

月までの間に表面から 10 cm の表層で生成し、検出されたが、10 cm 以下の層からは定量限界未満であった。(参照 11)

(5) 土壌表面光分解試験

[aph-¹⁴C]フェンアミドンを 1,500 g ai/ha 相当の用量で砂壤土（米国）に散布後、20±1°Cで 30 日間、290 nm 以下の波長を除去したキセノンランプ光（311 W/m²、測定波長：300~400 nm）を照射し、土壌表面光分解試験が行われた。

30 日後の主な放射性成分はフェンアミドン、C 及び D であり、光照射区と非照射区で分解物の生成に大きな差はなかった。光照射区及び非照射区のフェンアミドンの推定半減期は 15.8 日及び 9.14 日であった。

土壌表面における光分解は、フェンアミドンの分解挙動にほとんど関与しないと考えられた。(参照 12)

4. 水中運命試験

(1) 加水分解試験

[aph-¹⁴C]フェンアミドンを、pH 4.0（クエン酸一水和物緩衝液）、pH 5.0（クエン酸緩衝液）、pH 7.0（リン酸二水素カリウム緩衝液）、pH 9.0（ホウ酸緩衝液）の各緩衝液に 3.89 µg/mL の用量で添加し、24.8~25.0°Cの暗所で 31 日間インキュベーションし、加水分解試験が実施された。

pH 5.0 及び pH 7.0 ではほとんど分解されず、pH 4.0 及び pH 9.0 で最も分解された。31 日後の主要放射性成分は、pH 4.0 ではフェンアミドンが 59.7%TAR、G が 38.8%TAR、pH 5.0 ではフェンアミドンが 91.2%TAR、pH 7.0 ではフェンアミドンが 95.3%TAR、pH 9.0 ではフェンアミドンが 47.1%TAR、H が 32.2%TAR、C が 10.1%TAR であった。

フェンアミドンの各緩衝液中における推定半減期は、pH 4.0 では 41.7 日、pH 5.0 では 222 日、pH 7.0 では 411 日、pH 9.0 では 27.6 日であった。(参照 13)

(2) 水中光分解試験（緩衝液）①

[aph-¹⁴C]フェンアミドンを、pH 7.0（リン酸二水素カリウム緩衝液）の滅菌緩衝液に 3.9 µg/mL の用量で添加し、25±1°Cで 48 時間、290 nm 以下の波長を除去したキセノンランプ光（720 W/m²、測定波長：300~800 nm）を照射し、水中光分解試験が実施された。

48 時間後ではフェンアミドンが 27.9%TAR に減少し、主な分解物は C が 35.6%TAR、G が 13.4%TAR であった。

フェンアミドンは水中で速やかに光分解を受け、推定半減期は 25.7 時間であり、夏期におけるフロリダの太陽光換算では 5.0 日であった。なお、北緯 35 度（4~6 月）の太陽光換算では 7.79 日であった。(参照 14)

(3) 水中光分解試験（緩衝液）②

[bph-¹⁴C]フェンアミドンを、pH 7.0（リン酸二水素カリウム緩衝液）の滅菌緩衝液に 3.9 µg/mL の用量で添加し、25 ± 1°C で 48 時間、290 nm 以下を除去したキセノンランプ光（720 W/m²、測定波長：300~800 nm）を照射し、水中光分解試験が実施された。

48 時間後では、フェンアミドンが 29.3% TAR に減少し、主な分解物はアニリン環の 4 位がオキシ化した N が 9.2% TAR であった他、多数の成分が存在することが確認された。

フェンアミドンは水中で速やかに光分解を受け、推定半減期は 29.5 時間であり、夏期におけるフロリダの太陽光換算では 5.8 日であった。なお、北緯 35° の 4~6 月における太陽光に換算すると 8.96 日であった。（参照 15）

(4) 水中光分解試験（自然水）

[aph-¹⁴C]フェンアミドンを、pH 8.5 の滅菌自然水に 3.6 µg/mL の用量で添加し、25 ± 2°C で 16 日間、290 nm 以下の波長を除去したキセノンランプ光（350 W/m²、測定波長：290~800 nm）を照射し、水中光分解試験が実施された。

