

ペンタエリスリトール

(CAS No. 115775)

試験番号 : SR - 9323

試験名 : ペンタエリスリトールのラットにおける反復投与毒性・生殖発生毒性
併合試験

株式会社 化合物安全性研究所

目 次

	頁
表題・試験番号	6
要 約	7
緒 言	8
材料及び方法	8
成 績	18
考 察	23
参 考 文 献	25

Figures	添付
1. Body weight changes of male rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	
2. Food consumption of male rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	
3. Water consumption of male rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	
4. Body weight changes before gestation period of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	
5. Body weight changes during gestation period of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	
6. Body weight changes during lactation period of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	
7. Food consumption before gestation period of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	
8. Food consumption during gestation period of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	

9. Food consumption during lactation period of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
10. Body weight changes of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of BHP in rats

Tables ----- 添付

1. Experimental design for the the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of BHP in rats
2. General appearance of male rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
3. Body weight changes of male rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
4. Food consumption of male rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
5. Water consumption of male rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
6. Urinary findings of male rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
7. Hematological findings of male rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
8. Biochemical findings of male rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
9. Absolute and relative organ weights of male rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
10. Gross findings of male rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
11. Histopathological findings of male rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
12. General appearance of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
13. Body weight changes before gestation period of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
14. Body weight changes during gestation period of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

15. Body weight changed during lactation period of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
16. Food consumption before gestation period of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
17. Food consumption during gestation period of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
18. Food consumption during lactation period of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
19. Absolute and relative organ weights of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
20. Gross findings of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
21. Histopathological findings of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
22. Influence of BHP on reproductive ability of rats in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
23. Influence of BHP on delivery and maternal behavior in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats
24. Gross findings of dead pups at birth in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of BHP in rats
25. Influence of BHP on viability of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats
26. General appearance of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of BHP in rats
27. Body weight changes of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of BHP in rats
28. Gross findings of pups which were dead after birth or killed on day 4 of lactation in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of BHP in rats

SR-9323

表 題 ペンタエリスリトールのラットにおける反復投与毒性・生殖発生
毒性併合試験

試験番号 SR-9323

要 約

ペンタエリスリトール (CAS No.115-77-5) の 100、300及び 1000mg/kg/day を雄ラットの交配前及び交配期間を含む46日間、雌ラットの交配前、交配及び妊娠期間、哺育3日までの期間に経口反復投与し、雌雄動物への反復投与による影響、雌雄動物の生殖及び次世代の発生に及ぼす影響についてスクリーニング試験し、以下の知見が得られた。

1. 雌雄動物の反復投与毒性

- (1) 軟便が 300mg/kg以上の群の雌雄で、下痢便が 300mg/kg以上の群の雄及び 1000mg/kg群の雌で認められた。
- (2) 飲水量の増加傾向が 1000mg/kg群の雄で認められた。
- (3) その他に、体重推移、摂餌量、尿検査、血液学的検査、血液化学的検査、器官重量、剖検及び病理組織学的検査では、ペンタエリスリトール投与による影響は認められなかった。
- (4) 以上より、300mg/kg以上の群の雌雄で軟便あるいは下痢便が認められたことから、本スクリーニング試験におけるペンタエリスリトール反復投与による無影響量 (NOEL) は雌雄ともに 100mg/kg/dayであると判断された。

2. 雌雄動物の生殖毒性及び次世代の発生毒性

- (1) 生殖能検査、生殖器の重量、剖検及び病理組織学的検査、分娩及び母性行動観察、新生児の生存性、一般状態観察、体重推移及び剖検では、ペンタエリスリトール投与による影響は認められなかった。
- (2) 以上より、ペンタエリスリトールの生殖発生に対する影響は認められないことから、本スクリーニング試験におけるペンタエリスリトールの雌雄動物の生殖及び次世代の発生に対する無影響量は 1000mg/kg/day であると判断された。

結 言

ペンタエリスリトール (CAS No.115-77-5) は、一般に合成樹脂、塗料あるいは粘薬に用いられる物質である¹⁾。今回、著者らは、OECD既存化学物質の安全性の点検事業の一環として、ペンタエリスリトールを雄ラットの交配前及び交配期間を含む 46日間、雌ラットの交配前、交配及び妊娠期間、哺育3日までの期間に経口反復投与し、雌雄動物への反復投与による影響、雌雄動物の生殖及び次世代の発生に及ぼす影響についてスクリーニング試験したので、その成績を報告する。

なお、本試験は「OECD優良試験所指針C (81) 30最終別添2」に従い、試験方法は OECDテストガイドライン及び OECD提案ガイドライン (Combined Repeat Dose and Reproduction/Developmental Toxicity Screening test) に準拠した。

材料及び方法

1. 被験物質

被験物質は、より提供されたペンタエリスリトール

[CAS No.115-77-5、2,2-bis(hydroxymethyl)-1,3-propandiol、以下 BHP と略す。

Lot番号： 純度：92.7%] である。被験物質は、水溶性（水溶解度：7.23g/100g）の白色顆粒であり、直射日光を避けて室温で保存した（平成5年9月1日付書類、Appendix 1）。なお、被験物質は7カ月間（本ロットは平成6年3月まで）安定であることが確認されている（平成5年9月6日付書類、Appendix 2）。

2. 試験動物

生後8週齢の Crj:CD (SD) 系 SPFラット（雄：55匹、体重範囲 259～296g、雌：55匹、体重範囲 161～193g）を、1993年10月20日に日本チャールス・リバー株式会社より受け入れ、15日間の馴化飼育を行った。馴化期間中、一般状態観察を1日1回、体重測定を期間中3回実施し、順調な発育を示した動物を試験に用いた。なお、雌については、期間中、性周期検査を行い、性周期に異常の認められない動物を用いた。

3. 飼育環境条件

動物の飼育は、温度 $23 \pm 3^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 10\%$ 、換気回数 10~15回/時間、照明時間12時間（午前8時から午後8時まで点灯）に設定されたバリアシステムの飼育室（301及び306号室）において、ブラケット式金属製金網床ケージ（260W×380D×180H, mm）を用いて行った。ただし、妊娠17日より金属網床のかわりに実験動物用床敷（ホワイトフレック、日本チャールス・リバー株式会社）を敷いたステンレス製受皿を使用した。ケージ当たりの収容匹数は、馴化期間中は3匹以内、群分け後は1匹、交配中は雌雄各1匹、妊娠期間中は1母動物、哺育期間中は1腹とした。ケージの交換は2週に1回の頻度で行った。

飼育室内の清掃及び床の清拭消毒は1日1回の頻度で行った。なお、消毒には塩素系消毒薬（ヤクラックス、ヤクハン製薬株式会社）及びヨウ素系消毒薬（ダイヤザン、旭硝子株式会社）を1週間単位で交互に使用した。

飼料は固型飼料（CRF-1、オリエンタル酵母工業株式会社）を金属製給餌器を用いて、飲料水は水道水（札幌市水道水）を自動給水装置あるいは給水器を用いて、それぞれ自由に摂取させた。給餌器の交換は2週に1回、自動給水装置の水抜きは週1回の頻度で行い、給水器は飲水量測定時のみ使用した。

飼料の分析及び検査は財団法人日本食品分析センターで実施（分析試験成績書：第 46090462-001 及び 46100198-001号、Appendix 3,4）し、各混入物質について当社 SOP の許容範囲内であることを確認した。飲料水の水質検査はカンエイ実業株式会社（水質検査結果書：第 330261及び 330262号、Appendix 5,6）及び株式会社福田水文センター（水質検査結果書：第 05520及び 06508号、Appendix 7,8）で実施し、当社 SOP の水質基準の範囲内であることを確認した。

4. 試験群の設定、群分け及び個体識別

試験群は、本試験の用量設定試験（SR-9322、14日間反復投与試験）の結果を参考に設定した。すなわち、100、300及び1000mg/kg/dayを設定した試験では、1000mg/kg群で雌雄ともに軟便、下痢便が認められたが、100及び 300mg/kg群で異常は認められなかった。これらのことから、本試験の高用量を 1000mg/kg/day、以下、公比約3で 300及び 100mg/kg/dayとし、さらに0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム溶液（以下、0.5% CMC-Na溶液と略す。）を投与する対照を設け、計4群とした（Table1）。

動物数は1群当たり雌雄各12匹とした。群分けは、馴化期間の最終日（投与開始前日）

に各群の体重が均一になるように体重別層化無作為抽出法により行った。

動物の識別は、受入時に油性フェルトペンを用いて尾部にケージ内個体識別を、群分け時に入墨により群識別を右耳に、群内個体識別を左耳に行った。ケージには性別毎に色分けしたカードに試験番号、試験群、グループ番号及び動物番号を明記して標示した。なお、新生児については、油性フェルトペンを用いて背部に雄は青色、雌は紫色で動物番号を記し、ケージ内個体識別を行った。

5. 被験物質の調製、投与経路及び投与方法

被験物質の調製は、用時あるいは5日に1回の頻度で次の通り行った。被験物質を精秤し、1、3及び10w/v% となるように0.5% CMC-Na溶液（日本薬局方 CMC-Na: Lot No.1X04、丸石製薬株式会社、日本薬局方精製水: Lot No.38A及び39G、ヤクハン製薬株式会社）で懸濁した。なお、BHP の各濃度の調製液が規定の濃度であり、かつ均一であること、1及び10%の調製液が5日間安定であることが三菱ガス化学株式会社により確認されている（平成5年10月29日及び11月2日付書類、Appendix 9,10）。

投与経路は、被験物質が人体に経口的に曝露される可能性があることから、経口投与とした。投与は胃ゾンデを用いて強制的に胃内に行った。投与容量は、体重1kg当たり10mlとして投与日に最も近い日に測定した体重に基づいて算出した。なお、体重測定当日の投与容量はその日の体重に基づいて算出した。

投与期間は、雄については交配前14日間及び交配期間を含む46日間、雌については交配前14日間及び交尾成立までの交配期間、さらに交尾成立例は妊娠期間及び哺育3日までの期間とした。投与時刻は、午前10時から午後1時の間とした。

投与は10週齢から開始し、投与開始時の平均体重（体重範囲）は雄で398.6g（369～432g）、雌で232.1g（207～254g）であった。

6. 観察、測定及び検査項目

1) 雄動物について

(1) 一般状態観察

全例について、試験期間中1日1回以上の頻度で、視診及び触診により行動、外観などを観察した。発現した症状についてはその種類を記録した。

(2) 体重測定

全例について、投与1日（投与前）、投与2、5、7、10及び14日、その後は7日毎に（投与終了日を含む）、さらに剖検日に電子天秤（ザルトリウス 1401 B MP7-2

及び 1407 MP8-1、カールツァイス株式会社) を用いて測定した。また、体重増加量
 $[\text{投与46日体重} - \text{投与1日体重}]$ 及び体重増加率 $[(\text{体重増加量} / \text{投与1日体重}) \times 100]$ を算出した。

(3) 摂餌量測定

全例について、投与1日(投与前)、投与2、5、7、10及び14日、その後は交配期間を除き体重測定日と同じ日(投与終了日を含む)に電子天秤(ザルトリウス 1401 B MP7-2 及び 1407 MP8-1、カールツァイス株式会社)を用いて測定した。適当量をケージ毎にセットし、翌日に残量を測定し、1匹当たりの1日分の摂餌量を算出した。

(4) 飲水量測定

全例について、投与1日(投与前)、投与2、5、7、10及び14日、その後は交配期間を除き体重測定日と同じ日(投与終了日を含む)に電子天秤(ザルトリウス 1401 B MP7-2 及び 1407 MP8-1、カールツァイス株式会社)を用いて測定した。適当量をケージ毎にセットし、翌日に残量を測定し、1匹当たりの1日分の飲水量を算出した。

(5) 尿検査

投与期間の最終週(投与43~44日)に各群6例について、ラット用代謝ケージ(KN-646 B-1型、夏目製作所)に収容して非絶食下で採尿を行った。約3時間の蓄尿の一部を用いて①~⑥の項目を検査し、21時間蓄尿を用いて、⑦~⑪の項目の検査を行った。

① pH	試験紙法(マルティスティックス:マイルス・三共)
② 蛋白(Pro)	試験紙法(マルティスティックス:マイルス・三共)
③ 糖(Glu)	試験紙法(マルティスティックス:マイルス・三共)
④ ケトン体(Ket)	試験紙法(マルティスティックス:マイルス・三共)
⑤ 潜血反応(Occult blood)	試験紙法(マルティスティックス:マイルス・三共)
⑥ 沈渣(Sediment)	鏡検
⑦ 比重(Grav)	屈折計法(アタゴ製ユリコン)
⑧ 尿量(U-Vol)	容量測定
⑨ ナトリウム(U-Na)	炎光法(コーニング 480型炎光光度計)
⑩ カリウム(U-K)	炎光法(コーニング 480型炎光光度計)
⑪ クロール(U-Cl)	電量滴定法(平沼 CL-6M型クロライドカウンター)

(6) 血液学的検査

投与 46日の翌日に全例について、約 16時間絶食した後、エーテル麻酔下で大腿静脈より採血し、EDTA・2K で処理した血液を用いて、①～⑨、⑬の項目について検査を行った。さらに、⑩の項目は無処理血液を用いて、⑪、⑫の項目については腹部大動脈より採血し、クエン酸ナトリウムで処理した後、3000rpmで 10分間遠心分離して得られた血漿を用いて検査を行った。

①赤血球数 (RBC)	電気抵抗法 (コールター原理) (コールターカウンター T660型)
②ヘマトクリット値 (Ht)	RBC, MCV値より算出 (コールターカウンター T660型)
③血色素量 (Hb)	シアンメトヘモグロビン法 (国際法) (コールターカウンター T660型)
④平均赤血球容積 (MCV)	電気抵抗法 (コールター原理) (コールターカウンター T660型)
⑤平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH)	RBC, Hb値より算出 (コールターカウンター T660型)
⑥平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC)	Ht, Hb値より算出 (コールターカウンター T660型)
⑦網赤血球率 (Ret)	Brecher法
⑧血小板数 (Plat)	電気抵抗法 (コールター原理) (コールターカウンター T660型)
⑨白血球数 (WBC)	電気抵抗法 (コールター原理) (コールターカウンター T660型)
⑩凝固時間 (CT)	流体粘度変化による空気圧測定法 (グライナー社製マイクロコアグロメーター)
⑪プロトロンビン時間 (PT)	トロンボプラスチン法 (AMELUNG KC-10A バクスターKK)
⑫活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)	エラジン酸法 (AMELUNG KC-10A バクスターKK)
⑬白血球型別百分率 (Hemogram of WBC)	メイ・ギムザ染色標本鏡検

