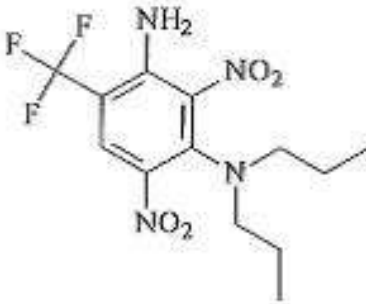


水質汚濁に係る農薬登録保留基準の設定に関する安全性評価資料（案）

プロジアミン

I. 評価対象農薬の概要

1. 物質概要

化学名	5-ジプロピルアミノ- α, α, α -トリフルオロ-4,6-ジニトロ-o-トルイジン				
分子式	$C_{13}H_{17}F_3N_4O_4$	分子量	350.3	CAS No.	29091-21-2
構造式					

2. 作用機構等

プロジアミンはジニトロアニリン系除草剤であり、その作用機構は紡錘糸形成を抑制することによる細胞分裂阻害である。本邦での初回登録は1991年である。

製剤は水和剤及び複合肥料が、適用作物は樹木及び芝がある。

原体の輸入量は、4.0 t (20年度※)、2.0 t (21年度)、0.4 t (22年度)であった。

※年度は農業年度（前年10月～当該年9月）、出典：農薬要覧-2011-（（社）日本植物防疫協会）

3. 各種物性

プロジアミンの各種物性を表 1 に示した。

表 1 プロジアミンの物理化学的性状

外観・臭気	黄赤色粉末・無臭	土壌吸着係数	$K_{F^{ads}_{oc}} = 4,300 - 23,000$ (25°C)
融点	122.5 - 124.0°C	オクタノール/ 水分配係数	logPow=4.10 (25°C)
沸点	194°Cで分解するため 測定不能	生物濃縮性	BCF _{ss} =1,000 (試験濃度 : 0.50µg/L)
蒸気圧	2.9×10^{-5} Pa (25°C)	密度	1.4 g/mL (20°C)
加水分解性	半減期 >30 日 (25°C、pH5、7、9)	水溶解度	0.072 mg/L (25°C、pH 6.7)
水中光分解性	半減期 7.4 時間 (東京春季太陽光換算 1.3 日) (滅菌緩衝液、pH7、24.7°C、28.9 W/m ² 、300-400 nm) 3.9 時間 (東京春季太陽光換算 0.7 日) (滅菌自然水、pH7、24.7°C、33.3 W/m ² 、300-400 nm) 24 分 (東京春季太陽光換算 1.9 時間) (滅菌蒸留水、25°C、35.9 W/m ² 、300-400 nm)		

II. 試験結果概要

プロジアミンの農薬登録申請資料を用いて試験結果の概要を整理した。代謝物/分解物等の名称及び検査値等の略称は別紙 1 及び 2 に示した。

1. 動物体内運命試験

ラットを用いて、プロジアミンのフェニル環を ¹⁴C で標識したもの（以下「標識体」という。）又は非標識プロジアミン（以下「非標識体」という。）を単回経口投与、静脈内投与又は反復経口投与し、動物体内運命試験が実施された。

(1) 吸収

Wistar ラット（一群雌雄各 4 匹）に標識体を 10 mg/kg（以下本項及び(2)①において「低用量」という。）及び 1,000 mg/kg（以下本項及び(2)①において「高用量」という。）でそれぞれ単回経口投与するとともに、標識体を 1 mg/kg で単回静脈内投与し、薬物動態試験が実施された。

①血中濃度推移

血漿中及び血液中放射能濃度は表 2 のとおりである。

静脈内投与では、血漿中及び血液中放射能濃度は 1 時間後に最高血中濃度 (Cmax) に達し、その後速やかに減少した。低用量の経口投与では、血漿中及び血液中放射能濃度は 2 時間後に Cmax に達し、8 時間後までは最高濃度近辺を維持し、その後速やかに減少した。高用量の経口投与では、16~24 時間後に Cmax に達し、その後速やかに減少した。

表 2 血漿中及び血液中放射能濃度推移

	投与経路	経口				静脈内	
	投与群	10mg/kg 体重		1,000mg/kg 体重		1mg/kg 体重	
	性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌
血漿	Tmax (時間) *	2.00	2.01	24.0	24.0	1.00	1.00
	Cmax (µg 換算/mL)	1.79	1.36	18.7	18.0	0.72	0.50
	T _{1/2} (時間)	40.5	35.4	20.5	20.4	46.6	45.0
	AUC (µg 換算/mL)	28.7	25.9	784	681	9.66	6.84
血液	Tmax (時間) *	2	2	16	24	1	1
	Cmax (µg 換算/mL)	1.39	0.88	11.7	12.6	0.53	0.34
	T _{1/2} (時間)	76.8	51.9	23.5	21.1	97.2	105
	AUC (µg 換算・時間/mL)	24.0	18.6	496	444	6.94	5.67

*中央値を表示

②吸収

低用量経口投与及び静脈内投与の結果から計算されたバイオアベイラビリティは、雄で 36%、雌で 44%であった。経口投与後の吸収が不十分か、又は初回通過効果が大きいことが示唆された。

また、低用量投与群と高用量投与群で比較すると、投与量の 100 倍増加に対し、Cmax は約 10 倍、AUC は約 27 倍の増加であり、吸収に飽和限界があることが示唆された。

(2) 体内分布

①Wistar ラットの体内分布

Wistar ラットを用いた薬物動態試験 [1. (1)] における主要組織の残留放射能濃度は表 3 及び 4 のとおりである。

低用量の単回投与では、放射能は雌雄ともに広く組織に分布した。各臓器・組織の放射能濃度は、2 時間後に最も高値を示し、最も高い臓器は雌雄ともに腎臓であった。肝臓もまた各時点を通じて高く、副腎も投与 2 時間後に血漿より高かった。すべての組織で放射能濃度は 96 時間後までに下降した。

高用量の単回投与では、放射能は雌雄ともに広く組織に分布した。大半の臓器・組織の放射能濃度は、18 時間後に最も高値を示した。しかし、

血漿及び血液中の最大濃度は雄で 18 時間、雌で 24 時間と低用量単回投与群に類似し、雌雄の肝臓及び腎臓では各時点を通じて高濃度を呈した。

表 3 主要組織における残留放射能濃度（低用量）
 (μg プロジアミン換算/g、4 匹平均)

投与条件	臓器・組織	2 時間後	8 時間後	24 時間後	48 時間後	96 時間後	
10mg/kg 体重	雄	副腎	2.34	1.16	0.22	0.13	0.04
		腎脂肪	1.47	1.90	0.33	0.14	0.06
		腎臓	4.75	2.20	0.43	0.27	0.17
		肝臓	3.35	2.02	0.84	0.56	0.31
		すい臓	1.39	0.91	0.12	0.05	0.03
		甲状腺	1.30	0.67	0.27	0.13	<LOD ¹⁾
		血漿	1.75	1.48	0.29	0.13	0.05
		血液	1.11	0.81	0.19	0.11	0.08
	雌	副腎	2.00	1.33	0.16	0.24	0.05
		腎脂肪	2.51	1.37	0.42	0.15	0.10
		腎臓	2.97	1.15	0.32	0.22	0.14
		肝臓	2.89	1.33	0.53	0.37	0.21
		卵巣	1.53	0.75	0.14	0.07	0.03
		すい臓	1.85	0.62	0.12	0.06	0.02
甲状腺	1.95	0.61	<LOD ¹⁾	0.12	<LOD ¹⁾		
血漿	1.49	0.95	0.24	0.11	0.04		
血液	0.95	0.54	0.16	0.10	0.06		

¹⁾LOD:検出限界、表中の値は雌雄各 4 匹ずつの平均値を示す。

表 4 主要組織における残留放射能濃度（高用量）
 (μg プロジアミン換算/g、4 匹平均)

投与条件	臓器・組織	18 時間後	24 時間後	36 時間後	48 時間後	72 時間後	
1,000mg/kg 体重	雄	副腎	23.6	9.9	19.4	2.8	<LOD ¹⁾
		腎脂肪	16.8	13.4	8.1	4.9	2.1
		腎臓	22.5	22.2	14.0	8.6	5.5
		肝臓	21.6	24.8	19.5	12.6	8.0
		甲状腺	26.8	10.7	29.7	9.9	9.4
		血漿	24.5	24.1	16.3	8.7	4.8
		血液	11.8	11.4	9.0	5.0	3.1
		雌	副腎	17.3	14.8	7.7	4.7
	腎脂肪		16.9	16.0	11.1	7.9	3.6
	腎臓		16.5	15.6	13.5	8.5	5.0
	肝臓		18.2	18.5	15.8	11.4	6.6
	卵巣		18.0	9.6	5.4	4.8	0.6
	甲状腺		9.2	12.1	4.5	11.4	<LOD ¹⁾
	血漿	16.8	17.1	12.3	9.8	3.7	
血液	9.3	9.5	7.2	6.0	2.6		

