

農薬評価書

スピロジクロフェン

2012年4月  
食品安全委員会

## 目 次

|                             | 頁      |
|-----------------------------|--------|
| ○ 審議の経緯.....                | 4      |
| ○ 食品安全委員会委員名簿.....          | 4      |
| ○ 食品安全委員会農薬専門調査会専門委員名簿..... | 4      |
| ○ 要約.....                   | 7      |
| <br>I. 評価対象農薬の概要 .....      | <br>8  |
| 1. 用途.....                  | 8      |
| 2. 有効成分の一般名.....            | 8      |
| 3. 化学名.....                 | 8      |
| 4. 分子式.....                 | 8      |
| 5. 分子量.....                 | 8      |
| 6. 構造式.....                 | 8      |
| 7. 開発の経緯.....               | 8      |
| <br>II. 安全性に係る試験の概要.....    | <br>10 |
| 1. 動物体内運命試験.....            | 10     |
| (1) 吸収 .....                | 10     |
| (2) 分布 .....                | 11     |
| (3) 代謝 .....                | 12     |
| (4) 排泄 .....                | 16     |
| (5) 畜産動物（ヒツジ） .....         | 17     |
| 2. 植物体内運命試験.....            | 18     |
| (1) オレンジ .....              | 18     |
| (2) レモン .....               | 18     |
| (3) りんご .....               | 19     |
| (4) ぶどう .....               | 20     |
| (5) グレープフルーツ .....          | 21     |
| 3. 土壌中運命試験.....             | 21     |
| (1) 好氣的土壌中運命試験① .....       | 21     |
| (2) 好氣的土壌中運命試験② .....       | 22     |
| (3) 土壌吸脱着試験 .....           | 22     |
| (4) 安定性試験 .....             | 22     |
| 4. 水中運命試験.....              | 23     |
| (1) 加水分解試験 .....            | 23     |
| (2) 水中光分解試験①（緩衝液） .....     | 23     |
| (3) 水中光分解試験②（緩衝液） .....     | 24     |

|                                                                    |    |
|--------------------------------------------------------------------|----|
| (4) 水中光分解試験③ (自然水) .....                                           | 24 |
| (5) 水中光分解試験④ .....                                                 | 25 |
| 5. 土壌残留試験.....                                                     | 25 |
| 6. 作物残留試験.....                                                     | 25 |
| 7. 一般薬理試験.....                                                     | 26 |
| 8. 急性毒性試験.....                                                     | 27 |
| (1) 急性毒性試験 .....                                                   | 27 |
| (2) 急性神経毒性試験 (ラット) .....                                           | 28 |
| 9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験.....                                       | 28 |
| 10. 亜急性毒性試験.....                                                   | 28 |
| (1) 90 日間亜急性毒性試験 (ラット) .....                                       | 28 |
| (2) 90 日間亜急性毒性試験 (マウス) .....                                       | 29 |
| (3) 90 日間亜急性毒性試験 (イヌ) .....                                        | 29 |
| (4) 90 日間亜急性神経毒性試験 (ラット) .....                                     | 30 |
| (5) 28 日間亜急性経皮毒性試験 (ラット) <参考資料> .....                              | 31 |
| 11. 慢性毒性試験及び発がん性試験.....                                            | 31 |
| (1) 1 年間慢性毒性試験 (イヌ) .....                                          | 31 |
| (2) 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット) .....                                  | 31 |
| (3) 18 か月間発がん性試験 (マウス) .....                                       | 32 |
| 12. 生殖発生毒性試験.....                                                  | 33 |
| (1) 2 世代繁殖試験 (ラット) .....                                           | 33 |
| (2) 発生毒性試験 (ラット) .....                                             | 35 |
| (3) 発生毒性試験 (ウサギ) .....                                             | 35 |
| (4) 発達神経毒性試験① (ラット) .....                                          | 36 |
| (5) 発達神経毒性試験② (ラット) .....                                          | 36 |
| 13. 遺伝毒性試験.....                                                    | 37 |
| 14. その他の試験.....                                                    | 38 |
| (1) 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット) におけるスピロジクロフェン及び代謝物 M1 の血漿中濃度 .....     | 38 |
| (2) ラットにおけるスピロジクロフェン及び代謝物 M1 の血漿中濃度並びに副腎及び肝臓中の Chol 及び TG 測定 ..... | 38 |
| (3) 1 年間慢性毒性試験 (イヌ) におけるスピロジクロフェン及び代謝物 M1 の血漿及び尿中濃度 .....          | 39 |
| (4) イヌにおける 8 週間混餌投与による Chol、ホルモン等への影響 .....                        | 39 |
| (5) ラットにおける 19 週間混餌投与によるホルモン濃度への影響.....                            | 39 |
| (6) スピロジクロフェン及び代謝物 (M1 及び M4) の ER 結合試験、ER 及び AR 転写活性化試験 .....     | 40 |
| (7) スピロジクロフェン及び代謝物 (M1) のコレステロールエステラーゼ阻害作用 ( <i>in</i>             |    |

|                                                                                                   |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <i>vitro</i> 試験) .....                                                                            | 40 |
| (8) ラット動的精巣細胞組織培養系におけるスピロジクロフェン及び代謝物 (M1、M3 及び M4) のステロイド産生に対する影響 .....                           | 41 |
| (9) 精巣ミクロソーム画分におけるスピロジクロフェン及び代謝物 (M1、M3 及び M4) のデヒドロゲナーゼに対する影響 ( <i>in vitro</i> 試験) .....        | 41 |
| (10) 精巣ミクロソーム画分におけるスピロジクロフェン及び代謝物 M1 のモノオキシゲナーゼに対する影響 ( <i>in vitro</i> 試験) .....                 | 42 |
| (11) ラット動的精巣細胞組織培養系におけるスピロジクロフェン及び代謝物 (M1、M3 及び M4) のリンゴ酸デヒドロゲナーゼへの影響 ( <i>in vitro</i> 試験) ..... | 42 |
| (12) 代謝物 M1 のラット精巣ミトコンドリア内の NADH 及び NADPH の量に対する影響 .....                                          | 43 |
| (13) スピロジクロフェン投与マウスにおける肝薬物代謝酵素及びステロイド合成系遺伝子の発現への影響 .....                                          | 43 |
| III. 食品健康影響評価 .....                                                                               | 45 |
| ・ 別紙 1: 代謝物/分解物略称 .....                                                                           | 52 |
| ・ 別紙 2: 検査値等略称 .....                                                                              | 53 |
| ・ 別紙 3: 作物残留試験成績 (国内) .....                                                                       | 55 |
| ・ 別紙 4: 作物残留試験 (海外) .....                                                                         | 58 |
| ・ 参照 .....                                                                                        | 62 |

### <審議の経緯>

2003 年 8 月 28 日 初回農薬登録  
2005 年 11 月 29 日 残留農薬基準告示 (参照 1)  
2009 年 10 月 9 日 インポートトレランス設定の要請 (きゅうり、トマト等)  
2010 年 1 月 25 日 厚生労働大臣から残留基準設定に係る食品健康影響評価  
について要請 (厚生労働省発食安 0125 第 4 号)、関係書類  
の接受 (参照 2~7)  
2010 年 1 月 28 日 第 318 回食品安全委員会 (要請事項説明)  
2010 年 11 月 29 日 第 4 回農薬専門調査会評価第二部会  
2012 年 2 月 24 日 追加資料受理 (参照 8~10)  
2012 年 2 月 27 日 第 13 回農薬専門調査会評価第二部会  
2012 年 3 月 2 日 第 81 回農薬専門調査会幹事会  
2012 年 3 月 8 日 第 422 回食品安全委員会 (報告)  
2012 年 3 月 8 日 から 4 月 6 日まで 国民からの御意見・情報の募集  
2012 年 4 月 18 日 農薬専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告  
2012 年 4 月 19 日 第 428 回食品安全委員会 (報告)  
(同日付け厚生労働大臣へ通知)

### <食品安全委員会委員名簿>

| (2011 年 1 月 6 日まで) | (2011 年 1 月 7 日から) |
|--------------------|--------------------|
| 小泉直子 (委員長)         | 小泉直子 (委員長)         |
| 見上 彪 (委員長代理*)      | 熊谷 進 (委員長代理*)      |
| 長尾 拓               | 長尾 拓               |
| 野村一正               | 野村一正               |
| 畑江敬子               | 畑江敬子               |
| 廣瀬雅雄               | 廣瀬雅雄               |
| 村田容常               | 村田容常               |

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

### <食品安全委員会農薬専門調査会専門委員名簿>

(2010 年 3 月 31 日まで)

|            |       |      |
|------------|-------|------|
| 鈴木勝士 (座長)  | 佐々木有  | 平塚 明 |
| 林 真 (座長代理) | 代田真理子 | 藤本成明 |
| 相磯成敏       | 高木篤也  | 細川正清 |
| 赤池昭紀       | 玉井郁巳  | 堀本政夫 |
| 石井康雄       | 田村廣人  | 松本清司 |

泉 啓介  
今井田克己  
上路雅子  
臼井健二  
太田敏博  
大谷 浩  
小澤正吾  
川合是彰  
小林裕子  
三枝順三\*\*\*

津田修治  
津田洋幸  
長尾哲二  
中澤憲一\*  
永田 清  
納屋聖人  
西川秋佳  
布柴達男  
根岸友恵  
根本信雄

本間正充  
柳井徳磨  
山崎浩史  
山手丈至  
與語靖洋  
義澤克彦\*\*  
吉田 緑  
若栗 忍

\* : 2009 年 1 月 19 日まで

\*\* : 2009 年 4 月 10 日から

\*\*\* : 2009 年 4 月 28 日から

(2012 年 3 月 31 日まで)

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

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

平塚 明  
福井義浩  
藤本成明  
細川正清  
堀本政夫  
本間正充  
増村健一\*\*  
松本清司  
柳井徳磨  
山崎浩史  
山手丈至  
與語靖洋  
義澤克彦  
吉田 緑  
若栗 忍

\* : 2011 年 3 月 1 日まで

\*\* : 2011 年 3 月 1 日から

\*\*\* : 2011 年 6 月 23 日から

(2012 年 4 月 1 日から)

納屋聖人 (座長)  
西川秋佳 (座長代理)  
相磯成敏

佐々木有  
代田眞理子  
玉井郁巳

細川正清  
堀本政夫  
本間正充

赤池昭紀  
浅野 哲  
泉 啓介  
上路雅子  
小野 敦  
川口博明  
桑形麻樹子  
腰岡政二  
三枝順三

田村廣人  
津田修治  
永田 清  
長野嘉介  
根岸友恵  
根本信雄  
八田稔久  
福井義浩  
藤本成明

増村健一  
松本清司  
森田 健  
山崎浩史  
山手丈至  
與語靖洋  
義澤克彦  
吉田 緑  
若栗 忍

## 要 約

テトロン酸誘導体殺ダニ剤である「スピロジクロフェン」(CAS No. 148477-71-8)について、インポートトレランス設定の要請に係る資料、農薬抄録並びに JMPR、米国及び EU が実施した評価を基に食品健康影響評価を実施した。

評価に用いた試験成績は、動物体内運命(ラット及びヒツジ)、植物体内運命(オレンジ、レモン、りんご、ぶどう及びグレープフルーツ)、作物残留、亜急性毒性(ラット、マウス及びイヌ)、慢性毒性(イヌ)、慢性毒性/発がん性併合(ラット)、発がん性(マウス)、2世代繁殖(ラット)、発生毒性(ラット及びウサギ)、遺伝毒性等の試験成績である。

各種毒性試験結果から、スピロジクロフェン投与による影響は、主に副腎(皮質空洞化)及び精巣(ライディッヒ細胞肥大等)に認められた。催奇形性、神経毒性、発達神経毒性及び遺伝毒性は認められなかった。発がん性試験において、ラットの雄でライディッヒ細胞腫が、雌で子宮腺癌が増加、マウスの雄で肝細胞腺腫及び癌が増加したが、遺伝毒性試験ではすべて陰性の結果が得られており、ラット及びマウスで認められた腫瘍発生機序は遺伝毒性によるものとは考え難く、評価に当たり閾値を設定することは可能であると考えられた。2世代繁殖試験において、F<sub>1</sub>世代の雄に生殖器官の萎縮及び精子数減少など繁殖への影響が認められた。

各試験で得られた無毒性量のうち最小値は、イヌを用いた 1 年間慢性毒性試験の 1.38 mg/kg 体重/日であったことから、これを根拠として、安全係数 100 で除した 0.013 mg/kg 体重/日を一日摂取許容量(ADI)と設定した。



## 1. 評価対象農薬の概要

### 1. 用途

殺ダニ剤

### 2. 有効成分の一般名

和名：スピロジクロフェン

英名：spirodiclofen (ISO 名)

### 3. 化学名

IUPAC

和名：3-(2,4-ジクロロフェニル)-2-オキソ-1-オキサスピロ[4.5]デカ-3-エン  
-4-イル=2,2-ジメチルブチラート

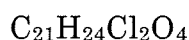
英名：3-(2,4-dichlorophenyl)-2-oxo-1-oxaspiro[4.5]dec-3-en  
-4-yl 2,2-dimethylbutyrate

CAS(No. 148477-71-8

和名：3-(2,4-ジクロロフェニル)-2-オキソ-1-オキサスピロ[4.5]デカ-3-エン  
-4-イル=2,2-ジメチルブタノアート

英名：3-(2,4-dichlorophenyl)-2-oxo-1-oxaspiro[4.5]dec-3-en  
-4-yl 2,2-dimethylbutanoate

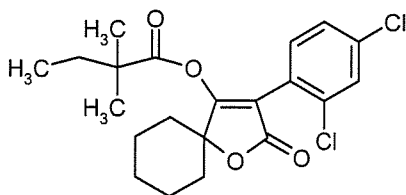
### 4. 分子式



### 5. 分子量

411.3

### 6. 構造式



### 7. 開発の経緯

スピロジクロフェンは、バイエルクロップサイエンス株式会社により開発された環状ケトエノールに属するテトロン酸誘導体でハダニに広範囲な活性を有する新規構造を有する殺ダニ剤である。脂質生合成を阻害することが明らかにされているが、詳細な作用機構は不明である。

国内においては 2003 年に初回農薬登録された。今回、インポートトレランス設定の要請（きゅうり、トマト、いちご等）及び農薬取締法に基づく適用拡大申請（茶）がなされている。また、ポジティブリスト制度導入に伴う暫定基準が設定されている。

## II. 安全性に係る試験の概要

各種運命試験〔II. 1～4〕は、スピロジクロフェンのジヒドロフラン環 3 位の炭素を  $^{14}\text{C}$  で標識したもの（以下「[dih- $^{14}\text{C}$ ] スピロジクロフェン」という。）、シクロヘキシル環の 1 位の炭素を  $^{14}\text{C}$  で標識したもの（以下「[cyc- $^{14}\text{C}$ ] スピロジクロフェン」という。）又は炭素を  $^{14}\text{C}$  で標識した標識位置不明のもの（以下「 $^{14}\text{C}$ -スピロジクロフェン」という。）を用いて実施された。

放射能濃度及び代謝物濃度は特に断りがない場合はスピロジクロフェンに換算した。代謝物/分解物略称及び検査値等略称は、別紙 1 及び 2 に示されている。

### 1. 動物体内運命試験

#### (1) 吸収

##### ① 血中濃度推移

Wistar ラット（一群雌雄各 4 匹又は雄 4 匹<sup>1</sup>）に[dih- $^{14}\text{C}$ ] スピロジクロフェンを 2 mg/kg 体重（以下〔1. (1)～(4)〕において「低用量」という。）若しくは 100 mg/kg 体重（以下〔1. (1)～(4)〕において「高用量」という。）で単回経口投与又は低用量で 14 日間反復経口投与後、15 日目に[dih- $^{14}\text{C}$ ] スピロジクロフェンを低用量で単回経口投与（以下〔1. (1)～(4)〕において「反復投与」という。）し、血中濃度推移について検討された。

また、Wistar ラット（一群雌雄各 4 匹）に約 15 週間の混餌（原体：50 及び 2,500 ppm、以下〔1. (1)～(4)〕において「混餌投与」という。）投与を行った後、[dih- $^{14}\text{C}$ ] スピロジクロフェンを低用量で単回経口投与し、血中濃度推移について検討された。

各投与群における薬物動態学的パラメータは表 1 に示されている。

血漿中放射能濃度は、単回、反復又は混餌投与群のいずれにおいても同様の推移を示した。混餌投与群の薬物動態学的パラメータは、単回投与群とほぼ同様であり、混餌投与が吸収、分布及び消失へ与える影響は小さいと考えられた。（参照：2、4、8）

<sup>1</sup> 低用量投与群：一群雌雄各 4 匹、高用量及び反復投与群：雄 4 匹

表 1 薬物動態学的パラメータ

| 群                                | 単回投与 |      | 反復投与 | 混餌投与   |      |            |      |      |
|----------------------------------|------|------|------|--------|------|------------|------|------|
|                                  |      |      |      | 50 ppm |      | 2,500 ppm* |      |      |
| 投与量<br>(mg/kg 体重)                | 2    |      | 100  | 2      | 2    |            |      |      |
| 性別                               | 雄    | 雌    | 雄    | 雄      | 雄    | 雌          | 雄    | 雌    |
| T <sub>max</sub> (hr)            | 3.00 | 3.00 | 8.00 | 4.00   | 2.09 | 3.24       | 1.63 | 1.73 |
| C <sub>max</sub> (μg/mL)         | 2.66 | 2.11 | 51.3 | 2.12   | 4.00 | 4.00       | 3.00 | 8.00 |
| T <sub>1/2</sub> (hr)            | 0.92 | 0.32 | 0.54 | 0.05   | 0.84 | 0.68       | 0.57 | 1.29 |
| AUC <sub>0-∞</sub><br>(hr・μg/mL) | 36.7 | 23.7 | 773  | 21.2   | 28.9 | 35.1       | 18.9 | 20.9 |

注：低用量単回投与群の雌雄及び混餌投与群は 1 コンパートメントモデル、高用量単回投与群の雄及び反復投与群は 2 コンパートメントモデルにあてはめた。

\*：1 匹除外したため、一群雌雄各 3 匹

## ② 吸収率

胆汁中排泄試験 [1. (4)③] で得られた投与後 24 時間の胆汁、尿及び投与 24 時間後の胃腸管を除く動物体中放射能の合計から、雄の吸収率は 62.4%と算出された。（参照：2、4、8）

## (2) 分布

### ① 分布-1

血中濃度推移試験 [1. (1)①] の低用量単回及び反復投与群の投与 48 時間後並びに高用量群の投与 168 時間後に、血液及び組織を採取し、体内分布試験が実施された。

低用量単回及び反復投与群では、検出された放射能は僅かで肝臓で 0.050 μg/g 未満、腎臓で 0.020 μg/g 未満、血漿で 0.015 μg/g 以下であった。

高用量群においては、投与 168 時間後の組織中残留放射能は、すべて検出限界未満であった。（参照：2、4、8）

### ② 分布-2

Wistar ラット（一群雌雄各 4 匹）に [dih-<sup>14</sup>C] スピロジクロフェンを低用量で単回経口投与し、投与後 3、6 及び 24 時間の血液及び組織を採取し、体内分布試験が実施された。

投与 3、6 及び 24 時間後の主要組織における残留放射能濃度は表 2 に示されている。

血漿中よりも高い放射能分布が認められた組織は肝臓及び腎臓であった。（参照：2、8）

表 2 主要組織における残留放射能濃度 (μg/g)

| 性別 | 試料採取 (投与後時間)               |                            |                               |
|----|----------------------------|----------------------------|-------------------------------|
|    | 3                          | 6                          | 24                            |
| 雄  | 肝臓(13.4)、血漿(4.47)          | 肝臓(8.42)、血漿(3.47)          | 肝臓(0.70)、腎臓(0.33)、血漿(0.24)    |
| 雌  | 肝臓(9.45)、腎臓(4.83)、血漿(3.77) | 肝臓(7.26)、腎臓(3.80)、血漿(2.82) | 腎臓(0.046)、肝臓(0.044)、血漿(0.024) |

