

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

## 農 薬 抄 録

一般名 : ピリオフェノン  
(用途別種類名) 「殺菌剤」

(申請年月日)

平成27年 2月 9日改訂

(作成会社名) 石原産業株式会社

(作成責任者)

## 目 次

	頁
1. 開発の経緯	1
2. 物理的・化学的性状	3
3. 生物活性	16
4. 適用及び使用上の注意	18
5. 農薬残留量	19
6. 有用動植物等に及ぼす影響	24
7. 使用時安全上の注意、解毒法等	33
8. 毒性	34
8.1 急性毒性	40
8.2 皮膚及び眼に対する刺激性、皮膚感作性	44
8.3 急性神経毒性	52
8.4 亜急性毒性	55
8.5 慢性毒性及び発がん性	77
8.6 繁殖性に及ぼす影響及び催奇形成	131
8.7 変異原性	149
8.8 生体機能影響	161
8.9 その他の毒性	164
8.10 代謝物の毒性	176
8.11 製剤の毒性	180
9. 動植物及び土壌等における代謝分解	193
9.1 動物代謝に関する試験	202
9.2 植物代謝に関する試験	239
9.3 土壌中動態に関する試験	257
9.4 水中動態に関する試験	279
9.5 生物濃縮性試験	289
[附] 開発年表	304

## 1. 開発の経緯

### 1.1 発明の背景

殺菌剤による農作物の病害防除は農業生産性の向上、食料の品質保持など安定した食料生産を確保する上で極めて重要である。特に子囊菌類に属する各種うどんこ病菌によって引き起こされるうどんこ病は、麦類、野菜類、果樹などの重要な作物に発生し、発病に適した気象条件下では、植物による光合成の阻害を引き起こし、作物の収量や品質に多大な被害を与えることで知られている。その為、本病害は栽培期間を通じて、複数回の農薬散布による防除が必須となっているが、同一系統の薬剤の連用は薬剤耐性菌の発達を促し、本病害の防除を困難にしている。よって、異なった系統の薬剤をローテーションで使用することが望ましく、現在も新しい薬剤の登場が待ち望まれている。

当社は、本病害に有効な化合物の探索に取り組み、年にベンゾイルピリジン系殺菌剤、ピリオフェノンを発明するに至った。

### 1.2 開発の経過

#### 1) 基礎研究

当社は、年(年)より、殺菌効果を持つベンゾイルピリジン系化合物群に着目し、研究を進めた。その後の一連の合成展開の中で、年(年)に各種うどんこ病菌に高い効果を示し、穀類の眼紋病菌に対しても活性を示す新規殺菌剤ピリオフェノン(試験名:IKF-309)を発明するに至った。

本化合物は発明当初から、既存剤の耐性菌にも高い効果を発揮することが判明していたが、その後の作用機構研究から、本剤が既存の殺菌剤と異なる作用点を持つ、全く新しい系統の剤であることが確認された。更に、より効果を高める製剤の検討等、社内での基礎研究を継続し、最終的に、年()よりピリオフェノン26.8%(30%w/v)フロアブルの対外供試を開始した。

ピリオフェノンの特徴は以下の通りである。

- (1) 各種うどんこ病菌に対し特異的に高い効果を示す殺菌剤であり、高い予防効果に加えて、安定した残効性、耐雨性、治療効果、ベーパー効果および移行性を有する。
- (2) 他剤の耐性菌に有効であることから、他剤との混合相手剤としても有用である。
- (3) 病原菌の吸器、分生子の形成阻害および二次付着器、菌糸の形態異常を低濃度で誘起する。
- (4) うどんこ病菌を中心とした糸状菌に特異的に作用するため、その他の非標的生物に安全性が高い。
- (5) 作物に対しても安全性が高い。

## 2) 開発研究

基礎研究の結果に基づき、 年度（ 年度）より、日本植物防疫協会を通じて、ピリオフェノン 26.8%フロアブルの小麦、なし、いちご、なす、きゅうり/うどんこ病に対する委託試験を開始した。

## 3) 毒性評価状況

海外における一日許容摂取量（ADI）および急性参照用量（ARfD）の設定状況は以下のとおりである。

一日許容摂取量（ADI）：

米国 EPA では 2011 年に、ラット発がん性試験で認められた腎症の増加に基づいて、この試験の無毒性量（NOAEL）であると判断された 9 mg/kg/日を安全係数 100 で除した 0.09 mg/kg/日を慢性参照用量（cRfD）すなわち ADI に設定している。

EU では 2013 年に、ラット発がん性試験で認められた肝細胞腺腫および肝細胞癌の複合的発生に基づいて、この試験の無毒性量（NOAEL）であると判断された 7.25 mg/kg/日を安全係数 100 で除した 0.07 mg/kg/日を ADI に設定している。

国名	評価年	ADI (cRfD) (mg/kg/日)	根拠試験	根拠とした所見	NOAEL (mg/kg/日)	安全 係数
米国*1	2011	0.09	ラット発がん 性試験	雌の腎症の増加	9	100
欧州*2	2013	0.07	ラット発がん 性試験	肝細胞腺腫および肝細 胞癌の複合的発生	7.25	100

急性参照用量（ARfD）：

米国 EPA、EU における評価では、ともに発生毒性試験を含む急性・短期の毒性試験において ARfD 設定のための根拠になる所見はなく、ARfD 設定不要と結論されている。

国名	評価年	ARfD	根拠試験	根拠とした所見	NOAEL	安全係数
米国*1	2011	設定不要	--	--	--	--
欧州*2	2013	設定不要	--	--	--	--

## 参考文献

\*1: Pyriofenone, Revised Human-health Risk Assessment for the Establishment of Tolerances

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

for Pyriofenone Fungicide in/on Imported Grapes. (2011)

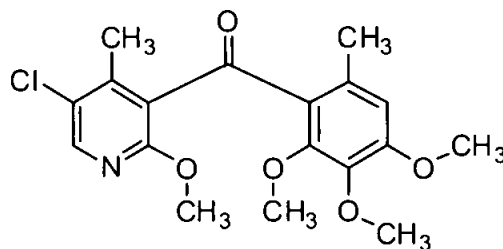
\*2 :Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance pyriofenone (2013)

## 2. 物理的・化学的性状

### 2.1 有効成分の名称及び化学構造

- 1) 一般名           ピリオフェノン  
                      pyriofenone (ISO 申請中)
- 2) 別名            商品名       プロパティ  
                      試験名       IKF-309
- 3) 化学名  
IUPAC           (5-chloro-2-methoxy-4-methyl-3-pyridyl)(4, 5, 6-trimethoxy- $\sigma$ -tolyl)  
                      methanone  
                      (5-クロロ・2-メトキシ・4-メチル・3-ピリジル)(4, 5, 6-トリメトキシ- $\sigma$ -トリル)  
                      メタノン  
CA               (5-chloro-2-methoxy-4-methyl-3-pyridinyl)(2, 3, 4-trimethoxy-  
                      6-methylphenyl)methanone  
                      (5-クロロ・2-メトキシ・4-メチル・3-ピリジニル)(2, 3, 4-トリメトキシ・  
                      6-メチルフェニル)メタノン

4) 構造式



- 5) 分子式           C<sub>18</sub>H<sub>20</sub>ClNO<sub>5</sub>
- 6) 分子量           365.8
- 7) CAS No.         688046-61-9

## 2.2 有効成分の物理的・化学的性状

- 1) 外観・臭気 白色固体（粉末）、無臭（官能法）  
（ 2009年 GLP）
- 2) 密度 1.33 g/cm<sup>3</sup> (20℃) 比重ビン法 (OECD ガイドライン No. 109)  
（ 2009年 GLP）
- 3) 融点 93~95℃ 毛管法 (OECD ガイドライン No. 102)  
（ 2009年 GLP）
- 4) 沸点 測定不能  
沸点測定管を 1℃/分の昇温速度で加熱するにつれて、約 100℃で試料が暗色化（無色から淡黄色に変化）するのが観察されて、分解を示していた。さらに加熱すると、約 360℃で試料が黒色のタール状になるのが観察され、沸騰は認められなかった。  
Siwoloboff 法 (OECD ガイドライン No. 103) ( 2009年 GLP)
- 5) 蒸気圧 1.9×10<sup>-6</sup> Pa (25℃) 蒸気圧天秤法 (OECD ガイドライン No. 104)  
（ 2009年 GLP）
- 6) 溶解度 水溶解度 (20℃) カラム溶出法 (OECD ガイドライン No. 105)  
逆浸透精製水： 1.56 mg/L (20℃)  
（ 2007年 GLP）  
有機溶媒 (20℃) フラスコ振とう法 (OECD ガイドライン No. 105)  

n-ヘプタン	8.8 g/L	メタノール	22.3 g/L
キシレン	>250 g/L	n-オクタノール	16.0 g/L
ジクロロエタン	>250 g/L	酢酸エチル	>250 g/L
アセトン	>250 g/L		

  
（ 2009年 GLP）
- 7) 解離定数 pH 4 から pH 10 の間で解離定数を持たない。  
分光光度法 (OECD ガイドライン No. 112) ( 2009年 GLP)
- 8) 分配係数 (n-オクタノール/水) logPow=3.2  
[フラスコ振とう法 (OECD ガイドライン No. 107)、20℃]  
（ 2009年 GLP）

- 9) 生物濃縮性  $BCF_{ss}=160$  (試験濃度 0.01 mg/L)  $BCF_{ss}=142$  (0.001 mg/L)  
( 2009 年 GLP)
- 10) 土壌吸脱着係数  $K_{ads_F}=17.0\sim 33.9$ 、 $K_{ads_{Foc}}=623\sim 3400$   
 $K_{des_F}=30.5\sim 51.1$ 、 $K_{des_{Foc}}=911\sim 6100$   
[試験温度  $25\pm 2^\circ\text{C}$ ] ( 2008 年 GLP)
- 11) 加水分解性 酸、アルカリ pH 4~9 の範囲に亘る  $50^\circ\text{C}$  の溶液中では加水分解に対して安定である。  
( 2009 年 GLP)
- 12) 水中光分解性 東京春換算値 自然水 半減期 33 日、精製水 半減期 54 日  
[ $25\pm 2^\circ\text{C}$ 、キセノンランプ、 $35.7\text{ W/m}^2$  (300~400 nm)]  
( 2010 年 GLP)
- 13) 安定性
- ① 熱 DSC で  $25^\circ\text{C}$  から  $400^\circ\text{C}$  まで測定したが、この測定中に、 $93^\circ\text{C}$  付近の吸熱作用を除いて  $150^\circ\text{C}$  まで顕著な被験物質の吸熱又は発熱作用は認められなかった。テストガイドラインから、この試験条件下では空気中で熱に安定であると考えられた。  
[DSC 法 (OECD ガイドライン No. 113)] ( 2009 年 GLP)
- 14) UV、赤外、MS、NMR ( $^1\text{H}$ 、 $^{13}\text{C}$ )等のスペクトル ( 2009 年 GLP)

① MS のスペクトラム

エレクトロスプレー／正 (ESP+)イオン化法により測定したピリオフェノンの質量スペクトラムを図-1 に、 $m/z=366$  のプロダクトイオンの質量スペクトラムを図-2 に示す。

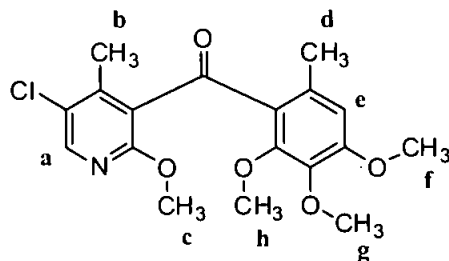
$m/z$  184 :  $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{O}_3$  の脱離

$m/z$  209 :  $\text{C}_7\text{H}_7\text{ONCl}$  の脱離

$m/z$  366 :  $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{ClNO}_5$

②  $^1\text{H}$ -NMR スペクトラム

重水素化クロロホルム中で測定したピリオフェノンの  $^1\text{H}$ -NMR スペクトラムを図-3 に示した。各シグナルの帰属を以下に示す。



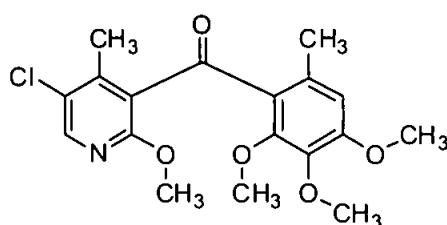


本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

ケミカルシフト (ppm)	プロトン数	帰属
8.1 (singlet)	1	a
7.3 (singlet)	—	溶媒 (CDCl <sub>3</sub> )
6.6 (singlet)	1	e
3.3~3.9 (3つの singlet)	12	c, f, g, h
2.3~2.4 (s) (2つの singlet)	6	b, d

### ③ <sup>13</sup>C-NMR スペクトラム

重水素化クロロホルム中で測定したピリオフェノンの<sup>13</sup>C-NMRスペクトラムを図-4に示した。各シグナルの帰属を以下に示す。



ケミカルシフト (ppm)	カーボン
196 (singlet)	C=O
110~160 (multiplet)	芳香族炭素
77 (doublet)	溶媒 (CDCl <sub>3</sub> )
53~61 (multiplet)	CH <sub>3</sub> -O-Ar
16~21 (2つの singlet)	CH <sub>3</sub> -Ar

Ar : 芳香環

### ④ IR スペクトラム

KBr法で測定したピリオフェノンのIRスペクトラムを図-5に示した。特徴的な吸収を以下に示す。

振動数 (cm <sup>-1</sup> )	帰属
2800~3100	C-H (芳香環) 伸縮 C-H (アルキル) 伸縮
1500~1700	C-C (芳香環) 伸縮 C=O 伸縮 C=N (芳香環) 伸縮
1000~1400	C-H (芳香環) 面内変角 C-H (アルキル) 変角 C-O (エーテル) 伸縮 C-Cl 伸縮
< 1000	C-H (芳香環) 面外変角 骨格の振動

⑤ UV スペクトラム

水溶液中で測定したピリオフェノンの UV スペクトラムを図-6 (精製水)、  
図-7 (0.1 M HCl 水溶液)、図-8 (0.1 M NaOH 水溶液)に示した。  
吸収の極大及びモル吸光係数を以下に示す。

溶媒	$\lambda$ max	$\epsilon$ (モル吸光係数) ( $\text{dm}^3/\text{モル}/\text{cm}$ )
精製水	298	495
0.1 M HCl 水溶液	298	518
0.1 M NaOH 水溶液	297	500

図-1 質量スペクトル

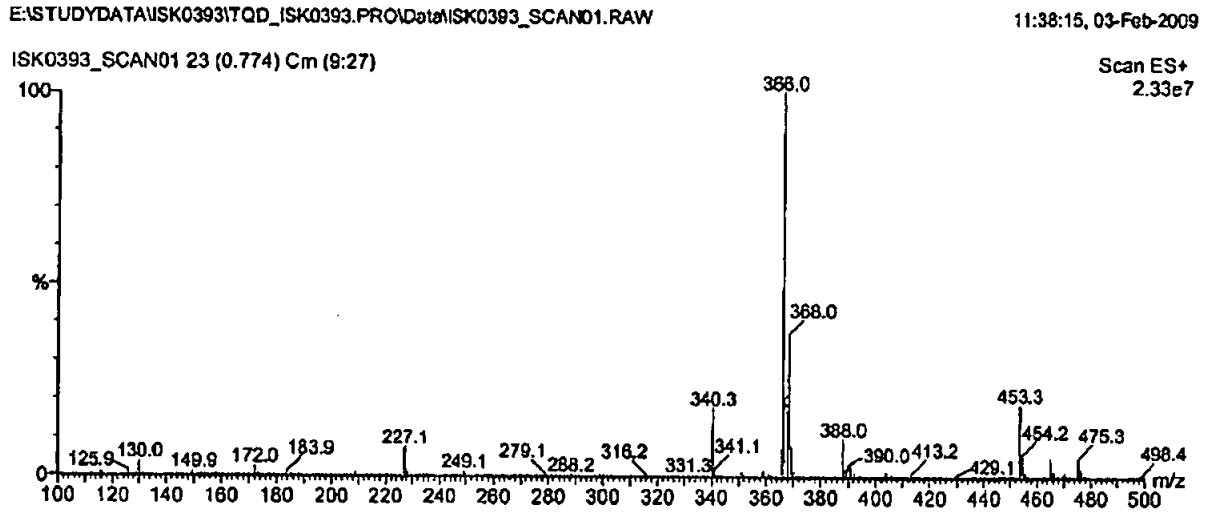
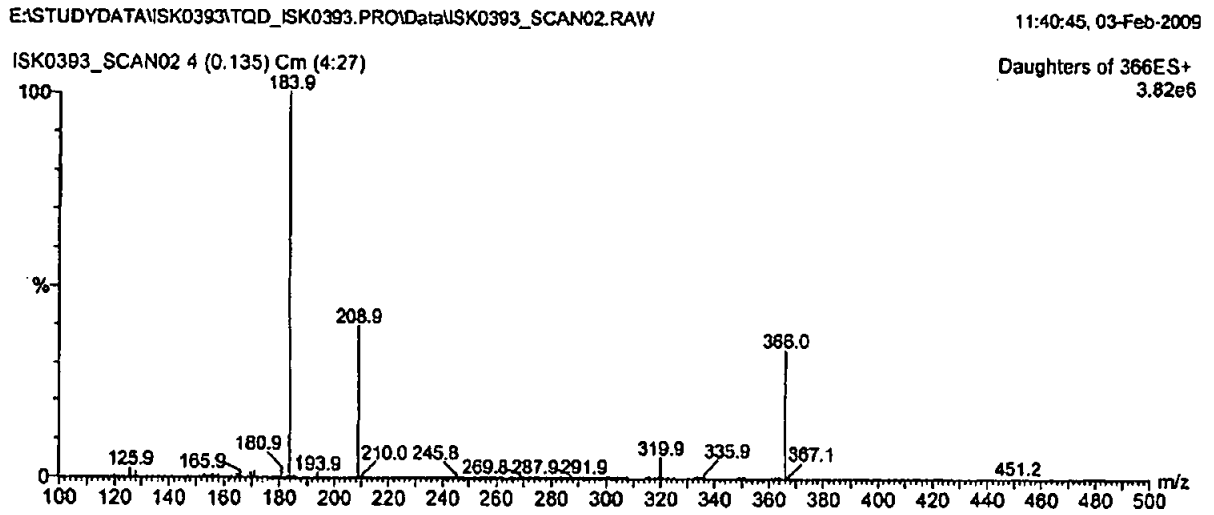


図-2 質量スペクトル (プロダクトイオン、m/z=366)



