3a,4,7,7a-ﾃﾄﾗﾋﾄﾞﾛ-1H-ｲﾝﾃﾞﾝのラットにおける
反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験
最終報告書

株式会社 化合物安全性研究所

目　次

頁

表題・試験番号 6

要　　約 7

緒　　言 9

材料および方法 9

成　　績 20

考　　察 25

参 考 文 献 28

Figures ..... 添付

1. Body weight changes of male rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)
2. Food consumption of male rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)
3. Body weight changes before gestation period of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)
4. Body weight changes during gestation period of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)
5. Body weight changes during lactation period of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)
6. Food consumption before gestation period of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)
7. Food consumption during gestation period of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

8. Food consumption during lactation period of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)
9. Body weight changes of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of THI in rats (SR-9537)

Tables ····· 添付

1. Experimental design for the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of THI in rats (SR-9537)
2. General appearance of male rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)
3. Body weight changes of male rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)
4. Food consumption of male rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)
5. Urinary findings of male rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)
6. Hematological findings of male rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)
7. Biochemical findings of male rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)
8. Absolute and relative organ weights of male rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)
9. Gross pathological findings of male rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)
10. Histopathological findings of male rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)
11. General appearance of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)
12. Body weight changes before gestation period of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)
13. Body weight changes during gestation period of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

14. Body weight changes during lactation period of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)
15. Food consumption before gestation period of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)
16. Food consumption during gestation period of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)
17. Food consumption during lactation period of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)
18. Absolute and relative organ weights of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)
19. Gross pathological findings of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)
20. Histopathological findings of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)
21. Influence of THI on reproductive ability of rats in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)
22. Influence of THI on delivery and maternal behavior in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats (SR-9537)
23. Gross pathological findings of dead pups at birth in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats (SR-9537)
24. Influence of THI on viability of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats (SR-9537)
25. General appearance of pups dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats (SR-9537)
26. Body weight changes of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of THI in rats (SR-9537)
27. Gross pathological findings of pups which were dead after birth or killed on day 4 of lactation in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of THI in rats (SR-9537)

Photographs ····· 添付

表　　題　　3a,4,7,7a-ﾃﾄﾗﾋﾄﾞﾛ-1H-ｲﾝﾃﾞﾝ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　　ＳＲ－９５３７

要　約

3a,4,7,7a-ﾃﾄﾗﾋﾄﾞﾛ-1H-ｲﾝﾃﾞﾝ（CAS No.3048-65-5）の 67、200 および 600mg/kg/day を雄ラットに対しては交配前、交配期間および交配後の計 46 日間、雌ラットに対しては交配前、交配および妊娠期間、ならびに哺育３日までの期間、経口投与し、雌雄動物への反復投与による影響、雌雄動物の生殖および次世代の発生に及ぼす影響について反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験を実施し、以下の知見が得られた。

１．雌雄動物の反復投与毒性

（１）雄動物に対する影響

1)体重増加抑制が 200 および 600 mg/kg 群で認められた。

2)血液学的検査では、赤血球数、ヘマトクリット値および血色素量の軽度の減少が 600 mg/kg 群で認められた。

3)器官重量では、肝臓の重量の増加傾向および体重重量比の増加が 600 mg/kg 群で、左右の腎臓の重量の増加傾向および体重重量比の増加が 67 mg/kg 群で、左右の腎臓の重量および体重重量比の増加が 200 および 600 mg/kg 群で認められた。

4)病理組織学的検査では、肝臓に軽度の小葉中心性肝細胞肥大が 600 mg/kg 群で、腎臓に軽度の尿細管上皮の再生が 200 および 600 mg/kg で認められた。

5)尿検査、血液化学的検査および剖検では、投与による影響は認められなかった。

（２）雌動物に対する影響

1)体重増加抑制が 200 および 600 mg/kg 群で認められた。

2)器官重量では、肝臓の重量の増加傾向および体重重量比の増加が 200 mg/kg 群で、肝臓の重量および体重重量比の増加が 600 mg/kg 群で、左右の腎臓の重量および体重重量比の増加が 600 mg/kg 群で認められた。

(3)病理学的検査では、肝臓に軽度の小葉中心性肝細胞肥大が 600 mg/kg 群で認められた。

以上、雄の 67 mg/kg/day 以上の群の腎臓の重量および体重重量比の増加（増加傾向を含む）、雌の 200 mg/kg/day 以上の群の体重増加抑制ならびに肝臓の重量および体重重量比の増加（増加傾向を含む）から、本試験における 3a,4,7,7a-ﾃﾄﾗﾋﾄﾞﾛ-1H-ｲﾝﾃﾞﾝの反復投与による無影響量（NOEL）は雄で 67 mg/kg/day 未満、雌で 67 mg/kg/day と判断した。

２．生殖発生毒性

（１）雄動物に対する影響

投与による影響は認められなかった。

（２）雌動物に対する影響

1)母動物の剖検および分娩観察では、妊娠期間の延長、ならびに妊娠黄体数および着床数の減少が 600 mg/kg 群で認められた。

2)性周期、生殖能検査および哺育行動では、投与による影響は認められなかった。

（３）次世代に対する影響

1)出産児数および出産確認時生存児数の減少が 600 mg/kg 群で認められた。

2)新生児の生存性、一般状態観察、体重推移および剖検では、投与による影響は認められなかった。

以上、雄動物の生殖能に対する影響は 600 mg/kg 群でも認められず、一方、600 mg/kg 群の雌動物で妊娠黄体数の減少ならびにそれに起因すると考えられる着床数の減少および妊娠期間の延長が、次世代に対しては 600 mg/kg 群で出産児数および出産確認時生存児数の減少が認められたことから、本試験における 3a,4,7,7a-ﾃﾄﾗﾋﾄﾞﾛ-1H-ｲﾝﾃﾞﾝの雄動物の生殖に対する無影響量（NOEL）は 600 mg/kg/day、雌動物および次世代に対する無影響量（NOEL）は 200 mg/kg/day と判断した。

緒　言

OECD 既存化学物質の安全性点検事業の一環として、3a,4,7,7a-ﾃﾄﾗﾋﾄﾞﾛ-1H-ｲﾝﾃﾞﾝ（CAS No.3048-65-5）を雌雄ラットに経口反復投与し、雌雄動物への反復投与による影響、雌雄動物の生殖および次世代の発生に及ぼす影響を検査するために反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験を実施した。

本試験は「OECD 優良試験所指針Ｃ（81）30 最終別添２」に従い、試験方法は OECD テストガイドラインおよび OECD 提案ガイドライン（Combined Repeat Dose and Reproduction／Developmental Toxicity Screening test）に準拠した。

材料および方法

１．被験物質

被験物質は、3a,4,7,7a-ﾃﾄﾗﾋﾄﾞﾛ-1H-ｲﾝﾃﾞﾝ（3a,4,7,7a-Tetrahydro-1H-indene、以下 THI と略す、CAS No.3048-65-5、Lot 番号：　　純度：99.0%）で、不快臭のある無色透明液体である。被験物質は遮光気密容器に入れ、冷蔵庫内（-1～11℃）に保存した（Appendix 1～3）。なお、投与終了後の被験物質の安定性を製造業者が分析し、投与期間中の被験物質の安定性が確認された（Appendix 4）。

２．投与量の設定

試験群は、本試験の用量設定試験（SR-9536、14 日間反復投与試験）の結果を参考に設定した。用量設定試験では、100、300 および 1000 mg/kg/day を雌雄各５例に投与した。1000 mg/kg 群で衰弱による屠殺例が雄５例中１例にみられ、他に同群の雌雄では屠殺例も含め、よろめき歩行が雄４例、雌５例全例に、呼吸緩除が雌雄各３例、自発運動の減少が雄３例、雌１例にみられ、体重増加抑制、摂餌量の低値、肝臓の重量および体重重量比の増加、肝臓の暗褐色化が雄２例に、前胃粘膜の肥厚が雄３例に認められた。300 mg/kg 群の雄では肝臓の重量および体重重量比の増加、

100 mg/kg 群では毒性は認められなかった。したがって、本試験では投与期間が用量設定試験の約３倍になることから、高用量は、明らかな毒性徴候がみられる用量として、1000 mg/kg 群と 300 mg/kg 群のほぼ等比中項である 600 mg/kg/day とした。以下、公比３で中用量 200 mg/kg/day および低用量 67 mg/kg/day を設定し、さらに媒体であるオリブ油を投与する対照群を設け、計４群とした（Table １）。動物数は１群当たり雌雄各 12 匹とした。

３．被験物質の調製方法

被験物質を精秤し、1.34、４および 12 w/v%となるようにオリブ油（日本薬局方：Lot No.509003、505025、510022、511014、508014、ヤクハン製薬株式会社）に溶解し、調製した。財団法人日本食品分析センターにより調製液の冷蔵保存での７日後の分析を実施し（Appendix 5）、その結果から調製液の７日間の安定性が確認されたため、調製頻度は７日間に１回以上とし、投与に用いるまで遮光気密容器に入れ、冷蔵庫内（2～8℃）に保存した。各濃度の THI 調製液は規定の濃度であり、かつ均一であることが財団法人日本食品分析センターにより確認された（Appendix 5）。

４．試験動物

生後８週齢の Crj:CD（SD）系の SPF ラット（雄：55 匹、体重範囲 256～296 g、雌：55 匹、体重範囲 172～201 g）を日本チャールス・リバー株式会社から受け入れ、15 日間の馴化飼育を行った。検疫並びに馴化期間中、一般状態観察を１日１回、体重測定を期間中３回実施し、順調な発育を示した動物を試験に用いた。雌については、10 日間の性周期検査を併せて行い、性周期に異常の認められない動物を用いた。

５．飼育環境条件

動物は、バリアシステム内で温度 23±３ ℃、湿度 RH55±10%、換気回数 10～15 回／時間および照明時間 12 時間（午前８時から午後８時まで点灯）に設定された飼育室 303 号室において、ブラケット式金属製金網床ケージ（260W×380D×180H,mm）を用いて飼育した。雌は、妊娠 17 日から金網床のかわりに実験動物用床敷（ホワイトフレーク、日本チャールス・リバー株式会社）を敷いたステンレス製受皿を使用した。ケージ当たりの収容匹数は、群分け前は２匹以内、群分け後は１匹、交配中は雌雄各１匹、妊娠期間中は１母動物、哺育期間中は１腹とした。ケージの交換は２週に１回の頻度で行った。

飼育室内の清掃および床の清拭消毒は１日１回行った。なお、消毒には塩素系消毒薬（ヤクラックス、ヤクハン製薬株式会社）およびヨウ素系消毒薬（ダイヤザン、伊勢化学工業株式会社）を１週間単位で交互に使用した。

飼料は固型飼料（CRF-1、オリエンタル酵母工業株式会社）を金属製給餌器を用いて、飲料水は水道水（札幌市水道水）を自動給水装置あるいは給水器（雄の尿検査時の飲水量測定時）を用いて、それぞれ自由に摂取させた。給餌器の交換は２週に１回、自動給水装置の水抜きは週１回の頻度で実施した。

飼料の分析および検査は財団法人日本食品分析センター（Appendix 6、7）およびオリエンタル酵母工業株式会社（Appendix 8、9）で実施し、混入物質について当社 SOP の許容範囲内であることを確認した。飲料水の水質検査は日本衛生株式会社（Appendix 10）で実施し、当社 SOP の水質基準の範囲内であることを確認した。

６．群分けおよび個体識別

群分けは馴化 15 日に、馴化 14 日の体重値をもとに各群の体重が均一になるように体重別層化無作為抽出法を用いて行った。

動物の識別は、受け入れ時に油性フェルトペンを用いて尾部にケージ内識別を行い、群分け時に入墨により動物番号の上１桁（群識別）を右耳に、下２桁（個体識別）を左耳に記入して行った。出生児については油性フェルトペンを用いて背部にケージ内識別を行った。ケージには、性別毎に色分けしたカードに試験番号、試験群および動物番号を明記して標示した。

７．投与方法

投与経路は、被験物質が人体に経口的に曝露される可能性があることから、経口投与とした。投与は胃ゾンデを用いて強制的に胃内に行った。

投与期間は、雄については交配前 14 日間、交配期間および交配後の計 46 日間、雌については交配前 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哺育３日までの期間とした。

投与時刻は、午前９時から午後１時の間とした。

投与容量は、体重１ kg 当たり５ ml として投与日に最も近い日に測定した体重に基づいて算出した。なお、体重測定当日の投与容量はその日の体重に基づいて算出した。

投与は 10 週齢から開始し、投与開始時の平均体重（体重範囲）は雄で 416.4 g (392～447 g) 、雌で 240.0 g (222～270 g) であった。

８．観察、測定および検査項目

1）雄動物について

(1)一般状態観察

全例について、試験期間中１日１回以上の頻度で、視診および触診により行動、外観などを観察した。発現した症状についてはその種類および持続時間を記録した。

(2)体重測定

全例について、投与１日（当日の投与前）、投与２、５、７、10 および 14 日、その後は７日毎、ならびに投与終了日および剖検日に電子天秤を用いて測定した。得られた測定値から、体重増加量（投与 46 日体重－投与１日体重）および体重増加率［（体重増加量／投与１日体重）×100］を算出した。

(3)摂餌量測定

全例について、投与１日（当日の投与前）、投与２、５、７、10 および 14 日、その後は交配期間を除き体重測定日と同じ日に電子天秤を用いて測定した。測定前日に適当量の飼料をケージ毎にセットし、翌日（測定日）に残量を測定し、１匹当たりの１日分の摂餌量を算出した。

(4)尿検査

投与期間の最終週（投与 43～44 日）に各群６例について、ラット用代謝ケージ（KN-646 B-1 型、夏目製作所）に収容して非絶食下で採尿を行った。約３時間の蓄尿の一部を用いて下記①～⑧の項目を検査し、21 時間蓄尿を用いて下記⑨および⑩の項目の検査を行った。また、採尿中の飲水量測定も併せて実施した。なお、対照群の１例では約３時間の蓄尿が得られず、①～⑧の項目を検査できなかった。

①ｐＨ	試験紙法（バイエル・三共）
②蛋白（Pro）	試験紙法（バイエル・三共）
③糖（Glu）	試験紙法（バイエル・三共）
④ケトン体（Ket）	試験紙法（バイエル・三共）
⑤ウロビリノーゲン（Uro）	試験紙法（バイエル・三共）
⑥ビリルビン（Bil）	試験紙法（バイエル・三共）
⑦潜血反応（Occult blood）	試験紙法（バイエル・三共）
⑧沈渣（Sediment）	鏡検
⑨比重（Grav）	屈折計法（アタゴ製ユリコン）
⑩尿量（U-Vol）	容量測定
⑪採尿中の飲水量	重量測定

