

続き

用量 (mg/kg/day)		対照群	10	60	300	対照群	300	60
検査項目		投与終了後				回復終了後		全児死亡
		♂/♀	♂/♀	♂/♀	♂/♀	♂/♀	♂/♀	♀
		(↑↓: 傾向, △▽: P<0.05, ▲▼: P<0.01, -: 変化なし, *検査せず)						
病理組織所見	腎臓:	[5/5]	[5/0]	[5/0]	[5/5]	[5/0]	[5/0]	[0]
	近位尿細管, 好塩基性尿細管 +	4/3	1/*	2/*	1/1	2/*	2/*	*
	硝子円柱, 尿細管 +	1/0	0/*	1/*	0/0	0/*	0/*	*
	間質におけるリンパ球浸潤 +	1/1	2/*	0/*	2/0	0/*	0/*	*
	近位尿細管における硝子滴沈着 +	0/0	1/*	1/*	0/0	1/*	1/*	*
	腎盂, 炎症性細胞浸潤 ++	0/0	0/*	0/*	▲ 5/0	0/*	0/*	*
	膀胱:	[5/5]	[5/5]	[5/5]	[5/5]	[5/5]	[5/5]	[0]
	粘膜固有層におけるリンパ球浸潤 +	0/0	0/0	0/0	1/1	0/0	1/1	*
	粘膜上皮の (単純) 過形成 +	0/0	0/0	2/0	△4/4△	0/0	0/3	*
	精巣:	[5/-]	[0/-]	[1/-]	[5/-]	[0/-]	[1/-]	[-]
	精細管の萎縮 +	1/	* /	0/	0/	* /	* /	
	++	0/	* /	1/	0/	* /	1/	
	精巣上体:	[5/-]	[0/-]	[2/-]	[5/-]	[0/-]	[0/-]	[-]
	精巣上体管における細胞残屑 +	0/	* /	1/	0/	* /	* /	
	限局性細胞浸潤 +	0/	* /	0/	1/	* /	* /	
	精巣上体管における精子減少 ++	0/	* /	1/	0/	* /	* /	
	精子肉芽腫 +	0/	* /	1/	0/	* /	* /	
	精囊:	[5/-]	[0/-]	[0/-]	[5/-]	[0/-]	[0/-]	[-]
	間質におけるリンパ球浸潤 +	2/	* /	* /	3/	* /	* /	
	卵巣	[-/0]	[-/1] ^{h)}	[-/0]	[-/0]	[-/0]	[-/0]	[0]
	卵巣嚢, 炎症性細胞浸潤 +	/ *	/ 1	/ *	/ *	/ *	/ *	*
	卵巣嚢の拡張 +	/ *	/ 1	/ *	/ *	/ *	/ *	*
	黄体細胞の壊死 (片側) +++	/ *	/ 1	/ *	/ *	/ *	/ *	*
	下垂体:	[5/5]	[0/0]	[0/0]	[5/5]	[0/0]	[0/0]	[0]
	異所性頭蓋咽頭管組織 +	0/0	* / *	* / *	0/1	* / *	* / *	*
	甲状腺:	[5/5]	[0/0]	[0/0]	[5/5]	[0/0]	[0/0]	[0]
	異所性胸腺組織 +	1/2	* / *	* / *	0/0	* / *	* / *	*
	鰓後体遺残 +	2/1	* / *	* / *	2/2	* / *	* / *	*
	副腎:	[5/5]	[0/0]	[0/0]	[5/5]	[0/0]	[0/0]	[0]
	副副腎 +	1/0	* / *	* / *	0/1	* / *	* / *	*
	限局性, 束状帯, 脂肪化 +	1/0	* / *	* / *	0/0	* / *	* / *	*
その他, 異常所見の認められなかった器官・組織								
脳, リンパ節 (下顎・腸間膜), 十二指腸, 空腸, 回腸, 盲腸, 結腸, 直腸, 上皮小体, 精囊腺 (凝固腺含む), 子宮, 膣, 骨髄 (大腿骨), 坐骨神経, 脊髄								

