最終報告書

表　　題：ペルフルオロオクタデカン酸のラットにおける反復投与毒性･生殖発生毒性併合試験

試験番号：ＳＲ０６１６９

株式会社 化合物安全性研究所

目　次

頁

表紙 ---------- 1

目次 ---------- 5

要約 ---------- 14
緒言 ---------- 16
材料および方法 ---------- 16
成績 ---------- 36
考察 ---------- 44
参考文献 ---------- 47

Figures
1. Body weight changes of male rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 49
2. Body weight changes of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 50
3. Body weight changes of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 51
4. Food consumption of male rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 52
5. Food consumption of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 53
6. Food consumption of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 54

7. Body weight changes of pups in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of perfluorooctadecanoic acid in rats (SR06169) ---------- 55

Tables

1. General appearance of male rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 56
2. General appearance of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 57
3-1～3-3.
Detailed clinical observation of male rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 59
4-1-1～4-2-3.
Detailed clinical observation of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 65
5. Functional test of male rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 74
6. Functional test of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 76
7. Body weight changes of male rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 78
8. Body weight changes before gestation period of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 79
9. Body weight changes during gestation period of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 80
10. Body weight changes during lactation period of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 81
11. Body weight changes of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 82
12. Food consumption of male rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 83

13. Food consumption before gestation period of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 84
14. Food consumption during gestation period of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 85
15. Food consumption during lactation period of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 86
16. Food consumption of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 87
17. Urinary findings of male rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 88
18. Urinary findings of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 89
19. Urinary findings of male rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 90
20. Urinary findings of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 91
21. Hematological findings of male rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 92
22. Hematological findings of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 93
23. Hematological findings of male rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 94
24. Hematological findings of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 95
25. Biochemical findings of male rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 96

26. Biochemical findings of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 97
27. Biochemical findings of male rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 98
28. Biochemical findings of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 99
29. Gross findings of male rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/ developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 100
30. Gross findings of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/ developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 101
31. Gross findings of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 102
32. Absolute and relative organ weights of male rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 103
33. Absolute and relative organ weights of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 105
34. Absolute and relative organ weights of male rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/ developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 106
35. Absolute and relative organ weights of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/ developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 107
36. Histopathological findings of male rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 108
37. Histopathological findings of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 109
38. Histopathological findings of male rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 110

39. Histopathological findings of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 111
40. Reproduction performance in parental rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 112
41. Estrus cycle of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 113
42. Pregnancy and litter data of rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/ developmental toxicity screening test (SR06169) ---------- 114
43. General appearance of pups in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of perfluorooctadecanoic acid in rats (SR06169) ---------- 115
44. Body weight changes of pups in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of perfluorooctadecanoic acid in rats (SR06169) ---------- 116
45. Gross findings of pups in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of perfluorooctadecanoic acid in rats (SR06169) ---------- 117

要　約

ペルフルオロオクタデカン酸の 0（対照、0.5%CMC-Na）、40、200 および 1000 mg/kg を 1 群雄雌各 12 匹の Crl:CD(SD) ラットに、雄に対しては交配前、交配期間および交配後を含む計 42 日間、雌に対しては交配前、交配および妊娠期間、ならびに分娩後 5 日までの期間経口投与し、雄雌動物への反復投与による影響、雄雌動物の生殖および新生児の発生に及ぼす影響について検討した。また、0（対照）および 1000 mg/kg について、雄動物は各 5 匹を選抜し、雌動物は各 5 匹を別に設け、42 日間の投与終了後 14 日間の休薬による回復性についても併せて検討した。

1. 反復投与毒性

一般状態観察では、1000 mg/kg 群において雌の 1 例で妊娠 18 日に一般状態の悪化がみられ、瀕死のため安楽死させた。その他に異常出産(死産)が 1 例みられた。

詳細な一般状態観察および尿検査では、雌雄とも変化はみられなかった。機能検査では、1000 mg/kg 群の雌の哺育 4 日に前肢の握力に低値がみられた。

体重および摂餌量では、1000 mg/kg 群の雄で投与 28 日以降の体重、体重増加量および体重増加率ならびに投与 35 および 42 日の摂餌量に低値がみられた。雌では、200 mg/kg 群で妊娠 5 日および哺育 4 日の摂餌量に低値がみられた。1000 mg/kg 群では、投与 14 日以降、妊娠、哺育期間の体重、体重増加量および体重増加率ならびに投与 7 日以降妊娠、哺育期間の摂餌量に低値がみられた。雌雄とも回復期間中の体重増加量および増加率に高値がみられ回復傾向を示した。

血液学的検査では、投与期間終了時に、200 および 1000 mg/kg群の雄で赤血球数、ヘモグロビン濃度およびヘマトクリット値の低下、1000 mg/kg群では網赤血球数の低下がみられた。雌では、200 および 1000 mg/kg群でプロトロンビン時間の短縮、1000 mg/kg群で活性化部分トロンボプラスチン時間の延長がみられた。血液化学的検査では、投与期間終了時に、雄の 200 および 1000 mg/kg 群でA/G比およびアルブミン分画比率の高値、1000 mg/kg群で総蛋白およびα_1-グロブリン分画比率の低値、ALT、ALP、総ビリルビン、尿素窒素およびγ-グロブリン分画比率の高値がみられた。雌では、200 および 1000 mg/kg群でα_1-グロブリン分画比率の低値とクロールの高値、1000 mg/kg 群でALP、尿素窒素、γ-グロブリン分画比率の高値と総コレステロールの低値がみられた。回復期間終了時には、雌雄とも回復傾向を示した。

剖検では、1000 mg/kg 群において、投与期間終了時に雌雄とも肝臓の肥大がみられた。器官重量では、投与期間終了時に 200 および 1000 mg/kg 群で雌雄とも肝臓の絶対および相対重量に高値がみられた。回復期間終了時にも 1000 mg/kg 群で同様の変化がみられた。

病理組織学的検査では、投与期間終了時に肝臓の小葉中心性肝細胞肥大が、雄では 200 および 1000 mg/kg 群で、雌では 1000 mg/kg 群でみられた。さらに、1000 mg/kg 群では、雄で小葉中心

性の肝細胞の変性/壊死、雌で限局性壊死、小肉芽腫、塊状壊死、単細胞壊死がみられた。回復期間終了時には、1000 mg/kg 群の雌雄で肝臓の小葉中心性肝細胞肥大がみられたが、グレードの低下がみられ回復傾向を示した。膵臓では、投与期間終了時に 1000 mg/kg 群の雌雄でチモーゲン顆粒の減少がみられ、回復期間終了時にも継続して認められた。また、投与期間終了時に 1000 mg/kg 群の雌雄の胸腺で皮質の萎縮がみられた。

以上の結果から、本試験条件下におけるペルフルオロオクタデカン酸の無影響量（NOEL）は雄雌ともに 40 mg/kg/day と考えられた。

2. 生殖発生毒性

妊娠、分娩、哺育状態の成績では、黄体数、着床数、出産児数、出産時の生存児数、生後 4 日の生存児数に、1000 mg/kg 群において低値がみられた。

新生児の一般状態および剖検には、変化は認められなかった。新生児の体重では、1000 mg/kg 群において生後 0、1 および 4 日に雌雄とも低値がみられた。

以上の結果から、本試験条件下におけるペルフルオロオクタデカン酸の反復投与による親動物の生殖に対する無影響量（NOEL）および新生児の発生に対する無影響量（NOEL）は 200 mg/kg/day と考えられた。

緒　言

ペルフルオロオクタデカン酸を、0（対照、0.5%CMC-Na）、40、200 および 1000 mg/kg/day の用量で、1 群雄雌各 12 匹の Crl:CD(SD) ラットに、雄に対しては交配前、交配期間および交配後を含む計 42 日間、雌に対しては交配前、交配および妊娠期間、ならびに分娩後 5 日までの期間経口投与し、雄雌動物への反復投与による影響、雄雌動物の生殖および新生児の発生に及ぼす影響について検討した。また、0（対照）および 1000 mg/kg について、雄動物は各 5 匹を選抜し、雌動物は各 5 匹を別に設け、42 日間の投与終了後 14 日間の休薬による回復性についても併せて検討した。

材料および方法

1. 被験物質

名称　　：ペルフルオロオクタデカン酸

コード名　　：PFOcDA

化学名（IUPAC）　：Perfluorooctadecanoic acid

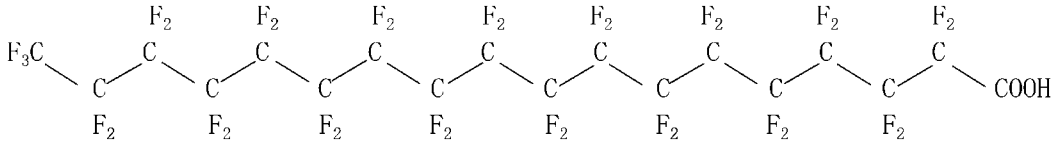
CAS No.　　：16517-11-6

官報公示整理番号　：2-2658

分子式　　：$C_{18}HF_{35}O_2$

示性式　　：$CF_3(CF_2)_{16}COOH$

構造式　　：



分子量　　：914.14

物理化学的性質　：外観　；白色粉末

融点　；162-164℃

沸点　；235℃/100 mm

純度（GC）　　：98.9%（Appendix 1-1）

不純物の名称およびその濃度：不明（データなし）

入手量　　：1 kg（関連試験と共通）

安定性および反応性：安定性；常温、常圧で安定である。
避けるべき条件；熱、粉塵の発生。
危険有害な燃焼生成物；一酸化炭素、二酸化炭素、フッ化水素。
関連試験を含め全試験操作の終了後、使用した被験物質の純度に関する分析成績を入手し、被験物質の試験期間中の安定性を確認した(Appendix 1-2)。

保存条件　　：遮光、室温（実測範囲：20～26℃）

保存場所　　：株式会社 化合物安全性研究所の被験物質保存室

取扱い上の注意　：眼、皮膚および衣服にふれないように、適切な保護具を着用した。

サンプリング　　：被験物質サンプルとして、約１ｇを採取し、試験施設の資料保存室に保存した。

残余被験物質の処置：関連試験も含めすべての試験操作終了後、焼却処分するために、産業廃棄物として回収する。

2. 媒体

名称　　：0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液（0.5%CMC-Na）

調製方法　　：日本薬局方カルメロースナトリウム（ロット番号 8806、丸石製薬株式会社）を精秤し、日本薬局方精製水（ロット番号 908108、912080、ヤクハン製薬株式会社）に、所定の濃度となるように溶解した。

保存条件　　：遮光気密容器に入れ、冷蔵（実測範囲：2.0～6.7℃）で保存した。

使用期限　　：調製後 15 日以内。

3. 投与液の調製および化学分析

調製方法　　：被験物質を正確に秤量し、所定の濃度となるように媒体（0.5%CMC-Na）を加えて懸濁した。

調製頻度　　：15 日間に１回以上の頻度で調製した。

保存条件　　：遮光気密容器に入れ、冷蔵保存（実測範囲：2.0～6.7℃）し、11 日以内に使用した。

保存場所　　：株式会社 化合物安全性研究所の検体保存室

調製上の注意　　：被験物質はクリーンベンチ内で取扱い、調製の際にはゴム手袋およびマ

スクを着用し、吸い込んだり、眼、皮膚および衣類に触れないようにした。

残余調製液の処置　：残余の投与液は、焼却処分するために産業廃棄物として回収した。

調製液の安定性および均一性：投与開始前に、1および100 mg/mLの濃度の調製液について分析を実施し、被験物質の投与液中における均一性ならびに冷蔵保存15日間（調製日を0日として起算した）および室温保存8時間後の安定性を確認した（Appendix 2-1および2-2）。

調製液の濃度確認　：被験物質の全濃度に関する投与液中における濃度を、初回および最終回調製時の計2回分析し、含有率が設定濃度の85～115%であることを確認した（Appendix 2-3および2-4）。

被験物質調製液の濃度分析方法：

1）使用機器

高速液体クロマトグラフ-質量分析計(LC-MS/MS)

	2695(LC部)	Waters Corporation
	Quattro Micro(MS/MS部)	Waters Corporation
データ処理装置	Mass Lynx V.4.0	Waters Corporation
電子天秤	xp205	METTLER TOLEDO
純水製造装置	Milli-Q Labo	日本ミリポア株式会社

2）標準物質(気密容器に入れ、冷暗所に保存)

ペルフルオロオクタデカン酸(PFOcDA)(被験物質)

Lot. No.3654　Exfluor Research Corporation

3）試薬

13C-ペルフルオロオクタン酸(13C-PFOA)(内標準物質)

Lot No.SCHG-007(50μg/mLメタノール溶液)

Cambridge Isotope Laboratories, Inc.

メタノール	高速液体クロマトグラフィー用	関東化学株式会社
酢酸アンモニウム	試薬特級	関東化学株式会社

4）調製(以下の割合で調製、調製日を0日として起算)

a）標準溶液

ペルフルオロオクタデカン酸0.010 gを正確に量りとり、100 mLメスフラスコに入れ、メタノールを加えて100μg/mL溶液を調製した。さらにこの液1 mLを正確に採取し、100 mL

メスフラスコに入れ、メタノールを加えて1μg/mL溶液を調製した（標準原液）。標準原液をメタノールで希釈し、50、100、150、200および250 ng/mL溶液を調製した。各溶液に、それぞれ100 ng/mLとなるように13C-PFOAを内標準として添加したものを標準溶液とした（検量線）。

b）試料溶液

被験物質調製液の採取点数は、濃度確認試験および安定性試験については被験物質調製液の中層付近から2点とし、均一性試験については被験物質調製液の上、中、下層付近から各2点の計6点とした。なお、均一性試験の中層の濃度を安定性試験の調製時の分析結果とした。

① 被験物質調製液を採取し、被験物質の濃度が検量線の範囲（100 ng/mL付近）となるようにメタノールで希釈した後、それぞれに100 ng/mLとなるように13C-PFOAを添加したものを試料溶液とした。

② 試料溶液の調製は、1点につき1回、LCへの注入は各1回とした。

c）移動相

① 酢酸アンモニウム0.77 gを純水1 Lに溶解し、10 mmol/L酢酸アンモニウム水溶液とした。調製後は室温で保存し、使用期限は1ヵ月とした。

② メタノールおよび純水はそのまま用い、溶媒の混合（グラジエント）はLC装置で行った。

d）オートサンプラ洗浄液

メタノールおよび蒸留水は等量混合したものを使用した。調製後は室温で保存し、使用期限は1ヵ月とした。

e）洗浄用注入液

メタノールを使用した。

5）LC条件

カラム　：Waters Atlantis dC18、3μm、2.1×150 mm

移動相　：グラジエント（下記参照）

時間(分)	純水	メタノール	10 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液
0～2	10	85	5
2～4	10～0	85～95	5
4～6	0	95	5
6～19	10	85	5

オートサンプラ洗浄液　：メタノール/蒸留水(1:1)の混合溶液

洗浄用注入液　：メタノール

カラム温度　：50℃

カラム流量　：0.2 mL/min

注入量　：5μL

オートサンプラ温度　　：20℃
イオン化モード　　：ESI－
キャピラリー電圧　　：2.0 kv
脱溶媒ガス　　：窒素
コーンガス流量　　：50 L/hr
ソース温度　　：110℃
コリジョンガス(MS/MS 部)　：ヘリウム
分析時間　　：19 分

6) システム適合性試験

測定日毎に標準溶液（100 ng/mL）を連続して 6 回注入した。ペルフルオロオクタデカン酸と 13C-PFOA の面積比および保持時間について変動係数を求めた。

7) 計算

Mass Lynx V.4.0 を用いて、各標準物質および内標準物質の（子イオンの）ピーク面積を求め、それぞれのピークの面積比（RES）と濃度から検量線を作成した。検量線から各試料溶液の被験物質濃度を求め、さらに変動係数、含有率および残存率を以下の式より算出した。

MS/MS によるモニターイオン

	親イオン	子イオン
ペルフルオロオクタデカン酸	913.1	868.9
13C-ペルフルオロオクタン酸	421	376

$$\text{面積比(RES)} = \frac{\text{測定対象物質(または標準物質)のピーク面積}}{\text{内標準物質のピーク面積}}$$

$$\text{被験物質濃度(mg/mL)} = \frac{\text{測定濃度(ng/mL)} \times \text{希釈係数}}{1,000,000}$$

$$\text{変動係数(\%)} = \frac{\text{標準偏差}}{\text{平均値}} \times 100$$

$$\text{含有率(\%)} = \frac{\text{被験物質濃度平均値}}{\text{調製液の表示濃度}} \times 100$$

$$\text{残存率(\%)} = \frac{\text{保存後の被験物質濃度平均値}}{\text{調製時の被験物質濃度平均値}} \times 100$$

8) 数値の表示

a) 標準溶液の濃度は秤量値より算出し、四捨五入して有効数字 3 桁に丸めた（計算値）。

b) 調製液の被験物質濃度は四捨五入して有効数字3桁に丸めた。ただし、3桁以上の整数となる場合は小数点以下第1位を四捨五入し、整数で表示した。

c) 変動係数、含有率および残存率は四捨五入して小数点以下第1位に丸めた。

9) 判定基準

a) 濃度確認試験：含有率が85～115%の場合を適とした。

b) 安定性試験　：残存率が85～115%の場合を適とした。

c) 均一性試験　：変動係数が5%以下の場合を適とした。

d) システム適合性試験：変動係数が2%以下の場合を適とした。

4. 試験方法

(1) 試験系

種・系統　：ラット、Crl:CD(SD)

微生物統御　：SPF

生産業者　：日本チャールス・リバー株式会社 厚木飼育センター

微生物モニタリング：動物生産業者よりデータを入手した。

動物選定理由　：ラットはこの種の試験で通常用いられている動物種であり、繁殖成績が安定していることと当研究所における背景対照データが利用できることから、この系統を選定した。

発注動物数　：雄52匹、雌62匹

受入動物数　：雄54匹、雌64匹

発注動物週齢　：雌雄とも8週齢

出荷体重基準　：雄は240～330 g、雌は160～230 g

受入時体重範囲　：雄は244～283 g、雌は187～232 g

投与開始時週齢　：雌雄とも10週齢

群数　：雌雄各6群（主試験群 雌雄各4群、回復群 雌雄各2群）

各群動物数　：主試験群 雌雄各12匹、回復群 雌雄各5匹

(2) 検疫および馴化

検疫方法　：一般状態を1日1回観察し、体重を動物受入日、検疫および馴化8日ならびに検疫および馴化期間終了日（投与開始前々日）に測定した。検疫および馴化期間中、一般状態の観察で雌の1例に赤色尿がみられ、この動物は群分けに使用しなかった。その他の動物には異常はみられなかった。

性周期検査　　：雌動物について、群分け前の９日間に膣垢スメア塗抹法により性周期検査を行った。検査結果に異常はみられなかった。

期間　　：13 日間

(3) 群分け

検疫および馴化期間終了日（投与開始前々日）に、一般状態の観察で赤色尿がみられた雌1例を除くすべての動物の体重に基づいて、層化無作為抽出法により各群の平均体重が均一になるように群分けを行った。これらの動物の体重範囲は、雄で 350～407 g、雌で 233～278 g であり、平均体重（雄、373.6 g；雌、255.8 g）の±20%以内であった。選択された動物の投与開始前日の一般状態の観察では、異常はみられなかった。選抜から外れた動物は試験から除外後、エーテル麻酔下で放血により安楽死させた。

(4) 動物およびケージの識別

動物　　：群分け前は油性フェルトペンで尾部に印を付け、個体識別を行った。
群分け後は耳介に動物番号を入れ墨し、個体識別を行った。
新生児については、個体の識別は行わなかった。

飼育ケージ　　：群分け前は性別毎に色分けしたラベルに試験番号および受人時の動物番号を明記し、各ケージの前面に標示した。
群分け後は性別毎に色分けしたラベルに試験番号、試験群および群分け後の動物番号を明記し、各ケージの前面に標示した。

(5) 動物飼育

1) 飼育環境

飼育室番号　　：310 号室

温度・湿度　　：22±3℃，50±20%（実測範囲 19～25℃、24～57%、湿度の下限の逸脱はボイラーの停止による）

換気回数　　：10～15 回／時間

照明時間　　：人工照明 12 時間（8：00～20：00）

2) 飼育器材および飼育方法

ケージの種類　　：ブラケット式金属製金網床ケージ（300W×410D×200H，mm）
ただし、交尾成立雌動物については妊娠 17 日から哺育 4 日まで同ケージの金網床を小型受皿に代えて実験動物用床敷（ホワイトフレーク、日本チャールス・リバー株式会社）を使用して分娩と哺育を行わせた。

1ケージあたりの収容動物数：

検疫および馴化期間中は2匹ずつ、群分け後は1匹、交配期間中は雌雄各1匹、分娩後は1腹を収容した。

ケージおよび給餌器の交換：

群分け時に1回実施し、その後は2週に1回の頻度で交換した。ただし、交尾成立雌動物については妊娠0日および14日に実施した。

受皿交換　：週2回洗浄滅菌済みのものと交換した。

自動給水装置の水抜き：週1回実施した。

給水器の交換　：尿検査時にのみ用いた。

小型受皿の交換　：妊娠20日に実施した。

室内の清掃および清拭消毒：

1日1回実施した。清拭消毒に際しては、塩素系消毒薬およびヨウ素系消毒薬を1週間単位で交互に使用した。

3) 飼料

種類・名称　：固型飼料、CRF-1

ロット番号　：090902、091005、091104

製造業者　：オリエンタル酵母工業株式会社

給餌方法　：金属製給餌器を用いて自由に摂取させた。

ただし、剖検前日の夕刻からは全例を絶食させた。

汚染物質および微生物検査：

試験に悪影響を及ぼす恐れのある汚染物質の分析あるいは微生物検査を、使用した各ロットの飼料について実施した。汚染物質の分析はEurofins Analytics社が、成分分析と微生物検査は飼料製造業者がそれぞれ行った。分析データを飼料製造業者からロット毎に入手した。分析項目と許容値は株式会社 化合物安全性研究所の標準操作手順書に準拠した。分析の結果、いずれの項目にも規定された許容値を超える値は認められなかった（Appendix 3-1-1～3-1-3および3-2-1～3-2-3)。

