

農薬専門調査会における審議結果について

1. 審議結果

厚生労働大臣及び農林水産大臣から食品安全委員会に求められたエトベンザニドに係る食品健康影響評価(平成19年8月6日付け厚生労働省発食安第0806005号)については、平成19年9月5日に開催された第15回農薬専門調査会総合評価第一部会、平成24年9月4日に開催された第20回農薬専門調査会評価第一部会、平成25年9月3日に開催された第30回農薬専門調査会評価第一部会及び平成25年11月19日に開催された第98回農薬専門調査会幹事会において審議され、審議結果(案)がとりまとめられた。

審議結果(案)については、幅広く国民に意見・情報を募った後に、食品安全委員会に報告することとなった。

2. エトベンザニドに係る食品健康影響評価についての意見・情報の募集について

上記品目に関する「審議結果(案)」を食品安全委員会ホームページ等に公開し、意見・情報を募集する。

1) 募集期間

平成25年11月25日(月)開催の食品安全委員会(第495回会合)の翌日の平成25年11月26日(火)から平成25年12月25日(水)までの30日間。

2) 受付体制

電子メール(ホームページ上)、ファックス及び郵送

3) 意見・情報提供等への対応

いただいた意見・情報等を取りまとめ、農薬専門調査会の座長の指示のもと、必要に応じて専門調査会を開催し、審議結果を取りまとめ、食品安全委員会に報告する。

(案)

農薬評価書

エトベンザニド

2013年11月

食品安全委員会農薬専門調査会

目次

| | 頁 |
|-----------------------------|----|
| ○ 審議の経緯..... | 3 |
| ○ 食品安全委員会委員名簿..... | 3 |
| ○ 食品安全委員会農薬専門調査会専門委員名簿..... | 4 |
| ○ 要約..... | 7 |
| | |
| I. 評価対象農薬の概要..... | 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 |
| | |
| II. 安全性に係る試験の概要..... | 9 |
| 1. 動物体内運命試験（ラット）..... | 9 |
| (1) 吸収..... | 9 |
| (2) 体内分布..... | 9 |
| (3) 代謝..... | 10 |
| (4) 排泄..... | 12 |
| 2. 植物体内運命試験（水稻）..... | 14 |
| (1) 水稻（幼苗）..... | 14 |
| (2) 水稻（収穫期）..... | 15 |
| 3. 土壌中運命試験..... | 16 |
| (1) 好氣的湛水土壌中運命試験..... | 16 |
| (2) 好氣的土壌中運命試験①..... | 16 |
| (3) 好氣的土壌中運命試験②..... | 17 |
| (4) 嫌氣的湛水土壌中運命試験..... | 17 |
| (5) 滅菌湛水土壌中運命試験..... | 17 |
| (6) 土壌吸着試験..... | 18 |
| 4. 水中運命試験..... | 18 |
| (1) 加水分解試験..... | 18 |
| (2) 水中光分解試験..... | 19 |
| 5. 土壌残留試験..... | 19 |
| 6. 作物等残留試験..... | 19 |
| (1) 作物残留試験..... | 19 |

| | |
|---------------------------------|----|
| (2) 魚介類における最大推定残留値 | 20 |
| (3) 推定摂取量 | 20 |
| 7. 一般薬理試験 | 20 |
| 8. 急性毒性試験 | 22 |
| 9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験 | 22 |
| 10. 亜急性毒性試験 | 22 |
| (1) 90日間亜急性毒性試験(ラット) | 22 |
| (2) 90日間亜急性毒性試験(マウス) | 23 |
| 11. 慢性毒性試験及び発がん性試験 | 24 |
| (1) 1年間慢性毒性試験(イヌ) | 24 |
| (2) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験(ラット) | 24 |
| (3) 18か月間発がん性試験(マウス) | 25 |
| 12. 生殖発生毒性試験 | 26 |
| (1) 2世代繁殖試験(ラット) | 26 |
| (2) 発生毒性試験(ラット) | 27 |
| (3) 発生毒性試験(ウサギ) | 28 |
| 13. 遺伝毒性試験 | 28 |
| 14. その他の試験 | 29 |
| (1) マウスを用いた薬物代謝酵素誘導確認試験 | 29 |
| (2) マウスを用いた細胞増殖活性確認試験 | 29 |
| | |
| Ⅲ. 食品健康影響評価 | 31 |
| | |
| ・別紙1: 代謝物/分解物略称 | 35 |
| ・別紙2: 検査値等略称 | 35 |
| ・別紙3: 作物残留試験成績 | 37 |
| ・参照 | 38 |

＜審議の経緯＞

- 1995年 11月 28日 初回農薬登録
- 2007年 7月 30日 農林水産省から厚生労働省へ基準設定依頼（魚介類）
- 2007年 8月 6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（厚生労働省発食安第 0806005 号）、関係書類の接受（参照 1～34）
- 2007年 8月 9日 第 202 回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2007年 9月 5日 第 15 回農薬専門調査会総合評価第一部会
- 2011年 12月 1日 追加資料受理（参照 38）
- 2012年 9月 4日 第 20 回農薬専門調査会評価第一部会
- 2013年 8月 12日 追加資料受理（参照 39、40）
- 2013年 9月 3日 第 30 回農薬専門調査会評価第一部会
- 2013年 11月 19日 第 98 回農薬専門調査会幹事会
- 2013年 11月 25日 第 494 回食品安全委員会（報告）

＜食品安全委員会委員名簿＞

| (2009年6月30日まで) | (2011年1月6日まで) | (2012年6月30日まで) |
|----------------|---------------|----------------|
| 見上 彪（委員長） | 小泉直子（委員長） | 小泉直子（委員長） |
| 小泉直子（委員長代理*） | 見上 彪（委員長代理*） | 熊谷 進（委員長代理*） |
| 長尾 拓 | 長尾 拓 | 長尾 拓 |
| 野村一正 | 野村一正 | 野村一正 |
| 畑江敬子 | 畑江敬子 | 畑江敬子 |
| 廣瀬雅雄** | 廣瀬雅雄 | 廣瀬雅雄 |
| 本間清一 | 村田容常 | 村田容常 |
| *：2007年2月1日から | *：2009年7月9日から | *：2011年1月13日から |
| **：2007年4月1日から | | |

(2012年7月1日から)

熊谷 進（委員長）

佐藤 洋（委員長代理）

山添 康（委員長代理）

三森国敏（委員長代理）

石井克枝

上安平冽子

村田容常

<食品安全委員会農薬専門調査会専門委員名簿>

(2008年3月31日まで)

| | | |
|-------------|-----------|--------|
| 鈴木勝士 (座長) | 三枝順三 | 西川秋佳** |
| 林 真 (座長代理*) | 佐々木有 | 布柴達男 |
| 赤池昭紀 | 代田眞理子**** | 根岸友恵 |
| 石井康雄 | 高木篤也 | 平塚 明 |
| 泉 啓介 | 玉井郁巳 | 藤本成明 |
| 上路雅子 | 田村廣人 | 細川正清 |
| 臼井健二 | 津田修治 | 松本清司 |
| 江馬 眞 | 津田洋幸 | 柳井徳磨 |
| 大澤貫寿 | 出川雅邦 | 山崎浩史 |
| 太田敏博 | 長尾哲二 | 山手丈至 |
| 大谷 浩 | 中澤憲一 | 與語靖洋 |
| 小澤正吾 | 納屋聖人 | 吉田 緑 |
| 小林裕子 | 成瀬一郎*** | 若栗 忍 |

* : 2007年4月11日から

** : 2007年4月25日から

*** : 2007年6月30日まで

**** : 2007年7月1日から

(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) | 代田眞理子 | 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 | 津田修治 | 本間正充 |
| 今井田克己 | 津田洋幸 | 柳井徳磨 |
| 上路雅子 | 長尾哲二 | 山崎浩史 |
| 臼井健二 | 中澤憲一* | 山手丈至 |
| 太田敏博 | 永田 清 | 與語靖洋 |
| 大谷 浩 | 納屋聖人 | 義澤克彦** |
| 小澤正吾 | 西川秋佳 | 吉田 緑 |
| 川合是彰 | 布柴達男 | 若栗 忍 |
| 小林裕子 | 根岸友恵 | |
| 三枝順三*** | 根本信雄 | |

* : 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) | 佐々木有 | 平塚 明 |
| 林 真 (座長代理) | 代田眞理子 | 福井義浩 |
| 相磯成敏 | 高木篤也 | 藤本成明 |
| 赤池昭紀 | 玉井郁巳 | 細川正清 |
| 浅野 哲** | 田村廣人 | 堀本政夫 |
| 石井康雄 | 津田修治 | 本間正充 |
| 泉 啓介 | 津田洋幸 | 増村健一** |
| 上路雅子 | 長尾哲二 | 松本清司 |
| 臼井健二 | 永田 清 | 柳井徳磨 |
| 太田敏博 | 長野嘉介* | 山崎浩史 |
| 小澤正吾 | 西川秋佳 | 山手丈至 |
| 川合是彰 | 布柴達男 | 與語靖洋 |
| 川口博明 | 根岸友恵 | 義澤克彦 |
| 桑形麻樹子*** | 根本信雄 | 吉田 緑 |
| 小林裕子 | 八田稔久 | 若栗 忍 |
| 三枝順三 | | |

* : 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)

・ 幹事会

| | | |
|---------------|------|------|
| 納屋聖人 (座長) | 上路雅子 | 松本清司 |
| 西川秋佳* (座長代理) | 永田 清 | 吉田 緑 |
| 三枝順三 (座長代理**) | 長野嘉介 | |
| 赤池昭紀 | 本間正充 | |

・ 評価第一部会

| | | |
|-------------|------|------|
| 上路雅子 (座長) | 津田修治 | 山崎浩史 |
| 赤池昭紀 (座長代理) | 福井義浩 | 義澤克彦 |
| 相磯成敏 | 堀本政夫 | 若栗 忍 |

・ 評価第二部会

| | | |
|-------------|-------|------|
| 吉田 緑 (座長) | 桑形麻樹子 | 藤本成明 |
| 松本清司 (座長代理) | 腰岡政二 | 細川正清 |
| 泉 啓介 | 根岸友恵 | 本間正充 |

・ 評価第三部会

| | | |
|-------------|------|------|
| 三枝順三 (座長) | 小野 敦 | 永田 清 |
| 納屋聖人 (座長代理) | 佐々木有 | 八田稔久 |
| 浅野 哲 | 田村廣人 | 増村健一 |

・ 評価第四部会

| | | |
|-----------------------|-------|---------------------------------------|
| 西川秋佳* (座長) | 川口博明 | 根本信雄 |
| 長野嘉介 (座長代理*; 座長**) | 代田眞理子 | 森田 健 |
| 山手丈至 (座長代理**) | 玉井郁巳 | 與語靖洋 |
| 井上 薫** | | * : 2013年9月30日まで ** : 2013年10月1日から |

