
1,1-ジオキシドテトラヒドロチオフェンの
ラットを用いる経口投与による簡易生殖毒性試験

最 終 報 告 書

株式会社日本バイオリサーチセンター
羽島研究所

目次

	頁
要約	11
緒言	13
方法	
1.被験物質および媒体	13
2.投与検体および濃度確認	13
3.使用動物および飼育条件	14
4.投与経路, 投与方法, 群構成, 投与量および投与期間.....	15
5.観察および検査項目	16
6.統計学的方法	19
結果	
I.反復投与毒性	20
1.雄(P)に及ぼす影響	20
2.雌(P)に及ぼす影響	21
II.生殖発生毒性	23
1.親動物(P)の生殖発生に及ぼす影響	23
2.新生児(F ₁)に及ぼす影響	23
考察	25
文献	26

Table 1-1	General signs of male rats (P) in preliminary reproduction ~1-2 toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration 30~31
Table 2	Body weight of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration 32
Table 3	Food consumption of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration 33
Table 4	Necropsy finding of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration 34
Table 5	Organ weight of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration 35
Table 6-1	Histopathological finding of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration 36
Table 6-2	Histopathological finding of dead male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration 37
Table 7	General signs of female rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration 38
Table 8	General signs of dams (P) during pregnancy period in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration 39

Table 9	General signs of dams (P) during lactation period in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration	40
Table 10	Body weight of female rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration.....	41
Table 11	Body weight of dams (P) during pregnancy period in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration	42
Table 12	Body weight of dams (P) during lactation period in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration	43
Table 13	Food consumption of female rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene, tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration	44
Table 14	Food consumption of dams (P) during pregnancy period in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration	45
Table 15	Food consumption of dams (P) during lactation period in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration	46
Table 16	Necropsy finding of female rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration	47
Table 17	Organ weight of female rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration	48
Table 18-1	Histopathological finding of female rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration	49
Table 18-2	Histopathological finding of dead female rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration	50

Table 19	Number of estrous cases and reproductive performance of male and female rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-, 1,1-dioxide by oral administration	51
Table 20	Observation of pups (F1) in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-, 1,1-dioxide by oral administration	52
Table 21	Body weight of pups (F1) on days 0 and 4 of lactation in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration	53
Table 22	Necropsy finding of pups (F1) on day 4 of lactation in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration	54
Fig. 1	Chemical structure of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide	55
Fig. 2	Body weight of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-, 1,1-dioxide by oral administration	56
Fig. 3	Food consumption of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration	57
Fig. 4	Body weight of female rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-, 1,1-dioxide by oral administration	58
Fig. 5	Body weight of dams (P) during pregnancy and lactation periods in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration	59
Fig. 6	Food consumption of female rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration	60
Fig. 7	Food consumption of dams (P) during pregnancy and lactation periods in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration	61

Fig. 8 Body weight of pups (F1) on days 0 and 4 of lactation in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration..... 62

要約

1,1-ジオキシドテトラヒドロチオフェンのラットを用いる経口投与による簡易生殖毒性試験を行い、雌雄動物の性腺機能、交尾行動、受胎および分娩などの生殖行動に及ぼす影響について検討した。投与量は、700 mg/kgを最高用量とし、以下 200 および 60 mg/kgとした。対照として媒体(注射用水)投与群を設けた。

I. 反復投与毒性

1. 雄(P)に及ぼす影響

一般状態および死亡状況：死亡例は、700 mg/kg群で 1/12 例に認められた。一般状態観察では、700 mg/kg群で被毛の汚れ、下痢および軟便がみられた。なお、700 mg/kg群で流涎が認められたが、毒性症状とはみなさなかつた。

体重：700 mg/kg群で体重増加の抑制がみられた。

摂餌量：700 mg/kg群で低値がみられた。

剖検所見：投与に起因すると思われる変化はみられなかつた。

器官重量：投与に起因すると思われる変化はみられなかつた。

病理組織学検査：投与に起因すると思われる変化はみられなかつた。

2. 雌(P)に及ぼす影響

一般状態および死亡状況：死亡例は、700 mg/kg群で 1/12 例に認められた。一般状態観察では、700 mg/kg群で被毛の汚れがみられた。なお、700 mg/kg群で流涎が認められたが、毒性症状とはみなさなかつた。

体重：700 mg/kg群では、交配前に増加抑制がみられた。

摂餌量：700 mg/kg群では、交配前および哺育期に低値がみられた。

剖検所見：投与に起因すると思われる変化はみられなかつた。

器官重量：700 mg/kg群では、卵巣の相対重量の高値がみられた。

病理組織学検査：投与に起因すると思われる変化はみられなかつた。

II. 生殖発生毒性

1. 親動物(P)の生殖発生に及ぼす影響

発情回数、交尾率、交尾所要日数：700 mg/kg群では、発情回数の低値がみられた。

受胎雌数、妊娠期間、分娩状態、哺育状態：投与に起因すると思われる変化はみられなかつた。

受胎率：各投与群とも対照群との間に差はみられなかつた。

黄体数、着床痕数、着床率：各投与群とも対照群との間に差はみられなかつた。

出産率：哺育期に新生児が全例死亡した母動物が 700 mg/kg群で 4/10 例認められた。

2. 新生児(F₁)に及ぼす影響

総出産児数，分娩率，哺育 0 日の新生児数，児の産出率，性比：200 および 700 mg/kg群では，児の産出率の低値，哺育 0 日の新生児数の低値傾向がみられた。

死産児数，出生率：700 mg/kg群では，死産児数の高値，出生率の低値がみられた。

一般状態：各投与群とも投与による異常症状はみられなかった。

哺育 4 日の生存児数，生存率，性比：200 mg/kg群では，哺育 4 日の新生児数の低値傾向がみられた。700 mg/kg群では，哺育 4 日の新生児数および生存率の低値がみられた。

外表観察：投与に関連した変化はみられなかった。

体重：200 mg/kg群では，哺育 0 および 4 日に腹合計の体重の低値がみられた。700 mg/kg群では，哺育 0 および 4 日に雌雄別平均，腹平均および腹合計の体重の低値がみられた。

剖検所見：投与に起因すると思われる変化はみられなかった。

以上のように，1,1-ジオキソドテトラヒドロチオフェンの一般毒性学的無影響量は，雌雄とも 700 mg/kg投与により死亡例の発現，体重の増加抑制および摂餌量の低値が認められたことから 200 mg/kg/dayと考えられる。また，生殖発生毒性学的な無影響量は，雄では 700 mg/kg投与しても交尾率および受胎率に影響は認められなかったことから 700 mg/kg/day，雌では 700 mg/kg投与により新生児が全例死亡した母動物が認められたことから 200 mg/kg/day，児動物では 200 mg/kg投与により児の産出率の低値，哺育 0 日および 4 日の新生児数の低値傾向が認められたことから 60 mg/kg/dayと考えられる。

緒言

1,1-ジオキシドテトラヒドロチオフェンが経口的に継続して人に摂取された場合の健康への影響を推定するために、OECD Guideline for Testing of Chemicals for Preliminary Reproduction Toxicity Screening Testに従って、1,1-ジオキシドテトラヒドロチオフェンを雄ラットに 1 日 1 回、49 日間および雌ラットに 1 日 1 回、40~48 日間経口投与した簡易生殖毒性試験を行い、雌雄動物の性腺機能、交尾行動、受胎および分娩などの生殖行動に及ぼす影響について検討した。

方法

1. 被験物質および媒体

被験物質の1,1-ジオキシドテトラヒドロチオフェン(CAS No.126-33-0)は、Fig.1に示す化学構造を有し、分子量：120.17、融点：8~10 °C、沸点：285 °C、比重：1.262(30 °C)であり、常温において無色透明の液体である。当試験には、1997 年 9 月 22 日に

から提供されたものを用いた(製造元：

Lot No. 純度：97.3 %、ただし、不純物として水2.7 %を含む)。入手後は、試験施設の被験物質保管室の室温条件下の保管庫に保管した。なお、投与期間終了後に当試験施設での保管分を除いた残余被験物質は に返却した。その一部について分析した結果、純度は 97.3 %であり、使用期間中は安定であったことが確認された。

媒体として、注射用水[局方、株式会社大塚製薬工場、Lot No.7E81(入手日：1997 年 7 月 24 日、使用期限：2002 年 5 月)、室温保管]を用いた。

2. 投与検体および濃度確認

1,1-ジオキシドテトラヒドロチオフェンは、各濃度ごとに注射用水で希釈して調製した。被験物質は純度換算を行い、投与量は原体重量で表示した。対照群には注射用水を投与した。なお、10 および 200 mg/mLの調製液は、調製後室温・遮光条件下で 7 日間保存しても安定性に問題のないことが確認されていたため¹⁾(Attached table 1)、各濃度の調製液は調製後、1 日分ごとに小分けし、室温・遮光条件下で保管し、調製後 7 日以内に使用した。投与後の残余投与検体は廃棄した。

投与開始日および雄の投与期間終了日に使用した各濃度の投与検体中の被験物質濃度を

試験施設内でガスクロマトグラフを用いて測定した。その結果、被験物質濃度は表示濃度の 98.8~101.9 %であり、設定した適正濃度範囲内(表示濃度の± 10 %以内)を示し、濃度に問題はなかった(Attached table 2および 3)。

3. 使用動物および飼育条件

1) 動物種および系統

試験には、毒性試験に汎用されているSprague-Dawley系雌雄ラット [(SPF), Crj: CD (SD)IGS] を用いた。動物は、1998年4月8日に日本チャールス・リバー株式会社(日野飼育センター)から8週齢で雌雄各62匹を購入した。入手後1日の体重範囲は、雄が284~306 g、雌が174~200 gであった。