h) 分娩未了の動物。

2) 生殖発生毒性

用量(mg/kg/day) 検査項目	対照群	10	60	300
	♂/♀ (↑↓:傾向, △▽: P<0.05, ▲▼: P<0.01, -: 変化なし, *: 検査せず)	♂/♀	♂/♀	♂/♀
検査母動物[数]	[12]	[12]	[12]	[12]
Pregnancy Data				
平均性周期日数	4.13	4.08	4.25	4.00
異常性周期の発現数	0/12	0/12	0/12	0/12
交配対[12]	[12]	[12]	[12]	[12]
交尾率 Copulation Index (%) [数]	100.0 [12/12]	100.0 [12/12]	100.0 [12/12]	100.0 [12/12]
受胎率 Fertility Index (%) [数]	100.0 [12/12]	100.0 [12/12]	100.0 [12/12]	100.0 [12/12]
検査母動物[数]	[12]	[12]	[12]	[12]
黄体数	16.7	15.9	15.5	15.8
着床数	15.4	13.9	14.4	15.2
着床率 Implantation Index (%)	92.88	86.63	92.75	95.88
受胎雌数	12	12	12	12
生児出産雌数	12	11	12	12
出産率 Gestation Index (%)	100.0	91.7	100.0	100.0
分娩動物[数]	[12]	[11]	[12]	[12]
妊娠期間 Gestation Length (days)	22.8	22.6	22.7	22.6
哺育異常	0	0	0	0
Litter Data				
出産児数 ⁱ⁾ (総出産児数)	14.1 (169)	14.0 (154)	14.0 (168)	14.3 (171)
分娩率 Delivery Index (%)	91.40	88.97	96.82	94.23
生存児数 (哺育0日)	13.8	14.0	13.5	14.2
出生率 Live Birth Index (%)	98.20	100.00	97.06	99.48
性比 (♂/♀) 分娩日	0.92	1.33	0.81	1.28
生存児数 (哺育4日)	13.6	13.8	12.5	14.1
新生児の4日生存率				
Viability Index (%)	98.33	98.75	91.11	99.44
体重 哺育0日(g)	7.3/7.0	7.1/6.6	7.1/6.7	6.6/6.2
哺育4日(g)	11.9/11.4	11.7/11.0	11.8/11.3	10.4/10.0
体重増加量 哺育0-4日(g)	4.6/4.4	4.6/4.3	4.6/4.4	3.9/3.8
新生児				
外表異常の発現率 (%)				
無尾 (例数)	0.0	0.0	0.6(1)	0.0
鎖肛 (例数)	0.0	0.0	0.6(1)	0.0
剖検所見	—	—	—	—

i) 1 腹当たりの平均出産児数

NOEL (mg/kg/day)	[反復投与毒性] 雄： 10 mg/kg/day 雌： 60 mg/kg/day [生殖発生毒性] 親動物：雌雄 300 mg/kg/day 児動物： 300 mg/kg/day
NOEL の推定根拠	[反復投与毒性] 300 mg/kg 群で投与後の流涎および体重増加の抑制が雌雄、腎臓の近位尿細管上皮における硝子滴沈着の増強が 300 mg/kg 群の雄、膀胱粘膜の単純過形成が 60 mg/kg 以上の群の雄および 300 mg/kg 群の雌で認められた。その他、300 mg/kg 群では網赤血球数の高値が雄、無機リンの低値が雌、腎臓重量の高値が雄で認められた。 [生殖発生毒性] 生殖発生毒性への影響は親動物および新生児に対しても被験物質に起因する変化は認められなかった。

4. その他

試験実施施設	名 称	株式会社三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所
	所在地	茨城県神栖市砂山 14 番地 電話 0479-46-2871 (代表) FAX 0479-46-2874 (代表)
試験責任者	職氏名	安全性第 2 研究部 副主任研究員 [REDACTED]
	経験年数	10 年間
試験番号		B041794
試験実施年月日		2005 年 6 月 20 日 ~ 2007 年 1 月 23 日

3. 試験実施概要

3.1 表題

クロロシクロヘキサンのラットを用いた経口投与による反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験

3.2 試験番号

B041794

3.3 試験目的

クロロシクロヘキサンを経口投与した時の反復投与毒性および生殖発生毒性を検討する。

3.4 適用ガイドライン

OECD ガイドライン No.422, March 22, 1996

3.5 適用 GLP

OECD Principles of Good Laboratory Practice (as revised in 1997)

