

ドデカン酸メチルエステルのラットを用いた反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験

試験番号：2474（115-038）

財 団 法 人  
食 品 農 医 薬 品 安 全 性 評 価 セ ン タ ー

## 目 次

1. 要 約	1 頁
2. 諸 言	2
3. 試 験 題 目	3
4. 試 験 目 的	3
5. 試 験 番 号	3
10. 試 験 材 料 お よ び 方 法	5
11. 試 験 結 果	11
12. 考 察 お よ び 結 論	14
13. 参 考 文 献	16

### Figures, Tables and Reference data

Figure 1	Body weight change of male rats
Figure 2	Body weight change of female rats
Figure 3	Food consumption of male rats
Figure 4	Food consumption of female rats
Table 1-1	Clinical observations on male rats
Table 1-2	Clinical observations on female rats (Before and during mating period)
Table 1-3	Clinical observations on female rats (Gestation period)
Table 1-4	Clinical observations on female rats (Lactation period)
Table 2-1	Body weight change of male rats
Table 2-2	Body weight change of female rats
Table 3-1	Food consumption of male rats
Table 3-2	Food consumption of female rats
Table 4	Hematolgy of male rats
Table 5	Blood chemistry of male rats
Table 6-1	Absolute and relative organ weight of male rats
Table 6-2	Absolute and relative organ weight of female rats
Table 7-1	Summary of gross findings (successful pregnancy, male)
Table 7-2	Summary of gross findings (day 4 of lactation)
Table 7-3	Summary of gross findings (all pups died)

Table 8-1	Summary of histological findings (successful pregnancy, male)
Table 8-2	Summary of histological findings (day 4 of lactation)
Table 8-3	Summary of histological findings (non-pregnancy, male)
Table 8-4	Summary of histological findings (non-pregnancy, female)
Table 8-5	Summary of histological findings (all pups died)
Table 9	Copulation and fertility results in rats
Table 10	Findings of delivery in dams (F0)
Table 11	External observations on live pups (F1) from rats
Table 12	Body weight change of pups (F1) from rats
Table 13-1	Summary of gross findings of pups (F1) from rats (sacrificed, male)
Table 13-2	Summary of gross findings of pups (F1) from rats (sacrificed, female)

## 1. 要 約:

既存化学物質の毒性学的性質を評価するため、ドデカン酸メチルエステルの0（溶媒対照群）、250、500 および 1000 mg/kg/day をラットの交配前14日から交配期間、妊娠期間および哺育3日まで連続経口投与し、反復投与毒性に加えて生殖・発生に及ぼす影響を検討した。

### 1) 反復投与毒性

一般状態には被験物質投与の影響は認められず、死亡例も観察されなかった。体重、摂餌量、雄の血液学的検査および血液生化学検査結果に被験物質投与の影響は認められなかった。

器官重量には被験物質投与によると考えられる明らかな変化は認められなかった。剖検所見および組織所見ともに対照群と比べ被験物質投与群に多く観察される所見は認められず、被験物質投与の影響は示唆されなかった。

### 2) 生殖発生毒性

交尾能、受胎能および性周期観察には、被験物質投与の影響は認められなかった。分娩時観察では、妊娠動物の全例が正常に分娩し哺育期間を通じ被験物質投与の影響は認められなかった。また、新生児の外表検査でも被験物質投与によると考えられる異常は認められず、体重も哺育4日まで順調に増加した。死産児、哺育4日までの死亡児および哺育4日の剖検では被験物質投与によると考えられる異常所見は認められなかった。

以上の結果から、ドデカン酸メチルエステルの反復投与毒性は、1000 mg/kg/day 投与によっても認められず、無影響量は雌雄ともに 1000 mg/kg/day と判断された。また、雌雄の生殖に及ぼす影響および児動物の発生・発育に及ぼす影響についても 1000 mg/kg/day 投与で認められず、無影響量はともに 1000 mg/kg/day と判断された。

## 2. 結 言：

ドデカン酸メチルエステル (methyl dodecanoate) は、化学産業の分野において油剤や展着剤として使用されている化合物である。本化合物の毒性については、経口投与によるラットのLD<sub>50</sub>が 12 g/kg<sup>1)</sup>と報告されているが、ヒトや実験動物の生体に及ぼす毒性についてはほとんど知られていない。今回、OECDによる既存化学物質の安全性点検に係わる毒性調査事業の一環として、ドデカン酸メチルエステルの反復投与毒性および生殖・発生毒性について検討したのでその結果を報告する。

3. 試験題目： ドデカン酸メチルエステルのラットを用いる反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験
4. 試験目的： 既存化学物質の毒性学的性質を評価する一環として行うOECDガイドライン「反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験」（1990年3月22日）に従い、ラットを用いて一般毒性学的影響に加え生殖・発生に及ぼす影響を検討した。なお、試験の実施は環企研第233号、衛生第38号、63基局第823号（昭和63年11月18日）の「新規化学物質に係る試験及び指定化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める命令第4条に規定する試験施設について」の基準を満たすものとした。
5. 試験番号： 2474（115-038）

## 10. 試験材料および方法：

### 1) 被験物質

ドデカン酸メチルエステル〔Methyl dodecanoate, 別名ラウリン酸メチル, Cas No. 111-82-0, Lot. No. 含有量99.2%, 分子量214.347, 融点5℃, 沸点141℃, 比重0.8706 (20℃)〕は, 無色透明な液体であり, 使用時まで室温で密閉保管した. ドデカン酸メチルエステルを実測した結果は, Reference data 1に示した.

被験物質は, コーンオイル (ナカライテスク株式会社製) に溶解し, 5, 10および20 (w/v) %の濃度になるよう各群の投与液を調製した. 調製後は, 使用時まで冷暗条件下で密閉保管した. 調製液中の被験物質は, 5 (w/v) %溶液の場合冷暗条件下で少なくとも8日間安定であることが予備試験において確認されているため, 調製は1週間に1回以上の頻度で行い, 調製後7日以内に使用した.

投与液の濃度分析は, 調製開始時に調製した各群のバッチから無作為にサンプルを抽出し実施した. その結果, 98.6~104%の範囲で調製されており (Reference data 2), ほぼ所定量のドデカン酸メチルエステルが含有されていたことを確認した.

### 2) 使用動物および飼育条件

試験には, 日本チャールス・リバー株式会社 (神奈川県厚木市) から購入した生後8週齢の Spragu-Dawley (Crj:CD (SD), SPF) 系雌雄ラットを使用した. 購入した動物は7日間検疫・馴化飼育した後, 一般状態に異常が認められなかったものを10週齢で群分けして試験に用いた. 群分け時の体重は, 雄で354~386 g, 雌で216~241 gの範囲であった.

動物は, 温度 $24 \pm 2^\circ\text{C}$ , 湿度 $55 \pm 10\%$ , 換気回数15回/時間, 照度150~300 lux, 照明時間12時間 (午前7時点灯, 午後7時消灯) に設定されたバリアシステムの飼育室 (W 5.7×D 10.0×H 2.5 m, 142.5 m<sup>3</sup>) で飼育した. 株式会社 東京技研サービス (東京都府中市) の自動水洗式飼育機 (W 691.0×D 79.0×H 195.0 cm) を使用し, アルミ製前面・床ステンレス網目飼育ケージ (W 15.8×D 23.8×H 16.0 cm, 飼育ケージ・スペース 6017 cm<sup>3</sup>) に動物を1匹ずつ収容し飼育した. 但し, 交配期間中は, 雄をアルミ製前面・床ステンレス網目飼育ケージ (W 36.8×D 25.0×H 16.0 cm, 飼育ケージ・スペース 14720 cm<sup>3</sup>) に収容し飼育した. 妊娠18日以降の母動物は哺育4日までアルミ製前面・床ステンレス網目飼育ケージ (W 36.8×D 25.0×H 16.0 cm) に哺育トレイおよび巣作り材料 (アルファードライ) を入れて飼育した.

飼育ケージは各週1回, 給餌器は週1回取り換えた.

飼料は, オリエンタル酵母工業株式会社 (東京都中央区) 製造のNMF固形飼料 (放射線滅菌飼料) を使用し, 飼育期間中自由に摂取させた. 飲水は, 水道水を自由に摂取させた.

供給した飼料, 水および巣作り材料には試験に支障を来す可能性の考えられる夾雑物の混在はなかった (Reference data 3, 4).