## ③ 分布-3

Wistar ラット (各と殺時間で雌雄各 1 匹) に [dih-<sup>14</sup>C] スピロジクロフェンを 3 mg/kg 体重で単回経口投与し、投与 48 時間後までの全身オートラジオグラフィー及びその定量的解析による体内分布が検討された。

定量的全身オートラジオグラフィーによる主要組織の残留放射能濃度は表 3 に示されている。

全身オートラジオグラフィーでは、経口投与された [dih-<sup>14</sup>C] スピロジクロフェンは、投与 1 時間後まで完全には吸収されなかったが、吸収された放射能は速やかに全身に分布し、投与 4 時間後には、より高い放射能が腸の内容物や膀胱で観察されたことから、尿及び糞中への排泄が開始されたことが示唆された。投与 24 時間後には、総残留放射能は顕著に減少したが、肝臓、腎臓、膀胱、腸管及び糞中への分布が認められた。(参照：2、4、8)

表 3 定量的全身オートラジオグラフィーによる主要組織の残留放射能濃度 (μg/g)

| 性別 | 試料採取 (投与後時間)                                                                                             |                                                                                                                              |                      |
|----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|
|    | 4                                                                                                        | 8                                                                                                                            | 48                   |
| 雄  | 肝臓(5.54)、小腸(3.82)、膀胱(3.72)、褐色脂肪(2.70)、腎皮質(2.29)、血液(1.52)、副腎(1.02)、精巣上体尾部(0.199)、精巣(0.171)、精巣上体頭部(0.162)、 | 膀胱(6.46)、肝臓(5.46)、歯根(4.01)、小腸(3.00)、褐色脂肪(1.67)、腎皮質(1.56)、血液(1.28)、腎髄質(0.882)、副腎(0.825)、精巣上体尾部(0.226)、精巣上体頭部(0.204)、精巣(0.139) | すべての組織で n.q. 又は n.d. |
| 雌  | 膀胱(7.43)、腎髄質(1.84)、肝臓(1.74)、腎盂(0.917)、腎皮質(0.615)、血液(0.427)、副腎(0.373)、子宮(0.241)                           | 膀胱(6.48)、腎髄質(2.93)、肝臓(2.83)、腎盂(1.04)、腎皮質(0.886)、血液(0.657)、副腎(0.550)、子宮(0.264)                                                | すべての組織で n.d.         |

n.q. : 定量限界未満

n.d. : 検出限界未満

## (3) 代謝

## ① 代謝-1

尿及び糞中排泄試験[1. (4) ①及び②]で得られた尿及び糞並びに胆汁中排泄試験[1. (4) ③]で得られた尿、糞及び胆汁を試料として、代謝物同定・定量試験が実施された。

尿、糞及び胆汁中における代謝物は表 4 に示されている。

尿中に未変化のスピロジクロフェンは検出されず、尿中の主要排泄物は M1、M3e、M4e、M3a、M4a 等が認められた。雄では M1 の水酸化反応が雌よりも早いと推察された。糞中には僅かに親化合物が検出された他、主要代謝物として M1、M3e 及び M4e が認められた。尿中の微量代謝物である M3 の酸化体の M5 並びに脱水体の M6 及び M7 は糞中には認められなかった。また、糞中排泄に性差は認められなかった。混餌投与群の糞尿中に認められた代謝物は、単回投与群とほぼ同様であったことから、混餌による代謝への影響は認められなかった。胆汁中の主要代謝物として M1、M3、M4 に加えて M20 が認められた。

スピロジクロフェンのラットにおける主要代謝経路は、エノール体 M1 が生成した後、シクロヘキシル環の 3 位又は 4 位が水酸化し M3 及び M4 が生じ、さらに水酸化エノール体は M5、M6 及び M7 に変換すると考えられた。（参照：2、4、8）

表 4 尿、糞及び胆汁中における代謝物 (%TAR)

| 投与量<br>(mg/kg<br>体重) | 群              |  | 性別           | 試料* | スピロジク<br>ロフェン | 代謝物                                                            |                                                               |
|----------------------|----------------|--|--------------|-----|---------------|----------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| 1                    | 単回<br>投与       |  | 雄            | 尿   | n.d.          | M4e(13.6)、M3e(4.77)、M4a(3.35)                                  |                                                               |
|                      |                |  |              | 糞   | 0.67          | M1(15.1)、M4e(7.20)、M8(2.14)、M3e(0.75)、<br>M3a(0.35)、M2e(0.26)  |                                                               |
|                      |                |  |              | 胆汁  | n.d.          | M3e(4.05)、M20(3.40)、M4e(0.96)、M4a(0.49)                        |                                                               |
| 2                    |                |  | 雄            | 尿   | n.d.          | M3e(26.0～28.4)、M4e(13.3～14.8)、<br>M4a(6.05～6.65)、M1(2.14～3.33) |                                                               |
|                      |                |  |              | 糞   | 1.83～4.26     | M1(4.51～7.00)、M4e(2.73～4.90)、M3e(2.44<br>～3.17)、M8(2.45～2.94)  |                                                               |
|                      |                |  | 雌            | 尿   | n.d.          | M1(53.4)、M4e(8.63)、M3e(4.34)、M4a(2.61)、<br>M3a(1.25)           |                                                               |
|                      |                |  |              | 糞   | 0.66          | M4e(7.40)、M1(4.77)、M8(1.33)、M3e(1.05)                          |                                                               |
| 100                  |                |  | 雄            | 尿   | n.d.          | M3e(12.6)、M4e(7.68)、M1(5.59)、M4a(3.38)                         |                                                               |
|                      |                |  |              | 糞   | 16.0          | M1(16.3)、M8(7.55)、M3e(1.72)、M4e(1.59)                          |                                                               |
| 2                    | 反復<br>投与       |  | 雄            | 尿   | n.d.          | M3e(30.3)、M4e(15.3)、M4a(5.75)、<br>M3a(4.94)、M1(4.93)           |                                                               |
|                      |                |  |              | 糞   | 2.32          | M4e(5.85)、M1(3.75)、M3e(3.02)、M8(1.64)                          |                                                               |
| 2                    | **<br>混餌<br>投与 |  | 雄            | 尿   | n.d.          | M3e(34.4)、M4e(17.5)、M4a(6.83)、M1(4.88)、<br>M2e(0.66)           |                                                               |
|                      |                |  |              | 糞   | 3.48          | M4e(4.39)、U3(3.96)、M1(3.66)、M3e(1.98)、<br>M18(1.76)            |                                                               |
|                      |                |  | 雌            | 尿   | n.d.          | M1(52.4)、M4e(9.63)、M3e(4.54)、M4a(3.17)、<br>M3a(1.42)           |                                                               |
|                      |                |  |              | 糞   | 0.38          | M4e(7.71)、U3(1.78)、M17(1.61)、M1(1.33)、<br>M3a(0.92)            |                                                               |
|                      |                |  | 2,500<br>ppm | 雄   | 尿             | n.d.                                                           | M3e(23.0)、M4e(16.9)、M4a(6.77)、M1(5.41)、<br>M3a(5.02)          |
|                      |                |  |              |     | 糞             | 5.43                                                           | M4e(8.95)、M1(4.61)、M3e(3.85)、M3a(1.19)、<br>M4a(0.85)          |
|                      |                |  |              | 雌   | 尿             | n.d.                                                           | M1(39.7)、M4e(7.09)、M3e(3.51)、M4a(2.90)、<br>M3a(1.81)          |
|                      |                |  |              |     | 糞             | 13.5                                                           | M1(4.54)、M4e(4.43)、M8(0.74)、M3e(0.56)、<br>M3a(0.52)、M4a(0.32) |

n.d. : 検出限界未満

\* : 1mg/kg 体重投与群では投与 24 時間後、その他の群では投与 48 時間後に採取

\*\* : 約 15 週間の混餌 (原体 : 50 及び 2,500 ppm) 投与を行った後、[dih-<sup>14</sup>C] スピロジクロフェンを低用量で単回経口投与

## ② 代謝-2

体内分布試験[1. (2)②]で得られた投与 24 時間後の血漿、肝臓及び腎臓並びに投与後 24 時間の尿を試料として、代謝物同定・定量試験が実施された。

尿、血漿、肝臓及び腎臓中における代謝物は表 5 に示されている。いずれの試料中にも未変化のスピロジクロフェンは認められなかった。

尿、血漿、肝臓及び腎臓中に検出された主要代謝物は、エノール体 M1 及び水酸化エノール体 M4e、M3a、M3e 及び M4a であった。尿以外の試料中の主要代謝物は M1 であり、雌の血漿中には M1 のみが検出された。M1 は肝臓で最も多く、エノール体は水酸化されて M4e、M3a、M3e 及び M4a に変換後、尿へ排泄されると考えられた。雄は雌よりも代謝反応が早いことから水酸化エノール体への反応が早いと考えられ、肝臓、及び腎臓中の水酸化エノール体濃度は、雄が雌よりも高かった。（参照：2、8）

表 5 尿、血漿、肝臓及び腎臓中における代謝物（%TAR 又はµg/g）

| 投与量<br>(mg/kg<br>体重) | 投与<br>後時<br>間 | 性<br>別 | 試料 | 代謝物*                                                  |
|----------------------|---------------|--------|----|-------------------------------------------------------|
| 2                    | 3             | 雄      | 尿  | M4e(1.67)、M3e(0.08)、M3a(0.06)、M4a(0.03)、M1(n.d.)      |
|                      |               |        | 血漿 | M1(3.34)、M4a(0.456)、M3e(0.352)、M4e(0.160)、M3a(0.069)  |
|                      |               |        | 肝臓 | M1(10.5)、M3e(1.39)、M3a(0.428)、M4a(0.299)、M4e(0.262)   |
|                      |               |        | 腎臓 | M1(2.12)、M3e(0.694)、M4e(0.294)、M3a(0.101)、M4a(0.099)  |
|                      |               | 雌      | 尿  | M4e(2.47)、M1(1.49)、M3e(0.46)、M3a(0.41)、M4a(0.19)      |
|                      |               |        | 血漿 | M1(3.765)                                             |
|                      |               |        | 肝臓 | M1(9.18)、M3e(0.108)、M4a(0.071)、M4e(0.050)、M3a(0.025)  |
|                      |               |        | 腎臓 | M1(4.37)、M4e(0.218)、M3e(0.122)、M4a(0.075)、M3a(0.038)  |
|                      | 6             | 雄      | 尿  | M4e(9.47)、M3e(6.46)、M4a(1.77)、M3a(1.20)、M1(0.97)      |
|                      |               |        | 血漿 | M1(2.60)、M4a(0.378)、M3e(0.196)、M3a(0.175)、M4e(0.118)  |
|                      |               |        | 肝臓 | M1(6.71)、M3e(0.948)、M3a(0.266)、M4a(0.203)、M4e(0.097)  |
|                      |               |        | 腎臓 | M1(1.66)、M3e(0.532)、M4e(0.130)、M3a(0.097)、M4a(0.073)  |
|                      |               | 雌      | 尿  | M1(22.3)、M4e(7.00)、M3e(2.67)、M3a(1.27)、M4a(1.13)      |
|                      |               |        | 血漿 | M1(2.818)                                             |
|                      |               |        | 肝臓 | M1(7.09)、M3e(0.091)、M4a(0.062)                        |
|                      |               |        | 腎臓 | M1(3.68)、M3e(0.055)、M4e(0.048)、M4a(0.018)             |
|                      | 24            | 雄      | 尿  | M3e(24.2)、M4e(18.2)、M4a(7.08)、M3a(3.23)、M1(1.55)      |
|                      |               |        | 血漿 | M1(0.123)                                             |
|                      |               |        | 肝臓 | M1(0.398)、M3e(0.196)、M4e(0.066)、M4a(0.023)            |
|                      |               |        | 腎臓 | M3e(0.137)、M1(0.129)、M3a(0.031)、M4e(0.010)、M4a(0.010) |



| 投与量<br>(mg/kg<br>体重) | 投与<br>後時<br>間 | 性<br>別 | 試料 | 代謝物*                                             |
|----------------------|---------------|--------|----|--------------------------------------------------|
|                      |               | 雌      | 尿  | M1(56.2)、M4e(9.47)、M3e(4.13)、M4a(2.56)、M3a(1.68) |
|                      |               |        | 血漿 | M1(0.024)                                        |
|                      |               |        | 肝臓 | M1(0.042)                                        |
|                      |               |        | 腎臓 | M1(0.044)                                        |

\*：尿中の代謝物量は%TAR、それ以外はスピロジクロフェンに換算した $\mu\text{g/g}$ で示した。

#### (4) 排泄

##### ① 尿及び糞中排泄（単回及び反復投与）

血中濃度推移試験[1. (1)①]の単回及び反復投与で投与後 168 時間の尿及び糞が採取され、排泄試験が実施された。

投与後 48 時間の尿及び糞中排泄率は表 6 に示されている。

投与後 48 時間で 90%TAR 以上が尿及び糞中へ排泄された。低用量投与群の主要排泄経路は尿中であり、高用量投与群では糞中排泄率が尿中よりも高く、高用量では消化管からの吸収が不完全であると考えられた。

低用量単回投与群の雄から投与後 48 時間の呼気が採取されたが、呼気中への排泄は 0.05%TAR であった。（参照：2、4、8）

表 6 投与後 48 時間の尿及び糞中排泄率（%TAR）

| 群              | 単回   |      | 反復   |      |
|----------------|------|------|------|------|
| 投与量 (mg/kg 体重) | 2    |      | 100  |      |
| 性別             | 雄    | 雌    | 雄    | 雌    |
| 尿              | 62.1 | 74.2 | 34.6 | 66.6 |
| 糞              | 30.9 | 23.3 | 61.0 | 27.6 |
| 合計             | 93.0 | 97.5 | 95.6 | 94.2 |

##### ②尿及び糞中排泄（混餌投与）

血中濃度推移試験[1. (1)①]の混餌投与での投与後 48 時間の尿及び糞が採取され、排泄試験が実施された。

投与後 48 時間の尿及び糞中排泄率並びに組織残留率は表 7 に示されている。

投与後 48 時間で 92%TAR 以上が尿及び糞中に排泄され、体内残留放射能濃度は低く、混餌投与の排泄への影響はないと考えられた。（参照：2、4、8）

表 7 投与後 48 時間の尿及び糞中排泄率並びに組織残留率 (%TAR)

| 群         | 混餌投与*  |       |           |       |
|-----------|--------|-------|-----------|-------|
|           | 50 ppm |       | 2,500 ppm |       |
| 性別        | 雄      | 雌     | 雄         | 雌     |
| 尿         | 72.0   | 74.7  | 61.4      | 56.4  |
| 糞         | 30.6   | 21.6  | 30.8      | 27.6  |
| 胃腸管を除く動物体 | 0.264  | 0.184 | 0.620     | 0.914 |
| 胃腸管       | 0.238  | 0.488 | 1.378     | 0.947 |
| 合計        | 103    | 97.0  | 94.2      | 85.9  |

\*: 約 15 週間の混餌（原体：50 及び 2,500 ppm）投与を行った後、[dih-<sup>14</sup>C] スピロジクロフェンを低用量で単回経口投与

### ③ 胆汁中排泄

胆管カニューレを挿入した Wistar ラット（雄 6 匹）に[dih-<sup>14</sup>C] スピロジクロフェンを 1 mg/kg 体重で単回経口投与し、胆汁中排泄試験が実施された。

投与後 24 時間の胆汁、尿及び糞中排泄率並びに組織残留率は表 8 に示されている。（参照：2、4、8）

表 8 投与後 24 時間の胆汁、尿及び糞中排泄率並びに組織残留率 (%TAR)

| 試料        | 排泄率又は組織残留率 |
|-----------|------------|
| 尿         | 24.3       |
| 糞         | 31.3       |
| 胆汁        | 11.9       |
| 胃腸管を除く動物体 | 26.2       |
| 胃腸管       | 13.3       |
| 合計        | 107        |

### (5) 畜産動物（ヒツジ）

泌乳期ヒツジ（品種及び匹数不明）に <sup>14</sup>C-スピロジクロフェン（標識位置不明）を 3 日間混餌投与（原体：252 ppm、10.7 mg/kg 体重に相当、理論最大摂取量の 114 倍）し、動物体内運命試験が実施された。

血中濃度は、初回投与 8 時間後までに 0.016～0.074 µg/g で推移し、C<sub>max</sub> は投与 24 時間後の 0.382 µg/g であった。

主要排泄経路は糞中であり、糞中へ 20.0%TAR、尿中へ 12.4%TAR が排泄された。最終投与 6 時間後に 38.6%TAR が胃腸管に残留していた。

乳汁及び最終投与 4 時間後の組織中残留放射能並びに代謝物は表 9 に示されている。乳汁及び可食部から 0.25%TAR が回収された。各試料の残留放射能中に未変化のスピロジクロフェンは認められず、主要成分として M1 が 80%TRR 以上（筋肉：0.057 µg/g、脂肪：0.121 µg/g、腎臓 2.78 µg/g、肝臓 0.633 µg/g、乳汁：0.097 µg/g）認められた。（参照：4、6）

表 9 乳汁及び最終投与 4 時間後の組織中残留放射能並びに代謝物

| 試料  | 総残留<br>放射能濃度<br>( $\mu\text{g/g}$ ) | スピロ<br>ジクロフェン<br>( $\mu\text{g/g}$ ) | 代謝物<br>(%TRR)    |
|-----|-------------------------------------|--------------------------------------|------------------|
| 筋肉  | 0.068                               | n.d.                                 | M1(83.8)         |
| 脂肪  | 0.143                               | n.d.                                 | M1(84.6)         |
| 腎臓  | 2.92                                | n.d.                                 | M1(95.4)、M4(2.2) |
| 肝臓  | 0.784                               | n.d.                                 | M1(80.7)、M4(1.9) |
| 乳汁* | 朝                                   | n.d.                                 | M1(81.6)、M4(8.7) |
|     | 夕                                   | n.d.                                 | M1(85.8)、M4(6.2) |

n.d. : 検出限界未満 \* : 1 日 2 回 (朝及び夕) 採取

## 2. 植物体内運命試験

### (1) オレンジ

着果早期のオレンジ (品種 : Navelina iniasel) に、フロアブル製剤に調製した  $[\text{dih-}^{14}\text{C}]$  スピロジクロフェンを、14 mg ai/樹で樹全体に散布し、処理 160 日後に収穫した果実を用い、植物体内運命試験が実施された。

全果実中総残留放射能の 91.8%TRR (0.066 mg/kg) が果皮、8.3%TRR (0.006 mg/kg) が果肉に存在した。

果皮中の総残留放射能及び代謝物は表 10 に示されている。

残留放射能の主要成分は、未変化のスピロジクロフェンであり、10%TRR を超える代謝物は認められなかった。(参照 : 2、4、8)

表 10 果皮中の総残留放射能及び代謝物

| 試料      | 総残留<br>放射能濃度<br>(mg/kg) | スピロ<br>ジクロフェン<br>(%TRR) | 代謝物<br>(%TRR) |
|---------|-------------------------|-------------------------|---------------|
| 表面洗浄液   | 0.022                   | 30.0                    | —             |
| 抽出<br>液 | 有機層                     | 0.012                   | 1.7           |
|         | 水層                      | 0.028                   | 2.5           |
| 未抽出物    | <0.01                   |                         |               |

/ : 測定せず、-- : 未検出

### (2) レモン

レモン樹 (品種 : Eureka) に、フロアブル製剤に調製した  $[\text{dih-}^{14}\text{C}]$  スピロジクロフェンを、8.51 又は 2.83 mg ai/樹で散布 (通常の 1.5 倍濃度処理) し、処理 21 日後に収穫した果実を用い植物体内運命試験が実施された。

レモン果実の総残留放射能濃度は 0.263 mg/kg で、果皮に 99.8%TRR とほとんどの放射能が存在した。果肉中の放射能濃度は 0.001 mg/kg 未満 (0.1%TRR)

であった。

果皮中の総残留放射能及び代謝物は表 11 に示されている。

残留放射能のほとんどが果皮表面に存在しており、主要成分は、未変化のスピロジクロフェンであった。10%TRR を超える代謝物は認められなかった。（参照：2、4、8）