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

図-3 <sup>1</sup>H-NMR スペクトラム

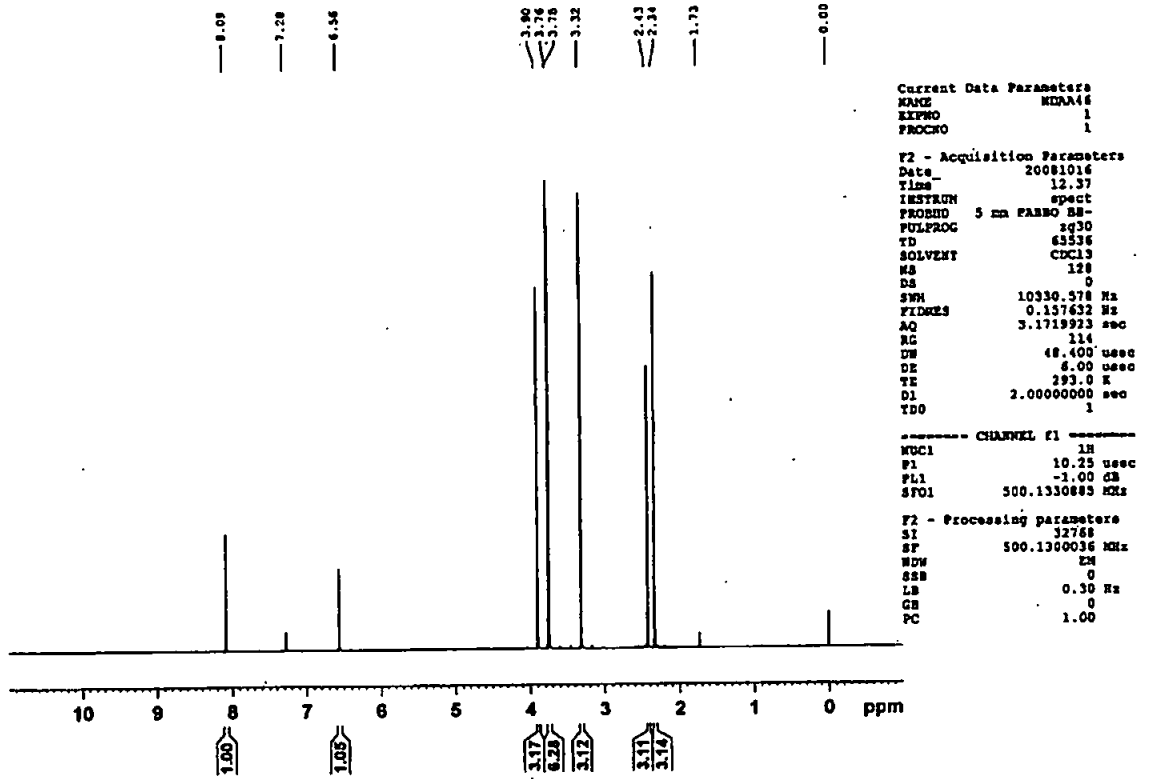


図-4  $^{13}\text{C}$ -NMR スペクトラム

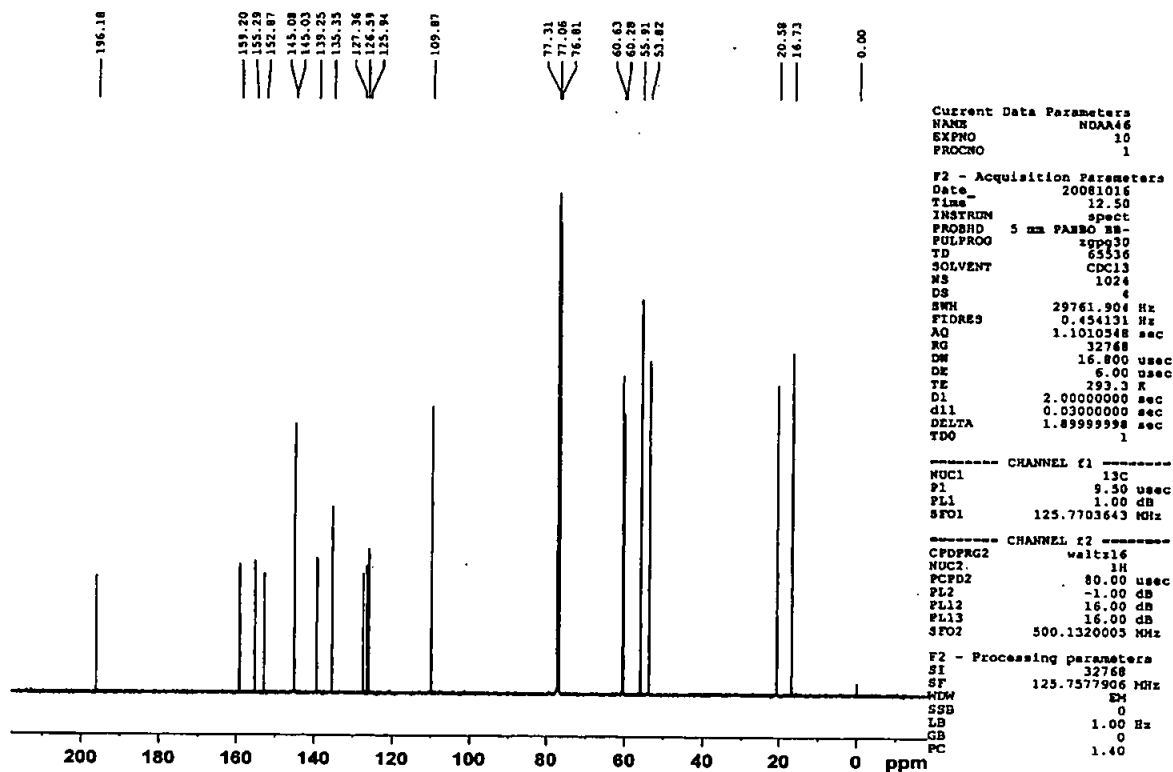


図-5 IR スペクトラム

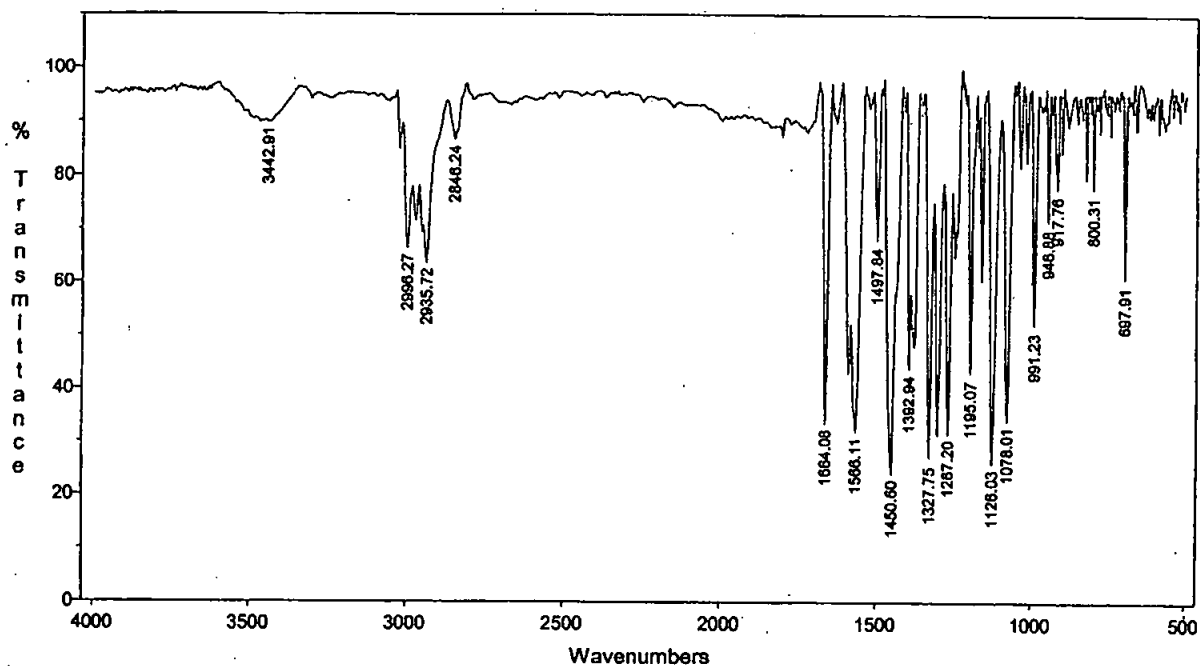


図-6 UV スペクトラム (精製水)

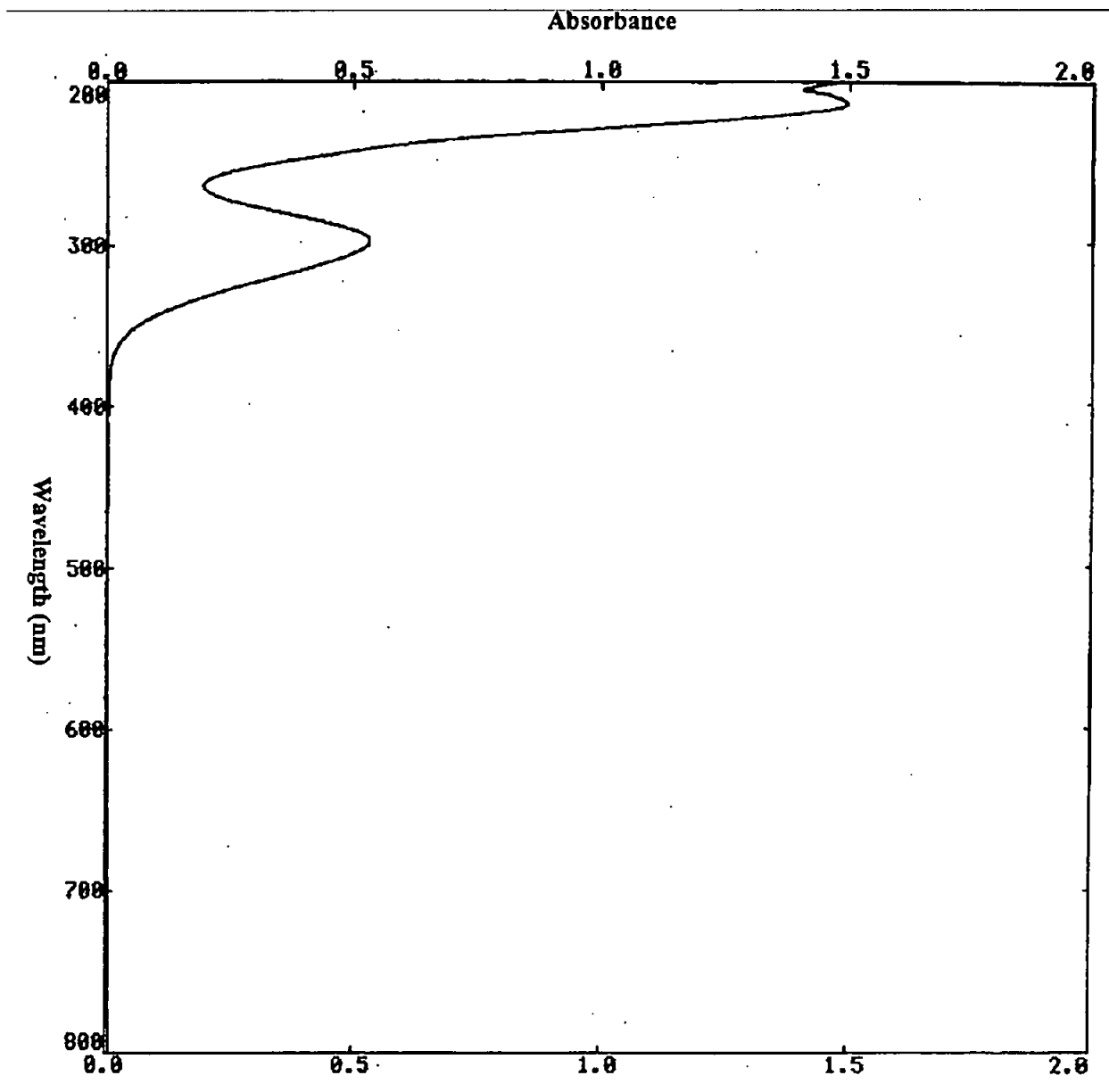


図-7 UV スペクトル (0.1M HCl 水溶液)

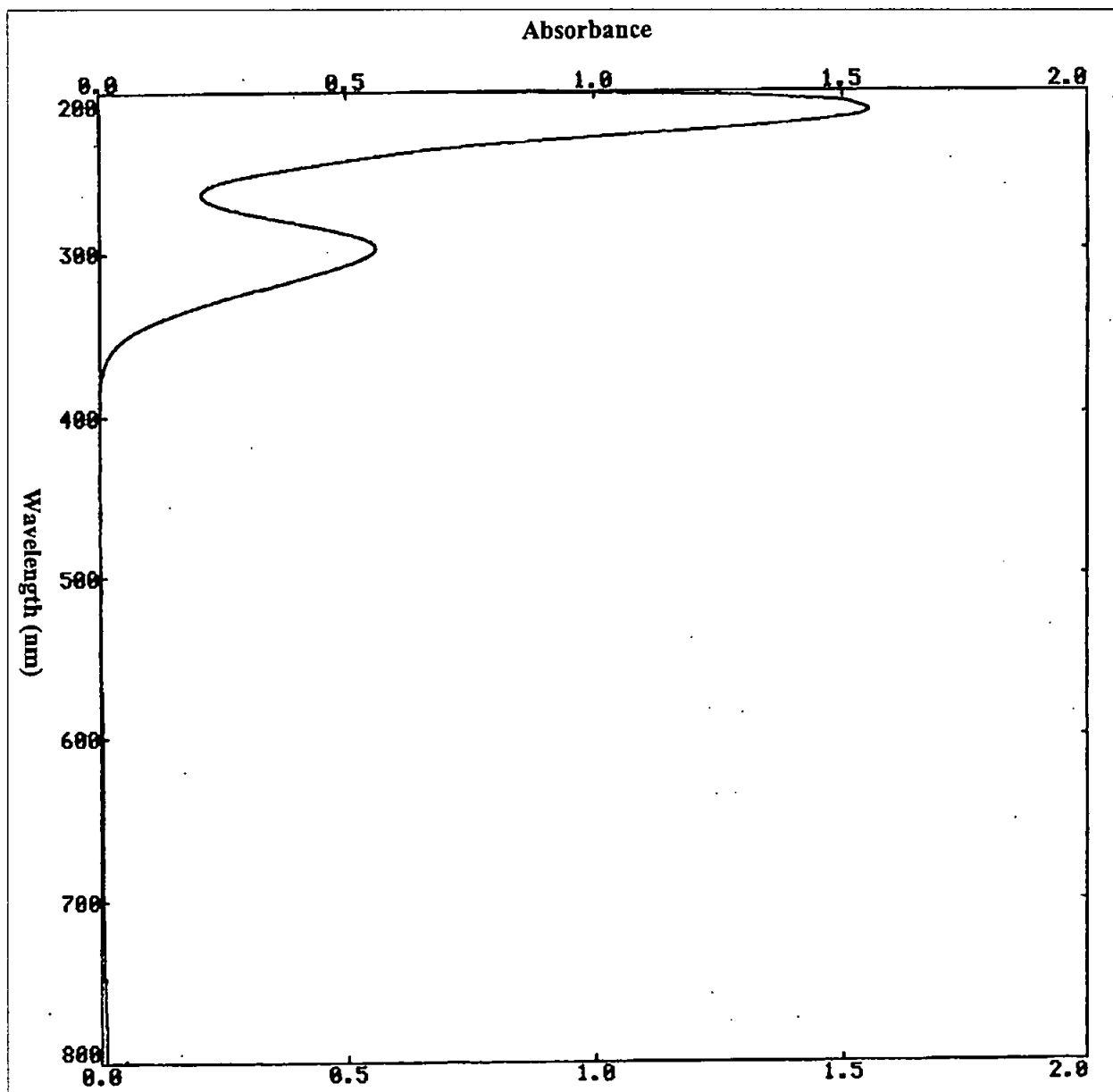
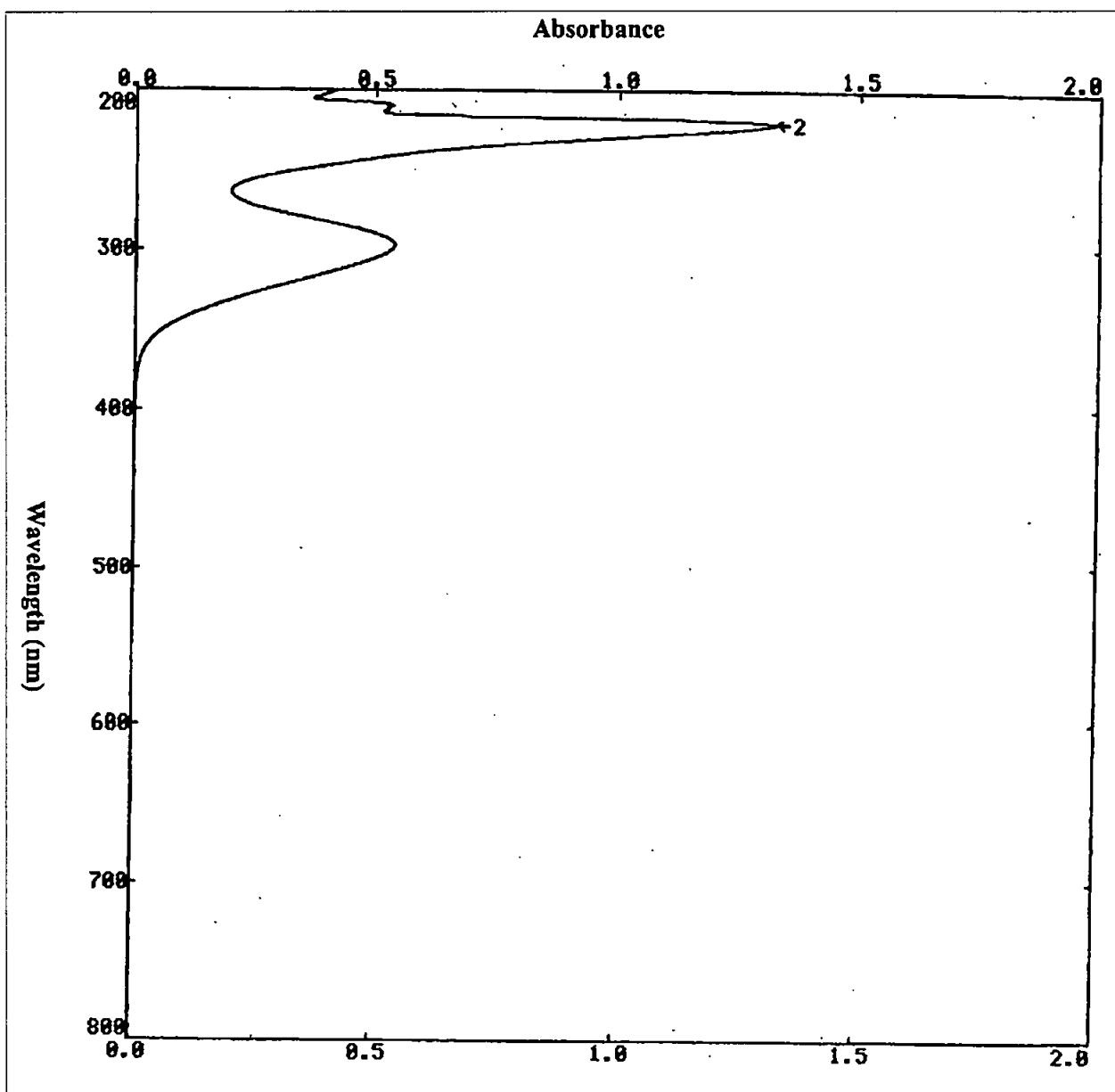


図-8 UV スペクトル (0.1M NaOH 水溶液)





本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

### 2.3 原体の成分組成

区分	名称		構造式	分子式	分子量	含有量 (%)
	一般名	化学名				規格値 (通常のレンジ)
有効成分	ピリオフィン	(5-chloro-2-methoxy-4-methyl-3-pyridyl) (4,5,6-trimethoxy-σ tolyl) methanone		$C_{18}H_{20}ClNO_5$	365.8	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

## 2.4 製剤の組成

### 1) 26.8%水和剤（フロアブル）

ピリオフェノン	26.8%
水、界面活性剤 等	73.2%

### 3. 生物活性

#### 3.1 活性の範囲

本剤は子囊菌類に属する各種うどんこ病菌に特異的に高い効果を示す殺菌剤であり、高い予防効果に加えて、安定した残効性、耐雨性、治療効果、ベーパー効果および移行性を有する。

日植防委託試験による国内での実用化検討の結果、小麦、野菜類、果樹等でうどんこ病菌による病害に対して効果が高いことが確認されている。社内での検討結果も含め、現在までに効果が認められている病原菌名を以下に示す。

