
ジビニルベンゼンのラットを用いる経口投与による
反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験

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

表 題 : ジビニルベンゼンのラットを用いる経口投与による反復投与毒性・生殖発生
毒性併合試験

試験番号 : 090816

被験物質名 : ジビニルベンゼン (CAS No.1321-74-0)

試験系 : Sprague-Dawley系雌雄ラット (SPF) [Crj:CD(SD)IGS]

試験目的 : ジビニルベンゼンが継続的に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 Combined Repeat
Dose and Reproductive/Developmental Toxicity Screening Test

(Proposal) に従って, ジビニルベンゼンを雌雄ラットに経口投与した反復
投与毒性・生殖発生毒性併合試験を行い, 雌雄動物に対する反復投与による
一般毒性学的な影響を検討するとともに, 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。

なお, 当試験は, 昭和 59 年 3 月 31 日 (環保業第 39 号環境庁企画調整
局長, 薬発第 229 号厚生省薬務局長, 59 基局第 85 号通商産業省基礎産業
局長連名通知) 「新規化学物質に係る試験及び指定化学物質に係る有害性の
調査の項目等を定める命令第 4 条に規定する試験施設に関する基準」 (化
学物質GLP基準) ならびに OECD PRINCIPLES OF GOOD LABORATORY PRACTICE
(OECD化学物質の安全性試験の実施に関する基準) (OECDのGLP基準) に従
って実施した。

目次

	頁
要約	14
緒言	17
方法	
1.被験物質および媒体	17
2.投与検体および濃度確認	17
3.使用動物および飼育条件	18
4.投与経路, 投与方法, 群構成, 投与量および投与期間	19
5.観察および検査項目	20
6.統計学的方法	24
結果	
I. 反復投与毒性	
1. 雄(P)に及ぼす影響	25
2. 雌(P)に及ぼす影響	27
II. 生殖発生毒性	
1. 親動物(P)の生殖発生に及ぼす影響	30
2. 新生児(F ₁)に及ぼす影響	31
考察	32
文献	34

Table 1-1	General sign of male rats (P) in combined repeat dose and	
~ 1-2	reproductive/developmental toxicity screening test of	
	divinylbenzene by oral administration	 38~39
Table 2	Body weight of male rats (P) in combined repeat dose and	
	reproductive/developmental toxicity screening test of	
	divinylbenzene by oral administration	 40
Table 3	Food consumption of male rats (P) in combined repeat dose and	
	reproductive/developmental toxicity screening test of	
	divinylbenzene by oral administration	 41
Table 4	Hematological examination of male rats (P) in combined repeat	
	dose and reproductive/developmental toxicity screening test of	
	divinylbenzene by oral administration	 42
Table 5	Blood chemical examination of male rats (P) in combined repeat	
	dose and reproductive/developmental toxicity screening test of	
	divinylbenzene by oral administration	 43
Table 6	Necropsy finding of male rats (P) in combined repeat dose	
	and reproductive/developmental toxicity screening test of	
	divinylbenzene by oral administration	 44
Table 7	Organ weight of male rats (P) in combined repeat dose	
	and reproductive/developmental toxicity screening test of	
	divinylbenzene by oral administration	 45
Table 8	Histopathological finding of male rats (P) in combined repeat	
	dose and reproductive/developmental toxicity screening test of	
	divinylbenzene by oral administration	 46
Table 9	General sign of female rats (P) in combined repeat dose and	
	reproductive/developmental toxicity screening test of	
	divinylbenzene by oral administration	 47

Table 10	General sign of dams (P) during pregnancy period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration	48
Table 11	General sign of dams (P) during lactation period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration	49
Table 12	Body weight of female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration	50
Table 13	Body weight of dams (P) during pregnancy period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration	51
Table 14	Body weight of dams (P) during lactation period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration	52
Table 15	Food consumption of female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration	53
Table 16	Food consumption of dams (P) during pregnancy period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration	54
Table 17	Food consumption of dams (P) during lactation period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration	55
Table 18-1	Necropsy finding of female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration	56
Table 18-2	Necropsy finding of dead and moribund female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration	57
Table 19	Organ weight of dams (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration	58
Table 20	Histopathological finding of female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration	59

Table 21	Number of estrous cases and reproductive performance of male and female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration	60
Table 22	Observation of pups (F1) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration	61
Table 23	Body weight of pups (F1) on days 0 and 4 of lactation in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration	62
Table 24	Necropsy finding of pups (F1) on day 4 of lactation in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration	63
Fig. 1	Chemical structure of divinylbenzene	64
Fig. 2	Body weight of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration	65
Fig. 3	Food consumption of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration	66
Fig. 4	Body weight of female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration	67
Fig. 5	Body weight of dams (P) during pregnancy and lactation periods in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration	68
Fig. 6	Food consumption of female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration	69
Fig. 7	Food consumption of dams (P) during pregnancy and lactation periods in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration	70

Fig. 8	Body weight of pups (F1) on days 0 and 4 of lactation in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration	71
--------	---	----

要約

ジビニルベンゼンのラットを用いる経口投与による反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験を行い、雌雄動物に対する反復投与による一般毒性学的な影響を検討するとともに、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、1000 mg/kgを最高用量とし、以下 300, 100 および 30 mg/kgとした。対照として媒体(コーンオイル)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：いずれの群とも死亡発現および瀕死例は認められなかった。1000 mg/kg群では、表皮温下降、脱毛および被毛の汚れがみられた。30 mg/kg以上の群で流涎が認められたが、これは毒性症状とはみなさなかった。

体重：300 mg/kg以上の群で増加抑制がみられた。

摂餌量：1000 mg/kg群で投与 3 日に一過性の低値がみられた。

血液学的検査：投与に起因すると思われる変化はみられなかった。

血液化学的検査：300 mg/kg以上の群で β -グロブリン率の高値、1000 mg/kg群でGPT, γ -GTP, α_2 -グロブリン率および総ビリルビンの高値、アルブミン量, α_1 -グロブリン率, α_3 -グロブリン率および血糖の低値がみられた。

剖検：投与に起因すると思われる変化はみられなかった。

器官重量：100 mg/kg以上の群で肝臓の相対重量の高値、300 mg/kg以上の群で腎臓の絶対重量および相対重量の高値あるいはその傾向がみられた。

病理組織学的検査：投与に起因すると思われる変化はみられなかった。

2. 雌(P)に及ぼす影響

一般状態：1000 mg/kg群では、死亡例と瀕死例が各 1 例認められた。1000 mg/kg群では、表皮温下降、自発運動の低下、脱毛、被毛の汚れおよび腔口からの出血がみられた。100 mg/kg以上の群で流涎が認められたが、これは毒性症状とはみなさなかった。

体重：300 mg/kg群では妊娠期に増加抑制がみられた。1000 mg/kg群では交配前、妊娠期および哺育期に増加抑制がみられた。

摂餌量：300 mg/kg群では哺育期に低値がみられた。1000 mg/kg群では交配前、妊娠期および哺育期に低値あるいはその傾向がみられた。

剖検所見：1000 mg/kg群で胸腺の萎縮がみられた。

器官重量：300 mg/kg群で腎臓の相対重量の高値がみられた。1000 mg/kg群で胸腺の絶対重量および相対重量の低値、脾臓の絶対重量の低値および相対重量の低値傾向、肝臓、腎臓および副腎の相対重量の高値がみられた。

病理組織学的検査：1000 mg/kg群で胸腺の皮質および髄質の萎縮が 7 例，脾臓の辺縁帯の萎縮が 2 例，腎臓の皮髄境界部尿細管の変性・壊死が 3 例にみられた。死亡例において胸腺の皮質および髄質の萎縮ならびに脾臓の辺縁帯の萎縮が，瀕死例においても肝臓の小葉中心性壊死，脾臓の腺房細胞のチモーゲン顆粒減少，腺胃粘膜のびらん，胸腺の皮質および髄質の萎縮，赤脾髄の萎縮，腎臓の皮髄境界部尿細管の変性・壊死ならびに骨髓の造血低下がみられた。

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：各投与群とも対照群との間に差はみられなかった。

受胎雌数，妊娠期間，分娩状態，哺育状態：1000 mg/kg群では，乳腺の発育不良および巣作り不良がみられ，新生児が全例死亡した母動物が 7/9 例に認められた。

受胎率：各投与群とも対照群との間に差はみられなかった。

黄体数，着床痕数，着床率：1000 mg/kg群では，黄体数および着床痕数の低値がみられた。

出産率：各投与群とも対照群との間に差はみられなかった。

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：1000 mg/kg群では，総出産児数および哺育 0 日の新生児数の低値，ならびに分娩率および児の産出率の低値傾向がみられた。

死産児数，出生率：1000 mg/kg群では，死産児数の高値傾向および出生率の低値がみられた。

一般状態：1000 mg/kg群では表皮温下降がみられた。

哺育 4 日の生存児数，生存率，性比：1000 mg/kg群では，哺育 4 日の生存児数および生存率の低値がみられた。

外表観察：投与による影響はみられなかった。

体重：100 mg/kg以上の群で哺育 0 日の雌雄別平均，腹平均および腹合計の体重の低値がみられた。1000 mg/kg群では，哺育 4 日にも雌雄別平均，腹平均および腹合計の体重の低値傾向がみられた。

剖検所見：投与に起因すると思われる異常はみられなかった。

以上のように，ジビニルベンゼンの一般毒性学的無影響量は，雄では 100 mg/kg投与により肝臓の相対重量の高値が認められたことから 30 mg/kg/day，雌では 300 mg/kg投与により体重の増加抑制，摂餌量の低値が認められたことから 100 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，雄では交尾および受胎能に影響が認められなかったことから 1000 mg/kg/day，雌では1000 mg/kg投与により哺育行動の異常，黄体数および

着床痕数の低値が認められたことから 300 mg/kg/day, 兎動物の発生では 100 mg/kg投与により体重の低値が認められたことから 30 mg/kg/dayと考えられる.

緒言

ジビニルベンゼ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 Combined Repeat Dose and Reproductive/Developmental Toxicity Screening Test (Proposal) に従って、ジビニルベンゼンを雌雄ラットに 1 日 1 回、41～53 日間経口投与した反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験を行い、雌雄動物に対する反復投与による一般毒性学的な影響を検討するとともに、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

被験物質のジビニルベンゼン(CAS No.1321-74-0)は、Fig.1に示す化学構造を有し、分子量：130.19，融点：-29℃，沸点：190～200℃であり，常温において無色ないし淡黄色の透明液体である。当試験には，平成 8 年 9 月 26 日に

から提供されたものを用いた(製造元：

Lot No.

純度：96.2%，ただし，不純物としてエチルビニルベンゼンを 3.2 wt%，P-tert-ブチルカテコールを 1010 ppm，その他を 0.6 wt%含有)。入手後は少量ずつ分割し，試験施設の被験物質保管室の冷蔵・遮光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，その一部を分析した結果，純度は 96.3%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，コーンオイルを用いた。コーンオイル[片山化学工業株式会社，Lot No. 1726(入手日：平成 9 年 1 月 8 日，使用期限：平成 14 年 1 月 7 日)およびLot No. 2727(入手日：平成 9 年 4 月 10 日，使用期限：平成 14 年 4 月 9 日)]は，入手後，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。

2. 投与検体および濃度確認

各濃度ごとに被験物質を必要量秤取し，コーンオイルで希釈して必要濃度の投与検体を調製した。なお，2，20 および 200 mg/mlの調製液は，調製後冷蔵・遮光条件下で 7 日間，さらに室温・遮光条件下で 4 時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

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, 冷蔵・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。また, 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。

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高速液体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 104.1~105.9 %であり, 設定した適正濃度範囲内(表示濃度の $\pm 10\%$ 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, 平成 9 年 4 月 9 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 73 匹を購入した。入手後 1 日の体重範囲は, 雄が 249~290 g, 雌が 186~217 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は, 投与開始日にエーテル麻酔下で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 20~24 °C(実測値: 20~24 °C), 湿度 40~70 %(実測値: 43~59 %), 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)に設定した飼育室(C棟 7 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 ケージあたり 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。また、母動物は、妊娠 18 日にオートクレーブ処理した床敷(サンフレーク、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。

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 3 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

ジビニルベンゼンは、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 8 時 59 分～午後 0 時 50 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 315～352 g、雌が 211～239 g であった。

2) 群構成および投与量

群構成は、以下の如くとした。すなわち、被験物質投与群として 4 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(コーンオイル)	0 mg/kg (0 mg/ml)	12(001~012)	12(051~062)
第2群	ジヒェニルベンゼン	30 mg/kg (6 mg/ml)	12(101~112)	12(151~162)
第3群	ジヒェニルベンゼン	100 mg/kg (20 mg/ml)	12(201~212)	12(251~262)
第4群	ジヒェニルベンゼン	300 mg/kg (60 mg/ml)	12(301~312)	12(351~362)
第5群	ジヒェニルベンゼン	1000 mg/kg (200 mg/ml)	12(401~412)	12(451~462)

投与量は、雄ラットを用いた 2 週間経口投与による予備試験(投与段階: 0, 125, 250, 500 および 1000 mg/kg, 各群 5 例)の結果により決定した。すなわち、125 mg/kg以上の群で投与直後に流涎が、1000 mg/kg群で体重および摂餌量の低値がみられたが、各群とも死亡発現は認められなかった²⁾。そこで、当試験の投与量は、OECDガイドラインで限界用量とされている 1000 mg/kgを最高用量とし、以下公比約 3 で 300, 100 および 30 mg/kgとした。また、対照として被験物質と同一容量の媒体(コーンオイル)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 Combined Repeat Dose and Reproductive/Developmental Toxicity Screening Test (Proposal) 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 41~53 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。