16 日後では、フェンアミドンが 1.7% TAR に減少し、主な分解物として C が 27.3% TAR、アセトフェノンが 11.6% TAR 検出された。

フェンアミドンは水中で速やかに光分解を受け、推定半減期は 3.71 日であり、北緯 35° における 4~6 月の太陽光換算では 18.8 日であった。（参照 16）

5. 代謝分解物のキラリティーの検討

フェンアミドンは *S* 体であることから、動物、植物、土壌及び水中における運命試験において *S* 体から *R* 体へのキララル変換が起こるかどうか確認するため、各試験で得られた代謝物（動物：C、植物：フェンアミドン、C、D 及び G、土壌：フェンアミドン、C、D、K 及び L、水中：フェンアミドン、C 及び G）について検討が行われた。

各代謝物が *R* 体を含むと示されたものは認められなかった。（参照 17）

6. 土壌残留試験

火山灰・軽埴土（茨城）、沖積・埴壌土（高知）を用いて、フェンアミドン及び分解物（C 及び D）を分析対象化合物とした土壌残留試験（容器内及び圃場）が実施された。

結果は表 4 に示されている。推定半減期はフェンアミドンとして 1~3 日、フェンアミドンと分解物の含量として 1~4 日であった。（参照 23）

表4 土壌残留試験成績（推定半減期）

試験	土壌	フェンアミドン	フェンアミドン+分解物
容器内試験	火山灰・軽埴土	1日	1日
	沖積・埴壤土	1日	1日
圃場試験	火山灰・軽埴土	3日	4日
	沖積・埴壤土	1日	1日

注) フェンアミドン+分解物：フェンアミドン、分解物C及びDの合計

7. 作物残留試験

はくさい、たまねぎ及びきゅうり等を用いて、フェンアミドン及びG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、国内での適用作物については別紙3に、今回インポートトレランス申請されている作物（ばれいしょ、キャベツ、ブロッコリー、にんじん、ピーマン、とうがらし、まくわうり、いちご、ひまわり種子及び棉）については別紙4に示されている。国内で栽培される農産物における最高値は、250~300 g ai/ha で3回散布し、最終散布14日後に収穫したぶどうの1.41 mg/kgであったが、28日後及び42日後にはそれぞれ0.89 mg/kg及び0.88 mg/kgと減衰した。Gの最高値はぶどうの0.17 mg/kgであったが、他の作物では検出されなかった。

別紙3の作物残留試験の分析値を用いて、フェンアミドン及びGを暴露評価対象化合物として国内で栽培される農産物から摂取されるフェンアミドンの推定摂取量が表5に示されている。本推定摂取量の算定は、申請された使用方法からフェンアミドンが最大の残留を示す使用条件で、全ての適用作物に使用され、加工・調理による残留量の増減が全くないとの仮定の下に行った。（参照18~19）

表5 食品中より摂取されるフェンアミドンの推定摂取量

作物名	残留値 (mg/kg)	国民平均 (体重:53.3 kg)		小児 (1~6歳) (体重:15.8 kg)		妊婦 (体重:55.6 kg)		高齢者 (65歳以上) (体重:54.2 kg)	
		ff (g/人/日)	摂取量 (µg/人/日)	ff (g/人/日)	摂取量 (µg/人/日)	ff (g/人/日)	摂取量 (µg/人/日)	ff (g/人/日)	摂取量 (µg/人/日)
はくさい	0.07	29.4	2.1	10.3	0.7	21.9	1.5	29.9	2.1
きゅうり	0.06	16.3	1.0	8.2	0.5	10.1	0.6	16.6	1.0
ぶどう	1.19	5.8	6.9	4.4	5.2	1.6	1.9	3.8	4.5
合計			10.0		6.4		4.0		7.6

注)・残留値は、申請されている使用時期・使用回数による各試験区の平均残留値のうち最大のものを用いた（参照表3）。

- ・「ff」：平成10年~12年の国民栄養調査（参照20~22）の結果に基づく農産物摂取量（g/人/日）
- ・「摂取量」：残留値及び農産物残留量から求めたフェンアミドン（Gを含む）の推定摂取量（µg/人/日）
- ・たまねぎ、すいか、メロンは全データが定量限界未満であったため、摂取量の計算はしていない。

8. 一般薬理試験

マウス、ラット及びモルモットを用いた一般薬理試験が実施された。結果は表 6 に示されている。(参照 54)