病原菌名	病害名
<i>Blumeria graminis</i>	麦類うどんこ病
<i>Sphaerotheca fuliginea</i>	キュウリうどんこ病 ナスうどんこ病
<i>Sphaerotheca cucurbitae</i>	カボチャうどんこ病
<i>Erysiphe cichoracearum</i>	トマトうどんこ病
<i>Oidiopsis sicula</i>	ピーマンうどんこ病
<i>Erysiphe necator</i>	ブドウうどんこ病
<i>Podosphaera leucotricha</i>	リンゴうどんこ病
<i>Phyllactinia mali</i>	ナシうどんこ病
<i>Sphaerotheca humuli</i>	イチゴうどんこ病
<i>Sphaerotheca pannosa</i>	バラうどんこ病
<i>Erysiphe gracilis</i>	セイヨウカシうどんこ病
<i>Pseudocercospora herpotrichoides</i>	小麦眼紋病

また本剤はストロビルリン、DMI 剤、シフルフェナミドなどに対する耐性菌に対しても、感受性菌と同様に高い効果を示す。

### 3.2 作用機構

本剤はうどんこ病菌の生命維持に重要な器官である病原菌の吸器、分生子の形成阻害および二次付着器、菌糸の形態異常を低濃度で誘起することにより、病原菌の感染を阻害する。詳細な作用機構については現在も検討中であるが、アクチンの正常な部位での形成を阻害することにより、その効果を発揮すると考えている。

また、うどんこ病菌等特定の種にのみ作用することもあり、例えば酵母菌 (*Saccharomyces cerevisiae*) など有用な菌に対する影響も認められず、天敵、訪花昆虫等も含む非標的生物には安全性が高いことが明らかになっている。

### 3.3 防除上の利点

本剤は非常に高い予防効果に加えて、安定した残効性、耐雨性、治療効果、ベーパー効果および移行性を有する、うどんこ病の特効薬として位置づけられる。また新規な作用機構を持ち、他剤耐性菌にも有用である。また本剤は、発病に適した気象条件下でも、高い効果を発揮することから、ローテーション防除の一剤として使用でき、基幹防除薬剤としても有用と考えられる。

また作物への薬害も無く、天敵、訪花昆虫等有用生物への影響も認められないことから、安全に使用でき、IPM の概念にも合致する殺菌剤である。

#### 4. 適用及び使用上の注意

##### 4.1.1 ピリオフェノン 26.8%フロアブル

作物名	適用病害虫名	希釈倍数	使用液量	使用時期	本剤の使用回数	使用方法	ピリオフェノンを含む農薬の総使用回数
小麦	うどんこ病	3000～	60～150 L/10a	収穫3日 前まで	3回 以内	散布	3回以内
きゅうり		4000倍	100～300 L/10a	収穫前日 まで			
いちご							
なす		3000倍					

##### 4.1.2 使用上の注意事項

- (1) 使用直前に容器をよく振ること。
- (2) 使用量に合わせ薬液を調製し、使いきること。
- (3) 出来るだけ発病前又は発病初期に散布すること。
- (4) 使用液量は対象作物の生育段階、栽培形態及び散布方法に合わせ調節すること。
- (5) 本剤の使用に当っては、使用方法を誤らないように注意し、特に初めて使用する場合は病害虫防除所等関係機関の指導を受けることが望ましい。

##### 4.1.3 水産動植物に有毒な農薬については、その旨

この登録に係る使用方法では該当がない。

## 5. 農薬残留量

### 5.1 作物残留

#### 5.1.1 分析法の原理と操作概要

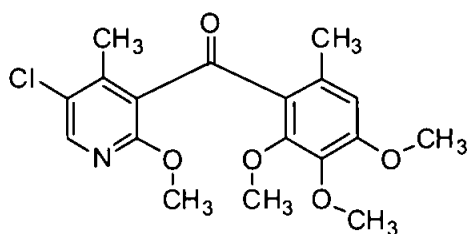
- ・ LC/MS/MS 法

磨砕した試料をアセトニトリル/水で振とう抽出する。ろ過したのち定容とする。抽出液をポリマー系ミニカラムで精製し、LC/MS/MS により絶対検量線法で定量する。

#### 5.1.2 分析対象の化合物

- ・ ピリオフェノン

(5-chloro-2-methoxy-4-methyl-3-pyridyl)(4, 5, 6-trimethoxy-*o*-tolyl)methanone (IUPAC)



分子式 :  $C_{18}H_{20}ClNO_5$       分子量 : 365.8

#### 5.1.3 残留試験結果

次頁以下に分析結果を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

作物名 (栽培形態) (分析部位) 年度	剤型 (有効成分量) 希釈倍数 又は使用量 使用方法	試料調製 場所	使用 回数	経過 日数	分 析 結 果 (ppm)			
					公的分析機関		社内分析機関	
					最高値	平均値	最高値	平均値
小麦 (露地) (玄麦) 平成21年度	7077ℓ (26.8%) 3000倍 140 L/10a 茎葉散布	北海道 植防	0	—	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
			3	3	0.11	0.11	0.13	0.13
			3	7	0.10	0.10	0.12	0.12
			3	14	0.06	0.06	0.08	0.08
	7077ℓ (26.8%) 3000倍 150 L/10a 茎葉散布	青森県 植防	0	—	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
			3	3	0.36	0.36	0.36	0.36
			3	7	0.22	0.22	0.21	0.21
			3	14	0.13	0.13	0.15	0.14
いちご (施設) (果実) 平成21年度	7077ℓ (26.8%) 3000倍 150 L/10a 散布	岐阜 植防	0	—	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
			3	1	0.60	0.60	0.71	0.70
			3	3	0.66	0.66	0.56	0.56
			3	7	0.40	0.40	0.45	0.45
	7077ℓ (26.8%) 3000倍 198 L/10a 散布	日植 防研 高知	0	—	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
			3	1	0.97	0.96	0.87	0.86
			3	3	0.73	0.72	0.78	0.77
			3	7	0.40	0.40	0.42	0.42
なす (施設) (果実) 平成21年度 [GLP]	7077ℓ (26.8%) 3000倍 278 L/10a 散布	日植 防研 牛久	0	—	<0.01	<0.01	—	—
			3	1	0.20	0.20	—	—
			3	3	0.14	0.14	—	—
			3	7	0.05	0.05	—	—
	7077ℓ (26.8%) 3000倍 257 L/10a 散布	日植 防研 宮崎	0	—	<0.01	<0.01	—	—
			3	1	0.39	0.38	—	—
			3	3	0.36	0.36	—	—
			3	7	0.15	0.15	—	—
きゅうり (施設) (果実) 平成21年度 [GLP]	7077ℓ (26.8%) 3000倍 278 L/10a 散布	岩手県 植防	0	—	<0.01	<0.01	—	—
			3	1	0.12	0.12	—	—
			3	3	0.07	0.07	—	—
			3	7	0.02	0.02	—	—
	7077ℓ (26.8%) 3000倍 281 L/10a 散布	日植 防研 高知	0	—	<0.01	<0.01	—	—
			3	1	0.32	0.32	—	—
			3	3	0.21	0.20	—	—
			3	7	0.09	0.09	—	—

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

## 5.2 土壌残留性試験 圃場試験 (畑地状態)

### 5.2.1 分析法の原理と操作概要

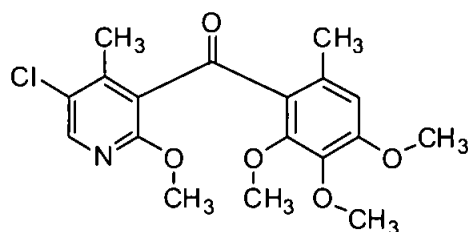
#### ・LC/MS/MS 法

試料にアセトニトリル/水/塩酸 (80/20/0.5, v/v/v)100 mL を加えて振とう抽出する。抽出液を固相抽出カラム (OASIS HLB) で精製し、LC/MS/MS により定量する。定量限界は 0.01 mg/kg。

### 5.2.2 分析対象の化合物

#### ・ピリオフェノン (親化合物 A)

(5-chloro-2-methoxy-4-methyl-3-pyridyl)(4, 5, 6-trimethoxy-*o*-tolyl)methanone (IUPAC)



分子式:  $C_{18}H_{20}ClNO_5$       分子量: 365.8

### 5.2.3 試験結果

試験場所: 長野県植物防疫協会 松代研究所

大分県肥料植物防疫協会

処理濃度: 3000 倍

処理量: 300 L/10a、全面散布、処理間隔 7 日間で 3 回処理した。

試験結果:

供試土壌	推定半減期
	親化合物
長野県植物防疫協会 松代研究所 灰色低地土(細粒灰色低地土灰褐色系)、沖積、埴壤土	156 日
大分県肥料植物防疫協会 黒ボク土、火山灰、軽埴土	112 日

次頁以下に分析結果を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

No.	試料調製場所	被験物質の処理方法		経過日数	分析結果 (mg/kg)		
					ピリオフェノン(A)		
					最高値	平均値	
1	長野県 植防 畑地土壌 裸地 灰色低地土 (細粒灰色低 地土灰褐色) 沖積 埴壌土	26.8% 7077ℓ 3000倍希釈 300 L/10a	回数	0	—	<0.01	<0.01
			濃度	3	0	0.54	0.53
			3	3	0.42	0.41	
			3	7	0.37	0.37	
			3	14	0.25	0.24	
			3	30	0.23	0.22	
			3	62	0.28	0.28	
			3	90	0.32	0.31	
			3	120	0.42	0.42	
			3	149	0.20	0.19	
3	177	0.13	0.13				
3	272	0.05	0.05				
2	大分県 植防 畑地土壌 裸地 黒ボク土 火山灰 軽埴土	26.8% 7077ℓ 3000倍希釈 300 L/10a	回数	3	—	<0.01	<0.01
			濃度	3	0	0.89	0.86
			3	3	0.79	0.78	
			3	7	1.45	1.44	
			3	14	0.60	0.60	
			3	30	0.38	0.36	
			3	60	0.70	0.66	
			3	90	0.59	0.59	
			3	120	0.51	0.49	
			3	150	0.23	0.22	
3	180	0.38	0.37				
3	270	0.21	0.20				
3	360	0.12	0.12				

### 5.3 後作物残留試験

#### 5.3.1 分析法の原理と操作概要

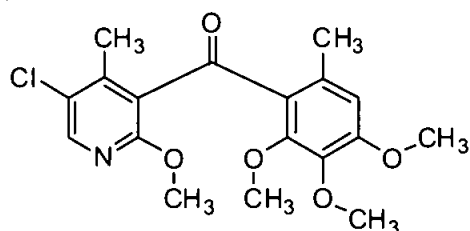
##### ・ LC/MS/MS 法

磨砕した試料をアセトニトリル/水で振とう抽出する。ろ過したのち定容とする。抽出液をポリマー系ミニカラムで精製し、LC/MS/MS により絶対検量線法で定量する。

#### 5.3.2 分析対象の化合物

##### ・ ピリオフェノン(親化合物 A)

(5-chloro-2-methoxy-4-methyl-3-pyridyl)(4, 5, 6-trimethoxy-*o*-tolyl)methanone (IUPAC)



分子式：C<sub>18</sub>H<sub>20</sub>ClNO<sub>5</sub>      分子量：365.8

#### 5.3.3 残留試験結果

作物名 (栽培形態) (分析部位) 年度	剤型 (有効分量) 希釈倍数 又は使用量 使用方法	試料調製 場所	使用 回数	経過 日数	分析結果 (ppm)	
					社内分析機関	
					最高値	平均値
かぶ (露地) (茎葉) 平成 21 年度	7077 ℓ (26.8%) 2000 倍 300 L/10a 散布	日植 防研	0	—	<0.01	<0.01
			3	91	<0.01	<0.01
かぶ (露地) (根) 平成 21 年度			0	—	<0.01	<0.01
			3	91	<0.01	<0.01
ほうれんそう (露地) (茎葉) 平成 21 年度	7077 ℓ (26.8%) 2000 倍 300 L/10a 散布	日植 防研	0	—	<0.01	<0.01
			3	61	<0.01	<0.01

## 6. 有用動植物等に及ぼす影響

### 6.1 水産動植物に対する影響

抄録 番号 (資料 No.)	試験の種類・ 被験物質	供試生物	1群当り の供試数	試験 方法	試験 水温 (℃)	LC <sub>50</sub> 又は EC <sub>50</sub> 値 (mg/L) { ( )内は有効成分換算値}				試験機関 (報告年)	頁
						24h	48h	72h	96h		
6.1.1 GLP (E-1.1)	魚類急性毒性試験 原体	コイ	7尾	半止 水式	23.0~ 23.4	>1.36	>1.36	>1.36	>1.36	(2010)	25
6.1.2 GLP (E-1.2)	ミジンコ類急性 遊泳阻害試験 原体	オオミジンコ	20頭 (5頭× 4連)	止水式	20.0~ 20.2	>2.0 ( )	>2.0 ( )	—	—	(2010)	26
6.1.3 GLP (E-1.3)	藻類生長阻害試験 原体	緑藻 <i>Pseudokirch hneriella subcapitata</i>	初期濃度 5.0×10 <sup>3</sup> cells/mL	振盪 培養法	20.9~ 22.6	0-72時間 E <sub>r</sub> C <sub>50</sub> : 1.17 ( ) 0-72時間 NOEC <sub>r</sub> : 0.240 ( )				(2010)	27
6.1.4 GLP (E-1.4)	魚類急性毒性試験 7077 <sup>1</sup> ル	コイ	7尾	止水式	22.6~ 23.0	98	94	94	94	(2008)	28
6.1.5 GLP (E-1.5)	ミジンコ類急性 遊泳阻害試験 7077 <sup>1</sup> ル	オオミジンコ	20頭 (5頭× 4連)	半止 水式	18.2~ 20.2	166	117	—	—	(2008)	29
6.1.6 GLP (E-1.6)	藻類生長阻害試験 7077 <sup>1</sup> ル	緑藻 <i>Pseudokirch neriella subcapitata</i>	初期濃度 1×10 <sup>4</sup> cells/mL	振盪 培養法	23.9~ 24.6	0-72時間 E <sub>r</sub> C <sub>50</sub> : 10.4 0-72時間 E <sub>b</sub> C <sub>50</sub> : 2.14 0-72時間 NOEC <sub>r</sub> : 0.71				(2008)	30

\*1 コイ原体試験の LC<sub>50</sub> 値 (mg/L)は、平均実測濃度 (時間加重平均)値に基づく。

・試験実施機関名として以下の略称を用いた。

6.1.1 原体の魚類急性毒性試験 (資料 No. E-1.1)

試験機関

報告書作成年 2010年 [GLP 対応]

被験物質: ピリオフェノン原体 (純度 %)

供験生物: コイ (学名 *Cyprinus carpio*)、7尾/区  
体長: 平均 5.12 cm、体重: 平均 1.94 g

試験方法: 試験は、24時間毎に換水する半止水式曝露での限度試験にて実施した。試験では、35 L 容水槽に試験液 30 L を入れ、16時間明期/8時間暗期の照明を行った。試験液は、活性炭フィルターに通しチオ硫酸ナトリウムで脱塩素した水道水 30 L に被験物質の 20000 mg/L ジメチルホルムアミド 溶液 3.00 mL を添加し、攪拌して設定 2.0 mg/L 液を調製した。

試験濃度: 2.0 mg/L。助剤対照区、対照区を設けた。

試験水温: 23.0~23.4℃

試験結果: 1) 死亡並びに異常  
試験期間を通して死亡並びに異常は、認めなかった。

2) 測定濃度  
設定濃度: 2.0 mg/L

	0・24 hr	24・48 hr	48・72 hr	72・96 hr	平均濃度 (mg/L)
調製時	1.65	1.58	1.88	1.73	1.36 (68%)
換水直前 又は終了時	0.793 (48%)	1.16 (73%)	0.975 (52%)	1.35 (78%)	

\*平均濃度は、時間加重平均値を示す。

3) LC<sub>50</sub> 値 (実測濃度)  
24 hr >1.36 mg/L  
48 hr >1.36 mg/L  
72 hr >1.36 mg/L  
96 hr >1.36 mg/L  
NOEC 1.36 mg/L  
死亡例の認められなかった最高濃度 1.36 mg/L



6.1.2 原体のミジンコ類急性遊泳阻害試験 (資料 No. E-1.2)

試験機関

報告書作成年 2010年 [GLP 対応]

被験物質： ピリオフェノン原体 (純度 %) )

供試生物： オオミジンコ (学名: *Daphnia magna*)、生後 24 時間以内の個体  
1 群 20 頭 : 5 頭/容器 × 4 連

試験方法： 試験は、濃度公比 1.8 における 5 試験濃度での止水式曝露で実施し、16 時間明期/8 時間暗期の照明を行った。被験物質は、予め 20000 mg/L ジメチルホルムアミド (DMF) 溶液 (原液 I) を調製し、この原液 I から各濃度に対応する原液 II DMF 溶液を各々調製した。試験液は、各濃度原液 II の 0.1 mL と別に用意した助剤原液 (DMF 200 µL/L 水溶液) の各々の所定量に試験用水 (Elendt M4 調製水) を加えて攪拌し、夫々 1 L (試験液中最終助剤濃度 100 µL/L) を調製した。試験液量は、各 100 mL/容器とした。

試験濃度： 0.20、0.36、0.63、1.1 および 2.0 mg/L  
助剤対照群、対照群を設けた。

試験水温： 20.0~20.2℃

試験結果： 1) 遊泳阻害並びに異常  
試験期間を通して遊泳阻害は、認めなかった。最高濃度区では、活動の低下が認められた。

2) 測定濃度 (mg/L)

設定濃度	0.2	0.36	0.63	1.1	2.0
0 hr	0.191 (96)	0.347 (96)	0.599 (95)	1.06 (96)	1.87 (94)
48 hr	0.184 (92)	0.324 (90)	0.589 (93)	1.01 (92)	1.87 (94)

( )内は、設定濃度に対する%値

3) EC<sub>50</sub> 値

24 hr >2.0 mg/L [ ]

48 hr >2.0 mg/L [ ]

NOEC 1.1 mg/L [ ]

\*[ ]カッコ内は、原体の純度 ( %) で a.i.換算補正した数値

6.1.3 原体の藻類生長阻害試験 (資料 No. E-1.3)

試験機関

報告書作成年 2010年 [GLP 対応]

被験物質： ピリオフェノン原体 (純度 %) )

供試生物： 単細胞緑藻類 (学名：*Pseudokirchneriella subcapitata*、株名：ATCC22662)  
初期濃度  $5.0 \times 10^3$  cells/mL

試験方法： 試験は、止水式による 72 時間連続照明 ( $65 \sim 75 \mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ ) 下での振盪培養法で実施した。試験容器は、300 mL 三角フラスコを用いて試験液量を各 100 mL とした。試験容器の連数は、濃度区は各 3 連とし、助剤対照および対照区は 6 連とした。藻細胞の計数は、粒子計数装置 (CDA-500) で行なった。試験液は、予め被験物質の 20000 mg/L ジメチルホルムアミド (DMF) 溶液 (原液 I) を調製し、この原液 I から 2.0 mg/L の原液 II (OECD 培地水溶液) を 1000 mL 調製した。2.0 mg/L を除く各試験液は、原液 II の所定量と別に用意した助剤原液 (DMF 98  $\mu\text{L}/\text{L}$  培地水溶液) の所定量とを混合し、振盪攪拌して個々に調製した。

試験濃度： 0.14、0.24、0.41、0.69、1.2 および 2.0 mg/L  
助剤対照群、対照群を設けた。

試験水温： 20.9~22.6 °C

試験結果： 1) 測定濃度 (mg/L)

設定濃度	0.14	0.24	0.41	0.69	1.2	2.0
0 hr	0.127 (91)	0.213 (89)	0.355 (87)	0.603 (87)	1.04 (87)	1.73 (87)
72 hr	0.125 (89)	0.213 (89)	0.347 (85)	0.600 (87)	0.969 (81)	1.74 (87)

( )内は、設定濃度に対する%値

2) EC<sub>50</sub> 値

0 hr - 72 hr ErC<sub>50</sub> 1.17 mg/L (95%信頼限界 1.09 - 1.26)  
[ (95%信頼限界 ) ]

0 hr - 72 hr NOEC<sub>r</sub> 0.240 mg/L [ ]

