

銅フタロシアナートのラットにおける
簡易生殖毒性試験報告書

株式会社化合物安全性研究所

目 次

	頁
表題・試験番号 -----	2
要 約 -----	3
緒 言 -----	4
材料及び方法 -----	4
成 績 -----	12
考 察 -----	17
試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因 -----	18
参 考 文 献 -----	18

Figures and tables -----	別添
--------------------------	----

表 題 銅フタロシアナートのラットにおける簡易生殖毒性試験

試験番号 SR-9124

要 約

銅フタロシアナート (CAS No.147148) の 40、200及び 1000mg/kg/day を雄ラットの交配前及び交配期間を含む46日間、雌ラットの交配前、交配及び妊娠期間、哺育3日目までの期間に経口反復投与し、雌雄動物への反復投与による影響及び生殖・発生に及ぼす影響についてスクリーニング試験し、以下の知見が得られた。

1. 雌雄動物への反復投与による影響

- (1)一般状態観察及び剖検では、雌雄ともに、糞の青色化が 40mg/kg以上の群の全例で、胃や腸管の内容物の青緑色あるいは灰青色化が 200mg/kg群の少数例及び 1000mg/kg 群のほぼ全例で認められた。これらは被験物質が青色を呈していることに起因するものと考えられた。
- (2)体重推移、摂餌量、器官重量及び病理組織学的検査では、CAS No.147148 投与による影響は認められなかった。
- (3)以上より、CAS No.147148 の反復投与による毒性は認められないことから、本スクリーニング試験における CAS No.147148反復投与による無影響量 (NOEL) は雌雄ともに 1000mg/kg/dayであることが示唆された。

2. 雌雄動物の生殖・発生に及ぼす影響

- (1)生殖能検査、分娩及び母性行動観察、出生児の生存性、一般状態観察、体重推移及び剖検では、CAS No.147148 投与による影響は認められなかった。
- (2)以上より、CAS No.147148 の生殖・発生に対する影響は認められないことから、本スクリーニング試験における CAS No.147148の雌雄動物の生殖・発生に対する無影響量は雌雄ともに 1000mg/kg/day であることが示唆された。

結 言

銅フタロシアナート (CAS No.147148) を雄ラットの交配前及び交配期間を含む 46日間、雌ラットの交配前、交配及び妊娠期間、哺育3日目までの期間に経口反復投与し、雌雄動物への反復投与による影響及び生殖・発生に及ぼす影響についてスクリーニング試験したので、その成績を報告する。

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

材料及び方法

1. 被験物質

被験物質は、より提供された銅フタロシアナート (以下、CAS No. 147148 と称す。Lot番号： 純度：99.55%) である。被験物質は、水に溶けない青色の微粉末であり、気密容器に入れ、室温遮光下で保存した。なお、被験物質の品質は 1993年7月まで保証されている。

2. 試験動物

生後8週齢の Crj:CD (SD) 系 SPFラット (雄:55匹、体重範囲 248~278g, 雌:55匹、体重範囲 165~206g) を、1991年9月25日に日本チャールス・リバー株式会社より受け入れ、14日間の馴化飼育を行った。馴化期間中、一般状態観察を1日1回、体重測定を期間中3回実施し、順調な発育を示した動物を試験に用いた。なお、雌については、期間中、性周期検査を行い、性周期に異常の認められない動物を用いた。

3. 飼育環境条件

動物の飼育は、温度 $23 \pm 3^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 10\%$ 、換気回数 10~15回/時間、照明時間 12時間 (午前8時から午後8時まで点灯) に設定されたバリアシステムの飼育室 (143号室) において、ブラケット式金属製金網床ケージ (260W×380D×180H, mm) を用いて行った。ただし、妊娠 17日目より金属網床のかわりに実験動物用床敷 (ホワイトフレック、

日本チャールス・リバー株式会社)を敷いたステンレス製受皿を使用した。ケージ当たりの収容匹数は、群分け前は4匹以内、群分け後は1匹、交配中は雌雄各1匹、妊娠期間中は1母動物、哺育期間中は1腹とした。ケージの交換は2週に1回の頻度で行った。

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

飼料は固型飼料(CRF-1、オリエンタル酵母工業株式会社)を金属製給餌器を用いて、飲料水は水道水(札幌市水道水)を自動給水装置及びポリプロピレン製給水器を用いて、それぞれ自由に摂取させた。給餌器の交換は2週に1回、自動給水装置の水抜きは週1回、給水器の交換は2日に1回の頻度で行った。

飼料の分析及び検査は財団法人日本食品分析センターで実施(分析試験成績書:第44080147-001、44090107-001及び44100152-001号)し、各混入物質について当社SOPの許容範囲内であることを確認した。飲料水の水質検査は株式会社福田水文センターで実施(水質検査結果書:第03521及び03529号)し、当社SOPの水質基準の範囲内であることを確認した。

4. 試験群の設定、群分け及び個体識別

試験群は、Pigment Blue (CAS No.147148) の28日間反復投与毒性試験¹⁾の結果を参考に設定した。すなわち、40、200及び1000mg/kg/day群の雌雄で、CAS No.147148投与によると考えられる影響は認められなかったことから、本試験では、毒性影響が認められない場合の限度となる1000mg/kg/dayを高用量とし、中間及び低用量は公比5で200及び40mg/kg/day、さらに0.5%CMC-Na溶液を投与する対照を設け、計4群とした(Table1)。

動物数は1群あたり雌雄各12匹とした。群分けは、馴化飼育の最終日(投与開始前日)に各群の体重が均一になるように体重別層化無作為抽出法により行った。

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

5. 被験物質の調製、投与経路及び投与方法

被験物質の調製は、用時に次の通り行った。被験物質を精秤し、0.4、2.0及び 10.0 w/v%となるように 0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム溶液（以下、0.5% CMC-Na溶液。日本薬局方 CMC-Na：Lot No.0X13，丸石製薬株式会社、局方精製水：Lot No.108011及び 108067，ヤクハン製薬株式会社）で溶解した。なお、調製液は所定濃度の被験物質を含有していることが、試験施設によって確認されている（分析証明書番号：0181）。

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

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

投与は10週齢から開始し、投与開始時の平均体重（体重範囲）は雄で 372.3g（338～397g）、雌で 232.6g（202～252g）であった。

6. 観察、測定及び検査項目

(1) 雄動物について

① 一般状態観察

全例について、試験期間中1日1回以上の頻度で、視診及び触診により行動、外観などを観察した。また、症状が発現した場合は、その種類及び持続時間を記録した。

② 体重測定

全例について、投与1日目（投与前）、投与2、5、7、10及び14日目、その後は7日毎に（投与終了日を含む）、さらに剖検日に電子天秤（ザルトリウス 1401BM7-2及び 1407MP8-1、カールツァイス株式会社）を用いて測定した。また、体重増加量

〔投与46日目体重－投与1日目体重〕及び体重増加率〔（体重増加量／投与1日目体重）× 100〕を算出した。

③摂餌量測定

全例について、投与1日目（投与前）、投与2、5、7、10及び14日目、その後は交配期間を除き体重測定日と同じ日（投与終了日を含む）に電子天秤（ザルトリウス 1401BM7-2 及び 1407MP8-1、カールツァイス株式会社）を用いて測定した。一定量の飼料をケージ毎にセットし、翌日に残量を測定し、1匹当たりの1日分の摂餌量を算出した。

④生殖能検査

投与14日目の雄と同試験群内の雌を夕方より1対1で最長14日間同居させた。交尾成立は相手雌の膣垢中に精子が確認された場合とし、妊娠成立は相手雌の子宮に着床痕が確認された場合とした。また、交尾率 $\left[\left(\text{交尾を成立させた雄ラット数} / \text{同居ラット数} \right) \times 100 \right]$ 及び受胎率 $\left[\left(\text{受胎を成立させた雄ラット数} / \text{交尾を成立させた雄ラット} \right) \times 100 \right]$ を算出した。

⑤剖検及び器官重量測定

交尾成立例は投与46日目の翌日に、交尾不成立例は交配期間終了の翌日に、エーテル麻酔下で放血致死させ、全身の器官・組織を肉眼的に観察した。摘出器官のうち、精巣及び精巣上体（左右）の重量を電子天秤（FX-300、エー・アンド・ディ株式会社）を用いて測定した。また、器官体重重量比 $\left[\left(\text{器官重量} / \text{動物体重} \right) \times 100 \right]$ を算出した。

⑥病理組織学的検査

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

(2) 雌動物について

① 性周期検査

全例について、投与前10日目から交尾成立までの連日、ギムザ染色による膣垢塗抹標本を作製し、光学顕微鏡下で性周期段階の判定を行った。

② 一般状態観察

全例について、試験期間中1日1回以上の頻度で、視診及び触診により行動、外観などを観察した。また、症状が発現した場合は、その種類及び持続時間を記録した。

③ 体重測定

全例について、投与1日目（投与前）、投与2、5、7、10及び14日目、妊娠0、1、3、5、7、10、14、17及び20日目、哺育1及び4日目に、電子天秤（ザルトリウス 1401BM7-2及び 1407MP8-1、カールツァイス株式会社）を用いて測定した。また、体重増加量〔（投与14日目体重－投与1日目体重）、（妊娠20日目体重－妊娠0日目体重）及び（哺育4日目体重－哺育1日目体重）〕、それぞれの体重増加量に対応した体重増加率〔（体重増加量／投与1日目体重）× 100、（体重増加量／妊娠0日目体重）× 100及び（体重増加量／哺育1日目体重）× 100〕を算出した。

④ 摂餌量測定

全例について、投与1日目（投与前）、投与2、5、7、10及び14日目、妊娠1、3、5、7、10、14、17及び20日目、哺育1及び4日目に、電子天秤（ザルトリウス 1401BM7-2 及び 1407MP8-1、カールツァイス株式会社）を用いて測定した。一定量の飼料をケージ毎にセットし、翌日に残量を測定し、1匹当たりの1日分の摂餌量を算出した。

⑤ 生殖能検査

投与14日目の雌と同試験群内の雄を夕方より1対1で最長14日間同居させた。交尾の成立は雌の膣垢中に精子が確認された場合とし、妊娠の成立は子宮に着床痕が確認された場合とした。また、交尾率〔（交尾が成立した雌ラット数／同居ラット数）× 100〕及び受胎率〔（受胎した雌ラット数／交尾が成立した雌ラット数）× 100〕を算出した。

