

7. 一般薬理試験

マウス、ラットを用いた一般薬理試験が実施された。結果は表 11 に示すとおり。

(参照 19)

表 11 一般薬理試験

試験の種類	動物種	動物数 匹/群	投与量 mg/kg 体重	無作用量 mg/kg 体重	作用量 mg/kg 体重	結果の概要	
中枢神経系	一般状態	マウス	雄 3 雌 3	0, 128, 320, 800, 2000	128	320	800mg/kg 体重群以上の雌雄では全例死亡、320mg/kg 体重群の雌で2/3 例死亡、320mg/kg 体重群以上では認知力、運動性、中枢神経興奮、姿勢運動失調、反射、興奮性症状及び抑制症状。
		ラット	雄 5	0, 320, 800, 2000, 5000	2000	5000	5000mg/kg 体重群の雄で 2/5 例死亡、自発運動能低下、腹這い、流涎、横臥、あえぎ呼吸、呼吸数の減少、口周囲の血による汚れ、よろめき歩調。
	睡眠時間延長 ヘキサレタール睡眠	マウス	雄 8	0, 20.5, 51.2, 128, 320, 800	51.2	128	800mg/kg 体重群では死亡、128mg/kg 体重群以上で用量に依存した睡眠時間の延長、320mg/kg 体重群では対照の約 3.5 倍。
呼吸循環器系	血圧・心拍数	ラット	雄 5	0, 800, 2000, 5000	800	2000	5000mg/kg 体重群で 4/5 例死亡、2000mg/kg 体重群以上で血圧低下、500mg/kg 体重群で心拍数減少。
自律神経系	体温、瞳孔径	ラット	雄 5	0, 320, 800, 2000, 5000	800	2000	5000mg/kg 体重群で 2/5 例死亡、2000mg/kg 体重群以上で体温低下及び縮瞳。
消化器系	小腸炭末輸送	マウス	雄 8	0, 20.5, 51.2, 128, 320, 800	320	800	800mg/kg 体重群で死亡、320mg/kg 体重群以下では投与による影響なし。
骨格筋	握力	ラット	雄 5	0, 320, 800, 2000, 5000	5000	—	5000mg/kg 体重群で 2/5 死亡。投与による影響なし。
腎臓	腎機能	ラット	雄 5	0, 51.2, 128, 320, 800, 2000, 5000	320	800	5000mg/kg 体重群で pH 減少及びケトン体増加、2000mg/kg 体重群以上でグルコース増加、800mg/kg 体重群以上で Cl 減少、800 又は 2000 mg/kg 体重群で尿量、Na、K の排泄量減少、浸透圧と蛋白質増加。320mg/kg 体重群以下では影響なし。潜血は全群で影響なし。

・検体はフロニカミド原体をポリソルベート 80(1%)に懸濁したものをラットについて単回経口投与し、マウスについては腹腔内投与した。

8. 急性毒性試験

(1) 急性毒性試験

フロニカミドのSDラットを用いた急性経口毒性試験、急性経皮毒性試験及び急性吸入毒性試験が実施された。

急性経口LD₅₀は雄で884mg/kg体重、雌で1770mg/kg体重、経皮LD₅₀は雌雄で5000mg/kg体重超、吸入LC₅₀は雌雄で4.90mg/L超であった。(参照20~22)

代謝物C、E、D及びFについてWistラットを用いた急性経口毒性試験が実施された。

急性経口LD₅₀は実施された代謝物全てにおいて、雌雄で2000mg/kg体重超であった。(参照23~26)

(2) 急性神経毒性試験(ラット)

SDラット(一群雌雄各10匹)を用いた強制単回経口(原体:0、100、300、600(雄のみ)、1000mg/kg体重)投与による14日間の急性神経毒性試験が実施された。

1000mg/kg体重投与群の雌雄で投与30~60分後の観察で着地時後肢開脚距離の増加、雄で投与30~60分後の観察で歩行移動距離の減少が認められた。

なお、1000mg/kg体重投与群の雄一匹が投与翌日に死後発見された。

本試験における無毒性量は、雄で600mg/kg体重、雌で300mg/kg体重であると考えられた。(参照27)

9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性

ニュージーランド白色ウサギを用いた眼一次刺激性試験及び皮膚一次刺激性試験が実施されており、フロニカミド原体は皮膚に対する刺激性は認められず、眼に軽度の刺激性が認められた。(参照28~29)

