

最終報告書

2-ヒドロキシ-4-(オクチルオキシ)ベンゾフェノンのラットを用いる 経口投与簡易生殖毒性試験

厚生労働省医薬食品局審査管理課化学物質安全対策室 委託

試験施設

財団法人食品薬品安全センター秦野研究所

〒257-8523 神奈川県秦野市落合729-4

TEL 0463-82-4751

目次

要約.....	5
材料と方法.....	6
1. 被験物質.....	6
2. 動物および飼育方法.....	7
3. 投与検体.....	7
4. 投与量の設定および投与方法.....	9
5. 検査法.....	9
1) 親動物 (F_0).....	9
2) 出生児 (F_1).....	11
6. データの解析法.....	11
試験成績.....	12
1. 親動物.....	12
1) 一般状態.....	12
2) 体重.....	12
3) 摂餌量.....	12
4) 器官重量.....	12
5) 剖検所見.....	12
6) 病理組織学的検査.....	13
2. 生殖能力.....	13
1) 性周期および交配成績.....	13
2) 出産率および妊娠期間.....	13
3) 分娩および哺育状態.....	14
4) 黄体数、着床数および着床率.....	14
3. 出生児.....	14
1) 生存.....	14
2) 体重.....	14
3) 出生児観察.....	14
考察.....	14
参考文献.....	15
Tables.....	20

要約

今回、2-ヒドロキシ-4-(オクチルオキシ)ベンゾフェノン(以下、HOBP)の雌雄動物の生殖能力に対する影響および新生児の発育に及ぼす影響を検討することを目的として、簡易生殖毒性試験を OECD 化学物質試験法ガイドラインに従って実施した。被験物質を 0(媒体:0.1%Tween80 添加 0.5%カルボキシメチルセルロース・ナトリウム水溶液)、30、100 ならびに 1000 mg/kg の用量で雌雄の Crl:CD(SD)ラットに経口投与し、雄は 42 日間投与した後に剖検した。雌は交配前 2 週間および交配期間、妊娠期間を通して哺育 3 日まで連日投与した。なお、母動物は自然分娩させた後、出生児とともに哺育 4 日に剖検した。

1. 親動物所見

雄動物では、一般状態、体重推移、摂餌量、器官重量、剖検所見および病理組織所見に HOBP 投与による影響は認められず、死亡動物も観察されなかった。雌動物でも、一般状態、体重推移、摂餌量、器官重量、剖検所見および病理組織所見には、被験物質に因ると考えられる影響は認められなかった。

2. 出生児所見

1000 mg/kg 投与群の雌 1 例の出生児に無尾および鎖肛がみられた。しかし、その他の出生児に異常は認められなかったことから、出生児所見、出生児の生存性および体重には、HOBP 投与の影響は無いと判断した。

3. 生殖発生毒性学的所見

性周期、交配成績、妊娠期間、出産率、分娩および哺育状態、着床数および黄体数には、HOBP 投与による影響はみられなかった。

4. 無毒性量

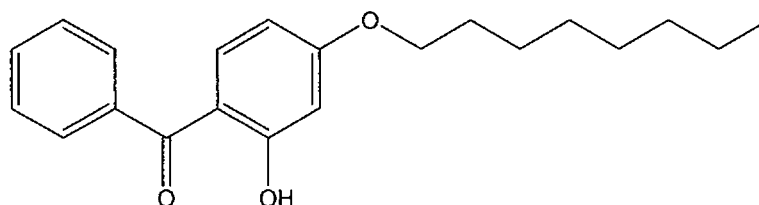
以上の結果から、本試験条件下における HOBP の親動物に対する一般毒性学的無毒性量は 1000 mg/kg/day で、雌雄動物に対する生殖発生毒性学的な無毒性量ならびに次世代に対する無毒性量も 1000 mg/kg/day であると判断された。

材料と方法

1. 被験物質

被験物質である 2-ヒドロキシ-4-(オクチルオキシ)ベンゾフェノン (別名: 2-Hydroxy-4-(octyloxy)benzophenone、CAS No.:1843-05-6、分子式: $C_{21}H_{26}O_3$ 、分子量:326.43、外観:薄い黄色結晶性粉末、純度:100.0%、融点:49.5℃、Annex A)は:

使用時まで冷蔵・遮光下(実測値 4~7 °C)で保管した。2-ヒドロキシ-4-(オクチルオキシ)ベンゾフェノンの構造式を以下に示す。



被験物質の安定性については、同被験物質を用いた急性経口投与毒性試験(試験番号:A-09-026)の投与開始前(2009年11月13日)および本試験の投与終了後(2010年2月22日)に臭化カリウム錠剤を作製後、秦野研究所にてフーリエ変換赤外分光光度計(FTIR-8300、島津製作所)を用いて、赤外

吸収スペクトル(測定範囲:4000~400 cm^{-1})を測定して調べ、2つのスペクトルに変化がないことを確認した(Annex B)。

2. 動物および飼育方法

日本チャールス・リバー厚木飼育センターより、8週齢の Sprague-Dawley (SD) 系ラット [CrI:CD(SD)、SPF] 雄 62 匹、雌 73 匹を購入し、3号室に収容した。動物は入荷日も含めて 14 日間、検疫と飼育環境への馴化のため飼育した。その間毎日、動物の一般状態を観察し、入荷日および検疫終了日に体重を測定した。検疫期間中は動物の尾にフェルトペンで馴化番号を記し、飼育ケージに試験番号、性別および馴化番号を記入した動物カードを掛けて識別した。また、雌動物については、入荷翌日から毎日、性周期を観察した。入荷時および検疫終了時の体重は以下の通りであった。

動物入荷日:2009 年 12 月 2 日、入荷時体重:雄 229.6~268.7 g、雌 186.1~211.8 g

検疫終了日:2009 年 12 月 15 日、検疫終了時体重:雄 330.2~414.4 g、雌 218.0~280.4 g

検疫期間中の一般状態および体重推移に異常は認められなかった。雌動物では、規則的な性周期の回帰が認められない 15 匹を除外し、雄動物と同様に体重別層化無作為抽出法により群分けを行った。群分けした動物には一連の動物番号を割り当て、フェルトペンで尾に動物番号を標識し、色彩の異なった動物カードに試験番号、性別および動物番号を記入して飼育ケージに掛けた。群分けから棄却された雄動物 10 匹、雌動物 5 匹および性周期の結果により除外した 15 匹は全て余剰動物とした。雄動物 10 匹および雌動物 20 匹は、ペントバルビタールナトリウムの過剰投与により安楽死させた。

動物は、全飼育期間を通じて、許容温度 21.0~25.0℃、許容湿度 40.0~75.0%、換気設定約 15 回/時間、明暗サイクル 12 時間(7 時~19 時)点灯、12 時間(19 時~7 時)消灯に設定された飼育室内で、金属製金網床ケージ(220w×270d×190h mm)に 1 匹ずつ(交配時は 2 匹)収容し、固型飼料(CE-2、日本クレア)と水道水(秦野市水道局給水)を自由に摂取させて飼育した。雌動物は全例について、妊娠 18 日から哺育 4 日までラット用プラスチック製繁殖ケージ(350w×400d×180h mm)に 1 匹ずつ収容し、床敷として紙パルプ製チップ(ペパークリーン、日本エスエルシー)を適宜供給した。