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

### 3) 群分け・個体識別

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

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

余剰動物は炭酸ガスにより安楽死させた。

### 4) 投与量, 群構成, 投与期間および投与方法

本試験の用量は先に実施したラットを用いた反復経口投与毒性/生殖発生毒性併合予備試験の結果を参考にして決定した。すなわち, 0, 250, 500, 750 および 1000 mg/kgを雄および雌に14日間連続経口投与した結果, 一般状態には被験物質投与の影響は認められず, 死亡例も観察されなかった。体重, 摂餌量, 剖検所見, 器官重量, 血液学的検査値および血液生化学検査値に被験物質の影響と考えられる変化は認められなかった。以上の結果をもとに本試験の高用量を予備試験と同じ 1000 mg/kg に設定し, 以下公比 2 で除し, 中用量を 500 mg/kg, 低用量を 250 mg/kg にそれぞれ設定した。

投与経路は, OECDガイドライン「反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験」で指示されている投与経路に準じて強制経口投与を選択した。投与容量は, 体重 100 g 当り 0.5 ml とし, 個体別に測定した最新体重に基づいて算出を行った。胃ゾンデを用いて毎日 1 回 (7 日/週) 強制経口投与した。対照群にはコーンオイルのみを投与した。

雄の投与期間は, 交配前14日間と交配期間14日間および交配期間終了後17日間の連続45日間とした。雌の投与期間は, 交配前14日間と交配期間中 (交尾成立まで最長14日間) ならびに交尾成立雌の妊娠期間を通じて分娩後の哺育3日まで (41~55日間) とした。なお, 妊娠が成立しなかった雌は妊娠25日の解剖前日までの43日間とした。

### 5) 観察および検査

#### a. 一般状態

雌雄とも, 全例について試験期間中毎日観察した。

#### b. 体 重

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

c. 摂餌量

雄では、投与1（投与開始日），8，15，22，29，36，43および45日（剖検前日）に餌重量を測定し，測定日から次の測定日までの間の摂餌量を求め平均1日摂餌量を算出するとともに投与1から15日および投与22から45日までの累積摂餌量を算出した．雌では，投与1（投与開始日），8および15日に測定し，測定日から次の測定日までの摂餌量を求め平均1日摂餌量を算出するとともに投与1から15日までの累積摂餌量を算出した．また，交尾成立の雌は妊娠0，7，14および21日に，分娩した雌は哺育0および4日に餌重量を測定し，測定日から次の測定日までの間の摂餌量を求め平均1日摂餌量を算出するとともに妊娠0から21日までの累積摂餌量を算出した．なお，交配期間中の摂餌量は測定しなかった．

d. 交配

交配前14日間の性周期観察を行った雌を同群内の雄のケージに入れ1対1で最長2週間毎晩同居させた．翌朝，膈垢中の精子確認をもって交尾成立とし，その日を妊娠0日とした．

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

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

e. 自然分娩時および新生児の観察

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

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

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

f. 臨床検査

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

## (1) 血液学的検査

検査には抗凝固剤 (EDTA\_3K) を添加した初血について, THMS H-1E (マイルス社, 米国) を用いて白血球数 (WBC: 暗視野板法), 赤血球数 (RBC: 暗視野板法), ヘマトクリット値 (HCT: 全赤血球の容積により補正), ヘモグロビン量 (HGB: シアンメトヘモグロビン法), 平均赤血球容積 (MCV: RBC, HCTより算出), 平均赤血球血色素量 (MCH: HGB, RBCより算出), 平均赤血球血色素濃度 (MCHC: HGB, HCTより算出), 血小板数 (PLT: 暗視野板法) および白血球百分率 (フローサイトケミストリー法) を測定した. 白血球百分率は前述の機器で測定したが, 別途血液塗末標本を作製し, メイ・グリウンワルド・ギムザ染色して保管した. 網赤血球 (RC) 比率の算定については, 抗凝固剤 (EDTA\_3K) 添加血液をニューメチレンブルーで染色後, 血液塗末標本を作製した. 各群とも貧血傾向が認められなかったため, 標本の観察は行わなかった.

## (2) 血液生化学検査

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

## g. 病理学検査

### (1) 剖検および器官重量

#### ①雄動物

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

#### ②自然分娩した雌

哺育4日にエーテル麻酔下で放血安楽死させ, 主要器官の肉眼的観察を行った後, 胸腺, 肺, 肝臓, 腎臓および卵巣重量を測定し器官重量・体重比 (相対重量) を算出した. また, 全動物の重量測定器官に加えて脳, 心臓, 脾臓, 副腎, 下垂体および肉眼所見として変化が認められた器官・組織として大腸を10%中性緩衝ホルマリン液で固定した. また, 剖検時に黄体数および着床痕数を調べた.

③自然分娩の認められない雌

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

④全児死亡の認められた雌

エーテル麻酔下で放血後安楽死させ、主要器官の肉眼的観察を行った後、皮膚、乳腺、リンパ節、唾液腺、胸骨、大腿骨（骨髄を含む）、胸腺、気管、肺および気管支、心臓、甲状腺および上皮小体、舌、食道、胃、十二指腸、小腸、大腸、肝臓、膵臓、脾臓、腎臓、副腎、膀胱、卵巣、子宮、膣、眼球、ハーダー腺、脳、下垂体および脊髄を10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。また、剖検時に黄体数および着床痕数を調べた。

(2) 病理組織学検査

①妊娠を成立させた雄

対照群と高用量群全例の脳、胸腺、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎および精巣について実施した。

②自然分娩した雌

対照群と高用量群全例の脳、胸腺、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎および卵巣について実施した。

③妊娠を成立させなかった雄および妊娠不成立の雌

全例の脳、胸腺、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、膣、子宮、卵巣、精巣、精巣上体、精囊、前立腺および下垂体について実施した。

④全児死亡の認められた雌

全例の皮膚、乳腺、リンパ節、唾液腺、胸骨、大腿骨（骨髄を含む）、胸腺、気管、肺および気管支、心臓、甲状腺および上皮小体、舌、食道、胃、十二指腸、小腸、大腸、肝臓、膵臓、脾臓、腎臓、副腎、膀胱、卵巣、子宮、膣、眼球、ハーダー腺、脳、下垂体および脊髄について実施した。

#### h. 統計解析

体重、摂餌量、黄体数、着床痕数、出産児数、死産児数、性比、平均性周期、妊娠期間、着床率、分娩率、出生率、外形異常発現率、新生児の4日生存率、器官重量、器官重量・体重比（相対重量）、血液学および血液生化学検査値についてはまず Bartlett の等分散検定<sup>3)</sup>を実施した。等分散の場合は一元配置分散分析を行った。分散が有意で各群の標本数が同数の場合は Dunnettの多重比較検定、各群の標本数が異なる場合は Schefféの多重比較検定で対照群と各投与群間の有意差を検定した。Bartlettの等分散検定で不等分散の場合は Kruskal-Wallis の順位検定を実施した。有意で各群の標本数が同数の場合は Dunnettの順位検定、各群の標本数が異なる場合は Schefféの順位検定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 $\chi^2$ 検定<sup>4)・5)</sup>を用いた。なお、哺育期間中の新生児に関する成績は1母体当りの平均を1標本とした。有意水準は \* :  $P < 0.05$  および \*\* :  $P < 0.01$  の2段階とした。

## 11. 試験結果:

### 1) 反復投与毒性

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

死亡例は、投与期間を通じ雌雄いずれの群にも観察されなかった。一般状態の観察では、雄の対照群で歯の異常（切歯の破折）が投与5から7日に1例に観察され、250 mg/kg 群で頸部の脱毛が投与10から19日に、痂皮形成が投与20から21日に同一個体の1例に観察され、また、同群で他の同一個体の1例に頸部の脱毛が投与2から46日に、外傷が投与4から13日に、痂皮形成が投与14から46日に観察された。雌については、投与期間を通じていずれの群にも異常は認められなかった。

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

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

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

雄では、250 および 500 mg/kg 群で対照群に比べて投与43から45日の平均1日摂餌量が高値を示した。

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

#### d. 雄の血液学的検査 (Table 4, Appendix 4)

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

#### e. 雄の血液生化学検査 (Table 5, Appendix 5)

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

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

雄では、1000 mg/kg 群で対照群に比べて胸腺の実重量が増加した。

雌では、対照群と被験物質投与群との間に差のある器官はなかった。

g. 剖検所見 (Table 7-1~7-3, Appendix 7-1~7-2)

妊娠を成立させた雄および自然分娩した雌において、対照群に比べ被験物質投与群に多く観察される所見は認められなかった。なお、妊娠を成立させた雄では、肺の有色斑/区域(灰色)および白色斑/区域が対照群の各1例、肺の赤色斑/区域が対照群を含めた各群の少数例に観察された他、胸腺の赤色斑/区域が500 mg/kg 群の2例に、皮膚の有色斑/区域(灰色)が250 mg/kg 群の1例にそれぞれ観察された。

また、自然分娩した雌では、胸腺の萎縮、肺の有色斑/区域(褐色)、大腸の萎縮および黒色化、肝臓の白色斑/区域、腎臓の瘢痕および卵巣の嚢胞が対照群を含む各投与群に単発的に観察された。なお、妊娠を成立させなかった雄および妊娠不成立の雌が250 mg/kg 群の雌雄各2例に認められたが異常所見は観察されなかった。哺育4日までに全児死亡した母動物が対照群の2例に認められたが、内1例に眼球網膜の赤色化が観察された。

h. 病理組織学検査 (Table 8-1~8-5, Appendix 8-1~8-5)

妊娠を成立させた雄および自然分娩した雌において観察された所見は、いずれも対照群と被験物質投与群との間で発生数に差はなかった。なお、妊娠を成立させた雄では肝臓の肉芽巣(Photo. 1)、腎臓の尿細管上皮の好塩基性化(Photo. 3)、腎臓の好酸性小体出現および副腎の空胞化が両群の比較的多数例に観察された。その他の所見は少数例あるいは単発性の発生であった。なお、器官重量において実重量の増加が認められた胸腺については異常は認められなかった(Photo. 5)。また、自然分娩した雌では脾臓の色素沈着、肺のマクロファージ集簇、肝臓の肉芽巣、腎臓の尿細管上皮の好塩基性化および空胞化などの変化が両群の少数例に観察された。その他の所見も少数例あるいは単発性の発生であった。

哺育4日までに全児死亡が認められた対照群の母動物2例では、子宮の動脈炎・マクロファージ集簇・局所的出血・血管拡張などの変化や乳腺の増生などが観察された。また、内1例には眼球網膜の局所的出血が認められた。

妊娠を成立させなかった雄および妊娠不成立の雌は、250 mg/kg 群の雌雄各2例であり、これらのうち雄の1例で精巣上体の精子肉芽腫が観察された。その他に妊娠不成立の原因を示唆するような所見は観察されなかった。

2) 生殖発生毒性

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

交尾は、対照群を含むすべての群で全例成立した。受胎は、0, 500 および 1000 mg/kg 群の交尾が成立した雌の全例で成立し、250 mg/kg 群では12例中10例(83.3%)で成立した。