(7) 血液化学的検査

投与46日の翌日に全例について、血液学的検査のための採血後、腹部大動脈より採血し、3000rpmで10分間の遠心分離して得られた血清を用いて次の検査を行った。

- | | |
|--------------------|--|
| ① GOT | IFCC法（日立 7150形自動分析装置） |
| ② GPT | IFCC法（日立 7150形自動分析装置） |
| ③ γ -GTP | 包接L- γ -グルタミル-p-ニトロアニリド基質法
（日立7150形自動分析装置） |
| ④ コリンエステラーゼ (ch-E) | ヨウ化ブチリルチオコリン基質法
（日立7150形自動分析装置） |
| ⑤ 血糖 (Glu) | ヘキソキナーゼ法
（日立 7150形自動分析装置） |
| ⑥ 総コレステロール (T-Cho) | 酵素法（日立 7150形自動分析装置） |
| ⑦ トリグリセリド (TG) | 遊離グリセロール消去法
（日立 7150形自動分析装置） |
| ⑧ リン脂質 (PL) | 酵素法（日立7150形自動分析装置） |
| ⑨ 総ビリルビン (T-Bil) | アゾビリルビン法（日立7150形自動分析装置） |
| ⑩ 尿素窒素 (BUN) | ウレアーゼ・インドフェノール法
（日立 7150形自動分析装置） |
| ⑪ クレアチニン (Crea) | ヤッフエ法（日立 7150形自動分析装置） |
| ⑫ ナトリウム (Na) | 炎光法（コーニング 480型炎光光度計） |
| ⑬ カリウム (K) | 炎光法（コーニング 480型炎光光度計） |
| ⑭ クロール (Cl) | 電量滴定法
（平沼 CL-6M型クロライドカウンター） |
| ⑮ カルシウム (Ca) | OCPC法（日立 7150形自動分析装置） |
| ⑯ 無機リン (P) | フィスケ・サバロー法
（日立 7150形自動分析装置） |
| ⑰ 総蛋白 (TP) | ビウレット法（日立 7150形自動分析装置） |
| ⑱ アルブミン (Alb) | BCG法（日立 7150形自動分析装置） |
| ⑲ A/G比 (A/G) | TP, Alb値より算出する。 |
| ⑳ 蛋白分画 | セルロースアセテート膜電気泳動法 |

(8) 剖検及び器官重量測定

投与46日の翌日に全例について、体外表を観察し、エーテル麻酔下で採血後、放血致死させ、全身の器官及び組織を肉眼的に観察した。摘出器官のうち、肝臓、腎臓（左右）、胸腺、副腎（左右）、精巣及び精巣上体（左右）の重量を電子天秤（HA-180M、エー・アンド・ディ株式会社）を用いて測定した。また、器官体重重量比〔（器官重量／動物体重）× 100〕を算出した。

(9) 病理組織学的検査

剖検時に全例について、肝臓、腎臓、脾臓、心臓、肺、脳（大脳・小脳）、下垂体、副腎、甲状腺、上皮小体、胸腺、腸間膜リンパ節、脾臓、舌、下顎リンパ節、顎下腺、舌下腺、耳下腺、乳腺、皮膚、眼球、ハーダー腺、胸骨及び大腿骨（骨髄を含む）、脊髓（頸部）、骨格筋（外側広筋）、胸部大動脈、喉頭、気管、気管支、食道、胃（前胃・腺胃）、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膀胱、精巣、精巣上体、精囊（凝固腺を含む）及び前立腺を10%中性緩衝ホルマリン液で固定し、保存した。なお、眼球及びハーダー腺はデビッドソン液で、精巣及び精巣上体はブアン液で固定・保存した。摘出器官のうち、全例の肝臓、腎臓、脾臓、心臓、肺、脳、下垂体、胸腺、副腎、甲状腺、胃（前胃・腺胃）、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、精巣、精巣上体及び前立腺について、パラフィン包埋後薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色及び特殊染色（oil red O 染色）標本を作製し、病理組織学的検査を行った。

2) 雌動物について

(1) 一般状態観察

全例について、試験期間中1日1回以上の頻度で、視診及び触診により行動、外観などを観察した。発現した症状についてはその種類を記録した。

(2) 体重測定

全例について、投与1日（投与前）、投与2、5、7、10及び14日、妊娠0、1、3、5、7、10、14、17及び20日、哺育0、1及び4日に、また、交配期間中（雄と同居中の場合）は相手雄の測定日と同じ日に、さらに交尾不成立例については剖検日に電子天秤（ザルトリウス 1401 B MP7-2 及び 1407 MP8-1、カールツァイス株式会社）を用いて測定した。また、体重増加量〔（投与14日体重－投与1日体重）、（妊娠20日体重－妊娠0日体重）及び（哺育4日体重－哺育0日体重）〕、及びそれぞれの体

重増加量に対応した体重増加率 $\left[(\text{体重増加量} / \text{投与1日体重}) \times 100, (\text{体重増加量} / \text{妊娠0日体重}) \times 100 \text{及び} (\text{体重増加量} / \text{哺育0日体重}) \times 100 \right]$ を算出した。

(3) 摂餌量測定

全例について、投与1日（投与前）、投与2、5、7、10及び14日、妊娠1、3、5、7、10、14、17及び20日、哺育1及び4日に、電子天秤（ザルトリウス 1401 B MP7-2及び 1407 MP8-1、カールツァイス株式会社）を用いて測定した。適当量をケージ毎にセットし、翌日に残量を測定し、1匹当たりの1日分の摂餌量を算出した。

(4) 剖検及び器官重量測定

交尾成立例は哺育4日に、交尾不成立例は交配期間終了の翌日に、妊娠25日まで分娩の認められない例は妊娠26日に、全哺育児死亡例は発見後直ちにエーテル麻酔下で放血致死させ、全身の器官・組織を肉眼的に観察した。また、子宮の着床痕及び卵巢の妊娠黄体を計数した。摘出器官のうち、肝臓、腎臓（左右）、胸腺、副腎（左右）及び卵巢（左右）の重量を電子天秤（HA-180M、エー・アンド・ディ株式会社）を用いて測定した。また、器官体重重量比 $\left[(\text{器官重量} / \text{動物体重}) \times 100 \right]$ を算出した。

(5) 病理組織学的検査

剖検時に全例について、肝臓、腎臓、脾臓、心臓、肺、脳（大脳・小脳）、下垂体、副腎、甲状腺、上皮小体、胸腺、腸間膜リンパ節、脾臓、舌、下顎リンパ節、顎下腺、舌下腺、耳下腺、乳腺、皮膚、眼球、ハーダー腺、胸骨及び大腿骨（骨髓を含む）、脊髓（頸部）、骨格筋（外側広筋）、胸部大動脈、喉頭、気管、気管支、食道、胃（前胃・腺胃）、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膀胱、卵巢、子宮及び腔を10%中性緩衝ホルマリン液で固定し、保存した。なお、眼球及びハーダー腺はデビッドソン液で固定・保存した。

摘出器官のうち、全例の肝臓、腎臓、脾臓、心臓、肺、脳、下垂体、胸腺、副腎、甲状腺、胃（前胃・腺胃）、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸及び卵巢について、全哺育児死亡例はさらに乳腺及び子宮について、パラフィン包埋後薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色あるいは特殊染色【鍍銀（Naoumenko & Feiginの渡辺変法）染色、エラスチカ・ワンギーソン染色】標本作製し、病理組織学的検査を行った。

3) 雌雄動物の生殖及び次世代の発生について

(1) 性周期検査

雌全例について、投与前10日から交尾成立までの連日、ギムザ染色による膣垢塗抹標本を作製し、光学顕微鏡下で性周期段階（発情前期、発情期前期、発情期後期、発情後期及び発情休止期）の判定を行い、性周期の異常の有無（正常または発情休止期継続、不規則発情）を検索した。

(2) 生殖能検査

投与14日の雌雄について、同試験群内で夕方より1対1（無作為組み合わせ）で最長14日間同居させた。交尾の成立は雌の膣垢中に精子が確認された場合とし、妊娠の成立は雌の子宮に着床痕が確認された場合とした。また、交尾率 $\left[\left(\text{交尾成立ラット数} / \text{同居ラット数} \right) \times 100 \right]$ 及び受胎率 $\left[\left(\text{受胎ラット数} / \text{交尾成立ラット数} \right) \times 100 \right]$ を算出した。

(3) 分娩及び母性行動観察

交尾した雌全例について、分娩状態、母性行動、総出産児数、生存児数及び死亡児数、出産児の性別及び外表を観察した。また、着床率 $\left[\left(\text{着床痕数} / \text{妊娠黄体数} \right) \times 100 \right]$ 、出産率 $\left[\left(\text{生児を出産した雌ラット数} / \text{妊娠雌ラット数} \right) \times 100 \right]$ 、分娩率 $\left[\left(\text{総出産児数} / \text{着床痕数} \right) \times 100 \right]$ 、出生率 $\left[\left(\text{出産確認時生存児数} / \text{総出産児数} \right) \times 100 \right]$ 、哺育4日時哺育率 $\left[\left(\text{正常に哺育した雌ラット数} / \text{正常に分娩した雌ラット数} \right) \times 100 \right]$ 、性比 $\left[\text{雌生児数} / \text{雄生児数} \right]$ 及び妊娠期間 $\left[\text{分娩終了日} \left(\text{分娩終了を確認した日} \right) \text{までの妊娠日数} \right]$ を算出した。

(4) 新生児の一般状態観察及び生存性

全例について、分娩終了日から剖検日（哺育4日）まで1日1回、生存及び死亡を確認し、一般状態及び外表について観察した。なお、哺育日数は分娩終了日を哺育0日として起算した。また、新生児生存率 $\left[\left(\text{哺育4日生存児数} / \text{出産確認時生存児数} \right) \times 100 \right]$ を1腹を単位として算出した。ただし、喰殺を受け死亡あるいは行方不明となった新生児は死亡例として扱った。

(5) 新生児の体重測定

全例について、哺育0、1及び4日に電子天秤（ザルトリウス 1401 BMP7-2、カールツアイス株式会社）を用いて測定した。なお、体重値は雌雄別に1腹を単位とした平均値で示した。また、体重増加量 $\left[\text{哺育4日体重} - \text{哺育0日体重} \right]$ 及び体重増加率

[(体重増加量/哺育0日) ×100] を算出した。

(6) 新生児の剖検

死亡例は、直ちに剖検し、whole bodyを10%中性緩衝ホルマリン液で固定し、保存した。その他の例については、哺育4日に体外表（口腔内を含む）を観察し、二酸化炭素吸入法により安楽致死させ、全身の器官・組織を肉眼的に観察した。異常所見部位の認められた例については、whole bodyを10%中性緩衝ホルマリン液で固定・保存した。

7. 統計処理

体重、体重増加量及び体重増加率、摂餌量、尿検査の定量的項目、血液学的検査及び血液化学的検査の各項目、器官重量、器官体重重量比、妊娠黄体数、着床痕数及び着床率、総出産児数、出産確認時生存児数、分娩率、出生率、性比、出産確認時死亡児数、妊娠期間、哺育4日生存児数及び新生児生存率については、次の流れで検定を行った。すなわち、Bartlettの検定法により分散を検定し、その結果、等分散 ($p > 0.05$) を示した項目については一元配置分散分析法により解析し、有意な場合 ($p < 0.10$)、Dunnettの検定法（各試料の大きさが違う場合は有効反復数を用いた）により対照群とBHP投与群との比較を行った。一方、不等分散 ($p < 0.05$) を示した項目及び尿検査の定量的項目についてはKruskal-Wallis法により解析し、有意な場合 ($p < 0.10$)、Mann-WhitneyのU-検定法により対照群とBHP投与群との比較を行った。なお、分娩及び母性行動観察結果、新生児の生存性及び体重については、1腹を単位として検定を行った。

性周期、交尾率、受胎率、出産率及び哺育率については次の流れで検定を行った。すなわち、多試料 χ^2 -検定を行い、その結果、有意な場合は2試料 χ^2 -検定を行った。ただし、2試料 χ^2 -検定あるいは多試料 χ^2 -検定に不適合の場合はFisherの正確確率検定法により行った。

なお、対照群との検定については、危険率5%以下を統計学的に有意とした。

成 績

1. 雄動物の反復投与毒性

(1) 一般状態観察

一般状態観察の成績を Table 2、INDIVIDUAL DATA 1-1~1-4 に示した。

300mg/kg群の4例で軟便が、1例で下痢便が投与2、4、5あるいは9日に認められた。1000mg/kg群の全例で軟便及び下痢便が投与2日~剖検日に断続的に認められた。

(2) 体重推移

体重推移を Figure 1、Table 3、INDIVIDUAL DATA 2-1~2-4に示した。

対照群と比較して有意な差は認められなかった。

(3) 摂餌量

摂餌量の変化を Figure 2、Table 4、INDIVIDUAL DATA 3-1~3-4に示した。

対照群と比較して有意な差は認められなかった。

(4) 飲水量

摂水量の変化を Figure 3、Table 5、INDIVIDUAL DATA 4-1~4-4に示した。

1000mg/kg群で投与10日以降に飲水量の増加傾向が認められたが、対照群と比較して有意な差は認められなかった。

(5) 尿検査

尿検査の成績を Table 6、INDIVIDUAL DATA 5-1~5-8に示した。

対照群と比較して 有意な差は認められなかった。

(6) 血液学的検査

血液学的検査の成績を Table 7、INDIVIDUAL DATA 6-1~6-8に示した。

対照群と比較して 300mg/kg 群で平均赤血球ヘモグロビン量及び平均赤血球ヘモグロビン濃度の減少が、1000mg/kg群で平均赤血球ヘモグロビン濃度の減少が認められた。