¹⁾LOD:検出限界、表中の値は雌雄各 4 匹ずつの平均値を示す。

②SD ラットの体内分布

SD ラット（一群雌雄各 5 匹）を用い、標識体を 10 mg/kg（以下「低用量」という。）及び 400 mg/kg（以下「高用量」という。）を単回経口投与した試験並びに非標識体を低用量で 14 日間反復経口投与後、15 日目に単回経口投与した試験により、ラットにおける体内分布が調査された。

投与 96 時間後の臓器・組織における残留放射能濃度は表 5 のとおりである。

組織中放射能濃度は肝臓、脂肪及び腎臓でやや高かったが、反復投与による検体や代謝物の蓄積は示されなかった。

組織中放射能濃度は、雄より雌で高い傾向が認められた。

**表 5 投与 96 時間後の主要組織における残留放射能濃度
（ μg プロジアミン換算/g、5 匹平均）**

投与群	10mg/kg 群		400mg/kg 群		10mg/kg 反復投与群	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
心臓	0.05	0.10	0.61	1.61	0.05	0.07
筋肉	0.03	0.05	0.44	0.69	0.03	0.04
脾臓	0.06	0.11	0.71	1.80	0.06	0.12
生殖腺	0.04	0.10	0.50	1.89	0.04	0.09
肺	0.11	0.16	1.54	2.24	0.09	0.11
骨	0.06	0.11	0.86	1.48	0.05	0.08
脳	0.02	0.02	0.22	0.40	0.02	0.02
脂肪	0.36	0.91	3.99	9.09	0.22	0.50
肝臓	0.80	0.85	8.27	10.9	0.69	0.68
腎臓	0.34	0.49	3.98	6.65	0.31	0.41
血液	0.16	0.20	2.11	3.53	0.14	0.17

(3) 代謝

SD ラットを用いた体内分布試験 [1. (2) ②] における投与 7 及び 24 時間後の尿、24 及び 48 時間後の糞並びに投与 4 日後の肝臓を試料として、代謝物同定・定量試験が実施された。

SD ラットにおいて、プロジアミンは投与 96 時間後までに 94~99% TAR が糞尿中に排泄された。尿中からは、親化合物 [A]、代謝物として [A] の抱合体、[C] 及び [FB-1] が認められた。また、糞中からは、親化合物 [A]、[A] の抱合体、[AB-1]、[AB-2] 及び [AB-1] の抱合体が認められた。各群における尿及び糞中の代謝物の割合は表 6 及び 7 のとおりである。

尿中では、親化合物が少なく、糞中では、低用量投与群と高用量投与群で存在する親化合物量が異なることが示唆された。

また、肝臓中の放射能濃度は 0.1~0.4%TAR であり、大部分が極性代謝物であることが示唆された。

代謝経路としては、生体内に吸収されたプロジアミンは N-脱アルキル化により代謝物[C]を生じ、閉環により[AB-1]及び[AB-2]を生じ、[AB-1]は更にニトロ基のアミノ基への還元、N-脱アルキル化及びフェニル環の水酸化反応により[FB-1]を生じると推定された。また、プロジアミン及び極性代謝物の一部 ([AB-1]) は抱合体を生成すると考えられた。

表 6 各群の尿中代謝物の割合 (3匹平均)

代謝物		尿中代謝物の割合 (投与量に対する割合、%TAR)					
		10mg/kg 群		400mg/kg 群		10mg/kg 反復投与群	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌
メタノール抽出液	プロジアミン[A] + [C]	0.34	0.31	0.07	0.09	0.42	0.53
	[FB-1]	1.56	2.13	0.26	0.88	1.04	1.27
	[A]の抱合体	11.1	8.35	2.24	1.57	6.94	5.64
	未同定代謝物 ^a	4.03	3.51	0.82	1.32	2.08	2.72
	極性代謝物 ^b	9.13	6.78	2.51	2.47	12.0	10.4
	小計	26.2	21.1	5.89	6.34	22.5	20.5
アセトン抽出液		0.70	1.26	0.35	0.25	1.18	5.23
水溶性画分		4.60	3.05	1.05	1.29	5.80	3.61
合計		31.5	25.4	7.29	7.88	29.5	29.4

a : 5成分からなる。

b : 酸加水分解後、再度 TLC 分析を行ったところ、最初の TLC 分析で認められた非極性代謝物と同様のパターンを示した。

表 7 各群の糞中代謝物の割合 (3匹平均)

代謝物		糞中代謝物の割合 (投与量に対する割合、%TAR)					
		10mg/kg 群		400mg/kg 群		10mg/kg 反復投与群	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌
アセトン抽出液	プロジアミン[A]	0.71	0.39	51.8	50.1	0.54	0.54
	[AB-1]	0.11	0.07	0.32	0.30	0.08	0.10
	[AB-2]	0.12	0.10	1.21	1.12	0.13	0.10
	未同定代謝物 ^a	0.34	0.21	2.07	1.45	0.32	0.33
	極性代謝物 ^b	19.6	17.5	11.5	13.0	18.3	20.1
	その他	1.36	0.91	3.16	3.89	1.43	1.05
	小計	22.3	19.2	70.0	69.9	20.8	22.2
アセトン沈澱		17.8	20.7	8.56	7.87	16.0	18.0
水相		4.35	3.01	0.33	1.20	6.56	6.41
抽出残さ		24.2	27.6	9.17	9.41	21.0	22.0
合計		68.6	70.5	88.0	88.3	64.3	68.6

a : 2成分からなる。

b : 酸加水分解後、再度 TLC 分析を行ったところ、[A]、[AB-1]及び未同定代謝物が認められた ([A]、[AB-1]等の抱合体の存在が示唆された)。

(4) 排泄

SD ラットを用いた体内分布試験 [1. (2) ②] において、ラットにおける排泄が調査された。

投与群の投与 96 時間後までの経路別の排泄率及び体内残留率は表 8 のとおりである。SD ラットにおいて、いずれの試験群においても排泄は速やかで、投与 48 時間後までに 90%TAR 以上が、投与 96 時間後には 94~99%TAR が回収された。主要排泄経路は糞中であった (64~89%TAR)。残りのほぼ全量が尿から回収され (7~32%TAR)、カーカスでの残留量は 1.03%以下であった。投与量の増加に伴い、糞中排泄量は増え、尿中排泄量は減少した。用量、性別による顕著な差は認められなかった。反復投与による影響は認められなかった。

表 8 経路別の排泄率及び体内残留率 (%TAR)

投与群	10mg/kg		400mg/kg		10mg/kg	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
投与回数	単回		単回		反復 14 日間	
96 時間後までの回収率						
尿	31.8	26.8	7.27	8.11	30.2	30.0
糞	67.4	68.5	87.8	88.6	63.8	67.5
カーカス	0.74	1.00	0.29	0.43	0.79	1.03
合計	99.9	96.3	95.3	97.1	94.8	98.5

