

2. 2世代繁殖毒性試験報告書

- フタル酸ジシクロヘキシル -

フタル酸ジシクロヘキシルのラットを用いた繁殖試験

1. 要約

フタル酸ジシクロヘキシルはニトロセルロース，エチルセルロース，酢酸ビニル，塩化ビニル，樹脂等の可塑剤として製造される化合物である¹⁾。フタル酸ジシクロヘキシルはヒトエストロゲン受容体に結合せず，ヒトエストロゲン受容体を介する転写の活性化を起こしておらず，性ホルモン受容体を介する内分泌かく乱作用を有する可能性は低いと言われているが²⁾，現時点では，内分泌かく乱作用を含めた生殖・発生毒性への影響に関する知見は十分とは言えない。このことから，ラットに2世代にわたってフタル酸ジシクロヘキシルを摂取させた時の，親動物の繁殖能力と仔動物の発生・発育に及ぼす影響と内分泌かく乱作用の有無について検討した。

フタル酸ジシクロヘキシルを Crj:CD(SD)IGS ラット (SPF) の雌雄に，混餌法により 0 (対照)，240，1200 及び 6000 ppm の濃度で 2 世代にわたり投与した。F0 親動物の雄は交配前 10 週間を経て交配終了後の剖検まで，F0 親動物の雌は交配前 10 週間，交配期間，妊娠期間及び F1 動物の離乳 (哺育 21 日) を経て剖検まで，F1 親動物の雄は離乳時 (3 週齢) から交配前 10 週間以上及び交配期間を経て剖検まで，F1 親動物の雌は離乳時 (3 週齢) から交配前 10 週間以上，交配期間，妊娠期間及び F2 動物の離乳 (哺育 21 日) を経て剖検まで毎日投与した。0，240，1200 及び 6000 ppm 群の 1 日当たりの平均被験物質摂取量は，F0 親動物の雄で 0，15.88，79.57 及び 401.8 mg/kg/day 相当，F0 親動物の雌で 0，20.80，104.19 及び 510.7 mg/kg/day 相当，F1 親動物の雄で 0，17.84，89.89 及び 457.4 mg/kg/day 相当，F1 親動物の雌で 0，20.95，107.15 及び 534.2 mg/kg/day 相当であった。

親動物への影響として，F0 及び F1 親動物の 1200 ppm 以上の群で体重増加抑制，摂餌抑制，肝臓のびまん性肝細胞肥大，甲状腺ろ胞上皮細胞の肥大，これに加え，6000 ppm 群で肝臓及び甲状腺重量の増加，雄で腎臓の近位尿細管上皮の硝子滴発現増強，F1 親動物の雄で前立腺重量の減少並びに精巣のびまん性又は限局性精細管萎縮が認められた。6000 ppm 群の F0 親動物の雌で発情期間隔のわずかな延長，1200 ppm 以上の群の F1 親動物の雄で精巣の精子数 (精子細胞数) の減少が認められた。なお，発情期間隔の延長は体重増加抑制に伴う二次的影響と考えられる。一般状態，繁殖能，分娩，哺育の観察，血中ホルモンレベルにおいてはフタル酸ジシクロヘキシル投与の影響は認められなかった。

仔動物への影響として，F1 及び F2 仔動物の 6000 ppm 群で体重増加抑制，6000 ppm 群の F1 仔動物の雄及び 1200 ppm 以上の群の F2 仔動物の雄で肛門生殖突起間距離 (AGD) の短縮，並びに乳輪の発現が認められ，フタル酸ジシクロヘキシルの仔動物の雄に対する内分泌系への影響が認められた。一般状態，出生仔数，性比，生存率，発育分化，反射反応性検査，外表検査，臓器重量及び剖検では，フタル酸ジシクロヘキシル投与の影響は認められなかった。

したがって，フタル酸ジシクロヘキシルを 2 世代にわたってラットに投与した場合，内

分泌系への影響を含めた親動物に対する影響に関して、無影響量（NOEL）及び無毒性量（NOAEL）は 240 ppm（F0 親動物の雄；15.88 mg/kg/day 相当，F0 親動物の雌；20.80 mg/kg/day 相当，F1 親動物の雄；17.84 mg/kg/day 相当，F1 親動物の雌；20.95 mg/kg/day 相当），親動物に対する生殖毒性学的影響に関して、無影響量（NOEL）及び無毒性量（NOAEL）は雄で 240 ppm，雌で 1200 ppm（F0 親動物の雌；104.19 mg/kg/day 相当，F1 親動物の雌；107.15mg/kg/day 相当），仔動物に対する影響として、無影響量（NOEL）及び無毒性量（NOAEL）は雄で 240 ppm，雌で 1200 ppm であった。

- 2.検体名及び純度：フタル酸ジシクロヘキシル (DCHP)，純度 99.9%
(MERCK-Schuchardt，Lot No. S26063)
- 3.試験実施機関：株式会社 三菱化学安全科学研究所
- 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、フタル酸ジシクロヘキシルを混合した飼料を、ラットに 2 世代にわたって摂取させて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 親動物の投与開始時 5 週齢
- 6.投与期間：F0 親動物は雌雄とも 5 週齢から投与を開始し，雄は交配前 10 週間以上及び交配期間を経て剖検日まで，雌は交配前 10 週間以上，交配期間及び F1 動物の離乳 (哺育 21 日) を経て剖検日まで。
F1 親動物は離乳時 (3 週齢) から，雄は交配前 10 週間以上及び交配期間を経て剖検日まで，雌は交配前 10 週間以上，交配期間及び F2 動物の離乳 (哺育 21 日) を経て剖検日まで。なお，非分娩動物は F0 及び F1 動物ともに交尾確認後 26 日以降の剖検日まで。
(2001 年 3 月 30 日-2001 年 12 月 13 日)
- 7.投与方法：被験物質を 0，240，1200 及び 6000 ppm の濃度で基礎飼料 (NIH-07M) に混合して，動物に給与した。
- 8.投与用量の設定理由：
フタル酸ジシクロヘキシルをラットに 0，600，2000，6000 及び 20000 ppm の用量で雌雄とも交配前 3 週間以上及び交配期間を経て雄は剖検日まで，雌は妊娠及び分娩を経て哺育 21 日まで投与した用量設定試験の結果，親動物への影響として，20000 ppm 群で雌雄とも体重増加抑制，肝臓重量の増加，雌で副腎重量の増加，胸腺，脾臓及び卵巣重量の低下が認められた。6000 及び 2000 ppm 群においても雌雄で肝臓重量の増加または増加傾向が認められ，600 ppm 群でも雌が同様な傾向を示した。生殖機能及び分娩・哺育機能への影響はいずれの用量群においても認められなかった。また，仔動物への影響として，20000 ppm 群で雌雄とも体重増加抑制が認められ，6000 ppm 群も同様な傾向を示した。これらの結果から，高用量には 6000 ppm を設定し，以下公比約 5 で中用量は 1200 ppm，低用量は 240 ppm とした。

9. 飼育条件

- 9.1 飼料； 実験動物用粉末飼料(NIH-07M, 日本クレア株式会社製)を自由摂取させた。
- 9.2 飲料水； 5 μm フィルター濾過後, 紫外線照射した水道水を給水びんにより自由摂取させた。
- 9.3 飼育環境； 温度 19.0-25.0 , 相対湿度 35.0-75.0% , 換気回数約 12 回/時間, 明暗サイクル 12 時間間隔(7 時点灯-19 時消灯)に設定した飼育室で, 実験動物用床敷(ベータチップ: 日本チャールス・リバー株式会社)を敷いたポリカーボネート製ケージ(265W × 426D × 200H mm, トキワ科学器械株式会社)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； 個々の動物について, 毎日ケージの外から観察した。また, 少なくとも週 1 回は個々の動物を手にとって詳細に観察した。
- 10.2 体重及び摂餌量； 雄の体重を, 投与開始日から剖検日まで週 1 回測定した。雄の摂餌量は投与開始日から交配開始日まで週 1 回測定した。雌の体重は, 育成期間中は投与開始日から週 1 回, 交尾が成立した雌は妊娠 0 (交尾確認日), 7, 14, 20 日及び哺育 0 (分娩日), 4, 7, 14, 21 日と離乳(哺育 21 日)後の剖検日にそれぞれ測定した。また, これらの期間について摂餌量も測定した。
- 10.3 摂餌効率； 各動物の体重及び摂餌量から次式により算出した。

$$(\text{1 日あたりの体重増加量} / \text{1 日あたりの摂餌量}) \times 100$$
- 10.4 交配及び妊娠の確認； F0 親動物は 5 週齢から 10 週間後の 15 週齢時, F1 親動物は 3 週齢から 10 週間以上の 14 ~ 15 週齢時に, 交配前投与期間終了日の夕刻から雌を雄のケージに移し, 1 : 1 で昼夜同居させた。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, 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 日とした。交配期間の限度を, 2 週間とした。妊娠は, 出産の有無及び剖検時に着床痕の有無を調べることにより確認した。
 F1 親動物には, 生後 21 日に各腹から継代用動物として雌雄各 1 匹を無作為に選抜した。その他の仔動物は生後 21 日に剖検した。
- 10.5 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： F1 親動物について, 雄は包皮分離及び雌は膣開口を指標

として、それぞれ生後 35 日及び 27 日から達成日まで毎日個々の動物を観察し、達成日に体重を測定した。

発情期間隔（性周期日数）：F0 親動物は 13 週齢から、F1 親動物は 11 週齢から交配開始前の 2 週間、毎日午前中に雌動物の膣垢を採取して性周期を検査し、平均性周期日数を算出した。また、性周期が 4-6 日周期でないものを異常とした。

性周期異常動物の発現率 = 性周期異常を示した雌数 / 検査した雌数

交尾所要日数 = 交配開始後、交尾成立までに要した日数

交尾成立までに逸した発情期の回数

交尾率 = 交尾を認めた雌雄の数 / 交配に用いた雌雄の数

受胎率 = 受胎雌数 / 交尾を認めた雌数

出産率 = 正常出産雌数 / 妊娠雌数

出生率 = 出産生存仔数 / 着床数

妊娠期間 = 妊娠 0 日から分娩日までの日数

着床数（剖検時に着床痕を計数した）

出産仔数

出生仔数

10.6 精子検査；

F0 及び F1 親動物の各群 10 例について、精子運動率（運動精子率）を精子自動解析装置（HTM-IVOS Ver.10.8）で測定。

対照群及び 6000 ppm 群の各 10 例について精巢の精子数（精子細胞数）及び精巢上体尾部の精子数を精子自動解析装置（HTM-IVOS Ver.10.8）で測定。なお、F1 親動物の 6000 ppm 群において、精巢の精子数（精子細胞数）が対照群と比べ統計学的有意差が認められたため、240 及び 1200 ppm 群についても検査した。

対照群及び 2000 ppm 群の各 10 例について塗抹標本を作製し、異常形態精子（精子形態異常）を観察して、異常形態精子の出現率を求めた。

10.7 ホルモンレベル測定；F0 及び F1 親動物とも、雄は剖検日に各群 6 匹、雌は哺育期間

終了後毎日午前中に性周期を検査し、発情前期を示すものを各群 6 匹選抜し、飼育室から搬出した後約 1 時間静置し、午後 1 時以降のほぼ一定時刻に無麻酔下で断頭採血した。採取した血液から血清を分離し、RIA 法により雄はテストステロン、FSH、LH、雌はエストラジオール、FSH、LH を測定した。測定は株式会社パナファーム・ラボラトリーズで実施した。