(5)血液学的検査

投与 46 日の翌日の剖検時に、前日から約 16 時間絶食した全例について、エーテル麻酔下で大腿静脈から採血した。EDTA･2K で処理した血液を用いて、下記①～⑨および⑬の項目について検査を行った。さらに、⑩の項目は大腿静脈から採血した無処理血液を用いて、⑪、⑫の項目については、腹部大動脈から採血した血液をクエン酸ナトリウムで処理した後、3000 rpm で 10 分間遠心分離を行い、得られた血漿を用いて検査を行った。

①赤血球数（RBC）	電気抵抗法（コールター原理） （コールターカウンター T660 型）
②ヘマトクリット値（Ht）	RBC，MCV 値より算出 （コールターカウンター T660 型）

③血色素量（Hb）　シアンメトヘモグロビン法（国際法）
（コールターカウンター T660 型）

④平均赤血球容積（MCV）　電気抵抗法（コールター原理）
（コールターカウンター T660 型）

⑤平均赤血球ヘモグロビン量（MCH）　RBC，Hb 値より算出
（コールターカウンター T660 型）

⑥平均赤血球ヘモグロビン濃度（MCHC）　Ht，Hb 値より算出
（コールターカウンター T660 型）

⑦網赤血球率（Ret）　Brecher 法

⑧血小板数（Plat）　電気抵抗法（コールター原理）
（コールターカウンター T660 型）

⑨白血球数（WBC）　電気抵抗法（コールター原理）
（コールターカウンター T660 型）

⑩凝固時間（CT）　流体粘度変化による空気圧測定法
（グライナー社製マイクロコアグロメーター）

⑪プロトロンビン時間（PT）　トロンボプラスチン法
（AMELUNG KC-10A バクスターKK）

⑫活性化部分トロンボプラスチン時間　エラジン酸法
（APTT）　（AMELUNG KC-10A バクスターKK）

⑬白血球型別百分率（Hemogram of WBC）　メイ・ギムザ染色標本鏡検

(6)血液化学的検査

投与 46 日の翌日の剖検時に前日から約 16 時間絶食した全例について、エーテル麻酔下で、血液学的検査のための採血後、腹部大動脈から採血した血液に対して 3000 rpm で 10 分間の遠心分離を行い、得られた血清を用いて次の検査を行った。

①ＧＯＴ　IFCC 法（日立 7150 形自動分析装置）

②ＧＰＴ　IFCC 法（日立 7150 形自動分析装置）

③γ-GTP　包接 L-γ-グルタミル-p-ニトロアニリド基質法
（日立 7150 形自動分析装置）

④コリンエステラーゼ（ch-E）　ヨウ化ブチリルチオコリン基質法
（日立 7150 形自動分析装置）

⑤血糖（Glu）	ヘキソキナーゼ法 （日立 7150 形自動分析装置）
⑥総コレステロール（T-Cho）	酵素法（日立 7150 形自動分析装置）
⑦トリグリセリド（TG）	遊離グリセロール消去法 （日立 7150 形自動分析装置）
⑧リン脂質（PL）	酵素法（日立 7150 形自動分析装置）
⑨総ビリルビン（T-Bil）	アゾビリルビン法 （日立 7150 形自動分析装置）
⑩尿素窒素（BUN）	ウレアーゼ・インドフェノール法 （日立 7150 形自動分析装置）
⑪クレアチニン（Crea）	ヤッフェ法（日立 7150 形自動分析装置）
⑫ナトリウム（Na）	炎光法（コーニング 480 型炎光光度計）
⑬カリウム（K）	炎光法（コーニング 480 型炎光光度計）
⑭クロール（Cl）	電量滴定法 （平沼 CL-6M 型クロライドカウンター）
⑮カルシウム（Ca）	OCPC 法（日立 7150 形自動分析装置）
⑯無機リン（IP）	フィスケ・サバロー法 （日立 7150 形自動分析装置）
⑰総蛋白（TP）	ビウレット法（日立 7150 形自動分析装置）
⑱アルブミン（Alb）	BCG 法（日立 7150 形自動分析装置）
⑲A／G 比（A/G）	TP，Alb 値より算出する。
⑳蛋白分画	セルロースアセテート膜電気泳動法

(7)剖検および器官重量測定

投与 46 日の翌日に、前日から約 16 時間絶食した全例について、体外表を観察し、エーテル麻酔下で前述のように採血した後、腹部大動脈から放血致死させ、全身の器官および組織を肉眼的に観察した。その後、肝臓、腎臓、脾臓、心臓、肺、脳（大脳・小脳）、下垂体、副腎、甲状腺、上皮小体、胸腺、腸間膜リンパ節、膵臓、舌、下顎リンパ節、顎下腺、舌下腺、耳下腺、乳腺、皮膚、胸骨および大腿骨（骨髄を含む）、脊髄（頸部）、骨格筋（外側広筋）、胸部大動脈、喉

頭、気管、気管支、食道、胃（前胃・腺胃）、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膀胱、精嚢（凝固腺を含む）および前立腺を 10%中性緩衝ホルマリン液で固定し、保存した。また、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後、70%エタノールに保存した。

摘出器官のうち、肝臓、腎臓（左右）、胸腺、副腎（左右）、精巣および精巣上体（左右）について固定前に重量を電子天秤を用いて測定した。得られた測定値から、器官体重重量比［（器官重量／動物体重）×100］を算出した。

(8)病理組織学的検査

摘出器官のうち、全例の肝臓、腎臓、脾臓、心臓、肺、脳、下垂体、胸腺、副腎、甲状腺、胃（前胃･腺胃）、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、精巣、精巣上体および前立腺について、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、ならびに必要に応じて特殊染色（PAS 染色、PTAH 染色）標本を作製し、病理組織学的検査を行った。

2）雌動物について

(1)一般状態観察

全例について、試験期間中１日１回以上の頻度で、視診および触診により行動、外観などを観察した。発現した症状についてはその種類および持続時間を記録した。

(2)体重測定

全例について、投与１日（当日の投与前）、投与２、５、７、10 および 14 日、妊娠０、１、３、５、７、10、14、17 および 20 日、哺育０、１および４日に、また、交配期間中（雄と同居中）は相手雄の測定日と同じ日に電子天秤を用いて測定した。得られた測定値から、体重増加量［（投与 14 日体重－投与１日体重）、（妊娠 20 日体重－妊娠０日体重）および（哺育４日体重－哺育０日体重）］、およびそれぞれの体重増加量に対応した体重増加率［（体重増加量／投与１日体重）× 100、（体重増加量／妊娠０日体重）× 100 および（体重増加量／哺育０日体重）×100］を算出した。

(3)摂餌量測定

全例について、投与１日（当日の投与前）、投与２、５、７、10および 14 日、妊娠１、３、５、７、10、14、17 および 20 日、哺育１および４日に電子天秤を用いて測定した。測定前日に適当量の飼料をケージ毎にセットし、翌日（測定日）に残量を測定し、１匹当たりの１日分の摂餌量を算出した。

(4)剖検および器官重量測定

哺育３日まで生存児のみられた例は哺育４日に、妊娠 25 日まで分娩の認められない例は妊娠 26 日に、全哺育児死亡例は発見後直ちに、それぞれエーテル麻酔下で腹部大動脈から放血致死させ、全身の器官・組織を肉眼的に観察した。その後、肝臓、腎臓、脾臓、心臓、肺、脳（大脳・小脳）、下垂体、副腎、甲状腺、上皮小体、胸腺、腸間膜リンパ節、膵臓、舌、下顎リンパ節、顎下腺、舌下腺、耳下腺、乳腺、皮膚、胸骨および大腿骨（骨髄を含む）、脊髄（頸部）、骨格筋（外側広筋）、胸部大動脈、喉頭、気管、気管支、食道、胃（前胃・腺胃）、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膀胱、卵巣、子宮および腟を 10%中性緩衝ホルマリン液で固定し、保存した。また、眼球およびハーダー腺はデビッドソン液で固定・保存した。

子宮および卵巣については、固定前に着床痕および妊娠黄体を計数した。

摘出器官のうち、肝臓、腎臓（左右）、胸腺、副腎（左右）および卵巣（左右）については重量を電子天秤を用いて測定し、得られた測定値から器官体重重量比［（器官重量／動物体重）×100］を算出した。

(5)病理組織学的検査

摘出器官のうち、全例の肝臓、腎臓、脾臓、心臓、肺、脳、下垂体、胸腺、副腎、甲状腺、胃（前胃・腺胃）、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸および卵巣について、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、病理組織学的検査を行った。

3）雌雄動物の生殖および次世代の発生について

(1)性周期検査

雌全例について、投与前 10 日から交尾成立までの連日、ギムザ染色による腟垢塗抹標本を作製し、光学顕微鏡下で性周期段階（発情前期、発情期前期、発情期後期、発情後期および発情休止期）の判定を行い、性周期の異常の有無（正常または発情休止期継続、不規則発情）を検索した。

(2)雌雄の生殖能検査

投与 14 日の雌雄について、同試験群内で夕方から１対１（無作為組合わせ）で 14 日間を限度として同居させた。交尾の成立は雌の腟垢中に精子が確認された場合とし、交尾成立日を妊娠０日とした。妊娠の成立は雌の子宮に着床痕が確認された場合とし、交尾率［（交尾が成立した雌ラット数／同居ラット数）× 100］および受胎率［（受胎した雌ラット数／交尾が成立した雌ラット数）× 100］を算出した。

(3)分娩および母性行動観察

交尾した雌全例について、妊娠 21 日から分娩終了日まで毎朝９時に分娩状態、母性行動、総出産児数、生存児数および死亡児数、出産児の性別および外表を観察した。その結果から、妊娠期間［妊娠０日から哺育０日（分娩終了日）までの日数］、出産率［（生児を出産した雌ラット数／妊娠雌ラット数）× 100］、分娩率［（総出産児数／着床痕数）×100］、出生率［（出産確認時生存児数／総出産児数）×100］、哺育４日時哺育率［（哺育４日時に哺育児の認められる雌ラット数／正常に分娩した雌ラット数）×100］および性比［雄生児数／雌生児数］を算出した。また、解剖時の計測結果から着床率［（着床痕数／妊娠黄体数）× 100］を算出した。

(4)新生児の一般状態観察および生存性

全例について、哺育０日から哺育４日まで１日１回、生存および死亡を確認し、一般状態および外表について観察した。なお、哺育日数は分娩終了日を哺育０日として起算した。

観察結果から新生児生存率［（哺育４日生存児数／出産確認時生存児数）× 100］を１腹を単位として算出した。ただし、喰殺を受け死亡あるいは不明例となった新生児は死亡例として扱った。

(5)新生児の体重測定

測定対象となる全例について、哺育０、１および４日に電子天秤を用いて測定した。なお、体重値は１腹毎に雌雄別に１匹あたりの平均値で示した。得られた測定値から体重増加量（哺育４日体重－哺育０日体重）および体重増加率［（体重増加量／哺育０日）×100］を算出した。

(6)新生児の剖検

死亡例は、直ちに剖検し、whole body を 10%中性緩衝ホルマリン液で固定し、保存した。その他の例については、哺育４日に体外表（口腔内を含む）を観察し、二酸化炭素吸入法を用いて安楽致死させ、全身の器官・組織を肉眼的に観察した。異常所見部位の認められた例については、whole body を 10%中性緩衝ホルマリン液で固定・保存した。

９．統計処理

体重、体重増加量および体重増加率、摂餌量、尿量、採尿中の飲水量、血液学的検査および血液化学的検査の各項目、器官重量、器官体重重量比、妊娠期間、妊娠黄体数、着床痕数、着床率、総出産児数、出産確認時生存児数、分娩率、出生率、性比、出産確認時死亡児数、哺育４日生存児数および新生児生存率については、Bartlett の検定法を用いて等分散性を検定し、その結果、等分散（$p > 0.05$）を示した項目については一元配置分散分析法で解析し、有意な場合（$p \leqq 0.10$）、Dunnett の検定法（各試料の大きさが違う場合は有効反復数を用いた）で対照群と各 THI 投与群との比較を行った。一方、不等分散（$p \leqq 0.05$）を示した項目、尿検査におけるｐＨ、蛋白、糖、ケトン体、ウロビリノーゲン、ビリルビン、潜血反応、沈渣および比重、ならびに病理組織学的検査結果のうち２段階以上の陽性グレードがみられた所見については Kruskal-Wallis 法を用いて解析し、有意な場合（$p \leqq 0.10$）、Mann-Whitney のＵ-検定法で対照群と各 THI 投与群との比較を行った。

性周期の異常の有無、交尾率、受胎率、出産率および哺育４日時哺育率ならびに病理組織学的検査結果のうち１段階の陽性グレードがみられた所見については次のように検定を行った。すなわち、多試料 χ^2-検定を行い、その結果、有意な場合（$p \leqq 0.10$）は２試料 χ^2-検定で対照群と各 THI 投与群との比較を行った。ただし、２試料 χ^2-検定あるいは多試料 χ^2-検定に不適合の場合は Fisher の直接確率検定法を用いた。

対照群との検定に際しては、危険率５％以下を統計学的に有意とした。

成　　績

１．雄動物の反復投与毒性

(1)一般状態観察

一般状態観察の成績を Table ２、INDIVIDUAL DATA 1-1～1-4 に示す。

流涎が 600 mg/kg 群の 10 例で 投与 15 日以降、投与 46 日までのほぼ毎日、投与直後あるいは投与前から投与後 3 時間までの間に観察された。600 mg/kg 群の他の１例では投与 24 日にのみ流涎が認められたが、残り１例では流涎は認められなかった。

(2)体重推移

体重推移を Figure １、Table ３、INDIVIDUAL DATA 2-1～2-4 に示す。

体重の低値が 200 mg/kg 群で投与 21～46 日、600 mg/kg 群で投与５～46 日に認められ、これらの群では体重増加量および体重増加率の低値も認められた。

