フタルイミドのラットにおける
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 …… 1
要　　約 …… 2
緒　　言 …… 4
材料および方法 …… 4
成　　績 …… 16
考　　察 …… 22
参 考 文 献 …… 25

Figures …… 添付

1. Body weight changes of male rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)
2. Food consumption of male rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)
3. Body weight changes before gestation period of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)
4. Body weight changes during gestation period of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)
5. Body weight changes during lactation period of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)
6. Food consumption before gestation period of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)
7. Food consumption during gestation period of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)
8. Food consumption during lactation period of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

9. Body weight changes of pups in the combined repeat dose and reproductive/ developmental toxicity screening test of PHI in rats (SR-9774)

Tables ····· 添付

1. Experimental design for the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of PHI in rats (SR-9774)
2. General appearance of male rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)
3. Body weight changes of male rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)
4. Food consumption of male rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)
5. Urinary findings of male rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)
6. Hematological findings of male rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

6－Appendix (SR-9774)

7. Biochemical findings of male rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

7－Appendix (SR-9774)

8. Gross findings of male rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)
9. Absolute and relative organ weights of male rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/ developmental toxicity screening test (SR-9774)
10. Histopathological findings of male rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)
11. General appearance of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

12. Body weight changes before gestation period of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)
13. Body weight changes during gestation period of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)
14. Body weight changes during lactation period of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)
15. Food consumption before gestation period of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)
16. Food consumption during gestation period of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)
17. Food consumption during lactation period of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)
18. Gross findings of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)
19. Absolute and relative organ weights of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)
20. Histopathological findings of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)
21. Influence of PHI on reproductive ability of rats in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)
22. Influence of PHI on delivery and maternal behavior in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats (SR-9774)
23. Gross findings of dead pups at birth in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of PHI in rats (SR-9774)
24. Influence of PHI on viability of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats (SR-9774)

25. General appearance of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of PHI in rats (SR-9774)
26. Body weight changes of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of PHI in rats (SR-9774)
27. Gross 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 PHI in rats (SR-9774)

要　約

フタルイミド（CAS No. 85-41-6）の250、500および1000 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新生児の発生に及ぼす影響についてスクリーニング試験を実施し、以下の知見を得た。

１．雌雄動物の反復投与毒性

(1)雄の一般状態、体重推移、摂餌量、尿検査、血液学的検査、血液化学的検査、器官重量、剖検および病理組織学的検査では、フタルイミド投与による影響は認められなかった。

(2)雌の病理組織学的検査では、1000 mg/kg 群で１例のみであったが肝臓に小葉周辺性脂肪化、腎臓に近位尿細管上皮の脂肪変性および胸腺の萎縮が認められ、フタルイミド投与との関連が考えられた。

(3)雌の一般状態、体重推移、摂餌量、器官重量および剖検ならびに上記の１例の他には病理組織学的検査でフタルイミド投与による影響は認められなかった。

以上のことから、雄でフタルイミド投与による影響は認められなかったが、雌では1000 mg/kg 群で１例のみではあったが病理組織学的検査で肝臓、腎臓および胸腺に影響がみられたことから、本スクリーニング試験におけるフタルイミドの反復投与による無影響量（NOEL）は雄で1000 mg/kg/day、雌で500 mg/kg/day と判断した。

２．生殖発生毒性

(1)生殖能検査、雌動物の性周期、雌雄動物の生殖器および内分泌器官の重量、剖検および病理組織学的検査では、フタルイミド投与による影響は認められなかった。

(2)妊娠 26 日まで分娩がみられなかった 500 mg/kg 群の１例で、左右の子宮および子宮頸部の内腔拡張がみられ、着床痕５個がみられ、早期の胚死亡と考えられた。

(3)上記の１例の他には、母動物の剖検および分娩観察で、妊娠期間、妊娠黄体数、着床数、着床率、出産児数、出産確認時生存児数および出生率に、フタルイミド投与による影響は認められなかった。

(4)1000 mg/kg 群の１例で哺育期間中に体重の減少および摂餌量の低値がみられ、病理組織学的検査では肝臓に小葉周辺性脂肪化、腎臓に近位尿細管上皮の脂肪変性および胸腺の萎縮が認められた。また、同例の新生児雄９例および雌８例のうち、哺育２日に雌雄各１例が死亡し、哺育３日に雄２例、哺育４日に雄１例雌３例が不明となり、生存した新生児の体重も減少していたことから、PHI 投与による母体の哺育能力に及ぼす影響が示唆された。

(5)新生児の体重推移では 500 mg/kg 群の雄で体重の低値、雌で体重、体重増加量および体重増加率に低値が認められ、1000 mg/kg 群でも、雄で体重の低値、雌で体重および体重増加量の低値が認められた。

(6)新生児の生存率、一般状態および剖検では、フタルイミド投与による影響は認められなかった。

以上のことから、雄では生殖に対する影響は認められなかったが、母動物では 500 mg/kg 群の１例で胚の着床後死亡が認められ、新生児では 500 mg/kg 以上の群で新生児の体重、体重増加量あるいは体重増加率の低値が認められたことから、本スクリーニング試験におけるフタルイミドの反復投与による親世代の生殖に対する無影響量（NOEL）は雄で 1000 mg/kg/day、雌で 250 mg/kg/day、新生児の発生に対する無影響量（NOEL）は 250 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、フタルイミド（CAS No.85-41-6）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新生児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「新規化学物質に係る試験及び指定化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める命令第４条に規定する試験施設に関する基準」（昭和 59 年 3 月 31 日環保業第 39 号環境庁企画調整局長・薬発第 229 号厚生省薬務局長・59 基局第 85 号通商産業省基礎産業局長連名通知および昭和 63 年 11 月 18 日同改正通知）に従い、試験方法はＯＥＣＤ提案ガイドライン（OECD Guideline for Testing of Chemicals for 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、フタルイミド（Phtalimide、以下 PHI と略す）（CAS No.85-41-6、ロット番号：　　純度：99.9%）で、白色～うすい黄色の結晶性粉末である（Appendix 1、2）。被験物質は直射日光を避け、開封後は遮光気密容器に入れ、冷蔵庫内（4～9℃）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を確認した（Appendix 4）。

2．投与量の設定

試験群は、本試験の用量設定試験（SR-9773）の結果を参考に設定した。用量設定試験では、5、70 および 1000 mg/kg/day を 14 日間投与した雌雄各 5 例のラットを交配させ、雄で計 19 日間、雌で妊娠 19 日まで投与した。その結果、一般状態、体重推移および剖検で PHI 投与による影響は認められず、雄の尿検査、血液学的検査および血液化学的検査、雌雄の生殖能検査、雌の妊娠 20 日の妊娠末期検査ならびに胎児の外表検査にも PHI 投与による影響は認められなかった。したがって、反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験における投与量として、高用量を限界試験で最高用量とされる 1000 mg/kg/day とし、以下、公比 2 で 500 および 250 mg/kg/day を投与する群と、媒体である 1%(w/v)カルメロースナトリウム水溶液（以下、1%CMC-Na と略す）のみを投与する対照群を設定し、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

被験物質を精秤し、25、50 および 100 mg/ml なるように 1%CMC-Na（日本薬局方カルメロースナトリウム：ロット番号 5516、6725、丸石製薬株式会社；日本薬局方精製水：ロット番号 7XT1、76L1、82A1、ヤクハン製薬株式会社）に懸濁し、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調製後７日の分析を実施し（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（2～7℃）に保存した。各濃度の PHI 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．試験系

生後 8 週齢の Crj:CD (SD) IGS 系の SPF ラット（雄：55 匹、体重範囲 258～279 g、雌：55 匹、体重範囲 172～199 g）を日本チャールス・リバー株式会社から受け入れ、14 日間の馴化飼育を行った。検疫ならびに馴化期間中、一般状態観察を１日１回、体重測定を馴化期間中４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９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 22～24 ℃、湿度 RH 45～61%、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 309 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。雌には、妊娠 17 日から金属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３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γ線照射固型飼料（CRF-1、Lot No. 971112、971208、980110、980207、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およびオリエンタル酵母工業株式会社で実施し、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（Appendix 6～9）。飲料水の水質検査は日本衛生株式会社で実施し、当社 SOP の水質基準の範囲内であることを確認した（Appendix 10、11）。

6．群分けおよび個体識別

群分けは馴化 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層別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1日1回、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 日間および交配期間を含む 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。

フタルイミドは水に極めて溶けにくい物質であるため、懸濁液として投与することとした。投与容量は、OECD 試験法ガイドライン「OECD Guideline for Testing of Chemicals ; Acute Oral Toxicity (401)」(1987)の試験手順解説の記載を根拠として、げっ歯類での限度とされる体重 1 kg 当たり 10 ml を設定した。投与容量の算出は、投与日に最も近い日に測定した体重に基づいて行った。

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 371.7 g (350～402 g)、雌で 231.5 g (195～257 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。

(2)体重測定

全例について、投与 1 日（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（ザルトリウス 1401 B MP7-2 および 1407 MP8-1、カールツァイス株式会社）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（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（ザルトリウス 1401 B MP7-2 および 1407 MP8-1、カールツァイス株式会社）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 匹あたりの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①～⑨の項目を検査し、21 時間蓄尿を用いて下記⑩および⑪の項目の検査を行った。また、採尿中の飲水量を測定した。

検査項目	検査方法
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色調（Color）	肉眼観察
⑩尿量（U-Vol）	容量測定
⑪比重（Grav）	屈折計法（アタゴ製ユリコン）
⑫採尿中の飲水量 (Water consumption)	給水瓶の重量測定による

(5)血液学的検査

投与 46 日の翌日の剖検時に、前日から 16～24 時間絶食した全例について、エーテル麻酔下で腹部大動脈から採血した。①～⑩についてはEDTA･2K で抗凝固処理した血液を用い、⑪および⑫についてはクエン酸ナトリウムで抗凝固処理した後、3000 rpm で 10 分間の遠心分離を行い、得られた血漿を用いて検査を行った。

検査項目	検査方法
①赤血球数 (RBC)	電気抵抗法（コールター原理、国際法） (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ヘモグロビン量 (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、国際法） (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、国際法） (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、国際法） (コールターカウンター T660 型)
⑩白血球型別百分率 (Hemogram of WBC)	メイ・ギムザ染色標本鏡検
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 (APTT)	エラジン酸法 (AMELUNG KC-10A バクスターKK)

(6) 血液化学的検査

投与 46 日の翌日に前日から 16～24 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腹部大動脈から採血後、①、④および⑥についてヘパリン処理後、3000 rpm で 10 分間の遠心分離を行い、得られた血漿を用いて検査し、その他の項目については 3000 rpm で 10 分間の遠心分離を行い、得られた血清を用いて検査を行った。

検査項目	検査方法
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）
③アルカリフォスファターゼ (AlP)	ベッセイ・ローリー法（日立 7150 形自動分析装置）
④乳酸脱水素酵素 (LDH)	ロブレスキー・ラ・デュー法（日立 7150 形自動分析装置）
⑤γ-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）
⑥血糖 (Glu)	ヘキソキナーゼ法（日立 7150 形自動分析装置）
⑦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）
⑧総コレステロール (T-Cho)	酵素法（日立 7150 形自動分析装置）
⑨リン脂質 (PL)	酵素法（日立 7150 形自動分析装置）
⑩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）
⑪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）
⑫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）
⑬クレアチニン (Crea)	ヤッフェ法（日立 7150 形自動分析装置）
⑭ナトリウム (Na)	炎光法（コーニング 480 型炎光光度計）

⑮カリウム（K）	炎光法（コーニング 480型炎光光度計）
⑯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）
⑰カルシウム（Ca）	OCPC法（日立 7150形自動分析装置）
⑱無機リン（IP）	フィスケ・サバロー法 （日立 7150形自動分析装置）
⑲総蛋白（TP）	ビウレット法（日立 7150形自動分析装置）
⑳アルブミン（Alb）	BCG法（日立 7150形自動分析装置）
㉑A/G比（A/G）	セルロースアセテート膜電気泳動法 （全自動電気泳動装置 CTE-150）
㉒蛋白分画	セルロースアセテート膜電気泳動法 （全自動電気泳動装置 CTE-150）

(7)剖検および器官重量測定

投与46日の翌日に、前日から16～24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、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、眼球、ハーダー腺、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・幽門部）、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膀胱、精巣、精巣上体、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・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。

摘出器官のうち、脳、肺、心臓、肝臓、腎臓（左右）、脾臓、副腎（左右）、下垂体、胸腺、甲状腺（左右、上皮小体含む）、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（ER-180A、株式会社エー・アンド・デイ）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・幽門部）、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・エオジン染色および特殊染色（oil red 0 染色、PAS 染色、グリメリウス染色、エラスチカ･ワン･ギーソン染色）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（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（ザルトリウス 1401 B MP7-2および1407 MP8-1、カールツァイス株式会社）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（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（ザルトリウス 1401 B MP7-2および1407 MP8-1、カールツァイス株式会社）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、それぞれ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。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、眼球、ハーダー腺、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・幽門部）、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・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。

