R-1077

最 終 報 告 書

試験表題：1-ブロモ-3-クロロプロパンのラットを用いた
経口投与による簡易生殖毒性試験

試験番号：R-1077

試験期間：2010年11月29日~2011年3月30日

試験実施施設
株式会社ボゾリサーチセンター　御殿場研究所
〒412-0039　静岡県御殿場市かまど1284

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
〒100-8916　東京都千代田区霞が関1-2-2

株式会社ボゾリサーチセンター
〒151-0065　東京都渋谷区大山町36-7

1. 目次

1. 目次 3

3. 要約 9
3.1 雌雄動物に対する影響 9
3.2 生殖発生に対する影響 9
4. 緒言 10

4.3 動物の福祉 10
5. 試験材料及び方法 11
5.1 被験物質及び媒体 11
5.1.1 被験物質 11
5.1.2 媒体 11
5.2 投与液の調製及び保存方法 12
5.2.1 投与液の調製及び保存 12
5.2.2 投与液の安定性 12
5.2.3 投与液の濃度確認 12
5.3 試験動物種及び系統の選択理由 13
5.4 試験動物 13
5.5 群分け 14
5.6 飼育条件 14
5.7 動物の識別 14
5.8 投与経路、投与期間及び投与回数とそれらの選択理由 15

5.9 投与方法 15
5.10 投与量及び群構成 15
5.11 投与量の設定根拠 15
5.12 観察及び検査の方法 16
5.12.1 一般状態 16
5.12.2 体重 16
5.12.3 摂餌量 16
5.12.4 膣垢検査 16
5.12.5 交配 16
5.12.6 分娩及び哺育 16
5.12.7 出生児 17
5.12.8 病理学検査 17
5.13 統計解析 18
5.13.1 パラメータの算出 18
5.13.2 検定 18
6. 試験結果 20
6.1 一般状態（Table 1-1~1-4、Appendix 1-1~1-16） 20
6.2 体重（Fig. 1、2、Table 2-1~2-4、Appendix 2-1~2-16） 20
6.3 摂餌量（Fig. 3、4、Table 3-1~3-4、Appendix 3-1~3-16） 20
6.4 器官重量（Table 4-1、4-2、Appendix 4-1~4-8） 20
6.5 剖検所見（Table 5-1~5-4、Appendix 5-1~5-96） 20
6.6 病理組織学検査（Table 6-1~6-4、Appendix 5-1~5-96） 20
6.7 性周期（Table 7、Appendix 6-1~6-4） 20
6.8 交配成績（Table 8、Appendix 7-1~7-4） 21
6.9 分娩成績（Table 9、Appendix 8-1~8-4） 21
6.10 出生児の性比及び外表観察（Table 10、Appendix 9-1~9-4） 21
6.11 出生児の生存率（Table 11、Appendix 10-1~10-4） 21
6.12 出生児の体重（Table 12、Appendix 11-1~11-4） 21
6.13 出生児の生後 4 日剖検所見（Table 13、Appendix 12-1~12-4） 21
7. 考察 22
7.1 雌雄動物に対する影響 22
7.2 生殖発生に対する影響 22
8. 文献 24

図

Fig. 1、2	体重
Fig. 3、4	摂餌量

表

Table 1-1~1-4	一般状態
Table 2-1~2-4	体重
Table 3-1~3-4	摂餌量
Table 4-1、4-2	器官重量
Table 5-1~5-4	剖検所見
Table 6-1~6-4	病理組織学検査
Table 7	性周期
Table 8	交配成績
Table 9	分娩成績
Table 10	出生児の性比及び外表観察
Table 11	出生児の生存率
Table 12	出生児の体重
Table 13	出生児の生後 4 日剖検所見

3. 要約

1-ブロモ-3-クロロプロパンを 0（対照群：コーン油）、4、20 及び 100 mg/kg/day の投与量で、Sprague-Dawley 系 SPF ラットの、雄に交配前 14 日間及び交配期間を通して剖検前日まで、雌には交配前 14 日間及び交配期間並びに妊娠期間を通して授乳 3 日まで経口投与し、雌雄動物に対する影響、特に生殖発生毒性について概略的に検討した。

3.1 雌雄動物に対する影響

20 mg/kg 投与群において、授乳期間中の母動物に自発運動の低下あるいは哺育行動の低下がみられ、病理学検査では、100 mg/kg 投与群の雌雄において肝臓重量の増加とこれに関連する組織変化と考えられる小葉中心性肝細胞肥大が認められた。

3.2 生殖発生に対する影響

性周期、交尾までに要した日数、交尾率、授精率及び受胎率には被験物質投与の影響は認められず、雌雄内部生殖器の病理組織学検査では、被験物質投与に起因した変化は認められなかった。更に、出産率、妊娠期間、黄体数、着床痕数、着床率、死産児率、出生児数、出生率及び性比に被験物質投与の影響は認められなかった。しかし、20 mg/kg 以上の投与群において出生児の生後 4 日生存率が低下傾向を示した。出生児の外表観察、体重及び剖検所見に被験物質投与による変化は認められなかった。

これらの結果から、本試験条件下における 1-ブロモ-3-クロロプロパンの雌雄動物に対する無影響量及び無毒性量は、雄で 20 mg/kg/day、雌では 4 mg/kg/day、生殖発生毒性に対する無影響量及び無毒性量はいずれも 4 mg/kg/day と推定された。

4. 緒言

厚生労働省医薬食品局審査管理課化学物質安全対策室の委託により、1-ブロモ-3-クロロプロパンのラットを用いた経口投与による簡易生殖毒性試験を実施したので、その成績を報告する。

なお、本試験は以下の基準を遵守し、ガイドライン等に準拠して、株式会社ボゾリサーチセンターで実施した。

5. 試験材料及び方法

5.1 被験物質及び媒体

5.1.1 被験物質

1-ブロモ-3-クロロプロパンは　　以下の情報とともに購入した。また、試験開始前に赤外吸収スペクトルの測定により特性が確認されている。[1)]

名称	:	1-ブロモ-3-クロロプロパン
英語名称	:	1-Bromo-3-chloropropane
CAS 番号	:	109-70-6
官報公示整理番号	:	(9)-370、(9)-1247（化審法）
分子式	:	C_3H_6BrCl
構造式	:	$Cl(CH_2)_3Br$
分子量	:	157.44
物理的状態（20°C）	:	液体
形状	:	透明
色	:	無色~ほとんど無色
純度（GC)	:	99.9%
融点	:	–59°C
沸点	:	143°C
蒸気圧	:	0.85kPa/25°C
保存方法	:	密栓、冷暗所〔冷暗所として冷蔵庫内（許容温度：1~10°C、実測温度：3~6°C）に保存した。〕
保存場所	:	御殿場研究所被験物質保存室及び第 2 研究棟 4 階被験物質調製室
取扱い上の注意	:	作業場の換気を十分に行い、マスク、保護眼鏡、保護手袋等の適切な保護具を着用し、直接の接触を防ぐ。取り扱い後は、手、顔等を良く洗い、うがいをする。
安定性	:	投与期間終了後、残余被験物質の赤外吸収スペクトルを確認した結果、実験実施前に確認した参照スペクトル[1)]とほぼ同様であり、投与期間を通して被験物質は安定であったと判断した。
残余被験物質の処理	:	被験物質 5 g を保存試料として御殿場研究所被験物質保存室に保存し、残余被験物質はすべて焼却処分した。

5.1.2 媒体

名称	:	コーン油
製造者	:	和光純薬工業株式会社

ロット番号	:	STN0989
保存方法	:	室温
保存場所	:	御殿場研究所第2研究棟4階被験物質調製室

なお、媒体については、先に実施された「1-ブロモ-3-クロロプロパンのラットを用いる28日間反復経口投与毒性試験」[2)]において投与液の媒体として用いられたコーン油を選択するとともに陰性対照物質として対照群の投与に使用した。

5.2 投与液の調製及び保存方法

5.2.1 投与液の調製及び保存

濃度ごとに必要量の被験物質を正確に秤取し、媒体を加えてメスシリンダーに移し、更に媒体を加え規定濃度（0.8、4及び20 mg/mL）となるよう希釈した。投与液は、最大7日分を一括して調製し、1日使用分ごと褐色ガラス瓶に小分けして室温下（許容温度：1~30°C、実測温度：19~22°C）に保存し、調製日を含め8日以内の投与に使用した。

5.2.2 投与液の安定性

本被験物質の4及び200 mg/mL溶液（媒体：コーン油）は、室温、遮光条件下で10日間安定であることが確認されている。[2)]また、同様な保存条件下における0.5 mg/mL溶液の安定性を当施設において確認した。[1)]

5.2.3 投与液の濃度確認

雄の投与1週と投与6週の2回、投与に用いる各濃度の投与液について、投与に使用する前にガスクロマトグラフ法により濃度を確認した。その結果、規定濃度に対する各投与液の測定濃度の割合は99.0~103.0%であり、いずれも許容範囲内（濃度：表示値に対する割合：100.0±10.0%）であった。なお、濃度測定は当試験施設において確立された分析法[1)]に従い、用いた標準物質、GCシステム及び測定条件は以下の如くであった。分析法の概略を以下に示す。

[標準物質]

被験物質の一部を標準物質として使用した。

[GCシステム]

機器名及び型式		メーカー
GC	HP6890N	Agilent Technologies Inc.
インジェクタ	G2613A	
オートサンプラトレイ	G2614A	
データ処理ソフト	GC ChemStation G2070AJ	