(7) 血液化学的検査

血液化学的検査の成績を Table 8、INDIVIDUAL DATA 7-1~7-8に示した。

対照群と比較して 100mg/kg群でリン脂質及びカルシウムの減少が、300mg/kg群で総コレステロール、リン脂質及びカルシウムの減少が認められた。

(8) 器官重量

器官重量及び器官体重重量比の成績を Table 9、INDIVIDUAL DATA 8-1～8-8 に示した。

対照群と比較して有意な差は認められなかった。

(9) 剖検

剖検の成績を Table 10、INDIVIDUAL DATA 9-1～9-4に示した。

異常は認められなかった。

(10) 病理組織学的検査

病理組織学的検査の成績を Table 11、INDIVIDUAL DATA 10-1～10-4 に示した。

肝臓に小葉周辺性の脂肪化、腎臓に近位尿細管を主とする尿細管上皮の硝子滴及び好酸体の沈着、尿円柱、限局性の尿細管上皮の再生、心臓に組織球を主とする限局性の細胞浸潤、肺に血管壁における石灰沈着、下垂体に線毛上皮嚢胞、ラトケ嚢内均質血漿様物質の貯留、前立腺にリンパ球を主とする間質における細胞浸潤が対照群あるいは BHP 投与群に認められた。

交尾不成立例及び不妊例においてはその原因を示唆する所見は認められなかった。

2. 雌動物の反復投与毒性

(1) 一般状態観察

一般状態観察の成績を Table 12、INDIVIDUAL DATA 11-1～13-4に示した。

妊娠前投与期間中では、300 mg/kg群の2例で軟便が投与5あるいは9日に、1000 mg/kg群の全例で軟便及び下痢便が投与 2日～交尾成立日に断続的に認められた。

妊娠期間中では、1000mg/kg群の全例で軟便が、11例で下痢便が断続的に認められた。

哺育期間中では、1000mg/kg群の全例で軟便が、9例で下痢便が剖検日まで断続的に認められた。また、1000mg/kg群の1例で哺育1日までに全哺育児を死亡させた例が認められた。

(2) 体重推移

体重推移を Figure 4～6、Table 13～15、INDIVIDUAL DATA 14-1～16-4に示した。

妊娠前投与期間、妊娠期間及び哺育期間では、対照群と比較して有意な差は認められなかった。

(3) 摂餌量

摂餌量の変化を Figure 7～9、Table 16～18、INDIVIDUAL DATA 17-1～19-4に示した。

妊娠前投与期間では、対照群と比較して 300mg/kg 群で投与 1 日に摂餌量の減少が認められたが、投与前の変化であり、BHP投与によるものではなかった。

妊娠期間では、対照群と比較して 300mg/kg群で妊娠 14日に摂餌量の減少が認められ、同群では投与前より投与期間を通して他群よりも低値であった。

哺育期間では、対照群と比較して有意な差は認められなかった。

(4) 器官重量

器官重量及び器官体重重量比の成績を Table 19、INDIVIDUAL DATA 20-1～20-4 に示した。

対照群と比較して有意な差は認められなかった。

(5) 剖検

剖検の成績を Table 20、INDIVIDUAL DATA 21-1～21-4 に示した。

肝臓に黄白色斑、脾臓と肝臓及び腹腔内脂肪織との癒着、回腸に憩室、卵巣に嚢胞が対照群あるいは BHP投与群に認められた。

1000mg/kg群の 1 例の全哺育児死亡例では、子宮左側に胎盤が着床痕より遊離して認められた。

(6) 病理組織学的検査

病理組織学的検査の成績を Table 21、INDIVIDUAL DATA 22-1～22-4に示した。

肝臓に限局性の肝細胞壊死（剖検時異常が認められた例を含む）、腎臓（右）に尿細管上皮の再生、腎盂拡張、尿細管の拡張及び尿円柱、脾臓と肝臓及び腹腔内脂肪織との線維性癒着及び肉芽腫（剖検時異常部位）、肺に血管壁における石灰沈着、下垂体に線毛上皮嚢胞、ラトケ嚢内均質血漿様物質の貯留、胸腺に萎縮、髄質における網内系細胞の増加、回腸に憩室、卵巣に黄体嚢胞（剖検時異常部位）が対照群あるいは BHP 投与群に認められた。

交尾不成立例及び不妊例においてもその原因を示唆する所見は認められなかった。

3. 雌雄動物の生殖毒性及び次世代の発生毒性

(1) 生殖能検査

生殖能検査の成績を Table 22、INDIVIDUAL DATA 23-1-1～23-4-2 に示した。

雌の性周期検査では、300mg/kg群の交尾不成立の1例で交配開始後発情休止期の継続が認められたが、その他の例では正常な性周期が認められた。

対照群と比較して、交尾までの日数、交尾率及び受胎率に有意な差は認められなかった。なお、交尾不成立例は300mg/kg群で1組、不妊例は対照群、100及び1000mg/kg群で各2組に認められた。

(2) 分娩及び母性行動観察

分娩及び母性行動観察の成績を Table 23、24、INDIVIDUAL DATA 24-1-1～24-2に示した。

対照群と比較して、妊娠黄体数、着床痕数、着床率、総出産児数、分娩率、出産確認時生存児数、出生率、性比、出産確認時死亡児数、妊娠期間、出産率及び哺育4日時哺育率に有意な差は認められなかった。

哺育異常として、前述したように哺育1日までに全哺育児を死亡させた例が1000mg/kg群の1例に認められた。本例の出産児は18匹であり、そのうち13匹は死亡、5匹は生存していた。いずれも喰殺を受け体の一部が欠損しているか、外傷が認められ、出生児は哺育1日に全例不明となった。本例の母性行動として、分娩中に児舐めや巣作り行動が認められたが、分娩終了後は哺育行動は認められなかった。また、分娩中より児の捕喰が認められた。母動物の剖検では、子宮に胎盤が着床痕から遊離して認められた以外に異常はなく、病理組織学的検査でも乳腺を含め検査した器官・組織に異常は認められなかった。

分娩終了時の死亡児の剖検では、前述の哺育異常例の死亡児を含め、外傷以外に異常は認められなかった。

(3) 新生児の生存性

新生児の生存性の成績を Table 25、INDIVIDUAL DATA 25-1～25-4に示した。

対照群と比較して新生児生存率に有意な差は認められなかった。

(4) 新生児の一般状態観察

新生児の一般状態観察の成績を Table 26、INDIVIDUAL DATA 26-1～26-4に示した。

死亡例が対照群及びBHP投与群に、背部中央部、頸部、頸背部、鼻部、腹部左側、あるいは頭部に外傷、頭部右側の暗赤色化がBHP投与群に認められた。

(5) 新生児の体重推移

新生児の体重推移を Figure 10、Table 27、INDIVIDUAL DATA 27-1～27-4に示した。

対照群と比較して有意な差は認められなかった。

(6) 新生児の剖検

新生児の剖検の成績を Table 28、INDIVIDUAL DATA 28-1～28-2-4に示した。

哺育4日に屠殺した例のうち、100mg/kg群の雌1例で腎臓（右）に低形成及び一部暗赤色化、300mg/kg群の雌1例で外傷（一般状態観察時所見部位）が認められた。

考 察

BHP の 100、300 及び 1000mg/kg/dayを雄ラットの交配前及び交配期間を含む46日間、雌ラットの交配前、交配及び妊娠期間、哺育3日までの期間に経口反復投与し、雌雄動物への反復投与による影響、雌雄動物の生殖及び次世代の発生に及ぼす影響についてスクリーニング試験を実施した。

軟便が 300mg/kg以上の群の雌雄で、下痢便が 300mg/kg以上の群の雄及び 1000mg/kg群の雌で認められ、BHP投与による影響と考えられた。これらの症状と関連するものとして飲水量の増加傾向が1000mg/kg群の雄で認められたが、全身や生体の恒常性への影響を示唆する変化は認められなかった。

摂餌量では、雌の妊娠期間で 300mg/kg群で妊娠 14日に摂餌量の減少が認められ、同群では投与前より投与期間を通して他群よりも低値であったが、用量依存的な変化ではなく、BHP 投与との関連はないと考えられた。

血液学的検査では、300mg/kg 群で平均赤血球ヘモグロビン量及び平均赤血球ヘモグロビン濃度の減少が、1000mg/kg群で平均赤血球ヘモグロビン濃度の減少が認められた。しかしながら、いずれも赤血球数、ヘマトクリット値あるいは血色素量の変動を伴わず、背景データ (Appendix 11) の範囲内の変動であり、BHP 投与との関連はないと考えられた。

血液化学的検査では、100mg/kg群でリン脂質及びカルシウムの減少が、300mg/kg群で総コレステロール、リン脂質及びカルシウムの減少が認められた。しかしながら、いずれも用量相関性を欠き、背景データ (Appendix 11) の範囲内の変動であり、BHP 投与との関連はないと考えられた。

剖検及び病理組織学的検査で認められた所見はいずれも自然発生 (背景データ: Appendix 12、文献²⁾)あるいはその出現頻度から BHP 投与との関連はないと考えられた。

その他に、体重推移、尿検査及び器官重量では BHP投与による影響は認められなかった。

以上より、300mg/kg以上の群の雌雄で軟便あるいは下痢便が認められたことから、本スクリーニング試験における BHP反復投与による無影響量 (NOEL) は雌雄ともに 100mg/kg/dayであると判断された。

生殖能検査では、雌の性周期、雌雄の交尾及び受胎に対して BHP投与による影響は認められなかった。また、生殖器 (精巣、精巣上体及び卵巣) の重量、剖検及び病理組織学的検査においても BHP投与による影響は認められなかった。なお、交尾不成立例及び不妊例

の生殖器にその原因を示唆する病理組織学的所見は認められなかった。

全哺育児を死亡させた母動物が 1000mg/kg群の 1 例に認められた。本例では、哺育行動が認められず、出産児の喰殺などが認められることから、母動物側に起因した全哺育児の死亡と判断された。しかしながら、本例のような例は背景データ (Appendix 13) で認められることや、本試験において他に哺育異常例は認められないこと及び新生児の生存性に影響は認められないことから、本例は BHP投与との関連はないと考えられた。

新生児の観察では、生存性、一般状態観察、体重推移及び剖検において BHP投与による影響は認められなかった。なお、新生児の一般状態観察及び剖検でみられた外傷、頭部右側の暗赤色化、腎臓の低形成及び一部暗赤色化は、いずれもその出現頻度から BHP投与との関連はないと考えられた。

以上より、BHP の生殖発生に対する影響は認められないことから、本スクリーニング試験における BHPの雌雄動物の生殖及び次世代の発生に対する無影響量は 1000mg/kg/day であると判断された。

参考文献

- 1) Martha Windholz et al: Pentaerythritol.

In Martha Windholz (Ed.) The Merck Index. Tenth Edition.

An encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals. p1021,

Merck & Inc., Rahway, 1983.

- 2) T. Yamada and T. Inoue : Congenital diverticulum of the ileum in a rat.

Exp. Anim., 41(3), 369~372, 1992.

Figures

- Figure 1. Body weight changes of male rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
- Figure 2. Food consumption of male rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
- Figure 3. Water consumption of male rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
- Figure 4. Body weight changes before gestation period of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
- Figure 5. Body weight changes during gestation period of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
- Figure 6. Body weight changes during lactation period of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
- Figure 7. Food consumption before gestation period of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
- Figure 8. Food consumption during gestation period of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
- Figure 9. Food consumption during lactation period of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
- Figure 10. Body weight changes of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of BHP in rats

Tables

- Table 1. Experimental design for the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of BHP in rats
- Table 2. General appearance of male rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
- Table 3. Body weight changes of male rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
- Table 4. Food consumption of male rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
- Table 5. Water consumption of male rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
- Table 6. Urinary findings of male rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
- Table 7. Hematological findings of male rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
- Table 8. Biochemical findings of male rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

- Table 9. Absolute and relative organ weights of male rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
- Table 10. Gross findings of male rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
- Table 11. Histopathological findings of male rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
- Table 12. General appearance of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
- Table 13. Body weight changes before gestation period of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
- Table 14. Body weight changes during gestation period of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
- Table 15. Body weight changes during lactation period of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
- Table 16. Food consumption before gestation period of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
- Table 17. Food consumption during gestation period of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
- Table 18. Food consumption during lactation period of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
- Table 19. Absolute and relative organ weights of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
- Table 20. Gross findings of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
- Table 21. Histopathological findings of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
- Table 22. Influence of BHP on reproductive ability of rats in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
- Table 23. Influence of BHP on delivery and maternal behavior in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats
- Table 24. Gross findings of dead pups at birth in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of BHP in rats
- Table 25. Influence of BHP on viability of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats
- Table 26. General appearance of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of BHP in rats
- Table 27. Body weight changes of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of BHP in rats
- Table 28. Gross findings of pups which were dead after birth or killed on day 4 of lactation in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of BHP in rats