子宮および卵巣については、固定前に肉眼的に着床痕数および妊娠黄体数を計数した。

摘出器官のうち、脳、肺、心臓、肝臓、腎臓（左右）、脾臓、副腎（左右）下垂体、胸腺、甲状腺（左右、上皮小体含む）および卵巣（左右）については重量を電子天秤（ER-180A、株式会社エー・アンド・デイ）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・幽門部）、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 時に分娩段階、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。朝 9 時に分娩終了を確認した場合、その日を哺育 0 日として起算した。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、解剖時の計数結果から着床率［（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

全例について、哺育0、1および4日に電子天秤（ザルトリウス 1401 B MP7-2および 1407 MP8-1、カールツァイス株式会社）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・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．統計学的評価

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（$p\leqq0.10$）、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 PHI 投与群との比較を行った。一方、不等分散（$p\leqq0.05$）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、色調、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（$p\leqq0.10$）、Mann-Whitney のU-検定法で対照群と各 PHI 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、剖検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多試料χ^2-検定を行い、その結果、有意な場合（$p\leqq0.10$）は2試料χ^2-検定で対照群と各 PHI 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、有意水準を5%とした。

成　　績

1．雄動物の反復投与毒性

(1)一般状態

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

脱毛および痂皮が 250 mg/kg 群の 1 例で投与 37 日から剖検日まで認められたが、他の PHI 投与群ではみられない偶発的なものであった。

(2)体重推移

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

各 PHI 投与群とも対照群と比較して有意差は認められなかった。

(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 500 mg/kg 群で投与 46 日に認められたが、用量相関性のない一過性の変化であった。

(4)尿検査

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

500 および 1000 mg/kg 群で pH の低下（範囲：500 および 1000 mg/kg 群とも 6.0～8.0、対照群；8.0～8.5）がみられ、対照群と比較して有意差が認められた。

その他の検査項目には各 PHI 投与群とも対照群と比較して有意差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、Table 6-Appendix、INDIVIDUAL DATA 5-1～5-8 および 5-1-a～5-8-a に示す。

活性化部分トロンボプラスチン時間の短縮が 500 および 1000 mg/kg 群でみられ、対照群と比較して有意差が認められた。

その他の検査項目には各 PHI 投与群とも対照群と比較して有意差は認められなかった。

なお、対照群の 1 例（No. 111）の悪性リンパ腫がみられた例を除いた統計処理（Table 6-Appendix）では、対照群と比較して活性化部分トロンボプラスチン時間の短縮が 1000 mg/kg 群のみに、白血球型別百分率でリンパ球の低値が 500 mg/kg 群のみに認められた。

(6)血液化学的検査

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

いずれの検査項目にも、各 PHI 投与群とも対照群と比較して有意差は認められなかった。

なお、対照群の 1 例（No. 111）の悪性リンパ腫がみられた例を除いた統計処理（Table 7-Appendix）では、対照群と比較して無機リンの高値が 500 mg/kg 群で認められたが、用量相関性のない変化であった。

(7)剖検

剖検の成績を Table 8、INDIVIDUAL DATA 7-1-1～7-2-4 に示す。

250 mg/kg 群で盲腸粘膜の隆起および脾臓の褐色腫瘤が各 1 例、また、外表所見として脱毛および痂皮が 1 例に認められたのみであり、PHI 投与による所見は認められなかった。

その他の所見として、対照群の 1 例で脾臓の腫大、縦隔リンパ節および腎リンパ節の腫大、ならびに後腹膜のリンパ節の一部暗赤色化および腫大が認められた。

(8)器官重量

器官重量および器官体重重量比の成績を Table 9、INDIVIDUAL DATA 8-1～8-12 に示す。

各 PHI 投与群とも対照群と比較して有意差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 9-1-1～9-2-4 に示す。

肺では泡沫細胞の集簇が 250 および 500 mg/kg 群で各々1 および 2 例に認められた。肝臓では小葉中心性脂肪化が 1000 mg/kg 群で 1 例に認められた。腎臓では嚢胞が 1000 mg/kg 群で 1 例に、近位尿細管上皮の好酸性小体が 250、500 および 1000 mg/kg 群で 1～3 例に、近位尿細管上皮の硝子滴が 250 mg/kg 群で 1 例に、尿細管上皮の再生が 1000 mg/kg 群で 1 例に認められた。精巣では精細管の萎縮が 500 および 1000 mg/kg 群で各 1 例に認められた。精巣上体では管腔内細胞残屑が 500 および 1000 mg/kg 群で各 1 例に認められた。前立腺では間質のリンパ球浸潤が対照群および各 PHI 投与群で 1～3 例に認められた。以上の変化はいずれもその出現に対照群と比較して有意差は認められなかった。その他、肺に好中球浸潤、脾臓に限局性炎症、下垂体に嚢胞、副腎に皮質細胞の過形成、盲腸にリンパ球様細胞の過形成が散見されたのみであった。

なお、対照群では剖検で脾臓の腫大、縦隔リンパ節および腎リンパ節の腫大、ならびに後腹膜のリンパ節の一部暗赤色化および腫大が認められた例で、後腹膜のリンパ節に悪性リンパ腫が認められ、肝臓、脾臓、縦隔リンパ節および腎リンパ節に転移が認められた。

2．雌動物の反復投与毒性

(1)一般状態

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

500 mg/kg 群の 1 例で妊娠 26 日まで分娩がみられない例がいたが、妊娠前投与期間および妊娠期間中に異常はみられなかった。

その他の例では妊娠前投与期間、妊娠期間および哺育期間中のいずれの期間にも、異常は認められなかった。

(2)体重推移

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

妊娠前投与期間、妊娠期間および哺育期間のいずれの期間にも、各 PHI 投与群とも対照群と比較して有意差は認められなかった。

(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、妊娠期間および哺育期間のいずれの期間にも、各 PHI 投与群とも対照群と比較して有意差は認められなかった。

(4)剖検

剖検の成績を Table 18、INDIVIDUAL DATA 19-1-1～19-2-4 に示す。

分娩哺育を行った例では、1000 mg/kg 群の 1 例で右副腎が肝臓における異所性副腎として認められたのみであった。

また、妊娠 26 日まで分娩がみられなかった 500 mg/kg 群の 1 例で、左右の子宮および子宮頸部の内腔拡張、ならびに膣の内腔拡張が認められた。

(5)器官重量

器官重量および器官体重重量比の成績を Table 19、INDIVIDUAL DATA 20-1～20-12 に示す。

肺の体重重量比の高値が 250 mg/kg 群で、脾臓の重量および体重重量比の高値が 500 mg/kg 群で認められたが、1000 mg/kg 群では対照群と比較して有意差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 21-1-1～21-2-4 に示す。

肺では泡沫細胞の集簇が 250 および 500 mg/kg 群で各々3 および 1 例に認められた。肝臓では小葉周辺性脂肪化および限局性壊死が 1000 mg/kg 群で各 1 例に認められた。腎臓では近位尿細管上皮の脂肪変性（Oil red O 染色陽性）が 1000 mg/kg 群で 1 例に認められた。胸腺では萎縮が対照群および 1000 mg/kg 群で各 1 例に認められた。以上の変化はいずれもその出現に対照群と比較して有意差は認められなかった。その他、対照群で腎臓に嚢胞、皮髄境界部の鉱質沈着が認められた。

3．雌雄動物の生殖毒性および新生児の発生毒性

(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。

交尾までの日数、交尾率および受胎率には各投与群とも対照群と比較して有意差は認められなかった。

性周期検査では交配中投与期間に発情休止期の連続が 500 および 1000 mg/kg 群で各 1 例に、不規則発情が 500 mg/kg 群の 1 例に認められた。これらの例では全例で交尾が成立したが、1000 mg/kg 群の２組に不妊がみられ、そのうち 1 組の雌は発情休止期が連続した。この 1000 mg/kg 群の不妊の例ならびに交配相手雄の剖検および病理組織学的検査では卵巣あるいは精巣および精巣上体に異常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、Photo 1～3、INDIVIDUAL DATA 23-1-1～23-2 に示す。

分娩例では各 PHI 投与群とも哺育状態に異常は認められなかった。

妊娠期間、哺育率、妊娠黄体数、着床数、着床率、出産児数、出産率、出産確認時生存児数および出生率に、各 PHI 投与群とも対照群と比較して有意差は認められなかった。

なお、分娩率では 1000 mg/kg 群で対照群と比較して高値が認められたが、これは同群の出産児数が対照群と比較して多いことによるものであった。

また、妊娠 26 日まで分娩のみられない例が 500 mg/kg 群で 1 例にみられ、剖検で左右の子宮および子宮頸部の内腔拡張、ならびに膣の内腔拡張が認められ、着床痕 5 個が認められたが（Photo 1～3）、生存胎児は認められなかった。

なお、分娩終了確認時の死亡児が 250 mg/kg 群で雌雄各 1 例、500 および 1000 mg/kg 群で雌各 1 例に認められた。

(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。

各 PHI 投与群とも対照群と比較して、新生児生存率に有意差は認められなかった。

(4)新生児の一般状態

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

死亡あるいは不明例が対照群の雌 2 例、250 mg/kg 群の雄 1 例、500 mg/kg 群の雄 1 および雌 4 例、1000 mg/kg 群の雄 4 および雌 6 例に認められた。このうち、1000 mg/kg 群の雄 4 および雌 4 例の死亡および不明例は同腹の出生児であり、この母動物（No. 453）では新生児雄９例および雌８例のうち、哺育２日に雌雄各１例が死亡し、哺育３日に雄２例、哺育４日に雄１例雌３例が不明となった。

一方、生存例では外傷によると考えられる尾先端部の欠損が対照群および 1000 mg/kg 群で雄各 1 例に、腹部あるいは頸部の外傷が 1000 mg/kg 群で雌雄各 1 例に認められたのみであった。

(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。

母動物の哺育状態では各 PHI 投与群とも異常は認められなかったが、対照群と比較して 500 mg/kg 群の雄で哺育 4 日体重の低値、雌で哺育 4 日体重、体重増加量および体重増加率に低値が認められた。1000 mg/kg 群でも、雄で哺育 4 日体重の低値、雌で哺育 4 日体重および体重増加量の低値が認められた。

(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対照群および 1000 mg/kg 群の雄各 1 例の尾先端部の欠損、ならびに 1000 mg/kg 群の雌雄各 1 例の腹部あるいは頸部の外傷が認められたが、その他に異常は認められなかった。

考　　察

PHI の 250、500 および 1000 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新生児の発生に及ぼす影響についてスクリーニング試験を実施した。

１．反復投与毒性

(1)雄動物に及ぼす影響

一般状態、体重推移、摂餌量、血液化学的検査、器官重量、剖検および病理組織学的検査に PHI 投与による影響は認められなかったが、尿検査で pH の低下が 500 および 1000 mg/kg 群で認められた。しかし、この変化は生理的に変動（範囲 pH ６～８）しやすいことが報告されていること[1, 2]、また、蛋白および潜血などの尿定性試験項目に変化がないこと、さらに血液化学的検査および泌尿器系の病理組織学的検査にも異常はみられないことから、毒性学的意義はないものと考えられた。

血液学的検査では、活性化部分トロンボプラスチン時間の短縮が 500 mg/kg 群および 1000 mg/kg 群で認められた。しかし、この変化は比較的軽度の短縮であり、血小板数に変化はみられていないこと、血液化学的検査および病理組織学的検査において肝臓の機能亢進あるいは低下を示唆する変化はみられなかった。また、剖検においても出血を窺わせる変化はみられていないことから、その毒性学的意義はないものと考えられた。

病理組織学的検査では、腎臓に近位尿細管上皮の好酸性小体が 250、500 および 1000 mg/kg 群で 1～3 例に認められたが、その出現に対照群と比較して有意差は認められず、PHI 投与による影響とは考えられなかった。また、肺の泡沫細胞の集簇ならびに前立腺のリンパ球浸潤の発生例数には用量依存的な増加はみられず、その他の所見も１例のみの変化であり、PHI 投与との関連はないものと考えられた。

なお、対照群の１例（No.111）では、剖検で脾臓、縦隔リンパ節および腎リンパ節の腫大ならびに後腹膜のリンパ節の一部暗赤色化および腫大が認められ、病理組織学的検査では後腹膜のリンパ節において異型リンパ球が浸潤性に増殖し、組織構造の破壊が顕著であったことから、後腹膜のリンパ節原発の悪性リンパ腫と考えられた。

(2)雌動物に及ぼす影響

一般状態、体重推移、摂餌量、器官重量および剖検ではPHI投与による影響は認められなかった。

病理組織学的検査では、1000 mg/kg 群で 1 例（No.453）のみではあったが、肝臓に小葉周辺性脂肪化、腎臓に近位尿細管上皮の脂肪変性および胸腺の萎縮が認められた。また、同例は哺育期間中に体重の減少および摂餌量の低値が認められ、新生児の死亡および不明がみられ、生存した新生児の体重も減少し、フタルイミド投与との関連が考えられた。

以上のことから、雄では各検査項目においてフタルイミド投与による影響は認められず、雌では１例のみではあったが哺育期間の体重および摂餌量ならびに病理組織学的検査でフタルイミド投与による影響が認められたことから、本スクリーニング試験におけるフタルイミドの反復投与による無影響量（NOEL）は雄で 1000 mg/kg/day、雌で500 mg/kg/day と判断した。