10.8 仔動物に関する指標；哺育期間中における一般状態を，毎日ケージの外から観察した。

また，体重を測定する際，個々の動物を手にとって詳細に観察した。仔動物は，生後 4 日に同腹仔数を無作為に 8 匹（可能な限り雄 4 匹，雌 4 匹）に調整した。同腹仔数が 8 匹に満たない場合はそのまま飼育した。仔数調整時に間引きされた仔動物は，炭酸ガス吸入により安楽死させた後，全身を 10%中性リン酸緩衝ホルマリン液に保存した。

体重を，哺育 0，4，7，14 及び 21 日に測定した。

肛門生殖突起間距離（肛門・生殖結節間距離）を生後 4 日の仔数調整後に測定した。また，測定日の体重の 3 乗根で除した相対距離を算出した。

乳頭（乳輪あるいは乳頭）の発現を F1 仔動物では生後 14 日*，F2 仔動物では生後 12 日*に観察し，その発現頻度を算出した。

*：F1 及び F2 仔動物とで観察時期が異なる理由：当初の試験計画書では乳頭発現の観察を行う予定ではなかったが，F1 仔動物の生後 14 日の一般状態観察において 6000 ppm 群の雄で乳輪の発現が認められた。このことから，F1 仔動物は生後 14 日に，F2 仔動物は乳頭の有無を明確に判定できる生後 12 日に検査することとした。

性比：総雄出産仔数 / 総出産仔数

哺育 0 日生存率（出生時生存率）= 哺育 0 日における生存仔数 / 総出産仔数

哺育 4 日生存率（4 日生存率）= 哺育 4 日における生存仔数 / 哺育 0 日における生存仔数

哺育 21 日生存率（離乳率）= 哺育 21 日における生存仔数 / 哺育 4 日における生存仔数

10.9 仔動物の発育分化；全生存例について，下記項目の完成の有無を記録した。各観察日齢における同腹哺育仔の完成率あるいは完成日を雌雄毎に算出した。

耳介開展（耳介展開）；哺育 2，3，4 日

切歯萌出（上切歯萌出）；哺育 6 日以降完成するまで

眼瞼開裂；哺育 10 日以降完成するまで

10.10 仔動物の反射反応性検査；全生存例について生後 19 日に疼痛反応，背地走性，空中正向反射，耳介反射を検査し，陽性率を算出した。

10.11 臓器重量； 全ての F0 及び F1 親動物について，脳，下垂体，甲状腺及び上皮小体，肝臓，腎臓，副腎，脾臓，精巣，精巣上体，前立腺（腹葉），

精嚢（凝固腺を含む）、卵巣及び子宮（頸部を含む）の重量を測定した。

各腹雌雄 1 例の F1 及び F2 仔動物について、哺育 21 日に脳、胸腺、脾臓の重量を測定した。

- 10.12 病理学的検査； 全ての親動物を、安楽死時又は死亡発見日に剖検した。仔動物は哺育 4 日の選抜前の死亡動物及び仔数調整時に間引きした動物を除き、全例を安楽死時又は死亡発見時に剖検した。
- 10.13 病理組織学的検査； F0 及び F1 親動物の対照群及び 6000 ppm 群の雌雄全例の脳、下垂体、甲状腺及び上皮小体、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、精嚢、精嚢上体、精嚢（凝固腺含む）、前立腺（腹葉）、卵巣、子宮（頸部を含む）、膈、乳腺について検査を実施した。さらに、240 及び 1200 ppm 群について、F0 及び F1 親動物の雌雄の肝臓、甲状腺、雄の腎臓、F1 親動物の精嚢、F1 親動物の雌雄の副腎、全動物の肉眼的異常部位について検査を実施した。また、途中死亡についてはそれぞれ死因追求のために検査を実施した。
- 10.14 統計学的解析； 離乳までの出生仔に関するデータは、各母動物ごとに算出した数値を標本単位とした。なお、非妊娠動物の交尾確認後の体重、摂餌量及び臓器重量、未交尾の雌、交配对が成立しない雌雄、生存仔を有しない母動物の臓器重量は評価の対象から除外した。
- 計量データは Bartlett 法による等分散性の検定を行い、分散が等しい場合は一元配置分散分析、分散が等しくない場合は Kruskal-Wallis の検定を行った。群間に有意差が認められた場合は Dunnett 法または Dunnett 型の多重比較検定を行った。ただし、一部の項目は Kruskal-Wallis の検定から行い、群間に有意差が認められた場合は Dunnett 型の多重比較検定を行った。計数データは Fisher の直接確率法により検定した。有意水準は 5%とした。
- 一般状態、剖検所見及び病理組織所見については、統計学的解析を実施しなかった。統計学的解析の対象項目は以下のとおりである。
- 多重比較検定：体重、体重増加量、摂餌量、摂餌効率、臓器重量、着床数、出産仔数、出生仔数、肛門生殖突起間距離（肛門・生殖結節間距離）、発情期間隔（性周期日数）、精嚢の精子数（精子細胞数）、精嚢上体尾部の精子数、ホルモンレベル
- Kruskal-Wallis 検定と Dunnett 型の多重比較検定：交尾所要日数、交尾成立までに逸した発情期の回数、妊娠期間、精子運動率（運動精子率）、異常形態精子（精子形態異常）の発現率、出生率、哺育

フタル酸ジシクロヘキシル

0 日生存率（出産時生存率），哺育 4 日生存率（4 日生存率），哺育 21 日生存率（離乳率），外表異常仔の発現率，生後形態分化，反射反応性，乳頭発現異常仔の発現率

Fisher の直接確率法：交尾率，受胎率，出産率，性比（雄/雌），性周期異常動物の発現率，外表異常仔を有する母動物の発現率

表 1. 試験の概要

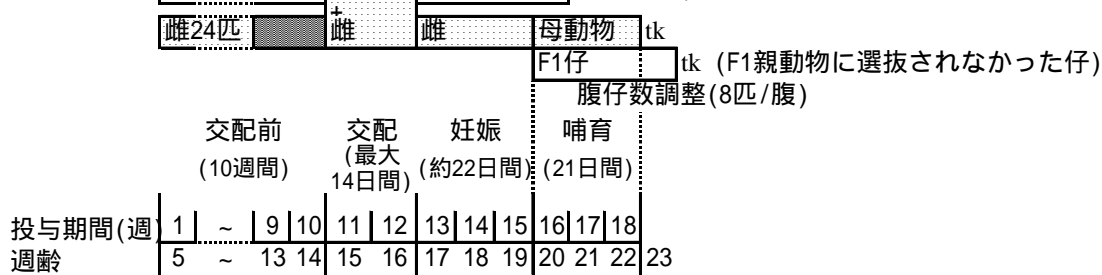
世代	期間 (週間)	作業手順	試験項目
F0	育成 (10)		動物の一般状態を毎日観察。 体重及び摂餌量を週 1 回測定。 摂餌効率を算出。
	交配 (2)	雌雄を 1:1 で同居させた。膣栓 または膣垢中の精子の有無に より交尾を確認。交尾確認日を 妊娠 0 日とした。	交配前 2 週間雌の膣垢観察をす ることにより、発情期間隔 (性 周期日数) を観察。
	妊娠 (3)		体重 (妊娠 0, 7, 14 及び 20 日) 及び摂餌量 (妊娠 0-7, 7-14 及 び 14-20 日) を測定。 摂餌効率を算出。
	出産	出産確認日を哺育 0 日とした。	出産仔, 生存仔及び死産仔の性 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) に調整した。仔数調整時に 間引きされた仔動物は, 炭酸ガ ス吸入により安楽死させた後, 全身を 10% 中性リン酸緩衝ホ ルマリン液に保存した。	親動物の体重 (哺育 0, 4, 7, 14 及び 21 日) 及び摂餌量 (哺 育 0-4, 4-7, 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。 哺育仔の耳介開展 (耳介展開) を哺育 2, 3, 4 日に観察。哺育 4 日に肛門生殖突起間距離を計 測。哺育 6 日から切歯萌出 (上 切歯萌出), 哺育 10 日から眼瞼 開裂を完了まで観察。哺育 14 日に乳頭の発現を観察。哺育 19 日に反射反応性検査を行う。 また, 生後 27 日から膣開口 (雌), 35 日から包皮分離 (雄) の発現日を検査するとともに, 発現日の体重を測定。

世代	期間 (週間)	作業手順	試験項目
F0/F1	離乳	<p>交尾した雄は射精から少なくとも 2 日間以上の回復期間の後、剖検。雌は分娩した動物を哺育 21 日以降、非分娩動物は交尾確認後 26 日以降、未交尾及び交配对が成立しなかった動物は交配期間終了後 7-14 日に安楽死。</p> <p>仔動物は、各腹雌雄 1 匹を親動物に選抜、各腹雌雄 3 例を哺育 21 日に安楽死。</p>	<p>全ての親動物の剖検及び臓器重量測定 (脳、下垂体、甲状腺及び上皮小体、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、精巣、精巣上部、前立腺 (腹葉)、精嚢 (凝固腺を含む)、卵巣及び子宮 (頸部を含む))。親動物の雄は各群 10 例を用いて精子検査 (精子運動率、精巣の精子数、精巣上部尾部の精子数、異常形態精子の出現率) を行った。</p> <p>各群雌雄 6 例を用いてホルモンレベル (雄: テストステロン、FSH、LH、雌: エストラジオール、FSH、LH) を測定。</p> <p>仔動物は各腹雌雄 1 例の臓器重量測定 (脳、胸腺、脾臓)。</p>
F1	育成 (10)		<p>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。</p>
	交配 (2)	雌雄を 1:1 で同居させた。膣栓または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。	交配前 2 週間雌の膣垢観察をすることにより、発情期間隔 (性周期) を観察。
	妊娠 (3)		<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。摂餌効率を算出。</p>
	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を記録。

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）に調整した。仔数調整時に間引きされた仔動物は、炭酸ガス吸入により安楽死させた後、全身を10%中性リン酸緩衝ホルマリン液に保存した。</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0-4、4-7、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。 哺育仔の耳介開展（耳介展開）を哺育2、3、4日に観察。哺育4日に肛門生殖突起間距離を計測。哺育6日から切歯萌出（上切歯萌出）、哺育10日から眼瞼開裂を完了まで観察。哺育12日に乳頭の発現を観察。哺育19日に反射反応性検査を行う。</p>
F1/F2	離乳	<p>交尾した雄は射精から少なくとも2日間以上の回復期間の後、剖検。雌は分娩した動物は哺育21日以降、非分娩動物は交尾確認後26日以降、未交尾及び交配対が成立しなかった動物は交配期間終了後7-14日に安楽死。 仔動物は全例を哺育21日に安楽死。</p>	<p>全ての親動物の剖検及び臓器重量測定（脳、下垂体、甲状腺、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、精巣、精巣上体、前立腺（腹葉）、精嚢（凝固腺を含む）、卵巣及び子宮（頸部を含む）。 親動物の雄は各群10例を用いて精子検査（精子運動率、精巣の精子数、精巣上体尾部の精子数、異常形態精子の出現率）を行った。 各群雌雄6例を用いてホルモンレベル（雄：テストステロン、FSH、LH、雌：エストラジオール、FSH、LH）を測定。 仔動物は各腹雌雄1例の臓器重量測定（脳、胸腺、脾臓）。</p>

