



BOZO RESEARCH
CENTER INC.

最 終 報 告 書

2 - (ジエチルアミノ) エチル=メタクリレートのラットを用いた
経口投与による反復投与毒性および生殖発生毒性併合試験

R - 6 7 4

目 次

	頁
要 約	1
緒 言	3
試験材料および方法	4
1. 被験物質および媒体	4
1) 被験物質	4
2) 媒体	4
3) 被験液の調製および濃度確認	5
2. 試験動物	5
3. 飼育条件	5
4. 個体識別およびケージへの表示	6
5. 投与量、群構成および動物数	6
6. 投与量とその設定根拠	7
7. 投与経路、投与方法および投与期間	7
8. 観察、測定、検査の方法および頻度	7
1) 雄 (P)	7
(1) 一般状態の観察	7
(2) 体重測定	8
(3) 摂餌量測定	8
(4) 尿検査	8
(5) 血液学検査	9
(6) 血液化学検査	10
(7) 剖検	12
(8) 器官重量測定	12
(9) 病理組織学的検査	12

	頁
2) 雌 (P)	1 2
(1) 一般状態の観察	1 2
(2) 性周期の観察	1 3
(3) 体重測定	1 3
(4) 摂餌量測定	1 3
(5) 分娩および哺育観察	1 3
(6) 剖検	1 3
(7) 器官重量測定	1 4
(8) 病理組織学的検査	1 4
3) 親動物 (P) の交配	1 4
4) 新生児 (F ₁)	1 4
(1) 出生児の観察	1 4
(2) 哺育児の観察および測定	1 4
9. 統計学的方法	1 4
1) 多重検定	1 5
2) χ^2 検定	1 5
3) Mann - WhitneyのU検定、Fisher の直接確率法の検定	1 5
4) 各種データの算出式	1 5
試験結果	1 6
I. 反復投与毒性	1 6
1. 雄 (P) に及ぼす影響	1 6
1) 一般状態	1 6
2) 体重	1 6
3) 摂餌量	1 6
4) 尿検査	1 6
5) 血液学検査	1 6
6) 血液化学検査	1 7
7) 剖検所見	1 7
8) 器官重量	1 7

	頁
9) 病理組織学的検査	17
2. 雌(P)に及ぼす影響	19
1) 一般状態	19
2) 体重	19
3) 摂餌量	19
4) 剖検所見	19
5) 器官重量	19
6) 病理組織学的検査	19
II. 生殖発生毒性	20
1. 親動物(P)に及ぼす影響	20
1) 性周期	20
2) 交尾率および受胎率	20
3) 新生児出産雌数、妊娠期間、分娩および哺育状態	20
4) 黄体数、着床痕数、着床率および新生児出産数	21
2. 新生児(F ₁)に及ぼす影響	21
1) 性比、外表異常および生存率	21
2) 体重	21
3) 剖検所見	21
考 察	22
文 献	25

Figures and Tables

Figure 1	Body weights changes of males
Figure 2	Food consumption of males
Figure 3	Body weights changes of females
Figure 4	Food consumption of females
Table 1、2	Clinical signs of males
Table 3	Body weights of males
Table 4	Food consumption of males
Table 5~8	Urinalysis of males
Table 9、10	Hematological examination of males
Table 11~14	Blood chemical examination of males
Table 15	Gross pathological findings of males
Table 16~18	Absolute organ weights of males
Table 19~21	Relative organ weights of males
Table 22~26	Histopathological findings of males
Table 27	Clinical signs of females
Table 28、29	Clinical signs of dams

Table 3 0	Body weights of females
Table 3 1	Body weights of dams
Table 3 2	Food consumption of females
Table 3 3	Food consumption of dams
Table 3 4	Gross pathological findings of dams
Table 3 5、3 6	Absolute organ weights of dams
Table 3 7、3 8	Relative organ weights of dams
Table 3 9、4 0	Histopathological findings of females
Table 4 1	Estrous cycle
Table 4 2	Reproductive performance of males and females
Table 4 3	Findings of delivery on dams
Table 4 4	Findings of pups
Table 4 5	Body weights of pups
Table 4 6	Gross pathological findings of pups

要 約

OECDによる既存化学物質の安全性点検に係る毒性調査事業の一環として、2-（ジエチルアミノ）エチル=メタクリレートのラットを用いた経口投与による反復投与毒性および生殖発生毒性併合試験を行った。すなわち、2-（ジエチルアミノ）エチル=メタクリレートの0（オリーブ油）、50、150および500mg/kgの用量をSprague-Dawley系ラット（Crj:CD）に、雄は交配開始14日前から交配期間を経て剖検前日までの計49日間、雌は交配開始14日前から交配期間、交尾成立後の妊娠期間および分娩を経て哺育3日までの計41～54日間経口投与し、反復投与による雌雄動物における一般毒学的な影響を検索するとともに、性腺機能、交尾行動、受胎および分娩・哺育などの生殖能力、次世代の発生および発育に及ぼす影響について検索した。

1. 反復投与毒性

1. 雄（P）に及ぼす影響

500mg/kg投与群において、血液学検査でヘモグロビン量、平均赤血球容積、平均赤血球色素量および平均赤血球色素濃度の低値、血液化学検査において血清不飽和鉄結合能および血清総鉄結合能の高値、これに関連すると考えられる蛋白分画における α_2 -グロブリン分画比率の低値と β -グロブリン分画比率の高値が認められた。また、尿素窒素の高値が認められ、器官重量において、腎臓の絶対および相対重量の高値が認められた。一般状態、体重、摂餌量、尿検査、剖検および病理組織学検査には被験物質投与の影響は認められなかった。

150mg/kg投与群において、血液化学検査で尿素窒素の高値、器官重量で腎臓の相対重量に高値が認められた。一般状態、体重、摂餌量、尿検査、血液学検査、剖検および病理組織学検査には被験物質投与の影響は認められなかった。

50mg/kg投与群においては、一般状態、体重、摂餌量、尿検査、血液学検査、血液化学検査および病理学検査のいずれにも被験物質投与の影響は認められなかった。

2. 雌（P）に及ぼす影響

50、150 および 500mg/kg投与群においては、一般状態、体重、摂餌量および病理学検査のいずれにも被験物質投与の影響は認められなかった。

以上の如く、本試験条件下における一般毒性学的な無影響量は雄で50mg/kg/day、雌で500mg/kg/dayと推定される。

II. 生殖発生毒性

1. 親動物（P）の生殖発生毒性に及ぼす影響

500mg/kg投与群において、出生児数の低値傾向と分娩率の低値が認められた。しかし、雌の性周期および発情期像発現回数、雌雄の交尾までに要した日数、交尾率および受胎率、雌の妊娠期間、出産率、分娩および哺育状態、さらには黄体数、着床痕数および着床率のいずれにも被験物質投与の影響は認められなかった。

2. 新生児（F₁）に及ぼす影響

500mg/kg投与群においても、死産児数および出生率、性比に被験物質投与の影響は認められず、被験物質投与によると考えられる外表異常児もみられなかった。また、生後4日における生存率および体重に被験物質投与の影響は認められず、剖検においても異常は認められなかった。

以上の如く、本試験条件下における親動物の生殖発生毒性的な無影響量は雄で500mg/kg/day、雌で150mg/kg/day、新生児で500mg/kg/dayと推定される。

緒 言

2-（ジエチルアミノ）エチル=メタクリレートは、紙力増強剤、染料助剤、イオン交換樹脂および帯電防止剤の原料として広く使用されている。

本試験は、OECDによる既存化学物質の安全性点検に係る毒性調査事業の一環として、厚生省生活衛生局の依頼により、本化学物質がヒトに継続的に摂取された場合の健康への影響を推定するために、OECD Guideline for testing of Chemicals, Combined Repeat Dose and Reproductive/Developmental Toxicity Screening Test に従って実施した。すなわち、2-（ジエチルアミノ）エチル=メタクリレートを雌雄ラットに1日1回、雄には交配開始14日前から交配期間を経て剖検前日までの計49日間、雌には交配開始14日前から交配期間、交尾成立後の妊娠期間および分娩を経て哺育3日までの計41～54日間経口投与し、反復投与による雌雄動物における一般毒性学的な影響を検索するとともに、性腺機能、交尾行動、受胎および分娩・哺育などの生殖能力、次世代の発生および発育に及ぼす影響について検索した。

なお、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ついて（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号厚生省生活衛生局長、59基局第85号通商産業省基礎産業局長連名通知）一部改正（昭和63年11月18日環企研第233号、衛生38、63基局823）」に定める「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」に基づいて実施した。本試験実施に先立ち文献調査したが、本試験の結果に関連した文献は見い出せなかった。

試験材料および方法

1. 被験物質および媒体

1) 被験物質

被験物質である 2 - (ジエチルアミノ) エチル=メタクリレートは

より提供された。被験物質の情報を以下に示した。

製 造 者 :

名 称 : 2 - (ジエチルアミノ) エチル=メタクリレート
(2-(Diethylamino)ethyl methacrylate)

CAS 番号 : 105-16-8

構造式または示性式: $\text{CH}_2 = \text{C} - \text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{NC}_2\text{H}_5$



ロット番号 :

純 度 : 99.8%

性 状 : 無色液体アミン臭

分 子 量 : 185.27

比 重 : 0.92 (20°C)

融 点 : -60°C 以下

沸 点 : 93.5°C (10mmHg)

保 存 方 法 : 冷暗所保存

なお、被験物質約 5 g を保管試料として株式会社ボゾリサーチセンター御殿場研究所被験物質保管室に保管し、動物試験終了後に残余の被験物質は製造元の三菱ガス化学株式会社より指定された日本ユピカ株式会社に送付し、分析を依頼した。その結果、品質に問題がないことが確認された (Attached Data 1)。

2) 媒 体

媒 体 名 : オリーブ油 (日本薬局方、丸石製薬工場)

ロット番号 : 6925、6Y14

保 存 方 法 : 室温保存

3) 被験液の調製および濃度確認

各投与群ごとに被験物質の必要量を秤取し、オリーブ油に溶解して必要濃度に調製した。なお、被験物質は純度換算せず、原体重量で表示した。本被験物質の1~20%のオリーブ油溶解液は、室温24時間後および冷蔵(4℃)8日間保存後更に室温24時間保存後において安定であることが確認されている(Attached data 2)ことから、調製は1週間に1回以上の頻度で行った。調製後の被験液は、1日分ずつ褐色ガラス瓶に分注し、冷蔵、暗所保存した。なお、対照群の投与液(オリーブ油)も同様に保存した。

被験液の濃度確認は雌雄の投与開始前および雄の投与最終週の2回、投与に使用した各濃度液についてHPLC法により株式会社ボゾリサーチセンターで実施した結果、いずれも表示値に対する割合は95~101%の範囲であり、濃度は適切であった(Attached data 3、4)。

2. 試験動物

Sprague-Dawley系SPFラット〔Crj:CD(SD)、日本チャールス・リバー株式会社〕の雌雄各62匹(注文匹数:各60匹)を7週齢で入手し、1週間検疫・馴化飼育した後、雄は一般状態に異常がなく、体重増加が良好な動物48匹を選び8週齢で投与を開始した。雌は全動物の膣スミアを採取して性周期を観察し、性周期に異常がなく、体重増加が良好で一般状態に異常が認められない動物48匹を選び8週齢で投与を開始した。なお、投与開始時の体重範囲は雄で305~327g、雌で201~225gであった。

3. 飼育条件

動物は、検疫・馴化および動物試験期間を通して温度19.5~25.5℃、相対湿度41~66%、換気回数1時間10~15回、照明1日12時間(午前7時~午後7時)の飼育室(1997年2月10日~14日:909号室、1997年2月14日~4月12日:913号室)で飼育した。

動物は、交配期間および妊娠17日から哺育4日までの期間を除き、金属製網ケージ〔1997年2月10日~14日は909号室(W410×D350×H170mm:リードエンジニアリング株式会社;仕切り板で2つに区切りそれぞれ個別に収容)、1997年2月14日~4月12日は913号室(W254×D350×H170mm:リードエンジニアリング株式会社;個別に収容)〕に個別飼育した。交配期間中は夕方から翌朝までの間は金属製網ケージ(W254×D350×H170mm:リードエンジニアリング株式会社)に雌雄各1匹

の計2匹を収容した。雌については妊娠17日から哺育4日までの間は、木屑（ホワイトフレック：日本チャールス・リバー株式会社）を入れたプラスチック製エコンケージ（W340 × D400 × H185 mm：日本クレア株式会社）で個別飼育した。いずれも固型飼料（放射線滅菌飼料NMF：オリエンタル酵母工業株式会社）および飲料水（御殿場市営水道水：自動給水装置使用）を自由に摂取させた。なお、プラスチック製エコンケージによる飼育期間中の給水は、給水瓶を用いて行った。

飼料および床敷中の汚染物質の分析は、財団法人日本食品分析センターで実施した分析データを、飲料水の分析は、水道法に準拠した水質の分析を財団法人静岡県生活科学検査センターに定期的（年4回）に依頼し、得られたデータをそれぞれ入手し、本試験の成績に影響のないことを確認し、保管した。

4. 個体識別およびケージへの表示

動物は、検疫・馴化期間中に耳標をつけて個体識別を行った。また、飼育ケージには投与量ごとに色分けしたケージラベルをつけ、試験番号、投与経路、投与量、性、動物番号および耳標番号を明記した。

