

表 1-1 ビスフェノールA-PO(平均付加モル数5モル)の染色体異常試験結果(短時間処理法:S9mix非存在下)

検体の用量 (μ g/mL)	染色体構造異常の細胞数(%)						ギャップの細胞		染色体の数的異常の細胞数(%)				
	観察細胞数	染色分体		染色体		その他	総異常細胞数	出現数 (%)	増殖率 (%)	観察細胞数	倍数体	その他	総異常細胞数
		切断	交換	切断	交換								
陰性対照	100	1	0	0	0	0	1	1		100	1	0	1
0	100	0	1	0	0	0	1	0	100.0	100	0	0	0
	200	1	1	0	0	0	2	1		200	1	0	1
		(0.5)	(0.5)	(0)	(0)	(0)	(1.0)	(0.5)			(0.5)	(0)	(0.5)
12.5	100	0	0	0	0	0	0	0	101.0	100	0	0	0
	100	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0	0
	200	0	0	0	0	0	0	0		200	0	0	0
		(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)		(0)	(0)	(0)	
25	100	1	0	0	1	0	2	0	98.5	100	0	0	0
	100	0	0	0	0	0	0	1		100	0	0	0
	200	1	0	0	1	0	2	1		200	0	0	0
		(0.5)	(0)	(0)	(0.5)	(0)	(1.0)	(0.5)		(0)	(0)	(0)	
50	100	1	0	0	0	0	1	1	88.0	100	0	0	0
	100	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0	0
	200	1	0	0	0	0	1	1		200	0	0	0
		(0.5)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0.5)	(0.5)		(0)	(0)	(0)	
75 #	--	--	--	--	--	--	--	--	49.5	--	--	--	--
	--	--	--	--	--	--	--	--		--	--	--	--
	--	--	--	--	--	--	--	--		--	--	--	--
		(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)		(--)	(--)	(--)	
100 #	--	--	--	--	--	--	--	--	18.5	--	--	--	--
	--	--	--	--	--	--	--	--		--	--	--	--
	--	--	--	--	--	--	--	--		--	--	--	--
		(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)		(--)	(--)	(--)	
陽性対照	100	36	96	3	0	0	98	1		100	0	0	0
2.5	100	38	97	1	0	0	98	0	--	100	0	0	0
	200	74	193	4	0	0	196	1		200	0	0	0
		(37.0)	(96.5)	(2.0)	(0)	(0)	(98.0)**	(0.5)		(0)	(0)	(0)	

陰性対照:ジメチルスルホキシド。

陽性対照:1-Methyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine。

**: $p < 0.01$ 。

#:細胞毒性のため、観察可能な分裂中期像は認められなかった。

表 1-2 ビスフェノールA-PO (平均付加モル数5モル)の染色体異常試験結果(短時間処理法:S9mix存在下)

検体の用量 (μ g/mL)	染色体構造異常の細胞数(%)						キヤップの出現数 (%)	細胞増殖率 (%)	染色体の数的異常の細胞数(%)				
	観察細胞数	染色分体		染色体		その他			総異常細胞数	観察細胞数	倍数体	その他	総異常細胞数
		切断	交換	切断	交換								
陰性対照	100	0	0	0	0	0	0	0	100.0	100	0	0	0
0	100	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0	0
	200	0	0	0	0	0	0	0		200	0	0	0
		(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)			(0)	(0)	(0)
	100	1	0	0	0	0	1	0		100	1	0	1
25	100	0	0	0	0	0	0	1	98.0	100	0	0	0
	200	1	0	0	0	0	1	1		200	1	0	1
		(0.5)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0.5)	(0.5)			(0.5)	(0)	(0.5)
	100	0	1	0	0	0	1	0		100	0	0	0
50	100	0	2	0	0	0	2	0	93.0	100	0	0	0
	200	0	3	0	0	0	3	0		200	0	0	0
		(0)	(1.5)	(0)	(0)	(0)	(1.5)	(0)			(0)	(0)	(0)
	100	0	1	0	0	0	1	0		100	0	0	0
100	100	0	0	0	0	0	0	0	87.5	100	0	0	0
	200	0	1	0	0	0	1	0		200	0	0	0
		(0)	(0.5)	(0)	(0)	(0)	(0.5)	(0)			(0)	(0)	(0)
	--	--	--	--	--	--	--	--		--	--	--	--
150 #	--	--	--	--	--	--	--	--	36.5	--	--	--	--
	--	--	--	--	--	--	--	--		--	--	--	--
		(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)			(--)	(--)	(--)
	--	--	--	--	--	--	--	--		--	--	--	--
200 #	--	--	--	--	--	--	--	--	12.5	--	--	--	--
	--	--	--	--	--	--	--	--		--	--	--	--
		(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)			(--)	(--)	(--)
陽性対照	100	14	71	0	1	0	75	0		100	0	0	0
10	100	11	70	0	0	0	71	1		100	0	0	0
	200	25	141	0	1	0	146	1		200	0	0	0
		(12.5)	(70.5)	(0)	(0.5)	(0)	(73.0)**	(0.5)			(0)	(0)	(0)

陰性対照:ジメチルスルホキシド.

陽性対照:3,4-Benzo[a]pyrene.

