

ノニルフェノールのラットを用いる28日間反復経口投与毒性試験

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of Nonylphenol in Rats

要約

既存化学物質の毒性評価の一環として、ノニルフェノールの0(オリーブ油), 4, 15, 60および250 mg/kgをSDラットに28日間強制経口投与し, その毒性を検討した。0, 60および250 mg/kgについては, 別に14日間の回復群を設けた。

流涎および体重増加抑制が250 mg/kg群の雌雄にみられた。

尿検査では, 尿量の増加と比重の低下が250 mg/kg群の雌雄に, 摂水量の増加, 沈渣中への扁平上皮細胞の増加と小円形上皮細胞の出現が250 mg/kg群の雌に, 血液学検査では, ヘモグロビンとヘマトクリット値の減少が250 mg/kg群の雌に, 血液生化学検査では, 尿素窒素および無機リンの増加と塩素の減少が250 mg/kg群の雄に, 総蛋白およびトリグリセライドの増加が250 mg/kg群の雌にみられた。

病理学検査では, 肝臓, 腎臓, 膀胱および盲腸に変化がみられた。肝臓では, 重量増加が60 mg/kg群の雄と250 mg/kg群の雌雄にみられ, 組織学的には小葉中心帯肝細胞の肥大が250 mg/kg群の雌雄にみられた。腎臓では, 250 mg/kg群で重量増加が雄に, 肉眼的に白色点散在, 腫大および腎盂拡張が雌にみられ, 組織学的には, 皮髄境界部において近位尿細管の好塩基性化が雌雄に, 同部近位尿細管の単細胞性壊死, 間質の細胞浸潤および円柱が雌に, 集合管の好塩基性化と拡張が雌雄に, 腎盂粘膜の単純性過形成と腎盂拡張が雌にみられた。膀胱では, 移行上皮の単純性過形成が250 mg/kg群の雌雄にみられた。盲腸では, 肉眼的な拡張が250 mg/kg群の雌雄にみられたが, 組織学的変化は認められなかった。

回復群においては, 腎臓および膀胱を除く変化は消失した。腎臓および膀胱の変化は投与終了時と比べ軽減していたことから, いずれの変化も可逆性のものと考えられた。

以上の結果から, 本試験条件下におけるノニルフェノールの無影響量は雄で15 mg/kg/day, 雌で60 mg/kg/dayと考えられた。

方法

1. 被験物質および被験液の調製

被験物質ノニルフェノールは, 分子量220.36, 融点2℃, 沸点295℃, 比重0.95, 刺激臭のある無色~黄色

の粘稠な液体で水に溶けにくい。本試験にはロット番号F1132(三井東圧(株)製), 純度99.0%のものを用いた。なお, 投与終了後の残余被験物質について分析を行った結果, 使用期間中は安定であったことが確認された。

投与容量が2.5 ml/kg体重となるよう, オリーブ油(日本薬局方)に溶解して最高用量群の投与液(10%(w/v))を調製した。高, 中および低用量群の投与液は, 10%液をオリーブ油で段階的に希釈してそれぞれ2.4, 0.6および0.16%(w/v)液とした。0.05~10%(w/v)液は, 室温で1日間および冷蔵(約4℃)・暗所(褐色ガラス瓶)・窒素置換で8日間まで安定であったことから, 被験液は最大1週間分を一括して調製し, 1日分ずつ褐色ガラス瓶に分注し, 窒素置換した上で, 冷蔵庫(約4℃)に保存した。また, 投与開始前および投与終了週の2回, 投与に使用する各濃度液について当施設で濃度を測定した結果, いずれも適正であった。

2. 使用動物および飼育条件

5週齢のCrj:CD(SD)系SPF雌雄ラットを日本チャールス・リバー(株)から購入し, 当所で約1週間検疫・馴化飼育した後, 体重増加が順調で一般状態に異常を認めなかった雌雄各48匹を選び, 6週齢で試験に供した。投与開始日の体重範囲は, 雄で199~234 g(平均値: 217.0 g), 雌で146~175 g(平均値: 161.9 g)であった。

動物は, 群分け当日の体重に基づいて層別化し, 各群の平均体重がほぼ均等となるよう, コンピュータを用いて各群に割り付けた。

動物は, 温度23±3℃, 相対湿度50±20%, 換気回数1時間当たり11~13回, 照明1日12時間の飼育室で, 金属製網ケージに1匹ずつ収容し, 固型飼料(放射線滅菌CRF-1, オリエンタル酵母工業(株))および飲料水(水道水)を自由に摂取させ飼育した。

3. 投与量および投与方法

2週間投与による予備試験(投与量: 0, 5, 60, 250および1000 mg/kg)の結果, 1000 mg/kg群で全例が死亡し, 250 mg/kg群では尿素窒素および総コレステロールの増加, 盲腸の拡張などがみられた。60 mg/kg以下の投与群では肝臓あるいは副腎重量の増加がみられた。これらの成績から, 本試験では250, 60, 15および4 mg/kgの4用量を設定し, これに対照群を加えて計5群を使用した。さらに, 対照群, 60および250 mg/kg群では14日間の回復群を設けた。動物数はいずれの群も雌雄各6匹とした。

被験液の投与容量は2.5 ml/kg体重とし、金属製胃ゾンデを用いて1日1回28日間強制経口投与した。対照群には溶媒(オリーブ油)を同様に投与した。

4. 検査項目

1) 一般状態の観察

投与期間中は毎日2回以上、回復期間中は毎日1回観察した。

2) 体重

投与期間および回復期間を通じ、週2回の頻度で体重を測定した。

3) 摂餌量測定

投与期間および回復期間を通じ、週2回の頻度で摂餌量を測定した。

4) 血液学検査

投与期間および回復期間終了の翌日の剖検時に検査を行った。前日から一夜(約16時間)絶食させた動物をエーテル麻酔下で開腹し、腹大動脈から抗凝固剤(EDTA-2K)を加えた採血ビンに血液を採取し、赤血球数(電気抵抗変化検出法)、ヘモグロビン量(シアンメトヘモグロビン法)、ヘマトクリット値(平均赤血球容積および赤血球数から算出)、平均赤血球容積(電気抵抗変化検出法)、平均赤血球血色素量(ヘモグロビン量および赤血球数から算出)、平均赤血球血色素濃度(ヘモグロビン量およびヘマトクリット値から算出)、血小板数(電気抵抗変化検出法)、白血球数(電気抵抗変化検出法)(以上コールター全自動8項目血球アナライザーT890、(株)日科機)、網赤血球率(Brecher法)および白血球百分率(May-Giemsa鏡検法)を測定した。また、3.8%クエン酸ナトリウムを加えた容器に採取した血液を遠心分離(3000 rpm, 10分間)し、得られた血漿を用いてプロトンピン時間および活性化部分トロンボプラスチン時間(以上クロット法、血液凝固自動測定装置、ACL-100, Instrumentation Laboratory)を測定した。

5) 血液生化学検査

血液学検査のための採血と同時に腹大動脈から採血し、遠心分離(3000 rpm, 10分間)により得られた血清を用いてAIP(Bessey-Lowry法)、総コレステロール(CEH-COD-POD法)、トリグリセライド(GK-GPO-POD法)、リン脂質(PLD-ChOD-POD法)、総ビリルビン(アゾビリルビン法)、血糖(Hexokinase-G6PD法)、尿素窒素(Urease-GLDH法)、クレアチニン(Jaffé法)、ナトリウム、カリウムおよび塩素(イオン選択電極法)、カルシウム(OCPC法)、無機リン(モリブデン酸法)、総蛋白質(Biuret法)、アルブミン(BCG法)およびA/G比(総蛋白質およびアルブミンから算出)を測定した。また、ヘパリンを加えた容器に採血し、遠心分離(3000 rpm, 10分間)により得られた血漿を用いてGOT, GPT, LDH(UV-rate法)、 γ -GTP(γ -グルタミル-3-カルボキシ-

