1－クロロブタン（CAS No.109693）のラットにおける経口投与による
簡易生殖発生毒性試験

最終報告書

株式会社日本バイオリサーチセンター
羽島研究所

NBR－1

目　　次

頁

要　約 …… 1

緒　言 …… 3

試験材料および試験方法

1．被験物質および媒体 …… 3

2．投与検体および濃度確認 …… 3

3．使用動物および飼育条件 …… 4

4．投与経路、投与方法、群構成および投与量 …… 5

5．観察および検査項目 …… 6

6．統計学的方法 …… 8

試験実施日 …… 9

試験成績

Ⅰ．反復投与毒性

1．雄（P）に及ぼす影響 …… 10

2．雌（P）に及ぼす影響 …… 11

Ⅱ．生殖発生毒性

1．親動物（P）の生殖発生に及ぼす影響 …… 13

2．新生児（F_1）に及ぼす影響 …… 14

考　察 …… 15

資　料 …… 17

Table（1～15） …… 21

Fig.（1～5） …… 48

Attached table、Table、Fig.、Photo.の目次

頁

Table 1-1～1-2 General sign of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration ‥ 21～22
Table 2 Body weight of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration ····· 23
Table 3 Food consumption of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration ····· 24
Table 4 Necropsy finding of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration ····· 25
Table 5 Organ weight of male rats (P) after mating period in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration ····· 26
Table 6 Histopathological finding of testis and epididymis of survival male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration ····· 27
Table 7-1 General sign of female rats (P) during pre-mating and mating periods in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration ····· 28
Table 7-2 General sign of dams (P) during pregnancy period in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration ····· 29
Table 7-3 General sign of dams (P) during lactation period in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration ····· 30
Table 8-1 Body weight of female rats (P) during pre-mating period in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration ····· 31
Table 8-2 Body weight of dams (P) during pregnancy period in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration ····· 32
Table 8-3 Body weight of dams (P) during lactation period in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration ····· 33

Table 9-1 Food consumption of female rats (P) during pre-mating period in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration ····· 34
Table 9-2 Food consumption of dams (P) during pregnancy period in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration ····· 35
Table 9-3 Food consumption of dams (P) during lactation period in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration ····· 36
Table 10-1 Necropsy finding of dams (P) on day 4 of lactation in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration ····· 37
Table 10-2 Necropsy finding of dams (P) on day 2 of lactation in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration ····· 38
Table 10-3 Necropsy finding of female rat (P) which was not delivered until day 25 of mating in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration ····· 39
Table 10-4 Necropsy finding of dead dams (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral admonostration ····· 40
Table 11-1 Histopathological finding of survival dams (P) on day 4 of lactation in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration ····· 41
Table 11-2 Histopathological finding of dead dams (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration ····· 42
Table 12 Number of times in estrus and reproductive performance of male and female rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration ····· 43
Table 13-1 Observation of pups (F_1) in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration ····· 44
Table 13-2 Observation of pups (F_1) from dams (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration ····· 45
Table 14 Body weight of pups (F_1) on days 0 and 4 of lactation in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration ····· 46
Table 15 Necropsy finding of pups (F_1) on day 4 of lactation in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration ····· 47

Fig. 1 Body weight of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration ····· 48
Fig. 2 Food consumption of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration ····· 49
Fig. 3-1 Body weight of female rats (P) during pre-mating period in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration ····· 50
Fig. 3-2 Body weight of dams (P) during pregnancy and lactation periods in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration ····· 51
Fig. 4-1 Food consumption of female rats (P) during pre-mating period in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration ····· 52
Fig. 4-2 Food consumption of dams (P) during pregnancy and lactation periods in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration ····· 53
Fig. 5 Body weight of pups (F_1) on days 0 and 4 of lactation in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration ····· 54

要　　約

1-クロロブタンのラットにおける経口投与による簡易生殖発生毒性試験を行い、雌雄動物の性腺機能、交尾行動、受胎および分娩などの生殖行動に及ぼす影響について検討した。投与段階は、0（媒体）、2.4、12、60および300mg/kgとした。

Ⅰ．反復投与毒性

1．雄（P）に及ぼす影響

一般状態：60mg/kg以下の投与群では、投与7日以降から最終投与日まで投与後に少数例～約半数例で流涎がみられる日があった。300mg/kg群では、投与6日以降から最終投与日まで投与後に少数例～全例で流涎がみられた。当症状は、投与後約2～5分からみられ、投与後約30分～1時間まで継続した。

体重：300mg/kg群では、投与期間の初期から有意な増加抑制が認められた。

摂餌量：300mg/kg群では低値であり、投与期間の初期に有意差が認められた。

剖検所見：各群とも著変はみられなかった。

器官重量：被験物質投与に起因すると思われる変動は認められなかった。

病理組織学的検査：被験物質投与に起因すると思われる組織変化は認められなかった。

2．雌（P）に及ぼす影響

一般状態：2.4mg/kg群では交配開始前に1例で1回のみ、投与後に流涎がみられた。12および60mg/kg群では、交配開始前および妊娠期間中に、投与後に少数例で流涎がみられる日があった。300mg/kg群では、交配開始前および交配期間中、妊娠期間ならびに哺育期間中に、投与後に少数例～過半数例に流涎がみられる日があった。同群では、妊娠22日に1例が死亡した。また、哺育期間中には1例で立毛および被毛光沢不良が観察され、哺育4日に2例が死亡した。

体重：300mg/kg群では低値であり、交配開始前の後期、妊娠期間、哺育4日には有意差が認められた。

摂餌量：300mg/kg群では低値であり、妊娠期間の初期には有意差が認められた。

剖検所見：生存例では、300mg/kg群の4例で腺胃粘膜の白色化、暗赤色斑、水腫と黒色点・小腸の黒色化などがみられた。哺育4日の死亡例の内の1例と妊娠22日の死亡例では腺胃粘膜の黒色点がみられた。その他の例には、著変はみられなかった。

病理組織学的検査：対照群および300mg/kg群の卵巣に、著変はみられなかった。剖検時に異常所見が得られた300mg/kg群の胃では粘液分泌亢進、びらん、上皮の剝離などが、小腸では粘膜の菲薄化がみられた。

以上により、当試験条件下における一般毒性学的な無影響量は雌雄とも2.4mg/kg未満と推定された。

Ⅱ．生殖発生毒性

1．親動物（P）の生殖発生に及ぼす影響

発情回数、交尾率、妊娠動物数および受胎率：雄側の交尾率、授胎率および雌側の交配開始前の発情回数、交尾率、妊娠動物数ならびに受胎率は、各投与群とも対照群と同程度であった。

妊娠期間、分娩状態および哺育行動：妊娠期間は、各投与群とも対照群とほぼ同程度であった。分娩状態は対照群および60mg/kg以下の投与群では異常はみられなかった。一方、300mg/kg群では1例が妊娠22日に死亡し、剖検により死亡胎児19例が確認された。また、12、60および300mg/kg群の各1例では哺育行動不良が観察された。

着床痕数：各投与群とも対照群との有意差は認められなかった。

新生児出産雌数および出産率：新生児出産雌数は、対照群、2.4、12mg/kg群は12例中12例、60mg/kg群は11例中11例で出産率は100%であり、300mg/kg群は12例中11例で91.7%であった。

2．新生児（F_1）に及ぼす影響

出産児数、分娩率および出生率：出産児数、新生児数、死産児数、分娩率および出生率には、各投与群とも被験物質投与の影響はみられなかった。

性比：各投与群とも被験物質投与の影響はみられなかった。

児の産出率：各投与群とも被験物質投与の影響はみられなかった。

哺育4日の生存児数：60mg/kg以下の投与群は対照群とほぼ同程度であったが、300mg/kg群ではやや低値であった。

外表観察：対照群および各投与群とも異常はみられなかった。

一般状態：12および60mg/kg群の各1母動物の新生児で哺育1日に、300mg/kg群の2母動物の新生児で哺育3、4日に表皮温下降が観察された。

哺育4日の生存率：60mg/kg以下の投与群では対照群とほぼ同程度であったが、300mg/kg群では哺育期間中の新生児死亡数が多く、生存率は低値であった。

哺育4日の剖検所見：対照群および各投与群とも異常はみられなかった。

体重：哺育0日は、各投与群とも雌雄ともに対照群とほぼ同程度かやや低値であった。哺育4日には、60mg/kg以下の投与群は対照群に比してやや低値であった。一方、300mg/kg群では雌雄とも低値であった。

未分娩胎児および死産児：300mg/kg群の妊娠22日の死亡母体で、死亡胎児19例が観察された。死産児数には、投与の影響はみられなかった。

以上により、生殖発生毒性学的には12mg/kg以上の群で授乳期（哺育行動）の母動物に、さらに300mg/kg群では周産期（分娩）の母動物に影響を及ぼしている可能性が考えられた。また、300mg/kgでは新生児の発育に対する影響がうかがわれた。したがって、当試験条件下における生殖発生毒性学的な無影響量は雄の生殖に関しては300mg/kg、雌の生殖に関しては2.4mg/kg、児動物の発生に関しては60mg/kgと推測された。

緒　　言

1-クロロプタン（CAS No.109693）が人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提案GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS、Preliminary Reproduction Toxicity Screening Test[1]に従って1-クロロプタンを雌雄ラットに1日1回、41～49日間経口投与した簡易生殖発生毒性試験を実施し、性腺機能、交尾行動、受胎および分娩などの生殖発生に及ぼす影響について検討した。

試験材料および試験方法

1．被験物質および媒体

被験物質である1-クロロプタン（CAS No.109693）は、比重（20℃）:0.8875、引火点：-6.7℃、沸点：78.5℃、凝固点：-123.1℃で、水にきわめて溶けにくく（20℃で0.08%）、可燃性で無色透明の液体である。当試験には、平成4年8月6日に
から提供されたものを用いた（Lot
純度：99.5%以上）。入手後は少量ずつ分割し、遮光・気密条件下で試験施設の被験物質保管室の保管庫に室温下で保管した。なお、投与終了後に残余被験物質の一部を財団法人日本食品分析センター名古屋支所に送付して分析した結果、純度は99.6%であり、保管期間中は安定であったことが確認された。

媒体として、コーンオイルを用いた。コーンオイル（Lot No.5233および8250、片山化学工業株式会社、それぞれ平成4年8月11日、同年8月21日および同年11月13日に購入）は、試験施設の被験物質保管室の保管庫に室温下で保管した。

2．投与検体および濃度確認

被験物質を秤取し、コーンオイルに溶解して必要濃度の投与検体を用時調製して速やかに投与に用いた。なお、被験物質は純度換算しないで投与量は原体重量で表示した。

コーンオイル中の2mg/mlおよび60mg/ml濃度中の被験物質は、室温・遮光・気密条件下で調製後3時間までの安定性が投与開始前に確認された。そこで、2.4、12および60mg/ml投与液（それぞれ第3、4および5群）の使用は調製後3時間以内とした。また、0.48mg/ml投与液（第2群）の安定性時間は短いことが予想されたため、当液の使用は（投与開始5日からは）調製後1時間以内とした。なお、投与後終了後に当濃度の保存安定性を検

