

7. 2 世代繁殖毒性試験報告書

- 4-ニトロトルエン -

4-ニトロトルエンのラットを用いた繁殖試験

1. 要約

4-ニトロトルエン(4-NT)は、染料、顔料、医薬、農薬の基幹原料である*p*-トルイジン、スチルベン、ジニトロトルエン、*p*-ニトロベンズアルデヒド、*p*-ニトロ安息香酸等の合成中間体として用いられている¹⁾。4-NTは、エストロゲン受容体への結合性²⁾、子宮増殖アッセイ³⁾、ハーシュバークアッセイ³⁾及び組み換え酵母スクリーニング⁴⁾においてエストロゲン又はアンドロゲン作用はないと報告されているが、ラットを用いた反復投与試験において雄生殖器への影響が認められており⁵⁾、内分泌かく乱作用を有するか否かは不明である。

4-NTの0、40、80及び160 mg/kg/dayを1群当たり雌雄各24匹のCrj:CD(SD) IGSラットに2世代にわたって強制経口投与し、親動物の繁殖能力と仔動物の発生・発育に及ぼす影響を検討した。

親動物では、F0及びF1親動物ともに雌の160 mg/kg群で分娩前後に自発運動低下、呼吸数減少、チアノーゼ、削瘦、蒼白等の一般状態悪化がみられ、死亡が出現した。また、対照群でもみられた流涎が40 mg/kg以上の群で増加した。体重、体重増加量、摂餌量及び摂餌効率では、F1親動物の雄の80 mg/kg以上の群及び雌の160 mg/kg群で体重の低値、雄の160 mg/kg群で体重増加量の低値、F0動物の雌雄の80 mg/kg以上の群で摂餌効率の低下、F1動物の雄の80 mg/kg以上の群で摂餌効率の低下、ならびに160 mg/kg群で摂餌量の低値、雌の80 mg/kg以上の群で摂餌量の低値、ならびに160 mg/kg群で摂餌効率の低下がみられた。繁殖能力に関する指標では、F0及びF1親動物の正常性周期率、交尾率、受胎率(受精率)、出産率、分娩率、精巣及び精巣上体尾部の精子数、精巣上体精子の運動率及び異常形態精子出現率、ならびに包皮分離には4-NT投与に関連する変化は認められなかった。しかし、F1親動物で160 mg/kgの用量で仔動物の発育遅延に起因したと思われる腔開口率の低下がみられた。今回F1親動物で十分な数の妊娠動物数が得られず、ガイドラインの要求を十分に満たすことはできなかったが、得られた結果をみる限り強い生殖毒性はないと考えられる。臓器重量では、F0親動物において40 mg/kg以上の群で雄の腎臓に相対重量の有意な高値、雌の肝臓に絶対重量及び相対重量の有意な高値、160 mg/kg群で雄の肝臓に相対重量の有意な高値、雌の脾臓に絶対重量及び相対重量の有意な高値がみられた。F1親動物では40 mg/kg以上の群で雌雄の肝臓に相対重量の有意な高値、160 mg/kg群で雄の腎臓及び脾臓に相対重量の有意な高値、雌の脾臓に絶対重量及び相対重量の有意な高値がみられた。血清中ホルモンレベルでは、4-NT投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。剖検及び病理組織学的検査では、F0親動物では160 mg/kgの用量で雌雄の脾臓にヘモジデリン沈着、雄の腎臓に好酸性小体増加及び硝子滴増加がみられた。F1親動物では80 mg/kg以上の用量で雄の腎臓に硝子滴増加、脾臓にヘモジデリン沈着がみられ、160 mg/kgの用量で雄の腎臓に好酸性小体増加、雌の脾臓にヘモジデリン沈着がみられたが、生殖器への影響は認められなかった。媒体投与群でみられた流涎については、従来当研究所ではオリーブ油やコーン油などの油類を投与媒体として強制経口投与したときにこれらが有する何らかの誘発作用に起因してみられる現象と解釈していた。しかし、今回検討した結果

油類投与時の流涎の原因については強制経口投与に際しての手技的要因の関与を含め今後さらに検討を要すると考えられた。また、同様に摂餌効率の低下、低い繁殖成績などについても、詳細は不明ではあるものの、強制経口投与の技術的条件に付随する何らかの影響である可能性を否定できなかった。

仔動物の一般状態では、F1 及び F2 仔動物とも 160 mg/kg の用量で死亡の増加がみられた。仔動物の体重では、F1 仔動物の雄において 80 mg/kg 群で哺育 0 日及び 160 mg/kg 群で哺育 0 から 21 日まで有意な低値、雌において 160 mg/kg 群で哺育 0 から 21 日まで有意な低値がみられた。また、F2 仔動物の雌雄の 80 mg/kg 群で哺育 0 日及び 160 mg/kg 群で哺育 0 から 21 日まで有意な低値がみられた。F1 及び F2 仔動物の 160 mg/kg 群で哺育 4 日に生存率の有意な低下がみられた。F1 及び F2 仔動物の雄の 160 mg/kg 群で体重低値に起因する肛門生殖突起間距離の高値がみられた。哺育仔の発育分化検査成績及び反射反応性検査成績では、4-NT 投与に関連する変化は認められなかった。離乳仔の剖検では、F1 及び F2 仔動物のいずれにも 4-NT 投与の影響と考えられる変化は認められなかった。しかし、臓器重量において仔動物の発育遅延に起因したと考えられる脳の絶対重量の低値が、80 mg/kg 群の雄及び 160 mg/kg 群の雌の F1 及び F2 仔動物でみられた。

以上のことから、F0 及び F1 親動物に対する影響に関して、4-NT の 40 mg/kg は肝臓及び腎臓重量の増加、80 mg/kg は体重の低値及び摂餌効率の低下、160 mg/kg は一般状態の悪化及び死亡がみられる用量であると考えられた。繁殖能力に関しては、160 mg/kg は膈開口率の低下がみられた。血清中ホルモンレベルへの 4-NT の影響は認められなかった。

F1 及び F2 仔動物に対しては、80 mg/kg は哺育期間中の仔動物の体重増加を抑制する用量であると考えられた。160 mg/kg は哺育期間中の生存率低下及び雄に肛門生殖突起間距離の高値がみられる用量であると考えられた。

したがって、本実験条件下において、4-NT が内分泌かく乱作用を有する可能性は低く、2 世代にわたってラットに投与した場合、4-NT の親動物に対する影響に関しての無影響量 (NOEL) 及び 無毒性量 (NOAEL) は 40 mg/kg/day 未満である。親動物の繁殖能力については、160 mg/kg/day 以下では著しい影響はない。また、仔動物の発生・発育に対する無影響量及び無毒性量は 40 mg/kg/day であると結論される。

2. 検体名及び純度：4-ニトロトルエン (4-NT)，純度 98.0%
(和光純薬工業株式会社，Lot No. PAF0942)
3. 試験実施機関：財団法人 化学物質評価研究機構
4. 試験目的：新エネルギー・産業技術総合開発機構 (NEDO) の研究プロジェクトである「化学物質の内分泌かく乱効果に対する評価及び試験法の開発事業」の一環として，4-NT をラットに 2 世代にわたって強制経口投与し，親動物の繁殖能力と仔動物の発生・発育に及ぼす影響を検索することを目的とした。
5. 試験動物：Crj:CD(SD)IGS ラット(日本チャールス・リバー株式会社)，1 群雌雄各 24 匹，F0 親動物は投与開始時 5 週齢，F1 親動物は投与開始時 3 週齢。
6. 投与期間：投与開始から仔動物の離乳まで，F0 及び F1 親動物ともに，雄で約 15 週間，雌で約 19 週間。
(2001 年 2 月 14 日～2001 年 10 月 19 日)。
7. 投与方法：被験物質はオリーブ油(株式会社 フジミ製薬所，ロット番号 016OAA)に溶解させた。投与は雌雄ともに交配前，交配期間中(朝雌雄ともにおのおののケージに戻し，その状態で投与)，雌は妊娠期間，分娩日(当日の分娩前又は分娩途中の例では分娩終了後)及び哺育期間，雄は雌の分娩終了後剖検日まで，動物 1 匹あたり 5mL/kg を週 7 日間，0，40，80 及び 160 mg/kg/day の用量で強制経口投与を行った。投与には 5 週齢以上の雌及び 5-9 週齢の雄では使い捨てのカテーテル(テルモ株式会社，ポリ塩化ビニル製導尿カテーテル，外径 8/3mm，全長 8-12cm)を，10 週齢以上の雄では同じく使い捨てのカテーテル(テルモ株式会社，ポリ塩化ビニル製導尿カテーテル，外径 10/3mm，全長 13-15cm)を注射筒に接続して使用した。離乳以後 4 週齢までの雌雄に対しては金属製胃管を注射筒に接続して用いた。
なお，当初は混餌投与での試験の実施を予定していたが，4-NT と基礎飼料との混合が困難であるため，調製液の安定性が高い強制経口投与で試験を実施した。
8. 投与用量の設定理由：被験物質の投与量は，4-NT のラットにおける 2 世代繁殖毒性試験：予備試験(財団法人 化学物質評価研究機構で実施)の結果に基づいて設定した。予備試験では，4-NT の 0，125，250，500 及び 1,000 mg/kg/day を 1 群当たり雌雄各 8 匹の Crj:CD(SD)IGS ラットに，交配前 4 週間，交配期間及び雌では出生仔の離乳まで，雄では交配終了後の剖検前日まで強制経口投与し，親動物の繁殖能力及び仔動物の成長に及ぼす影響を検討した。その結果，1,000 mg/kg で交配前の投与期間に雌動物及び雄動物が全例死亡あるいは瀕死となり，

250 及び 500 mg/kg で分娩前後の投与期間に雌動物及び雄動物が死亡や瀕死あるいは仔動物の死亡等がみられた。125 mg/kg では母動物において肝臓重量の増加と脾臓への影響が軽度のみであったのみであった。以上のことから、本試験では、母動物に軽度の影響がでることが予測される 160 mg/kg/day を高用量とし、以下公比 2 で 80 及び 40 mg/kg/day を中、低用量として設定した。

9. 飼育条件

- 9.1 飼料： 固型飼料(NIH-07M, 30kGy 線滅菌済, 日本クレア株式会社)を自由摂取させた。
- 9.2 飲料水： 日田市上道水(塩素添加水)を自動給水装置又は給水びんにより自由摂取させた。
- 9.3 飼育環境： 温度 21-25 , 相対湿度 40-70% , 換気回数 10-15 回/時間, 明暗サイクル 12 時間間隔(7 時点灯-19 時消灯)に設定したバリアーシステムの飼育室で、ステンレス製金網床ケージ(280 W×440 D×150 H mm, トキワ科学器械株式会社)に個別飼育した。妊娠 17 日から離乳日までは床敷(サンフレーク, 日本チャールス・リバー株式会社)を敷いたポリカーボネイト製平床ケージ(265 W×426 D×200 H mm, トキワ科学器械株式会社)に個別又は一腹ごとに飼育した。

10. 方法及び試験項目(表 1)

- 10.1 一般状態及び死亡：全例について投与開始日から、雌は F1 出生仔の哺育状態も含めて出生仔の離乳(生後 21 日)後剖検前日まで、雄は剖検前日まで毎日 1 回以上観察した。
- 10.2 体重、体重増加量、摂餌量及び摂餌効率：雄の体重は投与開始日及びそれ以降剖検日まで原則として週 1 回測定した。雌の体重は投与開始日及びそれ以降原則として週 1 回、妊娠後は妊娠日(妊娠 0 日)、7、14 及び 20 日、分娩日(哺育 0 日)、4、7、14 及び 21 日に測定した。雄の体重増加量は投与開始日から 14 週まで、雌の体重増加量はそれぞれの期間の投与開始日から、育成前期間は投与 10 週まで、妊娠期間は 20 日まで、哺育期間は 21 日までの値から算出した。摂餌量は体重測定日あるいは給餌の都度各ケージの給餌量と残餌量を測定し、給餌日数で除して 1 匹当たりの平均摂餌量を算出した。哺育期間中の雌については、1 腹当たりの摂餌量として算出した。ただし、交配期間中は除いた。摂餌効率は雄では投与開始日の体重、雌では投与開始日、妊娠 0 日、分娩 0 日の体重を基準に算出した。

