

食薬セ研第10-1640号

2000年 9月12日

トリメチル亜リン酸の
ラットを用いる
経口投与簡易生殖毒性試験

厚生省生活衛生局 委託

財団法人食品薬品安全センター

秦野研究所

【目 次】

要約	1
緒言	2
方法	3
1. 被験物質	3
2. 使用動物および飼育方法	3
3. 投与検体の調製	4
4. 投与量および投与方法	4
5. 観察および検査	5
6. データ解析法	7
結果	9
1. 親動物	9
2. 生殖能力	10
3. 出生児	11
考察	12
文献	14

Figs. 1~4

Tables 1~23

【要 約】

Sprague-Dawley 系 [Crj:CD(SD) IGS, SPF] 雌雄ラットの交配前 2 週間および交配期間ならびに雄では交配期間終了後 2 週間、雌では妊娠期間を通して哺育 3 日まで、トリメチル亜リン酸の 0、5、20 および 80 mg/kg を経口投与し、雌雄ラットに対する生殖毒性について検討した。

成績は、以下のように要約される。

1. 親動物所見

いずれの投与群においても死亡動物はみられなかった。一般状態の変化として、投与直後に流涎が、雄の 20 mg/kg 以上および雌の 80 mg/kg 投与群に観察された。体重推移および摂餌量には、トリメチル亜リン酸投与の影響は認められなかった。剖検・病理組織学検査では、前胃粘膜の肥厚が 20 mg/kg 以上の投与群で雌雄ともに観察されたが、内部生殖器にはトリメチル亜リン酸の投与に起因したと考えられる変化は認められなかった。

2. 生殖能力所見

性周期、交尾および受胎能力にはトリメチル亜リン酸投与の影響はみられなかった。また、妊娠期間、分娩および哺育状態にも、トリメチル亜リン酸の投与に起因したと考えられる変化は認められなかった。

3. 出生児所見

出生児の生存性および体重には、トリメチル亜リン酸投与の影響は認められなかった。80 mg/kg 投与群の死亡児 1 例に自然発生奇形と考えられる異常が認められたが、その他の出生児に形態異常は観察されなかった。

4. 無作用量

以上の成績から、本試験条件下におけるトリメチル亜リン酸の親動物に対する無作用量は 5 mg/kg/day、ただし親動物の生殖能力に対する無作用量は 80 mg/kg/day、出生児に対する無作用量は 80 mg/kg/day と判断される。

【緒 言】

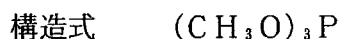
トリメチル亜リン酸（以下 TPA と略記）は、有機リン系アルキル化剤で、有機リン系殺虫剤として広く使用されている。ラットを用いる単回経口投与毒性試験¹⁾では、LD₅₀値が 2000 mg/kg 以上であること、TPA の 164 mg/kg/day を妊娠ラットに経口投与すると、胎児に口蓋裂や無顎を誘発すること²⁾が報告されている。本試験では、OECD 既存化学物質の安全性点検に係わる毒性調査研究事業の一環として、ラットを用いて TPA の経口投与による簡易生殖毒性試験を行い、本化合物の雌雄動物に及ぼす生殖毒性について検討したので、その結果を報告する。

なお、本試験は、OECD 化学物質試験法ガイドライン 421 / 生殖・発生毒性スクリーニング試験（簡易生殖毒性試験）」（1995年7月27日）および「化学物質 GLP」（昭和59年3月31日、環保業第39号、薬発第229号、59基局第85号、昭和63年11月18日改正、環企研第233号、衛生第38号、63基局第823号）に準拠して実施した。

【方 法】

1. 被験物質

本被験物質トリメチル亜リン酸（以下 TPA と略記）は、英名は trimethylphosphorous acid であり、CAS No. 121-45-9、分子量：124.08、分子式： $C_3H_9O_3P$ 、融点 $-78^{\circ}C$ 、沸点 $111^{\circ}C$ の無色透明の液体である。TPA は、皮膚、気道、眼等に対して刺激性がある。TPA の構造式を以下に示す。



本試験には、より提供された TPA（ロット番号：純度：99.53wt%）を用いた。受領した被験物質は酸化防止のため窒素封入し、使用時まで被験物質保管室において、冷蔵庫内に保管した。

2. 使用動物および飼育方法

7 週齢の Sprague-Dawley 系 [Crj:CD(SD)IGS、SPF] 雌雄ラットを日本チャールス・リバー株式会社筑波飼育センターから購入し、飼育環境への馴化と検疫を兼ねて入荷後12日間予備飼育した。予備飼育中、動物の一般状態の異常は認められなかった。なお、雌は予備飼育中に毎日膣スミアを採取し、性周期が4日周期を示した動物のみを試験に供した。動物は、検疫終了日の体重を基に体重別層化無作為抽出法により群分けし、雌雄とも1群13匹からなる4群に分けた。これらの雌雄には、油性フェルトペンにより尾に個体識別番号を示す番号を記入し、各飼育ケージには、投与群ごとに色彩の異なる動物カードに試験計画番号および個体識別番号を記入して掛けた。出生児に関しては個体識別は行わなかった。投与開始時の週齢は、雌雄ともに9週齢であった（注）。

動物は、基準温度 $24 \pm 1^{\circ}C$ 、基準湿度50～65%、換気回数約15回/時、照明12時間（7

（注） 動物入荷日：1999年3月24日
入荷匹数：雄57匹、雌73匹
入荷時体重：雄 225.2～261.5g、雌 167.7～194.7g
投与開始日：1999年4月6日
投与開始時体重：雄 336.0～398.4g、雌 211.8～251.3g

時～19時点灯) に制御された飼育室で、金属製ケージ (220w×270d×190h mm) に1匹ずつ (交配時は2匹/ケージ) 収容し、固型飼料 (CE-2、日本クレア株式会社) および水道水 (秦野市水道局給水) を自由に摂取させて飼育した。ただし、交尾が確認された雌については、妊娠14日から哺育4日まで、紙パルプ製チップ (ALPHA-dri 加商株式会社) を入れたプラスチック製ラット用繁殖ケージ (350w×400d×180h mm) に収容した。なお、飼育期間中、Appendix A に示す飼育環境の異常があったが、試験に支障をきたす異常ではなかった。また、供給した飼料、水道水および紙パルプ製チップには、試験に支障をきたす可能性のある混入物はなかった。

3. 投与検体の調製

TPA は水と激しく反応し、爆発の危険があることから、媒体はコーン油を選択した。投与検体は、TPA を各濃度ごとに秤量し、コーン油 (製造番号: V8P7069、ナカライテスク株式会社) に溶解して調製した。調製した検体は、酸化を防止する目的で窒素を封入後、冷蔵、遮光の条件下で保存し、調製後1週間以内に使用した。

本試験に先立ち、秦野研究所で実施した調製検体の安定性試験において、被験物質の0.1 および 1.6% (w/v) の調製検体の、冷蔵、窒素封入、遮光条件下での8日間の安定性を確認した (Appendix B)。初回調製した各濃度の検体については、被験物質の含量測定を実施した。その結果、調製指示濃度が 1.00 mg/mL の検体以外は、所定濃度の規定範囲内にあることを確認した (Appendix C)。1.00 mg/mL の検体については、再度調製し、含量が規定範囲内にあることを確認したうえで投与に供した (Appendix D)。なお、本投与検体は溶液であることから、均一性試験は実施しなかった。調製検体中の被験物質の濃度は、ガスクロマトグラフ法により測定した (Appendix E)。

4. 投与量および投与方法

投与経路は、OECD化学物質試験法ガイドラインによりラット用胃管による強制経口投与とした。投与量は、投与量設定のための予備試験 (試験計画番号: R-98-024) の結果をもとに設定した。すなわち、雌雄ラットに TPA の 0、40、80 および 160 mg/kg を交配前2週間、交配期間、さらに雌では妊娠6日まで経口投与した結果、一般状態、体重、摂餌量、交尾および受胎能力に TPA の影響はみられなかったが、剖検時に 80 mg/kg 以上の投与群で前胃部粘膜の白濁、肥厚および剥離が認められ、160 mg/kg 投与群