⑥分娩及び母性行動観察

全例について、分娩状態、母性行動、生存児数及び死亡児数、出産児の性別及び外表を観察した。また、着床率〔(着床痕数/妊娠黄体数) × 100〕、出産率〔(生児を出産した雌ラット数/妊娠雌ラット数) × 100〕、分娩率〔(総出産児数/着床痕数) × 100〕、出生率〔(出産確認時生存児数/総出産児数) × 100〕、哺育率

〔(正常に哺育した雌ラット数/正常に分娩した雌ラット数) × 100〕及び性比〔雌生児数/雄生児数〕を算出した。妊娠期間は妊娠21日目の午前9時から妊娠22日目の午前9時までで分娩が終了した場合を21日間とし、それ以降同様に午前9時から翌日午前9時までを1日として算出した。なお、分娩日を哺育0日目として起算した。

⑦剖検及び器官重量測定

交尾成立例は哺育4日目に、交尾不成立例は交配期間終了の翌日に、妊娠25日目まで分娩の認められない例(不妊例)は妊娠26日目に、全哺育児を死亡させた例は直ちにエーテル麻酔下で放血致死させ、全身の器官・組織を肉眼的に観察した。また、子宮の着床痕及び卵巣の妊娠黄体を計数した。摘出器官のうち、卵巣(左右)の重量を電子天秤(ザルトリウス 1601MP8、カールツァイス株式会社)を用いて測定した。また、器官体重重量比〔(器官重量/動物体重) × 100〕を算出した。

⑧病理組織学的検査

全例について、剖検時に肝臓、腎臓、脾臓、心臓、肺、脳、下垂体、副腎、甲状腺、上皮小体、胸腺、腸間膜リンパ節、脾臓、舌、下顎リンパ節、顎下腺、舌下腺、耳下腺、乳腺、皮膚、眼球、ハーダー腺、胸骨及び大腿骨(骨髄を含む)、脊髄(頸部)骨格筋(外側広筋)、胸部大動脈、喉頭、気管、気管支、食道、胃(前胃、腺胃)、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膀胱、卵巣、子宮、膣及び異常所見部位を10%中性緩衝ホルマリン液で固定し、保存した。なお、眼球及びハーダー腺はデビッドソン液で固定・保存した。摘出器官のうち、全例の卵巣、40及び200mg/kg群の異常所見部位(脾臓及び乳腺)について、パラフィン包埋後薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色あるいは特殊染色(PAS染色)標本作製し、病理組織学的検査を行った。

(3) 出生児について

① 一般状態観察及び生存性

全例について、分娩日から剖検日（哺育4日目）まで1日1回、生存及び死亡を確認し、一般状態及び外表について観察した。なお、哺育日数は分娩日を哺育0日目として起算した。また、新生児生存率〔（哺育4日目生存児数／出産確認時生存児数）×100〕を1腹を単位として算出した。ただし、捕喰を受け死亡あるいは行方不明となった出生児は死亡例として扱った。

② 体重測定

全例について、哺育1及び4日目に電子天秤（ザルトリウス 1401BM7-2及び1407MP8-1、カールツァイス株式会社）を用いて測定した。なお、体重値は雌雄別に1腹を単位とした平均値で示した。

③ 剖検

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

7. 統計処理

体重、摂餌量、体重増加量及び体重増加率、器官重量、器官体重重量比、妊娠黄体数、着床痕数及び着床率、総出産児数、出産確認時生存児数、分娩率、出生率、性比、出産確認時死亡児数及び新生児生存率については、Bartlettの検定法によって分散を検定した。その結果、等分散（ $p > 0.05$ ）を示した項目については一元配置分散分析法によって解析し、有意な場合（ $p < 0.01$ ）、Dunnett の検定法により対照群と CAS No.147148 投与群との比較を行った。一方、不等分散（ $p < 0.05$ ）を示した項目については Kruskal-Wallis 法により解析し、有意な場合（ $p < 0.10$ ）、Mann-WhitneyのU-検定法により対照群と CAS No.147148 投与群との比較を行った。なお、分娩及び母性行動観察結果、出生児の生存性及び体重については、1腹を単位として検定を行った。

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

なお、対照群との検定については、危険率5%以下を統計学的に有意とした。

成 績

1. 雄動物に対する影響

(1) 一般状態観察

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

40mg/kg以上の群の 12例中全例で糞の青色化が投与 2 日目以降に認められ、高用量ほど色濃く認められた。

その他に症状は認められなかった。

(2) 体重推移

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

投与期間を通して、対照群と比較して有意な差は認められなかった。

(3) 摂餌量

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

対照群と比較して、1000mg/kg群で投与 10及び 21日目に摂餌量の増加が認められたが、通常の範囲内の摂取量と判断された。

(4) 器官重量

器官重量及び器官体重重量比の成績を Table 6、INDIVIDUAL DATA 5-1~5-4に示した。

対照群と比較して、40mg/kg群で精巢（左右）の体重重量比の低下が認められたが、体重の高値に付随しており、用量依存性を欠く変動であった。

(5) 剖検

剖検の成績を Table 7、INDIVIDUAL DATA 6-1~6-4、Photo.M-2に示した。

200mg/kg群で大腸内容物の青緑色化が 12例中 1 例に、1000mg/kg群で胃内容物の灰青色化が12例中 3 例、大腸内容物の青緑色あるいは灰青色化が 9 例あるいは 3 例に認められた。

(6) 病理組織学的検査

病理組織学的検査の成績を Table 8、INDIVIDUAL DATA 7-1~7-4に示した。

精巢及び精巢上体について CAS No.147148投与との関連や交尾不成立及び不妊の原因を示唆する所見は認められなかった。なお、認められた所見は次の通りであった。

精巢上体において、被膜の肉芽腫が 40mg/kg群の 1 例で、間質におけるリンパ球を主とする血管周囲の限局性細胞浸潤が 200mg/kg群の 1 例で認められた。

2. 雌動物に対する影響

(1) 一般状態観察

一般状態観察の成績を Table 9、INDIVIDUAL DATA 8-1~10-4に示した。

妊娠前期間では、40mg/kg以上の群の 12例中全例で糞の青色化が投与2日目以降に認められた。その他に、対照群の12例中1例で頸部の外傷及び癰痕が投与8日目以降に認められた。

妊娠期間中では、40mg/kg以上の群の 12例中全例で糞の青色化が認められた。その他に、40mg/kg 群の1例で自発運動の減少及び血液による腔周囲の被毛汚染が妊娠 24日目（分娩中）に、200mg/kg群の1例で右腋下部皮下に腫瘤が妊娠 16日目以降に認められた。

哺育期間中では、40mg/kg 群の8例中全例、200mg/kg群の 11例中全例、1000mg/kg群の9例中全例で糞の青色化が認められた。その他に、40mg/kg 群の1例で乳腺の未発達が哺育1日目に、同群の他の1例で左眼瞼の腫脹が哺育3日目に、200mg/kg群の1例で右腋下部皮下に腫瘤が哺育期間中に、1000mg/kg 群の1例で胸部、腹部及び腰部の血液による被毛汚染及び乳腺の未発達が哺育1日目、眼球の褪色が哺育2~3日目に認められた。

(2) 体重推移

体重推移を Figure 3~5、Table 10~12、INDIVIDUAL DATA 11-1~13-4に示した。

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

(3) 摂餌量

摂餌量の変化を Figure 6~8、Table 13~15、INDIVIDUAL DATA 14-1~16-4に示した。

妊娠前投与期間では、対照群と比較して有意な差は認められなかった。

妊娠期間では、対照群と比較して 200mg/kg 群で妊娠5日目に摂餌量の増加が認められたが、用量依存性を欠く変動であった。

哺育期間では、対照群と比較して有意な差は認められなかった。

(4) 器官重量

器官重量及び器官体重重量比の成績を Table 17、INDIVIDUAL DATA 18-1~18-4 に示した。

対照群と比較して、40mg/kg群で卵巣（右）の重量の増加及び体重重量比の上昇、200

mg/kg群で卵巣（右）重量の増加が認められたが、用量依存性を欠いた変動であった。

(5) 剖検

剖検の成績を Table 18、INDIVIDUAL DATA 19-1～19-4に示した。

200mg/kg群で小腸あるいは大腸の内容物の青緑色化が 12例中 1 例あるいは 2 例に、1000mg/kg 群で胃内容物の青緑色化が12例中 1 例、大腸内容物の青緑色あるいは灰青色化が 8 例あるいは 2 例に認められた。

その他に、全哺育児を死亡させた 40mg/kg群の 1 例で乳腺の未発達が認められた。また、頸部の瘰癧、脾臓の黄白色腫瘍、眼瞼（左）の腫脹、右腋下部の黄白色皮下腫瘍が、用量依存性なく散発的に認められた。

(6) 病理組織学的検査

病理組織学的検査の成績を Table 19、INDIVIDUAL DATA 20-1～20-4に示した。

卵巣について CAS No.147148投与との関連や交尾不成立及び不妊の原因を示唆する所見は認められなかった。なお、認められた所見は次の通りであった。

卵巣に嚢胞形成が、1000mg/kg 群の不妊の 1 例及び対照群の妊娠した 1 例に認められた。

異常所見部位では、40mg/kg 群の乳腺に分泌乳腺の未発達が、200mg/kg群の脾臓に壊死を伴う浸出炎、同群の乳腺に停留嚢胞が認められた。

3. 雌雄動物の生殖・発生に及ぼす影響

(1) 生殖能検査

生殖能検査の成績を Table 5、16、INDIVIDUAL DATA 4-1～4-4、17-1～17-4 に示した。

雌の性周期検査では、対照群における交尾不成立の 2 例で交配開始後発情休止期の継続が認められたが、その他の例では正常な性周期を示し、投与前期間と投与期間の性周期に変化は認められなかった。

対照群と比較して、交尾までの日数、交尾率及び受胎率に有意な差は認められなかった。なお、交尾不成立例は対照群で 2 組、不妊例は対照群で 1 組、40mg/kg 群で 4 組、200mg/kg群で 1 組、1000mg/kg群で 3 組に認められた。