(3)摂餌量

摂餌量の変化を Figure ２、Table ４、INDIVIDUAL DATA 3-1～3-4 に示す。

摂餌量の低値が 200 mg/kg 群で投与２、７、14 および 21 日に、600 mg/kg 群で投与２日に認められた。

(4)尿検査

尿検査の成績を Table ５、INDIVIDUAL DATA 4-1～4-4 に示す。

いずれの検査項目にも、各 THI 投与群に対照群と比較して異常は認められなかった。

(5)血液学的検査

血液学的検査の成績を Table ６、INDIVIDUAL DATA 5-1～5-8 に示す。

赤血球数、ヘマトクリット値および血色素量の軽度の減少が 600 mg/kg 群で認められた。

(6)血液化学的検査

血液化学的検査の成績を Table ７、INDIVIDUAL DATA 6-1～6-8 に示す。

いずれの検査項目にも、各 THI 投与群に対照群と比較して異常は認められなかった。

(7)器官重量

器官重量および器官体重重量比の成績を Table 8、INDIVIDUAL DATA 7-1～7-8 に示す。

剖検時体重の減少が 200 および 600 mg/kg 群で、肝臓の体重重量比の増加が 600 mg/kg 群で、左右の腎臓の重量の増加が 200 および 600 mg/kg 群で、左右の腎臓の体重重量比の増加が 67、200 および 600 mg/kg 群で認められ、左右の精巣の体重重量比の増加が 600 mg/kg 群で認められた。

なお、600 mg/kg 群の肝臓重量および 67 mg/kg 群の左右の腎臓重量に統計学的有意差はないが、対照群と比較して高値が認められた。一方、600 mg/kg 群の左右の精巣重量には対照群との差は認められなかった。

(8)剖検

剖検の成績を Table 9、INDIVIDUAL DATA 8-1～8-4 に示す。

回腸に憩室が 600 mg/kg 群で 1 例に、左の精巣および精巣上体の萎縮が 200 mg/kg 群で 1 例に認められた。流涎を示した例では唾液腺に異常は認められなかった。

(9)病理組織学的検査

病理組織学的検査の成績を Table 10、INDIVIDUAL DATA 9-1～9-4、28-1-1～28-1-4、Photo.H-1～H-6 に示す。

THI 投与による影響と考えられる所見として、肝臓では軽度の小葉中心性肝細胞肥大（Photo.H-1、H-2）が 600 mg/kg 群で 9 例に、腎臓では軽度の近位尿細管上皮の硝子滴沈着（Photo.H-3～H-6）が 67 および 200 mg/kg 群で各 1 例、中等度の硝子滴沈着が 67 および 200 mg/kg 群で各 11 例、600 mg/kg 群で 12 例全例に、また、軽度の近位尿細管上皮の好酸性小体（Photo.H-3～H-6）が 67 および 200 mg/kg 群で各 8 例、600 mg/kg 群で 9 例に認められ、統計学的にも有意な変化であった。また、発現に統計学的有意差は認められないものの、高用量群でより多くの例に認められ、THI 投与との関連が考えられる所見として、腎臓の尿細管上皮の再生が 200 mg/kg 群で 4 例、600 mg/kg 群で 3 例に認められた。

下垂体および副腎、ならびに精巣、精巣上体および前立腺には THI 投与と関連した変化は認められず、Table 10 に示す他の所見にも被験物質投与との関連は認められなかった。

２．雌動物の反復投与毒性

(1)一般状態観察

一般状態観察の成績を Table 11、INDIVIDUAL DATA 10-1～12-4 に示す。

妊娠前投与期間では流涎が 600 mg/kg 群の７例で投与 15 日以降、投与前ないし投与直後より１時間程度の間に認められた。妊娠期間では、600 mg/kg 群の 11 例で妊娠１日以降、妊娠期間のほぼ毎日、投与前ないし投与直後より２時間程度の間に、断続的に認められた。哺育期間では、哺育０日より３日の間に、600 mg/kg 群の８例で投与直後より１時間程度の間に散発的に認められた

(2)体重推移

体重推移を Figure ３～５、Table 12～14、INDIVIDUAL DATA 13-1～15-4 に示す。

妊娠前投与期間では、体重の低値が 600 mg/kg 群で投与７日以降にみられ、体重増加量および体重増加率の低値も 200 および 600 mg/kg 群で認められた。

妊娠期間でも、体重の低値が 200 mg/kg 群で妊娠１～20 日に、600 mg/kg 群で妊娠０～20 日にみられ、600 mg/kg 群では体重増加量の低値も認められた。

哺育期間では、体重の低値が 200 mg/kg 群で哺育１日に、600 mg/kg 群で哺育０および１日にみられたが、哺育期間の体重増加量および増加率は対照群を上回り、600 mg/kg 群ではいずれも統計学的に有意な高値を示した。

(3)摂餌量

摂餌量の変化を Figure ６～８、Table 15～17、INDIVIDUAL DATA 16-1～18-4 に示す。

妊娠前投与期間では、低値が 200 mg/kg 群で投与７日に認められた。

妊娠期間では、低値が 67 および 200mg/kg 群で妊娠７日に認められた。

哺育期間では、いずれの THI 投与群にも対照群と比較して異常は認められなかった。

(4)器官重量

器官重量および器官体重重量比の成績を Table 18、INDIVIDUAL DATA 19-1～19-4 に示す。

肝臓の重量の増加が 600 mg/kg 群で、肝臓の体重重量比の増加が 200 および 600 mg/kg 群で、左右の腎臓の重量および体重重量比の増加が 600 mg/kg 群で認められた。なお、200 mg/kg 群の肝臓重量にも、統計学的な有意差はないが、対照群と比較して、高値が認められた。

(5)剖検

剖検の成績を Table 19、INDIVIDUAL DATA 20-1～20-4 に示す。

いずれの例にも異常は認められなかった。

(6)病理組織学的検査

病理組織学的検査の成績を Table 20、INDIVIDUAL DATA 21-1～21-4、28-2-1～28-2-4 に示す。

肝臓では、600 mg/kg 群の１例に、同用量の雄と同様に、軽度の小葉中心性肝細胞肥大が認められた。

腎臓、また下垂体、副腎および卵巣には THI 投与と関連した変化は認められず、Table 20 に示す他の所見にも被験物質投与との関連は認められなかった。

３．雌雄動物の生殖毒性および次世代の発生毒性

(1)生殖能検査

生殖能検査の成績を Table 21、INDIVIDUAL DATA 22-1-1～22-2-4 に示す。

雌の性周期検査では全例に異常は認められなかった。

雌雄の交尾までに要した日数、交尾率および受胎率にも THI 投与の影響は認められなかった。

(2)分娩および母性行動観察

分娩および母性行動観察の成績を Table 22、23、INDIVIDUAL DATA 23-1-1～23-2 に示す。

妊娠期間の延長ならびに妊娠黄体数、着床数、出産児数および出産確認時生存児数の減少が 600 mg/kg 群で認められた。

分娩異常として、分娩中から分娩終了時まで生児のみられない例が 600 mg/kg 群の１例（No.458）、また、哺育異常として、全哺育児死亡例が 600 mg/kg 群に１例（No.451）みられた。分娩異常例は着床数 15、出産児数が５例であったが、分娩終了時に５例全例が死亡し、喰殺を受けた例もみられた。母動物の病理組織学的検査では胸腺の萎縮が認められた。全哺育児死亡例では、着床数２、出産児数が１例であり、その１例が哺育２日に死亡した。母動物の病理組織学的検査では下垂体に嚢胞が認められたのみであった。

分娩終了時の死亡児が 67 および 200 mg/kg 群で雌３例、600 mg/kg で雄３例、

雌５例および性別不明例２例に認められ、67 mg/kg 群の雌１例に腰椎の欠損、痕跡尾および鎖肛が認められた。

(3)新生児の生存性

新生児の生存性の成績を Table 24、INDIVIDUAL DATA 24-1～24-4 に示す。

600 mg/kg 群で哺育４日の雌の生存児数の低値が認められた。

(4)新生児の一般状態観察

新生児の一般状態観察の成績を Table 25、INDIVIDUAL DATA 25-1～25-4 に示す。

死亡あるいは不明例が対照群で雄２例、67 mg/kg 群で雌雄各１例、200 mg/kg 群で雄３例、600 mg/kg 群で雄９例および雌５例に認められた。これらのうち、痕跡尾および鎖肛が 600 mg/kg 群で雄１例に認められた。

生存例では痕跡尾およびその痕跡尾の脱落が 200 mg/kg 群で雄１例に認められ、外傷が 200 mg/kg 群の他の１例に認められた。

(5)新生児の体重推移

新生児の体重推移を Figure ９、Table 26、INDIVIDUAL DATA 26-1～26-4 に示す。

いずれの THI 投与群にも対照群と比較して体重推移に異常は認められなかった。

(6)新生児の剖検

新生児の剖検の成績を Table 27、INDIVIDUAL DATA 27-1～27-2-4 に示す。

一般状態観察でみられた 600 mg/kg 群の痕跡尾および鎖肛の１例、哺育４日に屠殺した 200 mg/kg 群の痕跡尾の欠損の１例および外傷の１例の他に、異常は認められなかった。

考　察

THI の 67、200 および 600 mg/kg/day を雄ラットに対しては交配前、交配期間および交配後の計 46 日間、雌ラットに対しては交配前、交配および妊娠期間ならびに哺育３日までの期間、経口反復投与し、雌雄動物への反復投与による影響、雌雄動物の生殖および次世代の発生に及ぼす影響について反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験を実施した。

１．反復投与毒性

(1)雄動物に及ぼす影響

一般状態観察では、流涎が 600 mg/kg 群の 12 例中 10 例で投与 15 日以降、ほぼ毎日、また、１例で一過性に認められた。剖検では唾液腺に異常は認められず、投与前から流涎がみられた例もいたことから、投与された THI による影響ではなく、THI の臭いや口腔内への刺激による条件づけが成立したことによると考えられた。

体重推移では、体重増加抑制が 200 および 600 mg/kg 群で認められた。200 mg/kg 群では摂餌量の低値も投与２、７、14 および 21 日に認められたが、高用量群の 600 mg/kg 群では投与２日に一過性の低値が認められたのみであり、THI 投与が摂餌量に及ぼす影響はないと考えられた。

血液に及ぼす影響として赤血球数、ヘマトクリット値および血色素量の減少が 600 mg/kg 群で認められたが、軽度であり、尿検査、血液化学的検査ならびに脾臓を含む病理組織学的検査においても異常は認められなかった。

肝臓に対する THI 投与の影響として、600 mg/kg 群で重量の増加傾向および体重重量比の増加がみられ、同群の病理組織学的検査では軽度の小葉中心性肝細胞肥大が認められた。

腎臓では、67 mg/kg 群で重量の増加傾向および体重重量比の増加、200 および 600 mg/kg 群で重量および体重重量比の増加が認められた。病理組織学的検査では THI 投与群全群で近位尿細管上皮の硝子滴沈着および好酸性小体の発現に有意差が認められ、尿細管上皮の再生についても 200 および 600 mg/kg 群で出現頻度の増加傾向が認められ、THI 投与による影響と考えられた。炭化水素化合物をラットに投与した場合、特に雄では腎臓の近位尿細管に硝子滴が沈着することが知られており、それ自体に毒性

学的意義はないと考えられるが、硝子滴の沈着の程度が強い場合には尿細管上皮の障害および再生を引き起こすと考えられている[1]。好酸性小体についても硝子滴と同一物質であるという報告がある[2]。したがって、本試験では THI 投与によって近位尿細管上皮への硝子滴あるいは好酸性小体の出現の増加をみたが、毒性病理学的影響は尿細管上皮の再生の出現頻度が増加した 200 および 600 mg/kg の THI 投与によって発現したと考えるのが妥当と判断した。雄の腎臓重量および体重重量比の増加は、硝子滴および好酸性小体が寄与していると思われるが、雌の 600 mg/kg 群の腎臓ではこのような病理組織学的変化を伴わずに重量および体重重量比の増加が生じており、一元的には説明できなかった。

(2)雌動物に及ぼす影響

一般状態観察では、雄と同様に流涎が 600 mg/kg 群で妊娠前、投与期間および哺育期間を通して投与 15 日以降、計 11 例にみられ、雄と同様、条件づけによるものと考えられた。

体重推移では、200 および 600 mg/kg 群で妊娠前交配期間および妊娠期間を通して体重増加抑制が認められ、THI 投与の影響と考えられた。600 mg/kg 群では他に、哺育期間の体重増加量および増加率の高値が認められたが、それまでの体重増加抑制に対する哺育期間中の代償的反応と考えられた。

摂餌量では一過性の摂餌量低値が 67 あるいは 200 mg/kg 群で哺育期間を除いた期間に認められたのみであり、THI 投与との関連はないものと考えられた。

病理組織学的検査では、肝臓に軽度の小葉中心性肝細胞肥大が 600 mg/kg 群の 1 例で認められ、1 例のみの発現であったが、同群の雄と同様の所見であることから、THI 投与による影響と考えられた。また、器官重量でも肝臓の重量の増加傾向および体重重量比の増加が 200 mg/kg 群で、肝臓の重量および体重重量比の増加が 600 mg/kg 群で、腎臓の重量および体重重量比の増加が 600 mg/kg 群で認められたことから、雄と同様に THI 投与による肝臓および腎臓に及ぼす影響と判断した。

以上のことから、雄の 67 mg/kg/day 以上の群の腎臓の重量および体重重量比の増加（増加傾向を含む）、雌の 200 mg/kg/day 以上の群の体重増加抑制ならびに肝臓の重量および体重重量比の増加（増加傾向を含む）から、本試験における THI の反復投与による無影響量（NOEL）は雄で 67 mg/kg/day 未満、雌で 67 mg/kg/day と判断した。

2．生殖発生毒性

生殖能検査では雌の性周期、雌雄の交尾および受胎に対して THI 投与による影響は認められなかった。また、生殖器（精巣、精巣上体および卵巣）および内分泌器官（下垂体、副腎）の重量、剖検および病理組織学的検査においても THI 投与による影響は認められなかった。なお、600 mg/kg 群で認められた精巣の体重重量比の増加は重量には影響が認められないことから、同群の体重低値に基づくものと判断された。THI 投与群の不妊例の生殖器では、その原因を示唆する病理組織学的所見は認められなかった。

分娩異常として分娩終了時に生児のみられない例ならびに哺育異常として全哺育児死亡例が 600 mg/kg 群でそれぞれ１例に認められた。しかし、後述のように、THI 投与による妊娠黄体数の減少はみられるものの、着床率および胎児の生存性に及ぼす影響はみられず、また、これら２例の母動物では共通した所見がみられないことから、偶発的なものと考えられた。

母動物の剖検および分娩観察では、妊娠期間の延長ならびに妊娠黄体数、着床数、出産児数および出産確認時生存児数の減少が 600 mg/kg 群で認められた。また、着床数、出産児数、生存児数の減少については、それぞれ着床率、出産率および新生児生存率に THI 投与による影響は認められないことから、これらは妊娠黄体数（排卵数）の減少に起因した変化であると考えられ、THI 投与により着床および胎児の生存性に直接影響を及ぼしたとは考えられなかった。妊娠期間の延長については、ウサギで産児数の少ない場合に妊娠期間が長くなることが知られており[3)]、本試験の場合も出産児数の減少との関連が考えられた。

新生児では、一般状態観察および剖検で痕跡尾、鎖肛および腰椎の欠損が 67 mg/kg 群で１例、痕跡尾が 200 mg/kg 群で１例、痕跡尾および鎖肛が 600 mg/kg 群で１例にみられたが、各 THI 投与群でそれぞれ１例のみの出現であり、THI 投与との関連はないものと考えられた。また、哺育４日の雌の生存児数の低値が 600 mg/kg 群で認められたが、前述した全哺育児死亡例および妊娠黄体数の減少に起因するものであり、体重推移にも異常はみられないことから、新生児の生存性に対して THI 投与による影響はないと考えられた。

以上のことから、雄動物の生殖能に対する影響は 600 mg/kg 群でも認められず、一

方、600 mg/kg 群の雌動物で妊娠黄体数の減少ならびにそれに起因すると考えられる着床数の減少および妊娠期間の延長が、次世代に対しては出産児数および出産確認時生存児数の減少が認められたことから、本試験における THI の親世代の生殖に対する無影響量（NOEL）は、雄動物では 600 mg/kg/day、雌動物では 200 mg/kg/day であり、また、次世代に対する NOEL は 200 mg/kg/day と判断した。

参考文献

1）Greaves, P., Histopathology of Preclinical Toxicity Studies: Interpretation and Relevance in Drug Safety Evaluation., p.532-538, Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam, Netherlands, 1990.

