

メタクリル酸 2, 3-エポキシプロピルエステルの
ラットを用いる反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験

(安評センター報告番号3489)

下記署名者は、本試験が試験計画書に従って実行されたものであることを認める。

目 的

1. 要 約	1 頁
2. 諸 言	3
3. 試 験 題 目	4
4. 試 験 目 的	4
5. 試 験 番 号	4
10. 試験材料および方法	6
11. 試 験 結 果	13
12. 考察および結論	16
13. 参 考 文 献	18

Figures, Tables and Reference data

Figure 1	Body weight change of male rats
Figure 2	Body weight change of female rats
Figure 3	Food consumption of male rats
Figure 4	Food consumption of female rats
Table 1-1	Clinical observations in male rats
Table 1-2	Clinical observations in female rats (Before and during mating period)
Table 1-3	Clinical observations in female rats (Gestation period)
Table 1-4	Clinical observations in female rats (Lactation period)
Table 2-1	Body weight change of male rats
Table 2-2	Body weight change of female rats
Table 3-1	Food consumption of male rats
Table 3-2	Food consumption of female rats
Table 4-1	Hematology of male rats
Table 4-2	Coagulation of male rats
Table 5	Blood chemistry of male rats
Table 6-1	Absolute and relative organ weight of male rats
Table 6-2	Absolute and relative organ weight of female rats
Table 7-1	Summary of gross findings (dead, male)
Table 7-2	Summary of gross findings (successful pregnancy, male)

Table 7-3	Summary of gross findings (day 4 of lactation)
Table 7-4	Summary of gross findings (non-pregnancy, male)
Table 7-5	Summary of gross findings (non-pregnancy, female)
Table 8-1	Summary of histological findings (dead, male)
Table 8-2	Summary of histological findings with statistical analysis (successful pregnancy and non-pregnancy, male and female)
Table 8-3	Summary of histological findings (successful pregnancy, male)
Table 8-4	Summary of histological findings (day 4 of lactation)
Table 8-5	Summary of histological findings (non-pregnancy, male)
Table 8-6	Summary of histological findings (non-pregnancy, female)
Table 8-7	Cell type and number in seminiferous tubules of rats at VIII stage of spermatogenesis during the dosing period
Table 9	Copulation and fertility results in rats
Table 10	Findings of delivery in dams (F0)
Table 11	Body weight change of pups (F1) from rats
Table 12-1	Summary of gross findings of pups (F1) from rats (sacrificed, male)
Table 12-2	Summary of gross findings of pups (F1) from rats (sacrificed, female)

1. 要 約：

既存化学物質の毒性学的性質を評価するため、メタクリル酸2,3-エポキシプロピルエステルの0（溶媒対照群）、10, 30 および 100 mg/kg/day をラットの交配前14日から交配期間、妊娠期間および哺育3日まで連続経口投与し、反復投与毒性に加えて生殖・発生に及ぼす影響を検討した。

1) 反復投与毒性

一般状態の観察で被験物質投与後に流涎が雄の 30 mg/kg群で5例に散発的に認められた。また、同一所見が 100 mg/kg群で12例（全例）に投与19日頃からほぼ投与期間を通じて認められた。体重、摂餌量、雄の血液学的検査および血液生化学検査には被験物質投与の明らかな影響は認められなかった。器官重量では、雌雄の 100 mg/kg群で腎臓の実重量および相対重量がともに高値または高値傾向を示した。

病理学検査の結果、剖検では被験物質投与の影響が示唆される病変は観察されなかった。組織学検査では雄の 30 および 100 mg/kg群で前胃の扁平上皮増生が、また、30 mg/kg群で前胃粘膜下組織の水腫がそれぞれ発生数の増加を示し、被験物質投与の影響が示唆された。100 mg/kg群で不妊動物が多数認められたが、これらの動物の精巣および卵巣ならびに精巣上体、精囊、前立腺、子宮および下垂体には剖検所見および組織所見ともに不妊の原因と考えられる形態学的な異常所見は観察されなかった。さらに、対照群および 100 mg/kg群の精巣についてステージⅧ期精細管の精上皮細胞数を測定した結果、被験物質投与の影響は認められなかった。

2) 生殖発生毒性

性周期および交尾能に被験物質投与の影響は認められなかったが、100 mg/kg群で受胎率が明らかに低下し、被験物質投与の影響と考えられた。被験物質 100 mg/kg投与による受胎能の確認試験を行った結果、受胎率の低下は主として雄側の精子活力の低下が原因と考えられた。しかし、雌の受胎能にも若干の被験物質投与の影響を示唆する変化が認められた。分娩時観察では妊娠動物の全例が正常に分娩し、妊娠期間にも被験物質投与の影響は認められなかった。100 mg/kg群で妊娠黄体数、着床痕数、出産児数、出產生児数、着床率および分娩率が低値傾向を示したが、例数も少なく本試験の結果からは被験物質投与との関連は明らかではなかった。出産率、出生率および4日生存率に群間差は認められず、新生児の外表に異常は認められなかった。また、新生児の体重も哺育4日までに順調に増加し、死亡児および哺育4日の剖検でも被験物質投与による影響は認められなかった。

以上の結果から、本試験条件下におけるメタクリル酸 2, 3 - エポキシプロピルエステルの反復投与毒性に関する無影響量は雄で 10 mg/kg/day, 雌で 30 mg/kg/dayと判断された。また、雄の生殖に及ぼす影響は 100 mg/kg/day投与により精子活力の低下に起因すると考えられる受胎能の低下が認められ、無影響量は 30 mg/kg/dayと判断された。雌の生殖に及ぼす影響は確認試験の結果から 100 mg/kg/day投与により受胎能に若干の影響が認められ、無影響量は 30 mg/kg/dayと判断された。児動物の発生・発育に及ぼす影響は、100 mg/kg/day投与によっても認められず、無影響量は 100 mg/kg/dayと判断された。

2. 緒 言：

メタクリル酸 2, 3-エポキシプロピルエステル (2,3-Epoxypropyl methacrylate) は、化学産業の分野においてアクリルニトリル繊維の染色性の改良や硬化アクリル樹脂の接着剤として用いられている化合物である。本化合物は刺激性が強く、毒性については、経口投与によるラット、マウスおよびモルモットの LD₅₀ がそれぞれ 597 mg/kg, 390 mg/kg および 697 mg/kg であり、経皮投与によるウサギの LD₅₀ が 469 mg/kg¹⁾ と報告されているが、ヒトや実験動物の生体に及ぼす毒性、特に生殖発生毒性についてはほとんど知られていない。今回、OECD による既存化学物質の安全性点検に係わる毒性調査事業の一環として、メタクリル酸 2, 3-エポキシプロピルエステルの反復投与毒性および生殖・発生毒性について検討したのでその結果を報告する。

3. 試 験 題 目 : メタクリル酸 2, 3 - エポキシプロピルエステルのラットを用いる反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験

4. 試 験 目 的 : 既存化学物質の毒性学的性質を評価する一環として行うOECDガイドライン「反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験」（1990年3月22日）に従い、ラットを用いて一般毒性学的影響に加え生殖・発生に及ぼす影響を検討した。

なお、試験の実施は環企研第233号、衛生第38号、63基局第823号（昭和63年11月18日）の「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」の基準を満たすものとした。

5. 試 験 番 号 : 2 7 9 8 (115-059)

10. 試験材料および方法：

1) 被験物質

メタクリル酸 2, 3-エポキシプロピルエステル [2,3-Epoxypropyl methacrylate, 別名メタクリル酸グリシジル, Cas No. 106-91-2, Lot. No.

純度99.93%, 分子量142.16, 融点-50℃, 沸点189℃, 比重1.073 (25℃)] は, 無色透明な液体であり, 使用時まで冷暗所で密閉保管した. メタクリル酸 2, 3-エポキシプロピルエステルを実測した結果は, Reference data 1 に示した.

被験物質は, コーンオイル (ナカライテスク株式会社製) に溶解し, 0.2, 0.6および 2 (w/v) % の濃度になるよう各群の投与液を調製した. 調製後は, 使用時まで冷暗条件下で密閉保管した. 調製液中の被験物質は, 0.2 (w/v) % 溶液の場合冷暗条件下で少なくとも8日間安定であることが予備試験において確認されているため, 調製は1週間に1回以上の頻度で行い, 調製後7日以内に使用した.

投与液の濃度および均一性の分析は, 調製開始時に調製した各群のバッチから無作為にサンプルを抽出し実施した. その結果, 濃度は設定濃度の94.0~104%の範囲で調製されており, 変動係数は1.9%以下であった (Reference data 2). したがって, 投与液にはほぼ所定量のメタクリル酸 2, 3-エポキシプロピルエステルが含有されており, 適切に混合されていたことを確認した.

投与終了後に製造元に返却した被験物質について, 製造元で再分析した結果, 純度は99.93%であり被験物質は投与期間中安定であったことが確認された (Reference data 3).

2) 使用動物および飼育条件

試験には, 日本チャールス・リバー株式会社 (神奈川県厚木市) から購入した生後8週齢の Sprague-Dawley (Crj:CD(SD), SPF) 系雌雄ラットを使用した. 購入した動物は7日間検疫・馴化飼育した後, 一般状態に異常が認められなかったものを10週齢で群分けして試験に用いた. 群分け時の体重は, 雄で 382~414 g, 雌で 245~282 g の範囲であった.

動物は, 温度 $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$, 湿度 $55 \pm 10\%$, 換気回数15回/時間, 照度 150~300 lux, 照明時間12時間 (午前7時点灯, 午後7時消灯) に設定されたバリアシステムの飼育室 (W 5.7×D 10.0×H 2.5 m, 142.5 m³) で飼育した. 株式会社 東京技研サービス (東京都府中市) の自動水洗式飼育機 (W 691.0×D 79.0×H 195.0 cm) を使用し, アルミ製前面・床ステンレス網目飼育ケージ (W 15.8×D 23.8×H 16.0 cm, 飼育ケージ・スペース 6017 cm³) に動物を1匹ずつ収容し飼育した. 但し, 交配期間中は, 雄をアルミ製前面・床ステンレス網目飼育ケージ (W 36.8×D 25.0×H 16.0 cm, 飼育ケージ・スペース 14720 cm³) に収容し飼育した. 妊娠18日以降の母動物は哺育4日までアルミ製前面・床ステンレス網目飼育ケージ (W 36.8×D 25.0×H 16.0 cm) に哺育トレイおよび巣作り材料 (アルファードライ) を入れて飼育した.

飼育ケージは各週1回, 給餌器は週1回交換した.

飼料は, オリエンタル酵母工業株式会社 (東京都中央区) 製造のNMF固形飼料

(放射線滅菌飼料)を使用し、飼育期間中自由に摂取させた。飲水は、水道水を自動給水ノズルより自由に摂取させた。

供給した飼料および水には試験に支障を来す可能性の考えられる夾雑物の混在はなかった(Reference data 4, 5)。

なお、動物の馴化期間を含め、飼育期間中、データの信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因の変化はなかった。

3) 群分け・個体識別

動物はあらかじめ体重によって層別化し、無作為抽出法により各試験群を構成するように群分けし、1群当たり各12匹を用意した。

群分け後の動物の識別は個体別に耳パンチをするとともにケージごとに動物標識番号(Animal ID-No.)をつけた。

余剰動物は炭酸ガスにより安楽死させた。

4) 投与量、群構成、投与期間および投与方法

本試験の用量は先に実施した予備試験「メタクリル酸2, 3-エポキシプロピルエステルのラットを用いる反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験-2週間毒性試験(試験番号 2707)」の結果を参考にして決定した。すなわち、0, 10, 30, 100 および 300 mg/kgを雄および雌に14日間連続経口投与した結果、300 mg/kg群で切迫屠殺例を含み雄で6例中5例、雌で6例中2例死亡した。一般状態の変化として300 mg/kg群の雌雄全例に流涎が観察され、また、同群の雌雄に体重増加抑制および摂餌量の低値がみられた。

剖検では、300 mg/kg群の雌雄全例に胃粘膜の肥厚が観察された。

剖検時の器官重量では、雄の100および300 mg/kg群で副腎の実重量および相対重量が高値または高値傾向を示し、雌の100および300 mg/kg群で腎臓の実重量および相対重量が高値または高値傾向を示した。さらに、雌の300 mg/kg群で胸腺重量が低値を、肝臓および副腎重量が高値を示した。

以上の結果から、本試験の最高用量を明らかな毒性兆候が現れることが予想される100 mg/kgに設定し、以下公比3で除し、30 および 10 mg/kgを設定した。

投与経路は、OECDガイドライン「反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験」²⁾で指示されている投与経路に準じて強制経口投与を選択した。投与容量は、体重100 g当り0.5 mlとし、交配前および交配期間中の雌雄では、個体別に測定した最新体重に基づいて算出を行った。また、妊娠期間および哺育期間中の雌は、妊娠0, 7, 14, 21および哺育0日に測定した個体別体重に基づいて算出を行った。胃ゾンデを用いて毎日1回(7日/週)強制経口投与した。対照群にはコーンオイルのみを同様に投与した。