2) 検疫および馴化、群分け法ならびに個体識別法

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

群分けは、コンピュータを用いて体重を層別に分けた後に、無作為抽出法により各群の平均体重および分散がほぼ等しくなるように投与開始日に行った。群分け後の残余動物のうち、検疫・馴化動物番号の若い順に雄2例を選び、飼育期間終了時に微生物モニタリング検査に用いた。その他の残余雄および残余雌は、投与開始日にエーテル麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後に廃棄処分した。

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

3) 環境条件および飼育管理

動物は、室温 20~26 °C(実測値: 20~23 °C)、湿度 40~70 %(実測値: 50~67 %), 明暗各 12 時間(照明: 午前 6 時~午後 6 時), 換気回数 12 回/時(フィルターにより除菌した新鮮空気)に維持されている飼育室(E棟 10 号室)で飼育した。

検疫・馴化期間中はステンレス製懸垂式ケージ(W: 240 × D: 380 × H: 200 mm)を用いて1ケージ当たり5匹までの群飼育とし、群分け後はステンレス製五連ケージ(W: 755 × D: 210 × H: 170 mm)を用いて個別飼育した。ただし、交配はステンレス製懸垂式ケージ内で行った。母動物は、妊娠 18 日にオートクレーブ処理した床敷(サンフレック, 日本チャールス・リバー株式会社)を入れたプラスチック製ケージ(W: 310 × D: 360 × H:

175 mm)に個別に移し、自然分娩および哺育をさせた。ケージの受け皿、給水瓶およびプラスチック製ケージの交換は1週間に2回以上、ステンレス製五連ケージ、ステンレス製懸垂式ケージおよび給餌器の交換は2週間に1回以上行った。なお、動物飼育室の清掃(床の掃き掃除)および0.02%次亜塩素酸ナトリウム水溶液での床のモップ拭きによる消毒は毎日行った。飼育期間終了時に採血したモニタリング動物の血清検査において、感染を示唆するような異常はみられなかった。

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

4) 飼料および飲料水

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

飲料水は、水道水を給水瓶を用いて自由に摂取させた。飲料水の水質検査結果は、ほぼ6カ月ごとに財団法人岐阜県公衆衛生検査センターで実施した成績を入手した。

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

4. 投与経路, 投与方法, 群構成, 投与量および投与期間

1) 投与経路および投与方法

1,1-ジオキソドテトラヒドロチオフェンは、継続して経口的に人に摂取される可能性が考えられるため、投与経路として経口投与を選択した。

投与に際しては、金属製経口胃ゾンデを取り付けたポリプロピレン製ディスプレイブル注射筒を用いて、強制経口投与した。投与液量は、雄では投与日あるいは投与日に最も近い測定日の体重を基準とし、5 mL/kgで算出した。雌では、交配前および交配期間中は投与日あるいは投与日に最も近い測定日の体重を、妊娠期間中は妊娠0, 7, 14 および21日の体重を、授乳期間中は哺育0日の体重を基準とし、5 mL/kgで算出した。投与時刻は午前9時5分~11時39分の間で、投与回数は1日1回とした。

投与開始日の週齢は雌雄とも10週齢であり、体重範囲は雄が355~379 g, 雌が209~228 gであった。

2) 群構成および投与量

群構成は、以下に示したように被験物質投与群として 3 群を設定し、その他に対照群を設けた。1 群の動物数は、雌雄それぞれ 12 匹とした。

群	試験群	投与量 (濃度)	雄(動物番号)	雌(動物番号)
第1群	対照(注射用水)	0 mg/kg (0 mg/mL)	12(001~012)	12(051~062)
第2群	1,1-ジオキシド・テトラヒドロチオフェン	60 mg/kg (12 mg/mL)	12(101~112)	12(151~162)
第3群	1,1-ジオキシド・テトラヒドロチオフェン	200 mg/kg (40 mg/mL)	12(201~212)	12(251~262)
第4群	1,1-ジオキシド・テトラヒドロチオフェン	700 mg/kg (140 mg/mL)	12(301~312)	12(351~362)

財団法人 畜産生物化学安全性研究所で実施されたラットを用いる 28 日間の反復投与毒性試験²⁾(投与段階: 0, 60, 200 および 700 mg/kg)において、700 mg/kg群で自発運動の低下、体重および摂餌量の減少が認められた。そこで、当試験の投与量は、一般状態、体重および摂餌量に影響の認められることが予想される 700 mg/kgを高用量とし、以下公比約 3.5 で除して 200 および 60 mg/kgとした。また、対照として媒体(注射用水)のみを投与する群を設けた。

3) 投与期間

投与期間は、OECD Guideline for Testing of Chemicals for Preliminary Reproduction Toxicity Screening Testに従って、雄では交配前 14 日間とその後 35 日間の合計 49 日間とし、雌では交配前 14 日間、交配期間中(最長 14 日間)、妊娠期間中および哺育 4 日の剖検前日までの合計 41~50 日間とした。なお、投与開始日を投与 1 日とした。

5. 観察および検査項目

1) 雄(P)

(1) 一般状態

一般状態および死亡の有無は、投与期間中には投与前・後の 1 日 2 回(ただし、剖検日は剖検前 1 回)観察した。

死亡例は、発見後速やかに剖検し、精巣および精巣上体をブアン液に 2~3 時間固定後 90 %アルコールに保存し、精嚢および前立腺を 20 %中性緩衝ホルマリンに固定保存した。また、精巣および精巣上体は、H-E染色組織標本を作製し、病理組織学的に検査した。

(2) 体重測定

体重は、1週間に 2 回測定した(測定日: 投与 1, 4, 8, 11, 15, 18, 22, 25, 29, 32, 36, 39, 43, 46, 49日および剖検日)。

(3) 摂餌量測定

摂餌量は、交配開始前 14 日間および交配期間終了後から 1 週間に 2 回測定した(残量測定日：投与 3, 6, 10, 13, 31, 34, 38, 41, 45 および 48 日)。

(4) 剖検

生存例は、最終投与の翌日(投与 50 日)にエーテル麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後に剖検し、精巣および精巣上体の重量を測定した。なお、各器官重量を最終体重で除して相対重量も算出した。精巣および精巣上体は、ブアン液に 2~3 時間固定後、90 % アルコールにて保存した。前立腺および精嚢は、20 % 中性緩衝ホルマリンに固定し、保存した。

(5) 病理組織学検査

精巣および精巣上体ならびに剖検で異常の認められた 1 例(No.002)の精嚢および前立腺は、常法に従ってパラフィン包埋標本作製した。

対照群および高用量(700 mg/kg)群の精巣および精巣上体についてH-E染色組織標本作製し、病理組織学検査を実施した。なお、精巣については、PASおよびH-Eの重染色組織標本も作製したが、これらの標本については検鏡の必要を認めなかったため、検査に供しなかった。また、剖検において異常の認められた 200 mg/kg群の 1 例の精巣および精巣上体についても同様に検査した。

2) 雌(P)

(1) 一般状態および死亡の有無

一般状態および死亡の有無は、投与期間中には投与前・後の 1 日 2 回(ただし、剖検日は剖検前 1 回)観察した。

死亡例は、発見後速やかに剖検し、着床痕数および黄体数を数え、卵巣、子宮、腔、胎児および胎盤を 20 % 中性緩衝ホルマリンに固定し、保存した。また、卵巣は、H-E染色組織標本作製し、病理組織学的に検査した。

(2) 性周期

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

(3) 体重測定

体重は、交配開始前 14 日間および交配期間中には 1 週間に 2 回(測定日：投与 1, 4, 8, 11, 15, 18, 22, 25 および 29 日)、妊娠期間中には妊娠 0, 7, 14 および 21 日に、哺育期間中には哺育 0 および 4 日にそれぞれ測定した。

(4) 摂餌量測定

摂餌量は、交配開始前 14 日間までは 1 週間に 2 回測定した(残量測定日：投与 3, 6, 10 および 13 日)。また、妊娠期間中は妊娠 2, 9, 16 および 21 日に、哺育期間中は哺育 4 日に測定した。

(5) 交尾不成立雌の剖検

交尾不成立雌は、交配期間終了後にエーテル麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後に

剖検し、着床の有無により妊娠の成否を確認した。着床の認められない雌は、子宮を 2 % KOH 溶液により透明化させて着床痕の有無を調べた。また、不妊雌は、卵巢の重量を測定し、卵巢、子宮および腔を 20 % 中性緩衝ホルマリンに固定し、保存した。なお、卵巢重量を最終体重で除して相対重量も算出した。

(6) 分娩状態の観察

交尾雌は自然分娩させ、分娩状態の異常の有無、分娩終了の確認を妊娠 21 日から妊娠 25 日の午前 10 時まで毎日行った。午前 10 時に分娩が終了していた場合、その日を哺育 0 日とした。

(7) 妊娠 25 日の午前 10 時までに分娩しなかった動物

妊娠 25 日の午前 10 時までに分娩しなかった雌は、エーテル麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後に剖検し、着床の有無により妊娠の成否を確認した。着床の認められない雌は、子宮を 2 % KOH 溶液により透明化させて着床痕の有無を調べた。また、不妊雌は、卵巢の重量を測定し、卵巢、子宮および腔を 20 % 中性緩衝ホルマリンに固定し、保存した。なお、卵巢重量を最終体重で除して相対重量も算出した。

(8) 哺育状態の観察および剖検

母動物は、哺育状態を哺育 4 日まで毎日観察し、新生児が全例死亡した日あるいは哺育 4 日にエーテル麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後に剖検し、着床痕数および黄体数を数えた。卵巢は重量を測定し、卵巢、子宮および腔を 20 % 中性緩衝ホルマリンに固定し、保存した。なお、卵巢重量を最終体重で除して相対重量も算出した。

