 胸腺比重量減少及び胸腺萎縮	・ 摂餌量減少 ・ RBC、Hb、MCV、MCH、及び MCHC 減少、PLT 増加 ・ 胸腺比重量減少 ・ 副腎比重量増加及び副腎皮質/髄質細胞肥大
20,000 ppm 以上	・ MCH 減少 ・ 肝比重量増加	・ Ht 減少 ・ 卵巣比重量減少 ・ 肝細胞分裂像増加、肝細胞核異型化
7,000 ppm 以上	・ PLT 増加 ・ 小葉中心性肝細胞肥大、肝細胞巣状細胞壊死及び肝細胞核異型化 ・ 前胃角化亢進 ・ 腎比重量減少	・ 小葉中心性肝細胞肥大、肝比重量増加及び肝細胞空胞化 ・ 前胃角化亢進
500 ppm 以上	・ 肝細胞単細胞壊死、肝細胞巣状細胞壊死、肝細胞空胞化及び肝細胞分裂像増加	・ 肝細胞単細胞壊死
50 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

(5) 28 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、200、2,000 及び 20,000 ppm：平均検体摂取量は表 18 参照）投与による 28 日間亜急性神経毒性試験が実施された。

表 18 28 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		200 ppm	2,000 ppm	20,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	17.7	174	1,850
	雌	19.3	186	1,850

本試験において、20,000 ppm 投与群の雄で体重増加抑制及び食餌効率の低下が認められたことから、無毒性量は雄で 2,000 ppm（174 mg/kg 体重/日）、雌で 20,000 ppm（1,850 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 38）

(6) 28 日間亜急性経皮毒性試験（ラット）

SD ラット（一群雌雄各 10 匹）を用いた経皮投与（原体：0、100、300 及び 1,000 mg/kg 体重/日、溶媒：脱イオン水）による 28 日間亜急性経皮毒性試験が実施された。

300 及び 1,000 mg/kg 体重/日投与群の雄で、各投与群 3 例及び 1 例に落屑が

認められ、100 mg/kg 体重/日投与群雌雄で、局所的痂皮が各 1 例認められたが、検体処理との相関は認められなかった。

全投与群の雌雄で皮膚に軽度の扁平上皮過形成がみられ、顆粒層内にケラトヒアリン顆粒の蓄積が認められたが、局所的な処理による物理学的刺激に対する反応であると考えられた。

本試験における無毒性量は、雌雄とも本試験の最高用量 1,000 mg/kg 体重/日であると考えられた。（参照 90）

11. 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、4、40 及び 400 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。

いずれの投与群においても毒性所見は認められなかった。

本試験における無毒性量は、雌雄とも本試験の最高用量 400 mg/kg 体重/日であると考えられた。（参照 41）

(2) 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験（ラット）

Fischer ラット（慢性毒性試験群：一群雌雄各 30（26、52 及び 78 週にて雌雄各 10 匹ずつ計画殺）匹、発がん性試験群：一群雌雄各 50 匹）を用いた混餌（原体：0、50、200 及び 5,000 及び 10,000 ppm：平均検体摂取量は表 19 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 19 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群		50 ppm	200 ppm	5,000 ppm	10,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	2.5	9.9	250	518
	雌	3.2	12.5	318	649

各投与群で認められた毒性所見（非腫瘍性病変）は表 20 に示されている。

腫瘍性病変としては、10,000 ppm 投与群の雄で肝細胞腺腫、5,000 ppm 以上投与群の雌で子宮腺癌の有意な増加が認められた（表 21）。

本試験において、5,000 ppm 以上投与群の雌雄で肝、腎及び副腎比重量増加等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 200 ppm（雄：9.9 mg/kg 体重/日、雌：12.5 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 42, 80）