討した結果、調製後1時間までの安定性が確認された（Attached table 1）。投与後の残余検体液は廃棄した。

投与開始時および投与終了後の2回、投与検体液の一部を財団法人日本食品分析センター名古屋支所に送付し、各投与検体液中の被験物質濃度を測定した。その結果、2.4、12および60mg/ml投与液中の被験物質濃度は表示濃度の91.7～104.0%であり、濃度に問題はなかった。一方、0.48mg/ml投与液中の被験物質濃度は表示濃度の79.2～85.4%を示したが、調製終了から測定開始までに約2時間を要していること、濃度測定施設で投与液と同様の方法で調製した液の調製直後の濃度は表示量の91.7%であること、調製後1時間の濃度は表示量の97.9%（調製直後の実測値の106.8%）を示して調製後1時間までの安定性が確認されていることなどから、当濃度についても調製濃度に関する問題はないと思われた（Attached table 2および3）。

３．使用動物および飼育条件

(1) 動物種および系統

試験には、一般毒性試験および生殖・発生毒性試験に汎用され、自然発生奇形等の成績に関する知見が多く得られているSprague-Dawley系雌雄ラット［Crj:CD（SD），（SPF）］を用いた。ラットは、平成４年９月30日に日本チャールス・リバー株式会社から8週齢で雌雄各73匹を購入した。入手後2日の体重範囲は、雄で270～308g、雌で193～225gであった。

(2) 検疫および馴化、群分け法ならびに個体識別法

入手した動物は、5日間の検疫期間およびその後6日間の馴化期間を設けた。この間に、3回の体重測定および毎日一般状態の観察を、さらに雌は検疫・馴化期間中に7日間の性周期観察を行った。一般状態および体重推移に異常がみられず、また性周期観察で発情期が認められた動物を群分けして試験に用いた。

群分けは、コンピュータを用いて体重を層別に分けた後に無作為抽出法により各群の平均体重および分散がほぼ等しくなるように、投与開始日の前日に行った。群分け後の残余動物は、初回投与日にエーテルで麻酔死させた後に廃棄処分した。

動物は、検疫・馴化期間中は動物入手日に油性インクおよび色素による染毛法を用いて、群分け後は色素による染毛法および耳パンチ法を併用して識別した。さらに、検疫・馴化期間中の各ケージには試験番号、入手年月日、性別および馴化動物番号を記入したラベルを、群分け後の各ケージには試験番号、投与量、性別および動物番号を記入し、群ごとに色分けしたラベルを取り付けた。

(3) 動物飼育環境条件および飼育管理

動物は、室温20～24℃、湿度40～70%、明暗各12時間（照明：午前６時～午後６時）、

換気回数12回／時（フィルターにより除菌した新鮮空気）に設定した飼育室（E棟2号室）で飼育した。

検疫・馴化期間中はステンレス製懸垂式ケージ（W:240xD:380xH:200mm）を用いて1ケージあたり4匹までの群飼育とし、群分け後はステンレス製五連ケージ（W:755xD:210xH:170mm）を用いて個別飼育した。ただし、交配はステンレス製懸垂式ケージ内で行った。また、母動物は妊娠18日にオートクレーブ処理した床敷（サンフレーク、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ケージ（W:310xD:360xH:175mm）に個別に移し、自然分娩および哺育させた。ケージの受けm、給水瓶およびプラスチック製ケージの交換は1週間に2回以上行い、ステンレス製懸垂式ケージ・五連ケージおよび給餌器の交換は2週間に1回以上行った。なお、動物飼育室の清掃（床の掃き掃除）および500倍希釈次亜塩素酸ナトリウム水溶液での床のモップ拭きによる消毒は毎日行った。

床敷の微量金属および汚染物質の分析結果は、ほぼ半年毎に財団法人日本食品分析センターで実施した成績を、日本チャールス・リバー株式会社から入手した。その結果、分析成績は試験施設で定めた基準値の範囲内であった。

（4）飼料および飲料水

飼料は、入手後3カ月以内の固型飼料（CRF-1、オリエンタル酵母工業株式会社）を給餌器に入れ、自由に摂取させた。飼料の分析結果は、財団法人日本食品分析センターおよびオリエンタル酵母工業株式会社から入手した。

飲料水は、水道水を給水瓶を用いて自由に摂取させた。飲料水の水質検査結果は、ほぼ3ヵ月毎に財団法人岐阜県公衆衛生検査センターで実施した成績を入手した。

飼料および飲料水の検査の結果、いずれも試験成績は試験施設で定めた基準値の範囲内であった。

4．投与経路、投与方法、群構成および投与量

（1）投与経路および投与方法

1-クロロブタンは、継続して経口的に人に摂取される可能性が考えられたため、投与経路として経口投与を選択した。

投与に際しては、金属製胃ゾンデを取り付けたプラスチック製ディスポーザブル注射筒を用いて強制経口投与した。投与液量は、雄では投与日に最も近い測定時の体重を基準とし、5ml/kgで算出した。雌では、交配前および交配期間中は投与日に最も近い測定時の体重を、妊娠期間中は妊娠0、7、14および21日の体重を、授乳期間中は哺育0日の体重を基準とし、5ml/kgで算出した。投与回数は1日1回とした。投与時刻は、午前9時15分～11時58分の間であった。

(2) 群構成および投与量

群構成は、以下の如くとした。なお、一群の動物数は雌雄各12例とした。

群	試験群	投与量（濃度）	雄（動物番号）	雌（動物番号）
第1群	対照（ｺｰﾝｵｲﾙ）	0 mg/kg（0 %）	12（001～012）	12（051～062）
第2群	1-クロロブタン	2.4mg/kg（0.048%）	12（101～112）	12（151～162）
第3群	1-クロロブタン	12 mg/kg（0.24 %）	12（201～212）	12（251～262）
第4群	1-クロロブタン	60 mg/kg（1.2 %）	12（301～312）	12（351～362）
第5群	1-クロロブタン	300 mg/kg（6 %）	12（401～412）	12（451～462）

投与量設定の理由：雄ラットを用いた投与量設定のための2週間経口投与による予備試験（投与段階：0、10、30、100、300および1000mg/kg、1群5例）の結果を参考として決定した。すなわち、1000mg/kg群では全例が投与後5日までに死亡した。一方、300mg/kg群では投与後3日以降に1～5例で流涎がみられ、体重は増加抑制傾向で剖検日には有意差が認められた。また、100mg/kg群でも投与後7日以降には1～4例で流涎がみられた[2)]。

そこで、当試験では2週間投与試験で一般状態観察および体重に影響がみられた300mg/kgを最高用量とし、以下公比5で60、12および2.4mg/kg群を設定した。対照として、媒体のコーンオイルを投与する群を設けた。

(3) 投与期間

投与期間は、OECD提案Guideline for Testing of Chemicals, Preliminary Reproduction Toxicity Screening Testに従って、雄では交配前14日間およびその後35日間（合計49日間）、雌では交配前14日間、交配期間中（最長7日間）、妊娠期間中および哺育4日の剖検（41～46日間）前日まで、1日1回で連日とした。

5．観察および検査項目

(1) 雄（P）

1)一般状態および死亡の有無の観察

一般状態および死亡の有無を、投与期間中は毎日投与前・後の2回（ただし、剖検日は剖検前1回）観察した。

2)体重測定

体重は、毎週2回（投与初日を1日とし、投与1、4、8、11、15、18、22、25、29、32、36、39、43、46日）および剖検日に測定した。

3)摂餌量測定

摂餌量は、交配開始前14日間および交配期間終了後から毎週2回、連続2日間量を測定し、1日量に換算した。なお、測定開始日（体重測定日）に給餌量を、終了日には残

量を測定し、摂餌量の表示は残量の測定日（3、6、10、13、24、27、31、34、38、41、45、48日）とした。

4)剖　検

投与期間（49日間）終了の翌日に、エーテル麻酔下で腹大動脈の切断により放血致死させた後に剖検した。剖検時に、精巣および精巣上体を摘出して重量を測定し、ブアン液に固定し保存した。

5)病理組織学的検査

精巣および精巣上体は、全例について常法に従ってパラフィン包埋標本を作製した。その後、対照群および300mg/kg群についてはH-E染色組織標本を作製し、病理組織学的検査を行った。

(2) 雌（P）

1)一般状態および死亡の有無の観察

一般状態および死亡の有無を、投与期間中は毎日投与前・後の2回（ただし、剖検日は剖検前1回）観察した。死亡例（No.455、456、458）は発見後速やかに剖検して着床痕数および黄体数を算定し、子宮および卵巣ならびに異常の認められた器官・組織、および胎児は10%中性緩衝ホルマリン液に固定し、保存した。

2)性周期観察

性周期を、投与開始日から交尾確認日まで毎日1回観察した。なお、発情期が連続2日間にわたって観察される場合は1回と計数した。

3)体重測定

体重を、交配開始前14日間および交配期間中は毎週2回（投与初日を1日とし、投与1、4、8、11、15および18日）、妊娠期間中は妊娠0、7、14および21日に、哺育期間は哺育0および4日にそれぞれ測定した。

4)摂餌量測定

摂餌量を、交配開始前14日間までは毎週2回、連続2日間量を測定（3、6、10、13日）して1日量に換算した。また、妊娠期間中は妊娠0、7、14および19日からの連続2日間量を、哺育期間中は哺育0～4日の累積量を測定し、それぞれ1日量に換算した。なお、測定開始日（体重測定日）には給餌量を、終了日には残量を測定し、摂餌量の表示は残量の測定日とした。

5)分娩状態の観察

母動物は自然分娩させ、分娩状態の異常の有無、分娩終了の確認を妊娠21日から妊娠25日の午前9時まで毎日行った。午前9時までに分娩が終了していた場合、その日を哺育0日とした。

6)交尾確認後25日の午前9時までに分娩しない動物の処置

交尾確認後25日の午前9時までに分娩がみられなかった動物は、エーテル麻酔下で腹大動脈の切断により放血致死させた後に剖検し、妊娠の有無を確認した。着床がみられなかった雌（No.352）は、不妊動物とした。当例では子宮および卵巣を摘出して、10%中

性緩衝ホルマリン液に固定し、保存した。

7)哺育状態の観察および剖検

哺育状態を哺育4日まで毎日観察し、哺育4日にエーテル麻酔下で腹大動脈の切断により放血致死させた後に剖検し、着床痕数および黄体数を算定した。子宮、卵巣および剖検で異常の認められた器官・組織を摘出して、10%中性緩衝ホルマリン液に固定し、保存した。

8)全新生児が死亡した母動物の処置

全新生児が死亡した母動物（No.251、356）は、発見後速やかにエーテル麻酔下で腹大動脈の切断により放血致死させた後に剖検し、着床痕数および黄体数を算定した。子宮および卵巣を摘出して、10%中性緩衝ホルマリン液に固定し、保存した。

9)病理組織学的検査

卵巣は、全例について常法に従ってパラフィン包埋標本を作製した。その後、対照群および300mg/kg群についてはH-E染色組織標本を作製し、病理組織学的検査を行った。また、剖検で異常が認められた器官・組織（300mg/kg群の胃および小腸）についても同様に病理組織学的検査を行った。さらに、一部の例の胃については鉄染色（Berlin blue stain）組織標本を作製し、観察した。