10.3 交配及び妊娠の確認:F0 親動物は雌雄ともに投与開始の 5 週齢から 10 週間後の 15 週齢時 ,F1 親動物は雌雄ともに投与開始の 3 週齢から 10 週間後の 13 週齢時に , 雌を夕刻に雄のケージに移し , 1 : 1 で連続同居方式で交配させた。翌日から毎日 , 午前中に膣栓及び膣垢中の精子の有無を調べ , それらのうちいずれかが認められた場合に交尾が行われたものと判断して , その日を妊娠 0 日とし , 専用ケージに移し個別飼育した。交尾の確認できなかった雌は , 元のケージに戻し 2 週間を限度として交尾が確認されるまで上記の方法で交配を繰り返した。妊娠は , 出産の有無及び剖検時に子宮を長軸に沿って切開し , 硫化アンモニウム水溶液に浸漬して着床痕の有無を調べることに より確認した。F1 親動物は , 全群を通じて最も多くの出産がみられた日を含んだ 5 日間に出産した F0 親動物の各腹から雌雄ともに 1 ないし 2 匹の F1 仔動物を離乳時に無作為に選抜した。選抜されなかった動物は生後 25-27 日に剖検した。

10.4 繁殖に関する指標 : 親動物の繁殖期間中における観察結果に基づき , 次の指標を算出した。

性成熟 : 雄は包皮分離を生後 43 日 , 雌は膣開口を生後 36 日に観察した。

性周期 = 正常性周期を示す雌数 / 検査雌数

交尾率 = 交尾を認めた雄又は雌数 / 交配に用いた雄又は雌数

受胎率(授精率) = 妊娠雌数 / 交尾を認めた雄又は雌数

出産率 = 生存仔出産雌数 / 妊娠雌数

交尾所要日数

妊娠期間(交尾を認めた日から分娩終了までの期間)

着床数 : 剖検時に着床痕を計数した。

分娩率(出生率)(%) = (出産仔数 / 着床数) × 100

出産仔数

10.5 精子検査 : F1 出生仔を分娩した雌と交配した雄の各群 10 匹について , 剖検時に検査した。

精巣の精子数 : 血球計算盤を用いて顕微鏡下で計数した。

精巣上体尾部の精子数 : 血球計算盤を用いて顕微鏡下で計数した。

精巣上体尾部の精子運動能 : ハミルトン精子運動解析装置(IVOS)を用いて調べた。

精巣上体尾部の精子形態 : 塗抹染色標本を作製し , 光学顕微鏡で各個体 200 個観察して , 正常形態精子の出現率を求めた。

10.6 ホルモンレベル測定：雄については剖検日，雌については F1 出生仔離乳後の剖検日 (F1 出生仔の離乳(生後 21 日)後性周期が発情期を示す日に各群から動物順の雌雄各 6 匹ずつ，非絶食下でエーテル麻酔後に腹大動脈から採血して血清を得た。血清中の T3，LH，FSH 及びテストステロン濃度は EIA 法，T4 濃度は FPIA 法を用いて測定した。また，エストラジオール濃度は RIA 法を用いて株式会社パナファーム・ラボラトリーズにて測定した。

LH：Rat LH EIA system，Amersham pharmacia biotech

FSH：Rat FSH EIA system，Amersham pharmacia biotech

テストステロン：Testosterone EIA Kit，Cayman Chemical Company

T3：IMx T-3・ダイナパック，ABBOTT LABORATORIES

T4：IMx T-4・ダイナパック，ABBOTT LABORATORIES

エストラジオール：DPC エストラジオールニ抗体キット，Diagnostic Products Corporation

10.7 仔動物に関する指標：哺育期間中における一般状態を毎日観察した。仔動物は，哺育 4 日に各腹の哺育仔数を無作為に 8 匹(可能な限り雄 4 匹，雌 4 匹)に調整した。間引きされた動物はエーテル麻酔下で安楽死させ外表観察を実施した後 10%中性緩衝ホルマリン中に保存した。

体重：哺育 0，4，7，14 及び 21 日に個体別に測定した。

外表：哺育 0 日に観察した。

肛門生殖突起間距離：哺育 4 日に測定した。

出産性比 = 雄出産仔数 / 雌出産仔数

哺育 0 日生存率(%) = (哺育 0 日生存仔数 / 出産仔数) × 100

哺育 4 日生存率(%) = (哺育 4 日生存仔数 / 哺育 0 日生存仔数) × 100

哺育 21 日生存率(%) = (哺育 21 日生存仔数 / 哺育 4 日に選抜した仔数) × 100

10.8 仔動物の発育分化：

各腹の生存哺育仔全例について，下記項目の有無を記録した。

耳介開展：哺育 4 日

切歯萌出：哺育 13 日

眼瞼開裂：哺育 15 日

腔開口：生後 36 日

陰茎包皮分離：生後 43 日

10.9 仔動物の反射反応性検査：

各腹の生存哺育仔全例について、下記項目の有無を記録した。

全身痛覚反応：哺育 5 日

背地走性：哺育 9 日

空中正向反射：哺育 16 日

耳介反射：哺育 16 日

10.10 臓器重量：

F0 及び F1 親動物について、肝臓、心臓、腎臓、精巣、精巣上部、腹葉前立腺、精嚢(凝固腺含む)、卵巣、子宮、脳(大脳、小脳)、脾臓、下垂体、甲状腺(上皮小体を含む)、副腎の湿重量を測定した。離乳日(哺育 21 日)に剖検した各腹 1 匹の F1 及び F2 仔動物について、脳、脾臓、胸腺の湿重量を測定した。なお、両側性器官については左右を各々測定し、前立腺については腹葉のみとし、甲状腺及び上皮小体、精嚢(凝固腺を含む)については、10%中性緩衝ホルマリン液で固定後、翌日に測定した。

10.11 剖検：

雌は F1 出生仔離乳(哺育 21 日)後性周期が発情期を示す日に、雄は剖検日にエーテル麻酔下で安楽死させた後、器官・組織の肉眼的観察を行った。なお、死亡ないし瀕死動物及び出生仔のすべてが死亡した母動物は発見次第剖検し、生存動物と同様組織採取、臓器重量測定及び病理組織学的検査を行った。

10.12 病理組織学的検査：F0 及び F1 親動物の肝臓、心臓、腎臓、精巣、精巣上部、前立腺、精嚢、卵巣、子宮、膣、脳、脾臓、胸腺、下垂体、甲状腺(上皮小体を含む)、副腎、乳腺について病理組織学的検査を実施した。

10.13 統計学的解析：F0 及び F1 世代の体重、体重増加量、摂餌量、摂餌効率、臓器重量、交尾所要日数、妊娠期間、着床痕数、精子検査項目(精子数)、ホルモン測定項目、F2 世代の体重、F1 及び F2 出生仔の産仔数、出産生仔数、肛門生殖器突起間距離、臓器重量については Bartlett の等分散検定を行い、5%の有意水準で等分散が認められた場合、一元配置の分散分析を行った。分散分析において有意差が認められた場合は、対照群と各投与群との間で Dunnett 多重比較検定法による検定を行った。等分散が認められない場合 Kruskal-Wallis の順位和検定法で検定を行い、有意差が認められた場合は、ノンパラメトリックの Dunnett 法で対照群との間の有意差検定を行った。F0 及び F1 世代の一般状態の出現頻度、出産率、出生率、異常性周期

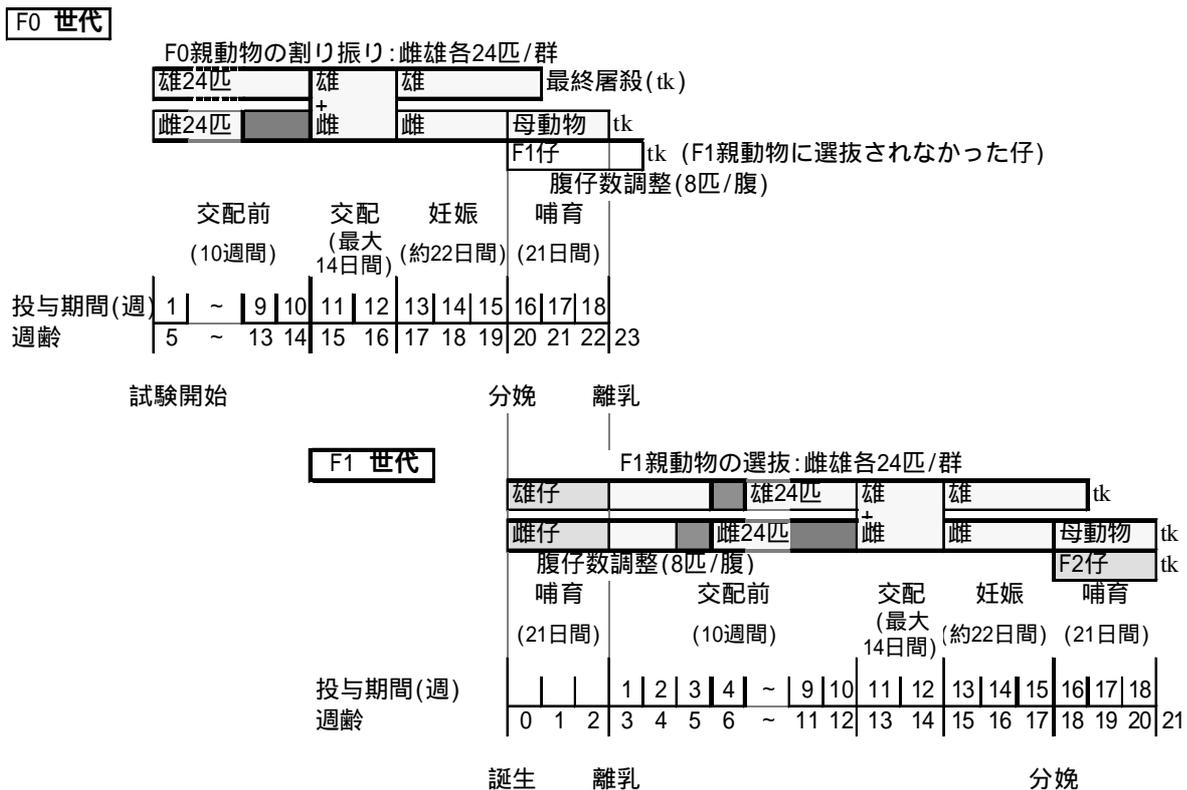
出現率，剖検及び病理組織学的所見の出現頻度，F1 及び F2 出生仔の性比，発育分化の項目，反射反応性(反応性検査)の項目，F0 及び F1 世代の交尾率，受胎率及び授精率についてはカイ二乗検定(ただし，いずれかの周辺度数が 10 以下なら Fisher の直接確率検定)で対照群との間の有意差検定を行った。F0 及び F1 世代の精子検査項目(motility，異常精子出現率)，摂餌効率，F1 及び F2 出生仔の外表異常率，4 日生存率，離乳率の各項目については Kruskal-Wallis で検定を行い，有意差が認められた場合は，対照群と各投与群との間でノンパラメトリックの Dunnett 法による検定を行った。F1 及び F2 出生仔の外表異常率，4 日生存率，離乳率及び出生日から離乳日までの体重は，1 腹を標本単位として処理した。試験成績の評価に当たっては有意水準 1%又は 5%で対照群との差が認められた場合に有意の変動とした。

表 1. 試験の概要

世代	期間(週間)	作業手順	試験項目
F0	育成(10)		動物の一般状態を毎日観察。 体重及び摂餌量を週 1 回測定。 摂餌効率を算出。
	交配(2)	雌雄を 1:1 で同居させた。膣栓及び膣垢中の精子の有無により交尾を確認。交尾確認日を妊娠 0 日とした。	動物の一般状態を毎日観察。 交配前 2 週間雌の膣垢を採取して，性周期を観察。
	妊娠(3)		動物の一般状態を毎日観察。 体重(妊娠 0，7，14 及び 20 日)及び摂餌量(妊娠 0-7，7-14 及び 14-20 日)を測定。 摂餌効率を算出。
	出産	出産確認日を哺育 0 日とした。	出産仔，生存仔及び死産仔の性と数，生存仔の外表検査を記録。
F0	哺育(3)	哺育 4 日に，各腹の哺育仔数を 8 匹(可能な限り雄 4 匹，雌 4 匹)に調整。 間引きした動物は外表観察を実施した後 10%中性緩衝ホルマリン中に保存。	動物の一般状態を毎日観察。 親動物の体重(哺育 0，4，7，14 及び 21 日)及び摂餌量(哺育 0-7，7-14 及び 14-21 日)を測定。 摂餌効率を算出。 生存仔数を哺育 0，4，7，14 及び 21 日に記録。 哺育仔体重を哺育 0，4，7，14 及び 21 日に測定。 哺育仔の肛門生殖突起間距離を哺育 4 日に測定，耳介展開を哺育 4 日，切歯萌出を哺育 13 日，眼瞼開裂を哺育 15 日に観察。 哺育仔の反射反応性検査を哺育 5 から 16 日に実施。