F0 世代

F0親動物の割り振り: 雌雄各24匹/群

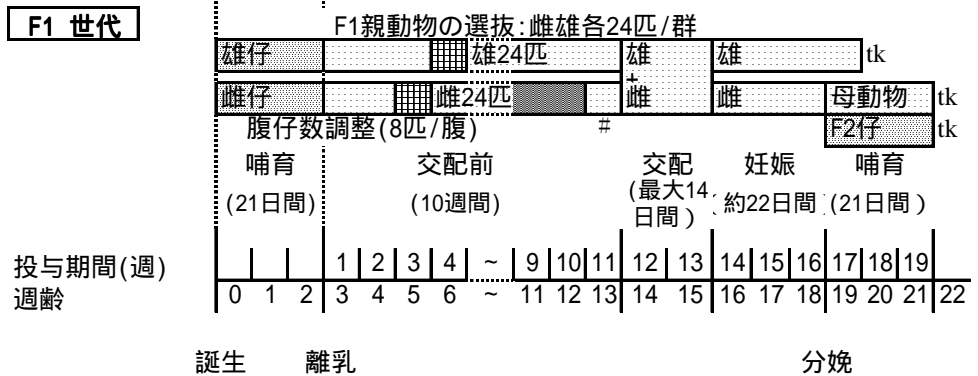


試験開始

分娩

離乳

F1 世代



- : 投与
- : 投与せず

: F0動物の妊娠及び分娩日によるズレを補正するため、全動物が14週齢以上となった時点でF1動物の交配を行った。

試験期間中の検査

- : 性成熟 ; 雄生後35日から、雌生後27日から達成日まで観察(雌雄各24匹/群)
- : 性周期(雌24匹/群)
- : AGD・乳頭発現、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.，Tables A4 to A7 and B6 to B9）

F0 及び F1 親動物の雌雄のいずれの用量群においても，被験物質投与に関連する変化は認められなかった。

F0 親動物の雌雄とも全試験期間を通じ死亡は認められなかった。

F1 親動物において，240 ppm 群の雌 1 例が妊娠 25 日の分娩途中，6000 ppm 群の雌 1 例が生後 26 日に死亡した。240 ppm 群の死亡経過として，妊娠 22 日より分娩が開始されたが，出産仔は授乳せず死亡し，子宮内胎仔を完全に娩出しない状態で妊娠 25 日に死亡した。6000 ppm 群の雌 1 例は特に変化は認められなかった。剖検の結果，240 ppm 群の 1 例には胸腺の小型化，腺胃粘膜のびらん及び腎臓の褪色，6000 ppm 群の 1 例には脾臓の腫大，肺の限局性出血，肝臓の腫大と暗褐色化及び脳の腫脹が認められた。また，病理組織学的検査で，240 ppm 群の 1 例には，腎臓の高度の近位尿細管壊死及び子宮の内膜壊死，脾臓の白脾髄（リンパ球）の萎縮及び髄外造血，腺胃粘膜の巣状壊死，肝臓の門脈域周囲肝細胞の脂肪化，上皮小体の主細胞肥大及び副腎束状帯細胞肥大がみられ，6000 ppm 群の 1 例には，腎臓の限局性炎症性細胞浸潤と細菌性塞栓，肺の巣状出血とびまん性炎症性細胞浸潤，心臓，肝臓及び脳のびまん性または限局性炎症性細胞浸潤，胸腺の萎縮，脾臓の白脾髄（リンパ球）の萎縮及び髄外造血，腸間膜リンパ節のリンパ球萎縮が認められた。これらの変化は産褥期における全身状態の悪化，または日和見感染によるものと思われる，計画解剖動物で同質の変化は認められていないことから，いずれも被験物質との関連はないと判断した。

結論：フタル酸ジシクロヘキシルは 6000 ppm までの用量では，F0，F1 親動物の雌雄の一般状態に影響を及ぼさないと考えられる。

11.1.2 体重及び体重増加量（要約表 2.，Tables A8 to A15, B11 to B14, and B16 to B19）

6000 ppm 群では，F0 親動物の雄で投与 7-14 日の体重増加量，F0 親動物の雌の投与 14-70 日の体重及び体重増加量，妊娠 0-20 日の体重，妊娠 7-14 日の体重増加量，哺育 0-21 日の体重が有意な低値，哺育 14-21 日に体重増加量の有意な高値が認められた。F1 親動物の雄で生後 21-133 日の体重，生後 28-91, 126-133 日に体重増加量，F1 親動物の雌の生後 21 日の体重，妊娠 7-20 日の体重，妊娠 7-14 日の体重増加量，哺育 0-14 日の体重に有意な低値，哺育 21 日の体重増加量に有意な高値が認められた。

1200 ppm 群では，F0 親動物の雄で投与 7 日の体重増加抑制，F0 親動物の雌の投与 28，56 日の体重及び体重増加量，妊娠 7-14 日の体重，妊娠 14 日の体重増加量，哺育 0-7 日の体重に有意な低値，哺育 14-21 日の体重増加量に有意な高値が認められた。F1 親動物の雄の生後 70-126 日の体重，生後 70-91，112-126 日の体重増加量，F1 親動物の雌の妊娠 7-20 日の体重に有意な低値が認められた。

240 ppm 群では、F0 親動物の雌の哺育 0 日に体重の有意な低値が一過性的変化としてみられただけで、その後は対照群と同様に推移したことから、偶発変化と判断した。また、F0 親動物の雄及び F1 親動物の雌雄では対照群とほぼ同様に推移した。

結論：フタル酸ジシクロヘキシルは 1200 ppm 以上の用量で F0 及び F1 親動物の雌雄ともに体重増加抑制を誘発させるものと考えられる。

11.1.3 摂餌量（要約表 2. , Tables A16 to A18 and B20 to B22）

6000 ppm 群では、F0 親動物の雌で投与 14, 21, 49 日、妊娠 7, 14 日、F1 親動物の雄で生後 28, 56, 70-91 日の摂餌量に有意な低値が認められた。F0 親動物の雄及び F1 親動物の雌では摂餌量に変化は認められなかった。

1200 ppm 群では、F1 親動物の雄の生後 70-91 日の摂餌量に有意な低値が認められた。なお、F0 親動物の雌は妊娠 14 日に一過性的摂餌量の有意な低値がみられたが、それ以降の摂餌量に変化はなく、さらに交配前期間及び哺育期間においても変化がないことから、被験物質投与と関連のない偶発変化と判断された。F0 親動物の雌の哺育 4, 21 日には摂餌量の有意な高値が認められたが、6000 ppm 群ではみられなかったことから、被験物質投与と関連のない偶発変化と判断された。F0 親動物の雄及び F1 親動物の雌では摂餌量に変化は認められなかった。

240 ppm 群では、F0 及び F1 親動物の雌雄とも摂餌量に変化は認められなかった。

結論：フタル酸ジシクロヘキシルは F1 親動物の雄で 1200 ppm 以上の用量、F0 親動物の雌では 6000 ppm の用量で摂餌抑制を誘発させるものと考えられる。

11.1.4 摂餌効率（要約表 2. , Tables A19 to A21 and B23 to B25）

6000 ppm 群では、F0 親動物の雄の投与 7 日、F1 親動物の雌の投与 28 日、F1 親動物の雌の妊娠 7 日に有意な低値、F0 親動物の雌の投与 35 日、F1 親動物の雌の哺育 7, 21 日有意な高値が認められた。

1200 ppm 群では、F0 親動物の雄の投与 7 日、F1 親動物の雄の生後 49, 70, 91 日、F1 親動物の雌の妊娠 7 日に有意な低値、F0 親動物の雌の投与 35 日、F1 親動物の雌の哺育 7 日に有意な高値が認められた。

240 ppm 群では、F1 親動物の雌の哺育 7 日に有意な高値が認められた。

これらの変化は、F0 及び F1 親動物の雌雄ともいずれも一過性的変化あるいは用量に関連しない変化であり、一定の傾向が認められなかったことから被験物質投与と関連のない変化と考えられる。

結論：フタル酸ジシクロヘキシルは 6000 ppm までの用量では、F0 及び F1 親動物の雌雄ともに摂餌効率に明確な変化を及ぼさないと考えられる。

11.1.5 発情期間隔（性周期日数）（要約表 2. , Tables A22 and B30）

6000 ppm 群では，F0 親動物の雌で発情期間隔（性周期日数）の有意な高値がみられたが，対照群と比べわずかに高い数値を示したに過ぎなかった。F1 親動物の雌では有意な差は認められなかった。

240 及び 1200 ppm 群では，F0 及び F1 親動物の雌のいずれにも，発情期間隔に対し被験物質投与の影響は認められなかった。

被験物質投与に関連のない発情期間隔の異常を示した動物が対照群の F1 親動物の雌に 1 例，240 ppm 群の F1 親動物の雌に 2 例認められた。

結論：フタル酸ジシクロヘキシルは 6000 ppm の用量で，F0 親動物の雌に対し発情期間隔（性周期日数）のわずかな延長を誘発するものと考えられる。

11.1.6 繁殖に関する指標（要約表 2. , Tables A22, A24, B30, and B32）

F0 及び F1 親動物のいずれの用量群においても，交尾所要日数，交尾成立までに逸した発情期の回数，交尾率，受胎率，妊娠期間，出産率，出生率及び着床数に統計学的な有意な差は認められなかった。また，分娩及び哺育の観察結果においても被験物質投与の影響は認められなかった。なお，6000 ppm 群の F1 親動物で交尾率及び受胎率にやや低値傾向がみられたが，雄の剖検で精巢の軟化及び小型化を示した個体が 3 例認められたことによるものと考えられた。これら以外の同群の親動物では正常に交尾及び妊娠が確認され，被験物質投与の影響は認められなかった。

結論：フタル酸ジシクロヘキシルは 6000 ppm までの用量で，F0 及び F1 親動物の雌の妊娠，分娩に関する繁殖指標に影響を及ぼさないと考えられる。

11.1.7 精子検査（要約表 2. , Table A23 , B31）

F1 親動物の雄において，1200 及び 6000 ppm 群で精巢の精子数（精子細胞数）に有意な低値が認められた。なお，6000 ppm 群の F1 親動物の雄では精巢の軟化及び小型化が 1 例みられ，精子検査で精子は認められなかった。F0 親動物の雄では，6000 ppm 群でも精子運動率（運動精子率），精巢の精子数（精子細胞数），精巢上体尾部の精子数，異常形態精子の出現率（形態異常精子率）に対する被験物質投与の影響は認められなかった。

結論：フタル酸ジシクロヘキシルは 1200 ppm 以上の用量で F1 親動物の雄において，精巢の精子数（精子細胞数）に影響を及ぼすものと考えられる。

11.1.8 臓器重量（要約表 2. , Tables A25, A26, B34, and B36）

6000 ppm 群では，F0 親動物の雌雄で肝臓の絶対及び相対重量，F0 親動物の雄で甲状腺の絶対及び相対重量に有意な高値，F1 親動物の雄で前立腺の絶対及び相対重

