最終報告書

3,3'-チオビス (プロパン酸) のラットを用いる簡易生殖毒性試験

試験番号:6878 (115-175)

平成 16年11月11日

試験委託者 厚生労働省 医薬食品局

財団法人 食品農医薬品安全性評価センター

Exp. No. 6878 (115-175) FINAL REPORT

目 次

1.	要約	5	
13	試驗材料	斗および方法10	
		定および検査13	
		R	
		tび結論	
		式	
		K	
10.	P 例大 大 [7]	ド長付 Y / M IT	
Figu	irec		
_		Body weight change of male rats	7
Figu		Body weight change of female rats	
Figu		Food consumption of male rats	
Figu		Food consumption of female rats	
rigi	110 4	rood consumption of female rats	,
Tabl	ec		
	e 1-1	Clinical observations in male rats	1
	e 1-1		
		Clinical observations in female rats (Before and during mating period)	
	le 1-3	Clinical observations in female rats (Gestation period)	
Tabl	e 1-4	Clinical observations in female rats (Lactation period)	,

Exp. No. 6878 (115-175) FINAL REPORT

Table 2-1	Body weight change of male rats	40
Table 2-2	Body weight change of female rats	41
Table 3-1	Food consumption of male rats	42
Table 3-2	Food consumption of female rats	43
Table 4-1	Absolute and relative organ weight of male rats	44
Table 4-2	Absolute and relative organ weight of female rats	45
Table 5-1	Summary of gross findings (dead, male)	46
Table 5-2	Summary of gross findings (sacrificed, male)	47
Table 5-3	Summary of gross findings (non-pregnancy, male)	48
Table 5-4	Summary of gross findings (dead, female)	49
Table 5-5	Summary of gross findings (sacrificed, female)	50
Table 6-1	Summary of histological findings (dead, male)	51
Table 6-2	Summary of histological findings (sacrificed, male)	52
Table 6-3	Summary of histological findings (non-pregnancy, male)	53
Table 6-4	Summary of histological findings (dead, female)	54
Table 6-5	Summary of histological findings (sacrificed, female)	55
Table 6-6	Summary of histological findings (non-pregnancy, female)	56
Table 6-7	Cell type and number per Sertoli cell in seminiferous tubules of rats	
	at VII - VIII stage of spermatogenesis during dosing period	57
Table 7	Copulation and fertility results in rats	58
Table 8	Findings of delivery in dams(F0)	59
Table 9	External observations on live pups(F1) from rats	60
Table 10	Body weight change of pups(F1) from rats	61
Table 11-1	Summary of gross findings of pups(F1) from rats (sacrificed, male)	62
Table 11-2	Summary of gross findings of pups(F1) from rats (sacrificed, female)	63

1. 要約

既存化学物質の毒性学的性質を評価するため、3,3'-チオビス(プロパン酸)の0(溶媒の0.5 w/v%CMC-Na 水溶液のみ投与)、100、300 および1000 mg/kg/day をラットの交配前 14 日から交配期間、妊娠期間および分娩後 3 日まで連続強制経口投与し、生殖・発生に及ぼす影響を検討した.

その結果は次のように要約される.

1) 親動物に及ぼす影響

1000 mg/kg 投与で雄1例および雌2例に被験物質投与の影響と考えられる死亡動物が認められた.

雌雄とも被験物質投与に起因する一般状態の変化は認められなかった.

体重および摂餌量では、雄に対しては被験物質投与の影響は認められなかった. 雌に対しては 1000 mg/kg 投与で低値傾向が認められ、被験物質投与の影響が示唆された.

雌雄とも器官重量には被験物質投与の影響は認められなかった。病理学検査では組織学検査において、雄の 300 mg/kg 以上の投与群でいくつかの精巣に対する異常所見が認められた。なお、1000 mg/kg 群の精子形成サイクルには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

平均性周期日数および交尾能に被験物質投与の影響は認められず、被験物質投与による異常性周期も観察されなかった。対照群および 300 mg/kg 群の2 および1組では受胎が認められなかった。300 mg/kg 群の雄については組織学検査で精巣の精細管萎縮等の異常所見が認められ、300 または1000 mg/kg 群の他の雄で精巣等の生殖関連器官で異常所見が認められていることを考慮すると、受胎能に関する被験物質投与の影響が示唆された。

分娩時観察では全例が正常に分娩し,妊娠期間,妊娠黄体数,着床痕数, 出産児数,出産生児数,性比,着床率,出産率,出生率および分娩率に被 験物質投与の影響は認められなかった.

雌雄の新生児の生存性および出生後 0 および 4 日の体重推移,新生児の外表,死亡児および分娩後 4 日の剖検に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、本試験条件下では3,3'-チオビス(プロパン酸)の1000 mg/kg/dayの反復投与により雌雄で死亡動物が、雌で体重および摂餌量の低

Exp. No. 6878 (115-175) FINAL REPORT

値傾向が認められた. 雄の 300 mg/kg 以上の投与群では組織学検査において精巣に対する毒性変化として精細管萎縮,精上皮空胞化および多核巨細胞形成が認められ,また,用量関連性は明確ではないが前立腺に対する変化も認められた. したがって,親動物に対する無影響量は雄で 100 mg/kg/day,雌で 300 mg/kg/day と判断された.

生殖能に及ぼす影響については雄で300 mg/kg/day 投与により受胎能に関する影響が疑われたことから、無影響量は100 mg/kg/day と判断された. 雌の生殖能に及ぼす影響および児動物の発生に及ぼす影響は特に認められず無影響量はいずれも1000 mg/kg/day と判断された.

13. 試験材料および方法

13.1. 被験物質

3.3'-チオビス (プロパン酸) (CAS No. 111-17-1,

Lot No. 純度 99.4%, 分子量 178.21) は白色の結晶粉末であり, 使用時まで被験物質保管庫に保存した(保存条件:遮光,室温,密閉). 3,3′-チオビス(プロパン酸)の品質について分析した結果は, Reference data 1に示した.被験物質は 0.5 w/v%カルボキシメチルセルロースナトリウム(CMC-Na)水溶液(CMC-Na:和光純薬工業株式会社, Lot No. CKL1938,注射用水:光製薬株式会社, Lot No. A36AC1, A34TT1)に懸濁して調製した(10,30,100 mg/mL).被験物質の 0.5 w/v%CMC-Na 水溶液での安定性は,1 および 100 mg/mL の濃度について調製後,8 日間冷蔵(約 4℃)保存後室温放置 24 時間は安定であることが当センターにおいて確認されている[試験番号:6877(115-174)].したがって,投与液は投与まで冷暗所に保存し,調製後7日以内に使用した.

投与液の濃度分析は、初回および最終調製時に調製した全ての被験物質 投与群の投与液について行った。その結果、設定濃度に対し初回調製時で $96.6\sim100.3\%$ 、最終調製時で $100.8\sim110.4\%$ であった(Reference data 2)。し たがって、投与液にはほぼ所定量の3,3'-チオビス(プロパン酸)が含有さ れていることが確認された。

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 99.5%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).

13.2. 使用動物および飼育条件

試験には、日本チャールス・リバー株式会社から購入した生後 8 週齢の CD(SD)IGS [SPF] 系雌雄ラット(各 62 匹)を使用した、購入した動物は 7 日間検疫・馴化飼育した後、体重推移および一般状態に異常が認められなかったため、全例を予備飼育に移行した.

動物は、温度 24 ± 3 °C(実測値: $23.6\sim24.3$ °C)、湿度 55 ± 20 %(実測値: $48\sim68$ %)、換気回数 15 回/時間、照度 $150\sim300$ lx、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 505 号飼育室(W $5.7\times D$ $10.0\times H$ 2.5 m、142.5 m³)で飼育した.株式会社東京技研サービスの自動水洗式飼育機を使用し、アルミ製前面・床ステンレス網目飼育ケージ(W $15.8\times D$ $25.0\times H$ 16.0 cm、6320 cm³)に動物を 1 匹ずつ収容し飼育し

た. ただし、雄は交配期間中、アルミ製前面・床ステンレス網目飼育ケージ(W $36.8 \times D$ $25.0 \times H$ 16.0 cm、14720 cm³)に収容した. 妊娠 18 日以降の母動物は分娩後 4 日までアルミ製前面・床ステンレス網目飼育ケージ(W $36.8 \times D$ $25.0 \times H$ 16.0 cm、14720 cm³)に哺育トレーおよび日本チャールス・リバー株式会社製の巣作り材料(サンフレーク)を入れて飼育した.

飼育ケージは隔週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製造の CRF-1 固型飼料(放射線滅菌飼料; Lot No. 030606)を使用し、飼育期間中自由に摂取させた.飲水は、水道水を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 Reference data 4 および 5 に示した如く試験に支障を来す可能性の考えられる汚染物質の混在はなかった.

したがって、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.

13.3. 群分け・個体識別

群分けは雌雄ともに検疫・馴化期間終了後,8日間予備飼育した後に10 週齢で行った.ただし、雌は群分け前に8日間の性周期観察を行い、正常 な性周期を有する動物を群分けに用いた.

群分け時の動物の体重は群分け対象外の動物を含めた平均体重の 20%以内に収まっており、群分け終了時の体重は、雄で 335~399 g、雌で 208~241 g の範囲であった. 群分け日の体重を基に無作為抽出法により 1 群当たり雌雄各 12 匹を振り分けた. 群分け後の動物の識別は耳介に群番号および群内番号を入墨すると共にケージに動物番号 (Animal ID-No.) カードをつけた.

ただし、群分け前までは仮動物番号により管理した.

余剰動物は炭酸ガスにより安楽死させた.

13.4. 投与量、群構成、投与期間および投与方法

本被験物質の 2 週間投与予備試験「3,3'-チオビス(プロパン酸)のラットを用いる簡易生殖毒性試験-2 週間投与予備試験-:試験番号 6877(115-174)」を 0,30,100,300 および 1000 mg/kg/day の用量で実施した。その結果,最高用量である 1000 mg/kg 投与によっても明らかな毒性影響は認められなかった。したがって,本試験ではガイドラインで上限用量に設定されている 1000 mg/kg/day を高用量とし,以下公比 3 で除し 300 および 100 mg/kg/day を中および低用量に設定した。

被験物質の投与経路はOECD ガイドライン 421 で指示されている投与経

路に準じて強制経口投与とした.

投与液量は、体重 100 g 当たり 1.0 mL とし、個体別に測定した最新体重に基づいて算出した. なお、妊娠期間および分娩後の雌は、妊娠 0, 7, 14, 20 および分娩後 0 日に測定した個体別体重に基づいて算出した. 投与液は、胃ゾンデを用いて1日1回午前8時50分~11時55分に強制経口投与した. 対照群には 0.5 w/v%CMC-Na 水溶液のみを投与した.