表 20 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
10,000 ppm	・ 食餌効率低下及び軟便尾部結節 ・ Ht 及び Hb 減少 ・ 脾臓萎縮 ・ 腎リンパ球浸潤、腎硝子様円柱、腎線維化及び腎移行上皮過形成ハーダー腺腔拡張	・ 食餌効率低下及び摂餌量増加 ・ 脾臓萎縮 ・ 腎リンパ球浸潤及び好塩基性尿細管
5,000 ppm 以上	・ 摂餌量増加 ・ MCV 及び MCH 減少、PLT 増加 ・ 血清中 TP 及び GGT 増加 ・ 肝比重量増加、肝細胞脂肪化、肝細胞肥大、肝海綿性変性及び肝変異細胞巣 ・ 腎及び副腎比重量増加、腎結石、慢性腎症、尿細管拡張、腎硝子滴変性 ・ 甲状腺ろ胞上皮細胞過形成	・ RBC、Ht、Hb、MCV 及び MCH 減少 ・ PLT、血清中カルシウム、T.Chol、遊離 Chol、PL、血清中 TP 及び GGT 増加 ・ 肝比重量増加、肝細胞脂肪化、肝細胞肥大及び肝マクロファージ/泡沫細胞集簇 ・ 甲状腺ろ胞上皮細胞過形成 ・ ハーダー腺腔拡張 ・ 腎及び副腎比重量増加、糸球体硬化、腎結石、腎硝子様円柱及び腎褐色色素沈着
200 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

表 21 肝臓及び子宮における腫瘍性病変の発生頻度

	雄					雌				
投与量	0	50	200	5,000	10,000	0	50	200	5,000	10,000
所見/検査動物数	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70
肝細胞腺腫	1	2	2	2	8*	4	0	2	1	2
肝細胞腺癌	0	2	0	0	2	0	0	0	1	0
子宮腺腫	-	-	-	-	-	1	0	2	2	0
子宮腺癌	-	-	-	-	-	3	3	4	13*	12*

Fisher の直接確率検定、* : $p \leq 0.05$

検査動物数は、発がん性試験群及び慢性毒性試験群（52 週、78 週）の合計である。

(3) 2年間発がん性試験（マウス）

B6C3F1 マウス（発がん性試験群：一群雌雄各 50 匹、衛星群：一群雌雄各 20 匹（52 及び 78 週にて雌雄各 10 匹ずつ計画殺）を用いた混餌（原体：0、20、100、2,500 及び 5,000 ppm：平均検体摂取量は表 22 参照）投与による 2 年間発がん性試験が実施された。

表 22 2年間発がん性試験（マウス）の平均検体摂取量

投与群		20 ppm	100 ppm	2,500 ppm	5,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	2.7	13.7	358	731
	雌	3.7	18.6	459	928

各投与群で認められた毒性所見（非腫瘍性病変）は表 23 に示されている。

腫瘍性病変としては、5,000 ppm 投与群の雄で甲状腺ろ胞細胞腺腫が、2,500 ppm 以上投与群の雌雄で肝細胞腺腫が、雄で肝芽細胞腫、肝細胞癌の有意な増加が認められた（表 24）。

本試験において、2,500 ppm 以上投与群の雌雄で肝細胞肥大等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 100 ppm（雄：13.7 mg/kg 体重/日、雌：18.6 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 43）

表 23 2年間発がん性試験（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	- 死亡率増加 - 消瘦、立毛、蒼白及び呼吸促迫 - 腎尿細管空胞変性減少及び腎褐色色素沈着	- 肝細胞核大小不同性、肝マクロファージ集簇、肝炎症性細胞浸潤、肝細胞巣状壊死及び肝細胞単細胞壊死 - 卵巢萎縮
2,500 ppm 以上	- 体重増加抑制 - 食餌効率の低下 - PLT 及び骨髓巨核球増加 - 前胃潰瘍、前胃リンパ球浸潤及び扁平上皮過形成 - 肝比重量増加、肝小葉中間帯肝細胞脂肪化、肝細胞肥大、肝変異細胞巣、肝血管拡張、肝細胞核大小不同性、肝多核肝細胞、肝細胞巣状壊死、肝細胞単細胞壊死、肝マクロファージ集簇、肝炎症性細胞浸潤、肝小肉芽腫、肝細胆管/胆管増生、肝髄外造血、びまん性肝細胞脂肪化減少及び多核肝細胞出現増加 - 甲状腺ろ胞拡張及びろ胞細胞過形成 - 腎鉍質沈着減少、副腎皮質限局性肥大/過形成及び副腎皮質肥大/過形成	- PLT 増加 - 肝比重量増加、肝小葉中間帯肝細胞脂肪化、肝細胞肥大及び肝変異細胞巣 - 甲状腺ろ胞拡張及びろ胞細胞過形成 - 副腎皮質肥大/過形成 - 卵巢比重量減少
100 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