雄の投与期間は、交配前14日間と交配期間14日間および交配期間終了後17日間の連続45日間とした。雌の投与期間は、交配前14日間と交配期間中(最長10日間)ならびに交尾成立雌の妊娠期間を通じて分娩後の哺育3日まで(41~45日間)とした。なお、妊娠が成立しなかった雌は妊娠25日の解剖前日までの40~47日間とした。

5) 観察および検査

a. 一般状態

雌雄とも、全例について試験期間中毎日観察した。

b. 体 重

雄では、投与1（投与開始日）、8、15、22、29、36、43および46日（剖検日）に測定し、投与1から43日までの体重増加量を算出した。雌では、投与1（投与開始日）、8および15日に測定し、投与1から15日までの体重増加量を算出した。また、交尾成立後の雌は、妊娠0、7、14および21日に、分娩した雌は哺育0および4に測定し、それぞれ妊娠0から21日および哺育0から4日までの体重増加量を算出した。

c. 摂 餌 量

雄では、投与1（投与開始日）、8、15、22、29、36、43および45日（剖検前日）に餌重量を測定し、測定日から次の測定日までの摂餌量を求め平均1日摂餌量を算出するとともに投与1から15日および投与22から45日までの累積摂餌量を算出した。

雌では、投与1（投与開始日）、8および15日に測定し、測定日から次の測定日までの摂餌量を求め平均1日摂餌量を算出するとともに投与1から15日までの累積摂餌量を算出した。また、交尾成立の雌は妊娠0、7、14および21日に、分娩した雌は哺育0および4日に餌重量を測定し、測定日から次の測定日までの摂餌量を求め平均1日摂餌量を算出するとともに妊娠0から21日までの累積摂餌量を算出した。

なお、交配期間中の同居動物は摂餌量を測定しなかった。

d. 交 配

交配前14日間の性周期観察を行った雌を同群内の雄のケージに入れ1対1で最長10日間毎晩同居させた。翌朝、膣垢中の精子確認をもって交尾成立とし、その日を妊娠0日とした。

性周期観察は交尾成立日まで行い、発情期から次の発情期までの間の日数を性周期日数として平均性周期を算出した。

交配結果から、各群について交尾率 $\left[\left(\text{交尾成立動物数} / \text{同居動物数} \right) \times 100 \right]$ を算出した。

なお、動物番号2010は交配10日の交尾の確認時に妊娠徴候が認められたため、交配を中止し、交尾率および受胎率の集計からは除外した。この動物の膣垢標本を再度観察した結果、交配2日に交尾が成立していたことが判明した。

e. 自然分娩時および新生児の観察

妊娠動物は全例を自然分娩させた。分娩の確認は午前9～10時に行い、この時間帯に分娩が完了していることを確認した個体についてその日を哺育0日とした。午前10時を過ぎて分娩が完了した個体については、翌日を哺育0日とした。分娩を確認した全例について妊娠期間（哺育0日の年月日から妊娠0日の年月日を減じた日数）、受胎率〔（受胎動物数／交尾成立動物数）×100〕、出産率〔（生児出産雌数／妊娠雌数）×100〕、着床率〔（着床痕数／妊娠黄体数）×100〕、分娩率〔（総出産児数／着床痕数）×100〕、出生率〔（出產生児数／総出産児数）×100〕を算出した。妊娠25日の午前9時までには分娩のみられない動物は病理解剖した。母動物は哺育4日に病理解剖した。

新生児は哺育0日に出産児数（生存児＋死亡児）を調べ、性別を判定するとともに外形異常の有無を調べた。また、哺育0および4日に雌雄個体別の重量を測定し、1腹の雌雄別平均体重を算出した。

哺育4日に新生児全例を屠殺し、主要器官の肉眼的観察を行った。哺育期間中の死亡児も同様に主要器官の肉眼的観察を行った。また、新生児の4日生存率〔（哺育4日生児数／出產生児数）×100〕を算出した。

f. 臨床検査

各群の雄全例について剖検時に実施した。動物を約16時間絶食させた後、エーテルで麻酔後開腹し、腹部大動脈から採血した。

(1) 血液学的検査

検査には抗凝固剤（EDTA-3K）を添加した初血について、総合血液学検査装置 THMS H-1E（マイルス社、米国）を用いて白血球数（WBC：暗視野板法）、赤血球数（RBC：暗視野板法）、ヘマトクリット値（HCT：RBC、MCVより算出）、ヘモグロビン量（HGB：シアノメトヘモグロビン法）、平均赤血球容積（MCV：暗視野板法）、平均赤血球血色素量（MCH：HGB、RBCより算出）、平均赤血球血色素濃度（MCHC：HGB、HCTより算出）、血小板数（PLT：暗視野板法）および白血球百分率（フローサイトケミストリー法）を測定した。白血球百分率は前述の機器で測定したが、別途血液塗抹標本を作製し、メイ・グリュンワルド・ギムザ染色して保管した。網赤血球（RC）比率の算定については、抗凝固剤（EDTA-3K）添加血液をニューメチレンブルーで染色後、血液塗抹標本を作製した。各群とも貧血傾向が認められなかったため、標本の観察は行わなかった。

(2) 血液凝固能検査

検査にはクエン酸ソーダ添加血液を 3000 r. p. m., 13分間遠心分離して得た血漿について、血液凝固測定装置 KC-40（アメルング社、独国）を用いてプロトロンビン時間（PT：Quick 1 段法）、活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT：クロット法）およびフィブリノーゲン量（Fibrinogen：トロンビン時間法）を測定した。

(3) 血液生化学検査

検査にはクリーンシール（株式会社ヤトロン，東京都千代田区）に血液を採取し，室温に30分間静置後 3000 r. p. m. 7 分間遠心分離して得た血清について多項目生化学自動分析装置 Centrifichem ENCORE II（ベーカー社，米国）および EKTACHEM 700N（コダック社，米国）を用いて測定した．検査では総蛋白（ビュレット法），アルブミン（B. C. G. 法），A/G（計算値），血糖（グルコースオキシダーゼ法），中性脂肪（酵素比色法），総コレステロール（コレステロールオキシダーゼ法），尿素窒素（ウレアーゼアンモニウム指示薬法），クレアチニン（Jaffé法），総ビリルビン（ジアゾ法），グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ（IFCC法），グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ（IFCC法），アルカリホスファターゼ（Bessey-Lowry改良法），γ-グルタミルトランスペプチダーゼ（Orłowski法），ナトリウム（電極法），カリウム（電極法），塩素（電極法），カルシウム（アルセナゾⅢ法）および無機リン（モリブデン酸青法）を測定した．

g. 病理学検査

(1) 剖検および器官重量

①死亡動物

剖検では主要器官の肉眼的観察を行い，皮膚，乳腺，リンパ節，唾液腺，胸骨，大腿骨（骨髄を含む），胸腺，気管，肺および気管支，心臓，甲状腺および上皮小体，舌，食道，胃，十二指腸，小腸，大腸，肝臓，膵臓，脾臓，腎臓，副腎，膀胱，精囊，前立腺，眼球，ハーダー腺，脳，下垂体および脊髄を10%中性緩衝ホルマリン液で固定した．精巣および精巣上体はブアン氏液に固定した．

②雄動物

45日間投与した日の夕方から，約16時間絶食をさせた後エーテル麻酔下で採血し安楽死させた．主要器官の肉眼的観察を行った後，脳，胸腺，肝臓，腎臓，脾臓，副腎，精巣および精巣上体重量を測定し器官重量・体重比（相対重量）を算出した．また，全動物の重量測定器官に加えて心臓，胃，精囊，前立腺，下垂体および肉眼所見として変化が認められた器官・組織としてリンパ節，肺，腹腔の塊および皮下の塊を10%中性緩衝ホルマリン液で固定した．なお，精巣および精巣上体はブアン氏液で固定した．

③自然分娩した雌

哺育4日にエーテル麻酔下で放血安楽死させた．主要器官の肉眼的観察を行った後，脳，胸腺，肝臓，腎臓，脾臓，副腎および卵巣重量を測定し器官重量・体重比（相対重量）を算出した．また，全動物の重量測定器官に加えて心臓，胃および下垂体を10%中性緩衝ホルマリン液で固定した．また，剖検時に黄体数および着床痕数を調べた．

④自然分娩の認められない雌

妊娠25日に、エーテル麻酔下で放血安楽死させ、主要器官の肉眼的観察を行った後、皮膚、乳腺、リンパ節、唾液腺、胸骨、大腿骨（骨髄を含む）、胸腺、気管、肺および気管支、心臓、甲状腺および上皮小体、舌、食道、胃、十二指腸、小腸、大腸、肝臓、膵臓、脾臓、腎臓、副腎、膀胱、卵巣、子宮、膣、眼球、ハーダー腺、脳、下垂体および脊髄を10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。着床痕が認められない動物は妊娠不成立と判定した。

(2) 病理組織学検査

①死亡動物

雄の 10 mg/kg群 1 例および 100 mg/kg群 1 例の皮膚、乳腺、リンパ節、唾液腺、胸骨、大腿骨（骨髄を含む）、胸腺、気管、肺および気管支、心臓、甲状腺および上皮小体、舌、食道、胃、十二指腸、小腸、大腸、肝臓、膵臓、脾臓、腎臓、副腎、膀胱、精囊、前立腺、精巣、精巣上体、眼球、ハーダー腺、脳、下垂体および脊髄について実施した。

②妊娠を成立させた雄

対照群と高用量群では、脳、胸腺、心臓、胃、肝臓、腎臓、脾臓、副腎および精巣について実施し、低および中用量群では胃について実施した。

③自然分娩した雌

対照群と高用量群では、脳、胸腺、心臓、胃、肝臓、腎臓、脾臓、副腎および卵巣について実施し、低および中用量群では胃および脾臓について実施した。

④妊娠を成立させなかった雄および妊娠不成立の雌

脳、胸腺、心臓、肺、胃、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、膣、子宮、卵巣、精巣、精巣上体、精囊、前立腺、下垂体および腹腔の塊について実施した。

(3) 精細管の精上皮細胞の観察

100 mg/kg群で受胎率の低下が認められたため、通常の病理組織学検査に加え精細管の精上皮細胞の観察を実施した。死亡例を除く対照群および 100 mg/kg群全例の精巣からHEおよびPAS染色標本作製し Russellら³⁾ および高橋ら⁴⁾ の鑑別法に従いステージⅦの精細管の精上皮細胞数を測定した。動物毎に各5本のほぼ円形に横断された精細管について、精祖細胞（type A）、プレレプトテン期精母細胞、パキテン期精母細胞、ステップⅦ精子細胞およびセルトリ細胞数を数え、それぞれの総数からセルトリ細胞1個当たりの細胞数を算出した。

h. 統計解析

体重、摂餌量、黄体数、着床痕数、出産児数、死産児数、性比、平均性周期、妊娠期間、着床率、分娩率、出生率、外形異常発現率、新生児の4日生存率、器官重量、器官重量・体重比（相対重量）、血液学および血液生化学検査値については多重比較検定⁵⁾を行った。まず Bartlettの等分散検定を実施し、等分散の場合は一元配置分散分析を行った。分散が有意な場合は Dunnettの多重比較検定^{6)・7)}で対照群と各投与群間の有意差を検定した。Bartlettの等分散検定で不等分散の場合は Kruskal-Wallisの順位検定を実施し、有意の場合はノンパラメトリックの Dunnettの多重比較検定^{6)・7)}で対照群と各投与群間の有意差を検定した。出産率、交尾率および受胎率については χ^2 検定^{8)・9)}を用いた。病理学検査の所見については、Fisherの直接確率検定法⁹⁾を用いた。なお、哺育期間中の新生児に関する成績は1母体当りの平均を1標本とした。有意水準は * : $P < 0.05$ および ** : $P < 0.01$ の2段階とした。

11. 試 験 結 果：

1) 反復投与毒性

a. 死亡および一般状態 (Table 1-1~1-4, Appendix 1-1~1-4)

雄の 10 mg/kg群で投与21日に1例 (動物番号1102), 100 mg/kg群で投与26日に1例 (動物番号1312) が死亡した。一般状態の観察では, 口吻周囲が濡れる程度の流涎が雄の 30 および 100 mg/kg群でそれぞれ5 および12例 (全例) に観察された。この症状は, 30 mg/kg群では投与25から40日の間に散見され, 投与直後から発現し, 10分後には消失した。100 mg/kg群では投与19日頃から観察され始め, 投与期間終了までほぼ継続して観察された。症状の発現は投与直後から認められ, ほとんどの例で投与後30分以内に消失したが, 個体によっては投与後2時間まで持続するものもあった。その他, 雄では 30 mg/kg群で自発運動低下および皮下部の腫瘍が同一個体の1例に, 100 mg/kg群で被毛の汚れが死亡した個体にそれぞれ観察された。雌では妊娠期間中に対照群で歯異常 (上顎切歯折れ) が1例, 哺育期間中に 10 mg/kg群で脱毛 (前肢) が1例に観察された。

b. 体 重 (Figure 1~2, Table 2-1~2-2, Appendix 2-1~2-2)