表 11 果皮中の総残留放射能濃度及び代謝物

| 試料    |     | 総残留放射能濃度 (mg/kg) | スピロジクロフェン (%TRR) | 代謝物 (%TRR)                                 |
|-------|-----|------------------|------------------|--------------------------------------------|
| 表面洗浄液 |     | 0.164            | 60.9             | M1(1.3)                                    |
| 抽出液   | 有機層 | 0.065            | 14.1             | M3e(2.3)、M1(0.8)、M9(0.8)、M4e(0.5)、M12(0.5) |
|       | 水層  | 0.030            | 0.3              | M9(2.1)、M13(1.6)、M10(0.5)                  |
| 未抽出物  |     | 0.004            |                  |                                            |

/: 測定せず

### (3) りんご

着果後のりんご（品種：ゴールデンデリシャス）に、フロアブル製剤に調製した[dih-<sup>14</sup>C] スピロジクロフェンを、収穫 84 又は 23 日前（早期処理又は晩期処理）に 49.3 又は 49.1mg ai/樹で樹全体に散布（通常処理量の約 0.9 倍）し、成熟期に収穫した果実及び葉を試料として、植物体内運命試験が実施された。

各試料中の総残留放射能及び代謝物は表 12 に示されている。

総残留放射能の 82.8～98.0%TRR が果実表面（表面洗浄液中）に未変化のスピロジクロフェンとして存在していた。果実抽出液中の主要成分は未変化のスピロジクロフェンであり、10%TRR を超える代謝物は認められなかった。

葉においても表面洗浄液及び抽出液中のほとんどが未変化のスピロジクロフェンであり、10%TRR を超える代謝物は認められなかった。（参照：2、4、8）

表 12 各試料中の総残留放射能及び代謝物

| 処理時期 | 試料 | 総残留放射能濃度 (mg/kg) | 試料内分布   | 総残留放射能濃度 (mg/kg) | スピロジクロフェン (%TRR) | 代謝物 (%TRR)                             |
|------|----|------------------|---------|------------------|------------------|----------------------------------------|
| 早期   | 果実 | 0.390            | 表面洗浄液   | 0.323            | 82.8             | —                                      |
|      |    |                  | 抽出液 有機層 | 0.040            | 6.56             | M11(0.99)、M13(0.47)、M1(0.36)、M4e(0.09) |
|      |    |                  | 水層      | 0.023            | —                | M13(4.00)                              |
|      |    |                  | 未抽出物    | 0.004            |                  |                                        |

|    |    |      |       |     |        |      |                                      |
|----|----|------|-------|-----|--------|------|--------------------------------------|
| 晩期 | 果実 | 0.85 | 表面洗浄液 |     | 0.837  | 98.0 | —                                    |
|    |    |      | 抽出液   | 有機層 | 0.013  | 1.45 | M1(0.05)、<br>M11(0.05)、<br>M13(0.01) |
|    |    |      |       | 水層  | 0.002  | 0.22 | —                                    |
|    |    |      | 未抽出物  |     | <0.001 | 0.07 |                                      |
|    | 葉  | 59.7 | 表面洗浄液 |     | 57.8   | 96.7 | —                                    |
|    |    |      | 抽出液   |     | 1.94   | 2.15 | M13(0.42)                            |
|    |    |      | 未抽出物  |     | 0.06   |      |                                      |

/: 測定せず、—: 未検出

#### (4) ぶどう

着果期（早期処理）又は収穫 3 週間前（晩期処理）のぶどう（品種：Mueller Thurgau）にフロアブル製剤に調製した[dih-<sup>14</sup>C] スピロジクロフェンを約 26.9 mg ai/樹（通常処理量）で散布し、早期処理は処理 64 日後、晩期処理は処理 21 日後に収穫した果実を試料として、植物体内運命試験が実施された。

各試料中の総残留放射能及び代謝物は表 13 に示されている。

総残留放射能の 56.8～95.8%TRR が果実表面（表面洗浄液中）に未変化のスピロジクロフェンとして存在していた。2.4～33.2%TRR が果実抽出液に存在し、M13 が 12.2%TRR（0.14 mg/kg）認められたほかは 10%TRR を超える代謝物は認められなかった。（参照：2、4、8）

表 13 各試料中の総残留放射能及び代謝物

| 処理時期 | 総残留放射能濃度 (mg/kg) | 試料    |      | 総残留放射能濃度 (mg/kg) | スピロジクロフェン (%TRR) | 代謝物 (%TRR)                          |
|------|------------------|-------|------|------------------|------------------|-------------------------------------|
| 早期   | 1.12             | 表面洗浄液 |      | 0.64             | 56.8             | -                                   |
|      |                  | 抽出液   | 有機層  | 0.10             | 0.8              | M3e(2.6)、M9(1.5)、M1(0.5)、M4e(0.4)   |
|      |                  |       | 水層   | 0.37             | -                | M13(12.2)、M10(7.9)、M9(5.7)          |
|      |                  | 未抽出物  |      | 0.01             |                  |                                     |
|      |                  | 晚期    | 1.90 | 表面洗浄液            |                  | 1.82                                |
| 抽出液  | 有機層              |       |      | 0.03             | 0.6              | M3e(0.3)、M9(0.2)、M1(0.1)、M4e(<0.01) |
|      | 水層               |       |      | 0.05             | -                | M9(0.9)、M13(0.9)、M10(0.6)           |
| 未抽出物 |                  |       |      | <0.01            |                  |                                     |

/: 測定せず、-: 未検出

スピロジクロフェンのオレンジ、レモン、りんご及びぶどう中での代謝経路は、

①スピロジクロフェンのエステル結合の開裂によるエノール体 M1 の生成、② M1 のシクロヘキシル環の 3 位若しくは 4 位の水酸化による M3 若しくは M4 の生成、又は M1 のテトロン酸のジヒドロフラノン環構造が開裂した開環のマンデル酸シクロヘキシルエステル中間体 M8 の生成、③ M8 の水酸化による M9 若しくは炭水化物との抱合による M10 の生成、又は M8 がさらに分解して遊離のマンデル酸 M12 を生じ、続いてグリコシル化による M13 の生成であると考えられた。

## (5) グレープフルーツ

グレープフルーツ（品種：Citrus paradise Macf.）にフロアブル製剤に調製した[dih-<sup>14</sup>C] スピロジクロフェンを、収穫 85 日前に、結実した果実の上方又は下方の 3 枚の葉に約 0.17 mg ai/葉（圃場での推奨処理量の 1.5 倍）で塗布し、成熟期果実及び各果実に対応する処理葉を各 3 枚採取し、葉から果実への放射能の移行を検討する植物体内運命試験が実施された。

99.9%TRR が処理した 3 枚の葉中に分布し、果実中の放射能は 0.09%TRR (0.01 mg/kg 未満) と僅かであったことから、葉から果実への放射能の移行はほとんどないと考えられた。果実中の放射能のうち、果肉には 0.04%TRR、果皮に 0.03% TRR、表面洗浄液中に 0.01% TRR 未満が存在した。17.0%TRR が葉から揮発により失われたと考えられた。（参照：2、4、8）

## 3. 土壌中運命試験

### (1) 好氣的土壌中運命試験①

[dih-<sup>14</sup>C] スピロジクロフェンを砂土（米国）、壤質砂土（ドイツ）、砂壤土（米国）及びシルト（ドイツ）に 0.11 （通常処理量）又は 0.53 mg/kg（高濃度処理量）で処理し、約 20℃の暗条件下で最長 360 日間インキュベートし、好氣的土壌中運命試験が実施された。

土壌中の微生物バイオマスは経時的に減少したが、[dih-<sup>14</sup>C] スピロジクロフェン添加による影響は認められなかった。

スピロジクロフェンは試験終了時まで 22.5（砂土）～93.1%TAR（壤質砂土）が経時的に <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> まで分解され、土壌からの抽出放射能は経時的に減少した。

土壌中には少なくとも 13 種の分解物が存在し、M1、M14、M15 及び M18 は最大で 10%TAR 以上認められ、特に M1 及び M14 は、いずれの土壌においても高く、最大で約 11～52%TAR であった。それ以外は最大で 5%TAR 未満であった。

好氣的土壌中でのスピロジクロフェンの分解経路は、①スピロジクロフェンのエステル結合の開裂によるエノール体 M1 の生成、②M1 のジヒドロフラノン環の酸化によるケトヒドロキシル体 M14 の生成、③M14 のフラノン環の開裂による M18 の生成、M14 から転位によるラクチド体 M16 を経た M18 の生成又は

M14 の還元体 M15 を経た M18 の生成、④M18 は最終的に CO<sub>2</sub> まで分解、であると考えられた。（参照：2、8）

## （２）好氣的土壤中運命試験②

[cyc-<sup>14</sup>C]スピロジクロフェンを砂壤土（米国）に 0.11 mg/kg（通常処理量）で処理し、約 20℃の暗条件下で最長 119 日間インキュベートし、好氣的土壤中運命試験が実施された。

土壌中の微生物バイオマスは、試験開始時で少なく、試験期間中に僅かな減少が認められたが、好氣的土壤中運命試験① [3. (1)] より、微生物バイオマス減少はスピロジクロフェンの CO<sub>2</sub> への分解に影響しないと考えられた。

スピロジクロフェンは試験終了時まで 69.1% TAR が <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> まで分解され、土壌からの抽出放射能は <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> の増加とともに減少した。

土壌中の主要分解物は M1 で最大で 42.6% TAR 存在した。M14 及び M15 はいずれも 10% TAR 以下で好氣的土壤中運命試験① [3. (1)] の生成量よりも低かった。これは土壌採取日が異なり、土壌特性、特に微生物バイオマス、pH 及び有機炭素量の差があるが生成量に影響した主要原因に関しては不明である。他に [3. (1)] では検出されなかった、フラノン環が開裂しベンゼン環の構造を保持していないと推測された分解物が 2 種、最大で 5.9% TAR 存在した。（参照：2、8）

## （３）土壌吸脱着試験

[dih-<sup>14</sup>C] スピロジクロフェンは、土壌中で不安定であったため土壌吸脱着試験は実施されなかった。（参照：2、8）

スピロジクロフェンの吸着係数 K<sub>oc</sub> は、31,000～238,000 で、土壌中での移動性は低いと考えられた。一方で、土壌中の主要代謝物は M1、M14、M15 及び M18 で、土壌中で移動すると推察された。（参照：4、5）

## （４）安定性試験

土壌吸脱着試験条件下において、溶媒（塩化カルシウムとの相互作用）、試験容器壁面への吸着、試験系の微生物及び土壌 [砂壤土（ドイツ）及びシルト質壤土（ドイツ）] がスピロジクロフェンの分解に関与するか検討された。

スピロジクロフェンの分解に溶媒の影響はほとんどなく、土壌中では微生物の有無にかかわらず速やかに分解されたことから、試験容器壁面の効果を否定することは出来ないと考えられた。加水分解試験 [4. (1)] でスピロジクロフェンはアルカリ条件下で不安定であることが確認されたことから、溶液中の pH も分解の要因のひとつと推察された。（参照：2、8）

#### 4. 水中運命試験

##### (1) 加水分解試験

[dih-<sup>14</sup>C] スピロジクロフェンを pH 4 (酢酸緩衝液)、pH 7 (tris 緩衝液) 及び pH 9 (ホウ酸緩衝液) の各滅菌緩衝液に約 0.025 mg/L (水溶解度の約 1/2 に相当) となるように加えた後、25℃の暗条件下で 30 日間インキュベートし、加水分解試験が実施された。

推定半減期は表 14 に示されている。

スピロジクロフェンは、酸性、中性及びアルカリ性のいずれの条件でも加水分解されたが、加水分解速度は pH の上昇に依存し、pH 9 では不安定であった。加水分解物としては M1 のみが認められ、スピロジクロフェンはエステルの開裂によりエノール体を生成する経路で加水分解すると考えられた。(参照：2、4、5、6、8)

表 14 加水分解試験結果概要 (推定半減期)

| 試験溶液 (pH) | 半減期 (日) |                  |
|-----------|---------|------------------|
|           | 25℃     | 20℃ <sup>2</sup> |
| 4         | 63.6    | 120              |
| 7         | 30.8    | 52.1             |
| 9         | 1.90    | 2.5              |

##### (2) 水中光分解試験① (緩衝液)

[dih-<sup>14</sup>C] スピロジクロフェン又は[cyc-<sup>14</sup>C]スピロジクロフェンを酢酸緩衝液 (0.01M、pH4) に約 0.025 mg/L の濃度で添加し、25±1℃で 18～19 日間<sup>3</sup>キセノン光 (光強度：試験 1；925 W/m<sup>2</sup>、試験 2 及び 3；1,092 W/m<sup>2</sup>、波長：300～800 nm) を照射し、水中光分解試験が実施された。

推定半減期は表 15 に示されている。

試験 2 では照射 18 日後の光照射区で親化合物は 58.4%TAR、暗所対照区で 87.4%TAR、試験 3 では照射 17 日後の光照射区で親化合物は 91.0%TAR、暗所対照区で 100%TAR であった。光照射区の半減期は暗所対照区よりも短く、光による分解が認められた。(参照：2、8)

<sup>2</sup> 25℃及び 50℃ (予備試験) の結果をアレニウスの式に代入し、外挿して求めた。

<sup>3</sup> 揮発性物質捕集装置のソーダ石灰が溶液中に落下し、pH の上昇による加水分解が認められたため、試験 2 を試験期間 18 日で追加実施した。



表 15 水中光分解試験①結果概要（推定半減期）

| 試験群  | 被験物質                                | 光照射区         |           | 暗所対照         |      | 環境中*         |
|------|-------------------------------------|--------------|-----------|--------------|------|--------------|
|      |                                     | 推定<br>半減期(日) | pH        | 推定<br>半減期(日) | pH   | 推定<br>半減期(日) |
| 試験 1 | [dih- <sup>14</sup> C]              | 28.8         | 4.46～5.13 | —            | 8.68 | 約 270        |
| 試験 2 | スピロジクロフェン                           | 23.1         | 4.44～4.92 | 105          | 4.35 | 約 260        |
| 試験 3 | [cyc- <sup>14</sup> C]<br>スピロジクロフェン | 99.4         | 4.33～4.82 | 365          | 4.34 | 約 1,100      |

—：揮発性物質捕集装置のソーダ石灰が溶液中に落下し、pH の上昇による加水分解が認められたため

\*：東京（4月～6月）における太陽光条件での計算値

### （３）水中光分解試験②（緩衝液）

[dih-<sup>14</sup>C] スピロジクロフェン又は[cyc-<sup>14</sup>C]スピロジクロフェンを酢酸緩衝液（0.02M、pH4）に約 0.025 mg/L の濃度で添加し、25±1℃で 12 日間キセノン光（光強度：668 W/m<sup>2</sup>、波長：300～800 nm）を照射し、水中光分解試験が実施された。

推定半減期<sup>4</sup>は、光照射区で 10.8 日、暗所対照区で 37 日、自然環境中（東京 4 月～6 月における太陽光条件）換算では約 73 日であった。

照射 12 日後の光照射区で親化合物は 39.5% TAR、10 日後の暗所対照区では 73.0% TAR であったことから、光による分解が認められた。主要分解物は、M1 及び M19 で、最大 10.8 及び 9.8% TAR 認められた。（参照：2、8）

スピロジクロフェンは、水中光分解試験（緩衝液）[4. (2) 及び (3)] において、加水分解により生成された M1 が速やかに光分解され M19 となり、さらに光分解が進み最終産物の CO<sub>2</sub> まで分解されると考えられた。（参照：2、8）

### （４）水中光分解試験③（自然水）

[dih-<sup>14</sup>C] スピロジクロフェンを pH 8.05 の自然水（河川水、ドイツ）に約 0.025 mg/L の濃度で添加し、25±1℃で 19 日間キセノン光（光強度：試験 1；712 W/m<sup>2</sup>、試験 2；782 W/m<sup>2</sup>、波長：300～800 nm）を照射し、スピロジクロフェンの水中光分解試験が実施された。

推定半減期は表 16 に示されている。

試験 1 の 19 日後及び試験 2 の 12 日後の光照射区及び暗所対照区における親化合物量は、52.3～58.8% TAR 及び 48.6～60.8% TAR で顕著な差は認められず、自然水中（pH 7～8）では、光分解よりも pH による影響が高いと考えられた。主要分解物は <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> であった。

スピロジクロフェンは、自然水中で光分解され、M1 及び M19 を生成し、最終

<sup>4</sup> 両標識体の平均値に基づく

的に CO<sub>2</sub> まで分解されると推定された。この代謝経路は、緩衝液中及び自然水中（河川）と同じであると考えられた。（参照：2、8）

表 16 水中光分解試験③結果概要（推定半減期）

| 試験群  | 水中光          |           | 暗所対照         |      | 環境中*         |
|------|--------------|-----------|--------------|------|--------------|
|      | 推定半減期<br>(日) | pH        | 推定半減期<br>(日) | pH   | 推定半減期<br>(日) |
| 試験 1 | 20.7         | 7.73～8.37 | 30           | 7.04 | 149          |
| 試験 2 | 21.3         | 6.47～8.42 | 15           | 8.53 | 168          |

\*：東京（4月～6月）における太陽光条件での計算値

#### （5）水中光分解試験④

スピロジクロフェンの水中光分解試験が実施された（詳細不明）。

推定半減期は、光照射区で 63 日、自然環境中換算（Phoenix 及び Edmonton、米国）で 43.8 及び 61.6 日であった。（参照 5）

### 5. 土壌残留試験

洪積土・埴壌土（福島）及び火山灰土・軽埴土（茨城）を用いて、スピロジクロフェン並びにスピロジクロフェン及び分解物（M1、M14、M15 及び M18）を分析対象とした土壌残留試験が実施された。

結果は表 17 に示されている。（参照 2、8）

表 17 土壌残留試験成績

| 試験        |           | 濃度*            | 土壌       | 推定半減期（日）  |                   |
|-----------|-----------|----------------|----------|-----------|-------------------|
|           |           |                |          | スピロジクロフェン | スピロジクロフェン<br>+分解物 |
| 容器内<br>試験 | 畑水分<br>状態 | 1.2<br>g ai/ha | 洪積土・埴壌土  | 5.5       | 9.0               |
|           |           |                | 火山灰土・軽埴土 | 4.9       | 8.7               |
| 圃場<br>試験  | 畑地        | 1.2<br>g ai/ha | 洪積土・埴壌土  | 7.0       | 13.7              |
|           |           |                | 火山灰土・軽埴土 | 1.7       | 3.3               |

\*：フロアブル剤を使用 分解物：親化合物換算値

### 6. 作物残留試験

果実、野菜、茶等を用いて、スピロジクロフェン並びに代謝物 M9、M12 及び M13（代謝物は国内のみ）を分析対象化合物とした作物残留試験（国内及び海外）が実施された。

結果は別紙 3 及び 4 に示されている。

国内で実施された試験におけるスピロジクロフェンの最高値は、最終散布 14 日後に収穫された茶（荒茶）の 12.0 mg/kg であった。また、代謝物 M9 はいずれも 0.04 mg/kg 未満、M12 及び M13 の合計値の最高値は最終散布 28 日後に収穫された温州

みかん（果皮）の 0.76 mg/kg であった。

海外で栽培されている農産物において、登録された使用方法で実施された試験におけるスピロジクロフェンの最高値は、最終散布 14 日後に収穫されたホップ（毬花）の 24 mg/kg であった。（参照 2、8、10）