(2) 分娩及び母性行動観察

分娩及び母性行動観察の成績を Table 20、INDIVIDUAL DATA 21-1～21-4に示した。

対照群と比較して、200mg/kg群で総出産児数の減少が認められたが、用量依存性を欠いた変動であった。

他に、妊娠黄体数、着床痕数、着床率、出産確認時生存児数、分娩率、出生率、性比、出産確認時死亡児数、妊娠期間、出産率及び哺育率について有意な差は認められなかった。

分娩異常として、40mg/kg 群の1例で遷延分娩、妊娠期間の延長及び出産児全例の死亡が認められた。本例は、妊娠24日目に分娩を開始し、自発運動の減少、血液による膈周囲の被毛汚染が分娩中に認められた。また、妊娠25日目に哺乳などを受けた3匹の死亡児が認められ、妊娠26日目の朝には分娩の終了が確認された。なお、本例の分娩終了時の乳腺は未発達であった。一方、200mg/kg群の1例で乳腺に停留嚢胞が認められたが、分娩や哺育は正常であった。また、1000mg/kg 群の1例で出産後一時的に症状や出産児に多数の死亡が認められたが、全児の死亡に至らず、哺育2日目以降は正常な哺育が認められた。

(3) 出生児の生存性

出生児の生存性の成績を Table 21、INDIVIDUAL DATA 22-1～22-4に示した。

対照群と比較して、新生児生存率に有意な差は認められなかった。

(4) 出生児の一般状態観察

出生児の一般状態観察の成績を Table 22、INDIVIDUAL DATA 23-1～23-4に示した。

雌雄ともに CAS No.147148投与との関連を示唆する症状は認められなかった。なお、認められた症状は次の通りであった。

対照群では、哺育1～3日目の死亡が雄 68例雌 72例中、雌6例に認められた。分娩日（出産後）に胸部及び腹部皮膚の剥離、自発運動の減少あるいは下唇の暗赤色化が雌各1例に認められ、そのうち皮膚剥離のみられた例は衰弱のため同日屠殺した。40 mg/kg 群では、哺育2日目死亡が雄 56例雌 46例中、雄1例に認められた。200mg/kg群では、分娩日（出産後）～哺育1日目の死亡が雄 72例雌 76例中、雌2例に、哺育4日目に尾先端部の欠落が雄1例に認められた。1000mg/kg 群では哺育2日目死亡が雄61例雌64例中、雄5例雌3例に認められた。

(5) 出生児の体重推移

出生児の体重推移を Figure 9、Table 23、INDIVIDUAL DATA 24-1～24-4に示した。

対照群と比較して、200mg/kg群の雌雄で哺育1ないし4日目に体重の増加が認められたが、順調な体重推移と判断された。

(6) 出生児の剖検

出生児の剖検の成績を Table 24、INDIVIDUAL DATA 25-1-1～25-4-2に示した。

雌雄ともに CAS No.147148投与との関連を示唆する所見は認められなかった。なお、認められた所見は次の通りであった。

死亡例のうち、40mg/kg群の雌1例で背部皮膚の剥離が認められた。

衰弱のため屠殺した対照群の雌1例で、胸部及び腹部の皮膚剥離が認められた。

哺育4日目に屠殺した例のうち、対照群の雄1例で肝臓の内側右葉の黄白色化が、200mg/kg群の雄1例で尾先端部の欠落が認められた。

考 察

CAS No.147148の 40、200及び 1000mg/kg/day を雄ラットの交配前及び交配期間を含む 46日間、雌ラットの交配前、交配及び妊娠期間、哺育3日目までの期間に経口反復投与し、雌雄動物への反復投与による影響及び生殖・発生に及ぼす影響についてスクリーニング試験を実施した。

CAS No.147148 投与により、雌雄ともに、糞の青色化が 40mg/kg以上の群の全例に、胃や腸管の内容物の青緑色あるいは灰青色化が 200mg/kg群の少数例及び 1000mg/kg 群のほぼ全例に認められた。これらは被験物質が青色を呈していることに起因するものと考えられ、剖検では消化管を含め器官・組織自体に着色や異常は認められなかった。

その他に一般状態観察では CAS No.147148投与によると考えられる症状は認められず、体重推移や摂餌量においても CAS No.147148投与による影響は認められなかった。

以上より、CAS No.147148 の反復投与による毒性は認められないことから、本スクリーニング試験における CAS No.147148反復投与による無影響量 (NOEL) は雌雄ともに 1000 mg/kg/dayであることが示唆された。

生殖能検査では、雌の性周期、雌雄の交尾及び受胎に対して CAS No.147148投与による影響は認められなかった。また、生殖器（精巣、精巣上体及び卵巣）の重量や病理組織学的検査においても、CAS No.147148 投与による影響は認められなかった。なお、交尾不成立例及び不妊例の生殖器にそれらの原因を示唆する病理組織学的所見は認められなかった。

分娩及び母性行動観察では、分娩異常として 40mg/kg群の1例で遷延分娩、妊娠期間の延長及び出産児全例の死亡が認められた。同例では自発運動の減少や血液による腔周囲の被毛汚染が認められ、分娩が困難であったことが推測された。しかしながら、同様な分娩異常が中間及び高用量群に認められないことから、本例は偶発的な出現と判断され、CAS No.147148投与との関連性はないものと考えられた。

出生児の観察では、生存性、一般状態観察、体重推移及び剖検において CAS No.147148投与による影響は認められなかった。

以上より、CAS No.147148 の生殖・発生に対する影響は認められないことから、本スクリーニング試験における CAS No.147148の雌雄動物の生殖・発生に対する無影響量は雌雄ともに 1000mg/kg/day であることが示唆された。

試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因

試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因は認められなかった。

参考文献

- 1) . Pigment Blue 15の 28日間反復投与毒性試験.

Figures

- Figure 1. Body weight changes of male rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study
- Figure 2. Food consumption of male rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study
- Figure 3. Body weight changes before gestation period of female rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study
- Figure 4. Body weight changes during gestation period of female rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study
- Figure 5. Body weight changes during lactation period of female rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study
- Figure 6. Food consumption before gestation period of female rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study
- Figure 7. Food consumption during gestation period of female rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study
- Figure 8. Food consumption during lactation period of female rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study
- Figure 9. Body weight changes of pups in the preliminary reproduction toxicity study of CAS No.147148 in rats

Tables

- Table 1. Experimental design for the preliminary reproduction toxicity study of CAS No.147148 in rats
- Table 2. General appearance of male rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study
- Table 3. Body weight changes of male rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study
- Table 4. Food consumption of male rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study
- Table 5. Influence of CAS No.147148 on reproductive ability of male rats in the preliminary reproduction toxicity study
- Table 6. Absolute and relative organ weights of male rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study
- Table 7. Gross findings of male rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study

Table 8. Histopathological findings of male rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study

Table 9. General appearance of female rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study

Table 10. Body weight changes before gestation period of female rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study

Table 11. Body weight changes during gestation period of female rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study

Table 12. Body weight changes during lactation period of female rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study

Table 13. Food consumption before gestation period of female rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study

Table 14. Food consumption during gestation period of female rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study

Table 15. Food consumption during lactation period of female rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study

Table 16. Influence of CAS No.147148 on reproductive ability of female rats in the preliminary reproduction toxicity study

Table 17. Absolute and relative organ weights of female rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study

Table 18. Gross findings of female rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study

Table 19. Histopathological findings of female rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study

Table 20. Influence of CAS No.147148 on delivery and maternal behavior in the preliminary reproduction toxicity study in rats

Table 21. Influence of CAS No.147148 on viability of pups in the preliminary reproduction toxicity study in rats

Table 22. General appearance of pups in the preliminary reproduction toxicity study of CAS No.147148 in rats

Table 23. Body weight changes of pups in the preliminary reproduction toxicity study of CAS No.147148 in rats

Table 24. Gross findings of pups in the preliminary reproduction toxicity study of CAS No.147148 in rats

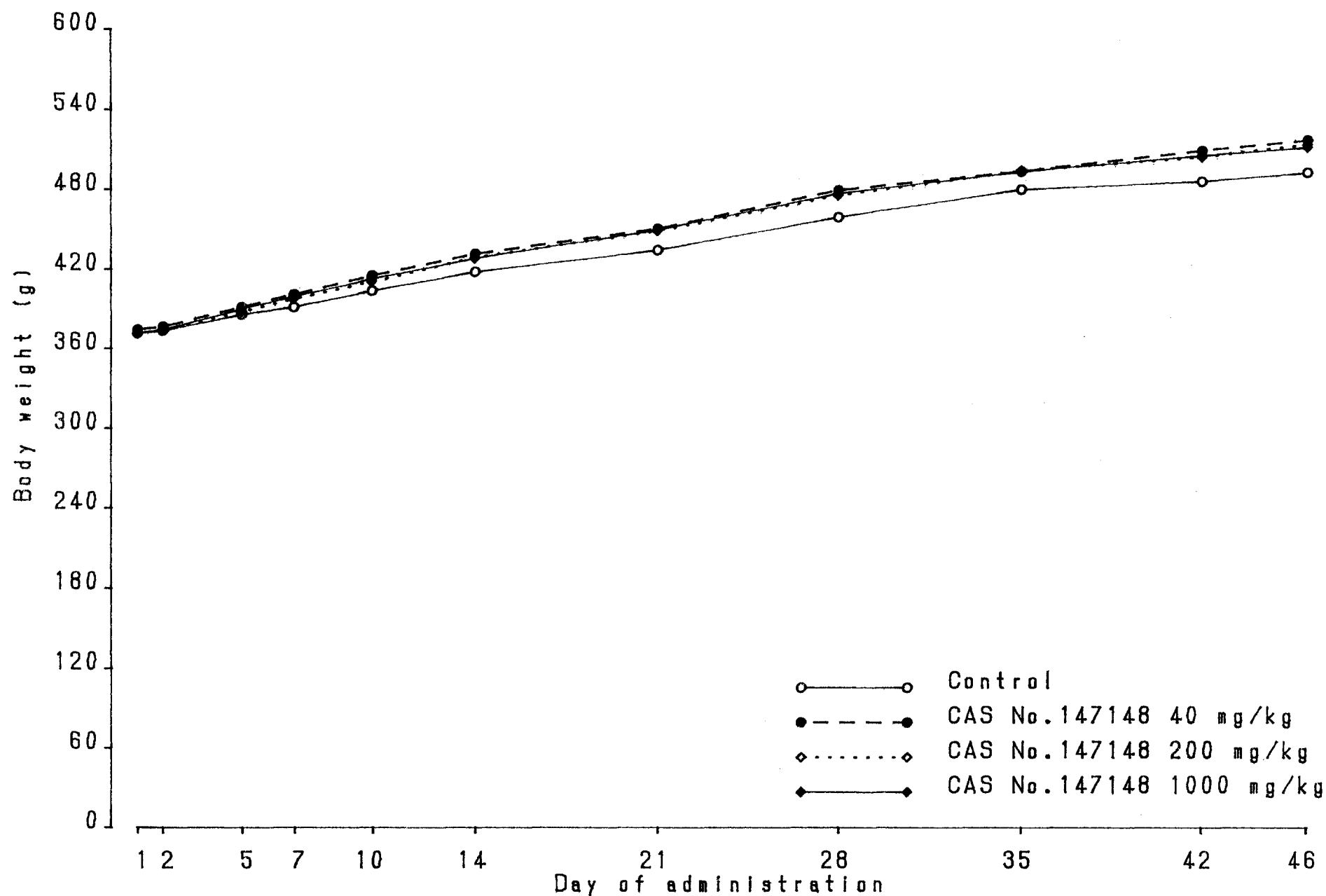


Figure 1. Body weight changes of male rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study