雌雄ともに投与期間を通じて対照群と各被験物質投与群との間に差は認められなかった。

c. 摂 餌 量 (Figure 3~4, Table 3-1~3-2, Appendix 3-1~3-2)

雌雄ともに投与期間を通じて対照群と各被験物質投与群との間に差は認められなかった。

d. 雄の血液学的検査 (Table 4-1~4-2, Appendix 4-1~4-2)

血液学的検査では, 100 mg/kg群で対照群に比べMCHCが低値を示した。その他の検査項目では対照群と被験物質投与群との間に差は認められなかった。

血液凝固能検査では, すべての検査項目について対照群と被験物質投与群との間に差は認められなかった。

e. 雄の血液生化学検査 (Table 5, Appendix 5)

100 mg/kg群で対照群に比べ総蛋白およびアルブミンが高値を示した。また, 同群で GPTが低値を示した。その他の検査項目では対照群と被験物質投与群との間に差は認められなかった。

f. 器官重量 (Table 6-1, 6-2, Appendix 6-1, 6-2)

雄では, 対照群に比べ 10 mg/kg群で副腎の実重量が高値を示し, 100 mg/kg群で腎臓, 副腎の実重量および相対重量がともに高値を示した。

雌では, 対照群に比べ 100 mg/kg群で腎臓の実重量および相対重量が高値傾向を示した。

g. 剖検所見 (Table 7-1~7-5, Appendix 7-1~7-2)

死亡した10 mg/kg群の雄の1例 (動物番号1102) には肺の赤色化および胸水の貯留が、100 mg/kg群の雄の1例 (動物番号1312) には肺の赤色化がそれぞれ認められた。

妊娠を成立させた雄は、対照群、10、30 および 100 mg/kg群でそれぞれ10、11、11および2例であり、対照群で脾臓の肥大および肝臓の黄色斑／区域が、30 mg/kg群でリンパ節の肥大、胸腺の赤色化および皮下の塊がそれぞれ単発性に認められた。

自然分娩した雌は、対照群、10、30 および 100 mg/kg群でそれぞれ10、12、11および2例であり、10 mg/kg群で胸腺の赤色化および卵巣の嚢胞が単発性に認められた。

妊娠を成立させなかった雄は、対照群、30 および 100 mg/kg群でそれぞれ2、1および9例であり、対照群で腹腔の塊が、100 mg/kg群で肺および腎臓の黒色斑／区域がそれぞれ単発性に認められた。

妊娠不成立の雌は、対照群、30 および 100 mg/kg群でそれぞれ2、1および10例であり、100 mg/kg群で腎臓の癒痕が1例に認められた。

h. 病理組織学検査 (Table 8-1~8-6, Appendix 8-1~8-2, Photo. 1~6)

死亡した10 mg/kg群の雄の1例 (動物番号1102) には肺の鬱血、細胞浸潤および肝臓の鬱血が、100 mg/kg群の雄の1例 (動物番号1312) には肺の鬱血および前胃の角化亢進がそれぞれ認められたが、死因については不明であった。

雄では、前胃の限界縁付近の扁平上皮の増生が 30 および 100 mg/kg群で、前胃粘膜下組織の水腫が 30 mg/kg群でそれぞれ対照群に比べ統計学的に有意な発生数の増加を示した。また、腺胃粘膜下組織の水腫が 100 mg/kg群で、腺胃の細胞浸潤が 30 mg/kg群でそれぞれ対照群に比べ有意な減少を示した。その他、心臓の細胞浸潤、脾臓の色素沈着、腺胃の細胞浸潤、肝臓の小肉芽腫、腎臓の尿細管好塩基化、前胃の水腫・細胞浸潤、肝臓および腎臓のリンパ球浸潤等が各群に複数例に観察されたが、その発生数に対照群と被験物質投与群の間に明らかな差はなかった。

雌では、前胃の細胞浸潤が 100 mg/kg群で有意な発生数の増加を示したが、胃のその他の変化には対照群と 100 mg/kg群の間に発生数の差はみられなかった。また、脾臓の色素沈着が 100 mg/kg群で有意な発生数の増加を示し、脾臓および肝臓における髄外造血が同群で減少した。その他、対照群および 100 mg/kg群において肝臓の小肉芽腫が複数例に観察された。

妊娠を成立させなかった雄では、100 mg/kg群の前胃の扁平上皮増生が妊娠を成立させた雄に比べ、病変の程度が強く (9例中6例が中等度) 発現した他、100 mg/kg群で前胃の水腫・細胞浸潤・扁平上皮増生、腺胃の再生上皮、リンパ球浸潤などが観察された。その他 100 mg/kg群では、心臓の細胞浸潤ならびに脾臓の色素沈着がやや多い発生数を示した。なお、これらの動物の精巣、精巣上体、精囊、前立腺および下垂体に不妊の原因と考えられる異常所見は認められなかった。

妊娠不成立の雌では、前胃と腺胃の細胞浸潤が 100 mg/kg群で複数例に認められた。また、脾臓の色素沈着が各群の全例に、心臓の細胞浸潤、肝臓の小肉芽腫および前胃の扁平上皮増生が 100 mg/kg群で複数例に観察された。なお、子宮水腫が 100 mg/kg群で複数例に観察されたがその発生数に対照群との間に明らかな差異は認められず、

これら動物の卵巢には異常所見は認められなかった。

i. 精細管の精上皮細胞の観察 (Table 8-7, Appendix 8-3, Photo. 7~8)

対照群および 100 mg/kg群全例の精巣についてステージⅧの精細管の精上皮細胞数を測定した。精祖細胞 (type A), プレレプトテン期精母細胞, パキテン期精母細胞, ステップⅧ精子細胞およびセルトリ細胞数は対照群と比較して差は認められなかった。

2) 生殖発生毒性

a. 交尾および受胎能 (Table 9, Appendix 9-1~9-2)

交尾は、対照群を含むすべての群で成立した。受胎率は、対照群, 10, 30 および 100 mg/kg群でそれぞれ 81.8, 100.0, 91.7 および 16.7%であり、対照群に比べ 100 mg/kg群で低値を示した。

性周期観察では、いずれの群もほぼ4~5日の性周期を示し、平均性周期に群間差は認められなかった。

b. 分娩および哺育 (Table 10, Appendix 10, 12)

100 mg/kg群で対照群に比べ妊娠黄体数, 着床痕数, 出産児数, 出産生児数, 着床率および分娩率が低値傾向を示した。

その他, 分娩状態には異常は観察されず, 各群の妊娠期間, 死産児数はほぼ同様な値を示し, 出産率, 出生率および4日生存率に群間差は認められなかった。

c. 新生児の形態, 体重および剖検所見 (Table 11~12-2, Appendix 11, 13-1~13-2)

新生児の外表検査では、いずれの群にも外表異常は観察されなかった。哺育期間中の体重では、雌雄ともに群間差は認められなかった。死亡児の剖検では、異常所見は観察されなかった。哺育4日の剖検では雌雄に胸腺の頸部残留が 100 mg/kg群を除く各群に散見された他, 腎盂拡大が 10 mg/kg群の雌雄各1例, 肝臓の白色斑/区域が対照群の雌2例にそれぞれ観察された。

12. 考察および結論：

1) 反復投与毒性

雄の 10 および 100 mg/kg群で認められた死亡例の原因は、病理組織学検査の結果からも明らかではなかった。一般状態の観察では、流涎が雄の 30 mg/kg群で5例に散発的に認められ、100 mg/kg群で12例（全例）に投与19日頃からほぼ投与期間を通じて認められた。この症状は用量に関連して発現頻度の増加および持続時間の延長が認められたことから、被験物質投与の影響と考えられた。その他雌雄に観察された所見はいずれも単発性の発生であり、被験物質投与の影響によるものとは考えられなかった。

体重および摂餌量については、雌雄ともに被験物質投与の影響は認められなかった。

雄の血液学的検査では、100 mg/kg群でMCHCが低値を示したが軽微な変化であり、HGBおよびHCTに変化が認められないことから被験物質投与の影響ではないと判断された。血液凝固能検査には被験物質投与の影響は認められなかった。血液生化学検査では、100 mg/kg群で対照群に比べ総蛋白およびアルブミンが高値を示し、GPTが低値を示したが、その機序は明らかではなかった。

器官重量では、雌雄の 100 mg/kg群で腎臓の実重量および相対重量がともに高値または高値傾向を示した。この変化は、2週間反復投与による予備試験においても同様な変化が認められており被験物質投与によるものと考えられた。雄の 10 および 100 mg/kg群で副腎重量が高値を示したが、30 mg/kg群の値は対照群とほぼ同等であり、病理組織学検査で同器官に異常は認められないことから副腎の重量変化と被験物質投与との関連は明らかではなかった。

病理学検査の結果、剖検所見で観察された所見はいずれも単発性の発生であり被験物質投与の影響が示唆される病変は観察されなかった。組織所見では、前胃の限界縁付近の扁平上皮の増生（Photo. 1, 2）が雄の 30 および 100 mg/kg群で、前胃粘膜下組織の水腫が雄の 30 mg/kg群でそれぞれ対照群に比べ統計学的に有意な発生増加を示した。これらの変化はいずれも本被験物質の持つ刺激性や腐食性から考え、被験物質の胃への直接的な作用と考えられた。また、腺胃粘膜下組織の水腫が 100 mg/kg群で、腺胃の細胞浸潤が 30 mg/kg群でそれぞれ対照群に比べ有意な減少を示したが、この理由については不明であった。

一方、雌では、前胃の細胞浸潤が 100 mg/kg群で多く発生した以外は雄でみられた胃の種々の変化には対照群と 100 mg/kg群の間に発生数の差はみられなかった。しかし、脾臓の色素沈着が 100 mg/kg群で発生数の増加を示し、脾臓および肝臓における髄外造血（Photo 5, 6）が同群で減少した。脾臓および肝臓における髄外造血は通常未妊娠動物には認められないことから、発生数の減少は今回 100 mg/kg群で不妊動物が多数認められたことによるものであり、被験物質投与とは関連のない変化と考えられた。脾臓の色素沈着の増加についてもこの所見が不妊動物に全例認められたことから同様の変化と考えた。その他の臓器・器官に観察された諸所見については対照群と被験物質投与群の間に発現数に差は認められず、全て自然発生性病変に属するものと考えられた。

妊娠を成立させなかった雄の精巣 (Photo. 7, 8) および妊娠不成立の雌の卵巣には剖検所見および組織所見ともに形態学的な異常所見は観察されず、精巣上体、精囊、前立腺、子宮および下垂体に不妊の原因と考えられる所見は認められなかった。さらに、精細管の精上皮細胞 (Photo. 9, 10) の観察でも、100 mg/kg群の精祖細胞 (type A)、プレレプトテン期精母細胞、パキテン期精母細胞、ステップⅦ精子細胞およびセルトリ細胞数は対照群に比べ差は認められなかった。

以上のことから、メタクリル酸 2, 3-エポキシプロピルエステルの反復投与により雄の 30 および 100 mg/kg群で流産が、さらに雌雄の 100 mg/kg群で腎臓重量の高値が認められた。病理組織学検査では雄の 30 および 100 mg/kg群で前胃の扁平上皮増生および水腫の発生数の増加が認められた。したがって、無影響量は雄で 10 mg/kg/day, 雌で 30 mg/kg/dayと判断された。

2) 生殖発生毒性

性周期および交尾能に被験物質投与の影響は認められなかったが、100 mg/kg群で受胎率が明らかに低下し、被験物質投与の影響と考えられた。前述したように妊娠を成立させなかった雄および妊娠が成立しなかった雌の剖検では生殖腺および副生殖腺に異常所見は認められず、精巣、精巣上体および卵巣重量に変化は認められなかった。そのため、本試験からはこの受胎率の低下の原因は推定できなかった。この現象の再現性と雌雄のどちらに起因したものであるかを確認するために受胎能の確認試験を行った。その結果、受胎率の低下には再現性が認められ、その原因は主として雄側の精子活力の低下によるものと考えられた。分娩時観察では妊娠動物の全例が正常に分娩し、妊娠期間にも被験物質投与の影響は認められなかった。100 mg/kg群で妊娠黄体数、着床痕数、出産児数、出生児数、着床率および分娩率が低値傾向を示したが、例数も少なく本試験の結果からは被験物質投与との関連は明らかではなかった。確認試験において雄に対する影響よりも強くはないが雌の受胎能にも若干の被験物質投与の影響を示唆する結果が得られた。しかし、これらの雌の帝王切開成績では、妊娠黄体数、着床痕数および生存胎児数等に被験物質投与の影響は認められなかった。

出産率、出生率および4日生存率に群間差は認められず、新生児の外表に異常は認められなかった。また、新生児の体重も哺育4日までに順調に増加し、死亡児および哺育4日の剖検でも被験物質投与による影響は認められなかった。

以上のことから、メタクリル酸 2, 3-エポキシプロピルエステルの雄の生殖に及ぼす影響は 100 mg/kg/day投与により精子活力の低下に起因すると考えられる受胎能の低下が認められ、無影響量は 30 mg/kg/dayと判断された。雌の生殖に及ぼす影響は本試験の結果からは 100 mg/kg/day投与によっても明らかな影響は認められなかったが、確認試験の結果から 100 mg/kg/day投与により受胎能に若干の影響が認められ、無影響量は 30 mg/kg/dayと判断された。児動物の発生・発育に及ぼす影響は、100 mg/kg/day 投与によっても認められず、無影響量は 100 mg/kg/day と判断された。

13. 参 考 文 献 :

- 1) EPA TSCA Test Submission (TSCARTS) Data Base , April 1995.
- 2) OECD guideline for testing of chemicals: Extended Steering Group Document. No. 3 (1990).
- 3) Russell, L. D; Ettlin, R. A., Hikim, A. P. S. and Clegg, E. D. : Histological and histopathological evaluation of the testis, Cache River Press, Florida, pp. 1 ~ 118 (1990).
- 4) 高橋道人, 三森国敏, 古川文夫, 井上実, 松井元 : 精巣毒性評価のための精細管アトラス, ソフトサイエンス社, (1994).
- 5) Shayne, C. G. and Carrol, S. W. : Statics and Experimental Design For Toxicologists. Telford Press (1986).
- 6) 佐野正樹, 岡山佳弘 : 医薬安全性研究会会報, No. 32, p. 21 (1990)
- 7) YOSHIDA, M. : J. J. Soc. comp. Stat., 1, p. 111 (1988)
- 8) 佐久間昭 : 薬効評価 I - 計画と解析 -, 東京大学出版会 (1977) .
- 9) 石居 進 : 生物統計学入門, 培風館 (1975) .