(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)。なお、剖検前日の午後 4 時から絶食とした。

(4) 血液学的検査

投与期間(49 日間)終了の翌日に、ペントバルビタールナトリウムの腹腔内投与(40 mg/kg)による麻酔下で腹大動脈からカニューレションにより血液を採取し、以下の血液学的検査を実施した。なお、残余血液は廃棄した。

赤血球数(RBC)、ヘモグロビン量(HGB)、ヘマトクリット値(HCT)、血小板数(PLT)および白血球数(WBC)は、EDTA-2KコーティングしたSysmexサンプルカップに採取した血液について、多項目自動血球計数装置(Sysmex K-4500, 東亜医用電子株式会社)を用いて測定した。さらに、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球血色素量(MCH)および平均赤血球血色素濃度(MCHC)を算出した。

網状赤血球数(RET)は、EDTA-2K処理した血液をBrecher法により超生体染色してスライドグラスに塗抹後、Giemsa染色標本を作製して顕微鏡下で赤血球 1000 個中の網状赤球数を計数した。

白血球百分率は、EDTA-2K処理した血液をスライドグラスに塗抹し、May-Giemsa染色標本を作製して顕微鏡下で白血球 100 個を分類計数した。

プロトロンビン時間(PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)およびフィブリノーゲン濃度(FIB)は、3.13 %クエン酸ナトリウムで処理した血漿について、散乱光検出方式により血液凝固分析装置(コアグマスターII, 三共株式会社)を用いて測定した。

(5) 血液化学的検査

血液学的検査用の血液と同時期に腹大動脈から採取した血液から遠心分離(約 4 °C, 3000 rpm, 15 分間)して得た血清について、以下の血液化学的検査を実施した。なお、測定用血清は測定時までは冷凍庫(-80 °C)内に保存し、保存用血清は最終報告書提出時まで冷凍庫(-80 °C)内に保管した。

GOTおよびGPTはHenry変法、ALPはp-NPP基質法、 γ -GTPは γ -G-P-NA基質法、総蛋白(TP)はBiuret法、総ビリルビン(T-BIL)はAzobilirubin法、尿素窒素(BUN)はUrease-GlDH法、クレアチニン(CRE)はJaffé法、血糖(GLU)はGlucose dehydrogenase法、総コレステロール(T-CHO)はCOD-DAOS法、トリグリセライド(TG)はGPO-DAOS法、Caはo-CPC法、無機リン(IP)はMolybdenum blue法により、自動分析装置(AU 500, オリンパス光学工業株式会社)を用いて測定した。

NaおよびKはイオン選択電極法により、Clは電量滴定法により、いずれも全自動電解質分析装置(EA04, 株式会社 A & T)を用いて測定した。

蛋白分画は、電気泳動法により自動電気泳動装置(AES 600, オリンパス光学工業株式会社)を用いて測定した。

アルブミン量(ALB)は総蛋白量および蛋白分画値から、A/G(アルブミン/グロブリン)比は蛋白分画値から算出した。

(6) 剖検

上記の(4)および(5)で採血した動物をさらに放血致死させた後に剖検した。脳(大脳, 小脳, 延髄), 下垂体, 甲状腺, 胸腺, 心臓, 肝臓, 脾臓, 腎臓, 副腎, 精巣および精巣上体は重量を測定した。ただし、下垂体および甲状腺は 20 %中性緩衝ホルマリンに 1 晩固

定後測定した。これらの器官は、肺、気管、脾臓、唾液腺(舌下腺・顎下腺)、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、リンパ節(下顎・腸間膜)、膀胱、精嚢、前立腺、上皮小体、脊髄、坐骨神経、眼球、ハーダー腺、骨髓(胸骨・大腿骨)とともに 20 % 中性緩衝ホルマリンに固定した。ただし、精巣および精巣上体はブアン液に 1 晩固定後 90 % アルコールに保存し、眼球はグルタルアルデヒド・ホルマリンに 1 晩固定後 20 % 中性緩衝ホルマリンに再固定した。

(7) 病理組織学的検査

摘出した器官・組織について常法に従ってパラフィン包埋標本を作製した。

対照群および最高用量(1000 mg/kg)群の心臓、肺、気管、肝臓、脾臓、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、胸腺、脾臓、リンパ節(下顎・腸間膜)、腎臓、副腎、膀胱、精巣、精巣上体、精嚢、前立腺、下垂体、甲状腺、上皮小体(検査可能な動物のみ)、脳(大脳・小脳・延髄)、脊髄、坐骨神経および骨髓(胸骨・大腿骨)についてH-E染色組織標本を作製し、病理組織学的に検査した。

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。

死亡例および瀕死例は、発見後速やかに剖検し、脳(大脳、小脳、延髄)、下垂体、甲状腺、胸腺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎および卵巣の重量を測定した。ただし、下垂体および甲状腺は 20 % 中性緩衝ホルマリンに 1 晩固定後測定した。これらの器官は、肺、気管、脾臓、唾液腺(舌下腺・顎下腺)、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、リンパ節(下顎・腸間膜)、膀胱、卵巣、子宮、膈、上皮小体、脊髄、坐骨神経、眼球、ハーダー腺、骨髓(胸骨・大腿骨)、乳腺、胎児、胎盤、娩出児とともに 20 % 中性緩衝ホルマリンに固定した。ただし、眼球はグルタルアルデヒド・ホルマリンに 1 晩固定後 20 % 中性緩衝ホルマリンに再固定した。また、各器官・組織は、H-E染色組織標本を作製し、病理組織学的に検査した。

(2) 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。不妊雌は、脳(大腦、小脳、延髄)、下垂体、甲状腺、胸腺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎および卵巢の重量を測定した。ただし、下垂体および甲状腺は 20 % 中性緩衝ホルマリンに 1 晩固定後測定した。これらの器官は、肺、気管、脾臓、唾液腺(舌下腺・顎下腺)、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、リンパ節(下顎・腸間膜)、膀胱、卵巢、子宮、腔、上皮小体、脊髄、坐骨神経、眼球、ハーダー腺、骨髓(胸骨・大腿骨)、乳腺とともに 20 % 中性緩衝ホルマリンに固定した。ただし、眼球はグルタルアルデヒド・ホルマリンに 1 晩固定後 20 % 中性緩衝ホルマリンに再固定した。

(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、妊娠 25 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、着床の有無により妊娠の成否を確認した。不受胎雌は、脳(大腦、小脳、延髄)、下垂体、甲状腺、胸腺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎および卵巢の重量を測定した。ただし、下垂体および甲状腺は 20 % 中性緩衝ホルマリンに 1 晩固定後測定した。これらの器官は、肺、気管、脾臓、唾液腺(舌下腺・顎下腺)、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、リンパ節(下顎・腸間膜)、膀胱、卵巢、子宮、腔、上皮小体、脊髄、坐骨神経、眼球、ハーダー腺、骨髓(胸骨・大腿骨)、乳腺とともに 20 % 中性緩衝ホルマリンに固定した。ただし、眼球はグルタルアルデヒド・ホルマリンに 1 晩固定後 20 % 中性緩衝ホルマリンに再固定した。

(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。脳(大腦、小脳、延髄)、下垂体、甲状腺、胸腺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎および卵巢は重量を測定した。ただし、下垂体および甲状腺は 20 % 中性緩衝ホルマリンに 1 晩固定後測定した。これらの器官は、肺、気管、脾臓、唾液腺(舌下腺・顎下腺)、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、リンパ節(下顎・腸間膜)、膀胱、卵巢、子宮、腔、上皮小体、脊髄、坐骨神経、眼球、ハーダー腺、骨髓(胸骨・大腿骨)、乳腺とともに 20 % 中性緩衝ホルマリンに固定した。ただし、眼球はグルタルアルデヒド・ホルマリンに 1 晩固定後 20 % 中性緩衝ホルマリンに再固定した。

(9) 病理組織学的検査

摘出した器官・組織について常法に従ってパラフィン包埋標本を作製した。

対照群および最高用量(1000 mg/kg)群の心臓、肺、気管、肝臓、脾臓、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、胸腺、脾臓、リンパ節(下顎・腸間膜)、腎臓、副腎、膀

膵，卵巣，子宮，膣，下垂体，甲状腺，上皮小体(検査可能な動物のみ)，脳(大腦・小脳・延髄)，脊髓，坐骨神経，骨髓(胸骨・大腿骨)および乳腺についてH-E染色組織標本を作製し，病理組織学的に検査した．1000 mg/kg群の検査で対照群と比べて異常を示す動物数に差があると考えられた胃，胸腺，脾臓および腎臓は，30，100 および 300 mg/kg群についても同様に検査した．

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．

交尾確認は毎朝ほぼ一定時刻に行い，膣垢内に精子または膣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．剖検で異常の認められた児は，20 %中性緩衝ホルマリンに固定し，保存した．

6. 統計学的方法

有意差検定は下記に示したように，対照群とジビニルベンゼ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，摂餌量，器官の絶対重量および相対重量，死亡例および瀕死例の器官の絶対重量ならびに相対重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，交尾所要日数，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, 血液学的検査成績および血液化学的検査成績は, 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.

なお, 病理組織学的検査において, 最高用量群で毒性学的影響が示唆され他の用量群についても検査を実施した器官・組織の所見については, 対照群との群間比較を上記の順位を利用したDunnett型の検定法を用いて行った. そこで対照群との間に有意差が認められた場合は, Cochran・Armitageの傾向検定を用いて用量反応性の検定を行った.

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 1-1～1-5)

死亡および瀕死例は, いずれの群でも認められなかった.

一般状態観察において, 対照群では, 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. 30 mg/kg群では, 流涎が投与 9～38 日に 1～5 例(ただし, 投与 36 日を除く)にみられた. 100 mg/kg群では, 流涎が投与 4～48 日に 1～8 例(ただし, 投与 47 日を除く)に, 切歯の破損が投与 32～42 日に 1 例にみられた. なお, 100 mg/kg群で観察された切歯の破損は, 1 例のみであり偶発例と判断した. 300 mg/kg群では, 流涎が投与 4～49 日に 5～12 例にみられた. 1000 mg/kg群では, 表皮温下降が投与 11～14 日に 1 例に, 脱毛が投与 21～42 日に 1 例に, 被毛の汚れが投与 4～15 日に 1～8 例に, 流涎が投与 2～49 日に 7～12 例にみられた. なお, 流涎は, 各群とも投与後約 3 分から約 30 分の間に観察され, 投与を継続しても流涎の持続時間に変化はみられなかった.

2) 体重 (Table 2, Fig.2, Appendix 2-1~2-5)

30 および 100 mg/kg群の体重は、対照群とほぼ同様の推移であり、いずれの測定日にも有意差はみられなかった。300 mg/kg群では、対照群と比べて投与 8 日に体重の有意な低値がみられた。1000 mg/kg群では、対照群と比べて投与 4~50 日に体重の有意な低値がみられた。

3) 摂餌量 (Table 3, Fig.3, Appendix 3-1~3-5)

30 mg/kg群の摂餌量は、対照群とほぼ同程度であり、いずれの測定日にも有意差はみられなかった。100 mg/kg群では、対照群と比べて投与 34 および 38 日に摂餌量の有意な高値がみられた。300 mg/kg群では、対照群と比べて投与 34~48 日に摂餌量の有意な高値がみられた。1000 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、投与 13~48 日に摂餌量の有意な高値がみられた。

4) 血液学的検査 (Table 4, Appendix 4-1~4-5)

30 mg/kg群では、対照群と比べて赤血球数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く、投与に基づくものではないと判断した。100 および 300 mg/kg群では、対照群と比べていずれの測定項目にも有意差はみられなかった。1000 mg/kg群では、対照群と比べてMCHCの有意な低値がみられたが、ごく軽度な差であり、投与に基づくものではないと判断した。

5) 血液化学的検査 (Table 5, Appendix 5-1~5-5)

30 および 100 mg/kg群では、対照群と比べていずれの測定項目にも有意差はみられなかった。300 mg/kg群では、対照群と比べて β -グロブリン率の有意な高値がみられた。1000 mg/kg群では、対照群と比べてGPT, γ -GTP, α_2 -グロブリン率, β -グロブリン率および総ビリルビンの有意な高値, アルブミン量, α_1 -グロブリン率, α_3 -グロブリン率および血糖の有意な低値がみられた。

6) 剖検所見 (Table 6, Appendix 6-1~6-5)

対照群, 30, 100 および 300 mg/kg群ではいずれにも異常はみられなかった。1000 mg/kg群では、腺胃粘膜の暗赤色斑が 1 例 (No.408) にみられたが、偶発例と判断した。

7) 器官重量 (Table 7, Appendix 7-1~7-5)

30 mg/kg群では、対照群と比べていずれの器官の絶対重量および相対重量にも有意差はみられなかった。100 mg/kg群では、対照群と比べて肝臓の相対重量の有意な高値がみられた。300 mg/kg群では、対照群と比べて腎臓の絶対重量の有意な高値、ならびに肝臓および腎臓の相対重量の有意な高値がみられた。1000 mg/kg群では、対照群と比べて肝臓および腎臓の相対重量の有意な高値、有意差はないが腎臓の絶対重量の高値傾向がみられた。その他には、1000 mg/kg群では、対照群と比べて心臓、脾臓および精巣上体の絶対重量の有

意な低値，ならびに脳および精巣の相対重量の有意な高値がみられたが，これらの変化は絶対重量と相対重量に一定の傾向は認められないことから，投与に基づくものではないと判断した．