(9) 病理組織学検査

卵巢は、常法に従ってパラフィン包埋標本を作製した。

対照群および高用量 (700 mg/kg) 群の卵巢について H-E 染色組織標本を作製し、病理組織学検査を実施した。

3) 親動物(P)の生殖発生に及ぼす影響

14 日間投与した雌雄を同一群内で 1 対 1 に組み合わせて同居交配した。交配期間は 14 日を限度として、交尾を確認するまでの連続同居交配とした。ただし、交配相手が死亡したため交配組み合わせができなかった 700 mg/kg 群の雌は、交配開始後 5 日に同一群内の交尾経験のある雄と組み合わせて同居交配した。交尾確認は毎朝ほぼ一定時刻に行い、腔垢内に精子または腔栓を確認した雌を交尾成立動物として、その日を妊娠 0 日として起算した。

4) 新生児(F₁)

(1) 出産時の観察

出産時に総出産児数と性、死産児数、新生児数および外表異常の有無を観察した。死産児は、20 % 中性緩衝ホルマリンに固定し、保存した。

(2) 新生児の観察

新生児は、一般状態および死亡の有無を生存期間中毎日 1 回観察した。死亡児は、剖検

後 20 % 中性緩衝ホルマリンに固定し、保存した。

(3) 体重

体重は、哺育 0 日(出生日)および 4 日に測定した。

(4) 剖検

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

6. 統計学的方法

有意差検定は以下に示したように、対照群と 1,1-ジオキンドテトラヒドロチオフェンの各投与群の間で行い、危険率 5 % 未満($p < 0.05$)を有意とし、5 % 未満($p < 0.05$)と 1 % 未満($p < 0.01$)とに分けて表示した。新生児の体重は一腹の平均値と腹重量を検定した。なお、不受胎雌の交尾後の一般状態、体重および摂餌量は集計から除外した。

〈検定方法〉

体重(親動物、新生児)、摂餌量、発情回数、交尾所要口数、妊娠期間[分娩日(哺育 0 日) - 交尾確認日]、着床痕数、総出産児数(新生児数 + 死産児数)、新生児数、死産児数、分娩率[(総出産児数 / 着床痕数) × 100]、児の産出率[(哺育 0 日の新生児数 / 着床痕数) × 100]、黄体数、着床率[(着床痕数 / 黄体数) × 100]、出生率[(哺育 0 日の新生児数 / 総出産児数) × 100]、哺育 4 日の生存児数、哺育 4 日の生存率[(哺育 4 日の生存児数 / 哺育 0 日の新生児数) × 100]、外表異常出現率[(外表異常児数 / 新生児数) × 100]、性比(雄 / 雌)、器官の絶対重量および相対重量、新生児の剖検所見は、各群で平均値および標準偏差を算出した。その後、Bartlett法による等分散性の検定を行い、等分散の場合には一元配置法による分散分析を行い、有意ならばDunnett法により行った。一方、等分散と認められなかった場合は、順位を利用した一元配置法による分析(Kruskal-Wallisの検定)を行い、有意ならば順位を利用したDunnett型の検定法により行った。

交尾率[(交尾成立動物数 / 同居動物数) × 100]、受胎率[(受胎雌数 / 交尾成立動物数) × 100] および出産率[(新生児出産雌数 / 受胎雌数) × 100] は、 χ^2 検定により行った。

結果

I. 反復投与毒性

1. 雄(P)に及ぼす影響

1) 一般状態(Table 1-1 および 1-2, Appendix 1-1~1-4)

死亡および瀕死例は、対照群、60 および 200 mg/kg群では認められなかった。700 mg/kg群では、投与 5 日に 1 例(No.311)が死亡した。死亡例では、死亡前日まで一般状態に異常はみられなかった。

生存例の一般状態観察において、対照群、60 および 200 mg/kg群では観察期間を通していずれの動物にも異常はみられなかった。700 mg/kg群では、被毛の汚れが投与 5~11 日に 7 例に、流涎が投与 5~49 日に 11 例に、下痢が投与 47 および 48 日に 1 例に、軟便が投与 43~46 日に 1 例にみられた。なお、流涎は、投与直後から約 2~3 時間みられたが、投与の継続とともに発現時間は徐々に減少し、投与期間の後期には投与後約 20 分で認められなくなった。

2) 体重(Table 2, Fig.2, Appendix 2-1~2-4)

60 mg/kg群では、対照群と比べていずれの測定日の体重にも有意差はみられなかった。200 mg/kg群では、対照群と比べて投与 4 日に体重の有意な低値がみられたが、その後は順調に推移し、対照群との間に有意差が認められないことから、毒性学的影響とはみなさなかつた。700 mg/kg群では、対照群と比べて投与 4~49 日に体重の有意な低値がみられた。

3) 摂餌量(Table 3, Fig.3, Appendix 3-1~3-4)

60 mg/kg群では、対照群と比べて投与 48 日に摂餌量の有意な高値がみられたが、投与量に依存した変化ではなかった。200 mg/kg群では、対照群と比べて投与 3 日に摂餌量の有意な低値がみられたが、その後は順調に推移し、対照群との間に有意差が認められないことから、毒性学的影響とはみなさなかつた。700 mg/kg群では、対照群と比べて投与 3 および 6 日に摂餌量の有意な低値がみられた。

4) 剖検(Table 4, Appendix 4-1~4-4)

700 mg/kg群の死亡例(No.311)においては異常はみられなかった。

生存例においては、対照群では、両側精巣、両側精巣上体、精囊および前立腺の萎縮が 1 例にみられた。60 mg/kg群では、いずれの動物にも異常はみられなかった。200 および 700 mg/kg群では、両側精巣の萎縮および両側精巣上体の萎縮が各 1 例にみられた。しかし、これらの変化は、いずれも偶発的所見と考えられた。

5) 器官重量(Table 5, Appendix 5-1~5-4)

60 および 200 mg/kg群では、対照群と比べて剖検日の体重に有意差はみられなかった。700 mg/kg群では、対照群と比べて剖検日の体重の有意な低値がみられた。

各投与群とも、対照群と比べていずれの器官の絶対および相対重量にも有意差はみられなかった。

6) 病理組織学検査

(1) 生存例(Table 6-1, Appendix 6-1~6-3)

精巣：精細管の萎縮が対照群で 2 例に、200 mg/kg群で 1 例に、700 mg/kg群で 2 例にみられ、それらの程度は対照群および 700 mg/kg群で軽度および高度、200 mg/kg群で高度であった。間細胞の増生が対照群、200 および 700 mg/kg群で各 1 例にみられ、それらの程度は対照群でごく軽度、200 および 700 mg/kg群で軽度であった。

精巣上体：精子の減少が対照群、200 および 700 mg/kg群で各 1 例にみられ、それらの程度はいずれも高度であった。精巣上体管の空胞化が対照群および 700 mg/kg群で各 1 例にみられ、それらの程度はいずれも軽度であった。精子肉芽腫が 700 mg/kg群で 1 例にみられ、その程度は軽度であった。

なお、これらの変化は、いずれも少数例であることから、偶発的変化と判断された。

(2) 死亡例(Table 6-2, Appendix 6-4)

死亡例(700 mg/kg群:No.311)では、精巣および精巣上体に異常はみられなかった。

2. 雌(P)に及ぼす影響

1) 一般状態(Table 7~9, Appendix 7-1~7-4, 8-1~8-4 および 9-1~9-4)

死亡および瀕死例は、対照群、60 および 200 mg/kg群では認められなかった。700 mg/kg群では、哺育 2 日に 1 例(No.351)が死亡した。死亡例では、流涎の他には異常はみられなかった。

生存例の一般状態観察において、対照群、60 および 200 mg/kg群では観察期間を通していずれの動物にも異常はみられなかった。700 mg/kg群では、被毛の汚れが投与 5~7 日に 4 例に、流涎が投与 5~28 日に 12 例に、妊娠 0~21 日に 10 例に、哺育 0~3 日に 6 例にみられた。なお、流涎は、投与直後から約 2 時間みられたが、投与の継続とともに発現時間は徐々に減少し、投与期間の後期には投与後約 20 分で認められなくなった。

2) 体重(Table 10~12, Fig.4 および 5, Appendix 10-1~10-4, 11-1~11-4, 12-1~12-4)

交配開始前において、60 および 200 mg/kg群では対照群と比べていずれの測定日の体重にも有意差はみられなかった。700 mg/kg群では、対照群と比べて投与 4~11 日に体重の有意な低値がみられた。

妊娠期間中において、各投与群とも対照群と比べていずれの測定日の体重にも有意差はみられなかった。

哺育期間中において、各投与群とも対照群と比べていずれの測定日の体重にも有意差はみられなかった。

3) 摂餌量(Table 13~15, Fig.6 および 7, Appendix 13-1~13-4, 14-1~14-4, 15-1~15-4)

交配開始前において、60 および 200 mg/kg群では対照群と比べていずれの測定日の摂餌量にも有意差はみられなかった。700 mg/kg群では、対照群と比べて投与 3 および 6 日に摂餌量の有意な低値がみられた。

妊娠期間中において、各投与群とも対照群と比べていずれの測定日の摂餌量にも有意差はみられなかった。

哺育期間中において、60 および 200 mg/kg群では対照群と比べて摂餌量に有意差はみられなかった。700 mg/kg群では、対照群と比べて哺育 4 日に摂餌量の有意な低値がみられた。

4) 剖検(Table 16, Appendix 16-1~16-4)

700 mg/kg群の死亡例(No.351)においては異常はみられなかった。

生存例においては、いずれの群とも異常はみられなかった。

5) 器官重量(Table 17, Appendix 17-1~17-4)

60 および 200 mg/kg群では、対照群と比べて剖検日の体重、卵巣の絶対および相対重量に有意差はみられなかった。700 mg/kg群では、対照群と比べて卵巣の相対重量の有意な高値および剖検日の体重の有意な低値がみられた。

6) 病理組織学検査

(1) 生存例(Table 18-1, Appendix 18-1 および 18-2)

対照群および 700 mg/kg群とも、卵巣に異常はみられなかった。

(2) 死亡例(Table 18-2, Appendix 18-3)

