

農 薬 抄 録

エタボキサム

(殺菌剤)

(作成年月日) 平成21年 1月13日

平成21年 9月 1日改訂

平成23年12月12日改訂

(作成会社名)

住友化学株式会社

| | (会社名) | (担当部課) | (担当者) |
|-----|----------|--------|-------|
| 連絡先 | 住友化学株式会社 | | |

目次

| | 頁 |
|-----------------------|-------|
| I. 開発の経緯 | 1 |
| II. 物理的・化学的性状 | 3 |
| III. 生物活性 | 17 |
| IV. 適用および使用上の注意 | 20 |
| V. 残留性および環境中予測濃度算定関係 | 22 |
| VI. 有用動植物等に及ぼす影響 | 35 |
| VII. 使用時安全上の注意、解毒法等 | 47 |
| VIII. 毒性 | |
| <毒性一覧表> | T-1 |
| 1. 原体 | |
| 1) 急性毒性 | T-7 |
| 2) 皮膚および眼に関する刺激性 | T-11 |
| 3) 皮膚感作性 | T-14 |
| 4) 急性神経毒性 | T-16 |
| 5) 急性遅発性神経毒性 | T-18 |
| 6) 90日間反復経口投与毒性 | T-19 |
| 7) 21日間反復経皮投与毒性 | T-42 |
| 8) 90日間反復吸入投与毒性 | T-43 |
| 9) 反復経口投与神経毒性 | T-44 |
| 10) 28日間反復経口投与遅発性神経毒性 | T-51 |
| 11) 慢性毒性および発がん性 | T-52 |
| 12) 繁殖性に及ぼす影響および催奇形性 | T-121 |
| 13) 変異原性 | T-157 |

| | |
|-----------------------|-------|
| 1 4) 生体機能に及ぼす影響試験 | T-174 |
| 1 5) その他 | T-180 |
| 2. 原体混在物および代謝物 | |
| 1) 急性毒性 | T-187 |
| 2) 90日間反復経口投与毒性 | T-188 |
| 3) 変異原性 | T-195 |
| 3. 製剤毒性 | |
| 1) 急性毒性 | F-1 |
| 2) 皮膚および眼に関する刺激性 | F-3 |
| 3) 皮膚感作性 | F-6 |
| IX. 動植物および土壌等における代謝分解 | |
| <代謝分解試験一覧表> | M-1 |
| <代謝分解物の名称および構造式一覧表> | M-9 |
| <各代謝試験で用いた供試標識化合物> | M-13 |
| 1. 動物体内運命に関する試験 | M-14 |
| 2. 植物体内運命に関する試験 | M-53 |
| 3. 土壌運命に関する試験 | M-88 |
| 4. 水中運命に関する試験 | M-117 |
| 5. 土壌吸着試験 | M-136 |
| 6. その他 | |
| 加工処理条件下における加水分解試験 | M-143 |
| 7. 参考 | |
| 未知代謝物の同定に関する試験 | M-147 |
| 代謝分解のまとめ | M-149 |
| 図1. エタボキサムの代謝分解経路図 | M-153 |
| 表1. 代謝分解の概要 | M-154 |
| 付録：エタボキサムの開発年表 | 付-1 |

I. 開発の経緯

1. 開発の経過

エタボキサムは、エルジーライフサイエンス社（LGLS社：大韓民国ソウル特別市永登浦区汝矣島同20）が長年の研究に基づき、開発した殺菌剤である。エタボキサムの特許は、1997年に開発者であるLGLS社が取得している（特許2614700）。

本化合物は、2-アミノチアゾールカルボキサミドから誘導合成されたチアゾールカルボキサミド系の新規化合物である。

LGLS社は、カルボキサミドを軸にチアゾール誘導体の特定の糸状菌に対する効果に着目し、類縁化合物の活性評価を実施した結果、本化合物の発見に至った。その後、薬効、薬害および安全性の面から種々検討を加え、その作用機序から抵抗性発達の可能性は少なく、他系統の薬剤に対し交差抵抗性が生じないと予想され、本化合物の開発を決定した。

本剤の作用を解明するため各種の作用特性試験を実施した。その結果、現在までに明確な作用機序の特定には至っていない。しかし、室内における生物活性の検討をした結果、病原菌に対する予防効果（胞子形成阻害）を示すのに加え、葉内への移行性および浸透移行性を有していることが示唆されている。更に、薬剤耐性発達のリスクおよび他系統の薬剤に対する交差耐性リスクを検討した結果、エタボキサムに耐性の変異株が出現するリスクはフェニルアミド系剤のそれよりも小さいと推察された。また、エタボキサムとフェニルアミド系剤およびストロビルリン系剤に対しては交差抵抗性のリスクはないと考えられた。

エタボキサムを有効成分として12.5%含有するフロアブルは、SCF-005SCの試験名で（社）日本植物防疫協会を通じて、2005年度より圃場および施設における防除効果確認試験を実施し、本剤が各種べと病、疫病に高い防除効果を示すことを確認した。

卓越した効果を示した糸状菌としては、*Phytophthora infestans*、*Phytophthora capsici*、*Pseudoperonospora cubensis*、*Bremia lactucae*、*Plasmopara viticola*などが挙げられる。すなわち、ばれいしょの疫病、トマトの疫病、きゅうりのべと病、はくさいのべと病および根こぶ病、ぶどうのべと病、レタスのべと病、トウガラシのべと病および根こぶ病などの病害に対する防除効果を有することが明らかとなった。

2. 諸外国での開発状況

米合衆国において、2007年1月に輸入のための残留基準値が設定された。欧州連合において、2003年11月にラポーター国である英国にドシエを提出し、現在審査中である。韓国、南米等において、ばれいしょ、トマトの疫病、べと病に対する効力試験を実施し、有効であるとの結果を得つつあり、開発を継続中である。

なお、エタボキサムについて、FAO/WHO合同残留農薬専門家会議における評価は現在のところ行われていない。

諸外国におけるエタボキサムの登録状況（平成20年6月現在）

| 国名 | 初回登録年月日 | 製品名 | 適用作物 |
|---------|-------------|----------------|--------------------------------------------|
| 韓国 | 1999年3月4日 | Guardian 25%WP | きゅうり、じゃがいも、唐辛子 |
| | 2003年11月10日 | Tellus 15%SC | トマト、じゃがいも、唐辛子、ごま、たまねぎ、ぶどう、きゅうり、メロン、白菜、高麗人参 |
| タイ | 2007年6月 | Bocum 10%SC | じゃがいも、トマト、きゅうり |
| | 2007年6月 | Tabox 10%SC | ぶどう |
| モルドバ | 2005年1月26日 | Mitsuri 10%SC | ぶどう |
| エクアドル | 1999年5月22日 | ETHOFIN 10%SC | バラ、じゃがいも |
| メキシコ | 2007年5月29日 | ETHOFIN 10%SC | バラ |
| コロンビア | 2001年1月9日 | ETHOFIN 10%SC | バラ、じゃがいも |
| アルジェリア | 2003年9月24日 | ETHABOXAM10%SC | ぶどう、トマト |
| チュニジア | 2007年7月 | ETHABOXAM10%SC | ぶどう、トマト、リンゴ |
| サウジアラビア | 2006年8月26日 | Guardian 10%SC | じゃがいも、トマト、きゅうり |
| ルーマニア | 2005年4月21日 | TRIUMF10SC | じゃがいも |

II. 物理的・化学的性状

1. 名称および化学的構造

1) 有効成分の一般名

エタボキサム、ethaboxam (ISO)

2) 別名

商品名：エトフィンフロアブル

試験名：LGC-30473、SCF-005SC

3) 化学名

IUPAC：

(*RS*)-*N*-(α -シアノ-2-テニル)-4-エチル-2-(エチルアミノ)-1,3-チアゾール-5-カルボキサミド

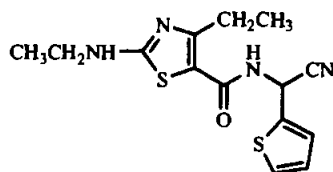
(*RS*)-*N*-(α -cyano-2-thenyl)-4-ethyl-2-(ethylamino)-1,3-thiazole-5-carboxamide

C A：

N-(シアノ-2-チエニルメチル)-4-エチル-2-(エチルアミノ)-5-チアゾールカルボキサミド

N-(cyano-2-thienylmethyl)-4-ethyl-2-(ethylamino)-5-thiazolecarboxamide

4) 構造式



5) 分子式

$C_{14}H_{16}N_4OS_2$

6) 分子量

320.43

7) CAS No.

162650-77-3

2. 有効成分の物理的・化学的性状

| 項目 | 測定値 (測定条件) | | 測定方法 | 試験機関 (報告年) |
|------------------------|--------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| 1) 色調 | 白色 (室温) | | EPA/OPPTS830.6302、 830.6303、830.6304 | Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国、2002年) ^{*1} (GLP) |
| 2) 形状 | 固体粉末 (20℃) | | 官能試験 EPA/OPPTS830.6303 | |
| 3) 臭気 | 無臭 (室温) | | 官能試験 EPA/OPPTS830.6304 | |
| 4) 密度 | 1.307g/cm ³ (20℃) | | 比重びん法 12 農産 8147 号 OECD109 | (株) 日曹分析 センター ^{*3} (2008年) (GLP) |
| 5) 融点 | 185℃で融解時に分解のため測定不能 | | 金属ブロック法 EECA1、OECD102、 EPA/OPPTS830.7200 | Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国、2002年) ^{*1} (GLP) |
| 6) 沸点 | 185℃で融解時に分解のため測定不能 | | — | |
| 7) 蒸気圧 | 8.1×10 ⁻⁵ Pa (25℃) | | EECA4、OECD104、 EPA/OPPTS830.7950 | |
| 8) 解離定数 (pKa) | 3.6 (20℃) | | 分光光度法、OECD112 EPA/OPPTS830.7370 | |
| 9) 溶解度 | 水 | 4.8mg/L (20℃) (精製水) | カラム溶出法 EECA4、OECD105、 EPA/OPPTS830.7840 | |
| | 有機溶媒・ 原体 | n-ヘプタン | 0.39mg/L (20℃) | Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国、2002年) ^{*2} (GLP) |
| | | キシレン | 0.14g/L (20℃) | |
| | | メタノール | 17.6g/L (20℃) | |
| | | n-オクタノール | 0.374g/L (20℃) | |
| | | アセトン | 39.7g/L (20℃) | |
| | | 酢酸エチル | 10.6g/L (20℃) | |
| | 1,2-ジクロロエタン | 2.90g/L (20℃) | | |
| 10) n-オクタノール/ 水分配係数 | Log Pow= 2.73 (pH4) Log Pow= 2.89 (pH7) Log Pow= 2.91 (pH10) | | フラスコ振とう法 EECA 8、OECD107、 EPA/OPPTS830.7550 | Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国、2002年) ^{*1} (GLP) |
| 11) 生物濃縮性 試験 | n-オクタノール/水分配係数が 3.5 未満の ため省略 | | — | — |
| 12) 土壌吸着 係数 | | K _F ^{ads} K _{FOC} ^{ads} | | |
| | 土壌 1 (宮崎) | 2.31 335 25℃ | 12 農産第 8147 号 OECD106 | (財) 化学物質 評価研究機構 (2008年) (GLP) |
| | 土壌 2 (埼玉) | 8.02 251 | | |
| | 土壌 3 (栃木) | 13.0 903 | | |
| | 土壌 4 (茨城) | 14.8 286 | | |

^{*1}: PC-01 (報告書 No.LKF027/014116) ^{*2}: PC-02 (報告書 No.LKF028/014165)

^{*3}: PC-03 (報告書 No.NCAS 07-238)

| 項目 | 測定値 (測定条件) | 測定方法 | 試験機関 (報告年) |
|------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| 13) 加水分解性 | チアゾール環標識体 (20℃) pH4 半減期: 187.2 日 pH7 半減期: 1547.9 日 pH9 半減期: 173.2 日 | 91/414EEC | Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国, 2002年) *4 (GLP) |
| | チオフェン標識体 (20℃) pH4 半減期: 202.0 日 pH7 半減期: 1198.7 日 pH9 半減期: 154.6 日 | | |
| | 両標識体合算による半減期 (20℃) pH4 半減期: 194.4 日 pH7 半減期: 1348.7 日 pH9 半減期: 163.3 日 | | |
| 14) 水中光分解性 | 緩衝液 試験条件 温度: 20±3℃ 照射時間: 143.62 時間 照射強度: 38.7W/m ² 測定波長域: 300-400 nm 半減期 チアゾール環標識体 33.7 時間 チオフェン標識体 30.6 時間 | EPA N161-2 | Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国, 2003年) *5 (GLP) |
| | 自然水 試験条件 温度: 25±2℃ 照射時間: 72 時間 照射強度: 43.5W/m ² 測定波長域: 300-400 nm 半減期 チアゾール環標識体 12.7 時間 チオフェン標識体 13.6 時間 | 12 農産第 8147 号 | Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国, 2008年) *6 (GLP) |
| 15) 安定性 | 対熱 室温から 150℃まで安定 | TGA 法および DTA 法 12 農産第 8147 号 OECD113 | (株) 日曹分析センター (2008年) *7 (GLP) |
| 16) スペクトル | ①~③UV/VIS、④IR、⑤MS、⑥ ¹ H-NMR | OECD101 EPA/OPPTS830.7050 | Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国, 2002年) *1 (GLP) |
| | ⑦ ¹³ C-NMR | 12 農産第 8147 号 OECD101 | (株) 日曹分析センター (2008年) *8 (GLP) |

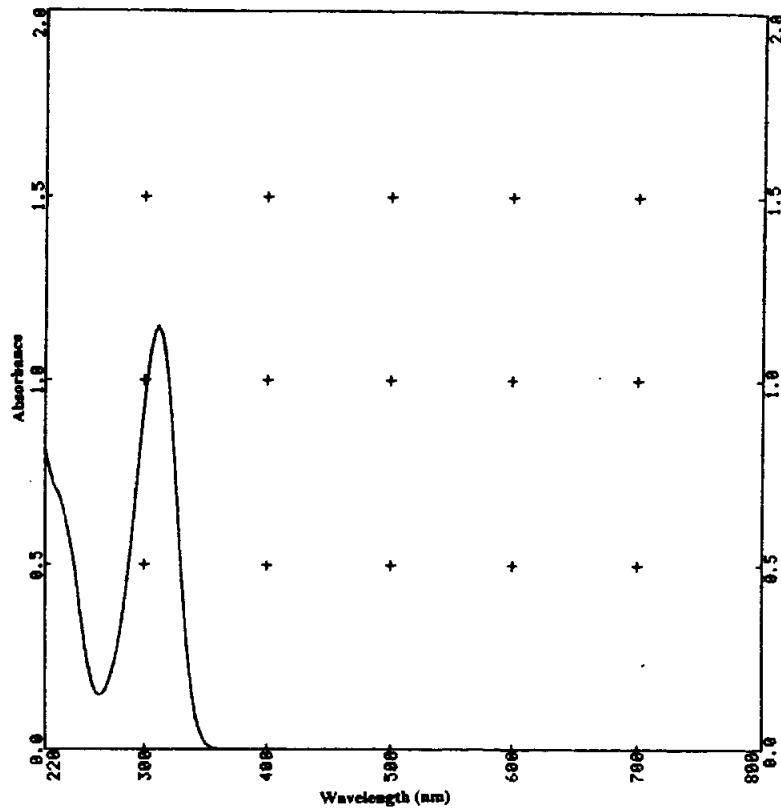
*1: PC-01 (報告書 No.LKF027/014116) *4: PC-07 (報告書 No.LKF030/012391)

*5: PC-08 (報告書 No.LKF053/022459) *6: PC-09 (報告書 No.VFX050/074458)

*7: PC-04 (報告書 No.NCAS 08-243) *8: PC-05 (報告書 No.NCAS 07-239)

16) スペクトル

① UV/VIS スペクトル[精製水/アセトニトリル (4 : 1v/v)] (中性)



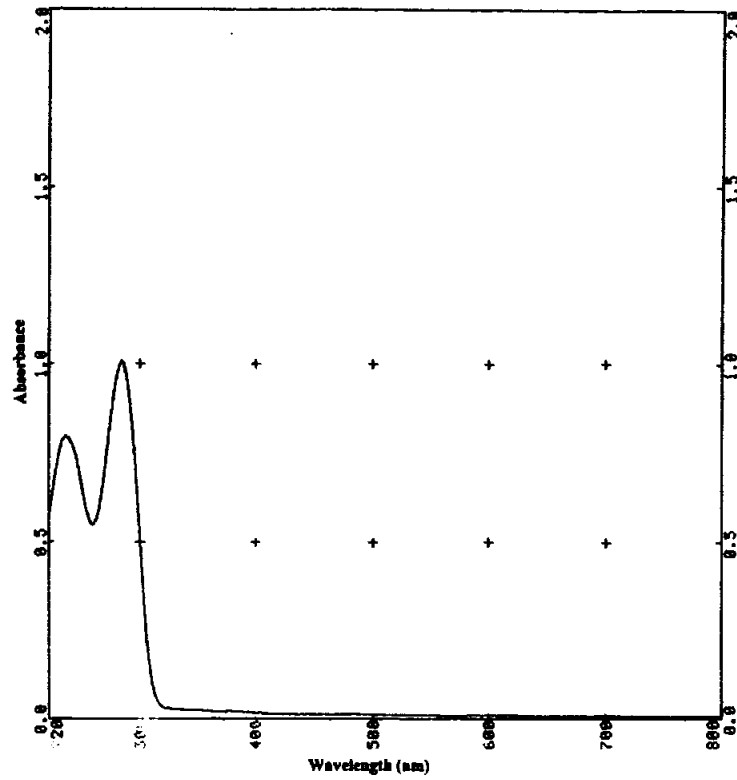
分析条件

| | |
|-----|---------------------------------------|
| 濃 度 | 19.92mg/L 溶液[精製水/アセトニトリル (4 : 1v/v)] |
| 光路幅 | 1.0nm (石英セル) |

帰 属

| 最大吸収波長 | 吸収 | モル吸光係数 |
|--------|-------|-------------------------------|
| 311 nm | 1.144 | 18400 dm ³ /mol/cm |

② UV/VIS スペクトル[0.125M HCl 水溶液/アセトニトリル (4 : 1v/v)] (酸性)



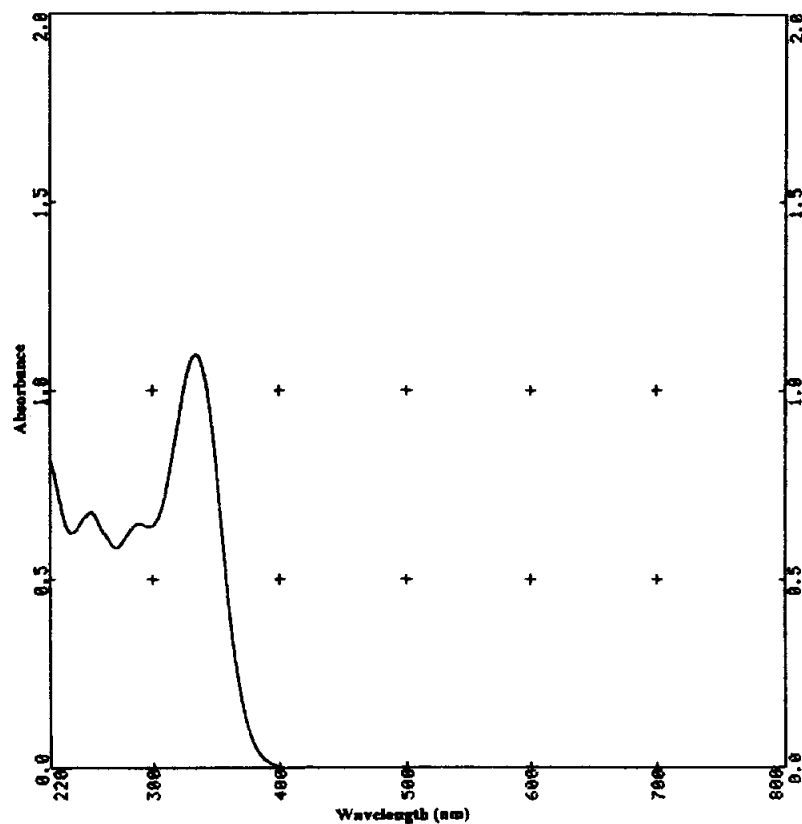
分析条件

| | |
|-----|------------------------------------------------|
| 濃度 | 19.92mg/L 0.125M HCl 水溶液/アセトニトリル (4 : 1v/v) |
| 光路幅 | 1.0nm (石英セル) |

帰属

| 最大吸収波長 | 吸収 | モル吸光係数 |
|--------|-------|-------------------------------|
| 235 nm | 0.794 | 12800 dm ³ /mol/cm |
| 284 nm | 1.006 | 16200 dm ³ /mol/cm |

③UV/VIS スペクトル[0.125M NaOH 水溶液/アセトニトリル (4 : 1v/v)] (アルカリ性)



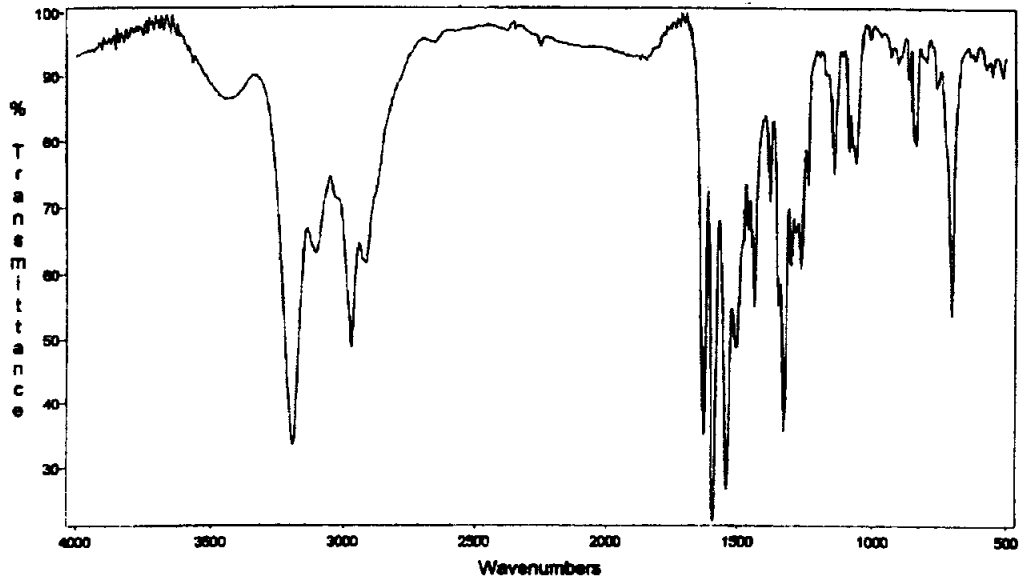
分析条件

| | |
|-----|-------------------------------------------------|
| 濃度 | 19.92mg/L 0.125M NaOH 水溶液/アセトニトリル (4 : 1v/v) |
| 光路幅 | 1.0nm (石英セル) |

帰属

| 最大吸収波長 | 吸収 | モル吸光係数 |
|--------|-------|-------------------------------|
| 252 nm | 0.622 | 10900 dm ³ /mol/cm |
| 289 nm | 0.647 | 10400 dm ³ /mol/cm |
| 335 nm | 1.098 | 17700 dm ³ /mol/cm |

④IR スペクトル



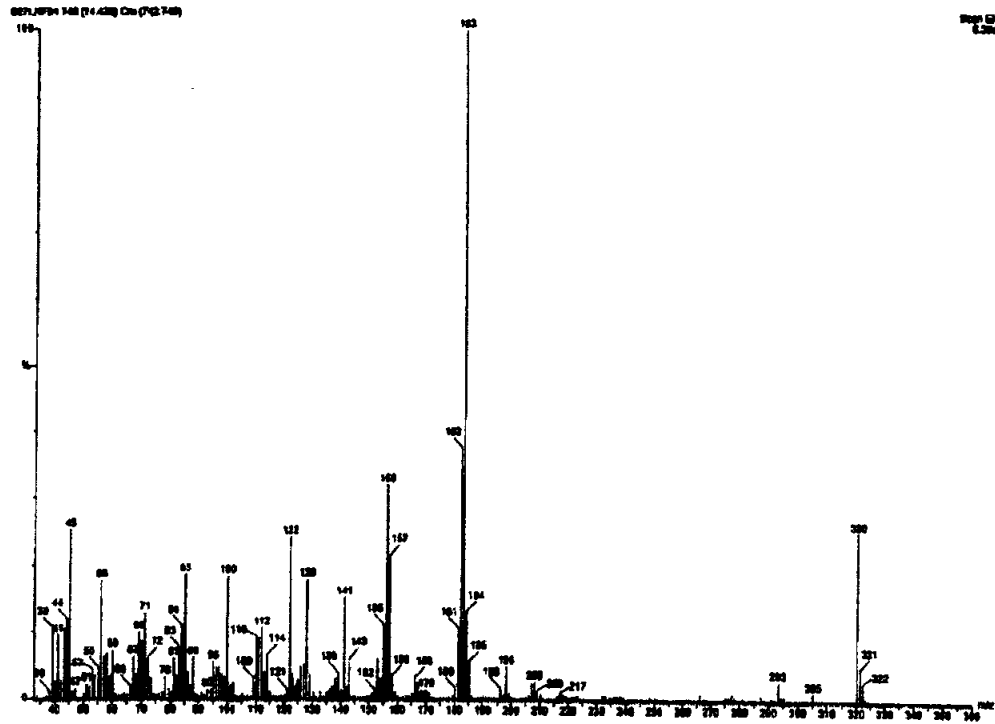
分析条件

分析機器：Mattson Galaxy 3020 フーリエ変換赤外 (FT-IR) 分光計
 試料調製：臭化カリウム錠剤成型

帰 属

| 吸収波長 (cm ⁻¹) | 部位 |
|--------------------------|------------------------------------------------------------------|
| >3000 | C-H (芳香族) N-H (結合水素) |
| 2900~3000 | C-H (アルキル) |
| 2250 | C≡N |
| 1500~1650 | C-C (芳香族) C=O N-H |
| 1000~1400 | CH, CH ₂ , CH ₃ (アルキル) C-N C-H (芳香族) |
| >1000 | C-S CH ₂ (アルキル) C-H (芳香族) N-H |