2）海平充代ら、ラット慢性腎症の病理組織学的解析－硝子滴変性について－，第８回日本毒性病理学会講演要旨集，p.76，1992.

3）佐久間勇次 監，ウサギ －生殖生理と実験手技－，p.24，株式会社 近代出版，1988.

Figures

Figure 1. Body weight changes of male rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Figure 2. Food consumption of male rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Figure 3. Body weight changes before gestation period of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Figure 4. Body weight changes during gestation period of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Figure 5. Body weight changes during lactation period of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Figure 6. Food consumption before gestation period of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Figure 7. Food consumption during gestation period of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Figure 8. Food consumption during lactation period of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Figure 9. Body weight changes of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of THI in rats (SR-9537)

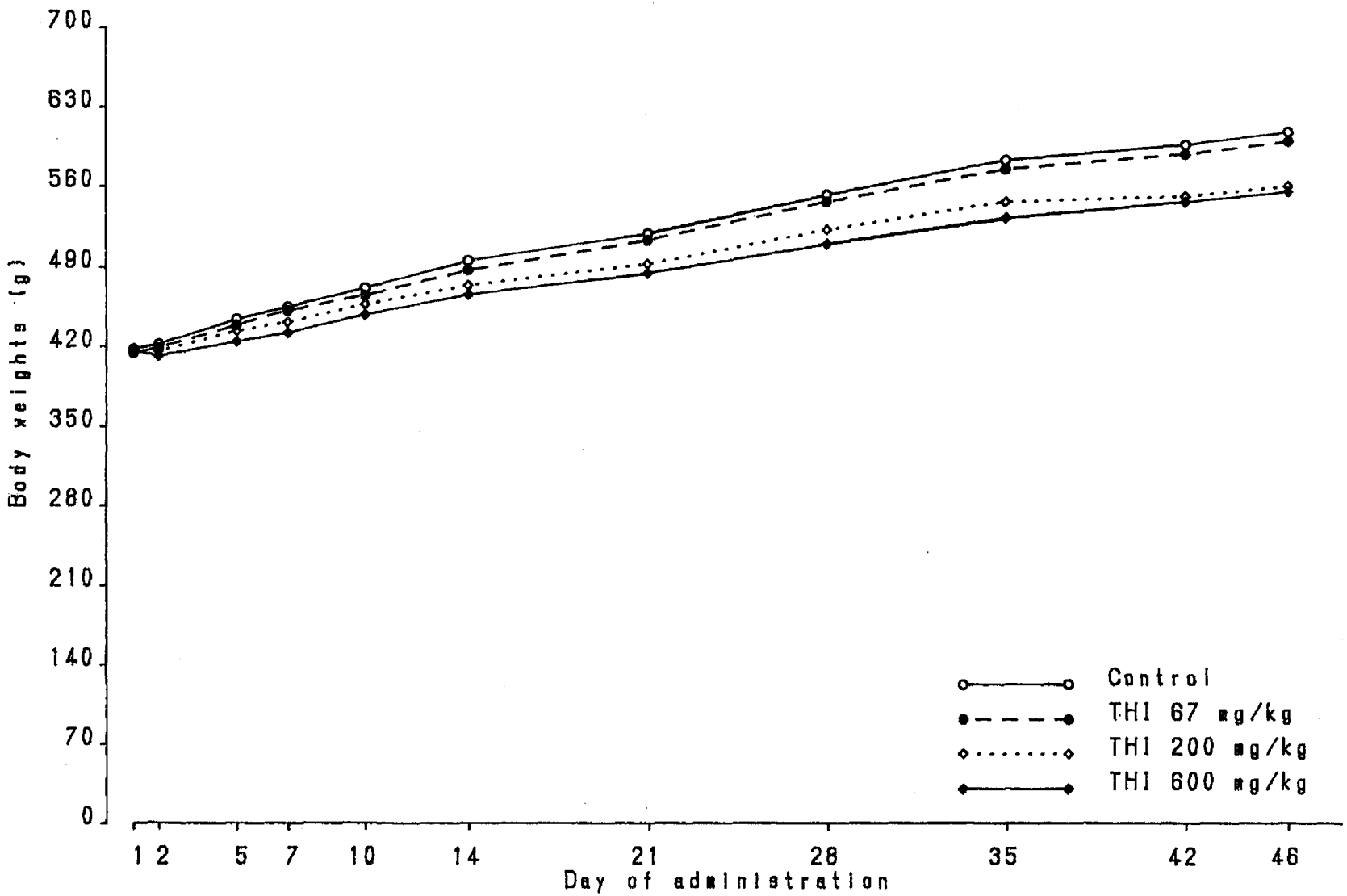

Figure 1. Body weight changes of male rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

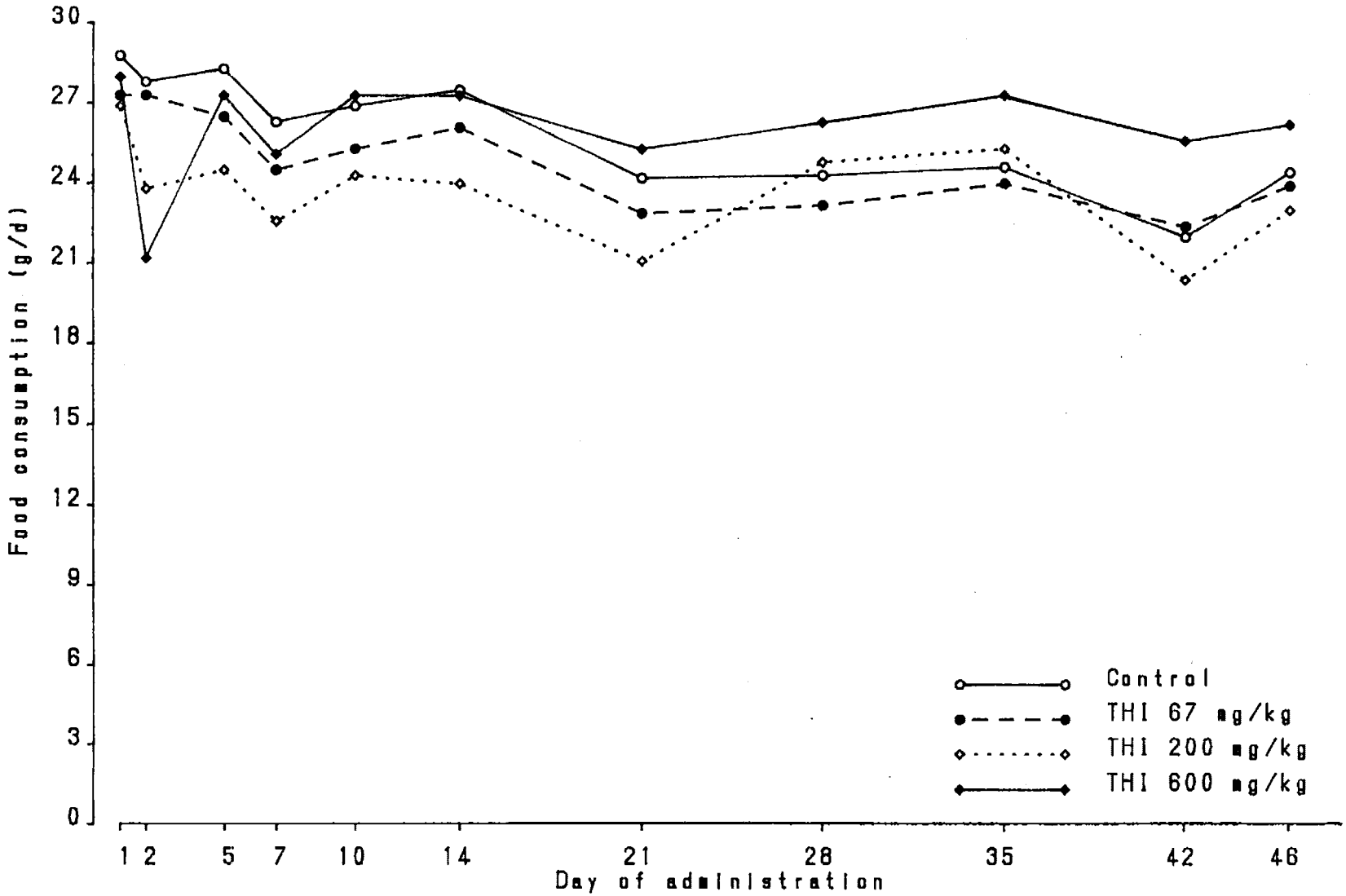

Figure 2. Food consumption of male rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

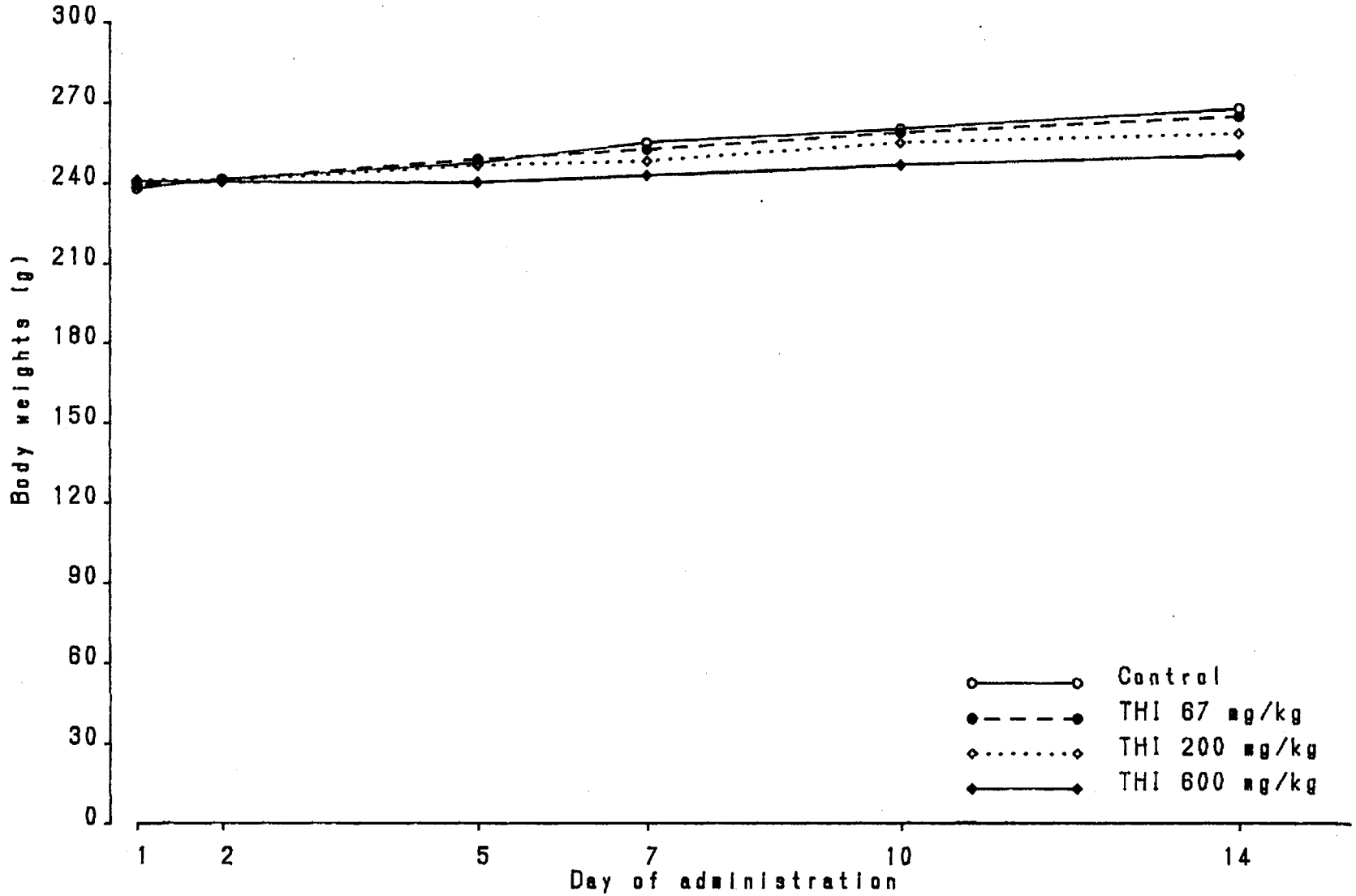

Figure 3. Body weight changes before gestation period of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