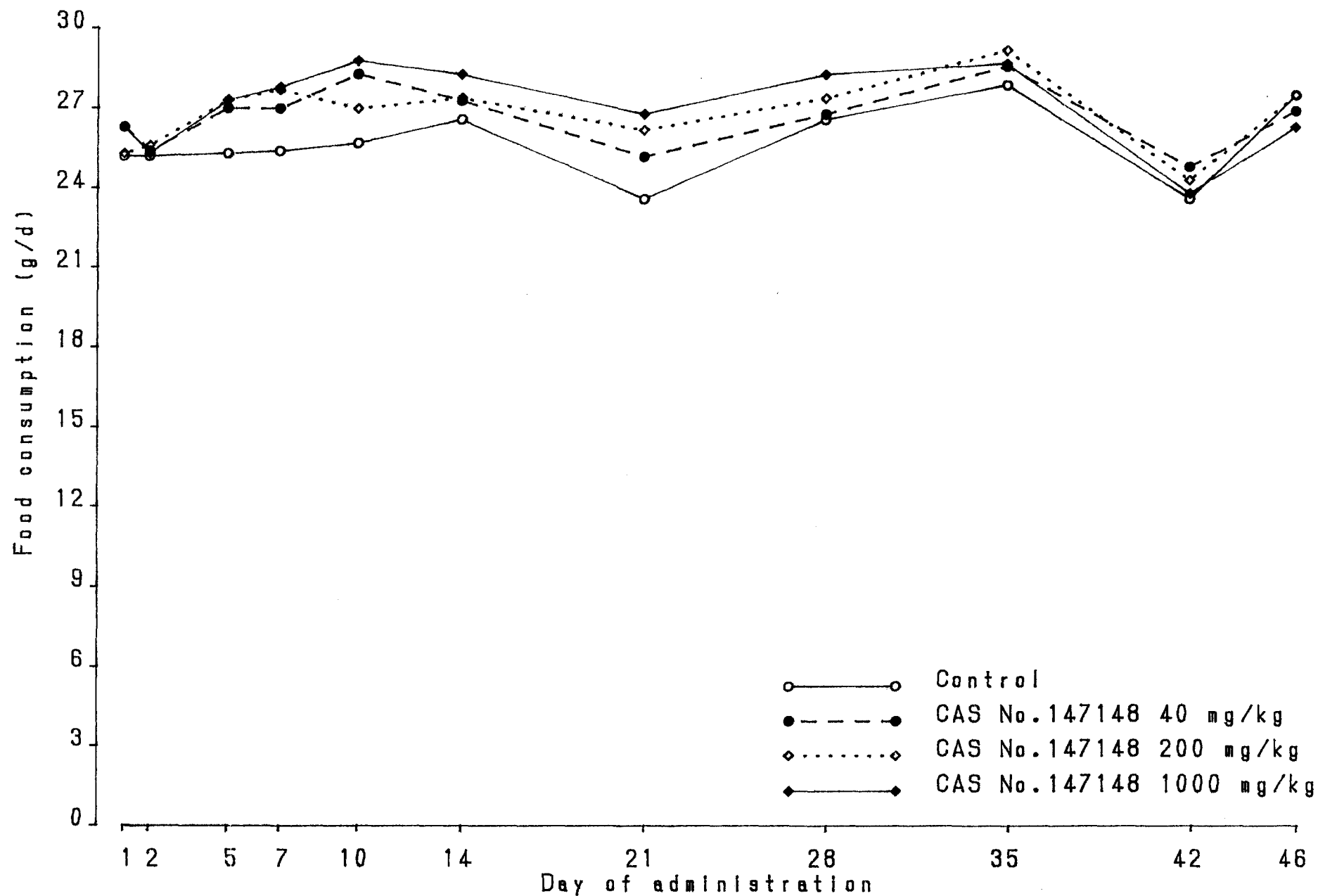


Figure 2. Food consumption of male rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study

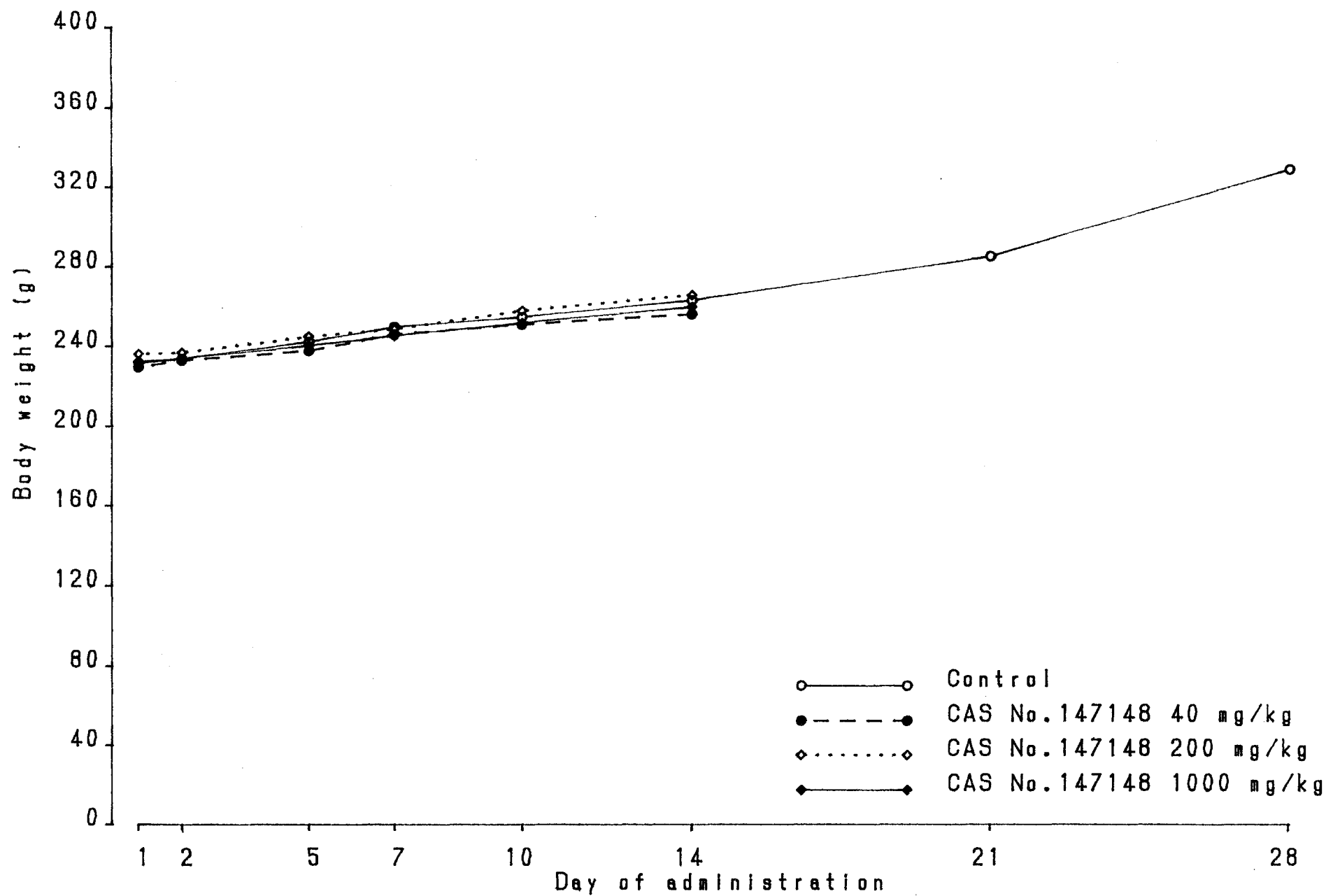


Figure 3. Body weight changes before gestation period of female rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study