では前胃部粘膜の病変が重度であったことから、高用量には 80 mg/kg を設定し、公比 4 で減じて中用量には 20 mg/kg を、低用量には 5 mg/kg を設定した。対照群には、TPA の媒体であるコーン油を用いた。

投与期間は、雄に対しては交配前 2 週間、交配期間（最長 2 週間）、剖検前日まで（総投与回数 42 回）、雌に対しては交配前 2 週間、交配期間（最長 2 週間）および妊娠期間を通して哺育 3 日（分娩日＝哺育 0 日）までとし、1 日 1 回、9 時から 13 時の間に投与した。

投与容量は体重 1 kg 当たり 5 mL とし、雄および交配前、交配期間中の雌では、週 1 回測定した体重を基に、交尾確認後の雌では、最新の測定日の体重を基に算出した。

各群の投与量、投与容量、調製濃度および動物番号は次の通りである。

群	被験物質	投与量 (mg/kg)	投与容量 (mL/kg)	濃度 (w/v%)	動物番号	
					雄	雌
1	コーン油	0	5	0	MX01001～13	FB01001～13
2	TPA	5	5	0.1	MX02001～13	FB02001～13
3	TPA	20	5	0.4	MX03001～13	FB03001～13
4	TPA	80	5	1.6	MX04001～13	FB04001～13

5. 観察および検査

1) 親動物

(1) 一般状態

飼育期間中、毎日 1 回以上観察した。

(2) 体重測定

投与期間中週 1 回〔雄：投与 1、8、15、22、29、36、43 日、雌：投与 1、8、15、22 日（雌の投与 22 日における体重測定は、交配中の動物のみを対象とした）〕および解剖日に測定した。交尾が確認された雌では妊娠 0、7、14、20 日に、分娩した雌では哺育 0 および 4 日に測定した。

(3) 摂餌量測定

投与期間中（交配期間を除く）週 1 回、体重測定日と同じ日に餌重量を測定し、1 週間の摂餌量を算出した。交尾が確認された雌では妊娠 0～7、7～14、14～20 日および分娩

した雌では、哺育0～4日の摂餌量を測定した。

(4) 性周期

予備飼育中に引き続いて投与開始日以降も、毎日、膣スメアを採取して、性周期を観察した。なお、膣スメア採取は、交尾確認日まで継続して行った。

(5) 交配

交配は、投与15日の夕方から最長2週間、同群内の雌雄を1対1の連続同居方式で行った。交尾の確認は、膣スメア中の精子の存在および膣栓の確認により行い、交尾が確認された雌については、その日を妊娠0日として起算するとともに、雄から分離して個別に飼育した。交配結果および妊娠の成否により、各投与群における交尾率〔(交尾動物数/同居動物数)×100〕、受胎率〔(妊娠動物数/交尾動物数)×100〕、同居開始日から交尾確認日までの日数およびその間に回帰した発情期の回数を求めた。

(6) 分娩・哺育状態の観察

交尾が確認された雌は、全例を自然分娩させた。分娩状態の直接観察は観察可能な動物について行い、分娩状態が直接観察できなかった動物についても、分娩後の徴候から分娩障害の有無を判断して記録した。分娩の確認は、午前9時～11時に行い、分娩が完了していることを確認した動物については、その日を分娩日（哺育0日）として妊娠期間（妊娠0日～分娩日の日数）を算出した。分娩後は哺育状態を毎日観察した。

(7) 剖検・病理組織学検査

雄動物は、投与42日の翌日に、致死量のペントバルビタールナトリウム麻酔下で放血・致死させ、剖検した。その際、精巣および精巣上体の重量を測定した。また、胃、精巣および精巣上体はブアン液に固定し、高用量群および対照群の全例について病理組織学検査を実施した。ただし、高用量群の動物で異常が認められた胃については、その他の投与群についても病理組織学検査を実施した。剖検時に異常を認めた器官についても、病理組織学検査を実施した。

雌動物のうち、分娩した雌は哺育4日に、交尾は確認されたが分娩しなかった雌は妊娠26日相当日にそれぞれ致死量のペントバルビタールナトリウム麻酔下で放血・致死させ、

剖検した。その際、卵巣および子宮を摘出して、卵巣については実体顕微鏡下で妊娠黄体数を数え、子宮については着床数を数え、着床率〔(着床数/黄体数)×100〕を算出した。胃および卵巣についてはブアン液に固定し、高用量群および対照群の全例について、病理組織学検査を実施した。ただし、高用量群の動物で異常が認められた胃については、その他の投与群についても病理組織学検査を実施した。

2) 出生児

(1) 産児数および死亡児

哺育0日に産児数(生存児+死亡児)を調べて、分娩率〔(産児数/着床痕数)×100〕および生児出産率〔(出產生児数/着床痕数)×100〕を求めた。また、出産率〔(生児出産雌数/妊娠動物数)×100〕を算出した。生存児は外表を観察し、性別および外表奇形(矮小児を含む)の有無を検査した。

哺育0日以降は死亡児数を毎日調べ、出生率〔(出產生児数/総産児数)×100〕および新生児生存率〔(哺育4日の生児数/哺育0日の生児数)×100〕を求めた。死亡児は剖検し、異常の認められた器官は、10%ホルマリン溶液に固定して保存した。

(2) 体重

哺育0および4日に個体別に測定し、各腹ごとに雌雄別の平均値を算出した。

(3) 剖検

出生児は哺育4日に剖検し、外表および内部器官の異常の有無を観察した。

6. データ解析法

交尾率、受胎率および出生児の形態異常出現頻度については Fisher の直接確率検定³⁾を行った。病理組織学所見では、グレード分けしたデータは、Mann-WhitneyのU検定^{3, 4)}により、陽性グレードの合計値は Fisher の直確率の片側検定により対照群と TPA 投与群の間の有意差検定を行った。その他のデータは、個体ごとに得られた値あるいは各腹ごとの平均値を1標本として、先ず Bartlett 法⁵⁾により各群の分散の一様性について検定を行った。分散が一様である場合には、一元配置型の分散分析⁵⁾を行い、群間に有意性が認められる場合は、Dunnett 法⁶⁾により多重比較を行った。一方、いずれかの群で分散が

0 となる場合および分散が一樣でない場合には、Kruskal-Wallis の順位検定⁷⁾を行い、群間に有意性が認められる場合には、Dunnett 型の検定法により多重比較を行った。

【結 果】

1. 親動物

1) 一般状態 (Tables 1、2 ; Appendices 1-1~2-4)

投与後に流涎が 20 mg/kg 投与群の雄 1 例、80 mg/kg 投与群の雄全例、雌 11 例に観察された。流涎は投与 10 日から観察され、いずれの場合も投与直後にしかみられなかった。その他、脱毛が対照群を含む各投与群で散見され、眼周囲の被毛の汚れが 80 mg/kg 投与群の雄 1 例、分娩後に排泄口周囲の被毛の汚れが対照群の 1 例に観察された。

2) 体重 (Fig. 1、2 ; Tables 3~10 ; Appendices 3-1~10-4)

全投与期間を通して、対照群と TPA 各投与群との間に有意差は認められなかった。

3) 摂餌量 (Fig. 3、4 ; Tables 11~14 ; Appendices 11-1~14-4)

投与 8~15 日の摂餌量が、雌の 80 mg/kg 投与群で有意に増加したが、雌の 20 mg/kg 以下の投与群および雄の TPA 各投与群については、対照群との間に有意差は認められなかった。

4) 剖検所見 (Tables 15、16 ; Appendices 15、16)

精巣および精巣上体の小型化が、20 mg/kg 投与群の 1 例に観察された。前胃粘膜では、肥厚が 80 mg/kg 投与群の雄 11 例、雌 4 例、20 mg/kg 投与群の雌 2 例、対照群の雌 1 例に観察され、淡色部が 80 mg/kg 投与群の雄 1 例、雌 2 例、20 mg/kg 投与群の雌雄各 1 例に、剥離が 80 mg/kg 投与群の雌 1 例に認められた。

5) 器官重量 (Table 17 ; Appendices 17-1~17-4)

精巣および精巣上体の実重量および比体重値には、対照群と TPA 各投与群との間に有意差は認められなかった。

6) 病理組織所見 (Tables 18、19 ; Appendices 18、19)

