

平成21年度環境省請負業務報告書

農薬吸入毒性評価手法確立調査
(企画・調査業務)

—報告書—

平成22年3月

財団法人残留農薬研究所

目次

1. 要約-----	1
2. 本調査の趣旨及び目的 -----	3
3. 基本的事項-----	4
3. 1 試験対象農薬（モデル農薬）の選択 -----	4
3. 2 吸入毒性試験方法の選択及び実施 -----	5
3. 3 吸入毒性試験における無毒性量（NOAEC）の決定 -----	8
3. 4 気中濃度評価値の設定方針 -----	8
4. 吸入毒性試験の調査及び実施結果 -----	11
4. 1 フェニトロチオン -----	11
4. 1. 1 構造式、物理化学的性質等の情報 -----	11
4. 1. 2 調査結果 -----	11
4. 1. 3 毒性部会における検討 -----	12
4. 2 トリクロルホン -----	18
4. 2. 1 構造式、物理化学的性質等の情報 -----	18
4. 2. 2 試験結果 -----	18
4. 2. 3 毒性部会における検討 -----	19
4. 3 イソキサチオン -----	30
4. 3. 1 構造式、物理化学的性質等の情報 -----	30
4. 3. 2 試験結果 -----	30
4. 3. 3 毒性部会における検討 -----	31
4. 4 毒性試験結果のまとめ -----	36
4. 5 気中濃度評価値の設定 -----	40
5. 農薬の吸入毒性等に係る情報の収集及び文献調査の結果 -----	62
5. 1 欧州食品安全機関（EFSA：European Food Safety Authority） ガイドンスドキュメント翻訳（要約部分） －圃場労働者，散布作業者，通行者および近隣住民の農薬ばく露評価 に関するガイドンス文書の作成－ -----	62
6. 調査業務実施体制-----	64

1. 要約

環境省では平成 17 年度から、「農薬飛散リスク評価手法等確立調査」を開始し、街路樹や公園等の市街地において使用される農薬の飛散リスク（人の健康へのリスク）の評価・管理手法について検討している。

適切な飛散リスクの評価・管理手法を確立するためには、ばく露量の評価のみならず、毒性評価の結果に基づいたリスク管理を適切に行うことが重要である。

そのため、本事業において、平成 19 年度から平成 21 年度にかけ、街路樹や公園等の市街地で使用実績の多い農薬として、フェニトロチオン、トリクロルホン及びイソキサチオンの有機リン系 3 農薬について、吸入毒性の調査及び試験の実施を行った。

これらの毒性試験、調査等を通じて得られたデータ及び知見を踏まえ、上記有機リン系 3 農薬について、農薬の吸入によるヒト健康へのリスクを管理するための目安となる気中濃度評価値を下記のとおり設定した。

フェニトロチオン	0.01 mg/m ³
トリクロルホン	0.07 mg/m ³
イソキサチオン	0.007 mg/m ³

これらの気中濃度評価値は、上記の「農薬飛散リスク評価手法等確立調査」事業で策定される「公園・街路樹等病害虫・雑草管理マニュアル」において、農薬散布後の立入制限範囲及び期間を設定する際の科学的根拠として活用される。

1. Summary

In fiscal 2005, the Japan Ministry of the Environment (MOE) initiated a project entitled “**Survey and Establishment of Methods for the Risk Assessment of Pesticide Spray Drift,**” and has been engaged in research for the purpose of establishing methods for human health risk assessment and management of pesticides spray drift that occurs from pesticide application for maintenance of trees and shrubs in urban streets and parks.

In order to establish effective, science-based methods for the risk assessment and management of spray drift, it is important to conduct an appropriate risk assessment based on an evaluation of both measured in-use exposure levels and the toxicological characteristics of the pesticide.

Consequently, since fiscal 2007, MOE has undertaken the literature searches and has commissioned inhalation toxicity studies on three organophosphorus pesticides, fenitrothion, trichlorfon and isoxathion which are frequently used for trees and shrubs in urban streets and parks for the prevention of pests.

Based on the data and information obtained from the literature searches and toxicological studies, assessed values of airborne pesticide concentrations were individually determined as a measure to support the effective management of the risk on human health from the spray drift of chemicals as follows:

Fenitrothion, 0.01 mg/m³

Trichlorfon, 0.07 mg/m³

Isoxathion, 0.007 mg/m³

These assessed values will be used as a scientific basis for establishing **off limit areas and off limit periods during and following pesticide application** in “**Control Manual for Pests of Trees and Weeds in Parks and Streets**” which will be compiled in the above-mentioned “**Survey and Establishment of Methods for the Risk Assessment of Pesticide Spray Drift.**”

2. 本調査の趣旨及び目的

環境省では平成 17 年度から、「農薬飛散リスク評価手法等確立調査」を開始し、街路樹や公園等の市街地において使用される農薬の飛散リスク（人の健康へのリスク）の評価・管理手法について検討している。

適切な飛散リスクの評価・管理手法を確立するためには、ばく露量の評価のみならず、毒性評価の結果に基づいたリスク管理を適切に行うことが重要である。

そのため、環境省では、平成 19 年度から平成 21 年度にかけて街路樹や公園等の市街地で使用実績の多い農薬等をモデルとした吸入毒性試験を実施すること等により農薬の吸入毒性評価手法の確立を図ることとした。

本業務では、環境省が実施する吸入毒性試験の試験計画の策定及び試験結果の検証・評価等を行うための、学識経験者からなる「農薬吸入毒性評価手法確立調査部会」（以下、毒性部会）を設置・運営するとともに、農薬の吸入毒性等に係る情報の調査・収集を行った。

本報告書は、これらの毒性試験、調査等を通じて得られたデータ及び知見を踏まえ、農薬の吸入によるヒト健康へのリスクを管理するための目安となる気中濃度評価値についてとりまとめたものである。

これらの気中濃度評価値は、上記の「農薬飛散リスク評価手法等確立調査」事業で策定される「公園・街路樹等病害虫・雑草管理マニュアル」において、農薬散布後の立入制限範囲及び期間を設定する際の科学的根拠として活用される。

3. 基本的事項

3. 1 試験対象農薬（モデル農薬）の選択

モデル農薬を被験物質として吸入毒性試験を実施することにより、農薬吸入毒性評価手法の確立に必要な知見を得るとともに、モデル農薬の毒性評価を行うこととした。

モデル農薬の選定にあたっては、「自治体における街路樹、公園緑地等での防除実態調査」に基づき、街路樹、公園等の市街地における使用実態の多い5農薬（フェニトロチオン、トリクロルホン、イソキサチオン、エトフェンプロックス及びグリホサート）の中から選定することとし、以下の観点を考慮した。

- ①吸入毒性に係る知見が多く、毒性の観点から優先的に評価すべきと考えられるもの
- ②農薬散布後の気中濃度データが入手可能で、かつ比較的高い気中濃度が測定されているもの
- ③吸入毒性試験が技術的に可能なもの

その結果、使用頻度の最も高かったフェニトロチオンが選定候補となった。ただし、既存の28日間反復吸入毒性試験報告書によって、気中濃度評価値の検討が可能であると判断されたため、本事業においては試験は実施されないこととなった。

平成19年度は、エトフェンプロックスとトリクロルホンについて適切にばく露するための具体的な方法を検討した（予備試験）。その結果、エトフェンプロックスは高濃度では排気処理フィルター等の目詰まりが生じ、連続ばく露試験ができないことが判明したことから、平成20年度にはトリクロルホンの28日間反復吸入毒性試験を実施することとした。

また、「農薬飛散リスク評価手法等確立調査」の平成20年度のモニタリング調査結果から、エトフェンプロックス及びグリホサートについては気中濃度が低かったことから、平成21年度にはイソキサチオンの28日間反復吸入毒性試験を実施することとした。

3. 2 吸入毒性試験方法の選択及び実施

吸入毒性試験方法の具体案を策定するにあたっては主に以下のような論点が検討された。

- 供試動物は、ラットの若齢成獣を用い、系統はウィスター系などの一般的に広く使われ、且つ試験実施機関で背景データを豊富に有するものを用いる。
- ばく露方法として全身ばく露と鼻部ばく露のいずれがよいかについては、吸入による影響だけを評価するか、肢体に付着した農薬の経口摂取等による影響もあわせて評価するかで判断すべきであるが、試験実施機関の吸入装置の保有状況なども考慮して判断する。
- 観察及び検査項目は、OECD テストガイドライン 412 に従う他、試験終了後の脳、赤血球及び血漿中のアセチルコリンエステラーゼ活性を測定する。また、アレルギーの指標として試験終了後の血液、脾臓及び胸腺リンパ球のサブセットを測定する。
- 観察項目として、アレルギー性の影響が判断できる検査項目について、また経口と吸入での毒性の違いについて検討するのであればトキシコキネティクスの観点から農薬の血中濃度測定について、検査の必要性を検討する。
- 尿中の代謝物測定は採尿方法や労力上で難しい点があること、及びコリンエステラーゼ活性の測定でばく露状況が把握できることから今回の試験の中で行う必要はない。
- 試験終了後の器官及び組織の保存期間は、湿標本（ホルマリン標本）は3年間、ブロック及びガラススライドは10年間とする。

この結果、ヒト（幼児を含む）のばく露期間やばく露経路を考慮して、28日間吸入毒性試験とし、ばく露経路は全身ばく露法を採用することとなった。さらに試験計画の骨子が以下の如く決定された。試験方法は OECD テストガイドライン 412 を基本とする事となった。

吸入毒性試験計画

i) 供試動物

- (1) ラットの若齢成獣を用いる。なお、雌は未経産で非妊娠のものを用いる。
- (2) ラットの系統については、ウィスター系など、広く使われている系統とし、試験実施機関が飼育・管理及び試験の実施に十分な経験を有し、かつ遺伝的情報を含め背景情報を十分に把握している動物を用いるものとする。

ii) ばく露方法

- (1) 平成 19 年度に実施した予備試験の結果を踏まえ、原則として全身ばく露型吸入装置を用いることとする。
- (2) 被験物質は原則としてミスト又はダスト状態でばく露させることとし、可能な場合ガス状態でもばく露させることとする。ばく露中の吸入装置内温湿度は原則として飼育環境と同様とし、その条件は OECD テストガイドライン 412 ($22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ 、30-70%) に従う。
- (3) ばく露中は、流量、被験物質の実際濃度、温度、湿度、粒子径等をモニタリングし、一定条件に保つ。なお、被験物質をガス状態でばく露させる場合は、粒子径分布のモニタリングは実施しない。

iii) ばく露期間

- (1) 亜急性の吸入毒性を評価する観点から、今回の試験ではばく露期間は 28 日間とする。
- (2) 1 日のばく露時間は原則 6 時間とし、毎週 5 日間以上、ばく露させる。

iv) 動物数及び試験群の設定

(1) 動物数の設定

1 群当たり雌雄各 10 匹以上とし、試験結果の評価を行う上で十分な動物数を確保する。

(2) 試験群の設定

①原則として、ミストまたはダストで 3 段階以上の被験物質投与群並びに対照群を設けることとし、可能であればさらにガスで 1 段階以上の被験物質投与群を設ける。なお、ガスの場合、飼育温度における飽和濃度が無毒性量に満たないと推定される場合には、飽和濃度の 1 段階とする。

