

食薬セ研第10-1638号
2000年 9月 4日

2-ナフトールの
ラットを用いる経口投与一世代生殖毒性試験

厚生省生活衛生局 委託

財団法人食品薬品安全センター
秦野研究所

【 目 次 】

要 約	1
I. 親動物	1
1. 雄動物所見	1
2. 雌動物所見	1
3. 生殖関連所見	2
4. 病理検査所見	2
II. 出生児	2
1. 生存性および発育に関する所見	2
2. 形態観察所見	3
III. 評価	3
緒 言	4
試験材料および方法	5
1. 被験物質	5
2. 使用動物および飼育条件	5
3. 群分けおよび個体識別	6
4. 投与検体の調製	6
5. 投与量、群構成、投与期間および投与方法	7
6. 観察方法	8
7. 統計解析	12
結 果	14
I. 親動物	14
1. 一般状態	14
2. 体重	15
3. 摂餌量	15
4. 性周期	16

5. 交配成績-----	16
6. 分娩および哺育所見-----	16
7. 病理検査所見-----	17
II. 出生児-----	20
1. 一般状態および生存性-----	20
2. 体重-----	21
3. 形態観察所見-----	21
考 察-----	22
1. 親動物-----	22
2. 出生児-----	23
3. 無作用量-----	24
文 献-----	26

Figures (Figure 1 ~ Figure 4)

Tables (Table A ~ Table D, Table 1 ~ Table 19)

【 要 約 】

2-ナフトール (NP0 と略記) の 0 (媒体対照、0.5 %カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液)、10、40 および 160 mg/kg を Sprague-Dawley 系(Crj:CD) ラットの雌雄 (各 25 匹/群) に、雄は 5 週齢から 10 週間、また、雌は 10 週齢から 2 週間経口投与し、3 週間を限度として交配させた。雄は、3 週間の交配期間終了後 1 週間を経過した後に剖検した。雌は、交配後、自然分娩させ、哺育 21 日に出生児とともに剖検した。雌雄ともに剖検の前日まで投与を継続し、この間、親動物の一般状態、体重増加、摂餌量の変化などを観察するとともに、親動物の分娩および泌乳を含む繁殖能力、ならびに出生児の離乳までの発育を観察して、これらに対する NP0 の影響を検討した。結果は、以下のように要約される。

I. 親動物

1. 雄動物所見

NP0 投与に起因した瀕死あるいは死亡はいずれの投与群にも認められなかった。

NP0 投与によると考えられる一般状態の変化としては、NP0 各投与群に流涎が、40 mg/kg 以上の投与群に自発運動の減少、眼瞼下垂あるいは閉眼および鼻汁が、160 mg/kg 投与群に流涎が、それぞれ投与後一過性に認められた。

体重増加および摂餌量には投与の影響は認められなかった。

2. 雌動物所見

いずれの投与群にも死亡および瀕死動物は認められなかった。

NP0 投与によると考えられる一般状態の変化としては、自発運動の減少および流涎が、40 mg/kg 投与群の投与初期、ならびに 160 mg/kg 投与群の全投与期間に、いずれも投与後一過性に観察された。また、40 mg/kg あるいは 160 mg/kg 投与群の投与初期には、鼻汁あるいは寄りかかりおよび腹臥位も投与後一過性に観察された。

体重増加については、明瞭な抑制は認められなかったが、摂餌量の抑制が、40 mg/kg 以

上の投与群の妊娠初期、および 160 mg/kg 投与群の哺育 4 日以降の時期に認められた。

3. 生殖関連所見

性周期に NP0 投与に起因した異常は観察されず、全例が交尾し、同居期間およびその間に回帰した発情の回数にも NP0 投与の影響は認められなかった。不妊例が各群に少数例認められたが、受胎率に、NP0 投与の影響は認められなかった。また、NP0 投与に起因する分娩状態の異常は観察されず、出産率および妊娠期間にも NP0 投与の影響は認められなかった。哺育状態に明瞭な異常は観察されなかったが、生後 4 日までに死亡する出生児が 160 mg/kg 投与群においてやや増加した。

4. 病理検査所見

雄の剖検では、40 mg/kg 以上の投与群に前胃粘膜の肥厚領域が観察され、病理組織学検査では前胃粘膜扁平上皮の軽度な過形成が観察された。しかし、下垂体、精巣、精巣上体、精囊、凝固腺および前立腺については NP0 投与に起因した変化はいずれの投与群にも認められなかった。10 mg/kg 投与群にはいずれの検査項目にも NP0 投与の影響は認められなかった。

雌の剖検では、NP0 投与に関連した異常は観察されず、病理組織学検査においても、下垂体、胃、卵巣、子宮、頸部および膣のいずれにも、NP0 投与に起因した変化は認められなかった。

II. 出生児

1. 生存性および発育に関する所見

行動を含む一般状態には NP0 投与の影響は認められなかった。

生存性については、対照群との間に有意差は認められなかったが、160 mg/kg 投与群において出生率の低下傾向が認められ、新生児の 4 日の生存率が低下して、同腹生児数調整後のリッターサイズが減少した。しかし、性比および離乳率には NP0 投与の影響は認められなかった。

発育については、160 mg/kg 投与群において生後 21 日における雌の体重がやや低値を示し、雄にも同様の傾向が認められ、軽度の抑制が認められた。40 mg/kg 以下の投与群に発育抑制は認められなかった。

2. 形態観察所見

死亡児あるいは生存産児の剖検において、奇形および変異を含む形態変化が対照群を含む各群に散見された。しかし、形態異常を有する出生児の頻度には対照群との間で有意差は認められなかったことから、これらは自然発生によるものと判断された。

III. 評価

以上の試験成績から、本試験条件下では、NP0 の無作用量は、生殖に関しては、雄では 160 mg/kg/day であると結論される。雌および出生児では、新生児生存率が低下したことから 40 mg/kg/day と結論される。生殖以外の一般項目については、雄ではすべての NP0 投与群において投与後一過性の流涎が認められたことから、無作用量は求められなかった。雌では、自発運動の減少および流涎ならびに摂餌量の抑制が認められたことから、10 mg/kg/day と結論される。

【 緒 言 】

2-ナフトールは、芳香族炭化水素であり、合成ゴム工業における抗酸化剤の製造原料をはじめとして、医薬品、染料、香料などの原料として広く使用されている¹⁾。

2-ナフトールの毒性に関しては、経口投与による LD_{50} 値は、ラットでは1960 mg/kg であることが報告されている²⁾。また、ラットに対して、催眠作用あるいは痙攣誘発作用のあることが報告されている³⁾。

今回、OECD による既存化学物質の安全性点検に係わる毒性調査事業の一環として、OECD 化学物質試験法ガイドライン 415/一世代生殖毒性試験（昭和 58 年 5 月 26 日）、および「化学物質 GLP」（昭和 59 年 3 月 31 日、環保業第 39 号、薬発第 229 号、59 基局第 85 号、昭和 63 年 11 月 18 日改正、環企研第 233 号、衛生第 38 号、63 基局第 823 号）に準拠して 2-ナフトールの一世代生殖毒性試験を行い、同化合物の、親動物の分娩および泌乳を含む繁殖能力、ならびに出生児の離乳までの発育に及ぼす影響について検討したので報告する。

【試験材料および方法】

1. 被験物質

2-ナフトール (NP0 と略記、CAS No.: 135-19-3、分子式: $C_{10}H_8O$ 、構造式: 下図、分子量: 144.18、英名: 2-naphthol、融点: 121~123℃、沸点: 285~286℃) は、芳香族炭化水素に属する化学物質である。

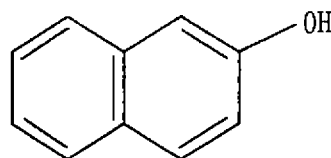


図. NP0 の構造式

本試験には、
から提供された NP0 (ロット番号:
純度: 99.6wt%、不純物として α -ナフトールを 0.3wt%含有する灰白色フレーク) を使用した。提供された NP0 は使用時まで室温保管した。本試験に使用した NP0 については、試験終了後に
において使用した NP0 を再度分析した。その結果、純度に変化は認められず、試験期間中安定であったことが確認された。

2. 使用動物および飼育条件

試験には、日本チャールス・リバー株式会社筑波飼育センター生産の Sprague-Dawley (SD)系(Crj:CD(SD)IGS,SPF)ラットを使用した。雄は3週齢で、また、雌は6週齢で購入し、入荷後6日間、検疫と馴化を兼ねて飼育し、その間毎日、一般状態を観察して異常が認められなかった動物を使用した。また、再交配用に同系統の8週齢の雌ラットを購入したが、再交配の必要は生じなかったため、試験には使用しなかった。動物の入荷、検疫ならびに群分け状況を、Table Aに示した。

各動物は、基準温湿度各 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 、および 50~65%、換気回数約 15 回/時間、照明 12 時間 (7 時~19 時点灯) に制御された飼育室 (13 号室) で、金属製金網床ケージ (220w × 270d × 190h mm) に個別に収容して飼育し、固型飼料 (CE-2、日本クレア株式会社) および飲料水 (水道水、秦野市水道局給水) を自由に摂取させた。妊娠 14 日 (膣栓あるいは精子発見日 = 妊娠 0 日) 以後の母動物は、プラスチック製ラット用繁殖ケージ (350w ×

400d×180h mm)に收容し、剖検日まで紙パルプ製チップ (ALPHA-dri、加商株式会社) を床敷として供給して飼育した。

試験期間中、秦野研究所中央温湿度監視装置により測定した飼育室の温度および相対湿度は、空調機の洗浄作業時 (1999年5月27日、9時~10時、湿度73%)を除き、それぞれ、23~25℃および47~69%であった。また、基準値からの逸脱も1時間以内に復し、試験に影響は及ぼさないものと判断された。使用した飼料、水および床敷についても試験に支障を来す可能性の考えられる混入物はなかった。

3. 群分けおよび個体識別

雄は投与開始前日の、雌は性周期観察開始前日の体重を基に体重別層化無作為抽出法に準じて群分けし、各群に雌雄各25匹を配した。群分け後、すべての雌雄は、尾に油性フェルトペンで個体識別番号を示す番号を記して個体を識別した。各飼育ケージには、試験計画番号および個体識別番号を記入した、群ごとに色の異なる動物カードを掛けて個体識別の補助とした。出生児については、生後21日に個体番号を示す番号を尾に記入して個体を識別した。

4. 投与検体の調製

投与検体は、各濃度毎に秤量したNP0に、媒体とした0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液 (英名: 0.5% sodium carboxymethyl cellulose solution、略称: CMC Na)を加えて攪拌することにより懸濁して、いずれの用量においても1回の投与液量が5mL/kg体重になるように含量を調製した。媒体として用いたCMC Naは、日局カルメロースナトリウム (丸石製薬株式会社、製造番号: 6Z09)を日局注射用水 (光製薬株式会社、製造番号: 9707SA)に溶解することにより調製した。

投与検体の安定性については、高速液体クロマトグラフ (分析カラム: Inertsil ODS-2 (4.6 mm i.d.×150 mm、粒子径 5μm、GLサイエンス)、移動相: 水/アセトニトリル (55:45)、流速: 1.0 mL/min、カラム温度: 40℃付近の一定温度、測定波長: 275 nm、試料注入量: 10 μL)によりNP0量を測定して確認した。その結果、1 mg/mLおよび50 mg/mL

の濃度の調製検体は、冷蔵および遮光条件下において8日間安定であることが確認されたので (Table B)、1週間に1回以上の頻度で投与検体を調製し、冷蔵および遮光保管して調製後7日以内に投与した。また、同様の方法を用いて試験期間中に調製検体の均一性試験 (1回) および含量測定 (2回) を実施した結果、十分に攪拌した調製検体には所定量の NP0 が均一に含まれていることが確認された (Tables C、D)。

5. 投与量、群構成、投与期間および投与方法

本試験の投与量は、NP0 のラットを用いる経口投与一世代生殖毒性試験 (投与量決定のための予備試験) (試験計画番号: R-98-014) の結果に基づいて決定した。すなわち、本試験と同系統のラット各群雌雄各5匹に、東京化成工業株式会社から購入した NP0 (ロット番号: FHH01) を CMC Na に懸濁して、0、40、120 あるいは 360 mg/kg を交配前2週間から反復投与して交配させた。これらの動物のうち、雌は妊娠 14 日に剖検して妊娠黄体数、着床数および胚の生存性を調べ、雄は 28 日反復投与翌日に剖検して精巣および前立腺重量を測定した。その結果、すべての NP0 投与群の雌雄に投与後一過性の流涎および自発運動の減少などが認められた。これらの症状を示す動物の頻度は、NP0 の用量に従って増加したが、症状の強さは用量とは無関係に認められ、120 mg/kg 投与群では、5 例中 1 例の雌が、頻呼吸、横臥位、痙攣、呼吸困難、耳介蒼白などを示した後死亡した。体重増加および摂餌量には明瞭な変化は認められなかったが、360 mg/kg 投与群の雄に胃辺縁部粘膜の肥厚および前胃粘膜の白濁化が観察された。しかし、いずれの投与群も、器官重量および繁殖成績には異常は認められなかったことから、若干の死亡は危惧されるものの、毒性変化が比較的高頻度に観察されることが期待される 160 mg/kg を高用量に設定し、以下公比 4 で減じて、中用量には 40 mg/kg を、低用量には 10 mg/kg を設定した。

以下に群構成を示す。

群番号	被験物質	投与量 (mg/kg)	匹数 (動物番号)	
			雄	雌
1	媒体対照 (CMC Na)	0	25 (MX01001-025)	25 (FB01001-025)
2	NP0	10	25 (MX02001-025)	25 (FB02001-025)
3	NP0	40	25 (MX03001-025)	25 (FB03001-025)
4	NP0	160	25 (MX04001-025)	25 (FB04001-025)

各用量の投与検体は、雄に対しては交配前 10 週間、交配期間（最長 3 週間）、交尾後、剖検前日まで連続 98 日間、また、雌に対しては交配前 2 週間、交配期間、妊娠期間、哺育 20 日（分娩日＝哺育 0 日）まで毎日 1 回、調製検体をマグネティックスターラーで絶えず攪拌しながらラット用胃管を用いて経口投与した。交尾後、分娩の認められなかった動物は、妊娠 24 日相当日まで同様に投与した。