精巣および精巣上体では、剖検時に精巣および精巣上体の異常がみられた 20 mg/kg 投与群の 1 例で精巣上体の腔内細胞残屑および精子減少、さらには精細管の萎縮が観察され

た。その他、精巣上体の腔内細胞残屑および精子肉芽腫が対照群で各 1 例、精細管の萎縮が対照群の 2 例に観察されたが、80 mg/kg 投与群では異常は観察されなかった。

卵巣では、黄体嚢胞が 80 mg/kg 投与群および対照群のそれぞれ 2 例に、黄体の出血が対照群の 1 例に観察された。

前胃には扁平上皮の過形成および過角化症 (Photos 1、2) が 80 mg/kg 投与群の雌雄全例、20 mg/kg 投与群の雄全例、雌 8 例、対照群の雌 2 例に観察され、粘膜下織の好中球浸潤が 80 mg/kg 投与群の雄 1 例、20 mg/kg 投与群の雌 1 例、対照群の雌 2 例に、粘膜固有層および粘膜下織の浮腫が 20 mg/kg 投与群の雌 1 例、対照群の雌 2 例に観察された。

2. 生殖能力

1) 性周期および交配成績 (Tables 20、21 ; Appendices 20-1~21-4)

性周期には TPA 投与の影響を示唆する変化はみられなかった。交配検査の結果、交尾率および受胎率には TPA 投与の影響は認められなかった。また、交尾までの日数およびその間の発情数に、対照群と TPA 各投与群との間に有意差は認められなかった。

2) 出産率および妊娠期間 (Table 22 ; Appendices 22-1~22-4)

出産率には TPA 投与の影響を示唆する変化はみられなかった。妊娠期間は 80 mg/kg 投与群において有意に短縮したが、20 mg/kg 以下の投与群では対照群との間に有意差は認められなかった。

3) 黄体数、着床数および着床率 (Table 22 ; Appendices 22-1~22-4)

黄体数、着床数および着床率に TPA 投与の影響を示唆する変化はみられなかった。

4) 分娩および哺育状態

分娩状態の観察では、膣出血が対照群および 5 mg/kg 投与群の各 1 例に観察された。その他、分娩後に胎盤を食べない例が対照群の 1 例に観察された。同例では哺育状態の観察でも児を集めない、乳頭突出不良、児の体表温低下、児のミルクスポットが確認されない等の異常が観察され、哺育 2 日に全児が死亡した。その他、児を集めない、乳頭突出不良、児の体表温低下、児のミルクスポットが確認されない例が 20 mg/kg 投与群の 1

例にも観察されたが、80 mg/kg 投与群では分娩および哺育状態に異常は認められなかった。

3. 出生児

1) 生存性 (Table 22 ; Appendices 22-1~22-4)

出生率が TPA 各投与群で有意に増加したが、総産児数、分娩率、出産生児数、生児出産率、哺育4日の生児数、新生児生存率および性比には、対照群と TPA 各投与群との間に有意差は認められず、TPA 各投与群の生存性は極めて良好であった。

2) 体重 (Table 23 ; Appendices 23-1~23-4)

哺育0および4日における出生児の体重には、対照群と TPA 各投与群との間に有意差は認められなかった。

3) 形態

哺育0日における生存児に、矮小を含む外表奇形は観察されなかった。死亡児の剖検では、無顎、耳介の低位、小眼および水腎が 80 mg/kg 投与群の1例（哺育0日死亡児）に観察された (Photo 3)。哺育4日の剖検では、異常は認められなかった。

【考 察】

TPA の 5、20 および 80 mg/kg を Sprague-Dawley 系雌雄ラットに交配前 2 週間および交配期間、ならびに雄では交配終了後 2 週間、雌では妊娠期間を通して哺育 3 日まで経口投与し、TPA の生殖毒性について検討した。

その結果、いずれの投与群においても死亡動物はみられなかった。一般状態の変化として、流涎が雄の 20 mg/kg 以上および雌の 80 mg/kg 投与群で観察された。流涎はいずれも投与直後にしかみられなかったこと、TPA は皮膚、気道、眼等に対して刺激作用を有することから、本試験でみられた流涎は TPA の刺激性によって惹起された変化と推定される。雌では、80 mg/kg 投与群の摂餌量が有意に増加したが、体重推移に有意な変化がみられなかったこと、先に実施されたラットを用いる 28 日間反復投与毒性試験⁸⁾において摂餌量の増加がみられていないことから、TPA の毒性を示唆するものではないと考えられる。剖検および病理組織学検査では、20 mg/kg 以上の投与群の前胃に上皮の肥厚が観察された。前胃は刺激性の変化が発現しやすい部位であることから、この所見も TPA の刺激性によって誘発されたものと推定される。なお、内部生殖器には、TPA の投与に起因したと考えられる変化は観察されなかった。

雌の性周期、雌雄の交尾および受胎能には、TPA 投与の影響はみられなかった。また、分娩および哺育状態についても、TPA の投与に起因したと考えられる異常は観察されなかった。妊娠期間は 80 mg/kg 投与群で有意に短縮したが、いずれの動物も妊娠 22 または 23 日に分娩していることから、妊娠維持の異常を示唆する変化ではないと考えられる。出生児の生存性および体重には、TPA 投与の影響を示唆する変化は認められなかった。なお、TPA 投与群の出生率が対照群より有意に増加したが、対照群の値が背景値より低下したことによるもので、TPA の投与に起因した変化ではないと判断した。出生児の形態観察では、80 mg/kg 投与群の死亡児 1 例に無顎、耳介の低位、小眼および水腎がみられた。Sprague-Dawley 系ラットを用いた催奇形性試験²⁾では、164 mg/kg/day の TPA を妊娠 6～15 日に経口投与した結果、約半数の母動物で胎児に口蓋裂または無顎が発現していることから、本試験でみられた奇形は、TPA 投与に無関係であると断定はできない。しかしながら、今回みられた奇形は Sprague-Dawley 系ラットにおいて自然発生的にもみられる形であり⁹⁾、その他の出生児には奇形は観察されていないことから、TPA の投与により誘発されたと考えるよりも、Sprague-Dawley 系ラットの自然発生奇形と考える方が妥当

と思われる。

以上の成績から、本試験条件下におけるトリメチル亜リン酸の親動物に対する無作用量は 5 mg/kg/day、ただし親動物の生殖能力に対する無作用量は 80 mg/kg/day と考えられ、出生児に対する無作用量は 80 mg/kg/day と考えられる。

【文 献】

- 1) : トリメチル亜リン酸のラットを用いる単回経口投与毒性試験. 化学物質毒性試験報告 7: 445-446 (1999)
- 2) Mehlman, M. A., Craig, P. H., Gallo, M. A.: Teratological evaluation of trimethyl phosphite in the rat. Toxicol. Appl. Pharmacol. 72:119-123 (1984)
- 3) 石居進: 「生物統計学入門」, 培風館, 東京 (1992)
- 4) 丹後俊郎: 「医学への統計学」(古川俊之 監修), 朝倉書店, 東京 (1985)
- 5) 佐久間昭: 「薬効評価—計画と解析」, 東京大学出版会, 東京 (1977)
- 6) Dunnett, C. W.: New tables for multiple comparisons with a control. Biometrics 20: 482-491 (1964)
- 7) Kruskal, W. H., Wallis, W. A.: Use of ranks in one-criterion variance analysis. J. Amer. Statist. Assoc. 47: 583-621 (1952)
- 8) : トリメチル亜リン酸のラットを用いる28日間反復経口投与毒性試験. 化学物質毒性試験報告 7: 447-461 (1999)
- 9) Nakatsuka, T., et al.: Japan pharmaceutical manufacturers association (JPMA) survey on background control data of developmental and reproductive toxicity studies in rats, rabbits and mice. Cong. Anom. 37: 47-138 (1997)