投与期間は、雄は交配前 14 日間と交配期間 14 日間および交配期間終了後 24 日間の連続 52 日間とした、雌は交配前 14 日間と交配期間中(最長 5 日間)および交尾成立雌は妊娠期間を通じて分娩後 3 日まで(41~45 日間)とした。また、交尾成立後分娩しない雌は妊娠 25 日の解剖前日まで(40~44 日間)とした。

14. 観察, 測定および検査

14.1. 一般状態の観察

雌雄とも,全例について試験期間中毎日2回以上(剖検日は1回)行い, 異常および死亡の有無を記録した.

14.2. 体重

雄は投与1(投与開始日), 8, 15, 22, 29, 36, 43, 50 および53 日(剖 検日)に測定し、投与1から53 日までの体重増加量を算出した.

雌は投与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20 日に,分娩した雌は分娩後0 および4 日(剖検日)に測定し,それぞれ妊娠0から20日および分娩後0から4日までの体重増加量を算出した。測定は電子天秤 PG2002-S(メトラー・トレド社)を用いて行い,記録した。

14.3. 摂餌量

雄は投与1(投与開始日), 8, 15, 22, 29, 36, 43, 50 および52 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52日までの累積摂餌量を算出した。雌は投与1(投与開始日), 8 および15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日までの累積摂餌量を算出した。

また,交尾が成立した雌は妊娠 0,7,14 および 20 日に,分娩した雌は分娩後 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 20 日までの累積摂餌量を算出した.

測定は電子天秤 PG2002-S を用いて行い、記録した. なお、交配期間中の同居動物は摂餌量を測定しなかった.

14.4. 交配

交配は交配前14日間の性周期観察を行った雌と同群内の雄を1対1で最長5日間毎晩同居させ、翌朝、腟栓または腟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.

雌が死亡したために交配の組み合せができない雄については, 交配させることなく, そのまま投与を続け, 他の雄と同様に扱った.

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. また, 性周期観察期間中の 異常性周期(4または5日以外の性周期)発現率[(異常性周期を示す雌動物数/観察雌動物数)×100]を算出した.

交配結果から各群について交尾率 [(交尾成立動物数/同居動物数) × 100] を算出した.

14.5. 自然分娩時および出生児の観察

14.5.1. 母体の観察

妊娠動物は全て自然分娩させた.

自然分娩時に分娩状態の観察を行った. 分娩の確認を妊娠 20 から 25 日の午前 8 時 30 分~10 時の間に行い,この時間帯に分娩が完了していることを確認した動物および分娩を開始した動物は分娩完了まで待ち,その日を分娩後 0 日とした. 午前 10 時を過ぎて分娩を開始した場合は翌日を分娩後 0 日とした. また,妊娠期間(分娩後 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 [(出産生児数/総出産児数)×100] を算出した. 妊娠 25 日の午前 9 時までに分娩のみられない動物は病理解剖し,着床痕の認められない場合(動物番号 2007, 2011, 2201),妊娠不成立と判定した. 分娩後 4 日に母動物は病理解剖し,黄体数および着床痕数を調べ肉眼的に異常の有無を調べた.

14.5.2. 出生児 (F1) の観察

出産後,出産児数(生存児+死亡児)を調べ,出生児の性別を判定し,母動物毎に性比(雄出生児数/雌出生児数)を算出した.また,外表異常の有無を調べ,母動物毎に外表異常発生率 [(異常出生児数/観察出生児数)×100]を算出した.出生児の体重は,出生後0および4日に雌雄個体別に電子天秤 PG2002-S を用いて測定し,1腹の雌雄別平均体重を算出した.

出生児は出生後4日に全例をエーテル麻酔下で放血安楽死させ、器官・組織の肉眼観察を行った。また、哺育期間中の死亡児はブアン液に固定し、器官・組織の肉眼観察を実施した。また、出生児の4日生存率 [(出生後4日生児数/出産生児数)×100]を算出した。

14.6. 病理学検査

14.6.1. 剖検および器官重量

解剖では動物の外観,口腔,鼻孔および頭蓋腔,骨格,脳および脊髄の外観と切断面,胸腔,腹腔および骨盤腔とその内臓,頸部の組織および器官を検査した.全ての肉眼的異常について,部位,大きさ,硬さなどを記録した.

器官重量は、器官重量測定用自動天秤 PE360 (メトラー・トレド社) を用いて測定し、その数値を記録した. 重量を測定した器官については、器官重量/体重比(相対重量)を得られた剖検日の体重および器官重量から算出した「(器官重量/剖検日の体重)×100].

①死亡動物(動物番号:1304,2302,2303)

死亡動物は発見後解剖まで冷蔵庫に保存し、人工的変化を防止するため、 凍結しないようにした. 前立腺、精嚢、卵巣、子宮、腟および異常部位は 10 vol%中性緩衝ホルマリン液、精巣および精巣上体はブアン液で前固定し た後、10 vol%中性緩衝ホルマリン液で固定した.

②雄動物

52 日間投与の翌日, エーテル麻酔下で放血安楽死させた. 器官・組織の 肉眼観察を行った後, 精巣および精巣上体重量を測定した. また, 全動物 について前立腺, 精嚢および異常部位は 10 vol%中性緩衝ホルマリン液, 精 巣および精巣上体をブアン液で前固定した後, 10 vol%中性緩衝ホルマリン 液で固定した.

③自然分娩した雌

④自然分娩の認められない雌(動物番号2007, 2011, 2201)

妊娠25日に,エーテル麻酔下で放血安楽死させ,器官・組織の肉眼観察を行った後,卵巣,子宮および腟は10 vol%中性緩衝ホルマリン液で固定した.いずれの動物も子宮内に着床痕が認められなかったため妊娠不成立と判定した.

14.6.2. 病理組織学検査

下記に該当する動物について病理組織学検査を実施した.

組織標本の作製は株式会社バイオ病理研究所に依頼し、常法に従ってパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製した. 標本は宅急便(ヤマト運輸株式会社)で輸送した. また、精巣についてはPAS・ヘマトキシリン染色標本を作製した. 鏡検は、安評センター病理鏡検室分室で行い、病変の種類、程度について記録した. 染色標本は宅急便(ヤマト運輸株式会社)で輸送した.

なお、精巣についてはPAS・ヘマトキシリン染色およびヘマトキシリン・エオジン染色した後、ヘマトキシリン・エオジン染色標本で一般的病変を検査し、②および④についてはPAS・ヘマトキシリン染色標本で精子形成サイクル(VIIまたはVIII)を検査した¹⁾.

組織標本作製先:

株式会社バイオ病理研究所

所在地:郵便番号 873-0511

大分県東国東郡国東町小原 1200-2

①死亡動物(動物番号1304, 2302, 2303)

腟,子宮,卵巣,精巣,精巣上体,精嚢,前立腺および異常病変部組織(胃:動物番号1304,2302,空腸:動物番号1304,回腸:動物番号1304, 盲腸:1304,2302,十二指腸:動物番号2302,肺:動物番号2303).ただし,動物番号2303の異常病変部位(胃,小腸,大腸)については剖検時に器官を紛失したため組織学検査が実施できなかった.

②妊娠を成立させた雄

対照群と高用量群の各 5 例(動物番号 1001~1005, 1301, 1303, 1305~1307) の精巣, 精巣上体, 精嚢, 前立腺および全ての異常病変部組織(肺:動物番号 1001, 1012, 1308, 腎臓:動物番号 1108, 1207, 精嚢:動物番号 1210). 精巣と前立腺については被験物質投与の影響が疑われたため, 低および中用量群の各 5 例(動物番号 1101~1105, 1202~1206) についても検査した.

③自然分娩した雌

対照群と高用量群の各 5 例(動物番号 2001~2005, 2301, 2304~2307) の卵巣,子宮,腟および全ての異常病変部組織(腎臓:動物番号 2008, 2105, 2307,肺:動物番号 2207, 肝臓:動物番号 2301,子宮:動物番号 2202,腟:動物番号 2202).

④妊娠を成立させなかった雄(動物番号 1007, 1011, 1201) および妊娠不成立の雌(動物番号 2007, 2011, 2201)

精巣,精巣上体,精嚢,前立腺,腟,子宮,卵巣および異常病変部組織 (肺:動物番号 1201).

14.7. 統計解析

体重,体重増加量,摂餌量,累積摂餌量,平均性周期,黄体数,着床痕数,妊娠期間,出産児数,死産児数,出生児数,喰殺児数,性比,着床率,出生率,分娩率,外表異常発現率,出生児の4日生存率,器官重量および器官重量/体重比については自動判別方式に従い,最初にBartlettの等分散検定²⁾を実施した.等分散の場合はDunnettの多重比較検定³⁾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Steelの検定⁴⁾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 検定を用いた。

異常性周期発現率、剖検所見および病理組織所見の発生率については Fisherの直接確立検定法5)で検定した.

病理組織所見のうち程度の増強が認められた所見は一を[1], +1 を[2], +2 を[3], +3 を[4] に割り当てて Mann-Whitney の U 検定を実施した.

有意水準は Bartlett の等分散検定については 5%, その他の検定は 5%および 1%の両側検定で実施した.

ただし、供試動物数が1群につき2例以下の場合、有意差検定は行わなかった.

なお、哺育期間中の出生児に関する成績は1母体当たりの平均を1標本として集計した.

15. 試験結果

15.1. 親動物 (F0) に及ぼす影響

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

死亡動物が雄の 1000 mg/kg 群で投与 49 日に 1 例 (動物番号 1304), 雌の 1000 mg/kg 群で投与 15 日および妊娠 6 日に各 1 例 (動物番号 2302, 2303) 認められた.

一般状態の変化として,雄では流涎が 1000 mg/kg 群で 5 例に観察された. 死亡動物では,鼻分泌物,体温低下,緩徐呼吸,立毛,被毛の汚れ,眼瞼下垂および呼吸困難が死亡する数日前から認められた. その他,発現頻度から自然発生性と考えられる所見として,外傷および痂皮が 100 mg/kg 群で 1 例に観察された.

雌では流涎,被毛の汚れ,腹部膨満および眼瞼下垂が1000 mg/kg 群で同一の1例,歯異常が1000 mg/kg 群で1例に観察された.死亡動物では,流涎,眼瞼下垂,異常呼吸音,自発運動低下,体温低下,被毛の汚れ,腹臥位および腹部膨満が1例に認められた.他の死亡動物には異常は認められなかった.その他,自然発生性と考えられる所見として,硬結(頸部)および脱毛が対照群で1例に観察された.

