

多くの放射能が抽出され（参考：2M 水酸化ナトリウムの加熱還流抽出で 7.3%TRR (0.46 mg/kg)が抽出された。酵素類の処理では抽出効率の改善はなかった）、アセトニトリル抽出物と併せると 99.5%TRR (6.30 mg/kg) が回収された。

種子の抽出液から親化合物 (0.029 mg/kg、56.2%TRR) とエノール体である代謝物 M1 (0.019 mg/kg、38%TRR) が同定された。「茎及びびがく」の抽出液からは親化合物が 26.3%TRR、代謝物 M1 が 49.4%TRR、M2 が 6.9%TRR、M8 が 3.6%TRR、その他代謝物 M4、M9、M6 (4-ヒドロキシメチル・3-ペンタノール) が 1%TRR 以下抽出された。抽出残渣の 2M 水酸化ナトリウムの加熱還流抽出液からは、7.3%TRR (0.46 mg/kg) の放射能が遊離した。このうち、代謝物 M1 が 3.8%TRR (0.24 mg/kg) 抽出されたほか、未同定の代謝物が 0.7~1.5%TRR 抽出された。親化合物は 0.3%TRR 未満であったが、代謝物 M1 はアルカリ条件下で加水分解された可能性があると考えられた。

スピロメシフェンのワタにおける代謝経路は、エステルの開裂によるエノール体 (代謝物 M1) の生成、続いて代謝物 M1 のベンゼン環のパラ位のメチル基の水酸化による 4-ヒドロキシメチル体 (代謝物 M2) の生成、さらに抱合化による 4-ヒドロキシメチル・グルコシド (代謝物 M9) の生成と考えられた。その他、代謝物 M4、M6 及び M8 も生成すると考えられた。(参照 8)

3. 土壤中運命試験

(1) 好氣的土壤 (dhy-¹⁴C-スピロメシフェン)

dhy-¹⁴C-スピロメシフェンをシルト質埴壤土 (Claude 土壤：米国)、砂壤土 (Fresno 土壤：米国)、シルト (Hoefchen 土壤：ドイツ)、砂壤土 (Laacherhof 土壤：ドイツ) に乾土あたり 0.32 mg/kg 添加し、20°C の暗条件で 120 日間 (Claude 土壤及び Fresno 土壤については 365 日間) インキュベートし、スピロメシフェンの好氣的土壤中運命試験が実施された。

抽出性放射能はいずれの土壤でも経時的に減少し、それに伴い結合性残留物及び揮発性物質が増加した。結合性残留物は、いずれの土壤でも処理 30~120 日後には最大に達したが、25%TAR を超えることはなく、その後、減少し CO₂ の発生量が増加したことから結合性残留物も無機化を受けることが推定された。CO₂ は経時的に増加し、試験終了時には約 70%TAR に達した。

4 種類の土壤におけるスピロメシフェンの残存量は 120 または 365 日の試験終了時点で 1%以下に減少した。スピロメシフェンの半減期は 2.9~17.9 日であった。スピロメシフェンはエノール体 (分解物 M1) に速やかに分解された。分解物 M1 の最大値は、Claude 土壤及び Fresno 土壤では処理 14 日後にそれぞれ 32 及び 28%TAR、Hoefchen 土壤及び Laacherhof 土壤では、処理 7 日後にそれぞれ 49 及び 58%TAR であり、いずれの土壤においても、実験終了時までには、2%TAR 以下に減少した。分解物 M3 の最大値は、Claude 土壤では処理 30 日後に 7.5%TAR、Fresno 土壤では 14 日後に 2.8%TAR であった。Hoefchen 及び Laacherhof 土壤では、それぞれ処理 14 日後に 10.6%TAR、処理 30 日後に 11.4%TAR であり、その後減少した。分解物 M5 については、Claude 土壤及び Fresno 土壤で、処理 30 日後にそれぞれ 7 及び

4%TAR に増加し、Hoefchen 土壌及び Laacherhof 土壌では、試験期間を通じて 2%TAR 未満であった。50 倍過剰量で処理した Claude 土壌からは、分解物 M10 及びその加水分解物である分解物 M11 が同定された。

スピロメシフェンの好氣的土壌における代謝経路は、エステルの開裂による分解物 M1 の生成、分解物 M1 の 4-メチルフェニル部分あるいはシクロペンチル環の水酸化及び酸化による 4-カルボン酸体（分解物 M3）あるいはペンタノン（分解物 M5）の生成、また、カルボキシペンチルエステル（分解物 M10）及びその加水分解物グリオキシル酸体（分解物 M11）を経て、最終的に CO₂ まで完全に無機化される経路と考えられた。（参照 9）