8) 病理組織学的検査(Table 8, Appendix 8-1~8-2)

肝臓：巣状壊死が対照群で 2 例にみられたが，それらの程度はいずれもごく軽度であった．

精巣：精細管萎縮が対照群で 1 例にみられたが，その程度はごく軽度であった．

精巣上体：片側性の精子肉芽腫が対照群で 1 例と 1000 mg/kg群で 2 例にみられたが，それらの程度はいずれも軽度であった．

なお，これらの変化のうち 1000 mg/kg群で認められた変化は，対照群でもみられていること，ならびに少数例であることから，偶発的变化と判断した．

その他には，心臓，肺，気管，脾臓，胃，十二指腸，空腸，回腸，盲腸，結腸，直腸，胸腺，脾臓，リンパ節(下顎・腸間膜)，腎臓，副腎，膀胱，前立腺，精囊，下垂体，甲状腺，上皮小体，脳(大脳・小脳・延髄)，脊髄，坐骨神経および骨髓(胸骨・大腿骨)では対照群および 1000 mg/kg群とも異常はみられなかった．

また，剖検で観察された 1000 mg/kg群の 1 例(No.408)の腺胃粘膜の暗赤色斑を示唆する変化はみられなかった．

2. 雌(P)に及ぼす影響

1) 一般状態(Table 9~11, Appendix 9-1~9-5, 10-1~10-5, 11-1~11-5)

死亡および瀕死例は，対照群，30，100 および 300 mg/kg群では認められなかった．1000 mg/kg群では，妊娠 17 日に 1 例(No.453)が死亡し，妊娠 23 日に 1 例(No.456)が分娩中に瀕死状態となった．死亡例では，流涎が投与 2 日から，脱毛が妊娠 3 日から，表皮温下降，自発運動の低下，腔口からの出血が妊娠 15 日から認められた．瀕死例では，流涎が投与 2 日から，表皮温下降，自発運動の低下が妊娠 23 日に認められた．

生存例の一般状態観察において，対照群および 30 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．100 mg/kg群では，流涎が投与 11~17 日，妊娠 0~21 日および哺育 0~3 日に 1~3 例にみられた．300 mg/kg群では，流涎が投与 4~18 日，妊娠 0~22 日および哺育 0~3 日に 1~12 例にみられた．1000 mg/kg群では，脱毛が投与 11~18 日，妊娠 0~21 日，哺育 0 および 1 日に 1 例に，妊娠 15~21 日および哺育 0~4 日に 1 例に，被毛の汚れが投与 4~14 日に 1~2 例に，流涎が投与 2~18 日，妊娠 0~22 日および哺育 0~3 日に 2~10 例にみられた．

2) 体重 (Table 12~14, Fig.4 および 5, Appendix 12-1~12-5, 13-1~13-5, 14-1~14-5)

交配開始前では、30, 100 および 300 mg/kg群の体重は対照群とほぼ同様の推移であり、いずれの測定日にも有意差はみられなかった。1000 mg/kg群では、対照群と比べて投与 4~15 日に体重の有意な低値がみられた。

妊娠期間中では、30 および 100 mg/kg群の体重は対照群とほぼ同様の推移であり、いずれの測定日にも有意差はみられなかった。300 mg/kg群では、対照群と比べて妊娠 7 および 14 日に体重の有意な低値がみられた。1000 mg/kg群では、対照群と比べて妊娠 0~21 日に体重の有意な低値がみられた。なお、1000 mg/kg群の死亡例では、死亡前に体重減少がみられた。しかし、1000 mg/kg群の瀕死例では、妊娠期間中の体重推移に異常はみられなかった。

哺育期間中では、30, 100 および 300 mg/kg群の体重は対照群とほぼ同様の推移であり、いずれの測定日にも有意差はみられなかった。1000 mg/kg群では、対照群と比べて哺育 0 および 4 日に体重の有意な低値がみられた。

3) 摂餌量 (Table 15~17, Fig.6 および 7, Appendix 15-1~15-5, 16-1~16-5, 17-1~17-5)

交配開始前では、30, 100 および 300 mg/kg群の摂餌量は対照群とほぼ同様の推移であり、いずれの測定日にも有意差はみられなかった。1000 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。

妊娠期間中では、30, 100 および 300 mg/kg群の摂餌量は対照群とほぼ同様の推移であり、いずれの測定日にも有意差はみられなかった。1000 mg/kg群では、対照群と比べて妊娠 21 日に摂餌量の有意な低値がみられた。

哺育期間中では、30 および 100 mg/kg群の摂餌量は対照群と比べて有意差はみられなかった。300 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。1000 mg/kg群では、対照群と比べて有意差は認められなかったが、哺育 4 日に摂餌量の低値傾向がみられた。

4) 剖検所見 (Table 18-1 および 18-2, Appendix 18-1~18-5)

生存例の剖検において、対照群および 300 mg/kg群では異常はみられなかった。30 mg/kg群では、胸腺の萎縮が 1 例 (No.162: 新生児が得られなかった受胎雌) にみられた。100 mg/kg群では、前胃粘膜の潰瘍が 1 例 (No.253) にみられた。1000 mg/kg群では、両側の副腎の白色化が 1 例 (No.459)、胸腺の萎縮が 7 例 (No.451, 454, 455, 458, 459, 460 および 462) にみられた。

1000 mg/kg群の死亡例 (No.453) の剖検において、胸腺の萎縮がみられた。

1000 mg/kg群の瀕死例 (No.456) の剖検において、胸腺の萎縮と腺胃粘膜の暗赤色斑がみられた。

5) 器官重量(Table 19, Appendix 19-1~19-5)

30 mg/kg群では、対照群と比べていずれの器官の絶対重量および相対重量にも有意差はみられなかった。100 mg/kg群では、対照群と比べて副腎の絶対重量の有意な低値がみられたが、絶対重量と相対重量に一定の傾向は認められないことから、投与に基づくものではないと判断した。300 mg/kg群では、対照群と比べて腎臓の相対重量の有意な高値がみられた。なお、300 mg/kg群では、対照群と比べて心臓および副腎の絶対重量の有意な低値がみられたが、これらの変化は絶対重量と相対重量に一定の傾向は認められないことから、投与に基づくものではないと判断した。1000 mg/kg群では、対照群と比べて胸腺の絶対重量および相対重量の有意な低値、脾臓の絶対重量の有意な低値、肝臓、腎臓および副腎の相対重量の有意な高値、有意差はないが脾臓の相対重量の低値傾向がみられた。なお、1000 mg/kg群では、対照群と比べて脳、下垂体および心臓の絶対重量の有意な低値、脳および卵巣の相対重量の有意な高値がみられたが、これらの変化は絶対重量と相対重量に一定の傾向は認められないことから、投与に基づくものではないと判断した。

6) 病理組織学的検査(Table 20, Appendix 20-1~20-5)

(1) 生存例

胃：前胃の潰瘍が 100 mg/kg群で 1 例と 1000 mg/kgで 2 例にみられ(Photo.1)，その程度は100 mg/kg群で軽度，1000 mg/kg群でごく軽度～軽度であった。潰瘍部位への好中球浸潤が 100 mg/kg群で 1 例と 1000 mg/kgで 2 例にみられ，その程度は100 mg/kg群で中等度，1000 mg/kg群でごく軽度～軽度であった。潰瘍部位への浮腫が 100 mg/kg群で 1 例にみられ，その程度は中等度であった。

胸腺：皮質および髄質の萎縮が 1000 mg/kg群で 7 例にみられ(Photo.2)，その程度は軽度～中等度であった。なお，30 mg/kg群でも同様の変化が 1 例(No.162：新生児が得られなかった受胎雌)で中等度にみられたが，100 および 300 mg/kg群では認められないことから，偶発変化と判断した。

脾臓：辺縁帯の萎縮が 1000 mg/kg群で 2 例にみられ(Photo.3)，その程度は軽度であった。

腎臓：皮髄境界部尿細管の変性・壊死が 1000 mg/kg群で 3 例にみられ(Photo.4)，その程度はいずれも軽度であった。

なお，胸腺における皮質および髄質の萎縮，脾臓における辺縁帯の萎縮および腎臓における皮髄境界部尿細管の変性・壊死は，1000 mg/kg群で対照群と比べて有意差が認められた。

その他の変化として以下に示した所見が得られた。

肝臓：巣状壊死が対照群で 1 例にみられたが，その程度はごく軽度であった。

胸腺：皮質の萎縮が 100 mg/kg群で 1 例にみられたが，その程度は軽度であった。

脾臓：リンパ腫が 30 mg/kg群で 1 例(No.162：新生児が得られなかった受胎雌)にみられた。

なお，これらの変化は，対照群でのみ認められているか，あるいは少数例であることか

ら、偶発的变化と判断した。

その他には、心臓、肺、気管、脾臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、リンパ節(下顎・腸間膜)、副腎、膀胱、卵巣、子宮、膣、下垂体、甲状腺、上皮小体、脳(大脳・小脳・延髄)、脊髄、坐骨神経、骨髓(胸骨・大腿骨)および乳腺では対照群および 1000 mg/kg群とも異常はみられなかった。

また、剖検で観察された 1000 mg/kg群の 1 例(No.459)の両側の副腎の白色化を示唆する変化はみられなかった。

(2) 死亡例

1000 mg/kg投与群の死亡例(No.453)において、胸腺の皮質および髄質の萎縮が中等度に、脾臓の辺縁帯の萎縮が軽度に見られた。

(3) 瀕死例

1000 mg/kg投与群の瀕死例(No.456)において、肝臓の小葉中心性壊死が軽度に、脾臓の腺房細胞のチモーゲン顆粒減少が中等度に、腺胃粘膜のびらんが軽度に、胸腺の皮質および髄質の萎縮が中等度に、赤脾髄の萎縮がごく軽度に、腎臓の皮髄境界部尿細管の変性・壊死が中等度に、骨髓の造血の低下が軽度に見られた。

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 21, Appendix 21-1~21-5)

交配前の投与期間(14 日間)の発情回数は、各投与群とも対照群との間に有意差はみられなかった。

2) 交尾所要日数、交尾率、受胎雌数および受胎率(Table 21, Appendix 21-1~21-5)

対照群の 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、1000mg/kg群で 1 例みられ、各群の受胎雌数は 11~12 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。新生児が得られなかった受胎雌は、1000 mg/kg群の死亡例および瀕死例を除くと 30 mg/kg群の 1 例(No.162)のみであった。

3) 妊娠期間および分娩状態(Table 22, Appendix 22-1~22-5)

妊娠期間は、各投与群とも対照群との間に有意差はみられなかった。いずれの動物とも分娩状態に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 22, Appendix 22-1~22-5)

30, 100 および 300 mg/kg群では, 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. 1000 mg/kg群では, 対照群と比べて黄体数および着床痕数の有意な低値がみられた.

5) 出産率および哺育状態(Table 22, Appendix 22-1~22-5)

対照群, 100, 300 および 1000 mg/kg群では出産率は 100 %であった. 30 mg/kg群では, 1 例(No.162)で新生児が得られなかったため出産率は 91.7 %となったが, 投与に基づくものではないと判断した. 対照群, 30, 100 および 300 mg/kg群では, 哺育状態に異常はみられなかった. 1000 mg/kg群では, 哺育 0 日あるいは哺育 1 日から乳腺の発育不良および巣作り不良を示した母動物が 3 例(No.454, 455 および 457)みられ, 新生児が全例死亡した母動物が 7 例(No.451, 454, 455, 457, 459, 460 および 462)認められた.

2. 新生児(F₁)に及ぼす影響

1) 総出産児数および分娩率(Table 22, Appendix 22-1~22-5)

30, 100 および 300 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. 1000 mg/kg群では, 対照群と比べて総出産児数の有意な低値および有意差はないが分娩率の低値傾向がみられた.

2) 出生率, 児の産出率および性比(Table 22, Appendix 22-1~22-5)

30, 100 および 300 mg/kg群では, 対照群と比べて哺育 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. 30および 100 mg/kg群では, 対照群と比べて児の産出率に有意差はみられなかった. なお, 300 mg/kg群では, 対照群と比べて児の産出率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. 1000 mg/kg群では, 対照群と比べて哺育 0 日の新生児数および出生率の有意な低値, 有意差はないが死産児数の高値傾向および児の産出率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 22, Appendix 22-1~22-5)

30, 100 および 300 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. 1000 mg/kg群では, 対照群と比べて哺育 4 日の生存児数および哺育 4 日の生存率の有意な低値がみられた.

新生児の外表観察では, 無尾が 30 mg/kg群で 1 例に, 尾の壊死が 100 mg/kg群で 1 例にみられたが, いずれも偶発例と判断した.

