

第三部 農薬評価書

メチルイソチオ
シアネート

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.....	6
 I. 評価対象農薬の概要.....	 7
1. 用途.....	7
2. 有効成分の一般名.....	7
3. 化学名.....	7
4. 分子式.....	7
5. 分子量.....	7
6. 構造式.....	7
7. 開発の経緯.....	7
 II. 安全性に係る試験の概要.....	 8
1. 動物体内運命試験.....	8
(1) ラット①.....	8
(2) ラット②.....	13
(3) ラット③.....	13
(4) ラット④.....	13
(5) イヌ.....	15
2. 植物体内運命試験.....	16
(1) トマト.....	16
(2) だいこん.....	17
(3) トマト、レタス及びからしな.....	18
3. 土壌中運命試験.....	23
(1) 好氣的土壌中運命試験.....	23
(2) 土壌吸着試験.....	24
4. 水中運命試験.....	24
(1) 加水分解試験①.....	24
(2) 加水分解試験②.....	25
(3) 水中光分解試験①.....	25
(4) 水中光分解試験②.....	26
5. 土壌残留試験.....	27
6. 作物残留試験.....	27
7. 一般薬理試験.....	27

8. 急性毒性試験

9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

10. 亜急性毒性試験

- (1) 日間亜急性毒性試験（ラット）①
- (2) 日間亜急性毒性試験（ラット）②
- (3) 日間亜急性毒性試験（マウス）①
- (4) 日間亜急性毒性試験（マウス）②
- (5) 日間亜急性毒性試験（マウス）③
- (6) 日間亜急性毒性試験（イヌ）
- (7) 日間亜急性神経毒性試験（ラット）
- (8) 日間亜急性吸入毒性試験（ラット）
- (9) 1 か月間亜急性経皮毒性試験（ラット）①
- (10) 1 か月間亜急性経皮毒性試験（ラット）②

11. 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）
- (2) 2 年間慢性毒性 発がん性併合試験（ラット）
- (3) 2 年間慢性毒性 発がん性併合試験（マウス）

12. 生殖発生毒性試験

- (1) 3 世代繁殖試験（ラット）
- (2) 2 世代繁殖試験（ラット）
- (3) 発生毒性試験（ラット）①
- (4) 発生毒性試験（ラット）②
- (5) 発生毒性試験（ウサギ）①
- (6) 発生毒性試験（ウサギ）②
- (7) 発生毒性試験（ウサギ）③

13. 遺伝毒性試験

14. その他の試験

- (1) 消化管に及ぼす影響

III. 食品健康影響評価

- 別紙 1：代謝物 分解物略称
- 別紙 2：検査値等略称
- 別紙 3：作物残留試験成績
- 参照

＜審議の経緯＞

－第1版関係－

- 1976年 1月 13日 初回農薬登録
- 2005年 11月 29日 残留農薬基準告示（参照 1）
- 2013年 6月 11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 0611 第 15 号）、関係書類の接受（参照 2～9）
- 2013年 6月 17日 第 478 回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2013年 12月 6日 第 33 回農薬専門調査会評価第一部会
- 2014年 10月 29日 第 40 回農薬専門調査会評価第一部会
- 2014年 11月 28日 第 41 回農薬専門調査会評価第一部会
- 2015年 1月 21日 第 118 回農薬専門調査会幹事会
- 2015年 2月 3日 第 547 回食品安全委員会（報告）
- 2015年 2月 4日 から 3月 5日まで 国民からの意見・情報の募集
- 2015年 3月 12日 第 120 回農薬専門調査会幹事会
- 2015年 3月 17日 農薬専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
- 2015年 3月 24日 第 554 回食品安全委員会（報告）
（同日付け厚生労働大臣へ通知）（参照 10）
- 2017年 7月 18日 残留農薬基準値告示（参照 11）

－第2版関係－

- 2019年 8月 27日 第 754 回食品安全委員会（審議）
（同日付け厚生労働大臣へ通知）（参照 12）
- 2020年 7月 14日 残留農薬基準値告示（参照 13）

－第3版関係－

- 2023年 11月 21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（厚生労働省発健生 1121 第 5 号）、関係書類の接受（参照 14～16）
- 2023年 11月 28日 第 922 回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2023年 1月 30日 第 927 回食品安全委員会（審議）
（1月 31日付け厚生労働大臣へ通知）

＜食品安全委員会委員名簿＞

- | | |
|------------------|------------------|
| (2015年 6月 30日まで) | (2021年 6月 30日まで) |
| 熊谷 進（委員長） | 佐藤 洋（委員長） |
| 佐藤 洋（委員長代理） | 山本茂貴（委員長代理） |
| 山添 康（委員長代理） | 川西 徹 |

三森国敏（委員長代理）	吉田 緑
石井克枝	香西みどり
上安平冽子	堀口逸子
村田容常	吉田 充

（2021 年 7 月 1 日から）

山本茂貴（委員長）	
浅野 哲（委員長代理	第一順位）
川西 徹（委員長代理	第二順位）
脇 昌子（委員長代理	第三順位）
香西みどり	
松永和紀	
吉田 充	

＜食品安全委員会農薬専門調査会専門委員名簿＞

（2014 年 3 月 31 日まで）

・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	山手丈至**
三枝順三（座長代理**）	長野嘉介	吉田 緑
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）	栗形麻樹子	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

（2016 年 3 月 31 日まで）

- | | | |
|------------|-------|------|
| ・幹事会 | | |
| 西川秋佳（座長） | 小澤正吾 | 林 真 |
| 納屋聖人（座長代理） | 三枝順三 | 本間正充 |
| 赤池昭紀 | 代田眞理子 | 松本清司 |
| 浅野 哲 | 永田 清 | 與語靖洋 |
| 上路雅子 | 長野嘉介 | 吉田 緑 |
| ・評価第一部会 | | |
| 上路雅子（座長） | 清家伸康 | 藤本成明 |
| 赤池昭紀（座長代理） | 林 真 | 堀本政夫 |
| 相磯成敏 | 平塚 明 | 山崎浩史 |
| 浅野 哲 | 福井義浩 | 若栗 忍 |
| 篠原厚子 | | |
| ・評価第二部会 | | |
| 吉田 緑（座長） | 腰岡政二 | 本間正充 |
| 松本清司（座長代理） | 佐藤 洋 | 根岸友恵 |
| 小澤正吾 | 杉原数美 | 山本雅子 |
| 川口博明 | 細川正清 | 吉田 充 |
| 栗形麻樹子 | | |
| ・評価第三部会 | | |
| 三枝順三（座長） | 高木篤也 | 中山真義 |
| 納屋聖人（座長代理） | 田村廣人 | 八田稔久 |
| 太田敏博 | 中島美紀 | 増村健一 |
| 小野 敦 | 永田 清 | 義澤克彦 |
| ・評価第四部会 | | |
| 西川秋佳（座長） | 佐々木有 | 本多一郎 |
| 長野嘉介（座長代理） | 代田眞理子 | 山手丈至 |
| 井上 薫 | 玉井郁巳 | 森田 健 |
| 加藤美紀 | 中塚敏夫 | 與語靖洋 |

＜第 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
-----	------

要 約

殺線虫剤、殺菌剤、殺虫剤及び除草剤である「メチルイソチオシアネート (MITC)」 (CAS No. 556-61-6) について、各種資料を用いて食品健康影響評価を実施した。第 3 版の改訂に当たっては、厚生労働省から、皮膚に対する刺激性試験 (ウサギ) の成績等が新たに提出された。

評価に用いた試験成績は、動物体内運命 (ラット及びイヌ)、植物体内運命 (トマト、だいこん等)、作物残留、亜急性毒性 (ラット、マウス及びイヌ)、亜急性神経毒性 (ラット)、慢性毒性 (イヌ)、慢性毒性/発がん性併合 (ラット及びマウス)、3 世代及び 2 世代繁殖 (ラット)、発生毒性 (ラット及びウサギ)、遺伝毒性等である。

各種毒性試験結果から、MITC 投与による影響は、主に体重 (増加抑制)、肝臓 (重量増加、肝細胞脂肪変性等) 及び前胃 (肥厚等) に認められた。神経毒性、発がん性、繁殖能に対する影響、催奇形性及び生体にとって問題となる遺伝毒性は認められなかった。

各試験で得られた無毒性量のうち最小値は、イヌを用いた 90 日間亜急性毒性試験及び 1 年間慢性毒性試験の 0.4 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 0.004 mg/kg 体重/日を許容一日摂取量 (ADI) と設定した。

また、MITC の単回経口投与等により生ずる可能性のある毒性影響に対する無毒性量のうち最小値は、マウス及びウサギを用いた一般薬理試験の 10 mg/kg 体重であったことから、これを根拠として、安全係数 100 で除した 0.1 mg/kg 体重を急性参照用量 (ARfD) と設定した。

I. 評価対象農薬の概要

1. 用途

殺線虫剤・殺菌剤・殺虫剤・除草剤

2. 有効成分の一般名

和名：メチルイソチオシアネート

英名：methyl isothiocyanate (ISO)

3. 化学名

IUPAC

和名：メチルイソチオシアネート

英名：methyl isothiocyanate

CAS (No. 556-61-6)

和名：イソチオシアネートメタン

英名：isothiocyanatomethane

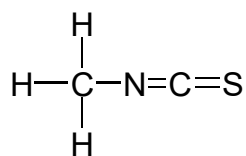
4. 分子式

C_2H_3NS

5. 分子量

73.11

6. 構造式



7. 開発の経緯

メチルイソチオシアネート (MITC) は、1958 年にドイツ Schering AG 社により開発された。本剤は土壌処理により速やかにガス化して拡散し、土壌中の病原菌、害虫、線虫及び雑草種子に対して薬効を示すことが知られている。国内では、1976 年に初めて農薬登録された。海外においては、ヨーロッパ及び北米で MITC 単剤及び D・D との混合剤の登録が行われたが、2006 年までに全ての登録は失効している。

II. 安全性に係る試験の概要

各種運命試験〔II. 1～4〕は、メチルイソチオシアネート（MITC）のメチル基の炭素を ^{14}C で標識したもの（以下「[met- ^{14}C]MITC」という。）、イソチオシアノ基の炭素を ^{14}C で標識したもの（以下「[iso- ^{14}C]MITC」という。）及びイオウを ^{35}S で標識したもの（以下「[iso- ^{35}S]MITC」という。）を用いて実施された。放射能濃度及び代謝物濃度は、特に断りがない場合は比放射能（質量放射能）から MITC の濃度（mg/kg 又は $\mu\text{g/g}$ ）に換算した値として示した。

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

（1）ラット①

① 吸収

a. 血液中濃度推移

Wistar ラット（一群雄 4 又は 5 匹）に [met- ^{14}C]MITC を 20 mg/kg 体重で単回経口投与後 24 時間までの連続採血で得られた血液試料及び分布試験〔1.（1）②〕で投与後 28 日まで経時的に採取した血液試料中の放射能を測定して、血液中濃度推移が検討された。

薬物動態学的パラメータは表 1 に示されている。（参照 2）

表 1 薬物動態学的パラメータ

$T_{\max}$ (hr)	0.25～1
$C_{\max}$ ($\mu\text{g/g}$)	18.6～20.5
$T_{1/2}$ α 相 (hr)	8.05～8.2
$T_{1/2}$ β 相 (日)	17.7

b. 吸収率

尿糞及び呼気中排泄試験〔1.（1）④a.〕より得られた投与後 24 時間の尿及び呼気中の放射能の合計から、MITC の吸収率は少なくとも 77.0%と考えられた。（参照 2）