15.1.2. 体重 (Figure 1~2, Table 2-1~2-2, Appendix 2-1~2-2)

雄では、投与期間を通じて、対照群と被験物質投与群との間に統計学的 な有意差は認められなかった。

雌では、対照群に比べ 1000 mg/kg 群で投与 1 から 15 日の体重増加量、 妊娠期間後半(妊娠 14 日以降)の体重値および妊娠 0 から 20 日の体重増加量に統計学的な有意差は認められないものの、低値傾向が認められた. 1000 mg/kg 群では妊娠期間から継続して哺育期間でも体重値が対照群に比べ低値傾向を示したが、哺育期間中の体重増加量には差は認められなかった.

15.1.3. 摂餌量(Figure 3~4,Table 3-1~3-2,Appendix 3-1~3-2)

雄では、投与期間を通じて、対照群と被験物質投与群との間に統計学的 な有意差は認められなかった.

雌では、対照群に比べ 1000 mg/kg 群で投与 1 から 15 日、妊娠 0 から 20 日の累積摂餌量および分娩後 0 から 4 日の平均 1 日摂餌量に統計学的な有意差は認められないものの、低値傾向が認められた。

15.1.4. 病理学検査

15.1.4.1. 器官重量(Table 4-1~4-2,Appendix 4-1~4-2)

雌雄ともにいずれの測定器官にも対照群と被験物質投与群との間に統計 学的な有意差は認められなかった.

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

1000 mg/kg 群で雄1例(動物番号1304) および雌2例(動物番号2302,2303) に認められた死亡動物において,雌雄で胃および大腸の内腔拡張,雄で小腸の内腔拡張,雌で肺の赤色化,胃の黒色斑/区域および小腸の黒色班/区域が単発的に観察された.

妊娠を成立させた雄では、肺の褐色斑/区域および白色斑/区域、腎臓の嚢胞および精嚢の萎縮が単発的に観察された、対照群に比べ、被験物質投与群で発現数が有意に増加した所見は認められなかった.

対照群および 300 mg/kg 群で 2 および 1 例に認められた妊娠を成立させなかった雄(動物番号 1007, 1011, 1201) では, 300 mg/kg 群の動物で精巣および精巣上体の萎縮, 肺の白色斑/区域が観察された.

分娩後 4 日に計画解剖した雌では、腎臓の瘢痕、肝臓の褐色斑/区域、肺の結節、子宮の結節および腟の赤色化が単発的に観察された. 対照群に比べ、被験物質投与群で発現数が有意に増加した所見は認められなかった.

妊娠不成立の雌(動物番号 2007, 2011, 2201) では、肉眼異常所見は認められなかった.

15.1.4.3. 組織所見(Table 6-1~6-7,Appendix 6-1~6-3)

1000 mg/kg 群で認められた雄1例(動物番号1304) および雌2例(動物番号2302,2303)の死亡動物では、雄で精巣の精細管萎縮、精巣上体の管内細胞残屑および前立腺の腺腔拡張が、雌で肺の鬱血、肺胞内マクロファージ集簇および骨化生、盲腸の内腔拡張が単発的に観察された。

妊娠を成立させた雄では、対照群、100、300 および 1000 mg/kg 群で精巣の精細管萎縮がそれぞれ 0、1、2 および 2 例、前立腺の腺腔拡張が 0、1、1 および 2 例に観察され、統計学的な有意差は認められないものの、1000 mg/kg 群で多く観察された。また、精細管内における多核巨細胞形成は 300 および 1000 mg/kg 群で各 1 例に観察された。その他、対照群を含む全ての投与群で前立腺の管内細胞残屑、リンパ球浸潤および精嚢の混合細胞浸潤が多数例に、被験物質投与群では精巣の精上皮空胞化、精巣上体の管内細胞残屑および前立腺の混合細胞浸潤が単発的に観察された。剖検時に異常

病変が認められた組織では、肺の骨化生、肺の局所的な間質性肺炎、腎臓の嚢胞、リンパ球浸潤および尿細管好塩基化が単発的に観察された.

対照群および300 mg/kg 群で2および1例に認められた妊娠を成立させなかった雄(動物番号1007,1011,1201)のうち,肺の肺胞内泡沫細胞集簇および骨化生,精巣の精細管萎縮および精上皮空胞化,精巣上体の管内細胞残屑が300 mg/kg 群,前立腺の管内細胞残屑およびリンパ球浸潤が対照群および300 mg/kg 群,精巣上体のリンパ球浸潤および精嚢の混合細胞浸潤が対照群でいずれも単発的に観察された.

分娩後 4 日に計画解剖した雌では、対照群を含む投与群で子宮の動脈炎 および腟の管内細胞残屑が多数観察されたが、発現数に対照群と被験物質 投与群との間で有意差は認められなかった。また、剖検時に異常病変部位 が観察された子宮の結節および腟の赤色化(動物番号 2202)は、子宮の分 娩後病変および腟の管内細胞残屑であった。その他、肺における肺胞内泡 沫細胞集簇、肝臓の巣状壊死、腎臓の嚢胞および瘢痕性線維化が単発的に 観察された.

妊娠不成立の雌(動物番号 2007, 2011, 2201) では、卵巣の黄体増加および子宮の子宮内膜変性が、対照群(動物番号 2011) および 300 mg/kg 群で各1 例に観察された.

精子形成サイクルの観察では、対照群および1000 mg/kg 群の精巣についてステージVII~VIIIの精細管の精上皮細胞数を測定した結果、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および円形精子細胞数のいずれにも有意な差は認められなかった。また、妊娠を成立させなかった雄動物について精子形成サイクルを観察した結果、それぞれの細胞数は他の観察動物と同程度であった。

15.2. 生殖発生毒性

15.2.1. 交尾および受胎能 (Table 7, Appendix 7-1~7-2)

交尾は対照群を含む全ての投与群で全例が成立した. 受胎は対照群および 300 mg/kg 群で 2 および 1 例が成立せず, 受胎率はそれぞれ 83.3 および 91.7%であった. その他の群ではいずれも 100%であった.

性周期観察では、異常性周期を示す動物が対照群で1例に認められた. 異常性周期発現率および平均性周期では、対照群と被験物質投与群との間で統計学的な有意差は認められなかった. 15.2.2. 分娩および哺育(Table 8, Appendix 8, 10)

対照群を含むいずれの投与群でも分娩状態に異常は観察されなかった. 1000 mg/kg 群で着床痕数, 出産児数, 出産生児数および分娩率が, 統計学的な有意差は認められないものの低値傾向を示した. 各群の妊娠期間, 黄体数, 出産率, 着床率, 出生率, 性比および生後 4 日生存率に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. 出生後 0 日の死亡児が 100, 300 および 1000 mg/kg 群で少数例に, また, 喰殺児が 100 mg/kg 群で 1 例観察された.

15.2.3. 新生児の形態,体重および剖検所見 (Table 9, 10, 11-1~11-2, Appendix 9, 11-1~11-2)

新生児の外表検査では、腹壁ヘルニアが 100 mg/kg 群の雄で 1 例に認められた.

体重変化では、出生後 0 および 4 日とも対照群と被験物質投与群との間で差は認められなかった。

哺育期間中の死亡児の剖検では、腎盂拡張が300 mg/kg 群の雄で1例に認められた (Table, Appendix には示していない).

出生後4日の剖検では、足底部の赤色斑/区域が100 mg/kg 群の雄および雌で6および4例に観察され、雄では対照群に比べ有意に発現数が増加した。その他、雌雄で腎盂拡張、尿管拡張、胸腺の小型、肝臓の褐色斑/区域、肝臓の結節、肝横隔膜結節、肝臓の赤色、脳の黒色斑/区域および褐色脂肪の黒色斑/区域が少数例に散見された。

16. 考察および結論

16.1. 親動物に及ぼす影響

1000 mg/kg 群で雌雄(雄1例、雌2例)に認められた死亡動物では、雄および雌の1例で死亡日付近に瀕死状態に関連すると考えられる症状が観察された.これらの死亡動物の病理検査では死因の確定はできなかったが、1000 mg/kg 群のみでの発現であることから被験物質投与の影響が疑われた.

一般状態の変化として、雄では流涎が 1000 mg/kg 群で数例に観察されたが、症状の発現が投与後 30~60 分頃の一過性であったため明らかな被験物質投与の影響とは考えなかった。雌では 1000 mg/kg 群の 1 例で流涎、腹部膨満、眼瞼下垂および被毛の汚れが観察されたが、妊娠期間の中頃に 1 あるいは 2 日程度発現した後は正常状態に回復していることから、被験物質投与の影響とは判断しなかった。

体重および摂餌量では、雄に対しては被験物質投与の影響は認められなかった。雌に対しては、1000 mg/kg 群で体重値が妊娠期間の後半から哺育期間にかけて低値傾向を、摂餌量が試験期間全般に渡って低値傾向を示し被験物質投与の影響が示唆された。

病理学検査では、雌雄とも器官重量に被験物質投与の影響は認められず、 剖検で観察された所見はいずれも単発的であり、被験物質投与との関連は ないと考えられた、組織学検査では、雄動物で精巣の精細管萎縮および前 立腺の腺腔拡張の発現数が被験物質投与群で増加する傾向が認められた. 精巣については300 mg/kg で精上皮空胞化,300 mg/kg 以上の投与群で多核 巨細胞形成も認められた. 精巣上体については 1000 mg/kg 群で管内細胞残 屑が認められた. また、1000 mg/kg 群の死亡例に精巣の精細管萎縮、精巣 上体の管内細胞残屑および前立腺の腺腔拡張が,300 mg/kg 群の妊娠を成立 させなかった雄 1 例に精巣の精細管萎縮および精上皮空胞化、精巣上体の 管内細胞残屑が認められた. これらの精巣および精巣上体の変化は対照群 では 1 例も認められていないことから被験物質投与の影響と考えられた. 前立腺の変化については、用量に関連した増加は認められないものの 300 mg/kg 群で管内細胞残屑が 5 例中 4 例で観察され、被験物質投与の影響が 疑われた. なお, 精子形成サイクルのカウントでは、それぞれの細胞数に 対照群と 1000 mg/kg 群で差は認められなかった. 雌では被験物質投与の影 響は認められなかった.

以上のことから、3,3'-チオビス(プロパン酸)の1000 mg/kg/day 投与により雌雄で死亡動物が、雌では体重および摂餌量の低値傾向が認められた. 雄の300 mg/kg 以上の投与群では組織学検査において精巣に対する毒性変化として精細管萎縮、精上皮空胞化および多核巨細胞形成が認められ、また、用量関連性は明確ではないが前立腺に対する変化も認められた. したがって、本試験条件下における3,3'-チオビス(プロパン酸)の親動物に対する無影響量は雄で100 mg/kg/day、雌で300 mg/kg/day と判断された.

16.2. 生殖発生毒性

平均性周期日数,交尾能および受胎能に被験物質投与の影響は認められず,被験物質投与による異常性周期も観察されなかった.