<第 20 回農薬専門調査会評価第一部会専門参考人名簿>

林 真 平塚 明

<第 30 回農薬専門調査会評価第一部会専門参考人名簿>

林 真 平塚 明

<第 98 回農薬専門調査会幹事会専門参考人名簿>

小澤正吾 西川秋佳 林 真

要 約

アニリド系除草剤である「エトベンザニド」(CAS No. 79540-50-4)について、各種試験成績等を用いて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)、植物体内運命(水稻)、作物等残留、亜急性毒性(ラット及びマウス)、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、エトベンザニド投与による影響は主に肝臓(重量増加、肝細胞肥大、変異肝細胞巣等)及び腎臓(腎尿細管上皮細胞の変性:ラット)に認められた。催奇形性及び生体において問題となる遺伝毒性は認められなかった。

マウスを用いた発がん性試験において、10,000 ppm 投与群の雌で肝細胞腺腫の発生頻度の増加が、同群の雄で肝細胞腺腫と肝細胞癌を合わせた発生頻度の増加が認められたが、メカニズム試験及び遺伝毒性試験の結果から、肝細胞腫瘍の発生機序は遺伝毒性メカニズム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。

ラット2世代繁殖試験において、受胎率の低下、交配期間延長及び膈開口の遅延等が認められた。

各種試験結果から、農産物及び魚介類中の暴露評価対象物質をエトベンザニド(親化合物のみ)と設定した。

各試験で得られた無毒性量のうち最小値は、ラットを用いた2年間慢性毒性/発がん性併合試験の4.4 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0.044 mg/kg 体重/日を一日摂取許容量(ADI)と設定した。

I. 評価対象農薬の概要

1. 用途

除草剤

2. 有効成分の一般名

和名：エトベンザニド

英名：etobenzanid (ISO 名)

3. 化学名

IUPAC

和名：2',3'-ジクロロ-4-エトキシメトキシベンズアニリド

英名：2',3'-dichloro-4-ethoxymethoxybenzanilide

CAS (79540-50-4)

和名：N-(2,3-ジクロロフェニル)-4-(エトキシメトキシ)ベンザミド

英名：N-(2,3-dichlorophenyl)-4-(ethoxymethoxy)benzamide

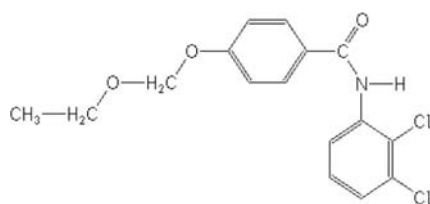
4. 分子式

$C_{16}H_{15}Cl_2NO_3$

5. 分子量

340.18

6. 構造式



7. 開発の経緯

エトベンザニドは、保土谷化学工業株式会社によって開発されたアニリド系除草剤であり、水田雑草のうちノビエ以外の植物にはほとんど活性を示さない。作用機構は、植物に固有のタンパク質合成阻害によるものと推定されている。

日本では1995年に初回農薬登録されており、今回、魚介類に係る基準値設定の要請がなされている。海外での登録はなされていない。

II. 安全性に係る試験の概要

各種運命試験（[II-1. ~4.]）は、エトベンザニドのアニリン環の炭素を ^{14}C で標識したもの（[ani- ^{14}C]エトベンザニド）及びフェノキシ環の炭素を ^{14}C で標識したもの（[phe- ^{14}C]エトベンザニド）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比放射能（質量放射能）からエトベンザニドに換算した値（mg/kg 又は $\mu\text{g/g}$ ）を示した。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（ラット）

(1) 吸収

①血中濃度推移

SD ラット（一群雌雄各 3 匹）に[ani- ^{14}C]エトベンザニドを 25 mg/kg 体重（以下 [1.] において「低用量」という。）又は 500 mg/kg 体重（以下 [1.] において「高用量」という。）で単回経口投与し、血中濃度推移試験が実施された。

血漿中薬物動態学的パラメータは表 1 に示されている。

血漿中放射能濃度推移には、性別及び用量による差が認められた。低用量群においては、雌雄とも吸収は速やかであった。雄では二相性、雌では一相性の一次減衰を示した。 $T_{1/2}$ は雄より雌が長かった。

高用量群においては、雄では低用量時よりも吸収が遅くなる傾向が認められた。 C_{max} は雌雄で差が認められた。減衰は低用量群と同じく雄では二相性、雌では一相性を示し、 $T_{1/2}$ は雄より雌が長かった。（参照 1、2、38、39）

表 1 血漿中薬物動態学的パラメータ

| 投与量 | 25 mg/kg 体重 | | 500 mg/kg 体重 | |
|---------------------------------------|-------------|------|--------------|------|
| | 雄 | 雌 | 雄 | 雌 |
| T_{max} (hr) | 1.5 | 0.7 | 4.0 | 1.0 |
| C_{max} ($\mu\text{g/mL}$) | 6.34 | 4.20 | 59.2 | 24.2 |
| $T_{1/2}$ (hr) | 5.3 | 18 | 7.6 | 15 |
| AUC (hr $\cdot\mu\text{g/mL}$) | 37.7 | 34.1 | 619 | 278 |

②吸収率

胆汁排泄試験 [1. (4)③] における投与後 48 時間の胆汁、尿の放射エネルギーの合計から、エトベンザニドの経口投与後の吸収率は低用量投与群で少なくとも 69.7%、高用量投与群で少なくとも 32.9%と算出された。（参照 1、2、38、39）

(2) 体内分布

SD ラット（一群雌雄各 9 匹）に、[ani- ^{14}C]エトベンザニド及び[phe- ^{14}C]エトベンザニドの放射能等量混合物を低用量及び高用量で単回経口投与し、体内分布

試験が実施された。

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。

放射能濃度は、低用量群の雄の脂肪を除いた全ての組織で T_{max} 付近に最高濃度となり、以降、経時的に低下したが、低下速度は全ての組織で血漿よりも遅かった。低用量群の雄の脂肪では、経時的に僅かに増加し、投与 48 時間後に最高となった。いずれの投与群においても、 T_{max} 付近では腎臓及び肝臓の濃度が高く、他の組織では血漿中濃度未満であった。48 時間後では多くの組織が血漿中濃度以上であったが、最も高かったのは脂肪、腎臓及び肝臓であった。

表 2 主要組織における残留放射能濃度 ($\mu\text{g/g}$)

| 投与量 | 性別 | T_{max} 付近* | 48 時間後 |
|-----------------|----|--------------------------------|--|
| 25 mg/kg 体重 | 雄 | 腎臓(13.5)、肝臓(12.2)、 血漿(5.37) | 脂肪(1.35)、腎臓(0.68)、肝臓(0.62)、甲状腺(0.34)、副腎(0.24)、 皮膚(0.23)、肺(0.13)、骨髄(0.12)、膵臓(0.12)、脾臓(0.12)、心臓 (0.09)、筋肉(0.06)、血漿(0.04) |
| | 雌 | 腎臓(14.8)、肝臓(12.1)、 血漿(5.77) | 腎臓(1.49)、肝臓(0.91)、甲状腺(0.38)、脂肪(0.33)、副腎(0.25)、 子宮(0.25)、骨髄(0.24)、卵巣(0.21)、脾臓(0.18)、心臓(0.16)、肺 (0.16)、膵臓(0.16)、皮膚(0.15)、筋肉(0.09)、血漿(0.07) |
| 500 mg/kg 体重 | 雄 | 腎臓(115)、肝臓(80)、 血漿(57) | 脂肪(14)、腎臓(4.0)、肝臓(3.3)、副腎(2.1)、皮膚(2.1)、肺(1.5)、 膵臓(0.97)、心臓(0.75)、脾臓(0.60)、筋肉(0.42) |
| | 雌 | 腎臓(77)、肝臓(54)、 血漿(54) | 腎臓(8.1)、脂肪(7.0)、肝臓(6.0)、甲状腺(4.3)、骨髄(3.1)、皮膚 (2.7)、副腎(1.8)、肺(1.7)、卵巣(1.4)、膵臓(1.3)、心臓(1.2)、脾 臓(1.1)、子宮(0.99)、血漿(0.75) |

* : 低用量群では投与 1 時間後、高用量群では投与 2 時間後

さらに、排泄試験 [1. (4)①及び②] で用いたラットの投与 120 時間後における体内分布についても検討された結果、[ani- ^{14}C]エトベンザニド投与群では肝臓、腎臓、肺、血液及び副腎を除く組織で検出限界未満であったが、[phe- ^{14}C]エトベンザニド投与群では大部分の組織から検出され、中でも腎臓、肝臓、脂肪、副腎及び甲状腺で高かった。反復投与による影響は認められなかった。(参照 1、2、38、39)

(3) 代謝

[ani- ^{14}C]エトベンザニド及び[phe- ^{14}C]エトベンザニドを用いた排泄試験 [1. (4)①及び②] で得られた SD ラットの投与後 48 時間の尿及び糞、[ani- ^{14}C]エトベンザニドを用いた胆汁排泄試験 [1. (4)③] で得られた SD ラットの投与後 24 時間 (低用量群) 及び投与後 48 時間 (高用量群) の胆汁並びに[ani- ^{14}C]エトベンザニド及び[phe- ^{14}C]エトベンザニドの放射能等量混合物を用いた体内分布試験 [1. (2)] で得られた SD ラットの腎臓、肝臓及び血漿を試料として、エトベンザニドの代謝物同定・定量試験が実施された。

単回及び反復投与時の尿及び糞における代謝物は表 3 に示されている。

尿中では、[ani-¹⁴C]エトベンザニド投与群の主要代謝物は B、E 及び F の抱合体であった。そのほか C、D 及び G の抱合体が検出されたが、いずれも 10%TAR 未満であった。反復投与による代謝物パターンへの影響は認められなかった。[phe-¹⁴C]エトベンザニド投与群の主要代謝物は F の抱合体、H のグリシン抱合体及び I のグリシン抱合体であった。そのほか D の抱合体、H 及び I が検出されたが、いずれも 5%TAR 未満であった。両標識体ともに未変化のエトベンザニドは検出されなかった。

糞中の主要成分はエトベンザニドであり、低用量群では 16.7~24.7%TAR、高用量群では 62.3~72.9%TAR を占めた。同定された代謝物は F のみであった。標識位置の違い及び反復投与による代謝物パターンへの影響は認められなかった。

胆汁中では、主要代謝物として F の抱合体が 2.5~11.2%TAR 検出された。ほかに、少量の I のグリシン抱合体が[phe-¹⁴C]エトベンザニド投与群でのみ検出された。エトベンザニドは検出されなかった。

腎臓、肝臓及び血漿では、主要代謝物として F の抱合体及び I が検出され、さらに腎臓及び肝臓では F も検出された。

エトベンザニドはラット体内において、①エトキシメチル基の脱離による F の生成とそれに続く芳香環の水酸化による M、N 及び D の生成並びに②アミド結合の加水分解による E 及び I の生成とそれに続く酸化、という 2 つの主要代謝経路で代謝された後、さらに抱合化されると考えられた。(参照 1、2、38、39)