② 分布

a. 体内分布

Wistar ラット（一群雄 3 又は 5 匹）に [met- ^{14}C]MITC を 20 mg/kg 体重で単回経口投与し、体内分布試験が実施された。

主要臓器及び組織における残留放射能濃度は表 2 に示されている。

放射能は、肝臓、腎臓及び赤血球への顕著な移行が認められるとともに、投与後初期の脂肪組織を除く全ての組織で血漿より高い濃度が認められた。この対血漿レベルは全組織とも経時的に上昇し、高い組織親和性が認められた。各

組織からの放射能の消失は、血球、肝臓、腎臓、脳、脂肪組織等で緩慢であった。投与 28 日後においても、2.8%TRR が体組織に保持され、ラット体内における比較的高い残留性が示唆された。（参照 2）

表 2 主要臓器及び組織における残留放射能濃度（ $\mu\text{g/g}$ ）

投与後 時間	臓器及び組織中濃度
3 時間	胃(311)、血球(33.3)、全血(15.1)、肝臓(14.6)、腸管(12.5)、腎臓(12.5)、脾臓(9.59)、膵臓(8.16)、肺(6.74)、骨髓(5.94)、血漿(1.44)
1 日	肝臓(7.55)、骨髓(6.61)、甲状腺(5.73)、胃(4.99)、腸管(4.35)、血球(4.14)、腎臓(3.92)、脾臓(3.86)、副腎(3.80)、肺(3.73)、被毛(3.52)、血漿(0.72)
7 日	被毛(4.81)、肝臓(1.81)、副腎(1.51)、腎臓(1.48)、甲状腺(1.38)、血球(1.34)、肺(1.31)、脳下垂体(1.19)、胸腺(1.14)、膵臓(1.10)、精囊(1.07)、心臓(1.06)、脾臓(1.01)、涙腺(1.01)、カーカス ¹ (1.01)、骨格筋(0.85)、精巣(0.67)、骨髓(0.62)、胃(0.62)、全血(0.61)、精巣上体(0.59)、血漿(0.09)
14 日	被毛(5.63)、血球(0.86)、肝臓(0.62)、肺(0.62)、カーカス(0.61)、心臓(0.59)、精囊(0.52)、腎臓(0.51)、骨格筋(0.51)、脳下垂体(0.48)、血漿(0.03)
28 日	被毛(3.91)、血球(0.63)、カーカス(0.45)、全血(0.27)、腎臓(0.25)、涙腺(0.25)、肝臓(0.24)、血漿(<0.02)

注）各数値は 5 例の平均値（投与後 28 日のみ 3 例の平均値）を示す。

b. 組織残留物と高分子物質への結合

体内分布試験【1.(1)②a.】における投与 3 時間後の肝臓中の親油性物質の有無について、*n*-ヘキサン抽出による検討が実施された。抽出された放射能は 1.1%TRR と低レベルであった。この抽出物は減圧濃縮により 97%が消失した（揮発性物質）ことから、未変化の MITC と推察された。

体内分布試験【1.(1)②a】の投与 3 時間から 7 日後の 7 種の臓器及び組織を用い、タンパク質等の細胞内高分子物質からなる残渣中に検出される放射能（TCA 不溶性及び有機溶媒非抽出性）について検討が行われた。

臓器及び組織中の高分子物質への結合放射能は表 3 に示されている。

血漿及び血球中では約 80%TRR 以上が抽出可能であったが、肝臓、腎臓、精巣、精囊及び精巣上体＋輸精管では約 30%TRR～60%TRR が抽出不能であり、これら組織中残留放射能の細胞内高分子物質への結合が示唆された。この結合残渣の形成に伴い、投与 3 時間後の肝グルタチオン量は対照群の 74%に低下していた。（参照 2）

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。）。

表 3 臓器及び組織中の高分子物質への結合放射能

臓器・組織	結合放射能					
	投与 3 時間後		投与 1 日後		投与 7 日後	
	μg/g	%TRR	μg/g	%TRR	μg/g	%TRR
肝臓	5.67	38.1	3.50	45.5	1.04	51.5
腎臓	4.94	40.3	2.77	48.8	0.59	41.6
精巣	0.57	35.8	0.46	39.9	0.20	30.5
精囊	0.60	34.4	1.29	62.3	0.52	52.1
精巣上体＋輸精管	0.85	57.0	0.50	47.5	0.21	35.9
血球	3.91	11.7	2.70 [#]	31.0 [#]	0.23	16.9
血漿	-	-	0.15 [#]	19.9 [#]	-	-

[#] : 2 例の平均値 (ほか 5 例の平均値)

- : 測定せず

c. *In vitro* 結合試験

Wistar ラットより調製した肝ホモジネート 9,000 g 上清又はミクロソーム画分と[met-¹⁴C]MITC との結合試験が実施された。

表 4 に[met-¹⁴C]MITC の生体高分子物質との *in vitro* 共有結合試験結果が示されている。

9,000 g 上清液では煮沸による失活化により、添加[met-¹⁴C]MITC 量の 54% が結合して 5.6 倍に、またミクロソーム画分では 1.5 倍にそれぞれ増加した。低分子 SH 化合物のシステインは失活酵素系において、また、グルタチオンは、**native** な酵素系と失活酵素系の両系において結合に対する抑制効果を示し、その作用は **native** 酵素系においてより顕著であった。以上の結果から、TCA 不溶性の蛋白を主体とする残渣中への放射能の取り込みは未変化の MITC による非酵素的な結合によるものと考えられ、結合部位は MITC の化学的特性から-SH、-NH₂ 等の求核性残基と推定された。このことは、MITC の主要代謝系がグルタチオンによる抱合化であること、また、MITC 投与により肝臓グルタチオンレベルの低下が認められることとよく一致していた。生体内低分子 SH 化合物の主成分であるグルタチオンは、*in vivo* においても MITC の生体高分子物質への親電子的な結合をグルタチオン抱合化によって抑制し、生体高分子物質を保護しているものと考えられた。(参照 2)

表4 [met-¹⁴C]MITC の生体高分子物質との *in vitro* 共有結合

試験系	結合放射能(μmol)	対比(%)
肝ホモジネート 9,000 g 上清		
煮沸酵素基本酵素系	0.268	100
+1 mM システイン	0.211	79*
+1 mM グルタチオン	0.211	79*
native 酵素基本酵素系	0.049	18*
−NADPH	0.157	59*
+1 mM グルタチオン	0.015	6*
+1 mM SKF525A	0.051	19*
肝ミクロソーム分画		
煮沸酵素基本酵素系	0.187	100
native 酵素基本酵素系	0.121	65*
−NADPH	0.123	65*

注) 基本酵素系: [met-¹⁴C]MITC 0.5 μmol、NADPH 生成系、塩化マグネシウム 5 μmol 及びラット肝ホモジネート 9,000 g 上清又は肝ミクロソーム分画(肝臓 240 mg 相当)を含む 1 mL の 0.2M トリス-塩酸緩衝液 (pH 7.4)。好氣的条件下、37℃で 20 分間反応させ、5% TCA により反応を停止。*: P<0.01

③ 代謝

体内分布試験[1.(1)②a.]、尿、糞及び呼気中排泄試験[1.(1)④a.]並びに胆汁中排泄試験[1.(1)④b.]で得られた試料を用いて代謝物同定・定量試験が実施された。

呼気、尿、胆汁及び組織中の代謝物は表5に示されている。

呼気中に排泄された放射能は、捕集液のモノエタノールアミンを濃塩酸に滴下し、生じた気体を水酸化バリウムと反応させた結果、放射性の炭酸バリウムが形成されたことから、CO₂が主体(84%TRR以上)であることが示唆された。

尿及び胆汁試料のTLC分析の結果、それぞれ5種類以上の放射性代謝物が検出され、尿中放射能の74.2%TRRを占める主要代謝物はMITCのN-アセチルシステイン抱合体であるメルカプツール酸(M03)と同定された。胆汁中ではMITCのグルタチオン抱合体(M01)が67.9%TRRを占め、微量成分として、尿中の主要代謝物であるM03が2.0%TRR、MITCのシステイン抱合体(M02)が4.2%TRR認められた。

MITCの主な代謝経路は、グルタチオン抱合体(M01)形成の後、システイン抱合体(M02)を経てメルカプツール酸(M03)となって排泄される経路が考えられた。投与されたMITCの56%以上はこの経路によって代謝されと考えられ、組織残留物中の抽出可能な非結合代謝物の主体は、これらMITCのグルタチオン関連抱合体であると考えられた。

その他の代謝経路として、CO₂形成に至る代謝系と未同定の数種類の微量代

謝物の形成にかかわる代謝系が存在し、M01 の腸内細菌代謝産物に由来する可能性も考えられた。（参照 2、4）

表 5 呼気、尿、胆汁及び組織中の代謝物（%TAR）

試料	採取時間	MITC	代謝物
呼気	24 時間	ND	CO ₂ (≥ 5.2)、未同定(≤ 1.0)
	7 日間 ¹⁾	-	CO ₂ (7.1)、未同定(1.4)
尿	6 時間	2.2 ^{#, §}	M03(74.2) [#] 、未同定(25.8) [#]
	7 日間 ²⁾	-	M03(56.0)、未同定(19.5)
胆汁	6 時間	ND	M01(67.9) [#] 、未同定(28.2) [#] 、M02(4.2) [#] 、M03(2.0) [#]
肝臓	3 時間	0.03 [§]	M01+M02+M03(1.9)、M04(1.1)
消化管 ³⁾	24 時間	MITC+M01+M02+M03(1.2)、M04(0.7)	
全体組織 ³⁾	24 時間	MITC+M01+M02+M03(10.1)、M04(5.9)	
	7 日間	MITC+M01+M02+M03(4.0)、M04(2.3)	

¹⁾：24 時間での比率を 7 日間の呼気中排泄率（解析による推定値）に乗じた。

²⁾：6 時間での比率を 7 日間の尿中排泄率に乗じた。

³⁾：肝臓での比率を消化管又は全体組織の分布率に乗じた。

[#]：%TRR [§]：別系での測定結果 -：未分析又は該当しない ND：検出されず。

④ 排泄

a. 尿、糞及び呼気中排泄

Wistar ラット（一群雄 5 匹）に[met-¹⁴C]MITC を 20 mg/kg 体重で単回経口投与し、投与 7 日後までの尿及び糞並びに投与 24 時間後までの呼気を採取して排泄試験が実施された。

尿、糞及び呼気中排泄率は表 6 に示されている。

投与放射能は主に尿中へ排泄され、投与後 7 日の排泄率は尿中に 75.5%TAR、糞中に 2.44%TAR であった。呼気中への排泄は投与後 1 時間で最も多く、24 時間の排泄率は 6.18%TAR であった。（参照 2、4）

表 6 尿、糞及び呼気中排泄率（%TAR）

投与後時間	24 時間	7 日間
尿	70.8	75.5
糞	1.3	2.44
呼気	6.18	8.5 [#]
合計(体外排泄量)	78.3	86.4

[#]：積分法解析による推定値

b. 胆汁中排泄

胆管カニューレを挿入した Wistar ラット（一群雄 5 匹）に[met-¹⁴C]MITC を 20 mg/kg 体重で単回経口投与し、胆汁中排泄試験が実施された。

胆汁への排泄は、投与後 24 時間で 10.6%TAR であった。排泄濃度及び排泄速度ともに投与 0.5～1 時間後に最高となった。（参照 2）

（2）ラット②

Wistar ラット（雄、匹数不明）に MITC を 10 mg 単回経口投与し、尿を採取して代謝物分析を実施した結果、MITC の *N*-アセチルシステイン抱合体であるメルカプツール酸（M03）として排泄されることが示された。（参照 5）