Figures, Tables

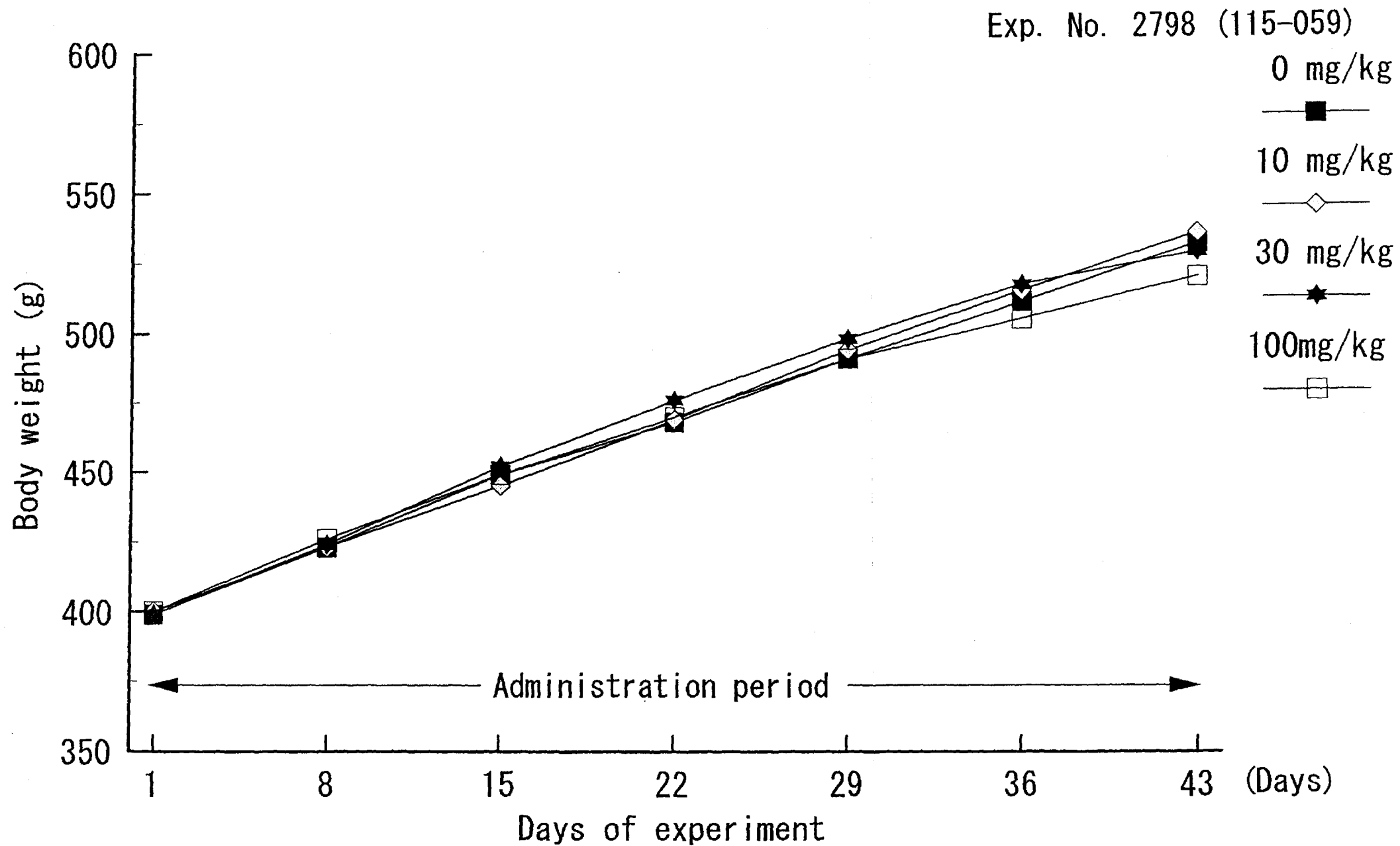


Figure 1 Body weight change of male rats

Exp. No. 2798 (115-059)

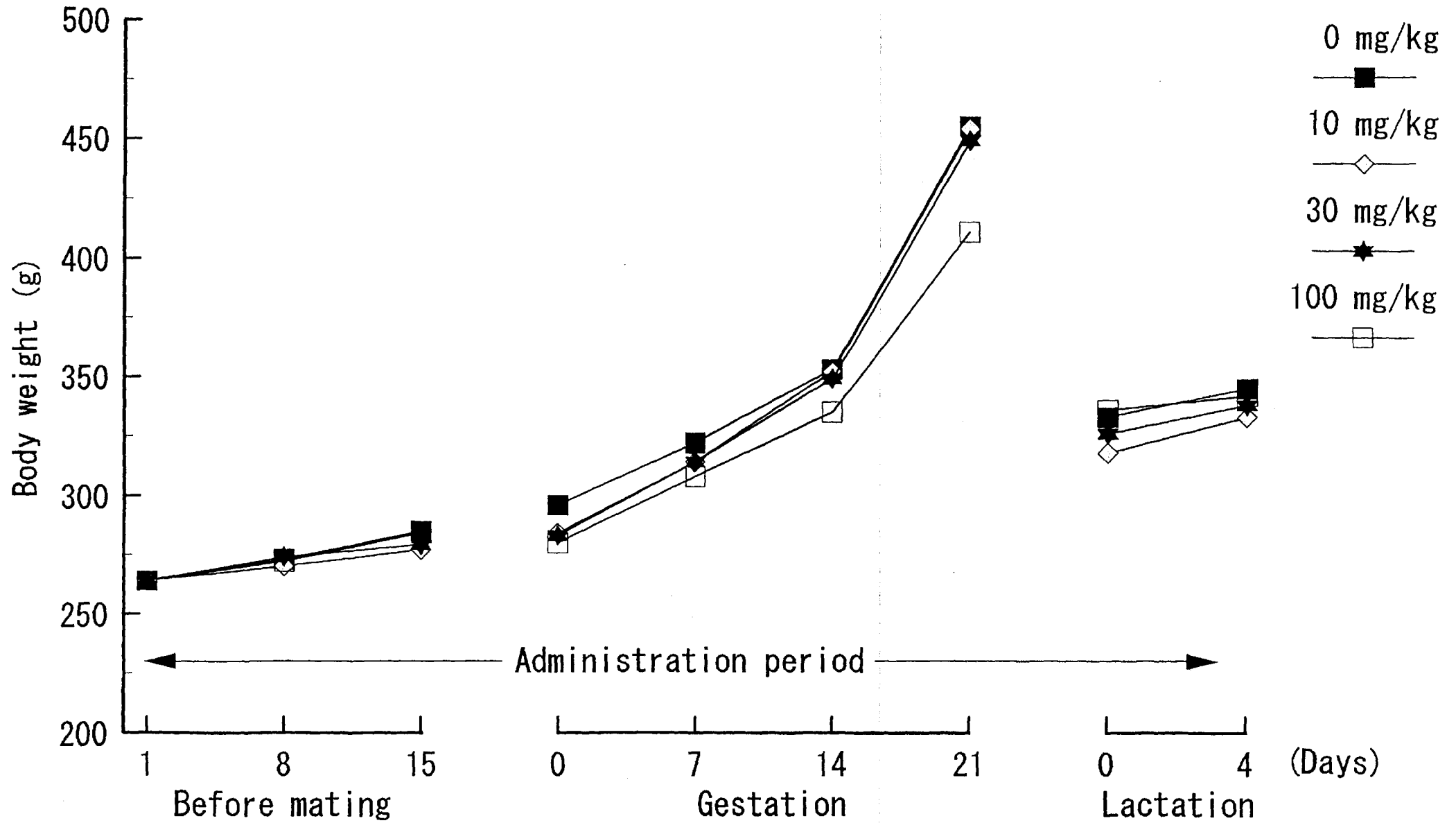


Figure 2 Body weight change of female rats

Exp. No. 2798 (115-059)

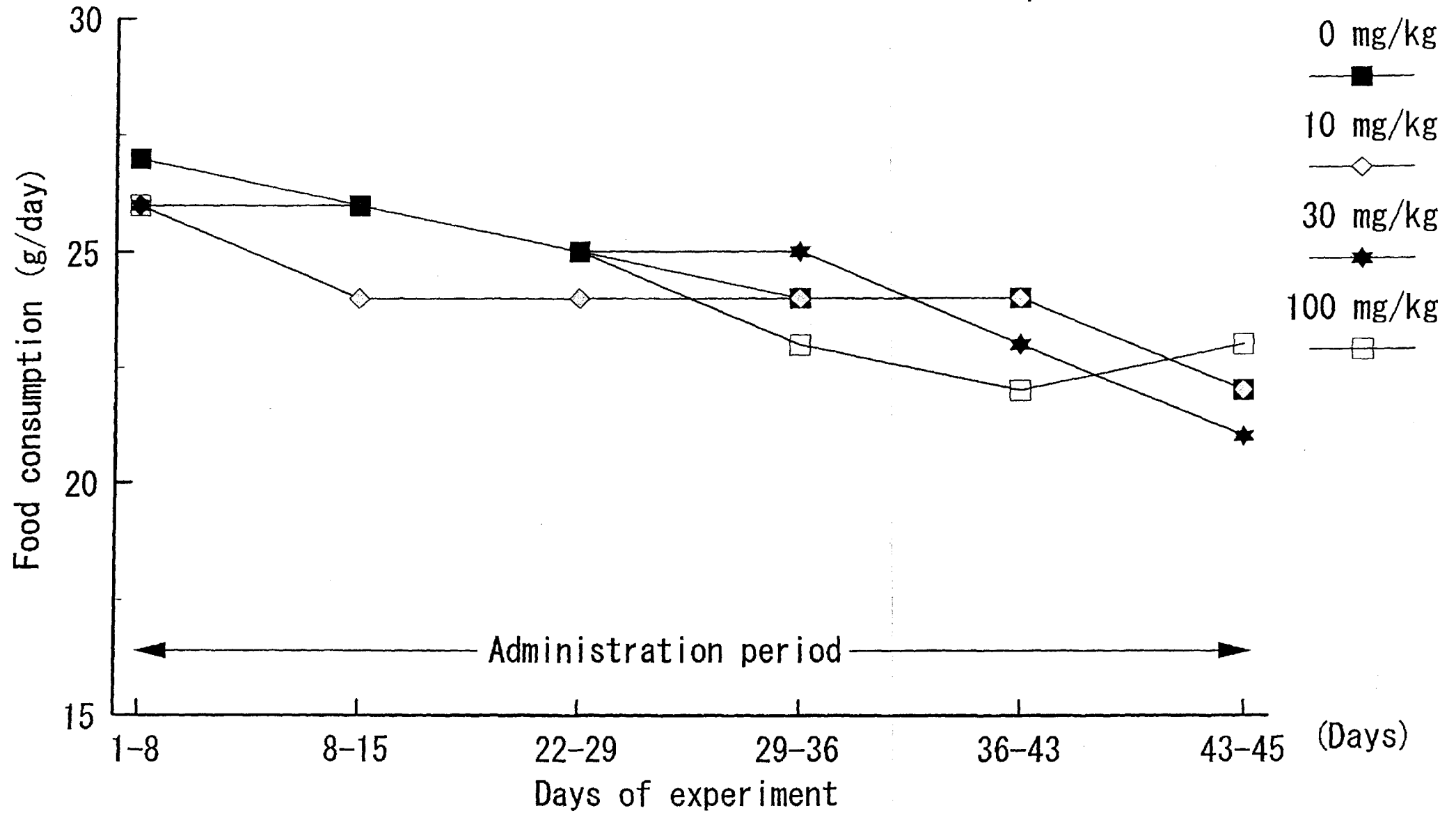


Figure 3 Food consumption of male rats

Exp. No. 2798 (115-059)