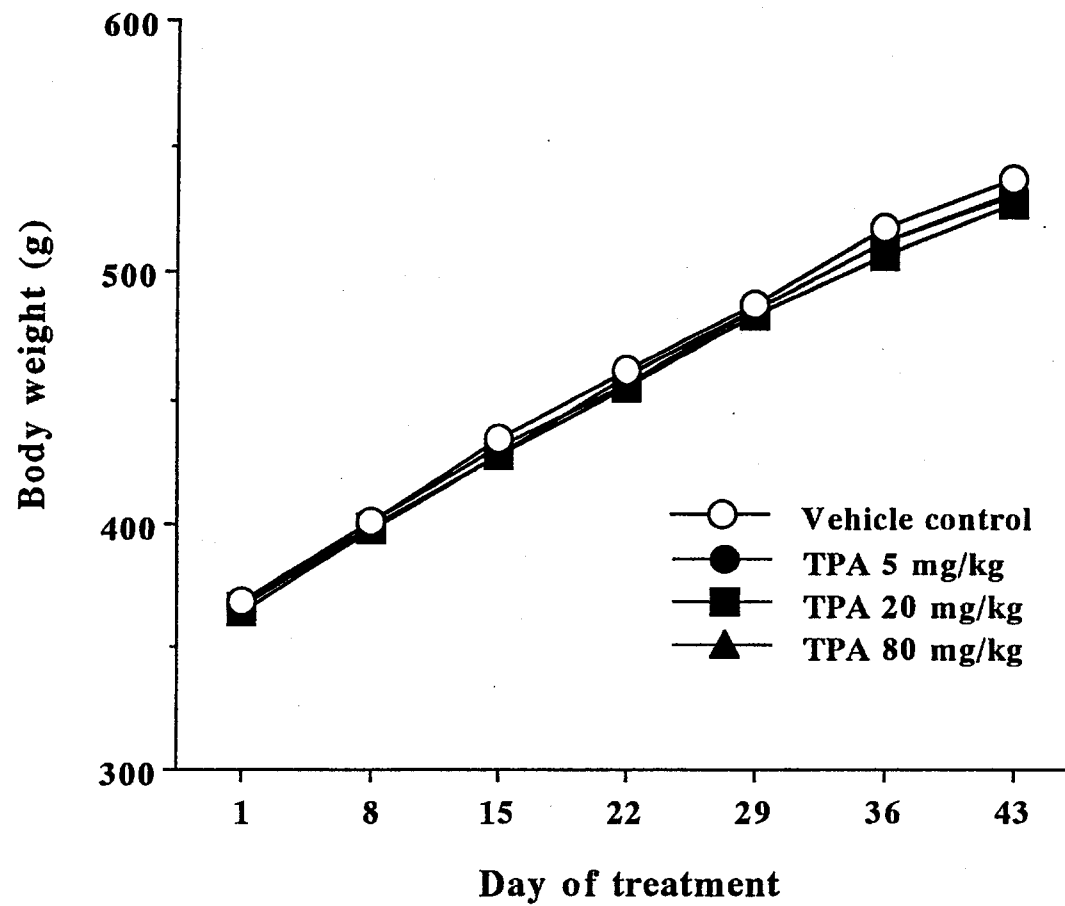


Fig. 1 Mean body weight of Fo males

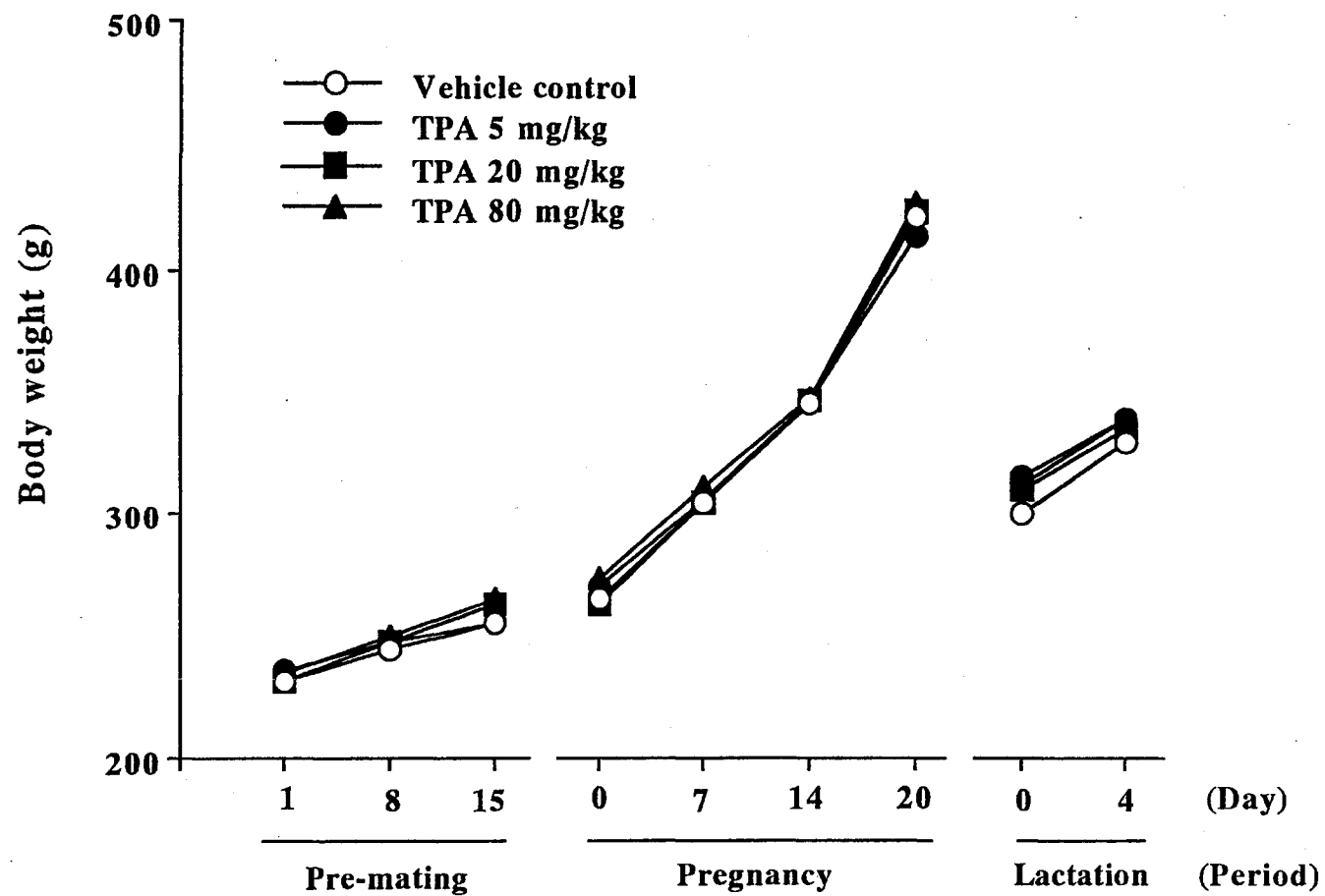


Fig. 2 Mean body weight of Fo females

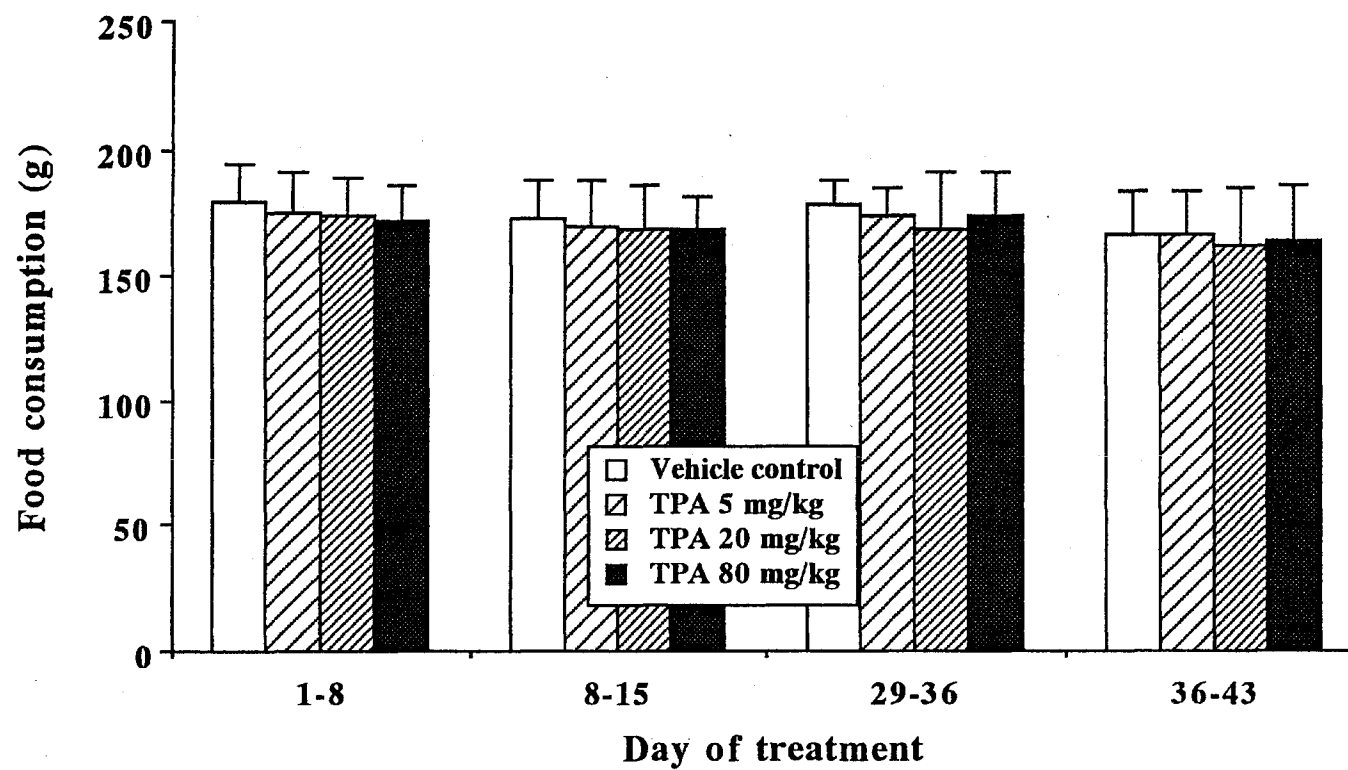


Fig. 3 Mean food consumption of Fo males

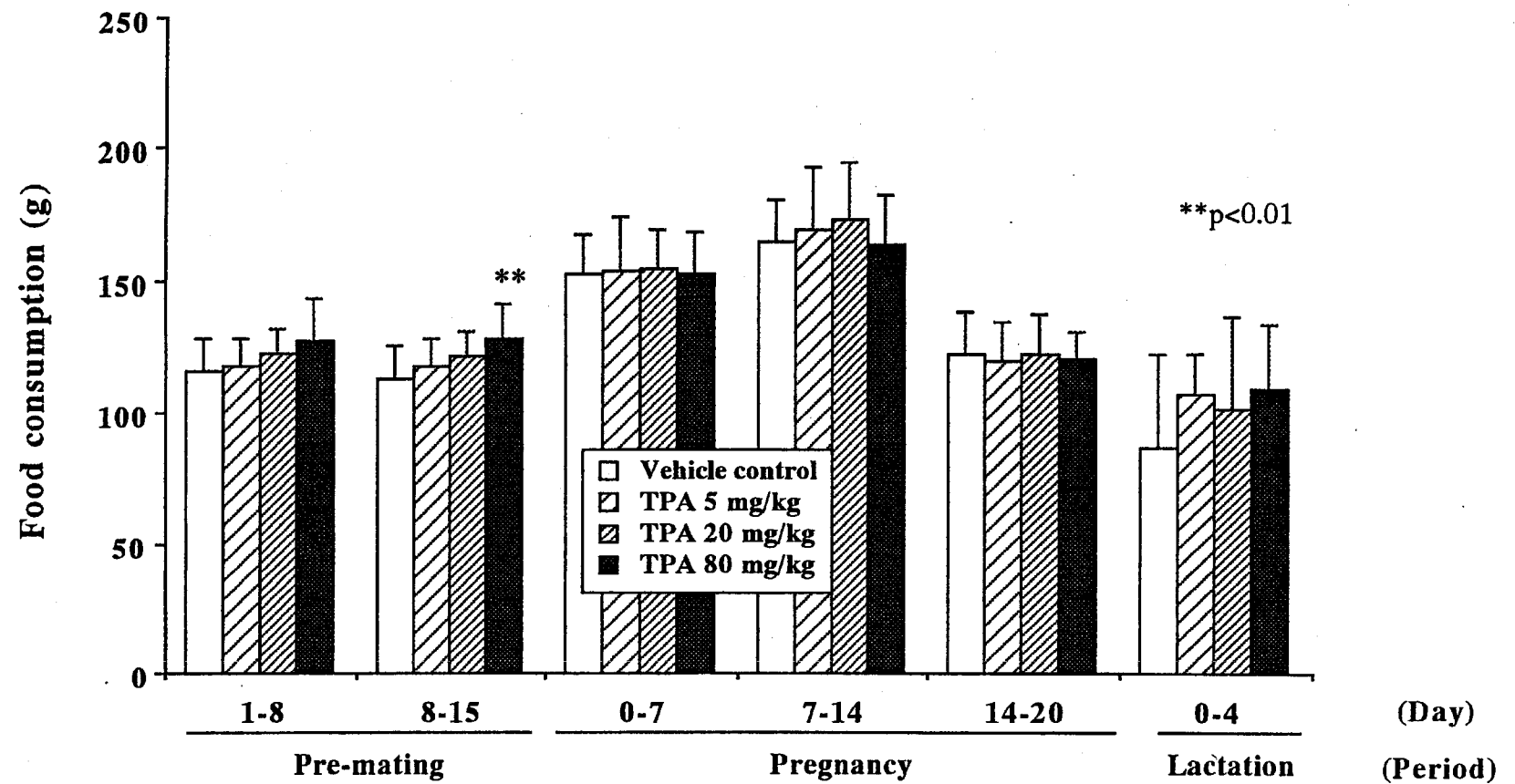


Fig. 4 Mean food consumption of Fo females

【Table Index】

Preliminary reproduction toxicity screening test of TPA by oral administration in rats

Table	(Appendix)	Table title
1	(1-1 ~ 1-4)	Summary of clinical signs of males
2	(2-1 ~ 2-4)	Summary of clinical signs of females
3	(3-1 ~ 3-4)	Body weight of F ₀ males
4	(4-1 ~ 4-4)	Body weight gain of F ₀ males
5	(5-1 ~ 5-4)	Body weight of F ₀ females during pre-mating period
6	(6-1 ~ 6-4)	Body weight gain of F ₀ females during pre-mating period
7	(7-1 ~ 7-4)	Body weight of F ₀ females during pregnancy period
8	(8-1 ~ 8-4)	Body weight gain of F ₀ females during pregnancy period
9	(9-1 ~ 9-4)	Body weight of F ₀ females during lactation period
10	(10-1 ~10-4)	Body weight gain of F ₀ females during lactation period
11	(11-1 ~11-4)	Food consumption of F ₀ males
12	(12-1 ~12-4)	Food consumption of F ₀ females during pre-mating period
13	(13-1 ~13-4)	Food consumption of F ₀ females during pregnancy period
14	(14-1 ~14-4)	Food consumption of F ₀ females during lactation period
15	(15)	Macroscopical findings in males at the end of dosing period
16	(16)	Macroscopical findings in females at the end of dosing period
17	(17-1 ~17-4)	Organ weight of F ₀ males
18	(18)	Histological findings in males at the end of dosing period
19	(19)	Histological findings in females at the end of dosing period
20	(20-1 ~20-4)	Summary of estrous cycles
21	(21-1 ~21-4)	Reproductive performance of animals
22	(22-1 ~22-4)	Development of pups up to day 4 of lactation
23	(23-1 ~23-4)	Body weight of pups up to day 4 of lactation

Table 1

Preliminary reproduction toxicity screening test of TPA by oral administration in rats

Summary of clinical signs of males

Compound	TPA			
	0	5	20	80
Dose group (mg/kg)				
No. of males examined	13	13	13	13
No. of males with abnormality	3	2	4	13
<u>Category of abnormality; N</u>				
Temporary salivation	0	0	1	13
Soiled fur	0	0	0	1
Loss of fur	3	2	3	2