毎日の投与は、一定時刻の間（11 時～15 時）に行い、各動物の投与液量（5 mL/kg）は、雄および交配前、交配期間中の雌では週 1 回測定される体重を基準とし、交尾後の雌では妊娠 0（陰栓あるいは精子発見日＝妊娠 0 日）、7、14、20 日の体重を、分娩後の雌では哺育 0、4、7、14 日の体重を基準にそれぞれ算出した。

6. 観察方法

1) 親動物

A. 一般状態の観察

雌雄とも、全例について飼育期間中毎日 1 回以上観察した。投与期間中の動物については、投与前および投与終了後に観察した。死亡例については発見後直ちに剖検した。

B. 体重測定

雄は全例について、週 1 回（投与 1、8、15、22、29、36、43、50、57、64、71、78、85、92 日）および剖検日に測定した。

雌は全例について、交尾を確認するまでは週 1 回（投与 1、8、15、22、29 日）、交尾確認後は、妊娠 0、7、14、20 日に、分娩後は哺育 0、4、7、14、21 日に測定した。これらのうち、投与 22 および 29 日については、交尾が確認されていない動物についてのみ測定したので評価の対象から除外した。

C. 摂餌量測定

雄は全例について、投与 2～3、9～10、16～17、23～24、30～31、37～38、44～45、51～52、58～59、65～66、71～72、79～80、86～87 日に測定した。これらのうち、投与 79～80 日および 86～87 日については、交配期間中に当たり、飼育条件が動物により異な

ったため、評価の対象から除外した。

雌は全例について、交配前期間は投与 2～3 日および 9～10 日、交尾確認後は、妊娠 0～7、7～14、14～20 日に、分娩後は哺育 0～4、4～7、7～14、14～21 日に測定した。

D. 性周期

全例について投与開始 2 週間前から交配開始後、交尾確認日まで、膣スメア標本を作製して観察し、細胞構成から、発情期、発情前期および発情休止期に分類した。さらに、投与開始前 2 週間および投与開始後 2 週間の各時期について、発情前期あるいは発情期が連続して認められ、発情を回帰しなかった動物は持続発情に分類し、発情休止期が連続して、発情期が認められなかったものは無発情に分類した。それ以外の動物については、投与開始前 2 週間および投与開始後 2 週間の各時期について、発情期（発情期像が連続した場合は、最終日）から次回発情期を回帰するまでの日数を各動物について数え、平均発情回帰日数を算出するとともに、4 日で発情を回帰した動物の性周期は、4 日周期に、5 日で発情を回帰した動物の性周期は、5 日周期に、4 および 5 日の間隔が混在して認められたものは、4 および 5 日周期に、それ以外は不正性周期に分類した。

E. 交配

交配は、雄は 10 週間投与後(投与 71 日)から、雌は 2 週間投与後(投与 15 日)から、交尾を確認するまで、3 週間を限度として同群内の雌雄 1 : 1 で連日同居させることによって行った。交尾の確認は、膣スメア中の精子の存在および膣栓の確認により行い、その日を妊娠 0 日と起算して雄から分離し、個別に飼育した。

交配結果から、各群について交尾率〔(交尾動物数/同居動物数)×100〕、受胎率〔(妊娠動物数/交尾動物数)×100〕、同居開始日から交尾確認日までの日数およびその間に回帰した発情期の回数を求めた。なお、交配前期間中の死亡により、交配開始時に 160 mg/kg 投与群において雄動物が 1 例不足したため、これと交配を予定していた雌動物については交配開始日を投与 17 日に延期して、同群内の既に交尾が確認されている雄動物と交配させた。

F. 分娩・哺育状態の観察

各群とも、交尾した雌は、全例を自然分娩させて哺育させた。

分娩の確認は、妊娠 20 日から妊娠 25 日までの 9～11 時に行い、膣からの出血あるいは受胎産物の娩出といった分娩徴候の有無を観察した。分娩の直接観察が可能な例については分娩状態を観察した。直接観察ができなかった例については、分娩完了後の一般状態から分娩困難の有無を判断して記録した。

分娩完了を確認した日を分娩日とし、それを哺育 0 日と規定して、分娩を確認した全例について、妊娠期間（妊娠 0 日～分娩日の日数）を算定し、出産率〔（生児出産雌数／妊娠動物数）×100〕を各群について求めた。また、哺育 1 日から毎日、哺育状態を観察した。

G. 剖検

イ. 雄動物

死亡動物は、胸腹部主要器官について異常の有無を肉眼的に確認し、下垂体、胃、精巣、精巣上体、凝固腺、精嚢、前立腺を含む胸腹部主要器官を摘出した。摘出した器官・組織のうち、精巣および精巣上体はブアン液で固定し（長期保存は 0.1M リン酸緩衝 10%ホルマリン溶液）、その他は 0.1M リン酸緩衝 10%ホルマリン溶液に固定して保存した。これらのうち、異常の認められた器官・組織、および下垂体、胃、精巣、精巣上体、凝固腺、精嚢および前立腺腹葉については、常法に従ってパラフィン切片とし、ヘマトキシリン－エオジン染色を行って病理組織標本作製し、検査した。

投与 98 日まで生存した動物は、その翌日に全例をペントバルビタールナトリウム麻酔下で放血・致死させて剖検した（定期解剖）。剖検では、胸腹部主要器官の異常の有無を肉眼的に確認し、異常が観察された組織は、0.1M リン酸緩衝 10%ホルマリン溶液で固定して保存した。また、下垂体、胃、精巣、精巣上体、凝固腺、精嚢、前立腺、ならびに死亡例で異常の観察された肝臓を摘出し、異常の有無を肉眼的に確認した後、精巣および精巣上体はブアン液で固定し（長期保存は 0.1M リン酸緩衝 10%ホルマリン溶液）、その他は 0.1M リン酸緩衝 10%ホルマリン溶液で固定して保存した。これらのうち、異常の認められた組織については常法に従ってパラフィン切片とし、ヘマトキシリン－エオジン染色を行って病理組織標本作製して検査した。また、全例について下垂体、肝臓、胃、精巣、

精巣上体、精嚢、前立腺腹葉および凝固腺の病理組織標本を作製し、肝臓については、肉眼的に異常の観察された動物について、その他の器官は対照群および高用量群の全例、ならびに中および低用量群において交尾した雌が妊娠しなかった例について検査した。さらに、高用量群の精巣および胃に対照群では認められなかった変化が観察されたため、精巣、精巣上体および胃については中および低用量群の残りの例についても追加観察した。

ロ．雌動物

分娩した例は哺育 21 日に、交尾したが分娩しなかった例は妊娠 25 日相当日に、致死量のペントバルビタールナトリウム麻酔下で、放血により致死させ剖検し、胸腹部主要器官の異常の有無を肉眼的に確認した。その際、異常が観察された組織は 0.1M リン酸緩衝 10%ホルマリン溶液で固定して保存した。また、子宮を摘出し、着床痕数を肉眼的に数えた後、0.1M リン酸緩衝 10%ホルマリン溶液で固定して保存した。この他に、下垂体、胃、卵巣、頸部、膈、ならびに雄の死亡例で異常の観察された肝臓を摘出し、異常の有無を肉眼的に確認した後、卵巣はブアン液で固定し（長期保存は 0.1M リン酸緩衝 10%ホルマリン溶液）、その他の器官・組織は 0.1M リン酸緩衝 10%ホルマリン溶液で固定して保存した。異常が観察された組織は常法に従ってパラフィン切片とし、ヘマトキシリン－エオジン染色を行って病理組織標本を作製し検査した。また、下垂体、胃、卵巣、子宮、頸部、膈は対照群および高用量群の全例、ならびにその他の投与群において不妊であった例について病理組織標本を作製して検査した。

2) 出生児

A. 産児数の算定

母動物の分娩完了を確認した日を生後 0 日とし、直ちに、雌雄別に産児数（生存児＋死亡児）を調べ、生存児について外表奇形の有無を観察した。

B. 一般状態および死亡児数の算定

毎日、死亡児数を数え、死亡児は直ちに剖検した。生存児については、生後 1 日から行動および身体的異常の有無を含む一般状態を毎日観察した。

C. 同腹生児数の調整

生後4日に同腹生児数を8匹（原則として雌雄各4匹）に調整した。同腹生児数が8匹に満たない場合は調整しなかった。

D. 体重測定

生後0、4、7、14 および 21 日に個体別に測定し、各腹ごとに雌雄別の平均値を算出した。

E. 性比および生存率の算定

母動物の剖検時に数えられた着床痕数ならびに分娩観察において数えられた産児数および生存児数（出産生児数）に基づき、分娩率〔（産児数／着床痕数）×100〕、生児出産率〔（出産生児数／着床痕数）×100〕および出生率〔（出産生児数／産児数）×100〕を算定した。また、生後0日における性比〔（雄の生児数／生児数）×100〕を求めた。生後4日の同腹出生児数の調整に際しては、調整前の生児数を基に、新生児の4日の生存率〔（生後4日同腹生児数調整前の生児数／生後0日の生児数）×100〕を算出し、生後4日における性比〔（雄の生児数／生児数）×100〕を求めた。さらに、同腹出生児数の調整後の生児数および生後21日における生児数を基に、離乳率〔（生後21日の生児数／生後4日同腹生児数調整後の生児数）×100〕を算定した。

F. 剖検

死亡児は、外表異常の有無を観察して剖検し、10%ホルマリン液に固定して保存した。生後0日の死亡児については肺を摘出して生理食塩液に浮遊させ、浮遊しなかった例を死産と判定した。大きな損傷あるいは、浸軟化が認められた死亡児については、固定および保存のみを行った。

同腹生児数の調整により生じた余剰児は、エーテルを吸入させて致死させた後、剖検し、10%ホルマリン液に固定して保存した。

生存児は、全例を生後21日にエーテル吸入により致死させて剖検した。その際、異常が認められた器官は0.1Mリン酸緩衝10%ホルマリン溶液に固定して保存した。

7. 統計解析

性周期の型別頻度、交尾率、受胎率、出生児の形態異常出現頻度については Fisher の

直接確率検定⁴⁾を行った。病理組織学検査所見では、グレード分けしたデータは、Mann-Whitney のU検定⁵⁾により、陽性グレードの合計値は Fisher の直接確率片側検定⁶⁾により対照群と NP0 各投与群との間の有意差検定を行った。その他のデータは、個体ごとに得られた値、あるいは litter ごとの平均値を1標本として、先ず Bartlett 法⁷⁾により各群の分散の一意性について検定を行った。分散が一意である場合には、一元配置型の分散分析⁷⁾を行い、群間に有意性が認められる場合は、Dunnett 法⁸⁾により多重比較を行った。一方、いずれかの群で分散が0となる場合および分散が一意でない場合には、Kruskal-Wallis⁹⁾の順位検定を行い、群間に有意性が認められる場合には、Dunnett 型⁸⁾の検定法により多重比較を行った。

【 結 果 】

I. 親動物

1. 一般状態

1) 雄 (Table 1; Appendices 1-1~1-4)

160 mg/kg 投与群の1例(動物番号: MX04005)が投与 60 日に死亡した。本例の生存時には、同群内の他の動物と同様に自発運動減少および流涎が投与後一過性に認められた他に異常は観察されなかった。剖検では、食道の肺門部付近に穿孔および出血痕が認められたことから、本例は、投与中の誤操作による死亡であると判断された。本例については、投与操作の誤りに起因して生じたと判断される病変以外を評価の対象とした。

生存例では、NP0 各投与群に流涎が認められた。10 mg/kg 投与群では、流涎は投与初期の1例に1回だけ観察された。しかし、40 mg/kg 以上の投与群では例数および頻度も増加し、160 mg/kg 投与群ではほぼ全例に、投与全期間に亘って観察された。この他、投与後一過性に観察された変化としては、40 mg/kg 以上の投与群に、自発運動の減少、眼瞼下垂あるいは閉眼、および鼻汁が、160 mg/kg 投与群に流涙が、それぞれ認められた。160 mg/kg 投与群では、糞便の小型化あるいは黒色軟便の排泄も1例ずつ一時的に認められた。NP0 の用量とは関連なく観察された変化としては、40 mg/kg 投与群を除く各群に脱毛が、また、10 mg/kg および 40 mg/kg 投与群に痂皮形成が観察された。これらの所見の他に、40 mg/kg 投与群の1例に上切歯の破損が一時的に認められ、他の1例に上顎の位置異常が投与 91 日から剖検に至るまで認められた。

2) 雌 (Table 2; Appendices 2-1~2-4)

いずれの投与群の動物にも死亡および瀕死屠殺例はなかった。

投与に関連した所見としては、40 mg/kg 以上の投与群に自発運動の減少および流涎が投与後一過性に観察された。これらの変化は、40 mg/kg 投与群では投与初期のみに認められたが、160 mg/kg 投与群では哺育期間も含む全期間に亘り観察され、その頻度も NP0 の用量に依存して増加した。また、40 mg/kg 投与群では鼻汁が、160 mg/kg 投与群では、寄りかか

りや腹臥位も、それぞれ投与初期に観察された。160 mg/kg 投与群には認められなかったが、40 mg/kg 投与群の投与初期に鼻汁が投与後一過性に観察された。これらの所見の他に、分娩後に観察された変化としては、40 mg/kg 投与群の哺育6～7日に消瘦が1例認められた。また、分娩日に全産児が死亡した160 mg/kg 投与群の1例では、その日に異常呼吸音および外陰部の被毛汚染が認められ、その後、被毛汚染は腹部にまで及び、消瘦も認められたが、回復した。NP0 の用量とは関連なく観察された所見としては、脱毛が全ての投与群に少数例ずつ認められ、会陰部の裂傷が、交配を開始した40 mg/kg 投与群の1例に認められた。

2. 体重

1) 雄 (Figure 1; Tables 3～5; Appendices 3-1～5-4)

体重、増加量および累積増加量のいずれにも対照群と NP0 各投与群の間に有意差は認められなかった。

2) 雌 (Figure 2; Tables 6～8; Appendices 6-1～8-4)

交配前および妊娠期の体重、増加量および累積増加量については対照群と NP0 各投与群との間に有意差は認められなかった。分娩後は、160 mg/kg 投与群において、哺育4日までの増加量がやや低値を示したが、対照群との間に有意差は認められなかった。40 mg/kg 以下の投与群については、体重、増加量および累積増加量のいずれも対照群と同様に推移した。

3. 摂餌量

1) 雄 (Figure 3; Table 9; Appendices 9-1～9-4)

対照群と NP0 各投与群との間に有意差は認められなかった。

2) 雌 (Figure 4; Table 10; Appendices 10-1～10-4)

