

# 1. 2 世代繁殖毒性試験報告書

- n-ブチルベンゼン -

## n-ブチルベンゼンのラットを用いた繁殖試験

## 1. 要約

n-ブチルベンゼンは、合成中間体及び液晶製造用原料として用いられている。n-ブチルベンゼンにより、ウサギ肝臓チトクロームP450の代謝反応阻害及びラット肝臓チトクロームP450の誘導がみられたと報告されているが<sup>1),2)</sup>、薬物代謝酵素P450関連作用については情報が少なく、内分泌かく乱作用との直接の関連が不明確である。また、ニジマス肝臓エストロゲン受容体への17 エストラジオールの結合阻害及びヒト乳ガン細胞ZR-75の増殖についての検討が行われているが<sup>3)</sup>、エストロゲン作用を有するとは判断されていない。

今回、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、n-ブチルベンゼンを0,30,100及び300 mg/kgの濃度で、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。

親動物に関しては、一般状態において、各用量群のいずれの世代の雌雄親動物にも、n-ブチルベンゼン投与の影響は認められなかった。体重では、F0及びF1雌雄親動物で300 mg/kg群に増加抑制傾向が認められた。摂餌量では、n-ブチルベンゼン投与の影響は認められなかった。繁殖能力に関する指標では、F0親動物にn-ブチルベンゼン投与の影響は認められなかったが、F1親動物では対照群を含むすべての群で交尾率及び受胎率に低下傾向が認められた。しかし、未交尾及び交尾不妊例について実施した生殖器の病理組織学的検査、精巣についてのステージアナリシス、精子検査及びホルモン測定結果を解析したが、未交尾又は交尾不妊例と正常例との間に差は認められず、受胎能に影響を及ぼす要因は何ら認められなかった。何らかの外的要因が各群に均一に影響したと考えることもできるが、今回の試験では試験環境要因の均一性は実証できないため、n-ブチルベンゼンがF1親動物の繁殖能に影響を及ぼすかどうかについて明確な結論を導き出すことはできなかった。このほか、性周期、着床数、出産率、妊娠期間、精子数、精子運動率、異常形態精子の出現率及び性成熟(包皮分離及び膣開口)では、いずれの用量群においてもn-ブチルベンゼン投与に関連する変化は認められなかった。血漿中ホルモン濃度では、いずれの用量群においてもn-ブチルベンゼン投与の影響は認められなかった。臓器重量では、肝臓重量の高値がF0雌親動物で30 mg/kg以上の群、F0雄親動物で100 mg/kg以上の群で見られ、F1雌雄親動物では300 mg/kg群のみに認められた。また、腎臓重量の高値がF0雌雄親動物で300 mg/kg、F1雄親動物で100 mg/kg以上の群、F1雌親動物で300 mg/kg群に、副腎重量の高値あるいは高値傾向がF0及びF1雌親動物で300 mg/kg群に認められた。病理組織学的検査では、肝臓において、300 mg/kg群のF0及びF1雄親動物で小葉中心性の肝細胞肥大、腎臓において、300 mg/kg群のF0雄親動物、100 mg/kg以上の群のF1雄親動物で近位尿細管に硝子滴沈着がみられ、このうち、300 mg/kg群のF0雄親動物、100 mg/kg以上の群のF1雄

親動物では好塩基性尿細管も認められた。

仔動物に関しては、一般状態及び体重では、F1 仔動物では n-ブチルベンゼン投与によると考えられる変化は認められなかった。そのほか、F1 仔動物の出産仔数、出生率、性比、生存率、肛門生殖突起間距離、反射反応性検査成績及び発育分化成績には、いずれの用量群においても n-ブチルベンゼン投与と関連した変化は認められなかった。哺育途中で死亡した仔動物、哺育 4 日に選抜されなかった仔動物ならびに離乳仔の剖検では、F1 仔動物に n-ブチルベンゼン投与の影響と考えられる変化は認められなかった。離乳時の臓器重量では、胸腺重量の高値あるいは高値傾向が F1 雌雄仔動物で 300 mg/kg 群に認められた。F2 仔動物においては、離乳時の臓器重量で胸腺重量の高値が 300 mg/kg 群の雌のみで、そのほかに特記すべき変化は認められなかったが、上述の如く F1 親動物の繁殖成績の低下にともない、F2 仔動物の検査数が評価可能な匹数を下回ったため、結論を導くことはできなかった。

以上のことから、F0 及び F1 親動物に対する影響に関しては、n-ブチルベンゼンの 30 mg/kg 以上の用量は肝臓重量の増加、100 mg/kg 以上の用量は腎臓重量の増加ならびに肝臓及び腎臓に病理組織学的変化がみられる用量、さらに 300 mg/kg は副腎重量の増加及び体重の増加抑制傾向がみられる用量であると考えられた。繁殖能力に対する影響に関しては、n-ブチルベンゼンは 300 mg/kg/day までの用量では、F0 雌雄親動物の繁殖能力に影響を及ぼさないと考えられる。一方、F1 親動物の繁殖能力については、n-ブチルベンゼンが F1 親動物の繁殖能に悪影響を及ぼす可能性は少ないと考えられたが、明確な結論は出せなかった。内分泌系に対する作用に関しては、n-ブチルベンゼン投与の影響は認められなかった。F1 及び F2 仔動物に対しては、n-ブチルベンゼンの 300 mg/kg/day は胸腺重量の増加がみられる用量であると考えられたが、F2 仔動物については、検査数が少ないため明確な結論は出せなかった。

したがって、n-ブチルベンゼンを 2 世代にわたってラットに投与した場合、F0 及び F1 親動物に対する無影響量(NOEL)は 30 mg/kg/day 未満、無毒性量(NOAEL)は 30 mg/kg/day と推定される。親動物の繁殖能力に対する無影響量及び無毒性は、F0 親動物に対しては雌雄とも 300 mg/kg/day と推定される。一方、F1 親動物に対しては、今回の試験で結論を導き出すことはできなかったが、今回の試験成績から n-ブチルベンゼンが重篤な生殖毒性を惹起する物質であるとは考え難かった。仔動物の発生・発育に対する無影響量及び無毒性量は、F1 仔動物に対しては 100 mg/kg/day と推定される。F2 仔動物に対しては、今回の試験で結論を導き出すことはできなかったが、300 mg/kg/day での雌の胸腺重量を増加させた。

2. 検体名及び純度：n-ブチルベンゼン (n-BB) , 純度 98.0%  
(関東化学株式会社 , Lot No. 208G7508)
3. 試験実施機関：株式会社 パナファーム・ラボラトリーズ
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、n-ブチルベンゼンを、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 雄親動物は 5 週齢から交配前 10 週間 , 交配期間(交尾成立までの最長 14 日間)及び剖検前日までの約 16 週間 , F0 雌親動物は 5 週齢から交配前 10 週間 , 交配期間 , 妊娠期間及び分娩後 21 日までの約 14~16 週間。F1 雄親動物は 3 週齢(離乳時)から交配前 10 週間 , 交配期間(交尾成立までの最長 14 日間)及び剖検前日までの約 18 週間 , F1 雌親動物は 3 週齢(離乳時)から交配前 10 週間 , 交配期間 , 妊娠期間及び分娩後 21 日までの約 19~21 週間。なお , F0 及び F1 雌親動物とも , 交配期間中は毎日の交尾確認後 , 雌雄を個別のケージに戻した後に投与した。分娩中の動物には分娩終了後に投与した。  
(2001 年 5 月 1 日 ~ 2002 年 1 月 18 日)。
7. 投与方法：被験物質を 0, 30, 100 及び 300 mg/kg/day の用量でテフロン製の胃管 (日本クレア株式会社)を用いて強制経口投与した。投与容量は 5 mL/kg とし , 対照群にはオリーブ油(和光純薬工業株式会社 , Lot No. SEE4892 及び LDN5645)を同容量投与した。なお , 当初混餌投与での試験の実施を予定していたが , n-ブチルベンゼンは揮発性が高く基礎飼料との混合が困難であるため , 調製液の安定性の高い強制経口投与を選択した。
8. 投与用量の設定理由：被験物質の投与量は , n-ブチルベンゼンのラットにおける 2 世代繁殖毒性試験：予備試験 (株式会社 パナファーム・ラボラトリーズで実施) の結果に基づいて設定した。予備試験では , n-ブチルベンゼンの 0 , 30 , 100 , 300 及び 1000 mg/kg/day を , 1 群当たり雌雄各 6 匹のラットに , 交配前 4 週間ならびに妊娠及び哺育期間を通して投与し , 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。F0 親動物に対する影響として , 1000 mg/kg 群の雌雄で体重の増加抑制 , 300 及び 1000 mg/kg 群の雄で肝臓重量の高値ならびに腎臓及び副腎重量の高値あるいは高値傾向が認められた。F0 親動物の生殖能

力に対する影響は、いずれの群においても認められなかった。F1 仔動物に対する影響として、1000 mg/kg 群で哺育 4 日の生存率に顕著な低下が認められた。また、1000 mg/kg 群では哺育期間中の体重増加が抑制された。以上のことから、本試験の投与量には、親動物に対して何らかの毒性徴候が発現するとともに、評価できるだけの F1 仔動物を得られると考えられる 300 mg/kg/day を高用量に設定し、以下公比約 3 で除して 100 及び 30 mg/kg/day をそれぞれ中間及び低用量に設定した。

## 9. 飼育条件

- 9.1 飼料； 固型飼料(NIH-07M, 日本クレア株式会社製)を自由に摂取させた。
- 9.2 飲料水； 次亜塩素酸ナトリウムを添加(約 2 ppm)した井戸水を、自動給水装置又は給水瓶を用いて自由に摂取させた。
- 9.3 飼育環境； 温度  $24 \pm 2$  , 湿度  $55 \pm 10\%$  , 照明 12 時間(7 時点灯, 19 時消灯), 換気回数 13~15 回/時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(260W×200H×380D mm, 東洋理工株式会社製)に個別飼育した。妊娠 0 日から離乳日までは床敷(ホワイートフレーク, 日本チャールス・リバー株式会社)を敷いたポリカーボネート製平床ケージ(265 W×185 H×425 D mm, 東洋理工株式会社製)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；個々の動物について、生死、外観、行動等を毎日投与前及び投与後の 2 回観察した。
- 10.2 体重及び摂餌量；雄の体重と摂餌量を、毎週測定した。雌の体重は、育成期間中は毎週、妊娠期間中は妊娠 0, 7, 14 及び 20 日、哺育期間中は哺育 0, 4, 7, 14 及び 21 日にそれぞれ測定した。また、雌の摂餌量は、育成期間中は毎週、妊娠期間中は妊娠 1, 7, 14 及び 20 日、哺育期間中は哺育 1, 4, 7, 14 及び 21 日にそれぞれ測定した。
- 10.3 交配及び妊娠の確認；F0 親動物は雌雄ともに 5 週齢の投与開始から 10 週間後の 15 週齢時、F1 親動物は雌雄ともに 3 週齢の投与開始から 10~12 週間後の 13~15 週齢時に雌を夕刻に雄のケージに移し、1:1 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、それらのうちの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、ポリカーボネート製平床ケ