⑤MS スペクトル



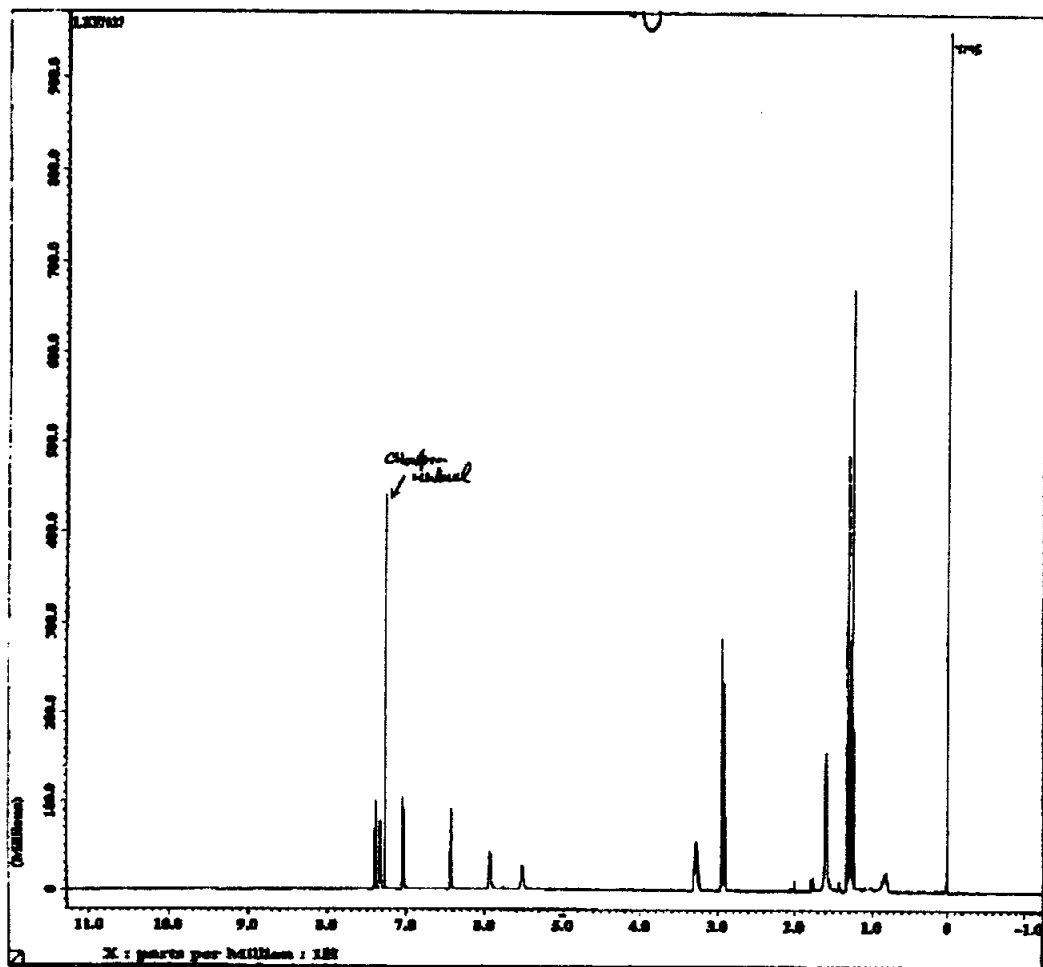
分析条件

| | |
|---------|----------------------------|
| 分析器の種類 | Finnigan-Masslab TRIO 1000 |
| イオン化モード | EI |

帰 属

| m/z | フラグメント |
|-----|--------------------------------------------------------|
| 320 | 分子イオン |
| 293 | 分子イオンから CN および H ⁺ の喪失 |
| 183 | 分子イオンから NH-CH(CN)-(C ₄ H ₃ S)の喪失 |
| 156 | m/z=183 からの C=O と H ⁺ の喪失 |
| 122 | CH(CN)-(C ₄ H ₃ S) |

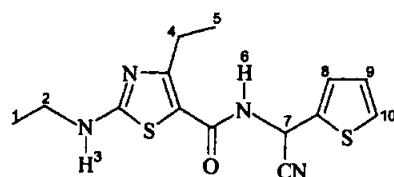
⑥¹H-NMR スペクトル



分析条件

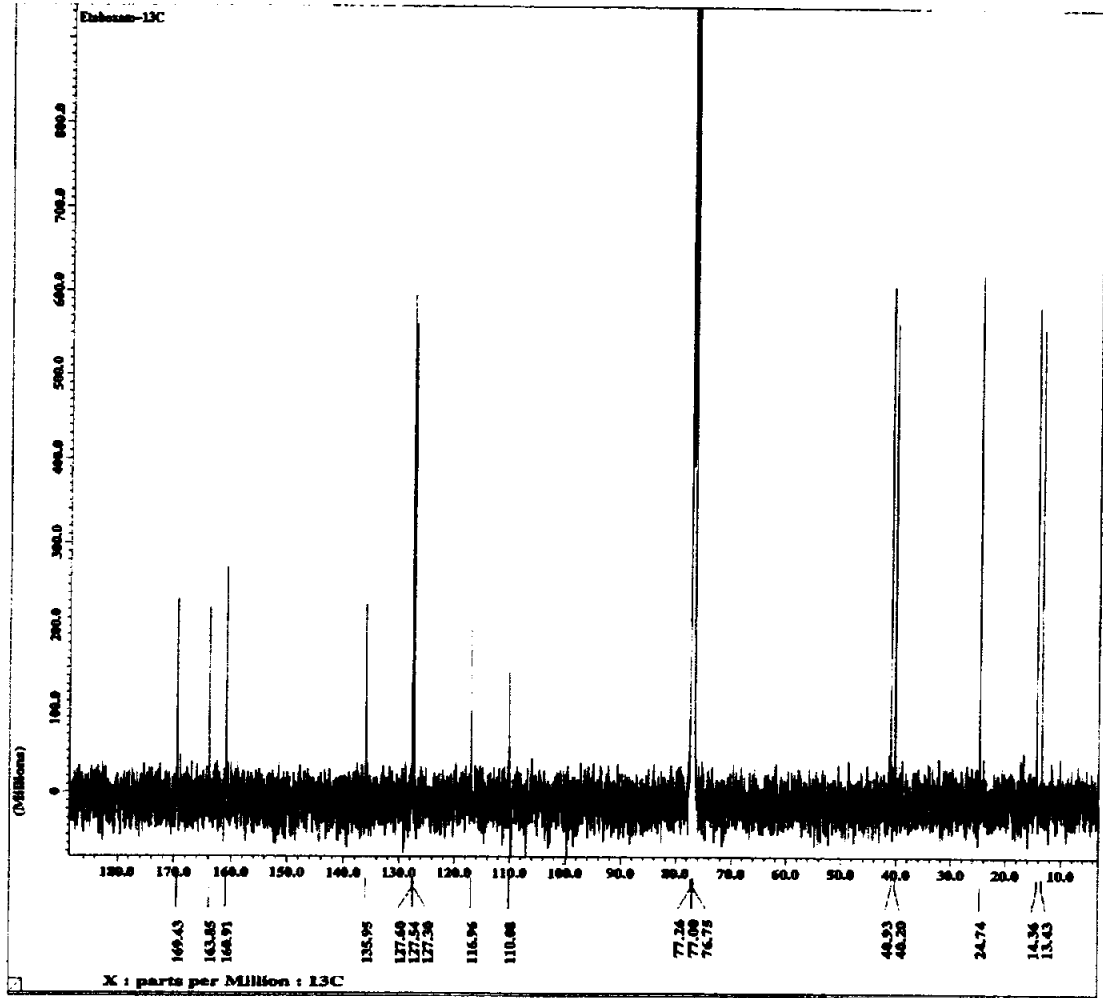
| | |
|------|-----------------|
| 装置 | JEOL GX 400 MHz |
| 操作温度 | 26.0°C |
| 溶媒 | 重クロロホルム |

帰属



| No. | 化学シフト[ppm] | プロトン数 | 帰属 |
|-----|------------|-------|--------------------------------------|
| 10 | 7.38 | 1 | SCHCHCH |
| - | 7.26 | - | 溶媒 |
| 8 | 7.33 | 1 | SCHCHCH |
| 9 | 7.04 | 1 | SCHCHCH |
| 7 | 6.43 | 1 | CN-CH |
| 6 | 5.93 | 1 | (CO)NH |
| 3 | 5.52 | 1 | CH ₃ CH ₂ NH |
| 2 | 3.28 | 2 | CH ₃ CH ₂ NH |
| 4 | 2.93 | 2 | CH ₃ CH ₂ -C=C |
| - | 1.60 | - | 水 |
| 1 | 1.30 | 3 | CH ₃ CH ₂ NH |
| 5 | 1.26 | 3 | CH ₃ CH ₂ -C=C |

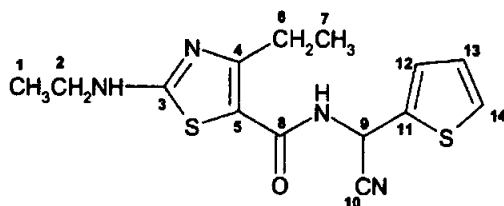
⑥ ^{13}C -NMR スペクトル



分析条件

| | |
|------|-------------------------|
| 装置 | JNM-ECA500、JEOL 125 MHz |
| 操作温度 | 25.0℃ |
| 溶 媒 | 重クロロホルム |

帰 属



| No. | δ_c | No. | δ_c |
|-----|------------|-----|------------|
| 1 | 14.36 | 8 | 160.91 |
| 2 | 40.20 | 9 | 40.93 |
| 3 | 169.43 | 10 | 116.96 |
| 4 | 163.85 | 11 | 135.95 |
| 5 | 110.08 | 12 | 127.60 |
| 6 | 24.74 | 13 | 127.30 |
| 7 | 13.43 | 14 | 127.54 |

3.原体の成分組成

| 区分 | 名称 | | 構造式 | 分子式 分子量 | 含有量 規格値 (通常値) |
|------|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|-----|--------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| | 一般名 又は略称 | 化学名 | | | |
| 有効成分 | エタポキサム LGC-30473 | (<i>RS</i>) - <i>N</i> -(α -シアノ-2-テニル)-4-エチル-2-(エチルアミノ)-1,3-チアゾール-5-カルボキサミド | | C ₁₄ H ₁₆ N ₄ OS ₂ 320.43 | |

4. 製剤の組成

1) 12.5%水和剤 (エトフィンフロアブル)

| | | |
|---------------|-------|-------|
| エタポキサム | | 12.5% |
| 有機溶剤、界面活性剤、水等 | | 87.5% |

Ⅲ. 生物活性

1. 活性の範囲

エタボキサムは新規に開発されたチアゾールカルボキサミド系の殺菌剤である。

代表的な薬効としては、*Phytophthora infestans*、*Phytophthora capsici*、*Pseudoperonospora cubensis*、*Bremia lactucae*、*Plasmopara viticola* などの糸状菌によるばれいしょの疫病、トマトの疫病、きゅうりのべと病、はくさいのべと病および根こぶ病、ぶどうのべと病、レタスのべと病、トウガラシのべと病および根こぶ病などの病害に対する防除効果が挙げられる。

(1)室内試験による活性の範囲の検討

エタボキサムの生物活性の範囲を室内試験で評価した。予防効果、治癒効果、葉内移行性および植物体内浸透移行性についてグラスチャンバーを用いて検討した。

予防効果の検討では、50 ppmでぶどうのべと病、ばれいしょの疫病、トマトの疫病および赤トウガラシの疫病の発生を完全に阻止した。10 ppmにおける防除価は、それぞれ、100、60、94および95%であった。

治癒効果の検討では、*Phytophthora infestans*の遊走子接種24時間後に250 ppmのエタボキサムを処理した。結果、エタボキサムの防除価は38%であり、弱い効果が認められた。

葉内移行性の検討では、葉の片面に病原菌を接種しその反対側に250 ppmのエタボキサムを処理した。葉の裏面に病原菌を接種し表面にエタボキサムを適用した場合の防除価は94%、また、葉の表面に病原菌を接種し裏面にエタボキサムを適用した場合の防除価は98%であった。

浸透移行性の検討では、250 ppmのエタボキサムを土壌表面に全面処理した後、茎葉における防除価を調べた。防除価は78%であった。さらに¹⁴C標識エタボキサムを用いてトマトおよびトウガラシにおける浸透移行性を検討した結果、土壌表面処理後、標識化合物のトマトおよびトウガラシの苗全体への分布が認められた。

これらの結果から、エタボキサムは室内試験において、50 ppmで優れた予防効果を有し、250 ppmで葉内移行性を有することが示された。また、250 ppmで浸透移行性を有することが示唆された。

(2)圃場試験による活性の確認

日本国内では、2005年度から各地の試験機関で12.5%フロアブル(SC)剤の薬効・薬害試験が実施された。

2005年から2007年までに(社)日本植物防疫協会の委託試験として実施した薬効・薬害試験の概要を次の表に示す。はくさい、トマト、きゅうり、ばれいしょ、ぶどうの疫病やべと病に対しては希釈倍率500~1500倍(濃度範囲83.3~250 ppm、有効成分量20.83~87.5 g/10a(概ね25~50 g/10a))で茎葉散布処理を行い、はくさいの根こぶ病に対しては67~100倍(濃度範囲1250~1875 ppm、有効成分量125~187.5 g/10a)で全面土壌表面散布後土壌混和処理を行った。

| 対象作物 | 対象病害 | 希釈倍率 (倍) | 成分濃度 (ppm) | 有効成分量 (g/10a) |
|-------|------|-------------|---------------|------------------|
| ばれいしょ | 疫病 | 500~750 | 167~250 | 33.3~87.5 |
| トマト | 疫病 | 1000~1500 | 83.3~125 | 25.0~43.75 |
| きゅうり | べと病 | 500~1500 | 83.3~125 | 20.83~50 |
| はくさい | べと病 | 1000 | 125 | 25~50 |
| | 根こぶ病 | 67~100 | 1250~1875 | 125~187.5 |
| ぶどう | べと病 | 1000~1500 | 83.3~125 | 20.83~43.75 |

これらの試験の結果、12.5%フロアブル剤は登録申請薬量において、対照薬剤とほぼ同等またはそれ以上の効果を有することが示された。また、いずれの試験においても薬害は認められなかった。

また、対象作物に対して倍濃度処理による薬害の可能性を検討した。倍濃度薬害試験ではいずれの対象作物に対しても薬害は認められなかった。

対象作物の周辺圃場で栽培する適用対象外の作物を想定した薬害の可能性を検討した。大豆、いんげんまめ（大正金時）、小豆、小麦に500倍（ばれいしょの登録申請薬量）および250倍で散布処理した。小豆および小麦に対しては各1例の試験例であるが薬害はみられなかった。いんげんまめでは3試験例中1例で薬害が認められた。開花期の250倍、500倍2回散布処理において莢に暗褐色かさぶた状の薬害が生じた。葉や茎に薬害は観察されなかった。他の1例では、開花期・幼果期の2回散布においても茎葉や莢に薬害は生じなかった。大豆に対しては、3試験例中1例で薬害がみられた。その例では、着蕾期における2回散布において葉に弱いさび状の壊死斑を生じた。他の2例では薬害はみられなかった。

2. 作用機構

(1)作用機構

作用機構解明の検討がなされた。*P. infestans* と *P. capsici* の遊走子または包囊を濃度10 ppmのエタポキサムで処理すると菌糸体の成長を停止させたが、発芽阻止には至らなかった。生育中の菌糸体への処理(10 ppm)では、菌糸の分枝と菌糸先端の膨潤奇形を生じ、最終的に、菌糸体の成長が停止した。菌糸体の細胞壁からの内容物漏出はみられなかった。しかし、ギムザ染色後の顕微鏡観察では、包囊から菌糸細胞への核の移動が阻害されていることが判明した。この顕微鏡観察に加え、子牛脳から調製したチューブリンの重合およびコハク酸デヒドロゲナーゼ複合体に対する影響を検討した結果、エタポキサムはこれらの試験系に対し何ら影響を及ぼさなかった。しかし、エタポキサムは *P. capsici* から調製したミトコンドリアによる酸素消費を濃度に依存して阻害した。

これらの結果から、エタポキサムには新規の一つ以上の作用機構の存在することが示唆された。しかし、現状では具体的な作用機構の特定には至っていない。さらに作用機構を生化学的に特定する研究が求められる。

(2) 薬剤耐性および交差耐性

エタボキサムに対する薬剤耐性発達リスクを検討した。室内試験的に *P. infestans* および *P. capsici* の突然変異株を誘導するため、これらの遊走子を突然変異誘導物質 MNNG (30mg/L) で処理するか、または、254 nm の紫外線を照射し、濃度範囲 2.0~250 ppm の範囲でエタボキサム抵抗性を示す突然変異菌株の誘導を試みた。しかし、この方法ではフェニルアミド系殺菌剤に対して耐性を示す突然変異株は誘導されたものの、エタボキサムに対して耐性を示す突然変異株は誘導されなかった。このことにより、圃場条件下において、エタボキサムに耐性の変異株が出現するリスクはフェニルアミド系剤のそれよりも小さいと推察された。

次に、エタボキサムの交差耐性について検討した。きゅうりべと病菌を接種源として用いるリーフディスク法により、ストロビルリン系剤（アゾキシストロビン）との交差耐性を検討したところ、本剤は耐性菌および感受性菌の両方に対してほぼ同程度の優れた活性を示した。さらに、ばれいしょ疫病菌を接種源として用いる寒天平板希釈法によって、フェニルアミド系剤（メトラキシル）との交差耐性を検討したところ、本剤は耐性菌および感受性菌の両方に対して同程度の優れた活性を示した。また、メトラキシルに 100 ppm で耐性を示すばれいしょ疫病菌 7 菌株に対して、本剤は 5.0 ppm でそれらの生育を完全に阻止した。これらの結果から、エタボキサムとフェニルアミド系剤およびストロビルリン系剤は交差しないと考えられた。

(3) 植物体内における代謝

ぶどう、トマトおよびばれいしょにおける放射性標識体エタボキサムを用いた植物体内代謝試験を行った。ぶどうおよびトマトでは、親化合物からチアゾール環が外れた α -ケトカルボン酸に代謝されることが推定された。しかし、いずれの代謝試験においても、生物活性との関連性を示す結果は得られなかった。

3. 作用特性と防除上の利点

昨今、各種作物の疫病やべと病に効果を示すストロビルリン系剤およびフェニルアミド系剤等の耐性菌の出現が現場で問題化しており、これらに交差耐性を示さない新規薬剤が求められている。

エタボキサムは新規に開発されたチアゾールカルボキサミド系の殺菌剤であり、疫病、べと病に加えて根こぶ病に優れた防除効果を示す。本剤とストロビルリン系剤やフェニルアミド系剤との間には交差耐性が認められないことから、これら既存剤耐性菌の発生地域において、本剤は新しい防除資材として期待される。疫病やべと病は 1 作あたり複数回の散布が必要であり、輪番防除体系の確立のために現場では異なる作用機構の防除薬剤の登録が強く求められている。既存剤と交差耐性を示さない新規薬剤である本剤は、輪番防除体系の確立のために必要な資材であると考えられる。

IV.適用および使用上の注意

1. 適用病害虫の範囲および使用方法

①12.5%エタボキサム水和剤（エトフィンフロアブル）

| 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 | エタボキサムを 含む農業の 総使用回数 |
|-------|--------|----------|----------------------|-------------|----------------------|----------|---------------------------|
| ばれいしょ | 疫病 | 500倍 | 100～ 300 L/10a | 収穫 7日前まで | 4回 以内 | 散布 | 4回以内 |
| はくさい | べと病 | 1000倍 | | | 200～ 700 L/10a | | 収穫 前日まで |
| トマト | 疫病 | | 4回 以内 | 4回以内 | | | |
| きゅうり | べと病 | | | | | | |
| ぶどう | | | 4回 以内 | 4回以内 | | | |

| 作物名 | 適用病害虫名 | 10aあたり 使用量 | | 使用 時期 | 本剤 の 使用 回数 | 使用 方法 | エタボキサムを 含む農業の 総使用回数 |
|------|--------|---------------|----------|----------|---------------------|---------------|-------------------------------------------|
| | | 薬量 | 希釈 水量 | | | | |
| はくさい | 根こぶ病 | 1.0～1.5L | 100～150L | 定植時 | 1回 | 全面処理後 土壌混和 | 4回以内 (定植時の全面土壌 混和は1回以内、 散布は3回以内) |

2. 使用上の注意事項

① 12.5%エタボキサム水和剤（エトフィンフロアブル）

- (1) 豆類に薬害を生じるおそれがあるので、かからないように注意すること。
- (2) 薬剤耐性菌の出現回避のため、過度の連用をさけ、なるべく作用性の異なる薬剤との輪番で使用すること。
- (3) 使用にあたっては、使用量・使用時期・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ようにすること。

3. 水産動植物に有毒な農薬については、その旨

- ① 12.5%エタボキサム水和剤（エトフィンフロアブル）
この登録に係る使用方法では該当がない。

V. 残留性および環境中予測濃度算定関係

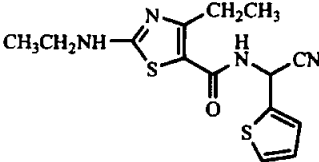
1-1.作物残留

1) 分析法の原理と操作概要

エタボキサム(A)の分析方法

試料をアセトンで抽出し、有機溶媒を減圧留去する。ヘキサン/酢酸エチル溶出溶媒により、多孔性ケイソウ土カラムで精製し、アセトン/ヘキサンの混合比が異なる溶出溶媒により、WCXミニカラムで精製する。さらに、ヘキサン/ジエチルエーテル溶出溶媒により、シリカゲルミニカラムで精製し、高速液体クロマトグラフィー（UV）で分析成分を定量する。

2) 分析対象の化合物

| 分析対象化合物 | 化合物名 | 分子式 | 分子量 | 親化合物への換算係数 | 代謝経路図中での記号 |
|--------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|--------|------------|------------|
| エタボキサム | (RS) -N -(α-シアノ-2-テニル)-4-エチル-2-(エチルアミノ)-1,3-チアゾール-5-カルボキサミド | C ₁₄ H ₁₆ N ₄ OS ₂ | 320.43 | — | A |
|  | | | | | |

