

## 5. 試験結果

### 5.1. 死亡率 (表 1 および 2, 付表 1 および 2)

試験期間中, いずれの投与群の雌雄とも死亡は認められなかった。

### 5.2. 一般状態の観察 (表 3 および 4, 付表 3 および 4)

いずれの被験物質投与群の雌雄においても, 発生頻度が対照群と比較して有意に増減した一般状態の異常は認められなかった。

また, 1000 mg/kg 用量群では雄の 1 例 (動物番号 233) に鼻周囲部の腫脹と被毛汚れ, 眼周囲部の赤色物付着および不正咬合が観察された。

### 5.3. 詳細な状態の観察 (表 5 および 6, 付表 5 および 6)

1000 mg/kg 用量群では, 投与 6 週時の雄にオープンフィールド観察での排尿頻度の有意な増加が観察された。雌では有意な変化はなかった。

300 mg/kg 用量群以下の被験物質投与群では, 雌雄とも投与に関連すると考えられる異常はなかった。

### 5.4. 機能検査 (表 7 および 8, 付表 7 および 8)

1000 mg/kg 用量群では, 対照群と比較して有意な変化はみられなかった。

300 mg/kg 用量群では, 雌で自発運動量の有意な減少が 20~30 分の測定時に認められた。雄では有意な変化はなかった。

### 5.5. 体重 (図 1 および 2, 表 9 および 10, 付表 9 および 10)

いずれの被験物質投与群の雌雄にも対照群と比較し, 投与 13 週間終了までに有意な体重変化は認められなかった。

### 5.6. 摂餌量 (表 11 および 12, 付表 11 および 12)

いずれの被験物質投与群の雌雄にも対照群と比較して有意な摂餌量の変化は認められなかった。

### 5.7. 食餌効率 (表 13 および 14)

雌雄とも投与 13 週までの食餌効率および全投与期間を通じた総平均食餌効率には被験物質投与群と対照群との間に明らかな差は認められなかった。

### 5.8. 眼科学的検査 (表 15 および 16, 付表 13 および 14)

投与 13 週時の検査では, 1000 mg/kg 用量群の雌雄に統計学的有意差のみられた変化はなかった。このため, 300 mg/kg 以下の被験物質投与群については投与 13 週時の眼科学的検査は行わなかった。

## 5.9. 尿検査 (表 17 および 18, 付表 15 および 16)

いずれの被験物質投与群の雌雄において、対照群と比べ統計学的に有意な差は認められなかった。

## 5.10. 血液学的検査 (表 19 および 20, 付表 17 および 18)

被験物質投与群で対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を以下の本文表 1 に示す。

本文表 1. 血液学的検査成績まとめ

項目	用量群 (mg/kg/日)					
	雄			雌		
	100	300	1000	100	300	1000
白血球のディファレンシャルカウント:						
単球数 (M)	100	109	109	140	↑ 160	120
好酸数 (E)	129	157	114	125	↑ 175	75

Dunnett の多重比較法。

↑,  $P \leq 0.05$ 。表中の数値は対照群を 100 とした時の相対値。

1000 mg/kg 用量群では、雌雄の各検査項目に統計学的有意差のみられた変化はなかった。

300 mg/kg 用量群では、雌動物に末梢血の白血球のディファレンシャルカウント項目の単球数および好酸球数が有意に増加した。

## 5.11. 血液生化学的検査 (表 21 および 22, 付表 19 および 20)

被験物質投与群で対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目および関連項目を以下の本文表 2 に示す。

本文表 2. 血液生化学的検査成績まとめ

項目	用量群 (mg/kg/日)					
	雄			雌		
	100	300	1000	100	300	1000
アルブミン (Alub)	100	101	100	100	98	101
グロブリン (Glob)	100	94	99	100	99	98
アルブミン/グロブリン比 (A/G ratio)	99	↑109	101	100	100	103

Dunnett の多重比較法。

↑,  $P \leq 0.01$ 。表中の数値は対照群を 100 とした時の相対値。

1000 mg/kg 用量群では、雌雄の各検査項目に統計学的有意差のみられた変化はなかった。

300 mg/kg 用量群では、雄動物でアルブミン/グロブリン比が有意に増加した。

#### 5.12. 臓器重量 (表 25 および 26, 付表 21 および 22)

被験物質投与群で対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を以下の本文表 3 に示す。

本文表 3. 臓器重量まとめ

項目		用量群 (mg/kg/日)					
		雄			雌		
		100	300	1000	100	300	1000
心臓	絶対重量	98	95	96	101	101	95
	相対重量	96	↓ 91	96	104	102	101