\*[ ]カッコ内は、原体の純度 ( %) で a.i.換算補正した数値

#### 6.1.4 製剤のコイを用いた急性毒性 (資料 No. E-1.4)

試験機関

報告書作成年 2008 年 [GLP 対応]

被験物質： ピリオフェノン 26.8 %フロアブル

製剤組成；ピリオフェノンを % (w/w)含有

供試生物： コイ (学名 *Cyprinus carpio*)、

体長：平均 5.3 cm、体重：平均 1.7 g

試験方法： 試験は、止水式曝露で実施した。試験では、50 L ガラス水槽に試験液 50 L を入れ、16 時間明期/8 時間暗期の照明を行った。試験液は、脱塩素水道水に被験物質を添加し、攪拌を行い調製した。試験は、濃度毎に 1 区 7 尾で実施した。

試験濃度： 製剤試験濃度 35、46、59、77 および 100 mg/L

(有効成分換算濃度 )

対照区を設けた。

試験液の分析は、実施しなかった。

試験水温： 22.6~23.0℃

試験結果： 1) 観察

最高濃度 100 mg/L 区では、活動度の低下および平衡喪失を示して 96 時間後までに 5 尾が死亡した。その他の濃度区では、試験終了時まで死亡は観察されなかったが、46 mg/L 以上の濃度区で活動度の低下および平衡喪失を認めた。

対照区および 35 mg/L 区では、死亡並びに異常は認めなかった。

2) LC<sub>50</sub> 値 (製剤濃度)

24 hr 98 mg/L

48 hr 94 mg/L

72 hr 94 mg/L

96 hr 94 mg/L

NOEC 35 mg/L

死亡例の認められなかった最高試験濃度 77 mg/L

### 6.1.5 製剤のミジンコ類急性遊泳阻害試験 (資料 No. E-1.5)

試験機関

報告書作成年 2008年 [GLP 対応]

被験物質： ピリオフェノン 26.8%フロアブル

製剤組成；ピリオフェノンを % (w/w)含有

供試生物： オオミジンコ (学名：*Daphnia magna*)、生後 24 時間以内の個体

1 群 20 頭：5 頭/容器×4 連

試験方法： 試験は、24 時間後に全量換水する半止水式で実施した。試験では、16 時間明期/8 時間暗期での照明を行った。最高濃度試験液は、被験物質 373 mg に ASTM 推奨調製水を加え、1 L メスフラスコに移して定容後、30 分間の超音波処理と 1 時間の攪拌を施して調製した。その他の濃度の試験液は、この試験液を順次希釈して調製した。試験液量は、各 100 mL/容器とした。

試験濃度： 製剤試験濃度 7.24、15.9、35.0、77.2、170 および 373 mg/L

(有効成分換算濃度

対照群を設けた。

試験水温： 18.2 ~20.2 °C

試験結果：

#### 1) 48 時間後の遊泳阻害率

製剤濃度 (mg/L)	対照	7.24	15.9	35.0	77.2	170	373
阻害率 (%)	0	0	5	0	10	10	100

#### 2) 測定濃度

#### 3) EC<sub>50</sub> 値 (製剤濃度)

24 hr 166 mg/L (95%信頼限界は、得られなかった)

48 hr 117 mg/L (95%信頼限界 91.0 - 162)

NOEC 35.0 mg/L

### 6.1.6 製剤の藻類生長阻害試験 (試験 No. E-1.6)

試験機関

報告書作成年 2008年 [GLP 対応]

被験物質： ピリオフェノン 26.8%フロアブル

製剤組成；ピリオフェノンを % (w/w)含有

供試生物： 単細胞緑藻類 (学名：*Pseudokirchneriella subcapitata*、株名：278/4)  
初期濃度  $1 \times 10^4$  cells/mL

試験方法： 試験は、止水式による振盪培養法で実施した。試験容器は、250 mL 三角フラスコを用いて試験液量を各 100 mL とした。藻細胞の計数は、コールターカウンター (Z2 Coulter Counter)を用いて行い、各々藻細胞を接種していない試験液で都度補正した。試験は、72 時間連続照明 (4730~4739 Lux)下で行った。最高濃度試験液は、被験物質の 74.6 mg を 2 L メスフラスコに入れた滅菌培養液 (EC 培地)に添加し定容後、30 分間の超音波処理と 1 時間の攪拌を施して調製した。その他の濃度の試験液は、この試験液を順次希釈して調製した。

試験濃度： 製剤試験濃度 0.149、0.328、0.709、1.60、3.51、7.50、16.9 および 37.3 mg/L  
(有効成分換算濃度 )  
対照群を設けた。

試験水温： 23.9~24.6 °C

試験結果：

#### 1) 測定濃度

#### 2) EC<sub>50</sub> 値 (製剤濃度\*)

0・72 hr E<sub>r</sub>C<sub>50</sub> 10.4 mg/L [95%信頼限界 2.92 - 104]

0・72 hr E<sub>b</sub>C<sub>50</sub> 2.14 mg/L [95%信頼限界 1.66 - 2.78]

0・72 hr NOEC<sub>r</sub> 0.71 mg/L

\*製剤濃度における EC<sub>50</sub> および NOEC 値は、試験報告書の EC<sub>50</sub> a.i.値および NOEC a.i.値を基に算出した ( %で除した)数値。

6.2. 水産動植物以外の有用生物に対する影響

6.2.1 有用昆虫に対する影響

資料 No.	試験名称及び検体	供試生物	1 試験区当たりの供試数	試験方法 (投与方法、投与量、試験条件等)	試験結果	試験の実施機関及び報告年
E-2.1	蚕急性経口毒性試験 原体	蚕 <i>Bombyx mori</i> (錦秋×鐘和) 4 齢起蚕	10 頭/区 5 反復	原体を飼料中濃度 25、50、100 ppm になるようアセトンに溶解し、人工飼料に添加したものを試験飼料として、4 齢期間中給餌させた	死亡例なし(10 日後) 結繭蚕数、化蛹歩合、繭重、繭層重について、処理区と無処理区の差はなく、健全な繭が形成された	(2010)
E-2.2	ミツバチ急性経口毒性試験 原体	ミツバチ <i>Apis mellifera</i> 4~6 週齢	10 匹/区 6 反復	経口投与； 摂取量 20 µL/bee に基づく投与量 100 µg a.s./bee 相当	48 時間 LD <sub>50</sub> >100 µg a.i./bee	(2008)
	胸部塗布； アセトンに溶かした原体 1 µL (100 µg a.s./bee) を胸部背板に塗布			48 時間 LD <sub>50</sub> >100 µg a.i./bee		
E-2.3	捕食性ダニ急性毒性試験 26.8%7077 µL	捕食性ダニ <i>Typhlodromus pyri</i> 第一若虫	20 頭/区 5 反復	12.78、38.33、115、345、1035 g a.i./ha を 200 L/ha 相当散布 (ドライフィルム法)	7 日間 LR <sub>50</sub> >1035 g a.i./ha 7 日間 ER <sub>50</sub> >1035 g a.i./ha	(2008)
E-2.4	捕食寄生蜂急性毒性試験 26.8%7077 µL	捕食寄生蜂 <i>Aphidius rhopalosiphii</i> 成虫	10 頭/区 4 反復	62.5、125、250、500、1000 g a.i./ha を 200 L/ha 相当散布 (ドライフィルム法)	48 時間 LR <sub>50</sub> >1000 g a.i./ha 48 時間 ER <sub>50</sub> >1000 g a.i./ha	(2008)
E-2.5	捕食性昆虫急性毒性試験 原体	タイリヒメカサムシ <i>Orius strigicollis</i> 成虫	5 頭/区 4 反復	7 µg a.i./cm <sup>2</sup> 散布 (26.8%7077 µL 3000 倍 700 L/10a 相当) (ドライフィルム法)	累積死亡率 0% (3 日間)	(2009)

注)

6.2.2 鳥類に対する影響

資料 No.	試験名称及び検体	供試生物	1 試験区当たりの供試数	試験方法 (投与方法、投与量、試験条件等)	試験結果	試験の実施機関及び報告年	記載頁
E-2.6	急性経口毒性 (観察 14 日) 原体	ウズラ	♂ 5 ♀ 5	経口投与； ♂♀共 0、500、1000、 2000 mg/kg	LD <sub>50</sub> 値： ♂♀共 >2000 mg/kg	(2009)	32
E-2.7	亜急性毒性 (投与 5 日 観察 3 日) 原体	ウズラ	10	混餌投与； 156、313、625、1250、 2500、5000 ppm	LC <sub>50</sub> 値： >5000 ppm (>980 mg/kg/day)	(2009)	32

注)

#### 6.2.2.1 コリンウズラにおける急性経口毒性試験 (資料 No. E-2.6)

試験機関

報告書作成年 2009年 [GLP 対応]

被検物質: ピリオフェノン原体 (純度 %)

供試動物: コリンウズラ、1群雌雄各5匹、8カ月齢

試験方法: 検体を500、1000、2000 mg/kgの投与量で強制経口投与し14日間観察を行った。

試験結果: 死亡例はなく、全ての鳥の健康状態は試験期間中を通じて良好であった。体重に投与の影響はなかった。摂餌量にも投与の影響はなかった。死後検査で異常は認められなかった。

コリンウズラに対するピリオフェノン原体のLD<sub>50</sub>値は、雌雄ともに2000 mg/kg以上であり、無毒性量は雌雄共に2000 mg/kgであると判断した。

#### 6.2.2.2 コリンウズラにおける5日間摂餌毒性試験 (資料 No. E-2.7)

試験機関

報告書作成年 2009年 [GLP 対応]

被検物質: ピリオフェノン原体 (純度 %)

供試動物: コリンウズラ、1群10匹

試験方法: 検体をコリンウズラに対して156、313、625、1250、2500、5000 ppmの飼料を5日間にわたり摂餌投与し、また、対照として20匹に基礎飼料を同様に与えた。

試験結果: 検体投与によると考えられる臨床症状及び肉眼的病理所見ならびに死亡例も認められなかった。投与期間中、5000 ppm 検体投与群では飼料摂取量が投与1日後に減少したが、排泄物は試験期間を通じて正常であり、体重又は総摂餌量についても、投与に関連した影響は認められなかったため、毒性学的意義はないと考えられる。

LC<sub>50</sub>値は5000 ppm以上 (980 mg/kg/day以上)、無毒性量は5000 ppm (980 mg/kg/day) であると判断した。

## 7. 使用時安全上の注意、解毒法等

### 7.1 使用時安全上の注意事項

- (1) 使用の際は不浸透性手袋などを着用すること。
- (2) 本剤は眼に対して弱い刺激性があるので、眼に入らないよう注意すること。  
眼に入った場合には直ちに水洗すること。
- (3) かぶれやすい体質の人は取扱いに十分注意すること。

### 7.2 解毒及び治療法

ピリオフェノン原体及び26.8%フロアブルは、いずれも急性毒性及び急性経皮毒性が弱いことから、誤飲等による重篤な急性中毒症状が発現する可能性は、極めて少ないと考えられる。

従って、万一誤飲等が発生しても、農薬についての一般的な処置方法で対応可能であると考えられる。

### 7.3 製造時、使用時等における事故例

なし



## 8. 毒性

### <原体毒性試験一覧表>

・ 原体

抄録番号	資料No.	試験の種類・期間	供試動物	1群の供試数	投与方法	投与量	LD <sub>50</sub> 値又は無毒性量	試験機関(報告年)	記載頁
8.1.1	T-1.1 (GLP)	原体 急性毒性 14日間観察	ラット	♀ 3	経口	♀ 2000 mg/kg	♀ >2000 mg/kg (死亡なし)	(2008)	40
8.1.2	T-1.2 (GLP)	原体 急性毒性 14日間観察	ラット	♂ 5 ♀ 5	経皮	♂♀共 2000 mg/kg	♂♀共 >2000 mg/kg (死亡なし)	(2008)	41
8.1.3	T-1.3 (GLP)	原体 急性毒性 14日間観察	ラット	♂ 5 ♀ 5	吸入 4時間	♂♀共 5.18 mg/L	♂♀共 >5.18 mg/L (死亡なし)	(2008)	42
8.2.1	T-1.4 (GLP)	皮膚刺激性 72時間観察	ウサギ	♂ 3 ♀ 3	皮膚貼付	0.5 g/2.5 cm×2.5 cm (背部)4時間貼付	刺激性なし	(2008)	44
8.2.2	T-1.5 (GLP)	眼刺激性 72時間観察	ウサギ	♀ 3	結膜囊	0.1 g/右眼	刺激性なし	(2008)	45
8.2.3	T-1.6 (GLP)	皮膚感受性 (Maximization法)	モルモット	感受群 ♀ 20 非感受群 ♀ 10	感受：I 1% 0.1mL 皮内投与 感受：II 50% 0.4 g 皮膚貼付(48時間) 惹起：感受IIの2週間後 50% 0.4 g 皮膚貼付(24時間)	感受性有り	(2009)	47	
8.2.4	T-1.7 (GLP)	皮膚感受性 局所リンパ節 増殖試験 (LLNA法)	マウス	♀ 5	投与量 0, 5, 10, 25 % 25 μL 塗布(3日間)	感受性なし	(2009)	50	
8.3.1	T-1.8 (GLP)	急性神経毒性 14日間観察	ラット	♂ 10 ♀ 10	経口	♂♀共 0, 125, 500, 2000 mg/kg	>2000 mg/kg 神経毒性無	(2010)	52
提出除外		急性遅発性 神経毒性	急性毒性試験等の結果から、遅発性神経毒性を有するおそれがないと認められることから試験省略。						—
提出除外		28日間 反復遅発性 神経毒性	急性毒性試験等の結果から、遅発性神経毒性を有するおそれがないと認められ、急性遅発性神経毒性試験成績を提出する必要がないと認められることから試験省略。						—
8.4.1	T-2.1 (GLP)	90日間 反復経口 投与毒性	イヌ	♂ 4 ♀ 4	混餌	♂ 0, 500, 3000, 25000 ppm ♀ 0, 500, 3000, 15000 ppm ♂ 0, 15.0, 90.3, 776 ♀ 0, 15.3, 89.8, 475 mg/kg/day	♂ 3000 ♀ 500 ppm ♂ 90.3 ♀ 15.3 mg/kg/day	(2010)	55

抄録番号	資料No.	試験の種類・期間	供試動物	1群の供試数	投与方法	投与量	無毒性量	試験機関(報告年)	記載頁
8.4.2	T-2.2 (GLP)	90日間 反復経口 投与毒性	ラット	♂ 10 ♀ 10	混餌	♂♀共 0, 300, 1000, 2500, 5000 ppm	♂ 300 ♀ 300 ppm	(2010)	62
						♂ 0, 17.9, 60.5 150, 305 ♀ 0, 20.6, 69.0, 171, 350 mg/kg/day	♂ 17.9 ♀ 20.6 mg/kg/day		
8.4.3	T-2.3 (GLP)	90日間 反復経口 投与毒性	マウス	♂ 10 ♀ 10	混餌	♂♀共 0, 300, 1000, 3000, 7000 ppm	♂ 1000 ♀ 300 ppm	(2009)	69
						♂ 0, 53, 176, 515, 1318 ♀ 0, 61, 214, 695, 1504 mg/kg/day	♂ 176 ♀ 61 mg/kg/day		
8.4.4	T-2.4 (GLP)	90日間 反復経口投与 神経毒性	ラット	♂10 ♀10	混餌	♂♀共 0, 1000, 5000, 15000 ppm	一般毒性 ♂ 1000 ♀ 5000 神経毒性 ♂♀共 >15000 ppm 神経毒性無	(2010)	74
						♂ 0, 62, 310, 927 ♀ 0, 77, 378, 1147 mg/kg/day	一般毒性 ♂ 62 ♀ 378 神経毒性 ♂ 927 ♀ 1147 mg/kg/day		
8.5.1	T-3.1 (GLP)	慢性毒性 52週	イヌ	♂ 4 ♀ 4	混餌	♂ 0, 500, 3000, 25000 ♀ 0, 500, 3000, 15000 ppm	♂♀共 500 ppm	(2010)	77
						♂ 0, 13.7, 83.5, 701 ♀ 0, 14.1, 86.2, 448 mg/kg/day	♂ 13.7 ♀ 14.1 mg/kg/day		
8.5.2	T-3.2 (GLP)	慢性毒性 52週	ラット	♂ 20 ♀ 20	混餌	♂♀共 0, 200, 1000, 5000 ppm	♂ 1000 ♀ 200 ppm	(2010)	86
						♂ 0, 8.51, 42.9, 226 ♀ 0, 10.6, 53.5, 275 mg/kg/day	♂ 42.9 ♀ 10.6 mg/kg/day		
8.5.3	T-3.3 (GLP)	発がん性 104週	ラット	♂ 50 ♀ 50	混餌	♂♀共 0, 200, 1000, 5000 ppm	♂ 1000 ♀ 200 ppm	(2010)	96
						♂ 0, 7.25, 36.4, 197 ♀ 0, 9.13, 46.5, 254 mg/kg/day	♂ 36.4 ♀ 9.13 mg/kg/day 発がん性なし		

抄録番号	資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群の供試数	投与方法	投与量	無毒性量 (mg/kg/day)	試験機関 (報告年)	記載頁
8.5.4	T-3.4 (GLP)	発がん性 78週	マウス	♂ 52 ♀ 52	混餌	♂ 0, 600, 1800, 5400 ppm ♀ 0, 300, 1000, 3000 ppm	♂ 600 (申請者注: 肝臓 への影響がある ため<600) ♀ 1000 ppm	(2010)	116
						♂ 0, 77.6, 237.2, 716.2 ♀ 0, 49.4, 166.8, 486 mg/kg/day	♂ 77.6 (申請者注: 肝臓 への影響がある ため<77.6) ♀ 167 mg/kg/day 発がん性なし		
8.6.1	T-4.1 (GLP)	繁殖性 (2世代)	ラット	♂ 24 ♀ 24	混餌	♂♀共 0, 150, 1000, 5000 ppm	親動物 児動物 ♂♀共 1000 ppm	(2009)	131
						P: ♂ 0, 9.61, 64.1, 334 ♀ 0, 11.9, 79.2, 395 mg/kg/day	P: ♂ 64.1 ♀ 79.2 F <sub>1</sub> : ♂ 76.8 ♀ 84.4		
						F <sub>1</sub> : ♂ 0, 11.4, 76.8, 393 ♀ 0, 13.0, 84.4, 434 mg/kg/day	繁殖性 ♂♀共 5000 ppm P: ♂ 334 ♀ 395 F <sub>1</sub> : ♂ 393 ♀ 434		
8.6.2	T-4.2 (GLP)	催奇形性	ラット	♀ 24	経口	0, 30, 300, 1000 mg/kg/day	催奇形性なし 親毒性 30 胎児毒性 300 (申請者注: 骨格変 異が増加傾向に あるため 300)	(2010)	140
8.6.3	T-4.3 (GLP)	催奇形性	ウサギ	♀ 25	経口	0, 30, 100, 300 mg/kg/day	催奇形性なし 親毒性 100 胎児毒性 300	(2009)	144
8.7.1	T-5.1 (GLP)	変異原性 復帰突然変異 Ames	細菌		経口	0, 500, 1000, 2000 mg/kg 24, 48 時間後 サンプリング	陰性	(2007)	149
<i>S. typh.</i> (TA98, TA100, TA1535, TA1537) ±S9: 0, 5, 15, 50, 150, 500, 1500, 5000 µg/7 <sup>+</sup> レト  <i>E. coli.</i> (WP2 <i>uvrA</i> ) ±S9: 0, 5, 15, 50, 150, 500, 1500, 5000 µg/7 <sup>+</sup> レト									
8.7.2	T-5.2 (GLP)	変異原性 染色体異常	CHL細胞		経口	0, 500, 1000, 2000 mg/kg 24, 48 時間後 サンプリング	陰性	(2008)	152
-S9 20, 30, 40, 60, 65, 70 µg/7 <sup>+</sup> レト +S9 90, 110, 120, 100, 110, 130 µg/7 <sup>+</sup> レト									
8.7.3	T-5.3 (GLP)	変異原性 小核試験	マウス	♂♀5	経口	0, 500, 1000, 2000 mg/kg 24, 48 時間後 サンプリング	陰性	(2008)	155

