最終報告書

表　　題：2,4-ジニトロフェノールのラットにおける簡易生殖試験

試験番号：ＳＲ０４２１８

株式会社 化合物安全性研究所

目　次

表紙 ---------- 1

目次 ---------- 5

要約 ---------- 11
緒言 ---------- 12
材料および方法 ---------- 12
成績 ---------- 24
考察 ---------- 28
参考文献 ---------- 29

Figures

1 Body weight changes of male rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218) ---------- 31
2 Food consumption of male rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218) ---------- 32
3 Body weight changes of female rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218) ---------- 33
4 Food consumption of female rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218) ---------- 34
5 Body weight changes of pups in the reproduction/developmental toxicity screening test of 2,4-dinitrophenol in rats (SR04218) ---------- 35

Tables

1 General appearance of male rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218) ---------- 36
2 Body weight changes of male rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218) ---------- 37
3 Food consumption of male rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218) ---------- 38
4 Gross findings of male rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218) ---------- 39

5 Absolute and relative organ weights of male rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218) ---- 40

6 Histopathological findings of male rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218) ---- 41

7 Stages of spermatogenesis of male rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218) ---- 42

8 General appearance of female rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218) ---- 44

9 Body weight changes during pre-mating days of female rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218) ---- 45

10 Body weight changes during gestation days of female rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218) ---- 46

11 Body weight changes during lactation days of female rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218) ---- 47

12 Food consumption changes during pre-mating days of female rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218) ---- 48

13 Food consumption changes during gestation days of female rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218) ---- 49

14 Food consumption changes during lactation days of female rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218) ---- 50

15 Gross findings of female rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218) ---- 51

16 Absolute and relative organ weights of female rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218) ---- 52

17 Histopathological findings of female rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218) ---- 53

18 Reproduction performance of parental rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218) ---- 54

19 Pregnancy and litter data of rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218) ---- 55

20 General appearance of pups in the reproduction/developmental toxicity screening test of 2,4-dinitrophenol in rats (SR04218) ---- 56

21 Body weight changes of pups in the reproduction/developmental toxicity screening test of 2,4-dinitrophenol in rats (SR04218) ---- 57

22 Gross findings of pups in the reproduction/developmental toxicity screening test of 2,4-dinitrophenol in rats (SR04218) ---- 58

Individual data

Symbols and process for statistical analysis in individual data ---- 59

[Male]

1-1 ～ 1-4 General appearance ---- 60
2-1 ～ 2-4 Body weight ---- 64
3-1 ～ 3-4 Food consumption ---- 68
4-1 ～ 4-4 Gross findings ---- 72
5-1 ～ 5-8 Absolute and relative organ weights ---- 76
6-1 ～ 6-3 Histopathological findings ---- 84
7-1, 7-2 Statistical analysis in histopathological findings ---- 87
8-1 ～ 8-8 Stages of spermatogenesis ---- 89

[Female]

9-1 ～ 9-4 General appearance, Pre-mating days ---- 97
10-1 ～ 10-4 General appearance, Gestation days ---- 101
11-1 ～ 11-4 General appearance, Lactation days ---- 105
12-1 ～ 12-4 Body weight, Pre-mating days ---- 109
13-1 ～ 13-4 Body weight, Gestation days ---- 113
14-1 ～ 14-4 Body weight, Lactation days ---- 117
15-1 ～ 15-4 Food consumption, Pre-mating days ---- 121
16-1 ～ 16-4 Food consumption, Gestation days ---- 125
17-1 ～ 17-4 Food consumption, Lactation days ---- 129
18-1 ～ 18-4 Gross findings ---- 133
19-1 ～ 19-8 Absolute and relative organ weights ---- 137
20-1, 20-2 Histopathological findings ---- 145
21-1 ～ 21-4 Estrous cycle ---- 147

[Reproduction]

22-1 ～ 22-4 Reproduction performance ---- 151
23-1 ～ 23-4 Pregnancy and litter data, Dams and Pups ---- 155
24-1 ～ 24-4 General appearance, Pups ---- 159
25-1 ～ 25-4 Body weight, Pups ---- 164
26 Gross findings of dead pups on day 0-4 of lactation days ---- 168
27-1 ～ 27-4 Gross findings of pups euthanatized on day 4 of lactation days 169

要　約

2,4-ジニトロフェノールの 0(対照群)、3、10 および 30 mg/kg を 1 群雄雌各 12 匹の Crl:CD(SD) ラットに、雄ラットに対しては交配前、交配期間および交配後を含む計 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、その精腺機能、交尾行動、受胎および分娩等の生殖機能に及ぼす毒性および次世代の発生・発育に及ぼす影響について検討し、以下の成績を得た。

1. 親動物

(1) 一般状態では、30 mg/kg 投与群の雄雌で流涎が散見された。

(2) 体重推移では、30 mg/kg 投与群の雄雌で体重増加抑制が認められた。

(3) 摂餌量および剖検所見では、各投与群の雄雌ともに被験物質投与に関連した変化は認められなかった。

(4) 器官重量では、30 mg/kg 投与群の雄雌で肝臓と腎臓の重量増加が認められた。

(5) 病理組織学的検査では、精巣、精巣上体および卵巣に各投与群の雄雌ともに被験物質投与に関連した変化は認められなかった。また、精子形成の Stage 分類に関しても被験物質投与に関連した変化は認められなかった。

2. 生殖発生毒性

(1) 生殖能検査では、雌の性周期、雄雌の交尾率、受胎率、出産率および哺育 4 日の哺育率には各投与群とも変化はみられなかった。

(2) 母動物の黄体数、着床率、分娩率、総出産児数、出産児の性比および新生児生存率には、各投与群とも被験物質投与に関連した変化は認められなかったが、30 mg/kg 投与群の哺育 0 日の生存児数、出生率および哺育 4 日の生存児数に有意な低値、哺育 0 日の死亡児数に有意な高値が認められた。

(3) 新生児の一般状態および体重では、30 mg/kg 投与群で雄雌ともに死亡例の増加傾向および体重増加抑制傾向が認められたが、剖検所見には各投与群とも被験物質投与に関連した変化は認められなかった。

以上のように、被験物質投与に関連した変化として、親動物に 30 mg/kg 投与群の雄雌に流涎、体重増加抑制および肝臓と腎臓の重量増加がみられ、次世代の発生・発育では新生児に死亡例の増加傾向および体重増加抑制傾向が認められた。しかし、親動物の生殖能には変化は認められなかった。

したがって、本試験条件下における 2,4-ジニトロフェノールの親動物における無影響量(NOEL)は 10 mg/kg/day、親動物の生殖能に対する無影響量(NOEL)は 30 mg/kg/day、次世代の発生・発育に対する無影響量(NOEL)は 10 mg/kg/day と考えられた。

緒　言

2,4-ジニトロフェノールの 0(対照群)、3、10 および 30 mg/kg を 1 群雄雌各 12 匹の Crl:CD(SD)ラットに、雄ラットに対しては交配前、交配期間および交配後を含む計 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、その精腺機能、交尾行動、受胎および分娩等の生殖機能に及ぼす毒性および次世代の発生・発育に及ぼす影響について検討した。

材料および方法

1. 被験物質

被験物質は、2,4-ジニトロフェノール[2,4-Dinitrophenol、別名：1-ヒドロキシ-2,4-ジニトロベンゼン、CAS No.：51-28-5、　　純度：84.13%(乾燥後 99.7%:GC)：水分含量(15.87w/w%)より算出　　]で、分子式 $C_6H_4N_2O_5$、分子量 184.11、変色範囲(pH) わずかに微黄(2.6)～黄(4.0)、融点 112～116℃(乾燥後 113.5 度)、水に難溶、酢酸エチル、アセトン、 ピリジンに易溶、クロロホルム、ベンゼン、トルエン、アルカリ性水溶液に可溶、熱湯、エタノールに微溶の無色または黄色の結晶性物質である。2,4-ジニトロフェノールは粉末または顆粒状で空気と混合すると粉塵爆発の可能性があり、衝撃、摩擦または振動を加えると爆発的に分解することがある。また、加熱すると爆発することがあることから、冷蔵保存、密栓、火気厳禁の条件下で冷蔵庫内(実測範囲 2～7℃、受入から最終調製まで)に保存した(Appendix 1-1)。

なお、被験物質の水分含量を測定し、15.87w/w%であることを確認した(Appendix 1-2)。

水分含量測定方法：

秤量瓶を乾燥させた後に重量を測定し、これに被験物質約 5 g を採取して秤量瓶ごとの風袋込み重量を測定した。これをシリカゲルの入ったデシケーターに入れ、アスピレーターで減圧後、室温で 9 日間保存して乾燥させ、再度風袋込み重量を測定して減量分から被験物質の水分含量を算出した。

$$\text{水分含量}(\%) = \frac{\text{乾燥前の全重量}(g) - \text{最終乾燥後の全重量}(g)}{\text{被験物質秤量値}(g)} \times 100$$

残余の被験物質の一部を用いて純度の分析を行い、試験期間中の安定性を確認した(Appendix 1-3)。他の被験物質は、焼却処分するために、産業廃棄物として回収した。

2. 媒体

1%メチルセルロース水溶液を媒体とした。1%メチルセルロース水溶液はメトローズ SM-400(日本薬局方メチルセルロース、信越化学工業株式会社、ロット番号 008614)を精秤し、精製水(日本薬局方精製水、ヤクハン製薬株式会社、ロット番号 55B1)中に入れ溶解させ、所定の濃度となるように精製水でメスアップし、スターラーを用いて十分攪拌して調製した。1%メチルセルロース水溶液は、被験物質の媒体として投与液の調製に使用し、また、遮光気密容器に入れ冷蔵庫内(実測範囲 4～8℃)で保存し、調製後 12 日以内に対照群の投与液として使用した。残余の媒体は、焼却処分するために、産業廃棄物として回収した。

調製日	調製濃度 (%)	メトローズ SM-400 秤量値(g)	媒体調製量 (mL)
2005 年 8 月 23 日	1	20.0004	2000
2005 年 8 月 29 日	1	20.0004	2000
	1	20.0009	2000
	1	10.0000	1000
2005 年 9 月 9 日	1	20.0027	2000
	1	20.0012	2000
	1	10.0002	1000
2005 年 9 月 21 日	1	20.0000	2000
	1	20.0009	2000
	1	10.0001	1000
2005 年 9 月 29 日	1	20.0000	2000
	1	20.0001	2000
	1	10.0000	1000

3. 投与液の調製および化学分析

(1) 投与液の調製

被験物質を純度換算の上精秤し、所定の濃度となるように媒体(1%メチルセルロース水溶液)に懸濁させた。調製の際には被験物質の皮膚への付着を避け、また、目に入らないように手袋、マスク、保護メガネ等を着用してクリーンベンチ内で注意して操作を行った。調製液は、調製後速やかに遮光気密容器に入れ、冷蔵庫内(実測範囲 4～8℃)で保存し、調製後 12 日以内に投与に用いた。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。