量の有意な低値が認められた。また、F0 親動物の雌で甲状腺、F1 親動物の雌雄で肝臓の相対重量のみに有意な高値がみられたが、絶対重量の数値が高値傾向を示したことから、F0 親動物の雌の甲状腺及び F1 親動物の雌雄の肝臓においても重量増加を示すものと考えられる。

240 及び 1200 ppm 群では、F0 及び F1 親動物の雌雄とも明確な変化は認められなかった。

その他、6000 ppm 群では、F0 親動物の雄で腎臓の相対重量、F0 親動物の雌で脳、腎臓及び副腎の相対重量、F1 親動物の雄で脳、下垂体、精巣の相対重量の有意な高値、F1 親動物の雄で腎臓、精嚢腺、精巣上体の絶対重量に有意な低値が認められた。1200 ppm 群では、F0 親動物の雌で脳、肝臓及び腎臓の相対重量、F1 親動物の雄で脳、精巣の相対重量の有意な高値、F1 親動物の雄で甲状腺、肝臓、腎臓、副腎、前立腺の絶対重量の有意な低値が認められた。240 ppm 群では、F1 親動物の雄で精巣の相対重量の有意な高値、F1 親動物の雄で前立腺の絶対重量の有意な低値が認められた。いずれも相対重量あるいは絶対重量の一方のみの変化であったことから、剖検時の体重差による見かけ上の増加あるいは減少と思われ、被験物質投与に起因する変化ではないと考えられる。

結論：フタル酸ジシクロヘキシルは 6000 ppm の用量で、F0 及び F1 親動物の雌雄ともに肝臓、F0 親動物の雌雄で甲状腺の重量を増加させ、F1 親動物の雄では前立腺重量を減少させる。

11.1.9 剖検及び病理組織学的検査（要約表 2. , Table A27, A28, B38, and B39）

剖検において、肝臓の腫大が 6000 ppm 群の F0 及び F1 親動物の雌雄、1200 ppm 群の F1 親動物の雌で認められた。精巣の軟化及び小型化が 6000 ppm 群の F1 親動物の雄で認められた。

病理組織学的検査において、被験物質投与に起因すると考えられる変化が、F0 及び F1 親動物の雌雄の肝臓及び甲状腺と雄の腎臓、F1 親動物の雄の精巣に認められた。

肝臓のびまん性肝細胞肥大が 1200 ppm 以上の群の F0 親動物の雌雄、6000 ppm 群の F1 親動物の雌雄に認められた。

甲状腺ろ胞上皮細胞の肥大が 1200 ppm 以上の群の F0 親動物の雄と 6000 ppm 群の F0 親動物の雌及び 6000 ppm 群の F1 親動物の雌雄に認められた。肥大したろ胞上皮細胞は高円柱状で、このような細胞で裏打ちされるろ胞ではコロイド含量が少なかった。また、正常のろ胞腔はほぼ円形であるのに対し、肥大例のそれはしばしば不整形を呈した。

腎臓の近位尿細管上皮の硝子滴発現増強が 6000 ppm 群の F0 及び F1 親動物の雄で認められた。硝子滴発現の強い例（中等度）では、好酸性小体の出現を伴っていた。中等度の硝子滴発現は F0 及び F1 親動物の雄の対照群と 240 ppm 群でも各 1 例認め

られたが、6000 ppm 群における中等度例はその発現例数の増加があった。

F1 親動物の雄において、精巣のびまん性精細管萎縮が 6000 ppm 群の 3 例、限局性精細管萎縮が対照群の 1 例、1200 ppm 群の 2 例及び 6000 ppm 群の 6 例に認められ、6000 ppm 群において精巣萎縮性変化の発現例数及び程度の増強があった。びまん性精細管萎縮が認められた 3 例では精巣上体管内に精子が認められなかった。しかし、これ以外に被験物質投与に関連する変化はなかったことから、精巣上体管内の精子減数は精巣の精細管萎縮に随伴する変化と判断した。なお、F0 親動物の雄では限局性精細管萎縮が対照群と 6000 ppm 群で各 1 例に認められるにすぎず、両群間の発現状況に差はなかった。

この他、種々の組織変化が F0 及び F1 親動物の対照群を含む各用量群で認められた。しかし、それらはいずれもラットで自然発生性に認められるもので、発現の状況に明らかな群間の差がみられないことから被験物質とは関連のない変化と判断した。
結論：フタル酸ジシクロヘキシルは 1200 ppm 以上の用量の F0 親動物の雌雄、6000 ppm の F1 親動物の雌雄で肝臓のびまん性肝細胞肥大、1200 ppm 以上の用量の F0 雄、6000 ppm の F0 親動物の雌及び F1 親動物の雌雄で甲状腺ろ胞上皮細胞の肥大、6000 ppm の F0 及び F1 親動物の雄で腎臓の近位尿細管上皮の硝子滴発現増強、6000 ppm の F1 親動物の雄で精巣のびまん性精細管萎縮を誘発するものと考えられる。

11.1.10 血清中ホルモンレベル測定（要約表 2，Table A29，B40）

1200 ppm 群の F0 親動物の雄でテストステロンの有意な高値、240 ppm 群の F1 親動物の雌で FSH の有意な低値が認められた。これらの変化はいずれも 6000 ppm 群では認められていないことから、被験物質投与に関連のない変化と判断された。

結論：フタル酸ジシクロヘキシルは 6000 ppm の用量でもテストステロン、エストラジオール、FSH 及び LH に影響を及ぼさないと考えられる。

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 B5, and C2）

F1 及び F2 仔動物では、いずれの用量群においても、被験物質投与に関連する変化は認められなかった。

結論：フタル酸ジシクロヘキシルは 6000 ppm までの用量では、F1 及び F2 仔動物の雌雄ともに一般状態に影響を及ぼさないと考えられる。

11.2.2 体重（要約表 2，Tables B10, B15, C3, and C4）

6000 ppm 群では、F1 仔動物では雌雄で生後 0-21 日の体重、雄で生後 7-21 日及び雌で 4-21 日の体重増加量、F2 仔動物では雌雄で生後 21 日の体重、生後 14-21 日の体重増加量に有意な低値が認められた。

240 及び 1200 ppm 群の F1 並びに F2 仔動物の雌雄とも，対照群とほぼ同様に推移した。

結論：フタル酸ジシクロヘキシルは 6000 ppm の用量で F1 及び F2 仔動物の雌雄とも，体重増加抑制を誘発させるものと考えられる。

11.2.3 出産仔数，性比，生存率，肛門生殖突起間距離，乳頭発現，反射反応性検査及び外表検査（要約表 2.，Tables B4, B26, B29, B41, C1, C5, C8, and C12）

6000 ppm 群の F1 及び F2 仔動物の雄において，肛門生殖突起間距離（肛門・生殖結節間距離）並びに体重の 3 乗根で除した相対距離（相対距離と略す）ともに有意な低値がみられ，乳輪の発現も認められた。

1200 ppm 群の F2 仔動物の雄において，肛門生殖突起間距離並びに相対距離ともに有意な低値がみられ，乳輪の発現も認められた。

240 ppm 群では変化は認められなかった。

その他，F1 及び F2 仔動物の出産仔数，哺育 0，4 及び 21 日の生存率，反射反応性検査及び外表異常には，いずれの用量群においても被験物質投与に関連する変化は認められなかった。

結論：フタル酸ジシクロヘキシルは 6000 ppm 群の F1 仔動物の雄及び 1200 ppm 以上の群の F2 仔動物の雄で，肛門生殖突起間距離（AGD）の短縮，並びに乳輪の発現を誘発させるものと考えられる。

11.2.4 発育分化（要約表 2.，Tables B27, B28, C6, and C7）

F1 及び F2 仔動物の雌雄とも耳介開展（耳介展開）発現率，切歯萌出（上切歯萌出）及び眼瞼開裂の発現日，F1 仔動物の雌の膈開口及び発現日の体重，F1 仔動物の雄の包皮分離の発現日及び発現日の体重のいずれにも，被験物質投与に関連する変化は認められなかった。なお，6000 ppm 群の F1 仔動物の雄で包皮分離の発現日の体重に有意な低値を示したが，発現日に差はなく，生後 0 日から体重増加抑制がみられていることから，体重増加抑制を示すものの性成熟に対しては影響を及ぼさないと考えられる。

結論：フタル酸ジシクロヘキシルは 6000 ppm の用量まで，F1 及び F2 仔動物の雌雄とも発育分化に影響を及ぼさないと考えられる。

11.2.5 臓器重量（要約表 2.，Table2 B33, B35, C9, and C10）

6000 ppm 群では，F1 仔動物の雄で胸腺，F1 及び F2 仔動物の雄で脾臓の絶対重量の有意な低値，F1 及び F2 仔動物の雄で脳の相対重量の有意な高値，F1 仔動物の雌で脳，脾臓の絶対重量の有意な低値，F1 及び F2 仔動物の雌で脳の相対重量の有

意な高値が認められた。いずれも絶対重量あるいは相対重量の一方のみの変化，あるいは相反する変化であり，被験物質投与による体重増加抑制に起因するものと考えられた。

1200 ppm 以下の群では，被験物質投与に起因する変化は認められなかった。

結論：フタル酸ジシクロヘキシルは 6000 ppm までの用量では，F1 及び F2 仔動物の雌雄とも臓器重量に直接的な影響を及ぼさないと考えられる。

11.2.6 剖検（要約表 2.，Tables B37 and C11）

腎盂拡張が F1 仔動物の雄で対照群，240 ppm 群及び 6000 ppm 群でそれぞれ 2 例，雌で対照群，240 ppm 群及び 1200 ppm 群でそれぞれ 1 例，腎臓の形成不全が F2 仔動物の雄で対照群の 1 例にみられ，いずれも 1-2 例の変化であること，用量と関連がないことから被験物質投与による変化ではないと考えられる。なお，哺育期間に死亡した F2 仔動物の 1 例では，異常は認められなかった。

結論：フタル酸ジシクロヘキシルは 6000 ppm までの用量では，F1 及び F2 仔動物の雌雄ともに剖検結果に影響を及ぼさないと考えられる。

11.3 無影響量（NOEL）及び無毒性量（NOAEL）に関する考察

F0 及び F1 親動物に対する影響に関して，1200 ppm 以上の用量で体重増加抑制，摂餌抑制，肝臓のびまん性肝細胞肥大，甲状腺ろ胞上皮細胞の肥大，6000 ppm の用量で肝臓及び甲状腺重量の増加，雄で腎臓の近位尿細管上皮の硝子滴発現増強，F1 親動物の雄で前立腺重量の減少並びに精巣のびまん性又は限局性精細管萎縮が認められた。その他，一般状態及び摂餌効率にはフタル酸ジシクロヘキシルの影響は認められなかった。

肝細胞肥大は種々の化学物質の投与によってしばしば惹起される変化で，一般に薬物代謝酵素誘導による生体の適応性変化と考えられている^{3,4)}。フタル酸ジシクロヘキシルをラットに 7 日間反復経口投与した試験でも肝細胞肥大とチトクローム P-450 をはじめとするいくつかの肝酵素活性の増強が報告されている⁵⁾。これらのことから，本試験でみられた肝臓の変化も薬物代謝酵素の誘導が惹起された際に起こる生体内の適応反応によるものと推察される。