4) 飲料水

種類　：札幌市水道水

給水方法　：自動給水装置を用いて自由に摂取させた。ただし、尿検査時は給水器を用いた。

汚染物質検査　：試験に悪影響を及ぼす恐れのある汚染物質の分析を、2009年10月1日、2010年1月4日および2010年4月1日に、当該飼育室と同系

統配管の最末端（306 号室）から試料を採取して実施した。分析は日本衛生株式会社において行い、分析データを入手した。分析項目と許容値は株式会社 化合物安全性研究所の標準操作手順書に準拠した。分析の結果、いずれの項目にも規定された許容値を超える値は認められなかった（Appendix 4-1～4-3）。

(6) 被験物質の投与

1) 投与量の設定

投与量　：0（媒体のみ）、40、200 および 1000 mg/kg/day とした。

設定理由　：先に実施した予備試験（ＳＲ０６１６９Ｐ）(投与量：0、30、100、300 および 1000 mg/kg/day、雌雄各 4 匹/群、2 週間反復経口投与)[1]の結果、1000 mg/kg群において雌の体重増加量および増加率ならびに摂餌量の低値または低値傾向がみられた。血液化学的検査では、雄の 1000 mg/kg群で、AST、ALT、アルカリホスファターゼおよび尿素窒素に有意な高値、トリグリセリドに有意な低値がみられた。また、総コレステロールに低値傾向がみられた。雌では、1000 mg/kg群で総コレステロールに有意な低値、尿素窒素に有意な高値がみられた。肝臓重量の増加が、雄では 300 mg/kg以上の投与群で、雌では 1000 mg/kg群でみられた。剖検では 1000 mg/kg群の雄で肝臓の肥大が 3 例にみられた。100 および 30 mg/kg群では被験物質投与に関連すると思われる変化は認められなかった。したがって、本試験では投与期間の延長を考慮して、1000 mg/kg/dayを最高用量とし、以下公比 5 で除して 200 および 40 mg/kg/dayを設定した。そのほかに媒体のみを同様の方法で投与する対照群を設けた。

試験群の構成

試験群	投与量 (mg/kg)	濃度 (mg/mL)	動物数（動物番号） 雄	雌
＜主試験群＞				
対照群	0	0	12（101～112）	12（151～162）
低用量群	40	4	12（201～212）	12（251～262）
中用量群	200	20	12（301～312）	12（351～362）
高用量群	1000	100	12（401～412）	12（451～462）
＜回復群＞				
対照群	0	0	5（103, 105, 107, 108, 110）	5（163～167）
高用量群	1000	100	5（405, 406, 407, 408, 411）	5（463～467）

対照群の動物には、被験物質投与群と同様の方法で媒体のみを投与した。
回復群の雄は、主試験群から交配期間終了後に投与 28 日の体重に基づいて、全体の平均値に近似するよう集団の中央値の周辺に位置する動物を各群から 5 匹ずつ選抜した。

2）投与

投与方法および投与経路：ディスポーザブル胃ゾンデおよびディスポーザブルシリンジを用いて強制的に胃内に経口投与した。

投与回数　：1 日 1 回、連日投与した。

投与時刻　：9：00～11：56
ただし、上記投与時刻に分娩中の母動物には、分娩終了後 12：10 までの間に投与した。

投与期間　：雄；交配 14 日前より 42 日間
雌；交配前 14 日間および交尾成立までの交配期間、さらに交尾成立例は妊娠期間および分娩後 5 日（哺育 0 日を分娩後 0 日として起算）までの期間、妊娠 25 日まで分娩が認められない交尾成立例については妊娠 25 日までの期間
回復群については 42 日間

回復期間　：投与期間終了後 14 日間

投与容量　：10 mL/kg とした。各個体の投与液量は投与日に最も近い測定日の体重に基づいて算出した。

投与方法、投与経路、投与回数および投与期間の選定理由：
試験法ガイドラインを参考にした。

(7) 観察、測定および検査項目

Ⅰ．反復投与毒性

投与開始日を投与 1 日と起算し、さらに、主試験群の雌は交尾成立日を妊娠 0 日、分娩終了日を哺育 0 日、回復群の雌雄は投与 42 日の翌日を回復 1 日と起算した。

1) 一般状態観察

例数　：全例

期間　：投与 1 日から剖検日まで。

頻度　：投与期間中は投与前および投与後の 1 日 2 回、回復期間中は午前および午後の 1 日 2 回、剖検日は午前中に 1 回観察した。

観察方法　：個々の動物の生死、外観、行動等について観察した。異常が認められる場合は、その症状ならびに症状の持続期間を記録した。衰弱の著しい動物はエーテル麻酔下で放血して安楽死させた後剖検した。

2) 詳細な一般状態観察

例数　：全例

時期　：投与開始前ならびに投与 7、14、21、28、35 および 42 日。なお、主試験群の一部の雌では交配期間が長引いたため、動物番号 452 は投与 49 日、動物番号 461 は投与 49 および 56 日にも観察したが、異常は認められなかった。

回復群の動物については、回復 7 および 14 日。

観察方法　：あらかじめ定めたスコアリング基準を用いてスコア化した観察結果を記録した。

観察項目およびその方法：

①姿勢、眼瞼閉鎖、呼吸、振戦・痙攣、常同行動（回転・旋回）、異常行動（自傷）をケージ外から観察した。

②取り出し易さ、扱い易さ、筋緊張、立毛、被毛の状態、皮膚、眼球突出、瞳孔径、可視粘膜、流涙、流涎、体温について、ケージから取り出す時に観察した。

③痙攣、歩行、覚醒状態、排尿、排糞、常同行動（毛繕い・匂嗅ぎ）、異常行動（後方突進・発声）、呼吸について、オープンフィールド内で観察した。

3) 機能検査

例数　：各群の体重の平均値に近似するように選抜した雄(回復群を含む)および回復群の雌の各群 5 例ならびに主試験群の雌の分娩日の早いものから順に選抜した各群 5 例。

時期　　：投与６週（投与40日）および回復２週（回復８日）。
主試験群の雌は哺育４日。

観察／測定方法　　：あらかじめ定めたスコアリング基準を用いてスコア化した観察結果あるいは測定機器による測定値を記録した。

観察項目およびその方法：

①刺激に対する感覚運動反応：検査台上で以下を観察した。
視覚（接近反応）、触覚（接触反応）、聴覚（音に対する反応）、痛覚（尾根部を挟む）、固有受容反応（強制姿勢からの復帰）、空中正向反射。

②握力：CPUゲージ（アイコーエンジニアリング株式会社）を用いて前肢および後肢の握力を各３回測定し、１ｇ単位で記録した。

③自発運動量：自発運動量測定システム（スーパーメックスおよびCompACT AMS、室町機械株式会社）を用いて、上記①および②に引続き、10分間隔で１時間測定した。

4）体重測定

例数　　：全例

測定日　　：投与1、3、5、7、10、14、21、28、35および42日の投与前、回復7および14日ならびに剖検日。
主試験群の雌は投与1、3、5、7、10、14日の投与前、妊娠0、1、3、5、7、10、14、17および20日の投与前、哺育0、1および4日の投与前ならびに剖検日。また衰弱による安楽死例については、安楽死させた日の体重を記録した。

測定方法　　：電子式上皿天秤（GX-2000、株式会社エー・アンド・デイ）を用いて測定し、１ｇ単位で記録した。

体重増加量および体重増加率：

以下の式により算出した。

〈雄および回復群の雌〉

投与期間；

体重増加量(g)＝　投与42日体重(g)－投与1日体重(g)

$$体重増加率(\%)=\frac{体重増加量(g)}{投与1日体重(g)}\times 100$$

回復期間；

体重増加量(g)＝　回復14日体重(g)－投与42日体重(g)

$$体重増加率(\%)=\frac{体重増加量(g)}{投与42日体重(g)}\times 100$$

〈主試験群の雌〉

妊娠前投与期間；

体重増加量(g)＝　投与 14 日体重(g)－投与 1 日体重(g)

$$体重増加率(\%)=\frac{体重増加量(g)}{投与1日体重(g)}\times 100$$

妊娠期間；

体重増加量(g)＝　妊娠 20 日体重(g)－妊娠 0 日体重(g)

$$体重増加率(\%)=\frac{体重増加量(g)}{妊娠0日体重(g)}\times 100$$

哺育期間；

体重増加量(g)＝　哺育 4 日体重(g)－哺育 0 日体重(g)

$$体重増加率(\%)=\frac{体重増加量(g)}{哺育0日体重(g)}\times 100$$

5）摂餌量測定

例数　：全例

測定日　：雌雄とも剖検日および交配期間を除き、体重測定と同じ日に実施した。ただし、主試験群の雌については、妊娠 20 日は残量、哺育 0 日は給与量のみを測定した。

測定方法　：電子式上皿天秤（GX-2000、株式会社エー・アンド・デイ）を用いて測定し、1 g 単位で記録した。投与開始前日に適当量を測定後ケージ毎に給与し、その後は測定日に残量および給与量を測定した。ただし、最終回の測定は残量のみとした。

以下の式により、摂餌量（g/rat/day）を算出した。

$$摂餌量(g/rat/day)=\frac{給与量(g/rat)-残量(g/rat)}{測定日間の日数(day)}$$

6）尿検査

例数　：雄は機能検査と同一の各群 5 例について、雌は回復群の各群 5 例

時期　：投与 6 週（投与 36～37 日）および回復 2 週（回復 12～13 日）。

採尿方法　：非絶食下でラット用代謝ケージ（KN-646、B-1 型、株式会社夏目製作所）を用いて採尿し、投与直後から約 3 時間の蓄尿で①～⑧を、また約 21 時間の蓄尿で⑨および⑩を実施した。採取した尿は検査終了後廃棄した。

検査項目および検査方法：

①pH	試験紙法
②蛋白(Protein)	試験紙法
③糖　(Glucose)	試験紙法
④ケトン体(Ketone body)	試験紙法
⑤ウロビリノーゲン(Urobilinogen)	試験紙法
⑥ビリルビン(Bilirubin)	試験紙法
⑦潜血反応(Occult blood)	試験紙法
⑧色調(Color)	肉眼観察
⑨尿量(Urine Volume)	容量測定
⑩比重(Specific gravity)	屈折計法

①～⑦ マルティスティックス、シーメンスヘルスケア･ダイアグノスティクス
⑩ 尿比重屈折計ユリコン-S、アタゴ

7) 血液学的検査

例数　：各群 5 例（主試験群の雄は機能検査に用いた動物以外から動物番号の若い順に選抜した。主試験群の雌は機能検査と同一例、回復群は全例。）

時期　：剖検時（主試験群の雄は投与 42 日の翌日、雌は分娩後 6 日、回復群は回復 14 日の翌日）に採血した。

採血方法　：16～21 時間の絶食下でラットをエーテル麻酔し、腹部大動脈より採血した。検査項目のうち、①～⑩についてはEDTA･2K（ベノジェクトⅡ真空採血管、テルモ株式会社）で処理した血液約 1 mL を用い、⑪および⑫については3.8%クエン酸ナトリウムで処理した血液約1～2 mL を、3500 回転/分で 10 分間の遠心分離して得られた血漿を用いた。得られた血液および血漿は検査終了後廃棄した。なお、白血球塗抹標本（May-Grünwald-Giemsa 染色）を作製し、保存した。白血球の分布異常はみられなかったため、白血球塗抹標本の鏡検は行わなかった。

検査項目および検査方法：

①赤血球数(RBC)	電気抵抗検出法
②ヘマトクリット値(HCT)	電気抵抗検出法
③ヘモグロビン濃度(HGB)	SLS ヘモグロビン法
④平均赤血球容積(MCV)	RBC, HCT 値より算出
⑤平均赤血球ヘモグロビン量(MCH)	RBC, HGB 値より算出
⑥平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)	HCT, HGB 値より算出
⑦網赤血球数(Reticulocyte)	フローサイトメトリー法
⑧血小板数(Platelet)	電気抵抗検出法
⑨白血球数(WBC)	フローサイトメトリー法
⑩白血球分画 (Differential count of WBC)	フローサイトメトリー法
⑪プロトロンビン時間(PT)	トロンボプラスチン法
⑫活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)	エラジン酸法

①～⑩ 自動血球分析装置 XT-2000 iV、シスメックス
⑪⑫ 血液凝固自動測定装置 KC4 デルタ、トリニティ・バイオテック

8) 血液化学的検査

例数　：血液学的検査と同一の各群 5 例

時期　：剖検時に採血した。

採血方法　：16～21 時間の絶食下でラットをエーテル麻酔し、腹部大動脈より採血した。検査項目のうち、①および⑤については、血液 1 mL あたりヘパリンナトリウム（ヘパリンナトリウム注 N「味の素」、1000 単位/mL、味の素株式会社）約 20 単位で処理後、3500 回転/分で 10 分間の遠心分離で得られた血漿を用いて検査した。他の項目については分離剤入り試験管（セパクリーン A、栄研器材株式会社）に血液を採取し、3500 回転/分で 10 分間の遠心分離で得られた血清を用いて検査した。得られた血漿および血清は検査終了後-20℃以下で凍結保存し、最終報告書提出後廃棄する。

検査項目および検査方法：

①AST	JSCC 法
②ALT	JSCC 法
③アルカリホスファターゼ(ALP)	JSCC 法
④γ-GTP	L-γ-グルタミル-3-カルボキシ-4-ニトロアニリド基質法
⑤グルコース(Glucose)	ヘキソキナーゼ法
⑥総コレステロール(T-Cho)	酵素法
⑦トリグリセリド(TG)	遊離グリセロール消去法
⑧総ビリルビン(T-Bil)	アゾビリルビン法
⑨尿素窒素(UN)	ウレアーゼ・GLDH 法
⑩クレアチニン(Crea)	Jaffé 法
⑪ナトリウム(Na)	イオン選択電極(ISE)法
⑫カリウム(K)	イオン選択電極(ISE)法
⑬クロール(Cl)	イオン選択電極(ISE)法
⑭カルシウム(Ca)	OCPC 法
⑮無機リン（IP)	Fiske-Subba Row 法
⑯総蛋白(TP)	ビウレット法
⑰蛋白分画(Protein fraction)	セルロースアセテート膜電気泳動法
⑱A/G 比(A/G ratio)	蛋白分画より算出
⑲アルブミン(Albumin)	総蛋白と蛋白分画より算出

①～⑯ 自動分析装置 7080 形、日立ハイテクノロジーズ
⑰ 自動電気泳動装置 AES320、三島オリンパス

9) 剖検

例数　：全例

時期　：主試験群の雄は投与 42 日の翌日、雌の分娩例は分娩後 6 日（哺育 4

日の翌々日）に、妊娠25日まで分娩が認められない交尾成立例は妊娠26日に、異常出産（死産）例は哺育1日に、回復群は雄雌とも回復14日の翌日に剖検した。衰弱例は安楽死させた日に剖検した。

検査方法　：体外表を観察し、エーテル麻酔下で採血後、放血により安楽死させ、全身の器官・組織を肉眼的に観察した。検査終了後、以下の器官・組織を10%中性緩衝ホルマリンに固定・保存した。なお、眼球およびハーダー腺はデビッドソン液で固定・保存し、精巣および精巣上体はブアン液で固定、70%エタノールに保存した。肺については固定液を注入後浸漬固定した。左右のある器官については原則として左右とも固定・保存した。

器官・組織名　：脳（大脳、小脳および脳橋）、脊髄、下垂体、胸腺、甲状腺（上皮小体を含む）、副腎、脾臓、心臓、食道、胃、肝臓、膵臓、十二指腸、空腸、回腸（パイエル板を含む）、盲腸、結腸、直腸、気管、肺、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精嚢（凝固腺含む）、卵巣、子宮（角部および頸部）、眼球およびハーダー腺、乳腺（右腹部）、大腿骨（骨髄を含む、右）、腸間膜リンパ節、顎下リンパ節、坐骨神経および肉眼的異常部位（正常組織との境界部含む）。

10）器官重量測定

例数　：血液学的検査と同一の各群5例。
精巣および精巣上体については全例。

時期　：剖検時

測定方法　：電子式上皿天秤（ER-180A、株式会社エー・アンド・デイ）を用いて以下の器官について重量を測定した。左右のある器官については、左右併せて測定した。

検査器官　：脳、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、胸腺、精巣、精巣上体、卵巣

相対重量の算出　：以下の式から相対重量を算出した。

$$相対重量(\%) = \frac{絶対重量(g)}{剖検日体重(g)} \times 100$$

11）病理組織学的検査

例数　：剖検時に固定・保存した全例の全器官・組織について標本作製を実施し、対照群および高用量群の雌雄それぞれ5例（血液学的検査と同一例）ならびに試験途中で安楽死させた例（動物番号456）について鏡検した。また、主試験群の精巣の精子形成について精査した。さらに、膵臓、肝臓、脾臓および胸腺については、高用量群で病理

組織学的異常がみられたため全投与群の全例を検査した。また、剖検で異常がみられた部位の検査を実施した：対照群；精巣・精巣上体の小型（動物番号 106）、40 mg/kg 群；精巣・精巣上体の小型（動物番号 207）、腎盂拡張（動物番号 211）、腺胃粘膜の赤色化（動物番号 258）：200 mg/kg 群；精巣上体の黄白色斑（動物番号 309）、精巣・精巣上体の小型（動物番号 310）：1000 mg/kg 群；精巣上体の黄白色斑（動物番号 406）、腺胃粘膜の黒色斑（動物番号 451、456）、子宮頸部の暗褐色ゼリー状物質貯留（動物番号 454）、脱毛（動物番号 464、465）。

検査方法　：パラフィン包埋後薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製して鏡検した。なお、所見の確定のため、肝臓ではベルリン青染色および Oil red O 染色、脾臓ではベルリン青染色標本を追加作製した。さらに、動物番号 109 の眼球についてベルリン青染色標本を追加作製した。

Ⅱ．生殖発生毒性

1）性周期検査

例数　：雌の全例

期間　：投与開始日から主試験群は交尾成立まで、回復群は回復 14 日の翌日の剖検日までの連日。

方法　：ギムザ染色による膣垢塗抹標本を作製し、光学顕微鏡下で性周期段階を観察した。

判定　：性周期の各段階（発情前期、発情期、発情後期および発情休止期）を 4 日から 6 日の間隔で繰返すものを正常と判定し、発情期間隔を算出した。発情休止期が 7 日以上継続してみられる例は連続非発情とし異常と判定した。

2）生殖能検査

例数　：主試験群の雌雄の全例

時期、方法　：投与 14 日を交配開始日、交配開始日の翌日を交配 1 日とし、交配開始日の夕刻から、同試験群内の雌雄 1 対を交尾が確認されるまで 14 日間を限度として連続同居させた。ただし、14 日間の交配期間中に交尾が確認されなかった雌は、既に交尾が確認された同じ群の雄と、交尾が確認されるまでさらに連続同居させた。

交配組み合せ　：無作為組み合せ

交尾成立の確認方法：膣内または受皿上に落下した膣栓、あるいは膣垢スメア標本中の精子確認により判定した。いずれかが認められた日を妊娠０日とした。

次式から群毎に交尾率を算出した。

$$交尾率(\text{Copulation index、\%}) = \frac{交尾した雄/雌の数}{同居させた雄/雌の数} \times 100$$

受胎能　：妊娠の確認を分娩の有無および剖検時に子宮内の着床痕の計数により行った。

次式から群毎に受胎率を算出した。

$$受胎率(\text{Fertility index、\%}) = \frac{受胎動物数}{交尾した雄/雌の数} \times 100$$

3) 分娩および哺育状態観察

例数　：受胎した雌の全例

分娩観察　：交尾が確認された雌動物は全例自然分娩させた。

分娩状態を妊娠21日から25日まで、毎日少なくとも3回（9：00、13：00および17：00）観察した。

分娩終了の確認　：9：00に母動物が児を巣の中に集めて腹の下に抱え込んでいるのが観察された場合に分娩終了とし、その日を哺育０日（生後０日）とした。1匹以上の生存児を出産したものを正常出産とした。出産児が全て死亡している場合（死産）は異常出産とした。

次式から群毎に出産率を算出した。

$$出産率(\text{Gestation index、\%}) = \frac{生児出産雌数}{妊娠雌数} \times 100$$

出産児の観察　：生後０日に正常に出産した腹毎に生存児数と死亡児数とを計数し、それらの合計を出産児数とした。

次式から腹毎に出生率を算出した。

$$出生率(\text{Live birth index、\%}) = \frac{出産時生存児数}{出産児数} \times 100$$

出産児の性比の算出：生後０日に個々の児動物の性を肛門と生殖突起の間の長さで判定した。死亡児も含めた生後０日の全出産児、死亡例を含めない生後０日の生存児ならびに生後４日の生存児を対象として以下を算出した。

$$生後0日の全出産児の性比(\text{Sex ratio}) = \frac{雄出産児数}{雄出産児数＋雌出産児数}$$

$$生後0日の生存児の性比(\text{Sex ratio}) = \frac{雄生存児数}{雄生存児数＋雌生存児数}$$

$$生後4日の生存児の性比(Sex\ ratio) = \frac{雄生存児数}{雄生存児数＋雌生存児数}$$

妊娠期間の算出　：妊娠0日から哺育0日までの期間の日数を計数した。

分娩率の算出　：剖検時に各雌の子宮内の着床痕を肉眼的に計数した。

次式から腹毎に分娩率を算出した。

$$分娩率(Delivery\ index、\%) = \frac{出産児数}{着床数} \times 100$$

着床率の算出　：剖検時に各雌の卵巣の黄体数を計数した。

次式から腹毎に着床率を算出した。

$$着床率(Implantation\ index、\%) = \frac{着床数}{黄体数} \times 100$$

哺育4日の哺育率の算出：次式から群毎に算出した。

$$哺育率(Nursing\ index、\%) = \frac{哺育4日に生存児を持つ雌数}{生児出産雌数} \times 100$$

4) 新生児の一般状態観察および生存率

例数　：全例

頻度　：1回／日

期間　：生後0日から生後4日（剖検日）までとした。

観察方法　：生存または死亡を確認し、一般状態および外表について観察した。

なお、死亡例は発見後速やかに剖検し、Whole body を10%中性緩衝ホルマリン液で固定･保存した。

生後4日の新生児生存率の算出：

次式により1腹単位で算出した。

$$新生児生存率\ (Viability\ index、\%) = \frac{生後4日の生存児数}{出産時生存児数} \times 100$$

5) 新生児の体重測定

例数･時期　：生存児全例について、生後0、1および4日に実施した。

測定方法　：電子式上皿天秤（GX-2000、株式会社エー・アンド・デイ）を用いて雌雄別に1腹まとめて測定し、0.1 g まで記録した。

雌雄毎に腹当たりの平均体重を求めた。

6) 新生児の剖検

時期･例数　：生後4日に全例について実施した。

検査方法　：体外表（口腔内を含む）を観察し、二酸化炭素吸入法により安楽死

させ、全身の器官･組織を肉眼的に観察した。異常例については、Whole body を 10%中性緩衝ホルマリン液に固定・保存した。

5. 統計学的方法

握力、自発運動量、体重、体重増加量および増加率、摂餌量、尿量、血液学的検査、血液化学的検査、器官の絶対重量および相対重量、発情期間隔、黄体数、着床数および着床率、出産児数、出産時の生存児数および死亡児数、分娩率、出生率、性比、妊娠期間、生後 4 日の生存児数および新生児生存率の成績について平均値および標準偏差を算出し、Bartlett の検定法を行い、等分散性を解析した。等分散の場合は一元配置分散分析法で解析し、不等分散の場合は Kruskal-Wallis の検定法で解析した。一元配置分散分析の結果、有意差がみられた場合は Dunnett の検定法を用いて対照群との比較を行った。Kruskal-Wallis 法の解析の結果、有意差がみられた場合は Mann-Whitney の U-検定法を用い対照群との比較を行った。新生児の出生率、性比、新生児生存率および雄雌別体重については、1 腹を標本単位として処理した。