3) 残留分析結果

| 作物名 (栽培形態) (分析部位) 年 度 | 剂 型 (有効成分) 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 | | |
| | | | | | エタボキサム | | | | |
| | | | | | 最高値 | 平均値 | 最高値 | 平均値 | |
| | | | | | (社)日本植物防疫協会研究所 | | (株)日曹分析センター | | |
| ばれいしょ (露地) (塊茎) 平成15年度 | フロアブル (12.5%) 500倍 150L/10a (北海道) 200L/10a (福島) 散布 | 北海道立 中央農業 試験場 | 0 | — | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | |
| | | | 4 | 7 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | |
| | | | 4 | 14 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | |
| | | | 4 | 21 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | |
| | | 福島県植 物防疫協 会郡山 試験地 | 0 | — | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 |
| | | | 4 | 7 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | |
| | | | 4 | 14 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | |
| | | | 4 | 21 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | |
| | | | | | (株)日曹分析センター | | (株)日曹分析センター | | |
| はくさい (露地) (茎葉) (しんを除去 したもの) 平成18年度 | フロアブル (12.5%) 1.5L/150L/10a 定植前全面土壌 混和処理 1000倍 200~300L/10a (岩手) 300L/10a (日増防) 散布 | 岩手県 植物防疫 協会 | 0 | — | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | |
| | | | 4 | 7 | 0.19 | 0.18 | 0.59 | 0.59 | |
| | | | 4 | 14 | 0.06 | 0.06 | 0.07 | 0.06 | |
| | | | 4 | 21 | <0.01 | <0.01 | 0.02 | 0.02 | |
| | | 日本植物 防疫協会 研究所 | 0 | — | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 |
| | | | 4 | 7 | 0.72 | 0.70 | 0.76 | 0.74 | |
| | | | 4 | 14 | 0.06 | 0.06 | 0.09 | 0.08 | |
| | | | 4 | 21 | <0.01 | <0.01 | 0.01 | 0.01 | |

| 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 | | | |
| | | | | | エタボキサム | | | | | |
| | | | | | 最高値 | 平均値 | 最高値 | 平均値 | | |
| | | | | | (株)日曹分析センター | (株)日曹分析センター | | | | |
| トマト (施設) (果実) (へたを除去 したもの) 平成19年度 | フロアブル (12.5%) 1000倍 300L/10a (群馬) 300L/10a (石川) 散布 | 群馬県 植物防疫 協会 | 0 | — | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | | |
| | | | 4 | 1 | 0.35 | 0.34 | 0.33 | 0.30 | | |
| | | | 4 | 3 | 0.28 | 0.28 | 0.26 | 0.26 | | |
| | | | 4 | 7 | 0.37 | 0.37 | 0.21 | 0.20 | | |
| | | | 4 | 14 | 0.24 | 0.23 | 0.12 | 0.12 | | |
| | | | 4 | 21 | 0.12 | 0.12 | 0.22 | 0.21 | | |
| | | | 石川県 植物防疫 協会 | 0 | — | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | |
| | | 4 | | 1 | 0.40 | 0.40 | 0.41 | 0.39 | | |
| | | 4 | | 3 | 0.41 | 0.40 | 0.42 | 0.42 | | |
| | | 4 | | 7 | 0.36 | 0.35 | 0.41 | 0.39 | | |
| | | 4 | | 14 | 0.31 | 0.31 | 0.29 | 0.28 | | |
| | | 4 | | 21 | 0.22 | 0.22 | 0.21 | 0.20 | | |
| | | | | | | | (社)日本植物防疫協会研究所 | (株)日曹分析センター | | |
| | | トマト (施設) (果実) (へたを除去 したもの) 平成15年度 | フロアブル (12.5%) 500倍 350L/10a (岐阜) 224.2L/10a (宮崎) 散布 | 岐阜県 植物防疫 協会 | 0 | — | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 |
| 4 | 1 | | | | 0.84 | 0.78 | 0.74 | 0.74 | | |
| 4 | 3 | | | | 0.68 | 0.66 | 0.61 | 0.59 | | |
| 日本植物 防疫協会 宮崎試験 場 | 0 | | | — | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | | |
| | 4 | | | 1 | 0.73 | 0.70 | 1.14 | 1.13 | | |
| | 4 | | | 3 | 0.82 | 0.82 | 1.12 | 1.11 | | |
| | 4 | | | 7 | 0.94 | 0.92 | 0.85 | 0.82 | | |
| | 長野県中 信農業試 験場 | | | 0 | — | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | |
| | | | | 4 | 1 | 0.13 | 0.12 | 0.17 | 0.17 | |
| | | | | 4 | 3 | 0.07 | 0.07 | 0.11 | 0.10 | |
| 4 | | 7 | 0.02 | 0.02 | 0.06 | 0.05 | | | | |
| 日本植物 防疫協会 宮崎試験 場 | | 0 | — | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | | | |
| | 4 | 1 | 0.16 | 0.16 | 0.10 | 0.10 | | | | |
| | 4 | 3 | 0.11 | 0.11 | 0.08 | 0.08 | | | | |
| | 4 | 7 | 0.03 | 0.02 | 0.03 | 0.03 | | | | |

| 作物名 (栽培形態) (分析部位) 年 度 | 劑 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 | | | | |
| | | | | | エタボキサム | | | | | | |
| | | | | | 最高値 | 平均値 | 最高値 | 平均値 | | | |
| | | | | | (株)日曹分析センター | | (株)日曹分析センター | | | | |
| ぶどう (施設・無袋) (果実) (果梗を除去 したもの) 平成19年度 | フロアブル (12.5%) 1000倍 500L/10a(長野) 500L/10a(石川) 散布 | 長野県 植物防疫 協会南信 研究所 (巨峰) | 0 | — | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | | | |
| | | | 4 | 7 | 2.80 | 2.75 | 1.62 | 1.56 | | | |
| | | | 4 | 14 | 1.92 | 1.87 | 1.45 | 1.44 | | | |
| | | | 4 | 21 | 2.46 | 2.42 | 1.39 | 1.38 | | | |
| | | | 4 | 28 | 2.65 | 2.64 | 1.77 | 1.74 | | | |
| | | | 4 | 40 | 2.06 | 2.02 | 0.85 | 0.80 | | | |
| | | 石川県 植物防疫 協会 (デラウェア) | 0 | — | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | | | |
| | | | 4 | 7 | 0.98 | 0.96 | 1.01 | 1.00 | | | |
| | | | 4 | 14 | 0.80 | 0.78 | 0.63 | 0.62 | | | |
| | | | 4 | 21 | 0.55 | 0.54 | 0.68 | 0.66 | | | |
| | | | 4 | 28 | 0.69 | 0.68 | 1.41 | 1.40 | | | |
| | | | 4 | 40 | 0.46 | 0.46 | 0.65 | 0.64 | | | |
| | | | ぶどう (施設・無袋) (果実) (果梗を除去 したもの) 平成18年度 | フロアブル (12.5%) 1000倍 200L/10a(岩手) 500L/10a(石川) 散布 | 岩手県 植物防疫 協会 (紅伊豆) | 0 | — | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 |
| | | | | | | 4 | 1 | 0.81 | 0.81 | 0.41 | 0.40 |
| 4 | 3 | 0.87 | | | | 0.86 | 1.33 | 1.29 | | | |
| 4 | 7 | 0.96 | | | | 0.96 | 0.98 | 0.90 | | | |
| 4 | 14 | 0.96 | | | | 0.95 | 1.64 | 1.56 | | | |
| 4 | 21 | 0.80 | | | 0.80 | 1.77 | 1.64 | | | | |
| 石川県 植物防疫 協会 (デラウェア) | 0 | — | | | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | | | |
| | 4 | 1 | | | 3.47 | 3.45 | 3.48 | 3.40 | | | |
| | 4 | 3 | | | 2.16 | 2.16 | 4.60 | 4.35 | | | |
| | 4 | 7 | | | 3.14 | 3.14 | 4.22 | 4.16 | | | |
| | 4 | 14 | 1.46 | 1.43 | 1.37 | 1.32 | | | | | |
| 4 | 21 | 1.58 | 1.58 | 1.74 | 1.72 | | | | | | |

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

(参考資料)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

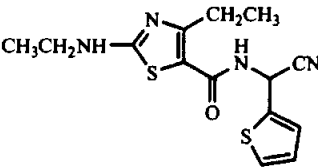
2-1. 土壌残留

(1) 分析法の原理および操作概要

エタボキサム(A)および LGC-32533(I)の分析方法

試料をアセトニトリルで抽出し、酢酸エチルを用いて転溶後、フロリジルカラムおよびシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製して、各分析成分を高速液体クロマトグラフィーで定量する。

(2) 分析対象の化合物

| 分析対象 化合物 | 化合物名 | 分子式 | 分子量 | 親化合物 への換算 係数 | 代謝経路 図中での 記号 |
|--------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|-------|--------------------|--------------------|
| エタボキサム | (RS) -N -(α-シアノ-2-テニル)-4-エチル-2-(エチルアミノ)-1,3-チアゾール-5-カルボキサミド | C ₁₄ H ₁₆ N ₄ OS ₂ | 320.4 | - | A |
|  | | | | | |

(3) 残留試験結果

① 容器内試験 (畑地土壌)

総エタボキサム (エタボキサム (A) + 代謝物 LGC-32533 (I) のエタボキサム換算値)

推定半減期: 火山灰軽増土 (日植防研究所) 1日以内

沖積土増殖土 (日植防高知試験場) 約2日

分析機関: 株式会社化学分析コンサルタント

| No. | 試験概要 および 採取場所 | 被験物質の 処理方法 | | 経過 日数 | 分析値 (mg/kg) | | | | | | 合計値 (総エタボキサム) | |
|-----|-----------------------|---------------------------------------|----|----------|-------------|----|-------|-------------------------|-------|-------|------------------|-------|
| | | 濃度 | 回数 | | エタボキサム (A) | | | 代謝物 LGC-32533 (I) *1 | | | 最高値 | 平均値 |
| | | | | | 最高値 | 回数 | 平均値 | 最高値 | 回数 | 平均値 | | |
| 1 | 日植防 | 純品 | 0 | — | <0.01 | 2 | <0.01 | <0.01 | 2 | <0.01 | <0.02 | <0.02 |
| | | | 1 | 0 | 0.95 | 2 | 0.94 | 0.02 | 2 | 0.02 | 0.97 | 0.96 |
| | | | 1 | 0.25 | 0.74 | 2 | 0.74 | 0.02 | 2 | 0.02 | 0.76 | 0.76 |
| | 火山灰 軽増土 平成 16 年 | 1.0mg/kg (25µg/25g (乾土)) 25℃ | 1 | 0.5 | 0.59 | 2 | 0.58 | 0.03 | 2 | 0.03 | 0.62 | 0.61 |
| | | | 1 | 1 | 0.43 | 2 | 0.43 | 0.03 | 2 | 0.03 | 0.46 | 0.46 |
| | | | 1 | 3 | 0.24 | 2 | 0.24 | 0.03 | 2 | 0.02 | 0.27 | 0.26 |
| | | | 1 | 7 | 0.14 | 2 | 0.14 | 0.02 | 2 | 0.02 | 0.16 | 0.16 |
| | | | 1 | 15 | 0.05 | 2 | 0.05 | 0.02 | 2 | 0.02 | 0.07 | 0.07 |
| | | | 1 | 30 | 0.03 | 2 | 0.03 | 0.02 | 2 | 0.02 | 0.05 | 0.05 |
| 1 | 60 | 0.02 | 2 | 0.02 | <0.01 | 2 | <0.01 | <0.03 | <0.03 | | | |
| 2 | 日植防 高知 | 純品 | 0 | — | <0.01 | 2 | <0.01 | <0.01 | 2 | <0.01 | <0.02 | <0.02 |
| | | | 1 | 0 | 0.95 | 2 | 0.95 | 0.01 | 2 | 0.01 | 0.96 | 0.96 |
| | | | 1 | 0.25 | 0.77 | 2 | 0.77 | <0.01 | 2 | <0.01 | <0.78 | <0.78 |
| | 沖積土 増殖土 平成 16 年 | 1.0mg/kg (25µg/25g (乾土)) 25℃ | 1 | 0.5 | 0.63 | 2 | 0.62 | 0.02 | 2 | 0.02 | 0.65 | 0.64 |
| | | | 1 | 1 | 0.55 | 2 | 0.55 | 0.02 | 2 | 0.02 | 0.57 | 0.57 |
| | | | 1 | 3 | 0.41 | 2 | 0.40 | 0.03 | 2 | 0.03 | 0.44 | 0.43 |
| | | | 1 | 7 | 0.24 | 2 | 0.24 | 0.02 | 2 | 0.02 | 0.26 | 0.26 |
| | | | 1 | 15 | 0.13 | 2 | 0.12 | 0.02 | 2 | 0.02 | 0.15 | 0.14 |
| | | | 1 | 30 | 0.10 | 2 | 0.10 | 0.02 | 2 | 0.02 | 0.12 | 0.12 |
| 1 | 60 | 0.04 | 2 | 0.04 | <0.01 | 2 | <0.01 | <0.05 | <0.05 | | | |

*1: エタボキサム換算値 分析値×換算係数

$$\text{換算係数} = \frac{\text{エタボキサム分子量 (320.4)}}{\text{代謝物 LGC-32533 分子量 (309.4)}} = 1.03$$

② 圃場試験 (畑地土壌)

総エタボキサム (エタボキサム (A) + 代謝物 LGC-32533 (I) のエタボキサム換算値)

推定半減期: 火山灰軽埴土 (日植防研究所) 約 3 日

沖積土埴埴土 (日植防高知試験場) 約 3 日

分析機関: 株式会社化学分析コンサルタント

| No | 試料調製 および 採取場所 | 被験物質の 処理方法 | | 経過 日数 | 分析値 (mg/kg) | | | | | | 合計値 (総エタボキサム) | |
|----|------------------------------------|---------------------------------------|--------|----------|-------------|----|-------|-------------------------|-------|-------|------------------|-------|
| | | 濃度 | 回 数 | | エタボキサム (A) | | | 代謝物 LGC-32533 (I) *1 | | | 最高値 | 平均値 |
| | | | | | 最高値 | 回数 | 平均値 | 最高値 | 回数 | 平均値 | | |
| 1 | 日植防 火山灰 軽埴土 平成 16 年 | フロアブル (12.5%) 200L/10a 500 倍 | 0 | — | <0.01 | 2 | <0.01 | <0.01 | 2 | <0.01 | <0.02 | <0.02 |
| | | | 4 | 0 | 1.58 | 2 | 1.56 | 0.15 | 2 | 0.15 | 1.73 | 1.71 |
| | | | 4 | 1 | 1.10 | 2 | 1.10 | 0.13 | 2 | 0.13 | 1.23 | 1.23 |
| | | | 4 | 3 | 0.72 | 2 | 0.70 | 0.10 | 2 | 0.09 | 0.82 | 0.79 |
| | | | 4 | 7 | 0.64 | 2 | 0.62 | 0.09 | 2 | 0.08 | 0.73 | 0.70 |
| | | | 4 | 15 | 0.28 | 2 | 0.26 | 0.09 | 2 | 0.08 | 0.37 | 0.34 |
| | | | 4 | 30 | 0.10 | 2 | 0.10 | 0.08 | 2 | 0.08 | 0.18 | 0.18 |
| | | | 4 | 60 | 0.02 | 2 | 0.02 | 0.02 | 2 | 0.02 | 0.04 | 0.04 |
| 4 | 90 | <0.01 | 2 | <0.01 | <0.01 | 2 | <0.01 | <0.02 | <0.02 | | | |
| 2 | 日植防 高知 沖積土 埴埴土 平成 16 年 | フロアブル (12.5%) 300L/10a 500 倍 | 0 | — | <0.01 | 2 | <0.01 | <0.01 | 2 | <0.01 | <0.02 | <0.02 |
| | | | 4 | 0 | 1.21 | 2 | 1.20 | 0.05 | 2 | 0.05 | 1.26 | 1.25 |
| | | | 4 | 1 | 0.85 | 2 | 0.84 | 0.06 | 2 | 0.05 | 0.91 | 0.89 |
| | | | 4 | 3 | 0.66 | 2 | 0.65 | 0.04 | 2 | 0.04 | 0.70 | 0.69 |
| | | | 4 | 7 | 0.26 | 2 | 0.24 | 0.02 | 2 | 0.02 | 0.28 | 0.26 |
| | | | 4 | 15 | 0.13 | 2 | 0.13 | 0.03 | 2 | 0.03 | 0.16 | 0.16 |
| | | | 4 | 30 | 0.10 | 2 | 0.09 | 0.02 | 2 | 0.02 | 0.12 | 0.10 |
| | | | 4 | 59 | <0.01 | 2 | <0.01 | <0.01 | 2 | <0.01 | <0.02 | <0.02 |
| 4 | 91 | <0.01 | 2 | <0.01 | <0.01 | 2 | <0.01 | <0.02 | <0.02 | | | |

*1: エタボキサム換算値 分析値×換算係数

$$\text{換算係数} = \frac{\text{エタボキサム分子量 (320.4)}}{\text{代謝物 LGC-32533 分子量 (309.4)}} = 1.03$$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

2-2.後作残留

試験省略

試験省略理由:有効成分エタボキサムの土壌残留試験における推定半減期が 100 日未満であるため。

3.環境中予測濃度算定に関する試験成績

3-1. 水質汚濁性試験

試験省略

試験省略理由:水田で使用されないため

VI.有用動植物等に及ぼす影響

1. 水産動植物に対する影響

(1) 原体

| 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 ₅₀ 又はEC ₅₀ 値 (mg/L) [() 内は有効成分換算値] | | | | 試験機関 報告年 | 記載頁 |
|---------------|---------------------------|------------------------------------------------------|----------------------------------------|------------|--------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|----------------|--------------|------------------------------------------------|-----|
| | | | | | | 24h | 48h | 72h | 96h | | |
| A-01 (GLP) | 魚類 急性毒性 原体 | コイ (<i>Cyprinus carpio</i>) | 7匹 | 半止水 | 22.6~ 25.7 ℃ | >4.59 | >4.59 | 4.29 | 2.93 | Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国、2007年) | 36 |
| A-02 (GLP) | 魚類 急性毒性 原体 | ニジマス (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) | 20匹 | 半止水 | 14±1 ℃ | >4.8 (>4.8) | >4.8 (>4.8) | >4.8 (>4.8) | 2.3 (2.3) | Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国、2002年) | 38 |
| A-03 (GLP) | ミジンコ類 急性 遊泳阻害 原体 | オオミジンコ (<i>Daphnia magna</i>) | 40匹 | 止水 | 20~ 21℃ | 0.35 (0.35) | 0.35 (0.35) | - | - | Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国、2002年) | 40 |
| A-04 (GLP) | 藻類 生長阻害 原体 | 緑藻 (<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>) | 初期濃度 約1×10 ⁴ cells/mL | 振とう 培養法 | 24±1 ℃ | E ₆ C ₅₀ (0-72時間) : >3.6(>3.6) E ₁ C ₅₀ (0-72時間) : >3.6(>3.6) NOEC (0-72時間) : 0.47 (0.47) | | | | Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国、2003年) | 41 |

値は平均実測濃度に基づく

- : 測定せず

(2) 製剤

| 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 ₅₀ 又はEC ₅₀ 値 (mg/L) | | | | 試験機関 報告年 | 記載頁 |
|---------------|---------------------------------|------------------------------------------------------|----------------------------------------|------------|--------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|-----|-----|-------------------------------|-----|
| | | | | | | 24h | 48h | 72h | 96h | | |
| A-01 (GLP) | 魚類 急性毒性 フロアブル: 12.5% | コイ (<i>Cyprinus carpio</i>) | 10匹 | 半止水 | 22.5~ 23.3 ℃ | >1000 | 1000 | 725 | 431 | (財) 化学物質 評価研究機構 (2007年) | 42 |
| A-02 (GLP) | ミジンコ類急性 遊泳阻害 フロアブル: 12.5% | オオミジンコ (<i>Daphnia magna</i>) | 20匹 | 止水 | 19.8~ 20.5℃ | 1.15 | 0.562 | - | - | | 43 |
| A-03 (GLP) | 藻類 生長阻害 フロアブル: 12.5% | 緑藻 (<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>) | 初期濃度 約1×10 ⁴ cells/mL | 振とう 培養法 | 22.0~ 23.0℃ | E ₆ C ₅₀ (0-72時間) : >1000 E ₁ C ₅₀ (0-72時間) : >1000 NOE ₆ C (0-72時間) : 10.0 NOE ₁ C (0-72時間) : 10.0 | | | | | 44 |

値は設定濃度に基づく

- : 測定せず

水産動植物への影響に関する試験

(1) 原体

魚類急性毒性試験

①コイを用いた急性毒性試験

(資料 No.A-01)

試験機関：Huntingdon Life Sciences Ltd (英国)

報告書作成年：2007年

[GLP 対応]

被験物質：エタボキサム原体

供試生物：コイ (*Cyprinus carpio*)

1群各7匹、体長；平均4.21 cm、体重；平均1.23 g

方法：暴露条件；半止水式（暴露時間：96時間、24時間ごとに新たに調製した試験濃度水と交換した。）

試験濃度；0.313、0.625、1.25、2.5 および 5.0 mg/L (設定濃度)

希釈水；総硬度が 174~180 mg CaCO₃/L の脱塩素水道水を用いた。

試験液の調製方法；被験物質を DMSO に溶解して 50 mg/mL とし、さらに連続希釈して 3.13、6.25、12.5 および 25 mg/mL のストック溶液とした。希釈水 (9L、水深 16cm) の入った供試用各ガラス水槽に適切なストック溶液を 900 μL 添加し、30 分間攪拌し、均一な試験液とした。

試験系は、明期 16 時間および暗期 8 時間の周期とした。

暴露 2、4、24、48、72 および 96 時間後に、供試魚の死亡の有無および対照区供試魚と比較した垂致死状態を観察した。

試験液 pH : 7.92~8.56

溶存酸素濃度：89~104%

試験水温 : 22.6~25.7℃

結 果：

| 試験濃度 (mg/L) | 設定濃度 | | 0 | 0.313 | 0.625 | 1.25 | 2.5 | 5.0 |
|----------------------------------------|------|------------------|---|-------|-------|------|------|------|
| | 実測濃度 | 平均値 | — | 0.304 | 0.575 | 1.16 | 2.27 | 4.59 |
| LC ₅₀ (mg/L) * (95%信頼限界) | 24h | >4.59 | | | | | | |
| | 48h | >4.59 | | | | | | |
| | 72h | 4.29 (3.42~6.84) | | | | | | |
| | 96h | 2.93 (2.27~3.64) | | | | | | |
| NOEC (mg/L) * | | 1.16 | | | | | | |
| 死亡例が認められなかった 最高濃度 (mg/L) * | | 1.16 | | | | | | |

*: 平均実測濃度に基づく値 -: 測定せず

96時間の暴露期間中、希釈水対照区、溶媒対照区および平均実測濃度0.304~1.16 mg/L区では、死亡例は認められなかった。96時間の暴露期間において、平均実測濃度2.27 mg/L区では供試魚1例、4.59 mg/L区では全例の死亡が認められた。

毒性症状として、平均実測濃度2.27 mg/L区では、沈底静止が認められ、平均実測濃度4.59 mg/L区では、水面浮上、水面静止および沈底静止が認められた。

試験開始時における試験液中の実測濃度は、設定濃度の81~108%であり、試験開始から24時間後における試験液中の実測濃度は、設定濃度の74~129%であった。

②ニジマスを用いた急性毒性試験

(資料 No.A-02)

試験機関：Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国)

報告書作成年：2002年

[GLP 対応]

被験物質：エタボキサム原体

供試生物：ニジマス(*Oncorhynchus mykiss*)

1群各10匹(2反復)、体長；平均4.6cm、体重；平均1.56g

方法：暴露条件；半止水式(暴露時間：96時間)

試験濃度；0.078、0.156、0.3125、0.625、1.25、2.5および5.0 mg/L (設定濃度)

希釈水；総硬度が137~169 mg CaCO₃/Lの脱塩素水道水を用いた。

試験液の調製方法；被験物質をDMSOに溶解して100 mg/mLとし、さらにDMSOを用いて連続希釈し、これを一定量の希釈水に加え試験液とした(DMSO濃度100 μl/L)。供試用各ガラス水槽に、試験液を加えた(20L、水深19cm)。

試験系は、明期16時間および暗期8時間の周期とした。

暴露0.25、3、6、24、48、72および96時間後に、供試魚の死亡の有無および対照区供試魚と比較した垂致死状態を観察した。

試験液 pH : 7.7~7.9

溶存酸素濃度 : 8.6~8.8 mgO₂/L

試験水温 : 14±1℃

結果：

| 試験濃度 (mg/L) | 設定濃度 | 0 | 0.078 | 0.156 | 0.3125 | 0.625 | 1.25 | 2.5 | 5.0 |
|--------------------------------------------|--------|-------------------|-------|-------|--------|-------|------|-----|-----|
| | 平均実測濃度 | — | 0.072 | 0.14 | 0.28 | 0.59 | 1.2 | 2.4 | 4.8 |
| LC ₅₀ (mg/L) * (95%信頼 限界) | 24h | >4.8 | | | | | | | |
| | 48h | >4.8 | | | | | | | |
| | 72h | >4.8 | | | | | | | |
| | 96h | 2.3 (1.3~>4.8) | | | | | | | |
| NOEC (mg/L) * | | 0.14 | | | | | | | |
| 死亡例が認められなかった 最高濃度 (mg/L) * | | 0.28 [†] | | | | | | | |

*：平均実測濃度に基づく値 —：測定せず

[†]：1匹の死亡が24時間後に0.072 mg/Lで認められたが、被験物質に関連するものと考えられなかった。

96時間の暴露期間中、希釈水対照区、溶媒対照区および平均実測濃度0.14~0.28 mg/L区では、死亡例は認められなかった。平均実測濃度0.072 mg/L区において、1例の死亡例が認められたが、被験物質に関連するものとは考えられなかった。平均実測濃度0.59 mg/L区、1.2 mg/L

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

区、2.4 mg/L 区および4.8 mg/L 区では、それぞれ96時間の暴露期間において、供試魚1例(1/10、1/10)、1~3例(1/10、3/10)、7例(7/10、7/10) および5~9例(5/10、9/10)の死亡がみられた。

毒性症状として、沈底静止、過呼吸、色素沈着の増加、眼球突出、水面浮遊および平衡喪失が認められた。

0時間および72時間の試験開始時における試験液中の実測濃度は、設定濃度の85~97%および90~99%であり、24時間および96時間の試験終了時における試験液中の実測濃度は、設定濃度の89~98%および88~97%であった。

ミジンコ類急性遊泳阻害試験

(資料 No.A-03)

試験機関：Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国)

報告書作成年：2002年 [GLP 対応]

被験物質：エタポキサム原体

供試生物：オオミジンコ (*Daphnia magna*)

1 群各 10 頭 (24 時間齢以内の個体、4 反復)

方 法：暴露条件；止水式 (暴露時間 48 時間、10 頭/200 mL 試験液)

試験濃度；0.078、0.156、0.3125、0.625、1.25 および 2.5 mg/L (設定濃度)

希釈水；逆浸透脱イオン水と分析用試薬で調製した人工調製水 (総硬度 141mg CaCO₃/L) を用いた。

試験液の調製方法；被験物質を DMSO に溶解し、50 mg/mL とした。さらに連続希釈し、DMSO を用いてストック溶液を作製した。この一部を希釈水に添加し、設定濃度の試験液を調製した (DMSO 濃度 100 µL/L)。