表 24 甲状腺及び肝臓における腫瘍性病変の発生頻度

投与群 (ppm)	雄					雌				
	0	20	100	2,500	5,000	0	20	100	2,500	5,000
所見/検査動物数	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70
甲状腺ろ胞細胞腺腫	0	1	0	4	9*	0	0	1	2	2
肝細胞腺腫	21	9*	17	51**	64**	5	3	4	27**	29**
肝芽細胞腫	0	0	0	12**	11**	0	0	0	0	0
肝細胞癌	12	13	12	36**	43**	3	3	3	7	6

Fisher の直接確率検定、* : $p \leq 0.05$ 、** : $p \leq 0.01$

12. 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、100、1,000 及び 10,000 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

投与群			100 ppm	1,000 ppm	10,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	P 世代	雄	6.9	68.5	702
		雌	7.7	76.0	771
	F ₁ 世代	雄	10.0	99.7	1,060
		雌	9.9	106	1,110

親動物では 10,000 ppm 投与群の雌雄で肝絶対重量増加 (P、F₁)、肝細胞肥大 (P、F₁) が、1,000 ppm 投与群の雄で肝絶対重量増加 (P)、肝細胞肥大 (P、F₁) が認められた。児動物では 10,000 ppm 投与群の雌雄で肝絶対重量増加 (F₁、F₂) が認められた。

本試験において、親動物 (P、F₁) の 1,000 ppm 投与群の雄及び 10,000 ppm 投与群の雌で肝細胞肥大等が認められ、児動物 (F₁、F₂) の 10,000 ppm 投与群の雌雄で肝絶対重量増加が認められたので、無毒性量は親動物の雄で 100ppm (P : 6.9 mg/kg 体重/日、F₁ : 10.0 mg/kg 体重/日)、雌で 1,000 ppm (P : 76.0 mg/kg 体重/日、F₁ : 106 mg/kg 体重/日)、児動物の雌雄で 1,000 ppm (P 雄 : 68.5 mg/kg 体重/日、P 雌 : 76.0 mg/kg 体重/日、F₁ 雄 : 99.7 mg/kg 体重/日、F₁ 雌 : 106 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 44)

(2) 発生毒性試験 (ラット) ①

SD ラット (一群雌 25 匹) の妊娠 7~19 日に強制経口 (原体 : 0、10、100 及び 1,000 mg/kg 体重/日、0.5% CMC-Na 水溶液に懸濁) 投与して、発生毒性試験

が実施された。

母動物では 1,000 mg/kg 体重/日投与群で肝比重量増加が、100 mg/kg 体重/日以上投与群で副腎絶対重量及び比重量の増加、肝肥大が認められた。

胎児では投与による影響は認められなかった。

本試験における無毒性量は、母動物で 10 mg/kg 体重/日、胎児で本試験の最高用量 1,000 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 45)

(3) 発生毒性試験 (ラット) ②

欧州当局からの要請に基づき妊娠 5 日からの投与開始による検体の影響を確認するため、本試験が実施された。SD ラット (一群雌 22 匹) の妊娠 5~19 日に強制経口 (原体 : 0、10、100 及び 1,000 mg/kg 体重/日、1%Tween80 含有 0.5%CMC・Na) 投与して、発生毒性試験が実施された。

母動物の 1,000 mg/kg 体重/日投与群で肝比重量の有意な増加が、100 mg/kg 体重/日投与群で副腎の絶対及び比重量の有意な増加が認められた。胎児においては、いずれの投与群においても検体投与の影響は認められなかった。

本試験における無毒性量は、母動物で 10 mg/kg 体重/日、胎児で本試験の最高用量 1,000 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 91)

(4) 発生毒性試験 (ウサギ)

NZW ウサギ (一群雌 22 匹) の妊娠 6~28 日に強制経口 (原体 : 0、10、20 及び 40 mg/kg 体重/日、0.5%CMC・Na 水溶液に懸濁) 投与して、発生毒性試験が実施された。

母動物では、40 mg/kg 体重/日投与群で流産 (2 例)、肝肥大及び肝比重量の増加が認められた。1 例の流産は妊娠期間の後半に摂餌がみられず、母体の栄養状態悪化に起因したものと考えられた。

