

No. 18 ピラゾホス

ポジティブリスト制度施行に伴う
暫定基準の設定された農薬、動物用医薬品
及び飼料添加物に係る食品健康影響評価
に関する調査

調査報告書

平成25年1月

(株) 東レリサーチセンター

目 次

ページ

1. 調査の概要	1
2. 作業内容	1
2. 1 専門家の選定等.....	1
2. 2 翻訳	2
2. 3 評価書の情報の整理	3
3. 調査期間	3
4. 調査結果	3

1. 調査の概要

ポジティブリスト制度導入に伴い、食品安全委員会において、海外のリスク評価機関等で実施された評価結果を活用し、順次食品健康影響評価が行われている。

国際的な評価機関である FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議（以下「JMPR」という。）及び FAO/WHO 合同添加物専門家会議（以下「JECFA」という。）と最新の評価を行っている欧州食品安全機関（以下「EFSA」という。）、欧州医薬品庁（以下「EMA」という。）の評価書が我が国での評価を行う上で有益性が高いため、今後、評価を行うべき農薬、動物用医薬品及び飼料添加物（以下「農薬等」という。）のうち、JMPR、JECFA、EFSA 及び EMA の評価結果を有しているものについて、それぞれの評価書の翻訳を行うとともに必要な情報を整理し、評価書ごとに毒性試験とその結果の概要を一覧表に取りまとめた。

2. 作業内容

ポジティブリスト制度導入に伴い暫定基準が設定された農薬等のうち、平成24年度に要請される予定の物質のうち表1に示す物質を調査対象とし、JMPRにおける評価書の翻訳を行うとともに、必要な情報の整理を行った。

表 1 調査対象の農薬等

No.	物質名	用途
18	ピラゾホス	農薬・殺菌剤

2. 1 専門家の選定等

本調査では、5分野（①動物代謝、②植物代謝及び環境中運命（土壤中、水中、土壌残留）、③毒性（一般毒性、病理、発がん性）、④生殖発生毒性、⑤遺伝毒性）の専門家に、翻訳確認のご協力を頂いた。専門家一覧を表2に示した（五十音順）。

専門家の選定は、食品安全委員会事務局担当官殿の了解のもとに実施した。

表 2 専門家一覧

分野	氏名	所属※
② 植物代謝及び環境運命	上路 雅子	日本植物防疫協会 顧問
① 動物代謝、③ 毒性	宇佐見 誠	国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 薬理部 第4室長
④ 生殖発生毒性	江馬 眞	(独)産業技術総合研究所 安全科学研究部門 招聘研究員
① 動物代謝	黒瀬 陽平	北里大学獣医学部 准教授
③ 毒性	三枝 順三	(独)科学技術振興機構 技術参事

⑤ 遺伝毒性	下位 香代子	静岡県立大学 環境科学研究所 教授
① 動物代謝	須藤 まどか	(独)農業・食品産業技術総合研究機構 畜産草地研究所 栄養素代謝研究チーム長
③ 毒性	高木 篤也	国立医薬品食品衛生研究所 毒性部 室長
④ 生殖発生毒性	高橋 研	(財)残留農薬研究所 毒性部 生殖毒性研究室 主任
② 植物代謝及び 環境運命 ③ 毒性	中田 晴彦	熊本大学大学院 自然科学研究科 准教授
⑤ 遺伝毒性	松元 郷六	(財)残留農薬研究所 毒性部副部長 兼 遺伝毒性研究室長
② 植物代謝及び 環境運命	與語 靖洋	(独)農業環境技術研究所 有機化学物質研究領域 研究コーディネータ

(※平成 25 年 1 月現在)

2. 2 翻訳

JMPR における評価書の必要部分を原文に忠実に翻訳を行った。調査対象の評価書を表 3 に示した。

翻訳に際しては「食品の安全性に関する用語集（食品安全委員会第 4 版）」等を用いて翻訳し、原文に記載の略称等は英語での正式名称、日本語訳をまとめた表を作成した。

2. 1 に示した専門家には、専門分野に係る試験方法、試験結果等（数値及び単位を含む。）の専門的な表現、記述等について翻訳文の確認を依頼した。

表 3 調査対象の評価書

番号	物質名	評価書タイトル	文書番号 (物質名_発行機関_通し番号)
18	ピラゾホス	852. Pyrazophos (Pesticide residues in food: 1992 evaluations Part II Toxicology)	ピラゾホス _JMPR_01

2. 3 評価書の情報の整理

JMPR における評価書の次の①～③の項目について情報の整理を行った。

- ① JMPR の評価書について、評価書ごとに見出しを整理し、原文の目次を作成。
- ② 翻訳の見出し部分に原文の該当ページを記載。
- ③ JMPR の評価書における毒性試験とその結果の概要を一覧表に取りまとめ。該当する試験がない場合はその旨を記載。

3. 調査期間

平成 24 年 6 月 19 日～平成 25 年 1 月 31 日

4. 調査結果

表 1 に示した物質における評価書（表 3）について「毒性試験とその結果の概要一覧」および「評価書の翻訳文」（以下、「和訳版」）を作成した。その結果を物質ごとに整理して、調査報告書にまとめた。

以上

添 付 資 料

評価書 (受領文書番号) : 1 報

- ピラゾホス _JMPR_01

ピラゾホスの毒性試験と結果の概要一覧

(評価書 : JMPR, 852. Pyrazophos (Pesticide residues in food: 1992 evaluations Part II Toxicology))

試験種類	供試動物等	投与量 (投与期間等)	結果	和訳版 ページ	原文 ページ
急性毒性 (経口)	ラット	-	LD ₅₀ : 雄 242-778 mg/kg 体重、ほとんどの症状がコリン作動性。病理学的に脾臓萎縮と腸出血。病理組織学的には陰性。	2	3
急性毒性 (経口)	ラット	-	LD ₅₀ : 雌 151-468 mg/kg 体重	2	3
急性毒性 (腹腔内)	ラット	-	LD ₅₀ : 雄 280 mg/kg 体重、雌: 305 mg/kg 体重	2	3
急性毒性 (腹腔内)	ラット	-	LD ₅₀ : 雄 172 mg/kg 体重、雌: 135 mg/kg 体重	2	3
急性毒性 (皮下)	ラット	-	LD ₅₀ : 雄 202 mg/kg 体重、雌: 193 mg/kg 体重	2	3
急性毒性 (皮下)	ラット	-	LD ₅₀ : 雄 221 mg/kg 体重、雌: 266 mg/kg 体重	2	3
急性毒性 (経皮)	ラット	-(24 時間)	LD ₅₀ : 雌 >2000 mg/kg 体重	2	3
急性毒性 (吸入)	ラット	-(4 時間)	LD ₅₀ : 雌雄 >1220 mg/kg 体重	2	3
急性毒性 (経口)	マウス	-	LD ₅₀ : 雄 214 mg/kg 体重、雌: 205 mg/kg 体重	2	3
急性毒性 (経口)	マウス	-	LD ₅₀ : 雄 413 mg/kg 体重、雌: 321 mg/kg 体重	2	3
急性毒性 (腹腔内)	マウス	-	LD ₅₀ : 雄 581 mg/kg 体重、雌: 438 mg/kg 体重	2	3
急性毒性 (腹腔内)	マウス	-	LD ₅₀ : 雄 167 mg/kg 体重、雌: 146 mg/kg 体重	2	3
急性毒性 (皮下)	マウス	-	LD ₅₀ : 雄 339 mg/kg 体重、雌: 348 mg/kg 体重	2	3
急性毒性 (皮下)	マウス	-	LD ₅₀ : 雄 181 mg/kg 体重、雌: 199 mg/kg 体重	2	3
急性毒性 (吸入)	イヌ	-	LD ₅₀ : 雌雄 >500 mg/kg 体重、明らかなコリン作動性症状は 200 mg/kg 体重から観察。最高用量まで死亡したイヌはなし。500 mg/kg 体重で投与 2 時間以内に嘔吐発生。	2	3
皮膚感作性	モルモット	-	ビューラー法による試験で、アレルギー性を示さなかった。	3	4

試験種類	供試動物等	投与量 (投与期間等)	結果	和訳版 ページ	原文 ページ
眼・皮膚 に対する 刺激性	ウサギ	-	希釈しないピラゾホスはウサギ皮膚 に対し刺激性なし。無希釈とゴマ油中10% 希釈物は眼に対し若干の刺激性あり。ゴ マ油中1%希釈物は眼に刺激性なし。	3	4
亜急性経 口毒性 (経口)	マウス	0、1、5、25、 125ppm (28日間) 雄:0、0.2、 0.9、4.7、23.3 mg/kg/日、 雌:0、0.2、 0.9、5.0、22.2 mg/kg 体重/ 日	NOAEL=雌雄:25 ppm(雄:4.7 mg/kg 体 重/日相当、雌:5.0 mg/kg 体重/日相当) 125 ppm で観察された脳コリンエステ ラーゼの20%阻害に基づく。	3	4
亜急性経 口毒性 (経口)	マウス	0、1、5、25 ppm (28日間)	NOAEL=雌雄:25 ppm、4 mg/kg 体重/日 相当、脳コリンエステラーゼ活性の減少 は最高用量まで認められず。	3	5
亜急性経 口毒性 (経口)	ラット	0、1、2.5、5、 15、45、150 ppm (28日間)	NOAEL=雌雄:45 ppm、4.5 mg/kg 体重/ 日相当	3	5
亜急性経 口毒性 (経口)	ラット	0、5、8、10、 50 ppm (14 週間)	NOAEL=雌雄:8ppm、0.8 mg/kg 体重/日 相当	4	5
亜急性経 口毒性 (経口)	ラット	0、2.5、50、 1000 ppm (13週間) 雄:0、0.21、 4.2、90 mg/kg 体重/ 日、雌:0、 0.21、4.0、 100 mg/kg 体重/日相当 量	NOAEL=雌雄:2.5 ppm、0.21 mg/kg 体 重/日相当、4.0 mg/kg 体重/日の雌で試 験終了時に測定されたわずかな脳コリ ンエステラーゼ阻害に基づく。	5	6
亜急性毒 性(経口)	イヌ	0、0.5、2.0、 5.0、あるい は0/125/320 ppm (92日間)	NOAEL=雌雄:5 ppm、0.4 mg/kg 体重/日 相当、2番目の高用量群で測定された赤 血球コリンエステラーゼ活性のわずかな 阻害に基づく。	5	8
慢性毒性	ラット	0、2、20、 200 ppm (52週間)	NOAEL=雌雄:20 ppm (雄:1.0、雌:1.4 mg/kg 体重/日相当)、200 ppm を投与	5	7