**: $p < 0.01$.

#:細胞毒性のため,観察可能な分裂中期像は認められなかった。

表 1-3 ビスフェノールA-PO(平均付加モル数5モル)の染色体異常試験結果(短時間処理法:S9mix存在下)-確認試験

検体の用量 (μ g/mL)	染色体構造異常の細胞数(%)							キヤップの細胞		染色体の数的異常の細胞数(%)				
	観察細胞数	染色分体		染色体		その他	総異常細胞数	出現数(%)	増殖率(%)	観察細胞数	倍数体	その他	総異常細胞数	
		切断	交換	切断	交換									
陰性対照	100	0	0	0	1	0	1	0		100	0	0	0	
0	100	0	0	0	0	0	0	0	100.0	100	0	0	0	
	200	0	0	0	1	0	1	0		200	0	0	0	
		(0)	(0)	(0)	(0.5)	(0)	(0.5)	(0)			(0)	(0)	(0)	(0)
100	100	0	0	0	0	0	0	0	88.0	100	1	0	1	
	100	0	1	0	0	0	1	0		100	1	0	1	
	200	0	1	0	0	0	1	0		200	2	0	2	
		(0)	(0.5)	(0)	(0)	(0)	(0.5)	(0)		(1.0)	(0)	(1.0)		
125	100	0	1	0	0	0	1	0	76.5	100	0	0	0	
	100	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0	0	
	200	0	1	0	0	0	1	0		200	0	0	0	
		(0)	(0.5)	(0)	(0)	(0)	(0.5)	(0)		(0)	(0)	(0)		
150 #	--	--	--	--	--	--	--	--	44.5	--	--	--	--	
	--	--	--	--	--	--	--	--		--	--	--	--	--
	--	--	--	--	--	--	--	--		--	--	--	--	--
		(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)		(--)	(--)	(--)	(--)	
陽性対照	100	9	46	0	1	0	47	0		100	0	0	0	
10	100	12	36	0	0	0	37	0	--	100	0	0	0	
	200	21	82	0	1	0	84	0		200	0	0	0	
		(10.5)	(41.0)	(0)	(0.5)	(0)	(42.0)**	(0)		(0)	(0)	(0)	(0)	

陰性対照:ジメチルスルホキシド.

陽性対照:3,4-Benzo[a]pyrene.

**: $p < 0.01$.

#:細胞毒性のため、観察可能な分裂中期像は認められなかった。

表 2-1 ビスフェノールA-PO(平均付加モル数5モル)の染色体異常試験結果(連続処理法:24時間処理)

検体の用量 (μ g/mL)	染色体構造異常の細胞数(%)						ギャップの細胞		染色体の数的異常の細胞数(%)					
	観察 細胞数	染色分体		染色体		その他	総異常 細胞数	出現数 (%)	増殖率 (%)	観察 細胞数	倍数体	その他	総異常 細胞数	
		切断	交換	切断	交換									
陰性対照	100	1	0	0	0	0	1	0		100	0	0	0	
0	100	0	1	0	0	0	1	0	100.0	100	0	0	0	
	200	1	1	0	0	0	2	0		200	0	0	0	
		(0.5)	(0.5)	(0)	(0)	(0)	(1.0)	(0)		(0)	(0)	(0)	(0)	
6.25	100	1	0	0	0	0	1	0	90.5	100	0	0	0	
	100	0	0	0	1	0	1	0		100	0	0	0	
	200	1	0	0	1	0	2	0		200	0	0	0	
		(0.5)	(0)	(0)	(0.5)	(0)	(1.0)	(0)		(0)	(0)	(0)	(0)	
12.5	100	0	0	0	0	0	0	1	83.5	100	1	0	1	
	100	0	1	0	0	0	1	0		100	0	0	0	
	200	0	1	0	0	0	1	1		200	1	0	1	
		(0)	(0.5)	(0)	(0)	(0)	(0.5)	(0.5)		(0.5)	(0)	(0.5)	(0.5)	
25	100	0	0	0	0	0	0	0	72.0	100	0	0	0	
	100	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0	0	
	200	0	0	0	0	0	0	0		200	0	0	0	
		(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)		(0)	(0)	(0)	(0)	
50	100	0	0	0	0	0	0	0	54.0	100	0	0	0	
	100	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0	0	
	200	0	0	0	0	0	0	0		200	0	0	0	
		(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)		(0)	(0)	(0)	(0)	
100 #	--	--	--	--	--	--	--	--	11.5	--	--	--	--	
	--	--	--	--	--	--	--	--		--	--	--	--	--
	--	--	--	--	--	--	--	--		--	--	--	--	--
		(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)		(--)	(--)	(--)	(--)	
陽性対照	100	34	91	1	0	0	95	0		100	0	0	0	
2.5	100	35	95	0	0	0	97	0	--	100	0	0	0	
	200	69	186	1	0	0	192	0		200	0	0	0	
		(34.5)	(93.0)	(0.5)	(0)	(0)	(96.0)**	(0)		(0)	(0)	(0)	(0)	

陰性対照:ジメチルスルホキシド.

陽性対照:1-Methyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine.