（3）ラット③

SD ラット（一群雌雄各 5 匹）に[met-¹⁴C]MITC を 10 mg/kg 体重で単回経口投与し、動物体内運命試験が実施された。

排泄パターンは雌雄ではほぼ同様であった。投与後 7 日までに放射能は主に尿中に排泄され（81.0%TAR）、その大部分は投与後 24 時間までに回収された。

投与 7 日後の組織中放射能は、甲状腺（約 1.0 µg/g）及び下垂体（約 0.8 µg/g）で高く、肝臓、腎臓、心臓、肺、脾臓、副腎、筋肉及び卵巣では 0.3～0.5 µg/g、精巣、脂肪、眼、脳、骨、消化管、血液、血漿及びカーカスでは 0.1～0.3 µg/g の濃度であった。

投与後 24 時間の尿中には未変化の MITC は検出されず、主な代謝物として M03 が 65%TRR～86%TRR、ほかに 3 種類の極性代謝物が認められた。投与 12 時間後に摘出した肝臓について、水酸化ナトリウムで加熱処理したところ、約 70%TRR がメチルアミン（M05）を主成分とする揮発性物質に変換されたことから、放射能は MITC 又はメルカプツール酸として存在していると考えられた。一方、投与 7 日後の肝臓では、同様の処理で M05 の生成は認められず、MITC 又は抱合体として存在していないと考えられた。各種抽出試験結果から、この時点の放射能は遊離アミノ酸プールには僅かであり、大部分は可溶性及び不溶性タンパクに残留していることが示された。これらのことから、MITC は炭素ユニットにまで完全に代謝され、基礎代謝プールへと取り込まれることが示唆された。（参照 5）

（4）ラット④

SD ラット（一群雌雄各 5 匹）に[iso-¹⁴C]MITC を 4.4 mg/kg 体重（以下 [1.(4)] において「低用量」という。）及び 33 mg/kg 体重（以下 [1.(4)] において「高用量」という。）で単回経口投与後の動物体内運命試験が実施された。また、SD ラット（一群雌雄各 2 匹）に[iso-¹⁴C]MITC を 45 mg/kg 体重で単回経口投与して組織中代謝物分析が行われた。

① 血中濃度推移

血漿中薬物動態学的パラメータは表 7 に示されている。

低用量投与群では、投与後 0.5 時間で $C_{\max}$ に達し、24 時間まで急速に低下した。72 時間以降は漸減したが、雌の方が緩慢であった。高用量投与群においても、投与後 0.5 時間に $C_{\max}$ に達した後 24 時間まで急速に低下した。その後漸減したが、濃度推移は雌雄でほぼ同様であった。（参照 7、8）

表 7 血漿中薬物動態学的パラメータ

投与量	4.4 mg/kg 体重		33 mg/kg 体重	
性別	雄	雌	雄	雌
$T_{\max}$ (hr)	0.5	0.5	0.5	0.5
$C_{\max}$ ($\mu\text{g/g}$)	1.53	1.60	10.6	11.4
$T_{1/2}$ (hr)	73.6	83.7	72.0	70.5
AUC($\mu\text{g} \cdot \text{hr/mL}$)	16.7	24.2	124	155

② 体内分布

投与後 168 時間の主要臓器及び組織における残留放射能濃度は表 8 に示されている。

低用量投与群及び高用量投与群とも、甲状腺、肝臓及び腎臓で比較的高い残留放射能濃度が認められた。（参照 7、8）

表 8 投与後 168 時間の主要臓器及び組織における残留放射能濃度 ($\mu\text{g/g}$)

投与群	雄	雌
4.4 mg/kg 体重	甲状腺(0.248)、肝臓(0.119)、腎臓(0.080)、カーカス(0.079)、血液(0.062)、副腎(0.058)、心臓(0.038)、肺(0.037)、消化管(0.036)、眼(0.034)	甲状腺(0.370)、腎臓(0.137)、肝臓(0.107)、血液(0.094)、カーカス(0.080)、骨髄(<0.078)、肺(0.077)、消化管(0.068)、副腎(0.060)、心臓(0.059)
33 mg/kg 体重	甲状腺(1.58)、肝臓(0.89)、腎臓(0.76)、血液(0.67)、カーカス(0.55)、肺(0.41)、副腎(0.38)、心臓(0.30)、眼(0.29)、消化管(0.25)	甲状腺(4.07)、腎臓(1.57)、肺(1.04)、血液(0.91)、カーカス(0.86)、副腎(0.81)、肝臓(0.65)、骨髄(0.62)、心臓(0.51)、卵巣(0.50)

③ 尿及び組織中代謝物

尿、糞及び呼気中排泄試験[1.(4)④]で得られた尿及び別途組織中代謝物分析用に採取した肝臓及び腎臓を試料として、TLC 分析による代謝物同定・定量試験が実施された。

低用量投与群の投与後 24 時間に排泄された尿中では、雌雄ラットとも代謝物 M03 が最も多く認められ (55.5%TAR~62.2%TAR)、そのほか代謝物 M07 及び M02 がそれぞれ 6.4%TAR~9.3%TAR 及び 4.1%TAR~4.8%TAR 認められた。また、未同定代謝物が 1.7%TAR~4.7%TAR 認められた。高用量投与群においても低用量投与群と類似の代謝パターンであった。

肝臓及び腎臓中の主要代謝物は雌雄とも M02 で 6.4%TRR～21.2%TRR 認められ、また、未同定代謝物が 31.6%TRR～67.0%TRR 認められた。雌雄ラットの肝臓において、M03 が 13.3%TRR～18.3%TRR 認められたが、腎臓では検出されなかった。（参照 7、8）

④ 尿、糞及び呼気中排泄

尿、糞及び呼気中排泄率は表 9 に示されている。

低用量投与群及び高用量投与群とも、80%TAR 以上の放射能が投与後 168 時間以内に尿中へ排泄され、残りの大部分は呼気中から検出された。糞中への排泄は僅かであった。呼気中へ排泄された放射能の大部分は、CO₂ 用トラップから検出された。（参照 7、8）

表 9 尿、糞及び呼気中排泄率 (%TAR)

投与量		4.4 mg/kg 体重		33 mg/kg 体重	
性別		雄	雌	雄	雌
試料	尿	84.4	86.4	87.1	85.6
	糞	2.74	1.45	1.93	1.83
	呼気	MITC	0.95	1.51	0.72
		CO ₂	16.1	14.9	7.32
		COS/ CS ₂	0.05	0.04	0.43
		ケージ洗浄液	0.15	0.07	0.18
	総回収率		107	106	99.4

注) 尿、糞及びケージ洗浄液は投与後 168 時間、呼気トラップは投与後 72 時間までの回収率を示す。

(5) イヌ

ビーグル犬（一群 6 匹：雄 2 匹及び雌 4 匹）に[met-¹⁴C]MITC を 0.5 mg/kg 体重で単回経口投与し、動物体内運命試験が実施された。

血液及び血漿中の放射能濃度は、雌雄でほぼ同様であり、投与 3～6 時間後に C_{max} となった。投与 72 時間以降の血漿中の放射能濃度の減少は、178 時間の T_{1/2} を示した。

投与 7 日後の組織中放射能濃度は、肝臓、次いで甲状腺で高く、CSF 及び骨の濃度が最も低かった。投与 7 日後における体内残留放射能は 16%TAR～25%TAR であった。

投与後 7 日までに、57%TAR～70%TAR の放射能が排泄物中に回収された。主に尿中に排泄され（50%TAR～56%TAR）、糞中への排泄は僅かであった（3%TAR～8%TAR）。ほかに、約 7.1%TAR の放射能が揮発性物質として排泄されたが、¹⁴CO₂ の割合は僅かであった。

尿中代謝物の組成は雌雄でほぼ同様であったが、ラットとは大きく異なった。

(参照 4、5)

2. 植物体内運命試験

(1) トマト

有機物含有量の多い土壌 (Compost soil : 水分 20%、pH 6.8) 4 L を直径 25 cm のデシケーター 4 個にそれぞれ入れ、各デシケーターに $[\text{iso-}^{35}\text{S}]\text{MITC}$ 400 mg を深さ 5 cm のそれぞれ異なる 5 か所に処理し、 $[\text{iso-}^{35}\text{S}]\text{MITC}$ 処理 23 日後、各デシケーターに植物 I、II 及び III 試料としてそれぞれ 4、5 及び 6 週齢のトマト苗 (品種不明) を 1 本ずつ植付け、8、21、30 及び 52 日間栽培後に収穫して、植物体内運命試験が実施された。

植付時 4 及び 5 週齢のトマトは根、茎及び葉に、6 週齢のトマトは根、茎、葉、茎頂端・脇芽及び花・花柄の各部位に分けて試料とした。また、 $[\text{iso-}^{35}\text{S}]\text{MITC}$ 処理後、デシケーターの蓋を閉じ、21 日後まで中の空気を一定の速度で吸引し、処理 22 日後にデシケーターの蓋を開き、土壌中の MITC を除くために攪拌し、蓋をした後、数時間空気を吸引して放射エネルギーを測定した。

表 10 にトマト各部位における放射能分布が示されている。

放射能は速やかに植物体に吸収され、植付 8 日後には植物 III 試料で 189 μg に達し、主に葉・茎に分布した。植付 30 日後の植物 III 試料では土壌処理放射能の約 1% に相当する 1,680 μg が検出され、主に葉に分布した。週齢の若い植物 I 及び II と比較して植物 III における放射能検出量が高い傾向を示した。

表 11 に植物 III 試料各部位における放射性画分の分布が示されている。

30 日間及び 52 日間栽培した植物 III 試料の各部位において、主要な放射能は硫酸塩画分に認められた。なお、別途検討した水蒸気蒸留及びアンモニア飽和溶液による捕集画分 (主として MITC として結合したイオウ) には、最高 0.15 mg/kg のごく微量の放射能が検出されたのみであった。

土壌処理後吸引により捕集された試料では、 $[\text{iso-}^{35}\text{S}]\text{MITC}$ は処理 22 日後までに 35.8% TAR ~ 39.1% TAR が空気中に揮散した。また、トマト収穫後に各デシケーターから土壌を採取して残留放射能を分析した結果、大部分は MITC の酸化により生成した硫酸塩として存在することが示唆された。

以上のことから、 $[\text{iso-}^{35}\text{S}]\text{MITC}$ はトマトの根から未変化の MITC ではなく、硫酸塩として吸収されたものと考えられた。吸収された硫酸塩は還元されチオール体となり、最終的に含硫アミノ酸の生成に利用されるものと考えられた。

(参照 2)

表 10 トマト各部位における放射能分布 (μg) #

栽培日数 ([iso- ³⁵ S]MITC 処理後日数)		8 (31)	21 (44)	30 (53)	52 (75)
植物 I	葉	21.6 [6]	17.7 [5]	94.7 [23]	193 [36]
	茎	2.9 [1.4]	11.1 [4]	24.8 [6]	
	根	9 [8]	5.5 [5]	7.9 [8]	17.8[49]##
	合計	33.5	34.3	128	211
植物 II	葉	50.3 [7]	99 [66]##	500 [50]	491 [9]
	茎	8.5 [1]	21.8 [5]	92.5 [6]	
	根	17.3 [5]	14.5 [5]	25.2 [8]	
	合計	76.1	135	618	491
植物 III	花	-	-	31 [61]	9 [17]
	茎頂端	7.9 [10]	45.8 [18]	142 [13]	65 [14]
	葉	57.0 [7]	809 [66]	1,290 [32]	664[27]
	茎	83.5 [6]	84.9 [5]	175 [6]	283[8]
	根	40.3 [6]	20.8 [5]	40.0 [9]	48.2[10]
	合計	189	961	1,680	1,070