5. 投与量、群構成および動物数

群構成は、被験物質投与群に対照群を加え4群構成とし、1群の動物数は雌雄各12匹とした。群分けは、群分け当日の体重、検疫・馴化期間中の一般状態、増体重、性周期の観察結果により動物を選択した後、当日の体重で層別化し、各群の平均体重ができるだけ均一となるようコンピュータを用いたブロック配置法および無作為抽出法の組合せ（ブロック配置法で必要な群を構成し、投与量および群内の個体番号を無作為に割り当てる）により実施した。群分けは投与開始日に行った。群分け後の余剰動物はエーテル深麻酔により安楽死させた。投与量および群構成表を下表に示す。

群	投与量 (mg/kg)	投与液 濃度(%)	雄		雌	
			動物数	動物番号	動物数	動物番号
対 照 群	0	0	12	1001~1012	12	1101~1112
低用量群	50	1	12	2001~2012	12	2101~2112
中用量群	150	3	12	3001~3012	12	3101~3112
高用量群	500	10	12	4001~4012	12	4101~4112

6. 投与量とその設定根拠

投与量は、ラットを用いた2週間経口投与予備試験（株式会社ボゾリサーチセンター、試験番号：U-1236、投与量：0、100、300 および1000mg/kg）の結果を参考に決定した。すなわち、1000mg/kg投与群の雌雄において、ヘモグロビン量の有意な低値または低値傾向、GOT、BUNおよび肝臓重量（絶対、相対）の有意な高値、さらに雌で総蛋白質および腎臓重量（絶対、相対）の有意な高値が認められた。300mg/kg投与群においては雄の肝臓重量（絶対、相対）に有意な高値が認められた。これらの結果から、本試験の高用量は、1000mg/kgと300mg/kgの等比中項に近似であり、毒性徴候は示すものの死亡や重篤な苦痛を示さないと推定される500mg/kgとし、以下公比約3で減じて150mg/kgを中用量に、50mg/kgを低用量に設定した。

7. 投与経路、投与方法および投与期間

2-（ジエチルアミノ）エチル=メタクリレートは、継続して経口的に人に摂取される可能性が考えられること、また、OECD Guideline for testing of Chemicals、Combined Repeat Dose and Reproductive/Developmental Toxicity Screening Testに従い経口投与を選択した。投与期間は、上記のガイドラインに従って、雄は交配前14日間およびその後剖検前日までの49日間、雌では交配前14日間、交配期間（最長14日間）、妊娠期間および哺育3日（剖検前日）までの41～54日間とし、1日1回、09：00～15：00の間に金属製胃ゾンデを用いて強制経口投与した。対照群には媒体（オリーブ油）のみを同様に投与した。投与容量は0.5ml/100g体重とし、個体毎の投与液量は、雄は各測定日の体重を、雌については交配前および交配期間中は各測定日の体重、妊娠期間中は妊娠0日、7日、14日および21日の体重、授乳期間中は哺育0日の体重を基準に算出した。

8. 観察、測定、検査の方法および頻度

1) 雄（P）

(1) 一般状態の観察

一般状態の観察は毎日、投与前、投与直後および投与2時間後の1日3回、中毒症状および行動異常の有無を観察した。但し、休日の観察は投与前および投与直後の2回とし、剖検日は剖検前1回とした。

(2) 体重測定

体重は、投与開始日（投与1日の投与前）、投与4日、8日、11日、15日、22日、29日、36日、43日、49日および剖検日（投与開始後50日）の08:00~12:30の間に測定した。

(3) 摂餌量測定

摂餌量は、交配期間と剖検日を除く、体重測定と同じ日の08:00~12:30の間に摂餌残量を測定し、前日の給餌量との差から1日摂餌量を算出した。

(4) 尿検査

投与7週目（投与45および46日）に検査を行った。

検査当日の投与後に、全動物を代謝ケージに個別に収容し、絶食・自由摂水下で4時間尿を採取した。次いで、自由摂食・自由摂水下でその後の20時間尿を採取した。検査項目は次の通りである。なお、採取した最初の4時間尿についてpH以下沈渣までの検査と尿量（4時間尿量）を、その後に得られた20時間尿を用いて尿比重、尿量（20時間尿量）および電解質の測定を行い、24時間の尿量は4時間尿量および20時間尿量を合計して算出した。また、電解質は測定濃度および24時間尿量から1日総排泄量を算出した。摂水量は、代謝ケージに収容した状態で前日からの1日摂取量を給水瓶を用いて測定した。

検査項目測定方法

pH	URIFLET 7A試験紙〔(株)京都第一科学〕 ^{a)}
蛋白質	URIFLET 7A試験紙〔(株)京都第一科学〕 ^{a)}
ケトン体	URIFLET 7A試験紙〔(株)京都第一科学〕 ^{a)}
ブドウ糖	URIFLET 7A試験紙〔(株)京都第一科学〕 ^{a)}
潜血	URIFLET 7A試験紙〔(株)京都第一科学〕 ^{a)}
ビリルビン	URIFLET 7A試験紙〔(株)京都第一科学〕 ^{a)}
ウロビリノーゲン	URIFLET 7A試験紙〔(株)京都第一科学〕 ^{a)}
色調	肉眼観察
沈渣	鏡検法
尿量（24時間量）	容量測定
比重（S. G.）	屈折法 ^{b)}
ナトリウム（Na）	イオン選択電極法 ^{c)}

検査項目	測定方法
カリウム (K)	イオン選択電極法 ^{c)}
塩素 (Cl)	電量滴定法 ^{c)}
摂水量	重量法

使用測定機器

- a) : mini AUTION ANALYZER MA-4210 (株式会社京都第一科学)
 b) : アタゴ屈折法 (株式会社アタゴ)
 c) : 全自動電解質分析装置 PVA-αII
 (株式会社アナリティカルインスツルメンツ)

(5) 血液学検査

投与期間終了翌日の屠殺剖検時に前日より一夜 (約16時間) 絶食させた全生存動物をエーテル麻酔下で開腹し、腹大動脈から採血した。

①腹大動脈から抗凝固剤 (EDTA-2K) を加えた採血ビン (SB-41 : 東亜医用電子株式会社) に採取した血液を用いて以下の測定を行った。

検査項目	測定方法
赤血球数 (RBC)	電気抵抗変化検出法 ^{d)}
ヘモグロビン量 (Hb)	シアンメトヘモグロビン法 ^{d)}

ヘマトクリット値 (Ht)

$$\frac{\text{平均赤血球容積} (\mu^3) \times \text{赤血球数} (10^4 / \text{mm}^3)}{10^3} \text{ } ^{d)}$$

平均赤血球容積 (MCV) 電気抵抗変化検出法^{d)}

平均赤血球血色素量 (MCH) $\frac{\text{ヘモグロビン量} (\text{g} / \text{dl}) \times 10^{d)}}{\text{赤血球数} (10^6 / \text{mm}^3)}$

検査項目	測定方法
平均赤血球	ヘモグロビン量 (g/dl) $\times 10^2$ ^{d)}
血色素濃度 (MCHC)	ヘマトクリット値 (%)
網赤血球率	Brecher法
血小板数	電気抵抗変化検出法 ^{d)}
白血球数 (WBC)	電気抵抗変化検出法 ^{d)}
白血球百分率	May-Giemsa 染色による鏡検法

②採取した血液を3.8 %クエン酸ナトリウムを加えた試験管にとり、遠心分離 (3000 rpm、10分間) 後、得られた血漿を用いて以下の測定を行った。

検査項目	測定方法
プロトロンビン時間 (PT)	クロット法 ^{e)}
活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)	クロット法 ^{e)}
フィブリノーゲン量	トロンボプラスチン法 ^{e)}

使用測定機器

d) コールター全自動8項目血球アナライザー T890 (株式会社日科機)

e) 血液凝固自動測定装置 ACL100 (Instrumentation Laboratory)

(6) 血液化学検査

血液学検査のための採血と同時に腹大動脈から採取した血液を用いて、以下の検査を行った。

①採取した血液を試験管にとり遠心分離 (3000 rpm、10分間) し、得られた血清を用いて以下の測定を行った。

検査項目	測定方法
ALP	Bessey-Lowry法 ^{f)}
総コレステロール (T.cho)	CEH-COD-POD法 ^{f)}
トリグリセライド (TG)	GK-GPO-POD法 ^{f)}

検査項目	測定方法
リン脂質 (PL)	PLD-ChOD-POD法 ⁽¹⁾
鉄 (Fe)	クロマズロールB法 ⁽¹⁾
総鉄結合能 (TIBC)	クロマズロールB法 ⁽¹⁾
不飽和鉄結合能 (UIBC)	鉄および総鉄結合能から算出
総ビリルビン (T. bilirubin)	アゾビリルビン法 ⁽¹⁾
血糖	Hexokinase - G6PD法 ⁽¹⁾
尿素窒素 (BUN)	Urease - GLDH法 ⁽¹⁾
クレアチニン	Jaffe法 ⁽¹⁾
ナトリウム (Na)	イオン選択電極法 ⁽¹⁾
カリウム (K)	イオン選択電極法 ⁽¹⁾
塩素 (Cl)	イオン選択電極法 ⁽¹⁾
カルシウム (Ca)	OCP法 ⁽¹⁾
無機リン (P)	モリブデン酸法 ⁽¹⁾
総蛋白質 (TP)	Biuret法 ⁽¹⁾
A/G比	蛋白質分画比率から算出
蛋白質分画	セルロースアセテート膜による電気泳動法 ⁽²⁾

②腹大動脈からヘパリンを加えた容器に採取した血液を用いて以下の測定を行った。

検査項目	測定方法
全血コリンエステラーゼ	DTNB法 ⁽¹⁾

③腹大動脈からヘパリンを加えた容器に採取した血液を遠心分離 (3000rpm、10分間) し、得られた血漿を用いて以下の測定を行った。

検査項目	測定方法
GOT	UV-rate法 ⁽¹⁾
GPT	UV-rate法 ⁽¹⁾
LDH	UV-rate法 ⁽¹⁾
γ -GTP	γ -グルタミル-3-カルボキシ-4-ニトロアニリド法 ⁽¹⁾
血漿コリンエステラーゼ	DTNB法 ⁽¹⁾

検査項目測定方法

赤血球コリンエステラーゼ

全血および血漿コリンエステラーゼの値より算出

使用測定機器

f) 全自動分析装置 Monarch (Instrumentation Laboratory)

g) 全自動電気泳動装置 CLINISCAN SA-V

(株式会社ヘレナ研究所)

(7) 剖検

全生存動物を最終投与の翌日（投与開始後50日）に体重を測定した後、エーテル麻酔下で採血し、剖検した。さらに、脳、坐骨神経、心臓、気管支を含む肺、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、肝臓、脾臓、下垂体、上皮小体を含む甲状腺、副腎、胸腺、脾臓、腸間膜リンパ節、頸部リンパ節、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、精囊、前立腺、乳腺、皮膚、胸骨と大腿骨を含む骨髄および肉眼的異常部位を採取し、精巣および精巣上体はブアン液に、その他の器官および組織はリン酸緩衝液（1/15M、pH 7.1~7.4）で調製した10%ホルマリン液に固定した。また、死亡動物（対照群：1004）についても生存動物と同様に処置した。

(8) 器官重量測定

器官重量は、脳、心臓、気管支を含む肺、胸腺、肝臓、腎臓、下垂体、上皮小体を含む甲状腺、副腎、脾臓、精巣、精巣上体、精囊および前立腺について測定し、最終体重から相対器官重量を算出した。

(9) 病理組織学的検査

全動物について、剖検時に採取した器官・組織をパラフィン包埋した。対照群と高用量群の全動物および剖検時の肉眼的異常部位について切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色を行い鏡検した。

2) 雌 (P)

(1) 一般状態の観察

一般状態の観察は毎日、投与前、投与直後および投与2時間後の1日3回、中毒症状および行動異常の有無を観察した。但し、休日の観察は投与前および投与直後の2回とし、剖検日は剖検前1回とした。

(2) 性周期の観察

性周期の観察は、投与開始翌日から交尾が確認されるまで毎日膣スメアを採取し、鏡検した。交配前の投与期間中は膣スメア像を発情前期、発情期、発情後期および発情休止期に分類し、発情期像発現回数および発情期から次の発情期までの日数（性周期）を調べた。なお、交配期間中は膣スメア内の精子の有無を調べた。

(3) 体重測定

体重は、投与開始日（投与1日の投与前）、投与4日、8日、11日および15日、交配期間中は投与22日、妊娠期間中は妊娠0日、7日、14日および21日、哺育期間中は哺育0日および4日の08:00~12:30の間に測定した。

(4) 摂餌量測定

摂餌量は、交配前は体重測定と同じ日、妊娠期間中は妊娠1日、7日、14日および21日、哺育期間中は哺育1日および4日の08:00~12:30の間に摂餌残量を測定し、前日の給餌量との差から1日摂取量を算出した。

(5) 分娩および哺育観察

母動物は自然分娩させ、分娩異常の有無を観察した。分娩終了の確認は妊娠21日から妊娠24日まで毎日午前、午後の2回、妊娠25日は午前の1回行い、分娩が10:30までに終了していた場合、その日を哺育0日とした。午後に分娩した場合は、翌日を哺育0日とした。交尾確認後25日の10:30までに分娩がみられなかった50mg/kg投与群の2例（No. 2101、2107）、150mg/kg投与群の1例（No. 3104）および500mg/kg投与群の2例（No. 4107、4110）については、エーテル麻酔下で放血致死させた後に剖検し、妊娠の成否を確認したところ、子宮内に着床が認められなかったため、不妊と判断した。

分娩終了が確認された母動物については出生児を哺育させ、巣作り、児集め、授乳の有無を指標として哺育状態の観察を哺育4日まで毎日行った。また、対照群の1例（No. 1111）については、分娩後3日に哺育児全例が死亡したため、その時点でエーテル麻酔下で放血致死させた後剖検を行い、子宮および卵巣をリン酸緩衝液（1/15 M、pH 7.1~7.4）で調製した10%ホルマリン液に固定し、保存した。