②ミストまたはダストによる被験物質投与群の用量段階は、予備試験の結果や文献情報等をもとに、被験物質の毒性の徴候を明らかにし無毒性量を推定できるように設定する。最高用量は多数例の死亡を起こすことなく毒性影響が認められる用量、最低用量は何ら毒性影響が認められない用量とし、かつ、用量反応関係がみられるように各用量段階を設定する。

ガスによる被験物質投与群の用量段階もミストまたはダストによるものに準じて設定する。しかしながら、飼育温度における飽和濃度が無毒性量に満たないと推定される場合には、飽和濃度の1段階とする。

③対照群は空気をばく露させることとし、被験物質の投与を行わないこと以外、すべての点で被験物質投与群と同一の条件とする。

v) 観察及び検査

観察及び検査項目は、OECD テストガイドライン 412 に記述された項目に、以下の項目を追加する。

- ・試験終了後、脳、赤血球及び血漿中におけるアセチルコリンエステラーゼ活性を測定し、対照群に対する低下率を測定する
- ・器官及び組織の保存期間について、ホルマリン標本は試験終了後3年間、ブロック及びガラススライドは10年間とする。
- ・アレルギー性の影響が判断できる検査項目を追加（試験終了時に抹消血、胸腺、脾臓のリンパ球のサブセットを測定）する。

vi) 被験物質

(1) 被験物質は純品とし、純度は原則として98%以上とする。ただし、98%以上の純度の純品が入手困難な場合には、入手可能な純品のうち最も濃度の高いものを用いることとする。また、純品の入手が困難な場合は、農薬として製造された原体を用いることとする。

(2) 被験物質の組成については、分析の上、報告をすることとする。

3. 3 吸入毒性試験における無毒性量 (NOAEC) の決定

無毒性量については、OECD テストガイドライン 412 に準拠した本吸入毒性試験計画に基づき実施した 28 日間吸入毒性試験における観察・検査項目（生死及び一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、アセチルコリンエステラーゼ活性、リンパ球サブセット、病理学的検査、血液中の披験物質濃度）のすべてにおいて、毒性学的に有害な影響が認められない最高のばく露量を無毒性量とした（「3. 吸入毒性試験の調査及び実施結果」を参照）。

なお、アセチルコリンエステラーゼ活性阻害の毒性判定基準としては、WHO (JMPR) の基準に基づき、脳（中枢神経系）及び赤血球（末梢神経系の代用項目）のいずれかで、統計学的有意差がつく、かつ、20%以上の阻害があった場合を毒性影響とすることとした。

3. 4 気中濃度評価値の設定方針

3. 4. 1 気中濃度評価値の定義及び算出方法

(1) 本事業における定義

気中濃度評価値とは、人の健康を保護する観点から、街路樹や公園などで使用される農薬による人の健康への影響を評価する際の目安として、吸入毒性試験成績を基に適切な安全幅を見込んで設定する。

一般に、気中濃度評価値以下の濃度であれば、人の健康に好ましくない影響が起きることはないと考えられる。気中濃度評価値は、安全と危険との明らかな境界を示すものではなく、気中濃度が短時間わずかにこの値を超えることがあっても、直ちに人の健康に影響があるというものではない。

(2) 評価値算出方法

ラットに全身ばく露又は鼻部ばく露条件下、28 日間被験物質を吸入させ（1 日 6 時間、5 日間/週）、無毒性量 (NOAEC : No Observed Adverse Effect Concentration) を求める。当該 NOAEC (mg/m³) から以下に示すように、ヒト許容一日経気道ばく露量 (mg/kg 体重/day) を算出し、ヒトの呼吸量を用いて気中濃度評価値を求める。

(3) 評価値設定農薬

フェニトロチオン、トリクロルホン及びイソキサチオン

①ヒト許容一日経気道ばく露量 (ADAEL : Acceptable Daily Airway Exposure Level) (mg/kg 体重/day) の算出

2007 年 11 月に公表された「一般用医薬品及び医薬部外品としての殺虫剤の室内使用時のリスク評価ガイドライン (案)」(以下、「殺虫剤ガイドライン (案)」という。) ¹⁾及びラットの呼吸量 0.2 L/min²⁾を用いた、ばく露濃度からばく露量の変換式

¹⁾ 一般用医薬品及び医薬部外品としての殺虫剤の室内使用時のリスク評価方法ガイドライン (案) (厚生労働省意見募集案件 (2007))

²⁾ 1-メチルシクロプロペン農薬評価書：食品安全委員会 (2009)

(mg/m³→mg/kg 体重/day) を以下に示す；

$$\begin{aligned} & \text{ラットの経気道ばく露量 (mg/kg 体重/day)} \\ &= \text{経気道ばく露濃度 (mg/m}^3\text{)} \\ & \quad \times 0.2 \text{ L/min}^2 \times 1/1000 \text{ (m}^3\text{/L)} \quad \leftarrow 1 \text{ 分間の呼吸量} \\ & \quad \times 60 \text{ min} \times \text{ばく露時間/day} \quad \leftarrow 1 \text{ 日のばく露時間} \\ & \quad \times 1/\text{ラットの平均体重 (kg 体重)} \quad \leftarrow \text{体重あたりに換算} \end{aligned}$$

上式を用いて経気道ばく露における NOAEC から ADAEL を求める；

$$\begin{aligned} & \text{ヒト許容一日経気道ばく露量 (ADAEL, mg/kg 体重/day)} \\ &= \text{吸入毒性試験で得られた NOAEC (mg/m}^3\text{)} \\ \text{呼吸量換算} \rightarrow & \quad \times 0.2 \text{ L/min} \times 1/1000 \text{ (m}^3\text{/L)} \\ \text{ばく露時間換算} \left\{ \begin{array}{l} \times 60 \text{ min} \times 6 \text{ h/day (1日6時間ばく露試験なので)} \\ \times 5 \text{ day/7 day (1週間5日ばく露試験なので)} \end{array} \right. \\ \text{体重換算} \rightarrow & \quad \times 1/\text{吸入毒性試験で得られたラットの平均体重 (kg 体重)} \\ & \quad \times 1/100 \text{ (不確実係数)} \\ &= \text{NOAEC} \times 0.2 \times 1/1000 \times 60 \times 6 \times 5/7 \times 1/\text{平均体重} \times 1/100 \\ &= \text{NOAEC} \times 1/\text{平均体重} \times 1/1944 \end{aligned}$$

注) 上式より雌雄の体重に基づいて計算した ADAEL のうち、より小さい値を気中濃度評価値の算出に使用する。

②ADAEL から気中濃度評価値 (mg/m³) の算出

殺虫剤ガイドライン (案)¹⁾における以下の経気道ばく露量算出式を用い、気中濃度評価値を求める。

$$\begin{aligned} \text{ADAEL (mg/kg 体重/day)} &= \text{気中濃度評価値 (mg/m}^3\text{)} \\ & \quad \times \text{呼吸量}^* \text{ (L/min/kg 体重)} \times 1/1000 \text{ (m}^3\text{/L)} \\ & \quad \times 60 \text{ min} \times 24 \text{ h/day (24 時間吸入するとして)} \end{aligned}$$

上式を変換し、

$$\begin{aligned} \text{気中濃度評価値 (mg/m}^3\text{)} &= \text{ADAEL (mg/kg 体重/day)} \\ & \quad / \{ \text{呼吸量}^* \text{ (L/min/kg 体重)} \times 1/1000 \text{ (m}^3\text{/L)} \\ & \quad \times 60 \text{ min} \times 24 \text{ h/day} \} \end{aligned}$$

¹⁾ 一般用医薬品及び医薬部外品としての殺虫剤の室内使用時のリスク評価方法ガイドライン (案) (厚生労働省意見募集案件 (2007))

²⁾ 1-メチルシクロプロペン農薬評価書：食品安全委員会 (2009)

※ 呼吸量：

成人の平均呼吸量は 0.200 L/min/kg 体重と仮定する。

←殺虫剤ガイドライン（案）¹⁾と同じシナリオ（1日の平常の活動状況を休息 16 h/day（休息時の呼吸量 8 L/min³⁾）、軽作業 8 h/day（軽作業時の呼吸量 16 L/min⁴⁾）とし、成人の平均体重 53.3 kg 体重を用いて 0.200 L/min/kg 体重が算出される。

※ 呼吸量：小児の平均呼吸量は 0.403 L/min/kg 体重と仮定する。

←小児の1日当たりの呼吸量 8.7 m³/day⁵⁾ 及び小児の平均体重 15 kg 体重⁵⁾ から 0.403 L/min/kg 体重が算出される。

3. 4. 2 確認された事項および考慮すべき事柄

(1) 農薬の一日摂取許容量 (ADI) との関係：市街地および公園等における農薬散布は短期間であり、その健康影響は亜急性的なものと考えられることから、慢性的な健康影響を評価した ADI^{*}とは性質を異にすると考えられる。従って、気中濃度評価値の設定において、例えば、水質汚濁に係る登録保留基準値を設定する場合のように ADI の配分を予め設定する手法は、必ずしも妥当ではないと考えられる。

※ ADI とは、人が生涯にわたって当該農薬を摂取したとしても安全性に問題がないと認められる 1 日当たりの農薬摂取量のこと。

(2) 試験期間による安全係数の追加：動物試験の試験期間の長さによる追加安全係数については市街地および公園等における農薬散布が短期間であることから、考慮の必要性はないと考えられる。

(3) 妊婦等の感受性：動物を用いた毒性試験（催奇形性試験又は繁殖毒性試験）において妊娠動物あるいは胎児への明らかな毒性影響が認められている場合には、妊婦あるいは胎児に対する影響を考慮して気中濃度評価値にさらに安全係数を乗ずることを検討する必要があるため、試験結果を踏まえて被験対象農薬毎に検討することとした（検討結果は「4. 吸入毒性試験の調査及び実施結果」を参照）。

(4) 小児の感受性：さらに、小児の感受性を考慮し、個々の剤の毒性試験結果において児動物に対する明らかな影響が認められる場合には、さらに安全係数を乗ずることを検討する必要があるため、試験結果を踏まえて被験対象農薬毎に検討することとした（検討結果は「4. 吸入毒性試験の調査及び実施結果」を参照）。

¹⁾ 一般用医薬品及び医薬部外品としての殺虫剤の室内使用時のリスク評価方法ガイドライン（案）（厚生労働省意見募集案件（2007））

³⁾ 新生理学〈形態と機能〉：151（1984）

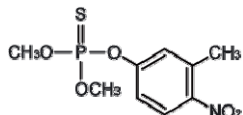
⁴⁾ 許容濃度暫定値（1981）の提案理由：日本産業衛生学学会・許容濃度に関する委員会，産業医学，23，577(1981)