4-ニトロアニリド法)およびChE(DTNB法)(以上いずれも自動分析装置Monarch, Instrumentation Laboratory)を測定した。

6) 尿検査

投与終了時剖検動物は投与第4週(検査当日の投与後)に、回復群の動物は回復第2週に検査を行った。検査動物を代謝ケージに個別に収容し、絶食・自由摂水下で4時間尿を、次いで自由摂食・自由摂水下でその後の20時間尿を採取した。採取した最初の4時間尿を用いてpH, 蛋白質, ケトン体, ブドウ糖, 潜血, ビリルビン, ウロビリノーゲン(以上URIFLET7A試験紙, (株)京都第一科学), 色調(肉眼観察)および沈渣(鏡検)を検査した。また、その後に得られた20時間尿を用いて比重(屈折法, アタゴ屈折計, (株)アタゴ)を測定し、4時間尿量および20時間尿量から1日の尿量を算出した。さらに、代謝ケージに収容した状態で、前日からの1日の摂水量を給水瓶を用いて測定した。

7) 剖検および器官重量

上記血液学検査および血液生化学検査のための採血後に放血致死させ、外表異常の有無を観察した後、頭部、胸部および腹部を含む全身の器官・組織について肉眼的に異常の有無を観察した。続いて、以下に示す器官を摘出後、器官重量(絶対重量)を測定した。また、絶食後の体重および絶対重量から体重100 g当たりの相対重量を算出した。

脳, 胸腺, 心臓, 肺(気管支を含む), 肝臓, 脾臓, 腎臓, 副腎, 精巣, 卵巣

8) 病理組織学検査

全動物について以下に示す全器官・組織を採取し、リン酸緩衝10%ホルマリン液(但し、眼球およびハーダー腺は3%グルタルアルデヒド・2.5%ホルマリン液)で固定した。さらに*印を施した器官・組織についてパラフィンに包埋した。投与終了時剖検動物では、このうち対照群と最高用量群は包埋した全ての器官・組織について、また、高、中および低用量群は被験物質投与による考えられる変化のみられた肝臓、腎臓および膀胱についてそれぞれ切片とし、ヘマトキシリン・エオジン(H.E.)染色を施して鏡検した。回復群では、被験物質投与による変化が疑われた上記の肝臓、腎臓および膀胱のうち腎臓と膀胱は全動物について、肝臓については対照群と最高用量群の動物を検査した。また、肉眼的異常部位については用量に関係なく鏡検した。

脳*, 脊髄*, 坐骨神経*, 胸大動脈, 心臓*, 気管*, 肺(気管支を含む)*, 舌, 食道, 胃*, 十二指腸*, 空腸*, 回腸*, 盲腸*, 結腸*, 直腸*, 唾液腺(顎下腺・舌下腺), 肝臓*, 脾臓*, 下垂体*, 甲状腺(上皮小体を含む)*, 副腎*, 胸腺*, 脾臓*, 腸間膜リンパ節*, 頸部リンパ節*, 腎臓*, 膀胱*, 精巣*, 精巣上体*, 精囊, 前立腺*, 卵巣*, 子宮*, 陰*, 乳腺, 皮膚, 眼球*, ハーダー腺, 骨及び骨髄(胸骨・大腿骨)*, 大腿筋, 肉眼

的異常部位*

5. 統計解析

各検査項目のうち、数値化した成績についてまず Bartlett法により各群の分散の均一性の検定を行った。その結果、分散が均一の場合には一元配置法による分散分析を行い、群間に有意差が認められたならば、Dunnett法(各群の例数が等しいとき)または Scheffé法(各群の例数が異なるとき)を用いて対照群と各投与群との平均値の差の検定を行った。分散が均一でない場合には、Kruskal-Wallisの順位検定を行い、有意であれば Dunnett型(各群の例数が等しいとき)または Scheffé型(各群の例数が異なるとき)を用いて対照群と各投与群との平均順位の差の検定を行った。検定はいずれも両側で、有意水準は5および1%とした¹⁾。

試験結果

1. 一般状態

雄では、流涎が投与13日から投与期間終了まで250 mg/kg群の1~4例で投与直後または投与2時間後にみられた。

雌では、流涎が投与14日から21日まで250 mg/kg群の1~2例で投与直後にみられた。回復期間中はいずれの動物にも異常はみられなかった。

2. 体重(Fig.1)

1) 投与期間

雄では、250 mg/kg群の体重は投与15日頃から対照群をやや下回って推移し、投与期間中の体重増加量は有意に低かった。雌では、各投与群の体重は対照群と同様に推移した。

2) 回復期間

雄では、250 mg/kg群の体重は回復10日まで対照群を有意に下回って推移したが、回復期間中の体重増加量は対照群とほぼ同等であった。雌では、各投与群の体重は対照群と同様に推移した。なお、60 mg/kg群の回復期間中の体重増加量は有意な低値を示したが、用量に関連した変化ではなかった。

3. 摂餌量

1) 投与期間

雌雄ともに、各投与群の摂餌量は対照群と同様に推移した。なお、60 mg/kg群の雌で投与1日(投与開始前日から投与開始直前までの値)に有意な低値を示したが、投与前であり偶発的な変動であった。

2) 回復期間

雄では、60 mg/kg群の摂餌量は回復期間を通じて対照群を有意に上回ったが、用量に関連した変化ではなかった。雌では、各投与群の摂餌量は対照群と同様に推移した。

4. 血液学検査(Table 1)

1) 投与終了時

雄では、被験物質投与による変化はみられなかった。雌では、250 mg/kg群でヘモグロビン量およびヘマトクリット値の有意な減少がみられた。

2) 回復終了時

雄では、桿状核好中球比率の有意な増加が60 mg/kg群にみられたが、用量に関連した変化ではなかった。雌では、各投与群ともに対照群との間に有意差はみられなかった。

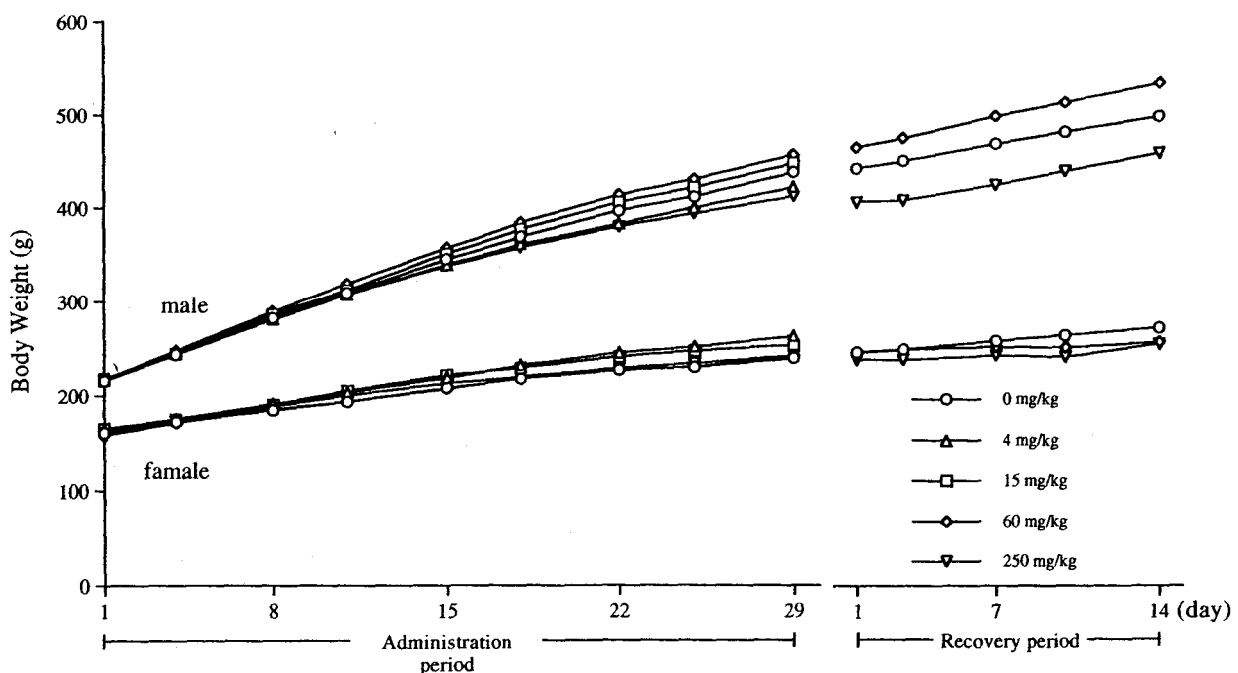


Fig. 1 Body weight changes of rats treated orally with nonylphenol in the twenty-eight-day repeated dose toxicity test