飼育期間中に飼育環境の異常は認められず、飼育室の温度は 22.0~24.0℃、湿度は 51.0~74.0%であり、いずれも許容範囲内であった。また、供給した飼料、水および床敷の分析結果は、いずれも標準操作手順書に記載の許容範囲内であることを確認した。

3. 投与検体

1) 調製

被験物質を秤量し、媒体である 0.1%Tween80 添加 0.5%カルボキシメチルセルロース・ナトリウム水溶液(以下、0.1%Tween80 添加 0.5%CMCNa 水溶液)[CMC Na(日局カルメロースナトリウム)(丸石製薬、製造番号:7213)に日局注射用水(光製薬、製造番号:A89AA1)を加えた後、Tween80(SIGMA-ALDRICH、

製造番号:125K01921)を添加]を加えて懸濁させ、20.0 w/v%液を調製した。さらに、20.0 w/v%液を媒体で希釈し、6.00 ならびに 2.00 w/v%液を段階的に調製した。調製した検体は、冷蔵・遮光下で保管し、調製後 8 日以内に使用した(実測値 1~6℃、保管期間 2009 年 12 月 15 日~2010 年 2 月 7 日)。

2) 安定性試験

同被験物質を用いた急性経口投与毒性試験(試験番号:A-09-026)において、秦野研究所で濃度 0.05 w/v% および 20.0 w/v% の調製検体の冷蔵・遮光下(実測値 2~4℃)での調製後 3 および 8 日間の安定性試験を実施した(開始日:2009 年 11 月 16 日、3 日:2009 年 11 月 19 日、8 日:2009 年 11 月 24 日)。調製直後および各保管期間経過後の平均含量がそれぞれの調製濃度の 92.9~100%、また、各測定値のばらつきがそれぞれ平均値の 98.6~101%、かつ、調製直後の測定平均値に対する各保管期間後の測定値比の平均が 95.5~104% であった(Annex C)。なお、これらの値は、試験計画書に記載した判定基準の範囲内(調製直後および各保管期間経過後の平均含量:それぞれの調製濃度の 85.0~115%、各測定値のばらつき:それぞれ平均値の 90.0~110%、調製直後の測定平均値に対する各保管期間後の測定値比の平均:90.0% 以上)であった。

3) 含量測定および均一性試験

本試験の初回調製検体(調製日 2009 年 12 月 15 日)について、2.00、6.00 および 20.0 w/v%濃度の調製検体の含量を測定した。その結果、平均含量は、それぞれの調製濃度の 87.6~101%であり、均一性も各測定値の平均値の 97.5~105.0%であった(Annex D)。これらの値は、試験計画書に記載した判定基準の範囲内(平均含量:調製濃度の 85.0~115%、各測定値のばらつき:平均値の 90.0~110%)であった。

調製検体中の被験物質濃度は以下の方法で測定した。

調製検体の 0.5 または 1 mL を採取し、メタノールで希釈して試料溶液を調製した。別に、被験物質約 10 mg を精密に量り、メタノールに溶解して正確に 50 mL とし、さらにこの溶液 1 mL を採り、メタノールを加えて正確に 20 mL とし、標準原液とした。この標準原液をそれぞれ 1、2 および 4 mL ずつ採り、メタノールを加えて正確に 20、10 および 10 mL とし、標準溶液を調製した。試料溶液および標準溶液を、以下に示す高速液体クロマトグラフ(HPLC)法により測定し、標準溶液から作成した検量線を用いて調製検体中の 2-ヒドロキシ-4-(オクチルオキシ)ベンゾフェノン濃度を算出した。各試料溶液は n=1 で測定し、標準溶液については n=3 で測定した。

HPLC 条件

分析カラム	YMC-Pack C4 (内径 4.6 mm、長さ 150 mm、粒子径 5 μm、(株)ワイエムシイ)
移動相	アセトニトリル/水混液(4:1 v/v)
流量	1.0 mL/min
カラム設定温度	40℃
試料設定温度	室温
測定波長	290 nm

試料注入量 10 μ L
 オートインジェクタ洗浄液 アセトニトリル/水混液(4:1 v/v)

4. 投与量の設定および投与方法

本試験の投与量は、2-ヒドロキシ-4-(オクチルオキシ)ベンゾフェノンのラットを用いる 28 日間反復経口投与毒性試験¹⁾の結果をもとに設定した。2-ヒドロキシ-4-(オクチルオキシ)ベンゾフェノンのラットを用いる 28 日間反復経口投与毒性試験において、被験物質を 0.1%Tween80 添加 0.5%カルボキシメチルセルロース・ナトリウムに懸濁させ、20、140 および 1000 mg/kg の割合でSD系ラット雌雄各 5 匹に 28 日間反復経口投与した結果、1000 mg/kg 投与群では、一般状態、体重および摂餌量に変化はなく、血液学検査、血液生化学検査および病理学検査においても被験物質投与に起因した毒性変化は認められなかった。これより、本試験の投与期間は 40 日を超え、雌においては妊娠および出産等の負担がかかる状態ではあるものの、1000 mg/kg の最大耐量を投与しても試験系が耐えうる可能性が高いと考えられた。よって、本試験における高用量群の投与量を 1000 mg/kg に設定し、以下、公比約 3 で徐して中用量を 300 mg/kg、低用量を 100 mg/kg とした。

雌動物は交配前 2 週間、交配期間、妊娠期間を通して分娩後の哺育 3 日まで、交尾が確認されなかった雌は剖検前日まで(総投与回数 42 回)、交尾は確認されたが分娩が認められない雌は剖検前日(妊娠 25 日相当日)まで、雄動物は交配前 2 週間、交配期間(最長 14 日間)を通して剖検前日まで(総投与回数 42 回)、経口的に 1 日 1 回、1 週 7 回、午前中(実施時間:9 時 10 分～11 時 50 分)に投与した。投与容量は 5 mL/kg とし、雄および交配前ならびに交配中の雌では週 1 回測定する体重を基に、交尾が確認された雌では、最新の測定日の体重を基に算出した。なお、対照群には媒体である 0.1%Tween80 添加 0.5%CMCNa 水溶液を同様に投与した。

投与経路は OECD 化学物質試験法ガイドライン[421]に拠り、ラット用胃管による強制経口投与とした。

本試験の群構成および動物番号を以下に示した。

群	投与物質	投与量 (mg/kg)	濃度 (w/v%)	投与容量 (mL/kg)	動物番号	
					雄	雌
1	0.1%Tween80 添加 0.5%CMCNa 水溶液	0	0	5	M01001～M01013	F01001～F01013
2	HOBP	100	2	5	M02001～M02013	F02001～F02013
3	HOBP	300	6	5	M03001～M03013	F03001～F03013
4	HOBP	1000	20	5	M04001～M04013	F04001～F04013

5. 検査法

1) 親動物 (F₀)

① 一般状態の観察

全例について、飼育期間中毎日 1 回以上、投与期間中は投与前後の毎日 2 回観察した。

②体重測定

雄動物は、投与 1、7、14、21、28、35、42 日および剖検日に測定した。雌動物は投与 1、7、14 日、妊娠 0、7、14、21 日、哺育 0 および 4 日(剖検日)に、さらに交尾が確認されなかった雌では投与 21、28、35、42 日および剖検日、分娩が確認されなかった動物では妊娠 26 日相当日にも測定した。

③摂餌量測定

雄動物は、投与 1～2、7～8、13～14、29～30、35～36、41～42 日に測定した。雌動物は投与 1～2、7～8、13～14 日および妊娠 0～1、7～8、14～15、20～21 日ならびに哺育 3～4 日、さらに交尾が確認されなかった雌では投与 29～30、35～36、41～42 日にも測定した。