⁵⁾ EPA "Standard Operating Procedures (SOPs) for Residential Exposure Assessments—INHALATION OF RESIDUES FROM INDOOR TREATMENTS" (1997)

4. 吸入毒性試験の調査及び実施結果

4. 1 フェニトロチオン

4. 1. 1 構造式、物理化学的性質等の情報



分子量：277.2
融点：0.3°C* 沸点：140-145°Cで分解*
蒸気圧：1.57×10⁻³Pa (25°C)

4. 1. 2 調査結果

フェニトロチオンの安全性評価の一環として、雌雄 SD 系ラット（6 週齢）に 4 週間反復吸入ばく露し、その亜急性毒性を検討した。ミストエアロゾルとして気中濃度を 2、4 及び 8 mg/m³ に設定し、被験物質を 1 日 6 時間、週 5 日間の鼻部ばく露した。死亡の確認、一般症状観察、体重測定、摂餌量測定、尿検査、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、コリンエステラーゼ活性、臓器重量、剖検及び病理組織学的検査を実施した。各設定濃度に対する実測気中濃度（化学分析）は、2.0、3.8 及び 7.4 mg/m³ であった。ミストエアロゾルの空気力学的中位径（MMAD）は、溶媒対照群、2 mg/m³ 群、4 mg/m³ 群及び 8 mg/m³ 群でそれぞれ 2.67、2.25、3.04 及び 2.20 μm、幾何学標準偏差（GSD）はそれぞれ 2.14、2.10、2.09 及び 2.29 であった。試験結果は以下の通りであった。

1. 死亡は認められず、一般症状観察、体重、摂餌量、尿検査、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量、剖検及び病理組織学的検査においても投与に関連する影響は認められなかった。
2. フェニトロチオンは有機リン系殺虫剤であり、コリンエステラーゼ活性を抑制すると広く認識されている。本試験においては、以下のコリンエステラーゼの変動が認められた。：8 mg/m³ の雄（対照群の値の 81%）、4 mg/m³ の雌（同 56%）及び 8 mg/m³ の雌（同 29%）における血漿コリンエステラーゼ活性の低下、4 mg/m³ の雄（同 93%）、8 mg/m³ の雄（同 88%）及び 8 mg/m³ の雌（同 68%）における脳コリンエステラーゼ活性の低下、及び 8 mg/m³ の雄（同 74%）及び 8 mg/m³ の雌（同 49%）における赤血球コリンエステラーゼ活性の低下。JMPR の基準に従うと、血漿コリンエステラーゼ活性の変動及び対照群の 80% までの脳及び赤血球のコリンエステラーゼ活性阻害には毒性学的意義はないと解釈されている。よって、本試験では、雌雄における血漿コリンエステラーゼの低下及び 4 mg/m³ の雄における脳コリンエステラーゼの低下についての毒性学的意義は乏しいと考えられた。

* 国際化学物質安全性計画 環境保健クライテリア (<http://www.inchem.org/pages/ehc.html>)

以上、フェニトロチオンを雌雄のSDラットに0、2、4及び8 mg/m³のばく露濃度により1日6時間、週5日の頻度で4週間反復してばく露し、亜急性毒性を評価した。毒性学的に意義のある影響は、8 mg/m³群の雌雄に認められた脳及び赤血球コリンエステラーゼ活性の阻害のみであった。従って、本試験条件下における無毒性量（NOAEC）は雌雄とも4 mg/m³（実測気中濃度平均値：3.8 mg/m³）と考えられた。

4. 1. 3 毒性部会における検討

SDラット（一群雌雄各5匹）を用いた28日間反復吸入毒性試験（試験条件：1日6時間、1週5日間の鼻部ばく露。ばく露濃度：0、2、4及び8 mg/m³。観察・検査項目：一般状態、体重、摂餌量、尿検査、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、赤血球・血漿及び脳のコリンエステラーゼ活性、病理学的検査。2003年。）において、8 mg/m³群の雌で脳コリンエステラーゼ活性に統計学的に有意で、かつ20%以上の阻害及び8 mg/m³群の雌雄で赤血球コリンエステラーゼ活性に統計学的有意で、かつ20%以上の阻害が認められたことから、無毒性量（NOAEC）を雌雄ともに4 mg/m³とした。

なお、文献調査において妊娠動物や児動物への毒性影響は認められなかった（別紙1参照）。

技術情報

フェニトロチオンの毒性試験の概要

住友化学工業株式会社農業化学品管理室

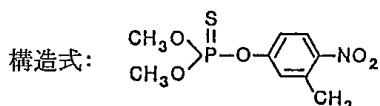
(昭和63年2月20日受理)

薬剤の概要

フェニトロチオン (スミチオン®) は有機リン系の殺虫剤である。その殺虫スペクトルは広く、国内外で稲、果樹、野菜、茶など広範囲にわたる農業分野の主要害虫および森林害虫に対して、また防疫用の殺虫剤として、カ、ハエ、ゴキブリなどの衛生害虫に対して、その的確な効果と汎用性のゆえに多く使用されている。スミチオンの主な物理化学的性質は次のとおりである。

一般名: フェニトロチオン fenitrothion

化学名: *O, O*-dimethyl *O*-(3-methyl-4-nitrophenyl)-thiophosphate



分子量: 277.23

性状: わずかに特有の臭いをもつ黄褐色油状液体

比重 (d_4^{20}): 1.333

融点: 0.3°C (純品)

蒸気圧: 1.37×10^{-4} mmHg (20°C)

溶解性: アルコール、エーテル、芳香族炭化水素に易溶。水に対する溶解性は低い (14 ppm, 30°C)。

安定性: 弱酸には安定。アルカリ条件下では比較的不安定で *p*-nitro-*m*-cresol を生ずる。光に対しては比較的安定であるが、紫外線により徐々に分解する。

代謝

スミチオンを ^{14}C もしくは ^{32}P で標識してラット、マウス、イヌ、ウサギ、モルモットに経口投与すると、スミチオンの代謝・分解はきわめて速やかに起こり、72~96時間後には投与した放射能の事実上すべてが、尿、糞へ排泄され、さらに長期間の投与によっても体内での化合物の貯留は認められない。スミチオンを経口投与した動物の尿、糞中には主として *O*-メチル基の脱離によっ

て生成した脱メチル体やフェノキシ基とリンとの結合が開裂した *p*-nitro-*m*-cresol やその誘導体およびそれらの抱合体が存在しており、スミチオンはほとんど検出されない。スミチオンは体内で酸化されてコリンエステラーゼ阻害作用を持つスミオキシソンに変わるが、スミオキシソンはスミチオンよりもさらに速やかに代謝・分解されることが知られている。反芻動物やウサギの消化管ではスミチオン分子中のニトロ基が還元されてアミノスミチオンが生ずる (住友化学 1969年, 1976年, 1978年)¹⁻³⁾。

急性毒性試験

動物種	投与経路	LD ₅₀ (mg/kg)			
ラット	経口	330(雄)	800(雌)	住友化学	1972
	経皮	890(雄)	1200(雌)	"	"
	皮下	840(雄)	1300(雌)	"	"
	腹腔内	148(雄)	461(雌)	"	"
	吸入*	雌雄とも	>2210	"	1986
マウス	経口	1030(雄)	1040(雌)	"	1972
	経皮	雌雄とも	>2500	"	"
	皮下	1350(雄)	1530(雌)	"	"
	腹腔内	464(雄)	530(雌)	"	"

* LC₅₀ (mg/m³, 4時間曝露)

スミチオンによる中毒は神経系のアセチルコリンエステラーゼ (AchE) 阻害に基づくアセチルコリンの過剰な蓄積に起因する。高用量のスミチオン投与により、AchE 阻害に基づく縮瞳、流涎、筋線維性攣縮、振戦、間代性痙攣、呼吸困難などが観察されるが、数日以内に消失する。

刺激性およびアレルギー性試験

1. 刺激性試験

スミチオン原体 0.1 ml を 6 匹の New Zealand White 系ウサギに点眼すると、1時間後にごく軽度の結膜の充血を認めたが24時間後には回復していた。角膜や虹彩

には変化はなかった。点眼30秒後に洗眼した3匹の群では何ら刺激反応は認められなかった(住友化学1981年)。

スミチオン原体0.5mlを6匹のNew Zealand White系ウサギの背部の皮膚に24時間接触させたが、紅斑や浮腫などの反応は認められず皮膚刺激性はないと判定された(住友化学1981年)。

2. 皮膚感作性試験

スミチオンの1%, 5% コーンオイル液を各群6匹よりなるHartley系雄モルモットに0.1mlずつ隔日に10回皮内注射し, 14日後に同濃度のコーンオイル液を皮内注射あるいはアセトン液を皮膚に塗布して誘発したが, いずれの場合も何ら皮膚反応は認められなかった。一方, 陽性対照として用いた2,4-dinitrobenzeneでは充血, 膨隆などの明らかな皮膚反応が認められた(住友化学1972年)。

3. 全身アナフィラキシー性試験

雌雄各15匹/群のHartley系モルモットを, 226および688 mg/m³の気中濃度のスミチオン原体に, 1日2時間, 連続7日間吸入曝露した。最終曝露の1週間後に再び同じ気中濃度にて吸入させ誘発したが, 何ら異常な症状は認められなかった。一方, 陽性対照として用いた細菌由来の α -アミラーゼでは呼吸困難, 虚脱などの症状を示し全例が死亡した(住友化学1977年)。

遅延性神経毒性試験

急性試験においては500 mg/kg(雌成鶏の急性経口LD₅₀値)のスミチオンを16羽/群の雌成鶏に3週間間隔で2回経口投与し, 投与直後にみられる中毒症状をatropineとpyridine-2-aldoxime methiodideで寛解させつつ試験した。陽性対照としてtri-*O*-cresyl phosphate(TOCP)を用いた。亜急性試験では急性経口LD₅₀値の1/15量の33.4 mg/kg/dayおよび1/30量の16.7 mg/kg/dayのスミチオンを8羽/群の雌成鶏に連続4週間経口投与した。いずれの試験においてもスミチオン投与群で脚部麻痺などの不可逆的な遅延性神経毒性症状は認められず, 坐骨神経, 脊髄および脳のHematoxylin-Eosin染色, Luxol fast blue染色による病理組織学的検査においても異常は認められなかった。一方, TOCPを1回投与した鶏は投与10~14日後に著明な脚部麻痺症状を示して起立不能となり, 病理組織学的にも坐骨神経および脊髄の変性, 脱髓現象を認めた(住友化学1975年⁹⁾, 1977年)。

神経系にはneurotoxic esterase(NTE)と呼ばれる酵素が存在し, この酵素活性を75%以上阻害する化合物

は遅延性神経毒性を示すとされている。500 mg/kgのスミチオンを雌成鶏に経口投与すると, 2日後の脳のAChEは78%阻害されるが, NTEの阻害度は8%ときわめて小さかった。一方, 500 mg/kgのTOCP投与によるAChE阻害度は14%と小さかったが, NTEは97%が阻害された(住友化学1979年)⁹⁾。