交配前の期間については、対照群と NP0 各投与群との間に有意差は認められなかった。妊娠期は、40 mg/kg 以上の投与群において、妊娠0～7日の値が、また、哺育期は、160

mg/kg 投与群において哺育 4～21 日の間における各期間の値が、それぞれ対照群と比較して有意 ($p<0.05$ 、 $p<0.01$) に低い値を示した。これらの他に、10 mg/kg 投与群において哺育 14～21 日の値が対照群と比較して有意 ($p<0.05$) に低い値を示した。

4. 性周期 (Table 11; Appendices 11-1～11-4)

投与開始前の 2 週間に亘る性周期観察では、40 mg/kg 投与群の 1 例が不正な周期を示した。また、160 mg/kg 投与群の 1 例は、2 日連続した発情休止期を示した他には発情前期あるいは発情期を示し、持続発情となった。これらの他には、いずれの投与群の動物も、正常周期に分類される 4 日あるいは 5 日周期、およびこれらが混在した 4 および 5 日周期を示し、性周期の型別頻度および平均発情回帰日数のいずれにも対照群と NP0 各投与群との間で有意差は認められなかった。

投与開始後に性周期の変化した動物が対照群を含む各群に認められた。これらのうち、対照群および 160 mg/kg 投与群の各 1 例が不正な周期に変化した。また、160 mg/kg 投与群では、休止期が連続して、無発情となった動物が 1 例認められた。しかし、投与開始後に性周期が変化した動物の頻度ならびに平均発情回帰日数には、対照群と NP0 各投与群との間で有意差は認められなかった。

5. 交配成績 (Table 12; Appendices 12-1～12-4)

全例が交尾したが、雌が妊娠しなかったため妊孕性の確認されなかった雌雄が、10 mg/kg 投与群に各 1 例 (動物番号: MX02010、FB02010)、40 mg/kg 投与群に各 2 例 (動物番号: MX03005、MX03012、FB03005、FB03012)、ならびに 160 mg/kg 投与群に各 2 例 (動物番号: MX04009、MX04014、FB04009、FB04014) 認められた。しかし、受胎率、同居開始から交尾までに要した日数およびその間に回帰した発情期の回数には対照群と NP0 各投与群との間で有意差は認められなかった。

6. 分娩および哺育所見 (Tables 2, 17; Appendices 2-1～2-4、17-1～17-4)

分娩状態については、40 mg/kg および 160 mg/kg 投与群の各 1 例 (動物番号: FB03014

および FB04020) に異常が認められた。これらは、いずれも分娩が完了しているにもかかわらず、腔周囲被毛の血様汚染、あるいは、腔口からの出血が認められたもので、40 mg/kg 投与群の例は、児を集めず、160 mg/kg 投与群の例は分娩確認時に全産児が死亡していた。その他の動物の分娩状態に異常は認められず、出産率および妊娠期間には、対照群と NP0 各投与群の間で有意差は認められなかった。

哺育状態については、生存産児の形態観察（後述）から、10 mg/kg 投与群および 160 mg/kg 投与群の各 1 例（動物番号：FB02007 および FB04005）は、生存児に対して外傷を与えたものと判断された。また、160 mg/kg 投与群の 1 例（動物番号：FB04021）は、生後 1 日に児を集めるといった哺育行動が認められなくなり、翌日全出生児が死亡した。その他の動物に異常は認められなかった。

7. 病理検査所見

1) 雄

(1) 剖検所見 (Table 13; Appendices 13-1~13-4)

160 mg/kg 投与群の死亡例には肝臓の腫大が観察された。

定期解剖例では、NP0 投与に関連して観察された変化として、40 mg/kg および 160 mg/kg 投与群の各 1 例に前胃粘膜の肥厚領域が観察され、160 mg/kg 投与群の 2 例には肝臓に腫大が観察された。NP0 の用量とは関連なく観察された変化としては、対照群では、腎臓の片側性小型化および腎盂の片側性拡張が各 1 例に認められた。40 mg/kg 投与群では、肝臓の淡色化を伴う分葉異常、腎臓の両側性小型化および淡色化、脾臓の淡色化を伴う腫大、副腎の腫大、ならびに脳、肺および大腿骨骨髓の淡色化が 1 例に認められ、肝臓の暗色化あるいは腎盂の片側性拡張が各 1 例に認められた。腎盂の片側性拡張は、160 mg/kg 投与群にも 1 例観察された。生殖器官には NP0 の用量に依存した変化は認められず、10 mg/kg 投与群では 1 例（妊孕性確認例）に精巣および精巣上体の片側性の小型化が観察された。40 mg/kg 投与群では、精巣および精巣上体の両側性の小型化が 2 例に観察されたが、妊孕性が確認されなかったのは、これらのうちの 1 例のみであった。また、40 mg/kg 投与群では、これらとは別の 1 例（妊孕性確認例）に精巣、精巣上体、前立腺および精囊の淡

色化、ならびに精巣上体の両側性小型化が観察されたが、160 mg/kg 投与群の生殖器官に異常は認められなかった。

(2) 病理組織学所見 (Table 14; Appendices 14-1~14-4)

160 mg/kg 投与群の死亡例には、定期解剖例にも観察された前胃粘膜扁平上皮の過形成ならびに前立腺腹葉間質におけるリンパ球浸潤ならびに上皮および管腔への好中球浸潤が観察された。

定期解剖例の各器官および組織に認められた所見を以下に示す。

(下垂体)

異常は観察されなかった。

(精巣および精巣上体)

妊孕性が確認されなかった例については、40 mg/kg および 160 mg/kg 投与群の各 1 例に、精子形成サイクルにおける第 14 期の段階にある精細管に局限して精母細胞の軽度な変性が観察され、40 mg/kg 投与群の例には精巣上体の管腔内には細胞残屑が観察された。その他の例に異常は観察されなかった。

妊孕性が確認された例についても、第 14 期の段階にある精細管に局限した精細胞の変性(Photos 1、2)が NP0 各投与群に少数例ずつ観察され、これらの例の多くに精巣上体の管腔内に細胞残屑が観察された。しかし、これらの所見については、対照群と NP0 各投与群との間に有意差は認められなかった。この他、片側性の精細管萎縮が対照群を含む各群に認められ、他の例と比較して多くの精細管に萎縮が認められた 10 mg/kg 投与群の 1 例の精巣には、間質に水腫およびライディッヒ細胞の過形成も認められ、精細管には多核巨細胞が認められた他、精巣上体にみられる精子は少なく、管腔内には細胞残屑が観察された。

(精囊)

異常は観察されなかった。

(前立腺腹葉)

妊孕性が確認されなかった例については、160 mg/kg 投与群の 2 例中 1 例の間質に軽度なリンパ球浸潤が観察されたが、その他の投与群の例に異常は認められなかった。

妊孕性が確認された例においても、対照群および 160 mg/kg 投与群の間質にリンパ球浸潤が観察され、浸潤の程度が強かった例では、上皮および管腔内への好中球浸潤も観察された。

(凝固腺)

異常は観察されなかった。

(胃)

40 mg/kg 以上の投与群の前胃粘膜に扁平上皮の過形成が認められ、160 mg/kg 投与群では、対照群と比較して頻度および程度ともに対照群との間に有意差 ($p<0.01$) が認められた (Photos 3、4)。

(剖検時異常器官)

対照群では、片側性小型化の観察された腎臓については、皮質には好塩基性の尿細管が認められ、皮質および髄質には円柱が認められた。また、腎盂の片側性拡張が観察された腎臓については eosinophilic body が認められた。

40 mg/kg 投与群では、暗色化の認められた肝臓に異常は観察されなかった。肝臓の淡色化を伴う分葉異常、腎臓の両側性小型化および淡色化、脾臓の淡色化を伴う腫大、副腎の腫大、ならびに脳、肺および大腿骨骨髓の淡色化が認められた例では、肝臓に限局性壊死および肝細胞の単一細胞壊死および髄外造血が認められたが、脾臓には赤血球の髄外造血以外に、顆粒球産生の顕著な亢進が認められ、骨髓でも顆粒球産生の亢進が認められた。また、この例の肺には泡沫細胞の集簇、動脈および毛細血管の瀰漫性の好中球浸潤が認められ、腎皮質には好塩基性尿細管が観察されたが、脳および副腎に異常は認められなかった。腎盂の拡張が観察された例の腎臓にはその他の所見は認められなかった。

160 mg/kg 投与群では、腫大が認められた例の肝臓に異常は観察されなかった。片側の腎盂に拡張が観察された例の腎臓については、皮質に好塩基性尿細管も観察された。

2) 雌

(1) 剖検所見 (Table 15; Appendices 15-1~15-4)

160 mg/kg 投与群の 1 例に肝臓の横隔膜結節が観察され、10 mg/kg 投与群に 1 例および

160 mg/kg 投与群に2例、四肢あるいは胸腹部に脱毛が観察された他に、いずれの動物にも異常は観察されなかった。

(2) 病理組織学所見 (Table 16; Appendices 16-1~16-4)

対照群の1例の子宮角筋層の血管に、鉍質沈着を伴う限局性の栓塞が認められた他に、対照群および160 mg/kg 投与群、ならびにその他の投与群において不妊であった例の下垂体、胃、卵巣、子宮、頸部および腔に異常は観察されなかった。また、剖検時に横隔膜結節が観察された160 mg/kg 投与群の肝臓に異常は観察されなかったが、脱毛の観察された10 mg/kg および160 mg/kg 投与群の皮膚には毛胞の限局性の減少が観察された。

(3) 着床数 (Table 17; Appendices 17-1~17-4)

着床数に対照群とNP0各投与群の間で有意差は認められなかった。

II. 出生児

1. 一般状態および生存性 (Table 17; Appendices 17-1~17-4)

一般状態については、10 mg/kg 投与群の1腹（母動物番号：FB02007）の1例に、咬傷による左前肢の欠損が生後1日に認められた。160 mg/kg 投与群では、1腹（母動物番号：FB04005）の1例に腹部の創傷が生後1日に認められ、1腹（母動物番号：FB04018）の3例の両前肢、左前肢、あるいは下顎から下腹部の皮膚が皮下組織から剥離するといった皮膚の異常が生後1日に観察された。また、母動物が哺育行動を示さなかった160 mg/kg 投与群の1腹（母動物番号：FB04021）では、生後1日の全生存児にミルクスポットが認められなくなり、翌日全例が死亡した。

生存性については、出生日に発見された死亡児は、対照群および10 mg/kg 投与群ではそれぞれ、4および2例全例が死産と判定された。また、40 mg/kg 投与群では6例中3例、160 mg/kg 投与群では27例中22例が死産と判定された。これら死産児の頻度については、対照群とNP0各投与群との間で有意差は認められなかった。また、40 mg/kg までの投与群については、産児数、分娩率、出生日ならびに生後4および21日における生存児数、生児出産率、出生率、新生児の4日の生存率のいずれも、対照群と同様の値を示した。しかし、160 mg/kg 投与群については、出生日から生後4日までの間に死亡する産児が若干増

加し、対照群との間に有意差は認められなかったが、出産生児数および生後4日の生児数が減少し、生児出産率および出生率が低値の傾向を示した。さらに、新生児の4日の生存率については対照群との間に有意差 ($p<0.05$) が認められ、同腹生児数を調整しても、リッターサイズは対照群と比較して有意 ($p<0.05$) な低値を示した。しかし、各時期の性比および離乳率については対照群と NP0 各投与群との間で著差は認められなかった。

2. 体重 (Table 18; Appendices 18-1~18-4)

雄については、いずれの時期も対照群と NP0 各投与群との間に有意差は認められなかった。

雌については、10 mg/kg および 160 mg/kg 投与群において、生後 21 日における体重が対照群と比較して有意 ($p<0.05$) に低い値を示した。40 mg/kg 投与群についてはいずれの時期も対照群との間に有意差は認められなかった。

3. 形態観察所見 (Table 19)

生存産児の形態観察では、10 mg/kg 投与群の1腹 (母動物番号: FB02007) に矮小個体が1例認められた (表には示さず)。

出生児の剖検では、対照群を含む各群の各1~2腹の出生児に奇形および変異を含む形態変化が観察された。外表の変化としては、対照群の1腹 (母動物番号: FB01021) に小眼が、10 mg/kg 投与群の1腹 (母動物番号: FB02005) に軽度な皮下血腫が、160 mg/kg 投与群の1腹 (母動物番号: FB04018) に皮膚が剥離して下垂しているのが観察された。これらのうち、奇形に分類されたのは、対照群の小眼のみであった。内臓の変化としては、内臓変異のひとつである腎盂の拡張が、10 mg/kg および 40 mg/kg 投与群の各1腹 (母動物番号: FB02020 および FB03013) に観察された。剖検した出生児についてこれらの形態変化を認めた出生児の総数を求め、その頻度を比較した結果、外表に関しても内臓に関しても対照群と NP0 各投与群との間で有意差は認められなかった。

【 考 察 】

1. 親動物

一般状態の変化として、40 mg/kg 以上の投与群の雌雄に、流涎および自発運動の減少が認められた。また、これらの動物のうち、160 mg/kg 投与群の雌以外の動物には鼻汁も認められた。さらに、閉眼あるいは眼瞼下垂および流涙が40 mg/kg 投与群の雌雄いずれか、あるいは 160 mg/kg 投与群の雌雄に認められた。これらはいずれも投与後に認められ、あるいは NP0 の用量に依存して頻度が増加したことから、NP0 投与に起因した変化であると考えられる。また、160 mg/kg 投与群の雌には寄りかかりおよび腹臥位も認められた。これらも投与後一過性に認められたことから、自発運動の減少などとともに、NP0 で報告されている催眠作用³⁾に関連した変化であると考えられる。10 mg/kg 投与群の雄においても流涎が観察された。投与後に観察されたことから、NP0 投与による影響であると推測されるが、1例に1回のみ認められた変化であり、40 mg/kg 以上の投与群に認められたような全身状態の変化も観察されなかったことから、毒性変化であるとは判断されなかった。その他の所見については、NP0 の用量とは無関係に認められたこと、あるいは、1例のみの一時的な所見であったことから、偶発的变化であると判断される。

体重増加および摂餌量については、雄では NP0 投与の影響は認められなかった。しかし雌については、妊娠初期あるいは哺育期間中の摂餌量が 40 mg/kg 以上の投与群において低下し、さらに 160 mg/kg 投与群では、哺育初期の体重増加も若干抑制を受けた。雌では、10 mg/kg 投与群の哺育 14～21 日の摂餌量にも対照群との間に有意差が認められたが、哺育期における 40 mg/kg 投与群の摂餌量には抑制は認められなかったことから、これについては偶発的变化であると判断された。