甲状腺ろ胞上皮細胞の肥大または増生も肝臓の薬物代謝酵素誘導と関連して惹起されることがあり，肝臓での甲状腺ホルモンの代謝・分解の亢進によるものとされており⁶⁾，肝細胞肥大に付随する変化と考えられる。

腎臓の近位尿細管上皮の硝子滴発現増強が F0 及び F1 親動物の雄の 6000 ppm 群で認められ，好酸性小体の出現を伴っていた。近位尿細管上皮の硝子滴は蛋白質が尿細管上皮に再吸収されることで発現し，特に雄ラットでは 2U グロブリン由来の硝子滴が加齢に伴って増加することの他，種々の化学物質の投与によっても増強する

ことが知られている⁷⁾。また、しばしば硝子滴の増強と同時に好酸性小体も認められ、その構造は 2U グロブリンを含むものであることが知られている⁸⁾。このことから、硝子滴及び好酸性小体はいずれも 2U グロブリンを含む硝子滴の増加と考えられ、フタル酸ジシクロヘキシルの影響が示唆された。

精巣の精細管萎縮は、F1 親動物の雄の 6000 ppm 群の発現例数が 22 例中 9 例に及び、このうち 3 例はびまん性の萎縮で、精巣萎縮性変化の発現例数と程度の増強があった。フタル酸エステルをラットやマウスに投与すると精細管萎縮が惹起されることが知られており^{9,10)}、フタル酸ジシクロヘキシルを 2500 mg/kg の用量で 7 日間投与したラット 5 例中 1 例に限局性の精細管萎縮がみられたと報告されている⁵⁾。このことから、本変化はフタル酸ジシクロヘキシルの影響と考えられる。

前立腺重量の減少については、ハーシュバーガー試験でフタル酸ジシクロヘキシルを投与しても雄性副生殖器官重量に変化はみられず、アンドロゲン様活性及び抗アンドロゲン様活性は発現しないとの報告がある¹¹⁾。雄性副生殖器官重量を指標とし、外来性アンドロゲンに対する感受性(受容体結合)を利用するハーシュバーガー試験の検出系を考えると、本試験の前立腺重量の減少はアンドロゲンレセプターを介さない変化と考えられる。

F0 及び F1 親動物に対する生殖毒性学的影響に関して、6000 ppm 群の F0 親動物の雌で発情期間隔のわずかな延長、1200 及び 6000 ppm 群の F1 親動物の雄で精巣の精子数(精子細胞数)の減少が認められた。その他、分娩、哺育の観察、血中ホルモンレベルにはフタル酸ジシクロヘキシルの影響は認められなかった。

発情期間隔のわずかな延長が認められたが、制限給餌を行い体重増加抑制を誘発させると発情期間隔が延長することが報告されている¹²⁾。F0 親動物の雌では体重増加抑制及び摂餌量抑制が顕著で F1 親動物の雌より強く誘発されていることから、体重増加抑制に伴った二次的影響と推察される。また、子宮増殖アッセイにおいて、エストロゲン様活性及び抗エストロゲン様活性を有しない¹¹⁾ことから、本変化はフタル酸ジシクロヘキシルの内分泌系への直接的な影響によるものではないと考えられる。

精巣の精子数の減少については、F1 親動物の雄の 6000 ppm 群で精細管萎縮がみられていることから、それに伴う変化と考えられる。1200 ppm 群では組織学的変化を示さない精子数の減少であった。なお、精子数の減少がみられたものの、交尾能及び受胎能に変化がなかったことから、繁殖機能への影響はないと考えられる。

F1 及び F2 仔動物に対する影響としては、6000 ppm 群の雌雄で体重増加抑制、6000 ppm 群の F1 仔動物の雄及び 1200 ppm 以上の群の F2 仔動物の雄で肛門生殖突起間距離 (AGD) の短縮、並びに乳輪の発現が認められた。なお、乳頭検査では雌で見られるような乳頭は観察されず、乳輪のみが認められたことから、その影響の程度としては軽度なものと推察される。その他、一般状態、出生仔数、性比、生存率、発育分化、反射反応性検査、外表検査、臓器重量及び剖検では、フタル酸ジシクロヘキシルの影響は認められなかった。

被験物質が属するフタル酸エステル類では、仔動物の雄に AGD の短縮、乳頭発現

が観察されており¹³⁾、本試験も同様な変化が認められている。フタル酸ジ(n-ブチル)は、アンドロゲンレセプターを介した抗アンドロゲン作用でなく、胎仔におけるテストステロンの合成を減少させることにより、結果的に抗アンドロゲン様活性を示すとの報告がある¹⁴⁾。このことから、フタル酸ジシクロヘキシルも同様の作用で仔動物の雄において、AGDの短縮及び乳輪が発現したものと推察される。

以上のように、本試験条件下において6000 ppm群のF1仔動物の雄及び1200 ppm以上の群のF2仔動物の雄で内分泌系への影響が認められたことから、フタル酸ジシクロヘキシルは次世代の雄に対し、内分泌かく乱作用を有することが示唆された。

したがって、フタル酸ジシクロヘキシルを2世代にわたってラットに投与した場合、内分泌系への影響を含めた親動物に対する影響に関して、無影響量(NOEL)及び無毒性量(NOAEL)は240 ppm(F0親動物の雄; 15.88 mg/kg/day相当, F0親動物の雌; 20.80 mg/kg/day相当, F1親動物の雄; 17.84 mg/kg/day相当, F1親動物の雌; 20.95 mg/kg/day相当)、親動物に対する生殖毒性学的影響に関して、無影響量(NOEL)及び無毒性量(NOAEL)は雄で240 ppm, 雌で1200 ppm(F0親動物の雌; 104.19 mg/kg/day相当, F1親動物の雌; 107.15 mg/kg/day相当)、仔動物に対する影響としては、無影響量(NOEL)及び無毒性量(NOAEL)は雄で240 ppm, 雌で1200 ppmであった。

12.文献

- 1) HSDB (2001) Hazardous Substance Data Bank, National Library of Medicine.
- 2) CERI (化学物質評価研究機構) (2001a) 平成12年度産業経済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) Gopinath C, Prentice, DE, Lewis DJ. (1987): The liver. Morphological lesions in the liver. Hypertrophy. In: Gopinath C, Prentice, DE, Lewis DJ, editors. Atlas of experimental toxicological pathology. Lancaster: MTP Press Limited; p.53.
- 4) Greaves P. Digestive system 2. (1990): Liver. Hepatocellular hypertrophy and hyperplasia. In: Greaves P, editor. Histopathology of preclinical toxicity studies. Amsterdam: Elsevier; p.403-6.
- 5) Lake BG, Foster JR, Collins MA, Stubberfield CR, Gangolli SD, Srivastava SP. (1982): Studies on the effects of orally administered dicyclohexyl phthalate in the rat. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)*. 51. 217-26.
- 6) Gopinath C, Prentice DE, Lewis DJ. (1987): The endocrine glands. Thyroid. In: Gopinath C, Prentice DE, Lewis DJ, editors. Atlas of experimental toxicological pathology. Lancaster: MTP Press Limited; p. 112-3.
- 7) Greaves P. Urinary tract. Kidney. Hyaline droplets. (1990): Greaves P, editor. Histopathology of preclinical toxicity studies. Amsterdam: Elsevier; p. 532-8.
- 8) 渡辺満利, 西川秋佳. 腎臓. 非腫瘍性病変. 前川昭彦, 責任編集者. 毒性病理組織学. 名古屋: 日本毒性病理学会; 2000. p. 250-4.

- 9) Gopinath C, Prentice DE, Lewis DJ. The reproductive system. Male reproductive system. Testis and epididymis. In: Gopinath C, Prentice DE, Lewis DJ, editors. Atlas of experimental toxicological pathology. Lancaster: MTP Press Limited; 1987. p. 97-100.
- 10) 神鳥仁志, 茶谷文雄, 宮嶋宏彰. 雄性生殖器. 非腫瘍性病変. 精巣. 前川昭彦, 責任編集者. 毒性病理組織学. 名古屋: 日本毒性病理学会; 2000. p. 287-91.
- 11) CERI (化学物質評価研究機構) (2001b) 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
- 12) Chapin, R.E., Gulati, D.K., Barnes, L.H., and Teague, J.L. (1993): The Effects of Feed Reproductive Function in Sprague-Dawley Rats. *Fundam. Appl. Toxicol.* 20, 23-29.
- 13) Gray, L.E., *et al.* (2001): Effects of environmental antiandrogens on reproductive development in experimental animals. *Human Reproduction Update*, 7, 248-264.
- 14) Shultz, V.D., *et al.* (2001): Altered Gene Profiles in Fetal Rat Testes after *in Utero* Exposure to Di(n-butyl) Phthalate. *Toxicol. Sci.* 64, 233-242.