Dunnett の多重比較法。

↓,  $P \leq 0.05$ 。表中の数値は対照群を 100 とした時の相対値。

1000 mg/kg 用量群では、雌雄の各臓器に統計学的有意差のみられた変化はなかった。

300 mg/kg 用量群では、雄動物で心臓の相対重量値が有意に減少した。

#### 5.13. 剖検 (表 23 および 24, 付表 23 および 24)

いずれの被験物質投与群の雌雄とも、対照群と比較して統計学的に有意な増加あるいは増加傾向を示した病変はなかった。

また、1000 mg/kg 用量群の雄 1 例 (動物番号 233) に口腔の不正咬合が認められた。

#### 5.14. 病理組織学的検査 (表 27 および 28, 付表 23 および 24)

高用量群の雌雄ともに対照群と比較して統計学的に有意に増加した病変はなかった。

また、1000 mg/kg 用量群の雄 1 例 (動物番号 233) に鼻骨骨折および上顎切歯の異形成が認められた。

## 6. 考察および結論

クヌギを原料とする木酢液のラットにおける90日間反復経口投与の毒性変化を検索し、無毒性量 (NOAEL) を求めた。各用量群雌雄 10 匹ずつの Wistar Hannover 系 SPF ラット (BrIHan:WIST@Jcl[GALAS]) を用いて、本被験物質を 0, 100, 300 および 1000 mg/kg/日 の用量で 90 日間 (13 週間) にわたって毎日連続強制経口投与した。試験期間中、全ての動物について死亡の有無を確認し、一般状態の観察、摂餌量の測定および体重測定を実施した。投与 11 週時に機能検査を、投与 13 週時に眼科学的検査および尿検査を実施し、13 週投与終了後に血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量測定、剖検および病理組織学的検査を行った。

1000 mg/kg 用量群において、詳細な状態の観察で投与 6 週時に雄で排尿頻度が増加した。雄動物にみられた本所見は投与期間中の一時期な変化であり、僅かな変化であったため、偶発的な増加であると判断された。この他、雌雄とも一般状態の観察、機能検査、体重、摂餌量、食餌効率、眼科学的検査、尿検査、血液学的検査および血液生化学的検査成績に被験物質投与の影響は認められなかった。各臓器の臓器重量、剖検所見および病理組織学的所見においても、被験物質投与に関連付けられる変化は観察されなかった。

また、1000 mg/kg 用量群では雄の 1 例 (動物番号 233) に一般状態の観察で鼻周囲部の腫脹と被毛汚れ、眼周囲部の赤色物付着および不正咬合が観察され、剖検で口腔の不正咬合が、病理組織学的検査で鼻骨骨折および上顎切歯の異形成が認められた。本個体にみられた各所見はケージ内での鼻部損傷によると思われる変化であろうと考えられ、被験物質投与に起因する変化ではないと判断された。

一方、300 mg/kg 用量群では、機能検査の自発運動量、血液学的検査の白血球ディファレンシャルカウント項目、血液生化学的検査項目および心臓重量に統計学的に有意な変化は散見されたものの、用量相関性のある変化ではなかった。これらの変化は被験物質投与に関連付けられる変化ではないと考えられた。

当該試験実施条件下でのクヌギを原料とする木酢液の Wistar Hannover 系 SPF ラット (BrIHan:WIST@Jcl[GALAS]) における無毒性量 (NOAEL) は雌雄とも 1000 mg/kg/日 と結論した。

7. 予見することができなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態および試験計画書に従わなかったこと

当該試験において試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態は発生しなかった。

試験期間中に動物飼育室内の湿度の実測値が試験計画書の設定値から逸脱した。すなわち、動物飼育室の洗浄時にもなう逸脱が1回（2004年9月21日）、そして空調機保守点検時の一時停止による逸脱が1回（2004年11月6日）認められた。これらの逸脱は3%以内の極わずかな、そして10分間以内の短時間のものであり、その後の動物の状態にも異常は見られなかったことから、試験成績に影響を与えるものではなかったと判断した。

8. 参考文献

- 1) Gad, S.C. and Weil, C.S.: Statistics for Toxicologists. In: Principles and Methods of Toxicology (3rd edition), edited by Hayes, A.W., pp. 221-274, Raven Press, N.Y., 1994.