調製日	調製濃度 (mg/mL)	被験物質秤量値 (g)	投与液調製量 (mL)
2005 年 8 月 23 日	0.3	0.1781	500
濃度確認実施	1	0.5942	500
	3	1.7803	500
2005 年 8 月 29 日	0.3	0.4280	1200
	1	1.4301	1200
	3	4.2802	1200
2005 年 9 月 9 日	0.3	0.4280	1200
	1	1.4301	1200
	3	4.2804	1200

2005年9月21日	0.3	0.4280	1200
	1	1.4301	1200
	3	4.2802	1200
2005年9月29日	0.3	0.4280	1200
濃度確認実施	1	1.4300	1200
	3	4.2803	1200

(2) 投与液の化学分析

投与開始までに、0.3および3 mg/mLの溶液について、均一性、室温保存24時間および冷蔵保存8および14日間(調製日を0日として起算)の安定性を確認した結果、0.3および3 mg/mLの調製液中で、上層・中層・下層における変動係数は4.7%および3.7%であり、また、残存率は室温保存24時間で102.8および106.1%、冷蔵保存8日で108.6および101.4%、14日で105.2および103.2%であった。この成績から、被験物質は調製液中で均一であり、かついずれの条件下でも安定であると考えられた(Appendix 2-1および2-2)。

初回および最終回調製時のすべての投与液について、被験物質の濃度を分析した結果、0.3、1および3 mg/mL調製液の含有率は、所定の濃度に対して初回調製時で93.7、104.0および92.0%、最終回調製時で99.3、90.7および91.7%であった。これらの投与液はいずれも規定範囲とした90～110%の範囲内にあり、かつ変動係数も0.1～3.3%で規定の5%以内にあり、調製液の濃度は適正と考えられた(Appendix 2-3および2-4)。

(3)濃度分析方法

標準溶液(表示濃度 約 5μg/mL：標準溶液濃度は表示濃度を水分含量で換算した値を使用)：約50 mgの2,4-ジニトロフェノール(冷蔵保存)を100 mL容のメスフラスコに採取し、アセトニトリルで定容した。この液を正確に1 mL採取し、アセトニトリルを加えて100 mLとした(標準溶液)。調製は1回、注入は3回とした。調製後は冷蔵で保存し、2日以内に使用した(調製日を0日として起算)。

移動相(以下の割合で調製)：りん酸二水素カリウム約13.6 gを秤量し、蒸留水を加えて1000 mLとした(0.1 mol/Lりん酸二水素カリウム溶液)。この液に、蒸留水を加えて10倍希釈したりん酸(りん酸溶液)を約10 mL添加し、pH 3.0に調整した(0.1 mol/Lりん酸緩衝液)。0.1 mol/Lりん酸緩衝液600 mLにアセトニトリル400 mLを加え、十分に混合したものを移動相とした。調製後は室温で保存し、2週間以内に使用した(調製日を0日として起算)。

オートサンプラ洗浄液：アセトニトリルをオートサンプラ洗浄液とした。

試料溶液の調製：各被験物質調製液を採取し、被験物質の濃度が表示濃度として800μg/mL以下となるようにアセトニトリルを加え、よく混合後、遠心分離(3500回転/分、10分、15℃)した。得られた上清を採取し、表示濃度として被験物質の最終濃度が5μg/mL付近、対照溶媒が5%以下の割合となるようにアセトニトリルを加えたものを試料溶液とし、HPLCに1回注入した。

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から３点とし、均一性試験については被験物質調製液の上、中、下層から各３点の計９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。

HPLC システムおよび測定条件は以下の通りである。

HPLC システム

UV Detector	L-4200	株式会社 日立製作所
Intelligent Pump	L-6200	株式会社 日立製作所
Column Oven	L-5025	株式会社 日立製作所
Autosampler	AS-2000	株式会社 日立製作所
Degasser	ERC-3315α	株式会社 イーアールシー
Millennium^{32} Chromatography Manager		
	M32SW	日本ウォーターズ株式会社

測定条件

カラム	: Inertsil ODS-2、4.6 mm I.D.×150 mm（ジーエルサイエンス株式会社）
移動相	: 0.1 mol/L りん酸緩衝液(pH 3.0)/アセトニトリル (600:400)
測定波長	: 260 nm
カラム温度	: 40℃
流量	: 1 mL/min
注入量	: 10μL
ｵｰﾄｻﾝﾌﾟﾗ温度	: 10℃
分析時間	: 8分
ｵｰﾄｻﾝﾌﾟﾗ洗浄液	: アセトニトリル

Millennium^{32} を用いて標準溶液のピーク面積と濃度から作成した検量線より、各試料溶液の濃度(以下、測定濃度)を求め、以下の式より調製液中の被験物質濃度、変動係数、含有率および残存率を算出した。

$$\text{被験物質濃度(mg/mL)} = \frac{\text{測定濃度}(\mu\text{g/mL}) \times \text{希釈係数}}{1000}$$

$$\text{変動係数(\%)} = \frac{\text{被験物質濃度標準偏差}}{\text{被験物質濃度平均値}} \times 100$$

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

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

4. 試験方法

(1) 試験系

試験には、日本チャールス・リバー株式会社 厚木飼育センター生産の SPF Crl:CD(SD)ラットを用いた。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、当研究所での使用経験が豊富であることからこの系統を選定した。

雄雌各 57 匹を 2005 年 8 月 10 日に 8 週齢で購入した。受入時の動物の体重範囲は、雄で 240～273 g、雌で 164～183 g であった。

(2) 検疫および馴化

受入後、個々の動物について 14 日間、一般状態観察を 1 日 1 回、さらに期間中に体重測定を 3 回実施した。雌については馴化期間中に 9 日間の性周期検査を実施した。検疫および馴化期間中、膣口肉柱が 1 例で認められた。

(3) 群分け

検疫および馴化期間終了後、健康な動物で、雌については性周期にも異常の認められない動物を雄雌各々48 匹選抜して、10 週齢で試験に供した。検疫および馴化期間最終日(投与前々日)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。群分け時の動物の体重範囲は、雄で 332～392 g、雌で 214～243 g であり、平均体重(雄 363.2 g、雌 227.5 g)の±20%以内であった。選抜から外れた動物は試験から除外して安楽死とした。なお、選抜された動物について投与開始前日に一般状態および性周期の異常がないことを確認した。

(4) 動物およびケージの識別

動物は、群分け前は油性フェルトペンで尾部に印を付け、群分け後は耳介に動物番号を入墨し、個体識別を行った。出生児については、個体の識別は行わなかった。飼育ケージは、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。群分け後はさらに試験群を明記し、雌動物には妊娠期間中は交尾成立日毎のグループ名および分娩予定日、哺育期間中は分娩終了日毎のグループ名も明記した。

(5) 動物飼育

1) 飼育環境

動物は温度 22±3℃(実測範囲 21～25℃)、湿度 50±20%(実測範囲 38～70%)、換気回数 10～15 回／時間、照明時間 人工照明 12 時間(8：00～20：00)の動物飼育室(309 号室)で飼育した。

2) 飼育器材および飼育方法

ブラケット式金属製金網床ケージ(260W×380D×180H, mm)に、検疫および馴化期間中は雄雌別に 1 または 2 匹、群分け後は 1 匹、交配中は雄雌各 1 匹、妊娠期間中は 1 母動物、哺育期間中は 1 腹を収容した。なお、交尾成立雌動物については妊娠 17 日から哺育 4 日まで小型受皿と共に実験動物用床敷(ホワイトフレーク、日本チャールス・リバー株式会社)を使用した。ケージおよび給餌器は群分け時に 1 回、その後は 2 週に 1 回交換した。受皿は週 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は週 1 回実施した。動物飼育室内の清掃および清拭消毒は、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

オリエンタル酵母工業株式会社製、γ線照射固型飼料 CRF-1 を、金属製給餌器を用いて自由に摂取させた。

試験に悪影響を及ぼす恐れのある汚染物質あるいは微生物の有無を、使用したロット(050406、050512)の飼料について分析した。汚染物質の分析は財団法人 日本食品分析センターにおいて、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入手し、異常のないことを確認した(Appendix 3-1-1～3-2-2)。

4) 飲料水

札幌市水道水を、自動給水装置を用いて自由に摂取させた。

試験に悪影響を及ぼす恐れのある汚染物質の有無を、2005 年 7 月 1 日、2005 年 10 月 3 日および 2006 年 1 月 4 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分析した。分析は日本衛生株式会社が行い、分析データを入手し、異常のないことを確認した(Appendix 4-1～4-3)。

(6) 試験群の構成

試験群の構成と各群の動物番号を以下に示す。

試験群	投与量 (mg/kg)	濃度 (mg/mL)	動物数(動物番号) 雄	雌
対照群	0	0	12 (101～112)	12 (151～162)
低用量群	3	0.3	12 (201～212)	12 (251～262)
中用量群	10	1	12 (301～312)	12 (351～362)
高用量群	30	3	12 (401～412)	12 (451～462)

対照群には媒体(1%メチルセルロース水溶液)を投与した。

(7) 被験物質の投与

1) 投与量の設定

既に実施されている 28 日間反復経口投与毒性試験[1)]では、30 mg/kg で自発運動の低下や流涎等、80 mg/kg では腹臥やはいずり歩行、死亡例が認められた。これらのことから、30 mg/kg を高用量とし、以下公比約 3 で叙した 10 および 3 mg/kg を中用量および低用量に設定した。

2) 投与

被験物質がヒトに経口的に暴露される可能性を考慮し、OECD 試験法ガイドライン(421)に従って、1 日 1 回、雄については交配 14 日前より 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、9：00～14：00 の間に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。

投与容量は 10 mL/kg とし、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。

(8) 観察、測定および検査項目

Ⅰ．雄動物について

1) 一般状態観察

全例について、投与開始日を投与1日として起算し、投与1日から投与46日の翌日の剖検日まで、個々の動物の生死、外観、行動等について1日最低2回観察した。ただし、剖検日は午前中に1回観察した。

2) 体重測定

全例について、投与1、2、5、7、10、14、その後は7日毎の投与前、投与終了日および剖検日に電子式上皿天秤(LA4200、ザルトリウス株式会社)を用いて測定し、1 g 単位で記録した。