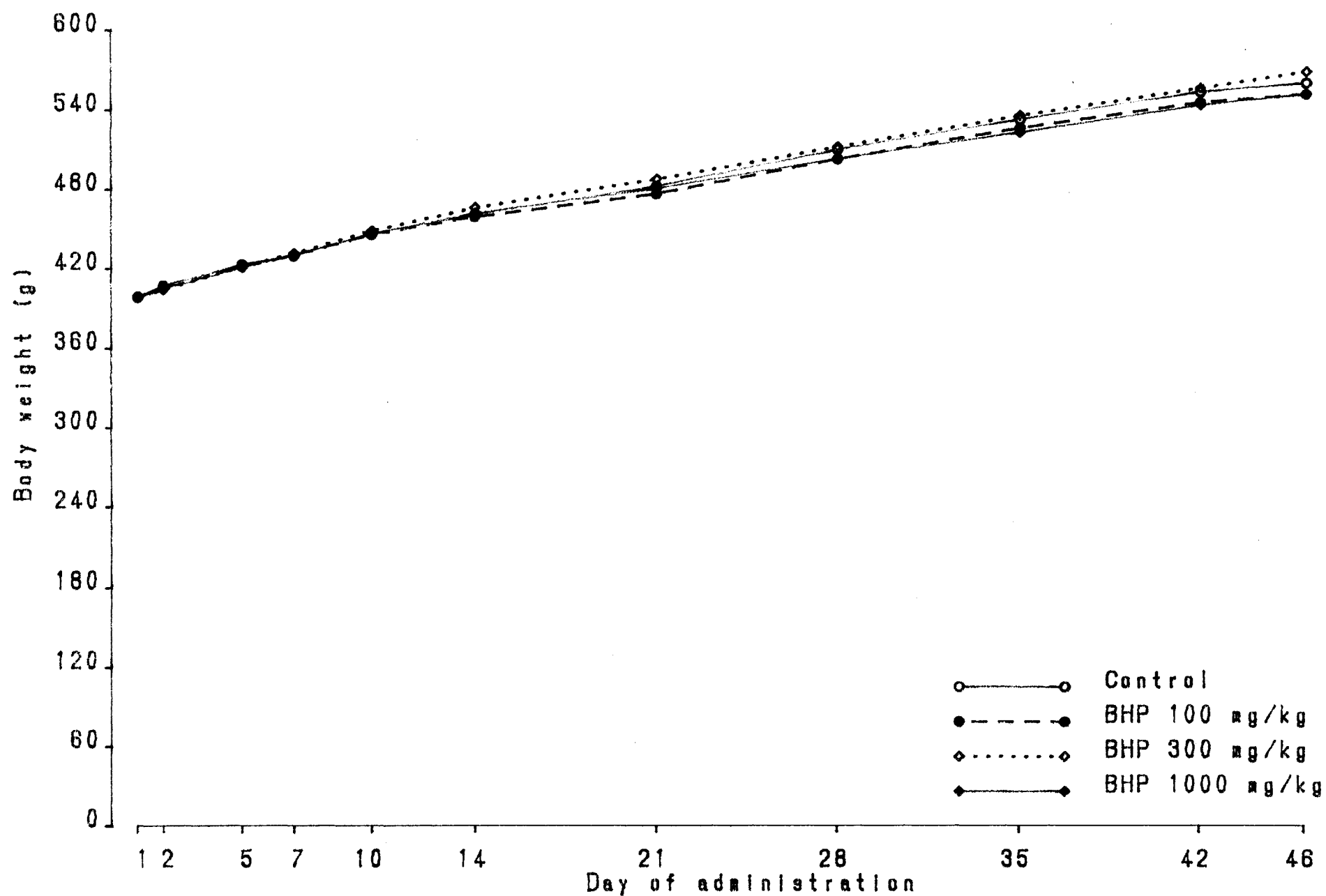


Figure 1. Body weight changes of male rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

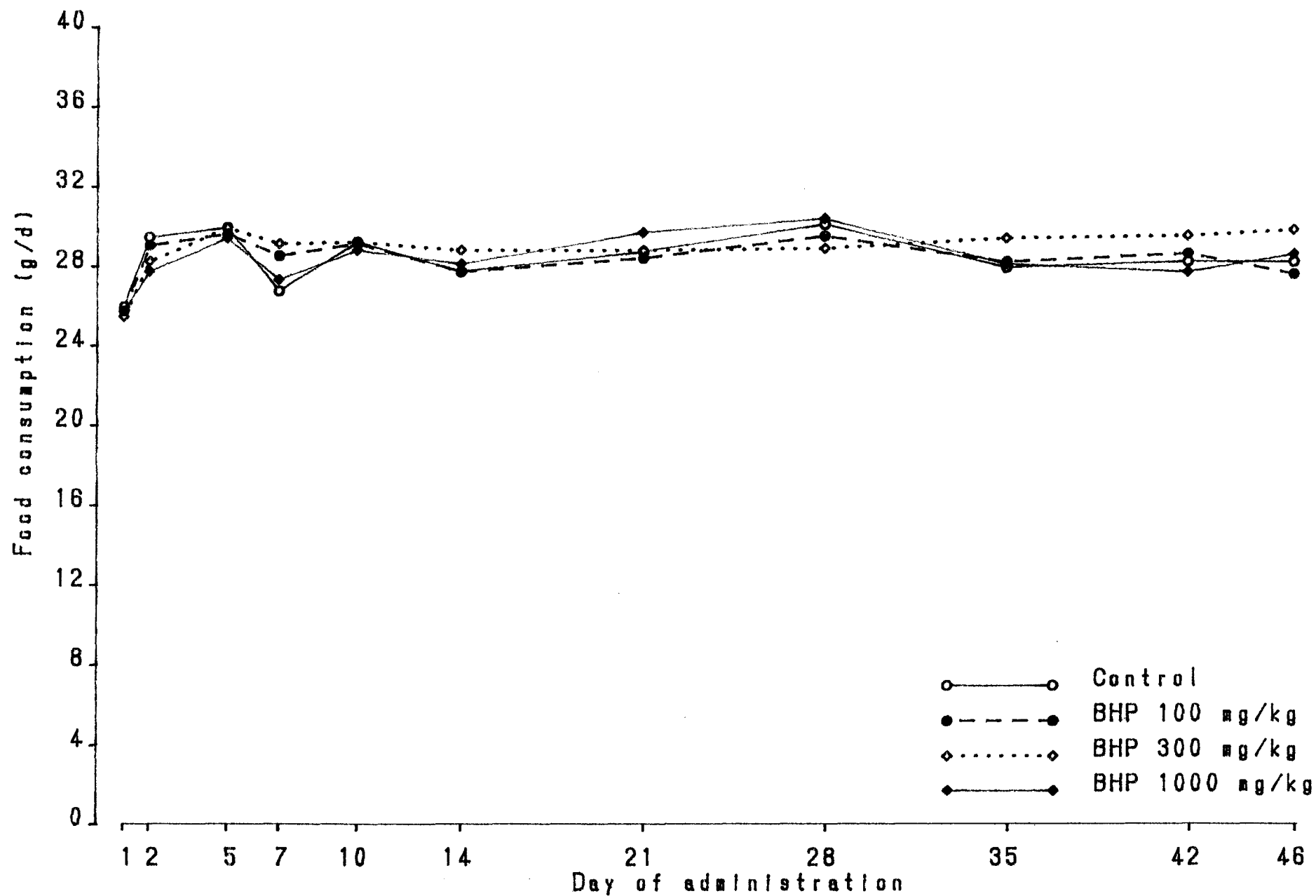


Figure 2. Food consumption of male rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

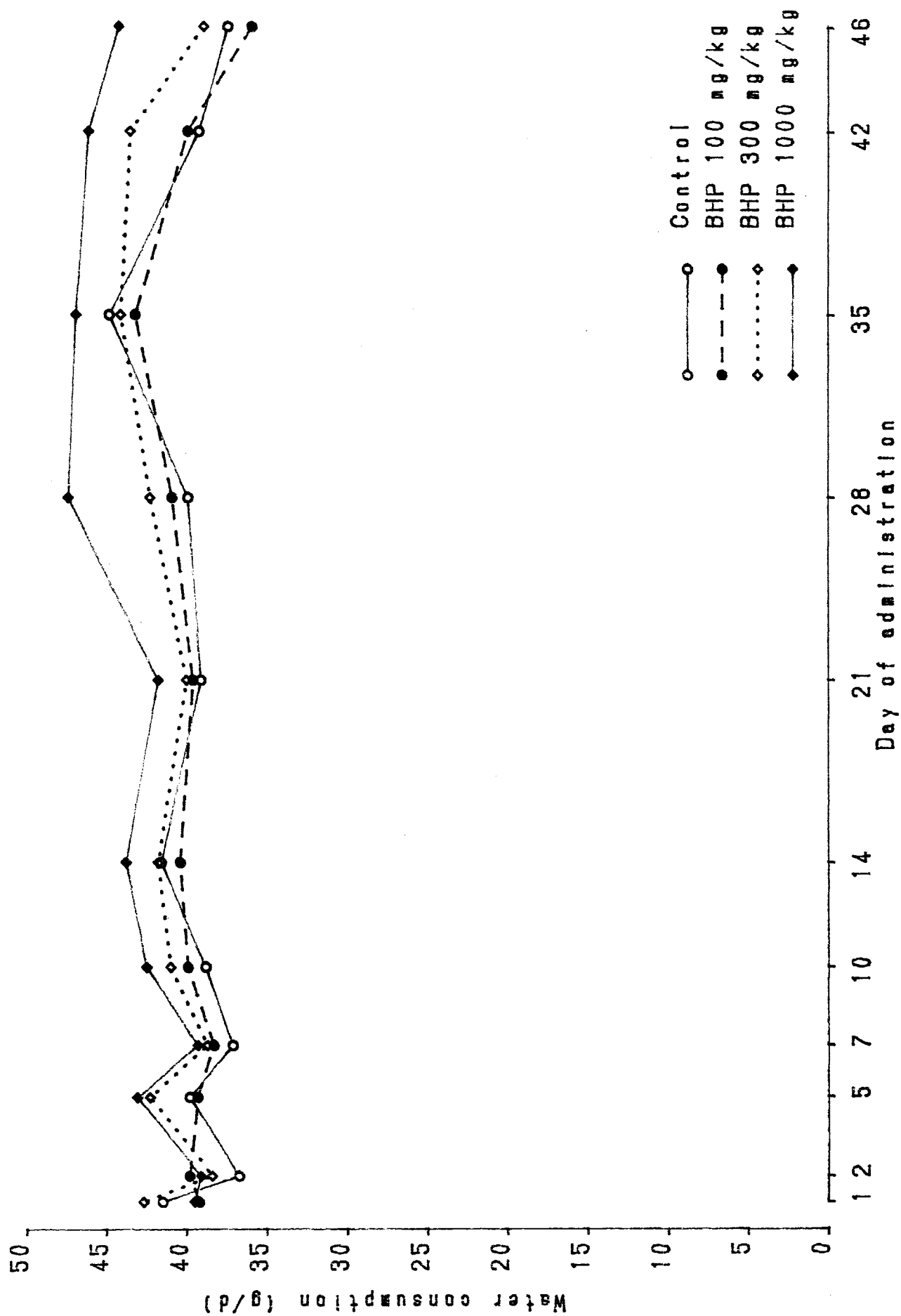


Figure 3. Water consumption of male rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

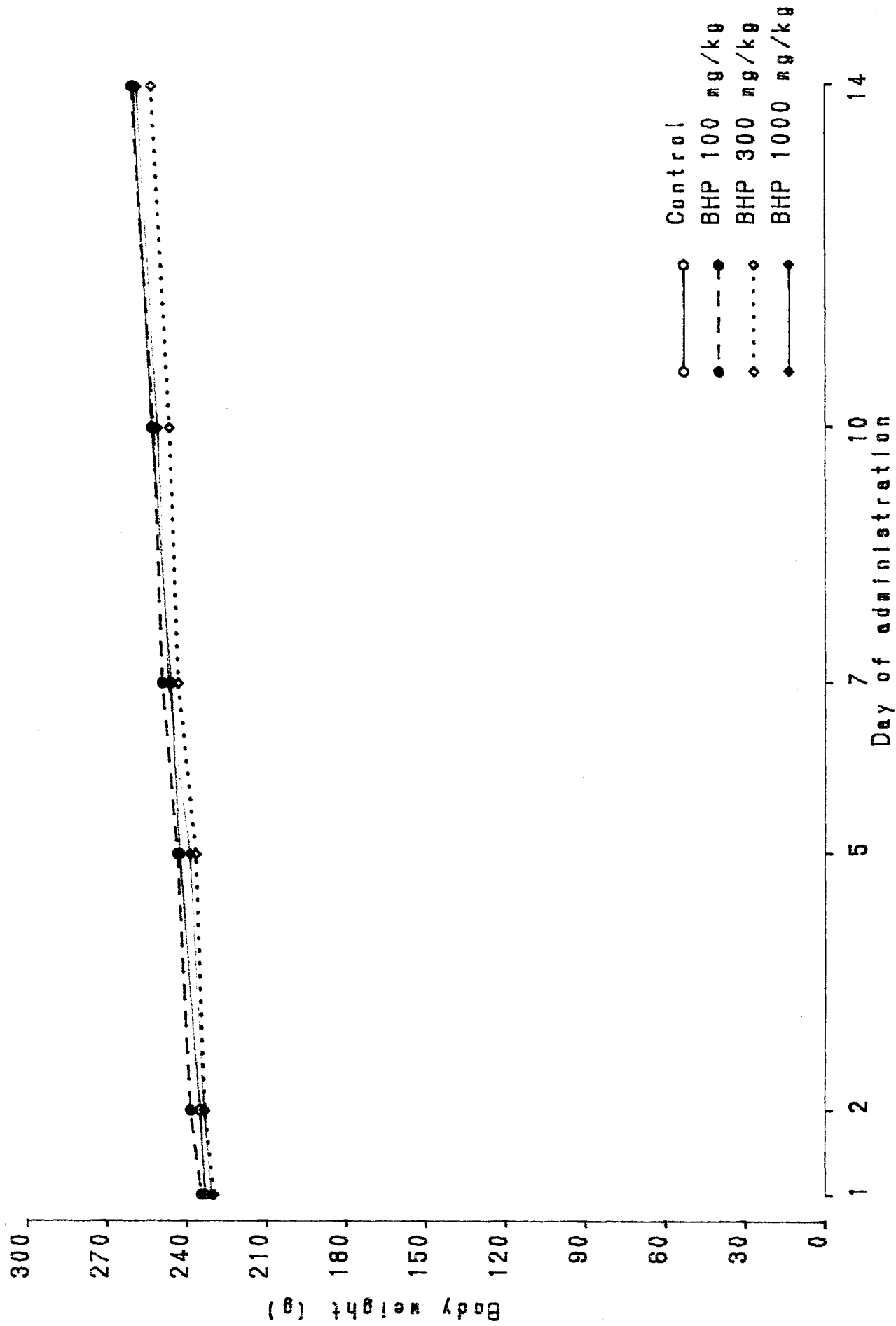


Figure 4. Body weight changes before gestation period of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