表 2. 試験結果の概要

世代		親動物：F0				親動物：F1				仔動物：F2					
投与量 (ppm)		0	240	1200	6000	0	240	1200	6000	0	240	1200	6000		
検査動物数		雄	24	24	24	24	20	23	20	22	20	23	20	22	
		雌	24	24	24	24	20	23	20	22	20	23	20	22	
被験物質摂取量 (mg/kg/day)		雄	全試験期間	0	15.88	79.57	401.8	0	17.84	89.89	457.4	0	17.84	89.89	457.4
		雌	全試験期間(A)	0	20.80	104.19	510.7	0	20.95	107.15	534.2	0	20.95	107.15	534.2
			育成期間	0	17.70	88.83	434.6	0	19.27	98.88	483.0	0	19.27	98.88	483.0
			妊娠期間	0	14.30	69.77	349.0	0	14.11	72.41	350.9	0	14.11	72.41	350.9
			哺育期間	0	37.92	191.6	932.8	0	33.70	170.6	896.7	0	33.70	170.6	896.7
死亡		雄	0/24	0/24	0/24	0/24	0/20	0/23	0/20	0/22	0/20	0/23	0/20	0/22	
		雌	0/24	0/24	0/24	0/24	0/20	1/23 ¹⁾	0/20	1/22 ²⁾	0/20	1/23 ¹⁾	0/20	1/22 ²⁾	
親動物	一般状態	雄	歯の欠損	0/24	0/24	0/24	1/24	0/20	0/23	0/20	0/22	0/20	0/23	0/20	0/22
			不正咬合	0/24	0/24	0/24	1/24	0/20	0/23	0/20	0/22	0/20	0/23	0/20	0/22
			脱毛	0/24	1/24	0/24	1/24	0/20	0/23	1/20	0/22	0/20	0/23	1/20	0/22
		雌	痂皮形成	0/24	1/24	0/24	0/24	0/20	0/23	1/20	0/22	0/20	0/23	1/20	0/22
			脱毛	1/24	2/24	3/24	5/24	4/20	2/23	0/20	1/22	0/20	2/23	0/20	1/22
			咬創	0/24	0/24	1/24	0/24	0/20	0/23	0/20	0/22	0/20	0/23	0/20	0/22
	体重増加量(g) [Mean ± S.D.] (B)	雄	全試験期間	332.3 ± 42.6	323.7 ± 36.6	320.2 ± 21.8 ³⁾	314.1 ± 32.4 ⁴⁾	474.1 ± 36.1	462.3 ± 42.3	432.0 ± 31.3 ²²⁾	428.6 ± 26.9 ¹⁸⁾	474.1 ± 36.1	462.3 ± 42.3	432.0 ± 31.3 ²²⁾	428.6 ± 26.9 ¹⁸⁾
		雌	育成期間	161.0 ± 15.4	155.7 ± 16.3	150.9 ± 19.5 ⁸⁾	143.2 ± 15.2 ⁵⁾	239.5 ± 25.1	239.9 ± 23.1	232.1 ± 21.3	235.6 ± 23.6	239.5 ± 25.1	239.9 ± 23.1	232.1 ± 21.3	235.6 ± 23.6
	摂餌量(g) (C)	雄	妊娠期間	144.1 ± 16.7	143.2 ± 13.9	139.1 ± 15.6 ¹²⁾	134.7 ± 13.3 ¹¹⁾	151.1 ± 17.5	152.1 ± 16.3	146.6 ± 19.0	136.8 ± 20.6 ¹¹⁾	151.1 ± 17.5	152.1 ± 16.3	146.6 ± 19.0	136.8 ± 20.6 ¹¹⁾
			哺育期間	-14.8 ± 19.5	-5.0 ± 14.2	3.4 ± 14.8 ¹⁵⁾	7.7 ± 11.7 ¹⁵⁾	-13.7 ± 16.2	-12.3 ± 18.3	-13.8 ± 16.9	6.4 ± 14.9 ¹⁶⁾	-13.7 ± 16.2	-12.3 ± 18.3	-13.8 ± 16.9	6.4 ± 14.9 ¹⁶⁾
全試験期間			19.0-23.0	19.6-23.3	19.2-23.1	19.2-23.1	11.7-27.2	11.9-26.8	11.4-25.1 ²¹⁾	10.2 -24.9 ¹⁹⁾	19.0-23.0	19.6-23.3	19.2-23.1	19.2-23.1	
摂餌効率(% (C)	雄	育成期間	14.8-15.8	15.1-15.8	15.0-15.1	14.7-14.9 ⁶⁾	10.2-17.0	10.9-18.3	10.6-17.8	9.5-17.0	14.8-15.8	15.1-15.8	15.0-15.1	14.7-14.9 ⁶⁾	
		妊娠期間	20.2-21.3	20.1-21.3	18.9-20.7 ¹²⁾	18.0 -20.8 ¹¹⁾	21.3-23.2	21.7-23.6	21.4-23.5	20.0-22.4	20.2-21.3	20.1-21.3	18.9-20.7 ¹²⁾	18.0 -20.8 ¹¹⁾	
		哺育期間	26.6-66.2	29.3-68.1	30.2 -69.8 ¹⁷⁾	28.4-64.2	29.0-71.6	28.9-69.6	28.4-70.6	29.1-69.4	26.6-66.2	29.3-68.1	30.2 -69.8 ¹⁷⁾	28.4-64.2	
摂餌効率(% (C)	雌	全試験期間	44.14-8.01	43.32-9.63	39.95 -8.09 ³⁾	38.35 -9.43 ³⁾	54.81-11.48	54.12-9.72	57.15-9.09 ²⁰⁾	58.13-9.88	44.14-8.01	43.32-9.63	39.95 -8.09 ³⁾	38.35 -9.43 ³⁾	
		育成期間	34.70-4.81	32.74-6.02	32.16-4.11 ⁹⁾	30.89-5.92 ⁹⁾	48.65-7.03	49.28-9.55	47.83-5.19	52.40-6.78 ⁷⁾	34.70-4.81	32.74-6.02	32.16-4.11 ⁹⁾	30.89-5.92 ⁹⁾	
		妊娠期間	25.89-58.16	25.79-60.35	24.29-60.94	22.99-60.71	25.81-56.36	23.35-57.97	22.70 -55.62 ¹⁰⁾	21.96 -56.47 ¹⁰⁾	25.89-58.16	25.79-60.35	24.29-60.94	22.99-60.71	
哺育期間	7.57- -4.55	10.98- -4.39	11.16- -3.44	10.31- -2.56	1.94- -5.35	2.44- -5.51 ¹³⁾	-1.23- -5.85 ¹³⁾	4.54- -3.27 ¹⁴⁾	7.57- -4.55	10.98- -4.39	11.16- -3.44	10.31- -2.56			

(A) 雌の育成, 妊娠及び哺育期間の平均値より算出。(B) 各期間の最終体重増加量を示す。(C) 各期間の初回-最終の値を示す。

1) 分娩中, 妊娠 25 日に死亡。2) 生後 26 日に死亡。

3) 投与 7 日に有意な低値。4) 投与 7-14 日に有意な低値。5) 投与 14-70 日に有意な低値。6) 投与 14, 21, 49 日に有意な低値。7) 投与 28 日に有意な低値。8) 投与 28, 56 日に有意な低値。

9) 投与 35 日に有意な高値。10) 妊娠 7 日に有意な低値。11) 妊娠 7-14 日に有意な低値。12) 妊娠 14 日に有意な低値。13) 哺育 7 日に有意な高値。14) 哺育 7, 21 日に有意な高値。

15) 哺育 14-21 日に有意な高値。16) 哺育 21 日に有意な高値。17) 哺育 4, 21 日に有意な高値。18) 生後 28-91, 126-133 日に有意な低値。19) 生後 28, 56, 70-91 日に有意な低値。

20) 生後 49, 70, 91 日に有意な低値。21) 生後 70-91 日に有意な低値。22) 生後 70-91, 112-126 日に有意な低値。

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

表 2. 試験結果の概要 (続き-1)

世代			親動物：F0				親動物：F1				仔動物：F1				仔動物：F2					
投与量 (ppm)			0	240	1200	6000	0	240	1200	6000	0	240	1200	6000	0	240	1200	6000		
親動物	繁殖能力 [Mean ± S.D.]	雄	性成熟	検査動物数	*	*	*	*	20	23	20	22								
				包皮分離達成日齢	*	*	*	*	40.6±1.0	40.6±1.2	40.0±0.9	41.4±1.6								
				包皮分離時体重(g)	*	*	*	*	225.3±17.3	225.1±12.5	218.9±15.4	212.5±13.8								
		交尾率				22/24	23/24	22/24	23/24	19/20	23/23	20/20	19/21							
		精子検査	雄	検査動物数				10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
				精子数	精巣 (x 10 ⁶)				110.6±9.02	*	*	104.8±9.34	104.0±12.66	93.4±10.27	88.6±10.32	79.2±30.29 ²³⁾				
	精巣上体尾部				766.5±102.77	*	*	745.0±87.98	728.4±88.07	*	*	599.7±219.22 ²³⁾								
	精子運動率(運動精子率)(%)				90.7±4.81	89.1±5.95	87.9±6.45	87.4±7.71	90.7±4.45	92.8±3.55	88.7±6.57	80.7±28.66 ²³⁾								
	異常形態精子発現率 (精子形態異常)(%)				0.5±0.47	*	*	1.0±0.96	0.2±0.26	*	*	0.3±0.36								
	繁殖能力 [Mean ± S.D.]	雌	性成熟	検査動物数	*	*	*	*	20	23	20	21								
				膣開口日齢	*	*	*	*	32.6±1.4	31.7±1.7	32.0±1.5	32.5±1.6								
				膣開口時体重(g)	*	*	*	*	122.0±11.0	121.1±10.8	118.0±12.9	116.7±8.3								
発情期間隔 (性周期日数)(日)				4.04±0.14	4.06±0.22	4.00±0.00	4.25±0.42	4.18±0.38	4.14±0.32	4.21±0.38	4.33±0.46									
性周期異常動物の発現率				0/24	0/24	0/24	0/24	1/20	2/23	0/20	0/21									
交尾所要日数				2.3±1.3	2.0±1.4	2.5±1.1	2.1±1.2	3.2±1.2	2.5±1.5	1.9±1.2	2.9±2.3									
交尾成立までに逸した発情期の回数				0.0 ²⁴⁾	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0								
交尾率				22/24	23/24	22/24	23/24	19/20	23/23	20/20	19/21									
受胎率				20/22	23/23	20/22	22/23	19/19	22/23	19/20	17/19									
出産率				20/20	23/23	20/20	22/22	19/19	22/22	19/19	17/17									
出生率(%)				95.85	94.35	94.73	92.55	90.91	92.89	94.46	93.55									
妊娠期間 (日)				21.9±0.4	22.0±0.6	22.1±0.5	21.9±0.3	21.9±0.2	21.9±0.4	21.7±0.5	22.0±0.5									
着床数				14.4±2.5	14.4±2.4	14.6±2.2	15.0±1.4	15.9±2.1	15.5±1.6	14.9±2.6	14.3±2.9									
出産仔数				13.8±2.6	13.9±2.6	13.9±2.2	14.0±1.6	14.6±2.2	14.7±1.6	14.2±2.6	13.8±2.8									
出生仔数				13.8±2.6	13.7±2.8	13.8±2.2	13.8±1.5	14.5±2.3	14.4±1.5	14.1±2.6	13.3±2.5									
臓器重量 [Mean ± S.D.]	雄	検査動物数				24	24	24	24	20	23	20	21							
		絶対重量	脳 (g)				2.153±0.075	2.138±0.081	2.134±0.064	2.113±0.089	2.258±0.075	2.227±0.067	2.239±0.082	2.228±0.076						
			下垂体(mg)				13.33±1.40	13.55±1.51	13.08±1.41	13.30±1.39	16.13±1.76	15.46±2.19	14.71±1.32	15.28±1.29						
			甲状腺(左)(mg)				11.33±2.65	12.48±2.47	11.99±2.11	14.37±4.02	15.11±2.23	13.55±3.30	14.24±4.41	15.06±2.77						
			甲状腺(右)(mg)				11.74±2.54	11.80±2.14	12.31±3.01	12.63±2.79	16.17±3.34	14.24±3.40	13.61±2.44	15.66±2.68						
			肝臓 (g)				15.042±1.911	14.620±1.960	14.596±1.183	18.157±1.730	18.822±2.402	17.374±2.137	16.609±1.691	18.953±2.371						
			腎臓 (右) (g)				1.631±0.145	1.657±0.144	1.629±0.130	1.705±0.181	1.972±0.164	1.874±0.189	1.823±0.134	1.814±0.187						
			副腎(右)(mg)				23.96±3.48	22.68±2.71	24.20±2.48	23.96±3.42	30.31±3.12	28.15±3.89	27.20±2.86	28.02±2.36						
			精巣 (左)(g)				1.613±0.120	1.666±0.157	1.611±0.130	1.624±0.140	1.828±0.123	1.956±0.202	1.894±0.221	1.792±0.357						
			精巣 (右)(g)				1.608±0.134	1.670±0.160	1.606±0.139	1.620±0.131	1.840±0.125	1.956±0.211	1.848±0.131	1.699±0.480						
			前立腺(g)				0.712±0.144	0.640±0.140	0.642±0.173	0.657±0.155	0.707±0.152	0.575±0.133	0.593±0.149	0.508±0.118						
			精嚢腺(g)				2.683±0.337	2.638±0.291	2.713±0.285	2.662±0.281	2.760±0.228	2.633±0.359	2.680±0.353	2.430±0.263						
			精巣上体 (右) (g)				0.610±0.046	0.627±0.047	0.598±0.038	0.605±0.050	0.653±0.053	0.674±0.064	0.632±0.042	0.578±0.119						