詳細な一般状態観察および機能検査の観察項目、尿検査の定性的項目、尿比重ならびに病理組織学的検査のうち 2 段階以上のグレードが認められた所見については、群毎の傾向を Kruskal-Wallis の検定法で解析し、有意差がみられた場合は Mann-Whitney の U-検定法を用いて対照群との比較を行った。

正常性周期の雌の出現率、交尾率、受胎率、出産率、哺育 4 日の哺育率、ならびに病理組織学的検査のうち 1 段階のグレードが認められた所見については、多試料カイ二乗検定を行い、その結果有意差が認められた場合には 2 試料カイ二乗検定で対照群との比較を行った。ただし、2 試料カイ二乗検定に不適合の場合には Fisher の直接確率検定法を用いた。

対照群との比較検定については、有意水準は 5%とした。統計学的方法に関する表示方法を Appendix 5 に示す。

成　績

Ⅰ．反復投与毒性

1. 一般状態

一般状態の成績をTable 1および2、INDIVIDUAL DATA 1-1-1～1-3-2に示す。

(1) 主試験群雄

対照群では異常は認められなかった。40 mg/kg群では赤色尿が1例に観察された。200および1000 mg/kg群では異常は観察されなかった。

(2) 主試験群雌

対照群、40および200 mg/kg群では異常は認められなかった。1000 mg/kg群では、1例に妊娠18日に膣からの出血、体温低下、自発運動の低下、蒼白が観察され、瀕死のため安楽死させた。その他に異常出産(死産)が1例みられた。

(3) 回復群雄

回復期間中、対照群および1000 mg/kg群の動物には異常は認められなかった。

(4) 回復群雌

対照群では、投与期間および回復期間中に異常は認められなかった。1000 mg/kg群では、投与期間および回復期間中に脱毛が2例みられた。

2. 詳細な一般状態観察

詳細な一般状態観察の成績をTable 3-1～3-3および4-1-1～4-2-3、INDIVIDUAL DATA 2-1-1～2-18-6、スコアリングの基準をAppendix 6に示す。

(1) 主試験群雄

投与期間中の観察では、いずれの項目にも40、200および1000 mg/kg群と対照群の間に有意な差はみられなかった。

(2) 主試験群雌

投与期間中の観察では、いずれの項目にも40、200および1000 mg/kg群と対照群の間に有意な差はみられなかった。

(3) 回復群雄

1000 mg/kg群の回復期間中の観察では、いずれの項目にも対照群と比較して有意な差はみられなかった。

(4) 回復群雌

1000 mg/kg群の投与期間および回復期間中の観察では、いずれの項目にも対照群と比較して有意な差はみられなかった。

3. 機能検査

機能検査の成績をTable 5および6、INDIVIDUAL DATA 3-1-1～3-10-2、スコアリングの基準をAppendix 7に示す。

(1) 主試験群雄

投与6週の検査では、いずれの項目にも被験物質各投与群と対照群の間に有意な差はみられなかった。

(2) 主試験群雌

哺育4日の検査では、1000 mg/kg群で前肢の握力に対照群と比較して有意な低値がみられた。自発運動量の測定では、200 mg/kg群で測定開始後10-20分に有意な低値がみられたが、用量相関性がみられないことから偶発的な変動と考えられた。

(3) 回復群雄

回復2週の検査では、いずれの項目にも1000 mg/kg群と対照群の間に有意な差はみられなかった。

(4) 回復群雌

投与6週および回復2週の検査では、いずれの項目にも1000 mg/kg群と対照群の間に有意な差はみられなかった。

4. 体重推移

体重推移をFigure 1～3、Table 7～11、INDIVIDUAL DATA 4-1-1～4-5-4に示す。

(1) 主試験群雄

40および200 mg/kg群では体重推移、体重増加量および体重増加率のいずれにも対照群と比較して有意な差はみられなかった。1000 mg/kg群では、投与28日以降剖検日まで体重が有意に低く、投与1-42日の体重増加量および体重増加率に有意な低値がみられた。

(2) 主試験群雌

40および200 mg/kg群では、交配前、妊娠および哺育期間中を通して体重推移、体重増加量および体重増加率に対照群と比較して有意な差はみられなかった。1000 mg/kg群では、交配前の投与14日以降、妊娠、哺育期間を通じて体重の有意な低値がみられ、投与1-14日、妊娠0-20日および哺育0-4日の体重増加量および体重増加率はいずれも有意な低値であった。

(3) 回復群雄

1000 mg/kg群では、回復期間中の体重は対照群と比較して有意な低値であったが、体重増加量および体重増加率に高値傾向がみられた。

(4) 回復群雌

1000 mg/kg群では、投与14日以降剖検日まで体重が有意に低く、投与1-42日の体重増加量および体重増加率に有意な低値がみられた。休薬後、回復期間中の体重は対照群と比較して有

意な低値であったが、体重増加量に高値傾向、体重増加率に有意な高値がみられた。

5. 摂餌量

摂餌量を Figure 4～6、Table 12～16、INDIVIDUAL DATA 5-1-1～5-5-4 に示す。

(1) 主試験群雄

40 および 200 mg/kg 群では、対照群と比較して有意な差はみられなかった。1000 mg/kg 群では、投与 35 および 42 日に有意な低値がみられた。

(2) 主試験群雌

40 mg/kg 群では、交配前、妊娠および哺育期間中を通して有意な差はみられなかった。200 mg/kg 群では、妊娠 5 日および哺育 4 日に有意な低値がみられた。1000 mg/kg 群では、投与 7 日以降、妊娠および哺育期間を通じて低値で推移し、妊娠 1 および 20 日以外は有意な低値であった。

(3) 回復群雄

1000 mg/kg 群では、回復期間中に対照群と比較して有意な差はみられなかった。

(4) 回復群雌

1000 mg/kg 群では、投与 14、21、28 および 35 日に対照群と比較して有意な低値がみられたが、回復期間中は有意な差はみられなかった。

6. 尿検査

尿検査の成績を Table 17～20、INDIVIDUAL DATA 6-1-1～6-4-2 に示す。

(1) 主試験群雄

投与 6 週の検査では、いずれの項目にも被験物質投与群と対照群の間で有意な差はみられなかった。

(2) 回復群雄

1000 mg/kg 群の回復 2 週の検査では、いずれの項目にも対照群と比較して有意な差はみられなかった。

(3) 回復群雌

1000 mg/kg 群の投与 6 週および回復 2 週の検査では、いずれの項目にも対照群と比較して有意な差はみられなかった。

7. 血液学的検査

血液学的検査の成績を Table 21～24、INDIVIDUAL DATA 7-1-1～7-4-4 に示す。

(1) 主試験群雄

投与期間終了時には、40 mg/kg 群ではいずれの検査項目にも対照群と比較して有意な差はみられなかった。200 mg/kg 群では、赤血球数、ヘモグロビン濃度(HGB)およびヘマトクリット値

(HCT)に有意な低値がみられた。1000 mg/kg 群では、赤血球数、ヘモグロビン濃度(HGB)、ヘマトクリット値(HCT)および網赤血球数に有意な低値がみられた。

(2) 主試験群雌

投与期間終了時には、40 mg/kg 群ではヘモグロビン濃度(HGB)およびヘマトクリット値(HCT)に有意な高値がみられたが、用量相関性のない変化であった。200 mg/kg 群ではプロトロンビン時間(PT)の有意な短縮がみられた。1000 mg/kg 群では、プロトロンビン時間(PT)の有意な短縮と活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)の有意な延長がみられた。また、白血球分画の好塩基球数に有意な高値がみられた。

(3) 回復群雄

回復期間終了時の 1000 mg/kg 群では、赤血球数、ヘモグロビン濃度(HGB)、ヘマトクリット値(HCT)に有意な低値および網赤血球数に有意な高値がみられた。また、活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)の有意な延長がみられた。

(4) 回復群雌

回復期間終了時の 1000 mg/kg 群では、白血球数、平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)、白血球分画のリンパ球数に有意な高値、平均赤血球容積(MCV)に有意な低値、プロトロンビン時間(PT)の有意な短縮と活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)の有意な延長がみられた。

8. 血液化学的検査

血液化学的検査の成績を Table 25～28、INDIVIDUAL DATA 8-1-1～8-4-4 に示す。

(1) 主試験群雄

投与期間終了時には、40 mg/kg群ではいずれの検査項目にも対照群と比較して有意な差はみられなかった。200 mg/kg群ではA/G比およびアルブミン分画比率(%)に有意な高値ならびにγ-GTPに有意な低値がみられた。γ-GTPの低値については用量相関性のない変化であった。1000 mg/kg群では、総蛋白、α_1-グロブリン分画比率(%)に有意な低値、A/G比、アルブミン分画比率(%)、γ-グロブリン分画比率(%)、ALT、アルカリホスファターゼ(ALP)、総ビリルビン(T-Bil)、尿素窒素(UN)に有意な高値がみられた。

(2) 主試験群雌

投与期間終了時には、40 mg/kg群ではいずれの検査項目にも対照群と比較して有意な差はみられなかった。200 mg/kg群では、α_1-グロブリン分画比率(%)に有意な低値およびクロールに有意な高値がみられた。1000 mg/kg群では、α_1-グロブリン分画比率(%)、総コレステロールに有意な低値、γ-グロブリン分画比率(%)、ALP、尿素窒素(UN)、クロールに有意な高値がみられた。

(3) 回復群雄

回復期間終了時の 1000 mg/kg群では、総蛋白、α_1-グロブリン分画比率(%)、β-グロブリン分画比率(%)、トリグリセリド(TG)に有意な低値、アルブミン量、A/G比、アルブミン分画比率(%)、ALPに有意な高値がみられた。

(4) 回復群雌

回復期間終了時の 1000 mg/kg群では、総蛋白に有意な低値、A/G比およびアルブミン分画比率(%)に有意な高値、α_1-グロブリン分画比率(%)およびβ-グロブリン分画比率(%)に有意な低値がみられた。

9. 剖検所見

剖検所見を Table 29～31、INDIVIDUAL DATA 9-1-1～9-4-2 に示す。

(1) 主試験群雄

投与期間終了時の剖検では、1000 mg/kg 群において肝臓の肥大が 7 例全例にみられた。その他に、対照群、40 および 200 mg/kg 群で精巣および精巣上体の小型が各 1 例に観察された。加えて、40 mg/kg 群で腎盂拡張が 1 例、200 mg/kg 群で精巣上体の黄白色斑が 1 例に観察された。

(2) 主試験群雌

投与期間終了時の剖検では、1000 mg/kg 群において、肝臓の肥大が 6 例にみられた。その他に、40 mg/kg 群で腺胃粘膜の赤色化が 1 例、1000 mg/kg 群で腺胃粘膜の微細黒色斑が 1 例みられた。1000 mg/kg 群の異常出産の 1 例では、肝臓の黄白色斑がみられた。不妊の 1 例では、子宮頸部の暗褐色ゼリー状物質貯留がみられた。瀕死のため妊娠 18 日に安楽死させた 1 例では、腺胃粘膜の多巣性微細黒色斑がみられた。

(3) 回復群雄

回復期間終了時の剖検では、対照群では異常所見はみられなかった。1000 mg/kg 群では肝臓の肥大が 5 例全例にみられた。その他に、精巣上体の黄白色斑が 1 例に観察された。

(4) 回復群雌

回復期間終了時の剖検では、対照群では異常所見はみられなかった。1000 mg/kg 群では肝臓の肥大が 2 例にみられた。その他に、肝臓の黄褐色化および暗褐色化が各 1 例に、脱毛が 2 例に観察された。

10. 器官重量

器官の絶対重量および相対重量の成績を Table 32～35、INDIVIDUAL DATA 10-1-1～10-4-4 に示す。

(1) 主試験群雄

投与期間終了時に、40 mg/kg 群では、対照群と比較して有意な差はみられなかった。200 mg/kg

群では、肝臓の絶対および相対重量に有意な高値がみられた。1000 mg/kg 群では、剖検時の体重に有意な低値がみられ、肝臓の絶対および相対重量に有意な高値がみられた。その他に、脾臓、心臓および胸腺の絶対重量に有意な低値、腎臓、脳および精巣の相対重量に有意な高値がみられた。

(2) 主試験群雌

投与期間終了時に、40 mg/kg 群では、胸腺の絶対重量に対照群と比較して有意な高値がみられたが、用量相関性がみられないことから偶発的な変動と考えられた。200 mg/kg 群では、肝臓の絶対重量に高値傾向、相対重量に有意な高値がみられた。1000 mg/kg 群では、剖検時の体重に有意な低値がみられ、肝臓の絶対および相対重量に有意な高値がみられた。その他に、心臓の絶対重量に有意な低値、脳の相対重量に有意な高値がみられた。

(3) 回復群雄

回復期間終了時に、1000 mg/kg 群では、剖検時の体重に有意な低値がみられ、肝臓の絶対および相対重量に有意な高値がみられた。その他に、心臓の絶対重量に有意な低値、腎臓および脳の相対重量に有意な高値がみられた。

(4) 回復群雌

回復期間終了時に、1000 mg/kg 群では、剖検時の体重に有意な低値がみられ、肝臓の絶対および相対重量に有意な高値がみられた。その他に、心臓の絶対重量に有意な低値、腎臓の相対重量に有意な高値がみられた。

11. 病理組織学的検査

病理組織学的検査の成績を Table 36～39、INDIVIDUAL DATA 11-1-1～11-8-2 に示す。

(1) 主試験群雄

全例の検査を実施した肝臓では、小葉中心性肝細胞肥大が、200 mg/kg 群の全例で軽度の、1000 mg/kg 群の全例で中等度のグレードで観察された。これらの発生頻度は対照群と比較して有意に増加した。さらに、1000 mg/kg 群では小葉中心性の肝細胞の変性/壊死が 7 例中 6 例に、ヘモジデリン沈着が 4 例にみられ、小葉中心性の肝細胞の変性/壊死の発生頻度は有意に増加した。また、限局性壊死が 200 および 1000 mg/kg 群でそれぞれ 1 例および 2 例にみられた。その他に小肉芽腫が全試験群で 5～9 例に、小葉中心性脂肪化が 200 mg/kg 群で 2 例にみられた。脾臓では、ヘモジデリン沈着がさまざまのグレードで全試験群の全例にみられた。膵臓では、チモーゲン顆粒の減少が対照群および 1000 mg/kg 群でそれぞれ 1 例および 4 例にみられた。胸腺では、皮質の萎縮が 1000 mg/kg 群の 1 例にみられた。

その他に、対照群および 1000 mg/kg 群において肺の動脈の鉱質沈着、肺胞内マクロファージ集簇、腎臓の尿細管上皮の再生、眼球網膜の萎縮等の所見が散見された。

剖検時の肉眼的異常所見については、腎盂拡張、精細管の萎縮等が散見された。

(2) 主試験群雌

全例の検査を実施した肝臓では、小葉中心性肝細胞肥大が 1000 mg/kg 群で軽度および中等度のグレードで 11 例に、限局性壊死が 6 例に観察され、これらの発生頻度は対照群と比較して有意に増加した。加えて小肉芽腫が軽度と中等度を合わせて 11 例に観察され、発生頻度は有意に増加した。さらに、1000 mg/kg 群では肝細胞の単細胞壊死が 1 例、塊状壊死が 1 例、炎症性細胞浸潤が 1 例、ヘモジデリン沈着が 3 例にみられた。その他に、小葉周辺性脂肪化が対照群、40 および 1000 mg/kg 群でそれぞれ 3、1 および 2 例にみられた。脾臓では、ヘモジデリン沈着が全試験群の全例にみられたが、1000 mg/kg 群で有意なグレードの増強がみられた。また、1000 mg/kg 群で髄外造血の亢進が 1 例にみられた。膵臓では、チモーゲン顆粒の減少が 1000 mg/kg 群で 10 例にみられ、発生頻度は有意に増加した。胸腺では、皮質の萎縮が 1000 mg/kg 群の 3 例にみられた。

その他に、対照群および 1000 mg/kg 群において肺の動脈の鉱質沈着、腎臓の尿細管上皮の再生、眼球網膜の萎縮等の所見が散見された。

剖検時の肉眼的異常所見については、腺胃のうっ血、子宮頸部の粘液貯留等が散見された。

(3) 回復群雄

1000 mg/kg 群では、肝臓の小葉中心性肝細胞肥大、小肉芽腫、膵臓のチモーゲン顆粒の減少が有意に高い発生頻度でみられた。さらに、肝臓の限局性壊死が 2 例、ヘモジデリン沈着が 2 例にみられた。その他に、対照群および 1000 mg/kg 群において肺胞内マクロファージ集簇、腎臓の尿細管上皮の再生、眼球網膜の萎縮等の所見が散見された。

(4) 回復群雌

1000 mg/kg 群では、肝臓の小葉中心性肝細胞肥大およびヘモジデリン沈着が有意に高い発生頻度でみられた。さらに、肝臓の小肉芽腫が 4 例と高頻度でみられ、小葉周辺性脂肪化が 1 例、膵臓のチモーゲン顆粒の減少が 3 例にみられた。その他に、対照群および 1000 mg/kg 群において肺胞内マクロファージ集簇、腎臓の間質の炎症性細胞の浸潤、眼球網膜の萎縮等の所見が散見された。

Ⅱ. 生殖発生毒性

(1) 生殖能検査

生殖能検査の成績を Table 40 および 41、INDIVIDUAL DATA 12-1-1～12-2-2 および 13-1～13-4 に示す。

正常性周期を示す雌の出現率、発情期間隔、交尾率、受胎率、出産率、妊娠期間および哺育 4 日の哺育率にはいずれの被験物質投与群にも対照群と比較して有意な差はみられなかった。

性周期検査で連続非発情と判定された雌が対照群および 1000 mg/kg 群において主試験群で 12 例中各 1 例にみられた。1000 mg/kg 群では、交尾が成立しなかった雄が 2 例、妊娠が成立

しなかった雌が１例、異常出産（死産）が１例にみられた。

(2)妊娠、分娩、哺育状態および新生児生存率

妊娠、分娩、哺育状態および新生児生存率の成績を Table 42、INDIVIDUAL DATA 14-1～14-4 に示す。

40 および 200 mg/kg 群では、黄体数、着床数、着床率、分娩率、出産児数、出産児の性比、出産時の生存児数、出生率、生後 4 日の生存児数および新生児生存率には対照群と比較して有意な差はみられなかった。1000 mg/kg 群では、黄体数、着床数、出産児数、出産時の生存児数および生後 4 日の生存児数に有意な低値がみられた。

(3)新生児の一般状態

新生児の一般状態の成績を Table 43、INDIVIDUAL DATA 15-1～15-4 に示す。

生後 0 日から生後 4 日までの期間の死亡または不明（母動物に食されたと考えられる）児および授乳の証拠としてのミルクバンドのみられない児が対照群を含む各群で散見された。その他に、200 mg/kg 群の 1 腹の雌雄で表皮水泡症が 2～3 例にみられた。

(4)新生児の体重推移

新生児の体重推移を Figure 7、Table 44、INDIVIDUAL DATA 16-1～16-4 に示す。

40 および 200 mg/kg 群では対照群と比較して有意な差はみられなかった。1000 mg/kg 群では、生後 0、1 および 4 日の体重に雌雄とも対照群と比較して有意な低値がみられた。

(5)新生児の剖検

新生児の剖検の成績を Table 45、INDIVIDUAL DATA 17 および 18-1～18-4 に示す。

死亡児の剖検では、200 mg/kg 群で表皮水泡症がみられた。生後 4 日の生存児の剖検では、腎盂拡張が 200 mg/kg 群の雌雄各 1 例に、肝臓の黄白色斑が対照群の雌で 2 例、200 mg/kg 群の雌で 1 例にみられた。

考　察

ペルフルオロオクタデカン酸の 0（対照、0.5%CMC-Na）、40、200 および 1000 mg/kg を 1 群雄雌各 12 匹の Crl:CD(SD) ラットに、雄に対しては交配前、交配期間および交配後を含む計 42 日間、雌に対しては交配前、交配および妊娠期間、ならびに分娩後 5 日までの期間経口投与し、雄雌動物への反復投与による影響、雄雌動物の生殖および新生児の発生に及ぼす影響について検討した。また、0（対照）および 1000 mg/kg について、雄動物は各 5 匹を選抜し、雌動物は各 5 匹を別に設け、42 日間の投与終了後 14 日間の休薬による回復性についても併せて検討した。

1. 反復投与毒性

一般状態観察では、投与期間中 40 および 200 mg/kg 群では被験物質投与に関連する変化はみられなかった。1000 mg/kg 群では、雌の 1 例で妊娠 18 日に一般状態の悪化がみられ、瀕死のため安楽死させた。その他に異常出産(死産)が 1 例みられた。

