

GC/MS 法及び LC/MS/MS 法で定量するものであった。また、ホップを用いて、フロニカミド、代謝物 C、D 及び E を分析対象化合物とした作物残留試験が米国で実施された。

結果は別紙 3 に示されており、国内で栽培された農産物における、フロニカミド、代謝物 C 及び E の合計値の最高は 100 g ai/ha で散布し、7 日後に収穫した茶（荒茶）の 20.4 mg/kg であった。代謝物 C または E は、ばれいしょ、キャベツ、ねぎ、ナス、きゅうり、すいか、メロン、れんこん、なし、すもも及びウメを用いた試験でフロニカミドを上回る場合があった。（参照 16～18、75～77、80）

上記の国内の作物残留試験結果を用いて、フロニカミド、代謝物 C 及び E を暴露評価対象物質として農産物から摂取される推定摂取量が表 10 に示されている。（別紙 4 参照）

なお、本推定摂取量の算定は、申請された使用方法からフロニカミド、代謝物 C 及び E の合計が最大の残留を示す使用条件で、今回申請のあった作物（なす、れんこん、メロン、ミニトマト、ぶどう、すいか、ねぎ、キャベツ、はくさい、すもも及びネクターリン）を含む全ての適用作物に使用され、加工・調理による残留農薬の増減が全くないとの仮定の下に行った。

表 10 食品中より摂取されるフロニカミド、代謝物 C 及び E の推定摂取量

	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)
摂取量 (µg/人/日)	133	68.9	130	156

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 に示されている。（参照 19）

表 11 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)	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	ICR マウス	雄 3 雌 3	0, 128, 320, 800, 2,000	128	320	800 mg/kg 体重群以上の雌雄では全例死亡、320 mg/kg 体重群の雌で 2/3 例死亡、320 mg/kg 体重群以上では認知力、運動性、中枢神経興奮、姿勢運動失調及び反射に興奮性症状及び抑制症状。
	SD ラット	雄 5	0, 320, 800, 2,000, 5,000	2,000	5,000	5,000 mg/kg 体重群の雄で 2/5 例死亡、自発運動能低下、腹臥位、流涎、横臥、あえぎ呼吸、呼吸数減少、口周囲の

試験の種類	動物種	動物数 匹/群	投与量 (mg/kg 体重) (投与経路)	無作用量 (mg/kg 体重)	作用量 (mg/kg 体重)	結果の概要
						血による汚れ、よろめき歩調
	睡眠時間延長 ヘキサバルビタール睡眠	ICR マウス	雄 8 0, 20.5, 51.2, 128, 320, 800	51.2	128	800 mg/kg 体重群で死亡、 128 mg/kg 体重群以上で用量 に依存した睡眠時間の延長、 320 mg/kg 体重群では対照の 約3.5 倍に延長。
呼吸循環器系	血圧・心拍数	SD ラット	雄 5 0, 800, 2,000, 5,000	800	2,000	5,000 mg/kg 体重群で 4/5 例死亡、2,000 mg/kg 体重群 以上で血圧低下、5,000 mg/kg 体重群で心拍数減少。
自律神経系	体温、瞳孔径	SD ラット	雄 5 0, 320, 800, 2,000, 5,000	800	2,000	5,000 mg/kg 体重群で 2/5 例死亡、2,000 mg/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	ICR マウス	雄 8 0, 20.5, 51.2, 128, 320, 800	320	800	800 mg/kg 体重群で死 亡、320 mg/kg 体重群以 下では投与による影響な し。
骨格筋	握力	SD ラット	雄 5 0, 320, 800, 2,000, 5,000	5,000	—	5,000 mg/kg 体重群で 2/5 死亡。投与による影響な し。
腎臓	腎機能	SD ラット	雄 5 0, 51.2, 128, 320, 800, 2,000, 5,000	320	800	5,000 mg/kg 体重群で pH 減少及びケトン体増加、 2,000 mg/kg 体重群以上 で Glu 増加、800 mg/kg 体重群以上でクロール減 少、800 または 2,000 mg/kg 体重群で尿量、ナ トリウム、カリウムの排 泄量減少、浸透圧とタン パク質増加。320 mg/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 Tween80(1%)に懸濁したものを、ラットについては単回経口投与し、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（原体）を用いた急性毒性試験が実施された。結果は表 12 に示されている。（参照 20～22）