以下の式により体重増加量および体重増加率を算出した。

$$\text{体重増加量(g)} = \text{投与46日体重(g)} - \text{投与1日体重(g)}$$

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

3) 摂餌量測定

全例について、交配期間および剖検日を除き、体重測定日と同じ日に実施した。各測定日に、電子式上皿天秤(LA4200、ザルトリウス株式会社)を用いて各ケージの給与量と残量を測定し、1 g単位で記録した。以下の式により摂餌量を算出した。

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

4) 剖検

全例について、投与46日の翌日に剖検した。体外表を観察した後、エーテル麻酔下で放血致死させ、全身の器官・組織を肉眼的に観察した。また、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。対の器官は左右とも保存した。

脳(大脳・小脳)、下垂体、胸腺、甲状腺(上皮小体を含む)、副腎、脾臓、心臓、胸部大動脈、舌、食道、胃(前胃および腺胃)、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、喉頭、気管、肺(気管支を含む)、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精嚢および凝固腺、眼球およびハーダー腺、皮膚(原則として右腹部)、胸骨および大腿骨(骨髄を含む、右)、脊髄(頸部)、腸間膜リンパ節、下顎リンパ節、顎下腺、舌下腺、耳下腺、骨格筋(腓腹筋、右)、坐骨神経(右)。

5) 器官重量測定

全例について、剖検時に電子式上皿天秤(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。なお、左右の表示のある器官については、左右併せて測定した。

脳、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、胸腺、精巣、精巣上体

以下の式により相対重量を算出した。

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

6) 病理組織学的検査

全例の精巣、精巣上体について標本作製を実施し、対照群および高用量群の全例について鏡検した。なお、精巣の精子形成の Stage 分類を実施した。他に、肉眼的異常部位を含む以下の標本作製および鏡検を行った。

器官・組織名	群(mg/kg)	動物番号
右腎臓	10	310

Ⅱ．雌動物について

1) 一般状態観察

全例について、投与開始日から剖検日まで、雄動物と同様に観察した。

2) 体重測定

投与開始日を投与１日、交尾成立日を妊娠０日、分娩終了日を哺育０日と起算し、投与1、2、5、7、10、14 日、妊娠 0、1、3、5、7、10、14、17 および 20 日、哺育 0 および 1 日の投与前ならびに哺育 4 日(剖検日)に、電子式上皿天秤(LA4200、ザルトリウス株式会社)を用いて測定した。

以下の式により体重増加量および体重増加率を算出した。

交配前投与期間

$$体重増加量(g) = 投与14日体重(g) - 投与1日体重(g)$$

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

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

$$体重増加量(g) = 哺育4日体重(g) - 哺育0日体重(g)$$

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

3) 摂餌量測定

全例について、交配期間を除き、体重測定日と同じ日に雄と同様に実施した。ただし、妊娠０日および哺育０日は給餌量のみ測定した。

4) 剖検

分娩例は哺育4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日の朝に雄動物と同様に剖検し、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・保存した。

脳(大脳・小脳)、下垂体、胸腺、甲状腺(上皮小体を含む)、副腎、脾臓、心臓、胸部大動脈、舌、食道、胃(前胃および腺胃)、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、喉頭、気管、肺(気管支を含む)、腎臓、膀胱、卵巣、子宮(角部および頸部)、膣、眼球およびハーダー腺、乳腺および皮膚(原則として右腹部)、胸骨および大腿骨(骨髄を含む、右)、脊髄(頸部)、腸間膜リンパ節、下顎リンパ節、顎下腺、舌下腺、耳下腺、骨格筋(腓腹筋、右)、坐骨神経(右)および肉眼的異常部位(正常組織との境界部を含む):対照群の 1 例(No. 161)の皮下黄白色腫瘤を含む右腋窩皮膚。

5) 器官重量測定

全例について、剖検時に雄と同様に以下の器官について重量を測定し、相対重量を算出した。対の器官は左右併せて測定した。

脳、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、胸腺、卵巣

6) 病理組織学的検査

雄の方法と同様に卵巣に関する病理組織学的検査を実施した。他に、肉眼的異常部位を含む以下の標本作製および鏡検を行った。

器官・組織名	群(mg/kg)	動物番号
乳腺(右腋窩皮膚)	0	161

Ⅲ. 雄雌動物の生殖および新生児の発生について

1) 性周期検査

雌全例について、投与開始の10日前から交尾成立までの連日、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の各段階(発情前期、発情期、発情後期および発情休止期)の観察を行い、4日から6日の間隔で2回以上繰り返すものを正常と判定し、発情期間隔を算出した。各段階の一部がみられない場合や同一の性周期段階が3日を超え継続してみられる場合を不規則、発情期あるいは発情休止期が7日以上継続してみられるものを連続発情または連続非発情とし、いずれも異常と判定するとしたが、異常例は認められなかった。

2) 雄雌の生殖能検査

投与14日の夕方から、同試験群内の雄雌を1対1(動物番号末尾が同一動物)で最長6日間同居させた。交尾の成立は、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が確認された場合とし、いずれかが認められた日を妊娠0日とした。妊娠成立の確認を、分娩の有無および剖検時に子宮内の着床痕の有無を調べることによって行った。

交尾率および受胎率を以下の式により群毎に算出した。

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

$$受胎率(Fertility\ index、\%)=\frac{受胎した雌数}{交尾した雄雌対の数}\times 100$$

3) 分娩および哺育状態観察

交尾確認雌動物は全例自然分娩させた。分娩状態を、妊娠21日から最長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。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を観察することによって分娩終了を確認し、その日を哺育0日とした。哺育0日に、腹毎に生存児数および死亡児数を数え、哺育状態、出産児の性別および外表を観察した。生存児数および死亡児数の合計を出産児数とした。児動物の性は、肛門と生殖突起の間の長さで判定した。各雌の卵巣の妊娠黄体数および子宮内の着床痕の数を肉眼的に数えて記録した。

妊娠期間を妊娠0日(交尾成立日)から哺育0日(分娩終了日)までの日数として算出した。

出産率、出生率、性比、分娩率、着床率および哺育4日の哺育率を以下の式により算出した。

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

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

$$性比(Sex\ ratio)=\frac{雄生産児数}{雄出産児数+雌出産児数}$$

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

$$着床率(Implantation\ index、\%)=\frac{着床痕数}{妊娠黄体数}\times 100$$

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

4) 新生児の一般状態観察および生存率

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。

観察結果から新生児生存率を以下の式により1腹単位で算出した。ただし、喰殺あるいは行方不明となった新生児は死亡例として扱った。

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

5) 新生児の体重測定

全例について、哺育0、1および4日に電子式上皿天秤(GX-2000、株式会社 エー・アンド・デイ)を用いて個体毎に測定し、0.1ｇまで記録した。腹毎に雄雌別の平均体重を求めた。

6) 新生児の剖検

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。生存例については、哺育 4 日に体外表(口腔内を含む)を観察後、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。異常が認められた個体は、whole body を 10%中性緩衝ホルマリン液で固定・保存した。

5. 統計学的方法

体重、体重増加量および増加率、摂餌量、器官の絶対重量および相対重量、発情期間隔、妊娠黄体数、着床痕数および着床率、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、哺育 4 日の生存児数および新生児生存率の成績について群毎の平均値および標準偏差を算出し、項目毎に Bartlett の検定法を行い、等分散性を解析した。等分散($p>0.05$)の場合は一元配置分散分析法で解析し、不等分散($p\leqq0.05$)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($p\leqq0.10$)は Dunnett の検定法を用いて対照との比較を行った。Kruskal-Wallis 法の解析の結果、有意差がみられた場合($p\leqq0.10$)は Mann-Whitney の U-検定法を用い対照との比較を行った。

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($p\leqq0.10$)は Mann-Whitney の U-検定法を用いて対照との比較を行った。

性周期の異常の発現率、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 X^2 検定を行い、その結果有意差が認められた場合($p\leqq0.10$)には 2 試料 X^2 検定で対照との比較を行った。ただし、2 試料 X^2 検定に不適合の場合には Fisher の直接確率検定法を用いた。

新生児の出生率、性比、新生児生存率および雄雌別体重は 1 腹を標本単位とした。

対照との比較検定については、有意水準は 5%とした。なお、統計学的方法に関する表示方法を Individual data の冒頭に示す。

成　績

１．親動物(雄)

(1)一般状態

一般状態の成績を Table 1、INDIVIDUAL DATA 1-1～1-4 に示す。

3、10 mg/kg 投与群および対照群では、投与期間中に全例に異常は認められなかった。

30 mg/kg 投与群では、投与期間中に流涎が 12 例中 3 例(No. 403、408、410)に散見されたが、他の例には異常は認められなかった。

(2)体重推移

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

3および10 mg/kg投与群では、投与期間中に対照群と比較して有意な差は認められなかった。

30 mg/kg 投与群では、投与期間中の測定日毎の平均体重には有意な差はみられなかったが、投与期間中の増加量および増加率に有意な低値が認められた。

(3)摂餌量

摂餌量を Figure 2、Table 3、INDIVIDUAL DATA 3-1～3-4 に示す。

各投与群とも投与期間中に対照群と比較して有意な差は認められなかった。

(4)剖検

剖検所見を Table 4、INDIVIDUAL DATA 4-1～4-4 に示す。

対照群および3 mg/kg 投与群では、異常所見は認められなかった。

10 mg/kg 投与群では、12 例中 1 例(No. 310)に右腎臓の腎盂拡張がみられたが、他の例には異常所見は認められなかった。

30 mg/kg 投与群では、12 例中 1 例(No. 409)に右精巣および精巣上体の小型がみられたが、他の例には異常所見は認められなかった。

(5)器官重量

器官の絶対重量および相対重量を Table 5、INDIVIDUAL DATA 5-1～5-8 に示す。

3 mg/kg 投与群では、精巣の絶対および相対重量と精巣上体の相対重量に対照群と比較して有意な高値が認められた。

10 mg/kg 投与群では、各器官ともに有意な差は認められなかった。

30 mg/kg 投与群では、肝臓と腎臓の相対重量に有意な高値が認められた。

(6)病理組織学的検査

病理組織学的検査(0および30 mg/kg投与群)の成績を Table 6、INDIVIDUAL DATA 6-1～6-3、病理組織学的所見の統計処理結果を INDIVIDUAL DATA 7-1および7-2、精子形成の Stage 分類の成績を Table 7、INDIVIDUAL DATA 8-1～8-8に示す。

30 mg/kg投与群の剖検所見で右側にのみ精巣と精巣上体の小型がみられた1例(No. 409)に、右側のみに精巣の重度な精細管の萎縮および精巣上体の重度な精子減少と軽度な管腔内細胞残屑が認められた。他に、剖検所見では異常の認められなかった 1 例(No. 408)にも左右精巣の軽度な精細管の萎縮が認められたが、他の10例には異常所見は認められなかった。