２．生殖発生毒性

生殖能検査では雌雄の交尾率、雌の性周期および受胎率、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 PHI 投与による影響は認められなかった。一方、1000 mg/kg 群で認められた 2 例の不妊の生殖器の病理組織学的検査でも、異常はなく、PHI 投与による影響は認められなかった。

母動物の剖検、妊娠期間、妊娠黄体数、着床数、着床率、出産率、分娩率、出産児数および出産確認時生存児数および出生率にPHI投与による影響は認められなかった。しかし、1000 mg/kg 群の 1 例（No.453）で新生児雄９例および雌８例のうち、哺育２日に雌雄各１例が死亡し、哺育３日に雄２例、哺育４日に雄１例雌３例が不明となり、生存した新生児の体重も減少していた。この母動物では哺育期間中に体重の

減少および摂餌量の低値も認められており、病理組織学的検査では肝臓に小葉周辺性脂肪化、腎臓に近位尿細管上皮の脂肪変性および胸腺の萎縮が認められた。したがって、1 例のみの出現ではあるが、PHI 投与により母体の哺育能力に影響を及ぼした可能性が考えられた。

また、妊娠 26 日まで分娩がみられなかった 500 mg/kg 群の 1 例では、剖検で左右の子宮および子宮頸部の内腔拡張がみられた。同例では肉眼による観察で着床痕 5 個がみられ、いずれも早期の胚死亡と考えられ、PHI 投与との関連が窺われた。

一方、新生児では、一般状態および新生児生存率に PHI 投与による影響は認められなかったが、新生児の体重推移では 500 および 1000 mg/kg 群の雌雄で哺育 4 日に体重の低値が認められ、また、500 mg/kg 群の雌では体重増加量および体重増加率の低値が、1000 mg/kg 群の雌でも体重増加量の低値が認められた。本スクリーニング試験に先立って実施した用量設定試験では雌動物の交配前 14 日間および妊娠 19 日まで PHI を投与したところ、1000 mg/kg 群では胎児の体重に影響はみられず（Appendix 13）、生存性および外表検査にも異常は認められなかった。本スクリーニング試験においても、各 PHI 投与群とも分娩時の新生児体重には変化はみられなかった。したがって、PHI 投与による母動物の哺育能力の低下あるいは乳汁移行により、500 および 1000 mg/kg 群の新生児の体重に影響を及ぼしたと考えられたが、前述の 1000 mg/kg 群の No. 453 を含め、母動物の哺育状態に異常はみられず、本試験条件下ではその機序を明らかにすることはできなかった。

以上のことから、雄では生殖に対する影響は認められなかったが、母動物では 500 mg/kg 群の 1 例で胚の着床後死亡が認められ、新生児では 500 mg/kg 以上の群で新生児の体重、体重増加量あるいは体重増加率の低値が認められたことから、本スクリーニング試験におけるフタルイミドの反復投与による親世代の生殖に対する無影響量（NOEL）は雄で 1000 mg/kg/day、雌で 250 mg/kg/day、新生児の発生に対する無影響量（NOEL）は 250 mg/kg/day と判断した。

参考文献

1）谷本義文，実験動物の血液・尿生化学，ソフトサイエンス社，p. 123，1988.

2）小酒井望 他編，検査データの読み方・考え方，宇宙堂八木書店，1978.

Figures

Figure 1. Body weight changes of male rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Figure 2. Food consumption of male rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Figure 3. Body weight changes before gestation period of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Figure 4. Body weight changes during gestation period of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Figure 5. Body weight changes during lactation period of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Figure 6. Food consumption before gestation period of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Figure 7. Food consumption during gestation period of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Figure 8. Food consumption during lactation period of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Figure 9. Body weight changes of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of PHI in rats (SR-9774)

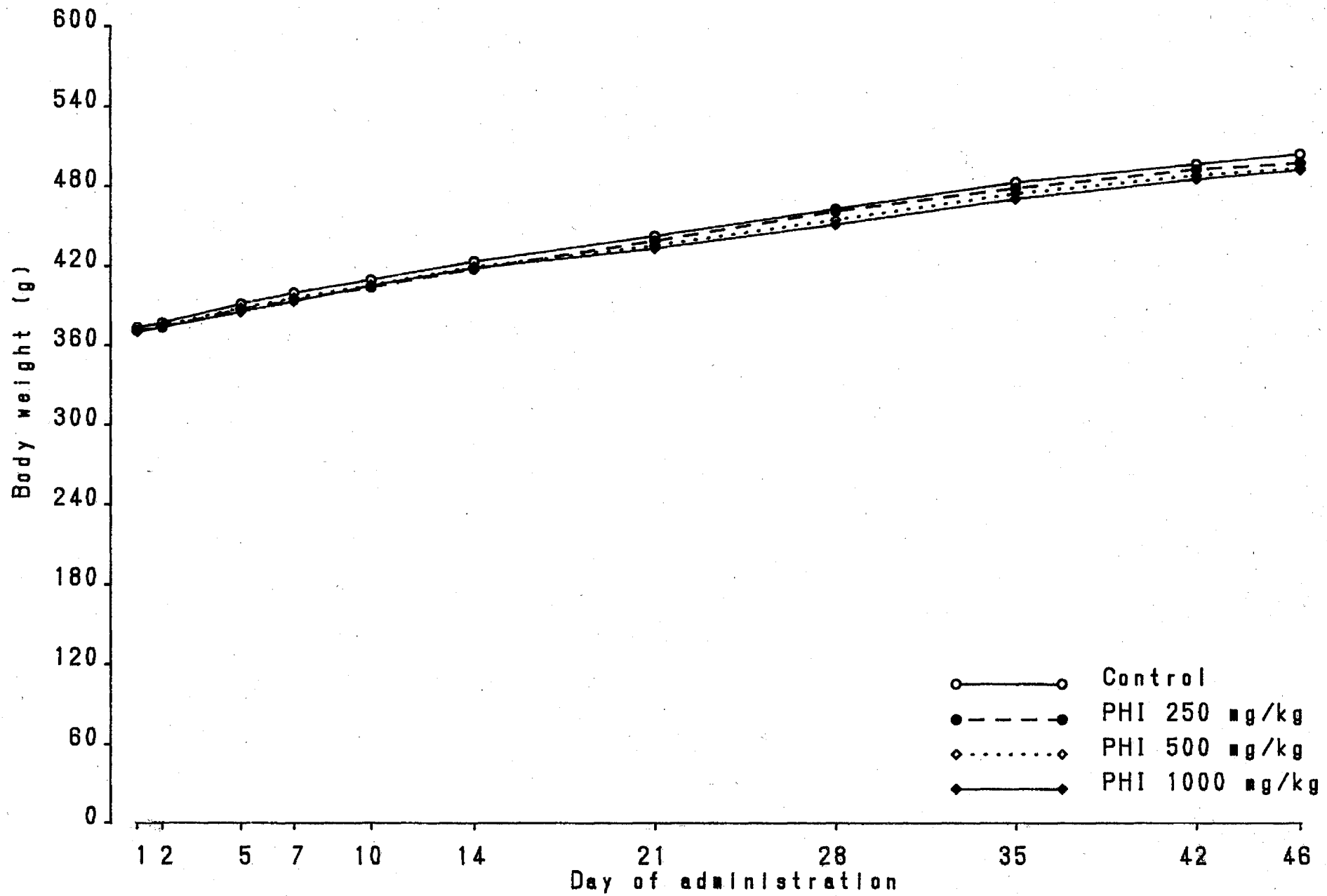

Figure 1. Body weight changes of male rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

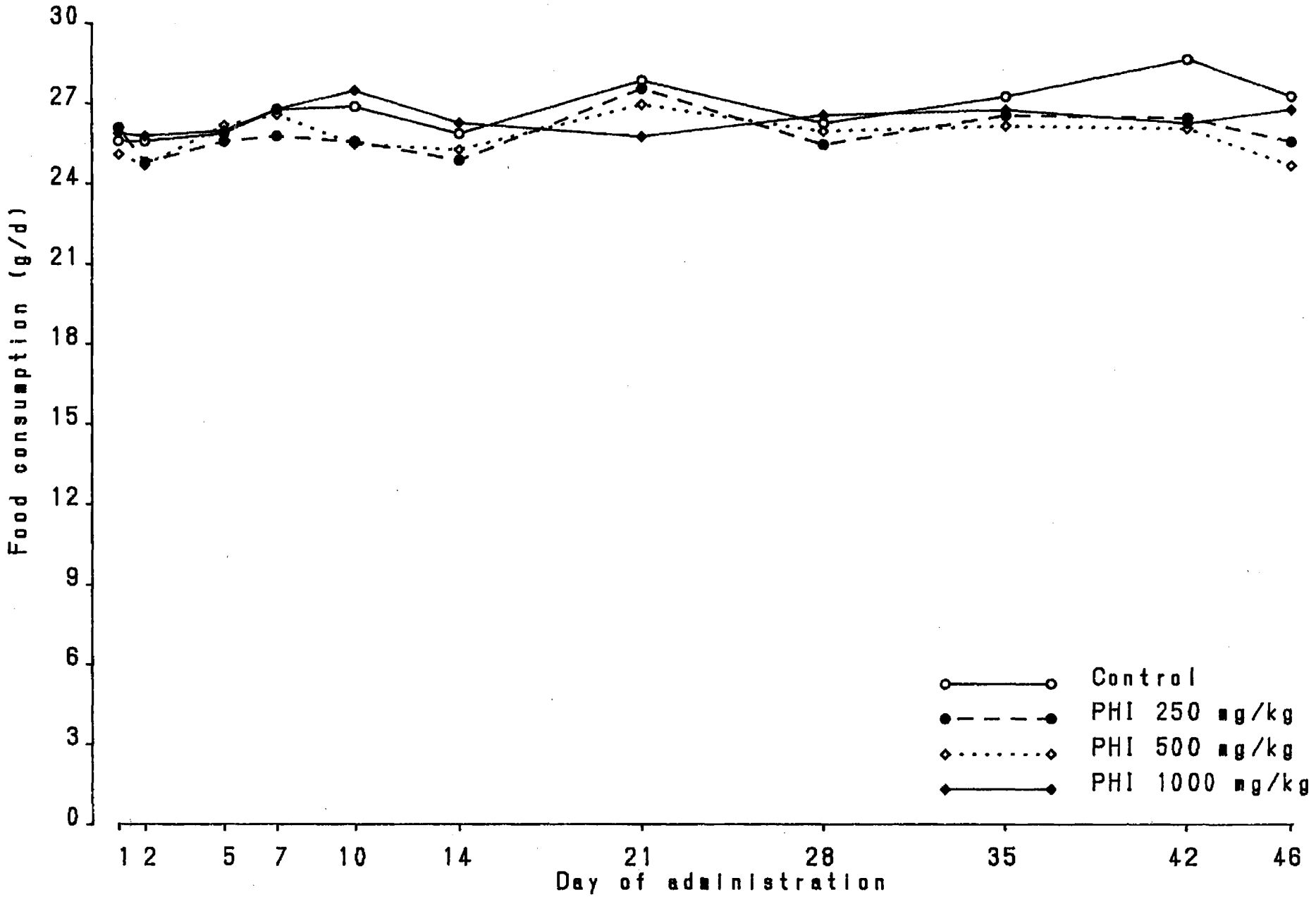

Figure 2. Food consumption of male rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

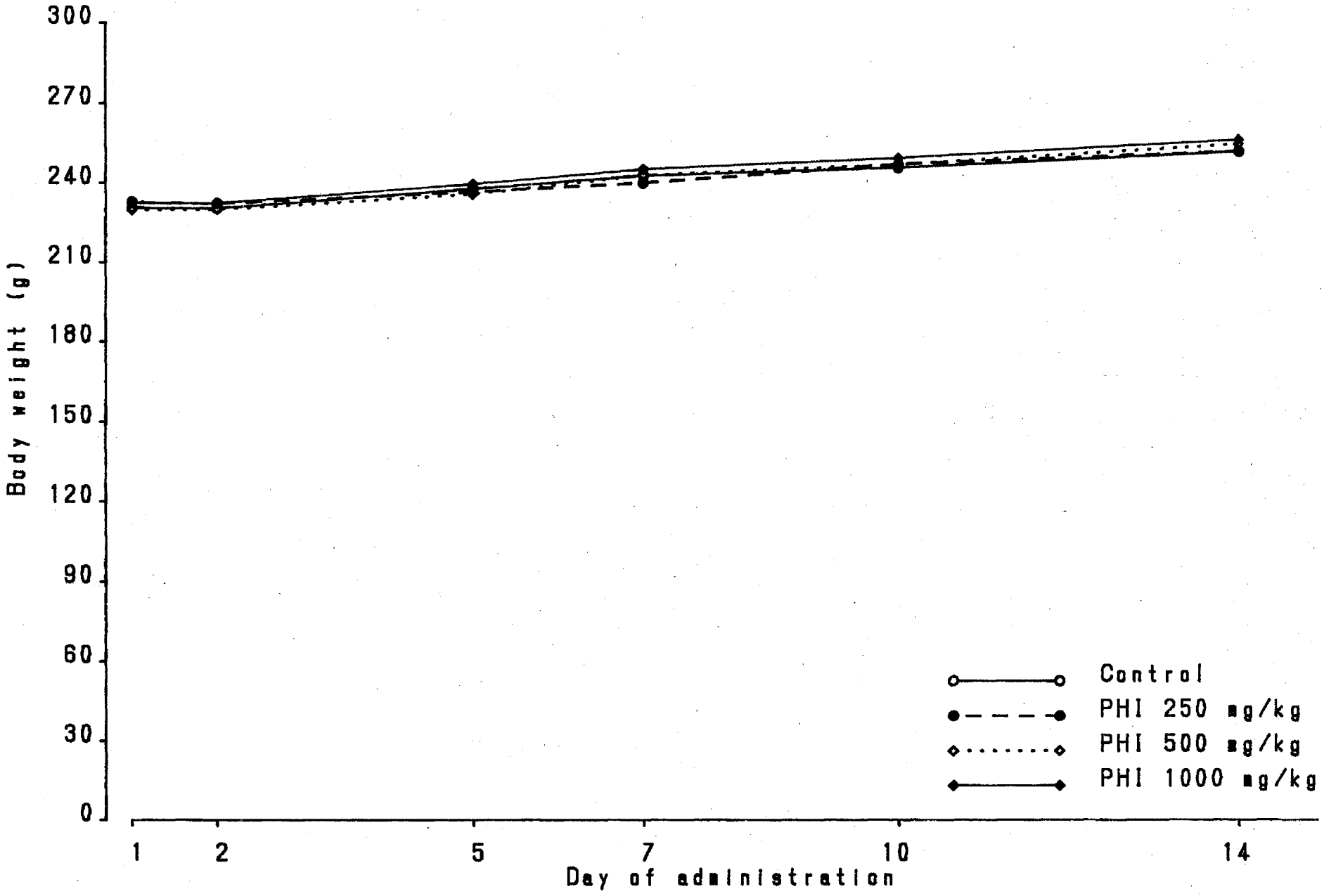

Figure 3. Body weight changes before gestation period of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/ developmental toxicity screening test (SR-9774)