: [iso-³⁵S]MITC における ³⁵S のモル重量%より換算した値 ## : 概算値 (正確に秤量できなかったため) - : 試料なし [] : 生重量 g

植物 I : 植付時 4 週齢 植物 II : 植付時 5 週齢 植物 III : 植付時 6 週齢

表 11 植物III試料各部位における放射性画分の分布 (%TRR)

栽培日数(日)	30 ([iso- ³⁵ S]MITC 処理後 53 日)			52 ([iso- ³⁵ S]MITC 処理後 75 日)		
放射性 画分	硫酸塩	可溶性・ 有機物結 合性イオ ウ	不溶性・ 結合性 イオウ	硫酸塩	可溶性・ 有機物結 合性イオ ウ	不溶性・ 結合性 イオウ
花・花柄	-	-	-	90	約 7	約 3
茎頂端	65	17	18	81	約 6	13
葉	85	11	4	72	0	28
茎	85	11	4	65	30	5
根	56	21	23	77	11	12

- : 試料なし

(2) だいこん

最大容水量の 40%に水分を調整したドイツ標準土壌 2.2 (壤質砂土) 10 kg に、[met-¹⁴C]MITC 製剤 1.07 g を処理した (土壌処理濃度 107 mg/kg)。処理土壌は 0℃まで冷却し、各 5 L 容三角フラスコに処理土壌 2 kg を入れた後、フラスコを融解して封入し、25℃の暗条件下で 45 日間培養した。培養終了後にフラスコを開封して揮発性物質を除去し、68 日間開放条件でガス抜きを行い、だいこん (品種不明) を播種して 68 日後に葉部及び根部を全て採取し、植物体内運命

試験が実施された。

葉部に認められた残留放射能濃度は 4.0 mg/kg であり、そのうちの 55%が抽出された。抽出性放射能は、TLC でのクロマトグラムから極めて極性の高い物質で構成されていると考えられた。根部における残留放射能濃度は 2.4 mg/kg であった。残留放射能について各種抽出を行ったところ、6M 塩酸による還流抽出で最も多くの放射能（約 83%TRR～95%TRR）が抽出された。また、根部放射能の天然成分における分布を検討した結果、放射能の大部分はタンパク質となったアミノ酸で構成されていることが示唆された。

処理土壤中の残留放射能を測定した結果、メタノール/アンモニア混合液及び水酸化ナトリウムによる抽出性放射能及び非抽出性放射能の合計は、フラスコ開封 32 日及び 68 日後（播種時）で約 75 mg/kg であり、開封 136 日後（採取時）には約 50 mg/kg に減少した。非抽出性の放射能は経時的に増加した。なお、播種時における土壤中の未変化の MITC 濃度は 1～2 mg/kg であった。（参照 2）

（３）トマト、レタス及びからしな

① *In vitro* 代謝試験

土壌くん蒸試験 [2. (3) ③] の対照試験群で採取したトマト（品種：First in the field）及びレタス（品種：Crival 及び Ravel RZ）の葉から作成した直径 10 mm のリーフディスクをシャーレの蒸留水 20 mL に浮かべ、[met-¹⁴C]MITC を添加して、19～22℃、恒明条件下で 48 時間培養し *in vitro* 代謝試験が実施された。

トマト及びレタスのリーフディスクにおける *in vitro* 代謝物は表 12 に示されている。

メタノール抽出性放射能の TLC による分析の結果、未変化の MITC は僅かであり、多数の極性代謝物が認められた。トマト及びレタスとも、代謝物として M01 及び M02 が 11.5%TRR～23.5%TRR 検出された。また、レタスではアスパラギン酸が認められ（12.5%TRR）、MITC の酸化分解で生成した CO₂ が固定され、L-アスパラギン酸プールに取り込まれたものと考えられた。未同定物質（36.1%TRR～47.6%TRR）は、代謝物 M01 のグリシン残基が失われた MITC の S-グルタチオン代謝物と推定され、この不安定な代謝物（中間体）がその後グルタミン酸残基を失い、より安定な代謝物 M02 へと変化したものと考えられた。

メタノール抽出残渣の塩酸加水分解物中において、共有結合付加体がトマト及びレタスでそれぞれ 2.9%TRR (0.55 mg/kg) 及び 3.0%TRR (0.40 mg/kg) 認められた。したがって、*in vitro* 条件で植物が MITC に直接ばく露された場合、未変化の MITC はメタノール不溶性の高分子と結合し、共有結合付加体を形成すると考えられた。

表 12 トマト及びレタスのリーフディスクにおける *in vitro* 代謝物

代謝物		トマト		レタス	
		mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
メタノール抽出性放射能	総抽出放射能	16.1	84.9	11.2	83.6
	MITC	0.15	0.8	0.06	<0.01
	M01	2.73	14.4	3.13	23.5
	M02	4.19	22.1	1.55	11.5
	アスパラギン酸	-	-	1.68	12.5
	未同定物質	8.99	47.6	4.81	36.1
メタノール非抽出性放射能 (メタノール抽出残渣)	総非抽出性放射能	2.86	15.1	2.21	16.4
	6M HCl 加水分解後の抽出物 (#を除く)	2.05	10.8	1.48	11.0
	MITC 共有結合付加体#	0.55	2.9	0.40	3.0
	6M HCl 加水分解後の非抽出物	0.26	1.4	0.33	2.4
総放射能		18.9	100	13.4	100

- : 未検出

: 加水分解後に生成するメチルアミンを *N*-メチル-*N*²フェニルチオウレアに誘導体化した放射能

② トマト苗の根部を介した吸収移行性

トマト苗の根部をガラスバイアル内の水 (9 mL) に浸漬させ、茎はバイアル内のシリコン潤滑油に埋め込んで根部培地からの揮発性物質による汚染を避けた。[met-¹⁴C]MITC を根部培地濃度 0.34 mg/L となるように処理し、葉部放射能を処理後 48 時間まで経時的に測定した。

その結果、トマト苗葉部の放射能は経時的に増加し、浸漬終了時の残留値は約 3.1 mg/kg であった。浸漬終了時の葉部放射能の 95.7%TRR が抽出されたが、未変化の MITC、代謝物 M01 及び M02 は認められず、抽出放射能は未同定の極性成分で構成されていた。

③ 土壌くん蒸試験

ガラス製培養チャンバーに砂壤土を層長 30 cm となるように充填した後、[met-¹⁴C]MITC 製剤を土壌中の有効成分濃度 11.1 mg/kg となるように処理して覆土した。密栓した容器全体を銀箔で覆い、19±1℃で土壌を 7 日間くん蒸（培養）した。

くん蒸後、ガス抜き処理として培養チャンバーの空気吸気口及び排気口を開放し、水分及び二酸化炭素を除去した空気を計 28 日間通気させた。排気口には揮発性物質を捕集する捕集液を接続した。ガス抜きは計 28 日間で終了した。

土壌くん蒸試験における試験群の構成は表 13 に示されている。

表 13 土壌くん蒸試験における試験群の構成

試験群	供試作物		栽培条件(ガラス温室栽培)	植物採取日	採取部位
くん蒸土壌での栽培試験	からしな種子		試験容器内のくん蒸土壌に作物を播種又は植付け	播種後 36 日(試験 36 日)	茎葉
	レタス種子			播種後 36、43、50、57、70 日	茎葉
	トマト苗	2 葉期		植付け後 36 日(試験 36 日)	茎葉
		4 葉期	播種又は植付け後 36 日に植物を採取したくん蒸土壌を混合し、4 葉期苗を植付け	4 葉期苗植付け後 128 日(試験 164 日)	茎葉、果実
くん蒸土壌からの揮発性物質ばく露試験	トマト苗	2 葉期	無処理土壌に 2 葉期苗を植付け、くん蒸土壌と同一タンク内に設置、栽培	植付け後 36 日(試験 36 日)	茎葉
対照試験	からしな種子		無処理土壌に供試作物を播種又は植付け	播種後 36 日(試験 36 日)	茎葉
	レタス種子			播種後 36 日(試験 36 日)	茎葉
	トマト苗(2 葉期)			播種後 70 日(試験 70 日)	
				植付け後 36 日(試験 36 日)	
				成熟期	茎葉、果実

a. ガス抜き後のくん蒸土壌中放射能

ガス抜き後のくん蒸土壌中放射能は表 14 に示されている。

ガス抜き直後に作付け（播種又は植付け）を行った試験 0 日では、くん蒸土壌に約 6.4 mg/kg の放射能が認められたが、未変化の MITC は 0.090 mg/kg (1.4%TAR) に過ぎず、大部分は土壌有機画分への結合残留物であった。

試験 36 日及び 164 日後では、無機化及び $^{14}\text{CO}_2$ の生成（放出）が進行したことにより、土壌中放射能はそれぞれ約 1.7 mg/kg 及び約 1.3 mg/kg となった。土壌中に未変化の MITC は認められず、試験 0 日と同様に結合残留物が総残留放射能の主成分であった。

くん蒸土壌からの揮発性物質は、ガス抜き期間中で累計 20.3%TAR が放出され、内訳は $^{14}\text{CO}_2$ が 5.6%TAR、MITC ではない単一有機化合物が 14.7%TAR であった。播種又は植付け後は無機化が促進され、試験 36 日の時点で累計 56.0%TAR が揮発性放射能として回収され、その内訳は $^{14}\text{CO}_2$ が 39.1%TAR、有機物が 16.9%TAR であった。播種又は植付け後に放出された未変化の MITC は認められなかった。

表 14 ガス抜き後のくん蒸土壌中放射能

ガス抜き後経過日数 (作付け後日数)		メタノール画分		メタノール /水/ アンモニア 画分	結合 残留物	総残留 放射能	%TAR
		画分中 総放射能	未変化 MITC				
0 (試験 0 日)	mg/kg	0.318	0.090	NA	6.04	6.36	54.7
	%TRR	5.0	1.4 [#]	NA	95.0	100	
36 (試験 36 日)	mg/kg	0.102	ND	0.068	1.52	1.69	NA
	%TRR	6.1	ND	4.0	89.9	100	
164 (試験 164 日)	mg/kg	0.014	ND	0.025	1.22	1.26	11.8
	%TRR	1.1	ND	2.0	90.9	100	

[#]: 未変化 MITC のみ %TAR を示す ND: 検出されず NA: 未測定

b. 植物体内の残留放射能

植物体内における残留放射能は表 15 に示されている。

くん蒸土壌での播種又は植付け 36 日後の残留放射能量は、レタス茎葉で約 1.3 mg/kg と低かったが、からしな茎葉及びトマト茎葉ではそれぞれ約 3.3 mg/kg 及び 2.9 mg/kg であった。レタス茎葉における放射能残留は経時的に減少した。

トマト茎葉では、栽培環境により残留放射能に差が認められた。茎葉の残留放射能は、土壌中放射能及び土壌からの揮発性放射能にばく露させた場合（くん蒸土壌での栽培）約 2.9 mg/kg であったが、くん蒸土壌からの揮発性物質のみにばく露させた場合には約 4.8 mg/kg と高かった。この栽培環境による差から、揮発性物質の吸収（同化）が植物における主な吸収経路であると考えられ、土壌くん蒸後に生成した $^{14}\text{CO}_2$ が植物体内放射能の主要な供給源であることが示唆された。

表 15 植物体内における残留放射能 (mg/kg)