ージに移し個別飼育した。交尾の確認できなかった雌は、元のステンレス製金網床ケージに戻し 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着床痕の有無を調べることにより確認した。F1 親動物は分娩した F0 親動物の各腹から雌雄各 1 匹を選抜した。選抜されなかった残りの動物については、生後 22 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指標として、それぞれ生後 35 日及び 28 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。

発情回数

発情期間隔(発情周期)

交尾率 = 交尾を認めた雄または雌数 / 交配に用いた雄または雌数

受胎率 = 妊娠雌数 / 交尾を認めた雄または雌数

出産率 = 生存仔出産雌数 / 妊娠雌数

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)

出産仔数

10.5 精子検査；

動物番号の若い順から各群 10 匹について、剖検時に右側の精巣上体尾部より精子を採取し検査した。

精子数(血球計算盤を用いて顕微鏡下で計数した)。

精子運動率：血球計算盤を用いて顕微鏡下で計数した。すなわち、100 個の精子について運動精子(少しでも動いている精子)と非運動精子(全く動いていない精子)を判別し、計測した。この操作を 2 回繰り返し、2 名の検査者が実施することで計 400 個の精子について観察計測し、精子運動率[(運動精子数の総計/400) × 100]を算出した。精子の形態(塗抹染色標本作製して顕微鏡で各個体 300 個観察して、異常形態精子の出現率を求めた)。

10.6 ホルモンレベル測定；雄は精子検査に用いなかった動物について動物番号の若い順から各群 6 匹、雌は動物番号の若い順から各群 6 匹について、血漿中の卵胞刺激ホルモン(FSH)及び黄体形成ホルモン(LH)を RIA 二抗体法により測定した。さらに、雄についてはテストステロンを RIA 試験管固相法、雌についてはエストラジオールを RIA 二抗体法に

より測定した。

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。間引き仔はエーテル麻酔下で安楽死させ剖検後10%中性緩衝ホルマリン中に保存した。

体重を，哺育0，4，7，14及び21日に個体別に測定した。

肛門生殖突起間距離を，哺育4日に測定した(F1仔動物のみ)。

性比 = 雄出産仔数 / 雌出産仔数

出生率(%) = (出生仔数 / 着床数) × 100

4日生存率(%) = (哺育4日生存仔数 / 出生仔数) × 100

離乳率(%) = (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； 内分泌かく乱作用に関連した発育，発達に及ぼす影響を検出するため，各腹のF1生存哺育仔全例について，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を雌雄毎に算出した。

耳介開展；哺育4日以降完成するまで

切歯萌出；哺育10日以降完成するまで

眼瞼開裂；哺育15日以降完成するまで

10.9 仔動物の反射反応性検査；内分泌かく乱作用に関連した発育，発達に及ぼす影響を検出するため，各腹のF1雌雄全例の生存哺育仔について，下記項目の完成した哺育日齢を記録した。

正向反射；哺育5日以降完成するまで

視覚性踏み直り反射；哺育16日以降完成するまで

耳介反射；哺育28日以降完成するまで

10.10 臓器重量； すべての雌雄のF0及びF1親動物について，脳，下垂体，甲状腺，胸腺，肝臓，腎臓，脾臓，副腎，精巣，精巣上部，精嚢(凝固腺含む)，前立腺，卵巣及び子宮の重量を測定した。

すべての腹の雌雄各1匹のF1及びF2離乳仔について，脳，胸腺，脾臓，精巣，精巣上部，卵巣及び子宮の重量を測定した。

なお，両側性の臓器は左右の合計を表示した。

10.11 剖検； すべての親動物，哺育期間中に死亡した哺育仔，哺育4日に間引きされた仔動物及び次世代の親動物として選抜されなかった離乳仔を，安楽死時に剖検した。

10.12 病理組織学的検査；対照群及び高用量群のすべての F0 及び F1 親動物ならびに交尾不妊及び未交尾例の下垂体，甲状腺(上皮小体含む)，肝臓，腎臓，副腎，精巣，精巣上部，精嚢，凝固腺，前立腺(腹葉及び背側葉)，卵巣，卵管，子宮，子宮頸部，膣，全仔死産の母動物の乳腺ならびに肉眼的異常部位については，常法に従ってパラフィン切片とし，ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色を施して光学顕微鏡下で観察した。また，肝臓，腎臓，卵巣，卵管，子宮，子宮頸部及び膣については，300 mg/kg 群で変化がみられたため，30 及び 100 mg/kg 群についても検査した。さらに，対照群を含む各群で交尾率及び受胎率の低下傾向がみられたため，30 及び 100 mg/kg 群の未交尾例及び交尾不妊例の下垂体，精巣，精巣上部，前立腺，精嚢及び凝固腺についても検査するとともに，精巣のステージアナリシスを実施した。なお，精巣のステージアナリシスについては，対照として受胎能が認められた対照群の 5 例についても実施した。

10.13 統計学的解析；体重，摂餌量，交尾所要日数，妊娠期間，臓器重量，発情回数，発情周期，精子数，着床数，出産仔数，出生仔数，肛門生殖突起間距離及びホルモンレベルについては，各群ごとに平均値と標準偏差を求め，分散の均一性を Bartlett 法により検定した。分散が均一な場合は Dunnett の多重比較検定を用いて，不均一な場合は Steel の多重比較検定を用いて対照群との比較を行った。また，出産率，交尾率，受胎率及び性比については，カイ二乗検定法を用いて，死産率，出生率，生存率，離乳率，発育分化検査成績，反射反応性検査成績，外表異常(型別)胎仔出現率，精子運動率及び異常形態精子出現率については，Wilcoxon の順位和検定を用いて，病理組織学的検査については Mann-Whitney の U 検定を用いて対照群と各投与群間の比較を行った。いずれの検定においても有意水準を 1 及び 5%とした。なお，出生仔の検査値あるいは測定値については一腹単位で処理した。



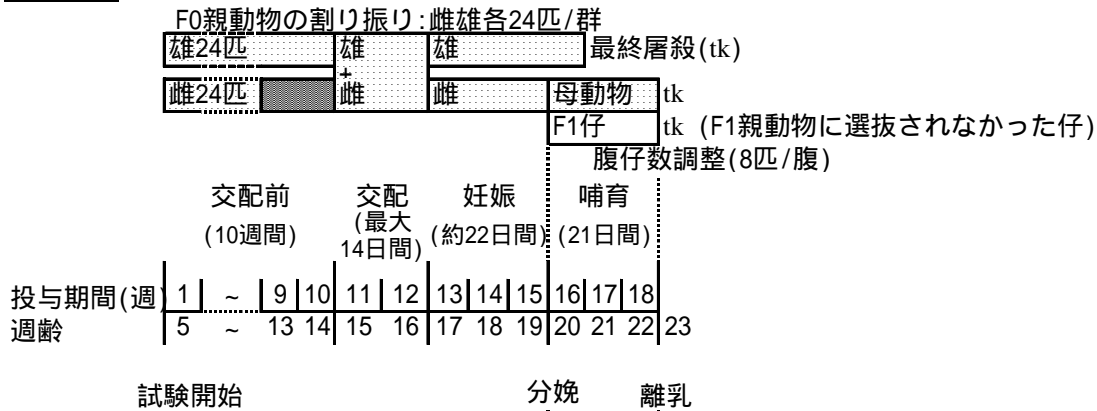
表 1. 試験の概要

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。
	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。	動物の一般状態を毎日観察。 交配前 2 週間及び交尾確認日ま で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 1, 4, 7, 14 及 び 20 日)を測定。
	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、外表異常の有無を記録。
	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。間引き仔は剖 検後、10%中性緩衝ホルマリン 溶液に固定して保存した。	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 1, 4, 7, 14 及び 21 日)を測定。 生存仔数を、哺育期間中毎日記 録。 哺育仔体重を、哺育 0, 4, 7, 14 及び 21 日に測定。 F1 哺育仔の肛門生殖突起間距 離を哺育 4 日に測定。 F1 仔動物の発育分化観察(耳介 展開を哺育 4 日以降、切歯萌出 を哺育 10 日以降、眼瞼開裂を哺 育 15 日以降からそれぞれ完成 するまで観察)。 F1 仔動物の反射反応性検査観 察(正向反射を哺育 5 日以降、視 覚性踏み直り反射を哺育 16 日 以降、耳介反射を哺育 28 日以 降からそれぞれ完成するまで観 察)。

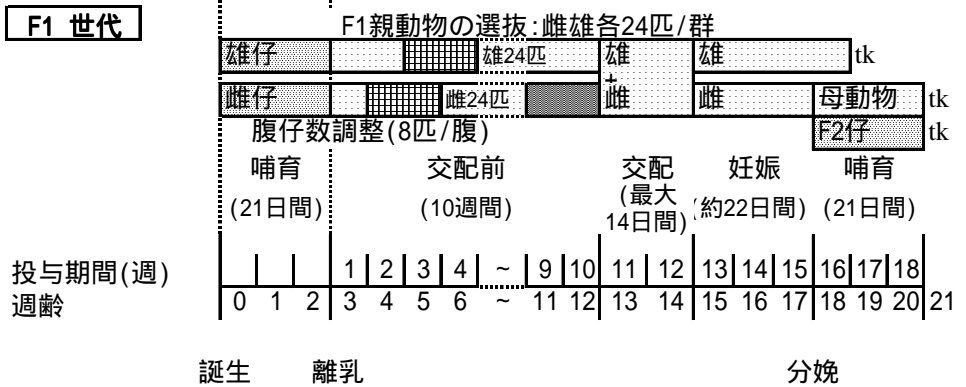
世代	期間 (週間)	作業手順	試験項目
F0/F1	離乳	交尾した F0 雄は交配期間終了以降に安楽死。F0 雌で仔動物を分娩した動物は哺育 22 日以降, 非分娩動物は交尾確認後 26 日以降, 非交尾動物は交配期間終了後に安楽死。 F1 仔動物は各腹雌雄 1 匹を選抜。選抜されなかった仔動物は生後 22 日に剖検した。	親動物の剖検及び脳, 下垂体, 甲状腺, 胸腺, 肝臓, 腎臓, 脾臓, 副腎, 精巣, 精巣上体, 精嚢(凝固腺含む), 前立腺, 卵巣及び子宮の重量測定。F0 雄各群 10 匹の精子から精子数, 精子運動率, 精子形態を検査。F0 雌雄各群 6 匹の血漿中ホルモンレベル(テストステロン, FSH, LH, エストラジオール)を測定。 F1 離乳仔の剖検及び脳, 胸腺, 脾臓, 精巣, 精巣上体, 卵巣及び子宮の重量測定。 親動物の下垂体, 甲状腺, 肝臓, 腎臓, 副腎, 精巣, 精巣上体, 精嚢, 凝固腺, 前立腺, 卵巣, 卵管, 子宮, 子宮頸部, 膣及び全仔死産の母動物の乳腺の病理組織学的検査。未交尾例及び交尾不妊例の精巣のステージアナリシス。
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。 性成熟: 雄は包皮分離を生後 35 日以降, 雌は膣開口を生後 28 日以降から陽性になるまで観察。
	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。	動物の一般状態を毎日観察。 交配前 2 週間及び交尾確認日まで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 1, 4, 7, 14 及び 20 日)を測定。