(6) 剖検

哺育4日に母動物全例をエーテル麻酔下で放血致死させた後に剖検し、黄体数および着床痕数を数えた。さらに、脳、坐骨神経、心臓、気管支を含む肺、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、肝臓、脾臓、下垂体、上皮小体を含む甲状腺、副腎、

胸腺、脾臓、腸間膜リンパ節、頸部リンパ節、腎臓、膀胱、卵巣、子宮、膣、乳腺、皮膚、胸骨および大腿骨を含む骨髄を採取し、リン酸緩衝液（1/15M、pH 7.1～7.4）で調製した10%ホルマリン液に固定した。また、不妊動物についても同様に処置した。

(7) 器官重量測定

器官重量は、脳、心臓、気管支を含む肺、胸腺、肝臓、腎臓、下垂体、上皮小体を含む甲状腺、副腎、脾臓、卵巣および子宮について測定し、最終体重から相対器官重量を算出した。

(8) 病理組織学的検査

全動物について、剖検時に摘出した器官・組織をパラフィン包埋した。対照群と高用量群の全動物について切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色を行い鏡検した。

3) 親動物（P）の交配

交配前に14日間にわたって投与した後、同一群内の雌雄を1対1の組み合わせで、終夜同居させた。同居期間は最長14日間として、交尾が確認されるまでとした。交尾の確認は毎朝、膣栓形成あるいは膣垢中の精子の有無により行い、これらが確認された雌を交尾動物として、その日を妊娠0日とした。

4) 新生児（F₁）

(1) 出生児の観察

哺育0日に生存児数、死産児数を数え、外表異常の有無を観察した。外表異常児はリン酸緩衝液（1/15M、pH 7.1～7.4）で調製した10%ホルマリン液に固定し、保存した。生存児は性別を判定し、体重を測定した後に全例を母動物に哺育させた。また、死産児は喰損の著しいものを除いてリン酸緩衝液（1/15M、pH 7.1～7.4）で調製した10%ホルマリン液に固定し、保存した。

(2) 哺育児の観察および測定

哺育児については、生死の観察を毎日1回行った。体重は、哺育0日（出生日）および4日に測定した。哺育4日に全哺育児をエーテル麻酔下で放血致死させた後、剖検した。

9. 統計学的方法

統計学的方法は次の検定法を用いて行い、有意水準は5および1%とした。なお、児は

一腹の平均を一単位とした。

1) 多重検定

Bartlett法により各群の分散の均一性の検定を行った。その結果、分散が均一の場合には一元配置法による分散分析を行い、群間に有意差が認められた場合、Dunnett法を用いて対照群と各投与群との一対比較検定を行った。分散が均一でない場合には、Kruskal-Wallisの順位検定を行い、有意であれば対照群と各投与群との平均順位の差について、Dunnett型の検定を行った。

体重、摂餌量、尿検査の定量的項目、発情期像発現回数、性周期、同居日数、妊娠期間、血液学検査値、血液化学検査値、器官重量、黄体数、着床痕数、出生児数、着床率、性比、分娩率、出生率、新生児生存率

2) χ^2 検定

交尾率、受胎率、出産率

3) Mann-WhitneyのU検定、Fisherの直接確率法の検定

病理組織学的検査における所見の発現頻度および程度の増強についてMann-WhitneyのU検定を行った。ただし、脾臓の腺房における限局性好塩基性化および肺の骨化生については、Fisherの直接確率法検定を行った。

4) 各種データの算出式

$$\text{交尾率 (\%)} = (\text{交尾確認動物数} / \text{交配動物数}) \times 100$$

$$\text{受胎率 (\%)} = (\text{妊娠動物数} / \text{交尾確認動物数}) \times 100$$

$$\text{出産率 (\%)} = (\text{生児出産母動物数} / \text{妊娠母動物数}) \times 100$$

$$\text{妊娠期間 (日)} = \text{哺育0日 (分娩確認日)} - \text{妊娠0日}$$

$$\text{性比} = \text{雄} / (\text{雄} + \text{雌})$$

$$\text{新生児生存率 (\%)} = (\text{哺育4日の生存児数} / \text{哺育0日の生児数}) \times 100$$

$$\text{分娩率 (\%)} = (\text{総出産児数} / \text{着床痕数}) \times 100$$

$$\text{出生率 (\%)} = (\text{哺育0日の生存児数} / \text{総出産児数}) \times 100$$

$$\text{着床率 (\%)} = (\text{着床痕数} / \text{黄体数}) \times 100$$

$$\text{外表異常率 (\%)} = (\text{外表異常児数} / \text{生存児数}) \times 100$$

試験結果

I. 反復投与毒性

1. 雄 (P) に及ぼす影響

1) 一般状態 (Table 1、2、Appendix 1～8)

被験物質投与に関連した一般状態の変化は認められなかった。

なお、対照群の1例 (No. 1004) が投与50日 (最終投与の翌日：剖検日) に死亡を確認した。本例の死亡前日までの一般状態、体重、摂餌量および尿検査に異常はなく、また、剖検および病理組織学的検査 (Table 15、25、26) にも死因を示唆する変化は認められなかった。

2) 体重 (Figure 1、Table 3、Appendix 9～12)

被験物質投与群の体重は、投与期間を通じて対照群とほぼ同様に推移し、各測定日の体重および投与期間中の体重増加量はいずれも対照群との間に差は認められなかった。

3) 摂餌量 (Figure 2、Table 4、Appendix 13～16)

50mg/kg投与群において投与11日に有意な低値が認められたが、150および500mg/kg投与群では投与期間を通じて対照群とほぼ同様の値を示し、各測定日の摂餌量に対照群との間に差は認められなかった。

4) 尿検査 (Table 5～8、Appendix 17～28)

500mg/kg投与群においてナトリウム、カリウムおよび塩素の1日総排泄量の有意な高値が認められた。150mg/kg以下の投与群ではいずれの検査項目も対照群の間に明らかな差は認められなかった。

5) 血液学検査 (Table 9、10、Appendix 29～36)

500mg/kg投与群においてヘモグロビン量、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量および平均赤血球血色素濃度の有意な低値が認められた。その他、150mg/kg投与群で平均赤血球血色素量の有意な低値、50mg/kg投与群で平均赤血球容積および平均赤血球血色素量の有意な低値が認められたが、他の赤血球系パラメーターは対照群とほぼ同様の値を示した。その他の測定項目には何ら異常はみられなかった。

6) 血液化学検査 (Table 11~14、Appendix 37~52)

50mg/kg投与群において α_2 -グロブリン分画比率の有意な低値、150mg/kg投与群で尿素窒素の有意な高値および α_2 -グロブリン分画比率の有意な低値、500mg/kg投与群では150mg/kg投与群の変化がさらに増強してみられた他、GOT活性の有意な高値、血清総鉄結合能、血清不飽和鉄結合能および β -グロブリン分画比率の有意な高値が認められた。

その他、150mg/kg投与群でA/G比およびアルブミン分画比率の有意な高値が認められたが、500mg/kg投与群に同変化はみられなかった。

7) 剖検所見 (Table 15、Appendix 53~56)

腺胃の暗赤色点が対照群の3例 (No. 1001、1007、1010)、50mg/kg投与群の2例 (No. 2010、2011)、150mg/kg投与群の1例 (No. 3003) および 500mg/kg投与群の1例 (No. 4001) においてみられた。

精巣の軟化 (片側性) および精巣上体の小型化 (片側性) が対照群の1例 (No. 1006) においてみられた。

8) 器官重量 (Table 16~21、Appendix 57~80)

両側性の器官については左右の合計値で評価した。

500mg/kg投与群において肝臓の絶対重量の高値傾向と相対重量の有意な高値、腎臓の絶対および相対重量の有意な高値、150mg/kg投与群で腎臓の相対重量の有意な高値が認められた。その他、50mg/kg投与群で腎臓の絶対重量の有意な高値が認められた。

9) 病理組織学的検査 (Table 22~26、Appendix 81~84)

対照群および 500mg/kg投与群の生存動物、50および 150mg/kg投与群の肉眼的異常部位ならびに対照群の死亡動物について検査した。

対照群および 500mg/kg投与群の生存動物について検査した結果、以下に示す器官に種々の所見がみられた。所見の病理組織学的特徴および投与量の増加に伴う発現頻度の増加と程度の増強が認められないことから、すべて被験物質投与との関係はないものと判断した。

心臓：ごく軽度の心筋の変性/線維化が対照群の2例 (No. 1002、1012) と 500mg/kg投与群の1例 (No. 4006) にみられた。

肺：ごく軽度または軽度の肺胞内における泡沫細胞集簇が対照群および 500mg/kg投与群の各3例 (No. 1002、1003、1010、4010、4011、4012) に、

また、骨化生が対照群の1例（No. 1005）にみられた。

胃：ごく軽度または軽度の腺胃のびらんが対照群の3例（No. 1001、1007、1010）と500mg/kg投与群の1例（No. 4001）にみられた。なお、これら所見はいずれも肉眼的に腺胃の暗赤色点として観察されていた。

肝臓：ごく軽度の限局性壊死が500mg/kg投与群の1例（No. 4004）に、また、ごく軽度の小肉芽腫が対照群の1例（No. 1001）と500mg/kg投与群の3例（No. 4001、4003、4006）にみられた。

脾臓：腺房の限局性好塩基性化が500mg/kg投与群の1例（No. 4005）にみられた。

脾臓：ごく軽度の髓外造血および赤脾髄における褐色色素沈着が対照群および500mg/kg投与群の全例にみられた。

腎臓：ごく軽度の尿細管の好塩基性化が対照群および500mg/kg投与群の各5例（No. 1001、1005、1009、1011、1012、4005、4008、4009、4010、4011）に、ごく軽度の間質細胞浸潤が対照群の1例（No. 1007）に、ごく軽度または軽度の尿細管上皮に好酸性小体沈着が対照群および500mg/kg投与群の各3例（No. 1005、1007、1008、4009、4010、4011）に、ごく軽度の硝子円柱が500mg/kg投与群の1例（No. 4011）に、軽度の腎乳頭の限局性線維化が500mg/kg投与群の1例（No. 4009）にみられた。

精巣：中等度の精細管萎縮が対照群の1例（No. 1006：肉眼的に軟化として認めた個体）に、ごく軽度の精子停留が500mg/kg投与群の1例（No. 4011）にみられた。

精巣上体：高度の精子減少と中等度の管腔内細胞残屑が対照群の1例（No. 1006：肉眼的に小型化として認めた個体）にみられた。

前立腺：軽度の間質細胞浸潤が対照群の1例（No. 1002）にみられた。

その他の器官・組織には異常はみられなかった。

50および150mg/kg投与群の肉眼的異常部位として観察された腺胃の暗赤色点（50mg/kg投与群：No. 2010、2011、150mg/kg投与群：No. 3003）は、いずれもごく軽度または軽度の腺胃のびらんであった。

投与50日（剖検日）に死亡した対照群の1例（No. 1004）の検査では、脾臓にご

く軽度の髄外造血と赤脾髄の褐色色素沈着、腎臓にごく軽度の尿細管の好塩基性化がみられたのみであり、死因を示唆する変化は認められなかった。

2. 雌 (P) に及ぼす影響

1) 一般状態 (Table 27~29、Appendix 85~96)

死亡動物および一般状態の変化は、交配前および交配期間、妊娠期間ならびに哺育期間を通じてみられなかった。

2) 体重 (Figure 3、Table 30、31、Appendix 97~104)

被験物質投与群における体重は、交配前、妊娠期間および哺育期間を通じて対照群とほぼ同様に推移し、各測定日の体重および各期間の体重増加量はいずれも対照群と各被験物質投与群の間に有意差は認められなかった。

3) 摂餌量 (Figure 4、Table 32、33、Appendix 105~112)

被験物質投与群における摂餌量は、交配前および妊娠期間を通じて対照群とほぼ同様の値を示し、各測定日の摂餌量には対照群と各被験物質投与群の間に有意差は認められなかった。しかし、500mg/kg投与群において分娩後1日に低値傾向、分娩後4日に有意な低値が認められた。

4) 剖検所見 (Table 34、Appendix 113~116)

いずれの動物にも肉眼的な異常は認められなかった。

5) 器官重量 (Table 35~38、Appendix 117~132)

両側性の器官については左右の合計値で評価した。

500mg/kg投与群において肝臓および副腎の絶対重量の低値傾向と相対重量の有意な低値が認められた。150mg/kg以下の投与群では測定したいずれの器官・組織の絶対重量および相対重量にも対照群との間に有意差は認められなかった。

6) 病理組織学的検査 (Table 39、40、Appendix 133~136)

対照群および500mg/kg投与群について検査した。その結果、以下に示す器官に種々の所見がみられた。所見の病理組織学的特徴および投与量の増加に伴う発現頻度の増加と程度の増強が認められないことから、すべて被験物質投与との関係はないものと判断した。

肺 : ごく軽度の肺胞内における泡沫細胞集簇が500mg/kg投与群の1例 (No. 4104) に、また、骨化生が対照群の1例 (No. 1112) にみられた。

脾臓：ごく軽度の腺房の限局性萎縮が対照群および 500mg/kg投与群の各1例 (No. 1110、4101) にみられた。

脾臓：ごく軽度または軽度の髄外造血とごく軽度の赤脾髄の褐色色素沈着が対照群 および 500mg/kg投与群の全例にみられた。

腎臓：ごく軽度の髄質における囊胞が 500mg/kg投与群の1例 (No. 4106) にみられた。

その他の器官・組織には異常はみられなかった。

II. 生殖発生毒性

1. 親動物 (P) に及ぼす影響

1) 性周期 (Table 41、Appendix 137～140)