抄録 番号	資料 No.	試験の種類・ 期間	供試 動物	1 群の 供試数	投与 方法	投与量	無毒性量 (mg/kg/day)	試験機関 (報告年)	記載 頁	
8.7.4	T-5.4 (GLP)	変異原性 遺伝子突然変異 L5178Y TK +/-マウスリンフォーム	直接法			5~80 µg/mL	陰性	(2008)	157	
			代謝活性化法			9.93, 19.86, 39.72, 79.44, 158.88, 317.75, 635.5, 1271 µg/mL				
8.7.5	T-5.5 (GLP)	<i>In vivo</i> 不定 期 DNA 合成 (UDS)	ラット	♂ 3	経口	0, 500, 1000, 2000 mg/kg	陰性	(2010)	159	
8.8.1	T-6.1 (GLP)	生 体 機 能 に 及 ぼ す 影 響	中枢 神経系	マウス	♂ 8	経口	0, 200, 2000 mg/kg	2000	(2008)	161
			呼吸 循環器 系	ラット	♂ 5	経口	0, 200, 2000 mg/kg	血圧、心拍数 2000		
				モルモット	♂ 5	経口	0, 200, 2000 mg/kg	呼吸、心電図 2000		
			腎機能 系	ラット	♂ 5	経口	0, 200, 2000 mg/kg	尿量、電解質 浸透圧 200		
8.9.1	T-7.1 (GLP)	肝薬物代謝 酵素誘導試験	マウス						164	
8.9.2	T-7.2	肝薬物代謝 酵素誘導試験	ラット						167	
8.9.3	T-7.3 (GLP)	免疫毒性 28 日間	マウス						171	
8.9.4	T-7.4 (GLP)	免疫毒性 28 日間	ラット						173	

・代謝物の毒性

抄録 番号	資料 No.	試験の種類・ 期間	供試 動物	1群の 供試数	投与 方法	投与量	LD <sub>50</sub> 値又は 無毒性量	試験機関 (報告年)	記載 頁
8.10.1	TM-1 (GLP)	急性毒性 14日間観察	ラット	♀ 3	経口	2000 mg/kg	>2000 mg/kg (死亡なし)	(2010)	176
8.10.2	TM-2 (GLP)	変異原性 復帰突然変異 Ames	細菌 <i>S. typh.</i> (TA98, TA100, TA1535, TA1537) ±S9: 0, 6.9, 20.6, 61.7, 185, 556, 1667, 5000 µg/7*レト <i>E. coli.</i> (WP2 <i>uvrA</i> ) ±S9: 0, 39.1, 78.1, 156, 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/7*レト				陰性	(2010)	177

・ 製剤の毒性

26.8%フロアブル

抄録 番号	資料 No.	試験の種類・ 期間	供試 動物	1群の 供試数	投与 方法	投与量	LD <sub>50</sub> 値又は 無毒性量	試験機関 (報告年)	記載 頁
8.11.1	TF-1.1 (GLP)	26.8%フロアブル 急性毒性 14日間観察	ラット	♀ 3	経口	2000 mg/kg	>2000 mg/kg (死亡なし)	(2008)	180
8.11.2	TF-1.2 (GLP)	26.8%フロアブル 急性毒性 14日間観察	ラット	♂ 5 ♀ 5	経皮	♂♀共 2000 mg/kg	♂♀共 >2000 mg/kg (死亡なし)	(2009)	181
8.11.3	TF-1.3 (GLP)	26.8%フロアブル 急性毒性 14日間観察	ラット	♂ 5 ♀ 5	吸入	♂♀共 5.0 mg/m <sup>3</sup> (実測値 2.78 mg/L)	♂♀共 >2.78 mg/kg (死亡なし)	(2009)	182
8.11.4	TF-1.4 (GLP)	26.8%フロアブル 皮膚刺激性 72時間観察	ウサギ	♀ 3	皮膚 貼付	0.5 g/2.5×2.5 cm (背部)4時間貼付	刺激性なし	(2009)	184
8.11.5	TF-1.5 (GLP)	26.8%フロアブル 眼刺激性 72時間観察	ウサギ	♀ 3	結膜囊	0.1 g/左眼	軽微な 刺激性あり 洗眼効果 あり	(2009)	186
8.11.6	TF-1.6 (GLP)	26.8%フロアブル 皮膚感作性 (Buehler 法)	モルモット	感作群 ♀ 20 非感作 群♀ 10	感作： 100%液 0.2 mL 皮膚貼付 惹起： 50%液 0.2 mL 皮膚貼付		感作性なし	(2009)	188
8.11.7	TF-1.7 (GLP)	26.8%フロアブル 皮膚感作性 (Buehler 法) 9回感作	モルモット	感作群 ♀ 20 非感作 群♀ 10	感作：9回 100%液 0.2 mL 皮膚貼付 惹起： 100%液 0.2 mL 皮膚貼付		感作性なし	(2009)	191

## 8.1 急性毒性

### 8.1.1 ラットにおける急性経口毒性試験 (資料 No. T-1.1)

試験機関

報告書作成年 2008 年 [GLP 対応]

検体純度： %

試験動物： SD 系ラット、投与時 8~12 週齢、体重雌 223~237 g、1 群雌 3 匹

試験期間： 単回投与後 14 日間観察

試験方法： 毒性等級法；2000 mg/kg を 3 匹に経口投与した。その結果投与後 2 日目までに死亡がなかった為、2000 mg/kg を別の 3 匹に投与した。

投与方法： 1%w/v メチルセルロース水溶液を媒体として用い、濃度 200 mg/mL に製剤し、10 mL/kg の容量で一晩絶食後に経口投与した。

観察・検査項目： 中毒症状及び死亡を 14 日間にわたって観察。投与前、投与 8 及び 15 日目に体重を測定。観察終了時の全生存動物について肉眼病理学的検査を実施した。

試験結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	>2000
死亡開始時間及び終了時間	なし
症状発現時間及び消失時間	投与 3 時間後から発現 投与 5 時間後に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000

中毒症状として、雌 2 匹における体位の異常が観察された。これらの徴候は、投与約 3 時間後から認められ、また、外観及び行動から判定したところ、投与約 5 時間後までに完全に回復した。残りの雌 4 匹では、試験期間を通じ、臨床症状は認められなかった。剖検所見では、主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

### 8.1.2 ラットにおける急性経皮毒性試験 (資料 No. T-1.2)

試験機関

報告書作成年 2008 年 [GLP 対応]

検体純度： %

試験動物： SD 系ラット、投与時 8~12 週齢、体重雄 327~358 g、雌 226~252 g、  
1 群雌雄各 5 匹

試験期間： 単回投与後 14 日間観察

試験方法： 検体を 1%w/v メチルセルロース水溶液に懸濁させて、蒸留水で湿らせて剃毛した背部中央 (総体表面積の約 10%、雌雄 5 cm×5 cm) に 24 時間閉塞貼付した。

試験項目： 中毒症状及び死亡を 14 日間にわたって観察。投与前、投与 8 及び 15 日目に重量を測定。観察終了時の全生存動物について肉眼病理学的検査を実施した。

試験結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌雄共 >2000
死亡開始時間及び終了時間	なし
症状発現時間及び消失時間	処理後から 14 日まで
毒性兆候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000

期間中死亡例はなく、塗布部皮膚では全動物で紅斑が認められたが、7 日後までに回復した。雌 1 匹で試験 4 日後から終了時まで、雌 1 匹で試験 7 日後に痂皮形成が認められた。全動物が生存し、その剖検では雌雄共に特記すべき異常所見はなかった。

剖検所見では、主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

[申請者注：認められた症状は検体貼付部位の皮膚紅斑及び痂皮のみであり、これらは刺激性変化で中毒症状ではないと判断した。従って毒性兆候の認められなかった最高投与量を雌雄ともに 2000 mg/kg とした。]



8.1.3 ラットにおける急性吸入毒性試験（ダスト）（資料 No. T-1.3）

試験機関

報告書作成年 2008 年 [GLP 対応]

検体純度： %

試験動物： SD 系ラット、暴露時 9-10 週齢、体重雄 316～330 g、雌 207～225 g、  
1 群雌雄各 5 匹

試験期間： 単回（4 時間）暴露後 14 日間観察

暴露方法： 超遠心粉碎装置で微粉碎した検体を用い、実測濃度 5.18 mg/L の濃度でダストを発生させ、4 時間に亘り鼻部暴露した。暴露空気をガラスフィルターを用いて捕集し、重量測定法により実際濃度を求めた。

暴露条件：

設定濃度 (mg/L)	5.0
実測濃度 (mg/L)	5.18
粒子径分布 ( $\mu\text{m}$ ) <sup>1)</sup>	(%)
9.0 ~ 5.8	14.0
5.8 ~ 4.7	15.3
4.7 ~ 3.3	12.1
3.3 ~ 2.1	19.1
2.1 ~ 1.1	20.9
1.1 ~ 0.7	12.8
0.7 ~ 0.4	4.2
0.4 以下	1.7
空気力学的質量中位径 (MMAD) ( $\mu\text{m}$ )	3.9
吸入可能な粒子 (3.3 $\mu\text{m}$ 以下)の割合 (%)	58.7
チャンバー容積 (L)	40
チャンバー内通気量 (Lpm)	31.7
暴露条件	ダスト、4 時間、鼻部暴露

1) 分級捕集装置を用い 4 回測定した平均

観察・試験項目： 暴露中及び暴露後 14 日間、中毒症状及び生死を観察した。死亡動物及び観察期間終了時の全生存動物につき肉眼的病理検査を行なった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

試験結果：

投与方法	吸入
暴露濃度(mg/L)	5.18
LC <sub>50</sub> (mg/L)	雌雄共 >5.18
死亡開始時間及び終了時間	なし
症状発現時間及び消失時間	暴露直後に発現 暴露後 1 時間に消失
死亡の認められなかった 最高暴露濃度 (mg/L)	雌雄共 5.18

中毒症状としては、暴露直後に雄 1 匹、雌 2 匹の動物で透明な鼻部分泌物を認めた。

肉眼的病理検査では、何ら特記すべき変化は認められなかった。

剖 検 ; 全例に異常は認められなかった。

## 8.2 皮膚及び眼に対する刺激性、皮膚感作性

### 8.2.1 ウサギを用いた皮膚刺激性試験 (資料 No.T-1.4)

試験機関

報告書作成年 2008年 [GLP 対応]

検体純度： %

供試動物： New Zealand White 系ウサギ、28 週齢、体重 4.15～4.46 kg、雌 3 匹

観察期間： 72 時間

投与方法： 検体 0.5 g を逆浸透水 0.5 mL で湿らせ、剃毛した動物の背中の皮膚 (約 2.5 cm×2.5 cm) に貼付した。貼付時間は 4 時間とし、皮膚に残った検体は水を用いて、ペーパータオルで拭き取った。

観察項目： 貼付終了後 1、24、48 及び 72 時間後に貼付部分の刺激性変化 (紅斑、痂皮、浮腫) の有無を観察し、Draize 法に従って採点した。

試験結果： 観察した刺激性変化の採点は、以下の表の通りである。

動物番号	刺激性変化	最高 採点	貼 付 除 去 後 時 間			
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
1	紅斑、痂皮	4.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	浮腫	4.0	0.0	0.0	0.0	0.0
2	紅斑、痂皮	4.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	浮腫	4.0	0.0	0.0	0.0	0.0
3	紅斑、痂皮	4.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	浮腫	4.0	0.0	0.0	0.0	0.0
合 計	紅斑、痂皮	12.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	浮腫	12.0	0.0	0.0	0.0	0.0
平均	紅斑、痂皮	4.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	浮腫	4.0	0.0	0.0	0.0	0.0

試験期間を通して全動物に紅斑、浮腫、または他の皮膚変化も認められなかった。皮膚一次刺激性インデックスは 0.0 であった。

以上の結果から、ピリオフェノン原体はウサギの皮膚に対して、刺激性なしと考えられた。

## 8.2.2 ウサギにおける眼刺激性試験 (資料 No. T-1.5)

試験機関

報告書作成年 2008 年 [GLP 対応]

検体純度 :            %

供試動物 : New Zealand White 系ウサギ、28 週齢、体重 4.09~5.10 kg、雌 3 匹

観察期間 : 72 時間観察

投与方法 : 両眼に異常の無いことを確認したウサギの右眼の結膜嚢内に検体約 100 mg (0.1 mL 相当)を適用し、検体の流出を防ぐ為、約 1 秒間上下眼瞼を緩やかに合わせた。左眼は無処理対照とした。

観察項目 : 投与後 1、24、48 及び 72 時間後に角膜、虹彩、結膜の眼刺激性変化を観察し、Draize 法に従って採点した。

試験結果 : 観察した刺激性変化の採点は、次頁の表に記載した。

点眼 1 時間後に動物 1 匹で、また、残りの 2 匹では点眼後 24 時間にわたって結膜血管の充血が認められた。その後の観察期間中には、投与に対する反応は認められなかった。全動物の処置眼は、点眼後 48 時間には明らかに正常であった。被験物質を点眼しても、一次疼痛反応は実質的に誘発されなかった。

結果表

動物番号			最高 評点	投 与 後 時 間			
				1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
1	角膜	程度	4.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		面積	4.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	角膜評点		80	0.0	0.0	0.0	0.0
	虹彩		2.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	虹彩評点		10	0.0	0.0	0.0	0.0
	結膜	発赤	3.0	1.0	1.0	0.0	0.0
		浮腫	4.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		分泌物	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	結膜評点		20	2.0	2.0	0.0	0.0
	個体別評点		110	2.0	2.0	0.0	0.0
2	角膜	程度	4.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		面積	4.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	角膜評点		80	0.0	0.0	0.0	0.0
	虹彩		2.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	虹彩評点		10	0.0	0.0	0.0	0.0
	結膜	発赤	3.0	1.0	0.0	0.0	0.0
		浮腫	4.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		分泌物	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	結膜評点		20	2.0	0.0	0.0	0.0
	個体別評点		110	2.0	0.0	0.0	0.0
3	角膜	程度	4.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		面積	4.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	角膜評点		80	0.0	0.0	0.0	0.0
	虹彩		2.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	虹彩評点		10	0.0	0.0	0.0	0.0
	結膜	発赤	3.0	1.0	1.0	0.0	0.0
		浮腫	4.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		分泌物	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	結膜評点		20	2.0	2.0	0.0	0.0
	個体別評点		110	2.0	2.0	0.0	0.0
個体別評点平均			110	2.0	1.3	0.0	0.0

### 8.2.3 モルモットにおける皮膚感作性試験 (資料 No. T-1.6)

試験機関

報告書作成年 2009 年 [GLP 対応]

検体純度 :           %

供試動物 : Hartley 系モルモット、雌、7 週齢、体重 398~486 g、  
検体感作群 20 匹、検体非感作群 10 匹、  
陽性対照感作群 10 匹、陽性対照非感作群 5 匹

観察期間 : 惹起除去後 48 時間

試験方法 : [Maximization 法]  
投与量設定根拠 ;

感 作 : ① Freund Complete Adjuvant (FCA) と生理食塩水の乳化液、② 検体 1% の流動パラフィン懸濁液、及び③ 検体 1% を含有する FCA と生理食塩水の乳化液をそれぞれ調製し、肩背部に 1 動物あたり各左右 3 箇所 (各 0.1 mL) を皮内投与した。皮内投与の 6 日後、10% 相当のラウリル硫酸ナトリウムを混合したワセリン 0.5 mL を皮内投与した部位に塗布し、その 1 日後、検体 50% 相当を混合した白色ワセリン 0.4 g を皮内投与した部位に 48 時間閉塞貼付した。対照群には検体を除いて同様の処置をした。

陽性対照群には、 $\alpha$ -Hexylcinnamaldehyde (HCA) を用い、皮内投与、経皮感作の濃度はそれぞれ 1% (各 0.1 mL) 及び 50% (0.4 mL) とし、検体と同様の操作により感作した。

惹 起 : 経皮感作の 14 日後、前日に剃毛した左側腹部に、50% 相当の検体を混和した白色ワセリン 0.2 g を 24 時間閉塞貼付した。陽性対照群には、10% 相当の HCA の流動パラフィン溶液 0.2 mL を検体群と同様に貼付した。

観察項目 : 惹起貼付除去の 24 時間後及び 48 時間後、貼付部位を観察し、皮膚反応 (紅斑及び浮腫) について、以下の基準に従って採点した。採点結果を基に、感作率 (陽性動物数 / 感作動物数) を算出し、Magnusson & Kligman (1969) の基準に従って、感作性の強度を分類した。感作率 0% の場合は感作性陰性とした。

感作群において非感作群に認められた最高評点を上回る反応を認めた動物を感作陽性動物とし、24 もしくは 48 時間後のいずれかの観察で認められた最高評点をその動物の皮膚反応評点とした。

皮膚反応

評点

- 肉眼的変化なし .....0
- 散在性又は斑状の紅斑 ..... 1
- 中等度のびまん性紅斑 ..... 2
- 強い紅斑及び浮腫 ..... 3

試験結果： 皮膚反応の観察結果を以下の表に示す。

検体感作群では、4/20例に評点2、6/20例に評点1の皮膚反応が認められた。一方、検体非感作群にはすべての動物において皮膚反応を認めなかった。

従って、検体感作群の感作陽性動物数は10/20例であり、感作陽性率は50%であった。陽性対照群では、9/10例に評点2、1/10例に評点1の皮膚反応が認められ、感作陽性動物数は10/10例、感作陽性率は100%であった。

以上の結果から、ピリオフェノン原体は、モルモットを用いた皮膚感作性試験 (Maximization 法)において、中等度の皮膚感作性を有するものと判断した。

表 皮膚反応採点結果

試験群			動物数	感作反応動物数										陽性率 (%)		
				24時間後					48時間後							
感作		惹起		皮膚反応評点				計	皮膚反応評点				計	時間		
皮内	経皮		0	1	2	3	0		1	2	3	24		48		
検体	皮内	経皮	50%	20	13	3	4	0	7/20	11	6	3	0	9/20	35	45
	1%	50%														
	溶媒	溶媒	50%	10	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0
陽性対照	1%	50%	10%	10	0	1	9	0	10/10	1	1	8	0	9/10	100	90
	溶媒	溶媒	10%	5	5	0	0	0	0/5	5	0	0	0	0/5	0	0

観察期間に陽性を示した動物数のまとめ

	試験群		動物数	皮膚反応評点				計	陽性率 (%)	
	感作			惹起	0	1	2			3
	皮内	経皮								
検体	1%	50%	50%	20	10	6	4	0	10/20	50
陰性対照	溶媒	溶媒	50%	10	10	0	0	0	—	
陽性対照	1%	50%	10%	10	0	1	9	0	10/10	100
陰性対照	溶媒	溶媒	10%	5	5	0	0	0	—	



#### 8.2.4 マウスにおける皮膚感作性試験・局所リンパ節試験 (資料 No. T-1.7)

試験機関

報告書作成年 2009年 [GLP 対応]

検体純度： %

供試動物： CBA/J 系マウス、投与時 8 週齢、体重雌 20.6~23.6 g、1 群雌 5 匹

試験方法： [LLNA 法]

投与量設定根拠；

試験スケジュール；

下表の日程で各操作を実施した。各々の操作は後述の手順に従った。

第 1 日	第 2 日	第 3 日	第 4 日	第 5 日	第 6 日	第 7 日
T	T	T	—	—	<sup>3</sup> H	M

T：検体塗布

<sup>3</sup>H：<sup>3</sup>H-メチルチミジン投与 → 5 時間後リンパ節摘出 → 細胞調製

M：<sup>3</sup>H-メチルチミジン取り込み量測定

検体塗布液の調製；

アセトンとオリーブ油を 4：1 (v/v) に混合した溶媒 (AOO) を作製し、陰性対照群および陽性対照 (HCA、 $\alpha$ -ヘキシルシンナムアルデヒド) および検体の希釈溶媒とした。