試験種類	供試動物等	投与量 (投与期間等)	結果	和訳版 ページ	原文 ページ
		雄:0.1、1.0、 11 mg/kg 体 重 / 日、 雌:0.1、1.4、 14 mg/kg 体 重/日	した雌ラットの脳コリンエステラーゼ 活性の30%阻害に基づく。		
慢性毒性	イヌ	0、1.2、18、 320 ppm (6ヶ月間)	NOAEL= 雌雄1.2 ppm、0.09 mg/kg 体 重/日相当、18 ppm で観察された時折の 下痢と脳コリンエステラーゼのわずかな 阻害に基づく。	6	9
慢性毒性	イヌ	0、2、5、あ るいは 10/125/320 ppm(2年間)	NOAEL=雌雄5 ppm、0.4 mg/kg 体重/日 相当、320 ppm 投与で観察された赤血球 コリンエステラーゼ阻害、体重増加量減 少、腎臓の病理組織学的な異常に基づ く。	6	10
慢性毒性 / 発がん 性試験	マウス	0、1、5、25 ppm(2年間) 雄:0、0.14、 0.7、3.5 mg/kg 体重/ 日、雌:0、 0.16、0.8、4 mg/kg 体重/ 日	設定最高用量25 ppm、雄では3.5 mg/kg 体重/日相当、雌では4.1 mg/kg 体重/日 相当まで有害作用を引き起こさず。しか し、飼料中のピラゾホスの実際と設定濃 度の対応関係が不十分であり、最高用量 まで毒性影響が認められなかったため、 本試験の十分な評価ができず。	7	11
慢性毒性 / 発がん 性試験	ラット	0、5、8、10、 50 ppm (104週間)	NOAEL=雌雄:50 ppm、2.5 mg/ kg 体重/ 日相当	8	11
慢性毒性 / 発がん 性試験	ラット	0、2、80、 320 ppm (117週間) 雄:0、0.1、 4.0、15.9 mg/ kg 体重 / 日、雌:0、 0.1、4.8、19.3 mg/kg 体重/ 日	NOAEL=雌雄:2 ppm、0.1 mg/kg 体重/日 相当	8	11
慢性毒性 / 発がん 性試験 (補足試 験)	ラット	0、1 ppm (104週間) 雄:0、0.05 mg/kg 体重/ 日、雌:0、 0.06 mg/kg 体重/日相当	NOAEL=雌雄:1 ppm、雄:0.05 mg/kg 体 重/日、雌:0.06 mg/kg 体重/日相当	9	11

試験種類	供試動物等	投与量 (投与期間等)	結果	和訳版 ページ	原文 ページ
3 世代繁殖試験	ラット	0、5、10、 50 ppm	複合試験(繁殖試験と 90 日試験)の NOAEL=雌雄:5 ppm、雄:.45、雌:0.42 mg/kg 体重/日相当、10 及び 50 ppm の 雌雄で観察された胸腺の重量増加と 50 ppm の雌雄で観察されたリンパ球数増 加に基づく。	9	15
2 世代繁殖試験	ラット	0、2、20、 200 ppm	NOAEL=雌雄:20 ppm、1 mg/kg 体重/日 相当、F0 世代と F1 世代(いずれも雌)及 び F2 世代の児動物で測定された児動物 の体重増加の遅れと脳コリンエステラ ーゼ阻害に基づく。	10	15
胎児毒性 及び催奇 形性試験	ラット	0、0.5、1.6、 5.0 mg/kg 体重/日(強 制経口投与)	NOAEL=母体毒性及び催奇形性に対し 5.0 mg/kg 体重/日。	11	19
胎児毒性 及び催奇 形性試験	ウサギ	0、10、32、 100 mg/kg 体重/日	NOAEL=母体毒性及び催奇形性の両者 に関し 100 mg/kg 体重/日。	11	19
変異原性 /エーム ス試験	ネズミチ フス菌	0.2-5000 µg/plate DMSO に溶解	陰性、陽性対照は明瞭な陽性反応を生じ た。	12	20
変異原性 /復帰変 異試験	大腸菌 WP2 hcr ネズミチ フス菌	10-5000 µg/plate DMSO に溶解	陰性、陽性対照は明瞭な陽性反応を生じ た。	12	20
変異原性 /Rec アッ セイ	枯草菌 H17 Rec + M45 Rec-	20-2000 µg/disc DMSO に溶解	陰性、カナマイシン(10 µg/disc)は陰 性、マイトマイシン C(0.1 µg/disc)は 陽性の、それぞれ明瞭な反応を生じた。	12	20
変異原性 /有糸分 裂遺伝子 変換	出芽酵母 D4 偽巢性コ ウジ菌	800-1600 µg/ml 200-690 µg/ml	陰性、陽性対照(メタンスルホン酸メチ ル)は 500 µg/ml で明瞭な陽性反応を生 じた。	12	20
CHO/HGPR T 突然変 異試験	チャイニ ーズハム スター 肺由来繊 維芽細胞 V79	6.25-75 µg/ml (-act.) 25-150 µg/ml (+ act.)	陰性、陽性対照(EMS 1 mg/ml (- act.); DMBA 7.7 µg/ml (+ act.)は明瞭な陽性反 応を生じた。	12	20
変異原性 /染色体 異常	ヒトリン パ球	1-50 µg/ml x 47 h (- act.) 10-175 µg/ml x 1 h (+ act.) DMSO に溶解	陰性、陽性対照(EMS 0.2 µl/ml (- act.); シクロホスファミド 18.7 µg/ml (+ act.)は明瞭な陽性反応を生じた。	12	20

試験種類	供試動物等	投与量 (投与期間等)	結果	和訳版 ページ	原文 ページ
変異原性 /小核試験	マウス (NMRI系)	50, 75, 100 mg/kg 24時間間隔 で2回経口 投与	陰性、陽性対照(シクロホスファミド) は50 mg/kg 体重(単一用量)で明瞭な陽 性反応を生じた。	12	20
その他					
遅発性神経疾患試験	雌のニワトリ	ゴマ油に希 積した (10%)ピラ ゾホス150 mg/kgを経 口投与	・急性毒性予備試験では、LD50値はピ ラゾホス150~400 mg/kg 体重。 ・ピラゾホスは遅発性神経毒性を誘発し なかった。	10	18
結論	毒性作用を引き起こさないレベル ・マウス：25 ppm、4.7 mg/kg 体重/日相当量(28日間試験) ・ラット：5 ppm、0.4 mg/kg 体重/日相当量(3世代繁殖試験) ・イヌ：5 ppm、0.4 mg/kg 体重/日相当量(2年間試験)			16	26
結論	ADI=0~0.004 mg/kg 体重 (イヌの2年間試験とラットの3世代試験でのNOAELに基づき 安全係数100を用い設定)			16	26

ピラゾホス(PYRAZOPHOS)

First draft prepared by S. Caroli
Istituto di Medicina del Lavoro
Padova, Italy

説明(原文、1 ページ)

ピラゾホスは、作物や穀物のうどんこ病管理に広く使用される有機リン浸透性殺菌剤である。ピラゾホスは 1985 年合同会議で評価されることになっていたが当時入手できたデータベースは ADI を評価するには不十分であった(Annex 1, reference 44)。

1 日摂取許容量評価(原文、1 ページ)

生物学データ(原文、1 ページ)

生化学事項(原文、1 ページ)

吸収、分布、排泄(原文、1 ページ)

ラット

雌雄各 8 匹のWistar系ラットに、2 mgの¹⁴C-ピラゾホス(3a-¹⁴C)をゴマ油 1mlに混合して単回挿管した。血液、血漿、尿、呼気、便中の放射能を様々な時期に測定し、投与 168 時間後には 2、3 の組織と臓器中で測定した。