④性周期観察

各群とも全例の雌について、動物入荷翌日から性周期を観察し、群分け後、投与開始以降も引き続き膣スメア標本作製し、各動物の同居後、交尾が確認されるまで性周期を観察した。群ごとの平均発情回帰日数(個体ごとの発情期から発情期までの日数の平均)を算出した。なお、規則的に 4 日～5 日の間で回帰している動物は正常と判断した。

⑤交配

投与 15 日の夕方(16 時 6 分)より同群内の雌雄を 1 対 1 で同居させた。翌朝より毎朝、膣栓を確認し、同居中の雌の膣垢標本作製して鏡検した。膣内に膣栓あるいは膣垢標本中に精子が確認された動物を交尾成立動物とし、この日を妊娠 0 日と起算して同居を解消し、個別に飼育した。交配結果および妊娠の成否により、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、交尾率[(交尾動物数/交配に用いた動物数)×100, %]、妊娠率[(妊娠動物数/交尾した雌動物数)×100, %]を算出した。

⑥妊娠・分娩・哺育状態の観察

交尾した妊娠雌全例を自然分娩させた。分娩の確認は、妊娠 21 日から分娩が確認されるまで毎日行い、午前 11 時までに分娩が完了した例について、その日を哺育 0 日(分娩日)とした。分娩状態の直接観察は観察可能な動物について行い、直接観察できなかった動物についても分娩後の一般状態および産児の状態から異常の有無を判断した。分娩後は哺育状態を哺育 1～4 日の間、毎日観察した。分娩した全例の妊娠期間(妊娠 0 日から分娩日までの日数)を求め、各群の出産率[(生児出産雌数/妊娠動物数)×100, %]を算出した。

⑦剖検および病理組織学的検査

雄動物は、投与 42 日の翌日に、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、精巣、精巣上体の重量を測定した。精巣および精巣上体は、ブアン液に固定(長期保存は 0.1M リン酸緩衝 10% ホルマリン溶液)し、前立腺、精囊/凝固腺および乳腺は 0.1M リン酸緩衝 10% ホルマリン溶液に固定した。精巣および精巣上体は、対照群および 1000 mg/kg 投与群について、病理組織学的検査を実施した。また、剖検時に異常が認められた精巣、精巣上体、肺、肝臓および腹壁についても同様に固定保存し、病理組織学的に検査した。

雌動物のうち、分娩した雌は哺育 4 日に、交尾しなかった雌は投与 42 日の翌日に、交尾はしたが

分娩しなかった雌は妊娠 26 日相当日に、それぞれ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、卵巣重量を測定した。なお、死亡例については、器官重量の測定をしなかった。卵巣については実体顕微鏡下で妊娠黄体数を、子宮については着床数を数え、着床率〔(着床数/妊娠黄体数)×100, %〕を算出した。未分娩であった雌動物は、10% 硫化アンモニウムで子宮を染色し、着床の有無を再確認した。また、分娩した雌、交尾しなかった雌および交尾はしたが分娩しなかった雌については、卵巣、子宮、膣および乳腺を、死亡例では、これらに加え脳、心臓、肺、肝臓および腎臓を 0.1M リン酸緩衝 10% ホルマリン溶液に固定した。卵巣は、対照群および 1000 mg/kg 投与群について、死亡例では、卵巣に加え脳、心臓、肺、肝臓および腎臓について病理組織学的に検査した。病変部についても、同様に固定保存し、病理組織学的に検査した。

2) 出生児 (F₁)

① 出生児の観察

哺育 0 日に生存児数および死亡児数を雌雄別に数えて、性別および外表奇形の有無を観察し、分娩率〔(産児数/着床痕数)×100, %〕、生児出産率〔(出產生児数/着床痕数)×100, %〕、出産率〔(生児出産雌数/妊娠動物数)×100, %〕および出生率〔(出產生児数/産児数)×100, %〕を算出した。哺育 0～4 日まで、毎日、一般状態を観察し、生存児数と死亡児数を雌雄別に数え、新生児生存率〔(哺育 4 日の生児数/哺育 0 日の生児数)×100, %〕を算出した。生存児については、哺育 0 および 4 日に個別の体重を測定し、腹ごとに雌雄別の平均体重を算出するとともに、哺育 0 日および 4 日における性比〔(雄生児数/総生児数)×100, %〕を算出した。

② 剖検

死亡児は、外表奇形の有無を観察して剖検し、0.1 M リン酸緩衝 10% ホルマリン溶液に固定して保存した。生存児は、哺育 4 日に外表奇形の有無を観察してセボフルラン吸入麻酔下で放血致死させて剖検し、内部器官の異常の有無を観察した。

6. データの解析法

性周期の変化した動物の頻度、交尾率、受胎率については Fisher の直接確率検定を行った(有意水準:5%)。

被験物質投与群の病理組織学検査所見のうち、グレード分けした病理組織所見は、Mann-Whitney の U 検定により、また陽性グレードの合計値は Fisher の直接確率の片側検定により、1000 mg/kg 投与群と対照群との間の有意差検定を行った(有意水準:5%)。

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、まず、Bartlett の方法により各群の分散の一樣性について検定(有意水準:5%)を行った。分散が一樣であった場合には、一元配置型の分散分析(有意水準:5%)を行い、群間に有意性が認められた場合は、Dunnett 法により多重比較を行った(有意水準:5%)。一方、いずれかの群で分散が 0 となった場合および分散が一樣でなかった場合には、Kruskal-Wallis の順位検定(有意水準:5%)を行い、群間に有意性が認められた場合には、Dunnett 型の検定法により多重比較を行った(有意水準:5%)。

試験成績

1. 親動物

1) 一般状態 (Table 1 ~ Table 4, Appendix 1 ~ Appendix 4)

雄では、死亡動物は観察されず、全試験期間を通じて一般状態の異常はみられなかった。一方、雌では、100 mg/kg 投与群の1例(動物番号:F02013)が哺育2日に死亡したが、この例以外では、全試験期間を通じて一般状態の異常はみられなかった。

2) 体重 (Table 5 ~ Table 8, Appendix 5 ~ Appendix 8)

雌雄とも、全試験期間を通じて体重には、対照群とHOBP各投与群との間に有意差は認められなかった。

3) 摂餌量 (Table 9 ~ Table 12, Appendix 9 ~ Appendix 12)

雌雄とも、全試験期間を通じて摂餌量には、対照群とHOBP各投与群との間に有意差は認められなかった。

4) 器官重量 (Table 13, Table 14, Appendix 13, Appendix 14)

雌雄ともに、測定した精巣および精巣上体ならびに卵巣の重量には、対照群とHOBP各投与群との間に有意差は認められなかった。

5) 剖検所見 (Table 15, Table 16, Appendix 15, Appendix 16)

雄では、300 mg/kg 投与群の2例および1000 mg/kg 投与群の1例の精巣の片側に小型化が観察され、そのうち 300 mg/kg 投与群の2例は、変化が認められた側の精巣上体あるいは精囊の左右いずれかの小型化を呈していた。また、1000 mg/kg 投与群の1例では、肝臓が腹膜と癒着しており、小型化を呈していた。この例では、肺に散在する赤色点も観察された。