試験容器は、250 mL 容の蓋付ガラス広口ビンとし、試験液を 200 mL 入れ、ミジンコを導入した。

試験系は、明期 16 時間および暗期 8 時間の周期とした。

ミジンコの遊泳阻害の有無を、暴露 24 および 48 時間後に観察した。

試験液 pH : 7.5~7.7

溶存酸素濃度：7.6~8.0mg/L

試験水温 : 20~21℃

結 果：

| 試験濃度 (mg/L) | 設定濃度 | 0 | 0.078 | 0.156 | 0.3125 | 0.625 | 1.25 | 2.5 |
|---------------------------------------------------|--------|------------------|-------|-------|--------|-------|------|-----|
| | 平均実測濃度 | — | 0.073 | 0.14 | 0.28 | 0.53 | 1.1 | 2.1 |
| EC ₅₀ (mg/L) [*] (95%信頼限界) | 24h | 0.35(0.32-0.39) | | | | | | |
| | 48h | 0.35 (0.32-0.39) | | | | | | |
| NOEC (mg/L) [*] | | 0.14 | | | | | | |

^{*}：平均実測濃度に基づく値 —：測定せず

48 時間暴露において平均実測濃度 0.53 mg/L 以上の濃度区では 100% 遊泳阻害がみられた。開始時および試験終了時における試験液中の有効成分の実測濃度は、それぞれの設定濃度の 85~95%、および 81~98% であった。開始時および試験終了時の分析から、平均実測濃度は、設定濃度の 84~94% であった。

藻類生長阻害試験

(資料 No.A-04)

試験機関：Huntingdon Life Sciences Ltd (英国)

報告書作成年：2002年

[GLP 対応]

被験物質：エタボキサム原体

供試生物：単細胞緑藻 (*Pseudokirchneriella subcapitata* (= *Selenastrum capricornutum*),
CCAP278/4 株)、初期細胞濃度 約 1×10^4 細胞/mL (3 反復)

方法：振とう培養法 (暴露時間：96 時間)

試験濃度：0.25、0.5、1.0、2.0 および 4.0 mg/L (設定濃度)

試験培地の調製方法：被験物質を DMSO に溶解し、100 mg/mL とした。これを補助溶媒で希釈し、2.5、5.0、10、20 および 40 mg/L のストック溶液とした。各ストック溶液 50 μ L を滅菌培養培地に添加し、各設定濃度の試験培地を調製した。これに前培養の一部を加え、開始時細胞密度を約 1×10^4 細胞/mL とした。

試験容器は、250 mL 容三角フラスコとし、藻を試験培地 100 mL に入れ、連続白色蛍光灯照明下で、96 時間振とう培養した。

藻生長阻害の測定：各試験培地中の細胞数は、暴露開始後 24 時間間隔で暴露終了時まで粒子計数装置を用いて直接計数法により細胞密度を測定し、各濃度での生長阻害率を求めた。

培養温度：24 \pm 1 $^{\circ}$ C

結果：

| 試験濃度 (mg/L) | 設定濃度 | 0 | 0.25 | 0.5 | 1.0 | 2.0 | 4.0 |
|----------------------|--------|------------------|------|------|------|-----|-----|
| | 平均実測濃度 | — | 0.23 | 0.47 | 0.96 | 1.8 | 3.6 |
| E_rC_{50} (mg/L) * | 0~72h | >3.6 (溶解限界) | | | | | |
| E_bC_{50} (mg/L) * | 0~72h | >3.6 (溶解限界) | | | | | |
| NOEC (mg/L) * | 0~72h | (面積法/速度法) 0.47** | | | | | |

—：測定せず

*：平均実測濃度に基づく値

**：Williams' D.A., 1971/72, Biometrics 27; 103-117 および 28; 519-531

開始時および試験終了時における試験液中の有効成分の実測濃度は、それぞれの設定濃度の 91~101%、および 87~97%であった。

(2) 製剤

魚類急性毒性試験

コイを用いた急性毒性試験

(資料 A-01)

試験機関：(財) 化学物質評価研究機構

報告書作成年：2007 年

[GLP 対応]

被験物質：エタポキサム 12.5%フロアブル (有効成分実測値 12.7%)

供試生物：コイ (*Cyprinus carpio*)

1群 各 10 匹、体長； 5.0 ± 0.19 cm、体重； 1.5 ± 0.16 g

方法：暴露条件；半止水式 (10 匹/50L 試験水、暴露時間：96 時間、48 時間後に換水) 希釈水；十分にエアレーションし、残留塩素濃度 0.02 mg/L 以下である脱塩素水道水を使用した。

試験液の調製方法；希釈水に所定量の被験物質を混合、攪拌して試験液を調製した。

蓋付ガラス製水槽 (50L 容) に調製した試験液を入れ、試験区とした。対照区として希釈水のみを設けた。

試験系は、明期 16 時間および暗期 8 時間の周期とした。

暴露 3、24、48、72 および 96 時間後に、供試魚の死亡の有無および対照区供試魚と比較した毒性症状を観察した。

試験液 pH : 7.1~7.9 (開始時 7.7~7.9、終了時 7.1~7.8)

溶存酸素濃度：5.6~8.8 mg/L

試験水温 : 22.5~23.3℃

結果：

| 設定濃度 (mg/L) | 0、269、350、455、592、769、1000 | |
|--------------------------------------|----------------------------|---------------|
| LC ₅₀ (mg/L) (95%信頼限界) | 24h | > 1000 |
| | 48h | 1000 (-) |
| | 72h | 725 (635~844) |
| | 96h | 431 (372~512) |
| NOEC (mg/L) | - | |

-：測定できず

試験期間中、全試験群において、死亡が認められた。一般状態の変化として、表層集中、平衡喪失、出血、嗜眠状態および活動低下が観察された。

ミジンコ類急性遊泳阻害試験

(資料 A-02)

試験機関：(財)化学物質評価研究機構

報告書作成年：2007年 [GLP 対応]

被験物質：エタボキサム 12.5%フロアブル (有効成分実測値 12.7%)

供試生物：オオミジンコ(*Daphnia magna*)

1群各 20 頭 (5 頭、4 反復/群、生後 24 時間以内)

方法：暴露条件；止水式 (暴露時間 48 時間、5 頭/100mL 試験液)

希釈水；十分にエアレーションし、残留塩素濃度 0.02 mg/L 以下である脱塩素水道水を使用した。

試験液の調製方法；希釈水に所定量の被験物質を混合、攪拌して 10000 mg/L 試験原液とした。さらに希釈水を用いて連続希釈し、1.0 mg/L 試験原液とした。これらの試験原液の一部を希釈水に添加し、設定濃度の試験液を調製した。

蓋付ガラスビーカー (100 mL 容) に、試験液を入れ、試験区とした。対照区として希釈水のみを設けた。

試験系は、明期 16 時間および暗期 8 時間の周期とした。

暴露 24 および 48 時間後に、ミジンコの遊泳阻害の有無および対照区ミジンコと比較した毒性症状を観察した。

試験液 pH：7.7~7.8 (開始時 7.7、終了時 7.8)

溶存酸素濃度：8.5~8.7 mg/L

試験水温：19.8~20.5℃

結果：

| 設定濃度(mg/L) | | 0, 0.0316, 0.100, 0.316, 1.00, 3.16, 10.0 |
|--------------------------------------|-----|-------------------------------------------|
| EC ₅₀ (mg/L) (95%信頼限界) | 24h | 1.15 (-) |
| | 48h | 0.562 (0.433~0.729) |
| NOEC (mg/L) | | 0.100 |

-：測定できず

試験期間中、一般状態の変化として、嗜眠状態、遊泳阻害、活動低下および水面浮遊が観察された。

藻類生長阻害試験

(資料 A-03)

試験機関：(財) 化学物質評価研究機構
報告書作成年：2007年 [GLP 対応]

被験物質：エタボキサム 12.5%フロアブル (有効成分実測値 12.7%)

供試生物：単細胞緑藻 (*Pseudokirchneriella subcapitata* ATCC22662 株)

初期細胞濃度 約 1×10^4 細胞/mL (3 反復)

方法：振とう培養法 (暴露時間 72 時間、100mL 試験液/3 反復)

希釈培地；OECD テストガイドラインに示されている培地を使用した。

試験培地の調製方法；希釈培地に所定量の被験物質を混合、攪拌して 10000 mg/L

の試験原液とした。この一部を希釈培地に混合し、攪拌して設定濃度の試験培地

を調製した。これに前培養液の一部を加え、開始時細胞密度約 1×10^4 細胞/mL と

した。シリコン栓付きガラス製三角フラスコ (500 mL 容) に試験培地を入れ、試験

区とした。対照区として希釈培地のみを設けた。連続蛍光灯照明下で、72 時間

振とう培養した。

藻生長阻害の測定；暴露開始後 24 時間間隔で暴露終了時までサンプルを採取し、

クロロフィル蛍光値は、分光蛍光光度計を用いて測定し、各濃度での生長阻害率

を求めた。

試験培地 pH：7.8~8.0 (開始時 7.8~7.9、終了時 7.8~8.0)

培養温度：22.0~23.0℃

結果：

| 設定濃度 (mg/L) | 0、10.0、31.6、100、316、1000 | |
|-----------------------|--------------------------|-------|
| E_rC_{50} (mg/L) | 24~48h | >1000 |
| | 48~72h | >1000 |
| | 0~72h | >1000 |
| E_bC_{50} (mg/L) | 0~72h | >1000 |
| NOE_rC (mg/L) | 24~48h | 31.6 |
| | 24~72h | 10.0 |
| | 0~72h | 10.0 |
| NOE_bC (mg/L) | 0~72h | 10.0 |

2. 水産動植物以外の有用生物に対する影響

2-1, 2. 3. 蚕、ミツバチおよび天敵等に対する影響

| No. | 供試生物 | 一試験区 当りの 供試数 | 供試 薬剤 | 試験方法 投与方法、投与量、 試験条件等 | 試験結果 | 試験機関 報告年 |
|---------------|-------------------------------------------------------------|--------------------|-----------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|
| B-01 | 蚕 (<i>Bombyx mori</i>) 系統： 朝日×東海 (4 齢起蚕) | 20 頭 3 反復 | 原体： | 52.63 倍に希釈した検体を人工飼料 50g 当たり 2.5mL 混入し(有効成分換算 47.5mg) 4 日間給与した。死亡率、増加重量、摂食量、発育速度、繭調査等を行った。 | 給与開始 4 日後までの死虫率 0%。 繭調査において、対照区との差はなかった。 | (社)日本植物防疫協会研究所 (2006 年) |
| B-02 (GLP) | ミツバチ (<i>Apis mellifera</i> L.) (働き蜂成虫) | 10 頭 6 反復 | 原体： | ・接触毒性：検体をアセトン溶液とし、111.8µg a.i /µL/頭の投与液とした。これをミツバチの胸部腹面に 1µL 滴下した。投与後、4、24 および 48 時間に死亡を確認した。 ・経口毒性：接触投与液用に調製した溶液 250µL に 50% (w/v) の糖液を加え、111.8µg a.i /20µL/頭の投与液を調製した。ケージごと 200µL を 1 回投与した。4、24 および 48 時間後に死亡を確認した。 | 接触毒性 LD ₅₀ ： >100µg a.i /頭 (48 時間) 経口毒性 LD ₅₀ ： >100µg a.i /頭 (48 時間) | Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国 1998 年) |
| B-03 | ナナホシテントウ (<i>Coccinella septempunctata</i>) (2 齢幼虫) | 30 頭 | 70アプル： 12.5% | 500 倍希釈液 2µL/cm ² をガラス板上に散布した(ドライフィルム法)。処理後 24 および 48 時間観察した。 | 死亡率：0% 死亡および異常な行動は観察されなかった。 | (社)日本植物防疫協会研究所 (2007 年) |
| B-04 | コレマンアブラバチ (<i>Aphidius colemani</i>) (成虫) | 約 12 頭 3 反復 | | 500 倍希釈液 2µL/cm ² をガラス板上に散布した(ドライフィルム法)。処理後 2、24 および 48 時間観察した。 | 死亡率：0% 死亡および異常な行動は観察されなかった。 | |
| B-05 | チリカブリダニ (<i>Phytoseiulus persimilis</i>) (第一若虫) | 約 10 頭 3 反復 | | 500 倍希釈液 4µL/cm ² をインゲンマメ葉に散布した。処理後 2、24 および 48 時間観察した。 | 死亡率：3.2% (48 時間) 処理 48 時間後までに死亡は 1 頭のみであった。 異常な行動は観察されなかった。 | |

| No. | 供試生物 | 一試験区当りの供試数 | 供試薬剤 | 試験方法 投与方法、投与量、 試験条件等 | 試験結果 | 試験機関 報告年 |
|------|-----------------------------------------------------|------------|-----------------|----------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|---------------------------|
| B-06 | ヒメクサカゲロウ (<i>Chrysoperla carnea</i>) (若齢幼虫) | 30頭 | フロアブル: 12.5% | 500倍希釈液 2 μ L/cm ² をガラス板に散布した(ドライフィルム法)。処理後4、24および48時間観察した。 | 死亡率:0% 死亡および異常な行動は観察されなかった。 | (社)日本植物防疫協会研究所 (2007年) |
| B-07 | ヒメクサカゲロウ (<i>Chrysoperla carnea</i>) (若齢幼虫) | 30頭 | | (高濃度試験) 13.3倍希釈液 2 μ L/cm ² をガラス板に散布した(ドライフィルム法)。処理後4、24および48時間観察した。 | 死亡率:0% 死亡および異常な行動は観察されなかった。 | |

2-4. 鳥類に対する影響

| No. | 試験の種類 被験物質 | 供試生物 | 1群当りの供試数 | 投与方法 | 投与量 | LD ₅₀ 又LC ₅₀ および 無影響量 | 観察された影響等 | 試験機関 報告年 |
|---------------|-------------------|-----------------------------------------------------|--------------|------------------------------------------------|--------------------------------------------------|---------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| V-01 (GLP) | 急性経口 毒性 原体: | コリンウズラ (<i>Colinus virginianus</i>) (10か月齢) | 雄5羽 雌5羽 | 経口 投与 | 0、500、 1000、 2000 mg/kg | LD ₅₀ >2000mg/kg | 500mg/kg 群雄1羽が死亡した。処理後4日間、褐色および水様褐色排泄物がみられた。一般状態には、影響はみられなかった。 | Huntingdon Research Centre Ltd. (英国 2002年) |
| V-02 (GLP) | 混餌投与 毒性 原体: | コリンウズラ (<i>Colinus virginianus</i>) (10日齢) | 雄雌 10羽 | 5日間 混餌投与 (3日間 回復) | 0、156、 313、625、 1250、 2500、 5000 ppm | LC ₅₀ >5000ppm NOEC >2500 ppm | 死亡はみられなかった。 5000ppm 群で体重増加量および摂餌量の減少がみられた。 | Huntingdon Research Centre Ltd. (英国 2002年) |
| V-03 (GLP) | 繁殖影響 原体: | コリンウズラ (<i>Colinus virginianus</i>) (10か月齢) | 雄20羽 雌20羽 | 22週間 混餌投与 (産卵前 10週間、 産卵期間 12週間) | 0、100、 300、1000 ppm | NOEL 1000 ppm | 親鳥: 0および1000ppm群で1羽ずつ死亡した。 一般状態および繁殖に関して、影響はみられなかった。 雛鳥:一般状態には、影響はみられなかった。 | Huntingdon Research Centre Ltd. (英国 2003年) |

2-5. その他

| No. | 試験の種類 被験物質 | 供試生物 | 1群当りの供試数 | 投与量 | 試験方法 | 試験結果 | 試験機関 報告年 |
|---------------|-------------------|-----------------------------------|----------|-------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| B-08 (GLP) | 急性経口 毒性 原体: | ミミズ (<i>Eisenia foetida</i>) | 40匹 | 0.95、171、309、 556、1000 mg/kg (乾燥人工 土壌重量当) | 各濃度(アセトン溶液)を処理した人工土壌739gにミミズを放した。処理7日および14日後に死亡および異常行動を観察した。 | LD ₅₀ >1000 ppm NOEL 1000 ppm 最高2匹の死亡がみられたが、投与との関連性はなかった。 | Huntingdon Research Centre Ltd. (英国 1998年) |

VII. 使用時安全上の注意、解毒法等

1. 使用時安全上の注意事項

- (1) 本剤は眼に対して弱い刺激性があるので、散布液調製時には保護眼鏡を着用して薬剤が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十分に水洗し、眼科医の手当を受けること。
- (2) 散布の際は農業用マスク、手袋、長ズボン・長袖の作業衣などを着用すること。作業後は手足、顔などを石けんでよく洗い、うがいをする。

2. 解毒法及び治療法

特に必要としない

3. 製造時、使用時等における事故例

報告例なし

Ⅷ. 毒性

<毒性一覧表>

1. 原体

| 資料 No. | 試験の種類・期間 | 供試生物 | 1群当たり供試数 | | 投与方法 | 投与量 (mg/kg) | | LD ₅₀ 値または無毒性量 (mg/kg) | | 試験機関 (報告) | 記載頁 |
|------------|-------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|--------------------|---|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|-------|-----------------------------------|------------|------------|------|
| | | | ♂ | ♀ | | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | | |
| T-01 (GLP) | 急性経口毒性 14日間観察 | ラット | 各5 | | 経口 | 5000 | | >5000 | | HLS (2001) | T-7 |
| T-02 (GLP) | 急性経皮毒性 14日間観察 | ラット | 各5 | | 経皮 | 5000 | | >5000 | | HLS (2001) | T-8 |
| T-03 (GLP) | 急性吸入毒性 14日間観察 | ラット | 各5 | | 吸入 | 4.89 mg/L | | >4.89 mg/L | | HLS (2001) | T-9 |
| T-04 (GLP) | 皮膚刺激性 4日間観察 | ウサギ | ♂3 | | 適用 | 0.5g | | 刺激性なし | | HLS (2001) | T-11 |
| T-05 (GLP) | 眼刺激性 3日間観察 | ウサギ | 洗眼群 ♂1 非洗眼群 ♂3 | | 適用 | 37mg(0.1mL 相当) | | 刺激性なし | | HLS (2001) | T-12 |
| T-06 (GLP) | 皮膚感作性 (Maximization 法) 48時間観察 | モルモット | 投与群 ♂20 対照群 ♂10 | | 皮内感作: 1% (Alembicol D) 0.1mL 経皮感作: 50% (Alembicol D) 0.4mL 惹起: 50 および 25% (Alembicol D) 0.2mL | | 感作性なし | | HLS (2001) | T-14 | |
| T-07 (省略) | 急性神経毒性 | ラットを用いた90日間反復経口投与神経毒性試験等の結果から、神経毒性を示す所見は認められなかったことから試験省略。 | | | | | | | | | T-16 |
| T-08 (省略) | 急性遅発性神経毒性 | 遅発性神経毒性を有する既知の化学物質との化学構造上の相関性からみて、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。 | | | | | | | | | T-18 |
| T-09 (GLP) | 90日間反復経口投与毒性 | ラット | 各10 | | 混飼 | 0、200、650、2000ppm 0、16.3、49.7、154 0、17.9、58.0、164 | | 200ppm 16.3 17.9 | | HLS (1997) | T-19 |
| T-10 (GLP) | 90日間反復経口投与毒性 | イヌ | 各4 | | カプセル | 0、15、40、100 | | - | | HLS (2001) | T-28 |

HLS : Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国)

GLP : 農薬の毒性試験の適正実施に関する基準に準拠して実施された試験

- : 該当値が得られなかった。

| 資料 No. | 試験の種類・ 期間 | 供試 生物 | 1群 当たり 供試数 | | 投与 方法 | 投 与 量 (mg/kg) | | LD ₅₀ 値 または 無毒性量 (mg/kg) | | 試験 機関 (国許) | 記載頁 |
|---------------------|----------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|------------------|---|----------|----------------------------------------------------|---|----------------------------------------------|---|------------------|-------|
| | | | ♂ | ♀ | | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | | |
| T-10- 1 (GLP) | 90日間反復 経口投与毒性 [マウス発がん 性の予備試験] | マウス | 各 10 | | 混餌 | 0、200、450、 1000、2500 ppm 0、33、74、 163、405 | | 200 ppm 0、41、93、 33 41 | | HLS (2002) | T-37 |
| T-11 (省略) | 21日間反復 経皮投与毒性 | 急性経皮毒性試験の結果から、強い経皮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 | | | | | | | | | |
| T-12 (省略) | 90日間反復 吸入投与毒性 | 急性吸入毒性試験の結果から、強い吸入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 | | | | | | | | | |
| T-13 (GLP) | 反復経口投与 神経毒性 | ラット | 各 12 | | 混餌 | 0、250、600、1500 ppm 0、18、43、 106 | | 1500ppm 0、21、50、 122 | | WIL (2009) | T-44 |
| T-14 (省略) | 28日間反復 経口投与遅発 性神経毒性 | 遅発性神経毒性を有する既知の化学物質との化学構造上の相関等からみて、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 | | | | | | | | | |
| T-15 (GLP) | 1年間反復経 口投与毒性 (52週投与) | イヌ | 各 4 | | カプ セル | 0、5、10、30 | | 10 | | HLS (2001) | T-52 |
| T-16 (GLP) | 反復経口投与 毒性/発がん性 併合 (104週投与) | ラット | 各 60 | | 混餌 | 0、100、300、650 ppm 0、5.5、 16.4、35.8 | | 100 ppm 300 ppm 5.5 21.0 発がん性 なし | | HLS (2002) | T-61 |
| T-17 (GLP) | 発がん性試験 (78週投与) | マウス | 各 50 | | 混餌 | 0、100、300、900 ppm 0、11.8、 35.0、117.4 | | 300 ppm 35 43.8 発がん性 なし | | HLS (2002) | T-103 |

HLS : Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国)

WIL : WIL Research Laboratories, LLC (米国)

GLP : 農薬の毒性試験の適正実施に関する基準に準拠して実施された試験

| 資料 No. | 試験の種類・期間 | 供試生物 | 1群当たり供試数 | | 投与方法 | 投与量 (mg/kg) | | LD ₅₀ 値 または 無毒性量 (mg/kg) | | 試験機関 (誌) | 記載頁 |
|---------------|-----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|---------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|----------------------------------------------|---------------|---------------|-------|
| | | | ♂ | ♀ | | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | | |
| T-18 (GLP) | 繁殖毒性 2世代 | ラット | (F0世代) 各32 | (F1世代) 各28 | 混餌 | 0、65、200、650 ppm | | 親動物： 200 ppm | | HLS (2002) | T-121 |
| | | | | | | (F0世代) 0、5.2、 16.2、52.6 | (F0世代) 0、5.7、 17.6、56.1 | F0: 16.2 | F0: 17.6 | | |
| T-19 (GLP) | 催奇形性 | ラット | ♀25 | 経口 | 0、100、300、1000 | | — — | | HLS (1997) | T-134 | |
| T-20 (GLP) | 催奇形性 | ラット | ♀25 | 経口 | 0、10、30、100、300 | | 母動物:30 児動物:30 催奇形性なし | | HLS (1997) | T-142 | |
| T-21 (GLP) | 催奇形性 | ウサギ | ♀20 | 経口 | 0、25、75、125 | | 母動物:25 児動物:125 催奇形性なし | | HLS (1997) | T-151 | |
| T-22 (GLP) | 変異原性： 復帰突然変異 | <i>Salmonella typhimurium</i> (TA98、TA100、 TA1535、TA1537) <i>Escherichia coli</i> (WP2uvrA/pKM101) | | In vitro | (1回目) -S9 mix および+S9 mix : 0、5、15、50、150、500、 1500、5000µg/プレート (2回目) -S9 mix および+S9 mix : 0、50、150、500、1500、 5000µg/プレート | | S9 mix 存在下 および非存在 下で陰性 | | HLS (2001) | T-157 | |

HLS : Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国)

GLP : 農薬の毒性試験の適正実施に関する基準に準拠して実施された試験

— : 該当値が得られなかった。

| 資料 No. | 試験の種類・ 期間 | 供試 生物 | 1群 当たり 供試数 | | 投与 方法 | 投与量 (mg/kg) | | LD ₅₀ 値 または 無毒性量 (mg/kg) | | 試験 機関 (番号) | 記載頁 |
|---------------|----------------------------------------------------|---------------------------------------------|------------------|---|-----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---|-----------------------------------------------|---------------|------------------|-----|
| | | | ♂ | ♀ | | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | | |
| T-23 (GLP) | 変異原性： 突然変異 | マウス リンホーマ LS178Y TK ^{+/+} 細胞 | | | <i>In vitro</i> | (1回目) -S9 mix および+S9 mix： 0, 2.3, 4.7, 9.4, 18.8, 37.5, 75, 150, 300µg/mL (2回目) -S9 mix： 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 10µg/mL +S9 mix： 0, 10, 25, 50, 100, 125, 150, 300µg/mL | | S9 mix 存在下 および非存在 下で陰性 | HLS (2001) | T-160 | |
| T-24 (GLP) | 変異原性： 染色体異常 | ヒト末梢リンパ球 細胞 | | | <i>In vitro</i> | 分裂中期像解析 (1回目) -S9 mix および+S9 mix： 0, 125, 250, 1000µg/mL (2回目) -S9 mix： 0, 20, 80, 100µg/mL +S9 mix： 0, 20, 60, 80µg/mL | | S9 mix 存在下 および非存在 下で陰性 | HLS (2001) | T-164 | |
| T-25 (GLP) | 変異原性： サイトカラシンB を用いた 毒性評価 (メカニズム 試験) | ヒト培養リンパ球 | | | <i>In vitro</i> | 溶媒対照および 10, 20, 40, 60, 80, 100, 200, 400, 600, 800, 1000µg/mL | | 20µg/mL 以上 の用量で分裂 中期細胞の 割合を増加 させる | HLS (2003) | T-170 | |
| T-26 (GLP) | 変異原性： 小核試験 | ラット骨髓細胞 | | | <i>In vivo</i> | 0, 500, 1000, 2000 | | 陰性 | HLS (2001) | T-172 | |