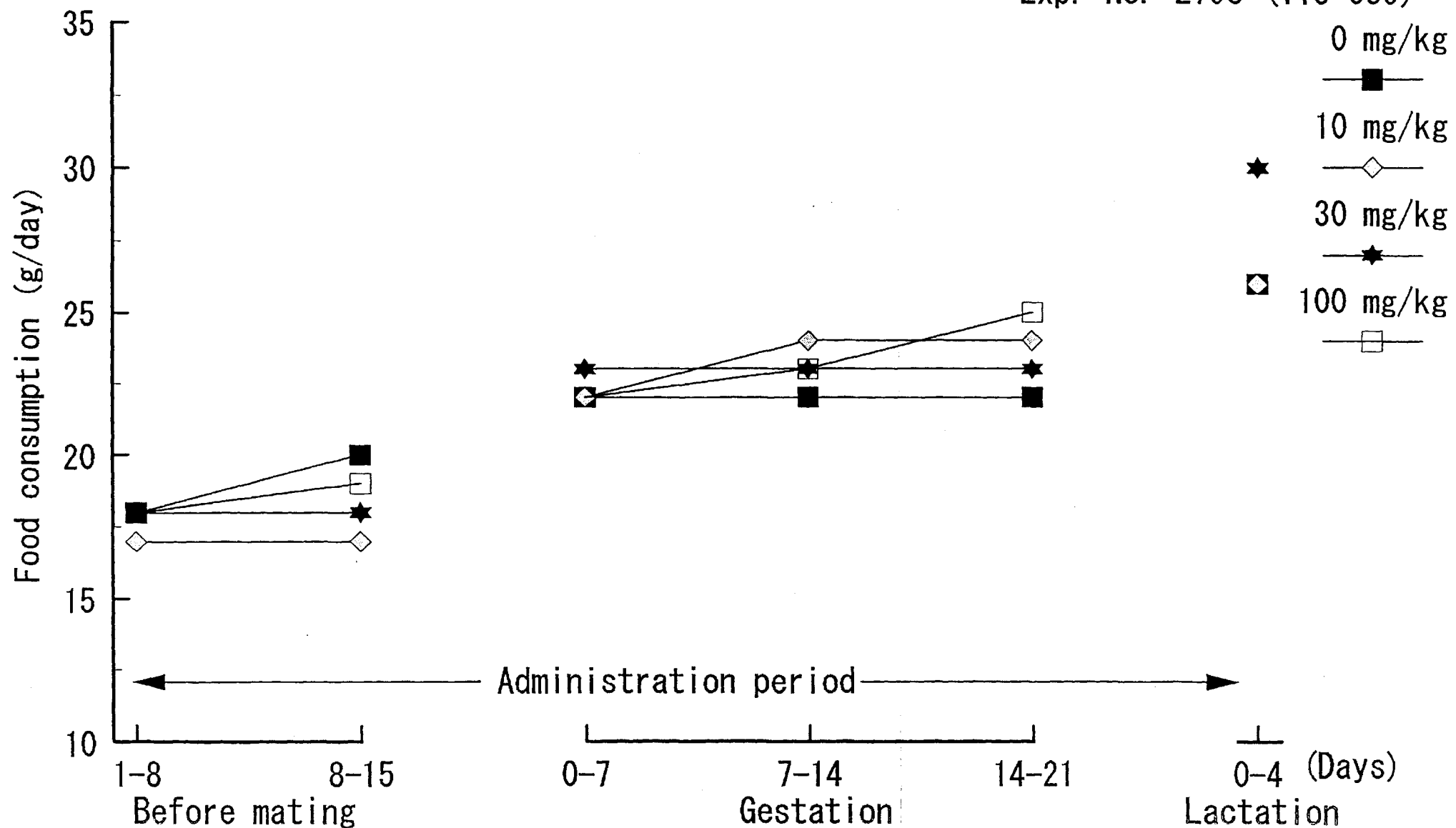


Figure 4 Food consumption of female rats

Table 1-1

Clinical observations in male rats

Exp. No. 2798 (115-059)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of experiment							Total (1-46)
		1- 7	8-14	15-21	22-28	29-35	36-42	43-46	
number per group	0	12	12	12	12	12	12	12	
	10	12	12	12	11	11	11	11	
	30	12	12	12	12	12	12	12	
	100	12	12	12	12	11	11	11	
dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	0	0	1	0	0	0	0	1
	30	0	0	0	0	0	0	0	0
	100	0	0	0	1	0	0	0	1
normal	0	12	12	12	12	12	12	12	12
	10	12	12	12	11	11	11	11	11
	30	12	12	12	11	12	7	11	7
	100	12	12	2	2	1	1	2	0
decrease spon.motor act	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	0	0	0	0	0	0	0	0
	30	0	0	0	0	0	1 a)	0	1 b)
	100	0	0	0	0	0	0	0	0
tissue-mass/subcut.site	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	0	0	0	0	0	0	0	0
	30	0	0	0	0	0	1	1	1
	100	0	0	0	0	0	0	0	0
salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	0	0	0	0	0	0	0	0
	30	0	0	0	1	0	5	0	5
	100	0	0	10	10	10	10	9	12
dirty hair	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	0	0	0	0	0	0	0	0
	30	0	0	0	0	0	0	0	0
	100	0	0	0	1	0	0	0	1

a) No. of animals with clinical sign in group

b) Total of animals with clinical sign in group

Table 1-2

Clinical observations in female rats
(Before and during mating period)

Exp. No. 2798 (115-059)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of experiment				Total (1-23)
		1- 7	8-14	15-21	22-23	
number per group	0	12	12	12	0	
	10	12	12	12	0	
	30	12	12	12	0	
	100	12	12	12	1	
normal	0	12	12	12	0	12
	10	12	12	12	0	12
	30	12	12	12	0	12
	100	12	12	12	1	12

Clinical observations in female rats (Gestation period)

[illegible]

Table 1-3 -continued

Clinical observations in female rats
(Gestation period)

Exp. No. 2798 (115-059)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of gestation												Total (0-24)
		13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	
number per group	0	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	6	0	
	10	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	10	0	
	30	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	7	1	
	100	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	
normal	0	10	9	9	9	9	9	9	10	10	10	6	0	9
	10	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	10	0	12
	30	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	7	1	11
	100	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	2
teeth abnormality	0	0	1	1	1	1	1	1 a)	0	0	0	0	0	1 b)
	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

a) No. of animals with clinical sign in group

b) Total of animals with clinical sign in group

Table 1-4

Clinical observations in female rats
(Lactation period)

Exp. No. 2798 (115-059)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of lactation					Total (0- 4)
		0	1	2	3	4	
number per group	0	10	10	10	10	10	
	10	12	12	12	12	12	
	30	11	11	11	11	11	
	100	2	2	2	2	2	
normal	0	10	10	10	10	10	10
	10	12	11	11	11	11	11
	30	11	11	11	11	11	11
	100	2	2	2	2	2	2
loss of hair	0	0	0	0	0	0	0
	10	0	1	1	1	1 a)	1 b)
	30	0	0	0	0	0	0
	100	0	0	0	0	0	0

a) No. of animals with clinical sign in group

b) Total of animals with clinical sign in group

Table 2-1

Body weight change of male rats

Exp. No. 2798 (115-059)

Unit : g																	
Dose level (mg/kg)		0				10				30				100			
Before mating period																	
No. of animals		12				12				12				12			
		Mean	±	S.D.	(N)	Mean	±	S.D.	(N)	Mean	±	S.D.	(N)	Mean	±	S.D.	(N)
Days of experiment	1	399	±	9	(12)	400	±	9	(12)	399	±	10	(12)	400	±	9	(12)
	8	423	±	14	(12)	423	±	12	(12)	424	±	20	(12)	426	±	14	(12)
	15	449	±	19	(12)	445	±	14	(12)	452	±	22	(12)	449	±	19	(12)
	22	468	±	19	(12)	469	±	16	(11)	476	±	29	(12)	470	±	26	(12)
	29	491	±	24	(12)	494	±	19	(11)	498	±	30	(12)	491	±	27	(11)
	36	511	±	30	(12)	515	±	19	(11)	517	±	35	(12)	505	±	32	(11)
	43	532	±	29	(12)	536	±	20	(11)	529	±	42	(12)	520	±	35	(11)
Gain	1-43	132	±	24	(12)	136	±	18	(11)	130	±	38	(12)	120	±	30	(11)

Table 2-2

Body weight change of female rats

Exp. No. 2798 (115-059)

Unit : g

Dose level (mg/kg)		0			10			30			100		
Before mating period		12			12			12			12		
No. of animals		Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)		
Days of before mating	1	264 $\pm$ 11	(12)		264 $\pm$ 9	(12)		264 $\pm$ 10	(12)		264 $\pm$ 10	(12)	
	8	273 $\pm$ 12	(12)		270 $\pm$ 12	(12)		274 $\pm$ 13	(12)		272 $\pm$ 12	(12)	
	15	285 $\pm$ 17	(12)		277 $\pm$ 12	(12)		279 $\pm$ 15	(12)		284 $\pm$ 15	(12)	
	Gain 1-15	21 $\pm$ 11	(12)		12 $\pm$ 7	(12)		15 $\pm$ 10	(12)		20 $\pm$ 8	(12)	
Gestation period		9			12			11			2		
No. of dams		Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)		
Days of gestation	0	296 $\pm$ 18	(9)		284 $\pm$ 13	(12)		283 $\pm$ 14	(11)		280 $\pm$ 1	(2)	
	7	322 $\pm$ 18	(9)		314 $\pm$ 14	(12)		314 $\pm$ 19	(11)		308 $\pm$ 2	(2)	
	14	353 $\pm$ 32	(9)		352 $\pm$ 14	(12)		349 $\pm$ 22	(11)		335 $\pm$ 3	(2)	
	21	455 $\pm$ 39	(9)		454 $\pm$ 19	(12)		449 $\pm$ 31	(11)		411 $\pm$ 3	(2)	
Gain 0-21		160 $\pm$ 36	(9)		170 $\pm$ 21	(12)		166 $\pm$ 24	(11)		131 $\pm$ 2	(2)	
Lactation period		10			12			11			2		
No. of dams		Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)		
Days of lactation	0	333 $\pm$ 42	(10)		318 $\pm$ 16	(12)		326 $\pm$ 23	(11)		336 $\pm$ 9	(2)	
	4	345 $\pm$ 29	(10)		333 $\pm$ 28	(12)		338 $\pm$ 24	(11)		342 $\pm$ 5	(2)	
Gain 0-4		13 $\pm$ 21	(10)		15 $\pm$ 23	(12)		11 $\pm$ 11	(11)		6 $\pm$ 4	(2)	

Table 3-1

Food consumption of male rats

Exp. No. 2798 (115-059)

		Unit : g/day											
Dose level (mg/kg)		0			10			30			100		
Before mating period		12			12			12			12		
No. of animals		Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)		
Days of experiment	1- 8	27 $\pm$	2	(12)	26 $\pm$	2	(12)	26 $\pm$	3	(12)	26 $\pm$	3	(12)
	8-15	26 $\pm$	3	(12)	24 $\pm$	2	(12)	26 $\pm$	2	(12)	26 $\pm$	3	(12)
	22-29	25 $\pm$	3	(11)	24 $\pm$	2	(11)	25 $\pm$	2	(12)	25 $\pm$	3	(10)
	29-36	24 $\pm$	2	(12)	24 $\pm$	2	(11)	25 $\pm$	3	(12)	23 $\pm$	3	(11)
	36-43	24 $\pm$	2	(12)	24 $\pm$	3	(11)	23 $\pm$	5	(12)	22 $\pm$	2	(11)
	43-45	22 $\pm$	2	(12)	22 $\pm$	2	(11)	21 $\pm$	3	(12)	23 $\pm$	2	(11)
Cumulative consumption (g)	1-15	366 $\pm$	33	(12)	351 $\pm$	25	(12)	360 $\pm$	29	(12)	362 $\pm$	38	(12)
	22-45	559 $\pm$	55	(11)	551 $\pm$	52	(11)	549 $\pm$	66	(12)	540 $\pm$	60	(10)

Table 3-2

Food consumption of female rats

Exp. No. 2798 (115-059)

