

Table 7 Incidence of histopathological findings in male rats after the oral administration of tetrahydrothiophene 1,1-dioxide for 28 days and a recovery period for 14 days

Organ: Finding	Dose level (mg/kg) No. of animals	After administration period				After recovery period	
		0	60	200	700	0	700
		6	6	6	6	6	6
Lung: Arterial wall mineralization	+	1	-	-	1	-	-
Ectopic ossification	+	1	-	-	0	-	-
Kidney: Hyaline droplets in proximal tubular epithelium	+	1	0	5	1	1	3
	++	0	0	1	4	0	0
	+++	0	0	0	1	0	0
Eosinophilic bodies in proximal tubule	+	0	0	5	4	1	0
Basophilic tubules	+	2	1	2	5	4	5
Focal tubular dilatation with or without hyaline casts	+	1	1	0	0	0	0
Distal tubular dilatation	+	0	0	1	1	0	0
Prostate: Cellular infiltration	+	1	-	-	0	-	-

+: Slight; ++: Moderate; +++: Marked; -: Not examined

No abnormalities detected in the heart, trachea, liver, pancreas, stomach, small intestine, large intestine, spleen, urinary bladder, testis, epididymis, seminal vesicle, pituitary, thyroid, parathyroid, adrenal, thymus, lymph node, bone marrow, brain, spinal cord, sciatic nerve and eye ball from animals of control and 700 mg/kg groups killed by design after administration period and the bone marrow from animals of those groups after a 14-day recovery period.

Table 8 Incidence of histopathological findings in female rats after the oral administration of tetrahydrothiophene 1,1-dioxide for 28 days and a recovery period for 14 days

Organ: Finding	Dose level (mg/kg) No. of animals	After administration period				After recovery period	
		0	60	200	700	0	700
		6	6	6	6	6	6
Liver: Microgranuloma	+	1	-	-	0	0	1
Pancreas: Acinar cell vacuolation	+	0	-	-	1	-	-
Kidney: Basophilic tubules	+	2	-	-	1	-	-
Fibrotic focus	+	0	-	-	1	-	-
Thymus: Hemorrhage	+	0	-	-	1	1	0
Spleen: Increased extramedullary hematopoiesis	+	0	-	-	0	1	0

+: Slight; -: Not examined

No abnormalities detected in the heart, trachea, lung, stomach, small intestine, large intestine, urinary bladder, ovary, uterus, vagina, pituitary, thyroid, lung, parathyroid, adrenal, lymph node, bone marrow, brain, spinal cord, sciatic nerve and eye ball from animals of control and 700 mg/kg groups killed by design after administration period and the bone marrow from animals of those groups after a 14-day recovery period.

今回、テトラヒドロチオフェン-1,1-ジオキシドの0, 60, 200および700 mg/kg/day用量をラットに28日間経口投与して実施した反復投与毒性試験においては、肝臓に対する毒性影響を示唆する血液生化学的变化が認められたほか、腎臓の病理学的変化などが認められた。

一般状態の観察では、700 mg/kg群の雌の少数に自発運動の低下が投与初期に一過性に認められた。

本被験物質の急性中毒症状として、痙攣等の中枢神経興奮症状が知られている⁶⁾ほか、ゲッ菌類を用いた実験で、代謝率(酸素消費量)が減少し、体温や運動量が低下あるいは減少することが報告⁴⁾されている。本試験で認められた自発運動の低下は、急性毒性的な症状が軽度に見られたものと考えられる。

体重および摂餌量は、700 mg/kg群の雌雄でいずれも対照群を下回ったが、投与の反復につれて変化は増強せず、雌の体重は投与後半に回復する傾向にあった。

テトラヒドロチオフェン-1,1-ジオキシドは、ラット

およびウサギへの腹腔内投与において、主に3-ヒドロキシテトラヒドロチオフェン-1,1-ジオキシドとして尿中に排泄される⁶⁾。急性毒性症状の発現は、未変化体の血中濃度と相関することが知られている⁴⁾。尿中排泄速度は、ラットへの静脈内投与において、投与2日間の排泄量が約50%と遅いが、未変化体の血中半減期は3.5~5時間と短い⁷⁾。

Alexanderら⁸⁾は、本被験物質の臭素化合物である3-プロモテトラヒドロチオフェン-1,1-ジオキシドのラットおよびイヌを用いた反復経口投与毒性試験においても、毒性は投与の延長により増強しないことを報告している。

尿検査および血液学検査では、被験物質の投与に起因すると思われる変化は認められなかった。

血液生化学検査では、700 mg/kg群において、いずれも有意な総ビリルビンおよびコリンエステラーゼの増加、塩素の減少が雄に、GPTの増加、グルコースの減

少が雌に認められた。

肝臓に病理学的変化は認められなかったものの、GPTおよび総ビリルビンの増加は投与量設定試験においても認められており、肝臓に対する毒性影響を示唆する所見と解せられる。

コリンエステラーゼ、グルコースおよび塩素の変動については、いずれも当研究所における背景データの範囲内での軽度な変化であった。

病理学検査では、腎臓の近位尿細管上皮における好酸体や硝子滴の出現あるいは増加が、200および700 mg/kg群の雄に認められた。700 mg/kg群の雄では、障害後の再生過程にあると思われる好塩基性尿細管が増加する傾向にあり、さらに、腎臓の有意な相対重量増加および肉眼的腫大例も認められた。

尿管上皮における好酸体や硝子滴はラットに生理的にも認められ、タンパクの再吸収と考えられている⁹⁾。これらの増加は、腎臓におけるタンパクの再吸収あるいはその代謝過程に対する何らかの影響を示唆しているが、尿検査および血液生化学検査において、腎機能の異常をうかがわせる変化は認められなかった。

なお、200および700 mg/kg群の雄に遠位尿細管の拡張が認められたが、軽度、かつ、各群1匹と発現率が低く、用量相関的な増加がみられていないことから、被験物質投与との関連性を判断するのは困難であった。

脾臓重量の減少傾向が、700 mg/kg群の雌に認められた。組織学的には明らかな異常は認められなかったが、回復群においては逆にリバウンド現象とも考えられる重量増加が認められていることから、脾臓に対し何らかの影響を有する可能性が考えられた。