**: $p < 0.01$.

#:細胞毒性のため、観察可能な分裂中期像は認められなかった。

表 2-2 ビスフェノールA-PO (平均付加モル数5モル)の染色体異常試験結果(連続処理法:24時間処理)-確認試験

検体 の用量 ($\mu\text{g/mL}$)	染色体構造異常の細胞数(%)						キヤップの細胞 出現数 (%)	細胞 増殖率 (%)	染色体の数的異常の細胞数(%)				
	観察 細胞数	染色分体		染色体		その他			総異常 細胞数	観察 細胞数	倍数体	その他	総異常 細胞数
		切断	交換	切断	交換								
陰性対照	100	0	2	0	1	0	3	0		100	1	0	1
0	100	0	0	0	0	0	0	0	100.0	100	0	0	0
	200	0	2	0	1	0	3	0		200	1	0	1
		(0)	(1.0)	(0)	(0.5)	(0)	(1.0)	(0)			(0.5)	(0)	(0.5)
50	100	1	1	0	0	0	2	0	55.0	100	1	0	1
	100	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0	0
	200	1	1	0	0	0	2	0		200	1	0	1
		(0.5)	(0.5)	(0)	(0)	(0)	(1.0)	(0)			(0.5)	(0)	(0.5)
60 #	--	--	--	--	--	--	--	--	43.5	--	--	--	--
	--	--	--	--	--	--	--	--		--	--	--	--
	--	--	--	--	--	--	--	--		--	--	--	--
		(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)			(--)	(--)	(--)
75 #	--	--	--	--	--	--	--	--	17.5	--	--	--	--
	--	--	--	--	--	--	--	--		--	--	--	--
	--	--	--	--	--	--	--	--		--	--	--	--
		(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)			(--)	(--)	(--)
100 #	--	--	--	--	--	--	--	--	19.5	--	--	--	--
	--	--	--	--	--	--	--	--		--	--	--	--
	--	--	--	--	--	--	--	--		--	--	--	--
		(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)			(--)	(--)	(--)
陽性対照	100	46	93	2	0	0	96	0		100	0	0	0
2.5	100	40	89	0	0	0	93	0	--	100	0	0	0
	200	86	182	2	0	0	189	0		200	0	0	0
		(44.0)	(91.0)	(1.0)	(0)	(0)	(94.5)**	(0)			(0)	(0)	(0)

陰性対照:ジメチルスルホキシド.

陽性対照:1-Methyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine.

**: $p < 0.01$.

#:細胞毒性のため, 観察可能な分裂中期像は認められなかった。

要 約

ビスフェノール A-PO 付加物 (平均付加モル数 5 モル) の 0 (被験物質の媒体である局方オリブ油のみ投与)、30、120 および 500 mg/kg/day を、1 群雌雄各 12 匹の SD 系ラットに、交配開始 2 週間前から、雄は 42 日間、雌は分娩後哺育 4 日まで経口投与し、その反復投与毒性および生殖発生毒性を調べた。また、雄については対照群および 500 mg/kg 群の各 12 匹からそれぞれ 5 匹を選別し、雌についてはサテライト群として別に 1 群 5 匹の対照群および 500 mg/kg 群を設け、投与終了後 14 日間観察を継続し、毒性の回復性についても検討した。

1. 反復投与毒性

500 mg/kg 群で雌雄に消瘦例、さらに雄には眼瞼下垂や自発運動の低下例および投与期間中の体重増加量の低値、妊娠雌には 1 例の死亡が認められた。血液生化学検査では、120 および 500 mg/kg 群で雄に総タンパク濃度の低値、500 mg/kg 群で雄にアルブミン濃度の低値、雌雄に総コレステロール濃度の高値が認められた。器官重量では、500 mg/kg 群で雄に肝臓の絶対および相対重量、雌に相対重量の高値が認められ、剖検においても同群の雌雄に肝臓の大型化が確認された。病理組織学検査では、120 および 500 mg/kg 群で雌雄に小腸における腸絨毛の乳糜管拡張、500 mg/kg 群で雌雄に肝臓の小葉中心性肝細胞肥大が認められた。詳細な臨床観察、感覚反射機能検査、握力、自発運動量および摂餌量において、被験物質の投与による影響は認められなかった。

回復群においては、雌に肝臓相対重量の高値、雌雄の全例に乳糜管の拡張が認められるものの、変化の程度は軽減する傾向にあった。

2. 生殖発生毒性

500 mg/kg 群の雌で性周期の乱れを呈する個体の発現が増加した。親動物の交尾成立期間、交尾率、受胎率、妊娠期間、黄体数、着床数、着床率、出産率、分娩率、分娩および哺育状態に変化は認められなかった。

児動物に対しては、500 mg/kg 群で新生児体重の低値が認められた。総出産児数、新生児数、性比、出生率、形態および哺育 4 日生存率に、被験物質の投与に起因する変化は認められなかった。

以上の結果から、ビスフェノール A-PO 付加物（平均付加モル数 5 モル）の親動物への反復投与における無影響量（NOEL）および無毒性量（NOAEL）は、雌雄とも 120 mg/kg 以上の群で総タンパク濃度の低下および小腸に対する影響が認められたことから、いずれも 30 mg/kg/day と推定した。また、生殖発生毒性に関する NOEL および NOAEL は、500 mg/kg 群で性周期および新生児体重に影響が認められたことから、いずれも 120 mg/kg/day と推定した。

目 的

ビスフェノール A-PO 付加物（平均付加モル数 5 モル）をラットに反復経口投与し、本物質の反復投与毒性および生殖発生毒性を検討した。

材料および方法

1. 被験物質

被験物質であるビスフェノール A-PO 付加物（平均付加モル数 5 モル）（CAS No. 37353-75-6）は、水に不溶な無色透明液体で、試験には、三洋化成工業株式会社（京都府京都市東山区一橋野本町 11-1）から提供されたロット番号 L3-6S005-A（純度 99%以上）のものを冷暗所（2～6℃）、密栓下で保管し、使用した。用いた被験物質は投与終了後に分析し、使用期間中安定であったことを確認した（Appendix 1）。本物質の特性は、Appendix 1 に示す。