変異原性試験

1. 遺伝子突然変異性試験

1) Ames試験

*Salmonella typhimurium*のTA1535, TA100, TA1537, TA1538, TA98の各株および大腸菌*Escherichia coli*のWP2 *hcr*株を用いPCBで誘導したラット肝薬物代謝酵素系(S-9 Mix)の存在下もしくは非存在下に濃度10~5000 μ g/plateでスミチオンが惹起する各菌株の復帰変異体数を調べた。その結果, スミチオンはS-9 Mixの存在の有無にかかわらずTA100以外の菌株では復帰変異体数を増加させず, 突然変異性を示さなかった。TA100株においては, とくにS-9 Mixの存在下でわずかな復帰変異体数の増加(約140 revertants/nmol)が認められた(住友化学1983年)。この増加はスミチオン分子のニトロ基がTA100株バクテリアのnitroreductaseによって還元され, その結果生ずる代謝産物に起因する可能性が考えられたので, 以下の実験を行なった。Nitroreductase活性を欠き, かつ種々の既知変異原物質に対して感受性を示すTA100株の変異株を作成し, この変異株を用いてスミチオンの突然変異性を調べると, S-9 Mix存在の有無にかかわらず陰性であった。このことからTA100株で観察された復帰変異体数の増加はTA100株が持つnitroreductaseに起因すると考えられた(住友化学1983年)。

2) 哺乳動物培養細胞

チャイニーズ・ハムスター肺由来の培養細胞(V79)を用い, 6-thioguanine耐性細胞の出現率を指標として濃度10⁻⁵~3 \times 10⁻⁴ Mでスミチオンが示す遺伝子突然変異性を調べたところ, S-9 Mix存在の有無にかかわらず陰性であった(住友化学1986年)。

2. 染色体異常誘発性試験

1) *In vivo* 染色体異常試験

6匹/群のICR系雄マウスに200, 400, 800 mg/kgのスミチオンを腹腔内投与し6, 24, 48時間後に, 6匹/群のSD系雄ラットに100, 400, 800 mg/kgのスミチオンを経口投与し6, 24, 48時間後に, さらに, 20, 40, 80 mg/kg/dayのスミチオンを連続5日間, SD系雄ラットに経口投与し最終投与から6時間後に, それぞれ骨髄

塗沫標本を作製し染色体異常出現頻度を調べたが、いずれの場合にも溶媒対照群と比べ有意な染色体異常の増加は認められなかった(住友化学 1982年)。

2) 小核試験

200, 400, 800 mg/kg のスミチオンを6匹/群のICR系雄マウスに腹腔内投与し、24時間後に骨髓塗沫標本を作製し精査した。その結果、スミチオンには小核誘発能は認められなかった(住友化学 1982年)。

3) 優性致死試験

スミチオンをICR系マウス(12匹)に20, 200 mg/kg/dayの用量で、また、SD系雄ラット(12匹)に2, 7, 20 mg/kg/dayの用量で連続5日間、経口投与した。その後8週間にわたって成熟した雌と1:3(マウス)または1:2(ラット)の割合で交配させた。その結果、いずれの群においても妊娠率、黄体数、早期・後期死胚数、優性致死率は対照群と同等であり、スミチオンには優性致死作用は認められなかった(住友化学 1975年)。

3. DNA 損傷性

1) Rec-assay

Bacillus subtilis の組換え修復機構保持株(H-17)と欠損株(M-45)を用い、濃度0.26~26 mg/diskでスミチオンが示すDNA損傷性を、rec-assay法で検討した。その結果、いずれの濃度においても両菌株に生育阻止帯は認められなかった((財)残留農薬研究所 1983年)。

2) 姉妹染色分体交換試験

ICR系マウスの胎仔腹部より得た細胞を 10^{-5} ~ 10^{-4} MのスミチオンでS-9 Mix存在下あるいは非存在下で3時間処理し、以後染色して姉妹染色分体交換の出現頻度を調べた。その結果、スミチオンはこの頻度を上昇させなかった(住友化学 1980年)。

催奇形性試験

各群20~24匹のSD系妊娠ラットに3, 8および25 mg/kgのスミチオンを妊娠6日から15日まで毎日経口投与し、妊娠20日目に胎仔の外形、内臓および骨格異常を検査した。その結果、スミチオン投与のいずれの群においても着床率、胚仔死亡率、性比および胎仔体重などのパラメーターは対照群と同等で、外形、内臓および骨格の異常の種類と出現率にも差はなかった。なお、25 mg/kgのスミチオンを投与した母獣では振戦や粗毛などの中毒症状を示し、体重増加量が抑制された。(Hazleton Laboratories 1987年)。

各群13~16匹のNew Zealand White系妊娠ウサギにスミチオンを3, 10および30 mg/kgの用量で妊娠7日から19日まで毎日経口投与した。妊娠29日目に胎仔の

外形、内臓および骨格の異常を検査した。その結果、スミチオン投与のいずれの群においても着床率、胚仔死亡率、性比および胎仔体重などのパラメーターに異常はなく、また胎仔の外形、内臓および骨格異常の種類と出現率は対照群と同等であった。なお、30 mg/kg投与群の母獣に体重増加の抑制および流産、呼吸困難、振戦などの中毒症状が認められた(Hazleton Laboratories 1987年)。

以上のようにラットとウサギを用いた試験で、スミチオンの母獣に対する毒性が明らかに認められる用量においても催奇形性、胚仔致死作用および胎仔の発育抑制作用は認められなかった。

繁殖性試験

SD系ラットの雌雄に10, 30および100 ppmのスミチオンを含む飼料を摂取させ、3世代の繁殖性試験を行った。各世代ごとに2回の交配を行ない、第2回目の交配より得た仔動物の一部を次世代の親動物として用いた(F_{1A} を得るための P_0 では各群とも雄15匹と雌30匹を用い、それ以後の P_0 , P_1 , P_2 では雄10匹と雌20匹を用いた。また F_{1A} を得る場合のみ、スミチオンの最高投与量は150 ppmとした)。 P_0 , P_1 , P_2 については死亡率、体重、摂餌量、外観、挙動を記録するほか、妊娠率、分娩率を調べ、 F_{1A} ~ F_{3B} については出生数、24時間後の生存率、離乳時の生存率(哺育率)、体重(生後24時間および離乳時)を調べた。また F_{1B} ~ F_{3A} の約1/3、 F_{3B} の約1/2については離乳時に剖検するとともに最高用量群と対照群の雌雄各5匹については病理組織学的検査を行った。その結果、 P_0 と P_1 では最高用量群に体重の増加抑制傾向が認められたが、外観、挙動に異常はなかった。また、妊娠率、分娩率、仔の数、24時間後の仔の生存率、仔の外観などには各世代を通じてスミチオン投与による影響は認められなかった。しかし、哺育率は最高用量群で全世代(F_{1A} ~ F_{3B})を通じて有意に低く、また離乳時の体重が最高用量群の雄(F_{1A} , F_{1B} , F_{2A})と雌(F_{1A} , F_{2A})において有意に低く、 F_{3B} の雄と雌においても低い傾向が認められた。一方、離乳仔の剖検および F_{3B} の最高用量群の主要な17種類の臓器・組織の病理組織学的検査においてはスミチオン投与に起因する変化は認められなかった。以上の結果から、スミチオンは親世代の体重増加が抑制される100 ppmもしくは150 ppmの濃度では次世代に若干の影響を与えるが、30 ppm以下では次世代に影響を及ぼさないと結論された(Hazleton Laboratories 1974年)。

亜急性毒性試験

1. 吸 入

各群 10~12 匹/性の ICR 系マウスおよび SD 系ラットにスミチオンのミストを 2, 7, 15, 62 mg/m³ の気中濃度で 1 日 2 時間, 週 6 日間, 4 週間曝露した。62 mg/m³ 群の雌雄のラットにのみ軽度の流涎と尿失禁が認められ, 15 mg/m³ 以上においては血漿, 血球および脳のコリンエステラーゼ (chE) の阻害が認められたが, 体重, 血液学, 血液生化学および病理組織学の各検査では異常は認められなかった。chE 阻害を指標として無影響量は 7 mg/m³ と考えられた (住友化学 1975 年)。

2. 経 皮

5 匹/性/群の New Zealand White 系ウサギの背部皮膚に 10, 50, 250, 500 mg/kg のスミチオンを 1 日 6 時間, 連続 21 日間接触させた。500 mg/kg 群に嗜眠, 軟便, 下痢などの中毒症状, 投与後 5 日目以降からの死亡が認められたが, 皮膚反応, 体重, 摂餌量, 血液学的検査, 血液生化学的検査, 臓器重量, 剖検, 病理組織学的検査においてはスミチオン投与に起因する変化はなかった。血漿, 血球, 脳 chE 阻害を指標として無影響量は 50 mg/kg/day と判断された (Huntingdon Research Centre 1987 年)。

3. 経 口

各群雌雄 15 匹の Wistar 系ラットに 10, 30, 150 ppm のスミチオンを含む飼料を 6 か月間与えた。150 ppm のスミチオンを投与した直後に摂食量の減少に伴う一過性の体重増加抑制が認められた。一般症状, 摂餌量, 摂水量, 血液学的検査, 血液生化学的検査, 尿検査, 臓器重量, 病理組織学的検査においてはいずれの群にも化合物投与による変化は認められなかった。スミチオン投与により血漿 (全群), 血球 (30 ppm 以上) および脳 (30 ppm 以上) の chE が阻害されていた (住友化学 1975 年)⁶⁾。

慢性毒性試験

1. ラ ッ ト

SD 系ラットを用いたスミチオンの繁殖試験で得た F_{1A} (50~60 匹/性/群) に 10, 30, 100 ppm のスミチオンを含む飼料を 2 年間にわたって摂食させ, 慢性毒性と発癌性を調べた。一部の動物 (10 匹/性/群) は摂食開始 1 年後に中間検査を行なった。雄の 30 および 100 ppm 投与群に摂餌量の有意な低下と雄の 100 ppm 投与群に有意な体重増加抑制がともに最初の 52 週間において認められたが, 以後, 投与終了時まで対照群とは同等であった。死亡率, 一般症状, 13, 26, 52, 104 週に行なっ

た血液学的検査, 血液生化学的検査および尿検査, 81, 104 週に行なった眼科学的検査, 臓器重量, 剖検, 病理組織学的検査においては, スミチオン投与に起因する変化は認められず, また発癌性も認められなかった。一方, 0, 2, 4, 8, 13, 26, 92, 104 週で測定した血液 chE 活性ならびに 52, 104 週で測定した脳 chE 活性はスミチオン投与に相関して阻害が認められた。血漿 chE では全群に, 血球と脳の chE では 100 ppm 群にのみ阻害が認められた (Hazleton Laboratories 1974 年)。