(2) 好氣的土壌 (phe-¹⁴C-スピロメシフェン)

phe-¹⁴C-スピロメシフェンを砂壤土 (Fresno 土壌：米国) に乾土あたり 0.4 mg/kg (900 g ai/ha に相当) となるように添加し、20°C の暗条件下で 120 日間インキュベートし、スピロメシフェンの好氣的土壌運命試験が実施された。

水及びアセトニトリルで抽出された放射エネルギーは、経時的に減少し、それに伴い結合性残留物 (処理後 0 及び 120 日でそれぞれ 5.8 及び 20.5%TAR) 及び CO₂ (処理 120 日後には約 30%TAR) が増加した。

スピロメシフェンは速やかに分解され、分解物 M1 は処理 7 日後に 77.1%TAR まで増加した後、処理 120 日後には 22%TAR まで減少した。分解物 M3 は処理 3 日後に増加し始め、90 日後に 11.3%TAR に達し、試験終了時で 11.1%TAR であった。分解物 M5 は処理 3 日後から認められ、62 日後に 5.1%TAR まで増加し、試験終了時には 4.6%TAR に減少した。

スピロメシフェンの半減期及び 90%消失期間はそれぞれ 2.6 及び 8.6 日であった。

スピロメシフェンの好氣的土壌における代謝経路は、エステルの開裂による分解物 M1 の生成、分解物 M1 の 4-メチルフェニル部分あるいはシクロペンチル環の水酸化及び酸化による 4-カルボン酸体（分解物 M3）あるいはペンタノン（分解物 M5）の生成、最終的に CO₂ まで完全に無機化されると考えられた。（参照 10）

(3) 好氣的土壌 (cyc-¹⁴C-スピロメシフェン)

cyc-¹⁴C-スピロメシフェンを砂壤土 (Fresno 土壌：米国) に乾土あたり 0.401 mg/kg の濃度(900 g ai/ha に相当)で 20°C の暗条件下で 90 日間インキュベートし、スピロメシフェンの好氣的土壌中運命試験が実施された。

水及びアセトニトリルで抽出された放射エネルギーは処理当日の 99.1%TAR から経時的に減少し、試験終了時点で 67.2%TAR に減少した。結合性残留物及び CO₂ は経時的に増加し、それぞれ処理 90 日後に 13.9%TAR 及び試験終了時に 14.3%TAR であった。

スピロメシフェンは速やかに分解され、分解物 M1 は処理 30 日後に 82.2%TAR まで増加した後、処理 90 日後には 45.3%TAR まで減少した。分解物 M3 は経時的に増加し、90 日後に 14.1%TAR に達した。分解物 M5 及び M12 (2-ヒドロキシメチル体) を含むそのほかの分解物の量は 5%TAR 未満であった。

スピロメシフェンの半減期は 3.8 日と考えられた。

スピロメシフェンの好氣的土壤における代謝経路は、エステルの開裂による分解物 M1 の生成、分解物 M1 の 4-メチルフェニル部分あるいはシクロペンチル環の水酸化及び酸化による 4-カルボン酸体（分解物 M3）あるいはペンタノン（分解物 M5）の生成、最終的に CO₂ まで完全に無機化される経路と考えられた。（参照 11）

（４）土壤表面光分解

dhy-¹⁴C-スピロメシフェンを砂壤土（Fresno 土壤：米国）に乾土あたり 2 μg/g となるように加えた後、20±1℃でフィルター付のキセノンランプ（680W/m²、測定波長：300-800nm）を 10 日間連続照射し、スピロメシフェンの土壤表面光分解試験が実施された。なお、土壤中の微生物活性を維持するために土壤の水分含量を 1/3 バール含水量の 75%に維持した。

スピロメシフェンは光照射により、処理 0 日の 98.9%TAR から処理 10 日後には 72.9%TAR まで減少した。分解物 M1 は 10 日後に 11.6%TAR まで増加した。その他に主要分解物は認められなかった。結合性残留物は処理 10 日後に最大で 7.4%TAR に達した。

暗対照試料において、スピロメシフェンは処理 10 日後には 73.9%TAR まで減少した。分解物 M1 が検出された唯一の分解物で、処理 10 日後には 24.1%TAR まで増加した。

半減期は、照射及び暗条件ともに 23.1 日（外部環境下では 5.8 日に相当）と考えられ、スピロメシフェンの土壤での分解に光は寄与しないことが示唆された。

スピロメシフェンの土壤における分解経路は、分解物 M1 への変換であり、その他の分解は認められなかった。（参照 12）

（５）土壤吸着試験

dhy-¹⁴C-スピロメシフェン（4 種類の土壤 [砂壤土（青森）、砂壤土（埼玉）、砂壤土（茨城）及びシルト質砂土（Lufa Speyer 土壤：ドイツ）] 使用）、分解物 M1（4 種類の土壤 [砂壤土（岡山）、砂土（宮崎）、壤土（茨城）及びシルト（埼玉）] 使用）の土壤吸着試験が実施された。吸着係数 K^{ads} はスピロメシフェンで 175～7220、分解物 M1 で 0.0228～0.535 であった。有機炭素含有率により補正した吸着係数 K_{oc} はスピロメシフェンで 5050～179000、分解物 M1 で 0.527～31.8 であった。（参照 13、14）