(3) 親動物（P）の生殖行動に及ぼす影響

14日間にわたって被験物質を投与し、12週齢に達した同一群内の雌雄1対1の組み合わせで、同居交配した。交配期間は14日を限度として交尾を確認するまで同居したままの連続交配としたが、同居開始後7日までに全例の交尾が確認された。

なお、交尾確認は毎朝ほぼ一定時刻に行い、膣垢内に精子または膣栓を確認した雌を交尾動物として、その日を妊娠0日として起算した。

(4) 新生児（F_1）

1)出産時の観察

出産時に総出産児数と性、死産児数、新生児数および外表異常の有無を観察した。死産児は、10%中性緩衝ホルマリン液に固定し、保存した。

2)新生児の観察

新生児は、一般状態および死亡の有無を生存期間中毎日1回観察した。死亡児および母動物が死亡した場合（No.456：哺育4日、No.458：哺育4日の観察終了後）の全新生児は、剖検後に10%中性緩衝ホルマリン液に固定し、保存した。

3)体　重

体重を、哺育0（出生日）および4日に測定した。

4)剖　検

哺育4日の観察終了後にエーテル麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後、剖検した。

6．統計学的方法

測定値の統計学的方法は下記の検定法を用い、有意差検定は対照群と1-クロロブタンの各投与群との間で行った。いずれの検定の場合も危険率5%未満を有意とし、5%未満（$p<0.05$）と1%未満（$p<0.01$）とに分けて表示した。なお、不妊動物（No.352）については交尾後の体重および摂餌量は集計から除外した。また、新生児は一腹の平均を一単位とした。

1)多重比較検定

Bartlett法による等分散性の検定を行い、等分散の場合には一元配置法による分散分析を行い、有意ならば対照群との群間比較はDunnett法（例数が等しい場合）またはScheffé法（例数が等しくない場合）により行った。一方、等分散と認められなかった場合は、順位を利用した一元配置法による分析（Kruskal-Wallisの検定）を行い、有意ならば対照群との群間比較は順位を利用したDunnett法（例数が等しい場合）またはScheffé法（例数が等しくない場合）を用いて行った。

体重（親動物、新生児）、摂餌量、発情回数、同居日数、妊娠期間［分娩日（哺育0日）－交尾確認日］、着床痕数、総出産児数、死産児数、分娩率[(総出産児数／着床痕数) x100]、児の産出率[(哺育0日の新生児数／着床痕数) x100]、着床率[(着床痕数／黄体数) x100]、哺育4日の生存率［(哺育4日の新生児数／哺育0日の新生児数) x100]、新生児数、出生率[(哺育0日の新生児数／総出産児数) x100]、性比（雄／雄＋雌）、外表異常出現率[(外表異常児数／新生児数) x100]、器官重量（相対重量を含む）。

2)カイ二乗検定

新生児出産雌数、交尾率[(交尾成立動物数／同居動物数) x100]、受胎率[(妊娠動物数／交尾成立動物数) x100]、出産率[(新生児出産雌数／妊娠雌数) x100]。

試 験 成 績

Ⅰ．反復投与毒性

1．雄（P）に及ぼす影響

(1) 一般状態（Table 1-1～1-2、Appendix 1-1～1-10）

対照群では、観察期間を通じて異常症状は観察されなかった。

2.4、12および60mg/kg群では、投与7～10日から最終投与日まで少数例あるいは約半数例で流涎がみられる日があった。また、300mg/kg群では投与6日から最終投与日まで少数例～全例で流涎がみられた。当症状は、投与後約2～5分からみられ、投与後約30分～1時間まで継続した。高用量群では低用量群に比して発現日が早く、投与後の発現までの時間が短く、症状持続時間が長く、また発現例数が多い傾向がうかがえた。なお、翌日の投与前には異常はみられなかった。

(2) 体重（Table 2、Fig.1、Appendix 2-1～2-5）

300mg/kg群では投与2週目頃から対照群に比して体重増加抑制がみられ、投与11日から剖検日まで有意差が認められた。一方、60mg/kg以下の投与群は対照群とほぼ同様の推移を示した。

(3) 摂餌量（Table 3、Fig.2、Appendix 3-1～3-5）

300mg/kg群の摂餌量は対照群に比して低値傾向であり、投与6日には有意差が認められた。60mg/kg以下の投与群は対照群とほぼ同程度かやや低値傾向であったがいずれの測定日とも有意差は認められなかった。

(4) 剖検所見（Table 4、Appendix 4-1～4-5）

対照群および各投与群のいずれの例とも、著変はみられなかった。

(5) 器官重量（Table 5、Appendix 5-1～5-5）

300mg/kg群では、対照群に比して精巣相対重量が有意な高値を示した。精巣上体は、各投与群とも絶対重量および相対重量ともに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 6、Appendix 6-1～6-2）

精巣：巨細胞を伴う精細管の変性が、300mg/kg群の1例にみられた。変化の程度は中等度であった。その他には、著変はみられなかった。

精巣上体：ごく軽度の被膜における動脈炎が対照群の1例に、ごく軽度の間質の細胞浸潤および中等度の精子減少が300mg/kg群の各1例にみられた。その他には、著変はみられ

なかった。

2．雌（P）に及ぼす影響

(1) 一般状態

交配開始前および交配期間中（Table 7-1、Appendix 7-1～7-5）

対照群では、交配開始前および交配期間中を通じて異常症状は観察されなかった。

2.4mg/kg群では投与10日に、12mg/kg群では投与15日に各1例で1回のみ、流涎がみられた。また、60mg/kg群では投与7日から少数例（ただし、投与21日は1例中1例）に交配終了日まで、300mg/kg群では投与7日から少数例～約半数例に交配終了前日まで流涎がみられた。

妊娠期間中（Table 7-2、Appendix 8-1～8-5）

対照群および2.4mg/kg群では、妊娠期間中に異常症状は観察されなかった。

12および60mg/kg群では妊娠0～4日から分娩前日まで、少数例で流涎がみられる日があった。300mg/kg群では、妊娠0日から分娩日まで、少数例～過半数例で流涎がみられた。300mg/kg群の1例（No.455）は妊娠22日に死亡したが、前日までには他の例と同様の流涎がみられたのみで、その他には異常症状は観察されなかった。

哺育期間中（Table 7-3、Appendix 9-1～9-5）

対照群、2.4、12および60mg/kg群では、哺育期間を通じて異常症状は観察されなかった。300mg/kg群では、哺育0～3日に少数例～約半数例で流涎がみられた。なお、300mg/kg群では哺育4日の朝に1例（No.456）が死亡していたが、前日まで流涎がみられた以外には異常症状は観察されなかった。さらに、哺育4日の観察後から剖検前までの間に同群の他の1例（No.458）が死亡したが、哺育2、3日に流涎がみられた以外には異常症状は観察されなかった。また、生存例の1例（No.459）では、哺育3、4日には立毛および被毛光沢不良が観察された。

流涎は、いずれの場合も投与後約2～5分からみられ、投与後約30分～1時間まで継続した。高用量群では、低用量群に比して投与後の症状発現までの時間が短く、持続時間が長く、また発現例数が多い傾向がうかがえた。なお、翌日の投与前には異常はみられなかった。

(2) 体重（Table 8-1～8-3、Fig.3-1～3-2、Appendix 10-1～10-5、11-1～11-5、12-1～12-5）

300mg/kg群では投与2週目頃から対照群に比して体重増加抑制傾向がみられ、交配開始前の投与11および15日、妊娠期間の妊娠7、14および21日ならびに哺育4日には有意差が認められた。同群では、哺育4日には哺育0日に比して10例中4例で10g以上の体重減少がみられ、とくに1例（No.459）は47gの減少を示した。一方、60mg/kg以下の投与群は交配開始前、妊娠期間中および哺育期間とも対照群とほぼ同様の推移を示した。

(3) 摂餌量 (Table 9-1～9-3、Fig.4-1～4-2、Appendix 13-1～13-5、14-1～14-5、15-1～15-5)

300mg/kg群の摂餌量は、交配開始前、妊娠期間中および哺育期間とも対照群に比してやや低値傾向であり、妊娠2日には有意差が認められた。当群では哺育4日に母獣が2例死亡したが、その内の1例 (No.456) は当日の観察時に既に死亡していたため、当例の摂餌量を集計から削除した。また、他の1例 (No.458) は哺育4日の観察時には生存しており、剖検までの間に死亡したため、当例の摂餌量は集計に含めて算出した。なお、哺育4日に死亡していた1例 (No.456) および生存例の1例 (No.459) では、哺育期間中の摂餌量が他の例に比して低値であった。一方、60mg/kg以下の投与群では対照群とほぼ同程度かやや低値を示す日もみられたが、有意差は認められなかった。

(4) 剖検所見

生存例 (Table 10-1、10-2、Appendix 16-1～16-5)

対照群および2.4mg/kg群の各12例、12mg/kg群の11例ならびに60mg/kg群の10例では、剖検で著変はみられなかった。一方、300mg/kg群 (9例) では腺胃粘膜の暗赤色斑が1例 (No.454) に、白色化が2例 (No.457、461) に、水腫・黒色斑および小腸の黒色化が1例 (No.459) にみられた。

また、哺育2日までに全新生児が死亡した母動物 (12mg/kg群：No.251、60mg/kg群：No.356) では、著変はみられなかった。

不妊例 (Table 10-3、Appendix 16-4)

60mg/kg群の1例 (No.352) の剖検では、著変はみられなかった。

死亡例 (Table 10-4、Appendix 16-5)

300mg/kg群の3例の剖検では、哺育4日に死亡していた1例 (No.456) および妊娠22日に死亡した1例 (No.455) で腺胃粘膜に黒色点散在がみられた。哺育4日の剖検前に死亡した1例 (No.458) では、著変はみられなかった。

(5) 病理組織学的検査

生存例 (Table 11-1、Appendix 17)

卵巣：対照群および300mg/kg群のいずれの例とも著変はみられなかった。

胃：剖検で腺胃の白色化がみられた300mg/kg群の2例 (No.457、461) では腺胃における軽度の粘液分泌増加および上皮の剝離 (Photo.1) が、暗赤色斑がみられた1例 (No.454) ではごく軽度のびらんがみられた。また、水腫および黒色斑がみられた1例 (No.459) では腺胃における中等度のびらんならびに粘膜下織における中等度の水腫 (Photo.2) がみられた。なお、当例では粘膜上に褐色物質の付着がみられたが、鉄染色では陰性であった。

小腸：剖検で黒色化がみられた300mg/kg群の1例 (No.459) で、粘膜の高度の菲薄化 (Photo.3) がみられた。

死亡例（Table 11-2、Appendix 17）

剖検で腺胃粘膜に黒色点散在がみられた300mg/kg群の2例では、いずれも腺胃におけるびらんがみられた。変化の程度は、哺育4日に死亡していた1例（No.456）が高度であり、妊娠22日に死亡した1例（No.455）ではごく軽度であった。その他に、死亡例では卵巣および胃に死後変化が観察された。