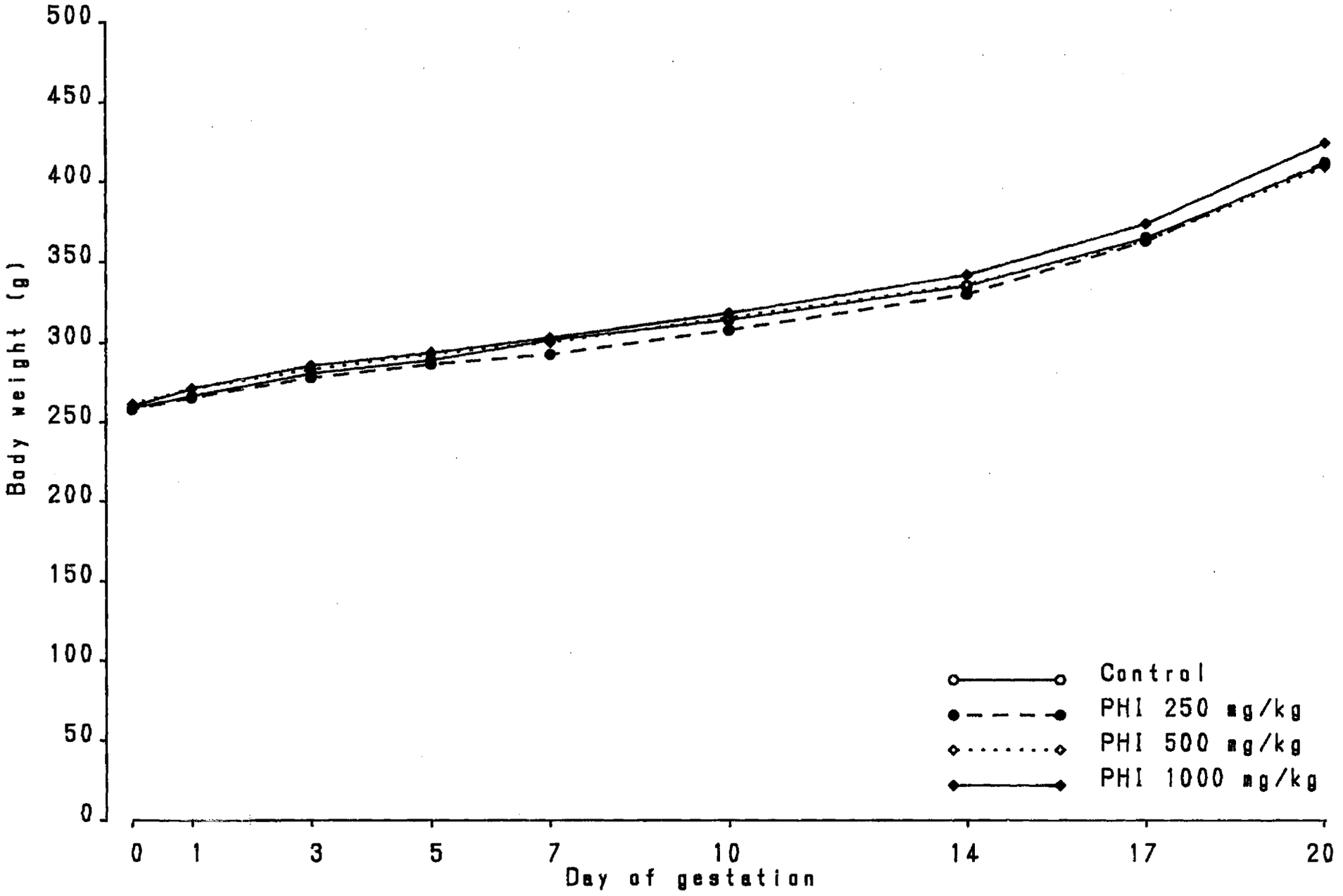

Figure 4. Body weight changes during gestation period of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/ developmental toxicity screening test (SR-9774)

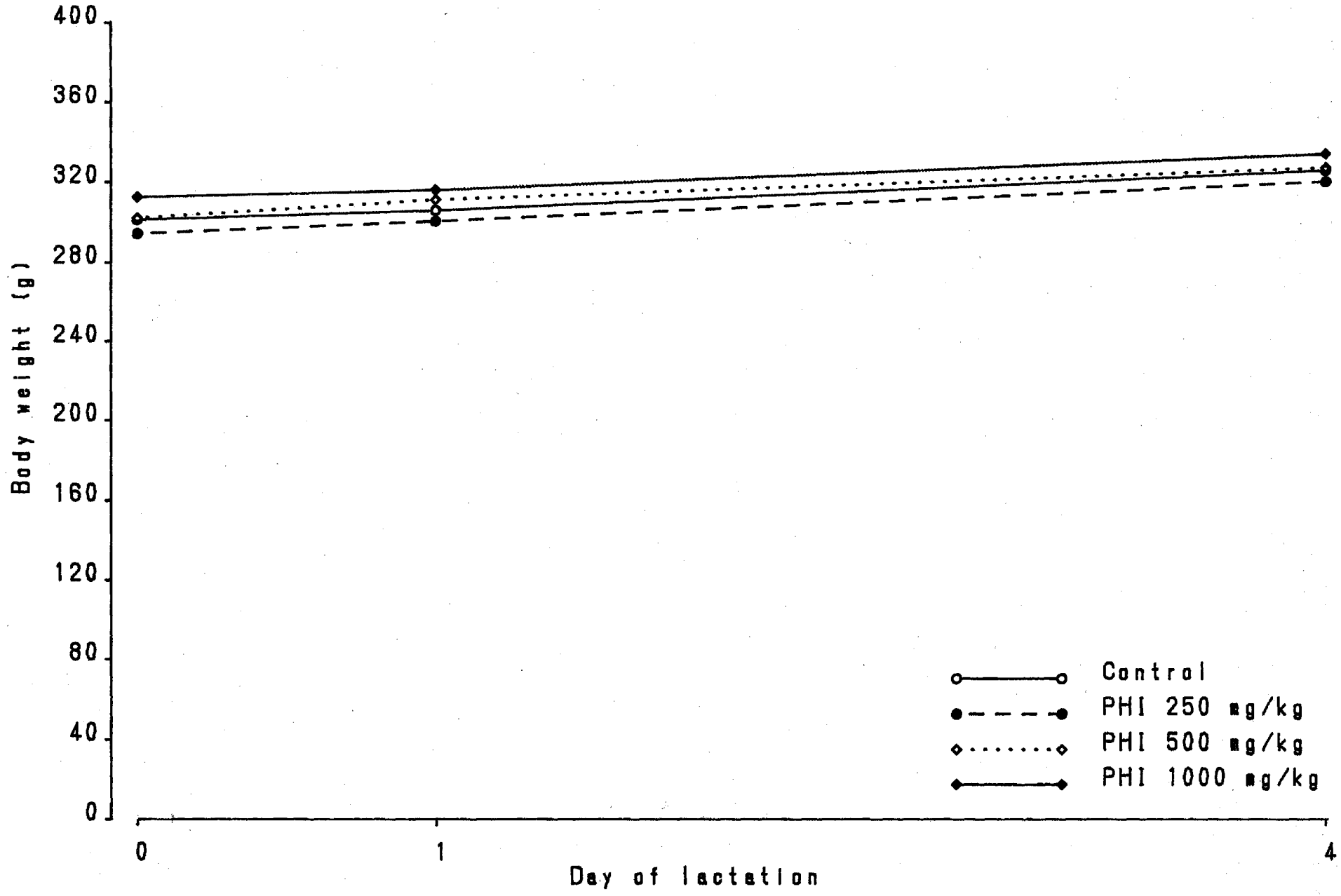

Figure 5. Body weight changes during lactation period of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/ developmental toxicity screening test (SR-9774)

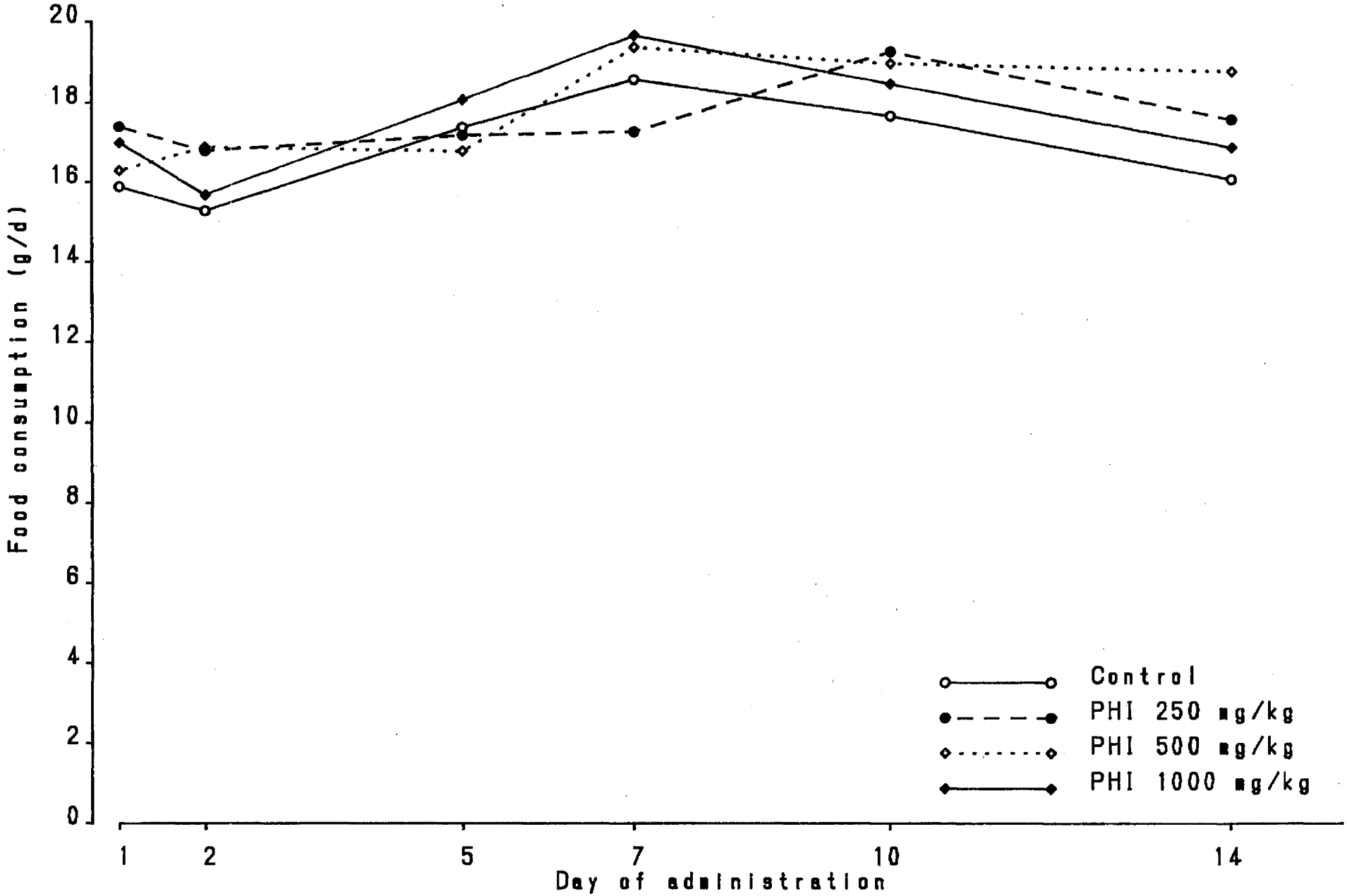

Figure 6. Food consumption before gestation period of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