世代	期間 (週間)	作業手順	試験項目
F0/F1	離乳	<p>交尾した雄は交配期間終了以降に安楽死。</p> <p>雌で仔動物を分娩した動物は哺育 21 日以降, 非分娩動物は交尾確認後 25 日以降, 非交尾動物は交配期間終了後に安楽死。</p> <p>仔動物は各腹雌雄 1 匹を親動物に選抜。選抜されなかった仔動物は哺育 25-27 日に安楽死。</p>	<p>親動物の剖検及び肝臓, 心臓, 腎臓, 精巣, 精巣上体, 腹葉前立腺, 精嚢(凝固腺含む), 卵巣, 子宮, 脳, 脾臓, 下垂体, 甲状腺(上皮小体を含む), 副腎の重量測定。親動物の肝臓, 心臓, 腎臓, 精巣, 精巣上体, 前立腺, 精嚢(凝固腺を含む), 卵巣, 子宮, 膣, 脳, 脾臓, 胸腺, 下垂体, 甲状腺(上皮小体を含む), 副腎, 乳腺の病理組織学的検査。</p> <p>雌雄各群 6 匹を用いて血清中ホルモンレベル(T3, T4, テストステロン, FSH, LH, エストラジオール)を測定。</p> <p>雌を妊娠せしめた雄の各群 10 例を用いて精巣の精子数, 精巣上体尾部の精子数, 精子運動能及び精子形態を検査。</p> <p>雌の性周期検査。</p> <p>離乳仔の剖検及び脳, 胸腺, 脾臓の重量測定。</p>
F1	育成 (10)		<p>動物の一般状態を毎日観察。</p> <p>体重及び摂餌量を週 1 回測定。</p> <p>雄は包皮分離を生後 43 日に観察, 雌は膣開口を生後 36 日に観察。</p> <p>摂餌効率を算出。</p>
	交配 (2)	雌雄を 1:1 で同居させた。膣栓及び膣垢中の精子の有無により交尾を確認。交尾確認日を妊娠 0 日とした。	<p>動物の一般状態を毎日観察。</p> <p>交配前 2 週間雌の膣垢を採取して, 性周期を観察。</p>
	妊娠 (3)		<p>動物の一般状態を毎日観察。</p> <p>体重(妊娠 0, 7, 14 及び 20 日)及び摂餌量(妊娠 0-7, 7-14 及び 14-20 日)を測定。</p> <p>摂餌効率を算出。</p>
	出産	出産確認日を哺育 0 日とした。	<p>出産仔, 生存仔及び死産仔の性と数, 生存仔の外表検査を記録。</p>

世代	期間 (週間)	作業手順	試験項目
F1	哺育 (3)	<p>哺育 4 日に,各腹の哺育仔数を 8 匹(可能な限り雄 4 匹,雌 4 匹)に調整。</p> <p>間引きした動物は外表観察を実施した後 10%中性緩衝ホルマリン中に保存。</p>	<p>動物の一般状態を毎日観察。</p> <p>親動物の体重(哺育 0, 4, 7, 14 及び 21 日)及び摂餌量(哺育 0-7, 7-14 及び 14-21 日)を測定。</p> <p>生存仔数を哺育 0, 4, 7, 14 及び 21 日に記録。</p> <p>哺育仔体重を哺育 0, 4, 7, 14 及び 21 日に測定。</p> <p>哺育仔の肛門生殖突起間距離を哺育 4 日に測定,耳介展開を哺育 4 日,切歯萌出を哺育 8 日,眼瞼開裂を哺育 11 日に観察。</p> <p>哺育仔の反射反応性検査を哺育 5 から 13 日に実施。</p>
F1/F2	離乳	<p>交尾した雄は交配期間終了以降に安楽死。</p> <p>雌で仔動物を分娩した動物は哺育 21 日以降,非分娩動物は交尾確認後 25 日以降,非交尾動物は交配期間終了後に安楽死。</p> <p>仔動物は哺育 21 日に安楽死。</p>	<p>親動物の剖検及び肝臓,心臓,腎臓,精巣,精巣上体,腹葉前立腺,精嚢(凝固腺含む),卵巣,子宮,脳,脾臓,下垂体,甲状腺(上皮小体を含む)副腎の重量測定。親動物の肝臓,心臓,腎臓,精巣,精巣上体,前立腺,精嚢(凝固腺を含む),卵巣,子宮,腔,脳,脾臓,胸腺,下垂体,甲状腺(上皮小体を含む),副腎,乳腺の病理組織学的検査。</p> <p>雌雄各群 6 匹を用いて血清中ホルモンレベル(T3, T4, テストステロン, FSH, LH, エストラジオール)を測定。</p> <p>雌を妊娠せしめた雄の各群 10 例を用いて精巣の精子数,精巣上体の精子数,精子運動能及び精子形態を検査。</p> <p>雌の性周期検査。</p> <p>離乳仔の剖検及び脳,胸腺,脾臓の重量測定。</p>



□ : 投与
 □ : 投与せず

試験期間中の検査

- : 性成熟 ; 雄生後43日、雌生後36日 (各24匹/群)
- : 性周期 (雌24匹/群)
- : AGD、発育分化、反射反応 (F1、F2仔について全例)

試験終了時の検査

- F0、F1 血清ホルモン濃度 (雌雄各6匹/群)
- F0、F1雄 精子検査 (10匹/群)
- 剖検、臓器重量 (24匹/群)
- 病理組織学的検査 (対照群と高用量群で各24匹. 高用量群で異常がみられたとき、中、低用量群まで検査)
- F0、F1雌 剖検、臓器重量 (24匹/群)
- 病理組織学的検査 (対照群と高用量群で各24匹. 高用量群で異常がみられたとき、中、低用量群まで検査)
- F1、F2離乳仔 剖検 (雌雄全例)、臓器重量 (雌雄各1匹/腹)

図 1. 2世代繁殖毒性試験のタイムスケジュール

11. 結果及び考察：試験結果の概要を，要約表 2. に示す。

11.1 親動物の繁殖能力等に及ぼす影響について

11.1.1 一般状態及び死亡（要約表2.）

(1) F0親動物

1) 雄

流涎が0, 40, 80及び160 mg/kg群で8, 24, 24及び24例みられ, 40 mg/kg以上の群では出現頻度が有意に増加していた。

4-NT投与に関連のない動物の死亡(投与過誤によると思われる)が, 交配前育成期間に80 mg/kgで1例みられた。

2) 雌

交配前育成期間では, 流涎が0, 40, 80及び160 mg/kg群で3, 19, 24及び24例みられ, 40 mg/kg以上の群では出現頻度が有意に増加していた。

妊娠期間では, 流涎が0, 40, 80及び160 mg/kg群で1, 11, 18及び21例みられ, 40 mg/kg以上の群では出現頻度が有意に増加していた。160 mg/kg群の1例で鼻・口周囲の汚れ, 自発運動低下, うずくまり, チアノーゼ, 死亡がみられた。

哺育期間では, 流涎が0, 40, 80及び160 mg/kg群で1, 9, 18及び17例みられ, 40 mg/kg以上の群では出現頻度が有意に増加していた。160 mg/kg群の1例で自発運動低下, 呼吸数減少, 閉瞼, 死亡がみられた。

4-NT投与に関連のない動物の死亡(投与過誤によると思われる)が, 交配前育成期間に160 mg/kgで1例みられた。

(2) F1親動物

1) 雄

流涎が0, 40, 80及び160 mg/kg群で3, 21, 24及び24例みられ, 40 mg/kg以上の群では出現頻度が有意に増加していた。

2) 雌

交配前育成期間では, 流涎が0, 40, 80及び160 mg/kg群で2, 14, 23及び24例みられ, 40 mg/kg以上の群では出現頻度が有意に増加していた。

妊娠期間では, 流涎が40, 80及び160 mg/kg群で3, 16及び24例みられ, 80 mg/kg以上の群では出現頻度が有意に増加していた。160 mg/kg群の1例で自発運動低下, 呼吸数減少, 閉瞼, 体温低下, 蒼白, 死亡がみられた。同群の1例で鼻・口周囲の汚れ, 体温低下, 消瘦, 別の1例で紅涙, 下腹部の汚れがみられた。

哺育期間では, 流涎が0, 40, 80及び160 mg/kg群で2, 1, 9及び13例みられ, 80 mg/kg以上の群では出現頻度が有意に増加していた。160 mg/kg群の1例が分娩日に死亡した。

結論：4-NTは160 mg/kgの用量において, 周産期におけるF0及びF1雌親動物に一般状態悪化による死亡を引き起こすと考えられる。4-NTではラットにおける経口投与においてメトヘモグロビン形成^{5),6),7)}が報告されており, これに起因する貧血が後述する肝臓や腎臓へ影響とともに, 母動物の周産期におけるストレスを増長させたものと

思われる。交配前育成期間，妊娠期間及び哺育期間にみられた流涎は，他に関連した変化がなく，4-NTの刺激による影響が考えられ，毒性学的には意義の低い変化と考えられる。なお，今回F0及びF1両世代の対照群の雌雄でも流涎がみられたが，これはオリーブ油やコーン油などを媒体として強制経口投与をした際に，これら油類が有する何らかの流涎誘発作用によって投与直後にみられる一過性変化と考えられる^{8),9)}(添付資料1表1)。しかし，投与過誤もみられていることから，強制経口投与に際しての手技的要因の関与も否定できない。

11.1.2 体重及び体重増加量（要約表2.，Tables 1 and 16）

(1) F0親動物

1) 雄

40，80及び160 mg/kg群で0 mg/kg群とほぼ同じ体重推移を示した。

2) 雌

交配前育成期間では，40，80及び160 mg/kg群で0 mg/kg群とほぼ同じ体重推移を示した。

妊娠期間では，80 mg/kg群の妊娠7及び14日に体重の有意な高値がみられたが，用量依存性に乏しく，4-NTの影響ではないと考えられる。

哺育期間では，160 mg/kg群の哺育21日に体重の有意な高値がみられたが，F1親動物では変化はなく，偶発的なものと考えられる。

(2) F1親動物

1) 雄

80 mg/kg群で投与5及び6週及び160 mg/kg群で投与期間を通して有意な低値がみられた。160 mg/kg群で体重増加量の有意な低値がみられた。

2) 雌

交配前育成期間では，160 mg/kg群で全期間中有意な低値がみられた。

妊娠期間では，40，80及び160 mg/kg群で0 mg/kg群とほぼ同じ体重推移を示した。

哺育期間では，160 mg/kg群で哺育0日に有意な低値がみられた。

結論：4-NTは80 mg/kg以上の用量におけるF1雄親動物の交配前育成期間，160 mg/kgの用量におけるF1雄親動物の交配前育成期間に体重増加量の有意な低値，雌の交配前育成期間及び哺育0日に体重の有意な低値を示した。

11.1.3 摂餌量及び摂餌効率（要約表2.，Tables 2，3，17 and 18）

(1) F0親動物

1) 雄

摂餌量において，40，80及び160 mg/kg群で0 mg/kg群と差は認められなかった。

80 mg/kg以上の群で投与0-3～0-10週に摂餌効率の有意な低下がみられた。

2) 雌

交配前育成期間では、80 mg/kg群で投与4～10週に摂餌量の有意な高値、160 mg/kg群で投与5週及び投与7～10週に摂餌量の有意な高値がみられた。

妊娠期間では、80 mg/kg群及び160 mg/kg群で妊娠7日に摂餌量の有意な高値がみられた。80 mg/kg以上の群で妊娠0-20日に摂餌効率の有意な低下がみられた。

哺育期間では、40及び80 mg/kg群で哺育4日に摂餌量の有意な高値がみられた。

(2) F1親動物

1) 雄

160 mg/kg群で投与1及び2週に摂餌量の有意な低値がみられた。80 mg/kg以上の群で投与0-3～0-10週に摂餌効率の有意な低下がみられた。

2) 雌

交配前育成期間では、80 mg/kg群で投与1週に摂餌量の有意な低値、160 mg/kg群で投与1及び2週に摂餌量の有意な低値ならびに投与9及び10週に有意な高値がみられた。160 mg/kg群で投与0-7～0-10週に摂餌効率の有意な低下がみられた。

妊娠期間では、160 mg/kg群で妊娠7及び14日に摂餌量の有意な高値がみられた。160 mg/kg群で妊娠0-20日に摂餌効率の有意な低下がみられた。

哺育期間では、40、80及び160 mg/kg群で0 mg/kg群とほぼ同じ推移を示した。

雌動物の交配前育成期間、妊娠期間及び哺育期間にみられた摂餌量の高値は、投与後の餌かじりが原因と考えられる。

結論：4-NTの投与により、F0及びF1親動物ともに80 mg/kg以上の用量において、摂餌量の低値又は摂餌効率の低下がみられた。

11.1.4 繁殖能力（要約表2.，Tables 4，5，6，12，14，20，21，27 and 29）

親動物の繁殖能力に関する指標のうち、以下についてはF0及びF1親動物のいずれの用量群においても異常は認められなかった。

正常性周期率，雌雄の交尾率，出産率，分娩率(出生率)，精巢及び精巢上体尾部の精子数，精巢上体精子の運動率及び異常形態精子率，包皮分離(F1のみ)