表 3 尿及び糞における代謝物 (%TAR)

| 標識体 | 投与量 | 性別 | 試料 | エトベンザニド | 代謝物 |
|-----------------------------------|------------------------|----|----|---------|--|
| [ani- ¹⁴ C] エトベンザニド | 25 mg/kg 体重 | 雄 | 尿 | — | F 抱合体(15.9)、B 抱合体(15.4)、E 抱合体(10.5)、C 抱合体(6.5)、G 抱合体(2.8)、D 抱合体(2.6) |
| | | | 糞 | 17.6 | F(6.3) |
| | | 雌 | 尿 | — | B 抱合体(23.7)、F 抱合体(9.8)、C 抱合体(6.6)、E 抱合体(6.5)、D 抱合体(5.6)、G 抱合体(4.2) |
| | | | 糞 | 19.6 | F(1.8) |
| | 25 mg/kg 体重 反復投与 | 雄 | 尿 | — | F 抱合体(16.9)、B 抱合体(15.0)、E 抱合体(13.6)、C 抱合体(5.2)、G 抱合体(3.3)、D 抱合体(2.3) |
| | | | 糞 | 20.6 | F(3.3) |
| | | 雌 | 尿 | — | B 抱合体(19.4)、C 抱合体(8.7)、E 抱合体(6.8)、D 抱合体(5.9)、F 抱合体(4.8)、G 抱合体(1.1) |
| | | | 糞 | 18.3 | F(2.3) |
| | 500 mg/kg 体重 | 雄 | 尿 | — | B 抱合体(7.8)、E 抱合体(5.0)、F 抱合体(4.8)、C 抱合体(2.4)、G 抱合体(1.7)、D 抱合体(1.1) |
| | | | 糞 | 67.1 | F(1.9) |
| | | 雌 | 尿 | — | B 抱合体(9.4)、E 抱合体(4.0)、C 抱合体(3.3)、F 抱合体(2.7)、D 抱合体(1.8)、G 抱合体(0.2) |
| | | | 糞 | 68.4 | F(0.9) |
| [phe- ¹⁴ C] エトベンザニド | 25 mg/kg 体重 | 雄 | 尿 | — | F 抱合体(14.7)、I グリシン抱合体(11.3)、H グリシン抱合体(10.2)、D 抱合体(3.2)、I(2.2)、H(1.4) |
| | | | 糞 | 24.7 | F(5.0) |
| | | 雌 | 尿 | — | H グリシン抱合体(15.5)、I グリシン抱合体(13.5)、F 抱合体(8.1)、D 抱合体(4.1)、H(3.1)、I(2.0) |
| | | | 糞 | 16.7 | F(1.0) |
| | 500 mg/kg 体重 | 雄 | 尿 | — | F 抱合体(8.9)、I グリシン抱合体(5.4)、H グリシン抱合体(4.8)、I(0.8)、D 抱合体(0.8)、H(0.6) |
| | | | 糞 | 62.3 | F(1.9) |
| | | 雌 | 尿 | — | H グリシン抱合体(6.3)、I グリシン抱合体(4.8)、F 抱合体(2.1)、D 抱合体(2.0)、H(0.8)、I(0.3) |
| | | | 糞 | 72.9 | F(0.4) |

(4) 排泄

①単回経口投与

SD ラット（一群雌雄各 5 匹）に[ani-¹⁴C]エトベンザニド及び[phe-¹⁴C]エトベンザニドを低用量又は高用量で単回経口投与し、排泄試験が実施された。

投与後 48 時間及び 120 時間の尿及び糞中排泄率は表 4 に示されている。

低用量群では、投与後 120 時間の糞尿中に 99.0~100%TAR が排泄され、このうち尿中に 58.6~66.4%TAR、糞中に 30.3~40.6%TAR が排泄された。投与 120

時間後のカーカス¹中に残存する放射能は 1.0%TAR 未満であった。

高用量群では、投与後 120 時間の糞尿中に 96.3~104%TAR が排泄され、このうち尿中に 21.4~29.5%TAR、糞中に 71.8~78.4%TAR が排泄された。投与 120 時間後のカーカス中に残存する放射能は 0.5%TAR 未満であった。

全ての投与群においてエトベンザニドの排泄は速やかであり、ほとんどが 48 時間以内に排泄された。低用量群では主に尿中、高用量群では主に糞中に排泄され、投与量による差が認められた。標識位置及び雌雄による排泄パターンの差は認められなかった。(参照 1、2、38、39)

表 4 投与後 48 時間及び 120 時間の尿及び糞中排泄率 (%TAR)

| 投与量 | [ani- ¹⁴ C]エトベンザニド | | | | | | | | [phe- ¹⁴ C]エトベンザニド | | | | | | | |
|-------------|-------------------------------|------|------|------|--------------|------|------|------|-------------------------------|------|------|------|--------------|------|------|------|
| | 25 mg/kg 体重 | | | | 500 mg/kg 体重 | | | | 25 mg/kg 体重 | | | | 500 mg/kg 体重 | | | |
| 性別 | 雄 | | 雌 | | 雄 | | 雌 | | 雄 | | 雌 | | 雄 | | 雌 | |
| 試料 | 尿 | 糞 | 尿 | 糞 | 尿 | 糞 | 尿 | 糞 | 尿 | 糞 | 尿 | 糞 | 尿 | 糞 | 尿 | 糞 |
| 投与後 48 時間 | 62.8 | 35.9 | 64.9 | 33.0 | 28.4 | 74.1 | 24.8 | 74.0 | 57.0 | 40.3 | 63.6 | 28.5 | 23.1 | 70.2 | 20.5 | 77.6 |
| 投与後 120 時間* | 64.0 | 36.1 | 65.7 | 33.3 | 29.5 | 74.6 | 25.7 | 75.3 | 58.6 | 40.6 | 66.4 | 30.3 | 24.5 | 71.8 | 21.4 | 78.4 |

*：投与後 120 時間の尿にはケージ洗液を含む。

②反復経口投与

SD ラット（一群雌雄各 5 匹）に非標識エトベンザニドを 25 mg/kg 体重/日で 14 日間反復経口投与した後、[ani-¹⁴C]エトベンザニドを低用量で単回経口投与し、排泄試験が実施された。

投与後 48 時間及び 120 時間の尿及び糞中排泄率は表 5 に示されている。

投与後 120 時間の糞尿中に 96.3~97.3%TAR が排泄され、このうち尿中に 59.3~63.9%TAR、糞中に 32.4~38.0%TAR が排泄された。投与 120 時間後のカーカス中に残存する放射能は 0.3%TAR 未満であった。低用量単回経口投与群と同様、エトベンザニドの排泄は速やかであり、主に尿中に排泄された。反復投与による排泄パターンへの影響は雌雄ともに認められなかった。(参照 1、2、38、39)

表 5 投与後 48 時間及び 120 時間の尿及び糞中排泄率 (%TAR)

| 投与量 | [ani- ¹⁴ C]エトベンザニド | | | |
|-------------|-------------------------------|------|------|------|
| | 25 mg/kg 体重 | | | |
| 性別 | 雄 | | 雌 | |
| 試料 | 尿 | 糞 | 尿 | 糞 |
| 投与後 48 時間 | 61.9 | 31.9 | 56.8 | 37.0 |
| 投与後 120 時間* | 63.9 | 32.4 | 59.3 | 38.0 |

*：投与後 120 時間の尿にはケージ洗液を含む。

¹ 組織・臓器を取り除いた残渣のことをカーカスという（以下同じ。）。

③胆汁排泄

胆管カニューレを挿入した SD ラット（一群雌雄各 3 匹）に[ani-¹⁴C]エトベンザニドを低用量及び高用量で、又は[phe-¹⁴C]エトベンザニドを低用量で単回経口投与し、胆汁排泄試験が実施された。

投与後 48 時間の尿、糞及び胆汁中排泄率は表 6 に示されている。

投与後 48 時間の胆汁中に、低用量群では 19.6～38.7%TAR、高用量群では 13.8～14.7%TAR が排泄された。胆汁への排泄は個体差が大きく、標識位置及び雌雄による差は明確でなかったが、腸肝循環が認められた。（参照 1、2、38、39）

表 6 投与後 48 時間の尿、糞及び胆汁中排泄率（%TAR）

| 投与量 | [ani- ¹⁴ C]エトベンザニド | | | | [phe- ¹⁴ C]エトベンザニド | |
|-----|-------------------------------|------|--------------|------|-------------------------------|------|
| | 25 mg/kg 体重 | | 500 mg/kg 体重 | | 25 mg/kg 体重 | |
| 性別 | 雄 | 雌 | 雄 | 雌 | 雄 | 雌 |
| 尿* | 50.1 | 32.7 | 18.2 | 22.4 | 40.3 | 37.1 |
| 糞 | 21.8 | 27.7 | 42.2 | 57.3 | 25.6 | 21.7 |
| 胆汁 | 19.6 | 38.7 | 14.7 | 13.8 | 30.2 | 36.9 |

*：尿にはケージ洗液を含む。

2. 植物体内運命試験（水稻）

（1）水稻（幼苗）

水稻（品種：初星）の 4～5 葉期に、[phe-¹⁴C]エトベンザニドを水耕液に 1 mg/L の濃度で添加し、処理直後の水耕液並びに処理 6、24、48 及び 72 時間後の稲及び水耕液を採取して植物体内運命試験が実施された。

各試料における総残留放射能は表 7 に示されている。

放射能の総回収率は 84.7～92.6%TAR であった。根部の総残留放射能は、処理 6 時間後の 14.9%TAR から処理 72 時間後には 34.6%TAR に増加したが、茎葉部の総残留放射能は処理 72 時間後でも 3.2%TAR であった。

水耕液中の主要成分はエトベンザニドであり、処理直後には 87.6%TAR であったが、処理 48 時間後には 27.5%TAR に減少した。これに伴って代謝物 I が一時的に増加し、処理 48 時間後には 13.8%TAR になったが、やがて減少して処理 72 時間後には 6.6%TAR になった。根部における主要成分はエトベンザニド及び I であったが、いずれも 10%TAR を超えなかった。ほかに J、F 及び H がそれぞれ 0.1～3.1%TAR 検出された。茎葉部では F、I 及び H が検出されたが、いずれも 0.6%TAR 以下と微量であった。

水耕液に添加されたエトベンザニドは稲幼苗の根部から吸収されるが、茎葉部への移行は少なく、根部における代謝も速やかであると考えられた。（参照 1、3、38、39）

表 7 各試料における総残留放射能 (%TAR)

| 試料 | 処理直後 | 6 時間後 | 24 時間後 | 48 時間後 | 72 時間後 | |
|-----|------|-------|--------|--------|--------|------|
| 水耕液 | 91.0 | 77.4 | 54.3 | 47.0 | 52.6 | |
| 稲 | 根部 | / | 14.9 | 29.7 | 37.1 | 34.6 |
| | 茎葉部 | / | 0.3 | 0.7 | 1.6 | 3.2 |

/ : 試料採取せず

(2) 水稻 (収穫期)

水稻 (品種: 初星) のワグネルポット移植一週間後に、[phe-¹⁴C]エトベンザニド及び[ani-¹⁴C]エトベンザニドを 3,000 g ai/ha の割合で水面処理し、処理 30 日後、出穂期 (処理 60 日後) 及び収穫期 (処理 100 又は 120 日後) に植物体、土壌及び水 (処理 30 日後のみ) を採取して植物体内運命試験が実施された。