詳細な一般状態観察では、雌雄とも被験物質投与に関連すると考えられる変化はいずれの投与群においてもみられなかった。機能検査では、1000 mg/kg 群の雌の哺育 4 日の検査で前肢の握力に対照群と比較して有意な低値がみられたが、回復群の投与 6 週および回復 2 週には同じ変化はみられなかったことから、非妊娠動物では認められない変化であった。

体重および摂餌量については、1000 mg/kg 群の雄で投与 28 日以降剖検日まで体重が有意に低く、投与 1-42 日の体重増加量および体重増加率ならびに投与 35 および 42 日の摂餌量に有意な低値がみられた。回復期間中の体重も引続き有意な低値であったが、体重増加量および体重増加率に高値傾向がみられ、回復の傾向を示した。雌では、200 mg/kg 群で体重に変化はみられなかったが、妊娠 5 日および哺育 4 日の摂餌量に有意な低値がみられた。1000 mg/kg 群では、交配前の投与 14 日以降、妊娠、哺育期間を通じて体重の有意な低値がみられ、体重増加量および体重増加率も有意な低値であった。摂餌量は、投与 7 日以降妊娠、哺育期間を通じて低値で推移した。回復群では、投与 14 日以降投与期間中体重および摂餌量は低値で推移し、体重増加量および体重増加率に有意な低値がみられた。回復期間中の体重も引続き有意な低値であったが、摂餌量には有意な差がなく、体重増加量および体重増加率に高値がみられ回復の傾向を示した。

尿検査では、いずれの項目にも被験物質投与群と対照群の間に有意な差はみられなかった。

血液学的検査では、投与期間終了時において、200 および 1000 mg/kg 群の雄で赤血球数、ヘモグロビン濃度およびヘマトクリット値に有意な低下ならびに 1000 mg/kg 群では網赤血球数の低下を伴う貧血がみられ、造血能の低下が示唆された。雌では、200 および 1000 mg/kg 群でプロトロンビン時間の有意な短縮、1000 mg/kg 群で活性化部分トロンボプラスチン時間の有意な延長が認められ、肝機能への影響が示唆された。また、白血球分画の好塩基球数に有意な高値がみられ

た。

血液化学的検査では、投与期間終了時に雄の 200 および 1000 mg/kg群でA/G比およびアルブミン分画比率に有意な高値、1000 mg/kg群で総蛋白、α_1-グロブリン分画比率に有意な低値、ALT、ALP、総ビリルビン、尿素窒素およびγ-グロブリン分画比率に有意な高値がみられた。雌でも、200 および 1000 mg/kg群でα_1-グロブリン分画比率に有意な低値とクロールに有意な高値、1000 mg/kg群でALP、尿素窒素、γ-グロブリン分画比率に有意な高値と総コレステロールに有意な低値が認められた。これらはいずれも肝機能の異常に基づく変化と考えられ、200 および 1000 mg/kg群の雌雄の肝臓重量の増加、肝細胞肥大や肝細胞壊死、1000 mg/kg群の雌雄では膵臓のチモーゲン顆粒の減少、さらに体重の減少や摂餌量の低下がみられていることから、血液学的検査および血液化学的検査でみられた変化は、肝機能異常に加えて全身状態の悪化に伴う二次的変化を反映していると考えられた。回復期間終了時には、雄の 1000 mg/kg群では、投与期間終了時と同じ項目に変化がみられたが、網赤血球数が増加し、ALT、総ビリルビンあるいは尿素窒素に変化がみられなかったことから、回復傾向にあると考えられた。雌の回復期間終了時のデータは非妊娠動物のものであるが、雄の回復期間終了時と同様の変化が観察されていることから、非妊娠動物に対する投与期間終了時の影響は雄と同じと考えられた。回復期間終了時にALTや尿素窒素に変化がみられなかったことから、雄と同様、雌も回復傾向にあると考えられた。なお、雌雄の回復期間終了時の血液学的検査あるいは血液化学的検査において、1000 mg/kg群の幾つかの項目で投与期間終了時には認められない変化がみられたが、回復期間終了時のみの変化であることから被験物質投与に関連するものとは考えられなかった。

剖検では、1000 mg/kg 群において、投与期間終了時に雌雄とも肝臓の肥大が高頻度でみられ、被験物質投与に関連する変化と考えられた。回復期間終了時にも雌雄とも同様の所見がみられた。その他には被験物質投与に関連した所見あるいは発生頻度の増加を示す所見は認められなかった。

器官重量では、投与期間終了時に 200 および 1000 mg/kg 群で雌雄とも肝臓の絶対および相対重量に有意な高値または高値傾向がみられ、被験物質投与に関連する変化と考えられた。回復期間終了時にも 1000 mg/kg 群の雌雄とも同様の変化がみられた。1000 mg/kg 群の雌雄にみられたその他の器官重量の変化は、剖検時の体重の低値に関連する変化と考えられた。

病理組織学的検査では、投与期間終了時に肝臓の小葉中心性肝細胞肥大の発生頻度の有意な増加が、雄では 200 および 1000 mg/kg 群で、雌では 1000 mg/kg 群でみられ、肉眼所見に加えて器質的変化も認められた。さらに、1000 mg/kg 群では、雄で小葉中心性の肝細胞の変性/壊死、雌で限局性壊死および小肉芽腫の発生頻度の増加またはグレードの増強がみられ、被験物質投与に関連する変化と考えられた。発生頻度は低いが、1000 mg/kg 群の雌でみられた塊状壊死や単細胞壊死についても被験物質投与に関連する変化と考えられた。回復期間終了時には、1000 mg/kg 群の雌雄で肝臓の小葉中心性肝細胞肥大の発生頻度の有意な増加がみられたが、投与期間終了時と比較してグレードの低下がみられたことから回復傾向にあると考えられた。また、1000 mg/kg 群

の雌雄でみられた小肉芽腫の発生頻度の増加またはグレードの増強は、肝細胞壊死の回復過程を示唆する変化と考えられた。肝臓では、その他に投与期間終了時に 1000 mg/kg 群の雌雄にヘモジデリン沈着がみられた。雌の脾臓でもヘモジデリン沈着のグレードの増強がみられていること、雄では血液学的検査で貧血が認められていることから、赤血球の破壊亢進を示唆する変化と考えられた。回復期間終了時には、1000 mg/kg 群の雌雄で肝臓にヘモジデリン沈着がみられた。雄では引続き貧血が認められたが、主たる血球破壊の場である脾臓でヘモジデリン沈着の亢進はみられていないことから、肝臓に認められたヘモジデリン沈着は被験物質投与によって破壊された赤血球由来のヘモジデリンが残存したものであり、血球破壊については回復傾向にあると考えられた。膵臓では、投与期間終了時に 1000 mg/kg 群の雌雄でチモーゲン顆粒の減少がみられ、回復期間終了時にも継続して認められ、被験物質投与に関連する変化と考えられた。また、投与期間終了時に 1000 mg/kg 群の雌雄の胸腺でみられた皮質の萎縮は被験物質投与に関連するストレス性の変化と考えられた。

以上をまとめると、ペルフルオロオクタデカン酸の反復投与により 40 mg/kg 群では被験物質投与に関連した変化は認められなかった。200 mg/kg 以上の投与群では雄または雌で体重または摂餌量の低値、肝臓重量の増加、雄の貧血所見、雌のプロトロンビン時間の短縮と活性化部分トロンボプラスチン時間の延長、雄の A/G 比およびアルブミン分画比率の高値、剖検および病理組織学的検査で肝臓の肥大、小葉中心性肝細胞肥大等の被験物質投与に関連した変化が認められた。

したがって、本試験条件下におけるペルフルオロオクタデカン酸の無影響量（NOEL）は雄雌ともに 40 mg/kg/day と考えられた。

2. 生殖発生毒性

生殖能検査では、正常性周期を示す雌の出現率、発情期間隔、交尾率、受胎率、着床率、出産率、妊娠期間および哺育 4 日の哺育率には被験物質投与群と対照群の間に有意な差はみられなかった。妊娠、分娩、哺育状態の成績では、1000 mg/kg 群において、黄体数の有意な減少がみられ、この変化に伴って着床数、出産児数、出産時の生存児数、生後 4 日の生存児数に有意な低値がみられた。被験物質投与によって、卵巣の排卵に影響を及ぼした可能性が示唆された。

新生児の体重では、1000 mg/kg 群において生後 0、1 および 4 日に雌雄とも有意な低値がみられ、被験物質投与に関連する変化と考えられた。新生児の一般状態および剖検には、いずれの投与群にも被験物質投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。

以上をまとめると、40 および 200 mg/kg 群では親動物の生殖能および新生児の発生に被験物質投与に関連した変化は認められなかった。1000 mg/kg 群では黄体数、着床数、出産児数に低値がみられ、新生児の体重の低値がみられた。

したがって、本試験条件下におけるペルフルオロオクタデカン酸の反復投与による親動物の生殖に対する無影響量（NOEL）および新生児の発生に対する無影響量（NOEL）は 200 mg/kg/day と考えられた。

参考文献

1）最終報告書：ペルフルオロオクタデカン酸のラットにおける反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験(予備試験)(試験番号 ＳＲ０６１６９Ｐ)，2009.

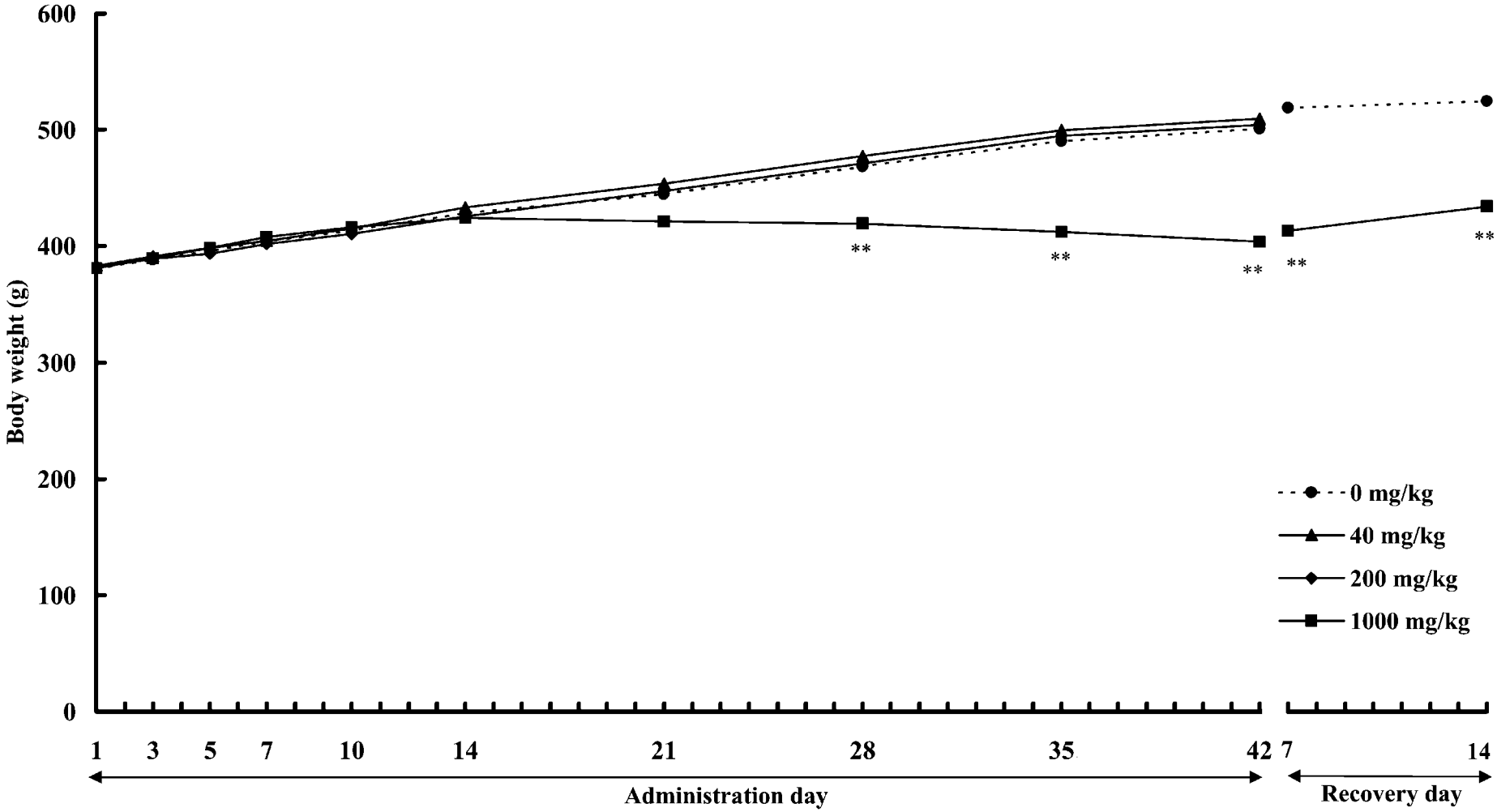


Figure 1 Body weight changes of male rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169)

**: Significantly different from the 0 mg/kg group at p≦0.01 (Dunnett's test).

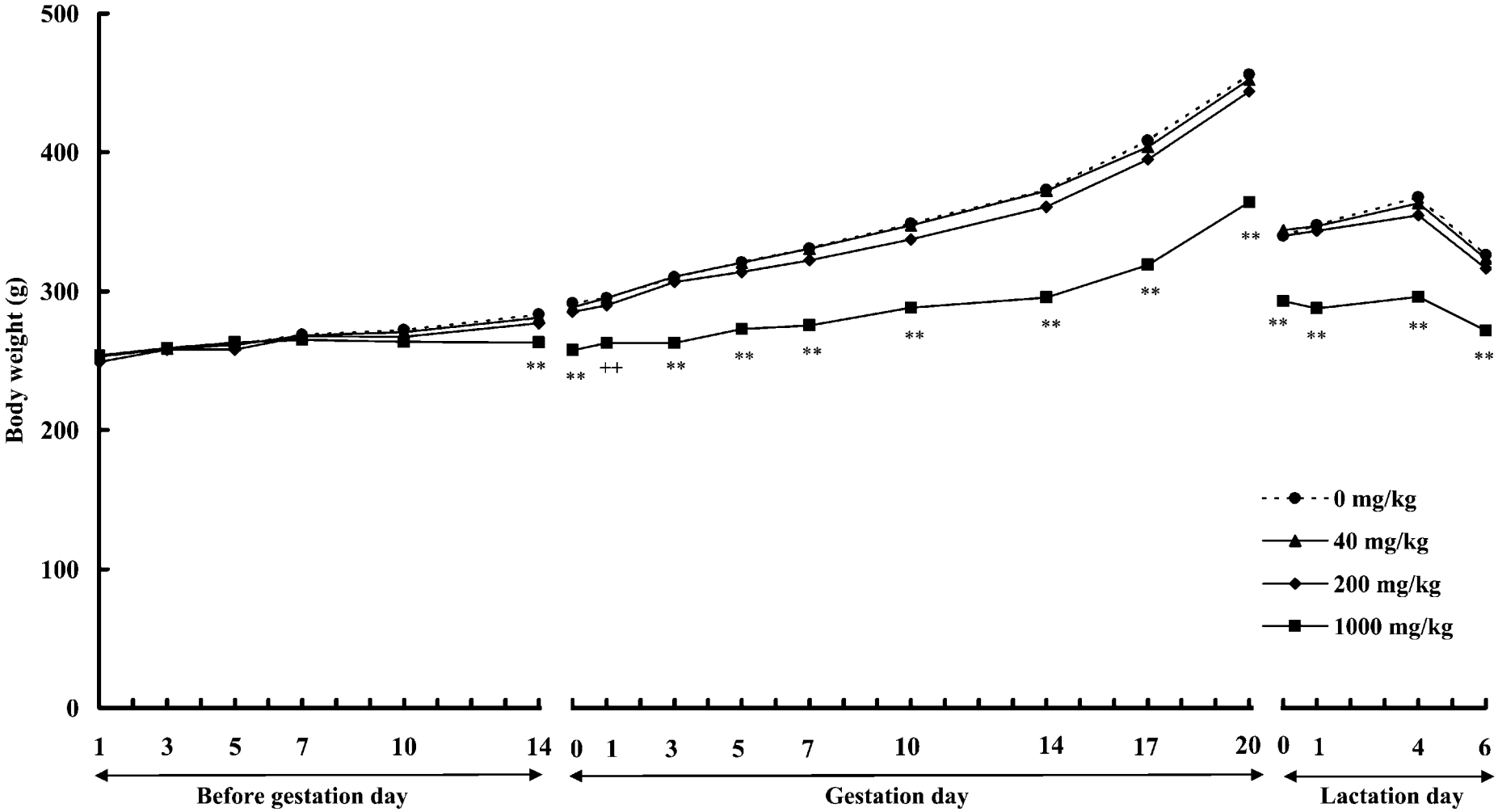


Figure 2 Body weight changes of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169)

**: Significantly different from the 0 mg/kg group at p≦0.01 (Dunnett's test).
++: Significantly different from the 0 mg/kg group at p≦0.01 (Mann-Whitney's U-test).

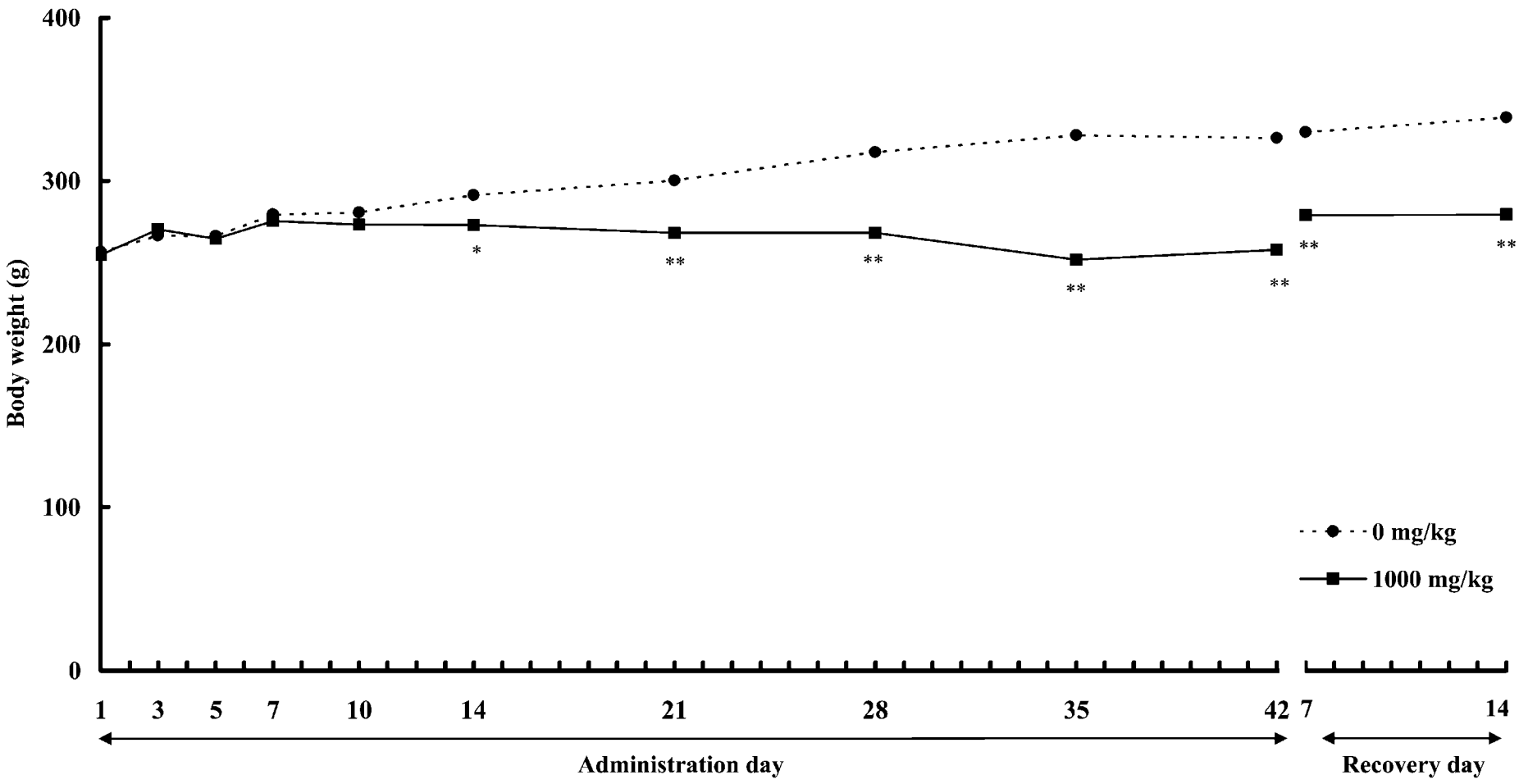


Figure 3 Body weight changes of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169)

*: Significantly different from the 0 mg/kg group at p≦0.05 (Dunnett's test).
**: Significantly different from the 0 mg/kg group at p≦0.01 (Dunnett's test).