Table 1 Hematology of rats treated orally with nonylphenol in the twenty-eight-day repeated dose toxicity test

Item	28 days dosing groups (mg/kg)					14 days recovery groups (mg/kg)		
	0	4	15	60	250	0	60	250
Male								
No. of animals	6	6	6	6	6	6	5 ^{a)}	6
RBC ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	766 \pm 24	784 \pm 32	753 \pm 13	740 \pm 25	746 \pm 24	780 \pm 33	795 \pm 35	793 \pm 32
Hb (g/l)	15.5 \pm 0.5	15.6 \pm 0.3	15.6 \pm 0.4	14.8 \pm 0.6	15.1 \pm 0.7	15.3 \pm 0.5	15.5 \pm 0.3	15.2 \pm 0.6
Ht (%)	46 \pm 2	46 \pm 1	46 \pm 2	44 \pm 2	44 \pm 1	45 \pm 2	46 \pm 2	45 \pm 2
MCV (μ^2)	59.6 \pm 0.7	59.1 \pm 1.8	61.4 \pm 1.8	59.0 \pm 1.6	58.9 \pm 1.0	57.6 \pm 1.8	57.2 \pm 0.8	56.5 \pm 1.0
MCH (pg)	20.2 \pm 0.3	19.9 \pm 0.9	20.7 \pm 0.3	20.0 \pm 0.6	20.2 \pm 0.5	19.6 \pm 0.8	19.4 \pm 0.6	19.1 \pm 0.5
MCHC (%)	33.9 \pm 0.3	33.7 \pm 0.8	33.8 \pm 0.6	33.9 \pm 0.4	34.3 \pm 0.7	34.1 \pm 0.8	33.9 \pm 0.8	33.9 \pm 0.6
Reticulocyte (%)	19 \pm 1	18 \pm 3	20 \pm 2	21 \pm 6	19 \pm 3	18 \pm 2	20 \pm 3	19 \pm 3
Platelet ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	122.6 \pm 8.9	107.5 \pm 8.1	111.5 \pm 7.8	115.5 \pm 16.1	117.9 \pm 11.3	95.0 \pm 11.7	103.7 \pm 10.7	109.3 \pm 11.7
WBC ($\times 10^2/\text{mm}^3$)	97 \pm 22	104 \pm 50	89 \pm 25	112 \pm 37	104 \pm 17	104 \pm 36	135 \pm 33	114 \pm 37
Differential leukocyte counts (%)								
Lymph	89.1 \pm 5.7	90.0 \pm 6.3	89.8 \pm 3.8	89.9 \pm 6.2	90.0 \pm 5.4	92.0 \pm 2.5	93.1 \pm 1.5	89.8 \pm 5.9
Stab	0.3 \pm 0.4	0.0 \pm 0.0	0.2 \pm 0.3	0.3 \pm 0.3	0.3 \pm 0.4	0.0 \pm 0.0	0.3 \pm 0.3*	0.0 \pm 0.0
Seg	10.5 \pm 5.5	9.8 \pm 6.3	9.3 \pm 3.1	9.3 \pm 5.7	9.3 \pm 5.0	7.5 \pm 2.6	6.2 \pm 1.6	9.8 \pm 6.0
Eosino	0.2 \pm 0.3	0.3 \pm 0.3	0.5 \pm 0.6	0.3 \pm 0.5	0.4 \pm 0.4	0.4 \pm 0.2	0.3 \pm 0.7	0.4 \pm 0.4
Baso	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
Mono	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.2 \pm 0.3	0.3 \pm 0.3	0.1 \pm 0.2	0.1 \pm 0.2	0.1 \pm 0.2	0.0 \pm 0.0
Others	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
PT (Sec.)	11.6 \pm 0.6	12.0 \pm 0.9	12.2 \pm 0.5	11.7 \pm 0.7	11.4 \pm 0.5	11.7 \pm 1.0	11.7 \pm 0.6	11.1 \pm 0.4
APTT (Sec.)	16.9 \pm 2.5	17.5 \pm 1.5	17.0 \pm 1.5	16.6 \pm 1.6	16.8 \pm 1.5	16.6 \pm 3.3	17.4 \pm 1.2	16.2 \pm 1.0
Female								
No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6
RBC ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	808 \pm 17	786 \pm 33	796 \pm 29	787 \pm 45	756 \pm 36	818 \pm 36	807 \pm 29	809 \pm 25
Hb (g/l)	15.8 \pm 0.5	15.7 \pm 0.3	16.0 \pm 0.6	15.8 \pm 0.5	14.8 \pm 0.7*	15.6 \pm 0.3	15.4 \pm 0.4	15.1 \pm 0.4
Ht (%)	47 \pm 2	46 \pm 1	47 \pm 1	47 \pm 2	44 \pm 2*	47 \pm 1	46 \pm 1	46 \pm 1
MCV (μ^2)	58.2 \pm 1.1	58.7 \pm 2.0	59.6 \pm 1.7	59.2 \pm 3.0	58.5 \pm 2.0	57.3 \pm 1.5	56.8 \pm 1.8	56.5 \pm 1.9
MCH (pg)	19.6 \pm 0.4	19.9 \pm 0.6	20.1 \pm 0.6	20.0 \pm 0.9	19.6 \pm 0.9	19.1 \pm 0.8	19.1 \pm 1.0	18.7 \pm 0.3
MCHC (%)	33.6 \pm 0.7	33.9 \pm 0.9	33.8 \pm 0.4	33.9 \pm 0.4	33.4 \pm 0.5	33.3 \pm 0.5	33.6 \pm 1.1	33.1 \pm 0.6
Reticulocyte (%)	17 \pm 3	19 \pm 3	17 \pm 2	17 \pm 3	17 \pm 2	17 \pm 2	19 \pm 3	18 \pm 3
Platelet ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	113.5 \pm 13.3	116.1 \pm 14.2	116.5 \pm 14.8	111.2 \pm 5.7	118.1 \pm 9.5	104.0 \pm 5.3	100.0 \pm 10.7	109.0 \pm 4.6
WBC ($\times 10^2/\text{mm}^3$)	74 \pm 18	84 \pm 22	98 \pm 26	101 \pm 27	109 \pm 33	67 \pm 14	77 \pm 18	74 \pm 22
Differential leukocyte counts (%)								
Lymph	90.3 \pm 5.2	87.5 \pm 3.3	92.0 \pm 5.3	90.3 \pm 4.4	92.3 \pm 2.4	88.2 \pm 3.5	90.2 \pm 5.1	85.4 \pm 6.0
Stab	0.3 \pm 0.6	0.0 \pm 0.0	0.4 \pm 0.6	0.2 \pm 0.3	0.0 \pm 0.0	0.3 \pm 0.4	0.2 \pm 0.3	0.3 \pm 0.3
Seg	8.6 \pm 5.2	11.4 \pm 3.0	7.4 \pm 5.4	9.3 \pm 4.2	7.0 \pm 2.4	10.9 \pm 2.8	8.8 \pm 4.9	13.3 \pm 5.7
Eosino	0.7 \pm 0.8	1.1 \pm 0.7	0.2 \pm 0.3	0.2 \pm 0.3	0.6 \pm 0.4	0.6 \pm 0.6	0.8 \pm 0.9	0.8 \pm 0.5
Baso	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
Mono	0.1 \pm 0.2	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.1 \pm 0.2	0.1 \pm 0.2	0.0 \pm 0.0	0.1 \pm 0.2
Others	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
PT (Sec.)	11.0 \pm 0.2	11.0 \pm 0.4	10.9 \pm 0.2	10.8 \pm 0.7	10.8 \pm 0.7	10.8 \pm 0.3	10.9 \pm 0.3	10.9 \pm 0.7
APTT (Sec.)	14.1 \pm 1.3	14.2 \pm 2.5	14.1 \pm 0.7	14.4 \pm 0.5	13.1 \pm 1.8	14.7 \pm 0.9	14.4 \pm 0.8	14.5 \pm 1.3