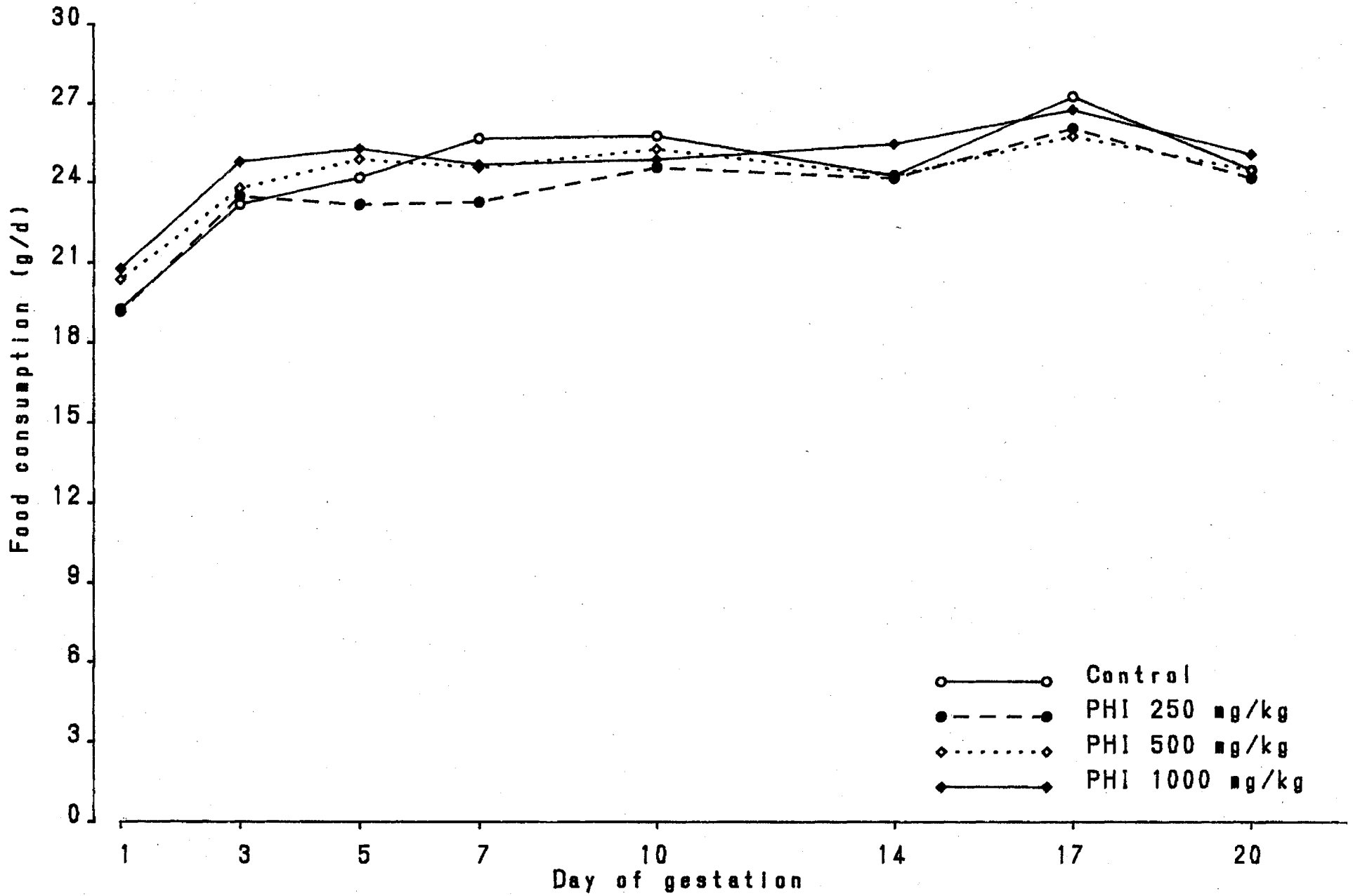

Figure 7. Food consumption during gestation period of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

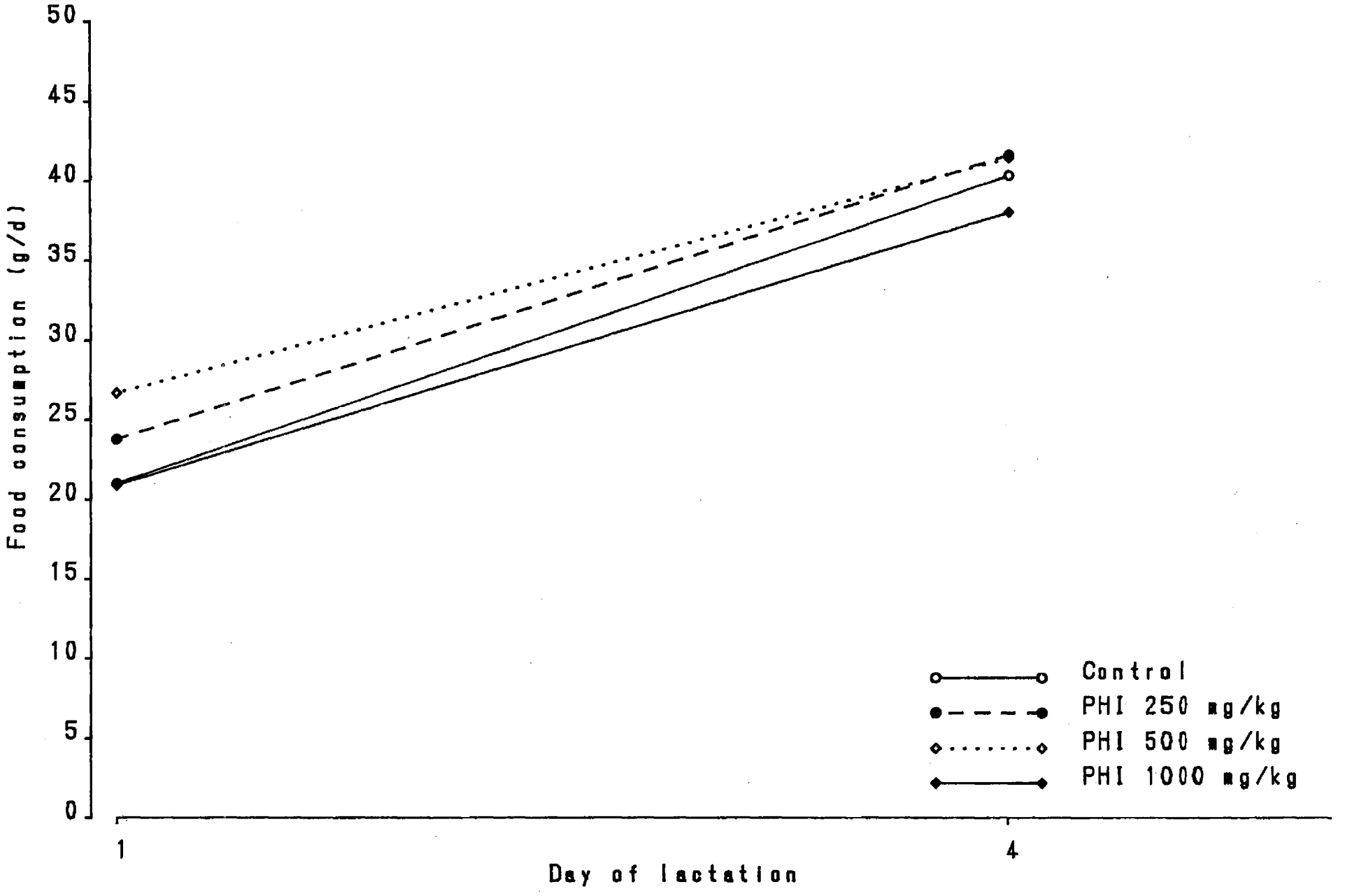

Figure 8. Food consumption during lactation period of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

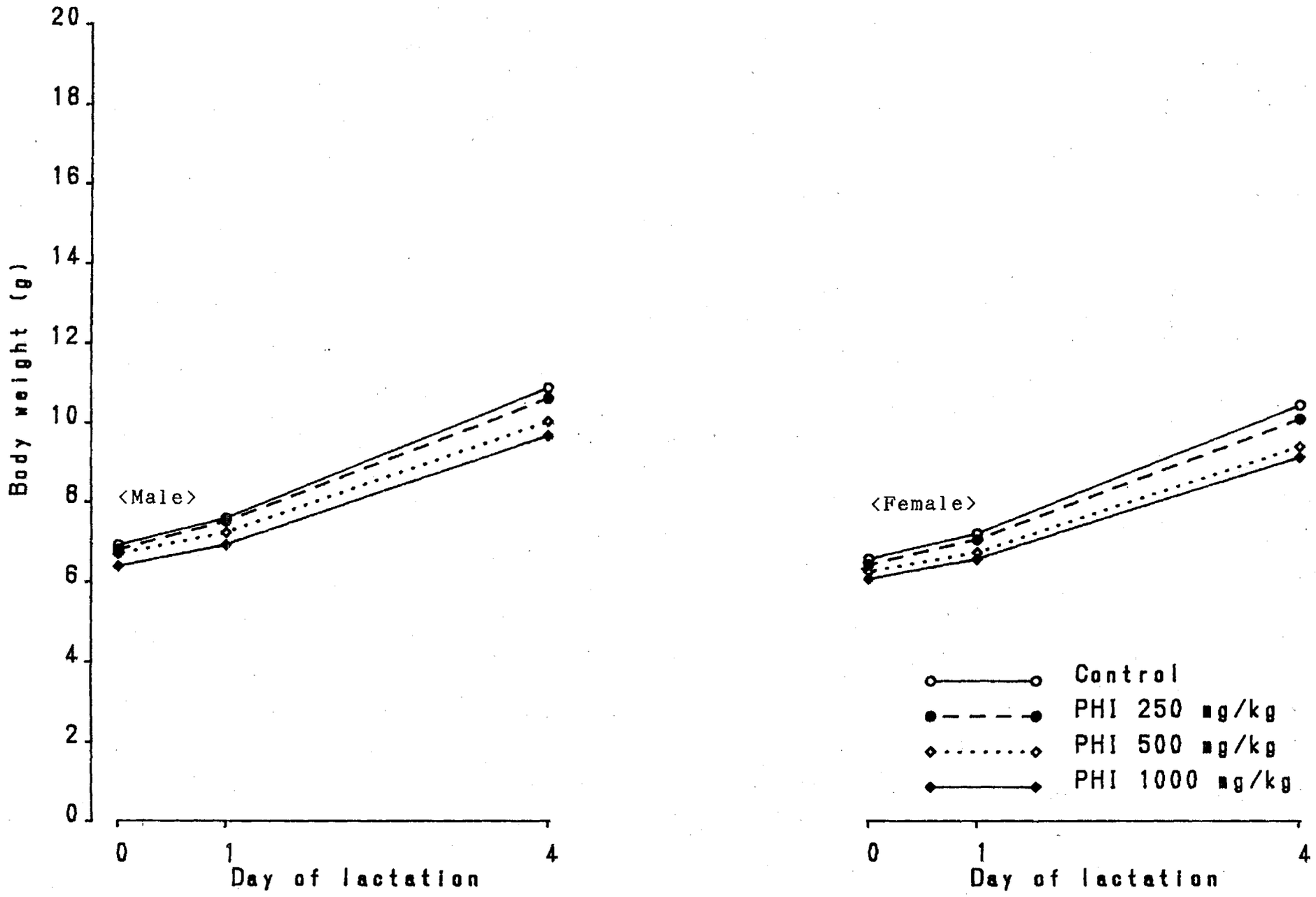

Figure 9. Body weight changes of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of PHI in rats (SR-9774)

Tables

Table 1. Experimental design for the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of PHI in rats (SR-9774)

Table 2. General appearance of male rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Table 3. Body weight changes of male rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Table 4. Food consumption of male rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Table 5. Urinary findings of male rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Table 6. Hematological findings of male rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Table 6 - Appendix (SR-9774)

Table 7. Biochemical findings of male rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Table 7 - Appendix (SR-9774)

Table 8. Gross findings of male rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Table 9. Absolute and relative organ weights of male rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Table 10. Histopathological findings of male rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Table 11. General appearance of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Table 12. Body weight changes before gestation period of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Table 13. Body weight changes during gestation period of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Table 14. Body weight changes during lactation period of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Table 15. Food consumption before gestation period of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Table 16. Food consumption during gestation period of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Table 17. Food consumption during lactation period of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Table 18. Gross findings of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Table 19. Absolute and relative organ weights of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Table 20. Histopathological findings of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Table 21. Influence of PHI on reproductive ability of rats in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Table 22. Influence of PHI on delivery and maternal behavior in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats (SR-9774)

Table 23. Gross findings of dead pups at birth in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of PHI in rats (SR-9774)

Table 24. Influence of PHI on viability of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats (SR-9774)

Table 25. General appearance of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of PHI in rats (SR-9774)

Table 26. Body weight changes of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of PHI in rats (SR-9774)

Table 27. Gross 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 PHI in rats (SR-9774)

Table 1. Experimental design for the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of PHI in rats (SR-9774)

Group	Concentration of PHI mg/ml	Volume ml/kg	No. of animals[a]	
			Male	Female
Control[b]	0	10	12	12
PHI 250 mg/kg[c]	25	10	12	12
PHI 500 mg/kg	50	10	12	12
PHI 1000 mg/kg	100	10	12	12

a: Crj:CD(SD)IGS rats were dosed orally to males from day 14 before the mating period to day 46 through the mating period, and to females from day 14 before mating to day 3 of lactation.
b: Control was dosed with 1%CMC-Na.
c: PHI (Phthalimide) was suspended in 1%CMC-Na.