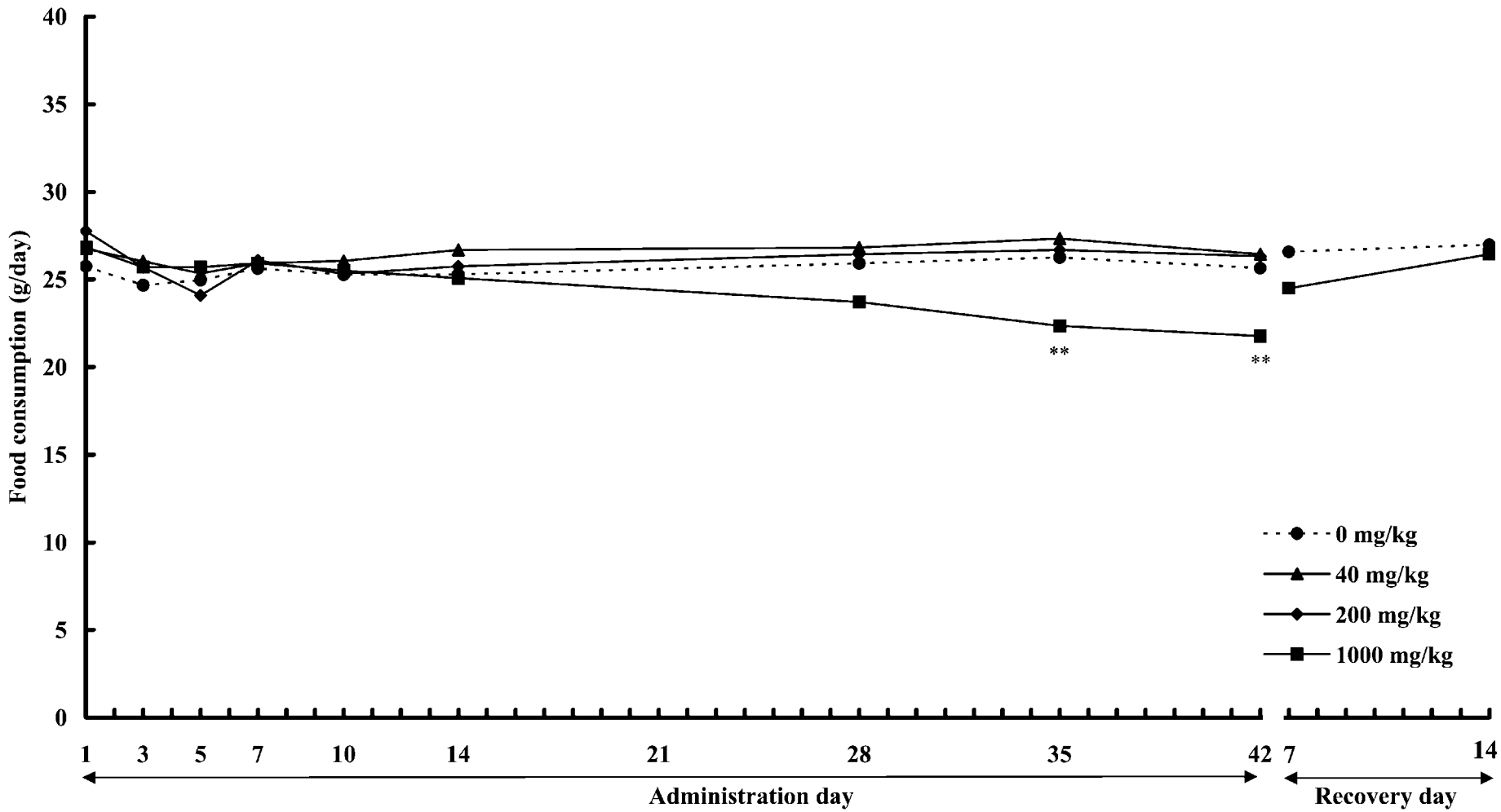


Figure 4 Food consumption of male rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169)

**: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.01$ (Dunnett's test).

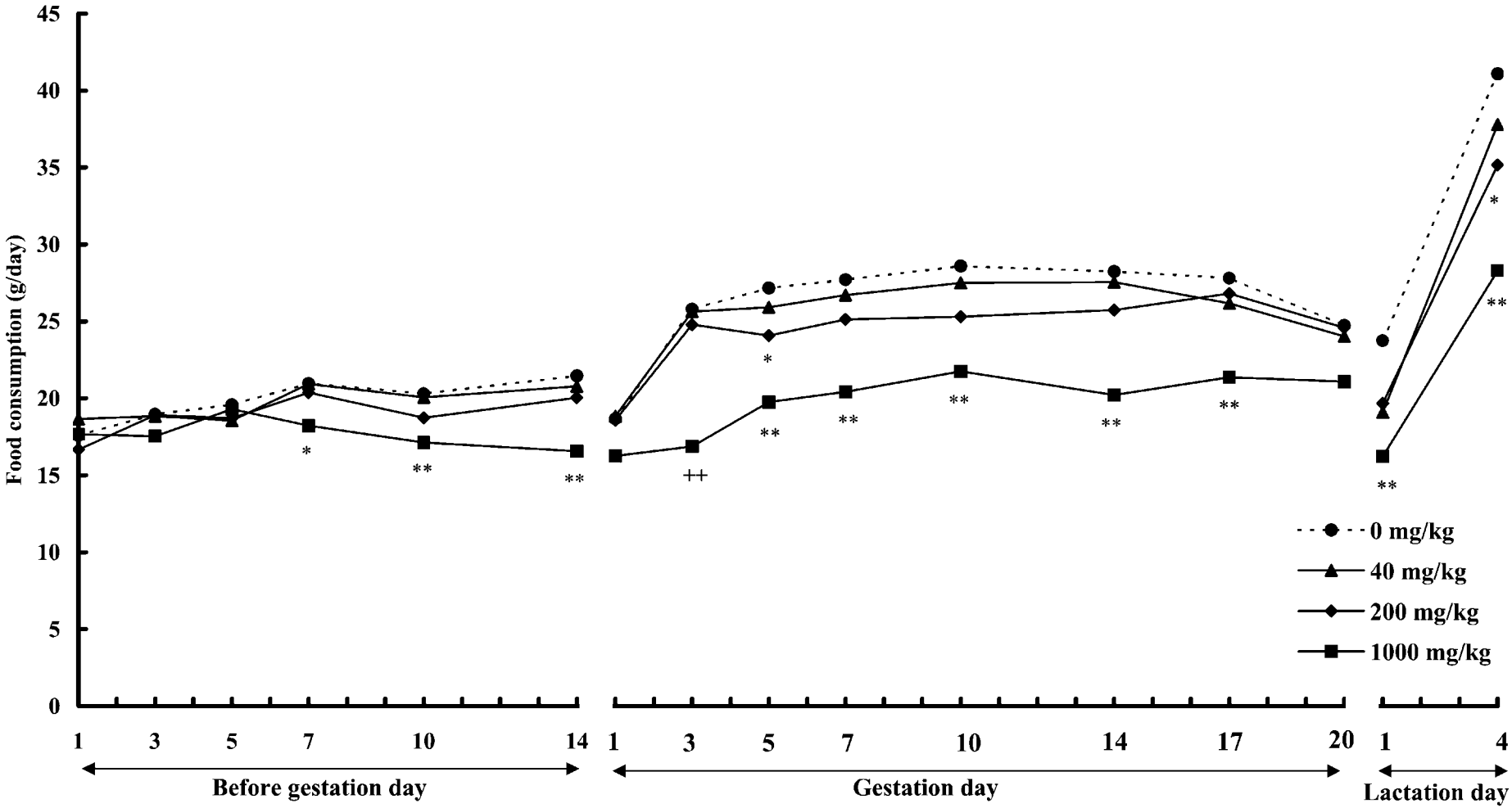


Figure 5 Food consumption of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169)

*: Significantly different from the 0 mg/kg group at p≦0.05 (Dunnett's test).

**: Significantly different from the 0 mg/kg group at p≦0.01 (Dunnett's test).

++: Significantly different from the 0 mg/kg group at p≦0.01 (Mann-Whitney's U-test).

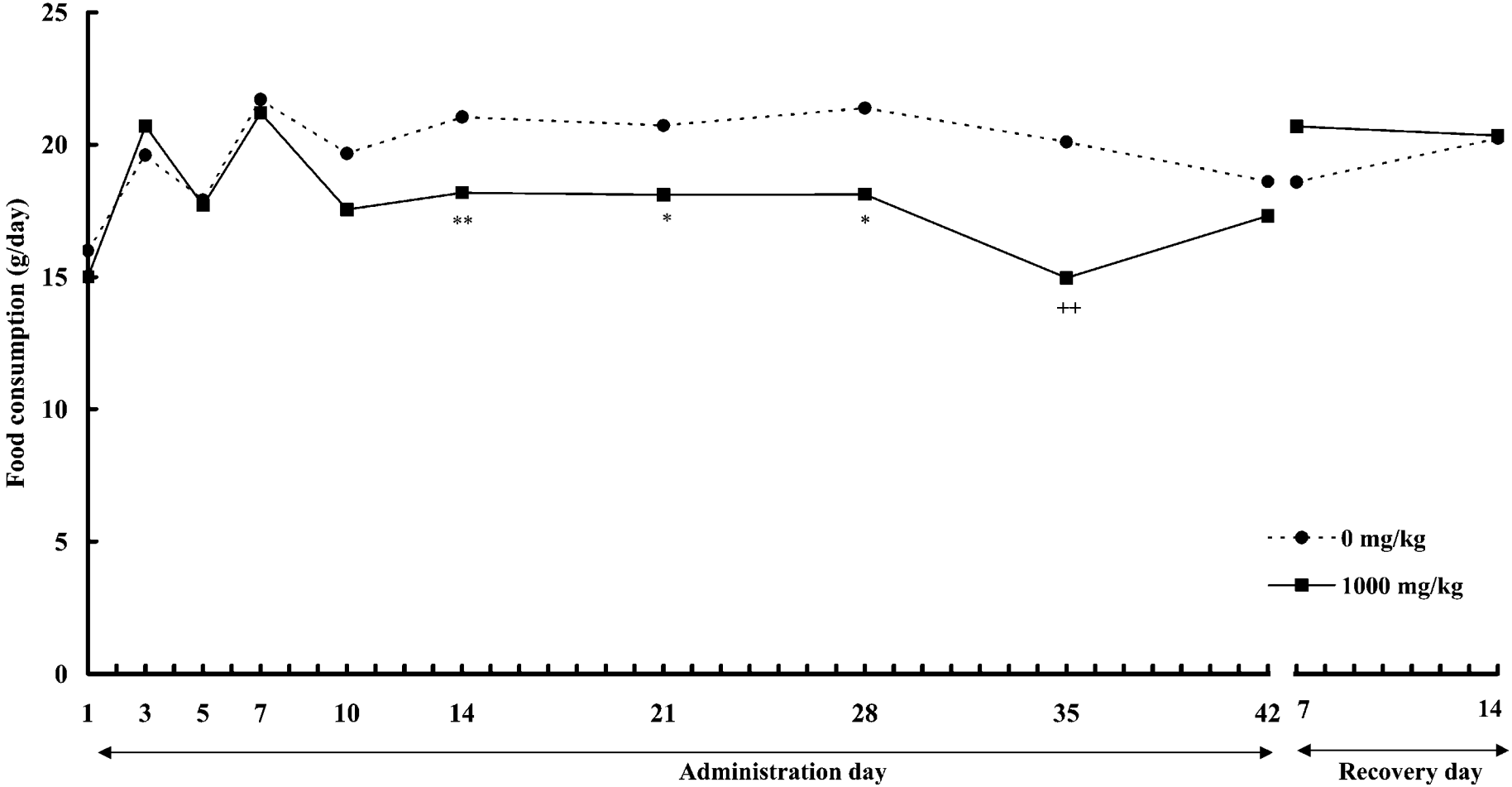


Figure 6 Food consumption of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the eproduction/developmental toxicity screening test (SR06169)

*: Significantly different from the 0 mg/kg group at p≦0.05 (Dunnett's test).
**: Significantly different from the 0 mg/kg group at p≦0.01 (Dunnett's test).
++: Significantly different from the 0 mg/kg group at p≦0.01 (Mann-Whitney's U-test).

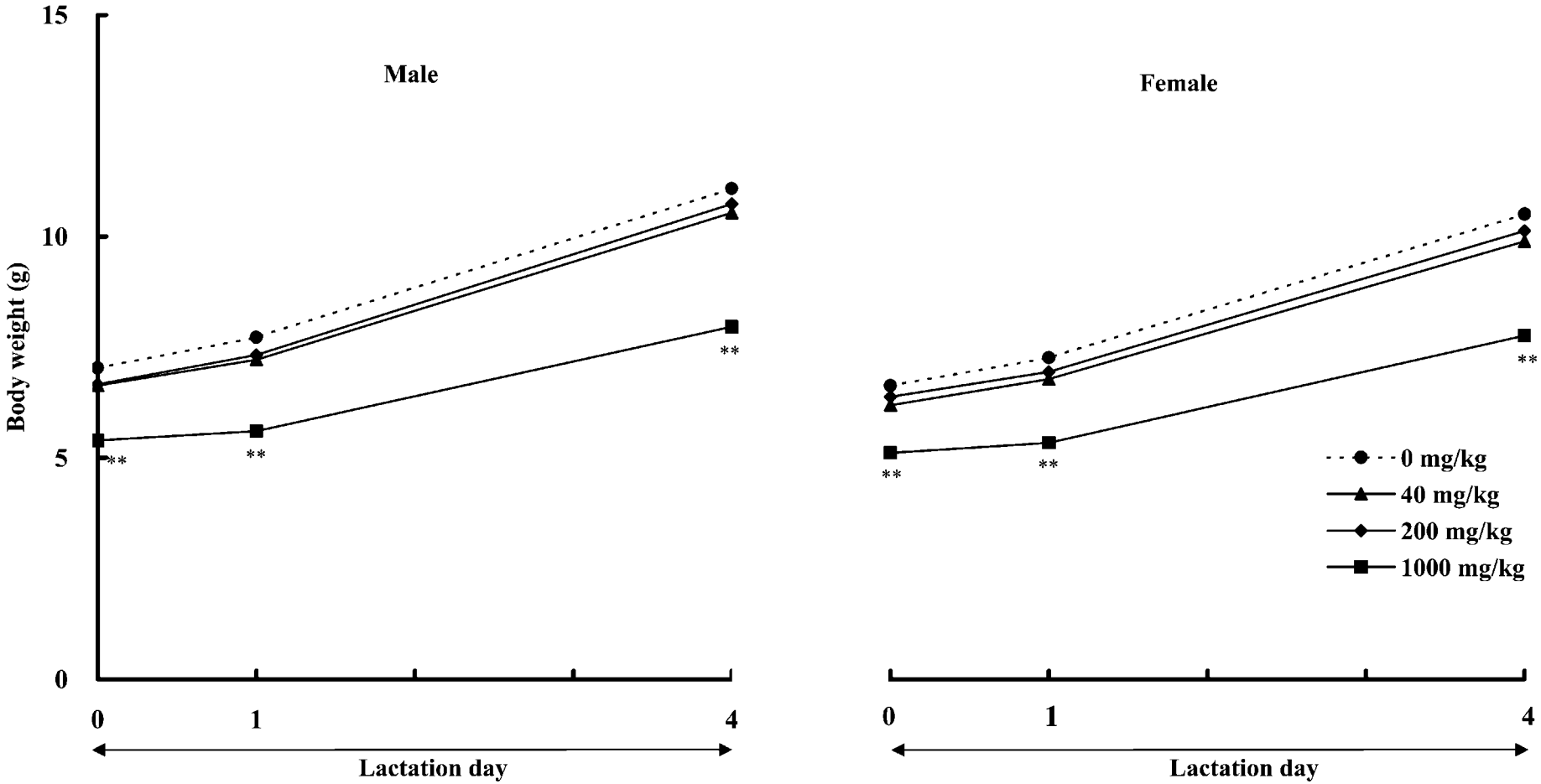


Figure 7 Body weight changes of pups in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/ developmental toxicity screening test of perfluorooctadecanoic acid in rats (SR06169)

**: Significantly different from the 0 mg/kg group at p ≦0.01 (Dunnett's test).

Table 1 General appearance of male rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169)

Group	Findings	Administration period[a]	Recovery period[a]
0 mg/kg	Number of animals examined	12	5
	No abnormal findings	12	5
40 mg/kg	Number of animals examined	12	-
	No abnormal findings	11	-
	Reddish urine	1	-
200 mg/kg	Number of animals examined	12	-
	No abnormal findings	12	-
1000 mg/kg	Number of animals examined	12	5
	No abnormal findings	12	5

Values are the number of animals with findings.
a: Including autopsy day.
-: Blank.

Table 2 General appearance of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169)

Group	Findings	Before gestation period	Gestation period[a]	Lactation period[a]
0 mg/kg	Number of animals examined	12	12	12
	No abnormal findings	12	12	12
40 mg/kg	Number of animals examined	12	12	12
	No abnormal findings	12	12	12
200 mg/kg	Number of animals examined	12	12	12
	No abnormal findings	12	12	12
1000 mg/kg	Number of animals examined	12	12	10[b]
	No abnormal findings	12	11	10[b]
	Hypothermia	0	1	0
	Decrese in locomotor activity	0	1	0
	Vaginal bleeding	0	1	0
	Pale skin	0	1	0
	Moribund condition (euthanized)	0	1	0

Values are the number of animals with findings.

(To be continued)

a: Including autopsy day. Mated female that delivered no live pups until gestation day 25 were autopsied on the following day.

b: One animal was euthanized because of abnormal delivery (stillbirth).

Table 2 General appearance of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) (Continued)

Group	Findings	Administration period	Recovery period[a]
0 mg/kg	Number of animals examined	5	5
	No abnormal findings	5	5
1000 mg/kg	Number of animals examined	5	5
	No abnormal findings	3	3
	Alopecia	2	2

Values are the number of animals with findings.
a: Including autopsy day.

Table 3-1 Detailed clinical observation of male rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169)

(Observations in the cage)

Period	Group	Number of animals	Category No.	Posture 1	Ptosis 1	Respiratory pattern 1	Tremor / Convulsion 1	Stereotype Rolling 0	Stereotype Circling 0	Bizarre behavior Selfmutilation 1
Pre-administration	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
Administration day 7	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
Administration day 14	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
Administration day 21	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
Administration day 28	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12

Values are expressed as the number of animals.

(To be continued)

Table 3-1 Detailed clinical observation of male rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) (Continued)

(Observations in the cage)

Period	Group	Number of animals	Category No.	Posture 1	Ptosis 1	Respiratory pattern 1	Tremor / Convulsion 1	Stereotype Rolling 0	Stereotype Circling 0	Bizarre behavior Selfmutilation 1
Administration day 35	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
Administration day 42	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
Recovery day 7	0 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5
Recovery day 14	0 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5

Values are expressed as the number of animals.

Table 3-2 Detailed clinical observation of male rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/ developmental toxicity screening test (SR06169)

(Observation on the hand)

Period	Group	Number of animals	Category No.	Handling 1	Treating 1	Muscle tone 2	Pilo-erection 1	Fur 1	Skin 1	Eyes 1	Pupil size 1	Mucous membranes 1	Lacrima-tion 1	Salivation 1	Body temperature 1
Pre-administration	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Administration day 7	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Administration day 14	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Administration day 21	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Administration day 28	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12

Values are expressed as the number of animals.

(To be continued)

Table 3-2 Detailed clinical observation of male rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/ developmental toxicity screening test (SR06169) (Continued)

(Observation on the hand)

Period	Group	Number of animals	Category No.	Handling 1	Treating 1	Muscle tone 2	Pilo-erection 1	Fur 1	Skin 1	Eyes 1	Pupil size 1	Mucous membranes 1	Lacrima-tion 1	Salivation 1	Body temperature 1
Administration day 35	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Administration day 42	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Recovery day 7	0 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Recovery day 14	0 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

Values are expressed as the number of animals.

Table 3-3 Detailed clinical observation of male rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/ developmental toxicity screening test (SR06169)

(Observation in the open-field)

Period	Group	Number of animals	Category No.	Convulsion 1	Gait 1	Arousal 1	Urination 0	Urination 1	Defecation 0	Defecation 1	Stereotype Grooming 0	Stereotype Sniffing 1	Bizarre behavior Walking backward 1	Bizarre behavior Vocalization 1	Respiratory pattern 1
Pre-administration	0 mg/kg	12		12	12	12	12	0	9	3	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	9	3	10	2	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	10	2	10	2	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	11	1	11	1	12	12	12	12	12
Administration day 7	0 mg/kg	12		12	12	12	9	3	11	1	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	10	2	12	0	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	11	1	12	0	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	10	2	10	2	12	12	12	12	12
Administration day 14	0 mg/kg	12		12	12	12	11	1	12	0	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	11	1	12	0	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	9	3	12	0	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	0	12	0	12	12	12	12	12
Administration day 21	0 mg/kg	12		12	12	12	10	2	12	0	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	10	2	12	0	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	10	2	11	1	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	11	1	11	1	12	12	12	12	12
Administration day 28	0 mg/kg	12		12	12	12	9	3	12	0	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	10	2	12	0	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	8	4	11	1	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	11	1	12	0	12	12	12	12	12

Values are expressed as the number of animals.

(To be continued)

Table 3-3 Detailed clinical observation of male rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/ developmental toxicity screening test (SR06169) (Continued)

(Observation in the open-field)

Period	Group	Number of animals	Category No.	Convulsion 1	Gait 1	Arousal 1	Urination 0	Urination 1	Defecation 0	Defecation 1	Stereotype Grooming 0	Stereotype Sniffing 1	Bizarre behavior Walking backward 1	Bizarre behavior Vocalization 1	Respiratory pattern 1
Administration day 35	0 mg/kg	12		12	12	12	10	2	11	1	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	9	3	12	0	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	11	1	12	0	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	11	1	10	2	12	12	12	12	12
Administration day 42	0 mg/kg	12		12	12	12	9	3	11	1	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	10	2	12	0	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	0	12	0	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	11	1	12	0	12	12	12	12	12
Recovery day 7	0 mg/kg	5		5	5	5	3	2	5	0	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	4	1	4	1	5	5	5	5	5
Recovery day 14	0 mg/kg	5		5	5	5	3	2	5	0	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	0	5	0	5	5	5	5	5

Values are expressed as the number of animals.

Table 4-1-1 Detailed clinical observation of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169)

(Observations in the cage)

Period	Group	Number of animals	Category No.	Posture 1	Ptosis 1	Respiratory pattern 1	Tremor / Convulsion 1	Stereotype Rolling 0	Stereotype Circling 0	Bizarre behavior Selfmutilation 1
Pre-administration	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
Administration day 7	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
Administration day 14	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
Administration day 21	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
Administration day 28	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12

Values are expressed as the number of animals.

(To be continued)

Table 4-1-1 Detailed clinical observation of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) (Continued)

(Observations in the cage)

Period	Group	Number of animals	Category No.	Posture 1	Ptosis 1	Respiratory pattern 1	Tremor / Convulsion 1	Stereotype Rolling 0	Stereotype Circling 0	Bizarre behavior Selfmutilation 1
Administration day 35	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	11		11	11	11	11	11	11	11
Administration day 42	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	10		10	10	10	10	10	10	10

Values are expressed as the number of animals.

Table 4-1-2 Detailed clinical observation of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/ developmental toxicity screening test (SR06169)

(Observation on the hand)

Period	Group	Number of animals	Category No.	Handling 1	Treating 1	Muscle tone 2	Pilo-erection 1	Fur 1	Skin 1	Eyes 1	Pupil size 1	Mucous membranes 1	Lacrima-tion 1	Salivation 1	Body temperature 1
Pre-administration	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Administration day 7	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Administration day 14	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Administration day 21	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Administration day 28	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12

Values are expressed as the number of animals.