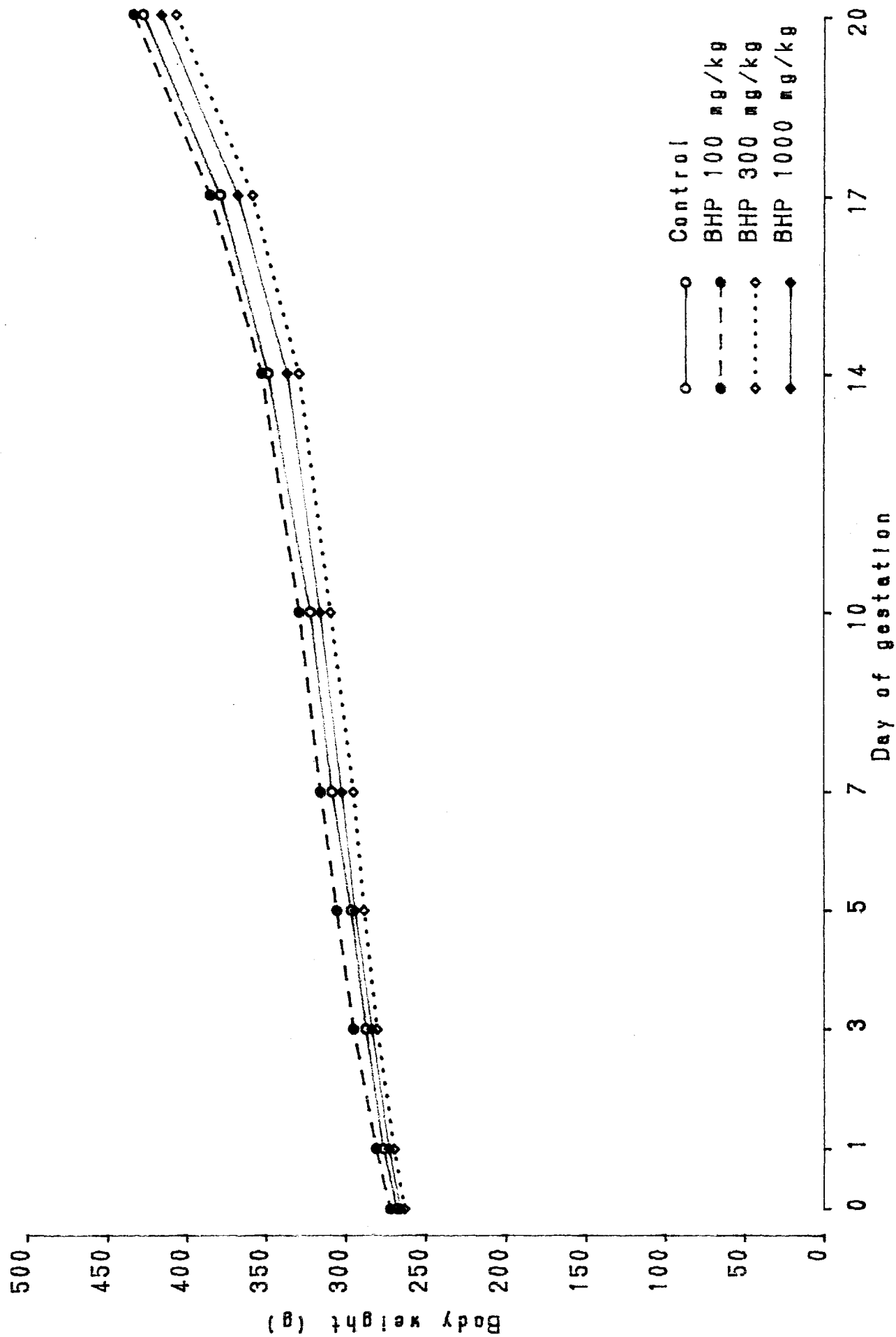


Figure 5. Body weight changes during gestation period of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

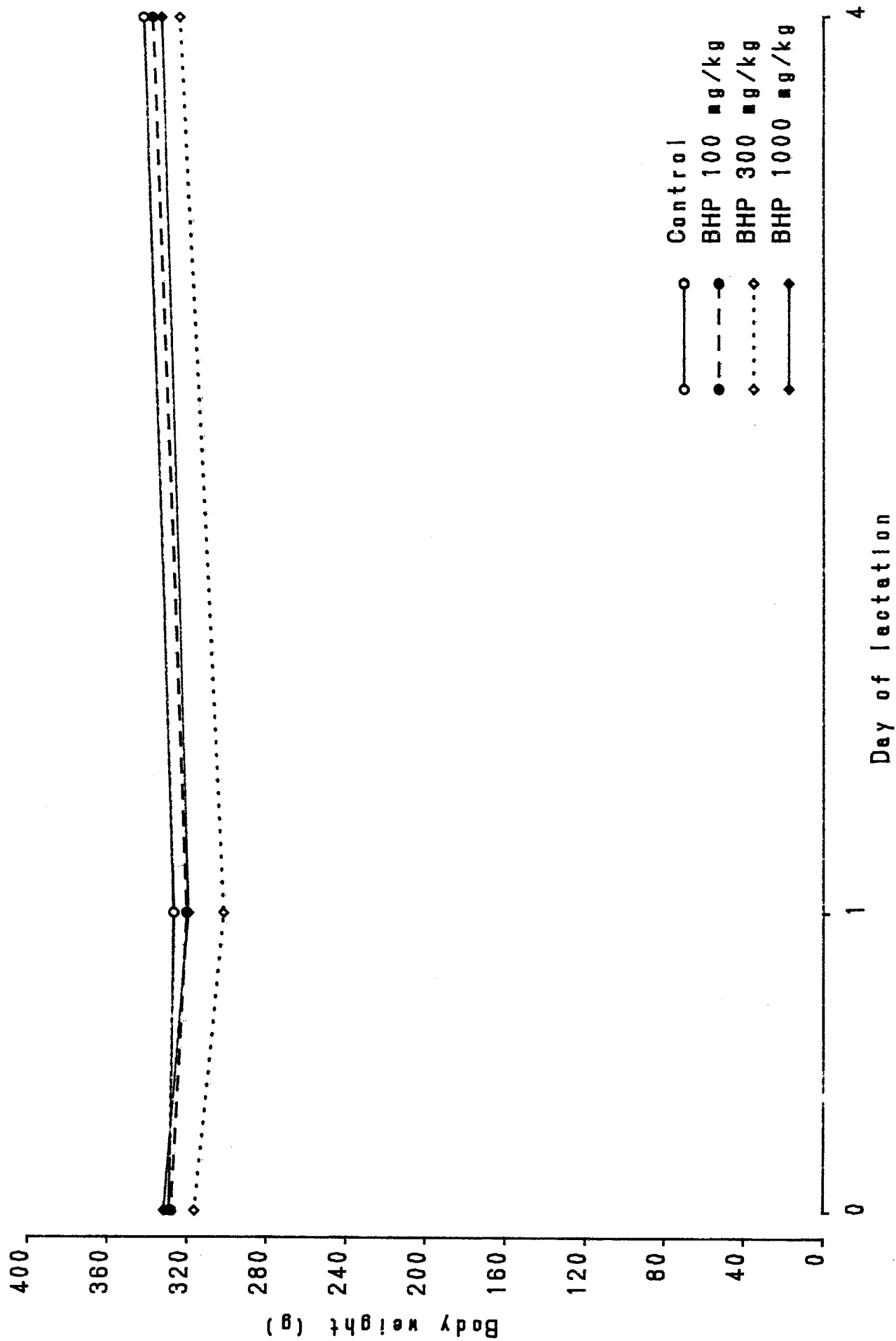


Figure 6. Body weight changes during lactation period of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

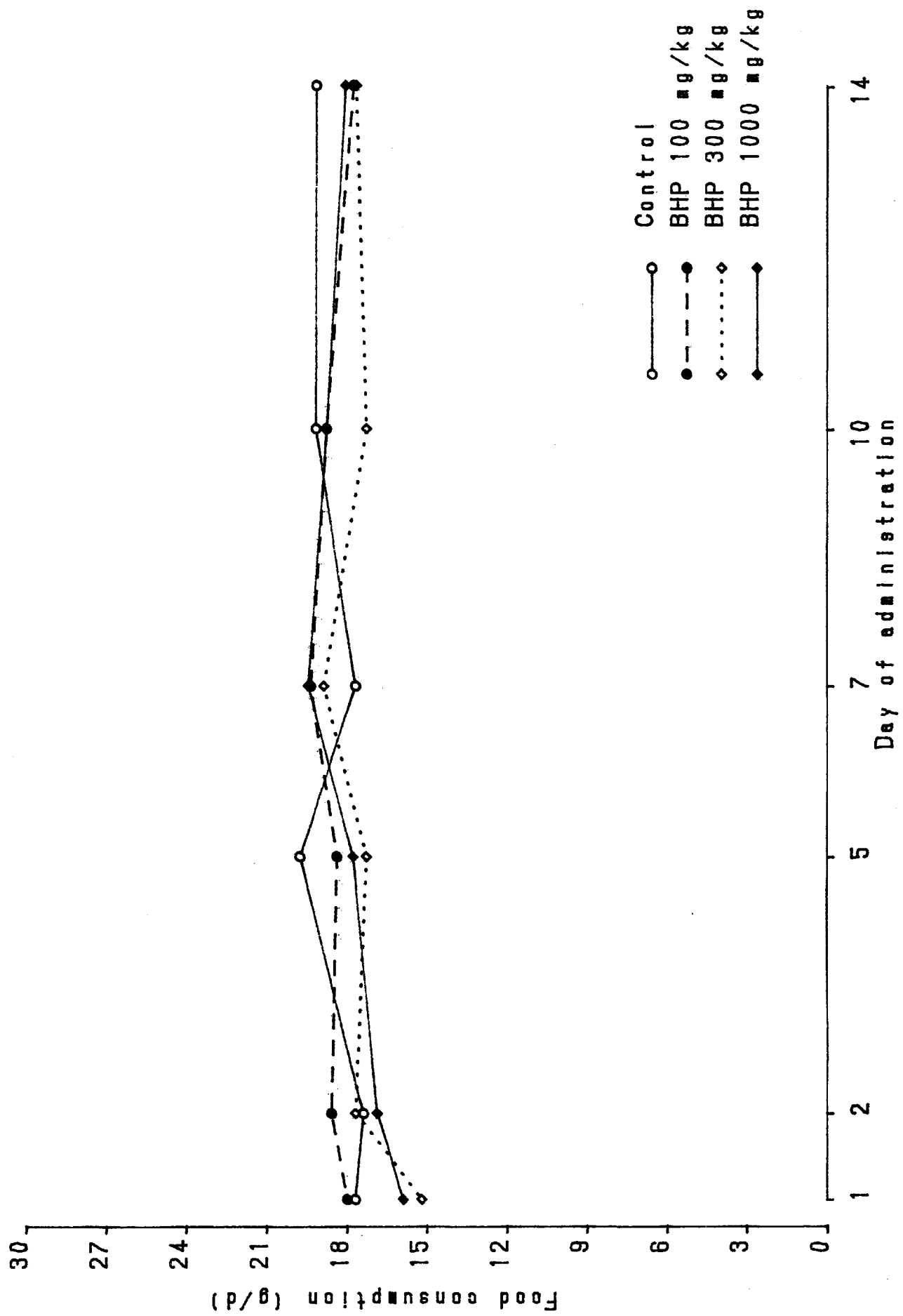


Figure 7. Food consumption before gestation period of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

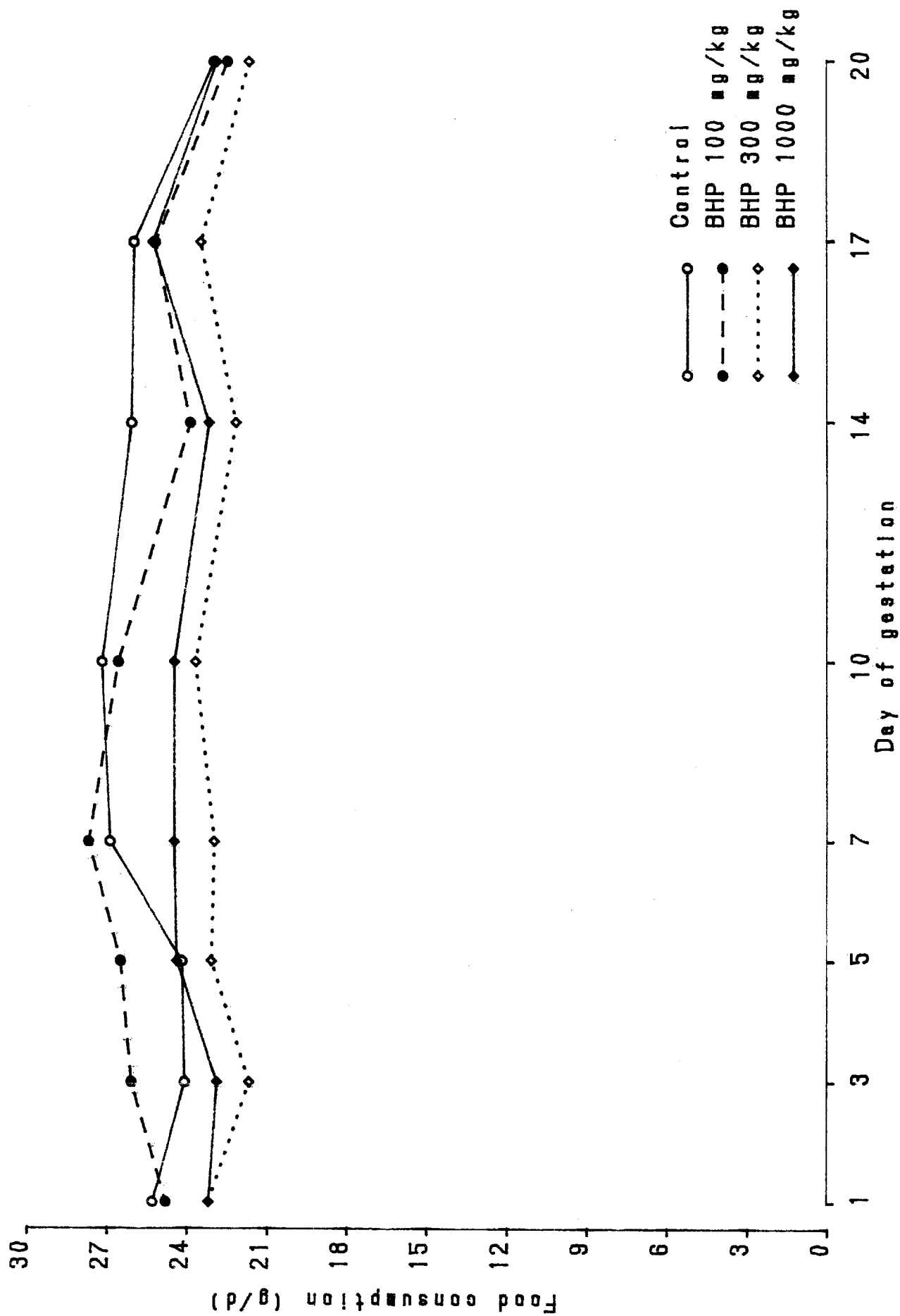


Figure 8. Food consumption during gestation period of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