分娩時観察では、全例が正常に分娩し分娩状態に異常は観察されなかった. 対照群および 300 mg/kg 群で妊娠不成立と判定された雌雄の動物について、病理学検査では雌動物に原因を示唆する所見は認められなかった. 一方、300 mg/kg 群の雄では、肉眼所見で両側の精巣および精巣上体の萎縮が観察され、組織学検査では精巣の精細管萎縮、精上皮空胞化および精巣上体の管内細胞残屑が観察された. 300 および 1000 mg/kg 群の妊娠を成立させた雄では精巣等の生殖関連器官に対して、組織学検査の異常所見から被験物質投与の影響が認められていることを考慮すると、1 例ではあるが、300 mg/kg 群の妊娠不成立雄動物で同様の異常所見が認められているため、受胎能に関する被験物質投与の影響が示唆された.

1000 mg/kg 群で着床痕数,出産児数,出産生児数および分娩率が低値傾向を示したが,この群で1例が着床痕数5および出産児数4を示し,また,他の1例で着床痕数15に対し出産児数7(分娩率46.7%)を示していたことが原因と考えられた.しかし,これらの低値は発現数から偶発的な変化と考え,被験物質投与の影響とは判断しなかった.

新生児の外表検査では、100 mg/kg 群で腹壁ヘルニアが観察されたが1例のみの発現であることから被験物質投与の影響とは考えなかった.

新生児の出生後 0 および 4 日の体重値に被験物質投与群で差は認められず,出生後 4 日生存率にも影響は認められなかった.

哺育期間中の死亡児および出生後 4 日の生存児の剖検では、被験物質投与に起因すると考えられる異常は認められなかった.

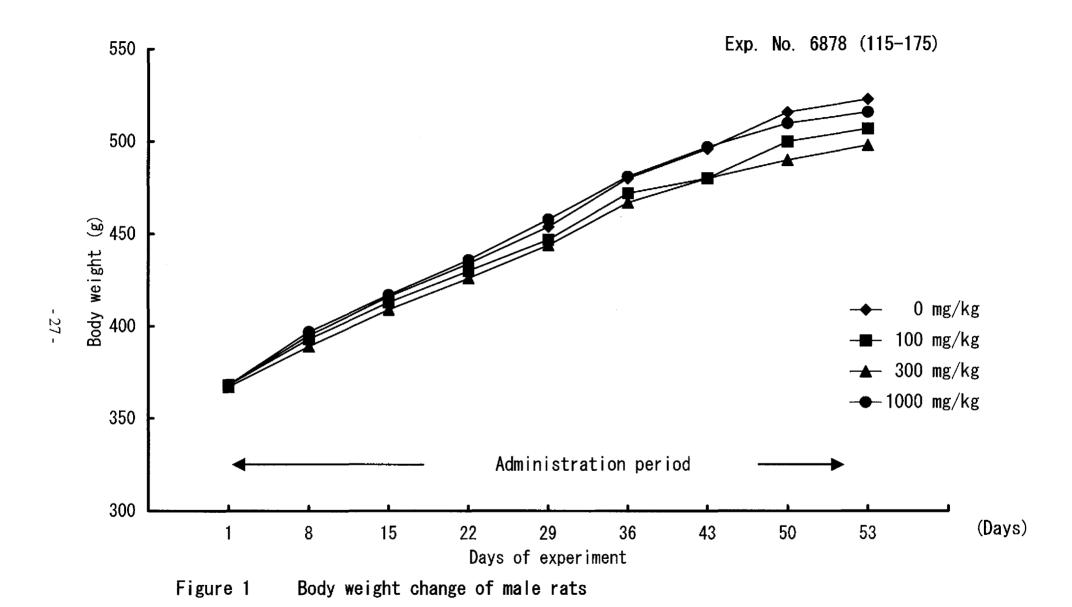
その他, 妊娠期間および妊娠黄体数に被験物質投与の影響は認められず, 性比, 出産率, 着床率および出生率にも影響は認められなかった.

Exp. No. 6878 (115-175) FINAL REPORT

以上のことから、3,3'-チオビス(プロパン酸)の生殖能に及ぼす影響は雄で300 mg/kg/day 投与により受胎能に関する影響が疑われたことから、無影響量は100 mg/kg/day と判断された. 雌の生殖能に及ぼす影響および児動物の発生に及ぼす影響は特に認められず無影響量はいずれも1000 mg/kg/day と判断された.

17. 参考文献

- 1) 高橋道人, "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, 東京, 1994, pp. 15-20.
- 2) Snedecor GW, Cochran WG. Statistical Methods. 8th ed. Iowa State University Press; 1989.
- 3) Yoshida M J. Japanese Soc. Comp. Stat. 1988; 1: 111-22.
- 4) Steel RGD. A multiple comparison rank sum test: Treatments versus control. Biometrics 1959; 15: 560-72.
- Hollander, Wolfe. Nonparametric statistical methods Second edition, John Wiley & Sons; 1999.



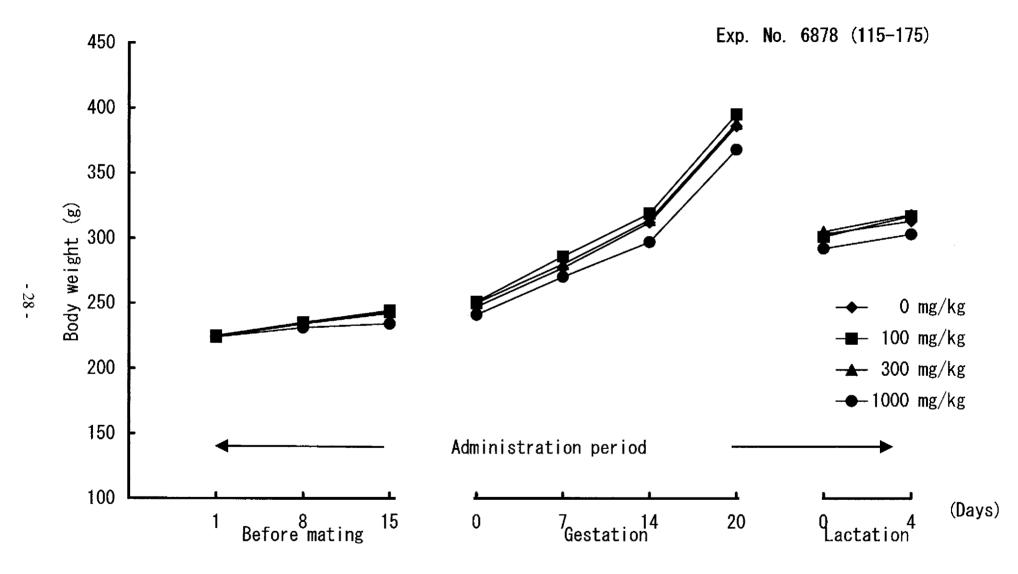


Figure 2 Body weight change of female rats

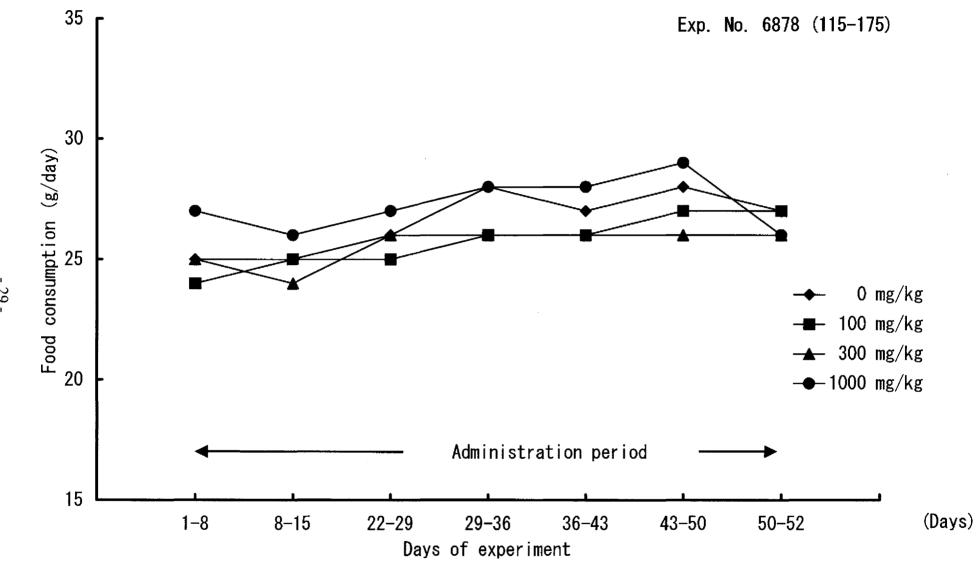


Figure 3 Food consumption of male rats

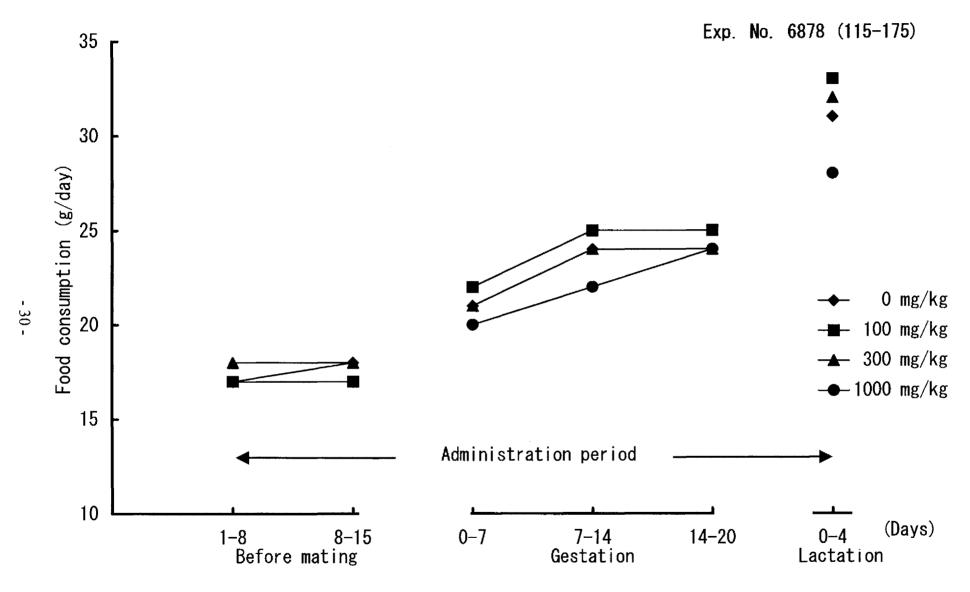


Figure 4 Food consumption of female rats

Table 1-1. Clinical observations in male rats

Exp. No. 6878 (115-175)