2. 環境中運命試験

標識体又は非標識体を用い、各種の環境中における運命試験が実施された。本試験の結果の概要は表9のとおりである。

水中における運命試験において、プロジアミンは加水分解されにくい、人工光による光分解を受けて速やかに消失した。

表9 プロジアミンの環境中運命試験の概要

試験項目	試験条件		DT ₅₀	主な代謝分解物と最大検出量 ¹⁾
好氣的土壤中運命試験 [非 GLP、1988 年]	壤土 (米国、アイオワ州)	25°C、暗条件、365 日間	57 日	[AB-1] : 32.8%TAR (270 日後) [B] : 3.6%TAR (60 日後) [D] : 1.2%TAR (180 ~365 日後)
好氣的及び嫌氣的土壤中運命試験 [非 GLP、1977 年]	砂壤土 (米国、カリフォルニア州、アナハイム)	好氣的条件 24~32°C, 400 日間	好氣的条件 : 218 日	好氣的条件 [B] : 3.2%TAR (100 日後) [AB-1] : 2.6 % TAR (100 日後)
		嫌氣的条件 24~32°C 湛水状態,150 日間	嫌氣的条件 : 32 日	嫌氣的条件 [AB-2] : 2.1 % TAR (50 日後) [D] : 4.7 % TAR (50 日後)
加水分解運命試験 [GLP、1987 年]	25±0.1°C 30 日間	pH 5 酢酸緩衝液	30 日以上	—
		pH 7 トリス緩衝液 HEPES 緩衝液	30 日以上	—
		pH 9 ほう酸緩衝液	30 日以上	[B] : 9.87%TAR (30 日後)
水中光分解運命試験 (緩衝液/滅菌自然水) [GLP、2005 年]	光源 : キセノンランプ、波長(測定範囲) 300~400 nm 緩衝液 : 光強度 28.90 W/m ² 自然水 (英国ノティンガム州、池水) : 光強度 33.28 W/m ²	緩衝液 : 24.7°C (23.4~25.8°C)、pH 7、24 時間 自然水 : 24.7°C (23.5~25.3°C)、pH 7.02、24 時間	緩衝液 1.3 日 ²⁾ 自然水 0.7 日 ²⁾	緩衝液 [BB-1] : 17 % TAR (24 時間後) [EB-1] : 25 % TAR (24 時間後) [GB-1] : 27%TAR (24 時間後) 自然水 [BB-1] : 18 % TAR (18 時間後) [EB-1] : 39 % TAR (14 時間後) [GB-1] : 31%TAR (10 時間後)
水中光分解運命試験 (滅菌精製水) [GLP、2001 年]	光源 : キセノンランプ、光強度 35.9 W/m ² 波長 (300~400 nm)	照射時間 : 60 分 (4.6 時間 ²⁾ pH 7~7.02 25±0.2°C	1.85 時間 ²⁾	—

1) CO₂を除く

2) 東京春季太陽光換算値

3. 土壌残留性試験

洪積火山灰・壤土及び沖積花こう岩・砂壤土を用いて、土壌残留試験が実施された。

推定半減期は表 10 のとおりである。

表 10 プロジアミンの土壌残留性

土壌条件と分析対象物			推定半減期
試験形態	土壌	分析対象	
容器内試験 100µg/乾土 50g (2ppm) 温度：30℃	洪積火山灰／壤土	プロジアミン	24.5 日
	沖積花こう岩／砂壤土	プロジアミン	25.9 日
圃場試験 水和剤（63%） 320g/10a（千葉） 160g/10a（福岡） 1 回施用	洪積火山灰／壤土(千葉)	プロジアミン	34.2 日
	沖積花こう岩／砂壤土 (福岡)	プロジアミン	2.2 日

4. 毒性試験

(1) 一般薬理試験

プロジアミンの原体について、マウス、ウサギ及びラットを用いた一般薬理試験が実施された。本試験の結果の概要は、表 11 のとおりである。

表 11 プロジアミンの一般薬理試験概要

試験の種類		動物種	投与経路	無毒性量 (作用量)	観察された作用
中枢神経系	一般症状 (Irwin 法)	ICR マウス (一群雄 4 匹)	経口	<500 mg/kg (500)	触反応の亢進、立毛、 挙尾反応、攻撃性、 筋緊張低下、異常歩行、 疼痛反応の亢進及び発 声
	体温	ICR マウス (一群雄 4 匹)	経口	<500 mg/kg (500)	直腸温の低下
骨格筋	傾斜板法	ICR マウス (一群雄 5 匹)	経口	1,000 mg/kg (-)	検体投与による影響なし
血液	溶血作用	NZW ウサギ (一群 3 匹)	<i>in vitro</i>	$1.33 \times 10^{-3} M$ (-)	検体投与による影響なし
呼吸・循環器系	血圧、心拍数 呼吸数、呼吸 量、心電図	SD ラット (一群雄 2 匹)	静脈内	<1.5 mg/kg (1.5)	血圧上昇（一過性）、 呼吸数増加（一過性） 心電図波形の振幅に変 動

(2) 急性毒性試験

①急性毒性試験

プロジアミン（原体、製剤）を用いた急性毒性試験が実施された。本試験の結果の概要は、表 12 のとおりである。

表 12 プロジアミンの急性毒性試験概要

検体種別	投与経路/観察期間/投与量 (mg/kg 体重)	動物種	LD ₅₀ (mg/kg 体重) 又は LC ₅₀ (mg/m ³)		GLP 実施年
			雄	雌	
原体	経口/14 日間/5,000	SD ラット (一群雌雄各 5 匹)	>5,000	>5,000	GLP 1984 年
	経口/14 日間/5,000	CFLP マウス (一群雌雄各 5 匹)	>5,000	>5,000	GLP 1988 年
	経皮/14 日間/2,000	SD ラット (一群雌雄各 5 匹)	>2,000	>2,000	GLP 1984 年
	吸入(ダスト)/14 日間 /256 mg/m ³	Wistar ラット (一群雌雄各 5 匹)	>256 mg/m ³	>256 mg/m ³	GLP 1985 年
製剤 (65.0%水和剤)	経口/14 日間/5,000	SD ラット (一群雌雄各 5 匹)	>5,000	>5,000	GLP 1986 年
	経口/14 日間/5,000	CFLP マウス (一群雌雄各 5 匹)	>5,000	>5,000	GLP 1988 年
	経皮/14 日間/2,000	SD ラット (一群雌雄各 5 匹)	>2,000	>2,000	GLP 1986 年
	吸入(ダスト)/14 日間 /1810 mg/m ³	Wistar ラット (一群雌雄各 5 匹)	>1,810 mg/m ³	>1,810 mg/m ³	GLP 1986 年
製剤 (40.7%水和剤)	経口/14 日間/5,000	Wistar ラット (一群雌 5 匹)	>5,000	>5,000	GLP 2009 年
	経皮/14 日間/5,000	Wistar ラット (一群雌雄各 5 匹)	>5,000	>5,000	GLP 2009 年

②急性神経毒性

プロジアミン原体について、SD ラット（一群雌雄各 10 匹）を用いた単回経口（0、80、400 及び 2,000 mg/kg 体重/日）投与による急性神経毒性試験が実施された。

神経行動学的検査では、2,000 mg/kg 体重/日投与群において、投与後 5 時間に、雄では、活動性低下、立ち上がり回数減少、覚醒度低下、眼瞼閉鎖、後肢の握力の有意な増加、直腸温及び自発運動量の有意な減少が、雌では、着地開脚幅、直腸温及び自発運動量の減少が見られた。

従って、急性神経毒性に対する無毒性量は雌雄とも 400 mg/kg 体重/日未満であると判断された。

(3) 皮膚・眼に対する刺激性及び皮膚感作性試験

プロジアミン(原体,製剤)について、NZW ウサギを用いた眼刺激性試験及び皮膚刺激性試験、並びに Hartley モルモットを用いた皮膚感作性試験が実施された。本試験の結果の概要は表 13 のとおりである。

皮膚刺激性は、原体及び製剤で認められなかった。

眼刺激性については、原体及び製剤で軽度な刺激性が認められた。

皮膚感作性については、原体及び 40.7%水和剤では、モルモットの皮膚に対して感作性を示さなかった。一方、65.0%水和剤では、中程度の感作性を示した。

表 13 プロジアミンの皮膚・眼に対する刺激性、皮膚感作性試験概要

検体種別	試験の種類/観察期間	動物種	投与方法/投与量	試験の結果	GLP 実施年
原体	皮膚刺激性 /72 時間	NZW ウサギ (一群雄 1 匹、雌 5 匹)	貼付/0.5 g	刺激性なし	GLP 1984 年
	眼刺激性 /7 日間	NZW ウサギ (一群雄 2 匹、雌 4 匹)	点眼/60 mg/眼	軽度の刺激性	GLP 1984 年
	皮膚感作性 /72 時間	Hartley モルモット (検体群：雌 10 匹 対照群；雌 10 匹)	Buehler 法/ 感作： 20%液、0.5 mL 惹起： 20%液、0.5 mL	感作性なし	GLP 1984 年
製剤 (65.0%水和剤)	皮膚刺激性 /72 時間	NZW ウサギ (一群雄 2 匹、雌 4 匹)	貼付/0.5 g	刺激性なし	GLP 1986 年
	眼刺激性 /7 日間	NZW ウサギ (一群雄 4 匹、雌 2 匹)	点眼/0.1 mL	軽度の刺激性	GLP 1986 年
	皮膚感作性 /72 時間	Hartley モルモット (感作群：雌 10 匹 非感作群；雌 10 匹)	Buehler 法/ 感作： 60%液 0.5 mL 惹起： 60%液 0.5 mL	感作性あり	GLP 1986 年
製剤 (40.7%水和剤)	皮膚刺激性 /72 時間	NZW ウサギ (一群雄 2 匹、雌 1 匹)	貼付/0.5 mL	刺激性なし	GLP 2007 年
	眼刺激性 /10 日間	NZW ウサギ (一群雄 1 匹、雌 2 匹)	点眼/0.1 mL	軽度の刺激性	GLP 2007 年
	皮膚感作性 /48 時間	Hartley モルモット (感作群：雌 20 匹 非感作群；雌 10 匹)	Buehler 法/ 感作： 100%液 0.5 mL 惹起： 75%液 0.5 mL (左腹側部) 50%液 0.5 mL (右腹側部)	感作性なし	GLP 2009 年