血液及び血漿の放射能レベルは雌雄いずれでも投与 4~6 時間後にピークとなった。算出された半減期は約 5 時間であった。24 時間の間、元の投与量の約 71%が尿から、24%が糞から排泄された。放射能は 168 時間内に完全に除去された(尿から 73%かつ糞から 27%)。微量の放射能(0.01%未満)は 24 時間以内に呼気中で、168 時間後に組織及び臓器中で検出された。代謝産物は、総放射能の約 95%が除去された最初の 24 時間の間に採取した尿及び糞中で検出された。ピラゾホスは尿中では検出されなかったが、糞中で検出された主要物質であった(糞中の放射能の 66%かつ総放射能の 16%)。尿中で 4 つの代謝産物は同定され、最も高濃度であったのは遊離化合物あるいは硫酸抱合体及びグルクロニド抱合体として尿中に存在するピラゾホス P-0 加水分解生成物であった(Lachmann, 1986)。

雌雄各 11 匹のWistar系ラット 11 匹に、0.4 mgの¹⁴C-pyrazophos (3a-¹⁴C)をゴマ油 1mlに混合して単回挿管した。別のWistar系ラット雌雄各 10 匹には 0.4 mgのピラゾホスを 14 日間毎日投与した後に、0.4 mgの¹⁴C-pyrazophosを単回投与した。血液、血漿、尿、呼気、糞中の放射能を様々な時間に測定し、試験物質投与 168 時間後にはいくつかの組織と臓器中で測定した。血液及び血漿の放射能ピークレベルは投与後 4 時間以内に測定された。算出された半減期は約 5 時間であった。最初の 24 時間の間、元の投与量の 75%は尿から、18%は糞から排泄された。単回投与と複数投与との間に差異は見つからなかった。ピ

ラゾホスの最後の投与から 168 時間後の組織及び臓器中の放射能は極微量であった。尿中で 6 種類の代謝産物が検出された。最も主要な代謝物は 2 回の加水分解で生成される 2-ヒドロキシ-5-メチル-ピラゾロ(1,5-a)ピリミジン-6-カルボン酸

(2-hydroxy-5-methyl-pyrazolo(1,5-a)pyrimidine-6-carboxylic acid)であった。他の代謝産物は 0-ピラゾホスと、リン酸結合あるいは炭酸結合の加水分解生成物であった。他の 2 種類の代謝産物は不明であった。ピラゾホスは便中に存在する唯一の放射性成分であった(Lachmann, 1987)。

毒性試験(原文、2 ページ)

急性毒性試験(原文、2 ページ)

ピラゾホスの急性毒性試験結果を表 1 に示す。

表 1 ピラゾホスの急性毒性

種	性別	経路	LD ₅₀ 値 (mg/kg 体重)	LC ₅₀ 値 (mg/m ³)	文献
ラット	雄	経口	242-778 ^a		Hollander & Weigand (1978a, b, c) Otaka et al. (1981a, b) Hollander & Weigand (1977f) Scholz & Weigand (1972a) Hollander & Weigand (1977a, b) Otaka et al. (1981e, f) Otaka et al. (1981c, d) Hollander & Weigand (1977g, h) Hollander & Weigand (1981) Hollander & Weigand (1982) Hollander & Weigand (1977d, e) Otaka et al. (1981g, h) Scholz & Weigand (1972b) Otaka et al. (1981m, n) Otaka et al. (1981i, l) Hollander & Weigand (1977i, l) Hollander & Weigand (1978d) Hollander & Weigand (1979b)
			151-468		
	雄	腹腔内	280		
			305		
	雌	皮下	172		
			135		
	雄	経皮 (24 時間)	202		
			193		
	雌	吸入 (4 時間)	221		
			266		
	雌雄	吸入 (4 時間)	> 2000	> 1220	
マウス	雄	経口	214		
			205		
	雌	腹腔内	413		
			321		
	雄	皮下	581		
			438		
	雌	経口	167		
			146		
	雄	吸入 (4 時間)	339		
			348		
	雌	吸入 (4 時間)	181		
			199		
雌雄	経口	> 500 ^b			
		> 100 ^c			

- ° ほとんどの症状がコリン作動性であった。病理学的に脾臓の萎縮と腸の出血が示された。病理組織学的には陰性であった。
- ° 明らかなコリン作動性症状は 200 mg/kg 体重から観察された。最高用量まで死亡したイヌはいなかった。500 mg/kg 体重では吸収量が減少したと予想される投与 2 時間以内に嘔吐(emes is)が発生した。
- ° 明らかなコリン作動性症状は 50 mg/kg 体重から観察された。最高用量まで死亡したイヌはいなかった。100 mg/kg 体重ではおそらく吸収量が減少したであろう投与 2 時間以内に嘔吐(emes is)が発生した。

モルモット

ピラゾホスはビューラー法(Buehler test)に従ったモルモットの感作性試験ではいかなるアレルギー性も示さなかった(Leist & Weigand, 1982)。

ウサギ

希釈しないピラゾホスはウサギの皮膚に対し刺激性はなかった。無希釈のピラゾホスとピラゾホスのゴマ油中 10%希釈物は眼に対しては若干の刺激性があった。ピラゾホスのゴマ油中 1%希釈物は眼に刺激性はなかった(Hollander & Weigand, 1977c)。

短期毒性試験(原文、4 ページ)

マウス

雌雄各 10 匹の SPF マウスの 5 群に、飼料中濃度 0、1、5、25、125ppm のピラゾホスを 28 日間投与した。これらの濃度は雄には 0、0.2、0.9、4.7、23.3 mg/kg/日、雌には 0、0.2、0.9、5.0、22.2 mg/kg 体重/日にそれぞれ相当した。毒性兆候は観察されず、ピラゾホス投与は体重増加量と摂餌量に作用しなかった。雌雄マウス中の血漿(5 ppm 以上)及び赤血球(25 ppm 以上)のコリンエステラーゼ活性が用量に依存して阻害された。脳アセチルコリンエステラーゼ活性のわずかな阻害(約 20%)は 125ppm 投与の雄マウスのみ 28 日間投与後に認められた。本試験における NOEL は 25 ppm、雄に対しては 4.7 mg/kg 体重/日相当量、雌に対しては 5.0 mg/kg 体重/日相当量であった(Hollander & Weigand, 1978°)。

雌雄各 20 匹の Charles River CD-1 マウスの 4 群に、飼料中濃度 0、1、5、25 ppm の工業用ピラゾホスを 28 日間投与した。毒性兆候は観察されず、ピラゾホス投与は体重増加量に影響しなかった。1 ppm 以上の雌雄マウスで血漿及び赤血球コリンエステラーゼ阻害を観察した。ピラゾホス投与による脳コリンエステラーゼ活性の減少は最高用量まで認められなかった。本試験の NOEL は 25 ppm、4 mg/kg 体重/日相当量であった(Estes, 1979)。

ラット

用量設定毒性試験において、雌雄各 10 匹の(Wistar 系)CIVO コロニーの Albino ラットの 7 群に、飼料中濃度 0、1、2.5、5、15、45、150 ppm のピラゾホス(工業用)を 28 日間投与した。飼料中濃度 0 及び 150

ppm の雌雄それぞれにつき 10 匹の別のラットはピラゾホス投与を 21 日間で中止しコリンエステラーゼ活性の回復性を検査した。毒性兆候は観察されず、ピラゾホス投与は体重増加量と飲水量に作用しなかった。血液学的にも病理学的にもいかなる有害作用も示されなかった。血漿及び赤血球コリンエステラーゼの用量に 관련된 阻害は雌雄両者の 15 ppm 以上で観察された。150 ppm のピラゾホス投与中止 1 週後に血漿コリンエステラーゼ活性は正常レベルに戻った。脳アセチルコリンエステラーゼ活性の阻害(約 20%)は雌ラットのみ 150 ppm 投与 28 日後に認められた。本試験の NOAEL は雌雄両者とも 45 ppm、4.5 mg/kg 体重/日相当量であった(Til *et al.*, 1978)。

雌雄各 10 匹の離乳した Wistar 系ラットの 5 群に、飼料中濃度 0、5、8、10、50 ppm のピラゾホス(工業用品、純度 90%)を 14 週間混餌投与した。飼料は 2 週ごとに調製し室温で保存した。飼料中の被験物質の安定性と均質性のデータについての報告はない。本試験で確認されたパラメータは、成長、症状、摂餌量、血液学的検査、血液化学(血液中のコリンエステラーゼ全部を含む)、尿検査、臓器重量、病理学的検査であった。試験期間中死亡は発生しなかった。ピラゾホス投与は摂餌量と飲水量に影響しなかった。群間の生物学的関連性のない散在する差異が血液学、血液生化学値、尿検査、病理学において観察された。血液全体のコリンエステラーゼ活性の用量に 관련된 阻害が雌雄両者の 10 及び 50 ppm のピラゾホスで観察された。本試験の NOAEL はピラゾホス 8 ppm、0.8 mg/kg 体重/日相当量であった(deKnecht-vanEekelen & Dreef-vanderMeulen, 1978)。

雌雄各 36 匹の F344 Charles River ラットの 4 群に 13 週間、0、2.5、50、1000 ppm の飼料中濃度の工業用ピラゾホス(純度 92.8%)を投与した。これらの濃度は雄には 0、0.21、4.2、90 mg/kg 体重/日、雌には 0、0.21、4.0、100 mg/kg 体重/日相当量であった。暴露期間終了時にラット 12 匹/性/群をと殺し残りのラット 24 匹/性/用量については、12 匹を回復 2 週後に、12 匹を回復 4 週後に殺した。飼料は 3 週ごとに調製し 4°C で保存した。試験飼料の均質性と精度について確認した(分析結果の報告はなし)。生存ラットにピラゾホス投与の作用はなかった。コリン作動性の臨床兆候は雌雄両者の最高用量の最初の 4 週間に観察された。体重増加量は、最高用量の雄で投与の最初の 7 週間に、雌で試験期間中にわたり(回復期間を含む)減少した。摂餌量、飼料効率、飲水量における生物学的関連性のない散在した差異が試験中全群において観察された。赤血球数、ヘマトクリット、ヘモグロビンは最高用量で試験中と暴露終了時に減少が測定された(暴露終了時に網赤血球数の増加(increased number of reticulocytes)も測定された)がこれらのパラメータは回復期間 4 週以内に正常レベルに戻った。