ハートレー系モルモットを用いた皮膚感作性試験(Maximization法)が実施されており、フロニカミド原体に皮膚感作性は認められなかった。(参照30)

10. 亜急性毒性試験

(1) 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、100、1000、7000ppm:表12参照)投与による90日間亜急性毒性試験が実施された。

表12 マウス90日間亜急性毒性試験の平均検体摂取量

投与群		100ppm	1000ppm	7000ppm
検体摂取量 (mg/kg体重/日)	雄	15.3	154	1070
	雌	20.1	192	1250

各投与群で認められた主な所見は表13に示すとおり。

本試験において1000ppm以上投与群の雄で小葉中心性肝細胞肥大が、7000ppm投与群の雌で肝及び脾比重量増加等が認められたことから、無毒性量は雄で100ppm

(15.3mg/kg 体重/日)、雌で1000ppm (192mg/kg 体重/日) であると考えられた。
(参照 31)

表 13 マウス 90 日間亜急性毒性試験で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
7000ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・自発運動の減少 ・MCV、MCH 及び網赤血球数増加 ・赤血球数、Hb、Ht 及び血小板数減少 ・血清中クレアチニン、総ビリルビン、ナトリウム及びカルシウム増加 ・血清中カリウム減少 ・肝及び脾比重量¹増加 ・胸骨髄の低形成及び色素沈着亢進 ・脾の髓外性造血亢進及び色素沈着亢進 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・摂餌量減少 ・自発運動の減少 ・MCV、MCH 及び網赤血球数増加 ・赤血球数、Hb 及び Ht 減少 ・血清中グルコース増加 ・肝及び脾比重量増加 ・胸骨髄の低形成及び色素沈着亢進 ・小葉中心性肝細胞肥大 ・脾の髓外性造血亢進及び色素沈着亢進
1000ppm 以上	・小葉中心性肝細胞肥大	1000ppm 以下毒性所見なし
100ppm	毒性所見なし	

(2) 90 日間亜急性毒性試験 (ラット)

Wistar ラット (一群雌雄各 12 匹) を用いた混餌 (原体: 0、50(雄のみ)、200、1000、2000(雄のみ)、5000(雌のみ)ppm: 表 14 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 14 ラット 90 日間亜急性毒性試験の平均検体摂取量

投与群		50ppm	200ppm	1000ppm	2000ppm	5000ppm
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	3.08	12.1	60.0	119	—
	雌	—	14.5	72.3	—	340

各投与群で認められた主な所見は表 15 に示すとおり。

200ppm 投与群の雄で腎近位尿細管硝子滴沈着が認められたが、この硝子滴は $\alpha 2u$ グロブリンの沈着であると確認されており、これは雄ラットに特異的な所見であるため、ヒトにおけるリスク評価には外挿されないものと考えた。

本試験において 1000ppm 投与群雄で腎尿細管好塩基性変化及び顆粒状尿円柱等が、5000ppm 投与群雌で腎近位尿細管細胞空胞化等が認められたため、無毒性量は雄で 200ppm (12.1mg/kg 体重/日)、雌で 1000ppm (72.3mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 32)

¹ 体重比重量を比重量という。(以下同じ)

表 15 ラット 90 日間亜急性毒性試験で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
5000ppm		<ul style="list-style-type: none"> ・摂餌量減少 ・MCHC 増加 ・Ht 減少 ・血漿中 TG 減少 ・肝及び腎比重量増加 ・小葉中心性肝細胞肥大 ・腎近位尿細管細胞空胞化
2000ppm		<ul style="list-style-type: none"> ・眼周囲赤色物付着 ・血漿中 TG 減少 ・腎退色 ・小葉中心性肝細胞肥大
1000ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・腎比重量増加 ・腎尿細管好塩基性変化及び顆粒状尿円柱 	1000ppm 以下毒性所見なし
200ppm 以下	毒性所見なし*	

※：腎近位尿細管硝子滴沈着が 200ppm 以上の雄で認められているが、 $\alpha 2u$ グロブリンの沈着が確認されており種特異的変化であることから、無毒性量の根拠とはしなかった。

(3) 代謝物 C の 90 日間亜急性毒性試験 (ラット)

Wistar ラット (一群雌雄各 5 匹) を用いた混餌 (代謝物 C : 雄 : 0、50、2000、雌 : 0、200、5000ppm : 表 16 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 16 代謝物 C のラット 90 日間亜急性毒性試験の平均検体摂取量

投与群		50ppm	200ppm	2000ppm	5000ppm
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	3.56	—	135	—
	雌	—	16.5	—	411

