

6. 2世代繁殖毒性試験報告書

- フタル酸ブチルベンジル -

フタル酸ブチルベンジルのラットを用いた繁殖試験

1. 要約

フタル酸ブチルベンジル(BBP)は、プラスチック可塑剤(床壁タイル用、塗料用、ペースト用、人工皮革、室内装飾品用)として用いられている¹⁾。BBPは、程度は弱いもののエストロゲン受容体への結合性が認められており^{2), 3)}、酵母増殖試験⁴⁾、レポーター遺伝子アッセイ^{3), 4)}及びヒト乳ガン細胞を用いる細胞増殖試験^{5), 6)}でエストロゲン作用があると報告されているが、子宮増殖アッセイでは子宮重量に変化はみられていない^{7), 8)}。また、ハーシュバーガーアッセイにおいて球海綿体筋+肛門挙筋重量の減少がみられ、抗アンドロゲン作用も疑われているが⁷⁾、内分泌かく乱作用を有するか否かは未だ不明である。

BBPの0, 100, 200及び400 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。

親動物の一般状態では、対照群でもみられた流涎がF0動物の200 mg/kg以上の群及びF1動物の100 mg/kg以上の群で増加した。体重及び摂餌量では、投与期間を通して、各用量群のF0及びF1世代の雌雄親動物においても、BBP投与に関連する変化は認められなかった。摂餌効率では、400 mg/kg群においてF0親動物の雌及びF1親動物の雌雄で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、出産率、妊娠期間、着床数、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の出現率にはいずれの用量群においてもBBP投与に関連する変化は認められなかった。しかし、F1親動物では400 mg/kg群において受胎率の低下と雄の包皮分離の遅延がみられた。今回F1親動物ではF0親動物に比べて対照群を含め妊娠動物数の減少がみられ、ガイドラインの要求を必ずしも十分に満たすことはできなかった。しかし、対照群を含むBBP各投与群の妊娠組雌雄と非交尾、非妊娠組雌雄の性周期、剖検所見、組織所見などについて詳細に検討することにより、200 mg/kg群以下では不明確であったが、400 mg/kg群においてBBPの雄生殖器や副生殖器に対する影響に起因した生殖毒性を検出することができたものと考えられる。臓器重量では、F0親動物の200 mg/kg以上の群において雄で腎臓の絶対重量に有意な高値、雌で肝臓の絶対及び相対重量に有意な高値、腎臓の絶対重量に有意な高値、400 mg/kg群において雄で肝臓及び腎臓の相対重量に有意な高値、精巣上体の絶対重量に有意な低値、雌で腎臓の相対重量に有意な高値がみられた。F1親動物では、200 mg/kg以上の群において雄で精巣上体の絶対重量に有意な低値、肝臓の相対重量に有意な高値、400 mg/kg群において雄で精囊の絶対重量に有意な低値、雌で肝臓の相対重量に有意な高値がみられた。血清中ホルモンレベルでは、BBP投与に関連す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親動物において、剖検では雌雄ともに異常はみられなかったが、病理組織学的検査では雄の400 mg/kg群で精巣のライディヒ細胞過形成、精巣上体の管腔内精細胞残渣がみられた。F1親動物において、剖検では、雄の100 mg/kg以上の群で精巣の軟化、400 mg/kg群で精巣の矮小、精巣上体の無形成、形成不全及び矮小がみられた。病理組織学的検査では、雄の100 mg/kg以上の群で精巣の精細管のびまん性萎縮、精巣上体の管腔内精子減少及び管腔内精細胞残渣、400 mg/kg群

で精巣のライディッヒ細胞過形成，精巣上体の両側性の部分的無形成，片側性の無形成及び片側性の部分的無形成がみられた。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仔動物ともにBBP投与によると考えられる変化は認められなかった。仔動物の体重では，F1仔動物で100 mg/kg以上の群の雄で一過性の有意な低値がみられたが，F2仔動物では雌雄とも異常はみられなかった。F1及びF2仔動物の出産仔数，性比，生存率，発育分化検査成績及び反射反応性検査成績では，BBP投与に関連する変化は認められなかった。肛門生殖突起間距離では，F1仔動物の雌の100 mg/kg以上の群で有意な高値を示し，F2仔動物の雄の100 mg/kg以上の群で有意な低値がみられた。臓器重量において，F1及びF2仔動物の雄の400 mg/kg群で脾臓重量の絶対及び相対重量に有意な低値がみられた。

以上の如く，今回の実験において雄で包皮分離の遅延や精巣の精細管のびまん性萎縮，精巣のライディッヒ細胞過形成，雌雄で肛門生殖突起間距離の変動がみられた。包皮分離の遅延は抗アンドロゲン作用特有の現象ではないが，抗アンドロゲン作用により誘発されること⁹⁾，精巣の精細管のびまん性萎縮が低テストステロンにより誘発されること¹⁰⁾，精巣のライディッヒ細胞過形成は抗アンドロゲン作用を有する物質やエストロゲン作用を有する物質による特有の現象ではないが，抗アンドロゲン作用を有する物質やエストロゲン作用を有する物質により出現すること^{11),12)}，肛門生殖突起間距離の変動はげっ歯目での成長過程におけるホルモン作用のパラメーターであり¹³⁾，抗アンドロゲン作用を示すフルタマイド¹⁴⁾やエストロゲン作用を示すジエチルスチルベスチロール¹⁵⁾投与により変動することから，本実験では変動はみられなかったが，BBP投与でテストステロンやFSHが変動するとの報告¹⁶⁾や上述のエストロゲン作用や抗アンドロゲン作用を疑う報告を考慮すると，BBPの内分泌かく乱作用を否定できないように考えられた。また，F0及びF1親動物に対する影響に関して，BBPの100 mg/kgは流涎，精巣の精細管のびまん性萎縮，精巣上体の管腔内精子減少及び管腔内精細胞残渣のみられる用量であると考えられた。繁殖能力に関しては，400 mg/kgは受胎率の低下と雄の包皮分離に遅延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，100 mg/kgは雄動物の体重の低値及び肛門生殖突起間距離の低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BBPを2世代にわたってラットに投与した場合，親動物に対する影響に関しては，BBPの100 mg/kgで流涎，精巣の精細管のびまん性萎縮，精巣上体の管腔内精子減少及び管腔内精細胞残渣のみられたことから無影響量(NOEL)及び無毒性量(NOEL)は100 mg/kg/day未満である。親動物の繁殖能力については，400 mg/kgで受胎率の低下と雄の包皮分離に遅延がみられたが，200 mg/kg/day以下では著しい繁殖

フタル酸ブチルベンジル

成績に対する影響はない。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、100 mg/kgで雄動物の体重の低値及び肛門生殖突起間距離の低値がみられたことから100 mg/kg/day未満であると結論される。

2. 検体名及び純度：フタル酸ブチルベンジル (BBP)，純度 98.0%
(和光純薬工業株式会社，Lot No. GI01)
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、フタル酸ブチルベンジルをラットに 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 1 月 16 日～2001 年 9 月 22 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(朝雌雄ともにおのこのケージに戻し，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，0，100，200 及び 400 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 週齢まで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，BBP 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，BBP 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，BBP の 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子の離乳まで，雄では交配終了後の剖検前日まで投与し，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 では母動物の体重増加抑制がみられ，全ての母動物の仔動物が死産あるいは死亡した。また 500 mg/kg では仔動物に死産や死亡がみられたが，250 mg/kg 以下では卵

巢重量が若干低下したのみであった。以上のことから、本試験では出生仔に若干の影響がでることが予想される 400 mg/kg/day を高用量とし、以下公比 2 で 200, 100 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，図 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で確認した。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：雄は包皮分離及び雌は膣開口を生後 43 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、顕微鏡下で各個体 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 LH、FSH 及びテストステロン濃度は EIA 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

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。

出産仔性比 = 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、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、腎臓、精巣、精巣上部、前立腺、精嚢(凝固腺を含む)、卵巣、子宮、腔、脳、脾臓、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
 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 出生仔の外表面異常率，4 日生存率，離乳率及び出生日から離
 乳日まで個別に測定した体重は，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

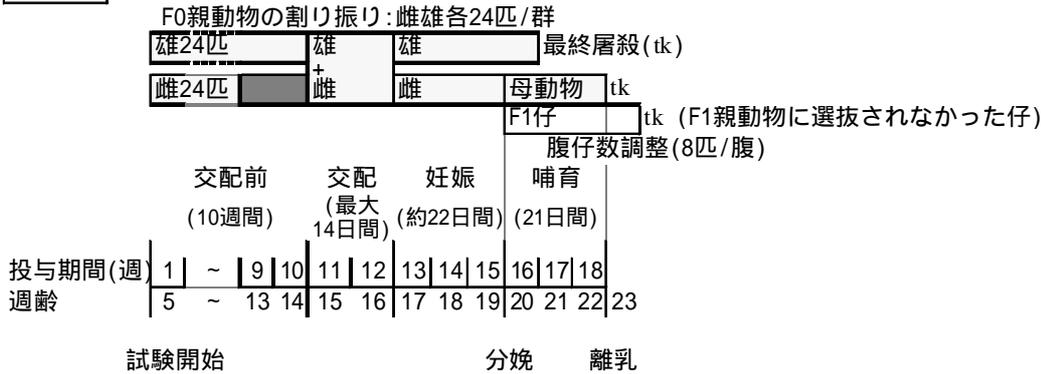
世代	期間 (週間)	作業手順	試験項目
F0	育成 (10)		動物の一般状態を毎日観察。 体重及び摂餌量を週 1 回測定。 摂餌効率を算出。
	交配 (2)	雌雄を 1:1 で同居。膣栓及び膣 垢中の精子の有無により交尾 を確認。交尾確認日を妊娠 0 日 とした。	動物の一般状態を毎日観察。 交配前 2 週間雌の膣垢を採取し て，性周期を観察。
	妊娠 (3)		動物の一般状態を毎日観察。 体重(妊娠 0，7，14 及び 20 日) 及び摂餌量(妊娠 0-7，7-14 及び 14-20 日)を測定。 摂餌効率を算出。
	出産	出産確認日を哺育 0 日とした。	出産仔，生存仔及び死産仔の性 と数，生存仔の外表面検査を記録。

世代	期間 (週間)	作業手順	試験項目
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。
F0/F1	離乳	交尾した雄は交配期間終了以降に安楽死。 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。 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生後 25-27 日に安楽死。	親動物の剖検及び肝臓,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,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,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。 雌雄各群 6 匹を用いて血清中ホルモンレベル(テストステロン,FSH,LH,エストラジオール)を測定。 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。 雌の性周期検査。 離乳仔の剖検及び脳,胸腺,脾臓の重量測定。