播種 (植付)後 経過日数	からしな (茎葉)		レタス (茎葉)		トマト					
	対照 試験	くん蒸 土壌で の栽培 試験	対照 試験	くん蒸 土壌で の栽培 試験	対照試験		くん蒸土壌で の栽培試験		くん蒸土壌か らの揮発性物 質ばく露試験	
					茎葉	果実	茎葉	果実	茎葉	果実
36 日	0.007	3.29	0.004	1.27	0.002	-	2.91	-	4.83	-
50 日	-	-	-	0.554	-	-	-	-	-	-
70 日	-	-	0.003	0.189	-	-	-	-	-	-
成熟期	-	-	-	-	0.003	0.002	-	-	-	-
128 日 [#]	-	-	-	-	-	-	0.227	0.033	-	-

-: 測定せず [#]: 試験第 36 日（ガス抜き後第 36 日）にトマト 4 葉期苗を植付

c. トマト及びレタスにおける代謝物分析

播種又は植付け 36 日後（試験第 36 日）に採取したトマト及びレタス茎葉では、くん蒸土壌での栽培試験で 41.5%TRR（トマト茎葉）～54.7%TRR（レタス茎葉）、くん蒸土壌からの揮発物質ばく露試験で 32.8%TRR（トマト茎葉）がそれぞれメタノール抽出されたが、抽出放射能には未変化の MITC 及び代謝物 M01 又は M02 は認められず、未変化の MITC は植物体マトリックスに取り込まれなかったと考えられた。

メタノール抽出残渣の加水分解後、メタノール不溶性の高分子共有結合付加体がトマトの茎葉で 0.026 mg/kg、果実で 0.0003 mg/kg（くん蒸土壌での栽培試験）及び茎葉で 0.083 mg/kg（くん蒸土壌からの揮発性物質ばく露試験）認められたが、この値は *in vitro* 代謝試験 [2.(3)①] で MITC を直接リーフディスクにばく露させた値と比較して低かった。また、栽培期間に MITC の土壌からの放出がなかったことから、揮発性物質ばく露試験の値は未変化の MITC ではなくその揮発性分解物に起因すると考えられた。

d. レタス呼吸試験

70 日間に渡ってくん蒸土壌で栽培したレタス茎葉は暗所で $^{14}\text{CO}_2$ を放出した。48 時間の呼吸試験期間中、4.4%TRR が $^{14}\text{CO}_2$ として放出され、揮発性物質としての放出は 0.4%TRR であった。[met- ^{14}C]MITC に由来する放射能は、炭水化物として植物体の炭素プールに存在していると考えられた。

e. 残留放射能の特徴付け

In vitro 代謝試験 [2.(3)①] において[met- ^{14}C]MITC に 48 時間ばく露させたトマトリーフディスクの生化学的分画では、放射能の大部分が低分子量可溶性画分に存在した。一方、植付け 36 日後に採取したトマト茎葉（くん蒸土壌での栽培試験）では可溶性画分及び不溶性画分に同程度分布し、可溶性画分の放射能は糖で構成される中性画分に、不溶性画分の放射能は水溶性多糖類画分に多く存在していた。

くん蒸土壌で栽培したレタス及びトマト茎葉並びにくん蒸土壌からの揮発性物質にばく露させたトマト茎葉の残留放射能が TLE 及び TLC で分析された。

表 16 に可溶性低分子画分における放射性成分が示されている。

レタス茎葉では放射性グルタミン酸、トマト茎葉では放射性グルタミン酸及びアスパラギン酸が同定された。

表 可溶性低分子画分における放射性成分

試験		くん蒸土壌での栽培試験				くん蒸土壌からの揮発性物質ばく露試験	
植物部位		レタス茎葉				トマト茎葉	
播種又は植付後日数		播種	日後	播種	日後	植付	日後
グルタミン酸	—	—	—	微量	—	—	—
アスパラギン酸	—	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—	—

: 検出されず

以上のことから、くん蒸土壌で栽培した植物体での残留成分は、天然物質、特に炭水化物及びアミノ酸（アスパラギン酸及びグルタミン酸）で構成され、植物炭素プール及びアミノ酸プールに取り込まれると考えられた。（参照）

3. 土壌中運命試験

(1) 好氣的土壌中運命試験

砂壤土（ドイツ）を最大容水量の に調製し、インキュベーションフラスコに移して密栓、℃で 日間保管した後、 のエタノール溶液をシリンジにて 土壌となるように処理し、フラスコに揮発性物質の捕集装置を接続し、℃の暗所で最長 日間インキュベートして、好氣的土壌中運命試験が実施された。

好氣的土壌における放射能分布は表 に、捕集液及び土壌抽出物における放射性成分は表 に示されている。

土壌から抽出される放射能は、処理 日後の から処理 日後には と急速に減少した。これに対し、処理 日後には揮発性物質として各捕集液中に認められる放射能が 認められた。捕集液中の放射能の大部分は、ベンジルアミントラップに認められた。また、 は処理 日後に最高値 を示した後、約 の水準で推移した。

ベンジルアミン捕集液及びソックスレー抽出物中の放射性成分は、いずれも未変化の であった。エタノール及び水抽出物中の放射能の大部分は未変化の であり、未知成分の 及び が認められたが、これらは標識体の不純物と考えられた。

好氣的土壌中における未変化の の半減期は 日と算出された。の分解物は のみであった。（参照 2）

表 17 好氣的土壤における放射能分布 (%TAR)

経過 日数	捕集液中の放射能					土壌抽出物中の放射能				結合 残留	合計
	ベンジ ルアミ ン ¹⁾	水酸化 カリウ ム ²⁾	硫酸	エチレ ングリ コール	計	エタノ ール	水	ソックス レー	計		
0	ND	ND	ND	ND	-	73.6	11.6	8.67	94.0	1.33	95.3
1	71.7	0.02	ND	ND	71.7	7.70	2.11	5.82	15.6	4.81	92.2
3	85.9	0.57	ND	ND	86.5	0.51	0.81	1.70	3.02	5.80	95.3
7	91.3	4.96	ND	0.02	96.2	-	0.62	0.65	1.27	3.55	101
10	80.2	3.75	ND	ND	84.0	0.10	-	NA	0.10	6.45	90.5
14	84.8	4.00	ND	ND	88.8	NA	NA	NA	-	NA	88.8

¹⁾ : 高揮発性の MITC を無揮発性の N-ベンジル-N'-メチルチオ尿素に変換 ²⁾ : CO₂ 捕集

ND : 検出限界 (0.01%) 以下 NA : 未分析 - : 未検出又は算定不能

表 18 捕集液及び土壌抽出物における放射性成分 (%TAR)

試料		ベンジルア ミン捕集液	エタノール抽出物			水抽出物			ソックス レー 抽出物	合計
放射性 成分		MITC	MITC	U1	U2	MITC	U1	U2	MITC	MITC
経過 日数	0	-	69.4	0.55	1.15	11.2	0.25	0.15	8.65	89.3
	1	71.7	5.55	0.65	0.60	1.55	0.30	0.15	5.80	84.6
	2	65.9	3.55	0.20	0.20	1.10	0.40	<0.10	4.40	75.0
	4	95.4	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	0.20	-	0.95	96.3
	7	91.3	-	-	-	-	-	-	0.65	91.9

U1、U2 : 未知成分 - : 未分析

(2) 土壌吸着試験

4 種類の国内土壌 [埴壌土 (北海道)、埴壌土 (福島)、砂質埴壌土 (岡山) 及び砂土 (宮崎)] に MITC を添加して、土壌吸着試験が実施された。

Freundlich の吸着係数 K_F^{ads} は 0.32~0.68、有機炭素含有率により補正した吸着係数 $K_F^{\text{ads}}_{\text{OC}}$ は 27~46 と算出された。(参照 2)

4. 水中運命試験

(1) 加水分解試験①

pH 5.0 (酢酸緩衝液)、pH 7.0 (リン酸緩衝液) 及び pH 9.0 (ホウ酸緩衝液) の各滅菌緩衝液に、[met-¹⁴C]MITC を 76.4 µg/mL となるように添加した後、25±0.1℃の暗所で培養し、経時的に試験溶液を採取して加水分解試験が実施された。

各試験溶液における加水分解物の経時的推移は表 19 に示されている。

いずれの試験溶液においても主な分解物は M05 であった。また、pH 9.0 に

においては分解物 M06 が検出された。未変化の MITC は、推定半減期が pH 5.0 で 85 時間、pH 7.0 で 490 時間、pH 9.0 で 110 時間であった。（参照 2）

表 19 各試験溶液における加水分解物の経時的推移（%TAR）

緩衝液 pH		5.0			7.0			9.0		
時間(hr)		0.16	76.2	338	0.75	268	792	0.25	96.6	313
MITC		94.5	44.5	5.6	96.6	68.1	30.8	94.6	37.7	12.2
分解物	M05	3.9	47.3	83.0	3.2	16.8	49.3	0.8	24.9	49.2
	M06	-	-	-	-	-	-	0.9	24.8	23.3
	その他	0.7	1.7	1.1	0.2	2.2	2.5	0.4	3.5	1.8
カラム吸着		0.9	2.7	5.7	-	5.1	1.1	3.3	5.9	8.4
合計		100	96.2	95.4	100	92.2	83.7	100	96.8	94.9

-: 検出されず

（２）加水分解試験②

pH 4.0（酢酸緩衝液）、pH 7.0（リン酸緩衝液）及び pH 9.0（ホウ酸緩衝液）の各緩衝液を用いて、非標識 MITC が 50.0 µg/mL となるように滅菌試験溶液を調製した後、25 及び 35℃の暗所でインキュベートし、経時的に試験溶液を採取して加水分解試験が実施された。

MITC の加水分解速度定数及び推定半減期は表 20 に示されている。

MITC は 25℃の各 pH において約 7～70 日の半減期で加水分解された。35℃ではいずれの pH でも半減期は短くなり、温度の影響を受けることが示唆された。（参照 7）

表 20 MITC の加水分解速度定数及び推定半減期

pH	試験温度 (℃)	加水分解速度定数 (hr ⁻¹)	推定半減期 (日)
4.0	25	4.82×10^{-4}	60.0
	35	1.57×10^{-3}	18.4
7.0	25	4.14×10^{-4}	69.8
	35	1.46×10^{-3}	19.8
9.0	25	4.20×10^{-3}	6.87
	35	1.59×10^{-2}	1.81

（３）水中光分解試験①

滅菌蒸留水及び滅菌自然水〔池水（米国）〕に、[met-¹⁴C]MITC を 5 µg/mL となるように添加した後、最長 10 日間、25±2℃でキセノンランプを用いた光源（光強度：29.7 W/m²、測定波長：フィルターにより 290 nm より短波長の光をカット）を照射して水中光分解試験が実施された。なお、光照射区とともに

対照として非照射区が設定された。

各試験系における分解物の経時的推移が表 21 に、MITC の光分解速度が表 22 に示されている。

滅菌蒸留水及び滅菌自然水における MITC は、光照射 10 日後にそれぞれ 69.6%TAR 及び 75.3%TAR に減少した。滅菌蒸留水及び滅菌自然水とも主要光分解物として M05 が認められ、その生成量は経時的に緩やかに増加した。ほか、光照射において分解物はほとんど認められなかった。暗対照試料における分解物は認められなかった。

MITC の推定半減期は、蒸留水で 18.7 日（東京春期太陽光換算：71.4 日）及び自然水で 24.9 日（東京春期太陽光換算：95.1 日）であった。（参照 2）