性周期観察では、いずれの群もほぼ4~5日の性周期を示し平均性周期に群間差は認められなかったが、1000 mg/kg 群の1例に偽妊娠と考えられる性周期の停止(連続した発情休止期像)が交配直後から認められた。この例は性周期の停止が13日間続いた後交尾が成立した。

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

対照群および 1000 mg/kg 群で出産生児の雌雄の数に偏りが生じたため、両群の性に差が認められた。さらに対照群の雌の出産生児が哺育 4 日までに他の群と比べ多数死亡したため、雌の 4 日生存字数に対照群と 1000 mg/kg 群との間に差が認められた。その他、分娩状態には異常が観察されず、各群の妊娠期間、黄体数、着床痕数、出産生児数および死産児数はほぼ同様な値を示し、出産率、着床率、分娩率、出生率および 4 日生存率に群間差は認められなかった。

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

新生児の外表検査では、皮下出血が対照群の 2 例、鎖肛および痕跡尾が対照群の同一個体の 1 例、矮小児が 250 mg/kg 群の 1 例、短尾が 500 mg/kg 群の 1 例に観察された。哺育期間中の体重では、雌雄ともに群間差は認められなかった。死亡児の剖検では、胸腺頸部残留が対照群および 250 mg/kg 群の各 1 例、横隔膜ヘルニアが 500 mg/kg 群の 2 例に観察された。哺育 4 日の剖検では、雌雄に胸腺の頸部残留が散見された。

## 12. 考察および結論：

### 1) 反復投与毒性

死亡例は、投与期間を通じ雌雄いずれの群にも認められなかった。一般状態の観察では、雌に異常は認められず、雄で認められた異常所見はいずれも単発性または少数例の発生であり、被験物質投与の影響によるものとは考えられなかった。

体重については、雌雄ともに被験物質投与の影響は認められなかった。雄の 250 および 500 mg/kg 群で投与43から45日に摂餌量が高値を示したが累積摂餌量に反映されない軽微な変化であり、投与期間前半期の摂餌量に比べるとむしろ低い値を示していることから、対照群の値が偶発的に低かったことに起因する変化と考えられた。雌の摂餌量に変化は認められなかった。

雄の血液学的検査および血液生化学検査では被験物質投与の影響は認められなかった。

器官重量は、雄の 1000 mg/kg 群で胸腺の実重量が高値を示したが、相対重量には統計学的に有意な変化は認められなかった。また、病理組織学検査で同器官に異常はみられず、血液学的検査で同器官の機能に関連すると考えられるリンパ球比率に変化が認められないことから、胸腺の重量変化と被験物質投与との関連は明らかではなかった。なお、2週間反復投与による予備試験で雌の 1000 mg/kg 群で肺重量が高値を示したが、本試験の同一用量群に同様の変化は認められなかった。

病理学検査の結果、剖検所見・組織所見ともに妊娠を成立させた雄および自然分娩した雌において、対照群に比べ被験物質投与群に多く観察される所見は認められず、いずれの所見も自然発生的な病変と考えられた。全児死亡の母動物に共通する所見として、子宮の動脈炎・マクロファージ集簇・局所的出血・血管拡張などの変化や乳腺の増生などが観察された。また、妊娠を成立させなかった雄の1例で精巣上体の精子肉芽腫が観察された。しかし、妊娠不成立の雌を含めいずれの動物においても被験物質投与の影響を示唆するような所見は認められなかった。

以上のことから、ドデカン酸メチルエステルの反復投与毒性は 1000 mg/kg/day 投与によっても認められず、無影響量は雌雄ともに 1000 mg/kg/day と判断された。

## 2) 生殖発生毒性

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、性周期についても被験物質投与の影響は認められなかった。妊娠を成立させなかった雄および妊娠が成立しなかった雌は 250 mg/kg 群で各 2 例観察され、病理組織学検査の結果、雄の 1 例に精巢上体の精子肉芽腫が認められた。本所見は不妊の原因に関する所見と考えられるが、この所見は 500 および 1000 mg/kg 群では認められず、被験物質投与との関連は明らかではなかった。分娩時観察では妊娠動物の全例が正常に分娩し、妊娠期間にも被験物質投与の影響は認められなかった。出産生児の性比が対照群の 1.58 に対し 1000 mg/kg 群で 0.79 と低値を示し統計学的有意差が認められたが、当センターの背景値 (0.84~1.08) との比較ではむしろ対照群の値が偶発的に高かったと考えられ、毒性的に意義のある変化とは考えられなかった。また、1000 mg/kg 群で認められた雌の 4 日生存児数の高値も性比の偏りに起因する変化と考えられ、被験物質投与の影響とは考えられなかった。

新生児の外表検査で、被験物質投与群に認められた所見はいずれも単発性であり、自然発生性の所見と考えられた。また、新生児の体重も哺育 4 日まで順調に増加し、死産児、死亡児および哺育 4 日の剖検でも被験物質投与による影響は認められなかった。

以上のことから、ドデカン酸メチルエステルによる雌雄の生殖に及ぼす影響および児動物の発生・発育に及ぼす影響は、1000 mg/kg/day 投与によっても認められず、無影響量はともに 1000 mg/kg/day と判断された。

13. 参 考 文 献 :

- 1) Food & Drug Research Laboratories, Inc (FDRLI)., Papere.
- 2) OECD guideline for testing of chemicals: Extended Steering Group Document. No. 3 (1990).
- 3) Shayne, C. G. and Carrol, S. W. : Statics and Experimental Design For Toxicologists. Telford Press (1986).
- 4) 佐久間昭 : 薬効評価 I - 計画と解析 -, 東京大学出版会 (1977) .
- 5) 石居 進 : 生物統計学入門, 培風館 (1975) .

Exp. No. 2474 (115-038)

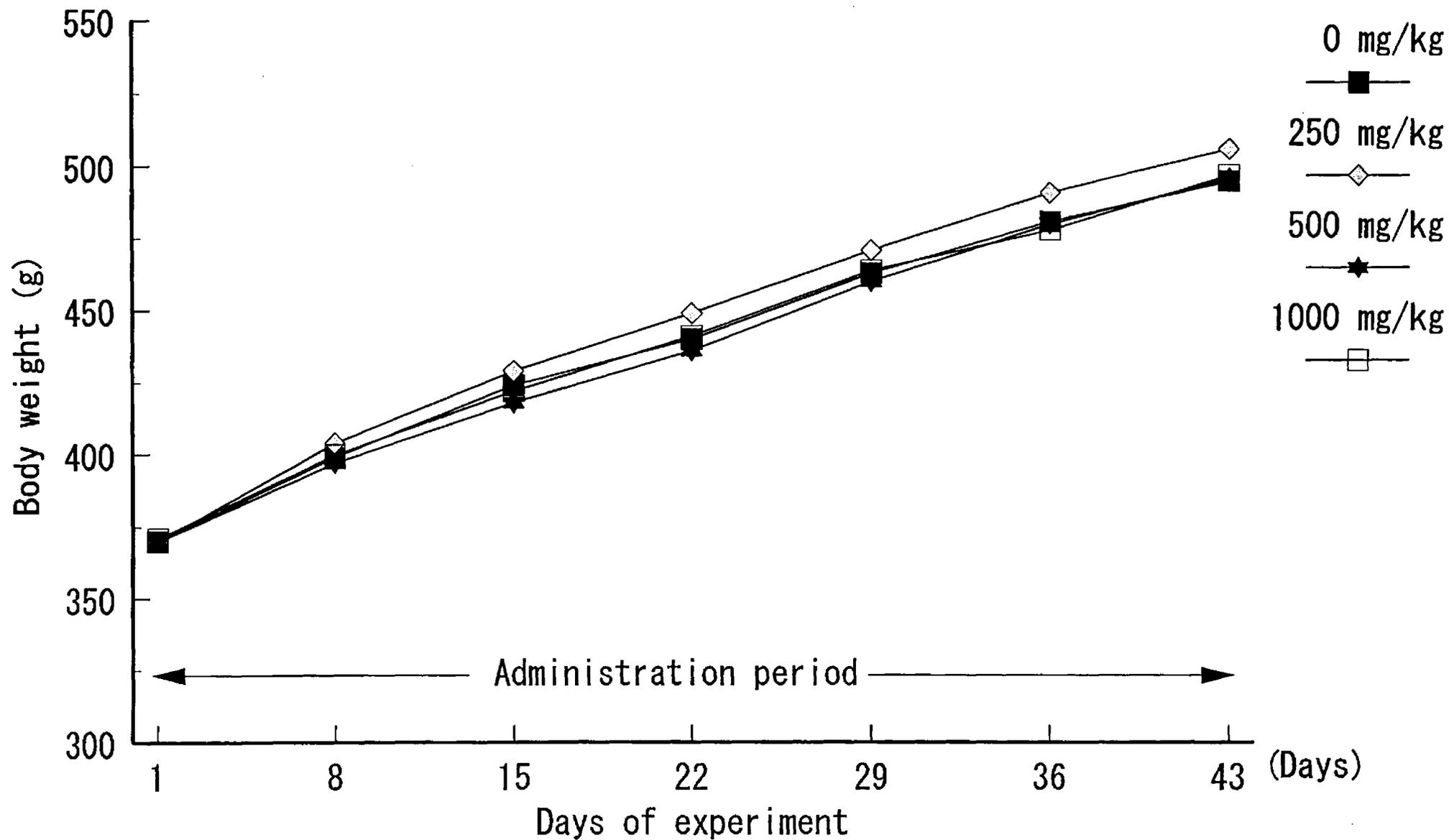


Figure 1 Body weight change of male rats

Exp. No. 2474 (115-038)