23) 精巣の軟化及び小型化が1例観察され、精子検査において精子の認められない動物を含む。24) 交尾雌動物は初回の発情期にすべて交尾が成立した。

/ 及び / : 統計学的に有意な高値/低値 (それぞれ p < 0.05 及び p < 0.01) * : 検査せず。

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 (ppm)			0	240	1200	6000	0	240	1200	6000	0	240	1200	6000	
親動物	臓器重量 [Mean ± S.D.]	雄	検査動物数	24	24	24	24	20	23	20	21				
			相対重量 (%)	脳	0.425 ± 0.038	0.428 ± 0.037	0.427 ± 0.027	0.428 ± 0.027	0.363 ± 0.028	0.371 ± 0.032	0.399 ± 0.029	0.404 ± 0.022			
				下垂体(x10 ⁻³)	2.63 ± 0.30	2.70 ± 0.35	2.63 ± 0.31	2.68 ± 0.24	2.59 ± 0.28	2.57 ± 0.39	2.63 ± 0.23	2.76 ± 0.19			
				甲状腺(左)(x10 ⁻³)	2.23 ± 0.51	2.48 ± 0.46	2.40 ± 0.43	2.91 ± 0.91	2.43 ± 0.46	2.28 ± 0.65	2.52 ± 0.72	2.72 ± 0.48			
				甲状腺(右)(x10 ⁻³)	2.33 ± 0.51	2.35 ± 0.42	2.46 ± 0.58	2.54 ± 0.50	2.62 ± 0.62	2.38 ± 0.67	2.42 ± 0.49	2.84 ± 0.46			
				肝臓	2.944 ± 0.203	2.898 ± 0.229	2.917 ± 0.177	3.658 ± 0.252	3.004 ± 0.210	2.877 ± 0.195	2.943 ± 0.238	3.423 ± 0.314			
				腎臓(右)	0.321 ± 0.029	0.330 ± 0.024	0.326 ± 0.018	0.343 ± 0.025	0.315 ± 0.019	0.311 ± 0.024	0.324 ± 0.033	0.328 ± 0.027			
				副腎(右)(x10 ⁻³)	4.73 ± 0.71	4.51 ± 0.53	4.85 ± 0.47	4.83 ± 0.65	4.87 ± 0.58	4.68 ± 0.59	4.83 ± 0.44	5.08 ± 0.45			
				精巣(左)	0.319 ± 0.031	0.332 ± 0.035	0.323 ± 0.030	0.328 ± 0.025	0.294 ± 0.025	0.326 ± 0.043	0.336 ± 0.045	0.326 ± 0.065			
				精巣(右)	0.317 ± 0.034	0.334 ± 0.036	0.323 ± 0.030	0.327 ± 0.023	0.295 ± 0.024	0.327 ± 0.047	0.328 ± 0.033	0.308 ± 0.087			
				前立腺	0.141 ± 0.032	0.127 ± 0.024	0.128 ± 0.034	0.134 ± 0.039	0.114 ± 0.027	0.096 ± 0.020	0.106 ± 0.029	0.092 ± 0.024			
				精嚢腺	0.531 ± 0.093	0.526 ± 0.066	0.543 ± 0.045	0.538 ± 0.063	0.444 ± 0.052	0.438 ± 0.058	0.478 ± 0.073	0.441 ± 0.053			
		精巣上体(右)	0.120 ± 0.015	0.125 ± 0.013	0.120 ± 0.009	0.123 ± 0.014	0.105 ± 0.011	0.112 ± 0.011	0.112 ± 0.012	0.104 ± 0.022					
		雌	検査動物数	20	23	20	22	19	22	19	17				
			絶対重量	脳(g)	1.982 ± 0.070	1.994 ± 0.080	2.000 ± 0.064	1.973 ± 0.065	2.058 ± 0.070	2.052 ± 0.075	2.041 ± 0.068	2.036 ± 0.075			
				甲状腺(左)(mg)	10.08 ± 2.15	9.74 ± 1.59	9.91 ± 1.80	11.35 ± 1.39	12.32 ± 3.48	11.35 ± 1.91	12.07 ± 2.30	11.79 ± 2.55			
				甲状腺(右)(mg)	11.13 ± 2.46	11.14 ± 1.90	10.78 ± 2.16	11.89 ± 2.18	14.46 ± 2.92	12.47 ± 2.53	13.33 ± 2.79	13.71 ± 3.16			
				肝臓(g)	10.233 ± 0.994	9.907 ± 0.772	10.298 ± 0.824	11.157 ± 0.995	12.772 ± 1.844	12.326 ± 1.459	12.907 ± 1.697	14.102 ± 1.918			
				腎臓(左)(g)	0.982 ± 0.059	0.996 ± 0.088	1.015 ± 0.081	1.028 ± 0.096	1.181 ± 0.076	1.184 ± 0.104	1.197 ± 0.098	1.181 ± 0.082			
				腎臓(右)(g)	1.005 ± 0.057	1.026 ± 0.090	1.024 ± 0.093	1.045 ± 0.088	1.206 ± 0.073	1.202 ± 0.124	1.205 ± 0.091	1.214 ± 0.120			
				副腎(左)(mg)	35.79 ± 3.40	34.62 ± 4.23	34.78 ± 3.70	37.11 ± 4.24	38.86 ± 4.09	37.79 ± 5.19	38.88 ± 3.27	40.56 ± 6.38			
				副腎(右)(mg)	33.94 ± 3.13	32.12 ± 3.84	32.88 ± 3.47	34.44 ± 3.78	36.62 ± 4.00	35.25 ± 4.80	37.26 ± 4.61	37.72 ± 4.63			
			相対重量 (%)	脳	0.616 ± 0.031	0.641 ± 0.036	0.655 ± 0.041	0.670 ± 0.043	0.613 ± 0.046	0.608 ± 0.041	0.619 ± 0.042	0.638 ± 0.044			
				甲状腺(左)(x10 ⁻³)	3.13 ± 0.68	3.12 ± 0.49	3.23 ± 0.57	3.87 ± 0.54	3.66 ± 1.05	3.36 ± 0.62	3.66 ± 0.74	3.69 ± 0.85			
甲状腺(右)(x10 ⁻³)	3.45 ± 0.81			3.58 ± 0.59	3.54 ± 0.69	4.06 ± 0.83	4.31 ± 0.87	3.69 ± 0.80	4.05 ± 0.91	4.28 ± 1.05					
肝臓	3.174 ± 0.168	3.176 ± 0.171		3.362 ± 0.190	3.779 ± 0.251	3.784 ± 0.455	3.640 ± 0.360	3.902 ± 0.467	4.385 ± 0.393						
腎臓(左)	0.307 ± 0.024	0.318 ± 0.019		0.332 ± 0.023	0.347 ± 0.023	0.351 ± 0.024	0.350 ± 0.027	0.362 ± 0.025	0.369 ± 0.016						
腎臓(右)	0.313 ± 0.026	0.328 ± 0.021		0.335 ± 0.025	0.355 ± 0.020	0.360 ± 0.023	0.355 ± 0.031	0.364 ± 0.028	0.379 ± 0.028						

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

表 2. 試験結果の概要 (続き-3)

世代		親動物：F0		仔動物：F1		親動物：F1		仔動物：F2			
投与量 (ppm)		0	240	1200	6000	0	240	1200	6000		
親動物	死亡動物の病理検査数 ²⁵⁾		*	*	*	*	*	1	*	1	
	検査動物数 (計画解剖)	雄	24	24	24	24	20	23	20	22	
		雌	24	24	24	24	20	22	20	21	
	剖検所見 ²⁶⁾ (計画解剖)	雄	肝臓 腫大	0/24	0/24	0/24	24/24	0/20	0/23	0/20	8/22
			精巢 軟化	0/24	0/24	0/24	0/24	0/20	0/23	0/20	3/22
		雌	肝臓 腫大	0/24	0/24	0/24	7/24	0/20	0/22	1/20	4/21
	病理組織学的 所見 ²⁶⁾ (計画解剖)	雄	肝臓 びまん性肝細胞肥大 +	0/24	0/24	4/24	16/24	0/20	0/23	0/20	14/22
			甲状腺 ろ胞上皮細胞の肥大 +	0/24	0/24	3/24	7/24	0/20	0/23	0/20	7/22
			腎臓 近位尿細管上皮の硝子滴 ++	23/24	22/24	23/24	9/24	19/20	22/23	20/20	14/22
		雌	精巢 びまん性精細管萎縮 +++	-	*	*	-	0/20	0/23	0/20	3/22
			限局性精細管萎縮 +	1/24	*	*	1/24	1/20	0/23	2/20	6/22
			肝臓 びまん性肝細胞肥大 +	0/24	0/24	3/24	12/24	0/20	0/22	0/20	9/21
	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 (ng/mL)	1.92 ± 0.75	2.59 ± 0.45	3.45 ± 0.74	2.04 ± 0.87	2.05 ± 0.75	2.38 ± 1.05	2.74 ± 1.24	2.28 ± 1.28
FSH (ng/mL)			9.88 ± 1.05	10.57 ± 1.54	9.67 ± 1.05	9.60 ± 1.37	8.98 ± 1.32	10.41 ± 2.96	10.08 ± 1.40	10.87 ± 1.62	
LH (ng/mL)			1.82 ± 0.17	1.88 ± 0.13	1.88 ± 0.20	1.97 ± 0.23	2.11 ± 0.24	2.00 ± 0.24	2.03 ± 0.29	1.81 ± 0.48	
雌		検査動物数	6	6	6	6	6	6	6	6	
		エストラジオール (pg/mL)	72.85 ± 23.06	72.22 ± 24.30	72.25 ± 17.60	81.25 ± 13.76	51.28 ± 38.86	82.53 ± 13.24	59.25 ± 15.13	85.80 ± 20.27	
		FSH (ng/mL)	6.47 ± 0.69	5.99 ± 1.04	6.71 ± 0.68	6.27 ± 0.67	8.80 ± 3.10	5.50 ± 0.65	6.27 ± 0.94	5.96 ± 0.82	
		LH (ng/mL)	2.02 ± 0.25	1.85 ± 0.31	1.92 ± 0.20	2.02 ± 0.09	1.58 ± 0.90	1.99 ± 0.35	1.99 ± 0.14	1.80 ± 0.90	

25) F1 世代の 240 及び 6000 ppm 群でそれぞれ 1 例に死亡がみられたが、計画解剖動物と同質の変化はみられず、被験物質投与との関連はないと判断した。認められた変化を以下に示す。

240 ppm 群；剖検所見：胸腺小型化、腎臓褪色、腺胃粘膜のびらん。

組織学的所見：腎臓の近位尿細管壊死、脾臓の白脾髄（リンパろ胞）萎縮及び髄外造血、門脈域周囲肝細胞の脂肪化、腺胃粘膜の巣状壊死、上皮小体の主細胞肥大、

副腎の束状帯細胞肥大、子宮内膜壊死

6000 ppm 群；剖検所見：脾臓の腫大、肺の限局性出血、肝臓の腫大及び暗褐色化、脳の腫脹

組織学的所見：腎臓、肝臓、肺、心臓及び脳に限局性あるいはびまん性炎症性細胞浸潤、腎臓の細菌性塞栓、肺の巣状出血、胸腺萎縮、脾臓の白脾髄（リンパろ胞）の萎縮及び髄外造血、