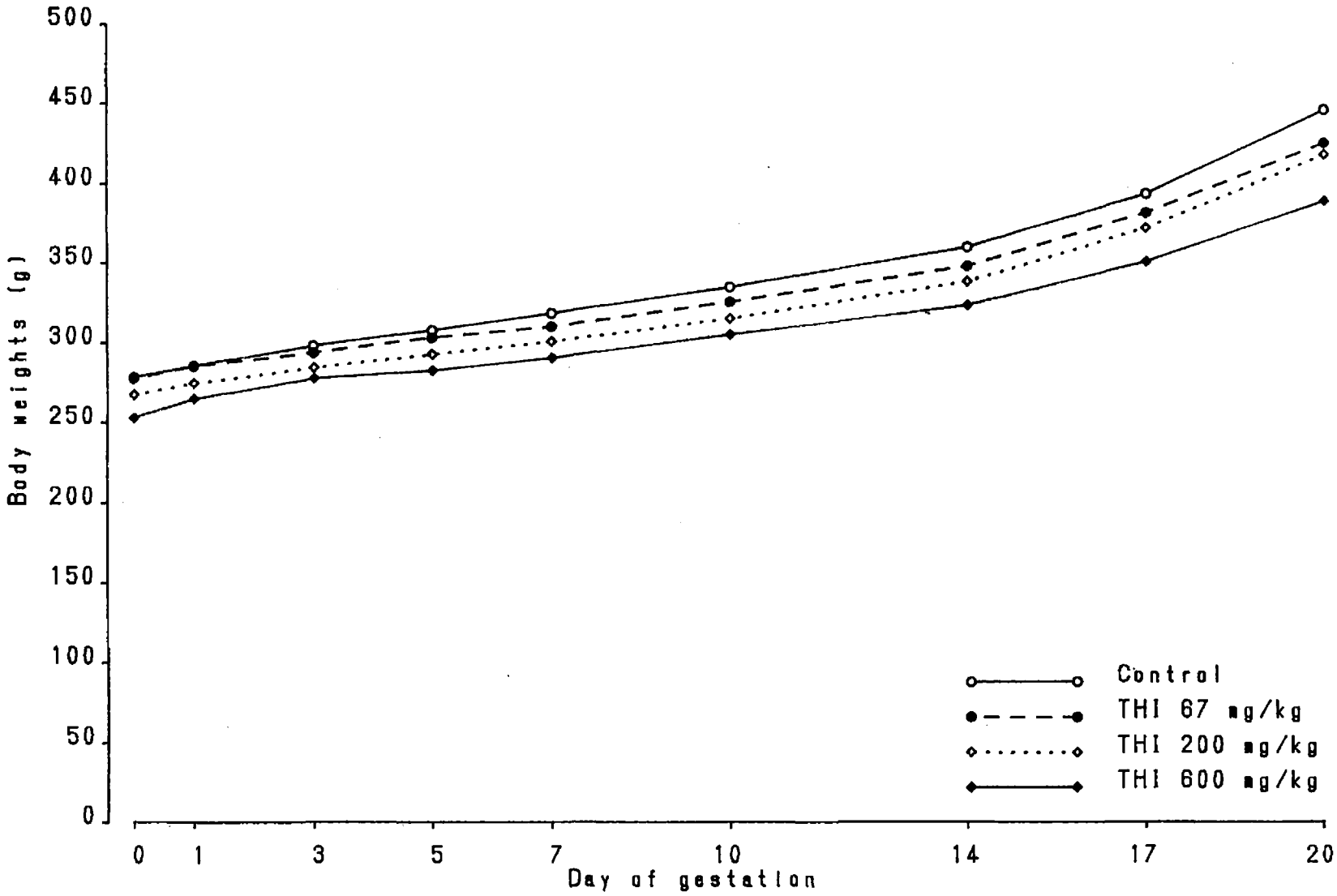

Figure 4. Body weight changes during gestation period of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/ developmental toxicity screening test (SR-9537)

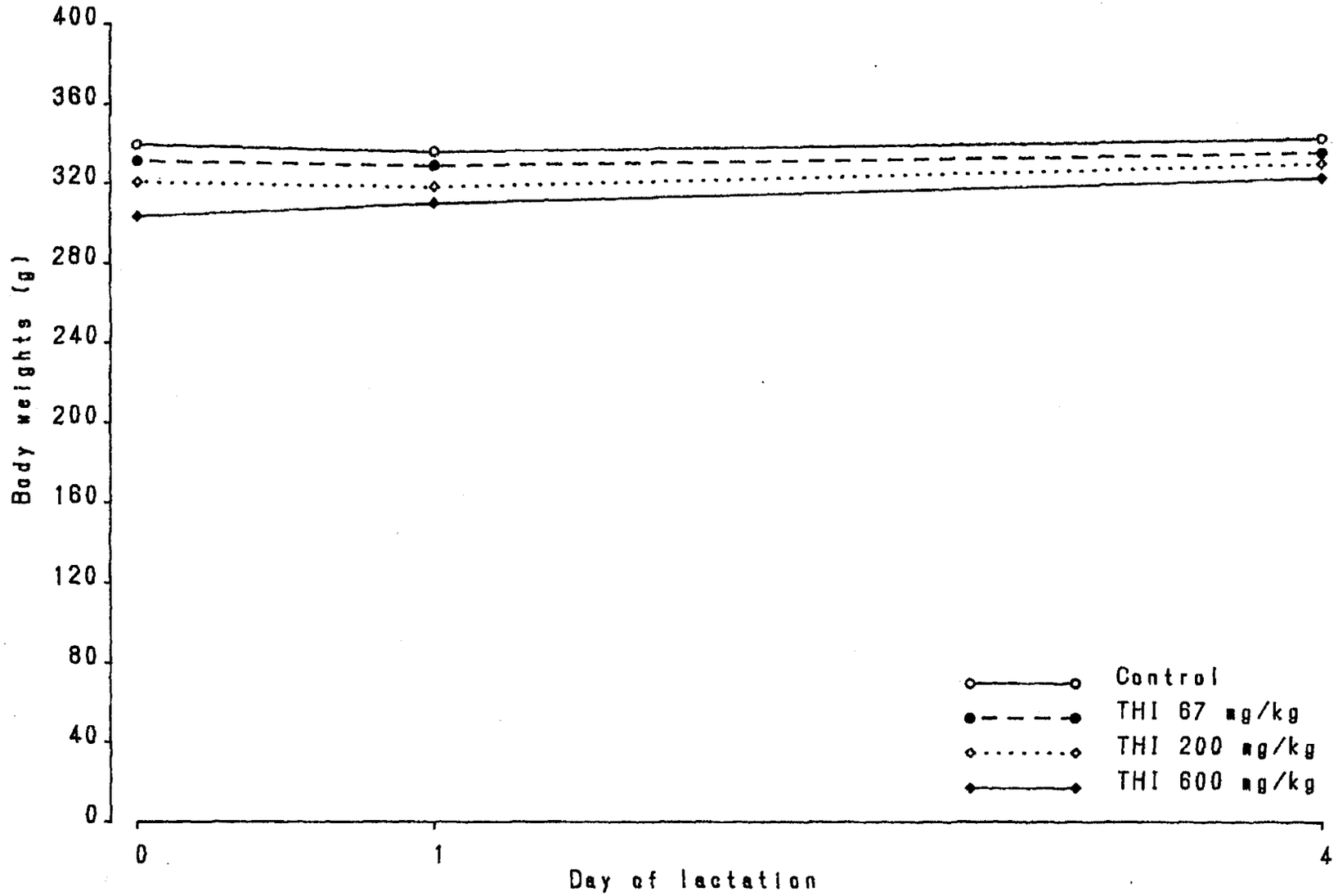

Figure 5. Body weight changes during lactation period of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/ developmental toxicity screening test (SR-9537)

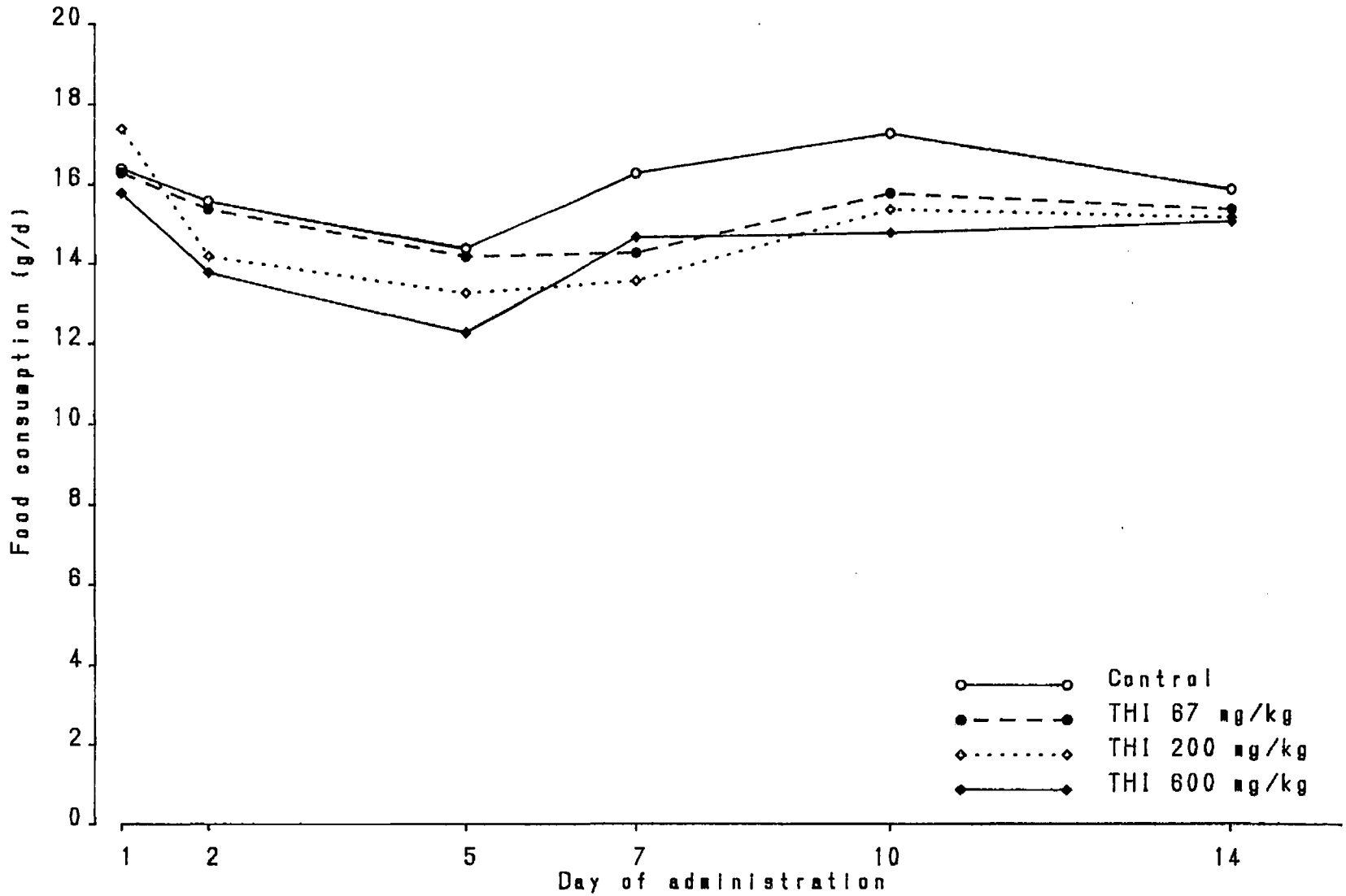

Figure 6. Food consumption before gestation period of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

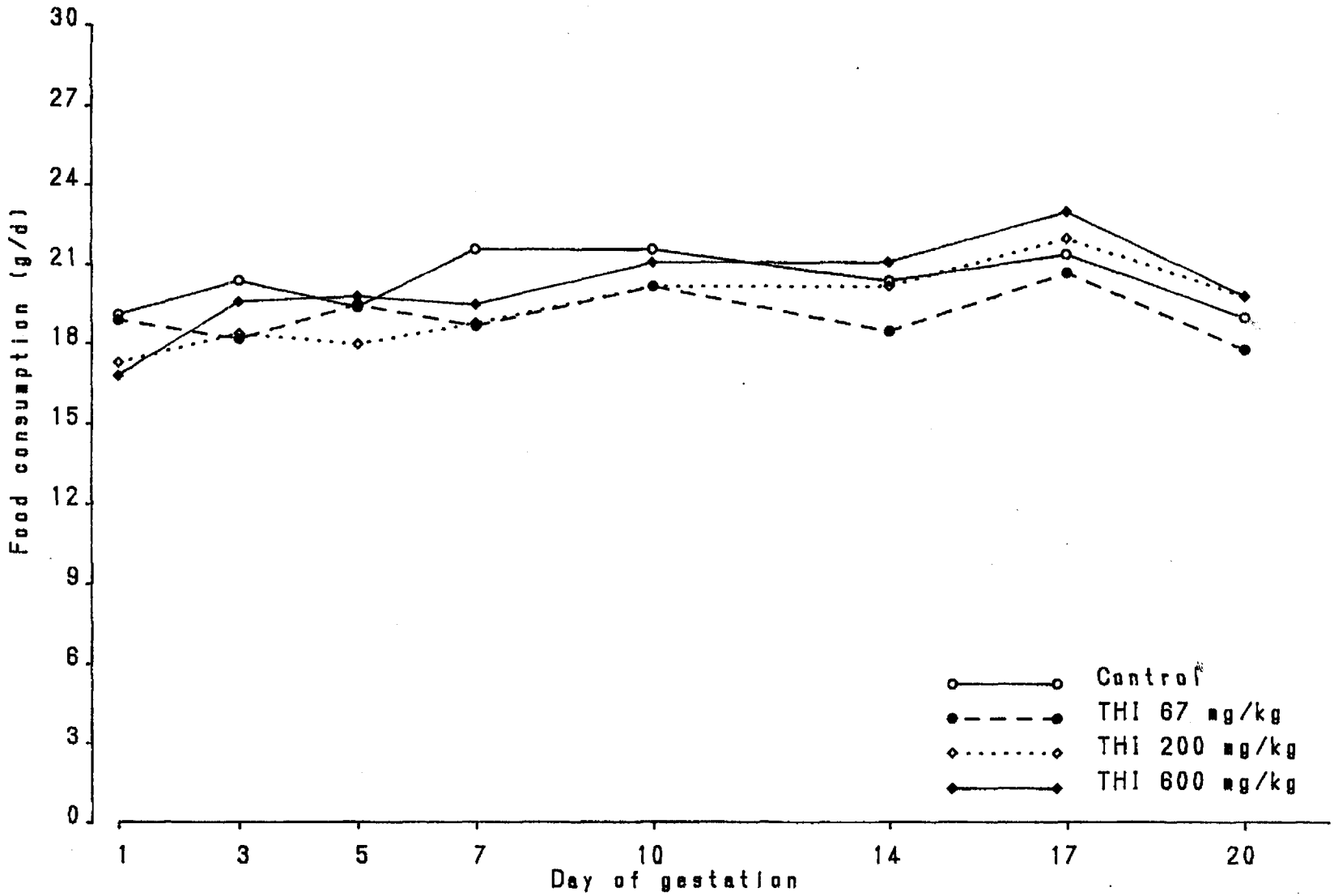

Figure 7. Food consumption during gestation period of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