[GC 測定条件]

カラム	:	DB-5（0.53 mm I.D.×25 m、膜厚 5 μm、J&W）
キャリアガス	:	He
流量モード	:	コンスタントフローモード
流量	:	5 mL/min
注入口	:	スプリット注入口
スプリット比	:	5:1
注入口温度	:	170°C
検出器	:	Flame ionization detector（FID）
検出器温度	:	200°C
H_2 流量	:	40 mL/min
Air 流量	:	450 mL/min
Make up ガス	:	N_2
Make up ガスモード	:	コンスタントメークアップ流量
Make up ガス流量	:	20 mL/min
オーブン温度	:	150°C（Hold 5 分）→200°C（40°C/min、Hold 3.75 分）
注入量	:	1 μL
測定順序	:	

注入順序	注入回数	注入内容
1	3	標準溶液（システム適合性用）
2	3	標準溶液（定量用）
3－5	各 1	測定実測試料*

*各被験液から調製した試料を示す。

5.3　試験動物種及び系統の選択理由

毒性試験法ガイドラインによりげっ歯類を用いた試験が必要とされており、また、反復投与毒性試験、生殖発生毒性試験に広く用いられ、背景資料が豊富である系統を選択した。

5.4　試験動物

Sprague-Dawley 系 SPF ラット〔Crl:CD(SD)、日本チャールス・リバー株式会社、厚木飼育センター〕の雌雄各 62 匹をそれぞれ 8 週齢で入手[注)]し、入荷日を馴化 1 日と起算して、3 日間の検疫期間を含む 19 日間、馴化飼育した。その間、一般状態を毎日 1 回観察し、体重を馴化 1、3、8、15 及び 19 日に測定した。雌については、更に膣垢を馴化 4~17 日の間採取し、多数の角化上皮細胞から成る膣垢像を発情の指標として 4~5 日の周期で回帰するものを正常とし、性周期異常の有無を調べた。その結果、一般状態及び性周期に異常はみられなかった。試験には順調な体重推移を示した雌雄 48 匹をそれぞれ選択して 10 週齢で使用した。

注）：試験計画書に従い、動物発注数は雌雄各 60 匹であったが、実際には各 62 匹が納入された。

5.5　群分け

前項に記載された馴化中の観察、検査結果に基づいて選抜された雌雄各 48 匹は、群分け当日の体重を基に各群の平均体重ができるだけ均等となるよう各群に割付けた。個体の割付けはコンピュータを用いたブロック配置法及び無作為抽出法の組み合わせ（ブロック配置法で必要な群を構成し、試験群及び群内の個体番号を無作為に割当てた）で行った。投与開始時の体重は、雄で 384~466 g（平均体重：414 g）、雌は 236~290 g（平均体重：261 g）であり、雌雄とも平均値±20%以内の体重範囲であった。群分けから除外された雄 14 匹は、投与開始日に試験から除外した。残りの雌 14 匹は交配用無処置動物として継続飼育したが、交配に用いなかったため、交配終了後、試験から除外した。

5.6　飼育条件

飼育は、温度 23±3°C（実測値：22~27°C）[注)]、相対湿度 50±20%（実測値：35~56%）、換気回数 10~15 回/h、照明 12 時間/日（07:00~19:00）の動物飼育室（飼育室番号：811 号室）で行った。動物は、交配中を除いてブラケット式金属製網ケージ（W254×D350×H170 mm：リードエンジニアリング株式会社）へ個別に収容した。なお、妊娠 17 日から授乳 4 日までは、床敷（ホワイトフレーク：日本チャールス・リバー株式会社）を入れたプラスチック製エコンケージ（W340×D400×H185 mm：日本クレア株式会社）へ 1 腹ごと収容した。飼料及び飲料水については、NMF 固形飼料（放射線滅菌、オリエンタル酵母工業株式会社、ロット番号：100817、100913）及び水道水（御殿場市営水道水）をステンレス製給餌器あるいは自動給水装置又は給水瓶を用いてそれぞれ自由に摂取させた。飼料に関しては供試全ロットについて、床敷については、定期的（年 6 回）にそれぞれ Eurofins Scientific Analytice で実施された混入物質の分析結果を入手した。飲料水については、芝浦セムテック株式会社に定期的（年 4 回）に水質検査を依頼し、その結果を入手した。これらの検査結果より飼料、飲料水及び床敷中の混入物質が試験成績に影響を与える可能性のないことを確認した。

注）：飼育室温度が期待値の上限を越えたが、一時的且つ僅かな逸脱であり動物に異常はなく、試験遂行上問題はなかった。

5.7　動物の識別

動物の個体識別は入荷時に 3 桁の番号が連番で刻印された小動物用耳標をつけて行った。群分け後は、性別及び投与量ごと（対照群、低、中及び高用量の順）に 4 桁の番号をつけた。なお、1000 の位は群、100 の位は性（0 番を雄、1 番を雌）、10 と 1 の位は個体番号とした。飼育ケージには、投与量（群）ごとに色分けされ、試験番号、投与経路、投与量、性、動物番号、耳標番号、剖検予定日（雄）、交尾成立日（雌雄）及び分娩日（雌）を明記したラベルを付した。

5.8　投与経路、投与期間及び投与回数とそれらの選択理由

投与経路は、OECD Guideline for Testing of Chemicals 421 に準じ、経口投与を選択した。投与期間は、雄では交配前 14 日間、交配期間として予め予定した 14 日間、その後剖検前日までの 14 日間の計 42 日間、雌では交配前 14 日間、交配期間及び妊娠期間を通して授乳 3 日までとした。なお、本試験では、分娩母動物については 40~51 日間、不妊動物（動物番号：3103）については 43 日間の投与期間となった。投与回数は反復投与試験で一般的に行われている 1 回/日（7 回/週）とした。

5.9　投与方法

投与方法は、げっ歯類の経口投与として一般的な強制経口投与とした。投与容量は 5 mL/kg 体重とし、1 日 1 回、08:46~11:30 の間にフレキシブル胃ゾンデを用いて投与液を投与した。ただし、投与時に分娩中であった動物は分娩終了を待って 14:12~14:42 の間に投与した。対照群には媒体（コーン油）のみを同様に投与した。個体ごとの投与液量は、最近時の体重を基に mL 単位で小数第二位を四捨五入して算出した。

5.10　投与量及び群構成

投与量は 4、20 及び 100 mg/kg/day の 3 用量とし、対照群を加え 4 群構成とした。1 群当たりの動物数は雌雄各 12 匹とした。群構成表を以下に示した。

群構成表

試験群	投与量 (mg/kg)	被験液濃度 (mg/mL)	投与容量 (mL/kg)	性	動物数	動物番号
対照群	0	0	5	雄 雌	12 12	1001~1012 1101~1112
低用量群	4	0.8	5	雄 雌	12 12	2001~2012 2101~2112
中用量群	20	4	5	雄 雌	12 12	3001~3012 3101~3112
高用量群	100	20	5	雄 雌	12 12	4001~4012 4101~4112

5.11　投与量の設定根拠

先に実施された「1-ブロモ-3-クロロプロパンのラットを用いる 28 日間反復経口投与毒性試験」[2)]（投与量：20、100 及び 500 mg/kg）では、500 mg/kg 投与群の雄において 4/10 例が死亡し、5/10 例が瀕死状態となり、同群の雌雄において活動性の低下、閉眼、常同行動などの一般状態変化がみられた。100 mg/kg 投与群では、病理学検査において肝臓重量の増加及び小葉中心性肝細胞肥大が観察された他、精巣の組織変化として精細管萎縮が認められた。したがって、簡易生殖毒性試験においては、500 mg/kg は過大な用量と考えられ、肝臓及び精巣に対する影響が予想される 100 mg/kg を高用量とし、以下公比 5 で除して 20 及び 4 mg/kg をそれぞれ中及び低用量に設定した。

5.12 観察及び検査の方法

試験日の起算は、投与開始日を投与1日、投与1日から7日を投与1週、交尾成立日を妊娠0日、分娩終了日を授乳0日とした。

5.12.1 一般状態

全個体について、検疫・馴化期間中は毎日1回、投与期間中は毎日3回（投与前、投与直後及び投与1~3時間後）、それぞれ体外表、栄養状態、姿勢、行動及び排泄物などの一般状態における異常の有無を観察した。なお、妊娠期間中の動物を手に持っての定期的な観察は、妊娠0、7、14及び20日に行った。

5.12.2 体重

全個体について、雄は投与1、4、8、11、15、18、22、25、29、32、36、39、42日及び剖検日に、雌は投与1、4、8、11、15日、交配期間中週2回（月曜、木曜)、妊娠0、4、7、11、14、17及び20日、授乳0及び4日に体重を測定した。なお、午後に分娩の終了が確認された個体の授乳0日の体重を除いて、体重は午前中の投与前に測定した。

5.12.3 摂餌量

全個体について、雄は投与1、4、8、11、15、32、36、39及び42日に、雌は投与1、4、8、11及び15日、妊娠1、4、7、11、14、17及び20日並びに授乳2及び4日に残餌量を測定し、前日の給餌量との差を1日摂餌量として算出した。給餌量及び残餌量ともに午前中の投与前に測定した。