チオフェンは小脳顆粒細胞の壊死を起こすことが知られている¹⁰⁾が、テトラヒドロチオフェン-1,1-ジオキシドのラットへの投与においては、脳に組織学的変化は認められなかった。700 mg/kg群の雄で相対重量増加が認められたが、絶対重量は対照群と比べ差はなく、体重増加抑制に伴う所見と判断された。

これらの投与期間中あるいは投与期間終了時屠殺動物の検査で認められた変化は、回復群において、腎臓の変化は回復傾向を示し、その他の変化はいずれも回復した。したがって、本被験物質の投与により発現する毒性変化は、可逆的であると判断される。

なお、700 mg/kg群の投与期間終了時屠殺動物において、心臓重量の変化が雄に認められたが、絶対および相対重量に共通した変化ではなく、病理組織学的にも異常は認められなかったことから、主に体重増加の抑制に伴う所見と考えられた。また、同群の回復期間終了時屠殺動物においては、赤血球数の減少が雌に、白血球数の増加が雄に認められたが軽度な変化で、骨髓造血細胞には異常は認められなかった。さらに雌の肝臓、脾臓および胸腺重量の変化についても、病理組織学的には異常は認められなかった。したがって、回復群で認められた所見は、遅発的な毒性影響を示唆する変化ではないと判断された。

以上の結果から、テトラヒドロチオフェン-1,1-ジオキシドのラットを用いる28日間反復経口投与毒性試験において、肝臓に対する毒性影響を示唆する血液生化学的变化、腎臓の病理学的変化などが発現した。無影響量は雄で60 mg/kg/day、雌で200 mg/kg/dayと推定された。

文献

- 1) V. K. H. Brown, L. W. Ferrigan, D. E. Stevenson, *Brit. J. industr. Med.*, **23**, 302(1966).
- 2) 山本譲, 毒性試験報告, **4**, 435(1996).
- 3) M. E. Andersen, R. A. Jones, R. G. Mehl, T. A. Hill, L. Kurlansik, L. J. Jenkins Jr, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **40**, 463(1977).
- 4) C. J. Gordon, R. S. Dyer, M. D. Long, K. S. Fehlner, *J. Toxicol. Health*, **16**, 461(1985)
- 5) P.H.Ruppert, R.S.Dyer, *Toxicol. Letters*, **28**, 111(1985)
- 6) J. J. Roberts, G. P. Warwick, *Biochem. Pharmacol.*, **6**, 217(1961)
- 7) M. E. Andersen, R. A. Jones, L. Kurlansik, R. G. Mehl, L. J. Jenkins, *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, **15**, 571(1976)
- 8) W. M. Alexander, B. E. Abreu, L. C. Weaver, H. E. Faith, J. W. Newberne, *Arch. int. Pharmacodyn.*, **CXIX(3-4)**, 423(1959)
- 9) S. J. Broghoff, B. B. Shrt, J. A. Swenberg, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **30**, 349(1990).
- 10) R. M. Herndon, *Exp. Brain Res.*, **6**, 49(1968)

連絡先

試験責任者：伊藤義彦

試験担当者：迫川朋子, 赤木 博, 杉本忠美,
伊藤雅也, 鈴木昭雄

(財)畜産生物科学安全研究所

〒229-11 神奈川県相模原市橋本台3-7-11

Tel 0427-62-2775 Fax 0427-62-7979

Correspondence

Authors: Yoshihiko Ito (Study director)

Tomoko Sakogawa, Hiroshi Akagi,

Tadami Sugimoto, Masaya Ito,

Teruo Suzuki

Research Institute for Animal Science in

Biochemistry and Toxicology

3-7-11 Hashimotodai, Sagami-hara-shi, Kanagawa,

229-11, Japan

Tel +81-427-62-2775 Fax +81-427-62-7979

テトラヒドロチオフェン-1,1-ジオキシドのラットを用いる 経口投与簡易生殖毒性試験

Preliminary Reproduction Toxicity Screening Test of Tetrahydrothiophene-1,1-dioxide by Oral Administration in Rats

要約

テトラヒドロチオフェン-1,1-ジオキシドのラットを用いる経口投与簡易生殖毒性試験を行い、雌雄親動物の生殖能力および次世代児の発生・発育に及ぼす影響について検討した。投与量は、700 mg/kgを最高用量とし、以下200および60 mg/kgとした。対照として媒体(注射用水)投与群を設けた。

1. 反復投与毒性

雄においては、死亡例が700 mg/kg群で1/12例認められた。一般状態では、700 mg/kg群で被毛の汚れ、下痢および軟便がみられた。体重は、700 mg/kg群で増加抑制がみられた。摂餌量は、700 mg/kg群で低値がみられた。剖検、器官重量および病理組織学検査では、投与による変化はみられなかった。

雌においては、死亡例が700 mg/kg群で1/12例認められた。一般状態では、700 mg/kg群で被毛の汚れがみられた。体重は、700 mg/kg群で交配前に増加抑制がみられた。摂餌量は、700 mg/kg群で交配前および哺育期に低値がみられた。器官重量では、700 mg/kg群で卵巣の相対重量の高値がみられた。剖検および病理組織学検査では、投与による変化はみられなかった。

2. 生殖発生毒性

700 mg/kg群では、発情回数の低値がみられた。交尾率、交尾所要日数、受胎率、妊娠期間、分娩状態、哺育状態では、投与による変化はみられなかった。黄体数、着床痕数および着床率では、投与による変化はみられなかった。哺育期に新生児が全例死亡した母動物が700 mg/kg群で4例認められた。700 mg/kg群では、児の産出率、出生率、哺育4日の新生児数、生存率、哺育0および4日に雌雄別体重の低値、哺育0日の新生児数の低値傾向、死産児数の高値がみられた。200 mg/kg群では、児の産出率の低値、哺育0および4日の新生児数の低値傾向がみられた。新生児の外表、一般状態および剖検では、投与による変化はみられなかった。

以上のように、テトラヒドロチオフェン-1,1-ジオキシドの一般毒性的無影響量は、雌雄とも700 mg/kg投与により死亡例の発現、体重の増加抑制および摂餌量の低値が認められたことから200 mg/kg/dayと考えられる。また、生殖発生毒性的な無影響量は、雄では700 mg/kg投与しても交尾率および受胎率に影響は認められなかったことから700 mg/kg/day、雌では700 mg/kg