		Unit : g/day											
Dose level (mg/kg)		0			10			30			100		
Before mating period		12			12			12			12		
No. of animals													
		Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)		
Days of before mating	1- 8	18 $\pm$ 2	(12)		17 $\pm$ 1	(12)		18 $\pm$ 2	(12)		18 $\pm$ 2	(12)	
	8-15	20 $\pm$ 4	(12)		17 $\pm$ 2	(12)		18 $\pm$ 2	(12)		19 $\pm$ 2	(12)	
	Cumulative consumption (g) 1-15	263 $\pm$ 41	(12)		241 $\pm$ 17	(12)		251 $\pm$ 25	(12)		263 $\pm$ 27	(12)	
Gestation period		9			12			11			2		
No. of dams													
		Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)		
Days of gestation	0- 7	22 $\pm$ 2	(9)		22 $\pm$ 3	(12)		23 $\pm$ 3	(11)		22 $\pm$ 0	(2)	
	7-14	22 $\pm$ 5	(9)		24 $\pm$ 2	(12)		23 $\pm$ 3	(11)		23 $\pm$ 2	(2)	
	14-21	22 $\pm$ 5	(9)		24 $\pm$ 3	(12)		23 $\pm$ 2	(11)		25 $\pm$ 2	(2)	
Cumulative consumption (g)	0-21	458 $\pm$ 80	(9)		486 $\pm$ 39	(12)		484 $\pm$ 48	(11)		490 $\pm$ 31	(2)	
Lactation period		10			12			11			2		
No. of dams													
		Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)		
Days of lactation	0-4	26 $\pm$ 8	(10)		26 $\pm$ 9	(12)		30 $\pm$ 7	(11)		26 $\pm$ 3	(2)	

Table 4-1

Hematology of male rats

Exp. No. 2798 (115-059)

Dose level (mg/kg)	0			10			30			100		
No. of animals	12			11			12			11		
	Mean	± S.D.	(N)	Mean	± S.D.	(N)	Mean	± S.D.	(N)	Mean	± S.D.	(N)
HCT (%)	40.6	± 1.5	(12)	40.0	± 1.1	(11)	40.0	± 1.4	(12)	40.4	± 1.2	(11)
HGB (g/dl)	14.6	± 0.6	(12)	14.4	± 0.4	(11)	14.4	± 0.5	(12)	14.2	± 0.4	(11)
RBC ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	7.95	± 0.35	(12)	7.74	± 0.31	(11)	7.82	± 0.28	(12)	7.79	± 0.32	(11)
MCV (μm^3)	51.1	± 1.9	(12)	51.6	± 1.3	(11)	51.2	± 2.3	(12)	51.9	± 1.7	(11)
MCH (pg)	18.4	± 0.7	(12)	18.6	± 0.5	(11)	18.5	± 0.7	(12)	18.3	± 0.5	(11)
MCHC (%)	36.0	± 0.3N	(12)	36.0	± 0.2	(11)	36.1	± 0.9	(12)	35.2	± 0.9*	(11)
PLT ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	983	± 157	(12)	991	± 80	(11)	980	± 143	(12)	1070	± 116	(11)
WBC ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	12.1	± 2.8	(12)	11.6	± 3.2	(11)	11.4	± 3.7	(12)	10.2	± 2.7	(11)
Differential leukocyte counts (%)												
NEUT	13	± 4N	(12)	13	± 4	(11)	17	± 10	(12)	13	± 4	(11)
LYMPH	82	± 4N	(12)	83	± 4	(11)	78	± 11	(12)	83	± 5	(11)
MONO	2	± 1N	(12)	2	± 1	(11)	3	± 2	(12)	2	± 1	(11)
EOSN	1	± 0	(12)	1	± 0	(11)	1	± 0	(12)	1	± 1	(11)
BASO	0	± 0	(12)	0	± 0	(11)	0	± 0	(12)	0	± 0	(11)
LUC	1	± 0	(12)	1	± 0	(11)	1	± 0	(12)	1	± 0	(11)

NEUT : Neutrophil LYMPH : Lymphocyte MONO : Monocyte EOSN : Eosinophil BASO : Basophil LUC : Large unstained cells
N : Non parametric analysis
Significant difference from control group; *: $p \leq 0.05$

Table 4-2

Coagulation of male rats

Exp. No. 2798 (115-059)

Dose level (mg/kg)	0	10	30	100
No. of animals	12	11	12	11
	Mean $\pm$ S.D. (N)	Mean $\pm$ S.D. (N)	Mean $\pm$ S.D. (N)	Mean $\pm$ S.D. (N)
PT(sec.)	13.1 $\pm$ 0.3N (12)	13.0 $\pm$ 0.3 (11)	13.3 $\pm$ 0.6 (12)	13.5 $\pm$ 0.8 (11)
APTT(sec.)	24.0 $\pm$ 1.8 (12)	24.1 $\pm$ 1.3 (11)	23.9 $\pm$ 1.8 (12)	24.8 $\pm$ 3.1 (11)
Fibrinogen(mg/dl)	260 $\pm$ 21 (12)	257 $\pm$ 16 (11)	275 $\pm$ 33 (12)	256 $\pm$ 22 (11)

N : Non parametric analysis

Table 5

Blood chemistry of male rats

Exp. No. 2798 (115-059)

Dose level (mg/kg)	0			10			30			100		
No. of animals	12			11			12			11		
	Mean	± S.D.	(N)	Mean	± S.D.	(N)	Mean	± S.D.	(N)	Mean	± S.D.	(N)
T.protein(g/dl)	5.86	± 0.28	(12)	5.92	± 0.18	(11)	6.04	± 0.23	(12)	6.24	± 0.27**	(11)
Albumin(g/dl)	3.15	± 0.12	(12)	3.19	± 0.10	(11)	3.24	± 0.20	(12)	3.35	± 0.15**	(11)
A/G	1.17	± 0.05N	(12)	1.17	± 0.03	(11)	1.16	± 0.09	(12)	1.16	± 0.04	(11)
Glucose(mg/dl)	153	± 13	(12)	140	± 14	(11)	144	± 16	(12)	143	± 17	(11)
Triglyceride(mg/dl)	79.2	± 32.9	(12)	74.9	± 30.7	(11)	66.2	± 16.9	(12)	70.5	± 23.8	(11)
T.cholesterol(mg/dl)	58	± 12	(12)	57	± 6	(11)	60	± 10	(12)	48	± 13	(11)
BUN(mg/dl)	11.4	± 1.0	(12)	11.4	± 0.7	(11)	11.9	± 1.7	(12)	11.9	± 1.5	(11)
Creatinine(mg/dl)	0.69	± 0.06	(12)	0.70	± 0.08	(11)	0.70	± 0.06	(12)	0.63	± 0.07	(11)
T.bilirubin(mg/dl)	0.41	± 0.02	(12)	0.40	± 0.01	(11)	0.40	± 0.02	(12)	0.41	± 0.03	(11)
GOT(U/l)	37	± 6	(12)	39	± 8	(11)	41	± 7	(12)	35	± 4	(11)
GPT(U/l)	16	± 3	(12)	17	± 3	(11)	15	± 3	(12)	13	± 2*	(11)
ALP(U/l)	126	± 22N	(12)	119	± 23	(11)	157	± 107	(12)	117	± 38	(11)
Gamma-GTP(U/l)	0.5	± 0.3	(12)	0.4	± 0.4	(11)	0.5	± 0.3	(12)	0.4	± 0.3	(11)
Sodium(mmol/l)	145.0	± 1.1	(12)	146.0	± 1.3	(11)	146.5	± 1.5	(12)	146.6	± 2.1	(11)
Potassium(mmol/l)	4.61	± 0.29	(12)	4.67	± 0.28	(11)	4.51	± 0.36	(12)	4.97	± 0.61	(11)
Chloride(mmol/l)	108.0	± 1.3	(12)	109.0	± 1.2	(11)	109.4	± 1.8	(12)	108.4	± 1.4	(11)
Calcium(mg/dl)	10.30	± 0.29	(12)	9.99	± 0.14	(11)	10.26	± 0.39	(12)	10.54	± 0.33	(11)
I.phosphate(mg/dl)	6.29	± 0.39	(12)	6.08	± 0.33	(11)	6.39	± 0.41	(12)	6.72	± 0.73	(11)

N : Non parametric analysis

Significant difference from control group; *: $p \leq 0.05$ **: $p \leq 0.01$

Table 6-1

Absolute and relative organ weight of male rats

Exp. No. 2798 (115-059)

Dose level (mg/kg)		0		10		30		100	
No. of animal examined		12		11		12		11	
		Mean	± S.D.	Mean	± S.D.	Mean	± S.D.	Mean	± S.D.
Body weight (g)		511	± 29	518	± 21	509	± 41	497	± 32
Brain	(g)	2.23	± 0.07	2.27	± 0.11	2.24	± 0.08	2.16	± 0.06
	(g%)	0.439	± 0.028	0.439	± 0.024	0.443	± 0.036	0.436	± 0.021
Thymus	(mg)	318	± 65	338	± 91	333	± 102	351	± 58
	(mg%)	62.722	± 14.110	65.304	± 16.699	65.040	± 18.519	70.615	± 10.880
Liver	(g)	15.44	± 2.50	15.10	± 1.04	15.27	± 2.14	15.49	± 2.21
	(g%)	3.011	± 0.366	2.918	± 0.167	2.988	± 0.204	3.104	± 0.293
Spleen	(g)	0.77	± 0.09	0.72	± 0.10	0.80	± 0.13	0.81	± 0.16
	(g%)	0.150	± 0.015	0.140	± 0.019	0.158	± 0.029	0.163	± 0.028
Kidneys	(g)	3.26	± 0.21	3.35	± 0.19	3.40	± 0.19	3.77	± 0.44**
	(g%)	0.640	± 0.056	0.647	± 0.039	0.671	± 0.056	0.758	± 0.067**
Adrenal	(mg)	60	± 7	68	± 6*	60	± 6	68	± 8*
	(mg%)	11.769	± 1.529	13.174	± 1.019	11.834	± 1.434	13.752	± 1.579**
Testes	(g)	3.50	± 0.25	3.40	± 0.27	3.42	± 0.28	3.52	± 0.22
	(g%)	0.687	± 0.063	0.659	± 0.059	0.673	± 0.067	0.711	± 0.068
Epididymides	(mg)	1418	± 176	1387	± 191	1382	± 172	1446	± 397
	(mg%)	277.885	± 34.927	267.917	± 34.417	272.321	± 36.214	292.947	± 89.701

Significant difference from control group; *: $p \leq 0.05$ **: $p \leq 0.01$

Table 6-2

Absolute and relative organ weight of female rats

Exp. No. 2798 (115-059)

Dose level (mg/kg)		0		10		30		100	
No. of dams examined		10		12		11		2	
		Mean $\pm$ S.D.		Mean $\pm$ S.D.		Mean $\pm$ S.D.		Mean $\pm$ S.D.	
Body weight (g)		345 $\pm$ 29		333 $\pm$ 28		338 $\pm$ 24		342 $\pm$ 5	
Brain	(g)	2.01 $\pm$ 0.07		2.04 $\pm$ 0.08		2.00 $\pm$ 0.09		2.03 $\pm$ 0.13	
	(g%)	0.586 $\pm$ 0.055		0.616 $\pm$ 0.056		0.597 $\pm$ 0.052		0.592 $\pm$ 0.048	
Thymus	(mg)	195 $\pm$ 65		188 $\pm$ 72		200 $\pm$ 71		220 $\pm$ 57	
	(mg%)	55.797 $\pm$ 14.806		55.822 $\pm$ 18.678		58.634 $\pm$ 18.714		64.412 $\pm$ 17.462	
Liver	(g)	13.34 $\pm$ 1.11		13.08 $\pm$ 1.69		13.20 $\pm$ 1.16		12.29 $\pm$ 1.29	
	(g%)	3.872 $\pm$ 0.282		3.918 $\pm$ 0.331		3.911 $\pm$ 0.167		3.587 $\pm$ 0.326	
Spleen	(g)	0.67 $\pm$ 0.14		0.68 $\pm$ 0.13		0.77 $\pm$ 0.17		0.67 $\pm$ 0.00	
	(g%)	0.195 $\pm$ 0.036		0.204 $\pm$ 0.032		0.229 $\pm$ 0.053		0.196 $\pm$ 0.003	
Kidneys	(g)	2.18 $\pm$ 0.19		2.27 $\pm$ 0.19		2.25 $\pm$ 0.23		2.49 $\pm$ 0.10	
	(g%)	0.634 $\pm$ 0.057		0.684 $\pm$ 0.067		0.668 $\pm$ 0.058		0.727 $\pm$ 0.018	
Adrenal	(mg)	73 $\pm$ 9		80 $\pm$ 11		83 $\pm$ 12		80 $\pm$ 14	
	(mg%)	21.153 $\pm$ 2.348		24.190 $\pm$ 4.064		24.500 $\pm$ 2.829		23.350 $\pm$ 3.796	
Ovaries	(mg)	100 $\pm$ 13		105 $\pm$ 14		109 $\pm$ 18		115 $\pm$ 7	
	(mg%)	29.138 $\pm$ 4.646		31.834 $\pm$ 5.716		32.372 $\pm$ 5.427		33.623 $\pm$ 2.553	

Table 7-1

Summary of gross findings (dead)