腸間膜リンパ節のリンパろ胞萎縮

26) 被験物質投与に起因する所見を示す（発現動物数/検査動物数）。 -：所見は認められない。 *：検査せず/死亡なし。

27) 近位尿細管上皮の硝子滴の増強(++)は好酸性小体の出現を含む。

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

表 2. 試験結果の概要 (続き-4)

世代		親動物：F0				仔動物：F1					
投与量 (ppm)		0	240	1200	6000	0	240	1200	6000		
検査腹数 (F)		20	23	20	22	19	22	19	17		
性比 (雄出産仔数 / 総出産仔数)		0.487	0.497	0.487	0.516	0.514	0.498	0.480	0.508		
生存率 (%)	哺育 0 日 (出産時生存率)	100.00	98.08	99.25	98.78	98.89	98.30	99.30	96.45		
	哺育 4 日 (4 日生存率)	98.93	99.09	99.65	98.86	98.91	97.85	96.39	97.89		
	哺育 21 日 (離乳率)	100.00	100.00	100.00	100.00	99.34	100.00	100.00	100.00		
外表異常 (匹/腹)	雄	全出生仔				異常は認められない。					
	雌	全出生仔				異常は認められない。					
一般状態 (哺育 0-21 日, 匹/腹)	雄	全出生仔				異常は認められない。					
	雌	皮膚の裂創	-	-	-	2/1 ²⁸⁾	-	-	-	-	
仔動物	体重(g) [Mean ± S.D.]	雄	哺育 0 日	6.8 ± 0.6	6.8 ± 0.5	6.8 ± 0.4	6.5 ± 0.4	6.8 ± 0.4	6.6 ± 0.5	6.5 ± 0.5	6.6 ± 0.6
			哺育 4 日	11.0 ± 1.2	11.3 ± 1.3	11.4 ± 1.3	10.3 ± 1.0	11.0 ± 0.8	11.0 ± 1.0	10.8 ± 1.1	11.0 ± 1.7
			哺育 7 日	18.5 ± 1.4	18.7 ± 1.6	18.3 ± 1.6	16.7 ± 1.3	18.4 ± 1.3	18.1 ± 1.5	17.8 ± 1.6	18.3 ± 2.2
			哺育 14 日	37.0 ± 2.4	37.2 ± 2.6	36.8 ± 2.1	33.4 ± 2.0	38.5 ± 2.2	37.8 ± 2.5	37.3 ± 2.7	36.2 ± 2.9
			哺育 21 日	62.2 ± 4.5	61.9 ± 4.8	62.6 ± 4.6	55.0 ± 3.8	64.9 ± 4.2	62.8 ± 4.2	62.8 ± 5.0	59.2 ± 5.0
	雌	哺育 0 日	6.5 ± 0.5	6.4 ± 0.5	6.4 ± 0.5	6.1 ± 0.4	6.4 ± 0.4	6.2 ± 0.4	6.2 ± 0.5	6.2 ± 0.6	
		哺育 4 日	10.7 ± 1.1	10.8 ± 1.3	10.8 ± 1.4	9.8 ± 1.2	10.5 ± 0.7	10.4 ± 0.9	10.3 ± 1.2	10.4 ± 1.5	
		哺育 7 日	17.8 ± 1.3	18.0 ± 1.7	17.5 ± 1.7	15.9 ± 1.5	17.6 ± 1.0	17.2 ± 1.3	16.9 ± 1.9	17.5 ± 1.9	
		哺育 14 日	35.9 ± 2.1	36.2 ± 3.0	35.5 ± 2.3	32.0 ± 2.0	37.3 ± 2.1	36.3 ± 2.2	35.8 ± 2.7	35.0 ± 2.6	
		哺育 21 日	59.2 ± 3.7	59.6 ± 4.9	59.4 ± 4.7	52.8 ± 3.2	61.7 ± 3.7	59.3 ± 3.5	59.2 ± 4.4	56.6 ± 4.3	
肛門生殖突起間距離 (肛門・生殖結節間距離, AGD) (生後 4 日) [Mean ± S.D.]	雄	AGD (mm)	4.863 ± 0.522	4.860 ± 0.491	4.757 ± 0.448	4.373 ± 0.354	4.618 ± 0.314	4.494 ± 0.300	4.281 ± 0.365	4.191 ± 0.387	
		AGD/BW ⁻³	2.171 ± 0.216	2.162 ± 0.213	2.107 ± 0.148	2.003 ± 0.151	2.072 ± 0.152	2.020 ± 0.125	1.932 ± 0.158	1.882 ± 0.129	
	雌	AGD (mm)	2.237 ± 0.297	2.355 ± 0.249	2.323 ± 0.310	2.226 ± 0.150	2.066 ± 0.157	2.125 ± 0.161	2.060 ± 0.169	2.188 ± 0.236	
		AGD/BW ⁻³	1.013 ± 0.141	1.059 ± 0.117	1.045 ± 0.114	1.042 ± 0.075	0.943 ± 0.072	0.972 ± 0.063	0.946 ± 0.062	0.998 ± 0.075	
乳頭発現異常 (%) (F1; Day 14) (F2; Day 12)	雄	乳輪発現	0.0	0.0	0.0	16.1	0.0	0.0	18.4	63.2	
	雌	乳頭発現	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
		発現異常 (乳頭消失)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	

/ 及び / : 統計学的に有意な高値/低値 (それぞれ p < 0.05 及び p < 0.01) 28) 異常出生仔数/ 異常出生仔を有する母動物数 - : 所見は認められない。
 (F) 出生仔に関するデータは母動物単位で集計するため検査腹数を表示した。

表 2. 試験結果の概要 (続き-5)

世代			親動物：F0				親動物：F1				親動物：F1				仔動物：F2			
投与量 (ppm)			0				240				1200				6000			
検査腹数 (G)			20				23				20				22			
仔動物	发育分化 (生後形態分化) (完成日齢, %)	耳介開展 (耳介開展) (%)	雄	哺育 2 日	21.2±27.7	34.2±39.0	37.2±39.1	22.1±24.0	16.1±23.4	9.3±20.5	16.8±30.8	25.7±36.5						
				哺育 3 日	87.1±32.4	86.6±30.8	96.7±14.9	92.0±26.0	91.3±24.7	87.8±31.0	75.4±42.5	87.6±29.1						
				哺育 4 日	99.3±3.2	98.9±3.9	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0						
			雌	哺育 2 日	31.1±33.9	33.6±37.8	44.3±39.5	20.3±23.0	29.8±29.2	12.4±19.3	19.8±31.3	26.8±35.1						
				哺育 3 日	87.9±30.1	89.5±27.7	93.8±22.8	92.7±24.3	93.0±23.8	86.1±32.4	76.7±39.1	88.0±28.9						
				哺育 4 日	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	99.5±2.3	99.2±3.5						
		上切歯萌出 (日)	雄	10.7±0.6	10.8±0.9	10.4±0.8	10.5±0.8	11.0±0.8	10.7±0.8	11.1±0.7	10.7±0.9							
			雌	10.8±0.8	10.8±0.9	10.4±0.8	10.5±0.9	11.0±0.9	10.7±0.9	11.3±0.8	10.8±0.8							
		眼瞼開裂 (日)	雄	14.0±0.6	13.8±0.7	13.9±0.6	14.1±0.4	13.9±0.5	13.9±0.6	14.2±0.5	14.0±0.6							
			雌	13.8±0.6	13.6±0.8	13.6±0.5	13.9±0.5	13.8±0.6	13.9±0.5	14.0±0.6	13.8±0.7							
		反射反応 (反射反応性) (生後 19 日, 陽性率) [Mean]	雄	疼痛反応 (%)	100.0 ²⁹⁾	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0						
				背地走性 (%)	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0						
空中正向反射 (%)	100.0			100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0								
耳介反射 (%)	100.0			100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0								
雌	疼痛反応 (%)		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0								
	背地走性 (%)		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0								
	空中正向反射 (%)		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0								
	耳介反射 (%)		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0								
臓器重量 (生後 21 日) [Mean ± S.D.]	雄	検査動物数	20	22	20	22	19	22	19	17								
		絶対重量	脳 (g)	1.517 ± 0.054	1.521 ± 0.055	1.530 ± 0.042	1.497 ± 0.040	1.515 ± 0.048	1.506 ± 0.059	1.500 ± 0.060	1.525 ± 0.081							
			胸腺 (mg)	270.10 ± 39.28	262.25 ± 37.58	261.49 ± 34.82	233.07 ± 28.86	285.17 ± 53.26	251.79 ± 34.70	263.69 ± 46.91	248.24 ± 50.07							
			脾臓 (g)	0.299 ± 0.053	0.325 ± 0.056	0.321 ± 0.062	0.249 ± 0.039	0.357 ± 0.066	0.337 ± 0.051	0.316 ± 0.055	0.295 ± 0.066							
		相対重量 (%)	脳	2.438 ± 0.165	2.452 ± 0.207	2.492 ± 0.176	2.721 ± 0.172	2.289 ± 0.121	2.411 ± 0.151	2.407 ± 0.222	2.567 ± 0.255							
			胸腺 (x10 ⁻³)	431.51 ± 47.84	420.47 ± 51.56	424.50 ± 53.53	422.45 ± 46.58	428.79 ± 70.30	401.42 ± 45.16	418.70 ± 53.77	412.00 ± 51.37							
			脾臓	0.477 ± 0.068	0.519 ± 0.069	0.518 ± 0.078	0.451 ± 0.060	0.537 ± 0.091	0.537 ± 0.074	0.501 ± 0.059	0.491 ± 0.081							
		雌	検査動物数	20	23	20	22	19	22	19	16							
			絶対重量	脳 (g)	1.486 ± 0.040	1.468 ± 0.041	1.477 ± 0.051	1.449 ± 0.025	1.454 ± 0.070	1.449 ± 0.062	1.459 ± 0.062	1.465 ± 0.058						
				脾臓 (g)	0.286 ± 0.056	0.308 ± 0.063	0.298 ± 0.044	0.247 ± 0.033	0.314 ± 0.061	0.324 ± 0.062	0.313 ± 0.066	0.281 ± 0.043						
相対重量 (%)	脳		2.535 ± 0.177	2.483 ± 0.213	2.486 ± 0.196	2.780 ± 0.152	2.408 ± 0.133	2.435 ± 0.136	2.481 ± 0.201	2.626 ± 0.191								
	脾臓	0.485 ± 0.078	0.517 ± 0.089	0.499 ± 0.060	0.472 ± 0.056	0.517 ± 0.084	0.544 ± 0.095	0.527 ± 0.087	0.502 ± 0.072									
死亡仔動物数			*	*	*	*	1/19 ³⁰⁾	*	*	*								
剖検所見 (生後 21 日) (匹/腹)	雄	腎盂拡張	2/20	2/22	-	2/22	-	-	-	-								
		腎臓形成不全	-	-	-	-	1/19	-	-	-								
	雌	腎盂拡張	1/20	1/23	1/20	-	-	-	-	-								

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

(G) 发育分化および反射反応に関するデータは母動物単位で集計するため検査腹数を表示した .

* : 死亡は認められない . - : 所見は認められない . 29) すべての仔動物が反射反応陽性を示した . 30) 哺育 5 日に 1 例死亡, 異常所見なし (死亡仔動物/腹数)