世代	期間 (週間)	作業手順	試験項目
F1	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。間引き仔は剖検後，10%中性緩衝ホルマリン溶液に固定して保存した。	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1，4，7，14及び21日)を測定。 生存仔数を，哺育期間中毎日記録。  哺育仔体重を，哺育0，4，7，14及び21日に測定。
F1/F2	離乳	交尾したF1雄は交配期間終了以降に安楽死。F1雌で仔動物を分娩した動物は哺育22日以降，非分娩動物は交尾確認後26日以降，非交尾動物は交配期間終了後に安楽死。F2仔動物は生後22日に剖検した。	親動物の剖検及び脳，下垂体，甲状腺，胸腺，肝臓，腎臓，脾臓，副腎，精巣，精巣上体，精嚢(凝固腺含む)，前立腺，卵巣及び子宮の重量測定。F1雄各群10匹の精子から精子数，精子運動率，精子形態を検査。F1雌雄各群6匹の血漿中ホルモンレベル(テストステロン，FSH，LH，エストラジオール)を測定。 F2離乳仔の剖検及び脳，胸腺，脾臓，精巣，精巣上体，卵巣及び子宮の重量測定。 親動物の下垂体，甲状腺，肝臓，腎臓，副腎，精巣，精巣上体，精嚢，凝固腺，前立腺，卵巣，卵管，子宮，子宮頸部，膣及び全仔死産の母動物の乳腺の病理組織学的検査。未交尾例及び交尾不妊例の精巣のステージアナリシス。

**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35~45日、雌生後28~35日(各24匹/群)
-  : 性周期(F0雌24匹/群, F1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 血漿中ホルモン濃度(雌雄各6匹/群)
- 剖検、臓器重量(全例...F0: 雌雄各24匹/群, F1: 雌雄各24匹/群)
- 病理組織学的検査(対照群と高用量で全例. 高用量群で異常がみられた器官については, 中, 低用量群まで検査)
- F0、F1雄 精子検査(10匹/群)
- 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 1 - 4）

F0及びF1雌雄親動物のいずれの用量群においてもn-ブチルベンゼン投与に起因した死亡はなかった。一般状態では，100 及び300 mg/kg群のF0及びF1雌雄親動物で投与直後から流涎が認められたが，一過性の変化であったことから，被験液の苦味等による直接的な影響であると考えられた。

n-ブチルベンゼン投与に関連のない親動物の死亡として，300 mg/kg群でF0雌親動物1例(自然発生的な骨髄性白血病) ,対照群でF1雌親動物1例(投与過誤)がみられた。

**結論：**n-ブチルベンゼンは300 mg/kg/day以下の用量では，F0及びF1雌雄親動物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 5 - 20）

300 mg/kg群のF0及びF1雌雄親動物で体重の増加抑制傾向が育成期間中にみられ，全試験期間中においてもその傾向が認められた。なお，300 mg/kg群のF1雌親動物で哺育0-21日の体重増加量に有意な高値がみられたが，この変化については，妊娠0日の体重が低値を示したことによる見かけ上の変化と考えられた。

**結論：**n-ブチルベンゼンは300 mg/kg/dayの用量において，F0及びF1雌雄親動物で体重の増加抑制傾向が認められた。

#### 11.1.3 摂餌量（要約表2.，Tables 21 - 28）

30 mg/kg群のF0雌親動物で投与28及び63日，300 mg/kg群のF0雄親動物で投与63日に有意な高値，300 mg/kg群のF0雌親動物で妊娠20日に有意な低値，100 mg/kg群のF1雌親動物で生後84及び91日に有意な低値が認められた。これらの変化は用量相関がないか，一過性の変化であることから，偶発的变化と考えられた。

**結論：**n-ブチルベンゼンは300 mg/kg/day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 29 - 37及び80，81）

親動物の繁殖能力に関する指標のうち，300 mg/kg群のF0雌親動物で着床数の低値傾向が認められた。同群には着床数2又は3の動物が2腹いたが，このように着床数が低い動物(着床数が5以下)は同系統の当研究所における背景データにおいても低頻度(0.86%)ではあるが出現すること，F1雌親動物及び先に実施した予備試験の1000 mg/kgに同様の変化は認められていないことから，300 mg/kg群のF0雌親動物でみられた着床数の低値傾向は，着床数2又は3の動物が2腹いたことに起因した偶発的な変

化と考えられた。なお，F0雌親動物の100 mg/kg群で発情期間隔(性周期)に有意な延長，300 mg/kg群で延長傾向がみられたが，いずれも本系統のラットの正常な発情期間隔の範囲内(4または5日)であり，他に関連する変化が認められていないこと，更に予備試験の1000 mg/kg群においても性周期に異常は認められていないことから，偶発的な変化と考えられた。交尾率及び受胎率については，F0親動物ではn-ブチルベンゼン投与の影響は認められなかった。一方，F1親動物では対照群を含むすべての群で低い繁殖成績が得られた。これらの成績が対照群を含めて当研究所の同様の経口投与で実施した試験の背景データ(添付資料1)より低い値を示していることから，繁殖成績が低下した要因については何らかの環境的要因あるいは人為的要因が考えられる。未交尾であったF1雌親動物のなかには交配期間中に性周期が回帰(休止期の連続)していない例も認められたことから，膣垢採取時の子宮頸部の刺激による偽妊娠の惹起の可能性も考えられたが，交配開始前の性周期に異常がみられていないことから，その原因は明らかではなかった。このように交尾率の低下の原因については，試験環境要因(人為的偽妊娠の惹起)の影響も疑われたが，受胎率の低下については何ら手がかりは得られなかった。そこで，本試験において，対照群を含む全ての群で未交尾及び交尾不妊例の生殖器についての病理組織学的検査，精巣についてのステージアナリシス(添付資料2及び3)を追加実施するとともに，精子検査及びホルモン測定結果を解析したが，未交尾又は交尾不妊例と正常例との間に差は認められず，受胎能に影響を及ぼす要因は認められなかった。何らかの外的要因が各群に均一に影響したと考えることもできるが，試験環境要因の均一性は実証できないため，n-ブチルベンゼンがF1親動物の繁殖能に影響を及ぼすかどうかについて明確な結論を導き出すことはできなかった。そのほか，F0及びF1親動物の妊娠期間，出産率，精子数，精子運動率及び異常形態精子率，性成熟(包皮分離及び膣開口：F1のみ)には，いずれの用量群においてもn-ブチルベンゼン投与に関連する変化は認められなかった。

**結論：** n-ブチルベンゼンは300 mg/kg/dayまでの用量では，F0雌雄親動物の繁殖能力に影響を及ぼさないと考えられる。一方，F1親動物の繁殖能力については，今回の試験で結論を導き出すことはできなかったが，今回の試験成績からn-ブチルベンゼンが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 38 - 41)

F0及びF1親動物に対する影響は雌雄とも，腎臓及び肝臓の絶対及び相対重量に有意な高値が認められた。肝臓重量の高値はF0雌親動物で30 mg/kg以上の群，雄親動物で100 mg/kg以上の群でみられ，F1雌雄親動物では300 mg/kg群のみにみられた。この変化の一因として代謝酵素活性の亢進が考えられた(後述)。腎臓の高値はF0雌雄親動物で300 mg/kg，F1雄親動物で100 mg/kg以上の群，雌親動物で300 mg/kg群にみられた。このほか，F0及びF1雌親動物で副腎の絶対及び相対重量に高値あるいは高

値傾向がみられたが，病理組織学的変化を伴わない軽微な変動であることから，その毒性学的意義は明らかでなかった。

**結論：** n-ブチルベンゼンは世代により発現用量に差はみられるものの，肝臓，腎臓及び副腎重量に影響を及ぼした。すなわち，n-ブチルベンゼンは30 mg/kg以上の群のF0雌親動物及び100 mg/kg以上の群のF0雄親動物，300 mg/kg群のF1雌雄親動物で肝臓重量を増加，300 mg/kg群のF0雌雄親動物，100 mg/kg以上の群のF1雄親動物，300 mg/kg群の雌親動物で腎臓重量を増加，300 mg/kg群のF0及びF1雌親動物で副腎重量を増加させた。

#### 11.1.6 血漿中ホルモン測定（要約表2.，Table 42 - 45）

F0及びF1親動物の雌雄各群6匹について，LH及びFSHをRIA法により測定した。さらに雄はテストステロンを，雌はエストラジオールについても測定した。その結果，F0及びF1雌雄親動物のいずれの用量群においてもn-ブチルベンゼン投与に関連する変化はみられなかった。また，F0親動物の各群雌雄各6例のうち対照群の雄2例及び300 mg/kg群の雌1例並びにF1親動物の各群雌雄各6例のうち対照群，30，100及び300 mg/kg群の雄それぞれ1，2，1及び1例については，未交尾あるいは交尾不妊であったが，交尾及び受胎に影響を及ぼすと考えられる血漿中ホルモン濃度の異常は認められなかった。

**結論：** n-ブチルベンゼンはF0及びF1親動物の血漿中ホルモン濃度に影響を及ぼさない。

#### 11.1.7 剖検及び病理組織学的検査（要約表2.，Tables 46 - 62）

F0及びF1親動物の剖検では，自然発生的な変化がみられたのみで，n-ブチルベンゼン投与に関連する変化はみられなかった。

病理組織学的検査では，肝臓において，300 mg/kg群のF0及びF1雄親動物で小葉中心性の肝細胞肥大が認められた。Imaokaら<sup>2)</sup>によると，本被験物質は5 mmol/kg(670 mg/kg相当)の用量でラット肝臓チトクロムP450を誘導することから，今回の変化も薬物代謝酵素誘導に伴う滑面小胞体の増生による変化と考えられた。また，雌の肝臓では組織学的に変化は認められなかったが，重量が増加していることから，雄と同様の変化が生じているものと考えられた。このほか，肝細胞の脂肪滴沈着が対照群を含むすべての群のF0雄親動物，対照群及び30 mg/kg群のF1雄親動物で高頻度に認められた。肝細胞の脂肪滴沈着は，対照群においてもみられているものの，用量相関的に発現頻度が減少した。

