

最終報告書

フタル酸ジヘプチルエステルのラットを用いた
経口投与による簡易生殖毒性試験

(試験番号：B041803)

2007 年 1 月 23 日

株式会社三菱化学安全科学研究所

2. 目次

2. 目次	3
-------------	---

5. 要約	11
6. 緒言	12
7. 材料および方法	13
7.1 被験物質	13
7.1.1 名称	13
7.1.2 CAS 番号	13
7.1.3 物理化学的性状	13
7.1.4 製造元	13
7.1.5 入手日	13
7.1.6 ロット番号	13
7.1.7 純度	13
7.1.8 保存条件	13
7.1.9 保管場所	13
7.1.10 安定性の確認	13
7.1.11 取扱上の注意	14
7.1.12 実験終了後の被験物質の取扱い	14
7.2 媒体	14

7.2.1 名称.....	14
7.2.2 使用方法.....	14
7.2.3 保管に関する事項.....	14
7.3 試験動物.....	14
7.3.1 動物種.....	14
7.3.2 系統.....	14
7.3.3 系統選択理由.....	14
7.3.4 微生物レベル.....	14
7.3.5 購入先.....	14
7.3.6 購入動物数.....	15
7.3.7 検疫・馴化.....	15
7.3.8 投与開始時週齢.....	15
7.3.9 投与開始時体重.....	15
7.3.10 群分け.....	15
7.3.11 動物の識別.....	15
7.3.12 余剰動物の措置.....	15
7.4 動物飼育.....	15
7.4.1 飼育室.....	15
7.4.2 飼育環境.....	16
7.4.2.1 温度.....	16
7.4.2.2 相対湿度.....	16
7.4.2.3 換気.....	16
7.4.2.4 照明時間.....	16
7.4.3 飼育器材.....	16
7.4.3.1 ケージ.....	16
7.4.3.2 トレー.....	16
7.4.3.3 給餌器.....	16
7.4.3.4 給水器.....	16
7.4.3.5 架台.....	17
7.4.4 床敷.....	17
7.4.4.1 種類.....	17
7.4.4.2 汚染物質の確認.....	17
7.4.5 飼料.....	17
7.4.5.1 種類.....	17
7.4.5.2 給餌法.....	17
7.4.5.3 汚染物質の確認.....	17
7.4.6 飲用水.....	18
7.4.6.1 種類.....	18

7.4.6.2 給水法	18
7.4.6.3 分析	18
7.4.7 収容動物数	18
7.5 投与	18
7.5.1 経路・方法	18
7.5.2 投与方法の選択理由	18
7.5.3 回数	18
7.5.4 期間	18
7.5.5 用量および用量設定理由	18
7.5.6 投与液量	19
7.6 投与液の調製	19
7.6.1 方法・頻度	19
7.6.2 安定性および均一性の確認	19
7.6.3 濃度の確認	20
7.7 投与液の分析方法	20
7.7.1 高速液体クロマトグラフ (HPLC) 操作条件	20
7.7.2 標準溶液の調製	20
7.7.3 試料溶液の調製	21
7.7.4 各溶液の HPLC 測定	21
7.8 群構成	21
7.9 反復投与毒性に関する観察・測定項目	22
7.9.1 一般状態の観察	22
7.9.2 体重	22
7.9.3 摂餌量	22
7.9.4 病理学検査	22
7.9.4.1 器官重量	22
7.9.4.2 病理解剖検査	22
7.9.4.3 病理組織学検査	23
7.10 生殖発生毒性に関する観察・検査項目	23
7.10.1 生殖機能検査	23
7.10.1.1 性周期	23
7.10.1.2 交配	23
7.10.2 分娩および哺育の観察	24
7.10.3 哺育終了後の検査	24
7.10.4 新生児の観察・検査	24
7.10.4.1 新生児の観察	24
7.10.4.2 体重	24
7.10.4.3 肛門・生殖突起間距離の測定	24

7.10.4.4 剖検	24
7.11 統計学的解析	25
7.12 コンピュータシステムの使用	25
8. 結果	26
8.1 反復投与毒性	26
8.1.1 一般状態	26
8.1.2 体重	26
8.1.3 摂餌量	26
8.1.4 器官重量	26
8.1.5 剖検所見	26
8.1.6 病理組織所見	27
8.2 生殖発生毒性	30
8.2.1 生殖機能	30
8.2.2 分娩および哺育状態	30
8.2.3 新生児への影響	30
8.2.3.1 新生児の観察	30
8.2.3.2 体重	30
8.2.3.3 肛門・生殖突起間距離	30
8.2.3.4 剖検	31
9. 考察および結論	32
10. 参考文献	35

図および群別表（ページ 1 - 56）

5. 要約

フタル酸ジヘプチルエステルを 100, 300 および 1000 mg/kg の用量で SD 系ラット〔CrI:CD(SD)〕の雄に交配前 14 日から交配を経て計 42 日間、雌は交配前 14 日から交配、妊娠、分娩を経て哺育 3 日まで経口投与し、生殖発生毒性について検討した。1 群の動物数は雌雄各 12 匹とし、対照群には媒体（オリブ油）のみを投与した。

一般毒性学的変化として、1000 mg/kg 群の雌 7 例が妊娠 20～22 日に死亡した。体重増加の抑制が 1000 mg/kg 群の雌雄、生殖器重量の低値が 1000 mg/kg 群の雄で認められた。病理学検査では、精細管の萎縮および精巣上体管内の細胞残屑が 1000 mg/kg 群の雄、肝臓における肝細胞の腫大、脂肪化、単細胞性壊死、巣状壊死、有糸分裂像増加および oval cell の増殖、変異肝細胞巣が 300 mg/kg 以上の群の雌雄で認められた。

親動物の生殖機能への影響としては、1000 mg/kg 群で妊娠末期の死亡に起因する出産率の低下が認められた。その他、平均性周期日数、異常性周期動物の発現率、交尾率、交尾所要日数、交尾成立までに逸した発情期の回数、受胎率、分娩率、妊娠期間、黄体数、着床数および着床率のいずれにも被験物質に起因する変化は認められなかった。また、分娩および哺育異常も認められなかった。