コレステロールとアルブミンの血中濃度も 1000 ppm のピラゾホス投与中に減少し暴露中止後に正常レベルに戻った。血漿と赤血球のコリンエステラーゼ用量に 관련된 阻害は 50 及び 1000 ppm 用量レベルで測定された。1000 ppm の暴露期間終了時に、脳コリンエステラーゼは、雄の 64%、雌の 93%が阻害された。脳コリンエステラーゼは雌ラットの 50 ppm にも極めてわずかに作用した(22%阻害)が雄には作用しなかった。脳コリンエステラーゼの阻害は暴露終了 4 週後に 1000 ppm でも認められた。1000 ppm 群の臓器重量には対照値と異なるものもあり、副腎、脾臓、肝臓の絶対重量と相対重量は雌雄両者で増加し(肝臓の相対重量は雌で増加しただけであった)、精巣と下垂体(雌のみ)の重量は減少した。ほとんどの臓器重量の差は回復期間 4 週間中に消失した。脾臓の大型の単核細胞増加(Proliferation of large mononuclear cells of spleen)と副腎束状帯脂肪沈着(fat deposition in fascicular zone of adrenals)は用量相関性があると考えられたが、2 週間の回復期間後に消失した。本試験の NOAEL は雌

雄両者とも 2.5 ppm、0.21 mg/kg 体重/日相当量であり、4.0 mg/kg 体重/日の雌で試験終了時に測定されたわずかな脳コリンエステラーゼ阻害に基づいた (Otaka *et al.*, 1981o)。

雌雄各 40 匹の F344 ラットの 4 群に、飼料中濃度 0、2、20、200 ppm の工業用ピラゾホス (純度 92.9%) を 52 週間混餌投与した。これらは雄で 0.1、1.0、11 mg/kg 体重/日、雌で 0.1、1.4、14 mg/kg 体重/日に相当する。飼料は 3 週ごとに調製し使用するまで 4°C で保存した。試験飼料の均質性と精度は試験開始直前とその後は 3 ヶ月ごとに確認した。実際のピラゾホス濃度 (平均値) は設定濃度の ± 10% 以内であった。全身状態、体重、摂餌量と飲水量は試験期間中記録された。調査されたパラメータは、血液学、血液生化学、PSP (フェノールスルホンフタレイン) 試験、BSP (ブロムスルファレイン) 試験、血漿中、赤血球中、脳コリンエステラーゼ活性、尿検査であった。病理学 (臓器重量) と病理組織学 (不完全) は試験終了時に実施された。さらに血漿、脳、肝、腎、脂肪中の未代謝のピラゾホス濃度は 13、26、52 週に測定された (検出限界 0.05 ppm)。

被験物質投与による臨床症状や死亡率増加は認められなかった。異なる群間で摂餌量及び飲水量と体重増加量に差異は観察されなかった。いくつかのパラメータの散在する差異は試験期間中にわたり観察された。これらの中で、赤血球数及びヘマトクリットの増加、血中コレステロール濃度の減少が雌雄両者の最高用量で観察された。尿検査と、PSP 及び BSP 排泄機能からは毒性作用は示されなかった。血漿及び赤血球コリンエステラーゼ活性は雌雄両者の 20 及び 200 ppm のピラゾホスにおいて減少した。脳コリンエステラーゼ活性の若干の阻害 (30%) は雌のみのピラゾホス 200 ppm で確認された。病理学 (臓器重量) と病理組織学からは生物学的に関連する変化は示されなかった。ピラゾホスは 200 ppm を投与した雌雄ラットの脂肪組織中でのみ測定された。ピラゾホスの脂肪中濃度は雄より雌の方が高く、両者とも 13 週と 26 週の測定より試験終了時の方が高かった。本試験の NOAEL は 20 ppm、雄では 1.0、雌では 1.4 mg/kg 体重/日相当量であった。この NOAEL は飼料中濃度 200 ppm を投与した雌ラットの脳コリンエステラーゼ活性の 30% 阻害に基づいた。本試験の結果は対照を含む全群で高死亡率が発生したため中止した発がん性試験の途中と殺 (interim sacrifice) において得られた (Otaka, 1983)。

イヌ

雌雄各 4 匹の純血種の English beagle 犬の 4 群に、飼料中濃度 0、0.5、2.0、5.0、あるいは 10/125/320 ppm のピラゾホスを 92 日間混餌投与した。最高用量の 10 ppm は試験開始 60 日後に 125 ppm に増量し、さらに開始 75 日後に 320 ppm に増量した。2 匹/性/用量 (0.5 ppm 群以外) をピラゾホス投与終了後約 6 週間観察しコリンエステラーゼ活性を評価した。

以下のパラメータについて調べられた: 臨床観察 (全身状態、体重、行動、反射興奮性、眼、肉眼で確認できる粘膜、歯の状態)、臨床検査 (血液学、血清中及び赤血球中コリンエステラーゼ活性、他の血清酵素、尿)、病理学 (臓器重量、肉眼検査、病理組織学的検査) の摂餌量の若干の減少、全身状態の機能障害、頸筋の強直性痙攣 (tetanic cramps of the cervical muscles)、運動障害 (disturbances of motility)、若干の縮瞳 (slight miosis) は飼料中濃度を 320 ppm に増量した時の最高用量群で観察された。他の群のイヌには毒性作用は観察されなかった。若干の貧血がピラゾホス投与量を 320 ppm に増量した後の最高用量レベルで認められた。他の臨床化学検査ではいかなる有害作用も示されなかった。

血清コリンエステラーゼ活性の用量に 관련된 阻害は雌雄両者の 5 ppm 以上で観察された。5 ppm では約 20%の赤血球コリンエステラーゼ活性阻害が雌のみで測定された(6 回測定の結果、15%~25%の範囲)。最高用量では赤血球コリンエステラーゼ活性は雌雄両者で減少した。病理組織学的な異常はないが、全投与群において脾臓重量の増加があることに留意された。本試験の NOAEL は、2 番目の高用量群で測定された赤血球コリンエステラーゼ活性のわずかな阻害に基づき、5 ppm、0.4 mg/kg 体重/日相当量であった(Scholz & Brunk, 1973)。

試験開始時に雌雄各 8 匹の 13 ヶ月齢の English beagle 犬の 4 群に、飼料中濃度 0、1.2、18、320 ppm のピラゾホス(純度 92.9%)を 6 ヶ月間混餌投与した。飼料は毎日、投与直前に調整した。以下のパラメーターについて調べられた:臨床観察(全身状態、体重、行動、反射興奮性、眼底、聴力、肉眼で確認できる粘膜、歯の状態)、臨床検査(血液学、臨床化学、コリンエステラーゼ測定、肝および腎臓機能試験、尿検査)、病理学(臓器重量、肉眼検査、病理組織学適検査)。コリン作動性臨床症状は 320 ppm で時折発生する下痢(diarrhoea)と強直性痙攣(tetanic spasm)として観察された。この群の数匹には側頭筋萎縮(atrophy of temporal muscles)が発現した。全身状態の悪化、摂餌量減少と体重減少も認められた。コリンエステラーゼが極端に減少したため呼吸筋障害(respiratory muscle failure)が原因となったと思われる、栄養状態が悪い 1 匹が投与 107 日目に死亡した。イヌには、若干の貧血、血清中のアラニンアミノトランスフェラーゼ(ASAT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(ALAT)、アルカリホスファターゼの増加が見られた。時折の下痢を除けば、他の毒性症状は 18 ppm では観察されず 1.2 ppm 群のイヌは対照群と同じであった。血清及び赤血球コリンエステラーゼ活性は試験期間をとおして 18 及び 320 ppm のイヌで減少した。試験終了時、脳コリンエステラーゼの用量に 관련된 阻害は 18 及び 320 ppm で観察された(それぞれ 20%と 76%)。いくつかの臓器の相対重量は 320 ppm 投与群でのみ対照群と異なった。病理学的検査からは本化合物に関連する臓器病変は示されなかった。本試験の NOAEL は、18 ppm で観察された、時折の下痢と脳コリンエステラーゼのわずかな阻害に基づき、1.2 ppm、0.09 mg/kg 体重/日相当量であった(Brunk *et al.*, 1982)。

雌雄各 4 匹の純血種の English beagle 犬(試験開始時 13 ヶ月齢)4 群に、飼料中濃度 0、2、5、あるいは 10/125/320 ppm のピラゾホス(純度 92%)を 2 年間混餌投与した。10 ppm の最高用量群は試験開始から 14 日目に 125 ppm に増量し、さらに 28 日目に 320 ppm に増量した。被験物質は飼料と混合し、日中に与える飼料で毎日混餌投与した。