試験；

初回塗布日を第 1 日として起算した第 1-3 日に、検体投与液、HCA 投与液または AOO を両耳介背面に各々 1 耳介当り 25  $\mu$ L 塗布した。

第 6 日に 20  $\mu$ Ci の <sup>3</sup>H-メチルチミジンを含むリン酸緩衝液 (PBS) 250  $\mu$ L を各動物に尾静脈内投与した。5 時間後に動物をエーテル麻酔下で安楽殺した。各動物より採取した耳介リンパ節を秤量した。摘出したリンパ節をすり潰し、細胞を単離した。PBS で 2 回細胞を洗浄した後、5%トリクロロ酢酸 (TCA) に再懸濁し、冷蔵下に 18 時間静置した。細胞ペレットを 1 mL の 5%TCA に懸濁し、これをシンチレーションカクテル 9 mL と混合し、<sup>3</sup>H-メチルチミジンの取込量 (dpm) を測定した。

判定；

測定した <sup>3</sup>H 取込量 (dpm) を基に、陰性対照群の取込量で、各投与群の取込量を除いて刺激指数 (Stimulation Index：SI) を算出し、試験したいずれかの濃度で SI 値が 3 以上であった場合を感作性ありと判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

試験結果： 下記表により、SI は被験物質 5、10 および 25%投与群それぞれ 0.78、1.04 および 0.57 であった。

以上の結果より、局所リンパ節試験を用いた本試験条件下で、ピリオフェノン原体はマウスに対する皮膚感作性能を有しないと結論付けされた。

表) 各群の刺激指数 (SI) およびリンパ節重量

	投与量	SI 値	リンパ節重量 (mg)
陰性対照	0%	1.0	4.6
ピリオフェノン	5%	0.78	4.9
	10%	1.04	4.7
	25%	0.57	5.0
陽性対照	HCA 25%	7.74 ↑	11.8 ↑

陰性対照群測定値：<sup>3</sup>H-メチルチミジン取込量 (dpm)；459.5 ± 176.0

リンパ節重量 (mg)：4.6 ± 0.7

Student's-t 検定 ↑:P<0.05, ↑:P<0.01

### 8.3 急性神経毒性

#### 8.3.1 ラットにおける急性神経毒性試験（資料 No. T-1.8）

試験機関  
報告書作成年 2010年 [GLP 対応]

検体純度：           %

供試動物： SD系ラット、1群雌雄各10匹、投与時6週齢

試験期間： 1回投与後14日間観察

投与方法： 1%カルボキシメチルセルロース水溶液を媒体として用い、10 mL/kgの容量で一晩絶食後に125、500および2000 mg/kgの用量でゴム製カテーテルを用いて強制経口投与を実施した。

用量設定根拠；

観察・検査項目および結果：

死亡率及び一般状態； 生死及び一般状態を毎日観察した。

投与に起因する一般状態の変化及び死亡は認められなかった。

体重変化； 投与前6または7日、投与直前、観察8日目および15日目、剖検前に全ての動物の体重を測定した。

投与に起因する体重の変化は認められなかった。

摂餌量； 1週間毎に摂餌量を測定した。

投与に起因する摂餌量の変化は認められなかった。

神経行動学的検査； 投与開始前、投与約4時間後、8日後および15日後に全ての生存動物について、以下の項目の測定を盲検法にて行った。

- ホームケージ内の観察（姿勢、振戦、筋攣縮、痙攣、眼瞼閉鎖、啼鳴）
- 動物取り扱い時の観察（取り出し易さ、流涎、流涙、眼球突出、立毛、毛並み、取り扱い時の啼鳴、取り扱い時の反応）
- アリーナでの観察（覚醒、歩行、毛繕い、行動数、起立回数、眼瞼閉鎖、姿勢、振戦、筋攣縮、痙攣、糞便、排尿）
- 処置観察（接近反応、接触反応、聴覚驚愕反応、尾痛反応、握力、正向反射、体温、着地時開脚幅、体重、瞳孔反射）
- 自発運動量

投与による変化及び統計学的に有意差を示した変化を以下に示す。

性別		雄				雌			
投与量 (mg/kg)		0	125	500	2000	0	125	500	2000
検査動物数		10	10	10	10	10	10	10	10
筋緊張低下	4 時間	0	0	0	3	0	0	0	2
眼瞼閉鎖	4 時間	2	2	2	6	1	1	1	3
立毛	4 時間	0	0	0	2	2	5	1	7*

Fisher の直接確率検定 \*;  $p < 0.05$  【申請者にて実施】

表中の数字は所見を示した動物数を示す。

性別		雄				雌			
投与量 (mg/kg)		0	125	500	2000	0	125	500	2000
前肢握力 (kg)	4 時間	0.74	0.83	0.81	0.85↑	0.80	0.81	0.78	0.77
着地時開脚幅 (mm)	8 日	99	96	92	101	97	82↓	79↓	80↓

Williams 検定 ↑↓;  $p < 0.05$ , ↑↓;  $p < 0.01$

2000 mg/kg 投与群の雌雄で、投与 4 時間目の検査において筋緊張低下及び眼瞼閉鎖を示す動物数が増加したが、その後の検査時期では影響は認められなかった。またいずれの動物でも記録された重篤度は軽度であり、生物学的な意義はないと判断した。2000 mg/kg 投与群の雌雄で、投与 4 時間目の検査において立毛を示す動物が認められたが、雌の対照群でも観察されており、絶食後によく認められる所見であることから検体投与との関連は無いと判断した。2000 mg/kg 投与群の雄で、投与 4 時間目の検査において前肢握力が有意に増加したが、増加方向であり用量との関連性も無く、また後肢握力には影響が認められなかったため、検体投与との関連は無いと判断した。全ての投与群の雌で、投与 8 日目の検査時に着地時開脚幅が有意に低下したが、8 日目の検査時のみ対照群の値だけが投与前と比較して増加したことによる偶発的な有意差と考えられた。

解剖学的検査；試験終了時に全ての生存動物を検査した。

投与に起因する変化は認められなかった。

解剖学的計測；全ての生存動物について、大脳半球の吻側から小脳の尾方までの長さ及び大脳半球の最大径を計測した。

投与に起因する変化は認められなかった。

脳重量測定；試験終了時に全ての生存動物の脳重量を測定した。

投与に起因する変化は認められなかった。

病理組織学的検査；試験終了時に対照群及び 2000 mg/kg 投与群の雌雄各 5 匹を対象に、グルタルアルデヒド・ホルムアルデヒド固定液を用いて灌流固定した後、以下の組織について病理組織標本を作成し、鏡検した。

大脳、中脳、小脳、橋、延髄、脊髄、後根神経節、後根神経線維、腹根神経線維、眼(網膜)、視神経、骨格筋(腓腹筋)、坐骨神経、脛骨神経

坐骨神経及び脛骨神経は樹脂包埋し、トルイジンブルーで染色した。その他はパラフィン包埋し、H.E 染色した。

投与に起因する病理組織学的変化は認められなかった。

以上の結果から、本剤のラットに対する急性神経毒性試験における影響として、2000 mg/kg 投与群の雌雄で投与4時間目に筋緊張低下及び眼瞼閉鎖を示す動物数が増加したが、その後の検査時期では同様の変化は認められなかった。また、形態学的・組織学的な影響は無かった。従って、本試験で認められた以上の影響は、神経毒性を示すものではないと判断し、本剤の神経毒性に対する無毒性量 (NOAEL)は、雌雄共に 2000 mg/kg 以上と判断された。

#### 8.4 亜急性毒性

##### 8.4.1 イヌにおける 90 日間反復経口投与毒性試験 (資料 No. T-2.1)

試験機関

報告書作成年 2010 年 [GLP 対応]

検体純度： %

供試動物： ビーグル犬、1 群雌雄各 4 匹、開始週齢 6 ヶ月齢

投与期間： 90 日間 (雄；2007 年 10 月 16 日～2008 年 1 月 16 日)  
(雌；2007 年 10 月 24 日～2008 年 1 月 24 日)

投与方法： 基礎飼料に被験物質を混合し、雄；0、500、3000、25000 ppm、雌；0、500、3000、15000 ppm の濃度を 90 日間連続で動物に投与した。検体を混入した飼料は 4 週間に 1 回調製した。

用量設定根拠；

観察・検査項目及び結果：

一般症状及び死亡率；一般症状及び生死を毎日観察した。

いずれの用量群においても雌雄共に死亡は認められず、一般症状においても変化は認められなかった。

詳細な状態の観察；投与開始前と投与期間中 1 週間に 1 回、全例を対象として、以下の項目について観察した。

ケージ内：活動性、体位・姿勢、異常行動、振戦、痙攣

ケージから取り出すとき：社交性

オープンフィールド：活動性、体位・姿勢、異常行動、振戦、痙攣、歩行状態、呼吸状態、皮膚・被毛の状態、眼球の状態、眼瞼閉鎖、瞳孔の状態、流涎、流涙、分泌物、眼球結膜・口腔粘膜の状態、異常発声、排便、排尿、鋭い音に対する反応、接触刺激に対する反応

触診： 外皮の異常、筋肉の状態

いずれの用量群においても検体投与による変化は認められなかった。

体重変化；全動物について投与開始 1 週間前 (-1 週時)、投与直前 (0 週) および投与期間中毎週 1 回、体重を測定した。投与期間中の体重測定は、各週の最終日に行なった。さらに、全動物について剖検のための安楽殺処分前に最終体重を記録した。

25000 ppm 投与群の雄では、対照群と比較した時、投与期間が進むに従い徐々に平均体重が減少した。雄の 25000 ppm 投与群と対照群との間でいずれの投与週においても平均体重に統計学的有意差は認められなかったが、25000 ppm 投与群雄の最終測定時の平均体重値は、対照群の値より 0.5 kg 低かった。これら 2 群の平均摂餌量は同等であるため、雄の 25000 ppm 投与群の低体重の傾向は被験物質の投与によるものであると考えられた。

摂餌量；馴化期間中および投与期間中毎日、各動物の摂餌量を測定した。給餌器の飼料残量を毎日秤量し、各個体の各日の摂餌量を以下の式により算出した。

$$\text{各日の摂餌量} = [\text{給餌量 (飼料 300 g + 水 300 g)} - \text{飼料残量 (g)}] \div 2$$

週 7 日分の値を平均して、その週の 1 日あたりの動物ごとの摂餌量を算出した。

投与期間中のそれぞれ異なる時期において、25000 ppm 投与群の雄 1 例、3000 ppm 投与群の雄 1 例および雌 2 例ならびに 500 ppm 投与群の雌 1 例に摂餌量の減少が認められた。一方、15000 ppm 投与群の雌は、投与期間を通じて給餌した調製飼料をすべて摂取した。したがって、これら投与群での食べ残しに関して用量依存性は認められず、摂餌量の減少は被験物質の投与に関連するものではないと考えられた。飼料の食べ残しが認められた個体識別番号およびその発生時期を下表に示す。

用量 (ppm)	動物番号	雄	動物番号	雌
		食べ残しが認められた週		食べ残しが認められた週
0		観察されず		観察されず
500		観察されず	26	9 および 10
3000	10	10 ~ 13 週	29 32	8 ~ 12 週 1 ~ 3 週
15000		—		観察されず
25000	14	1 および 2 週		—

検体摂取量；投与期間全体を通じた被験物質の毎週摂取量の平均値を下表に示す。

群 (ppm)		500	3000	15000	25000
平均検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	15.0	90.3	—	776
	雌	15.3	89.8	475	—

血液学的検査；投与開始前および投与 7 および 13 週時に、すべての動物について血液学的検査を以下の項目の測定を行った。

ヘマトクリット値(Ht)、血色素量(Hb)、赤血球数(RBC)、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、赤血球分布幅(RDW)、赤血球血色素濃度分布幅 (HDW)、血小板(PLT)、網赤血球数 (Retics)、プロトロンビン時間(PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、白血球数(WBC)、白血球のディファレンシャルカウント；リンパ球(L)、好中球(N)、単球(M)、好酸球(E)、好塩基球(B)、大型非染色球(LUC)

投与群で統計学的に有意な変化が認められた血液学的検査項目を下表に示す。

7 および 13 週時の 15000 ppm 投与群の雌に、軽度の活性化部分トロンボプラスチン時間の短縮が認められた。当該変化は被験物質の投与によるものと考えられた。活性化部分トロンボプラスチン時間の短縮はイヌまたはげっ歯類における毒性試験でしばしば認められるが、今回のような軽度な場合の毒性学的意義は一般的に不明である。その他の血液学的所見として、15000 ppm 投与群の雌で 13 週時に血小板数の統計学的に有意な増加が認められた。この雌の群では血小板数の投与前の値が



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

既に高い傾向にあり、また雄ではいずれの検査時点でもの高用量群においてさえ血小板数の変化は認められなかった。したがって、15000 ppm 投与群の雌に認められた血小板数の増加はおそらく偶発的なものと考えられる。

血液生化学的検査；血液学的検査で使用した血液から得られた血清を用い以下の項目の測定を行った。

アルカリホスファターゼ(ALP)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)、 $\gamma$ -グルタミルトランスペプチダーゼ( $\gamma$ -GTP)、クレアチニン(Cre)、尿素窒素(BUN)、総蛋白(TP)、アルブミン(AI)、グロブリン(GI)、アルブミン/グロブリン比(A/G ratio)、血糖(Gluc)、総コレステロール(T.Chol)、トリグリセライド(TG)、総ビリルビン(T.Bil)、カルシウム(Ca)、無機リン(P)、ナトリウム(Na)、カリウム(K)、塩素(Cl)

投与群で統計学的に有意な変化が認められた血液生化学的検査項目を下表に示す。

#### 血液生化学的検査で認めた統計学的に有意な変化

15000 ppm 投与群の雌でアルカリホスファターゼが7および13週時に統計学的に有意に増加した。アルカリホスファターゼの増加傾向は7および13週時に25000 ppm 投与群の雄および3000 ppm 投与群の雌にも認められた。これらの投与群では、増加は時間の経過に伴って増強する傾向にあった。アルカリホスファターゼの変化に加え、25000 ppm 投与群の雄では7および13週時にトリグリセライドの増加が認められた。血液生化学的検査で認められたこれら2項目の変化は、肝機能の変化に基づくものであり、被験物質の投与によると考えられた。

また、7週時に25000 ppm 投与群の雄で血糖の統計学的に有意な減少が観察された。しかし、これは軽度の変化であり、15000 ppm 投与群の雌には血糖の減少は認めら

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

れなかった。したがって、25000 ppm 投与群の雄に認められた血糖の変化は偶発的な変化と考えられた。

尿検査； 投与開始前および投与 7 および 13 週時に、すべての動物に関する尿検査を以下の項目について行った。

比重、ウロビリノーゲン、蛋白質、pH、潜血、ケトン体、ビリルビン、ブドウ糖、外観、尿量、尿沈渣

検体投与に関連する変化は認められなかった。

眼科学的検査； 投与開始前および投与終了時（13 週時）に全動物について、検眼鏡（Welch Allyn Inc., New York, U. S. A.）による観察を含む眼科学的検査を実施した。検査では眼の以下の部位を観察した。

眼球、眼瞼、結膜、角膜、前眼房、瞳孔、虹彩、水晶体／硝子体、眼底

15000 ppm 投与群の雌 2 例および 3000 ppm 投与群の雌 1 例に片側性または両側性の限局性角膜混濁が検眼鏡下で観察された。剖検において当該病変は肉眼的には認められず、以後の病理学的検査は実施されなかった。この角膜病変の眼科学的な所見は、多くの犬種が罹患し、非炎症性で通常両側性の角膜混濁として特徴付けられる疾患グループ「角膜異形成」のものに非常に類似していた。本試験では病変の病理組織学的検査は実施できなかったが、角膜異形成は角膜において異物の蓄積によって生じることがある（脂質またはコレステロールの結晶として存在する）。

ビーグル犬においては、その遺伝様式は不明であり、片眼または両眼の角膜混濁が当該試験で観察されたような卵円形の“nebula”（雲様病変）で始まり、時には悪化する。当該試験の雌での限局性角膜混濁の発生状況は用量依存的であるように見えた。しかし、本病変が角膜異形成に非常に類似していることを考慮すると、この病変は自然発生的な角膜疾患の一種ではないかと考えられ投与との関連性はないと考えられた。

臓器重量； 投与終了時（投与 13 週後）に計画殺した雌雄すべての動物について臓器重量測定を実施した。

脳、下垂体、甲状腺(上皮小体を含む)、心臓、胸腺、肝臓(胆のうを含む)\*、腎臓(両側)、脾臓、副腎(両側)、精巣(両側)、精巣上体(両側)、前立腺、卵巣(両側)、子宮

\*胆のうから胆汁を排出した後に計量

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

投与群で統計学的に有意な変化が認められた臓器重量を下表に示す。

#### 統計学的に有意な臓器重量の変化

25000 ppm 投与群の雄で肝臓の絶対および相対重量が有意に増加し、15000 ppm 投与群の雌でも肝臓の絶対および相対重量に増加傾向がみられた。

雄のすべての投与群および雌の 15000 ppm 投与群で脾臓重量の減少または減少傾向が認められたが、雄の投与群の変化には明確な用量関連性は認められなかった。よって、雌の 15000 ppm 投与群を含む投与群に認められた脾臓重量の変化は、投与に関連性はないと考えられた。

肉眼的病理検査；試験終了時の全生存動物に対して剖検を行った。

雌雄とも、投与群に認められた肉眼的病理所見の発生頻度は対照群と同等であった。

病理組織学的検査；すべての動物の以下に示す臓器および器官について、病理組織学的検査を実施した。

脳(大腦、小脳、橋および延髄)、脊髄(頸部、胸部および腰部)、坐骨神経(片側、筋肉に近い部分)、下垂体、胸腺、甲状腺(両側)、上皮小体(両側)、副腎(両側)、脾臓(中央部および尾部)、骨および骨髄(胸骨、片側大腿骨)、リンパ節(頸部および腸間膜)、心臓(左室壁、右室壁および弁膜部を含む心室中隔)、大動脈、咽頭、唾液腺(下顎腺および耳下腺)、食道、胃(噴門部、胃底部および幽門部)、肝臓(外側左葉、外側右葉および肝門部)、胆のう、膵臓、十二指腸、空腸、回腸(パイエル氏板を含む)、盲腸、結腸、直腸、鼻腔、喉頭、気管、肺(主要気管支を含む右葉起始部、左後葉および右後葉)、腎臓(両側)、膀胱、精巢(両側)、精巢上体(両側)、前立腺、卵巣(両側)、子宮(角部、体部および頸管部)、膺、眼球(網膜および視神経を含む両側)、涙腺(両側)、下腿三頭筋(片側)、皮膚(腰背部)、

乳腺(腹部)、肉眼的異常部位

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

投与に関連すると考えられる病理組織学的変化の各用量群における発生頻度を次表に示す。

投与に関連すると考えられる病理組織学的変化の発生頻度

25000 ppm 投与群の雄 3 例および 15000 ppm 投与群の雌 3 例で、肝臓に小葉中心性肝細胞肥大が認められ投与に関連する変化と考えられた。

以上の結果から、本剤のビーグル犬に対する飼料混入による 90 日間反復経口投与毒性試験における影響として、25000 ppm 投与群の雄において体重増加抑制傾向、アルカリホスファターゼの増加傾向、トリグリセライドの増加、肝臓重量の増加、小葉中心性肝細胞肥大が、15000 ppm 投与群の雌における活性化部分トロンボプラスチン時間の短縮、アルカリホスファターゼの増加、肝臓重量の増加傾向、小葉中心性肝細胞肥大が、雌の 3000 ppm 投与群でアルカリホスファターゼの増加傾向が認められた。従って、本試験における無毒性量 (NOAEL) は雄で 3000 ppm (90.3 mg/kg/day)、雌で 500 ppm (15.3 mg/kg/day) と判断される。