5.12.4 腟垢検査

雌の全個体について、投与開始翌日から交尾が認められるまで毎日腟垢を採取し、交配前投与期間中は5.4試験動物の項と同様に性周期異常の有無を調べるとともに発情回数及び発情から次の発情までの日数（性周期）を求めた。交配期間中は腟垢内の精子の有無を調べた。

5.12.5 交配

交配前投与期間終了後、同じ投与群の雌雄を1:1で終夜同居させ、翌朝、腟栓形成あるいは腟垢中に精子を確認したものを交尾成立とみなした。交配開始日を0日と起算して交尾までに要した日数を求めた。

5.12.6 分娩及び哺育

交尾が成立した雌動物は、妊娠21日から妊娠25日の午前まで1日2回（午前、午後）分娩の有無並びにその終了を確認し、交尾成立日より分娩終了までの間を妊娠期間として1日単位で求めた。分娩が終了した母動物については、胎盤及び羊膜の処理

等を指標として分娩異常の有無を観察した後、出生児を哺育させ、授乳4日にエーテル麻酔下で腹大動脈切断により放血致死させ、病理学検査（5.12.8項）に供した。授乳期間中は児集め、営巣及び授乳の状態等を指標として哺育異常の有無を観察した。なお、妊娠25日の午前までに分娩が認められなかった20 mg/kg投与群の1例（動物番号：3103）は、当日エーテル麻酔下で腹大動脈切断により放血致死させ、病理学検査に供した。本例については、剖検時に子宮の着床の有無を確認した結果、着床が認められなかったため不妊とみなした。また、死産により出生児が得られなかった100 mg/kg投与群の1例（動物番号：4104）並びに授乳期間中に全ての出生児が死亡した20 mg/kg投与群の2例及び100 mg/kg投与群の1例（動物番号：3107、3112、4112）についてはその時点で病理学検査に供した。

5.12.7　出生児

母動物の分娩終了日を出生日（生後0日）とみなし、出生児数及び死産児数を数えた。出生児は外表異常の有無を観察し、性別を判定した後、体重を測定した。授乳期間中は毎日1回、死亡児の有無を観察した。なお、死産児及び死亡児は廃棄した。生後4日に体重を測定した後、全例をエーテル麻酔下で開腹し、腹大動脈切断により放血致死させ、体外表、胸部・腹部を含む器官･組織の異常の有無を肉眼的に調べた。なお、出生児の体重は個別に測定し、雌雄別に各腹の平均値を算出した。

5.12.8　病理学検査

5.12.8.1　剖検及び器官重量

最終投与翌日にエーテル麻酔下で腹大動脈切断により放血致死させた後、体外表・頭部・胸部・腹部を含む全身の器官・組織の肉眼による詳細な病理解剖を行い、母動物については黄体数及び着床痕数を数えた。更に、肝臓、精巣及び精巣上体については重量（絶対重量）を測定し、これらの器官について剖検日の体重から体重100 g当たりの相対重量を算出した。なお、精巣及び精巣上体の重量については左右別々に測定し、その合計値で評価した。

5.12.8.2　病理組織学検査

全ての個体の肝臓、雄の精巣、精巣上体、前立腺及び精嚢、雌の卵巣、子宮及び腟並びに肉眼的異常部位を個体識別部（耳標を装着した耳介）とともにリン酸緩衝10 vol%ホルマリン液で固定した（ただし、精巣及び精巣上体はブアン液で固定した後、リン酸緩衝10 vol%ホルマリン液に置換した。）。個体識別部を除くこれらの器官は、パラフィン包埋した後、切片とし、ヘマトキシリン・エオジン（H・E）染色標本を作製した。鏡検は、まず対照群と高用量群の全個体、不妊、死産あるいは出生児の死亡により授乳4日まで出生児を哺育し得なかった個体の肝臓及び上記内部生殖器並びに肉眼的異常部位について行った。なお、精巣、卵巣、精巣上体及び精嚢は両側を、子宮は両角部を鏡検した。被験物質投与の影響が疑われた肝臓については、更に低及び

中用量群の全個体を対象として検索した。

5.13 統計解析

5.13.1 パラメータの算出

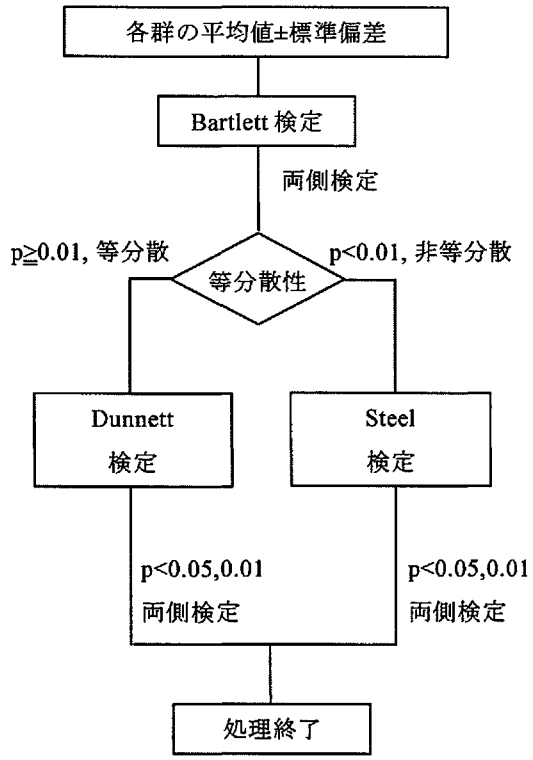
以下の式により交尾率、授精率、受胎率及び出産率を群ごとに、妊娠期間、着床率、死産児率、外表異常率、出生率、生後4日生存率、生後0及び4日の性比を母動物ごとに算出した。なお、出生児の体重については母動物ごと雌雄別に平均値を求めた。

交尾率(%)＝（交尾動物数/同居動物数）×100
授精率(%)＝（雌を妊娠させた雄の数/交尾した雄の数）×100
受胎率(%)＝（妊娠した雌の数/交尾した雌の数）×100
妊娠期間(日)＝妊娠0日から分娩した日までの日数
出産率(%)＝（出生児出産雌数/妊娠雌数）×100
着床率(%)＝（着床痕数/黄体数）×100
死産児率(%)＝（死産児数/出生児数及び死産児数）×100
外表異常率(%)＝（外表異常児数/出生児数）×100
出生率(%)＝（出生児数/着床痕数）×100
生後4日生存率(%)＝（生後4日生存児数/出生児数）×100
生後0日の性比＝雄出生児数/出生児数
生後4日の性比＝生後4日の雄生存児数/生後4日の生存児数

5.13.2 検定

データは対照群と各用量群との差について統計学的有意性の検定を行った。

体重、体重増加量（雄：投与1~42日、雌：投与1~15日、妊娠0~20日及び授乳0~4日、出生児：生後0~4日）、摂餌量、発情期像発現回数、性周期（発情周期）、交尾までに要した日数、妊娠期間、黄体数、着床痕数、生存児数、性比（生後0及び4日）及び器官重量（含、剖検時体重）は、群ごとに平均値及び標準偏差を求め、次に示す模式図の方法に従って検定した。なお、交配期間中の雌の体重データ、不妊雌動物及び全哺育児が死亡した動物の器官重量データは統計解析より除外した。



着床率、死産児率、外表異常率、出生率及び生後 4 日生存率については、群ごとに平均値及び標準偏差を求め、Steel 検定（有意水準 0.05 及び 0.01、両側）を行った。

交尾率、授精率、受胎率、出産率は、各群の交尾動物数、雌を妊娠させた雄動物数、妊娠雌動物数、生存児出産雌動物数より算出し、Fisher の直接確率計算法により検定（有意水準 0.05 及び 0.01、両側）を行った。

6. 試験結果

6.1 一般状態（Table 1-1~1-4、Appendix 1-1~1-16）

雄では投与期間中を通して一般状態に異常は認められなかった。雌では、交配前投与期間中及び妊娠期間中の一般状態に異常は認められなかったが、授乳期間中に自発運動の低下が対照群及び20 mg/kg投与群の各1例（動物番号：1104、3107）に認められ他、哺育行動の低下が20 mg/kg投与群の2例及び100 mg/kg投与群の1例（動物番号：3107、3112、4112）に認められた。

6.2 体重（Fig. 1、2、Table 2-1~2-4、Appendix 2-1~2-16）

雌雄ともに対照群を含む各群において同様な体重推移がみられ、体重及び体重増加量には対照群と各用量群との間に有意な差は認められなかった。

6.3 摂餌量（Fig. 3、4、Table 3-1~3-4、Appendix 3-1~3-16）

摂餌量には雌雄ともに対照群と各用量群との間に有意な差は認められなかった。

6.4 器官重量（Table 4-1、4-2、Appendix 4-1~4-8）

100 mg/kg投与群において、肝臓の絶対及び相対重量が雌雄ともに対照群に比べ有意な高値を示した。精巣及び精巣上体の重量には対照群と各用量群との間に有意な差は認められなかった。

6.5 剖検所見（Table 5-1~5-4、Appendix 5-1~5-96）

雄では、精巣上体の結節が4及び100 mg/kg投与群の各1例（動物番号：2009、4012）に認められた。雌では脾臓及び胸腺の小型化が20 mg/kg投与群の1例（動物番号：3107）に認められた。