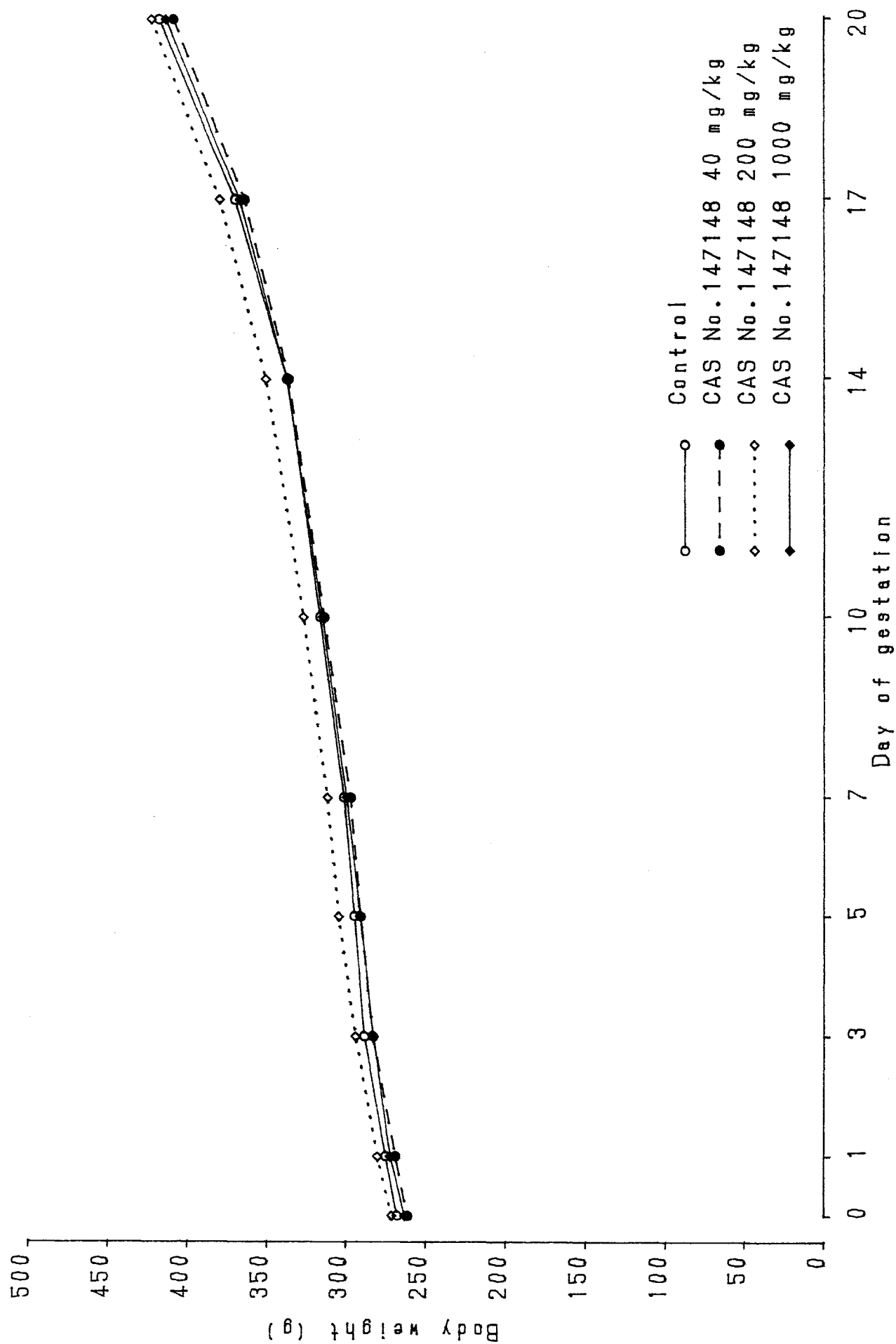


Figure 4. Body weight changes during gestation period of female rats dosed orally with CAS No. 147148 in the preliminary reproduction toxicity study

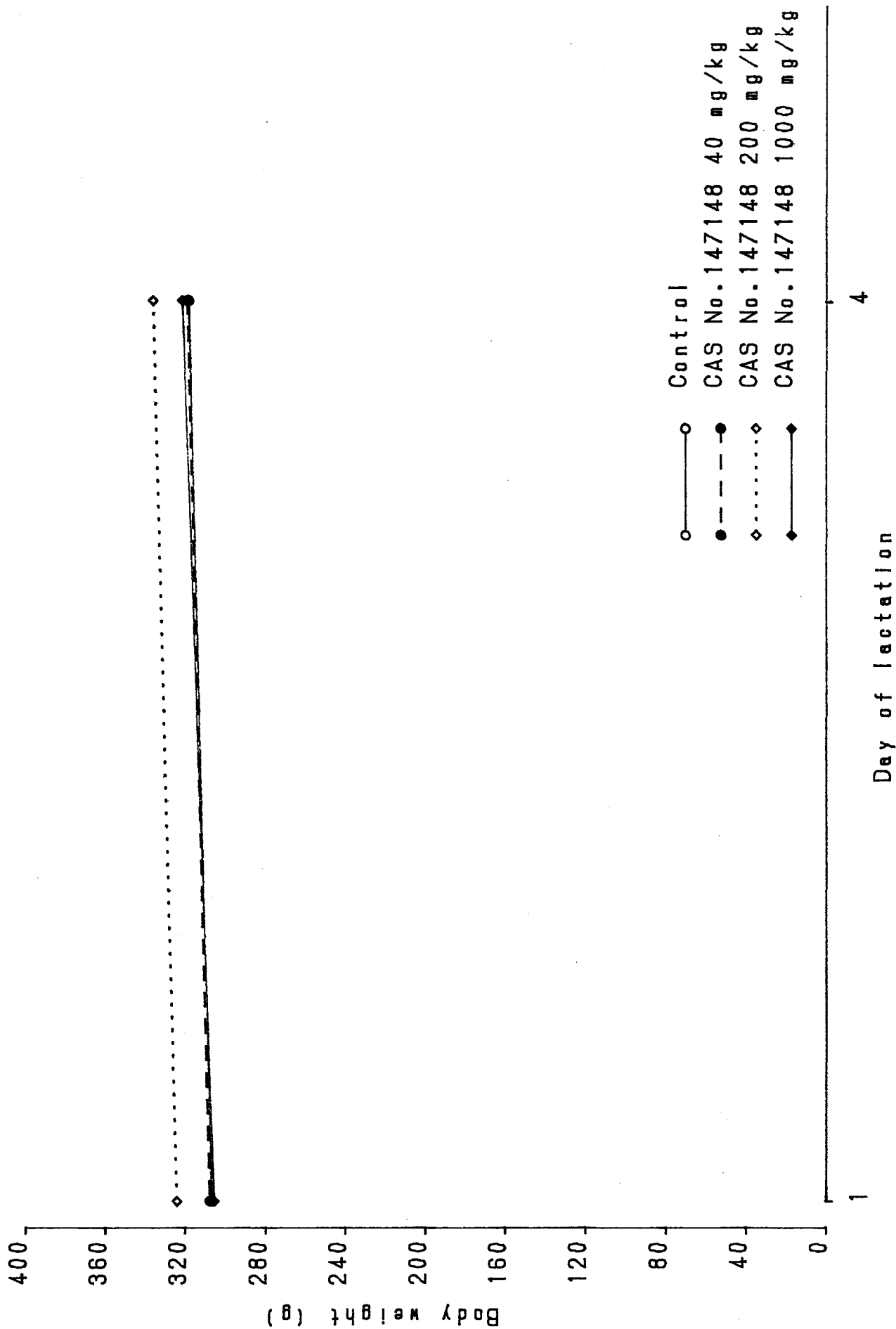


Figure 5. Body weight changes during lactation period of female rats dosed orally with CAS No. 147148 in the preliminary reproduction toxicity study

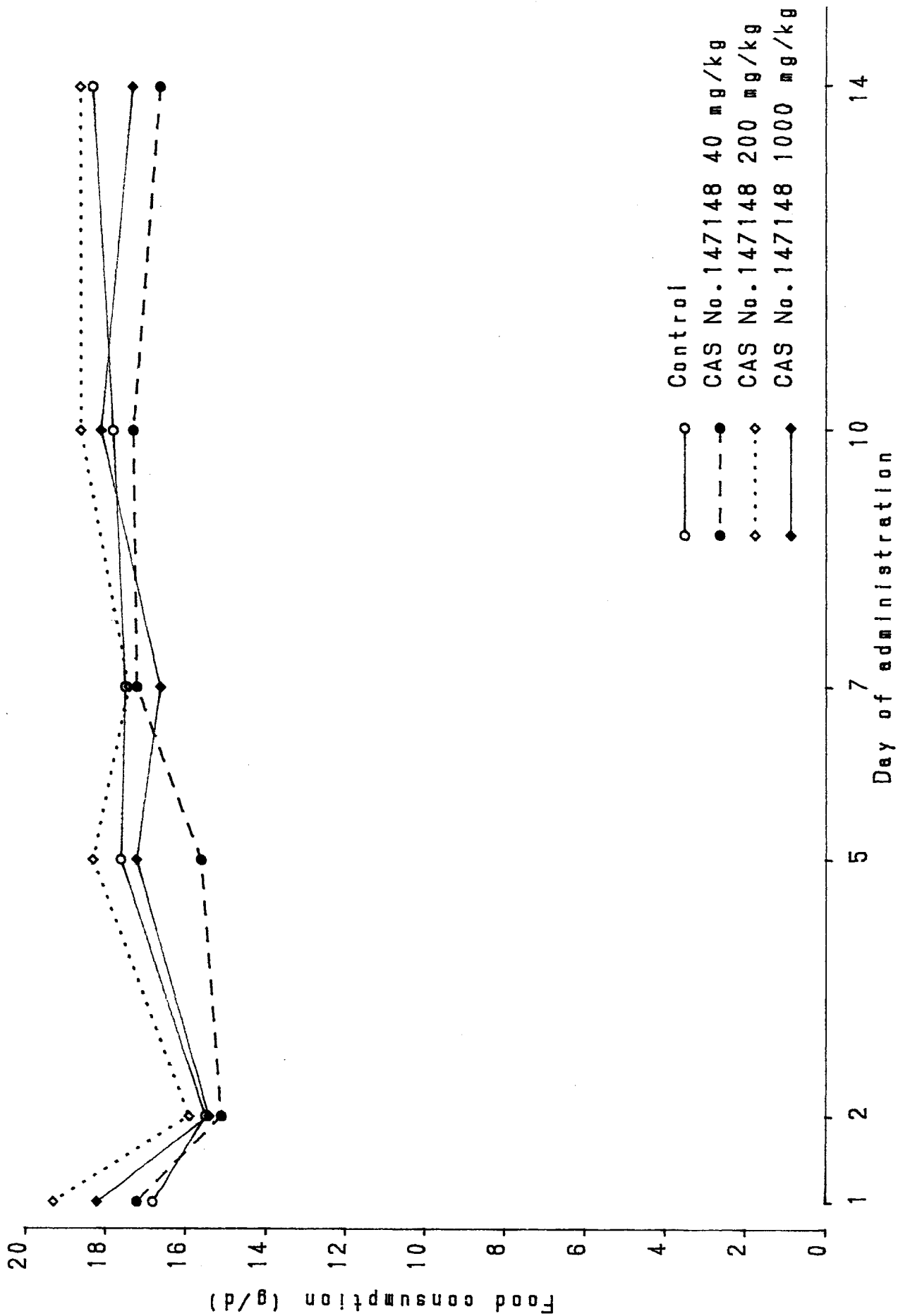


Figure 6. Food consumption before gestation period of female rats dosed orally with CAS No. 147148 in the preliminary reproduction toxicity study