ビスフェノール A-PO 付加物（平均付加モル数 5 モル）は水のほか油にも溶けにくいですが、食物油にはわずかに溶け、溶解しない高濃度においても均一な懸濁液として調製可能であったことから、投与液はオリーブ油（局方、ロット番号 BH17、宮澤薬品株式会社）を媒体とし、所定の投与用量となる濃度の懸濁液に調製した。調製した投与液は、1 日の使用量ごとに小分けし、使用時まで冷所（2～6℃）遮光下で密栓して保管した。投与液中の被験物質は、冷所遮光下で少なくとも 7 日間は安定であることが確認された（Appendix 2）ので、調製後 7 日以内に使用した。初回に調製された投与液について分析し、所定の濃度で調製されていることを確認した（Appendix 3）。

2. 動物および飼育条件

動物は、SD 系 [CrI : CD(SD)]ラットを用いた。ラットは、日本チャールス・リバー株式会社 筑波飼育センター（茨城県石岡市上林 955）から 8 週齢のものを搬入（雄 57 匹、雌 67 匹）し、12 日間試験環境に馴化させた。馴化期間中に検疫および雌については 10 日間の性周期観察も併せて行い、発育および一般健康状態が良好で、雌では性周期に異常の認められなかったものについて、投与開始前日に体重を測定し、体重分布の中央値に近い雄は 48 匹、雌は 58 匹を選び、10 週齢で試験に用いた。1 群の動物数は雌雄各 12 匹とし、雌についてはさらに対照群と最高用量群の回復群として各 5 匹からなる 2 群の

サテライト群を設け、無作為抽出法により群分けを行った。なお、雌の回復群については交配を行わなかった。雄の回復群については、投与 42 日に対照群と最高用量群の中から無作為抽出法によりそれぞれ 5 匹を選別し、回復群とした。投与開始時の平均体重(体重範囲)は、雄 361(329~385)g、雌 228(199~253)g であった。ラットは、温度 $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 10\%$ 、換気回数 10 回以上/時(オールフレッシュエアー方式)、照明 12 時間/日(午前 7 時点灯、午後 7 時消灯)に設定したバリアーシステム動物室(第 2 室)で、個体別にステンレス製金網ケージ [260W×380D×180 H(mm)] に収容し、これをステンレス製 5 段のラックに配置して飼育した。ただし、交尾の成立した雌は、巣作り材料(ホワイトフレーク、日本チャールス・リバー株式会社)を入れたポリカーボネート製ケージ [265W×426D×200H(mm)] に収容し、分娩後は児動物と同居させた。飼料(固型飼料ラボ MR ストック、日本農産工業株式会社、ロット番号 20070470、20070678)および飲料水(孔径 $1 \mu\text{m}$ のカートリッジフィルターで濾過後紫外線照射した殺菌水道水)は、それぞれ給餌器および自動給水装置または給水瓶(ポリカーボネートケージの場合)により、自由に摂取させた。

動物の個体識別は、ラックおよびケージへの標識札の貼付、並びに耳パンチ法により行った。

飼育期間中、動物室の温度は $22.2 \sim 25.0^{\circ}\text{C}$ 、湿度は $45 \sim 58\%$ の範囲で推移(Appendix 4)し、また飼料、巣作り材料および飲料水の汚染物質の分析結果(Appendices 5、6、7)は、いずれも当研究所で設定した許容範囲内にあることが確認された。したがって、動物の飼育期間を通じて、試験成績の信頼性に影響を及ぼすと思われる環境要因の変化は、なかったものと判断した。

本試験は、動物実験を科学的観点および倫理的な配慮の下に実施するために遵守すべき事項等を定めた、「財団法人 畜産生物科学安全研究所の動物実験実施規定」に従い、本施設の動物実験委員会の承認を得て行った。

3. 投与量の設定、試験群の構成および投与方法

本物質の 500、1000 および 2000 mg/kg を雌雄各 1 匹のラットに 3 日間反復経口投与した結果、1000 mg/kg 以上投与の雌雄で体重増加抑制が認められ、さらに 2000 mg/kg 投与の雌雄で腹臥位、自発運動低下および便による下腹部の汚れが認められた。

また、500 mg/kg 以上投与の雌雄で、投与直後に一過性の流涎が認められた。そこで、1 群雌雄各 4 匹のラットに、本被験物質を 0 (局方オリブ油のみ投与)、50、100、200、500 および 1000 mg/kg/day で 14 日間反復経口投与し、一般状態の観察、体重および摂餌量の測定、血液学および血液生化学検査、剖検並びに器官重量の測定を行った。その結果、100 mg/kg 以上の群で、雄に投与直後の流涎および体重増加の抑制傾向、雌に血清総コレステロールの高値傾向、200 mg/kg 以上の群では、雌においても流涎および血清総コレステロールの高値傾向が認められた。さらに、500 mg/kg 以上の群では、雌雄に肝臓重量の高値、雄に副腎重量の高値、雌に血清総タンパク、アルブミンおよびカルシウムの高値並びに血液プロトロンビン時間の低値が認められた。1000 mg/kg 群では、一般状態の変化、体重増加の明らかな抑制および雄 1 匹、雌 2 匹の死亡が認められた。50 mg/kg 群では、変化は認められなかった。

したがって、本試験における投与量については、500 mg/kg/day を最高用量とし、以下、120 および 30 mg/kg/day の計 3 用量を設定した。

試験群の構成は、①溶媒投与群(以下、対照群)、②被験物質の 30 mg/kg/day 投与群(30 mg/kg 群)、③同 120 mg/kg/day 投与群(120 mg/kg 群)、④同 500 mg/kg/day 投与群(500 mg/kg 群)の 4 群とした。