Table 2

Preliminary reproduction toxicity screening test of TPA by oral administration in rats

Summary of clinical signs of females

Compound	TPA			
	0	5	20	80
Dose group (mg/kg)				
No. of females examined	13	13	13	13
No. of females with abnormality	6	2	2	11
<u>Category of abnormality; N</u>				
Temporary salivation	0	0	0	11
Loss of fur	5	2	2	1
Soiled fur	1	0	0	0

Table 3

Preliminary reproduction toxicity screening test of TPA by oral administration in rats

Body weight of F. males (g); Mean $\pm$ S.D.(N)

Compound	TPA			
	0	5	20	80
Day of treatment				
1	368.1 $\pm$ 16.0 (13)	366.7 $\pm$ 15.3 (13)	366.6 $\pm$ 14.0 (13)	363.7 $\pm$ 15.8 (13)
8	401.0 $\pm$ 23.7 (13)	401.1 $\pm$ 21.0 (13)	398.4 $\pm$ 20.5 (13)	397.7 $\pm$ 18.7 (13)
15	434.0 $\pm$ 28.9 (13)	431.3 $\pm$ 27.0 (13)	427.7 $\pm$ 25.1 (13)	428.2 $\pm$ 23.2 (13)
22	461.2 $\pm$ 35.3 (13)	456.4 $\pm$ 29.9 (13)	454.7 $\pm$ 31.2 (13)	459.2 $\pm$ 28.2 (13)
29	487.3 $\pm$ 37.5 (13)	485.1 $\pm$ 33.5 (13)	483.5 $\pm$ 36.5 (13)	485.6 $\pm$ 34.9 (13)
36	517.4 $\pm$ 39.2 (13)	512.5 $\pm$ 38.4 (13)	506.4 $\pm$ 42.9 (13)	512.3 $\pm$ 35.5 (13)
43	536.9 $\pm$ 45.1 (13)	532.1 $\pm$ 38.6 (13)	527.7 $\pm$ 45.5 (13)	530.4 $\pm$ 36.0 (13)

Table 4

Preliminary reproduction toxicity screening test of TPA by oral administration in rats

Body weight gain of F₀ males (g); Mean $\pm$ S.D.(N)

Compound	TPA			
Dose (mg/kg)	0	5	20	80
Day of treatment				
1- 8	32.8 ± 9.4 (13)	34.4 ± 9.9 (13)	31.8 ± 9.5 (13)	33.9 ± 6.4 (13)
8-15	33.0 ± 8.0 (13)	30.2 ± 9.3 (13)	29.2 ± 9.1 (13)	30.5 ± 6.2 (13)
15-22	27.2 ± 8.9 (13)	25.1 ± 6.6 (13)	27.1 ± 8.5 (13)	31.0 ± 7.4 (13)
22-29	26.1 ± 8.4 (13)	28.7 ± 7.8 (13)	28.8 ± 7.1 (13)	26.4 ± 8.8 (13)
29-36	30.1 ± 7.0 (13)	27.5 ± 6.9 (13)	22.8 ± 9.2 (13)	26.6 ± 5.1 (13)
36-43	19.5 ± 9.7 (13)	19.6 ± 10.1 (13)	21.3 ± 6.5 (13)	18.2 ± 9.3 (13)
1-15	65.8 ± 14.7 (13)	64.6 ± 18.4 (13)	61.0 ± 16.2 (13)	64.4 ± 10.4 (13)
1-22	93.0 ± 20.3 (13)	89.7 ± 20.4 (13)	88.1 ± 22.2 (13)	95.5 ± 15.5 (13)
1-29	119.1 ± 23.0 (13)	118.4 ± 24.4 (13)	116.9 ± 27.6 (13)	121.9 ± 21.5 (13)
1-36	149.3 ± 25.2 (13)	145.9 ± 29.9 (13)	139.7 ± 34.6 (13)	148.5 ± 22.1 (13)
1-43	168.8 ± 31.6 (13)	165.5 ± 31.5 (13)	161.1 ± 38.0 (13)	166.7 ± 22.1 (13)

Table 5

Preliminary reproduction toxicity screening test of TPA by oral administration in rats

Body weight of F₀ females during pre-mating period (g); Mean $\pm$ S.D.(N)

Compound	TPA			
Dose (mg/kg)	0	5	20	80
Day of treatment				
1	230.9 ± 11.2 (13)	235.6 ± 9.6 (13)	231.6 ± 6.2 (13)	234.5 ± 9.5 (13)
8	243.9 ± 12.2 (13)	247.2 ± 13.5 (13)	247.4 ± 10.6 (13)	249.2 ± 11.5 (13)
15	255.4 ± 12.2 (13)	254.7 ± 15.2 (13)	262.5 ± 11.8 (13)	265.1 ± 14.9 (13)

Table 6

Preliminary reproduction toxicity screening test of TPA by oral administration in rats

Body weight gain of F₀ females during pre-mating period (g); Mean ± S.D.(N)

Compound	TPA			
	0	5	20	80
Dose (mg/kg)				
Day of treatment				
1- 8	13.1 ± 6.3 (13)	11.6 ± 5.8 (13)	15.8 ± 8.1 (13)	14.7 ± 8.1 (13)
8-15	11.4 ± 5.6 (13)	7.5 ± 5.4 (13)	15.0 ± 5.4 (13)	15.9 ± 7.8 (13)
1-15	24.5 ± 9.1 (13)	19.1 ± 9.2 (13)	30.8 ± 10.8 (13)	30.6 ± 11.1 (13)

Table 7

Preliminary reproduction toxicity screening test of TPA by oral administration in rats

Body weight of F₀ females during pregnancy period (g); Mean $\pm$ S.D.(N)

Compound	TPA			
	0	5	20	80
Day of pregnancy				
0	264.4 $\pm$ 20.8 (12)	270.1 $\pm$ 17.4 (13)	263.1 $\pm$ 11.1 (12)	273.1 $\pm$ 14.0 (13)
7	304.9 $\pm$ 17.1 (12)	305.6 $\pm$ 24.9 (13)	304.5 $\pm$ 14.5 (12)	311.3 $\pm$ 15.3 (13)
14	346.1 $\pm$ 17.4 (12)	346.5 $\pm$ 25.5 (13)	346.8 $\pm$ 22.3 (12)	348.0 $\pm$ 18.5 (13)
20	421.6 $\pm$ 25.1 (12)	413.3 $\pm$ 35.4 (13)	423.3 $\pm$ 29.1 (12)	426.1 $\pm$ 27.2 (13)

Table 8

Preliminary reproduction toxicity screening test of TPA by oral administration in rats

Body weight gain of F₀ females during pregnancy period (g); Mean $\pm$ S.D.(N)

Compound	TPA			
Dose (mg/kg)	0	5	20	80
Day of pregnancy				
0- 7	40.5 ± 7.2 (12)	35.6 ± 11.5 (13)	41.5 ± 7.4 (12)	38.2 ± 12.0 (13)
7-14	41.2 ± 6.5 (12)	40.8 ± 10.3 (13)	42.3 ± 9.3 (12)	36.7 ± 6.3 (13)
14-20	75.5 ± 17.7 (12)	66.8 ± 18.2 (13)	76.5 ± 12.1 (12)	78.1 ± 13.1 (13)
0-14	81.7 ± 12.7 (12)	76.4 ± 15.7 (13)	83.7 ± 16.2 (12)	74.9 ± 14.9 (13)
0-20	157.2 ± 28.7 (12)	143.2 ± 29.0 (13)	160.3 ± 23.2 (12)	153.1 ± 22.3 (13)

Table 9

Preliminary reproduction toxicity screening test of TPA by oral administration in rats

Body weight of F₀ females during lactation period (g); Mean $\pm$ S.D.(N)

Compound	TPA			
	0	5	20	80
Day of lactation				
0	300.8 $\pm$ 26.5 (12)	315.1 $\pm$ 31.0 (12)	310.2 $\pm$ 31.4 (12)	311.9 $\pm$ 16.5 (13)
4	329.4 $\pm$ 22.6 (12)	339.1 $\pm$ 32.9 (12)	335.0 $\pm$ 39.8 (12)	338.9 $\pm$ 18.5 (13)