被験物質投与群における性周期、すなわち発情期像発現回数および発情期から次の発情期までの日数は対照群とほぼ同等であり、対照群と各被験物質投与群の間に有意差は認められなかった。

2) 交尾率および受胎率 (Table 42、Appendix 141～144)

対照群の1組 (No. 1003×No. 1103) が交配開始後14日に交尾したが、他の組合せは同居開始後5日以内に交尾し、各群の交尾率は100%であった。また、交尾までに要した平均日数には対照群と各被験物質投与群の間に有意差は認められなかった。妊娠成立は、50mg/kg投与群の2組 (No. 2001×No. 2101、No. 2007×No. 2107)、150mg/kg投与群の1組 (No. 3004×No. 3104) および 500mg/kg投与群の2組 (No. 4007×No. 4107、No. 4010×No. 4110) を除く組合せにおいて認められ、対照群と被験物質投与群における受胎率に有意差は認められなかった。

3) 新生児出産雌数、妊娠期間、分娩および哺育状態 (Table 43、Appendix 145～148)

50mg/kg投与群の2例 (No. 2101、2107)、150mg/kg投与群の1例 (No. 3104) および 500mg/kg投与群の2例 (No. 4107、4110) は、交尾成立後25日においても分娩が観察されなかったので剖検した結果、不妊であった。対照群の1例 (No. 1111) は妊娠25日に分娩したが、その他の対照群および被験物質投与群では妊娠23日までに分娩終了が確認され、妊娠期間に対照群と各被験物質投与群の間に有意差は認められなかった。また、被験物質投与群に分娩異常は観察されず、出産率は各群ともに100%であった。

哺育状態では、対照群および被験物質投与群のいずれの例においても巣作り、児集めおよび授乳などの哺育行動に異常は認められなかった。しかし、妊娠25日に分娩した対照群の1例（No. 1111：雄児2匹を出産）は分娩後3日に哺育児全例が死亡した。

4) 黄体数、着床痕数、着床率および新生児出産数（Table 43、Appendix 145～148）

被験物質投与群における黄体数、着床痕数および着床率は対照群とほぼ同様の値を示し、対照群と各被験物質投与群の間に有意差は認められなかった。また、死産児は対照群の1母体（No. 1105）に1例、50mg/kg投与群の2母体（No. 2106、2110）に計2例、150mg/kg投与群の1母体（No. 3111）に1例、500mg/kg投与群の1母体（No. 4106）に1例みられたのみで、出生率は対照群と各被験物質投与群の間に有意差は認められなかった。しかし、500mg/kg投与群で出生児数の低値傾向が認められ、分娩率に有意な低値が認められた。

2. 新生児（F₁）に及ぼす影響

1) 性比、外表異常および生存率（Table 44、Appendix 149～152）

性比に対照群と被験物質投与群の間に有意差は認められなかった。新生児の外表観察において、痕跡尾が500mg/kg投与群に1例（No. 4104）認められた。生後4日までの間に死亡した新生児は、対照群の2母体（No. 1107、1111）に計3例、50mg/kg投与群の4母体（No. 2105、2108、2110、2111）に計5例、150mg/kg投与群の6母体（No. 3101、3102、3103、3108、3109、3111）に計6例および500mg/kg投与群の2母体（No. 4104、4105）に計2例みられたが、生後4日における生存率には対照群と各被験物質投与群の間に有意差は認められなかった。

2) 体重（Table 45、Appendix 153～156）

被験物質投与群における出生時および生後4日の体重は、対照群とほぼ同様の値を示し、対照群と各被験物質投与群の間に有意差は認められなかった。

3) 剖検所見（Table 46、Appendix 157～160）

生後4日における剖検において、対照群および被験物質投与群のいずれの例においても異常は認められなかった。

考 察

2-(ジエチルアミノ)エチル=メタクリレートの0(オリーブ油)、50、150および500mg/kgの用量をSprague-Dawley系ラット(Crj:CD)に、雄は交配14日前から交配期間を経て剖検前日までの計49日間、雌は交配14日前から交配期間、交尾成立後の妊娠期間および分娩を経て哺育3日までの計41~54日間経口投与し、反復投与による雌雄動物における一般毒性学的な影響を検索するとともに、性腺機能、交尾行動、受胎および分娩・哺育などの生殖能力、次世代の発生および発育に及ぼす影響について検索した。

雄(P)の一般毒性学的な影響に関して、一般状態、体重および摂餌量に被験物質投与の影響は認められなかった。

尿検査では、500mg/kg投与群でナトリウム、カリウムおよび塩素の1日排泄量の高値が認められた。しかし、摂餌量の増加はなく、副腎および腎臓の病理組織学的検査に被験物質投与の影響はみられず、かつ血中電解質にも異常がないことから、毒性学的な意義はないと考えられた。

血液学検査では、500mg/kg投与群でヘモグロビン量、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量および平均赤血球血色素濃度の低値が認められ、血清不飽和鉄結合能および血清総鉄結合能の高値が認められたことから、骨髓などにおける血色素の合成に被験物質投与の影響が示唆された。しかし、この鉄欠乏性貧血については、網状赤血球の増加はみられず、脾臓および骨髓に組織学的な異常は認められないことから、軽度な変化と考えられた。その他、150mg/kg投与群で平均赤血球血色素量に低値、50mg/kg投与群で平均赤血球容積および平均赤血球血色素量に低値が認められたが、その程度および他の検査結果との関係から特別な毒性学的な意義はないものと判断した。

血液化学検査では、500mg/kg投与群でGOT活性に高値がみられ、器官重量で肝臓の絶対重量に高値傾向と相対重量に高値が認められたが、その他の検査項目には異常は認められず、組織学的にも重量の変動を示唆する変化はみられなかったことから、毒性学的意義はないと判断した。また、150および500mg/kg投与群で尿素窒素がわずかに上昇し、腎臓の器官重量において50mg/kg投与群で絶対重量の高値、150mg/kg投与群で相対重量の高値、500mg/kg投与群で絶対および相対重量の高値が認められたが、膀胱および腎臓に閉塞や糸球体および尿細管に尿の排泄障害を示唆する変化がみられず、組織学的にも重量の変動を示唆する異常が認められなかった。なお、これらの変化のうち、50mg/kg投与

群における腎臓の絶対重量の高値については、用量との関連はなく、血液化学検査に異常がないことから毒性学的意義はないと判断した。さらに、500mg/kg投与群で α_2 -グロブリン分画比率の低値、 β -グロブリン分画比率の高値が認められた。 α_2 -グロブリン分画比率の低値については、肝臓に組織学的な障害がみられないこと、ヘモグロビン量が低値であることからヘモグロビンと結合する α_2 領域のハプトグロビンの低値に起因する変化と推測された。 β -グロブリン分画比率の高値は血清不飽和鉄結合能が増加していることから、血清中の鉄と結合する β 領域のトランスフェリンの増加に起因する変化と推測された。その他、50および150mg/kg投与群でも α_2 -グロブリン分画比率に低値が認められたが、変動幅は少なく、ヘモグロビン量および β -グロブリン分画比率にも異常がないことから毒性学的な意義はないものと判断した。

剖検および病理組織学的検査では、被験物質投与の影響は認められなかった。なお、類似物質である2-(ジメチルアミノ)エチルメタクリレートの1000mg/kg投与群の雌雄では、投与後期に攣縮、挙尾などの行動異常がみられ、組織学検査で橋の赤核脊髄路領域と背側後脊髄小脳路で神経線維の変性が左右対称性に認められた¹⁾。また、2-エチルヘキシルメタクリレートの1000mg/kg投与群の雌で歩行異常がみられ、組織学検査で延髄の軟化果が認められた²⁾と報告している。しかし、ブチルメタクリレートの1000mg/kg投与群では神経系への影響は認められなかった³⁾。本物質の500mg/kg投与群では、行動異常はみられず、脳、脊髄および坐骨神経の組織標本を再検しても神経系への影響は認められなかった。

雌(P)の一般毒性学的な影響に関しては、一般状態および体重に被験物質投与の影響は認められなかった。

摂餌量では、500mg/kg投与群で分娩後1日に低値傾向、分娩後4日に低値が認められたが、哺育期間中のみの変化であり、かつ体重に変化がないことから毒性学的な意義はないものと判断した。

剖検では、被験物質投与の影響は認められなかった。

器官重量では、500mg/kg投与群で肝臓および副腎の絶対重量の低値傾向と相対重量の低値が認められた。しかし、肝臓重量の低値については雄と逆の変化であり、副腎重量の低値についても雄に同様の変化はみられないこと、さらに両器官とも組織学的に異常が認められなかったことから、これら器官重量の変化は、毒性学的な意義はないと考えられた。

病理組織学的検査では、被験物質物質投与の影響は認められなかった。

親動物(P)の生殖発生毒性に及ぼす影響に関して、500mg/kg投与群においても雌の

性周期および発情期像発現回数、雌雄の交尾までに要した日数、交尾率および受胎率に及ぼす被験物質投与の影響は認められなかった。また、雄の精巣および精巣上体に組織学的な変化は認められず、精子の発生および発育に対する精巣毒性もないと考えられた。

雌動物では、妊娠期間および分娩に異常は認められず、黄体数、着床痕数、着床率および出産率にも被験物質投与の影響は認められなかった。さらに、分娩後の哺育行動にも異常は認められなかった。しかし、500mg/kg投与群で出生児数の低値傾向がみられ、分娩率に低値が認められた。本変化は着床痕数に異常がみられないことから胚・胎児の胎生期の死亡が示唆された。

新生児(F₁)に及ぼす影響に関して、500mg/kg投与群においても新生児に被験物質投与による外表異常は認められず、性比、死産児数および出生率に被験物質投与の影響は認められなかった。また、生後の体重推移および生後4日の生存率にも被験物質投与の影響は認められず、生後4日の剖検においても異常は認められなかった。したがって、500mg/kgの用量においても次世代の発生および生後の発育に及ぼす影響はないと考えられた。

以上の如く、一般毒性学的な影響に関しては、150mg/kg投与群の雄で尿素窒素の高値および腎臓の相対重量の高値が認められた。500mg/kgの雄で尿素窒素の高値、腎臓の絶対および相対重量の高値が認められた。また、ヘモグロビン量、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量および平均赤血球血色素濃度の低値、血清総鉄結合能および血清不飽和鉄結合能の高値、これに関連すると考えられる α_2 -グロブリン分画比率の低値ならびに β -グロブリン分画比率の高値が認められた。500mg/kg投与群の雌においては、被験物質投与の影響は認められなかった。雌雄親動物の生殖能力に関しては、500mg/kg投与群で出生児数の低値傾向と分娩率の低値が認められた。新生児の発生および生後の発育に関しては、500mg/kg投与群においても被験物質投与の影響は認められなかった。

したがって、本試験条件下における反復投与毒性に関する無影響量は雄で50mg/kg/day、雌で500mg/kg/day、親動物の生殖能力に関する無影響量は雄で500mg/kg/day、雌で150mg/kg/day、新生児の発生および生後の発育に関する無影響量は500mg/kg/dayと推定された。

文 献

- 1) 2- (ジメチルアミノ) エチルメタクリレートのラットを用いた経口投与による反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験；未発表、株式会社三菱化学安全科学研究所試験番号 6L673、1997年
- 2) 2-エチルヘキシルメタクリレートのラットを用いる経口投与による反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験；未発表、株式会社日本バイオリサーチセンター試験番号 090716 、1997年
- 3) ブチルメタクリレートのラットを用いる反復経口投与毒性・生殖発生毒性併合試験；未発表、財団法人畜産生物科学安全研究所試験番号 96-064-2 、1997年