胎児の内臓及び骨格所見には投与による影響は認められなかった。

本試験における無毒性量は、母動物で 20 mg/kg 体重/日、胎児で本試験の最高用量 40 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 46)

13. 遺伝毒性試験

ベンチアバリカルブイソプロピルの細菌を用いた復帰突然変異試験、ラット肝初代培養細胞を用いた *in vitro* 不定期 DNA 合成試験、マウスリンフォーマ TK 試験、チャイニーズハムスター肺線維芽細胞 (CHL) を用いた染色体異常試験、ヒトリンパ球を用いた単細胞ゲル電気泳動法試験 (コメット試験)、BALB/c3T3 細胞を用いた二段階形質転換試験、ラット肝細胞を用いた *in vivo/in vitro* 不定

期 DNA 合成試験、マウス肝臓における酸化的 DNA 損傷試験、ラット肝臓・子宮における酸化的 DNA 損傷試験、マウス骨髄細胞を用いた小核試験及びトランスジェニックマウスの肝臓を用いた遺伝子突然変異試験が行われた。細菌を用いた復帰突然変異試験の TA98 株において S9 mix 存在下で 500~1000 µg/プレート の用量で対照の 3~4.8 倍の復帰変異コロニー数の増加が認められたが、その他の試験はすべて陰性であった (表 26)。

TA98 株の S9 mix 存在下で再現性のある陽性反応が認められたが、原体混在物の混在率を改善した原体では陰性であったこと、培養細胞においては DNA 損傷性や遺伝子突然変異の誘発性は見られなかったこと、*in vivo* での評価においてマウス、ラットの肝臓等における酸化的 DNA 損傷性が見られなかったこと、十分高用量まで試験されたラット肝細胞を用いた不定期 DNA 合成試験及び肝臓を標的としたトランスジェニックマウスを用いた遺伝子突然変異試験の *in vivo* 試験で陰性であったこと、さらに染色体異常の誘発性に関しては *in vitro*, *in vivo* ともに認められないこと、二段階形質転換試験は陰性であったことから、生体にとって特に問題となるような遺伝毒性はないものと考えられた。(参照 47~58、92)

表 26 遺伝毒性試験概要 (原体)

試験		対象	投与量・処理濃度	結果
in vitro	復帰突然変異試験	Salmonella typhimurium (TA98、TA100、 TA1535、TA1537 株)	1 回目 : 8~5,000 µg/7° レート (+/-S9) 2 回目 : 32~5,000 µg/7° レート (+/-S9)	陽性 TA98 (+S9)
		Escherichia coli (WP2uvrA 株)	1 回目 : 15.8~5,000 µg/7° レート (+/-S9) * 2 回目 : 8.19~5,000µg/7° レート (+/-S9) *	陰性
	不定期 DNA 合成試験	ラット肝細胞	実験 1 : 5~ 50 µg/mL 実験 2 : 15.6~500 µg/mL	陰性
	マウスリンフォーマ TK 試験	マウスリンパ腫細胞 (L5178Y)	3.75~120 µg/mL (+/-S9)	陰性
	染色体異常試験	チャイニーズハムスター肺由来細胞株 (CHL)	955~3,820 µg/mL (+/-S9)	陰性
	単細胞ゲル電気泳動法試験	ヒドリンパ球	62.2~173 µg/mL (-S9) 173~800 µg/mL (+S9)	陰性
	二段階形質転換試験	BALB/c3T3 細胞	10.4~80.0 µg/mL	陰性
in vivo/ in vitro	不定期 DNA 合成試験	Fischer ラット(肝細胞) (一群雄 4 匹)	1,000、2,000 mg/kg 体重 (単回経口投与)	陰性