生殖器官の病理学検査では、NP0 各投与群の雄の精巣に、第14期の精子形成段階にある精細管に局限して精母細胞の変性が認められた。しかし、これは本試験に用いた系統で自然発生性に認められる変化であり、本試験では発生頻度も低かったことから自然発生性である可能性が高い。雌の生殖器官については NP0 の用量に依存した変化は認められなかった。また、妊孕性の確認されなかった雌雄の生殖器官には、その原因と推測される所見

は認められなかった。生殖器官以外の病理学検査では、予備試験において認められた胃辺縁部の粘膜肥厚と同一の所見である前胃粘膜の肥厚領域が、各 1 例ではあったが 40 mg/kg および 160 mg/kg 投与群の雄動物に観察され、病理組織学検査においても 40 mg/kg 以上の投与群の雄に前胃粘膜扁平上皮の過形成が観察された。NP0 には刺激性のあること¹⁰⁾から、雄では、40 mg/kg 以上の投与量により胃粘膜が長期に亘り刺激されて、前胃粘膜扁平上皮に過形成が生じたものと考えられる。40 mg/kg 投与群および 160 mg/kg 投与群の少数例に肝臓の腫大が観察されたが、関連した組織変化は観察されなかったことから、NP0 投与による影響ではないと判断された。その他の所見には NP0 投与の影響は認められなかった。雌については、いずれの組織にも NP0 投与の影響は認められなかった。

生殖能力に関しては性周期および交配成績に NP0 投与の影響は認められなかった。出産率、妊娠期間および着床数にも NP0 投与の影響は認められなかったが、分娩状態が不良であった例が 40 mg/kg および 160 mg/kg 投与群に 1 例ずつ認められた。これらのうち、40 mg/kg 投与群の例は、回復して哺育状態に異常は認められなかったが、160 mg/kg 投与群では全産児が死亡していた。また、160 mg/kg 投与群では、哺育 4 日までに新生児が死亡する例が多かった。160 mg/kg 投与群では、分娩および哺育期間中にも投与後一過性の流産が認められていること、哺育期間中に摂餌量の抑制が認められ、哺育初期には体重増加抑制の傾向も認められたことから、NP0 は母動物の全身状態に影響を及ぼし、死亡する出生児がやや増加したものと推測される。これらのことから、NP0 の生殖能力に対する無作用量は、雄では 160 mg/kg であり、雌では 40 mg/kg であると推定される。

2. 出生児

行動を含む一般状態については、160 mg/kg 投与群において生後 1 日に皮膚の異常が認められた。同腹の死亡児にも同様の所見が認められているが、本例以外の腹には観察されなかった。皮膚の異常の原因については不明であるが、NP0 が皮膚に付着すると皮膚が剥離すること¹¹⁾が報告されていることから、母動物に投与された NP0 が哺育中の児に付着して皮膚に障害を与えた可能性も考えられる。その他の所見については、母動物から受けた外傷あるいは母動物の哺育行動の欠如に起因した変化である。

生存性については、前述のように 160 mg/kg 投与群において死亡する動物がやや増加した。生存性を示す各種の指標のうち、特に、新生児期における死亡が増加する傾向を示した。出生時の体重は対照群と同等であったことから子宮内における発育抑制はなかったものと考えられる。また、新生児期の発育不良も認められなかった。形態に関しても、形態の変化は NP0 の用量とは無関係に認められており、変化の認められた児の出現頻度にも対照群と NP0 各投与群との間で有意差は認められなかったことから、NP0 は出生児の形態に影響を及ぼしていないものと考えられる。これらのことから、新生児期における死亡の若干の増加は、NP0 の出生児に対する直接的影響の可能性も考えられるが、母動物の哺育活動が生存にとって必須である新生児期に、NP0 投与によって母動物に自発運動の減少などの軽度な催眠作用が現れて母性行動が若干抑制されたことによる変化であると推測される。

10 mg/kg および160 mg/kg 投与群において、生後21日における雌の出生児体重がやや低い値を示した。40 mg/kg 投与群の体重については対照群との間に有意差が認められなかったことから、10 mg/kg 投与群については、出生時の体重が若干低かったことなどによる偶発的变化であると判断された。一方、160 mg/kg 投与群については、出生日における体重は対照群と同様であったこと、各腹ごとの出生児の生存性と生後21日における体重について、特に関連性が認められなかったことから、成長の抑制があったものと推測された。雄については、いずれの時期も対照群との間に有意差は認められなかった。しかし、雌と同様に生後21日の体重が若干低値を示していた。さらに、NP0 と構造の類似した2-ヒドロキシ-3-ナフトエ酸の一世代生殖毒性試験⁽¹⁾においても、出生児の体重増加抑制が認められている。これらのことから、160 mg/kg の NP0 は出生児の発育を若干抑制するものと考えられた。

3. 無作用量

以上の試験成績から、本試験条件下では、NP0 の無作用量は、生殖に関しては、雄では 160 mg/kg/day であると結論される。雌および出生児では、新生児生存率が低下したことから 40 mg/kg/day と結論される。生殖以外の一般項目については、雄ではすべての NP0 投与群において投与後一過性の流涎が認められたことから、無作用量は求められなかった。

雌では、自発運動の減少および流涎ならびに摂餌量の抑制が認められたことから、10 mg/kg/day と結論される。

【文 献】

- 1) 6304. 2-Naphtol. In "The Merck Index, an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals, 11th eds. (Budavari, S., O'Neil, M.J., eds.)", pp.1010, Merck & Co., Inc., Rahway (1989).
- 2) Labor Hygiene and Occupational Pathology in the Estonian SSR, 8: 145 (1972).
- 3) Risi, A.: Naunyn-Schmiedeberg's Archiv fuer Experimentelle Pathologie und Pharmakologie, 186: 195-205 (1937).
- 4) 吉村 功：毒性・薬効データの統計解析（吉村 功編）、サイエンティスト社、東京（1977）。
- 5) 丹後俊郎：医学への統計学（古川俊之 監修）、朝倉書店、東京（1985）。
- 6) 石居 進：生物統計学入門、培風館、東京（1992）。
- 7) 佐久間昭：薬効評価－計画と解析、東京大学出版会、東京（1977）。
- 8) Dunnett, C. W.: New tables for multiple comparisons with a control. Biometrics, 20: 482-491 (1964).
- 9) Kruskal, W. H., Wallis, W. A.: Use of ranks in one-criterion variance analysis. J. Amer. Statist. Assoc., 47: 583-621 (1952).
- 10) BIOFAX Industrial Bio-Test Laboratories, Inc., Data Sheets, 26-4 (1973).
- 11) :「2-ヒドロキシ-3-ナフトエ酸のラットを用いる経口投与一世代生殖毒性試験」試験報告書草案（食薬セ研第10-1636号）。