(4) 亜急性毒性試験

プロジアミン原体について、ラット及びイヌを用いた 90 日間反復経口投与毒性試験、ウサギを用いた 21 日間反復経皮毒性試験、並びにラットを用いた 13 週間反復経口投与神経毒性試験が実施された。

① 90 日間反復経口投与毒性試験（ラット）

SD ラット（一群雌雄各 20 匹）を用いた混餌（原体：0、400、1,200 及び 4,000 ppm、平均検体摂取量は表 14 参照）投与による 90 日間反復経口投与毒性試験が実施された。各投与群において認められた毒性所見は表 15 のとおりである。

表 14 90 日間反復経口投与毒性試験（ラット）の平均検体摂取量

投与量 (ppm)		400	1,200	4,000
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	26.7	80.1	269
	雌	32.0	97.0	325

4,000 ppm 投与群の雌雄で被毛及び尾の黄色化が認められたが、検体の色に起因するものであり、毒性学的意義は低いものと考えられた。

本試験において、4,000 ppm 投与群の雄で体重増加抑制及び CHOL の増加等が、400 ppm 投与群の雌で CHOL 増加が認められたことから、無毒性量は、雄で 1,200 ppm (80.1 mg/kg 体重/日)、雌で 400 ppm (32.0 mg/kg 体重/日) 未満であると考えられた。

表 15 90 日間反復経口投与毒性試験（ラット）で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
4,000 ppm	<ul style="list-style-type: none">・体重増加抑制・総摂餌量の減少・CHOL 増加尿タンパクの増加補正重量の増加(肝臓・腎臓)	<ul style="list-style-type: none">・体重増加抑制・赤血球・ヘモグロビン濃度の減少・総タンパクの増加・CHOL 増加尿 pH の増加・補正重量の増加 (肝臓、脾臓)
1,200 ppm	<ul style="list-style-type: none">・毒性所見なし	<ul style="list-style-type: none">・CHOL 増加
400 ppm	<ul style="list-style-type: none">・毒性所見なし	<ul style="list-style-type: none">・CHOL 増加

② 90 日間反復経口投与毒性試験（イヌ）

ビーグル犬（一群雌雄各 10 匹）を用いた混餌（原体：0、200、600 及び 2,000 ppm、平均検体摂取量は表 16 参照）投与による 90 日間反復経口投与毒性試験が実施された。なお、当試験は、(5) ③ 1 年間反復経口投与

毒性試験(イヌ)で、中間と殺したものである。各投与群で認められた毒性所見は表 17 のとおりである。

表 16 90 日間反復経口投与毒性試験 (イヌ) の平均検体摂取量

投与量 (ppm)		200	600	2,000
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	6.79	20.1	68.1
	雌	7.50	23.9	74.0

全投与群の雌雄で ALT の低下が認められ、9 及び 13 週時に 2,000ppm 投与群の雄で AST の有意な低下が認められたが、毒性指標とする変化と反対の変動を示していること及び関連する臓器に病理組織学的変化が認められなかったことから毒性学的意義は低いものと考えられた。また、雄では 13 週時に全投与群で PT に低値が見られたが、用量相関性がないため、毒性学的意義は低いものと考えられた。雌では、投与 9 週時のみ単球数が増加した。

2,000ppm 投与群の雌で脳の補正重量の増加及び肺の絶対重量の増加が、600ppm 投与群の雌で肺の絶対重量の増加が、2,000ppm 投与群の雄で胸腺の補正重量の増加が認められたが、用量相関性がないこと及び関連する病理組織学的変化が認められなかったことから、投与に関連した増加ではないと考えられた。

本試験において、600 ppm 投与群の雌雄で WBC、CHOL の増加が認められたことから、無毒性量は、雌雄ともに 200 ppm (雄 6.79 mg/kg 体重/日、雌 7.50 mg/kg 体重/日) であると考えられた。

表 17 90 日間反復経口投与毒性試験 (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"> ・ WBC・NEUT・LYMP・PLT の増加 ・ CHOL・ALP の増加 ・ ALB の低下 ・ 肝臓補正重量の増加 ・ 精巣絶対重量の低下 ・ 肝臓における小葉中心性混合型炎症性細胞巣の発生 	<ul style="list-style-type: none"> ・ WBC・NEUT・LYMP・PLT の増加 ・ APTT の低値 ・ CHOL・ALP の増加 ・ ALB の低下 ・ 肝臓補正重量の増加 ・ 単球増加
600 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ WBC の増加 ・ CHOL の増加 ・ ALB の低下 	<ul style="list-style-type: none"> ・ WBC・CHOL の増加 ・ NEUT・LYMP の増加
200 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ 毒性所見なし 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 毒性所見なし

③21 日間反復経皮投与毒性試験（ウサギ）

NZW ウサギ（一群雌雄各 5 匹）を用いた経皮（原体：0、125、500 及び 1,000 mg/kg 体重/日）投与による 21 日間反復経皮投与毒性試験が実施された。本試験においては、すべての用量において投与部位を除き影響は見られなかったことから、無毒性量は雌雄ともに最高用量の 1,000 mg/kg 体重/日であると考えられた。

④13 週間反復経口投与神経毒性試験（ラット）

SD ラット（一群雌雄各 10 匹）を用いた混餌（原体：0、250、1,000 及び 4,000 ppm、平均検体摂取量は表 18 参照）投与による 13 週間反復経口投与神経毒性試験が実施された。

表 18 ラット 13 週間反復経口投与神経毒性試験の平均検体摂取量

投与量 (ppm)		250	1000	4,000
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	18	72	292
	雌	21	85	343

投与 4 週時に 4,000 ppm 投与群の雌で自発運動量が一時的に増加したが、投与 13 週時には変化がないことから、検体投与に関連した変化とは考えられなかった。投与 13 週時には、1,000 及び 4,000 ppm 投与群において雄で前肢握力の軽度な増加が、また雌で着地開脚幅の有意な増加が見られたが、関連する所見がそれ以外には見られなかったことから、検体投与に関連する変化ではないと考えられた。

また 4,000ppm 投与群の雄で小脳の台形型軸索変性と三叉神経節の軸索変性が対照群よりわずかに増加したが、同群の雌では対照群に多く観察されている変化であることから、投与に関連した変化ではないと考えられた。また 4,000ppm 投与群の雌雄で脊髄の頸膨大部の軸索変性が対照群より軽度に増加したが、腰膨大部での軸索変性の増加は雌雄とも観察されず、その他の末梢神経においても、投与による軸索の異常は認められなかったことから、4,000ppm 投与群でのこれらの変化は投与による影響ではないと考えられた。

本試験においては、すべての用量において投与の影響は見られなかったことから、一般毒性に対する無毒性量及び神経毒性に対する無毒性量は、雌雄ともに最高用量の 4,000 ppm（雄 292 mg/kg 体重/日、雌 343 mg/kg 体重/日）であり、神経毒性はないものと考えられた。

(5) 慢性毒性試験及び発がん性試験

プロジアミン原体について、ラットを用いた 1 年間反復経口投与毒性/発がん性併合試験、マウスを用いた発がん性試験及びイヌを用いた 1 年間慢性毒性試験が実施された。

① 1 年間反復経口投与毒性及び発がん性併合試験(ラット)

SD ラット（一群雌雄各 50 匹、衛星群一群雌雄各 20 匹：投与期間 108 週間、52 週時に中間屠殺）を用いた混餌（原体：0、50、200、800 及び 3,200 ppm、平均検体摂取量は表 19 参照）投与による 1 年間反復経口投与毒性及び発がん性併合試験が実施された。各投与群において認められた毒性所見は表 20 のとおりである。