6.6 病理組織学検査（Table 6-1~6-4、Appendix 5-1~5-96）

100 mg/kg投与群において、肝臓の小葉中心性肝細胞肥大が雄で全例、雌では3例に認められた。その他、肉眼所見として脾臓及び胸腺の小型化が認められた20 mg/kg投与群の雌1例には組織学的にそれぞれ萎縮が認められ、肝臓には小葉周辺性肝細胞空胞化が認められた。雌雄の内部生殖器には被験物質投与に起因した変化は認められなかった。

6.7 性周期（Table 7、Appendix 6-1~6-4）

14日間の観察期間中の発情回数及び性周期ともに対照群と各用量群との間に有意な差は認められず、性周期異常はみられなかった。

6.8　交配成績（Table 8、Appendix 7-1~7-4）

各群の雌雄全例において交尾が成立し、交尾までに要した日数には対照群と各用量群との間に有意な差は認められなかった。雌が不妊であった雌雄の組合せは 20 mg/kg 投与群で 1 組（動物番号：3003、3103）みられたのみであり、授精率及び受胎率に対照群と各用量群との間に有意な差は認められなかった。

6.9　分娩成績（Table 9、Appendix 8-1~8-4）

出産率、妊娠期間、黄体数、着床痕数、着床率、死産児率、出生児数及び出生率には対照群と各用量群との間に有意な差は認められなかった。なお、100 mg/kg の 1 例（動物番号：4104）では、死産のため出生児が得られなかった。

6.10　出生児の性比及び外表観察（Table 10、Appendix 9-1~9-4）

出生児の生後 0 及び 4 日における性比には対照群と各用量群との間に有意な差は認められず、外表異常を有する出生児は何れの群にもみられなかった。

6.11　出生児の生存率（Table 11、Appendix 10-1~10-4）

生後 4 日生存率には対照群と各用量群との間に有意な差は認められなかった。しかし、授乳期間中に全ての出生児が死亡した母体が 20 mg/kg 投与群で 2 例、100 mg/kg 投与群で 1 例（動物番号：3107、3112、4112）みられ、両群の生後 4 日生存率は対照群を下回る傾向を示した。

6.12　出生児の体重（Table 12、Appendix 11-1~11-4）

出生日及び生後 4 日の体重には対照群と各用量群との間に有意な差は認められなかった。

6.13　出生児の生後 4 日剖検所見（Table 13、Appendix 12-1~12-4）

対照群を含む各群とも出生児の体外表、胸部・腹部を含む器官・組織に肉眼的異常はみられなかった。

7. 考察

1-ブロモ-3-クロロプロパンを 0（対照群：コーン油）、4、20 及び 100 mg/kg/day の用量で、Sprague-Dawley 系 SPF ラットの、雄に交配前 14 日間及び交配期間を通して剖検前日まで、雌には交配前 14 日間及び交配期間並びに妊娠期間を通して授乳 3 日まで経口投与し、雌雄動物に対する影響、特に、雌雄動物の性腺機能、交尾行動、受胎及び分娩などの生殖発生に及ぼす影響を検討した。

7.1 雌雄動物に対する影響

授乳期間中の母動物において自発運動の低下が対照群及び 20 mg/kg 投与群の各 1 例に、哺育行動の低下が 20 mg/kg 投与群の 2 例及び 100 mg/kg 投与群の 1 例にみられた。これらの、授乳母動物にみられた変化を除いて雌雄ともに一般状態に異常は認められず、体重及び摂餌量に被験物質投与の影響は認められなかった。病理学検査では、100 mg/kg 投与群の雌雄において肝臓重量の増加とこれに関連する組織変化と考えられる小葉中心性肝細胞肥大が認められた。本所見は 28 日間反復経口投与毒性試験 [2)]においてもみられており、被験物質投与の影響と考えられた。その他、一般状態において自発運動の低下が認められた 20 mg/kg 投与群の 1 例の脾臓及び胸腺には肉眼所見として小型化が、組織学的に萎縮がそれぞれ認められた他、肝臓には小葉周辺性肝細胞空胞化が認められた。これらの病理学的所見は本例のみにみられ、ストレスによる変化と考えられた。

7.2 生殖発生に対する影響

雌の性周期並びに及び雌雄動物の交尾までに要した日数、交尾率、授精率及び受胎率に被験物質投与の影響を示唆する変化は認められなかった。これら交配成績に加え、雌雄内部生殖器に関する病理組織学検査では、被験物質投与に起因した変化は認められなかったことから、1-ブロモ-3-クロロプロパンの 100 mg/kg/day 投与は、精子形成及び排卵などの性腺機能、交尾から受胎に至る雌雄動物の生殖機能に影響を及ぼさないと判断した。

出産率、妊娠期間、黄体数、着床痕数、着床率、死産児率、出生児数、出生率及び性比に被験物質投与の影響を示唆する変化は認められなかった。なお、100 mg/kg 投与群の 1 例では死産のため出生児が得られなかったが、本例は着床痕数及び娩出児ともに 1 と極めて少なく、本例を除く母動物には正常な分娩がみられていることから個体特異的な異常であり、被験物質投与との関連はないと考えられた。したがって、1-ブロモ-3-クロロプロパンの 100 mg/kg/day 投与は、妊娠維持及び分娩に対して影響を及ぼさないと考えられた。しかし、授乳母動物において先に記した如く哺育行動の低下が 20 mg/kg 投与群の 2 例及び 100 mg/kg 投与群の 1 例にみられ、これらの母動物の出生児は授乳期間中に全て死亡した。この様な哺育行動に異常がみられた母動物の発現状況は投与量との明確な関連性を欠くものであったが、両群では、その他の母動

物においても出生児の生後 4 日生存率が対照群の下限（83.3%）を明らかに下回る例がみられ、群平均値が当施設の背景データの範囲（81.8~100.0%、2005~2010 年、19 試験）を下回った。したがって、1-ブロモ-3-クロロプロパンの 20 mg/kg/day 投与は、出生児の生存性を低下させ、母動物にみられた哺育行動の低下も発現状況は投与量との明確な関連性を欠くものであったが、被験物質投与の影響を否定し得ないと考えられた。出生児の出生日及び生後 4 日の体重には被験物質投与の影響は認められず、外表及び剖検所見に被験物質投与に起因した異常は認められなかった。

これらの結果から、本試験条件下における 1-ブロモ-3-クロロプロパンの雌雄動物に対する無影響量及び無毒性量は、雄で 20 mg/kg/day、雌では授乳期という特異的な時期においてではあるが、20 mg/kg/day 投与により自発運動あるいは哺育行動などの活動性が低下したことから 4 mg/kg/day であり、また、20 mg/kg/day 投与により出生児の生存性に対する影響が示唆されたため、生殖発生毒性に対する無影響量及び無毒性量はいずれも 4 mg/kg/day と推定された。

8. 文献

1) GC を用いた 1-ブロモ-3-クロロプロパンの被験液中濃度測定法バリデーション及び安定性試験（媒体：コーン油）（株式会社ボゾリサーチセンター御殿場研究所、試験番号：A-2350、2011 年）

2) 1-ブロモ-3-クロロプロパンのラットを用いる 28 日間反復経口投与毒性試験（回復 14 日間）（財団法人食品薬品安全センター、試験番号：食薬セ研第 10-1629 号、2000 年）