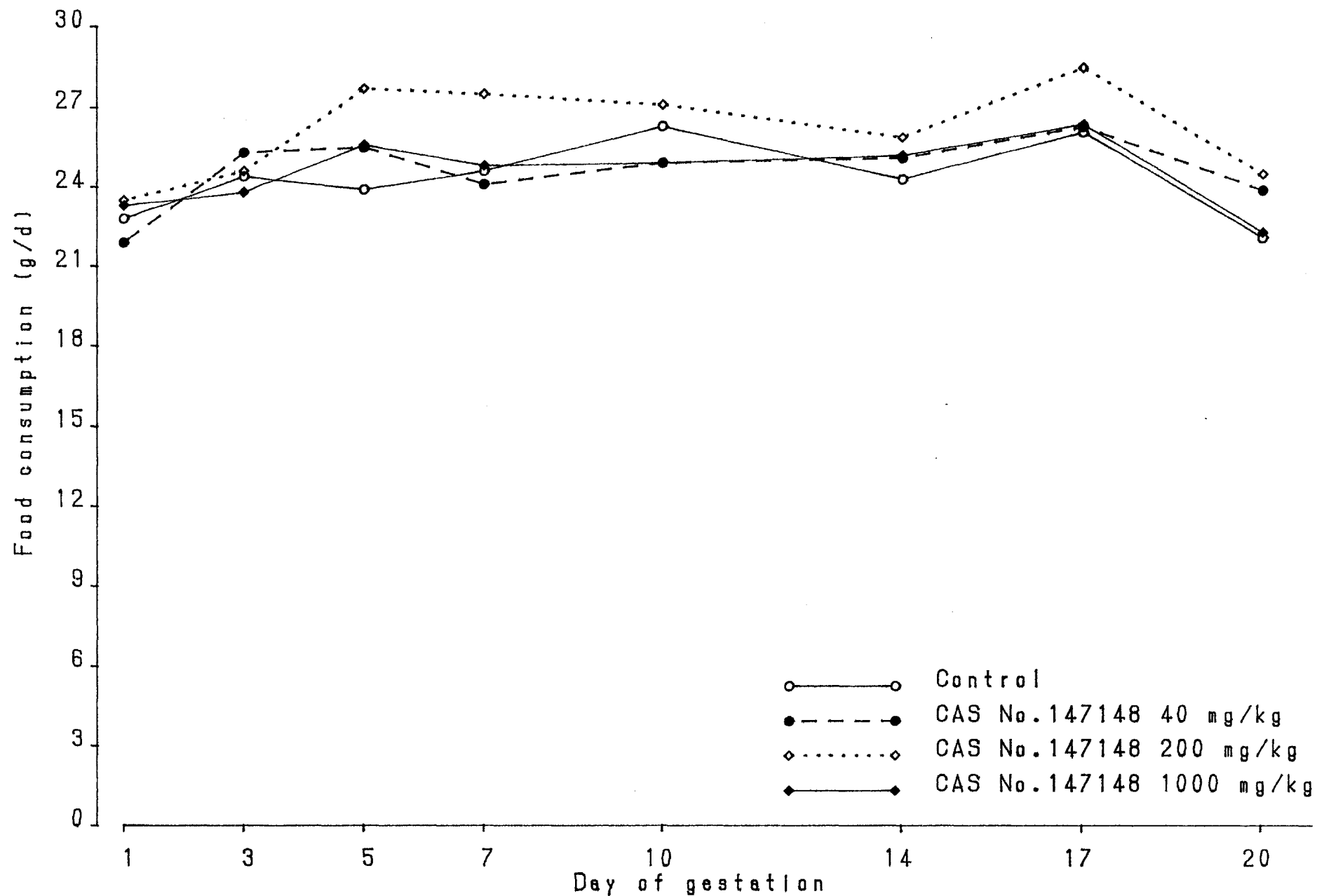


Figure 7. Food consumption during gestation period of female rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study

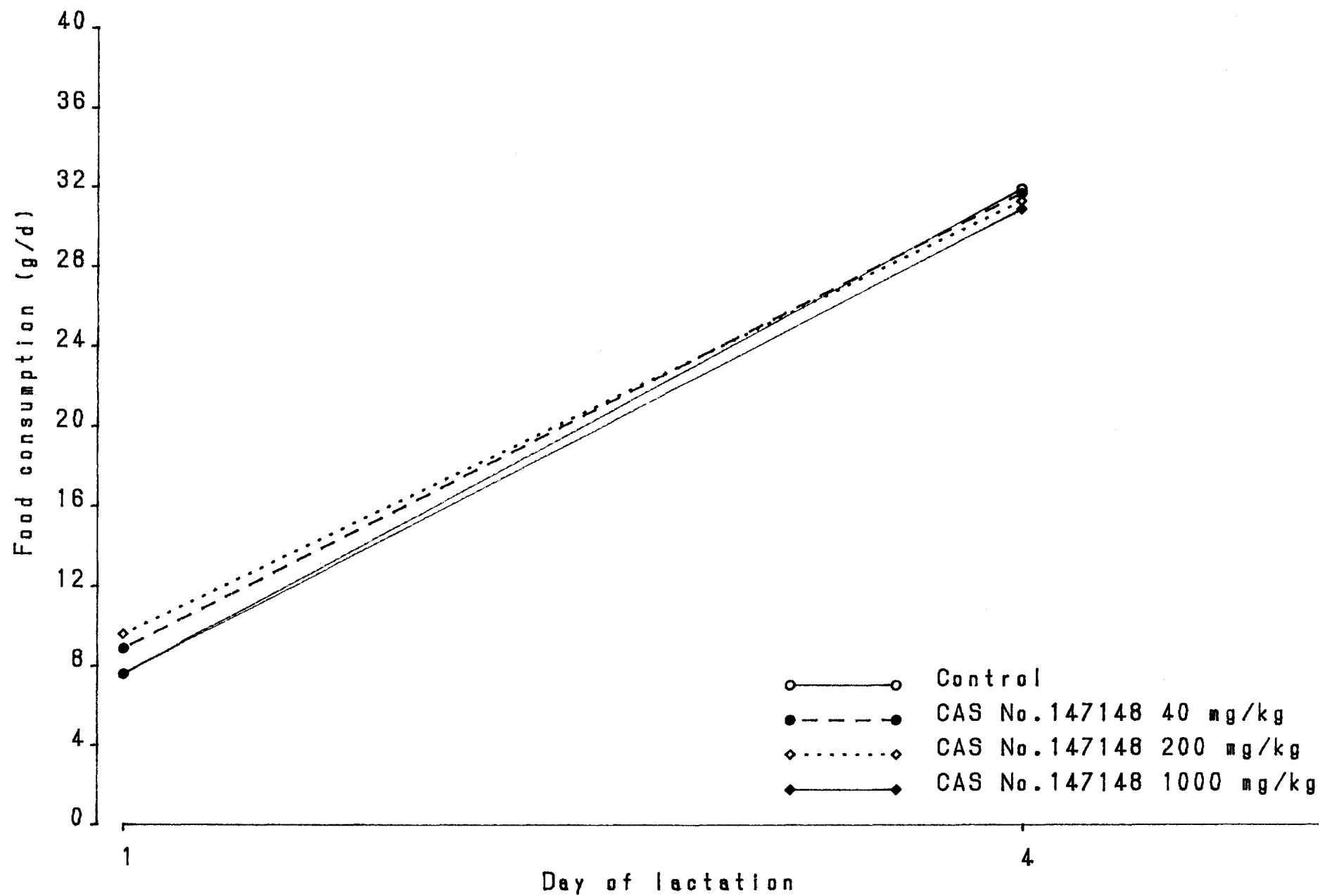


Figure 8. Food consumption during lactation period of female rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study

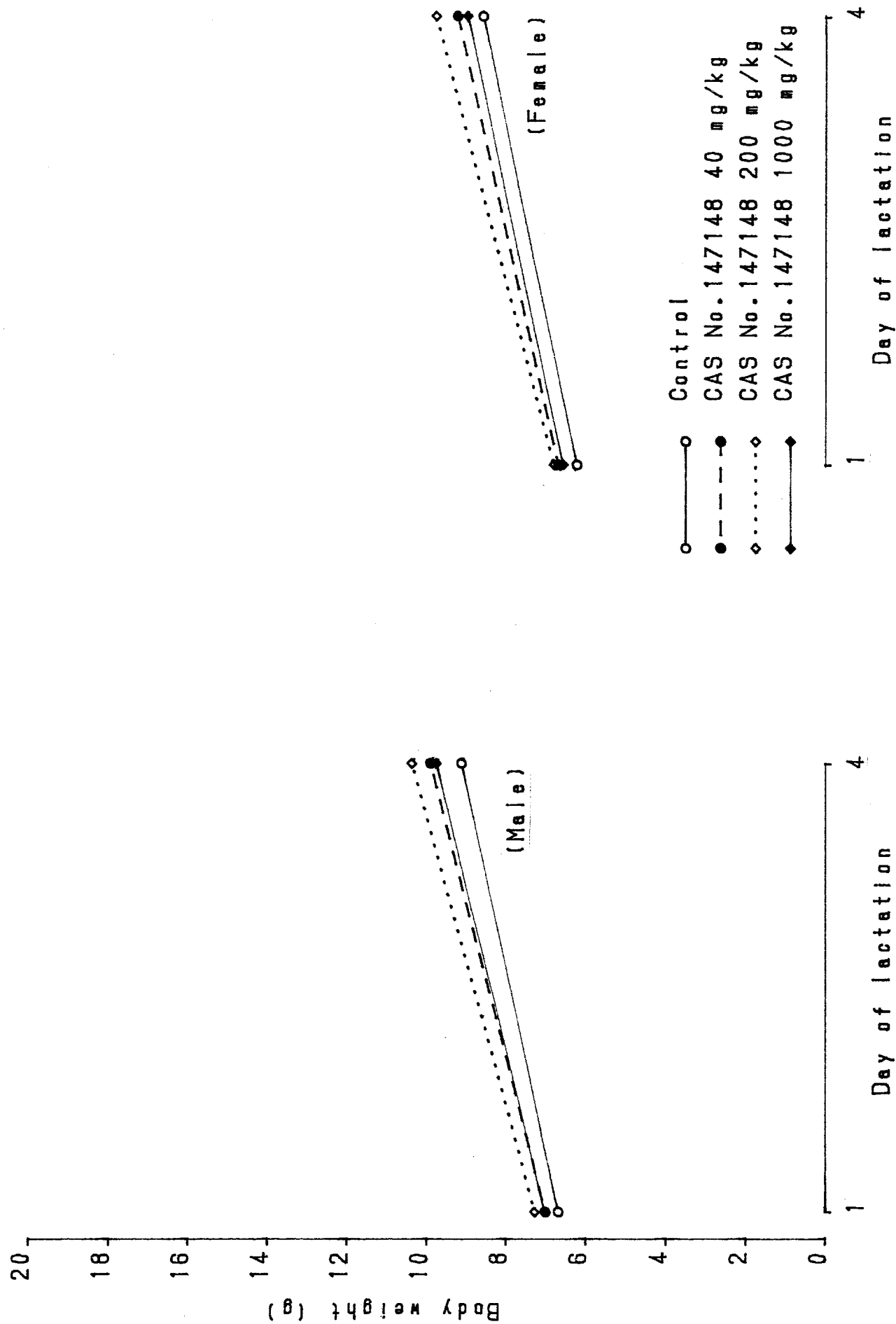


Figure 9. Body weight changes of pups in the preliminary reproduction toxicity study of CAS No. 147148 in rats

Table 1. Experimental design for the preliminary reproduction toxicity study of CAS No.147148 in rats

Group	Concentration of CAS No.147148 (w/v %)	Volume (ml/kg)	No. of animals ^a	
			Male	Female
^b Control	---	10	12	12
^c CAS No.147148 40 mg/kg	0.4	10	12	12
CAS No.147148 200 mg/kg	2	10	12	12
CAS No.147148 1000 mg/kg	10	10	12	12

a: CAS No.147148 was dosed orally to male rats for 46 days included before mating and mating period, and to female rats from day 14 before mating to day 3 of lactation.

b: Control was 0.5% carboxymethylcellulose sodium in distilled water.

c: CAS No.147148 was suspended in control solution.