表 6 一般薬理試験概要

試験の種類	動物種	動物数/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)	概要	
中枢神経系	一般状態	ICR マウス	雄 5 匹	0、200、600、 2,000 (経口)	600	2,000	2,000 mg/kg 体重で自発運動の減少、立毛、眼瞼下垂が認められた。いずれの所見も投与後 2 時間には消失した。
	自発運動量	ICR マウス	雄 8 匹	0、200、600、 2,000 (経口)	600	2,000	2,000 mg/kg 体重で、投与後 30 分から自発運動量の低値傾向が認められた。なおこの低値傾向について、統計学的な有意差は認められなかった。
	痙攣誘発作用 (電撃痙攣)	ICR マウス	雄 6 匹	0、200、600、 2,000 陽性対照 (カフェイン) : 300 (経口)	2,000	—	溶媒対照群と各検体投与群との間に、電撃刺激後の痙攣誘発作用に統計学的有意差は認められなかった。陽性対照群では、強直性屈曲痙攣の発現が統計学的に有意な高値を示し、また死亡が認められた。
	体温 (直腸温)	SD ラット	雌 6 匹	0、200、600、 2,000 (経口)	600	2,000	2,000 mg/kg 体重で統計学的に有意な直腸温の低値が、投与後 1 時間から 3 時間まで継続して認められた。

循環器系	収縮期血圧・心拍数	SD ラット	雌 6 匹	0、200、600、600 2,000 (経口)	2,000	心拍数に関し、2,000 mg/kg 体重の投与後 3 時間の値が、統計学的に有意な低値を示した。収縮期血圧に関し、差は認められなかった。
自律神経系	ACh 惹起収縮 His 惹起収縮 BaCl ₂ 惹起収縮	モルモット 摘出回腸 標本	1 濃度 群: 5 標本	0、 1×10 ⁻⁶ 、 1×10 ⁻⁵ 、 1×10 ⁻⁴ g/mL (<i>in vitro</i>)	1×10 ⁻⁶ g/ml 1×10 ⁻⁵ g/ml	1×10 ⁻⁵ g/ml 以上で、ACh、His、BaCl ₂ による惹起収縮を統計学的に有意に抑制した。なお、検体による摘出回腸標本への直接作用は認められなかった。
消化器	小腸輸送能・活性炭末移行率	ICR マウス	雄 8 匹	0、200、600、600 2,000 陽性対照 (アトピソ): 300 (経口)	2,000	2,000 mg/kg 体重において、統計学的有意差は認められなかったが、小腸輸送能の高値傾向が認められた。
骨格筋	懸垂動作	ICR マウス	雄 8 匹	0、200、600、2,000 2,000 (経口)	—	投与による影響なし
血液	血液凝固 PT、 APTT、 FIB 量	SD ラット	雌 6 匹	0、200、600、2,000 2,000 (経口)	—	投与による影響なし

全てフェンアミドン原体を投与した。溶媒として、0.5%MC を使用した。

9. 急性毒性試験

(1) 急性毒性試験

フェンアミドン、C、D 及び G を用いた急性毒性試験が実施された。結果は表 7 及び 8 に示されている。(参照 1、24~28)

表 7 急性毒性試験結果概要 (原体)

投与経路	動物種	LD ₅₀ (mg/kg 体重)		症状
		雄	雌	
経口	SD ラット 雌雄各 5 匹	>5,000	2,030	雄で自発運動の低下 死亡例なし 雌で自発運動の減少、円背位、失調 雌の 5,000 mg/kg 体重投与群で 5 例が死亡、2,000 mg/kg 体重投与群で 2 例が死亡

経口	OF1 ICO マウス 雌雄各 5 匹	>2,000	>2,000	症状及び死亡例なし
経皮	SD ラット 雌雄各 5 匹	>2,000	>2,000	症状及び死亡例なし
吸入	SD ラット 雌雄各 5 匹	LC ₅₀ (mg/L)		体重増加抑制、摂餌量減少 死亡例なし
		>2.1	>2.1	