#### 8.4.2 ラットにおける混飼投与による 90 日間反復投与経口毒性試験 (資料 No. T-2.2)

試験機関

報告書作成年 2010 年 [GLP 対応]

検体純度： %

試験動物： Fischer 系ラット、1 群雌雄各 10 匹、投与開始時 5 週齢

試験期間： 13 週間 (雄；2006 年 8 月 18 日～11 月 19 日)

(雌；2006 年 8 月 25 日～11 月 26 日)

試験方法： 検体を 0、300、1000、2500 及び 5000 ppm の濃度で飼料に混入し、13 週間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は 4 週間に 1 回調製した。

用量設定根拠；

観察・検査項目及び結果：

死亡率； 生死を毎日観察した。

いずれの投与群の雌雄にも、投与期間中の死亡・切迫殺動物はなかった。

一般状態； 一般状態を毎日観察した。

いずれの投与群の雌雄にも有意な変化はなかった。

詳細な状態の観察； 投与開始前と投与期間中 1 週間に 1 回、全例を対象として、以下の項目について観察した。

ホームケージ： 興奮、鎮静、異常姿勢、異常行動

ハンドリング： 取り扱い難さ、筋緊張の変化、振戦、眼瞼閉鎖、瞳孔径の変化、流涎、流涙、分泌物、眼球突出、体温の変化、呼吸異常音、被毛の変化、皮膚および粘膜の変化

オープンフィールド： 跳躍、旋回、痙攣、歩様異常、自発運動、身づくろい動作、立ち上がり姿勢、呼吸、発声、立毛、排尿、排便、異常姿勢、異常行動

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

投与に起因する異常は認められなかった。2500 ppm 群の雌において第 4 週の排尿の回数（オープンフィールド）が有意に増加したが、投与用量との関連性がないため偶発的な変化と考えられた。

機能検査；投与 11 週時に全例を対象として、自発運動量、握力（前肢及び後肢）、感覚運動反応（位置視覚、接近反応、聴覚反応、触覚反応、痛覚反応及び空中立ち直り反射）の測定を行った。

有意差の認められた項目を次の表に示す。

5000 ppm 群の雄で、20～30、50～60 分および全期間における自発運動量の有意な増加が認められ、被験物質の投与に関連する可能性があるが、原因は不明であった。雌では有意な変化は示さなかった。その他の投与群では雌雄共に有意な変化はなかった。

体重変化；投与開始時および投与期間中毎週 1 回、全生存動物について体重を測定した。

いずれの投与群においても、対照群の体重と同程度の値で推移した。

摂餌量；全ケージについて、投与期間中毎週 1 回、連続 3 日分または 4 日分のケージ別摂餌量を測定した。

1000（第 13 週）、2500（第 10、11 週）および 5000（第 5、6、8、11、13 週） ppm 群の雄で、週の平均摂餌量が増加した。また、5000 ppm 群の雌で、第 1 週の平均摂餌量が減少した。その他の投与群の雌雄の摂餌量は対照群と同程度であった。[申請者注：これら摂餌量の有意な変動は体重、食餌効率及び一般状態の変化を伴っていないため、検体投与と関連のない偶発的な有意差であると判断した。]

食餌効率；投与期間中毎週、1 週間ごとの群平均体重増加量をそれぞれの群平均摂餌量で除して算出した。

いずれの投与群においても、食餌効率は対照群と同程度であった。

被験物質摂取量；被験物質の設定混餌濃度、群平均摂餌量及び群平均体重から毎週算出した。

投与期間中（13 週間）の平均被験物質摂取量は以下の通りであった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

群 (ppm)		300	1000	2500	5000
平均検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	17.9	60.5	150	305
	雌	20.6	69.0	171	350

眼検査； 馴化期間中に全動物について、また投与 13 週時に対照群および最高投与量群の全生存動物について、ハロゲン検眼鏡による以下の部位の検査を実施した。

眼球、眼瞼、結膜、角膜、前眼房、瞳孔、虹彩、水晶体／硝子体、眼底  
投与 13 週時の検査において、対照群および 5000 ppm 群の雌雄に眼の異常は全く認められなかった。

尿検査； 投与 13 週時に全動物について、以下の項目を検査した。

尿量、尿色、尿沈渣、尿比重、ブドウ糖、ビリルビン、ケトン体、潜血、pH、タンパク質、ウロビリノーゲン  
有意差の認められた項目を次の表に示す。

5000 ppm 群では雄に尿量の有意な増加が認められ、雌で黄／褐色の尿の発生頻度が高かった。これは腎機能の障害に基づくものであり、被験物質の投与によるものと考えられた。その他の投与群では雌雄に有意な変化はなかった。

血液学的検査； 13 週間投与終了時に全動物から採血し、以下の項目を検査した。

ヘマトクリット値(Ht)、血色素量(Hb)、赤血球数(RBC)、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、赤血球分布幅(RDW)、赤血球色素量分布幅(HDW)、血小板数(PLT)、網赤血球数(Retics)、プロトロンビン時間(PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)、白血球数(WBC)、白血球のディファレンシャルカウント(リンパ球、好中球、単球、好酸球、好塩基球、大型非染色球)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

以下の表に統計学的有意差の認められた項目を示す。

5000 ppm 群の雄において、MCV および MCH の有意な減少ならびに PLT、PT、リンパ球および好塩基球の有意な増加が認められた。雌に PT の短縮および APTT の有意な延長が認められた。2500 ppm 群では、雌に APTT の有意な延長が認められたが雄には認められなかった。1000 ppm 群では、雄にリンパ球の有意な増加が認められ、雌には APTT の有意な延長が認められた。300 ppm 群では、雌雄いずれにも投与に関連した変化はなかった。

MCV および MCH の変化はごく軽微であり RBC、Hb および Ht の減少を伴わなかったことから毒性学的意義はないと判断した。リンパ球および好塩基球数の増加は投与によるものと考えられるが、その他の検査項目に対応する変化がみられなかったため原因は不明である。

PLT の増加は、先行して実施した 28 日間反復経口投与毒性試験の高用量群においても同様の変化が認められたため、投与に起因するものと考えられた。PT における有意な変化は雌雄で逆の方向であることから投与には無関係であると考えられた。APTT の延長は投与によるものと思われるが、原因は不明である。

血液生化学的検査；13 週間投与終了時に全動物について、以下の項目を検査した。

アルカリホスファターゼ(ALP)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)、 $\gamma$ -グルタミルトランスペプチダーゼ(GGTP)、クレアチニン(Creat)、尿素窒素(BUN)、総蛋白(TP)、アルブミン(AIb)、グロブリン(Glob)、アルブミン/グロブリン比(A/G ratio)、血糖(Gluc)、総コレステロール(T.Chol)、トリグリセライド(TG)、総ビリルビン(T.Bil)、カルシウム(Ca)、無機リン(P)、ナトリウム(Na)、カリウム(K)、塩素(Cl)

以下の表に統計学的有意差の認められた項目を示す。



投与による影響として、雌の 1000 ppm 以上の投与群で T.Bil の減少が、雄の 2500 ppm 以上の投与群で Alb、TP 及び Ca の増加並びに T.Bil 及び Cl の低下が、雌の 2500 ppm 以上の投与群で Glob の増加が、5000 ppm 投与群では雄の BUN、Glob 及び T.Chol の増加、雌の TP の増加及び Cl の低下、並びに雌雄の GGTP の増加が認められた。AST、ALT、T.Bil 及び Creat の減少に関しては、変動した方向性から毒性学的意義はないと判断した。[申請者注：雄の 1000 ppm 投与群で認められた TG の有意な増加には用量との関連性や雌雄間の一貫性がなく、また関連する検査項目に対応する変化がないため、検討投与とは関連しない偶発性の変化と判断した。]

臓器重量；13 週間投与終了後の全動物について、下記臓器の重量（絶対重量）を測定し、最終体重から比体重値（相対重量）を算出した。

脳、甲状腺(上皮小体を含む、両側)、心臓、胸腺、肝臓、腎臓(両側)、脾臓、副腎(両側)、精巣(両側)、精巣上体(両側)、卵巣(両側)、子宮、盲腸

以下の表に統計学的有意差の認められた項目を示す。

5000 ppm 群の雌雄で肝臓、腎臓、盲腸の絶対および相対重量が有意に増加した。2500 ppm 群では、雄の肝臓および腎臓の絶対および相対重量が有意に増加し、雌の肝臓の相対重量ならびに盲腸の絶対および相対重量が有意に増加した。盲腸の絶対および相対重量増加の傾向は雄にもみられた。1000 ppm 群では、雄の肝臓の相対重量が有意に増加した。雌では有意な変化は認められなかった。300 ppm 群では、雌雄いずれにも有意な変化はなかった。これらの変化は投与によるものと考えられた。

肉眼病理学的検査；13 週間投与試験終了後の全生存動物について剖検を行った。

5000 ppm 群ですべての雄および雌 5 例に内容物による大腸（盲腸のみ）の膨満が認められた。これは摂取された被験物質が腸内の微生物叢に影響し、盲腸の膨満および軟便が生じたものであろうと考えられた。その他の投与群では雌雄いずれにも有意な変化は認められなかった。

病理組織学的検査；0 および 5000 ppm 投与群の全例の以下の組織および臓器ならびに 300、1000 および 2500 ppm 投与群の全例の肝臓および腎臓の病理組織学的検査を実施した。

脳（大脳、小脳、橋および延髄）、脊髄（頸部、胸部および腰部）、坐骨神経（片側）、下垂体、胸腺、甲状腺および上皮小体（両側）、副腎（両側）、脾臓、骨および骨髓（胸骨、大腿骨；片側）、膝関節（片側）、リンパ節（頸部および腸間膜）、心臓、大動脈、唾液腺（顎下腺および舌下腺）、食道、胃（前胃および腺胃）、肝臓、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、鼻腔、咽頭、喉頭、気管、肺（気管支を含む）、腎臓（両側）、膀胱、精巣（両側）、精巣上体（両側）、前立腺、精のう（両側）、凝固腺（両側）、卵巣（両側）、子宮（子宮角および頸部）、瞳、眼球（両側、網膜および視神経を含む）、ハーダー腺（両側）、骨格筋（下腿三頭筋、片側）、皮膚（腰背部）、乳腺（腹部）、肉眼的異常部位

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

以下の表に統計学的有意差の認められた項目を示す。

肝臓のび慢性肝細胞肥大が 5000 ppm 群の雌雄に認められ、肝臓重量の増加と一致した。腎臓では、5000 ppm 群の雄で近位尿細管上皮細胞硝子滴沈着および尿細管の好塩基性変化の発生頻度が有意に増加した。

増加した硝子滴は Fischer 系の雄ラットに慢性腎症をもたらす  $\alpha_2\mu$  グロブリンであると考えられ、尿細管の好塩基性変化は慢性腎症の初期症状であると評価された。しかし、雌では腎臓の重量増加の裏付けとなる病理組織学的証拠は認められなかった。

以上の結果から、本剤のラットに対する飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験における影響として、5000 ppm 群の雌雄で肝臓、腎臓および盲腸の重量が増加し、び慢性肝細胞肥大が認められた。また、GGTP、TP、Glob の増加および Cl の減少が認められた。さらに雄では、20～30、50～60 分および全期間における自発運動量の有意な増加が認められ、尿量の増加、近位尿細管上皮細胞硝子滴沈着および尿細管の好塩基性変化の発生頻度増加、PLT、リンパ球および好塩基球の増加、BUN、Alb、T.Chol、Ca の増加がみられ、雌では黄/褐色尿の発生頻度増加、APTT の延長がみられた。2500 ppm 群では、雌雄で肝臓重量の増加、雄で腎臓重量の増加、TP、Alb、Ca の増加、Cl の減少、雌で盲腸重量の増加、APTT の延長、Glob の増加が認められた。1000 ppm 群の雄では肝臓重量の増加、雌では APTT の延長が認められた。

従って、当該試験条件下での無毒性量 (NOAEL) は雌雄共に 300 ppm (雄は 17.9 mg/kg/day、雌は 20.6 mg/kg/day) であると判断された。

### 8.4.3 マウスにおける混餌投与による 90 日間反復投与経口毒性試験 (資料 No. T-2.3)

試験機関

報告書作成年 2009 年 [GLP 対応]

検体純度： %

試験動物： ICR 系 CD-1 マウス、1 群雌雄各 10 匹、投与開始時 4~5 週齢

試験期間： 13 週間 (2007 年 3 月 12 日~6 月 12 日)

試験方法： 検体を 0、300、1000、3000 及び 7000 ppm の濃度で飼料に混入し、13 週間にわたって随時摂食させた。

用量設定根拠；

観察・検査項目及び結果：

死亡率： 生死を毎日観察した。  
試験期間を通して死亡はなかった。

一般状態；一般状態を毎日観察した。  
いずれの投与群においても検体投与に関連する所見はなかった。

体重変化；投与開始 1 週間前、投与開始時および 1 週間毎に、すべての動物の体重を測定した。  
いずれの投与群においても検体投与に関連する増減はなかった。

摂餌量； 全ケージについて、毎週 1 回、ケージ別の摂餌量を測定した。  
検体投与に関連する変化はなかった。

検体摂取量；飼料中の検体濃度、群平均摂餌量及び群平均体重から毎週算出した。

群 (ppm)		0	300	1000	3000	7000
平均検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	0	53	176	515	1318
	雌	0	61	214	695	1504

血液学的検査；最終解剖時に全動物から眼窩静脈洞より採血し、以下の項目を検査した。

ヘマトクリット、血色素量、赤血球数、平均赤血球血色素量、  
平均赤血球血色素濃度(MCHC)、平均赤血球容積(MCV)、白血球数(WBC)、  
白血球ディファレンシャルカウント[好中球(N)、リンパ球(L)、好酸球、  
好塩基球(B)、単核球(M)、大型非染色球)、血小板数

以下の表に統計学的有意差の認められた項目を示す。

雄の 7000 ppm 投与群で好中球が有意に増加した。この値は Huntingdon Laboratories (HRC)の背景データの範囲を超えたが、Eye Laboratories (ERC)の背景データの範囲内であった。平均値の上昇は 3 匹の動物が高値を示したためであるが、うち 1 匹には骨関節炎が認められた。雌でも 1000 及び 3000 ppm 投与群で有意な好中球の増加が認められたが、7000 ppm 投与群では変化はなく、投与用量との関連性もなかった。以上の結果を考慮して、投与群で認められた好中球の増加は偶発的な変化であり、検体投与による影響ではないと判断した。雄の全ての投与群で単核球が有意に増加したが、全て ERC の背景データの範囲内であり用量との関連性もなく、雌では同様の影響は認められなかったため、偶発的な変化と判断した。その他の変化には用量との関連性がなく、偶発的なものと考えられた。[申請者注：雄の全ての投与群及び雌の 1000 及び 3000 ppm 投与群において WBC の有意な増加が認められたが、これらは上述した検体投与と関連のない好中球及び単核球の増加傾向を反映した結果であり、検体投与との関連性はないと判断した。]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

参考：雄マウスの好中球及び単核球の背景データ

血液生化学的検査；最終解剖時に全動物から眼窩静脈洞より採血し、以下の項目を検査した。

アルカリホスファターゼ(ALP)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)、総ビリルビン、尿素、グルコース、総コレステロール、ナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム、無機リン、総蛋白、アルブミン、アルブミン/グロブリン比

以下の表に統計学的有意差の認められた項目を示す。

雄の 7000 ppm 投与群で AST が有意に増加したが、これは 1 群 10 匹中 3 匹で AST の高い動物が認められたためであった。しかしながらこれらの動物に AST の上昇と関連する組織所見は認められず、投与用量との関連性もなかった。また、雌では同様の傾向は認められなかった。雌の全ての投与群で総ビリルビンが有意に増加したが、平均値そのものは対照群値と同一であった。その他の有意な変動も、用量との関連性がないことから、偶発的なものと考えられた。

臓器重量；試験終了時に全生存動物の下記臓器の重量を測定し、剖検前の体重による補正値を算出した。

副腎、脳、精巣上体、心臓、腎臓、肝臓、卵巣、脾臓、精巣、胸腺、子宮

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

以下の表に統計学的有意差の認められた臓器重量を示す。

雄の対照群 1 例の肝臓は組織学的検査で全身性の炎症性変化の影響が認められたため、除外して検定を実施した。

雄の 3000 及び 7000 ppm 投与群、及び雌の 1000、3000 及び 7000 ppm 投与群において、肝臓の体重補正重量が有意に増加した。これらは検体投与による影響と考えられた。その他に観察された有意な増減には用量との関連性がなく、また対応する組織学的変化もないことから、偶発的な変化であり投与との関連はないと判断した。

病理解剖学的検査；試験終了時の全生存動物について剖検を行った。

検体の投与による所見は認められなかった。

病理組織学的検査；以下の組織の病理標本を作製し、鏡検した。

全動物：肝臓

対照群及び 7000 ppm 投与群：副腎、大動脈、脳、盲腸、結腸、十二指腸、精巣上体、眼、大腿骨及び関節、胆嚢、心臓、回腸、空腸、腎臓、涙腺、肺及び気管支、リンパ節(下顎、腸間膜、左腋窩)、乳腺(尾側)、食道、卵巣、膵臓、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺、坐骨神経、精嚢、骨格筋、皮膚、脊髄、脾臓、胸骨、胃、精巣、胸腺、甲状腺及び上皮小体、気管、膀胱、子宮及び子宮頸部、肉眼的異常部位

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

以下の表に検体投与に関連した所見を示す。

7000 ppm 投与群の肝臓において、雄で 3 例、雌で 7 例に軽度の胆管周囲性肝細胞肥大が認められた。その他に検体投与に関連する所見はなかった。

以上の結果から、本検体のマウスに対する飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験における影響として、1000 ppm 以上の投与群の雌及び 3000 ppm 以上の投与群の雄における体重補正肝臓重量増加、7000 ppm 投与群の雌雄における門脈周囲性肝細胞肥大が認められた。雄の 3000 ppm 以下及び雌の 1000 ppm 以下の投与群では、検体投与による毒性影響は認められなかった。従って、本試験における無影響量 (NOEL) は 300 ppm (雄 53 mg/kg/day、雌 61 mg/kg/day) と判断された。

[申請者見解：雄の 1000 ppm 投与群では検体投与による影響は認められていないため、雄の無毒性量 (NOAEL) は 1000 ppm (176 mg/kg/day) と考えられた。]



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

#### 8.4.4 ラットにおける混餌投与による 90 日間反復投与神経毒性試験 (資料 No. T-2.4)

試験機関

報告書作成年 2010 年 [GLP 対応]

検体純度: %

試験動物: SD 系ラット、1 群雌雄各 10 匹、投与開始時 6 週齢

試験期間: 13 週間 (2009 年 9 月 21 日～2009 年 12 月 23 日)

試験方法: 検体を 0、1000、5000 及び 15000 ppm の濃度で飼料に混入し、13 週間にわたって  
随時摂食させた。検体を混入した飼料は 2 週間に 1 回調製した。

用量設定根拠;

観察・検査項目及び結果:

死亡率; 生死を毎日観察した。

いずれの投与群においても、試験期間中、死亡は発生しなかった。

一般状態: 一般状態を毎日観察した。

試験期間中、投与に起因した臨床症状は認められなかった。

体重変化; 投与開始前の週から 1 週間毎に、全ての動物の体重を測定した。

統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性別	雄			雌		
	1000	5000	15000	1000	5000	15000
投与量 (ppm)	1000	5000	15000	1000	5000	15000
増体量 (0-13 週)	102	89	89	100	96	↓81

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

Williams 検定 ↑↓;  $p < 0.05$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

全ての週において検体投与に起因する平均体重の低下は認められなかった。0-13週での体重増加量の変動において、雌の15000 ppm投与群で統計学的に有意な増加抑制が認められ、雄の5000 ppm以上の投与群で増加抑制傾向が認められた。