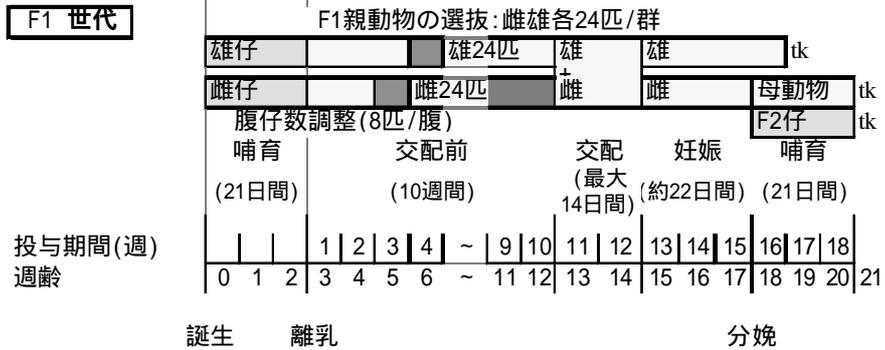
世代	期間 (週間)	作業手順	試験項目
F1	育成 (10)		動物の一般状態を毎日観察。 体重及び摂餌量を週 1 回測定。 雄は包皮分離を生後 43 日に観察, 雌は膣開口を生後 36 日に観察。 摂餌効率を算出。
	交配 (2)	雌雄を 1:1 で同居させた。膣栓及び膣垢中の精子の有無により交尾を確認。交尾確認日を妊娠 0 日とした。	動物の一般状態を毎日観察。 交配前 2 週間雌の膣垢を採取して, 性周期を観察。
	妊娠 (3)		動物の一般状態を毎日観察。 体重(妊娠 0, 7, 14 及び 20 日)及び摂餌量(妊娠 0-7, 7-14 及び 14-20 日)を測定。 摂餌効率を算出。
	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。
	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。 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
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，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。</p> <p>親動物の肝臓，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，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(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>

F0 世代



F1 世代



- : 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

投与直後の一過性の流涎が0，100，200及び400 mg/kg群で14，19，20及び24匹みられ，400 mg/kg群で出現頻度が有意に増加した。

BBP投与に関連のない動物の死亡(投与過誤)が，交配前育成期間に200 mg/kg群で1例みられた。

2) 雌

交配前育成期間では，流涎が0，100，200及び400 mg/kg群で4，3，18及び24例みられ，200 mg/kg以上の群では出現頻度が有意に増加した。

妊娠期間では，流涎が0，200及び400 mg/kg群で1，11及び22例みられ，200 mg/kg以上の群では出現頻度が有意に増加した。

哺育期間では，流涎が200及び400 mg/kg群で2及び19例みられ，400 mg/kg群では出現頻度が有意に増加した。

なお，これらの流涎は雄と同様に投与直後の一過性のものであった。

(2) F1親動物

1) 雄

投与直後の一過性の流涎が0，100，200及び400 mg/kg群で5，15，22及び24例みられ，100 mg/kg以上の群では出現頻度が有意に増加した。

BBP投与に関連のない動物の死亡(投与過誤あるいは事故)が，0 mg/kg群で2例，100 mg/kg群で1例みられた。

2) 雌

交配前育成期間では，流涎が0，100，200及び400 mg/kg群で1，2，7及び24例みられ，200 mg/kg以上の群では出現頻度が有意に増加した。

妊娠期間では，流涎が200及び400 mg/kg群で4及び17例みられ，出現頻度が有意に増加した。

哺育期間では，流涎が200及び400 mg/kg群で2及び11例みられ，400 mg/kg群では出現頻度が有意に増加した。200 mg/kg群の1例で自発運動低下，呼吸数減少，紅涙，鼻・口周囲の汚れ，下腹部の汚れ，鼻出血，死亡がみられた。

なお，これらの流涎は雄と同様に投与直後の一過性のものであった。

結論：すべてのBBP投与群で流涎がみられた。これは，他に明らかな自律神経系に対する影響がみられなかったこと，出現頻度が延べ発現頻度を含め用量依存的に増加していることからBBPの有する刺激性^{17)・18)}に起因した結果と考えられる(添付資料1表1)。しかし，投与直後の一過性変化のものであり，他に関連した変化がないことか

ら毒性学的には意義の低いものと考えられる。なお，今回F0及びF1兩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^{19),20)}(添付資料1表2)。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

100，200及び400 mg/kg群で0 mg/kg群とほぼ同じ体重推移を示した。

2) 雌

200 mg/kg群において，育成期間の投与5から10週，妊娠0日及び哺育0日に有意な高値を示したが，用量依存性がなく，F1親動物ではみられないことから，偶発的变化と考えられる。

(2) F1親動物

1) 雄

100，200及び400 mg/kg群で0 mg/kg群とほぼ同じ体重推移を示した。

2) 雌

400 mg/kg群において哺育期間の体重増加量に有意な高値を示した。

結論：BBPは400 mg/kgまでの用量において，F0及びF1雌雄親動物の体重に影響を及ぼさなかったと考えられる。

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

200 mg/kg群で投与10週，400 mg/kg群で投与2及び3週に摂餌量の有意な高値がみられたが，一過性で，F1親動物ではみられず，毒性学的意義はないと考えられる。

2) 雌

400 mg/kg群で妊娠0～7日に摂餌効率の有意な低下がみられた。なお，200 mg/kg群で育成期間の投与6～10週に摂餌量の有意な高値と育成期間の投与0-2週及び投与0-4～0-10週でみられた摂餌効率の有意な増加は，用量依存性がなく，F1親動物ではみられないことから，偶発的な変化と考えられる。

(2) F1親動物

1) 雄

400 mg/kg群で投与0-5～0-10週に摂餌効率の有意な低下がみられた。

2) 雌

400 mg/kg群で育成期間の投与0-7～0-10週に摂餌効率の有意な低下，哺育0-4～0-21

日に摂餌効率の有意な増加がみられた。なお，100 mg/kg群で育成期間の投与10週に摂餌量の有意な高値，200 mg/kg群で妊娠0-20日に摂餌効率の有意な低下，400 mg/kg群で育成期間の投与10週に摂餌量の有意な高値がみられた。これらの変化は，一過性であるかあるいは用量依存性がないことから毒性学的意義はないと考えられる。しかし，低下については，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。

結論：F1親動物において400 mg/kg群で雌雄ともに投与0-7～0-10週に摂餌効率の低下がみられた。BBPは200 mg/kgまでの用量では，F0及びF1雌雄親動物の摂餌効率に影響を及ぼさないと考えられる。また，400 mg/kgまでの用量では，F0及びF1雌雄親動物の摂餌量に影響を及ぼさないと考えられる。

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，交尾率，交尾所要日数，妊娠期間，着床数，出産率，分娩率(出生率)，出産仔数，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率

BBP投与により精子数が減少する²¹⁾との報告があるが，今回の実験では異常は認められなかった。受胎率については，F0親動物では異常は認められなかったが，F1親動物では対照群を含め低い成績であった。この結果についてその原因を解明する目的で性周期，剖検所見及び組織所見について詳細に検討した。つまり，F1親動物において，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。これらの雌では剖検所見に異常はみられず，組織所見として膣の軽度又は中等度粘液分泌亢進が3例，下垂体の軽度ラトケ囊遺残が1例みられた。他4例では性周期，下垂体を含め生殖器及び副生殖器の剖検所見及び組織所見において異常はみられなかった。雄では剖検所見で精巣の片側性腫大が1例みられたが，他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。組織所見では下垂体の軽度ラトケ囊遺残が1例，前立腺の軽度円形細胞浸潤が1例，精巣の片側性軽度精細管びまん性萎縮が1例，両側性軽度精子細胞基底膜停滞が1例，両側性軽度成熟精子細胞離出障害が2例みられたが，他3例では下垂体を含め生殖器及び副生殖器の剖検所見及び組織所見において異常はみられなかった。一方，妊娠雌では膣の結節が1例みられたが，他では下垂体を含め生殖器及び副生殖器の剖検所見に異常はみられず，組織所見として下垂体の軽度ラトケ囊遺残が1例，膣の軽度扁平表皮嚢胞が1例みられた。また，雌を妊娠せしめた雄では精囊の片側性矮小が1例みられたが，他では下垂体を含め生殖器及び副生殖器の剖検所見に異常はなく，組織所見で下垂体の軽度ラトケ囊遺残が1例，前立腺の中等度円形細胞浸潤が1例，精囊の片側性中等度分泌減少が1例みられた。なお，交配前に雄が1例死亡

したが、下垂体を含め生殖器及び副生殖器に特に異常はみられなかった(この例では剖検のみ実施した)。100 mg/kgでは非交尾の組が2組、非妊娠の組が1組みられた。これらの雌では交配直前まで異常な性周期を示した1例を含め全例で下垂体を含め生殖器及び副生殖器の剖検所見に異常はみられず、組織所見として下垂体の軽度ラトケ嚢遺残が1例、腔粘膜の軽度萎縮が1例みられた。雄では3例全例で下垂体を含め生殖器及び副生殖器の剖検所見に異常はみられず、組織所見で下垂体の軽度ラトケ嚢遺残が1例みられた。一方、妊娠雌では交配開始直前まで異常な性周期を3例が示したが、これらを含め剖検所見に異常はみられず、組織所見として卵巣の軽度卵胞嚢胞増加が2例みられた。また、雌を妊娠せしめた雄では、剖検所見で精巣の片側性軟化が1例みられ、この例では組織所見で精巣の片側性重度精細管びまん性萎縮、軽度肉芽組織及び軽度ライディッヒ細胞過形成、片側性精巣上体の重度管腔内精子減少及び軽度管腔内精細胞残渣がみられた。しかし、他の例では下垂体を含め生殖器及び副生殖器の剖検所見及び組織所見に異常はみられなかった。200 mg/kgでは非交尾の組が4組、非妊娠の組が3組みられた。これらの雌では7例全例で下垂体を含め生殖器及び副生殖器の剖検所見に異常はみられず、組織所見では5例に異常はみられず、腔の軽度又は中等度粘液分泌亢進が2例みられた。雄では下垂体を含め生殖器及び副生殖器の剖検所見に異常はみられず、組織所見として精巣の両側性軽度精子細胞の基底側停滞が1例みられた。一方、妊娠雌では、剖検所見で子宮の内容液過剰貯留が1例、組織所見で卵巣の軽度卵胞嚢胞増加が1例みられたが、他の例では下垂体を含め生殖器及び副生殖器の剖検所見及び組織所見に異常はみられなかった。また、雌を妊娠せしめた雄では、剖検所見として精巣の片側性軟化及び片側性腫大が1例みられ、この例では組織所見として精巣の両側性中等度精細管びまん性萎縮、精巣上体の片側性重度管腔内精子減少及び片側性軽度管腔内精細胞残渣がみられた。また、他の1例で精巣の片側性軟化がみられ、この例では組織所見で精巣の片側性中等度精細管びまん性萎縮、精巣上体の片側性中等度管腔内精子減少及び片側性軽度管腔内精細胞残渣(この例では、剖検所見で異常のみみられなかった側の精巣及び精巣上体を使用して精子検査を実施しているが、いずれの項目についても検査結果に異常はみられていない)がみられた。他の例では下垂体を含め生殖器及び副生殖器の剖検所見に異常はみられなかったが、組織所見で精巣の片側性中等度精細管びまん性萎縮及び精巣上体の片側性軽度管腔内精細胞残渣が1例みられた。400 mg/kgでは非交尾の組が4組、非妊娠の組が7組みられた。これらの雌では11例全例で下垂体を含め生殖器及び副生殖器の剖検所見に異常はみられなかった。組織所見では卵巣の軽度卵胞嚢胞増加が1例、腔粘膜上皮の軽度萎縮が1例みられたが、他の9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。雄では剖検所見として、7例で下垂体を含め生殖器及び副生殖器の異常はみられなかったが、他の4例において精巣の両側性矮小が2例、片側性矮小が1例、精巣の両側性軟化が3例、片側性軟化が1例、精巣上体の両側性低形成が1例、部分的無形成を含む両側性低形成が1例、片側性無形成及び片側性低形成が1例、片側性低形成が1例、精囊の部分的無形成を含む低形成が1例みられた。組織所見では精巣