Values are expressed as Mean \pm S.D.

Significant difference from control group; *: P<0.05

a): One sample was not available due to technical error at the time of blood collection.

5. 血液生化学検査 (Table 2)

1) 投与終了時

雄では、250 mg/kg群で尿素窒素および無機リンの有意な増加と塩素の有意な減少がみられた。雌では、250 mg/kg群で総蛋白およびトリグリセライドの有意な増加がみられた。

2) 回復終了時

雄では、250 mg/kg群で血糖の有意な減少がみられたが、その値は生理的範囲内のものであった。雌では、各投与群とも対照群との間に有意差はなかった。

6. 尿検査 (Table 3)

1) 投与第4週

雄では、250 mg/kg群で尿量の有意な増加および尿比重の有意な低下がみられた。雌では、250 mg/kg群で尿沈渣中への扁平上皮細胞の増加傾向がみられたほか、小円形上皮細胞が2例にみられ、さらに、摂水量と尿量の有意な増加および尿比重の有意な低下がみられた。

2) 回復第2週

雄では、各投与群で摂水量の有意な増加がみられたが、生理的範囲内の変動であった。雌では、各投与群とも対照群との間に差はみられなかった。

7. 器官重量 (Table 4)

1) 投与終了時剖検例

肝臓で、相対重量の有意な増加が60 mg/kg群の雄に、絶対および相対重量の有意な増加が250 mg/kg群の雌雄にみられた。

腎臓で、絶対および相対重量の有意な増加が250 mg/kg群の雄にみられた。

他には被験物質投与によると考えられる変化は認められなかった。

2) 回復終了時剖検例

腎臓において、相対重量の有意な増加が250 mg/kg群の雌雄にみられた。

他には被験物質投与によると考えられる変化は認められなかった。

8. 剖検所見 (Table 5)

1) 投与終了時剖検例

250 mg/kg群において、盲腸の拡張が雄全例と雌5例にみられたほか、腎臓で雌1例に白色点散在(両側性)が、さらに、他の1例に白色点散在を伴う腫大(両側性)と腎盂拡張(片側性)が重複してみられた。

他には被験物質投与によると考えられる変化はみられなかった。

2) 回復終了時剖検例

被験物質投与によると考えられる変化はみられなかった。

9. 病理組織学検査 (Table 6)

1) 投与終了時剖検例

被験物質投与によると考えられる変化が肝臓、腎臓および膀胱にみられた。

肝臓：小葉中心帯肝細胞のごく軽度な肥大が250 mg/kg群の雄6例全例と雌5例にみられた。他に、微小肉芽腫、クッパー細胞の増殖と変異細胞巣がみられたが、出現状況とその病理学的性状から偶発所見と判断した。

腎臓：主な変化が皮髄境界部の近位尿細管、集合管および腎盂粘膜にみられた。皮髄境界部の近位尿細管では、ごく軽度から軽度な好塩基性化が250 mg/kg群の雄4例と雌2例にみられ、さらに、250 mg/kg群の雌2例ではごく軽度ながら単細胞性壊死もみられた。また、上記の好塩基性化あるいは壊死を示した動物のうち、雌の2例では間質にごく軽度から軽度な細胞浸潤が、雌1例では軽度な円柱もみられた。集合管では、ごく軽度から中等度の好塩基性化が250 mg/kg群の雌雄各6例全例にみられ、うち、雄2例と雌4例の集合管はごく軽度から軽度に拡張していた。腎盂粘膜では、ごく軽度な単純性過形成が250 mg/kg群の雌2例にみられた。また、肉眼的に腎盂拡張を示した250 mg/kg群の雌1例では、組織学的にも中等度の腎盂拡張が認められた。なお、肉眼的に白色点散在を示した250 mg/kg群の雌2例の腎実質における病変の程度は、他の個体と比べやや強かった。

膀胱：移行上皮のごく軽度から軽度な単純性過形成が250 mg/kg群の雄2例と雌6例全例にみられた。

上記以外の所見は出現状況とその病理学的性状からいずれも偶発所見と判断した。

2) 回復終了時剖検例

肝臓：肝細胞の肥大は認められなかった。なお、微小肉芽腫が250 mg/kg群の雌1例にみられた。

腎臓：皮髄境界部における近位尿細管のごく軽度から軽度な好塩基性化と円柱が、250 mg/kg群の雄でそれぞれ5および4例に、集合管のごく軽度な拡張が250 mg/kg群の雌1例にみられた。

膀胱：移行上皮のごく軽度から軽度な単純性過形成が250 mg/kg群の雌6例全例にみられた。

他には被験物質投与によると考えられる変化は認められなかった。

考察

一般状態の観察では、250 mg/kg群で投与直後あるいは2時間後に流涎がみられた。

体重では、250 mg/kg群の雄に増加抑制がみられた。一方、摂餌量には対照群と差がなかったことから、食餌効率の低下が示唆された。

尿検査では、250 mg/kg群で摂水量と尿量の増加、尿比重の低下がみられ、さらに雌では沈渣中への扁平上皮細胞の増加と小円形上皮細胞の出現がみられた。腎臓では、250 mg/kg群の雄で重量が増加し、組織学的には250 mg/kg群で皮髄境界部における近位尿細管の好塩基

Table 2 Blood chemistry of rats treated orally with nonylphenol in the twenty-eight-day repeated dose toxicity test