4. 水中運命試験

（１）加水分解試験（滅菌緩衝液）

dhy-¹⁴C-スピロメシフェンを pH4（酢酸緩衝液）、7（Tris 緩衝液）及び 9（ホウ酸緩衝液）の各滅菌緩衝液に 0.065 mg/L となるように加えた後、暗条件、25 及び 50℃で 30 日間インキュベートし、スピロメシフェンの加水分解試験が実施された。

50℃における試験では、スピロメシフェンは pH4 緩衝液中で 6 日後に 15.1%TAR にまで減少し、pH7 及び 9 ではそれぞれ 3 日後に 30.5%TAR 及び定量限界以下に減少した。

25℃における試験では、スピロメシフェンは処理 30 日後に pH4、7 及び 9 では 71.0%TAR、42.9%TAR 及び定量限界以下に減少した。

スピロメシフェンの半減期は pH 及び温度の上昇とともに減少した。pH4、7、9 での半減期は 50℃でそれぞれ 2.2 日、1.7 日及び 2.6 時間、25℃では 53.3、24.8 及び 4.3 日、20℃ではそれぞれ 107、44.7 及び 4.8 日であった。

加水分解での主要分解物は分解物 M1 (エノール体) であった。分解物 M1 は、50℃では pH4、7 及び 9 で処理 3 日後に 54.9、68.3 及び 96.8%TAR に達した。25℃では、処理 30 日後にそれぞれ 27.5、54.3 及び 95.7%TAR に達した。その他少量の分解物が検出されたが、いずれの温度、pH でも 3%TAR を超える成分は認められなかった。

(参照 15)

(2) 水中光分解試験 (自然水/dhy-¹⁴C・スピロメシフェン)

dhy-¹⁴C・スピロメシフェンを自然水 (ライン川; ドイツマンハイム、pH7.6) に 0.06 mg/L となるように加えた後、25±1℃でキセノンランプ (914 W/m²、測定波長: 300-800 nm) を 8 日間連続照射し、スピロメシフェンの自然水での水中光分解試験が実施された。

光照射によりスピロメシフェンは分解し半減期は 1.8 日 (東京の 4~6 月の太陽光換算で約 17 日) であった。8 日間の照射により 2.6%TAR の揮発性成分、0.3%TAR の CO₂ が発生し、溶液中では分解物 M1 が試験開始 1 日後に最大 26.9%TAR に達し、試験終了時点で 11.4%TAR まで減少した。それ以外に 10%TAR を超える分解物は認められなかった。このほか、光照射区では分解物 M12 が 3 日後に最大値 8.8%TAR に達し、8 日後に 7.2%TAR が検出された。このほか分解物 M13 (8 日後に最大値 5.6%TAR) および分解物 M14 (3 日後に最大値 4.6%TAR) が検出された。照射試料において、スピロメシフェンは処理 0 時間で既に 95.5%TAR であり、分解物 M1 が 4.1%TAR 生成していた。処理 6 日後には、スピロメシフェンは 5%TAR 未満になり、以後、処理 8 日後まで 3.7~4.9%TAR であった。

暗対照区の処理 8 日後におけるスピロメシフェンの残存量は 27.3%TAR で、一方、分解物 M1 は約 70%TAR に達した。

自然水における水中光分解により、スピロメシフェンは分解物 M13 (シクロブチル光異性体) 及び M14 (エノール光異性体) に直接光分解した。また、スピロメシフェンの加水分解により、分解物 M1 (エノール体) が生成、続いて分解物 M12 (2-ヒドロキシメチル体) が生成した。また少量の CO₂ も生成した。(参照 16)

(3) 水中光分解試験 (自然水/phe-及び cyc-¹⁴C・スピロメシフェン)

phe-及び cyc-¹⁴C・スピロメシフェンを自然水 (ライン川; ドイツマンハイム、pH7.9) に 0.06 mg/L となるように加えた後、25±1℃でキセノンランプ (949W/m²、測定波長: 300-800nm) を 96 時間連続照射し、スピロメシフェンの自然水での水中光分解試験が実施された。

スピロメシフェンは光照射により分解し処理 96 時間後には 8.0%TAR で半減期は 1.1 日であった (東京の 4~6 月期の太陽光換算で 11 日)。

96 時間後に 0.6% TAR の揮発性成分と 0.1% TAR の CO₂ が発生した。分解物 M1 は 48 時間後に 31.8% TAR まで増加し、試験終了時まで維持された。