投与方法は、投与液量を体重 1kg 当たり 5 mL とし、テフロン製胃ゾンデを装着した注射筒を用いて、投与液を胃内に投与した。対照群には、媒体として用いた局方オリブ油を同様に投与した。各個体の投与液量は、至近日の測定体重を基に算出した。投与期間は、雌雄とも交配開始 14 日前から、雄は 42 日間、雌は交配および妊娠期間を経て分娩後の哺育 4 日まで、最短 42 日～最長 53 日間、1 日 1 回、午前中(9:00～11:56)に投与した。ただし、雌の回復群は、雄と同様に 42 日間投与した。

4. 観察および検査

1) 親動物に関する項目

親動物について、次の項目を観察あるいは検査した。なお、感覚反射機能検査、握力、自発運動量、尿検査、血液学検査、血液生化学検査、器官重量および病理組織学検査については、各群から無作為抽出法により雌雄各 5 匹を選び、検査の対象とした。

結 果

1. 反復投与毒性

1) 一般状態および死亡 (Tables 1~4, Appendices 10~13)

一般状態の変化について、120 mg/kg 群で雌雄とも 12 匹中 11 匹に投与 4 日以降、500 mg/kg 群で雌のサテライト群を含む雌雄の全例に投与 2 日以降、流涎が認められた。この流涎は、投与直後に口周囲を軽度ないし中等度に濡らす程度の一過性のものであった。また、500 mg/kg 群では、雄の 2 匹に軽度な眼瞼下垂が投与 33 日以降認められ、このうちの 1 匹には投与 41 日以降、中等度の自発運動の低下および消瘦が認められた。さらに、500 mg/kg 群の雌の 1 匹にも軽度の消瘦が投与 40 日以降認められた。120 mg/kg 群の雌の 1 匹に軽度な紅涙が投与 30 日以降に認められたが、500 mg/kg 群では紅涙は認められなかった。回復期間においては、いずれの群にも一般状態の変化は認められなかった。

死亡について、500 mg/kg 群の雌の 1 匹 (動物番号 552) が分娩予定日の妊娠 22 日 (投与開始後 39 日) の朝、分娩出来ずに衰弱し、死亡した。この例の前日までの一般状態には、投与直後の一過性の流涎以外に異常は認められなかった。その他の投与群では、投与期間および回復期間を通じて死亡は認められなかった。

2) 詳細な臨床観察 (Tables 5, 6, Appendices 14, 15)

投与期間中および回復期間中とも、各観察項目に有意な変化は認められなかった。

3) 感覚反射機能検査 (Tables 7, 8, Appendices 16, 17)

投与期間中および回復期間中の検査において、各検査項目に変化は認められなかった。

4) 握力および自発運動量 (Tables 9, 10, Appendices 18, 19)

投与期間中および回復期間中の検査において、握力および自発運動量とも有意な変化は認められなかった。

5) 体重 (Tables 11, 12, Appendices 20, 21)

500 mg/kg 群で雄に投与期間中の体重増加量の有意な低値が認められた。雌では、

被験物質投与各群とも交配前、妊娠期間および哺育期間を通じて体重および体重増加量に有意な変化は認められなかった。

雌のサテライト群では、500 mg/kg 群で回復 14 日の体重および回復期間中の体重増加量に有意な低値が認められた。

6) 摂餌量 (Tables 13, 14, Appendices 22, 23)

投与期間中において、120 mg/kg 群の雌および 500 mg/kg 群の雄で、いずれも投与 14 日の摂餌量のみ、対照群と比べてやや高値で有意差が認められた。回復期間中の摂餌量は、対照群と比べて有意差は認められなかった。

7) 雄の尿検査 (Table 15, Appendix 24)

投与期間中の検査において、各検査項目に有意な変化は認められなかった。

回復期間中の検査では、カリウムの有意な低値が認められた。

8) 血液学検査 (Tables 16, 17, Appendices 25, 26, 背景データ : Appendices 42, 43)

500 mg/kg 群で雄に MCH およびプロトロンビン時間の有意な低値が認められた。

回復期間終了時屠殺動物においては、雄に白血球百分率における好中球の比率の有意な低値および雌に活性化部分トロンボプラスチン時間の有意な低値が認められた。

9) 血液生化学検査 (Tables 18, 19, Appendices 27, 28, 背景データ : Appendices 42, 43)

120 mg/kg 群で雄に総タンパク濃度の有意な低値が認められた。500 mg/kg 群では、雄に総タンパク濃度およびアルブミン濃度の有意な低値並びに雌雄に総コレステロール濃度の有意な高値が認められた。なお、雄は 30 および 120 mg/kg 群の尿素窒素濃度、30 mg/kg 群のカルシウム濃度、30 および 500 mg/kg 群の無機リン濃度がいずれも有意な高値、雌では 30, 120 および 500 mg/kg 群の総ビリルビン濃度は有意な低値、120 mg/kg 群の塩素濃度は有意な高値を示したが、これらの変化には用量相関性は認められなかった。

回復期間終了時屠殺動物では、血糖値の有意な低値および無機リン濃度の有意な高

値が雄に、カリウム濃度の有意な低値が雌に認められた。総タンパク、アルブミンおよび総コレステロールの濃度には変化は認められなかった。

10) 剖検 (Tables 20, 21, Appendices 29~30)

投与期間終了時屠殺動物において、肝臓の大型化が、500 mg/kg 群で雄の 2 匹および雌の 1 匹に認められた。胸腺の赤色域が 120 mg/kg 群および脾臓の大型化が 500 mg/kg 群に認められたが、胸腺および脾臓の変化はいずれも雌の 1 匹のみの発現であった。500 mg/kg 群の雌の死亡例 (動物番号 552) では、肝臓の大型化が認められた。