の両側性重度精細管びまん性萎縮が3例，両側性軽度ライディッヒ細胞過形成が3例，片側性中等度精細管びまん性萎縮が1例，片側性軽度精細管びまん性萎縮が1例，精巣上体の両側性部分的無形成が1例，片側性部分的無形成及び片側性無形成が2例及び片側性部分的無形成が1例，精嚢の片側性無形成が1例，下垂体の軽度ラトケ嚢遺残が1例，前立腺の軽度円形細胞浸潤が1例みられた。他の4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。一方，妊娠雌では下垂体を含め生殖器及び副生殖器の剖検所見に異常はなく，組織所見として下垂体の極軽度または軽度ラトケ嚢遺残が3例みられた。また，雌を妊娠せしめた雄の剖検所見では，精巣及び精巣上体の片側性矮小が3例みられたほか，精巣の片側性腫大が1例みられた。これらは組織所見として，前者では精巣の片側性重度精細管びまん性萎縮及び片側性軽度ライディッヒ細胞過形成が2例(この2例については，剖検所見で異常のみみられなかった他側の精巣及び精巣上体を使用して精子検査を実施しているが，いずれの項目についても検査結果に異常はみられていない)，精巣上体の片側性重度管腔内精子減少が2例，精巣の片側性中等度精細管びまん性萎縮及び精巣上体の片側性重度管腔内精子減少が1例，精巣上体の片側性軽度管腔内精細胞残渣が1例みられ，後者では精巣の片側性軽度精細管のびまん性萎縮がみられた。他の例では前立腺の軽度円形細胞浸潤が1例，下垂体の軽度前葉嚢胞形成が2例，同じく軽度ラトケ嚢遺残が1例みられた。

なお，全てのBBP投与群の全ての雌を妊娠せしめた雄ならびに全ての非交尾組の雄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，BBP投与群の非交尾組の雌及び非妊娠組の雌でみられた変化はいずれも程度が軽く，用量依存性がみられず，同投与群の妊娠雌でも同様にみられるものであり，投与と関連性は認められなかった。雄については，400 mg/kg 群で精巣の矮小，軟化，精細管びまん性萎縮や精巣上体無形成等がみられた。これらのうち，非妊娠組の雄の3例でみられた変化は，雌を妊娠せしめた雄や他の非妊娠組の雄でみられた精巣及び精巣上体での変化が代償可能な片側性の障害であるのに対し，いずれも両側性の重度な障害であることから十分に非妊娠の原因になると考えられる。また，同群の雄では剖検において精巣の矮小，病理組織学的検査において精巣の精細管のびまん性萎縮，ライディッヒ細胞過形成の出現頻度が有意に増加したことから，BBP投与による受胎率低下の報告²²⁾もあることから，BBP投与により惹起された雄の精巣及び精巣上体への障害により受胎率が低下した可能性が高いように思われた。一方，200 mg/kgの非妊娠組の雄でみられた精巣の精子細胞の基底側停滞は程度が軽く，代償可能な片側性的変化であり，BBP投与による受胎率への影響の可能性は低いように思われた。また，BBP投与群でみられた下垂体のラトケ嚢遺残等他の変化は程度が軽く，用量依存性もなく，対照群でも同様の頻度でみられるものであった。

なお，膣開口(F1動物)については有意差はみられなかったが，対照群での出現頻度が24/24とすべての例で発現していた。今回膣開口は生後36日の1回しか観察しておらず，36日が膣開口完了後の観察日であった可能性も否定できない。そのため，今回

の結果からはBBP投与による膣開口についての影響の有無について十分には評価できないと思われた。

(1) 包皮分離 (要約表2. , Table 14)

F1親動物の400 mg/kg群において有意な低値がみられた。

BBP投与により包皮分離が遅延するとの報告があり²³⁾ , 今回の実験においても再現することができた。

結論 : 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 , 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産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 , F1 親動物の各群での低い繁殖成績となった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かった。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 , 剖検所見や病理組織学的所見での結果から 400 mg/kg では繁殖成績に影響があったものと推察された。

今回の場合 , 200 mg/kg以下において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 , 同量以下でBBP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での変化以外 , 精子検査 , ホルモン値等に影響はみられておらず , 200 mg/kg以下でのBBPの繁殖への影響を否定することはできないが , 同量以下において繁殖能について影響があるとの肯定的な証拠も何ら認められなかった。このことから , 今回BBPの200 mg/kg以下での繁殖能についての結論はだせなかったが , 200

mg/kg以下では重篤な生殖毒性を惹起するとは考え難い。

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

(1) F0親動物

200 mg/kg以上の群において雄で腎臓の絶対重量に有意な高値，雌で肝臓の絶対及び相対重量に有意な高値，腎臓の絶対重量に有意な高値，400 mg/kg群において雄で肝臓及び腎臓の相対重量に有意な高値，精巣上体の絶対重量に有意な低値，雌で腎臓の相対重量に有意な高値がみられた。なお，200 mg/kg群の雌で子宮の相対重量の低値がみられたが，用量依存性がなく，F1親動物ではみられないことから，BBP投与による変化とは考えられない。

(2) F1親動物

200 mg/kg以上の群において雄で精巣上体の絶対重量に有意な低値，肝臓の相対重量に有意な高値，400 mg/kg群において雄で精囊の絶対重量に有意な低値，甲状腺の相対重量に有意な高値，雌で肝臓の相対重量に有意な高値がみられた。

BBP投与による肝臓及び腎臓の重量増加ならびに精巣上体及び精囊の重量減少は報告があり^{16),23)}，今回の実験においても再現することができた。BBP投与による報告のある精巣の重量減少は^{22),24)}今回みられなかったが，以前の報告で減少がみられたのはいずれも750 mg/kg以上であり，投与量による違いが考えられた。なお，400 mg/kg群において雄でみられた甲状腺の相対重量の有意な高値については，絶対重量では変化がみられず，F0親動物においても異常は認められないことから偶発的变化と考えられる。なお，200 mg/kg以上の群でみられた肝臓と腎臓の重量増加については，11.1.7の剖検及び病理組織学的検査の項でみられた精巣での変化とともに他のフタル酸エステル類でもみられる²⁵⁻²⁸⁾もので本物質に特有の変化とは考えられなかった。これらの毒性影響についてはフタル酸エステル類によるPPAR(Peroxisome proliferator-activated receptor)の関与する脂質代謝反応等のかく乱作用が示唆されており²⁹⁻³¹⁾，本物質でみられたこれら器官への影響が同様の機序による可能性が考えられた。

結論：BBP投与の影響として200 mg/kg以上の用量でF0雌雄親動物の腎臓，雌親動物の肝臓重量に有意な高値，400 mg/kgで雄の肝臓重量に有意な高値，精巣上体重量に有意な低値がみられた。F1親動物では200 mg/kg以上の用量で雄の肝臓重量に高値，精巣上体重量に低値，400 mg/kgで雄の精囊重量に低値，雌の肝臓重量に高値がみられた。

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

テストステロン，FSH，LH及びエストラジオール濃度には，対照群の間で有意な差はみられなかった。

(2) F1親動物

テストステロン，FSH，LH及びエストラジオール濃度には，400 mg/kg群と対照群の間で有意な差はみられなかった。

BBP投与により血清中のテストステロン濃度が増加し，FSH濃度が低下するとの報告があるが¹⁴⁾，今回の実験では認められなかった。以前の報告ではこれらの変動は500 mg/kgでみられており，今回の最高投与量が400 mg/kgであることから，投与量の差に起因した違いかもしれない。

結論：BBPは400 mg/kgの用量では，F0及びF1雌雄親動物のホルモン濃度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

剖検では雌雄ともに異常はみられなかった。病理組織学的検査では雄において400 mg/kg群で精巣のライディッヒ細胞過形成，精巣上体の管腔内精細胞残渣がみられた。これらは自然発生的にもみられ程度も軽いが，F1親動物でもみられており，BBP投与による影響を否定できない。なお，精巣のセルトリ細胞への影響は認められなかった。

(2) F1親動物

剖検では，雄において400 mg/kg群で精巣の矮小が有意に増加した。また，100 mg/kg以上の群で精巣の軟化，400 mg/kg群で精巣上体の無形成，形成不全及び矮小がみられた。病理組織学的検査では，雄において400 mg/kg群で精巣精細管のびまん性萎縮及びライディッヒ細胞過形成が有意に増加した。また，100 mg/kg以上の群で精巣の精細管のびまん性萎縮，精巣上体の管腔内精子減少及び管腔内精細胞残渣，400 mg/kg群で精巣のライディッヒ細胞過形成，精巣上体の両側性の部分的無形成，片側性の無形成及び片側性の部分的無形成がみられた。BBP投与によるこれらの影響は報告されており^{16),32),33)}，今回の実験においても再現することができた。F1親動物での変化はF0親動物で変化がみられた投与量より低い量でみられており，胎内暴露に起因した可能性が考えられた。なお，400 mg/kg群の雄のF1親動物でみられた精巣や精巣上体の形態学的影響はラットにおけるテトラクロロジベンゾダイオキシン(TCDD)類の妊娠中期に投与の際に見られる変化と類似したものであった^{34),35)}。フタル酸エステル類の精巣毒性についてはその作用機序は明確には解明されておらず，これらの原因がTCDD類と同様の作用機序による可能性も考えられた。また，精巣の矮小，軟化やライディッヒ細胞の過形成等は，遺伝的自己免疫疾患を示すラットにおいて同様の形態的異常が観察されている³⁶⁾。400 mg/kg群のF1雄親動物では脾臓で絶対重量の低値傾向がみられており，何らかの免疫的变化を示唆している可能性もあり，これらの形態的異常が免疫系を介する機能異常に起因する可能性を否定できないように思われた。今回精巣のセルトリ細胞への影響は認められなかった。