雌では、観察期間終了時解剖例では、肉眼的な異常所見は認められなかった。一方、300 mg/kg 投与群の2例、100 mg/kg 投与群および 対照群の各1例に不妊動物が、1000 mg/kg 投与群の1例に未交尾の雌が認められた。このうち、300 mg/kg 投与群の1例(動物番号:F03006)の不妊動物の子宮では、子宮角から体部および頸部にかけて腔が拡張し、白濁した液体が貯留していた。他の不妊動物および未交尾の雌には、肉眼的な異常所見は認められなかった。

その他、哺育期間中に死亡した 100 mg/kg 投与群の1例(動物番号:F02013)では、肝臓が横隔膜と癒着しており、門部に餌様の内容物が貯留した嚢胞が観察されたほか、肺に退縮不全が認められた。

6) 病理組織学的検査(Table 17, Table 18, Appendix 17, Appendix 18)

精巣では、対照群の3例、300 および 1000 mg/kg 投与群の各2例の両側あるいは片側に限局性の精細管萎縮が観察された。

精巣上体では、精巣に組織変化が認められた例のうち、300 mg/kg 投与群の1例および 1000 mg/kg 投与群の2例の管腔に細胞残屑が、300 および 1000 mg/kg 投与群の各1例の管腔に精子の減少が観察されたほか、対照群の2例の間質にリンパ球浸潤がみられた。

剖検時、肉眼的な異常所見が認められた 1000 mg/kg 投与群の1例では、肝臓の漿膜に肉芽組織および好中球浸潤を伴う限局性の線維化が、臓側腹膜にも血管新生を伴う限局性の線維化が観察されたほか、肺には肺泡に泡沫細胞の集簇が認められた。一方、肉眼的に小型化が認められた 300 mg/kg 投与群の1例の精嚢では、病理組織学的な異常所見は観察されなかった。

観察期間終了時解剖例(哺育4日)の卵巣では、対照群および 1000 mg/kg 投与群の全例に、病理組織学的な異常所見は観察されなかった。

また、対照群および 1000 mg/kg 投与群で観察を行なった不妊動物あるいは未交尾の雌の卵巣にも、病理組織学的な異常所見は観察されなかった。

一方、剖検時、子宮に肉眼的な異常所見が認められた 300 mg/kg 投与群の不妊動物のうちの1例では、内腔が嚢胞状に拡張しており、腔内、粘膜および内膜に好中球が浸潤していた。

哺育期間中に死亡した 100 mg/kg 投与群の1例(動物番号:F02013)では、肝臓の門部に中等度壊死巣が認められ、門部周囲の漿膜面に好中球の浸潤および食物繊維様の異物が観察された。また、腎臓には、皮質、髄質に硝子円柱、皮質の近位尿細管細胞質に硝子様の滴状物および細胞質の空胞化が観察されたほか、肺に水腫が認められた。この例の、卵巣、脳および心臓には、病理組織学的な異常所見は観察されなかった。

2. 生殖能力

1) 性周期および交配成績(Table 19, Table 20, Appendix 19, Appendix 20)

性周期には、HOBP 投与の影響を示唆する変化はみられなかった。

交配の結果、交配期間中に交尾が確認されなかった動物が、1000 mg/kg 投与群に1例(動物番号:F04008)、交尾は確認されたが不妊であった動物が、対照群および 100 mg/kg 投与群に各1例(動物番号:F01006、F02001)、300 mg/kg 投与群に2例(動物番号:F03004、F03006)認められたが、交尾率および受胎率にはHOBP 投与の影響はみられなかった。また、交尾までの日数およびその間の発情回数にも、対照群とHOBP 各投与群との間に有意差は認められなかった。

2) 出産率および妊娠期間(Table 21, Appendix 21)

300 および 1000 mg/kg 投与群の妊娠期間が、対照群と比較して有意に短縮した。一方、出産にいたらなかった雌が5例存在したが、出産率には、対照群とHOBP 各投与群との間に有意差は認められなかった。

3)分娩および哺育状態(Table 21, Appendix 21)

出産にいたらなかった雌 5 例を除き、その他の妊娠動物は、正常に分娩した。また、哺育状態にも異常は認められなかった。

4)黄体数、着床数および着床率(Table 21, Appendix 21-1~4)

1000 mg/kg 投与群の黄体数が、対照群と比較して有意に減少し、着床率が、対照群と比較して有意に増加した。一方、着床数は、対照群とHOBP各投与群との間に有意差は認められなかった。

なお、対照群および 100 mg/kg 投与群の各 1 例(動物番号:F01006、F02001)、300 mg/kg 投与群の 2 例(動物番号:F03004、F03006)では、妊娠 25 日までに分娩が確認されなかったため、妊娠 26 日相当日に剖検を行った。その結果、これらの雌の子宮には、着床痕が確認されなかったことから、不妊であったと判断し、妊娠期以降の成績(体重等のデータ)は全て評価検定対象から除外した。

3. 出生児

1)生存(Table 21, Table 23, Appendix 21, Appendix 23)

産児数、分娩率、生児出産率、出産率、出生率、新生児生存率および性比には、対照群とHOBP各投与群との間に有意差は認められなかった。なお、哺育2日に死亡した 100 mg/kg 投与群の1例(動物番号:F02013)の出生児は、母動物の死亡当日に6例が死亡、10例が衰弱状態で発見された。これらの出生児は、母動物が死亡したため当日に剖検に供した。

2)体重(Table 22, Appendix 22)

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

3)出生児観察(Table 23, Table 24, Appendix 23)

哺育 0 日における生存児の外表を観察した結果、1000 mg/kg 投与群の出生児の雌 1 例(動物番号:F04006F06)に無尾および鎖肛がみられた。その他の出生児の外表に異常は認められなかった。また、哺育 4 日に剖検した結果、内臓の形態学的な異常所見は認められなかった。

死亡児は、対照群を含む各投与群に認められたが、死亡時期および死亡児数に特定の傾向は認められなかった。

死亡児には、母動物による食害により存在が不明になったと推察される児(不明児)、あるいは死後経過が進み自己融解により内臓観察ができなかった児を含むが、剖検可能であった死亡児には外表異常は観察されず、内臓観察可能であった死亡児についても、形態学的な異常所見は認められなかった。

考察

雌雄ラットの交配前(2 週間)および交配期間中ならびに、雄では交配期間終了後、計 42 日間、雌では妊娠期間を通して周産期(哺育 3 日まで)に HOBP を経口投与し、雌雄ラットに対する生殖毒性について検討した。

哺育期間中に 100 mg/kg 投与群の雌 1 例が死亡し、病理組織学的検査では門部周囲の漿膜面に食物繊維様の異物が観察された。食物繊維様の異物は、通常餌の成分として観察されることから、本動物の死因は、投与時の誤操作により母動物の状態が悪化した結果であり、被験物質投与に起因する死亡ではないと判断した。この例以外には、死亡は認められず、一般状態にも異常は観察されなかった。また、体重、摂餌量にも、HOBP 投与による影響は認められなかった。

病理組織学的検査では、300 および 1000 mg/kg 投与群の各 2 例ならびに対照群の 3 例の両側あるいは片側の精巣に限局性の精細管萎縮が観察されたが、対照群でも認められた所見であり、これらの雄動物と交尾した雌は妊娠し、正常に分娩したことから、被験物質との関連性はないと判断した。また、剖検時、1000 mg/kg 投与群の雄 1 例に肝臓と腹壁との癒着が認められ、病理組織学検査では、炎症を示唆する組織所見が観察されたが、その他の動物に同様な組織変化は観察されていないことから、偶発的な自然発生病変と考えられた。