新生児に及ぼす影響としては、1000 mg/kg 群の雌雄で体重が低値傾向を示した。その他、出産児数、出產生児数、性比、出生率および新生児の 4 日生存率、外表検査、一般状態、肛門・生殖突起間距離（AGD）および剖検のいずれにも被験物質に起因する変化は認められなかった。

以上の結果から、フタル酸ジヘプチルエステルの本試験条件下における雌雄の一般毒性学的無影響量は 100 mg/kg/day、親動物の生殖機能に対する無影響量ならびに新生児に対する無影響量はいずれも 300 mg/kg/day と考えられる。

6. 緒言

フタル酸ジヘプチルエステルは、芳香族ジカルボン酸エステルに属する化合物で、代表的な物質はフタル酸エステルである。芳香族ジカルボン酸エステルは重要な産業用化学物質で、フィルムなどのプラスチック可塑剤として用いられ、含有量は重量の30%に及ぶ。特に、ビニル樹脂・セルロース樹脂に強度と弾力性を付与するのに用いられている。最近では歯科・外科領域のプラスチック材料として広く用いられている[1]。フタル酸エステルは産業用化学物質のうち、最も低毒性物質の一つとされているが、マウスを用いた生殖試験では、類似物質のうちフタル酸ジブチルは出生児数、児の体重、生存数を抑制し、フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)は受胎力と出生児生存数を抑制すること、さらに胚致死作用および催奇形作用があり[1]、ラットに精巣障害を引き起こすことが知られている[2]。一方、フタル酸ジヘプチルエステルに関する反復投与毒性の情報はあつたものの、生殖発生毒性の情報はなかつた。

フタル酸ジヘプチルエステルの毒性情報として、単回経口投与毒性試験[3]では雌雄とも2000 mg/kgで死亡はみられず、一般状態、体重などにも毒性影響は認められなかつた。また、28日間反復経口投与毒性試験[4]では、雄の250 mg/kgで血液凝固系の延長、1000 mg/kgで肝臓、腎臓および生殖器への影響が認められた。雌では1000 mg/kgで肝臓および腎臓への影響がみられ、無影響量(NOEL)は雄で62.5 mg/kg/day、雌で250 mg/kg/dayと報告されている。

上述の類似物質では生殖発生毒性が報告されており、被験物質の28日間反復経口投与毒性試験では生殖器への変化が認められていることから、被験物質における受胎能および出生児の生存性への影響が懸念される。

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、ラットを用いて簡易生殖毒性試験を実施し、生殖発生に及ぼす影響について検討したので報告する。

7. 材料および方法

7.1 被験物質

7.1.1 名称

フタル酸ジヘプチルエステル（略称；DHP）

英名称は次の2つを併記する（いずれも同一物質である）。

①Di-n-Heptyl phthalate ②Diheptyl phthalate

7.1.2 CAS 番号

3648-21-3

7.1.3 物理化学的性状

沸点 196～198℃（0.5 mmHg），無色・無臭の透明液体。その他の物理化学的性状の情報なし。

7.1.4 製造元

7.1.5 入手日

2005年3月10日

7.1.6 ロット番号

7.1.7 純度

98.6 %

7.1.8 保存条件

冷蔵（温度実測値 2.8～8.4℃，許容範囲：1～10℃），暗所，密閉

7.1.9 保管場所

被験物質保管場所（42）

7.1.10 安定性の確認

当研究所において、投与開始前と投与終了後に赤外吸収スペクトル法（IR 法）で赤外吸収スペクトルを測定し、試験に使用した被験物質の特性に変化がないことを確認した（添付資料 12.1, 12.2）。

測定機器：島津フーリエ変換赤外分光光度計（FTIR-8300，株式会社島津製作所）

方法：

- (1) セル板 (KBr) の上に被験物質を一滴たらした.
- (2) (1) の上にもう一枚のセル板 (KBr) を密着させた.
- (3) 分光光度計にセットし, IR スペクトルを測定した.

7.1.11 取扱上の注意

保護具 (ゴム手袋, マスク, 眼鏡) を着用した.

7.1.12 実験終了後の被験物質の取扱い

被験物質は投与終了後の安定性を確認した後, 保存用サンプルを分取し, 廃棄処分した.

7.2 媒体

7.2.1 名称

オリブ油 (日本薬局方, オリエンタル薬品工業株式会社, ロット番号 50209)

7.2.2 使用方法

そのまま用いた.

7.2.3 保管に関する事項

室温 (許容範囲 10~30℃, 温度実測値 14.0~26.4℃)

7.3 試験動物

7.3.1 動物種

ラット

7.3.2 系統

CrI:CD(SD)

7.3.3 系統選択理由

げっ歯類を用いた毒性試験に広く使用され, 背景データが豊富であり, 多数の個体の入手が可能である.

7.3.4 微生物レベル

SPF

7.3.5 購入先

日本チャールス・リバー株式会社 (厚木生産所)

7.3.6 購入動物数

雌雄各 55 匹

7.3.7 検疫・馴化

検疫期間には一般状態を 5 日間 1 日 1 回観察し、健康状態が良好であることを確認した。また、動物入荷日および検疫終了日に体重を測定し、体重増加が認められることを確認した。検疫終了後も馴化を継続し、投与開始日まで一般状態を毎日観察した。さらに雌については、検疫終了日から性周期を 8 日間毎日観察した。その結果、雌雄全例に体重増加および一般状態に異常は認められず、性周期の異常を示す雌動物も認められなかった。