摂餌量； 個体別摂餌量について投与期間を通じ毎週測定した。  
投与による有意な変化は認められなかった。

検体摂取量； 検体の設定混餌濃度、摂餌量及び体重から毎週算出した。  
投与期間中（13週間）の平均検体摂取量は以下の通りであった。

群 (ppm)		1000	5000	15000
平均検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	62	310	927
	雌	77	378	1147

機能観察バッテリー (FOB)； 投与開始前と投与第4、8及び13週目に、全例を対象として以下の項目について神経機能測定試験を行った。

ケージ内観察； 姿勢、痙攣、攣縮、振戦、眼瞼閉鎖、及び自然発声  
ケージからの取り出し時及びその後の観察； ケージからの取り出し易さ、流涎、流涙、眼球突出、立毛、毛並み状態、操作時の発声状況、及び操作時の反応性  
3分間のエリア内での観察； 覚醒、歩行スコア、毛づくろい、活動能計測、後肢立ち回数、眼瞼閉鎖、姿勢、振戦、攣縮、痙攣、排尿／排便回数  
操作時観察； 近接反応、接触反応、聴覚性驚愕反応、尾の痛覚反応、握力-前肢及び後肢、正向反射、体温、着地開脚幅、体重および瞳孔反応  
自発運動量； 投与開始前と投与第4、8及び13週目に、全例を対象として6分間毎、10回の計測による合計1時間の赤外線観測により測定

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を下表に示す。

性別		雄				雌			
投与量(ppm)		0	1000	5000	15000	0	1000	5000	15000
体温	8週	37.5	37.5	37.2	37.4	38.0	38.6↑	38.5↑	38.4↑

Williams 検定 ↑↓: p<0.05

雌の全ての投与群で8週目の体温が有意に高かったが、投与用量との関連性がなく、その他の測定週では同様の変化が認められなかったため、検体投与との関連はないと判断した。自発運動量の測定において、6分毎の計測のいくつかの測定ポイントで統計学的に有意な変動が散見されたが、投与用量との関連性及び変化の継時的一貫

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

性はなく、また合計の運動量にも有意差は認められなかったため、検体投与との関連はないと判断した。その他の測定項目にも統計学的有意差のない群間差が散見されたが、検体投与による影響は認められなかった。

肉眼的病理検査；試験終了時に全動物を対象に検査した。

検体投与による変化は認められなかった。

解剖学的測定；全ての動物について、大脳半球間の吻側部分から小脳の最尾側部まで、及び大脳半球の最大幅を計測した。

検体投与による影響は認められなかった。

臓器重量；全ての動物について脳重量を測定した。

検体投与による影響は認められなかった。

病理組織学的検査；試験終了時に対照群及び15000 ppm投与群の雌雄各5匹を対象に、バルビタールを腹腔内に投与して麻酔し4%パラホルムアルデヒド/1.5%グルタルアルデヒド固定液を用いて灌流固定した後、以下の組織について病理標本を作成し、検鏡した。

脳；大脳(3箇所)、中脳、小脳、橋、延髄

脊髄；頸部(C3-C6)、腰部(L1-L4)

脊髄背根神経節； 頸部(C3-C6)、腰部(L1-L4)

脊髄背根神経線維； 頸部(C3-C6)、腰部(L1-L4)

脊髄腹根神経線維； 頸部(C3-C6)、腰部(L1-L4)

網膜

視神経

骨格筋(腓腹筋)

坐骨神経

脛骨神経

坐骨神経及び脛骨神経は樹脂包埋し、トルイジンブルーで染色した。その他はパラフィン包埋し、HE染色した。

検体投与に関連した病理組織学的所見は認められなかった。末梢神経に軽微な変性が認められたが、対照群および15000 ppm投与群の両群に認められており、投与に起因する変化ではないと判断した。

以上の結果から、本剤のラットに対する90日間飼料混入投与による神経毒性試験における影響として、15000 ppm群の雌及び5000 ppm以上の投与群の雄において体重増加抑制または抑制傾向が認められたが、神経毒性を示唆する変化は認められなかった。[申請者注：従って、本試験における本剤の一般毒性の無影響量(NOEL)は雄で1000 ppm(62 mg/kg/day)、雌で5000 ppm(378 mg/kg/day)、神経毒性に関する無影響量は雌雄ともに15000 ppm(雄：927 mg/kg/day、雌：1147 mg/kg/day)であると判断される。]

## 8.5 慢性毒性及び発がん性

### 8.5.1 イヌにおける一年間反復投与経口毒性試験（資料 No. T-3.1）

試験機関

報告書作成年 2010年 [GLP 対応]

検体純度： %

供試動物： ビーグル犬、1群雌雄各4匹、開始時6ヶ月齢  
 体重 雄；8.4～9.8 kg、雌；7.9～9.6 kg

投与期間： 1年間（雄；2008年4月30日～2009年5月1日）  
 （雌；2008年5月8日～2009年5月12日）

投与方法： 基礎飼料に被験物質を混合し、雄；0、500、3000、25000 ppm、雌；0、500、3000、15000 ppm の濃度で動物に一年間連続投与した。検体を混入した飼料は1週間に1回調製した。

用量設定根拠；

観察・検査項目及び結果：

一般症状及び死亡率；一般症状及び生死を毎日観察した。死亡動物は認められなかった。  
 一般症状については主に認められたものを下表に示す。

一般症状 排泄物

性別	雄				雌			
	0	500	3000	25000	0	500	3000	15000
投与量 (ppm)	0	500	3000	25000	0	500	3000	15000
嘔吐 (餌)	1	1	0	3	0	0	0	2
嘔吐 (泡沫)	3	3	4	3	2	2	3	3
軟便	2	3	2	4	1	1	3	4

Fisher の直接確率検定

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

餌の嘔吐が雄の対照群及び 500 ppm 投与群に各 1 例、25000 ppm 投与群に 3 例、雌の 15000 ppm 投与群の 2 例に認められた。雄の 25000 ppm 投与群の 1 例及び雌の 15000 ppm 投与群の 2 例には複数回の嘔吐が認められたが、その他の動物は単回のみ嘔吐であった。泡沫状液体の嘔吐には群間差は認められなかった。また 25000 ppm 群の雄と 15000 ppm の雌において、軟便の頻度が対照群よりも高かった。これらの一般症状は投与に関連するものと考えられた。

また、投与 1 週目の観察で認められた一般症状の認められた個体数を下表に示す。25000 ppm 群の雄に餌の嘔吐、軟便、粘液便および無便、15000 ppm の雌に泡沫状液体の嘔吐が認められた。

投与 1 週目の観察								
性別	雄				雌			
投与量 (ppm)	0	500	3000	25000	0	500	3000	15000
嘔吐 (餌)	0	0	0	3	0	0	0	0
嘔吐 (泡沫)	0	0	0	0	0	0	0	1
軟便	0	0	0	2	0	0	0	0
粘液便	0	0	0	1	0	0	0	0
無便	0	0	0	1	0	0	0	0

体重変化；全動物について投与開始 1 週間前、投与直前 (0 週) および投与開始 13 週まで毎週 1 回、投与開始後 16 週から 52 週までは 4 週間ごとに 1 回体重を測定した。投与期間中の体重測定は、各週の最終日に行なった。さらに、全動物について剖検のための安楽殺処分前に最終体重を記録した。

投与群では対照群と比較して用量依存的に体重の減少が認められた。25000 ppm 投与群の雄では対照群と比較して顕著に低く、48 と 52 週の体重に有意差が付いた。雌の投与群増体量は正常範囲と判断されるものであった。それゆえ雌の体重変化においては検体投与の関連性はないものと考えられた。

48、52 週目の平均体重及び 0-52 週の増体量を以下に示す。

性別	体重 (kg)							
	雄				雌			
投与量 (ppm)	0	500	3000	25000	0	500	3000	15000
0週	9.1	9.1	9.1	9.2	8.9	8.8	8.9	8.9
48週	13.5	11.6	11.4	10.5↓	12.0	11.7	11.0	10.7
52週	13.6	11.6	11.4	10.5↓	11.9	11.6	11.0	10.7
0-52週	4.5	2.5	2.3	1.3↓	3.0	2.8	2.1	1.8

↑↓; p<0.05, ↑↓; p<0.01 (Dunnett 検定による)。

[申請者注：増体量については申請者にて実施]

また、雄の増体量において投与群と対照群との差が開いていたが、本試験で用いた対照群の増体量が背景データと比較しても大きいことが原因であると考えられた。雄における 13、28、52 週目の増体量と雄の増体量の背景データを以下示す。

週/投与量 (ppm)	背景データ a)	本試験のデータ			
	0	0	500	3000	25000
0-13週	1.7 ± 0.4	2.5 ± 0.6	1.5 ± 0.7	1.3 ± 1.1	0.6 ± 1.1
0-28週	2.3 ± 0.9	3.5 ± 0.9	2.1 ± 0.8	1.8 ± 1.0	1.0 ± 1.4
0-52週	2.5 ± 1.1	4.5 ± 1.2	2.5 ± 0.7	2.3 ± 1.0	1.3 ± 1.5

数値は平均増体量 (kg) ± 標準偏差を示す。

a) 背景データの対照群 (N=8) における増体量。

本試験の対照群の増体量は背景データと比較して顕著に大きく、また 25000 ppm 投与群以外の投与群は背景データと類似していた。このことから投与に関連する体重減少は 25000 ppm 投与群のみであり、3000 ppm 以下の投与群の変化は正常範囲と判断した。

投与 0~1 週目の測定結果を下表に示す。25000 ppm 投与群の雄において体重減少が認められた。

性別	体重 (kg)							
	雄				雌			
投与量 (ppm)	0	500	3000	25000	0	500	3000	15000
0週	9.1	9.1	9.1	9.2	8.9	8.8	8.9	8.9
1週	9.4	9.2	9.2	8.9	9.1	8.9	8.9	8.9

摂餌量； 馴化期間中および投与期間中毎日、各動物の摂餌量を測定した。給餌器の飼料残量を毎日秤量し、各個体の各日の摂餌量を算出した。

25000 ppm 投与群の雄 1 例で 1 週目に大量の食べ残しが認められたが、2 週目には

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

回復した。2週目には別の1例に少量の食べ残しが認められ、これは試験終了時まで継続した。そのため25000ppm投与群の摂餌量は試験期間を通じて低くなったが、対照群と比較して統計学的有意差は認められなかった。対照群でも食べ残しが散見され、食べ残しが認められた週に関しては摂餌量が低下した。

15000ppm投与群の雌1例で1~4週にかけてと51週目に食べ残しが認められたが、対照群と比較して統計学的有意差は認められなかった。対照群においても食べ残しが散見され、食べ残しが認められた週に関しては摂餌量が低下した。これらの雄の25000ppm投与群と雌の15000ppm投与群に認められた摂餌量の低下は検体投与に関連したものと考えられた。

投与1週目の摂餌量を下表に示す。

性別	1日あたり摂餌量 (g/匹)							
	雄				雌			
投与量 (ppm)	0	500	3000	25000	0	500	3000	15000
投与開始前	300	300	300	300	300	300	300	300
1週	300	300	300	239	300	300	300	299

検体摂取量；投与期間を通じた平均検体摂取量を下表に示す。

性別	雄			雌		
投与用量 (ppm)	500	3000	25000	500	3000	15000
平均検体摂取量(mg/kg/day)	13.7	83.5	701	14.1	86.2	448

血液学的検査；投与開始前および投与後13、26、52週時に、すべての動物について橈側皮静脈から採血し、以下の項目の測定を行った。

ヘマトクリット値(Ht)、血色素量(Hb)、赤血球数(RBC)、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素濃度、赤血球分布幅、赤血球血色素濃度分布幅、血小板、網赤血球数、プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)、白血球数、白血球のディファレンシャルカウント；リンパ球、好中球、単球、好酸球、好塩基球、大型非染色球

投与群で統計学的に有意な変化が認められた血液学的検査項目を次表に示す。

### 血液学的検査で認められた統計学的に有意な変化

25000 ppm 投与群の雄において、全ての検査時期でヘマトクリット値(Ht)、血色素量(Hb)、赤血球数(RBC)の有意な減少または減少傾向が認められた。これらの数値の変動は投与期間を通じて認められたことから、検体投与による影響と判断した。

25000 ppm 投与群の雄及び 15000 ppm 投与群の雌において、全ての検査時期で活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)の有意な短縮または短縮傾向が認められた。これらの変化は検体投与に関連する変化であると考えられた。APTT の軽度の短縮はラットやイヌの毒性試験において散見させるが、その毒性学的な重要性は不明である。

その他に認められた統計学的に有意な変動には雄の変動との一貫性がないため、偶発的であると考えられた。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

血液生化学的検査；血液学的検査で使用した血液から得られた血清を用い以下の項目の測定を行った。

アルカリホスファターゼ(ALP)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ、 $\gamma$ グルトミルトランスぺプチダーゼ(GGTP)、クレアチニン、尿素窒素、総タンパク、アルブミン、グロブリン、アルブミン／グロブリン比、血糖、総コレステロール、トリグリセライド、総ビリルビン、Ca、P、Na、K、Cl

投与群で統計学的に有意な変化が認められた検査項目を下表に示す。

血液生化学的検査で認めた統計学的に有意な変化

25000 ppm 投与群の雄と 15000 ppm 投与群の雌において、全ての検査時期で ALP の統計学的に有意な上昇が認められた。ALP は 3000 ppm 投与群の雌雄においても上昇傾向が認められた。これらの上昇は投与期間の延長および用量の増加に伴い重篤化する傾向が認められた。25000 ppm 投与群の雄と 15000 ppm 投与群の雌において、全ての検査時期で GGTP の有意な上昇または上昇傾向が認められた。また 26 及び 52 週目には、3000 ppm 投与群の雄でも上昇傾向が認められた。これらの変化は投与に起因する変化と考えられた。

雄の 25000 ppm 投与群と 3000 ppm においてクレアチニンの減少傾向が 13、26、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

52週目に認められた。25000 ppm 投与群の雄では52週目に有意差が認められた。これらのクレアチニンの減少は90日間反復経口投与毒性試験(資料 No. T-2.1)において認められていないため偶発的な変化と判断した。500 ppm 投与群の雌では13週目に上昇が認められたが、用量相関性は認められなかったため偶発的な変化だと考えられた。

500 ppm 投与群の雄と15000 ppm 投与群の雌において血糖の上昇が13週目と52週目にそれぞれ認められた。90日間試験においては25000 ppm 投与群の雄で血糖値の低下が認められており、本試験の結果とは変化の方向に一貫性がなかった。故に本試験における血糖値の変化は偶発的な変化であると考えられる。

尿検査； 投与開始前および投与後13、26、52週時すべての動物に関する尿検査を以下の項目について行った。

比重、ウロビリノーゲン、蛋白質、pH、潜血、ケトン体、ビリルビン、ブドウ糖、外観、尿量、尿沈渣

統計学的に有意な変化が認められた検査項目を下表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

26、52週目の検査において25000 ppm 投与群の雄でpHの低下が認められた。臓器重量測定において雄の25000及び3000 ppm 投与群の腎臓の相対重量の増加が認められているため、これらの変化は検体投与に関連すると考えられた。雌では著変は認められなかった。

13週目の検査で尿比重の上昇が25000 ppm 投与群の雄で認められた。しかし、同群の尿比重は試験開始前から有意に高かったため、検体投与に関連する変化とは考えられなかった。

眼科学的検査；投与開始前および投与後13、26、52週時に全動物について、検眼鏡による観察を含む眼科学的検査を実施した。検査では眼の以下の部位を観察した。

眼球、眼瞼、結膜、角膜、前眼房、瞳孔、虹彩、水晶体／硝子体、眼底

限局性の角膜混濁が13週目の検査で500 ppm 投与群の雄1例で、52週目の検査で3000 ppm 投与群の雄1例で認められた。また、13、26、52週目の検査で3000 ppm 投与群の雌1例の眼底に光輝性斑が認められた。しかし、これらの変化には用量相関性が認められなかったため検体投与に関連するものとは考えられなかった。

臓器重量；投与終了時（投与52週後）に計画殺した雌雄すべての動物について臓器重量測定を実施した。

脳、下垂体、甲状腺(上皮小体を含む)、心臓、肝臓(胆のうを含む)\*、腎臓、脾臓、副腎、精巣、精巣上体、前立腺、卵巣、子宮

\*胆のうから胆汁を排出した後に測定

投与群で統計学的に有意な変化が認められた臓器重量を下表に示す。

統計学的に有意な臓器重量の変化

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

肝臓では 25000 ppm 投与群の雄の絶対重量と相対重量、15000 ppm 投与群の雌の相対重量の増加が認められた。また、腎臓では雄の 25000 ppm 投与群と 3000 ppm 投与群の相対重量において増加が認められた。

肉眼的病理検査；試験終了時の全生存動物について剖検を行った。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

肝臓での暗調化と腫大が 25000 ppm 投与群の雄 4 例で認められた。15000 ppm 投与群の雌では暗調化が 2 例、腫大が 3 例に認められた。

病理組織学的検査；すべての動物の以下に示す臓器および器官について病理組織学的検査を実施した。

脳(大脳、小脳、橋及び延髄)、脊髄(頸部、胸部及び腰部)、坐骨神経、下垂体、胸腺、甲状腺、上皮小体、副腎、脾臓、骨及び骨髄(胸骨、片側大腿骨)、リンパ節(頸部及び腸間膜)、心臓、大動脈、咽頭、唾液腺(下顎腺及び耳下腺)、食道、胃、肝臓、胆のう、膵臓、十二指腸、空腸、回腸(パイエル氏板を含む)、盲腸、結腸、直腸、鼻腔、喉頭、気管、肺(主要気管支を含む)、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、卵巣、子宮(角部、体部及び頸管部)、膣、眼球(網膜及び視神経を含む)、涙腺、下腿三頭筋、皮膚、乳腺、肉眼的異常部位

投与に関連すると考えられる病理組織学的変化の各用量群における発生頻度を下表に示す。

投与に関連すると考えられる病理組織学的変化の発生頻度

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

肝臓での小葉中心性肝細胞肥大が 25000 ppm 投与群の雄 3 例に認められた。また、25000 ppm 投与群の雄 1 例にクッパー細胞の褐色色素沈着が認められた。この褐色色素はシュモール反応に陽性、プルシアン青に陰性を示すことからリポフスチンと推測された。

以上の結果から、本剤のビーグル犬に対する 1 年間反復投与経口毒性試験における影響として、25000 ppm 投与群の雄に餌の嘔吐、軟便の増加、体重抑制、摂餌量の低下、ヘマトクリット値、血色素量、赤血球数の減少、ALP、GGTP の上昇、尿 pH の低下、肝重量、腎重量の増加、肝臓の暗調化、腫大の増加、小葉中心性肝細胞肥大・クッパー細胞褐色色素沈着が、15000 ppm 投与群の雌に餌の嘔吐、軟便の増加、摂餌量の低下、ALP、GGTP の上昇、肝重量の増加、肝臓の暗調化・腫大の増加が、3000 ppm 投与群の雄に ALP、GGTP の上昇傾向、腎重量の増加が、3000 ppm 投与群の雌に ALP の上昇傾向が認められた。

よって、無毒性量 (NOAEL) は雌雄とも 500 ppm (雄 : 13.7 mg/kg/day、雌 : 14.1 mg/kg/day) と判断された。

[申請者注: 短期暴露評価に関して、25000 ppm 投与群の雄で投与 1 週目に餌の嘔吐と軟便、粘液便、無便、体重減少および摂餌量の低下を認めた。これらはいずれも検体投与の影響と考えられた。一方、15000 ppm 投与群の雌で投与 1 週目に泡沫状液体の嘔吐および摂餌量の低下が認められたが、泡沫状液体の嘔吐は対照群でも認められている所見が 1 例のみに認められたものであり、摂餌量は 1 例が一日あたり給餌量 300 g のうちわずか 5 g の低下を示したことによるものである。よって 15000 ppm 投与群の雌で認められた所見は短期暴露評価においてエンドポイントとするのは適切ではないと考えられる。

以上より、本試験における急性参照用量設定のための無毒性量は、15000 ppm 投与群における 448 mg/kg/day と考えられる。]