Ⅱ．生殖発生毒性

1．親動物（P）の生殖発生に及ぼす影響（Table 12、Appendix 18-1～18-10、19-1～19-5、Table 13-1～13-2、Appendix 20-1～20-16）

(1) 発情回数

発情回数は、検疫・馴化期間の内の7日間および投与期間中ともに各投与群とも対照群とほぼ同程度であり、有意差は認められなかった。

(2) 交尾率、妊娠動物数および受胎率

対照群を含む各群の動物とも、同居開始後7日までに全例で交尾が確認された。交尾率は、対照群および各投与群とも100%であった。交尾成立までの平均日数は、対照群が1.7日に対して各投与群では2.3～2.8日とやや延長傾向がうかがえたが、明確な用量依存性はみられず、また各投与群とも有意差は認められなかった。

妊娠動物数は、対照群、2.4、12および300mg/kg群では12例中12例ずつ、60mg/kg群では12例中11例であった。したがって、受胎率は対照群、2.4、12および300mg/kg群が100%、60mg/kgが91.7%であった。

(3) 妊娠期間、分娩状態および哺育行動

妊娠期間は、各投与群（22.00～22.25日）とも対照群（22.17日）とほぼ同程度であった。これらの母動物では、いずれも分娩状態に異常はみられなかった。

哺育期間中の母動物の観察では、対照群および2.4mg/kg群では異常はみられなかった。一方、12mg/kg群の1例（No.251）では哺育0、1、2日に、60mg/kg群の1例（No.356）では哺育1、2日に、300mg/kg群の1例（No.459）では哺育3、4日には乳頭発達不良がみられ、授乳行動および巣作り行動が観察されないなどの哺育行動不良がみられた。

(4) 着床痕数

着床痕数は、対照群が15.8に対して各投与群では16.4～17.8でやや高値傾向がうかがえたが、有意差は認められず、また用量依存性もみられなかった。

(5) 新生児出産雌数および出産率

新生児出産雌数は対照群、2.4および12mg/kg群では12例中12例、60mg/kg群では11例中11例で、出産率はいずれも100%であった。300mg/kg群では1例（No.455）が妊娠22日に死亡したため、新生児出産雌数は12例中11例で出産率は91.7%であったが、対照群との有意差は認められなかった。

2．新生児（F_1）に及ぼす影響（Table 13-1～13-2、14、15、Appendix 20-1～20-16、Appendix 21-1～21-5）

(1) 出産児数、分娩率、死産児数、新生児数および出生率

出産児数は、対照群が14.9に対して各投与群では15.0～16.6でほぼ同程度かあるいはやや高値傾向であった。また、分娩率は対照群が94.5%に対して各投与群では90.8～92.9%とやや低値傾向であった。死産児数は対照群が0.6に対して各投与群で0.1～0.4であり、やや低値傾向がうかがえた。一方、新生児数は対照群が14.3に対して各投与群では14.9～16.5でやや高値傾向であった。出産児数に対する哺育0日の新生児数を示す出生率は、対照群が96.0%に対して各投与群では97.7～99.5%でやや高値傾向であった。

しかしながら、いずれの指標とも対照群との有意差は認められず、また明確な用量依存性はみられなかった。

(2) 性比、児の産出率および外表異常の観察

性比は、各投与群で0.43～0.52で対照群の0.44とほぼ同程度であった。

着床痕数に対する哺育0日の新生児数を示す児の産出率は、各投与群で88.5～92.4%で対照群の90.8%とほぼ同程度であった。

新生児の外表観察では、いずれの例も異常はみられなかった。

(3) 新生児の一般状態、哺育４日の生存率および剖検所見

新生児の一般状態観察では、対照群および2.4mg/kg群では、いずれも異常はみられなかった。12および60mg/kg群の哺育行動不良が観察された母動物（No.251、356）の新生児では、哺育1日に表皮温下降が観察された。また、300mg/kg群では、1母動物（No.456）の新生児で哺育4日に、他の1母動物（459）の新生児で哺育3、4日に表皮温下降が観察された。

哺育4日の剖検日までに、対照群では2母動物で2例（雌）、2.4mg/kg群では2母動物で3例（雄）の新生児が死亡した。一方、12mg/kg群では1母動物で1例（雄）と、さらに哺育行動不良がみられた1母動物（No.251）で新生児の全例（哺育2日までに雄6例、雌10例）が、60mg/kg群では4母動物で5例（雄4例、雌1例）と、さらに哺育行動不良がみられた1母動物（No.356）で新生児の全例（哺育2日までに雄7例、雌11例）が死亡した。その他に、300mg/kg群では2母動物で3例（雄）、哺育4日に死亡していた1母動

物（No.456）で8例（哺育1日に雄2例、雌5例、哺育4日に雄1例）、さらに哺育期間中に摂餌量の低値および哺育行動不良がみられ、哺育4日に最大の体重減少を示した1母動物（No.459）で15例（哺育4日に雄8例、雌7例）の新生児が死亡した。したがって、哺育4日の生存率は、対照群が99.0%に対して2.4mg/kg群は98.3%であり、ほぼ同程度であった。また、12および60mg/kg群ではそれぞれ91.2および88.2%とやや低値傾向であった。一方、300mg/kg群では有意差は認められなかったものの85.7%と低値を示した。なお、60mg/kg以下の投与群では哺育0日の新生児数が対照群に比してやや多かったため、哺育4日の生存児数は対照群よりも多いかあるいはほぼ同程度であった。また、300mg/kg群では哺育0日の新生児数は対照群よりもやや多かったものの、哺育期間中の死亡児が多かったため、哺育4日の生存児数が低値であった。

哺育4日の剖検では、いずれの生存児にも著変はみられなかった。

（4）新生児の体重（Table 14、Fig.5、Appendix 21-1～21-5）

各投与群の哺育0日の体重は、雌雄とも対照群とほぼ同程度かやや低値傾向であった。哺育4日には、60mg/kg以下の投与群では対照群に比してやや低値傾向が持続してみられた。一方、300mg/kg群では哺育4日の体重は雌雄ともに有意差は認められなかったものの低値であった。なお、300mg/kg群では哺育4日に母動物が2例が死亡したが、その内の1例（No.456）は哺育3日の投与後には生存しており、哺育4日には一部の出産児が生存していたため、当例の新生児の体重を哺育4日の集計に含めて算出した。また、他の1例（No.458）の母動物は哺育4日の観察時には生存しており、剖検時までに死亡したため、当例の新生児の体重も集計に含めて算出した。

（5）未分娩胎児および死産児

前述の如く、300mg/kg群の母動物1例（No.455）は妊娠22日に死亡し、剖検により死亡胎児19例が確認された（雄10例、雌9例）。

死産児は対照群で7例（雄3例、雌4例）、2.4、12、60および300mg/kg群でそれぞれ4例（雌雄各2例）、1例（雌）、4例（雄1例、雌3例）および1例（雌）であった。これらの死産児数に用量依存性は認められなかった。

考　　察

1-クロロプタンのラットを用いた簡易生殖毒性試験を実施した。投与段階は、300mg/kgを最高用量とし、以下60、12および2.4mg/kgとした。

雄(P)に対しては、各投与群で投与後に流涎がみられたが、翌日には消失しており、一過性の症状であった。当症状の発現までの投与日数、発現までの時間、持続時間、発現動

物数にはほぼ用量依存性がうかがえた。しかしながら、症状発現動物数は投与開始後2～3週目頃を頂点とし、その後は投与を継続しても必ずしも増加する傾向はみられなかった。体重は、300mg/kg群で投与期間の初期から増加抑制が認められ、摂餌量の低値傾向に起因した変動と思われた。また、器官重量では精巣相対重量が高値を示したが、体重増加抑制に伴った二次的な変動と考えられた。剖検では著変はみられなかった。また、病理組織学的検査では300mg/kg群の1例で精巣の精細管上皮の変性と精巣上体の精子数減少がみられたが、発現例数が1例のみであり、その他の例には同様の所見がみられなかったことから、被験物質投与との関連性のない偶発性変化と思われた。なお、当例では交尾および授胎が可能であり、精巣の組織変化は交尾あるいは授胎などの生殖機能への影響がみられない程度のものであることが知られた。

雌(P)に対しては、交配開始前および交配期間中の症状は、雄の同量投与群の場合と同様で各投与群で投与後に流涎がみられたが、発現例数は雄に比して雌が少なかった。また、妊娠期間中では2.4mg/kg群で、さらに哺育期間中では60mg/kg以下の投与群で流涎はみられず、これらの期間中でも流涎の発現例数は雄の同時期に比して雌が少なかった。体重は、300mg/kg群で投与2週目、妊娠期間および哺育期間には低値であり、摂餌量の低値傾向に起因した変動と考えられた。剖検では300mg/kg群で胃および小腸に黒色斑点、黒色化あるいは暗赤色斑点などがみられ、病理組織学的検査により胃粘膜のびらん、上皮の剝離、水腫、小腸の粘膜菲薄化などが観察された。したがって、哺育期間中の摂餌量の低値傾向、体重増加抑制あるいは減少は、消化管障害が一因と推測された。なお、胃の鉄染色は陰性であったことから、出血が起こっている可能性は薄いと思われた。

以上のように、一般毒性学的には2.4mg/kg以上の群で雌雄の一般状態（流涎）、300mg/kg群で雌雄の体重、摂餌量に影響がみられ、雌の剖検および病理組織学的検査（胃、小腸）に異常所見が得られた。したがって、当試験条件下における1-クロロブタンの一般毒性学的な無影響量は雌雄とも2.4mg/kg未満と推測された。

親動物(P)の生殖発生に関しては、雄側の交尾率および授胎率、雌側の発情回数、交尾率、妊娠動物数、受胎率、新生児出産動物数、妊娠期間、着床痕数および出産率は、各投与群で投与の影響はみられなかった。しかしながら、妊娠22日には300mg/kg群の1母動物が死亡した。当動物では、上記のように消化管障害に加えて妊娠による負担が死亡原因と推測された。剖検では死亡胎児が19例認められたが、早期あるいは後期吸収胚はみられなかったことから、1-クロロブタンが周産期（分娩）の母動物に対して影響を及ぼした結果と考えられた。さらに、12、60および300mg/kg群の各1例で哺育行動不良が観察され、新生児の多くが哺育4日までに死亡した。したがって、12mg/kg以上では授乳期（哺育行動）の母動物に対して影響を及ぼした可能性が推測された。

新生児に対しては、出産児数、分娩率、死産児数、新生児数、出生率、性比、児の産出率に投与の影響はみられなかった。また、哺育4日の剖検では異常はみられなかった。一

方、新生児の一般状態では12および60mg/kg群の各1母動物ならびに300mg/kg群の2母動物の新生児で表皮温下降が観察され、300mg/kg群の当該例の体重は同群の他の新生児に比して低値であった。この内の1母動物（No.456）は哺育4日に死亡しており、また他の1母動物（No.459）は一般状態の異常、哺育行動不良を示した動物であったことから、授乳が充分にできなかったことに起因したものと思われた。この2例を含めて、300mg/kg群では哺育4日までに新生児の死亡例数が多かったため、有意差は認められなかったものの、哺育4日の生存率が低値を示した。また、哺育4日の体重は300mg/kg群で雌雄とも有意差は認められなかったものの低値であり、新生児の発育にも影響を及ぼしている可能性が考えられた。12および60mg/kg群でも、哺育行動不良がみられた母動物で哺育2日までに全新生児が死亡したが、これらの投与群ではその他の母動物には300mg/kg群にみられたような影響は観察されず、哺育4日の生存率がやや低値であったが生存児の体重は対照群と大きな差がみられないことから、新生児に対する影響はないものと推測された。