Table 2. General appearance of male rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Item	Control	PHI (mg/kg)		
		250	500	1000
No. of animals examined	12	12	12	12
	a			
Loss of fur	0	1	0	0
Crust formation	0	1	0	0

a: Values are no. of animals with findings.

Table 3. Body weight changes of male rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

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
Control	12	373.8 b	377.3	391.8	400.0	410.3	424.3	443.3	463.9	483.8	497.5	504.8	131.000	34.968
		13.2	13.7	17.5	17.8	20.5	21.9	22.1	30.3	31.4	32.7	34.0	24.331	5.593
PHI 250 mg/kg	12	371.3	374.3	387.7	394.6	404.6	418.4	439.9	462.1	479.3	493.3	498.0	126.750	34.099
		9.7	12.2	15.0	14.8	16.8	18.7	17.5	18.6	18.6	19.1	22.6	15.040	3.520
PHI 500 mg/kg	12	371.1	375.3	388.4	396.3	406.1	420.1	436.1	455.8	475.5	488.8	494.2	123.083	33.070
		10.2	12.4	13.5	15.7	17.9	20.7	24.4	28.1	30.1	32.5	31.1	22.399	5.337
PHI 1000 mg/kg	12	370.6	374.0	385.8	393.8	405.7	419.2	434.3	452.3	471.5	486.3	493.0	122.417	33.004
		9.4	11.4	13.3	14.0	14.6	14.6	16.7	16.7	20.2	22.1	24.9	19.612	5.055

a: (Body weight gain / body weight on day 1) x 100.
b: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram.

Table 4. Food consumption of male rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Group	No. of animals	Day of administration										
		1	2	5	7	10	14	21	28	35	42	46
Control	12	a 25.6 1.9	25.6 1.9	25.9 2.0	26.8 1.9	26.9 2.8	25.9 1.9	27.9 2.8	26.3 3.0	27.3 2.6	28.7 4.7	27.3 3.2
PHI 250 mg/kg	12	26.1 1.8	24.8 2.8	25.6 2.7	25.8 2.0	25.6 2.6	24.9 2.8	27.6 2.2	25.5 2.4	26.6 1.4	26.5 2.5	25.6 2.0
PHI 500 mg/kg	12	25.1 2.5	24.7 1.5	26.2 2.1	26.6 1.6	25.5 2.0	25.3 2.5	(11)b 27.0 2.2	(11) 26.0 1.8	26.2 2.3	26.1 3.2	24.7* 1.4
PHI 1000 mg/kg	12	25.9 1.4	25.8 2.6	26.0 2.1	26.8 2.3	27.5 3.4	26.3 3.4	(11) 25.8 3.3	26.6 2.2	26.8 1.7	26.3 2.7	26.8 2.1

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

Table 5. Urinary findings of male rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Group	No. of animals	pH						Pro	Glu	Ket	Uro	Bil	Occult blood		Color
		6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	±	-	-	0.1 EU/dl	-	-	±	A
Control	6	0 [a]	0	0	0	1	5	6	6	6	6	6	6	0	6
PHI 250 mg/kg	6	0	1	1	1	1	2	6	6	6	6	6	6	0	6
PHI 500 mg/kg	6	[1	1	0	2	2	0]**	6	6	6	6	6	5	1	6
PHI 1000 mg/kg	6	[1	3	1	0	1	0]**	6	6	6	6	6	6	0	6

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	Cast	1.031-1.040	1.041-1.050	1.050<		
		-	-	-	±	-	-	-					
Control	6	6	6	5	1	6	6	6	3	2	1	14.50 [b] 2.61	16.8 9.9
PHI 250 mg/kg	6	6	6	6	0	6	6	6	3	2	1	15.50 3.78	16.8 11.8
PHI 500 mg/kg	6	6	6	6	0	6	6	6	1	4	1	14.67 0.68	19.7 10.6
PHI 1000 mg/kg	6	6	6	6	0	6	6	6	0	5	1	17.75 1.60	24.3 4.6

Color: A = Pale yellow or yellow. a: Values are no. of animals with findings. b: Values are means and S.D. thereunder.
**: Differs from control, $p<0.01$.

Table 6. Hematological findings of male rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

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	9.307[a]	51.63	16.60	55.52	17.85	32.17	12.53	933.3
		0.340	1.33	0.52	1.70	0.73	0.83	3.18	201.7
PHI 250 mg/kg	12	9.193	50.89	16.38	55.38	17.80	32.17	14.23	1007.6
		0.334	2.15	0.90	1.68	0.70	1.13	4.62	161.5
PHI 500 mg/kg	12	9.376	51.76	16.57	55.23	17.68	32.05	13.55	984.5
		0.346	1.51	0.36	1.64	0.68	0.77	3.15	98.9
PHI 1000 mg/kg	12	9.134	51.09	16.59	55.98	18.17	32.48	11.93	927.8
		0.349	1.96	0.73	1.95	0.70	0.63	2.62	113.0

					Hemogram of WBC						
					Neutro.						
Group	No. of animals	Ret. %.	PT sec.	APTT sec.	Stab. %	Seg. %	Eos. %	Bas. %	Mono. %	Lymp. %	Others %
Control	12	3.4	17.05	33.54	0.8	7.8	0.6	0.0	1.2	89.8	0.0
		1.6	3.40	7.74	0.8	4.0	0.7	0.0	0.9	4.3	0.0
PHI 250 mg/kg	12	3.7	15.60	30.78	0.5	8.0	0.8	0.0	0.9	89.8	0.0
		1.2	1.26	3.80	0.5	3.9	1.0	0.0	0.7	4.3	0.0
PHI 500 mg/kg	12	3.1	15.23	29.61*	0.9	10.7	1.0	0.0	1.6	85.8	0.0
		1.4	1.36	2.82	0.7	3.4	1.2	0.0	1.3	3.5	0.0
PHI 1000 mg/kg	12	3.8	14.79	28.03**	0.5	9.1	0.3	0.0	1.2	88.9	0.0
		2.1	1.21	2.98	0.7	5.0	0.5	0.0	1.1	5.0	0.0

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

Table 6 - Appendix (SR-9774)

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	11	9.261[a]	51.55	16.58	55.69	17.92	32.18	11.88	985.0
		0.315	1.36	0.54	1.67	0.72	0.87	2.34	97.6
PHI 250 mg/kg	12	9.193	50.89	16.38	55.38	17.80	32.17	14.23	1007.6
		0.334	2.15	0.90	1.68	0.70	1.13	4.62	161.5
PHI 500 mg/kg	12	9.376	51.76	16.57	55.23	17.68	32.05	13.55	984.5
		0.346	1.51	0.36	1.64	0.68	0.77	3.15	98.9
PHI 1000 mg/kg	12	9.134	51.09	16.59	55.98	18.17	32.48	11.93	927.8
		0.349	1.96	0.73	1.95	0.70	0.63	2.62	113.0

					Hemogram of WBC						
					Neutro.						
Group	No. of animals	Ret. %.	PT sec.	APTT sec.	Stab. %	Seg. %	Eos. %	Bas. %	Mono. %	Lymp. %	Others %
Control	11	3.5	16.28	31.39	0.6	7.4	0.6	0.0	1.1	90.3	0.0
		1.6	2.23	2.20	0.7	3.9	0.7	0.0	0.9	4.1	0.0
PHI 250 mg/kg	12	3.7	15.60	30.78	0.5	8.0	0.8	0.0	0.9	89.8	0.0
		1.2	1.26	3.80	0.5	3.9	1.0	0.0	0.7	4.3	0.0
PHI 500 mg/kg	12	3.1	15.23	29.61	0.9	10.7	1.0	0.0	1.6	85.8*	0.0
		1.4	1.36	2.82	0.7	3.4	1.2	0.0	1.3	3.5	0.0
PHI 1000 mg/kg	12	3.8	14.79	28.03*	0.5	9.1	0.3	0.0	1.2	88.9	0.0
		2.1	1.21	2.98	0.7	5.0	0.5	0.0	1.1	5.0	0.0

a: Values are means and S.D. thereunder. *: Differs from control, $p<0.05$.

Table 7. Biochemical findings of male rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Group	No. of animals	TP g/dl	Alb g/dl	A/G	Protein fraction (%) Alb	Globulin α_1	Globulin α_2	Globulin β	Globulin γ	GOT IU/l	GPT IU/l	ALP IU/l	LDH IU/l	Ch-E IU/l	γ-GTP IU/l
Control	12	5.98[a]	2.41	1.041	51.05	24.14	7.65	14.73	2.43	75.1	33.6	219.9	220.8	66.3	0.94
		0.20	0.11	0.087	2.10	2.94	0.58	1.33	0.80	30.2	16.9	38.7	65.0	11.6	0.40
PHI 250 mg/kg	12	5.94	2.38	1.017	50.42	24.42	7.58	14.93	2.65	70.8	27.8	222.0	252.8	77.4	1.05
		0.16	0.15	0.104	2.55	1.93	0.64	1.40	0.77	13.9	4.6	46.3	71.5	18.5	0.33
PHI 500 mg/kg	12	5.98	2.44	1.086	52.15	22.94	7.70	14.88	2.33	72.8	29.8	251.1	266.0	67.1	1.21
		0.22	0.08	0.036	0.85	1.50	0.80	1.14	0.58	9.7	2.9	37.3	56.3	24.4	0.29
PHI 1000 mg/kg	12	5.88	2.39	1.058	51.48	23.70	7.83	14.44	2.55	77.8	32.7	198.4	262.5	78.6	0.98
		0.21	0.12	0.083	1.91	1.86	0.61	0.95	0.99	13.8	6.1	37.5	67.5	22.6	0.41

Group	No. of animals	T-Bil mg/dl	Glu mg/dl	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	0.10	161.2	62.8	41.8	99.8	18.38	0.51	142.25	4.472	105.9	9.63	6.76
		0.00	18.5	11.9	16.2	17.8	2.36	0.07	1.42	0.258	0.8	0.26	0.80
PHI 250 mg/kg	12	0.10	162.8	59.8	36.8	95.2	17.88	0.50	141.67	4.633	106.3	9.43	6.93
		0.00	13.9	12.8	15.6	16.7	1.37	0.06	1.50	0.415	0.7	0.26	0.42
PHI 500 mg/kg	12	0.10	162.1	64.3	34.2	101.8	18.94	0.59	142.13	4.636	106.1	9.61	7.45
		0.00	17.7	12.0	23.8	15.6	2.78	0.14	1.13	0.232	1.2	0.24	0.85
PHI 1000 mg/kg	12	0.10	168.3	62.4	37.8	99.3	17.93	0.54	141.67	4.649	105.4	9.39	7.14
		0.00	25.3	9.8	19.0	14.2	1.02	0.05	0.98	0.216	1.7	0.20	0.68

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

Table 7 - Appendix (SR-9774)

Group	No. of animals	TP g/dl	Alb g/dl	A/G	Protein fraction (%) Alb	Globulin α_1	Globulin α_2	Globulin β	Globulin γ	GOT IU/l	GPT IU/l	ALP IU/l	LDH IU/l	CHE IU/l	γ-GTP IU/l
Control	11	6.00[a]	2.42	1.043	51.09	24.09	7.62	14.77	2.43	66.6	29.0	219.4	206.5	64.8	0.96
		0.18	0.11	0.091	2.20	3.08	0.60	1.39	0.84	7.8	6.0	40.6	43.9	11.0	0.41
PHI 250 mg/kg	12	5.94	2.38	1.017	50.42	24.42	7.58	14.93	2.65	70.8	27.8	222.0	252.8	77.4	1.05
		0.16	0.15	0.104	2.55	1.93	0.64	1.40	0.77	13.9	4.6	46.3	71.5	18.5	0.33
PHI 500 mg/kg	12	5.98	2.44	1.086	52.15	22.94	7.70	14.88	2.33	72.8	29.8	251.1	266.0	67.1	1.21
		0.22	0.08	0.036	0.85	1.50	0.80	1.14	0.58	9.7	2.9	37.3	56.3	24.4	0.29
PHI 1000 mg/kg	12	5.88	2.39	1.058	51.48	23.70	7.83	14.44	2.55	77.8	32.7	198.4	262.5	78.6	0.98
		0.21	0.12	0.083	1.91	1.86	0.61	0.95	0.99	13.8	6.1	37.5	67.5	22.6	0.41

Group	No. of animals	T-Bil mg/dl	Glu mg/dl	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	11	0.10	164.3	63.9	43.5	102.6	17.93	0.50	142.09	4.515	106.0	9.60	6.72
		0.00	15.7	11.8	15.9	15.7	1.84	0.06	1.38	0.218	0.8	0.26	0.83
PHI 250 mg/kg	12	0.10	162.8	59.8	36.8	95.2	17.88	0.50	141.67	4.633	106.3	9.43	6.93
		0.00	13.9	12.8	15.6	16.7	1.37	0.06	1.50	0.415	0.7	0.26	0.42
PHI 500 mg/kg	12	0.10	162.1	64.3	34.2	101.8	18.94	0.59	142.13	4.636	106.1	9.61	7.45*
		0.00	17.7	12.0	23.8	15.6	2.78	0.14	1.13	0.232	1.2	0.24	0.85
PHI 1000 mg/kg	12	0.10	168.3	62.4	37.8	99.3	17.93	0.54	141.67	4.649	105.4	9.39	7.14
		0.00	25.3	9.8	19.0	14.2	1.02	0.05	0.98	0.216	1.7	0.20	0.68

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

Table 8. Gross findings of male rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Item	Control	PHI (mg/kg) 250	500	1000
No. of animals examined	12	12	12	12[a]
Organ : Findings				
	[b]			
Cecum : Elevation, mucosa	0	1	0	0
Spleen : Brown mass	0	1	0	0
Swelling	1	0	0	0
Mediastinal lymph node : Swelling	1	0	0	0
Renal lymph node : Swelling, unilateral	1	0	0	0
Lumbar lymph node : Partial dark red discoloration, unilateral	1	0	0	0
Swelling, unilateral	1	0	0	0
Skin : Loss of fur	0	1	0	0
Crust formation	0	1	0	0

a: Includes two animals whose mate had no evidence of pregnancy.
b: Values are no. of animals with findings.