Exp. No. 2798 (115-059)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)		0	10	30	100
No. of animals necropsied		0	1	0	1
Organ	Findings				
RESPIRATORY SYSTEM					
lung	reddish	-	1	-	1
thoracic cavity	hydrothorax	-	1	-	0
DIGESTIVE SYSTEM					
small intestine	autolysis	-	0	-	1
large intestine	autolysis	-	0	-	1
liver	autolysis	-	1	-	1

Table 7-2

Summary of gross findings (successful pregnancy)

Exp. No. 2798 (115-059)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)		0	10	30	100
No. of animals necropsied		10	11	11	2
Organ	Findings				
HEMATOPOIETIC SYSTEM					
spleen	enlarged	1	0	0	0
lymph node	enlarged	0	0	1	0
thymus	reddish	0	0	1	0
DIGESTIVE SYSTEM					
liver	colored patch/zone	1	0	0	0
INTEGUMENTARY SYSTEM					
subcutaneous tissue	mass	0	0	1	0

Table 7-3

Summary of gross findings (day 4 of lactation)

Exp. No. 2798 (115-059)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)		0	10	30	100
No. of animals necropsied		10	12	11	2
Organ	Findings				
HEMATOPOIETIC SYSTEM					
thymus	reddish	0	1	0	0
REPRODUCTIVE SYSTEM					
ovary	cyst	0	1	0	0

Table 7-4

Summary of gross findings (non-pregnancy)

Exp. No. 2798 (115-059)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)		0	10	30	100
No. of animals necropsied		2	0	1	9
Organ	Findings				
RESPIRATORY SYSTEM					
lung	black patch/zone	0	-	0	1
DIGESTIVE SYSTEM					
abdominal cavity	mass	1	-	0	0
URINARY SYSTEM					
kidney	black patch/zone	0	-	0	1

Table 7-5

Summary of gross findings (non-pregnancy)

Exp. No. 2798 (115-059)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)					
No. of animals	Findings				
Organ	Findings				
		0	2	10	30
				0	1
URINARY SYSTEM					
kidney	scarred	0		-	0
					1

Table 8-1

Summary of histological findings (dead)

Exp. No. 2798 (115-059)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)		0				10				30				100			
No. of animals dead		0				1				0				1			
No. of animals necropsied		0				1				0				1			
No. of animals examined histologically		0				1				0				1			
Organ	Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
RESPIRATORY SYSTEM																	
lung						(1)								(1)			
	congestion	-	-	-	-	-	1	0	0	-	-	-	-	-	1	0	0
	cellular infiltration	-	-	-	-	-	1	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0
DIGESTIVE SYSTEM																	
forestomach						(1)								(1)			
	hyperkeratosis	-	-	-	-	-	0	0	0	-	-	-	-	-	1	0	0
liver						(1)								(1)			
	congestion	-	-	-	-	-	1	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked

=: benign #: malignant

(): No. of animals examined microscopically at this site.

-: Not applicable.

Table 8-2

Summary of histological findings with statistical analysis
(successful pregnancy and non-pregnancy)

Exp. No. 2798 (115-059)

Dose level (mg/kg)		Male animals				Female animals			
No. of animals necropsied		Am	Bm	Cm	Dm	Af	Bf	Cf	Df
Organ Findings		12	11	12	11	12	12	12	12
CARDIOVASCULAR SYSTEM									
heart		(12)	(0)	(1)	(11)	(12)	(0)	(1)	(12)
	cellular infiltration	2	-	0	5	1	-	0	5
HEMATOPOIETIC SYSTEM									
spleen		(12)	(0)	(1)	(11)	(12)	(12)	(12)	(12)
	deposit of pigment	2	-	0	5	5	6	5	12**
	hematopoiesis, extramedullary	0	-	0	0	6	7	5	1*
	lymphangiectasis	0	-	0	0	0	1	0	0
lymph node		(1)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
	congestion	1	-	-	-	-	-	-	-
thymus		(12)	(0)	(1)	(11)	(12)	(0)	(1)	(12)
	congestion	1	-	0	0	0	-	0	0
RESPIRATORY SYSTEM									
lung		(0)	(0)	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)	(0)
	hemorrhage	-	-	-	1	-	-	-	-
DIGESTIVE SYSTEM									
forestomach		(12)	(11)	(12)	(11)	(12)	(12)	(12)	(12)
	edema	4	7	12**	7	0	0	0	0
	microgranuloma	0	0	1	0	0	0	0	0
	cellular infiltration	6	2	8	9	0	2	3	4*
	cellular infiltration, lymphocyte	0	0	0	1	0	0	0	0
	hyperkeratosis	0	0	1	0	0	0	0	1
	squamous hyperplasia	1	1	11**	11**	3	2	1	5
glandular stomach		(12)	(11)	(12)	(11)	(12)	(12)	(12)	(12)
	edema	11	8	8	0**	0	0	0	0
	cellular infiltration	12	9	6**	10	1	1	1	3
	cellular infiltration, lymphocyte	0	0	0	2	0	0	0	0
	regeneration	0	0	0	2	0	0	0	0
liver		(12)	(0)	(1)	(11)	(12)	(0)	(1)	(12)
	infarct	1	-	0	0	0	-	0	0
	deposit of calcium	1	-	0	0	0	-	0	0
	deposit of ceroid	1	-	0	0	0	-	0	0
	fatty change	2	-	0	1	0	-	0	0
	glycogen storage	0	-	0	0	1	-	0	0
	microgranuloma	9	-	0	8	5	-	0	8
	cellular infiltration	1	-	0	1	0	-	0	0

Am: 0

Bm: 10

Cm: 30

Dm: 100

Af: 0

Bf: 10

Cf: 30

Df: 100

(): No. of animals examined microscopically at this site.

-: Not applicable.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 8-2 -continued

Summary of histological findings with statistical analysis
(successful pregnancy and non-pregnancy)

Exp. No. 2798 (115-059)

Dose level (mg/kg) No. of animals necropsied Organ Findings	Male animals				Female animals			
	Am 12	Bm 11	Cm 12	Dm 11	Af 12	Bf 12	Cf 12	Df 12
DIGESTIVE SYSTEM								
liver								
cellular infiltration, lymphocyte	4	-	0	3	0	-	1	1
bile duct hyperplasia	1	-	0	0	0	-	0	0
extramedullary hematopoiesis	0	-	0	0	7	-	0	0**
URINARY SYSTEM								
kidney	(12)	(0)	(1)	(11)	(12)	(0)	(1)	(12)
congestion	0	-	0	1	0	-	0	0
basophilic tubules	9	-	1	8	1	-	0	1
mineralization	2	-	0	1	1	-	0	0
eosinophilic body	2	-	0	2	0	-	0	0
tubular dilatation	1	-	0	0	0	-	0	0
cellular infiltration	1	-	0	0	0	-	0	0
cellular infiltration, lymphocyte	2	-	0	5	2	-	0	4
cast, hyaline	0	-	0	0	1	-	0	0
REPRODUCTIVE SYSTEM								
prostate	(2)	(0)	(1)	(9)	(-)	(-)	(-)	(-)
microgranuloma	1	-	0	0	-	-	-	-
cellular infiltration, lymphocyte	2	-	0	3	-	-	-	-
uterus	(-)	(-)	(-)	(-)	(2)	(0)	(1)	(10)
hydrometra	-	-	-	-	2	-	0	4
ENDOCRINE SYSTEM								
pituitary gland	(2)	(0)	(1)	(9)	(2)	(0)	(1)	(10)
increase in castration cell	0	-	0	3	0	-	0	0
Rathke's pouch	0	-	0	1	0	-	0	0
tubular cell hyperplasia	0	-	0	1	0	-	0	0
adrenal gland	(12)	(0)	(1)	(11)	(12)	(0)	(1)	(12)
angiectasis	2	-	0	0	0	-	0	1
degeneration, vacuolar	4	-	0	3	0	-	0	0
NERVOUS SYSTEM								
brain	(12)	(0)	(1)	(12)	(12)	(0)	(1)	(12)
perivascular cell infiltration	0	-	0	0	0	-	0	1

Am: 0

Bm: 10

Cm: 30

Dm: 100

Af: 0

Bf: 10

Cf: 30

Df: 100

(): No. of animals examined microscopically at this site.

-: Not applicable.

Significant difference from control group; **: $P \leq 0.01$

Table 8-3

Summary of histological findings (successful pregnancy)

Exp. No. 2798 (115-059)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)		0				10				30				100			
No. of animals sacrificed		10				11				11				2			
No. of animals necropsied		10				11				11				2			
No. of animals examined histologically		10				11				11				2			
Organ	Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
CARDIOVASCULAR SYSTEM																	
heart		(10)				(0)				(0)				(2)			
	cellular infiltration	-	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
HEMATOPOIETIC SYSTEM																	
spleen		(10)				(0)				(0)				(2)			
	deposit of pigment	-	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
DIGESTIVE SYSTEM																	
forestomach		(10)				(11)				(11)				(2)			
	edema	-	4	0	0	-	7	0	0	-	10	1	0	-	1	0	0
	microgranuloma	-	0	0	0	-	0	0	0	-	1	0	0	-	0	0	0
	cellular infiltration	-	6	0	0	-	2	0	0	-	7	0	0	-	1	0	0
	hyperkeratosis	-	0	0	0	-	0	0	0	-	1	0	0	-	0	0	0
	squamous hyperplasia	-	1	0	0	-	1	0	0	-	9	1	0	-	2	0	0
glandular stomach		(10)				(11)				(11)				(2)			
	edema	-	7	3	0	-	8	0	0	-	7	0	0	-	0	0	0
	cellular infiltration	-	10	0	0	-	9	0	0	-	5	0	0	-	1	0	0
liver		(10)				(0)				(0)				(2)			
	infarct	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
	deposit of calcium	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
	deposit of ceroid	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
	fatty change	-	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
	microgranuloma	-	7	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	0	0
	cellular infiltration	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
	cellular infiltration, lymphocyte	-	3	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	bile duct hyperplasia	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
URINARY SYSTEM																	
kidney		(10)				(0)				(0)				(2)			
	basophilic tubules	-	7	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	0
	mineralization	-	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
	eosinophilic body	-	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	1	0
	tubular dilatation	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
	cellular infiltration	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
	cellular infiltration, lymphocyte	-	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	0	0
ENDOCRINE SYSTEM																	
adrenal gland		(10)				(0)				(0)				(2)			
	angiectasis	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked
 =: benign #: malignant
 (): No. of animals examined microscopically at this site.

-: Not applicable.

Table 8-3 -continued

Summary of histological findings (successful pregnancy)

Exp. No. 2798 (115-059)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)	0	10	30	100
No. of animals sacrificed	10	11	11	2
No. of animals necropsied	10	11	11	2
No. of animals examined histologically	10	11	11	2
Organ Findings	T 1 2 3	T 1 2 3	T 1 2 3	T 1 2 3

ENDOCRINE SYSTEM

adrenal gland									
degeneration, vacuolar	-	4	0	0	-	-	-	-	-

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked

=: benign #: malignant

(): No. of animals examined microscopically at this site.

-: Not applicable.

Table 8-4

Summary of histological findings (day 4 of lactation)

Exp. No. 2798 (115-059)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)		0				10				30				100			
No. of animals sacrificed		10				12				11				2			
No. of animals necropsied		10				12				11				2			
No. of animals examined histologically		10				12				11				2			
Organ	Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
CARDIOVASCULAR SYSTEM																	
heart		(10)				(0)				(0)				(2)			
	cellular infiltration	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
HEMATOPOIETIC SYSTEM																	
spleen		(10)				(12)				(11)				(2)			
	lymphangiectasis	-	0	0	0	-	1	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0
	deposit of pigment	-	3	0	0	-	6	0	0	-	4	0	0	-	2	0	0
	hematopoiesis, extramedullary	-	6	0	0	-	7	0	0	-	4	1	0	-	1	0	0
DIGESTIVE SYSTEM																	
forestomach		(10)				(12)				(11)				(2)			
	cellular infiltration	-	0	0	0	-	2	0	0	-	2	0	0	-	0	0	0
	squamous hyperplasia	-	1	0	0	-	2	0	0	-	1	0	0	-	1	0	0
glandular stomach		(10)				(12)				(11)				(2)			
	cellular infiltration	-	1	0	0	-	0	1	0	-	1	0	0	-	0	0	0
liver		(10)				(0)				(0)				(2)			
	glycogen storage	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
	microgranuloma	-	4	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	0	0
	extramedullary hematopoiesis	-	7	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
URINARY SYSTEM																	
kidney		(10)				(0)				(0)				(2)			
	basophilic tubules	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
	mineralization	-	0	1	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
	cast, hyaline	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
	cellular infiltration, lymphocyte	-	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked

=: benign #: malignant

(): No. of animals examined microscopically at this site.

-: Not applicable.