腎臓において，100 mg/kg以上の群のF0雄親動物，30 mg/kg以上の群のF1雄親動物で近位尿細管上皮への硝子滴沈着がみられ，300 mg/kg以上の群のF0雄親動物，100 mg/kg以上の群のF1雄親動物ではその発現頻度が対照群と比較して有意に増加

するとともに、好塩基性尿細管も認められた。これらの変化は雌では認められないことから、硝子滴沈着については雄ラット固有のタンパクである $\alpha$ 2u-グロブリンの沈着像と推測され、毒性学的意義は乏しいと考えられた。一方、好塩基性尿細管については、硝子滴沈着に伴う二次的な尿細管傷害を示唆するものとも考えられたが、尿細管傷害を誘起するには沈着の程度が軽いこと<sup>4)</sup>、また、腎臓の組織学的変化がない300 mg/kg群のF0及びF1雌親動物において腎重量が増加していること、さらに他のベンゼン系化学物質において硝子滴沈着を伴わない尿細管傷害の報告があること<sup>5, 6)</sup>から、硝子滴、すなわち $\alpha$ 2u-グロブリン沈着を介さない機序で生じた可能性を否定できなかった。このほか、F1雄親動物の対照群を含む各投与群で蛋白円柱がみられたが、群間で発生頻度に差がないことから、偶発的な変化と考えられた。

このほか、対照群を含め各投与群のF0またはF1雌親動物で腔に粘液細胞の出現あるいは子宮頸部に嚢胞がみられたが、発生頻度に差がないか1例のみの変化であることから、偶発的な変化と考えられた。また、300 mg/kg群のF0雌親動物1例で骨髄性白血病及び腺胃の潰瘍がみられたが、骨髄性白血病については、発生頻度が低く、短期間の投与期間で腫瘍性的変化がでるとは考えにくいことから、偶発的な変化と考えられ、腺胃の潰瘍については動物の衰弱に伴うストレス性的変化と考えられた。

**結論：**n-ブチルベンゼンの300 mg/kg/day投与では、F0及びF1雌雄親動物の肝臓及び腎臓に影響を及ぼすものと考えられる。さらに、F1雄親動物については100 mg/kg/day投与から腎臓に影響を及ぼすと考えられる。

## 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.）

F1及びF2仔動物ともいずれの用量群においてもn-ブチルベンゼン投与によると考えられる変化は認められなかった。

**結論：**n-ブチルベンゼンは300 mg/kg/dayまでの用量では、F1仔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。F2仔動物についても300 mg/kg/dayまでの用量では、雌雄とも一般状態に影響を及ぼさないと考えられるが、検査数が少ないため明確な結論は出せなかった。

### 11.2.2 体重（要約表2.，Tables 63 - 66）

用量相関性のない変化として、100 mg/kg群において、F2仔動物の雄で哺育14日に有意な増加抑制がみられたのみであった。

**結論：**n-ブチルベンゼンは300 mg/kg/dayまでの用量では、F1仔動物の雌雄の体重推移に影響を及ぼさないと考えられる。F2仔動物についても300 mg/kg/dayまでの用量では、雌雄とも体重推移に影響を及ぼさないと考えられるが、検査数が少ない



ため明確な結論は出せなかった。

#### 11.2.3 出産仔数，性比，仔動物の生存率，肛門生殖突起間距及び反射反応性検査成績 (要約表2.，Tables 34, 35及び67 - 70)

F0親動物の300 mg/kg群で出産仔数及び出生率の低値傾向がみられ，それに伴い出生仔数に有意な低値が認められた。出生仔数の低値は，親動物の着床数が低値傾向を示したことに起因する偶発的变化と考えられた。F1親動物では同様の变化はみられなかった。そのほか，F1及びF2仔動物の，性比，哺育4日の生存率及び離乳率，F1仔動物の肛門生殖突起間距離ならびに反射反応性検査成績には，いずれの用量群においてもn-ブチルベンゼン投与に関連した変化は認められなかった。

**結論：**n-ブチルベンゼンの300 mg/kg/dayの用量では，F1仔動物の出産仔数，出生率及び出生仔数に影響を及ぼすものの，F2仔動物に同様の变化は認められず，その程度は軽微なものと考えられる。F2仔動物については300 mg/kg/dayまでの用量では，雌雄とも出産仔数，性比，仔動物の生存率，肛門生殖突起間距及び反射反応性に影響を及ぼさないと考えられるが，検査数が少ないため明確な結論は出せなかった。

#### 11.2.4 発育分化 (要約表2.，Table 71)

F1仔動物の雌雄とも，耳介展開，切歯萌出及び眼瞼開裂の分化率において，n-ブチルベンゼン投与の影響はみられなかった。

**結論：**n-ブチルベンゼンはF1哺育仔の発育分化に影響を及ぼさないと考えられる。

#### 11.2.5 剖検 (要約表2.，Tables 72 及び75)

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

**結論：**n-ブチルベンゼンは300 mg/kg/dayまでの用量では，F1仔動物の雌雄の剖検結果に影響を及ぼさないと考えられる。F2仔動物についても300 mg/kg/dayまでの用量では，雌雄とも剖検結果に影響を及ぼさないと考えられるが，検査数が少ないため明確な結論は出せなかった。

#### 11.2.6 臓器重量 (要約表2.，Tables 76 - 79)

300 mg/kg群のF1仔動物の雌雄及びF2仔動物の雌で胸腺の絶対及び相対重量の有意な高値あるいは高値傾向が対照群と比較して認められた。そのほか，100 mg/kg群のF1仔動

物の雌で卵巣の相対重量，300 mg/kg群のF1仔動物の雌で卵巣の絶対重量，100 mg/kg群のF2仔動物の雄で脳の相対重量及び300 mg/kg群のF2仔動物の雌で胸腺の相対重量に有意な高値，300 mg/kg群のF2仔動物の雌で子宮の絶対重量に有意な低値がみられたが，いずれも絶対及び相対重量がともに変動していないことから，n-ブチルベンゼン投与との関連のない偶発的变化と考えられた。

**結論：**n-ブチルベンゼンの300 mg/kg/day投与では，F1仔動物の胸腺重量を増加させると考えられる。F2仔動物においては，300 mg/kg/day投与で雌の胸腺重量を増加させると考えられるが，検査数が少ないため明確な結論は出せなかった。

### 11.3 NOEL（無影響量）及びNOAEL（無毒性量）に関する考察

以上のことから，F0及びF1親動物に対する影響に関して，n-ブチルベンゼンの30，100及び300 mg/kg/dayは肝臓重量の増加，100及び300 mg/kg/dayは腎臓重量の増加ならびに肝臓及び腎臓に病理組織学的変化がみられる用量，さらに300 mg/kg/dayは副腎重量の増加及び体重の増加抑制傾向がみられる用量であると考えられた。繁殖能力に対する影響に関しては，n-ブチルベンゼンは300 mg/kg/dayまでの用量では，F0雌雄親動物の繁殖能力に影響を及ぼさないと考えられる。一方，F1親動物の繁殖能力については，n-ブチルベンゼンがF1親動物の繁殖能に悪影響を及ぼす可能性は少ないと考えられたが，明確な結論は出せなかった。内分泌系に対する作用に関しては，血漿中FSH，LH，テストステロン及びエストラジオール濃度，性比，肛門生殖突起間距離，性成熟等にn-ブチルベンゼン投与の影響は認められなかった。

F1及びF2仔動物に対しては，n-ブチルベンゼンの300 mg/kg/dayは胸腺重量の増加がみられる用量であると考えられたが，F2仔動物については，検査数が少ないため明確な結論は出せなかった。

したがって，n-ブチルベンゼンを2世代にわたってラットに投与した場合，親動物における無影響量(NOEL)は30 mg/kg/day以上で肝臓に重量増加がみられたことから30 mg/kg/day未満と考えられる。また，親動物の無毒性量(NOAEL)は，30 mg/kg群でみられた肝臓重量の増加については，薬物代謝酵素誘導に伴う適応性の変化であり，毒性学的な意義はないと判断したこと，100 mg/kg以上の群で腎臓に重量増加及び病理組織学的変化がみられたことから30 mg/kg/dayと推定される。一方，親動物の繁殖能力に対する無影響量及び無毒性は，F0親動物に対しては雌雄とも300 mg/kg/dayと推定される。一方，F1親動物に対しては，今回の試験で結論を導き出すことはできなかったが，今回の試験成績からn-ブチルベンゼンが重篤な生殖毒性を惹起する物質であるとは考え難かった。仔動物の発生・発育に対する無影響量及び無毒性量は，F1仔動物に対しては300 mg/kg群で胸腺に重量増加がみられたことから，いずれも100 mg/kg/dayと推定される。F2仔動物に対しては，今回の試験で結論を導き出すことはできなかったが，300 mg/kg/dayでの雌の胸腺重量を増加させた。

## 12. 参考文献

- 1) Backers, W.L., Cawley, G., Eyer, C.S., Means, M., Causey, K.M. and Canady, W.J. (1993) Aromatic hydrocarbon binding to cytochrome P450 and other enzyme binding sites: Are hydrophobic compounds drawn into the active site or pushed from the aqueous phase? Archives of Biochemistry and Biophysics, 304, 1, 27-37
- 2) Imaoka, S. and Funae, Y. (1991) Induction of cytochrome P450 isozymes in rat liver by methyl n-alkylketones and n-alkylbenzenes. Biochemical Pharmacology, 42 (Suppl.), S143-S150
- 3) Jobling, S., Reynolds, T., White, R., Parker, M. G. and Smtper, J.P. (1995) A variety of environmentally persistent chemicals, including some phthalate plasticizers, are weakly estrogenic, Environmental Health Perspective, 103, 6, 582-587
- 4) 5) P.GREAVES, Histopathology of preclinical toxicity studies, Elsevier, Amsterdam, pp.532-538, 1990
- 5) 厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室, 化学物質毒性試験報告 Vol.1, 化学物質点検推進連絡協議会, pp109-131, 1994
- 6) 厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室, 化学物質毒性試験報告 Vol.3, 化学物質点検推進連絡協議会, pp337-350, 1996