スミチオンの chE 活性への影響を調べる目的で, 各群 15 匹/性/群の Wistar 系ラットに 2.5, 5, 10 ppm のスミチオンを含む飼料を 92 週間にわたって摂食させ, 投与開始後 2, 4, 6, 8, 12, 16, 20, 24, 42, 68, 92 週に血液の chE 活性を測定した。脳 chE 活性は 92 週に測定した。血漿 chE は 5 ppm 群で初期にごくわずかに阻害されたが, 以後回復した。10 ppm 群では明瞭な阻害が認められた。血球と脳の chE には, いずれの群でも阻害は認められなかった (住友化学 1975 年)⁶⁾。

2. マ ウ ス

各群雌雄それぞれ 50 匹の ICR 系マウスに 30, 100, 200 ppm (投与開始後 2 週間はそれぞれ 0, 30, 100 ppm) のスミチオンを含む飼料を 78 週間にわたって摂食させ, 発癌性を調べた。一般症状, 死亡率, 体重, 28 週および試験終了時に行なった眼科学的検査, 臓器重量, 剖検, 病理組織学的検査においては, スミチオン投与に関連する変化は見いだされず, 発癌性はないと結論された (Hazleton Laboratories 1975 年)。

3. イ ヌ

6 匹/性/群のビーグル犬に 5, 10, 50 ppm のスミチオンを含む飼料を 1 年間にわたって摂食させた。外観, 挙動, 死亡率, 体重, 摂餌量, 3, 6, 12 か月経過時に実施した眼科学的検査, 4, 8, 13, 17, 21, 26, 39, 52 週経過時に実施した血液学的検査, 血液生化学的検査および尿検査, 臓器重量, 剖検, 病理組織学的検査においてはスミチオン投与に関連した変化は認められなかった。一方, 4, 8, 13, 17, 21, 26, 39, 52 週経過時に実施した血液の chE 活性測定および試験終了時に実施した脳 chE 活性測定においては, 50 ppm 投与群の血漿 chE のみがスミチオンにより阻害されていた (International Research and Development Inc. 1986 年)。

各群雌雄それぞれ 6 匹のビーグル犬に 30, 100, 200 ppm のスミチオンを含む飼料を 2 年間にわたって摂食させた。200 ppm 投与群の 1 匹の雌に体重増加抑制が認められたのみで, 一般症状, 死亡率, 体重, 0, 3, 6, 9, 12, 24 か月経過時に行なった血液学的検査, 血液生

化学的検査および尿検査, 臓器重量, 剖検, 病理組織学的検査においてはスミチオン投与に関連する変化は認められなかった。一方, 6, 12, 15, 18, 24 か月経過時に測定した血液の chE および試験終了時に測定した脳 chE にはスミチオン投与に相関した阻害が認められた。血漿 chE ではすべての投与群で, 血球 chE では 100 ppm 以上の投与群で, 脳 chE では 200 ppm 投与群で阻害がみられた (Industrial BIO-TEST Laboratories 1974 年)。

要 約

スミチオンは哺乳動物の体内で速やかに代謝・分解され, 容易に体外へ排泄される。スミチオンの急性毒性は比較的弱く, 眼と皮膚に対する一次刺激性はそれぞれごく軽度および陰性であった。皮膚感作性や全身アナフィラキシー性は認められない。スミチオンには遅延性神経毒性は認められず, 変異原性や催奇形性もない。繁殖性にもとくに問題は無い。経口, 経皮ならびに吸入曝露による亜急性毒性試験, およびラット, マウスならびにイヌを用いた慢性毒性試験においても, chE 阻害以外には, スミチオンによる影響は認められず, 発癌性も認められない。

以上のようにスミチオンの長期投与の影響は chE 阻害のみと考えられる。阻害は血漿 chE に比較的強く認められたが, 血漿 chE は神経系のアセチルコリン伝達には何ら役割を果たしていないことが知られており, 血漿 chE 阻害は化合物被曝の指標となりえても, 毒性学的意味はないとされている。一方, 血球 chE 活性は神経系の AchE 活性を反映していることから血球 chE 阻害を有機リン化合物のような抗 chE 剤の毒性の指標にすべきであるとされている⁷⁾ (スミチオンについても, 中毒症状発現は血漿 chE ではなく AchE 阻害と相関していることが知られている¹⁾。この観点から, NOAEL (No-Observed-Adverse-Effect-Level) の概念が導入された⁸⁾。

したがって, スミチオンの慢性毒性試験における NOAEL はラットについては 10 ppm (0.5 mg/kg/day 相当量), イヌについては 30 ppm (0.75 mg/kg/day 相当量) と考えられる。

スミチオンは昭和 36 年 12 月に稲のメイチュウ等に登録を取得して以来, 広範囲の作物および害虫に適用が拡大された。スミチオンの残留基準値は玄米, 豆類, 果実, 野菜および茶に対して, いずれも 0.2 ppm が設定されている。

スミチオンは代表的な殺虫剤の一つであり, その安全性, 汎用性のゆえに農業および防疫用資材として不可欠な薬剤の一つとなっている。

問合せ

住友化学工業株式会社農業化学品管理室

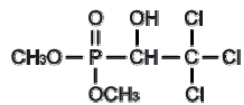
〒103 東京都中央区日本橋 2-7-9 住友日本橋ビル

引用文献

- 1) J. Miyamoto: "Residue Reviews," ed. by F. A. Gunther, Vol. 25, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg and New York, pp. 251-264, 1969
- 2) J. Miyamoto, K. Mihara & S. Hosokawa: *J. Pesticide Sci.* 1, 9 (1976)
- 3) Y. Okuno, Y. Misaki & J. Miyamoto: *J. Pesticide Sci.* 3, 233 (1978)
- 4) Y. Okuno & J. Miyamoto: 防虫科学 40, 49 (1975)
- 5) H. Ohshita & J. Miyamoto: *Biochem. Pharmacol.* 29, 2721 (1980)
- 6) H. Kohda & J. Miyamoto: 防虫科学 40, 38 (1975)
- 7) FAO/WHO: "Pesticide Residues in Food—1982," FAO Plant Production and Protection Paper 46, p. 6, 1983
- 8) FAO/WHO: "Pesticide Residues in Food—1986," FAO Plant Production and Protection Paper 77, p. 2, 1987

4. 2 トリクロロホン

4. 2. 1 構造式、物理化学的性質等の情報



分子量：257.4
融点：83-84°C* 沸点：100°C*
蒸気圧：2.1×10⁻⁴Pa (20°C)

4. 2. 2 試験結果

環境省が平成17年度に実施した「自治体における街路樹、公園緑地等での防除実態調査」の結果、街路樹や公園等の市街地における使用実績が多い農薬として、平成20年度においては、トリクロロホンのラットにおける28日間全身ばく露吸入毒性試験を実施し、その生体影響を調査した。

本試験は、OECDテストガイドライン412に準拠し、被験物質投与群3群と対照群1群の計4群で、各群雌雄とも10匹とし、合計80匹を用いた。被験物質の投与は、トリクロロホン水溶液のミストを1日6時間、1週5日間で28日間(4週間)、動物に全身ばく露条件下で吸入ばく露することにより行った。投与濃度は、雌雄とも0(対照群)、10、30、100 mg/m³とした。観察、検査として、一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定、血液学的検査、血液生化学的検査、アセチルコリンエステラーゼ活性の測定、リンパ球サブセットの測定、剖検、臓器重量測定、病理組織学的検査及び血液中のトリクロロホン濃度(主要代謝物を含む)の測定を行った。

投与群(10 mg/m³群、30 mg/m³群、100 mg/m³群)の吸入チャンバー内トリクロロホン濃度の実測値は、10.0、30.2、101.0 mg/m³、ミスト粒子の空気動力学的质量中位径(MMAD)と幾何標準偏差σ_gは、1.8~2.8 μm、1.9~2.1であり、OECDテストガイドライン412の基準値(MMAD:1~3 μm、σ_g:1.5~3.0)内であった。

トリクロロホンのばく露の結果、動物の死亡はみられず、一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定、血液学的検査、血液生化学的検査、リンパ球サブセットの測定、剖検観察、臓器重量の測定及び病理組織学的検査では、トリクロロホンの毒性影響と思われる変化はみられなかった。

赤血球、血漿中及び脳のアセチルコリンエステラーゼ活性の測定では、統計学的に有意な活性の低下が、雄では血漿で全投与群、脳と赤血球で30 mg/m³以上の群に、雌では脳と血漿で30 mg/m³以上の群にみられた。これらのうち、雄の100 mg/m³群の赤血球アセチルコリンエステラーゼ活性では、統計学的に有意で、かつ20%以上の阻害(25%の活性低下)がみられた。この変化をWHOのガイドラインで示された毒性影響と考え、本試験におけるトリクロロホンのラットに対する4週間吸入ばく露による無毒性量(NO_{AEC})は、赤血球のアセ

* 国際化学物質安全性計画 環境保健クライテリア(<http://www.inchem.org/pages/ehc.html>)

セチルコリンエステラーゼ活性への影響をエンドポイントとして、雄で 30 mg/m³、雌で 100 mg/m³であると判断した。

血漿中のトリクロロホンは雄の 30 mg/m³以上の群、雌の全投与群から検出され、検出された動物数は雌の方が多かった。また、100 mg/m³群では雌雄とも全動物からトリクロロホンが検出されたが、検出濃度は雌の方が高値であった。主要代謝物である 2,2-ジクロロビニルジメチルホスフェイト (DDVP) は雌雄ともいずれの投与群からも検出されなかった。

4. 2. 3 毒性部会における検討

本毒性部会において計画され、結果が検討された中央労働災害防止協会日本バイオアッセイ研究センターによる SD ラット（一群雌雄各 10 匹）を用いた 28 日間反復吸入毒性試験（試験条件：1 日 6 時間、1 週 5 日間の全身ばく露。ばく露濃度：0、10、30 及び 100 mg/m³。観察・検査項目：生死及び一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、赤血球・血漿及び脳のアセチルコリンエステラーゼ活性、血液・胸腺及び脾臓のリンパ球サブセット、病理学的検査、血液中の被験物質濃度。2009 年。）において、100 mg/m³群の雄で赤血球コリンエステラーゼ活性に統計学的に有意で、かつ 20%以上の阻害が認められたことから、無毒性量 (NOAEC) を雄で 30 mg/m³、雌で 100 mg/m³とした。

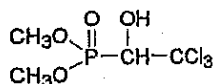
なお、文献調査において妊娠動物や児動物への毒性影響は認められなかった（別紙 2 参照）。

6. トリクロロホン

1. 品目名：トリクロロホン (trichlorfon)

2. 用途：殺虫剤

3. 構造式及び物性



分子式 : C₄H₈Cl₃O₄P

分子量 : 257.44

水溶解度 : 154g/L(20°C)

分配係数 : logP_{ow}=0.52

蒸気圧 : 7.8×10⁻⁶mmHg (20°C)

(メーカー提出資料より)