溶媒として、0.5%MC を使用した。

表 8 急性毒性試験結果概要（代謝物）

検体	投与経路	動物種	LD ₅₀ (mg/kg 体重)		症状
			雄	雌	
C	経口	SD ラット 雌雄各 5 匹	176	176	自発運動の低下、立毛、 鎮静、呼吸困難、昏睡、 体重増加抑制 150 mg/kg 体重投与群の 雄 3 例、雌 1 例が死亡、 200 mg/kg 体重投与群で は雄 4 例、雌 2 例が死亡
D	経口	SD ラット 雌雄各 5 匹	1,520	1,520	鎮静、自発運動の低下、 立毛、歩行失調、横臥、 呼吸困難、昏睡、振せん、 低体重 1,000 mg/kg 体重投与群 の雌 1 例が死亡、2,000 mg/kg 体重投与群の雄 5 例、雌 3 例が死亡
G	経口	SD ラット 雌雄各 5 匹	>2,000	>2,000	症状及び死亡例なし

溶媒として、0.5%MC を使用した。

(2) 急性神経毒性試験（ラット）

SD ラット（一群雌雄各 10 匹）を用いた単回経口投与（原体：0、125、500 及び 2,000 mg/kg 体重）による急性神経毒性試験が実施された。

本試験において、2,000 mg/kg 体重投与群雌雄で投与 4 時間後の自発運動量の減少が、雌で排尿増加、直腸温度低下、円背位が、500 mg/kg 体重以上投与群雌で肛門・生殖器部の被毛の汚れ/着色が認められたので、無毒性量は雄で 500 mg/kg 体重、雌で 125 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 29）

10. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

NZW ウサギを用いた眼一次刺激性試験及び皮膚一次刺激性試験が実施され、眼及び皮膚に対する刺激性は認められなかった。（参照 30、31）

Hartley モルモットを用いた皮膚感作性試験が実施され、皮膚感作性は認めら

れなかった。(参照 32)

1 1. 亜急性毒性試験

(1) 90 日間亜急性毒性試験 (ラット) ①

SD ラット (一群雌雄各 10 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、50、150、500 及び 5,000 ppm : 平均検体摂取量は表 9 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 9 90 日間亜急性毒性試験 (ラット) ①の平均検体摂取量

投与群		50 ppm	150 ppm	500 ppm	5,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	2.94	8.95	29.7	305
	雌	3.4	10.6	35.4	337

本試験において、5,000 ppm 投与群雌雄で低体重、摂餌量減少、RBC 及び Hb の減少、脳及び肝比重量²増加が、雄で腎比重量、甲状腺絶対及び比重量増加、胸腺絶対及び比重量の減少、肝細胞の門脈周囲性大/小空胞化、脾の白脾髄一胚中心明瞭化が、雌で血漿中 Glu、脾及び副腎比重量の増加が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 500 ppm (雄 : 29.7 mg/kg 体重/日、雌 : 35.4 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 34、35)

(2) 90 日間亜急性毒性試験 (ラット) ②

SD ラット (一群雌雄各 10 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、60、150、1,000 及び 5,000 ppm : 平均検体摂取量は表 10 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 10 90 日間亜急性毒性試験 (ラット) ②の平均検体摂取量

投与群		60 ppm	150 ppm	1,000 ppm	5,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	4.05	10.4	68.3	344
	雌	4.81	12.0	83.3	381

1,000 ppm 以上投与群雄及び 5,000 ppm 投与群雌で肝比重量増加及び肝細胞すり硝子状細胞質が認められた。また、5,000 ppm 投与群雌雄で摂餌量減少、T. Chol 減少、肝暗調化、同群雄で低体重、Hb 減少、MCHC 減少、血漿中 Glu 減少、脾比重量、精巣比重量、甲状腺絶対及び比重量増加、雌で血漿中無機リン増加、肝絶対重量増加が認められた。

² 体重比重量を比重量という (以下同じ)。

本試験において、1,000 ppm 以上投与群雄及び5,000 ppm 投与群雌で肝比重量増加及び肝細胞すり硝子状細胞質等が認められたことから、無毒性量は雄で150 ppm (10.4 mg/kg 体重/日)、雌で1,000 ppm (83.3 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 34、36)

(3) 90 日間亜急性毒性試験 (マウス)

C57BL/10J マウス (一群雌雄各 10 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、50、200、1,000 及び 5,000 ppm : 平均検体摂取量は表 11 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 11 90 日間亜急性毒性試験 (マウス) の平均検体摂取量