以下のパラメーターについて調べた:臨床観察(全身状態、体重、行動、反射興奮性(reflex excitability)、眼、聴力、肉眼で確認できる粘膜(visible mucosae)、歯の状態)、臨床検査(血液学、コリンエステラーゼ活性、血清酵素、尿検査)、病理学(臓器重量、肉眼病理学(gross pathology)、病理組織学)。

ピラゾホス投与 462 日後に慢性化膿性膵炎(chronic suppurating pancreatitis)と慢性上行性胆管周囲炎(chronic ascending pericholangiti)とにより 320 ppm 群の雄 1 匹は死亡した。このイヌのいくつかのパラメータは影響を受けていたが死亡原因はピラゾホス投与に因るものではなかったためこれらのパラメータは考慮されなかった。他の残りのイヌは全て試験終了まで生存した。摂餌量は試験化合物投与による作用を受けなかった。試験終了時に 320 ppm 群のイヌの体重増加量は他の群よりも約 50%少な

かった。行動、反射反応、眼科所見、聴力検査、歯の状態、肉眼で確認できる粘膜に影響は認められなかった。320 ppm 群のイヌには若干の貧血とアルカリホスファターゼの増加が観察された。血清コリンエステラーゼ活性の用量に依存した減少は 5 及び 320 ppm で観察された。赤血球コリンエステラーゼ活性は 320 ppm でのみ減少した。病理学と臓器重量からは群間の有意差は示されなかった。病理組織学的検査では 2 及び 5 ppm 群は対照と同じであった。320 ppm では、腎臓の多くの糸球体のボウマン囊の基底膜の部分的な石灰化 (calcifications in some regions of the basement membranes of the Bowman's capsules of numerous renal glomeruli)、尿管基底 (tubular basement membranes) の石灰化、腎臓の尿管間質 (interstitium between some renal tubules) の石灰化が観察された。

本試験の NOAEL は、320 ppm を投与したイヌで観察された、赤血球コリンエステラーゼ阻害、体重増加量減少、腎臓の病理組織学的な異常に基づき、5 ppm、0.4 mg/kg 体重/日相当量であった (Brunk *et al.*, 1976)。

長期毒性/発がん性試験 (原文、11 ページ)

マウス

雌雄各 70 匹の 4 週齢 Charles River CD-1 マウスの 4 群に、飼料中濃度 0、1、5、25 ppm の工業用ピラゾホス (純度 92.8%) を混餌投与した。これらの濃度は、雄では 0、0.14、0.7、3.5 mg/kg 体重/日、雌では 0、0.16、0.8、4 mg/kg 体重/日に相当した。10 匹/性/用量を投与 12 ヶ月後に殺した。残りのマウスは 92 週目 (雌) と 96 週目 (雄) に殺した。ピラゾホスは使用するまで冷蔵保存した。被験物質は実験用基本飼料と混合した後にマウスに投与した。混合物を均質にするのは困難であったため、飼料調製手順を試験中に変更した。被験物質の実際の飼料中含有量は、1 ppm で設定含有量の 65% (0~101%)、5 ppm で 100% (55~241%)、25 ppm で 85% (42~100%) であった (12 回測定値の平均値、括弧内は測定値の範囲)。明白な毒性兆候、異常、腫瘍の所見は毎日、摂餌量、体重は毎週記録した。10 匹/性/用量の血液検査と脳コリンエステラーゼ活性は 12 ヶ月目と試験終了時に実施した。10 匹/性/用量の血清と赤血球コリンエステラーゼ活性は 0、3、6、12、18 ヶ月目と試験終了時に測定した。病理学的検査は死亡が認められたあるいは試験終了時に殺した全マウスについて実施した。

雌雄とも、摂餌量と体重増加量にピラゾホス投与による影響は認められなかった。臨床症状の発生率は群間で差異がなかった。雌の 1 ppm (92 週目) と雄の 96 週目で確認された低生存率により試験終了時期は早められた。死亡率はピラゾホス投与 0、1、5、25 ppm でそれぞれ 67%、75%、65%、70% (雄)、72%、80%、63%、75% (雌) であった。ピラゾホスは試験した血液学的パラメータに影響しなかった。血清及び赤血球コリンエステラーゼ活性の用量に依存した阻害は 5 及び 25 ppm のマウスで観察された (雌雄の 5 ppm でわずかな赤血球コリンエステラーゼ阻害)。最高用量まで脳コリンエステラーゼ活性の有意な変化は認められなかった。

対照群マウスと投与群マウス間で臓器重量の軽微な差が観察された。病理組織学的には自発的に、または自然発生する老齢マウスの腫瘍性病変及び非腫瘍性病変が観察された。腎のアミロイドーシスが対照群マウスと投与群マウスの間で最も見られる「死亡原因」と考えられ、発生率は全群で同等であった。投

与群マウスでは精巣萎縮及び変性のより高い発生率が観察されたが用量-相関関係はなかった。投与群マウスを対照マウスとの比較では、腫瘍性病変発生率に差異は見つからなかった。

ピラゾホスは設定最高用量 25 ppm、雄では 3.5 mg/kg 体重/日相当、雌では 4.1 mg/kg 体重/日相当まで有害作用を引き起こさなかった。しかし、飼料中のピラゾホスの実際と設定濃度の対応関係が不十分であり、最高用量まで毒性影響が認められなかったため、本試験の十分な評価ができなかった (Griggs *et al.*, 1982)。

ラット

雌雄各 30 匹の Wistar albino ラットの 5 群に、飼料中濃度 0、5、8、10、50 ppm の工業用グレードピラゾホス(純度 90%)を 104 週間投与した(20 週目に処分した 8 ppm 群を除く)。一般状態、行動、体重、摂餌量及び飲水量を試験期間中記録した。血液学、血液生化学、血漿コリンエステラーゼ、赤血球コリンエステラーゼ、脳コリンエステラーゼ、尿を測定した。試験終了時には病理学(臓器重量)と病理病理組織学的検査(不完全)を実施した。

いずれの用量レベルのラットにも一般状態、行動、体重増加量、摂餌量及び飲水量にピラゾホス投与の影響はなかった。0、5、10、50 ppm の試験終了時の死亡率はそれぞれ雄が 40%、70%、47%、60%、雌が 27%、47%、30%、33%であった。50 ppm 用量群では、白血球数が雄で 102 週目でのみ有意に減少した(百分比は正常(differential count normal))。10 及び 50 ppm 用量群の雄では血糖値が 52 週目に増加した。10 及び 50 ppm 群の雌雄では血漿及び赤血球コリンエステラーゼ活性の有意な阻害が測定された。試験終了時に脳コリンエステラーゼ活性に影響はなかった。全投与群の雌だけに脾臓の相対重量の減少が観察された。これは用量相関性はなく、投与に関係する組織学変化を伴わなかった。病理組織学的には自発的あるいは自然に発生する老齢マウスの腫瘍性病変及び非腫瘍性病変が観察された。投与ラットと対照ラットを比較した結果、腫瘍性、非腫瘍性、どちらの病変発生率にも差異はなかった。結論としては血液パラメータ中の散在する差異はピラゾホスの毒性作用を明白に示唆するものではなかった。本試験の NOAEL は 50 ppm、2.5 mg/kg 体重/日相当量であった(Til *et al.*, 1979a)。

雌雄各 50 匹の 4 週齢 Wistar ラットの 4 群に、飼料中濃度 0、2、80、320 ppm の工業用ピラゾホス(純度 95.7%)をペレット形状の飼料にして 117 週間混餌投与した。これらの濃度は、雄に対し 0、0.1、4.0、15.9 mg/kg 体重/日、雌に対し 0、0.1、4.8、19.3 mg/kg 体重/日に相当した。追加のラット 10 匹/性/投与量には 52 週間、ラット 20 匹/性/投与量には 105 週間ピラゾホスを投与した。ピラゾホスをアセトンに溶解し微粒化した飼料と攪拌しペレットにした。この調製は 2 週ごとに実施した。ピラゾホスは室温で少なくとも 21 日間安定した。均質性(-15%~22%の平均濃度変化範囲)と飼料中の被験物質(設定濃度 2、80、320 ppm のうち平均濃度はそれぞれ 98.5%、95.6%、94.5%)は試験開始前と試験期間中 2 ヶ月ごとに定量した。観察したパラメータは生存率/死亡率、臨床症状、摂餌量及び飲水量、体重、眼底検査、聴力検査試験、血液学、コリンエステラーゼ活性を含む臨床生化学、尿検査、病理学的検査であった。

若干だが統計的に有意な体重増加が試験 2 年目中に 320 ppm の雌雄で認められ、若干の摂餌量増加と対応していた。

飲水の絶対量はいずれの群でも影響を受けず、最高用量群で若干の相対的飲水量減少という結果であった。生存中の臨床症状と触知可能な腫瘍発生率と眼底及び聴力検査結果は群間で同等であった。117週間の投与終了時の死亡率は 0、2、80、320 ppm でそれぞれ 60%、40%、54%、52% (雄)、60%、56%、38%、48% (雌) であった。