F1親動物において、F0親動物に比べ対照群を含むすべての群で低い受胎率(授精率)がみられた。対照群では非交尾の組が2組、非妊娠の組が5組みられたが、これらの雌雄では剖検所見において下垂体、生殖器及び副生殖器に異常はみられなかった。組織所見として雌では交配開始直前まで異常な性周期を示した1例と他の1例で膺の軽度粘液分泌亢進、膺の軽度の粘膜萎縮が1例みられたが、他の4例では性周期、下垂体を含め生殖器及び副生殖器に異常はみられず、雄では片側性精巢の精細管の軽度びまん性萎縮が1例みられたが、他の6例では下垂体、生殖器及び副生殖器に異常はみられなかった。40 mg/kg群では非交尾の組が2組、非妊娠の組が8組みられたが、これらの雌雄では剖検所見において下垂体、生殖器及び副生殖器に異常はみられなかった。組織所見として雌では膺の軽度粘膜萎縮が2例みられたが、他の6例では性周期、下垂体を含め生殖器及び副生殖器に異常はみられず、雄では前立腺の軽度円形細胞浸潤が4例

みられたが、他の6例では下垂体を含め生殖器及び副生殖器に異常はみられなかった。80 mg/kg群では非交尾の組が2組、非妊娠の組が7組みられたが、これらの雌雄では剖検所見において下垂体、生殖器及び副生殖器に異常はみられなかった。組織所見として雌の1例で膣の軽度粘液分泌亢進がみられたが、他の例では性周期、下垂体を含め生殖器及び副生殖器の組織所見に異常はみられず、雄では前立腺の軽度円形細胞浸潤が1例みられたが、他の8例では下垂体を含め生殖器及び副生殖器に異常はみられなかった。160 mg/kg群では非妊娠の組が7組みられたが、これらの雌雄では剖検所見において下垂体、生殖器及び副生殖器に異常はみられなかった。雌では7例全例で性周期、下垂体を含め生殖器及び副生殖器の組織所見においても異常はみられず、雄では組織所見として前立腺の軽度円形細胞浸潤が1例みられたが、他の6例では下垂体を含め生殖器及び副生殖器の組織所見に異常はみられなかった。なお、対照群を含む全ての群の全ての非交尾組及び非妊娠組の雄において、上記の所見以外に精子形成に影響を及ぼすと思われる変化はみられなかった。

以上の如く、いずれの群の非交尾組及び非妊娠組の雌雄においても非交尾や非妊娠の原因になるとと思われる剖検所見は下垂体、生殖器及び副生殖器に一切認められなかった。また、組織所見においても卵巣、子宮、精巣及び精巣上体に異常はなく、認められた雌での膣の粘膜萎縮及び粘液亢進並びに雄での前立腺の円形細胞浸潤は、いずれも軽度で、用量依存性がなく、4-NT投与に起因して受胎率が低下したと考えられる変化は認められなかった。

(1) 交尾所要日数 (要約表2., Tables 5 and 20)

F0親動物ではいずれの用量群においても異常は認められなかった。

F1親動物の160 mg/kg群において有意な短縮がみられたが、F0親動物ではみられず、この系統の正常範囲内であることから、偶発的变化と思われる。

(2) 妊娠期間 (要約表2., Tables 12 and 27)

F0親動物の80 mg/kg以上の群において有意な延長がみられた。

F1親動物ではいずれの用量群においても異常は認められなかった。

F0親動物での変化は、F1親動物ではみられず、この系統の正常範囲内であることから、偶発的变化と思われる。

(3) 着床数 (要約表2., Tables 12 and 27)

F0親動物の40 mg/kg以上の群において有意な増加がみられたが、他に関連する変化もみられず、その意味については不明である。

F1親動物ではいずれの用量群においても異常は認められなかった。

(4) 出産仔数 (要約表2., Tables 12 and 27)

F0親動物の160 mg/kg群において有意な増加がみられた。

F1親動物ではいずれの用量群においても異常は認められなかった。

F0親動物での変化は、F1親動物ではみられず、この系統の正常範囲内であり、偶発的な着床数の増加に起因した変化と思われる。

(5) 性成熟 (膣開口) (要約表2., Tables 14 and 29)

F1親動物の160 mg/kg群で有意な低下がみられた。

結論：F1親動物では160 mg/kgの用量において腔開口率の低下がみられた。これは、仔動物の体重低値に起因した発育遅延による二次的影響と考えられる。

繁殖成績については、F0 親動物では対照群を含め影響はみられなかったが、F1 親動物では対照群を含め低い成績が得られた。F0 親動物と F1 親動物とでほぼ同様な操作を実施しているが、投与期間が F0 親動物では生後 5 週から F1 親動物の離乳後の剖検日までに対し、F1 親動物は F0 親動物の妊娠から F2 仔動物の離乳後の剖検日までと、F1 親動物では F0 親動物に比べて F0 母動物の妊娠成立から生後 4 週まで母動物からの間接的暴露を含め投与期間が長い。この期間は母動物においても仔動物においてもストレスに対して特に敏感な時期であり、今回の試験と同様の Crj:CD(SD)IGS ラットを使用した強制経口投与による 2 世代繁殖試験や 1 世代繁殖試験、生殖試験での対照群において低い繁殖成績がみられている(添付資料 2)。しかし、今回の試験ではこれらより更に繁殖成績が悪かった。これらの試験の対照群では一般状態の変化は報告されていないこと、今回の試験では通常使用する飼料より植物性エストロゲンの含有量が若干低い飼料を使用するなど飼育環境要因においても繁殖成績に影響を及ぼすと考えられる明らかな変動は認められなかったことから、F1 親動物の各群での繁殖成績が低かったのは、母動物への強制経口投与、母動物や仔動物での体重測定等のストレスに加え、母動物でみられた流涎の原因となる刺激や味等が仔動物に直接または間接的に影響した結果である可能性が考えられた。

今回の試験では、低い繁殖成績についての直接的な理由は明確にはならなかったが、上述したような試験環境要因による可能性が高いと考えられた。しかしこの場合、これらの影響が対照群を含む各群に極端な偏りをもたずに現れたかどうかは不明である。対照群の受胎率が低いため、繁殖成績の結果についての信頼性は低い。仮に各群に一樣に試験環境要因が作用したと仮定して、群間を統計処理した結果などをもとにすると、160 mg/kg でも影響がなかったと推察された。

今回の場合、統計処理結果に有意な差は認められなかったが、仮定した試験環境要因の均一性が実証できないため、4-NTが繁殖成績に影響を及ぼさないとは結論できない。しかし、本試験で検討した限りにおいては、親動物の生殖器官の病理学的検査、精子検査、ホルモン値等に影響はみられておらず、文献的にも、4-NTにエストロゲン作用やアンドロゲン作用は認められていない。従って、本試験での4-NTの繁殖への影響を否定することはできないが、繁殖能について影響があるとの肯定的な証拠も認められなかった。

11.1.5 臓器重量（要約表2. , Tables 8 , 9 , 23 and 24）

(1) F0親動物

40 mg/kg以上の群において雄で腎臓の相対重量に有意な高値，雌で肝臓の絶対重量及び相対重量に有意な高値，160 mg/kg群において雄で肝臓の相対重量に有意な高値，雌で脾臓の絶対重量及び相対重量に有意な高値がみられた。このほか40 mg/kg群の雌で下垂体の相対重量の高値，80mg/kg 群の雄で下垂体の相対重量の高値，雌で心臓の絶対重量の高値，80 mg/kg以上の群の雌で腎臓の絶対重量の高値がみられたが，いずれも用量依存性に乏しく，偶発的变化と考えられる。

(2) F1親動物

40 mg/kg以上の群において雌雄で肝臓の相対重量に有意な高値，160 mg/kg群において雄で腎臓及び脾臓の相対重量に有意な高値，雌で脾臓の絶対重量及び相対重量に有意な高値がみられた。このほか40 mg/kg群の雌で腎臓の相対重量の高値，160 mg/kg群の雄で脳，下垂体，心臓，精巣，精巣上体の絶対重量の低値，雌で腎臓，副腎の相対重量の高値がみられたが，F0親動物ではみられないか，用量依存性に乏しく，偶発的变化と考えられる。

結論：4-NTの影響として，F0動物では40 mg/kg以上の群で雄の腎臓に相対重量の有意な高値，雌の肝臓に絶対重量及び相対重量の有意な高値，160 mg/kg群で雄の肝臓に相対重量の有意な高値，雌の脾臓に絶対重量及び相対重量の有意な高値がみられた。F1親動物では40 mg/kg以上の群で雌雄の肝臓に相対重量の有意な高値，160 mg/kg群で雄の腎臓及び脾臓に相対重量の有意な高値，雌の脾臓に絶対重量及び相対重量の有意な高値がみられた。

11.1.6 血清中ホルモン測定（要約表2. , Tables 7 and 22）

(1) F0親動物

T3，T4，LH，FSH，テストステロン及びエストラジオール濃度は，いずれも各用量群と対照群の間で有意な差はみられなかった。

(2) F1親動物

160 mg/kg群において雌でT4濃度に有意な低値がみられた。同様の变化はF0世代にはなく，他に関連した変化も認められないことから，4-NT投与の影響とは考えられない。

結論：4-NTは160 mg/kgまでの用量において，T3，T4，LH，FSH，テストステロン及びエストラジオールに影響を及ぼさなかったと考えられる。

11.1.7 剖検及び病理組織学的検査（要約表2. , Tables 10, 11, 25 , 26 and 30）

(1) F0親動物

160 mg/kg群で，剖検において雌で脾臓の黒色化が有意に増加していた。病理組織学的検査において雄で腎臓の好酸性小体増加及び硝子滴増加，雌雄で脾臓のヘモジデリン

沈着，雌で脾臓の髓外造血亢進がみられた。また，雄で腎臓の好酸性小体増加及び硝子滴増加ならびに脾臓のヘモジデリン沈着が有意な増加を示した。

(2) F1親動物

160 mg/kg群で，剖検において雄で腎臓の表面点状模様明瞭化が有意に増加していた。また，雌雄で脾臓の黒色化がみられた。病理組織学的検査において雄で好酸性小体増加がみられた。雌では脾臓のヘモジデリン沈着が有意に増加していた。80 mg/kg以上の群で，病理組織学的検査において雄で腎臓の硝子滴増加及び脾臓のヘモジデリン沈着が有意に増加していた。

結論：4-NTの影響として，80 mg/kg以上の用量において脾臓にヘモジデリン沈着がみられ，4-NTによるメトヘモグロビン形成^{5),6),7)}による貧血が疑われる。また，同群で雄の腎臓に好酸性小体増加及び硝子滴増加がみられた。

11.2 仔動物の発生・発育に及ぼす影響

11.2.1 一般状態及び死亡（要約表2.，Tables 12 and 27）

(1) F1仔動物

哺育期間では160 mg/kg群の雌雄での仔動物死亡が増加した。

(2) F2仔動物

哺育期間では160 mg/kg群の雌雄での仔動物死亡が増加した。

結論：4-NTは160 mg/kgの用量において，F1及びF2仔動物の死亡を増加させた。

11.2.2 体重（要約表2.，Tables 16 and 31）

(1) F1仔動物

雄では80 mg/kg群で哺育0日及び160 mg/kg群で哺育0～21日に有意な低値がみられた。雌では160 mg/kg群で哺育0～21日に有意な低値がみられた。

(2) F2仔動物

雌雄の80 mg/kg群で哺育0日及び160 mg/kg群で哺育0～21日に有意な低値がみられた。

結論：4-NTは80 mg/kg以上の用量において，F1及びF2仔動物の雌雄ともに哺育期間中の体重増加を抑制した。

11.2.3 出産生子性比，仔動物の生存率，外表検査及び肛門生殖突起間距離

（要約表2.，Tables 12，13，14，27，28 and 29）

いずれの用量群においても，F1及びF2仔動物の出産生子性比及び外表検査には異常はみられなかった。

(1) F1仔動物

160 mg/kg群で哺育4日の生存率に有意な低下がみられた。雄では160 mg/kg群で肛門生殖突起間距離(mm³ 体重)に有意な高値がみられた。雌では各用量群と対照群の間で有意な差はみられなかった。

(2) F2仔動物

160 mg/kg群で哺育4日の生存率に有意な低下がみられた。雄では160 mg/kg群で肛門生殖突起間距離(mm³ 体重)に高値傾向がみられたが、体重低値に起因すると考えられる。雌では各用量群と対照群の間で有意な差はみられなかった。

結論：4-NTの投与により、160 mg/kgの用量でF1及びF2仔動物の雌雄に哺育4日の生存率に有意な低下がみられた。また、同群の雄に肛門生殖突起間距離の高値がみられたが、血清中ホルモン量を含め、他に関連する変化はみられず、原因は不明である。