## 7. 一般薬理試験

マウス及びラットを用いた一般薬理試験が実施された。結果は表 18 に示されている。（参照 2、8）

表 18 一般薬理試験概要

| 試験の種類  |                               | 動物種        | 動物<br>数<br>匹/群 | 投与量<br>(mg/kg 体重)<br>(投与経路)                         | 最大<br>無作用量<br>(mg/kg 体重) | 最小作用量<br>(mg/kg 体重) | 結果の概要                                                                                                      |
|--------|-------------------------------|------------|----------------|-----------------------------------------------------|--------------------------|---------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 中枢神経系  | 一般状態<br>(Irwin 法)             | ICR<br>マウス | 雌雄<br>3        | 0、128、320、<br>800、2,000、<br>5,000<br>(腹腔内)          | 雄：800<br>雌：320           | 雄：2,000<br>雌：800    | 2,000 mg/kg 体重以上投<br>与群の雄、800 mg/kg 体<br>重以上投与群の雌で認知<br>力、運動性、運動失調、<br>筋緊張、反射及び自律神<br>経系の項目に抑制性の徴<br>候及び死亡 |
|        | 一般状態                          | SD<br>ラット  | 雄 5            | 0、2,000、<br>5,000<br>(経口)                           | 5,000                    | —                   | 影響なし                                                                                                       |
|        | 睡眠時間<br>延長<br>ヘキソバルビタール<br>睡眠 | ICR<br>マウス | 雄 8            | 0、51.2、<br>128、320、<br>800、2,000、<br>5,000<br>(腹腔内) | 800                      | 2,000               | 2,000 mg/kg 体重群以上<br>で死亡及び睡眠時間の延<br>長                                                                      |
|        | 体温                            | SD<br>ラット  | 雄 5            | 0、2,000、<br>5,000<br>(経口)                           | 5,000                    | —                   | 影響なし                                                                                                       |
| 呼吸循環器系 | 血圧、<br>心拍数                    | SD<br>ラット  | 雄 5            | 0、2,000、<br>5,000<br>(経口)                           | 5,000                    | —                   | 影響なし                                                                                                       |
| 自律神経系  | 瞳孔径                           | SD<br>ラット  | 雄 5            | 0、2,000、<br>5,000<br>(経口)                           | 5,000                    | —                   | 影響なし                                                                                                       |
| 消化器系   | 小腸炭末<br>輸送                    | ICR<br>マウス | 雄 8            | 0、51.2、<br>128、320、<br>800、2,000、<br>5,000<br>(腹腔内) | 128                      | 320                 | 320 及び 800mg/kg 体重<br>投与群で促進。<br>5,000mg/kg 体重投与群<br>で抑制                                                   |

| 試験の種類 |              | 動物種       | 動物数<br>匹/群 | 投与量<br>(mg/kg 体重)<br>(投与経路) | 最大<br>無作用量<br>(mg/kg 体重) | 最小作用量<br>(mg/kg 体重) | 結果の概要 |
|-------|--------------|-----------|------------|-----------------------------|--------------------------|---------------------|-------|
| 骨格筋   | 握力           | SD<br>ラット | 雄 5        | 0、2,000、<br>5,000<br>(経口)   | 5,000                    | —                   | 影響なし  |
| 腎臓    | 腎機能          | SD<br>ラット | 雄 5        | 0、2,000、<br>5,000<br>(経口)   | 5,000                    | —                   | 影響なし  |
| 血液    | 溶血及び<br>血液凝固 | SD<br>ラット | 雄 5        | 0、2,000、<br>5,000<br>(経口)   | 5,000                    | —                   | 影響なし  |

注：検体は 1%Tween80 に懸濁して用いた。 —：最小作用量は設定できなかった。

## 8. 急性毒性試験

### (1) 急性毒性試験

スピロジクロフェン（原体）を用いた急性毒性試験が実施された。結果は表 19 に示されている。（参照 2、4、6、8）

表 19 急性毒性試験結果概要（原体）

| 投与経路 | 動物種                   | LD <sub>50</sub> (mg/kg 体重)           |        | 観察された症状   |
|------|-----------------------|---------------------------------------|--------|-----------|
|      |                       | 雄                                     | 雌      |           |
| 経口   | Wistar ラット<br>雌雄各 3 匹 | >2,500                                | >2,500 | 症状及び死亡例なし |
|      | ICR マウス<br>雌雄各 5 匹    | >2,000                                | >2,000 | 症状及び死亡例なし |
| 経皮   | Wistar ラット<br>雌雄各 5 匹 | >2,000                                | >2,000 | 症状及び死亡例なし |
| 吸入   | Wistar ラット<br>雌雄各 5 匹 | LC <sub>50</sub> (mg/m <sup>3</sup> ) |        | 症状及び死亡例なし |
|      |                       | >5,030                                | >5,030 |           |

スピロジクロフェンの代謝物 M1、M9 及び M14 を用いた急性経口毒性試験が実施された。結果は表 20 に示されている。（参照 2、8）

表 20 急性毒性試験結果概要（代謝物）

| 被験物質 | 動物種                   | LD <sub>50</sub> (mg/kg 体重) |         | 観察された症状                                                                   |
|------|-----------------------|-----------------------------|---------|---------------------------------------------------------------------------|
|      |                       | 雄                           | 雌       |                                                                           |
| M1   | Wistar ラット<br>雌雄各 3 匹 | 500～1,000                   | 300～500 | 円運動、運動性及び反応性の低下、穴掘り及び身づくろい行動亢進、呼吸困難、流涎の増加並びに歩行失調<br>雌雄：500 mg/kg 体重以上で死亡例 |
| M9   | Wistar ラット<br>雌雄各 3 匹 | >2,500                      | >2,500  | 症状及び死亡例なし                                                                 |
| M14  | Wistar ラット<br>雌雄各 3 匹 | >2,500                      | >2,500  | 症状及び死亡例なし                                                                 |

## （２）急性神経毒性試験（ラット）

Wistar ラット（一群雌雄各 12 匹）を用いた強制経口（原体：0、200、500、及び 2,000 mg/kg 体重、溶媒：0.5%MC 及び 0.4%Tween80 水溶液）投与による急性神経毒性試験が実施された。

一般毒性、FOB 及び運動能試験に対する検体投与の影響は認められなかった。

本試験における無毒性量は、雌雄とも本試験の最高用量 2,000 mg/kg 体重であると考えられた。神経毒性は認められなかった。（参照 2、8）

## 9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

ヒマラヤンウサギを用いた眼及び皮膚刺激性試験が実施された。眼及び皮膚に対する刺激性は認められなかった。（参照 2、8）

DH モルモットを用いた皮膚感作性試験（Maximization 法）が実施され、陽性と判断された。（参照 2、8）

## 10. 亜急性毒性試験

### （１）90 日間亜急性毒性試験（ラット）

Wistar ラット（一群雌雄各 10 匹）を用いた混餌（原体：0、100、500、2,500 及び 12,500 ppm）投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 21 に示されている。

本試験において、2,500 ppm 以上投与群の雄及び 500 ppm 以上投与群の雌で副腎皮質細胞質の小空胞化等が認められたので、無毒性量は雄で 500 ppm（32.1 mg/kg 体重/日）、雌で 100 ppm（8.1 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照：2、4、5、6、8）

（副腎皮質の空胞形成に関しては [14. (1)～(13)] を参照）

表 21 90 日間亜急性毒性試験（ラット）で認められた毒性所見

| 投与群          | 雄                                                                                                                                                       | 雌                                                                                                                                                                                      |
|--------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 12,500 ppm   | <ul style="list-style-type: none"> <li>・ 体重増加抑制</li> <li>・ WBC、PLT 減少</li> <li>・ ALT 及び AST 増加</li> <li>・ 副腎皮質細胞質の大小不同空胞化</li> <li>・ 副腎比重量増加</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>・ 体重増加抑制</li> <li>・ WBC 減少</li> <li>・ ALT、AST 及び RBC 増加</li> <li>・ Chol、MCV、MCH 減少</li> <li>・ 副腎絶対重量及び比重量増加</li> <li>・ 脾臓絶対重量及び比重量減少</li> </ul> |
| 2,500 ppm 以上 | <ul style="list-style-type: none"> <li>・ PTT 延長及び ALP 増加</li> <li>・ Chol 及び TG 減少</li> <li>・ 副腎皮質細胞質の小空胞化</li> </ul>                                    | <ul style="list-style-type: none"> <li>・ PTT 延長及び ALP 増加</li> </ul>                                                                                                                    |
| 500 ppm 以上   | 500 ppm 以下<br>毒性所見なし                                                                                                                                    | <ul style="list-style-type: none"> <li>・ 副腎皮質細胞質の小空胞化</li> <li>・ TG 減少</li> </ul>                                                                                                      |
| 100 ppm      |                                                                                                                                                         | 毒性所見なし                                                                                                                                                                                 |

## （2）90 日間亜急性毒性試験（マウス）

ICR マウス（一群雌雄各 10 匹）を用いた混餌（原体：0、100、1,000、及び 10,000 ppm）投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 22 に示されている。

本試験において、1,000 ppm 以上投与群の雄でライディッヒ細胞の肥大、雌で副腎皮質の細胞質空胞化が認められたので、無毒性量は雌雄で 100 ppm（雄：15 mg/kg 体重/日、雌：30 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照：4、5、6、8）

（副腎皮質の空胞形成及び雄生殖器への影響に関しては [14. (1)～(13)] を参照）

表 22 90 日間亜急性毒性試験（マウス）で認められた毒性所見

| 投与群          | 雄                                                                                                            | 雌                                                                                   |
|--------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| 10,000 ppm   | <ul style="list-style-type: none"> <li>・ 門脈周囲性肝細胞質空胞化</li> <li>・ 副腎皮質細胞質空胞化</li> <li>・ 腎絶対及び比重量減少</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>・ Chol 低下</li> <li>・ 門脈周囲性肝細胞質空胞化</li> </ul> |
| 1,000 ppm 以上 | ・ ライディッヒ細胞の肥大                                                                                                | ・ 副腎皮質細胞質空胞化                                                                        |
| 100 ppm      | 毒性所見なし                                                                                                       | 毒性所見なし                                                                              |

## （3）90 日間亜急性毒性試験（イヌ）

ビーグル犬（一群雌雄各 4 匹）を用いた混餌（原体：0、200、630 及び 2,000 ppm）投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 23 に示されている。

630 ppm 以上投与群の雌雄で RBC、Hb 及び Ht の低下が認められたが、軽微な変化であり、1 年間慢性毒性試験（イヌ）[11. (1)] の 600 ppm 投与群では同様の所見は認められなかったことから、毒性影響とは考えられなかった。

2,000 ppm 投与群の雄で O-DEM 及び P-450 増加、雌で EH 増加、630 ppm

以上投与群の雌雄で N-DEM 増加、雌で P-450 増加、200 ppm 以上投与群の雌雄で ECOD 及び ALD 増加、雌で O-DEM 増加が認められたが、薬物代謝酵素誘導による変化であり毒性影響とは考えられなかった。

本試験において、630 ppm 以上投与群の雄及び 200 ppm 以上投与群の雌で副腎皮質束状帯空胞化等が認められたので、無毒性量は雄で 200 ppm (7.7 mg/kg 体重/日)、雌で 200 ppm 未満 (8.4 mg/kg 体重/日未満) であると考えられた。

(参照：2、4、5、8)

(副腎皮質の空胞形成及び雄生殖器への影響に関しては [14. (1)～(13)] を参照)

表 23 90 日間亜急性毒性試験 (イヌ) で認められた毒性所見

| 投与群        | 雄                                                                                                                                                                                                                                                               | 雌                                                                                                                                                                       |
|------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 2,000 ppm  | <ul style="list-style-type: none"> <li>・ AST、ALT、ALP 及び GDH 増加</li> <li>・ 肝比重量増加</li> <li>・ 胸腺絶対及び比重量低下</li> <li>・ 前立腺の未成熟</li> <li>・ 副腎単核細胞浸潤</li> <li>・ 精巢上皮細胞変性 (2 例) *</li> <li>・ 精巢上体無精子症 (2 例) *</li> </ul>                                               | <ul style="list-style-type: none"> <li>・ AST、ALP 及び EH 増加</li> <li>・ 肝細胞質好酸化、炎症性細胞浸潤</li> <li>・ 副腎単核細胞浸潤</li> <li>・ 肝細胞壊死 (1 例) *</li> <li>・ 胸腺皮質の萎縮 (1 例) *</li> </ul> |
| 630 ppm 以上 | <ul style="list-style-type: none"> <li>・ 体重増加抑制*</li> <li>・ 副腎皮質束状帯空胞化</li> <li>・ 肝臓及び副腎絶対重量増加</li> <li>・ 前立腺絶対重量減少*</li> <li>・ 精巢のライディッヒ細胞空胞化 (2 例) 及び肥大 (2 例) *</li> <li>・ 精巢上体精子減少症 (2 例) *</li> <li>・ 前立腺の未成熟 (1 例) *</li> <li>・ 胸腺皮質の萎縮 (1 例) *</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>・ 体重増加抑制*</li> <li>・ 副腎皮質束状帯空胞化</li> </ul>                                                                                       |
| 200 ppm    | 毒性所見なし                                                                                                                                                                                                                                                          | ・ 副腎皮質束状帯空胞化* (2 例)                                                                                                                                                     |

\*：統計学的有意差なし

#### (4) 90 日間亜急性神経毒性試験 (ラット)

Wistar ラット (一群雌雄各 12 匹) を用いた混餌 (原体：0、100、1,000、及び 12,500 ppm) 投与による亜急性神経毒性試験が実施された。

12,500 ppm 投与群の雌雄で体重増加抑制及び摂餌量低下が認められた。FOB、運動機能、眼科学的検査及び神経病理学的検査で検体投与の影響は認められなかった。

JMPR、EPA 及び EU では、有意差は認められなかったものの 12,500 ppm 投与群の雌における運動能低下及び歩行失調を投与による影響として評価している。

本試験において、12,500 ppm 投与群の雌雄で体重増加抑制等が認められたので、無毒性量は雌雄で 1,000 ppm (雄：70.3 mg/kg 体重/日、雌：87.3 mg/kg 体

重/日) であると考えられた。神経毒性は認められなかった。(参照: 2、4、5、6、8)

#### (5) 28日間亜急性経皮毒性試験(ラット) <参考資料>

Wistar ラット(一群雌雄各 5 匹)を用いた経皮(原体: 0 及び 1,000 mg/kg 体重/日)投与による 28 日間亜急性経皮毒性試験が実施された。

検体投与の影響は認められなかったため、無毒性量は本試験の最高用量の 1,000 mg/kg 体重/日であると考えられた。本試験は本剤の標的臓器(子宮、前立腺等)を含んだ組織学的検査が実施されていないため、参考資料とした。(参照: 4、5)

### 1.1. 慢性毒性試験及び発がん性試験

#### (1) 1年間慢性毒性試験(イヌ)

ビーグル犬(一群雌雄各 4 匹)を用いた混餌(原体: 0、20、50、150、500/600<sup>5</sup> ppm)投与による 1 年間慢性毒性試験が実施された。

600 ppm 投与群の雌雄で O-DEM の増加、同群雌で N-DEM 及び P450 の増加、150 ppm 以上投与群の雄で N-DEM の増加が認められたが、薬物代謝酵素誘導による変化であり毒性影響とは考えられなかった。

150 ppm 投与群の雄で精巣の絶対及び比重量増加が認められたが、同群では病理組織学的変化は認められなかったことから、検体投与の影響ではないと判断した。本試験において、150 ppm 以上投与群の雌雄で副腎皮質束状帯空胞化等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 50 ppm(雄: 1.38 mg/kg 体重/日、雌: 1.52 mg/kg 体重/日)であると考えられた。(参照: 2、4、5、6、8)

(副腎皮質の空胞形成及び雄生殖器への影響に関しては [14. (1)~(13)] を参照)

表 24 1 年間慢性毒性試験(イヌ)で認められた毒性所見

| 投与群        | 雄                                | 雌            |
|------------|----------------------------------|--------------|
| 600 ppm    | ・精巣の絶対重量及び比重量の増加<br>・ライディッヒ細胞空胞化 |              |
| 150 ppm 以上 | ・副腎皮質束状帯空胞化                      | ・副腎皮質束状帯空胞化* |
| 50 ppm 以下  | 毒性所見なし                           | 毒性所見なし       |

\*: 統計学的有意差なし

#### (2) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験(ラット)

Wistar ラット [本試験群: 一群雌雄各 50 匹、慢性毒性試験群: 一群雌雄各 10 匹(12 か月後に中間と殺)]を用いた混餌(原体: 0、50、100、350 及び 2,500

<sup>5</sup> 投与開始時は 500 ppm であったが、試験開始 4 週後に 600 ppm に増量した。



ppm) 投与による 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験が実施された。また、本試験群の雌雄各 10 匹 (衛星群) を用い、投与 77 週間後に FOB が実施された。

各投与群で認められた毒性所見 (非腫瘍性病変) を表 25 に、投与に関連して増加した腫瘍の発生頻度を表 26 に示した。

2,500 ppm 投与群の雄で T<sub>4</sub> 増加、同群雌で TSH 増加が認められたが、軽微な変化であり、これらのホルモンに関連すると考えられる異常が甲状腺ろ胞上皮細胞に認められないことから、毒性学的意義は低いものと考えられた。

腫瘍性病変では、2,500 ppm 投与群の雄でライディッヒ細胞腫が、雌で子宮腺癌の統計学的に有意な増加が認められた。

投与 77 週間後の FOB では検体投与の影響は認められなかった。

本試験において 2,500 ppm 投与群の雌雄で体重増加抑制等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 350 ppm (雄: 14.7 mg/kg 体重/日、雌: 19.9 mg/kg 体重) であると考えられた。(参照: 2、4、5、6、8)

(副腎皮質の空胞形成、雄生殖器への影響及び子宮癌の腫瘍発生メカニズムに関しては [14. (1) ~ (13)] を参照)

表 25 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット) で認められた毒性所見 (非腫瘍性病変)

| 投与群        | 雄                                                                                                                                                              | 雌                                                                                                                   |
|------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 2,500 ppm  | <ul style="list-style-type: none"> <li>・ 体重増加抑制</li> <li>・ ALP 増加</li> <li>・ 空腸上皮細胞空胞形成</li> <li>・ 副腎皮質の束状帯細胞のびまん性肥大及び空胞化</li> <li>・ ライディッヒ細胞限局性過形成</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>・ 体重増加抑制</li> <li>・ ALP 増加</li> <li>・ TG 減少</li> <li>・ 空腸上皮細胞空胞形成</li> </ul> |
| 350 ppm 以下 | 毒性所見なし                                                                                                                                                         | 毒性所見なし                                                                                                              |

表 26 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット) で認められた腫瘍性病変

| 性別             |           | 雄  |    |     |     |       | 雌  |    |     |     |       |
|----------------|-----------|----|----|-----|-----|-------|----|----|-----|-----|-------|
| 匹数             |           | 50 | 50 | 50  | 50  | 50    | 50 | 50 | 50  | 50  | 50    |
| 投与群 (ppm)      |           | 0  | 50 | 100 | 350 | 2,500 | 0  | 50 | 100 | 350 | 2,500 |
| 子宮             | 腺癌        |    |    |     |     |       | 4  | 5  | 3   | 2   | 14**  |
| 精巣             | ライディッヒ細胞腫 | 2  | 1  | 0   | 4   | 10**  |    |    |     |     |       |
| ライディッヒ細胞限局性過形成 |           | 4  | 4  | 4   | 7   | 19*   |    |    |     |     |       |

Fisher 検定; \*:p<0.05、\*\*:p<0.01

### (3) 18 か月間発がん性試験 (マウス)

ICR マウス (一群雌雄各 50 匹) を用いた混餌 (原体: 0、25、3,500 及び 7,000

ppm) 投与による 18 か月間発がん性試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見（非腫瘍性病変）は表 27 に、腫瘍の発生頻度は表 28 に示されている。

腫瘍性病変では、3,500ppm 以上投与群で肝細胞腺腫及び癌並びにその合計が雄で統計学的に有意に増加し、雌で増加傾向が認められた。

本試験において 3,500ppm 以上投与群の雌雄で副腎絶対及び比重量増加等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 25 ppm (雄:4.1 mg/kg 体重/日、雌:5.1 mg/kg 体重) であると考えられた。（参照：2、4、5、6、8）

（副腎皮質の空胞形成、雄生殖器への影響及び肝薬物代謝酵素活性への影響に関しては [14. (1)～(13)] を参照）

表 27 18 か月間発がん性試験（マウス）で認められた毒性所見（非腫瘍性病変）

| 投与群          | 雄                                                                                                                                                        | 雌                                                                                                       |
|--------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 7,000 ppm    | <ul style="list-style-type: none"> <li>・ 精巣絶対重量増加</li> <li>・ 副腎の色素沈着</li> <li>・ 精巣上体の無精子症</li> </ul>                                                     | <ul style="list-style-type: none"> <li>・ 肝絶対重量及び比重量増加</li> </ul>                                        |
| 3,500 ppm 以上 | <ul style="list-style-type: none"> <li>・ 副腎並びに肝絶対及び比重量増加</li> <li>・ 精巣比重量増加</li> <li>・ 副腎皮質空胞化</li> <li>・ 肝細胞肥大</li> <li>・ 精巣のライディッヒ細胞肥大又は過形成</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>・ 副腎絶対重量及び比重量増加</li> <li>・ 副腎皮質空胞化</li> <li>・ 副腎の色素沈着</li> </ul> |
| 25 ppm       | 毒性所見なし                                                                                                                                                   | 毒性所見なし                                                                                                  |