不妊であった動物が、100 mg/kg 投与群および対照群に各 1 例、300 mg/kg 投与群に 2 例にみられた。このうち 300 mg/kg 投与群の 1 例(動物番号:F03006)では、病理組織学検査の結果、子宮腔内、粘膜および内膜に好中球が浸潤していたことから、子宮蓄膿症と考えられた。しかし、他の例では同様の所見が認められていないこと、1000 mg/kg 投与群には不妊動物はいないことから、被験物質との関連性はないと判断した。

妊娠期間は、300 および 1000 mg/kg 投与群で、対照群と比較して有意に短縮したが、全例が妊娠 22～23 日の間に出産していることから、偶発的な有意差と判断した。

黄体数は、1000 mg/kg 投与群で、対照群と比較して有意に減少し、着床率は、対照群と比較して有意に増加した。しかし、着床数および妊娠率ならびに出生児数に差が無いことから、偶発的な有意差と判断した。

出生児の観察では、1000 mg/kg 投与群の雌 1 例に無尾および鎖肛がみられたが、同群の他の出生児に異常所見がないことから、自然発生病変と考えられた。対照群の 1 例に哺育不良が観察されたが、HOBP 投与群には哺育状態が不良であった動物は認められていないことから分娩および哺育に、HOBP 投与による影響はないと判断した。さらに、出生児の生存率、体重にも HOBP 投与による影響はなかった。

以上の結果から、本試験条件下における HOBP の親動物に対する一般毒性学的無毒性量は 1000 mg/kg/day、雌雄動物に対する生殖発生毒性学的な無毒性量ならびに次世代に対する無毒性量は 1000 mg/kg/day であると考えられた。

参考文献

- 1) 2-ヒドロキシ-4-(オクチルオキシ)ベンゾフェノンのラットを用いる 28 日間反復経口投与毒性試験 (http://dra4.nihs.go.jp/mhlw_data/home/paper/paper1843-05-6b.html)

Reproduction/developmental toxicity screening test of 2-hydroxy-4-(octyloxy)benzophenone by oral administration in rats

Table 1.General conditions of male rats

Group	Number of males and general signs	Days of administration																																																								
		1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		11		12		13		14		15		16		17		18		19		20		21		22		23		24		25								
		Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post									
0.5% CMCNa solution added 0.1% Tween 80 ^{a)}	Number of males	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13							
	General appearance, No abnormality	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13					
HOBP 100 mg/kg	Number of males	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13					
	General appearance, No abnormality	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13			
HOBP 300 mg/kg	Number of males	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13			
	General appearance, No abnormality	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	
HOBP 1000 mg/kg	Number of males	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	
	General appearance, No abnormality	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13

Pre: Before administration, Post: after administration.

a): vehicle.

Reproduction/developmental toxicity screening test of 2-hydroxy-4-(octyloxy)benzophenone by oral administration in rats

Table 1 (continued). General conditions of male rats

Group	Number of males and general signs	Days of administration																																		
		26		27		28		29		30		31		32		33		34		35		36		37		38		39		40		41		42		43
		Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre		
0.5% CMCNa solution added 0.1% Tween 80 ^{a)}	Number of males	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	
	General appearance, No abnormality	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	
HOBP 100 mg/kg	Number of males	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	
	General appearance, No abnormality	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	
HOBP 300 mg/kg	Number of males	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	
	General appearance, No abnormality	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	
HOBP 1000 mg/kg	Number of males	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	
	General appearance, No abnormality	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	

Pre: Before administration, Post: after administration.

a): vehicle.

Table 2. General conditions of female rats

Pre: Before administration, Post: after administration.
a) vehicle.

Reproduction/developmental toxicity screening test of 2-hydroxy-4-(octyloxy)benzophenone by oral administration in rats

Table 2 (continued). General conditions of female rats

Group	Number of females and general conditions	Days of administration																																		
		26		27		28		29		30		31		32		33		34		35		36		37		38		39		40		41		42		43
		Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre		
HOBP 100 mg/kg	Number of females	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	General appearance, No abnormality	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
HOBP 1000 mg/kg	Number of females	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	General appearance, No abnormality	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
Pre: Before administration. Post: after administration.																																				

Pre: Before administration, Post: after administration.

Reproduction/developmental toxicity screening test of 2-hydroxy-4-(octyloxy)benzophenone by oral administration in rats

Table 3. General conditions of dams during pregnancy

Group	Number of dams and general conditions	Days of pregnancy																													
		0		1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		11		12		13		14	
		Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post
0.5% CMCNa solution added 0.1% Tween 80 ^{a)}	Number of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	General appearance, No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
HOBP 100 mg/kg	Number of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	General appearance, No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
HOBP 300 mg/kg	Number of dams	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
	General appearance, No abnormality	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
HOBP 1000 mg/kg	Number of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	General appearance, No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12

Pre: Before administration, Post: after administration.

a): vehicle.

Reproduction/developmental toxicity screening test of 2-hydroxy-4-(octyloxy)benzophenone by oral administration in rats

Table 3 (continued). General conditions of dams during pregnancy

Group	Number of dams and general conditions	Days of pregnancy																					
		15		16		17		18		19		20		21		22		23		24		25	
		Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post
0.5% CMCNa solution added 0.1% Tween 80 ^{a)}	Number of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	11	11	0	0	0	0	0	0
	General appearance, No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	11	11	0	0	0	0	0	0
HOBP 100 mg/kg	Number of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	0	0	0	0	0	0
	General appearance, No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	0	0	0	0	0	0
HOBP 300 mg/kg	Number of dams	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	3	3	0	0	0	0	0	0
	General appearance, No abnormality	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	3	3	0	0	0	0	0	0
HOBP 1000 mg/kg	Number of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	4	4	0	0	0	0	0	0
	General appearance, No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	4	4	0	0	0	0	0	0

Pre: Before administration, Post: after administration.

a): vehicle.

Reproduction/developmental toxicity screening test of 2-hydroxy-4-(octyloxy)benzophenone by oral administration in rats

Table 4. General conditions of dams during lactation

Group	Number of dams and general signs	Days of lactation									
		0		1		2		3		4	
		Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post
0.5% CMCNa solution added 0.1% Tween 80 ^{a)}	Number of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	General appearance, No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	General appearance, Death	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
HOBP 100 mg/kg	Number of dams	12	12	12	12	12	11	11	11	11	11
	General appearance, No abnormality	12	12	12	12	11	11	11	11	11	11
	General appearance, Death	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
HOBP 300 mg/kg	Number of dams	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
	General appearance, No abnormality	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
	General appearance, Death	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
HOBP 1000 mg/kg	Number of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	General appearance, No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	General appearance, Death	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Pre: Before administration, Post: after administration.

a): vehicle.

Reproduction/developmental toxicity screening test of 2-hydroxy-4-(octyloxy)benzophenone by oral administration in rats

Table 5. Body weights of male rats

Group	0.5% CMCNa solution added 0.1% Tween 80 ^{a)}			HOBP 100 mg/kg	HOBP 300 mg/kg	HOBP 1000 mg/kg
Number of males	13			13	13	13
Days of administration						
1	359.4	±	11.1	356.0 ± 13.5	360.3 ± 12.5	360.6 ± 15.9
7	383.1	±	15.8	382.5 ± 18.2	384.1 ± 14.6	386.8 ± 22.0
14	411.5	±	19.2	410.1 ± 20.3	409.9 ± 20.9	414.6 ± 27.5
21	430.5	±	21.3	429.4 ± 22.8	430.1 ± 23.8	435.9 ± 30.7
28	454.5	±	20.3	451.9 ± 27.0	453.6 ± 28.6	458.8 ± 35.5
35	476.0	±	20.4	469.9 ± 30.6	473.3 ± 29.8	475.9 ± 39.6
42	500.9	±	22.7	489.4 ± 34.4	492.1 ± 33.1	494.5 ± 42.6

Each value shows mean (g) ± S.D.