結論：BBPは100 mg/kg以上の用量において，F1雄動物の精巣及び精巣上体に器質

的影響を及ぼした。

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

雌雄とも100 ,200及び400 mg/kg群にBBP投与によると考えられる異常はみられなかった。

(2) F2仔動物

雌雄とも100 ,200及び400 mg/kg群にBBP投与によると考えられる異常はみられなかった。

結論：BBPは400 mg/kgまでの用量において ,F1及びF2仔動物の一般状態に影響を及ぼさなかったと考えられる。

11.2.2 体重（要約表2. , Tables 16 and 31）

(1) F1仔動物

雄では100 mg/kg以上の群で哺育0日に有意な低値がみられた。雌では異常はみられなかった。

(2) F2仔動物

雄では100 mg/kg群で哺育0日に有意な低値がみられた。雌では100及び400 mg/kg群で哺育0日に有意な低値がみられた。これらは用量依存性もなく一過性の変化で ,BBP投与による影響とは考えられない。

結論：BBP投与により ,100 mg/kg以上の群でF1仔動物の雄で哺育0日の体重に低値がみられた。しかし ,その後の哺育期間では異常は認められなかった。

11.2.3 出産生仔性比 , 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）

F1及びF2仔動物の出産生仔性比 , 生存率及び外表検査には , いずれの用量群においても異常は認められなかった。

(1) F1仔動物

雌では100 mg/kg以上の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。これは , 明確な用量依存性はなく , F2仔動物にもみられず , この系統の正常範囲内ではあるが , BBP投与により雌の肛門生殖突起間距離が高値を示すとの報告¹⁶⁾があることから , BBPによる影響を否定できないと考えられる。

(2) F2仔動物

雄では100 mg/kg以上の群で肛門生殖突起間距離(mm³ 体重)に有意な低値 , 100及び400 mg/kg群で肛門生殖突起間距離(mm)に有意な低値がみられた。

BBP投与により雄の肛門生殖突起間距離が低値を示すとの報告^{16),23)}があり、今回の実験においても再現することができた。

結論：BBP投与により、肛門生殖突起間距離について100 mg/kg 以上のF1雌仔動物で有意な高値、F2雄仔動物で有意な低値がみられた。

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は、異常は認められなかった。

結論：BBPは400 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は、異常は認められなかった。

結論：BBPは400 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又はF2仔動物、F1親に選抜されなかったF1離乳仔、又はF2離乳仔の剖検では、いずれの用量群においてもBBP投与の影響と考えられる変化は認められなかった。

結論：BBPは400 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）

(1) F1仔動物

400 mg/kg群の雄で脾臓の絶対及び相対重量に低値がみられた。

(2) F2仔動物

400 mg/kg群の雄で脾臓の絶対及び相対重量に低値がみられた。

結論：BBP投与により、400 mg/kgの用量でF1及びF2仔動物の脾臓重量に影響が認められた。ただし、F1親動物では器質的変化も重量変化も認められなかったことから、軽微なものと考えられる。

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、BBPの100 mg/kgは流涎、精巣の精細管のびまん性萎縮、精巣上体の管腔内精子減少及び管腔内精細胞残渣のみられる用量であると考えられた。繁殖能力に関しては、400 mg/kgは雄の包皮分離に遅延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、100 mg/kgは雄動物の体重の低値及び雄動物の肛門生殖突起間距離の低値がみられる用量であると考えられた。

したがって、本実験条件下でBBPを2世代にわたってラットに投与した場合、親動物に対する影響に関しては、BBPの100 mg/kgで流涎、精巣の精細管のびまん性萎縮、精巣上体の管腔内精子減少及び管腔内精細胞残渣のみられたことから無影響量(NOEL)及び無毒性量(NOAEL)は100 mg/kg/day 未満である。親動物の繁殖能力については、400 mg/kgで受胎率の低下と雄の包皮分離に遅延がみられたが、200 mg/kg/day以下では著しい繁殖成績に対する影響はない。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、100 mg/kgで雄動物の体重の低値及び肛門生殖突起間距離の低値がみられたことから100 mg/kg/day未満であると結論される。

12. 参考文献

- 1) (社)日本化学工業会協会調査資料 (1997)
- 2) Hashimoto, Y., Moriguchi, Y., Oshima, H., Nishikawa, J., Nishihara, T., and Nalamura, M. (2000) Estrogenic activity of chemicals for dental and similar use *in vitro*. *J. Materials Sci.*, 11, 465-468.
- 3) CREI(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.
- 4) Zacharewski, T.R., Meek, M.D., Clemons, J.H., Fielden, M.R., and Matthews, J.B. (1998) Examination of the *in vitro* and *in vivo* estrogenic activities of eight commercial phthalate esters. *Toxicol. Sci.*, 46, 282-293.
- 5) Komer, W., Hanf, V., Schuller, W., Bartsch, H., Zwirmer, M., and Hagenmaier, H. (1998) Validation and application of a rapid *in vitro* assay for assessing the estrogenic potency of halogenated phenolic chemicals. *Chemosphere*, 37, 2395-2407.
- 6) Jones, P.A., Baker, V.A., Irwin, A.J.E., and Earl, L.K. (1998) Interpretation of the *in vitro* proliferation response of MCF-7 cells to potential oestrogens and non-oestrogenic substances. *Toxicol. in Vitro*, 12, 373-382.
- 7) CREI(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.
- 8) Coldham, N.G., Dave, M., Sivapathasundaram, S., McDonnell, D.P., Connor, C., and Sauer, M.J. (1997) Evaluation of a recombinant yeast cell estrogen screening assay. *Environ. Health. Perspect.*, 105, 734-742.
- 9) Gray, L.E., Kelce, W.R., Wiese, T., Tyl, R., Gaido, K., Cook, J., Klinefelter, G., Desaulniers, D., Wilson, E., Zacharewski, T., Wallter, C., Foster, P., Laskey, J., Reel, J., Giesy, J., Laws, S., McLachlan, J., Breslin, W., Cooper, R., Di Giulio, R., Johnson, R., Purdy, R., Mihaich, E., Safe, S., Sonnenschein, C., Welshons, W., Miller, R., McMaster, S., and Colborn, T. (1997) Endocrine screening methods workshop report: detection of estrogenic and androgenic hormonal and antihormonal activity for chemicals that act via receptor or steroidogenic enzyme mechanisms. *Reprod. Toxicol.*, 11, 719-750.
- 10) Lucier, G.W., Lee, I.P., and Dixon, R.L.(1970) Effect of environmental agents on male reproduction. In: Johnson, A.D., and Gomes, W.R., editors. *The Testis*, Vol. , NY: Academic Press, p 577.
- 11) O'Connor, J.C., Cook, J.C., Slone, T.W., Makovec, G.T, Frame, S.R., and Davis, L.G. (1998) An ongoing validation of a Tier screening battery for detecting endocrine-active compounds (EACs). *Toxicol. Sci.*, Nov; 46(1), 45-60.

- 12) Perez-Martinez, C., Garcia-Iglesias, M.J., Ferreras-Estrada, M.C., Bravo-Moral, A.M., Espinosa-Alvarez, J., and Escudero-Diez, A. (1996) Effects of in-utero exposure to zernol or diethylstilbestrol on morphological development of the fetal testis in mice. *J. Comp. Pathol.*, 114 (4), 407-418.
- 13) Heinrichs, W.L. (1985) Current laboratory approaches for assessing female reproductive toxicity. In Dixon, R.L., editor. *Reproductive Toxicology*. New York: Raven Press, pp 95-108.
- 14) Clemens, L.G., Gladue, B.A., and Caniglio, L.P. (1978) Prenatal endogenous androgenic influences on masculine sexual behavior and genital morphology in male and female rats. *Horm. Behav.*, 129, 46-53.
- 15) Levy, J.R., Faber, K.A., Ayyash, L., and Hughes Jr, C.L. (1995) The effect of prenatal exposure to the phytoestrogen genistein on sexual differentiation in rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 208, 60-66.
- 16) Nagao, T., Ota, 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 reproductive study. *Reprod. Toxicol.*, 14, 513-532.
- 17) Hammond, B.G., Levinskas, G.J., Robinson, E.C., and Johannsen, F.R. (1987) A review of the subchronic toxicity of butyl benzyl phthalate. *Toxicol. Ind. Health*, 3(2), 79-98.
- 18) Mallette, F., von Haam, E. (1952) Studies on the toxicity and skin effects of compounds used in the rubber and plastic industries: Plasticizers. *Arch. Ind. Hyg. Occup. Med.*, 6(3), 231-236.
- 19) 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.
- 20) 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.
- 21) NTP (1997) Toxicology and carcinogenesis studies of butyl benzyl phthalate (CAS no. 85-68-7). In F344/N rats (feed studies). Rep nr. NTP TR 458, NIH publication No. 97-3374: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institute of Health.
- 22) Piersma, A.H., Verhoef, A., and Dortant, P.M. (1995) Evaluation of the OECD 421 reproductive toxicity screening test protocol using butyl benzyl phthalate. *Toxicology*, 99, 191-197.
- 23) Ashby, J., Tinwell, H., Lefevre, P.A., Odum, J., Paton, D., Millward, S.W., Tittensor, S., and Brooks, A.N. (1997) Normal sexual development of rats exposed to butyl benzyl phthalate from conception to weaning. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, 56, 102-118.
- 24) Gray, L.E., Ostby, J., Furr, J., Price, M., Rao Veeramachaneni, D.N., and Parks, L.