添付資料1. 繁殖成績の背景データ(系統 : Crj:CD(SD)IGS, 投与経路 : 強制経口)

Vehicle	0.5%MC	0.5%CMC- Na	0.5%CMC- Na	0.5%MC	distilled water	distilled water	corn oil	corn oil	corn oil	corn oil
Breeder	CRJ	CRJ	CRJ	CRJ	CRJ	CRJ	CRJ	CRJ	CRJ	CRJ
Year	1988	1989	1990	1989	1991	1991	1992	1992	1992	1994
No. of mated										
Male	18	11	23	24	12	24	25	23	24	23
Female	18	11	23	24	12	24	25	23	24	23
No. of copulated a )										
Male	18( 100 )	10(90.91)	22(95.65)	22(91.67)	12( 100 )	20(83.33)	25( 100 )	22(95.65)	22(91.67)	23( 100 )
Female	18( 100 )	10(90.91)	22(95.65)	22(91.67)	12( 100 )	20(83.33)	25( 100 )	22(95.65)	22(91.67)	23( 100 )
No. of impregnated b )	-	-	21(95.45)	21(95.45)	11(91.67)	20( 100 )	24(96.00)	22( 100 )	21(95.45)	23( 100 )
No. of pregnant b )	18( 100 )	9(90.00)	21(95.45)	21(95.45)	11(91.67)	20( 100 )	24(96.00)	22( 100 )	21(95.45)	23( 100 )
Duration of mating c )	2.44 ± 1.10	3.00 ± 2.91	2.82 ± 1.44	2.68 ± 1.43	2.92 ± 1.08	2.45 ± 1.15	2.68 ± 1.18	2.45 ± 1.14	3.27 ± 1.93	2.91 ± 2.64

a ) Values in parentheses represent percentages to the number of mated.

b ) Values in parentheses represent percentages to the number of copulated.

c ) Values are mean ± S.D.

Vehicle	0.5%MC	0.5%CMC- Na	distilled water	normal saline	PEG400	0.5%CMC- Na	0.5%MC	olive oil	0.5%CMC- Na	0.5%CMC- Na
Breeder	CRJ	CRJ	CRJ	CRJ	CRJ	CRJ	CRJ	CRJ	CRJ	CRJ
Year	1995	1997	1998	1999	1999	1999	1999	2000	2001	2002
No. of mated										
Male	22	20	18	20	20	19	20	12	12	12
Female	22	20	18	20	20	19	20	12	12	12
No. of copulated a )										
Male	22( 100 )	20( 100 )	18( 100 )	20( 100 )	19( 95.00 )	19( 100 )	19(95.00)	12( 100 )	12( 100 )	12( 100 )
Female	22( 100 )	20( 100 )	18( 100 )	20( 100 )	19( 95.00 )	19( 100 )	19(95.00)	12( 100 )	12( 100 )	12( 100 )
No. of impregnated b )	22( 100 )	19(95.00)	17(94.44)	20( 100 )	19( 100 )	17(89.47)	19(100)	12( 100 )	12( 100 )	12( 100 )
No. of pregnant b )	22( 100 )	19(95.00)	17(94.44)	20( 100 )	19( 100 )	17(89.47)	19(100)	12( 100 )	12( 100 )	12( 100 )
Duration of mating c )	3.00 ± 1.48	3.30 ± 2.72	2.33 ± 1.08	2.65 ± 0.99	2.42 ± 0.84	4.00 ± 2.43	2.95 ± 1.65	2.17 ± 1.34	2.75 ± 2.05	3.00 ± 0.95

a ) Values in parentheses represent percentages to the number of mated.

b ) Values in parentheses represent percentages to the number of copulated.

c ) Values are mean ± S.D.

添付資料2. 未交尾及び交尾不妊例の精巣ステージアナリシスの結果(F0雄)

Group and dose	Animal No.	Results of mating	Counts of stage (%) <sup>a)</sup>												
			I	II,III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Control	801	pregnant	14	11	4	11	5	16	7	2	3	4	9	6	8
	802	pregnant	20	9	4	8	7	15	10	3	6	2	8	4	4
	803	pregnant	15	13	3	8	6	20	7	7	4	2	7	6	2
	804	pregnant	11	13	9	10	8	16	10	6	1	0	8	4	4
	805	pregnant	14	9	4	7	6	14	6	5	3	5	12	9	6
Control	809	un-copulating	17	14	7	6	4	20	6	1	0	3	8	8	6
	811	non-pregnant	14	14	5	10	7	18	5	2	4	3	8	5	5
	815	un-copulating	11	11	4	7	7	21	8	3	2	2	10	7	7
	821	non-pregnant	14	20	6	7	5	18	6	2	2	4	6	6	4
30 mg/kg	830	un-copulating	16	18	7	6	7	17	6	2	2	1	6	7	5
	835	non-pregnant	13	10	5	7	6	21	12	3	6	3	7	5	2
	838	non-pregnant	11	15	6	8	7	18	8	1	2	1	8	6	9
100 mg/kg	862	non-pregnant	11	15	5	7	5	22	4	4	1	4	6	10	6
	864	non-pregnant	14	13	3	11	9	19	9	2	3	2	8	4	3
	866	non-pregnant	15	13	5	7	8	18	9	4	3	2	6	5	5
300 mg/kg	893	non-pregnant	15	14	8	6	7	12	6	2	1	3	12	9	5
	896	non-pregnant	18	13	6	8	5	15	5	6	3	4	7	5	5

a) Values represent percentages to the seminiferous tubule examined.

添付資料 3. 未交尾及び交尾不妊例の精巣ステージアナリシスの結果(F1雄)

Group and dose	Animal No.	Results of mating	Counts of stage (%) <sup>a)</sup>												
			I	II,III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Control	902-5	pregnant	17	13	5	6	7	18	5	4	2	2	9	8	4
	904-5	pregnant	13	15	6	6	9	20	6	4	3	0	8	5	5
	905-5	pregnant	15	9	6	5	9	16	7	5	3	3	7	6	9
	906-5	pregnant	16	17	8	7	7	19	7	1	0	3	7	5	3
	908-5	pregnant	14	14	6	10	8	15	10	3	2	2	6	6	4
Control	901-5	un-copulating	15	15	3	6	7	14	10	2	4	3	10	5	6
	903-5	non-pregnant	10	12	6	10	5	14	12	8	3	5	7	3	5
	907-5	non-pregnant	13	15	5	7	7	19	8	5	2	4	7	5	3
	910-5	un-copulating	17	13	6	7	5	15	6	0	1	1	10	9	10
	918-5	un-copulating	15	14	3	8	7	16	9	3	3	3	9	5	5
30 mg/kg	925-5	non-pregnant	11	14	4	8	8	18	11	1	1	2	14	2	6
	929-5	non-pregnant	15	12	5	12	5	16	7	4	2	1	8	5	8
	930-5	un-copulating	15	9	4	6	10	21	10	2	4	3	7	5	4
	931-5	non-pregnant	16	13	6	6	6	16	7	1	5	1	12	6	5
	939-6	un-copulating	16	14	3	5	8	12	13	4	0	3	9	8	5
	942-5	un-copulating	19	15	4	7	5	19	10	1	3	2	8	4	3
	948-5	un-copulating	13	10	4	8	10	17	7	4	2	2	9	7	7
100 mg/kg	950-5	non-pregnant	14	14	5	7	8	16	7	6	2	2	10	5	4
	952-5	un-copulating	13	13	6	9	11	13	7	2	3	4	8	6	5
	955-5	un-copulating	14	16	4	7	8	16	7	4	2	1	10	6	5
	957-4	non-pregnant	17	9	5	7	7	15	12	1	5	3	6	6	7
	958-5	un-copulating	14	14	3	10	6	18	9	3	2	2	10	5	4
	967-4	un-copulating	16	12	7	6	8	19	10	3	0	4	6	3	6
	968-5	non-pregnant	14	13	7	5	5	19	9	7	3	2	7	5	4
300 mg/kg	975-3	un-copulating	15	14	3	7	5	16	9	0	4	2	8	8	9
	976-5	un-copulating	14	14	5	7	4	19	7	4	4	2	6	7	7
	979-5	un-copulating	20	12	4	8	8	14	8	3	6	1	8	2	6
	980-5	non-pregnant	11	17	6	8	5	14	5	5	2	3	8	13	3
	985-6	non-pregnant	12	10	3	9	11	20	7	5	3	1	10	5	4

a) Values represent percentages to the seminiferous tubule examined.