表 28 18 か月間発がん性試験（マウス）における腫瘍の発生頻度

| 性別        |         | 雄  |    |       |       | 雌  |    |       |       |
|-----------|---------|----|----|-------|-------|----|----|-------|-------|
| 投与群 (ppm) |         | 0  | 25 | 3,500 | 7,000 | 0  | 25 | 3,500 | 7,000 |
| 検査動物数     |         | 50 | 50 | 50    | 50    | 50 | 50 | 50    | 50    |
| 肝細胞       | 腺腫      | 0  | 0  | 5*    | 6*    | 0  | 0  | 3     | 1     |
|           | 癌       | 1  | 1  | 3     | 5*    | 0  | 0  | 2     | 2     |
|           | 腺腫/癌の合計 | 1  | 1  | 8*    | 10*   | 0  | 0  | 5*    | 3     |

Fisher 検定；\*:p<0.05

## 12. 生殖発生毒性試験

### (1) 2 世代繁殖試験（ラット）

Wistar ラット（一群雌雄各 25 匹）を用いた混餌（原体：0、70、350 及び 1,750 ppm）投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 29 に示されている。

親動物において、1,750 ppm 投与群で F<sub>1</sub> 雄の 4 例に精巣及び精巣上体の萎縮

が認められ、同世代では精子細胞数及び精子数の減少が認められた。上記 4 例の雄のうち 2 例では交尾が成立せず、残り 2 例では交尾は成立したが雌の妊娠は成立しなかった。

本試験において、親動物では 350 ppm 以上投与群の雄で体重増加抑制、雌で副腎皮質束状帯空胞化が、児動物では 350 ppm 以上投与群の雌雄で低体重等が認められたので、一般毒性に対する無毒性量は親動物及び児動物で雌雄とも 70 ppm (P 雄 : 5.2 mg/kg 体重/日、P 雌 : 5.5 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub> 雄 : 6.4 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub> 雌 : 7.0 mg/kg 体重/日) であると考えられた。また、1,750 ppm において生殖器官の萎縮及び精子数減少が認められたので、繁殖に対する無毒性量は、350 ppm (P 雄 : 26.2 mg/kg 体重/日、P 雌 : 27.6 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub> 雄 : 30.2 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub> 雌 : 34.4 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 : 2、4、5、6、8)

(副腎皮質の空胞形成及び雄生殖器への影響に関しては [14. (1) ~ (13)] を参照)

表 29 2 世代繁殖試験（ラット）で認められた毒性所見

| 投与群 |            | 親：P、児：F <sub>1</sub>                                                                                              |                                                                              | 親：F <sub>1</sub> 、児：F <sub>2</sub>                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                         |
|-----|------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|     |            | 雄                                                                                                                 | 雌                                                                            | 雄                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 雌                                                                                                                       |
| 親動物 | 1,750 ppm  | <ul style="list-style-type: none"> <li>・副腎皮質束状帯空胞化（粗大）*</li> <li>・空腸絨毛末端部の細胞質空胞化*</li> <li>・副腎及び精巣比重増加</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制</li> <li>・副腎比重増加</li> </ul>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制</li> <li>・ALP 増加</li> <li>・UFA 減少</li> <li>・精巣上体及び前立腺絶対重量減少</li> <li>・精囊、前立腺、精巣上体及び精巣の小型化</li> <li>・精巣及び精巣上体のび慢性萎縮*（生殖細胞無形成、ライディッヒ細胞増生）</li> <li>・精子数及び精子細胞数減少</li> <li>・精巣上体で精子減少症</li> <li>・副腎比重増加</li> <li>・副腎皮質束状帯空胞化（粗大）*</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制</li> <li>・ALP 増加</li> <li>・Chol 及び TG 減少</li> <li>・副腎絶対及び比重増加</li> </ul> |
|     | 350 ppm 以上 | ・体重増加抑制                                                                                                           | ・副腎皮質束状帯空胞化（微細）*                                                             | ・Chol 及び TG 減少                                                                                                                                                                                                                                                                           | <ul style="list-style-type: none"> <li>・UFA 減少</li> <li>・副腎皮質束状帯空胞化（微細）*</li> </ul>                                     |
|     | 70 ppm     | 毒性所見なし                                                                                                            | 毒性所見なし                                                                       | 毒性所見なし                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 毒性所見なし                                                                                                                  |
| 児動物 | 1,750 ppm  | ・包皮分離遅延                                                                                                           |                                                                              | ・低体重（新生児）                                                                                                                                                                                                                                                                                | <ul style="list-style-type: none"> <li>・同腹児重量減少（離乳時）</li> <li>・体重増加抑制</li> </ul>                                        |
|     | 350 ppm 以上 | <ul style="list-style-type: none"> <li>・低体重（出生時）</li> <li>・体重増加抑制</li> </ul>                                      | <ul style="list-style-type: none"> <li>・低体重（出生時）</li> <li>・体重増加抑制</li> </ul> | ・低体重（出生時）                                                                                                                                                                                                                                                                                | ・低体重（出生時）                                                                                                               |
|     | 70 ppm     | 毒性所見なし                                                                                                            | 毒性所見なし                                                                       | 毒性所見なし                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 毒性所見なし                                                                                                                  |

\*：有意差なし

## （２）発生毒性試験（ラット）

Wistar ラット（一群雌 28 匹）の妊娠 6～19 日に強制経口（原体：0、100、300 及び 1,000 mg/kg 体重/日、溶媒：0.5%CMC 水溶液）投与して発生毒性試験が実施された。

母動物及び胎児で検体投与の影響は認められなかったので、本試験における無毒性量は、母動物及び胎児で本試験の最高用量 1,000 mg/kg 体重/日であると考えられた。催奇形性は認められなかった。（参照：2、4、5、6、8）

## （３）発生毒性試験（ウサギ）

ヒマラヤンウサギ（一群雌 16 匹）の妊娠 6～28 日に強制経口（原体：0、100、

300 及び 1,000 mg/kg 体重/日、溶媒：0.5%CMC 水溶液）投与して発生毒性試験が実施された。

母動物では 1,000 mg/kg 体重/日投与群に脱毛、退色尿、飲水量・尿量減少が、また 1 例で流産が認められた。300 mg/kg 体重/日以上投与群で摂餌量低下、糞排泄量減少及び体重増加抑制が認められた。

胎児では検体投与の影響は認められなかった

本試験における無毒性量は母動物で 100 mg/kg 体重/日、胎児で本試験の最高用量 1,000 mg/kg 体重/日であると考えられた。催奇形性は認められなかった。

（参照：2、4、5、6、8）

#### （4）発達神経毒性試験①（ラット）

Wistar ラット（一群雌 30 匹）の雌動物の妊娠 0 日から児動物の哺育 21 日まで混餌（原体：0、70、350 及び 1,500 ppm）投与して出生児について発達神経毒性試験が実施された。

母動物では、1,500 ppm 投与群の哺育期間中で体重増加抑制が認められた。母動物の FOB に検体投与による影響は認められなかった。

児動物では、1,500 ppm 投与群の哺育期間中で体重増加抑制及び摂餌量低下が認められた。児動物の FOB、神経行動学的検査、神経組織の病理組織学的検査等に検体投与による影響は認められなかった。児動物（各腹雌雄各 1 匹）で実施されたモリス水迷路試験の 70 及び 350 ppm 投与群の雌において、記憶保持段階の基準達成までの試行数が有意に増加したが、用量相関性がなかったことから、偶発的なもので投与による影響とは考えられなかった。

本試験において、1,500 ppm 投与群の母動物及び児動物で哺育期間中の体重増加抑制等が認められたので、無毒性量は母動物及び児動物ともに 350 ppm（32.1 mg/kg 体重/日）であると考えられた。発達神経毒性は認められなかった。

（参照：2、4、5、6、8）

#### （5）発達神経毒性試験②（ラット）

Wistar ラット（一群雌 30 匹）の雌動物の妊娠 0 日から児動物の哺育 21 日まで混餌（原体：0、70、350 及び 1,500 ppm）投与して出生児について発達神経毒性試験が実施された。本試験は、先に実施された発達神経毒性試験①[12. (4)]において認められた脳の形態変化及び記憶学習能への影響を確認するため実施された。

母動物では、検体投与による影響は認められなかった。

児動物では、1,500 ppm 投与群の雌雄で哺育期間中の体重増加抑制、同群の雄で離乳後の体重増加抑制が認められた。児動物（各腹雌雄各 1 匹）で、モリス水迷路試験に加えてシンシナティ水迷路試験が実施されたが、検体投与による影響は認められなかった。児動物（一群雌雄各 10 匹）で脳重量の測定及び脳の計

測（肉眼的及び鏡検的）が実施されたが、検体投与による影響は認められなかった。

本試験において、母動物では検体投与による影響は認められず、1,500 ppm 投与群の児動物で哺育期間中の体重増加抑制等が認められたので、無毒性量は母動物で本試験の最高用量 1,500 ppm (119 mg/kg 体重/日)、児動物で 350 ppm (28.6 mg/kg 体重/日) であると考えられた。発達神経毒性は認められなかった。（参照：2、6、8）

### 13. 遺伝毒性試験

スピロジクロフェン（原体）の細菌を用いた復帰突然変異試験、チャイニーズハムスター由来 V79 細胞を用いた遺伝子突然変異試験及び染色体異常試験並びにマウスを用いた小核試験が実施された。

結果は表 30 に示されているとおり、すべて陰性であった。スピロジクロフェンに遺伝毒性はないものと考えられた。（参照：2、4、5、6、8）

表 30 遺伝毒性試験結果概要（原体）

| 試験              | 対象                                                                                                                   | 投与量・処理濃度                                | 結果 |
|-----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|----|
| <i>in vitro</i> | 復帰突然変異試験<br><i>Salmonella typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、TA1537 株)<br><i>Escherichia coli</i> (WP2uvrA/pKM101 株) | 313～5,000* µg/プレート (+/-S9)              | 陰性 |
|                 | 遺伝子突然変異試験<br>チャイニーズハムスター由来 V79 細胞 ( <i>Hprt</i> 遺伝子)                                                                 | 4～20 µg/mL (-S9)<br>10～80 µg/mL (+S9)   | 陰性 |
|                 | 染色体異常試験<br>チャイニーズハムスター由来 V79 細胞                                                                                      | 0.75～3 µg/mL (-S9)<br>20～80 µg/mL (+S9) | 陰性 |
| <i>in vivo</i>  | 小核試験<br>NMRI マウス（骨髄細胞）<br>（一群雌雄各 5 匹）                                                                                | 800 mg/kg 体重<br>（1 回腹腔内投与）              | 陰性 |

+/-S9：代謝活性化系存在下及び非存在下

\*：2,500 µg/プレート以上で針状結晶が析出

代謝物 M1、M9 及び M14 の細菌を用いた復帰突然変異試験が実施された。

結果は表 31 に示されているとおり、試験結果はすべて陰性であった。（参照：2、4、8）

表 31 遺伝毒性試験結果概要（代謝物）

| 代謝物 | 試験       | 対象                                                                          | 処理濃度・投与量                     | 結果 |
|-----|----------|-----------------------------------------------------------------------------|------------------------------|----|
| M1  | in vitro | 復帰突然変異試験<br><i>S. typhimurium</i><br>(TA98、TA100、TA102、<br>TA1535、TA1537 株) | 16～5,000 µg/プレート<br>(+/-S9)  | 陰性 |
| M9  |          | 復帰突然変異試験<br><i>S. typhimurium</i><br>(TA98、TA100、TA102、<br>TA1535、TA1537 株) | 16～5,000 µg /プレート<br>(+/-S9) | 陰性 |
| M14 |          | 復帰突然変異試験<br><i>S. typhimurium</i><br>(TA98、TA100、TA102、<br>TA1535、TA1537 株) | 5～5,000 µg /プレート<br>(+/-S9)  | 陰性 |

+/-S9：代謝活性化系存在下及び非存在下

#### 1 4. その他の試験

スピロジクロフェンの投与により、ラット、マウス及びイヌの副腎及び精巣等に病理組織学的変化が認められ、ラットを用いた 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験の雄でライディッヒ細胞腫が、雌で子宮腺癌が増加、マウスを用いた 18 か月発がん性試験の雌雄で肝細胞腺腫及び癌並びにその合計に増加が認められた。スピロジクロフェン及び代謝物のステロイド合成阻害及び肝薬物代謝酵素活性への影響を検討する以下のメカニズム試験が実施された。

##### （1）2 年間慢性毒性/発がん性併合試験（ラット）におけるスピロジクロフェン及び代謝物 M1 の血漿中濃度

2 年間慢性毒性/発がん性併合試験（ラット）[11. (2)] において各投与群（雌雄 10 匹）の投与 82 週間後の血漿が採取され、スピロジクロフェン及び M1 の濃度が測定された。

血漿中にスピロジクロフェンは検出されず、M1 は用量依存的に 0.4～64.2 nmol/mL 存在した。スピロジクロフェンは血漿及び肝臓中で容易に M1 に分解されると考えられた。（参照：2、8）

##### （2）ラットにおけるスピロジクロフェン及び代謝物 M1 の血漿中濃度並びに副腎及び肝臓中の Chol 及び TG 測定

Wistar ラット（一群雄 10 匹）に 4 週間混餌（原体：0、1,000 及び 5,000 ppm）投与し、スピロジクロフェン及び M1 の血漿中濃度並びに副腎及び肝臓中の Chol 及び TG を測定する試験が実施された。

スピロジクロフェンは速やかに代謝され M1 に変換されるため、血漿中にスピロジクロフェンは検出されず、M1 のみが検出された。

副腎中の Chol 濃度増加には用量相関性があり、統計学的有意差が認められた。肝臓中の Chol 及び TG 濃度に変化は認められなかった。

ある種のステロイド合成阻害剤により惹起された副腎皮質の病変は、未代謝の

ステロイド前駆体が細胞質に過剰に蓄積し、皮質細胞の肥大を特徴とする<sup>6</sup>と考えられており、本試験における副腎中 Chol 増加と副腎皮質の空胞化との関連が示唆された。（参照：2、8）

### （3）1 年間慢性毒性試験（イヌ）におけるスピロジクロフェン及び代謝物 M1 の血漿及び尿中濃度

1 年間慢性毒性試験（イヌ） [11. (1)] において 600 ppm 投与群の投与 20 週間後の血漿（雌雄各 4 匹、投与 0～24 時間後）及び投与 28 週間後の尿（雄 1 匹、雌 3 匹、投与後 5 時間）が採取され、スピロジクロフェン及び M1 の濃度が測定された。

血漿中にスピロジクロフェンは検出されず、M1 は投与 7 及び 24 時間後で 25.0～32.4 nmol/mL で維持され、M1 は血漿中に一定濃度で存在していると考えられた。

尿中のスピロジクロフェンは、尿の容量不足により測定不能であった。尿中に M1 は 0.05～0.46 µmol/mL 認められた。（参照：2、8）

### （4）イヌにおける 8 週間混餌投与による Chol、ホルモン等への影響

ビーグル犬（一群雄 5 匹）に 8 週間混餌（原体：0、100 及び 2,000 ppm）投与し、Chol 及びホルモンへの影響を確認する試験が実施された。

2,000 ppm 投与群で AST、ALT、ALP 及び GDH 増加が認められた。投与により、血中テストステロンには有意な変動はみられなかったが、LH 値は 2,000 ppm 投与群で投与期間を通じ対照群の 2 倍程度以上に上昇した。肝臓組織中では 2,000 ppm 投与群で ECOD 及び ALD 増加が認められたほか、テストステロンの水酸化反応では 16 $\alpha$ -水酸化酵素の増加が僅かに認められたが、雄生殖器の病態をテストステロンの水酸化反応の誘導だけでは説明できないと考えられた。

2,000 ppm 投与群では血漿中 Q10 減少並びに血漿中及び肝臓中の $\alpha$ -トコフェロール濃度減少が認められ、HMG-CoA レダクターゼへの作用が考えられたが、非常に僅かであったため、イヌの雄生殖器で認められた所見を説明できるとは考えられなかった。

他に 2,000 ppm 投与群の精巣でライディッヒ細胞の肥大及び空胞化並びに胚上皮変性、100ppm 以上投与群の副腎で副腎皮質空胞化が認められた。

以上より、スピロジクロフェン投与は、テストステロン代謝系よりステロイド合成系に変動を及ぼすことが示唆された。（参照：2、4、8）

### （5）ラットにおける 19 週間混餌投与によるホルモン濃度への影響

Wistar ラット（一群雌 15 匹）に 19 週間混餌（原体：0、2,500 及び 10,000 ppm）

<sup>6</sup> Capen, C.C. *et al.* (1991), Endocrine System, Handbook of Toxicological Pathology, 675-697, Academic Press, Inc.



投与し、ホルモン濃度（テストステロン、E2、LH、PROG、E/P 比、発情間期に測定）等への影響を確認する試験が実施された。

10,000 ppm 投与群では、E2 及び PROG の減少が認められ、スピロジクロフェン投与の影響と考えられた。PROG 減少に伴い投与 13 及び 17 週後で E/P 比が増加した。また、同群では副腎比重量の増加が認められた。試験期間中、E/P 比の増加あるいは増加傾向が 10,000 ppm で認められた。なお、E2 及び PROG の減少はスピロジクロフェン投与終了後には回復が認められた。

E/P 比の持続的な上昇、すなわち相対的な高エストロゲン状態の持続はラット子宮癌の発生を増加させると報告<sup>7</sup>されている。本剤投与による持続発情の発現は確認されていないものの、ラット発がん性試験において膈の角化を示す個体が増加している。これらの結果を考え併せた結果、ラット発がん性試験で観察された子宮癌増加の機序として、投与により生じた相対的な高エストロゲン状態の持続が関連している可能性が示唆された。（参照：2、3、8）

#### （6）スピロジクロフェン及び代謝物（M1 及び M4）の ER 結合試験、ER 及び AR 転写活性化試験

スピロジクロフェン投与による副腎及び精巣への組織学的変化が ER 又は AR を介した内分泌かく乱作用によるものか調べるため、ER 結合試験、ER 及び AR 転写活性化試験が実施された。

スピロジクロフェン、M1 及び M4 にヒト ER $\alpha$ 及び $\beta$ に対する親和性は認められなかった。

スピロジクロフェン、M1 及び M4 には、ヒト乳癌由来細胞（MCF-7）及びヒト前立腺癌由来細胞（PC-3）を用いたルシフェラーゼ遺伝子をレポーターに組み込んだ転写活性化試験において、ER 又は AR を介した転写活性が認められなかったことからホルモン作用はないと考えられた。（参照：2、5、8）

#### （7）スピロジクロフェン及び代謝物（M1）のコレステロールエステラーゼ阻害作用（*in vitro*試験）

スピロジクロフェン投与によってステロイド産生組織におけるステロイド合成の干渉作用の作用機作にコレステロールエステラーゼへの影響が関与するか検討された。

スピロジクロフェン及び M1 のコレステロールエステラーゼ活性が Shoupe らの方法<sup>8</sup>の改良法によって測定され、スピロジクロフェン及び M1 の IC<sub>50</sub> 値が測定された。

<sup>7</sup> Maekawa, A., Ando, J., Takahashi, M., Yoshida, M. (1999). Uterine carcinogenesis by chemicals/hormones in rodents. J Toxicol Pathol, 12:1-11.