表 21 各試験系における分解物の経時的推移（%TAR）

試験系		経過時間 (日)	MITC	M05	未同定分解物	計
照射試料	滅菌蒸留水	0	100	ND	ND	100
		2	94.1	5.0	ND	99.1
		6	79.1	18.9	0.7	98.7
		10	69.6	29.9	1.7	101
	滅菌自然水	0	99.0	ND	ND	99.0
		2	94.4	3.8	ND	98.2
		6	82.5	15.6	1.4	99.5
		10	75.3	22.5	3.0	101
暗対照試料	滅菌蒸留水	0	100	ND	ND	100
		6	99.4	ND	ND	99.4
		10	98.7	ND	ND	98.7
	滅菌自然水	0	99.0	ND	ND	99.0
		6	101	ND	ND	101
		10	101	ND	ND	101

ND：検出されず

表 22 MITC の光分解速度

試験系	DT ₅₀ (日)		DT ₉₀ (日)	
	光照射	春期太陽光 (東京、4～6月)	光照射	春季太陽光 (東京、4～6月)
蒸留水	18.7	71.4	62.2	238
自然水	24.9	95.1	82.8	316

（４）水中光分解試験②

滅菌自然水〔河川水（茨城）〕及び滅菌蒸留水に、MITC を 5 µg/mL となるように添加した後、14 日間、平均 25.0℃でキセノン光（光強度：37.0 W/m²、

測定波長：290 nm より短波長の光をカット）を照射して水中光分解試験が実施された。

表 23 に MITC の推定半減期が示されている。

MITC は河川水中では緩やかに光分解されることが示唆された。（参照 7）

表 23 MITC の推定半減期

試験系		推定半減期(日)
河川水	光照射	28.1
	暗所対照	42.0
蒸留水	光照射	60.8
	暗所対照	64.2

5. 土壌残留試験

火山灰土壌土（茨城）及び沖積砂土壌土（兵庫）を用いて、MITC を分析対象化合物とした土壌残留試験（ほ場・容器内）が実施された。結果は表 24 に示されている。（参照 2）

表 24 土壌残留試験成績

試験	処理量	土壌	推定半減期
			MITC
ほ場試験	120 kg ai/ha [#] (MITC 換算量： 110 kg/ha) 土壌注入 1 回処理 (7 日後ガス抜き)	火山灰土・壤土	35.7 日
		沖積土・砂壤土	48.6 日
容器内試験	112 mg/kg	火山灰土・壤土	3.5 時間
		沖積土砂壤土	4 時間
	95 mg/kg	火山灰土・壤土	11.5 時間
		沖積土・砂壤土	2.5 時間

[#]：油剤（30.0%）を使用した。

6. 作物残留試験

国内において野菜等を用いて、MITC 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。MITC の最大残留値は、処理 197 日後に収穫されたやまのいも（塊茎）の 0.062 mg/kg であった。（参照 2）

7. 一般薬理試験

MITC のマウス、モルモット、ウサギ及びネコを用いた一般薬理試験が実施された。結果は表 25 に示されている。（参照 2）

表 25 一般薬理試験

試験の種類		動物種	動物数 ／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	ddY マウス (Irwin 法)	雄 5 匹	0、10、 30、100 (経口)	10	30	30 mg/kg 体重 以上で反応 性・反射の亢 進、過敏等 100 mg/kg 体 重で体温低 下、摂食不 良、腹臥姿 勢、異常行 動・歩行、呼 吸不整、立 毛、苦悶反 応、振戦等 100 mg/kg 体 重で死亡例(4 例)
		日本白色種 ウサギ [#]			10	30	30 mg/kg 体重 以上で体温低 下、姿勢異 常、呼吸促進 100 mg/kg 体 重で自発運 動・反応性減 少、粗大呼 吸、筋弛緩、 血色不良、流 涙、虹彩赤化 100 mg/kg 体 重で死亡例(全 例)

試験の種類		動物種	動物数 ／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
自律神経・平滑筋系	摘出回腸の自動運動に対する作用	日本白色種ウサギ	雄 3 匹	3.8×10^{-8} 3.8×10^{-7} 3.8×10^{-6} 3.8×10^{-5} g/mL (添加)	3.8×10^{-8} g/mL	3.8×10^{-7} g/mL	回腸の収縮抑制
	摘出回腸のアゴニスト収縮に対する作用	Hartley モルモット	雄 5 匹	3.8×10^{-7} 3.8×10^{-6} 3.8×10^{-5} g/mL (添加)	アセチルコリン収縮		アセチルコリン収縮：軽度抑制 ヒスタミン収縮：影響なし 塩化バリウム収縮：抑制、後に亢進傾向
					3.8×10^{-6}	3.8×10^{-5}	
					ヒスタミン収縮		
					3.8×10^{-5}	-	
塩化バリウム収縮		3.8×10^{-6}	3.8×10^{-5}				
	炭末輸送能に対する作用	ddY マウス	雄 10 匹	0、10、 30、100 (経口)	30	100	炭末輸送能の抑制
血液	血液凝固に及ぼす影響	ddY マウス	雄 6 匹	0、10、 30、100 (経口)	100	-	影響なし
	溶血に及ぼす影響	日本白色種ウサギ	雄 3 匹	76、760、 7,600 (<i>in vitro</i>)	760	7,600	溶血
呼吸・循環器系	呼吸数 血圧 心拍数 心電図	雑種 ネコ (麻酔下)	雄 3 匹	100 (経口)	-	100	血圧：一過性に上昇し、その後下降 心電図：QRS 電位低下 呼吸数：減少 心拍数：90 分後まで増加、124～127 分後に呼吸停止の後死亡

注) 経口投与に使用した溶媒：ゴマ油

-：最大無作用量又は最小作用量は設定されず

#：10 mg/kg 体重で一過性の体温低下（1 例のみ）が認められたが毒性影響ではないと判断した。

8. 急性毒性試験

MITC 原体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 26 に示されている。（参照 2、4、5、7）

表 26 急性毒性試験概要（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	Donryu ラット 雄 10 匹	175		活動性亢進、流涙、鼻汁が著明 高用量群で多数例に痙攣及び眼出血 133 mg/kg 体重以上で死亡例
経口	Donryu ラット 雌 10 匹		72	腹ばい及び摂餌量減少 63 mg/kg 体重以上で死亡例
経口	Wistar ラット 雌雄各 5 匹	約 163	約 147	雌雄で呼吸困難、鎮静、よろめき歩行、不全麻痺、攣縮、立毛、脱水症状、流涎及び一般状態の悪化、体重増加抑制 剖検所見において、雌雄の死亡動物で全身性うっ血 生存動物では、68.1 mg/kg 体重で前胃に軽度の腹腔内癒着、100 及び 147 mg/kg 体重で前胃壁の肥厚及び腹腔内癒着 雌雄：147 mg/kg 体重以上で死亡例
経口	dd マウス 雄 10 匹	90		活動性亢進、流涙、鼻汁、痙攣及び眼出血 59 mg/kg 体重以上で死亡例
経口	dd マウス 雌 10 匹		104	腹ばい 83 mg/kg 体重以上で死亡例
経口	NMRI マウス 雌雄各 5 匹	約 120	約 100	雌雄で呼吸困難、鎮静、異常姿勢、よろめき歩行、振戦、攣縮、立毛及び一般状態の悪化 さらに雄で痙攣歩行、雌で不全麻痺及び脱水症状 剖検所見において、雌雄の死亡動物で全身性うっ血 生存動物では、100 mg/kg 体重(雄 4 例、雌 3 例)で胃腸管、脾臓及び腹膜の腹腔内癒着 雌雄：100 mg/kg 体重以上で死亡例
経皮	Donryu ラット 雄 10 匹	2,780		活動性亢進、流涙、流涎、角膜の白濁及び眼出血 2,123 mg/kg 体重以上で死亡例
経皮	dd マウス 雄 10 匹	1,870		活動性亢進、流涙、流涎、角膜の白濁及び眼出血 1,118 mg/kg 体重以上で死亡例
経皮	Wistar ラット 雌雄各 5 匹	約 1,000	1,930	雌雄で呼吸困難、鎮静、よろめき歩行、振戦及び一般状態の悪化 剖検所見において、死亡動物に全身性うっ血及び腺胃に出血性潰瘍 投与部位に紅斑、浮腫及び痂皮形成 雌雄：1,000 mg/kg 体重以上で死亡例
腹腔内	Donryu ラット 雌雄各 10 匹	54	56	活動低下、腹ばい、ケージ内動き回り、強直性痙攣及び流涎 雌雄：48 mg/kg 体重以上で死亡例

投与経路	動物種	LD ₅₀ (mg/kg 体重)		観察された症状
		雄	雌	
腹腔内	dd マウス 雌雄各 10 匹	82	89	活動低下、ケージ内動き回り、強直性痙攣、流涎及び流涙 雌雄：70 mg/kg 体重以上で死亡例
吸入	SD ラット 雌雄各 5 匹	LC ₅₀ (mg/L)		活動亢進の後、眼刺激、呼吸困難、活動低下、痙攣及び体重減少、軽～中度の肺うっ血、肺出血域及び肝性変化、胃及び小腸のガス膨満及び肺比重量増加(死亡動物) 雌雄：1.5 mg/L 以上で死亡例
		1.9	1.9	

注) 経口、皮下及び腹腔内投与：オリーブ油に溶解して投与。経皮投与：キシレンに溶解して刈り毛した背部皮膚に塗布。吸入投与：検体蒸気（濃度 0.6～3.1 mg/L）により 1 時間全身ばく露。
/: 該当なし

9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

ウサギ（系統不明）を用いた眼刺激性試験が実施された。その結果、眼に対する刺激性が認められた。

NZW ウサギを用いた皮膚刺激性試験が実施された。その結果、皮膚に対する中等度から重度の刺激性が認められた。

Pirbright White 及び Hartley モルモットを用いた皮膚感作性試験（Maximization 法）が実施され、弱い皮膚感作性が認められた。また、Hartley モルモットを用いた皮膚感作性試験（Maximization 法）が実施された結果、強い紅斑及び浮腫が全例に認められ、感作性は陽性であった。（参照 2、4、5、15、16）

10. 亜急性毒性試験

(1) 90 日間亜急性毒性試験（ラット）①

Wistar ラット（一群雌雄各 12 匹）を用いた強制経口投与（原体：0、2、10 及び 40 mg/kg 体重/日）による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 27 に示されている。

本試験において、10 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で前胃壁肥厚等が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 2 mg/kg 体重/日であると考えられた。（参照 2、4、5）

表 27 90 日間亜急性毒性試験（ラット）①で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
40 mg/kg 体重/日	・運動抑制(投与 3 週以降) ・死亡(4 例：投与 5 週以降) ・体重増加抑制及び摂餌量減少 ・Neu 増加 ・Lym 減少 ・副腎絶対及び比重量²増加 ・前胃穿孔性潰瘍	・運動抑制(投与 3 週以降) ・死亡(4 例：投与 5 週以降) ・体重増加抑制 ・Alb 及び ChE 減少 ・前胃穿孔性潰瘍
10 mg/kg 体重/日以上	・Glu 増加 ・前胃壁肥厚^{a)} ・肝中心静脈及び小葉間血管周囲の小円形細胞浸潤	・肝中心静脈及び小葉間血管周囲の小円形細胞浸潤 ・前胃壁肥厚^{a)}
2 mg/kg 体重/日	毒性所見なし	毒性所見なし

a)：粘膜上皮及び角化層の過形成を特徴とする。

(2) 90 日間亜急性毒性試験（ラット）②

Wistar ラット（一群雌雄各 10 匹）を用いた強制経口投与（原体：0、5、10 及び 20 mg/kg 体重/日）による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 28 に示されている。