Table 10

Preliminary reproduction toxicity screening test of TPA by oral administration in rats

Body weight gain of F₀ females during lactation period (g); Mean $\pm$ S.D.(N)

Compound	TPA			
	0	5	20	80
Dose (mg/kg)				
Day of lactation				
0- 4	28.6 $\pm$ 18.7 (12)	24.0 $\pm$ 14.9 (12)	24.8 $\pm$ 35.0 (12)	27.1 $\pm$ 10.8 (13)

Table 11

Preliminary reproduction toxicity screening test of TPA by oral administration in rats

Food consumption of F₀ males (g); Mean $\pm$ S.D.(N)

Compound	TPA			
	0	5	20	80
Day of treatment				
1- 8	179.3 $\pm$ 14.7 (13)	175.2 $\pm$ 15.3 (13)	174.1 $\pm$ 14.5 (13)	171.8 $\pm$ 13.8 (13)
8-15	172.7 $\pm$ 15.5 (13)	169.6 $\pm$ 18.1 (13)	168.0 $\pm$ 17.6 (13)	168.5 $\pm$ 12.9 (13)
29-36	178.2 $\pm$ 9.9 (13)	173.5 $\pm$ 11.5 (13)	168.2 $\pm$ 22.3 (13)	173.9 $\pm$ 17.0 (13)
36-43	166.7 $\pm$ 16.9 (13)	166.6 $\pm$ 16.9 (13)	162.5 $\pm$ 22.5 (13)	164.4 $\pm$ 21.3 (13)

Table 12

Preliminary reproduction toxicity screening test of TPA by oral administration in rats

Food consumption of F₀ females during pre-mating period (g); Mean $\pm$ S.D.(N)

Compound	TPA			
Dose (mg/kg)	0	5	20	80
Day of treatment				
1- 8	116.3 ± 11.7 (13)	117.6 ± 10.3 (13)	122.7 ± 9.6 (13)	126.9 ± 16.1 (13)
8-15	113.5 ± 11.8 (13)	117.7 ± 10.3 (13)	121.3 ± 9.7 (13)	128.3 ± 13.3** (13)

** : significant difference from control, $p < 0.01$ (by multiple comparisons)

Table 13

Preliminary reproduction toxicity screening test of TPA by oral administration in rats

Food consumption of F₀ females during pregnancy period (g); Mean $\pm$ S.D.(N)

Compound	TPA			
	0	5	20	80
Day of pregnancy				
0- 7	152.6 $\pm$ 14.6 (12)	153.3 $\pm$ 21.2 (13)	154.5 $\pm$ 14.9 (12)	152.8 $\pm$ 15.8 (13)
7-14	164.4 $\pm$ 16.2 (12)	169.8 $\pm$ 22.8 (13)	172.8 $\pm$ 22.0 (12)	163.7 $\pm$ 18.8 (13)
14-20	122.2 $\pm$ 16.6 (12)	119.7 $\pm$ 15.2 (13)	122.6 $\pm$ 15.0 (12)	120.8 $\pm$ 10.6 (13)

Table 14

Preliminary reproduction toxicity screening test of TPA by oral administration in rats

Food consumption of F₀ females during lactation period (g); Mean $\pm$ S.D.(N)

Compound	TPA			
	0	5	20	80
Day of lactation				
0- 4	86.7 $\pm$ 35.7 (12)	107.4 $\pm$ 15.1 (12)	101.6 $\pm$ 34.9 (12)	109.9 $\pm$ 23.8 (13)

Table 15

Preliminary reproduction toxicity screening test of TPA by oral administration in rats

Macroscopical findings in males at the end of dosing period

Dose Grade	0 mg/kg		5 mg/kg		20 mg/kg		80 mg/kg	
	-	+	-	+	-	+	-	+
(Testis)	[13]		[13]		[13]		[13]	
Small	13	0	13	0	12	1	13	0
(Epididymis)	[13]		[13]		[13]		[13]	
Small	13	0	13	0	12	1	13	0
(Stomach)	[13]		[13]		[13]		[13]	
Thickening, mucosa, forestomach	13	0	13	0	13	0	2	11
Area, pale, mucosa, forestomach	13	0	13	0	12	1	12	1

-, negative; +, positive.

[], number of animals examined.

Table 16

Preliminary reproduction toxicity screening test of TPA by oral administration in rats

Macroscopical findings in females at the end of dosing period

Dose	0 mg/kg		5 mg/kg		20 mg/kg		80 mg/kg	
Grade	-	+	-	+	-	+	-	+
(Stomach)	[13]		[13]		[13]		[13]	
Thickening, mucosa, forestomach	12	1	13	0	11	2	9	4
Area, pale, mucosa, forestomach	13	0	13	0	12	1	11	2
Detachment, mucosa, forestomach	13	0	13	0	13	0	12	1

-, negative; +, positive.

[], number of animals examined.

Table 17

Preliminary reproduction toxicity screening test of TPA by oral administration in rats

Organ weight of F₀ males ; Mean $\pm$ S.D. (N)

Compound		TPA			
Dose (mg/kg)		0	5	20	80
Terminal body weight (g)		536.9 $\pm$ 45.1 (13)	532.1 $\pm$ 38.6 (13)	527.7 $\pm$ 45.5 (13)	530.4 $\pm$ 36.0 (13)
Testes	(g)	3.22 $\pm$ 0.28 ^{a)} (13) 0.60 $\pm$ 0.07 ^{b)}	3.33 $\pm$ 0.22 (13) 0.63 $\pm$ 0.06	3.14 $\pm$ 0.70 (13) 0.60 $\pm$ 0.14	3.30 $\pm$ 0.33 (13) 0.62 $\pm$ 0.07
Epididymides	(g)	1.23 $\pm$ 0.10 (13) 0.23 $\pm$ 0.03	1.22 $\pm$ 0.08 (13) 0.23 $\pm$ 0.02	1.17 $\pm$ 0.21 (13) 0.22 $\pm$ 0.04	1.18 $\pm$ 0.08 (13) 0.22 $\pm$ 0.02

a: absolute weight

b: relative weight (g per 100g body weight)

Table 18

Preliminary reproduction toxicity screening test of TPA by oral administration in rats

Histological findings in males at the end of dosing period

Dose	0 mg/kg						5 mg/kg						20 mg/kg						80 mg/kg						
Grade	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.	
(Epididymis)	[13]												[1]						[13]						
Cell debris, lumen		12	0	1	0	0	1							0	0	1	0	0	1		13	0	0	0	0
Granuloma, sperm		12	0	1	0	0	1							1	0	0	0	0	0		13	0	0	0	0
Decrease, sperm		13	0	0	0	0	0							0	0	0	0	1	1		13	0	0	0	0
(Testis)	[13]												[1]						[13]						
Atrophy, seminiferous tubule		11	1	1	0	0	2							0	0	0	0	1	1		13	0	0	0	0
(Stomach)	[13]						[13]						[13]						[13]						
Squamous hyperplasia with hyperkeratosis, forestomach		13	0	0	0	0	0		13	0	0	0	0	0	2	11	0	0 **	13 ##		0	0	0	12	1 **
Cellular infiltration, neutrophil, submucosa, forestomach		13	0	0	0	0	0		13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		12	1	0	0	0
																									1

-, negative; ±, very slight; +, slight; ++, moderate; +++, severe; Pos., total of positive grade.

[], number of animals examined.

**, significantly different from control, $p < 0.01$ (Two-tailed Mann-Whitney U test).##, significantly different from control, $p < 0.01$ (One-tailed Fisher exact test).