7.3.8 投与開始時週齢

9 週齢

7.3.9 投与開始時体重

動物の体重範囲は平均体重 $\pm$ 20%であることを確認した。

雄；337～382 g，雌；203～252 g

7.3.10 群分け

雌雄全例を用いて、投与開始前日に体重層別無作為抽出法により、各群の平均体重がほぼ均一になるように群分けし、雌雄各 48 匹を使用した。

7.3.11 動物の識別

群分け前は尾に油性ペンで標識して個体識別し、ケージには試験番号、性別、検疫・馴化中の動物番号、動物種、系統およびケージ番号を記載したラベルを付けた。群分け後は耳パンチ法により個体識別し、ケージには試験番号、動物番号、性別、群名（用量）、動物種、系統、交配番号、分娩番号およびケージ番号を記載したラベルを付けた。新生児については、生後 0 日は個体識別を行わず、生後 4 日は体重測定を行った順に通し番号（1 腹当たり 1 番から全新生児数）を油性ペンで標識し個体識別した。

7.3.12 余剰動物の措置

群分け後の余剰動物は雌雄とも投与開始日に安楽殺処分した。

7.4 動物飼育

7.4.1 飼育室

ラット・マウス飼育室（検疫室 2113 室，検疫終了後 2115 室）

7.4.2 飼育環境

7.4.2.1 温度

20.6～22.9℃（許容範囲 19.0～25.0℃）

7.4.2.2 相対湿度

46.6～66.9%（許容範囲 35.0～75.0%）

7.4.2.3 換気

6～12 回／時，オールフレッシュエアー供給

7.4.2.4 照明時間

12 時間／日（7:00～19:00）

7.4.3 飼育器材

7.4.3.1 ケージ

(1) 雄の全期間と雌の妊娠・哺育期間を除く期間

オートクレーブ滅菌したステンレス製つり下げ型金網製ケージ（195W × 325D × 180H mm，トキワ科学器械株式会社）を使用し，5 日～8 日に 1 回交換した。

(2) 妊娠・哺育期間

オートクレーブ滅菌したポリカーボネート製ケージ（265W × 426D × 200H mm，トキワ科学器械株式会社）を使用し，6 日あるいは 7 日に 1 回交換した。

7.4.3.2 トレー

交配期間はオートクレーブ滅菌したアルミニウム製トレー（トキワ科学器械株式会社）のみを使用し，毎日交換した。その他のステンレス製つり下げ型金網製ケージの使用期間は，オートクレーブ滅菌した実験動物用床敷（ベータチップ，日本チャールス・リバー株式会社）を敷いたトレーを使用し，検疫終了時，群分け時，投与第 7 日およびその後は 7 日に 1 回交換した。

7.4.3.3 給餌器

オートクレーブ滅菌した固型用ステンレス製給餌器（トキワ科学器械株式会社）を使用し，検疫終了時，群分け時，投与第 7 日およびその後は 7 日に 1 回交換した。

7.4.3.4 給水器

(1) 雄の全期間と雌の妊娠・哺育期間を除く期間

オートクレーブ滅菌したポリカーボネート製給水瓶（200 mL，トキワ科学器械株式会社）を使用し，検疫終了時，群分け時，投与第 7 日およびその後は 7

日に1回交換した。

(2) 妊娠・哺育期間

オートクレーブ滅菌したポリカーボネート製給水瓶（700 mL，トキワ科学器械株式会社）を使用し，ケージ交換時に交換した。

7.4.3.5 架台

(1) 雄の全期間と雌の妊娠・哺育期間を除く期間

オートクレーブ滅菌したステンレス製架台（トキワ科学器械株式会社）を使用し，5日～8日に1回交換した。

(2) 妊娠・哺育期間

ベンザルコニウム系特殊洗浄剤（マイクロカット，エコラボ株式会社）の希釈液で消毒したスチール製架台（トキワ科学器械株式会社）を使用した。

7.4.4 床敷

7.4.4.1 種類

妊娠・哺育期間のケージにはオートクレーブ滅菌した実験動物用床敷（ベータチップ，日本チャールス・リバー株式会社）を使用し，6日あるいは7日に1回交換した。

7.4.4.2 汚染物質の確認

財団法人日本食品分析センターで実施した分析結果を供給者から定期的に入手し，残留農薬等の汚染物質濃度が，当研究所の標準操作手順書の基準に適合していることを確認した。

7.4.5 飼料

7.4.5.1 種類

放射線滅菌した実験動物用固型飼料（CRF-1，オリエンタル酵母工業株式会社）

7.4.5.2 給餌法

自由摂取とした。飼料は給餌器交換時に交換した。

7.4.5.3 汚染物質の確認

財団法人日本食品分析センターで実施した分析結果を供給者から入手し，使用したロット（ロット番号 050307，050512）の残留農薬等の汚染物質濃度が，当研究所の標準操作手順書の基準に適合していることを確認した。

7.4.6 飲用水

7.4.6.1 種類

5 μ m フィルター濾過後，紫外線照射した水道水

7.4.6.2 給水法

自由摂取とした。

7.4.6.3 分析

株式会社ダイヤ分析センターで水質検査を定期的実施し，得られた分析値が当研究所の標準操作手順書の基準に適合することを確認した。

7.4.7 収容動物数

1 ケージあたり交配期間は雌雄各 1 匹，哺育期間は 1 腹，検疫・馴化期間を含むその他の期間は 1 匹とした。

7.5 投与

7.5.1 経路・方法

経口（強制経口投与）

ラット用胃ゾンデを装着したディスポーザブル注射筒を用いて投与した。

7.5.2 投与方法の選択理由

OECD ガイドラインで規定されている。

7.5.3 回数

1 日 1 回，8:01～11:34 の間に投与した。

7.5.4 期間

(1) 雄

交配前 14 日間および交配期間を経て剖検前日までの計 42 日間とした。

(2) 妊娠・哺育動物

交配前 14 日間，交配期間，妊娠期間および分娩を経て哺育 3 日（分娩日を哺育 0 日とした）までとした。

7.5.5 用量および用量設定理由

100, 300 および 1000 mg/kg の 3 用量を設定した。

既存化学物質点検事業として，株式会社化合物安全性研究所においてフタル酸ジヘプチルエステルのラットを用いた毒性試験が以下の通り実施されている。

①単回経口投与毒性試験[3]（用量：500, 1000, 2000 mg/kg, 1 群雌雄各 5 例）
②28 日間反復投与投与毒性試験[4]（用量：62.5, 250, 1000 mg/kg, 1 群雌雄各 7～14 例）いずれも化学物質毒性試験報告（Vol. 4）に掲載されており，これらの結果を参考に用量を設定した。