回復期間終了時屠殺動物では、変化は認められなかった。

11) 器官重量 (Tables 22, 23, Appendices 32~35)

投与期間終了時屠殺動物において、500 mg/kg 群で雄に肝臓の絶対および相対重量、腎臓の相対重量並びに脳相対重量のいずれも有意な高値、雌に肝臓の相対重量の有意な高値が認められた。なお、30 mg/kg 群で雌に脾臓の絶対および相対重量の有意な高値、120 mg/kg 群で雌に胸腺の相対重量の有意な高値が認められたが、これらの変化には用量相関性は認められなかった。

回復期間終了時屠殺動物においては、雌の肝臓の相対重量にのみ、有意な高値が認められた。

12) 病理組織学検査 (Tables 24~26, Appendices 29~31, Photos 1, 2)

被験物質の投与に起因すると思われる変化が、肝臓および小腸に認められた。

投与期間終了時屠殺動物において、肝臓では、小葉中心性肝細胞肥大が 500 mg/kg 群で検査対象各 5 匹中雄の 4 匹および雌の 5 匹中 5 匹に認められた。この変化は、回復期間終了時屠殺動物では認められなかった。

なお、肝臓において門脈周囲性リンパ球浸潤、微小肉芽腫、巣状壊死、その修復像と思われる肉芽腫および胆管過形成が回復群を含む対照群あるいは被験物質投与群で認められたが、いずれも用量相関性のない変化で、発現率や変化の程度に対照群との差は認められないことから、被験物質とは無関係な変化と判断した。

小腸では、腸絨毛の乳糜管拡張が 120 mg/kg 群で雄の 2 匹および雌の 1 匹、500

mg/kg 群では雄の 5 匹および雌の 5 匹に認められ、変化の程度は雄で強い傾向にあった。回復期間終了時屠殺動物においても、乳糜管の拡張は雌雄の全例に認められたが、変化の程度は軽減する傾向にあった。乳糜管を構成する細胞や腸間膜リンパ節には変化は認められなかった。

肝臓および小腸以外の器官においては、肺の泡沫細胞集簇、動脈壁鈣質沈着および骨化生、心臓の心筋変性・線維化、腺胃の胃底腺拡張、腎臓の近位尿細管上皮硝子滴、好塩基性尿細管、下垂体前葉の嚢胞、膀胱の粘膜下組織リンパ球浸潤、脾臓の髄外造血および褐色色素沈着、前立腺の間質リンパ球浸潤並びに精巣上体の精子肉芽腫が対照群と 500 mg/kg 群または対照群あるいは 500 mg/kg 群にのみ認められたが、これらはいずれもラットにおける自然発生病変として発現する変化^りであり、また、500 mg/kg 群における発現率や変化の程度に対照群との差は認められなかった。さらに、剖検で認められた、120 mg/kg 群の雌で認められた赤色域を有する胸腺には出血、500 mg/kg 群の雌で認められた大型化した脾臓には対照例と比べて髄外造血巣の増加が認められたが、これらも単発性の変化であり、被験物質の投与との関連性は認められなかった。

500 mg/kg 群で認められた雌の死亡例では、肝臓の小葉中心性肝細胞肥大および小腸の乳糜管拡張が認められ、肝臓の変化は生存例と比べて強い傾向にあった。

500 mg/kg 群で認められた妊娠不成立の 1 ペアについて、雄では、下垂体、精巣、精巣上体、前立腺および精囊等に変化はなく、また、雌にも下垂体、卵巣および子宮等に変化は認められず、妊娠不成立の原因となるような所見は認められなかった。

精子形成サイクル検査において、500 mg/kg 群でステージ X II の精祖細胞数に有意な高値が認められた。病理組織学検査では精巣に変化は認められなかった。

2. 生殖発生毒性

1) 親動物に及ぼす影響

(1) 性周期検査 (Table 27、Appendices 37, 38)

被験物質投与各群とも、対照群と比べて平均性周期に有意な変化は認められなかった。ただし、一時的に発情前期 (I) 像や発情後期 I (III) 像が認められない、あるいは、発情休止期 (V) 像が 3 日以上持続するなどの性周期の乱れが生じた個体が、500 mg/kg

群でのみ 17 匹中 5 匹（動物番号 542、546、547、549、557）に認められ、その発現は有意に高かった。これらの個体は、その後の交配で交尾が確認され、1 例（動物番号 549）は不妊であったが、その他は正常な妊娠、分娩および哺育が認められた。なお、1 例（動物番号 542）は性周期検査期間中に 1 性周期のみのデータとなったため、群平均性周期の算出からは除外した。

(2) 交尾率および受胎率 (Table 27、Appendix 38)

交尾成立までに要する日数、交尾率および受胎率に有意な変化は認められなかった。いずれの投与群とも交尾不成立は認められず、500 mg/kg 群で 1 例の妊娠不成立例が認められた。また、30 mg/kg 群で交尾成立までに 12 日を要した例（動物番号 020 と 525 のペア）の雌は、交配前は順調な性周期を示していたが、交配開始後 2 日から発情休止期(V)像が続き、交配開始後 11 日に発情前期(I)像が認められ、翌日、発情後期 I (III) 像と共に精子および膣栓が認められ、交尾が確認されたことから、偽妊娠を起こしたものと判断した。

(3) 黄体数、着床数および着床率 (Table 27、Appendix 38)