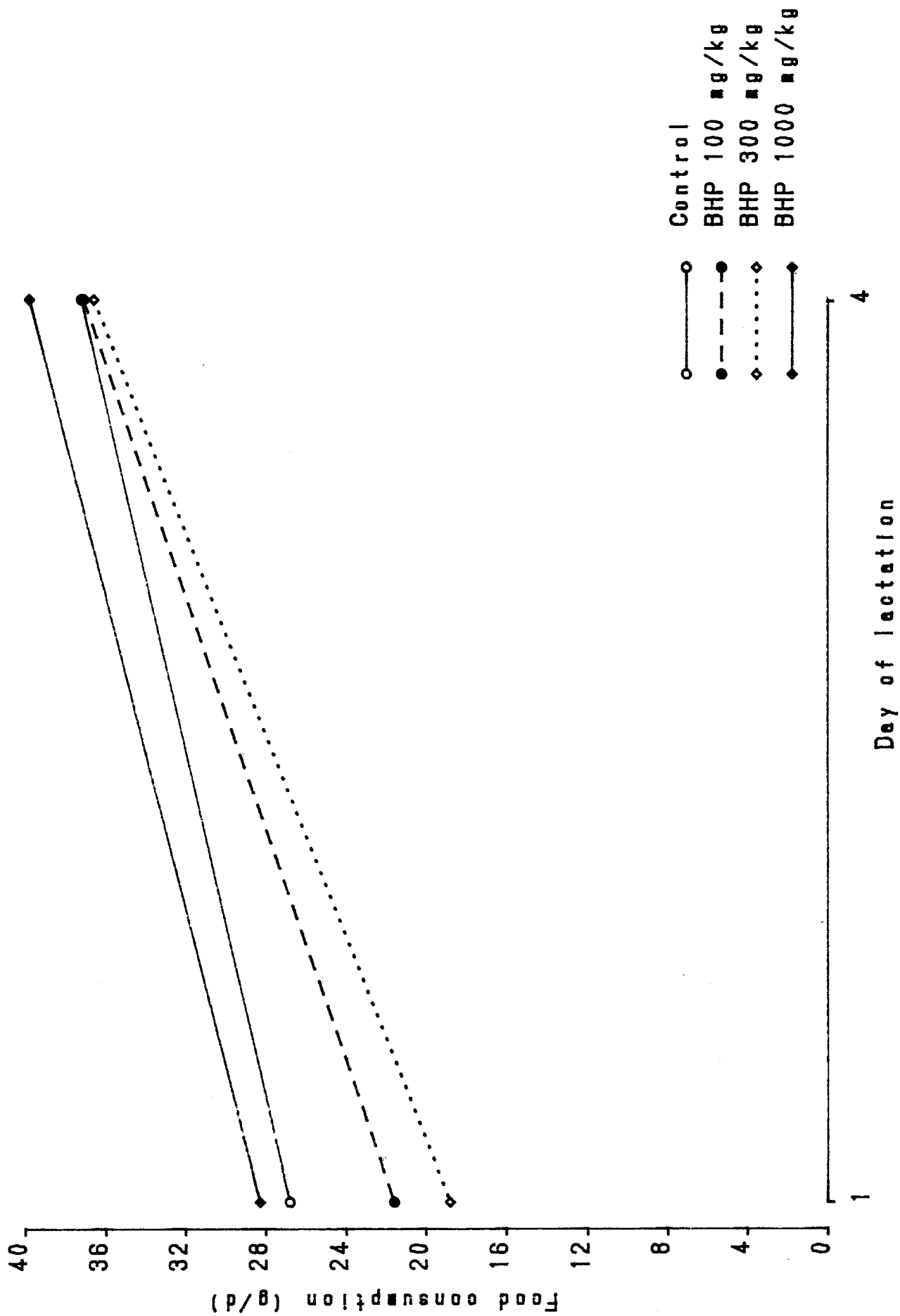


Figure 9. Food consumption during lactation period of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

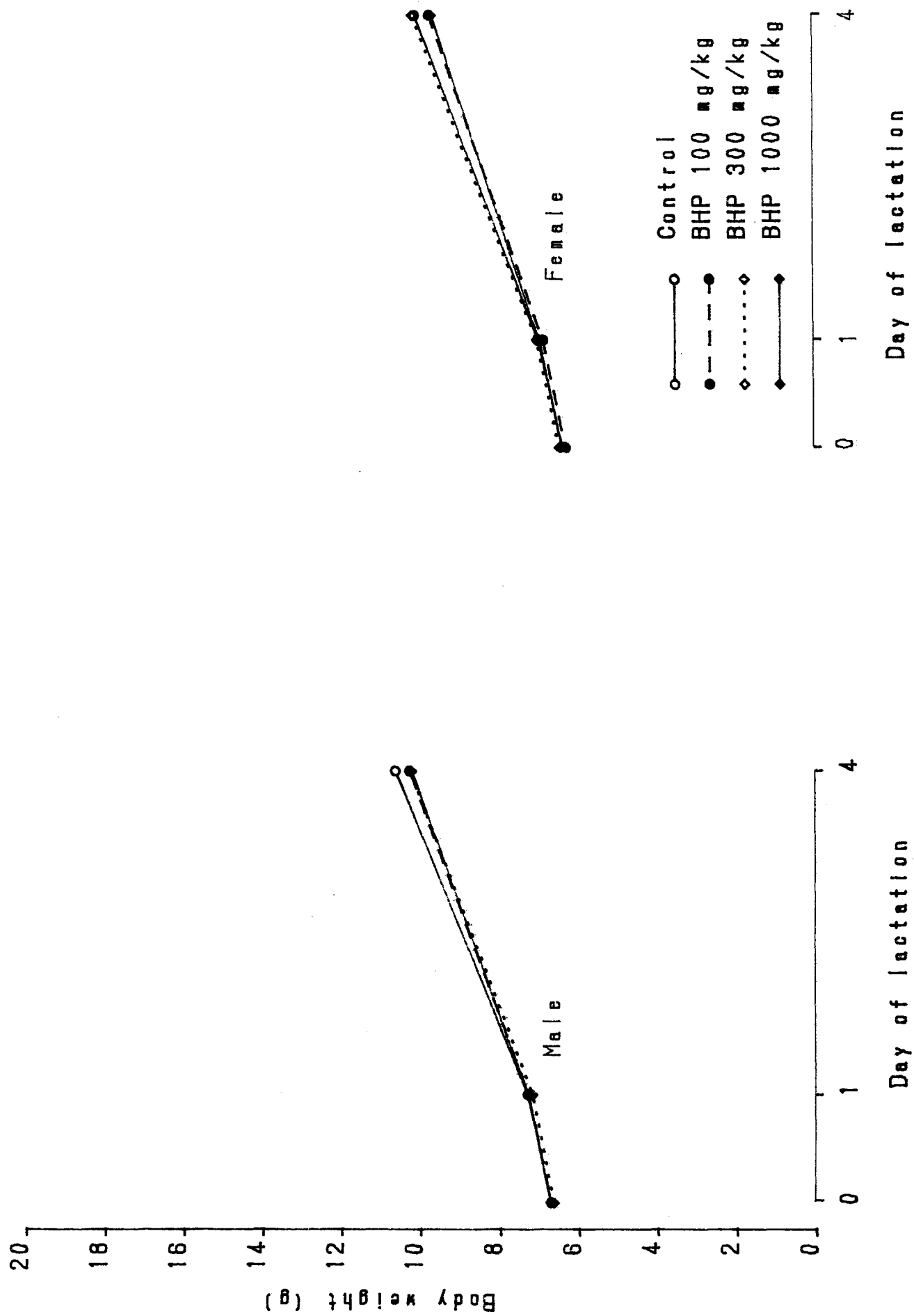


Figure 10. Body weight changes of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of BHP in rats

Table 1. Experimental design for the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of BHP in rats

Group	Concentration of BHP (w/v %)	Volume (mL/kg)	^a No. of animals	
			Male	Female
^b Control	0	10	12	12
^c BHP 100 mg/kg	1	10	12	12
BHP 300 mg/kg	3	10	12	12
BHP 1000 mg/kg	10	10	12	12

a: BHP [2,2-bis(hydroxymethyl)-1,3-propanediol] was dosed orally to males for 46 days including before and during the mating period, and to females from day 14 before mating to day 3 of lactation.

b: Control was 0.5% carboxymethylcellulose sodium dissolved in purified water.

c: BHP was suspended in control solution.

Table 2. General appearance of male rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Item	BHP (mg/kg)			
	Control	100	300	1000
No. of animals examined	12	12	12	12
Findings :				
Soft feces	^a 0	0	4	12
Diarrhea	0	0	1	12

a: Values are no. of animals with findings.

Table 3. Body weight changes of male rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group	No. of animals	Day of administration											Body weight gain	
		1	2	5	7	10	14	21	28	35	42	46	Day 1-46	% a
Control	12	b												
		398.4	407.4	423.5	430.1	447.0	461.3	482.7	510.9	533.2	554.2	560.8	162.333	40.543
		16.7	17.8	22.8	24.3	29.0	33.3	37.0	41.8	46.1	48.4	48.2	33.013	6.668
BHP 100 mg/kg	12	398.9	405.8	421.7	430.3	446.2	459.6	477.0	503.8	526.8	546.3	552.4	153.500	38.468
		15.4	17.0	18.2	18.9	21.7	22.9	25.0	25.6	25.2	26.2	27.6	17.676	4.134
BHP 300 mg/kg	12	398.8	404.4	421.8	431.7	448.8	466.4	488.0	512.8	536.0	556.8	569.5	170.750	42.638
		15.2	17.9	21.7	23.7	26.5	30.5	29.2	34.3	39.2	43.9	44.7	30.684	6.274
BHP 1000 mg/kg	12	398.2	404.4	421.4	430.8	446.6	462.4	480.9	504.3	523.9	544.3	552.4	154.250	38.597
		16.6	15.6	18.5	20.7	23.1	26.5	31.0	35.4	39.6	40.8	41.8	27.605	5.709

a: (Body weight gain / body weight on day 1) x 100.

b: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram.

Table 4. Food consumption of male rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group	No. of animals	Day of administration										
		1	2	5	7	10	14	21	28	35	42	46
Control	12	a										
		26.0	29.5	30.0	26.8	29.3	27.8	28.8	30.2	28.0	28.3	28.3
		2.4	3.0	3.6	3.3	3.7	4.3	3.8	4.5	3.9	3.9	2.9
BHP 100 mg/kg	12	(11)b										
		25.8	29.1	29.7	28.6	29.2	27.8	28.5	29.6	28.3	28.7	27.7
		2.9	3.2	2.7	2.4	3.0	1.9	1.6	2.2	2.5	1.6	2.3
BHP 300 mg/kg	12	(11)										
		25.5	28.3	30.0	29.2	29.3	28.9	28.9	29.0	29.5	29.6	29.9
		2.4	3.4	3.7	4.0	4.1	3.6	3.6	4.6	4.8	5.1	3.6
BHP 1000 mg/kg	12	(11)										
		25.8	27.8	29.5	27.4	28.9	28.2	29.8	30.5	28.2	27.8	28.7
		2.5	1.7	2.2	2.5	2.6	2.7	2.9	3.1	2.2	2.8	2.7

a: Values are means and S.D. thereunder, expressed in gram/day.

b: Values in parentheses are no. of animals examined.

Table 5. Water consumption of male rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group	No. of animals	Day of administration										
		1	2	5	7	10	14	21	28	35	42	46
Control	12	a										
		41.5 8.6	36.7 5.1	39.8 6.4	37.1 6.4	38.8 6.1	41.6 8.2	39.1 7.7	39.9 6.8	44.8 13.5	39.2 11.3	37.4 11.1
BHP 100 mg/kg	12							(11)b				
		39.2 4.9	39.8 6.1	39.3 5.2	38.3 6.7	39.9 6.2	40.4 6.4	39.6 7.5	40.9 9.2	43.2 7.6	39.9 8.3	35.9 6.1
BHP 300 mg/kg	12							(11)	(11)			
		42.7 8.8	38.4 7.7	42.3 10.5	38.7 8.0	41.0 7.0	41.8 8.3	40.0 9.6	42.3 11.2	44.1 12.5	43.5 15.8	38.9 6.6
BHP 1000 mg/kg	12											
		39.5 6.7	39.1 4.9	43.1 5.2	39.3 3.9	42.5 6.2	43.8 5.6	41.8 4.7	47.4 7.1	46.9 6.1	46.1 9.6	44.2 7.8

a: Values are means and S.D. thereunder, expressed in gram/day.

b: Values in parentheses are no. of animals examined.