Table 9. Absolute and relative organ weights of male rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Group	No. of animals	Body weight	Brain		Lung		Heart		Liver		Kidney						Spleen	
											Right		Left		Total			
		g	g	%	g	%	g	%	g	%	g	%	g	%	g	%	g	%
Control	12	472.4[a]	2.193	0.467	1.397	0.297	1.428	0.300	12.534	2.642	1.578	0.335	1.553	0.328	3.131	0.666	0.775	0.164
		32.8	0.073	0.034	0.070	0.012	0.152	0.023	2.566	0.442	0.108	0.020	0.116	0.020	0.216	0.039	0.280	0.057
PHI 250 mg/kg	12	468.4	2.171	0.463	1.401	0.297	1.428	0.305	11.729	2.503	1.522	0.323	1.515	0.323	3.037	0.648	0.703	0.151
		21.8	0.104	0.032	0.083	0.018	0.112	0.022	0.988	0.134	0.137	0.025	0.138	0.029	0.266	0.052	0.088	0.016
PHI 500 mg/kg	12	466.1	2.199	0.473	1.438	0.309	1.417	0.305	11.750	2.513	1.495	0.323	1.498	0.321	2.993	0.643	0.687	0.148
		28.9	0.064	0.035	0.101	0.023	0.175	0.024	1.582	0.222	0.086	0.021	0.105	0.023	0.186	0.044	0.108	0.021
PHI 1000 mg/kg	12	462.1	2.148	0.467	1.393	0.300	1.378	0.297	11.972	2.590	1.590	0.343	1.591	0.344	3.181	0.688	0.649	0.142
		23.3	0.043	0.021	0.073	0.013	0.127	0.022	1.260	0.236	0.114	0.025	0.140	0.031	0.243	0.053	0.091	0.016

Group	No. of animals	Adrenal						Pituitary gland		Thymus		Thyroid					
		Right		Left		Total						Right		Left		Total	
		mg	10^{-3}%	mg	10^{-3}%	mg	10^{-3}%	mg	10^{-3}%	mg	10^{-3}%	mg	10^{-3}%	mg	10^{-3}%	mg	10^{-3}%
Control	12	30.6	6.477	31.9	6.759	62.500	13.232	14.18	3.002	291.1	61.722	12.95	2.741	11.63	2.476	24.583	5.218
		5.1	0.977	5.0	0.933	10.023	1.879	1.67	0.280	51.6	10.795	2.31	0.469	2.42	0.542	3.574	0.790
PHI 250 mg/kg	12	32.0	6.829	34.7	7.402	66.667	14.233	13.92	2.976	344.3	73.535	13.21	2.816	12.05	2.576	25.258	5.393
		4.1	0.813	4.7	0.955	8.542	1.702	1.31	0.310	114.9	24.866	3.23	0.637	1.29	0.273	4.197	0.824
PHI 500 mg/kg	12	32.7	7.010	33.3	7.131	65.917	14.140	13.37	2.875	320.8	68.382	11.57	2.489	11.28	2.430	22.850	4.919
		7.3	1.483	5.5	1.080	12.624	2.532	1.14	0.296	79.5	14.006	1.84	0.412	2.41	0.546	3.929	0.889
PHI 1000 mg/kg	12	31.5	6.828	33.3	7.234	64.833	14.062	13.46	2.921	289.3	62.769	11.51	2.489	11.07	2.397	22.575	4.887
		4.0	0.910	5.0	1.202	8.569	2.023	0.84	0.260	63.7	13.914	2.48	0.505	1.99	0.427	3.638	0.739

(continued)

Table 9. (continued)

Group	No. of animals	Testis						Epididymis					
		Right		Left		Total		Right		Left		Total	
		g	%	g	%	g	%	g	%	g	%	g	%
Control	12	1.697	0.362	1.689	0.357	3.386	0.721	0.666	0.141	0.653	0.140	1.318	0.281
		0.119	0.039	0.129	0.038	0.245	0.073	0.045	0.017	0.046	0.012	0.084	0.028
PHI 250 mg/kg	12	1.663	0.357	1.613	0.344	3.277	0.701	0.671	0.143	0.640	0.136	1.311	0.282
		0.101	0.029	0.103	0.027	0.172	0.050	0.048	0.013	0.045	0.012	0.085	0.020
PHI 500 mg/kg	12	1.640	0.352	1.602	0.344	3.242	0.697	0.646	0.140	0.618	0.132	1.264	0.272
		0.142	0.026	0.169	0.034	0.306	0.056	0.045	0.010	0.051	0.010	0.094	0.016
PHI 1000 mg/kg	12	1.629	0.352	1.595	0.345	3.224	0.698	0.632	0.137	0.630	0.136	1.262	0.274
		0.151	0.038	0.152	0.036	0.302	0.073	0.054	0.013	0.049	0.012	0.097	0.022

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

Table 10. Histopathological findings of male rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Item		Control	PHI (mg/kg) 250	500	1000
No. of animals examined		12	12	12	12[a]
Organ : Findings	Grade[b]				
		[c]			
Lung : Accumulation, foam cell	+	0	1	2	0
Cellular infiltration, neutrophil	+	1	0	0	0
Cecum : Hyperplasia, lymphoid cell	+	0	1	0	0
Liver : Fatty change, centrilobular	+	0	0	0	1
Lymphoma, malignant, metastatic, lumbar lymph node	<+>	1	0	0	0
Kidney : Cyst	<+>	0	0	0	1
Eosinophilic body, proximal tubular epithelium	+	0	1	1	3
Hyaline droplet, proximal tubular epithelium	+	0	1	0	0
Regeneration, tubular epithelium	+	0	0	0	1
Testis : Atrophy, seminiferous tubule	+	0	0	1	1
Epididymis : Cell debris, lumen	+	0	0	1	1
Prostate : Cellular infiltration, lymphocyte, interstitium	+	3	1	3	1
Spleen : Inflammation, focal	+	0	1	0	0
Lymphoma, malignant, metastatic, lumbar lymph node	<+>	1	0	0	0
		[d]	[e]		
Mediastinal lymph node : Lymphoma, malignant, metastatic, lumbar lymph node	<+>	1(1)	-	-	-
Renal lymph node : Lymphoma, malignant, metastatic, lumbar lymph node	<+>	1(1)	-	-	-
Lumbar lymph node : Lymphoma, malignant	<+>	1(1)	-	-	-
Pituitary gland : Cyst	<+>	0	1	0	0
Adrenal : Hyperplasia, cortical cell	+	0	1	0	0
Skin : Cellular infiltration, lymphocyte, dermis	+	-	1(1)	-	-
Ulcer	++	-	1(1)	-	-

There were no abnormal findings in the forestomach, glandular stomach, duodenum, jejunum, ileum, colon, rectum, heart, cerebrum, cerebellum, thymus or thyroid.

a: Includes two animals whose mate had no evidence of pregnancy.
b: + = slight, ++ = moderate change and <+> = detected.
c: Values are no. of animals with findings.
d: Values in parentheses are no. of animals examined.
e: - = blank value.

Table 11. General appearance of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Item	Control	PHI (mg/kg)		
		250	500	1000
Findings before gestation period				
No. of animals examined	12	12	12	12
Abnormal findings	0[a]	0	0	0
Findings during gestation period				
No. of animals examined	12	12	12	12[b]
Abnormal findings	0	0	0	0
Findings during lactation period				
No. of animals examined	12	12	11	10
Abnormal findings	0	0	0	0

a: Values are no. of animals with findings.
b: Includes two animals that had no evidence of pregnancy.

Table 12. Body weight changes before gestation period of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Group	No. of animals	Day of administration						Body weight gain	
		1	2	5	7	10	14	Day 1-14	% a
Control	12	b 230.7 12.6	230.4 12.6	238.0 13.8	243.0 15.5	246.0 15.5	252.1 17.4	21.417 11.090	9.284 4.788
PHI 250 mg/kg	12	232.8 11.8	232.3 9.9	236.8 11.6	240.3 9.7	247.3 11.2	252.1 14.1	19.250 7.060	8.275 3.151
PHI 500 mg/kg	12	229.8 14.3	230.0 13.3	236.0 16.5	243.3 15.8	247.3 16.7	254.8 19.2	24.917 7.971	10.798 3.179
PHI 1000 mg/kg	12	232.7 12.2	232.4 10.8	239.8 13.1	245.4 13.3	249.7 13.5	256.5 14.2	23.833 7.975	10.279 3.590

a: (Body weight gain / body weight on day 1) x 100.
b: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram.

Table 13. Body weight changes during gestation period of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Group	No. of animals	Day of gestation 0	1	3	5	7	10	14	17	20	Body weight gain Day 0-20	% a
Control	12	b 258.8	266.6	280.9	289.6	302.1	314.9	335.8	365.7	411.9	153.083	59.154
		18.1	22.1	22.3	23.0	25.4	25.5	27.1	27.1	32.0	18.628	6.211
PHI 250 mg/kg	12	258.3	265.4	278.3	286.7	293.0	308.4	330.7	363.7	413.1	154.833	59.829
		13.9	15.3	17.4	18.0	19.1	22.2	22.4	26.7	31.5	20.049	6.103
PHI 500 mg/kg	12	261.4	271.2	283.4	293.5	300.8	316.3	336.6	364.1	410.1	148.667	57.435
		24.0	23.1	21.7	21.3	19.8	18.1	17.7	22.5	33.4	26.266	12.177
PHI 1000 mg/kg	10	259.7	271.0	285.7	294.0	303.4	318.7	342.6	374.5	425.2	165.500	63.579
		17.9	17.7	20.5	19.7	24.0	24.1	26.0	30.9	40.0	25.761	8.152

a: (Body weight gain / body weight on day 0) x 100.
b: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram.

Table 14. Body weight changes during lactation period of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Group	No. of animals	Day of lactation 0	1	4	Body weight gain Day 0-4	% a
		b				
Control	12	301.5	306.2	326.3	24.750	8.522
		29.9	27.2	25.4	13.851	5.113
PHI 250 mg/kg	12	294.4	301.0	320.7	26.250	9.202
		26.6	23.7	21.8	13.539	4.971
PHI 500 mg/kg	11	302.3	311.5	327.5	25.273	8.601
		22.7	18.9	21.7	19.105	6.598
PHI 1000 mg/kg	10	312.6	316.4	334.4	21.800	6.798
		32.6	36.6	42.2	14.965	5.180

a: (Body weight gain / body weight on day 0) x 100.
b: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram.

Table 15. Food consumption before gestation period of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Group	No. of animals	Day of administration					
		1	2	5	7	10	14
Control	12	15.9[a] 2.6	15.3 3.1	17.4 2.1	18.6 3.3	17.7 4.0	16.1 3.7
PHI 250 mg/kg	12	17.4 3.5	16.8 2.1	17.2 3.0	17.3 2.9	19.3 2.9	17.6 2.9
PHI 500 mg/kg	12	16.3 2.2	16.9 1.8	16.8 2.7	19.4 1.8	19.0 2.0	18.8 1.8
PHI 1000 mg/kg	12	17.0 2.9	15.7 2.0	18.1 2.4	19.7 2.4	18.5 2.5	16.9 3.1

a: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram/day.

Table 16. Food consumption during gestation period of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Group	No. of animals	Day of gestation							
		1	3	5	7	10	14	17	20
Control	12	19.3[a] 4.3	23.2 3.1	24.2 3.3	25.7 4.7	25.8 2.9	24.3 3.3	27.3 3.0	24.5 2.8
PHI 250 mg/kg	12	19.2 3.2	23.5 2.6	23.2 2.8	23.3 2.6	24.6 3.4	24.2 2.5	26.1 3.6	24.2 2.9
PHI 500 mg/kg	12	20.4 2.1	23.8 2.1	24.9 2.2	24.6 3.0	25.3 2.1	24.3 2.7	25.8 2.9	24.5 2.7
PHI 1000 mg/kg	10	20.8 2.5	24.8 3.2	25.3 4.1	24.7 2.2	24.9 3.0	25.5 1.9	26.8 2.5	25.1 3.6

a: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram/day.