①試験では，雌雄いずれの群においても死亡は認められず，LD₅₀ 値は 2000 mg/kg 以上と推定された。②試験では，雌雄いずれの群においても死亡は認められなかった。被験物質に起因する変化として，雄では 250 mg/kg 以上の群でプロトロンビン時間および活性化部分トロンボプラスチン時間の延長，1000 mg/kg 群で肝臓，腎臓および生殖器への影響が認められた。なお，生殖器の影響は，精巣および精巣上体重量の減少，精巣に精子形成細胞の消失，精巣上体に管内精子減少および剥離性精子形成細胞の出現が認められた。雌では 1000 mg/kg 群で肝臓および腎臓への影響が認められた。この結果，無影響量（NOEL）は雄で 62.5 mg/kg/day，雌で 250 mg/kg/day と結論された。

これらのことから，本試験（簡易生殖毒性試験）の高用量を 1000 mg/kg に設定した場合でも，死亡は発生しないと予想され，かつ雄では生殖器への影響をより明確に検査することが可能と考えられた。よって，高用量を 1000 mg/kg とし，以下公比約 3 で減じ中用量は 300 mg/kg，低用量は 100 mg/kg の 3 用量を設定した。また，媒体（オリブ油）のみを投与する対照群を設けた。

7.5.6 投与液量

5 mL/kg とし，至近日に測定した体重に基づいて算出した。

7.6 投与液の調製

7.6.1 方法・頻度

被験物質を用量毎に所定量秤量し，各用量とも媒体（オリブ油）を加え混合し，20, 60 および 200 mg/mL の濃度に調製した。調製後の投与液は，投与日ごとにガラス褐色瓶に分注し，投与に供するまで 8 日間を限度に冷蔵（実測値 2.9～7.7℃，許容範囲：1～10℃）・暗所で保存した。調製頻度は 7 日間に 1 回とし，イエローランプ照明下の調剤室にて実施した。また，対照群の投与液用に分注した媒体は被験物質投与液と同様に保存した。

7.6.2 安定性および均一性の確認

投与開始前に当研究所で実施された「試験番号：B050282，表題：Validation of the Analytical Method for DHP Concentration in Preparation」において，冷蔵，暗所保存条件下で 8 日間の安定性および均一性が，0.4 および 200 mg/mL の濃度で HPLC 法により確認されている（添付資料 12.3）

7.6.3 濃度の確認

初回調製および全濃度を調製する最終調製時の投与液を、用量毎に HPLC 法により分析 (n=2) し、各濃度の平均値が設定濃度 $\pm 10\%$ 以内であることを確認した。その結果、各投与液の対設定濃度は 101.0~102.5%で基準を満たす値であった (添付資料 12.4, 12.5)。

7.7 投与液の分析方法

投与液の分析は、当研究所で実施された分析バリデーション(試験番号:B050282, 表題: Validation of the Analytical Method for DHP Concentration in Preparation) の方法に従って実施した。分析方法を以下に示す。

7.7.1 高速液体クロマトグラフ (HPLC) 操作条件

カラム: CAPCELL PAK C18, UG120, 5 μ m, 4.6 mm I.D. $\times$ 150 mm, Shiseido Co., Ltd.
 カラム温度: 40 $^{\circ}$ C
 移動相 (MP): アセトニトリル/水/トリフルオロ酢酸 (TFA) (95:5:0.1, v/v/v)
 流速: 1.0 mL/min
 検出波長: UV 224 nm
 注入量: 10 μ L
 オートインジェクタ温度: 室温 (温度設定なし)
 オートインジェクタ洗浄液: アセトニトリル/水 (50:50, v/v)

7.7.2 標準溶液の調製

下表に従い標準溶液 (ST-10, -20, -40) を調製した。

溶液略号		調製方法		濃度 (μ g/mL)
SS-1	DHP, 約 50 mg	→	50 mL/ アセトニトリル	1000
SS-2	SS-1, 5 mL	→	25 mL/ アセトニトリル	200
ST-10	SS-2, 1 mL	→	20 mL/ アセトニトリル	10
ST-20	SS-2, 2 mL	→	20 mL/ アセトニトリル	20
ST-40	SS-2, 4 mL	→	20 mL/ アセトニトリル	40

7.7.3 試料溶液の調製

下表に従い試料溶液を調製した.

投与液 (mg/mL)	調製方法	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)
20	投与液, 1 mL $\rightarrow$ 50 mL/ THF (A 液)	20
	A 液, 1 mL $\rightarrow$ 20 mL/ アセトニトリル	
60	投与液, 1 mL $\rightarrow$ 50 mL/ THF (B 液)	24
	B 液, 1 mL $\rightarrow$ 50 mL/ アセトニトリル	
200	投与液, 1 mL $\rightarrow$ 50 mL/ THF (C 液)	20
	C 液, 1 mL $\rightarrow$ 25 mL/ アセトニトリル (D 液)	
	D 液, 2.5 mL $\rightarrow$ 20 mL/ アセトニトリル	

THF : テトラヒドロフラン

7.7.4 各溶液の HPLC 測定

標準溶液 (ST-10, -20, -40) および試料溶液を条件設定した HPLC に注入して, クロマトグラム上の DHP のピーク面積を測定した. 測定した標準溶液の濃度およびそのピーク面積から検量線の一次式を求めた. 検量線の一次式および試料溶液測定から得られたピーク面積を用いて, 試料溶液中の DHP の濃度を求め, 試料溶液の希釈倍率から投与液中の DHP の濃度を算出した.