投与群		50 ppm	200 ppm	1,000 ppm	5,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	11.3	44.5	220	1,060
	雌	13.7	54.1	274	1,380

本試験において、5,000 ppm 投与群雌 1 匹及び対照群雄 2 匹が事故により死亡した他、200 ppm 投与群雌で 1 匹死亡したが、投与に関連した死亡ではなかった。

本試験において、5,000 ppm 投与群雄で肝比重量増加、同群雌で肝絶対及び比重量増加、1,000 ppm 以上投与群雌で T. Chol の減少が認められたことから、無毒性量は雄で 1,000 ppm (220 mg/kg 体重/日)、雌で 200 ppm (54.1 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 33、34)

(4) 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、10、100 及び 500 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。

500 mg/kg 体重/日投与群雌雄で流涎、舌の赤色化、雌で T. Chol の増加が認められた。舌の赤色化については、1 年間慢性毒性試験 [12. (1)] で同様の所見が認められていないことから偶発的であると考えられた。

本試験において、500 mg/kg 体重/日投与群雌雄で流涎等が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 100 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 37)

(5) 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、150、1,000 及び 5,000 ppm : 平均検体摂取量は表 12 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 12 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		150 ppm	1,000 ppm	5,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	11.2	73.5	392
	雌	12.7	83.4	414

本試験において、5,000 ppm 投与群雌雄で体重増加抑制、摂餌量減少が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 1,000 ppm（雄：73.5 mg/kg 体重/日、雌：83.4 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、38）

(6) 28 日間亜急性経皮毒性試験（ラット）

SD ラット（一群雌雄各 5 匹）を用いた経皮（原体：0 及び 1,000 mg/kg 体重/日）投与による 28 日間亜急性経皮毒性試験が実施された。

本試験において、1,000 mg/kg 体重/日投与群雄で低体重及び摂餌量減少、雌では投与に関連した毒性所見は見られなかったことから、無毒性量は雄で 1,000 mg/kg 体重/日未満、雌で 1,000 mg/kg 体重/日であると考えられた。（参照 1）

(7) 代謝物 D による 90 日間亜急性毒性試験（ラット）

SD ラット（一群雌雄各 10 匹）を用いた混餌（D：0、100、500 及び 2,500 ppm：平均検体摂取量は表 13 参照）投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 13 代謝物 D による 90 日間亜急性毒性試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群		100 ppm	500 ppm	2,500 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	6.4	32.9	162
	雌	7.7	39.1	196

本試験において、500 ppm 以上投与群雌雄で肝絶対及び比重量増加、肝腫大、小葉中心性肝細胞肥大が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 100 ppm（雄：6.4 mg/kg 体重/日、雌：7.7 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 1）

(8) 代謝物 G による 90 日間亜急性毒性試験（ラット）

SD ラット（一群雌雄各 10 匹）を用いた混餌（G：0、150、1,500 及び 15,000 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 代謝物 G による 90 日間亜急性毒性試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群		150 ppm	1,500 ppm	15,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	9.4	93.3	978
	雌	11.4	115	1,090

本試験において、1,500 ppm 以上投与群雄及び 15,000 ppm 投与群雌で肝絶対及び比重量の増加及び肝腫大、1,500 ppm 以上投与群雌雄で小葉中心性肝細胞肥大が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 150 ppm（雄：9.4 mg/kg 体重/日、雌：11.4 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 1）

1 2. 慢性毒性試験及び発がん性試験

(1) 1 年間慢性毒性試験（イヌ）

ビーグル犬（一群雌雄各 4 匹）を用いたカプセル経口（原体：0、10、100 及び 1,000 mg/kg 体重/日）投与による 1 年間慢性毒性試験が実施された。

本試験において、1,000 mg/kg 体重/日投与群雌雄で流涎、嘔吐、Hb 量の減少、ALP 増加、同群雄で胆管増生、同群雌で RBC 及び PCV 減少が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 100 mg/kg 体重/日であると考えられた。（参照 39）