各試料における総残留放射能は表 8 に示されている。

放射能の総回収率は、[phe-¹⁴C]エトベンザニド処理区では処理 30 日後で 88.8%TAR、収穫期では 57.4%TAR と減少した。[ani-¹⁴C]エトベンザニド処理区の収穫期では 69.7%TAR であった。いずれの試料採取時においても、放射能は 50.7~86.4%TAR (総回収率の 88%以上) が土壌から検出され、植物に吸収された放射能の 71~84% (1.8~5.7%TAR) は根部に存在していた。穂への移行は僅か (0.1%TAR) であったが、[phe-¹⁴C]エトベンザニド処理区の玄米には 0.4%TAR (1.49 mg/kg) が存在した。

玄米では、[phe-¹⁴C]エトベンザニド処理区で E が 0.001 mg/kg 検出されたが、エトベンザニド及び他の代謝物は定量限界 (0.001 mg/kg) 未満であった。また、数種類の未同定代謝物が認められたが、いずれも 0.001~0.006 mg/kg と低く、大部分は天然成分のデンプンとして存在していた。根、茎及び葉からはエトベンザニドのほか、[phe-¹⁴C]エトベンザニド処理区では F、I 及び H、[ani-¹⁴C]エトベンザニド処理区では F 及び E が検出された。なお、幼苗を用いた試験 [2. (1)] で検出された J は定量限界未満であった。(参照 1、4、38、39)

表 8 各試料における総残留放射能 (%TAR)

| 試料 | [phe- ¹⁴ C]エトベンザニド | | | [ani- ¹⁴ C]エトベンザニド |
|-----|-------------------------------|-------------------|--------------------|-------------------------------|
| | 処理 30 日後 | 出穂期 (処理 60 日後) | 収穫期 (処理 120 日後) | 収穫期 (処理 100 日後) |
| 田面水 | <0.1 | / | / | / |
| 土壌 | 86.4 | 60.4 | 50.7 | 62.9 |
| 根 | 1.8 | 3.9 | 5.4 | 5.7 |
| 茎 | 0.4 | 0.9 | 0.6 | 0.5 |
| 葉 | 0.2 | 0.6 | 0.3 | 0.5 |
| 穂 | / | 0.1 | / | / |
| 籾殻 | / | / | <0.1 | <0.1 |
| 玄米 | / | / | 0.4 | 0.1 |

/ : 試料採取せず

エトベンザニドの水稻における主要代謝経路は、アミド結合の加水分解及びエトキシメチルエーテル結合の開裂による I、E、F 及び H の生成とそれに続く抱合体の形成、あるいはさらに代謝されて最終的に植物成分に再構成されるものと考えられた。

3. 土壌中運命試験

(1) 好氣的湛水土壌中運命試験

埴壤土及び軽埴土（いずれも茨城）に[ani-¹⁴C]エトベンザニド及び[phe-¹⁴C]エトベンザニドを、3 mg/kg 乾土 (3,000 g ai/ha に相当) となるよう添加し、25°C の湛水、暗条件下で 112 日間インキュベートして土壌中運命試験が実施された。

エトベンザニドは好氣的湛水条件下で急速に分解し、処理直後には 82.7～93.3% TAR 存在したが、処理 112 日後には 12.8～17.7% TAR になった。推定半減期は 6.5～11.6 日と算出された。[ani-¹⁴C]エトベンザニド処理土壌での主要分解物は E（最大で処理 56 日後に 27.2% TAR）及び F（最大で処理 28、56 日後に 8.1% TAR）であった。CO₂ の発生は 0.1～0.6% TAR と少なかった。[phe-¹⁴C]エトベンザニド処理土壌での主要分解物は I（最大で処理 7 日後に 33.9% TAR）及び F（最大で処理直後に 10.9% TAR）であった。ほかに微量分解物として H が認められ、CO₂ の発生は最高で 22.0% TAR であった。（参照 1、5、38、39）

(2) 好氣的土壌中運命試験①

埴壤土（茨城）に[ani-¹⁴C]エトベンザニド及び[phe-¹⁴C]エトベンザニドを、10.7 mg/kg 乾土 (8,000 g ai/ha 相当) となるよう添加し、25°C の暗条件下でそれぞれ 90 日間及び 59 日間インキュベートして土壌中運命試験が実施された。

[phe-¹⁴C]エトベンザニド処理では、処理後抽出性放射能が急速に減少し、アセトニトリル抽出画分で処理 0 日の 97.6% TAR から処理 59 日後に 3.9% TAR となった。一方、揮発性物質が最大で処理 30 日後に 51.2% TAR 認められた。処理 59 日後の抽出画分において、未変化のエトベンザニドが 3.3% TAR、分解物として F が 1.3% TAR 認められた。ほかに分解物 I が処理 1 日後に 6.2% 認められたが、処理 59 日後には 0.1% TAR 未満となった。分解物 H はいずれの採取時期においても 0.1% TAR 未満であった。

[ani-¹⁴C]エトベンザニド処理では、アセトニトリル抽出画分の放射能は処理 0 日の 96.2% TAR から処理 90 日後に 30.5% TAR に減少した。揮発性物質は最大で処理 90 日後の 4.4% TAR であった。処理 90 日後の抽出画分において未変化のエトベンザニドが 1.4% TAR、分解物として E 及び F がそれぞれ 30.8% TAR 及び 0.9% TAR 認められた。

エトベンザニドの推定半減期は 3.7 日、分解物 E の推定半減期は 73 日と算出された。（参照 1、38、39、42）

(3) 好氣的土壤中運命試験②

埴壤土及び軽埴土（いずれも茨城）に[ani-14C]エトベンザニド及び[phe-14C]エトベンザニドを、3 mg/kg 乾土（3,000 g ai/ha 相当）となるよう添加し、25℃の暗条件下で 28 日間インキュベートして、土壤中運命試験が実施された。

好氣的条件下でもエトベンザニドの分解は速やかであった。エトベンザニドは、処理直後では 90.1～94.3%TAR、処理 28 日後では 13.5～21.8%TAR となり、推定半減期は 6.1～7.8 日と算出された。分解物は湛水条件下と同じものが認められ、[ani-14C]エトベンザニド処理土壌では E（最大で処理 5 日後に 16.6%TAR）及び F（最大で処理 28 日後に 14.5%TAR）が、[phe-14C]エトベンザニド処理土壌では I（最大で処理 1 日後に 21.8%TAR）、F（最大で処理 1 日後に 12.1%TAR）及び微量の H が認められた。CO₂の発生は最高で 43.0%TAR であった。（参照 1、5、38、39）

(4) 嫌氣的湛水土壤中運命試験

[ani-14C]エトベンザニド及び[phe-14C]エトベンザニドを、埴壤土及び軽埴土（いずれも茨城）に 3 mg/kg 乾土（3,000 g ai/ha 相当）となるよう添加し、25℃の嫌氣的湛水、暗条件下で 168 日間インキュベートして土壤中運命試験が実施された。

嫌氣的湛水条件下においても、エトベンザニドの分解は速やかであった。エトベンザニドは、処理直後では 80.4～87.6%TAR であったが、処理 168 日後には 11.5～17.1%TAR となり、推定半減期は 7.5～18.7 日と算出された。分解物は好氣的湛水条件下と同じものが認められ、[ani-14C]エトベンザニド処理土壌では E（最大で処理 112 日後に 39.1%TAR）及び F（最大で処理 7 日後に 8.0%TAR）が、[phe-14C]エトベンザニド処理土壌では I（最大で処理 28 日後に 42.1%TAR）、F（最大で処理直後に 8.2%TAR）及び微量の H が認められた。CO₂の発生は認められなかった。（参照 1、5、38、39）

(5) 滅菌湛水土壤中運命試験

滅菌した埴壤土及び軽埴土（いずれも茨城）に[phe-14C]エトベンザニドを、3 mg/kg（3,000 g ai/ha 相当）乾土になるよう添加し、25℃の湛水、暗条件下で 28 日間インキュベートして土壤中運命試験が実施された。

滅菌湛水条件下でのエトベンザニドの分解は遅く、処理 28 日後においても 65.5～70.8%TAR 認められた。推定半減期は 62.4～70.9 日と算出された。分解物は好氣的及び嫌氣的湛水土壌と同じものが認められたが、主要分解物は F（最大で処理 28 日後に 25.0%TAR）であり、I 及び H はともに微量であった。CO₂の発生は認められなかった。（参照 1、5、38、39）

エトベンザニドは滅菌湛水条件以外では急速に分解された。土壌における主要分解経路は、アミド結合の加水分解及びエトキシメチルエーテル結合の開裂による I、E、F 及び H の生成であった。また、これらの生成物はフェノール環の開裂により、CO₂や土壌結合性物質に変換されると考えられた。

(6) 土壌吸着試験

4 種類の土壌 [細粒強グライ土 (宮城)、洪積埴壤土 (茨城)、沖積鈹質土 (高知) 及び灰色低地土 (宮崎)] を用いて、エトベンザニドの土壌吸着試験が実施された。

各土壌におけるエトベンザニドの土壌吸着パラメータは表 9 に示されている。(参照 1、6、38、39)

表 9 土壌吸着試験における土壌吸着パラメータ

| 供試土壌 | K _{adsF} | K _{adsFOC} |
|--------------|-------------------|---------------------|
| 細粒強グライ土 (宮城) | 448 | 13,300 |
| 洪積埴壤土 (茨城) | 295 | 10,400 |
| 沖積鈹質土 (高知) | 8.47 | 700 |
| 灰色低地土 (宮崎) | 27.8 | 1,780 |

4. 水中運命試験

(1) 加水分解試験

pH 1.2 (カリウム緩衝液)、pH 4 及び 5 (フタル酸緩衝液)、pH7 (リン酸緩衝液) 並びに pH 9 (ホウ酸緩衝液) の各滅菌緩衝液に [phe-¹⁴C]エトベンザニドを約 0.5 mg/mL の濃度で添加し、25°C 又は 37°C でインキュベートして加水分解試験が実施された。

加水分解試験の条件及び結果は表 10 に示されている。エトベンザニドは、pH 1.2 及び 4 で速やかに分解され、pH 5 以上では安定であった。いずれの温度及び pH 条件とも、分解物として F のみが検出された。(参照 1、7、38、39)

表 10 加水分解試験の条件及び結果

| 試料 | インキュベーション条件 | | 推定半減期 |
|------------------|-------------|--------|--------|
| | 温度 | 時間 | |
| pH 1.2 (カリウム緩衝液) | 37 °C | 40 分間 | 23.7 分 |
| pH 4 (フタル酸緩衝液) | 25 °C | 30 日間 | 66.4 日 |
| | 37 °C | 16 日間 | 12.9 日 |
| pH 5 (フタル酸緩衝液) | 25 °C | 30 日間 | >1 年 |
| pH 7 (リン酸緩衝液) | 25 °C | 30 日間 | >1 年 |
| | 37 °C | 30 日間 | >1 年 |
| pH 9 (ホウ酸緩衝液) | 25 °C | 720 日間 | >1 年 |
| | 37 °C | 30 日間 | >1 年 |

(2) 水中光分解試験

pH 7 のリン酸緩衝液、2%アセトン水又は自然水 [水田水 (茨城)、pH 8.2] の滅菌水に [phe-¹⁴C] エトベンザニドを約 0.5 mg/mL の濃度で添加し、25°C で最長 42 日間、キセノンランプ光 (光強度: 167 W/m²、波長範囲: 400~750 nm) を照射して水中光分解試験が実施された。