7.8 群構成

群 名	濃度 (mg/mL)	動物数および動物番号	
		雄	雌
対照	0	12 ¹⁾	12
		(00101-00112) ²⁾	(50101-50112)
100 mg/kg	20	12	12
		(00201-00212)	(50201-50212)
300 mg/kg	60	12	12
		(00301-00312)	(50301-50312)
1000 mg/kg	200	12	12
		(00401-00412)	(50401-50412)

1), 動物数 ; 2), 動物番号

7.9 反復投与毒性に関する観察・測定項目

以下に示す項目を観察・測定した。なお、日と週の表記は投与開始日を第 0 日、第 0 日～6 日を第 1 週とした。雌の交尾確認日を妊娠 0 日、分娩完了日を哺育 0 日とした。

7.9.1 一般状態の観察

投与期間は 1 日 2 回（投与前、投与後）、その他の期間は 1 日 1 回午前中に観察した。また、瀕死動物は午後にも観察した。

7.9.2 体重

雄は第 0, 7, 14, 21, 28, 35 および 42 日に測定した。雌は第 0, 7 および 14 日、交尾した雌は妊娠 0, 7, 14 および 20 日、分娩した雌は哺育 0 および 4 日に測定した。測定には動物用天秤（UX4200H：株式会社島津製作所）を用いた。体重増加量を雄では交配前は第 0 日、交配後は第 21 日の体重を基準に、雌は交配前、妊娠および哺育期間をそれぞれ第 0 日、妊娠 0 日および哺育 0 日の体重を基準に算出した。死亡動物は発見時にも測定した。

7.9.3 摂餌量

雄は第 0～7, 7～14, 21～28, 28～35 および 35～42 日に測定した。雌は第 0～7 および 7～14 日、交尾した雌は妊娠 0～7, 7～14 および 14～20 日、分娩した雌は哺育 0～4 日に測定した。ただし、交配期間中で同居している間は測定しなかった。測定には体重測定と同じ動物用天秤を用いた。いずれもケージ毎の風袋込み重量を測定し、各測定日間の 1 匹あたりの 1 日平均摂餌量を算出した。

7.9.4 病理学検査

7.9.4.1 器官重量

計画解剖動物の下記の器官重量を測定（左右のある器官はまとめて測定）した。測定には天秤（AW120：株式会社島津製作所）を用いた。また、最終体重に基づいて相対重量（対体重比）を算出した。

精巣、精巣上体、前立腺腹葉、精囊（凝固腺含む）

7.9.4.2 病理解剖検査

雄は第 42 日、分娩した雌は哺育 4 日にペントバルビタールナトリウム（ネンブタール注射液、大日本製薬株式会社）の腹腔内投与で麻酔し、腹大動脈から放血、安楽死させた後に剖検した。死亡動物は速やかに剖検した。

7.9.4.3 病理組織学検査

全動物の下記の器官・組織を採取し、10 vol%中性リン酸緩衝ホルマリン液で固定し、保存した。ただし、精巣および精巣上体はブアン液で固定後、10 vol%中性リン酸緩衝ホルマリン液に保存した。肉眼的異常部位が雌雄の肝臓および腎臓、雌の副腎、胃、腸管、肺、胸腺および子宮（腔含む）に認められたため、比較対照として対照群の3例の当該器官・組織を、妊娠末期に死亡した母動物は子宮、腔、胎盤および胎児を、それぞれ10 vol%中性リン酸緩衝ホルマリン液で固定し、保存した。

精巣（両側）、精巣上体（両側）、前立腺腹葉、精嚢（凝固腺含む）、卵巢（両側）、肉眼的異常部位（両側性の器官・組織は両側）

対照群と1000 mg/kg群の全例について精巣、精巣上体および卵巢、また、全動物の肉眼的異常部位について常法に従ってヘマトキシリン・エオジン染色標本作製し、鏡検した。さらに精巣はPAS染色標本作製し、精子形成サイクルに基づき各精細管のステージを識別し、鏡検した。これらの結果、雄の精巣および精巣上体には被験物質に起因する変化が認められたため、100および300 mg/kg群の雄全例の当該臓器についても同様に検査した。また、剖検時、肝臓の白色化が認められた300 mg/kg群の雄10例、雌8例、1000 mg/kg群の雌雄全例の肝臓について、脂肪を証明するためのオイルレッドO染色を施し鏡検した。

7.10 生殖発生毒性に関する観察・検査項目

7.10.1 生殖機能検査

7.10.1.1 性周期

各群の雌について投与開始日から交配開始日までの午前中に膣垢を採取して性周期を検査し、平均性周期日数および異常性周期動物（性周期が4～6日周期でない動物）の発現率を算出した。

7.10.1.2 交配

各群について雄1雌1の交配対を設け、第14日（交配開始日）の夕方から最長14日間昼夜同居させた。交配開始日の翌日から雌の膣垢を毎日午前中に採取し、膣栓あるいは膣垢標本中に精子が認められた場合を交尾成立とし、その日を妊娠0日とした。これらの結果から次の項目を算出した。

- (1) 交尾所要日数：交配開始後、交尾成立までに要した日数
- (2) 交尾成立までに逸した発情期の回数
- (3) 交尾率(%)：(交尾動物数/同居動物数)×100
- (4) 受胎率(%)：(受胎動物数/交尾動物数)×100

7.10.2 分娩および哺育の観察

雌は全例を自然分娩させた。分娩の観察は妊娠 21 日から 24 日の分娩完了まで 1 日 2 回（午前 9 時，午後 4 時）行った。午前 9 時の時点で分娩が完了している動物を当該日分娩とし，その日を哺育 0 日とした（午後 4 時分娩完了の動物は翌日を哺育 0 日とした）。分娩した動物（母動物）は新生児を生後 4 日（哺育 4 日）まで哺育させ，授乳，営巣，食殺の有無の哺育状態を毎日観察した。

7.10.3 哺育終了後の検査

母動物は剖検時に卵巣および子宮を摘出して黄体数および着床数を検査した。これらの結果から次の項目を算出した。

- (1) 妊娠期間：妊娠 0 日から分娩完了日までの期間
- (2) 出産率（%）： $(\text{生児出産雌数} / \text{受胎雌数}) \times 100$
- (3) 着床率（%）： $(\text{着床数} / \text{黄体数}) \times 100$
- (4) 分娩率（%）： $(\text{総出産児数} / \text{着床数}) \times 100$