分解物 M13 及び M14 も照射試料中から検出され、処理 72 時間後にそれぞれ 8.3 及び 9.3% TAR 認められた。少量分解物として分解物 M12 が 24 時間後に 1.9 % TAR 認められ、試験終了時には 9.0% TAR に達した。その他の少量分解物は 7.9% TAR 未満であった。

また、暗条件では処理 96 時間後に、スピロメシフェンが 37.1%、分解物 M1 は 54.1% TAR 確認された。

水中光分解試験条件下では、スピロメシフェンは分解物 M13 (シクロブチル光異性体) 及び M14 (エノール光異性体) に直接光分解した。また、スピロメシフェンの加水分解により生成した分解物 M1 (エノール体) から、光分解により分解物 M12 (2-ヒドロキシメチル体) が生成した。また少量の CO₂ も生成した。(参照 17)

(4) 水中光分解試験 (緩衝液 / dhy-¹⁴C-スピロメシフェン)

dhy-¹⁴C-スピロメシフェンを pH4 の酢酸緩衝液に 0.065 mg/L となるように加えた後、25±1°C でキセノンランプ (680 W/m²、測定波長 : 300-800nm) を 5 日間連続照射し、スピロメシフェンの緩衝液での水中光分解試験が実施された。

スピロメシフェンは光照射 5 日後に 11.1% TAR まで減少した。分解物 M13 は照射 3 時間後に 1.2% TAR 生成し、5 日後に 35.8% まで増加した。分解物 M14 は、照射 1 日後に 12.3% TAR 存在し、試験終了時には 36.6% TAR まで増加した。分解物 M1 は照射 5 日後に 12.3% TAR まで増加した。

暗対照試料において、スピロメシフェンは試験 9 日後に 79.7% TAR であった。分解物 M1 が検出された唯一の分解物であり、試験 9 日後に 13.9% TAR 検出された。

本試験条件下でのスピロメシフェンの半減期は 1.7 日、暗条件下での半減期は 23.1 日と考えられた。4~6 月の東京の自然太陽光下における水中光分解半減期は約 12 日と考えられた。

水中光分解試験条件下では、スピロメシフェンは分解物 M13 (シクロブチル光異性体) 及び M14 (エノール光異性体) に直接光分解した。分解物 M1 (エノール体) も生成したが、M1 は照射及び暗対照のいずれからも同程度生成したことから、光分解ではなく加水分解により生成したと推定された。(参照 18)

5. 土壌残留試験

火山灰軽埴土 (茨城)、沖積埴壤土 (高知) を用いて、スピロメシフェン、代謝物 M1 及び M3 を分析対象とした土壌残留試験 (容器内及び圃場) が実施された。

推定半減期は表 7 に示されており、スピロメシフェンとしては、容器内で 10~11 日、圃場では 8~10 日であった。スピロメシフェンと分解物 M1 及び M3 の合計では、容器内で 39~45 日、圃場では 13~16 日であった。(参照 19)

表 7 土壌残留試験成績 (推定半減期)

試験	土壌	濃度 ¹⁾	スピロメシフェン	親化合物+分解物
----	----	------------------	----------	----------

容器内試験	火山灰軽埴土	1.2 mg/kg	10日	39日
	沖積埴壤土		11日	45日
圃場試験	火山灰軽埴土	1050 g ai/ha	8日	16日
	沖積埴壤土		10日	13日

1) : 容器内試験で原体、圃場試験でフロアブルを使用

6. 作物残留試験

トマト、りんご、なし、おうとう及び茶を用いて、スピロメシフェン、エノール体（代謝物 M1）及び代謝物 4-ヒドロキシメチル体（代謝物 M2）とその抱合体 4-ヒドロキシメチルグルコシド（代謝物 M9）を分析対象化合物とした作物残留試験が実施された。

結果は別紙 3 に示されている。スピロメシフェンの最高値は、600 g ai/ha で 1 回散布し、最終散布後 7 日目における茶（荒茶）の 14.8 mg/kg であった。

代謝物 M1 及び M2+M9 の作物残留試験の最高値は、いずれも 600 g ai/ha で 1 回散布した茶（荒茶）で、代謝物 M1 については、最終散布後 7 日目の 8.05 mg/kg、代謝物 M2+M9 については、最終散布後 14 日目の 12.0 mg/kg であった。（参照 20）

別紙 3 の作物残留試験の分析値を用いて、スピロメシフェン及び代謝物 M1 を暴露評価対象化合物として農産物から摂取される推定摂取量を表 8 に示した。

なお、本推定摂取量の算定は、申請された使用方法からスピロメシフェンが最大の残留を示す使用条件で、今回登録申請のあったトマト、りんご、なし、おうとう及び茶に使用され、加工・調理による残留農薬の増減が全くないとの仮定のもとに行った。