投与により新生児が全例死亡した母動物が認められたことから200 mg/kg/day、児動物では200 mg/kg投与により児の産出率の低値、哺育0および4日の新生児数の低値傾向が認められたことから60 mg/kg/dayと考えられる。

方法

1. 被験物質および媒体

被験物質のテトラヒドロチオフェン-1,1-ジオキシドは、常温において無色透明の液体である [Lot No. 20802, 純度:97.3 %, 住友精化(株), 大阪]。入手後は、室温条件下で保管した。

被験物質は、注射用水で希釈して調製した。被験物質は純度換算を行い、投与量は原体重量で表示した。なお、調製液は、調製後室温・遮光条件下で7日間保存しても安定性に問題のないことが確認されていたため、室温・遮光条件下で保管し、調製後7日以内に使用した。また、投与開始日および雄の投与期間終了日に使用した各濃度の投与液中の被験物質濃度を確認した結果、被験物質濃度に問題はなかった。

2. 使用動物および飼育条件

8週齢のSprague-Dawley系雌雄ラット [Crj:CD(SD)IGS, (SPF)] を日本チャールス・リバー(株)から購入した。入手した動物は、5日間の検疫期間およびその後7日間の馴化期間を設け、一般状態および体重推移に異常がみられず、また性周期観察で異常が認められなかった動物を群分けした。群分けは、コンピュータを用いて体重を層別に分けた後に、無作為抽出法により各群の平均体重および分散がほぼ等しくなるように投与開始日に行った。1群の動物数は、雌雄各12匹とした。

動物は、室温20～26℃、湿度40～70%、明暗各12時間(照明:午前6時～午後6時)、換気回数12回/時に維持されている飼育室で飼育した。検疫・馴化期間中はステンレス製ケージを用いて1ケージ当たり5匹までの群飼育とし、群分け後はステンレス製ケージを用いて個別飼育した。母動物は、妊娠18日にオートクレーブ処理した床敷(サンフレック、日本チャールス・リバー(株))を入れたプラスチック製ケージに個別に移し、自然分娩および哺育をさせた。飼料は固型飼料(CRF-1, オリエンタル酵母工業(株))を、飲料水は水道水をいずれも自由に摂取させた。

3. 投与経路, 投与方法, 群構成および投与量

投与経路は, 経口投与を選択した。投与に際しては, 金属製経口胃ゾンデを取り付けたポリプロピレン製ディスプレイ注射筒を用いて, 強制経口投与した。投与液量は, 雄では投与日あるいは投与日に最も近い測定日の体重を基準とし, 5 mL/kgで算出した。雌では, 交配前および交配期間中は投与日あるいは投与日に最も近い測定日の体重を, 妊娠期間中は妊娠0, 7, 14および21日の体重を, 授乳期間中は哺育0日の体重を基準とし, 5 mL/kgで算出した。投与回数は1日1回とした。

投与開始日の週齢は雌雄とも10週齢であり, 体重範囲は雄が355~379 g, 雌が209~228 gであった。

投与量は, ラットを用いる28日間反復経口投与毒性試験¹⁾(投与段階:0, 60, 200および700 mg/kg)において, 700 mg/kg群で自発運動の低下, 体重および摂餌量の減少が認められた。そこで, 当試験の投与量は, 一般状態, 体重および摂餌量に影響の認められることが予想される700 mg/kgを高用量とし, 以下公比約3.5で除して200および60 mg/kgとした。また, 対照として被験物質投与群の投与液と同一容量の媒体(注射用水)のみを投与する群を設けた。

投与期間は, 雄では交配前14日間とその後35日間の合計49日間とし, 雌では交配前14日間, 交配期間中(最長14日間), 妊娠期間中および哺育3日までの合計41~50日間とした。なお, 投与開始日を投与1日とした。

4. 観察および検査項目

1) 雄

(1) 一般状態

一般状態および死亡の有無は, 投与前・後の1日2回観察した。

死亡例は, 発見後速やかに剖検した。

(2) 体重測定

体重は, 1週間に2回測定した。

(3) 摂餌量測定

摂餌量は, 交配開始前14日間および交配期間終了後から1週間に2回測定した。

(4) 剖検

生存例は, 最終投与の翌日にエーテル麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後に剖検し, 精巣および精巣上体の重量を測定した。なお, 各器官重量を最終体重で除して相対重量も算出した。精巣および精巣上体は, プアン液に固定した。

(5) 病理組織学検査

精巣および精巣上体は, 常法に従ってパラフィン包埋標本を作製した。

対照群および700 mg/kg群の精巣および精巣上体についてH-E染色組織標本を作製し, 病理組織学検査を実施した。

2) 雌

(1) 一般状態

一般状態および死亡の有無は, 投与前・後の1日2回

観察した。

死亡例は, 発見後速やかに剖検した。

(2) 性周期

性周期は, 投与開始日から交尾確認日まで1日1回観察した。なお, 発情期が連続2日間にわたって観察された場合は1回と計数した。

(3) 体重測定

体重は, 交配開始前14日間および交配期間中には1週間に2回, 妊娠期間中には妊娠0, 7, 14および21日に, 哺育期間中には哺育0および4日にそれぞれ測定した。

(4) 摂餌量測定

摂餌量は, 交配開始前14日間までは1週間に2回測定した。また, 妊娠期間中は妊娠2, 9, 16および21日に, 哺育期間中は哺育4日に測定した。

(5) 交尾不成立雌の剖検

交尾不成立雌は, 交配期間終了後にエーテル麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後に剖検した。

(6) 分娩状態の観察

交尾雌は自然分娩させ, 分娩状態の異常の有無, 分娩終了の確認を妊娠21日から妊娠25日まで1日1回行った。午前10時に分娩が終了していた場合, その日を哺育0日とした。

(7) 妊娠25日までに分娩しなかった動物

妊娠25日までに分娩しなかった雌は, エーテル麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後に剖検した。

(8) 哺育状態の観察および剖検

母動物は, 哺育状態を哺育4日まで1日1回観察し, 新生児が全例死亡した日あるいは哺育4日にエーテル麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後に剖検し, 着床痕数および黄体数を数えた。卵巣は重量を測定し, 20%中性緩衝ホルマリンに固定した。なお, 卵巣重量を最終体重で除して相対重量も算出した。