- (2000) Perinatal exposure to the phthalate DEHP, BBP, and DINP, but not DEP, DMP, or DOTP, alter sexual differentiation of the male rat. *Toxicol. Sci.*, 58, 350-365.
- 25) Oihsi, S., and Hiraga, K.(1980) Testicular atrophy induced by phthalic acid esters: Effect on testosterone and zinc concentrations. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1980, 53,35-41.
- 26) Lake, B.G., Foster, J.R., Collins, M.A., Stubberfield. C.R., Gangolli, S.D., and Srivastava, S.P. (1982) Studies on the effects of orally administered dicyclohexyl phthalate in the rat. *Act. Pharmacol Et Toxicol.*, 51 (3), 217-226.
- 27) NTP (1993) NTP Technical Report. Toxicology and carcinogenesis studies of diethylphthalate in F344/Nrats and B6C3F₁ mice (dermal studies) with dermal initiation/promotion study of diethylphthalate and dimethylphthalate in male Swiss (CD-1) mice. NTR TR 429. US Department of Health and Human Services.
- 28) Wine , R.N., Li, L.H., Barnes, L.H., Gulai, D.K., and Chapin. R.E. (1997) Reproductive toxicity di-n-butyl phthalate in acontinuous breeding protocol in Sprague-Dawley rats. *Environ. Hialth Persp.*, 105, 102-107.
- 29) Bojes, H.K., and Thurman, R.G. (1996) Potent peroxisome proliferators inhibit beta-oxidation in the isolated perfused rat liver. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 140(2), 322-327.
- 30) Ward J.M., Peters, J.M., Perella C.M. and Gonzalez, F.J. (1998) Receptor and nonreceptor-mediated organ-specific toxicity of di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) in peroxisome proliferator-activated receptor alpha-null mice. *Toxicol Pathol.* 26(2), 240-246.
- 31) Willhite C.C. (2001) Weight-of-evidence versus strength-of-evidence in toxicologic hazard identification.: Di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP). *Toxicology*, Mar7; 160(1-3), 219-226.
- 32) Agrawal, D.K., Marpnpor, R.R., Lamb, J.I.V., and Kluwe, W.M. (1985) Adverse effects of butyl benzyl phthalate on the reproductive and hematopoietic systems of male rats. *Toxicology.* 35, 189-206.
- 33) Piersma, A.H., Verhoef, A., and Dortant, P.M. (1995) Evaluation of the OECD 421 reproductive toxicity screening test protocol using butyl benzyl phthalate. *Toxicology*, 99, 191-197.
- 34) Wilker, C., Johnson, L., and Safe. S. (1996) Effects of developmental exposure to indole-3-carbinol or 2,3,7,8-tetraaachlorodibenzo-p-dioxin or reproductive potential of male rat offspring. *Toxico. Appl. Pharmacol.*, 141(1), 68-75.
- 35) 鈴木勝士. 2,3,7,8-テトラクロロベンゾ-p-ダイオキシンによる雄生殖器の発生歪曲の分子機序に関する研究。 厚生科学研究費補助金(生活安全総合研究事業)分担研究報告書 2000、1-13.
- 36) Musto, N.A., Santen R.J., Huckins C., and Bardin C.W. (1978) The H^{re} Rats: A model for late-onset seminiferous tubule failure in man In *Animal Models for Research on Contraception and Fertility*. Edited by. Alexander, N.J., Harper &Row, Publisher, pp 372-384.

添付資料 1

表1 流涎の延べ発現頻度

	投与量 (mg/kg/day)	F ₀ 世代			投与量 (mg/kg/day)	F ₁ 世代		
		全試験期間				全試験期間		
雄	0	40			0	29		
	100	198			100	79		
	200	550			200	311		
	400	1525			400	1463		
雌	0	育成期間	妊娠期間	哺育期間	0	育成期間	妊娠期間	哺育期間
		10	2	0		1	0	0
	100	4	0	0	100	3	0	0
		211	21	2	200	115	11	2
	400	1096	228	149	400	838	152	58

添付資料 1-続き

表2 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				親動物：F1				仔動物：F1				仔動物：F2				
投与量 (mg/kg/day)			0	100	200	400	0	100	200	400	0	100	200	400	0	100	200	400	
親動物	死亡または屠殺		雄	0/24	0/24	1/24	0/24	2/24	1/24	0/24	0/24	1/24	0/24	0/24	0/24	1/24	0/24	0/24	
			雌	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24	1/24	0/24	0/24	1/24	0/24	0/24	
一般状態	雄	全試験期間	流涎	14/24	19/24	20/24	24/24	5/24	15/24	22/24	24/24	5/24	15/24	22/24	24/24	5/24	15/24	22/24	
		雌	育成期間	流涎	4/24	3/24	18/24	24/24	1/24	2/24	7/24	24/24	1/24	2/24	7/24	24/24	1/24	2/24	
	雌	妊娠期間	流涎	1/24	0/22	11/22	22/23	0/21	0/22	4/20	17/20	0/21	0/22	4/20	17/20	0/21	0/22	4/20	
		哺育期間	流涎	0/20	0/19	2/20	19/21	0/15	0/20	2/16	11/13	0/15	0/20	2/16	11/13	0/15	0/20	2/16	
体重増加量(g)	雄	検査動物数		24	22	22	23	20	21	20	20	21	20	20	20	21	20	20	
		全試験期間		439.7 ± 35.1	447.0 ± 48.1	460.1 ± 58.5	435.1 ± 54.5	561.8 ± 85.2	561.4 ± 67.7	545.6 ± 47.5	527.4 ± 55.7	561.8 ± 85.2	561.4 ± 67.7	545.6 ± 47.5	527.4 ± 55.7	561.8 ± 85.2	561.4 ± 67.7	545.6 ± 47.5	527.4 ± 55.7
	雌	検査動物数		20-24	19-24	19-23	20-24	15-23	19-24	15-24	12-24	15-23	19-24	15-24	12-24	15-23	19-24	15-24	12-24
		育成期間		177.8 ± 29.1	180.8 ± 22.4	205.9 ± 29.6* ¹⁾	181.8 ± 23.7	236.8 ± 38.1	239.1 ± 27.1	236.1 ± 24.7	228.8 ± 27.3	236.8 ± 38.1	239.1 ± 27.1	236.1 ± 24.7	228.8 ± 27.3	236.8 ± 38.1	239.1 ± 27.1	236.1 ± 24.7	228.8 ± 27.3
		妊娠期間		120.1 ± 21.1	105.4 ± 14.0	108.0 ± 33.4* ²⁾	109.7 ± 14.9	128.1 ± 41.0	129.6 ± 26.8	111.1 ± 19.8	117.4 ± 20.2	128.1 ± 41.0	129.6 ± 26.8	111.1 ± 19.8	117.4 ± 20.2	128.1 ± 41.0	129.6 ± 26.8	111.1 ± 19.8	117.4 ± 20.2
哺育期間		-9.3 ± 17.0	-9.6 ± 17.0	-18.2 ± 15.3* ³⁾	-6.6 ± 21.2	-21.6 ± 20.8	-16.2 ± 13.8	-20.6 ± 17.6	-4.2 ± 14.2	-21.6 ± 20.8	-16.2 ± 13.8	-20.6 ± 17.6	-4.2 ± 14.2	-21.6 ± 20.8	-16.2 ± 13.8	-20.6 ± 17.6	-4.2 ± 14.2		
摂餌量(g)	雄	検査動物数		22-24	19-24	21-24	21-24	22-24	23-24	24	24	22-24	23-24	24	24	22-24	23-24	24	
		全試験期間		20.4-24.8	20.9-24.9	21.5-25.8* ⁴⁾	20.6-25.9* ⁵⁾	15.0-28.6	15.4-28.6	15.0-27.7	15.1-29.5	15.0-28.6	15.4-28.6	15.0-27.7	15.1-29.5	15.0-28.6	15.4-28.6	15.0-27.7	15.1-29.5
	雌	検査動物数		20-24	19-24	19-24	20-24	15-24	19-24	15-24	12-24	15-24	19-24	15-24	12-24	15-24	19-24	15-24	12-24
		育成期間		14.5-17.2	15.6-17.5	16.1-18.4* ⁶⁾	15.2-17.4	13.5-19.0	13.8-19.6* ⁷⁾	13.4-19.1	13.5-19.6* ⁷⁾	13.5-19.0	13.8-19.6* ⁷⁾	13.4-19.1	13.5-19.6* ⁷⁾	13.5-19.0	13.8-19.6* ⁷⁾	13.4-19.1	13.5-19.6* ⁷⁾
		妊娠期間		16.6-19.3	16.3-18.8	16.9-19.3	16.3-19.5	18.3-22.4	19.1-24.3	19.5-22.8	18.3-22.4	19.1-24.3	19.5-22.8	18.3-22.4	19.1-24.3	19.5-22.8	18.3-22.4	19.1-24.3	19.5-22.8
哺育期間		19.9-56.3	20.5-54.3	21.6-57.0	22.1-55.0	21.6-56.2	23.3-58.0	21.7-51.4	25.4-57.4	21.6-56.2	23.3-58.0	21.7-51.4	25.4-57.4	21.6-56.2	23.3-58.0	21.7-51.4	25.4-57.4		
摂餌効率(%)	雄	検査動物数		24	24	23-24	24	23-24	24	24	24	23-24	24	24	24	23-24	24	24	
		全試験期間		45.2-24.1	43.8-24.3	44.6-24.1	45.3-23.4	54.1-28.2	52.8-28.0	52.3-27.9	52.7-26.2* ⁸⁾	45.3-23.4	54.1-28.2	52.8-28.0	52.3-27.9	52.7-26.2* ⁸⁾	45.3-23.4	54.1-28.2	52.8-28.0
	雌	検査動物数		20-24	19-24	19-24	20-24	15-24	19-24	15-24	12-24	15-24	19-24	15-24	12-24	15-24	19-24	15-24	12-24
		育成期間		34.9-15.7	34.3-15.4	36.7-17.1* ⁹⁾	33.6-15.6	47.5-19.7	46.9-19.2	47.7-19.4	47.0-18.5* ¹⁰⁾	33.6-15.6	47.5-19.7	46.9-19.2	47.7-19.4	47.0-18.5* ¹⁰⁾	33.6-15.6	47.5-19.7	46.9-19.2
		妊娠期間		21.7-32.7	20.7-29.6	19.0-30.8	18.2-30.4* ¹¹⁾	21.2-31.1	18.4-29.7	19.2-26.2* ¹²⁾	17.5-28.7	21.2-31.1	18.4-29.7	19.2-26.2* ¹²⁾	17.5-28.7	21.2-31.1	18.4-29.7	19.2-26.2* ¹²⁾	17.5-28.7
哺育期間		1.5--1.2	-3.5--1.4	-9.4--2.1* ¹³⁾	-3.6--0.8	-7.0--2.5	-3.4--1.7	-3.1--2.6	8.0--0.5* ¹⁴⁾	1.5--1.2	-3.5--1.4	-9.4--2.1* ¹³⁾	-3.6--0.8	-7.0--2.5	-3.4--1.7	-3.1--2.6	8.0--0.5* ¹⁴⁾		
繁殖能力 [Mean ± S.D.]	雄	性成熟	包皮分離(生後 43 日)																
		交尾率			24/24	22/24	22/23	23/24	21/23	22/24	20/24	20/24	21/23	22/24	20/24	20/24	21/23	22/24	20/24
		受胎率(授精率)			20/24	19/22	20/22	21/23	16/21	21/22	17/20	13/20	16/21	21/22	17/20	13/20	16/21	21/22	17/20
	精子検査	検査動物数			10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
		精子数 ^{a)} (×10 ⁶ /g)	精巢		93.0 ± 15.3	99.0 ± 12.2	85.1 ± 17.0	91.3 ± 7.5	102.8 ± 8.7	108.8 ± 12.7	103.4 ± 13.5	100.3 ± 11.0	102.8 ± 8.7	108.8 ± 12.7	103.4 ± 13.5	100.3 ± 11.0	102.8 ± 8.7	108.8 ± 12.7	103.4 ± 13.5
			精巢上体尾部		611.7 ± 112.4	666.4 ± 66.6	621.8 ± 51.0	616.0 ± 72.0	619.8 ± 62.8	637.7 ± 89.6	663.0 ± 93.0	612.1 ± 95.9	616.0 ± 72.0	619.8 ± 62.8	637.7 ± 89.6	663.0 ± 93.0	612.1 ± 95.9	616.0 ± 72.0	619.8 ± 62.8
精子運動率(%) ^{a)}			70.8 ± 18.7	64.6 ± 21.4	73.6 ± 17.7	58.3 ± 15.5	56.3 ± 16.7	71.2 ± 20.2	60.0 ± 21.2	66.1 ± 12.8	58.3 ± 15.5	56.3 ± 16.7	71.2 ± 20.2	60.0 ± 21.2	66.1 ± 12.8	58.3 ± 15.5	56.3 ± 16.7	71.2 ± 20.2	
異常形態精子率(%) ^{a)}			0.3 ± 0.4			0.2 ± 0.2	0.0 ± 0.0		0.1 ± 0.2	0.3 ± 0.4			0.2 ± 0.2	0.0 ± 0.0		0.1 ± 0.2	0.3 ± 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) a) 雌を妊娠せしめた雄について検査した。 - : 検査せず。
 1) 投与 5~10 週に有意な高値。2) 妊娠 0 日に有意な高値。3) 哺育 0 日に有意な高値。4) 投与 10 週に有意な高値。5) 投与 2, 3 週に有意な高値。6) 投与 6~10 週に有意な高値。7) 投与 10 週に有意な高値。8) 投与 0-5~0-10 週に有意な低値。9) 投与 0-2, 0-4~0-10 週に有意な高値。10) 投与 0-7~0-10 週に有意な低値。11) 妊娠 0-7 日に有意な低値。12) 妊娠 0-20 日に有意な低値。13) 哺育 0-7 日に有意な低値。14) 哺育 0-4~0-21 日に有意な高値。