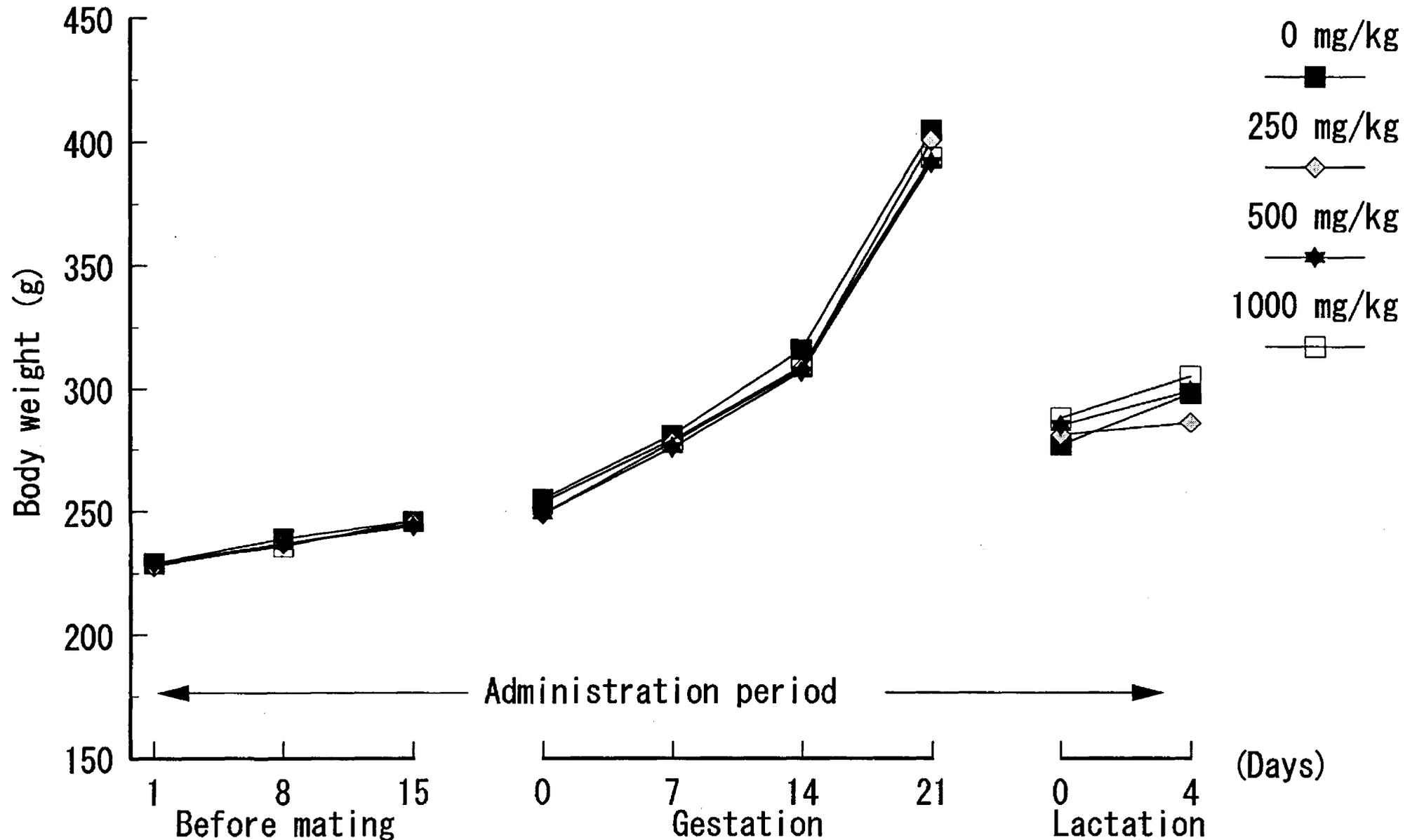


Figure 2 Body weight change of female rats

Exp. No. 2474 (115-038)

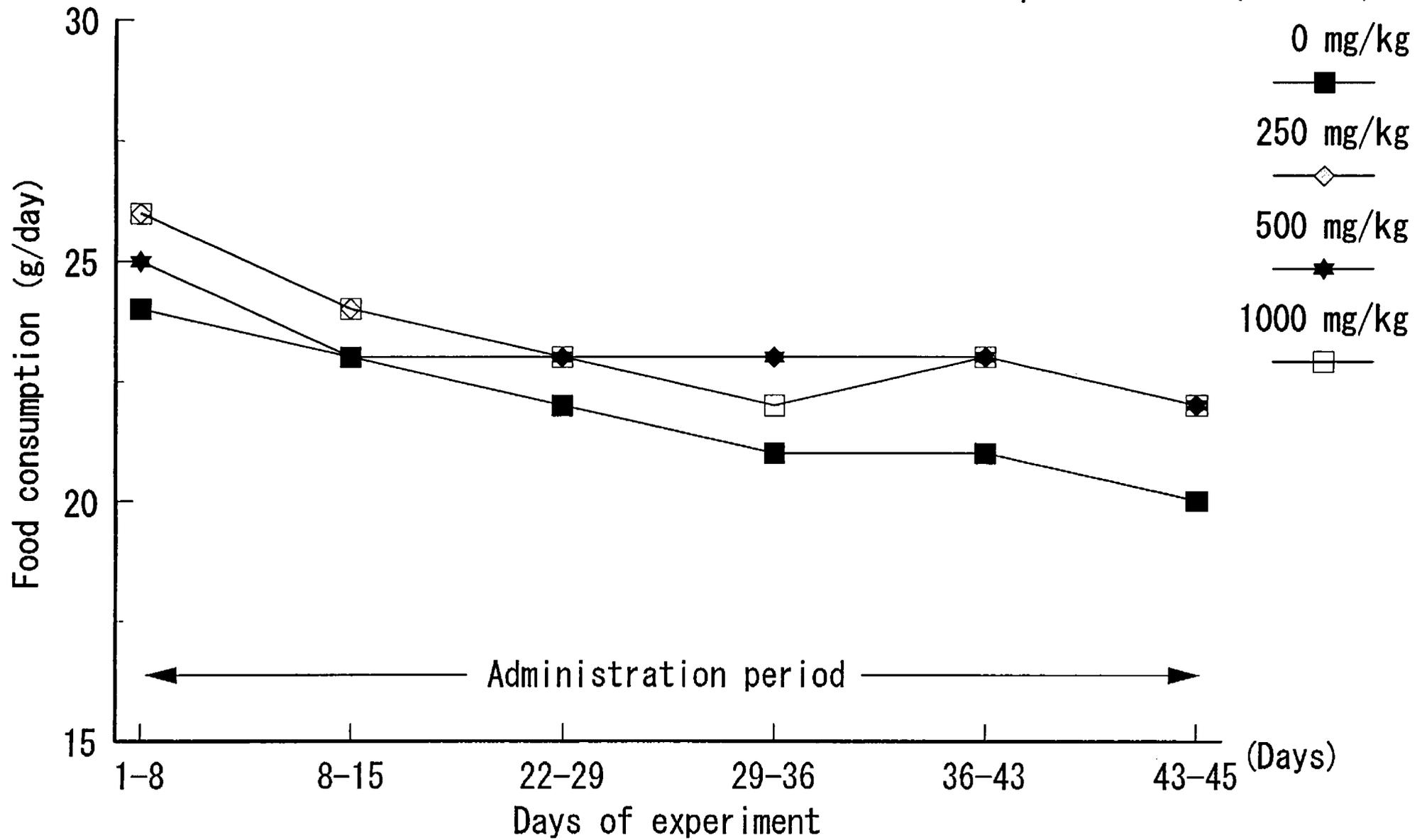


Figure 3 Food consumption of male rats

Exp. No. 2474 (115-038)