精子形成の Stage 分類では、ステージⅨ～ⅩⅠで対照群と比較して有意な精粗細胞の低値が認められた。

なお、対照群の1例(No. 112)にも精巣の軽度な精細管の萎縮が認められた。

また、剖検時に腎盂拡張の認められた10 mg/kg投与群の1例(No. 310)の右腎臓には軽度な腎盂拡張が認められた。

２．親動物(雌)

(1)一般状態

一般状態の成績を Table 8、INDIVIDUAL DATA 9-1～11-4に示す。

対照群では、交配前および交配期間に異常は認められなかったが、妊娠期間中に 12 例中 1 例(No. 161)に妊娠 6 日から右腋下部位に皮下腫瘤がみられ、次第に増大し哺育 4 日まで認められたが、他には異常はみられなかった。

3および10 mg/kg投与群では、交配前、交配期間、妊娠期間および哺育期間のいずれにも異常は認められなかった。

30 mg/kg 投与群では、交配前および交配期間に異常は認められなかったが、妊娠期間中に12 例中 1 例(No. 452)に流涎が散見された。他の例には妊娠期間および哺育期間のいずれにも異常は認められなかった。

(2)体重推移

体重推移を Figure 3、Table 9～11、INDIVIDUAL DATA 12-1～14-4に示す。

3および10 mg/kg投与群では、交配前、交配期間、妊娠期間および哺育期間のいずれにおいても体重推移、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認められなかった。

30 mg/kg投与群では、交配前、交配期間および妊娠期間のいずれにおいても体重推移、体重増加量および体重増加率に有意な差はみられなかったが、哺育期間の体重増加量および増加率に有意な低値が認められた。

(3)摂餌量

摂餌量の変化を Figure 4、Table 12～14、INDIVIDUAL DATA 15-1～17-4 に示す。

3 および 10 mg/kg 投与群では、交配前、交配期間、妊娠期間および哺育期間のいずれにおいても対照群と比較して有意な差は認められなかった。

30 mg/kg 投与群では、交配前および交配期間に有意な差はみられなかったが、妊娠 20 日に有意な高値が認められた。しかし、哺育期間には有意な差は認められなかった。

(4)剖検

剖検所見を Table 15、INDIVIDUAL DATA 18-1～18-4 に示す。

対照群の 1 例(No. 161、妊娠例)に右腋下部位に皮下黄白色腫瘤が認められたが、各投与群には妊娠例および非妊娠例とも異常所見は認められなかった。

(5)器官重量

器官の絶対および相対重量の成績を Table 16、INDIVIDUAL DATA 19-1～19-8 に示す。

3および10 mg/kg投与群では、各器官ともに対照群と比較して有意な差は認められなかった。

30 mg/kg 投与群では、肝臓の絶対重量と、肝臓、腎臓および心臓の相対重量に有意な高値が認められた。

(6)病理組織学的検査

病理組織学的検査の成績を Table 17、INDIVIDUAL DATA 20-1 および 20-2 に示す。

30 mg/kg 投与群の卵巣では、異常所見は認められなかった。

なお、剖検時に皮下黄白色腫瘤の認められた対照群の 1 例(No. 161)に右腋下部位の皮膚に乳腺の腺腫が認められた。

３．生殖発生毒性

(1)生殖能検査

生殖能検査の成績を Table 18、INDIVIDUAL DATA 21-1～22-4 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日の哺育率では、各投与群とも対照群と比較して有意な差は認められなかった。

(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 19、INDIVIDUAL DATA 23-1～23-4 に示す。

黄体数、着床率、分娩率、総出産児数、出産児の性比および新生児生存率では、各投与群とも対照群と比較して有意な差は認められなかった。

一方、3 mg/kg 投与群の着床痕数に有意な高値、30 mg/kg 投与群の哺育 0 日の生存児数、出生率および哺育4日の生存児数に有意な低値、哺育0日の死亡児数に有意な高値が認められた。

(3)新生児の一般状態

新生児の一般状態の成績を Table 20、INDIVIDUAL DATA 24-1～24-4 に示す。

哺育 0 日から 4 日の間に死亡例(不明例を含む)は、対照群に雄雌各 1 例、3 mg/kg 投与群に雄 1 例および雌 2 例、10 mg/kg 投与群に雄 4 例および雌 1 例みられたが、30 mg/kg 投与群には雄 18 例および雌 11 例に認められた。また、哺育 0 日には雄 4 例および雌 2 例にミルクバンド(－)が認められた。

(4)新生児の体重推移

新生児の体重推移を Figure 5、Table 21、INDIVIDUAL DATA 25-1～25-4 に示す。

3 および 10 mg/kg 投与群では、対照群と比較して有意な差は認められなかった。

30 mg/kg 投与群では、哺育(生後)0 および 1 日に雄雌とも有意な低値がみられ、哺育 4 日にも低値傾向が認められた。

(5)新生児の剖検

新生児の剖検の成績を Table 22、INDIVIDUAL DATA 26～27-4 に示す。

死亡例では、30 mg/kg 投与群の雄 2 例および雌 1 例に自己融解がみられたが、他の投与群には異常所見は認められなかった。

哺育 4 日の生存例では、対照群に脳室拡張、3 mg/kg 投与群に肝の内側左葉の黄白色化が雌の各 1 例でみられたが、他の投与群には異常所見は認められなかった。

考　察

2,4-ジニトロフェノールの0(対照群)、3、10および30 mg/kgを1群雄雌各12匹のCrl:CD(SD)ラットに、雄ラットに対しては交配前、交配期間および交配後を含む計 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、その精腺機能、交尾行動、受胎および分娩等の生殖機能に及ぼす毒性および次世代の発生・発育に及ぼす影響について検討した。

1. 親動物

一般状態では、雄雌ともに 30 mg/kg 投与群の数例に流涎が散見されたが、他には被験物質投与に関連した異常は認められなかった。流涎については、用量設定根拠とした 28 日間反復経口投与毒性試験[1)]においても散見されていることから、被験物質投与に関連した変化と考えられた。

体重推移では、30 mg/kg 投与群の雄で投与期間中に、雌で哺育期間中に体重増加量および体重増加率の有意な低値が認められた。この変化についても、28 日間反復経口投与毒性試験[1)]で報告されており、被験物質投与に関連した変化と考えられた。

摂餌量では、雌の 30 mg/kg 投与群で妊娠20日に有意な高値が認められたが、他の測定時には変化がみられていないことから被験物質投与との関連性は明らかではなかった。

剖検所見では、雄で腎盂拡張や精巣および精巣上体の小型、雌で皮下黄白色腫瘤(病理組織学的検査では乳腺腫瘤)が認められたが、いずれも 1 例のみの発現であり、自然発生性の変化と考えられた。

器官重量では、30 mg/kg 投与群の雄雌で肝臓と腎臓の絶対重量あるいは相対重量の有意な高値が認められ、いずれの変化も28日間反復経口投与毒性試験[1)]においても確認されていることから、被験物質投与に関連した変化と考えられた。

なお、3 mg/kg 投与群でみられた精巣および精巣上体の重量増加については、いずれも用量依存性がみられないことから、被験物質投与との関連性はないと考えられた。

精巣および精巣上体の病理組織学的検査では、30 mg/kg 投与群の雄2例に軽度あるいは重度な精細管萎縮が認められた。この変化は、28 日間反復経口投与毒性試験[1)]においても同様の変化が6例中2例の死亡例のうち1例に認められていることから、被験物質投与との関連性が考えられたが、精子形成のStage分類においてみられた変化は30 mg/kg投与群のステージⅨ～Ⅺにおける精粗細胞の有意な低値のみであり、他のステージに有意な変化がないことを合わせ考えると、被験物質投与との関連はなく、偶発的な変化と推察された。

2. 生殖発生毒性

生殖能では、各投与群ともに交尾率、受胎率および出産率に変化はみられず、また雌の性周期にも異常は認められなかった。

妊娠、分娩および哺育状態では、3 mg/kg 投与群の着床痕数に有意な高値がみられているが、この変化には用量依存性が認められず、毒性学的意義はないと判断した。一方、30 mg/kg 投与群で哺育 0 日の生存児数、出生率および哺育 4 日の生存児数に有意な低値、哺育 0 日の死亡児数に有意な高値が認められた。新生児についても、死亡例(不明例を含む)の増加傾向が認められ、雄雌ともに哺育(生後)0 日以降に継続的な体重増加抑制傾向がみられていることから、いずれも被験物質投与に関連した変化と考えられた。しかし、3 および 10 mg/kg 投与群では同様の変化は認められなかった。

新生児の剖検所見には、用量依存性のみられる変化は認められなかった。

以上のように、被験物質投与に関連した変化として、親動物に 30 mg/kg 投与群の雄雌に流涎、体重増加抑制および肝臓と腎臓の重量増加がみられ、次世代の発生・発育では新生児に死亡例の増加傾向および体重増加抑制傾向が認められた。しかし、親動物の生殖能には変化は認められなかった。

したがって、本試験条件下における 2,4-ジニトロフェノールの親動物における無影響量(NOEL)は 10 mg/kg/day、親動物の生殖能に対する無影響量(NOEL)は 30 mg/kg/day、次世代の発生・発育に対する無影響量(NOEL)は 10 mg/kg/day と考えられた。

参考文献

1) 山本 譲 他、2,4-ジニトロフェノールのラットを用いる 28 日間反復経口投与毒性試験. 化学物質毒性試験報告. 8, 15-26, 2001.