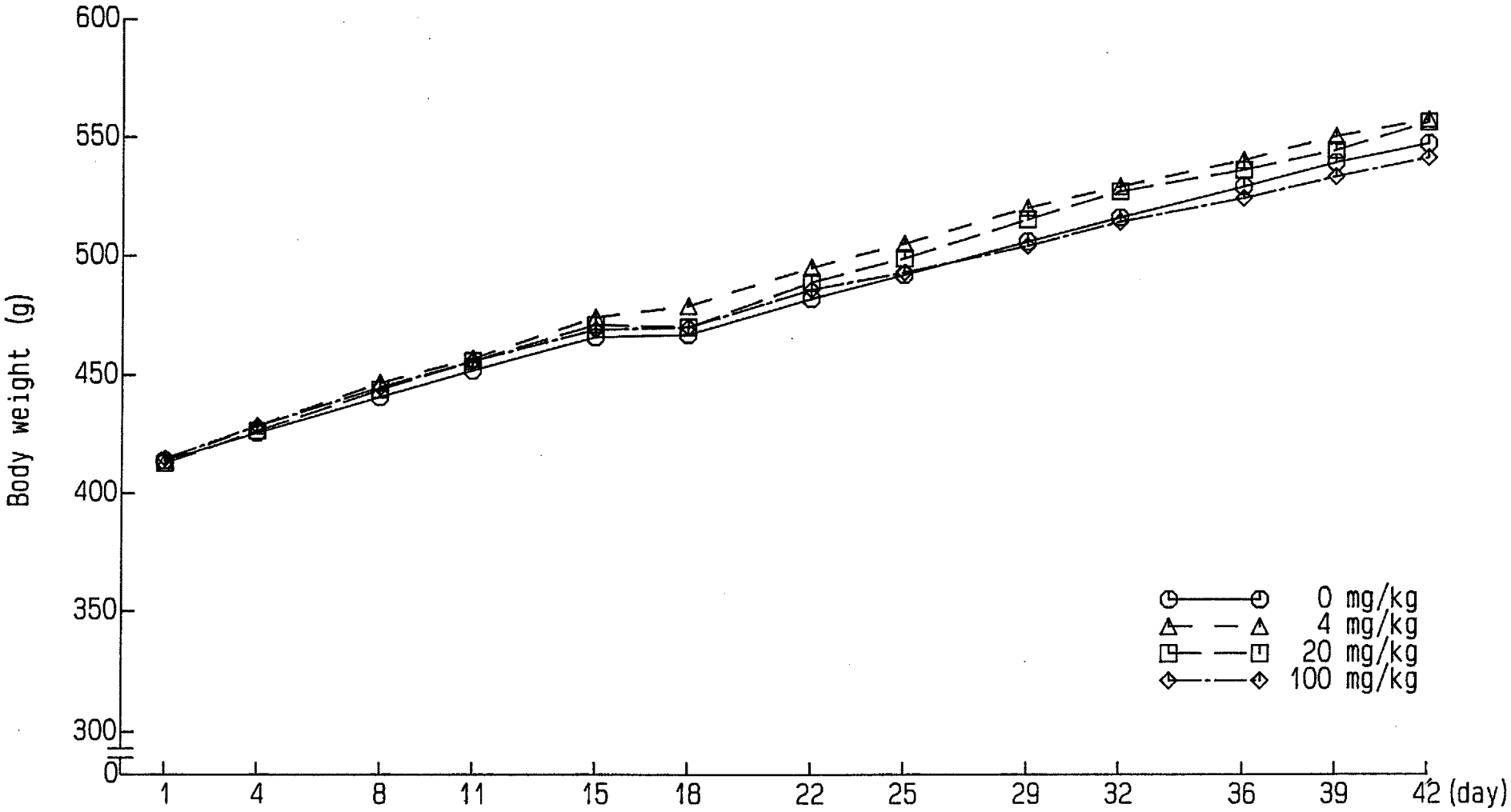


Fig.1 A reproduction/developmental toxicity screening test in rats treated orally with 1-bromo-3-chloropropane

Body weight of male rats

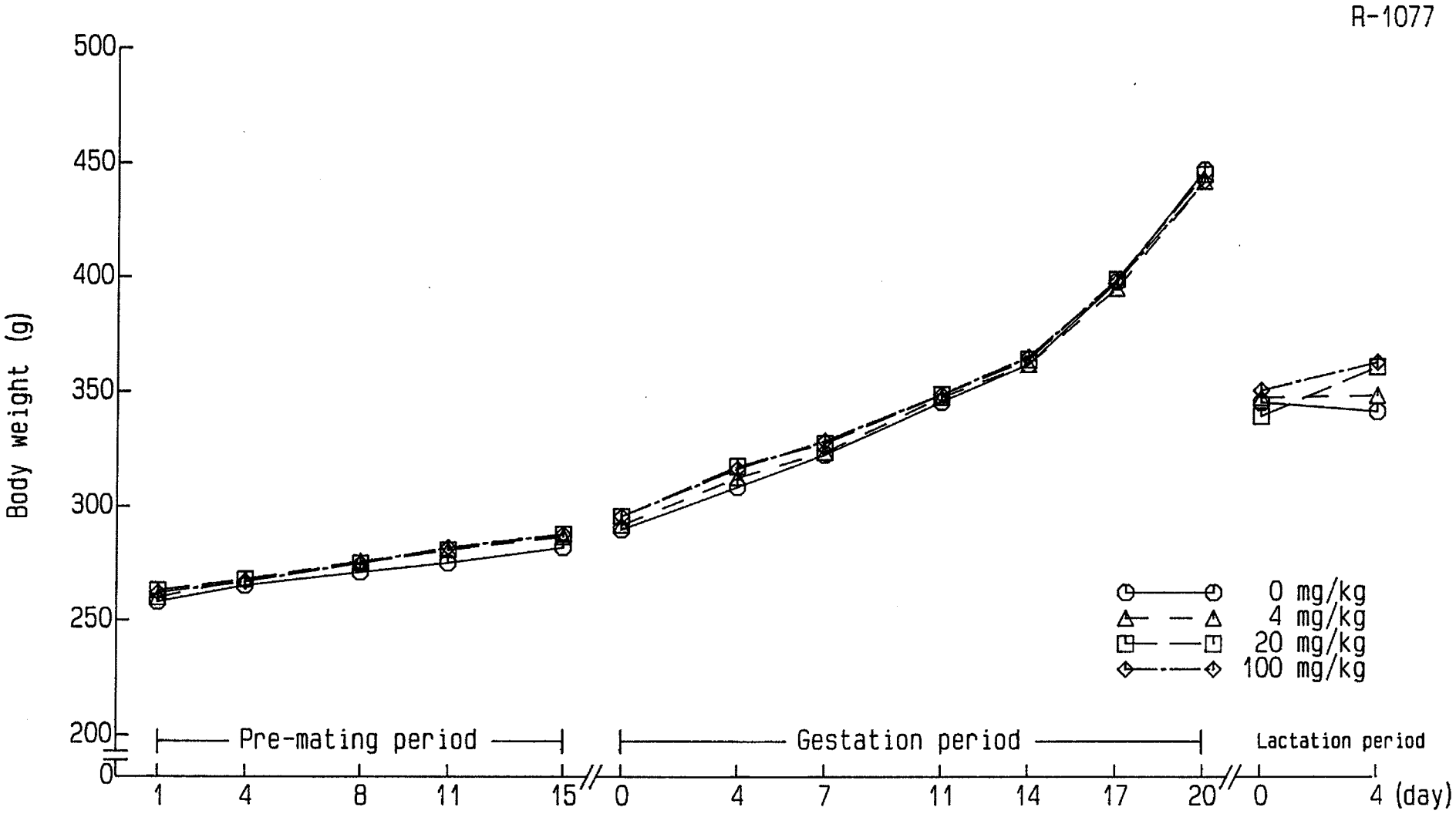


Fig.2 A reproduction/developmental toxicity screening test in rats treated orally with 1-bromo-3-chloropropane

Body weight of female rats

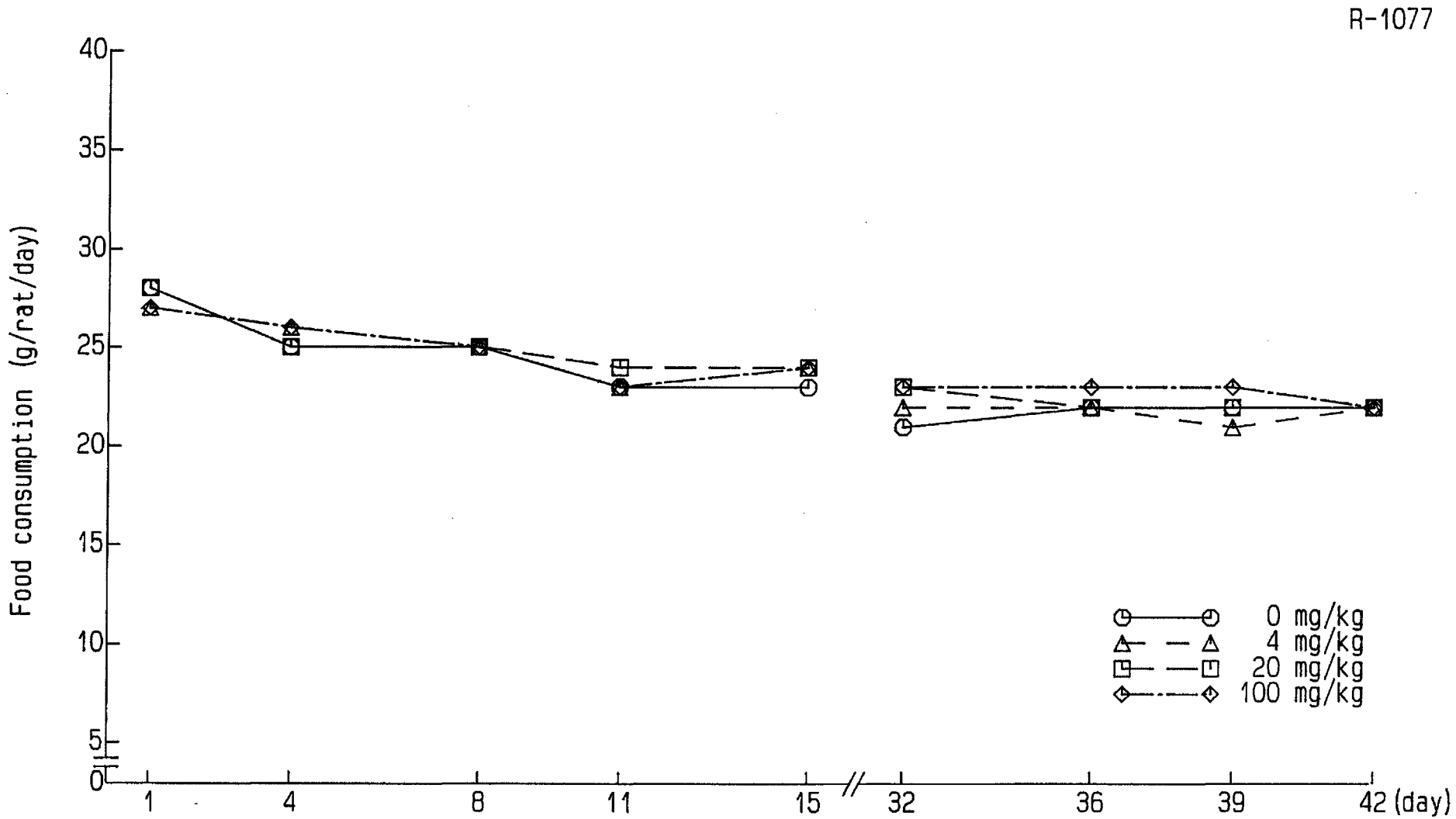


Fig.3 A reproduction/developmental toxicity screening test in rats treated orally with 1-bromo-3-chloropropane