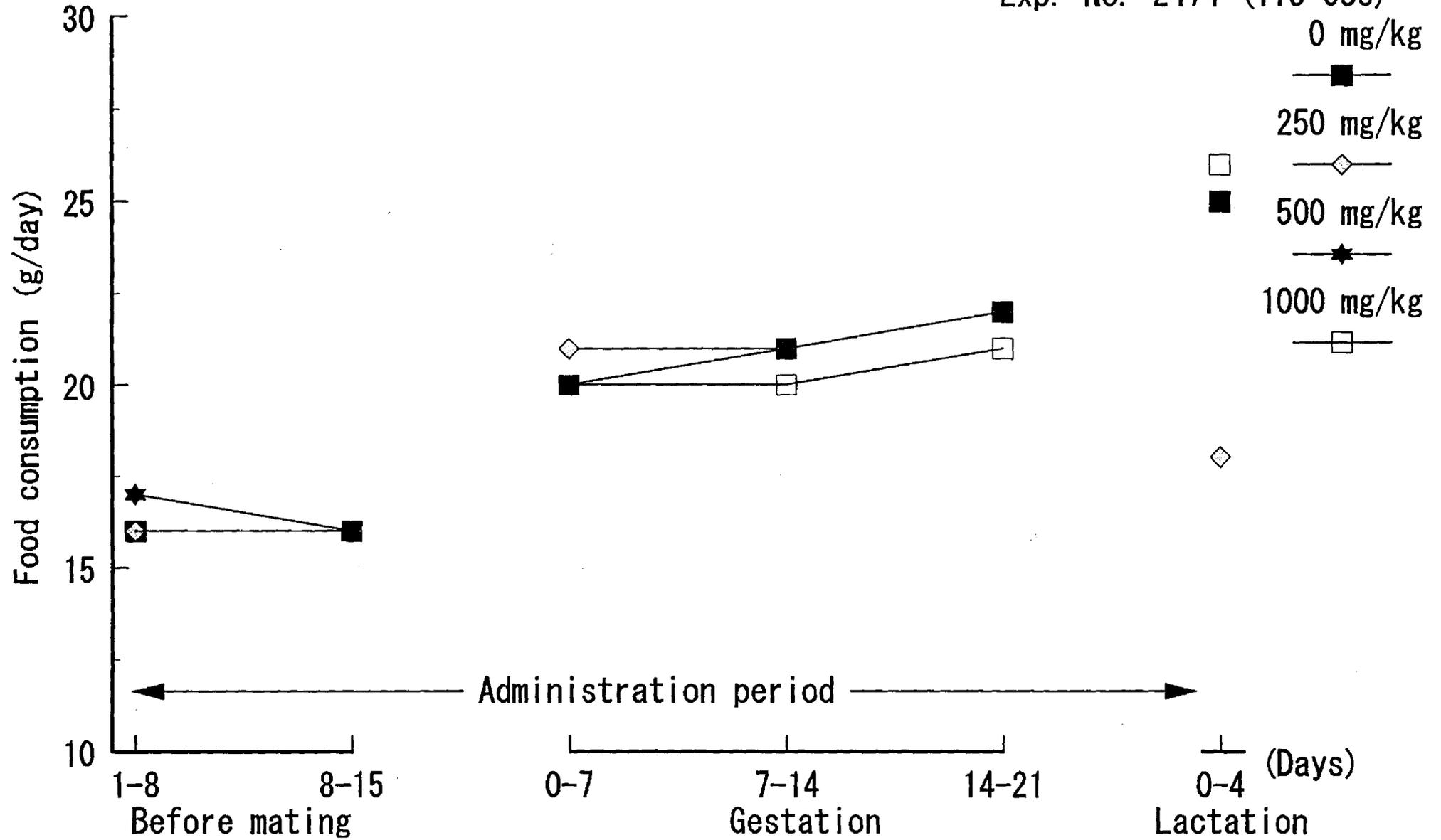


Figure 4 Food consumption of female rats

Table 1-1

## Clinical observations on male rats

Exp. No. 2474 (115-038)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of experiment							Total ( 1-46)
		1- 7	8-14	15-21	22-28	29-35	36-42	43-46	
number per group	0	12	12	12	12	12	12	12	
	250	12	12	12	12	12	12	12	
	500	12	12	12	12	12	12	12	
	1000	12	12	12	12	12	12	12	
sacrificed	0	0	0	0	0	0	0	12	12
	250	0	0	0	0	0	0	12	12
	500	0	0	0	0	0	0	12	12
	1000	0	0	0	0	0	0	12	12
normal	0	11	12	12	12	12	12	12	11
	250	11	10	10	11	11	11	11	10
	500	12	12	12	12	12	12	12	12
	1000	12	12	12	12	12	12	12	12
loss of hair	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	250	1	2	2	1	1	1	1 a)	2 b)
	500	0	0	0	0	0	0	0	0
	1000	0	0	0	0	0	0	0	0
trauma	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	250	1	1	0	0	0	0	0	1
	500	0	0	0	0	0	0	0	0
	1000	0	0	0	0	0	0	0	0
crust	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	250	0	1	2	1	1	1	1	2
	500	0	0	0	0	0	0	0	0
	1000	0	0	0	0	0	0	0	0
teeth abnormality	0	1	0	0	0	0	0	0	1
	250	0	0	0	0	0	0	0	0
	500	0	0	0	0	0	0	0	0
	1000	0	0	0	0	0	0	0	0

a) No. of animals observed sign in group

b) Total of animals observed sign

Table 1-2

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

Exp. No. 2474 (115-038)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of experiment					Total ( 1-29)
		1- 7	8-14	15-21	22-28	29	
number per group	0	12	12	12	0	0	
	250	12	12	12	0	0	
	500	12	12	12	0	0	
	1000	12	12	12	1	1	
copulation	0	0	0	12	0	0	12
	250	0	0	12	0	0	12
	500	0	0	12	0	0	12
	1000	0	0	11	0	1	12
normal	0	12	12	12	0	0	12
	250	12	12	12	0	0	12
	500	12	12	12	0	0	12
	1000	12	12	12	1	1	12



Table 1-3 -continued

Clinical observations on female rats  
(Gestation period)

Exp. No. 2474 (115-038)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of gestation											Total (0-24)	
		13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23		24
number per group	0	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	10	1	
	250	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	6	0	
	500	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	7	0	
	1000	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	5	0	
delivery	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	9	1	12
	250	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	6	0	10
	500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	7	0	12
	1000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	5	0	12
normal	0	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	10	1	12
	250	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	6	0	10
	500	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	7	0	12
	1000	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	5	0	12

Table 1-4

Clinical observations on female rats  
(Lactation period)

Exp. No. 2474 (115-038)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of lactation					Total ( 0- 4)
		0	1	2	3	4	
number per group	0	12	12	10	10	10	
	250	10	10	10	10	10	
	500	12	12	12	12	12	
	1000	12	12	12	12	12	
sacrificed	0	0	0	0	0	10	10
	250	0	0	0	0	10	10
	500	0	0	0	0	12	12
	1000	0	0	0	0	12	12
sacrificed (all pups died)	0	0	2	0	0	0	2
	250	0	0	0	0	0	0
	500	0	0	0	0	0	0
	1000	0	0	0	0	0	0
normal	0	12	12	10	10	10	12
	250	10	10	10	10	10	10
	500	12	12	12	12	12	12
	1000	12	12	12	12	12	12

Table 2-1

## Body weight change of male rats

Exp. No. 2474 (115-038)

Dose level (mg/kg)		0				250				500				1000			
Before mating period		12				12				12				12			
No. of animals		Mean ± S.D. (N)															
Days of experiment	1	370	±	8	(12)	370	±	9	(12)	370	±	9	(12)	371	±	9	(12)
	8	399	±	11	(12)	404	±	15	(12)	397	±	15	(12)	400	±	13	(12)
	15	424	±	11	(12)	429	±	17	(12)	418	±	18	(12)	422	±	16	(12)
	22	440	±	13	(12)	449	±	21	(12)	436	±	17	(12)	441	±	15	(12)
	29	463	±	22	(12)	471	±	22	(12)	460	±	18	(12)	464	±	19	(12)
	36	481	±	23	(12)	491	±	28	(12)	480	±	21	(12)	478	±	25	(12)
	43	495	±	25	(12)	506	±	32	(12)	496	±	23	(12)	497	±	32	(12)
Gain	1-43	124	±	26	(12)	137	±	28	(12)	126	±	20	(12)	127	±	27	(12)

Unit : g

Table 2-2

## Body weight change of female rats

Exp. No. 2474 (115-038)

Unit : g

Dose level (mg/kg)		0		250		500		1000	
<b>Before mating period</b>		12		12		12		12	
No. of animals		12		12		12		12	
		Mean ± S.D.	( N )	Mean ± S.D.	( N )	Mean ± S.D.	( N )	Mean ± S.D.	( N )
Days of before mating	1	229 ± 7	(12)	228 ± 7	(12)	229 ± 7	(12)	229 ± 7	(12)
	8	239 ± 8	(12)	237 ± 8	(12)	237 ± 12	(12)	236 ± 12	(12)
	15	246 ± 7	(12)	245 ± 9	(12)	244 ± 13	(12)	246 ± 12	(12)
	Gain 1-15	18 ± 5	(12)	17 ± 8	(12)	15 ± 8	(12)	17 ± 7	(12)
-----									
<b>Gestation period</b>		12		10		12		12	
No. of dams		12		10		12		12	
		Mean ± S.D.	( N )	Mean ± S.D.	( N )	Mean ± S.D.	( N )	Mean ± S.D.	( N )
Days of gestation	0	255 ± 10	(12)	249 ± 9	(10)	249 ± 14	(12)	254 ± 16	(12)
	7	281 ± 9	(12)	278 ± 15	(10)	276 ± 11	(12)	279 ± 13	(12)
	14	316 ± 10	(12)	308 ± 15	(10)	307 ± 14	(12)	309 ± 18	(12)
	21	405 ± 23	(12)	401 ± 21	(10)	392 ± 27	(12)	394 ± 29	(12)
Gain 0-21	150 ± 24	(12)	152 ± 18	(10)	143 ± 22	(12)	141 ± 29	(12)	
-----									
<b>Lactation period</b>		12		10		12		12	
No. of dams		12		10		12		12	
		Mean ± S.D.	( N )	Mean ± S.D.	( N )	Mean ± S.D.	( N )	Mean ± S.D.	( N )
Days of lactation	0	277 ± 24	(12)	281 ± 18	(10)	285 ± 19	(12)	288 ± 19	(12)
	4	298 ± 13	(10)	286 ± 31	(10)	299 ± 22	(12)	305 ± 18	(12)
	Gain 0-4	21 ± 16	(10)	5 ± 20	(10)	13 ± 13	(12)	16 ± 17	(12)

Table 3-1

## Food consumption of male rats

Exp. No. 2474 (115-038)

Unit : g/day

Dose level (mg/kg)		0			250			500			1000		
Before mating period		12			12			12			12		
No. of animals													
		Mean	±	S.D.	( N )	Mean	±	S.D.	( N )	Mean	±	S.D.	( N )
Days of experiment	1- 8	24	±	2	(12)	26	±	2	(12)	25	±	3	(12)
	8-15	23	±	1	(12)	24	±	2	(12)	23	±	2	(12)
	22-29	22	±	2	(12)	23	±	2	(12)	23	±	2	(12)
	29-36	21	±	2	(12)	23	±	2	(12)	23	±	2	(12)
	36-43	21	±	2	(12)	23	±	3	(12)	23	±	2	(12)
	43-45	20	±	2	(12)	22	±	3*	(12)	22	±	2*	(12)
Cumulative consumption (g)	1-15	333	±	20	(12)	347	±	30	(12)	341	±	31	(12)
	22-45	490	±	40	(12)	529	±	49	(12)	528	±	41	(12)