表 12 急性毒性試験結果概要

投与経路	動物種	LD ₅₀ (mg/kg 体重)		観察された症状
		雄	雌	
経口	SD ラット 雌雄各 5 匹	884	1,770	体重減少、運動活性低下、努力呼吸、全身衰弱、痙攣、体温低下、音に対する過敏、運動失調、呼吸困難、振戦、肛門周囲の汚染及び糞の減少 剖検例で胃腸音赤—黒色斑点、肺の慢性音赤色化、肛門周囲赤色分泌物等 1,250 mg/kg 体重以上投与群で死亡例
経皮	SD ラット 雌雄各 5 匹	>5,000	>5,000	鼻及び眼周辺着色、肛門付近汚染 死亡例なし
吸入	SD ラット 雌雄各 5 匹	LC ₅₀ (mg/L)		過呼吸、鼻及び口周囲の褐色着色
		>4.9	>4.9	

(2) 急性毒性試験（代謝物）

フロニカミドの代謝物の急性経口毒性試験が実施された。各試験の結果は表 13 に示されている。（参照 23～26）

表 13 急性毒性試験結果概要

検体	動物種	LD ₅₀ (mg/kg 体重)		観察された症状
		雄	雌	
代謝物 C	Wistar ラット 雌雄各 3 匹	>2,000	>2,000	症状及び死亡例なし
代謝物 D	Wistar ラット 雌雄各 3 匹	>2,000	>2,000	症状及び死亡例なし
代謝物 E	Wistar ラット 雌雄各 3 匹	>2,000	>2,000	症状及び死亡例なし
代謝物 F	Wistar ラット 雌雄各 3 匹	>2,000	>2,000	症状及び死亡例なし

(3) 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（原体：0、100、300、600(雄

のみ)、1,000 mg/kg 体重、溶媒：0.5%MC 水溶液) 投与による急性神経毒性試験が実施された。

1,000 mg/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幅の増加、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が、これらの所見は全身毒性に由来するもので、神経毒性を示すものではないと考えられた。

神経病理学的検査では検体投与の影響は認められなかった。

なお、1,000 mg/kg 体重投与群の雄一匹が投与翌日に死亡した状態で発見された。

本試験における無毒性量は、雄で 600 mg/kg 体重、雌で 300 mg/kg 体重であると考えられた。神経毒性は認められなかった。(参照 27)

9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

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た。皮膚に対する刺激性は認められなかったが、眼に軽度の刺激性が認められた。(参照 28~29)

Hartley 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、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 (ラット)

Wistar ラット (一群雌雄各 12 匹) を用いた混餌 (原体、雄：0、50、200、1,000 及び 2,000 ppm、雌：0、200、1,000 及び 5,000 ppm：平均検体摂取量は表 14 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 14 90 日間亜急性毒性試験 (ラット) の平均検体摂取量

投与群		50 ppm	200 ppm	1,000 ppm	2,000 ppm	5,000 ppm
平均検体摂取量 (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毒性所見は表 15 に示されている。

200 ppm 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 α_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、1,000 ppm 以上投与群雄で腎尿細管好塩基性変化等が、5,000 ppm 投与群雌で腎近位尿細管細胞空胞化等が認められたので、無毒性量は雄で 200 ppm (12.1 mg/kg 体重/日)、雌で 1,000 ppm (72.3 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 31)