7.10.4 新生児の観察・検査

7.10.4.1 新生児の観察

哺育 0 日に出産児数（出產生児数，死産児数），性別および外表異常の有無を検査した。その後は一般状態，死亡の有無を毎日観察した。これらの結果から次の項目を算出した。

- (1) 出生率（%）： $(\text{出產生児数} / \text{総出産児数}) \times 100$
- (2) 新生児の 4 日生存率（%）： $(\text{哺育 4 日生児数} / \text{出產生児数}) \times 100$

7.10.4.2 体重

生後 0 日および 4 日に全生存児を個体毎に測定した。測定には動物用天秤（UX4200H：株式会社島津製作所）を用いた。また，生後 0 日および 4 日の体重より同腹児単位で腹平均を算出し，増加量を求めた。

7.10.4.3 肛門・生殖突起間距離の測定

生後 4 日の全生存児について，肛門・生殖突起間距離（AGD: anogenital distance）を測定した。測定にはデジタルノギスを用いた。また，測定日の体重の 3 乗根で除した相対距離を算出した。

7.10.4.4 剖検

生後 4 日に全生存児の口腔を含む外表を検査し，親動物と同様に安楽死させた後，剖検した。死亡児は 10 vol%中性リン酸緩衝ホルマリン液に浸漬，固定した後，剖検した。

7.11 統計学的解析

新生児に関するデータは、母動物毎に算出した数値を標本単位とした。

計量データは、多重比較検定法で統計学的有意性を解析した。すなわち Bartlett 法による等分散性の検定を行い、分散が等しい場合は一元配置分散分析、分散が等しくない場合は Kruskal-Wallis の検定を行った。群間に有意差が認められた場合は Dunnett 法または Dunnett 型の多重比較を行った。一部の項目は Kruskal-Wallis の検定から行い、群間に有意差が認められた場合は Dunnett 型の多重比較を行った。病理組織学検査における計数データは Wilcoxon の順位和検定で対照群との 2 群間比較を行った。その他の計数データは Fisher の直接確率法により検定した。各検定の有意水準は 5%とした。

検定は安全性試験システム (MiTOX, 三井造船システム技研株式会社) を用いて実施した。統計学的解析の対象項目は下記の通りである。一般状態および病理解剖検査については、統計学的解析を実施しなかった。

多重比較検定：

体重、体重増加量、摂餌量、器官重量、黄体数、着床数、出産児数（出產生児数、死産児数）、肛門・生殖突起間距離

Kruskal-Wallis と Dunnett 型の多重比較：

交尾所要日数、交尾成立までに逸した発情期の回数、平均性周期日数、妊娠期間、着床率、分娩率、出生率、外表異常の発現率、新生児の 4 日生存率

Wilcoxon の順位和検定：

病理組織学検査

Fisher の直接確率法：

異常性周期動物の発現率、交尾率、受胎率、出産率、性比（雄/雌）、外表異常児を有する母動物の発現率

7.12 コンピュータシステムの使用

以下に示すデータの収集、算出および集計には安全性試験システム (MiTOX, 三井造船システム技研株式会社) を使用した。当該システムのコンピュータプロトコールにはデータ収集範囲、データ収集の日程等を登録した。コンピュータシステムのプロトコール番号として B041803_（アンダーバーは空白）を用いた。

データ収集および算出：

体重、摂餌量、群分け、投与液量算出、器官重量、病理組織学検査、性周期、交配成績、分娩成績、肛門・生殖突起間距離

データ集計：

一般状態、病理解剖検査

8. 結果

8.1 反復投与毒性

8.1.1 一般状態

結果を Tables 1-5, Appendices 1-5 に示す.

投与期間中の死亡が 1000 mg/kg 群の雌 7 例 (動物番号 50403, 50407, 50408, 50409, 50410, 50411, 50412) に認められた. 死亡はいずれも妊娠末期の妊娠 20~22 日にみられ, 死亡前日あるいは当日に自発運動低下および耳介あるいは眼球が蒼白を示す貧血様の症状が 7 例, 腔口出血が 4 例に認められた. その他に腹臥位が 1 例 (動物番号 50409) に認められた.

投与後の症状として流涎が 300 および 1000 mg/kg 群の雄に認められた. 300 mg/kg 群では投与第 20 日から 38 日の間に 1 例は散発的に, 1 例は一過性にみられ, 1000 mg/kg では投与第 14 日から投与終了までの間に散発的な発現が 11 例に認められた.

その他, 生殖器・肛門付近に腫瘍の形成が対照群の雌 1 例 (動物番号 50105) に認められた.

8.1.2 体重

結果を Fig.1, 2, Tables 6-13, Appendices 6-13 に示す.

1000 mg/kg 群の雄では投与第 7 日から剖検前日まで体重の低値あるいは増加抑制, 同群の雌では哺育 0-4 日に体重増加の抑制が認められた. 100 および 300 mg/kg 群の雌雄では対照群との間に有意な差は認められなかった.

8.1.3 摂餌量

結果を Fig.3, 4, Tables 14-17, Appendices 14-17 に示す.

1000 mg/kg 群の雄では投与第 28 日から剖検前日まで摂餌量の高値を, 同群の雌では哺育 0-4 日の摂餌量が低値を示した. 100 および 300 mg/kg 群の雌雄では対照群との間に有意な差は認められなかった.

8.1.4 器官重量

結果を Tables 18, 19, Appendices 18, 19 に示す.

1000 mg/kg 群の雄で精巣および精巣上体の絶対重量が低値を, 前立腺腹葉および精囊 (凝固腺含む) の絶対ならびに相対重量が低値を示した. なお, 同群では解剖時の最終体重も低値を示した.

8.1.5 剖検所見

結果を Table 20, Appendices 20, 21 に示す.