表 19 1 年間反復経口投与毒性及び発がん性併合試験(ラット)の平均検体摂取量

投与量 (ppm)		50	200	800	3,200
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	1.8	7.2	29.4	120
	雌	2.3	9.1	37.0	151

3,200 ppm 投与群で被毛の黄色化の発現が増加したが、検体の色に起因するもので毒性学的意義は低いものと考えられた。また、3,200 ppm 及び 800ppm 投与群の雌雄で、ALT 及び AST の低下が認められたが、これらの血液生化学検査値の低下は、毒性指標とする変化と反対の変動を示していること及び病理組織学的変化が認められなかったことから、毒性学的意義は低いと考えられた。その他血液生化学的検査値の変動が散見されたが、一時的な変化又は検査期間を通じての一貫した変化が見られなかったことから、いずれも偶発的な変化と考えられた。

3,200 ppm 及び 800 ppm 投与群の雌雄並びに 200 ppm 投与群の雄で着色尿が認められたが、検体の色に起因するもので毒性学的意義は低いものと考えられた。

肉眼的病理検査において、3,200 ppm 投与群の雌雄で下顎切歯淡色の発現頻度が増加し、また、3,200 ppm 投与群の雄で消化管のガス膨張の発現が、雌で肝臓の隆起及び不規則な陥凹、肺の淡色巣、黄体の見られない卵巣の発現が、それぞれ増加したが、これらの所見に対応する病理組織学的変化が認められなかったことから、毒性学的意義は低いものと考えられた。

また、3,200 ppm 投与群の雌で増加した甲状腺濾胞上皮細胞由来の腫瘍の発現頻度は表 21 に記載されている。

本試験において、800 ppm 投与群の雌雄で肝臓重量の増加が認められたことから、本試験における無毒性量は雌雄ともに 200 ppm（雄 7.2 mg/kg 体重/日、雌 9.1 mg/kg 体重/日）と考えられた。また、発がん性に対する無影響量は雌雄とも 800ppm（雄 29.4 mg/kg 体重/日、雌 37.0 mg/kg 体

重/日) と考えられた。

**表 20 1年間反復経口投与毒性及び発がん性併合試験(ラット)
で認められた毒性所見**

投与群	雄	雌
3,200 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制、摂餌量の減少 ・WBC の増加 ・CHOL の増加 ・肝臓補正重量の増加 ・LDH,ALP の低下 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制、摂餌量の減少 ・WBC の増加 ・CHOL の増加 ・肝臓補正重量の増加 ・LDH,ALP の低下
800 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・肝臓補正重量の増加 ・LDH,ALP の低下 	<ul style="list-style-type: none"> ・肝臓補正重量の増加 ・LDH,ALP の低下
200 ppm	・毒性所見なし	・毒性所見なし
50 ppm	・毒性所見なし	・毒性所見なし

表 21 甲状腺の濾胞上皮細胞腫瘍及び過形成病変の発生頻度

性別	雄					雌				
	0	50	200	800	3,200	0	50	200	800	3,200
投与量(ppm)	0	50	200	800	3,200	0	50	200	800	3,200
検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
濾胞上皮細胞 過形成(嚢胞状 含む)全動物	4	1	2	2	7	0	0	1	1	4
濾胞上皮細胞 腺腫 途中死亡	1	2	0	1	4	0	2	0	0	3
最終屠殺	0	2	0	2	2	0	0	0	0	3
全動物合計 (%)	1 (2.0)	4 (8.0)	0	3 (6.0)	6 (12.0)	0	2 (4.0)	0	0	6* (12.0)
濾胞上皮細胞 癌 途中死亡	1	0	0	2	1	0	0	0	1	0
最終屠殺	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0
全動物合計 (%)	1 (2.0)	0	1 (2.0)	3 (6.0)	2 (4.0)	0	0	0	2 (4.0)	0
濾胞上皮細胞 腺腫及び癌 (合計) (%)	2 (4.0)	4 (8.0)	1 (2.0)	6 (12.0)	8* (16.0)	0	2 (4.0)	0	2 (4.0)	6 (12.0)

統計学的有意差 : * : P<0.05 (Peto の方法)

② 発がん性試験（マウス）

ICR マウス（一群雌雄各 52 匹）を用いた混餌（原体：0、50、500 及び 5,000 ppm、平均検体摂取量は表 22 参照）投与による発がん性試験が実施された。各投与群において認められた毒性所見は表 23 のとおりである。

表 22 発がん性試験（マウス）の平均検体摂取量

投与量 (ppm)		50	500	5,000
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	6	55	594
	雌	6	61	628

5,000 ppm 投与群では被毛の黄色化の発現が増加したが、検体の色に起因するもので毒性学的意義は低いものと考えられた

ケージ内闘争による皮膚癒痕化増加は 500ppm の雄でも認められたが、真皮コラーゲンの増加は同群では増加しなかった。

500 ppm 及び 5,000 ppm 投与群の雌で腎臓重量の減少が認められたが、病理組織学的変化が認められなかったことから毒性学的意義は低いものと考えられた。

5,000 ppm 投与群の雄で増加した皮膚線維肉腫の発現率は表 24 に記載されている。

本試験において、5,000 ppm 投与群の雌雄で体重増加抑制等が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 500 ppm（雄：55 mg/kg 体重/日、雌：61 mg/kg 体重/日）と考えられた。また、発がん性に対する無毒性量は、雄で 500 ppm（55 mg/kg 体重/日）、雌で 5,000 ppm（628 mg/kg 体重/日）と考えられた。

表 23 発がん性試験（マウス）で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
5,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ ケージ内闘争による皮膚癒痕化増加 ・ 飼料要求率の増加 ・ NEUT の増加 ・ LYMP の減少 ・ 肝臓補正重量の増加 ・ 死亡率の軽度増加 ・ 真皮コラーゲンの増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ NEUT の増加 ・ LYMP の減少 ・ 肝臓補正重量の増加 ・ 死亡率の軽度増加
500 ppm	・ 毒性所見なし	・ 毒性所見なし
50 ppm	・ 毒性所見なし	・ 毒性所見なし

表 24 皮膚線維肉腫の発生頻度

性別	雄				背景データ
	0	50	500	5,000	
投与量(ppm)	0	50	500	5,000	上段：発現頻度
検査動物数	52	52	52	52	下段：発現率
途中死亡	1	2	2	8	1/52～3/52
最終屠殺	0	1	0	0	
全動物（合計）	1	3	2	8*	1.9～5.8%
（%）	(1.9)	(5.8)	(3.8)	(15.4)	

統計学的有意差：*：P<0.05 (Peto の方法)

③ 1年間反復経口投与毒性試験（イヌ）

ビーグル犬（一群雌雄各 10 匹）を用いた混餌（原体：0、200、600 及び 2,000 ppm、平均検体摂取量は表 25 参照）投与による 1 年間反復経口投与毒性試験が実施された。各投与群において認められた毒性所見は表 26 のとおりである。

表 25 1 年間反復経口投与毒性試験（イヌ）の平均検体摂取量

投与量 (ppm)		200	600	2,000
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	6.52	19.1	65.2
	雌	7.02	22.4	74.5

血生化学的検査では、すべての検体投与群で ALT 及び AST の低下が認められたが、毒性指標とする変化と反対の変動を示していること及び肝臓に病理組織学的変化が認められなかったことから、毒性学的意義は低いものと考えられた。その他の項目にも変化が散見されたが、全検査時期を通じての一貫した変化が見られないこと、また、関連項目に影響が見られないことから、毒性学的意義は低いものと考えられた。

血液学的検査では、200ppm 投与群の雌で 17 週時に総白血球数の増加、37 及び 45 週時に血小板数の増加が見られたが、一時的な変動であったことから偶発的变化であると考えられた。また、単球数の変動が雌雄で見られたが、期間を通じての一貫した変動が見られていないことから、毒性学的意義は低いものと考えられた。

2,000ppm の雄で投与 37,40 及び 45 週時に飲水量が減少したが、一時的な変化であることから、毒性学的意義は低いものと考えられた。

600ppm 及び 2,000ppm 投与群の雄で脾臓の補正重量に減少が、また 2,000ppm 投与群の雌で肺の補正重量及び卵巣の補正重量に増加が見られたが、関連する病理組織学的変化が認められなかったことから、毒性学的