全ての投与群において、代謝物 C 投与による影響は認められなかった。

本試験における無毒性量は雄で 2000ppm (135mg/kg 体重/日)、雌で 5000ppm (411mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 33)

(4) 代謝物 E の 90 日間亜急性毒性試験 (ラット)

Wistar ラット (一群雌雄各 5 匹) を用いた混餌 (代謝物 E : 雄 : 0、50、2000、雌 : 0、200、5000ppm : 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 代謝物 E のラット 90 日間亜急性毒性試験の平均検体摂取量

投与群		50ppm	200ppm	2000ppm	5000ppm
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	3.42	—	136	—
	雌	—	15.9	—	409

全ての投与群において、代謝物 E 投与による影響は認められなかった。

本試験における無毒性量は雄で 2000ppm (136mg/kg 体重/日)、雌で 5000ppm (409mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 34)

(5) 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 (原体: 0、3、8、20、50(雌のみ) mg/kg 体重/日) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

50mg/kg 体重/日投与群の雌で嘔吐、虚脱、疲弊及び痙攣 (1 例は投与 4 週目に切迫屠殺し、投与 9 週目に虚脱、疲弊症状が認められた別の 1 例については投与中止とした)、体重増加抑制、摂餌量減少、赤血球数減少、網状赤血球数増加が、また各一例ずつではあるが腎尿細管空胞化及び回盲弁部の出血が認められた。膝浮腫、胸腺退縮は瀕死期に切迫殺した一例に認められた。

本試験において 50mg/kg 体重/日投与群の雌で網状赤血球数増加等が認められたため、無毒性量は雌雄で 20mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 35)

(6) 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) を用いた混餌 (原体: 0、200、1000、10000 ppm: 表 18 参照) 投与による亜急性毒性試験が実施された。

表 18 ラット 90 日間亜急性神経毒性試験の平均検体摂取量

投与群		200ppm	1000ppm	10000ppm
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	13	67	625
	雌	16	81	722

10000ppm 投与群の雌雄で体重増加抑制、摂餌量減少が認められた。神経毒性は認められない。

本試験において 10000ppm 投与群雌雄で体重増加抑制等が認められたため、無毒性量は雌雄で 1000ppm (雄: 67mg/kg 体重/日、雌: 81mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 36)

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 匹) を用いた強制経口 (原体: 0、3、8、20mg/kg 体重) 投与による 1 年間の慢性毒性試験が実施された。

20mg/kg 体重/日投与群の雌雄で MCH 及び網状赤血球数増加、雄で MCV 増加、腎比重量増加、雌で体重増加抑制、心及び甲状腺比重量増加が認められた。

本試験において 20mg/kg 体重/日投与群の雌雄で網状赤血球数増加が認められたこと等から、無毒性量は雌雄で 8mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 37)

(2) 104 週間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット)

Wistar ラット (一群雌雄各 52 匹、衛星群 I : 14 匹 (52 週後に 10 匹を中間屠殺)、衛星群 II : 10 匹 (26 週後に中間屠殺)) を用いた混餌 (原体 : 雄 : 0、50、100、200、1000、雌 : 0、200、1000、5000ppm : 表 19 参照) 投与による 104 週間の慢性毒性/発がん性併合試験が実施された。

表 19 ラット 104 週間慢性毒性/発がん性併合試験の平均検体摂取量

投与群		50ppm	100ppm	200ppm	1000ppm	5000ppm
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	1.84	3.68	7.32	36.5	—
	雌	—	—	8.92	44.1	219

各投与群で認められた主な所見は表 20 に示すとおり。

本試験において 1000ppm 投与群雄又は 5000ppm 投与群雌で慢性腎症が認められたこと等から、無毒性量は雄で 200ppm(7.32mg/kg 体重/日)、雌で 1000ppm (44.1mg/kg 体重/日)であると考えられた。発がん性は認められない。(参照 38)

表 20 ラット 104 週間慢性毒性/発がん性併合試験で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
5000ppm		<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ 摂餌量減少 ・ Ht、Hb、MCHC 及び赤血球数減少 ・ 血漿中 γ-GTP 及び総コレステロール増加 ・ 血漿中 TG 減少 ・ 尿比重減少 ・ 肝及び腎比重量増加 ・ 副腎比重量減少 ・ 肝暗調化及び小葉像明瞭 ・ 下腿横紋筋線維萎縮 ・ 前胃びらん・潰瘍 ・ 小葉中心性肝細胞肥大、肝細胞小増殖巣 (好酸性細胞) ・ 慢性腎症、近位尿細管空胞化及び近位尿細管褐色色素 (リポフスチン) 沈着 ・ 白内障、網膜萎縮