4. 吸収・分布・代謝・排泄

(1) 動物

本薬の吸収、分布、代謝及び排泄はほ乳類では極めて早い。ウシを用いた経口 (25mg/kg) 投与による試験において、血液中濃度のT_{max}は1～3時間、C_{max}は約15µg eq./gであり、24時間程度で残留は1µg eq./g程度以下となった。マウスを用いた経口 (6.2mg/匹) 投与による試験において、投与15分後に肝で188mg/kg、脳で28mg/kg検出され、4時間後には両臓器で6.4mg/kg、1.6mg/kgが認められた。T_{1/2}は約80分と考えられる。ブタの皮下 (25mg/kg) 投与試験で、血液、肉及び小腸におけるトリクロロホンの濃度は、1時間後には最高となり、それぞれ9～10mg/kg、6 mg/kg及び5～6 mg/kgであり、24時間後にはそれぞれで検出限界以下となる。本薬の主要代謝物はデメチルトリクロロホン、デメチルジクロロボス、ジメチルヒドロゲンホスフェート、メチルヒドロゲンホスフェート、リン酸及びトリクロロエタノールである。マウスを用いた経口 (6.2mg/匹) 投与試験において、0.5及び4時間後の体内の水溶性の代謝物としては、デメチルトリクロロホンが4.3ppm及び4.0ppm、デメチルジクロロボスが21ppm及び10ppm、ジメチルヒドロゲンホスフェートが35ppm及び48ppm、メチルヒドロゲンホスフェートが14ppm及び18ppm、リン酸が22ppm及び21ppm、未同定代謝物が0.5時間後のみ3.6ppm認められる。

本薬は主に尿から排泄され、ウシを用いた試験では、本薬の経口投与量の66%は12時間以内に尿中に排泄されている。マウスの経口 (6.2mg/匹) 投与試験においては、経口投与量の70%が12時間以内に糞尿中に排泄される。

本薬は生体内の脱塩酸反応でジクロロボスが生成し、これによりChE阻害の作

用が生じるとされている。上記のブタの皮下投与試験で、血液及び小腸におけるジクロロボスの濃度は、投与30分後、血液で0.5~1mg/kg、小腸で0.3~0.5mg/kgと最高となり、3時間後には検出限界以下となる。主要な代謝反応は、脱メチル化、リン-炭素結合の切断、ジクロロボスを経由したエステルの加水分解である。(1992年WHO(IPCS)報告、1971年JMPPR報告)

(2) 植物

棉を用いた代謝試験で、主要な代謝物はジクロロボスを経由して生成するジメチルヒドロゲンホスフェート、メチルヒドロゲンホスフェート及びリン酸である。また棉の葉柄に本薬を注射した代謝試験で、葉中での代謝を調べたところ、主な代謝物はジメチルヒドロゲンホスフェート及びβ-グルコシダーゼで分解される未知代謝物であり、48時間後にはそれぞれ投与放射能のうち14.7%及び35.0%検出される。消失は27.5%である。

トマト葉をトリクロロホン、トリクロロエタノール又は抱水クロラルの水溶液に浸漬したところ、トリクロロホンの消失速度よりもトリクロロエタノール又は抱水クロラルの消失速度の方が速い。

5. 安全性

(1) 単回投与試験

急性経口LD₅₀は、マウスで680~730mg/kg、ラットで540~630mg/kgと考えられる。

(2) 反復投与/発がん性試験

CD-1 マウスを用いた混餌(300, 900, 2,700ppm)投与による24カ月間の発がん性試験において、2,700ppm投与群の雌雄で赤血球 ChE 活性の低下、雄で脳 ChE 活性の低下、300ppm以上投与群の雌で脳 ChE 活性の低下が認められる。発がん性は認められない。

FB30 ラットを用いた混餌(50, 250, 500, 1,000ppm)投与による24カ月間の反復投与試験において、1,000ppm投与群の雌雄で全血中 ChE 活性の低下が認められる。本試験の無毒性量は500ppm(2.5mg/kg/day)と考えられる。

Fischer ラットを用いた混餌(100, 300, 1000→1750ppm)投与による24カ月の反復投与/発がん性併合試験において、1750ppm投与群の雌雄で体重増加抑制、肝及び腎比重量増加並びに脳及び赤血球 ChE 活性の低下、小腸の過形成並びに胃炎が、雄で貧血、慢性腎症及び副腎褐色細胞腫が、雌で肺の慢

性炎症及び血中 T.Chol. 増加が、300ppm 以上投与群の雄で血中 T.Chol. 増加及び腎盂の石灰沈着が認められた。本試験の無毒性量は 100ppm (4.4mg/kg/day) であると考えられる。

Fischer ラットを用いた混餌 (2500ppm) 投与による 24 カ月の反復投与/発がん性併合試験において、雌雄で体重増加抑制、貧血、血中 T.Chol.、AST、ALT、 γ -GTP の増加、脳、血球中及び血漿中 ChE 活性の低下、肝細胞空胞化及び類洞拡張、慢性腎症、肺及び十二指腸の過形成、肺の過形成並びに胃炎が、雄で肝細胞の過形成が、雌で肝、肺及び腎比重量増加、副腎髄質過形成、肝の再生結節が認められた。発がん性は認められない。

Fischer ラットを用いた混餌投与による 24 ヶ月の反復投与/発がん性併合試験の 1750ppm 投与群では良性の副腎褐色細胞腫が認められたが、用量を 2500ppm とした試験では副腎髄質過形成が認められるのみであり、用量相関性が認められない。その他変異原性試験成績等から総合的に判断すると、この腫瘍は偶発的に生じた所見であると考えられる。

ビーグル犬を用いた混餌 (50, 200, 800, 3,200ppm) 投与による 4 年間の反復投与試験において、1 年以内に 3,200ppm 投与群の雄雌でそれぞれ 4 例中 4 例及び 2 例、800ppm 投与群では 4 例中 3 例及び 2 例が死亡しており、評価できない。

アカゲザルを用いた強制経口 (0.2, 1, 5mg/kg) 投与による 10 年間の反復投与試験において、5mg/kg 投与群の雌で脳 ChE 活性の低下、1mg/kg 以上投与群の雌雄で赤血球 ChE 活性の低下、雄で脳 ChE 活性の低下が認められる。本試験の無毒性量は 0.2mg/kg/day と考えられる。

ニワトリを用いた強制経口又は腹腔 (経口 25, 50, 75, 100, 250, 500mg/kg・腹腔内 75, 100, 150, 250mg/kg) 投与による急性神経毒性試験において、経口投与 75mg/kg 及び腹腔内 75mg/kg 以上投与群で死亡が認められたが、本薬の致死量に近い量の投与においても神経毒性を示す所見は認められなかった。

ニワトリを用いた混餌 (100, 250, 500, 1000, 2000, 5000ppm) 投与による 30 日間亜急性神経毒性試験 (回復期間 4 週間) において、500 ppm 以上投与群において体重減少が認められた。本試験で遅発性神経毒性を示す所見は認められない。

ニワトリを用いた強制経口 (3, 9, 18mg/kg) 投与による 90 日間亜急性遅発性神経毒性試験において、18mg/kg 投与群で食道の肥大及び肥厚が認められる。本試験で遅発性神経毒性を示す所見は認められない。

本薬及び代謝物ジクロロボスに関するレビューによると、本薬は致死量を上

回る投与を行うことにより、有機リン系農薬による遅発神経毒性の惹起に起因する NTE 活性の低下が予想されるとしている。

ニワトリに対して本薬を単回皮下投与した結果によると、コリン作動性についての最大耐性用量である 200mg/kg 投与では顕著な神経障害は認められなかったが、100mg/kg を追加投与することにより、投与 3 日後に軽度の神経障害が認められた。なお投与 3 週間後の剖検において運動失調を示した個体では、坐骨神経及び脊髄に顕著な変性が認められた。また 200mg/kg 投与群においては脳幹における軽微な変化が認められたものの、坐骨神経及び脊髄に病変は認められず、必ずしも有機リン系農薬によって誘発される神経障害とは見なせなかった。脊髄における NTE 活性の阻害は、上記の試験とは別の試験で認められたが、それは、脳における NTE 阻害よりも遅れて認められたものであるとしている。(1992 年 WHO(IPCS)報告)

(3) 繁殖試験

FB30 ラットを用いた混餌 (100, 300, 1,000, 3,000ppm) 投与による 3 世代繁殖試験において、親動物では、1,000ppm 以上投与群の雌で妊娠率低下及び体重増加抑制が認められる。児動物では、3,000ppm 投与群の F₁ で出生時の体重低下、1,000ppm 以上投与群 F₀ で同腹児数の低下が認められる。本試験の無毒性量は 300ppm と考えられる。

(4) 催奇形性試験

FB30 ラットを用いた強制経口 (10, 30, 100mg/kg) 投与による催奇形性試験において、母動物では 100mg/kg 投与群で下痢が認められる。胎児動物では、本薬投与に関連した影響は認められない。本試験の無毒性量は母動物では 30mg/kg/day、胎児動物では 100mg/kg/day と考えられる。催奇形性は認められない。

ヒマラヤンウサギを用いた強制経口 (5, 15, 45mg/kg) 投与による催奇形性試験において、母動物では 45mg/kg 投与群で 2 例の流産が認められる。胎児動物では本薬投与に関連した影響は認められない。本試験の無毒性量は母動物では 15mg/kg/day、胎児動物では 45mg/kg/day と考えられる。催奇形性は認められない。

(5) 遺伝毒性試験

Rec-assay、細菌を用いた復帰突然変異試験、ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験、ラット肝初代培養細胞を用いた不定期 DNA 合成試験、マウスを用いた小核試験及びマウスを用いた優性致死試験が実施されている。そのうち

Rec-assay、細菌を用いる復帰突然変異試験、ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験で陽性反応が認められたが、その他の試験については陰性の結果であった。

Rec-assay については、1000 μ g/disk 以上の濃度で弱い陽性となっているが当該施設の現行の判定基準からすれば陰性の結果であった。また、細菌を用いた復帰突然変異試験では、WP2hcr 株及び TA100 株で対照群の2倍以上の変異コロニーの出現が観察されているが、ほとんどが 5000 μ g/plate (現行ガイドラインでの限界用量) 以上での反応である。さらに、ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験において、S9 mix 非存在下では 30 μ g/ml、存在下では、細胞毒性が弱まり 10mM(3000 μ g/ml) 以上でのみ染色体異常誘発性が認められる。また、十分高用量まで検討した不定期 DNA 合成試験、小核試験及び優性致死試験において陰性であった点を考慮すれば、生体内で特段問題となる遺伝毒性は無いものと考えられる。

なお、トリクロルホンの遺伝毒性試験に関しては WHO(IPCS)等でも評価されており、陽性となった *in vitro* 試験はあるものの、これらの陽性反応は信頼できる *in vivo* 試験系では再現されなかったとしている。