意義は低いものと考えられた。

また、雄の 200ppm 投与群で肝臓補正重量の増加が認められたが、血液生化学的検査及び病理組織学的検査において肝障害を示唆するパラメータの変動が認められず、また本剤はラットにおいて薬物代謝酵素を誘導することから(42 頁(8)参照)、この肝臓重量増加については毒性影響ではないと考えられた。

本試験の結果より、600ppm 投与群の雌雄で WBC の増加等が認められたことから、無毒性量は雌雄ともに 200 ppm (雄：6.52 mg/kg 体重/日、雌：7.02 mg/kg 体重/日) であると考えられた。

表 26 1 年間反復経口投与毒性試験 (イヌ) で認められた毒性所見

投与量	雄	雌
2,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ WBC ・ NEUT ・ LYMP ・ PLT ・ CHOL ・ ALP の増加 ・ ALB 減少 ・ 肝臓補正重量の増加 ・ 胸腺補正重量の減少 ・ 胸腺の皮質退縮 	<ul style="list-style-type: none"> ・ WBC ・ NEUT ・ LYMP ・ PLT ・ CHOL ・ ALP の増加 ・ ALB 減少 ・ 肝臓補正重量の増加 ・ 胸腺の皮質退縮 ・ 好中球数の増加、リンパ球の増加
600 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ WBC ・ NEUT ・ LYMP の増加 ・ ALB 減少 ・ 肝臓補正重量の増加 ・ 胸腺補正重量の減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・ WBC ・ NEUT ・ LYMP の増加
200 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ 毒性所見なし 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 毒性所見なし

(6) 生殖発生毒性試験

プロジアミン原体について、ラットを用いた 2 世代繁殖試験並びにラット及びウサギを用いた催奇形性試験が実施された。

① 2 世代繁殖試験 (ラット)

SD ラット (一群雌雄各 28 匹) を用いた混餌投与 (原体：0、50、200 及び 2,000 ppm、平均検体摂取量は表 27 参照) 投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

表 27 2 世代繁殖試験(ラット)の平均検体摂取量

投与量 (ppm)		50	200	2,000	
交配前検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	P 世代	雄	3.5	14.4	142
		雌	4.1	16.4	170
	F ₁ 世代	雄	3.8	15.6	156
		雌	4.2	16.7	172

各投与群で認められた毒性所見は、表 28 のとおりである。

親動物 (雌) において投与に起因した死亡例はみられなかった。

児動物において離乳前の機能発達 (反射反応性検査) で平面立ち直り、驚愕反射及び空中立ち直りの完成時期の遅延が認められたが、児の体重増加抑制に関連した変化であり本剤の直接作用によるものではないと考えられた。

P 世代雄では 200 及び 2,000 ppm 投与群で副腎補正重量の減少が認められたが、SD ラットを用いた 90 日間亜急性毒性試験の 4,000 ppm 群の雄及び 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験の 3,200 ppm 群の雄には認められていないことから、投与に関連した変化ではないと考えられた。児動物 F₁ 世代雄の 2,000ppm 投与群では精巣補正重量の増加が認められているが、F₁ 児の絶対重量がやや高値であり、最終体重がやや低値であったことが反映された変動と考えられ、また、次世代の F₂ 児では精巣重量に影響がなかったことから、毒性学的意義は低いものと考えられた。

本試験において、親動物では 2,000 ppm 投与群の雌雄で肝臓補正重量増加、同群雌で体重増加抑制が、児動物では雌雄とも F₁ 及び F₂ 世代の 2,000 ppm 投与群において、肝臓補正重量増加が認められたことから、親動物の無毒性量は雌雄ともに 200 ppm (P: 雄 14.4 mg/kg 体重/日、雌 16.4 mg/kg 体重/日、F₁: 雄 15.6 mg/kg 体重/日、雌 16.7 mg/kg 体重/日)、児動物の無毒性量は F₁ 世代で雌雄ともに 200 ppm (雄 14.4 mg/kg 体重/日、雌 16.4 mg/kg 体重/日)、F₂ 世代で雌雄ともに 200 ppm (雄 15.6 mg/kg 体重/日、雌 16.7 mg/kg 体重/日) と考えられた。

繁殖能に対する影響は認められなかった。

表 28 2 世代繁殖試験(ラット)で認められた毒性所見

投与群			投与群		
			50 ppm	200 ppm	2,000 ppm
親動物	P	雄	・ 毒性所見なし	・ 毒性所見なし	・ 肝臓補正重量増加
		雌	・ 毒性所見なし	・ 毒性所見なし	・ 交配前の体重増加抑制 ・ 肝臓補正重量増加
	F1	雄	・ 毒性所見なし	・ 毒性所見なし	・ 肝臓補正重量増加
		雌	・ 毒性所見なし	・ 毒性所見なし	・ 交配前の体重増加抑制 ・ 肝臓補正重量増加
児動物	F1	雄	・ 毒性所見なし	・ 毒性所見なし	・ 体重増加抑制 ・ 肝臓補正重量増加
		雌	・ 毒性所見なし	・ 毒性所見なし	・ 体重増加抑制 ・ 肝臓補正重量増加
	F2	雄	・ 毒性所見なし	・ 毒性所見なし	・ 体重増加抑制 ・ 肝臓補正重量増加
		雌	・ 毒性所見なし	・ 毒性所見なし	・ 体重増加抑制 ・ 肝臓補正重量増加

② 催奇形性試験(ラット)

SD ラット (一群雌 25 匹) の妊娠 6~15 日までの 10 日間、毎日一回強制経口投与 (原体 : 0、100、300 及び 1,000 mg/kg 体重/日) した催奇形性試験が実施された。各投与群に認められた毒性所見は、表 29 のとおりである。

母動物において、全投与群でオレンジ色の尿が観察されたが、検体の色に起因したものと考えられた。

着床及び胎児の発育・生存性に影響は認められなかった。胎児の形態学的な所見では 100 及び 1,000 mg/kg 体重/日投与群で小眼球症/無眼球症の異常を有する胎児 (100 mg/kg : 1 腹 2 胎児 ; 1,000 mg/kg : 2 腹 4 胎児) が見られたが、その発現頻度は背景データの範囲内であった。

本試験において、母動物では 300mg/kg 体重/日以上で体重増加抑制が見られ、胎児ではいずれの投与群においても毒性所見は認められなかったことから、無毒性量は母動物に対して 100 mg/kg 体重/日、胎児に対して 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。

表 29 催奇形性試験(ラット)で認められた毒性所見

投与群	母動物	胎児
1,000 mg/kg 体重/日	・ 体重増加抑制	・ 毒性所見なし
300 mg/kg 体重/日	・ 体重増加抑制	・ 毒性所見なし
100 mg/kg 体重/日	・ 毒性所見なし	・ 毒性所見なし

③ 催奇形性試験（ウサギ）

NZW ウサギ（一群雌 18 匹、）の妊娠 6～18 日までの 13 日間、毎日一回強制経口（原体：0、100、300 及び 500 mg/kg 体重/日）投与した催奇形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 30 のとおりである。

本試験において、母動物では 300mg/kg 体重/日以上で体重増加抑制が見られ、胎児ではいずれの投与群においても毒性所見は認められなかったことから、無毒性量は母動物に対して 100 mg/kg 体重/日、胎児に対して 500 mg/kg 体重/日であると考えられた。なお、催奇形性は認められなかった。

表 30 催奇形性試験（ウサギ）で認められた毒性所見

投与群	母動物	胎児
500 mg/kg 体重/日	体重増加抑制 摂餌量の低値	毒性所見なし
300 mg/kg 体重/日	体重増加抑制	毒性所見なし
100 mg/kg 体重/日	毒性所見なし	毒性所見なし

(7) 遺伝毒性試験

プロジアミン原体について、細菌を用いた復帰突然変異試験、マウスリンパ腫細胞を用いた遺伝子突然変異試験、チャイニーズハムスターの CHO 細胞を用いた染色体異常試験、細菌を用いた DNA 修復試験、ラット初代培養肝細胞を用いた不定期 DNA 合成試験及びラット骨髄細胞を用いた小核試験が実施された。

本試験の結果の概要は表 31 のとおりである。

細菌を用いた復帰突然変異試験では、1996 年の試験で TA98 株の代謝活性化系の非存在下で最高用量においてのみ突然変異コロニー数の極めて弱い増加（2.32～2.47 倍）が認められたが、1985 年に実施された 3 試験ではいずれも TA98 株で陰性であったことから、プロジアミンに復帰突然変異誘発性はないと評価した。