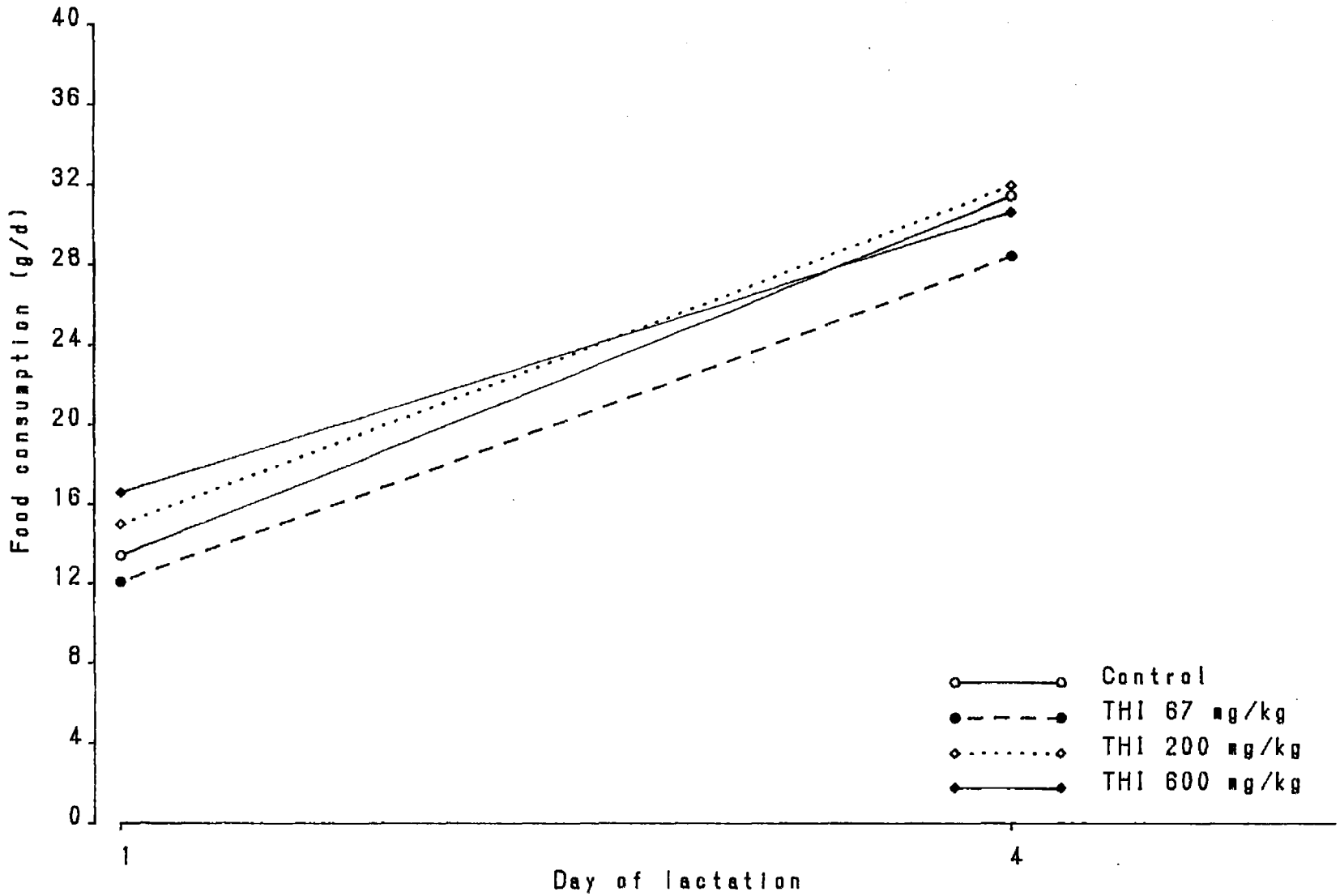

Figure 8. Food consumption during lactation period of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

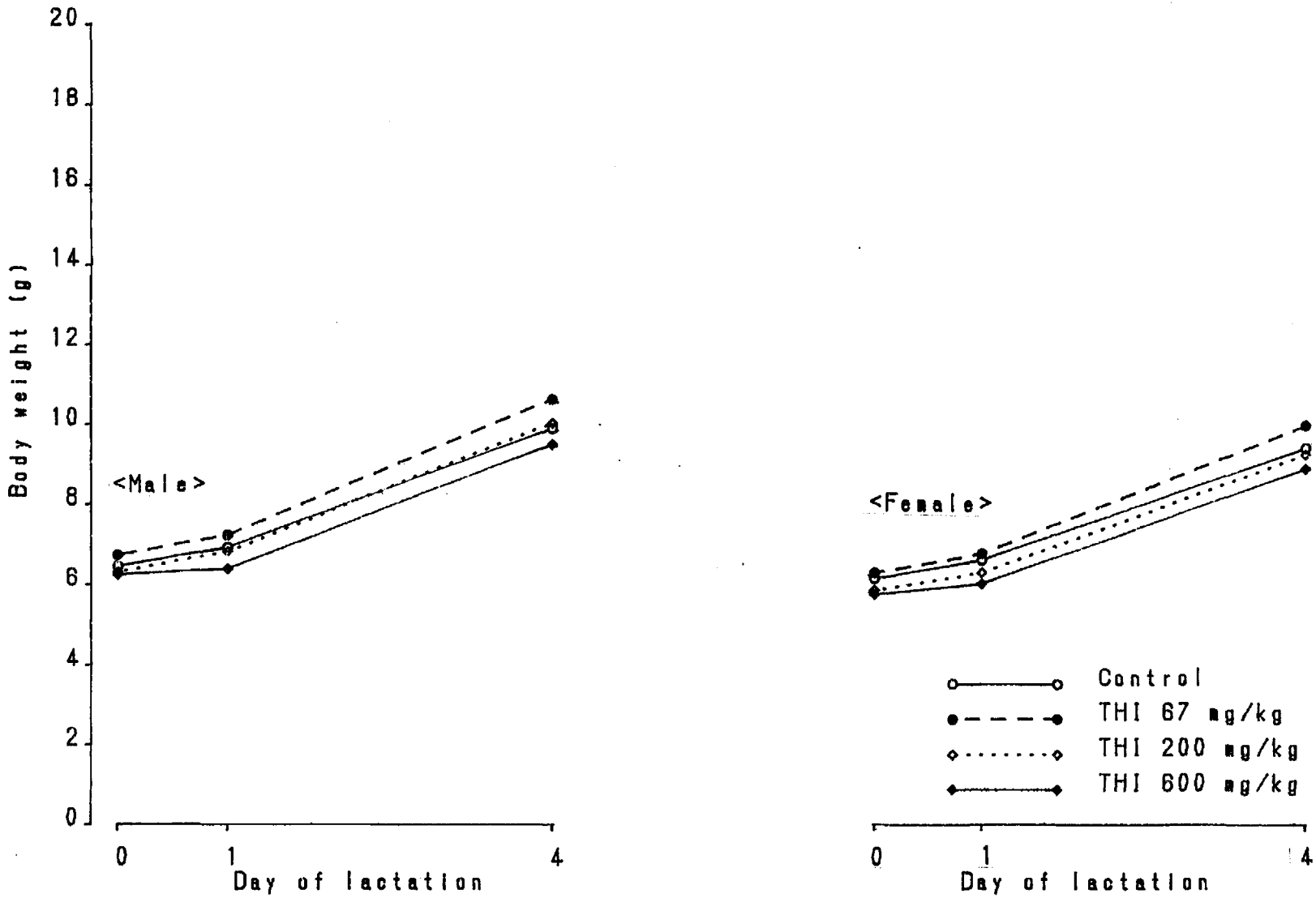

Figure 9. Body weight changes of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of THI in rats (SR-9537)

Tables

Table 1. Experimental design for the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of THI in rats (SR-9537)

Table 2. General appearance of male rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Table 3. Body weight changes of male rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Table 4. Food consumption of male rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Table 5. Urinary findings of male rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Table 6. Hematological findings of male rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Table 7. Biochemical findings of male rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Table 8. Absolute and relative organ weights of male rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Table 9. Gross pathological findings of male rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Table 10. Histopathological findings of male rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Table 11. General appearance of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Table 12. Body weight changes before gestation period of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Table 13. Body weight changes during gestation period of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Table 14. Body weight changes during lactation period of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Table 15. Food consumption before gestation period of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Table 16. Food consumption during gestation period of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Table 17. Food consumption during lactation period of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Table 18. Absolute and relative organ weights of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Table 19. Gross pathological findings of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Table 20. Histopathological findings of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Table 21. Influence of THI on reproductive ability of rats in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Table 22. Influence of THI on delivery and maternal behavior in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats (SR-9537)

Table 23. Gross pathological findings of dead pups at birth in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of THI in rats (SR-9537)

Table 24. Influence of THI on viability of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats (SR-9537)

Table 25. General appearance of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of THI in rats (SR-9537)

Table 26. Body weight changes of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of THI in rats (SR-9537)

Table 27. Gross pathological findings of pups which were dead after birth or killed on day 4 of lactation in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of THI in rats (SR-9537)

Table 1. Experimental design for the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of THI in rats (SR-9537)

Group	Concentration of THI (w/v %)	Volume (ml/kg)	No. of animals[a]	
			Male	Female
Control[b]	0	5	12	12
THI 67 mg/kg[c]	1.34	5	12	12
THI 200 mg/kg	4	5	12	12
THI 600 mg/kg	12	5	12	12

a: THI (3a,4,7,7a-Tetrahydro-1H-indene) was dosed orally to males for 46 days before, during and after the mating period, and to females from day 14 before mating to day 3 of lactation.
b: Control was dosed with olive oil.
c: THI was dissolved in olive oil.

Table 2. General appearance of male rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Item	Control	THI (mg/kg)		
		67	200	600
No. of animals examined	12	12	12	12
Salivation	0[a]	0	0	11

a: Values are no. of animals with findings.

(continued)

Table 2. (continued) <Number of males showing salivation in THI 600 mg/kg group>

	Day of administration																
	1-14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
No. of animals observed	12[a]	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
No. of animals showing salivation	0	5	9	9	10	8	9	9	8	10	8	10	9	9	9	10	10

	Day of administration															
	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46
No. of animals observed	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
No. of animals showing salivation	9	10	5	10	10	10	10	9	10	10	7	6	5	9	10	9

a: Total no. of animals observed.

Table 3. Body weight changes of male rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Group	No. of animals	Day of administration											Body weight gain	
		1	2	5	7	10	14	21	28	35	42	46	Day 1-46	% a
		b												
Control	12	418.2	422.5	444.3	455.0	471.8	496.4	519.4	553.4	583.6	597.1	608.3	190.083	45.303
		13.4	15.4	18.3	18.6	19.6	24.1	29.5	31.7	33.8	39.3	45.9	34.310	7.161
THI 67 mg/kg	12	414.7	419.5	439.3	451.9	465.3	487.7	514.0	547.3	575.8	588.8	600.1	185.417	44.643
		12.3	12.0	13.7	16.3	16.6	19.9	20.8	24.8	27.9	42.0	47.3	41.018	9.333
THI 200 mg/kg	12	415.8	416.5	434.3	441.8	457.4	474.2	493.3*	522.7*	547.3*	551.8*	560.6*	144.750*	34.761**
		15.6	15.8	18.2	17.4	20.1	25.7	27.4	34.0	37.7	45.3	49.1	42.813	10.037
THI 600 mg/kg	12	416.8	411.6	424.8*	432.2**	448.0**	465.9**	485.2**	510.8**	533.0**	546.5**	555.6*	138.750**	33.223**
		12.8	16.6	12.8	15.5	18.0	21.1	25.0	27.2	27.5	31.6	33.8	24.871	5.362

a: (Body weight gain / body weight on day 1) x 100.
b: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram.
*: Differs from control, $p \leq 0.05$.
**: Differs from control, $p \leq 0.01$.

Table 4. Food consumption of male rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test(SR-9537)

Group	No. of animals	Day of administration										
		1	2	5	7	10	14	21	28	35	42	46
Control	12	28.8[a] 4.1	27.8 3.3	28.3 4.5	26.3 3.5	26.9 3.4	27.5 4.2	24.2 3.2	24.3 3.4	24.6 3.9	22.0 3.6	24.4 4.0
THI 67 mg/kg	12	27.3 2.4	27.3 2.3	26.5 1.9	24.5 3.4	25.3 2.2	26.1 2.3	(11)[b] 22.9 2.3	23.2 2.0	24.0 3.5	22.4 4.8	23.9 4.5
THI 200 mg/kg	12	26.9 3.1	23.8* 3.5	24.5 3.6	22.6* 3.4	24.3 3.4	24.0* 3.5	21.1* 2.8	24.8 3.9	25.3 3.3	20.4 3.2	23.0 3.4
THI 600 mg/kg	12	28.0 2.4	21.2** 5.9	27.3 2.7	25.1 3.3	27.3 2.3	27.3 3.3	25.3 3.3	26.3 2.3	27.3 2.1	25.6 3.0	26.2 2.2

a: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram.
b: Values in parentheses are no. of animals examined.
*: Differs from control, $p \leq 0.05$.
**: Differs from control, $p \leq 0.01$.

Table 5. Urinary findings of male rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Group	No. of animals	pH					Pro				Glu	Ket		Uro	Bil	Occult blood	
		6.0	7.0	7.5	8.0	8.5	-	±	+	++	-	-	+	0.1 EU/dl	-	-	±
Control	5	1[a]	0	0	1	3	0	1	1	3	5	4	1	5	5	4	1
THI 67 mg/kg	6	0	1	0	2	3	1	1	3	1	6	6	0	6	6	5	1
THI 200 mg/kg	6	0	0	1	1	4	1	1	2	2	6	6	0	6	6	6	0
THI 600 mg/kg	6	0	0	0	2	4	0	2	4	0	6	5	1	6	6	6	0

Group	No. of animals	Urinary sediments							Specific gravity			U-Vol ml/21hr	Water consumption g
		RBC	WBC	Epithelial cell: Squamous		Epithelial cell: Round	Epithelial cell: Small round	Epithelial cell: Others	1.031-1.040	1.041-1.050	1.050<		
		-	-	-	±	-	-	-					
Control	5	5	5	5	0	5	5	5	2	2	2	8.42[b] 5.60	13.0 11.6
THI 67 mg/kg	6	6	6	5	1	6	6	6	3	3	0	14.33 3.13	23.2 8.8
THI 200 mg/kg	6	6	6	6	0	6	6	6	2	4	0	14.08 3.95	13.8 6.2
THI 600 mg/kg	6	6	6	6	0	6	6	6	1	2	3	11.67 4.54	9.0 4.5

a: Values are no. of animals with findings. b: Values are means and S.D. thereunder.