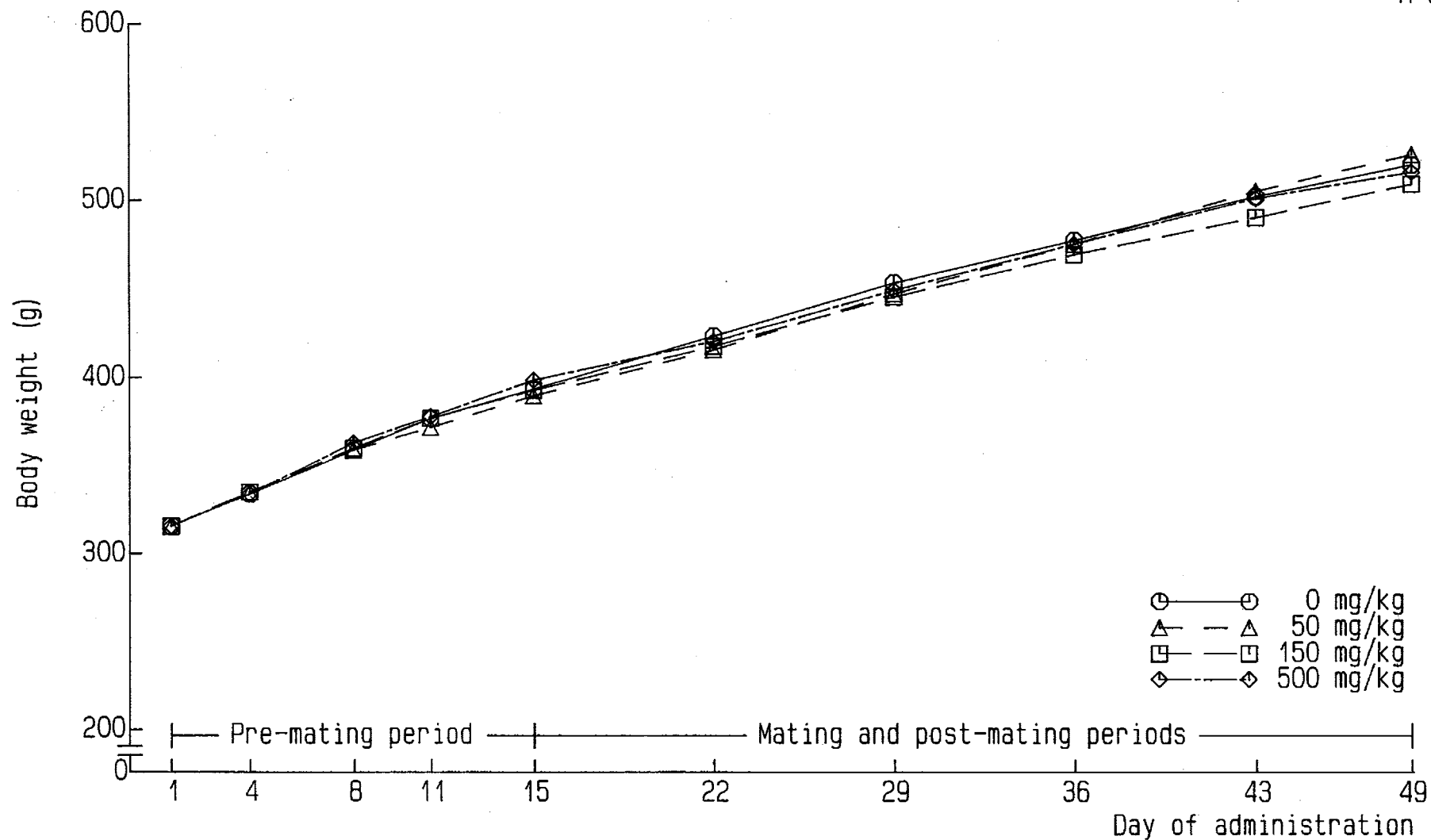


Figure 1 Body weight changes of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

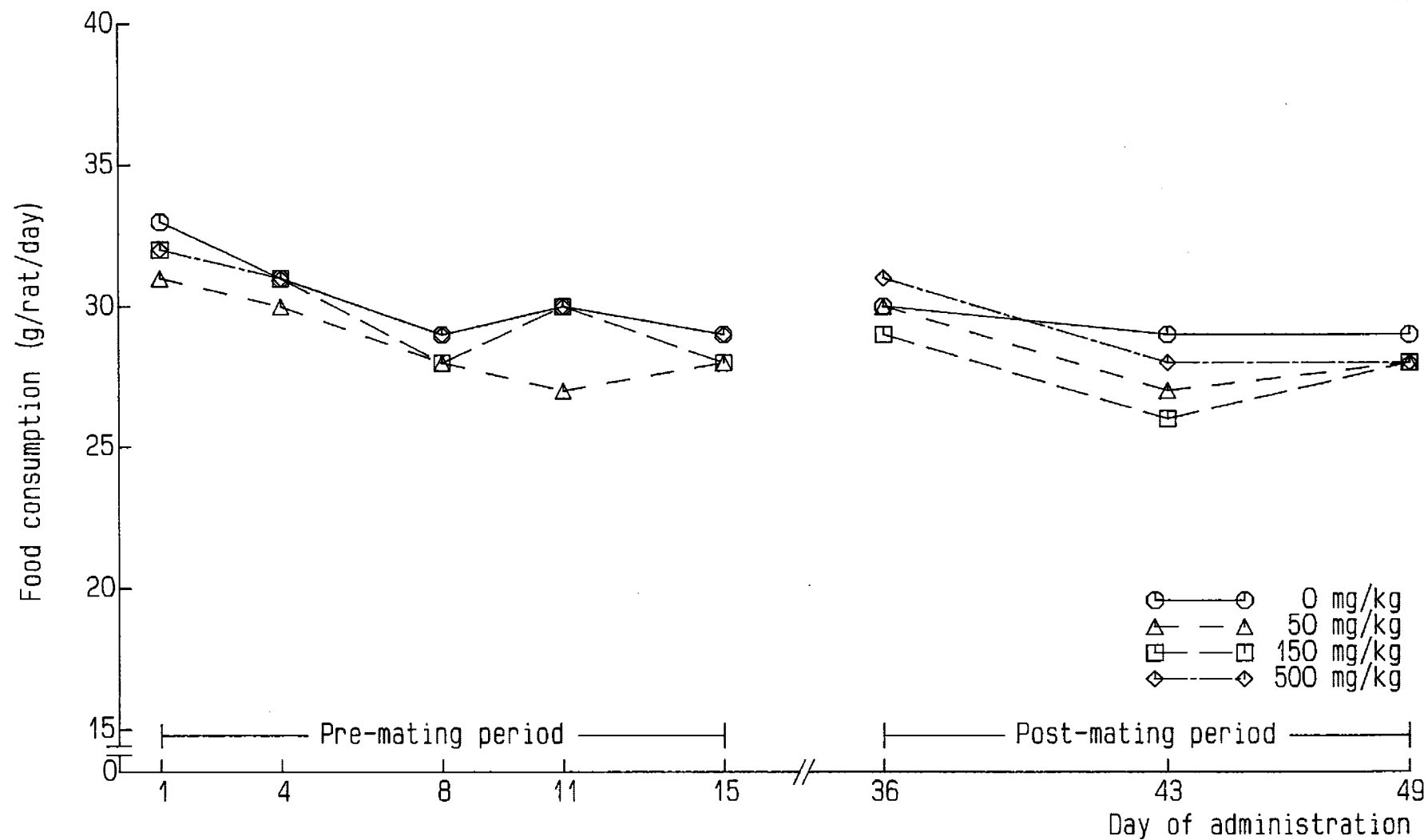


Figure 2 Food consumption of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

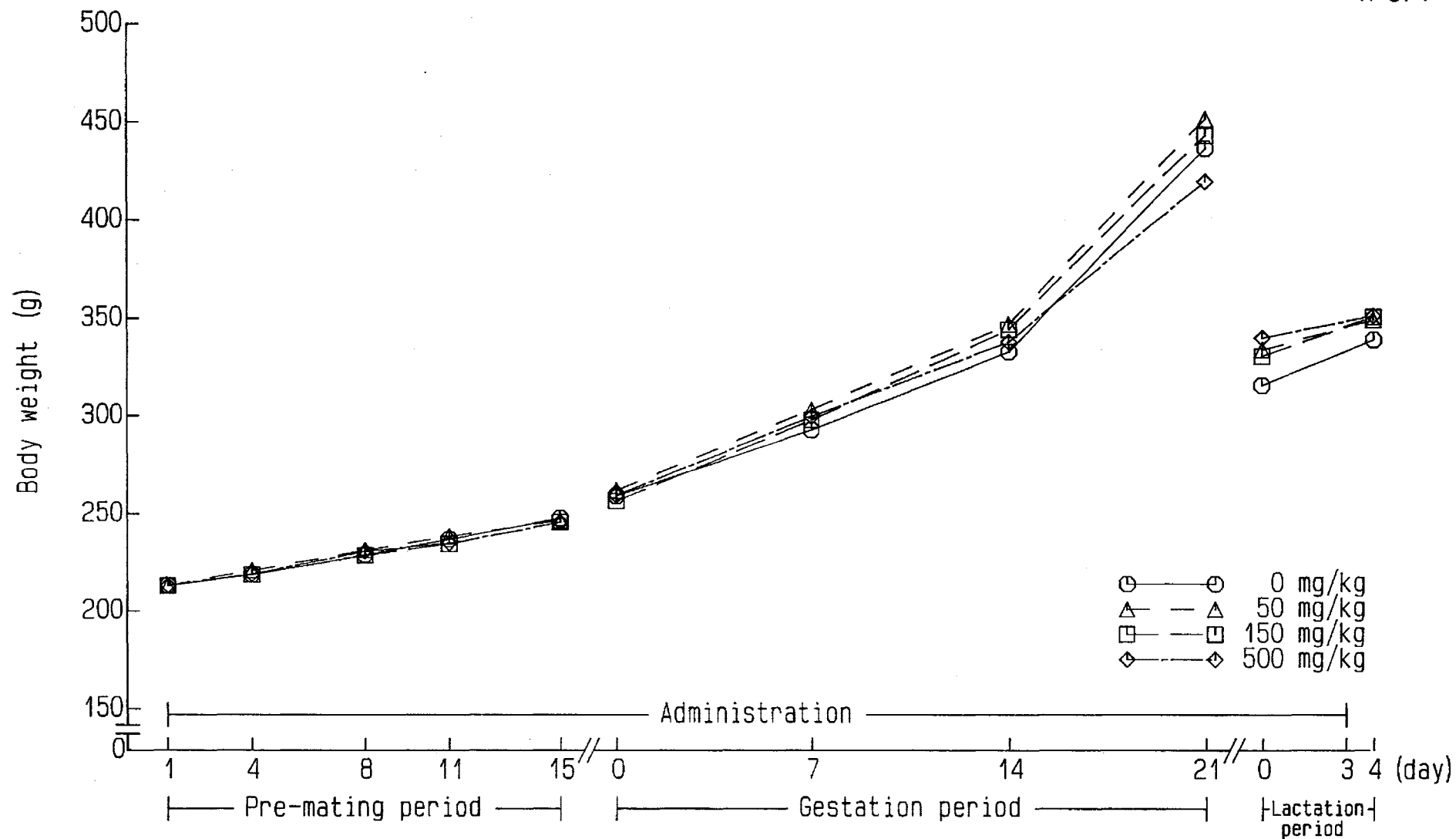


Figure 3 Body weight changes of female rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

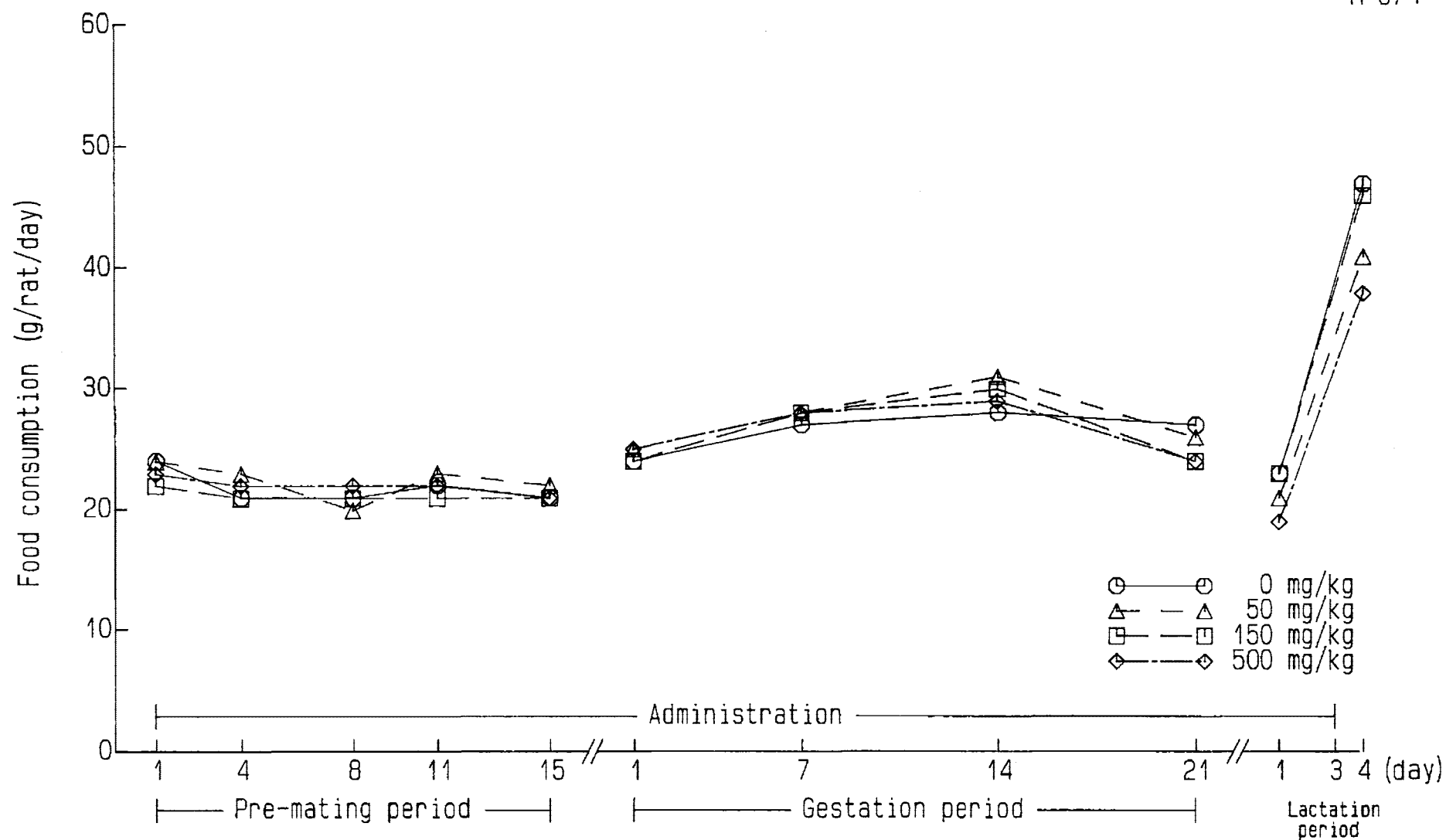


Figure 4 Food consumption of female rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Table 1 Clinical signs of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Dose mg/kg	Findings	Day of administration																								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15*	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
0	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No. of animals with abnormal findings	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
50	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No. of animals with abnormal findings	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
150	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No. of animals with abnormal findings	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
500	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No. of animals with abnormal findings	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