HLS : Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国)

GLP : 農薬の毒性試験の適正実施に関する基準に準拠して実施された試験

| 資料 No. | 試験の種類・期間 | | 供試生物 | 1群当り供試数 | | 投与方法 | 投与量 (mg/kg) | | LD ₅₀ 値または無毒性量(mg/kg) | | 試験機関 (報告年) | 記載頁 | | | | |
|------------|------------------------------------|-------|-----------------|---------|----------|--------------------------------------|---------------------------------------------------|-------------------|-------------------------------------------------------------------|-------------|------------|-------------|------------|-------|-------------------|--|
| | | | | ♂ | ♀ | | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | | | | | | |
| T-27 (GLP) | 生体機能に及ぼす影響 | 中枢神経系 | マウス | ♂4 | | 経口 | 0, 200, 600, 2000 | | >2000 | | HLS (2003) | T-174 | | | | |
| T-28 (GLP) | | 呼吸器系 | | ラット | ♂8 | | 経口 | 0, 200, 600, 2000 | | >2000 | | | HLS (2003) | T-175 | | |
| T-29 (GLP) | | 循環器系 | | | イヌ | | | 各2 | | 経口 | | | | | 0, 200, 600, 1000 | |
| T-30 (GLP) | 生殖ホルモン濃度と生殖腺病理検査 (13週間反復投与) | | ラット | ♂10 | | 混餌 | 0, 650, 2000 ppm | | 検体投与によりテストステロンの血中濃度が減少し、それに反応して濃度上昇をきたした黄体化ホルモンによって間細胞が慢性的に刺激される。 | | HLS (2002) | T-180 | | | | |
| | | | | | | | 0, 34.8, 114.3 | | | | | | | | | |
| T-35 (-) | ヒトエストロゲンレプター-α ヒトアンドロゲンレプター-1の抑制評価 | | ヒト HeLa 細胞 | | In vitro | 溶媒対照および 100pM, 1nM, 10nM, 100nM, 1μM | | レプターに対する影響なし | | 住友化学 (2010) | T-186 -1 | | | | | |
| T-36 (-) | テストステロン合成影響評価 | | ヒト NCI-H295R 細胞 | | | In vitro | 溶媒対照および 100pM, 1nM, 10nM, 100nM, 1μM, 10μM, 100μM | | テストステロン合成に影響なし | | | 住友化学 (2010) | T-186 -3 | | | |

HLS : Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国)

GLP : 農薬の毒性試験の適正実施に関する基準に準拠して実施された試験

2. 原体混在物および代謝物

| 資料 No. | 試験の種類・期間 | 供試生物 | 1群当り供試数 | | 投与方法 | 投与量 (mg/kg) | | LD ₅₀ 値または無毒性量(mg/kg) | | 試験機関 (報告年) | 記載頁 |
|------------|-----------------------------|------|---------|---|------|-------------|-------------------------|----------------------------------|---------|------------|-------|
| | | | ♂ | ♀ | | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | | |
| T-31 (GLP) | 代謝物 LGC-35523 急性経口毒性 14日間観察 | ラット | ♀3 | | 経口 | 5000 | | >5000 | | HLS (2003) | T-187 |
| T-32 (GLP) | 代謝物 LGC-35523 90日間反復経口投与毒性 | ラット | 各10 | | | 混餌 | 0, 300, 1250, 5000ppm | | 5000ppm | | |
| | | | | | | | 0, 19.66, 81.94, 326.69 | 0, 22.37, 93.02, 367.48 | 326.69 | 367.48 | |

HLS : Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国)

GLP : 農薬の毒性試験の適正実施に関する基準に準拠して実施された試験

| 資料 No | 試験の種類・期間 | 供試生物 | 1群当り供試数 | | 投与方法 | 投与量 (mg/kg) | | LD ₅₀ 値または無毒性量 (mg/kg) | | 試験機関 (報告年) | 記載頁 |
|------------|----------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|---|----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---|-----------------------------------|--------------------------|------------|-------|
| | | | ♂ | ♀ | | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | | |
| T-33 (GLP) | 代謝物 LGC-35523 変異原性： 復帰突然変異 | <i>Salmonella typhimurium</i> (TA98, TA100, TA1535, TA1537) <i>Escherichia coli</i> (WP2uvrA/pKM101) | | | In vitro | (1回目) -S9 mix および+S9 mix : 0, 50, 150, 500, 1500, 5000 µg/プレート (2回目) -S9 mix および+S9 mix : 0, 50, 150, 500, 1500, 5000 µg/プレート | | | S9 mix 存在下 および非存在下で陰性 | HLS (2003) | T-195 |
| T-34 (GLP) | 代謝物 LGC-35523 変異原性： 染色体異常 | ヒト末梢リンパ球細胞 | | | In vitro | 分裂中期像解析 (1回目) -S9 mix および+S9 mix : 0, 2.5, 5, 10mM (2回目) -S9 mix および+S9 mix : 0, 5, 7.5, 10mM | | | S9 mix 存在下 および非存在下で陰性 | HLS (2003) | T-198 |

HLS : Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国)

GLP : 農薬の毒性試験の適正実施に関する基準に準拠して実施された試験

3. 製剤を用いた試験成績

(1) 12.5%エタボキサム水和剤

| 資料 No | 試験の種類・期間 | 供試生物 | 1群当り供試数 | 投与方法 | 投与量 (mg/kg) | LD ₅₀ 値または無毒性量 (mg/kg) | 試験機関 (報告年) | 記載頁 |
|------------|---------------------------------------------|-------|--------------------------------|------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|-----------------------|-----|
| F-01 (GLP) | 12.5%フロアブル 急性経口毒性 14日間観察 | ラット | ♀3 | 経口 | (第1群) 2000 (第2群) 2000 | >2000 | DIMS (2007) | F-1 |
| F-02 (GLP) | 12.5%フロアブル 急性経皮毒性 14日間観察 | ラット | 各5 | 経皮 | 2000 | >2000 | DIMS (2007) | F-2 |
| F-03 (GLP) | 12.5%フロアブル 皮膚刺激性 72時間観察 | ウサギ | ♂3 | 適用 | 0.5mL | 刺激性なし | (株)富士バイオメディックス (2007) | F-3 |
| F-04 (GLP) | 12.5%フロアブル 眼刺激性 72時間観察 | ウサギ | 洗眼群 ♂3 非洗眼群 ♂3 | 適用 | 0.1mL/眼 | 軽度の刺激性 (洗眼効果あり) | (株)富士バイオメディックス (2007) | F-4 |
| F-05 (GLP) | 12.5%フロアブル 皮膚感作性 48時間観察 (Buehler法) | モルモット | ♂ 30 感作群 20 対照群 10 | 感作： 貼付 惹起： 貼付 | 感作：0.2mL、3回 惹起：0.2mL | 感作性なし | (株)富士バイオメディックス (2007) | F-6 |

DIMS : (株) DIMS 医科学研究所

GLP : 農薬の毒性試験の適正実施に関する基準に準拠して実施された試験

1. 原体

1) 急性毒性

ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No.T-01)

試験機関：Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国)

報告書作成年：2001年 [GLP 対応]

検体純度：

供試動物：Hsd: Sprague-Dawley 系 CD ラット、1 群雌雄各 5 匹、

投与時週齢；約 8～11 週齢、投与時体重；雄 236～257 g、雌 200～211 g

観察期間：15 日間（投与日を試験 1 日とする）

試験方法：毒性等級法

投与方法：検体をコーン油で 250 mg/mL の濃度に調製し、5000 mg/kg の用量を、1 時間の間隔をあけて 2 回（各 10 mL/kg 体重）に分けて経口投与した。投与前に一夜絶食した。

観察・検査項目：中毒症状および生死を 15 日間観察した。試験 1 日（投与前）、8 日および 15 日に体重を測定し、死亡動物および試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行なった。

結果：

| | |
|--------------------------------|------------------------------------------------|
| 投与方法 | 経口 |
| 投与量 (mg/kg) | 5000 |
| LD ₅₀ (mg/kg) | 雌雄 >5000 |
| 死亡開始時間および終了時間 | 死亡例なし |
| 症状発現および消失時間 | 雄 発現：2 日 消失：9 日 雌 発現：4 日 消失：8 日（除く脱毛） |
| 毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg) | なし |
| 死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg) | 5000 |

試験期間を通して死亡は認められなかった。検体投与に対する反応として、飲水量増加、尿量増加、淡黄色尿といった症状がすべてのラットにみられ、また雄全例で立毛、雌 3 例で脱毛を伴った。雌の脱毛は試験 15 日でも観察された。試験 8 日に雄 1 例に体重減少がみられ、他の雄 1 例に試験 8 日に体重増加量の抑制が認められた。肉眼的病理検査では、主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

ラットを用いた急性経皮毒性試験

(資料 No.T-02)

試験機関：Huntingdon Life Sciences Ltd (英国)

報告書作成年：2001年 [GLP 対応]

検体純度：

供試動物：Hsd: Sprague-Dawley 系 CD ラット、1 群雌雄各 5 匹、

投与時週齢；約 8～11 週齢、投与時体重；雄 218～252 g、雌 216～230 g

観察期間：15 日間（投与日を試験 1 日とする）

投与方法：検体を最大溶解可能量である 50 w/v% の濃度でコーン油に溶解し、剃毛した背面腰部皮膚に、10 mL/kg 体重の用量で均等に適用し、適用部位をガーゼパッド（約 50 mm×50 mm）で覆い、これに非刺激性テープを用いて固定し、さらに不浸透性フィルムで体軀をくるみ 24 時間暴露した。曝露終了後残留する検体を微温水で洗い、吸水紙により清拭した。

観察・検査項目：中毒症状および生死を 15 日間観察した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について適用部位を含む組織の肉眼的病理検査を行なった。

結果：

| 投与方法 | 経皮 |
|-------------------------------|----------|
| 投与量 (mg/kg) | 5000 |
| LD ₅₀ (mg/kg) | 雌雄 >5000 |
| 死亡開始時間および終了時間 | 死亡例なし |
| 症状発現および消失時間 | なし |
| 毒性徴候の認められなかった 最高濃度 (mg/kg) | なし |
| 死亡例の認められなかった 最高濃度 (mg/kg) | 5000 |

試験期間を通して、死亡は認められなかった。

試験 8 日に雌 2 例で体重減少がみられ、他の雌 1 例に体重増加量の抑制が認められた。

肉眼的病理検査では、主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

また、投与部位の皮膚に、刺激性変化およびその他の異常は認められなかった。

ラットを用いた急性吸入毒性試験

(資料 No.T-03)

試験機関：Huntingdon Life Sciences Ltd (英国)

報告書作成年：2001年

[GLP 対応]

検体純度：

供試動物：Cri:CD®(SD)IGS BR Sprague-Dawley 系ラット、

1群雌雄各5匹(試験群および対照群)、搬入時週齢；雄約7週齢、雌約8週齢、

暴露開始時体重；雄 259~299 g、雌 204~229 g

観察期間：14日間

暴露方法：超遠心粉碎機を用いて微粉碎した検体を、ダスト発生装置(Wrightのダストフィード装置)を用いて、ダストを発生させ、4時間鼻部暴露させた。5 mg/Lの限界濃度(実際濃度 4.89 mg/L)で試験を実施した。実際暴露検体量は濾紙ディスクを用いて捕集し、重量測定法により濃度を求めた。

暴露条件：

| | |
|-------------------------|--------------|
| 名目濃度 (mg/L) | 17.2** |
| 実際濃度 (mg/L) | 4.89** |
| 粒子径分布* | 累積% |
| <21.3 μm | 97.7 |
| <14.80 μm | 94.2 |
| <9.8 μm | 79.8 |
| <6.0 μm | 57.1 |
| <3.5 μm | 36.2 |
| <1.55 μm | 16.0 |
| <0.93 μm | 3.5 |
| <0.52 μm | 0.0 |
| 空気力学的質量中位径 (MMAD) (μm) | 4.3 |
| 呼吸可能な粒子 (<7 μm) の割合 (%) | 71 |
| チャンバー容積(L) | 30 |
| チャンバー内通気量 (L/分) | 15 |
| 暴露条件 | ダスト 4時間 鼻部暴露 |

*： Marple cascade impactor により2回測定した平均

**：ダスト発生装置で噴霧した検体の総重量と発生期間中に暴露システムを通った空気の総量から算出。実際濃度は名目濃度の28%であり、これは検体の凝集に起因するものと考えられた。上記実際濃度はロス低減のため、エアロゾル発生システムへ静電気除去空気を給気することによって得られた最大達成濃度であった。

観察・検査項目：暴露中および暴露後14日間、中毒症状および生死を観察した。死亡動物およ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。

結 果：

| | |
|-------------------------------|----------------------------|
| 投与方法 | 吸入 |
| 暴露濃度 (mg/L) | 4.89 |
| LC ₅₀ 4時間曝露 (mg/L) | 雌雄 > 4.89 |
| 死亡開始時間および 終了時間 | 死亡例なし |
| 症状発現および 消失時間 | 暴露開始 15分後から発現 暴露後 4日に消失 |
| 毒性兆候の認められなかった 最高濃度 (mg/L) | なし |
| 死亡例の認められなかった 最高濃度 (mg/L) | 4.89 |

試験期間を通して、死亡は認められなかった。中毒症状として暴露開始 15分後から、雌雄に関係なく呼吸深大が認められた。観察期間中においても、暴露終了直後に、全例で呼吸雑音および呼吸深大が認められたが、暴露 4日後に回復した。暴露後最初の 1週間で、試験群雄ラットにおいて平均体重増加量の抑制が認められたが、その後回復し、対照群の値とほぼ同等であった。肉眼的病理検査では生存動物に何ら特記すべき変化は認められなかった。

2) 皮膚および眼に関する刺激性

ウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 No.T-04)

試験機関：Huntingdon Life Sciences Ltd (英国)

報告書作成年：2001年 [GLP 対応]

検体の純度：

供試動物：ニュージーランドホワイト種ウサギ、1群雄3匹

投与時週齢；8週齢、投与時体重；2.3~2.9 kg

観察期間：72時間

投与方法：検体約0.5 gを剃毛したウサギの背面腰部皮膚(約100 mm×100 mm)に適用し、蒸留水で湿らせた二折多孔性ガーゼパッド(25 mm×25 mm)およびテープにより半閉塞貼付した。暴露期間は4時間とし、その後微温湯(36℃)で洗浄し、吸水紙により残余の検体を清拭した。

観察・検査項目：暴露終了約60分後、約25、48および72時間後に適用部分の刺激性変化(紅斑、痂皮、浮腫)の有無等を観察し、OECDの基準に従って採点した。

結果：観察した刺激性変化の採点は以下の表の通りであった。

| 項目 | 最高 評点 | 暴露後時間 | | | |
|-------|----------|-------|------|------|------|
| | | 60分 | 25時間 | 48時間 | 72時間 |
| 紅斑、痂皮 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 合計 | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 |

注) 表の点数は3匹の平均値であり、各動物の評点は全て0であった

4時間の半閉塞貼付を行った結果、何らの皮膚反応は認められなかった

以上の結果から、エタボキサムはウサギの皮膚に対して、刺激性はないものと判断された。

ウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 No.T-05)

試験機関：Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国)

報告書作成年：2001 年

[GLP 対応]

検体の純度：

供試動物：ニュージーランドホワイト種ウサギ、投与時週齢；11 週齢、投与時体重；2.5～3.0 kg
1 群雄 1 匹 (洗眼群、予備試験)、雄 3 匹 (非洗眼群、本試験)

観察期間：3 日間

投与方法：ウサギの片眼下眼に 0.1 mL 容量の検体 (平均重量 37 mg) を適用し、1 例は 30 秒後に 30 秒間蒸留水で洗眼した (洗眼群)。3 匹については洗眼しなかった (非洗眼群)。もう一方の眼は無処置、対照とした。

観察・検査項目：適用後 1 時間、1 日、2 日および 3 日に眼の角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、OECD の基準に従って採点した。ウサギの健康状態および毒性症状を毎日観察した。

結果：観察した刺激性変化の採点は次表の通りである。

| 項目 | | | 最高 評点 | 適用後時間 | | | | |
|------------------|------------------|------------------|----------|-------|------|-----|-----|---|
| | | | | 1 時間 | 1 日 | 2 日 | 3 日 | |
| 非 洗 眼 群 | 動物 番号 2386 | 角膜 混濁 | 程度 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | 面積 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 虹彩 | | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 結膜 | 発赤 | 3 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| | | | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 動物 番号 2387 | 角膜 混濁 | 程度 | 4 | 0 | 0 | 0 |
| | 面積 | | | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 虹彩 | | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | 結膜 | | 発赤 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | | | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 動物 番号 2388 | | 混濁 角膜 | 程度 | 4 | 0 | 0 | 0 |
| | | 面積 | | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 虹彩 | | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| 結膜 | | 発赤 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 合計* | | | 51 | 2 | 1 | 0 | 0 | |
| 平均 | | | 17 | 0.67 | 0.33 | 0 | 0 | |
| 洗 眼 群** | 動物 番号 2385 | 角膜 混濁 | 程度 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | 面積 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 虹彩 | | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 結膜 | 発赤 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 合計* | | | 51 | 0 | 0 | 0 |

*: OECD の基準による評価点 (最高 51 点) **: 予備試験 1 例の結果

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

角膜損傷や虹彩炎は観察されなかった。適用約1時間後から結膜血管に一時的な充血がみられたが、適用後1日～2日以内に回復した。観察期間を通して何れのウサギにも毒性症状や健康状態の悪化の症状はみられなかった。

以上の結果から、エタボキサムはウサギの眼粘膜に対して、刺激性はないものと判断された。

3) 皮膚感作性

モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 No.T-06)

試験機関: Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国)

報告書作成年: 2001 年 [GLP 対応]

検体の純度:

供試動物: Dunkin/Hartley 系モルモット、検体処理群; 1 群雄 20 匹、対照群; 1 群雄 10 匹、

試験開始時週齢; 約 5~8 週齢、試験開始時体重; 352~478 g

試験期間: 35 日間 (2001 年 3 月 20 日~2001 年 4 月 23 日)

試験操作: [Maximization 法]

感作: 肩甲骨部の背部皮膚を剃毛し、検体の 1% w/v Alembicol D 溶液を皮内注射した (0.1 mL/ 部位)。試験 7 日に肩甲骨部を剃毛し、ワセリンで 10% w/w にしたラウリル硫酸ナトリウムを用いて、一ヶ所当たり 0.5 mL を塗布し、試験 8 日に検体の 50% w/v Alembicol D 溶液 0.4 mL をワットマンフィルターディスク (2×4 cm) に飽和させ、試験部位に 48 時間閉塞貼付した。

一方、陽性対照群*は HCA (hexl cinnamic aldehyde) の 10% w/v Alembicol D 溶液を皮内注射後、1 週間後に原液を 48 時間閉塞添付した。

惹起: 感作貼付 2 週間後に、左腹側部を剃毛し、検体の 50% および 25% w/v Alembicol D 溶液 0.2 mL を 24 時間惹起閉塞貼付した。

一方、陽性対照群*には、HCA (hexl cinnamic aldehyde) の原液および 50% Alembicol D 溶液を 24 時間惹起閉塞添付した。

*但し陽性対照群の試験は 2001 年 1 月 9 日から 2 月 2 日に 15 匹のモルモットを用いて別に実施したものである。

観察項目: 惹起 24 時間および 48 時間後に適用部位の紅斑および浮腫の有無等を肉眼的に観察し、以下に示す基準に従って採点し、評価した。

紅斑および痂皮形成:

| | |
|------------------------------|---|
| 紅斑なし | 0 |
| 非常に軽度の紅斑 (かろうじて識別できる) | 1 |
| はっきりとした紅斑 | 2 |
| 中等度から重度の紅斑 | 3 |
| 重度の紅斑 (深紅色) から紅斑の採点ができない痂皮形成 | 4 |

浮腫形成：

| | |
|------------------------------|---|
| 浮腫なし | 0 |
| 非常に軽度の浮腫（かろうじて識別できる） | 1 |
| 軽度の浮腫（はっきりした膨隆による明確な縁が識別できる） | 2 |
| 中等度の浮腫（約1mm隆起） | 3 |
| 重度の浮腫（1mm以上の膨隆と暴露範囲を超えた広がり） | 4 |

結果：各観察時間における感作変化が認められた動物数を下表に示す。

| 群 | 感作 | 惹起 | 動物数 | 項目 | 感作反応動物数 | | | | | | | | | | | 陽性率 | | |
|--------------|---------------|------------|-----|----|---------|---|---|---|---|----|--------|---|---|---|---|------|------|---|
| | | | | | 24時間 | | | | | | 48時間 | | | | | 24時間 | 48時間 | |
| | | | | | 皮膚反応評点 | | | | | | 皮膚反応評点 | | | | | | | |
| | | | | | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 計 | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | | | 計 |
| 検体 | 1次： 1%検体 | 50% 検体 | 2 | 紅斑 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | - | - |
| | | 0 | 浮腫 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | - | - | |
| | 2次： 50%検体 | 25% 検体 | 2 | 紅斑 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | - | - |
| | | 0 | 浮腫 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | - | - | |
| 溶媒 | 50% 検体 | 1 | 紅斑 | 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | - | - | |
| | 0 | 浮腫 | 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | - | - | | |
| | 25% 検体 | 1 | 紅斑 | 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | - | - | |
| | | 0 | 浮腫 | 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | - | - | |
| 陽性 対 照 | 1次： 10%HCA | 原液 | 1 | 紅斑 | 0 | 5 | 5 | 0 | 0 | 15 | 0 | 7 | 3 | 0 | 0 | 13 | + | + |
| | | 0 | 浮腫 | 2 | 8 | 0 | 0 | 0 | 8 | 3 | 7 | 0 | 0 | 0 | 7 | - | - | |
| | 2次： HCA原液 | 50% HCA | 1 | 紅斑 | 1 | 9 | 0 | 0 | 0 | 9 | 5 | 5 | 0 | 0 | 0 | 5 | + | + |
| | | 0 | 浮腫 | 7 | 3 | 0 | 0 | 0 | 3 | 9 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | - | - | |
| 溶媒 | 原液 | 5 | 紅斑 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | - | - | |
| | 5 | 浮腫 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | - | - | | |
| | 50% HCA | 5 | 紅斑 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | - | - | |
| | 5 | 浮腫 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | - | - | | |

陽性対照群：2001年1月9日～2月2日に実施。

HCA: Hexyl cinnamic aldehyde

検体投与群では、感作経皮貼付後、3日後に対照群動物1例の死亡が認められた。肉眼的病理検査で異常はみられず、死亡原因は不明であった。この動物を除いて供試動物に健康状態の悪化や毒性症状はみられなかった。検体が皮膚感作性を示す影響はみられなかった。

陽性対照群では、全動物に明瞭な紅斑および浮腫がみられた。

以上の結果から、エタポキサムの皮膚感作性は陰性であると判断された。

4) 急性神経毒性

(資料 No.T-07)

試験未実施

急性および反復投与経口毒性試験からの考察で対応

ラットにおける急性、反復投与経口毒性試験および反復投与経口神経毒性試験において神経毒性への影響を示唆するような所見は認められず、かつ、既知の神経毒性物質と化学的に構造相関が無いことから試験は実施しなかった。

以下に、急性および反復投与経口毒性試験での神経毒性に関連する観察内容の概要および急性神経毒性に対する総合考察を記載する。

1. ラットにおける急性経口毒性試験 (資料 No.T-01)

SD 系 CD ラットに限界用量の 5g/kg を単回強制経口投与し、15 日後の肉眼的病理検査まで一般状態を観察した。

観察項目は全身的外観、体位、姿勢、自律神経系機能、歩行異常、ハンドリングと環境刺激に対する反応性および異常行動の変化等であった。

投与に対する反応も軽度で、死亡はみられなかった。これらの観察から、神経毒性を示唆する所見は認められなかった。

2. ラットにおける飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験 (資料 No.T-09)

CD 系ラットに 0、200、650、2000 ppm の濃度で 13 週間混餌投与した。(2000 ppm の平均達成検体濃度は、雄で 154 mg/kg/日、雌で 164 mg/kg/日であった。)

臨床症状の詳細な観察項目は全身的外観、行動、ハンドリングと環境刺激に対する反応性、筋機能および筋緊張、体位、歩行、反射、呼吸および体温の変化の確認等であった。

また投与終了時には脳、および眼球の病理組織学的検査も実施した。

これらの観察および検査の結果から、神経系への影響を示唆するあらゆる症状の有無を確認したが、神経毒性を示唆する所見や自律神経系の失調を示すと考えられる報告は無かった。

3. ラットにおける飼料混入投与による 90 日間反復経口投与神経毒性試験 (資料 No.T-13)