Values in parentheses are expressed number of animals measured  
 Significant difference from control group; \*:  $p \leq 0.05$

Table 3-2

## Food consumption of female rats

Exp. No. 2474 (115-038)

Unit : g/day

Dose level (mg/kg)		0	250	500	1000
Before mating period					
No. of animals		12	12	12	12
		Mean ± S.D. ( N)			
Days of before mating	1- 8	16 ± 1 (12)	16 ± 1 (12)	17 ± 1 (12)	16 ± 1 (12)
Cumulative consumption (g)	8-15	16 ± 1 (12)	16 ± 2 (12)	16 ± 1 (12)	16 ± 1 (12)
	1-15	227 ± 14 (12)	225 ± 21 (12)	228 ± 19 (12)	221 ± 14 (12)
-----					
Gestation period					
No. of dams		12	10	12	12
		Mean ± S.D. ( N)			
Days of gestation	0- 7	20 ± 2 (12)	21 ± 3 (10)	20 ± 2 (12)	20 ± 2 (12)
	7-14	21 ± 2 (12)	21 ± 3 (10)	21 ± 2 (12)	20 ± 3 (12)
Cumulative consumption (g)	14-21	22 ± 2 (12)	22 ± 2 (10)	22 ± 2 (12)	21 ± 3 (12)
	0-21	441 ± 36 (12)	447 ± 47 (10)	439 ± 39 (12)	429 ± 51 (12)
-----					
Lactation period					
No. of dams		12	10	12	12
		Mean ± S.D. ( N)			
Days of lactation	0-4	25 ± 10 (10)	18 ± 9 (10)	25 ± 6 (12)	26 ± 6 (12)

Table 4

## Hematology of male rats

Exp. No. 2474 (115-038)

Dose level (mg/kg)	0		250		500		1000	
No. of animals	12		12		12		12	
	Mean	± S.D. (N)						
HCT(%)	43.4	± 1.7 (12)	42.6	± 1.7 (12)	43.1	± 1.2 (12)	43.4	± 1.0 (12)
HGB(g/dl)	14.5	± 0.4 (12)	14.3	± 0.5 (12)	14.3	± 0.5 (12)	14.6	± 0.3 (12)
RBC( $\times 10^6/\text{mm}^3$ )	7.90	± 0.45 (12)	7.75	± 0.39 (12)	7.90	± 0.23 (12)	7.85	± 0.26 (12)
MCV( $\mu\text{m}^3$ )	55.0	± 1.5 (12)	55.1	± 1.3 (12)	54.6	± 1.3 (12)	55.3	± 1.4 (12)
MCH(pg)	18.3	± 0.6 (12)	18.4	± 0.6 (12)	18.2	± 0.4 (12)	18.6	± 0.7 (12)
MCHC(%)	33.4	± 0.4 (12)	33.4	± 0.5 (12)	33.2	± 0.3 (12)	33.7	± 0.7 (12)
PLT( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	969	± 98 (12)	960	± 96 (12)	958	± 105 (12)	1001	± 119 (12)
WBC( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	11.3	± 2.2 (12)	10.6	± 3.0 (12)	12.4	± 2.8 (12)	11.2	± 3.2 (12)
Differential leukocyte counts(%)								
NEUT	15	± 4N (12)	21	± 12 (12)	14	± 4 (12)	16	± 4 (12)
LYMPH	79	± 4N (12)	74	± 12 (12)	81	± 5 (12)	79	± 4 (12)
MONO	3	± 1 (12)	3	± 1 (12)	2	± 1 (12)	3	± 1 (12)
EOSN	1	± 1 (12)	1	± 0 (12)	1	± 0 (12)	1	± 1 (12)
BASO	0	± 0 (12)	0	± 0 (12)	0	± 0 (12)	0	± 0 (12)
LUC	1	± 0 (12)	1	± 0 (12)	1	± 0 (12)	1	± 0 (12)

NEUT : Neutrophil      LYMPH : Lymphocyte      MONO : Monocyte      EOSN : Eosinophil      BASO : Basophil      LUC : Large unstained cells  
 N : Non parametric analysis

Table 5

## Blood chemistry of male rats

Exp. No. 2474 (115-038)

Dose level (mg/kg)	0	250	500	1000
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)
T.protein(g/dl)	5.68 $\pm$ 0.22 (12)	5.61 $\pm$ 0.15 (12)	5.59 $\pm$ 0.16 (12)	5.70 $\pm$ 0.18 (12)
Albumin(g/dl)	3.24 $\pm$ 0.12 (12)	3.21 $\pm$ 0.11 (12)	3.21 $\pm$ 0.07 (12)	3.22 $\pm$ 0.13 (12)
A/G	1.33 $\pm$ 0.04 (12)	1.33 $\pm$ 0.06 (12)	1.35 $\pm$ 0.06 (12)	1.30 $\pm$ 0.07 (12)
Glucose(mg/dl)	164 $\pm$ 15 (12)	168 $\pm$ 22 (12)	161 $\pm$ 13 (12)	167 $\pm$ 14 (12)
BUN(mg/dl)	12.4 $\pm$ 1.1 (12)	12.1 $\pm$ 2.3 (12)	11.9 $\pm$ 1.5 (12)	12.4 $\pm$ 1.9 (12)
Creatinine(mg/dl)	0.56 $\pm$ 0.07 (12)	0.59 $\pm$ 0.08 (12)	0.53 $\pm$ 0.06 (12)	0.56 $\pm$ 0.04 (12)
T.cholesterol(mg/dl)	54 $\pm$ 14 (12)	50 $\pm$ 11 (12)	44 $\pm$ 12 (12)	50 $\pm$ 14 (12)
GOT(U/l)	41 $\pm$ 11 (12)	39 $\pm$ 5 (12)	43 $\pm$ 9 (12)	41 $\pm$ 6 (12)
GPT(U/l)	16 $\pm$ 5N (12)	17 $\pm$ 2 (12)	18 $\pm$ 3 (12)	15 $\pm$ 2 (12)
Gamma-GTP(U/l)	0.6 $\pm$ 0.3 (12)	0.6 $\pm$ 0.2 (12)	0.6 $\pm$ 0.2 (12)	0.6 $\pm$ 0.4 (12)
T.bilirubin(mg/dl)	0.07 $\pm$ 0.02 (12)	0.06 $\pm$ 0.02 (12)	0.06 $\pm$ 0.03 (12)	0.07 $\pm$ 0.03 (12)
Potassium(mmol/l)	4.88 $\pm$ 0.22N (12)	4.70 $\pm$ 0.26 (12)	4.96 $\pm$ 0.47 (12)	4.91 $\pm$ 0.27 (12)
Chloride(mmol/l)	106.9 $\pm$ 1.5 (12)	106.5 $\pm$ 1.0 (12)	107.3 $\pm$ 1.3 (12)	106.5 $\pm$ 1.0 (12)
Calcium(mg/dl)	10.00 $\pm$ 0.18 (12)	9.89 $\pm$ 0.24 (12)	9.93 $\pm$ 0.22 (12)	9.86 $\pm$ 0.36 (12)
I.phosphate(mg/dl)	6.64 $\pm$ 0.63 (12)	6.60 $\pm$ 0.53 (12)	6.45 $\pm$ 0.52 (12)	6.44 $\pm$ 0.74 (12)

N : Non parametric analysis

Table 6-1

## Absolute and relative organ weight of male rats

Exp. No. 2474 (115-038)

Dose level (mg/kg)	0		250		500		1000	
No. of animal examined	12		12		12		12	
	Mean	± S.D.						
Body weight (g)	479 ±	25	492 ±	32	484 ±	22	481 ±	30
Absolute organ weight								
Thymus (mg)	311 ±	37	352 ±	97	332 ±	55	393 ±	65**
Liver (g)	13.88 ±	1.27	14.07 ±	1.72	14.07 ±	1.03	14.17 ±	1.48
Kidneys (g)	2.95 ±	0.33	3.10 ±	0.33	2.95 ±	0.28	3.16 ±	0.29
Testes (g)	3.27 ±	0.27	3.35 ±	0.32	3.33 ±	0.23	3.35 ±	0.23
Epididymides (mg)	1170 ±	121	1231 ±	115	1169 ±	74	1129 ±	68
Lung (g)	1.43 ±	0.13	1.53 ±	0.13	1.44 ±	0.11	1.48 ±	0.10
Relative organ weight								
Thymus (mg%)	65.293 ±	9.684	71.750 ±	21.322	68.556 ±	11.427	82.016 ±	15.221
Liver (g%)	2.897 ±	0.170	2.853 ±	0.200	2.908 ±	0.133	2.942 ±	0.172
Kidneys (g%)	0.617 ±	0.057	0.630 ±	0.057	0.610 ±	0.043	0.658 ±	0.065
Testes (g%)	0.684 ±	0.060	0.681 ±	0.054	0.689 ±	0.047	0.698 ±	0.058
Epididymides (mg%)	245.069 ±	28.425	250.361 ±	19.188	241.751 ±	9.980	235.246 ±	15.056
Lung (g%)	0.299 ±	0.028	0.312 ±	0.031	0.297 ±	0.016	0.308 ±	0.019

Significant difference from control group; \*\*: p ≤ 0.01

Table 6-2

## Absolute and relative organ weight of female rats

Exp. No. 2474 (115-038)