(9) 病理組織学検査

卵巣は, 常法に従ってパラフィン包埋標本を作製した。

対照群および700 mg/kg群の卵巣についてH-E染色組織標本を作製し, 病理組織学検査を実施した。

3) 親動物の生殖発生に及ぼす影響

14日間投与した雌雄を同一群内で1対1に組み合わせ同居交配した。交配期間は14日を限度として, 交尾を確認するまでの連続同居交配とした。ただし, 交配相手が死亡したため交配組み合わせができなかった700 mg/kg群の雌は, 交配開始後5日に同一群内の交尾経験のある雄と組み合わせ同居交配した。交尾確認は毎朝ほぼ一定時刻に行い, 膣垢内に精子または膣栓を確認した雌を交尾成立動物として, その日を妊娠0日として起算した。

4) 新生児

(1) 出産時の観察

出産時に総出産児数と性, 死産児数, 新生児数および外表異常の有無を観察した。

(2) 新生児の観察

新生児は、一般状態および死亡の有無を1日1回観察した。

(3) 体重

体重は、哺育0日(出生日)および4日に測定した。

(4) 剖検

生存児は、哺育4日にエーテル麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後に剖検した。

5. 統計学的方法

統計解析は、Bartlett法による等分散性の検定を行い、等分散の場合には一元配置法による分散分析を行い、有意ならばDunnett法により行った。一方、等分散と認められなかった場合は、順位を利用した一元配置法による分析(Kruskal-Wallisの検定)を行い、有意ならば順位を利用したDunnett型の検定法により行った。

交尾率、受胎率および出産率は、 χ^2 検定により行った。

結果

1. 反復投与毒性

1) 雄に及ぼす影響

(1) 一般状態

死亡および瀕死例は、対照群、60および200 mg/kg群では認められなかった。700 mg/kg群では、投与5日に1例が死亡した。死亡例では、死亡前日まで一般状態に異常はみられなかった。

生存例の一般状態観察において、対照群、60および200 mg/kg群ではいずれの動物にも異常はみられなかつ

た。700 mg/kg群では、被毛の汚れ、流涎、下痢、軟便がみられた。

(2) 体重(Fig. 1)

60 mg/kg群では、対照群と比べていずれの測定日の体重にも有意差はみられなかった。200 mg/kg群では、対照群と比べて投与4日に体重の有意な低値がみられたが、その後は順調に推移し、対照群との間に有意差が認められないことから、毒性学的影響とはみなさなかつた。700 mg/kg群では、対照群と比べて投与4~49日に体重の有意な低値がみられた。

(3) 摂餌量(Fig. 2)

60 mg/kg群では、対照群と比べて投与48日に摂餌量の有意な高値がみられたが、投与量に依存した変化ではなかった。200 mg/kg群では、対照群と比べて投与3日に摂餌量の有意な低値がみられたが、その後は順調に推移し、対照群との間に有意差が認められないことから、毒性学的影響とはみなさなかつた。700 mg/kg群では、対照群と比べて投与3および6日に摂餌量の有意な低値がみられた。

(4) 剖検

700 mg/kg群の死亡例においては異常はみられなかつた。

生存例においては、対照群では、両側精巣、両側精巣上体、精囊および前立腺の萎縮が1例みられた。60 mg/kg群では、いずれの動物にも異常はみられなかつた。200および700 mg/kg群では、両側精巣の萎縮および両側精巣上体の萎縮がそれぞれ各1例みられた。しかし、これらの変化は、いずれも偶発的所見と考えられた。

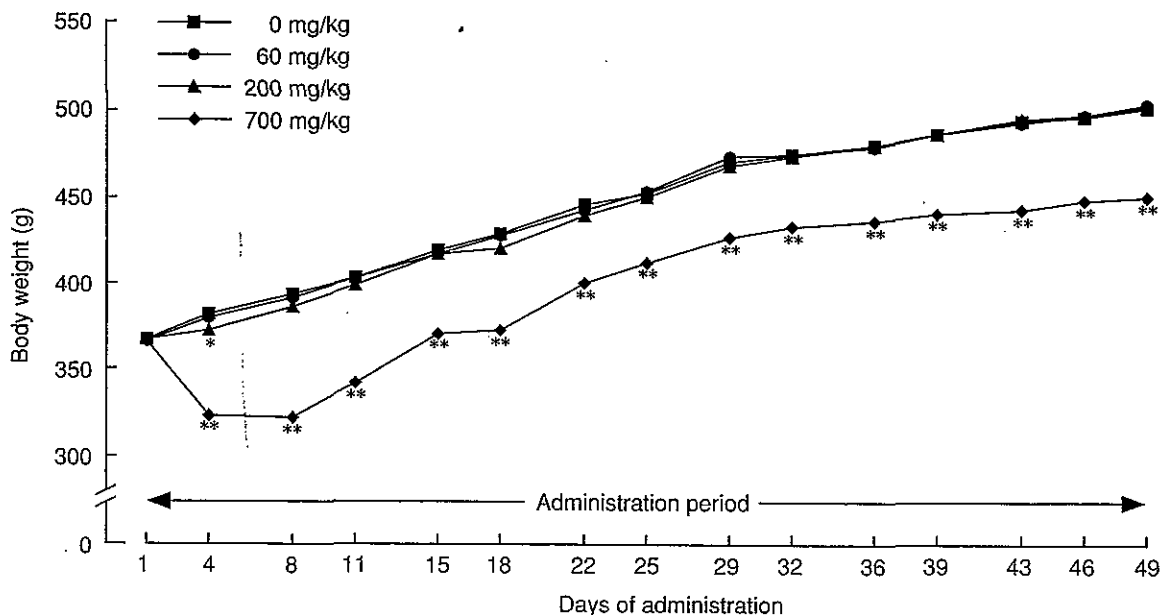


Fig. 1 Body weight of male rats in preliminary reproduction toxicity screening test of tetrahydrothiophene-1,1-dioxide by oral administration

Significantly different from control (*:p<0.05, **:p<0.01)