試験		対象	投与量・処理濃度	結果
in vivo	酸化的 DNA 損傷試験 (肝臓)	B6C3F1 マウス (一群雌雄各 5 匹)	100、500 ppm (混餌投与) 雄：19.4、1,030 mg/kg 体重 雌：26.1、1,200 mg/kg 体重	陰性
	酸化的 DNA 損傷試験 (肝臓)	Fischer ラット (一群雌雄各 5 匹)	200、10,000 ppm (混餌投与) 雄：17.4、798 mg/kg 体重 雌：17.1、915 mg/kg 体重	陰性
	酸化的 DNA 損傷試験 (肝臓・子宮)	Fischer ラット (一群雌 10 匹)	200、10,000 ppm (混餌投与) 11.6、576 mg/kg 体重	陰性
	小核試験	ICR マウス (骨髓細胞) (一群雄 8 匹)	2,000 mg/kg 体重 (1 日 2 回経口投与)	陰性
	遺伝子突然変異試験	トランスジェニック マウス (Muta TM Mouse) (肝臓)(一群雄 5 匹)	1,000、2,000 mg/kg 体重 (1 日 1 回 5 日間経口投与)	陰性

注) +/-S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下、+S9 : 代謝活性化系存在下

* : 原体混在物の混在率を改善した原体を使用

代謝分解物 M-1、M-3、M-4、M-5、M-15、原体混在物 S-L、I-12 の細菌を用いた復帰突然変異試験が実施された。M-4 及び I-12 が TA98 株において S9 mix 存在下で各々対照の 6 倍 (1,250 µg/プレート) 及び 7.8 倍 (320 µg/プレート) の増加が認められ、陽性であった。その他はすべて陰性であった (表 27)。

M-4 は土壌中分解物で、土壌中推定半減期が数時間という極めて短時間であること、また、I-12 は 0.5%以下の低い含有量であることを考えると、これらのものがヒトに健康被害をもたらすとは考え難い。(参照 59～65)

表 27 遺伝毒性試験概要 (代謝分解物・原体混在物)

被験物質	試験	対象	投与量・処理濃度	結果
M-1	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA100, TA98, TA1535, TA1537 株) <i>E. coli</i> (WP2uvrA 株)	156-5,000 µg/mL (-S9) 78.1-5,000 µg/mL (+S9)	陰性
M-3	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA100, TA98, TA1535, TA1537) <i>E. coli</i> (WP2uvrA 株)	78.1-5,000 µg/mL (+/-S9)	陰性
M-4	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA100, TA98, TA1535, TA1537) <i>E. coli</i> (WP2uvrA 株)	156-5,000 µg/mL (-S9) 78.1~5,000 µg/mL (+S9)	陽性 TA98 (+S9)
M-5	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA100, TA98, TA1535, TA1537) <i>E. coli</i> (WP2uvrA 株)	78.1-5,000 µg/mL (+/-S9)	陰性

被験物質	試験	対象	投与量・処理濃度	結果
M-15	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA100, TA98, TA1535, TA1537) <i>E.coli</i> (WP2uvrA 株)	156-5,000 µg/mL (+/-S9)	陰性
S-L	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA100, TA98, TA1535, TA1537) <i>E.coli</i> (WP2uvrA 株)	156-5,000 µg/mL (+/-S9)	陰性
I-12	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA100, TA98, TA1535, TA1537) <i>E.coli</i> (WP2uvrA 株)	本試験： 0.625-320 µg/mL (-S9) 10.0-1,280 µg/mL (+S9) 追加試験： 0.625-160 µg/mL (-S9)	陽性 TA98 (+S9)

注) +/-S9：代謝活性化系存在下及び非存在下、+S9：代謝活性化系存在下

14. その他の毒性試験

(1) 肝腫瘍のメカニズム試験

①ラットを用いた肝2段階発がんイニシエーション試験

Fischer ラット（一群雄 12 匹）を用いた単回経口（原体：2,000 mg/kg 体重）投与による 10 週間の発がんイニシエーション試験（イニシエーター陽性対照物質：DEN、プロモーター：PB）が実施された。

GST-P 陽性細胞巢の数及び面積を指標としたところ、投与群は陽性細胞巢の数及び面積において溶媒投与群との反応に差がなく、DEN 投与群と比較すると統計学的に有意な低値を示した。

本試験条件下では、ベンチアバリカルブイソプロピルは肝臓に対する発がんイニシエーション作用はないと考えられた。（参照 66）

②ラットを用いた肝2段階発がんプロモーション試験

Fischer ラット（一群雄 12 匹）を用いた混餌（原体：10,000 ppm）投与による 8 週間発がんプロモーション試験（イニシエーター：DEN、プロモーター陽性対照物質：PB）が実施された。