CD 系ラットに 0、250、600、1500 ppm の濃度で 13 週間混餌投与した。(1500 ppm の平均達成検体濃度は、雄で 106 mg/kg/日、雌で 122 mg/kg/日であった。)

一般状態の観察を全ての動物に対して週 1 回実施し、さらに臨床症状の詳細な観察を全ての動物に対して投与開始前および投与期間中 4 回定期的にホームケージ内、オープンフィールドおよびハンドリングに関する項目について実施した。さらに機能検査(FOB)を全ての動物に対して投与開始前および投与期間中 4 回定期的に、感覚の観察、神経筋の観察、生理学的観察に関する項目および自発運動について実施した。投与終了時に、全ての生存動物を全身灌流固定後、中枢および末梢神経系組織を肉眼観察した。さらに対照および 1500 ppm 群の雌雄各群 6 匹の動物の中枢および末梢神経系の臓器・組織について病理組織学的検査を実施し

た。

これらの観察および検査の結果から、神経系への影響を示唆するあらゆる症状の有無を確認したが、神経毒性を示唆する所見や自律神経系の失調を示すと考えられる報告は無かった。

4. ラットを用いた飼料混入投与による1年間反復経口投与毒性および2年間発がん性併合試験
(資料 No.T-16)

CD系ラットに0、100、300、650 ppmの濃度で52週間および104週間混餌投与した。(650 ppmの平均達成検体濃度は、雄で35.8 mg/kg/日、雌で45.5 mg/kg/日であった。)

臨床症状の詳細な観察項目は全身的外観、行動、ハンドリングと環境刺激に対する反応性、筋機能および筋緊張、体位、歩行、反射、呼吸および体温の変化の確認等であった。

また投与終了時には脳、坐骨神経、骨格筋、脊髄および眼球の病理組織学的検査も実施した。これらの観察および検査の結果から、神経系への影響を示唆するあらゆる症状の有無を確認したが、神経毒性を示唆する所見や自律神経系の失調を示すと考えられる報告は無かった。

5. 既知神経毒性物質との化学構造の相関について

エタポキサムは、有機リン剤、カーバメート、ピレスロイド、ネオニコチノイド等の既知神経毒性物質のいずれにも属さない化学構造であり、現在の科学的知見において、既知神経毒性物質との化学構造の相関はない。

ラット急性経口毒性試験における一般状態の観察、ラット反復経口投与毒性試験における詳細な状態観察、病理組織学的検査およびラット反復経口投与神経毒性試験における詳細な状態観察、機能検査および病理組織学的検査等において、いずれの項目においても致死量以下の用量で特異な神経毒性を示す所見は認められず、かつ、有機リン剤等の既知神経毒性物質と化学構造に相関性は無いので、総合的に判断して急性神経毒性試験の実施は不要と判断した。

5) 急性遅発性神経毒性

(資料 No.T-08)

試験省略

試験省略理由: 遅発性神経毒性を有する既知の化学物質との化学構造上の相関性からみて、遅発性神経毒性を有するおそれがないと認められるため。

6) 90日反復経口投与毒性

ラットにおける飼料混入投与による90日間反復経口投与毒性試験

(資料 No.T-09)

試験機関：Huntingdon Life Sciences Ltd (英国)

報告書作成年：1997年 [GLP 対応]

検体純度：

供試動物：Cri: CD BR系ラット、1群雌雄各10匹、投与開始時週齢；雌雄約6週齢、

投与開始時体重；雄168～201g、雌145～178g

投与期間：13週間（1996年8月28日～1996年11月27日）

投与方法：検体を200、650および2000ppm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毎週1回調製した。

観察・検査項目および結果：

一般状態および死亡率；一般状態観察および触診を、投与開始後5週間は週末を除いて毎日、その後は毎週1回実施した。動物の生死は週末を含めて毎日2回観察した。

| 性別 | 雄 | | | | 雌 | | | |
|------------------|------|------|------|------|------|------|------|-------|
| | 0 | 200 | 650 | 2000 | 0 | 200 | 650 | 2000 |
| 脱毛動物数 /検査動物数* | 2/10 | 3/10 | 2/10 | 1/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | ↑7/10 |

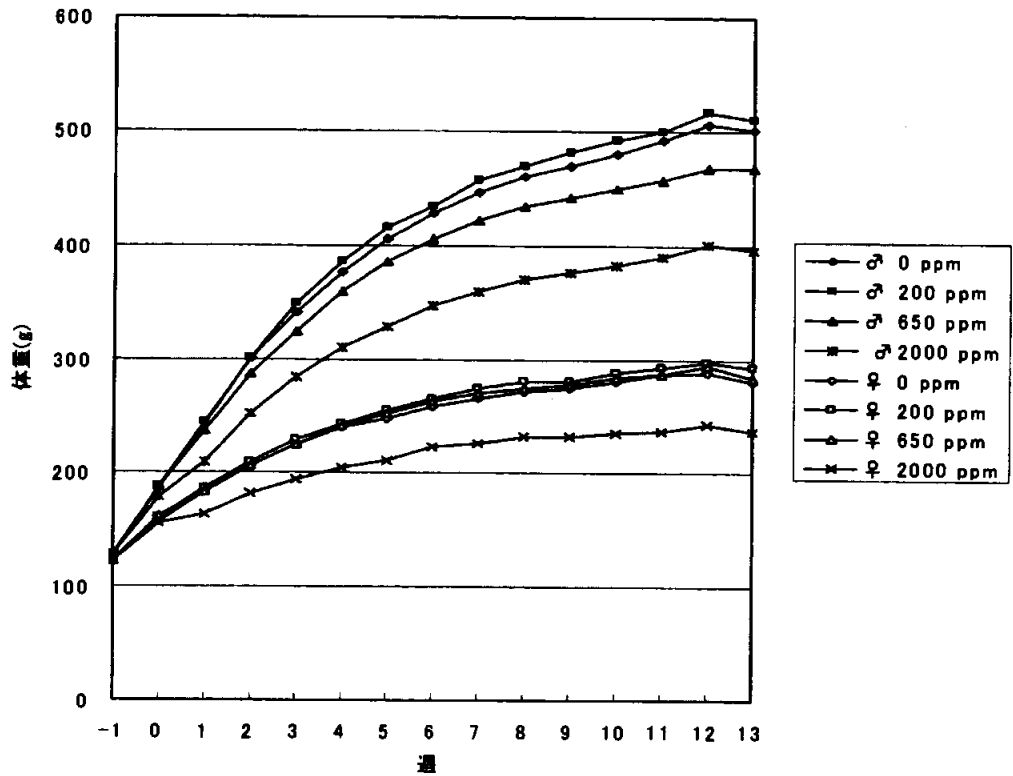
*：投与13週において認められた所見数を示す。

Fisherの直接確率計算法（申請者実施） ↑↓：p≤0.05、↑↓：p≤0.01

投与期間中の途中死亡例はなかった。

2000ppm投与群の雌において脱毛の発生頻度の増加がみられたが、これは摂餌量の減少に伴う低栄養に起因する変化であると判断された。さらに雌の検体投与群すべてのケージにトレイ上の吸収紙の黄染が認められたが、これは尿中に排泄された検体の代謝物によるものであり、毒性学的に意義はないと判断された。

体 重；群分け時、投与開始日および投与期間中毎週1回全動物の体重を測定した。
以下に体重変化の図と体重増加量 (g/動物) の表を示す。



| 性別 | 雄 | | | | 雌 | | | |
|-------------------|-----------|-------|--------|--------|-------|-------|-------|-------|
| | 投与量 (ppm) | 0 | 200 | 650 | 2000 | 0 | 200 | 650 |
| 0-13 週の増加量 (g/動物) | 316.4 | 322.4 | ↓279.7 | ↓217.7 | 123.5 | 132.3 | 123.3 | ↓80.7 |
| 対照群に対する% | — | 102 | 88 | 69 | — | 107 | 100 | 65 |

Williams 検定/Shirley 検定 ↑↓ : p<0.05, ↑↓ : p<0.01

2000 ppm 投与群の雌雄で顕著な体重増加量の抑制が認められた。650 ppm 投与群の雄でも 2000 ppm 投与群より軽度ながら体重増加量の抑制が認められた。200 ppm 投与群の雄と 200 および 650 ppm 投与群の雌の体重増加量は対照群と同程度か対照群を上回った。

摂餌量；全ケージの摂餌量を週1回測定し、動物1匹あたりの摂餌量を算出した。

投与期間中の総摂餌量（g/動物）を以下の表に示す。

| 性別 | 雄 | | | | 雌 | | | |
|------------------|------|------|------|-------|------|------|------|------|
| | 0 | 200 | 650 | 2000 | 0 | 200 | 650 | 2000 |
| 投与量 (ppm) | | | | | | | | |
| 1-13週の摂餌量 (g/動物) | 2730 | 2884 | 2517 | ↓2229 | 2020 | 2045 | 2003 | 1572 |
| 対照群に対する% | — | 106 | 92 | 82 | — | 101 | 99 | 78 |

Williams 検定/Shirley 検定 ↓↑ : p≤0.05、↑↓ : p≤0.01

2000 ppm 投与群の雌雄と 650 ppm 投与群の雄の群平均摂餌量は持続的に低値を示し、体重変化と対応していた。しかし、摂餌量減少の程度は体重増加量の抑制の程度よりもやや軽度であった。

食餌効率；体重および摂餌量のデータから飼料要求率を算出し、食餌効率を求めた。

食餌効率の計算は体重増加量/摂餌量が一般的に使われているが、本報告書では飼料要求率として摂餌量/体重増加量の計算が用いられているため、以下の記載は飼料要求率の表現を用いた。

全投与期間における飼料要求率^{*}を以下の表に示す。

| 性別 | 雄 | | | 雌 | | |
|-------------|-----|-----|------|-----|-----|------|
| | 200 | 650 | 2000 | 200 | 650 | 2000 |
| 投与量 (ppm) | | | | | | |
| 1-13週の飼料要求率 | 103 | 105 | 119 | 95 | 99 | 119 |

表中の数字は対照群を 100 とした場合の値を示す

* 飼料要求率=摂餌量/体重増加量

2000 ppm 投与群の雌雄で飼料要求率食餌効率の悪化がみられた。これは、本投与群における体重増加量の抑制がすべて摂餌量減少に起因するわけではないことを示していた。

検体摂取量；全投与期間にわたる平均検体摂取量（mg/kg/日）は以下の通りである。

| 性別 | 雄 | | | 雌 | | |
|-------------------------|------|------|------|------|------|------|
| | 200 | 650 | 2000 | 200 | 650 | 2000 |
| 投与量 (ppm) | | | | | | |
| 1-13週の平均検体摂取量 (mg/kg/日) | 16.3 | 49.7 | 154 | 17.9 | 58.0 | 164 |

飲水量；給水瓶の目視により毎日確認した。さらに投与 12 週にすべてのケージの飲水量を毎日正確に測定した。

| 性別 | 雄 | | | | 雌 | | | |
|---------------|-----|-----|-----|------|-----|------|------|------|
| | 0 | 200 | 650 | 2000 | 0 | 200 | 650 | 2000 |
| 投与量 (ppm) | 0 | 200 | 650 | 2000 | 0 | 200 | 650 | 2000 |
| 12 週の総飲水量 (g) | 242 | 279 | 227 | 200 | 224 | ↓191 | ↓188 | ↓139 |
| 対照群に対する% | — | 115 | 94 | 83 | — | 85 | 84 | 62 |

Williams 検定/Shirley 検定 ↑↓ : p≤0.05, ↑↓ : p≤0.01

投与 12 週に飲水量を測定したところ、2000 ppm 投与群の雌で有意な減少が認められた。しかし、本所見は投与自体の影響ではなく、同時に認められた摂餌量の減少を反映したものと考えられた。その他の平均飲水量は対照群平均値の±17%以内であり、投与に関連した変化とは考えられなかった。

血液学的検査；投与 13 週時に一晚絶食させた全動物を対象として、軽麻酔下で眼窩静脈叢から血液を採取し、以下の項目を測定した。

ヘマトクリット値、血色素量、赤血球数、平均赤血球血色素濃度、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量、総白血球数、白血球分画、細胞形態、血小板数、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

統計学的有意差が認められた項目および用量依存性がみられた項目を次表に示す。

| 性別 | 雄 | | | 雌 | | |
|------------------|-----|------|------|-----|------|------|
| | 200 | 650 | 2000 | 200 | 650 | 2000 |
| 投与量 (ppm) | 200 | 650 | 2000 | 200 | 650 | 2000 |
| 平均赤血球血色素濃度 | | | | | ↓98 | ↓99 |
| 血小板数 | | | | | <84> | <82> |
| プロトロンビン時間 | | | | | | ↓96 |
| 活性化部分トロンボプラスチン時間 | | | | | | ↑109 |
| 白血球分画： | | | | | | |
| 好中球 | | <79> | <72> | | | |
| 好酸球 | | <65> | ↓54 | | | |
| 好塩基球 | ↓57 | ↓43 | ↓71 | | | |
| 単球 | | | | | | ↓67 |

Williams 検定/Shirley 検定 ↑↓ : p≤0.05, ↑↓ : p≤0.01

<> : 統計学的有意差はないが参考値として提示

表中の数字は対照群を 100 とした場合の値を示す

2000 ppm 投与群の雌で活性化部分トロンボプラスチン時間が延長し、2000 および 650 ppm 投与群の雌の血小板数が、統計学的に有意ではないものの大幅かつ用量依存性に減少したが、これは高用量群にみられた肝への検体投与の影響との関連性が疑われた。雌雄の各投与群の白血球において有意な減少あるいは減少傾向が認められたが、片性のみの発生、対照群との差がわずかであるか投与用量との関連性がみられなかったため、

投与に関連した変化とは考えられなかった。

(申請者注：雌の 2000 および 650 ppm 群において平均赤血球血色素濃度が有意に低値を示したが、赤血球数、ヘモグロビンあるいはヘマトクリット値には変動がみられないことから毒性学的に意義のない偶発性変化であると判断された。雌の 2000 ppm 群においてプロトロンビン時間の有意な短縮がみられたが、プロトロンビン時間の短縮には毒性学的な意義は認められなかった。)

血液生化学的検査；血液学的検査用に採取した血液から得られた血漿を用い、以下の項目の測定を行った。

総蛋白、アルブミン、グロブリン、尿素窒素、クレアチニン、ナトリウム、カリウム、カルシウム、無機リン、クロール、コレステロール、アルカリホスファターゼ、グルコース、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT)、グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT)

統計学的有意差が認められた項目を次表に示す。

| 性別 投与量 (ppm) | 雄 | | | 雌 | | |
|-----------------|-----|-----|-------|-----|-----|------|
| | 200 | 650 | 2000 | 200 | 650 | 2000 |
| グルコース | | | | | | ↓88 |
| アルブミン | ↓97 | ↓97 | ↓100 | | | ↓91 |
| グロブリン | | | ↑105 | | | ↑111 |
| 尿素窒素 | | | ↑117 | | | |
| アルカリホスファターゼ | | | <109> | | | ↑132 |
| GPT | | | ↓82 | | | |
| GOT | | | | | | ↓75 |
| カリウム | | | ↓92 | | | |
| カルシウム | | ↓96 | ↓96 | | ↓95 | ↓91 |
| 無機リン | ↓92 | ↓90 | ↓87 | | | |
| コレステロール | | | ↑149 | | | ↑143 |

表中の数字は対照群を 100 とした場合の値を示す

Williams 検定/Shirley 検定 ↑↓ : p≤0.05, ↑↓ : p≤0.01

<> : 統計学的有意差はないが参考値として提示

2000 ppm 投与群の雌雄でコレステロール値が有意に増加し、雌のアルカリホスファターゼ活性が上昇し、これらは病理組織学的に観察された肝への検定投与の影響に関連する変化であろうと考えられたが、その毒性学的意義を明らかにできなかった。2000 および 650 ppm 投与群の雌雄のカルシウムおよび雄の無機リンが減少したが、病理組織学的検査でもこれらの変動に対応する変化はみられなかったことから、毒性学的な重要性はないと判断された。

上記以外に各投与群において雄あるいは雌に有意な変化が見られたが、対照群との差はわずかな変化あるいは投与用量との関連性がないか、病理組織学的検査など他の検査には対応する変化がないことから偶発的な発生あるいは毒性学的に意義のない変化と判

断された。

尿検査；投与 13 週時に一晚絶食・絶水させた全動物を対象として以下の項目を検査した。

尿量、pH、比重、蛋白、全還元物質（還元糖）、グルコース、ケトン、胆汁色素、ウロビリノーゲン、ヘム色素、尿沈渣

統計学的有意差が認められた項目を次表に示す。

| 性別 | 雄 | | | 雌 | | |
|-----------|-----|-----|------|-----|-----|------|
| 投与量 (ppm) | 200 | 650 | 2000 | 200 | 650 | 2000 |
| 尿量 | | | ↓58 | | | |

表中の数字は対照群を 100 とした場合の値を示す
Williams 検定/Shirley 検定 ↑↓： $p \leq 0.05$ 、↑↓： $p \leq 0.01$

2000 ppm 投与群の雄での尿量が有意に減少したが、雌には傾向がみられなかったのでこれらは検体投与とは関係ないものと考えられた。

眼科学的検査；群分け前の全動物および投与 12 週における対照群と高用量群の全動物について、眼科学的検査を実施した。

投与前および投与 12 週の検査で異常は認められなかった。

臓器重量；投与期間終了後に全動物を対象として以下の臓器重量（絶対重量）を測定した。

脳、下垂体、甲状腺、心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、前立腺、精巣、精囊、精巣上体、子宮

試験群内で臓器重量と体重との相関が 10%水準で有意である場合には、臓器重量については最終体重で補正し、共変量とした分散分析を行った。

統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

| 性別 | | 雄 | | | 雌 | | | |
|-----------|-------|-------|-----|-------|------|------|-------|---|
| 投与量 (ppm) | | 200 | 650 | 2000 | 200 | 650 | 2000 | |
| 脳 | 絶対重量 | | | | | | | |
| | 補正重量 | | | ↑106 | | | | |
| | 相対重量* | | | ↑↑127 | | | ↑↑116 | |
| 心臓 | 相対重量* | | | ↑117 | | | | |
| 肺 | 相対重量* | | | ↑↑139 | | | ↑↑129 | |
| 肝臓 | 絶対重量 | | | | | | | |
| | 補正重量 | | | ↑117 | | ↑113 | ↑119 | |
| | 相対重量* | | | ↑112 | | ↑114 | ↑↑119 | |
| 腎臓 | 相対重量* | | | | | | ↑110 | |
| 前立腺* | 絶対重量 | | | ↓84 | - | - | - | |
| 精囊* | 絶対重量 | | | <81> | - | - | - | |
| 精巣 | 左 | 絶対重量 | | | - | - | - | |
| | | 補正重量 | | | ↓55 | - | - | - |
| | | 相対重量* | | | ↓↓60 | - | - | - |
| | 右 | 絶対重量 | | | ↓44 | - | - | - |
| | | 相対重量* | | | ↓↓56 | - | - | - |
| | | 相対重量* | | | ↓↓56 | - | - | - |
| 精巣 上部 | 左 | 絶対重量 | | | ↓56 | - | - | |
| | | 相対重量* | | | ↓↓71 | - | - | |
| | 右 | 絶対重量 | | ↓87 | ↓53 | - | - | - |
| | | 相対重量* | | | ↓↓67 | - | - | - |
| | | 相対重量* | | | ↓↓67 | - | - | - |
| | | 相対重量* | | | ↓↓67 | - | - | - |

表中の数字は対照群を 100 とした場合の値を示す

Williams 検定/Shirley 検定または共分散分析 ↑↓: p<0.05, ↑↑↓: p<0.01

*: 相対重量は申請者が算出し、統計検定 (共分散分析後、Dunnett 又は Steel の検定法/両側; ↑↓: p<0.05, ↑↑↓: p<0.01) を実施した。

*: 補正重量計算なし - : 対象臓器なし

<>: 統計学的有意差はないが参考値として提示

2000 ppm 投与群の雄では精巣、精巣上部、前立腺および精囊の絶対あるいは補正重量が減少し、さらに雌雄の肝臓の補正重量が有意に増加した。これらの臓器では病理組織学的検査に対応する所見が観察され、投与による影響と判断された。

650 ppm 投与群では雄の精巣上部の絶対重量が減少し、雌では肝臓の補正重量の増加がみられ、病理組織学的検査に対応する所見も観察されたため、投与による影響と判断された。

上記以外にもその他の臓器において統計学的に有意な差が観察されたが、いずれも、体重減少による随伴的变化あるいは偶発性変化であると判断された。

申請者注

相対重量値について統計処理を実施したところ、雌の 2000ppm 群において腎臓の相対重量の高値が認められた。当該変化については、2000ppm 群の雌で認められた体重増加量の抑制に起因したものと考えられ、加えて尿検査および腎臓の病理組織学的検査においても変化が認められていないことから、毒性学的意義のない変化と判断した。

肉眼的病理検査:13週間の投与終了後に全動物を二酸化炭素吸入により屠殺し、剖検を行った。

統計学的有意差が認められた所見を次表に示す。

| 性別 | | 雄 | | | | 雌 | | | |
|-----------|-----|-------------------|------|------|--------|------|------|-------|-------|
| 投与量 (ppm) | | 0 | 200 | 650 | 2000 | 0 | 200 | 650 | 2000 |
| 肺 | うっ血 | 0/10 ^a | 0/10 | 3/10 | ↑4/10 | 0/10 | 2/10 | ↑5/10 | ↑5/10 |
| 精巣 | 暗調化 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | ↑10/10 | — | — | — | — |
| | 小型化 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | ↑10/10 | — | — | — | — |
| 精巣上体 | 小型化 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | ↑10/10 | — | — | — | — |
| 子宮 | 小型化 | — | — | — | — | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 3/10 |
| | 液貯留 | — | — | — | — | 1/10 | 2/10 | 0/10 | 3/10 |

^a: 所見のある動物数/検査動物数

Fisherの直接確率計算法 (申請者実施) ↑↓: p≤0.05, ↑↓↓: p≤0.01

2000 ppm 投与群のすべての雄で精巣の小型化と暗調化および精巣上体の小型化がみられたが、これらの所見は本投与群で認められた両器官の重量減少ならびに病理組織学的変化と一致するものであった。さらに、子宮の小型化と液貯留がそれぞれ3例観察され、病理組織学的には対応する異常は観察されなかったが、検体投与との関連性があると判断された。

また、2000 ppm 投与群および650 ppm 投与群の雌雄で肺のうっ血が有意に増加したが、本所見は13週間の試験では毒性学的に重要ではないと判断した。

(申請者注: 子宮の液貯留については、200 ppm 投与群にも10例中2例(20.0%)観察された。しかし、下記の背景データにもあるように本変化は通常のラットに对照群にも0~20.0%の頻度で観察されることから200 ppm 投与群の変化は検体投与との関連性はないと判断された。)

子宮の液貯留の背景データ

| 試験の識別 | | A | B | C | D | E | F | G |
|-------|-----|--------|--------|-------|-------|-------|--------|--------|
| 検査例数 | | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 子宮 | 液貯留 | 1 | 2 | 0 | 0 | 1 | 2 | 2 |
| | | (10.0) | (20.0) | (0.0) | (0.0) | (0.0) | (20.0) | (20.0) |

() : 発生率

(申請者注: 剖検において2000ppm 投与群の雌で認められた「子宮の小型化」については、以下の理由により、エタボキサム投与による毒性影響とは判断しなかった。

- ・ 剖検で「子宮の小型化」を呈した同群の動物3例の病理組織学的検査において、子宮には上皮・間質の萎縮などの異常所見は認められず、卵巣にも病理組織学的異常が認められていない。加えて、同群の他の動物についても病理組織学的な異常や性周期の偏りは認められていない。また、一般的に正常な性周期に伴って認められる「子宮の液貯留」も同群の他動物で認められていることから、当該所見は、正常な

性周期に伴った変動と考えられた。

- ・ 実際、子宮の絶対重量および体重比重量は対照群と 2000ppm 群との間に有意な差は認められず、小型化を示した動物においてもその値は対照群の下限を下回っていたものの背景値の範囲内であった。尚、2000ppm 群の子宮の絶対重量の低値傾向ならびに体重比重量の高値傾向は、おそらくは体重増加抑制に起因する二次的な影響と考えられた。
- ・ また、追加実施したエタボキサムのエストロゲンレセプターへの結合性は陰性であった。

以上を総合的に考慮すると、エタボキサムがエストロゲンの合成あるいは作用を阻害するような子宮の性周期に関連する内分泌環境に影響していた可能性は低いと考えられ、2000ppm 投与群の雌の剖検において認められた「子宮の小型化」については、正常な性周期に伴って認められる変化であり、エタボキサム投与による毒性影響とは判断しなかった。）

病理組織学的検査；肉眼的病理検査を実施した対照群および 2000 ppm 投与群の全動物を対象として、以下の組織についてヘマトキシリン・エオジン染色を施した病理標本作製し、検鏡した。

副腎、消化管（食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸）、脳、精巣上体、眼、心臓、腎臓、肝臓、肺、リンパ節（頸部および腸間膜）、乳腺、卵巣、脾臓、下垂体、前立腺、唾液腺、脊髄（頸部）、脾臓、胸骨・骨髄、精巣、胸腺、甲状腺（上皮小体を含む）、気管、膀胱、子宮、その他肉眼的異常部位

また、その他の投与群の全動物を対象として、雄の肝臓、精巣、精巣上体、副腎および肉眼的異常部位ならびに雌の肝臓、副腎および肉眼的異常部位について病理標本作製し、鏡検した。