11.2.4 発育分化（要約表2.，Tables 14 and 29）

F1及びF2仔動物の雌雄で、耳介開展、切歯萌出及び眼瞼開裂の各指標に異常は認められなかった。

結論：4-NTは160 mg/kgまでの用量において、F1及びF2仔動物の発育分化に影響を及ぼさなかったと考えられる。

11.2.5 反射反応（要約表2.，Tables 15 and 30）

F1及びF2仔動物の雌雄で、全身痛覚反応、背地走性、空中正向反射及び耳介反射の各指標に異常は認められなかった。

結論：4-NTは160 mg/kgまでの用量において、F1及びF2仔動物の反射反応に影響を及ぼさなかったと考えられる。

11.2.6 剖検（要約表2.，Tables 25 and 34）

哺育途中で死亡したF1またはF2仔動物、ならびにF1親に選抜されなかったF1離乳仔、またはF2離乳仔の剖検では、いずれの用量群においても4-NT投与の影響と考えられる変化は認められなかった。

結論：4-NTは160 mg/kgまでの用量において、F1及びF2仔動物の剖検所見に影響を及ぼさなかったと考えられる。

11.2.7 臓器重量（要約表2. , Tables 23 , 24 , 32 and 33）

F1及びF2離乳仔とも80 mg/kg以上の群の雄と160 mg/kg群の雌で脳の絶対重量の低値がみられた。この時期は脳の発達段階であり、体重の低値がみられることから、発育遅延に起因した二次的变化と考えられる。また、これらの群では相対重量は高値傾向を示した。

結論：4-NTの投与により、F1及びF2離乳仔とも80 mg/kg以上の群の雄と160 mg/kg群の雌で脳の絶対重量の低値がみられた

11.3 NOEL（無影響量）及びNOAEL（無毒性量）に関する考察

以上のことから、F0及びF1親動物に対する影響に関して、4-NTの40 mg/kgは流涎、肝臓及び腎臓の重量増加がみられる用量であると考えられた。繁殖能力に関しては、160 mg/kgは腔開口率の低下がみられる用量であると考えられた。

F1及びF2仔動物に対しては、80 mg/kgは哺育期間中の仔動物の体重増加抑制と脳の絶対重量の低値を示す用量であると考えられた。

したがって、2世代にわたってラットに投与した場合、4-NTの親動物に対する影響に関しての無影響量(NOEL)及び無毒性量(NOAEL)は40 mg/kg/day未満である。親動物の繁殖能力については、160 mg/kg/day以下では著しい影響はない。また、仔動物の発生・発育に対する無影響量及び無毒性量は40 mg/kg/dayであると結論される。

12. 参考文献

- 1) HSDB (2001) Hazardous Substance Data Bank, U.S. National Library of Medicine.
- 2) CERI (化学物質評価研究機構) (2001) 平成12年度経済産業省環境対応技術開発等委託調査研究, 環境ホルモン効果に関する評価・試験法開発報告書 .
- 3) CERI (化学物質評価研究機構) (2001) 平成11年度新エネルギー・産業技術総合開発機構委託業務化学物質の内分泌攪乱効果に関する評価及び試験法の開発報告書 .
- 4) Nishihara, T., Nishikawa, J., Kanayama, T., Dakeyama, F., Saito, K., Imagawa, M., Takatori, S., Kitagawa, Y., Hori, S., and Utsumi, H. (2000) Estrogenic activities of 517 chemicals by yeast two-hybrid assay, *J. Health Sci.*, 46, 282-298.
- 5) German Chemical Society (1989) Nitrotoluenes. BUA report No 41.
- 6) NTP (1992) NTP Technical Report on toxicity studies of *o*-, *m*-, *p*-nitrotoluenes administered in dosed feed to F344/N rats and B6CF₁ mice. (Toxicity Report Series No. 23), Research Triangle Park, NC, USA.
- 7) Dunnick, J.K., Elwell, M.R., and Bucher, J.R. (1994) Comparative toxicities of *o*-, *m*-, *p*-nitrotoluene in 13-week feed studies in F344 rats and B6C3F₁ mice. *Fund. Appl. Toxicol.*, 22, 411-421.
- 8) 厚生省 (1996) 生活衛生局企画課生活化学安全対策室監修, 化学物質点検推進連絡協議会編, 化学物質毒性試験報告, 3, 87-101.
- 9) 厚生省 (1994) 生活衛生局企画課生活化学安全対策室監修, 化学物質点検推進連絡協議会編, 化学物質毒性試験報告, 1, 463-474.

添付資料 1

表1 オリーブ油を媒体としたラットを用いた28日間反復経口投与試験における対照群での流涎の発現状況*

試験	発現例数/観察例数		試験	発現例数/観察例数	
1	11 /12	9 /12	51	4 /12	3 /12
2	5 /12	7 /12	52	5 /12	8 /12
3	7 /12	4 /12	53	8 /12	3 /12
4	9 /12	10 /12	54	6 /12	8 /12
5	9 /12	5 /12	55	6 /12	6 /12
6	8 /12	6 /12	56	6 /12	6 /12
7	7 /12	2 /12	57	3 /12	6 /12
8	9 /12	5 /12	58	5 /12	4 /12
9	7 /12	6 /12	59	8 /12	10 /12
10	9 /12	8 /12	60	8 /12	5 /12
11	10 /12	6 /12	61	7 /12	7 /12
12	7 /12	1 /12	62	7 /12	7 /12
13	4 /12	7 /12	63	7 /12	6 /12
14	8 /12	4 /12	64	9 /12	10 /12
15	7 /12	4 /12	65	5 /12	5 /12
16	6 /12	2 /12	66	7 /12	6 /12
17	6 /12	7 /12	67	8 /12	3 /12
18	5 /12	2 /12	68	7 /12	7 /12
19	8 /12	7 /12	69	7 /12	8 /12
20	8 /12	4 /12	70	7 /12	4 /12
21	10 /12	5 /12	71	7 /12	4 /12
22	7 /12	5 /12	72	10 /12	7 /12
23	8 /12	8 /12	73	0 /12	2 /12
24	7 /12	4 /12	74	8 /12	6 /12
25	4 /12	4 /12	75	4 /12	7 /12
26	8 /12	6 /12	76	9 /12	7 /12
27	5 /12	4 /12	77	11 /12	7 /12
28	9 /12	9 /12	78	8 /12	6 /12
29	9 /12	8 /12	79	4 /12	4 /12
30	4 /12	4 /12	80	8 /12	7 /12
31	6 /12	5 /12	81	8 /12	4 /12
32	10 /12	4 /12	82	6 /12	4 /12
33	4 /12	5 /12	83	1 /12	1 /12
34	0 /12	3 /12	84	8 /12	3 /12
35	3 /12	5 /12	85	2 /12	4 /12
36	6 /12	6 /12	86	7 /12	6 /12
37	6 /12	4 /12	87	8 /12	3 /12
38	8 /12	4 /12	88	5 /12	2 /12
39	2 /12	3 /12	89	8 /12	6 /12
40	6 /12	3 /12	90	8 /12	9 /12
41	6 /12	2 /12	91	8 /12	3 /12
42	9 /12	5 /12	92	6 /12	8 /12
43	7 /12	3 /12	93	12 /12	7 /12
44	2 /12	7 /12	94	5 /12	5 /12
45	9 /12	4 /12	95	7 /12	3 /12
46	7 /12	2 /12	96	7 /12	5 /12
47	4 /12	6 /12	流涎総数	635	497
48	6 /12	4 /12	動物総数	1152	1152
49	5 /12	3 /12			
50	3 /12	4 /12			

*1999年1月31日開始から2002年3月5日終了までの過去5年間に当機構で化審法スクリーニング毒性試験である「ラットを用いた28日間反復経口投与試験」233試験(総使用動物数5,552匹、雌雄各2,796匹)を実施した。これらの試験で使用した媒体は、オリーブ油、5%アラビアゴム水溶液、0.5%CMC-Na水溶液及び精製水であった。それらのうち対照群で流涎のみられた試験は、媒体としてオリーブ油を使用した試験96中96試験のみで、いずれも投与直後の一過性のものであった。一方、他の媒体を使用した試験では流涎は一切みられなかった。

添付資料 2

Crj:CD(SD)IGS の 2 世代繁殖試験等における強制経口投与での対照群の受胎率*

* 妊娠動物数/交配使用動物数 × 100

1. 2 世代繁殖試験¹⁾

F0 : 22/25 (88.0%)

F1 : 17/22 (77.3%)

2. 2 世代繁殖試験²⁾

F0 : 22/25 (88.0%)

F1 : 18/22 (81.8%)

3. 2 世代繁殖試験³⁾

F0 : 24/25 (96.0%)

F1 : 23/25 (92.0%)

4. 1 世代試験⁴⁾

匹数の具体的記載はないが、以下の項目についての記載あり。

F1 : Mating index(number of animals with evidence of copulation/number of animals cohabitated × 100)=80.0%

F1 : Fecundity index(number of animals bearing litters/number of animals copulating × 100)=87.5%

上記の項目から上記の受胎率を計算すると、

$0.8 \times 0.875 \times 100 = 70\%$

5. 生殖試験(妊娠 7 日から分娩 21 日投与)⁵⁾

F1 : 16/21(76.2%)

出典

1) Nagao, T., Ohta, R., Marumo, H., Shindo, T., Yoshimura, S., and Ono, H. (2000) Effect of butyl benzyl phthalate in Sprague-Dawley rats after gavage administration: a two-generation study. *Reprod. Toxicicol.*, 14, 513-532.

- 2) Nagao, T., Wada, K., Marumo, H., Yoshimura, S., and Ono, H. (2001) Reproductive effects of nonylphenol in rats after gavage administration: a two-generation study. *Reprod. Toxicol.*, 15, 293-315.
- 3) Ema, M., Fujii, S., Furukawa, M., Kiguchi, M. Ikka, T., and Harazono, A. (2001) Rat two-generation reproductive toxicity study of bisphenol A. *Reprod. Toxicol.*, 15, 505-523.
- 4) Malley, L.A., Everds, N.E., Makovec, G.T., and Kennedy, Jr., G.L. (2002) Reproductive and repeated dose toxicity of cyclododecatriene(CDDT) in rats following oral(gavage) treatment. *Drug Chem. Toxicol.* 25(2), 149-170.
- 5) Sato, T. and Nonaka, N. Accumulation of background data in Crj:CD(SD)IGS rats on reproductive and developmental toxicity study. In biological reference data on CD(SD)IGS rats-1999. CD(SD)IGS study group, Yokohama,182-189.