以上のように、生殖発生毒性学的には12mg/kg以上で授乳期（哺育行動）の母動物に対して、300mg/kgではさらに周産期（分娩）の母動物に対して影響を及ぼした可能性が考えられた。また、300mg/kg群では新生児の死亡数が多く、哺育4日の生存率が低値であり、哺育4日の雌雄の生存児の体重が低値であった。したがって、当試験条件下における生殖発生毒性学的な無影響量は、雄の生殖に関しては300mg/kg、雌の生殖に関しては2.4mg/kg、児動物の発生に関しては60mg/kgと推測された。

資　　料

1)OECD GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS、Preliminary Reproduction Toxicity Screening Test（厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室から提供された資料）

2)　　：「1-クロロプタン（CAS No.109693）のラットにおける経口投与による簡易生殖毒性試験の予備試験」の最終報告書（試験番号：0932P）（株式会社日本バイオリサーチセンター　羽島研究所、平成５年９月10日）

Table 1-1. General sign of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration

Group (mg/kg)		Number of males and general sign	Days 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
Control	0	Number of males	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	12	12	12
		Normal	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	12	12	12
1-chlorobutane	2.4	Number of males	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	12	12	12
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	11	11	10	10	10	11	10	11	11	12	11	10	12	11	9	12	12	11	12
		Salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	2	2	1	2	1	1	0	1	2	0	1	3	0	0	1	0
	12	Number of males	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	12	12	12
		Normal	12	12	12	12	12	12	10	11	10	10	9	10	10	8	12	10	11	11	11	10	11	12	10	10	12	11	11	10
		Salivation	0	0	0	0	0	0	2	1	2	2	3	2	2	4	0	2	1	1	1	2	1	0	2	2	0	1	1	2
	60	Number of males	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	12	12	12
		Normal	12	12	12	12	12	12	10	11	11	11	10	10	9	9	10	11	11	11	7	9	11	11	11	10	10	11	10	10
		Salivation	0	0	0	0	0	0	2	1	1	1	2	2	3	3	2	1	1	1	5	3	1	1	1	2	2	1	2	2
	300	Number of males	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	12	12	12
		Normal	12	12	12	12	12	7	8	6	3	6	6	5	2	2	6	2	1	3	2	4	2	2	0	1	2	3	3	2
		Salivation	0	0	0	0	0	5	4	6	9	6	6	7	10	10	6	10	11	9	10	8	10	10	12	11	10	9	9	10

Table 1-2. General sign of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration

Group (mg/kg)		Number of males and general sign	Days of administration																					
			29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50*
Control	0	Number of males	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
1-chlorobutane	2.4	Number of males	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Normal	12	12	12	11	11	12	12	12	10	12	12	12	12	12	12	12	12	12	11	12	12	12
		Salivation	0	0	0	1	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	12	Number of males	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Normal	11	12	12	12	11	12	12	12	12	12	12	12	12	11	12	12	12	12	11	11	12	12
		Salivation	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0
	60	Number of males	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Normal	11	9	10	10	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	12	10	11	11	12
		Salivation	1	3	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	2	1	1	0
	300	Number of males	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Normal	2	1	3	3	4	3	4	1	4	8	6	5	5	1	6	2	2	4	5	5	4	12
		Salivation	10	11	9	9	8	9	8	11	8	4	6	7	7	11	6	10	10	8	7	7	8	0

*: The day of necropsy.

Table 2. Body weight of male rats (P) in preliminaly reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration

Group	Control	1-chlorobutane			
(mg/kg)	0	2.4	12	60	300
Number of males	12	12	12	12	12
Days of administration 1	342.1 ± 9.0	342.5 ± 9.1	341.5 ± 9.6	343.7 ± 8.3	341.2 ± 8.0
4	354.5 ± 10.2	355.7 ± 8.2	354.8 ± 12.3	356.2 ± 11.6	349.6 ± 11.0
8	372.2 ± 14.2	373.3 ± 9.3	369.4 ± 14.5	369.0 ± 14.1	358.7 ± 11.7
11	382.3 ± 16.4	383.1 ± 10.1	378.7 ± 17.0	378.6 ± 18.1	362.0 ± 11.4**
15	396.6 ± 16.7	396.7 ± 10.8	389.6 ± 20.5	389.7 ± 20.3	366.4 ± 14.0**
18	406.4 ± 18.7	404.2 ± 12.9	396.1 ± 20.5	396.5 ± 20.4	370.4 ± 15.5**
22	419.4 ± 20.1	418.7 ± 16.5	406.8 ± 19.5	408.0 ± 21.1	379.1 ± 15.4**
25	428.5 ± 22.5	427.0 ± 15.9	417.5 ± 20.1	416.0 ± 23.0	386.9 ± 17.5**
29	439.9 ± 24.2	438.9 ± 19.8	426.2 ± 20.2	426.7 ± 24.4	396.2 ± 19.9**
32	447.7 ± 25.3	448.8 ± 19.9	437.4 ± 22.7	434.3 ± 25.8	403.1 ± 18.1**
36	458.2 ± 27.9	461.7 ± 20.7	447.2 ± 22.4	443.7 ± 25.5	410.7 ± 19.5**
39	464.2 ± 29.3	470.9 ± 21.4	457.5 ± 23.8	452.5 ± 26.0	417.7 ± 20.4**
43	469.0 ± 32.9	478.4 ± 21.3	465.7 ± 25.0	459.7 ± 26.8	420.7 ± 18.4**
46	475.7 ± 31.2	487.2 ± 21.0	472.1 ± 26.3	469.4 ± 26.4	426.0 ± 19.9**
50	483.2 ± 35.6	496.2 ± 24.6	481.6 ± 26.7	475.7 ± 25.6	432.4 ± 21.5**

Each value shows mean (g) ± S.D.
Significantly different from control (**: $P<0.01$).

Table 3. Food consumption of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration

Group		Control	1-chlorobutane			
(mg/kg)		0	2.4	12	60	300
Number of males		12	12	12	12	12
Days of administration	3	24.2 ± 1.9	23.2 ± 1.7	23.2 ± 1.7	22.5 ± 1.5	23.6 ± 1.2
	6	23.3 ± 2.5	22.4 ± 1.9	22.9 ± 2.4	22.2 ± 1.4	21.0 ± 0.6**
	10	21.7 ± 2.1	20.7 ± 2.0	21.2 ± 2.5	20.7 ± 2.0	19.8 ± 1.5
	13	21.1 ± 2.7	20.1 ± 1.6	20.1 ± 3.8	19.7 ± 2.5	18.6 ± 1.7
	24	21.0 ± 2.2	20.7 ± 1.4	21.5 ± 2.2	19.2 ± 2.0	19.2 ± 1.5
	27	20.5 ± 2.9	20.5 ± 2.0	20.5 ± 2.0	19.4 ± 1.7	19.6 ± 1.3
	31	20.7 ± 3.0	21.0 ± 2.5	21.0 ± 2.4	19.5 ± 1.9	19.9 ± 1.8
	34	20.7 ± 2.1	21.1 ± 2.4	20.6 ± 2.0	19.3 ± 1.6	19.6 ± 1.4
	38	19.3 ± 2.2	20.1 ± 2.5	20.6 ± 2.2	18.6 ± 1.2	19.2 ± 1.5
	41	19.2 ± 2.4	20.2 ± 2.3	20.7 ± 2.5	19.3 ± 1.2	19.6 ± 1.4
	45	20.2 ± 2.4	20.7 ± 1.4	20.2 ± 1.9	18.7 ± 1.4	18.6 ± 1.4
	48	20.2 ± 2.6	19.4 ± 2.4	20.3 ± 2.9	19.2 ± 1.6	18.7 ± 1.6

Each value shows mean (g/day) ± S.D.
Significantly different from control (**: $P<0.01$).

Table 4. Necropsy finding of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration

Group	Control	1-chlorobutane			
(mg/kg)	0	2.4	12	60	300
Number of males	12	12	12	12	12
Normal	12	12	12	12	12

Table 5. Organ weight of male rats (P) after mating period in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration

Group		Control	1-chlorobutane			
(mg/kg)		0	2.4	12	60	300
Number of animals		12	12	12	12	12
Body weight	(g)	483.2 ± 35.6	496.2 ± 24.6	481.6 ± 26.7	475.7 ± 25.6	432.4 ± 21.5**
Testes	(g)	3.265 ± 0.196	3.272 ± 0.212	3.356 ± 0.316	3.369 ± 0.293	3.243 ± 0.265
	(g%)	0.677 ± 0.058	0.663 ± 0.050	0.697 ± 0.067	0.711 ± 0.083	0.752 ± 0.074*
Epididymides	(g)	1.263 ± 0.128	1.225 ± 0.091	1.274 ± 0.077	1.215 ± 0.097	1.175 ± 0.095
	(g%)	0.264 ± 0.032	0.248 ± 0.027	0.264 ± 0.020	0.257 ± 0.025	0.272 ± 0.025

Each value shows mean ± S.D.
Significantly different from control (*: $P<0.05$, **: $P<0.01$).

Table 6. Histopathological finding of testis and epididymis of survival male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration

Group		Control					1-chlorobutane				
Dose (mg/kg)		0					300				
Number of males		12					12				
Findings	Grade	−	±	+	++	+++	−	±	+	++	+++
Testis											
Degeneration of seminiferous tubules with giant cell		12	0	0	0	0	11	0	0	1	0
Epididymis											
Arteritis in capsule		11	1	0	0	0	12	0	0	0	0
Interstitial cell infiltration		12	0	0	0	0	11	1	0	0	0
Hypospermia		12	0	0	0	0	11	0	1	0	0

− : No abnormal detect., ± : Slight, + : Mild, ++ : Moderate, +++ : Marked.
Histopathological examinations of above organs in the other dose groups of 1-chlorobutane except 300mg/kg group were not carried out.
Each value represents number of animals showed relevant finding.

Table 7-1. General sign of female rats (P) during pre-mating and mating periods in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration

Group (mg/kg)		Number of females and general sign	Days of administration																				
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15*	16	17	18	19	20	21
Control	0	Number of females	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	4	2	2	-	-	-
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	4	2	2	-	-	-
1-chlorobutane	2.4	Number of females	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	10	5	3	-	-	-
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	11	12	12	12	12	12	10	5	3	-	-	-
		Salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-
	12	Number of females	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	9	8	5	-	-	-
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	11	9	8	5	-	-	-
		Salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	-	-	-
	60	Number of females	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	7	4	2	1	1	1
		Normal	12	12	12	12	12	12	11	11	10	11	10	11	11	11	9	6	3	1	1	1	0
		Salivation	0	0	0	0	0	0	1	1	2	1	2	1	1	1	3	1	1	1	0	0	1
	300	Number of females	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	9	5	2	-	-	-
		Normal	12	12	12	12	12	12	11	9	11	10	9	7	10	7	8	7	2	2	-	-	-
		Salivation	0	0	0	0	0	0	1	3	1	2	3	5	2	5	4	2	3	0	-	-	-

* : Start of mating.