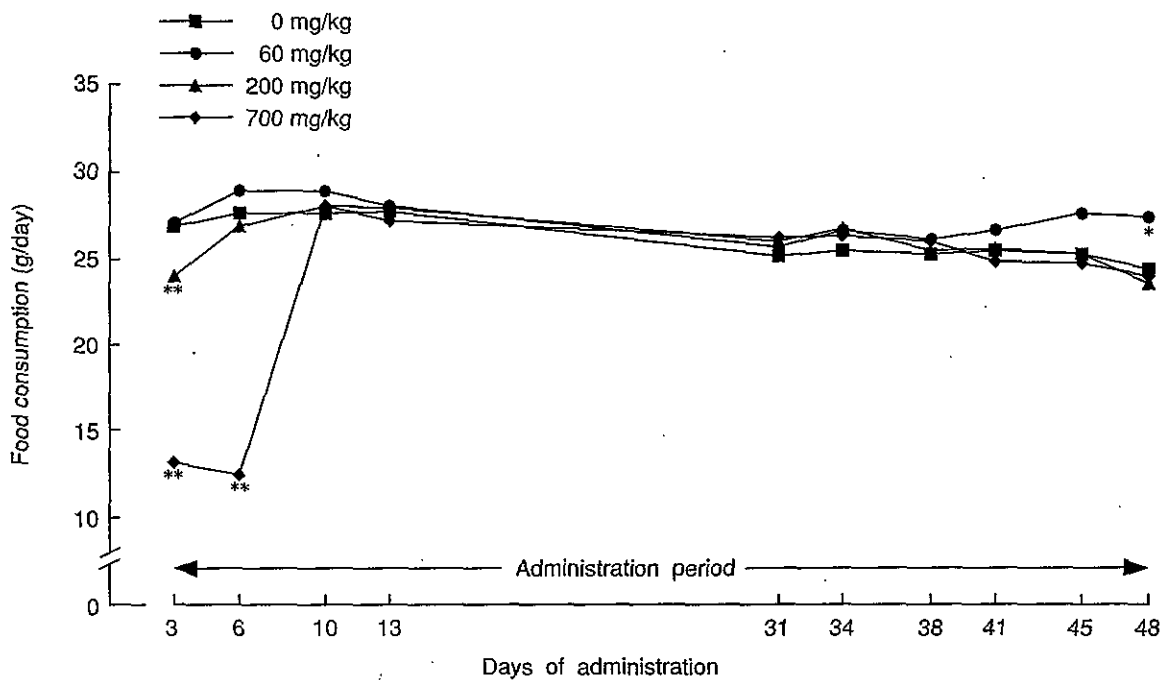


Fig. 2 Food consumption of male rats in preliminary reproduction toxicity screening test of tetrahydrothiophene-1,1-dioxide by oral administration

Significantly different from control (*:p<0.05, **:p<0.01)

(5) 器官重量 (Table 1)

60および200 mg/kg群では、対照群と比べて剖検日の体重に有意差はみられなかった。

700 mg/kg群では、対照群と比べて剖検日の体重の有意な低値がみられた。

各投与群とも、対照群と比べていずれの器官の絶対および相対重量にも有意差はみられなかった。

(6) 病理組織学検査 (Table 2)

精巣において精細管の萎縮および間細胞の増生が、精巣上体において精子の減少、精巣上体管の空胞化および精子肉芽腫がみられたが、いずれも少数例であることから、偶発的変化と判断された。

2) 雌に及ぼす影響

(1) 一般状態

死亡および瀕死例は、対照群、60および200 mg/kg群では認められなかった。700 mg/kg群では、哺育2日に1例が死亡した。死亡例では、流産の他には異常はみられなかった。

生存例の一般状態観察において、対照群、60および200 mg/kg群ではいずれの動物にも異常はみられなかった。700 mg/kg群では、被毛の汚れ、流産がみられた。

(2) 体重 (Fig. 3)

交配開始前において、60および200 mg/kg群では対照群と比べていずれの測定日の体重にも有意差はみられなかった。700 mg/kg群では、対照群と比べて投与4~11日に体重の有意な低値がみられた。

妊娠期間中において、各投与群とも対照群と比べていずれの測定日の体重にも有意差はみられなかった。

哺育期間中において、各投与群とも対照群と比べていずれの測定日の体重にも有意差はみられなかった。

(3) 摂餌量 (Fig. 4)

交配開始前において、60および200 mg/kg群では対照群と比べていずれの測定日の摂餌量にも有意差はみられなかった。700 mg/kg群では、対照群と比べて投与3および6日に摂餌量の有意な低値がみられた。

妊娠期間中において、各投与群とも対照群と比べていずれの測定日の摂餌量にも有意差はみられなかった。

哺育期間中において、60および200 mg/kg群では対照群と比べて摂餌量に有意差はみられなかった。700 mg/kg群では、対照群と比べて哺育4日に摂餌量の有意な低値がみられた。

(4) 剖検

700 mg/kg群の死亡例においては異常はみられなかった。

生存例においては、いずれの群とも異常はみられなかった。

(5) 器官重量 (Table 3)

60および200 mg/kg群では、対照群と比べて剖検日の体重、卵巣の絶対および相対重量に有意差はみられなかった。700 mg/kg群では、対照群と比べて卵巣の相対重量の有意な高値および剖検日の体重の有意な低値がみられた。