新生児の一般状態では, 30 mg/kg群で尾の外傷, 尾の欠落および表皮温下降が各 1 例にみられたが, いずれも偶発例と判断した. 1000 mg/kg群では, 表皮温下降が 4 腹(うち 3

腹は乳腺の発育不良および巣作り不良が認められた母動物)に、尾の外傷が 1 例にみられた。

4) 新生児の体重 (Table 23, Fig.8, Appendix 23-1~23-5)

30 mg/kg群では、対照群と比べて哺育 0 日の雌雄別平均、腹平均および腹合計の体重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。100, 300 および 1000 mg/kg群では、対照群と比べて哺育 0 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。なお、1000 mg/kg群では、対照群と比べて有意差はないが哺育 4 日の雌雄別平均、腹平均および腹合計の体重の低値傾向がみられた。

5) 生存児の剖検所見 (Table 24, Appendix 24-1~24-5)

30 mg/kg群で尾の欠損および無尾、ならびに 100 mg/kg群で尾の壊死がみられたが、いずれも外表観察あるいは一般状態観察で認められた所見であり、偶発例と判断した。その他には、いずれの群にも異常はみられなかった。

考察

ジビニルベンゼンのラットにおける経口投与による反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験を実施した。投与量は、1000 mg/kgを最高用量とし、以下 300, 100 および 30 mg/kgとした。なお、対照として媒体(コーンオイル)投与群を設けた。

雄動物(P)に関しては、死亡および瀕死例はいずれの群にもみられなかった。一般状態観察において、1000 mg/kg群では表皮温下降、脱毛および被毛の汚れがみられた。また、1000 mg/kg群では、体重の増加抑制および摂餌量の低値がみられ、ジビニルベンゼンの 1000 mg/kg投与で全身状態の悪化を来すと考えられる。300 mg/kg群でも、体重の増加抑制がみられたが、一過性の軽度な変化であった。なお、30 mg/kg以上の群で投与期間の初期から投与直後に一過性の流涎がみられたが、ジビニルベンゼンの刺激の他には原因が考えられないことから、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。また、100 mg/kg以上の群で投与期間の中期以降に認められた摂餌量の高値は、毒性学的には意義のない変化と判断される。

血液学的検査においては、1000 mg/kg群でも各検査項目に異常は認められなかった。

血液化学的検査において、300 mg/kg群で β -グロブリン率の高値が、1000 mg/kg群でGPT, γ -GTP, α_2 -グロブリン率, β -グロブリン率および総ビリルビンの高値, アルブミン量, α_1 -グロブリン率, α_3 -グロブリン率および血糖の低値がみられた。また、100 mg/kg以上の群で肝臓の相対重量の高値が認められたが、病理組織学的には肝臓に変化は認められていないことから毒性学的に重篤なものではないと判断される。300 mg/kg以上の群で

腎臓の絶対重量および相対重量の高値あるいはその傾向がみられたが、腎臓への影響を示唆する血液化学的検査成績に変化は認められないこと、病理組織学的検査では腎臓に変化は認められないことから毒性学的に重篤なものではないと判断される。

剖検および病理組織学的検査では、投与に起因すると考えられる変化はみられなかった。

雌動物(P)に関しては、1000 mg/kg群で死亡例が 1 例と瀕死例が 1 例認められた。死亡例では、急激な体重減少、表皮温下降、自発運動の低下、脱毛および腔口からの出血がみられ、剖検において胸腺の萎縮が認められた。瀕死例でも、表皮温下降および自発運動の低下がみられ、剖検において胸腺の萎縮と腺胃粘膜の暗赤色斑が認められた。死亡例の病理組織学的検査において胸腺の皮質および髄質の萎縮ならびに脾臓の辺縁帯の萎縮が、瀕死例においても肝臓の小葉中心性壊死、脾臓の腺房細胞のチモーゲン顆粒減少、腺胃粘膜のびらん、胸腺の皮質および髄質の萎縮、赤脾髄の萎縮、腎臓の皮髄境界部尿細管の変性・壊死ならびに骨髄の造血低下がみられた。すなわち、死亡例では、生存例と同様に胸腺の萎縮、脾臓の辺縁帯の萎縮が認められているが、死因となるほどの変化ではないことから、直接の死因は不明である。また、瀕死例では、胸腺の萎縮、尿細管の変性・壊死、肝臓の小葉中心性の壊死、骨髄の造血低下がみられていることことから、胸腺、脾臓の変化を主として腎臓、肝臓、骨髄に変化が生じ、さらに全身状態の悪化を招来したことにより瀕死状態になったと推定される。

一般状態観察においては、生存例でも脱毛および被毛の汚れがみられた。なお、雄の場合と同様に 100 mg/kg以上の群で流涎がみられた。1000 mg/kg群では、雄と同様に体重の増加抑制および摂餌量の低値あるいはその傾向が交配前投与期間、妊娠期間および哺育期間にみられた。また、300 mg/kg群でも妊娠期間に体重の増加抑制、哺育期に摂餌量の低値がみられた。器官重量では、300 mg/kg以上の群で腎臓の相対重量の高値、1000 mg/kg群で胸腺の絶対重量および相対重量の低値、肝臓の相対重量の高値、脾臓の絶対重量および相対重量の低値あるいはその傾向、副腎の相対重量の高値がみられた。病理組織学的検査において、1000 mg/kg群で胸腺の皮質および髄質の萎縮、脾臓の辺縁帯の萎縮、腎臓の皮髄境界部尿細管の変性・壊死がみられ、1000 mg/kg投与で雌では胸腺、肝臓、脾臓および腎臓への影響が生じると考えられる。なお、100 mg/kg群で 1 例と 1000 mg/kg群で 2 例に観察された前胃の潰瘍は、哺育母動物でしばしば認められることから、ジビニルベンゼンの投与に基づく変化ではないと考えられる。

したがって、当試験条件下におけるジビニルベンゼンの一般毒性学的無影響量は、雄が 30 mg/kg/day、雌が 100 mg/kg/dayと考えられる。

親動物(P)の生殖発生に対しては、各投与群とも発情回数、交尾率、交尾所要日数、受胎率、受胎雌数および出産率に影響はみられなかった。また、各投与群とも妊娠期間および分娩状態に影響はみられなかった。しかし、1000 mg/kg群では、乳腺の発育不良と巣作り不良、新生児が全例死亡した母動物が多くみられ、黄体数および着床痕数の低値が認められた。なお、着床痕数の低値は黄体数の低値に伴う変化と考えられる。

新生児(F₁)に対しては、30 mg/kg群では総出産児数、分娩率、死産児数、哺育 0 日の新生児数、出生率、児の産出率、性比、一般状態、哺育 4 日の生存児数、生存率、性比、体

重，剖検にも影響はみられなかった．100 および 300 mg/kg群では，哺育 0 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．1000 mg/kg群では，総出産児数の低値，分娩率の低値傾向，哺育 0 日の新生児数および出生率の低値，児の産出率の低値傾向，死産児数の高値傾向，哺育 4 日の生存児数および生存率の低値、表皮温下降がみられた．また，1000 mg/kg群では，哺育 0 日および哺育 4 日の雌雄別平均，腹平均および腹合計の体重の低値あるいはそれらの傾向がみられた．1000 mg/kg群の母動物では，脱毛，被毛の汚れを特徴とした一般状態の変化，体重の増加抑制，摂餌量の低値がみられていることから，母動物の全身状態の悪化により，死産児数の増加，生存率の低下など，分娩および哺育状態に影響を生じたものと考えられる．外表観察では，各投与群ともジビニルベンゼン投与に基づくと考えられる異常はみられなかった．

したがって，当試験条件下におけるジビニルベンゼンの生殖発生毒性学的な無影響量は，雄の生殖に関しては 1000 mg/kg/day，雌の生殖に関しては 300 mg/kg/day，児動物の発生に関しては 30 mg/kg/dayと推察される．

以上のように，ジビニルベンゼンの一般毒性学的無影響量は，雄では 100 mg/kg投与により肝臓の相対重量の高値が認められたことから 30 mg/kg/day，雌では 300 mg/kg投与により体重の増加抑制，摂餌量の低値が認められたことから 100 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，雄では交尾および受胎能に影響が認められなかったことから 1000 mg/kg/day，雌では1000 mg/kg投与により哺育行動の異常，黄体数および着床痕数の低値が認められたことから 300 mg/kg/day，児動物の発生では 100 mg/kg投与により体重の低値が認められたことから 30 mg/kg/dayと考えられる．

文献

- 1) 「ジビニルベンゼンの調製液の安定性確認試験」
(試験番号：402716PP)(株式会社日本バイオリサーチセンター 羽島研究所)
- 2) 「ジビニルベンゼンのラットを用いる経口投与による反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験の予備試験」株式会社日本バイオリサーチセンター 羽島研究所
(試験番号：090816P) 最終報告書

Table 1-1 General sign of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration

Group (mg/kg)		Number of males and general sign	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
divinylbenzene	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
			Normal		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	30	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
			Normal		12	12	12	12	12	12	12	8	10	11	8	8	8	9	7	8	9	9	8	7	9	9	9
		Salivation		0	0	0	0	0	0	0	0	4	2	1	4	4	4	3	5	4	3	3	4	5	3	3	3
	100	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
			Normal		12	12	12	10	7	10	10	9	8	9	8	5	5	4	6	4	5	5	6	4	5	5	7
		Salivation		0	0	0	2	5	2	2	3	4	3	4	7	7	8	6	8	7	7	6	8	7	7	5	2
	300	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
			Normal		12	12	12	6	6	6	7	7	7	7	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0
		Salivation		0	0	0	6	6	6	5	5	5	5	8	11	12	12	12	12	12	12	12	12	12	9	12	12
	1000	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
			Normal		12	5	5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Hypothermia		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Loss of fur		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
		Soiled fur		0	0	0	6	6	8	8	8	8	8	8	6	6	4	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		Salivation		0	7	7	11	12	12	12	11	11	12	12	12	12	11	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12

Table 1-2 General sign of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration

Group (mg/kg)		Number of males and general sign	Days of administration																											
			26	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	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		
divinylbenzene	30	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	9	9	9	9	10	11	11	10	11	11	12	11	11	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12		
		Salivation	3	3	3	3	2	1	1	2	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	100	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	9	8	8	10	9	9	8	10	8	8	10	8	8	8	9	9	9	10	10	11	11	12	11	12	12	12		
		Salivation	3	4	4	2	3	3	3	1	3	3	1	3	3	3	2	2	2	2	2	1	1	0	1	0	0	0		
		Crushing of teeth	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	300	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	0	1	0	1	2	4	2	3	3	3	3	1	1	1	5	5	5	3	5	1	5	6	6	6	6	12		
		Salivation	12	11	12	11	10	8	10	9	9	9	9	11	11	11	7	7	7	9	7	11	7	6	6	6	6	0		
	1000	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	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	12		
		Loss of fur	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
		Salivation	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	0		

Table 2 Body weight of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration

Group (mg/kg)	Control		divinylbenzene							
	0		30		100		300		1000	
Number of males	12		12		12		12		12	
Days of admin- istration										
1	335.0 ± 8.3		334.8 ± 10.2		334.5 ± 10.1		334.8 ± 9.3		334.7 ± 9.7	
4	339.2 ± 9.3		340.6 ± 12.0		341.3 ± 12.2		329.1 ± 11.4		287.2 ± 12.9**	
8	353.3 ± 12.1		351.1 ± 16.6		351.3 ± 17.8		340.3 ± 8.6*		292.6 ± 34.7**	
11	361.8 ± 13.4		358.3 ± 19.3		356.9 ± 19.6		349.2 ± 9.4		305.2 ± 29.1**	
15	375.6 ± 14.4		372.8 ± 21.5		369.1 ± 20.9		362.8 ± 10.8		328.3 ± 22.6**	
18	383.0 ± 13.5		381.0 ± 18.2		376.9 ± 19.5		370.2 ± 9.9		336.3 ± 18.4**	
22	399.9 ± 13.4		398.4 ± 20.0		395.6 ± 19.5		388.1 ± 11.9		354.8 ± 15.9**	
25	410.3 ± 14.5		407.3 ± 21.5		406.9 ± 19.0		395.8 ± 14.0		365.2 ± 15.1**	
29	422.8 ± 15.4		419.7 ± 22.0		417.2 ± 20.5		409.7 ± 17.6		376.8 ± 15.5**	
32	424.8 ± 13.3		422.9 ± 24.0		418.3 ± 29.8		412.3 ± 18.7		382.7 ± 16.6**	
36	434.6 ± 14.8		430.5 ± 22.5		426.4 ± 31.1		425.3 ± 19.1		388.2 ± 18.1**	
39	436.1 ± 15.3		434.3 ± 22.5		432.8 ± 31.0		423.5 ± 19.4		386.9 ± 18.9**	
43	450.4 ± 15.8		446.4 ± 20.9		445.6 ± 27.4		438.4 ± 21.3		396.8 ± 16.9**	
46	455.7 ± 15.7		452.9 ± 21.3		451.8 ± 26.6		444.8 ± 22.4		398.4 ± 16.4**	
50	441.1 ± 16.9		440.4 ± 21.3		434.3 ± 25.4		425.5 ± 21.0		376.4 ± 18.3**	

Each value shows mean (g) ± S.D.

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

Table 3 Food consumption of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration

Group (mg/kg)		Control		divinylbenzene									
		0		30		100		300		1000			
Number of males		12		12		12		12		12			
Days of administration	3	18.3 ± 3.1		18.8 ± 2.3		19.1 ± 3.0		15.8 ± 1.5		10.1 ± 2.9**			
	6	19.4 ± 1.6		19.8 ± 3.0		20.7 ± 3.1		20.1 ± 2.2		13.1 ± 7.9			
	10	20.2 ± 2.1		20.2 ± 1.5		19.2 ± 2.5		21.2 ± 2.2		20.0 ± 4.5			
	13	19.8 ± 1.3		20.3 ± 1.7		20.9 ± 2.2		21.1 ± 1.5		24.4 ± 2.2**			
	31	19.3 ± 2.0		19.5 ± 1.9		20.3 ± 1.5		20.3 ± 2.1		23.2 ± 1.7**			
	34	18.4 ± 1.7		19.5 ± 1.0		20.3 ± 1.9*		21.6 ± 1.9**		21.8 ± 2.1**			
	38	18.6 ± 1.4		19.3 ± 1.6		21.1 ± 1.4**		22.7 ± 2.6**		24.1 ± 3.2**			
	41	18.5 ± 1.4		18.3 ± 1.5		20.1 ± 1.5		20.8 ± 2.3*		21.7 ± 2.3**			
	45	18.8 ± 1.3		19.0 ± 1.3		19.5 ± 1.4		21.1 ± 2.1**		22.1 ± 2.0**			
	48	19.3 ± 1.7		19.6 ± 1.4		19.3 ± 1.0		22.4 ± 2.5**		24.2 ± 2.4**			

Each value shows mean (g/day) ± S.D.