表2. 試験結果の概要

世代		親動物：F0				仔動物：F1				親動物：F1				仔動物：F2						
投与量 (mg/kg/day)		0	40	80	160	0	40	80	160	0	40	80	160	0	40	80	160			
親動物	死亡または屠殺		雄	0/24	0/24	1/24	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24		
			雌	0/24	0/24	0/24	3/24	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24	2/24	0/24	0/24	0/24	0/24		
	一般状態	雄	全試験期間	流涎	8/24	24/24	24/24	24/24	3/24	21/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	
			育成期間	流涎	3/24	19/24	24/24	24/24	2/24	14/24	23/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	
		雌	妊娠期間	流涎	1/21	11/23	18/20	21/21	0/22	3/22	16/22	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	
				鼻・口周囲の汚れ	0/21	0/23	0/20	1/21	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	
				自発運動低下	0/21	0/23	0/20	1/21	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	
				うずくまり	0/21	0/23	0/20	1/21	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	
				チアノーゼ	0/21	0/23	0/20	1/21	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	
				呼吸数減少	0/21	0/23	0/20	0/21	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	
				閉瞼	0/21	0/23	0/20	0/21	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	
				紅涙	0/21	0/23	0/20	0/21	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	
				下腹部の汚れ	0/21	0/23	0/20	0/21	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	
				体温低下	0/21	0/23	0/20	0/21	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	
				削瘦	0/21	0/23	0/20	0/21	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	
				蒼白	0/21	0/23	0/20	0/21	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	0/22	
				哺育期間	流涎	1/18	9/22	18/20	17/18	2/17	1/13	9/14	13/16	13/16	13/16	13/16	13/16	13/16	13/16	13/16
					自発運動低下	0/18	0/22	0/20	1/18	0/17	0/13	0/14	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16
			呼吸数減少		0/18	0/22	0/20	1/18	0/17	0/13	0/14	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	
			閉瞼		0/18	0/22	0/20	1/18	0/17	0/13	0/14	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	
		体重増加量(g)	雄	検査動物数	21-24	23-24	20-24	21-24	22-24	22-24	22-24	22-24	22-24	22-24	22-24	22-24	22-24	22-24	22-24	
				全試験期間	455.5 ± 53.4	450.6 ± 37.4	435.7 ± 44.1	432.2 ± 55.0	555.2 ± 54.9	557.6 ± 53.4	533.9 ± 53.3 ^{*1)}	504.9 ± 62.9 ^{*2)}								
		雌	検査動物数	18-24	22-24	20-24	15-24	17-24	12-24	14-24	11-24	11-24	11-24	11-24	11-24	11-24	11-24	11-24		
			育成期間	176.7 ± 29.0	173.7 ± 27.2	188.6 ± 27.4	178.2 ± 15.7	239.9 ± 26.5	245.1 ± 33.9	228.0 ± 29.3	222.6 ± 21.3 ^{*2)}									
			妊娠期間	120.8 ± 18.9	119.0 ± 13.2	121.7 ± 14.9 ^{*3)}	113.6 ± 23.8	122.5 ± 18.2	120.9 ± 24.8	117.8 ± 26.8	117.5 ± 24.3	117.5 ± 24.3	117.5 ± 24.3	117.5 ± 24.3	117.5 ± 24.3	117.5 ± 24.3	117.5 ± 24.3			
			哺育期間	-15.4 ± 18.2	-10.3 ± 17.6	-7.3 ± 18.1	-2.3 ± 15.7 ^{*4)}	-22.0 ± 17.6	-16.6 ± 16.7	-13.9 ± 16.7	-2.0 ± 22.0 ^{*5)}									
	摂餌量(g)	雄	検査動物数	20-24	23-24	20-24	19-24	21-24	19-24	16-24	19-24	19-24	16-24	19-24	19-24	19-24	19-24	19-24		
全試験期間			21.3-25.5	21.6-25.3	21.5-25.9	21.8-26.4	14.7-27.9	14.7-28.6	14.4-28.9	12.8-27.5 ^{*6)}	12.8-27.5 ^{*6)}	12.8-27.5 ^{*6)}	12.8-27.5 ^{*6)}	12.8-27.5 ^{*6)}						
雌		検査動物数	18-24	22-24	20-24	15-24	17-24	12-24	14-24	11-24	11-24	11-24	11-24	11-24						
		育成期間	14.4-17.0	15.0-17.2	16.7-18.3 ^{*7)}	16.5-18.1 ^{*8)}	13.5-18.4	13.4-19.2	12.4-18.8 ^{*9)}	11.8-20.1 ^{*10)}	11.8-20.1 ^{*10)}	11.8-20.1 ^{*10)}	11.8-20.1 ^{*10)}							
		妊娠期間	15.9-20.0	17.2-19.5	18.7-21.1 ^{*11)}	18.1-21.0 ^{*11)}	18.6-22.4	20.6-23.0	19.7-21.9	22.5-24.7 ^{*12)}	22.5-24.7 ^{*12)}	22.5-24.7 ^{*12)}	22.5-24.7 ^{*12)}							
		哺育期間	18.5-52.4	21.6-56.5 ^{*13)}	21.3-56.5 ^{*13)}	19.5-53.2	21.9-54.5	20.8-57.8	22.5-53.7	21.3-53.9	21.3-53.9	21.3-53.9	21.3-53.9							
摂餌効率(%)	雄	検査動物数	24	24	23-24	23-24	24	24	24	24	24	24	24							
		全試験期間	43.9-23.9	44.1-23.9	43.2-22.8 ^{*14)}	42.9-22.6 ^{*14)}	52.3-28.4	52.3-27.8	52.4-26.7 ^{*14)}	51.4-26.3 ^{*14)}	51.4-26.3 ^{*14)}	51.4-26.3 ^{*14)}								
	雌	検査動物数	18-24	22-24	20-24	15-24	17-24	12-24	14-24	11-24	11-24	11-24	11-24							
		育成期間	32.4-15.3	32.1-15.0	32.9-15.3	31.8-14.6	46.3-19.9	47.0-19.7	45.8-19.0	46.9-18.2 ^{*15)}	46.9-18.2 ^{*15)}	46.9-18.2 ^{*15)}								
	妊娠期間	21.3-32.9	20.3-32.2	21.0-30.6 ^{*16)}	20.5-28.7 ^{*16)}	19.8-29.8	19.1-27.7	17.3-27.8	19.1-25.2 ^{*16)}	19.1-25.2 ^{*16)}	19.1-25.2 ^{*16)}									
	哺育期間	-5.0- -1.8	-3.1- -1.1	-6.8- -0.9	-5.3- -0.3	-3.3- -2.7	-5.2- -1.9	0.7- -1.6	-2.2- -0.4	-2.2- -0.4	-2.2- -0.4									

/ および / : 統計学的に有意な高値/低値(それぞれ p 0.05 および p 0.01) 1) 投与 5,6 週に有意な低値。2) 投与期間を通して有意な低値。3) 妊娠 7,14 日に有意な高値。4) 哺育 21 日に有意な高値。5) 哺育 0 日に有意な低値。6) 投与 1,2 週に有意な低値。7) 投与 4~10 週に有意な高値。8) 投与 5 週, 7~10 週に有意な高値。9) 投与 1 週に有意な低値。10) 投与 1,2 週に有意な低値, 9,10 週に有意な高値。11) 妊娠 7 日に有意な高値。12) 妊娠 7,14 日に有意な高値。13) 哺育 4 日に有意な高値。14) 投与 0-3~0-10 週に有意な低値。15) 投与 0-7~0-10 週に有意な低値。16) 妊娠 0-20 日に有意な低値。

表2. 試験結果の概要 (続き - 2)

		世代		親動物：F0				親動物：F1				仔動物：F2				
		投与量 (mg/kg/day)		0	40	80	160	0	40	80	160	0	40	80	160	
親動物	繁殖能力 [Mean ± S.D.]	雄	検査動物数		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
			性成熟	包皮分離(生後 43 日)	-	-	-	-	21/24	22/24	17/24	18/24				
			交尾率		21/24	23/24	21/23	21/23	22/24	22/24	22/24	24/24				
			受胎率(授精率)		18/21	22/23	21/21	19/21	17/22	14/22	15/22	17/24				
			精子数 ^{a)} ($\times 10^6$ /g)	精巣	106.2 ± 9.7	101.8 ± 18.9	106.6 ± 14.8	109.8 ± 17.5	105.2 ± 10.0	95.9 ± 5.4	99.8 ± 9.8	104.8 ± 11.3				
		精巣上体尾部		612.1 ± 43.4	555.4 ± 102.5	634.7 ± 73.6	658.8 ± 74.6	636.7 ± 61.8	640.0 ± 61.1	623.9 ± 78.0	648.3 ± 89.4					
		精子運動率(% ^{a)})		67.2 ± 9.8	61.6 ± 21.1	65.5 ± 10.8	75.0 ± 19.2	59.8 ± 22.4	61.8 ± 20.0	67.2 ± 18.7	66.7 ± 26.1					
		異常形態精子率(% ^{a)})		0.0 ± 0.0	-	-	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	-	-	0.0 ± 0.0					
		雌	検査動物数		18-24	22-24	21-24	19-24	17-24	14-24	15-24	17-24				
			性成熟	膣開口(生後 36 日)	-	-	-	-	24/24	24/24	23/24	16/24				
	正常性周期率		24/24	24/24	23/23	23/23	23/24	21/24	21/24	24/24						
	交尾率		21/24	23/24	21/23	21/23	22/24	22/24	22/24	24/24						
	受胎率		18/21	22/23	21/21	19/21	17/22	14/22	15/22	17/24						
	出産率		18/18	22/22	20/21	18/19	17/17	13/14	14/15	16/17						
	交尾所要日数		2.4 ± 1.0	3.9 ± 2.8	2.5 ± 0.9	2.9 ± 1.4	4.3 ± 2.9	4.6 ± 2.7	2.6 ± 1.4	2.5 ± 1.3						
	妊娠期間(日)		21.6 ± 0.50	21.8 ± 0.39	22.0 ± 0.32	22.1 ± 0.24	22.1 ± 0.33	22.2 ± 0.44	22.0 ± 0.00	22.1 ± 0.34						
	着床数		12.7 ± 2.97	14.5 ± 1.84	14.5 ± 1.99	15.2 ± 1.87	12.3 ± 3.02	11.7 ± 5.06	12.9 ± 4.46	14.6 ± 1.73						
	分娩率(出生率)		91.3	90.3	92.4	87.0	93.8	89.0	91.2	83.0						
	出産児数		11.7 ± 2.93	13.1 ± 1.93	13.5 ± 2.46	14.3 ± 2.09	11.6 ± 2.94	11.5 ± 4.58	12.9 ± 3.01	13.0 ± 3.16						
	臓器重量 [Mean ± S.D.]	雄	絶対重量	検査動物数	18	22	20	19	17	13	14	17				
肝臓(g)				20.68 ± 2.66	21.13 ± 2.63	20.77 ± 2.45	21.35 ± 2.78	22.59 ± 4.31	24.78 ± 3.11	23.66 ± 3.60	22.35 ± 3.20					
心臓(g)				1.64 ± 0.13	1.62 ± 0.13	1.57 ± 0.15	1.57 ± 0.09	1.65 ± 0.15	1.66 ± 0.16	1.68 ± 0.19	1.50 ± 0.12					
腎臓(右)(g)				1.78 ± 0.20	1.90 ± 0.17	1.90 ± 0.22	1.87 ± 0.15	1.90 ± 0.22	1.99 ± 0.22	1.88 ± 0.29	1.87 ± 0.23					
腎臓(左)(g)				1.75 ± 0.17	1.85 ± 0.16	1.85 ± 0.18	1.85 ± 0.17	1.87 ± 0.19	1.93 ± 0.19	1.85 ± 0.25	1.84 ± 0.22					
精巣(右)(g)				1.80 ± 0.16	1.73 ± 0.13	1.76 ± 0.16	1.70 ± 0.12	1.88 ± 0.17	1.88 ± 0.14	1.81 ± 0.13	1.74 ± 0.13					
精巣(左)(g)				1.79 ± 0.15	1.74 ± 0.12	1.76 ± 0.16	1.70 ± 0.14	1.87 ± 0.15	1.87 ± 0.13	1.77 ± 0.13	1.68 ± 0.20					
精巣上体(右)(g)				0.69 ± 0.05	0.67 ± 0.07	0.68 ± 0.05	0.66 ± 0.06	0.69 ± 0.07	0.69 ± 0.06	0.66 ± 0.06	0.64 ± 0.05					
精巣上体(左)(g)				0.67 ± 0.05	0.65 ± 0.07	0.68 ± 0.06	0.65 ± 0.06	0.68 ± 0.05	0.68 ± 0.06	0.66 ± 0.06	0.62 ± 0.05					
腹葉前立腺(g)				0.73 ± 0.13	0.69 ± 0.14	0.75 ± 0.25	0.78 ± 0.14	0.72 ± 0.18	0.69 ± 0.17	0.73 ± 0.20	0.76 ± 0.14					
精嚢(g)				1.81 ± 0.23	1.85 ± 0.21	1.94 ± 0.19	1.90 ± 0.20	1.72 ± 0.25	1.67 ± 0.17	1.73 ± 0.21	1.72 ± 0.28					
脳(g)				2.07 ± 0.07	2.13 ± 0.09	2.07 ± 0.07	2.11 ± 0.09	2.12 ± 0.09	2.11 ± 0.10	2.07 ± 0.09	2.02 ± 0.07					
脾臓(g)				0.76 ± 0.09	0.82 ± 0.13	0.80 ± 0.11	0.81 ± 0.13	0.80 ± 0.11	0.88 ± 0.13	0.86 ± 0.11	0.87 ± 0.13					
下垂体(mg)				13.0 ± 2.1	13.8 ± 2.0	14.7 ± 2.8	13.8 ± 3.4	13.0 ± 1.6	13.6 ± 1.3	12.6 ± 1.1	11.5 ± 1.1					
甲状腺(mg)				25.4 ± 2.5	26.6 ± 3.7	26.5 ± 4.9	27.2 ± 5.9	26.7 ± 4.9	27.4 ± 6.1	26.3 ± 4.1	25.8 ± 5.8					
副腎(右)(mg)	28.0 ± 3.7	27.9 ± 3.2	28.2 ± 4.8	29.8 ± 3.6	28.9 ± 3.1	31.0 ± 5.5	29.7 ± 4.2	29.2 ± 6.6								
副腎(左)(mg)	29.5 ± 3.3	30.0 ± 4.0	30.1 ± 5.4	30.8 ± 4.0	31.1 ± 3.2	32.9 ± 5.4	31.4 ± 4.2	30.3 ± 6.5								

/ および / : 統計学的に有意な高値/低値(それぞれ p 0.05 および p 0.01), a) 雌を妊娠せしめた雄について検査した。- : 検査せず。

表2. 試験結果の概要 (続き - 3)