(6) 病理組織学検査

対照群および700 mg/kg群とも、卵巣に異常はみられなかった。

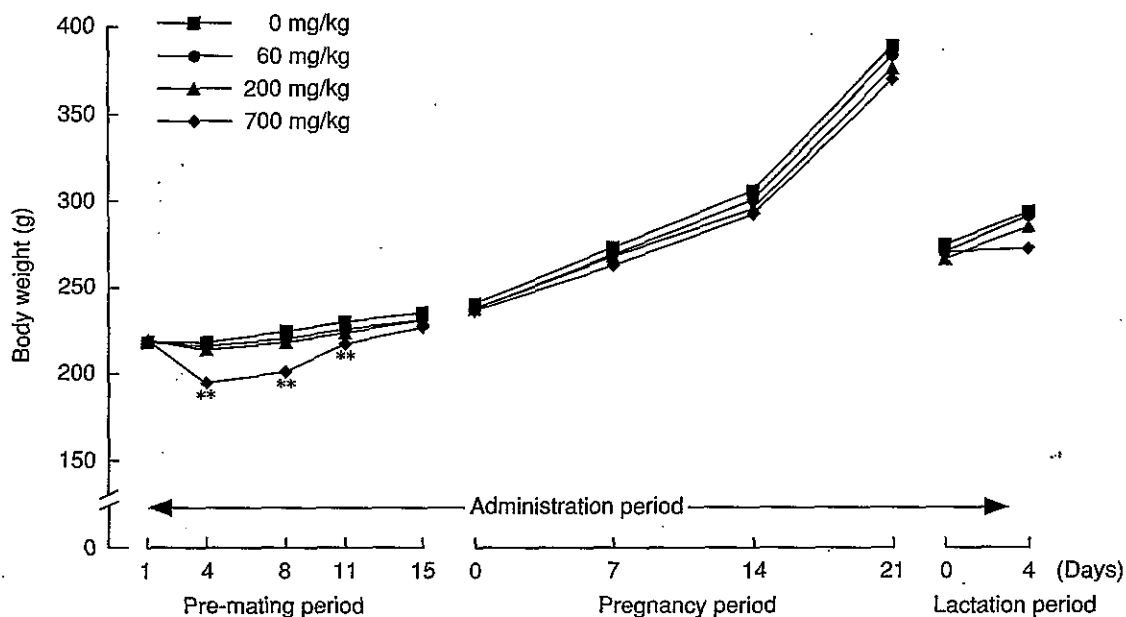


Fig. 3 Body weight of female rats in preliminary reproduction toxicity screening test of tetrahydrothiophene-1,1-dioxide by oral administration

Significantly different from control (**:p<0.01)

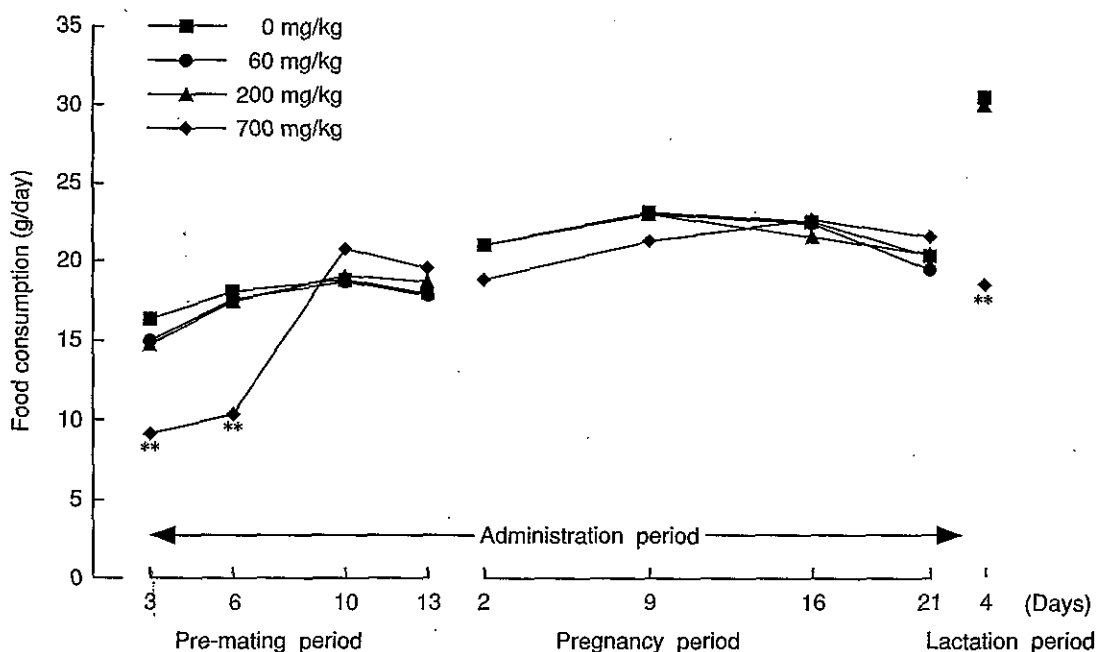


Fig. 4 Food consumption of female rats in preliminary reproduction toxicity screening test of tetrahydrothiophene-1,1-dioxide by oral administration

Significantly different from control (**:p<0.01)

2. 生殖発生毒性

1) 親動物の生殖発生に及ぼす影響

(1) 発情回数, 交尾率および受胎率 (Table 4)

交配前投与期間(14日間)の発情回数は, 60および200 mg/kg群では対照群との間に有意差はみられなかった. 700 mg/kg群では, 発情周期の乱れている雌が4例認められ, 対照群と比べて発情回数の有意な低値がみられ

た.

700 mg/kg群の1組を除いた全例で交尾が確認された. 交尾所要日数は, 各投与群とも対照群との間に有意差はみられなかった. また, 交尾率にも, 各投与群と対照群との間に有意差はみられなかった.

不受胎雌は, 対照群および700 mg/kg群で各1例, 200 mg/kg群で2例みられたが, 受胎率には各投与群と

対照群との間に有意差はみられなかった。

(2) 妊娠期間, 分娩状態, 黄体数, 着床率および出産率 (Table 5)

妊娠期間は, 各投与群とも対照群と比べて有意差はみられなかった。分娩状態の異常は, いずれの群にもみられなかった。

各投与群とも, 対照群と比べて黄体数, 着床痕数および着床率に有意差はみられなかった。

対照群, 60, 200および700 mg/kg群とも出産率は100%であった。700 mg/kg群では, 全出生児が死亡した母動物が4例みられた。

2) 新生児に及ぼす影響

(1) 分娩率および出生率 (Table 5)

60 mg/kg群では, 対照群と比べて総出産児数, 分娩率, 児の産出率, 哺育0日の新生児数, 死産児数, 出生率および性比に有意差はみられなかった。200 mg/kg群では, 対照群と比べて児の産出率の有意な低値, 有意な差ではないが哺育0日の新生児数の低値傾向がみられた。また, 200 mg/kg群では, 対照群と比べて分娩率の有意な低値がみられたが, 700 mg/kg群で有意差は認められず, 投与によるものではないと判断される。700 mg/kg群では, 対照群と比べて死産児数の有意な高値, 児の産出率および出生率の有意な低値, 有意差は認められないものの, 哺育0日の新生児数の低値傾向がみられた。

(2) 新生児の生存率および一般状態 (Table 5)

60 mg/kg群では, 対照群と比べて哺育4日の生存児数および生存率に有意差はみられなかった。200 mg/kg群では, 対照群と比べて有意な差ではないが哺育4日の生存児数の低値傾向がみられた。700 mg/kg群では, 対照群と比べて哺育4日の生存児数および生存率の有意な低値がみられた。