1000ppm [※]	<ul style="list-style-type: none"> ・尿比重減少、尿量増加 ・前胃びらん・潰瘍 ・腎尿細管好塩基性変化、顆粒状尿円柱及び慢性腎症 	1000ppm 以下毒性所見なし
200ppm 以下	毒性所見なし	

※：腎近位尿細管硝子滴沈着が 1000ppm 以上の雄で認められているが、 α 2u グロブリンの沈着が確認されており種特異的变化であることから、毒性所見から除外した。

(3) 78 週間発がん性試験 (マウス)

ICR マウス (一群雌雄各 60 匹、衛星群 I : 一群雌雄各 10 匹 (52 週時に中間屠殺)、衛星群 II : 一群雌雄各 10 匹 (26 週時に中間屠殺)) を用いた混餌 (原体 : 0、250、750、2250 ppm : 表 21 参照) 投与による 78 週間の発がん性試験が実施された。

表 21 マウス 78 週間発がん性試験の平均検体摂取量

投与群		250ppm	750ppm	2250ppm
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	29	88	261
	雌	38	112	334

各投与群で認められた主な所見は表 22 及び 23 に示すとおり。

本試験において肺腫瘍の増加が認められた。雌雄ともに無毒性量は設定されなかった。(参照 39)

表 22 マウス 78 週間発がん性試験で認められた毒性所見 (腫瘍性病変以外)

投与群	雄	雌
2250ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・腎比重量減少 ・脾色素沈着 	<ul style="list-style-type: none"> ・肝比重量増加 ・小葉中心性肝細胞肥大 ・脾色素沈着 ・胸骨髄細胞低形成及び色素沈着
750ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・肺結節増加 ・肺胞・細気管支上皮過形成 	<ul style="list-style-type: none"> ・肺血管周囲単核細胞浸潤 ・胸骨髄細胞低形成
250ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・肺終末細気管支上皮細胞肥大 ・小葉中心性肝細胞肥大 ・脾髄外性造血亢進 ・胸骨髄色素沈着 	<ul style="list-style-type: none"> ・肺終末細気管支上皮細胞肥大

表 23 マウス発がん性試験で認められた肺腫瘍

性別		雄				雌			
投与群 (ppm)		0	250	750	2250	0	250	750	2250
検査動物数		60	60	60	60	60	60	60	60
肺	腺腫	7	25**	25**	33**	9	20*	30**	24**
	腺癌	4	6	12*	12*	0	3	3	7**

Fisher の直接確率計算法 * : p<0.05, ** : p<0.01

(4) 78 週間発がん性試験 -追加試験- (マウス)

ICR マウス (一群雌雄各 50 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、10、25、80、250 ppm : 表 24 参照) 投与による 78 週間の発がん性試験が実施された。

表 24 マウス 78 週間発がん性試験 (追試) の平均検体摂取量

投与群		10ppm	25ppm	80ppm	250ppm
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	1.20	3.14	10.0	30.3
	雌	1.42	3.66	11.8	36.3

250ppm 投与群の雌雄で肺終末細気管支上皮細胞過形成/肥大が、雄では肺腫瘍及び肺腫瘍 (肺腺腫及び肺癌) が認められた。肺腫瘍の頻度については表 25 に示す。

本試験において 250ppm 投与群の雌雄で肺終末細気管支上皮細胞過形成/肥大が、また 250ppm 投与群の雄では肺腺腫及び肺癌が認められたこと等から、無毒性量は雌雄で 80ppm (雄 : 10.0mg/kg 体重/日、雌 : 11.8mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 40)

表 25 マウス発がん性試験で認められた肺腫瘍

性別		雄					雌				
投与群 (ppm)		0	10	25	80	250	0	10	25	80	250
検査動物数		50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
肺	細気管支・ 肺腺腫	8	11	12	11	21**	10	8	11	14	13
	細気管支・ 肺癌	3	6	3	4	9	1	4	2	3	3
	腺腫+癌*	11	16	15	14	27**	10	12	12	16	16

Fisher の直接確率計算法 * : p<0.05, ** : p<0.01

※ : 腺腫と癌を併せ持つ個体は重複カウントしていないため、合計値は必ずしも一致しない。

1.2. 生殖発生毒性試験

(1) 2 世代繁殖試験

Wistar ラット (一群雌雄各 24 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、50、300、1800ppm : 表 26 参照) 投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