* : Commencement of pairing

Table 2 Clinical signs of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Dose mg/kg	Findings	Day of administration																								
		26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50a)
0	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No. of animals with abnormal findings	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	Death	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
50	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No. of animals with abnormal findings	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
150	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No. of animals with abnormal findings	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
500	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No. of animals with abnormal findings	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

a): Autopsy day

Table 3 Body weights of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Dose mg/kg		Day of administration										Gain 1-49
		1	4	8	11	15	22	29	36	43	49	
0	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	Mean	316	334	359	377	394	424	454	478	503	521	204
	S.D.	7	7	9	12	15	16	20	22	27	31	30
50	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	Mean	316	335	359	372	390	416	448	476	506	527	211
	S.D.	6	7	12	15	18	23	29	31	33	36	35
150	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	Mean	316	335	360	377	393	418	446	470	491	510	194
	S.D.	7	8	11	14	18	22	22	24	29	33	31
500	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	Mean	316	334	363	378	399	421	450	476	502	517	201
	S.D.	6	10	16	20	24	27	31	40	45	50	48

Unit : g

No.: No. of animals

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 4 Food consumption of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Dose mg/kg		Day of administration							
		1	4	8	11	15	36	43	49
0	No.	12	12	12	12	12	12	12	12
	Mean	33	31	29	30	29	30	29	29
	S.D.	3	3	3	2	2	2	4	2
50	No.	12	12	12	12	12	12	12	12
	Mean	31	30	28	27*	28	30	27	28
	S.D.	2	2	4	2	4	3	3	3
150	No.	12	12	12	12	12	12	12	12
	Mean	32	31	28	30	28	29	26	28
	S.D.	2	2	2	3	3	2	2	3
500	No.	12	12	12	12	12	12	12	12
	Mean	32	31	29	30	29	31	28	28
	S.D.	4	3	3	3	3	4	3	2

Unit : g/rat/day

No.: No. of animals

* : $p < 0.05$ (Significant difference from control group)

Table 5

Urinalysis of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Dose mg/kg	No.	pH										1) Protein						2) Ketone body						3) Glucose					
		5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0	-	+-	+	++	+++	++++	-	+-	+	++	+++	++++	-	+-	+	++	+++	++++	
0	12	0	0	1	2	0	1	2	6	0	0	1	7	4	0	0	7	2	3	0	0	0	12	0	0	0	0	0	
50	12	0	0	1	3	4	0	2	2	0	1	0	7	4	0	0	4	3	5	0	0	0	12	0	0	0	0	0	
150	12	0	0	0	1	0	1	2	8	0	0	0	3	9	0	0	3	5	4	0	0	0	12	0	0	0	0	0	
500	12	0	0	0	0	1	1	0	9	1	0	1	2	9	0	0	6	2	4	0	0	0	12	0	0	0	0	0	

1) -: 0-5 mg/dl+-: 10-20 mg/dl+: 30-70 mg/dl++: 100-200 mg/dl+++: 250-400 mg/dl++++: >400 mg/dl

2) -: 0 mg/dl+-: 5 mg/dl+: 10-20 mg/dl++: 30-45 mg/dl+++: 60-80 mg/dl++++: >80 mg/dl

3) -: 0-10 mg/dl+-: 30-50 mg/dl+: 70-100 mg/dl++: 150-200 mg/dl+++: 300-500 mg/dl++++: ≥1000 mg/dl

Table 6 Urinalysis of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Dose mg/kg	No.	4) Occult blood					5) Bilirubin						6) Urobilinogen					7) Color		
		-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	++++	+-	+	++	+++	++++	LY	Y	DY
0	12	5	3	3	1	0	12	0	0	0	0	0	9	1	2	0	0	0	12	0
50	12	11	1	0	0	0	12	0	0	0	0	0	5	6	1	0	0	0	12	0
150	12	10	1	1	0	0	12	0	0	0	0	0	3	7	2	0	0	0	12	0
500	12	7	3	1	1	0	12	0	0	0	0	0	6	4	2	0	0	0	12	0

4) -: 0 mg/dl +-: 0.03 mg/dl +: 0.06-0.1 mg/dl ++: 0.2-0.5 mg/dl +++: ≥ 1.0 mg/dl
 5) -: 0 mg/dl +-: 0.2 mg/dl +: 0.5-1.0 mg/dl ++: 2.0-4.0 mg/dl +++: 6.0-10.0 mg/dl ++++: >10.0 mg/dl
 6) +-: 0.2-1.0 mg/dl +: 2.0-3.0 mg/dl ++: 4.0-6.0 mg/dl +++: 8.0-12.0 mg/dl ++++: >12.0 mg/dl
 7) LY: Light yellow Y: Yellow DY: Dark yellow

Table 7 Urinalysis of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Dose mg/kg	No.	URINE SEDIMENT																																		
																	CRYSTALLIZATION																			
		RBC					WBC					SEC					SREC					Cast			PS					CO						
		-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++		
0	12	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	12	0	0	6	6	0	0	0	12	0	0	0	0	
50	12	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	12	0	0	6	4	2	0	0	12	0	0	0	0
150	12	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0	11	1	0	0	0	12	0	0	4	7	1	0	0	12	0	0	0	0
500	12	11	1	0	0	0	12	0	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0	10	2	0	0	0	12	0	0	4	8	0	0	0	12	0	0	0	0

SEC : Squamous Epithelial Cell	- : Negative
SREC : Small Round Epithelial Cell	+- : Slight
PS : Phosphate Salts	+ : Mild
CO : Calcium Oxalate	++ : Moderate
	+++ : Severe

Table 8 Water intake and Urinalysis of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Dose mg/kg	No. of animals		Water intake ml/rat/24hr	Urine volume ml/24hr	S.G.	Na mEq/24hr	K mEq/24hr	Cl mEq/24hr
0	12	Mean	45	9.5	1.074	0.94	2.91	1.20
		S.D.	9	4.9	0.010	0.36	1.06	0.45
50	12	Mean	42	10.9	1.071	1.10	3.56	1.47
		S.D.	6	4.5	0.014	0.37	0.94	0.43
150	12	Mean	38	8.4	1.074	0.87	2.62	1.12
		S.D.	7	4.5	0.016	0.43	1.11	0.46
500	12	Mean	42	12.6	1.071	1.33*	4.02*	1.71*
		S.D.	6	3.7	0.010	0.39	1.21	0.58

* : $p < 0.05$ (Significant difference from control group)

Table 9 Hematological examination of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Dose mg/kg	No. of animals		RBC $\times 10^4/\text{mm}^3$	Hb g/dl	Ht %	MCV μ^3	MCH pg	MCHC %	Reticu- locyte %	Plate- let $\times 10^4/\text{mm}^3$	PT sec.	APTT sec.	Fibri- nogen mg/dl
0	11	Mean	816	15.8	46	55.7	19.4	34.8	20	101.3	11.5	13.8	288
		S.D.	35	0.5	2	1.4	0.7	0.6	2	6.9	0.8	2.1	17
50	12	Mean	848	15.6	45	53.6*	18.5*	34.5	21	101.0	11.6	14.0	280
		S.D.	41	0.7	2	2.5	1.1	0.7	3	7.4	0.7	1.9	24
150	12	Mean	845	15.7	46	54.0	18.5*	34.3	19	101.7	12.2	14.8	266
		S.D.	32	0.3	1	1.4	0.6	0.4	3	8.0	0.9	2.0	20
500	12	Mean	830	15.1**	44	53.3**	18.2**	34.1*	21	101.2	11.9	13.9	282
		S.D.	43	0.5	2	1.7	0.6	0.4	3	9.6	0.7	1.7	17

* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$ (Significant difference from control group)

Table 10 Hematological examination of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Dose mg/kg	No. of animals		WBC	Differential leukocyte counts (%)						
			X10 ² /mm ³	Lymph.	Stab	Seg.	Eosino.	Baso.	Mono.	Others
0	11	Mean	105	89.3	0.0	10.1	0.5	0.0	0.1	0.0
		S.D.	30	3.6	0.0	3.5	0.4	0.0	0.3	0.0
50	12	Mean	115	88.5	0.0	10.6	0.7	0.0	0.1	0.0
		S.D.	27	5.4	0.0	5.2	0.7	0.0	0.2	0.0
150	12	Mean	103	89.5	0.0	10.0	0.5	0.0	0.0	0.0
		S.D.	26	3.7	0.1	3.0	0.9	0.0	0.1	0.0
500	12	Mean	108	89.2	0.0	10.3	0.4	0.0	0.1	0.0
		S.D.	27	3.2	0.0	3.4	0.5	0.0	0.2	0.0

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 11 Blood Chemical examination of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Dose mg/kg	No. of animals		GOT IU/l	GPT IU/l	LDH IU/l	AlP IU/l	γ -GTP IU/l	T.cho mg/dl	TG mg/dl	PL mg/dl	T.bili- rubin mg/dl	Glucose mg/dl
0	11	Mean	53	44	37	238	2.8	69	58	112	0.12	148
		S.D.	10	7	9	61	0.9	18	29	24	0.02	13
50	12	Mean	57	47	39	263	3.1	66	81	113	0.13	159
		S.D.	6	7	7	77	1.0	15	32	26	0.02	18
150	12	Mean	65	46	35	278	3.1	66	81	111	0.13	157
		S.D.	12	6	8	48	0.7	13	27	20	0.01	17
500	12	Mean	83**	48	38	271	3.2	61	91	97	0.13	161
		S.D.	18	12	9	70	0.9	15	48	16	0.02	14

** : $p < 0.01$ (Significant difference from control group)

Table 12

Blood Chemical examination of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Dose mg/kg	No. of animals		BUN mg/dl	Crea- tinine mg/dl	Na mEq/l	K mEq/l	Cl mEq/l	Ca mg/dl	P mg/dl	Fe μ g/dl	TIBC μ g/dl	UIBC μ g/dl
0	11	Mean	14	0.61	143	4.4	111	9.5	7.5	93	494	401
		S.D.	1	0.08	1	0.3	2	0.3	0.4	50	34	52
50	12	Mean	15	0.64	143	4.4	110	9.3	7.4	110	524	415
		S.D.	3	0.07	1	0.2	2	0.3	0.5	83	77	89
150	12	Mean	16*	0.63	143	4.5	110	9.3	7.6	110	555	444
		S.D.	1	0.08	1	0.2	2	0.3	0.7	37	49	45
500	12	Mean	17**	0.64	143	4.5	110	9.4	7.9	112	648**	536**
		S.D.	1	0.06	2	0.3	2	0.3	0.9	61	35	64

* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$ (Significant difference from control group)

Table 13

Blood Chemical examination of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Dose mg/kg	No. of animals		TP g/dl	A/G	Albumin %	Globulin (%)			
						α_1	α_2	β	γ
0	11	Mean	6.4	0.80	44.3	23.3	10.1	17.4	4.8
		S.D.	0.2	0.04	1.0	1.2	0.7	0.5	1.4
50	12	Mean	6.4	0.82	45.1	22.7	9.4*	17.8	5.0
		S.D.	0.3	0.05	1.5	1.7	0.7	0.8	0.8
150	12	Mean	6.4	0.85*	46.0*	22.3	9.0**	18.0	4.7
		S.D.	0.4	0.05	1.5	1.8	0.7	0.9	0.9
500	12	Mean	6.7	0.84	45.6	22.3	8.4**	19.1**	4.6
		S.D.	0.3	0.06	1.7	2.1	0.8	0.7	0.8

* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$ (Significant difference from control group)

Table 14

Blood Chemical examination of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Dose mg/kg	No. of animals		CHE		
			Blood IU/l	Plasma IU/l	RBC IU/l
0	11	Mean	2433	813	4376
		S.D.	107	129	345
50	12	Mean	2454	773	4478
		S.D.	127	92	262
150	12	Mean	2498	741	4597
		S.D.	80	91	142
500	12	Mean	2410	722	4523
		S.D.	93	119	211

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 15 Gross pathological findings of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Dose (mg/kg)	0 Alive	0 Dead	50 Alive	150 Alive	500 Alive
No. of animals examined	11	1a)	12	12	12
No. of animals with abnormal findings (%)	4 (36.4)	0	2 (16.7)	1 (8.3)	1 (8.3)
Stomach					
Dark red spot in glandular stomach	3 (27.3)	0	2 (16.7)	1 (8.3)	1 (8.3)
Testis					
Softening (unilateral)	1 (9.1)	0	0	0	0
Epididymis					
Small (unilateral)	1 (9.1)	0	0	0	0

a): Died on day 50 of administration.