Table 7-2. General sign of dams (P) during pregnancy period in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration

Group (mg/kg)		Number of dams and general sign	Days of pregnancy																					
			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
Control	0	Number of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	2
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	2
1-chlorobutane	2.4	Number of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	2
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	2
	12	Number of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	3
		Normal	12	12	12	12	11	12	12	12	11	10	10	12	11	12	11	11	11	12	12	12	12	12	3
		Salivation	0	0	0	0	1	0	0	0	1	2	2	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
	60	Number of dams	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	2
		Normal	10	10	11	11	11	11	10	11	10	10	9	10	10	9	10	10	10	10	11	11	11	10	2
		Salivation	1	1	0	0	0	0	1	0	1	1	2	1	1	2	1	1	1	1	0	0	0	1	0
	300	Number of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	1
		Normal	6	8	7	4	4	3	5	6	6	7	6	8	6	5	9	7	6	7	6	6	8	8	0
		Salivation	6	4	5	8	8	9	7	6	6	5	6	4	6	7	3	5	6	5	6	6	4	4	0
		Death	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

Table 7-3. General sign of dams (P) during lactation period in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration

Group (mg/kg)		Number of dams and general sign	Days of lactation 0	1	2	3	4*
Control	0	Number of dams	12	12	12	12	12
		Normal	12	12	12	12	12
1-chlorobutane	2.4	Number of dams	12	12	12	12	12
		Normal	12	12	12	12	12
	12	Number of dams	12	12	12	11	11
		Normal	12	12	12	11	11
	60	Number of dams	11	11	11	10	10
		Normal	11	11	11	10	10
	300	Number of dams	11	11	11	11	11
		Normal	6	6	7	7	9
		Piloerection	0	0	0	1	1
		Disappearance of fur-luster	0	0	0	1	1
		Salivation	5	5	4	4	0
		Death	0	0	0	0	1

*: The day of necropsy.

Table 8-1. Body weight of female rats (P) during pre-mating period in preliminaly reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration

Group	Control	1-chlorobutane			
(mg/kg)	0	2.4	12	60	300
Number of females	12	12	12	12	12
Days of administration 1	234.9 ± 7.8	232.8 ± 8.7	234.1 ± 7.1	232.7 ± 8.2	232.2 ± 6.3
4	240.3 ± 6.7	240.1 ± 7.5	239.0 ± 8.1	237.9 ± 9.1	236.2 ± 8.9
8	246.7 ± 7.2	249.3 ± 10.3	247.4 ± 8.6	244.0 ± 10.8	240.3 ± 7.9
11	252.2 ± 10.1	253.8 ± 12.1	249.4 ± 7.5	248.1 ± 9.1	241.6 ± 10.1*
15	259.6 ± 11.8	261.7 ± 12.3	257.9 ± 8.5	255.5 ± 11.1	246.0 ± 7.4**

Each value shows mean (g) ± S.D.
Significantly different from control (*: $P<0.05$, **: $P<0.01$).

Table 8-2. Body weight of dams (P) during pregnancy period in preliminay reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration

Group	Control	1-chlorobutane			
(mg/kg)	0	2.4	12	60	300
Number of dams	12	12	12	11	12
Days of pregnancy					
0	265.1 ± 11.4	269.3 ± 16.1	266.7 ± 12.8	264.4 ± 10.9	253.4 ± 9.5
7	296.9 ± 14.5	299.1 ± 21.1	298.2 ± 17.4	294.1 ± 12.1	274.8 ± 7.2*
14	332.8 ± 20.5	330.5 ± 22.4	330.2 ± 19.6	324.0 ± 13.0	303.6 ± 9.5**
21	418.9 ± 24.5	409.7 ± 25.4	417.8 ± 24.9	406.2 ± 20.2	389.3 ± 14.1*

Each value shows mean (g) ± S.D.
Significantly different from control (*: P<0.05, **: P<0.01).

Table 6-3. Body weight of dams (P) during lactation period in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration

Group (mg/kg)		Control 0	1-chlorobutane 2.4	12	60	300
Number of dams		12	12	12	11	11
Days of lactation	0	302.7 ± 31.6	295.7 ± 19.3	292.2 ± 21.5	282.9 ± 14.7	273.6 ± 13.4
	4	314.5 ± 26.2	303.8 ± 23.0	312.3 ± 15.1 (11)	304.8 ± 11.3 (10)	272.6 ± 26.1** (10)

Each value shows mean (g) ± S.D.
Figures in parentheses indicate number of dams.
Significantly different from control (**: $P<0.01$).

Table 9-1. Food consumption of female rats (P) during pre-mating period in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration

Group		Control	1-chlorobutane			
(mg/kg)		0	2.4	12	60	300
Number of females		12	12	12	12	12
Days of administration	3	17.9 ± 2.4	16.9 ± 2.2	15.8 ± 1.8	16.6 ± 2.2	17.1 ± 1.9
	6	16.9 ± 2.1	16.5 ± 3.2	16.5 ± 2.2	15.3 ± 2.1	15.7 ± 2.2
	10	16.6 ± 2.1	17.2 ± 2.8	17.1 ± 2.3	15.7 ± 2.3	15.0 ± 1.7
	13	15.7 ± 1.6	16.7 ± 3.2	16.8 ± 1.3	16.1 ± 2.2	15.1 ± 1.8

Each value shows mean (g/day) ± S.D.

Table 9-2. Food consumption of dams (P) during pregnancy period in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration

Group	Control	1-chlorobutane			
(mg/kg)	0	2.4	12	60	300
Number of dams	12	12	12	11	12
Days of pregnancy					
2	20.4 ± 1.7	20.2 ± 2.2	20.6 ± 2.6	19.5 ± 1.9	17.6 ± 1.8*
9	22.5 ± 3.3	22.1 ± 3.8	22.2 ± 3.0	21.6 ± 2.2	18.8 ± 2.1
16	21.7 ± 2.3	19.5 ± 2.0	20.4 ± 2.1	19.6 ± 1.9	20.2 ± 1.3
21	18.7 ± 2.6	16.4 ± 2.4	18.5 ± 1.9	15.5 ± 3.5	19.1 ± 2.7

Each value shows mean (g/day) ± S.D.
Significantly different from control (*: $P<0.05$).

Table 9-3. Food consumption of dams (P) during lactation period in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration

Group	Control	1-chlorobutane			
(mg/kg)	0	2.4	12	60	300
Number of dams	12	12	11	10	10
Days of lactation 4	25.6 ± 7.0	24.6 ± 5.2	26.5 ± 3.9	26.4 ± 5.3	20.1 ± 6.8

Each value shows mean (g/day) ± S.D.

Table 10-1. Necropsy finding of dams (P) on day 4 of lactation in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration

Group	Control	1-chlorobutane			
(mg/kg)	0	2.4	12	60	300
Number of dams	12	12	11	10	9
Normal	12	12	11	10	5
Stomach (glandular mucosa)					
White	0	0	0	0	2
Dark red spots	0	0	0	0	1
Black spots	0	0	0	0	1
Edema	0	0	0	0	1
Small intestine					
Black	0	0	0	0	1

Table 10-2. Necropsy finding of dams (P) on day 2 of lactation in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration

Group	1-chlorobutane	
(mg/kg)	12	60
Number of dams	1	1
Normal	1	1

Table 10-3. Necropsy finding of female rat (P) which was not delivered until day 25 of mating in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration

Group	1-chlorobutane
(mg/kg)	60
Number of femal	1
Normal	1

Table 10-4. Necropsy finding of dead dams (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration

Group	1-chlorobutane
(mg/kg)	300
Number of dams	3
Normal	1
Stomach (glandular mucosa)	
Scattered black dots	2

Table 11-1. Histopathological finding of survival dams (P) on day 4 of lactation in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration

Group		Control					1-chlorobutane				
Dose (mg/kg)		0					300				
Number of dams		12					4				
Findings	Grade	−	±	+	++	+++	−	±	+	++	+++
Stomach				NE							
Erosion in glandular stomach							2	1	0	1*	0
Increase of mucous secretion in glandular stomach							2	0	2	0	0
Epithelial desquamation in glandular stomach							2	0	2	0	0
Edema in submucosa							3	0	0	1	0
Small intestine				NE							
Thinning of mucosa							0	0	0	0	1*

− : No abnormal detect., ± : Slight, + : Mild, ++ : Moderate, +++ : Marked.
NE: Not examined.
Histopathological examinations of the ovary in the other dose groups of 1-chlorobutane except 300mg/kg group were not carried out.
No remarkable changes were recognized in ovary.
*: Histopathological examination of the small intestine was carried out only one case.
*: Erosion with brown pigment in glandular stomach.
Each value represents number of animals showed relevant finding.

Table 11-2. Histopathological finding of dead dams (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration

Group		1-chlorobutane				
Dose (mg/kg)		300				
Number of dams		3				
Findings	Grade	−	±	+	++	+++
Ovary						
Postmortal change		0	2	1	0	0
Stomach*						
Postmortal change		0	0	0	1	1
Erosion in glandular stomach		0	1	0	0	1•

− : No abnormal detect., ± : Slight, + : Mild, ++ : Moderate, +++ : Marked.
*: The stomach in one case was not examined owing to no remarkable gross findings.
•: Erosion with brown pigment in glandular stomach.
Each value represents number of animals showed relevant finding.

Table 12. Number of times in estrus and reproductive performance of male and female rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration

Group	Control	1-chlorobutane			
(mg/kg)	0	2.4	12	60	300
Number of females	12	12	12	12	12
Number of times in estrus before administration (7days) Mean±S.D.	1.8 ± 0.5	1.7 ± 0.5	1.8 ± 0.4	1.7 ± 0.5	1.7 ± 0.5
Number of times in estrus during administration (14days) Mean±S.D.	3.2 ± 0.4	3.3 ± 0.5	3.3 ± 0.5	3.3 ± 0.5	3.3 ± 0.5
Number of pairs	12	12	12	12	12
Number of pairs with successful copulation	12	12	12	12	12
Copulation index (%)[a]	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
Days before 1st copulation after pairing Mean±S.D.	1.7 ± 1.2	2.5 ± 1.1	2.8 ± 1.3	2.3 ± 1.8	2.3 ± 1.1
Number of pregnant females	12	12	12	11	12
Fertility index (%)[b]	100.0	100.0	100.0	91.7	100.0
Number of pregnant females with live pups	12	12	12	11	11

a): (Number of pairs with successful copulation / number of pairs)×100.
b): (Number of pregnant animals / number of pairs with successful copulation)×100.