計画解剖動物では, 精巣の小型化が 1000 mg/kg 群の雄 3 例, 精巣の軟化および精巣上体の小型化が同群の雄 1 例に認められた. 肝臓の白色化が 300 mg/kg 群の雄

10 例，雌 8 例および 1000 mg/kg 群の雌雄全例，肝臓の腫大が 1000 mg/kg 群の雌 1 例に認められた。

死亡動物の剖検では，肝臓の白色化，子宮内腔への出血および腎臓の皮髄境界部の白色化が 7 例（死亡動物全例）に認められた。その他，副腎，胃粘膜，回腸粘膜および盲腸粘膜の暗赤色化あるいは赤色化が 1～2 例，肺水腫および胸水の増加が各 1 例に認められた。

計画解剖動物ではいくつかの変化が認められたが，用量群に関係がなく散発的な発現であることから，いずれも偶発的な所見と判断した。なお，精囊腺（凝固腺含む）および前立腺の小型化が 1000 mg/kg 群の雄 1 例でみられたが，病理組織学的変化は認められなかった。

8.1.6 病理組織所見

結果を Table 21, Appendices 20, 21 に示す。

被験物質に起因すると思われる変化が精巣，精巣上体および肝臓で認められた。変化とその発現状況を文中表 1 に示す。

文中表1 被験物質に起因すると思われる病理組織変化とその発現状況

器官名 所見	性別 運命情報 用量 (mg/kg)	グレート	雄				雌			
			SS				SS			
			0	100	300	1000	0	100	300	1000
精巣			<12>	<12>	<12>	<12>				
精細管の萎縮		+	2	1	2	6				
		++	0	2	0	4				
		+++	0	0	0	0				
		++++	0	0	0	1				
精巣上体			<12>	<12>	<12>	<12>				
精巣上体管の萎縮		+	0	0	0	1				
		+++	0	0	0	1				
精巣上体管内の細胞残屑		+	0	1	1	6				
		++	0	1	0	4				
		+++	0	0	0	1				
精子消失		++++	0	0	0	1				
肝臓					<10>	<12>			<8>	<5>
小葉中心性肝細胞腫大		+			1	0			6	1
		++			9	12			2	3
		+++			0	0			0	1
小葉辺縁性肝細胞空胞化		+			8	12			1	2
		++			0	0			0	1
		+++			0	0			0	1
肝細胞単細胞性壊死		+			10	12			5	5
肝細胞巣状壊死		+			2	5			1	1
		++			2	0			1	2
炎症性細胞浸潤, 巣状		+			7	11			0	0
oval cellの増殖		+			1	12			0	1
肝細胞の有糸分裂像増加		+			5	9			0	1
好酸性変異肝細胞巣		+			2	7			0	0

運命情報: SS, 計画解剖

◇: 検査動物数

グレート: +, 軽微; ++, 軽度; +++, 中等度; +++++, 重度

精巣では、精細管の萎縮が対照群, 100, 300 および 1000 mg/kg 群でそれぞれ 2, 3, 2 および 11 例に認められ, 1000 mg/kg 群では発現数および病変程度ともに増強していた。PAS 染色標本を鏡検した結果, 精細管の萎縮の発現にはステージ特異性は認められなかった。HE 染色および PAS 染色標本とも, 病変の分布ならびにその特徴に明確な違いは認められなかった。100 および 300 mg/kg 群でみられた精細管の萎縮は, 対照群と同程度の発現頻度であり, 背景データでも観察され

る病変程度であることから、被験物質に起因しない変化と考えられる。精巣上体では、軽微～中等度の精巣上体管内細胞残屑が 1000 mg/kg 群の 11 例、重度の精巣上体管内精子消失が同群の 1 例、軽微および中等度の精巣上体管の萎縮が同群の各 1 例に認められた。100 および 300 mg/kg 群では精巣上体管内の細胞残屑が 1～2 例に認められた。精巣上体管内細胞残屑は精巣における精細管の萎縮を反映した変化であること、100 および 300 mg/kg 群でみられた精巣上体管内細胞残屑は背景データでも観察される病変程度であることから、被験物質に起因しない偶発的な変化と考えられる。

肝臓では、剖検時に白色化の認められた 300 mg/kg 群の雄 10 例、雌 8 例、1000 mg/kg 群の雌雄全例を組織検査した。検査した全例で、軽微～中等度な小葉中心性の肝細胞腫大が認められ、その程度は雌雄ともに 300 mg/kg 群に比べ 1000 mg/kg 群で強かった。300 および 1000 mg/kg 群の雄では、顕著に腫大し、壊死に陥る肝細胞も認められた。また、軽微～中等度な小葉辺縁性の肝細胞空胞化が 300 mg/kg 群の雄 8 例、雌 1 例、1000 mg/kg 群の雄全例、雌 4 例に認められた。オイルレッド O 染色では、この空胞と一致して陽性反応が認められ、この変化が脂肪化であることが証明された。その他、肝細胞の単細胞性壊死、肝細胞の巣状壊死、微小巣状炎症性細胞浸潤、oval cell の増殖、肝細胞の有糸分裂像増加、好酸性変異肝細胞巣が認められた。

この他種々の組織変化が生存動物の対照群を含む各群で認められたが、ラットでは非特異的に発現する変化であり、その発現状況に明らかな群差がみられないことから、被験物質とは関連のない変化と判断した。

死亡動物の病理組織所見では、肝臓に軽度な小葉中心性の肝細胞腫大および軽微な小葉辺縁性の肝細胞空胞化が 7 例、軽微な微小巣状炎症性細胞浸潤および oval cell の増殖が 3 例に認められた。オイルレッド O 染色標本では、小葉辺縁性の肝細胞にみられた空胞と一致して陽性反応が認められた。腎臓では近位尿細管の壊死および血栓形成が 3 例、副腎では皮質領域におけるうっ血が 2 例および同領域における出血が 1 例、肺水腫、胃粘膜、回腸粘膜あるいは盲腸粘膜の出血ならびに盲腸粘膜の壊死がそれぞれ 1 例に認められた。なお、腎臓の変化について、死亡動物 7 例中 2 例は自己融解が著しく評価できなかった。その他の変化は細胞反応に乏しいことから死戦期に生じた変化と考えられる。死亡動物全例に子宮内への出血が認められたため、子宮および胎盤について組織検査を行ったが、腔内に多量の赤血球を認めたものの内膜・胎盤に著変は認められなかった。