コレステロールとトリグリセリドの低下に対応する血液中の総脂質量の若干の減少が 80 及び 320 ppm の雌雄で測定されたが、試験期間中一貫して見られた変化ではなかった。26、52、78、105 週目に測定された他の血液学及び生化学パラメータと尿検査にはピラゾホス投与の影響は認められなかった。血漿及び赤血球コリンエステラーゼの用量に相関した障害は試験期間中 80 及び 320 ppm で認められた。雌雄の 320 ppm で脳アセチルコリンエステラーゼの障害は無いかわ、あるいはわずかな障害 (13%~23%の間) であった。臓器重量の生物学的に有意な差異は 52、105、117 週目で認められなかった。320 ppm の雄で胃病変 (潰瘍とびらん (ulcers and erosions)) の若干の増加が病理組織学的に示されたが、いくつかの他の非腫瘍性の病変は被験物質投与と無関係と考えられた。腸間膜リンパ節の血管腫の発生率増加が 105 及び 117 週目の剖検で観察された。血管腫は、0、2、80、320 ppm でそれぞれ 12%、13%、30%、33% (雄)、6%、4%、26%、16% (雌) の割合で発生した。この種の腫瘍は 52 週目の剖検ではほぼなかった。統計的に有意な増加傾向が明確なのは雄だけであった。腸間膜リンパ節の血管肉腫は報告されなかった。ヒストリカルコントロール中のこの種の腫瘍発生率は、雄で 8% (0~24)、雌で 2% (0~8) であった (平均値、括弧内は範囲)。皮膚線維腫 (skin fibroma) の発生率増加 (依然ヒストリカルコントロールの範囲内ではあるが) は対照 (0%) と比べ最高用量の雄で (10%) 認められた。より高用量の雄で認められた腸間膜リンパ節の血管腫の発生率増加に基づき、NOAEL は 2 ppm、雌雄とも 0.1 mg/kg 体重/日相当量であった (Tennekes *et al.*, 1991)。

補足試験では、雌雄各 20 匹の Wistar ラットの 2 群に工業用ピラゾホス (純度 95.7%) を飼料中濃度 0 及び 1 ppm、雄で 0、0.05 mg/kg 体重/日、雌で 0、0.06 mg/kg 体重/日相当量でペレット飼料にして 104 週間投与した。観察したパラメータは生存率/死亡率、臨床症状、摂餌量及び飲水量、体重、眼底、聴力、血漿、赤血球、脳のコリンエステラーゼ測定、病理学 (臓器重量と肉眼検査) の観察であった。104 週目の死亡率は雄が両群で 25%、雌が 0 ppm で 25%、1 ppm で 15% であった。調べられた全パラメータにはピラゾホス投与による影響がなかった。NOAEL はピラゾホス 1 ppm、雄ラットで 0.05 mg/kg 体重/日、雌ラットで 0.06 mg/kg 体重/日相当量であった (Tennekes *et al.*, 1991)。

繁殖試験 (原文 15 ページ)

ラット

世代あたり 2 腹の 3 世代試験で、試験開始時に約 3~4 週齢のラット、雄 10 匹と雌 20 匹 (CIVOコロニー) の 4 群に、ピラゾホス (純度 90%グレード) を飼料中濃度 0、5、10、50 ppm で投与した。飼料は 2 週ごとに新しく調製し室温で保存した (飼料中の被験物質の均一性と安定性の報告はなし)。F₀ 世代のラットには、交配前の 13 週間とそれに続く F₁₀ 世代の離乳までそれぞれの飼料を継続して給与した。生後 1 日目に同腹児は 8 匹に間引きされた。F₁₀ 児 (離乳時に選抜した雄 10 匹と雌 20 匹) は、離乳 14 週及び 23 週後に

交尾させた。F_{2b}児の雄10匹と雌20匹を離乳時に選抜し、離乳13週及び22週後に交尾させた。F_{1a}、F_{2a}、F_{3a}児は離乳後に安楽死させた。F_{3b}世代からラット(雄10匹と雌10匹)を選抜し、90日間混餌投与試験のために同じ飼料を継続して給与した。

本試験では次の指標を評価した。

- 繁殖期：産児数、児動物の生存率、生後1、10、20日目の児動物の体重
- 90日試験：毒性兆候、摂餌量、体重、血液学的検査、血液化学的検査(コリンエステラーゼ活性、脳コリンエステラーゼ活性を含む)、尿検査、病理学的検査

繁殖指標に関連する変化は観察されなかった。生後10及び20日目の両日に児動物の死亡率増加が最大用量レベルのF₀世代の2回目の交尾後のみで認められた。毒性兆候は90日試験中認められなかった。血液全体のコリンエステラーゼ活性の用量に関連した阻害が10及び50 ppmで測定されたが、脳コリンエステラーゼ活性は最大用量レベルまで正常であった。血液化学的検査と尿検査からは被験物質投与に関連する変化は示されなかった。総白血球数は50 ppmの雌雄で増加した(おそらくはリンパ球増加による)。胸腺の絶対重量と相対重量は10及び50 ppmの雌雄で増加した。この変化はいずれの組織学的な異常とも対応していなかった。病理学的検査ではピラゾホス投与に帰する変化は示されなかった。この複合試験(繁殖試験と90日試験)の総合的なNOAELは、10及び50 ppmの雌雄で観察された胸腺の重量増加と50 ppmの雌雄で観察されたリンパ球数増加に基づき、5 ppmであり、雄では0.45、雌では0.42 mg/kg 体重/日にそれぞれ相当する (Til *et al.*, 1979b)。

世代あたり1腹の2世代試験で、試験開始時に約6週齢のラット(Wistar/HAN)雄25匹および雌25匹の群に、ピラゾホス原体(純度95.7%)を飼料中濃度0、2、20、200 ppmで投与した。飼料中のピラゾホスの均一性と安定性は確認され許容できるものであった。親ラット(F₁世代)には70日間それぞれの飼料を継続した後に交尾させた。F₀世代は飼料に混合した被験物質を126日間投与した後に交尾させた。F₀とF₁の両世代は交尾、妊娠、授乳期間中に被験物質を投与された。

試験期間中にわたりF₀世代とF₁世代で摂餌量と体重増加量に些末な差が観察された。受胎率、出産率、生存率は両世代ともピラゾホス投与の影響を受けなかった。哺育率(離乳率)はF₀世代の児動物では影響がなかったが200 ppmのF₁世代の児動物では有意に低下した。F₁及びF₂の児動物には投与に関連する異常所見は外表検査では観察されず、児の性比には投与の影響はみられなかった。200 ppmでは、哺育期間中の児動物の体重増加量の減少がF₁とF₂の児動物で明白であった。さらに、F₂の児動物では、出生日の体重が有意に減少した。体重増加量の些末な差が20 ppmでも観察された。血漿と赤血球の両コリンエステラーゼ活性の用量に関連した阻害が20及び200 ppmの雌雄で測定された。阻害はF₀世代とF₁世代で明白であり児動物でも明白であった(児動物では血漿コリンエステラーゼだけが測定された)。コリンエステラーゼ活性の阻害の程度は血漿より赤血球のほうが高かった。脳コリンエステラーゼ活性のわずかな阻害は最大用量レベルの両世代において雌にのみ測定された。生物学的妥当性のない脳コリンエステラーゼの統計的に有意な差が200 ppmの雌雄のF₂の児動物で測定された。群間にみられた臓器重量のいくつかの統計上の差には生物学的妥当性がないと判断された。病理学的検査では親動物にも児動物

にも投与に関連する異常は示されなかった。本試験のNOAELは、F₀世代とF₁世代(いずれも雌)及びF₂世代の児動物で測定された児動物の体重増加の遅れと脳コリンエステラーゼ阻害に基づき、20 ppm、1 mg/kg 体重/日相当量であった。しかし、(以前行われた繁殖試験で作用のあった指標である)胸腺重量とリンパ球数の両者の測定はいずれも本試験では行なわれなかった(Suter *et al.*, 1991)。

遅発性神経疾患試験(原文 18 ページ)

雌のニワトリ

白色Leghorn種の雌のニワトリ 6 羽に、21 日間の間隔をあけて 2 回、ゴマ油に希釈した(10%)ピラゾホス 150 mg/kgを経口投与した。別の雌のニワトリ 6 羽にはピラゾホスを同様に投与する前にアトロピン/トクソゴニン(toxogonin)を静脈内注射で単回投与した。雌のニワトリの急性毒性予備試験では、LD₅₀値はピラゾホス 150~400 mg /kg 体重であった。雌のニワトリ 6 羽の 3 群目にはtri-o-cresylphosphat 500 mg e/kg 体重(陽性対照)を単回投与、雌のニワトリ 6 羽の 4 群目にはゴマ油(陰性対照)を投与した。最初の投与後 42 日目に全雌のニワトリを殺処分し、大脳、小脳、脊髄、上腕の神経、腰仙骨神経叢の組織学検査を実施した。

ピラゾホスを投与した雌のニワトリ(両群)はコリン作動性の毒性と見られる種類の症状を示した。陽性対照は遅発性神経毒性を示唆する症状を示した。陰性対照は毒性症状を発症しなかった。病理組織学的にはピラゾホス投与雌のニワトリと陰性対照とは有意な変化は示されなかった。陽性対照では脱髄とグリア細胞増殖が視索、延髄、脊髄の頸部、胸部、腰部で観察された。末梢神経は全群で影響がなかった。本試験の結果により、ピラゾホスは遅発性神経毒性を誘発しなかった(Hollander & Weigand, 1979a)。

胎児毒性及び催奇形性試験(原文 18 ページ)