表 15 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
5,000 ppm		<ul style="list-style-type: none"> ・摂餌量減少 ・MCHC 増加、Ht 減少 ・TG 減少 ・肝及び腎比重量¹増加 ・小葉中心性肝細胞肥大 ・腎近位尿細管細胞空胞化
2,000 ppm		<ul style="list-style-type: none"> ・眼周囲赤色物付着 ・TG 減少 ・腎退色 ・小葉中心性肝細胞肥大
1,000 ppm 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 	1,000 ppm 以下毒性所見なし
200 ppm 以下	毒性所見なし [*]	

※：腎近位尿細管硝子滴沈着が 200 ppm 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、無毒性量の根拠とはしなかった。

（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、100、1,000 及び 7,000 ppm：平均検体摂取量は表 16 参照）投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 16 90 日間亜急性毒性試験（マウス）の平均検体摂取量

投与群		100 ppm	1,000 ppm	7,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	15.3	154	1,070
	雌	20.1	192	1,250

各投与群で認められた毒性所見は表 17 に示されている。

本試験において、1,000 ppm 以上投与群の雄及び 7,000 ppm 投与群の雌で小葉中心性肝細胞肥大が認められたので、無毒性量は雄で 100 ppm (15.3 mg/kg 体重/日)、雌で 1,000 ppm (192 mg/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 17 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
7,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ 自発運動量低下 ・ MCV、MCH 及び網赤血球数増加、RBC、Hb、Ht 及び PLT 減少 ・ Cre、T.Bil、ナトリウム及びカルシウム増加、カリウム減少 ・ 肝及び脾比重量増加 ・ 胸骨髄の低形成及び色素沈着亢進 ・ 脾髄外造血亢進及び色素沈着亢進 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制及び摂餌量減少 ・ 自発運動量低下 ・ MCV、MCH 及び網状赤血球数増加、RBC、Hb 及び Ht 減少 ・ Glu 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 ・ 脾髄外造血亢進及び色素沈着亢進
1,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ 小葉中心性肝細胞肥大 	1,000 ppm 以下毒性所見なし
100 ppm	毒性所見なし	

(3) 90 日間亜急性毒性試験（イヌ）

ビーグル犬（一群雌雄各 4 匹）を用いたカプセル経口（原体：0、3、8、20 及び 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。

50 mg/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 週目に切迫と殺し、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、RBC 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。腓浮腫、胸腺退縮は瀕死期に切迫と殺した一例に認められた。

本試験において、雄では最高用量群（20 mg/kg 体重/日）で検体投与の影響が認められず、50 mg/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ので、無毒性量は雌雄とも 20 mg/kg 体重/日であると考えられた。（参照 33）

(4) 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、1,000 及び 10,000 ppm：平均検体摂取量は表 18 参照）投与による 90 日間亜急性神経毒性試験が実施された。

表 18 90 日間亜急性神経毒性試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群		200 ppm	1,000 ppm	10,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	13	67	625
	雌	16	81	722

10,000 ppm 投与群の雌雄で体重増加抑制、摂餌量減少が認められた。機能観察

総合評価（FOB）、神経病理学的検査で検体投与の影響は認められなかった。

本試験において、10,000 ppm 投与群雌雄で体重増加抑制等が認められたので、無毒性量は雌雄で 1,000 ppm（雄：67 mg/kg 体重/日、雌：81 mg/kg 体重/日）であると考えられた。神経毒性は認められなかった。（参照 34）

（5）90 日間亜急性毒性試験（ラット：代謝物 C）

Wistar ラット（一群雌雄各 5 匹）を用いた混餌（代謝物 C：雄：0、50 及び 2,000 ppm、雌：0、200 及び 5,000 ppm：平均検体摂取量は表 19 参照）投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 19 90 日間亜急性毒性試験（ラット：代謝物 C）の平均検体摂取量

投与群		50 ppm	200 ppm	2,000 ppm	5,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	3.56	—	135	—
	雌	—	16.5	—	411

全ての投与群において、検体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 2,000 ppm (135 mg/kg 体重/日)、雌で 5,000 ppm (411 mg/kg 体重/日) であると考えられた。（参照 35）