Signs	Doco Joyal				Days of	experime	ent			Total
orgris	Dose level (mg/kg)	1- 7	8–14	15-21	22–28	29–35	36–42	43-49	50-53	Total (1-53)
number per gruop	100 300 1000	12 12 12 12	12 12 12 11							
dead	0 100 300 1000	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0	0 0 0 1	0 0 0 0	0 0 0 1
normal	0 100 300 1000	12 12 12 12	12 12 12 12	12 11 12 12	12 11 12 11	12 11 12 9	12 12 12 10	12 12 12 8	12 12 12 11	12 11 12 6
piloerection	0 100 300 1000	0 a) 0 0 0	0 0 0	0000	0 0 0 0	0	0 0 0	0 0 0 1	0 0 0	О b) О О 1
trauma	0 100 300 1000	0 0 0	0 0 0	0 1 0 0	0 1 0 0	0 0 0	0000	0 0 0	0 0 0	0 1 0 0
crust	0 100 300 1000	0 0 0	0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 1 0 0	0000	0 0 0 0	0 0 0	0 1 0 0
dirty hair	0 100 300 1000	0000	0	0 0 0	0 0 0	0000	000	0 0 0 1	0 0 0	0 0 0 1
subnormal temperature	0 100 300 1000	0	0 0 0	0 0 0	0 0 0 0	0 0 0	0	0 0 0 1	0 0 0	0 0 0 1
ptosis of eyelid	0 100 300 1000	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0 0	0	0 0 0 1	0 0 0	0 0 0 1

a) No. of animals with clinical sign in groupb) Total no. of animals with clinical sign group

Table 1-1. -continued Clinical observations in male rats

Signs	Dana Jawal				Days of	experime	ent			Tasal
Signs	Dose fevel (mg/kg)	1- 7	8–14	15–21	22–28	29-35	36-42	43–49	50-53	Tota! (1-53)
nasal discharge	0 100 300 1000	0000	0 0 0	0 0 0	0 0 0 0	0	0 0 0	0 0 0 1	0 0 0	0 0 0 1
salivation	0 100 300 1000	0 0 0	0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 1	0 0 0 3	0 0 0 2	0 0 0 3	0	0 0 0 5
bradypnea	0 100 300 1000	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0 1	0 0 0	0 0 0 1
dyspnea	0 100 300 1000	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 1	0 0 0	0 0 0 1

Table 1-2. Clinical observations in female rats (Before and during mating period)

Exp. No. 6878 (115-175)

Signe	Page Joyel	Days	s of expe	riment	Total
Signs	Dose level (mg/kg)	1- 7	8–14	15–20	Total (1-20)
number per group	0 100 300 1000	12 12 12 12	12 12 12 12	12 12 12 12	
dead	0 100 300 1000	0 0 0	0 0 0	0 0 0 1	0 0 0 1
normal	0 100 300 1000	12 12 12 12	12 12 12 12	12 12 12 11	12 12 12 11
dirty hair	0 100 300 1000	0 a) 0 0	0 0 0	0 0 0 1	0 b) 0 0 1
subnormal temperature	0 100 300 1000	0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 1	0 0 0 1
ptosis of eyelid	0 100 300 1000	0 0 0	0 0 0	0 0 0 1	0 0 0 1
salivation	0 100 300 1000	0 0 0	0 0 0	0 0 0 1	0 0 0 1
abdominal distention	0 100 300 1000	0	0 0 0	0 0 0 1	0 0 0 1
prone position	0 100 300 1000	0 0 0	0 0 0	0 0 0 1	0 0 0 1

a) No. of animals with clinical sign in groupb) Total no. of animals with clinical sign in group

Table 1-2. -continued Clinical observations in female rats (Before and during mating period)

S:	Dana Jawal	Day	T-4-1		
Signs	Dose level (mg/kg)	1- 7	8-14	15–20	Total (1-20)
decrease spon.motor act.	0 100 300 1000	0 0 0 0	0 0 0	0 0 0 1	0 0 0 1
abnormal resp. noise	0 100 300 1000	0 0 0 0	0	0 0 0 1	0 0 0 1

Table 1-3. Clinical observations in female rats (Gestation period)

Signs	Dose level	Days of gestation														
o gua	(mg/kg)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
number per group	100 300 1000	10 12 11 11	10 12 11 10	10 12 11 10	10 12 11 10	10 12 11 10	10 12 11 10	10 12 11 10								
dead	0 100 300 1000	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0 1	0 0 0	0000	0 0 0	0 0 0 0	0 0 0	0		
norma I	0 100 300 1000	10 12 11 11	10 12 11 11	10 12 11 11	10 12 11 11	10 12 11 11	9 12 11 11	9 12 11 10	9 12 11 10	9 12 11 10	9 12 11 10	9 12 11 10	9 12 11 9	9 12 11 9		
loss of hair	100 300 1000	0 a 0 0	0 0	0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0000	0 0 0	0 0 0 0	0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0	0 0 0		
induration	0 100 300 1000	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	1 0 0 0									
dirty hair	100 300 1000	0 0 0	0000	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0000	0 0 0	0 0 0 0	0 0 0	0 0 0 1		
otosis of eyelid	100 300 1000	0 0 0 0	0000	0 0 0 0	0 0 0	0 0 0	0000	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 1		
salivation	0 100 300 1000	0 0 0	0 0 0 0	0000	0 0 0 1	0 0 0 0										
abdominal distention	0 100 300 1000	0 0 0 0	0 0 0	0 0 0	000	0 0 0	0000	0 0 0	0000	0000	0000	0000	0 0 0	0 0 0		

a) No. of animals with clinical sign in group

Table 1-3. -continued Clinical observations in female rats (Gestation period)

0:	Daga Jawal	Days of gestation														
Signs	Dose level (mg/kg)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
teeth abnormality	0 100 300 1000	0000	0	0	0 0 0 0	0 0 0	0	0 0 0	0000	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0000		

Table 1-3. -continued Clinical observations in female rats (Gestation period)

0.	D 1 1				-		Days	of ge	statio	n			
Signs	Dose level (mg/kg)	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	Total (0-23)
number per group	0 100 300 1000	10 12 11 10	2 8 4 3										
dead .	0 100 300 1000	0000	0 0 0	0 0 0	0000	0000	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0 1
normal	0 100 300 1000	9 12 11 9	9 12 11 10	9 12 11 10	10 12 11 10	10 12 11 10	10 12 11 10	10 12 11 9	9 12 11 9	9 12 11 10	9 12 11 10	1 8 4 3	9 12 11 8
loss of hair	0 100 300 1000	0 0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	1 0 0 0	1 0 0 0	1 0 0 0	1 0 0 0	1 a) 0 0 0
nduration	0 100 300 1000	1 0 0 0	1 0 0 0	1 0 0 0	0 0 0	0 0 0 0	0 0 0	0 0 0 0	0000	0 0 0	0 0 0	0 0 0	1 0 0
lirty hair	0 100 300 1 0 00	0 0 0	0 0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0 1							
otosis of eyelid	0 100 300 1000	0	0 0 0	0 0 0	0000	0000	0 0 0	0000	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0 1
salivation	0 100 300 1000	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0000	0000	0 0 0	0 0 0 0	0000	0 0 0 0	0 0 0	0 0 0 1
abdominal distention	0 100 300 1000	0 0 0 1	0 0 0	0 0 0	0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0000	0000	0 0 0	0 0 0	0 0 0 1

a) Total no. of animals with clinical sign in group

Table 1-3. -continued Clinical observations in female rats (Gestation period)

Ciona	Dogo Lovel		Days of gestation											
Signs	Dose level (mg/kg)	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	Total (0-23)	
teeth abnormality	0 100 300 1000	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0	0 0 0	0000	0 0 0 1	0 0 0 1	0	0	0000	0 0 0 1	

Table 1-4. Clinical observations in female rats (Lactation period)

C:	D laval		Days	of lac	tation		7-4-1
Signs	Dose level (mg/kg)	0	1	2	3	4	Total (0- 4)
number per group	100 300 1000	10 12 11 10	10 12 11 10	10 12 11 10	10 12 11 10	10 12 11 10	
norma l	0 100 300 1000	9 12 11 10	9 12 11 10	9 12 11 10	9 12 11 10	9 12 11 10	9 12 11 10
loss of hair	0 100 300 1000	1 a) 0 0 0) 1 0 0	1 0 0 0	1 0 0 0	1 0 0 0	1 b) 0 0 0

a) No. of animals with clinical sign in group
 b) Total no. of animals with clinical sign in group

Table 2-1. Body weight change of male rats

Unit: a

										,			Unit g
Dose level (mg/kg)		0			100			300			1000		
No. of animals		12			12			12			12		
		Mean ± ∶	S.D.	(N)	Mean ±	S.D.	(N)	Mean ± S	S.D.	(N)	Mean ± S	Ş. D.	(N)
Days of experiment	1	368 ±	18	(12)	368 ±	18	(12)	367 ±	17	(12)	368 ±	18	(12)
	8	395 ±	23	(12)	393 ±	25	(12)	389 ±	21	(12)	397 ±	22	(12)
	15	416 ±	27	(12)	413 ±	29	(12)	409 ±	24	(12)	417 ±	27	(12)
	22	434 ±	31	(12)	430 ±	32	(12)	426 ±	27	(12)	436 ±	29	(12)
	29	454 ±	38	(12)	447 ±	35	(12)	444 ±	29	(12)	458 ±	33	(12)
	36	480 ±	41	(12)	472 ±	38	(12)	467 ±	30	(12)	481 ±	39	(12)
	43	496 ±	42	(12)	480 ±	35	(12)	480 ±	33	(12)	497 ±	44	(12)
	50	516 ±	51	(12)	500 ±	38	(12)	490 ±	35	(12)	510 ±	58	(11)
	53	523 ±	54	(12)	507 ±	38	(12)	498 ±	37	(12)	516 ±	60	(11)
Gain	1-53	156 ±	43	(12)	138 ±	26	(12)	131 ±	24	(12)	148 ±	48	(11)