表 26 2 世代繁殖試験における検体摂取量

投与群		50ppm	300ppm	1800ppm	
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	親 P 雄	児 F ₁ 雄	3.07	18.3	109
	親 P 雌	児 F ₁ 雌	4.67	28.2	164
	親 F ₁ 雄	児 F ₂ 雄	3.39	20.7	125
	親 F ₁ 雌	児 F ₂ 雌	4.95	30.5	177

親動物では 1800ppm 投与群の雌雄で肝 (F₁) 及び腎(P 雄及び F₁ 雌雄)比重量増加、雄で精囊 (F₁) 及び甲状腺 (P) 比重量増加、腎退色 (P、F₁)、尿管好塩基性化及び顆粒状尿管 (P、F₁)、雌で副腎及び卵巣比重量減少 (P)、近位尿管空胞化 (P、F₁)、膈開口遅延(F₁)が認められた。300ppm 以上投与群の雄で腎近位尿管硝子滴沈着が認められているが、 α 2u グロブリンの沈着が確認されており種特異的变化であることから、無毒性量の根拠とはしなかった。

児動物では 1800ppm 投与群の雌で子宮比重量減少(F₁)が認められた。

本試験において 1800ppm 投与群の親動物雌雄で肝及び腎比重量増加が、児動物雌で子宮比重量減少が認められたこと等から、無毒性量は親動物の雌雄で 300ppm(P 雄: 18.3mg/kg 体重/日、P 雌: 28.2mg/kg 体重/日、F₁ 雄: 20.7mg/kg 体重/日、F₁ 雌: 30.5mg/kg 体重/日)、児動物の雄で 1800ppm(F₁ 雄: 109mg/kg 体重/日、F₂ 雄: 125mg/kg 体重/日)、雌で 300ppm(F₁ 雌: 28.2mg/kg 体重/日、F₂ 雌: 30.5mg/kg 体重/日)であると考えられた。(参照 41)

(2) 発生毒性試験 (ラット)

Wistar ラット (一群雌 24 匹) の妊娠 6~19 日に強制経口 (原体: 0、20、100、500 mg/kg 体重/日) 投与して発生毒性試験が実施された。

母動物では、500mg/kg 体重/日投与群で肝比重量増加、小葉中心性肝細胞腫大、腎尿管空胞化が認められた。

胎児では 500mg/kg 体重/日投与群で頸肋骨の発現頻度の上昇が認められた。

本試験において 500mg/kg 体重/日投与群の母動物で小葉中心性肝細胞腫大が、胎児で頸肋骨の発現頻度の上昇が認められたこと等から、無毒性量は母動物及び胎児で 100mg/kg 体重/日であると考えられた。催奇形性は認められない。(参照 42)

(3) 発生毒性試験 (ウサギ)

日本白色ウサギ (一群雌 25 匹) の妊娠 6~27 日に強制経口 (原体: 0、2.5、7.5、25mg/kg 体重/日) 投与して発生毒性試験が実施された。

母動物では、25mg/kg 体重/日で体重増加抑制が認められた。

胎児では投与の影響は認められなかった。

本試験において 25mg/kg 体重/日投与群の母動物で体重増加抑制が認められたことから、無毒性量は、母動物で 7.5mg/kg 体重/日、胎児で 25mg/kg 体重/日であると考えられた。催奇形性は認められない。(参照 43)

13. 遺伝毒性試験

フロニカミドの細菌を用いた復帰突然変異試験、マウスリンパ腫細胞を用いた *in vitro* 遺伝子突然変異試験、チャイニーズハムスター肺腺維芽細胞 (CHL) を用いた *in vitro* 染色体異常試験、ラット肝細胞を用いた *in vivo* 不定期 DNA 合成(UDS)試験、マウスを用いた小核試験、マウス結腸、肝及び肺におけるコメットアッセイが実施された。試験結果は全て陰性であった。

従って、フロニカミドに遺伝毒性はないものと考えられた。(表 27) (参照 44~49)

表 27 遺伝毒性試験結果概要 (原体)