統計学的有意差が認められた所見を次表に示す。

| 性別 | | 雄 | | | | 雌 | | | |
|-----------|-----------------------------|-------------------|------|-------|--------|------|------|------|-------|
| 投与量 (ppm) | | 0 | 200 | 650 | 2000 | 0 | 200 | 650 | 2000 |
| 甲状腺 | 嚢嚢遺残 | 1/10 ^a | — | — | ↑6/10 | 2/10 | — | — | 4/10 |
| 肺 | 肺胞中隔うっ血 ^b | 2/10 | 0/1 | 3/3 | 4/10 | 3/10 | 2/2 | 5/5 | ↑9/10 |
| 胃 | 腺胃粘膜内異所性前胃粘膜形成 ^b | 4/10 | 0/1 | 1/2 | ↓0/10 | 1/10 | 3/3 | 1/1 | 2/10 |
| 肝臓 | 小葉中心性肝細胞肥大 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | ↑10/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | ↑8/10 |
| | 炎症細胞浸潤 | 0/10 | 3/10 | ↑6/10 | 2/10 | 3/10 | 7/10 | 7/10 | 3/10 |
| 副腎 | 球状帯微細空胞化 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 3/10 | 1/10 | 1/10 | 0/10 | ↑8/10 |
| 精巣 | 萎縮 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | ↑10/10 | — | — | — | — |
| | 異常精子細胞 | 0/10 | 0/10 | ↑4/10 | 0/10 | — | — | — | — |
| | 間細胞過形成 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | ↑8/10 | — | — | — | — |
| 精巣上体 | 管内精子消失 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | ↑10/10 | — | — | — | — |
| | 管内異常精子形成細胞 | 0/10 | 0/10 | ↑7/10 | ↑8/10 | — | — | — | — |

^a: 所見のある動物数/検査動物数

^b: 200 ppm および 650 ppm 投与群では統計検定せず

Fisher の直接確率計算法 (申請者実施) ↑↓: p<0.05, ↑↑: p<0.01

2000 ppm 投与群の全雄動物で精巣萎縮が認められ、しばしば間細胞過形成を伴っていた。これに関連して精巣上体では管内精子消失と異常精子形成細胞が観察された。650 ppm 投与群では精巣の精細管内異常精子細胞が、また精巣上体管内異常精子形成細胞の存在が観察された。

2000 ppm 投与群の雌雄では肝臓の小葉中心性肝細胞肥大および雌の副腎の球状帯微細空胞化の発生頻度が増加し、検体投与に関連した変化と判断された。

650 ppm 以上の投与群で肺の肺胞中隔うっ血が観察され、肉眼的病理検査での肺うっ血所見と一致していたが、13 週間の試験では毒性学的に重要ではないと判断した。

その他に観察された病理組織学的所見はすべて偶発的なものであり、毒性学的意義はないと考えられた。

以上の結果より、本剤のラットにおけ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、650 ないし 2000 ppm 投与群で雌雄に摂餌量減少と体重増加量の抑制、血液学および生化学的検査項目の変動、臓器重量と関連した病理組織学的変化が用量依存性に認められたが、200 ppm 群には雌雄ともに投与に関連づけられる毒性変化はみられなかったことから、無毒性量 (NOAEL) は 200 ppm (平均検体摂取量: 雄 16.3 mg/kg/日、雌 17.9 mg/kg/日) と判断した。

イヌにおける 90 日間反復経口投与毒性試験

(資料 No.T-10)

試験機関：Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国)

報告書作成年：2001 年

[GLP 対応]

検体純度：

供試動物：ビーグル犬、1 群雌雄各 4 匹、

投与開始時週齢；雌雄 21~26 週齢、投与開始時体重；雌雄 7.7~10.7 kg

投与期間：13 週間（1999 年 6 月 30 日~1999 年 9 月 29 日）

投与方法：検体をゼラチンカプセルに封入し、13 週間にわたって 1 日 1 回、15、40 および 100 mg/kg 体重/日の投与量で動物に強制経口投与した。検体の必要量は毎週 1 回、最新の体重に基づいて計量した。対照群の動物には高用量群に投与されるものと同じ大きさおよび数の空カプセルを投与した。

観察・検査項目および結果：

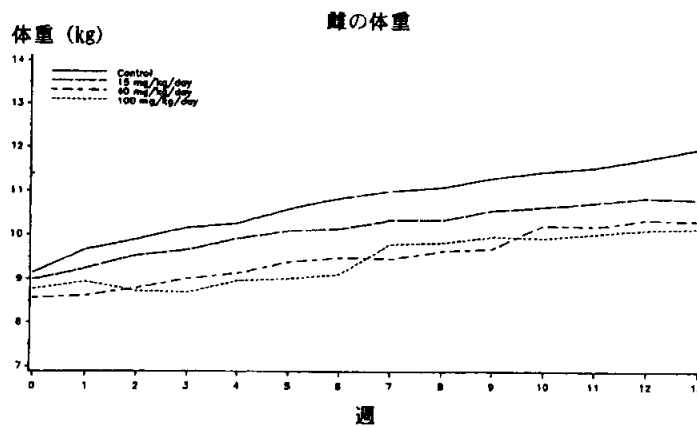
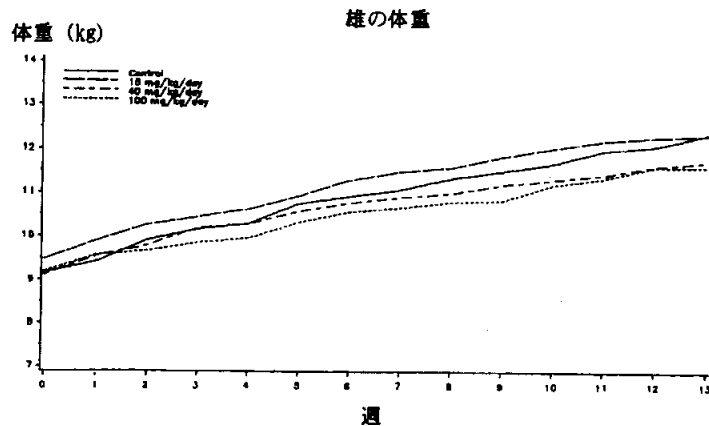
一般状態；一般状態を毎日観察し、記録した。

試験期間中、100 mg/kg/日投与群の雄 1 例（番号 293）および雌 1 例（番号 288）が、それぞれ 2 および 7 週目に切迫殺された。さらに 40 mg/kg/日投与群の雌 1 例（番号 282）が 10 週に切迫殺された。100 mg/kg/日投与群雄の動物番号 293 は組織の病理組織学的検査の結果、脳および脊髄の髄膜炎と診断されたが、これは実験用のイヌにおいて極めてまれに認められる髄膜炎のものと一致しているが、検体投与による何らかの影響があった可能性も推察された。一方、100 mg/kg/日投与群雌の動物番号 288 と 40 mg/kg/日投与群雌の動物番号 282 については、全身的な蒼白および脾臓の暗色化が観察され、病理組織学的検査の結果、溶血および貧血に対する再生反応と関連する脾臓および骨髄の変化が観察された。

投与期間中、一般症状には検体投与に関連づけられる変化は観察されなかった。

体重変化；投与期間中、動物の体重は週 1 回、さらに肉眼的病理検査の前に体重を測定した。体重測定はカプセル投与前に行った。

以下に体重変化の図と0-13週の体重増加量 (kg/動物) の表を示す。



| 性別 | 雄 | | | | 雌 | | | |
|-----------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|------|
| | 0 | 15 | 40 | 100 | 0 | 15 | 40 | 100 |
| 投与量 (mg/kg/日) | 0 | 15 | 40 | 100 | 0 | 15 | 40 | 100 |
| 0-13 週の増加量 (kg) | 3.2 | 2.9 | 2.6 | 2.5 | 2.9 | 1.8 | ↓1.5 | ↓1.0 |
| 対照群に対する% | — | 91 | 81 | 78 | — | 62 | 52 | 34 |

Student の *t* 検定 (投与開始前) および Williams 検定/Shirley 検定 ↑↓ : $p < 0.05$, ↑↓ : $p < 0.01$

13 週間の投与期間を通じて、すべての投与群の雌雄において体重増加量の用量依存的な抑制が認められた。100 および 40 mg/kg/日投与群の雌において統計学的有意差が認められた。ただし、15 mg/kg/日投与群の雄の平均低下率は僅かで、10%未満であった。

摂餌量；投与期間中、各動物の残餌量を毎日記録し、そのデータから摂餌量を算出した。

| 性別 | 雄 | | | | 雌 | | | |
|------------------|------|------|------|------|------|------|------|-------|
| | 0 | 15 | 40 | 100 | 0 | 15 | 40 | 100 |
| 投与量 (mg/kg/日) | | | | | | | | |
| 0-13 週の平均摂餌量 (g) | 2800 | 2797 | 2756 | 2715 | 2800 | 2713 | 2702 | ↓2375 |
| 対照群に対する% | — | 100 | 98 | 97 | — | 97 | 97 | 85 |

Student の *t* 検定 (投与開始前) および Williams 検定/Shirley 検定 ↑↓ : p<0.05, ↑↓ : p<0.01

100 mg/kg/日投与群の雌において摂餌量の群平均値が軽度に減少し、統計的に有意であったが、同群の雄ならびに 40 および 10 mg/kg/日投与群の雌雄には投与に関連すると考えられる摂餌量の変化はみられなかった。

血液学的検査；投与開始前ならびに投与 6、11 および 13 週に、一晚絶食させた全動物の頸静脈から血液を採取し、以下の項目を測定した。

ヘマトクリット値、血色素量、赤血球数、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量、総白血球数、血小板数、白血球分画、細胞形態、網赤血球率、活性化部分トロンボプラスチン時間、赤血球沈降速度

統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

| 項目 | 検査時期 (週) | 投与量 (mg/kg/日) | | | | | |
|----------|----------|---------------|------|------|----|------|------|
| | | 雄 | | | 雌 | | |
| | | 15 | 40 | 100 | 15 | 40 | 100 |
| ヘマトクリット値 | 6 | | <93> | ↓90 | | | ↓87 |
| | 11 | | <91> | <89> | | | ↓83 |
| | 13 | <89> | <89> | <94> | | | ↓88 |
| 血色素量 | 6 | | <94> | ↓91 | | | ↓87 |
| | 11 | | <94> | <90> | | | ↓83 |
| | 13 | <89> | <91> | <97> | | | ↓89 |
| 赤血球数 | 6 | | <90> | ↓87 | | | ↓87 |
| | 11 | | <90> | ↓87 | | | ↓81 |
| | 13 | <87> | <87> | <93> | | ↓92 | ↓86 |
| MCHC | 6 | | | ↑102 | | | |
| 網赤血球率 | 6 | | | | | ↓42 | ↓78 |
| 白血球分画 | | | | | | | |
| 好酸球 | 11 | | | | | ↓240 | |
| 単球 | 6 | | | | | ↓168 | ↑205 |
| | 13 | | | | | | ↑277 |
| 大型非染色球数 | 6 | | | | | ↓60 | ↑160 |
| | 13 | | | | | | ↑220 |

表中の数字は対照群を 100 とした場合の値を示す

Student の *t* 検定 (投与開始前) および Williams 検定/Shirley 検定 ↑↓ : p<0.05, ↑↓ : p<0.01

<> : 統計学的有意差はないが参考値として提示

100 mg/kg/日投与群では雌雄ともにヘマトクリット値、血色素量および赤血球数の値に程度および発現率の用量依存的な減少を引き起こし、統計学的に有意な減少が雌ではヘマトクリット値、血色素量および赤血球数が全検査時期に、雄ではヘマトクリット値および血色素量が6週、赤血球数が6および11週に観察された。さらに、雄では6週にMCHCが有意に増加し、雌では網赤血球率が6週に有意に減少した。

40 mg/kg/日投与群では主に雄においてヘマトクリット値、血色素量および赤血球数に低下傾向が認められた。雌では網赤血球率が6週に、赤血球数が13週に有意に減少した。

15 mg/kg/日投与群では雄の13週のヘマトクリット値、血色素量および赤血球数に低下傾向が認められた。

凝固機能、白血球パラメーターならびに骨髓塗抹標本に対しては、検体投与による明らかな毒性変化は確認されなかった。

血液生化学的検査：投与開始前ならびに投与6、11および13週に、血液学的検査用に採取した血液から得られた血漿を用い、以下の項目の測定を行った。

総蛋白、アルブミン、アルブミン/グロブリン比 (A/G比)、尿素、クレアチニン、ナトリウム、カリウム、カルシウム、無機リン、塩素、総コレステロール、アルカリホスファターゼ、総ビリルビン、グルコース、アラニンアミノトランスフェラーゼ、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ (gGT)、オルニチンカルバモイルトランスフェラーゼ、クレアチンホスホキナーゼ

統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

| 項目 | 検査 時期 (週) | 投与量 (mg/kg/日) | | | | | |
|----------|-----------------|---------------|-------|------|----|-------|-------|
| | | 雄 | | | 雌 | | |
| | | 15 | 40 | 100 | 15 | 40 | 100 |
| AST | -1* | | | | | ↑132 | |
| gGT | -1* | | | ↓50 | | | |
| | 6 | ↓50 | | | | | |
| 総ビリルビン | -1* | | | ↑200 | | | |
| グルコース | -1* | | ↑109 | | | | |
| | 6 | ↑106 | ↑106 | ↑107 | | | |
| | 13 | | ↑112 | ↑112 | | | |
| 総コレステロール | 6 | <129> | <121> | ↑191 | | <117> | <168> |
| | 13 | <143> | <142> | ↑206 | | <126> | <153> |
| カリウム | -1* | | | ↑107 | | | |
| カルシウム | 6 | | | | | | ↓96 |
| | 13 | ↓94 | ↓93 | ↓94 | | | |
| 無機リン | 6 | ↓92 | ↓91 | ↓84 | | | |
| | 13 | ↓85 | ↓85 | ↓85 | | | |

表中の数字は対照群を 100 とした場合の値を示す

Williams 検定/Shirley 検定 ↑↓ : p<0.05, ↑↓ : p<0.01

* : 投与開始前の統計学的検定は Student の t 検定 ↑↓ : p<0.05, ↑↓ : p<0.01, ↑↓ : p<0.001

<> : 統計学的有意差はないが参考値として提示

100 mg/kg/日投与群の雌雄に投与 6 および 13 週の総コレステロール値の群平均値の明らかな増加が認められ、統計的有意差も雄にみられた。40 mg/kg/日投与群の雌雄および 15 mg/kg/日投与群の雄でも軽度な増加が認められた。

全投与群の雄において無機リンが、対照群よりも低値を示し、用量相関性は認められなかったが、統計学的に有意な差がみられた。よって、本変化は検体投与に関連した可能性が高いと考えられた。

上記以外にもいくつかの項目において有意な差がみられたが、その差が僅かであるか、投与開始前から認められた変化であることから毒性学的に意義のある変化ではないと判断された。

尿検査 ; 投与開始前ならびに投与 6 および 13 週に、絶食・絶水させた全動物について一晚 (約 16 時間) の尿を採取し、以下の項目を検査した。

外観、尿量、pH、比重、蛋白、糖、ケトン体、胆汁色素、血色素、尿沈渣

統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

| 項目 | 検査 時期 (週) | 性別および投与量 (mg/kg/日) | | | | | |
|----|-----------------|--------------------|----|------|----|----|------|
| | | 雄 | | | 雌 | | |
| | | 15 | 40 | 100 | 15 | 40 | 100 |
| 尿量 | 6 | | | <69> | | | ↓58 |
| | 13 | | | <67> | | | ↓58 |
| 比重 | 13 | | | ↑101 | | | ↑102 |

表中の数字は対照群を 100 とした場合の値を示す

Student の *t* 検定 (投与開始前) および Williams 検定/Shirley 検定 ↑↓ : p<0.05, ↑↓ : p<0.01

<> : 統計学的有意差はないが参考値として提示

100 mg/kg/日投与群の雌雄の尿量が対照群に比べ低値を示したが、これらの群の個体値は対照群の動物の変動範囲内の変化であることから検体投与との関連性はないと判断された。尿比重が雌雄とも有意に高値を示したが、その差は対照群に比べ僅かであることから毒性学的に重要な変化であるとは考えられなかった。

眼科学的検査 ; 投与開始前ならびに投与 13 週時に検眼鏡を用いて、各動物の以下の部位について眼科学的検査を行った。

付属器、結膜、角膜と強膜、前眼房、虹彩、水晶体、硝子体、眼底

眼科学的検査において投与による影響は認められなかった。

骨髄検査 ; 13 週間投与終了後の剖検前に、麻酔下で胸骨穿刺により各動物の骨髄を採取した。ロマノフスキー染色を施した塗抹標本について骨髄細胞分類を行った。

統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

| 項目 | 性別および投与量 (mg/kg/日) | | | | | |
|------|--------------------|----|------|----|----|-----|
| | 雄 | | | 雌 | | |
| | 15 | 40 | 100 | 15 | 40 | 100 |
| 前赤芽球 | | | ↑231 | | | |

表中の数字は対照群を 100 とした場合の値を示す

Student の *t* 検定 (投与開始前) および Williams 検定/Shirley 検定 ↑↓ : p<0.05, ↑↓ : p<0.01

100 mg/kg/日投与群の雄の前赤芽球数が対照群に比べ有意に高い値を示した。

(申請者注 : 100 mg/kg/日投与群と対照群間の前赤芽球数における個別別データを比較したところ、両群の間に明らかな差はみられないことから、この有意な差については被験物質投与とは関連性のない生物学的変動による変化と考えられた。)

肉眼的病理検査 ; 13 週間投与終了後に全動物について、ペントバルビタールの静脈内過剰投与下で放血により安楽死させ、肉眼的病理検査を行った。

検体投与との関連性が疑われた所見を次表に示す。

| 性別 | | 雄 | | | | 雌 | | | |
|---------------|----|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 投与量 (mg/kg/日) | | 0 | 15 | 40 | 100 | 0 | 15 | 40 | 100 |
| 肝臓 | 肥大 | 0/4* | 0/4 | 2/4 | 2/3 | 0/4 | 0/4 | 0/3 | 1/3 |

*: 所見のある動物数/検査動物数

Fisherの直接確率計算法(申請者実施) ↑↓: p<0.05, ↑↓↓: p<0.01 統計学的な有意差なし

13週間の投与終了時には、肝臓肥大が100 mg/kg/日投与群の雄3例中2例および雌3例中1例、ならびに40 mg/kg/日投与群の雄4例中2例に認められ、肝臓の病理組織学的検査において対応する変化が観察されたことから、検体投与との関連性が認められた。

臓器重量；13週間投与終了後に全生存動物について以下の臓器重量(絶対重量)を測定した。

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

試験群内で臓器重量と体重との相関が10%水準で有意である場合には、臓器重量について最終体重を共変量とした分散分析を行った。

統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

| 性別 | | 雄 | | | 雌 | | |
|---------------|------|-------|------|------|-------|------|------|
| 投与量 (mg/kg/日) | | 15 | 40 | 100 | 15 | 40 | 100 |
| 肝臓 | 絶対重量 | <112> | ↑126 | ↑137 | <102> | ↑116 | ↑115 |
| 甲状腺 | 絶対重量 | | | | | | ↑106 |
| 胸腺 | 絶対重量 | | | | | | <S2> |

表中の数字は対照群を100とした場合の値を示す

Williams検定/Shirley検定あるいは分散分析 ↑↓: p<0.05, ↑↓↓: p<0.01

<>: 統計学的有意差はないが参考値として提示

全ての投与群の雌雄において、肝臓絶対重量の用量依存的な増加が認められ、40および100 mg/kg/日投与群では統計学的に有意な差であった。15 mg/kg/日投与群においても雌雄各1例に高い値が観察され、検体投与との関連性があると判断された。

また、100 mg/kg/日投与群の雌の甲状腺の絶対重量が有意に高値を示したが、検体投与との関連性を示唆する組織学的変化は観察されなかった。

さらに、100 mg/kg/日投与群の雌では胸腺重量が低値を示す個体が2例観察され、組織学的検査においても萎縮が認められたことから、検体投与との関連性があると判断した。

病理組織学的検査；全動物を対象として、以下の組織についてヘマトキシリン・エオジン染色を施した病理標本を作製し、検鏡した。

副腎、消化管(食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸)、動脈(胸部)、脳、精巣上体、眼(網膜および視神経を含む)、大腿骨、胆嚢、心臓、腎臓、肝臓、肺

(気管支を含む)、リンパ節(下顎および腸間膜)、乳腺(尾側)、卵巣、脾臓、下垂体、前立腺、唾液腺、坐骨神経、骨格筋(大腿)、脊髄、脾臓、胸骨、精巣、胸腺、甲状腺(上皮小体を含む)、気管、膀胱、子宮(頸部を含む)、その他肉眼的異常部位

投与に関連すると考えられる所見を程度とともに次表に示す。

| 転帰 | 性別 | 雄 | | | | 雌 | | | |
|----------|--------------|------------------|-----|-----|------|-----|-----|-----|------|
| | 投与量(mg/kg/日) | 0 | 15 | 40 | 100 | 0 | 15 | 40 | 100 |
| 最終屠殺 | 肝臓:肝細胞肥大 | 0/4 ^a | 1/4 | 3/4 | ↑3/3 | 0/4 | 0/4 | 2/3 | ↑3/3 |
| | びまん性 | 0/4 | 0/4 | 0/4 | 3/3 | 0/4 | 0/4 | 0/3 | 2/3 |
| | (程度) 軽微 | (0) ^b | (0) | (0) | (1) | (0) | (0) | (0) | (2) |
| | 軽度 | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) |
| | 中等度 | (0) | (0) | (0) | (2) | (0) | (0) | (0) | (0) |
| | 小葉中心性・中間帯 | 0/4 | 1/4 | 3/4 | 0/3 | 0/4 | 0/4 | 2/3 | 1/3 |
| | (程度) 最小 | (0) | (1) | (2) | (0) | (0) | (0) | (1) | (0) |
| | 軽微 | (0) | (0) | (1) | (0) | (0) | (0) | (1) | (1) |
| | 胸腺:退縮/萎縮 | 0/4 | 0/4 | 0/4 | 1/3 | 0/4 | 0/4 | 0/3 | 2/3 |
| | (程度) 軽度 | (0) | (0) | (0) | (1) | (0) | (0) | (0) | (0) |
| 中等度 | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (2) | |
| 途中死亡・切迫殺 | 肝臓:肝細胞肥大 | 0/0 | 0/0 | 0/0 | 1/1 | 0/0 | 0/0 | 0/1 | 0/1 |
| | びまん性 | 0/0 | 0/0 | 0/0 | 0/1 | 0/0 | 0/0 | 0/1 | 0/1 |
| | (程度) 軽度 | (0) | (0) | (0) | (1) | (0) | (0) | (0) | (0) |
| | 中等度 | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (1) | (0) |
| | 胸腺:退縮/萎縮 | 0/0 | 0/0 | 0/0 | 1/1 | 0/0 | 0/0 | 1/1 | 1/1 |
| | (程度) 軽度 | (0) | (0) | (0) | (1) | (0) | (0) | (0) | (0) |
| 中等度 | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (1) | (1) | |

^a: 所見のある動物数/検査動物数

(n)^b: その程度の所見をもつ動物数

Fisherの直接確率計算法(申請者実施) ↑↓: p<0.05, ↑↓: p<0.01

肝細胞肥大が100 mg/kg/日投与群雌雄の全ての個体、40 mg/kg/日投与群雄4例中3例および雌3例中2例および15 mg/kg/日投与群の雄4例中1例に認められた。また、この所見の肝臓内での病変の範囲および程度に用量相関性がみられた。この変化は全ての投与群に認められた平均肝臓重量の用量依存的な増加と関係があるものと考えられた。終了時に屠殺した100 mg/kg/日投与群の雄1例および雌2例、ならびに死亡した動物全3例(100 mg/kg/日投与群の2例、40 mg/kg/日投与群の1例)に軽度または中等度の胸腺の退縮/萎縮が認められた。100 mg/kg/日投与群の動物においては、検体投与に関連する二次的な作用である可能性が考えられた。

試験途中に切迫殺された雌の動物番号282(40 mg/kg/日)および雌の動物番号288(100 mg/kg/日)は臨床症状において貧血がみられたが、これらの動物では、溶血反応と関連する脾臓の顕著な鉄食細胞および肝臓における類洞内細胞色素沈着および胸骨および大腿骨の骨髄過形成が認められ、これは貧血に対する再生反応と関連するものと思われた。終了時に屠殺した雄の動物番号285(40 mg/kg/日)においても脾臓に髄外造血

ならびに胸骨および大腿骨の骨髓に過形成が認められたことから検体投与に関連したものであると考えられた。

その他にみられた病理組織学的所見はすべて偶発的であり毒性学的に重要ではないと考えられた。

以上の結果より、本剤のイヌにおける90日間反復経口投与毒性試験における影響として、設定した全ての用量群において検体投与に関連した作用が認められ、特に15 mg/kg/日投与群の雌4例中3例に体重増加量の抑制がみられたことから無毒性量 (NOEL) を得ることができなかった。40 および 100 mg/kg/日投与では死亡に至る可能性のある貧血反応がみられたことから40 および 100 mg/kg/日ではさらに長期間の投与は不適切と考えられた。肝臓の適応性の変化 (肥大および総コレステロールの増加) ならびに二次的な胸腺の退縮/萎縮は、後続の52週間試験 (資料 No.T-15) に対する用量選択に問題とはならなかった。必要な ADI (一日摂取許容量) レベルを得ることおよび長期間投与時の赤血球への影響を最小限に抑えることを十分に考慮して、0、5、10 および 30 mg/kg/日を52週間試験 (資料 No.T-15) の投与用量とした。