マウスリンパ腫細胞を用いた遺伝子突然変異試験では、1985 年の試験では、代謝活性化系の非存在下において、13 µg/mL 及び 17 µg/mL の高用量で、それぞれ溶媒対照の 2.1 倍、5.1 倍の突然変異発現頻度が認められたが、これらの用量での相対増殖率はそれぞれ 18%及び 1%であり、強い細胞毒性が見られた用量での結果であることから、突然変異誘発性については判定不能（equivocal）と考えられた。しかし、1990 年に実施された試験では、代謝活性化系の存在の有無にかかわらず陰性であったことから、プロジアミンに突然変異誘発性はないと評価した。

また、染色体異常試験についても in vitro 試験、in vivo 試験ともに陰性であり、プロジアミンの遺伝毒性はないものと考えられた。

表 31 遺伝毒性試験の概要

試験	対象	処理濃度・投与量	結果	実施年	
<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、 TA1537、TA1538 株)	100 ~ 10,000 µg/plate (+/-S9)	陰性	1985 年
		<i>Salmonella typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、 TA1537、TA1538 株)	100 ~ 10,000 µg/plate (+/-S9)	陰性	1985 年
		<i>Salmonella typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、 TA1537、TA1538 株)	50 ~ 5,000 µg/plate (+/-S9)	陰性	1985 年
		<i>Escherichia coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)	313 ~ 5,000 µg/plate (+/-S9)	陰性	1990 年
		<i>Salmonella typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、 TA1537 株) <i>Escherichia coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)	50 ~ 5,000 µg/plate (+/-S9)	弱陽性 TA98 (-S9)	1996 年
	遺伝子突然変異試験	マウスリンパ腫細胞 (L5178Y/TK ^{+/+})	1.3~17.0 µg/mL (-S9) 4.0~23.0 µg/mL (+S9)	-S9:判定 不能 +S9:陰性	1985 年
		マウスリンパ腫細胞 (L5178Y/TK ^{+/+})	1.0 ~ 500.0 µg/mL (-S9) 0.5~50.0 µg/mL (+S9)	陰性	1990 年
	染色体異常試験	チャイニーズハムスター卵 巣細胞 (CHO-K ₁)	4~60 µg/mL (+/-S9)	陰性	1985 年
	DNA 修復試験	<i>Bacillus subtilis</i> (H17、M45 株)	275 ~ 4,400 µg/disc (+/-S9)	陰性	1990 年
	不定期 DNA 合成試験	ラット初代培養肝細胞	0.3~100 µg/mL	陰性	1985 年
<i>in vivo</i>	小核試験 SD ラット(骨髄細胞) (一群雄 5 匹)	0、2,000 mg/kg 体重 (単回経口投与)	陰性	2005 年	

注) +/-S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下

(8) ラット6週間反復投与による肝薬物代謝酵素及び甲状腺への影響検討試験

Wistar ラットを用いた混餌（原体：0、200、800 及び 8,000 ppm、対照群及び 8,000 ppm 群は一群雌 12 匹、200 及び 800 ppm 群は一群雌 6 匹）投与により、肝臓中の肝薬物代謝酵素及び血中の甲状腺ホルモン濃度への影響を検討した。また、対照群及び 8,000 ppm 群（各群 6 匹）については 6 週間の回復期間を設け、投与に関連した変化の回復性についても検討した。また、陽性対照として PTU を 200ppm の用量で 6 週間投与した。

結果の概要を表 32 及び 33 に示した。

8,000ppm 投与群において、肝臓中の肝薬物代謝試験（表 32）では、6 週間投与後に、ミクロソーム蛋白量、チトクローム P450 量、ECOD 活性及び UDPGT 活性の増加が認められたが、6 週間の回復期間後には対照群と有意な差は認められず回復性が認められた。また、血中の甲状腺ホルモン試験（表 33）では、T3 の軽度な増加が認められたものの、T4 及び TSH への影響はなく、病理組織学的所見は認められなかった。

また、800ppm 投与群において、肝臓中の肝薬物代謝試験では、ミクロソーム蛋白量が増加したものの、血中の甲状腺ホルモン濃度及び肝臓重量に影響はなく、病理組織学的所見は認められなかった。

本試験において、プロジアミンには抗甲状腺ホルモン様作用はなく、プロジアミンにより肝臓の薬物代謝酵素である UDPGT が誘導されることが考えられた。また、1 年間反復投与経口毒性及び発がん性試験において認められた甲状腺濾胞上皮細胞由来の腫瘍増加の一因として、肝臓における UDPGT 誘導に起因する二次的な影響が考えられた。

これらのことから、プロジアミン投与による肝臓重量の増加は、肝薬物代謝酵素活性の増加に起因するものと考えられた。

表 32 肝臓中の肝薬物代謝試験

検査 時期	項目 / 投与量 (ppm)	対照群	投与群			PTU
		0	200	800	8,000	200
7 週	ミクロソーム蛋白量 (mg/mL)	3.56 (100)	4.10 (115)	5.71* (160)	7.91* (222)	5.94* (167)
	チトクロームP450 (nmol/mg)	0.289 ^d (100)	0.473 (164)	1.08 (376)	2.54* (881)	0.387 (132)
	ECOD (μmol/min)	0.236 (100)	0.497 (210)	0.555 (235)	0.913** (387)	0.540 (229)
	UDPGT (μmol/min)	0.657 (100)	1.09 (166)	1.74 (265)	4.77** (726)	0.779 (119)
13 週	ミクロソーム蛋白量 (mg/mL)	5.85 (100)	-	-	5.19 (89)	-
	チトクロームP450 (nmol/mg)	0.352 (100)	-	-	0.333 (95)	-
	ECOD (μmol/min)	0.273 (100)	-	-	0.264 (97)	-
	UDPGT (μmol/min)	0.441 (100)	-	-	0.583 (132)	-

注 ; 1 統計解析はANOVA + Dunnett検定又はKruakal-Wallis + Mann-Whitney U検定で、表中の *印は p<0.05, **印はp<0.01を示す。

2 () 内の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものである。

表 33 血中の甲状腺ホルモン試験（ラジオイムノアッセイにより測定）

検査時期	項目／投与量 (ppm)	対照群	投与群			PTU
		0	200	800	8,000	200
6 週	T3 (pg/mL)	2,460 (100)	2,640 (107)	2,640 (107)	2,870* (117)	907** (37)
	T4 (ng/mL)	27.7 (100)	23.1 (84)	31.6 (114)	30.5 (110)	-
	TSH (ng/mL)	4.84 ^d (100)	4.76 (98)	4.43 (92)	5.29 (109)	82.7** (171)
12 週	T3 (pg/mL)	2,800 (100)	-	-	3,070 (110)	-
	T4 (ng/mL)	31.7 (100)	-	-	38.5 (121)	-
	TSH (ng/mL)	3.73 (100)	-	-	4.33 (116)	-

注；1 統計解析はANOVA + Dunnett検定又はKruakal-Wallis + Mann-Whitney U検定で、表中の *印は p<0.05, **印はp<0.01を示す。

2 表中の（ ）内の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものである。

Ⅲ. 総合評価

ラットを用いた動物体内運命試験の結果、経口投与されたプロジアミンは速やかに吸収され、血中濃度推移に性差は認められなかった。

排泄は速やかで、96 時間後までに大部分が糞中及び尿中に排泄された。主要な排泄経路は糞中であった。組織中の残留は肝臓、脂肪及び腎臓でやや高かったが、96 時間後にはほとんど消失し、組織残留性及び組織蓄積性は認められなかった。主な代謝経路は、N-脱アルキル化、閉環にニトロ基のアミノ基への還元、フェニル環の水酸化反応であった。

各毒性試験の結果から、プロジアミン投与における影響は、主に肝臓に認められた。

ラットの 1 年間反復経口投与毒性/発がん性併合試験では 3,200ppm 投与群の雌雄で甲状腺濾胞上皮細胞腺腫、マウスの発がん性試験では 5,000ppm 投与群の雄で皮下線維肉腫の発現率が有意に増加し、背景データを上回った。しかし、遺伝毒性試験の結果が陰性であることから、その発がん機序は遺伝毒性によるものとは考えられず、発がん性に対する閾値を設定することが可能であると考えられた。