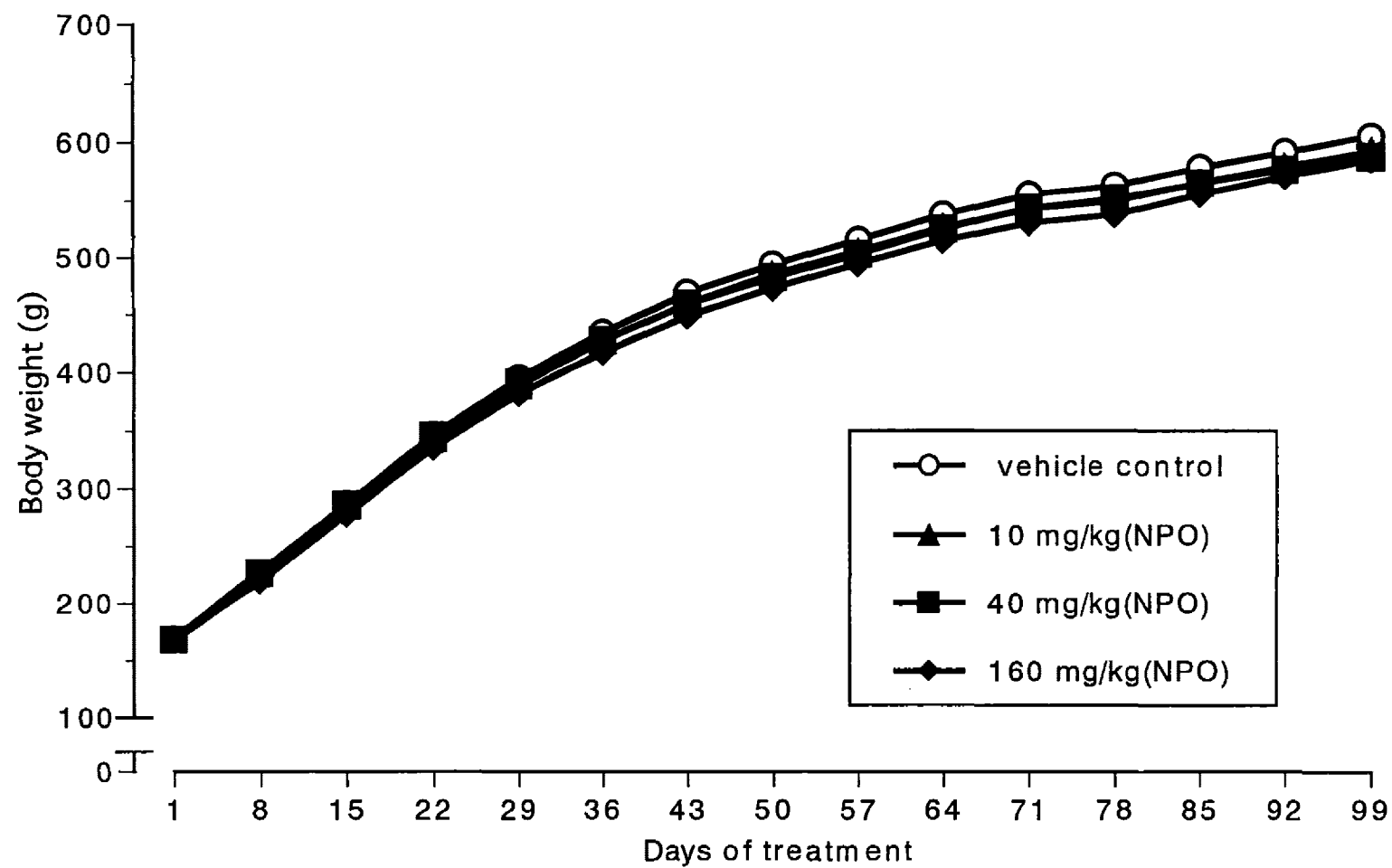


Figure 1 Body weight of males

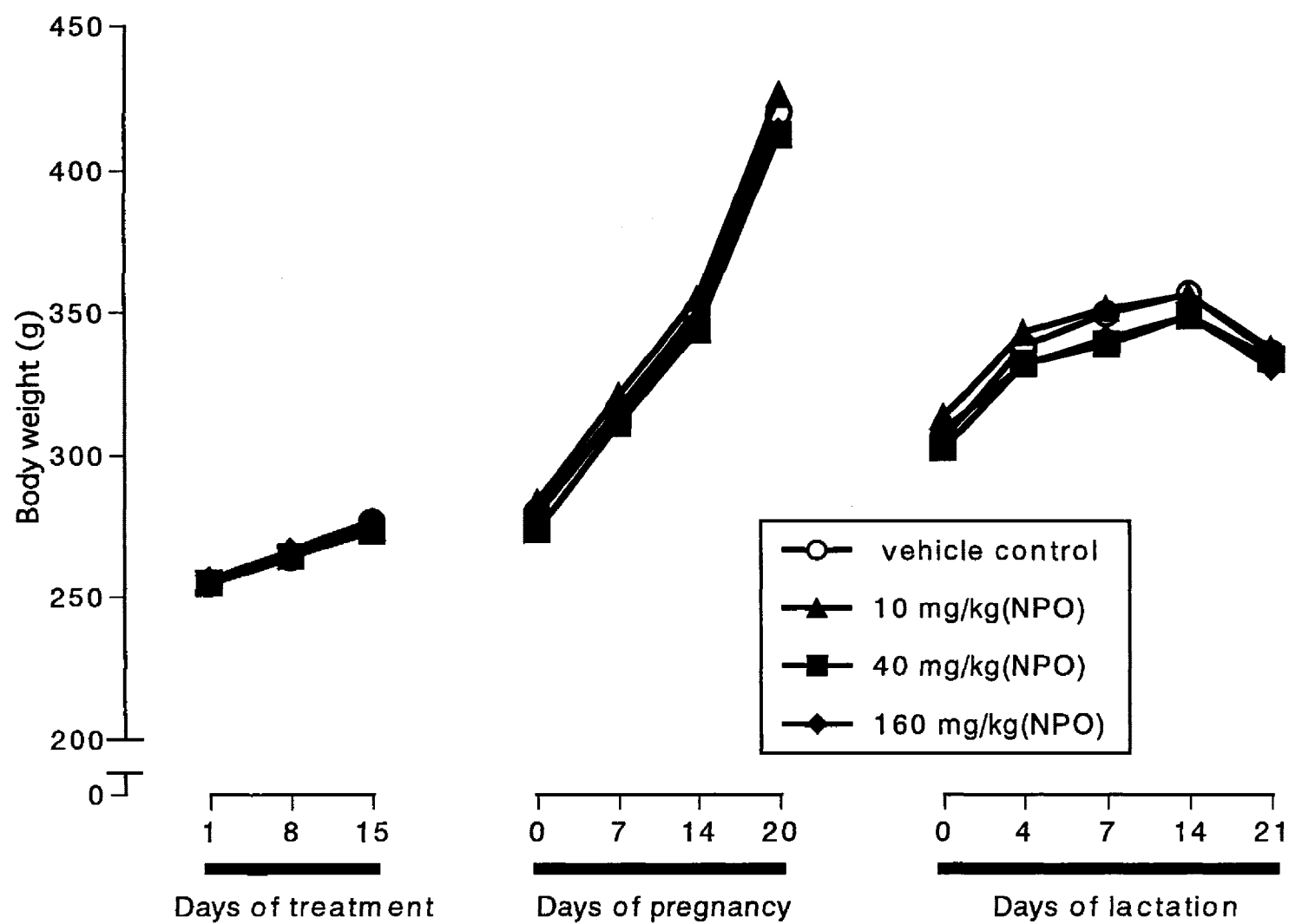


Figure 2 Body weight of females

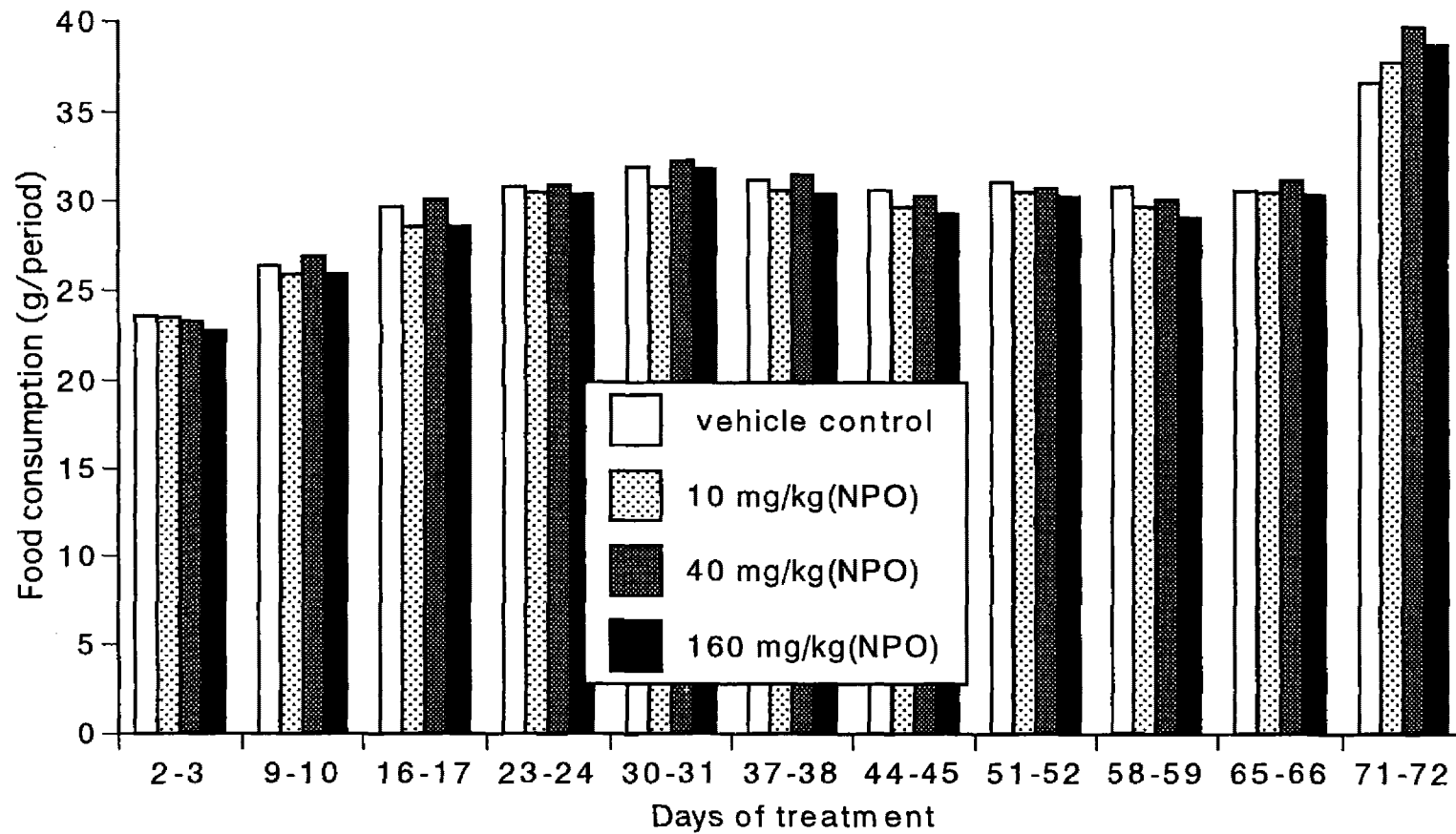


Figure 3 Food consumption of males

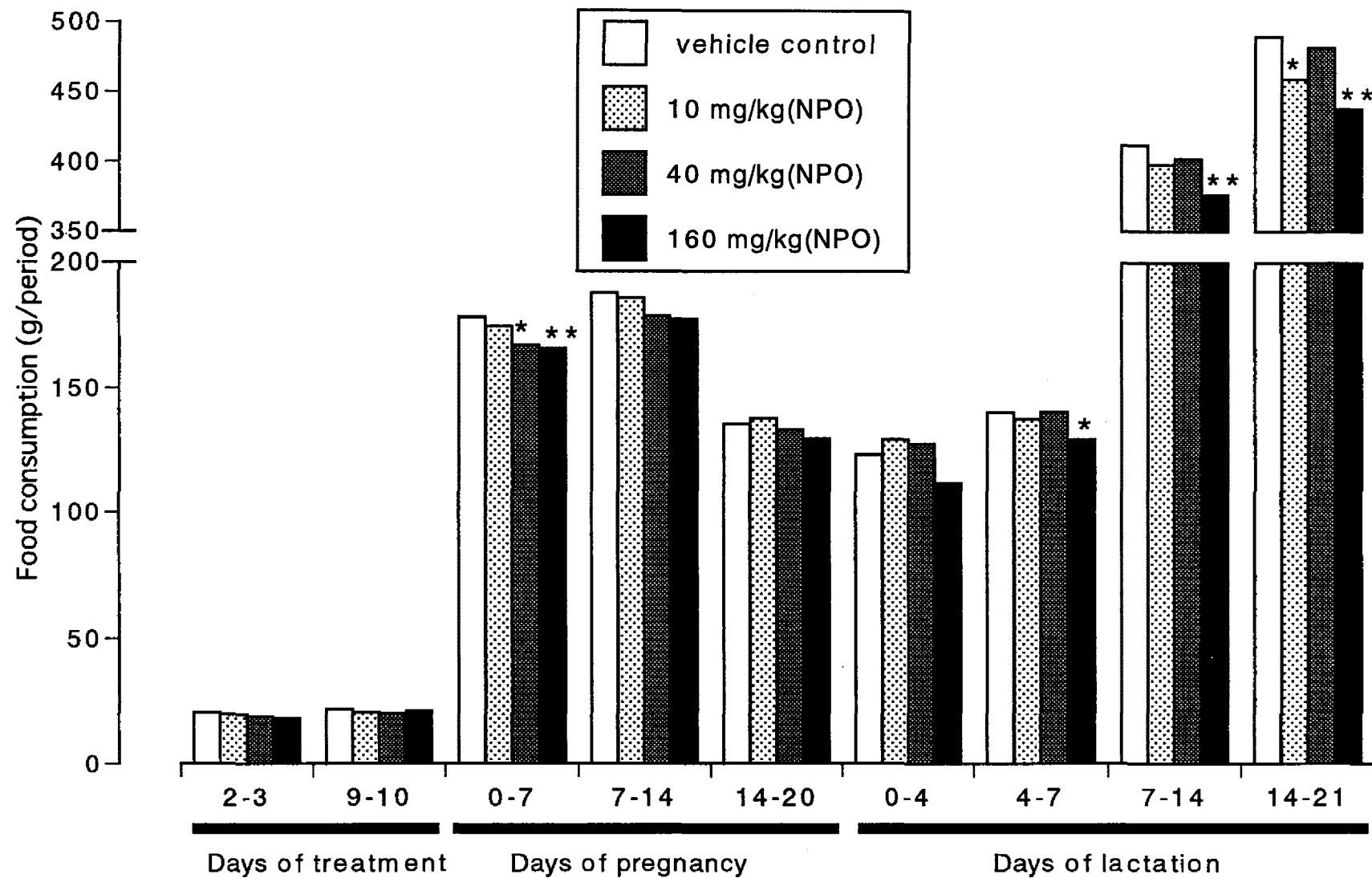


Figure 4 Food consumption of females

* :significant difference from control, $p < 0.05$

** :significant difference from control, $p < 0.01$

【TABLE INDEX】

NPO: One-generation reproduction toxicity study in rats

TABLE No.	APPENDIX No.	TABLE TITLE
A		動物の使用状況
B		Stability of the test article in the prepared sample
C		Uniformity of the test article in the prepared sample
D		Content of the test article in the prepared sample
1	1-1 ~ 1-4	Summary of clinical signs of F ₀ males
2	2-1 ~ 2-4	Summary of clinical signs and maternal condition of F ₀ females
3	3-1 ~ 3-4	Body weight of F ₀ males
4	4-1 ~ 4-4	Body weight gain of F ₀ males
5	5-1 ~ 5-4	Cumulative body weight gain of F ₀ males
6	6-1 ~ 6-4	Body weight of F ₀ females
7	7-1 ~ 7-4	Body weight gain of F ₀ females
8	8-1 ~ 8-4	Cumulative body weight gain of F ₀ females
9	9-1 ~ 9-4	Food consumption of F ₀ males
10	10-1 ~ 10-4	Food consumption of F ₀ females
11	11-1 ~ 11-4	Estrous cycle
12	12-1 ~ 12-4	Reproductive performance
13	13-1 ~ 13-4	Summary of macroscopic findings in F ₀ males at the end of the dosing period
13-D		Summary of macroscopic findings in F ₀ males died during the the dosing period
14	14-1 ~ 14-4	Summary of histopathological findings in F ₀ males at the end of the dosing period
14-D		Summary of histopathological findings in F ₀ males died during the the dosing period
15	15-1 ~ 15-4	Summary of macroscopic findings in F ₀ females
16	16-1 ~ 16-4	Summary of histopathological findings in F ₀ females
17	17-1 ~ 17-4	Development of F ₁ pups up to day 21 after birth
18	18-1 ~ 18-4	Body weight of F ₁ pups up to day 21 after birth
19		Morphological findings of F ₁ offspring

Table 1

NPO: One-generation reproduction toxicity study in rats

Summary of clinical signs of F₀ males

Compound Dose group (mg/kg)	N P O			
	0 ^{a)}	10	40	160
No. of males examined	25	25	25	25
No. of males with abnormality	1	2	12	24
<u>Category of abnormality; N</u>				
Transient decrease in locomotor activity after dosing	0	0	4	18
Transient incomplete opening or closure of eyelid after dosing	0	0	1	4
Transient salivation after dosing	0	1	10	22
Transient lacrimation after dosing	0	0	0	6
Transient nasal discharge after dosing	0	0	4	4
Loss of fur	1	1	0	2
Soiled fur around eyelid	0	0	1	0
Crust formation	0	1	1	0
Small stool	0	0	0	1
Blackish and loose stool	0	0	0	1
Damage of upper incisor	0	0	1	0
Dislocation of upper jaw	0	0	1	0

^{a)}: Vehicle control, 0.5% CMC Na (5 mL/kg)

Table 2

NPO: One-generation reproduction toxicity study in rats

Summary of clinical signs and maternal condition of F₀ females

Compound Dose group (mg/kg)	N P O			
	0 ^{a)}	10	40	160
No. of females examined	25	25	25	25
No. of females with abnormality	1	2	12	24
<u>Category of abnormality; N</u>				
Transient decrease in locomotor activity after dosing	0	0	3	21
Transient leaning after dosing	0	0	0	2
Transient prone position after dosing	0	0	0	1
Transient incomplete opening or closure of eyelid after dosing	0	0	0	16
Transient salivation after dosing	0	0	7	18
Transient lacrimation after dosing	0	0	2	9
Transient nasal discharge after dosing	0	0	6	0
Total litter loss	0	0	0	2
Failure of maternal behavior	0	0	0	1
Loss of fur	1	2	2	2
Soiled fur	0	0	1	1
Emaciation	0	0	1	1
Lacerated wound	0	0	1	0
Abnormal respiration sound	0	0	0	1

^{a)}: Vehicle control, 0.5% CMC Na (5 mL/kg)

Table 3

NPO: One-generation reproduction toxicity study in rats

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

Compound	NPO			
	a) 0	10	40	160
Dose (mg/kg)				
Days of treatment				
1	168.9 $\pm$ 7.8 (25)	169.1 $\pm$ 7.7 (25)	168.6 $\pm$ 7.5 (25)	168.1 $\pm$ 7.8 (25)
8	227.2 $\pm$ 11.4 (25)	226.3 $\pm$ 11.8 (25)	227.1 $\pm$ 11.8 (25)	219.8 $\pm$ 18.0 (25)
15	286.7 $\pm$ 16.1 (25)	285.7 $\pm$ 16.2 (25)	286.3 $\pm$ 16.4 (25)	278.7 $\pm$ 19.9 (25)
22	346.3 $\pm$ 21.2 (25)	343.3 $\pm$ 21.2 (25)	345.4 $\pm$ 21.5 (25)	336.0 $\pm$ 24.8 (25)
29	395.2 $\pm$ 26.7 (25)	389.5 $\pm$ 24.3 (25)	391.4 $\pm$ 27.2 (25)	382.1 $\pm$ 29.1 (25)
36	434.6 $\pm$ 30.2 (25)	427.8 $\pm$ 27.4 (25)	427.9 $\pm$ 32.2 (25)	417.7 $\pm$ 33.4 (25)
43	469.7 $\pm$ 34.0 (25)	460.1 $\pm$ 30.3 (25)	460.0 $\pm$ 34.9 (25)	449.6 $\pm$ 37.5 (25)
50	494.6 $\pm$ 39.4 (25)	485.8 $\pm$ 32.4 (25)	483.1 $\pm$ 38.5 (25)	473.8 $\pm$ 41.4 (25)
57	516.5 $\pm$ 43.1 (25)	506.6 $\pm$ 37.0 (25)	503.8 $\pm$ 43.7 (25)	495.4 $\pm$ 45.3 (25)
64	538.5 $\pm$ 45.8 (25)	527.8 $\pm$ 39.0 (25)	525.9 $\pm$ 47.7 (25)	515.8 $\pm$ 47.2 (24)
71	556.4 $\pm$ 49.5 (25)	543.8 $\pm$ 43.8 (25)	544.6 $\pm$ 50.7 (25)	531.4 $\pm$ 50.7 (24)
78	563.8 $\pm$ 49.0 (25)	550.5 $\pm$ 45.4 (25)	552.7 $\pm$ 49.2 (25)	538.6 $\pm$ 50.1 (24)
85	579.7 $\pm$ 49.6 (25)	566.9 $\pm$ 47.7 (25)	566.3 $\pm$ 53.5 (25)	556.6 $\pm$ 53.9 (24)
92	593.2 $\pm$ 52.9 (25)	580.7 $\pm$ 49.3 (25)	577.7 $\pm$ 57.6 (25)	572.3 $\pm$ 56.0 (24)
99	606.8 $\pm$ 53.5 (25)	594.2 $\pm$ 50.6 (25)	588.9 $\pm$ 64.7 (25)	586.8 $\pm$ 57.5 (24)

a): vehicle control, 0.5% CMC Na (5 mL/kg)