ラット

交尾した雌 Wistar ラット 20 匹の 4 群にピラゾホスを濃度 0、0.5、1.6、5.0 mg/kg 体重/日で強制投与方法(溶媒、デンプン粘質物)を用いて妊娠 7、10、および 16 日に経口投与した。妊娠 21 日にラットを安楽死させて胎児の発生障害について検査した。ピラゾホス投与を行った妊娠ラットにも対照妊娠ラットにも毒性兆候と死亡のどちらも観察されなかった。体重、摂餌量のどちらも群間に有意差はなかった。病理学的検査では、誘発された変化は示されなかった。1 腹当たりの着床数、1腹当たりの生存、死亡あるいは吸収胎児発生率、生存胎児の平均体重には群間に有意差はなかった。胎児は正常に発生しピラゾホスに関連する外表の異常、内臓あるいは骨格の異常は示されなかった。本試験の NOAEL は母体毒性及び催奇形性に対し 5.0 mg pyrazophos/kg 体重/日であった。コリンエステラーゼ活性の測定は行なわれなかった(Baeder *et al.*, 1978)。

ウサギ

妊娠ヒマラヤンウサギ 15 匹の群にピラゾホス(純度 95.6%)を妊娠 6~18 日に 0、10、32、100 mg/kg 体重

/日の用量で強制経口投与し(溶媒、デンプン粘質物)、妊娠 29 日に安楽死させた。胎児の外表、内部、骨格の検査を実施した。最大用量の妊娠ウサギではわずかな摂餌量の減少が観察され、体重増加量のある程度の減少と対応していた(統計的には有意ではなかった)。いずれの用量のピラゾホスも胚の子宮内の発生と胎児の生存率に影響しなかった。胎児の発育、外表異常、内臓及び骨格の異常についての形態学的検査ではピラゾホスの催奇形性作用の証拠は得られなかった。NOAEL は母体毒性及び催奇形性の両者に関し 100 mg/kg 体重/ 日であった。コリンエステラーゼ活性の測定は行なわれなかった(Baeder & Kramer, 1985; Baeder *et al.*, 1986)。

遺伝毒性試験(原文 19 ページ)

表 2 ピラゾホスの遺伝毒性試験の結果

試験体系	被験対象	ピラゾホス濃度	純度	結果	文献
エームス試験 (1)	ネズミチフス菌 TA98, TA100, TA1535, TA1537 大腸菌 WP2 hcr	0.2-5000 µg/plate DMSO に溶解	?(原文 通り)	陰性 (2)	Gericke (1977)
復帰変異試験(1)	ネズミチフス菌 TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538	10-5000 µg/plate DMSO に溶解	92.8%	陰性 (2)	Shirasu <i>et al.</i> (1979)
Rec アッセイ	枯草菌 H17 Rec + M45 Rec-	20-2000 µg/disc DMSO に溶解	92.8%	陰性 (3)	Shirasu <i>et al.</i> (1979)
有糸分裂遺伝子変換	出芽酵母 D4 (1) 偽巢性コウジ菌 (5)	800-1600 µg/ml 200-690 µg/ml	Afugan Afugan	陰性 (4) 陰性	Bertoldi <i>et al.</i> (1980)
CHO/HGPRT 突然変異 試験(1)	チャイニーズハムスター 肺由来繊維芽細胞 V79	6.25-75 µg/ml (-act.) 25-150 µg/ml (+ act.) 1-50 µg/ml x 47 h (- act.)	97.3%	陰性 (6)	Muller (1988)
染色体異常	ヒトリンパ球	10-175 µg/ml x 1 h (+ act.) DMSO に溶解	95.6%	陰性 (7)	Taalman <i>et al.</i> (1985)
小核試験	マウス (NMRI 系)	50, 75, 100 mg/kg 24 時間間隔で 2 回経口投与	95.6%	陰性 (8)	Mayer <i>et al.</i> (1985)

- (1) 代謝活性化有り無し両方。
- (2) 陽性対照は明瞭な陽性反応を生じた。
- (3) カナマイシン (10 µg/disc) は陰性、マイトマイシン C (0.1 µg/disc) は陽性の、それぞれ明瞭な反応を生じた。
- (4) 陽性対照(メタンサルホン酸メチル)は 500 µg/ml で明瞭な陽性反応を生じた。
- (5) 発芽している分生子も使用している。
- (6) 陽性対照 (EMS 1 mg/ml (- act.); DMBA 7.7 µg/ml (+ act.)) は明瞭な陽性反応を生じた。
- (7) 陽性対照 (EMS 0.2 µl/ml (- act.); シクロホスファミド 18.7 µg/ml (+ act.)) は明瞭な陽性反応を生じた。
- (8) 陽性対照(シクロホスファミド)は 50 mg/kg 体重(単一用量)で明瞭な陽性反応を生じた。
(専門家コメントによる訳注; (-act.):代謝活性化なし、(+act.):代謝活性化あり、Afugan:ピラゾホス商品名、すなわち市販品をそのまま実験に用いた事を意味する。)

解毒作用試験(原文 21 ページ)

ラット

雌の SPF-Wistar ラットにピラゾホス(純度 94%) 800 mg/kg 体重 (4 x LD₅₀) を単回経口投与した。硝酸メ

チルアトロピン、硫酸アトロピン、オビドキシム、これらの解毒剤の混合物のいずれかを単回腹腔内投与したことにより(ピラゾホス投与から10分後)生存率を変えることなく死亡時間が遅くなった。最良の投与は、中毒開始10分後からその57時間後まで複数回投与した硫酸アトロピン(3.75 mg/kg 体重)とオビドキシム(4 mg/kg 体重)の組み合わせであり、生存率を0%から90%まで増加させた(Sholz & Weigand, 1971)。

雌雄Wistarラットにおよそ2 x LD₅₀のピラゾホス(純度93.6%)を単回経口投与した。治療を施さなかったところ、1匹の雌を除く全ラットが3日以内に死亡した。硫酸アトロピンのみの長期投与で生存率が増加することはなかった。硫酸アトロピン + 2-PAMの組み合わせあるいは硫酸アトロピン + オビドキシムの組み合わせは死亡率を0まで減少させる有効な解毒剤であると証明された(Leist & Weigand, 1983)。

ヒトでの観察(原文21ページ)

健康者5名に0.15 mg/kg 体重のピラゾホスを10日間毎日投与した。他の被験者6名には0.15 mg/kg 体重のピラゾホスを3日間投与した後に0.07 mg/kg 体重を7日間毎日投与した。別の被験者11名には0.07 mg/kg 体重のピラゾホスを10日間投与した。ピラゾホスは毎回朝食時にオレンジジュースに混ぜて経口投与した。男女数は群中で同数であった。対照群にはオレンジジュースのみを投与した。対照群の大部分は以前ピラゾホスを投与した被験者と同じであった。

全被験者の臨床症状の出現、心循環系パラメータ(血圧、脈拍数、心電図)の変化について調査した。さらに、血液学、血液生化学、尿検査、血漿、全血、赤血球のコリンエステラーゼの定量アッセイについてピラゾホス投与前、投与中、最終投与から7日後までの数回実行した。最高用量では、試験を完了したのは2名だけであり上気道感染のため2名中止、3回投与後コリンエステラーゼレベルが基準値以下であったため1名が中断した(原文のまま)。0.15/0.07 mg/kg 体重群被験者6名のうち3名が軽度の頭痛、「卒倒感」、若干の腹部不快感のような有害反応を報告した。最低用量群被験者2名は目眩と意識朦朧について言及した。同群の他の2名は上気道の感染症に関連するかもしれない症状について言及した。心循環系パラメータの変化は認められなかった。血液及び尿の分析については、最低用量の1名で測定された血清クレアチンホスホキナーゼ(CPK)の急激な上昇を除き正常範囲内であった。CPKはピラゾホス投与初日から最終日まで増加し(投与前は正常レベルであったことが報告された)、4日目に最大となった(CPKは7日間の回復期間中は測定されなかった)。同様にこの被験者には投与最終3日間に約25%の血漿及び全血中のコリンエステラーゼ活性阻害が現れた(試験9-10-11日目のコリンエステラーゼ活性平均値を投与前の3日間の平均値と比較して算出した平均阻害)。血漿及び赤血球中のコリンエステラーゼ活性はCPKが最大値であった日には正常であった。他の生化学パラメータはすべて正常範囲内であった。CPKが上昇した理由は試験中に被験者がランニングをしたためと著者らは推測した。

各群のコリンエステラーゼ値について示されたことは、0.15 mg/kg 体重では血漿コリンエステラーゼ阻害が6日目から始まり(約20~50%)ピラゾホス最終投与後4日まで続いたことであった。この群では血液全体のわずかなコリンエステラーゼ阻害が認められたが赤血球中のコリンエステラーゼ活性は阻害されなかった。他の群ではコリンエステラーゼ活性への影響はなかった。

本試験は方法的な問題が何点かあったことと詳細が欠如していたことから評価できなかった。対照群

は大部分は以前ピラゾホスを投与した同じ被験者であった。上気道の障害は、赤血球沈降率あるいは白血球増加のような血液学パラメータの変化により実証できず、コリン作動性の毒性は除外されなかった。コリンエステラーゼ活性は同一個人内変動が激しく(毎日の分析では各個人内の正常変動範囲である10~20%より大きかった)。本試験の10日間の赤血球コリンエステラーゼ阻害に対しNOAELは0.15 mg of pyrazophos/kg 体重/日であったが、3群中の3/5、3/6、5/11の被験者がコリン作動性毒性と見込まれる種類の症状を報告した(Dinsdale & Protheroe, 1983)。