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 : F1				仔動物 : F2				
投与量 (mg/kg/day)			0		100		200		400		0		100		200		400		
親動物	繁殖能力 [Mean ± S.D.]	雌	性成熟																
			膣開口(生後 36 日)																
			正常性周期率	24/24	24/24	21/23	22/24	21/23	17/24	23/24	24/24								
			交尾率	24/24	22/24	22/23	23/24	21/23	22/24	20/24	20/24								
			受胎率	20/24	19/22	20/22	21/23	16/21	21/22	17/20	13/20								
			出産率	20/20	19/19	20/20	21/21	15/16	20/21	16/17	13/13								
			交尾所要日数	3.5 ± 2.47	2.0 ± 1.15	2.3 ± 1.25	3.6 ± 2.64	3.0 ± 1.80	3.4 ± 3.20	3.1 ± 2.14	3.1 ± 1.92								
			妊娠期間(日)	21.9 ± 0.37	21.7 ± 0.45	21.9 ± 0.31	21.9 ± 0.36	22.1 ± 0.26	21.8 ± 0.55	22.0 ± 0.52	22.1 ± 0.49								
			着床数	14.9 ± 1.80	12.9 ± 3.14	14.0 ± 3.52	14.0 ± 2.16	13.3 ± 3.77	14.1 ± 4.67	10.8 ± 4.68	12.8 ± 3.56								
			分娩率(出生率)(%)	85.6	93.9	93.6	91.5	86.4	92.3	80.9	91.0								
出産仔数	13.0 ± 3.27	12.2 ± 3.22	13.3 ± 3.74	13.0 ± 2.19	12.3 ± 2.84	13.8 ± 3.69	10.2 ± 4.37	11.6 ± 3.40											
臓器重量 [Mean ± S.D.]	雄	検査動物数	20	19	20	21	14	19	16	13									
		絶対重量	肝臓(g)	20.46 ± 1.34	21.53 ± 3.18	22.36 ± 3.38	23.33 ± 3.70	23.10 ± 3.49	24.19 ± 3.77	24.29 ± 2.28	25.94 ± 3.21								
			腎臓(右)(g)	1.79 ± 0.17	1.87 ± 0.17	1.91 ± 0.21	1.94 ± 0.21	2.05 ± 0.28	2.06 ± 0.29	2.04 ± 0.34	2.05 ± 0.25								
			腎臓(左)(g)	1.74 ± 0.15	1.84 ± 0.18	1.88 ± 0.23	1.90 ± 0.18	1.99 ± 0.26	1.98 ± 0.27	1.99 ± 0.30	1.99 ± 0.26								
			精巣(右)(g)	1.71 ± 0.13	1.80 ± 0.13	1.78 ± 0.17	1.69 ± 0.18	1.93 ± 0.17	1.92 ± 0.12	1.92 ± 0.14	1.84 ± 0.58								
			精巣(左)(g)	1.72 ± 0.14	1.78 ± 0.13	1.79 ± 0.17	1.68 ± 0.19	1.91 ± 0.20	1.92 ± 0.12	1.86 ± 0.18	1.81 ± 0.27								
			精巣上体(右)(g)	0.66 ± 0.07	0.68 ± 0.05	0.67 ± 0.05	0.63 ± 0.07	0.72 ± 0.06	0.71 ± 0.09	0.67 ± 0.04	0.60 ± 0.17								
			精巣上体(左)(g)	0.65 ± 0.07	0.66 ± 0.06	0.66 ± 0.05	0.61 ± 0.06	0.73 ± 0.07	0.68 ± 0.08	0.64 ± 0.07	0.61 ± 0.10								
			腹葉前立腺(g)	0.77 ± 0.21	0.67 ± 0.20	0.74 ± 0.17	0.63 ± 0.18	0.69 ± 0.22	0.70 ± 0.17	0.63 ± 0.10	0.60 ± 0.16								
			精嚢(g)	1.88 ± 0.20	1.85 ± 0.18	1.88 ± 0.20	1.74 ± 0.24	1.86 ± 0.19	1.77 ± 0.19	1.69 ± 0.14	1.62 ± 0.29								
			脳(g)	2.09 ± 0.06	2.12 ± 0.07	2.10 ± 0.07	2.09 ± 0.09	2.17 ± 0.08	2.14 ± 0.08	2.12 ± 0.09	2.09 ± 0.09								
			脾臓(g)	0.83 ± 0.11	0.77 ± 0.10	0.79 ± 0.11	0.80 ± 0.16	0.90 ± 0.24	0.85 ± 0.14	0.84 ± 0.13	0.83 ± 0.10								
			下垂体(mg)	12.9 ± 1.4	13.0 ± 1.2	13.4 ± 1.3	13.1 ± 1.8	15.2 ± 2.4	14.8 ± 1.7	14.2 ± 2.0	14.4 ± 2.0								
			甲状腺(mg)	24.0 ± 4.7	22.5 ± 4.0	25.3 ± 4.4	26.1 ± 4.1	25.9 ± 7.2	26.0 ± 5.6	26.6 ± 5.9	31.3 ± 6.9								
			副腎(右)(mg)	27.6 ± 4.3	28.4 ± 2.5	28.6 ± 4.4	28.8 ± 4.2	33.5 ± 5.8	30.2 ± 3.6	30.3 ± 3.2	32.7 ± 4.3								
			副腎(左)(mg)	29.9 ± 5.4	29.6 ± 2.7	31.5 ± 4.6	29.4 ± 4.3	35.1 ± 7.1	32.2 ± 3.7	32.7 ± 3.7	33.7 ± 4.8								
		相対重量 (wt/100g)	肝臓(g)	3.53 ± 0.18	3.63 ± 0.29	3.71 ± 0.33	4.04 ± 0.32	3.58 ± 0.24	3.74 ± 0.24	3.84 ± 0.23	4.19 ± 0.23								
			腎臓(右)(g)	0.31 ± 0.03	0.32 ± 0.03	0.32 ± 0.03	0.34 ± 0.04	0.32 ± 0.03	0.32 ± 0.03	0.32 ± 0.04	0.33 ± 0.02								
			腎臓(左)(g)	0.30 ± 0.03	0.31 ± 0.03	0.32 ± 0.03	0.33 ± 0.03	0.31 ± 0.03	0.31 ± 0.03	0.31 ± 0.03	0.32 ± 0.02								
			精巣(右)(g)	0.30 ± 0.03	0.31 ± 0.03	0.30 ± 0.04	0.30 ± 0.03	0.30 ± 0.04	0.30 ± 0.04	0.31 ± 0.03	0.30 ± 0.09								
			精巣(左)(g)	0.30 ± 0.03	0.30 ± 0.03	0.30 ± 0.04	0.29 ± 0.03	0.30 ± 0.04	0.30 ± 0.04	0.30 ± 0.03	0.29 ± 0.04								
			精巣上体(右)(g)	0.11 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.02	0.11 ± 0.01	0.10 ± 0.03								
			精巣上体(左)(g)	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.02	0.10 ± 0.01	0.10 ± 0.02								
			腹葉前立腺(g)	0.13 ± 0.04	0.11 ± 0.04	0.12 ± 0.03	0.11 ± 0.03	0.11 ± 0.03	0.11 ± 0.03	0.10 ± 0.02	0.10 ± 0.02								
			精嚢(g)	0.33 ± 0.04	0.32 ± 0.04	0.32 ± 0.04	0.30 ± 0.04	0.29 ± 0.05	0.28 ± 0.05	0.27 ± 0.03	0.26 ± 0.04								
			脳(g)	0.36 ± 0.02	0.36 ± 0.03	0.35 ± 0.03	0.37 ± 0.03	0.34 ± 0.04	0.34 ± 0.04	0.34 ± 0.03	0.34 ± 0.04								
			脾臓(g)	0.14 ± 0.02	0.13 ± 0.01	0.13 ± 0.01	0.14 ± 0.02	0.14 ± 0.02	0.13 ± 0.02	0.13 ± 0.02	0.13 ± 0.02								
			下垂体(mg)	2.2 ± 0.3	2.2 ± 0.2	2.2 ± 0.2	2.3 ± 0.3	2.4 ± 0.4	2.3 ± 0.3	2.3 ± 0.2	2.3 ± 0.4								
			甲状腺(mg)	4.2 ± 0.8	3.8 ± 0.6	4.2 ± 0.7	4.6 ± 1.0	4.1 ± 1.2	4.1 ± 0.9	4.2 ± 0.8	5.1 ± 0.9								
			副腎(右)(mg)	4.7 ± 0.6	4.8 ± 0.6	4.8 ± 0.7	5.0 ± 0.8	5.2 ± 0.7	4.7 ± 0.7	4.8 ± 0.4	5.3 ± 0.7								
副腎(左)(mg)	5.1 ± 0.8		5.0 ± 0.6	5.2 ± 0.7	5.1 ± 0.8	5.4 ± 0.8	5.0 ± 0.8	5.2 ± 0.6	5.5 ± 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)