エトベンザニドの 2%アセトン水における推定半減期は 235 日であった。分解物として K が検出された。リン酸緩衝液及び自然水中では 42 日後までの分解性は非常に低かった。(参照 1、8、38、39)

5. 土壌残留試験

洪積火山灰軽埴土 (茨城)、沖積埴壤土 (神奈川)、沖積砂壤土 (鹿児島)、火山灰埴壤土 (茨城) 及び洪積埴壤土 (広島) を用いて、エトベンザニド、分解物 E、F、I 及び 2,2',3,3'-テトラクロロアゾベンゼンを分析対象化合物とした土壌残留試験 (容器内及び圃場試験) が実施された。

推定半減期は表 11 に示されている。

2,2',3,3'-テトラクロロアゾベンゼンは検出されなかった。(参照 1、9、38、39、41)

表 11 土壌残留試験成績 (推定半減期)

| 試験 | 濃度* | 土壌 | エトベンザニド | エトベンザニド+分解物 |
|-------|-----------------------|----------|---------|---------------------|
| 容器内試験 | 3 mg/kg | 洪積火山灰軽埴土 | 約 6 日 | 約 14 日 ^a |
| | | 沖積埴壤土 | 約 2 日 | 約 3 日 ^a |
| 圃場試験 | 2.8 kg ai/ha (2 回) | 洪積火山灰軽埴土 | 約 4 日 | 約 4 日 ^a |
| | | 沖積砂壤土 | 約 10 日 | 約 10 日 ^a |
| | 畑地 | 火山灰埴壤土 | 2.5 日 | 3.6 日 ^b |
| | | 洪積埴壤土 | 7.2 日 | 8.5 日 ^b |

*: 容器内試験で純品、圃場試験で 7%粒剤を使用

a: エトベンザニド+分解物 E、F、I 及び 2,2',3,3'-テトラクロロアゾベンゼンの推定半減期

b: エトベンザニド+分解物 E の推定半減期

6. 作物等残留試験

(1) 作物残留試験

水稻を用いて、エトベンザニド、代謝物 E 及び F 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。稲わらで代謝物 E が 0.02 mg/kg 検出されたほかは、エトベンザニド及びいずれの代謝物も定量限界未満であった。(参照 1、10、38、39)

(2) 魚介類における最大推定残留値

エトベンザニドの公共用水域における環境中予測濃度 (PEC) 及び生物濃縮係数 (BCF) を基に、魚介類の最大推定残留値が算出された。

エトベンザニドの水産 PEC は 0.087 µg/L、BCF (試験魚種：コイ) は 26、魚介類における最大推定残留値は 0.011 mg/kg であった。(参照 34)

(3) 推定摂取量

別紙 3 の分析値及び魚介類における最大推定残留値を用いて、エトベンザニドを暴露評価対象化合物とした際に食品中から摂取される推定摂取量が表 12 に示されている。

なお、本推定摂取量の算定は、登録に基づく使用方法から、エトベンザニドが最大の残留を示す使用条件で水稻に使用され、魚介類への残留が上記の最大推定残留値を示し、かつ、加工・調理による残留農薬の増減が全くないとの仮定の下に行った。(参照 1、34～39)

表 12 食品中より摂取されるエトベンザニドの推定摂取量

| 作物名等 | 残留値 (mg/kg) | 国民平均 (体重：53.3 kg) | | 小児 (1~6 歳) (体重：15.8 kg) | | 妊婦 (体重：55.6 kg) | | 高齢者 (65 歳以上) (体重：54.2 kg) | |
|------|----------------|----------------------|-----------------|----------------------------|-----------------|--------------------|-----------------|---------------------------------|-----------------|
| | | 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) |
| 魚介類 | 0.011 | 94.1 | 1.04 | 42.8 | 0.47 | 94.1 | 1.04 | 94.1 | 1.04 |
| 合計 | | | 1.04 | | 0.47 | | 1.04 | | 1.04 |

- ・残留値は最大推定残留値を用いた。
- ・玄米のデータは全て定量限界未満であったため、摂取量の計算に含めていない。
- ・「ff」：平成 10 年～12 年の国民栄養調査 (参照 37～39) の結果に基づく摂取量 (g/人/日)
- ・妊婦及び高齢者の魚介類の ff は国民平均の ff を用いた。
- ・「摂取量」：残留値から求めたエトベンザニドの推定摂取量 (µg/人/日)

7. 一般薬理試験

エトベンザニドのマウス、ラット、イヌ、ウサギ及びモルモットを用いた一般薬理試験が実施された。

結果は表 13 に示されている。(参照 1、11、38、39)

表 13 一般薬理試験概要

| 試験の種類 | 動物種 | 動物数 匹/群 | 投与量 mg/kg 体重 (投与経路) | 最大無作用量 (mg/kg 体重) | 最小作用量 (mg/kg 体重) | 結果の概要 | |
|----------|-----------------------------|------------|---------------------------|--|---------------------|-------|-------------|
| 中枢神経系 | 一般症状 (Irwin 法) | マウス | 雄 4 | 0、200、 600、2,000 (経口) | 2,000 | — | 影響なし |
| | 睡眠増強 (ヘキソバルビタール) | マウス | 雄 10 | 0、200、 600、2,000 (経口) | 600 | 2,000 | 睡眠時間の 延長 |
| | 体温 | ラット | 雄 10 | 0、200、 600、2,000 (経口) | 2,000 | — | 影響なし |
| 呼吸循環器系 | 呼吸運動、血圧、 心拍数、血流量、 心電図 | イヌ | 雄 1 雌 2 | 1,000 (十二指腸内) | 1,000 | — | 影響なし |
| 自律神経・平滑筋 | 瞳孔径 | ウサギ | 雄 5 | 0、200、 600、2,000 (経口) | 2,000 | — | 影響なし |
| | 摘出回腸 | モルモット | 雄 16 | 0、0.3、1.0、 3.0 µg/mL (<i>in vitro</i>) | 3.0 µg/mL | — | 影響なし |
| | 摘出気管 | モルモット | 雄 4 | 0、0.3、1.0、 3.0 µg/mL (<i>in vitro</i>) | 3.0 µg/mL | — | 影響なし |
| | 摘出輸精管 (NA 収縮) | ラット | 雄 4 | 0、0.3、1.0、 3.0 µg/mL (<i>in vitro</i>) | 3.0 µg/mL | — | 影響なし |
| | 摘出妊娠子宮 (オキシトシン収縮) | ラット | 雌 4 | 0、0.3、1.0、 3.0 µg/mL (<i>in vitro</i>) | 3.0 µg/mL | — | 影響なし |
| 消化器系 | 小腸輸送能 | マウス | 雄 10 | 0、200、 600、2,000 (経口) | 2,000 | — | 影響なし |
| 腎機能 | 尿及び 電解質排泄 | ラット | 雄 8 | 0、200、 600、2,000 (経口) | 2,000 | — | 影響なし |
| 骨格筋系 | 神経筋 (坐骨神経腓腹筋) | ウサギ | 雄 3 | 1,000 (十二指腸) | 1,000 | — | 影響なし |
| 血液 | 血液凝固 | ラット | 雄 10 | 0、200、 600、2,000 (経口) | 600 | 2,000 | PT 延長 |

—：最小作用量の設定できず。

8. 急性毒性試験

エトベンザニドのラット及びマウスを用いた急性毒性試験が実施された。結果は表 14 に示されている。(参照 1、12~15、38、39)

表 14 急性毒性試験結果概要

| 動物種 | 投与経路 | LD ₅₀ (mg/kg 体重) | | 観察された症状 |
|--------------------|------|-----------------------------|--------|--------------------|
| | | 雄 | 雌 | |
| SD ラット 雌雄各 5 匹 | 経口 | >5,000 | >5,000 | 症状及び死亡例なし |
| ICR マウス 雌雄各 5 匹 | | >5,000 | >5,000 | 症状及び死亡例なし |
| SD ラット 雌雄各 5 匹 | 経皮 | >2,000 | >2,000 | 症状及び死亡例なし |
| SD ラット 雌雄各 5 匹 | 吸入 | LC ₅₀ (mg/L) | | 暴露中にうずくまり 死亡例なし |
| | | >1.5 | >1.5 | |

9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

NZW ウサギを用いた眼刺激性試験及び皮膚刺激性試験が実施され、眼に対して中等度の刺激性、皮膚に対して非常に軽微な刺激性が認められた。(参照 1、16、17、38、39)

Hartley モルモットを用いた皮膚感作性試験 (Buehler 法) が実施され、皮膚感作性は認められなかった。(参照 1、18、38、39)

10. 亜急性毒性試験

(1) 90 日間亜急性毒性試験 (ラット)

Fischer ラット (一群雌雄各 20 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、500、2,000、8,000 及び 32,000 ppm : 平均検体摂取量は表 15 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 15 90 日間亜急性毒性試験 (ラット) の平均検体摂取量

| 投与群 | | 500 ppm | 2,000 ppm | 8,000 ppm | 32,000 ppm |
|-------------------------|---|---------|-----------|-----------|------------|
| 平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日) | 雄 | 35.7 | 143 | 578 | 2,440 |
| | 雌 | 38.6 | 156 | 619 | 2,410 |

各投与群で認められた毒性所見は表 16 に示されている。

本試験において、8,000 ppm 以上投与群の雄及び 2,000 ppm 以上投与群の雌で肝絶対及び比重量²増加等が認められたことから、無毒性量は雄で 2,000 ppm

² 体重比重量を比重量という (以下同じ。)

(143 mg/kg 体重/日)、雌で 500 ppm (38.6 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 1、19、38、39)

表 16 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 |
|--------------|--|--|
| 32,000 ppm | <ul style="list-style-type: none"> ・MCH 増加 ・TP、T.Chol 及び尿酸量増加 ・TG 減少 ・脾髄外造血亢進 ・胸腺萎縮 ・腎尿細管上皮細胞の変性 | <ul style="list-style-type: none"> ・MCV 及び MCH 増加 ・MCHC 減少 ・肝臓のクッパー細胞褐色色素沈着 ・胸腺萎縮 |
| 8,000 ppm 以上 | <ul style="list-style-type: none"> ・粗毛及び被毛光沢の消失 ・体重増加抑制 ・摂餌量減少 ・RBC、Hb 及び Ht 減少 ・網状赤血球増加 ・FFA 減少 ・肝絶対及び比重量増加 ・小葉中心性肝細胞肥大 | <ul style="list-style-type: none"> ・粗毛及び被毛光沢の消失 ・体重増加抑制 ・摂餌量減少 ・RBC、Hb 及び Ht 減少 ・TG 減少 ・尿酸量増加 ・副腎絶対及び比重量増加 ・小葉中心性肝細胞肥大 ・腎尿細管上皮細胞の変性 ・脾髄外造血亢進 |
| 2,000 ppm 以上 | 2,000 ppm 以下 毒性所見なし | <ul style="list-style-type: none"> ・網状赤血球増加 ・TP 及び T.Chol 増加 ・肝絶対及び比重量増加 |
| 500 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、150、600、2,400 及び 9,600 ppm : 平均検体摂取量は表 17 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 17 90 日間亜急性毒性試験 (マウス) の平均検体摂取量

| 投与群 | | 150 ppm | 600 ppm | 2,400 ppm | 9,600 ppm |
|-------------------------|---|---------|---------|-----------|-----------|
| 平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日) | 雄 | 21.1 | 84.0 | 343 | 1,380 |
| | 雌 | 24.9 | 99.0 | 433 | 1,640 |