試験		対象	投与量・処理濃度	結果
<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験 (参照 44)	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537 株 <i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i> 株	61.7~5000 $\mu\text{g}/7^\circ\text{V}$ (+/-S9)	陰性
	遺伝子突然変異試験 (参照 45)	マウスリンパ腫細胞 L5178Y TK ⁺ -3.7.2.C	28.3~2290 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (+/-S9)	陰性
	染色体異常試験 (参照 46)	チャイニーズハムスター肺腺維芽細胞(CHL)	573~2290 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (+/-S9)	陰性
<i>in vivo</i> <i>in vitro</i>	UDS 試験 (参照 47)	SD ラット (肝細胞) (一群雄 6 匹)	0, 600, 2000 mg/kg 体重 (強制単回経口投与)	陰性
<i>in vivo</i>	小核試験 (参照 48)	ICR マウス (一群雌雄各 5 匹)	雄: 0, 250, 500, 1000 雌: 0, 125, 250, 500 mg/kg 体重 (24 時間間隔で 2 回)強制経口投与	陰性
	コメットアッセイ (結腸、肝臓、肺) (参照 49)	ddY マウス (一群雄 4 匹)	0, 375, 750, 1500 mg/kg 体重 強制単回経口投与	陰性

注) +/-S9: 代謝活性化系存在下及び非存在下

代謝物 C、D、E 及び F の細菌を用いた復帰突然変異試験が実施されており、試験結果は全て陰性であった。(表 28) (参照 50~53)

表 28 遺伝毒性試験結果概要 (代謝物)

試験		被験物質	対象	処理濃度	結果
<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験	代謝物 C	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535,	5~5000 $\mu\text{g}/7^\circ\text{V}$ (+/-S9)	陰性

	(参照 50~53)	代謝物 D	TA1537 株 <i>E. coli</i> WP2uvrA 株	33~5000 μ g/7 ⁺ V-ト (+/-S9)	陰性
		代謝物 E		33~5000 μ g/7 ⁺ V-ト (+/-S9)	陰性
		代謝物 F		33~5000 μ g/7 ⁺ V-ト (+/-S9)	陰性

注) +/-S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下

14. その他の毒性試験

(1) 3日間混餌投与によるマウス肺での細胞分裂解析

ICR マウス (一群雄 5 匹) を用い 3 日間混餌 (原体 : 0、80、250、750、2250ppm、0、12.3、40.9、130、340 mg/kg 体重/日に相当) 投与し、解剖後、肺の組織標本を作製し、BrdU 免疫染色によるマウス肺での細胞分裂解析が実施された。

750ppm 以上投与群で肺細胞気管支上皮細胞の細胞分裂亢進が認められた。80ppm 投与群にはこの作用は認められず、80~250ppm の間にマイトジェーン活性の閾値が存在すると考えられた。(参照 54)

(2) 3日間混餌投与による肺における細胞分裂のマウスとラット間の種差比較試験

ICR マウス及び Wistar ラット (ともに一群雌 5 匹) を用い 3 日又は 7 日間混餌 (原体 : マウス : 0、2250ppm、ラット : 0、5000ppm、マウス : 0、374~386、ラット : 0、392~403mg/kg 体重/日に相当) 投与し、解剖後、肺の組織標本を作製し、BrdU 免疫染色による肺の細胞分裂解析によりマウスとラット間の種差比較試験が実施された。

マウスでは 3 日及び 7 日間の投与後に 2250ppm 投与群で肺の終末細気管支上皮細胞の細胞分裂亢進が認められたが、ラットでは両投与期間ともに増加は認められなかった。(参照 55)

(3) 28日間混餌投与及びその回復試験におけるマウス肺への作用とその回復性

ICR マウス (一群雄 5 匹) を用い 28 日間混餌 (原体 : 0、2250ppm、0、303 mg/kg 体重/日に相当) 投与し、解剖後、肺の組織標本を作製し、光学顕微鏡によるクララ細胞の形態変化や数の変化の観察、BrdU 免疫染色によるマウス肺での細胞分裂解析及び 28 日投与群とその回復群のマウスの肺について電子顕微鏡学的検査が実施された。

28 日間混餌投与した 2250ppm 投与群では肺細胞気管支上皮細胞の細胞分裂亢進、クララ細胞の突出、肥大、細胞質の分泌顆粒増加及び肥大が認められたが、回復群 (1 週間後、2 週間後及び 4 週間後) では BrdU 陽性細胞の増加は認められず、クララ細胞は投与 1 週間後には正常形態に回復した。(参照 56)

(4) フロニカミド及びその代謝物 C、D、E を用いた短期間混餌投与試験におけるマウス肺での BrdU による細胞分裂解析

ICR マウス (一群雄 5 匹) を用い 3 日又は 7 日間混餌 (フロニカミド、代謝物 C、D