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	100	200	400	0	100	200	400	0	100	200	400	0	100	200	400		
親動物	臓器重量 [Mean ± S.D.]	雌	検査動物数		20	19	19	20	15	19	15	12								
			絶対重量		肝臓(g)	11.36 ± 1.34	11.71 ± 0.75	12.70 ± 0.91	12.56 ± 1.10	12.79 ± 1.29	13.15 ± 1.24	13.74 ± 1.65	14.01 ± 1.45							
					腎臓(右)(g)	1.06 ± 0.13	1.09 ± 0.08	1.18 ± 0.10	1.14 ± 0.11	1.10 ± 0.15	1.20 ± 0.11	1.23 ± 0.20	1.16 ± 0.16							
					腎臓(左)(g)	1.01 ± 0.12	1.07 ± 0.08	1.13 ± 0.11	1.13 ± 0.12	1.09 ± 0.15	1.16 ± 0.11	1.17 ± 0.22	1.15 ± 0.17							
					卵巣(右)(mg)	50.1 ± 10.4	48.0 ± 6.7	50.7 ± 9.4	46.6 ± 7.4	56.0 ± 8.4	62.6 ± 11.1	57.4 ± 10.3	51.5 ± 12.1							
					卵巣(左)(mg)	48.1 ± 9.0	47.9 ± 5.8	46.7 ± 9.9	46.3 ± 8.3	56.2 ± 7.8	62.0 ± 9.1	57.6 ± 8.7	53.2 ± 9.5							
					子宮(g)	0.79 ± 0.14	0.73 ± 0.12	0.72 ± 0.11	0.76 ± 0.10	0.74 ± 0.11	0.75 ± 0.09	0.80 ± 0.09	0.83 ± 0.15							
					脳(g)	1.88 ± 0.06	1.86 ± 0.07	1.94 ± 0.08	1.89 ± 0.08	1.95 ± 0.09	1.96 ± 0.08	1.96 ± 0.06	2.01 ± 0.09							
					脾臓(g)	0.50 ± 0.06	0.49 ± 0.05	0.53 ± 0.06	0.49 ± 0.07	0.55 ± 0.06	0.56 ± 0.05	0.56 ± 0.06	0.54 ± 0.08							
					下垂体(mg)	15.7 ± 2.7	14.7 ± 2.2	15.7 ± 2.1	14.1 ± 2.0	17.2 ± 3.3	17.7 ± 2.1	17.5 ± 2.4	15.9 ± 1.7							
					甲状腺(mg)	20.2 ± 4.7	19.3 ± 4.6	18.9 ± 3.6	22.2 ± 6.1	22.6 ± 3.5	23.7 ± 7.7	22.1 ± 5.4	22.4 ± 4.3							
					副腎(右)(mg)	32.1 ± 4.4	32.7 ± 4.87	33.3 ± 5.4	31.4 ± 5.0	33.2 ± 5.7	34.6 ± 4.9	32.4 ± 3.4	34.8 ± 4.1							
					副腎(左)(mg)	34.8 ± 6.1	35.9 ± 4.8	36.2 ± 5.5	33.5 ± 4.7	34.9 ± 5.7	37.1 ± 4.5	35.1 ± 4.0	36.9 ± 3.5							
					相対重量 (wt/100g)	肝臓(g)		3.74 ± 0.24	3.86 ± 0.16	3.96 ± 0.27	4.12 ± 0.26	4.04 ± 0.23	3.99 ± 0.28	4.09 ± 0.34	4.38 ± 0.24					
						腎臓(右)(g)		0.35 ± 0.03	0.36 ± 0.03	0.37 ± 0.03	0.37 ± 0.03	0.35 ± 0.03	0.36 ± 0.03	0.37 ± 0.04	0.36 ± 0.03					
						腎臓(左)(g)		0.33 ± 0.03	0.35 ± 0.02	0.35 ± 0.03	0.37 ± 0.03	0.34 ± 0.03	0.35 ± 0.03	0.35 ± 0.05	0.36 ± 0.04					
						卵巣(右)(mg)		16.4 ± 2.5	15.7 ± 1.7	15.8 ± 3.0	15.3 ± 2.3	17.7 ± 2.2	19.0 ± 3.1	17.1 ± 3.0	16.1 ± 3.3					
						卵巣(左)(mg)		15.9 ± 2.9	15.8 ± 2.1	14.6 ± 3.1	15.2 ± 2.7	17.8 ± 2.3	18.8 ± 2.7	17.2 ± 2.6	16.6 ± 2.2					
						子宮(g)		0.26 ± 0.04	0.24 ± 0.04	0.22 ± 0.03	0.25 ± 0.03	0.24 ± 0.03	0.23 ± 0.03	0.24 ± 0.03	0.26 ± 0.04					
						脳(g)		0.62 ± 0.06	0.62 ± 0.06	0.61 ± 0.04	0.62 ± 0.05	0.62 ± 0.05	0.60 ± 0.05	0.59 ± 0.06	0.63 ± 0.06					
						脾臓(g)		0.17 ± 0.02	0.16 ± 0.02	0.17 ± 0.02	0.16 ± 0.02	0.18 ± 0.01	0.17 ± 0.01	0.17 ± 0.01	0.17 ± 0.02					
						下垂体(mg)		5.2 ± 0.9	4.8 ± 0.6	4.9 ± 0.7	4.6 ± 0.6	5.4 ± 0.9	5.4 ± 0.7	5.2 ± 0.7	5.0 ± 0.4					
						甲状腺(mg)		6.7 ± 1.6	6.4 ± 1.5	5.9 ± 1.1	7.3 ± 1.9	7.2 ± 1.2	7.2 ± 2.3	6.6 ± 1.4	7.0 ± 1.4					
						副腎(右)(mg)		10.6 ± 1.2	10.8 ± 1.5	10.4 ± 1.8	10.3 ± 1.7	10.5 ± 1.6	10.6 ± 1.7	9.7 ± 1.5	10.9 ± 1.1					
						副腎(左)(mg)		11.5 ± 1.9	11.8 ± 1.6	11.3 ± 1.9	11.0 ± 1.6	11.0 ± 1.5	11.3 ± 1.7	10.5 ± 1.7	11.6 ± 1.2					
			剖検所見			雄	精巣	矮小	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24	6/24				
								軟化	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24	1/24	2/24	4/24				
					精巣上体		無形成	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24	1/24				
低形成	0/24	0/24					0/24	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24	3/24							
		雌			全臓器	矮小	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24	4/24						
						異常なし	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24						
剖検所見 (非交尾・ 非妊娠)						雄	精巣	片側性の矮小	0/4	0/5	0/3	0/3	0/7	0/3	0/7	1/11(3/13) ^{b)}				
								両側性の矮小	0/4	0/5	0/3	0/3	0/7	0/3	0/7	2/11(0/13) ^{b)}				
		片側性の軟化	0/4	0/5	0/3			0/3	0/7	0/3	0/7	1/11(0/13) ^{b)}								
		両側性の軟化	0/4	0/5	0/3			0/3	0/7	0/3	0/7	3/11(0/13) ^{b)}								
		精巣 上体	片側性の無形成	0/4	0/5	0/3	0/3	0/7	0/3	0/7	1/11(0/13) ^{b)}									
			片側性の低形成	0/4	0/5	0/3	0/3	0/7	0/3	0/7	2/11(0/13) ^{b)}									
				両側性の低形成	0/4	0/5	0/3	0/3	0/7	0/3	2/11(0/13) ^{b)}									

/ 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), b): 妊娠例。

表2. 試験結果の概要 (続き - 4)

		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		100		200		400		0		100		200		400				
親動物	病理組織学的所見	雄	精巣	精細管のびまん性萎縮	0/24	0/5	0/3	0/24	1/24	1/24	3/24	9/24										
				ライディッチ細胞過形成	0/24	0/5	0/3	1/24	0/24	1/24	0/24	5/24										
			精巣上体	両側性の部分的無形成	0/24	0/5	0/3	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24	1/24								
				片側性の無形成	0/24	0/5	0/3	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24								
				片側性の部分的無形成	0/24	0/5	0/3	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24								
				管腔内精子減少	0/24	0/5	0/3	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24	1/24	2/24	3/24							
		管腔内精細胞残渣	0/24	0/5	0/3	1/24	0/24	1/24	0/24	3/24	1/24											
		雌	全臓器	異常なし	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24
		病理組織学的所見 (非交尾・非妊娠)	雄	精巣	片側性の精細管のびまん性萎縮	0/4	0/5	0/3	0/3	1/7(0/14) ^{b)}	0/3	0/7	2/11(4/13) ^{b)}									
					両側性の精細管びまん性萎縮	0/4	0/5	0/3	0/3	0/7	0/3	0/7	3/11(0/13) ^{b)}									
両側性のライディッチ細胞過形成	0/4				0/5	0/3	0/3	0/7	0/3	0/7	3/11(0/13) ^{b)}											
精巣上体	両側性の部分的無形成			0/4	0/5	0/3	0/3	0/7	0/3	0/7	1/11(0/13) ^{b)}											
	片側性の無形成			0/4	0/5	0/3	0/3	0/7	0/3	0/7	2/11(0/13) ^{b)}											
	片側性の部分的無形成			0/4	0/5	0/3	0/3	0/7	0/3	0/7	3/11(0/13) ^{b)}											
非交尾組数					0/24	2/24	1/23	1/24	2/23	2/24	4/24	4/24										
非妊娠組数					4/24	3/22	2/22	2/23	5/21	1/22	3/20	7/20										
異常性周期(非交尾・非妊娠)			雌		0/4	0/5	0/3	0/3	1/7	1/3	0/7	0/11										
ホルモンレベル	雄		検査動物数		6	6	6	6	6	6	6	6										
		テストステロン(pg/ml)		6353±3389				3706±1636		2386±638				2129±1024								
		FSH(ng/ml)		104.8±29.2		86.4±17.9		134.8±43.5		79.2±8.1		57.5±10.2				63.6±21.2						
		LH(ng/ml)		18.8±4.9						14.3±2.7		10.9±2.2				11.2±3.7						
		エストラジオール(pg/ml)		5.1±1.6						4.9±2.5		4.3±1.5				4.6±1.8						
		雌	検査動物数		6				6		6				6							
	テストステロン(pg/ml)		27±5				27±4		30±8				27±5									
	FSH(ng/ml)		68.9±7.5				57.7±10.3		62.3±16.1				78.4±23.8									
	LH(ng/ml)		8.5±1.5				8.7±1.9		7.8±2.5				10.0±4.1									
	エストラジオール(pg/ml)		7.0±3.8				6.4±2.1		7.8±4.3				10.6±10.3									

/ 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), b): 妊娠例。 - : 検査せず。

表 2. 試験結果の概要 (続き - 5)