表 2. 試験結果の概要

世代		親動物：F0(P)				仔動物：F1					
投与量 (mg/kg)		0	30	100	300	0	30	100	300		
親動物	死亡または屠殺	雄	0/24	0/24	0/24	0/24	0/19	0/19	0/21	0/19	
		雌	0/24	0/24	0/24	1/24	1/19	0/19	0/21	0/19	
一般状態	雄	流涎	0/24	0/24	8/24	24/24	0/19	0/19	11/19	19/19	
	雌	流涎	0/24	0/24	1/24	22/24	0/19	0/19	3/19	19/19	
体重増加量(g) [Mean ± S.D.]	雄	検査動物数	24	24	24	24	19	19	21	19	
		全試験期間	471.3 ± 68.7	460.6 ± 49.3	471.1 ± 65.4	457.0 ± 57.6	577.9 ± 85.3	596.5 ± 41.7	569.4 ± 53.0	555.2 ± 65.5	
		育成期間	187.7 ± 26.7	194.7 ± 30.7	180.5 ± 26.6	169.3 ± 25.2	246.3 ± 27.6	238.7 ± 29.2	237.7 ± 40.2	233.6 ± 35.0	
	雌	検査動物数	19-24	19-24	21-24	19-24	12-19	11-19	12-21	13-19	
		妊娠期間	126.9 ± 15.0	125.2 ± 15.7	133.3 ± 17.3	115.6 ± 20.9	133.5 ± 18.4	136.1 ± 37.4	131.4 ± 24.9	123.7 ± 32.6	
		哺育期間	-28.7 ± 27.1	-37.5 ± 12.8	-28.2 ± 18.5	-16.1 ± 15.3	-30.4 ± 17.1	-32.8 ± 15.2	-28.7 ± 17.6	-13.5 ± 17.2 <sup>f)</sup>	
摂餌量 (g/day/rat) <sup>a)</sup>	雄	検査動物数	24	24	24	24	19	19	21	19	
		全試験期間	20.3-25.8	20.4-25.5	20.0-26.6	19.7-25.2 <sup>b)</sup>	13.8-30.2	15.0-29.9	14.8-28.6	15.5-28.5	
		育成期間	15.8-18.2	16.6-18.8 <sup>c)</sup>	14.6-17.5	15.9-18.4	13.3-19.9	13.5-19.5	13.4-19.2 <sup>g)</sup>	14.0-20.1	
	雌	検査動物数	19-24	19-24	21-24	19-24	12-19	11-19	12-21	13-19	
		妊娠期間	10.5-19.1	11.3-19.6	10.7-20.6	11.2-19.2	11.6-22.5	11.1-22.5	10.8-19.3 <sup>h)</sup>	11.2-21.5	
		哺育期間	13.7-55.5	13.9-53.4	14.4-52.5	14.4-51.9	15.8-77.3	18.1-76.6	13.6-74.1	17.5-72.4	
繁殖能力 [Mean ± S.D.]	雄	包皮分離達成日齢	*	*	*	*	40.63 ± 1.98	40.11 ± 1.45	40.86 ± 2.39	41.05 ± 1.47	
		交尾率 <sup>d)</sup>	22/24	23/24	24/24	24/24	15/18	15/19	17/21	15/18	
		受胎率	20/22	21/23	21/24	22/24	13/15	12/15	14/17	13/15	
		検査動物数 <sup>e)</sup>	10	10	10	10	10	10	10	10	
	精子検査	精子の数(x10 <sup>-6</sup> g)	707.82 ± 137.79	676.81 ± 80.89	733.08 ± 123.25	769.06 ± 179.08	717.79 ± 91.89	696.08 ± 108.20	670.89 ± 159.93	664.35 ± 72.81	
		精子運動率(%)	98.53 ± 1.06	99.03 ± 0.92	98.00 ± 1.41	98.17 ± 1.34	97.16 ± 1.81	96.62 ± 2.26	96.57 ± 2.05	95.56 ± 2.40	
		異常形態精子率(%)	1.10 ± 0.52	1.30 ± 0.64	0.87 ± 0.57	1.57 ± 0.85	1.30 ± 0.74	1.57 ± 0.97	1.30 ± 1.09	1.13 ± 0.95	
		雌	膣開口日齢	*	*	*	*	31.17 ± 1.42	31.63 ± 1.83	31.24 ± 2.21	31.79 ± 1.87
			発情回数	3.67 ± 0.48	3.58 ± 0.88	3.57 ± 0.68	3.83 ± 0.38	3.33 ± 0.77	3.63 ± 0.68	3.57 ± 0.75	3.68 ± 0.89
	発情期間隔(発情周期)(日)		4.09 ± 0.31	4.09 ± 0.20	4.40 ± 0.44	4.48 ± 1.44	4.42 ± 0.61	4.26 ± 0.42	4.25 ± 0.32	4.57 ± 0.74	
	交尾率 <sup>d)</sup>		21/24	21/24	24/24	23/24	15/18	15/19	17/21	15/18	
	受胎率	19/21	19/21	21/24	21/23	13/15	12/15	14/17	13/15		
	出産率	19/19	19/19	21/21	21/21	13/13	11/12	13/14	13/13		
	妊娠期間(日)	22.26 ± 0.45	22.37 ± 0.50	22.48 ± 0.51	22.57 ± 0.81	22.31 ± 0.48	22.45 ± 0.52	22.31 ± 0.48	22.69 ± 0.48		
着床数	14.26 ± 1.69	13.42 ± 2.81	14.24 ± 2.49	12.19 ± 3.91	14.38 ± 2.66	13.45 ± 2.62	14.62 ± 2.40	13.54 ± 3.62			
出産仔数	13.26 ± 1.79	12.74 ± 2.62	13.48 ± 2.71	11.05 ± 3.97	13.38 ± 2.47	12.18 ± 2.79	13.77 ± 1.96	12.31 ± 4.39			

a) 各期間中の測定日における平均値の最低値と最高値を表示。b) 投与 9 週に有意な高値(p < 0.05)。c) 投与 4、9 週に有意な高値(p < 0.05)。d) F0 親動物については、2 週間の交配で交尾が確認できなかった雌は同一用量群内の交尾が確認されている雄と、雄は無処置の雌と 1 週間を限度として再交配を行った。e) 各群 10 匹のうち受胎能が認められなかった例数：0、30、100 および 300 mg/kg 群の F0 親動物でそれぞれ 1、1、0 および 0 例、F1 親動物でそれぞれ 4、4、5 および 4 例。f) 哺育 21 日に有意な高値(p < 0.05)。g) 生後 12、13 週に有意な低値(p < 0.05)。h) 妊娠 20 日に有意な低値(p < 0.05)。

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

表2. 試験結果の概要 (続き - 1)

世代			親動物 : F0(P)				仔動物 : F1					
投与量 (mg/kg)			0	30	100	300	0	30	100	300		
親動物	臓器重量 <sup>a)</sup> [Mean ± S.D.]	雄	検査動物数	24	24	24	24	19	19	21	19	
			絶対重量									
			脳(g)	2.29 ± 0.10	2.27 ± 0.10	2.26 ± 0.12	2.29 ± 0.10	2.26 ± 0.09	2.27 ± 0.09	2.27 ± 0.12	2.31 ± 0.09	
			下垂体(mg)	13.8 ± 1.7	13.6 ± 1.7	13.8 ± 1.4	13.5 ± 1.3	14.1 ± 1.9	14.2 ± 1.7	14.4 ± 1.5	14.6 ± 1.9	
			甲状腺(mg)	22.1 ± 3.8	21.5 ± 2.8	22.4 ± 4.2	22.1 ± 5.1	22.4 ± 4.6	25.7 ± 5.3	22.2 ± 3.6	23.1 ± 4.0	
			胸腺(g)	0.27 ± 0.08	0.26 ± 0.08	0.27 ± 0.09	0.25 ± 0.07	0.29 ± 0.08	0.29 ± 0.07	0.30 ± 0.08	0.28 ± 0.12	
			肝臓(g)	21.35 ± 3.71	21.53 ± 2.54	22.78 ± 3.04	25.02 ± 3.42	24.05 ± 5.57	25.08 ± 2.95	24.15 ± 2.75	26.82 ± 4.14	
			脾臓(g)	0.83 ± 0.09	0.88 ± 0.12	0.90 ± 0.29	0.84 ± 0.10	0.90 ± 0.17	0.96 ± 0.15	0.83 ± 0.12	0.84 ± 0.13	
			腎臓(g)	3.51 ± 0.42	3.53 ± 0.26	3.70 ± 0.46	4.07 ± 0.50	3.78 ± 0.46	4.12 ± 0.46	4.01 ± 0.54	4.45 ± 0.53	
			副腎(mg)	56.6 ± 7.1	57.9 ± 6.6	55.5 ± 10.4	59.2 ± 8.6	57.9 ± 9.6	56.1 ± 7.9	60.0 ± 7.2	58.8 ± 7.2	
			精囊(g)	2.26 ± 0.35	2.36 ± 0.31	2.24 ± 0.21	2.35 ± 0.36	2.51 ± 0.40	2.44 ± 0.31	2.59 ± 0.24	2.62 ± 0.36	
			前立腺(g)	1.07 ± 0.20	1.10 ± 0.19	1.08 ± 0.16	1.12 ± 0.24	1.08 ± 0.18	1.06 ± 0.19	1.07 ± 0.23	1.05 ± 0.18	
			精巢上体(g)	1.30 ± 0.09	1.29 ± 0.13	1.33 ± 0.11	1.31 ± 0.10	1.38 ± 0.06	1.37 ± 0.11	1.34 ± 0.12	1.33 ± 0.07	
			精巢(g)	3.43 ± 0.30	3.49 ± 0.27	3.51 ± 0.23	3.41 ± 0.30	3.68 ± 0.25	3.78 ± 0.30	3.79 ± 0.32	3.69 ± 0.26	
			相対重量(%)									
			脳	0.36 ± 0.04	0.36 ± 0.03	0.36 ± 0.04	0.37 ± 0.04	0.34 ± 0.05	0.33 ± 0.02	0.34 ± 0.03	0.36 ± 0.04	
			下垂体(x10 <sup>-3</sup> )	2.2 ± 0.3	2.2 ± 0.3	2.2 ± 0.3	2.2 ± 0.2	2.1 ± 0.5	2.0 ± 0.3	2.2 ± 0.3	2.3 ± 0.3	
			甲状腺(x10 <sup>-3</sup> )	3.5 ± 0.7	3.4 ± 0.5	3.6 ± 0.8	3.6 ± 0.7	3.3 ± 0.8	3.7 ± 0.8	3.4 ± 0.7	3.6 ± 0.7	
			胸腺	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.02	
			肝臓	3.34 ± 0.28	3.43 ± 0.21	3.58 ± 0.18	4.00 ± 0.27	3.51 ± 0.34	3.58 ± 0.25	3.62 ± 0.24	4.09 ± 0.28	
			脾臓	0.13 ± 0.01	0.14 ± 0.02	0.14 ± 0.05	0.14 ± 0.01	0.13 ± 0.02	0.14 ± 0.02	0.12 ± 0.02	0.13 ± 0.02	
			腎臓	0.55 ± 0.04	0.57 ± 0.05	0.58 ± 0.05	0.65 ± 0.05	0.56 ± 0.04	0.59 ± 0.05	0.60 ± 0.06	0.68 ± 0.07	
			副腎(x10 <sup>-3</sup> )	9.0 ± 1.2	9.3 ± 1.0	8.8 ± 1.6	9.6 ± 1.4	8.6 ± 1.5	8.1 ± 1.3	9.0 ± 1.0	9.1 ± 1.2	
			精囊	0.36 ± 0.07	0.38 ± 0.06	0.36 ± 0.05	0.38 ± 0.06	0.37 ± 0.07	0.35 ± 0.05	0.39 ± 0.05	0.40 ± 0.06	
			前立腺	0.17 ± 0.04	0.18 ± 0.04	0.17 ± 0.03	0.18 ± 0.04	0.16 ± 0.03	0.15 ± 0.03	0.16 ± 0.03	0.16 ± 0.03	
			精巢上体	0.21 ± 0.02	0.21 ± 0.03	0.21 ± 0.02	0.21 ± 0.02	0.21 ± 0.03	0.20 ± 0.02	0.20 ± 0.02	0.21 ± 0.03	
			精巢	0.54 ± 0.06	0.56 ± 0.07	0.56 ± 0.07	0.55 ± 0.06	0.55 ± 0.07	0.54 ± 0.06	0.57 ± 0.07	0.57 ± 0.08	

a) 両側性の臓器は左右の合計を表示。

/ 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 - 2)