		世代		親動物：F0				親動物：F1				仔動物：F1				仔動物：F2				
		投与量 (mg/kg/day)		0	40	80	160	0	40	80	160	0	40	80	160	0	40	80	160	
親動物	臓器重量 [Mean ± S.D.]	雄	相対重量 (wt/100g)	検査動物数	18	22	20	19	17	13	14	17								
				肝臓(g)	3.40 ± 0.24	3.51 ± 0.27	3.54 ± 0.21	3.67 ± 0.21	3.51 ± 0.42	3.88 ± 0.25	3.87 ± 0.31	3.89 ± 0.31								
				心臓(g)	0.27 ± 0.02	0.27 ± 0.02	0.27 ± 0.02	0.27 ± 0.02	0.26 ± 0.02	0.26 ± 0.02	0.28 ± 0.03	0.26 ± 0.02								
				腎臓(右)(g)	0.29 ± 0.03	0.32 ± 0.04	0.33 ± 0.03	0.32 ± 0.03	0.30 ± 0.03	0.31 ± 0.02	0.31 ± 0.03	0.33 ± 0.04								
				腎臓(左)(g)	0.29 ± 0.02	0.31 ± 0.03	0.32 ± 0.03	0.32 ± 0.03	0.29 ± 0.02	0.30 ± 0.02	0.30 ± 0.02	0.32 ± 0.04								
				精巣(右)(g)	0.30 ± 0.03	0.29 ± 0.03	0.30 ± 0.03	0.30 ± 0.04	0.30 ± 0.04	0.30 ± 0.03	0.30 ± 0.02	0.31 ± 0.03								
				精巣(左)(g)	0.29 ± 0.03	0.29 ± 0.03	0.30 ± 0.03	0.30 ± 0.04	0.30 ± 0.04	0.30 ± 0.04	0.29 ± 0.02	0.30 ± 0.05								
				精巣上体(右)(g)	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.12 ± 0.02	0.11 ± 0.02	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.02								
				精巣上体(左)(g)	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.11 ± 0.02	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.02								
				腹葉前立腺(g)	0.12 ± 0.03	0.12 ± 0.03	0.13 ± 0.04	0.14 ± 0.03	0.11 ± 0.03	0.11 ± 0.03	0.12 ± 0.03	0.14 ± 0.04								
				精嚢(g)	0.30 ± 0.05	0.31 ± 0.04	0.33 ± 0.05	0.33 ± 0.05	0.27 ± 0.04	0.26 ± 0.04	0.29 ± 0.05	0.31 ± 0.08								
				脳(g)	0.34 ± 0.03	0.36 ± 0.02	0.36 ± 0.03	0.37 ± 0.04	0.33 ± 0.03	0.33 ± 0.03	0.34 ± 0.04	0.36 ± 0.05								
				脾臓(g)	0.12 ± 0.01	0.14 ± 0.02	0.14 ± 0.02	0.14 ± 0.02	0.13 ± 0.02	0.14 ± 0.02	0.14 ± 0.02	0.15 ± 0.02								
				下垂体(mg)	2.2 ± 0.4	2.3 ± 0.3	2.5 ± 0.5	2.4 ± 0.4	2.0 ± 0.2	2.1 ± 0.2	2.1 ± 0.2	2.0 ± 0.3								
				甲状腺(mg)	4.2 ± 0.6	4.5 ± 0.7	4.6 ± 0.9	4.8 ± 1.3	4.2 ± 0.7	4.3 ± 1.0	4.3 ± 0.7	4.5 ± 1.1								
				副腎(右)(mg)	4.6 ± 0.6	4.7 ± 0.5	4.8 ± 0.9	5.2 ± 0.8	4.6 ± 0.5	4.9 ± 1.1	4.9 ± 0.9	5.1 ± 1.0								
				副腎(左)(mg)	4.9 ± 0.6	5.0 ± 0.7	5.2 ± 1.0	5.4 ± 0.9	4.9 ± 0.5	5.2 ± 1.1	5.2 ± 0.8	5.3 ± 1.0								
						雌	絶対重量	検査動物数	18	22	20	15	17	12	14	11				
					肝臓(g)	11.49 ± 0.64	12.49 ± 1.47	13.00 ± 1.16	13.57 ± 1.29	12.50 ± 1.09	13.64 ± 1.71	13.22 ± 1.45	13.14 ± 1.50							
					心臓(g)	1.07 ± 0.06	1.08 ± 0.06	1.15 ± 0.10	1.12 ± 0.09	1.16 ± 0.07	1.23 ± 0.12	1.17 ± 0.10	1.14 ± 0.08							
				腎臓(右)(g)	1.00 ± 0.07	1.06 ± 0.08	1.10 ± 0.12	1.09 ± 0.10	1.04 ± 0.10	1.15 ± 0.15	1.04 ± 0.08	1.09 ± 0.14								
				腎臓(左)(g)	0.99 ± 0.06	1.02 ± 0.08	1.09 ± 0.11	1.07 ± 0.11	1.02 ± 0.09	1.12 ± 0.14	1.03 ± 0.09	1.03 ± 0.11								
				卵巣(右)(mg)	48.6 ± 8.5	51.0 ± 7.1	52.5 ± 8.6	51.4 ± 5.6	54.0 ± 10.3	57.3 ± 10.9	55.0 ± 7.4	58.3 ± 13.2								
				卵巣(左)(mg)	56.0 ± 8.3	50.0 ± 8.5	54.5 ± 6.9	53.6 ± 8.3	57.1 ± 7.5	59.0 ± 8.8	56.8 ± 8.8	58.8 ± 9.8								
				子宮(g)	0.72 ± 0.10	0.71 ± 0.09	0.70 ± 0.06	0.72 ± 0.09	0.71 ± 0.11	0.73 ± 0.09	0.67 ± 0.08	0.71 ± 0.10								
				脳(g)	1.95 ± 0.07	1.93 ± 0.08	1.92 ± 0.06	1.92 ± 0.10	1.94 ± 0.08	1.99 ± 0.07	1.90 ± 0.08	1.88 ± 0.07								
				脾臓(g)	0.53 ± 0.05	0.56 ± 0.09	0.58 ± 0.09	0.65 ± 0.09	0.55 ± 0.04	0.59 ± 0.10	0.58 ± 0.07	0.64 ± 0.07								
				下垂体(mg)	14.0 ± 2.0	15.3 ± 1.8	15.4 ± 1.8	14.2 ± 1.6	15.3 ± 1.8	17.2 ± 2.6	15.3 ± 2.2	14.8 ± 2.3								
				甲状腺(mg)	21.8 ± 4.0	20.2 ± 3.8	22.8 ± 3.3	24.0 ± 4.9	23.7 ± 3.5	24.4 ± 3.2	24.9 ± 3.2	24.4 ± 3.9								
				副腎(右)(mg)	32.8 ± 4.4	32.7 ± 3.9	33.4 ± 3.3	35.0 ± 3.6	30.7 ± 3.7	33.9 ± 5.8	30.7 ± 5.2	34.8 ± 3.8								
				副腎(左)(mg)	35.3 ± 4.0	34.9 ± 5.7	35.5 ± 5.4	38.4 ± 3.6	34.6 ± 4.2	36.1 ± 4.8	33.5 ± 5.0	38.3 ± 4.0								

/ および / : 統計学的に有意な高値/低値 (それぞれ p 0.05 および p 0.01)

表2. 試験結果の概要 (続き - 4)

世代			親動物：F0				親動物：F1				仔動物：F1				仔動物：F2			
投与量 (mg/kg/day)			0	40	80	160	0	40	80	160	0	40	80	160	0	40	80	160
親動物	臓器重量 [Mean ± S.D.]	雌	相対重量 (wt/100g)	検査動物数	18	22	20	15	17	12	14	11						
				肝臓(g)	3.72 ± 0.23	4.09 ± 0.31	4.06 ± 0.19	4.24 ± 0.31	3.83 ± 0.33	4.16 ± 0.28	4.14 ± 0.33	4.21 ± 0.40						
				心臓(g)	0.35 ± 0.03	0.36 ± 0.02	0.36 ± 0.02	0.35 ± 0.03	0.35 ± 0.03	0.38 ± 0.03	0.37 ± 0.03	0.37 ± 0.02						
				腎臓(右)(g)	0.33 ± 0.02	0.35 ± 0.03	0.34 ± 0.03	0.34 ± 0.03	0.32 ± 0.03	0.35 ± 0.03	0.33 ± 0.02	0.35 ± 0.03						
				腎臓(左)(g)	0.32 ± 0.02	0.34 ± 0.03	0.34 ± 0.03	0.33 ± 0.03	0.31 ± 0.03	0.34 ± 0.03	0.33 ± 0.03	0.33 ± 0.02						
				卵巣(右)(mg)	15.7 ± 2.5	16.8 ± 2.3	16.4 ± 2.4	16.1 ± 1.7	16.5 ± 2.7	17.5 ± 3.2	17.3 ± 2.5	18.6 ± 3.7						
				卵巣(左)(mg)	18.1 ± 2.4	16.4 ± 2.5	17.1 ± 2.3	16.8 ± 2.6	17.5 ± 1.9	18.1 ± 3.0	17.8 ± 2.5	18.9 ± 3.2						
				子宮(g)	0.23 ± 0.03	0.23 ± 0.03	0.22 ± 0.02	0.23 ± 0.02	0.22 ± 0.04	0.22 ± 0.03	0.21 ± 0.03	0.23 ± 0.04						
				脳(g)	0.63 ± 0.04	0.63 ± 0.04	0.60 ± 0.04	0.60 ± 0.03	0.60 ± 0.05	0.61 ± 0.05	0.60 ± 0.05	0.61 ± 0.03						
				脾臓(g)	0.17 ± 0.02	0.19 ± 0.03	0.18 ± 0.02	0.20 ± 0.03	0.17 ± 0.02	0.18 ± 0.03	0.18 ± 0.02	0.21 ± 0.02						
				下垂体(mg)	4.6 ± 0.7	5.0 ± 0.6	4.8 ± 0.5	4.4 ± 0.5	4.7 ± 0.6	5.3 ± 0.7	4.8 ± 0.6	4.8 ± 0.6						
				甲状腺(mg)	7.1 ± 1.3	6.7 ± 1.3	7.1 ± 0.8	7.5 ± 1.4	7.3 ± 1.2	7.5 ± 1.1	7.8 ± 0.9	7.8 ± 1.2						
				副腎(右)(mg)	10.6 ± 1.5	10.7 ± 1.2	10.4 ± 0.9	11.0 ± 1.4	9.4 ± 1.0	10.3 ± 1.3	9.7 ± 1.6	11.1 ± 1.2						
副腎(左)(mg)	11.4 ± 1.5	11.5 ± 1.7	11.1 ± 1.7	12.0 ± 1.3	10.6 ± 1.1	11.0 ± 1.3	10.5 ± 1.7	12.3 ± 1.4										
剖検所見	雄	腎臓	表面点状模様明瞭化	0/24	0/24	0/23	0/23	0/24	0/24	0/24	0/24	5/24						
		脾臓	黒色化	0/24	0/24	0/23	0/23	0/24	0/24	0/24	1/24							
	雌	脾臓	黒色化	0/24	0/24	0/22	13/24	0/24	0/24	0/24	2/24							
		剖検所見 (非交尾・非妊娠)	雄	異常なし	-	-	-	-	7/7	10/10	9/9	7/7						
病理組織学的 所見	雄	腎臓	好酸性小体増加	1/18	1/22	1/20	7/19	0/18	0/17	0/15	2/18							
			硝子滴増加	1/18	1/22	6/20	11/19	1/18	2/17	6/15	15/18							
		脾臓	ヘモジデリン沈着	1/19	-	2/20	11/19	0/17	0/13	5/14	9/17							
	雌	脾臓	ヘモジデリン沈着	8/18	9/22	14/20	15/20	8/17	6/13	11/14	17/17							
			髓外造血亢進	0/18	0/22	0/20	2/20	0/17	1/13	0/14	0/17							
		精巣	片側性精細管の軽度びまん性萎縮	-	-	-	-	1/7	0/10	0/9	0/7							
病理組織学的 所見 (非交尾・非妊娠)	雄	前立腺	軽度円形細胞浸潤	-	-	-	-	0/7	4/10	1/9	1/7							
		雌	膣	軽度粘液分泌亢進	-	-	-	-	2/7	0/10	1/9	0/7						
	軽度粘膜萎縮		-	-	-	-	1/7	2/10	0/9	0/7								
	非交尾組数	-	-	-	-	2/24	2/24	2/24	0/24									
非妊娠組数	-	-	-	-	5/22	8/22	7/22	7/24										
異常性周期(非交尾・非妊娠)	雌	-	-	-	-	1/7	0/10	0/9	0/7									

/ および / : 統計学的に有意な高値/低値 (それぞれ p 0.05 および p 0.01), - : 検査せず。

表2. 試験結果の概要 (続き - 5)