本試験において、20 mg/kg 体重/日投与群の雄で WBC 及び Neu 増加等、同投与群の雌で肝うっ血が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 10 mg/kg 体重/日であると考えられた。（参照 2、4、5）

表 28 90 日間亜急性毒性試験（ラット）②で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
20 mg/kg 体重/日	・WBC 及び Neu 増加 ・Lym 減少 ・肝細胞脂肪変性(小葉中間帯から小葉中心)[#]	・肝うっ血[#]
10 mg/kg 体重/日以下	毒性所見なし	毒性所見なし

[#]：統計検定が実施されたか不明であるが、検体投与の影響と判断した。

(3) 90 日間亜急性毒性試験（マウス）①

dd マウス（一群雌雄各 12 匹）を用いた強制経口投与（原体：0、1、5 及び 20 mg/kg 体重/日）による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 29 に示されている。

本試験において、5 mg/kg 体重/日以上投与群の雄で肝細胞脂肪変性等が、雌

² 体重比重量を比重量という（以下同じ。）

で肝出血等が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 1 mg/kg 体重/日であると考えられた。（参照 2、4、5）

表 29 90 日間亜急性毒性試験（マウス）①で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
20 mg/kg 体重/日	・ BUN 減少 ・ 前胃肥厚^{#、a)}	・ WBC 減少 ・ 尿タンパク増加 ・ 前胃肥厚^{#、a)} ・ 肝細胞核大小不同[#]
5 mg/kg 体重/日以上	・ ChE 減少 ・ 肝小円形細胞浸潤(小葉中心性及び門脈周囲性)[#] ・ 精巣精子形成異常[#] ・ 肝細胞脂肪変性[#]	・ ALT 増加 ・ BUN 減少 ・ ChE 減少 ・ 肝小円形細胞浸潤(小葉中心性及び門脈周囲性)[#] ・ 肝出血[#] ・ 卵巣絶対及び比重量減少
1 mg/kg 体重/日	毒性所見なし	毒性所見なし

[#]：統計学的検定が実施されたか不明であるが、検体投与の影響と判断した。

^{a)}：粘膜上皮及び角化層の過形成を特徴とする。

（4）90 日間亜急性毒性試験（マウス）②

dd マウス（一群雌雄各 10 匹）を用いた強制経口投与（原体：0、2.5、5 及び 10 mg/kg 体重/日）による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

本試験において、10 mg/kg 体重/日投与群の雄で WBC 及び Neu の増加並びに Lym の減少が認められ、雌では検体投与の影響は認められなかったため、無毒性量は雄で 5 mg/kg 体重/日、雌で本試験の最高用量 10 mg/kg 体重/日であると考えられた。（参照 2、4、5）

（5）90 日間亜急性毒性試験（マウス）③

ddY マウス（一群雌雄各 12 匹）を用いた強制経口投与（原体：0、0.35、0.5、0.7 及び 1 mg/kg 体重/日）による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 30 に示されている。

本試験において、1 mg/kg 体重/日投与群の雄及び 0.7 mg/kg 体重/日以上投与群の雌で肝絶対及び比重量増加等が認められたことから、無毒性量は雄で 0.7 mg/kg 体重/日、雌で 0.5 mg/kg 体重/日であると考えられた。（参照 2、4、5）

表 30 90 日間亜急性毒性試験（マウス）③で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
1 mg/kg 体重/日	・ Glu 増加 ・ 肝絶対及び比重量増加	・ WBC 及び Neu 増加 ・ 脾絶対及び比重量減少
0.7 mg/kg 体重/日以上	0.7 mg/kg 体重/日以下	肝絶対及び比重量増加
0.5 mg/kg 体重/日以下	毒性所見なし	毒性所見なし

（６）90 日間亜急性毒性試験（イヌ）

ビーグル犬（一群雌雄各 4 匹）を用いた強制経口投与（原体：0、0.04、0.4 及び 2.0 mg/kg 体重/日）による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 31 に示されている。

0.4 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で認められた肝細胞空胞化及び脂肪変性並びに胸腺退縮については、検体投与の影響である可能性が考えられるものの、同投与量で実施された 1 年間慢性毒性試験（イヌ）〔11.（１）〕における結果を総合的に勘案し、毒性影響ではないと判断した。

本試験において、2.0 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で肝細胞空胞化及び門脈周囲の脂肪変性等が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 0.4 mg/kg 体重/日であると考えられた。（参照 2、4、5、6）

表 31 90 日間亜急性毒性試験（イヌ）で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
2.0 mg/kg 体重/日	・嘔吐(発現時期不明)及び唾液分泌亢進(投与 7 週以降) ・肝細胞空胞化及び脂肪変性(門脈周囲) ・胸腺退縮	・嘔吐(発現時期不明)及び唾液分泌亢進(投与 7 週以降) ・体重増加抑制傾向 ・肝細胞空胞化及び脂肪変性(門脈周囲) ・胸腺退縮
0.4 mg/kg 体重/日以下	毒性所見なし	毒性所見なし

（７）90 日間亜急性神経毒性試験（ラット）

SD ラット（一群雌雄各 10 匹）を用いた強制経口投与（原体：0、2、8 及び 32 mg/kg 体重/日）による 90 日間亜急性神経毒性試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 32 に示されている。

本試験において、8 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で前胃粘膜肥厚等が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 2 mg/kg 体重/日と考えられた。亜急性神経毒性は認められなかった。（参照 2）

表 32 90 日間亜急性神経毒性試験（ラット）で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
32 mg/kg 体重/日	・死亡(1 例：投与 29 日)[#] ・流涎(投与 8 日以降) ・体重増加抑制及び摂餌量減少^{##} ・自発運動量減少 ・腹腔内器官の癒着	・死亡(1 例：投与 45 日)[#] ・流涎(投与 10 日以降) ・体重増加抑制^{##}及び摂餌量減少^{##} ・自発運動量減少 ・前胃粘膜表面粗造 ・腹腔内器官の癒着
8 mg/kg 体重/日以上	・前胃粘膜肥厚及び表面粗造	・前胃粘膜肥厚
2 mg/kg 体重/日	毒性所見なし	毒性所見なし

[#]：腹腔内器官の癒着、前胃粘膜肥厚、胸水を伴う肺病変（暗赤色化又は多巣性微細黄白色斑）がみられ、これらの変化が死因と考えられた。

^{##}：投与 4 及び 8 日後のみに統計学的有意あり。

（8）90 日間亜急性吸入毒性試験（ラット）

Wistar ラット（一群雌雄各 10 匹）を用いた吸入ばく露（原体：0、3.16、30.7、137 $\mu\text{g/L}$ 、1 日 4 時間/週 5 日鼻部ばく露）による 90 日間亜急性吸入毒性試験が実施された。

本試験において、137 $\mu\text{g/L}$ ばく露群の雌雄でばく露中の流涎増加、鼻汁、感情鈍麻等の中毒症状並びに体重増加抑制及び摂餌量の減少が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 30.7 $\mu\text{g/L}$ であると考えられた。（参照 2、4、5）

（9）1 か月間亜急性経皮毒性試験（ラット）①

SD ラット（一群雌雄各 10 匹）を用いた経皮投与（原体：0、120、240 及び 480 mg/kg 体重/日）による 1 か月間亜急性経皮毒性試験が実施された。

本試験において、全ての投与群の雌雄で胸腺絶対及び比重量減少、塗布部位皮膚の角化亢進、上皮過形成、潰瘍及び皮下の肉芽が認められ、高用量になるほど潰瘍形成が顕著となった。また、雄の全投与群で体重増加抑制が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 120 mg/kg 体重/日未満であると考えられた。（参照 2、5）

（10）1 か月間亜急性経皮毒性試験（ラット）②

Wistar ラット（一群雌雄各 10 匹）を用いた経皮投与（原体：0、1、10 及び 100 mg/kg 体重/日）による 1 か月間亜急性経皮毒性試験が実施された。

塗布部位の皮膚において、1 及び 10 mg/kg 体重/日投与群で刺激作用（剥離及び紅斑）が、100 mg/kg 体重/日投与群で重篤な壊死が観察された。一般毒性では、100 mg/kg 体重/日投与群で摂餌量減少及び体重増加抑制並びに ChE 減少が、10 mg/kg 体重/日以上投与群で LDH 増加が、1 mg/kg 体重/日以上投与群で用量増加に伴った Alb 増加及び散発的な軽度の肝臓病変が認められたことから、

無毒性量は 1 mg/kg 体重/日未満であると考えられた。（参照 5）

1 1. 慢性毒性試験及び発がん性試験

(1) 1 年間慢性毒性試験（イヌ）

ビーグル犬（一群雌雄各 6 頭）を用いた強制経口投与（原体：0、0.04、0.4 及び 2.0 mg/kg 体重/日）による 1 年間慢性毒性試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 33 に示されている。

本試験において、2.0 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で肝絶対及び比重量増加等が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 0.4 mg/kg 体重/日であると考えられた。（参照 2）

表 33 1 年間慢性毒性試験（イヌ）で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
2.0 mg/kg 体重/日	・ PLT 増加 APTT 延長 ・ 肝絶対及び比重量増加 ・ 肝細胞脂肪変性(門脈周囲)(1 例)	・ 肝絶対及び比重量増加[#]
0.4 mg/kg 体重/日以下	毒性所見なし	毒性所見なし

[#]：統計学的有意差はないが投与の影響と考えられた。

(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 60 匹、衛星群：一群雌雄各 10 匹（投与 53 週及び 4 週休薬後の 57 週に雌雄各 5 匹を中間と殺）を用いた飲水投与〔原体：0、2、10 及び 50 ppm（衛星群：0 及び 50 ppm）：平均検体摂取量は表 34 参照〕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 34 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		2 ppm	10 ppm	50 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	0.104	0.514	2.33
	雌	0.149	0.746	3.43

検体投与により発生頻度の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、50 ppm 投与群の雄で体重増加抑制（試験終了時）がみられ、雌では投与による影響は認められなかったため、無毒性量は雄で 10 ppm（0.514 mg/kg 体重/日）、雌で本試験の最高用量 50 ppm（3.43 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 2、4～6）

(3) 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験（マウス）

ICR マウス〔主群：一群雌雄各 58 匹、衛星群：一群雌雄各 12 匹（投与 26 週及び 52 週に雌雄各 6 匹を中間と殺）〕を用いた飲水投与（原体：0、5、20、

80 及び 200 ppm：平均検体摂取量は表 35 参照）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 35 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験（マウス）の平均検体摂取量

投与群		5 ppm	20 ppm	80 ppm	200 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	0.82	3.30	11.8	25.7
	雌	0.91	3.66	13.0	29.0

各投与群で認められた毒性所見は表 36 に示されている。

検体投与により発生頻度の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、80 ppm 以上投与群の雄で体重増加抑制等が、同投与群の雌で下垂体絶対及び比重量増加等が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 20 ppm（雄：3.30 mg/kg 体重/日、雌：3.66 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 2、4～6）

表 36 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験（マウス）で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
200 ppm	・ RBC 減少 ・ 網状赤血球増加 ・ 脾及び下垂体絶対及び比重量増加	・ 体重増加抑制 ・ 甲状腺及び副腎絶対及び比重量増加
80 ppm 以上	・ 立毛、被毛光沢欠如[#] ・ 体重増加抑制 ・ Lym 減少 ・ Neu(分葉核)増加 ・ 甲状腺絶対及び比重量増加	・ 立毛、被毛光沢欠如[#] ・ 下垂体絶対及び比重量増加
20 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