死亡例(700 mg/kg群:No.351)では、卵巣に出血がみられたが、その程度はごく軽度であった。

II. 生殖発生毒性

1. 親動物(P)の生殖発生に及ぼす影響

1) 発情回数(Table 19, Appendix 19-1~19-4)

交配前の投与期間(14日間)の発情回数は、60 および 200 mg/kg群では対照群との間に有意差はみられなかった。700 mg/kg群では、発情周期の乱れている雌が4例認められ、対照群と比べて発情回数の有意な低値がみられた。

2) 交尾所要日数, 交尾率, 受胎雌数および受胎率(Table 19, Appendix 19-1~19-8)

700 mg/kg群の1組を除いた全例で交尾が確認された。交尾所要日数は、各投与群とも対照群との間に有意差はみられなかった。また、交尾率にも、各投与群と対照群との間に有意差はみられなかった。

不受胎雌は、対照群および700 mg/kg群で各1例、200mg/kg群で2例みられ、各群の受胎雌数は10~12例となった。しかし、受胎率には各投与群と対照群との間に有意差はみられなかった。

3) 妊娠期間および分娩状態(Table 20, Appendix 20-1~20-4)

妊娠期間は、各投与群とも対照群と比べて有意差はみられなかった。分娩状態にも、いずれの群とも異常はみられなかった。

4) 黄体数, 着床痕数および着床率(Table 20, Appendix 20-1~20-4)

各投与群とも、対照群と比べて黄体数, 着床痕数および着床率に有意差はみられなかった。

5) 出産率および哺育状態(Table 20, Appendix 20-1~20-4)

対照群, 60, 200 および 700 mg/kg群とも出産率は100%であった。対照群および各投与群とも、哺育状態に異常はみられなかったが、700 mg/kg群では全出生児が死亡した母動物が4例(No.352, 357, 360 および 361)みられた。

2. 新生児(F₁)に及ぼす影響

1) 総出産児数および分娩率(Table 20, Appendix 20-1~20-4)

60 mg/kg群では、対照群と比べて総出産児数および分娩率に有意差はみられなかった。200 mg/kg群では、対照群と比べて分娩率の有意な低値がみられたが、700 mg/kg群で有意差は認められず、投与によるものではないと判断される。

2) 出生率, 児の産出率および性比(Table 20, Appendix 20-1~20-4)

60 mg/kg群では, 対照群と比べて児の産出率, 哺育 0 日の新生児数, 死産児数, 出生率および性比に有意差はみられなかった. 200 mg/kg群では, 対照群と比べて児の産出率の有意な低値, 有意な差ではないが哺育 0 日の新生児数の低値傾向がみられた. 700 mg/kg群では, 対照群と比べて死産児数の有意な高値, 出生率および児の産出率の有意な低値, 有意差は認められないものの, 哺育 0 日の新生児数の低値傾向がみられた.

3) 新生児の一般状態, 哺育 4 日の生存児数, 哺育 4 日の生存率および外表異常の観察 (Table 20, Appendix 20-1~20-4)

60 mg/kg群では, 対照群と比べて哺育 4 日の生存児数, 哺育 4 日の生存率および性比に有意差はみられなかった. 200 mg/kg群では, 対照群と比べて有意な差ではないが哺育 4 日の生存児数の低値傾向がみられた. 700 mg/kg群では, 対照群と比べて哺育 4 日の生存児数および生存率の有意な低値がみられた.

新生児の外表観察では, 対照群で無尾が 1 例にみられたが, 各投与群とも生存児に異常はみられなかった.

新生児の一般状態では, 各群とも異常はみられなかった.

4) 新生児の体重(Table 21, Fig.8, Appendix 21-1~21-4)

60 mg/kg群では, 対照群と比べて哺育 0 日の雄平均体重の有意な低値がみられたが, 200 mg/kg群では哺育 0 日の雌雄別平均および腹平均の体重に有意差が認められないことから, 投与によるものではないと判断される.

200 mg/kg群では, 対照群と比べて哺育 0 日および 4 日の腹合計の体重の有意な低値がみられた. 700 mg/kg群では, 対照群と比べて哺育 0 および 4 日の雌雄別平均, 腹平均および腹合計の体重の有意な低値がみられた.

5) 生存児の剖検(Table 22, Appendix 22-1~22-4)

対照群で無尾が 1 例(外表観察:無尾)にみられたのみで, 各投与群とも生存児に異常はみられなかった.

6) 死亡児の剖検

各群とも, いずれにも異常はみられなかった.

考察

1,1-ジオキシドテトラヒドロチオフエンのラットを用いる経口投与による簡易生殖毒性試験を行い、雌雄動物の性腺機能、交尾行動、受胎および分娩などの生殖行動に及ぼす影響について検討した。投与量は、700 mg/kgを高用量とし、以下 200 および 60 mg/kgとした。対照として媒体(注射用水)投与群を設けた。

雄(P)に関しては、死亡例は 700 mg/kg群で 1/12 例に認められた。死亡例では、一般状態および剖検所見に特記すべき異常は認められなかったものの、体重減少がみられていること、誤投与に基づく変化とは考えられないことから、被験物質投与に基づくものと判断した。一般状態観察では、700 mg/kg群で被毛の汚れ、下痢便および軟便がみられた。また、700 mg/kg群で投与直後に流涎が認められ、投与の継続とともに流涎の発現時間は短くなったものの、流涎に関連すると考えられる他の神経症状はみられなかったことから、被験物質の刺激性に基づく変化と判断され、毒性症状とはみなさなかった。体重および摂餌量において、700 mg/kg群では投与期間を通して体重増加の抑制、投与初期に摂餌量の低値がみられた。しかし、剖検および器官重量では、投与に起因すると思われる変化はみられなかった。精巣および精巣上体の病理組織学検査において、投与に起因すると思われる変化はみられなかった。なお、ラットを用いる 28 日間反復投与毒性試験²⁾においても、700 mg/kg投与で死亡例および流涎は認められないものの、自発運動の低下、体重および摂餌量の減少がみられている。

雌(P)に関しては、死亡例は、700 mg/kg群で 1/12 例に認められた。一般状態観察では、700 mg/kg群で被毛の汚れがみられた。700 mg/kg群で投与直後に一過性の流涎が認められたが、雄と同様に毒性症状とはみなさなかった。体重において、700 mg/kg群では交配前に増加抑制がみられた。摂餌量において、700 mg/kg群では、交配前および哺育期に低値がみられた。また、700 mg/kg群で卵巣の相対重量の有意な高値がみられたが、病理組織学検査では変化はみられなかった。

したがって、当試験条件下における 1,1-ジオキシドテトラヒドロチオフエンの一般毒性的無影響量は、雌雄とも 200 mg/kg/dayと考えられる。

親動物(P)の生殖発生に対しては、前述したように精巣、精巣上体および卵巣の病理組織学検査において投与に起因すると思われる変化はみられなかった。また、いずれの群とも交尾率および受胎率に影響は認められなかった。

交尾所要日数、受胎雌数、妊娠期間、黄体数、着床痕数、分娩状態および哺育状態では、投与に起因すると思われる変化はみられなかった。しかし、700 mg/kg群では、発情周期の乱れている雌が 4 例認められ、発情回数の低値がみられた。また、同群では、哺育期に新生児が全例死亡した母動物が 4 例認められた。

新生児(F₁)に対しては、200 mg/kg群では哺育 0 日の新生児数および哺育 4 日の新生児数の低値傾向がみられた。700 mg/kg群では、死産児数の高値および哺育 0 日の新生児数の低値傾向、児の産出率、出生率、哺育 4 日の新生児数および生存率の低値がみられた。

また、700 mg/kg群では、哺育 0 および 4 日に雌雄別平均、腹平均および腹合計の体重の低値がみられた。なお、700 mg/kg群で哺育 0 および 4 日に認められた腹合計の体重の低値は、生存児数および平均体重の減少に伴う変化と考えられる。また、200 mg/kg群では、哺育 0 および 4 日に腹合計の体重の低値がみられたが、生存児数の減少に伴う変化と考えられる。外表観察では、各投与群とも投与による影響はみられなかった。一般状態では、各投与群とも投与による異常症状はみられなかった。剖検においても、変化はみられなかった。

以上のように、1,1-ジオキシドテトラヒドロチオフエンの一般毒性学的無影響量は、雌雄とも 700 mg/kg投与により死亡例の発現、体重の増加抑制および摂餌量の低値が認められたことから 200 mg/kg/dayと考えられる。また、生殖発生毒性学的な無影響量は、雄では 700 mg/kg投与しても交尾率および受胎率に影響は認められなかったことから 700 mg/kg/day、雌では 700 mg/kg投与により新生児が全例死亡した母動物が認められたことから 200 mg/kg/day、児動物では 200 mg/kg投与により児の産出率の低値、哺育 0 日および 4 日の新生児数の低値傾向が認められたことから 60 mg/kg/dayと考えられる。

文献

- 1) 「1,1-ジオキシドテトラヒドロチオフエンの調製液の安定性確認試験」(試験番号：092017P)(株式会社日本バイオリサーチセンター 羽島研究所)
- 2) 「テトラヒドロチオフエン-1,1-ジオキシドのラットを用いる 28 日間の反復投与毒性試験」財団法人 畜産生物科学安全研究所 (試験番号：94-056) 最終報告書

Table 1-1 General signs of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration

Group (mg/kg)		Number of males and general signs	Days of administration																										
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	
Control	0	Number of males	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
thiophene, tetrahydro-, 1,1-dioxide	60	Number of males	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	200	Number of males	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	700	Number of males	12	12	12	12	12	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
		Normal	12	12	12	12	7	6	2	1	8	5	8	3	5	5	6	5	3	5	5	5	6	4	5	7	6	6	6
Soiled fur		0	0	0	0	3	3	7	7	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Salivation		0	0	0	0	2	4	6	5	2	5	2	8	6	6	5	6	8	6	6	6	5	7	6	4	5	5	5	
Death	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

Table 1-2 General signs of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration

Group (mg/kg)		Number of males and general signs	Days of administration																							*Total	
			27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49		50
Control	0	Number of males	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	-
thiophene, tetrahydro-, 1,1-dioxide	60	Number of males	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	-
	200	Number of males	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	-
	700	Number of males	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	12
		Normal	6	6	5	5	5	6	7	6	4	4	5	8	3	6	5	4	5	6	1	3	2	5	5	11	-
Soiled fur		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	7	
Salivation		5	5	6	6	6	5	4	5	7	7	6	3	8	5	6	7	5	4	9	7	8	5	6	0	11	
Death	Diarrhea	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1		
	Loose stool	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	1		
		Death	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	

#: Number of males showing abnormal signs at least once from days 1 to 50 of administration.