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

Table 2-2. Body weight change of female rats

11	_	:		_
u	n	1	1	C

				Unit : g
Dose level (mg/kg)	0	100	300	1000
Before mating period No. of animals	12	12	12	12
•	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	224 ± 10 (12) 225 ± 10 (12)	224 ± 9 (12)	224 ± 9 (12)
8	234 ± 14 (12) 235 ± 13 (12)	235 ± 10 (12)	231 ± 10 (12)
15	242 ± 15 (12) 244 ± 13 (12)	243 ± 12 (12)	234 ± 14 (12)
Gain 1-15	18 ± 10 (12) 19 ± 6 (12)	19 ± 7 (12)	9 ± 14 (12)
Gestation period No. of dams	10	12	11	11
	Mean ± S.D. (N) Mean \pm S.D. (N)	Mean \pm S.D. (N)	Mean ± S.D. (N)
Days of gestation 0	247 ± 18 (10) 251 ± 16 (12)	250 ± 15 (11)	241 ± 13 (11)
7	277 ± 20 (10) 286 ± 19 (12)	280 ± 15 (11)	270 ± 15 (10)
14	312 ± 25 (10) 319 ± 21 (12)	314 ± 15 (11)	297 ± 22 (10)
20	386 ± 32 (10) 395 ± 26 (12)	388 ± 22 (11)	368 ± 30 (10)
Gain 0-20	138 ± 18 (10) 144 ± 15 (12)	138 ± 13 (11)	126 ± 30 (10)
Lactation period No. of dams	10	12	·11	10
	Mean \pm S.D. (N) Mean \pm S.D. (N)	Mean \pm S.D. (N)	Mean \pm S.D. (N)
Days of lactation 0	303 ± 25 (10) 301 ± 21 (12)	$305 \pm 18 (11)$	292 ± 19 (10)
4	313 ± 24 (10) 317 ± 25 (12)	318 ± 23 (11)	303 ± 19 (10)
Gain 0-4	10 ± 8 (10) 16 ± 10 (12)	13 ± 15 (11)	11 ± 13 (10)

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

Unit: g/day

													51171 · g, 447
Dose level (mg/kg)		0			100			300			1000		
No. of animals		12			12			12			12		
		Mean ±	s.D.	(N)	Mean ± S	. D.	(N)	Mean ± S	S. D.	(N)	Mean ± :	S.D.	(N)
Days of experiment	1- 8	25 ±	2	(12)	24 ±	2	(12)	25 ±	2	(12)	27 ±	3	(12)
	8-15	25 土	3	(12)	25 ±	2	(12)	24 ±	2	(12)	26 ±	3	(12)
	15-22 a) –			_			_			31 ±	_	(1)
	22-29	26 ±	3	(12)	25 ±	2	(12)	26 ±	2	(12)	27 ±	2	(12)
	29-36	28 ±	3	(12)	26 ±	2	(12)	26 ±	2	(12)	28 ±	3	(12)
•	36-43	27 土	4	(12)	26 ±	2	(12)	26 ±	2	(12)	28 ±	3	(12)
	43-50	28 ±	4	(12)	27 ±	2	(12)	26 ±	2	(12)	29 ±	4	(11)
•	50 , 52	27 ±	4	(12)	27 ±	2	(12)	26 ±	2	(12)	26 ±	8	(11)
Cumulative consumpt	ion (g) b 1–15	353 ±	34	(12)	344 ±	28	(12)	345 ±	26	(12)	369 ±	38	(12)
	22-52	809 ±	112	(12)	778 ±	59	(12)	777 ±	55	(12)	831 ±	101	(11)

a) Mating period b) The sum of individual values on each measurement day Significant difference from control group; *: p \leq 0.05 **: p \leq 0.01

Table 3-2. Food consumption of female rats

Unit : g/day

Dose level (mg/kg) 0 100 300 1000 1000												Unit : g/day
Mean ± S.D. (N)	Dose level (mg/kg)			0			100		300		1000	
Days of before mating 1-8	Before mating period No. of animals	d		12			12		12		12	
Cumulative consumption $\begin{pmatrix} 8-15 \\ 1-15 \end{pmatrix}$ a) $\begin{pmatrix} 18 \pm 2 \\ 243 \pm 23 \end{pmatrix}$ (12) $\begin{pmatrix} 17 \pm 1 \\ 242 \pm 9 \end{pmatrix}$ (12) $\begin{pmatrix} 245 \pm 17 \\ 245 \pm 17 \end{pmatrix}$ (12) $\begin{pmatrix} 233 \pm 20 \\ 233 \pm 20 \end{pmatrix}$ (12) $\begin{pmatrix} 15 + 1 \\ 243 \pm 23 \end{pmatrix}$ (12) $\begin{pmatrix} 15 + 1 \\ 243 \pm 23 \end{pmatrix}$ (12) $\begin{pmatrix} 15 + 1 \\ 242 \pm 9 \end{pmatrix}$ (12) $\begin{pmatrix} 15 + 1 \\ 245 \pm 17 \end{pmatrix}$ (12) $\begin{pmatrix} 15 + 1 \\ 233 \pm 20 \end{pmatrix}$ (12) $\begin{pmatrix} 15 + 1 \\ 233 \pm 20 \end{pmatrix}$ (12) $\begin{pmatrix} 15 + 1 \\ 245 \pm 21 \end{pmatrix}$ (12) $\begin{pmatrix} 15 + 1 \\ 245 \pm 21 \end{pmatrix}$ (13) $\begin{pmatrix} 15 + 1 \\ 245 \pm 21 \end{pmatrix}$ (14) $\begin{pmatrix} 15 + 1 \\ 245 \pm 21 \end{pmatrix}$ (15) $\begin{pmatrix} 15 + 1 \\ 245 \pm 21 \end{pmatrix}$ (16) $\begin{pmatrix} 15 + 1 \\ 245 \pm 21 \end{pmatrix}$ (17) $\begin{pmatrix} 15 + 1 \\ 245 \pm 21 \end{pmatrix}$ (17) $\begin{pmatrix} 15 + 1 \\ 245 \pm 21 \end{pmatrix}$ (18) $\begin{pmatrix} 15 + 1 \\ 245 \pm 21 \end{pmatrix}$ (19			Mean	\pm	S.D.	(N)	Mean \pm S.D). (N)	Mean \pm S.D.	(N)	Mean \pm S.D.	(N)
Gestation period No. of dams 10 12 11 11 Mean \pm S.D. (N) Days of gestation 0-7 21 \pm 2 (10) 22 \pm 2 (12) 21 \pm 2 (11) 20 \pm 2 (10) 7-14 24 \pm 4 (10) 25 \pm 2 (12) 24 \pm 1 (11) 22 \pm 4 (10) 25 \pm 2 (10) Cumulative consumption (g) a $\frac{14-20}{0-20}$ a $\frac{24\pm}{458\pm}$ 55 (10) $\frac{476\pm}{458\pm}$ 29 (12) $\frac{458\pm}{27}$ (11) $\frac{439\pm}{28}$ (10) Lactation period No. of dams 10 12 11 10 Mean \pm S.D. (N)	Days of before matir	ng 1-8	17	\pm	2	(12)	17 ±	1 (12)	18 ± 1	(12)	17 ± 1	(12)
Gestation period No. of dams 10 12 11 11	A	8-15	, 18	<u>+</u> -	2	(12)	17 土	1 (12)	18 ± 1	(12)	17 ± 2	(12)
No. of dams 10 12 11 11 11	cumulative consumpt	1-15	243	±	23	(12)	242 ±	9 (12)	245 ± 17	(12)	233 ± 20	(12)
Days of gestation 0-7 21 \pm 2 (10) 22 \pm 2 (12) 21 \pm 2 (11) 20 \pm 2 (10) 7-14 24 \pm 4 (10) 25 \pm 2 (12) 24 \pm 1 (11) 22 \pm 4 (10) 25 \pm 2 (10) 25 \pm 1 (12) 24 \pm 2 (11) 24 \pm 2 (10) 25 \pm 1 (12) 24 \pm 2 (11) 24 \pm 2 (10) 25 \pm 1 (12) 24 \pm 2 (11) 24 \pm 2 (10) 25 \pm 1 (12) 25 \pm 1 (12) 24 \pm 2 (11) 24 \pm 2 (10) 25 \pm 1 (12) 25 \pm 1 (12) 27 \pm 2 (11) 29 \pm 28 (10) 20 \pm 28 (10) 20 \pm 20 \pm 20 \pm 3 (10) 20 \pm 21 \pm 3 (11) 20 \pm 3 (12) 21 \pm 3 (13) 22 \pm 3 (14) 23 \pm 3 (15) 24 \pm 3 (16) 25 \pm 3 (17) 26 \pm 3 (18) 26 \pm 3 (19) 27 \pm 3 (19) 28 \pm 3 (10) 29 \pm 4 (10) 29 \pm 3 (10) 29 \pm 4 (10) 29 \pm 2 (10) 29 \pm 4 (10) 29 \pm 2 (10) 29 \pm 3 (10) 29 \pm 4 (10) 29 \pm 3 (10) 29 \pm 4 (10) 29 \pm 2 (10) 29 \pm 2 (10) 29 \pm 4 (10) 29 \pm 2 (10) 29 \pm 2 (10) 29 \pm 2 (10) 29 \pm 2 (10) 29 \pm 3 (10) 29 \pm 3 (10) 29 \pm 4 (10) 29 \pm 4 (10) 29 \pm 2 (10) 29 \pm 2 (10) 29 \pm 3 (10) 29 \pm 3 (10) 29 \pm 3 (10) 29 \pm 3 (10) 29 \pm 4 (10) 29 \pm	Gestation period No. of dams			10			12		11		11	
$ \begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$			Mean	\pm	S.D.	(N)	Mean \pm \$.0), (N)	Mean \pm S.D.	(N)	Mean \pm S.D.	(N)
Cumulative consumption (g) a) 24 ± 2 (10) 25 ± 1 (12) 24 ± 2 (11) 24 ± 2 (10) 25 ± 1 (12) 24 ± 2 (11) 24 ± 2 (10) 24 ± 2 (11) 24 ± 2 (10) 24 ± 2 (10) 24 ± 2 (11) 24 ± 2 (10) 24 ± 2 (10) 24 ± 2 (11) 24 ± 2 (10) 24 ± 2 (10) 24 ± 2 (10) 24 ± 2 (11) 24 ± 2 (10)	Days of gestation	0- 7	21	\pm	2	(10)	22 ±	2 (12)	21 ± 2	(11)	20 ± 2	(10)
0-20 458 ± 55 (10) 4/6 ± 29 (12) 458 ± 27 (11) 439 ± 28 (10) Lactation period No. of dams 10 12 11 10 Mean ± S.D. (N) Mean ± S.D. (N) Mean ± S.D. (N) Mean ± S.D. (N)		7–14	24	\pm	4	(10)	25 ±	2 (12)	24 ± 1	(11)	22 ± 4	(10)
D=20 458 ± 55 (10) 4/6 ± 29 (12) 458 ± 27 (11) 439 ± 28 (10)	O	14-20	24	\pm	2	(10)	25 ±	1 (12)	24 ± 2	(11)	24 ± 2	(10)
No. of dams 10 12 11 10 Mean ± S.D. (N) Mean ± S.D. (N) Mean ± S.D. (N) Mean ± S.D. (N)	cumulative consumpt	on (g) a 0–20	458	\pm	55	(10)	476 ± 2	9 (12)	458 ± 27	(11)	439 ± 28	(10)
	Lactation period No. of dams			10			12		11		10	
			Mean	±	S.D.	(N)	Mean ± S.D). (N)	Mean \pm S.D.	(N)	Mean \pm S.D.	(N)
Days of lactation 0-4 31 \pm 5 (10) 33 \pm 5 (12) 32 \pm 5 (11) 28 \pm 5 (10)	Days of lactation	0- 4	31	±	5	(10)	33 ±	5 (12)	32 ± 5	(11)	28 ± 5	(10)

a) The sum of individual values on each measurement day Significant difference from control group; *: p \leq 0.05 **: p \leq 0.01