Table 4

NPO: One-generation reproduction toxicity study in rats

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

Compound	NPO			
	a) 0	10	40	160
Days of treatment				
1~8	58.3 $\pm$ 5.2 (25)	57.2 $\pm$ 6.5 (25)	58.5 $\pm$ 7.2 (25)	51.7 $\pm$ 12.6 (25)
8~15	59.5 $\pm$ 6.7 (25)	59.3 $\pm$ 5.7 (25)	59.3 $\pm$ 7.2 (25)	58.9 $\pm$ 8.9 (25)
15~22	59.6 $\pm$ 7.0 (25)	57.7 $\pm$ 7.9 (25)	59.1 $\pm$ 8.0 (25)	57.3 $\pm$ 8.7 (25)
22~29	48.9 $\pm$ 7.7 (25)	46.2 $\pm$ 5.8 (25)	45.9 $\pm$ 7.4 (25)	46.1 $\pm$ 8.2 (25)
29~36	39.4 $\pm$ 5.9 (25)	38.2 $\pm$ 5.3 (25)	36.5 $\pm$ 7.3 (25)	35.6 $\pm$ 6.7 (25)
36~43	35.1 $\pm$ 7.1 (25)	32.3 $\pm$ 7.0 (25)	32.1 $\pm$ 6.1 (25)	32.0 $\pm$ 7.6 (25)
43~50	24.9 $\pm$ 7.3 (25)	25.6 $\pm$ 4.9 (25)	23.1 $\pm$ 8.8 (25)	24.2 $\pm$ 6.6 (25)
50~57	21.9 $\pm$ 6.1 (25)	20.8 $\pm$ 6.1 (25)	20.7 $\pm$ 7.8 (25)	21.5 $\pm$ 6.9 (25)
57~64	22.0 $\pm$ 6.6 (25)	21.3 $\pm$ 4.4 (25)	22.1 $\pm$ 9.9 (25)	18.5 $\pm$ 6.0 (24)
64~71	17.9 $\pm$ 5.0 (25)	16.0 $\pm$ 6.9 (25)	18.7 $\pm$ 7.2 (25)	15.6 $\pm$ 8.6 (24)
71~78	7.4 $\pm$ 5.9 (25)	6.7 $\pm$ 7.8 (25)	8.1 $\pm$ 5.1 (25)	7.2 $\pm$ 5.3 (24)
78~85	15.8 $\pm$ 5.8 (25)	16.3 $\pm$ 6.5 (25)	13.6 $\pm$ 7.8 (25)	18.1 $\pm$ 6.7 (24)
85~92	13.6 $\pm$ 5.9 (25)	13.9 $\pm$ 5.1 (25)	11.4 $\pm$ 19.8 (25)	15.7 $\pm$ 6.5 (24)
92~99	13.6 $\pm$ 6.2 (25)	13.5 $\pm$ 5.5 (25)	11.2 $\pm$ 14.1 (25)	14.5 $\pm$ 6.3 (24)

a): vehicle control, 0.5% CMC Na (5 mL/kg)

Table 5

NPO: One-generation reproduction toxicity study in rats

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

Compound	NPO			
Dose (mg/kg)	a) 0	10	40	160
Days of treatment				
1~ 8	58.3 $\pm$ 5.2 (25)	57.2 $\pm$ 6.5 (25)	58.5 $\pm$ 7.2 (25)	51.7 $\pm$ 12.6 (25)
1~ 15	117.8 $\pm$ 10.9 (25)	116.6 $\pm$ 11.1 (25)	117.8 $\pm$ 12.0 (25)	110.6 $\pm$ 14.8 (25)
1~ 22	177.5 $\pm$ 16.4 (25)	174.2 $\pm$ 16.6 (25)	176.9 $\pm$ 18.1 (25)	167.8 $\pm$ 20.9 (25)
1~ 29	226.3 $\pm$ 22.3 (25)	220.4 $\pm$ 19.8 (25)	222.8 $\pm$ 24.6 (25)	214.0 $\pm$ 26.3 (25)
1~ 36	265.7 $\pm$ 26.4 (25)	258.7 $\pm$ 23.3 (25)	259.3 $\pm$ 29.7 (25)	249.6 $\pm$ 31.3 (25)
1~ 43	300.8 $\pm$ 30.6 (25)	291.0 $\pm$ 26.0 (25)	291.5 $\pm$ 32.5 (25)	281.5 $\pm$ 35.7 (25)
1~ 50	325.7 $\pm$ 36.3 (25)	316.6 $\pm$ 28.3 (25)	314.5 $\pm$ 36.5 (25)	305.7 $\pm$ 39.8 (25)
1~ 57	347.6 $\pm$ 40.0 (25)	337.4 $\pm$ 33.0 (25)	335.2 $\pm$ 42.2 (25)	327.2 $\pm$ 44.2 (25)
1~ 64	369.6 $\pm$ 42.8 (25)	358.7 $\pm$ 35.2 (25)	357.4 $\pm$ 46.1 (25)	347.8 $\pm$ 46.0 (24)
1~ 71	387.5 $\pm$ 46.5 (25)	374.7 $\pm$ 40.4 (25)	376.0 $\pm$ 49.1 (25)	363.5 $\pm$ 49.6 (24)
1~ 78	395.0 $\pm$ 45.8 (25)	381.4 $\pm$ 42.0 (25)	384.1 $\pm$ 47.5 (25)	370.7 $\pm$ 49.0 (24)
1~ 85	410.8 $\pm$ 46.6 (25)	397.7 $\pm$ 44.4 (25)	397.7 $\pm$ 51.9 (25)	388.7 $\pm$ 52.7 (24)
1~ 92	424.3 $\pm$ 50.1 (25)	411.6 $\pm$ 46.0 (25)	409.1 $\pm$ 55.7 (25)	404.4 $\pm$ 54.9 (24)
1~ 99	437.9 $\pm$ 50.9 (25)	425.1 $\pm$ 47.6 (25)	420.3 $\pm$ 62.7 (25)	418.9 $\pm$ 56.2 (24)

a): vehicle control, 0.5% CMC Na (5 mL/kg)

Table 6

NPO: One-generation reproduction toxicity study in rats

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

Compound	NPO			
	a) 0	10	40	160
Days of treatment				
1	254.7 $\pm$ 14.5 (25)	255.7 $\pm$ 12.7 (25)	255.0 $\pm$ 11.6 (25)	256.3 $\pm$ 12.7 (25)
8	264.0 $\pm$ 15.6 (25)	265.6 $\pm$ 12.7 (25)	264.3 $\pm$ 14.7 (25)	266.5 $\pm$ 16.0 (25)
15	276.7 $\pm$ 19.4 (25)	275.7 $\pm$ 13.0 (25)	273.3 $\pm$ 15.4 (25)	277.0 $\pm$ 17.3 (25)
Days of pregnancy				
0	280.2 $\pm$ 17.6 (25)	283.8 $\pm$ 16.3 (24)	273.7 $\pm$ 14.6 (23)	279.7 $\pm$ 16.0 (23)
7	316.7 $\pm$ 18.1 (25)	321.4 $\pm$ 16.2 (24)	311.5 $\pm$ 18.0 (23)	315.0 $\pm$ 16.8 (23)
14	350.6 $\pm$ 22.4 (25)	355.2 $\pm$ 18.7 (24)	344.2 $\pm$ 18.5 (23)	347.2 $\pm$ 19.3 (23)
20	420.6 $\pm$ 26.7 (25)	427.1 $\pm$ 21.5 (24)	412.8 $\pm$ 24.1 (23)	414.2 $\pm$ 22.8 (23)
Days of lactation				
0	306.8 $\pm$ 24.0 (25)	314.2 $\pm$ 23.2 (24)	303.0 $\pm$ 28.0 (23)	309.5 $\pm$ 27.0 (23)
4	338.9 $\pm$ 22.1 (25)	343.5 $\pm$ 19.5 (24)	332.6 $\pm$ 17.8 (23)	332.5 $\pm$ 22.2 (21)
7	350.0 $\pm$ 20.0 (25)	351.9 $\pm$ 16.3 (24)	339.5 $\pm$ 21.5 (23)	341.5 $\pm$ 21.1 (21)
14	357.1 $\pm$ 20.1 (25)	356.8 $\pm$ 16.3 (24)	349.4 $\pm$ 20.0 (23)	349.4 $\pm$ 20.4 (21)
21	336.4 $\pm$ 19.0 (25)	338.0 $\pm$ 14.5 (24)	334.3 $\pm$ 19.9 (23)	331.5 $\pm$ 16.9 (21)

a): vehicle control, 0.5% CMC Na (5 mL/kg)

Table 7

NPO: One-generation reproduction toxicity study in rats

Body weight gain of F₀ females (g); Mean ± S.D. (N)

Compound	NPO			
Dose (mg/kg)	a) 0	10	40	160
Days of treatment				
1~8	9.3 ± 5.4 (25)	9.9 ± 6.4 (25)	9.3 ± 5.9 (25)	10.2 ± 5.2 (25)
8~15	12.8 ± 7.7 (25)	10.1 ± 5.1 (25)	9.0 ± 5.1 (25)	10.5 ± 7.9 (25)
Days of pregnancy				
0~7	36.5 ± 7.5 (25)	37.6 ± 5.5 (24)	37.8 ± 5.7 (23)	35.3 ± 5.7 (23)
7~14	33.8 ± 8.8 (25)	33.8 ± 6.4 (24)	32.6 ± 4.4 (23)	32.2 ± 6.9 (23)
14~20	70.0 ± 8.0 (25)	71.8 ± 9.1 (24)	68.6 ± 11.0 (23)	67.1 ± 12.8 (23)
Days of lactation				
0~4	32.1 ± 19.3 (25)	29.3 ± 17.0 (24)	29.6 ± 17.3 (23)	19.5 ± 11.7 (21)
4~7	11.1 ± 9.8 (25)	8.4 ± 8.0 (24)	6.9 ± 8.8 (23)	9.0 ± 7.1 (21)
7~14	7.1 ± 14.0 (25)	4.9 ± 6.0 (24)	9.9 ± 11.8 (23)	7.9 ± 7.7 (21)
14~21	-20.7 ± 12.2 (25)	-18.7 ± 9.3 (24)	-15.1 ± 8.7 (23)	-17.8 ± 10.0 (21)

a): vehicle control, 0.5% CMC Na (5 mL/kg)

Table 8

NPO: One-generation reproduction toxicity study in rats

Cumulative body weight gain of F₀ females (g); Mean $\pm$ S.D. (N)

Compound	NPO			
	a) 0	10	40	160
Days of treatment				
1~ 8	9.3 $\pm$ 5.4 (25)	9.9 $\pm$ 6.4 (25)	9.3 $\pm$ 5.9 (25)	10.2 $\pm$ 5.2 (25)
1~ 15	22.1 $\pm$ 8.9 (25)	20.0 $\pm$ 6.1 (25)	18.3 $\pm$ 7.6 (25)	20.7 $\pm$ 7.0 (25)
Days of pregnancy				
0~ 7	36.5 $\pm$ 7.5 (25)	37.6 $\pm$ 5.5 (24)	37.8 $\pm$ 5.7 (23)	35.3 $\pm$ 5.7 (23)
0~ 14	70.4 $\pm$ 12.4 (25)	71.4 $\pm$ 8.3 (24)	70.5 $\pm$ 6.6 (23)	67.5 $\pm$ 10.3 (23)
0~ 20	140.4 $\pm$ 16.6 (25)	143.3 $\pm$ 12.6 (24)	139.1 $\pm$ 13.7 (23)	134.5 $\pm$ 17.4 (23)
Days of lactation				
0~ 4	32.1 $\pm$ 19.3 (25)	29.3 $\pm$ 17.0 (24)	29.6 $\pm$ 17.3 (23)	19.5 $\pm$ 11.7 (21)
0~ 7	43.2 $\pm$ 23.3 (25)	37.7 $\pm$ 17.9 (24)	36.5 $\pm$ 21.7 (23)	28.5 $\pm$ 14.1 (21)
0~ 14	50.3 $\pm$ 17.3 (25)	42.5 $\pm$ 16.2 (24)	46.4 $\pm$ 22.4 (23)	36.4 $\pm$ 14.6 (21)
0~ 21	29.6 $\pm$ 18.1 (25)	23.8 $\pm$ 20.1 (24)	31.3 $\pm$ 24.6 (23)	18.6 $\pm$ 16.8 (21)

a): vehicle control, 0.5% CMC Na (5 mL/kg)

Table 9

NPO: One-generation reproduction toxicity study in rats

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

Compound	NPO			
	a) 0	10	40	160
Dose (mg/kg)				
Days of treatment				
2~3	23.6 $\pm$ 1.6 (25)	23.5 $\pm$ 1.6 (25)	23.3 $\pm$ 1.9 (25)	22.8 $\pm$ 3.3 (25)
9~10	26.4 $\pm$ 2.2 (25)	25.9 $\pm$ 2.4 (25)	26.9 $\pm$ 2.2 (25)	25.9 $\pm$ 2.3 (25)
16~17	29.7 $\pm$ 3.2 (25)	28.6 $\pm$ 2.8 (25)	30.1 $\pm$ 2.6 (25)	28.6 $\pm$ 2.7 (25)
23~24	30.8 $\pm$ 3.1 (25)	30.5 $\pm$ 3.2 (25)	30.9 $\pm$ 3.3 (25)	30.4 $\pm$ 3.1 (25)
30~31	31.9 $\pm$ 2.9 (25)	30.8 $\pm$ 3.6 (25)	32.3 $\pm$ 3.2 (25)	31.8 $\pm$ 2.7 (25)
37~38	31.2 $\pm$ 2.8 (25)	30.6 $\pm$ 3.6 (25)	31.5 $\pm$ 3.0 (25)	30.4 $\pm$ 2.3 (25)
44~45	30.6 $\pm$ 3.4 (25)	29.7 $\pm$ 3.1 (25)	30.3 $\pm$ 4.0 (25)	29.3 $\pm$ 3.5 (25)
51~52	31.1 $\pm$ 3.1 (25)	30.5 $\pm$ 3.7 (25)	30.7 $\pm$ 3.3 (25)	30.3 $\pm$ 3.0 (25)
58~59	30.8 $\pm$ 2.9 (25)	29.7 $\pm$ 3.2 (25)	30.1 $\pm$ 4.0 (25)	29.1 $\pm$ 4.8 (25)
65~66	30.6 $\pm$ 2.8 (25)	30.5 $\pm$ 3.3 (25)	31.2 $\pm$ 4.3 (25)	30.4 $\pm$ 3.7 (24)
71~72 b)	36.7 $\pm$ 5.2 (25)	37.8 $\pm$ 4.9 (25)	39.8 $\pm$ 4.7 (25)	38.8 $\pm$ 5.5 (24)

a): vehicle control, 0.5% CMC Na (5 mL/kg)

b): consumed with cohabiting female.