[#]：80 ppm 及び 200 ppm 投与群の雌雄とも投与 30 日頃より発現

1 2. 生殖発生毒性試験

(1) 3 世代繁殖試験（ラット）

SD ラット（一群雄 10 匹、雌 20 匹）を用いた強制経口投与（原体：0、1、3、10 及び 30 mg/kg 体重/日、溶媒：コーン油）による 3 世代繁殖試験が実施された。30 mg/kg 体重/日投与群は強い毒性が認められたため、試験開始 5 週間後に中止し、新たに 1 mg/kg 体重/日投与群が設定された。

本試験において、親動物では全ての検体投与群の雌雄で前胃の病変（棘細胞症及び過角化症）が認められた。児動物では検体投与に関連する影響は認められなかったため、無毒性量は親動物で雌雄とも 1 mg/kg 体重/日未満、児動物では雌雄とも本試験の最高用量 10 mg/kg 体重/日であると考えられた。繁殖能に対する影響は認められなかった。（参照 2、4、5）

(2) 2世代繁殖試験（ラット）

SD ラット（一群雌雄各 30 匹）を用いた飲水投与（原体：0、2、10 及び 50 ppm：平均検体摂取量は表 37 参照）による 2 世代繁殖試験が実施された。

表 37 2 世代繁殖試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群			2 ppm	10 ppm	50 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	P 世代	雄	0.16	0.76	3.58
		雌	0.21	1.01	4.76
	F ₁ 世代	雄	0.15	0.71	3.40
		雌	0.19	0.87	4.22

本試験において、親動物では P 世代 50 ppm 投与群の雌で下垂体絶対及び比重量の増加が、F₁ 世代 50 ppm 投与群の雄で体重増加抑制が認められ、児動物では投与検体による影響は認められなかったため、無毒性量は親動物で 10 ppm（P：雄 0.76 mg/kg 体重/日、雌 1.01 mg/kg 体重/日、F₁：雄 0.71 mg/kg 体重/日、雌 0.87 mg/kg 体重/日）、児動物で本試験の最高用量 50 ppm（P：雄 3.58 mg/kg 体重/日、雌 4.76 mg/kg 体重/日、F₁：雄 3.40 mg/kg 体重/日、雌 4.22 mg/kg 体重/日）であると考えられた。繁殖能に対する影響は認められなかった。（参照 2、6）

(3) 発生毒性試験（ラット）①

SD ラット（一群雌 24～28 匹）の妊娠 6～15 日に強制経口投与（原体：0、1、5 及び 25 mg/kg 体重/日、溶媒：コーン油）して、発生毒性試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 38 に示されている。

25 mg/kg 体重投与群の胎児で腎尿管拡張症（11/337 例、3.3%）が認められたが、背景データ（2.7～3.3%）の範囲内であり、検体投与の影響ではないと考えられた。

本試験において、5 mg/kg 体重/日以上投与群の母動物で体重増加抑制等が、同投与群の胎児で骨化遅延（頭頂間骨）が認められたことから、無毒性量は母動物及び胎児とも 1 mg/kg 体重/日であると考えられた。催奇形性は認められなかった。（参照 2、4、5）

表 38 発生毒性試験（ラット）①で認められた毒性所見

投与群	母動物	胎児動物
25 mg/kg 体重/日	・ 摂餌量減少 ・ 胃粘膜肥厚及び内臓癒着 (24/27 例)	・ 体重減少 ・ 頭臀長減少 ・ 骨化遅延(後頭骨、胸骨分節、中足骨)
5 mg/kg 体重/日以上	・ 体重増加抑制#(妊娠 6～15 日) ・ 胃粘膜肥厚(1/28 例)	・ 骨化遅延(頭頂間骨)
1 mg/kg 体重/日	毒性所見なし	毒性所見なし

: 5 mg/kg 体重/日で統計学的有意差は認められないが投与の影響と考えられた。

(4) 発生毒性試験（ラット）②

Wistar ラット（一群雌 25 匹）の妊娠 6～15 日に強制経口投与（原体：0、3、10 及び 30 mg/kg 体重/日、溶媒：コーン油）して、発生毒性試験が実施された。

母動物では、10 mg/kg 体重/日以上投与群において有意な体重増加抑制（妊娠 8～10 日）が認められ、30 mg/kg 体重/日投与群で摂餌量の減少が認められた。また、30 mg/kg 体重/日投与群では胎盤重量の有意な減少がみられたが、黄体数、着床数等への影響は認められなかった。胎児においては、30 mg/kg 体重/日投与群で低体重児数の増加が認められた。

本試験において、母動物の無毒性量は 3 mg/kg 体重/日、胎児の無毒性量は 10 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 5、6）

(5) 発生毒性試験（ウサギ）①

NZW ウサギ（一群雌 17 匹）の妊娠 6～18 日にカプセル経口投与（原体：0、1、3 及び 10 mg/kg 体重/日）して、発生毒性試験が実施された。

母動物では、3 mg/kg 体重/日以上投与群で死亡（3 mg/kg 体重/日で 1 例、10 mg/kg 体重/日で 7 例）、流産（各 1 例）及び体重増加抑制（投与期間中）が認められ、10 mg/kg 体重/日投与群で吸収胚数増加が認められた。胎児では、10 mg/kg 体重/日投与群で低体重及び生存胎児数減少が認められた。

無毒性量は、母動物で 1 mg/kg 体重/日、胎児で 3 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 5）

(6) 発生毒性試験（ウサギ）②

NZW ウサギ（一群雌 16 匹）の妊娠 7～19 日に強制経口投与（原体：0、1、3 及び 5 mg/kg 体重/日、溶媒：コーン油）して、発生毒性試験が実施された。

本試験において、5 mg/kg 体重/日投与群の母動物で体重増加抑制傾向（妊娠 7～19 日）及び摂餌量減少が認められ、同投与群の胎児で低体重及び頭臀長減少が認められたことから、無毒性量は母動物及び胎児とも 3 mg/kg 体重/日であ

ると考えられた。催奇形性は認められなかった。（参照 2、4、5）

（7）発生毒性試験（ウサギ）③

チンチラウサギ（一群雌 16 匹）の妊娠 6～18 日に強制経口投与（原体：0、1、3 及び 10 mg/kg 体重/日、溶媒：コーン油）して、発生毒性試験が実施された。

本試験において、母動物では 10 mg/kg 体重/日投与群において体重増加抑制及び摂餌量減少（投与期間中）が認められ、胎児において投与の影響は認められなかったため、無毒性量は母動物で 3 mg/kg 体重/日、胎児で本試験の最高用量 10 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 5、6）

1 3. 遺伝毒性試験

MITC（原体）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由来 V79 細胞を用いた遺伝子突然変異試験、染色体異常試験及び姉妹染色分体交換試験、ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験、ラット初代培養肝細胞を用いた UDS 試験並びにマウスを用いた小核試験が実施された。

結果は表 39 に示されているとおり、チャイニーズハムスター肺由来細胞（V79）及び CHL/IU 細胞を用いた染色体異常試験で陽性であったが、ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験及びマウスを用いた *in vivo* 小核試験を含め、その他の試験ではいずれも陰性であったことから、MITC に生体にとって問題となる遺伝毒性はないものと考えられた。（参照 2、4～6、9）

表 39 遺伝毒性試験概要（MITC）

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)	20～2,000 µg/プレート(-S9)	陰性
	DNA 修復試験	<i>B. subtilis</i> (H17、M45 株)	1～10,008 µg/プレート(+/-S9)	陰性
	復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、 TA1537、TA1538 株)	5～2,500 µg/プレート(+/-S9)	陰性
	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、 TA1537、TA1538 株) <i>Escherichia coli</i> (WP2hcr 株)	0.5～1,000 µg/プレート(+/-S9)	陰性
	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、 TA1537、TA1538 株)	10～5,000 µg/プレート(+/-S9)	陰性

試験		対象	処理濃度・投与量	結果
	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、TA1537 株)	①20～5,000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ (+/-S9) ②30～500 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ (+/-S9)	陰性
	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、TA1537 株) <i>E. coli</i> (WP2 uvrA 株)	TA100 株、WP2 uvrA 株 : 78.13～5,000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ (+/-S9) TA1535 株 : 31.25～1,000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ (-S9) 78.13～5,000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ (+S9) TA98 株、TA1537 株 : 15.63～500 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ (-S9)、 15.63～1,000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ (+S9)	陰性
	遺伝子突然変異試験	チャイニーズハムスター肺由来細胞(V79) (<i>Hgprt</i> 座)	①0.1～1.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (-S9) ②0.25～2.50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (+S9)	陰性
	染色体異常試験	チャイニーズハムスター肺由来細胞(V79)	①0.10～1.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (-S9) ②0.25～2.50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (+S9)	陽性
	染色体異常試験	チャイニーズハムスター線維芽細胞株(CHL/TU)	①短時間処理法(6 時間処理) 0.8～6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (-S9) 1.8～14 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (+S9) ②連続処理法 1.3～5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (24 時間処理) 0.6～5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (48 時間処理)	陽性 [#]
	染色体異常試験	ヒトリンパ球	①0.05～0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (-S9) ②0.1、0.5 及び 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (+S9)	陰性
	染色体異常試験	ヒトリンパ球	3.0～5.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (+/-S9)	陰性
	姉妹染色分体交換試験	チャイニーズハムスター由来 V79 細胞	①0.1～3.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (-S9) ②0.1～5.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (+S9)	陰性
	UDS 試験	F344 雄ラット由来初代培養肝細胞	0.253～15.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$	陰性
<i>in vivo</i>	小核試験	ICR マウス (骨髓細胞) (一群雌雄各 5 匹)	110 mg/kg 体重 (単回強制経口投与)	陰性

注) +/-S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下

: 短時間処理法で陽性、連続処理法で陰性

14. その他の試験

(1) 消化管に及ぼす影響

Wistar ラット (一群雌雄各 10 匹) に単回強制経口投与 (原体 : 50、100 及び 150 mg/kg 体重) 又は 10 回反復強制経口投与 (原体 : 25、50 及び 100 mg/kg 体重/日) して、MITC の消化管に及ぼす影響が検討された。

単回経口投与では、中毒症状として立毛、発汗及び尾静脈の怒張等が観察された。150 mg/kg 体重投与群では投与 1 時間後に雌雄全例死亡、100 mg/kg 体重投与群では投与 1～3 日に雌雄で 6～7 例死亡、50 mg/kg 体重投与群では雌で投与 3 時間後までに 3 例の死亡が認められた。剖検所見において、消化管に対する影響

の程度に用量との関連がみられ、胃では 50 mg/kg 体重投与群で前胃部胃底尖端に、100 mg/kg 体重以上投与群では前胃部全域に渡って著明な充血が認められた。腸管では空腸、十二指腸に充血斑が散見され、リンパ組織の増生がみられた。

10 回反復経口投与では、単回経口投与時と同様の中毒症状及び軟便・黒色便が観察された。100 mg/kg 体重投与群では 2 回の投与で雄 4 例、雌 6 例が死亡したため、3 日以上投与が中止された。50 mg/kg 体重投与群では雌 2 例が死亡したが、25 mg/kg 体重投与群で死亡は認められなかった。投与による体重増加抑制が著明であった。剖検所見において、消化管全域に軽度の血管怒張があり、胃及び腸管に出血及び潰瘍が認められた。胃の膨満、粘膜の肥厚、弾力性減少が認められるとともに、隣接臓器との癒着が認められた。

MITC は 50 mg/kg 体重以上の単回投与及び 25 mg/kg 体重/日以上反復投与において消化管粘膜に対する直接的な刺激作用があるものと考えられた。（参照 2、5）