Table 4-1. Absolute and relative organ weight of male rats

Dose level (mg	/kg)	0		100		300		100	0
No. of animal	examined	12		12		12		11	
		Mean \pm	S.D.	Mean ±	S.D.	Mean ±	S.D.	Mean ±	S.D.
Body weight (g)	523 ±	54	507 ±	38	498 ±	37	516 ±	60
Testes	(g) (g%)	$^{3.34}_{0.644} \pm$	0.25 0.081	$_{0.700}^{3.52}\pm$	0.28 0.087	3.22 ± 0.648 ±	0.42 0.089	3.39 ± 0.667 ±	0.45 0.127
Epididymides	(mg) (mg%)	1219 ± 235.117 ±	90 29. 379	1218 ± 242.721 ±	132 39.053	1135 ± 229.537 ±	178 42.329	1239 ± 242.942 ±	117 36. 260

^{(%) (}Organ weight / body weight) x 100 Significant difference from control group; *: $p \le 0.05$ **; $p \le 0.01$

Table 4-2. Absolute and relative organ weight of female rats

Dose level (r	mg/kg)	0		100		300		1000	
No. of dams e	examined	10		12		11		10	
		Mean ± 9	S.D.	Mean ± 9	S. D.	Mean ± S	S. D.	Mean ± ∶	S.D.
Body weight	(g)	313 ±	24	317 ±	25	318 ±	23	303 ±	19
Ovaries	(mg) (mg%)	103 ± 32.954 ±	17 4. 329	101 ± 31.714 ±	19 4. 854	106 ± 33.476 ±	15 5.136	98 ± 32.490 ±	12 3.691

^{(%) (}Organ weight / body weight) x 100 Significant difference from control group; *: $p \le 0.05$ **: $p \le 0.01$

Sex: Male	Generation: F0				
Dose level No. of animals Organ	(mg/kg) necropsied Findings	0	100 0	300 0	1000
DIGESTIVE SYST stomach small intesti	dilated lumen	-	-	-	1
	dilated lumen	-	-	-	1
large intesti	ne dilated lumen	-	-	-	1

Oose level (mg/kg)	0	100	300	1000
No. of animals necropsied Organ Findings		12	11	11
RESPIRATORY SYSTEM				
lung brown patch/zone	1	0	0	1
white patch/zone	1	0	O	0
IRINARY SYSTEM				
kidney cyst	0	1	1	0
REPRODUCTIVE SYSTEM				
seminal vesicle				
atrophic	0	0	1	1

Table 5-3.	Summary	of	gross	findings	(non-pregnancy,	male)
			3		•	F3 / /		•

Sex: Male Generation: F0				
Dose level (mg/kg) No. of animals necropsied OrganFindings	0 2	100 0	300 1	1000
RESPIRATORY SYSTEM lung white patch/zone	o	-	1	-
REPRODUCTIVE SYSTEM testis atrophic epididymis atrophic	0	- -	1 1	-

Sex: Female	Generation: F0				
Dose level No. of anima Organ	(mg/kg) ls necropsied Findings	0	100 0	300 0	1000 2
RESPIRATORY	SYSTEM				
lung	reddish	-	-	-	1
DIGESTIVE SY	STEM				
stomach	autolysis	-	-	-	1
	black patch/zone	-	-	-	1
	dilated lumen	_	_	-	1
small intes	tine				
	autolysis	-	-	_	1
	black patch/zone	-	_	_	1
large intes	tine				
_	autolysis	=	-	-	1
	dilated lumen	-	-	_	1

Cose level (mg/kg) No. of animals necropsied Organ Findings	0 10	100 12	300 11	1000 10
RESPIRATORY SYSTEM lung nodule	0	0	1	0
DIGESTIVE SYSTEM liver brown patch/zone	0	0	0	1
IRINARY SYSTEM kidney scarred	1	1	0	1
REPRODUCTIVE SYSTEM uterus nodule vagina reddish	0	0 0	1 1	0

ose level	(mg/kg)		0		10	0		3	00				10	00		
To. of animal	s initially in study		0			0			0					1		
o. of animal	s necropsied		0			0			0					1		
	s examined histologically	_	0		_	0	_	_	0	_			-	Ť	•	-
Organ	Findings	1	2.	T	Τ.	2 3	T		2	3	T		Т	2	3	Т
testis	SYSTEM atrophy, seminiferous tubule	-	_		_		-	-	_	_	_	(1)	1	0	0	1
EEPRODUCTIVE testis epididymis prostate		-	-	. <u>.</u>	-		-	-	-	<u>-</u>	-	(1) (1) (1)	1	0	•	_

^{1:} slight 2: moderate 3: marked T: Total -: Not applicable. (): No. of animals examined microscopically at this site.

No. of animals No. of animals	mg/kg) initially in study necropsied examined histologically			0 10 10 6						.00 12 12 6					_	00 11 11 7					00 11 11 6		
Organ	Findings		1	2	3	T			1	2	3	T			1	2	3	T		1	2	3	T
RESPIRATORY SYS	TEM																						
lung		(2)					(0)					(0)					(1)				
	interstitial pneumonia		0	0	0	0			-	-	-	-			-	-	-	-		1	0	0	1
	osseous metaplasia		1	0	0	1			-	-	-	-			-	-	-	-		0	0	0	0
URINARY SYSTEM																							
kidney		(0)					1	1)					- (1)					(0)				
name,	basophilic tubules	,	_	_	_	_	,	-,	1	0	0	1	•	_,	Ò	0	0	0	, 07	_	_	_	-
	cyst		_	_	_	_			ī	ŏ	ŏ	ī			ī	ō	ō	ī		_	_	_	_
	cellular infiltration, lymphocyte		_	_	-	_			1 1	ō	ō	ī			ō	ō	ō	ō		-	-	-	-
REPRODUCTIVE SY	STEM						,																
testis		(5)					(5)	_	_			ŧ	5)	_		_	_	(5)	_	_		_
	atrophy, seminiferous tubule		0	0	0	0			Ť	0	Õ	0			4	ō	0	2 1		2 1	0	0	2
	multinucl. giant cell formation		0	0	0	0			0	0	0	0			<u> </u>	0	0	1		0	Ö	0	<u> </u>
	vacuolation, seminiferous epithelium	(5)	U	U	U	U	,	۵١.	U	U	U	U	,	0)		U	v	_	(5)	v	Ų	v	U
epididymis	cell debris, lumen	(5)	0	0	0	0	,	0)					1	0)					(5)	1	0	0	-
prostate	CEIL GEDIIS, IUMEN	(5)	U	U	v	U	,	5)	-	-	-	-	1	5)	-	-	-	-	(5)	_	Ų	v	_
proscace	cell debris, lumen	(2)	1	0	0	1	'	2)	2	0	0	2	,	3)	4	0	0	4	(3)	1	0	0	1
	dilatation, gland		ō	0	Ö	ō			1	ŏ	0	í			1	0	0	î		1 2	ŏ	Ö	2
	cellular infiltration, inflammatory cell		ŏ	Ö	ŏ	ŏ			1	ŏ	Ö	i			ō	ŏ	Õ	ō		õ	ŏ	ŏ	ñ
	cellular infiltration, lymphocyte		3	ŏ	ŏ	3			4	ŏ	ŏ	4			3	ŏ	ŏ	3		4	ŏ	ŏ	4
seminal vesicl		(5)	-	٠	٠	-	(0)	-	•	٠	•	(1)	•	•	•	•	(5)	-	•	•	-
	cellular infiltration, macrophage	,	1	0	0	1	`	~ <i>,</i>					•	_,	•	0	0	1	, -,	1	0	0	1

** : P ≤ 0.01

^{1:} slight 2: moderate 3: marked T: Total -: Not applicable. (): No. of animals examined microscopically at this site. Significant difference from control group; * : $P \le 0.05$ ** : $P \le 0.05$

No. of animals	(mg/kg) initially in study necropsied examined histologically Findings		1	0 2 2 2 2	2	т	1	00 0 0 0	3	т		1	00 1 1	2	т	10	00 0 0 0	3	т
Olgan	t mornings	··· ·· ·· ··															_		
ESPIRATORY SY	STEM																		
lung		(0)									(1)								
	accumulation of foamy cells, alveolar		-	-	-	-	-	-	-	-		1	0	0	1	-	-	-	-
	osseous metaplasia		-	-	-	-	-	-	-	-		1	0	0	1	-	-	-	-
EPRODUCTIVE S	YSTEM																		
testis		(2)									(1)								
	atrophy, seminiferous tubule		0	0	0	0	-	-	-	-		1	0	0	1	-	-	-	-
	vacuolation, seminiferous epithelium		0	0	0	0	-	-	-	-		1	0	0	1	-	-	-	-
epididymis	** * * * *	(2)	_	_	_	_					(1)	_		_	_				
	cell debris, lumen		0		0		-	-	-	-		1	0		1	-	-	-	-
	cellular infiltration,lymphocyte		1	0	0	1	-	-	-	_		0	0	0	0	-	-	-	-
prostat e		(2)	_	_	_	_					(1)	_	_	_	_				
	cell debris, lumen		1		0	1	-	-	_	_		1	0	0	1	-	-	-	-
	cellular infiltration,lymphocyte		1	0	0	1	-	-	-	-		1	0	0	1	_	-	-	-
seminal vesic		(2)									(1)								
	cellular infiltration, macrophage		1	0	0	1	-	-	_	-		0	0	0	0	-	-	-	-

^{1:} slight 2: moderate 3: marked T: Total -: Not applicable. (): No. of animals examined microscopically at this site.

Dose level (mg/kg) No. of animals initially in study	0 0	100	300	1000
To. of animals necropsied	ŏ	ő	ŏ	2
No. of animals examined histologically	Ŏ	Ö	ò	2
Organ Findings	1 2 3 T	1 2 3 T	1 2 3 T	1 2 3 T
RESPIRATORY SYSTEM lung congestion accumulation of macrophage, alveolo osseous metaplasia	ar 			(1) 1 0 0 1 1 0 0 1 1 0 0 1
congestion accumulation of macrophage, alveolo	 ar 			(1) 1 0 0 1 1 0 0 1 1 0 0 1

^{1:} slight 2: moderate 3: marked T: Total -: Not applicable. (): No. of animals examined microscopically at this site.