Table 2. General appearance of male rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study

Group	Control	CAS No.147148 (mg/kg)		
		40	200	1000
No. of animals examined	12	12	12	12
Blue discoloration of feces	^a 0	12	12	12

a: Values are no. of animals with findings.

Table 3. Body weight changes of male rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study

Group	No. of animals	Day of administration											Autopsy day	Body weight gain	
		1	2	5	7	10	14	21	28	35	42	46		Day 1-46	% a
Control	12	b									(10)c	(10)	(10)	(10)	(10)
		371.6 17.1	373.8 15.5	386.1 20.6	391.6 21.9	404.3 23.6	418.4 24.9	435.0 29.0	459.8 30.7	480.4 31.2	486.6 40.3	493.5 40.3	487.5 40.2	120.800 28.483	32.333 6.819
CAS No.147148 40 mg/kg	12	374.5 12.9	376.8 12.8	391.9 14.4	401.3 13.9	415.6 18.3	432.0 19.4	450.8 22.4	480.1 25.8	494.0 25.8	509.6 33.1	517.8 35.8	521.0 35.3	143.333 24.548	38.146 5.513
CAS No.147148 200 mg/kg	12	371.3 15.2	374.0 16.1	388.2 16.9	397.8 17.6	411.0 18.6	429.3 23.1	449.5 27.0	476.3 31.9	494.4 34.9	504.9 34.8	514.4 33.9	517.3 36.2	143.083 25.504	38.499 6.684
CAS No.147148 1000 mg/kg	12	371.6 13.6	374.1 14.0	390.2 15.6	399.3 17.6	412.9 18.5	428.4 21.0	449.9 22.5	477.3 24.9	493.7 27.4	505.8 32.4	512.3 38.2	513.8 36.8	140.750 29.373	37.786 7.419

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

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

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

Table 4. Food consumption of male rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study

Group	No. of animals	Day of administration										
		1	2	5	7	10	14	21	28	35	42	46
Control	12	a						(9)b	(10)	(10)	(10)	(10)
		25.2 2.8	25.2 3.2	25.3 2.9	25.4 3.4	25.7 3.4	26.6 3.5	23.6 2.1	26.6 4.0	27.9 2.0	23.6 3.4	27.5 3.2
CAS No.147148 40 mg/kg	12	26.3 2.2	25.4 1.7	27.0 1.7	27.0 1.9	28.3 2.9	27.3 2.5	25.2 2.9	26.8 2.9	28.6 2.0	24.8 2.8	26.9 2.4
CAS No.147148 200 mg/kg	12	25.3 2.7	25.6 3.3	27.3 2.8	27.7 2.6	27.0 2.8	27.4 4.0	26.2 3.3	27.4 3.4	29.2 3.1	24.3 3.1	27.5 2.2
CAS No.147148 1000 mg/kg	12	26.3 1.8	25.3 2.7	27.3 2.8	27.8 2.9	28.8* 2.4	28.3 2.6	26.8* 2.0	28.3 2.1	28.7 2.3	23.8 4.0	26.3 4.0

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

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

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

Table 5. Influence of CAS No.147148 on reproductive ability of male rats in the preliminary reproduction toxicity study

Group	No. of pairs mated	No. of pairs with successful copulation	Days between the starting of mating and copulation	a Copulation index %	No. of pregnant animals	b Fertility index %
Control	12	10	2.4±1.8 ^c	83.3	9	90.0
CAS No.147148 40 mg/kg	12	12	1.9±1.2	100.0	8	66.7
CAS No.147148 200 mg/kg	12	12	2.0±1.3	100.0	11	91.7
CAS No.147148 1000 mg/kg	12	12	2.0±1.2	100.0	9	75.0

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

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

c: Values are means and S.D., and expressed in day.

Table 6. Absolute and relative organ weights of male rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study

Group	No. of animals	Body weight g	Testis				Epididymis			
			Right		Left		Right		Left	
			g	%	g	%	g	%	g	%
Control	12	487.5 ^a	1.635	0.337	1.631	0.337	0.598	0.123	0.605	0.123
		40.2	0.114	0.041	0.103	0.030	0.047	0.017	0.034	0.012
CAS No.147148 40 mg/kg	12	521.0	1.583	0.304*	1.563	0.302*	0.614	0.119	0.598	0.116
		35.3	0.089	0.027	0.118	0.033	0.047	0.011	0.039	0.012
CAS No.147148 200 mg/kg	12	517.3	1.597	0.310	1.588	0.308	0.598	0.117	0.597	0.116
		36.2	0.125	0.028	0.130	0.032	0.059	0.016	0.071	0.018
CAS No.147148 1000 mg/kg	12	513.8	1.647	0.321	1.620	0.316	0.623	0.122	0.613	0.119
		36.8	0.092	0.023	0.095	0.023	0.051	0.014	0.040	0.012

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

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

Table 7. Gross findings of male rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study

Group	Control	CAS No.147148 (mg/kg)		
		40	200	1000
No. of animals examined	12	12	12	12
Stomach : Grayish blue discoloration of contents	0	0	0	3
Large intestine : Blue green discoloration of contents	0	0	1	9
Grayish blue discoloration of contents	0	0	0	3

a: Values are no. of animals with findings.

Table 8. Histopathological findings of male rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study

Group	Grade ^a	Control	CAS No.147148 (mg/kg)		
			40	200	1000
No. of animals examined		12	12	12	12
Epididymis (right) : Focal interstitial infiltration of cells, mainly lymphocytes ^b	+	0 ^c	0	1	0
Epididymis (left) : Granuloma in capsule	+	0	1	0	0

There were no abnormal findings in the testes.

a: + = slight change.

b: Perivascular.

c: Values are no. of animals with findings.

Table 9. General appearance of female rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study

Group	Control	CAS No.147148 (mg/kg)		
		40	200	1000
<Before gestation period>				
No. of animals examined	12	12	12	12
	^a			
Blue discoloration of feces	0	12	12	12
Injury and scars of cervical region	1	0	0	0
<Gestation period>				
No. of animals examined	10	12	12	12
Blue discoloration of feces	0	12	12	12
Decrease in spontaneous activity	0	1	0	0
Bloody soiling of perivaginal hair	0	1	0	0
Subcutaneous mass of right axillary region	0	0	1	0
<Lactation period>				
No. of animals examined	9	^b 8	11	9
Blue discoloration of feces	0	8	11	9
Pale discoloration of eyeballs	0	0	0	1
Swelling of left eyelid	0	1	0	0
Undeveloped mammary gland	0	1	0	1
Subcutaneous mass of right axillary region	0	0	1	0
Bloody soiling of thoracic, abdominal and lumbar hair	0	0	0	1

a: Values are no. of animals with findings.

b: Includes one animal killed on day 1 of lactation because all the litter died .

Table 10. Body weight changes before gestation period of female rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study

Group	No. of animals	Day of administration								Body weight gain	
		1	2	5	7	10	14	21	28	Day 1-14	% a
Control	12	b							(3)c	(2)	
		231.8	233.9	242.4	249.9	255.1	263.7	285.7	329.5	31.833	13.752
		14.3	13.9	15.0	14.2	15.1	16.8	36.3	27.6	7.004	2.988
CAS No.147148 40 mg/kg	12	229.7	233.1	238.1	246.3	251.2	256.7	-	-	27.000	11.678
		10.1	11.9	12.5	16.7	17.2	19.4			12.512	5.058
CAS No.147148 200 mg/kg	12	236.3	237.3	245.2	249.0	258.3	266.3	-	-	30.083	12.663
		11.5	13.6	13.2	13.3	16.3	18.0			8.754	3.488
CAS No.147148 1000 mg/kg	12	232.6	234.0	240.7	245.6	252.2	260.4	-	-	27.833	11.908
		11.9	13.1	13.8	14.6	17.7	18.1			9.389	3.760

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

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

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

Table 11. Body weight changes during gestation period of female rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study

Group	No. of animals	Day of gestation									Body weight gain	
		0	1	3	5	7	10	14	17	20	Day 0-20	% a
b												
Control	9	268.0	275.6	288.9	294.9	301.6	316.9	338.2	370.4	418.3	150.333	56.157
		16.4	16.3	17.0	16.7	18.1	18.9	20.2	23.0	23.7	9.618	2.975
CAS No.147148 40 mg/kg	8	261.6	269.0	283.6	291.1	297.6	314.1	337.0	364.4	409.0	147.375	56.463
		16.5	16.9	17.9	19.1	18.5	18.3	20.0	20.4	24.4	15.071	6.087
CAS No.147148 200 mg/kg	11	271.5	280.4	294.2	304.5	311.9	327.5	351.3	380.3	422.9	151.455	55.795
		14.1	15.5	18.3	18.0	18.9	20.0	24.7	25.8	30.3	22.228	7.975
CAS No.147148 1000 mg/kg	9	263.1	272.4	283.0	291.0	299.8	315.1	338.2	367.6	413.9	150.778	57.439
		17.7	17.5	19.4	18.3	20.6	20.1	22.3	24.4	28.3	18.342	7.144

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

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

Table 12. Body weight changes during lactation period of female rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study

Group	No. of animals	Day of lactation		Body weight gain	
		1	4	Day 1-4	% a
Control	9	b			
		306.9	318.6	11.667	3.827
		20.2	22.4	10.428	3.463
CAS No.147148 40 mg/kg	8		(7)c	(7)	(7)
		307.9	319.1	11.714	3.934
		19.1	16.3	8.920	3.000
CAS No.147148 200 mg/kg	11	324.3	336.3	12.000	3.775
		27.8	27.8	11.992	3.804
CAS No.147148 1000 mg/kg	9	305.7	321.6	15.889	5.362
		19.4	15.3	12.554	4.315