Table 13-1. Observation of pups (F1) in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration

Group	Control	1-chlorobutane			
(mg/kg)	0	2.4	12	60	300
Number of dams	12	12	12	11	11
Length of gestation (days)					
Mean ± S.D. per dam	22.17 ± 0.39	22.17 ± 0.39	22.25 ± 0.45	22.18 ± 0.40	22.00 ± 0.00
Number of implantation scars					
Total	190	200	214	189	197 (12)
Mean ± S.D. per dam	15.8 ± 3.6	16.7 ± 2.1	17.8 ± 1.3	17.2 ± 2.0	16.4 ± 2.1 (12)
Gestation index(%)[a]	100.0	100.0	100.0	100.0	91.7 (12)
Number of live pups born					
Male	75	93	86	86	78
Female	97	87	112	83	86
Total	172	180	198	169	164
Mean ± S.D. per dam	14.3 ± 3.7	15.0 ± 2.0	16.5 ± 1.6	15.4 ± 3.6	14.9 ± 2.0
Sex ratio[b]	0.44 ± 0.18	0.52 ± 0.15	0.43 ± 0.11	0.50 ± 0.12	0.47 ± 0.15
Number of dead pups on day 0					
Total	7	4	1	4	1
Mean ± S.D. per dam	0.6 ± 0.9	0.3 ± 0.5	0.1 ± 0.3	0.4 ± 0.5	0.1 ± 0.3
Birth index[c]	90.8 ± 11.0	90.2 ± 7.5	92.4 ± 5.5	88.5 ± 15.7	92.4 ± 6.0
Number of live pups on day 4					
Male	75	90	79	75	64
Female	95	87	102	71	74
Viability index[d]	99.0 ± 2.3	98.3 ± 4.0	91.2 ± 28.8	88.2 ± 29.5	85.7 ± 28.6
Number of external anomalies	0	0	0	0	0
Mean% ± S.D. per dam	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0

a): (Number of females with live pups / number of pregnant females) X 100.
b): Number of male pups / number of live pups; Mean ± S.D. per dam.
c): (Number of live pups born / number of implantation) X 100; Mean% ± S.D. per dam.
d): (Number of live pups on day 4 / number of live pups born) X 100; Mean% ± S.D. per dam.
Figures in parentheses indicate number of dams.

Table 13-2. Observation of pups (F1) from dams (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration

Group	Control	1-chlorobutane			
(mg/kg)	0	2.4	12	60	300
Number of dams	12	12	12	11	11
Number of implantation scars					
Total	190	200	214	189	197 (12)
Mean±S.D. per dam	15.8 ± 3.6	16.7 ± 2.1	17.8 ± 1.3	17.2 ± 2.0	16.4 ± 2.1 (12)
Number of pups born					
Total	179	184	199	173	165
Mean±S.D. per dam	14.9 ± 3.6	15.3 ± 2.2	16.6 ± 1.6	15.7 ± 3.6	15.0 ± 1.9
Delivery index (%) a)	94.5 ± 9.2	91.9 ± 7.2	92.8 ± 5.4	90.8 ±16.4	92.9 ± 5.7
Number of live pups born					
Total	172	180	198	169	164
Mean±S.D. per dam	14.3 ± 3.7	15.0 ± 2.0	16.5 ± 1.6	15.4 ± 3.6	14.9 ± 2.0
Live birth index (%) b)	96.0 ± 5.9	98.0 ± 3.0	99.5 ± 1.7	97.7 ± 3.2	99.4 ± 2.1
Number of live pups on day 4					
Male	75	90	79	75	64
Female	95	87	102	71	74
Total	170	177	181	146	138
Mean±S.D. per dam	14.2 ± 3.6	14.8 ± 2.1	15.1 ± 5.0	13.3 ± 5.4	12.5 ± 4.3
Number of corpora lutea					
Total	244	249	256	222	246
Mean±S.D. per dam	20.3 ± 2.9	20.8 ± 4.3	21.3 ± 3.8	20.2 ± 3.0	22.4 ± 6.3
Implantation index (%) c)	78.9 ±18.9	81.8 ±11.8	85.6 ±13.6	85.8 ± 8.7	75.8 ±16.0

a): (Number of pups born / number of implantation scars)×100; Mean%±S.D. per dam.
b): (Number of live pups born / number of pups born)×100; Mean%±S.D. per dam.
c): (Number of implantation scars / number of corpora lutea)×100; Mean%±S.D. per dam.
Figures in parentheses indicate number of dams.

Table 14. Body weight of pups (F1) on days 0 and 4 of lactation in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration

Group (mg/kg)		Control 0	1-chlorobutane 2.4	12	60	300
Number of dams		12	12	12	11	11
Male						
Days of lactation	0	6.41 ± 0.37	6.08 ± 0.43	6.15 ± 0.45	5.81 ± 0.35	5.98 ± 0.76
	4	10.19 ± 1.45	9.07 ± 1.41	9.40 ± 0.81 (11)	9.77 ± 0.88 (10)	8.19 ± 2.18
Number of dams		12	12	12	11	11
Female						
Days of lactation	0	5.98 ± 0.48	5.84 ± 0.47	5.91 ± 0.40	5.60 ± 0.39	5.67 ± 0.66
	4	9.47 ± 1.47	8.74 ± 1.56	9.16 ± 0.99 (11)	9.24 ± 0.85 (10)	7.77 ± 1.85

Each value shows mean (g) ± S.D. per dam.
Figures in parentheses indicate number of dams.

Table 15. Necropsy finding of pups (F1) on day 4 of lactation in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration

Group	Control		1-chlorobutane							
(mg/kg)	0		2.4		12		60		300	
Number of pups	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
	75	95	90	87	79	102	75	71	64	74
Necropsy finding	No remarkable changes									

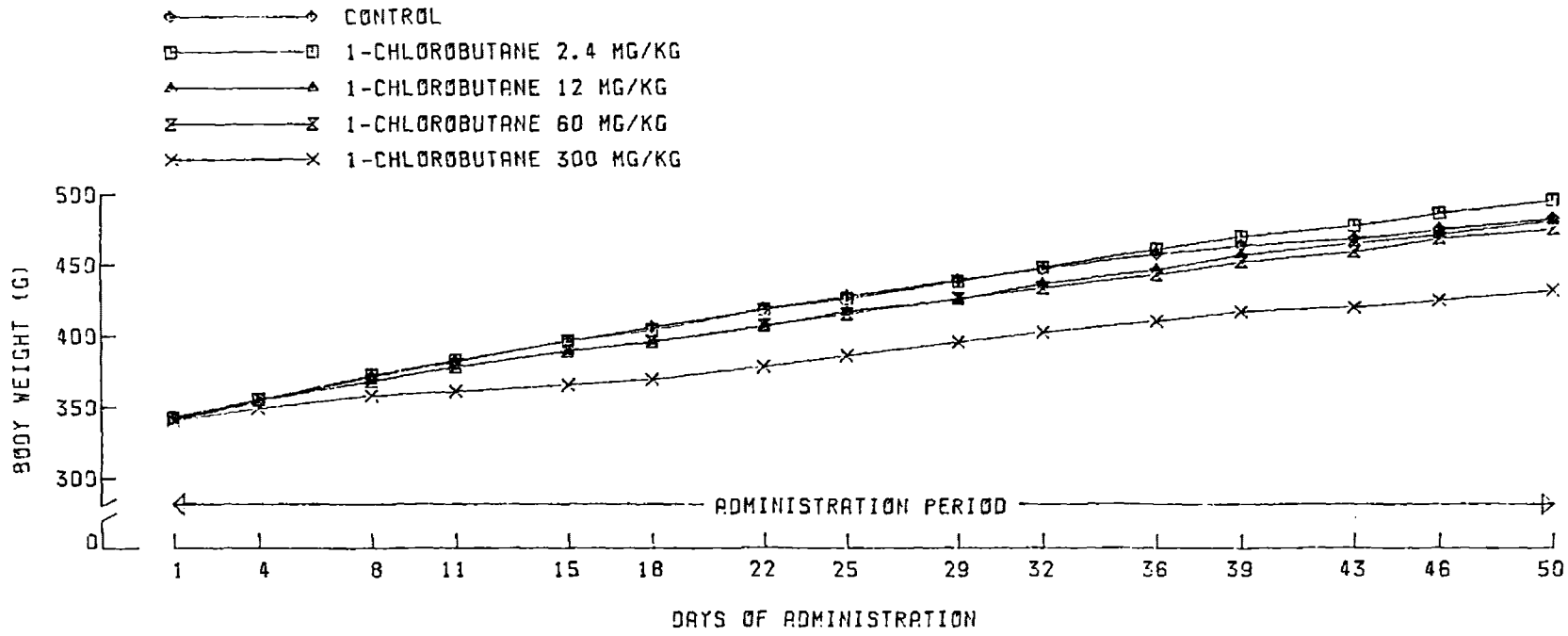

Fig. 1. Body weight of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration.

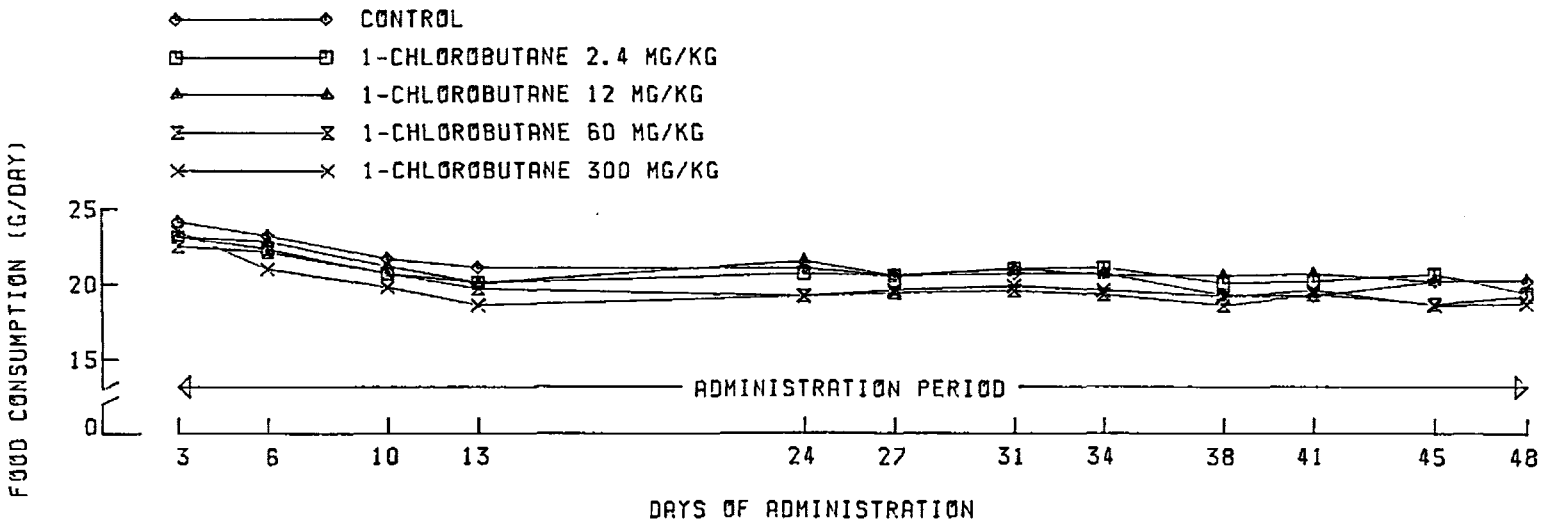

Fig. 2. Food consumption of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration.