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

a): vehicle.

Reproduction/developmental toxicity screening test of 2-hydroxy-4-(octyloxy)benzophenone by oral administration in rats

Table 6. Body weights of female rats

Group	0.5% CMCNa solution added 0.1% Tween 80 ^{a)}	HOBP 100 mg/kg	HOBP 300 mg/kg	HOBP 1000 mg/kg
Number of females	13	13	13	13
Days of administration				
1	253.1 ± 9.6	252.4 ± 9.2	248.6 ± 10.5	248.9 ± 11.4
7	267.1 ± 14.9	266.6 ± 12.3	263.1 ± 12.8	263.7 ± 13.0
14	275.9 ± 13.9	279.2 ± 13.1	277.7 ± 14.5	274.6 ± 17.6

Each value shows mean (g) ± S.D.

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

a): vehicle.

Reproduction/developmental toxicity screening test of 2-hydroxy-4-(octyloxy)benzophenone by oral administration in rats

Table 7. Body weights of dams during pregnancy

Group	0.5% CMCNa solution added 0.1% Tween 80 ^{a)}	HOBP 100 mg/kg	HOBP 300 mg/kg	HOBP 1000 mg/kg
Number of dams	12	12	11	12
Days of pregnancy				
0	285.6 ± 16.4	293.0 ± 18.8	287.4 ± 14.9	285.1 ± 18.2
7	324.3 ± 16.8	331.5 ± 20.6	322.3 ± 14.9	319.6 ± 17.1
14	361.5 ± 19.0	370.1 ± 23.6	358.2 ± 14.1	356.9 ± 23.0
21	460.9 ± 28.4	470.9 ± 23.1	454.9 ± 26.2	458.1 ± 33.5

Each value shows mean ± S.D. (g).

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

a): vehicle.

Reproduction/developmental toxicity screening test of 2-hydroxy-4-(octyloxy)benzophenone by oral administration in rats

Table 8. Body weights of dams during lactation

Group	0.5% CMCNa solution added 0.1% Tween 80 ^{a)}	HOBP 100 mg/kg	HOBP 300 mg/kg	HOBP 1000 mg/kg
Number of dams	12	12	11	12
Days of lactation				
0	315.3 ± 25.5	335.5 ± 30.5	322.1 ± 18.6	322.0 ± 36.0
4	359.7 ± 26.1	365.4 ± 19.6 (11)	353.0 ± 8.9	351.0 ± 24.1

Each value shows mean ± S.D. (g).

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

Figures in parentheses indicate number of dams.

a): vehicle.

Reproduction/developmental toxicity screening test of 2-hydroxy-4-(octyloxy)benzophenone by oral administration in rats

Table 9. Food consumption of male rats

Group	0.5% CMCNa solution added 0.1% Tween 80 ^{a)}	HOBP 100 mg/kg	HOBP 300 mg/kg	HOBP 1000 mg/kg
Number of males	13	13	13	13
Days of administration				
1	28.3 ± 2.6	28.1 ± 2.3	29.7 ± 4.1	30.0 ± 2.4
7	27.5 ± 1.2	25.5 ± 1.9	26.3 ± 3.6	27.2 ± 2.3
13	26.7 ± 2.0	26.6 ± 2.3	27.2 ± 3.0	26.5 ± 4.2
29	28.2 ± 2.6	26.5 ± 3.3	27.7 ± 3.5	27.6 ± 2.8
35	28.8 ± 2.4	28.1 ± 2.5	29.5 ± 4.4	29.5 ± 3.1
41	30.3 ± 1.7	28.6 ± 3.9	27.6 ± 6.4	30.0 ± 2.7

Each value shows mean (g) ± S.D.

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

a): vehicle.

Reproduction/developmental toxicity screening test of 2-hydroxy-4-(octyloxy)benzophenone by oral administration in rats

Table 10. Food consumption of female rats

Group	0.5% CMCNa solution added 0.1% Tween 80 ^{a)}	HOBP 100 mg/kg	HOBP 300 mg/kg	HOBP 1000 mg/kg
Number of females	13	13	13	13
Days of administration				
1	21.6 ± 2.8	20.3 ± 3.0	22.1 ± 3.4	22.3 ± 3.7
7	22.4 ± 1.9	23.9 ± 3.5	21.3 ± 3.5	22.1 ± 3.9
13	21.7 ± 3.0	21.3 ± 3.5	22.5 ± 3.6	21.8 ± 4.2

Each value shows mean (g) ± S.D.

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

a): vehicle.

Reproduction/developmental toxicity screening test of 2-hydroxy-4-(octyloxy)benzophenone by oral administration in rats

Table 11. Food consumption of dams during pregnancy

Group	0.5% CMCNa solution added 0.1% Tween 80 ^{a)}	HOBP 100 mg/kg	HOBP 300 mg/kg	HOBP 1000 mg/kg
Number of dams	12	12	11	12
Days of pregnancy				
0	20.7 ± 4.1	21.4 ± 3.3	20.8 ± 2.6	20.9 ± 2.1
7	28.2 ± 3.7	29.4 ± 3.8	28.0 ± 2.8	27.7 ± 3.6
14	29.0 ± 3.0	28.9 ± 3.8	27.0 ± 3.3	28.5 ± 3.3
20	24.1 ± 3.2	22.6 ± 5.7	22.7 ± 4.9	23.4 ± 5.0

Each value shows mean ± S.D. (g).

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

a): vehicle.

Reproduction/developmental toxicity screening test of 2-hydroxy-4-(octyloxy)benzophenone by oral administration in rats

Table 12. Food consumption of dams during lactation

Group	0.5% CMCNa solution added 0.1% Tween 80 ^{a)}	HOBP 100 mg/kg	HOBP 300 mg/kg	HOBP 1000 mg/kg
Number of dams	12	11	11	12
Days of lactation	3			
	46.6 ± 12.0	47.6 ± 9.8	47.3 ± 6.3	46.9 ± 3.3

Each value shows mean ± S.D. (g).

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

a): vehicle.

Reproduction/developmental toxicity screening test of 2-hydroxy-4-(octyloxy)benzophenone by oral administration in rats

Table 13. Organ weights of male rats

Group		0.5% CMCNa solution added 0.1% Tween 80 ^{a)}		HOBP 100 mg/kg		HOBP 300 mg/kg		HOBP 1000 mg/kg	
Number of males		13		13		13		13	
Body weight	(g)	500.9	± 23.7	491.4	± 32.6	494.3	± 33.1	497.1	± 43.1
Testes	(mg)	3159.5	± 249.0	3228.3	± 268.5	3056.7	± 338.3	3164.2	± 231.0
	(mg/g)	6.311	± 0.426	6.613	± 0.872	6.216	± 0.832	6.414	± 0.749
Epididymides	(mg)	1222.4	± 83.7	1219.6	± 117.2	1169.5	± 134.9	1191.0	± 76.4
	(mg/g)	2.446	± 0.201	2.493	± 0.303	2.381	± 0.346	2.416	± 0.288

Each value shows mean ± S.D.