Table 6. Urinary findings of male rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group	No. of animals	pH				Pro			Glu	Ket	Occult blood
		7.0	7.5	8.0	8.5	-	±	+	-	-	-
Control	6	^a 1	1	1	3	3	1	2	6	6	6
BHP 100 mg/kg	6	0	0	0	6	2	4	0	6	6	6
BHP 300 mg/kg	6	0	0	0	6	0	6	0	6	6	6
BHP 1000 mg/kg	6	0	0	2	4	0	2	4	6	6	6

Urinary sediments											
Group	No. of animals	Epithelial cell							Specific gravity		
		RBC	WBC	Squamous		Round	Small round	Others	1.021-1.030	1.031-1.040	1.041-1.050
Control	6	6	6	6	0	6	6	6	0	4	2
BHP 100 mg/kg	6	6	6	6	0	6	6	6	4	0	2
BHP 300 mg/kg	6	6	6	5	1	6	6	6	1	3	2
BHP 1000 mg/kg	6	6	6	5	1	6	6	6	1	1	4

(continued)

Table 6. (continued)

Group	No. of animals	U-Vol ml/21hr	U-Na mEq/21hr	U-K mEq/21hr	U-Cl mEq/21hr
Control	6	^b 19.17	0.8875	3.2642	1.5257
		5.46	0.2926	0.6782	0.4575
BHP 100 mg/kg	6	19.17	0.7953	2.6207	1.0713
		3.76	0.5028	0.5896	0.5461
BHP 300 mg/kg	6	20.67	1.2562	3.5892	1.7497
		5.65	0.4137	0.7058	0.5971
BHP 1000 mg/kg	6	14.58	0.9180	2.8787	1.2005
		4.51	0.4261	0.4286	0.4385

a: Values are no. of animals with findings.

b: Values are means and S.D. thereunder.

Table 7. Hematological findings of male rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group	No. of animals	RBC 10 ⁶ /μl	Ht. %	Hb. g/dl	MCV fl	MCH pg	MCHC %	WBC 10 ³ /μl	Plat 10 ³ /μl
^a									
Control	11	8.421 0.331	47.49 1.79	15.79 0.68	56.41 1.52	18.70 0.39	33.19 0.57	12.96 3.50	1150.3 94.7
BHP 100 mg/kg	12	8.647 0.264	48.07 1.56	15.78 0.55	55.61 1.76	18.21 0.66	32.78 0.50	14.69 2.32	1148.6 96.4
BHP 300 mg/kg	12	8.613 0.335	48.00 1.51	15.58 0.39	55.75 1.16	18.08* 0.52	32.43** 0.42	13.66 2.00	1079.3 94.7
BHP 1000 mg/kg	12	8.578 0.254	48.18 1.54	15.67 0.62	56.18 1.76	18.22 0.48	32.47** 0.65	13.18 3.24	1097.3 151.6

Group	No. of animals	Hemogram of WBC										
		Ret. %	CT sec.	PT sec.	APTT sec.	Neutro.		Eos. %	Bas. %	Mono. %	Lymph. %	Others %
						Stab. %	Seg. %					
Control	11	22.3	223.7	12.58	23.14	0.4	14.4	0.7	0.0	0.0	84.5	0.0
		2.3	49.0	0.35	1.69	0.5	4.5	1.1	0.0	0.0	5.4	0.0
BHP 100 mg/kg	12	21.8	198.4	12.88	24.29	0.3	17.3	0.8	0.0	0.0	81.5	0.0
		1.4	51.6	0.46	3.06	0.5	4.3	0.7	0.0	0.0	4.6	0.0
BHP 300 mg/kg	12	22.1	195.3	12.88	24.37	0.2	16.9	1.3	0.0	0.0	81.6	0.0
		1.1	32.6	0.31	2.26	0.4	6.0	0.9	0.0	0.0	6.3	0.0
BHP 1000 mg/kg	12	21.8	191.8	12.81	25.35	0.2	15.8	1.1	0.0	0.0	83.0	0.0
		1.4	69.9	0.39	1.84	0.4	6.5	0.5	0.0	0.0	6.6	0.0

a: Values are means and S.D. thereunder.

*: Differs from control, p<0.05.

**: Differs from control, p<0.01.

Table 8. Biochemical findings of male rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group	No. of animals	TP g/dl	Alb g/dl	A/G	Protein fractions (%)					GOT IU/L	GPT IU/L	CHE IU/L	γ -GTP IU/L	T-Bil mg/dl
					Alb	Globulin								
						α_1	α_2	β	γ					
Control	11	6.38 ^a	2.48	0.634	46.85	23.54	7.05	17.47	5.08	97.7	29.2	57.6	1.19	0.10
		0.24	0.09	0.027	1.42	1.95	0.50	1.32	0.98	14.2	4.5	26.9	0.34	0.00
BHP 100 mg/kg	12	6.42	2.48	0.623	46.58	23.72	7.08	17.42	5.22	102.8	29.5	64.0	1.18	0.10
		0.22	0.09	0.031	1.48	1.36	0.55	0.80	0.62	18.5	4.7	29.2	0.40	0.00
BHP 300 mg/kg	12	6.23	2.42	0.630	46.69	23.50	7.13	17.41	5.28	105.7	30.4	51.4	1.34	0.10
		0.22	0.12	0.034	1.54	1.82	0.89	0.81	0.73	19.0	6.8	17.6	0.39	0.00
BHP 1000 mg/kg	12	6.44	2.47	0.615	46.30	24.20	7.00	16.98	5.53	100.8	31.0	65.4	1.48	0.10
		0.24	0.12	0.033	1.51	2.09	0.71	0.81	1.19	9.0	6.2	33.1	0.40	0.00

Group	No. of animals	Glu mg/dl	T-Chol mg/dl	TG mg/dl	PL mg/dl	BUN mg/dl	Crea mg/dl	Na mEq/L	K mEq/L	Cl mEq/L	Ca mg/dl	P mg/dl
Control	11	147.8	80.5	101.9	145.9	17.15	0.55	144.45	4.957	105.1	10.05	7.53
		14.1	19.6	36.9	32.7	1.79	0.05	1.77	0.320	1.5	0.32	0.66
BHP 100 mg/kg	12	147.4	67.8	77.8	118.3*	16.47	0.55	144.13	5.001	105.3	9.75*	7.32
		10.1	15.1	23.7	15.3	1.86	0.08	0.96	0.230	1.3	0.24	0.74
BHP 300 mg/kg	12	148.2	60.3*	90.8	115.0*	16.40	0.54	143.75	4.919	104.7	9.71**	7.24
		13.1	14.2	22.3	18.5	1.07	0.07	1.41	0.269	1.2	0.25	0.58
BHP 1000 mg/kg	12	145.8	66.3	68.1	116.8	16.73	0.55	143.96	4.857	104.3	9.80	7.43
		17.3	19.0	46.7	32.5	1.55	0.05	1.10	0.278	1.1	0.24	0.59

a: Values are means and S.D. thereunder.

*: Differs from control, $p < 0.05$.

**: Differs from control, $p < 0.01$.

Table 9. Absolute and relative organ weights of male rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group	No. of animals	Body weight g	Liver		Kidney				Thymus		Adrenal			
					Right		Left				Right		Left	
			g	%	g	%	g	%	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %
Control	12	530.5 ^a	14.284	2.679	1.630	0.308	1.620	0.306	271.3	51.073	27.6	5.204	28.2	5.285
		47.9	2.432	0.245	0.162	0.036	0.176	0.037	70.0	11.632	2.8	0.322	6.0	0.898
BHP 100 mg/kg	12	521.4	13.329	2.553	1.548	0.298	1.576	0.303	281.5	54.112	27.8	5.353	29.8	5.732
		24.7	1.135	0.127	0.126	0.025	0.122	0.021	82.0	15.845	5.3	1.097	4.9	0.963
BHP 300 mg/kg	12	539.5	14.723	2.721	1.656	0.307	1.645	0.305	284.3	52.857	27.8	5.159	26.8	4.967
		40.7	1.930	0.212	0.127	0.021	0.146	0.017	59.0	11.219	5.9	1.060	4.8	0.906
BHP 1000 mg/kg	12	522.8	14.103	2.687	1.588	0.303	1.583	0.303	301.1	57.887	27.5	5.254	28.8	5.493
		40.5	2.104	0.255	0.122	0.027	0.133	0.023	77.9	15.448	4.3	0.641	4.8	0.746

(continued)

Table 9. (continued)

Group	No. of animals	Testis				Epididymis			
		Right		Left		Right		Left	
		g	%	g	%	g	%	g	%
Control	12	1.746	0.330	1.690	0.321	0.668	0.128	0.653	0.123
		0.129	0.029	0.136	0.032	0.062	0.011	0.067	0.009
BHP 100 mg/kg	12	1.683	0.324	1.658	0.319	0.663	0.127	0.636	0.122
		0.109	0.024	0.117	0.022	0.040	0.009	0.033	0.008
BHP 300 mg/kg	12	1.776	0.330	1.761	0.327	0.686	0.127	0.673	0.124
		0.205	0.027	0.208	0.027	0.066	0.011	0.068	0.008
BHP 1000 mg/kg	12	1.720	0.331	1.699	0.326	0.683	0.131	0.672	0.128
		0.100	0.025	0.115	0.028	0.041	0.010	0.050	0.009

a: Values are means and S.D. thereunder.

Table 10. Gross findings of male rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Item	Control	BHP (mg/kg)		
		100	300	1000
No. of animals examined	a 12	a 12	b 12	a 12
Organ : Findings	c			

a: Includes two animals whose mate had no evidence of pregnancy.

b: Includes one animal who unsucceeded in copulation.

c: There were no abnormal findings in all the organs and tissues.

Table 11. Histopathological findings of male rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Item	Male			
	Control	BHP (mg/kg)		
		100	300	1000
No. of animals examined	a 12	a 12	b 12	a 12
Organ : Findings ^c	(Grade) ^d			
Liver : Perilobular fatty change	(+)	e 0	0	1
Kidney (right/left) : Hyaline droplet deposition in tubular epithelium, mainly proximal tubules	(+)	5	6	2
Eosinophilic body deposition in tubular epithelium, mainly proximal tubules	(+)	4	3	2
Urinary cast	(+)	0	0	1
Focal regeneration of tubular epithelium	(+)	0	1	0
Heart : Focal infiltration of cells, mainly histiocytes	(+)	1	0	0
Lung : Calcium deposition in blood vessel wall	(+)	2	3	2
Pituitary gland : Ciliated epithelial cyst	<+>	2	0	1
Retention of homogeneous plasma-like substance in Rathke's pouch	(+)	0	0	0
Prostate : Interstitial infiltration of cells, mainly lymphocytes	(+)	1	1	1

a: Includes two animals whose mate had no evidence of pregnancy.

b: Includes one animal who unsucceeded in copulation.

c: There were no abnormal findings in the spleen, cerebrum, cerebellum, thyroid, thymus, adrenal, forestomach, glandular stomach, duodenum, jejunum, ileum, cecum, colon, rectum, testis or epididymis.

d: + = slight change and <+> = detected.

e: Values are no. of animals with findings.

Table 12. General appearance of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Item	Control	BHP (mg/kg)		
		100	300	1000
Findings before gestation period				
No. of animals examined	12 ^a	12	12	12
Soft feces	0	0	2	12
Diarrhea	0	0	0	12
Findings during gestation period				
No. of animals examined	12 ^b	12 ^b	11	12 ^b
Soft feces	0	0	0	12
Diarrhea	0	0	0	11
Findings during lactation period				
No. of animals examined	10	10	11	10
Soft feces	0	0	0	10
Diarrhea	0	0	0	9
Killed because all the litter died	0	0	0	1

a: Values are no. of animals with findings.

b: Includes two animals who had no evidence of pregnancy.

Table 13. Body weight changes before gestation period of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group	No. of animals	Day of administration						Body weight gain	
		1	2	5	7	10	14	Day 1-14	% a
		b							
Control	12	233.3	235.3	242.9	246.0	253.1	259.8	26.583	11.450
		11.5	10.4	12.7	10.7	13.3	13.1	8.512	3.713
BHP 100 mg/kg	12	234.7	238.8	243.6	249.3	252.4	260.5	25.833	10.903
		12.0	10.8	13.5	14.6	16.3	21.4	12.525	5.064
BHP 300 mg/kg	12	229.8	233.4	236.7	243.3	246.5	253.1	23.250	10.141
		8.7	8.7	9.0	10.6	11.0	10.3	6.538	2.971
BHP 1000 mg/kg	12	230.7	233.7	238.8	246.8	250.8	258.5	27.833	12.121
		12.8	11.4	13.2	14.0	15.3	14.8	8.473	3.731

a: (Body weight gain / body weight on day 1) x 100.

b: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram.

Table 14. Body weight changes during gestation period of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group	No. of animals	Day of gestation									Body weight gain	
		0	1	3	5	7	10	14	17	20	Day 0-20	% a
Control	10	b										
		268.1	276.7	287.9	297.1	309.1	323.2	349.7	380.3	428.5	160.400	59.998
		14.3	13.6	14.2	14.5	15.2	15.7	19.3	22.0	26.1	22.941	9.127
BHP 100 mg/kg	10	272.4	281.4	295.4	306.1	316.6	330.3	353.9	386.5	434.6	162.200	59.544
		18.1	19.5	22.2	23.5	23.3	24.9	26.3	28.1	31.5	16.096	4.345
BHP 300 mg/kg	11	263.5	270.1	280.9	289.2	295.8	310.5	330.6	359.8	407.8	144.364	54.732
		12.8	14.1	14.9	16.5	16.7	18.2	20.6	24.1	34.7	27.373	9.453
BHP 1000 mg/kg	10	266.0	273.6	284.2	294.8	303.1	317.2	337.9	369.3	417.1	151.100	56.892
		17.5	15.6	18.5	22.0	22.7	24.2	24.9	27.4	28.3	16.868	5.859

a: (Body weight gain / body weight on day 0) x 100.

b: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram.

Table 15. Body weight changes during lactation period of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group	No. of animals	Day of lactation			Body weight gain	
		0	1	4	Day 0-4	% a
Control	10	^b 329.0	326.5	341.4	12.400	3.795
		17.6	24.6	19.1	9.582	3.005
BHP 100 mg/kg	10	327.8	320.2	337.0	9.200	2.939
		24.1	25.6	23.2	15.922	4.836
BHP 300 mg/kg	11	316.3	301.6	323.2	6.909	2.225
		16.5	23.8	21.0	15.984	4.969
BHP 1000 mg/kg	10			(9) ^c	(9)	(9)
		331.6	319.2	332.3	5.000	1.683
		24.9	23.7	16.2	11.402	3.674

a: (Body weight gain / body weight on day 0) x 100.

b: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram.

c: Values in parentheses are no. of animals examined.