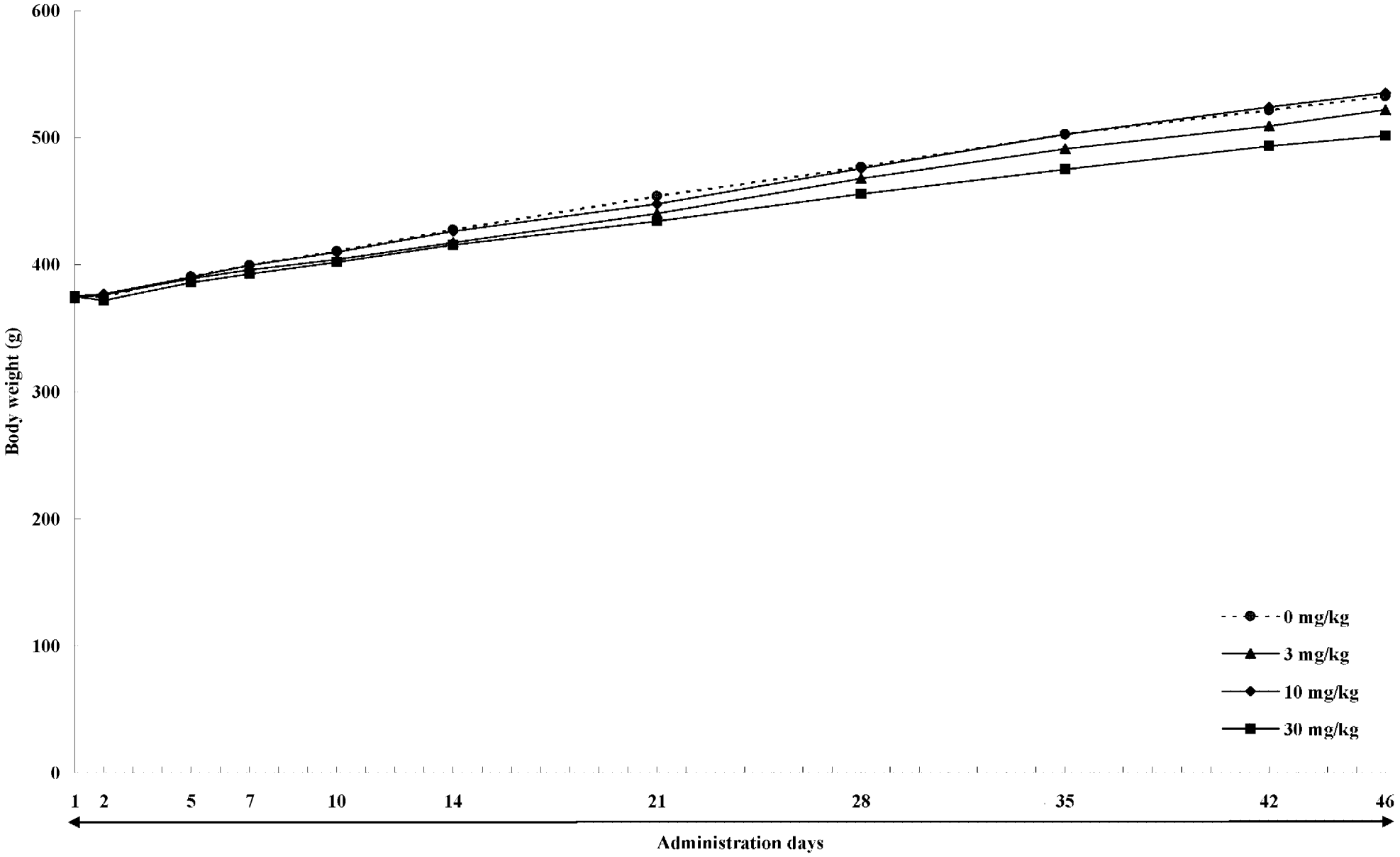

Figure 1 Body weight changes of male rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218)

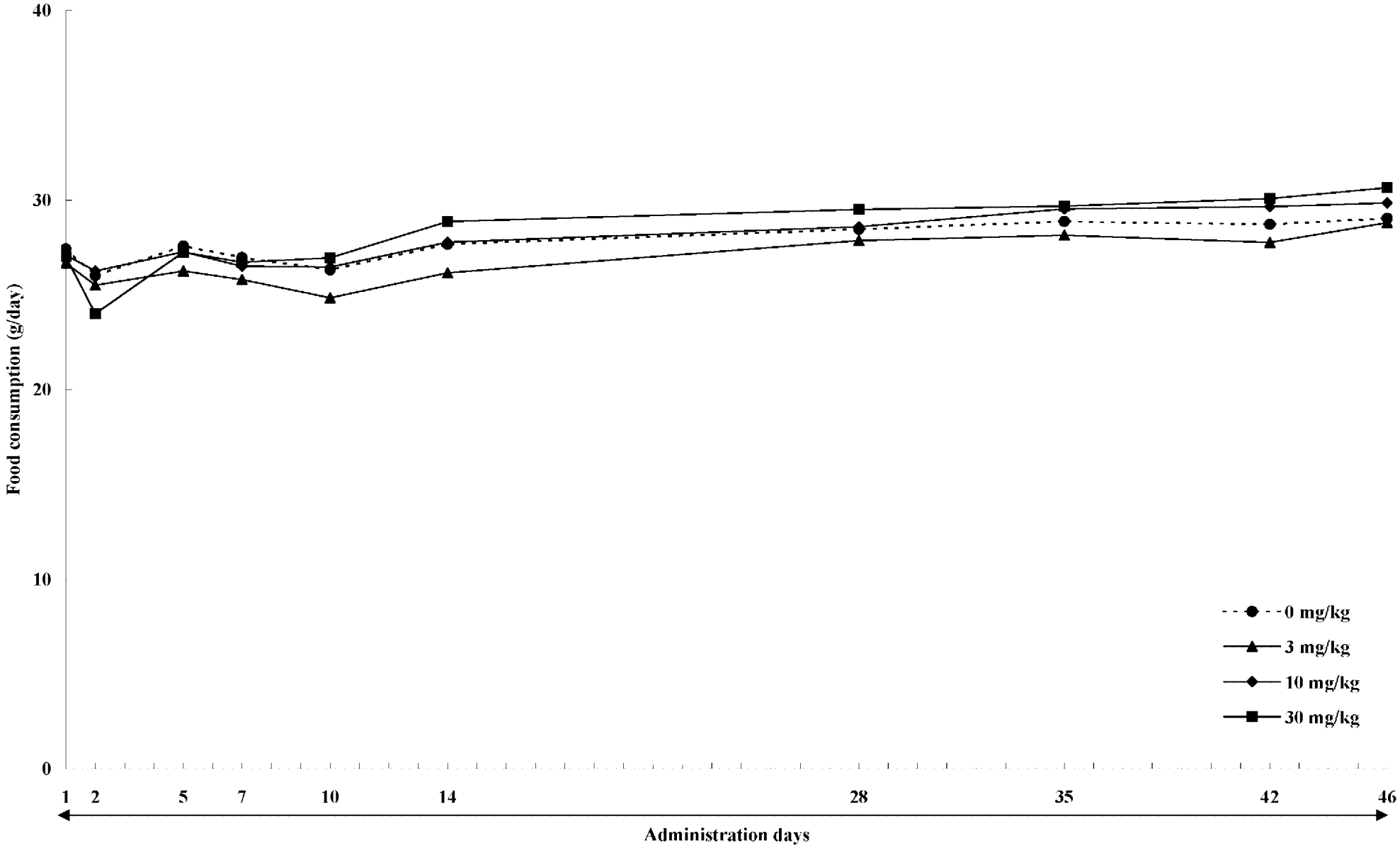

Figure 2 Food consumption of male rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218)

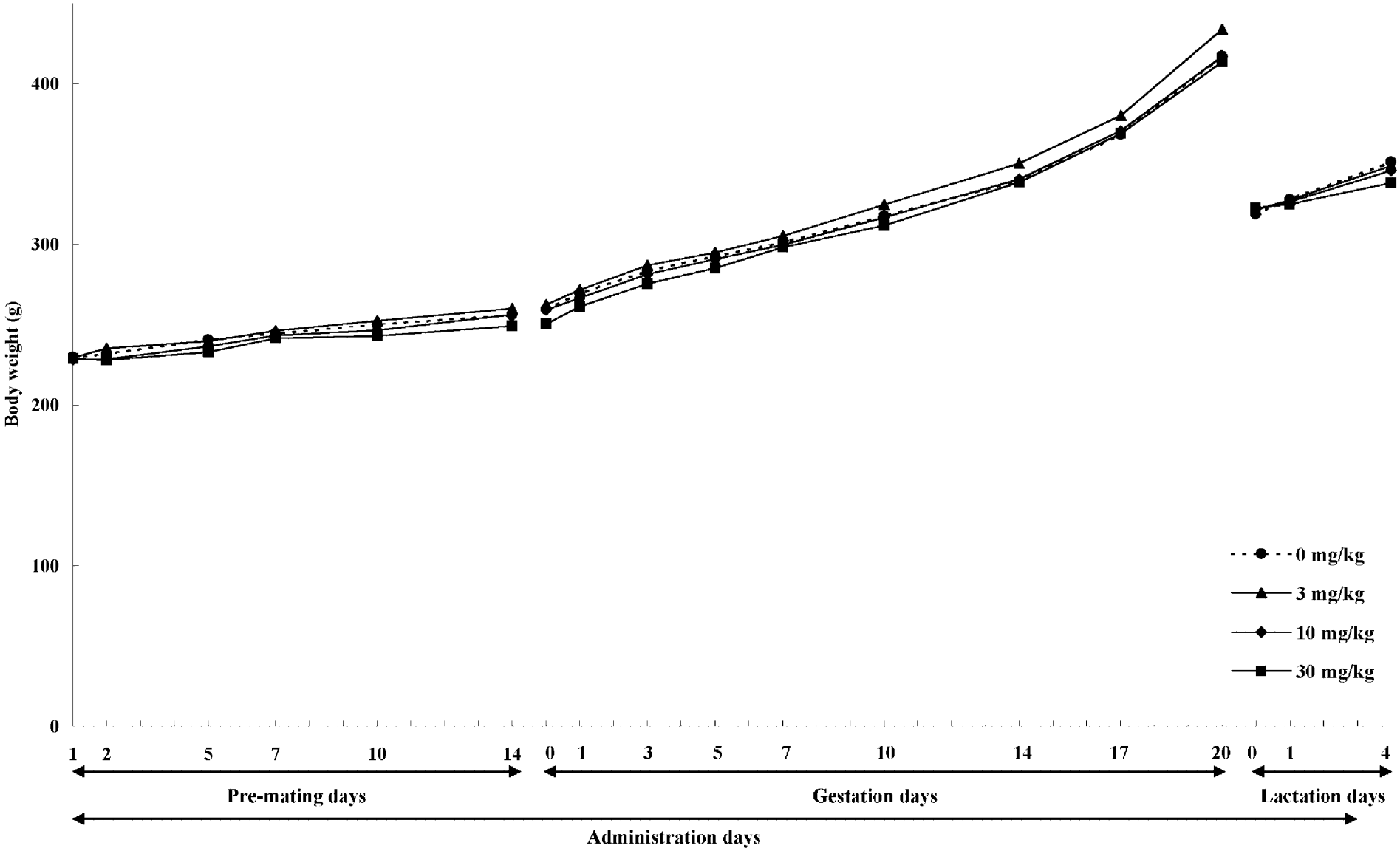

Figure 3 Body weight changes of female rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218)