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

Table 4 Hematological examination of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration

Group (mg/kg)	Control		divinylbenzene									
	0		30		100		300		1000			
Number of males	12		12		12		12		12		12	
RBC ($10^4/\text{mm}^3$)	836.6 ±	34.8	874.3 ±	31.3**	841.2 ±	29.8	840.9 ±	20.1	849.0 ±	24.2		
Hemoglobin (g/dl)	15.46 ±	0.67	15.75 ±	0.57	15.39 ±	0.52	15.18 ±	0.50	15.49 ±	0.34		
Hematocrit (%)	45.72 ±	1.92	47.01 ±	1.86	45.48 ±	1.57	45.57 ±	1.24	46.70 ±	1.25		
MCV (μm^3)	54.68 ±	1.76	53.78 ±	1.08	54.09 ±	1.30	54.21 ±	1.89	55.03 ±	1.09		
MCH (Pg)	18.48 ±	0.61	18.01 ±	0.46	18.32 ±	0.62	18.06 ±	0.68	18.26 ±	0.51		
MCHC (g/dl)	33.82 ±	0.52	33.51 ±	0.61	33.85 ±	0.57	33.29 ±	0.51	33.17 ±	0.47*		
Platelet ($10^4/\text{mm}^3$)	99.52 ±	10.70	105.49 ±	11.54	102.40 ±	12.19	109.07 ±	7.06	105.25 ±	10.25		
RET (%)	24.3 ±	5.2	21.8 ±	2.9	24.3 ±	5.4	24.4 ±	3.7	26.3 ±	5.1		
PT (SEC.)	17.51 ±	2.31	16.97 ±	2.31	16.73 ±	1.60	17.72 ±	3.08	16.33 ±	3.65		
APTT (SEC.)	33.34 ±	4.10	32.58 ±	3.95	32.91 ±	3.64	32.98 ±	3.29	36.75 ±	5.70		
Fibrinogen (mg/dl)	246.8 ±	16.6	240.0 ±	9.6	246.2 ±	18.9	244.2 ±	20.7	259.9 ±	28.1		
WBC ($10^2/\text{mm}^3$)	67.3 ±	14.7	56.8 ±	15.3	63.7 ±	16.3	66.4 ±	14.3	63.7 ±	9.8		
Differential leukocyte (%)												
Lymphocyte	83.7 ±	7.1	86.6 ±	5.6	86.8 ±	3.0	85.8 ±	7.7	84.3 ±	5.6		
Neutrophil	15.1 ±	6.5	12.0 ±	5.9	11.5 ±	3.5	13.3 ±	7.4	14.5 ±	5.5		
Eosinophil	0.9 ±	0.7	0.9 ±	1.0	0.9 ±	0.9	0.4 ±	0.9	0.9 ±	0.9		
Basophil	0.0 ±	0.0	0.0 ±	0.0	0.0 ±	0.0	0.0 ±	0.0	0.0 ±	0.0		
Monocyte	0.3 ±	0.7	0.5 ±	0.5	0.8 ±	0.6	0.5 ±	0.7	0.3 ±	0.5		

Each value shows mean ± S.D.

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

Table 5 Blood chemical examination of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration

Group (mg/kg)	Control		divinylbenzene									
	0		30		100		300		1000			
Number of males	12		12		12		12		12			
GOT (IU/l)	66.81 ±	8.26	67.15 ±	13.57	63.97 ±	11.50	62.31 ±	6.44	69.46 ±	10.08		
GPT (IU/l)	19.54 ±	3.86	20.26 ±	4.65	20.19 ±	2.53	20.69 ±	4.99	31.28 ±	11.26**		
ALP (IU/l)	95.73 ±	14.46	96.78 ±	23.99	81.34 ±	15.47	87.53 ±	20.29	104.34 ±	26.30		
γ-GTP (IU/l)	1.10 ±	0.00	1.10 ±	0.00	1.19 ±	0.32	1.28 ±	0.43	1.83 ±	0.54**		
TP (g/dl)	5.42 ±	0.28	5.39 ±	0.19	5.38 ±	0.24	5.37 ±	0.22	5.26 ±	0.25		
Albumin (g/dl)	2.900 ±	0.147	2.928 ±	0.118	2.833 ±	0.105	2.806 ±	0.102	2.768 ±	0.086*		
Protein fraction (%)												
Albumin	53.54 ±	1.46	54.30 ±	1.39	52.69 ±	2.27	52.29 ±	1.31	52.74 ±	2.78		
α ₁ -glo	21.60 ±	2.55	20.75 ±	1.33	21.28 ±	2.86	21.20 ±	1.25	19.49 ±	2.34*		
α ₂ -glo	5.23 ±	0.82	5.65 ±	0.61	5.64 ±	1.04	5.48 ±	0.91	6.84 ±	1.66**		
α ₃ -glo	5.59 ±	0.39	5.58 ±	0.31	5.68 ±	0.41	5.64 ±	0.37	5.12 ±	0.73*		
β-glo	11.02 ±	0.74	11.13 ±	0.71	11.71 ±	1.14	12.47 ±	0.46**	12.85 ±	0.87**		
γ-glo	3.03 ±	0.58	2.59 ±	0.39	3.01 ±	0.66	2.92 ±	0.54	2.96 ±	0.65		
A/G ratio	1.155 ±	0.067	1.190 ±	0.066	1.118 ±	0.104	1.099 ±	0.059	1.122 ±	0.123		
T-BIL (mg/dl)	0.058 ±	0.011	0.053 ±	0.007	0.053 ±	0.006	0.056 ±	0.012	0.083 ±	0.016**		
BUN (mg/dl)	17.51 ±	2.13	17.83 ±	1.27	18.45 ±	2.92	16.56 ±	1.56	16.38 ±	2.68		
Creatinine (mg/dl)	0.468 ±	0.038	0.453 ±	0.040	0.464 ±	0.053	0.437 ±	0.032	0.445 ±	0.051		
Glucose (mg/dl)	103.60 ±	7.61	106.31 ±	11.01	101.95 ±	10.30	96.60 ±	7.49	87.28 ±	16.06**		
T-CHO (mg/dl)	52.17 ±	13.22	51.03 ±	7.29	53.12 ±	16.03	59.17 ±	8.78	60.11 ±	12.78		
TG (mg/dl)	29.31 ±	9.47	36.17 ±	9.35	34.15 ±	13.16	30.00 ±	12.70	25.44 ±	7.61		
Na (mEq/l)	148.23 ±	1.26	148.36 ±	2.16	147.76 ±	2.43	148.78 ±	1.39	148.40 ±	1.31		
K (mEq/l)	4.671 ±	0.275	4.812 ±	0.232	4.733 ±	0.189	4.793 ±	0.330	4.819 ±	0.224		
Cl (mEq/l)	106.67 ±	1.19	106.94 ±	1.69	106.53 ±	1.44	105.86 ±	1.26	105.59 ±	1.54		
Ca (mg/dl)	10.70 ±	0.40	10.81 ±	0.38	10.74 ±	0.44	10.71 ±	0.36	10.85 ±	0.40		
IP (mg/dl)	6.72 ±	0.67	6.98 ±	0.61	6.84 ±	0.57	7.00 ±	0.48	6.89 ±	0.48		

Each value shows mean ± S.D.

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

Table 6 Necropsy finding of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration

Group (mg/kg)	Control	divinylbenzene			
	0	30	100	300	1000
Number of males	12	12	12	12	12
Normal Stomach(glandular mucosa)	12	12	12	12	11
Dark red spot	0	0	0	0	1

Table 7 Organ weight of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration

Group (mg/kg)	Control		divinylbenzene									
	0		30		100		300		1000			
Number of males	12		12		12		12		12			
Body weight (g)	441.1 ± 16.9		440.4 ± 21.3		434.3 ± 25.4		425.5 ± 21.0		376.4 ± 18.3**			
Brain (g)	2.045 ± 0.074		2.013 ± 0.075		2.098 ± 0.094		2.039 ± 0.097		1.986 ± 0.058			
	(g%) 0.465 ± 0.020		0.457 ± 0.012		0.484 ± 0.037		0.481 ± 0.034		0.528 ± 0.022**			
Pituitary (mg)	14.47 ± 2.05		13.56 ± 1.56		13.93 ± 1.67		14.40 ± 1.91		13.09 ± 1.30			
	(mg%) 3.28 ± 0.46		3.08 ± 0.31		3.20 ± 0.35		3.40 ± 0.48		3.49 ± 0.43			
Thyroids (mg)	19.88 ± 3.06		19.10 ± 1.48		19.59 ± 3.16		19.55 ± 3.85		16.73 ± 3.11			
	(mg%) 4.51 ± 0.72		4.34 ± 0.43		4.53 ± 0.78		4.60 ± 0.85		4.46 ± 0.90			
Thymus (mg)	276.15 ± 61.84		255.20 ± 69.01		267.14 ± 41.50		264.22 ± 75.21		219.38 ± 55.01			
	(mg%) 62.38 ± 12.20		58.00 ± 15.52		61.77 ± 10.40		61.93 ± 16.58		58.33 ± 14.42			
Heart (g)	1.351 ± 0.103		1.302 ± 0.110		1.288 ± 0.087		1.323 ± 0.140		1.145 ± 0.106**			
	(g%) 0.306 ± 0.025		0.295 ± 0.024		0.295 ± 0.019		0.309 ± 0.022		0.303 ± 0.029			
Liver (g)	10.880 ± 0.526		11.282 ± 0.871		11.398 ± 0.773		12.078 ± 1.341		11.177 ± 0.469			
	(g%) 2.467 ± 0.089		2.563 ± 0.165		2.625 ± 0.099**		2.833 ± 0.207**		2.974 ± 0.161**			
Spleen (g)	0.636 ± 0.063		0.628 ± 0.066		0.654 ± 0.042		0.607 ± 0.085		0.483 ± 0.055**			
	(g%) 0.143 ± 0.015		0.142 ± 0.013		0.152 ± 0.008		0.142 ± 0.019		0.128 ± 0.017			
Kidneys (g)	2.836 ± 0.233		2.861 ± 0.197		2.871 ± 0.215		3.105 ± 0.280*		3.011 ± 0.224			
	(g%) 0.643 ± 0.049		0.651 ± 0.034		0.662 ± 0.048		0.730 ± 0.060**		0.803 ± 0.075**			
Adrenals (mg)	57.94 ± 11.81		53.88 ± 7.30		51.99 ± 7.35		53.59 ± 10.59		54.71 ± 6.42			
	(mg%) 13.13 ± 2.46		12.25 ± 1.66		12.01 ± 1.84		12.64 ± 2.62		14.54 ± 1.55			
Testes (g)	3.267 ± 0.359		3.113 ± 0.248		3.291 ± 0.290		3.350 ± 0.190		3.075 ± 0.208			
	(g%) 0.742 ± 0.084		0.708 ± 0.058		0.761 ± 0.081		0.788 ± 0.046		0.817 ± 0.042*			
Epididymides (g)	1.298 ± 0.100		1.266 ± 0.113		1.281 ± 0.105		1.278 ± 0.106		1.164 ± 0.051**			
	(g%) 0.294 ± 0.028		0.288 ± 0.021		0.297 ± 0.025		0.301 ± 0.023		0.309 ± 0.017			

Each value shows mean ± S.D.

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

Table 8

Histopathological finding of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration

Group (mg/kg)	Control				divinylbenzene			
	0				1000			
Incidence & Grade	N	A	±	+	+	±	+	±
Liver	[12]							
Necrosis, focal	10	2	2	0	0	0	0	
Testis	[12]							
Atrophy, seminiferous tubule	11	1	1	0	0	0	0	
Epididymis	[12]							
Granuloma, spermatic, unilateral	11	1	0	1	0	0	0	0

Grade of histopathological finding; ±: Slight, +: Mild, ++: Moderate, +++: Marked.

N : No abnormality detected.

A : Abnormality detected.

[] : Number of males examined.

No remarkable changes were recognized in heart, lung, trachea, pancreas, stomach, duodenum, jejunum, ileum, cecum, colon, rectum, thymus, spleen, lymph node(submandibular, mesenteric), kidney, adrenal, urinary bladder, prostate, seminal vesicle, pituitary, thyroid, parathyroid, brain(cerebrum, cerebellum, medulla oblongata), spinal cord, sciatic nerve and bone marrow(sternum, femur).

Table 9 General sign of female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration

Group (mg/kg)		Number of females and general sign	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	27	28	29
Control	0	Number of females Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	11	9	6	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
			12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	11	9	6	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
divinylbenzene	30	Number of females Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	8	5	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	8	5	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	100	Number of females Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
			12	12	12	12	12	12	12	12	12	10	10	9	9	11	5	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-	-
		Salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	3	3	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-
	300	Number of females Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	11	4	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			12	12	12	8	10	8	8	9	5	3	8	3	4	2	3	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Salivation	0	0	0	4	2	4	4	3	7	9	4	9	8	10	9	9	4	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1000	Number of females Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	11	9	5	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
			12	5	5	3	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-
		Loss of fur	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-
		Soiled fur	0	0	0	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-
		Salivation	0	7	7	9	10	11	12	12	12	12	12	12	12	12	11	9	5	1	1	1	1	1	1	-	-	-	-	-	-

*: Commencement of pairing.