「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」

(厚生労働省医薬食品局長・経済産業省製造産業局長・環境省総合環境政策局長連名基準, 薬食発第 1121003 号, 平成 15・11・17 製局第 3 号, 環保企発第 031121004 号, 平成 15 年 11 月 21 日)

3.6 試験委託者

厚生労働省医薬食品局審査管理課化学物質安全対策室
東京都千代田区霞が関一丁目 2 番 2 号

3.7 試験受託者

株式会社三菱化学安全科学研究所
東京都港区芝二丁目 1 番 30 号

3.8 試験施設

株式会社三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所
茨城県神栖市砂山 14 番地

3.9 試験責任者

株式会社三菱化学安全科学研究所

5. 要約

クロロシクロヘキサンを 10, 60 および 300 mg/kg/day の用量で SD 系ラット〔CrI:CD(SD)〕の雌雄に交配前 14 日から交配を経て雄は計 42 日間、雌は妊娠、分娩を経て哺育 4 日まで投与し、反復投与毒性および生殖発生毒性、ならびにそれらの変化の回復性について検討した。1 群の動物数は雄で各 12 匹（回復動物含む）、雌で各 12 匹（回復動物として対照群および 300 mg/kg 群に各 5 匹を追加）とし、対照群には媒体（局方オリブ油）のみを投与した。

反復投与毒性

投与後の流涎および体重増加の抑制が 300 mg/kg 群の雌雄で認められた。病理組織学検査では、腎臓の近位尿細管上皮における硝子滴沈着の増強が 300 mg/kg 群の雄、膀胱粘膜の単純過形成が 60 mg/kg 以上の群の雄および 300 mg/kg 群の雌で認められた。その他、300 mg/kg 群では網赤血球数の高値が雄、無機リンの低値が雌、腎臓重量の高値が雄で認められた。これらの変化は 2 週間の回復期間により回復傾向を示したが、雄の腎臓重量、雌の膀胱粘膜の単純過形成では明確な回復は認められなかった。

その他、詳細な症状観察、機能検査および自発運動量測定でも被験物質の影響はなく、神経症状を示唆する変化は認められなかった。また、生殖器系に対し被験物質に起因する変化は認められなかった。

生殖発生毒性

親動物に対し性周期、交尾率、受胎率、分娩率、妊娠期間、黄体数、着床数、着床率、出産率、分娩および哺育行動、新生児に対しては出産児数、出生率、性比、新生児の 4 日生存率、外表、一般状態、体重および剖検のいずれにも被験物質に起因する変化は認められなかった。

以上の結果から、クロロシクロヘキサンの本試験条件下における反復投与毒性に関する無影響量は雄で 10 mg/kg/day、雌で 60 mg/kg/day、生殖発生毒性に関する無影響量は雌雄の親動物および児動物とも 300 mg/kg/day と考えられる。

8. 結果

8.1 反復投与毒性

8.1.1 一般状態

結果を Tables 1-6, Appendices 1-6 に示す.

投与後の症状として、流涎が 300 mg/kg 群の第 9 日から剖検までの間に、雄で全例、雌で 6 例に認められた。分娩未了が 10 mg/kg 群の 1 例（動物番号：50205）、全出産児死亡が 60 mg/kg 群の 1 例（動物番号：50304）に認められた。分娩未了の動物は分娩開始から 2 日間（妊娠 23 日～25 日、難産）を要しても分娩が完了しなかったため交尾確認後 26 日に、全出産児が死亡した母動物は哺育 0 日より下腹部の汚れを示し、哺育 2 日に出産児が全例死亡したためそれぞれ剖検した。回復期間中は雌雄ともに異常は認められなかった。

8.1.2 行動検査

8.1.2.1 詳細な症状観察

結果を Table 7, Appendices 7, 8 に示す.

投与期間中、雌雄とも被験物質の影響と考えられる変化は認められなかった。

8.1.2.2 機能検査

結果を Table 8, Appendices 9, 10 に示す.

刺激に対する反応性および握力測定の結果、雌雄とも被験物質の影響と考えられる変化は認められなかった。

8.1.2.3 自発運動量の測定

結果を Figs. 1, 2, Tables 9, 10, Appendices 11, 12 に示す.