Dose level (mg/kg)	0		250		500		1000	
No. of dams examined	10		10		12		12	
	Mean	± S.D.						
Body weight (g)	295 ±	23	286 ±	31	299 ±	22	305 ±	18
Absolute organ weight								
Thymus (mg)	158 ±	56	151 ±	59	189 ±	75	204 ±	41
Liver (g)	12.69 ±	1.03	11.68 ±	2.04	11.99 ±	1.17	12.16 ±	1.40
Kidneys (g)	2.03 ±	0.21	2.05 ±	0.21	1.96 ±	0.14	2.04 ±	0.15
Ovaries (mg)	108 ±	18	104 ±	13	101 ±	16	102 ±	17
Lung (g)	1.10 ±	0.09	1.18 ±	0.11	1.17 ±	0.14	1.21 ±	0.09
Relative organ weight								
Thymus (mg%)	52.625 ±	17.059	51.817 ±	18.233	63.081 ±	24.486	66.931 ±	12.776
Liver (g%)	4.269 ±	0.342	4.052 ±	0.420	4.017 ±	0.285	3.982 ±	0.281
Kidneys (g%)	0.681 ±	0.063	0.721 ±	0.085	0.659 ±	0.049	0.671 ±	0.041
Ovaries (mg%)	36.359 ±	6.126	37.070 ±	8.844	33.874 ±	5.329	33.390 ±	5.549
Lung (g%)	0.369 ±	0.026	0.415 ±	0.047	0.396 ±	0.064	0.399 ±	0.035

Table 7-1

## Summary of gross findings ( successful pregnancy )

Exp. No. 2474 (115-038)

Sex: Male

Dose level ( mg/kg )		0	250	500	1000
No. of animals necropsied		12	10	12	12
Organ	Findings				
<b>HEMATOPOIETIC SYSTEM</b>					
thymus	red patch/zone	0	0	2	0
<b>RESPIRATORY SYSTEM</b>					
lung	colored patch/zone	1	0	0	0
	red patch/zone	1	2	4	3
	white patch/zone	1	0	0	0
<b>INTEGUMENTARY SYSTEM</b>					
skin	colored patch/zone	0	1	0	0

Table 7-2 Summary of gross findings ( day 4 of lactation )

Exp. No. 2474 (115-038)

Sex: Female

Dose level ( mg/kg )	0	250	500	1000
No. of animals necropsied	10	10	12	12
Organ Findings				
<b>HEMATOPOIETIC SYSTEM</b>				
thymus atrophic	0	1	1	0
<b>RESPIRATORY SYSTEM</b>				
lung colored patch/zone	0	1	1	1
<b>DIGESTIVE SYSTEM</b>				
large intestine atrophic	0	1	0	0
	0	1	0	0
liver white patch/zone	0	1	0	0
<b>URINARY SYSTEM</b>				
kidney scarred	0	0	0	1
<b>REPRODUCTIVE SYSTEM</b>				
ovary cyst	1	0	1	1

Table 7-3 Summary of gross findings ( all pups died )

Exp. No. 2474 (115-038)

Sex: Female

Dose level ( mg/kg )	0	250	500	1000
No. of animals necropsied	2	0	0	0
Organ Findings				
SPECIAL SENSE SYSTEM	1	-	-	-
eye				
reddish				

Table 8-1 Summary of histological findings ( successful pregnancy )

Exp. No. 2474 (115-038)

Sex: Male

Dose level ( mg/kg )	0			250			500			1000			
No. of animals sacrificed	12			10			12			12			
No. of animals necropsied	12			10			12			12			
No. of animals examined histologically	12			0			0			12			
Organ	Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
<b>CARDIOVASCULAR SYSTEM</b>													
heart		(12)				( 0 )				( 0 )			
	granulation	-	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	infiltration/cellular	-	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
										(12)	0	0	0
											1	0	0
<b>HEMATOPOIETIC SYSTEM</b>													
spleen		(12)				( 0 )				( 0 )			
	deposit of pigment	-	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
											1	0	0
thymus		(12)				( 0 )				( 0 )			
	congestion	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
											0	0	0
<b>RESPIRATORY SYSTEM</b>													
lung		(12)				( 0 )				( 0 )			
	congestion	-	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	accumulation of macrophage	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	granulation	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	infiltration/cellular	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	interstitial pneumonia	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	osseous metaplasia	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
											3	0	0
											2	0	0
											0	0	0
											2	0	0
											0	0	0
											0	0	0
<b>DIGESTIVE SYSTEM</b>													
liver		(12)				( 0 )				( 0 )			
	fatty change	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	granulation	-	5	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	lymphocytic infiltration	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	bile duct hyperplasia	-	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
											0	0	0
											5	0	0
											5	0	0
											3	0	0
											1	0	0
<b>URINARY SYSTEM</b>													
kidney		(12)				( 0 )				( 0 )			
	basophilic change	-	8	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	cyst	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	deposit of calcium	-	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	eosinophilic body	-	4	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	hyaline droplet	-	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	tubular dilatation	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	lymphocytic infiltration	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
											5	0	0
											0	0	0
											2	0	0
											4	0	0
											1	0	0
											0	0	0
											1	0	0
<b>REPRODUCTIVE SYSTEM</b>													
testis		(12)				( 0 )				( 0 )			
	atrophy, seminiferous	-	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
											0	0	0

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

-: Not applicable.

Table 8-1 -continued Summary of histological findings ( successful pregnancy )

Exp. No. 2474 (115-038)

Sex: Male

Dose level ( mg/kg )	0				250				500				1000			
No. of animals sacrificed	12				10				12				12			
No. of animals necropsied	12				10				12				12			
No. of animals examined histologically	12				0				0				12			
Organ	Findings				T 1 2 3				T 1 2 3				T 1 2 3			

REPRODUCTIVE SYSTEM

testis																
multinucleated giant cell	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0

ENDOCRINE SYSTEM

adrenal gland	(12)				( 0 )				( 0 )				(12)			
vacuolic change	-	6	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7	0	0

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

=: benign    #: malignant

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

-: Not applicable.

Table 8-2 Summary of histological findings ( day 4 of lactation )

Exp. No. 2474 (115-038)

Sex: Female

Dose level ( mg/kg )	0			250			500			1000			
No. of animals sacrificed	10			10			12			12			
No. of animals necropsied	10			10			12			12			
No. of animals examined histologically	10			0			0			12			
Organ	Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
<b>CARDIOVASCULAR SYSTEM</b>													
heart		(10)				( 0 )				( 0 )			
	infiltration/cellular	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
										(11)		0	0
<b>HEMATOPOIETIC SYSTEM</b>													
spleen		(10)				( 0 )				( 0 )			
	deposit of pigment	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	hematopoiesis, increased	-	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
										(12)		2	0
thymus		(10)				( 0 )				( 0 )			
	atrophy	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
										(12)		0	0
<b>RESPIRATORY SYSTEM</b>													
lung		(10)				( 0 )				( 0 )			
	deposit of crystal	-	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	accumulation of macrophage	-	3	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	granulation	-	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
										(12)		1	0
<b>DIGESTIVE SYSTEM</b>													
liver		(10)				( 0 )				( 0 )			
	fatty change	-	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	necrosis, focal	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	granulation	-	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
										(11)		1	0
<b>URINARY SYSTEM</b>													
kidney		(10)				( 0 )				( 0 )			
	basophilic change	-	3	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	cyst	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	vacuolic change	-	4	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	fibrosis	-	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
										(12)		3	0
<b>REPRODUCTIVE SYSTEM</b>													
ovary		(10)				( 0 )				( 0 )			
	cyst	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
										(12)		1	0

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

-: Not applicable.

Table 8-3

## Summary of histological findings ( non-pregnancy )

Exp. No. 2474 (115-038)

Sex: Male

Dose level ( mg/kg )	0			250			500			1000					
No. of animals non-pregnancy	0			2			0			0					
No. of animals necropsied	0			2			0			0					
No. of animals examined histologically	0			2			0			0					
Organ	Findings			T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
<b>CARDIOVASCULAR SYSTEM</b>															
heart															
	infiltration/cellular				( 2 )	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-
<b>DIGESTIVE SYSTEM</b>															
liver															
	granulation				( 2 )	-	2	0	0	-	-	-	-	-	-
<b>URINARY SYSTEM</b>															
kidney															
	basophilic change				( 2 )	-	2	0	0	-	-	-	-	-	-
	cyst					-	1	0	0	-	-	-	-	-	-
	eosinophilic body					-	1	0	0	-	-	-	-	-	-
<b>REPRODUCTIVE SYSTEM</b>															
epididymis															
	spermatic granuloma				( 2 )	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-
<b>ENDOCRINE SYSTEM</b>															
adrenal gland															
	vacuolic change				( 2 )	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-

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

=: benign #: malignant

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

-: Not applicable.

Table 8-4 Summary of histological findings ( non-pregnancy ) Exp. No. 2474 (115-038)

Sex: Female

Dose level ( mg/kg )	0				250				500				1000			
No. of animals non-pregnancy	0				2				0				0			
No. of animals necropsied	0				2				0				0			
No. of animals examined histologically	0				2				0				0			
Organ	Findings				T 1 2 3				T 1 2 3				T 1 2 3			
<b>HEMATOPOIETIC SYSTEM</b>																
spleen					( 2 )											
deposit of pigment	-	-	-	-	-	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>REPRODUCTIVE SYSTEM</b>																
ovary					( 2 )											
deposit of pigment	-	-	-	-	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked  
 =: benign #: malignant  
 ( ): No. of animals examined microscopically at this site. -: Not applicable.