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

a): vehicle.

Reproduction/developmental toxicity screening test of 2-hydroxy-4-(octyloxy)benzophenone by oral administration in rats

Table 14. Organ weights of female rats

Group		0.5% CMCNa solution added 0.1% Tween 80 ^{a)}		HOBP 100 mg/kg		HOBP 300 mg/kg		HOBP 1000 mg/kg	
Number of females		12		11		11		12	
Body weight	(g)	359.7	± 26.1	365.4	± 19.6	353.0	± 8.9	351.0	± 24.1
Ovaries	(mg)	112.2	± 10.5	111.3	± 13.5	109.0	± 11.2	101.8	± 9.5
	(mg/g)	0.313	± 0.028	0.305	± 0.036	0.309	± 0.030	0.290	± 0.026

Each value shows mean ± S.D.

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

a): vehicle.

Reproduction/developmental toxicity screening test of 2-hydroxy-4-(octyloxy)benzophenone by oral administration in rats

Table 15. Macroscopic findings of male rats

	Group	0.5% CMCNa solution added 0.1% Tween 80 ^{a)}		HOBP 100 mg/kg		HOBP 300 mg/kg		HOBP 1000 mg/kg	
Findings	Grade	-	P	-	P	-	P	-	P
Testis									
Small, bilateral/right		13	0	13	0	11	2	12	1
Epididymis									
Small, right		13	0	13	0	12	1	13	0
Liver									
Adhesion, with peritoneum		13	0	13	0	13	0	12	1
Small		13	0	13	0	13	0	12	1
Lung									
Dark reddish spot, multiple		13	0	13	0	13	0	12	1
Seminal vesicle									
Small, left		13	0	13	0	12	1	13	0

Notes) - : No abnormal changes P : Non-graded change

Numerals represent the number of animals.

HOBP : 2-hydroxy-4-(octyloxy)benzophenone

a): Vehicle

Reproduction/developmental toxicity screening test of 2-hydroxy-4-(octyloxy)benzophenone by oral administration in rats

Table 16. Macroscopic findings of female rats

Findings	Group	0.5% CMCNa solution added 0.1% Tween 80 ^{a)}		HOBP 100 mg/kg		HOBP 300 mg/kg		HOBP 1000 mg/kg	
	Grade	-	P	-	P	-	P	-	P
All organs and tissues		12		11		11		12	

Notes) - : No abnormal changes P : Non-graded change

Numerals represent the number of animals.

HOBP : 2-hydroxy-4-(octyloxy)benzophenone

a): Vehicle

Reproduction/developmental toxicity screening test of 2-hydroxy-4-(octyloxy)benzophenone by oral administration in rats

Table 17. Histopathological findings of male rats

Findings	Group	0.5% CMCNa solution added 0.1% Tween 80 ^{a)}							HOBP 100 mg/kg							HOBP 300 mg/kg							HOBP 1000 mg/kg						
	Grade	-	±	+	2+	3+	P	NE	-	±	+	2+	3+	P	NE	-	±	+	2+	3+	P	NE	-	±	+	2+	3+	P	NE
Testis																													
Atrophy, seminiferous tubule, focal, bilateral/unilateral		10	3	0	0	0										0	1	0	0	1			11	1	1	0	0		
Epididymis																													
Cell debris, lumen, bilateral/unilateral		13	0	0	0	0										0	0	0	1	0			11	1	1	0	0		
Cellular infiltration, lymphocyte, focal, interstitial		11	2	0	0	0										1	0	0	0	0			13	0	0	0	0		
Decrease, sperm, lumen, bilateral/unilateral		13	0	0	0	0										0	0	0	0	1			12	1	0	0	0		
Seminal vesicle																1													
Liver																													
Fibrosis, focal, serosa, with granulation tissue & cellular infiltration of neutrophil																							0	0	1	0	0		
Lung																													
Accumulation, foam cell, focal, alveolus																							0	1	0	0	0		
Peritoneum																													
Fibrosis, focal, visceral peritoneum, with neovascularization																							0	0	1	0	0		

Notes) -: No abnormal changes ±: Very slight +: Slight 2+: Moderate 3+: Marked

P: Non-graded change NE: Not examined

Numerals represent the number of animals.

Not significantly different from control.

HOBP: 2-hydroxy-4-(octyloxy)benzophenone

a): Vehicle

Reproduction/developmental toxicity screening test of 2-hydroxy-4-(octyloxy)benzophenone by oral administration in rats

Table 18. Histopathological findings of female rats

Findings	Group	0.5% CMCNa solution added 0.1% Tween 80 ^{a)}							HOBP 100 mg/kg							HOBP 300 mg/kg							HOBP 1000 mg/kg						
	Grade	-	±	+	2+	3+	P	NE	-	±	+	2+	3+	P	NE	-	±	+	2+	3+	P	NE	-	±	+	2+	3+	P	NE
Ovary		12																					12						

Notes) -: No abnormal changes ±: Very slight +: Slight 2+: Moderate 3+: Marked

P: Non-graded change NE: Not examined

Numerals represent the number of animals.

Not significantly different from control.

HOBP: 2-hydroxy-4-(octyloxy)benzophenone

a): Vehicle

Reproduction/developmental toxicity screening test of 2-hydroxy-4-(octyloxy)benzophenone by oral administration in rats

Table 19. Results of observations about estrous cycle

Group	0.5% CMCNa solution added 0.1% Tween 80 ^{a)}	HOBP 100 mg/kg	HOBP 300 mg/kg	HOBP 1000 mg/kg
Number of animals examined	13	13	13	13
<u>Pre-treatment period</u>				
Number of animals showing the each type of regular estrous cycle				
4-day cycle	13	13	13	13
Mean length of estrous cycle in days; Mean±S.D.	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0
<u>Treatment period</u>				
Number of animals showing each type of cycle				
4-day cycle	13	13	13	13
Mean length of estrous cycle in days; Mean±S.D.	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0
Frequency of animals of which type of estrus cycle was changed after the treatment	0 / 13	0 / 13	0 / 13	0 / 13
Mean times of vaginal estrus during mating period; Mean±S.D.	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	1.2 ± 0.6

Each value shows mean±S.D.

Significantly different from the control group (*: p<0.05, **: p<0.01).

a): vehicle.

Reproduction/developmental toxicity screening test of 2-hydroxy-4-(octyloxy)benzophenone by oral administration in rats

Table 20. Results of observations about reproductive performance

Group	0.5% CMCNa solution added 0.1% Tween 80 ^{a)}			HOBP 100 mg/kg			HOBP 300 mg/kg			HOBP 1000 mg/kg		
Number of mated pairs [A]	13			13			13			13		
Number of copulated pairs [B]	13			13			13			12		
Copulation index [(B/A)×100,%]	100.0			100.0			100.0			92.3		
Number of fertile males [C]	12			12			11			12		
Fertility index [(C/B)×100,%]	92.3			92.3			84.6			100.0		
Pairing days until copulation ; Mean±S.D.	2.8	±	1.1	3.8	±	3.2	1.8	±	1.1	2.7	±	1.2

Significantly different from the control group (*: p<0.05, **: p<0.01).

a): vehicle.