新生児の外表面観察では, 対照群で無尾が1例にみられたのみであった。

新生児の一般状態では, 各群とも異常はみられなかった。

(3) 新生児の体重 (Table 5)

60 mg/kg群では, 対照群と比べて哺育0日に雄体重の有意な低値がみられたが, 200 mg/kg群では哺育0日の雌雄別体重に有意差が認められないことから, 投与によるものではないと判断される。700 mg/kg群では, 対照群と比べて哺育0および4日に雌雄別体重の有意な低値がみられた。

(4) 新生児の剖検

各群とも, 異常はみられなかった。

考察

テトラヒドロチオフェン-1,1'-ジオキシドのラットを用いる経口投与による簡易生殖毒性試験を行い, 雌雄親動物の生殖能力および次世代児の発生・発育に及ぼす影響について検討した。

雄に関しては, 死亡例が700 mg/kg群で1例認められた。死亡例では, 一般状態および剖検所見に特記すべき異常は認められなかったものの, 体重減少がみられていることから, 被験物質投与に基づくものと判断した。一般状態観察では, 700 mg/kg群で被毛の汚れ, 下痢および軟便がみられた。また, 700 mg/kg群で流涎が認められたが, 被験物質の刺激性に基づく変化と判断され, 毒性症状とはみなさなかった。体重および摂餌量において, 700 mg/kg群では投与期間を通して体重増加の抑制, 投与期間の初期に摂餌量の低値がみられた。しかし, 剖検および器官重量では, 投与による変化はみられなかった。精巣および精巣上体の病理組織学検査において, 投与による変化はみられなかった。なお, ラットを用いる28日間反復経口投与毒性試験¹⁾においても, 700 mg/kg投与で死亡例および流涎は認められないものの, 自発運動の低下, 体重および摂餌量の減少がみられている。

雌に関しては, 死亡例が700 mg/kg群で1例認められた。一般状態観察では, 700 mg/kg群で被毛の汚れがみられた。700 mg/kg群で流涎が認められたが, 雄と同様に毒性症状とはみなさなかった。体重において, 700 mg/kg群では交配前に増加抑制がみられた。摂餌量において, 700 mg/kg群で交配前および哺育期に低値がみられた。また, 700 mg/kg群で卵巣の相対重量の有意な高値がみられたが, 病理組織学検査では変化はみられなかった。

したがって, 当試験条件下におけるテトラヒドロチオフェン-1,1'-ジオキシドの一般毒性学的無影響量は, 雌雄とも200 mg/kg/dayと考えられる。

親動物の生殖発生に対しては, 前述したように精巣, 精巣上体および卵巣の病理組織学検査において投与に起因すると思われる変化はみられなかった。また, いずれの群とも交尾率および受胎率に影響は認められなかった。

交尾所要日数, 受胎雌数, 妊娠期間, 黄体数, 着床痕数, 分娩状態および哺育状態では, 投与による変化はみられなかった。しかし, 700 mg/kg群では, 発情周期の乱れている雌が認められ, 発情回数の低値がみられた。また, 同群では, 哺育期に新生児が全例死亡した母動物が4例認められた。

新生児に対しては, 200 mg/kg群では児の産出率の低値, 哺育0および4日の新生児数の低値傾向がみられた。700 mg/kg群では, 死産児数の高値および哺育0日の新生児数の低値傾向, 児の産出率, 出生率, 哺育4日の新生児数および生存率の低値がみられた。また, 700 mg/kg群では, 哺育0および4日に雌雄別体重の低値がみられた。外表面観察では, 各投与群とも投与による影響はみられなかった。一般状態では, 各投与群とも投与による異常症状はみられなかった。剖検においても, 変化はみられなかった。

以上のように, テトラヒドロチオフェン-1,1'-ジオキシドの一般毒性学的無影響量は, 雌雄とも700 mg/kg投与により死亡例の発現, 体重の増加抑制および摂餌量の低値が認められたことから200 mg/kg/dayと考えられる。

また、生殖発生毒性学的な無影響量は、雄では700 mg/kg投与しても交尾率および受胎率に影響は認められなかったことから700 mg/kg/day、雌では700 mg/kg投与により新生児が全例死亡した母動物が認められたことから200 mg/kg/day、児動物では200 mg/kg投与により児の産出率の低値、哺育0および4日の新生児数の低値傾向が認められたことから60 mg/kg/dayと考えられる。

文献

- 1) 厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室監修, “化学物質毒性試験報告,” Vol. 4, 化学物質点検推進連絡協議会, 東京, 1996, p. 437.

連絡先

試験責任者：古橋忠和
試験担当者：長瀬孝彦, 藤村高志, 内藤一嘉,
今枝知子, 吉島賢一, 牧野浩平
(株)日本バイオリサーチセンター 羽島研究所
〒501-6251 岐阜県羽島市福寿町間島6-104
Tel 058-392-6222 Fax 058-392-1284

Correspondence

Authors: Tadakazu Furuhashi (Study director)
Takahiko Nagase, Takashi Fujimura,
Kazuyoshi Naitou, Tomoko Imaeda,
Ken-ichi Yoshijima and Kohei Makino
Nihon Bioresearch Inc. Hashima Laboratory
6-104 Majima, Fukuju-cho, Hashima, Gifu, 501-
6251, Japan.
Tel +81-58-392-6222 Fax +81-58-392-1284

簡易生殖毒性試験

Table 1 Organ weight of male rats in preliminary reproduction toxicity screening test of tetrahydrothiophene-1,1-dioxide by oral administration

Dose (mg/kg)		0	60	200	700
Number of males		12	12	12	11
Body weight	(g)	504.2 ± 26.3	505.9 ± 25.7	505.8 ± 14.9	454.3 ± 22.2**
Testes	(g)	3.118 ± 0.720	3.287 ± 0.182	3.225 ± 0.750	2.961 ± 0.808
	(g%)	0.619 ± 0.143	0.652 ± 0.054	0.640 ± 0.153	0.655 ± 0.187
Epididymides	(g)	1.172 ± 0.226	1.230 ± 0.083	1.211 ± 0.222	1.087 ± 0.236
	(g%)	0.233 ± 0.048	0.243 ± 0.020	0.241 ± 0.045	0.241 ± 0.052

Each value shows mean±S.D.
Significantly different from control (**:p<0.01).