世代			親動物 : F0(P)				仔動物 : F1								
投与量 (mg/kg)			0	30	100	300	0	30	100	300					
親動物	臓器重量 <sup>a)</sup> [Mean ± S.D.]	雌	検査動物数		19	19	21	19	12	11	12	13			
			絶対重量		脳(g)	2.08 ± 0.09	2.10 ± 0.08	2.13 ± 0.07	2.12 ± 0.08	2.08 ± 0.08	2.06 ± 0.09	2.11 ± 0.07	2.11 ± 0.07		
					下垂体(mg)	15.6 ± 1.8	15.9 ± 1.6	16.2 ± 3.4	15.6 ± 2.9	16.7 ± 2.0	16.1 ± 1.7	16.3 ± 1.8	16.3 ± 1.5		
					甲状腺(mg)	16.8 ± 3.6	17.3 ± 4.2	16.5 ± 3.9	15.9 ± 4.7	18.8 ± 3.8	18.6 ± 4.0	19.9 ± 4.5	20.3 ± 4.7		
					胸腺(g)	0.21 ± 0.06	0.22 ± 0.05	0.21 ± 0.07	0.22 ± 0.07	0.22 ± 0.07	0.22 ± 0.07	0.22 ± 0.07	0.21 ± 0.06		
					肝臓(g)	13.30 ± 1.62	15.09 ± 1.50	15.11 ± 1.64	15.20 ± 1.70	15.15 ± 1.75	15.03 ± 1.44	14.90 ± 1.52	17.02 ± 2.26		
					脾臓(g)	0.64 ± 0.08	0.66 ± 0.07	0.64 ± 0.07	0.63 ± 0.10	0.67 ± 0.07	0.68 ± 0.11	0.63 ± 0.11	0.67 ± 0.09		
					腎臓(g)	2.14 ± 0.22	2.19 ± 0.21	2.22 ± 0.18	2.29 ± 0.19	2.18 ± 0.17	2.39 ± 0.24	2.23 ± 0.22	2.45 ± 0.18		
					副腎(mg)	63.5 ± 11.2	63.6 ± 11.8	63.0 ± 13.8	72.4 ± 19.8	60.5 ± 5.1	64.5 ± 8.0	60.9 ± 7.2	68.3 ± 6.3		
					卵巣(mg)	94.3 ± 16.6	101.6 ± 22.0	103.8 ± 15.3	97.9 ± 18.6	104.9 ± 15.5	101.5 ± 16.1	111.7 ± 20.1	114.7 ± 20.4		
					子宮(g)	0.85 ± 0.26	0.88 ± 0.27	0.86 ± 0.32	0.92 ± 0.28	0.88 ± 0.20	0.89 ± 0.23	0.84 ± 0.21	0.92 ± 0.24		
					相対重量(%)		脳	0.64 ± 0.06	0.63 ± 0.04	0.65 ± 0.03	0.66 ± 0.04	0.63 ± 0.05	0.63 ± 0.03	0.66 ± 0.05	0.65 ± 0.03
							下垂体(x10 <sup>-3</sup> )	4.9 ± 0.6	4.8 ± 0.5	4.9 ± 1.1	4.9 ± 0.8	5.1 ± 0.9	4.9 ± 0.6	5.0 ± 0.4	5.1 ± 0.4
							甲状腺(x10 <sup>-3</sup> )	5.2 ± 1.2	5.2 ± 1.1	5.1 ± 1.4	4.9 ± 1.4	5.7 ± 1.0	5.7 ± 1.3	6.2 ± 1.4	6.3 ± 1.5
							胸腺	0.07 ± 0.02	0.06 ± 0.02	0.06 ± 0.02	0.07 ± 0.02	0.07 ± 0.02	0.07 ± 0.02	0.07 ± 0.02	0.06 ± 0.02
							肝臓	4.13 ± 0.47	4.56 ± 0.33	4.61 ± 0.50	4.74 ± 0.54	4.62 ± 0.52	4.57 ± 0.37	4.62 ± 0.39	5.22 ± 0.48
							脾臓	0.19 ± 0.04	0.20 ± 0.02	0.19 ± 0.02	0.20 ± 0.03	0.20 ± 0.03	0.21 ± 0.03	0.20 ± 0.02	0.21 ± 0.02
							腎臓	0.66 ± 0.05	0.66 ± 0.05	0.68 ± 0.05	0.71 ± 0.05	0.67 ± 0.05	0.72 ± 0.05	0.69 ± 0.05	0.75 ± 0.02
							副腎(x10 <sup>-3</sup> )	19.7 ± 3.5	19.3 ± 4.2	19.3 ± 5.0	22.6 ± 6.2	18.5 ± 1.9	19.6 ± 1.9	18.9 ± 2.4	21.0 ± 2.2
							卵巣(x10 <sup>-3</sup> )	29.0 ± 6.1	30.7 ± 6.7	31.6 ± 4.5	30.5 ± 5.8	32.1 ± 6.0	31.0 ± 5.3	34.6 ± 5.7	35.2 ± 5.8
				子宮	0.26 ± 0.08	0.27 ± 0.09	0.26 ± 0.09	0.29 ± 0.09	0.27 ± 0.06	0.27 ± 0.06	0.26 ± 0.06	0.28 ± 0.06			
剖検所見		雄	精巣	小型化	0/24	1/24	0/24	0/24	異常は特に認められなかった						
			精巣上体	小型化	0/24	1/24	0/24	0/24							
		雌	全臓器	異常は特に認められなかった				異常は特に認められなかった							
ホルモンレベル		雄	検査動物数 <sup>b)</sup>		6	6	6	6	6	6	6	6			
					黄体形成ホルモン(ng/mL)	1.44 ± 0.28	1.52 ± 0.42	1.56 ± 0.29	1.62 ± 0.37	1.80 ± 0.17	1.59 ± 0.38	1.39 ± 0.40	1.47 ± 0.42		
					テストステロン(ng/mL)	3.21 ± 1.76	3.04 ± 1.82	2.68 ± 1.83	2.36 ± 1.61	3.47 ± 1.93	1.93 ± 0.90	3.21 ± 2.71	2.54 ± 1.09		
					卵胞刺激ホルモン(ng/mL)	12.00 ± 1.64	11.57 ± 1.75	11.56 ± 0.91	11.37 ± 0.99	13.83 ± 1.55	12.97 ± 2.20	13.42 ± 0.83	14.11 ± 1.52		
		雌	検査動物数 <sup>c)</sup>		6	6	6	6	6	6	6	6			
					黄体形成ホルモン(ng/mL)	1.44 ± 0.24	1.38 ± 0.19	1.49 ± 0.28	1.42 ± 0.49	1.39 ± 0.43	1.55 ± 0.32	1.52 ± 0.30	1.36 ± 0.51		
					卵胞刺激ホルモン(ng/mL)	11.00 ± 3.72	9.83 ± 2.27	8.28 ± 0.88	7.99 ± 1.12	10.45 ± 2.81	11.56 ± 5.08	10.98 ± 3.90	10.94 ± 2.20		
				エストラジオール(pg/mL)	60.6 ± 8.6	38.9 ± 26.5	55.8 ± 26.6	51.0 ± 17.8	46.4 ± 21.3	40.6 ± 37.9	63.6 ± 50.2	68.5 ± 45.6			

a) 両側性の臓器は左右の合計を表示。b) 受胎能が認められなかった例数：0、30、100 および 300 mg/kg 群の F0 親動物でそれぞれ 2、0、0 および 0 例、F1 親動物でそれぞれ 1、2、1 および 1 例。c) 発情前期を示したものを選抜した。受胎能が認められなかった例数：F0 親動物の 300 mg/kg 群で 1 例。  
 / 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(P)				仔動物 : F1					
投与量 (mg/kg)			0	30	100	300	0	30	100	300		
親動物	病理組織学的検査	雄	肝臓	肝細胞の肥大	0/24	0/24	0/24	5/24	0/19	0/19	0/21	6/19
				肝細胞の脂肪滴沈着	8/24	6/24	2/24	1/24	5/19	4/19	0/21	0/19
			腎臓	硝子滴沈着	0/24	0/24	1/24	11/24	0/19	1/19	5/21	12/19
				好塩基性尿細管	0/24	0/24	0/24	5/24	0/19	0/19	1/21	5/19
		蛋白円柱		0/24	0/24	0/24	0/24	1/19	4/19	3/21	2/19	
		腺胃		潰瘍	0/24	0/24	0/24	1/24	0/19	0/19	0/21	0/19
		雌	膣	粘液細胞の出現	0/24	0/24	0/24	1/24	1/19	2/19	1/21	1/19
			子宮頸部	嚢胞	0/24	0/24	0/24	0/24	0/19	0/19	0/21	1/19
	病理組織学的検査(追加分 <sup>a)</sup> )		雄 <sup>b)</sup>	精巣 <sup>d)</sup>	異常は特に認められなかった				異常は特に認められなかった			
				精巣上体								
前立腺												
精嚢												
前立腺												
下垂体												
雌 <sup>c)</sup>	下垂体	異常は特に認められなかった				異常は特に認められなかった						

a) 未交尾および不妊例について実施。b) 検査例数: 0、30、100 および 300 mg/kg 群の F0 親動物でそれぞれ 4、3、3 および 2 例、F1 親動物でそれぞれ 5、7、7 および 5 例。c) 検査例数: 30 および 100 mg/kg 群の F0 親動物でそれぞれ 5 および 3 例、F1 親動物でそれぞれ 7 および 5 例。d) ステージアナリシスについても実施(比較対照として、受胎能が認められた対照群の 5 例についても同様の検査を実施)。  
 / および / : 統計学的に有意な高値/低値(それぞれ p 0.05 および p 0.01)。

表2. 試験結果の概要 (続き - 4)