Food consumption of male rats

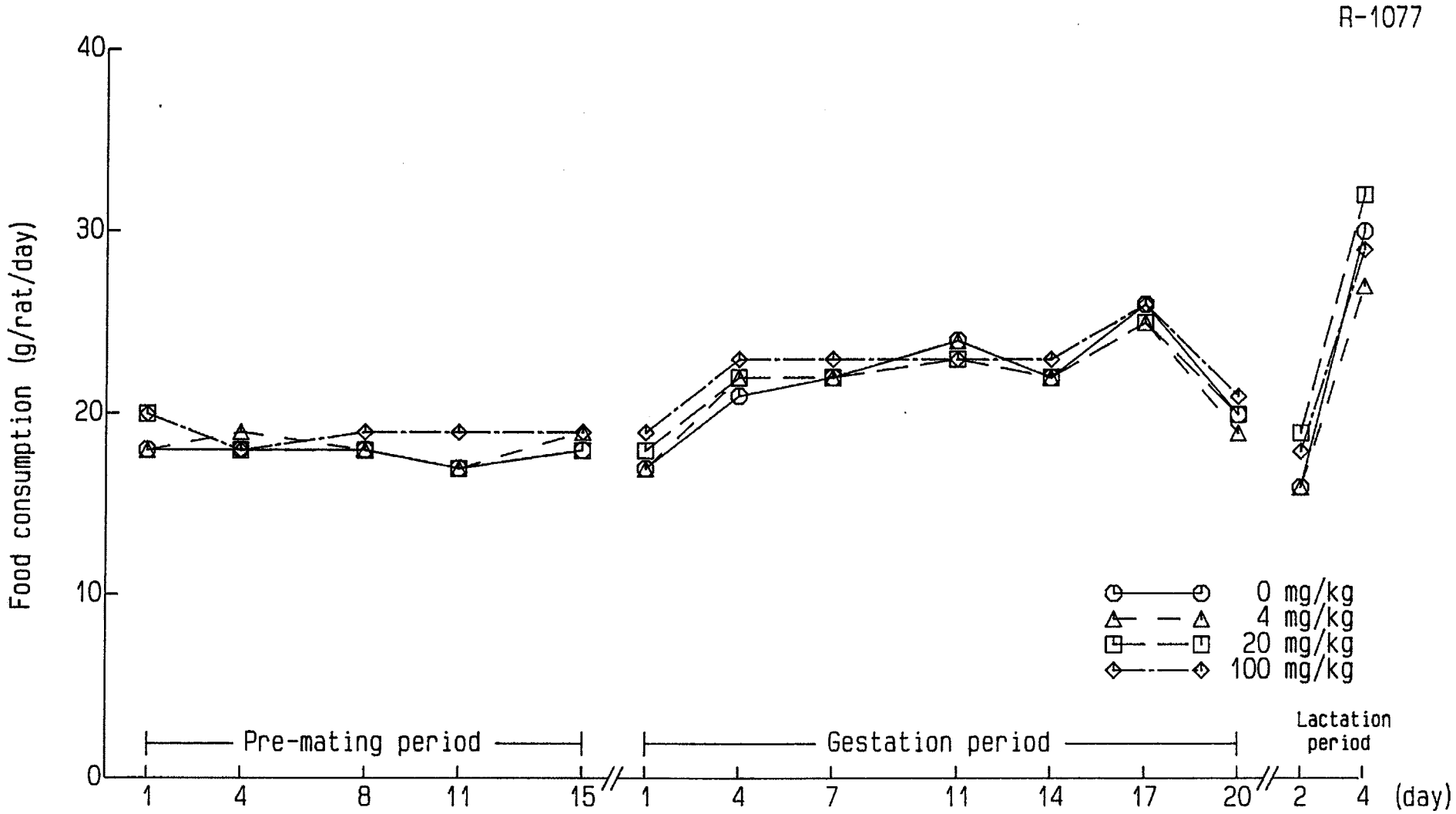


Fig.4 A reproduction/developmental toxicity screening test in rats treated orally with 1-bromo-3-chloropropane

Food consumption of female rats

Table 1-1 A reproduction/developmental toxicity screening test in rats treated orally with 1-bromo-3-chloropropane

Clinical signs in male rats

Dose mg/kg	Signs	Administration (day) 1-7	8-14	15-21	22-28	29-35	36-42	43a)
0	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12
	No. of animals with abnormal findings	0	0	0	0	0	0	0
4	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12
	No. of animals with abnormal findings	0	0	0	0	0	0	0
20	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12
	No. of animals with abnormal findings	0	0	0	0	0	0	0
100	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12
	No. of animals with abnormal findings	0	0	0	0	0	0	0

a):Day of necropsy

Table 1-2 A reproduction/developmental toxicity screening test in rats treated orally with 1-bromo-3-chloropropane

Clinical signs in female rats during the pre-mating period

Dose mg/kg	Signs	Administration (day)														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
0	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No. of animals with abnormal findings	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No. of animals with abnormal findings	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No. of animals with abnormal findings	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No. of animals with abnormal findings	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Table 1-3 A reproduction/developmental toxicity screening test in rats treated orally with 1-bromo-3-chloropropane

Clinical signs in dams during the gestation period

Dose mg/kg	Signs	Administration																							
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23a)
0	No. of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	4	0
	No. of dams with abnormal findings	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
4	No. of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	2	0
	No. of dams with abnormal findings	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
20	No. of dams	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	3	0
	No. of dams with abnormal findings	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
100	No. of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	11	1	1
	No. of dams with abnormal findings	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

a): Gestation day

Table 1-4 A reproduction/developmental toxicity screening test in rats treated orally with 1-bromo-3-chloropropane

Clinical signs in dams during the lactation period

Dose mg/kg	Signs	Administration 0	1	2	3	4a)
0	No. of dams	12	12	12	12	12
	No. of dams with abnormal findings	0	0	0	0	1
	Decrease in spontaneous movement	0	0	0	0	1
4	No. of dams	12	12	12	12	12
	No. of dams with abnormal findings	0	0	0	0	0
20	No. of dams	11	11	11	10[b)]	10[c)]
	No. of dams with abnormal findings	0	1	0	1	1
	Decrease in nursing behavior	0	1	0	1	0
	Decrease in spontaneous movement	0	0	0	1	1
100	No. of dams	11[d)]	11	11	11	11[c)]
	No. of dams with abnormal findings	0	0	1	1	0
	Decrease in nursing behavior	0	0	1	1	0

a): Lactation day
b): One dam was necropsied on lactation day 2 because all pups died.
c): One dam was necropsied on lactation day 4 because all pups died.
d): One dam was necropsied on lactation day 0 because all pups were stillborn.

Table 2-1 A reproduction/developmental toxicity screening test in rats treated orally with 1-bromo-3-chloropropane

Body weight of male rats

Dose mg/kg		Pre-mating period					Mating period				Post-mating period				Gain 1-42
		1	4	8	11	15	18	22	25	29	32	36	39	42a)	
0	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	Mean	414	426	441	452	466	467	482	492	506	516	529	539	547	133
	S.D.	23	26	30	32	37	36	37	37	40	42	43	46	48	31
4	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	Mean	414	429	447	457	474	479	495	505	520	529	540	550	557	144
	S.D.	23	24	28	29	31	32	35	35	40	43	44	49	51	32
20	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	Mean	413	427	444	456	471	470	489	499	515	527	536	544	556	143
	S.D.	23	26	30	31	32	29	36	37	41	42	41	44	46	29
100	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	Mean	415	429	445	456	469	470	486	493	504	514	524	533	541	127
	S.D.	22	24	25	27	29	30	34	35	37	38	36	38	42	32

Unit: g
No.: No. of animals
a): Day of administration
No significant difference in any treated groups from control group

Table 2-2 A reproduction/developmental toxicity screening test in rats treated orally with 1-bromo-3-chloropropane

Body weight of female rats during the pre-mating period

Dose mg/kg		Day of administration 1	4	8	11	15	Gain 1-15
0	No.	12	12	12	12	12	12
	Mean	258	265	271	275	282	25
	S.D.	14	14	15	15	15	10
4	No.	12	12	12	12	12	12
	Mean	260	268	276	281	287	27
	S.D.	14	15	18	16	17	10
20	No.	12	12	12	12	12	12
	Mean	263	268	275	281	288	25
	S.D.	15	16	16	22	24	12
100	No.	12	12	12	12	12	12
	Mean	262	267	275	282	288	26
	S.D.	17	16	18	22	24	10

Unit: g
No.: No. of animals
No significant difference in any treated groups from control group

Table 2-3 A reproduction/developmental toxicity screening test in rats treated orally with 1-bromo-3-chloropropane

Body weight of dams during the gestation period

Dose mg/kg		Administration 0	4	7	11	14	17	20a)	Gain 0-20
0	No.	12	12	12	12	12	12	12	12
	Mean	290	309	323	346	362	398	447	157
	S.D.	17	18	20	23	23	26	30	17
4	No.	12	12	12	12	12	12	12	12
	Mean	292	313	324	348	362	395	442	150
	S.D.	16	19	20	20	23	24	31	20
20	No.	11	11	11	11	11	11	11	11
	Mean	296	318	328	349	364	399	445	149
	S.D.	17	23	21	24	26	29	32	20
100	No.	12	12	12	12	12	12	12	12
	Mean	296	317	329	349	365	398	442	146
	S.D.	28	28	30	32	35	41	53	30