Item	28 days dosing groups (mg/kg)					14 days recovery groups (mg/kg)		
	0	4	15	60	250	0	60	250
Male								
No. of animals	6	6	6	6	6	6	5 ^{a)}	6
GOT (IU/l)	55 ± 6	52 ± 10	61 ± 5	65 ± 19	62 ± 13	57 ± 11	65 ± 8	65 ± 11
GPT (IU/l)	36 ± 2	35 ± 3	34 ± 3	36 ± 6	38 ± 6	38 ± 4	42 ± 5	38 ± 3
LDH (IU/l)	24 ± 5	24 ± 8	27 ± 4	39 ± 21	28 ± 10	30 ± 12	35 ± 5	29 ± 4
AIP (IU/l)	327 ± 62	349 ± 80	294 ± 41	301 ± 26	375 ± 154	253 ± 43	282 ± 76	214 ± 28
γ-GTP (IU/l)	1.5 ± 0.2	1.5 ± 0.3	1.7 ± 0.3	1.7 ± 0.4	1.8 ± 0.7	1.8 ± 0.3	1.8 ± 0.4	1.8 ± 0.4
ChE (IU/l)	745 ± 92	697 ± 54	782 ± 121	755 ± 98	742 ± 58	642 ± 60	732 ± 168	732 ± 111
TP (g/dl)	6.0 ± 0.2	6.0 ± 0.2	6.0 ± 0.2	5.8 ± 0.4	6.2 ± 0.4	6.2 ± 0.1	6.4 ± 0.2	6.2 ± 0.1
Albumin (g/dl)	3.3 ± 0.1	3.5 ± 0.1	3.4 ± 0.1	3.3 ± 0.2	3.5 ± 0.1	3.4 ± 0.2	3.5 ± 0.1	3.3 ± 0.1
A/G (%)	1.24 ± 0.11	1.40 ± 0.08	1.37 ± 0.07	1.36 ± 0.13	1.31 ± 0.08	1.21 ± 0.12	1.18 ± 0.10	1.13 ± 0.06
T. cho (mg/dl)	73 ± 12	64 ± 15	64 ± 8	59 ± 13	80 ± 37	66 ± 9	67 ± 11	73 ± 12
TG (mg/dl)	111 ± 43	95 ± 34	109 ± 34	104 ± 7	106 ± 36	104 ± 38	107 ± 31	74 ± 14
PL (mg/dl)	132 ± 19	122 ± 25	122 ± 11	116 ± 14	150 ± 48	126 ± 12	124 ± 13	129 ± 9
T. bilirubin (mg/dl)	0.12 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.12 ± 0.02	0.12 ± 0.02	0.12 ± 0.02	0.12 ± 0.02
Glucose (mg/dl)	139 ± 18	133 ± 19	144 ± 24	142 ± 24	129 ± 11	168 ± 19	166 ± 22	137 ± 18*
BUN (mg/dl)	11 ± 1	12 ± 1	12 ± 1	12 ± 1	14 ± 2**	14 ± 1	13 ± 2	15 ± 1
Creatinine (mg/dl)	0.59 ± 0.04	0.59 ± 0.05	0.63 ± 0.06	0.62 ± 0.05	0.64 ± 0.05	0.67 ± 0.07	0.67 ± 0.06	0.64 ± 0.03
Na (mEq/l)	144 ± 1	143 ± 1	143 ± 1	143 ± 1	143 ± 1	143 ± 1	142 ± 2	143 ± 1
K (mEq/l)	4.4 ± 0.3	4.3 ± 0.3	4.2 ± 0.2	4.2 ± 0.3	4.4 ± 0.2	4.4 ± 0.3	4.5 ± 0.3	4.8 ± 0.2
Cl (mEq/l)	110 ± 2	108 ± 2	109 ± 1	108 ± 1	106 ± 2**	109 ± 2	107 ± 2	109 ± 3
Ca (mg/dl)	9.1 ± 0.2	9.3 ± 0.3	9.3 ± 0.6	9.2 ± 0.2	9.5 ± 0.4	8.9 ± 0.3	8.9 ± 0.2	8.7 ± 0.3
P (mg/dl)	8.9 ± 0.4	9.0 ± 0.7	9.2 ± 0.6	8.6 ± 0.7	10.0 ± 0.7*	7.8 ± 0.4	8.1 ± 0.4	7.7 ± 0.4
Female								
No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6
GOT (IU/l)	67 ± 14	63 ± 3	62 ± 9	66 ± 12	58 ± 8	65 ± 7	66 ± 10	75 ± 10
GPT (IU/l)	32 ± 4	32 ± 5	29 ± 2	34 ± 9	34 ± 4	35 ± 11	34 ± 5	38 ± 10
LDH (IU/l)	18 ± 1	20 ± 3	21 ± 5	26 ± 6	19 ± 9	17 ± 3	16 ± 4	19 ± 7
AIP (IU/l)	167 ± 22	187 ± 43	176 ± 38	204 ± 42	221 ± 146	138 ± 26	157 ± 43	141 ± 27
γ-GTP (IU/l)	2.3 ± 0.7	2.3 ± 0.5	2.2 ± 0.6	2.3 ± 0.6	3.2 ± 1.0	1.8 ± 0.5	1.8 ± 0.4	1.4 ± 0.5
ChE (IU/l)	2002 ± 259	2158 ± 873	2148 ± 880	2230 ± 339	1513 ± 499	2705 ± 830	2598 ± 1470	1960 ± 451
TP (g/dl)	6.2 ± 0.2	6.3 ± 0.2	6.3 ± 0.3	6.2 ± 0.3	6.8 ± 0.5*	6.8 ± 0.4	6.5 ± 0.3	6.7 ± 0.5
Albumin (g/dl)	3.5 ± 0.1	3.5 ± 0.1	3.6 ± 0.2	3.5 ± 0.1	3.7 ± 0.3	3.7 ± 0.2	3.5 ± 0.2	3.7 ± 0.3
A/G (%)	1.30 ± 0.10	1.27 ± 0.12	1.29 ± 0.05	1.28 ± 0.10	1.18 ± 0.10	1.20 ± 0.07	1.19 ± 0.05	1.25 ± 0.09
T. cho (mg/dl)	73 ± 12	79 ± 22	63 ± 6	65 ± 11	71 ± 24	76 ± 15	76 ± 14	82 ± 19
TG (mg/dl)	32 ± 5	41 ± 17	37 ± 5	33 ± 7	47 ± 12*	38 ± 7	36 ± 7	35 ± 7
PL (mg/dl)	143 ± 16	152 ± 28	135 ± 10	132 ± 16	160 ± 31	159 ± 20	148 ± 20	164 ± 40
T. bilirubin (mg/dl)	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.02	0.10 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.13 ± 0.02	0.11 ± 0.02	0.11 ± 0.03	0.10 ± 0.01
Glucose (mg/dl)	103 ± 5	108 ± 7	107 ± 7	105 ± 7	109 ± 5	129 ± 18	111 ± 15	114 ± 19
BUN (mg/dl)	15 ± 1	16 ± 2	15 ± 1	14 ± 2	20 ± 7	15 ± 1	15 ± 1	16 ± 2
Creatinine (mg/dl)	0.55 ± 0.06	0.58 ± 0.05	0.60 ± 0.07	0.59 ± 0.08	0.61 ± 0.12	0.66 ± 0.09	0.66 ± 0.07	0.65 ± 0.07
Na (mEq/l)	141 ± 1	141 ± 1	142 ± 0	141 ± 1	142 ± 1	142 ± 2	142 ± 1	142 ± 1
K (mEq/l)	4.5 ± 0.3	4.4 ± 0.6	4.4 ± 0.4	4.4 ± 0.4	4.4 ± 0.2	4.7 ± 0.3	4.6 ± 0.3	4.6 ± 0.4
Cl (mEq/l)	112 ± 1	111 ± 1	111 ± 1	111 ± 2	110 ± 1	112 ± 1	113 ± 1	113 ± 1
Ca (mg/dl)	9.3 ± 0.3	9.4 ± 0.3	9.4 ± 0.3	9.2 ± 0.2	9.6 ± 0.2	9.2 ± 0.3	9.1 ± 0.4	9.2 ± 0.4
P (mg/dl)	8.7 ± 0.7	9.1 ± 0.5	9.1 ± 0.5	8.8 ± 0.9	8.8 ± 0.7	7.9 ± 0.8	8.0 ± 0.8	7.9 ± 1.1

Values are expressed as Mean ± S.D.