<sup>8</sup> Shoupe TS *et al.* (1980) The nature of the inhibition of cholesterol esterase by delta 1-tetrahydrocannabinol. Mol Pharmacol 15:633-640

スピロジクロフェンは濃度依存的にコレステロールエステラーゼを阻害し、IC<sub>50</sub>は12~43 μMであった。M1のコレステロールエステラーゼ阻害活性は非常に低く、生体中で意味がある阻害活性とは考えられなかった。

スピロジクロフェンは投与された動物の血中では検出されず、血漿中の主な成分はM1であった。したがって、スピロジクロフェンを投与した動物におけるステロイドホルモンの合成に対する干渉はコレステロールエステラーゼの段階では説明がつかず、むしろ別の作用機作であると考えられた。(参照：2、8)

#### (8) ラット動的精巣細胞組織培養系におけるスピロジクロフェン及び代謝物 (M1、M3 及び M4) のステロイド産生に対する影響

スピロジクロフェンによるステロイド合成の干渉作用は、スピロジクロフェン及び代謝物 (M1 及び M4) の ER 結合試験、ER 及び AR 転写活性化試験[14. (6)]より核内の性ホルモンレセプターを介した作用ではないことが示されたため、その作用機作を検討するためにラット動的精巣細胞培養系<sup>9</sup>を用いたスピロジクロフェン及び代謝物 (M1、M3 及び M4) のテストステロン合成への影響が検討された。

スピロジクロフェンのテストステロン合成の抑制作用は変動が大きく、明確に示されなかった。

主要代謝物 M1 は、ラット動的精巣細胞培養系でテストステロン合成を強く抑制し、M3 及び M4 には弱い抑制作用が認められた。

スピロジクロフェンを投与した動物の血漿中にスピロジクロフェン、M3 及び M4 は認められず、主要成分は M1 であったことから、M1 がミトコンドリアへのコレステロール輸送より下流でステロイド合成を干渉すると考えられた。(参照：2、8)

#### (9) 精巣ミクロソーム画分におけるスピロジクロフェン及び代謝物 (M1、M3 及び M4) のデヒドロゲナーゼに対する影響 (*in vitro* 試験)

スピロジクロフェン及び代謝物 (M1、M3 及び M4) のチトクローム P-450 依存ミクロソームデヒドロゲナーゼへの影響が検討された。

Wistar ラット精巣のミクロソーム画分を用いて、スピロジクロフェン及び代謝物 (M1、M3 及び M4) の 3β-ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ-Δ<sup>4</sup>, 5-イソメラーゼ及び 17β-ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ活性の阻害率が測定された。

その結果、スピロジクロフェン、M1、M3 及び M4 の 17β-ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ活性に対する影響は認められなかった。スピロジクロフェ

<sup>9</sup> Smith PF *et al.* (1986) Maintenance of adult rat liver slices in dynamic organ culture. *In Vitro Cellular & Developmental Biology* 22:706-712

ンは、 $3\beta$ -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ- $\Delta^4,5$ -イソメラーゼに対して弱い阻害活性を示したが、M1、M3 及び M4 は阻害しなかった。

スピロジクロフェンを投与した動物の血漿中にスピロジクロフェンは検出されないことから、生体内でスピロジクロフェンが  $3\beta$ -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ- $\Delta^4,5$ -イソメラーゼを阻害することによって、ステロイド合成を干渉するとは考えられなかった。（参照：2、8）

#### (10) 精巣ミクロソーム画分におけるスピロジクロフェン及び代謝物 M1 のモノオキシゲナーゼに対する影響 (*in vitro* 試験)

スピロジクロフェン及び M1 のチトクローム P-450 依存ミクロソームモノオキシゲナーゼ ( $17\alpha$ -モノオキシゲナーゼ、C-17 及び  $20\alpha$ -リアーゼ) への影響が検討された。

Wistar ラット精巣のミクロソーム画分を用いて、スピロジクロフェン及び M1 の  $17\alpha$ -モノオキシゲナーゼ、C-17 及び  $20\alpha$ -リアーゼ活性の阻害率が測定された。

その結果、スピロジクロフェン及び M1 について、 $17\alpha$ -モノオキシゲナーゼ、C-17 及び  $20\alpha$ -リアーゼに対する影響は認められなかったことから、スピロジクロフェン投与ラットの血漿中 PROG 低下は、ミクロソームモノオキシゲナーゼ阻害によるものではないと考えられた。（参照：2、8）

#### (11) ラット動的精巣細胞組織培養系におけるスピロジクロフェン及び代謝物 (M1、M3 及び M4) のリンゴ酸デヒドロゲナーゼへの影響 (*in vitro* 試験)

精巣ミクロソーム画分におけるスピロジクロフェン及び代謝物 (M1、M3 及び M4) のデヒドロゲナーゼに対する影響 (*in vitro* 試験) [14. (9)] から、主要代謝物 M1 は、ラット精巣細胞のテストステロン合成において、コレステロールのミトコンドリアへの輸送よりも下流を阻害すると考えられた。このことから、スピロジクロフェン及び M1 のミトコンドリアにおけるコレステロール側鎖切断への影響について検討された。

Wistar ラット精巣のミトコンドリア画分を用いて、スピロジクロフェン及び代謝物 (M1、M3 及び M4) のコレステロール側鎖切断が検討された結果、M1 のみにコレステロール側鎖切断の抑制が認められた。

スピロジクロフェン及び代謝物 (M1、M3 及び M4) のミクロソームデヒドロゲナーゼに対する影響 (*in vitro* 試験) [14. (9)] の結果から M1 の作用点は、チトクローム P-450 依存ミトコンドリアのコレステロール側鎖切断酵素 ( $P-450_{sc}$ ) との直接の作用ではないことから、ミトコンドリアのチトクローム  $P-450_{sc}$  に NADPH を供給するミトコンドリアのリンゴ酸デヒドロゲナーゼ及び細胞質のリンゴ酸—クエン酸シャトルの下流のリンゴ酸デヒドロゲナーゼへの影響が検討された。その結果、M1 はミトコンドリア及び細胞質でリンゴ酸デヒドロゲナーゼを阻害すると考えられた。

スピロジクロフェンによるテストステロン合成抑制は、代謝物 M1 によるミトコンドリア及び細胞質におけるリンゴ酸デヒドロゲナーゼアイソザイム阻害によるコレステロール側鎖切断酵素 (P-450<sub>sc</sub>) への NADPH 供給の抑制と考えられた。(参照：2、8)

### (12) 代謝物 M1 のラット精巣ミトコンドリア内の NADH 及び NADPH の量に対する影響

ラット動的精巣細胞組織培養系におけるスピロジクロフェン及び代謝物 (M1、M3 及び M4) のリンゴ酸デヒドロゲナーゼへの影響 (*in vitro* 試験) [14. (11)] から、M1 はミトコンドリア及び細胞質のリンゴ酸デヒドロゲナーゼを阻害し、コレステロール側鎖切断酵素 (P-450<sub>sc</sub>) へ NADPH の供給を抑制することによって、ステロイド合成を干渉すると考えられたので、代謝物 M1 の NADH 及び NADPH 量に与える影響が検討された。

その結果、M1 はラット精巣ミトコンドリア画分のリンゴ酸デヒドロゲナーゼを競合的に阻害し、NADH 濃度の低下に続き NADPH 濃度を低下させると考えられた。(参照：2、8)

### (13) スピロジクロフェン投与マウスにおける肝薬物代謝酵素及びステロイド合成系遺伝子の発現への影響

18 か月間発がん性試験 (マウス) [11. (3)] のマウス肝臓で認められた腫瘍と肝薬物代謝酵素の誘導との関連性を調べるために ICR マウス (一群雌雄各 10 匹) に 2 週間混餌 (原体：0、500、3,500 及び 7,000 ppm) 投与し、投与 2 週間後に肝薬物代謝酵素 (ECOD、EROD、ALD、EH、GST 及び GLUT) 活性が測定された。また、ステロイドホルモン産生組織における病変とステロイド合成系酵素の関連を調べるために、副腎及び精巣におけるステロイド合成系の 9 遺伝子の発現が定量 PCR で測定された。

スピロジクロフェン投与により肝臓の薬物代謝酵素の誘導が認められ、7,000 ppm 投与群の雌で EROD、ALD 及び EH 増加、3,500 ppm 以上投与群の雄で ECOD、EROD 及び ALD 増加、雌で ECOD 及び GST 増加が認められた。7,000 ppm 投与群の雌雄では肝臓の絶対及び比重量増加が認められた。

ステロイド合成系関連の 9 遺伝子の発現抑制は認められなかったが、7,000 ppm 投与群では *Cyp11a1*<sup>10</sup>、*cytochrome P450 17-alpha hydroxylase/ C17-20 lyase* (*Mus musculus*)、*Cyp11b2*<sup>11</sup> 及び *Cyp21a1*<sup>12</sup> の発現が上昇しており、ステロイド合成阻害に対する代償作用が示唆された。(参照：2、8)

<sup>10</sup> cytochrome P450, family 11, subfamily a, polypeptide 1 (*Mus musculus*)

<sup>11</sup> cytochrome P450, family 11, subfamily b, polypeptide 2 (*Mus musculus*)

<sup>12</sup> cytochrome P450, family 21, subfamily a, polypeptide 1 (*Mus musculus*)

#### メカニズム試験のまとめ

スピロジクロフェン及び代謝物のステロイド合成阻害及び肝薬物代謝酵素活性への影響を検討するため実施された多くのメカニズム試験より、スピロジクロフェン及び代謝物は、核内の ER 又は AR を介したホルモン作用を有さず、ステロイド合成阻害を示すと考えられた。動物に投与されたスピロジクロフェンは、速やかに代謝され血中には検出されないことから、作用発現には主要代謝物 M1 が寄与すると考えられた。

スピロジクロフェンによるステロイド合成阻害は、M1 によるミトコンドリア及び細胞質におけるリンゴ酸デヒドロゲナーゼアイソザイム阻害によるコレステロール側鎖切断酵素 (P-450<sub>sc</sub>) への NADPH 供給減少によるコレステロール利用の低下によると考えられた。

ラット、イヌ及びマウスで認められた精巣毒性は上記のメカニズムによる可能性が高いと考えられた。ラットの精巣ライディッヒ細胞腫の発がんメカニズムにもこのステロイド合成阻害が係わっている可能性もあるが、発がん機序の詳細は明らかにならなかった。ラット子宮癌増加の機序として、相対的な高エストロゲン状態の持続が関連している可能性が示唆された。マウスでは肝薬物代謝酵素が誘導されたが、肝腫瘍増加との関連は明らかにはなかった。

### Ⅲ. 食品健康影響評価

参照に挙げた資料を用いて、農薬「スピロジクロフェン」の食品健康影響評価を実施した。

$^{14}\text{C}$  で標識されたスピロジクロフェンのラットを用いた動物体内運命試験において、尿、胆汁及び胃腸管を除く動物体中の残留放射能から推定された吸収率は、雄で 62.4%であった。投与後 48 時間で 90%TRR 以上が尿及び糞中へ排泄された。低用量投与群の主要排泄経路は尿中であり、高用量投与群では糞中排泄率が尿中よりも高く、高用量では消化管からの吸収が不完全であると考えられた。

$^{14}\text{C}$  で標識したスピロジクロフェンの畜産動物（ヒツジ）を用いた動物体内運命試験の結果、組織中の残留放射能には未変化のスピロジクロフェンは認められず、M1 が 80%TRR 以上（筋肉：0.057  $\mu\text{g/g}$ 、脂肪：0.121  $\mu\text{g/g}$ 、腎臓 2.78  $\mu\text{g/g}$ 、肝臓 0.633  $\mu\text{g/g}$ 、乳汁：0.097  $\mu\text{g/g}$ ）認められた。

$^{14}\text{C}$  で標識されたスピロジクロフェンを用いた植物体内運命試験の結果、残留放射能の主要成分はスピロジクロフェンであり、配糖体 M13 が 12.2%TRR（0.14  $\text{mg/kg}$ ）認められた以外に 10%TRR を超える代謝物は認められなかった。

国内で実施された試験におけるスピロジクロフェンの最高値は、最終散布 14 日後に収穫された茶（荒茶）の 12.0  $\text{mg/kg}$  であった。また、代謝物 M9 はいずれも 0.04  $\text{mg/kg}$  未満、M12 及び M13 の合計値の最高値は最終散布 28 日後に収穫された温州みかん（果皮）の 0.76  $\text{mg/kg}$  であった。

海外で栽培されている農産物において、スピロジクロフェンの最高値は、最終散布 14 日後に収穫されたホップ（毬花）の 24  $\text{mg/kg}$  であった。

各種毒性試験結果から、スピロジクロフェン投与による影響は、主に副腎（皮質空胞化）及び精巣（ライディッヒ細胞肥大等）に認められた。催奇形性、神経毒性、発達神経毒性及び遺伝毒性は認められなかった。発がん性試験において、ラットの雄でライディッヒ細胞腫が、雌で子宮腺癌が増加、マウスの雄で肝細胞腺腫及び癌が増加したが、遺伝毒性試験ではすべて陰性の結果が得られており、ラット及びマウスで認められた腫瘍発生機序は遺伝毒性によるものとは考え難く、評価に当たり閾値を設定することは可能であると考えられた。2 世代繁殖試験において、 $\text{F}_1$  世代の雄に生殖器官の萎縮及び精子数減少など繁殖への影響が認められた。

各種試験結果から、農産物中の暴露評価対象物質をスピロジクロフェン（親化合物のみ）、畜産物中の暴露評価対象物質をスピロジクロフェン及び M1 と設定した。

各評価機関の評価結果及び各試験における無毒性量等は表 32 に示されている。

イヌを用いた 90 日間亜急性毒性試験の雌で無毒性量が設定できなかったが、より低い用量で長期間検討された 1 年間慢性毒性試験では無毒性量が設定できた（雄 1.38  $\text{mg/kg}$  体重/日、雌 1.52  $\text{mg/kg}$  体重/日）。

食品安全委員会は、各試験の無毒性量のうち最小値がイヌを用いた 1 年間慢性毒性試験の 1.38  $\text{mg/kg}$  体重/日であったことから、これを根拠として、安全係数 100

で除した 0.013 mg/kg 体重/日を ADI と設定した。

|              |                  |
|--------------|------------------|
| ADI          | 0.013 mg/kg 体重/日 |
| (ADI 設定根拠資料) | 慢性毒性試験           |
| (動物種)        | イヌ               |
| (期間)         | 1 年間             |
| (投与方法)       | 混餌               |
| (無毒性量)       | 1.38 mg/kg 体重/日  |
| (安全係数)       | 100              |

暴露量については、当評価結果を踏まえて暫定基準値の見直しを行う際に確認することとする。

表 32 各評価機関の評価結果及び各試験における無毒性量等

| 動物種 | 試験                      | 投与量<br>(mg/kg 体重/日)                                      | 無毒性量 (mg/kg 体重/日) <sup>1)</sup>                                                         |                                             |                                                           |                                                                                                 |
|-----|-------------------------|----------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|
|     |                         |                                                          | JMPR                                                                                    | 米国                                          | EU                                                        | 食品安全委員会                                                                                         |
| ラット | 90日間<br>重急性<br>毒性試験     | 0、100、500、2,500、<br>12,500 ppm                           |                                                                                         | 雄：32.1<br>雌：8.1<br><br>雌雄：副腎皮質細胞質の<br>小空胞化等 | 雌雄：8.1<br><br>雄：詳細不明<br>雌：副腎皮質細胞質の<br>小空胞化                | 雄：32.1<br>雌：8.1<br><br>雌雄：副腎皮質細胞質<br>の小空胞化等                                                     |
|     |                         | 雄：0、6.6、32.1、<br>167、851<br>雌：0、8.1、47.1、<br>215、996     |                                                                                         |                                             |                                                           | 雌雄：副腎皮質細胞質<br>の小空胞化等                                                                            |
| マウス | 90日間<br>重急性<br>毒性試験     | 0、100、1,000、<br>12,500 ppm                               |                                                                                         | 雄：70.3<br>雌：87.3<br><br>雌雄：体重増加抑制等          | 雌雄：70<br><br>雌雄：四肢伸展減少等                                   | 雄：70.3<br>雌：87.3<br><br>雌雄：体重増加抑制等                                                              |
|     |                         | 雄：0、7.2、70.3、<br>1090<br>雌：0、9.1、87.3、<br>1310           |                                                                                         | (神経毒性は認められ<br>ない)                           | (神経毒性は認められ<br>ない)                                         | 一般毒性<br>雄：70.3<br>雌：87.3<br><br>神経毒性<br>雄：1090<br>雌：1310<br><br>雌雄：体重増加抑制等<br>(神経毒性は認められ<br>ない) |
| ラット | 2年間<br>慢性毒<br>発がん<br>試験 | 0、50、100、350、<br>2,500 ppm                               | 一般毒性：4.1<br>発がん性：14.7<br><br>一般毒性：雄でライディ<br>ッヒ細胞過形成<br>(雄でライディッヒ細胞<br>腫増加、雌で子宮腺癌<br>増加) | 雄：14.7<br>雌：19.9<br><br>雌雄：体重増加抑制等          | 雌雄：5.9<br><br>雌雄：詳細不明<br>(雄でライディッヒ<br>細胞腫増加、雌で子宮<br>腺癌増加) | 雄：14.7<br>雌：19.9<br><br>雌雄：体重増加抑制等<br>(雄でライディッヒ細<br>胞腫増加、雌で子宮腺<br>癌増加)                          |
|     |                         | 雄：0、2.04、4.11、<br>14.7、110<br>雌：0、2.87、5.93、<br>19.9、153 |                                                                                         |                                             |                                                           | 雌雄：体重増加抑制等<br>(雄でライディッヒ細<br>胞腫増加、雌で子宮腺<br>癌増加)                                                  |



| 動物種          | 無毒性量 (mg/kg 体重/日) <sup>1)</sup> |                               |                                                                               |          |                                                                               | 参考資料<br>(農薬抄録)                 |
|--------------|---------------------------------|-------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|----------|-------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|
|              | 投与量<br>(mg/kg 体重/日)             | JMPR                          | 米国                                                                            | EU       | 食品安全委員会                                                                       |                                |
|              |                                 | 増加)                           |                                                                               |          |                                                                               |                                |
| 2 世代<br>繁殖試験 | 0、70、350、1,750 ppm              | 親動物<br>雌雄：5.2                 | 親動物<br>P 雄：5.2<br>P 雌：5.5<br>F <sub>1</sub> 雄：6.4<br>F <sub>1</sub> 雌：7.0     | 親動物：-    | 親動物<br>P 雄：5.2<br>P 雌：5.5<br>F <sub>1</sub> 雄：6.4<br>F <sub>1</sub> 雌：7.0     | 親動物<br>雄：5.2<br>雌：5.5          |
|              | 135                             | 見動物<br>雌雄：26.2                |                                                                               | 繁殖能：26.2 |                                                                               | 見動物<br>雄：5.2<br>雌：5.5          |
|              | 139                             | 繁殖能：5.2                       | 見動物                                                                           | 親動物：詳細不明 | 見動物                                                                           | 繁殖能<br>雄：26.2<br>雌：27.6        |
|              | F <sub>1</sub> 雄：0、6.4、30.2、178 | 親動物：体重増加抑制等                   | P 雄：5.2<br>P 雌：5.5<br>F <sub>1</sub> 雄：6.4<br>F <sub>1</sub> 雌：7.0            | 見動物：詳細不明 | P 雄：5.2<br>P 雌：5.5<br>F <sub>1</sub> 雄：6.4<br>F <sub>1</sub> 雌：7.0            |                                |
|              | F <sub>2</sub> 雌：0、7.0、34.4、193 | 見動物：体重増加抑制                    |                                                                               | 繁殖能：詳細不明 |                                                                               |                                |
|              |                                 | 繁殖能<br>雄：性成熟遅延等<br>雌：黄体細胞空胞化等 | 繁殖能<br>P 雄：26.2<br>P 雌：27.6<br>F <sub>1</sub> 雄：30.2<br>F <sub>1</sub> 雌：34.4 |          | 繁殖能<br>P 雄：26.2<br>P 雌：27.6<br>F <sub>1</sub> 雄：30.2<br>F <sub>1</sub> 雌：34.4 | 親動物<br>雄：体重増加抑制<br>雌：副腎皮質束状空胞化 |
|              |                                 |                               | 親動物<br>P 雄：体重増加抑制等<br>P 雌：副腎皮質空胞化<br>F <sub>1</sub> 雌雄：副腎皮質空胞化等               |          | 親動物<br>雄：体重増加抑制等<br>雌：副腎皮質束状空胞化等                                              | 見動物：体重増加抑制<br>繁殖能：精子数の減少等      |
|              |                                 |                               | 見動物：体重増加抑制等<br>繁殖能                                                            |          | 見動物：体重増加抑制等                                                                   |                                |
|              |                                 |                               |                                                                               |          |                                                                               |                                |
|              |                                 |                               |                                                                               |          |                                                                               |                                |