Table 10 General sign of dams (P) during pregnancy period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration

Group (mg/kg)		Number of dams and general sign	Days of pregnancy																								
			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	
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	11	1	0	
		Normal	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	1	-	
divinylbenzene	30	Number of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	4	1	
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	4	1	
	100	Number of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	1	0	
		Normal	11	10	11	11	11	10	9	10	9	10	10	10	10	11	11	9	10	9	9	9	10	9	9	1	-
		Salivation	1	2	1	1	1	2	3	2	3	2	2	2	2	1	1	3	2	3	3	3	2	3	3	0	-
	300	Number of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	1	0	
		Normal	3	3	1	0	1	3	0	1	2	2	2	4	4	3	2	1	4	3	3	5	6	6	0	-	
		Salivation	9	9	11	12	11	9	12	11	10	10	10	8	8	9	10	11	8	9	9	7	6	6	1	-	
	1000	Number of dams	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	10	10	10	10	3	1	
		Normal	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Hypothermia	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	
		Decrease in locomotor activity	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	
		Loss of fur	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3	2	2	2	2	2	0	0	
		Salivation	11	10	11	11	11	11	11	11	10	11	11	11	11	11	11	11	11	10	10	10	10	10	3	1	
		Vaginal hemorrhage	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	
		Death	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
		Moribundity	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	

Table 11 General sign of dams (P) during lactation period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration

Group (mg/kg)		Number of dams and general sign	Days of lactation				
			0	1	2	3	4
Control	0	Number of dams	11	11	11	11	11
		Normal	11	11	11	11	11
divinylbenzene	30	Number of dams	12	11	11	11	11
		Normal	12	11	11	11	11
	100	Number of dams	12	12	12	12	12
		Normal	10	10	10	11	12
		Salivation	2	2	2	1	0
	300	Number of dams	12	12	12	12	12
		Normal	9	9	7	8	12
		Salivation	3	3	5	4	0
	1000	Number of dams	9	9	6	5	3
		Normal	0	2	1	2	2
		Loss of fur	2	2	1	1	1
		Salivation	9	6	5	3	0

Table 12 Body weight of female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration

Group (mg/kg)		Control		divinylbenzene							
		0		30		100		300		1000	
Number of females		12		12		12		12		12	
Days of admin- istration											
1	224.3 ± 7.0			224.3 ± 7.2		224.0 ± 6.7		224.6 ± 7.2		224.7 ± 6.9	
4	225.6 ± 8.5			225.3 ± 9.3		227.7 ± 6.6		223.8 ± 9.8		201.1 ± 10.9**	
8	232.7 ± 11.9			237.0 ± 9.8		233.9 ± 5.7		230.5 ± 10.0		211.8 ± 20.4**	
11	235.5 ± 14.4			243.3 ± 10.4		240.1 ± 8.4		237.9 ± 11.0		213.3 ± 19.1**	
15	242.7 ± 12.2			250.6 ± 13.8		247.8 ± 8.8		244.0 ± 12.9		224.6 ± 13.0**	
18	254.5 ± 17.8	(6)		251.5	(2)	252.0	(1)	260.7 ± 17.6	(3)	235.6 ± 10.5	(5)
22	228.0	(1)		—		285.0	(1)	—		229.0	(1)
25	226.0	(1)		—		296.0	(1)	—		—	
29	228.0	(1)		—		—		—		—	

Each value shows mean (g) ± S.D.

Figures in parentheses indicate number of females.

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

Table 13 Body weight of dams (P) during pregnancy period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration

Group (mg/kg)	Control		divinylbenzene			
	0		30	100	300	1000
Number of dams	11		12	12	12	11
Days of pregnancy						
0	259.2 ± 8.9		259.8 ± 12.4	256.3 ± 11.8	251.6 ± 15.6	236.0 ± 9.1**
7	299.7 ± 8.7		293.7 ± 13.7	291.1 ± 11.9	284.5 ± 14.9*	266.8 ± 13.1**
14	335.2 ± 8.7		327.3 ± 14.6	322.6 ± 14.4	318.4 ± 16.5*	289.6 ± 21.0**
21	424.8 ± 12.8		419.5 ± 18.7	407.2 ± 27.2	403.2 ± 19.9	335.4 ± 32.2** (10)

Each value shows mean (g) ± S.D.

Figures in parentheses indicate number of dams.

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

Table 14 Body weight of dams (P) during lactation period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration

Group (mg/kg)	Control		divinylbenzene			
	0	30	100	300	1000	
Number of dams	11	12	12	12	9	
Days of lactation	0	313.3 ± 16.6	297.7 ± 22.1	294.0 ± 14.4	295.9 ± 25.5	250.3 ± 26.1**
	4	327.9 ± 14.7	315.7 ± 17.0 (11)	309.2 ± 19.9	309.5 ± 23.7	274.7 ± 12.7** (3)

Each value shows mean (g) ± S.D.

Figures in parentheses indicate number of dams.

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

Table 15 Food consumption of female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration

Group (mg/kg)		Control		divinylbenzene							
		0		30		100		300		1000	
Number of females		12		12		12		12		12	
Days of admin- istration	3	13.3 ± 2.0		13.6 ± 2.3		15.0 ± 2.3		11.9 ± 1.3		8.6 ± 2.6**	
	6	15.8 ± 1.1		16.8 ± 1.5		15.8 ± 2.5		15.3 ± 1.5		13.3 ± 5.9	
	10	15.9 ± 2.5		17.0 ± 1.1		17.4 ± 1.7		16.7 ± 3.9		14.8 ± 2.6	
	13	16.9 ± 2.3		17.1 ± 1.9		17.5 ± 1.7		17.2 ± 1.5		17.5 ± 5.2	

Each value shows mean (g/day) ± S.D.

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

Table 16 Food consumption of dams (P) during pregnancy period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration

Group (mg/kg)	Control		divinylbenzene							
	0		30		100		300		1000	
Number of dams	11		12		12		12		11	
Days of pregnancy										
2	20.3 ±	1.2	19.8 ±	1.5	19.8 ±	1.3	19.3 ±	2.0	18.7 ±	2.6
9	23.0 ±	2.6	22.5 ±	2.1	21.1 ±	2.7	21.8 ±	1.6	21.2 ±	1.8
16	22.7 ±	2.5	21.6 ±	1.8	21.8 ±	2.4	21.5 ±	1.6	21.4 ±	4.9
21	22.2 ±	2.9	20.8 ±	2.3	20.6 ±	3.0	21.7 ±	3.4	16.7 ±	4.4** (10)

Each value shows mean (g/day) ± S.D.

Figures in parentheses indicate number of dams.

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

Table 17 Food consumption of dams (P) during lactation period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration

Group (mg/kg)	Control	divinylbenzene			
	0	30	100	300	1000
Number of dams	11	11	12	12	3
Days of lactation 4	29.8 ± 4.8	28.1 ± 4.3	27.3 ± 6.5	21.7 ± 7.8**	21.3 ± 6.4

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

Table 18-1 Necropsy finding of female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration

Group (mg/kg)	Control	divinylbenzene			
	0	30	100	300	1000
Number of females	12	12	12	12	10
Normal	12	11	11	12	3
Thymus					
Atrophy	0	1	0	0	7
Stomach(forestomach mucosa)					
Ulcer	0	0	1	0	0
Adrenal					
White change	0	0	0	0	1

Table 18-2 Necropsy finding of dead and moribund female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration

Group (mg/kg)	Control	divinylbenzene			
	0	30	100	300	1000
Number of dead females	0	0	0	0	1
Normal	-	-	-	-	0
Thymus	-	-	-	-	1
Atrophy	-	-	-	-	1
Number of moribund females	0	0	0	0	1
Normal	-	-	-	-	0
Thymus	-	-	-	-	1
Atrophy	-	-	-	-	1
Stomach(glandular mucosa)	-	-	-	-	1
Dark red spot	-	-	-	-	1

Table 19 Organ weight of dams (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration

Group (mg/kg)	Control		divinylbenzene									
	0		30		100		300		1000			
Number of dams	11		12		12		12		9			
Body weight (g)	327.9 ± 14.7		312.0 ± 20.7		309.2 ± 19.9		309.5 ± 23.7		255.6 ± 26.2**			
Brain (g)	1.964 ± 0.103		1.943 ± 0.065		1.898 ± 0.071		1.897 ± 0.072		1.816 ± 0.095**			
	(g%) 0.598 ± 0.018		0.626 ± 0.036		0.616 ± 0.033		0.614 ± 0.030		0.719 ± 0.094**			
Pituitary (mg)	20.22 ± 2.53		20.48 ± 2.45		19.34 ± 3.04		19.12 ± 2.17		16.10 ± 3.11**			
	(mg%) 6.15 ± 0.65		6.56 ± 0.62		6.27 ± 0.97		6.18 ± 0.56		6.33 ± 1.24			
Thyroids (mg)	18.71 ± 4.14		16.45 ± 2.17		16.95 ± 3.84		17.14 ± 2.63		14.82 ± 2.27			
	(mg%) 5.70 ± 1.23		5.28 ± 0.62		5.48 ± 1.20		5.55 ± 0.86		5.88 ± 1.12			
Thymus (mg)	214.47 ± 60.84		191.75 ± 60.34		199.97 ± 51.30		177.22 ± 41.72		89.92 ± 56.64**			
	(mg%) 65.31 ± 18.15		60.63 ± 16.95		64.61 ± 15.31		57.03 ± 11.37		34.26 ± 19.81**			
Heart (g)	1.033 ± 0.093		0.970 ± 0.047		0.943 ± 0.108		0.934 ± 0.096*		0.843 ± 0.112**			
	(g%) 0.315 ± 0.030		0.313 ± 0.017		0.305 ± 0.025		0.302 ± 0.023		0.329 ± 0.023			
Liver (g)	13.965 ± 1.460		13.572 ± 1.485		13.545 ± 0.986		13.613 ± 1.453		13.878 ± 1.031			
	(g%) 4.256 ± 0.351		4.351 ± 0.370		4.393 ± 0.371		4.404 ± 0.399		5.479 ± 0.666**			
Spleen (g)	0.644 ± 0.105		0.664 ± 0.106		0.635 ± 0.083		0.650 ± 0.087		0.443 ± 0.107**			
	(g%) 0.197 ± 0.035		0.214 ± 0.038		0.205 ± 0.027		0.210 ± 0.017		0.173 ± 0.034			
Kidneys (g)	1.912 ± 0.169		1.855 ± 0.189		1.860 ± 0.120		1.941 ± 0.182		2.070 ± 0.163			
	(g%) 0.583 ± 0.033		0.595 ± 0.068		0.602 ± 0.036		0.629 ± 0.046*		0.818 ± 0.103**			
Adrenals (mg)	77.65 ± 6.28		77.33 ± 16.63		69.04 ± 7.16*		70.17 ± 8.97*		80.94 ± 10.25			
	(mg%) 23.72 ± 2.12		25.05 ± 6.93		22.33 ± 1.79		22.73 ± 2.72		32.06 ± 5.68**			
Ovaries (mg)	114.59 ± 14.90		110.56 ± 10.85		103.60 ± 9.17		102.60 ± 11.09		102.20 ± 16.17			
	(mg%) 34.91 ± 3.99		35.57 ± 4.38		33.63 ± 3.74		33.17 ± 3.08		40.03 ± 5.21*			

Each value shows mean ± S.D.

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

Table 20

Histopathological finding of female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration

Group (mg/kg)	Control		divinylbenzene							
	0		30		100		300		1000	
Incidence & Grade	N	A	±	+	+	+	+	+	N	A
Liver	[12]								[10]	
Necrosis, focal	11	1	1	0	0	0			10	0
Stomach	[12]								[10]	
Ulcer, forestomach	12	0							8	2
Cellular infiltration, neutrophil	12	0							8	2
Edema	12	0							10	0
Thymus	[12]								[10]	
Atrophy, cortex	12	0							10	0
Atrophy, cortex and medulla	12	0							3	7
Spleen	[12]								[10]	
Atrophy, marginal zone	12	0							8	2
Lymphoma	12	0							10	0
Kidney	[12]								[10]	
Degeneration/necrosis, renal tubule, cortico-medullary junction	12	0							7	3

Grade of histopathological finding; ±: Slight, +: Mild, ++: Moderate, +++: Marked, t: Tumor.

N : No abnormality detected.

A : Abnormality detected.

[] : Number of females examined.

No remarkable changes were recognized in heart, lung, trachea, pancreas, duodenum, jejunum, ileum, cecum, colon, rectum, lymph node(submandibular, mesenteric), adrenal, urinary bladder, ovary, uterus, vagina, pituitary, thyroid, parathyroid, brain(cerebrum, cerebellum, medulla oblongata), spinal cord, sciatic nerve, bone marrow(sternum, femur) and mammary gland.