Significant difference from control group; *:P<0.05 **:P<0.01

Table 3 Urinalysis of rats treated orally with nonylphenol in the twenty-eight-day repeated dose toxicity test

Item	28 days dosing groups (mg/kg)					14 days recovery groups (mg/kg)		
	0	4	15	60	250	0	60	250
Male								
No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6
Volume (ml)	8.0 ± 3.8	9.0 ± 3.4	10.3 ± 5.2	9.9 ± 2.7	15.4 ± 3.9**	12.2 ± 4.8	14.3 ± 7.1	14.4 ± 2.1
Specific gravity	1.079 ± 0.018	1.074 ± 0.010	1.064 ± 0.010	1.078 ± 0.007	1.043 ± 0.011**	1.075 ± 0.015	1.071 ± 0.015	1.057 ± 0.005
Water intake (ml)	45 ± 7	41 ± 5	47 ± 11	42 ± 3	54 ± 7	38 ± 6	46 ± 7*	51 ± 4**
pH	7	0	1	0	0	0	0	0
	7.5	0	0	0	1	0	0	0
	8	1	0	0	0	4	1	0
	8.5	3	2	3	1	1	0	2
	9	2	3	3	4	1	5	4
Protein	-	1	0	1	0	0	0	0
	-/+	3	2	3	2	0	1	1
	1+	1	3	2	4	6	4	3
	2+	1	1	0	0	0	1	2
Ketons	-	6	6	6	5	6	6	6
	-/+	0	0	0	1	0	0	0
Glucose	-	6	6	6	6	6	6	6
Occult blood	-	4	5	5	6	5	6	4
	-/+	1	1	0	0	0	0	1
	1+	0	0	0	0	0	0	1
	2+	1	0	1	0	0	0	0
	3+	0	0	0	0	1	0	0
Bilirubin	-	6	6	6	6	6	6	6
Urobilinogen	-/+	6	6	6	6	6	6	6
Color	Yellow	6	6	6	6	6	6	6
	Dark yellow	0	0	0	0	0	0	0
RBC	-	6	6	6	6	6	6	6
WBC	-	6	6	6	6	6	6	6
SEC	-	0	0	0	0	0	0	0
	-/+	6	6	6	6	5	6	6
	1+	0	0	0	0	1	0	0
	3+	0	0	0	0	0	0	0
SREC	-	6	6	6	6	6	6	6
Cast	-	6	6	6	6	6	6	6
PS	-	5	6	4	3	5	5	2
	-/+	1	0	2	1	1	1	3
	1+	0	0	0	2	0	0	1
Co	-	6	6	6	6	6	6	6

Values of volume, specific gravity and water intake are expressed as Mean ± S.D., other values are expressed as No. of animals
Significant difference from control group; *: P < 0.05 **: P < 0.01

Table 3 (Continued)

Item	28 days dosing groups (mg/kg)					14 days recovery groups (mg/kg)		
	0	4	15	60	250	0	60	250
Female								
No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6
Volume (ml)	4.2 ± 3.0	6.4 ± 4.3	5.5 ± 1.3	5.0 ± 2.2	28.4 ± 6.7**	7.3 ± 3.5	4.2 ± 1.4	6.6 ± 2.4
Specific gravity	1.081 ± 0.029	1.077 ± 0.019	1.070 ± 0.011	1.074 ± 0.016	1.021 ± 0.004**	1.060 ± 0.013	1.071 ± 0.017	1.062 ± 0.012
Water intake (ml)	28 ± 5	31 ± 6	31 ± 6	30 ± 8	64 ± 13**	35 ± 3	30 ± 4	30 ± 7
pH	6	0	0	1	0	0	0	0
	6.5	1	0	1	0	0	3	0
	7	0	1	2	0	2	1	1
	7.5	0	0	0	1	1	0	0
	8	3	1	0	0	1	1	0
	8.5	2	4	3	3	2	0	2
	9	0	0	0	1	0	1	3
Protein	-	0	0	4	0	3	2	1
	-/+	1	3	0	3	3	2	3
	1+	5	3	2	2	0	2	2
	2+	0	0	0	1	0	0	0
Ketons	-	5	4	6	6	6	6	6
	-/+	0	2	0	0	0	0	0
	1+	1	0	0	0	0	0	0
Glucose	-	6	6	6	6	4	6	6
	-/+	0	0	0	0	2	0	0
Occult blood	-	4	4	5	6	4	6	6
	-/+	1	1	1	0	0	0	0
	1+	1	1	0	0	2	0	0
Bilirubin	-	6	6	6	6	6	6	6
Urobilinogen	-/+	6	6	6	6	6	6	6
Color	Yellow	6	6	6	6	6	6	6
RBC	-	6	6	6	6	6	6	6
WBC	-	6	6	6	6	6	6	6
SEC	-	0	0	0	0	0	0	0
	-/+	6	5	6	6	2	6	6
	1+	0	1	0	0	4	0	0
SREC	-	6	6	6	6	4	6	6
	-/+	0	0	0	0	2	0	0
Cast	-	6	6	6	6	6	6	6
PS	-	4	5	5	5	6	4	6
	-/+	1	1	1	1	0	1	0
	1+	1	0	0	0	0	1	0
Co	-	6	6	6	6	6	6	6

Values of volume, specific gravity and water intake are expressed as Mean ± S.D., other values are expressed as No. of animals
Significant difference from control group: *: P < 0.01

Table 4 Absolute and relative organ weights of rats treated orally with nonylphenol in the twenty-eight-day repeated dose toxicity test