Table 2 Body weight of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration

Group (mg/kg)	Control		thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide			
	0		60	200		700
Number of males	12		12	12		12
Days of administration						
1	367.2 ± 6.7	366.6 ± 5.8	367.1 ± 6.2	366.8 ± 5.5		
4	382.0 ± 10.5	379.7 ± 7.0	372.3 ± 8.9*	322.5 ± 9.8**		
8	393.5 ± 11.7	391.8 ± 8.4	386.5 ± 10.1	322.0 ± 18.6** (11)		
11	403.5 ± 14.1	403.0 ± 13.0	399.6 ± 13.1	341.6 ± 14.6** (11)		
15	419.3 ± 15.7	416.8 ± 16.6	417.5 ± 14.1	370.5 ± 14.1** (11)		
18	428.3 ± 16.9	427.3 ± 16.4	420.5 ± 11.5	373.1 ± 14.6** (11)		
22	445.9 ± 15.4	442.4 ± 16.1	439.0 ± 12.9	399.7 ± 18.2** (11)		
25	452.3 ± 18.2	453.2 ± 17.7	450.2 ± 13.6	411.7 ± 21.8** (11)		
29	469.9 ± 19.7	473.3 ± 23.7	467.5 ± 13.6	426.8 ± 20.6** (11)		
32	474.5 ± 21.0	474.5 ± 22.2	473.2 ± 15.1	432.9 ± 21.1** (11)		
36	479.8 ± 23.3	479.0 ± 20.6	479.6 ± 15.4	436.4 ± 20.4** (11)		
39	486.4 ± 23.7	485.7 ± 24.9	485.9 ± 14.3	440.1 ± 20.1** (11)		
43	493.1 ± 25.6	492.2 ± 26.7	494.2 ± 12.1	442.8 ± 19.7** (11)		
46	495.9 ± 24.2	496.5 ± 27.1	496.7 ± 13.9	448.2 ± 17.8** (11)		
49	500.9 ± 25.6	503.3 ± 25.8	501.7 ± 13.2	449.4 ± 21.9** (11)		

Each value shows mean (g) ± S.D.

Figures in parentheses indicate number of males.

Significantly different from control (*: P<0.05, **: P<0.01).

Table 3 Food consumption of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration

Group (mg/kg)	Control		thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide					
	0		60		200		700	
Number of males	12		12		12		12	
Days of admin- istration								
3	26.9 ± 1.9		27.1 ± 1.3		24.0 ± 2.3**		13.1 ± 2.8**	
6	27.6 ± 1.8		28.9 ± 1.7		26.9 ± 1.4		12.4 ± 4.9** (11)	
10	27.6 ± 2.2		28.9 ± 2.3		28.1 ± 2.0		28.1 ± 2.2 (11)	
13	27.7 ± 1.6		28.1 ± 1.4		28.0 ± 2.0		27.2 ± 1.9 (11)	
31	25.2 ± 1.6		25.7 ± 1.8		26.1 ± 1.4		26.3 ± 2.5 (11)	
34	25.5 ± 1.5		26.7 ± 2.7		26.8 ± 1.8		26.4 ± 2.2 (11)	
38	25.3 ± 1.1		26.2 ± 2.4		25.5 ± 2.0		26.0 ± 1.8 (11)	
41	25.5 ± 1.2		26.7 ± 3.5		25.6 ± 2.0		24.9 ± 2.1 (11)	
45	25.3 ± 3.2		27.6 ± 3.1		25.3 ± 2.2		24.8 ± 2.4 (11)	
48	24.5 ± 1.6		27.4 ± 3.1*		23.6 ± 2.1		24.0 ± 3.1 (11)	

Each value shows mean (g/day) ± S.D.

Figures in parentheses indicate number of males.

Significantly different from control (*: P<0.05, **: P<0.01).

Table 4 Necropsy finding of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene, tetrahydro-, 1,1-dioxide by oral administration

Group (mg/kg)	Control	thiophene, tetrahydro-, 1,1-dioxide		
	0	60	200	700
Number of males	12	12	12	11
Normal	11	12	11	10
Testis				
Atrophy	1	0	1	1
Epididymis				
Atrophy	1	0	1	1
Seminal vesicle				
Atrophy	1	0	0	0
Prostate				
Atrophy	1	0	0	0
Number of dead males	0	0	0	1
Normal	-	-	-	1

Table 5 Organ weight of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene, tetrahydro-, 1,1-dioxide by oral administration

Group (mg/kg)	Control		thiophene, tetrahydro-, 1,1-dioxide					
	0		60		200		700	
Number of males	12		12		12		11	
Body weight (g)	504.2 ± 26.3		505.9 ± 25.7		505.8 ± 14.9		454.3 ± 22.2**	
Testes (g)	3.118 ± 0.720		3.287 ± 0.182		3.225 ± 0.750		2.961 ± 0.808	
(g%)	0.619 ± 0.143		0.652 ± 0.054		0.640 ± 0.153		0.655 ± 0.187	
Epididymides (g)	1.172 ± 0.226		1.230 ± 0.083		1.211 ± 0.222		1.087 ± 0.236	
(g%)	0.233 ± 0.048		0.243 ± 0.020		0.241 ± 0.045		0.241 ± 0.052	

Each value shows mean ± S.D.

Significantly different from control (**: P<0.01).

Table 6-1 Histopathological finding of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration

Group (mg/kg)	Control				thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide														
	0				200				700										
Incidence & Grade	N	A	±	+	2+	3+	N	A	±	+	2+	3+	N	A	±	+	2+	3+	
Findings																			
Testis	[12]						[1]						[11]						
Atrophy, seminiferous tubule	10	2	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1	9	2	0	1	0	1	
Proliferation, Leydig's cell	11	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	10	1	0	1	0	0	
Epididymis	[12]						[1]						[11]						
Decrease, sperm	11	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	10	1	0	0	0	1	
Vacuolization, duct	11	1	0	1	0	0	1	0					10	1	0	1	0	0	
Spermatic granuloma	12	0					1	0					10	1	0	1	0	0	

Grade of histopathological finding: ±: slight, +: mild, 2+: moderate, 3+: marked.

N : No abnormality detected.

A : Abnormality detected.

[] : Examined number of males.

No remarkable changes were seen in seminal vesicle and prostate from a rat(Male No.002).

Table 6-2 Histopathological finding of dead male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene, tetrahydro-, 1,1-dioxide by oral administration

Group (mg/kg)	thiophene, tetrahydro-, 1,1-dioxide					
	700					
Incidence & Grade	N	A	±	+	2+	3+
Testis and epididymis	[1]	1 0				

N : No abnormality detected.

A : Abnormality detected.

[] : Examined number of females.

Table 7 General signs of female rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration

Group (mg/kg)		Number of females and general signs	Days of administration																											*Total									
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15*	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27		28	29							
Control	0	Number of females	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	8	6	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	8	6	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
thiophene, tetrahydro-, 1,1-dioxide	60	Number of females	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	7	5	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	7	5	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	200	Number of females	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6	5	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6	5	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
700	Number of females	Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	9	7	5	4	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	0	1	12		
		Soiled fur	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	
		Salivation	0	0	0	0	3	0	4	3	1	3	3	5	5	4	3	2	2	2	1	2	0	0	0	1	0	1	1	1	1	0	1	1	0	0	12		

*: Commencement of pairing.

#: Number of females showing abnormal signs at least once from days 1 to 29 of administration.

Table 8 General signs of dams (P) during pregnancy period in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration

Group (mg/kg)		Number of dams and general signs	Days of pregnancy																				*Total		
			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19		20	21
Control	0	Number of dams	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	2	11
		Normal	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	2
thiophene, tetrahydro-, 1,1-dioxide	60	Number of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	1	12
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	1	-
	200	Number of dams	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	0	10
		Normal	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	0	-
700	Number of dams	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	0	10	
	Normal	8	7	3	7	6	7	7	5	6	4	6	4	5	8	4	3	2	5	9	5	8	7	-	
		Salivation	2	3	7	3	4	3	3	5	4	6	4	6	5	2	6	7	8	5	1	5	2	3	-
																								10	

#: Number of dams showing abnormal signs at least once from days 0 to 22 of pregnancy.

Table 9 General signs of dams (P) during lactation period in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene, tetrahydro-, 1,1-dioxide by oral administration

Group (mg/kg)	Number of dams and general signs	Days of lactation					#Total	
		0	1	2	3	4		
Control	0	Number of dams	11	11	11	11	11	11
		Normal	11	11	11	11	11	-
	60	Number of dams	12	12	12	12	12	12
		Normal	12	12	12	12	12	-
thiophene, tetrahydro-, 1,1-dioxide	200	Number of dams	10	10	10	10	10	10
		Normal	10	10	10	10	10	-
	700	Number of dams	10	10	7	5	5	10
		Normal	5	8	5	3	5	-
		Salivation	5	2	1	2	0	6
		Death	0	0	1	0	0	1

#: Number of dams showing abnormal signs at least once from days 0 to 4 of lactation.