(To be continued)

Table 4-1-2 Detailed clinical observation of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/ developmental toxicity screening test (SR06169) (Continued)

(Observation on the hand)

Period	Group	Number of animals	Category No.	Handling 1	Treating 1	Muscle tone 2	Pilo-erection 1	Fur 1	Skin 1	Eyes 1	Pupil size 1	Mucous membranes 1	Lacrima-tion 1	Salivation 1	Body temperature 1
Administration day 35	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	11		11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
Administration day 42	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	10		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

Values are expressed as the number of animals.

Table 4-1-3 Detailed clinical observation of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/ developmental toxicity screening test (SR06169)

(Observation in the open-field)

Period	Group	Number of animals	Category No.	Convulsion 1	Gait 1	Arousal 1	Urination 0	Urination 1	Defecation 0	Defecation 1	Stereotype: Grooming 0	Stereotype: Sniffing 1	Bizarre behavior: Walking backward 1	Bizarre behavior: Vocalization 1	Respiratory pattern 1
Pre-administration	0 mg/kg	12		12	12	12	10	2	12	0	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	0	12	0	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	9	3	12	0	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	8	4	11	1	12	12	12	12	12
Administration day 7	0 mg/kg	12		12	12	12	11	1	12	0	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	11	1	12	0	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	11	1	12	0	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	11	1	12	0	12	12	12	12	12
Administration day 14	0 mg/kg	12		12	12	12	10	2	12	0	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	0	12	0	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	0	12	0	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	11	1	12	0	12	12	12	12	12
Administration day 21	0 mg/kg	12		12	12	12	10	2	12	0	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	0	12	0	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	0	12	0	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	0	12	0	12	12	12	12	12
Administration day 28	0 mg/kg	12		12	12	12	11	1	11	1	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	0	12	0	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	0	12	0	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	0	12	0	12	12	12	12	12

Values are expressed as the number of animals.

(To be continued)

Table 4-1-3 Detailed clinical observation of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/ developmental toxicity screening test (SR06169) (Continued)

(Observation in the open-field)

Period	Group	Number of animals	Category No.	Convulsion	Gait	Arousal	Urination		Defecation		Stereotype		Bizarre behavior		Respiratory pattern
											Grooming	Sniffing	Walking backward	Vocalization	
				1	1	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1
Administration day 35	0 mg/kg	12		12	12	12	10	2	11	1	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	0	12	0	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	0	12	0	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	11		11	11	11	11	0	11	0	11	11	11	11	11
Administration day 42	0 mg/kg	12		12	12	12	11	1	12	0	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	0	12	0	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	0	12	0	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	10		10	10	10	10	0	10	0	10	10	10	10	10

Values are expressed as the number of animals.

Table 4-2-1 Detailed clinical observation of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169)

(Observations in the cage)

Period	Group	Number of animals	Category No.	Posture	Ptosis	Respiratory pattern	Tremor / Convulsion	Stereotype		Bizarre behavior
								Rolling	Circling	Selfmutilation
				1	1	1	1	0	0	1
Pre-administration	0 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5
Administration day 7	0 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5
Administration day 14	0 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5
Administration day 21	0 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5
Administration day 28	0 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5
Administration day 35	0 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5
Administration day 42	0 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5
Recovery day 7	0 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5
Recovery day 14	0 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5

Values are expressed as the number of animals.

Table 4-2-2 Detailed clinical observation of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/ developmental toxicity screening test (SR06169)

(Observation on the hand)

Period	Group	Number of animals	Category No.	Handling 1	Treating 1	Muscle tone 2	Pilo-erection 1	Fur 1	Skin 1	Eyes 1	Pupil size 1	Mucous membranes 1	Lacrima-tion 1	Salivation 1	Body temperature 1
Pre-administration	0 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Administration day 7	0 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Administration day 14	0 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Administration day 21	0 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Administration day 28	0 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Administration day 35	0 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Administration day 42	0 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Recovery day 7	0 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Recovery day 14	0 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

Values are expressed as the number of animals.

Table 4-2-3 Detailed clinical observation of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/ developmental toxicity screening test (SR06169)

(Observation in the open-field)

Period	Group	Number of animals	Category No.	Convulsion	Gait	Arousal	Urination		Defecation		Stereotype		Bizarre behavior		Respiratory pattern
											Grooming	Sniffing	Walking backward	Vocalization	
				1	1	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1
Pre-administration	0 mg/kg	5		5	5	5	4	1	5	0	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	0	5	0	5	5	5	5	5
Administration day 7	0 mg/kg	5		5	5	5	5	0	5	0	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	0	5	0	5	5	5	5	5
Administration day 14	0 mg/kg	5		5	5	5	4	1	5	0	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	0	5	0	5	5	5	5	5
Administration day 21	0 mg/kg	5		5	5	5	4	1	5	0	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	0	5	0	5	5	5	5	5
Administration day 28	0 mg/kg	5		5	5	5	5	0	5	0	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	0	5	0	5	5	5	5	5
Administration day 35	0 mg/kg	5		5	5	5	5	0	5	0	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	0	5	0	5	5	5	5	5
Administration day 42	0 mg/kg	5		5	5	5	5	0	5	0	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	0	5	0	5	5	5	5	5
Recovery day 7	0 mg/kg	5		5	5	5	5	0	5	0	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	0	5	0	5	5	5	5	5
Recovery day 14	0 mg/kg	5		5	5	5	5	0	5	0	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	0	5	0	5	5	5	5	5

Values are expressed as the number of animals.

Table 5 Functional test of male rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169)

(Observation on the desk)		Number		Reactivity					Righting
		of	Category	Visual	Touch	Auditory	Pain	Proprioceptive	reflex
Period	Group	animals	No.	4	2	1	2	1	1
Administration week 6	0 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5
	40 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5
	200 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5
Recovery week 2	0 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5

Values are expressed as the number of animals.

(To be continued)

Table 5 Functional test of male rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) (Continued)

Period	Group	Number of animals		Grip strength (g)		Locomotor activity count						
				Forelimb	Hindlimb	0'-10'	10'-20'	20'-30'	30'-40'	40'-50'	50'-60'	0'-60'
Administration week 6	0 mg/kg	5	Mean	1156.62	741.40	362.2	248.0	98.2	22.0	0.2	25.6	756.2
			S.D.	71.09	123.83	103.9	119.4	63.4	22.5	0.4	57.2	278.4
	40 mg/kg	5	Mean	1235.20	710.40	436.8	233.8	100.2	52.0	31.2	17.4	871.4
			S.D.	80.88	103.32	102.1	61.1	39.3	31.6	54.6	21.0	178.9
	200 mg/kg	5	Mean	1188.46	641.88	480.4	295.4	215.8	126.2	66.6	59.4	1243.8
			S.D.	163.79	132.70	170.9	161.2	162.5	108.6	101.3	82.5	669.5
	1000 mg/kg	5	Mean	1134.60	614.48	429.8	232.6	116.0	103.6	36.2	24.8	943.0
			S.D.	104.18	91.91	207.6	133.5	92.2	85.7	37.3	31.9	426.6
Recovery week 2	0 mg/kg	5	Mean	1314.52	723.12	350.8	258.4	173.0	111.8	87.4	72.4	1053.8
			S.D.	126.48	94.41	102.5	81.6	126.0	33.0	68.8	85.7	245.5
	1000 mg/kg	5	Mean	1263.28	633.46	379.2	200.0	130.6	112.0	112.6	84.0	1018.4
			S.D.	57.65	87.99	142.3	52.2	44.1	37.5	23.6	61.4	272.0

Table 6 Functional test of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169)

(Observation on the desk)		Number		Reactivity					Righting
		of	Category	Visual	Touch	Auditory	Pain	Proprioceptive	reflex
Period	Group	animals	No.	4	2	1	2	1	1
<Main group>									
Lactation	0 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5
day 4	40 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5
	200 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5
<Recovery group>									
Administration	0 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5
week 6	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5
Recovery	0 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5
week 2	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5

Values are expressed as the number of animals.

(To be continued)

Table 6 Functional test of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) (Continued)

Period	Group	Number of animals		Grip strength (g)		Locomotor activity count						
				Forelimb	Hindlimb	0'-10'	10'-20'	20'-30'	30'-40'	40'-50'	50'-60'	0'-60'
<Main group>												
Lactation day 4	0 mg/kg	5	Mean	1065.16	579.66	482.0	233.0	135.8	36.0	59.8	133.2	1079.8
			S.D.	104.66	43.95	169.6	123.9	115.5	45.2	89.9	97.8	379.4
	40 mg/kg	5	Mean	1186.80	576.08	499.0	248.8	136.8	101.2	61.0	51.0	1097.8
			S.D.	157.61	60.13	74.5	91.2	78.8	142.4	68.4	75.0	399.8
	200 mg/kg	5	Mean	1021.08	551.72	370.8	81.8*	63.2	128.0	68.0	92.0	803.8
			S.D.	105.12	50.45	71.3	49.8	79.1	83.8	75.2	104.1	386.1
	1000 mg/kg	5	Mean	860.42*	556.22	465.0	219.4	105.6	85.2	75.4	68.2	1018.8
			S.D.	74.75	51.17	112.0	56.1	41.9	73.2	30.9	81.3	278.9
<Recovery group>												
Administration week 6	0 mg/kg	5	Mean	785.80	516.84	503.8	337.0	175.2	86.0	62.0	41.4	1205.4
			S.D.	93.41	39.47	105.7	75.8	112.9	121.7	125.9	89.8	459.1
	1000 mg/kg	5	Mean	640.80	509.60	418.2	217.6	70.0	12.0	39.8	38.2	795.8
			S.D.	142.42	64.09	106.8	94.8	62.8	19.4	64.0	62.5	352.2
Recovery week 2	0 mg/kg	5	Mean	944.80	547.94	458.0	242.2	138.8	76.2	134.2	153.4	1202.8
			S.D.	128.19	69.40	281.9	190.5	90.8	114.2	110.4	153.2	756.8
	1000 mg/kg	5	Mean	908.54	533.34	548.8	355.8	157.6	112.2	157.6	74.8	1406.8
			S.D.	48.36	75.52	205.2	135.1	49.7	38.5	149.7	67.9	563.2

*: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.05$ (Dunnett's test).

Table 7 Body weight changes of male rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169)

Group	Number of animals		Body weight (g) on administration day										Body weight gain Days 1-42	
			1	3	5	7	10	14	21	28	35	42	(g)	(%)
0 mg/kg	12	Mean	380.4	388.6	395.6	404.2	413.3	428.4	444.6	468.5	490.4	501.2	120.8	31.708
		S.D.	14.9	16.3	19.1	20.8	21.3	24.4	25.4	28.9	32.2	33.4	25.3	6.316
40 mg/kg	12	Mean	383.0	391.2	398.3	404.5	415.3	433.0	453.8	477.2	499.5	509.6	126.6	32.926
		S.D.	15.5	16.3	19.1	20.4	20.4	23.5	24.1	31.6	35.0	37.8	24.8	5.513
200 mg/kg	12	Mean	381.7	389.1	393.5	401.8	410.6	425.7	447.3	471.2	494.9	504.3	122.6	32.083
		S.D.	12.5	18.6	19.7	19.5	19.5	23.2	23.6	26.9	29.7	30.0	23.2	5.750
1000 mg/kg	12	Mean	380.9	389.3	398.4	407.7	416.0	424.1	421.2	419.2 **	412.2 **	403.6 **	22.7 **	6.011 **
		S.D.	14.3	14.6	15.8	17.9	18.6	20.4	21.7	23.7	27.5	29.7	29.1	7.663

Group	Number of animals		Body weight (g) on recovery day		Body weight gain Day 42-R14	
			7	14	(g)	(%)
0 mg/kg	5	Mean	518.6	524.4	26.8	5.406
		S.D.	11.6	7.7	7.9	1.679
1000 mg/kg	5	Mean	413.0 **	434.2 **	32.0	8.006
		S.D.	25.5	23.4	10.4	2.792

R14: Recovery day 14.
**: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.01$ (Dunnett's test).

Table 8 Body weight changes before gestation period of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169)

Group	Number of animals		Body weight (g) on administration day						Body weight gain Days 1-14	
			1	3	5	7	10	14	(g)	(%)
0 mg/kg	12	Mean	253.3	258.8	261.6	268.7	272.0	283.2	29.8	11.813
		S.D.	8.3	11.7	8.3	14.1	9.7	12.3	10.9	4.358
40 mg/kg	12	Mean	253.2	258.4	261.1	267.8	270.5	281.0	27.8	11.068
		S.D.	15.2	13.7	15.4	15.2	14.6	16.3	8.6	3.660
200 mg/kg	12	Mean	248.8	257.8	257.9	267.3	267.1	276.7	27.9	11.237
		S.D.	12.7	13.8	14.7	14.4	14.9	15.3	7.6	3.039
1000 mg/kg	12	Mean	253.8	258.9	263.0	265.0	263.3	262.9 **	9.2 **	3.689 **
		S.D.	10.7	10.4	12.1	9.4	8.3	10.5	9.8	3.920

**: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.01$ (Dunnett's test).

Table 9 Body weight changes during gestation period of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169)

Group	Number of animals		Body weight (g) on gestation day									Body weight gain Days 0-20	
			0	1	3	5	7	10	14	17	20	(g)	(%)
0 mg/kg	12	Mean	291.3	294.9	310.0	320.8	330.9	348.8	372.8	408.4	456.2	164.8	56.688
		S.D.	15.2	11.6	16.3	18.7	18.4	22.0	22.3	24.7	28.3	22.3	7.779
40 mg/kg	12	Mean	288.4	295.0	310.5	320.4	330.3	347.4	372.2	403.8	452.3	163.9	56.885
		S.D.	16.6	19.3	18.8	20.2	21.4	22.0	21.5	23.2	26.1	13.5	4.184
200 mg/kg	12	Mean	285.2	289.9	306.5	313.7	322.3	337.3	360.7	394.9	443.9	158.8	55.566
		S.D.	14.5	14.8	17.7	19.4	21.0	25.1	28.8	33.1	37.6	27.9	8.554
											(10)	(10)	(10)
1000 mg/kg	11	Mean	257.4 **	261.7 ++	262.6 **	271.8 **	274.5 **	287.9 **	298.8 **	325.5 **	376.3 **	118.9 **	46.491 **
		S.D.	26.6	29.3	28.9	29.8	29.3	31.5	31.3	38.8	37.4	16.5	6.586

Values in parentheses are the number of animals examined.
**: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.01$ (Dunnett's test).
++: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.01$ (Mann-Whitney's U-test).

Table 10 Body weight changes during lactation period of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169)

Group	Number of animals		Body weight (g) on lactation day				Body weight gain Days 0-4	
			0	1	4	6	(g)	(%)
0 mg/kg	12	Mean	339.8	347.5	367.7	326.1	27.8	8.171
		S.D.	16.5	22.4	22.0	20.6	10.5	3.030
40 mg/kg	12	Mean	344.0	346.8	363.4	323.6	19.4	5.967
		S.D.	27.6	24.5	17.5	16.8	17.9	5.396
200 mg/kg	12	Mean	339.9	343.6	354.7	316.4	14.8	4.515
		S.D.	25.8	22.0	21.4	21.0	14.5	4.412
				(9)	(9)	(9)	(9)	(9)
1000 mg/kg	10	Mean	292.8 **	287.7 **	295.9 **	271.7 **	-0.3 **	-0.184 **
		S.D.	17.2	20.0	21.5	19.2	11.1	3.872

Values in parentheses are the number of animals examined.
**: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.01$ (Dunnett's test).

Table 11 Body weight changes of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/ developmental toxicity screening test (SR06169)

Group	Number of animals		Body weight (g) on administration day										Body weight gain Days 1-42	
			1	3	5	7	10	14	21	28	35	42	(g)	(%)
0 mg/kg	5	Mean	256.6	266.4	266.0	279.2	280.6	291.2	300.4	317.6	327.8	326.4	69.8	27.230
		S.D.	12.8	10.9	14.9	11.0	14.5	15.5	18.2	15.4	16.6	20.2	14.2	5.507
1000 mg/kg	5	Mean	254.6	270.4	264.6	275.4	273.2	272.8 *	268.2 **	268.2 **	251.8 **	257.8 **	3.2 **	1.258 **
		S.D.	9.6	9.1	11.8	9.0	9.1	8.3	9.0	15.0	23.8	29.7	28.0	11.119

Group	Number of animals		Body weight (g) on recovery day		Body weight gain Day 42-R14	
			7	14	(g)	(%)
0 mg/kg	5	Mean	330.0	339.0	12.6	3.960
		S.D.	19.1	15.1	7.3	2.378
1000 mg/kg	5	Mean	279.0 **	279.2 **	21.4	8.254 *
		S.D.	22.7	34.5	9.2	3.082

R14: Recovery day 14.
*: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.05$ (Dunnett's test).
**: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.01$ (Dunnett's test).

Table 12 Food consumption of male rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169)

Group	Number of animals		Food consumption (g/day) on administration day								
			1	3	5	7	10	14	28	35	42
0 mg/kg	12	Mean	25.75	24.67	24.96	25.63	25.28	25.28	25.92	26.26	25.64
		S.D.	2.83	2.04	1.75	2.49	1.97	2.00	1.94	1.88	1.75
40 mg/kg	12	Mean	26.75	26.04	25.33	25.92	26.07	26.68	26.83	27.33	26.43
		S.D.	2.93	2.14	2.49	1.40	1.61	1.96	2.45	2.27	2.55
200 mg/kg	12	Mean	27.75	25.71	24.08	26.08	25.32	25.74	26.43	26.68	26.33
		S.D.	2.14	2.72	2.79	1.90	2.04	2.00	2.50	2.14	1.85
									(10)	(10)	
1000 mg/kg	12	Mean	26.83	25.71	25.71	25.92	25.49	25.07	23.72	22.34 **	21.77 **
		S.D.	2.08	1.62	1.83	1.69	1.60	1.51	1.85	1.99	2.23

Group	Number of animals		Food consumption (g/day) on recovery day	
			7	14
0 mg/kg	5	Mean	26.58	26.98
		S.D.	1.21	2.27
1000 mg/kg	5	Mean	24.50	26.44
		S.D.	2.11	2.25

Values in parentheses are the number of animals examined.
**: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.01$ (Dunnett's test).

Table 13 Food consumption before gestation period of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169)

Group	Number of animals		Food consumption (g/day) on administration day					
			1	3	5	7	10	14
0 mg/kg	12	Mean	17.58	18.96	19.58	20.96	20.30	21.46
		S.D.	3.50	2.20	2.08	2.53	1.41	1.51
40 mg/kg	12	Mean	18.67	18.83	18.54	20.92	20.05	20.77
		S.D.	4.23	1.78	2.29	2.34	1.76	1.14
200 mg/kg	12	Mean	16.67	18.92	18.71	20.38	18.73	20.03
		S.D.	2.46	2.12	1.67	2.29	1.34	1.40
1000 mg/kg	12	Mean	17.67	17.54	19.29	18.21 *	17.11 **	16.55 **
		S.D.	3.17	1.68	2.02	1.68	1.97	2.38

*: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.05$ (Dunnett's test).
**: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.01$ (Dunnett's test).

Table 14 Food consumption during gestation period of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169)

Group	Number of animals		Food consumption (g/day) on gestation day							
			1	3	5	7	10	14	17	20
0 mg/kg	12	Mean	18.67	25.79	27.17	27.71	28.58	28.23	27.81	24.73
		S.D.	3.26	2.77	3.56	3.23	4.11	2.98	3.07	2.85
40 mg/kg	12	Mean	18.83	25.63	25.92	26.71	27.51	27.56	26.17	24.03
		S.D.	2.79	1.48	1.70	2.44	1.98	1.72	3.69	3.21
200 mg/kg	12	Mean	18.58	24.79	24.08 *	25.13	25.31	25.73	26.80	24.58
		S.D.	2.27	3.29	2.49	3.77	3.71	3.23	3.22	2.87
										(10)
1000 mg/kg	11	Mean	15.73	17.14 ++	19.45 **	20.41 **	21.73 **	20.98 **	22.74 **	22.01
		S.D.	4.71	4.12	3.52	3.37	3.90	3.23	4.38	3.62

Values in parentheses are the number of animals examined.
*: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.05$ (Dunnett's test).
**: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.01$ (Dunnett's test).
++: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.01$ (Mann-Whitney's U-test).

Table 15 Food consumption during lactation period of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169)

Group	Number of animals		Food consumption (g/day) on lactation day 1	Food consumption (g/day) on lactation day 4
0 mg/kg	12	Mean	23.75	41.08
		S.D.	4.73	4.21
40 mg/kg	12	Mean	19.08	37.78
		S.D.	6.56	4.82
200 mg/kg	12	Mean	19.67	35.17 *
		S.D.	4.68	4.86
1000 mg/kg	9	Mean	16.22 **	28.30 **
		S.D.	4.97	4.95

*: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.05$ (Dunnett's test).
**: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.01$ (Dunnett's test).

Table 16 Food consumption of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/ developmental toxicity screening test (SR06169)

Group	Number of animals		Food consumption (g/day) on administration day									
			1	3	5	7	10	14	21	28	35	42
0 mg/kg	5	Mean	16.00	19.60	17.90	21.70	19.66	21.04	20.72	21.38	20.10	18.60
		S.D.	3.54	2.22	2.30	1.44	1.92	1.10	1.71	1.63	1.01	1.81
1000 mg/kg	5	Mean	15.00	20.70	17.70	21.20	17.54	18.18 **	18.10 *	18.12 *	14.96 ++	17.30
		S.D.	1.87	1.15	0.91	1.30	1.72	1.43	1.58	2.20	4.04	4.56

Group	Number of animals		Food consumption (g/day) on recovery day	
			7	14
0 mg/kg	5	Mean	18.58	20.24
		S.D.	1.45	1.72
1000 mg/kg	5	Mean	20.68	20.34
		S.D.	3.83	1.75

*: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.05$ (Dunnett's test).
**: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.01$ (Dunnett's test).
++: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.01$ (Mann-Whitney's U-test).