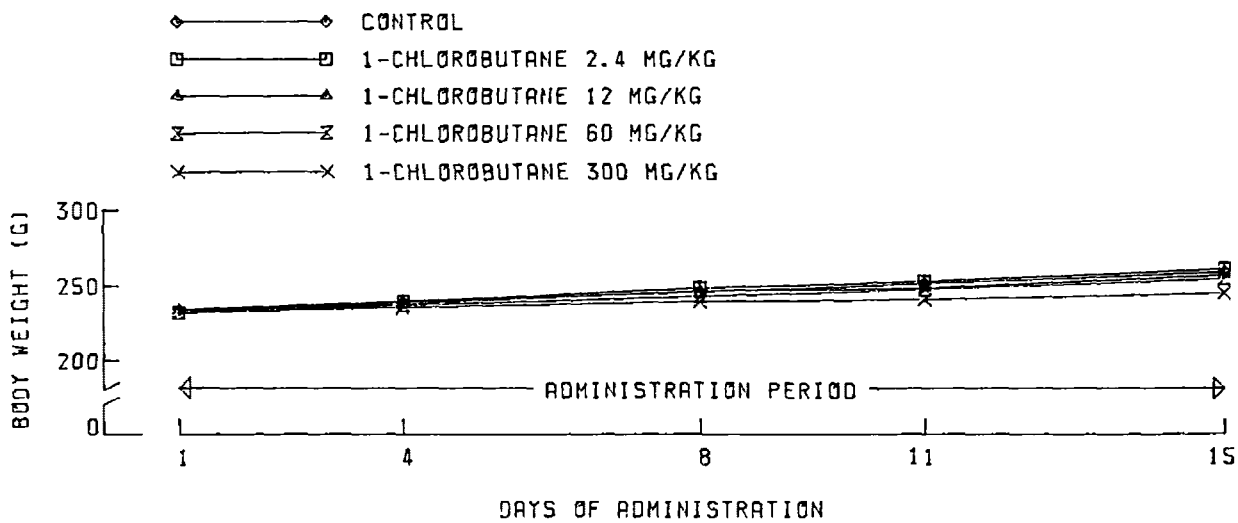

Fig. 3-1. Body weight of female rats (P) during pre-mating period in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration.

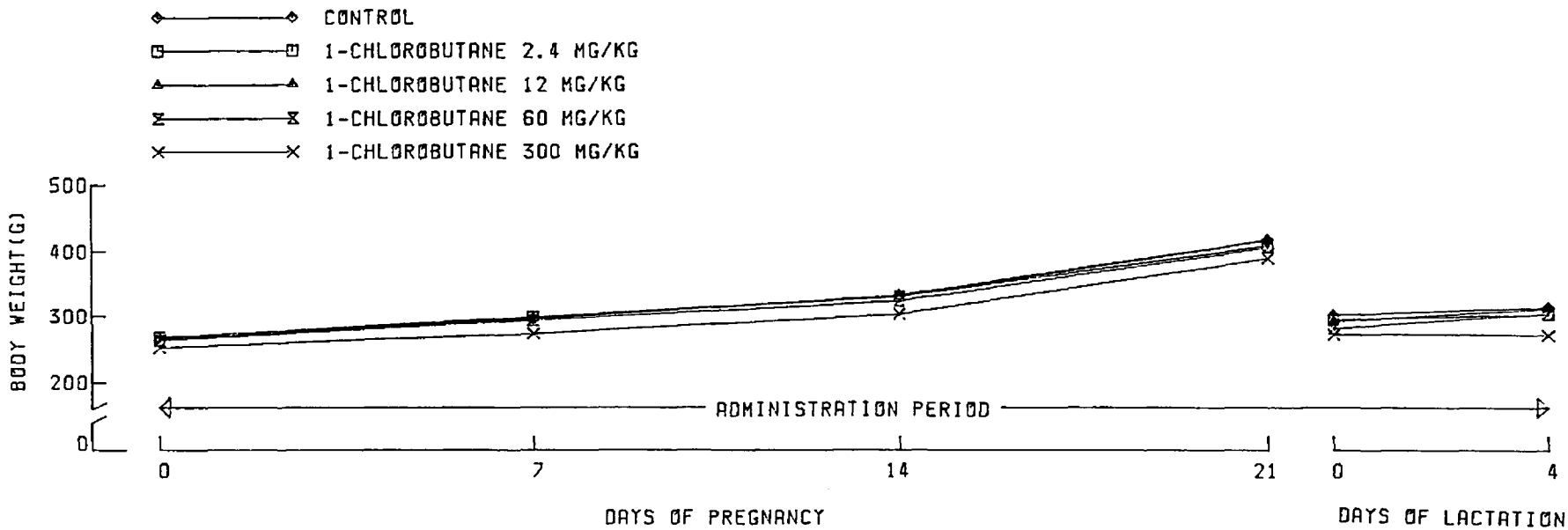

Fig. 3-2. Body weight of dams (P) during pregnancy and lactation periods in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration.

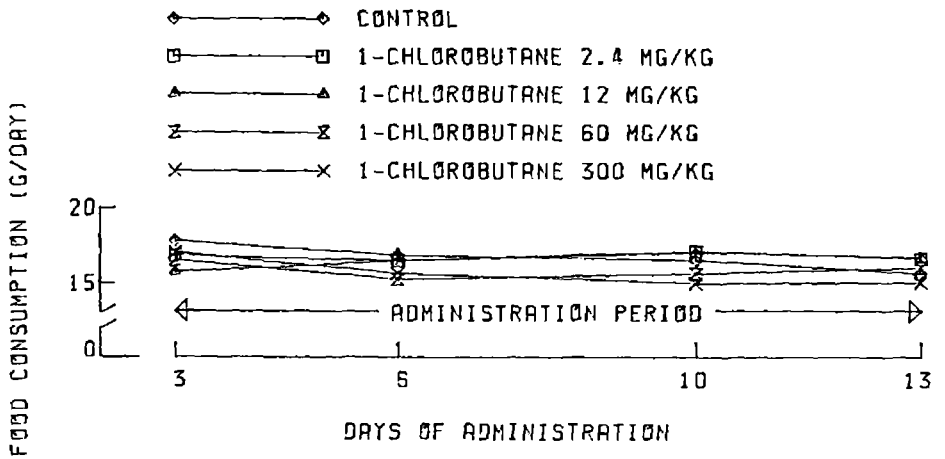

Fig. 4-1. Food consumption of female rats (P) during pre-mating period in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration.

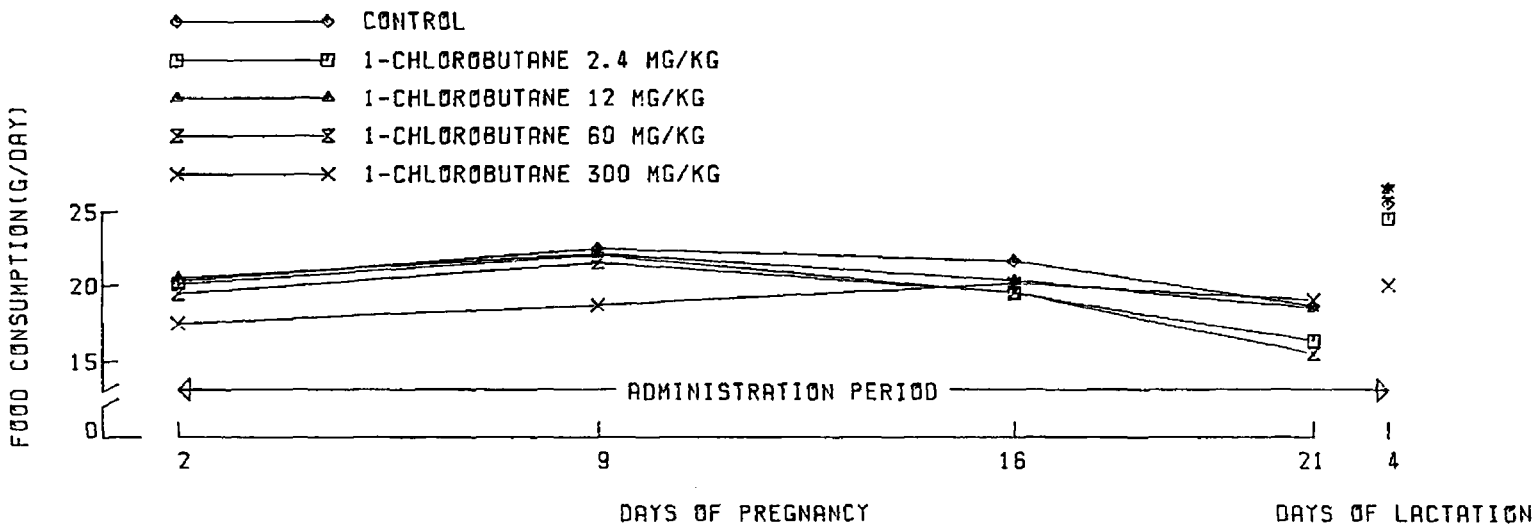

Fig. 4-2. Food consumption of dams (P) during pregnancy and lactation periods in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration.

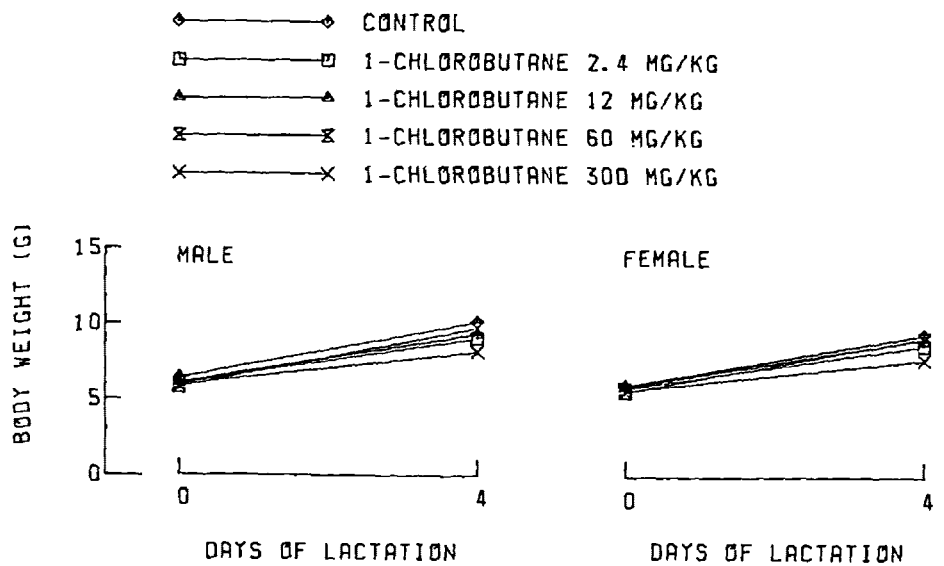

Fig. 5. Body weight of pups (F1) on days 0 and 4 of lactation in preliminary reproduction toxicity screening test of 1-chlorobutane by oral administration.