Table 17. Food consumption during lactation period of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Group	No. of animals	Day of lactation 1	Day of lactation 4
Control	12	21.0[a]	40.4
		6.5	5.9
PHI 250 mg/kg	12	23.8	41.7
		4.9	5.5
PHI 500 mg/kg	11	26.7	41.5
		8.3	5.8
PHI 1000 mg/kg	10	20.9	38.1
		7.1	10.7

a: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram/day.

Table 18. Gross findings of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Item	Control	PHI (mg/kg) 250	500	1000
No. of animals examined	12	12	12[a]	12[b]
Organ : Findings				
Uterus : Dilatation, lumen	0[c]	0	1[de]	0
Uterus, cervix : Dilatation, lumen	0	0	1[d]	0
Vagina : Dilatation, lumen	0	0	1[d]	0
Adrenal : Ectopic adrenal, liver, unilateral	0	0	0	1

a: Includes one animal killed on day 26 of gestation.
b: Includes two animals that had no evidence of pregnancy.
c: Values are no. of animals with findings.
d: Animal killed on day 26 of gestation.
e: Observed 6 corpora lutea and 5 implantation sites.

Table 19. Absolute and relative organ weights of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Group	No. of animals	Body weight	Brain		Lung		Heart		Liver		Kidney						Spleen	
											Right		Left		Total			
		g	g	%	g	%	g	%	g	%	g	%	g	%	g	%	g	%
Control	12	326.3[a]	2.023	0.624	1.108	0.342	0.965	0.296	13.264	4.068	1.080	0.329	1.032	0.318	2.112	0.646	0.619	0.188
		25.4	0.101	0.054	0.054	0.025	0.077	0.017	1.322	0.272	0.136	0.029	0.122	0.024	0.253	0.050	0.096	0.021
PHI 250 mg/kg	12	320.7	2.078	0.651	1.162	0.364*	0.946	0.295	13.589	4.242	1.082	0.338	1.028	0.321	2.110	0.658	0.583	0.182
		21.8	0.052	0.041	0.058	0.013	0.098	0.024	1.180	0.285	0.111	0.020	0.101	0.020	0.209	0.039	0.086	0.019
PHI 500 mg/kg	11	327.5	2.077	0.636	1.164	0.355	1.015	0.310	13.849	4.223	1.104	0.337	1.090	0.333	2.194	0.671	0.772*	0.235**
		21.7	0.123	0.044	0.090	0.018	0.082	0.021	1.748	0.393	0.092	0.021	0.082	0.013	0.169	0.036	0.144	0.034
PHI 1000 mg/kg	10	334.4	2.052	0.622	1.197	0.360	1.016	0.303	13.916	4.146	1.178	0.356	1.159*	0.349	2.337	0.705	0.660	0.194
		42.2	0.097	0.078	0.122	0.041	0.129	0.011	2.281	0.303	0.145	0.048	0.151	0.054	0.294	0.100	0.174	0.037

Group	No. of animals	Adrenal						Pituitary gland		Thymus		Thyroid					
		Right		Left		Total						Right		Left		Total	
		mg	10^{-3}%	mg	10^{-3}%	mg	10^{-3}%	mg	10^{-3}%	mg	10^{-3}%	mg	10^{-3}%	mg	10^{-3}%	mg	10^{-3}%
Control	12	35.7	10.957	38.3	11.766	74.000	22.724	19.51	5.996	233.8	71.077	8.54	2.615	7.95	2.430	16.492	5.046
		4.3	1.253	4.3	1.103	8.312	2.256	3.43	0.993	107.5	30.718	1.62	0.442	1.62	0.401	2.466	0.544
PHI 250 mg/kg	12	37.6	11.719	40.9	12.764	78.500	24.484	21.18	6.597	197.3	61.319	7.95	2.487	7.93	2.480	15.875	4.966
		4.8	1.252	5.3	1.422	9.812	2.561	3.27	0.855	61.1	17.682	1.90	0.613	1.52	0.487	2.978	0.962
PHI 500 mg/kg	11	37.4	11.534	37.6	11.539	75.000	23.072	20.17	6.150	230.7	70.521	7.90	2.406	8.08	2.476	15.982	4.882
		6.8	2.860	4.7	1.590	10.100	4.142	2.50	0.534	74.0	22.646	1.80	0.479	1.45	0.464	2.515	0.709
		(9)[b]	(9)			(9)	(9)										
PHI 1000 mg/kg	10	37.4	11.342	39.2	11.886	77.222	23.356	22.28	6.615	227.2	66.185	7.75	2.313	7.13	2.163	14.880	4.476
		5.1	2.416	5.2	2.179	10.022	4.660	4.89	0.956	83.2	20.730	1.80	0.407	1.41	0.489	2.364	0.622

(continued)

Table 19. (continued)

Group	No. of animals	Ovary Right mg	Ovary Right 10^{-3}%	Ovary Left mg	Ovary Left 10^{-3}%	Ovary Total mg	Ovary Total 10^{-3}%
Control	12	54.4	16.776	51.6	15.925	106.000	32.702
		6.4	2.463	6.2	2.460	9.630	4.168
PHI 250 mg/kg	12	55.7	17.281	55.1	17.325	110.750	34.603
		11.7	2.996	9.4	3.606	12.835	3.910
PHI 500 mg/kg	11	59.0	18.007	52.2	15.985	111.182	33.993
		11.0	3.065	9.0	2.879	15.381	4.508
PHI 1000 mg/kg	10	57.0	17.008	58.2	17.603	115.200	34.611
		11.3	2.263	8.9	3.059	17.656	4.366

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

Table 20. Histopathological findings of female rats dosed orally with PHI in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

Item		Control	PHI (mg/kg) 250	500	1000
No. of animals examined		12	12	12[a]	12[b]
Organ : Findings	Grade[c]				
		[d]			
Lung : Accumulation, foam cell	+	0	3	1	0
Liver : Fatty change, periportal	+	0	0	0	1
Necrosis, focal	+	0	0	0	1
Kidney : Cyst	<+>	1	0	0	0
Degeneration, fatty, proximal tubular epithelium	+	0	0	0	1
Mineralization, cortico-medullary junction	+	1	0	0	0
Thymus : Atrophy	Total	1	0	0	1
	+	1	0	0	0
	++	0	0	0	1

There were no abnormal findings in the forestomach, glandular stomach, duodenum, jejunum, ileum, cecum, colon, rectum, heart, ovary, uterus (No. 152 and No. 359), vagina (No. 152 and No. 359), cerebrum, cerebellum, spleen, pituitary gland, thyroid or adrenal.

a: Includes one animal killed on day 26 of gestation.
b: Includes two animals that had no evidence of pregnancy.
c: + = slight change, ++ = moderate change and <+> = detected.
d: Values are no. of animals with findings.

Table 21. Influence of PHI on reproductive ability of rats in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9774)

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 mating to copulation	Copulation index % [a]	No. of pregnant animals	Fertility index % [b]
Control	12	12	0	- [c]	-	12	0	-	-	12	3.3±1.1 [d]	100.0	12	100.0
PHI 250 mg/kg	12	12	0	-	-	12	0	-	-	12	2.9±1.2	100.0	12	100.0
PHI 500 mg/kg	12	12	0	-	-	10	2	1	1	12	3.7±3.4	100.0	12	100.0
PHI 1000 mg/kg	12	12	0	-	-	11	1	1	-	12	3.6±2.5	100.0	10	83.3

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 PHI on delivery and maternal behavior in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats (SR-9774)

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	12	203	188		171		171			87	84	0	0	0			
	Mean		16.9	15.7	93.301	14.3	91.154	14.3	100.000	1.208	7.3	7.0	0.0	0.0	0.0	22.5	100.0	100.0
	S.D.		2.4	1.7	8.267	1.7	7.235	1.7	0.000	0.627	2.0	2.3	0.0	0.0	0.0	0.5		
PHI 250 mg/kg	Total	12	210	199		187		185			102	83	2	1	1			
	Mean		17.5	16.6	95.558	15.6	93.888	15.4	98.923	1.364	8.5	6.9	0.2	0.1	0.1	22.7	100.0	100.0
	S.D.		2.8	1.7	7.326	2.1	7.013	2.1	2.516	0.636	1.9	1.9	0.4	0.3	0.3	0.5		
PHI 500 mg/kg	Total	12	(11)[g] 195	188		171		(11) 170	(11)	(11)	(11) 82	(11) 88	(11) 1	(11) 0	(11) 1	(11)		(11)
	Mean		17.7	15.7	93.705	14.3	85.513	15.5	99.522	1.096	7.5	8.0	0.1	0.0	0.1	22.7	91.7	100.0
	S.D.		2.1	4.2	10.521	5.2	27.326	2.6	1.586	0.816	2.7	2.3	0.3	0.0	0.3	0.5		
PHI 1000 mg/kg	Total	10	181	155		152		151			80	71	1	0	1			
	Mean		18.1	15.5	86.020	15.2	98.162**	15.1	99.444	1.225	8.0	7.1	0.1	0.0	0.1	22.3	100.0	100.0
	S.D.		1.9	3.2	18.488	3.2	2.961	3.1	1.758	0.570	2.3	2.1	0.3	0.0	0.3	0.5		

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.
**: Differs from control, $p \leq 0.01$.

Table 23. Gross findings of dead pups at birth in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of PHI in rats (SR-9774)

	Male				Female			
		PHI (mg/kg)				PHI (mg/kg)		
Item	Control	250	500	1000	Control	250	500	1000
No. of dead animals examined	0	1	0	0	0	1	1	1
Organ : Findings[a]								

a: There were no abnormal findings in all the organs and tissue.

Table 24. Influence of PHI on viability of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats (SR-9774)

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	12	171	169		87	82
	Mean		14.3	14.1	99.016	7.3	6.8
	S.D.		1.7	1.4	2.303	2.0	2.2
PHI 250 mg/kg	Total	12	185	184		101	83
	Mean		15.4	15.3	99.479	8.4	6.9
	S.D.		2.1	2.1	1.804	1.9	1.9
PHI 500 mg/kg	Total	11	170	165		81	84
	Mean		15.5	15.0	97.273	7.4	7.6
	S.D.		2.6	2.4	5.002	2.7	2.2
PHI 1000 mg/kg	Total	10	151	141		76	65
	Mean		15.1	14.1	94.113	7.6	6.5
	S.D.		3.1	3.4	14.674	2.5	2.1

a: (No. of live pups on day 4 / no. of live pups born) x 100.

Table 25. General appearance of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of PHI in rats (SR-9774)

	Male				Female			
		PHI (mg/kg)				PHI (mg/kg)		
Item	Control	250	500	1000	Control	250	500	1000
No. of animals examined	87[a]	102	82	80	84	83	88	71
No. of dead/missing animals	0	1	1	4	2	0	4	6
Dead animals	0[b]	1	1	1	1	0	4	2
Missing animals	0	0	0	3	1	0	0	4
No. of surviving animals	87	101	81	76	82	83	84	65
Defect of tail tip	1	0	0	1	0	0	0	0
Trauma	0	0	0	1	0	0	0	1

a: Values are no. of live animals at birth.
b: Values are no. of animals with findings.

Table 26. Body weight changes of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of PHI in rats (SR-9774)

Group	No. of litters	Male					Female				
		Day of lactation			Body weight gain		Day of lactation			Body weight gain	
		0	1	4	Day 0-4	% a	0	1	4	Day 0-4	%
Control	12	b 6.93 0.40	7.61 0.55	10.88 0.86	3.958 0.514	57.039 5.541	6.58 0.40	7.21 0.47	10.43 0.79	3.850 0.472	58.497 5.697
PHI 250 mg/kg	12	6.82 0.69	7.53 0.91	10.62 1.55	3.800 1.041	55.480 11.512	6.44 0.64	7.06 0.83	10.08 1.46	3.633 1.044	56.261 13.162
PHI 500 mg/kg	11	6.71 0.50	7.24 0.60	10.04* 0.83	3.327 0.636	49.805 10.287	6.27 0.49	6.74 0.59	9.39** 0.65	3.118** 0.464	50.025* 8.929
PHI 1000 mg/kg	10	6.41 0.62	6.94 0.94	9.68* 1.93	3.270 1.543	50.436 22.953	6.09 0.56	6.58 0.81	9.12* 1.71	3.030* 1.418	49.466 22.155

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 27. Gross 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 PHI in rats (SR-9774)

Item	Male				Female			
		PHI (mg/kg)				PHI (mg/kg)		
	Control	250	500	1000	Control	250	500	1000
Findings of pups dead after birth								
No. of animals examined	0	1	1	1	1	0	4	2
Organ : Findings[a]								
Findings of pups killed on day 4 of lactation								
No. of animals examined	87	101	81	76	82	83	84	65
Organ : Findings[b]								
Tail : Loss, distal part	1	0	0	1	0	0	0	0
Abdominal region : Trauma	0	0	0	0	0	0	0	1
Cervical region : Trauma	0	0	0	1	0	0	0	0

a: There were no abnormal findings in all the organs and tissue.
b: Values are no. of animals with findings.