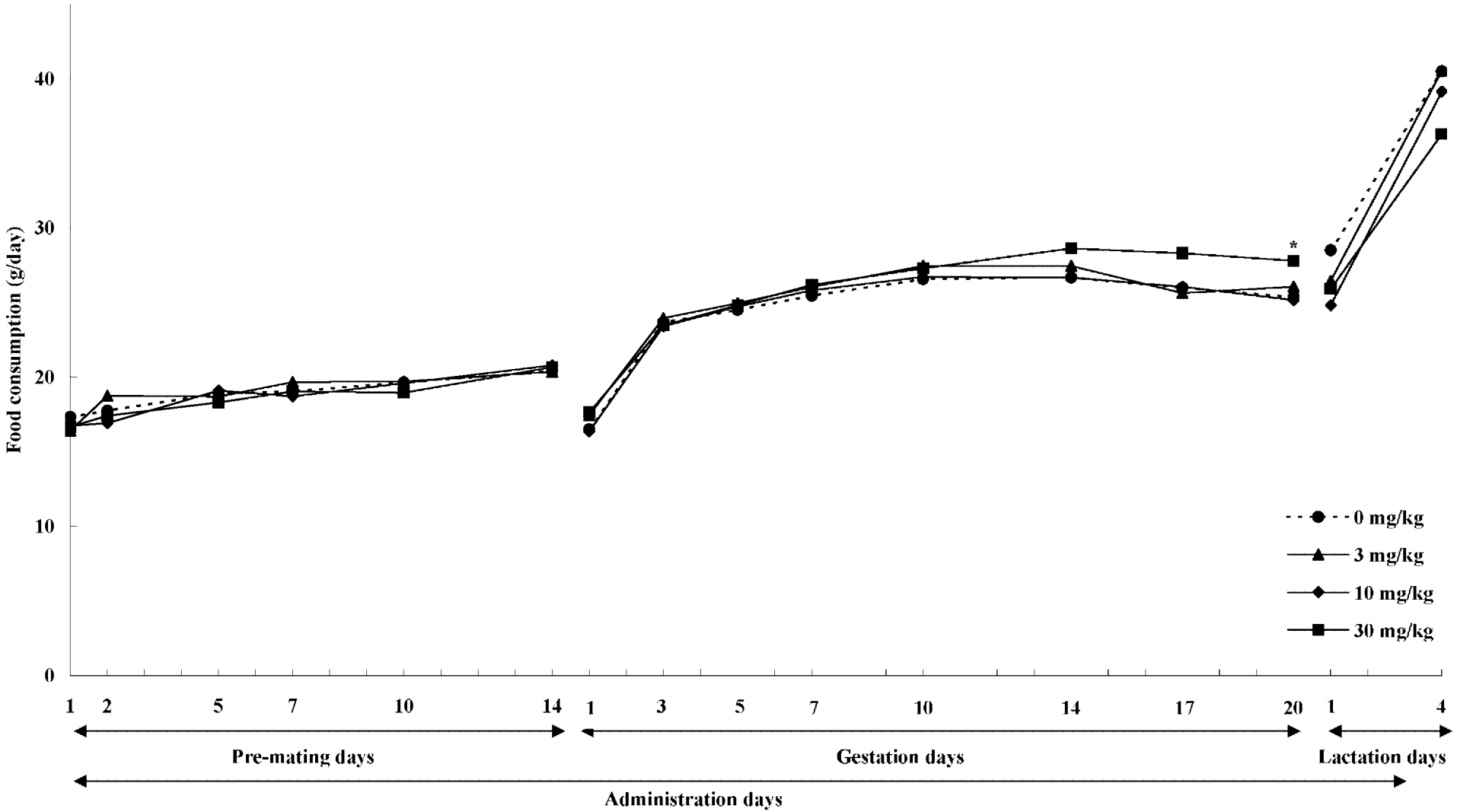

Figure 4 Food consumption of female rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218)
*** : Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.05$**

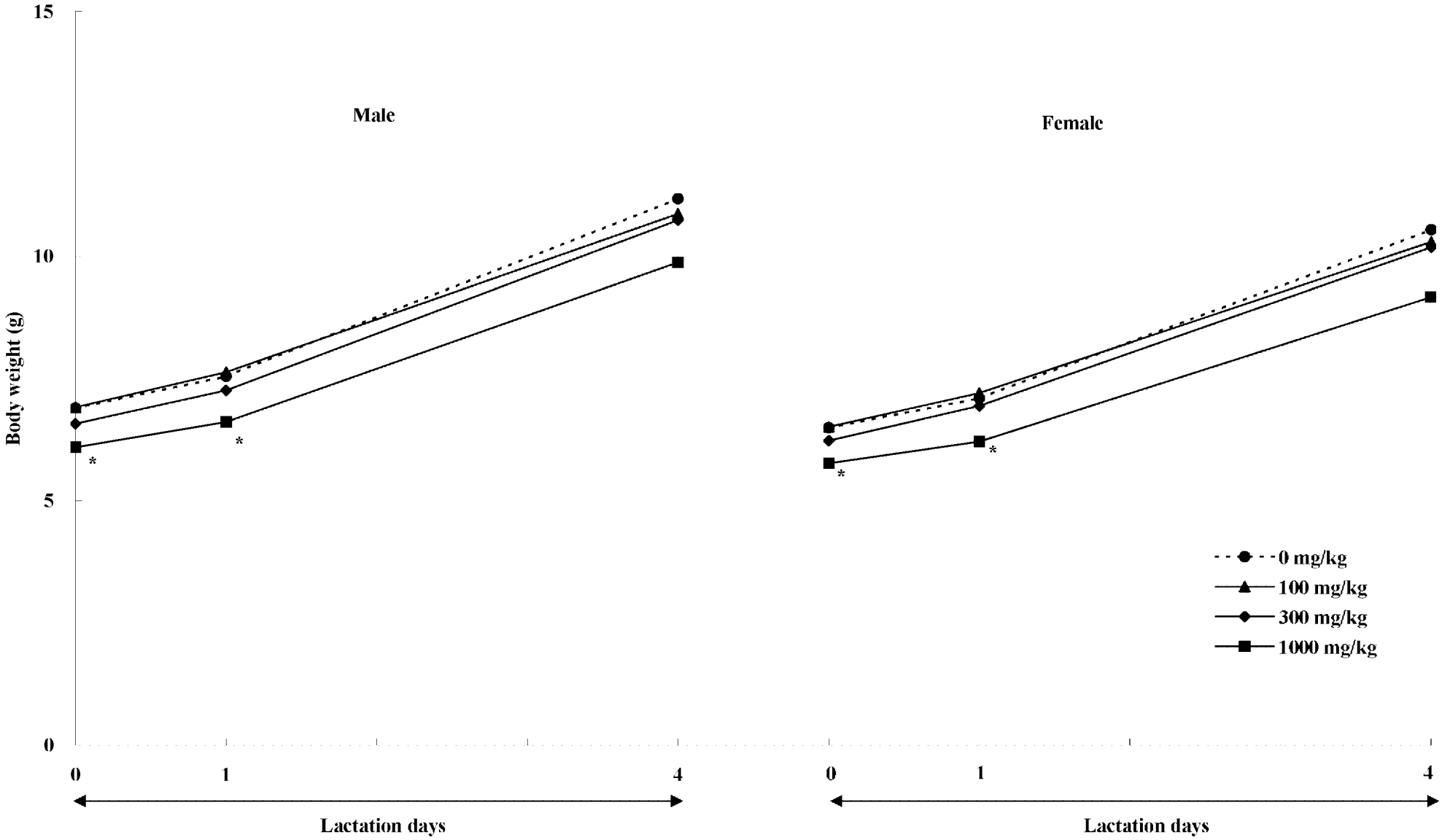

Figure 5 Body weight changes of pups in the reproduction/developmental toxicity screening test of 2,4-dinitrophenol in rats (SR04218)
* : Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.05$

Table 1 General appearance of male rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218)

Group	Findings	Administration days										Autopsy day
		1-13	14,15	16	17-29	30-32	33,34	35	36	37	38-45	46	
0 mg/kg	Number of animals examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No abnormal findings	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
3 mg/kg	Number of animals examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No abnormal findings	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
10 mg/kg	Number of animals examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No abnormal findings	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
30 mg/kg	Number of animals examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No abnormal findings	12	11	12	11	10	11	12	11	10	11	12	12
	Salivation	0	1	0	1	2	1	0	1	2	1	0	0

Values are number of animals with findings.

Table 2 Body weight changes of male rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218)

Group	Number of animals		Body weight (g) on administration days											Body weight gain Day 1-46	
			1	2	5	7	10	14	21	28	35	42	46	g	%
0 mg/kg	12	Mean	373.3	374.6	390.4	399.3	410.4	427.3	453.8	476.9	502.4	521.4	532.5	159.2	42.599
		S.D.	19.9	19.2	22.7	22.1	26.0	27.9	31.6	34.1	35.2	37.3	39.2	26.0	5.963
3 mg/kg	12	Mean	373.9	376.3	388.9	395.8	404.0	417.3	440.3	467.9	491.3	509.1	522.1	148.2	39.587
		S.D.	16.9	17.0	21.3	24.6	26.6	26.9	24.4	30.3	33.1	32.1	33.0	21.6	5.040
10 mg/kg	12	Mean	375.2	376.8	390.2	399.3	409.7	426.3	447.9	475.7	502.4	523.9	535.2	160.0	42.458
		S.D.	20.2	21.7	23.1	25.2	26.0	28.2	34.1	36.6	41.2	46.5	49.4	33.6	7.829
30 mg/kg	12	Mean	375.2	371.7	385.8	392.6	401.8	415.4	434.0	455.6	474.9	493.3	501.7	126.5*	33.478**
		S.D.	18.1	19.2	21.9	24.3	26.9	30.2	35.4	36.6	40.9	47.0	50.0	34.7	8.051

Body weight gain (%) = (body weight gain / body weight on day 1) x 100.

* : Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.05$.

** : Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.01$.

Table 3 Food consumption of male rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218)

Group	Number of animals		Food consumption (g/day) on administration days									
			1	2	5	7	10	14	28	35	42	46
0 mg/kg	12	Mean	27.42	26.00	27.57	26.96	26.31	27.66	28.45	28.87	28.71	29.03
		S.D.	3.32	2.73	2.71	2.32	2.66	2.54	2.40	2.53	2.08	2.54
3 mg/kg	12	Mean	26.67	25.50	26.25	25.79	24.83	26.15	27.85	28.13	27.76	28.80
		S.D.	3.14	2.24	2.86	2.80	3.04	2.24	2.31	2.42	2.11	2.28
10 mg/kg	12	Mean	27.08	26.25	27.26	26.50	26.46	27.77	28.58	29.53	29.64	29.84
		S.D.	2.61	3.55	2.49	2.31	2.46	2.39	2.15	2.63	2.83	2.67
30 mg/kg	12	Mean	27.00	24.00	27.24	26.71	26.94	28.86	29.49	29.68	30.07	30.64
		S.D.	3.28	3.25	2.66	2.59	2.34	2.45	2.41	3.00	3.47	3.42

Table 4 Gross findings of male rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218)

Group	0 mg/kg	3 mg/kg	10 mg/kg	30 mg/kg
Number of animals examined	12	12	12	12
No abnormal findings	12	12	11	11
Organ : Findings				
Kidney : Dilatation, renal pelvis, unilateral	0	0	1	0
Testis : Small size, unilateral	0	0	0	1
Epididymis : Small size, unilateral	0	0	0	1

Values are number of animals with findings.