世代		親動物：F0				親動物：F1				仔動物：F1				仔動物：F2						
投与量 (mg/kg/day)		0		40		80		160		0		40		80		160				
親動物	ホルモンレベル	雄	検査動物数		6		0		0		6		6		6		6			
			T3(ng/dl)		60 ± 12		-		-		55 ± 10		63 ± 4		-		54 ± 12			
			T4(µg/dl)		5.09 ± 0.78		-		-		4.26 ± 0.61		4.84 ± 0.93		4.42 ± 1.10		4.74 ± 0.97		3.66 ± 0.68	
			LH(ng/ml)		19.4 ± 4.3		-		-		16.1 ± 3.7		5.1 ± 0.6		-		-		5.6 ± 1.5	
			FSH(ng/ml)		34.0 ± 6.5		-		-		36.6 ± 0.8		45.3 ± 3.9		-		-		57.9 ± 16.5	
			テストステロン (pg/ml)		2309 ± 1227		-		-		1510 ± 666		1976 ± 898		-		-		2038 ± 1298	
			エストラジオール(pg/ml)		6.5 ± 2.3		-		-		4.9 ± 3.2		3.0 ± 0.9		-		-		3.2 ± 1.8	
		雌	検査動物数		6		6		6		6		6		6		6		6	
			T3(ng/dl)		68 ± 8		-		-		58 ± 12		65 ± 9		-		-		62 ± 7	
			T4(µg/dl)		5.47 ± 0.42		-		-		4.62 ± 0.83		4.30 ± 0.60		4.00 ± 0.69		3.62 ± 0.30		3.42 ± 0.34	
			LH(ng/ml)		4.6 ± 0.5		-		-		5.1 ± 1.0		4.8 ± 0.8		-		-		5.2 ± 1.1	
			FSH(ng/ml)		70.7 ± 19.1		-		-		77.6 ± 19.9		80.1 ± 26.0		-		-		71.7 ± 21.2	
			テストステロン (pg/ml)		31 ± 4		32 ± 9		35 ± 10		42 ± 9		49 ± 30		-		-		54 ± 10	
			エストラジオール(pg/ml)		6.6 ± 3.5		-		-		9.2 ± 3.8		9.2 ± 6.0		-		-		7.5 ± 7.2	
仔動物	出産生児性比 (雄 / 雌)		107/102		146/141		133/135		127/113		95/101		71/75		88/89		96/99			
	生存率(%)	検査腹数		18		21		20		15-18		17		12-13		14		11-16		
		哺育0日		99.6		99.3		99.4		93.8		99.0		98.0		98.4		90.5		
		哺育4日		98.3		98.1		96.0		79.8		97.3		91.7		94.1		61.6		
		哺育21日		99.3		100.0		100.0		95.6		98.5		90.4		95.5		97.7		
	外表異常	雄	全部位	異常なし	107/107		146/146		133/133		127/127		95/95		71/71		88/88		96/96	
		雌	全部位	異常なし	102/102		141/141		135/135		113/113		101/101		75/75		89/89		99/99	
	一般状態	雄	哺育0日-21日	異常なし	107/107-70/70		146/146-89/89		133/133-76/76		125/125-62/62		95/95-68/68		71/71-44/44		87/87-48/48		95/95-83/83	
		雌	哺育0日-21日	異常なし	102/102-68/68		141/141-87/87		134/134-81/81		112/112-52/52		101/101-61/61		75/75-47/47		89/89-55/55		99/99-45/45	
	体重(g) [Mean ± S.D.]	雄	検査腹数		18		21		20		15-18		17		12-13		14		11-16	
			哺育0日		6.6 ± 0.6		6.5 ± 0.5		6.1 ± 0.5		5.4 ± 0.5		6.8 ± 0.5		6.6 ± 0.7		6.1 ± 0.6		5.0 ± 0.8	
			哺育4日		10.9 ± 1.3		10.6 ± 0.9		10.0 ± 1.0		8.6 ± 1.6		11.2 ± 1.3		10.9 ± 2.2		10.1 ± 1.6		8.3 ± 1.4	
			哺育7日		17.2 ± 1.6		17.3 ± 1.3		16.3 ± 1.4		15.3 ± 1.2		17.9 ± 1.8		17.3 ± 3.3		16.3 ± 2.3		14.1 ± 2.8	
			哺育14日		34.5 ± 3.7		35.1 ± 2.2		34.0 ± 2.6		32.1 ± 1.7		36.2 ± 2.7		36.1 ± 3.7		33.9 ± 3.5		30.9 ± 4.4	
哺育21日			56.6 ± 6.3		57.7 ± 4.2		55.8 ± 4.7		53.0 ± 2.6		60.0 ± 4.7		60.4 ± 5.2		56.6 ± 5.4		51.5 ± 6.2			
雌			検査腹数		18		21		20		15-18		17		12-13		14		11-16	
		哺育0日		6.1 ± 0.5		6.1 ± 0.5		5.8 ± 0.5		5.1 ± 0.5		6.4 ± 0.6		6.4 ± 0.6		5.7 ± 0.5		4.9 ± 0.7		
		哺育4日		10.1 ± 1.3		10.2 ± 0.9		9.5 ± 1.1		8.3 ± 1.3		10.6 ± 1.4		10.3 ± 2.0		9.3 ± 1.3		7.9 ± 1.6		
		哺育7日		16.1 ± 1.8		16.5 ± 1.2		15.8 ± 1.6		13.7 ± 2.7		17.0 ± 2.1		15.9 ± 3.8		15.6 ± 1.8		13.5 ± 2.7		
		哺育14日		33.5 ± 2.9		34.0 ± 2.2		33.3 ± 2.6		29.3 ± 5.7		34.7 ± 3.2		34.8 ± 3.3		33.4 ± 3.0		29.6 ± 4.8		
		哺育21日		55.2 ± 4.9		55.6 ± 4.0		54.9 ± 4.2		48.6 ± 9.4		57.3 ± 5.6		57.9 ± 5.3		54.8 ± 4.6		49.5 ± 7.1		

/ および / : 統計学的に有意な高値/低値 (それぞれ p 0.05 および p 0.01), - : 検査せず。

表2. 試験結果の概要 (続き - 6)

世代		親動物：F0				仔動物：F1				親動物：F1				仔動物：F2						
投与量 (mg/kg/day)		0		40		80		160		0		40		80		160				
仔動物	肛門生殖突起間距離(mm)	雄	検査動物数		106		142		128		99		94		65		82		54	
			哺育4日		4.52 ± 0.36		4.65 ± 0.37		4.59 ± 0.34		4.58 ± 0.56		4.51 ± 0.32		4.57 ± 0.44		4.56 ± 0.34		4.49 ± 0.52	
		雌	検査動物数		99		138		130		84		96		71		86		67	
			哺育4日		2.31 ± 0.19		2.33 ± 0.19		2.23 ± 0.13		2.27 ± 0.29		2.33 ± 0.32		2.29 ± 0.40		2.27 ± 0.20		2.18 ± 0.31	
	肛門生殖突起間距離(mm ³ BW)	雄	検査動物数		106		142		128		99		94		65		82		54	
			哺育4日		2.04 ± 0.13		2.12 ± 0.16		2.14 ± 0.16		2.25 ± 0.22		2.02 ± 0.11		2.07 ± 0.16		2.12 ± 0.17		2.29 ± 0.39	
		雌	検査動物数		99		138		130		84		96		71		86		67	
			哺育4日		1.07 ± 0.07		1.08 ± 0.08		1.06 ± 0.07		1.12 ± 0.13		1.07 ± 0.17		1.06 ± 0.17		1.08 ± 0.10		1.11 ± 0.16	
	発育分化	雄	耳介開展	哺育4日	106/106		142/142		128/128		99/99		94/94		65/65		82/82		54/54	
			切歯萌出	哺育13日	69/70		84/89		73/76		58/62		67/68		40/44		45/49		32/38	
			眼瞼開裂	哺育15日	68/70		89/89		76/76		62/62		68/68		44/44		48/48		38/38	
		雌	耳介開展	哺育4日	100/100		138/138		130/130		84/84		96/96		71/71		86/86		67/67	
			切歯萌出	哺育13日	68/68		83/87		76/81		49/52		60/61		45/47		48/55		38/45	
			眼瞼開裂	哺育15日	67/68		87/87		81/81		52/52		61/61		47/47		55/55		45/45	
	反射反応	雄	全身痛覚反応	哺育5日	70/70		89/89		76/76		62/62		68/68		45/45		51/51		38/38	
			背地走性	哺育9日	69/70		89/89		76/76		62/62		68/68		44/44		49/51		34/38	
			空中正向反射	哺育16日	70/70		89/89		76/76		62/62		68/68		44/44		48/48		38/38	
			耳介反射(1,000Hz)	哺育16日	70/70		89/89		76/76		62/62		68/68		44/44		48/48		38/38	
		雌	全身痛覚反応	哺育5日	69/69		87/87		81/81		54/54		62/62		48/48		57/57		46/46	
			背地走性	哺育9日	67/69		87/87		81/81		52/53		62/62		46/48		56/57		42/46	
			空中正向反射	哺育16日	68/68		87/87		81/81		50/52		61/61		47/47		55/55		45/45	
			耳介反射(1,000Hz)	哺育16日	68/68		87/87		81/81		52/52		61/61		47/47		55/55		45/45	
	臓器重量 (生後21日) [Mean ± S.D.]	雄	絶対重量	検査動物数	18		22		20		14		17		12		14		10	
				脳(mg)	1504.5 ± 62.7		1518.4 ± 52.6		1459.6 ± 50.6		1419.1 ± 51.8		1509.9 ± 44.6		1507.4 ± 49.7		1453.3 ± 69.8		1413.3 ± 48.8	
脾臓(mg)				270.8 ± 68.8		283.9 ± 57.1		258.9 ± 47.3		242.8 ± 53.8		304.8 ± 57.0		310.7 ± 82.0		269.0 ± 50.4		250.7 ± 52.6		
胸腺(mg)				246.3 ± 43.2		246.1 ± 38.0		241.6 ± 43.4		228.2 ± 26.7		257.2 ± 37.3		261.6 ± 48.4		256.2 ± 37.9		239.6 ± 29.0		
雌		相対重量 (wt/100g)	検査動物数	18		22		20		14		17		12		14		10		
			脳(mg)	2619.7 ± 299.5		2651.6 ± 203.5		2628.8 ± 240.0		2693.6 ± 161.0		2514.9 ± 148.8		2575.0 ± 241.8		2595.5 ± 204.8		2707.3 ± 218.3		
			脾臓(mg)	460.9 ± 81.4		490.6 ± 72.7		461.9 ± 68.1		456.6 ± 80.5		503.2 ± 68.2		523.3 ± 123.3		476.3 ± 70.7		474.9 ± 75.1		
			胸腺(mg)	424.0 ± 59.9		426.4 ± 46.5		432.3 ± 68.0		432.4 ± 47.3		426.2 ± 48.1		441.0 ± 55.8		454.5 ± 47.7		456.4 ± 40.5		
臓器重量 [Mean ± S.D.]	雄	絶対重量	検査動物数	17		22		20		13		17		12		14		11		
			脳(mg)	1444.8 ± 77.9		1463.0 ± 49.3		1429.1 ± 40.7		1327.3 ± 89.7		1443.8 ± 64.2		1465.6 ± 93.6		1411.6 ± 44.1		1354.7 ± 47.0		
			脾臓(mg)	273.4 ± 60.7		271.4 ± 39.0		282.8 ± 31.9		223.1 ± 68.8		306.8 ± 64.6		307.8 ± 69.1		277.0 ± 75.6		245.2 ± 68.3		
			胸腺(mg)	247.0 ± 46.3		254.0 ± 35.6		262.5 ± 42.5		216.0 ± 61.1		253.9 ± 42.4		281.1 ± 51.0		265.0 ± 44.2		226.1 ± 35.6		
	雌	相対重量 (wt/100g)	検査動物数	17		22		20		13		17		12		14		11		
			脳(mg)	2599.0 ± 230.4		2658.9 ± 167.7		2600.5 ± 187.7		2978.6 ± 1189.0		2562.6 ± 229.6		2519.2 ± 127.7		2603.3 ± 274.0		2714.4 ± 319.7		
			脾臓(mg)	485.0 ± 76.9		491.2 ± 60.4		514.0 ± 62.4		449.4 ± 79.0		535.8 ± 73.5		525.7 ± 99.5		498.5 ± 96.1		478.9 ± 85.1		
			胸腺(mg)	440.0 ± 63.1		459.1 ± 46.6		474.5 ± 59.7		443.8 ± 64.6		446.5 ± 52.0		481.0 ± 72.7		483.0 ± 51.1		447.7 ± 54.2		
剖検所見 (生後21日)	雄	全臓器	異常なし	46/46		65/65		52/52		38/38		68/68		44/44		48/48		38/38		
	雌	全臓器	異常なし	44/44		63/63		57/57		28/28		61/61		47/47		55/55		45/45		

/ および / : 統計学的に有意な高値/低値 (それぞれ p 0.05 および p 0.01) : 高値傾向。