Table 8-5

Summary of histological findings ( all pups died )

Exp. No. 2474 (115-038)

Sex: Female

Dose level ( mg/kg )		0				250				500				1000			
No. of animals all pups died		2				0				0				0			
No. of animals necropsied		2				0				0				0			
No. of animals examined histologically		2				0				0				0			
Organ	Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
<b>HEMATOPOIETIC SYSTEM</b>																	
bone marrow		( 2 )															
	granulopoiesis, increased	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
spleen		( 2 )															
	deposit of pigment	-	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	follicular atrophy	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
lymph node		( 2 )															
	lymphoid depletion	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	sinus dilatation	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>DIGESTIVE SYSTEM</b>																	
esophagus		( 2 )															
	parakeratosis	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
liver		( 2 )															
	fatty change	-	0	1	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>URINARY SYSTEM</b>																	
kidney		( 2 )															
	basophilic change	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	protein cast	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	vacuolic change	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>REPRODUCTIVE SYSTEM</b>																	
mammary gland		( 2 )															
	hyperplasia	-	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ovary		( 2 )															
	retention corpus luteum	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
uterus		( 2 )															
	angiectasis	-	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	hemorrhage	-	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	erosion	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	accumulation of macrophage	-	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	arteritis	-	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>ENDOCRINE SYSTEM</b>																	
thyroid gland		( 2 )															
	ultimobranchial body	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

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

=: benign #: malignant

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

-: Not applicable.

Table 8-5 -continued Summary of histological findings ( all pups died )

Exp. No. 2474 (115-038)

Sex: Female

Dose level ( mg/kg )	0				250				500				1000			
No. of animals all pups died	2				0				0				0			
No. of animals necropsied	2				0				0				0			
No. of animals examined histologically	2				0				0				0			
Organ Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3

SPECIAL SENSE SYSTEM

eye	( 2 )															
hemorrhage	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

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

=: benign #: malignant

( ): No. of animals examined microscopically at this site. -: Not applicable.

Table 9

## Copulation and fertility results in rats

Exp. No. 2474 (115-038)

Dose level (mg/kg)	0	250	500	1000
No. of pairs mated	12	12	12	12
No. of pairs copulated	12	12	12	12
No. of pregnant females	12	10	12	12
Copulation index (%) 1)	100.0	100.0	100.0	100.0
Fertility index (%) 2)	100.0	83.3	100.0	100.0
Estrus cycle (days) (Mean $\pm$ S.D.)	4.5 $\pm$ 0.4	4.6 $\pm$ 0.5	4.5 $\pm$ 0.6	4.7 $\pm$ 0.8

- 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

Table 10

## Findings of delivery in dams(F0)

Exp. No. 2474 (115-038)

Dose level (mg/kg)	0	250	500	1000
No. of dams observed	12	10	12	12
No. of dams delivered live newborns	12	10	12	12
Duration of gestation (Mean $\pm$ S.D.)	22.9 $\pm$ 0.5	22.6 $\pm$ 0.5	22.6 $\pm$ 0.5	22.4 $\pm$ 0.5
No. of total corpora lutea (Mean $\pm$ S.D.)	221(18.4 $\pm$ 4.2)	168(16.8 $\pm$ 1.5)	204(17.0 $\pm$ 2.7)	209(17.4 $\pm$ 2.2)
No. of total implants (Mean $\pm$ S.D.)	188(15.7 $\pm$ 4.2)	161(16.1 $\pm$ 1.4)	173(14.4 $\pm$ 3.2)	180(15.0 $\pm$ 2.6)
No. of total pups born (Mean $\pm$ S.D.)	171(14.3 $\pm$ 4.2)	147(14.7 $\pm$ 2.2)	157(13.1 $\pm$ 3.7)	163(13.6 $\pm$ 3.1)
No. of total live pups born (Mean $\pm$ S.D.)	170(14.2 $\pm$ 4.1)	146(14.6 $\pm$ 2.0)	156(13.0 $\pm$ 3.6)	163(13.6 $\pm$ 3.1)
Male	100( 8.3 $\pm$ 3.0) a)	81( 8.1 $\pm$ 2.8) a)	73( 6.1 $\pm$ 2.2) a)	66( 5.5 $\pm$ 2.1)
Female	70( 5.8 $\pm$ 2.3) a)	65( 6.5 $\pm$ 1.8)	83( 6.9 $\pm$ 2.9) a)	97( 8.1 $\pm$ 3.0)
Sex ratio (Mean $\pm$ S.D.)	1.58 $\pm$ 0.79	1.41 $\pm$ 0.71	0.96 $\pm$ 0.60 (11)	0.79 $\pm$ 0.46*
No. of total live pups on day 4 (Mean $\pm$ S.D.)				
Male	84( 7.0 $\pm$ 4.0)	72( 7.2 $\pm$ 2.7)	71( 5.9 $\pm$ 2.1)	64( 5.3 $\pm$ 2.3)
Female	57( 4.8 $\pm$ 2.7)	61( 6.1 $\pm$ 1.7)	81( 7.4 $\pm$ 2.0) (11)	97( 8.1 $\pm$ 3.0)*
No. of total dead pups born (Mean $\pm$ S.D.)	1( 0.1 $\pm$ 0.3)	1( 0.1 $\pm$ 0.3)	1( 0.1 $\pm$ 0.3)	0( 0.0 $\pm$ 0.0)
stillbirth	0( 0.0 $\pm$ 0.0)	1( 0.1 $\pm$ 0.3)	1( 0.1 $\pm$ 0.3)	0( 0.0 $\pm$ 0.0)
cannibalism	1( 0.1 $\pm$ 0.3)	0( 0.0 $\pm$ 0.0)	0( 0.0 $\pm$ 0.0)	0( 0.0 $\pm$ 0.0)
Gestation index (%) 1)	100.0	100.0	100.0	100.0
Implantation index (% Mean $\pm$ S.D.) 2)	84.0 $\pm$ 19.3	95.9 $\pm$ 4.9	85.2 $\pm$ 19.2	86.7 $\pm$ 15.5
Delivery index (% Mean $\pm$ S.D.) 3)	89.8 $\pm$ 12.6	91.2 $\pm$ 9.4	88.9 $\pm$ 12.7	90.6 $\pm$ 13.0
Live birth index (% Mean $\pm$ S.D.) 4)	99.5 $\pm$ 1.6	99.4 $\pm$ 1.8	99.5 $\pm$ 1.8	100.0 $\pm$ 0.0
Viability index on day 4 (% Mean $\pm$ S.D.) 5)				
Male	76.7 $\pm$ 39.9	91.3 $\pm$ 20.0	97.8 $\pm$ 5.2	95.1 $\pm$ 11.5
Female	78.2 $\pm$ 37.8	94.5 $\pm$ 9.6	97.5 $\pm$ 5.8 (11)	100.0 $\pm$ 0.0

1) (No. of females with live pups / no. of pregnant females) x 100  
2) (No. of implants / no. of corpora lutea) x 100  
3) (No. of pups born / no. of implants) x 100  
4) (No. of live pups born / no. of pups born) x 100  
5) (No. of live pups on day 4 after birth / no. of live pups born) x 100  
a) Includes live pups died before observations  
Significant difference from control group; \*:  $P \leq 0.05$   
Values in parentheses are expressed number of litter observed

Table 11

## External observations on live pups (F1) from rats

Exp. No. 2474 (115-038)

Dose level (mg/kg)	0	250	500	1000
No. of litters	12	10	12	12
No. of live pups examined	159	144	152	163
No. of live pups with external anomalies (% Mean $\pm$ S.D.)	<sup>3</sup> 5.2 $\pm$ 14.3	<sup>1</sup> 0.6 $\pm$ 1.9	<sup>1</sup> 0.6 $\pm$ 1.9	0 -
Type and incidence of external anomalies (%) 1)				
Hypodermic hemorrhage	2 ( 1.3)	0 ( 0.0)	0 ( 0.0)	0 ( 0.0)
Imperforate anus	1 ( 0.6)	0 ( 0.0)	0 ( 0.0)	0 ( 0.0)
Short tail	0 ( 0.0)	0 ( 0.0)	1 ( 0.7)	0 ( 0.0)
Rudiment tail	1 ( 0.6)	0 ( 0.0)	0 ( 0.0)	0 ( 0.0)
Nanooffspring	0 ( 0.0)	1 ( 0.7)	0 ( 0.0)	0 ( 0.0)

1) (No. of live pups with external anomalies / no. of live pups examined) x 100

Table 12

Body weight change of pups(F1) from rats

Exp. No. 2474 (115-038)

Unit : g

Dose level (mg/kg)	0			250			500			1000		
No. of litters	12			10			12			12		
	Mean ± S.D. ( N)			Mean ± S.D. ( N)			Mean ± S.D. ( N)			Mean ± S.D. ( N)		
Male												
Days after birth	0	6.1 ± 0.6	(12)	6.2 ± 0.5	(10)	6.7 ± 0.7	(12)	6.5 ± 0.6	(12)			
	4	8.8 ± 1.4	(10)	7.9 ± 1.4	(10)	9.4 ± 1.4	(12)	9.2 ± 1.3	(12)			
Female												
Days after birth	0	5.8 ± 0.6	(12)	5.8 ± 0.6	(10)	6.2 ± 0.5	(11)	6.1 ± 0.6	(12)			
	4	8.5 ± 1.3	(10)	7.6 ± 1.3	(10)	8.8 ± 1.2	(11)	8.8 ± 1.3	(12)			

Table 13-1

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

Exp. No. 2474 (115-038)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)	No. of pups necropsied	250	500	1000
Organ	84	72	71	64
Findings				
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
Thymus		0	0	2
Thymic remnant in the neck	1	0	0	2

Table 13-2

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

Exp. No. 2474 (115-038)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0	250	500	1000
No. of pups necropsied	57	61	81	97
Organ Findings				
<b>HEMATOPOIETIC SYSTEM</b>				
thymus Thymic remnant in the neck	1	0	1	0