（6）90 日間亜急性毒性試験（ラット：代謝物 E）

Wistar ラット（一群雌雄各 5 匹）を用いた混餌（代謝物 E：雄：0、50 及び 2,000 ppm、雌：0、200 及び 5,000 ppm：平均検体摂取量は表 20 参照）投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 20 90 日間亜急性毒性試験（ラット：代謝物 E）の平均検体摂取量

投与群		50 ppm	200 ppm	2,000 ppm	5,000 ppm
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、検体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 2,000 ppm (136 mg/kg 体重/日)、雌で 5,000 ppm (409 mg/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）を用いたカプセル経口（原体：0、3、8 及び 20 mg/kg 体重）投与による 1 年間慢性毒性試験が実施された。

20 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で MCH 及び網状赤血球数増加が、雄で MCV 増

加、腎比重量増加が、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、20 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で網状赤血球数増加等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 8 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 37)

(2) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット)

Wistar ラット (本試験群：一群雌雄各 52 匹、衛星群 I：14 匹 (52 週後に 10 匹を中間と殺)、衛星群 II：10 匹 (26 週後に中間と殺)) を用いた混餌 (原体：雄：0、50、100、200 及び 1,000 ppm、雌：0、200、1,000 及び 5,000 ppm：平均検体摂取量は表 21 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 21 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		50 ppm	100 ppm	200 ppm	1,000 ppm	5,000 ppm
平均検体摂取量 (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毒性所見は表 22 に示されている。

本試験において 1,000 ppm 投与群雄及び 5,000 ppm 投与群雌で慢性腎症等が認められたので、無毒性量は雄で 200 ppm(7.32 mg/kg 体重/日)、雌で 1,000 ppm(44.1 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 38)

表 22 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

投与群	雄	雌
5,000 ppm	/	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制、摂餌量減少 ・ RBC、Ht、Hb、MCHC 減少 ・ GGT、T.Chol 増加、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、変異肝細胞巢 (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
1,000 ppm*		・ 尿比重減少、尿量増加

	<ul style="list-style-type: none"> ・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 	
200 ppm 以下	毒性所見なし	

※：腎近位尿細管硝子滴沈着が 1,000 ppm 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変化であることから、毒性所見から除外した。

(3) 18 ヶ月間発がん性試験 (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 週時に中間と殺)、衛星群 II : 一群雌雄各 10 匹 (26 週時に中間と殺)) を用いた混餌 (原体: 0、250、750 及び 2,250 ppm : 平均検体摂取量は表 23 参照) 投与による 18 ヶ月間発がん性試験が実施された。

表 23 18 ヶ月間発がん性試験 (マウス) の平均検体摂取量

投与群		250 ppm	750 ppm	2,250 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	29	88	261
	雌	38	112	334

各投与群で認められた毒性所見 (非腫瘍性病変) は表 24 に、肺腫瘍の発生頻度は表 25 に示されている。

本試験において 250 ppm 以上投与群雌雄で肺腫瘍の増加が認められたので、無毒性量は雌雄とも 250 ppm 未満であると考えられた。(参照 39)

表 24 18 ヶ月間発がん性試験 (マウス) で認められた毒性所見 (非腫瘍性病変)

投与群	雄	雌
2,250 ppm	<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
750 ppm 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
250 ppm 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 25 18 ヶ月間発がん性試験（マウス）における肺腫瘍の発生頻度

性別		雄				雌			
投与群 (ppm)		0	250	750	2,250	0	250	750	2,250
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) 18 ヶ月間発がん性試験（マウス）-追加試験-

ICR マウス（一群雌雄各 50 匹）を用いた混餌（原体：0、10、25、80 及び 250 ppm：平均検体摂取量は表 26 参照）投与による 18 ヶ月間発がん性試験が実施された。