(2) 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験（ラット）

Fischer ラット（慢性毒性試験群：一群雌雄各 10 匹、発がん性試験群：一群雌雄各 60 匹、回復性試験群：一群雌雄各 15 匹）を用いた混餌（原体：0、60、150、1,000 及び 5,000 ppm：平均検体摂取量は表 15 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（本試験は、[Part A：0、60、150、1,000 及び 8,000 ppm]ならびに[Part B：0 及び 5,000 ppm]の二つの試験から構成されており、Part A では 8,000 ppm 投与群で低体重に伴う一般状態の悪化が見られたことから、同投与群を試験から除外し、追加試験として Part B が実施された）。

表 15 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			Part A			Part B
			60 ppm	150 ppm	1,000 ppm	5,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	全投与群*	雄	3.36	8.59	54.4	309
		雌	4.32	10.9	70.5	380
	発がん性 試験群	雄	2.83	7.07	47.7	260
		雌	3.63	9.24	60.9	335

*: 全投与群の平均検体摂取量は Part A においては慢性毒性試験群及び発がん性試験群の全動物を対象とし、Part B においては慢性毒性試験群、回復性試験（回復期間：53~65 週）群及び発がん性試験群の全動物を対象とした。

各投与群で認められた毒性所見は表 16 に示されている。

本試験において、150 ppm 以上投与群雌雄で腎絶対及び比重量増加が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 60 ppm (雄 : 2.83 mg/kg 体重/日、雌 : 3.63 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 34、40)

表 16 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット) で認められた所見

投与群	雄	雌
5,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ 心絶対及び比重量増加 ・ 肝小葉明瞭化 ・ 門脈周囲性肝細胞すり硝子状細胞質、門脈周囲性好酸性核内封入体、門脈周囲性肝細胞空胞化 ・ 甲状腺比重量増加、甲状腺びまん性 C 細胞過形成、甲状腺ろ胞細胞径の増大、甲状腺限局性ろ胞細胞過形成 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ 心絶対及び比重量増加 ・ Hb 及び Ht 減少 ・ 肝、子宮絶対及び比重量増加、卵巣比重量増加 ・ 小葉中心性肝細胞肥大、小葉中心性肝細胞空胞化 ・ 甲状腺コロイド塩基性化
1,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ 甲状腺比重量増加傾向、甲状腺びまん性ろ胞細胞肥大/過形成 ・ RBC 減少 ・ 肝絶対及び比重量増加、肝及び甲状腺腫大、甲状腺コロイド塩基性化 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 甲状腺比重量増加傾向、甲状腺びまん性ろ胞細胞肥大/過形成 ・ 髓外造血 (骨髓球性)
150 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ 腎絶対及び比重量増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 腎絶対及び比重量増加
60 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

(3) 80 週間発がん性試験 (マウス)

C57BL/10 マウス (一群雌雄各 65 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、70、350、3,500 及び 7,000 ppm : 平均検体摂取量は表 17 参照) 投与による 80 週間発がん性試験が実施された。

表 17 80 週間発がん性試験 (マウス) の平均検体摂取量

投与群		70 ppm	350 ppm	3,500 ppm	7,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	9.5	47.5	526	1,100
	雌	12.6	63.8	691	1,393

7,000 ppm 投与群の雌で MCHC の減少、卵巣の出血嚢胞/出血卵胞が、3,500

ppm 以上投与群雌雄で低体重、摂餌量増加、食餌効率の低下、MCH 及び MCV の減少、肝核大小不同/好酸性化/巨細胞/好酸性小球が、雌で PLT の増加、腎比重量の増加、350 ppm 以上投与群雌雄で肝絶対及び比重量増加が認められた。

検体投与に関連して、有意に増加した腫瘍性病変はなかった。

本試験において、350 ppm 以上投与群雌雄で肝絶対及び比重量の増加が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 70 ppm (雄 : 9.5 mg/kg 体重/日、雌 : 12.6 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 34、41)

1 3. 生殖発生毒性試験

(1) 2 世代繁殖試験 (ラット)

SD ラット (一群雌雄各 28 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、60、1,000 及び 5,000 ppm : 平均検体摂取量は表 18 参照) 投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

表 18 2 世代繁殖試験 (ラット) の平均検体摂取量

投与群		60 ppm	1,000 ppm	5,000 ppm	
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	P 世代	雄	3.90	63.8	328
		雌	5.15	84.4	460
	F ₁ 世代	雄	4.0	68.6	353
		雌	5.4	89.2	438