Item	28 days dosing groups (mg/kg)					14 days recovery groups (mg/kg)		
	0	4	15	60	250	0	60	250
Male								
No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6
Body weight (g)	400 ± 17	393 ± 17	417 ± 29	413 ± 23	382 ± 37	472 ± 30	509 ± 21	433 ± 31
Absolute organ weight								
Brain (g)	2.03 ± 0.10	2.05 ± 0.08	2.05 ± 0.06	2.06 ± 0.04	2.06 ± 0.07	2.13 ± 0.06	2.10 ± 0.05	2.08 ± 0.11
Thymus (mg)	555 ± 85	591 ± 133	605 ± 207	687 ± 308	576 ± 150	464 ± 92	606 ± 161	439 ± 114
Heart (g)	1.25 ± 0.04	1.35 ± 0.06	1.29 ± 0.08	1.27 ± 0.10	1.17 ± 0.11	1.54 ± 0.21	1.56 ± 0.20	1.34 ± 0.13
Lung (g)	1.33 ± 0.10	1.32 ± 0.04	1.39 ± 0.09	1.35 ± 0.07	1.35 ± 0.15	1.50 ± 0.10	1.55 ± 0.12	1.40 ± 0.10
Liver (g)	12.85 ± 0.80	12.39 ± 1.01	14.13 ± 2.42	14.75 ± 1.20	15.68 ± 2.37*	14.74 ± 1.92	16.54 ± 1.24	13.37 ± 1.42
Spleen (g)	0.67 ± 0.05	0.67 ± 0.09	0.68 ± 0.08	0.91 ± 0.55	0.68 ± 0.07	0.82 ± 0.07	1.86 ± 0.13	0.84 ± 0.21
Kidneys (g)	3.06 ± 0.16	2.99 ± 0.26	2.95 ± 0.17	3.22 ± 0.13	3.57 ± 0.27**	3.07 ± 0.23	3.47 ± 0.25	3.47 ± 0.44
Adrenals (mg)	66 ± 12	66 ± 6	68 ± 8	67 ± 9	69 ± 11	69 ± 9	67 ± 6	67 ± 6
Testes (g)	3.15 ± 0.20	3.25 ± 0.14	3.12 ± 0.17	3.32 ± 0.26	3.21 ± 0.30	3.17 ± 0.23	2.89 ± 0.92	3.22 ± 0.22
Relative organ weight								
Brain (%)	0.51 ± 0.03	0.53 ± 0.02	0.50 ± 0.04	0.50 ± 0.03	0.55 ± 0.04	0.45 ± 0.02	0.41 ± 0.02*	0.48 ± 0.02
Thymus (%)	139 ± 19	150 ± 34	146 ± 52	167 ± 75	151 ± 35	98 ± 16	119 ± 32	102 ± 28
Heart (%)	0.31 ± 0.02	0.35 ± 0.02*	0.31 ± 0.01	0.31 ± 0.01	0.31 ± 0.02	0.32 ± 0.03	0.31 ± 0.04	0.31 ± 0.02
Lung (%)	0.33 ± 0.02	0.34 ± 0.01	0.34 ± 0.03	0.33 ± 0.02	0.35 ± 0.01	0.32 ± 0.02	0.31 ± 0.02	0.32 ± 0.02
Liver (%)	3.21 ± 0.16	3.16 ± 0.20	3.38 ± 0.35	3.58 ± 0.19*	4.09 ± 0.25**	3.12 ± 0.22	3.25 ± 0.22	3.09 ± 0.17
Spleen (%)	0.17 ± 0.01	0.17 ± 0.03	0.16 ± 0.02	0.22 ± 0.15	0.18 ± 0.02	0.17 ± 0.01	0.17 ± 0.03	0.19 ± 0.04
Kidneys (%)	0.77 ± 0.04	0.76 ± 0.05	0.71 ± 0.03	0.79 ± 0.04	0.94 ± 0.05**	0.65 ± 0.03	0.68 ± 0.05	0.80 ± 0.09**
Adrenals (%)	17 ± 2	17 ± 2	17 ± 2	17 ± 3	18 ± 2	15 ± 3	13 ± 1	16 ± 2
Testes (%)	0.79 ± 0.06	0.83 ± 0.04	0.76 ± 0.09	0.81 ± 0.09	0.85 ± 0.09	0.67 ± 0.04	0.57 ± 0.18	0.75 ± 0.05
Female								
No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6
Body weight (g)	222 ± 8	245 ± 21	239 ± 10	222 ± 22	221 ± 11	256 ± 21	249 ± 20	240 ± 20
Absolute organ weight								
Brain (g)	1.87 ± 0.07	1.87 ± 0.08	1.91 ± 0.10	1.82 ± 0.05	1.83 ± 0.07	1.94 ± 0.03	1.91 ± 0.07	1.91 ± 0.11
Thymus (mg)	379 ± 75	449 ± 113	453 ± 114	383 ± 66	351 ± 44	338 ± 66	338 ± 99	324 ± 36
Heart (g)	0.80 ± 0.04	0.88 ± 0.09	0.83 ± 0.06	0.80 ± 0.09	0.78 ± 0.07	0.89 ± 0.09	0.88 ± 0.05	0.87 ± 0.10
Lung (g)	1.01 ± 0.01	1.05 ± 0.08	1.06 ± 0.06	1.06 ± 0.06	1.01 ± 0.07	1.07 ± 0.09	1.07 ± 0.07	1.06 ± 0.08
Liver (g)	6.44 ± 0.25	7.11 ± 0.95	6.80 ± 0.35	6.79 ± 0.75	8.25 ± 0.59**	7.09 ± 0.85	6.91 ± 0.68	7.19 ± 1.03
Spleen (g)	0.49 ± 0.06	0.51 ± 0.10	0.50 ± 0.07	0.52 ± 0.12	0.49 ± 0.04	0.50 ± 0.08	0.53 ± 0.05	0.49 ± 0.05
Kidneys (g)	1.69 ± 0.08	1.78 ± 0.19	1.81 ± 0.13	1.78 ± 0.08	2.11 ± 0.36	1.74 ± 0.13	1.74 ± 0.18	1.83 ± 0.17
Adrenals (mg)	66 ± 8	75 ± 11	72 ± 3	78 ± 4*	60 ± 3	75 ± 11	79 ± 10	72 ± 3
Ovaries (mg)	89.1 ± 11.8	87.6 ± 13.8	89.3 ± 7.3	96.9 ± 17.1	80.5 ± 12.8	102.0 ± 22.0	102.7 ± 12.9	92.4 ± 12.1
Relative organ weight								
Brain (%)	0.84 ± 0.04	0.77 ± 0.04	0.80 ± 0.08	0.83 ± 0.10	0.83 ± 0.03	0.76 ± 0.07	0.77 ± 0.05	0.80 ± 0.07
Thymus (%)	170 ± 32	182 ± 35	190 ± 51	172 ± 23	159 ± 18	132 ± 28	137 ± 42	137 ± 21
Heart (%)	0.36 ± 0.02	0.36 ± 0.02	0.35 ± 0.03	0.36 ± 0.03	0.35 ± 0.02	0.35 ± 0.02	0.36 ± 0.02	0.36 ± 0.03
Lung (%)	0.45 ± 0.02	0.43 ± 0.01	0.44 ± 0.03	0.48 ± 0.06	0.46 ± 0.02	0.42 ± 0.03	0.43 ± 0.02	0.44 ± 0.03
Liver (%)	2.90 ± 0.15	2.89 ± 0.17	2.84 ± 0.10	3.06 ± 0.21	3.74 ± 0.21**	2.76 ± 0.13	2.78 ± 0.14	2.99 ± 0.23
Spleen (%)	0.22 ± 0.03	0.21 ± 0.03	0.21 ± 0.03	0.23 ± 0.04	0.22 ± 0.01	0.20 ± 0.04	0.21 ± 0.03	0.21 ± 0.03
Kidneys (%)	0.76 ± 0.05	0.73 ± 0.04	0.76 ± 0.07	0.81 ± 0.05	0.95 ± 0.14	0.68 ± 0.03	0.70 ± 0.03	0.77 ± 0.07*
Adrenals (%)	30 ± 3	31 ± 3	30 ± 2	36 ± 5**	27 ± 2	29 ± 3	32 ± 2	30 ± 3
Ovaries (%)	40.2 ± 5.5	35.6 ± 2.8	37.5 ± 4.3	43.5 ± 5.7	36.4 ± 4.9	39.8 ± 7.2	41.4 ± 5.6	38.9 ± 6.5

Values are expressed as Mean ± S.D.

Significant difference from control group; *:P<0.05 **:P<0.01

Table 5 Summary of gross findings in rats treated orally with nonylphenol in the twenty-eight-day repeated dose toxicity test

Item	Organ	Findings	28 days dosing groups (mg/kg)					14 days recovery groups (mg/kg)		
			0	4	15	60	250	0	60	250
Male										
No. of animals necropsied			6	6	6	6	6	6	6	6
Spleen										
Enlargement with disseminated white spots			0	0	0	1	0	0	0	0
White spot			0	0	0	0	0	0	0	1
Stomach										
Dark red spot in gl. stomach			0	0	0	0	0	1	0	0
Large intestine										
Dilatation of cecum			0	0	0	0	6	0	0	0
Testis										
Small in size (bilateral)			0	0	0	0	0	0	1	0
Epididymis										
Small in size (bilateral)			0	0	0	0	0	0	1	0
Female										
No. of animals necropsied			6	6	6	6	6	6	6	6
Kidney										
Disseminated white spots (bilateral)			0	0	0	0	1	0	0	0
Enlargement with white spots (bilateral) and dilatation of pelvis (unilateral)			0	0	0	0	1	0	0	0
Stomach										
Dark red spot in gl. stomach			1	0	0	0	0	0	0	1
Large intestine										
Dilatation of cecum			0	0	0	0	5	0	0	0

性化, 集合管の好塩基性化と拡張がみられたほか, 雌では皮髓境界部の近位尿細管に単細胞性壊死, 間質の細胞浸潤, 円柱, 腎盂拡張もみられ, 雌の少数例では肉眼的にも白色点などが認められた。従って, 上述の検査所見は, 腎実質(特に皮髓境界部の近位尿細管と集合管)に対する障害と関連した変化と考えられる。また, 250 mg/kg群の膀胱では移行上皮の単純性過形成がみられ, さらに, 雌では腎盂粘膜にも過形成がみられ, 腎実質のみならず移行上皮から成る尿路系も本被験物質の標的器官と考えられた。