Table 17 Urinary findings of male rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169)

Group	Number of animals	pH				Protein			Glucose	Ketone body	Urobilinogen	Bilirubin	Occult blood			Color
		7.0	7.5	8.0	8.5	−	±	+	−	−	0.1 EU/dL	−	−	±	+	A
0 mg/kg	5	0	0	0	5	0	5	0	5	5	5	5	4	1	0	5
40 mg/kg	5	0	0	0	5	0	3	2	5	5	5	5	5	0	0	5
200 mg/kg	5	0	0	0	5	0	3	2	5	5	5	5	4	1	0	5
1000 mg/kg	5	1	0	2	2	1	1	3	5	5	5	5	4	0	1	5

Group	Number of animals	Specific gravity			Urine volume (mL/21hr., mean±S.D.)
		1.031-1.040	1.041-1.050	1.051≦	
0 mg/kg	5	0	4	1	12.90±2.95
40 mg/kg	5	2	3	0	14.50±6.47
200 mg/kg	5	2	2	1	15.40±6.57
1000 mg/kg	5	3	2	0	15.20±2.89

Values are number of animals with findings.
Color: A = Pale yellow or yellow.
-; Negative, ±; slight, +; moderate.

Table 18 Urinary findings of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/ developmental toxicity screening test (SR06169)

Group	Number of animals	pH			Protein			Glucose	Ketone body	Urobilinogen	Bilirubin	Occult blood	Color
		7.5	8.0	8.5	−	±	+	−	−	0.1 EU/dL	−	−	A
0 mg/kg	5	1	0	4	3	1	1	5	5	5	5	5	5
1000 mg/kg	5	0	1	4	4	0	1	5	5	5	5	5	5

Group	Number of animals	Specific gravity					Urine volume (mL/21hr., mean±S.D.)
		1.011-1.020	1.021-1.030	1.031-1.040	1.041-1.050	1.051≦	
0 mg/kg	5	0	0	1	3	1	8.30±1.35
1000 mg/kg	5	1	2	1	1	0	17.40±6.82

Values are number of animals with findings.
Color: A = Pale yellow or yellow.
-; Negative, ±; slight, +; moderate.

Table 19 Urinary findings of male rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169)

Group	Number of animals	pH		Protein		Glucose	Ketone body	Urobilinogen	Bilirubin	Occult blood	Color
		8.0	8.5	±	+	−	−	0.1 EU/dL	−	−	A
0 mg/kg	5	0	5	1	4	5	5	5	5	5	5
1000 mg/kg	5	1	4	0	5	5	5	5	5	5	5

Group	Number of animals	Specific gravity				Urine volume (mL/21hr., mean±S.D.)
		1.021-1.030	1.031-1.040	1.041-1.050	1.051≦	
0 mg/kg	5	1	1	2	1	16.00±7.91
1000 mg/kg	5	1	0	0	4	14.10±9.79

Values are number of animals with findings.
Color: A = Pale yellow or yellow.
-; Negative, ±; slight, +; moderate.

Table 20 Urinary findings of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169)

Group	Number of animals	pH					Protein			Glucose	Ketone body	Urobilinogen	Bilirubin	Occult blood	Color
		6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	−	±	+	−	−	0.1 EU/dL	−	−	A
0 mg/kg	5	0	0	0	2	3	0	1	4	5	5	5	5	5	5
1000 mg/kg	5	2	0	0	0	3	1	2	2	5	5	5	5	5	5

Group	Number of animals	Specific gravity					Urine volume (mL/21hr., mean±S.D.)
		1.011-1.020	1.021-1.030	1.031-1.040	1.041-1.050	1.051≦	
0 mg/kg	5	0	1	1	2	1	14.10±8.42
1000 mg/kg	5	1	0	2	1	1	15.30±8.38

Values are number of animals with findings.
Color: A = Pale yellow or yellow.
-; Negative, ±; slight, +; moderate.

Table 21 Hematological findings of male rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/ developmental toxicity screening test (SR06169)

Group	Number of animals		WBC $10^2/\mu L$	RBC $10^4/\mu L$	HGB g/dL	HCT %	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	Platelet $10^4/\mu L$
0 mg/kg	5	Mean	94.64	941.0	16.30	45.98	48.88	17.34	35.46	117.30
		S.D.	20.40	26.4	0.60	1.72	2.03	0.63	0.34	20.73
40 mg/kg	5	Mean	89.24	907.0	16.34	46.02	50.76	18.02	35.52	99.32
		S.D.	16.00	25.2	0.47	1.58	1.98	0.71	0.44	17.32
200 mg/kg	5	Mean	92.78	864.6 **	15.20 *	42.58 *	49.30	17.60	35.70	114.12
		S.D.	25.45	30.4	0.46	0.97	0.74	0.27	0.39	14.13
1000 mg/kg	5	Mean	120.52	829.2 **	14.68 **	40.62 **	49.04	17.72	36.10	123.82
		S.D.	33.61	51.2	0.87	1.97	2.01	0.73	0.46	8.46

Group	Number of animals		Reticulocyte %	PT sec	APTT sec	Differential count of WBC ($10^2/\mu L$)				
						Neutrophil	Lymphocyte	Monocyte	Eosinophil	Basophil
0 mg/kg	5	Mean	3.292	20.18	27.74	15.84	73.98	3.66	1.14	0.02
		S.D.	0.388	3.25	3.40	5.24	15.47	1.84	0.71	0.04
40 mg/kg	5	Mean	2.710	19.86	26.84	18.86	66.10	2.84	1.42	0.02
		S.D.	0.507	2.22	2.66	8.27	9.94	0.83	0.74	0.04
200 mg/kg	5	Mean	3.092	20.50	26.04	13.62	74.94	3.00	1.22	0.00
		S.D.	0.664	2.57	2.89	6.56	18.08	1.23	0.67	0.00
1000 mg/kg	5	Mean	2.240 *	21.02	29.24	20.16	95.34	3.32	1.64	0.06
		S.D.	0.456	2.67	1.66	11.58	32.52	1.85	1.21	0.05

*: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.05$ (Dunnett's test).
**: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.01$ (Dunnett's test).

Table 22 Hematological findings of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/ developmental toxicity screening test (SR06169)

Group	Number of animals		WBC $10^2/\mu L$	RBC $10^4/\mu L$	HGB g/dL	HCT %	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	Platelet $10^4/\mu L$
0 mg/kg	5	Mean	102.82	809.4	14.96	42.58	52.62	18.50	35.14	141.46
		S.D.	17.62	17.8	0.32	0.79	1.66	0.60	0.44	34.14
40 mg/kg	5	Mean	106.60	814.6	15.74 *	45.12 *	55.46	19.32	34.90	110.96
		S.D.	25.14	30.2	0.53	1.36	2.77	0.65	0.96	13.86
200 mg/kg	5	Mean	99.60	819.6	15.50	44.54	54.38	18.90	34.80	137.62
		S.D.	24.85	24.5	0.38	1.47	1.45	0.38	0.35	12.25
1000 mg/kg	5	Mean	144.70	814.2	14.84	42.00	51.60	18.24	35.36	135.46
		S.D.	53.63	24.2	0.39	1.61	1.51	0.42	0.51	12.70

Group	Number of animals		Reticu-locyte %	PT sec	APTT sec	Differential count of WBC ($10^2/\mu L$)				
						Neutrophil	Lymphocyte	Monocyte	Eosinophil	Basophil
0 mg/kg	5	Mean	8.632	18.24	19.62	23.20	71.96	6.42	1.22	0.02
		S.D.	1.147	0.34	0.95	6.60	19.15	1.45	0.22	0.04
40 mg/kg	5	Mean	9.352	17.40	20.80	25.78	71.64	7.26	1.90	0.02
		S.D.	3.394	0.76	1.47	12.10	15.15	1.09	0.73	0.04
200 mg/kg	5	Mean	8.236	16.34 **	20.14	14.14	79.36	4.70	1.40	0.00
		S.D.	2.075	0.40	0.94	4.04	21.76	1.56	0.66	0.00
1000 mg/kg	5	Mean	6.228	16.14 **	22.20 *	27.90	107.54	7.10	2.02	0.14 +
		S.D.	0.479	0.86	2.19	16.30	37.56	1.58	0.88	0.05

*: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.05$ (Dunnett's test).
**: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.01$ (Dunnett's test).
+: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.05$ (Mann-Whitney's U-test).

Table 23 Hematological findings of male rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169)

Group	Number of animals		WBC $10^2/\mu L$	RBC $10^4/\mu L$	HGB g/dL	HCT %	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	Platelet $10^4/\mu L$
0 mg/kg	5	Mean	118.52	926.6	16.12	44.82	48.38	17.40	36.00	120.84
		S.D.	25.33	26.9	0.44	1.30	1.46	0.32	0.62	20.42
1000 mg/kg	5	Mean	135.98	804.4 **	13.86 **	39.42 **	48.98	17.22	35.16	111.74
		S.D.	28.93	28.3	0.67	2.23	1.73	0.36	0.55	6.11

Group	Number of animals		Reticu-locyte %	PT sec	APTT sec	Differential count of WBC ($10^2/\mu L$)				
						Neutrophil	Lymphocyte	Monocyte	Eosinophil	Basophil
0 mg/kg	5	Mean	3.346	17.80	25.58	16.34	95.06	5.10	1.98	0.04
		S.D.	0.379	0.83	1.98	4.32	24.30	0.99	1.12	0.05
1000 mg/kg	5	Mean	4.980 **	19.30	28.76 *	13.90	116.60	4.22	1.24	0.02
		S.D.	0.803	1.76	0.99	2.23	27.63	0.90	0.31	0.04

*: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.05$ (Dunnett's test).
**: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.01$ (Dunnett's test).

Table 24 Hematological findings of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169)

Group	Number of animals		WBC $10^2/\mu L$	RBC $10^4/\mu L$	HGB g/dL	HCT %	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	Platelet $10^4/\mu L$
0 mg/kg	5	Mean	68.02	846.0	15.36	43.28	51.14	18.14	35.50	119.72
		S.D.	12.23	19.7	0.50	1.65	1.35	0.40	0.23	11.35
1000 mg/kg	5	Mean	91.90 *	818.6	14.36	39.98	48.88 *	17.56	35.90 *	125.42
		S.D.	16.05	59.9	0.95	2.74	1.52	0.58	0.20	28.15

Group	Number of animals		Reticu-locyte %	PT sec	APTT sec	Differential count of WBC ($10^2/\mu L$)				
						Neutrophil	Lymphocyte	Monocyte	Eosinophil	Basophil
0 mg/kg	5	Mean	3.232	16.92	20.36	11.90	52.24	2.78	1.10	0.00
		S.D.	0.198	0.42	0.85	2.90	8.97	1.01	0.44	0.00
1000 mg/kg	5	Mean	3.064	15.14 *	26.98 ++	11.18	75.06 *	4.38	1.22	0.06
		S.D.	1.518	1.30	4.39	7.10	12.31	3.11	0.45	0.05

*: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.05$ (Dunnett's test).
++: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.01$ (Mann-Whitney's U-test).

Table 25 Biochemical findings of male rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169)

Group	Number of animals		TP g/dL	Albumin g/dL	A/G ratio	Protein fraction (%) Albumin	Globulin α_1	Globulin α_2	Globulin β	Globulin γ	AST IU/L	ALT IU/L	ALP IU/L	γ-GTP IU/L
0 mg/kg	5	Mean	5.68	2.794	0.972	49.22	23.06	7.24	15.76	4.72	67.4	30.4	372.8	0.70
		S.D.	0.22	0.074	0.026	0.70	2.53	0.94	0.86	0.58	8.0	3.2	45.7	0.12
40 mg/kg	5	Mean	5.34	2.750	1.066	51.56	19.76	7.94	15.98	4.76	73.6	35.4	387.0	0.76
		S.D.	0.29	0.144	0.069	1.59	2.28	0.98	1.52	0.56	7.3	8.4	31.6	0.17
200 mg/kg	5	Mean	5.50	2.904	1.122 *	52.82 *	19.62	7.24	15.48	4.84	72.8	35.0	475.2	0.48 ++
		S.D.	0.19	0.076	0.098	2.22	2.22	0.43	1.19	0.39	6.9	7.1	74.3	0.04
1000 mg/kg	5	Mean	5.10 **	2.882	1.312 **	56.66 **	13.70 **	7.24	14.48	7.92 ++	83.4	46.4 *	703.0 **	0.50
		S.D.	0.19	0.066	0.118	2.31	1.29	1.01	1.09	1.85	16.8	9.7	89.8	0.30

Group	Number of animals		T-Bil mg/dL	Glucose mg/dL	T-Cho mg/dL	TG mg/dL	UN mg/dL	Crea mg/dL	Na mEq/L	K mEq/L	Cl mEq/L	Ca mg/dL	IP mg/dL
0 mg/kg	5	Mean	0.048	152.6	48.4	33.4	16.02	0.534	143.4	4.686	107.4	9.46	6.56
		S.D.	0.016	15.6	10.7	23.7	1.22	0.050	1.1	0.319	1.5	0.28	0.56
40 mg/kg	5	Mean	0.042	159.2	44.4	28.2	15.74	0.522	144.4	4.560	108.0	9.46	6.74
		S.D.	0.004	25.9	15.4	30.3	0.64	0.011	1.5	0.200	0.7	0.28	1.24
200 mg/kg	5	Mean	0.030	155.2	42.2	26.4	15.28	0.520	144.2	4.698	107.6	9.68	7.16
		S.D.	0.007	13.6	16.8	9.8	1.22	0.047	0.8	0.328	1.1	0.18	0.50
1000 mg/kg	5	Mean	0.128 ++	138.6	55.2	17.0	22.56 **	0.492	142.4	5.030	108.6	9.22	6.66
		S.D.	0.027	10.3	12.2	5.8	1.94	0.028	1.1	0.264	1.1	0.16	0.18

*: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.05$ (Dunnett's test).
**: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.01$ (Dunnett's test).
++: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.01$ (Mann-Whitney's U-test).

Table 26 Biochemical findings of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169)

Group	Number of animals		TP g/dL	Albumin g/dL	A/G ratio	Protein fraction (%) Albumin	Globulin α_1	Globulin α_2	Globulin β	Globulin γ	AST IU/L	ALT IU/L	ALP IU/L	γ-GTP IU/L
0 mg/kg	5	Mean	6.26	2.994	0.916	47.82	21.20	8.12	18.46	4.40	82.6	29.8	176.0	0.76
		S.D.	0.21	0.173	0.058	1.57	2.02	0.96	0.68	1.24	23.7	5.3	24.4	0.19
40 mg/kg	5	Mean	6.02	2.972	0.974	49.34	18.18	8.32	18.94	5.22	74.4	29.0	228.2	0.68
		S.D.	0.24	0.202	0.064	1.62	2.54	0.86	1.53	0.83	11.1	2.1	62.7	0.08
200 mg/kg	5	Mean	6.34	3.276	1.072	51.64	17.72 *	7.58	18.22	4.84	81.6	31.2	208.6	0.64
		S.D.	0.35	0.292	0.118	2.94	1.82	0.71	2.28	1.00	16.3	5.8	37.8	0.15
1000 mg/kg	5	Mean	6.04	3.120	1.080	51.64	16.44 **	8.32	16.62	6.98 **	98.8	35.8	302.8 *	0.98
		S.D.	0.24	0.304	0.173	3.87	1.70	1.43	1.49	0.93	36.9	5.8	97.3	0.22

Group	Number of animals		T-Bil mg/dL	Glucose mg/dL	T-Cho mg/dL	TG mg/dL	UN mg/dL	Crea mg/dL	Na mEq/L	K mEq/L	Cl mEq/L	Ca mg/dL	IP mg/dL
0 mg/kg	5	Mean	0.068	158.2	65.2	29.2	22.22	0.648	139.4	5.346	102.4	10.26	9.04
		S.D.	0.011	9.6	6.5	14.6	2.52	0.040	1.9	0.354	2.1	0.32	0.44
40 mg/kg	5	Mean	0.062	154.4	58.4	39.8	23.22	0.670	140.6	4.744	103.6	10.56	9.66
		S.D.	0.008	18.6	10.5	17.6	2.93	0.041	1.5	0.481	1.3	0.35	0.72
200 mg/kg	5	Mean	0.058	152.8	62.4	45.6	21.58	0.662	141.0	5.050	105.2 *	10.24	8.98
		S.D.	0.011	6.6	11.5	10.5	2.29	0.044	0.7	0.257	1.1	0.26	0.61
1000 mg/kg	5	Mean	0.058	144.0	49.2 *	21.6	31.42 **	0.584	140.0	5.348	105.2 *	9.84	8.58
		S.D.	0.008	9.7	4.8	7.4	3.35	0.044	1.4	0.538	1.8	0.27	0.70

*: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leq 0.05$ (Dunnett's test).
**: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leq 0.01$ (Dunnett's test).

Table 27 Biochemical findings of male rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/ developmental toxicity screening test (SR06169)

Group	Number of animals		TP g/dL	Albumin g/dL	A/G ratio	Protein fraction (%) Albumin	Globulin α_1	Globulin α_2	Globulin β	Globulin γ	AST IU/L	ALT IU/L	ALP IU/L	γ-GTP IU/L
0 mg/kg	5	Mean	5.68	2.806	0.978	49.44	21.62	7.14	16.98	4.82	67.4	34.6	324.6	0.56
		S.D.	0.15	0.053	0.087	2.21	2.70	0.46	0.56	0.59	6.9	3.1	92.9	0.21
1000 mg/kg	5	Mean	5.40 *	3.140 **	1.390 **	58.10 **	15.70 **	7.20	14.12 **	4.88	74.0	43.0	539.4 *	0.50
		S.D.	0.21	0.156	0.085	1.49	1.48	0.70	0.68	0.75	6.5	9.4	111.6	0.19

Group	Number of animals		T-Bil mg/dL	Glucose mg/dL	T-Cho mg/dL	TG mg/dL	UN mg/dL	Crea mg/dL	Na mEq/L	K mEq/L	Cl mEq/L	Ca mg/dL	IP mg/dL
0 mg/kg	5	Mean	0.076	168.6	57.4	49.6	16.74	0.558	141.2	4.664	105.2	9.56	6.44
		S.D.	0.015	11.1	9.8	9.8	1.77	0.030	1.1	0.232	0.8	0.21	0.53
1000 mg/kg	5	Mean	0.070	162.6	75.8	16.2 **	18.70	0.510	141.2	4.986	105.6	9.50	6.96
		S.D.	0.007	25.9	23.8	4.3	1.95	0.048	1.6	0.319	1.5	0.28	0.80

*: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.05$ (Dunnett's test).
**: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.01$ (Dunnett's test).

Table 28 Biochemical findings of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/ developmental toxicity screening test (SR06169)

Group	Number of animals		TP g/dL	Albumin g/dL	A/G ratio	Protein fraction (%) Albumin	Globulin α_1	Globulin α_2	Globulin β	Globulin γ	AST IU/L	ALT IU/L	ALP IU/L	γ-GTP IU/L
0 mg/kg	5	Mean	6.92	3.870	1.270	55.92	17.36	5.96	14.34	6.42	120.2	58.2	151.0	0.78
		S.D.	0.44	0.304	0.079	1.48	1.30	0.30	0.58	0.90	97.0	52.9	22.7	0.16
1000 mg/kg	5	Mean	5.98 *	3.638	1.588 *	61.10 *	12.78 **	6.68	12.92 **	6.52	124.0	72.4	225.0	3.28
		S.D.	0.79	0.378	0.220	3.19	2.52	0.86	0.70	1.69	134.3	87.2	116.0	5.33

Group	Number of animals		T-Bil mg/dL	Glucose mg/dL	T-Cho mg/dL	TG mg/dL	UN mg/dL	Crea mg/dL	Na mEq/L	K mEq/L	Cl mEq/L	Ca mg/dL	IP mg/dL
0 mg/kg	5	Mean	0.104	155.4	72.4	26.0	15.90	0.636	142.2	4.462	106.8	10.16	5.10
		S.D.	0.021	10.6	14.6	21.1	2.00	0.035	0.8	0.422	1.8	0.26	0.63
1000 mg/kg	5	Mean	0.340	150.4	66.4	22.8	15.46	0.594	141.4	4.778	106.6	9.84	6.40
		S.D.	0.649	21.6	14.8	15.2	3.26	0.052	1.1	0.260	2.5	0.50	1.09

*: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.05$ (Dunnett's test).
**: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.01$ (Dunnett's test).

Table 29 Gross findings of male rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/ developmental toxicity screening test (SR06169)

	End of administration				End of recovery	
Group	0 mg/kg	40 mg/kg	200 mg/kg	1000 mg/kg	0 mg/kg	1000 mg/kg
Number of animals examined	7	12	12	7	5	5
No abnormal findings	6	10	10	0	5	0
Organ: Findings						
Liver: Hypertrophy	0	0	0	7	0	5
Kidney: Dilatation, renal pelvis	0	1	0	0	0	0
Testis: Small size	1	1	1	0	0	0
Epididymis: Small size	1	1	1	0	0	0
Yellowish white patch	0	0	1	0	0	1

Values are the number of animals with findings.

Table 30 Gross findings of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169)

Group	0 mg/kg					40 mg/kg					200 mg/kg					1000 mg/kg				
	A	B	C	D	T	A	B	C	D	T	A	B	C	D	T	A	B	C	D	T
Number of animals examined	12	0	0	0	12	12	0	0	0	12	12	0	0	0	12	9	1	1	1	12
No abnormal findings	12	-	-	-	12	11	-	-	-	11	12	-	-	-	12	3	0	0	0	3
Organ: Findings																				
Liver: Hypertrophy	0	-	-	-	0	0	-	-	-	0	0	-	-	-	0	6	0	0	0	6
Yellowish white patch	0	-	-	-	0	0	-	-	-	0	0	-	-	-	0	0	1	0	0	1
Glandular stomach: Black patch, mucosa	0	-	-	-	0	0	-	-	-	0	0	-	-	-	0	1	0	0	0	1
Fine black patch, mucosa	0	-	-	-	0	0	-	-	-	0	0	-	-	-	0	0	0	0	1	1
Red discoloration, mucosa	0	-	-	-	0	1	-	-	-	1	0	-	-	-	0	0	0	0	0	0
Uterine cervix: Retention, dark brown gelatinous substance	0	-	-	-	0	0	-	-	-	0	0	-	-	-	0	0	0	1	0	1

Values are the number of animals with findings.