Table 6. Hematological findings of male rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Group	No. of animals	RBC $10^6/\mu l$	Ht. %	Hb. g/dl	MCV fl	MCH pg	MCHC %	WBC $10^3/\mu l$	Plat $10^3/\mu l$
Control	12	9.349[a]	52.37	16.42	56.07	17.52	31.30	14.35	1124.1
		0.266	0.85	0.48	1.59	0.74	0.73	2.85	117.0
THI 67 mg/kg	12	9.088	51.10	16.01	56.23	17.55	31.28	11.84	1075.3
		0.246	1.88	0.71	1.07	0.47	0.52	2.11	91.4
THI 200 mg/kg	12	9.096	51.40	15.93	56.53	17.48	30.95	15.38	1070.8
		0.444	2.25	0.63	1.35	0.63	0.63	3.30	95.2
THI 600 mg/kg	12	8.757**	49.93**	15.41**	57.06	17.57	30.80	15.50	1115.8
		0.337	1.41	0.58	1.68	0.69	0.70	2.97	91.1

Group	No. of animals	Ret. ‰	CT sec.	PT sec.	APTT sec.	Hemogram of WBC: Neutro. Stab. %	Neutro. Seg. %	Eos. %	Bas. %	Mono. %	Lymp. %	Others %
Control	12	11.5	306.9	12.05	28.11	0.6	12.0	0.8	0.0	0.0	86.6	0.0
		2.6	110.9	0.51	2.24	0.5	3.9	0.8	0.0	0.0	4.2	0.0
THI 67 mg/kg	12	14.8	381.6	12.22	27.14	0.6	15.1	0.9	0.0	0.0	83.4	0.0
		3.9	121.7	0.24	2.44	0.8	6.2	0.8	0.0	0.0	6.3	0.0
THI 200 mg/kg	12	14.3	289.4	12.56	29.24	0.4	9.4	0.8	0.0	0.0	89.3	0.0
		3.7	122.9	0.63	3.51	0.5	4.5	1.0	0.0	0.0	5.2	0.0
THI 600 mg/kg	12	14.1	351.2	(11)[b] 12.29	(11) 29.77	0.4	10.5	0.8	0.0	0.0	88.3	0.0
		3.6	100.0	0.55	4.13	0.5	4.4	1.2	0.0	0.0	5.2	0.0

a: Values are means and S.D. thereunder. b: Values in parent ,s are no. of animals examined. **: Differs from cont. $p \leq 0.01$.

Table 7. Biochemical findings of male rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Group	No. of animals	TP g/dl	Alb g/dl	A/G	Protein fractions (%) Alb	Globulin α_1	Globulin α_2	Globulin β	Globulin γ	GOT IU/l	GPT IU/l	CHE IU/l	γ-GTP IU/l	T-Bil mg/dl	Glu mg/dl
Control	12	6.53[a]	2.49	0.612	40.96	25.33	10.96	16.73	6.03	110.4	26.9	77.2	1.05	0.10	166.8
		0.31	0.08	0.035	4.25	2.82	2.15	1.96	1.91	18.7	5.6	25.1	0.48	0.00	15.7
THI 67 mg/kg	12	6.48	2.44	0.603	39.22	25.44	11.43	18.17	5.75	110.6	25.3	77.3	1.09	0.10	163.8
		0.25	0.13	0.042	3.97	2.33	2.13	1.92	1.33	25.9	4.7	13.4	0.43	0.00	15.7
THI 200 mg/kg	12	6.30	2.45	0.633	40.98	23.03	12.33	16.75	6.91	117.9	24.3	65.9	1.20	0.10	158.3
		0.36	0.14	0.039	4.33	3.22	1.67	1.77	2.34	22.4	3.6	17.0	0.48	0.00	18.5
THI 600 mg/kg	12	6.59	2.60	0.648	40.79	23.95	11.85	17.41	6.00	94.8	24.0	72.5	1.30	0.10	154.5
		0.27	0.14	0.039	3.79	1.24	2.28	2.35	1.90	13.7	3.8	17.0	0.30	0.00	21.1

Group	No. of animals	T-Cho mg/dl	TG mg/dl	PL mg/dl	BUN mg/dl	Crea mg/dl	Na mEq/l	K mEq/l	Cl mEq/l	Ca mg/dl	IP mg/dl
Control	12	69.2	124.3	138.6	15.77	0.54	142.21	4.614	104.7	9.66	7.44
		11.3	72.9	28.5	1.50	0.07	1.68	0.375	2.0	0.62	0.58
THI 67 mg/kg	12	71.7	94.3	135.3	16.58	0.54	142.83	4.808	105.6	9.55	7.80
		15.4	47.7	27.2	1.89	0.07	1.07	0.391	2.0	0.62	0.80
THI 200 mg/kg	12	66.7	74.1	124.5	16.61	0.53	142.54	4.632	104.9	9.53	7.71
		11.6	37.9	22.6	1.94	0.07	1.39	0.323	1.4	0.63	0.48
THI 600 mg/kg	12	77.8	72.0	146.2	16.94	0.51	141.83	4.805	104.3	9.42	7.82
		10.1	26.5	17.1	1.94	0.05	1.13	0.301	1.2	0.48	0.68

a: Values are means and S.D. thereunder.

Table 8. Absolute and relative organ weights of male rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Group	No. of animals	Body weight	Liver		Kidney				Thymus		Adrenal			
					Right		Left				Right		Left	
		g	g	%	g	%	g	%	mg	10^{-3}%	mg	10^{-3}%	mg	10^{-3}%
Control	12	584.3[a]	16.557	2.822	1.688	0.290	1.659	0.284	353.2	60.303	30.6	5.243	32.8	5.611
		41.3	2.672	0.322	0.155	0.019	0.161	0.019	90.6	14.242	4.7	0.783	4.8	0.763
THI 67 mg/kg	12	575.1	16.931	2.933	1.853	0.322*	1.829	0.317*	351.3	60.755	31.1	5.425	32.8	5.736
		41.1	2.591	0.292	0.213	0.027	0.211	0.027	118.5	18.987	3.4	0.661	4.0	0.847
THI 200 mg/kg	12	535.3*	15.240	2.840	2.013**	0.378**	1.961**	0.368**	303.3	56.827	30.4	5.732	32.7	6.152
		47.2	1.892	0.165	0.168	0.027	0.141	0.028	70.8	13.932	3.8	0.935	4.3	1.002
THI 600 mg/kg	12	520.5**	17.684	3.397**	2.106**	0.405**	2.063**	0.398**	313.9	60.448	29.1	5.598	30.4	5.848
		32.4	1.591	0.202	0.171	0.033	0.194	0.034	62.2	12.447	3.2	0.615	3.5	0.624

Group	No. of animals	Testis				Epididymis			
		Right		Left		Right		Left	
		g	%	g	%	g	%	g	%
Control	12	1.846	0.317	1.798	0.308	0.693	0.119	0.670	0.115
		0.101	0.029	0.099	0.032	0.046	0.010	0.050	0.013
THI 67 mg/kg	12	1.794	0.312	1.780	0.311	0.679	0.119	0.664	0.117
		0.133	0.026	0.125	0.026	0.036	0.008	0.038	0.009
THI 200 mg/kg	12	1.782	0.334	1.668	0.314	0.672	0.126	0.635	0.120
		0.137	0.028	0.331	0.066	0.068	0.013	0.119	0.025
THI 600 mg/kg	12	1.811	0.348*	1.778	0.343*	0.666	0.128	0.659	0.127
		0.156	0.038	0.158	0.034	0.046	0.011	0.061	0.014

a: Values are menas and S.D. thereunder. *: Differs from control, $p \leq 0.05$. **: Differs from control, $p \leq 0.01$.

Table 9. Gross pathological findings of male rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Item	Control	THI (mg/kg)		
		67	200	600
No. of animals examined	12	12	12	12
Organ : Findings				
	a			
Ileum : Diverticulum	0	0	0	1
Testis : Atrophy	0	0	1	0
Epididymis : Atrophy	0	0	1	0

a: Values are no. of animals with findings.

Table 10. Histopathological findings of male rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Item		Control	THI (mg/kg) 67	200	600
No. of animals examined		12	12	12	12
Organ[a] : Findings	Grade[b]				
		c			
Liver : Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular	+	0	0	0	[9]**
Fibrosis, focal	+	0	0	1	0
Kidney : Hyaline droplet, proximal tubular epithelium	Total	3	12	12	12
	+	3	[1]**	[1]**	[0]**
	++	0	[11]	[11]	[12]
Eosinophilic body, proximal tubular epithelium	+	3	[8]*	[8]*	[9]*
Cast, cellular	+	0	0	1	0
Regeneration, tubular epithelium	+	1	1	4	3
Heart : Cellular infiltration, histiocyte	+	0	2	1	0
Lung : Accumulation, foam cell	+	0	1	0	1
Pituitary gland : Cyst	(+)	0	0	0	1
Ileum : Diverticulum	(+)	0	0	0	1
Testis : Atrophy, tubule	Total	0	1	1	0
	+	0	1	0	0
	+++	0	0	1	0
Epididymis : Decrease, sperm, intraductal	+++	0	0	1	0
Appearance, desquamative spermatogenic cell	++	0	0	1	0
Prostate : Cellular infiltration, lymphocyte, interstitial	Total	1	3	5	2
	+	1	2	5	1
	++	0	1	0	1

a: There were no abnormal findings in the spleen, cerebrum, cerebellum, thymus, adrenal, thyroid, forestomach, glandular stomach, duodenum, jejunum, cecum, colon or rectum.
b: + = slight, ++ = moderate, +++ = severe change and (+) = detected.
c: Values are no. of animals with findings.
*: Differs from control, $p \leq 0.5$.
**: Differs from control, $p \leq 0.1$.

Table 11. General appearance of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Item	Control	THI (mg/kg)		
		67	200	600
Findings before gestation period				
No. of animals examined	12	12	12	12
Salivation	0[a]	0	0	7
Findings during gestation period				
No. of animals examined	12[b]	12[c]	12	12[c]
Salivation	0	0	0	11
Findings during lactation period				
No. of animals examined	10	11	12	11
Salivation	0	0	0	8

a: Values are no. of animals with findings.
b: Includes two animals who had no evidence of pregnancy.
c: Includes one animal who had no evidence of pregnancy.

(continued)

Table 11. (continued) <Number of females showing salivation in THI 600 mg/kg group>

<Before gestation>

	Day of administration				
	1-14	15	16	17	18
No. of animals observed	12[a]	12	7	6	3
No. of animals showing salivation	0	6	1	2	1

<Gestation>

	Day of gestation																									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
No. of animals observed	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	10	3	1	1
No. of animals showing salivation	2	4	6	8	7	7	7	8	5	6	6	8	6	8	7	6	6	2	3	1	0	4	2	1	0	0

<Lactation>

	Day of lactation				
	0	1	2	3	4
No. of animals observed	11	10	10	9	9
No. of animals showing salivation	1	2	6	1	0

a: Total no. of animals observed.

Table 12. Body weight changes before gestation period of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Group	No. of animals	Day of administration						Body weight gain	
		1	2	5	7	10	14	Day 1-14	% a
		b							
Control	12	238.3	241.6	247.6	255.4	260.6	268.2	29.833	12.484
		7.8	11.7	8.9	12.0	14.6	16.6	12.342	4.914
THI 67 mg/kg	12	239.5	241.5	249.1	252.9	259.2	265.2	25.667	10.752
		6.2	9.2	7.2	8.9	9.4	8.9	8.711	3.785
THI 200 mg/kg	12	241.2	241.2	246.9	248.4	255.5	258.9	17.750*	7.332**
		11.0	11.1	11.7	10.1	14.2	15.9	8.946	3.656
THI 600 mg/kg	12	240.9	240.6	240.6	243.3*	247.1*	250.6**	9.667**	4.039**
		9.2	10.6	10.7	9.8	10.8	11.8	9.306	3.859

a: (Body weight gain / body weight on day 1) x 100.
b: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram.
*: Differs from control, $p \leq 0.05$.
**: Differs from control, $p \leq 0.01$.

Table 13. Body weight changes during gestation period of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Group	No. of animals	Day of gestation 0	1	3	5	7	10	14	17	20	Body weight gain Day 0-20	% a
		b										
Control	10	278.9	285.8	298.6	308.1	318.8	335.2	360.0	393.4	445.9	167.000	59.864
		8.7	7.7	8.4	7.9	10.7	10.6	14.5	16.2	20.3	14.877	4.801
THI 67 mg/kg	11	277.9	285.5	294.3	303.5	310.6	325.8	348.1	381.4	425.1	147.182	53.012
		13.4	11.2	11.8	13.0	11.4	14.8	18.9	22.6	30.4	25.443	8.989
THI 200 mg/kg	12	267.9	274.9*	284.8*	293.1**	301.1**	315.4**	338.5**	371.9*	417.8*	149.917	56.043
		11.5	11.8	12.5	12.1	14.5	15.2	17.9	17.7	20.2	16.144	6.409
THI 600 mg/kg	11	253.3**	265.2**	278.0**	283.0**	291.3**	305.5**	323.9**	350.8**	388.7**	135.455**	53.591
		9.1	8.4	8.2	7.8	9.2	10.8	11.3	13.5	21.9	21.276	8.896

a: (Body weight gain / body weight on day 0) x 100.
b: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram.
*: Differs from control, $p \leq 0.05$.
**: Differs from control, $p \leq 0.01$.

Table 14. Body weight changes during lactation period of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Group	No. of animals	Day of lactation 0	1	4	Body weight gain Day 0-4	% a
		b				
Control	10	339.6	336.2	342.9	3.300	1.047
		15.3	12.8	12.8	10.698	3.194
THI 67 mg/kg	11	331.2	329.2	335.5	4.364	1.401
		24.3	21.9	21.0	5.390	1.746
THI 200 mg/kg	12	321.0	318.9*	330.3	9.250	3.054
		22.1	22.7	20.5	16.243	5.303
				(9)c	(9)	(9)
THI 600 mg/kg	10	306.5**	311.0**	323.3	19.111**	6.320**
		13.7	7.9	13.7	9.610	3.168

a: (Body weight gain / body weight on day 0) x 100.
b: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram.
c: Values in parentheses are no. of animals examined.
*: Differs from control, $p \leq 0.05$.
**: Differs from control, $p \leq 0.01$.