雌雄とも各測定点および合計の運動量は、各被験物質投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。

8.1.3 体重

結果を Figs. 3-5, Tables 11-20, Appendices 13-22 に示す.

300 mg/kg 群の雄で体重増加の抑制が第 8 日から 42 日まで認められた。同群の雌では体重増加量が対照群と比べ第 15 日に低値を示しただけであったが、妊娠期間中では体重増加の抑制傾向を示した。

その他、10 および 60 mg/kg 群の雌で哺育 4 日の体重増加量が対照群と比べ低値を示した。しかし、300 mg/kg 群では変化がないことから分娩に伴う一時的な低値と考えられる。

回復期間中は雌雄とも対照群との間に有意差は認められなかった。

8.1.4 摂餌量

結果を Figs. 6-8, Tables 21-25, Appendices 23-27 に示す.

雌雄の投与期間および回復期間のいずれにも、各被験物質投与群と対照群の間に有意差は認められなかった.

8.1.5 血液学検査

結果を Tables 26, 27, Appendices 28, 29 に示す.

投与終了後の検査では、網赤血球数の高値が 300 mg/kg 群の雄に認められた. 回復終了後の検査では、同群の前述の項目が低値を示し、回復したものと考えられる. 10, 60 mg/kg 群の雄および雌では、対照群との間に有意差は認められなかった.

8.1.6 血液生化学検査

結果を Tables 28, 29, Appendices 30, 31 に示す.

投与終了後の検査で無機リンの低値が 300 mg/kg 群の雌で認められた.

回復終了後の検査で γ GT の低値が 300 mg/kg 群の雌で認められたが、投与終了後検査では変化がなかったことから、偶発的な変化と考えられる.

雄および 10, 60 mg/kg 群の雌では、対照群との間に有意差は認められなかった.

8.1.7 雄の尿検査

結果を Table 30, Appendix 32 に示す.

各被験物質投与群とも変化は認められなかった.

8.1.8 器官重量

結果を Tables 31-36, Appendices 33-38 に示す.

投与期間終了後の検査で、腎臓の絶対重量の高値傾向、相対重量の高値が 300 mg/kg 群の雄で認められた.

回復期間終了の検査では、腎臓の絶対重量の高値傾向、相対重量の高値、肝臓の相対重量の高値が 300 mg/kg 群の雄、肝臓および脾臓の相対重量の高値が同群の雌で認められた.

なお、心臓の絶対重量の低値が 300 mg/kg 群の雌でみられたが、解剖時の体重が低値傾向を示していること、相対重量に変化がないことから偶発的な変化と考えられる. その他、10, 60 mg/kg 群の雌雄とも対照群との間に有意差は認められなかった.

8.1.9 剖検所見

結果を Table 37, Appendices 39, 40 に示す.

生殖器系への変化として、投与後解剖動物では両側性の精巣の小型および軟化な

らびに両側性の精巣上体の小型が 60 mg/kg 群の 1 例（動物番号：00303）、両側性の精巣上体の黄色化が同群の 1 例（動物番号：00311）、回復後解剖動物では両側性の精巣の小型が 300 mg/kg 群の 1 例（動物番号：00408）に認められた。上記の投与後解剖動物はいずれも雌との交尾が認められ、その相手雌は受胎していることから生殖機能に影響を及ぼすものではないと考えられる。なお、本所見は対照群でもしばしば観察されることから、被験物質に起因する変化ではないと判断した。

分娩未了の 10 mg/kg 群の 1 例（動物番号：50205、非分娩動物）では、左子宮角における胎児遺残および同側卵巣における卵巣嚢の拡張が認められた。また、妊娠 26 日に剖検したことから、遺残した胎児は正常より大型であった。全出産児が死亡した 60 mg/kg 群の 1 例（動物番号：50304）では、胸腺および脾臓の小型化が認められた。