Fate: A, animals nursing pups until lactation day 4; B, animals showing abnormal delivery; C, non-pregnant animals; D, animals euthanized during dosing period; T, total (A+B+C+D).

-: Blank.

Table 31 Gross findings of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169)

Group	0 mg/kg	1000 mg/kg
Number of animals examined[a]	5	5
No abnormal findings	5	2
Organ: Findings		
Liver: Hypertrophy	0	2
Yellowish brown discoloration	0	1
Dark brown discoloration	0	1
Skin: Alopecia	0	2

Values are the number of animals with findings.
a: animals euthanized at the end of recovery.

Table 32 Absolute and relative organ weights of male rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169)

Group	Number of animals		Body weight	Liver		Kidney		Spleen		Heart		Brain	
			g	g	%	g	%	g	%	g	%	g	%
0 mg/kg	5	Mean	457.6	10.854	2.364	2.956	0.648	0.738	0.160	1.376	0.300	2.150	0.470
		S.D.	33.8	1.786	0.278	0.146	0.047	0.091	0.020	0.084	0.019	0.080	0.024
40 mg/kg	5	Mean	453.8	11.282	2.478	2.896	0.636	0.704	0.156	1.398	0.306	2.170	0.478
		S.D.	24.3	1.593	0.245	0.215	0.044	0.059	0.005	0.162	0.021	0.085	0.031
200 mg/kg	5	Mean	469.8	15.768 **	3.352 **	3.084	0.660	0.656	0.140	1.408	0.298	2.176	0.466
		S.D.	40.4	1.836	0.143	0.282	0.076	0.087	0.012	0.187	0.016	0.111	0.050
1000 mg/kg	5	Mean	364.4 **	18.208 **	5.000 **	2.938	0.806 **	0.580 *	0.160	1.056 **	0.288	2.136	0.586 **
		S.D.	26.0	1.210	0.133	0.254	0.043	0.103	0.022	0.100	0.018	0.059	0.038

Group	Number of animals		Thymus		Adrenal	
			mg	10^{-3}%	mg	10^{-3}%
0 mg/kg	5	Mean	297.4	64.506	55.4	12.170
		S.D.	85.1	15.089	13.9	3.365
40 mg/kg	5	Mean	271.4	59.628	58.2	12.854
		S.D.	84.2	17.573	6.2	1.517
200 mg/kg	5	Mean	335.2	71.590	68.0	14.584
		S.D.	52.9	11.770	7.2	2.105
1000 mg/kg	5	Mean	178.4 *	48.400	51.2	14.092
		S.D.	50.5	9.974	3.9	1.313

(To be continued)

*: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.05$ (Dunnett's test).
**: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.01$ (Dunnett's test).

Table 32 Absolute and relative organ weights of male rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169) (Continued)

Group	Number of animals		Body weight g	Testis g	Testis %	Epididymis g	Epididymis %
0 mg/kg	7	Mean	476.6	3.277	0.697	1.333	0.281
		S.D.	42.6	0.383	0.124	0.128	0.043
40 mg/kg	12	Mean	482.3	3.375	0.702	1.339	0.278
		S.D.	38.0	0.470	0.097	0.193	0.043
200 mg/kg	12	Mean	478.1	3.320	0.697	1.303	0.274
		S.D.	30.5	0.227	0.071	0.125	0.034
1000 mg/kg	7	Mean	379.6 **	3.421	0.906 **	1.191	0.316
		S.D.	33.9	0.251	0.066	0.074	0.025

**: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.01$ (Dunnett's test).

Table 33 Absolute and relative organ weights of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169)

Group	Number of animals		Body weight	Liver		Kidney		Spleen		Heart		Brain	
			g	g	%	g	%	g	%	g	%	g	%
0 mg/kg	5	Mean	314.6	10.168	3.234	2.046	0.650	0.710	0.224	1.076	0.342	2.050	0.652
		S.D.	12.3	0.541	0.156	0.198	0.062	0.056	0.015	0.048	0.016	0.058	0.019
40 mg/kg	5	Mean	327.6	10.594	3.232	2.040	0.624	0.766	0.232	1.104	0.340	2.080	0.638
		S.D.	19.1	0.761	0.105	0.245	0.061	0.161	0.046	0.065	0.028	0.105	0.039
200 mg/kg	5	Mean	309.0	11.738	3.798 ++	2.008	0.648	0.666	0.218	1.048	0.340	2.090	0.680
		S.D.	22.5	1.013	0.099	0.276	0.054	0.098	0.024	0.094	0.024	0.057	0.061
1000 mg/kg	5	Mean	273.2 **	13.176 **	4.822 ++	1.974	0.724	0.570	0.212	0.844 **	0.310	2.008	0.738 *
		S.D.	18.2	1.620	0.487	0.096	0.049	0.045	0.015	0.056	0.016	0.065	0.066

Group	Number of animals		Thymus		Adrenal		Ovary	
			mg	10^{-3}%	mg	10^{-3}%	mg	10^{-3}%
0 mg/kg	5	Mean	268.2	85.068	84.2	26.772	112.8	35.830
		S.D.	29.0	6.296	12.8	3.966	8.0	1.537
40 mg/kg	5	Mean	322.0 *	98.912	81.8	24.920	112.4	34.312
		S.D.	31.1	14.441	14.6	3.876	9.4	2.170
200 mg/kg	5	Mean	305.4	99.250	76.4	24.494	102.0	32.800
		S.D.	26.7	11.063	23.6	6.520	20.4	4.374
1000 mg/kg	5	Mean	245.4	90.610	63.0	23.046	105.2	38.722
		S.D.	33.6	17.058	15.6	5.175	7.9	4.726

*: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.05$ (Dunnett's test).
**: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.01$ (Dunnett's test).
++: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.01$ (Mann-Whitney's U-test).

Table 34 Absolute and relative organ weights of male rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/ developmental toxicity screening test (SR06169)

Group	Number of animals		Body weight	Liver		Kidney		Spleen		Heart		Brain	
			g	g	%	g	%	g	%	g	%	g	%
0 mg/kg	5	Mean	497.0	11.948	2.404	2.930	0.590	0.698	0.140	1.460	0.294	2.158	0.436
		S.D.	8.8	0.302	0.060	0.097	0.019	0.055	0.010	0.070	0.017	0.110	0.030
1000 mg/kg	5	Mean	409.2 **	18.280 ++	4.464 ++	2.936	0.718 **	0.682	0.168	1.164 **	0.284	2.164	0.528 **
		S.D.	18.9	2.108	0.420	0.188	0.030	0.094	0.027	0.139	0.030	0.102	0.026

Group	Number of animals		Thymus		Adrenal		Testis		Epididymis	
			mg	10^{-3}%	mg	10^{-3}%	g	%	g	%
0 mg/kg	5	Mean	252.6	50.842	63.4	12.734	3.468	0.698	1.470	0.298
		S.D.	33.1	6.822	10.6	1.897	0.190	0.041	0.062	0.013
1000 mg/kg	5	Mean	274.0	67.198	53.2	13.010	3.270	0.802	1.328	0.326
		S.D.	93.5	23.299	6.9	1.609	0.362	0.096	0.140	0.027

**: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.01$ (Dunnett's test).
++: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.01$ (Mann-Whitney's U-test).

Table 35 Absolute and relative organ weights of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/ developmental toxicity screening test (SR06169)

Group	Number of animals		Body weight	Liver		Kidney		Spleen		Heart		Brain	
			g	g	%	g	%	g	%	g	%	g	%
0 mg/kg	5	Mean	319.4	7.790	2.442	2.002	0.628	0.556	0.174	1.056	0.330	2.044	0.640
		S.D.	15.1	0.191	0.097	0.050	0.030	0.098	0.030	0.054	0.012	0.056	0.034
1000 mg/kg	5	Mean	262.8 **	10.314 ++	3.956 ++	1.940	0.752 ++	0.494	0.186	0.890 **	0.344	2.040	0.788
		S.D.	33.2	1.240	0.527	0.102	0.120	0.070	0.018	0.071	0.040	0.108	0.106

Group	Number of animals		Thymus		Adrenal		Ovary	
			mg	10^{-3}%	mg	10^{-3}%	mg	10^{-3}%
0 mg/kg	5	Mean	274.0	86.202	78.0	24.456	106.2	33.346
		S.D.	24.0	11.461	9.7	3.243	12.5	4.465
1000 mg/kg	5	Mean	250.0	94.540	60.2	22.724	81.0	30.544
		S.D.	85.9	27.439	17.2	4.376	21.7	5.001

**: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.01$ (Dunnett's test).
++: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.01$ (Mann-Whitney's U-test).

Table 36 Histopathological findings of male rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169)

	Group	0 mg/kg	40 mg/kg	200 mg/kg	1000 mg/kg
Number of animals examined		7	12	12	7
Organ: Findings	Grade				
Lung: Mineralization, artery	+	1 (5)	-	-	0 (5)
Aggregation, macrophage, alveolar	+	0 (5)	-	-	1 (5)
Metaplasia, osseous, alveoli	+	0 (5)	-	-	1 (5)
Pancreas: Decrease, zymogen granule	+	1	0	0	4
Liver: Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular	+	0	0	12 **	0 **
	++	0	0	0	7
Degeneration/necrosis, hepatocyte, centrilobular	+	0	0	0	4 **
	++	0	0	0	2
Necrosis, focal	+	0	0	1	2
Microgranuloma	+	5	9	7	6
Deposit, hemosiderin	+	0	0	0	4
Fatty change, centrilobular	+	0	0	2	0
Kidney: Regeneration, tubular epithelium	+	1 (5)	0 (1)	-	0 (5)
Cast, hyaline	+	0 (5)	1 (1)	-	0 (5)
Dilatation, renal pelvis	+	0 (5)	1 (1)	-	0 (5)
Testis: Atrophy, seminiferous tubule	+	2 (5)	0 (1)	0 (1)	0 (5)
	++	0 (5)	1 (1)	1 (1)	0 (5)
Epididymis: Decrease, spermatozoa	+	1 (5)	0 (1)	0 (2)	0 (5)
	+++	0 (5)	1 (1)	1 (2)	0 (5)
Cell debris, lumen	+	0 (5)	1 (1)	1 (2)	0 (5)
Spermatic granuloma	+	0 (5)	0 (1)	1 (2)	0 (5)
Prostate: Cellular infiltration, inflammatory cell	+	0 (5)	-	-	1 (5)
Spleen: Deposit, hemosiderin	+	5	8	8	2
	++	2	4	4	5
Thymus: Atrophy, cortex	+	0	0	0	1
Eyeball: Atrophy, retina	+	1 (5)	-	-	2 (5)

Values are the number of animals with findings.
Values in parentheses are the number of animals examined.
-: Blank.
Grade; +: slight change, ++: moderate change, +++; severe change.
**: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.01$ (Mann-Whitney's U-test).

Table 37 Histopathological findings of female rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169)

	Group	0 mg/kg	40 mg/kg	200 mg/kg	1000 mg/kg
Number of animals examined		12	12	12	12
Organ: Findings	Grade				
Lung: Mineralization, artery	+	2 (5)	-	-	1 (6)
Glandular stomach: Congestion	+	0 (5)	1 (1)	-	1 (6)
Ulcer	+	0 (5)	0 (1)	-	1 (6)
Pancreas: Decrease, zymogen granule	+	0	0	0	9 **
	++	0	0	0	1
Liver: Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular	+	0	0	0	10 **
	++	0	0	0	1
Single cell necrosis, hepatocyte	+	0	0	0	1
Necrosis, focal	+	0	0	0	5 *
	++	0	0	0	1
Necrosis, massive	+	0	0	0	1
Microgranuloma	+	4	4	5	4 **
	++	0	0	0	7
Cellular infiltration, inflammatory cell	+	0	0	0	1
Deposit, hemosiderin	+	0	0	0	3
Fatty change, periportal	+	3	1	0	2
Kidney: Regeneration, tubular epithelium	+	0 (5)	-	-	1 (6)
Cellular infiltration, inflammatory cell, interstitium	+	0 (5)	-	-	1 (6)
Dilatation, tubule	+	0 (5)	-	-	1 (6)
Uterine cervix: Retention, mucus	+	0 (5)	-	-	1 (7)
Spleen: Deposit, hemosiderin	+	11	12	10	3 **
	++	1	0	2	9
Increase, extramedullary hematopoiesis	+	0	0	0	1
Thymus: Atrophy, cortex	+	0	0	0	3
Eyeball: Atrophy, retina	+	0 (5)	-	-	2 (6)
	++	1 (5)	-	-	2 (6)

Values are the number of animals with findings.
Values in parentheses are the number of animals examined.
-: Blank.
Grade; +: slight change, ++: moderate change.
*: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.05$ (Mann-Whitney's U-test).
**: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.01$ (Mann-Whitney's U-test).

Table 38 Histopathological findings of male rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169)

	Group	0 mg/kg	1000 mg/kg
Number of animals examined		5	5
Organ: Findings	Grade		
Lung: Aggregation, macrophage, alveolar	+	1	0
Pancreas: Decrease, zymogen granule	+	0	4 **
	++	0	1
Liver: Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular	+	0	4 **
	++	0	1
Necrosis, focal	+	0	2
Microgranuloma	+	2	2 *
	++	0	3
Deposit, hemosiderin	+	0	2
Altered hepatocellular foci, basophilic	+	1	0
Heart: Myocardial degeneration, focal	+	2	0
Kidney: Regeneration, tubular epithelium	+	1	0
Epididymis: Spermatic granuloma	+	0	1
Prostate: Cellular infiltration, inflammatory cell	+	0	1
Spleen: Deposit, hemosiderin	++	5	5
Eyeball: Atrophy, retina	+	3	1
	++	1	0

Values are the number of animals with findings.
Grade; +: slight change, ++: moderate change.
*: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.05$ (Mann-Whitney's U-test).
**: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.01$ (Mann-Whitney's U-test).

Table 39 Histopathological findings of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169)

	Group	0 mg/kg	1000 mg/kg
Number of animals examined		5	5
Organ: Findings	Grade		
Lung: Aggregation, macrophage, alveoli	+	0	1
Mineralization, artery	+	0	2
Pancreas: Decrease, zymogen granule	+	0	1
	++	0	2
Liver: Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular	+	0	4 $
Microgranuloma	+	1	3
	++	0	1
Deposit, hemosiderin	+	0	5 $$
Fatty change, periportal	++	0	1
Kidney: Cellular infiltration, inflammatory cell, interstitium	+	2	1
Cellular infiltration, inflammatory cell, renal pelvic mucosa	+	0	1
Spleen: Deposit, hemosiderin	++	5	5
Thymus: Atrophy, cortex	+	0	1
Eyeball: Atrophy, retina	+	1	1
Skin: Atrophy, hair follicle	+	-	2 (2)

Values are the number of animals with findings.
Grade; +: slight change, ++: moderate change.
-: Blank.
$: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.05$ (Fisher's exact probability test).
$$: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.01$ (Fisher's exact probability test).

Table 40 Reproduction performance in parental rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169)

Group	Estrous cycle Normality		Copulation index		Fertility index	Gestation index	Gestation length	Nursing index
			Male	Female				
	Incidence (%)	Length (days)[a]	Incidence (%)	Incidence (%)	Incidence (%)	Incidence (%)	(days)[a]	Incidence (%)
0 mg/kg	11/12 (91.7)	4.06 0.21	12/12 (100)	12/12 (100)	12/12 (100)	12/12 (100)	22.4 0.5	12/12 (100)
40 mg/kg	12/12 (100)	4.00 0.00	12/12 (100)	12/12 (100)	12/12 (100)	12/12 (100)	22.2 0.4	12/12 (100)
200 mg/kg	12/12 (100)	4.03 0.09	12/12 (100)	12/12 (100)	12/12 (100)	12/12 (100)	22.2 0.4	12/12 (100)
1000 mg/kg	11/12 (91.7)	4.12 0.23	10/12 (83.3)	12/12 (100)	11/12 (91.7)	9/10 (90.0)	22.1 0.3	9/9 (100)

Normal estrous cycle = (number of females with normal estrous cycle / number of females examined) x 100.
Copulation index = (number of animals with successful copulation / number of animals mated) x 100.
Fertility index = (number of pregnant females / number of pairs with successful copulation) x 100.
Gestation index = (number of females with live pups / number of pregnant females) x 100.
Nursing index = (number of females nursing live pups on lactation day 4 / number of females with live pups delivery) x 100.
a: Values are means and S.D.

Table 41 Estrus cycle of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169)

Group	Normality Incidence (%)	Length (days)[a]
0 mg/kg	5/5 (100)	4.00 0.00
1000 mg/kg	5/5 (100)	4.20 0.24

Normal estrous cycle = (number of females with normal estrous cycle / number of females examined) x 100.
a: Values are means and S.D.

Table 42 Pregnancy and litter data of rats dosed orally with perfluorooctadecanoic acid in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR06169)

Group	Number of pregnant animals		Number of corpora lutea	Number of implantation sites	Implantation index (%)	Delivery index (%)	Lactation day 0								Lactation day 4		
							Number of pups delivered					Sex ratio		Live birth index (%)	Number of live pups	Sex ratio	Viability index (%)
							Total	Male	Female	Alive	Dead	All pups	Live pups			Live pups	
							Pup data										
0 mg/kg	12	Mean	16.6	16.4	99.072	94.628	15.5	8.1	7.4	15.5	0.0	0.524	0.524	100.000	15.4	0.523	99.444
		S.D.	1.4	1.3	2.172	5.804	1.2	1.9	2.4	1.2	0.0	0.135	0.135	0.000	1.2	0.133	1.925
40 mg/kg	12	Mean	17.2	16.6	96.805	92.729	15.3	6.9	8.4	15.3	0.0	0.450	0.450	100.000	14.8	0.448	96.933
		S.D.	1.8	1.7	5.465	8.234	1.6	1.6	1.6	1.6	0.0	0.092	0.092	0.000	1.5	0.094	4.950
200 mg/kg	12	Mean	15.3	15.0	98.433	95.391	14.3	6.3	8.0	14.3	0.0	0.438	0.438	100.000	13.8	0.438	96.073
		S.D.	2.0	2.0	2.839	4.518	2.1	2.2	2.0	2.1	0.0	0.136	0.136	0.000	2.3	0.133	9.175
													(9)		(9)	(9)	(9)
1000 mg/kg	10	Mean	14.0 **	14.0 *	100.000	80.392	11.2 ++	4.4 **	6.8	10.0 ++	1.2	0.410	0.392	84.162	10.6 ++	0.410	94.814
		S.D.	2.4	2.4	0.000	21.978	3.6	1.5	2.7	5.0	2.1	0.105	0.117	32.600	3.5	0.116	8.678

Implantation index = (number of implantation sites / number of corpora lutea) x 100.
Delivery index = (number of pups born / number of implantation sites) x 100.
Sex ratio on lactation day 0 = (number of male pups born / number of pups born) or (number of live male pups / number of live pups).
Sex ratio on lactation day 4 = number of live male pups / number of live pups.
Live birth index = (number of live pups on lactation day 0 / number of pups born) x 100.
Viability index on lactation day 4 = (number of live pups on lactation day 4 / number of live pups on lactation day 0) x 100.
Values in parentheses are the number of animals examined.
*: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.05$ (Dunnett's test).
**: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.01$ (Dunnett's test).
++: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.01$ (Mann-Whitney's U-test).

Table 43 General appearance of pups in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of perfluorooctadecanoic acid in rats (SR06169)

		Male					Female				
		Day of lactation					Day of lactation				
Group	Findings	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4
0 mg/kg	Number of pups examined	97	97	97	96	96	89	89	89	89	89
	No abnormal findings	97	97	96	96	96	89	89	89	89	89
	Death or missing	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
40 mg/kg	Number of pups examined	83	83	83	82	80	101	101	99	99	99
	No abnormal findings	83	83	82	80	80	100	99	99	99	98
	Milk-band negative	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	Death or missing	0	0	1	2	0	0	2	0	0	1
200 mg/kg	Number of pups examined	76	76	73	73	73	96	96	94	92	92
	No abnormal findings	74	73	73	73	73	93	93	92	92	92
	Epidermolysis bullosa	2	0	0	0	0	3	1	0	0	0
	Death or missing	0	3	0	0	0	0	2	2	0	0
1000 mg/kg	Number of pups examined	41	38	38	38	38	65	62	60	59	59
	No abnormal findings	36	38	38	38	37	59	59	59	59	58
	Milk-band negative	2	0	0	0	0	3	1	0	0	0
	Death or missing	3	0	0	0	1	3	2	1	0	1

Values are the number of pups with findings.

Table 44 Body weight changes of pups in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of perfluorooctadecanoic acid in rats (SR06169)

Group	Number of litters		Male			Female		
			Body weight (g) on lactation day			Body weight (g) on lactation day		
			0	1	4	0	1	4
0 mg/kg	12	Mean	7.03	7.72	11.08	6.63	7.26	10.50
		S.D.	0.70	0.80	1.24	0.76	0.92	1.31
40 mg/kg	12	Mean	6.63	7.22	10.53	6.18	6.78	9.88
		S.D.	0.57	0.65	0.99	0.48	0.62	1.06
200 mg/kg	12	Mean	6.66	7.32	10.73	6.38	6.94	10.12
		S.D.	0.51	0.61	1.02	0.51	0.58	0.86
1000 mg/kg	9	Mean	5.39 **	5.60 **	7.96 **	5.11 **	5.34 **	7.76 **
		S.D.	0.87	0.86	1.19	0.86	0.84	1.17

**: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.01$ (Dunnett's test).

Table 45 Gross findings of pups in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of perfluorooctadecanoic acid in rats (SR06169)

	Male				Female			
Group	0 mg/kg	40 mg/kg	200 mg/kg	1000 mg/kg	0 mg/kg	40 mg/kg	200 mg/kg	1000 mg/kg
Findings of dead pups during lactation days 0-4								
Number of pups examined	1	2	2	7	0	1	3	6
No abnormal findings	1	2	0	7	-	1	1	6
Organ: Findings								
External: Epidermolysis bullosa	0	0	2	0	-	0	2	0
Findings of pups euthanized on lactation day 4								
Number of pups examined	96	80	73	37	89	98	92	58
No abnormal findings	96	80	72	37	87	98	90	58
Organ: Findings								
Kidney: Dilatation, renal pelvis	0	0	1	0	0	0	1	0
Liver: Yellowish white patch	0	0	0	0	2	0	1	0

Values are the number of pups with findings.
-: Blank.