黄体数、着床数および着床率に有意な変化は認められなかった。

(4) 出産率および妊娠期間 (Table 27、Appendix 38)

出産率および妊娠期間に有意な変化は認められなかった。

(5) 分娩および哺育状態 (Table 27、Appendix 38)

500 mg/kg 群で分娩予定日の妊娠 22 日の朝に分娩出来ずに死亡した 1 匹（動物番号 552）について、その性周期、交尾、受胎、黄体数、着床数および着床率に異常は認められなかった。子宮内には、12 匹の死亡胎児が確認された。その他の投与群の雌に分娩および哺育状態の異常は認められなかった。

2) 新生児に及ぼす影響

(1) 生存性および体重 (Table 28、Appendix 39)

500 mg/kg 群で新生児体重に低値傾向が認められ、哺育 0 日の雌および哺育 4 日の雄で有意な低値が認められた。

一腹当たりの総出産児数、分娩率、哺育 0 日および 4 日の新生児数、出生率、性比並びに哺育 4 日の生存率に有意な変化は認められず、新生児の一般状態にも異常は認め

られなかった。

(2) 形態 (Table 29、30、Appendices 40、41)

外表検査では、いずれの投与群においても外表異常を有する児動物は認められなかった。内臓検査では、内臓異常として脾臓の大型化を呈する児動物が 30 mg/kg 群で 1 匹(発現率 0.6%)認められ、また、内臓変異については、左臍動脈遺残を呈する児動物が対照群で 1 匹(0.6%)および 120 mg/kg 群で 1 匹(0.6%)、胸腺の頸部残留を呈する児動物が 120 mg/kg 群で 1 匹(0.6%)認められた。

考 察

1. 反復投与毒性について

被験物質の投与による主な毒性影響として、肝臓および小腸に変化が認められた。

肝臓に対する影響について、500 mg/kg 群で雄は絶対および相対重量、雌は相対重量の高値が認められ、剖検においても同群の雌雄に肝臓の大型化が確認された。病理組織学検査では、肝臓に小葉中心性の肝細胞肥大が観察された。

血液生化学検査において、500 mg/kg 群で雌雄に認められた総コレステロール濃度の高値は、被験物質の肝臓に対する影響と関連した変化と考えられる。しかしながら、血清 AST、ALT 等の肝細胞逸脱酵素の活性増加は認められず、肝機能に対する影響は小さいものと考えられた。

小腸に対する影響について、120 および 500 mg/kg 群で雌雄に腸絨毛の乳糜管の拡張が認められ、雄の変化は雌に比べて強い傾向にあった。

小腸におけるリンパ管拡張症は一般的に腸間膜リンパの閉塞により発現し、低蛋白血症を伴うこと、また、リンパ管末端の乳糜管の拡張は、ある種の免疫修飾作用物質や降圧剤等の化学物質のサルやラットへの投与により発現することが知られている²⁾。

血液生化学検査で、120 および 500 mg/kg 群の雄に認められた総タンパク濃度の低値並びに 500 mg/kg 群の雄に認められたアルブミン濃度の低値は、この乳糜管の拡張と関連した変化と考えられる。

前述の化学物質による乳糜管の拡張の事例では乳糜管そのもののほか、腸間膜リンパ節にも変化は認められていない²⁾が、本試験で認められた乳糜管の拡張においても、乳糜管を構成する細胞や腸間膜リンパ節に、リンパ流の閉塞の原因となる変化は認められず、その発現機序は不明である。

500 mg/kg 群で認められた雄の眼瞼下垂や自発運動の低下例および投与期間中体重増加量の低値、雌雄の消瘦例は、被験物質の投与による毒性影響を示す変化と考えられる。

また、500 mg/kg 群で分娩予定日に、分娩出来ずに被験物質の投与による毒性影響が認められた雌の 1 匹についても、生存例に認められた肝臓および小腸の変化が認められ、被験物質の投与による毒性影響に分娩によるストレスが加わって衰弱死したものと推察される。

なお、120 および 500 mg/kg 群の雌雄に認められた流涎は、投与直後にのみ認められた変化であり、詳細な臨床観察や感覚反射機能検査等で神経毒性を示唆する変化が認

められていないことから、被験物質の毒性と関連した変化ではなく、投与液に対する忌避反応と考えられる。

雌のサテライト群で認められた回復 14 日の体重および回復期間中の体重増加量の低値は、投与期間中からの体重推移から判断して、対照群の回復期間中の体重増加量が大きかったための偶発的な変化と考えられた。

また、120 mg/kg 群の雌および 500 mg/kg 群の雄で認められた投与 14 日目の摂餌量の高値については、変化に用量相関性は認められず、体重にも変化は認められなかったことから、被験物質の投与とは無関係な偶発的な変化と判断した。

回復期間中の尿検査で認められた 500 mg/kg 群のカリウム排泄量の低値について、その個体値は、当研究所の背景データにおける基準値の範囲[1.06~5.79(mEq/18hr)]内の値であり、また、投与期間終了時の検査ではこのような変化傾向は認められていないことなどから、投与とは無関係な偶発的な変化と判断した。

血液学検査において、500 mg/kg 群で雄に認められた MCH の低値について、その個体値は、基準値の範囲[17.0~19.2(pg)]内の値であり、赤血球数や血色素量に変化はなく、また、用量相関性も認められないことから、投与とは無関係な偶発的な変化と判断した。また、同群の雄に認められたプロトロンビン時間の低値については、延長性の変化ではなく、また、雌には認められていないことから、毒性学的意義のない変化と判断した。