Unit: g
No.: No. of dams
a): Gestation day
No significant difference in any treated groups from control group

Table 2-4 A reproduction/developmental toxicity screening test in rats treated orally with 1-bromo-3-chloropropane

Body weight of dams during the lactation period

Dose mg/kg		Administration 0	Administration 4a)	Gain 0-4
0	No.	12	12	12
	Mean	346	342	-3
	S.D.	32	34	37
4	No.	12	12	12
	Mean	348	349	1
	S.D.	24	20	10
20	No.	11	9[b)]	9
	Mean	340	361	9
	S.D.	35	24	14
100	No.	11[c)]	10[d)]	10
	Mean	351	363	10
	S.D.	29	28	8

Unit: g
No.: No. of dams
a): Lactation day
b): Two dams were necropsied on lactation days 2 and 4 because all pups died.
c): One dam was necropsied on lactation day 0 because all pups were stillborn.
d): One dam was necropsied on lactation day 4 because all pups died.
No significant difference in any treated groups from control group

Table 3-1 A reproduction/developmental toxicity screening test in rats treated orally with 1-bromo-3-chloropropane

Food consumption of male rats

Dose mg/kg		Pre-mating period					Post-mating period			
		1	4	8	11	15	32	36	39	42a)
0	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	Mean	28	25	25	23	23	21	22	22	22
	S.D.	2	2	2	3	4	3	2	3	3
4	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	Mean	27	26	25	23	24	22	22	21	22
	S.D.	4	3	3	3	3	3	3	4	4
20	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	Mean	28	25	25	24	24	23	22	22	22
	S.D.	3	2	2	3	2	2	3	3	2
100	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	Mean	27	26	25	23	24	23	23	23	22
	S.D.	3	3	3	3	2	2	2	2	3

Unit: g/rat/day
No.: No. of animals
a): Day of administration
No significant difference in any treated groups from control group

Table 3-2 A reproduction/developmental toxicity screening test in rats treated orally with 1-bromo-3-chloropropane

Food consumption of female rats during the pre-mating period

Dose mg/kg		Day of administration 1	4	8	11	15
	No.	12	12	12	12	12
0	Mean	18	18	18	17	18
	S.D.	4	3	4	3	3
	No.	12	12	12	12	12
4	Mean	18	19	18	17	19
	S.D.	3	4	4	2	2
	No.	12	12	12	12	12
20	Mean	20	18	18	17	18
	S.D.	3	2	3	4	4
	No.	12	12	12	12	12
100	Mean	20	18	19	19	19
	S.D.	3	2	4	3	4

Unit: g/rat/day
No.: No. of animals
No significant difference in any treated groups from control group

Table 3-3 A reproduction/developmental toxicity screening test in rats treated orally with 1-bromo-3-chloropropane

Food consumption of dams during the gestation period

Dose mg/kg		Administration 1	4	7	11	14	17	20a)
0	No.	12	12	12	12	12	12	12
	Mean	17	21	22	24	22	26	20
	S.D.	3	3	3	4	3	3	2
4	No.	12	12	12	12	12	12	12
	Mean	17	22	22	24	22	25	19
	S.D.	3	3	3	4	3	3	3
20	No.	11	11	11	11	11	11	11
	Mean	18	22	22	23	22	25	20
	S.D.	2	3	3	4	3	3	2
100	No.	12	12	12	12	12	12	12
	Mean	19	23	23	23	23	26	21
	S.D.	3	2	2	3	3	4	3

Unit: g/rat/day
No.: No. of dams
a): Gestation day
No significant difference in any treated groups from control group

Table 3-4 A reproduction/developmental toxicity screening test in rats treated orally with 1-bromo-3-chloropropane

Food consumption of dams during the lactation period

Dose mg/kg		Administration 2	4a)
0	No.	12	12
	Mean	16	30
	S.D.	8	10
4	No.	12	12
	Mean	16	27
	S.D.	5	5
20	No.	10[b)]	9[c)]
	Mean	19	32
	S.D.	9	9
100	No.	11[d)]	10[c)]
	Mean	18	29
	S.D.	5	6

Unit: g/rat/day
No.: No. of dams
a): Lactation day
b): One dam was necropsied on lactation day 2 because all pups died.
c): One dam was necropsied on lactation day 4 because all pups died.
d): One dam was necropsied on lactation day 0 because all pups were stillborn.
No significant difference in any treated groups from control group

Table 4-1 A reproduction/developmental toxicity screening test in rats treated orally with 1-bromo-3-chloropropane

Organ weight of male rats

	Dose mg/kg		Body weight g	Liver g(g/100g BW)	Testes (R+L) g(g/100g BW)	Epididymides (R+L) mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	12	12	12	12
		Mean	551	19.54	3.28	1336
		S.D.	46	2.67	0.20	83
	4	No.	12	12	12	12
		Mean	561	20.31	3.37	1295
		S.D.	53	4.03	0.27	94
	20	No.	12	12	12	12
		Mean	556	20.37	3.29	1293
		S.D.	46	2.53	0.34	83
	100	No.	12	12	12	12
		Mean	541	23.69**	3.34	1317
		S.D.	39	2.81D	0.17	100
Relative	0	No.		12	12	12
		Mean		3.54	0.60	244
		S.D.		0.27	0.07	25
	4	No.		12	12	12
		Mean		3.59	0.60	232
		S.D.		0.42	0.07	24
	20	No.		12	12	12
		Mean		3.66	0.59	233
		S.D.		0.22	0.05	12
	100	No.		12	12	12
		Mean		4.37**	0.62	244
		S.D.		0.29D	0.04	13

**: $p<0.01$ (Significant difference from control group)
D: Dunnett's test

Table 4-2 A reproduction/developmental toxicity screening test in rats treated orally with 1-bromo-3-chloropropane

Organ weight of female rats

	Dose mg/kg		Body weight g	Liver g(g/100g BW)
Absolute	0	No.	12	12
		Mean	342	12.47
		S.D.	34	1.73
	4	No.	12	12
		Mean	349	12.77
		S.D.	20	0.92
	20	No.	9	9
		Mean	361	13.11
		S.D.	24	0.86
	100	No.	10	10
		Mean	363	15.90**
		S.D.	28	1.37D
Relative	0	No.		12
		Mean		3.63
		S.D.		0.31
	4	No.		12
		Mean		3.66
		S.D.		0.24
	20	No.		9
		Mean		3.64
		S.D.		0.20
	100	No.		10
		Mean		4.38**
		S.D.		0.29D

**: $p<0.01$ (Significant difference from control group)
D: Dunnett's test

Table 5-1 A reproduction/developmental toxicity screening test in rats treated orally with 1-bromo-3-chloropropane

Gross pathological findings

Organs	Sex:	M	M	M	M
	Dose(mg/kg):	0	4	20	100
Findings	Number:	12	12	12	12
Epididymis					
Nodule		0	1	0	1

M : Male

Table 5-2 A reproduction/developmental toxicity screening test in rats treated orally with 1-bromo-3-chloropropane

Gross pathological findings

Organs / Findings	Sex: / Dose(mg/kg): / Number:	F 0 12	F 4 12	F 20 9	F 100 10
All tissues					
Not remarkable		12	12	9	10

F : Female

Table 5-3 A reproduction/developmental toxicity screening test in rats treated orally with 1-bromo-3-chloropropane

Gross pathological findings (Undelivered)

Organs / Findings	Sex: / Dose(mg/kg): / Number:	F / 20 / 1
All tissues		
Not remarkable		1

F : Female

Table 5-4 A reproduction/developmental toxicity screening test in rats treated orally with 1-bromo-3-chloropropane

Gross pathological findings (All littermates died)

Organs / Findings	Sex: / Dose(mg/kg): / Number:	F 20 2	F 100 2
Spleen			
Small		1	0
Thymus			
Small		1	0

F : Female

Table 6-1 A reproduction/developmental toxicity screening test in rats treated orally with 1-bromo-3-chloropropane

Histopathological findings

Organs / Findings	Sex: / Dose(mg/kg): / Number:	M 0 12	M 4 12	M 20 12	M 100 12
Epididymis					
Number examined		12	1	0	12
Not remarkable		12	0	0	11
Granuloma,spermatic		0	1	0	1
mild		0	1	0	1
Liver					
Number examined		12	12	12	12
Not remarkable		12	12	12	0
Hypertrophy,hepatocytic,central		0	0	0	12
minimal		0	0	0	12
Prostate					
Number examined		12	0	0	12
Not remarkable		7	0	0	5
Cell infiltration,interstitial		5	0	0	7
minimal		1	0	0	5
mild		4	0	0	2
Seminal vesicle					
Number examined		12	0	0	12
Not remarkable		12	0	0	12
Testis					
Number examined		12	0	0	12
Not remarkable		11	0	0	11
Atrophy,seminiferous tubular		1	0	0	1
minimal		1	0	0	0
mild		0	0	0	1

M : Male

Table 6-2 A reproduction/developmental toxicity screening test in rats treated orally with 1-bromo-3-chloropropane