Table 10 Body weight of female rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene, tetrahydro-, 1,1-dioxide by oral administration

Group (mg/kg)	Control		thiophene, tetrahydro-, 1,1-dioxide					
	0		60		200		700	
Number of females	12		12		12		12	
Days of administration								
1	218.3 ± 6.5		218.3 ± 6.1		218.8 ± 6.0		218.6 ± 5.8	
4	218.4 ± 6.5		216.1 ± 7.9		213.3 ± 6.8		195.1 ± 6.6**	
8	224.2 ± 9.0		219.8 ± 7.1		217.9 ± 7.4		201.3 ± 6.8**	
11	229.4 ± 6.5		225.1 ± 8.6		222.8 ± 7.9		216.3 ± 9.1**	
15	234.3 ± 7.9		231.0 ± 10.9		230.7 ± 8.7		226.7 ± 11.2	
18	250.0	(2)	253.5	(2)	243.3 ± 11.7	(4)	245.0 ± 13.3	(5)
22							258.0	(2)
25							272.5	(2)
29							270.0	(1)

Each value shows mean (g) ± S.D.

Figures in parentheses indicate number of females.

Significantly different from control (**: P<0.01).

Table 11 Body weight of dams (P) during pregnancy period in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration

Group (mg/kg)	Control		thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide					
	0		60		200		700	
Number of dams	11		12		10		10	
Days of pregnancy								
0	240.4	± 9.9	236.8	± 11.9	236.9	± 8.9	235.5	± 23.1
7	272.8	± 8.1	269.2	± 14.0	267.8	± 9.7	262.8	± 16.0
14	305.9	± 11.6	300.3	± 16.1	295.0	± 12.2	291.9	± 15.1
21	388.8	± 18.0	383.1	± 22.1	375.5	± 14.4	369.1	± 29.8

Each value shows mean (g) ± S.D.

Table 12 Body weight of dams (P) during lactation period in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration

Group (mg/kg)	Control		thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide			
	0		60		200	700
Number of dams	11		12		10	
Days of lactation	0	274.1 ± 14.3	269.9 ± 17.7		265.0 ± 9.2	269.4 ± 8.9
	4	292.9 ± 17.2	290.3 ± 19.2		284.3 ± 16.5	272.2 ± 12.7 (5)

Each value shows mean (g) ± S.D.

Figures in parentheses indicate number of dams.

Table 13 Food consumption of female rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene, tetrahydro-, 1,1-dioxide by oral administration

Group (mg/kg)	Control		thiophene, tetrahydro-, 1,1-dioxide					
	0		60		200		700	
Number of females	12		12		12		12	
Days of administration								
3	16.3 ± 1.7		15.0 ± 2.0		14.7 ± 1.7		9.1 ± 1.1**	
6	18.0 ± 1.4		17.5 ± 2.2		17.4 ± 2.0		10.4 ± 2.4**	
10	18.8 ± 1.4		18.7 ± 2.2		19.0 ± 2.6		20.7 ± 1.7	
13	17.9 ± 2.3		17.8 ± 2.3		18.6 ± 2.1		19.5 ± 3.3	

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

Table 14 Food consumption of dams (P) during pregnancy period in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration

Group (mg/kg)	Control		thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide					
	0		60		200		700	
Number of dams	11		12		10		10	
Days of pregnancy								
2	21.0 ± 1.7		20.9 ± 3.1		21.0 ± 2.1		18.7 ± 2.2	
9	23.0 ± 1.8		22.9 ± 1.8		22.9 ± 2.0		21.2 ± 1.1	
16	22.5 ± 0.9		22.3 ± 2.3		21.4 ± 1.7		22.6 ± 2.2	
21	20.2 ± 2.6		19.4 ± 2.2		20.3 ± 1.4		21.5 ± 2.7	

Each value shows mean (g/day) ± S.D.

Table 15 Food consumption of dams (P) during lactation period in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene, tetrahydro-, 1,1-dioxide by oral administration

Group (mg/kg)	Control		thiophene, tetrahydro-, 1,1-dioxide	
	0	60	200	700
Number of dams	11	12	10	5
Days of lactation	4	4	4	4
	30.3 ± 5.1	30.2 ± 4.1	29.8 ± 4.9	18.4 ± 9.8**

Each value shows mean (g/day) ± S.D.

Significantly different from control (**: P<0.01).

Table 16 Necropsy finding of female rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration

Group (mg/kg)	Control	thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide		
	0	60	200	700
Number of females	12	12	12	11
Normal	12	12	12	11
Number of dead females	0	0	0	1
Normal	-	-	-	1

Table 17 Organ weight of female rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration

Group (mg/kg)	Control		thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide					
	0		60		200		700	
Number of dams	12		12		12		11	
Body weight (g)	289.0 ± 21.3		290.3 ± 19.2		284.0 ± 15.0		268.3 ± 14.2*	
Ovaries (mg)	94.79 ± 11.71		95.51 ± 11.57		98.39 ± 10.42		108.63 ± 17.99	
(mg%)	32.90 ± 4.36		33.04 ± 4.62		34.66 ± 3.33		40.45 ± 5.92**	

Each value shows mean ± S.D.

Significantly different from control (*: P<0.05, **: P<0.01).

Table 18-1 Histopathological finding of female rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration

Group (mg/kg)	Control					thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide						
	0					700						
Incidence & Grade	N	A	±	+	2+	3+	N	A	±	+	2+	3+
Ovary	[12]						[11]					
	12	0					11	0				

N : No abnormality detected.

A : Abnormality detected.

[] : Examined number of females.

Table 18-2 Histopathological finding of dead female rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene, tetrahydro-, 1,1-dioxide by oral administration

Group (mg/kg)	thiophene, tetrahydro-, 1,1-dioxide					
	700					
Incidence & Grade	N	A	±	+	2+	3+
Ovary Hemorrhage	[1] 0	1	1	0	0	0

Grade of histopathological finding: ±: slight, +: mild, 2+: moderate, 3+: marked.

N : No abnormality detected.

A : Abnormality detected.

[] : Examined number of females.

Table 19 Number of estrous cases and reproductive performance of male and female rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration

Group (mg/kg)	Control	thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide		
	0	60	200	700
Number of females	12	12	12	12
Number of estrous cases before mating (14 days) Mean±S.D.	3.5 ± 0.5	3.3 ± 0.5	3.2 ± 0.4	2.2 ± 0.9 **
Number of males	12	12	12	11
Number of males with successful copulation Copulation index (%) ^{a)}	12 100.0	12 100.0	12 100.0	10 90.9
Number of females	12	12	12	12
Number of females with successful copulation Copulation index (%) ^{b)}	12 100.0	12 100.0	12 100.0	11 91.7
Number of conceiving days Mean±S.D.	2.3 ± 1.2	2.2 ± 1.2	2.3 ± 1.4	3.5 ± 3.6
Conceiving days 1-5	12	12	12	9
Conceiving days ≥6	0	0	0	2
Number of pregnant females Fertility index (%) ^{c)}	11 91.7	12 100.0	10 83.3	10 90.9
Number of pregnant females with live pups	11	12	10	10

a): (Number of males with successful copulation / number of males)×100.

b): (Number of females with successful copulation / number of females)×100.

c): (Number of pregnant females / number of females with successful copulation)×100.

Significantly different from control (**: P<0.01).

Table 20 Observation of pups (F1) in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration

Group (mg/kg)	Control	thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide		
	0	60	200	700
Number of dams	11	12	10	10
Length of gestation (days)	22.18 ± 0.40	22.08 ± 0.29	22.00 ± 0.00	22.00 ± 0.00
Pregnancy days ≤ 21	0	0	0	0
Pregnancy days = 22	9	11	10	10
Pregnancy days ≥ 23	2	1	0	0
Corpora lutea	16.4 ± 1.3	16.8 ± 1.4	17.7 ± 2.2	17.0 ± 3.3
Implantation scars	15.5 ± 1.2	15.7 ± 1.9	15.6 ± 1.8	15.8 ± 3.2
Implantation index (%) ^{a)}	94.5 ± 4.1	93.4 ± 7.1	88.4 ± 4.7	92.8 ± 6.3
Gestation index (%) ^{b)}	100.0	100.0	100.0	100.0
Live pups born	14.9 ± 1.9	15.0 ± 1.9	14.1 ± 1.6	11.3 ± 4.7
Sex ratio at birth ^{c)}	0.98 ± 0.67	1.12 ± 0.55	1.73 ± 1.09	0.78 ± 0.33
Sex ratio on day 4 of lactation ^{c)}	0.98 ± 0.66	1.12 ± 0.55	1.73 ± 1.11	0.92 ± 0.64 (5)
Birth index (%) ^{d)}	96.3 ± 6.5	95.8 ± 4.8	90.5 ± 5.1 *	71.6 ± 26.2 **
Dead pups on day 0 of lactation	0.3 ± 0.5	0.2 ± 0.4	0.2 ± 0.4	3.6 ± 4.4 **
Pups born	15.2 ± 1.7	15.2 ± 1.7	14.3 ± 1.8	14.9 ± 3.4
Delivery index (%) ^{e)}	98.1 ± 4.5	96.9 ± 4.0	91.8 ± 4.1 *	94.0 ± 6.7
Live birth index (%) ^{f)}	98.1 ± 3.3	98.8 ± 2.8	98.7 ± 2.8	75.9 ± 26.2 **
Live pups on day 4 of lactation	14.8 ± 1.8	15.0 ± 1.9	13.7 ± 1.3	4.0 ± 5.6 ** (9)
Viability index (%) ^{g)}	99.5 ± 1.8	100.0 ± 0.0	97.3 ± 3.5	29.2 ± 40.4 ** (9)
External anomalies (%) ^{h)}	0.7 ± 2.4	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Anury (%)	0.7 ± 2.4	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0

Each value shows mean ± S.D. per dam.