Table 16. Food consumption before gestation period of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group	No. of animals	Day of administration					
		1	2	5	7	10	14
Control	12	a		(11)b			
		17.7	17.4	19.8	17.7	19.2	19.2
		2.9	2.2	3.5	2.5	3.5	3.7
BHP 100 mg/kg	12	18.0	18.6	18.4	19.4	18.8	17.8
		4.7	2.0	3.3	2.2	3.3	3.9
BHP 300 mg/kg	12	15.2*	17.7	17.3	18.9	17.3	17.7
		1.7	2.1	2.2	2.1	2.8	2.0
BHP 1000 mg/kg	12	15.9	16.9	17.8	19.5	18.8	18.1
		2.5	2.6	2.2	3.1	2.5	2.4

a: Values are means and S.D. thereunder, expressed in gram/day.

b: Values in parentheses are no. of animals examined.

*: Differs from control, $p < 0.05$.

Table 17. Food consumption during gestation period of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group	No. of animals	Day of gestation							
		1	3	5	7	10	14	17	20
Control	10	^a 25.3	24.1	24.2	26.9	27.2	26.1	26.0	23.0
		3.6	2.8	3.7	3.3	4.0	4.7	4.0	1.9
BHP 100 mg/kg	10	24.8	26.1	26.5	27.7	26.6	23.9	25.2	22.5
		2.3	3.0	3.3	3.6	3.9	2.4	3.7	2.4
BHP 300 mg/kg	11	23.2	21.7	23.1	23.0	23.7	22.2*	23.5	21.7
		2.3	2.8	3.9	4.0	3.7	3.7	2.2	3.0
BHP 1000 mg/kg	10	23.2	22.9	24.4	24.5	24.5	23.2	25.3	22.9
		2.8	3.6	4.4	3.8	3.5	2.9	4.3	2.5

a: Values are means and S.D. thereunder, expressed in gram/day.

*: Differs from control, $p < 0.05$.

Table 18. Food consumption during lactation
period of female rats dosed orally
with BHP in the combined repeat
dose and reproductive/developmental
toxicity screening test

Group	No. of animals	<u>Day of Lactation</u>	
		1	4
Control	10	^a 26.8	37.2
		5.6	6.7
BHP 100 mg/kg	10	21.6	37.1
		9.6	4.3
BHP 300 mg/kg	11	18.8	36.6
		9.7	8.6
BHP 1000 mg/kg	9	28.3	39.8
		6.3	3.0

a: Values are means and S.D. thereunder,
expressed in gram/day.

Table 19. Absolute and relative organ weights of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group	No. of animals	Body weight g	Liver		Kidney				Thymus		Adrenal				Ovary			
			g	%	Right		Left		mg	10 ⁻³ %	Right		Left		Right		Left	
					g	%	g	%			mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %
		a	(9)b	(9)b														
Control	10	341.4	13.310	3.898	0.990	0.290	0.989	0.291	216.6	63.303	38.6	11.283	42.3	12.366	57.8	16.906	49.6	14.590
		19.1	0.899	0.275	0.103	0.027	0.120	0.032	73.9	21.283	7.0	1.663	8.2	2.039	10.3	2.680	7.9	2.548
HP 100 mg/kg	10	337.0	13.258	3.941	0.981	0.292	0.966	0.286	202.1	59.378	35.2	10.387	38.0	11.232	54.1	16.075	52.4	15.496
		23.2	0.596	0.151	0.060	0.015	0.067	0.017	61.1	14.761	7.6	1.824	6.9	1.635	11.1	3.271	8.4	1.870
HP 300 mg/kg	11	323.2	13.272	4.103	0.980	0.303	0.952	0.295	184.0	57.228	34.3	10.596	37.3	11.545	53.2	16.546	50.6	15.680
		21.0	1.517	0.346	0.124	0.028	0.083	0.016	56.7	18.419	3.9	0.825	4.4	1.241	10.7	3.726	9.6	2.866
HP 1000 mg/kg	9	332.3	14.019	4.219	1.000	0.301	0.982	0.296	182.6	54.477	36.7	11.081	39.8	12.012	58.0	17.508	54.3	16.351
		16.2	1.429	0.357	0.081	0.021	0.086	0.026	87.0	23.415	5.2	1.808	6.8	2.209	11.0	3.604	9.0	2.585

: Values are means and S.D. thereunder.

: Values in parentheses are no. of animals examined.

Table 20. Gross findings of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Item	BHP (mg/kg)			
	Control	100	300	1000
No. of animals examined	a 12	a 12	b 12	c 12
Organ : Findings	d			
Liver : Yellowish white patch	0	1	0	0
Spleen : Adhesion to liver and intra-abdominal adipose tissue	1	0	0	0
Ileum : Diverticulum	0	0	1	0
Ovaries : Cyst	0	0	1	0
Uterus (left) : Retained placenta	0	0	0	1 e

a: Includes two animals who had no evidence of pregnancy.

b: Includes one animal who unsucced in copulation.

c: Includes two animals who had no evidence of pregnancy and one animal whose all the litter died.

d: Values are no. of animals with findings.

e: Killed because all the litter died.

Table 21. Histopathological findings of female rats dosed orally with BHP in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Item	Female			
	Control	BHP (mg/kg)		
		100	300	1000
No. of animals examined	a 12	a 12	b 12	c 12
Organ : Findings ^d	(Grade) ^e			
Liver : Focal necrosis of hepatocytes	(+)	0	2	0
Kidney (right) : Regeneration of tubular epithelium	(+)	0	0	1
Dilation of renal pelvis	(+)	0	0	1
Dilation of tubules	(+)	0	0	1
Urinary cast	(+)	0	1	0
Spleen : Fibrous adhesion to liver and intra-abdominal adipose tissue	(+)	1	0	0
Granuloma	<+>	1	0	0
Lung : Calcium deposition in blood vessel wall	(+)	1	0	0
Pituitary gland : Ciliated epithelial cyst	<+>	1	1	0
Retention of homogeneous plasma-like substance in Rathke's pouch	(+)	3	1	3
Thymus : Atrophy	(+)	1	0	0
Increase in RES cells in medulla	(++)	1	0	0
Ileum : Diverticulum	<+>	0	0	1
Ovaries : Lutein cyst	<+>	0	0	1

a: Includes two animals who had no evidence of pregnancy.

b: Includes one animal who unsuccced in copulation.

c: Includes two animals who had no evidence of pregnancy and one animal whose all the litter died.

d: There were no abnormal findings in the heart, cerebrum, cerebellum, thyroid, adrenal, forestomach, glandular stomach, duodenum, jejunum, ileum, cecum, colon or rectum of all animals, and in the mammary gland, uterus or uterine cervix of one animal whose all the litter died.

e: + = slight change, ++ = moderate change and <+> = detected.

f: Values are no. of animals with findings.

Table 22. Influence of BHP on reproductive ability of rats in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group	No. of pairs mated	Estrous cycle								No. of pairs with successful copulation	Days between the starting of mating and copulation	Copuration index % ^a	No. of pregnant animals	Fertility index % ^b
		Before administration				Administration period								
		Normal	Abnormal			Normal	Abnormal							
			Total	Continuous diestrus	Irregular		Total	Continuous diestrus	Irregular					
Control	12	12	0	- ^c	-	12	0	-	-	12	2.1±1.0 ^d	100.0	10	83.3
BHP 100 mg/kg	12	12	0	-	-	12	0	-	-	12	2.8±1.5	100.0	10	83.3
BHP 300 mg/kg	12	12	0	-	-	11	1	1 ^e	0	11	2.7±1.0	91.7	11	100.0
BHP 1000 mg/kg	12	12	0	-	-	12	0	-	-	12	2.9±0.9	100.0	10	83.3

a: (No. of pairs with successful copulation / no. of pairs mated) x 100.

b: (No. of pregnant animals / no. of pairs with successful copulation) x 100.

c: - = blank value.

d: Values are means ± S.D.

e: During mating.

Table 23. Influence of BHP on delivery and maternal behavior in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group			No. of pregnant females	No. of corpora lutea	No. of implantation sites	a		b			Live pups born		Dead pups born			Gestation length day	Gestation index %	Nursing index %	
						Implan- tation index %	No. of pups born	Delivery index %	c		d Sex ratio	Male	Female	No.	Male				Female
									No.	%									
Control	Total	10	180	166		148		143			70	73	5	3	2				
	Mean		18.0	16.6	92.683	14.8	88.979	14.3	96.566	1.181	7.0	7.3	0.5	1.0	0.7	22.2	100.0	100.0	
	S.D.		2.1	2.0	8.919	2.6	9.775	2.7	5.980	0.524	2.6	1.8	0.8	0.0	0.6	0.4			
BHP 100 mg/kg	Total	10	182	170		161		157			80	77	4	1	3				
	Mean		18.2	17.0	93.897	16.1	94.891	15.7	97.569	1.118	8.0	7.7	0.4	0.3	1.0	22.1	100.0	100.0	
	S.D.		1.9	1.2	6.446	0.9	4.901	0.9	4.193	0.599	2.4	2.6	0.7	0.6	1.0	0.3			
BHP 300 mg/kg	Total	11	190	164		155		153			69	84	2	1	1				
	Mean		17.3	14.9	84.481	14.1	95.142	13.9	98.766	1.617	6.3	7.6	0.2	0.5	0.5	22.0	100.0	100.0	
	S.D.		2.8	4.9	22.912	4.5	6.572	4.5	2.774	1.185	3.0	3.2	0.4	0.7	0.7	0.4			
BHP 1000 mg/kg	Total	10	185	170		154		139			75	64	15	9	6				
	Mean		18.5	17.0	92.457	15.4	90.648	13.9	91.667	1.029	7.5	6.4	1.5	4.5	3.0	22.1	100.0	90.0 ^g	
	S.D.		2.1	1.2	6.431	2.8	14.854	4.0	22.718	0.548	3.2	2.6	4.1	4.9	2.8	0.3			

a: (No. of implantation sites / no. of corpora lutea) x 100.

b: (No. of pups born / no. of implantation sites) x 100.

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

d: No. of female pups / no. of male pups.

e: (No. of females with live pups delivered / no. of pregnant females) x 100.

f: (No. of females nursing live pups / no. of females with normal delivery) x 100.

g: In one animal, all the litter died till day 1 of lactation.

Table 24. Gross findings of dead pups at birth in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of BHP in rats

Item	Male				Female			
	BHP (mg/kg)				BHP (mg/kg)			
	Control	100	300	1000	Control	100	300	1000
No. of dead animals examined	3	1	1	9	2	3	1	6
Organ : Findings								
External : Trauma	0 a	0	0	3	0	0	0	1

a: Values are no. of animals with findings.

Table 25. Influence of BHP on viability of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats

Item	No. of live pups born (on day 0)	Live pups on day 4			
		No.	Viability index ^a %	Male	Female
Control	143	141		69	72
	14.3	14.1	98.375	6.9	7.2
	2.7	2.8	3.538	2.7	1.7
BHP 100 mg/kg	157	156		79	77
	15.7	15.6	99.412	7.9	7.7
	0.9	0.8	1.859	2.2	2.6
BHP 300 mg/kg	153	150		68	82
	13.9	13.6	98.475	6.2	7.5
	4.5	4.3	3.526	2.9	3.1
BHP 1000 mg/kg	139	133		73	60
	13.9	14.8	99.306	8.1	6.7
	4.0	2.6	2.083	2.7	2.4

a: (No. of live pups on day 4 / no. of live pups born) x 100.

Table 26. General appearance of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of BHP in rats

Item	Male				Female			
	BHP (mg/kg)				BHP (mg/kg)			
	Control	100	300	1000	Control	100	300	1000
No. of animals examined	^a 70	80	69	75	73	77	84	64
Findings :								
^b Death	^c 1	1	1	2	1	0	2	4
Trauma of medial dorsal, cervical, cervical dorsal, nasal or left abdominal regions / head	0	0	0	2	0	0	1	3
Dark red discoloration of right head	0	1	0	0	0	0	0	0

a: Values are no. of live animals at birth.

b: Includes missing.

c: Values are no. of animals with findings.

Table 27. Body weight changes of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of BHP in rats

Group	No. of litters	Male					Female				
		Day of Lactation			Body weight gain		Day of Lactation			Body weight gain	
		0	1	4	Day 0-4	% a	0	1	4	Day 0-4	%
Control	10	b									
		6.74	7.33	10.64	3.900	57.655	6.40	7.01	10.08	3.680	56.823
		0.58	0.78	1.52	1.164	16.287	0.64	0.89	1.74	1.227	15.578
BHP 100 mg/kg	10	6.73	7.31	10.29	3.560	52.832	6.33	6.89	9.73	3.400	53.924
		0.41	0.41	0.81	0.484	5.839	0.43	0.32	0.64	0.462	8.003
BHP 300 mg/kg	11	(10)c	(10)	(10)	(10)	(10)					
		6.66	7.20	10.27	3.610	54.120	6.49	7.05	10.15	3.655	55.586
		0.51	0.71	1.12	0.784	10.387	0.87	1.10	1.99	1.231	13.107
BHP 1000 mg/kg	10		(9)	(9)	(9)	(9)		(9)	(9)	(9)	(9)
		6.74	7.33	10.23	3.489	51.679	6.40	6.98	9.66	3.211	49.689
		0.60	0.80	1.27	0.861	11.020	0.59	0.68	1.12	0.627	7.230

a: (Body weight gain / body weight on day 0) x 100.

b: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram.

c: Values in parentheses are no. of litters examined.

Table 28. Gross findings of pups which were dead after birth or killed on day 4 of lactation in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of BHP in rats

Item	Male				Female			
	BHP (mg/kg)				BHP (mg/kg)			
	Control	100	300	1000	Control	100	300	1000
Findings of dead pups after birth								
No. of animals examined	1	1	0	0	0	0	1	0
a								
Organ : Findings								
Findings of pups killed on day 4 of lactation								
No. of animals examined	69	79	68	73	72	77	82	60
Organ : Findings								
b								
Kidney (right) : Hypoplasia	0	0	0	0	0	1	0	0
Partial dark red discoloration	0	0	0	0	0	1	0	0
External : Trauma	0	0	0	0	0	0	1	0

a: There were no abnormal findings in all the organs and tissues.

b: Values are no. of animals with findings.