Table 5 Absolute and relative organ weights of male rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218)

Group	Number of animals		Body weight g	Liver g	Liver %	Kidney g	Kidney %	Spleen g	Spleen %	Heart g	Heart %	Brain g	Brain %
0 mg/kg	12	Mean	537.7	19.011	3.533	3.573	0.663	0.836	0.156	1.504	0.281	2.156	0.404
		S.D.	39.1	2.055	0.237	0.530	0.076	0.123	0.019	0.154	0.018	0.078	0.038
3 mg/kg	12	Mean	526.2	18.623	3.535	3.739	0.711	0.816	0.154	1.438	0.274	2.236	0.428
		S.D.	34.6	2.130	0.245	0.303	0.049	0.133	0.024	0.095	0.020	0.072	0.033
10 mg/kg	12	Mean	537.3	18.848	3.498	3.733	0.695	0.897	0.168	1.512	0.283	2.204	0.414
		S.D.	50.9	2.574	0.193	0.432	0.042	0.090	0.019	0.173	0.018	0.116	0.037
30 mg/kg	12	Mean	502.9	19.960	3.953**	3.784	0.752**	0.807	0.159	1.440	0.285	2.191	0.439
		S.D.	50.7	2.915	0.230	0.522	0.051	0.106	0.019	0.158	0.013	0.075	0.038

Group	Number of animals		Thymus mg	Thymus 10^{-3}%	Adrenal mg	Adrenal 10^{-3}%	Testis g	Testis %	Epididymis g	Epididymis %
0 mg/kg	12	Mean	390.3	72.731	59.0	10.960	3.325	0.619	1.336	0.248
		S.D.	84.7	15.942	11.7	1.919	0.273	0.046	0.131	0.019
3 mg/kg	12	Mean	356.9	67.982	63.3	12.005	3.575*	0.679**	1.433	0.275*
		S.D.	59.2	11.581	10.3	1.641	0.284	0.046	0.116	0.024
10 mg/kg	12	Mean	351.4	64.953	61.8	11.502	3.456	0.649	1.418	0.267
		S.D.	92.7	14.200	11.6	1.864	0.136	0.058	0.066	0.026
30 mg/kg	12	Mean	356.1	70.668	60.3	11.946	3.293	0.658	1.268	0.253
		S.D.	97.0	16.664	11.8	1.862	0.494	0.096	0.182	0.035

* : Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.05$.

** : Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.01$.

Table 6 Histopathological findings of male rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218)

Item		0 mg/kg	3 mg/kg	10 mg/kg	30 mg/kg
Number of animals examined		12	0	1	12
Organ: Findings	Grade				
Kidney: Dilatation, renal pelvis	+	-	-	1	-
Testis: Atrophy, seminiferous tubule	+	1	-	-	1
	+++	0	-	-	1
Epididymis: Decrease, spermatozoa	+++	0	-	-	1
Cell debris, lumen	+	0	-	-	1

Values are number of animals with findings.
-: Blank value.

Grade; +: slight change, +++: severe change.

Table 7 Stages of spermatogenesis of male rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218)

Group	Number of animals		Stage I-VI: Sertoli cells Number[a]	Spermatogonia Number	Pachytene spermatocytes Number	Round spermatids Number
0 mg/kg	12	Mean	21.18	17.30	50.92	149.72
		S.D.	1.99	3.63	4.44	15.13
30 mg/kg	12	Mean	21.10	18.53	51.35	152.28
		S.D.	2.76	2.62	4.48	13.46

Group	Number of animals		Stage VII-VIII: Sertoli cells Number	Spermatogonia Number	Preleptotene spermatocytes Number	Pachytene spermatocytes Number	Round spermatids Number
0 mg/kg	12	Mean	19.60	2.33	39.72	60.82	147.93
		S.D.	3.08	0.59	3.65	5.23	9.54
30 mg/kg	12	Mean	18.42	2.22	38.08	60.48	151.68
		S.D.	2.29	0.62	3.47	6.72	14.74

a: Expressed in number of cells in a seminiferous tubule.

(to be continued)

Table 7 Stages of spermatogenesis of male rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218) (continued)

Group	Number of animals		Stage IX-XI Sertoli cells Number[a]	Spermatogonia Number	Leptotene spermatocytes Number	Pachytene spermatocytes Number
0 mg/kg	12	Mean	22.92	5.25	45.52	67.18
		S.D.	1.84	1.40	3.76	5.14
30 mg/kg	12	Mean	23.08	4.12*	45.53	64.68
		S.D.	2.34	1.06	3.86	5.12

Group	Number of animals		Stage XII-XIV Sertoli cells Number	Spermatogonia Number	Spermatocytes 1 Number	Spermatocytes 2 Number
0 mg/kg	12	Mean	22.60	4.43	48.52	72.65
		S.D.	2.45	0.95	4.52	4.80
30 mg/kg	12	Mean	22.08	4.37	49.95	71.65
		S.D.	2.19	1.41	5.28	7.25

a: Expressed in number of cells in a seminiferous tubule.
Spermatocytes 1: Zygotene / Pachytene spermatocytes.
Spermatocytes 2: Pachytene / Diplotene spermatocytes.
*: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.05$.

Table 8 General appearance of female rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218)

Group	Findings	Pre-mating days						Gestation days											Lactation days
		1 - 14	15	16	17	18	19,20	0-2	3	4	5	6-13	14	15	16-18	19-21	22	23-26	0-4
0 mg/kg	Number of animals examined	12	10	7	3	1	0	12	12	12	12	12	12	12	12	12	8	0	12
	No abnormal findings	12	10	7	3	1	-	12	12	12	12	11	11	11	11	11	7	-	11
	Yellowish white mass, subcutis, right axillary region	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	-	1
3 mg/kg	Number of animals examined	12	8	6	0	0	0	12	12	12	12	12	12	12	12	12	7	1	11
	No abnormal findings	12	8	6	-	-	-	12	12	12	12	12	12	12	12	12	7	1	11
10 mg/kg	Number of animals examined	12	10	8	5	2	1	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6	1	11
	No abnormal findings	12	10	8	5	2	1	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6	1	11
30 mg/kg	Number of animals examined	12	11	8	3	0	0	12	12	12	12	12	12	12	12	12	9	1	11
	No abnormal findings	12	11	8	3	-	-	12	11	12	11	12	11	12	11	12	9	1	11
	Salivation	0	0	0	0	-	-	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0

Values are number of animal with findings.
- : Blank value.

Table 9 Body weight changes during pre-mating days of female rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218)

Group	Number of animals		Body weight (g) on pre-mating days						Body weight gain Day 1-14	
			1	2	5	7	10	14	g	%
0 mg/kg	12	Mean	229.8	231.9	240.7	244.6	250.0	255.9	26.1	11.413
		S.D.	9.9	11.5	11.1	11.4	11.7	13.4	11.5	5.119
3 mg/kg	12	Mean	229.4	235.4	239.8	246.3	252.4	260.1	30.7	13.364
		S.D.	11.9	9.2	12.9	11.3	13.0	14.5	5.8	2.476
10 mg/kg	12	Mean	228.3	228.7	236.5	243.2	246.7	256.2	27.9	12.256
		S.D.	8.0	9.5	8.7	8.5	10.8	12.8	10.7	4.764
30 mg/kg	12	Mean	228.9	228.0	233.1	241.5	243.0	249.1	20.2	8.851
		S.D.	13.8	12.4	15.6	14.0	15.8	16.4	9.6	4.371

Body weight gain (%) = (body weight gain / body weight on day 1) x 100.

Table 10 Body weight changes during gestation days of female rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218)

Group	Number of animals		Body weight (g) on gestation days									Body weight gain Day 0-20	
			0	1	3	5	7	10	14	17	20	g	%
0 mg/kg	12	Mean	259.6	269.2	283.3	292.5	301.0	317.7	339.3	368.3	417.2	157.6	60.803
		S.D.	13.6	13.2	15.0	14.9	16.9	15.7	17.7	20.1	24.5	17.6	6.758
3 mg/kg	11	Mean	262.4	271.5	286.9	295.0	305.2	324.5	350.4	380.1	433.7	171.4	65.480
		S.D.	15.2	15.2	14.2	16.5	16.8	18.4	20.0	21.7	23.6	16.0	6.873
10 mg/kg	11	Mean	259.2	266.5	281.4	290.8	299.7	316.7	340.5	370.6	417.1	157.9	60.966
		S.D.	11.0	13.4	13.5	15.2	15.0	16.4	18.9	24.3	27.6	23.6	9.081
30 mg/kg	11	Mean	250.4	261.4	275.5	285.1	298.2	311.8	338.6	369.0	413.5	163.1	65.273
		S.D.	14.6	15.9	13.3	12.8	12.4	11.9	14.9	16.1	20.4	10.0	4.571

Body weight gain (%) = (body weight gain / body weight on day 0) x 100.

Table 11 Body weight changes during lactation days of female rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218)

Group	Number of animals		Body weight (g) on lactation days			Body weight gain Day 0-4	
			0	1	4	g	%
0 mg/kg	12	Mean	318.9	327.8	351.3	32.4	10.307
		S.D.	20.8	18.1	21.3	16.3	5.353
3 mg/kg	11	Mean	321.5	327.5	348.7	27.3	8.563
		S.D.	17.6	16.6	15.3	7.0	2.412
10 mg/kg	11	Mean	322.0	326.4	345.8	23.8	7.438
		S.D.	15.7	18.5	17.2	10.1	3.283
30 mg/kg	11	Mean	322.6	324.9	338.2	15.5**	4.845**
		S.D.	16.2	16.1	19.0	12.0	3.755

Body weight gain (%) = (body weight gain / body weight on day 0) x 100.

** : Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.01$.

Table 12 Food consumption changes during pre-mating days of female rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218)

Group	Number of animals		Food consumption (g/day) on pre-mating days					
			1	2	5	7	10	14
0 mg/kg	12	Mean	17.33	17.75	18.92	19.04	19.64	20.41
		S.D.	2.23	2.77	1.41	1.54	1.45	1.16
3 mg/kg	12	Mean	16.42	18.75	18.69	19.67	19.70	20.36
		S.D.	3.63	1.66	1.15	1.23	2.65	1.83
10 mg/kg	12	Mean	16.75	16.92	19.10	18.71	19.59	20.79
		S.D.	2.86	2.39	1.69	1.44	2.00	1.41
30 mg/kg	12	Mean	16.67	17.42	18.31	19.04	18.95	20.66
		S.D.	4.29	3.29	1.62	2.27	1.82	2.11

Table 13 Food consumption changes during gestation days of female rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218)

Group	Number of animals		Food consumption (g/day) on gestation days							
			1	3	5	7	10	14	17	20
0 mg/kg	12	Mean	16.50	23.67	24.50	25.46	26.58	26.68	25.99	25.36
		S.D.	2.50	1.87	1.91	2.21	1.92	2.60	2.37	2.18
3 mg/kg	11	Mean	17.45	23.95	24.95	26.05	27.45	27.45	25.63	26.06
		S.D.	2.46	1.93	3.00	2.18	3.33	3.22	2.86	2.15
10 mg/kg	11	Mean	16.36	23.41	24.73	25.82	26.72	26.68	26.05	25.16
		S.D.	3.29	1.73	2.65	2.57	2.75	2.99	3.27	2.59
30 mg/kg	11	Mean	17.64	23.45	24.82	26.18	27.29	28.62	28.30	27.79*
		S.D.	2.06	1.81	2.15	1.60	1.89	2.01	1.40	2.41

* : Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.05$.

Table 14 Food consumption changes during lactation days of female rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218)

Group	Number of animals		Food consumption (g/day) on lactation days	
			1	4
0 mg/kg	12	Mean	28.50	40.48
		S.D.	6.23	5.16
3 mg/kg	11	Mean	26.45	40.55
		S.D.	4.87	3.19
10 mg/kg	11	Mean	24.82	39.13
		S.D.	2.93	3.35
30 mg/kg	11	Mean	25.91	36.29
		S.D.	5.01	6.31

Table 15 Gross findings of female rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218)

Group	0 mg/kg	3 mg/kg	10 mg/kg	30 mg/kg
Number of animals examined	12	12	12	12
Number of pregnant animals	12	11	11	11
No abnormal findings	11	11	11	11
Organ : Findings				
Skin : Yellowish white mass, subcutis, right axillary region	1	0	0	0
Number of non-pregnant animals	0	1	1	1
No abnormal findings	-	1	1	1

Values are number of animals with findings.

Table 16 Absolute and relative organ weights of female rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218)

Group	Number of animals		Body weight g	Liver g	Liver %	Kidney g	Kidney %	Spleen g	Spleen %	Heart g	Heart %	Brain g	Brain %
0 mg/kg	12	Mean	351.3	14.838	4.218	2.236	0.637	0.695	0.199	1.053	0.299	2.053	0.586
		S.D.	21.3	1.694	0.326	0.199	0.032	0.123	0.038	0.092	0.019	0.066	0.025
3 mg/kg	11	Mean	348.7	14.815	4.245	2.252	0.645	0.690	0.196	1.065	0.305	2.084	0.598
		S.D.	15.3	1.096	0.243	0.195	0.046	0.117	0.029	0.068	0.017	0.080	0.029
10 mg/kg	11	Mean	345.8	14.539	4.209	2.278	0.659	0.715	0.207	1.055	0.305	2.005	0.580
		S.D.	17.2	1.352	0.380	0.237	0.060	0.118	0.036	0.082	0.018	0.057	0.028
30 mg/kg	11	Mean	338.2	16.299*	4.825**	2.391	0.708**	0.688	0.203	1.094	0.322*	2.049	0.607
		S.D.	19.0	1.206	0.303	0.138	0.054	0.098	0.023	0.113	0.030	0.076	0.041

Group	Number of animals		Thymus mg	Thymus 10^{-3}%	Adrenal mg	Adrenal 10^{-3}%	Ovary mg	Ovary 10^{-3}%
0 mg/kg	12	Mean	249.4	71.284	77.7	22.174	116.5	33.052
		S.D.	50.2	15.227	9.7	3.137	18.7	4.016
3 mg/kg	11	Mean	268.6	76.747	79.6	22.864	109.7	31.576
		S.D.	76.9	20.335	9.9	2.942	13.3	4.611
10 mg/kg	11	Mean	292.6	84.652	74.6	21.637	110.7	32.105
		S.D.	63.5	18.407	8.8	2.829	18.6	5.704
30 mg/kg	11	Mean	265.0	78.079	71.1	21.038	110.8	32.770
		S.D.	64.1	17.064	8.1	2.246	12.5	3.184

* : Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.05$.

** : Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.01$.

Table 17 Histopathological findings of female rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218)

Item		0 mg/kg	3 mg/kg	10 mg/kg	30 mg/kg
Number of animals examined		12	0	0	12
Organ: Findings	Grade				
Ovary: Abnormal findings		0	-	-	0
Mammary gland: Adenoma	<+>	1 (1)	-	-	-

Values are number of animals with findings.
Values in parentheses are number of animals examined.
-: Blank value.

Grade; <+>: presence in "presence or not" basis.

Table 18 Reproduction performance of parental rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218)

Group	Estrous cycle Normality Incidence (%)	Length (days)	Copulation index Male Incidence (%)	Copulation index Female Incidence (%)	Fertility index Incidence (%)	Gestation index Incidence (%)	Gestation length (days)	Nursing index Incidence (%)
0 mg/kg	12/12 (100)	3.92 0.29	12/12 (100)	12/12 (100)	12/12 (100)	12/12 (100)	22.7 0.5	12/12 (100)
3 mg/kg	12/12 (100)	3.96 0.14	12/12 (100)	12/12 (100)	11/12 (92)	11/11 (100)	22.5 0.5	11/11 (100)
10 mg/kg	12/12 (100)	4.05 0.32	12/12 (100)	12/12 (100)	11/12 (92)	11/11 (100)	22.5 0.5	11/11 (100)
30 mg/kg	12/12 (100)	4.00 0.00	12/12 (100)	12/12 (100)	11/12 (92)	11/11 (100)	22.7 0.5	11/11 (100)

Normal estrous cycle = (Number of female 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 females 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.
Values are means and S.D.

Table 19 Pregnancy and litter data of rats dosed orally with 2,4-dinitrophenol in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04218)

Group	Number of Pregnant animals		Number of corpora lutea	Number of implantation sites	Implantation index (%)	Delivery index (%)	Number of pups delivered	Sex ratio	Lactation day 0		Lactation day 4	
									Number of live pups	Live birth index (%)	Number of live pups	Viability index (%)
								Pups data				
0 mg/kg	12	Mean	15.5	14.8	95.928	95.784	14.3	0.478	14.3	100.000	14.1	98.849
		S.D.	1.7	1.5	5.871	5.185	2.0	0.112	2.0	0.000	2.0	2.690
3 mg/kg	11	Mean	16.8	16.6*	98.954	92.856	15.5	0.475	15.3	98.788	15.2	99.495
		S.D.	1.2	1.1	2.339	6.947	1.6	0.114	1.8	4.019	1.7	1.676
10 mg/kg	11	Mean	15.5	14.7	95.640	94.045	13.9	0.577	13.6	97.835	13.5	98.745
		S.D.	2.8	1.8	7.117	6.549	2.3	0.139	2.4	3.922	2.3	2.795
								(10)				
30 mg/kg	11	Mean	16.3	15.4	94.755	91.136	14.0	0.501	11.1**	79.693**	10.9**	98.392
		S.D.	1.6	1.3	6.850	4.473	1.3	0.158	3.2	22.435	3.2	3.615

Value in parenthesis is a number of pregnant animals.
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 = Number of male pups born / number of pups born.
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.

* : Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.05$.
** : Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.01$.

Table 20 General appearance of pups in the reproduction/developmental toxicity screening test of 2,4-dinitrophenol in rats (SR04218)

Group	Findings	Male					Female				
		Lactation days					Lactation days				
		0	1	2	3	4	0	1	2	3	4
0 mg/kg	Number of pups examined	83	83	82	82	82	88	88	88	88	88
	No abnormal findings	83	82	82	82	82	88	88	88	88	87
	Death (milk-band negative)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	Lost	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
3 mg/kg	Number of pups examined	81	80	80	80	80	89	88	88	88	88
	No abnormal findings	80	80	80	80	80	88	88	88	88	87
	Death (milk-band negative)	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1
10 mg/kg	Number of pups examined	89	87	86	86	85	64	63	63	63	63
	No abnormal findings	87	87	86	86	85	63	63	63	63	63
	Death (milk-band negative)	2	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	Lost	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
30 mg/kg	Number of pups examined	76	60	58	58	58	73	62	62	62	62
	No abnormal findings	56	58	58	58	58	60	62	62	62	62
	Milk-band negative	4	0	0	0	0	2	0	0	0	0
	Death (milk-band negative)	12	0	0	0	0	11	0	0	0	0
	Death (milk-band positive)	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Lost	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0

Values are number of pups with findings.

Table 21 Body weight changes of pups in the reproduction/developmental toxicity screening test of 2,4-dinitrophenol in rats (SR04218)

Group	Number of litters		Male Body weight (g) on lactation days 0	1	4	Female Body weight (g) on lactation days 0	1	4
0 mg/kg	12	Mean	6.89	7.54	11.18	6.49	7.09	10.54
		S.D.	0.67	0.78	1.21	0.72	0.86	1.37
3 mg/kg	11	Mean	6.91	7.63	10.86	6.51	7.20	10.29
		S.D.	0.72	0.88	1.39	0.66	0.83	1.38
10 mg/kg	11	Mean	6.57	7.25	10.74	6.23	6.94	10.18
		S.D.	0.62	0.79	1.23	0.57	0.68	1.12
30 mg/kg	11	Mean	6.09*	6.61*	9.87	5.76*	6.21*	9.16
		S.D.	0.69	0.92	1.53	0.73	0.99	1.64

* : Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leqq 0.05$.

Table 22 Gross findings of pups in the reproduction/developmental toxicity screening test of 2,4-dinitrophenol in rats (SR04218)

	Male				Female			
Group	0 mg/kg	3 mg/kg	10 mg/kg	30 mg/kg	0 mg/kg	3 mg/kg	10 mg/kg	30 mg/kg
Total number of pups examined	82	81	87	74	88	89	64	73
Findings of dead pups during day 0-4 of lactation days								
Number of pups examined	0	1	2	16	1	2	1	11
No abnormal findings	-	1	2	12	1	2	1	10
Organ : Findings								
Abdominal organs : Autolysis	-	0	0	4	0	0	0	1
Findings of pups killed on day 4 of lactation days								
Number of pups examined	82	80	85	58	87	87	63	62
No abnormal findings	82	80	85	58	86	86	63	62
Organ : Findings								
Cerebrum : Dilatation, ventricle	0	0	0	0	1	0	0	0
Liver : Yellowish white discoloration, medial left lobe	0	0	0	0	0	1	0	0

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