親動物では 5,000 ppm 投与群で低体重 (P 雌雄、F₁ 雄)、肝及び脾比重量の増加 (P 雌雄、F₁ 雌雄)、腎比重量増加 (P 雌) が認められた。また、1,000 ppm 以上投与群で摂餌量減少 (P 雌雄)、食餌効率低下 (P 雌雄)、脳絶対重量減少 (F₁ 雌) が認められた。

児動物では 5,000 ppm 投与群雌で体重増加抑制 (F₁)、1,000 ppm 以上投与群で哺育期間中の低体重 (F₂ : 1,000 ppm 投与群の雄は除く) が認められた。

本試験において、1,000 ppm 以上投与群の親動物で摂餌量減少及び食餌効率低下等、1,000 ppm 以上投与群の児動物で哺育期間中の低体重が認められたことから、無毒性量は親動物及び児動物とも 60 ppm (P 雄 : 3.90 mg/kg 体重/日、P 雌 : 5.15 mg/kg 体重/日、F₁ 雄 : 4.0 mg/kg 体重/日、F₁ 雌 : 5.4 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 34、42)

(2) 発生毒性試験 (ラット)

SD ラット (一群雌 25 匹) の妊娠 6~15 日に強制経口 (原体 : 0、25、150 及び 1,000 mg/kg 体重/日、溶媒 : 0.5%メチルセルロース 400 水溶液) 投与して発生毒性試験が実施された。

25 mg/kg 体重/日以上投与群雌雄胎児で胎盤重量の減少が認められたが、胎盤重量は背景データの範囲内であったことから、生物学的変動の範囲内であると考えられた。

本試験において、母動物では 1,000 mg/kg 体重/日投与群で摂餌量減少、体重増加抑制、胎児では 1,000 mg/kg 体重/日投与群雌雄で低体重が認められたことから、無毒性量は母動物及び胎児とも 150 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、34)

(3) 発生毒性試験 (ウサギ)

NZW ウサギ (一群雌 30 匹) の妊娠 6~28 日に強制経口 (原体 : 0、10、30 及び 100 mg/kg 体重/日、溶媒 : 0.5%メチルセルロース 400 水溶液) 投与して発生毒性試験が実施された。

母動物では 100 mg/kg 体重/日投与群で体重増加抑制、摂餌量の減少が認められた。30 mg/kg 体重/日投与群では流産が 2 例認められたが、対照群でも流産が 1 例発生していることから投与による影響ではないと考えられた。

本試験において、30 mg/kg 体重/日以上投与群母動物で肝絶対重量増加、胎児では投与に関連した毒性所見が見られなかったことから、無毒性量は母動物で 10 mg/kg 体重/日、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 44、34)

1.4. 遺伝毒性試験

フェンアミドンの細菌を用いた DNA 修復試験、復帰突然変異試験、ラット初代培養肝細胞を用いた不定期 DNA 合成 (UDS) 試験、マウスリンパ腫細胞を用いた遺伝子突然変異試験、ヒトリンパ球培養細胞を用いた染色体異常試験、ラット肝細胞を用いた *in vivo/in vitro* UDS 試験、マウスを用いた小核試験が実施された。結果は表 19 に示されている。

マウスリンパ腫細胞を用いた遺伝子突然変異試験では、代謝活性化系存在下において突然変異頻度の上昇が認められ、特に小コロニーの発現頻度の増加が顕著であったことから、染色体異常誘発性を有すると考えられた。さらに、ヒトリンパ球培養細胞を用いた染色体異常試験では、代謝活性化系存在下及び非存在下とも染色体 (構造) 異常を有する細胞の増加が認められた。その他の試験はすべて陰性であった。

フェンアミドンは培養細胞に対して染色体異常の誘発が認められたが、高用量まで試験されたマウスを用いた小核試験の結果が陰性であったこと、また、ラット肝細胞を用いた *in vivo / in vitro* UDS 試験においても陰性であったことから、生体において問題となるような遺伝毒性はないと考えられた。(参照 45~51)

表 19 遺伝毒性試験結果概要 (原体)