血液学検査では, 250 mg/kg群の雌にヘモグロビンとヘマトクリット値の低下が認められ, 赤血球に対する影響が示唆された。

血液生化学検査では, 250 mg/kg群の雌に総蛋白質およびトリグリセライドの増加がみられたほか, 雄では腎障害の反映と考えられる尿素窒素と無機リンの増加および塩素の減少がみられた。

病理学検査では, 既に述べた腎臓と膀胱のほか, 肝臓と盲腸に変化がみられた。肝臓では, 重量増加が60 mg/kg群の雄と250 mg/kg群の雌雄にみられ, 組織学的には, 小葉中心帯肝細胞の肥大が250 mg/kg群にみられ

た。血液生化学検査では, GOTやGPTなど肝機能障害を示す所見はみられなかったことから, 肝臓の所見は薬物代謝酵素の誘導を示唆するものと推察される。また, 盲腸では肉眼的な拡張が250 mg/kg群にみられたが, 組織学的変化は認められなかった。

回復群においては, 被験物質投与に関連すると考えられる変化のうち, 250 mg/kg群において, 腎臓で重量の増加, 皮髓境界部における近位尿細管の好塩基性化, 円柱および集合管の拡張, また, 膀胱で移行上皮の単純性過形成がみられたが, その他の変化は認められず, 被験物質投与によって惹起された変化は概ね可逆性のものと考えられた。また, 回復終了時の腎臓でみられた近位尿細管の好塩基性化は, 障害を受けた尿細管の再生像と考えられることから, 腎臓の変化も本質的には可逆性のものと推定された。

以上の如く, ノニルフェノールをラットに28日間反復投与した結果, 主な変化が250 mg/kg群の腎臓, 膀胱および肝臓にみられ, 本被験物質の標的器官は腎臓, 膀胱および肝臓と考えられた。また, 60 mg/kg群では, 肝臓相対重量の増加がみられたが, 15 mg/kg以下の投与群では変化は認められなかった。これらの結果から,

Table 6 Summary of histopathological findings in rats treated orally with nonylphenol in the twenty-eight-day repeated dose toxicity test

Item	28 days dosing groups (mg/kg)					14 days recovery groups (mg/kg)		
	0	4	15	60	250	0	60	250
	1 2 3 P	1 2 3 P	1 2 3 P	1 2 3 P	1 2 3 P	1 2 3 P	1 2 3 P	1 2 3 P
Male								
No. of animals necropsied	6	6	6	6	6	6	6	6
Heart	(6)	(0)	(0)	(0)	(6)	(0)	(0)	(0)
myocarditis/focal	0 0 0 0	- - - -	- - - -	- - - -	1 0 0 0	- - - -	- - - -	- - - -
Trachea	(6)	(0)	(0)	(0)	(6)	(0)	(0)	(0)
cellular infiltratin/mucosa	0 0 0 0	- - - -	- - - -	- - - -	1 0 0 0	- - - -	- - - -	- - - -
Cecum	(6)	(0)	(0)	(0)	(6)	(0)	(0)	(0)
cellular infiltration/mucosa	0 1 0 0	- - - -	- - - -	- - - -	1 1 0 0	- - - -	- - - -	- - - -
Rectum	(6)	(0)	(0)	(0)	(6)	(0)	(0)	(0)
cellular infiltration/mucosa	1 0 0 0	- - - -	- - - -	- - - -	1 0 0 0	- - - -	- - - -	- - - -
Liver	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(0)	(6)
hypertrophy/hepatocyte/centrilobular	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	6 0 0 0	0 0 0 0	- - - -	0 0 0 0
microgranuloma	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	1 0 0 0	0 0 0 0	- - - -	0 0 0 0
proliferation/kupffer cell	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 1 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	- - - -	0 0 0 0
Spleen	(6)	(0)	(0)	(1)	(6)	(0)	(0)	(0)
granuloma	0 0 0 0	- - - -	- - - -	0 1 0 0	0 0 0 0	- - - -	- - - -	- - - -
hematopoiesis/ extramedullary/increased	0 0 0 0	- - - -	- - - -	0 1 0 0	0 0 0 0	- - - -	- - - -	- - - -
Kidney	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)
basophilic change/ proximal tubule/cortico-medullary junction	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	3 1 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	2 3 0 0
basophilic change/ proximal tubule/focal	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	1 0 0 0	0 0 0 0
basophilic change/ collecting tubule dilatation/ collecting tubule cast	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	6 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0
dilatation/ collecting tubule cast	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	2 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0
cast	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	3 1 0 0
Urinary bladder	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)
hyperplasia/ transitional cell/ simple	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	2 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0
Prostate	(6)	(0)	(0)	(0)	(6)	(0)	(0)	(0)
inflammation	0 0 0 0	- - - -	- - - -	- - - -	1 0 0 0	- - - -	- - - -	- - - -
Female								
No. of animals necropsied	6	6	6	6	6	6	6	6
Cecum	(6)	(0)	(0)	(0)	(6)	(0)	(0)	(0)
cellular infiltration/ mucosa	0 1 0 0	- - - -	- - - -	- - - -	0 2 0 0	- - - -	- - - -	- - - -
Liver	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)
hypertrophy/ hepatocyte/centrilobular	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	5 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0
microgranuloma	1 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	1 0 0 0
altered hepatocellular foci	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 1	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0
Kidney	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)
basophilic change/ proximal tubule/cortico-medullary junction	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 2 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0
basophilic change/ collecting tubule dilatation/ collecting tubule necrosis/ single cell/ proximal tubule/cortico-medullary junction	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	2 2 2 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0
dilatation/ collecting tubule necrosis/ single cell/ proximal tubule/cast	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	1 3 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	1 0 0 0
cast	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 1 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0
hyperplasia/ pelvic mucosa/ simple cellular infiltration/ interstitium	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	2 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0
cellular infiltration/ interstitium dilatation/ pelvis	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	1 0 0 0	1 1 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0
dilatation/ pelvis	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 1 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0
basophilic change/ proximal tubule/focal	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	1 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0
Urinary bladder	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)
hyperplasia/ transitional cell/ simple	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	4 2 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	5 1 0 0

1:Slight 2 : Milde 3: Moderate P: Present (grading of severity was not done, such as case in the neoplastic lesion)

Numbers in parenthesis indicate No. of animals examined microscopically at this site.

本試験条件下におけるノニルフェノールの無影響は雄では15 mg/kg/day, 雌では60 mg/kg/dayと考えられた.

文献

- 1) S. C. Gad and C. S. Weil, "Principles and Methods of Toxicology," 2, ed. by A. Wallace Hayes, Raven Press, Ltd., New York, 1989, pp. 435-483.
- 2) J. R. Glaister, "毒性病理学の基礎," 高橋道人監訳, ソフトサイエンス社, 東京, 1992, pp. 95-98.

連絡先

試験責任者: 岡崎修三
試験担当者: 榎並倫宣, 中村英明, 畠山和久,
田村一利, 沼田弘明, 勝亦俱慶
(株)ボゾリサーチセンター 御殿場研究所
〒412 静岡県御殿場市かまど1284
Tel.0550-82-2000 Fax.0550-82-2379

Correspondence

Authors: Shuzo Okazaki (Study director)
Tomonori Enami, Hideaki Nakamura,
Kazuhisa Hatayama, Kazutoshi Tamura,
Hiroaki Numata, Tomoyoshi Katsumata
Gotemba Laboratory, Bozo Research Center Inc.
1284, Kamado, Gotemba-shi, Shizuoka, 412, Japan
Tel.+81-550-82-2000 Fax.+81-550-82-2379