(6) その他

上記を含め、別紙1に示した試験成績が提出されている。

6. ADIの設定

以上の結果を踏まえ、次のように評価する。

無毒性量	0.2mg/kg/day
動物種	サル
投与量/投与経路	0.2mg/kg/混餌
試験期間	10年間
試験の種類	反復投与試験
安全係数	100
ADI	0.002mg/kg/day

毒性資料 No.	試験の種類・期間	供試生物	1群当たりの動物数	投与方法	投与量 mg/kg	LD ₅₀ 値又は無毒性量 mg/kg	試験実施機関 (報告年)
1	急性毒性 (7日間観察)	マウス	♂: 8	経口	177.8, 266.7, 400, 600, 900, 1350	610	東京歯科大学 衛生学教室 (1960)
				経皮	593, 889, 1333, 2000, 3000, 4500	1710	
				静脈内	29.7, 44.5, 66.7, 100, 150	84.6	
		ラット	♂: 8	経口	195.7, 296.3, 444.5, 666.7, 1000, 1500	890	
				経皮	1185, 1778, 2667, 4000, 6000, 9000,	3600	
				静脈内	39.5, 59.3, 88.9, 133.3, 200, 300	103	
2	急性毒性 (経口: 14日間観察、経皮: 10日間観察)	ラット	♂♀: 各10	経口	♂: 400, 520, 680, 880, 1000, 1200, 1400 ♀: 310, 400, 520, 600, 880, 1200	♂: 890 ♀: 640	日本特殊農薬製造株式会社 農薬研究所 (1978)
				経皮	♂: 5000 ♀: 5000	♂: >5000 ♀: >5000	
3	急性毒性 (14日間観察)	ラット	♂♀: 各10	経口	♂: 0, 400, 480, 576, 691, 829 ♀: 0, 333, 400, 480, 576, 691, 829	♂: 630 ♀: 540	株式会社 ボゾリサーチセンター (1983)
				腹腔内	♂: 0, 346, 415, 498, 597, 717 ♀: 0, 240, 346, 415, 498, 717	♂: 485 ♀: 410	
				皮下	♂: 0, 200, 288, 346, 415, 597 ♀: 0, 139, 200, 288, 415, 597	♂: 380 ♀: 290	
				経皮	♂: 0, 2500, 5000 ♀: 0, 2500, 5000	♂: >5000 ♀: >5000	

註) 日本特殊農薬製造株式会社 農薬研究所の現在名は日本バイエルアグロケム株式会社 結城研究所である。

毒性資料 No.	試験の種類・期間	供試生物	1群当たりの動物数	投与方法	投与量 mg/kg	LD ₅₀ 値又は無毒性量 mg/kg	試験実施機関 (報告年)
4	急性毒性 (14日間観察)	マウス	♂♀: 各10	経口	♂: 0,500,575,661,760,875,1006 ♀: 0,500,575,661,760,875,1006	♂: 730 ♀: 680	株式会社 ボゾリサーチセンター (1983)
				腹腔内	♂: 0,249,286,329,378,435,500,575 ♀: 0,249,286,329,378,435,500	♂: 344 ♀: 354	
				皮下	♂: 0,259,298,343,394,453,521 ♀: 0,259,298,343,394,453,521	♂: 360 ♀: 360	
				経皮	♂: 0,2500,5000 ♀: 0,2500,5000	♂: >5000 ♀: >5000	
5	急性毒性	ラット	♂♀: 各10	吸入流動式	1時間暴露: 75,299,419mg/m ³ 4時間暴露:1.7,8.0,28.0,73.7,296.0,533.0mg/m ³	1時間暴露: >419mg/m ³ 4時間暴露: 533.0mg/m ³	バイエル社 毒性研究所 (1975)
6	急性および慢性神経毒性	ニワトリ	♀:1~6 (急性)	経口	25,50,75,100,250,500	神経毒性なし	バイエル社 毒性研究所 (1966)
				腹腔内	75,100,150,250		
			♀:1~12 (硫酸アトピソ+PAM)	経口	100		
				腹腔内	100,200,375,500		
♀:8 (30日間投与+4週間観察)	飼料添加	0,100,250,500,1000,2000,5000 ppm					

毒性資料 No.	試験の種類・期間	供試生物	1群当たりの動物数	投与方法	投与量 mg/kg	LD ₅₀ 値又は無毒性量 mg/kg	試験実施機関 (報告年)
7	亜急性毒性 (13週間)	ラット マウス	♂♀: 各10	飼料添加	0.62, 185, 555, 1666, 5000ppm	5000ppm 群雌雄の体重増加抑制 用量相関的な血漿、赤血球 ChE の阻害 1666、5000ppm 群雌雄の運動性、握力の低下 1666、5000ppm 群雌雄の肝、腎、脾の実重量、体重比重量の増加	National Institute of Environmental Health Science Battelle Laboratory (1989)
8	亜急性毒性 (16週間)	ラット	♂♀: 各13	飼料添加	0, 20, 100, 300 ppm	♂♀: 20ppm ♂♀: 100ppm 以上の群で ChE 活性の阻害	シカゴ大学 (1956)
9	亜急性毒性 (8週間)	マウス	♂♀: 各10	飼料添加	0, 100, 300, 900, 2700ppm	♂♀: 100ppm ♂♀: 300ppm 以上の群で ChE 活性の阻害	モーベイ社 (1985)
10	慢性毒性 (24ヵ月間)	ラット	♂♀: 各50 (対照100)	飼料添加	♂♀: 0, 50, 250, 500, 1000ppm	♂♀: 500ppm (2.5mg/kg/日)*	バイエル社 毒性研究所 (1966)
11	慢性毒性 (4年間)	イヌ	♂♀: 各4	飼料添加	♂♀: 0, 50, 200, 800, 3200ppm	♂♀: 50ppm (1.25mg/kg/日)*	バイエル社 毒性研究所 (1970)
12	発癌性 (24ヵ月間)	マウス	♂♀: 各50	飼料添加	♂♀: 0, 300, 900, 2700ppm	催腫瘍性なし	モーベイ社 (1988)
22	発癌性 (10年間)	サル	♂♀: 各5	経口	♂♀: 0, 0.2, 1.0, 5.0mg/kg	0.2mg/kg	アルバニー医科大学 White Sands Research Center (1988)

ChE: コリンエステラーゼ、*: WHO 方式により算出
 註) モーベイ社の現在名はバイエル コーポレーションである。

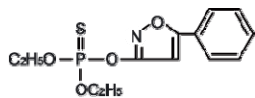
毒性資料 No.	試験の種類・期間	供試生物	1群当たりの動物数	投与方法	投与量 mg/kg	LD ₅₀ 値又は無毒性量 mg/kg	試験実施機関 (報告年)
13	繁殖毒性 (3世代)	ラット	♂:10 ♀:20	飼料添加 (2産児で継代)	0, 100, 300, 1000, 3000ppm	300ppm	バイエル社 毒性研究所 ハンチントンリサーチ センター (1969)
14	催奇形性	ラット	♀:20	経口妊娠 6~15日 まで 10回	0, 10, 30, 100 mg/kg/日	催奇形性作用なし	バイエル社 毒性研究所 (1971)
15	催奇形性	ウサギ	♀:15	経口妊娠 6~18日 まで 13回	0, 5, 15, 45 mg/kg/日	催奇形性作用なし	バイエル社 毒性研究所 (1979)
16	変異原性	細菌	1プレート /群	シヤレ試験	Rec Assay: 20, 100, 200, 500, 1000, 2000 (μg/ディスク)	2000 μg で M-45 株を生育 阻止 弱陽性	財団法人 残留農薬 研究所 (1979)
			2プレート /群		復帰変異試験: 50, 100, 500, 1000, 5000, 10000, 20000 (μg/プレート)	5000 μg 以上 で WP2hcr, TA100 株に 弱陽性	
17	染色体異常	ヒトリンパ球細胞	2プレート /濃度	直接法 代謝活性化法	0, 3, 10, 30 μg/mL ----- 0, 300, 1000, 3000 μg/mL	直接法、代謝活性化法とも 最高濃度で 染色体異常 誘発性あり	バイエル社 毒性研究所 (1986)
18	優性致死	マウス	♂: 50 ♀: 600	経口	250mg/kg	変異誘起性 作用なし	バイエル社 毒性研究所 (1979)
19	小核試験	マウス	♂:6	経口	0, 150, 300, 600	変異原性なし	財団法人食 品薬品安全 センター (1981)

毒性資料 No.	試験の種類・期間	供試生物	1群当たりの動物数	投与方法	投与量 mg/kg	LD ₅₀ 値又は無毒性量 mg/kg	試験実施機関 (報告年)
20	生体機能に及ぼす影響	<u>中枢神経系</u> マウス ウサギ <u>呼吸・循環系</u> ウサギ <u>自律神経系</u> ウサギ ラット <u>体性神経系</u> ラット <u>消化管</u> ウサギ ラット <u>腎機能</u> ラット <u>血液</u> ウサギ ラット <u>ChE 活性</u> ウサギ ラット	♂♀:3 ♂:3 ♂:3~4 ♂:3 ♂:3 ♂:3~4 ♂:3 ♂:5 ♂:5 ♂:5 ♂:3 ♂:5	経口 経口 経口 経口 経口 経口 経口 経口 経口 経口 経口 in vitro 経口 経口 経口	0,30,100,300,500 0,30,100,300 0,10,30,100,300 0,30,100,300 0,30,100,300 0,10,30,100,300 0,10,30,100,300 0,10,30,100 0,30,100,300 — 0,10,30,100 0,3,10,30,100 0,3,10,30,100	致死量の1/10量でChE活性阻害がみられ、それに起因した生体機能への影響は致死量の1/3量でみられた PAMは救命効果あり	日本バイエルアグロケム株式会社 日野研究所 (1991)
21	救命試験	マウス	♂:10	DEP600mg/kg 経口投与後 I. PAM25mg/kg3回腹腔内投与 II. 硫酸アトロピン 50mg/kg1回腹腔内投与 III. PAM25mg/kg3回腹腔内+硫酸アトロピン 50mg/kg1回腹腔内投与 I、II、III後に DEP を経口投与して LD ₅₀ 値を求めた	I、II、III共に救命効果あり 硫酸アトロピンが著効 <LD ₅₀ 値> I: 820 II: 2200 III: 2500	日本特殊農薬製造株式会社 農薬研究所 (1983)	

註) 日本バイエルアグロケム株式会社 日野研究所の現在名は
 日本バイエルアグロケム株式会社 結城中央研究所である。

4. 3 イソキサチオン

4. 3. 1 構造式、物理化学的性質等の情報



分子量：313.3
融点：<25°C* 沸点：160°C*
蒸気圧：1.60×10⁻⁴Pa (25°C)

4. 3. 2 試験結果

環境省が平成17年度に実施した「自治体における街路樹、公園緑地等での防除実態調査」の結果、街路樹や公園等の市街地における使用実績が多い農薬として、本年度においては、イソキサチオンのラットにおける28日間全身ばく露吸入毒性試験を実施し、その生体影響を調査した。