表 8 食品中より摂取されるスピロメシフェン（代謝物を含む）の推定摂取量

作物名	残留値 (mg/kg)	国民平均 (平均体重:53.3kg)		小児 (1~6歳) (平均体重:15.8kg)		妊婦 (平均体重:55.6kg)		高齢者(65歳以上) (平均体重:54.2kg)	
		ff (g/人/日)	摂取量 (μg/人/日)	ff (g/人/日)	摂取量 (μg/人/日)	ff (g/人/日)	摂取量 (μg/人/日)	ff (g/人/日)	摂取量 (μg/人/日)
トマト	0.16*	24.3	3.89	16.3	2.61	25.1	4.02	25.0	4.00
りんご	0.56*	35.3	19.8	36.2	20.3	30.0	16.8	35.6	19.9
なし	0.41*	5.2	2.13	4.5	1.84	5.4	5.81	3.2	1.31
おうとう	2.28*	0.1	0.23	0.1	0.23	0.1	0.23	0.1	0.23
茶	13.8	3.0	41.4	1.4	19.3	3.5	48.3	4.3	59.3
合計			67.4		45.3		75.2		84.7

注) ・残留値は、申請されている使用時期・回数のうち最大値を示す各試験区の平均残留値を用いた（参照 別紙 3）。

・ff: 平成 10 年~12 年の国民栄養調査（参照 57~59）の結果に基づく農産物摂取量（g/人/日）

・摂取量: 残留値及び農産物摂取量から求めたスピロメシフェン及び代謝物 M1 の推定摂取量（μg/人/日）

・一部に検出限界未満のデータを含む場合は、検出限界値を検出したものとして計算し、*を付した。

7. 一般薬理試験

マウス、ラット及びウサギを用いた一般薬理試験が実施された。結果は表 9 に示され

ている。(参照 21)

表 9 一般薬理試験

試験の種類		動物種	動物数 匹/群	投与量 mg/kg 体重 (投与経路)	無作用量 mg/kg 体重	作用量 mg/kg 体重	結果の概要
中枢 神経 系	一般状態	マウス	雄 5	0,200,600, 2000(経口)	2000	-	投与による影響なし。
	自発運動	マウス	雄 5	0,200,600, 2000(経口)	2000	-	投与による影響なし。
	痙攣誘発	マウス	雄 5	0,200,600, 2000(経口)	2000	-	投与による影響なし。
	体温	ラット	雄 5	0,200,600, 2000(経口)	2000	-	投与による影響なし。
循環 器 系	呼吸数・ 血圧・ 心拍数・ 心電図	ウサギ	雄 3~4	0,200,600, 2000(経口)	2000	-	投与による影響なし。
自律 神経 系	瞳孔	ウサギ	雄 5	0,200,600, 2000(経口)	2000	-	投与による影響なし。
腎 臓	尿量,尿中 電解質, 尿浸透圧	ラット	雄 5	0,200,600, 2000(経口)	2000	-	投与による影響なし。

8. 急性毒性試験

(1) 急性毒性試験 (ラット)

スピロメシフェンの Wistar ラットを用いた急性経口毒性試験及び急性経皮毒性試験、SD ラットを用いた急性吸入毒性試験が実施された。

各試験の結果は表 10 に示されている。(参照 22~24)

表 10 急性毒性試験結果概要 (原体)

投与経路	動物種	LD ₅₀ (mg/kg 体重)		観察された症状
		雄	雌	
経口	Wistar ラット	>2500	>2500	症状なし
経皮	Wistar ラット	>2000	>2000	症状なし
吸入	SD ラット	LC ₅₀ (mg/L)		症状なし
		>4.87	>4.87	

代謝物 M1 及び原体混在物 MA(メシチル酢酸エステル体)の Wistar ラット (雌) を用いた急性経口毒性試験が実施された。各試験の結果は表 11 に示されている。
(参照 25、26)

表 11 急性毒性試験結果概要

検体	LD ₅₀ (mg/kg 体重)		観察された症状
	雄	雌	
代謝物 M1	—	1000	運動低下、歩行失調、痙攣、努力呼吸、流涎、 眼瞼亀裂、死亡動物で肺の軽度な虚脱、脾臓及 び腎臓の退色化
混在物 MA	—	>5000	影響なし

—：試験実施せず

(2) 急性神経毒性試験 (ラット)

Wistar ラット (一群雌雄各 12 匹) を用いた強制単回経口 (原体：0、200、700 及び 2000 mg/kg 体重) 投与による急性神経毒性試験が実施された。

雌の 700 及び 2000 mg/kg 体重投与群でそれぞれ 1 及び 3 例に尿の着色が認められたが、それ以外の検体投与の影響と考えられる所見は認められなかった。神経毒性は認められなかった。(参照 27)

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 (雄) を用いた眼一次刺激性試験及び皮膚一次刺激性試験が実施された。スピロメシフェンには眼刺激性及び皮膚刺激性は認められなかった。(参照 28、29)