Table 2 Histopathological examination of male rats in preliminary reproduction toxicity screening test of tetrahydrothiophene-1,1-dioxide by oral administration

Dose (mg/kg)	0						200						700					
	N	A	±	+	2+	3+	N	A	±	+	2+	3+	N	A	±	+	2+	3+
Testis	[12]						[1]						[11]					
Atrophy, seminiferous tubule	10	2	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1	9	2	0	1	0	1
Proliferation, Leydig's cell	11	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	10	1	0	1	0	0
Epididymis	[12]						[1]						[11]					
Decrease, sperm	11	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	10	1	0	0	0	1
Vacuolization, duct	11	1	0	1	0	0	1	0					10	1	0	1	0	0
Spermatic granuloma	12	0					1	0					10	1	0	1	0	0

Grade of histopathological finding; ±:slight, +:mild, 2+:moderate, 3+:marked.
N:No abnormality detected.
A:Abnormality detected.
[]:Number of males examined.

Table 3 Organ weight of female rats in preliminary reproduction toxicity screening test of tetrahydrothiophene-1,1-dioxide by oral administration

Dose (mg/kg)		0	60	200	700
Number of dams		12	12	12	11
Body weight	(g)	289.0 ± 21.3	290.3 ± 19.2	284.0 ± 15.0	268.3 ± 14.2*
Ovaries	(mg)	94.79 ± 11.71	95.51 ± 11.57	98.39 ± 10.42	108.63 ± 17.99
	(mg%)	32.90 ± 4.36	33.04 ± 4.62	34.66 ± 3.33	40.45 ± 5.92**

Each value shows mean±S.D.
Significantly different from control (*:p<0.05, **:p<0.01).

Table 4 Number of estrous cases and reproductive performance of male and female rats in preliminary reproduction toxicity screening test of tetrahydrothiophene-1,1-dioxide by oral administration

Dose (mg/kg)	0	60	200	700
Number of females	12	12	12	12
Number of estrous cases before mating (14 days)				
Mean±S.D.	3.3 ± 0.5	3.3 ± 0.5	3.2 ± 0.4	2.2 ± 0.9**
Number of males	12	12	12	11
Number of males with successful copulation	12	12	12	10
Copulation index (%) ^{a)}	100.0	100.0	100.0	90.9
Number of females	12	12	12	12
Number of females with successful copulation	12	12	12	11
Copulation index (%) ^{b)}	100.0	100.0	100.0	91.7
Number of conceiving days (Mean ± S.D.)	2.3 ± 1.2	2.2 ± 1.2	2.3 ± 1.4	3.5 ± 3.6
Number of pregnant females	11	12	10	10
Fertility index (%) ^{c)}	91.7	100.0	83.3	90.9
Number of pregnant females with live pups	11	12	10	10

a) : (Number of males with successful copulation/number of males) × 100.

b) : (Number of females with successful copulation/number of females) × 100.

c) : (Number of pregnant females/number of females with successful copulation) × 100.

Significantly different from control (**:p<0.01).

Table 5 Observation of pups (F₁) in preliminary reproduction toxicity screening test of tetrahydrothiophene-1,1-dioxide by oral administration

Dose (mg/kg)	0	60	200	700
Number of dams	11	12	10	10
Length of gestation (days)	22.18 ± 0.40	22.08 ± 0.29	22.00 ± 0.00	22.00 ± 0.00
Corpora lutea	16.4 ± 1.3	16.8 ± 1.4	17.7 ± 2.2	17.0 ± 3.3
Implantation scars	15.5 ± 1.2	15.7 ± 1.9	15.6 ± 1.8	15.8 ± 3.2
Implantation index (%) ^{a)}	94.5 ± 4.1	93.4 ± 7.1	88.4 ± 4.7	92.8 ± 6.3
Gestation index (%) ^{b)}	100.0	100.0	100.0	100.0
Pups born	15.2 ± 1.7	15.2 ± 1.7	14.3 ± 1.8	14.9 ± 3.4
Delivery index (%) ^{c)}	98.1 ± 4.5	96.9 ± 4.0	91.8 ± 4.1*	94.0 ± 6.7
Live pups born	14.9 ± 1.9	15.0 ± 1.9	14.1 ± 1.6	11.3 ± 4.7
Sex ratio at birth ^{d)}	0.98 ± 0.67	1.12 ± 0.55	1.73 ± 1.09	0.78 ± 0.33
Birth index (%) ^{e)}	96.3 ± 6.5	95.8 ± 4.8	90.5 ± 5.1*	71.6 ± 26.2**
Dead pups on day 0 of lactation	0.3 ± 0.5	0.2 ± 0.4	0.2 ± 0.4	3.6 ± 4.4**
Live birth index (%) ^{f)}	98.1 ± 3.3	98.8 ± 2.8	98.7 ± 2.8	75.9 ± 26.2**
Live pups on day 4 of lactation	14.8 ± 1.8	15.0 ± 1.9	13.7 ± 1.3	4.0 ± 5.6** (9)
Viability index (%) ^{g)}	99.5 ± 1.8	100.0 ± 0.0	97.3 ± 3.5	29.2 ± 40.4** (9)
External anomalies (%) ^{h)}	0.7 ± 2.4	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Anury (%)	0.7 ± 2.4	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Body weight of pups (g)				
Male Day 0	6.64 ± 0.31	6.15 ± 0.42*	6.22 ± 0.38	5.44 ± 0.52**
Male Day 4	9.92 ± 0.75	9.63 ± 1.16	9.57 ± 1.03	6.63 ± 1.41** (4)
Female Day 0	6.20 ± 0.30	5.88 ± 0.33	5.85 ± 0.44	4.93 ± 0.46**
Female Day 4	9.25 ± 0.84	9.19 ± 0.96	9.18 ± 1.31	5.68 ± 1.37** (5)

Each value shows mean±S.D. per dam.

Figures in parentheses indicate number of dams.

Significantly different from control (*:p<0.05, **:p<0.01).

a) : (Number of implantation scars/number of corpora lutea) × 100.

b) : (Number of dams with live pups/number of pregnant dams) × 100.

c) : (Number of pups born/number of implantation scars) × 100.

d) : Number of male pups/number of female pups.

e) : (Number of live pups born/number of implantation scars) × 100.

f) : (Number of live pups born/number of pups born) × 100.

g) : (Number of live pups on day 4/number of live pups born) × 100.

h) : (Number of pups with external anomalies/number of live pups born) × 100.