金属容器が破損していたため未知量のAfugan 30 ECが36才の男性作業員の顔、主に眼窩部に噴出し、作業員はすぐに入院した。両目には結膜炎が発症した。縮瞳、震え、筋攣縮、不連続の痙攣(isolated spasms)、精神的興奮、気管支の痙縮、徐脈といったコリン作動性の軽度の全身臨床作用が2時間以内に発現した。患者は合計4 mgの硫酸アトロピン(atropinum sulfuricum)の静脈内注射を受けた。被曝した同日に、全身の症状が解消するとすぐに外来診療に回され、両目は結膜の腐食、右目は角膜の腐食という診断を受けた。全身の症状とともに、被曝およそ3時間及び7時間後に血清と赤血球中で測定されたコリンエステラーゼ活性は正常範囲内となった(Stasik, 1987)。

所見(原文、23 ページ)

ラットでは、¹⁴C-pyrazophosの単回あるいは14日間の日ごとの(放射標識は最終投与のみ)経口投与後、血中放射能は投与後6時間以内にピークとなった。半減期は約5時間であった。放射能は主に尿(71~78%)と糞便(16~24%)から排泄された。放射能の大部分を占めた親化合物は糞便中で検出された、これは消化管からの吸収が不完全であったことを意味する。ピラゾホスそのものは尿中で検出されず、放射能はほとんどその加水分解生成物であった。

ピラゾホスはマウス、ラット、イヌに単回経口投与した後、中程度に毒性を示した。性あるいは投与経路間の有意差は認められなかった。WHOはピラゾホスを中程度に有害であると分類した(WHO, 1992)。

飼料中濃度0、1、5、25、125 ppm(1試験のみで最高用量)のマウスの二つの28日間試験では、NOAELは25 ppm、雄に対し4.7、雌に対し5.0 mg/kg 体重/日相当量であった。NOAELは、125 ppmで観察された脳コリンエステラーゼの20%阻害に基づいた。

飼料中濃度0、2.5、50、1000 ppmのラット13週間試験では、50 ppmの試験終了時の脳コリンエステラーゼ阻害に基づき、NOAELは、2.5 ppm、雌雄とも0.21 mg/kg 体重/日相当量であった。

飼料中濃度0、2、20、200 ppmのラット52週間試験では、NOAELは20 ppm、雄が1.0、雌が1.4 mg/kg 体重/日相当量であった。NOAELは、200 ppmの雌の脳コリンエステラーゼ活性の30%阻害に基づいた。

飼料中濃度0、0.5、2.0、5.0、10/125/320 ppmのイヌの92日間試験では(湿性半固体飼料)、二番目の最高用量での赤血球コリンエステラーゼ活性の阻害に基づき、NOAELは5 ppm、0.4 mg/kg 体重/日相当量であった(脳アセチルコリンエステラーゼ活性は測定されなかった)。コリン作動性の臨床症状は飼料

中濃度が 320 ppm に増加した時に観察された。

ピラゾホス飼料中濃度 0、1.2、18、320 ppm のイヌの 6 ヶ月間試験では(湿性半固体飼料)、18 ppm で観察された脳アセチルコリンエステラーゼのわずかな阻害に基づき、NOAEL は 1.2 ppm、0.09 mg/kg 体重/日相当量であった。

飼料中濃度 0、2、5、320 ppm (湿性半固体飼料) のイヌの 2 年間試験では、320 ppm 群での赤血球コリンエステラーゼ阻害、体重増加量減少、腎で観察された病理組織学的異常に基づき、NOAEL は 5 ppm、0.4 mg/kg 体重/日相当量であった。

飼料中濃度 0、1、5、25 ppm のマウスの 92/96 (雌/雄) 週間試験では、ピラゾホスは最高設定濃度 25 ppm、雄は 3.5、雌は 4.1 mg/kg 体重/日相当量まで有害作用を誘発しなかった。血清及び赤血球コリンエステラーゼ活性阻害は 5 ppm 以上で観察されたが脳アセチルコリンエステラーゼ活性は阻害されなかった。ピラゾホスの飼料中の実際と設定濃度が対応していなかったため本試験の最終的な評価は不可能であった。

飼料中レベル 0、2、80、320 ppm のラットの 2 年間試験では、より高用量群の雄で検出された腸間膜リンパ節の血管腫のより高い発生率に基づき、NOAEL は 2 ppm、0.1 mg/kg 体重/日相当量であった。脳アセチルコリンエステラーゼのわずかな阻害は 320 ppm だけで認められた。

飼料中濃度 0、5、8、10、50 ppm のラットの 2 年間試験では、50 ppm で脳アセチルコリンエステラーゼ阻害を含む有害作用が存在しないことに基づき、NOAEL は 50 ppm、2.5 mg/kg 体重/日相当量であった。腸間膜リンパ節中に本化合物に関連する異常は見つからなかった。

飼料中濃度 0、5、10、50 ppm のラットの 3 世代試験 (two-litter) (90 日間毒性試験を F₃₀ 世代にも実施した) では、10 及び 50 ppm で観察された胸腺重量増加と 90 日間毒性試験において雌雄の 50 ppm で観察されたリンパ球数増加に基づき、NOAEL は 5 ppm、雄が 0.45、雌が 0.42 mg/kg 体重/日相当量であった。

ピラゾホス飼料中濃度 0、2、20、200 ppm のラットの 2 世代繁殖試験では、両世代の時の体重増加の遅れ、F₁ 世代の授乳指数の低下、母動物と F₂ 世代の児の脳アセチルコリンエステラーゼ活性の若干の阻害に基づき、NOAEL は 20 ppm、1 mg/kg 体重/日相当量であった。

ピラゾホスは雌のニワトリ雌のニワトリで遅発性神経毒性を誘発しなかった。

ピラゾホスはラットやウサギで催奇形性は認められなかった。母動物と胎児の毒性に対する NOAEL はラットが 5 mg/kg 体重/日、ウサギが 100 mg/kg 体重/日であり、どちらも試験された最高用量であった。母動物の毒性は観察されなかった。しかし、コリンエステラーゼ活性は測定されなかった。

ヒトの男女ボランティアに、0.07、0.07/0.15、0.15 mg/kg 体重/日のピラゾホスを 10 日間経口投与した。

最高用量では血漿コリンエステラーゼ活性だけが阻害され(20~40%)、赤血球コリンエステラーゼ活性の阻害はわずかであった。コリン作動性毒性に起因する可能性のある症状は全群で観察された。本試験は試験計画と実施方法に欠陥があるため不適切と見なされた。

利用可能な遺伝毒性データを検討した結果、ピラゾホスは遺伝毒性ではないと結論した。

本会議は、長期試験と遺伝毒性データを検討した結果、ピラゾホスはヒトに対し発がん性を引き起こすことはおそらくないと結論した。

ADI はイヌの2年間試験とラットの3世代試験でのNOAELに基づき安全係数100を用い設定された。

毒性評価(原文、26 ページ)

毒性作用を引き起こさないレベル

マウス:25 ppm、4.7 mg/kg 体重/日相当量(28日間試験)

ラット:5 ppm、0.4 mg/kg 体重/日相当量(3世代繁殖試験)

イヌ:5 ppm、0.4 mg/kg 体重/日相当量(2年間試験)

ヒトの1日摂取許容量の推定

0~0.004 mg/kg 体重

本化合物の継続評価において価値ある情報を提供すると思われる試験

ヒトでのさらなる観察

以下も参照:

Toxicological Abbreviations

原文目次

PYRAZOPHOS	1
EXPLANATION	1
EVALUATION FOR ACCEPTABLE DAILY INTAKE.....	1
BIOLOGICAL DATA.....	1
Biochemical aspects	1
Absorption, distribution, and excretion.....	1
Rats	1
Toxicological studies.....	2
Acute toxicity studies.....	2
Guinea-pigs	4
Rabbits.....	4
Short-term toxicity studies.....	4
Mice.....	4
Rats	5
Dogs.....	8
Long-term toxicity/carcinogenicity studies	11
Mice.....	11
Rats	13
Reproduction studies	15
Rats	15
Special studies on delayed neuropathy	18
Hens	18
Special studies on embryotoxicity and teratogenicity	19
Rats	19
Rabbits.....	19
Special studies on genotoxicity	20
Special study on antidote effect.....	21
Rats	21
Observations in humans	21
COMMENTS.....	23
TOXICOLOGY EVALUATION	26
REFERENCES	27

略称等

略称等	正式名称(英語)	日本語訳
ADI	Acceptable Daily Intake	一日摂取許容量
ALAT	alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
ASAT	aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
BSP	bromsulphophthalein	プロモスルホフタレイン
CPK	Creatine phosphokinase	クレアチンホスフォキナーゼ
DMBA	7,12-dimethylbenz(a)anthracene	7,12-ジメチルベンゾ(a)アントラセン
ECG	electrocardiogram	心電図
EMS	ethyl metanesulfonate	エチルメタンサルホン酸
ESR	erythrocyte sedimentation rate	赤血球沈降速度
i.p.	intraperitoneal	腹腔内の
LC ₅₀	Lethal Concentration 50%	半数致死濃度
LD ₅₀	Lethal Dose 50%	半数致死量
MRL	Maximum residue level	残留基準
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level	無毒性量
PSP	phenolsulfonphthalein	フェノールスルホフタレイン
s.c.	Subcutaneous Injection	皮下注射
SPF	specific pathogen-free	特定病原菌フリー
WBC	white blood cell	白血球数