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

Table 21 Number of estrous cases and reproductive performance of male and female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration

Group (mg/kg)	Control	divinylbenzene			
	0	30	100	300	1000
Number of females	12	12	12	12	12
Number of estrous cases before mating (14 days)					
Mean±S.D.	3.3 ± 0.7	3.3 ± 0.9	3.4 ± 0.5	3.7 ± 0.5	2.8 ± 1.1
Number of pairs	12	12	12	12	12
Number of pairs with successful copulation	11	12	12	12	12
Copulation index (%) ^{a)}	91.7	100.0	100.0	100.0	100.0
Number of conceiving days					
Mean±S.D.	3.1 ± 1.0	2.3 ± 1.1	2.7 ± 3.4	2.5 ± 1.0	3.5 ± 2.0
Conceiving days 1-5	11	12	11	12	11
Conceiving days ≥6	0	0	1	0	1
Number of pregnant females	11	12	12	12	11
Fertility index (%) ^{b)}	100.0	100.0	100.0	100.0	91.7
Number of pregnant females with live pups	11	11	12	12	9

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

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

Table 22 Observation of pups (F1) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration

Group (mg/kg)	Control	divinylbenzene			
	0	30	100	300	1000
Number of dams	11	12	12	12	9
Length of gestation (days)					
Mean±S.D. per dam	22.09 ± 0.30	22.42 ± 0.67	22.08 ± 0.29	22.08 ± 0.29	22.22 ± 0.44
Pregnancy days ≤ 21	0	0	0	0	0
Pregnancy days = 22	10	8	11	11	7
Pregnancy days ≥ 23	1	4	1	1	2
Number of corpora lutea					
Total	193	210	210	193	135
Mean±S.D. per dam	17.5 ± 1.3	17.5 ± 1.9	17.5 ± 1.5	16.1 ± 2.5	15.0 ± 2.1 *
Number of implantation scars					
Total	179	198	193	176	123
Mean±S.D. per dam	16.3 ± 1.2	16.5 ± 1.3	16.1 ± 1.3	14.7 ± 2.5	13.7 ± 2.0 **
Implantation index					
Mean±S.D. per dam ^{a)}	92.7 ± 4.6	94.7 ± 6.9	91.9 ± 5.6	91.2 ± 10.1	91.3 ± 8.7
Gestation index (%) ^{b)}	100.0	91.7	100.0	100.0	100.0
Number of live pups born					
Male	79	83	95	75	40
Female	84	80	81	98	42
Total	163	163	176	173	82
Mean±S.D. per dam	14.8 ± 1.0	13.6 ± 4.4	14.7 ± 1.5	14.4 ± 2.6	9.1 ± 3.0 **
Sex ratio at birth					
Mean±S.D. per dam ^{c)}	1.06 ± 0.64	1.19 ± 0.66 (11)	1.25 ± 0.48	0.89 ± 0.45	1.20 ± 0.78
Sex ratio on day 4 of lactation					
Mean±S.D. per dam ^{c)}	1.06 ± 0.64	1.72 ± 2.15 (11)	1.24 ± 0.47	0.89 ± 0.44	1.60 (2)
Birth index					
Mean±S.D. per dam ^{a)}	91.2 ± 5.6	83.9 ± 27.2	91.4 ± 9.1	98.3 ± 4.4 *	69.3 ± 27.3
Number of dead pups on day 0 of lactation					
Total	3	21	4	0	23
Mean±S.D. per dam	0.3 ± 0.5	1.8 ± 5.2	0.3 ± 0.7	0.0 ± 0.0	2.6 ± 3.4
Number of pups born					
Total	166	184	180	173	105
Mean±S.D. per dam	15.1 ± 0.8	15.3 ± 1.6	15.0 ± 1.8	14.4 ± 2.6	11.7 ± 3.1 *
Delivery index					
Mean±S.D. per dam ^{a)}	92.8 ± 5.0	92.9 ± 6.3	93.4 ± 9.3	98.3 ± 4.4	86.2 ± 21.7
Live birth index					
Mean±S.D. per dam ^{f)}	98.1 ± 3.3	90.1 ± 28.6	98.0 ± 3.8	100.0 ± 0.0	80.7 ± 23.6 *
Number of live pups on day 4 of lactation					
Male	77	81 (11)	94	75	12
Female	82	75 (11)	81	96	8
Total	159	156 (11)	175	171	20
Mean±S.D. per dam	14.5 ± 0.7	14.2 ± 2.0 (11)	14.6 ± 1.4	14.3 ± 2.5	2.2 ± 4.4 **
Viability index					
Mean±S.D. per dam ^{a)}	97.6 ± 4.2	95.5 ± 9.2 (11)	99.5 ± 1.7	98.9 ± 2.5	20.2 ± 40.4 **
Number of external anomalies					
Mean±S.D. per dam ^{b)}	0.0 ± 0.0	0.6 ± 2.1 (11)	0.5 ± 1.7	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Anury	0	1 (11)	0	0	0
Mean±S.D. per dam	0.0 ± 0.0	0.6 ± 2.1 (11)	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Necrosis of tail	0	0 (11)	1	0	0
Mean±S.D. per dam	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0 (11)	0.5 ± 1.7	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0

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.

Figures in parentheses indicate number of dams.

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

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 23 Body weight of pups (F1) on days 0 and 4 of lactation in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration

Group (mg/kg)	Control	divinylbenzene			
	0	30	100	300	1000
Number of dams	11	11	12	12	9
Male weight					
Days of lactation					
0	6.46 ± 0.56	6.65 ± 0.41 **	6.31 ± 0.46 **	6.28 ± 0.53 **	4.89 ± 0.75 **
4	10.17 ± 0.89	10.43 ± 1.00	9.76 ± 1.26	9.86 ± 1.03	7.90 (2)
Female weight					
Days of lactation					
0	6.18 ± 0.47	6.30 ± 0.42 **	5.96 ± 0.47 **	5.84 ± 0.52 **	4.50 ± 0.76 **
4	9.66 ± 0.74	9.94 ± 1.12	9.43 ± 1.25	9.18 ± 1.15	7.05 (2)
Mean pups weight					
Days of lactation					
0	6.30 ± 0.48	6.46 ± 0.39 **	6.15 ± 0.45 **	6.03 ± 0.56 **	4.70 ± 0.74 **
4	9.90 ± 0.75	10.21 ± 0.99	9.60 ± 1.25	9.48 ± 1.15	7.55 (2)
Litter weight					
Days of lactation					
0	93.22 ± 7.31	95.75 ± 8.04 **	90.07 ± 11.28 **	86.13 ± 12.39 **	42.77 ± 14.99 **
4	142.76 ± 9.77	143.75 ± 18.57	139.78 ± 22.41	133.35 ± 19.18	75.65 (2)

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

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

Figures in parentheses indicate number of dams.

Table 24 Necropsy finding of pups (F1) on day 4 of lactation in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration

Group	Control	divinylbenzene			
(mg/kg)	0	30	100	300	1000
Number of males	77	81	94	75	12
Normal	77	80	94	75	12
Tail Loss	0	1	0	0	0
Number of females	82	75	81	96	8
Normal	82	74	80	96	8
Tail Necrosis	0	0	1	0	0
Anury	0	1	0	0	0

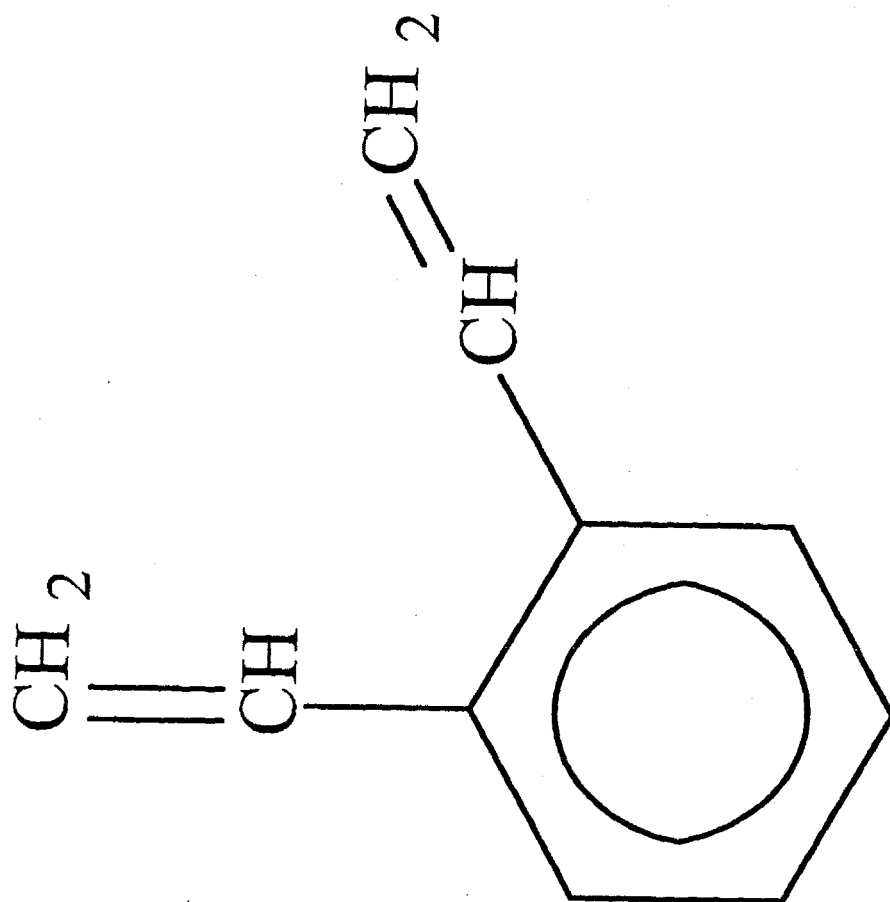


Fig. 1 Chemical structure of divinylbenzene

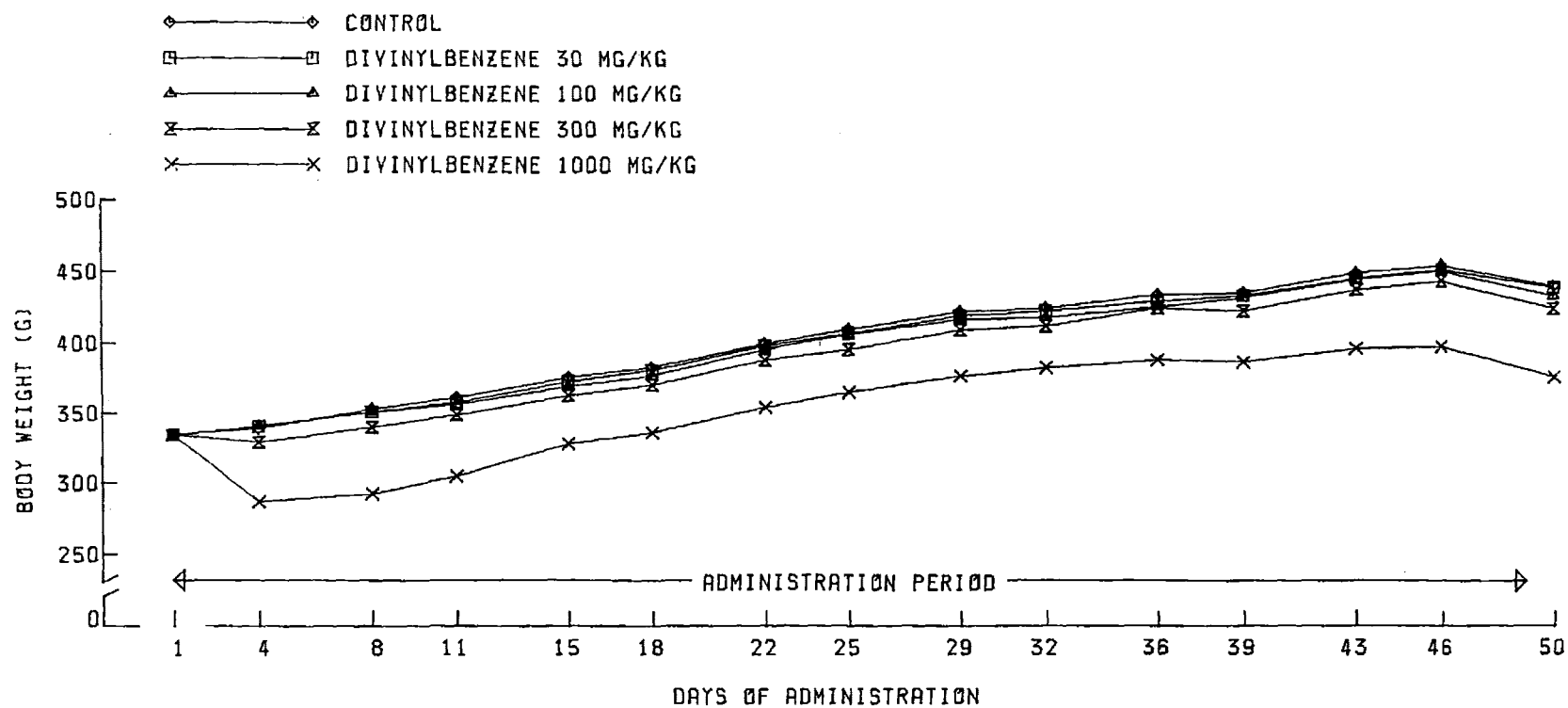


Fig. 2 Body weight of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration

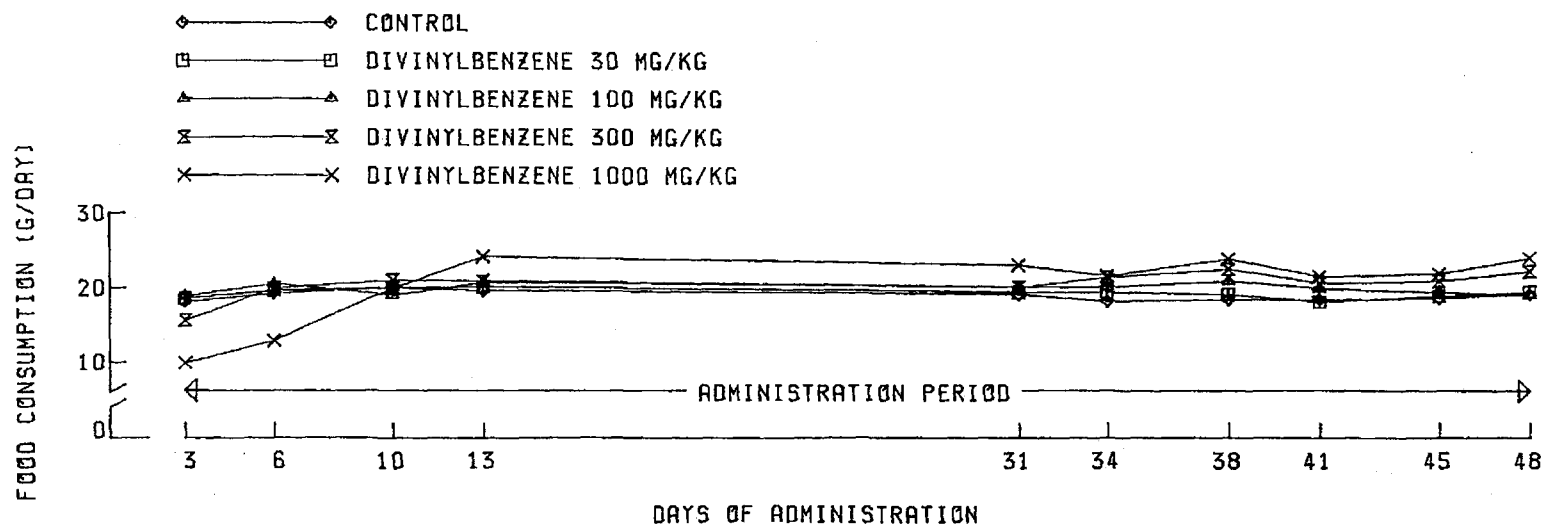


Fig. 3 Food consumption of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration

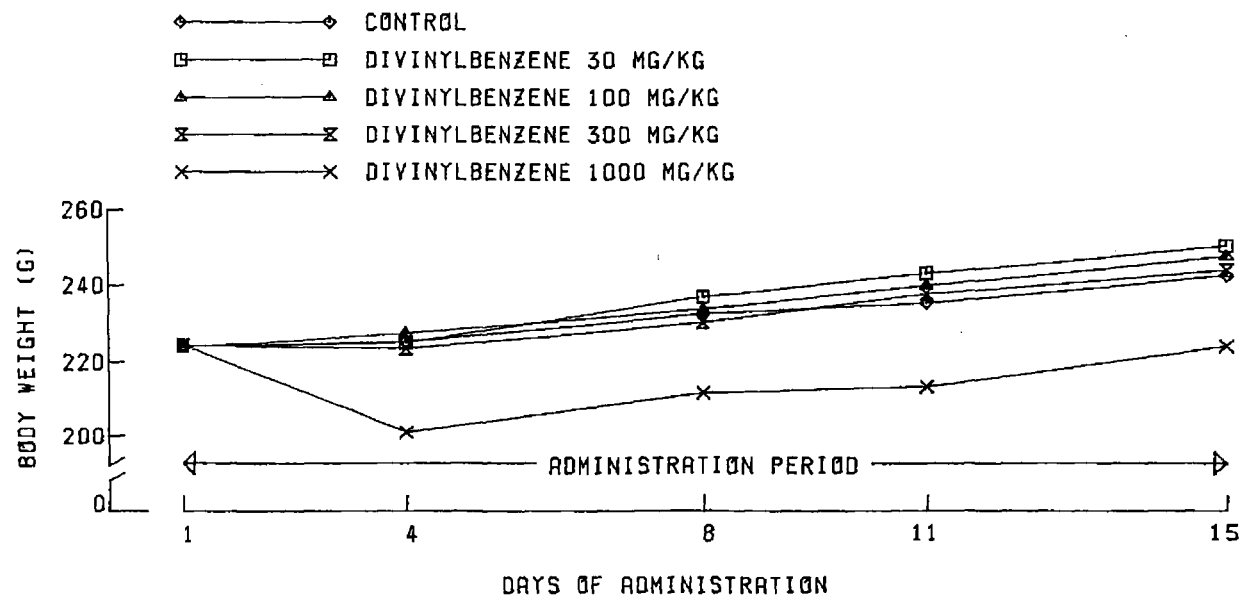


Fig. 4 Body weight of female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration

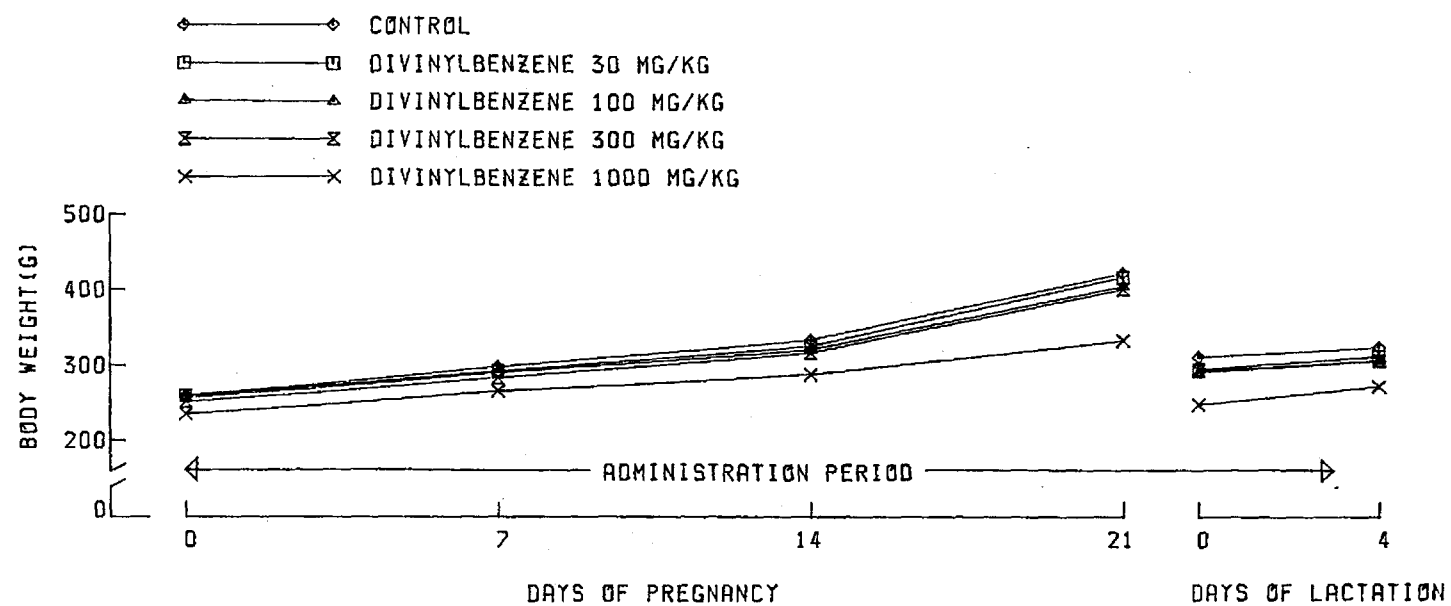


Fig. 5 Body weight of dams (P) during pregnancy and lactation periods in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration

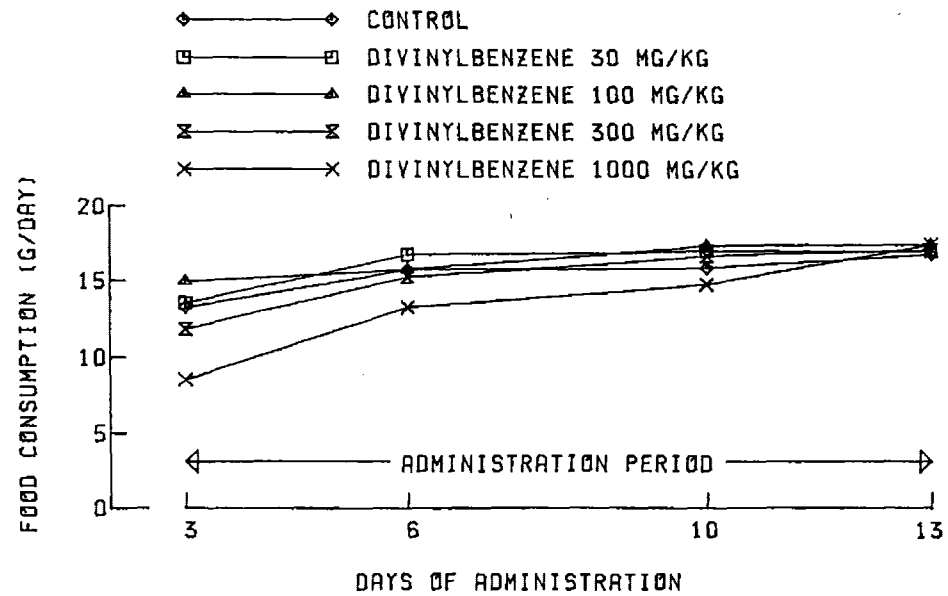


Fig. 6 Food consumption of female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration

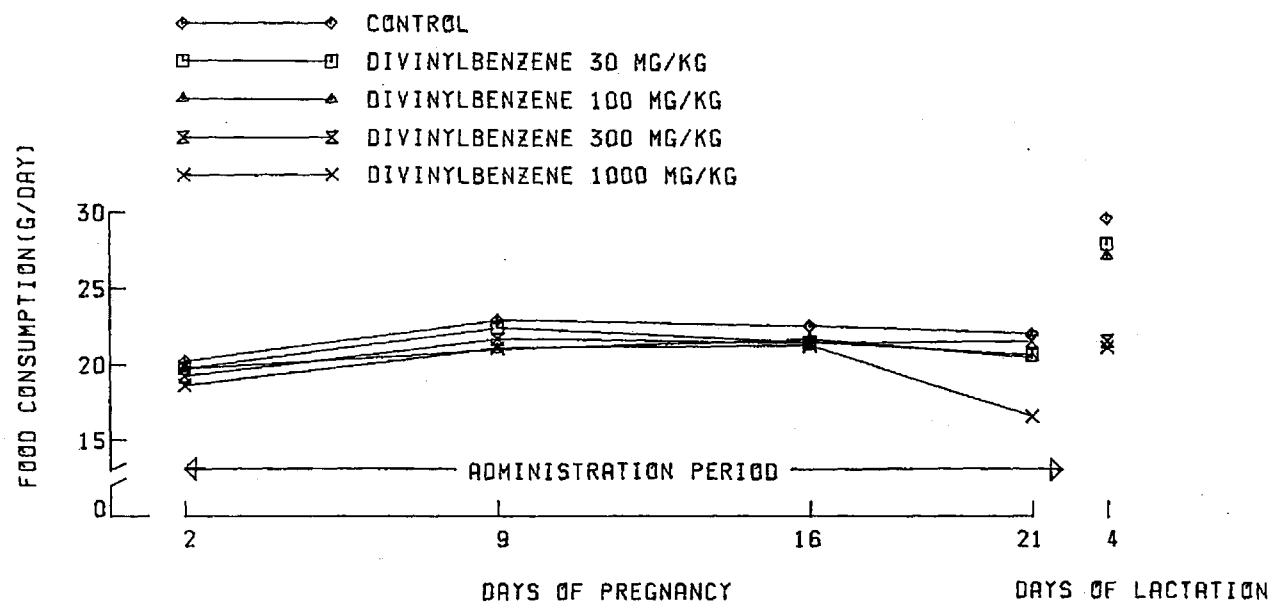


Fig. 7 Food consumption of dams (P) during pregnancy and lactation periods in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration

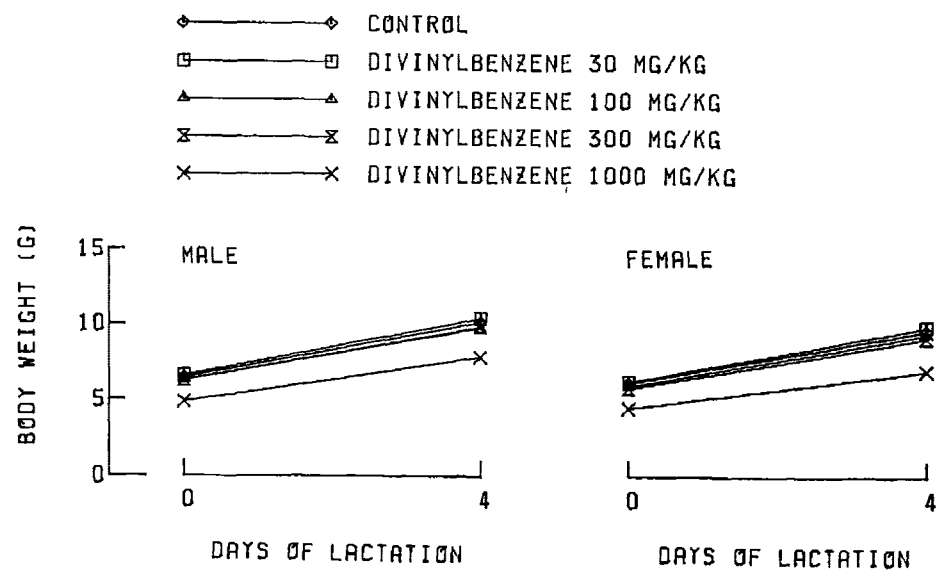


Fig. 8 Body weight of pups (F1) on days 0 and 4 of lactation in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of divinylbenzene by oral administration