| 動物種       | 試験 | 投与量<br>(mg/kg 体重/日) | 無毒性量 (mg/kg 体重/日) <sup>1)</sup>                     |                                        |                                                |                                                 |
|-----------|----|---------------------|-----------------------------------------------------|----------------------------------------|------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
|           |    |                     | JMPR                                                | 米国                                     | EU                                             | 食品安全委員会<br>参考資料<br>(農薬抄録)                       |
|           |    |                     |                                                     | 雄：精子細胞減少等<br>雌：黄体細胞空胞化等                |                                                | 繁殖能：精子数の減少等                                     |
| 発生毒性試験    |    | 0、100、300、1,000     | 母動物：1,000<br>胎児：300                                 | 母動物：1,000<br>胎児：300                    | 母動物及び胎児：1,000                                  | 母動物及び胎児：1,000                                   |
|           |    |                     | 母動物：毒性所見なし<br>胎児：腎盂拡張等<br>(催奇形性は認められない)             | 母動物：毒性所見なし<br>胎児：腎盂拡張<br>(催奇形性は認められない) | 母動物及び胎児：毒性所見なし<br>(催奇形性は認められない)                | 母動物及び胎児：毒性所見なし<br>(催奇形性は認められない)                 |
| 発達神経毒性試験① |    | 0、70、350、1,500 ppm  | 母動物：119<br>児動物：28.6                                 | 母動物：135.9<br>児動物：-                     | 母動物及び児動物：119                                   | 母動物及び児動物：69.7 (哺育期間中の検体摂取量)                     |
|           |    | 0、6.5、32.1、136      | 母動物：毒性所見なし<br>児動物：体重増加抑制等<br>(発達神経毒性性に対する影響は認められない) | 母動物：毒性所見なし<br>児動物：記憶学習障害等              | 母動物及び児動物：毒性所見なし<br>(発達神経毒性性に対する影響は認められない)      | 母動物及び児動物：哺育期間中の体重増加抑制等                          |
| 発達神経毒性試験② |    | 0、70、350、1,500 ppm  |                                                     |                                        | 母動物：119<br>児動物：28.6                            | 母動物：263 (哺育期間中の検体摂取量)<br>児動物：65.7 (哺育期間中の検体摂取量) |
|           |    | 0、5.4、28.6、119      |                                                     |                                        | 母動物：毒性所見なし<br>児動物：哺育期間中の体重増加抑制等<br>(発達神経毒性性は認め | 母動物：毒性所見なし<br>児動物：哺育期間中の体重増加抑制等                 |

| 動物種 | 試験                  | 投与量<br>(mg/kg 体重/日)                                                        | 無毒性量 (mg/kg 体重/日) <sup>1)</sup>                                      |                                                                      |                                                                  |                                                                      | 参考資料<br>(農薬抄録)                                                       |
|-----|---------------------|----------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
|     |                     |                                                                            | JMPR                                                                 | 米国                                                                   | EU                                                               | 食品安全委員会                                                              |                                                                      |
| マウス | 90日間<br>亜急性<br>毒性試験 | 0、100、1,000、<br>10,000 ppm<br>雄：0、15、164、<br>1,640<br>雌：0、30、234、<br>2,690 |                                                                      | 雄：15<br>雌：30<br><br>雄：ライディッシュ細胞肥<br>大<br>雌：副腎皮質細胞質空<br>胞化            | 雌雄：-<br><br>雌雄：詳細不明                                              | 雄：15<br>雌：30<br><br>雄：ライディッシュ細胞<br>肥大<br>雌：副腎皮質細胞質空<br>胞化            | (発達神経毒性は認められない)                                                      |
|     |                     |                                                                            |                                                                      |                                                                      |                                                                  |                                                                      |                                                                      |
|     |                     |                                                                            |                                                                      |                                                                      |                                                                  |                                                                      |                                                                      |
| ウサギ | 18か月<br>間発がん性<br>試験 | 0、25、3,500、<br>7,000ppm<br>雄：0、4.1、610、<br>1,220<br>雌：0、5.1、722、<br>1,500  | 雌雄：5.1<br>発がん性：4.1<br><br>雌雄：副腎重量変化等<br>(雌雄で肝細胞腺腫及び癌増加)              | 雄：4.1<br>雌：5.1<br><br>雌雄：副腎絶対及び比重<br>増加等<br>(雄で肝細胞腺腫及び癌増加)           | 雌雄：-<br><br>雌雄：詳細不明<br>(肝腫瘍増加)                                   | 雄：4.1<br>雌：5.1<br><br>雌雄：副腎絶対及び比重<br>増加等<br>(雄で肝細胞腺腫及び癌増加)           | 雄：4.1<br>雌：5.1<br><br>雌雄：副腎絶対及び比重<br>増加等<br>(雄で肝細胞腺腫及び癌増加)           |
|     |                     |                                                                            |                                                                      |                                                                      |                                                                  |                                                                      |                                                                      |
|     |                     |                                                                            |                                                                      |                                                                      |                                                                  |                                                                      |                                                                      |
| ウサギ | 発生毒性<br>試験          | 0、100、300、1,000                                                            | 母動物：100<br>胎児：1,000<br><br>母動物：体重増加抑制等<br>胎児：毒性所見なし<br>(催奇形性は認められない) | 母動物：100<br>胎児：1,000<br><br>母動物：体重増加抑制等<br>胎児：毒性所見なし<br>(催奇形性は認められない) | 母動物：100<br>胎児：300<br><br>母動物：詳細不明<br>胎児：肝臓の分葉異常<br>(催奇形性は認められない) | 母動物：100<br>胎児：1,000<br><br>母動物：体重増加抑制等<br>胎児：毒性所見なし<br>(催奇形性は認められない) | 母動物：100<br>胎児：1,000<br><br>母動物：体重増加抑制等<br>胎児：毒性所見なし<br>(催奇形性は認められない) |
|     |                     |                                                                            |                                                                      |                                                                      |                                                                  |                                                                      |                                                                      |
|     |                     |                                                                            |                                                                      |                                                                      |                                                                  |                                                                      |                                                                      |

| 動物種               | 試験                  | 投与量<br>(mg/kg 体重/日)                                                                       | 無毒性量 (mg/kg 体重/日) <sup>1)</sup> |                                        |                                        |                                            |
|-------------------|---------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|----------------------------------------|----------------------------------------|--------------------------------------------|
|                   |                     |                                                                                           | JMPR                            | 米国                                     | EU                                     | 食品安全委員会<br>参考資料<br>(農薬抄録)                  |
| イヌ                | 90日間<br>亜急性<br>毒性試験 | 0、200、630、2,000<br>ppm<br>雄：0、7.7、26.6、<br>84.7<br>雌：0、8.4、28.0、<br>81.0                  | 雄：7.7<br>雌：-<br><br>雌雄：詳細不明     | 雄：7.7<br>雌：-<br><br>雌雄：副腎皮質束状帯空<br>胞化等 | 雄：7.7<br>雌：-<br><br>雌雄：副腎皮質束状帯<br>空胞化等 | 雄：7.7<br>雌：-<br><br>雌雄：副腎皮質束状帯<br>空胞化等     |
|                   | 1年間<br>慢性毒<br>性試験   | 0、20、50、150、<br>500/600 ppm<br>雄：0、0.56、1.38、<br>4.33、16.1<br>雌：0、0.59、1.52、<br>4.74、17.7 | 雌雄：1.4<br><br>雌雄：詳細不明           | 雄：1.38<br>雌：1.52<br><br>雌雄：副腎比重量増加等    | 雌雄：1.45<br><br>雌雄：詳細不明                 | 雄：1.38<br>雌：1.52<br><br>雌雄：副腎皮質束状帯<br>空胞化等 |
| ADI (cRfD)        |                     |                                                                                           | NOAEL：1.4<br>SF：100<br>ADI：0.01 | LOAEL：6.5<br>UF：1,000<br>cRfD：0.0065   | NOAEL：1.45<br>SF：100<br>ADI：0.015      | NOAEL：1.38<br>SF：100<br>ADI：0.013          |
| ADI (cRfD) 設定根拠資料 |                     |                                                                                           | イヌ1年間慢性毒性試験                     | ラット発達試験毒性試験                            | イヌ1年間慢性毒性試験                            | イヌ1年間慢性毒性試験                                |

ADI：一日摂取許容量 cRfD：慢性参照用量 UF：不確実係数  
 NOAEL：無毒性量 LOAEL：最小影響量 SF：安全係数 -：無毒性量は設定できない  
 1) 無毒性量欄には、最小毒性量で認められた主な毒性所見等を記した

<別紙 1 : 代謝物/分解物略称>

| 略称  | 化学名                                                                                                                                                                                |
|-----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| M1  | 3-(2,4-dichlorophenyl)-4-hydroxy-1-oxaspiro[4.5]dec-3-en-2-one                                                                                                                     |
| M2  | 3-(2,4-dichlorophenyl)-4,6-dihydroxy-1-oxaspiro[4.5]dec-3-en-2-one                                                                                                                 |
| M3  | 3-(2,4-dichlorophenyl)-4,7-dihydroxy-1-oxaspiro[4.5]dec-3-en-2-one                                                                                                                 |
| M4  | 3-(2,4-dichlorophenyl)-4,8-dihydroxy-1-oxaspiro[4.5]dec-3-en-2-one                                                                                                                 |
| M5  | 3-(2,4-dichlorophenyl)-4-hydroxy-1-oxaspiro[4.5]dec-3-en-2,7-dione                                                                                                                 |
| M6  | 3-(2,4-dichlorophenyl)-4-hydroxy-1-oxaspiro[4.5]deca-3,6-dien-2-one                                                                                                                |
| M7  | 3-(2,4-dichlorophenyl)-4-hydroxy-1-oxaspiro[4.5]decane-3,7-dien-2-one                                                                                                              |
| M8  | 1-(2,4-dichloro- $\alpha$ -hydroxyphenylacetoxy)cyclohexanecarboxylic acid                                                                                                         |
| M9  | 1-(2,4-dichloro- $\alpha$ -hydroxyphenylacetoxy)-3-hydroxycyclohexanecarboxylic acid<br>又は<br>1-(2,4-dichloro- $\alpha$ -hydroxyphenylacetoxy)-4-hydroxycyclohexanecarboxylic acid |
| M10 | Glucoside and pentoside of M8                                                                                                                                                      |
| M11 | 2,4-dichloro- $\alpha$ -(1-carboxycyclohexyloxycarbonyl)benzylglucoside                                                                                                            |
| M12 | 2,4-dichloromandelic acid                                                                                                                                                          |
| M13 | 2,4-dichloro- $\alpha$ -carboxybenzylglucoside                                                                                                                                     |
| M14 | 3-(2,4-dichlorophenyl)-3-hydroxy-1-oxaspiro[4.5]decane-2,4-dione                                                                                                                   |
| M15 | 3-(2,4-dichlorophenyl)-3,4-dihydroxy-1-oxaspiro[4.5]decan-2-one                                                                                                                    |
| M16 | 3-(2,4-dichlorophenyl)-1,4-dioxaspiro[5.5]undecane-2,5-dione                                                                                                                       |
| M18 | 2,4-dichlorobenzoic acid                                                                                                                                                           |
| M19 | 11-chloro-8-oxo-1-oxaspiro[4.5]dec-2-eno[2,3-b]benzofuran                                                                                                                          |
| M20 | OH-enol glucuronide                                                                                                                                                                |
| U3  | 分析中に M18 に変換される代謝物                                                                                                                                                                 |

<別紙 2：検査値等略称>

| 略称               | 名称                                                     |
|------------------|--------------------------------------------------------|
| ai               | 有効成分量 (active ingredient)                              |
| ALD              | アルドリンエポキシダーゼ                                           |
| ALP              | アルカリホスファターゼ                                            |
| ALT              | アラニンアミノトランスフェラーゼ<br>[=グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT) ]     |
| AR               | アンドロゲンレセプター                                            |
| AST              | アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ<br>[=グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT) ] |
| AUC              | 薬物濃度曲線下面積                                              |
| Chol             | コレステロール                                                |
| C <sub>max</sub> | 最高濃度                                                   |
| CMC              | カルボキシメチルセルロース                                          |
| CYP              | チトクローム P450 アイソザイム                                     |
| E2               | エストラジオール                                               |
| ECOD             | エトキシクマリン <i>O</i> -デエチラーゼ                              |
| EH               | エポキシドヒドラーゼ                                             |
| E/P 比            | 17 $\beta$ -エストラジオール/プロゲステロン比                          |
| ER               | エストロゲンレセプター                                            |
| EROD             | エトキシレゾルフィン <i>O</i> -デエチラーゼ                            |
| FOB              | 機能観察総合評価                                               |
| GDH              | グルタミン酸脱水素酵素                                            |
| GLUT             | UDP-グルクロニルトランスフェラーゼ                                    |
| GST              | グルタチオン- <i>S</i> -トランスフェラーゼ                            |
| HMG-CoA          | 3-ヒドロキシ-3-メチルグルタリル CoA                                 |
| IC <sub>50</sub> | 半数阻害濃度                                                 |
| LC <sub>50</sub> | 半数致死濃度                                                 |
| LD <sub>50</sub> | 半数致死量                                                  |
| LH               | 黄体形成ホルモン                                               |
| MC               | メチルセルロース                                               |
| MCH              | 平均赤血球血色素量                                              |
| MCV              | 平均赤血球容積                                                |
| NADH             | ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド                                     |
| NADPH            | ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸                                  |
| N-DEM            | N-デメチラーゼ                                               |
| O-DEM            | O-デメチラーゼ                                               |
| P450             | チトクローム P450                                            |
| PCR              | ポリメラーゼ連鎖反応                                             |
| PHI              | 最終使用から収穫までの日数                                          |
| PLT              | 血小板数                                                   |
| PROG             | プロゲステロン                                                |
| PTT              | 部分トロンボプラスチン時間                                          |
| Q10              | ユビキノン                                                  |
| RBC              | 赤血球数                                                   |
| T <sub>1/2</sub> | 消失半減期                                                  |

|                  |             |
|------------------|-------------|
| T <sub>4</sub>   | サイロキシン      |
| TAR              | 総投与（処理）放射能  |
| TG               | トリグリセリド     |
| T <sub>max</sub> | 最高濃度到達時間    |
| TRR              | 総残留放射能      |
| TSH              | 甲状腺刺激ホルモン   |
| UFA              | 非エステル結合型脂肪酸 |
| WBC              | 白血球数        |

<別紙3：作物残留試験成績（国内）>

| 作物名<br>(分析部位)<br>実施年     | 試験回数  | 使用量<br>(g/ha)     | 回数 | PHI<br>(日)          | 残留値 (mg/kg) |       |       |       |         |       |       |        |           |       |       |       |         |       |       |       |
|--------------------------|-------|-------------------|----|---------------------|-------------|-------|-------|-------|---------|-------|-------|--------|-----------|-------|-------|-------|---------|-------|-------|-------|
|                          |       |                   |    |                     | 公的分析機関      |       |       |       |         |       |       | 社内分析機関 |           |       |       |       |         |       |       |       |
|                          |       |                   |    |                     | スピロジクロフェン   |       | M9    |       | M12+M13 |       | 合計    |        | スピロジクロフェン |       | M9    |       | M12+M13 |       | 合計    |       |
|                          |       |                   |    |                     | 最高値         | 平均値   | 最高値   | 平均値   | 最高値     | 平均値   | 最高値   | 平均値    | 最高値       | 平均値   | 最高値   | 平均値   | 最高値     | 平均値   | 最高値   | 平均値   |
| 温州みかん<br>(果肉)<br>2000年   | 1     | 300 <sup>SC</sup> | 1  | 7<br>14<br>21<br>28 | <0.01       | <0.01 | <0.02 | <0.02 | <0.02   | <0.02 | <0.05 | <0.05  | <0.01     | <0.01 | <0.02 | <0.02 | <0.02   | <0.02 | <0.05 | <0.05 |
|                          | <0.01 |                   |    |                     | <0.01       | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02   | <0.05 | <0.05 | <0.01  | <0.01     | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02   | <0.05 | <0.05 |       |
|                          | <0.01 |                   |    |                     | <0.01       | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02   | <0.05 | <0.05 | <0.01  | <0.01     | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02   | <0.05 | <0.05 |       |
|                          | <0.01 |                   |    |                     | <0.01       | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02   | <0.05 | <0.05 | <0.01  | <0.01     | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02   | <0.05 | <0.05 |       |
| 温州みかん<br>(果皮)<br>(2000年) | 1     | 300 <sup>SC</sup> | 1  | 7<br>14<br>21<br>28 | 0.38        | 0.30  | <0.04 | <0.04 | 0.19    | 0.43  | 0.61  | 0.77   | 0.27      | 0.24  | <0.04 | <0.04 | 0.05    | <0.04 | 0.35  | 0.33  |
|                          | 0.31  |                   |    |                     | 0.36        | <0.04 | <0.04 | 0.43  | 0.69    | 0.78  | 1.09  | 0.20   | 0.20      | <0.04 | <0.04 | 0.08  | 0.08    | 0.32  | 0.32  |       |
|                          | 0.37  |                   |    |                     | 0.14        | <0.04 | <0.04 | 0.73  | 0.74    | 1.14  | 0.92  | 0.16   | 0.16      | <0.04 | <0.04 | 0.08  | 0.08    | 0.28  | 0.28  |       |
|                          | 0.15  |                   |    |                     |             | <0.04 | <0.04 | 0.76  |         | 0.95  | 0.92  |        |           | <0.04 | <0.04 |       |         |       |       |       |
| 夏みかん<br>(果肉)<br>2000年    | 1     | 375 <sup>SC</sup> | 1  | 7<br>14<br>21<br>28 | 0.78        | 0.76  | <0.04 | <0.04 | <0.04   | <0.04 | 0.86  | 0.84   | 0.75      | 0.74  | <0.04 | <0.04 | 0.05    | 0.05  | 0.84  | 0.83  |
|                          | 0.53  |                   |    |                     | 0.53        | <0.04 | <0.04 | 0.13  | 0.13    | 0.70  | 0.70  | 0.41   | 0.40      | <0.04 | <0.04 | 0.09  | 0.09    | 0.54  | 0.53  |       |
|                          | 0.34  |                   |    |                     | 0.33        | <0.04 | <0.04 | 0.17  | 0.15    | 0.55  | 0.52  | 0.50   | 0.50      | <0.04 | <0.04 | 0.14  | 0.14    | 0.68  | 0.68  |       |
|                          | 0.28  |                   |    |                     | 0.28        | <0.04 | <0.04 | 0.17  | 0.17    | 0.49  | 0.49  | 0.28   | 0.27      | <0.04 | <0.04 | 0.19  | 0.18    | 0.51  | 0.49  |       |
| 夏みかん<br>(果皮)<br>2000年    | 1     | 375 <sup>SC</sup> | 1  | 7<br>14<br>21<br>28 | <0.01       | <0.01 | <0.02 | <0.02 | <0.02   | <0.02 | <0.05 | <0.05  | <0.01     | <0.01 | <0.02 | <0.02 | <0.02   | <0.02 | <0.05 | <0.05 |
|                          | <0.01 |                   |    |                     | <0.01       | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02   | <0.05 | <0.05 | <0.01  | <0.01     | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02   | <0.05 | <0.05 |       |
|                          | <0.01 |                   |    |                     | <0.01       | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02   | <0.05 | <0.05 | <0.01  | <0.01     | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02   | <0.05 | <0.05 |       |
|                          | <0.01 |                   |    |                     | <0.01       | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02   | <0.05 | <0.05 | <0.01  | <0.01     | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02   | <0.05 | <0.05 |       |
| 夏みかん<br>(果皮)<br>2000年    | 1     | 375 <sup>SC</sup> | 1  | 7<br>14<br>21<br>28 | <0.01       | <0.01 | <0.02 | <0.02 | <0.02   | <0.02 | <0.05 | <0.05  | <0.01     | <0.01 | <0.02 | <0.02 | <0.02   | <0.02 | <0.05 | <0.05 |
|                          | <0.01 |                   |    |                     | <0.01       | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02   | <0.05 | <0.05 | <0.01  | <0.01     | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02   | <0.05 | <0.05 |       |
|                          | <0.01 |                   |    |                     | <0.01       | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02   | <0.05 | <0.05 | <0.01  | <0.01     | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02   | <0.05 | <0.05 |       |
|                          | <0.01 |                   |    |                     | <0.01       | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02   | <0.05 | <0.05 | <0.01  | <0.01     | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02   | <0.05 | <0.05 |       |