本試験は、OECDテストガイドライン412に準拠し、被験物質投与群3群と対照群1群の計4群で、各群雌雄とも10匹とし、合計80匹を用いた。被験物質の投与は、イソキサチオンのミストを1日6時間、1週5日間で28日間（4週間）、動物に全身ばく露条件下で吸入ばく露することにより行った。投与濃度は、雌雄とも0（対照群）、1、3、10 mg/m³とした。観察、検査として、一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定、血液学的検査、血液生化学的検査、アセチルコリンエステラーゼ活性の測定、リンパ球サブセットの測定、剖検、臓器重量測定、病理組織学的検査及び血液中のイソキサチオン濃度（主要代謝物を含む）の測定を行った。

投与群（1 mg/m³群、3 mg/m³群、10 mg/m³群）の吸入チャンバー内イソキサチオン濃度の実測値は、1.0、3.0、10.1 mg/m³、ミスト粒子の空気動力的質量中位径（MMAD）と幾何標準偏差σ_gは、1.9～2.1 μm、1.9～2.2であり、OECDテストガイドライン412の基準値（MMAD：1～3 μm、σ_g：1.5～3.0）内であった。

イソキサチオンのばく露の結果、動物の死亡はみられず、一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定、血液学的検査、血液生化学的検査、リンパ球サブセットの測定、剖検観察、臓器重量の測定及び病理組織学的検査では、イソキサチオンの毒性影響と思われる変化はみられなかった。

赤血球、血漿中及び脳のアセチルコリンエステラーゼ活性の測定では、統計学的に有意な活性の低下が、雄では赤血球と血漿で10 mg/m³群に、雌では血漿で3 mg/m³以上の群、赤血球で10 mg/m³群にみられた。これらのうち、雌雄の10 mg/m³群の赤血球アセチルコリンエステラーゼ活性では、統計学的に有意で、かつ20%以上の阻害（雄：59%、雌：46%の活性低下）がみられた。この変化をWHOのガイドラインで示された毒性影響と考え、本試験におけるイソキサチオンのラットに対する4週間吸入ばく露による無毒性量（NOAEC）は、赤血

* 独立行政法人製品評価技術基盤機構 化学物質総合情報提供システム

球のアセチルコリンエステラーゼ活性への影響をエンドポイントとして 3 mg/m^3 であると判断した。

なお、血漿中において、イソキサチオンは雌雄とも 10 mg/m^3 群の全動物から検出され、他の投与群からは検出されなかった。また、主要代謝物であるヒドロキシイソキサゾールは雌雄ともいずれの投与群からも検出されなかった。

4. 3. 3 毒性部会における検討

本毒性部会において計画され、結果が検討された中央労働災害防止協会日本バイオアッセイ研究センターによる SD ラット（一群雌雄各 10 匹）を用いた 28 日間反復吸入毒性試験（試験条件：1 日 6 時間、1 週 5 日間の全身ばく露。ばく露濃度：0、1、3 及び 10 mg/m^3 。観察・検査項目：生死及び一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、赤血球・血漿及び脳のアセチルコリンエステラーゼ活性、血液・胸腺及び脾臓のリンパ球サブセット、病理学的検査、血液中の被験物質濃度。2010 年。）において、 10 mg/m^3 群の雌雄において赤血球コリンエステラーゼ活性に統計学的に有意で、かつ 20%以上の阻害が認められたことから、無毒性量を雌雄ともに 3 mg/m^3 とした。

なお、文献調査において妊娠動物や児動物への毒性影響は認められなかった（別紙 3 参照）。

VI. Toxicity

A summary of toxicological studies conducted with isoxathion is outlined below.

1. Acute Toxicity

Animal	Route	LD ₅₀ (mg/kg)
Rat (♂) ^{a)}	Oral	112
Rat (♂) ^{a)}	Dermal	>450
Mouse (♂) ^{a)}	Oral	98.4
Mouse (♂) ^{b)}	Oral	79.1
Mouse (♀) ^{b)}	Oral	92.2
Mouse (♂) ^{b)}	Intraperitoneal	105.4
Mouse (♀) ^{b)}	Intraperitoneal	137.4
Mouse (♂) ^{b)}	Subcutaneous	719.5
Mouse (♀) ^{b)}	Subcutaneous	737.9
Chicken (♂) ^{a)}	Oral	21.6

[a) Central Research Laboratories, Sankyo, 1966-1968,

b) Laboratory Animal Science and Toxicology Lab., Sankyo, 1975].

2. Skin Irritation

Isoxathion caused no skin irritation responses in rabbits (Laboratory Animal Science and Toxicology Lab., Sankyo, 1974).

3. Ninety-Day Feeding Studies

Rat

Test groups, each consisting of 10 male and 10 female rats (Wistar), were fed at dietary levels of 0, 3.2, 6.3, 12.5, 25, 50 and 100 ppm of isoxathion for 90 days. No significant changes in behavioral reactions, growth rates, food consumption, blood counts and pathological findings in organs could be observed. Plasma cholinesterase depression, however, was noted at levels of 50 ppm and above (Tohoku University, 1970).

Test groups, each consisting of 10 male and 10 female rats (Wistar-Imamichi), were fed at dietary levels of 0, 12.5, 25, 50, 100 and 200 ppm of isoxathion for 90 days. Dosed groups were similar to the control group with regard to survival rates, food consumption, body weights, haematology, and gross and microscopic pathology. A dose-related cholinesterase inhibition, however, was found in plasma at higher levels, which made the no-effect levels of isoxathion 25 ppm to the male and 12.5 ppm to the female (Tokyo Dental College, 1969).

Mouse

Test groups, each consisting of 10 male and 10 female mice (DDY), were fed at dietary levels of 0, 3.2, 6.3, 12.5, 25, 50 and 100 ppm of isoxathion for 90 days.

No significant changes in behavioral reactions, growth rates, food consumption, blood counts and histopathological findings in organs could be observed. A plasma cholinesterase depression, however, was noted at levels of 6.3 ppm and above (Tohoku University, 1970).

Test groups, each consisting of 15 male and 15 female mice (ICR-JCL), were fed at dietary levels of 0, 6.25, 12.5, 25, 50 and 100 ppm of isoxathion for 90 days.

Dosed groups were similar to the control group with regard to survival rates, food consumption, body weights, haematology, and gross and microscopic pathology. Plasma cholinesterase inhibition occurred at levels of 12.5 ppm and above. Erythrocyte cholinesterase inhibition occurred at levels of 25 ppm and above. Brain cholinesterase was slightly depressed at the level of 100 ppm (Tokyo Dental College, 1969).

4. Two-Year Feeding Studies

Dog

To test groups, each consisting of 3 male and 3 female beagle dogs, was administered isoxathion incorporated into a stock diet at dose levels of 0, 0.2, 0.6 and 1.2 mg/kg/day for 104 weeks.

During and after the consecutive administration period of 104 weeks, no changes were observed in behavioral reactions, growth rates, food consumption, haematological findings, blood-chemical findings, organ weights and macroscopic findings of various organs. Cholinesterase activity in red blood cells and plasma, however, was markedly reduced immediately after the first daily administration of isoxathion at dose levels of 0.6 and 1.2 mg/kg/day, and this reduction lasted until the end of the experiment. Vacuolation of liver cells was observed in one each of both sex in the group that received isoxathion at 1.2 mg/kg/day (Shizuoka Pharmaceutical College, 1974).

Rat

Isoxathion was incorporated into a stock diet and fed to test groups, each consisting of 30 male and 30 female rats (Wistar), at dose levels of 0, 0.6, 1.2, 2.4 and 35 mg/kg/day for 104 weeks.

Isoxathion caused no significant changes in the behavioral reactions, mortality, food consumption, haematological findings, organ weights, and gross and histopathological findings, except the followings.

After the consecutive administration period, cholinesterase activity in red blood cells at levels of 2.4 and 35 mg/kg/day and that in brain at the level of 35 mg/kg/day were considerably reduced in the male rats. In the female rats, cholinesterase activity in both red blood cells and brain was considerably reduced at 2.4 mg/kg/day and above.

Three weeks after the final daily administration, cholinesterase activity in both male and female rats was recovered to normal at 2.4 mg/kg/day. Cholinesterase activity in both red blood cells and brain of the male and in the brain of the female, however, was found to be still slightly reduced at the level of 35 mg/kg/day.

Body weight gains in the dosed groups were not significantly different from that of the control, except in the group dosed at 35 mg/kg/day. The body weight gains in both male and female rats at the 35 mg/kg/day dose level had a tendency to be depressed at the terminal stage of the experiment.

There were no abnormal blood-chemical findings, except for an increase of the serum alkaline phosphatase activity found in the female 35 mg/kg/day-dose group.

Tumour incidence was comparably between groups (Shizuoka Pharmaceutical College, 1974).

5. Three-generation Reproduction Study Including Teratology Phase in Rats

In a three generation reproduction study, three groups, each consisting of 25 male and 40 female rats received diets containing 0, 2.5 and 12.5 ppm of isoxathion.

No treatment-related effects on behavioral reactions, survival rates, body weight gains and food consumption were observed in parental animals. Fertility, gestation, viability and lactation indices were comparable to control values. No foetal malformations could be attributed to isoxathion.

Offsprings from isoxathion-treated rats showed a normal postnatal growth, food consumption and general status. No macroscopical, histopathological, haematological and blood-chemical abnormalities were found in the offsprings (Shizuoka Pharmaceutical College, 1974).

6. Mutagenicity

Isoxathion have been examined for its mutagenic activity in 2 strains of *B. subtilis*, a strain of *E. coli* and 5 strains of *S. typhimurium* by using a direct exposure method in vitro and in 1 strain of *S. typhimurium* by using a host-mediated assay method (ICR strain mice).

Isoxathion did not affect the mutation rates by either of the methods (The Institute of Environmental Toxicology, 1977).

7. Delayed Neurotoxicity to Hens

Isoxathion and tri-*o*-cresyl phosphate (TOCP) dissolved in a vegetable oil were administered daily into hen's crops by using a pipette for 4 days at dose levels of 5.25 and 125 mg/kg/day, respectively. Each test group consisted of five 69-week old white Leghorn hens. The daily dosage of each chemical was 1/4 of its LD₅₀ value. The vegetable oil was given to a control group. Clinical signs were recorded for 21 days after the final administration. The birds were sacrificed and pathologically examined, especially with the sciatic nerve, on 25th day after the first daily administration.

During the observation period the appetite and the laying rate were comparable between the isoxathion-treated group and the control group. From 10th day after the final administration every hen in the TOCP-treated group had an attack of leg paralysis and could not walk.

Histopathological studies showed that the demyelination and the degeneration of axon in sciatic nerve occurred definitely in the hens treated with TOCP. These abnormalities were not in the hens treated with isoxathion (Central Research Laboratories, Sankyo, 1977).

Acknowledgements

The authors sincerely acknowledge the excellent studies of many people who cooperated with us in developing isoxathion not only in Japan but also in overseas countries although their names are not mentioned here one by one.