Table 10

NPO: One-generation reproduction toxicity study in rats

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

Compound	NPO			
	a) 0	10	40	160
Days of treatment				
2 ~ 3	20.7 $\pm$ 3.3 (25)	19.8 $\pm$ 2.2 (25)	19.0 $\pm$ 3.8 (25)	18.4 $\pm$ 3.5 (25)
9 ~ 10	21.8 $\pm$ 2.9 (25)	20.7 $\pm$ 2.7 (25)	20.3 $\pm$ 3.4 (25)	21.1 $\pm$ 2.5 (25)
Days of pregnancy				
0 ~ 7	178.3 $\pm$ 15.8 (25)	174.6 $\pm$ 9.7 (24)	167.3 $\pm$ 12.7* (23)	166.1 $\pm$ 14.6** (23)
7 ~ 14	188.1 $\pm$ 20.6 (25)	185.9 $\pm$ 13.8 (24)	178.0 $\pm$ 12.4 (23)	177.6 $\pm$ 17.6 (23)
14 ~ 20	135.5 $\pm$ 10.6 (25)	137.9 $\pm$ 10.9 (24)	133.3 $\pm$ 11.7 (23)	129.7 $\pm$ 9.8 (23)
Days of lactation				
0 ~ 4	123.2 $\pm$ 27.0 (25)	129.4 $\pm$ 24.1 (24)	127.5 $\pm$ 19.2 (23)	112.0 $\pm$ 21.6 (21)
4 ~ 7	140.4 $\pm$ 15.0 (25)	137.6 $\pm$ 13.3 (24)	140.6 $\pm$ 13.5 (23)	129.5 $\pm$ 12.9* (21)
7 ~ 14	412.4 $\pm$ 30.2 (25)	398.4 $\pm$ 34.8 (24)	402.8 $\pm$ 29.5 (23)	376.5 $\pm$ 31.9** (21)
14 ~ 21	491.2 $\pm$ 41.4 (25)	460.4 $\pm$ 39.2* (24)	483.3 $\pm$ 34.0 (23)	438.7 $\pm$ 47.7** (21)

a): vehicle control, 0.5% CMC Na (5 mL/kg)

*: significant difference from control, $p < 0.05$ **: significant difference from control, $p < 0.01$

Table 11

NPO: One-generation reproduction toxicity study in rats

Estrous cycle

Compound	NPO			
	0 ^{a)}	10	40	160
Dose (mg/kg)				
Number of females examined	25	25	25	25
Mean length of estrous cycle in days				
Pre-treatment period; Mean $\pm$ S.D.	4.2 $\pm$ 0.3	4.1 $\pm$ 0.2	4.2 $\pm$ 0.4	4.1 $\pm$ 0.3
Treatment period; Mean $\pm$ S.D.	4.2 $\pm$ 0.3	4.1 $\pm$ 0.3	4.1 $\pm$ 0.2	4.2 $\pm$ 0.6
Number of animals showing each type of cycle during pre-treatment period				
4-day cycle	19	23	21	20
5-day cycle	2	1	3	1
4/5-day cycle	4	1	0	3
Irregular	0	0	1	0
Persistent estrous	0	0	0	1
Changes of estrous cycle after treatment				
Number of animals whose estrous cycle was not changed	19	23	20	20
Number of animals whose estrous cycle was changed	6	2	5	5
[Pre-treatment] [Treatment]				
4-day $\rightarrow$ 4/5-day	1	1	1	1
4-day $\rightarrow$ irregular	0	0	0	1
5-day $\rightarrow$ 4-day	0	0	1	0
5-day $\rightarrow$ 4/5-day	2	0	2	0
4/5-day $\rightarrow$ 4-day	0	0	0	1
4/5-day $\rightarrow$ 5-day	2	1	0	1
4/5-day $\rightarrow$ irregular	1	0	0	0
4/5-day $\rightarrow$ anestrus	0	0	0	1
irregular $\rightarrow$ 5-day	0	0	1	0
Number of vaginal estrus during mating period				
Mean $\pm$ S.D.	1.1 $\pm$ 0.4	1.2 $\pm$ 0.8	1.1 $\pm$ 0.4	1.1 $\pm$ 0.3

a): vehicle control, 0.5% CMC Na (5 mL/kg)

Table 12

NPO: One-generation reproduction toxicity study in rats

Reproductive performance

Compound	NPO			
	0 ^{a)}	10	40	160
Dose (mg/kg)				
Number of males examined (A)	25	25	25	24
Number of males copulated (B)	25	25	25	24
Copulation index; males [(B/A)×100, %]	100.0	100.0	100.0	100.0
Number of fertile males (C)	25	24	23	22
Fertility index; males [(C/B)×100, %]	100.0	96.0	92.0	91.7
Pairing days until copulation ; males Mean ± S.D.	2.6 ± 2.0	4.0 ± 3.2	3.4 ± 2.9	3.0 ± 1.6
Number of females examined (D)	25	25	25	25
Number of females copulated (E)	25	25	25	25
Copulation index; females [(E/D)×100, %]	100.0	100.0	100.0	100.0
Number of fertile females (F)	25	24	23	23
Fertility index; females [(F/E)×100, %]	100.0	96.0	92.0	92.0
Pairing days until copulation; females Mean ± S.D.	2.6 ± 2.0	4.0 ± 3.2	3.4 ± 2.9	3.0 ± 1.6

a): vehicle control, 0.5% CMC Na (5 mL/kg)

Table 13
 NPO: One-generation reproduction toxicity study in rats
 Summary of macroscopic findings of Fo males at the end of the dosing period

Group	0 mg/kg		10 mg/kg		40 mg/kg		160 mg/kg	
Grade	-	+	-	+	-	+	-	+
(Testis)	[25]		[25]		[25]		[24]	
Small, unilateral	25	0	24	1	25	0	24	0
Small, bilateral	25	0	25	0	23	2	24	0
Pale	25	0	25	0	24	1	24	0
(Epididymis)	[25]		[25]		[25]		[24]	
Small, unilateral	25	0	24	1	25	0	24	0
Small, bilateral	25	0	25	0	22	3	24	0
Pale	25	0	25	0	24	1	24	0
(Prostate)	[25]		[25]		[25]		[24]	
Pale	25	0	25	0	24	1	24	0
(Seminal vesicle)	[25]		[25]		[25]		[24]	
Pale	25	0	25	0	24	1	24	0
(Liver)	[25]		[25]		[25]		[24]	
Enlargement	25	0	25	0	25	0	22	2
Dark	25	0	25	0	24	1	24	0
Pale	25	0	25	0	24	1	24	0
Abnormal lobulation	25	0	25	0	24	1	24	0
(Kidney)	[25]		[25]		[25]		[24]	
Small, bilateral	25	0	25	0	24	1	24	0
Pale	25	0	25	0	24	1	24	0
Small, unilateral	24	1	25	0	25	0	24	0
Dilatation, renal pelvis, unilateral	24	1	25	0	24	1	23	1
(Spleen)	[25]		[25]		[25]		[24]	
Enlargement	25	0	25	0	24	1	24	0
Pale	25	0	25	0	24	1	24	0
(Adrenal gland)	[25]		[25]		[25]		[24]	
Enlargement	25	0	25	0	24	1	24	0
(Stomach)	[25]		[25]		[25]		[24]	
Area, thickening, mucosa, forestomach	25	0	25	0	24	1	23	1
(Brain)	[25]		[25]		[25]		[24]	
Pale	25	0	25	0	24	1	24	0
(Lung)	[25]		[25]		[25]		[24]	
Pale	25	0	25	0	24	1	24	0
(Bone marrow of femur)	[25]		[25]		[25]		[24]	
Pale	25	0	25	0	24	1	24	0

-, Negative; +, Positive
 [], Number of animals examined

Table 13D
 NPO: One-generation reproduction toxicity study in rats
 Summary of macroscopic findings of Fo males died during the dosing period

Group	0 mg/kg	10 mg/kg	40 mg/kg	160 mg/kg
Grade	- +	- +	- +	- +
(Testis)	[0]	[0]	[0]	[1]
Small, unilateral				1 0
Small, bilateral				1 0
Pale				1 0
(Epididymis)	[0]	[0]	[0]	[1]
Small, unilateral				1 0
Small, bilateral				1 0
Pale				1 0
(Prostate)	[0]	[0]	[0]	[1]
Pale				1 0
(Seminal vesicle)	[0]	[0]	[0]	[1]
Pale				1 0
(Liver)	[0]	[0]	[0]	[1]
Enlargement				0 1
Dark				1 0
Pale				1 0
Abnormal lobulation				1 0
(Kidney)	[0]	[0]	[0]	[1]
Small, bilateral				1 0
Pale				1 0
Small, unilateral				1 0
Dilatation, renal pelvis, unilateral				1 0
(Spleen)	[0]	[0]	[0]	[1]
Enlargement				1 0
Pale				1 0
(Adrenal gland)	[0]	[0]	[0]	[1]
Enlargement				1 0
(Stomach)	[0]	[0]	[0]	[1]
Area, thickening, mucosa, forestomach				1 0
(Brain)	[0]	[0]	[0]	[1]
Pale				1 0
(Lung)	[0]	[0]	[0]	[1]
Pale				1 0
(Bone marrow of femur)	[0]	[0]	[0]	[1]
Pale				1 0

- , Negative; + , Positive
 [], Number of animals examined

Table 14
NPO: One-generation reproduction toxicity study in rats
Summary of histopathological findings of Fo males at the end of the dosing period

Group	0 mg/kg						10 mg/kg						40 mg/kg						160 mg/kg					
Grade	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.
(Pituitary gland)	[25]						[1]						[2]						[24]					
No remarkable change																								
(Testis)	[25]						[25]						[25]						[24]					
Atrophy, seminiferous tubule, unilateral	24	1	0	0	0	1	21	3	0	1	0	4	24	1	0	0	0	1	22	2	0	0	0	2
Edema, interstitium, unilateral	25	0	0	0	0	0	24	0	0	1	0	1	25	0	0	0	0	0	24	0	0	0	0	0
Multinucleated giant cell, in seminiferous tubule, unilateral	22	3	0	0	0	3	24	0	1	0	0	1	25	0	0	0	0	0	24	0	0	0	0	0
Degeneration, spermatocyte, at 14th stage in spermatogenesis, seminiferous tubule, bilateral	25	0	0	0	0	0	23	0	2	0	0	2	22	1	2	0	0	3	21	1	2	0	0	3
Hyperplasia, Leydig cell, unilateral	25	0	0	0	0	0	24	0	1	0	0	1	25	0	0	0	0	0	24	0	0	0	0	0
(Epididymis)	[25]						[25]						[25]						[24]					
Decrease, sperm, lumen, unilateral	25	0	0	0	0	0	24	0	0	1	0	1	25	0	0	0	0	0	24	0	0	0	0	0
Cell debris, lumen, unilateral/bilateral	25	0	0	0	0	0	22	2	1	0	0	3	23	2	0	0	0	2	22	2	0	0	0	2
(Seminal vesicle)	[25]						[1]						[2]						[24]					
No remarkable change																								
(Prostate: ventral lobe)	[25]						[1]						[2]						[24]					
Cellular infiltration, lymphocyte, interstitium	7	7	5	4	2	18	1	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	11	4	4	4	1	13
Cellular infiltration, neutrophil, epithelium/lumen	17	6	1	1	0	8	1	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	17	3	3	1	0	7
(Coagulating gland)	[25]						[1]						[2]						[24]					
No remarkable change																								
(Stomach)	[25]						[25]						[25]						[24]					
Squamous hyperplasia, mucosa, forestomach	25	0	0	0	0	0	25	0	0	0	0	0	24	1	0	0	0	1	5	19	0	0	0**19##	
(Liver)	[0]						[0]						[2]						[2]					
Hematopoiesis, extramedullary													1	1	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0
Necrosis, focal													1	0	1	0	0	1	2	0	0	0	0	0
Single cell necrosis, hepatocyte													1	0	1	0	0	1	3	0	0	0	0	0
(Kidney)	[2]						[0]						[2]						[1]					
Eosinophilic body	1	0	1	0	0	1							2	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Basophilic tubule, cortex	1	0	1	0	0	1							1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1
Cast, cortex & medulla	1	0	1	0	0	1							2	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Dilatation, renal pelvis	1	0	1	0	0	1							1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe; Pos., Total of positive grade

[], Number of animals examined

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

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

(continued)

Table 14(Continued)

NPO: One-generation reproduction toxicity study in rats

Summary of histopathological findings of Fo males at the end of the dosing period

Group	0 mg/kg						10 mg/kg						40 mg/kg						160 mg/kg					
Grade	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.
(Spleen)	[0]						[0]						[1]						[0]					
Hematopoiesis, extramedullary, granulocyte													0 0 0 1 0 1											
Hematopoiesis, extramedullary, erythrocyte													0 0 1 0 0 1											
(Bone marrow of femur)	[0]						[0]						[1]						[0]					
Increase, hematopoiesis, granulocyte													0 0 0 1 0 1											
(Lung)	[0]						[0]						[1]						[0]					
Cellular infiltration, neutrophil, capillary & artery, diffuse													0 0 1 0 0 1											
Accumulation, foam cell													0 1 0 0 0 1											
(Brain)	[0]						[0]						[1]						[0]					
No remarkable change																								
(Adrenal gland)	[0]						[0]						[1]						[0]					
No remarkable change																								

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe; Pos., Total of positive grade