Hartley モルモット (雌) を用いた皮膚感作性試験 (Maximization 法) が実施され、膨疹及び痂皮が認められ、感作率は惹起後 48 時間で 100%、72 時間後で 90%であり、皮膚感作性が認められた。(参照 30)

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 及び 3000 ppm：平均検体摂取量は表 12 参照) 投与による 90 日間の亜急性毒性試験が実施された。

表 12 ラット 90 日間亜急性毒性試験の平均検体摂取量

投与群		100 ppm	500 ppm	3000 ppm	3000 ppm ¹⁾
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	6.3	31.7	204	209
	雌	7.7	36.6	232	246

1)：回復群

3000 ppm 投与群の雌 3 例に死亡が認められた (うち 1 例は瀕死によりと殺、1 例

は事故死)。

各投与群で認められた主な所見は表 13 に示されている。3000 ppm 投与群に認められた脳比重量¹増加(雌雄)、副腎絶対重量減少(雄)、心臓絶対重量減少(雄)、精巣比重量増加、脾臓絶対重量減少(雌雄)、腎臓比重量増加(雌雄)は、低体重に関連したものと考えられた。

本試験において、3000 ppm 投与群の雄で体重増加抑制等が、500 ppm 以上投与群の雌で空腸粘膜上皮細胞質空胞化等が認められたので、無毒性量は雄で 500 ppm (31.7 mg/kg 体重/日)、雌で 100ppm (7.7 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 31)

表 13 ラット 90 日間亜急性毒性試験で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
3000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ 飲水量減少 ・ TP 延長、WBC・Lym 減少、Neu 増加 ・ ALT、ALP 上昇、T.Chol、TG、T.Bil 減少、 ・ T3、T4 減少、TBC、TSH 増加 ・ 尿量、Cre 減少 ・ 脾臓内細胞数減少、CD2^{total}、CD5^{total}、CD4^{total} 減少 ・ IgA、IgG 減少 ・ 脾臓内 B 細胞活性化マーカー増加、脾臓細胞のマクロファージ活性化 ・ 肝比重量増加、胸腺比重量減少 ・ 十二指腸/空腸粘膜上皮細胞質空胞化、肝臓の脂肪貯蔵減少(門脈周囲)、甲状腺ろ胞細胞肥大及びコロイド凝集、胸腺萎縮 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 鼻口部の出血、硬い便、一般状態不良、うずくまり、攻撃性、神経過敏、よろめき歩行、間代性跳躍痙攣 ・ 体重増加抑制 ・ 飲水量減少 ・ TP 延長 ・ ALT、AST、ALP 増加、T.Chol、TG 減少 ・ TBC 増加、T.Bil 減少 ・ 尿量、Cre 減少 ・ 尿蛋白、尿比重増加 ・ CD2^{total}、CD5^{total}、CD4^{total} 減少 ・ IgA、IgG 減少 ・ 脾臓細胞のマクロファージ活性化 ・ 肝比重量増加、胸腺比重量減少 ・ 十二指腸粘膜上皮細胞質空胞化、腸間膜リンパ節の泡沫細胞、甲状腺ろ胞細胞肥大及びコロイド凝集、子宮角低形成、胸腺萎縮、脾臓ヘモジデリン及び髓外造血増加、骨髓脂肪細胞数増加、副腎好酸性細胞質
500 ppm 以上	500 ppm 以下毒性所見なし	<ul style="list-style-type: none"> ・ TSH 増加 ・ 空腸粘膜上皮細胞質空胞化
100 ppm		毒性所見なし

¹ : 体重比重量を比重量という(以下同じ)。

(2) 90日間亜急性毒性試験 (イヌ) ①

ビーグル犬 (一群雌雄各 4 匹) を用いた混餌 (原体: 0、20、50、250 及び 2000 ppm : 平均検体摂取量は表 14 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 14 イヌ 90 日間亜急性毒性試験の平均検体摂取量

投与群		20 ppm	50 ppm	250 ppm	2000 ppm
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	0.71	1.81	9.19	70.9
	雌	0.78	1.88	9.29	71.4

各投与群で認められた主な所見は表 15 に示されている。

血漿中エノール体 (代謝物 M1) 濃度を測定した結果、全ての群で検出され用量依存的に増加したが、本検体はいずれの投与群においても定量限界 (5 μ mol/L) 以下であった。

250 ppm 投与群で認められた肝薬物代謝酵素の変動 (雄: *N*-Demeth 増加、*O*-Demeth 増加、ECOD 増加、雌: ECOD 増加、ALD 増加、EH 増加) 及び肝臓の細胞質の変化は、きわめて軽度であり、肝重量にも変化がないことから、生体の適応反応の範囲にとどまるものと判断し、検体投与による毒性影響とは考えられなかった。

本試験において、2000 ppm 投与群の雌雄で肝比重量増加等が認められたため、無毒性量は雌雄とも 250 ppm (雄: 9.19 mg/kg 体重/日、雌: 9.29 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 32)