|                             |   |                                                  |   |                     |                                              |                                              |                                              |       |       |       |       |       |       |       |                                              |       |                                              |       |       |       |                                              |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
|-----------------------------|---|--------------------------------------------------|---|---------------------|----------------------------------------------|----------------------------------------------|----------------------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|----------------------------------------------|-------|----------------------------------------------|-------|-------|-------|----------------------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 夏みかん<br>(果皮)<br>2000年       | 1 | 375 <sup>SC</sup>                                | 1 | 7<br>14<br>21<br>28 | 1.90                                         | 1.76                                         | <0.04                                        | <0.04 | <0.04 | <0.04 | <0.04 | <0.04 | <0.04 | <0.04 | <0.04                                        | 0.88  | 0.92                                         | <1.84 | <1.98 | <0.04 | <0.04                                        | <0.04 | <0.04 | <0.04 | <0.04 | <0.04 | <0.04 | <0.04 | <0.04 | <1.00 | <0.96 |
|                             | 1 |                                                  |   |                     | 0.28                                         | 0.28                                         | <0.04                                        | <0.04 | <0.04 | <0.04 | <0.04 | <0.04 | <0.04 | <0.04 | 0.31                                         | 0.31  | <0.34                                        | <0.34 | <0.39 | <0.39 |                                              |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 夏みかん<br>(果実)<br>2000年       | 1 | 375 <sup>SC</sup>                                | 1 | 7<br>14<br>21<br>28 | 果肉、果皮<br>のデータ<br>より算出<br>するため<br>平均値を<br>用いた | 0.55                                         | 検出限界<br>未検の場合<br>合計検出<br>限界値を<br>用いて算<br>出した | <0.04 | <0.04 | <0.04 | <0.04 | <0.04 | <0.04 | <0.04 | <0.04                                        | 0.30  | 果肉、果皮<br>のデータ<br>より算出<br>するため<br>平均値を<br>用いた | <0.63 |       | <0.04 | 検出限界<br>未検の場合<br>合計検出<br>限界値を<br>用いて算<br>出した | <0.04 | <0.04 | <0.04 | <0.04 | <0.04 | <0.04 | <0.04 |       | <0.38 |       |
|                             | 1 |                                                  |   |                     | 0.36                                         | 検出限界<br>未検の場合<br>合計検出<br>限界値を<br>用いて算<br>出した | <0.04                                        | <0.04 | <0.04 | <0.04 | <0.04 | <0.04 | <0.04 | 0.37  | 果肉、果皮<br>のデータ<br>より算出<br>するため<br>平均値を<br>用いた | <0.44 | <0.44                                        | <0.45 |       |       |                                              |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 小粒かん<br>きつ<br>(果実)<br>2000年 | 1 | 300 <sup>SC</sup>                                | 1 | 7<br>14<br>21<br>28 | 果肉、果皮<br>のデータ<br>より算出<br>するため<br>平均値を<br>用いた | 0.10                                         | 検出限界<br>未検の場合<br>合計検出<br>限界値を<br>用いて算<br>出した | <0.04 | <0.04 | <0.04 | <0.04 | <0.04 | <0.04 | <0.04 | <0.04                                        | 0.11  | 果肉、果皮<br>のデータ<br>より算出<br>するため<br>平均値を<br>用いた | <0.18 |       | <0.04 | 検出限界<br>未検の場合<br>合計検出<br>限界値を<br>用いて算<br>出した | <0.04 | <0.04 | <0.04 | <0.04 | <0.04 | <0.04 |       | <0.19 |       |       |
|                             | 1 |                                                  |   |                     | 0.06                                         | 検出限界<br>未検の場合<br>合計検出<br>限界値を<br>用いて算<br>出した | <0.04                                        | <0.04 | <0.04 | <0.04 | <0.04 | <0.04 | <0.04 | 0.07  | 果肉、果皮<br>のデータ<br>より算出<br>するため<br>平均値を<br>用いた | <0.14 | <0.14                                        | <0.15 |       |       |                                              |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 小粒かん<br>きつ<br>(果実)<br>2000年 | 1 | 480 <sup>SC</sup>                                | 1 | 7<br>14<br>21<br>28 |                                              |                                              |                                              |       |       |       |       |       |       |       |                                              | 0.28  | 0.28                                         |       |       |       | <0.02                                        | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.37 |       |       |       |
|                             | 1 |                                                  |   |                     | 0.09                                         |                                              |                                              |       |       |       |       |       |       | 0.12  | 0.12                                         |       |                                              | <0.16 | <0.16 |       |                                              |       | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.20 |       |       |
| りんご<br>(果実)<br>2001年        | 1 | 1140 <sup>WDG</sup><br>又は<br>1190 <sup>WDG</sup> | 1 | 7<br>14<br>21<br>28 | 0.54                                         | 0.53                                         | <0.02                                        | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02                                        | 0.40  | 0.49                                         | <0.59 | <0.60 | <0.04 | <0.04                                        | <0.04 | <0.04 | <0.04 | <0.04 | <0.04 | <0.04 | <0.04 | <0.53 |       |       |
|                             | 1 |                                                  |   |                     | 0.28                                         | 0.28                                         | <0.02                                        | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02 | 0.13  | 0.44                                         | <0.34 | <0.34                                        | <0.48 |       |       |                                              |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |



<別紙 4：作物残留試験（海外）>

| 作物名<br>(分析部位)<br>実施年                 | 試験<br>圃場<br>数               | 使用量<br>(g ai/ha)  | 回<br>数<br>(回)    | PHI<br>(日)                          | 残留値(mg/kg)    |                                      |                                       |                                          |
|--------------------------------------|-----------------------------|-------------------|------------------|-------------------------------------|---------------|--------------------------------------|---------------------------------------|------------------------------------------|
|                                      |                             |                   |                  |                                     | スピロジクロフェン     |                                      |                                       |                                          |
|                                      |                             |                   |                  |                                     | 最高値           |                                      |                                       |                                          |
| きゅうり<br>(果実)<br>2004、2005、2007<br>年度 | 1                           | 120 <sup>SC</sup> | 2                | 3<br>5                              | 0.02<br><0.02 |                                      |                                       |                                          |
|                                      | 1                           |                   | 2                | 3<br>5                              | 0.03<br>0.02  |                                      |                                       |                                          |
|                                      | 1                           |                   | 2                | 3<br>5                              | 0.02<br><0.01 |                                      |                                       |                                          |
|                                      | 1                           |                   | 2                | 3<br>5                              | 0.02<br>0.02  |                                      |                                       |                                          |
|                                      | 1                           |                   | 2                | 3                                   | 0.03          |                                      |                                       |                                          |
|                                      | 1                           |                   | 2                | 3                                   | 0.03          |                                      |                                       |                                          |
|                                      | 1                           |                   | 2                | 3                                   | 0.04          |                                      |                                       |                                          |
|                                      | 1                           |                   | 2                | 3                                   | 0.04          |                                      |                                       |                                          |
|                                      | トマト<br>(果実)<br>2004、2005 年度 |                   | 1                | 120 <sup>SC</sup>                   | 2             | 3<br>5                               | 0.07<br><0.02                         |                                          |
| 1                                    |                             | 2                 | 3<br>5           |                                     | 0.08<br>0.05  |                                      |                                       |                                          |
| 1                                    |                             | 2                 | 3<br>5           |                                     | 0.15<br>0.24  |                                      |                                       |                                          |
| 1                                    |                             | 2                 | 3                |                                     | 0.03          |                                      |                                       |                                          |
| 1                                    |                             | 2                 | 3<br>5           |                                     | 0.10<br>0.07  |                                      |                                       |                                          |
| 1                                    |                             | 2                 | 3<br>5           |                                     | 0.10<br>0.07  |                                      |                                       |                                          |
| 1                                    |                             | 2                 | 3                |                                     | 0.08          |                                      |                                       |                                          |
| 1                                    |                             | 2                 | 3                |                                     | 0.06          |                                      |                                       |                                          |
| いちご<br>(果実)<br>2002 年度               |                             | 1                 | 96 <sup>SC</sup> |                                     | 2             | 1 <sup>b</sup><br>3<br>5<br>7<br>15  | 0.05<br>0.04<br>0.03<br>0.02<br><0.02 |                                          |
|                                      | 2                           |                   |                  | 1 <sup>b</sup><br>3<br>5<br>7<br>14 |               | 0.05<br>0.16<br>0.04<br>0.06<br>0.05 |                                       |                                          |
|                                      |                             |                   |                  | 2                                   |               | 1 <sup>b</sup><br>3<br>5<br>7<br>15  | 0.10<br>0.05<br>0.12<br>0.13<br>0.11  |                                          |
|                                      |                             |                   |                  |                                     |               | 2                                    | 1 <sup>b</sup><br>3<br>5<br>7<br>14   | 0.03<br><0.02<br><0.02<br><0.02<br><0.02 |
|                                      |                             |                   |                  |                                     |               |                                      |                                       |                                          |

|                             |   |                       |   |                                     |                                         |
|-----------------------------|---|-----------------------|---|-------------------------------------|-----------------------------------------|
|                             | 1 |                       | 2 | 3                                   | 0.06                                    |
|                             | 1 |                       | 2 | 3                                   | 0.28                                    |
|                             | 1 |                       | 2 | 3                                   | 0.04                                    |
|                             | 1 |                       | 2 | 3                                   | 0.17                                    |
| いちご<br>(果実)<br>2002 年度      | 1 | 96 <sup>SC</sup>      | 2 | 1 <sup>b</sup><br>3<br>5<br>6<br>11 | 0.06<br>0.04<br>0.03<br>0.03<br><0.02   |
|                             | 1 |                       | 2 | 1 <sup>b</sup><br>3<br>5<br>7<br>13 | 0.06<br>0.05<br>0.06<br>0.06<br>0.04    |
|                             | 1 |                       | 2 | 1 <sup>b</sup><br>3<br>5<br>7<br>14 | 0.04<br>0.05<br>0.02<br>0.03<br>0.03    |
|                             | 1 |                       | 2 | 1 <sup>b</sup><br>3<br>5<br>7<br>14 | 0.03<br><0.02<br><0.02<br><0.02<br>0.02 |
|                             | 1 |                       | 2 | 3                                   | 0.12                                    |
|                             | 1 |                       | 2 | 3                                   | 0.88                                    |
|                             | 1 |                       | 2 | 3                                   | 0.06                                    |
|                             | 1 |                       | 2 | 3                                   | 1.1                                     |
| すぐり<br>(果実)<br>2005、2008 年度 | 1 | 96 <sup>SC</sup>      | 1 | 7 <sup>b</sup><br>14<br>21<br>28    | 0.36<br>0.44<br>0.21<br>0.22            |
|                             | 1 |                       | 1 | 7 <sup>b</sup><br>14<br>21<br>28    | 0.05<br>0.04<br>0.03<br>0.02            |
|                             | 1 |                       | 1 | 14<br>21                            | <0.01<br>0.07                           |
|                             | 1 |                       | 1 | 14<br>21                            | 0.026<br>0.021                          |
|                             |   |                       |   |                                     |                                         |
| ホップ<br>(毬花)<br>2005 年度      | 1 | 339~432 <sup>SC</sup> | 1 | 14                                  | 3.1                                     |
|                             | 1 |                       | 1 | 14                                  | 5.7                                     |
|                             | 1 |                       | 1 | 7 <sup>b</sup><br>14<br>21<br>28    | 1.6<br>1.0<br>0.67<br>0.69              |
|                             | 1 |                       | 1 | 7 <sup>b</sup><br>14<br>21<br>28    | 2.4<br>1.4<br>1.7<br>1.5                |
|                             | 1 |                       | 1 | 7 <sup>b</sup><br>14<br>21          | 3.0<br>2.1<br>2.6                       |
|                             |   |                       |   |                                     |                                         |
|                             |   |                       |   |                                     |                                         |

|                             |                |                       |                |                |       |
|-----------------------------|----------------|-----------------------|----------------|----------------|-------|
|                             |                |                       |                | 28             | 1.6   |
|                             | 1              |                       | 1              | 7 <sup>b</sup> | 2.4   |
|                             |                |                       |                | 14             | 2.3   |
|                             |                |                       |                | 21             | 2.3   |
|                             |                |                       |                | 28             | 2.0   |
|                             | 1              |                       | 1              | 14             | 3.0   |
|                             |                |                       |                | 28             | 2.3   |
| 1                           | 1              | 14                    | 3.4            |                |       |
|                             |                | 28                    | 2.3            |                |       |
| ホップ<br>(乾燥毬花)<br>2005年度     | 1              | 339～432 <sup>SC</sup> | 1              | 14             | 17    |
|                             | 1              |                       | 1              | 14             | 24    |
|                             | 1              |                       | 1              | 14             | 3.9   |
|                             |                |                       |                | 21             | 3.9   |
|                             |                |                       |                | 28             | 3.1   |
|                             | 1              |                       | 1              | 14             | 5.2   |
|                             |                |                       |                | 21             | 6.6   |
|                             |                |                       |                | 28             | 4.0   |
| 1                           | 1              | 14                    | 11             |                |       |
|                             |                | 21                    | 11             |                |       |
|                             |                | 28                    | 7.5            |                |       |
| 1                           | 1              | 14                    | 7.5            |                |       |
|                             |                | 21                    | 7.5            |                |       |
|                             |                | 28                    | 8.8            |                |       |
| 1                           | 1              | 14                    | 14             |                |       |
|                             |                | 28                    | 9.0            |                |       |
| 1                           | 1              | 14                    | 11             |                |       |
|                             |                | 28                    | 10             |                |       |
| パパイヤ<br>(果実)<br>2000、2001年度 | 1              | 72～144 <sup>SC</sup>  | 3 <sup>a</sup> | 3 <sup>b</sup> | <0.03 |
|                             | 5 <sup>b</sup> |                       |                | <0.03          |       |
|                             | 7              |                       |                | <0.03          |       |
|                             | 14             |                       |                | <0.03          |       |
|                             | 1              |                       | 3 <sup>a</sup> | 7              | <0.03 |
|                             | 1              |                       | 3 <sup>a</sup> | 7              | <0.03 |
|                             | 1              |                       | 3 <sup>a</sup> | 7              | <0.03 |
|                             | 1              |                       | 3 <sup>a</sup> | 7              | <0.03 |
| ココナッツ<br>(果実)<br>2001年度     | 1              | 72～144 <sup>SC</sup>  | 3 <sup>a</sup> | 21             | <0.05 |
|                             | 1              |                       | 3 <sup>a</sup> | 21             | <0.05 |
|                             | 1              |                       | 3 <sup>a</sup> | 21             | <0.05 |
|                             | 1              |                       | 3 <sup>a</sup> | 21             | <0.05 |
|                             | 1              |                       | 3 <sup>a</sup> | 21             | <0.05 |
|                             | 1              |                       | 3 <sup>a</sup> | 21             | <0.05 |
| コーヒー豆<br>(種実)<br>2000年度     | 1              | 72～144 <sup>SC</sup>  | 3 <sup>a</sup> | 21             | <0.03 |
|                             | 1              |                       | 3 <sup>a</sup> | 21             | <0.03 |
|                             | 1              |                       | 3 <sup>a</sup> | 21             | <0.03 |
|                             | 1              |                       | 3 <sup>a</sup> | 21             | <0.03 |
|                             | 1              |                       | 3 <sup>a</sup> | 21             | <0.03 |
|                             | 1              |                       | 3 <sup>a</sup> | 21             | <0.03 |
| とうがらし<br>(果実)<br>2007年度     | 1              | 432 <sup>SC</sup>     | 2              | 1 <sup>b</sup> | 2.42  |
|                             |                |                       | 3              | 2.21           |       |
|                             |                |                       | 5              | 1.82           |       |

|                         |   |                     |   |                               |                                  |
|-------------------------|---|---------------------|---|-------------------------------|----------------------------------|
|                         |   | 原本の記載<br>(a.s.) が不明 |   | 7                             | 1.62                             |
|                         |   |                     | 3 | 1 <sup>b</sup><br>3<br>5<br>7 | 2.87<br>2.69<br>2.07<br>1.48     |
| とうがらし<br>(葉)<br>2007年度  | 1 | 432WP               | 2 | 1 <sup>b</sup><br>3<br>5<br>7 | 61.60<br>68.89<br>49.60<br>43.89 |
|                         |   |                     | 3 | 1 <sup>b</sup><br>3<br>5<br>7 | 62.90<br>57.99<br>49.13<br>40.35 |
| まくわうり<br>(果実)<br>2007年度 | 1 | 540WP               | 2 | 1 <sup>b</sup><br>3<br>5<br>7 | 0.06<br>0.03<br>0.03<br>0.04     |
|                         |   |                     | 3 | 1 <sup>b</sup><br>3<br>5<br>7 | 0.15<br>0.12<br>0.15<br>0.05     |
| なす<br>(果実)<br>2007年度    | 1 | 432WP               | 2 | 3<br>7                        | 0.70<br>0.22                     |
|                         |   |                     | 3 | 3<br>7                        | 0.54<br>0.28                     |
| 茶<br>(生葉)<br>2006年度     | 1 | 720WP               | 3 | 3<br>7                        | 5.09<br>1.76                     |
|                         |   |                     | 2 | 14                            | 0.47                             |
| 茶<br>(乾燥葉)<br>2006年度    | 1 | 720WP               | 3 | 3<br>7                        | 11.19<br>3.05                    |
|                         |   |                     | 2 | 14                            | 2.01                             |
| 茶<br>(浸出液)<br>2006年度    | 1 | 720WP               | 3 | 3<br>7                        | 0.45<br>0.08                     |
|                         |   |                     | 2 | 14                            | 0.05                             |

注) ai : 有効成分量、PHI : 最終使用から収穫までの日数

- ・試験には SC : フロアブル剤、 WP : 水和剤 を用いた。
- ・すべてのデータが定量限界未満の場合は定量限界値の平均に<を付して記載した。
- ・農薬の使用回数が申請された使用回数より多い場合は、回数に a を付した。
- ・PHI が登録された方法より短い場合、PHI に b を付した。

< 参照 >

- 1 食品、添加物等の規格基準（昭和 34 年厚生省告示第 370 号）の一部を改正する件（平成 17 年 11 月 29 日付け厚生労働省告示第 499 号）
- 2 農薬抄録「スピロジクロフェン」（殺ダニ剤）（平成 21 年 10 月 30 日改訂）：バイエルクロップサイエンス株式会社、未公表
- 3 JMPR：“SPIRODICLOFEN”，Pesticide residues in food - 2009. Report of the Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environment and WHO the Core Assessment Group. P261-286(2009)
- 4 US EPA：Spirodiclofen；Human Health Risk Assessment for use on Citrus Fruit, Grape, Pome Fruit, Stone Fruit, and Tree Nut Crops. PC Code:124871. Petition No.2F6469. DP Barcode:D285047(2005)
- 5 US EPA：Pesticide Fact Sheet：Spirodiclofen(2005)
- 6 EFSA：Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance spirodiclofen.(2009)
- 7 食品健康影響評価について（平成 22 年 1 月 25 日付け厚生労働省発食安 0125 第 4 号）
- 8 農薬抄録「スピロジクロフェン」（殺ダニ剤）（平成 24 年 1 月 11 日改訂）：バイエルクロップサイエンス株式会社、一部公表予定
- 9 スピロジクロフェンの食品健康影響評価に係る追加資料の提出について（回答）：バイエルクロップサイエンス株式会社、未公表
- 10 スピロジクロフェンの作物残留試験：バイエルクロップサイエンス株式会社、未公表