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

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

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

Table 13. Food consumption before gestation period of female rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study

Group	No. of animals	Day of administration					
		1	2	5	7	10	14
Control	12	a	(11)b				
		16.8	15.5	17.6	17.5	17.8	18.3
		2.8	2.2	2.4	1.6	2.9	3.0
CAS No.147148 40 mg/kg	12	17.2	15.1	15.6	17.2	17.3	16.6
		2.7	2.2	2.7	3.1	2.3	3.1
CAS No.147148 200 mg/kg	12	19.3	15.9	18.3	17.4	18.6	18.6
		1.9	2.4	2.7	3.2	3.5	3.5
CAS No.147148 1000 mg/kg	12	18.2	15.4	17.2	16.6	18.1	17.3
		2.7	2.6	3.0	2.5	2.8	3.1

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

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

Table 14. Food consumption during gestation period of female rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study

Group	No. of animals	Day of gestation							
		1	3	5	7	10	14	17	20
Control	9	^a 22.8	24.4	23.9	24.6	26.3	24.3	26.1	22.1
		2.1	3.6	3.2	2.8	1.8	2.6	3.1	1.7
CAS No.147148 40 mg/kg	8	21.9	25.3	25.5	24.1	24.9	25.1	26.3	23.9
		1.7	3.8	3.4	4.3	3.8	4.0	1.7	2.2
CAS No.147148 200 mg/kg	11	23.5	24.6	27.7*	27.5	27.1	25.9	28.5	24.5
		2.5	3.8	2.9	3.4	3.3	3.7	4.2	3.8
CAS No.147148 1000 mg/kg	9	23.3	23.8	25.6	24.8	24.9	25.2	26.4	22.3
		1.4	3.0	3.5	3.4	3.3	2.7	3.0	2.1

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

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

Table 15. Food consumption during lactation period of female rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study

Group	No. of animals	<u>Day of Lactation</u>	
		1	4
Control	9	^a 7.6	31.9
		3.1	4.2
CAS No.147148 40 mg/kg	8		(7)b
		8.9	31.7
CAS No.147148 200 mg/kg	11	4.1	5.3
		9.6	31.3
CAS No.147148 1000 mg/kg	9	5.8	5.9
		7.6	30.9
		4.3	7.2

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

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

Table 16. Influence of CAS No.147148 on reproductive ability of female rats in the preliminary reproduction toxicity study

Group	No. of pairs mated	Estrous cycle								No. of pairs with successful copulation	Days between the starting of mating and copulation	Copulation index % ^a	No. of pregnant animals	Fertility index % ^b
		Before treatment			Treatment									
		Normal	Abnormal		Normal	Abnormal								
			Total	Continuous diestrus		Irregular	Total	Continuous diestrus	Irregular					
Control	12	12	0	-	-	10	2	2	-	10	2.4±1.8 ^c	83.3	9	90.0
CAS No.147148 40 mg/kg	12	12	0	-	-	12	0	-	-	12	1.9±1.2	100.0	8	66.7
CAS No.147148 200 mg/kg	12	12	0	-	-	12	0	-	-	12	2.0±1.3	100.0	11	91.7
CAS No.147148 1000 mg/kg	12	12	0	-	-	12	0	-	-	12	2.0±1.2	100.0	9	75.0

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

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

c: Values are means and S.D., and expressed in day.

Table 17. Absolute and relative organ weights of female rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study

Group	No. of animals	Body weight g	Ovary			
			Right		Left	
			mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %
Control	9	^a 318.6	46.3	14.648	53.9	17.066
		22.4	7.1	2.754	6.5	2.957
CAS No.147148 40 mg/kg	8	318.1	57.6*	18.088*	53.8	16.890
		15.3	11.1	3.216	12.3	3.877
CAS No.147148 200 mg/kg	11	336.3	56.9*	16.889	51.9	15.445
		27.8	10.5	2.630	10.9	3.157
CAS No.147148 1000 mg/kg	9	321.6	53.3	16.649	51.9	16.150
		15.3	7.0	2.525	12.6	3.998

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

*: Differs from control, p<0.05.

Table 18. Gross findings of female rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study

Group	Control	CAS No.147148 (mg/kg)		
		40	200	1000
No. of animals examined	12	12	12	12
	a			
Stomach : Blue green discoloration of contents	0	0	1	1
Small intestine : Blue green discoloration of contents	0	0	1	0
Large intestine : Blue green discoloration of contents	0	0	2	8
Grayish blue discoloration of contents	0	0	0	2
Spleen : Yellowish white mass	0	0	1	0
		b		
Mammary gland : Undeveloped gland	0	1	0	0
Eyelid (left) : Swelling	0	1	0	0
Skin of cervical region : Scars	1	0	0	0
Skin of right axially region : Yellowish white subcutaneous mass	0	0	1	0

a: Values are no. of animals with findings.

b: Killed because all the litter died .

Table 19. Histopathological findings of female rats dosed orally with CAS No.147148 in the preliminary reproduction toxicity study

Group	a Grade	Control	CAS No.147148 (mg/kg)		
			40	200	1000
No. of animals examined		12	12	12	12
Ovary (right) : Follicular cyst	+	1 b	0	0	1
Mammary gland : Undeveloped lactating gland	+	# c	1 d	#	#
Retention cyst ^e	+	#	#	1 f	#
Spleen : Exudative inflammation with necrosis	++	#	#	1 f	#

There were no abnormal findings in the left ovary.

a: + = slight and ++ = moderate changes.

b: Values are no. of animals with findings.

c: # = not examined.

d: Killed because all the litter died.

e: With PAS stain.

f: With the abnormal gross findings.

Table 20. Influence of CAS No.147148 on delivery and maternal behavior in the preliminary reproduction toxicity study in rats

Group		No. of pregnant females	No. of corpora lutea	No. of implan- tation sites	Implan- tation index % ^a	No. of pups born	Delivery index % ^b	Live pups born					Dead pups born			Gestation length day	Gestation index % ^e	Nursing index % ^f	
								No.	Live birth index % ^c	Sex ratio ^d	Male	Female	No.	Male	Female				
Control	Total	9	184	152		144		140				68	72	4	1	3			
	Mean		20.4	16.9	84.381	16.0	94.910	15.6	97.083	1.067	7.6	8.0	0.4	0.5	1.5	21.4	100.0	100.0	
	S.D.		3.2	0.9	13.178	0.9	6.048	1.6	6.731	0.569	2.7	2.2	1.0	0.7	2.1	0.5			
																			</

a: (No. of implantation sites / no. of corpora lutea) x 100, using the litter as a unit of treatment.

b: (No. of pups born / no. of implantation sites) x 100, expressed in the same way as above.

c: (No. of Live pups born / no. of pups born) x 100, expressed in the same way as above.

d: (No. of female pups / no. of male pups), expressed in the same way as above.

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

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

g: Values in parentheses are no. of pregnant females examined.

h: Includes 1 pup of unknown sex.

i: One of 8 pregnant females had prolonged delivery and gestation length, and killed all the litter.

*: Differs from control, p<0.05.

Table 21. Influence of CAS No.147148 on viability of pups in the preliminary reproduction toxicity study in rats

Group	No. of Live pups born (on day 0)	Live pups on day 4	
		No.	Viability index ^a %
Control	140	133	
	15.6	14.8	95.251
	1.6	1.7	8.389
CAS No.147148 40 mg/kg	102	101	
	12.8	14.4	99.047
	5.6	2.4	2.521
CAS No.147148 200 mg/kg	148	146	
	13.5	13.3	98.485
	2.1	2.3	5.026
CAS No.147148 1000 mg/kg	125	117	
	13.9	13.0	91.919
	1.8	4.0	24.243

a: (No. of live pups on day 4 / no. of live pups born) x 100, using the litter as a unit of treatment.

Table 22. General appearance of pups in the preliminary reproduction toxicity study of CAS No.147148 in rats

Group	Male				Female			
	CAS No.147148 (mg/kg)				CAS No.147148 (mg/kg)			
	Control	40	200	1000	Control	40	200	1000
No. of animals examined	^a 68	56	72	61	72	46	76	64
^b	^c							
Death	0	1	0	5	6	0	2	3
Killed because of weakness	0	0	0	0	1	0	0	0
Decrease in spontaneous activity	0	0	0	0	1	0	0	0
Detachment of skin of thoracic and abdominal region	0	0	0	0	1	0	0	0
Dark red discoloration of lower lip	0	0	0	0	1	0	0	0
Defect of tail tip	0	0	1	0	0	0	0	0

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

b: Includes missing.

c: Values are no. of animals with findings.

Table 23. Body weight changes of pups in the preliminary reproduction toxicity study of CAS No.147148 in rats

Group	No. of litters	Male		Female	
		Day of Lactation		Day of Lactation	
		1	4	1	4
Control	9	6.69 ^a 0.53	9.12 0.66	6.23 0.42	8.61 0.60
CAS No.147148 40 mg/kg	7	7.01 0.46	9.91 0.86	6.70 0.38	9.24 0.81
CAS No.147148 200 mg/kg	11	7.27 0.53	10.38* 1.22	6.81* 0.57	9.79* 1.29
CAS No.147148 1000 mg/kg	9	7.02 0.46	9.77 0.85	6.58 0.52	8.99 1.13

a: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram, using the litter as a unit of treatment.

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

Table 24. Gross findings of pups in the preliminary reproduction toxicity study of CAS No.147148 in rats

Group	Male				Female			
	Control	CAS No.147148 (mg/kg)			Control	CAS No.147148 (mg/kg)		
		40	200	1000		40	200	1000
No. of dead animals ^a	1	^b 5	3	^c 6	7	2	3	5
Skin of dorsal region : Detachment	^d 0	0	0	0	0	1	0	0
No. of animals killed because of weakness	0	0	0	0	1	0	0	0
Skin of thoracic and abdominal region : Detachment	-	-	-	-	1	-	-	-
No. of animals killed on day 4 of lactation	68	55	72	56	65	46	74	61
Liver : Yellowish white discoloration of quadrate lobe	1	0	0	0	0	0	0	0
Tail tip : Defect	0	0	1	0	0	0	0	0

a: Excludes missing.

b: Includes 1 pup of unknown sex.

c: Includes 3 pups of unknown sex.

d: Values are no. of animals with findings.