世代		親動物 : F0(P)				仔動物 : F1						
投与量 (mg/kg)		0	30	100	300	0	30	100	300			
仔動物	出産生仔性比 (雄 / 雌)		134/118	125/114	138/143	115/113	88/85	68/66	82/85	66/88		
	検査腹数		19	19	21	21	13	11	13	13		
	出生率 (%)		92.99	93.73	93.98	89.06	92.51	90.54	87.89	87.50		
	生存率 (%)		哺育 4 日	98.81	99.58	99.64	98.25	96.53	99.25	92.22	98.70	
			哺育 21 日	100	99.33	100	97.37	100	100	100	100	
	一般状態		雄 哺育 0 日-21 日	異常は特に認められなかった				異常は特に認められなかった				
			雌 哺育 0 日-21 日	異常は特に認められなかった				異常は特に認められなかった				
	体重(g) [Mean ± S.D.]		雄 検査腹数	19	19	21	19-21	12-13	11	12-13	13	
			雄	哺育 0 日	6.8 ± 0.7	7.0 ± 0.7	7.0 ± 0.7	7.1 ± 0.7	6.8 ± 0.6	7.1 ± 0.6	6.4 ± 0.7	6.9 ± 0.6
				哺育 4 日	11.6 ± 1.5	12.1 ± 1.8	11.8 ± 1.6	12.0 ± 2.0	11.7 ± 1.4	12.5 ± 1.3	10.9 ± 1.5	12.3 ± 1.9
哺育 7 日				18.9 ± 2.1	19.9 ± 2.3	19.0 ± 1.8	18.8 ± 2.6	19.6 ± 2.5	20.1 ± 1.5	17.8 ± 2.6	20.1 ± 2.0	
哺育 14 日				37.8 ± 3.2	38.9 ± 2.4	38.0 ± 3.0	38.1 ± 3.9	39.8 ± 4.0	39.5 ± 2.2	36.3 ± 4.1	39.4 ± 3.2	
哺育 21 日				57.4 ± 6.8	58.6 ± 4.9	55.5 ± 5.0	60.7 ± 7.3	65.0 ± 5.6	65.9 ± 3.1	61.4 ± 5.8	65.3 ± 3.6	
雌			検査腹数	19	19	21	19-21	12-13	11	12-13	13	
			哺育 0 日	6.6 ± 0.6	6.5 ± 0.7	6.5 ± 0.7	6.6 ± 0.7	6.2 ± 0.5	6.7 ± 0.6	6.1 ± 0.6	6.6 ± 0.6	
			哺育 4 日	11.2 ± 1.4	11.5 ± 1.9	11.2 ± 1.7	11.3 ± 2.1	11.0 ± 1.2	12.0 ± 1.1	10.4 ± 1.4	11.6 ± 1.6	
			哺育 7 日	18.2 ± 2.0	18.8 ± 2.4	18.3 ± 2.0	18.1 ± 2.6	18.7 ± 2.1	19.3 ± 1.4	17.4 ± 2.3	18.8 ± 1.8	
	哺育 14 日	36.7 ± 3.3	37.1 ± 2.5	36.8 ± 3.2	36.7 ± 3.7	37.9 ± 3.2	37.8 ± 2.9	35.9 ± 3.7	37.4 ± 3.2			
肛門生殖突起 間距離(mm) [Mean ± S.D.]	雄	検査動物数	76	76	84	75	*	*	*	*		
		哺育 4 日	4.95 ± 0.37	5.09 ± 0.54	4.98 ± 0.34	5.09 ± 0.48	*	*	*	*		
	雌	検査動物数	76	74	82	77	*	*	*	*		
		哺育 4 日	2.38 ± 0.17	2.40 ± 0.21	2.47 ± 0.17	2.42 ± 0.22	*	*	*	*		
発育分化	雄	耳介開展	哺育 4 日	76/76	76/76	84/84	75/75	*	*	*	*	
			切歯萌出	哺育 10 日	53/76	54/76	67/84	55/75	*	*	*	*
		切歯萌出	哺育 11 日	72/76	75/76	82/84	73/75	*	*	*	*	
			哺育 12 日	75/76	75/76	84/84	75/75	*	*	*	*	
			哺育 13 日	76/76	76/76	*	*	*	*	*	*	
	眼瞼開裂	哺育 15 日	76/76	76/76	84/84	71/71	*	*	*	*		
	雌	耳介開展	哺育 4 日	76/76	74/74	82/82	77/77	*	*	*	*	
			切歯萌出	哺育 10 日	51/76	47/74	57/82	51/73	*	*	*	*
		切歯萌出	哺育 11 日	70/76	72/74	80/82	70/73	*	*	*	*	
			哺育 12 日	76/76	74/74	82/82	73/73	*	*	*	*	
眼瞼開裂			哺育 15 日	76/76	73/73	82/82	69/69	*	*	*	*	

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

表2. 試験結果の概要 (続き - 5)

世代			親動物 : F0(P)				仔動物 : F1						
投与量 (mg/kg)			0	30	100	300	0	30	100	300			
仔動物	反射反応	雄	面上正向反射	哺育5日	71/76	73/76	81/84	65/75	*	*	*	*	
				哺育6日	76/76	76/76	84/84	74/75	*	*	*	*	
				哺育7日	*	*	*	75/75	*	*	*	*	
			同側屈筋反射	哺育5日	76/76	76/76	84/84	75/75	*	*	*	*	
				視覚性踏み直り反射	哺育16日	76/76	76/76	84/84	71/71	*	*	*	*
					耳介反射 500 Hz	哺育28日	19/19	19/19	21/21	19/19	*	*	*
		耳介反射 2000 Hz	哺育28日	19/19	19/19	21/21	19/19	*	*	*	*		
		雌	面上正向反射	哺育5日	67/76	63/74	73/82	65/74	*	*	*	*	
				哺育6日	75/76	73/74	82/82	72/74	*	*	*	*	
				哺育7日	76/76	74/74	*	73/74	*	*	*	*	
			同側屈筋反射	哺育5日	76/76	74/74	82/82	74/74	*	*	*	*	
				視覚性踏み直り反射	哺育16日	76/76	73/73	82/82	69/69	*	*	*	*
			耳介反射 500 Hz		哺育28日	19/19	19/19	21/21	19/19	*	*	*	*
			耳介反射 2000 Hz		哺育28日	19/19	19/19	21/21	19/19	*	*	*	*
臓器重量 <sup>a)</sup> (生後21日) [Mean ± S.D.]	雄		検査動物数		19	19	21	17	12	11	12	13	
		絶対重量	脳(g)	1.58 ± 0.05	1.56 ± 0.07	1.57 ± 0.06	1.62 ± 0.07	1.61 ± 0.05	1.62 ± 0.05	1.60 ± 0.07	1.62 ± 0.07		
			胸腺(g)	0.22 ± 0.07	0.24 ± 0.04	0.21 ± 0.04	0.28 ± 0.04	0.29 ± 0.06	0.30 ± 0.05	0.26 ± 0.06	0.29 ± 0.03		
			脾臓(g)	0.30 ± 0.07	0.29 ± 0.08	0.27 ± 0.06	0.30 ± 0.09	0.39 ± 0.05	0.41 ± 0.07	0.37 ± 0.06	0.38 ± 0.08		
			精巣上体(mg)	45.4 ± 7.3	46.8 ± 6.5	45.2 ± 6.9	48.3 ± 5.6	50.8 ± 7.6	54.6 ± 7.2	49.9 ± 4.6	54.4 ± 5.7		
			精巣(mg)	312.1 ± 41.2	321.9 ± 40.3	319.1 ± 48.2	304.6 ± 58.3	330.1 ± 43.2	344.4 ± 42.3	322.9 ± 44.6	348.3 ± 38.4		
		相対重量(%)	脳	2.59 ± 0.26	2.55 ± 0.26	2.68 ± 0.27	2.50 ± 0.23	2.26 ± 0.17	2.26 ± 0.10	2.41 ± 0.11	2.26 ± 0.13		
			胸腺	0.36 ± 0.07	0.39 ± 0.05	0.35 ± 0.05	0.43 ± 0.05	0.40 ± 0.06	0.41 ± 0.07	0.38 ± 0.08	0.41 ± 0.05		
			脾臓	0.49 ± 0.08	0.48 ± 0.10	0.45 ± 0.10	0.46 ± 0.10	0.54 ± 0.07	0.57 ± 0.09	0.55 ± 0.06	0.53 ± 0.09		
			精巣上体(10 <sup>-3</sup> )	74.1 ± 9.4	76.4 ± 10.3	76.5 ± 8.5	74.4 ± 8.9	71.2 ± 9.6	75.9 ± 9.7	75.1 ± 6.0	75.6 ± 5.7		
			精巣(10 <sup>-3</sup> )	509.8 ± 54.4	524.1 ± 51.3	538.7 ± 47.6	468.7 ± 82.2	463.6 ± 54.6	479.0 ± 53.9	484.4 ± 40.0	483.9 ± 34.5		
		雌	検査動物数		19	19	21	17	12	11	12	13	
			絶対重量	脳(g)	1.50 ± 0.12	1.53 ± 0.06	1.50 ± 0.08	1.57 ± 0.05	1.60 ± 0.04	1.56 ± 0.07	1.59 ± 0.06	1.56 ± 0.05	
				胸腺(g)	0.23 ± 0.07	0.24 ± 0.04	0.21 ± 0.05	0.28 ± 0.06	0.25 ± 0.05	0.28 ± 0.05	0.26 ± 0.06	0.29 ± 0.03	
脾臓(g)	0.27 ± 0.08			0.28 ± 0.05	0.27 ± 0.06	0.31 ± 0.05	0.34 ± 0.08	0.38 ± 0.07	0.34 ± 0.08	0.36 ± 0.08			
卵巣(mg)	15.7 ± 3.6			18.4 ± 4.2	17.9 ± 2.6	18.2 ± 1.6	21.5 ± 3.7	19.5 ± 2.5	18.8 ± 2.8	19.4 ± 3.2			
子宮(mg)	37.4 ± 8.3			37.1 ± 5.7	35.9 ± 6.3	40.4 ± 5.8	46.9 ± 8.4	45.7 ± 6.1	41.7 ± 5.8	40.3 ± 4.1			
相対重量(%)	脳		2.71 ± 0.56	2.58 ± 0.21	2.65 ± 0.25	2.47 ± 0.20	2.36 ± 0.17	2.38 ± 0.21	2.46 ± 0.22	2.34 ± 0.19			
	胸腺		0.40 ± 0.08	0.40 ± 0.06	0.37 ± 0.07	0.44 ± 0.08	0.37 ± 0.07	0.41 ± 0.07	0.40 ± 0.06	0.43 ± 0.05			
	脾臓		0.46 ± 0.10	0.47 ± 0.08	0.47 ± 0.09	0.48 ± 0.06	0.49 ± 0.08	0.57 ± 0.07	0.52 ± 0.10	0.53 ± 0.09			
	卵巣(10 <sup>-3</sup> )		27.4 ± 4.5	30.5 ± 6.0	31.3 ± 4.1	28.7 ± 3.0	31.6 ± 5.6	29.7 ± 3.9	29.0 ± 3.4	28.8 ± 4.2			
	子宮(10 <sup>-3</sup> )	66.3 ± 13.5	62.0 ± 8.7	62.6 ± 9.0	63.4 ± 9.4	68.7 ± 10.9	69.5 ± 11.2	64.5 ± 7.7	60.2 ± 7.0				
剖検所見 (生後21日)	雄	腎臓	腎盂拡張	1/24	異常は特に認められなかった				異常は特に認められなかった				
		尿管拡張	1/24	異常は特に認められなかった				異常は特に認められなかった					
	雌	腎臓	腎盂拡張	異常は特に認められなかった				1/19	異常は特に認められなかった				

a) 両側性の臓器は左右の合計を表示。

/ 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)