Histopathological findings

Organs	Sex:	F	F	F	F
	Dose(mg/kg):	0	4	20	100
Findings	Number:	12	12	9	10
Liver					
Number examined		12	12	9	10
Not remarkable		12	12	9	8
Hypertrophy,hepatocytic,central		0	0	0	2
minimal		0	0	0	2
Ovary					
Number examined		12	0	0	10
Not remarkable		12	0	0	10
Uterus					
Number examined		12	0	0	10
Not remarkable		12	0	0	10
Vagina					
Number examined		12	0	0	10
Not remarkable		12	0	0	10

F : Female

Table 6-3 A reproduction/developmental toxicity screening test in rats treated orally with 1-bromo-3-chloropropane

Histopathological findings (Undelivered)

Organs / Findings	Sex: / Dose(mg/kg): / Number:	F / 20 / 1
Liver		
Number examined		1
Not remarkable		1
Ovary		
Number examined		1
Not remarkable		1
Uterus		
Number examined		1
Not remarkable		1
Vagina		
Number examined		1
Not remarkable		1

F : Female

Table 6-4 A reproduction/developmental toxicity screening test in rats treated orally with 1-bromo-3-chloropropane

Histopathological findings (All littermates died)

Organs / Findings	Sex: / Dose(mg/kg): / Number:		
		F 20 2	F 100 2
Liver			
Number examined		2	2
Not remarkable		1	1
Vacuolation,hepatocyte,periportal		1	0
mild		1	0
Hypertrophy,hepatocytic,central		0	1
minimal		0	1
Ovary			
Number examined		2	2
Not remarkable		2	2
Spleen			
Number examined		1	0
Atrophy		1	0
mild		1	0
Thymus			
Number examined		1	0
Atrophy		1	0
moderate		1	0
Uterus			
Number examined		2	2
Not remarkable		2	1
Hemorrhage		0	1
mild		0	1
Pregnant stage, endometrium		0	1
mild		0	1
Vagina			
Number examined		2	2
Not remarkable		2	1
Pregnant stage, mucosa		0	1
mild		0	1

F : Female

Table 7 A reproduction/developmental toxicity screening test in rats treated orally with 1-bromo-3-chloropropane

Estrous cycle in female rats during the pre-mating period

Dose mg/kg	No. of animals	Count of estrus						Mean duration of cycles Mean±S.D.
		0	1	2	3	4	Mean±S.D.	
0	12	0	0	0	8	4	3.3±0.5	4.1±0.3
4	12	0	0	0	9	3	3.3±0.5	4.1±0.3
20	12	0	0	0	7	5	3.4±0.5	4.2±0.3
100	12	0	0	0	7	5	3.4±0.5	4.1±0.3

No significant difference in any treated groups from control group

Table 8 A reproduction/developmental toxicity screening test in rats treated orally with 1-bromo-3-chloropropane

Mating and fertility of animals

	Male				Female			
Dose mg/kg	No. of males	Days until copulation Mean±S.D.	Copulation index (%) a)	Insemination index (%) b)	No. of females	Days until copulation Mean±S.D.	Copulation index (%) a)	Fertility index (%) c)
0	12	2.6±1.0	12/12(100.0)	12/12(100.0)	12	2.6±1.0	12/12(100.0)	12/12(100.0)
4	12	2.3±1.0	12/12(100.0)	12/12(100.0)	12	2.3±1.0	12/12(100.0)	12/12(100.0)
20	12	2.8±1.0	12/12(100.0)	11/12(91.7)	12	2.8±1.0	12/12(100.0)	11/12(91.7)
100	12	3.3±2.7	12/12(100.0)	12/12(100.0)	12	3.3±2.7	12/12(100.0)	12/12(100.0)

a): (No. of copulated animals / No. of mated animals) X 100
b): (No. of males which impregnated females / No. of copulated males) X 100
c): (No. of pregnant females / No. of copulated females) X 100
No significant difference in any treated groups from control group

Table 9 A reproduction/developmental toxicity screening test in rats treated orally with 1-bromo-3-chloropropane

Delivery data on dams

Dose mg/kg		No. of pregnant females	No. of females with liveborns	Delivery index % a)	Gestation length in days	No. of corpora lutea	No. of implantation sites	Implantation index % b)	No. of stillborns (%)c)	No. of liveborns	Live birth index % d)
0	Total	12	12	100.0		186	180		2	171	
	Mean				22.0	15.5	15.0	96.7	(1.1)	14.3	95.1
	S.D.				0.4	1.9	2.0	5.1	(2.5)	2.0	4.8
4	Total	12	12	100.0		195	190		1	179	
	Mean				21.8	16.3	15.8	97.6	(0.6)	14.9	93.6
	S.D.				0.5	2.0	1.8	3.8	(2.0)	2.6	8.1
20	Total	11	11	100.0		183	174		5	161	
	Mean				22.1	16.6	15.8	93.7	(2.5)	14.6	91.8
	S.D.				0.5	2.5	4.0	17.4	(5.0)	3.9	6.3
100	Total	12	11	91.7		190	173		2	162	
	Mean				21.9	15.8	14.4	87.4	(8.9)	13.5	86.0
	S.D.				0.5	3.3	5.1	25.7	(28.8)	5.2	27.5

a): (No. of females which delivered liveborns / No. of pregnant females) × 100
b): (No. of implantation sites / No. of corpora lutea) × 100
c): (No. of stillborns / No. of liveborns and stillborns) × 100
d): (No. of liveborns / No. of implantation sites) × 100
No significant difference in any treated groups from control group

Table 10 A reproduction/developmental toxicity screening test in rats treated orally with 1-bromo-3-chloropropane

Sex ratio and external examination of pups

Dose mg/kg	No. of dams		Liveborns: No. of males	Liveborns: No. of females	Sex ratio of liveborns at birth a)	Day 4: No. of males	Day 4: No. of females	Sex ratio of live pups on day 4 b)	External c) abnormalities (%)d)
0	12	Total	92	79		88	77		0
		Mean	7.7	6.6	0.54	7.3	6.4	0.54	(0.0)
		S.D.	2.3	2.4	0.16	2.3	2.3	0.16	(0.0)
4	12	Total	85	94		83	86		0
		Mean	7.1	7.8	0.48	6.9	7.2	0.50	(0.0)
		S.D.	2.1	2.4	0.15	2.0	2.6	0.15	(0.0)
20	11	Total	89	72		68	55		0
		Mean	8.1	6.5	0.57	7.6	6.1	0.58	(0.0)
		S.D.	2.1	2.6	0.10	2.5	3.3	0.15	(0.0)
100	11	Total	68	94		51	68		0
		Mean	6.2	8.5	0.42	5.1	6.8	0.44	(0.0)
		S.D.	2.9	3.2	0.17	2.9	4.1	0.22	(0.0)

a): No. of liveborn males / No. of liveborns
b): No. of live males on day 4 / No. of live pups on day 4
c): No. of liveborns with external abnormalities
d): (No. of liveborns with external abnormalities / No. of liveborns) X 100
No significant difference in any treated groups from control group

Table 11 A reproduction/developmental toxicity screening test in rats treated orally with 1-bromo-3-chloropropane

Viability index of pups

Dose mg/kg		No. of dams	No. of live pups		Viability index on postnatal day 4 % a)
			Day 0	Day 4	
0	Total	12	171	165	
	Mean		14.3	13.8	96.8
	S.D.		2.0	1.8	6.0
4	Total	12	179	169	
	Mean		14.9	14.1	94.8
	S.D.		2.6	2.5	8.0
20	Total	11	161	123	
	Mean		14.6	11.2	75.5
	S.D.		3.9	7.1	39.4
100	Total	11	162	119	
	Mean		14.7	10.8	72.0
	S.D.		3.1	5.4	36.2

a): (No. of live pups on day 4 / No. of liveborns on day 0) × 100
No significant difference in any treated groups from control group

Table 12 A reproduction/developmental toxicity screening test in rats treated orally with 1-bromo-3-chloropropane

Body weight of pups

Dose mg/kg		Male			Female		
		0	4a)	Gain	0	4a)	Gain
0	No.	12	12	12	12	12	12
	Mean	6.8	9.9	3.1	6.4	9.4	3.0
	S.D.	0.5	1.3	1.2	0.4	1.3	1.2
4	No.	12	12	12	12	12	12
	Mean	6.3	9.5	3.2	5.9	8.7	2.8
	S.D.	0.4	1.5	1.1	0.4	1.0	0.7
20	No.	11	9 b)	9	11	9 b)	9
	Mean	6.6	10.4	3.7	6.3	9.8	3.4
	S.D.	1.0	2.1	1.2	0.9	1.9	1.0
100	No.	11 c)	10 d)	10	11 c)	10 d)	10
	Mean	6.2	9.2	2.9	5.8	8.5	2.6
	S.D.	0.6	1.3	1.0	0.6	1.6	1.2

Unit: g
No.: No. of dams
a): Postnatal day
b): All pups in two dams died.
c): All pups in one dam were stillborn.
d): All pups in one dam died.
No significant difference in any treated groups from control group

Table 13 A reproduction/developmental toxicity screening test in rats treated orally with 1-bromo-3-chloropropane

Gross pathological findings in pups on postnatal day 4

Dose (mg/kg)	0	4	20	100
Male				
No. of pups examined	88	83	68	51
No. of pups with abnormal findings	0	0	0	0
Female				
No. of pups examined	77	86	55	68
No. of pups with abnormal findings	0	0	0	0