マウスにおける飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験
[マウスにおける飼料混入投与による 78 週間発がん性試験の予備試験]

(資料 No.T-10-1)

試験機関：Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国)

報告書作成年：2002 年 [GLP 対応]

検体純度：

供試動物：Cri: CD-1 (ICR) BR 系マウス、1 群雄雌各 10 匹
投与開始時週齢；5～6 週齢、投与時体重；雄 29～37 g、雌 23～30 g

投与期間：13 週間 (1999 年 1 月 28 日～1999 年 4 月 29、30 日)

投与方法：検体を 0、200、450、1000 および 2500 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。

観察・検査項目および結果：

一般状態および死亡率；一般状態および生死を毎日観察した。さらに、詳細な触診を週 1 回行い、触知可能な腫瘤について記録した。

臨床症状において、投与に関連した変化はみられなかった。

2500 ppm 投与群の雄 1 匹が、投与 8 週に死亡発見された。死亡が発見された前日に、この動物は臨床症状を何ら示さなかった。肉眼的検査の結果、肝臓の表面粗造が認められた。13 週間の投与期間中に、他の途中死亡例はみられなかった。死亡率について対照群と各投与群との間に有意差はなかった。

体重変化；全生存動物を対象として、投与開始日、投与期間中は週 2 回体重を測定した。統計検定は体重増加量を用いて行った。

以下に群平均体重増加量の変動を示す。

| 検査時期 (週) | 性別および投与量 (ppm) | | | | | | | |
|-------------|----------------|-----|------|------|------|------|------|------|
| | 雄 | | | | 雌 | | | |
| | 200 | 450 | 1000 | 2500 | 200 | 450 | 1000 | 2500 |
| 0~4 | 98 | 98 | 81 | 79 | ↑174 | ↑143 | ↑213 | ↑165 |
| 4~13 | 83 | 94 | ↓60 | ↓64 | 105 | 58 | 69 | 66 |
| 0~13 | 88 | 96 | ↓69 | ↓70 | 123 | 81 | 108 | 93 |

表中の数字は対照群を 100 とした場合の値を示す

Student's t and Williams 検定/ Shirley 検定 ↑↓ : p<0.05, ↑↓ : p<0.01

雄では 1000 または 2500 ppm 投与群の群平均体重増加が、投与期間中対照群と比較して低値を示し、4~13 週および 0~13 週の体重増加量には統計学的に有意な差がみられた。200 または 450 ppm 投与群では対照群との間に明らかな差はみられなかった。一方雌では、全ての投与群の 0~4 週の増加量が対照群に比べ有意に高値を示した、4 週以降は対照群より低値傾向を示したが、0~13 週の体重の増加量には用量との関連性のある変化は認められなかった。

摂餌量；全生存動物を対象として、投与期間中毎週 1 回の頻度で摂餌量を測定した。

以下に群平均摂餌量の変動を示す。

| 検査時期 (週) | 性別および投与量 (ppm) | | | | | | | |
|-------------|----------------|-----|------|------|-----|-----|------|------|
| | 雄 | | | | 雌 | | | |
| | 200 | 450 | 1000 | 2500 | 200 | 450 | 1000 | 2500 |
| 1 | 98 | 91 | 94 | 87 | 100 | 91 | 89 | ↓80 |
| 2~13 | 96 | 99 | 93 | 97 | 96 | 93 | 91 | ↓87 |
| 1~13 | 96 | 99 | 93 | 96 | 97 | 93 | 91 | ↓87 |

表中の数字は対照群を 100 とした場合の値を示す

Student の t および Williams 検定/ Shirley 検定 ↑↓ : p<0.05, ↑↓ : p<0.01

2500 ppm 投与群の雌雄において投与 1 週では対照群と比較して摂餌量の減少がみられ、雌の値は統計学的に有意であった。その後の投与 12 週にわたって、2500 ppm 投与群の雌の摂餌量は対照群と比較して有意に低値を示した。一方 2500 ppm 投与群の雄の値は概ね対照群の値と同様であった。1000 ppm 投与群の雌雄および 450 ppm 投与群の雌では、1~13 週の摂餌量も対照群の値よりもごく僅かに低かった。450 ppm 投与群の雄および 200 ppm 投与群の雌雄の摂餌量は、それぞれの対照群とほぼ同様であった。

食餌効率；体重および摂餌量のデータから飼料要求率を算出し、食餌効率を求めた。

食餌効率の計算は体重増加量/摂餌量が一般的に使われているが、本報告書では飼料要求率として摂餌量/体重増加量の計算が用いられているため、以下の記載は飼料要求率の表現を用いた。

全投与期間における飼料要求率^{*}を以下の表に示す。

| 検査時期 (週) | 性別および投与量 (ppm) | | | | | | | |
|----------|----------------|-----|------|------|-----|-----|------|------|
| | 雄 | | | | 雌 | | | |
| | 200 | 450 | 1000 | 2500 | 200 | 450 | 1000 | 2500 |
| 1~13 | 108 | 103 | 135 | 137 | 78 | 115 | 83 | 93 |

表中の数字は対照群を 100 とした場合の値を示す
^{*} 飼料要求率 = 摂取量 / 体重増加量

雄では 1000 または 2500 ppm 投与群に飼料要求率の全体的な増加がみられ、200 または 450 ppm 投与群では対照群との間に差はみられなかった。雌では、450 ppm 投与群の雌で飼料要求率の全体的な増加がみられたが、その他の投与群では対照群よりも飼料要求率が低下し、投与に関連した変化はみられなかった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は下記のとおりであった。

| 投与量 (ppm) | | 200 | 450 | 1000 | 2500 |
|--------------------|---|-----|-----|------|------|
| 検体摂取量 (mg/kg/日) | 雄 | 33 | 74 | 163 | 405 |
| | 雌 | 41 | 93 | 195 | 483 |

臓器重量；投与期間終了後に全生動物を対象として以下の臓器重量（絶対重量）を測定した。

脳、精巣上体、心臓、腎臓、肝臓、肺、卵巣、脾臓、精巣、胸腺、子宮（頸部を含む）

試験群内で臓器重量と体重との相関が 10%水準で有意である場合には、臓器重量については最終体重で補正し、共変量とした分散分析を行った。

以下に対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を示す。

| 検査項目 | | 性別および投与量 (ppm) | | | | | | | |
|------|-------|----------------|------|-------|-------|-----|-----|-------|-------|
| | | 雄 | | | | 雌 | | | |
| | | 200 | 450 | 1000 | 2500 | 200 | 450 | 1000 | 2500 |
| 心臓 | 絶対重量 | | | ↑117 | ↑114 | | | | |
| | 相対重量* | | | ↑↑128 | | | | | |
| 肺 | 絶対重量 | | | | ↑116 | | | | |
| 肝臓 | 補正重量 | | ↑109 | ↑113 | ↑135 | | | ↑112 | ↑142 |
| | 相対重量* | | | ↑↑114 | ↑↑135 | | | ↑↑114 | ↑↑142 |
| 卵巣 | 相対重量* | — | — | — | — | ↓88 | ↓60 | | |

表中の数字は対照群を 100 とした場合の値を示す

Student の *t* および Williams 検定 / Shirley 検定あるいは共分散分析 ↓ : $p < 0.05$, ↑↓ : $p < 0.01$

*: 相対重量は申請者が算出し、統計検定 (共分散分析後、Dunnett 又は Steel の検定法 / 両側; ↑↓ : $p \leq 0.05$, ↑↑↓ : $p \leq 0.01$) を実施した。

—: 対象臓器なし

1000 または 2500 ppm 投与群の雌雄および 450 ppm 投与群の雄について、対照群と比較して統計学的に有意な用量に関連した肝臓補正重量の増加がみられた。雌雄のその他の投与群の肝臓重量は、対照群との間に差はみられなかった。

1000 または 2500 ppm 投与群の雄に心臓絶対重量および 2500 ppm 投与群の雄の肺絶対重量において対照群と比較して有意な増加が観察されたが、これらの組織には肉眼的な変化がみられないこと、または雌の投与群の重量に異常がみられなかったことから、これらの変化は偶発性変化で、毒性学的な意義はないと考えられた。

申請者注

相対重量値について統計処理を実施したところ、卵巣の相対重量の低値が 200 および 450ppm 群の雌で認められた。当該変化については、用量対応性が認められなかったことから、投与に起因した変化ではないと判断した。

肉眼的病理検査；すべての死亡・切迫屠殺動物について、さらに、13 週間の投与終了後に全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

いずれの検体投与群においても対照群に比べ統計学的に有意な差は認められなかったことから、検体投与に関連する変化は認められなかった。

病理組織学的検査；死亡・切迫屠殺動物（2500ppm 群雄 1 例）ならびに全ての投与群の全生存動物の肝臓および精巣について病理標本を作製し、病理組織学的検査に供した。さらに、200 ppm 群の雄 1 例において肉眼的異常のみられた精巣上体についても病理組織学的検査に供した。

以下に対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を示す。

| 臓器および所見 | | 性別および投与量 (ppm) | | | | | | | | | |
|---------|-------|----------------|-----|-----|------|------|----|-----|-----|------|------|
| | | 雄 | | | | | 雌 | | | | |
| | | 0 | 200 | 450 | 1000 | 2500 | 0 | 200 | 450 | 1000 | 2500 |
| 検査動物数 | | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 肝細胞肥大 | 合計 | 0 | 0 | ↑5 | ↑8 | ↑9 | 0 | 0 | 0 | ↑4 | ↑8 |
| | 小葉中心性 | | | | | | | | | | |
| | 軽度 | 0 | 0 | ↑5 | ↑8 | 3 | 0 | 0 | 0 | ↑4 | ↑4 |
| | 中等度 | 0 | 0 | 0 | 0 | ↑6 | 0 | 0 | 0 | 0 | ↑4 |

Fisher の直接確率計算法（申請者実施） ↑↓：p<0.05、↑↓↓：p<0.01

小葉中心性の肝細胞肥大が、450、1000 または 2500 ppm 投与群の雄および 1000 または 2500 ppm 投与群の雌にみられ、これらのマウスの肝臓重量の相対重量増加と相関していた。この変化には、雌雄のマウスにおいて用量に関連した発現頻度および/または

重篤度の増加がみられた。この所見は、200 ppm 投与群の雌雄または450 ppm 投与群の雌には認められなかった。

精巢にはいずれの投与群においても検体投与に関連する異常は観察されなかった。

検体のマウスにおけ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および2500 ppm 投与群の雄で体重増加量が抑制され、450、1000および2500 ppm 投与群の雌と1000 ppm 投与群の雄で摂餌量が減少した。さらに、1000および2500 ppm 投与群の雌雄と450 ppm 投与群の雄で用量依存性の肝臓重量の増加が認められ、病理組織学的検査により小葉中心性肝細胞肥大が示された。

以上の結果から、本剤のマウスにおける78週間の飼料混入投与による発がん性試験の最高投与量を900 ppm とし、以下公比3として、300および100 ppm を設定するのが適切と判断された。

7)21 日間反復経皮投与毒性

(資料 No.T-11)

試験省略

試験省略理由:急性経皮毒性試験の結果から、強い経皮毒性を有するおそれがないと認められるため。

8)90日間反復吸入投与毒性

(資料 No.T-12)

試験省略

試験省略理由:急性吸入毒性試験の結果から、強い吸入毒性を有するおそれがないと認められるため。

9) 反復経口投与神経毒性

ラットにおける 90 日間反復経口投与神経毒性試験

(資料 No.T-13)

試験機関：WIL Research Laboratories, LLC(米国)

報告書作成年：2009 年

[GLP 対応]

検体純度：

供試動物：ラット (Cri:CD(SD))、1 群雌雄各 12 匹、投与開始時 6 週齢
投与開始時体重 雄；153～214g、雌；118～171g

投与期間：13 週間 (雌雄：2008 年 7 月 1 日～2008 年 10 月 3 日)

投与方法：検体を 0、250、600 および 1500 ppm の濃度で飼料に混入し、13 週間 (90 日間)
にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は約 1 か月に 1 回調製した。

観察・検査項目および結果：

死亡率；投与期間中 1 日 2 回、全動物について瀕死状態ないし死亡の有無を観察した。

投与期間中、いずれの用量群の雌雄においても死亡は認められなかった。

一般状態；全動物について詳細な健康状態の検査を週 1 回、検体混合飼料投与 1 週間前
から計画殺まで実施した。その他の臨床観察は、必要に応じて記録した。

週 1 回の詳細な検査では、いずれの濃度の雌雄にも検体に関連した臨床所見は
観察されなかった。

詳細な症状の観察；投与開始前（試験第-1週）および試験第1、3、7および12週に全ての動物について記録した。観察はホームケージ内あるいは外（オープンフィールド）で以下の項目を対象として実施し、それらの程度をスコアリングして記録した。

ホームケージ内の観察

姿勢
痙攣/振戦
糞の状態

咬みつき
眼瞼閉鎖

ハンドリングによる観察

ケージからの取り出しやすさ
流涙/色素涙
立毛
眼瞼閉鎖
眼球突出
赤色/痂皮様沈着物

取り扱いやすさ
流涎
被毛の外観
呼吸速度/特徴
粘膜/眼/皮膚色
筋緊張

オープンフィールド内の観察

運動性
立ち上がり
痙攣/振戦
身づくろい
異常/常同行動
第一歩までの時間（秒）

歩行
覚醒
尿の状態/糞の状態
歩行尺度
後ずさり

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。

ホームケージ内の観察

| 項目 | 検査週 | 性別および投与量(ppm) | | | | | | | |
|----------|-----|---------------|-----|-----|------|----|-----|-----|------|
| | | 雄 | | | | 雌 | | | |
| | | 0 | 250 | 600 | 1500 | 0 | 250 | 600 | 1500 |
| 所見\検査動物数 | | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| 排糞なし | 1 | 4 | 8 | ↑11 | 9 | 9 | 10 | 11 | 11 |
| 眼瞼下垂 | 12 | 0 | ↑5 | 0 | 3 | 0 | 0 | 1 | 0 |

Fisherの直接確率計算法： ↑↓、p<0.05 ↑↓、p<0.01

オープンフィールド内の観察

| 項目 | 検査週 | 性別および投与量(ppm) | | | | | |
|----------|-----|---------------|-----|------|-------------------|-----|------|
| | | 雄 | | | 雌 | | |
| | | 250 | 600 | 1500 | 250 | 600 | 1500 |
| 立ち上がり回数 | 1 | | | ↓29 | | | |
| | 7 | | | | ↓60 | ↓65 | |
| | 12 | | | | | | ↓64 |
| 身づくろい回数 | 3 | | | | ↑0.6 ^C | | |
| 第一歩までの時間 | 3 | ↑150 | | | | | |

Dunnnettの多重比較検定： ↑↓、p<0.05 ↑↓、p<0.01

表中の数値は対照群に対する割合（%）（但し^Cは対照群の平均値が0.0のため実測値）

ホームケージ内の検査項目には検体混合飼料の摂取による影響はみられなかった。対照群と比べ試験第1週の600 ppm 群雄に排糞なしおよび試験第12週の250 ppm 群雄に眼瞼下垂（眼を半分閉じた状態）を示した個体が高い頻度でみられたが、用量相関性はなかったことから、検体との関連は明らかではなかった。

オープンフィールド内の検査項目には検体混合飼料の摂取による影響はみられなかった。試験第1週の評価では、1500 ppm 群雄の立ち上がり回数の平均（1.4回）が対照群（4.8回）よりも有意に低かった。しかしながら、その他に神経行動学的な影響はなく、この群の値は試験第3、7および12週の対照群と投与開始前の値と同様であり、試験第1週の値は、試験実施機関の背景対照データの範囲（1.4回から7.2回）内であった。従って、1回の評価で認められた立ち上がり回数の平均値の低値は、検体に関連しないと考えられた。試験第7週の250および600 ppm 群雌および試験第12週の1500 ppm 群雌は、立ち上がり回数の平均が有意に低かった。これらと同じ時期の対照群の平均値（試験第7および12週でそれぞれ13.0回および13.7回）は、試験実施機関の背景対照データ（試験第7および12週でそれぞれ13.3回および12.7回）の最大平均値に近いかそれ以上であった。従って、検体との関連は明らかではなかった。

機能検査（FOB）；投与開始前（試験第-1週）および試験第1、3、7および12週に全ての動物の以下の項目について機能検査を実施した。

感覚の観察

| | |
|----------|---------|
| 接近反応 | 触覚反応 |
| 驚愕反応 | 痛覚反応 |
| 瞳孔反応 | 瞬目反応 |
| 前肢の伸展 | 後肢の伸展 |
| 空中立ち直り反射 | 嗅覚性方向反応 |

神経筋の観察

| | |
|--------|------------|
| 後肢伸筋強度 | 前後肢握力 |
| 後肢開脚幅 | ロタロッドによる測定 |

生理学的観察

| | |
|--------|----|
| カタレプシー | 体重 |
| 体温 | |

自発運動

対照群と比べ統計学的有意差が認められた項目を下表に示す。

| 項目 | 検査週 | 性別および投与量(ppm) | | | | | |
|-------------------|-----|---------------|-----|------|-----|-----|------|
| | | 雄 | | | 雌 | | |
| | | 250 | 600 | 1500 | 250 | 600 | 1500 |
| 自発運動(最終区間 51-60分) | 12 | | | | | | ↓24 |

liner trend 検定 ↑↓ : p<0.05

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

自発運動のパターン（平均歩行運動および合計自発運動カウント数）には、検体の投与による影響はみられなかった。評価した6部分区間（0-10分、11-20分、21-30分、31-40分、41-50分および51-60分）で得られた値および全60分間の試験間隔の値は、対照の値とほとんどの場合同一であった。唯一の統計学的に有意な差は、試験第12週の最終区間（51-60分）における1500 ppm群雌の平均合計自発運動カウント数（88回）の減少であった。

これと同じ区間で、対照群（372回）の平均合計自発運動カウント数が試験実施機関の背景対照データの平均値（200回）よりも高かった。従って、検体との関連は明らかではなかった。試験第1、3、7および12週の評価では、いずれの検体投与群にも行動パターンに顕著な変化は認められなかった。

体重変化；個体別体重を検体混合飼料投与約1週間前から週1回記録した。

対照群と比べ統計学的有意差が認められた週を下表に示す。

| 投与週 | 性別および投与量(ppm) | | | | | |
|-------------------|---------------|-----|------|-----|------|------|
| | 雄 | | | 雌 | | |
| | 250 | 600 | 1500 | 250 | 600 | 1500 |
| 4 | | | ↓91 | | | |
| 6 | | | ↓90 | | ↑110 | |
| 7 | | | ↓89 | | ↑110 | |
| 8 | | | ↓90 | | ↑110 | |
| 9 | | | ↓89 | | | |
| 10 | | | ↓89 | | | |
| 11 | | | ↓88 | | | |
| 12 | | | ↓89 | | | |
| 13 | | | ↓89 | | | |
| 0-13 ^a | | | ↓82 | | | |

Dunnettの多重比較検定 ↑↓: p<0.05 ↑↑: p<0.01

表中の数値は対照群に対する割合(%)

^a: 平均累積体重増加量(試験第0-13週)

1500 ppm群雄の投与期間中、時折有意な週平均体重増加量の低値を示し、平均累積体重増加量（試験第0-13週）も対照群よりも有意に低値であった。これらの体重への影響は毒性変化と考えられた。

250および600 ppm群の雌雄および1500 ppm群雌の平均体重、体重増加量および累積体重増加量は、対照群の値と同様であった。600 ppm群雌に認められた平均体重の有意な増加に用量反応性はなく、体重の増加傾向に毒性的意義はないと判断された。

摂餌量；摂餌量は、検体混合飼料投与1週間前（試験第-1から0週）から週1回記録した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた週を下表に示す。

1日1匹あたりの摂餌量(g/動物/日)

| 投与週 | 性別および投与量(ppm) | | | | | |
|-----|---------------|-----|------|------|------|------|
| | 雄 | | | 雌 | | |
| | 250 | 600 | 1500 | 250 | 600 | 1500 |
| 1 | | | ↓85 | | | ↓89 |
| 2 | | | ↓89 | | | |
| 3 | | | ↓83 | ↓91 | ↓86 | ↓86 |
| 4 | | | | ↑120 | ↑120 | |
| 5 | | | ↓89 | | | |
| 6 | | | ↓86 | | | |
| 7 | | | ↓86 | | | |
| 8 | | | ↓89 | | | |
| 9 | | | ↓86 | | | |
| 10 | | | ↓90 | | | |
| 11 | | | ↓90 | | | |
| 12 | | | ↓89 | | | ↓85 |
| 13 | | | ↓89 | | | |

Dunnett の多重比較検定 ↑↓ : p<0.05 ↑↓ : p<0.01

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

1日体重1kgあたりの摂餌量 (g/kg/日)

| 投与週 | 性別および投与量(ppm) | | | | | |
|-----|---------------|-----|------|-----|-----|------|
| | 雄 | | | 雌 | | |
| | 250 | 600 | 1500 | 250 | 600 | 1500 |
| 1 | | | ↓91 | | | ↓89 |
| 3 | | | ↓89 | ↓84 | ↓80 | ↓85 |
| 5 | | | | | ↓93 | |
| 6 | | | | ↓92 | ↓92 | |
| 7 | | | | | | ↓91 |
| 8 | | | | ↓94 | ↓90 | ↓90 |
| 9 | | | | ↓93 | ↓90 | ↓90 |
| 10 | | | | | ↓90 | ↓90 |
| 11 | | | | ↓94 | ↓92 | ↓92 |
| 12 | | | | ↓91 | ↓91 | ↓85 |
| 13 | | | | | ↓93 | ↓94 |

Dunnett の多重比較検定 ↑↓ : p<0.05 ↑↓ : p<0.01
 表中の数値は対照群に対する割合 (%)

1日1匹あたりの摂餌量(g/動物/日)で評価した1500 ppm 群雄の平均摂餌量は、検体混合飼料投与期間を通じて、対照群よりも低値で推移し、その差はほとんどの場合有意であった。1日体重1kgあたりの摂餌量 (g/kg/日) で評価した場合、投与初期に1500 ppm 群の雄の摂餌量は対照群より低かった。その後、この群の g/kg/日の値は、平均体重が低値であったことから、対照群と同様であった。g/動物/日および g/kg/日で評価した検体投与群の雌に散在性に有意な差(増加および減少)が観察されたが、投与群間には明らかな差はなく、かつ体重における変化との関連性はなかったことから、検体との関連性は明らかではなかった。よって、250 および 600 ppm 群雌雄および 1500 ppm 群雌の平均摂餌量には、検体混合飼料の摂取による影響はみられなかった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

| 投与量 (ppm) | | 250 | 600 | 1500 |
|--------------------|---|-----|-----|------|
| 検体摂取量 (mg/kg/日) | 雄 | 18 | 43 | 106 |
| | 雌 | 21 | 50 | 122 |

眼科学的検査；投与開始前（試験第2週）および投与期間終了直前（試験第12週）に全ての動物について眼検査を行った。

眼科学的検査では、いずれの動物にも毒性を示す眼病変は観察されなかった。

肉眼的病理検査；試験終了時（試験第 13 週）に、全ての生存動物をペントバルビタールナトリウムの腹腔内投与により麻酔し、次に緩衝 4.0%パラホルムアルデヒド/1.4%グルタルアルデヒド溶液で灌流固定した。中枢および末梢神経系組織を切り取り、保存した。固定した脳重量および脳の大きさ（全長（嗅球を除く）および幅）を記録した。脳および脊髄の観察可能な肉眼変化、異常着色あるいは病変をすべて記録した。

剖検では、脳重量及び大きさを含めいずれの動物にも検体に関連した変化は観察されなかった。

病理組織学的検査；対照および 1500 ppm 群の無作為に選別した 6 匹/性の動物から、顕微鏡的神経病理学的検査用に以下の神経組織を採取した

脳（嗅球、大脳皮質、海馬、脳幹神経節、視床、視床下部、中脳、小脳、橋、延髄）、脊髄（頸膨大部および腰膨大部）、三叉神経節/神経、腰部後根神経節、腰部後根線維、腰部前根線維、頸部後根神経節、頸部後根線維、頸部前根線維、坐骨神経（大腿部）、坐骨神経（坐骨切痕）、腓腹神経、脛骨神経、腓骨神経、視神経、眼球、骨格筋（腓腹筋）、その他必要と判断された部位

上記に示した中枢神経系組織は、定性的な組織病理学的検査用に、パラフィンに包埋し、薄切してヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製した。末梢神経組織は、プラスチックに包埋し、薄切して染色した。

1500 ppm 群の 6 匹/性の動物で検査した中枢あるいは末梢神経系組織に、検体に関連した顕微鏡病変は観察されなかった。

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、1500 ppm 群雄に摂餌量の減少に伴う体重抑制がみられたものの、全ての検体投与群において神経毒性を示唆する変化は認められなかった。よって、本剤の神経毒性に関する無毒性量は雌雄とも 1500 ppm（雄 106 mg/kg/日、雌 122 mg/kg/日）であると判断される。