Table 16 Absolute organ weights of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Dose mg/kg	No. of animals		Body weight	Brain	Pitui- tary	Thyroid			Thymus	Heart	Lung	Liver	Spleen
			g	g	mg	(R) mg	(L) mg	(R+L) mg	mg	g	g	g	g
0	11	Mean	486	2.08	13.5	10.9	10.8	21.7	331	1.44	1.51	14.99	0.75
		S.D.	29	0.08	1.8	2.7	2.2	4.2	97	0.12	0.10	1.88	0.13
50	12	Mean	500	2.13	13.5	11.5	10.7	22.2	361	1.50	1.51	16.40	0.81
		S.D.	39	0.07	1.1	1.8	2.3	3.7	69	0.18	0.09	4.52	0.08
150	12	Mean	481	2.13	12.1	10.8	10.0	20.8	310	1.49	1.44	15.63	0.73
		S.D.	32	0.08	0.7	2.8	1.3	3.3	71	0.14	0.07	2.11	0.07
500	12	Mean	486	2.13	13.1	11.8	10.7	22.5	280	1.53	1.45	17.34	0.77
		S.D.	48	0.07	2.1	2.8	1.9	4.1	95	0.14	0.12	2.06	0.10

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 17

Absolute organ weights of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Dose mg/kg	No. of animals		Kidney			Adrenal			Testis		
			(R) g	(L) g	(R+L) g	(R) mg	(L) mg	(R+L) mg	(R) g	(L) g	(R+L) g
0	11	Mean	1.68	1.71	3.39	34	36	70	1.65	1.67	3.32
		S.D.	0.13	0.13	0.25	3	4	7	0.06	0.13	0.18
50	12	Mean	1.86*	1.89	3.75*	38	40	78	1.75*	1.73	3.48
		S.D.	0.21	0.22	0.43	4	5	9	0.11	0.12	0.22
150	12	Mean	1.80	1.86	3.66	32	35	68	1.72	1.71	3.43
		S.D.	0.12	0.12	0.22	4	5	9	0.12	0.12	0.22
500	12	Mean	1.85	1.90	3.74*	37	41	78	1.64	1.61	3.25
		S.D.	0.17	0.22	0.39	5	5	10	0.16	0.15	0.30

* : $p < 0.05$ (Significant difference from control group)

Table 18

Absolute organ weights of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Dose mg/kg	No. of animals		Epididymis			Seminal vesicle	Prostate
			(R) mg	(L) mg	(R+L) mg	g	g
0	11	Mean	644	602	1246	1.45	1.26
		S.D.	30	97	115	0.18	0.16
50	12	Mean	657	644	1302	1.66	1.39
		S.D.	70	81	147	0.17	0.22
150	12	Mean	657	641	1298	1.59	1.41
		S.D.	76	75	148	0.22	0.26
500	12	Mean	649	616	1265	1.58	1.42
		S.D.	73	65	136	0.23	0.23

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 19

Relative organ weights of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Dose mg/kg	No. of animals		Brain	Pitui- tary	Thyroid			Thymus	Heart	Lung	Liver	Spleen
			g%	mg%	(R) mg%	(L) mg%	(R+L) mg%	mg%	g%	g%	g%	g%
0	11	Mean	0.43	2.8	2.2	2.2	4.5	68	0.29	0.31	3.08	0.15
		S.D.	0.03	0.3	0.6	0.5	0.9	18	0.01	0.02	0.23	0.02
50	12	Mean	0.43	2.7	2.3	2.2	4.5	73	0.30	0.30	3.25	0.16
		S.D.	0.03	0.1	0.4	0.5	0.8	14	0.03	0.02	0.62	0.02
150	12	Mean	0.44	2.5	2.3	2.1	4.3	65	0.31	0.30	3.24	0.15
		S.D.	0.04	0.1	0.6	0.3	0.7	15	0.02	0.02	0.26	0.01
500	12	Mean	0.44	2.7	2.5	2.2	4.7	58	0.32	0.30	3.57**	0.16
		S.D.	0.05	0.4	0.7	0.4	1.0	20	0.02	0.03	0.21	0.02

** : $p < 0.01$ (Significant difference from control group)

Table 20

Relative organ weights of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Dose mg/kg	No. of animals		Kidney			Adrenal			Testis		
			(R) g%	(L) g%	(R+L) g%	(R) mg%	(L) mg%	(R+L) mg%	(R) g%	(L) g%	(R+L) g%
0	11	Mean	0.35	0.35	0.70	7	8	15	0.34	0.35	0.68
		S.D.	0.02	0.02	0.04	1	1	2	0.02	0.03	0.05
50	12	Mean	0.37	0.38	0.75	8	8	16	0.35	0.35	0.70
		S.D.	0.04	0.04	0.08	1	1	2	0.03	0.03	0.06
150	12	Mean	0.38	0.39*	0.76*	7	7	14	0.36	0.36	0.71
		S.D.	0.02	0.02	0.04	1	1	2	0.02	0.03	0.05
500	12	Mean	0.38*	0.39**	0.77**	8	9	16	0.34	0.34	0.68
		S.D.	0.03	0.03	0.06	1	1	2	0.05	0.05	0.10

* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$ (Significant difference from control group)

Table 21 Relative organ weights of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Dose mg/kg	No. of animals		Epididymis			Seminal vesicle	Prostate
			(R) mg%	(L) mg%	(R+L) mg%	g%	g%
0	11	Mean	133	124	257	0.30	0.26
		S.D.	8	19	22	0.04	0.03
50	12	Mean	133	130	262	0.33	0.28
		S.D.	18	20	37	0.04	0.05
150	12	Mean	137	134	271	0.33	0.30
		S.D.	15	16	31	0.04	0.06
500	12	Mean	135	128	263	0.33	0.29
		S.D.	21	21	42	0.06	0.03

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 22

Histopathological findings of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Organs -findings	Dose (mg/kg)	0								500							
		11								12							
	No. of animals Grade	0	1	2	3	4	P	Obs	TE	0	1	2	3	4	P	Obs	TE
Cerebrum		11							11	12							12
Cerebellum		11							11	12							12
Sciatic nerve		10							10(1)	11							11(1)
Heart																	
-myocardial degeneration/fibrosis		9	2					2	11	11	1					1	12
Lung (Bronchus)																	
-accumulation, foamy cell, intra-alveolar		8	2	1				3	11	9	2	1				3	12
-metaplasia, osseous		10					1	1	11	12							12
Stomach																	
-erosion, glandular stomach		8	2	1				3	11	11	1					1	12
Duodenum		11							11	12							12
Jejunum		11							11	12							12
Ileum		11							11	12							12
Cecum		11							11	12							12
Colon		11							11	12							12
Rectum		11							11	12							12
Liver																	
-necrosis, focal		11							11	11	1					1	12
-microgranuloma		10	1					1	11	9	3					3	12
Pancreas																	
-basophilic focus, acinus		11							11	11					1	1	12
Pituitary		11							11	12							12
Thyroid (Parathyroid)		11							11	12							12
Adrenal		11							11	12							12
Thymus		11							11	12							12

0 : No remarkable changes 1 : Slight 2 : Mild 3 : Moderate 4 : Severe
P : Present (used when grading of severity was not done, such as case in the neoplastic lesion)
Obs : Observed number
TE : Total Examined

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 23 Histopathological findings of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Organs -findings	Dose (mg/kg)	0										500							
		11										12							
		No. of animals	Grade	0	1	2	3	4	P	Obs	TE	0	1	2	3	4	P	Obs	TE
Spleen																			
-hematopoiesis, extramedullary					11					11	11			12				12	12
-deposit, brown pigment, red pulp					11					11	11			12				12	12
Mesenteric lymph node		11									11	12							12
Cervical lymph node		11									11	12							12
Kidney																			
-basophilic tubule		6	5							5	11	7	5					5	12
-cellular infiltration, interstitium		10	1							1	11	12							12
-eosinophilic body, tubular epithelium		8	3							3	11	9	2	1				3	12
-cast, hyaline		11									11	11	1					1	12
-fibrosis, papilla, focal		11									11	11		1				1	12
Urinary bladder		11									11	12							12
Testis																			
-atrophy, seminiferous tubule		10				1				1	11	12							12
-retention, sperm		11									11	11	1					1	12
Epididymis																			
-decrease, sperm		10						1		1	11	12							12
-cell debris, lumen		10				1				1	11	12							12
Seminal vesicle		11									11	12							12
Prostate																			
-cellular infiltration, interstitium		10			1					1	11	12							12
Mammary gland		11									11	12							12
Skin		11									11	12							12
Sternum (Bone marrow)		11									11	12							12
Femur (Bone marrow)		11									11	12							12

0 : No remarkable changes 1 : Slight 2 : Mild 3 : Moderate 4 : Severe
P : Present (used when grading of severity was not done, such as case in the neoplastic lesion)
Obs : Observed number
TE : Total Examined

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 24

Histopathological findings in gross lesion of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Dose mg/kg	Animal number	Organs	Gross pathological findings	Histopathological findings
50	2010	Stomach	-Dark red spot in glandular stomach	-Erosion, glandular stomach (+-)
	2011	Stomach	-Dark red spot in glandular stomach	-Erosion, glandular stomach (+)
150	3003	Stomach	-Dark red spot in glandular stomach	-Erosion, glandular stomach (+-)

+ - : Slight + : Mild

Table 25 Histopathological findings of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Dead animal

Organs -findings	Dose (mg/kg) No. of animals Grade	0							
		0	1	2	3	1 4	P	Obs	TE
Cerebrum		1							1
Cerebellum		1							1
Sciatic nerve		1							1
Heart									
-myocardial degeneration/fibrosis		1							1
Lung (Bronchus)									
-accumulation, foamy cell, intra-alveolar		1							1
-metaplasia, osseous		1							1
Stomach									
-erosion, glandular stomach		1							1
Duodenum		1							1
Jejunum		1							1
Ileum									[1]
Cecum		1							1
Colon		1							1
Rectum		1							1
Liver									
-necrosis, focal		1							1
-microgranuloma		1							1
Pancreas									
-basophilic focus, acinus		1							1
Pituitary		1							1
Thyroid (Parathyroid)									[1]
Adrenal		1							1
Thymus		1							1

0 : No remarkable changes 1 : Slight 2 : Mild 3 : Moderate 4 : Severe

P : Present (used when grading of severity was not done, such as case in the neoplastic lesion)

Obs : Observed number

TE : Total Examined

[] : Number of autolyzed specimen

Table 26 Histopathological findings of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Dead animal

Organs -findings	Dose (mg/kg)	0							
	No. of animals Grade	0	1	2	3	1 4	P	Obs	TE
Spleen									
-hematopoiesis, extramedullary			1					1	1
-deposit, brown pigment, red pulp			1					1	1
Mesenteric lymph node		1							1
Cervical lymph node		1							1
Kidney									
-basophilic tubule			1					1	1
-cellular infiltration, interstitium		1							1
-eosinophilic body, tubular epithelium		1							1
-cast, hyaline		1							1
-fibrosis, papilla, focal		1							1
Urinary bladder		1							1
Testis									
-atrophy, seminiferous tubule		1							1
-retention, sperm		1							1
Epididymis									
-decrease, sperm		1							1
-cell debris, lumen		1							1
Seminal vesicle		1							1
Prostate									
-cellular infiltration, interstitium		1							1
Mammary gland		1							1
Skin		1							1
Sternum (Bone marrow)		1							1
Femur (Bone marrow)		1							1

0 : No remarkable changes 1 : Slight 2 : Mild 3 : Moderate 4 : Severe
P : Present (used when grading of severity was not done, such as case in the neoplastic lesion)
Obs : Observed number
TE : Total Examined

Table 27

Clinical signs of female rats during the pre-mating and mating periods in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Dose mg/kg	Findings	Day of administration																											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15*	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
0	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	8	6	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	No. of animals with abnormal findings	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
50	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	10	6	4	2	0								
	No. of animals with abnormal findings	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0									
150	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	8	3	0										
	No. of animals with abnormal findings	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0											
500	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	9	6	3	1	0								
	No. of animals with abnormal findings	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0									

* : Commencement of pairing

Table 28

Clinical signs of dams during the gestation period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

[illegible]

Table 29

Clinical signs of dams during the lactation period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Dose mg/kg	Findings	Day of lactation				
		0	1	2	3	4
0	No. of dams	12	12	12	12	11 ^{a)}
	No. of dams with abnormal findings	0	0	0	0	0
50	No. of dams	10	10	10	10	10
	No. of dams with abnormal findings	0	0	0	0	0
150	No. of dams	11	11	11	11	11
	No. of dams with abnormal findings	0	0	0	0	0
500	No. of dams	10	10	10	10	10
	No. of dams with abnormal findings	0	0	0	0	0

a): One dam was necropsied on day 3 of lactation because all pups died.

Table 30 Body weights of female rats during the pre-mating period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Dose mg/kg		Day of administration					Gain 1-15
		1	4	8	11	15	
0	No.	12	12	12	12	12	12
	Mean	213	219	229	237	248	35
	S.D.	6	8	10	10	11	8
50	No.	12	12	12	12	12	12
	Mean	213	221	231	239	247	34
	S.D.	7	12	15	15	15	12
150	No.	12	12	12	12	12	12
	Mean	213	219	229	235	246	33
	S.D.	7	7	7	11	13	13
500	No.	12	12	12	12	12	12
	Mean	213	219	231	235	246	33
	S.D.	6	8	9	9	10	6

Unit : g

No.: No. of animals

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 31

Body weights of dams during the gestation and lactation periods in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Dose mg/kg		Day of gestation				Gain 0-21	Day of lactation		Gain 0-4
		0	7	14	21		0	4	
0	No.	12	12	12	12	12	12	11 ^{a)}	11
	Mean	259	293	333	436	177	316	339	26
	S.D.	16	13	13	23	24	20	16	15
50	No.	10	10	10	10	10	10	10	10
	Mean	262	303	347	451	189	334	349	15
	S.D.	16	25	30	30	27	33	26	14
150	No.	11	11	11	11	11	11	11	11
	Mean	256	298	344	443	187	331	351	20
	S.D.	14	18	22	33	28	16	18	13
500	No.	10	10	10	10	10	10	10	10
	Mean	260	300	338	419	160	340	351	11
	S.D.	12	14	17	20	19	18	18	13

Unit : g

No.: No. of dams

a) : One dam was necropsied on day 3 of lactation because all pups died.