Table 8-5

Summary of histological findings (non-pregnancy)

Exp. No. 2798 (115-059)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)		0				10				30				100			
No. of animals non-pregnancy		2				0				1				9			
No. of animals necropsied		2				0				1				9			
No. of animals examined histologically		2				0				1				9			
Organ	Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
CARDIOVASCULAR SYSTEM																	
heart		(2)								(1)				(9)			
	cellular infiltration	-	0	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0	-	5	0	0
HEMATOPOIETIC SYSTEM																	
spleen		(2)								(1)				(9)			
	deposit of pigment	-	0	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0	-	4	0	0
lymph node		(1)								(0)				(0)			
	congestion	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
thymus		(2)								(1)				(9)			
	congestion	-	1	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0	-	0	0	0
RESPIRATORY SYSTEM																	
lung		(0)								(0)				(1)			
	hemorrhage	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
DIGESTIVE SYSTEM																	
forestomach		(2)								(1)				(9)			
	edema	-	0	0	0	-	-	-	-	-	1	0	0	-	6	0	0
	cellular infiltration	-	0	0	0	-	-	-	-	-	1	0	0	-	8	0	0
	cellular infiltration, lymphocyte	-	0	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0	-	1	0	0
	squamous hyperplasia	-	0	0	0	-	-	-	-	-	1	0	0	-	3	6	0
glandular stomach		(2)								(1)				(9)			
	edema	-	1	0	0	-	-	-	-	-	1	0	0	-	0	0	0
	cellular infiltration	-	2	0	0	-	-	-	-	-	1	0	0	-	9	0	0
	cellular infiltration, lymphocyte	-	0	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0	-	2	0	0
	regeneration	-	0	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0	-	2	0	0
liver		(2)								(1)				(9)			
	fatty change	-	0	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0	-	1	0	0
	microgranuloma	-	2	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0	-	6	0	0
	cellular infiltration	-	0	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0	-	1	0	0
	cellular infiltration, lymphocyte	-	1	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0	-	2	0	0
URINARY SYSTEM																	
kidney		(2)								(1)				(9)			
	congestion	-	0	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0	-	1	0	0
	basophilic tubles	-	2	0	0	-	-	-	-	-	1	0	0	-	6	0	0
	mineralization	-	0	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0	-	1	0	0
	eosinophilic body	-	0	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0	-	0	1	0
	cellular infiltration, lymphocyte	-	0	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0	-	3	0	0

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked

=: benign #: malignant

(): No. of animals examined microscopically at this site.

-: Not applicable.

Table 8-5 -continued

Summary of histological findings (non-pregnancy)

Exp. No. 2798 (115-059)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)		0				10				30				100			
No. of animals non-pregnancy		2				0				1				9			
No. of animals necropsied		2				0				1				9			
No. of animals examined histologically		2				0				1				9			
Organ	Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
REPRODUCTIVE SYSTEM																	
prostate		(2)								(1)				(9)			
	microgranuloma	-	1	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0	-	0	0	0
	cellular infiltration, lymphocyte	-	2	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0	-	3	0	0
ENDOCRINE SYSTEM																	
pituitary gland		(2)								(1)				(9)			
	increase in castration cell	-	0	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0	-	3	0	0
	Rathke's pouch	-	0	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0	-	1	0	0
	tubular cell hyperplasia	-	0	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0	-	1	0	0
adrenal gland		(2)								(1)				(9)			
	angiectasis	-	1	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0	-	0	0	0
	degeneration, vacuolar	-	0	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0	-	3	0	0

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked

=: benign #: malignant

(): No. of animals examined microscopically at this site.

-: Not applicable.

Table 8-6

Summary of histological findings (non-pregnancy)

Exp. No. 2798 (115-059)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)		0				10				30				100			
No. of animals non-pregnancy		2				0				1				10			
No. of animals necropsied		2				0				1				10			
No. of animals examined histologically		2				0				1				10			
Organ	Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
CARDIOVASCULAR SYSTEM																	
heart		(2)								(1)				(10)			
	cellular infiltration	-	0	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0	-	5	0	0
HEMATOPOIETIC SYSTEM																	
spleen		(2)								(1)				(10)			
	deposit of pigment	-	0	2	0	-	-	-	-	-	0	1	0	-	2	8	0
DIGESTIVE SYSTEM																	
forestomach		(2)								(1)				(10)			
	cellular infiltration	-	0	0	0	-	-	-	-	-	1	0	0	-	4	0	0
	hyperkeratosis	-	0	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0	-	1	0	0
	squamous hyperplasia	-	2	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0	-	4	0	0
glandular stomach		(2)								(1)				(10)			
	cellular infiltration	-	0	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0	-	3	0	0
liver		(2)								(1)				(10)			
	microgranuloma	-	1	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0	-	6	0	0
	cellular infiltration, lymphocyte	-	0	0	0	-	-	-	-	-	1	0	0	-	1	0	0
URINARY SYSTEM																	
kidney		(2)								(1)				(10)			
	basophilic tubles	-	0	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0	-	1	0	0
	cellular infiltration, lymphocyte	-	0	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0	-	4	0	0
REPRODUCTIVE SYSTEM																	
uterus		(2)								(1)				(10)			
	hydrometra	-	2	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0	-	4	0	0
ENDOCRINE SYSTEM																	
adrenal gland		(2)								(1)				(10)			
	angiectasis	-	0	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0	-	1	0	0
NERVOUS SYSTEM																	
brain		(2)								(1)				(10)			
	perivascular cell infiltration	-	0	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0	-	1	0	0

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked

=: benign #: malignant

(): No. of animals examined microscopically at this site.

-: Not applicable.

Table 8-7 Cell type and number in seminiferous tubules of rats at VII stage of spermatogenesis during the dosing period

Exp. No. 2798 (115-059)

Dose level (mg/kg)	0	100
No. of animals examined histologically	12	11
Spermatogonia type A	14.9 ± 2.3	12.8 ± 2.9
Preleptotene spermatocyte	175.5 ± 21.8	177.8 ± 10.8
Pachytene spermatocyte	270.4 ± 15.9	272.4 ± 13.2
Round spermatid	597.7 ± 46.0	568.0 ± 28.0
Sertoli cell	71.8 ± 14.8	70.1 ± 12.2

Each value represents mean ± S. D.

Table 9

Copulation and fertility results in rats

Exp. No. 2798 (115-059)

Dose level (mg/kg)	0	10	30	100
No. of pairs mated	11	12	12	12
No. of pairs copulated	11	12	12	12
No. of pregnant females	9	12	11	2
Copulation index (%) 1)	100.0	100.0	100.0	100.0
Fertility index (%) 2)	81.8	100.0	91.7	16.7**
Estrus cycle (days) (Mean $\pm$ S.D.)	4.5 $\pm$ 0.5 (12)	4.5 $\pm$ 0.6 (12)	4.4 $\pm$ 0.5 (12)	4.6 $\pm$ 0.7 (12)

1) (No. of animals with successful copulation / no. of animals mated) $\times$ 100
 2) (No. of pregnant animals / no. of animals with successful copulation) $\times$ 100
 Values in parentheses are expressed no. of animals observed
 Significant difference from control group; **: $p \leq 0.01$

Table 10

Findings of delivery in dams(F0)

Exp. No. 2798 (115-059)

Dose level (mg/kg)	0	10	30	100
No. of dams observed	10	12	11	2
No. of dams delivered live pups	10	12	11	2
Duration of gestation (Mean $\pm$ S.D.)	22.6 $\pm$ 0.5	22.8 $\pm$ 0.4	22.7 $\pm$ 0.6	23.0 $\pm$ 0.0
No. of total corpora lutea (Mean $\pm$ S.D.)	195(19.5 $\pm$ 3.6)	233(19.4 $\pm$ 2.4)	212(19.3 $\pm$ 2.2)	31(15.5 $\pm$ 0.7)
No. of total implants (Mean $\pm$ S.D.)	166(16.6 $\pm$ 2.7)	200(16.7 $\pm$ 1.9)	184(16.7 $\pm$ 1.6)	24(12.0 $\pm$ 2.8)
No. of total pups born (Mean $\pm$ S.D.)	152(15.2 $\pm$ 3.3)	176(14.7 $\pm$ 2.6)	160(14.5 $\pm$ 1.6)	18(9.0 $\pm$ 1.4)
No. of total live pups born (Mean $\pm$ S.D.)	151(15.1 $\pm$ 3.3)	174(14.5 $\pm$ 2.9)	160(14.5 $\pm$ 1.6)	18(9.0 $\pm$ 1.4)
Male	66(6.6 $\pm$ 2.5) a)	85(7.1 $\pm$ 3.0)	79(7.2 $\pm$ 2.5) a)	9(4.5 $\pm$ 0.7)
Female	85(8.5 $\pm$ 2.7) a)	89(7.4 $\pm$ 2.5) a)	81(7.4 $\pm$ 2.5)	9(4.5 $\pm$ 2.1)
Sex ratio (Mean $\pm$ S.D.)	0.88 $\pm$ 0.46	1.10 $\pm$ 0.57	1.15 $\pm$ 0.65	1.17 $\pm$ 0.71
No. of total live pups on day 4 (Mean $\pm$ S.D.)				
Male	61(6.1 $\pm$ 2.6)	82(6.8 $\pm$ 2.7)	76(6.9 $\pm$ 2.5)	9(4.5 $\pm$ 0.7)
Female	81(8.1 $\pm$ 2.4)	83(6.9 $\pm$ 2.8)	77(7.0 $\pm$ 2.8)	8(4.0 $\pm$ 1.4)
No. of total dead pups born (Mean $\pm$ S.D.)	1(0.1 $\pm$ 0.3)	2(0.2 $\pm$ 0.6)	0(0.0 $\pm$ 0.0)	0(0.0 $\pm$ 0.0)
stillbirth	0(0.0 $\pm$ 0.0)	0(0.0 $\pm$ 0.0)	0(0.0 $\pm$ 0.0)	0(0.0 $\pm$ 0.0)
cannibalism	1(0.1 $\pm$ 0.3)	2(0.2 $\pm$ 0.6)	0(0.0 $\pm$ 0.0)	0(0.0 $\pm$ 0.0)
Gestation index (%) 1)	100.0	100.0	100.0	100.0
Implantation index (% Mean $\pm$ S.D.) 2)	86.0 $\pm$ 12.1	86.5 $\pm$ 10.2	87.5 $\pm$ 10.0	77.9 $\pm$ 21.8
Delivery index (% Mean $\pm$ S.D.) 3)	91.0 $\pm$ 7.8	88.0 $\pm$ 11.3	87.0 $\pm$ 5.0	75.7 $\pm$ 6.1
Live birth index (% Mean $\pm$ S.D.) 4)	99.3 $\pm$ 2.1	98.5 $\pm$ 5.2	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0
Viability index on day 4 (% Mean $\pm$ S.D.) 5)				
Male	90.2 $\pm$ 17.8	97.6 $\pm$ 4.5	96.3 $\pm$ 6.4	100.0 $\pm$ 0.0
Female	96.1 $\pm$ 5.1	92.3 $\pm$ 13.7	93.5 $\pm$ 12.9	91.7 $\pm$ 11.8

1) (No. of females with live pups / no. of pregnant females) x 100

2) (No. of implants / no. of corpora lutea) x 100

3) (No. of pups born / no. of implants) x 100

4) (No. of live pups born / no. of pups born) x 100

5) (No. of live pups on day 4 after birth / no. of live pups born) x 100

a) Includes live pups died before observations

Table 11

Body weight change of pups(F1) from rats

Exp. No. 2798 (115-059)

Unit : g													
Dose level (mg/kg)		0		10		30		100					
No. of litters		10		12		11		2					
		Mean	± S.D.	(N)	Mean	± S.D.	(N)	Mean	± S.D.	(N)			
Male													
Days after birth	0	6.5	± 0.8 a)	(10)	6.6	± 0.6	(12)	6.9	± 0.5 a)	(11)	7.3	± 1.0	(2)
	4	9.6	± 1.7	(10)	8.8	± 1.2	(12)	10.0	± 1.2	(11)	10.5	± 2.2	(2)
Female													
Days after birth	0	6.2	± 0.7 a)	(10)	6.2	± 0.5 a)	(12)	6.5	± 0.5	(11)	6.9	± 1.2	(2)
	4	9.1	± 1.9	(10)	8.3	± 1.2	(12)	9.6	± 1.1	(11)	10.1	± 1.9	(2)

a) Excludes live pups died before observations

Table 12-1

Summary of gross findings of pups(F1) from rats(sacrificed)

Exp. No. 2798 (115-059)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)		0	10	30	100
No. of pups necropsied		61	82	76	9
Organ	Findings				
HEMATOPOIETIC SYSTEM					
thymus	thymic remnant in the neck	1	1	1	0
URINARY SYSTEM					
kidney	dilated pelvis	0	1	0	0

Table 12-2

Summary of gross findings of pups(F1) from rats(sacrificed)

Exp. No. 2798 (115-059)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0	10	30	100	
No. of pups necropsied	81	83	77	8	
Organ Findings					
HEMATOPOIETIC SYSTEM					
thymus	thymic remnant in the neck	1	2	2	0
DIGESTIVE SYSTEM					
liver	white patch/zone	2	0	0	0
URINARY SYSTEM					
kidney	dilated pelvis	0	1	0	0