表 15 イヌ 90 日間亜急性毒性試験で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
2000ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ ALP 上昇 ・ TBC 増加、T4 減少 ・ <i>N</i>-Demeth、<i>O</i>-Demeth、P450、ECOD、ALD、EH、UDPGT 増加 ・ 肝比重量増加 ・ 小葉中心性肝細胞変化 	<ul style="list-style-type: none"> ・ ALP 上昇 ・ T4 減少、T3 減少 ・ <i>N</i>-Demeth、<i>O</i>-Demeth、P450、ECOD、ALD、EH、UDPGT 増加 ・ 肝比重量増加 ・ 小葉中心性肝細胞変化
250ppm 以下	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) ②

イヌの 90 日間亜急性毒性試験 (評価書 10.(2)) において最高用量群でも著しい毒性徴候が認められなかったことから、より高用量におけるビーグル犬 (一群雌雄各 4 匹) を用いた混餌 (原体: 0、3000 及び 5000 ppm : 平均検体摂取量は表 16 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 16 イヌ 90 日間亜急性毒性試験の平均検体摂取量

投与群		3000 ppm	5000 ppm
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	98.4	173
	雌	103	171

各投与群で認められた主な所見は表 17 に示されている。

いずれの投与群においても血漿中から親化合物は認められず、主に代謝物 M1 で、投与 24 時間以内には血漿中からの減衰はみられず、投与開始 4 週間後においても定常状態には達していなかった。(参照 33)

表 17 イヌ 90 日間亜急性毒性試験で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
5000ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・嘔吐 ・肝比重量増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・嘔吐 ・GST 低下
3000ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ALP 上昇、T4 減少 ・N-Demeth、O-Demeth、P450、ECOD、ALD、EH 増加 ・肝細胞細胞質均質化/密度増加、びまん性肝細胞肥大 	<ul style="list-style-type: none"> ・ALP 上昇、TSH 増加、T4 減少 ・N-Demeth、O-Demeth、P450、ECOD、ALD、EH 増加 ・肝比重量増加 ・肝細胞細胞質均質化/密度増加、びまん性肝細胞肥大

(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、500 及び 2000 ppm : 平均検体摂取量は表 18 参照) 投与による 90 日間の亜急性神経毒性試験が実施された。

表 18 ラット 90 日間亜急性神経毒性試験の平均検体摂取量

投与群		100 ppm	500 ppm	2000 ppm
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	6.4	31.8	123
	雌	7.9	38.3	149

各投与群で認められた主な所見は表 19 に示されている。

2000 ppm 投与群の雌 1 例で攻撃行動が認められた。

本試験において、2000 ppm 投与群の雌雄で体重増加抑制等が認められたため、無毒性量は雌雄で 500 ppm (雄: 31.8 mg/kg 体重/日、雌: 38.3 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 34)

表 19 ラット 90 日間亜急性神経毒性試験で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
-----	---	---

2000ppm	・ 体重増加抑制、摂餌量減少	・ 攻撃行動 ・ 体重増加抑制、摂餌量減少 ・ テイルピンチに対する反応亢進、ハンドリング中の身体緊張増加
500ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

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、50、400及び4000 ppm：平均検体摂取量は表20参照）投与による1年間の慢性毒性試験が実施された。

表20 イヌ1年間慢性毒性試験の平均検体摂取量

投与群		50 ppm	400 ppm	4000 ppm
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	1.4	11.5	109
	雌	1.4	10.8	117

各投与群で認められた主な所見は表21に示されている。

50 ppm以上投与群の雄及び4000 ppm投与群の雌で体重増加抑制が認められたが、用量相関性が認められないこと、試験終了時には背景データの範囲内であったことから、毒性学的な意義があるとは考えられなかった。

血漿中からスピロメシフェンは検出されず、急速にエノール体（代謝物 M1）に代謝されることが示唆された。4000 ppm投与群での代謝物 M1の濃度は、投与24時間以内に減少しなかった。しかし、試験終了時において代謝物 M1の血漿中濃度は12週よりも低値を示したことから、検体及び代謝物 M1の蓄積性は無視できるものと考えた。

本試験において、4000 ppm投与群の雌雄において肝比重量増加等が認められたため、無毒性量は雌雄とも400 ppm（雄：11.5 mg/kg 体重/日、雌：10.8 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照35）

表21 イヌ1年間慢性毒性試験で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
4000 ppm	・ ALP 上昇 ・ T4 減少 ・ 肝比重量増加 ・ 肝細胞細胞質均質化/密度増加、肝細胞封入体様物形成/空胞化	・ ALP 上昇 ・ T4 減少 ・ 肝比重量増加 ・ 肝細胞細胞質均質化/密度増加、肝細胞封入体様物形成/空胞化
400 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