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 32 Food consumption of female rats during the pre-mating period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Dose mg/kg		Day of administration				
		1	4	8	11	15
0	No.	12	12	12	12	12
	Mean	24	21	21	22	21
	S.D.	3	3	3	3	3
50	No.	12	12	12	12	12
	Mean	24	23	20	23	22
	S.D.	3	3	3	5	3
150	No.	12	12	12	12	12
	Mean	22	21	21	21	21
	S.D.	2	2	3	4	3
500	No.	12	12	12	12	12
	Mean	23	22	22	22	21
	S.D.	2	2	3	4	3

Unit : g/rat/day

No.: No. of animals

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 33 Food consumption of dams during the gestation and lactation periods in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Dose mg/kg		Day of gestation				Day of lactation	
		1	7	14	21	1	4
0	No.	12	12	12	12	12	11 ^{a)}
	Mean	24	27	28	27	23	47
	S.D.	3	5	4	2	6	4
50	No.	10	10	10	10	10	10
	Mean	25	28	31	26	21	41
	S.D.	3	4	5	2	5	6
150	No.	11	11	11	11	11	11
	Mean	24	28	30	24	23	46
	S.D.	4	3	4	8	8	10
500	No.	10	10	10	10	10	10
	Mean	25	28	29	24	19	38*
	S.D.	3	4	5	4	6	9

Unit : g/rat/day

No.: No. of dams

a) : One dam was necropsied on day 3 of lactation because all pups died.

* : $p < 0.05$ (Significant difference from control group)

Table 34

Gross pathological findings of dams in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Dose (mg/kg)	0	50	150	500
No. of dams examined	11	10	11	10
No. of dams with abnormal findings	0	0	0	0

Table 35 Absolute organ weights of dams in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Dose mg/kg	No. of dams		Body weight g	Brain g	Pitui- tary mg	Thyroid			Thymus mg	Heart g	Lung g	Liver g	Spleen g
						(R) mg	(L) mg	(R+L) mg					
0	11	Mean	339	1.94	18.2	9.0	8.1	17.1	192	1.01	1.21	14.64	0.66
		S.D.	16	0.09	3.8	2.1	2.0	3.8	41	0.09	0.08	0.81	0.06
50	10	Mean	349	1.90	17.1	9.5	8.8	18.3	237	1.07	1.32	14.59	0.67
		S.D.	26	0.12	3.9	3.5	2.4	5.5	70	0.07	0.16	1.05	0.13
150	11	Mean	351	1.87	17.9	9.2	8.2	17.4	226	1.05	1.20	14.84	0.68
		S.D.	18	0.07	1.4	1.8	1.6	2.7	58	0.07	0.06	0.99	0.11
500	10	Mean	351	1.96	15.9	9.1	8.9	18.0	253	1.08	1.19	13.80	0.64
		S.D.	18	0.09	2.6	3.0	3.1	5.7	58	0.05	0.07	0.96	0.06

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 36

Absolute organ weights of dams in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Dose mg/kg	No. of dams		Kidney			Adrenal			Ovary			Uterus
			(R) g	(L) g	(R+L) g	(R) mg	(L) mg	(R+L) mg	(R) mg	(L) mg	(R+L) mg	mg
0	11	Mean	1.10	1.10	2.20	41	45	86	54.1	45.3	99.4	620
		S.D.	0.11	0.08	0.19	6	5	10	9.4	9.0	12.6	83
50	10	Mean	1.13	1.13	2.26	42	49	91	54.7	53.5	108.2	674
		S.D.	0.11	0.12	0.22	9	15	24	11.7	8.8	18.2	100
150	11	Mean	1.19	1.17	2.36	42	47	89	52.3	51.1	103.4	627
		S.D.	0.11	0.12	0.23	5	5	10	7.1	6.7	11.8	90
500	10	Mean	1.20	1.19	2.39	36	40	76	55.9	48.2	104.1	658
		S.D.	0.07	0.05	0.12	4	3	7	8.1	8.8	13.2	102

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 37 Relative organ weights of dams in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Dose mg/kg	No. of dams		Brain g%	Pitui- tary mg%	Thyroid			Thymus mg%	Heart g%	Lung g%	Liver g%	Spleen g%
					(R) mg%	(L) mg%	(R+L) mg%					
0	11	Mean	0.57	5.4	2.6	2.4	5.1	57	0.30	0.36	4.32	0.20
		S.D.	0.04	1.2	0.7	0.6	1.2	12	0.02	0.03	0.19	0.01
50	10	Mean	0.55	4.9	2.7	2.5	5.2	67	0.31	0.38	4.19	0.19
		S.D.	0.05	1.1	0.9	0.6	1.4	18	0.02	0.04	0.25	0.03
150	11	Mean	0.53	5.1	2.6	2.4	5.0	65	0.30	0.34	4.23	0.20
		S.D.	0.04	0.4	0.6	0.4	0.9	18	0.01	0.02	0.23	0.03
500	10	Mean	0.56	4.5	2.6	2.5	5.1	72	0.31	0.34	3.93**	0.18
		S.D.	0.03	0.6	0.8	0.8	1.5	17	0.02	0.03	0.18	0.02

** : $p < 0.01$ (Significant difference from control group)

Table 38 Relative organ weights of dams in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Dose mg/kg	No. of dams		Kidney			Adrenal			Ovary			Uterus
			(R) g%	(L) g%	(R+L) g%	(R) mg%	(L) mg%	(R+L) mg%	(R) mg%	(L) mg%	(R+L) mg%	mg%
0	11	Mean	0.33	0.33	0.65	12	13	25	16.1	13.4	29.5	182
		S.D.	0.04	0.04	0.08	2	2	3	3.2	2.9	4.5	22
50	10	Mean	0.32	0.32	0.65	12	14	27	15.7	15.3	31.0	194
		S.D.	0.02	0.03	0.04	3	5	7	3.4	1.9	4.5	31
150	11	Mean	0.34	0.33	0.67	12	13	25	14.9	14.6	29.5	179
		S.D.	0.03	0.03	0.05	1	1	2	1.9	1.8	3.1	26
500	10	Mean	0.34	0.34	0.68	10*	11*	22*	16.0	13.7	29.7	188
		S.D.	0.02	0.02	0.04	1	1	2	2.3	2.4	3.6	31

* : $p < 0.05$ (Significant difference from control group)

Table 39 Histopathological findings of female rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Organs -findings	Dose (mg/kg)	0								500							
		No. of animals								Grade							
		0	1	2	3	4	P	Obs	TE	0	1	2	3	4	P	Obs	TE
Cerebrum		12							12	12							12
Cerebellum		12							12	12							12
Sciatic nerve		10							10(2)	12							12
Heart		12							12	12							12
Lung (Bronchus)																	
-accumulation, foamy cell, intra-alveolar		12							12	11	1					1	12
-metaplasia, osseous		11					1	1	12	12							12
Stomach		12							12	12							12
Duodenum		12							12	12							12
Jejunum		12							12	12							12
Ileum		12							12	12							12
Cecum		12							12	12							12
Colon		12							12	12							12
Rectum		12							12	12							12
Liver		12							12	12							12
Pancreas																	
-atrophy, acinus, focal		11	1					1	12	11	1					1	12
Pituitary		12							12	12							12
Thyroid (Parathyroid)		12							12	12							12
Adrenal		12							12	12							12
Thymus		12							12	12							12

0 : No remarkable changes 1 : Slight 2 : Mild 3 : Moderate 4 : Severe

P : Present (used when grading of severity was not done, such as case in the neoplastic lesion)

Obs : Observed number

TE : Total Examined

() : Number of lost specimens

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 40 Histopathological findings of female rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Organs -findings	Dose (mg/kg)	0									500								
		No. of animals									Grade								
		0	1	2	3	12 4	P	Obs	TE		0	1	2	3	12 4	P	Obs	TE	
Spleen																			
-hematopoiesis, extramedullary			2	10				12	12			4	8				12	12	
-deposit, brown pigment, red pulp			12					12	12			12					12	12	
Mesenteric lymph node		12							12		12							12	
Cervical lymph node		12							12		12							12	
Kidney																			
-cyst, medulla		12							12		11	1					1	12	
Urinary bladder		12							12		12							12	
Ovary		12							12		12							12	
Uterus		12							12		12							12	
Vagina		12							12		12							12	
Mammary gland		12							12		12							12	
Skin		12							12		12							12	
Sternum (Bone marrow)		12							12		12							12	
Femur (Bone marrow)		12							12		12							12	

0 : No remarkable changes 1 : Slight 2 : Mild 3 : Moderate 4 : Severe
P : Present (used when grading of severity was not done, such as case in the neoplastic lesion)
Obs : Observed number
TE : Total Examined

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 41 Estrous cycle in female rats during the pre-mating period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Dose mg/kg	No. of animals	Count of estrus					Mean±S.D.	Mean duration of cycles Mean±S.D.
		0	1	2	3	4		
0	12	0	0	0	5	7	3.6±0.5	4.1±0.2
50	12	0	0	0	9	3	3.3±0.5	4.3±0.3
150	12	0	0	0	4	8	3.7±0.5	4.1±0.2
500	12	0	0	0	5	7	3.6±0.5	4.1±0.3

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 42 Reproductive performance of male and female rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Dose mg/kg	No. of males	No. of females	Days until copulation Mean±S.D.	Copulation index (%) a)	Fertility index (%) b)
0	12	12	3.3±3.6	12/12(100.0)	12/12(100.0)
50	12	12	2.8±1.4	12/12(100.0)	10/12(83.3)
150	12	12	2.9±0.8	12/12(100.0)	11/12(91.7)
500	12	12	2.6±1.3	12/12(100.0)	10/12(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

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 43

Findings of delivery on dams in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Dose mg/kg		No. of pregnant females	No. of females a)	Gestation index % b)	Gestation length	No. of corpora lutea	No. of implan- tation sites	Implan- tation index % c)	No. of still born	No. of live born	Live birth index % d)	Delivery index % e)
0	Total	12	12	100.0		196	183		1	172		
	Mean				22.7	16.3	15.3	90.4	0.1	14.3	99.5	95.0
	S.D.				0.9	2.9	4.4	21.2	0.3	4.1	1.8	5.1
50	Total	10	10	100.0		175	163		2	147		
	Mean				22.4	17.5	16.3	92.3	0.2	14.7	98.2	90.7
	S.D.				0.5	2.8	4.0	13.1	0.4	4.5	4.0	8.1
150	Total	11	11	100.0		195	187		1	167		
	Mean				22.5	17.7	17.0	95.3	0.1	15.2	99.4	90.4
	S.D.				0.5	3.0	3.4	8.6	0.3	3.3	2.0	11.8
500	Total	10	10	100.0		169	151		1	104		
	Mean				22.5	16.9	15.1	90.1	0.1	10.4	99.1	68.8**
	S.D.				0.5	2.2	4.0	22.3	0.3	3.5	2.9	12.7

a): No. of females with live pups

b): (No. of females with live pups / No. of pregnant females) × 100

c): (No. of implantation sites / No. of corpora lutea) × 100

d): (No. of live pups on day 0 / No. of pups born) × 100

e): (No. of pups born / No. of implantation sites) × 100

** : p < 0.01 (Significant difference from control group)

Table 44 Findings of pups in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Dose mg/kg	No. of dams		No. of males	No. of females	Sex ratio a)	External b) malfor- mations (%)c)	Day 0	Day 4	Viability index % d)
							No. of live pups	No. of live pups	
0	12	Total	90	82		0	172	169	
		Mean	7.5	6.8	0.56	(0.0)	14.3	14.1	91.0
		S.D.	2.5	2.8	0.18	(0.0)	4.1	4.7	28.8
50	10	Total	78	69		0	147	142	
		Mean	7.8	6.9	0.53	(0.0)	14.7	14.2	96.4
		S.D.	3.9	3.3	0.18	(0.0)	4.5	4.4	5.1
150	11	Total	86	81		0	167	161	
		Mean	7.8	7.4	0.53	(0.0)	15.2	14.6	96.7
		S.D.	2.6	2.9	0.15	(0.0)	3.3	3.1	3.2
500	10	Total	59	45		1e)	103f)	101	
		Mean	5.9	4.5	0.55	(0.8)	10.3	10.1	98.3
		S.D.	2.7	2.2	0.17	(2.4)	3.5	3.4	3.5

a): No. of males / No. of live born pups

b): No. of live born pups with external malformations

c): (No. of live born pups with external malformations / No. of live born pups) × 100

d): (No. of live pups on day 4 / No. of live pups on day 0) × 100

e): Vestigial tail

f): One pup with external malformation was excluded.

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 45

Body weights of pups in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Dose mg/kg		Male		Female	
		0	4	0	4a)
0	No.	12	11 ^{b)}	11 ^{c)}	11
	Mean	7.2	11.0	6.7	10.5
	S.D.	0.8	1.1	0.6	0.9
50	No.	10	10	10	10
	Mean	7.0	11.5	6.6	10.8
	S.D.	0.7	2.3	0.7	2.3
150	No.	11	11	11	11
	Mean	6.6	11.0	6.3	10.5
	S.D.	0.9	2.0	0.8	1.8
500	No.	10	10	10	10
	Mean	6.9	11.2	6.6	10.6
	S.D.	0.7	1.7	0.7	2.0

Unit : g

No.: No. of dams

a) : Day after birth

b) : All pups in one dam died on day 3 after birth.

c) : Female pup in one dam was not born.

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 46

Gross pathological findings of pups in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-(Diethylamino)ethyl methacrylate by oral administration

Dose (mg/kg)	0	50	150	500
Male				
No. of pups examined	87	76	85	56
No. of pups with abnormal findings	0	0	0	0
Female				
No. of pups examined	82	66	76	45
No. of pups with abnormal findings	0	0	0	0