Table 15. Food consumption before gestation period of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Group	No. of animals	Day of administration					
		1	2	5	7	10	14
Control	12	16.4[a] 2.5	15.6 3.3	14.4 3.2	16.3 2.4	17.3 3.2	15.9 3.6
THI 67 mg/kg	12	16.3 2.4	15.4 3.3	14.2 2.8	14.3 2.0	15.8 2.2	15.4 2.6
THI 200 mg/kg	12	17.4 3.0	14.2 2.7	13.3 2.3	13.6* 1.9	15.4 3.3	15.2 3.4
THI 600 mg/kg	12	15.8 3.9	13.8 3.7	12.3 3.0	14.7 2.3	14.8 2.1	15.1 3.2

a: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram/day.
*: Differs from control, $p \leq 0.05$.

Table 16. Food consumption during gestation period of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Group	No. of animals	Day of gestation							
		1	3	5	7	10	14	17	20
Control	10	19.1[a] 3.2	20.4 3.2	19.4 3.2	21.6 2.6	21.6 2.1	20.4 2.3	21.4 2.8	19.0 3.2
THI 67 mg/kg	11	18.9 1.6	18.2 2.6	19.5 3.3	18.7* 2.0	20.2 2.4	18.5 4.3	20.7 3.1	17.8 4.5
THI 200 mg/kg	12	17.3 2.6	18.4 3.3	18.0 1.7	18.8* 2.3	20.2 3.1	20.2 1.7	22.0 2.4	19.8 3.9
THI 600 mg/kg	11	16.8 3.3	19.6 2.3	19.8 3.1	19.5 2.0	21.1 2.8	21.1 3.1	23.0 3.1	19.8 3.0

a: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram/day.
*: Differs from control, $p \leq 0.05$.

Table 17. Food consumption during lactation period of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Group	No. of animals	Day of lactation 1	Day of lactation 4
Control	10	13.4[a] 4.2	31.5 7.4
THI 67 mg/kg	11	12.1 2.7	28.5 5.2
THI 200 mg/kg	12	15.0 4.7	32.0 6.1
THI 600 mg/kg	10	16.6 4.0	(9)[b] 30.7 5.5

a: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram/day.
b: Values in parentheses are no. of animals examined.

Table 18. Absolute and relative organ weights of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Group	No. of animals	Body weight	Liver		Kidney				Thymus		Adrenal				Ovary			
					Right		Left				Right		Left		Right		Left	
		g	g	%	g	%	g	%	mg	10^{-3}%	mg	10^{-3}%	mg	10^{-3}%	mg	10^{-3}%	mg	10^{-3}%
Control	10	342.9[a]	14.091	4.110	0.996	0.292	0.954	0.278	209.3	60.945	33.8	9.866	35.0	10.204	56.0	16.303	47.7	13.893
		12.8	1.295	0.346	0.079	0.024	0.080	0.029	64.5	18.098	4.7	1.387	4.8	1.319	9.0	2.371	6.1	1.560
THI 67 mg/kg	11	335.5	14.014	4.177	1.002	0.299	0.980	0.294	178.2	52.947	34.2	10.215	36.6	10.936	54.3	16.181	55.4	16.549
		21.0	1.177	0.270	0.077	0.037	0.075	0.032	41.1	11.175	5.4	1.680	6.7	2.007	9.4	2.780	9.4	2.929
THI 200 mg/kg	12	330.3	15.007	4.557*	1.038	0.313	0.998	0.303	179.4	53.934	33.6	10.156	36.0	10.900	55.9	17.024	49.1	14.939
		20.5	1.161	0.411	0.058	0.016	0.054	0.014	58.6	16.171	3.9	0.824	4.0	1.011	11.0	3.643	10.7	3.439
THI 600 mg/kg	9	323.3	15.920**	4.921**	1.102*	0.342**	1.058**	0.329**	164.4	50.769	30.0	9.293	33.4	10.359	51.7	16.041	42.0	13.040
		13.7	1.532	0.406	0.087	0.027	0.066	0.021	33.9	9.811	2.4	0.864	2.2	0.789	8.5	2.985	8.5	2.784

a: Values are menas and S.D. thereunder.
*: Differs from control, $p \leq 0.05$.
**: Differs from control, $p \leq 0.01$.

Table 19. Gross pathological findings of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Item	Control	THI (mg/kg)		
		67	200	600
No. of animals examined	12[a]	12[b]	12	12[b]
Abnormal findings	0[c]	0	0	0

a: Includes two animals who had no evidence of pregnancy.
b: Includes one animal who had no evidence of pregnancy.
c: Values are no. of animals with findings.

Table 20. Histopathological findings of female rats dosed orally with THI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Item		Control	THI (mg/kg) 67	200	600
No. of animals examined		12[a]	12[b]	12	12[b]
Organ[c] : Findings	Grade[d]				
		[e]			
Liver : Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular	+	0	0	0	1
Kidney : Regeneration, tubular epithelium	+	0	0	1	0
Cast, hyaline	++	1	0	0	0
Mineralization, cortico-medullary junction	+	0	0	0	1
Spleen : Hematopoiesis, extramedullary, increased	+	1	0	0	0
Lung : Accumulation, foam cell	+	0	0	1	0
Thymus : Atrophy	Total	1	0	1	2
	+	1	0	1	1
	++	0	0	0	1[f]
Pituitary gland : Cyst	(+)	0	0	0	1[g]
Thyroid : Cyst	(+)	0	0	0	1
Ovary : Absence, corpus luteum	(+)	1	0	0	0
Cyst, corpus luteum	(+)	0	0	0	1

a: Includes two animals who had no evidence of pregnancy.
b: Includes one animal who had no evidence of pregnancy.
c: There were no abnormal findings in the heart, cerebrum, cerebellum, adrenal, forestomach, glandular stomach, duodenum, jejunum, ileum, cecum, colon or rectum.
d: + = slight, ++ = moderate change and (+) = detected.
e: Values are no. of animals with findings.
f: Observed in one animal delivering no live pups.
g: Observed in one animal whose litter all died.

Table 21. Influence of THI on reproductive ability of rats in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Group	No. of pairs mated	Estrous cycle: Before administration: Normal	Before administration: Abnormal: Total	Before administration: Abnormal: Continuous diestrus	Before administration: Abnormal: Irregular	Administration period: Normal	Administration period: Abnormal: Total	Administration period: Abnormal: Continuous diestrus	Administration period: Abnormal: Irregular	No. of pairs with successful copulation	Days from pairing to copulation	Copulation index[a] %	No. of pregnant animals	Fertility index[b] %
Control	12	12	0	-[c]	-	12	0	-	-	12	3.1±0.9[d]	100.0	10	83.3
THI 67 mg/kg	12	12	0	-	-	12	0	-	-	12	2.7±1.7	100.0	11	91.7
THI 200 mg/kg	12	12	0	-	-	12	0	-	-	12	2.9±1.2	100.0	12	100.0
THI 600 mg/kg	12	12	0	-	-	12	0	-	-	12	2.3±1.3	100.0	11	91.7

a: (No. of pairs with successful copulation / no. of pairs mated) x 100.
b: (No. of pregnant animals / no. of pairs with successful copulation) x 100.
c: - = blank value.
d: Values are means ± S.D.

Table 22. Influence of THI on delivery and maternal behavior in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9537)

Group		No. of pregnant females	No. of corpora lutea	No. of implantation sites	Implantation index[a] %	No. of pups born	Delivery index[b] %	Live pups born: No.	Live pups born: Live birth index[c] %	Live pups born: Sex ratio[d]	Live pups born: Male	Live pups born: Female	Dead pups born: No.	Dead pups born: Male	Dead pups born: Female	Gestation length day	Gestation index[e] %	Nursing index[f] %
Control	Total	10	188	180		164		164			82	82	0	0	0			
	Mean		18.8	18.0	96.151	16.4	91.202	16.4	100.000	1.225	8.2	8.2	0.0	0.0	0.0	22.3	100.0	100.0
	S.D.		1.8	1.1	5.754	1.1	5.249	1.1	0.000	0.916	2.0	2.4	0.0	0.0	0.0	0.5		
THI 67 mg/kg	Total	11	196	176		158		155			73	82	3	0	3			
	Mean		17.8	16.0	88.895	14.4	90.567	14.1	97.217	1.031	6.6	7.5	0.3	0.0	0.3	22.5	100.0	100.0
	S.D.		2.8	3.9	15.901	3.5	9.721	3.8	5.394	0.596	3.2	3.1	0.5	0.0	0.5	0.5		
THI 200 mg/kg	Total	12	220	201		184		181			93	88	3	0	3			
	Mean		18.3	16.8	91.776	15.3	91.753	15.1	98.438	1.529	7.8	7.3	0.3	0.0	0.3	22.2	100.0	100.0
	S.D.		2.2	1.6	5.595	1.6	6.891	1.7	5.413	1.716	3.2	2.5	0.9	0.0	0.9	0.6		
THI 600 mg/kg	Total	11	175	151		130		120		(10)[g]	(10) 64	(10) 56	10[h]	3	5			(10)
	Mean		15.9*	13.7**	85.504	11.8**	83.201	10.9**	88.049	1.224	6.4	5.6	0.9	0.3	0.5	23.0*	90.9	90.0
	S.D.		1.8	4.3	24.428	4.8	21.489	5.4	29.725	0.498	2.2	2.7	1.6	0.5	0.8	0.6		

a: (No. of implantation sites / no. of corpora lutea) x 100.
b: (No. of pups born / no. of implantation sites) x 100.
c: (No. of live pups born / no. of pups born) x 100.
d: No. of male pups / no. of female pups.
e: (No. of females with live pups delivered / no. of pregnant females) x 100.
f: (No. of females nursing live pups / no. of females with normal delivery) x 100.
g: Values in parentheses are no. of pregnant females examined.
h: Includes 2 pups of unknown sex.
*: Differs from control, $p \leq 0.05$.
**: Differs from control, $p \leq 0.01$.

Table 23. Gross pathological findings of dead pups at birth in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of THI in rats (SR-9537)

Item	Male				Female			
		THI (mg/kg)				THI (mg/kg)		
	Control	67	200	600	Control	67	200	600
No. of dead animals examined[a]	0	0	0	5[b]	0	3	3	5
Organ : Findings								
Lumbar vertebrae : Absence	-[c]	-	-	0[d]	-	1	0	0
External : Rudimentary tail	-	-	-	0	-	1	0	0
Imperforate anus	-	-	-	0	-	1	0	0

a: Excludes missing.
b: Includes two pups of unknown sex.
c: - = blank value.
d: Values are no. of animals with findings.

Table 24. Influence of THI on viability of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats (SR-9537)

Item		No. of dams	No. of live pups born (on day 0)	Live pups on day 4			
				No.	Viability index[a] %	Male	Female
Control	Total	10	164	162		80	82
	Mean		16.4	16.2	98.824	8.0	8.2
	S.D.		1.1	1.0	2.479	2.2	2.4
THI 67 mg/kg	Total	11	155	153		72	81
	Mean		14.1	13.9	98.915	6.5	7.4
	S.D.		3.8	3.6	2.433	3.1	3.1
THI 200 mg/kg	Total	12	181	178		90	88
	Mean		15.1	14.8	98.403	7.5	7.3
	S.D.		1.7	1.7	3.933	3.1	2.5
				(10)[b]		(10)	(10)
THI 600 mg/kg	Total	11	120	106	(10)	55	51
	Mean		10.9**	10.6**	80.809	5.5	5.1*
	S.D.		5.4	4.4	33.437	3.0	2.6

a: (No. of live pups on day 4 / no. of live pups born) x 100.
b: Values in parentheses are no. of dams examined.
*: Differs from control, $p \leq 0.05$.
**: Differs from control, $p \leq 0.01$.

Table 25. General appearance of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of THI in rats (SR-9537)

Item	Male				Female			
		THI (mg/kg)				THI (mg/kg)		
	Control	67	200	600	Control	67	200	600
No. of animals examined	82[a]	73	93	64	82	82	88	56
No. of dead/missing animals	2	1	3	9	0	1	0	5
Dead animals	1[b]	0	2	6	0	0	0	4
Missing animals	1	1	1	3	0	1	0	1
Imperforate anus	0	0	0	1	-[c]	0	-	0
Rudimentary tail	0	0	0	1	-	0	-	0
No. of surviving animals	80	72	90	55	82	81	88	51
Rudimentary tail	0	0	1	0	0	0	0	0
Trauma	0	0	1	0	0	0	0	0

a: Values are no. of live animals at birth.
b: Values are no. of animals with findings.
c: - = blank value.

Table 26. Body weight changes of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of THI in rats (SR-9537)

Group	No. of litters	Male: Day of lactation 0	Male: Day of lactation 1	Male: Day of lactation 4	Male: Body weight gain Day 0-4	Male: Body weight gain % a	Female: Day of lactation 0	Female: Day of lactation 1	Female: Day of lactation 4	Female: Body weight gain Day 0-4	Female: Body weight gain %
		b									
Control	10	6.47	6.95	9.93	3.460	53.449	6.18	6.65	9.45	3.270	52.903
		0.54	0.62	1.03	0.638	8.679	0.47	0.57	0.81	0.422	5.504
THI 67 mg/kg	11	6.75	7.26	10.66	3.918	57.138	6.33	6.81	10.00	3.673	56.665
		0.85	1.01	1.97	1.144	9.581	0.78	0.96	2.08	1.311	12.930
THI 200 mg/kg	12	6.33	6.84	10.06	3.733	58.821	5.88	6.33	9.28	3.400	57.633
		0.71	0.91	1.40	0.809	9.090	0.56	0.73	1.22	0.768	9.786
				(9)c	(9)	(9)	(9)	(9)	(9)	(9)	(9)
THI 600 mg/kg	10	6.26	6.40	9.53	3.456	56.414	5.78	6.04	8.93	3.156	54.706
		0.66	0.69	1.23	0.938	12.652	0.59	0.80	1.34	1.067	16.644

a: (Body weight gain / body weight on day 0) x 100.
b: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram.
c: Values in parentheses are no. of litters examined.

Table 27. Gross pathological findings of pups which were dead after birth or killed on day 4 of lactation in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of THI in rats (SR-9537)

Item	Male				Female			
		THI (mg/kg)				THI (mg/kg)		
	Control	67	200	600	Control	67	200	600
Findings of dead pups after birth								
No. of animals examined[a]	1	0	2	6	0	0	0	4
Organ : Findings								
	[b]	[c]						
External : Rudimentary tail	0	-	0	1	-	-	-	0
Imperforate anus	0	-	0	1	-	-	-	0
Findings of pups killed on day 4 of lactation								
No. of animals examined	80	72	90	55	82	81	88	51
Organ : Findings								
External : Absence of tail	0	0	1	0	0	0	0	0
Trauma	0	0	1	0	0	0	0	0

a: Excludes missing animals.
b: Values are no. of animals with findings.
c: - = blank value.