その他、投与後および回復後解剖動物でいくつかの肉眼的変化が認められたが、用量群に関係なく散発的な発現であることから被験物質とは関連のない変化と判断した。

8.1.10 病理組織所見

結果を Table 38, Appendices 39, 40 に示す。

被験物質に起因すると思われる変化が雄の腎臓および雌雄の膀胱に認められた。その発現状況を文中表 1 にまとめた。

文中表 1 被験物質に起因すると思われる病理組織変化とその発現状況

性別		雄					雌						
運命情報		投与後解剖				回復後解剖		投与後解剖				回復後解剖	
器官名	用量 (mg/kg)	0	10	60	300	0	300	0	10	60	300	0	300
所見	検査動物数	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		グレード											
腎臓	硝子滴の沈着	+	0	1	1	0	1	1	0			0	0
		++	0	0	0	5	0	0	0			0	0
膀胱	粘膜上皮の単純過形成	+	0	0	2	4	0	0	0	0	0	4	0
		グレード：+、軽微：++、軽度											

グレード：+, 軽微；++, 軽度

腎臓では、近位尿細管上皮における硝子滴沈着の増強が投与後解剖動物の 300 mg/kg 群の雄で認められた。すなわち、300 mg/kg 群では軽度の硝子滴が雄全例、10 および 60 mg/kg 群では軽微な変化が雄各 1 例に認められた。なお、回復後の対照群でも軽微な変化が雄 1 例にみられていることから、10 および 60 mg/kg 群の変化は自然発生性の変化と考えられる。一方、回復終了後の 300 mg/kg 群でも軽微な変化が雄 1 例にみられただけで、休薬により回復を示しているものと考えられる。

膀胱では、軽微な膀胱粘膜の単純過形成が 60 mg/kg 群の雄 2 例、300 mg/kg 群の

雌雄各 4 例に認められた。回復後の解剖動物では軽微な変化が 300 mg/kg 群の雌 3 例に認められ、回復期間を経ることで雄では消失、雌では消失しなかった。なお、粘膜固有層におけるリンパ球浸潤が、300 mg/kg 群の投与後解剖動物および回復後解剖動物のそれぞれ雌雄各 1 例に認められた。この変化は自然発生的にみられる程度であり発現頻度も低いことから、被験物質とは関連のない変化と判断した。また、これらリンパ球浸潤を示した動物では、粘膜の単純過形成が 300 mg/kg 群の回復後解剖動物の雄 1 例を除き認められた。しかし、他の粘膜の単純過形成を示した動物ではリンパ球浸潤がないことから、リンパ球浸潤と過形成との間に明確な関連性はないものと考えられる。

このほか生殖器を含め、種々の組織変化が投与後および回復後解剖動物の対照群を含む各群で認められた。しかし、それらはラットでは非特異的に発現する変化であり、その発現状況に明らかな群差がみられないことから、被験物質と関連のない変化と判断した。

剖検時、胎児遺残と卵巣囊の拡張がみられた非分娩動物では、卵巣囊および周囲脂肪組織に炎症性細胞浸潤が認められ、卵巣の黄体細胞の壊死が顕著であった。なお、対側卵巣には異常は認められなかった。胸腺および脾臓の小型化が認められた全出産児が死亡した母動物では、胸腺は萎縮していたが、脾臓には組織学的異常は認められなかった。

8.2 生殖発生毒性

8.2.1 生殖機能

結果を Table 39, Appendices 41, 42 に示す。

性周期検査では、4 日周期を示した動物が対照群、10, 60 および 300 mg/kg 群でそれぞれ 12 例中、10, 11, 9 および 12 例であり、被験物質による性周期の延長あるいは短縮は認められなかった。また、異常性周期を示す動物は認められなかった。

交尾は各群の全例で成立し、交尾率、受胎率、交尾所要日数、交尾成立までに逸した発情期の回数ともに被験物質投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。

8.2.2 分娩および哺育状態

結果を Table 40, Appendix 43 に示す。

妊娠期間、黄体数、着床数、着床率および分娩率のいずれにも被験物質投与群と対照群との間に有意な差は認められなかった。

分娩状態の観察では、分娩未了が 10 mg/kg 群の 1 例（動物番号：50205）に認められた。妊娠 23 日の観察では新生児 2 例の娩出がみられたが、翌日には 2 例とも食殺され、母動物の子宮内には胎児が触診により確認された。本動物の観察を続けたが分娩が完了しなかったため、妊娠 26 日に剖検し、子宮内に胎児 3 例の