各投与群で認められた毒性所見は表 18 に示されている。

対照群及び 2,400 ppm 投与群の雄各 1 例が採血時の過剰麻酔によって死亡した。また、9,600 ppm 投与群の雄 1 例が一般状態不良のため切迫と殺されたが、多発性リンパ肉腫によるものと考えられ、検体投与との関連は認められなかった。

本試験において、600 ppm 以上投与群の雄で BUN 及び Cre 増加等、雌で TP

及び Glob 減少等が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 150 ppm (雄: 21.1 mg/kg 体重/日、雌: 24.9 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 1、20、38、39)

表 18 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 |
|--------------|---|---|
| 9,600 ppm | ・肝補正重量 ³ 増加 [§] ・小葉中心性肝細胞変性/単細胞壊死 ・小葉中心性クッパー細胞の色素沈着 | ・肝補正重量増加 [§] ・小葉中心性肝細胞変性/単細胞壊死 ・小葉中心性クッパー細胞の色素沈着 |
| 2,400 ppm 以上 | ・PLT 減少 | ・尿量減少 |
| 600 ppm 以上 | ・BUN 及び Cre 増加 | ・TP 及び Glob 減少 |
| 150 ppm | 毒性所見なし | 毒性所見なし |

§: 本試験においては、肝重量について比重量の算出が行われていないが、絶対重量の増加の程度及び病理所見の発現状況から、補正重量の増加を投与の影響と判断した。

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) を用いたカプセル経口 (原体: 0、12.5、125 及び 1,250 mg/kg 体重/日) 投与による 1 年間慢性毒性試験が実施された。

1,250 mg/kg 体重/日投与群の雌で肝絶対及び比重量の増加傾向及び ALP 増加が認められた。

本試験において、雄では毒性所見は認められず、雌では 1,250 mg/kg 体重/日投与群で ALP 増加等が認められたことから、無毒性量は雄で本試験の最高用量である 1,250 mg/kg 体重/日、雌で 125 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 1、21、38、39)

(2) 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット)

SD ラット (主群: 一群雌雄各 50 匹、衛星群: 一群雌雄各 20 匹) を用いた混餌 (原体: 0、100、1,400 及び 20,000 ppm: 平均検体摂取量は表 19 参照) 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。

表 19 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット) の平均検体摂取量

| 投与群 | | 100 ppm | 1,400 ppm | 20,000 ppm |
|-------------------------|---|---------|-----------|------------|
| 平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日) | 雄 | 4.4 | 62 | 902 |
| | 雌 | 5.8 | 82 | 1,160 |

各投与群で認められた毒性所見は表 20 に示されている。

³体重を共変量として補正した臓器重量を補正重量という。

検体投与に関連して発生頻度が増加した腫瘍性病変は認められなかった。
 本試験において、1,400 ppm 以上投与群の雄で小葉中心性肝細胞肥大等が、雌で Ht、Hb 及び RBC 減少が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 100 ppm（雄：4.4 mg/kg 体重/日、雌：5.8 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 1、22、38、39）

表 20 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

| 投与量 | 雄 | 雌 |
|--------------|---|---|
| 20,000 ppm | <ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・摂餌量減少 ・TP、Glob 及び T.Chol 減少 ・胆管過形成 ・変異肝細胞巣（好酸性型） | <ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・摂餌量及び飲水量減少 ・小葉中心性肝細胞肥大 ・胆管過形成 ・変異肝細胞巣（好酸性型） ・肝類洞細胞色素沈着 ・腎皮質尿細管褐色色素沈着 |
| 1,400 ppm 以上 | <ul style="list-style-type: none"> ・小葉中心性肝細胞肥大（中間と殺群のみ） ・変異肝細胞巣（明細胞型と好酸性型の合計） | <ul style="list-style-type: none"> ・Ht、Hb 及び RBC 減少 |
| 100 ppm | 毒性所見なし | 毒性所見なし |

（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、100、1,000 及び 10,000 ppm：平均検体摂取量は表 21 参照）投与による 18 か月間発がん性試験が実施された。

表 21 18 か月間発がん性試験（マウス）の平均検体摂取量

| 投与群 | | 100 ppm | 1,000 ppm | 10,000 ppm |
|-------------------------|---|---------|-----------|------------|
| 平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日) | 雄 | 12 | 124 | 1,350 |
| | 雌 | 17 | 162 | 1,760 |

各投与群で認められた毒性所見は表 22 に、肝腫瘍の発生頻度は表 23 に示されている。

10,000 ppm 投与群の雌で肝細胞腺腫の発生頻度増加が認められたが、肝細胞癌の発生はなかった。10,000 ppm 投与群の雄では肝細胞腺腫と肝細胞癌を合わせた発生頻度の増加が認められた。

本試験において、1,000 ppm 以上投与群の雄及び 10,000 ppm 投与群の雌で肝絶対重量増加等が認められたことから、無毒性量は雄で 100 ppm（12 mg/kg 体重/日）、雌で 1,000 ppm（162 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 1、23、38、39）

表 22 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 |
|--------------|--|---|
| 10,000 ppm | <ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ 変異肝細胞巢（好塩基型） ・ 肝細胞変性及び炎症細胞浸潤 ・ 肝マクロファージ色素沈着 ・ 肺マクロファージ色素沈着 ・ 肺血管周囲炎症細胞浸潤 | <ul style="list-style-type: none"> ・ 肝絶対重量増加 ・ 変異肝細胞巢（好塩基型） ・ 肝マクロファージ色素沈着 |
| 1,000 ppm 以上 | ・ 肝絶対重量増加 | 1,000 ppm 以下毒性所見なし |
| 100 ppm | 毒性所見なし | |

表 23 肝腫瘍の発生頻度

| 性別 | 雄 | | | | 雌 | | | |
|-----------|----|-----|-------|--------|----|-----|-------|--------|
| | 0 | 100 | 1,000 | 10,000 | 0 | 100 | 1,000 | 10,000 |
| 投与群 (ppm) | | | | | | | | |
| 検査動物数 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 |
| 肝細胞腺腫 | 10 | 13 | 10 | 16 | 0 | 0 | 1 | 5* |
| 肝細胞癌 | 2 | 2 | 7 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 肝細胞腺腫+癌 | 12 | 15 | 17 | 21*+ | 0 | 0 | 1 | 5* |

* : Fisher の直接確率検定 ; p<0.05

+ : peto 傾向検定 ; p=0.03

1 2. 生殖発生毒性試験

(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（原体：0、100、1,400 及び 20,000 ppm：平均検体摂取量は表 24 参照）投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

表 24 2 世代繁殖試験（ラット）の平均検体摂取量

| 投与群 | | 100 ppm | 1,400 ppm | 20,000 ppm | |
|-------------------------|-------------------|---------|-----------|------------|-------|
| 平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日) | P 世代 | 雄 | 6.9 | 98 | 1,430 |
| | | 雌 | 7.4 | 106 | 1,570 |
| | F ₁ 世代 | 雄 | 7.8 | 109 | 1,670 |
| | | 雌 | 8.2 | 117 | 1,770 |

対照群の P 世代親動物の雌 1 例、20,000 ppm 投与群の親動物 P 世代及び F₁ 世代の雌各 1 例が分娩時又は分娩翌日に死亡したが、検体投与との関連はないものと考えられた。

各投与群で認められた毒性所見は表 25 に示されている。

児動物では、20,000 ppm 投与群の F₁ 世代雌において、膈開口発現日齢の遅延及び不完全な膈開口の増加が認められた。この変化の再現性を確認するために、F₂ 世代の第 1 回交配によって得られた児動物の一部を膈開口発現まで観察した

結果、1,400 ppm 以上投与群で不完全な膈開口の増加が、20,000 ppm 投与群で膈開口の遅延が認められた。雄の陰茎包皮開裂発現日齢には変化が認められなかった。

本試験において、親動物では 1,400 ppm 以上投与群で腎尿細管上皮の褐色色素沈着等、児動物では 1,400 ppm 以上投与群で不完全な膈開口の増加が認められたことから、一般毒性に対する無毒性量は親動物及び児動物で 100 ppm (P 雄：6.9 mg/kg 体重/日、P 雌：7.4 mg/kg 体重/日、F₁ 雄：7.8 mg/kg 体重/日、F₁ 雌：8.2 mg/kg 体重/日) であると考えられた。また、20,000 ppm 投与群の F₁ 雌において受胎率の低下及び交配期間延長が認められたので、繁殖能に対する無毒性量は 1,400 ppm (P 雄：98 mg/kg 体重/日、P 雌：106 mg/kg 体重/日、F₁ 雄：109 mg/kg 体重/日、F₁ 雌：117 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 1、24、38、39)

表 25 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 ₁ | | 親：F ₁ 、児：F ₂ | | |
|-----|----------------------|--|---|---|---|
| | 雄 | 雌 | 雄 | 雌 | |
| 親動物 | 20,000 ppm | <ul style="list-style-type: none"> 肺補正重量増加 小葉中心性肝細胞肥大 | <ul style="list-style-type: none"> 肝及び副腎補正重量増加 小葉中心性肝細胞肥大 肝細胞空胞化 | <ul style="list-style-type: none"> 体重増加抑制 (哺育期～交配前) 摂餌量減少 (交配前) 小葉中心性肝細胞肥大 | <ul style="list-style-type: none"> 体重増加抑制 (哺育期～交配前) 摂餌量減少 (交配前) 小葉中心性肝細胞肥大 肝細胞空胞化 受胎率の低下[#]及び交配期間延長[#] |
| | 1,400 ppm 以上 | <ul style="list-style-type: none"> 腎尿細管上皮褐色色素沈着 | <ul style="list-style-type: none"> 肺補正重量増加 腎尿細管上皮褐色色素沈着 | <ul style="list-style-type: none"> 腎尿細管上皮褐色色素沈着 | <ul style="list-style-type: none"> 腎尿細管上皮褐色色素沈着 |
| | 100 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 | 20,000 ppm | <ul style="list-style-type: none"> 死産児数増加 出生時低体重及び体重増加抑制 膈開口の遅延 不完全な膈開口の増加 | | <ul style="list-style-type: none"> 死産児数増加 出生時低体重及び体重増加抑制 | <ul style="list-style-type: none"> <F_{2A}：膈開口観察用> 膈開口の遅延 |
| | 1,400 ppm 以上 | 1,400 ppm 以下毒性所見なし | | <F _{2A} ：膈開口観察用> | |
| | 100 ppm | | | <ul style="list-style-type: none"> 不完全な膈開口の増加 | |
| | | 毒性所見なし | | | |

#：有意差は認められないが投与の影響と考えられた。

(2) 発生毒性試験 (ラット)

SD ラット (一群雌 26 匹) の妊娠 6～15 日に強制経口 (原体:0 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、対照群の 1 例に腎盂拡張が認められたのみであり、検体投与に関連する毒性所見は認められなかった。