また、雄回復群の 500 mg/kg 群に認められた白血球百分率における好中球比率の低値および雌サテライト群の 500 mg/kg 群に認められた活性化部分トロンボプラスチン時間の低値については、これらの各個体値は、いずれも基準値の範囲[好中球比率：8.2~28.8(%)、活性化部分トロンボプラスチン時間：13.8~18.9(秒)]内の値であり、また、投与期間終了時の検査ではこのような変化傾向は認められていないこと、雌の活性化部分トロンボプラスチン時間においては対照群でやや高値傾向にあったことなどから、いずれも被験物質とは無関係な偶発的な変化と判断した。

血液生化学検査において、30 および 120 mg/kg 群の雄に認められた無機リンの変化には用量相関性は認められず、また、軽微な変化であり、雌雄共通の変化でもないことから、毒性学的意義はないものと考えられる。

30 mg/kg 群の雄に認められたカルシウムの高値、また、30 および 120 mg/kg 群の雄に認められた尿素窒素の高値については、それらの各個体値は、尿素窒素において

120 mg/kg 群の 1 例 (16.8 mg/dL) が基準値の範囲を僅かに上回った以外は、いずれも基準値の範囲[カルシウム : 8.9~10.8(mg/dL)、尿素窒素 : 10.5~16.7(mg/dL)]内の値であり、また、用量相関性のない変化であることから、投与とは無関係な偶発的変化と判断した。また、120 mg/kg 群で雌に認められた塩素の高値についても、その各個体値は、いずれも基準値の範囲[96~108(mEq/L)]内の値であり、むしろ、対照群の値がやや低値傾向であったこと、また、用量相関性のない変化であることなどから、投与とは無関係な偶発的変化と判断した。また、雄回復群の 500 mg/kg 群に認められた血糖値の低値および無機リン濃度の高値、雌サテライト群の 500 mg/kg 群に認められたカリウム濃度の低値についても、それらの各個体値は、血糖において 1 例 (130 mg/dL)、カリウムにおいて 2 例 (3.74、3.68 mg/dL) が基準値の範囲を僅かに外れた以外は、いずれも基準値の範囲[血糖 : 131~182(mg/dL)、カリウム : 3.79~5.44(mg/dL)]内の値であり、また、血糖値およびカリウム濃度の変化は投与期間終了時の検査では認められていないことなどから、いずれの変化も被験物質とは無関係な偶発的なものと判断した。

精子形成サイクル検査では、500 mg/kg 群でステージ X II の精祖細胞数に有意な高値が認められたが、その変化の程度は極僅かで、他のステージに有意な変化はなく、また、病理組織学検査においても精巣に変化は認められないことから、被験物質投与による影響とは考え難い。

詳細な臨床観察、感覚反射機能検査、握力および自発運動量の測定並びに神経系器官・組織の病理学検査において、被験物質の神経行動毒性を示唆する変化は認められなかった。

以上のような、投与期間中あるいは投与期間終了時の検査で認められた変化は、回復期間中あるいは回復期間終了時の検査においては回復あるいは回復傾向にあり、可逆的な変化であると判断した。また、遅発的な毒性影響と考えられる変化も認められなかった。

本試験で認められたものと類似した肝臓に対する影響は、当研究所で実施したビスフェノール A-EO 付加物 (平均付加モル数 5 モル) のラットにおける反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験においても認められている³⁾ (未発表)。

2. 生殖発生毒性について

雌の性周期検査において、被験物質投与各群の平均性周期に有意な変化は認められなかったが、500 mg/kg 群で性周期の乱れを生じた個体が 17 匹中 5 匹に認められ、その発現は有意に高かった。内分泌攪乱物質として知られるビスフェノール A の 28 日間反復投与において、発情休止期の延長傾向が報告⁴⁾されており、本試験においても軽度ながら被験物質投与の影響が認められたものと考えられる。なお、当研究所で実施したビスフェノール A-EO 付加物（平均付加モル数 5 モル）についての本試験と同様の試験では、性周期の乱れを生じた個体が認められたものの、その発現に有意な変化はなく、また、用量依存性もなかった⁵⁾（未発表）。

性周期以外に、雌雄親動物の生殖能に対する影響は認められなかった。

児動物については、500 mg/kg 群で新生児体重に低値傾向が認められ、哺育 0 日の雌および哺育 4 日の雄で有意な低値が認められた。雌親動物の体重および摂餌量に影響がないことから、新生児体重の変化は被験物質投与の影響と考えられる。

児動物の剖検において、30 mg/kg 群で脾臓の大型化、120 mg/kg 群で左臍動脈遺残または胸腺頸部残留を呈する例が 1 例ずつ認められたが、用量相関性のない低い発現率の変化であることから、自然発生的範疇のものと判断した。

児動物に対し、その他の発生に関する各指標において被験物質投与による影響は認められなかった。

以上の結果から、ビスフェノール A-PO 付加物（平均付加モル数 5 モル）の親動物への反復投与における無影響量（NOEL）および無毒性量（NOAEL）は、雌雄とも 120 mg/kg 以上の群で総タンパク濃度の低下および小腸に対する影響が認められたことから、いずれも 30 mg/kg/day と推定した。また、生殖発生毒性に関する NOEL および NOAEL は、500 mg/kg 群で性周期および新生児体重に影響が認められたことから、いずれも 120 mg/kg/day と推定した。

文 献

- 1) 日本毒性病理学会編，毒性病理組織学，2000。
- 2) Gopinath, C., Prentice, D. E. and Lewis D. J. Atlas of experimental toxicological