神経毒性、催奇形性及び遺伝毒性は認められなかった。

各試験における無毒性量及び最小毒性量並びに最小毒性量で認められた所見を表 37 に示す。

表 34 各試験における無毒性量及び最小毒性量

動物種	試験	無毒性量・(最小毒性量) (mg/kg 体重/日) 最小毒性量で認められた所見	国外での評価 無毒性量 (mg/kg 体重/日)
ラット	90 日間反復経口投与毒性試験	雄：80.1 (269) 雌：<32.0 (32.0) 雄：体重増加抑制、総摂餌量の減少、CHOL 増加、尿タンパクの増加、補正重量の増加（肝臓・腎臓） 雌：CHOL 増加	APVMA：80
イヌ	90 日間反復経口投与毒性試験	雄：6.79 (20.1) 雌：7.50 (23.9) 雄：WBC の増加、CHOL の増加、ALB の低下 雌：WBC の増加、CHOL の増加、NEUT の増加、LYMP の増加	APVMA：5
ウサギ	21 日間反復経皮投与毒性試験	雄：1,000 (－) 雌：1,000 (－) 毒性所見なし	APVMA：1,000
ラット	13 週間反復経口投与神経毒性試験	雄：292 (－) 雌：343 (－) 神経毒性なし	APVMA 雄：292 雌：343
ラット	1 年間反復経口投与毒性/発がん性試験	雄：7.2 (29.4) 雌：9.1 (37.0) 雄：肝臓補正重量の増加、LDH の低下、ALP の低下 雌：肝臓補正重量の増加、LDH の低下、ALP の低下 発がん性に対する無毒性量 雄：29.4 雌：37.0	APVMA：10
マウス	発がん性試験	雄：55 (594) 雌：61 (628) 雄：体重増加抑制、ケージ内闘争による皮膚癒痕化増加、飼料要求率の増加、NEUT の増加、LYMP の減少、肝臓補正重量の増加、死亡率の軽度増加、真皮コラーゲンの増加 雌：体重増加抑制、NEUT の増加、LYMP の減少、肝臓補正重量の増加、死亡率の軽度増加 発がん性に対する無毒性量 雄：55 雌：628	APVMA：－
イヌ	1 年間反復経口投与毒性試験	雄：6.52 (19.1) 雌：7.02 (22.4) 雄：WBC の増加、NEUT の増加、LYMP の増加、ALB の減少、肝臓補正重量の増加、胸腺補正重量の減少 雌：WBC の増加、NEUT の増加、LYMP の増加、	APVMA：5

ラット	2世代繁殖試験	<p>親動物 P雄：14.4(142) P雌：16.4(170) F1雄：15.6(156) F1雌：16.7(172)</p> <p>児動物 F1雄：14.4(142) F1雌：16.4(170) F2雄：15.6(156) F2雌：16.7(172)</p> <p>親動物 P雄：肝臓補正重量増加 P雌：交配前の体重増加抑制、肝臓補正重量増加 F1雄：肝臓補正重量増加 F1雌：交配前の体重増加抑制、肝臓補正重量増加</p> <p>児動物 F1雄：体重増加抑制、肝臓補正重量増加 F1雌：体重増加抑制、肝臓補正重量増加 F2雄：体重増加抑制、肝臓補正重量増加 F2雌：体重増加抑制、肝臓補正重量増加 繁殖能に影響なし</p>	APVMA：5
ラット	催奇形性試験	母動物：100 (300) 胎児：1,000 (—) 母動物：体重増加抑制 胎児：毒性所見なし 催奇形性なし	母動物：60 胎児：200
ウサギ	催奇形性試験	母動物：100 (300) 胎児：500 (—) 母動物：体重増加抑制 胎児：毒性所見なし 催奇形性なし	母動物：25 胎児：125

各試験で得られた無毒性量の最小値は、イヌを用いた1年間反復投与毒性試験の無毒性量 6.52 mg/kg 体重/日であったことから、当該試験を非食用一日摂取許容量（非食用 ADI）の根拠とすることが適切であると考えられる。

以上の結果を踏まえ、プロジアミンに対する非食用 ADI を次のように評価する。

非食用 ADI	0.065 mg/kg 体重/日
設定根拠試験	反復経口投与毒性試験
動物種	イヌ
期間	1 年間
投与方法	混餌経口
無毒性量	6.52 mg/kg 体重/日
安全係数	100 (種間差、個体差)

なお、海外での評価状況は以下のとおりである。

国・地域	評価機関	評価結果	
		オーストラリア	APVMA (2010)
		設定根拠	無毒性量 : 5 mg/kg 体重/日 イヌを用いた 1 年間反復経口投与毒性試験 安全係数 : 100

<別紙 1> 代謝物/分解物等略称

記号	名 称	化 学 名
[A]	プロジアミン	5-ジプロピルアミノ- α,α,α -トリフルオロ-4,6-ジニトロ- <i>o</i> -トルイジン
[B]	<i>N</i> -脱プロピル体	5-プロピルアミノ- α,α,α -トリフルオロ-4,6-ジニトロ- <i>o</i> -トルイジン
[C]	<i>N,N</i> -脱プロピル体	5-アミノ- α,α,α -トリフルオロ-4,6-ジニトロ- <i>o</i> -トルイジン
[D]	アミノ化体	6-アミノ-5-ジプロピルアミノ-4-ニトロ- α,α,α -トリフルオロ- <i>o</i> -トルイジン
[AB-1]	ベンゾイミダゾール型閉環体 1	6-アミノ-2-エチル-7-ニトロ-1-プロピル-5-トリフルオロメチルベンゾイミダゾール
[AB-2]	ベンゾイミダゾール型閉環体 2	4-アミノ-2-エチル-7-ニトロ-1-プロピル-5-トリフルオロメチルベンゾイミダゾール
[BB-1]	[B]のベンゾイミダゾール型閉環体 1	6-アミノ-2-エチル-7-ニトロ-5-トリフルオロメチルベンゾイミダゾール
[EB-1]	水酸化体のベンゾイミダゾール型閉環体 1	6-アミノ-2-エチル-7-ニトロ-1-プロピル-5-トリフルオロメチル-1 <i>H</i> -ベンゾイミダゾール-4-オル
[FB-1]	<i>N</i> -脱プロピル/アミノ化/水酸化体のベンゾイミダゾール型閉環体 1	2-エチル-6,7-ジアミノ-4-ヒドロキシ-5-トリフルオロメチルベンゾイミダゾール
[GB-1]	脱プロピル/ヒドロキシアミン化体のベンゾイミダゾール型閉環体 1	<i>N</i> -(5-アミノ-6-トリフルオロメチル-2-エチル-3 <i>H</i> -ベンゾイミダゾール-4-イル)ヒドロキシルアミン

<別紙 2> 検査値等略称

略称	名 称
ADI	一日摂取許容量
ALB	アルブミン
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
APTT	活性化部分トロンボプラスチン時間
APVMA	Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority
AST	アスパギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	血中濃度-時間曲線下面積
BCF _{ss}	生物濃縮係数
¹⁴ C	放射性同位体である炭素 14
CFLP	Cleavase fragment length polymorphism
CHOL	コレステロール
C _{max}	最高血中濃度
DT ₅₀	土壌中半減期
ECOD	エトキシクマリン- <i>O</i> -デエチラーゼ
GLP	Good Laboratory Practice
ICR	Institute of Cancer Research
<i>In vitro</i>	(生体外)
K _{F^{ads}_{oc}}	有機炭素吸着定数
K _{F^{ads}}	土壌吸着定数
LC ₅₀	50%致死濃度
LD ₅₀	50%致死量
LDH	尿乳酸脱水素酵素
LogPow	オクタノール/水分配係数
LYMP	リンパ球数
MCV	平均赤血球容積
MCHC	平均赤血球ヘモグロビン濃度
NEUT	好中球数
NZW	New Zealand White
PLT	血小板数
ppm	Parts per million
PT	プロトロンビン時間
PTU	6-プロピル-2-チオウラシル
SD	Sprague-Dawley
T _{1/2}	半減期
TAR	総投与 (処理) 放射能
T _{max}	最高血中濃度に達する時間
UDPGT	ウリジンジホスホ-グルクロノシルトランスフェラーゼ
TSH	甲状腺刺激ホルモン
WBC	総白血球数

<参考文献>

1. AUSTRALIA GOVERNMENT AUSTRALIAN PESTICIDES AND VETERINARY MEDICINES AUTHORITY (2010)