DEN+ベンチアバリカルブイソプロピル投与群及び DEN+PB 群で有糸分裂像が増加し、また、GST-P 陽性細胞巢の数及び面積が増加した。

本試験条件下では、ベンチアバリカルブイソプロピルは DEN をイニシエーターとした場合にプロモーション作用を示すと考えられた。（参照 67）

③マウスを用いた薬物代謝酵素誘導及び肝細胞増殖確認試験

B6C3F1 マウス（一群雌雄各 8 匹）を用いた 1 日 1 回 7 日間強制経口（原体：10 及び 1,000 mg/kg 体重/日）投与による薬物代謝酵素誘導及び肝細胞増殖確認試験が実施された。

1,000 mg/kg 体重投与群の雌雄で肝比重量の増加、総 P450 量の増加、P450 分子種の増加（CYP1A2(1A1)、CYP2B1(2B2)及び CYP3A2）及び肝細胞肥大、雄で肝細胞壊死が認められた。BrdU 免疫組織染色の標識率は投与群と対照群で明らかな差は認められなかった。

ベンチアバリカルブイソプロピル投与によりマウスの肝臓に増加した CYP 分子種は、フェノバルビタール投与による酵素誘導パターンと類似していた。また、細胞増殖活性に対する影響は極めて弱いと考えられた。（参照 68）

④ラットを用いた薬物代謝酵素誘導及び肝細胞増殖確認試験

Fischer ラット（一群雌雄各 8 匹）を用いた 1 日 1 回 7 日間強制経口（原体：10 及び 1,000 mg/kg 体重/日）投与による薬物代謝酵素誘導及び肝細胞増殖確認試験が実施された。

1,000 mg/kg 体重投与群の雌雄で肝比重量の増加、CYP 分子種（CYP2B1(2B2)、CYP3A2）の増加、雄で CYP1A1 (1A2) 及び総 CYP 量の増加が認められた。BrdU 免疫組織染色の標識率は投与群と対照群で有意な差は認められなかった。（参照 69）

⑤マウスを用いた肝細胞増殖活性測定

(2) ①の甲状腺腫瘍メカニズム試験（100 又は 500 ppm で 14 日間混餌投与）で得られたマウスの肝臓試料を用いて PCNA 免疫組織化学検査が実施された。

PCNA 標識率に有意な差は認められなかった。（参照 70）

⑥ラット及びマウスにおける肝脂質過酸化量測定

Fischer ラット（一群雌雄各 5 匹）及び B6C3F1 マウス（一群雌雄各 5 匹）を用いて 7 日間混餌（ラット：原体：0、50 及び 10,000 ppm；雄：0、3.6 及び 753、雌：0、3.7 及び 729 mg/kg 体重/日に相当、マウス：原体：0、100 及び 5,000 ppm；雄：0、19.4 及び 1,070、雌：0、21.4 及び 1,370 mg/kg 体重/日に相当、）投与し、過酸化脂質量を蛋白量 1 mg あたりのチオバルビツール酸価（TBA 価）として算出することにより肝中脂質過酸化量の測定が行われた。

ラットの 10,000 ppm 投与群の雌雄で肝比重量増加が、雄で TBA 価増加が、マウスの 5,000 ppm 投与群の雌雄で肝比重量増加及び TBA 価増加が認められた。

肝脂質過酸化能の程度は、マウス雄＞マウス雌・ラット雄であり、酸化ストレスの程度がマウス雄で最も強度であり、マウス雌とラット雄は同程度であった。（参照 79）

⑦ラット及びマウス肝臓における肝細胞増殖活性測定

ラット及びマウス 28 日間反復経口投与試験 (10(3)及び 10(4))、ラット 90 日間亜急性毒性試験(10(1))並びにマウス 90 日間亜急性毒性試験 (マウス発がん性試験 (11(3)) の予備試験) から得られた保存肝臓試料を用いて、肝臓における PCNA 標識率の測定が行われた。

ラット 28 日間では、50,000 ppm 群に増加傾向がみられたが、有意ではなかった。

ラット 90 日間では対照群とほぼ同等であった。

マウス 28 日間では、20,000 及び 50,000 ppm 群で PCNA 標識率の有意な増加がみられ、高投与群における細胞増殖活性が認められた。

マウス 90 日間では、20,000 ppm 群に増加傾向がみられたが、有意ではなかった。

以上のことより、肝細胞腫瘍が誘発されたマウスでは、高用量を投与すると肝細胞の増殖活性が増加すると考えられた。(参照 71)