表 26 18 ヶ月発がん性試験（追加試験：マウス）の平均検体摂取量

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

250 ppm 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 27 に示されている。

本試験において、250 ppm 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 250 ppm 投与群の雄では肺腺腫及び肺癌が認められたので、無毒性量は雌雄とも 80 ppm(雄：10.0 mg/kg 体重/日、雌：11.8 mg/kg 体重/日)であると考えられた。(参照 40)

表 27 18 ヶ月発がん性試験（追試：マウス）で認められた肺腫瘍の発生頻度

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。

12. 生殖発生毒性試験

(1) 2世代繁殖試験（ラット）

Wistar ラット（一群雌雄各 24 匹）を用いた混餌（原体：0、50、300 及び 1,800 ppm：平均検体摂取量は表 28 参照）投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

表 28 2 世代繁殖試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群			50 ppm	300 ppm	1,800 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	P 世代	雄	3.07	18.3	109
		雌	4.67	28.2	164
	F ₁ 世代	雄	3.39	20.7	125
		雌	4.95	30.5	177

親動物及び児動物における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 1,800ppm 投与群の親動物雌雄で肝及び腎比重量増加等が、児動物雌で子宮比重量減少が認められたので、無毒性量は親動物の雌雄で 300 ppm (P 雄：18.3 mg/kg 体重/日、P 雌：28.2 mg/kg 体重/日、F₁ 雄：20.7 mg/kg 体重/日、F₁ 雌：30.5 mg/kg 体重/日)、児動物の雄で 1,800 ppm (F₁ 雄：109 mg/kg 体重/日、F₂ 雄：125 mg/kg 体重/日)、雌で 300 ppm (F₁ 雌：28.2 mg/kg 体重/日、F₂ 雌：30.5 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 41)

表 29 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	1,800 ppm	<ul style="list-style-type: none"> 腎比重量増加 甲状腺比重量増加 腎退色 尿細管好塩基性化 顆粒状尿円柱 	<ul style="list-style-type: none"> 副腎及び卵巣比重量減少 近位尿細管空胞化 	<ul style="list-style-type: none"> 肝及び腎比重量増加 精嚢比重量増加 腎退色 尿細管好塩基性化 顆粒状尿円柱 	<ul style="list-style-type: none"> 肝及び腎比重量増加 近位尿細管空胞化 膈開口遅延
	300 ppm 以下	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	1,800 ppm	1,800 ppm 以下毒性所見なし	1,800 ppm 以下毒性所見なし	1,800 ppm 以下毒性所見なし	・子宮比重量減少
	300 ppm 以下	見なし	見なし	見なし	毒性所見なし

(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

及び 500 mg/kg 体重/日、溶媒：1%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、500 mg/kg 体重/日投与群で肝比重量増加、小葉中心性肝細胞腫大、腎尿細管空胞化が認められた。

胎児では 500 mg/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。

本試験における無毒性量は母動物及び胎児で 100 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 42)

(3) 発生毒性試験 (ウサギ)

日本白色種ウサギ (一群雌 25 匹) の妊娠 6~27 日に強制経口 (原体：0、2.5、7.5 及び 25 mg/kg 体重/日、溶媒：1%MC 水溶液) 投与して発生毒性試験が実施された。

母動物では、25 mg/kg 体重/日で体重増加抑制が認められた。

胎児では検体投与の影響は認められなかった。

本試験における無毒性量は、母動物で 7.5mg/kg 体重/日、胎児で 25 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 43)

1.3. 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 30)。(参照 44~49)

表 30 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	<i>Salmonella typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、TA1537 株) <i>Escherichia coli</i> (WP2uvrA 株)	61.7~5,000 µg/プレート (+/-S9)	陰性
	遺伝子突然変異試験	マウスリンパ腫細胞 L5178Y TK ⁺ -3.7.2.C	28.3~2,290 µg/mL (+/-S9)	陰性
	染色体異常試験	チャイニーズハムスター肺腺維芽細胞(CHL)	573~2,290 µg/mL (+/-S9)	陰性