Sex: Female	Generation: F0	-																			
No. of animals No. of animals :	examined histologically			0 10 10 6				1	00 12 12 1					11 11 2					10 10 10 5		
Organ	Findings		1	2	3	T		1	2	3	T		1	2	3	T		1	2	3	T
ESPIRATORY SYS	TEM																				
lung	accumulation of foamy cells, alveol	(0) ar	-	-	-	-	(0)	-	-	-	-	(1)	1	0	0	1	(0)	-	-	-	-
GESTIVE SYSTE	M.						(0)					(0)					(1)				
liver	necrosis, focal	(0)	, -	-	-	-	(0)	-	-	-	-	(0)	-	-	-	-	(1)	1	0	0	1
RINARY SYSTEM												, a)									
kidney	cyst fibrosis, scar	(1)	0	0	0	0 1	(1)	1	0	0	1 0	(0)	-	-	- -	- -	(1)	0 1	0	0	0
REPRODUCTIVE SY	STEM																				
uterus	arteritis	(5)	5		0	5	(0)	-	_	-	_	(1)	1	0	0	1	(5)	5	0	0	5
vagina	post delivery lesion	(5)	0	0	0	0	(0)	-	-	-	-	(1)	1	0	0	1	(5)	0	0	0	0
· -	cell debris, lumen	, -,	4	0	0	4	, ,,	-	-	-	-	,	1	0	0	1	,	4	0	0	4

^{1:} slight 2: moderate 3: marked T: Total -: Not applicable. (): No. of animals examined microscopically at this site. Significant difference from control group; * : $P \le 0.05$ ** : $P \le 0.05$ ** : $P \le 0.01$

ose level	(mg/kg)			0			1	00				3	300			10	00		
o. of anima	als initially in study			2				0					1				0		
o of anima	als necropsied als examined histologically			2				U					1				٥		
Organ_	Findings		1	2	3	T	1	2	3	T		1	2	3	T	1	2	3	1
PRODUCTIV	E SYSTEM	(2)									(1)								
JVary	corpus luteum, increased	(2)	1	0	0	1	_	_	-	-	(1)	1	0	0	1	-	_	-	_
uterus		(2)									(1)								
	degeneration, endometrium		1	0	0	1	_	-	_	-		1	0	0	1	_	_	_	-

^{1:} slight 2: moderate 3: marked T: Total -: Not applicable. (): No. of animals examined microscopically at this site.

Table 6-7. Cell type and number per Sertoli cell in seminiferous tubules of rats at VII - VIII stage of spermatogenesis during dosing period

Dose level (mg/kg) No. of animals examined histologically		0 5			1000 5	
Spermatogonia type A	0.24	±	0.05	0.22	±	0.03
Preleptotene spermatocyte	2.29	±	0.29	2.40	±	0.23
Pachytene spermatocyte	3.70	±	0.44	3.63	±	0.43
Round spermatid	7.45	\pm	0.80	6.99	\pm	1.15

Mean \pm S.D.

Table 7. Copulation and fertility results in rats

Dose level (mg/kg)	0	100	300	1000
No. of pairs mated	12	12	12	11
No. of pairs copulated	12	12	12	11
No. of pregnant females	10	12	11	11
Copulation index (%) 1)	100.0	100.0	100.0	100.0
Fertility index (%) 2)	83.3	100.0	91.7	100.0
strous cycle No. of animals examined	12	12	12	12
	Mean±S.D. (N)	Mean±S.D. (N)	Mean±S.D. (N)	Mean \pm S.D. (N)
Mean estrous cycle (days)	4.2± 0.3 (12)	4.1± 0.2 (12)	4.2± 0.3 (12)	4.1± 0.1 (12)
irregular estrous cycle a)	(%) 3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)

^{1) (}No. of animals with successful copulation / no. of animals mated) x 100 2) (No. of pregnant animals / no. of animals with successful copulation) x 100 3) (No. of animals having irregular estrous cycle / no. of animals examined) x 100 a) No. of animals having irregular estrous cycle Significant difference from control group; *: $P \le 0.05$ **: $P \le 0.01$

Table 8. Findings of delivery in dams(F0)

Dose level (mg/kg)	0 .	100	300	1000
No. of pregnant females	10	12	11	10
No. of dams delivered live pups	10	12	11	10
Duration of gestation	22.2 ± 0.4	22.7 ± 0.5	22.4 ± 0.5	22.3 ± 0.5
(Day , Mean 士 S.D.) No. of corpora lutea	172(17.2± 3.0)	198(16.5± 3.7)	184(16.7± 1.0)	158(15.8± 1.3)
(Mean ± S.D.) No. of implantation sites	149(14.9± 1.9)	177(14.8± 2.1)	165(15.0± 1.3)	136(13.6± 3.2)
(Mean ± S.D.) No. of pups born (Mean ± S.D.)	141(14.1± 2.1)	167(13.9土 1.7)	152(13.8± 1.7)	122(12.2± 3.9)
Mean エ S.D.) No. of live pups born (Mean ± S.D Total Male Female	.) 141(14.1± 2.1) 76(7.6± 1.5) 65(6.5± 1.7)	165(13.8± 1.7) 92(7.7± 2.8) 73(6.1± 3.0)	149(13.5± 1.6) 77(7.0± 2.4) 72(6.5± 2.2)	121(12.1± 3.8) 62(6.2± 2.4) 59(5.9± 2.6)
Sex ratio (Mean ± \$.D.)	1.25 ± 0.41	1.51 ± 1.70	1.34 ± 1.04	1.19 ± 0.54
No. of live pups on day 4 (Mean 土 Total Male Female	S.D.) 133(13.3± 2.2) 71(7.1± 1.7) 62(6.2± 1.4)	157(13.1± 1.9) 88(7.3± 2.8) 69(5.8± 3.0)	143(13.0± 1.8) 73(6.6± 2.4) 70(6.4± 2.3)	120(12.0± 3.7) 61(6.1± 2.4) 59(5.9± 2.6)
No. of dead pups a)	0(0.0± 0.0)	1(0.1± 0.3)	$3(0.3\pm0.6)$	1(0.1± 0.3)
(Mean 士 S.D.) No. of cannibalism a)	0(0.0± 0.0)	1(0.1± 0.3)	0(0.0± 0.0)	0(0.0± 0.0)
(Mean ± S.D.) Gestation index (%) 1)	100.0	100.0	100.0	100.0
lmplantation index (%,Mean±S.D.)	2) 87.8 ±11.5	91.0 ±10.1	89.7 ± 6.4	86.8 ±21.0
Delivery index (%, Mean±S.D.)	3) 94.4 ± 4.3	94.7 ± 5.4	92.1 \pm 7.6	89.1 ±16.4
Live birth index a)(%,Mean±S.D.)	4) 100.0 ± 0.0	98.8 ± 3.0	98.1 ± 4.4	99.3 ± 2.1
Viability index on day 4 (%,Mean士 Total Male Female a)	S.D.) 5} 94.6 ± 9.8 93.6 ±12.3 96.5 ±8.2	95.7 ±11.2 96.7 ±11.5 94.7 ±11.9	96.0 ± 7.1 95.1 ± 7.1 97.0 ±10.1	99.3 ± 2.1 98.3 ± 5.3 100.0 ± 0.0

^{1) (}No. of females with live pups / no. of pregnant females) x 100
2) (No. of implantation sites / no. of corpora lutea) x 100
3) (No. of pups born / no. of implantation sites) 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) It could not be analyzed by Bartlett's test
Significant difference from control group; *: P ≤ 0.05 **: P ≤ 0.01

Table 9. External observations on live pups(F1) from rats

Dose level (mg/kg)	0	100	300	1000
No. of litters	10	12	11	10
No. of live pups examined	141	165	149	121
No. of live pups with external anomalies (%, Mean±S.D.) a)	0.0± 0.0	$0.6\pm^{1}$ 2.1	0.0± 0.0	0.0± 0.0
Type and incidence of external anomalies (%) 1)				
abdominal hernia a)	0 (0.0)	1 (0.6)	0 (0.0)	0 (0.0)

^{1) (}No. of live pups with external anomalies / no. of live pups examined) x 100 a) It could not be analyzed by Bartlett's test Significant difference from control group; *: p \leq 0.05 **: p \leq 0.01

Table 10. Body weight change of pups(F1) from rats

Unit: a

Dose level (mg/kg)		0		100		300		1000	
No. of litters		10		12		11		10	
Male		Mean ± S.D.	(N)	Mean \pm S.D.	(N)	Mean \pm S.D.	(N)	Mean \pm S.D.	(N)
Days after birth	0	6.7 ± 0.6	(10)	7.1 ± 0.5	(12)	6.7 ± 0.3	(11)	6.7 ± 0.6	(10)
	4	9.5 ± 1.8	(10)	10.1 ± 1.7	(12)	9.6 ± 1.7	(11)	9.6 ± 1.2	(10)
Female									
Days after birth	0	6.4 ± 0.4	(10)	6.6 ± 0.5	(11)	6.4 ± 0.4	(11)	6.2 ± 0.5	(10)
	4	9.2 ± 1.5	(10)	9.3 ± 2.0	(11)	9.1 ± 1.6	(11)	9.0 ± 1.1	(10)

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

Table 11-1. Summary of gross findings of pups(F1) from rats (sacrificed, male)

Sex	:	Ma	l	е
-----	---	----	---	---

Dose level No. of pups ne Organ	(mg/kg) cropsied Findings	0 71	100 88	300 73	1000 61	
HEMATOPOIETIC :	SYSTEM small	0	1	0	0	
DIGESTIVE SYSTI	EM brown patch/zone	0	0	0	1	
	nodule	0	1	0	1	
	hepatodiaphragmatic nodule	0	0	1	0	
URINARY SYSTEM	dilated pelvis	2	, 3	0	0	
ureter	dilated lumen	2	0	0	0	
INTEGUMENTARY :	SYSTEM red patch/zone	0	6*	0	0	

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

Sex: Female

Dong Lovel	(mg/kg)	Λ	100	300	1000	
Dose level No. of pups ned Organ	cropsied Findings	62 	100 69	300 70	59	
DIGESTIVE SYSTE	EM reddish	0	0	1	0	
URINARY SYSTEM	dilated pelvis	0	0	1	0	
ureter	dilated lumen	0	0	0	1	
NERVOUS SYSTEM brain	black patch/zone	0	1	0	0	
INTEGUMENTARY S planta	SYSTEM red patch/zone	0	4	0	0	
OTHERS brown fat	black patch/zone	1	0	0	0	

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