(2) 甲状腺腫瘍発生メカニズム試験

①マウスの肝中 UDP-GT 活性、血清中 TSH、T3 及び T4 の測定

B6C3F1 マウス (一群雄各 6 匹) を用いた混餌 (原体: 0、100 及び 5,000 ppm; 0、17.0 及び 855 mg/kg 体重/日に相当) 投与による 7 及び 14 日間の甲状腺腫瘍メカニズム試験が実施された。

5,000 ppm 投与群で肝ミクロソーム中の UDP-GT 活性の増加、血清中 T4 の減少、肝比重量の増加、肝肥大、肝臓の暗色化が認められた。血清中 TSH 及び T3 には変化が認められなかった。(参照 72)

②マウス血清中 TSH 測定試験

B6C3F1 マウス (一群雄各 12 匹) を用いた混餌 (原体: 0、100 及び 5,000 ppm; 0、15.7 及び 810 mg/kg 体重/日に相当) 投与による 16 週間の甲状腺腫瘍メカニズム試験において、5,000 ppm 投与群で血清中 TSH の増加が認められた。14.

(2) ①の試験で肝ミクロソーム中の UDP-GT 活性の増加、血清中 T4 の減少が認められたことに加え、本試験で血清中 TSH 濃度の増加が認められたことから、ベンチアバリカルブイソプロピルによる甲状腺腫瘍の発生は、内分泌ホルモンのフィードバック調節の結果に起因することが一因であると考えられた。(参照 73)

③ラットの肝中 UDP-GT 活性、血清中 TSH、T3 及び T4 の測定

Fischer ラット (一群雄各 10 匹) を用いた混餌 (原体: 0、200 及び 10,000 ppm; 0、13.3 及び 661 mg/kg 体重/日に相当) 投与による 14 日間の甲状腺機能亢進メ

カニズム試験が実施された。

10,000 ppm 投与群で摂餌量の増加、肝ミクロソーム中の UDP-GT 活性の増加、血清中 T4 の減少、肝比重量の増加、肝肥大が認められた。血清中 TSH は有意ではないが増加傾向が認められ、血清中 T3 には変化は認められなかった。

ベンチアバリカルブイソプロピルはラット肝臓の UDP-GT を誘導することにより血清中 T4 を減少させ、そのフィードバック機構により甲状腺を刺激した(細胞上皮過形成)と考えられた。(参照 74)

(3) 子宮腫瘍発生メカニズム試験

① 卵巣摘出ラットを用いた子宮肥大試験

卵巣摘出 Fischer ラット (一群雌各 6 匹) を用いた 1 日 1 回 14 日間の強制経口 (原体: 0、10、100 及び 1,000 mg/kg 体重) 投与による子宮肥大試験が実施された。

子宮重量はいずれの投与群でも溶媒対照群と同程度であり、組織学検査においても萎縮した子宮組織以外に所見は観察されなかった。子宮内膜細胞の BrdU 標識率にも差は認められなかった。

本試験条件下では、ベンチアバリカルブイソプロピルの子宮肥大作用及び子宮の細胞増殖作用は認められず、エストロゲン作用を示唆する変化は認められないと考えられた。(参照 75)

② ラットの卵巣、子宮及び肝中アロマターゼ活性、肝のエストロゲン代謝酵素測定及び血清中ホルモン測定

Fischer ラット (一群雌各 10 匹) を用いた混餌 (原体: 0、200 及び 10,000 ppm; 0、11.6 及び 576 mg/kg 体重/日に相当) 投与による 8 週間の子宮癌発生メカニズム試験が実施された。

10,000 ppm 投与群で肝臓中の酵素 (アロマターゼ、エストラジオール-2-ヒドロキシラーゼ及びエストラジオール-4-ヒドロキシラーゼ) 活性の増加、肝比重量の増加、肝臓の暗色化が認められた。卵巣及び子宮中のアロマターゼ活性、血清中の黄体形成ホルモン、17 β -エストラジオール及びプロゲステロンの濃度、17 β -エストラジオール/プロゲステロン比、卵巣及び子宮の重量変化は認められなかった。(参照 56、76~77)