胎児では、内臓及び骨格の異常又は変異が散見されたが、検体投与の影響を示

唆する変化は認められなかった。

本試験において、母動物及び胎児のいずれの投与群にも検体投与に起因する毒性所見は認められなかったことから、無毒性量は母動物及び胎児で 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 1、25、38、39）

（3）発生毒性試験（ウサギ）

NZW ウサギ（一群雌 18 匹）の妊娠 6～18 日に強制経口（原体：0、500 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/日投与群で胃粘膜の出血若しくは充血、肝の退色又は膀胱粘膜の充血が各 1 匹に認められたが、いずれも偶発的変化であり、投与の影響ではないと考えられた。

胎児では、1,000 mg/kg 体重/日投与群の 2 例で内反足、500 mg/kg 体重/日投与群の 1 例で胸骨癒合が認められたほか、脊椎椎体若しくは椎弓の分離、腰肋骨又は胸骨不相称が観察されたが、有意差は認められなかった。

本試験において、母動物及び胎児のいずれの投与群にも検体投与に起因する毒性所見は認められなかったことから、無毒性量は母動物及び胎児で 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 1、26、38、39）

1 3. 遺伝毒性試験

エトベンザニドの細菌を用いた DNA 修復試験及び復帰突然変異試験、チャイニーズハムスター培養細胞（CHO）を用いた染色体異常試験及びマウス骨髄細胞を用いた小核試験が実施された。

結果は表 26 に示されている。CHO 細胞を用いた染色体異常試験では、代謝活性化系非存在下における、細胞分裂抑制を惹起するような高濃度においてのみ軽度な染色体異常が認められた。しかし、代謝活性化系存在下では認められず、十分高用量まで検討された *in vivo* 小核試験で陰性であったことから、エトベンザニドには生体において問題となる遺伝毒性はないものと考えられた。（参照 1、27～30、38、39）

表 26 遺伝毒性試験概要

| | 試験 | 対象 | 処理濃度・投与量 | 結果 |
|-----------------|----------|---|---|-----|
| <i>in vitro</i> | DNA 修復試験 | <i>Bacillus subtilis</i> (H17、M45 株) | 313～8,000 µg/ディスク (+/-S9) | 陰性 |
| | 復帰突然変異試験 | <i>Salmonella typhimurium</i> (TA98、TA100、 TA1535、TA1537 株) <i>Escherichia coli</i> (WP2 <i>pKM</i> 101、 WP2 <i>uvrA</i> - <i>pKM</i> 101 株) | 0.32～200 µg/プレート (-S9) 1.6～1,000 µg/プレート (+S9) | 陰性 |
| | 染色体異常試験 | チャイニーズハムスター 卵巣由来培養細胞 (CHO) | 49.0～100 µg/mL (-S9、2 及び 24 時間処理) 11.8～24.0 µg/mL (-S9、48 時間処理) 49.0～100 µg/mL (+S9、2 時間処理) 50.0 µg/mL (-S9、48 時間処理) | 陽性* |
| <i>in vivo</i> | 小核試験 | ICR マウス (骨髄細胞) (一群雄 5～10 匹) | 1,130、2,250、4,500 mg/kg 体重 (1 日 1 回 2 日間腹腔内投与) | 陰性 |

注) +/-S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下

* : -S9、48 時間処理の 24.0 µg/mL においてのみ、軽度な染色体の構造異常の増加

14. その他の試験

(1) マウスを用いた薬物代謝酵素誘導確認試験

マウスを用いた 18 か月間発がん性試験 [11. (3)] で肝臓腫瘍の増加が認められたことから、ICR マウス (一群雄 12～16 匹) にエトベンザニドを単回強制経口 (原体 : 0、2,500 及び 5,000 mg/kg 体重、溶媒 : コーン油) 投与して、本剤の肝薬物代謝酵素誘導が検討された。陽性対照として PB を単回強制経口投与 (150 mg/kg 体重、溶媒 : 蒸留水) し比較された。

エトベンザニド投与群では、病理組織学的検査で肝細胞の軽度な好酸性変化が認められたが、この変化はグリコーゲンの減少によるものと考えられた。P450 免疫染色では陽性領域の増加は認められず、さらに PCNA 標識率を指標とした細胞増殖活性の増加は認められなかった。また、肝重量当たりの P450 の定量値にも検体投与による増加は認められなかった。

以上の結果から、エトベンザニドの単回投与では明確な薬物代謝酵素誘導能を示す結果は認められなかった。本試験の投与期間が短いことから、本剤の肝腫瘍発生機序に、肝薬物代謝酵素誘導や PB 様のプロモーション作用が関与するかどうかは、判断できなかった。(参照 1、31、38、39)

(2) マウスを用いた細胞増殖活性確認試験

マウスを用いた 18 か月間発がん性試験 [11. (3)] で示された肝発がんの機序を明らかにするため、薬物代謝酵素誘導確認試験 [14. (1)] が実施された。病理

組織学的検査、P450 免疫染色、P450 の定量及び PCNA 標識率を指標とした細胞増殖活性について検討されたが、全て陰性の結果であった。このため、肝臓に病理組織傷害が認められたマウスを用いた 90 日間亜急性毒性試験 [10. (2)] の肝臓標本に PCNA 免疫染色を実施して、本剤の細胞増殖活性が検討された。

雌雄とも、病理組織学的検査で肝臓に傷害性変化が認められた 9,600 ppm 投与群で PCNA 標識率の増加が示されたが、肝臓に病理組織学的変化が認められなかった 600 ppm 投与群では PCNA 標識率は増加しなかった。9,600 ppm 投与群の雌雄における PCNA 標識率の増加は、肝細胞の傷害所見（小葉中心性肝細胞変性及び単細胞壊死）に対する反応性変化と考えられた。

以上の結果から、マウス発がん性試験における肝腫瘍発生の増加には、本剤による肝傷害後の細胞増殖活性の亢進が関与する可能性が示唆された。（参照 1、32、38、39）

Ⅲ. 食品健康影響評価

参照に挙げた資料を用いて農薬「エトベンザニド」の食品健康影響評価を実施した。

¹⁴C で標識したエトベンザニドのラットを用いた動物体内運命試験の結果、経口投与されたエトベンザニドの体内吸収率は少なくとも低用量群で 69.7%、高用量群で 32.9%と算出された。エトベンザニドは雄の低用量群で 1.5 時間、高用量群で 4.0 時間、雌ではいずれも 0.7~1.0 時間で T_{max} に達し、いずれの用量群とも、雄では二相性、雌では一相性の減衰を示し、 $T_{1/2}$ は雄で 5.3~7.6 時間、雌で 15~18 時間であった。投与量のほとんどが投与後 48 時間に排泄され、低用量群では主に尿中、高用量群では主に糞中に排泄された。尿、胆汁、腎臓、肝臓及び血漿中の主要代謝物は F の抱合体であり、糞中の主要成分は未変化のエトベンザニドであった。

¹⁴C で標識したエトベンザニドの水稻を用いた植物体内運命試験の結果、玄米では未変化のエトベンザニドは定量限界未満であり、ごく微量の E が検出されたのみであった。

エトベンザニド、代謝物 E 及び F を分析対象化合物とした作物残留試験の結果、玄米では全て定量限界未満であり、稲わらでは代謝物 E が 0.02 mg/kg 検出された。魚介類における最大推定残留値は 0.011 mg/kg であった。

各種毒性試験結果から、エトベンザニド投与による影響は主に肝臓（重量増加、肝細胞肥大、変異肝細胞巣等）及び腎臓（尿細管上皮細胞の変性：ラット）に認められた。

催奇形性及び生体において問題となる遺伝毒性は認められなかった。

マウスの発がん性試験において、10,000 ppm 投与群の雌で肝細胞腺腫の発生頻度が増加し、同群の雄で肝細胞腺腫と肝細胞癌を合わせた発生頻度が増加したが、メカニズム試験及び遺伝毒性試験の結果から、肝細胞腫瘍の発生機序は遺伝毒性メカニズムとは考え難く、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。ラット 2 世代繁殖試験において、受胎率の低下、交配期間延長及び膈開口の遅延等が認められた。

各種試験結果から、農産物及び魚介類中の暴露評価対象物質をエトベンザニド（親化合物のみ）と設定した。

各試験における無毒性量等は表 27 に示されている。

食品安全委員会農薬専門調査会は、各試験で得られた無毒性量のうち最小値がラットを用いた 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験の 4.4 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 0.044 mg/kg 体重/日を一日摂取許容量（ADI）と設定した。

| | |
|--------------|------------------|
| ADI | 0.044 mg/kg 体重/日 |
| (ADI 設定根拠資料) | 慢性毒性/発がん性併合試験 |
| (動物種) | ラット |
| (期間) | 2年間 |
| (投与方法) | 混餌 |
| (無毒性量) | 4.4 mg/kg 体重/日 |
| (安全係数) | 100 |

表 27 各試験における無毒性量及び最小毒性量

| 動物種 | 試験 | 投与量 (mg/kg 体重/日) | 無毒性量 (mg/kg 体重/日) | 最小毒性量 (mg/kg 体重/日) | 備考 |
|-----|-------------------------------|---|--|--|--|
| ラット | 90 日間 亜急性 毒性試験 | 0、500、2,000、 8,000、32,000 ppm 雄：0、35.7、143、 578、2,440 雌：0、38.6、156、 619、2,410 | 雄：143 雌：38.6 | 雄：578 雌：156 | 雌雄：肝絶対及び比 重量増加等 |
| | 2 年間 慢性毒性/ 発がん性 併合試験 | 0、100、1,400、 20,000 ppm 雄：0、4.4、62、 902 雌：0、5.8、82、 1,160 | 雄：4.4 雌：5.8 | 雄：62 雌：82 | 雄：小葉中心性肝細 胞肥大等 雌：Ht、Hb、RBC 減少 (発がん性は認めら れない) |
| | 2 世代 繁殖試験 | 0、100、1,400、 20,000 ppm P 雄：0、6.9、98、 1,430 P 雌：0、7.4、106、 1,570 F ₁ 雄：0、7.8、 109、1,670 F ₁ 雌：0、8.2、 117、1,770 | 親動物及び児動物 P 雄：6.9 P 雌：7.4 F ₁ 雄：7.8 F ₁ 雌：8.2 繁殖能 P 雄：98 P 雌：106 F ₁ 雄：109 F ₁ 雌：117 | 親動物及び児動物 P 雄：98 P 雌：106 F ₁ 雄：109 F ₁ 雌：117 繁殖能 P 雄：1,430 P 雌：1,570 F ₁ 雄：1,670 F ₁ 雌：1,770 | 親動物雌雄：腎尿細 管上皮褐色色素沈着 等 児動物：不完全な膈 開口の増加 繁殖能：受胎率の低 下等 |
| | 発生毒性 試験 | 0、1,000 | 母動物及び胎児： 1,000 | 母動物及び胎児： — | 毒性所見なし (催奇形性は認めら れない) |
| マウス | 90 日間 亜急性 毒性試験 | 0、150、600、 2,400、9,600 ppm 雄：0、21.1、84.0、 343、1,380 雌：0、24.9、99.0、 433、1,640 | 雄：21.1 雌：24.9 | 雄：84.0 雌：99.0 | 雄：BUN 及び Cre 増加 雌：TP 及び Glob 減 少 |
| | 18 か月間 発がん性 試験 | 0、100、1,000、 10,000 ppm 雄：0、12、124、 1,350 雌：0、17、162、 1,760 | 雄：12 雌：162 | 雄：124 雌：1,760 | 雌雄：肝絶対重量増 加等 |
| ウサギ | 発生毒性 試験 | 0、500、1,000 | 母動物及び胎児： 1,000 | 母動物及び胎児： — | 毒性所見なし (催奇形性は認めら れない) |
| イヌ | 1 年間慢性 毒性試験 | 0、12.5、125、 1,250 | 雄：1,250 雌：125 | 雄：— 雌：1,250 | 雄：毒性所見なし 雌：ALP 増加等 |