(2) 1年間慢性毒性試験（ラット）

Wistar ラット（一群雌雄各 25 匹）を用いた混餌（原体：0、50、125、300 及び 800 ppm：平均検体摂取量は表 22 参照）投与による 1 年間の慢性毒性試験が実施された。

表 22 ラット 1 年間慢性毒性試験の平均検体摂取量

投与群		50 ppm	125 ppm	300 ppm	800 ppm
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	2.6	6.5	15.9	42.4
	雌	3.0	7.6	19.3	51.7

検体投与に関連した死亡率の増加は認められなかった。

各投与群で認められた主な所見は表 23 に示されている。

800 ppm 投与群の雄で認められた水晶体変性性病変（後囊混濁及び皮質水性裂）については、ラットの 2 年間発がん性試験（評価書 11.(3)）において発現頻度の増加が認められなかったことから、検体投与の影響とは考えられなかった。

検体投与に関連して発生頻度が増加した腫瘍はなかった。本試験において、300 ppm 以上投与群の雄及び 800 ppm 投与群の雌で甲状腺ろ胞細胞肥大等が認められたため、無毒性量は雄で 125ppm（6.5 mg/kg 体重/日）、雌で 300ppm（19.3 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 36）

表 23 ラット 1 年間慢性毒性試験で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
800 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ T3 増加、TSH 増加 ・ T.Bil 減少 ・ 肝肥大 ・ 甲状腺コロイド変化 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ T.Bil 減少 ・ TSH 増加 ・ 両側副腎の褐色化 ・ 甲状腺ろ胞細胞肥大及びコロイド変化、副腎束状帯の細胞質好酸性化
300 ppm 以上	・ 甲状腺ろ胞細胞肥大	300 ppm 以下毒性所見なし
125 ppm 以下	毒性所見なし	

（3）2 年間発がん性試験（ラット）

Wistar ラット（一群雌雄各 50 匹）を用いた混餌（原体：0、50、125、300 及び 800 ppm：平均検体摂取量は表 24 参照）投与による 2 年間の発がん性試験が実施された。

表 24 ラット 2 年間発がん性試験の平均検体摂取量

投与群		50 ppm	125 ppm	300 ppm	800 ppm
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	2.5	6.1	14.8	40.0
	雌	3.3	8.2	19.5	53.6

検体投与に関連した死亡率の増加は認められなかった。

各投与群で認められた主な所見は表 25 に示されている。

剖検により、800 ppm 投与群の雄で肺の部分的暗赤色化が認められたが、病理組織学的検査において関連所見がないこと及び用量相関性がないことから偶発的なものと考えられた。また、800 ppm 投与群の雄で精巣に少数の結節が認められたが、病理組織学的検査においてライディッヒ細胞腺腫の増加が認められないため、毒性学的な意義があるとは考えられなかった。

剖検及び病理組織学的検査において 800 ppm 投与群の雌で子宮拡張及び子宮の結節が増加し、それに伴う腹部膨満が認められた。子宮内腔拡張を示した多くの例では、分泌物貯留、大きなのう胞、子宮内膜間質ポリープ等の所見を伴っていた。これらの病変は加齢ラットで好発することが知られているが、これらの病変の発生頻度には用量相関性は認められなかった。さらに、関連性のある変化が卵巣、卵管、膣及び乳腺で認められていないことから、子宮の変化は偶発的なものであると考えられた。

白内障の発現率は雄において対照群よりも僅かに高かったが、用量相関性が認められず、自然発生的な加齢に伴う病変であると考えられた。

検体投与に関連して発生頻度が増加した腫瘍はなかった。

本試験において、800 ppm 投与群の雌雄で体重増加抑制等が認められたため、無毒性量は雌雄とも 300 ppm (雄：14.8 mg/kg 体重/日、雌：19.5 mg/kg 体重/日) であると考えられた。発がん性は認められなかった。(参照 37)

表 25 ラット 2 年間発がん性試験で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
800 ppm	・体重増加抑制	・体重増加抑制 ・TSH 増加 ・甲状腺コロイド変化
300 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

(4) 18 カ月間発がん性試験 (マウス)

ICR マウス (一群雌雄各 50 匹) を用いた混餌 (原体：0、20、140、1000 及び 2000 ppm：平均検体摂取量は表 26 参照) 投与による 18 カ月間発がん性試験が実施された。

表 26 マウス 18 ヶ月間発がん性試験の平均検体摂取量

投与群		20 ppm	140 ppm	1000 ppm	2000 ppm
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	3.3	21.7	157	335
	雌	3.8	29.9	201	401

各投与群とも死亡率に関して影響はみられなかった。

各投与群で認められた主な所見は表 27 に示されている。

2000 ppm 投与群の雌では、子宮の硬さの変化が認められ、対応する病理組織学的変化として子宮内膜のう胞状過形成が認められた。また、2000 ppm 投与群の雄 4 例