Figures in parentheses indicate number of dams.

Significantly different from control (*: P<0.05, **: P<0.01).

a): (Number of implantation scars / number of corpora lutea)×100.

c): Number of male pups / number of female pups.

e): (Number of pups born / number of implantation scars)×100.

g): (Number of live pups on day 4 / number of live pups born)×100.

b): (Number of dams with live pups / number of pregnant dams)×100.

d): (Number of live pups born / number of implantation scars)×100.

f): (Number of live pups born / number of pups born)×100.

h): (Number of pups with external anomalies / number of live pups)×100.

Table 21 Body weight of pups (F1) on days 0 and 4 of lactation in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration

Group (mg/kg)	Control	thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide			
	0	60	200	700	
Number of dams	11	12	10	10	
Male weight					
Days of lactation					
0	6.64 ± 0.31	6.15 ± 0.42 *	6.22 ± 0.38	5.44 ± 0.52 **	
4	9.92 ± 0.75	9.63 ± 1.16	9.57 ± 1.03	6.63 ± 1.41 ** (4)	
Female weight					
Days of lactation					
0	6.20 ± 0.30	5.88 ± 0.33	5.85 ± 0.44	4.93 ± 0.46 **	
4	9.25 ± 0.84	9.19 ± 0.96	9.18 ± 1.31	5.68 ± 1.37 ** (5)	
Mean pups weight					
Days of lactation					
0	6.41 ± 0.33	6.03 ± 0.35	6.05 ± 0.35	5.16 ± 0.51 **	
4	9.57 ± 0.81	9.41 ± 0.99	9.43 ± 1.13	5.96 ± 1.52 ** (5)	
Litter weight					
Days of lactation					
0	95.27 ± 11.58	89.83 ± 7.64	85.11 ± 5.60 *	59.22 ± 27.00 **	
4	141.07 ± 16.51	139.77 ± 10.53	128.00 ± 8.19 *	48.94 ± 46.11 ** (5)	

Each value shows mean (g) ± S.D. per dam.

Figures in parentheses indicate number of dams.

Significantly different from control (*: P<0.05, **: P<0.01).

Table 22 Necropsy finding of pups (F1) on day 4 of lactation in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration

Group (mg/kg)	Control	thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide		
	0	60	200	700
Number of males	74	91	79	17
Normal	73	91	79	17
Tail Anury	1	0	0	0
Number of females	89	89	58	19
Normal	89	89	58	19

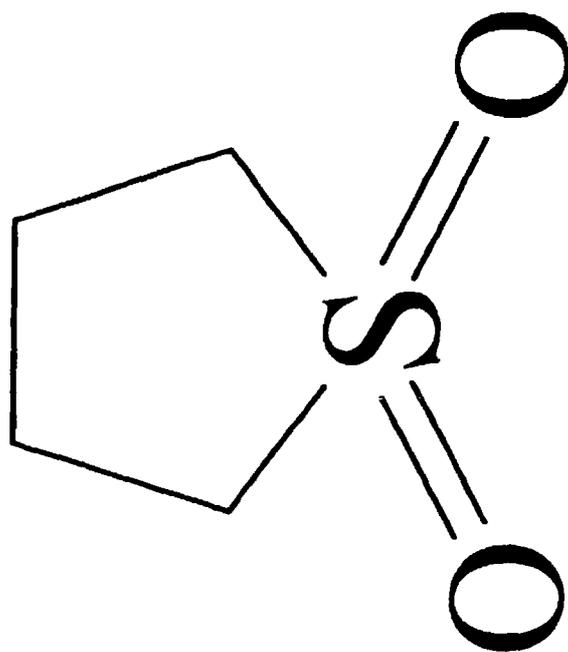


Fig. 1 Chemical structure of thiophene, tetrahydro-, 1,1-dioxide

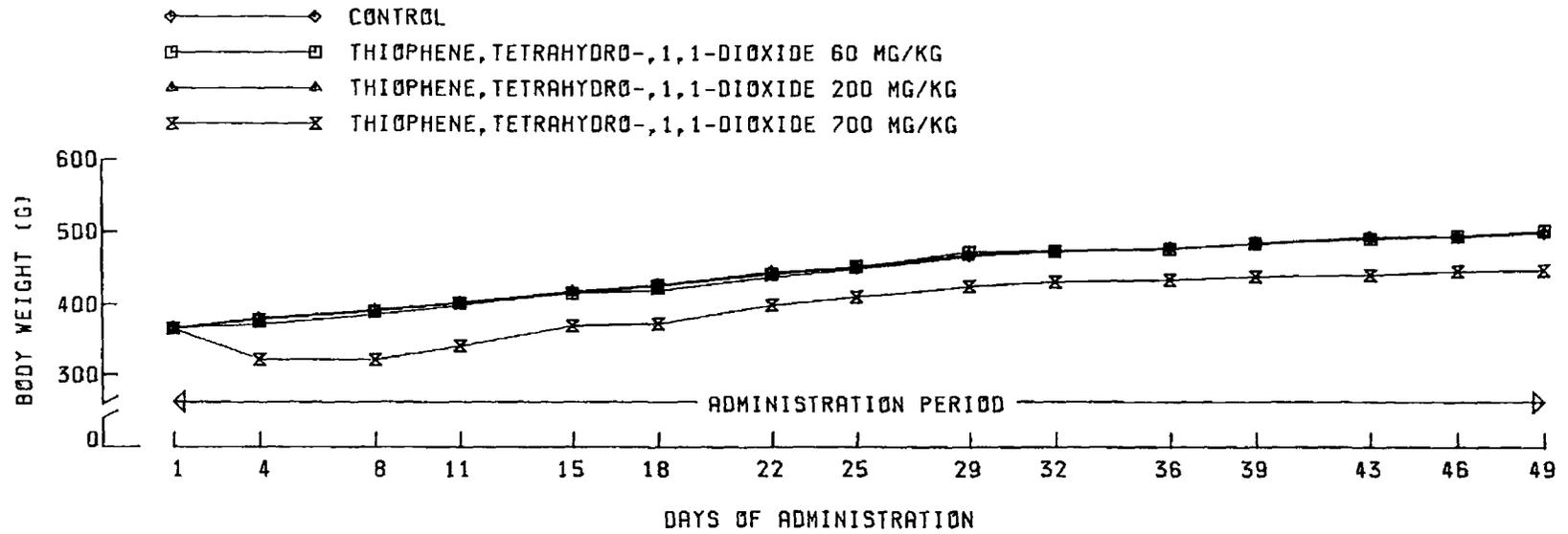


Fig. 2 Body weight of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration

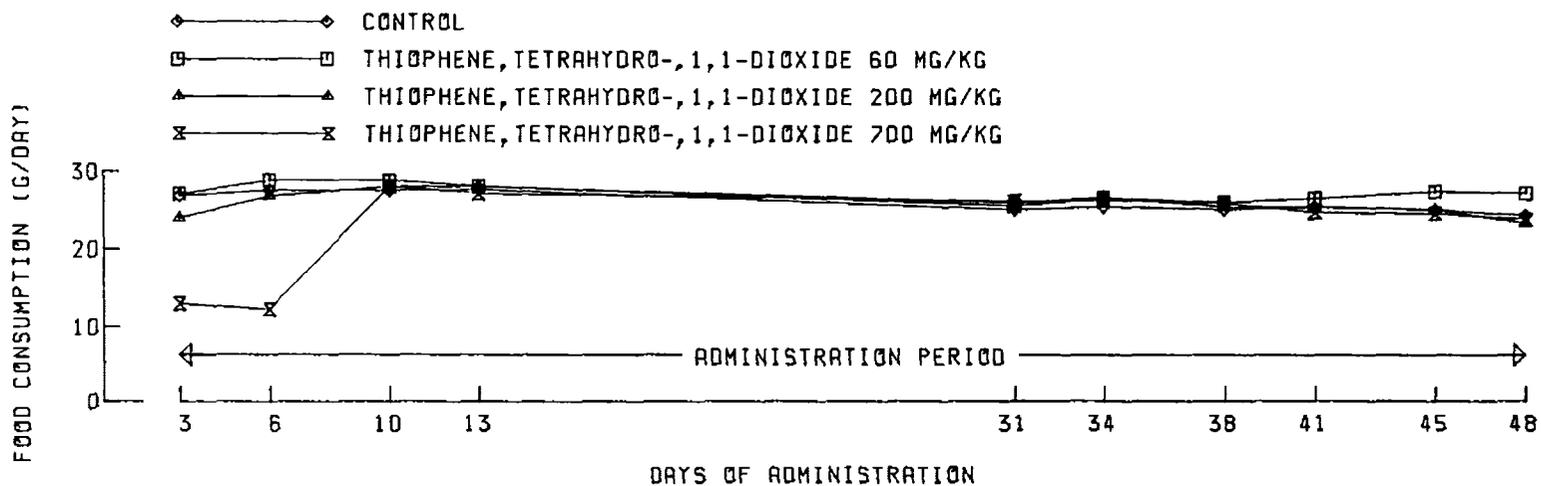


Fig. 3 Food consumption of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration

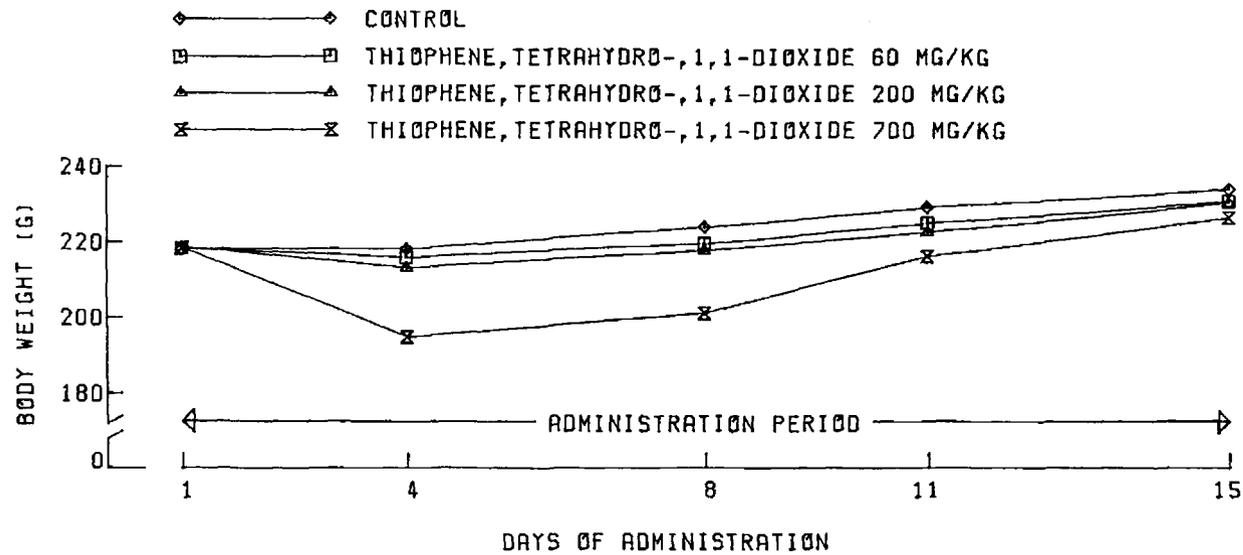


Fig. 4 Body weight of female rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration

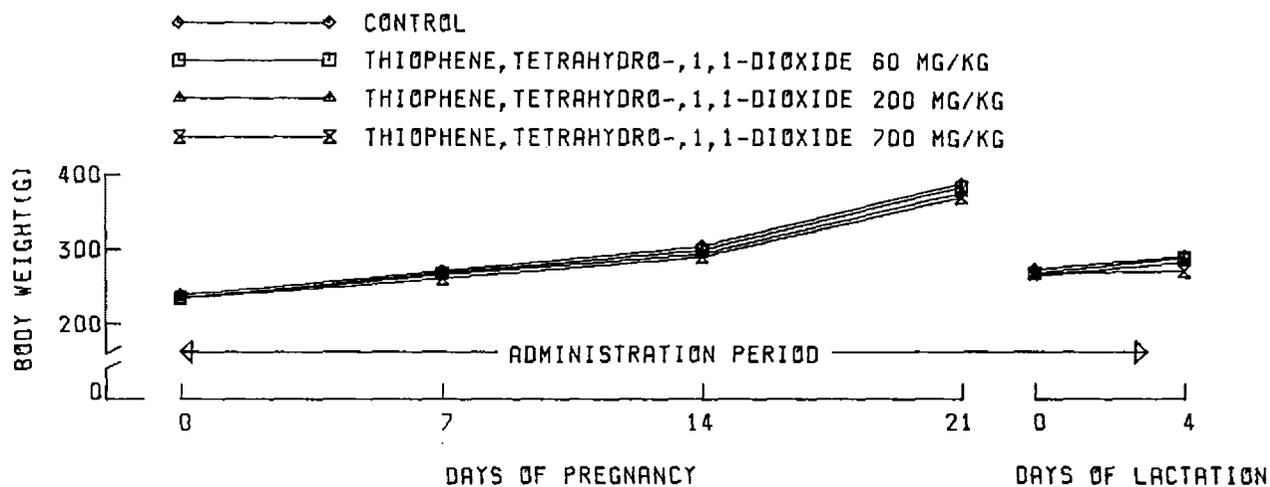


Fig. 5 Body weight of dams (P) during pregnancy and lactation periods in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration

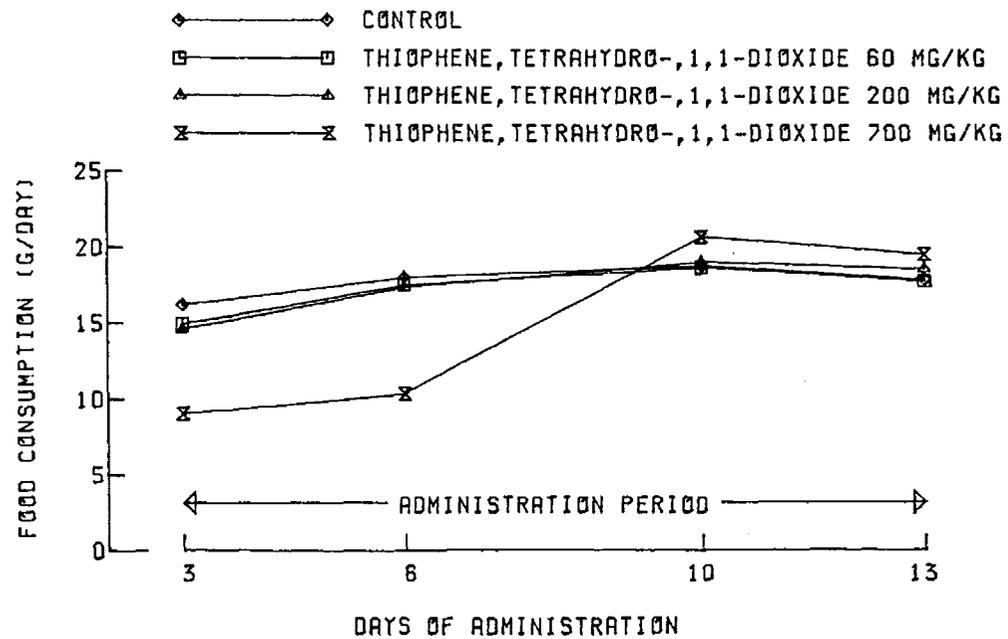


Fig. 6 Food consumption of female rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration

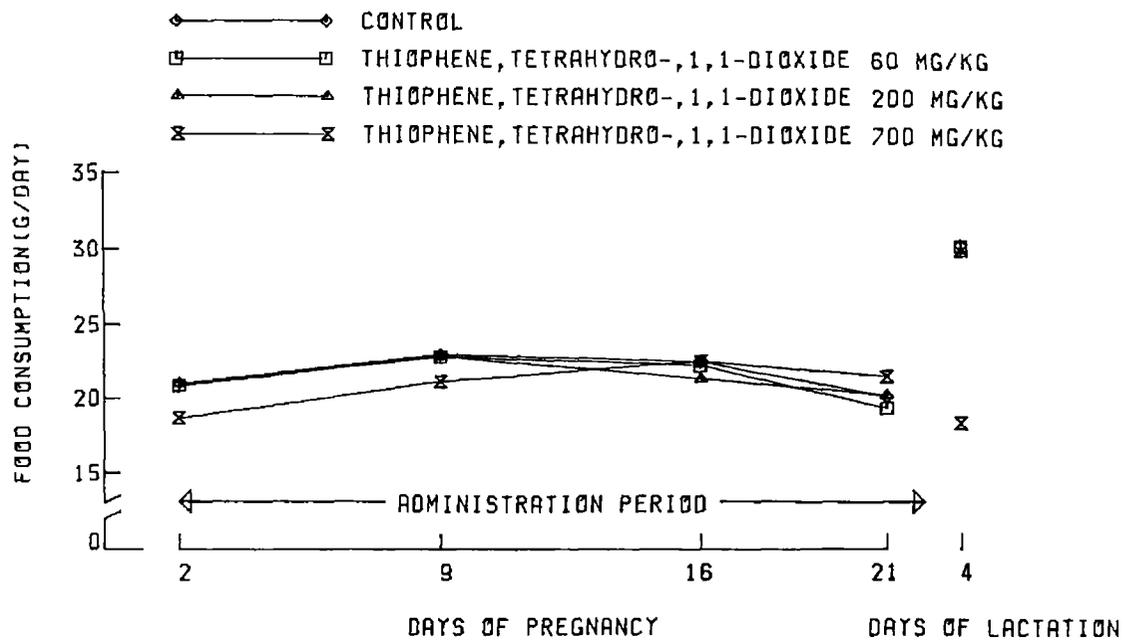


Fig. 7 Food consumption of dams (P) during pregnancy and lactation periods in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration

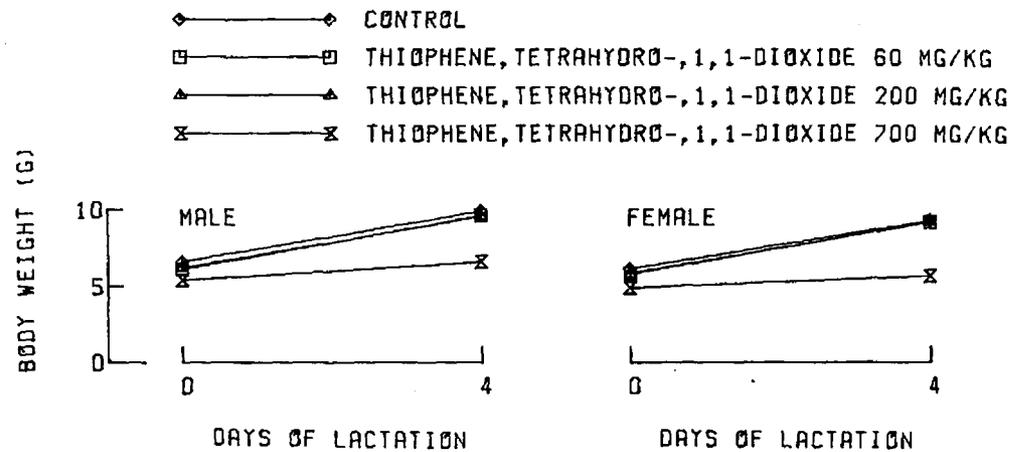


Fig. 8 Body weight of pups (F1) on days 0 and 4 of lactation in preliminary reproduction toxicity screening test of thiophene,tetrahydro-,1,1-dioxide by oral administration