Reproduction/developmental toxicity screening test of 2-hydroxy-4-(octyloxy)benzophenone by oral administration in rats

Table 21. Observation of offspring (F₁)

Group	0.5% CMCNa solution added 0.1% Tween 80 ^{a)}	HOBP 100 mg/kg	HOBP 300 mg/kg	HOBP 1000 mg/kg
Number of dams	12	12	11	12
Gestation length (days)				
Mean ± S.D. per dam	22.9 ± 0.3	22.5 ± 0.5	22.3 ± 0.5 **	22.3 ± 0.5 **
Number of corpora lutea				
Total	209	205	190	187
Mean ± S.D. per dam	17.4 ± 1.3	17.1 ± 2.5	17.3 ± 1.6	15.6 ± 1.2 *
Number of implantation scars				
Total	186	194	175	186
Mean ± S.D. per dam	15.5 ± 2.8	16.2 ± 2.0	15.9 ± 3.4	15.5 ± 1.1
Implantation index (%) ^{a)}	88.4 ± 13.1	95.0 ± 6.2	91.3 ± 16.6	99.5 ± 1.7 **
Gestation index (%) ^{b)}	100.0	100.0	100.0	100.0
Number of offspring at birth				
Total	173	180	161	177
Mean ± S.D. per dam	14.4 ± 3.2	15.0 ± 2.1	14.6 ± 3.2	14.8 ± 1.8
Number of live offspring at birth				
Male	74	87	84	82
Female	89	92	76	93
Total	163	179	160	175
Mean ± S.D. per dam	13.6 ± 3.5	14.9 ± 1.9	14.5 ± 3.2	14.6 ± 1.7
Sex ratio ^{c)}				
Mean ± S.D. per dam	0.44 ± 0.17	0.48 ± 0.09	0.54 ± 0.15	0.47 ± 0.12
Number of dead stillbirths				
Total	10	1	1	2
Mean ± S.D. per dam	0.8 ± 2.6	0.1 ± 0.3	0.1 ± 0.3	0.2 ± 0.4
Delivery index ^{d)}				
Mean% ± S.D. per dam	92.5 ± 7.8	92.9 ± 7.3	92.5 ± 7.2	94.9 ± 6.5
Birth index ^{e)}				
Mean% ± S.D. per dam	87.6 ± 14.8	92.5 ± 7.4	91.9 ± 7.3	93.9 ± 6.0
Live birth index ^{f)}				
Mean% ± S.D. per dam	95.1 ± 15.2	99.6 ± 1.5	99.4 ± 1.9	99.0 ± 2.4
Number of offspring on day 4				
Male	73	75 (11) ^{g)}	81	79
Female	83	78 (11) ^{g)}	76	92
Sex ratio ^{c)}				
Mean ± S.D. per dam	0.47 ± 0.14	0.49 ± 0.10 (11) ^{g)}	0.53 ± 0.16	0.47 ± 0.11
Viability index ^{h)}				
Mean% ± S.D. per dam	93.2 ± 21.6	86.8 ± 30.3 (11) ^{g)}	98.3 ± 4.2	97.7 ± 3.5
Number of external abnormalities	0	0	0	1
Mean% ± S.D. per dam	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0 (11) ^{g)}	0.0 ± 0.0	0.6 ± 1.9

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

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

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

c): Number of male offspring/(number of male offspring + number of female offspring).

d): (Number of offspring at birth/Number of implantation scars)×100.

e): (Number of live offspring at birth/number of implantation scars)×100.

f): (Number of live offspring at birth/number of offspring at birth)×100.

g): (Number of live offspring 4 days after birth/number of live offspring at birth)×100.

h): Number of external abnormalities in live offspring at birth.

i): vehicle.

j): Dam was died on the lactational day 2.

Figures in parentheses indicate number of dams.

Reproduction/developmental toxicity screening test of 2-hydroxy-4-(octyloxy)benzophenone by oral administration in rats

Table 22. Body weights of offspring (F₁)

Group	0.5% CMCNa solution added 0.1% Tween 80 ^{a)}	HOBP 100 mg/kg	HOBP 300 mg/kg	HOBP 1000 mg/kg
Number of dams	12	12	11	12
Male				
Days after birth				
0	7.3 ± 0.9	6.8 ± 1.0	6.8 ± 0.6	6.9 ± 0.5
4	11.9 ± 2.3	11.2 ± 1.7 (11)	11.3 ± 1.8	11.3 ± 1.1
Number of dams	12	12	11	12
Female				
Days after birth				
0	6.9 ± 1.0	6.3 ± 0.9	6.4 ± 0.6	6.5 ± 0.6
4	11.4 ± 2.5	10.6 ± 1.6 (11)	10.7 ± 1.8	10.6 ± 1.2

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

Figures in parentheses indicate number of dams.

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

a): vehicle.

Reproduction/developmental toxicity screening test of 2-hydroxy-4-(octyloxy)benzophenone by oral administration in rats

Table 23. General conditions in offspring (F₁)

Group	Number of offspring and general signs	Days after birth				
		0	1	2	3	4
0.5% CMCNa solution added 0.1% Tween 80 ^{a)}	Number of offspring	163	163	156	156	156
	General appearance, No abnormality	163	156	156	156	156
	General appearance, Death		7			
	General appearance, Exhaustion					
	Abnormal findings of offspring, Anal atresia					
	Abnormal findings of offspring, Acaudate					
HOBP 100 mg/kg	Number of offspring	179	179	169	153	153
	General appearance, No abnormality	179	169	153	153	153
	General appearance, Death		10	6		
	General appearance, Exhaustion			10 ^{c)}		
	Abnormal findings of offspring, Anal atresia					
	Abnormal findings of offspring, Acaudate					
HOBP 300 mg/kg	Number of offspring	160	160	157	157	157
	General appearance, No abnormality	160	157	157	157	157
	General appearance, Death		3			
	General appearance, Exhaustion					
	Abnormal findings of offspring, Anal atresia					
	Abnormal findings of offspring, Acaudate					
HOBP 1000 mg/kg	Number of offspring	175	175	172	171	171
	General appearance, No abnormality	174	171	170	170	170
	General appearance, Death		3	1		
	General appearance, Exhaustion					
	Abnormal findings of offspring, Anal atresia ^{b)}	1	1	1	1	1
	Abnormal findings of offspring, Acaudate ^{b)}	1	1	1	1	1

a): vehicle.

b): These abnormalities were observed in the same offspring.

c): offspring were autopsied because dam was died (lactational day 2).

Reproduction/developmental toxicity screening test of 2-hydroxy-4-(octyloxy)benzophenone by oral administration in rats

Table 24. Morphological findings of offspring (F₁)

Group	0.5% CMCNa solution added 0.1% Tween 80 ^{a)}	HOBP 100 mg/kg	HOBP 300 mg/kg	HOBP 1000 mg/kg
Dead offspring				
Number of dead offspring ^{b)}	7	16	3	4
Number of missing offspring	7	7	1	1
Number of dead offspring examined	0	9	2	3
Number of dead offspring with external changes	0	0	0	0
Number of dead offspring with visceral changes	0	0	0	0
Live offspring				
Number of live offspring examined (postnatal day 0)	163	179	160	175
Number of live offspring with external changes	0	0	0	1
Number of live offspring examined (postnatal day 4)	156	153 (10) ^{c)}	157	171
Number of live offspring with external changes	0	0	0	1
Number of live offspring with visceral changes	0	0	0	0

Significantly different from the control group (*: p<0.05, **: p<0.01).

Figures in parentheses indicate number of offspring.

a): vehicle.

b): including missing offspring.

c): offspring were autopsied because dam was died (lactational day 2).