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	100	200	400	0	100	200	400	0	100	200	400			
仔動物	出生生存性比 (雄 / 雌)				113/142	109/121	140/122	132/136	95/89	134/140	73/75	82/69						
	生存率 (%)	検査腹数				20	19	19-20	20-21	15	19-20	14-15	12-13					
		哺育 0 日				98.4	99.2	99.0	98.2	100	99.3	93.4	100					
		哺育 4 日				98.7	97.1	93.6	94.2	99.5	90.1	91.1	90.4					
		哺育 21 日				100	98.9	99.3	94.0	99.2	100	100	100					
	外表異常	雄	全部位	異常なし	113/113	109/109	140/140	132/132	95/95	134/134	73/73	82/82						
		雌	全部位	異常なし	142/142	109/109	122/122	136/136	89/89	140/140	75/75	69/69						
	一般状態	雄	哺育 0 日-21 日	異常なし	113/113-72/72	109/109-68/68	140/140-78/78	132/132-75/75	95/95-58/58	134/134-72/72	73/73-43/43	82/82-49/49						
		雌	哺育 0 日-21 日	異常なし	142/142-83/83	121/121-76/76	122/122-73/73	136/136-81/81	89/89-57/57	140/140-79/79	75/75-60/60	69/69-47/47						
	体重 (g) [Mean ± S.D.]	雄	検査腹数				20	19	19-20	20-21	15	19-20	14-15	12-13				
哺育 0 日					6.6 ± 0.5	6.2 ± 0.6	6.2 ± 0.6	6.1 ± 0.5	6.9 ± 0.6	6.3 ± 0.6	6.4 ± 1.1	6.4 ± 0.7						
哺育 4 日					10.7 ± 1.3	10.9 ± 1.8	10.3 ± 1.3	10.3 ± 1.1	11.5 ± 1.9	10.0 ± 1.5	11.7 ± 2.5	10.4 ± 1.7						
哺育 7 日					17.5 ± 1.3	17.9 ± 2.2	16.7 ± 1.7	16.7 ± 1.8	18.2 ± 2.0	16.5 ± 2.4	18.6 ± 3.4	16.8 ± 2.6						
哺育 14 日					35.4 ± 2.1	36.4 ± 2.8	35.2 ± 2.8	34.5 ± 2.7	35.5 ± 3.2	35.2 ± 3.3	36.6 ± 5.0	34.2 ± 3.8						
哺育 21 日					58.8 ± 3.6	59.5 ± 4.7	58.2 ± 4.7	56.6 ± 4.3	59.3 ± 4.4	56.5 ± 5.8	59.1 ± 9.0	55.3 ± 6.7						
雌		検査腹数				20	19	19-20	21	15	19-20	14-15	12-13					
		哺育 0 日				6.3 ± 0.5	6.0 ± 0.7	5.9 ± 0.5	5.9 ± 0.4	6.5 ± 0.5	5.8 ± 0.5	6.1 ± 1.0	6.0 ± 0.6					
		哺育 4 日				10.3 ± 1.4	10.3 ± 1.5	9.8 ± 1.2	9.6 ± 1.6	10.7 ± 1.3	9.3 ± 1.5	11.2 ± 2.2	9.6 ± 1.6					
		哺育 7 日				16.8 ± 1.6	17.0 ± 2.3	16.0 ± 1.6	15.8 ± 2.1	17.4 ± 1.7	15.5 ± 2.3	18.0 ± 3.2	15.7 ± 2.6					
		哺育 14 日				34.2 ± 2.9	35.1 ± 3.1	33.7 ± 2.9	33.0 ± 2.9	34.4 ± 2.9	33.5 ± 3.6	36.2 ± 4.7	32.4 ± 3.6					
		哺育 21 日				56.8 ± 3.6	57.4 ± 5.0	55.4 ± 4.8	54.0 ± 4.8	56.8 ± 4.1	53.5 ± 6.0	58.2 ± 7.7	52.4 ± 6.6					
肛門生殖突起間 距離 (mm)		雄	検査動物数				112	106	137	124	95	128	70	78				
			哺育 4 日				4.00 ± 0.50	4.47 ± 0.42	4.34 ± 0.41	4.31 ± 0.50	4.75 ± 0.43	4.20 ± 0.33	4.39 ± 0.56	4.08 ± 0.55				
	雌	検査動物数				139	116	120	129	88	130	70	69					
		哺育 4 日				2.12 ± 0.20	2.34 ± 0.19	2.29 ± 0.29	2.24 ± 0.29	2.30 ± 0.29	2.09 ± 0.21	2.16 ± 0.28	2.24 ± 0.23					
肛門生殖突起間 距離 (mm) ³ BW	雄	検査動物数				112	106	137	124	95	128	70	78					
		哺育 4 日				2.02 ± 0.20	2.02 ± 0.16	2.00 ± 0.18	1.98 ± 0.19	2.12 ± 0.16	1.96 ± 0.11	1.94 ± 0.16	1.87 ± 0.21					
	雌	検査動物数				139	116	120	129	88	130	70	69					
		哺育 4 日				0.98 ± 0.08	1.08 ± 0.09	1.07 ± 0.13	1.06 ± 0.10	1.05 ± 0.11	1.00 ± 0.09	0.96 ± 0.09	1.06 ± 0.10					
発育分化	雄	耳介開展	哺育 4 日	112/112	106/106	137/137	124/124	95/95	128/128	70/70	78/78							
		切歯萌出	哺育 13 日	68/72	57/68	74/78	71/75	54/58	63/72	39/43	46/49							
		眼瞼開裂	哺育 15 日	72/72	65/68	74/78	74/75	56/58	72/72	42/43	49/49							
	雌	耳介開展	哺育 4 日	139/139	116/116	120/120	129/129	88/88	129/129	70/70	69/69							
		切歯萌出	哺育 13 日	79/83	75/76	71/73	80/82	52/57	68/79	57/60	43/47							
		眼瞼開裂	哺育 15 日	83/83	76/76	69/73	80/81	57/57	76/79	60/60	47/47							

/ 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 - 6)

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				100				200				400									
仔動物	反射反応	雄	全身痛覚反応	哺育 5 日	72/72	68/68	78/78	76/76	58/58	72/72	43/43	49/49	72/72	68/68	78/78	75/76	58/58	72/72	43/43	49/49					
			背地走性	哺育 9 日	72/72	68/68	78/78	75/76	58/58	72/72	43/43	49/49	72/72	68/68	78/78	75/75	58/58	72/72	43/43	49/49					
			空中正向反射	哺育 16 日	72/72	68/68	78/78	75/75	58/58	72/72	43/43	49/49	72/72	68/68	78/78	75/75	58/58	72/72	43/43	49/49					
			耳介反射(1,000Hz)	哺育 16 日	72/72	68/68	78/78	75/75	58/58	72/72	43/43	49/49	72/72	68/68	78/78	75/75	58/58	72/72	43/43	49/49					
			耳介反射(20,000Hz)	哺育 16 日	72/72	68/68	78/78	75/75	58/58	72/72	43/43	49/49	72/72	68/68	78/78	75/75	58/58	72/72	43/43	49/49					
			雌	全身痛覚反応	哺育 5 日	83/83	76/76	73/73	82/82	57/57	79/79	60/60	47/47	79/79	60/60	47/47	79/79	60/60	47/47	79/79	60/60	47/47			
				背地走性	哺育 9 日	82/83	76/76	73/73	82/82	57/57	79/79	60/60	47/47	79/79	60/60	47/47	79/79	60/60	47/47	79/79	60/60	47/47			
				空中正向反射	哺育 16 日	83/83	76/76	73/73	81/81	57/57	79/79	60/60	47/47	79/79	60/60	47/47	79/79	60/60	47/47	79/79	60/60	47/47			
		耳介反射(1,000Hz)		哺育 16 日	83/83	76/76	73/73	81/81	57/57	79/79	60/60	47/47	79/79	60/60	47/47	79/79	60/60	47/47	79/79	60/60	47/47				
		臓器重量 (生後 21 日) [Mean ± S.D.]	雄	検査動物数		19	18	19	20	15	19	14	12	絶対重量		脳(mg)	1498.8 ± 42.4	1507.3 ± 45.1	1513.9 ± 67.2	1506.2 ± 55.1	1493.9 ± 52.9	1454.7 ± 60.0	1476.3 ± 63.4	1493.8 ± 50.7	
				脾臓(mg)	294.0 ± 67.2	296.1 ± 67.7	303.8 ± 53.9	247.6 ± 39.8	305.4 ± 65.5	268.1 ± 70.7	281.5 ± 63.1	229.4 ± 54.5													
					胸腺(mg)	247.0 ± 32.2	263.0 ± 43.1	259.7 ± 39.5	262.8 ± 37.7	244.0 ± 31.2	242.2 ± 45.0	250.6 ± 53.1	225.3 ± 49.9												
					相対重量 (wt/100g)	脳(mg)	2571.3 ± 130.0	2531.5 ± 195.0	2601.4 ± 189.4	2650.4 ± 200.4	2539.8 ± 176.0	2587.5 ± 240.3	2542.1 ± 324.8	2739.8 ± 244.5											
				脾臓(mg)		499.7 ± 92.9	491.5 ± 91.0	518.4 ± 76.2	433.1 ± 56.2	514.2 ± 89.5	466.5 ± 79.1	472.8 ± 47.6	413.5 ± 58.8												
胸腺(mg)	422.3 ± 44.9			439.6 ± 65.5		443.9 ± 54.3	459.4 ± 50.1	412.9 ± 44.3	427.5 ± 69.0	422.4 ± 53.0	406.4 ± 51.3														
雌	検査動物数			20	19	18	20	15	19	15	12	絶対重量		脳(mg)	1451.5 ± 59.2	1447.0 ± 55.0	1468.3 ± 49.0	1440.1 ± 50.4	1443.8 ± 48.6	1414.8 ± 63.8	1444.4 ± 60.6	1398.3 ± 72.0			
	脾臓(mg)			294.8 ± 41.0	280.1 ± 56.2	281.0 ± 44.3	258.7 ± 51.9	293.4 ± 49.7	250.1 ± 62.2	260.2 ± 43.5	249.4 ± 68.2														
				胸腺(mg)	254.4 ± 34.6	254.9 ± 41.7	248.7 ± 37.7	260.0 ± 46.0	264.9 ± 45.0	247.2 ± 56.1	241.5 ± 44.6	229.6 ± 43.5													
				相対重量 (wt/100g)	脳(mg)	2567.2 ± 158.8	2575.4 ± 191.2	2639.8 ± 219.8	2653.8 ± 231.8	2545.0 ± 155.8	2663.0 ± 301.5	2589.0 ± 250.7	2712.0 ± 336.0												
	脾臓(mg)				518.8 ± 56.3	494.4 ± 78.9	501.3 ± 60.2	471.7 ± 74.3	513.9 ± 64.6	460.1 ± 74.3	462.4 ± 61.6	469.2 ± 80.6													
	胸腺(mg)				448.5 ± 53.7	451.9 ± 68.2	445.3 ± 61.0	476.3 ± 77.5	464.7 ± 66.7	458.5 ± 81.7	427.9 ± 54.6	437.5 ± 37.6													
	剖検所見 (生後 21 日)			雄	全臓器	異常なし	48/48	44/44	54/54	51/51	58/58	72/72	43/43	49/49	雌	全臓器	異常なし	59/59	52/52	49/49	57/57	57/57	79/79	60/60	47/47

/ 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)