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> (M45、H17 株)	67.3~4,305 µg/プレート (+/-S9)	陰性
	復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> (TA98、TA100、TA102、 TA1535、TA1537 株)	10~2,500 µg/プレート (+/-S9)	陰性
	UDS 試験	ラット初代培養肝細胞	0.064~40 µg/mL	陰性
	遺伝子突然変異試験 (TK 遺伝子)	マウスリンパ腫細胞 (L5178Y)	3.13~200 µg/mL (-S9) (3 時間、20 時間) 3.13~50 µg/mL (+S9) (3 時間、20 時間)	陽性 (+S9)
	染色体異常試験	ヒトリンパ球培養細胞	2.91~300 µg/mL (-S9) (3 時間、20 時間) 147~300 µg/mL (+S9) (3 時間)	陽性 (+/-S9)
<i>in vivo</i> / <i>in vitro</i>	UDS 試験	Wistar ラット (肝細胞) (一群雄 5 匹)	800~2,000 mg/kg 体重 (単回経口投与)	陰性
<i>in vivo</i>	小核試験	ICR マウス (骨髄細胞) (一群雌雄各 10 匹)	500~2,000 mg/kg 体重 (1 日 1 回 2 日間腹腔内 投与)	陰性

注) +/-S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下、+S9 : 代謝活性化系存在下

代謝物 C、D 及び G 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及びマウスを用いた小核試験が実施された。

結果は表 20 に示されているとおり、全て陰性であったことから、代謝物に遺伝毒性はないものと考えられた。(参照 1、52、53)

表 20 遺伝毒性試験結果概要 (代謝物)

代謝物	試験		対象	処理濃度・投与量	結果
C	<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、 TA1535、TA1537 株) <i>Escherichia coli</i> (WP2uvrA 株)	8~5,000 µg/プレ ート (+/-S9)	陰性
	<i>in vivo</i>	小核試験	ICR マウス (骨髄細胞) (一群雄 8 匹)	37.5~150 mg/kg 体 重 (1 日 1 回 2 日間 腹腔内投与)	陰性

D	<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA100、TA1535、 TA98、TA1537 株) <i>E. coli</i> (WP2uvrA 株)	8~5,000 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)	100~1,600 µg/mL (+/-S9)	陰性
	<i>in vivo</i>	小核試験	ICR マウス (骨髄細胞) (一群雄 8 匹)	40~300 mg/kg 体重 (1 日 1 回 2 日間 腹腔内投与)	陰性
G	<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、 TA1535、TA1537 株) <i>E. coli</i> (WP2uvrA 株)	8~5,000 µg/プレート (+/-S9)	陰性
		遺伝子突然変異試験 (TK 遺伝子)	マウスリンパ腫細胞 (L5178Y)	50~800 µg/mL (+/-S9)	陰性
	<i>in vivo</i>	小核試験	ICR マウス (骨髄細胞) (一群雄 8 匹)	500~2,000 mg/kg 体重 (1 日 1 回 2 日間腹腔内投与)	陰性

注) +/-S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下

15. その他の試験

(1) 肝薬物代謝酵素誘導能及び細胞周期への影響評価

SD ラット (最終と殺群 : 一群雌雄各 5 匹、中間と殺群 : 一群雌雄各 3 匹) を用いた強制経口 (原体 雄 : 0、100、300 及び 1000 mg/kg 体重/日、雌 : 0、30、100 及び 300 mg/kg 体重/日) 投与による 14 日間 (中間と殺群は 3 日間投与) 毒性試験が実施され、肝薬物代謝酵素誘導能及び細胞周期への影響について評価された。

最終と殺群では 1,000 mg/kg 体重/日投与群の雄で T. Bil、TP 及び T. Chol の増加、肝比重量の増加、小葉中心性肝細胞肥大が、300 mg/kg 体重/日以上投与群の雄で ALP の減少が、100 mg/kg 体重/日以上投与群の雄で肝肥大が、雌で甲状腺濾胞上皮細胞過形成が認められた。

肝酵素誘導の確認のため CYP 分子種の酵素活性が測定され、投与により CYP2B1/2 が用量に相関して誘導された。EROD、PROD、BROD の酵素活性が測定され、雌雄で PROD 及び BROD に用量に相関した誘導が認められた。

肝細胞増殖活性は PCNA 陽性肝細胞数として測定され、中間と殺時には陽性細胞の増加が認められたが、最終と殺時には対照群と同等の水準まで減少した。

(参照 33、55)