[], Number of animals examined

Table 14D

NP0: One-generation reproduction toxicity study in rats

Summary of histopathological findings of Fo males died during the dosing period

Group Grade	0 mg/kg						10 mg/kg						40 mg/kg						160 mg/kg					
	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.
(Pituitary gland)	[0]						[0]						[0]						[1]					
No remarkable change																								
(Testis)	[0]						[0]						[0]						[1]					
Atrophy, seminiferous tubule, unilateral																				1	0	0	0	0
Edema, interstitium, unilateral																				1	0	0	0	0
Multinucleated giant cell, in seminiferous tubule, unilateral																				1	0	0	0	0
Degeneration, spermatocyte, at 14th stage in spermatogenesis, seminiferous tubule, bilateral																				1	0	0	0	0
Hyperplasia, Leydig cell, unilateral																				1	0	0	0	0
(Epididymis)	[0]						[0]						[0]						[1]					
Decrease, sperm, lumen, unilateral																				1	0	0	0	0
Cell debris, lumen, unilateral/bilateral																				1	0	0	0	0
(Seminal vesicle)	[0]						[0]						[0]						[1]					
No remarkable change																								
(Prostate: ventral lobe)	[0]						[0]						[0]						[1]					
Cellular infiltration, lymphocyte, interstitium																				0	0	0	1	0
Cellular infiltration, neutrophil, epithelium/lumen																				0	1	0	0	0
(Coagulating gland)	[0]						[0]						[0]						[1]					
No remarkable change																								
(Stomach)	[0]						[0]						[0]						[1]					
Squamous hyperplasia, mucosa, forestomach																				0	1	0	0	0
(Liver)	[0]						[0]						[0]						[1]					
Hematopoiesis, extramedullary																				1	0	0	0	0
Necrosis, focal																				1	0	0	0	0
Single cell necrosis, hepatocyte																				1	0	0	0	0
(Kidney)	[0]						[0]						[0]						[0]					
Eosinophilic body																								
Basophilic tubule, cortex																								
Cast, cortex & medulla																								
Dilatation, renal pelvis																								

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe; Pos., Total of positive grade
[], Number of animals examined

(continued)

Table 15
 NPO: One-generation reproduction toxicity study in rats
 Summary of macroscopic findings in Fo females

Group Grade	0 mg/kg			10 mg/kg			40 mg/kg			160 mg/kg		
	-	+		-	+		-	+		-	+	
(Liver)	[25]			[25]			[25]			[25]		
Diaphragmatic nodule	25	0		25	0		25	0		24	1	
(Skin)	[25]			[25]			[25]			[25]		
Alopecia	25	0		24	1		25	0		23	2	

-, Negative; +, Positive
 [], Number of animals examined

Table 16

NP0: One-generation reproduction toxicity study in rats
Summary of histopathological findings in Fo females

Group Grade	0 mg/kg						10 mg/kg						40 mg/kg						160 mg/kg					
	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.
(Pituitary gland)	[25]						[1]						[2]						[25]					
No remarkable change																								
(Ovary)	[25]						[1]						[2]						[25]					
No remarkable change																								
(Uterus; horn & cervix)	[25]						[1]						[2]						[25]					
Foci, embolus, with mineralization, in blood vessel, myometrium of horn	24	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	25	0	0	0	0	0
(Vagina)	[25]						[1]						[2]						[25]					
No remarkable change																								
(Stomach)	[25]						[1]						[2]						[25]					
No remarkable change																								
(Liver)	[0]						[0]						[0]						[1]					
No remarkable change																								
(Skin)	[0]						[1]						[0]						[2]					
Decrease, hair follicle, focal							0	1	0	0	0	1							0	2	0	0	0	2

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe; Pos., Total of positive grade

[], Number of animals examined

Table 17

NPO: One-generation reproduction toxicity study in rats

Development of F₁ pups up to day 21 after birth; Mean $\pm$ S.D. (N)

Compound	NPO			
	0 ^{a)}	10	40	160
Dose (mg/kg)				
Number of pregnant females	25	24	23	23
Number of pregnant females with live newborns	25	24	23	22
Gestation index	100.0	100.0	100.0	95.7
Gestation length in days	22.4 $\pm$ 0.6 (25)	22.3 $\pm$ 0.5 (24)	22.3 $\pm$ 0.5 (23)	22.4 $\pm$ 0.5 (23)
Number of implantations	15.2 $\pm$ 1.9 (25)	15.5 $\pm$ 1.1 (24)	15.2 $\pm$ 1.9 (23)	14.8 $\pm$ 2.5 (23)
Day 0 of lactation				
Number of newborns	14.0 $\pm$ 2.2 (25)	14.8 $\pm$ 1.6 (24)	14.0 $\pm$ 1.7 (23)	13.1 $\pm$ 3.3 (23)
Delivery index	92.0 $\pm$ 10.8 (25)	94.8 $\pm$ 7.0 (24)	92.0 $\pm$ 7.1 (23)	87.7 $\pm$ 14.8 (23)
Number of live newborns	13.6 $\pm$ 2.3 (25)	14.7 $\pm$ 1.6 (24)	13.6 $\pm$ 1.6 (23)	11.5 $\pm$ 4.3 (23)
Birth index	90.0 $\pm$ 12.0 (25)	94.3 $\pm$ 7.1 (24)	89.6 $\pm$ 8.6 (23)	77.9 $\pm$ 25.8 (23)
Live birth index	97.8 $\pm$ 5.2 (25)	99.5 $\pm$ 2.4 (24)	97.5 $\pm$ 6.9 (23)	87.4 $\pm$ 24.9 (23)
Sex ratio on day 0	46.5 $\pm$ 12.7 (25)	49.0 $\pm$ 14.6 (24)	53.3 $\pm$ 14.7 (23)	51.6 $\pm$ 15.0 (22)
Day 4 of lactation				
Number of live pups				
before adjustment of litter size	13.6 $\pm$ 2.3 (25)	13.9 $\pm$ 2.7 (24)	13.3 $\pm$ 1.7 (23)	10.8 $\pm$ 4.3 (22)
Viability index	100.0 $\pm$ 0.0 (25)	95.0 $\pm$ 15.3 (24)	98.4 $\pm$ 4.4 (23)	90.2 $\pm$ 24.0 (22)*
Sex ratio on day 4	46.5 $\pm$ 12.7 (25)	49.3 $\pm$ 15.2 (24)	52.8 $\pm$ 15.0 (23)	53.1 $\pm$ 16.9 (21)
Number of live pups				
after adjustment of litter size	7.9 $\pm$ 0.4 (25)	7.8 $\pm$ 0.8 (24)	8.0 $\pm$ 0.0 (23)	7.5 $\pm$ 1.0 (21)b)
Day 21 of lactation				
Number of live pups	7.9 $\pm$ 0.4 (25)	7.8 $\pm$ 0.8 (24)	8.0 $\pm$ 0.2 (23)	7.5 $\pm$ 1.0 (21)
Weaning index	100.0 $\pm$ 0.0 (25)	100.0 $\pm$ 0.0 (24)	99.5 $\pm$ 2.6 (23)	100.0 $\pm$ 0.0 (21)

Gestation index = (number of pregnant females with live newborns/number of pregnant females) $\times$ 100, %Delivery index = (number of newborns/number of implantations) $\times$ 100, %Birth index = (number of live newborns/number of implantations) $\times$ 100, %Live birth index = (number of live newborns/number of newborns) $\times$ 100, %Sex ratio on day 0 = (number of male live newborns/number of live newborn) $\times$ 100, %Viability index = (number of live pups on day 4 before adjustment of litter size/number of live newborns) $\times$ 100, %Sex ratio on day 4 = (number of male live pups on day 4 before adjustment of litter size/number of live pups on day 4 before adjustment of litter size) $\times$ 100, %Weaning index = (number of live pups on day 21 of lactation/number of live pups on day 4 after adjustment of litter size) $\times$ 100, %*: significant difference from control, $p < 0.05$

a): vehicle control, 0.5% CMC Na (5 mL/kg)

b): significantly different from control after adjustment of litter size, ($p < 0.05$)

Table 18

NPO: One-generation reproduction toxicity study in rats

Body weight of F₁ pups up to day 21 after birth; Mean $\pm$ S.D. (N)

Compounds	NPO			
	0 ^{a)}	10	40	160
Day 0 (At birth)				
No. of live newborns	13.6 $\pm$ 2.3 (25)	14.7 $\pm$ 1.6 (24)	13.6 $\pm$ 1.6 (23)	12.0 $\pm$ 3.6 (22)
Male	6.3 $\pm$ 2.0	7.2 $\pm$ 2.3	7.1 $\pm$ 1.8	6.2 $\pm$ 2.6
Female	7.3 $\pm$ 2.3	7.5 $\pm$ 2.4	6.4 $\pm$ 2.4	5.8 $\pm$ 2.4
Weight of newborns in grams				
Male	6.8 $\pm$ 0.5	6.5 $\pm$ 0.5	6.5 $\pm$ 0.6	6.9 $\pm$ 0.9
Female	6.5 $\pm$ 0.5	6.1 $\pm$ 0.5	6.2 $\pm$ 0.6	6.4 $\pm$ 0.6
Day 4				
No. of live pups ^{b)}	7.9 $\pm$ 0.4 (25)	7.8 $\pm$ 0.8 (24)	8.0 $\pm$ 0.0 (23)	7.5 $\pm$ 1.0 * (21)
Male	3.9 $\pm$ 0.3	4.0 $\pm$ 0.2	4.2 $\pm$ 0.5	3.9 $\pm$ 1.0
Female	4.0 $\pm$ 0.3	3.9 $\pm$ 0.6	3.8 $\pm$ 0.5	3.7 $\pm$ 1.0
Weight of pup in grams				
Male	11.3 $\pm$ 1.2	10.8 $\pm$ 0.9	11.1 $\pm$ 1.2	12.1 $\pm$ 2.3
Female	10.9 $\pm$ 1.2	10.4 $\pm$ 0.7	10.7 $\pm$ 1.1	11.3 $\pm$ 1.6
Day 7				
No. of live pups	7.9 $\pm$ 0.4 (25)	7.8 $\pm$ 0.8 (24)	8.0 $\pm$ 0.0 (23)	7.5 $\pm$ 1.0 * (21)
Male	3.9 $\pm$ 0.3	4.0 $\pm$ 0.2	4.2 $\pm$ 0.5	3.9 $\pm$ 1.0
Female	4.0 $\pm$ 0.3	3.9 $\pm$ 0.6	3.8 $\pm$ 0.5	3.7 $\pm$ 1.0
Weight of pup in grams				
Male	18.4 $\pm$ 1.4	17.9 $\pm$ 1.6	18.1 $\pm$ 1.5	19.2 $\pm$ 3.0
Female	17.8 $\pm$ 1.5	17.3 $\pm$ 1.3	17.5 $\pm$ 1.5	18.0 $\pm$ 2.1

Parentheses indicate the number of litters evaluated

a): vehicle control, 0.5% CMC Na (5 mL/kg)

* : significant difference from control, p<0.05

Table 18 (continued)

NPO: One-generation reproduction toxicity study in rats

Body weight of F₁ pups up to day 21 after birth; Mean $\pm$ S.D. (N)

Compounds	NPO			
	0 ^{a)}	10	40	160
Day 14				
No. of live pups	7.9 $\pm$ 0.4 (25)	7.8 $\pm$ 0.8 (24)	8.0 $\pm$ 0.2 (23)	7.5 $\pm$ 1.0 (21)
Male	3.9 $\pm$ 0.3	4.0 $\pm$ 0.2	4.1 $\pm$ 0.5	3.9 $\pm$ 1.0
Female	4.0 $\pm$ 0.3	3.9 $\pm$ 0.6	3.8 $\pm$ 0.5	3.7 $\pm$ 1.0
Weight of pup in grams				
Male	37.4 $\pm$ 2.3	36.6 $\pm$ 2.3	36.2 $\pm$ 2.5	36.8 $\pm$ 4.1
Female	36.7 $\pm$ 2.2	35.5 $\pm$ 2.0	35.3 $\pm$ 2.5	35.1 $\pm$ 3.3
Day 21				
No. of live pups	7.9 $\pm$ 0.4 (25)	7.8 $\pm$ 0.8 (24)	8.0 $\pm$ 0.2 (23)	7.5 $\pm$ 1.0 (21)
Male	3.9 $\pm$ 0.3	4.0 $\pm$ 0.2	4.1 $\pm$ 0.5	3.9 $\pm$ 1.0
Female	4.0 $\pm$ 0.3	3.9 $\pm$ 0.6	3.8 $\pm$ 0.5	3.7 $\pm$ 1.0
Weight of pup in grams				
Male	62.9 $\pm$ 4.5	60.0 $\pm$ 3.8	60.1 $\pm$ 3.8	59.9 $\pm$ 6.2
Female	60.8 $\pm$ 3.8	57.9 $\pm$ 3.5 *	58.4 $\pm$ 3.5	57.3 $\pm$ 5.2 *

Parentheses indicate the number of litters evaluated

a): vehicle control, 0.5% CMC Na (5 mL/kg)

* : significant difference from control, $p < 0.05$

Table 19

NPO: One-generation reproduction toxicity study in rats

Morphological findings of F₁ offspring

Compound	NPO			
	0 ^{a)}	10	40	160
Dead pups				
Number of dead pups examined :				
<u>External observation</u>	4	12	8	38
<u>Visceral observation</u>	4	4	8	27
<u>External changes</u>				
Number of pups	0	1	0	2
Types and number				
Abnormality in the skin of the limbs	0	0	0	2 c)
Subcutaneous hematoma (slight)	0	1 b)	0	0
<u>Visceral changes</u>				
Number of pups	0	0	0	0
Day 4 (eliminated pups to adjust litter size)				
Number of live pups examined	143	146	123	80
<u>External changes</u>				
Number of pups	0	0	0	0
<u>Visceral changes</u>				
Number of pups	0	0	0	0
Day 21 (at weaning)				
Number of live weanlings examined	198	188	183	158
<u>External changes</u>				
Number of weanlings	1	0	0	0
Types and number				
Microphthalmia	1 d)	0	0	0
<u>Visceral changes</u>				
Number of weanlings	0	1	1	0
Types and number				
Dilatation of the renal pelvis	0	1 e)	1 f)	0
Total number :				
<u>External observation</u>	345	346	314	276
<u>External changes</u>	1 d)	1 b)	0	2 c)
<u>Visceral observation</u>	345	338	314	265
<u>Visceral changes</u>	0	1 e)	1 f)	0

a): vehicle control, 0.5% CMC Na (5 mL/kg)

b): FB02005 (Dam no.)

c): FB04018 (Dam no.)

d): FB01021 (Dam no.)

e): FB02020 (Dam no.)

f): FB03013 (Dam no.)