・備考には最小毒性量で認められた毒性所見の概要を示した。

—：最小毒性量は求められなかった。

<別紙1：代謝物/分解物略称>

| 記号 | 略称 | 化学名 |
|----|--------------------------|---|
| B | HDCA | 4-ヒドロキシ-2,3-ジクロロアニリン |
| C | DCA-OH | 2,3-ジクロロヒドロキシアニリン |
| D | DBDA | 2',3'-ジクロロ-3,4-ジヒドロキシ-ベンズアニリド |
| E | DCA | 2,3-ジクロロアニリン |
| F | HBDA | 2',3'-ジクロロ-4-ヒドロキシ-ベンズアニリド |
| G | DBDA-CH ₃ | 2',3'-ジクロロ-3-メトキシ-4-ヒドロキシベンズアニリド |
| H | HBA | 4-ヒドロキシ安息香酸 |
| I | EBA | 4-エトキシメトキシ安息香酸 |
| J | EBAM | 4-エトキシメトキシベンズアミド |
| K | HW-MC | 3'-クロロ-4-エトキシ-メトキシベンズアニリド |
| M | HBDA-OH | 2',3'-ジクロロ-4'-ヒドロキシ-4-ヒドロキシベンズアニリド |
| N | HBDA-OH-OCH ₃ | 2',3'-ジクロロ-4'-ヒドロキシ-3-メトキシ-4-ヒドロキシベンズアニリド |

<別紙 2 : 検査値等略称>

| 略称 | 名称 |
|------------------|--|
| ai | 有効成分量 (active ingredient) |
| 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 (=グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT)) |
| AUC | 薬物濃度曲線下面積 |
| BCF | 生物濃縮係数 |
| BUN | 血液尿素窒素 |
| ChE | コリンエステラーゼ |
| C _{max} | 最高濃度 |
| CMC | カルボキシメチルセルロース |
| Cre | クレアチニン |
| FFA | 遊離脂肪酸 |
| Glob | グロブリン |
| Hb | ヘモグロビン (血色素量) |
| Ht | ヘマトクリット値 |
| LC ₅₀ | 半数致死濃度 |
| LD ₅₀ | 半数致死量 |
| MCH | 平均赤血球血色素量 |
| MCHC | 平均赤血球血色素濃度 |
| MCV | 平均赤血球容積 |
| NA | ノルアドレナリン |
| PB | フェノバルビタール |
| P450 | チトクローム P450 |
| PCNA | 増殖性細胞核抗原 |
| PEC | 環境中予測濃度 |
| PHI | 最終使用から収穫までの日数 |
| PLT | 血小板数 |
| PT | プロトロンビン時間 |
| RBC | 赤血球数 |
| Retic | 網状赤血球数 |
| T _{1/2} | 消失半減期 |
| TAR | 総投与 (処理) 放射能 |
| T.Chol | 総コレステロール |
| TG | トリグリセリド |
| T _{max} | 最高濃度到達時間 |

| | |
|----|------|
| TP | 総蛋白質 |
|----|------|

<別紙3：作物残留試験成績>

| 作物名 (部位) 実施年 | 試験 圃場 数 | 使用量 (g ai/ha) | 回数 (回) | 移植 後 日数 | PHI (日) | 残留値 (mg/kg) | | | | | | | | | | | |
|----------------------|---------------|------------------|-----------|---------------|------------|-------------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|
| | | | | | | 公的分析機関 | | 社内分析機関 | | 公的分析機関 | | 社内分析機関 | | 公的分析機関 | | 社内分析機関 | |
| | | | | | | エトベンザニド | | | | 代謝物 E | | | | 代謝物 F | | | |
| | | | | | | 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 |
| 水稻 (玄米) 1992年 | 1 | 2800 | 2 | 17 | 100 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 |
| | 1 | | 2 | 13 | 99 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 |
| 水稻 (稲わら) 1992年 | 1 | 2800 | 2 | 17 | 100 | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02 |
| | 1 | | 2 | 13 | 99 | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02 | 0.02 | 0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02 | <0.02 |
| 水稻 (玄米) 2004年 | 1 | 2800 | 2 | 8 | 89 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | / | / | / | / | / | / | / | / |
| | 1 | | 2 | 3 | 89 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | / | / | / | / | / | / | / | / |
| 水稻 (稲わら) 2004年 | 1 | 2800 | 2 | 8 | 89 | <0.05 | <0.05 | <0.02 | <0.02 | / | / | / | / | / | / | / | / |
| | 1 | | 2 | 3 | 89 | <0.05 | <0.05 | <0.02 | <0.02 | / | / | / | / | / | / | / | / |

- ・使用方法は散布とし、粒剤7%を用いて実施された。
- ・全てのデータが定量限界未満の場合は定量限界値に<を付して記載した。

<参照>

1. 農薬抄録エトベンザニド（除草剤）：保土谷化学工業株式会社、2007年、未公表
2. エトベンザニドのラットにおける代謝試験：Huntingdon Research Centre Ltd.（英国）、1993年、未公表
3. エトベンザニドの水稻幼苗における代謝試験：第一化学薬品株式会社東海研究所、1993年、未公表
4. エトベンザニドの収穫期水稻中残留物の分析：第一化学薬品株式会社東海研究所、1993年、未公表
5. エトベンザニドの好氣的湛水条件、嫌氣的湛水条件、畑地条件及び滅菌湛水条件における代謝試験：第一化学薬品株式会社東海研究所、1993年、未公表
6. エトベンザニドの土壤吸着係数試験：株式会社化学分析コンサルタント、1993年、未公表
7. エトベンザニドの加水分解性試験（GLP 対応）：第一化学薬品株式会社東海研究所、1993年、未公表
8. エトベンザニドの水中光分解性試験（GLP 対応）：第一化学薬品株式会社東海研究所、1993年、未公表
9. エトベンザニドの土壤残留試験：保土谷化学工業株式会社筑波研究所、1992年、未公表
10. エトベンザニドの作物残留試験
11. エトベンザニドの一般薬理作用：Huntingdon Research Centre Ltd.（英国）、1992年、未公表
12. エトベンザニドのラットにおける急性経口毒性試験（GLP 対応）：Safepharm Laboratories, Limited（英国）、1991年、未公表
13. エトベンザニドのマウスにおける急性経口毒性試験（GLP 対応）：Safepharm Laboratories, Limited（英国）、1991年、未公表
14. エトベンザニドのラットにおける急性経皮毒性試験（GLP 対応）：Safepharm Laboratories, Limited（英国）、1991年、未公表
15. エトベンザニドのラットにおける急性吸入毒性試験（GLP 対応）：株式会社新日本科学、1992年、未公表
16. エトベンザニドのウサギを用いた眼粘膜一次刺激性試験（GLP 対応）：Safepharm Laboratories, Limited（英国）、1991年、未公表
17. エトベンザニドのウサギを用いた皮膚一次刺激性試験（GLP 対応）：Safepharm Laboratories, Limited（英国）、1991年、未公表
18. エトベンザニドのモルモットを用いた皮膚感作性試験（Buehler 法）（GLP 対応）：Safepharm Laboratories, Limited（英国）、1991年、未公表
19. エトベンザニドのラットを用いた飼料混入投与による 13 週間亜急性毒性試験：株式会社ボゾリサーチセンター、1983年、未公表
20. エトベンザニドのマウスを用いた飼料混入投与による 13 週間亜急性毒性試験（GLP 対応）：Huntingdon Research Centre Ltd.（英国）、1989年、未公表
21. エトベンザニドのイヌを用いた 52 週間慢性経口毒性試験（GLP 対応）：株式会

- 社ボゾリサーチセンター、1992年、未公表
22. エトベンザニドのラットを用いた飼料混入投与による慢性毒性/発がん性併合試験（GLP 対応）：Huntingdon Research Centre Ltd.（英国）、1993年、未公表
 23. エトベンザニドのマウスを用いた飼料混入投与による発がん性試験（GLP 対応）：Huntingdon Research Centre Ltd.（英国）、1992年、未公表
 24. エトベンザニドのラットを用いた 2 世代繁殖試験（GLP 対応）：Huntingdon Research Centre Ltd.（英国）、1993年、未公表
 25. エトベンザニドのラットにおける催奇形性試験（GLP 対応）：（財）化学品検査協会 化学品安全センター日田研究所、1991年、未公表
 26. エトベンザニドのウサギにおける催奇形性試験（GLP 対応）：（財）化学品検査協会 化学品安全センター日田研究所、1991年、未公表
 27. エトベンザニドの細菌を用いた DNA 修復試験（GLP 対応）：生活科学研究所、1993年、未公表
 28. エトベンザニドの細菌を用いた復帰変異原性試験（GLP 対応）：Hazleton Microtest、1992年、未公表
 29. エトベンザニドのチャイニーズハムスターの CHO 細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験（GLP 対応）：Microtest Research Ltd.（英国）、1991年、未公表
 30. エトベンザニドのマウスの骨髄細胞を用いた小核試験（GLP 対応）：Hazleton Microtest、1991年、未公表
 31. エトベンザニドのマウスを用いた薬物代謝酵素誘導確認試験：財団法人食品農医薬品安全性評価センター、1995年、未公表
 32. エトベンザニドのマウスを用いた細胞増殖活性を指標とする PCNA の適用試験：財団法人食品農医薬品安全性評価センター、1995年、未公表
 33. 食品健康影響評価について（平成 19 年 8 月 6 日付、厚生労働省発食安第 0806005 号）
 34. エトベンザニドの魚介類における最大推定残留値に係る資料
 35. 国民栄養の現状－平成 10 年国民栄養調査結果－：健康・栄養情報研究会編、2000 年
 36. 国民栄養の現状－平成 11 年国民栄養調査結果－：健康・栄養情報研究会編、2001 年
 37. 国民栄養の現状－平成 12 年国民栄養調査結果－：健康・栄養情報研究会編、2002 年
 38. 農薬抄録「エトベンザニド」（除草剤）（平成 23 年 7 月 27 日改訂）：保土谷化学工業株式会社、未公表
 39. 農薬抄録「エトベンザニド」（除草剤）（平成 25 年 7 月 18 日改訂）：保土谷化学工業株式会社、未公表
 40. エトベンザニドの追加資料要求事項に対する回答書（平成 25 年 8 月 8 日）
 41. エトベンザニドの土壌残留試験：（財）日本植物調節剤研究協会研究所、2011 年、未公表

42. エトベンザニドの好氣的土壤中動態試験 (GLP 対応) : Covance Laboratories Ltd.、
2011 年、未公表