Table 19
Preliminary reproduction toxicity screening test of TPA by oral administration in rats

Histological findings in females at the end of dosing period

Dose Grade	0 mg/kg						5 mg/kg						20 mg/kg						80 mg/kg									
	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.				
(Ovary)	[13]																		[13]									
Cyst, corpus luteum	11	0	2	0	0	2													11	0	2	0	0	2				
Hemorrhage, corpus luteum	12	0	1	0	0	1													13	0	0	0	0	0				
(Stomach)	[13]						[13]						[13]						[13]									
Squamous hyperplasia with hyperkeratosis, forestomach	11	2	0	0	0	2	13	0	0	0	0	0	5	4	4	0	0	*	8	#	0	3	10	0	0	**	13	##
Cellular infiltration, neutrophil, submucosa, forestomach	11	2	0	0	0	2	13	0	0	0	0	0	12	1	0	0	0	1	13	0	0	0	0	0	0			
Edema, lamina propria, forestomach	11	2	0	0	0	2	13	0	0	0	0	0	12	1	0	0	0	1	13	0	0	0	0	0	0			
Edema, submucosa, forestomach	11	2	0	0	0	2	13	0	0	0	0	0	12	1	0	0	0	1	13	0	0	0	0	0	0			

-, negative; ±, very slight; +, slight; ++, moderate; +++, severe; Pos., total of positive grade.

[], number of animals examined.

**, significantly different from control, $p < 0.01$ (Two-tailed Mann-Whitney U test).

*, significantly different from control, $p < 0.05$ (Two-tailed Mann-Whitney U test).

##, significantly different from control, $p < 0.01$ (One-tailed Fisher exact test).

#, significantly different from control, $p < 0.05$ (One-tailed Fisher exact test).

Table 20

Preliminary reproduction toxicity screening test of TPA by oral administration in rats

Summary of estrous cycles

Compound	TPA			
	0	5	20	80
Dose group (mg/kg)				
Number of females examined	13	13	13	13
Mean length of estrous cycle in days				
Pre-treatment period; Mean $\pm$ S.D.	4.0 $\pm$ 0.0 (13)	4.0 $\pm$ 0.0 (13)	4.0 $\pm$ 0.0 (13)	4.0 $\pm$ 0.0 (13)
Treatment period; Mean $\pm$ S.D.	4.0 $\pm$ 0.4 (13)	4.0 $\pm$ 0.1 (13)	4.0 $\pm$ 0.0 (13)	3.9 $\pm$ 0.4 (13)
Changes of estrous cycle after treatment				
Number of animals changed	0	1	0	2
Number of animals changed (pre-treatment period) (treatment period)				
4-day $\rightarrow$ 4,5-day	0	0	0	1
4-day $\rightarrow$ irregular	0	1	0	1
Mean times of vaginal estrus during mating period; Mean $\pm$ S.D.	1.0 $\pm$ 0.0 (13)	1.0 $\pm$ 0.0 (13)	1.0 $\pm$ 0.0 (13)	1.0 $\pm$ 0.0 (13)

Table 21

Preliminary reproduction toxicity screening test of TPA by oral administration in rats

Reproductive performance of animals

Compound Dose group (mg/kg)	TPA			
	0	5	20	80
Number of mated pairs	13	13	13	13
Number of copulated pairs	13	13	13	13
Copulation index	100	100	100	100
Number of pregnant animals	12	13	12	13
Fertility index	92.3	100	92.3	100

Pairing days until copulation				
Mean $\pm$ S.D. (N)	3.1 $\pm$ 3.1 (13)	3.4 $\pm$ 1.2 (13)	1.9 $\pm$ 1.0 (13)	3.6 $\pm$ 4.5 (13)

Copulation index = (number of copulated pairs / number of mated pairs) $\times$ 100, %Fertility index = (number of pregnant animals / number of copulated pairs) $\times$ 100, %

Table 22

Preliminary reproduction toxicity screening test of TPA by oral administration in rats

Development of pups up to day 4 of lactation; Mean $\pm$ S.D. (N)

Compound Dose group (mg/kg)	TPA			
	0	5	20	80
Number of pregnant females	12	13	12	13
Number of pregnant females with live pups	12	12	12	13
Gestation index	100	92.3	100	100
Gestation length in days	22.7 $\pm$ 0.5 (12)	22.5 $\pm$ 0.5 (12)	22.3 $\pm$ 0.5 (12)	22.2 $\pm$ 0.4 * (13)
Number of corpora lutea	15.5 $\pm$ 1.9 (12)	15.2 $\pm$ 4.2 (13)	16.6 $\pm$ 1.4 (12)	17.0 $\pm$ 2.0 (13)
Number of implantation sites	14.6 $\pm$ 3.7 (12)	13.2 $\pm$ 5.0 (13)	15.3 $\pm$ 2.3 (12)	16.2 $\pm$ 1.9 (13)
Implantation index	92.2 $\pm$ 19.8 (12)	83.0 $\pm$ 22.9 (13)	92.3 $\pm$ 11.0 (12)	95.6 $\pm$ 5.6 (13)
Day 0 of lactation				
Number of pups born	13.9 $\pm$ 3.6 (12)	13.3 $\pm$ 3.1 (12)	14.3 $\pm$ 2.2 (12)	15.1 $\pm$ 2.3 (13)
Delivery index	95.8 $\pm$ 5.5 (12)	94.2 $\pm$ 6.2 (12)	93.0 $\pm$ 5.4 (12)	92.9 $\pm$ 8.7 (13)
Number of live pups	12.3 $\pm$ 3.6 (12)	13.2 $\pm$ 3.0 (12)	14.1 $\pm$ 2.3 (12)	14.9 $\pm$ 2.3 (13)
Birth index	85.3 $\pm$ 15.4 (12)	93.3 $\pm$ 8.1 (12)	92.0 $\pm$ 8.0 (12)	91.9 $\pm$ 8.5 (13)
Live birth index	89.0 $\pm$ 15.1 (12)	99.0 $\pm$ 3.6 ** (12)	98.8 $\pm$ 4.1 ** (12)	99.0 $\pm$ 2.3 * (13)
Sex ratio on day 0	46.8 $\pm$ 13.3 (12)	48.9 $\pm$ 12.3 (12)	47.2 $\pm$ 11.1 (12)	55.2 $\pm$ 14.7 (13)
Day 4 of lactation				
Number of live pups	11.3 $\pm$ 4.9 (12)	13.1 $\pm$ 3.1 (12)	13.1 $\pm$ 3.6 (12)	14.9 $\pm$ 2.3 (13)
Viability index	89.1 $\pm$ 28.9 (12)	99.2 $\pm$ 2.9 (12)	93.4 $\pm$ 21.1 (12)	100.0 $\pm$ 0.0 (13)
Sex ratio on day 4	46.3 $\pm$ 14.4 (11)	49.3 $\pm$ 12.4 (12)	46.6 $\pm$ 11.4 (12)	55.2 $\pm$ 14.7 (13)

Gestation index = (number of pregnant females with live pups / number of pregnant females) $\times$ 100, %Implantation index = (number of implantation sites / number of corpora lutea) $\times$ 100, %Delivery index = (number of pups born / number of implantation sites) $\times$ 100, %Birth index = (number of live pups on day 0 / number of implantation sites) $\times$ 100, %Live birth index = (number of live pups on day 0 / number of pups born) $\times$ 100, %Sex ratio on day 0 = (number of male live pups on day 0 / number of live pups on day 0) $\times$ 100, %Viability index = (number of live pups on day 4 / number of live pups on day 0) $\times$ 100, %Sex ratio on day 4 = (number of male live pups on day 4 / number of live pups on day 4) $\times$ 100, %* :Significant difference from control, $p < 0.05$ (by mult. le comparisons)** :Significant difference from control, $p < 0.01$ (by mult. le comparisons)

Table 23

Preliminary reproduction toxicity screening test of TPA by oral administration in rats

Body weight of pups up to day 4 of lactation; Mean $\pm$ S.D. (N)

Compound	TPA			
	0	5	20	80
Day 0 of lactation				
Weight of pup (g)				
Male	6.9 $\pm$ 0.6	7.3 $\pm$ 1.1	6.7 $\pm$ 0.7	6.6 $\pm$ 0.4
Female	6.6 $\pm$ 0.8	6.9 $\pm$ 0.8	6.4 $\pm$ 0.7	6.1 $\pm$ 0.3
Day 4 of lactation				
Weight of pup (g)				
Male	10.7 $\pm$ 1.3	11.8 $\pm$ 2.3	10.8 $\pm$ 2.2	10.4 $\pm$ 1.1
Female	10.4 $\pm$ 1.1	11.3 $\pm$ 2.0	10.3 $\pm$ 2.3	9.9 $\pm$ 1.1