<i>in vivo</i> <i>in vitro</i>	UDS 試験	SD ラット (肝細胞) (一群雄 6 匹)	0、600、2,000 mg/kg 体重 (単回強制経口投与)	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)	雄 : 0、250、500、1,000 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、1,500 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

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 31)。(参照 50~53)

表 31 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、TA1537 株) <i>E. coli</i> (WP2uvrA 株)	5~5,000 µg/7° レート (+/-S9)	陰性
		代謝物 D		33~5,000 µg/7° レート (+/-S9)	陰性
		代謝物 E		33~5,000 µg/7° レート (+/-S9)	陰性
		代謝物 F		33~5,000 µg/7° レート (+/-S9)	陰性

注) +/-S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下

1.4. 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 及び 2,250 ppm、0、12.3、40.9、130 及び 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。

750 ppm 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。80 ppm 投与群にはこの作用は認められず、80~250 ppm の間にマイトジェ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 日または 7 日間混

餌（原体：マウス：0及び2,250 ppm、ラット：0及び5,000 ppm、マウス：0及び374～386 mg/kg 体重/日、ラット：0、392～403 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2,250 ppm 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及び2,250 ppm、0及び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2,250 ppm 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日または7日間混餌（フロニカミド、代謝物 C、D 及び E 各々：0及び2,250 ppm、フロニカミド：0及び330～389、代謝物 C：0及び318～402、D：0及び332～385、E：0及び336～364 mg/kg 体重/日に相当）投与し、解剖後、肺の組織標本を作製し、フロニカミド及びその代謝物 C、D、E の BrdU 免疫染色によるマウス肺の細胞分裂解析が実施された。

フロニカミドでは3日及び7日間の投与後に2,250 ppm 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、代謝物では両投与期間ともに増加は認められなかった。（参照 57）

（5）フロニカミド及びイソニアジドのマウス3系統の3日間混餌投与による肺の細胞分裂解析比較試験

ICR マウス（一群雄5匹）、B6C3F1 マウス（一群雄5匹）及びC57 マウス（一群雄5匹）を用いフロニカミドまたはイソニアジドを3日混餌（フロニカミド、イソニアジド各々：0、2,250 ppm、フロニカミド：0、299～306、イソニアジド：0、290～325 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の細胞分裂解析を行い、フロニカミド及びイソニアジドに対するマウス3系統間の比較試験が実施された。

フロニカミドではICR マウスの2,250 ppm 投与群でのみ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、イソニアジドでは3系統全てのマウスの2,250 ppm 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、その増加レベルは ICR>B6C3F1>C57 マウスであった。(参照 58)

(6) ラットを用いた繁殖毒性試験におけるメカニズム試験

ラットを用いた繁殖試験[11. (1)]のF₁世代で正常分娩したペアの雌雄各親8匹から採取した血清を用いて、血清中の性腺刺激ホルモン及び性ホルモン濃度(雄:FSH、LH、テストステロン、雌:FSH、LH、エストラジオール、プロゲステロン)に対するフロニカミド投与の影響について確認が行われるとともに、フロニカミドのエストロゲン受容体(α及びβ)に対するエストロゲン様活性の影響を確認するためレセプターバインディングアッセイが実施された。

ホルモン測定については、1,800 ppm 群の雌でFSH増加、エストラジオールの減少傾向が、300 ppm 投与群以上の雌でLH増加が認められた。

レセプターバインディングアッセイの結果、フロニカミドはエストロゲン受容体α及びβとエストラジオールとほぼ同等に結合親和力を持つ蛍光リガンドの結合を生物学的に意味のあるレベルで阻害しなかった。

フロニカミド投与により、詳細なメカニズムは明らかではないがエストラジオール生成及び血中濃度が減少するが、エストロゲン受容体へ直接関与するものではなく、その影響とFSH及びLHが増加するといった正のフィードバック機構には用量相関があると考えられた。(参照 59)