8.2 生殖発生毒性

8.2.1 生殖機能

結果を Table 22, Appendices 22, 23 に示す。

性周期検査では、各群の平均性周期日数に変化は認められなかった。なお、100 mg/kg 群では発情休止期の連続を示した動物が 1 例（動物番号 50204）認められた。交配の結果、交配对全例が交尾し、交尾率、交尾所要日数、交尾成立までに逸した発情期の回数、ならびに受胎率のいずれにも被験物質投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。

8.2.2 分娩および哺育状態

結果を Table 23, Appendix 24 に示す。

1000 mg/kg 群では妊娠末期の死亡が 12 例中 7 例にみられ、いずれも膣口からの出血を示し分娩には至らず死亡した。この結果、出産率の低値が認められた。

死亡動物では黄体数および着床数を検査し、着床率が算出可能であることからこれらを含め評価した。その結果、妊娠期間、黄体数、着床数、着床率および分娩率には被験物質投与群と対照群との間に有意な差は認められなかった。

1000 mg/kg 群の生存母動物ならびに他群の母動物は全例が正常に分娩し、哺育行動にも異常は認められなかった。

8.2.3 新生児への影響

8.2.3.1 新生児の観察

結果を Tables 24, 25, 29 Appendices 25, 26, 30 に示す。

出産児数、出生児数、出生率および新生児の 4 日生存率のいずれにも被験物質投与群と対照群との間に有意な差は認められなかった。さらに、新生児の一般状態および外表検査では各群いずれにも異常は認められなかった。

なお、300 mg/kg 群の性比において対照群との間に差が認められたが、1000 mg/kg 群では理論値に近似する 1.04 (28/27, 雄/雌) であることから、300 mg/kg 群の性比の差は偶発的な変化と考えられる。

8.2.3.2 体重

結果を Tables 26, 27, Appendices 27, 28, 32 に示す。

1000 mg/kg 群の新生児の体重が、統計学的な差はみられなかったが雌雄とも低値傾向を示した。100 および 300 mg/kg 群では雌雄とも変化は認められなかった。

8.2.3.3 肛門・生殖突起間距離

結果を Table 28, Appendix 29 に示す。

肛門・生殖突起間距離 (AGD) および相対距離のいずれにも、各被験物質投与群と対照群との間に差は認められなかった。

8.2.3.4 剖検

結果を Table 29, Appendix 31 に示す.

生後 4 日の生存児および死亡児の剖検では, いずれにも異常所見は認められなかった.

9. 考察および結論

フタル酸ジヘプチルエステルを 100, 300 および 1000 mg/kg の用量で SD 系ラット〔CrI:CD(SD)〕の雄に交配前 14 日から交配を経て計 42 日間、雌は交配前 14 日から交配、妊娠、分娩を経て哺育 3 日まで経口投与し、生殖発生毒性について検討した。

一般毒性学的変化として、1000 mg/kg 群の雌 7 例が妊娠 20～22 日に死亡した。交配前、交配期間および妊娠中期まで何ら症状がみられなかったが、妊娠末期に自発運動低下および耳介あるいは眼球が蒼白を示す貧血様の症状がそれぞれ 7 例、膣口出血が 4 例に認められ、分娩には至らず死亡した。病理学検査の結果、肝臓の白色化、子宮内腔への出血および腎臓の皮髄境界部の白色化が全死亡動物にみられ、組織学的には肝臓で軽度な小葉中心性の肝細胞腫大および小葉辺縁性の肝細胞空胞化、軽微な微小巣状炎症性細胞浸潤および oval cell の増殖が認められた。また、腎臓では近位尿細管の壊死および血栓形成が認められた。同被験物質の単回投与毒性試験[3]では雌雄とも死亡は認められず LD₅₀ 値は 2000 mg/kg 以上と推定されたこと、28 日間反復投与毒性試験[4]では 1000 mg/kg の雌雄とも死亡が認められていないこと、両試験とも被験物質に起因する一般状態の変化が認められていないことから、その全身毒性は弱いものと考えられた。このことから、本試験における死亡は妊娠末期という特異的な時期に何らかの複合的な影響で分娩に至らず死亡したものと推察された。その他、投与後の症状として流涎が 300 および 1000 mg/kg 群の雄でみられたが、いずれも散発的な発現であった。被験物質は刺激性を有することが知られており[5]、その発現状況から刺激性に由来する変化と考えられた。

体重および摂餌量では、1000 mg/kg 群の雄で投与第 7 日から剖検まで、雌では哺育期間に体重増加の抑制がみられ、雌ではそれに相応する摂餌量の低値が認められた。同群の雄の摂餌量では投与第 28 日から剖検前日まで高値を示し、体重増加の抑制と相反する変化を示した。1000 mg/kg 群の雄ではほぼ全例が流涎を発症しており、投与第 14 日の摂餌量が一時的に減少したが、流涎の発症に伴い摂餌量の増加を示し、さらに若干の餌こぼしが観察されていた。このことから、雄の摂餌量の高値は、流涎の発症に伴い餌をかじる行動が増加し、その一部は摂取せずにこぼしていたことに起因するものと考えられる。

病理学的検査の結果、被験物質に起因する主要な変化として、精細管の萎縮および精巣上体管内の細胞残屑が 1000 mg/kg 群の雄、肝臓における肝細胞の腫大、脂肪化、単細胞性壊死、巣状壊死、有糸分裂像増加および oval cell の増殖、変異肝細胞巣が 300 mg/kg 以上の群の雌雄で認められた。生殖器系への影響として、同

被験物質を用いた 28 日間反復投与毒性試験[4,6]では、精巣および精巣上体の病変が1000 mg/kgで少数例、あるいはそれより高い用量での発現が認められている。一方、本試験では1000 mg/kg 群の雄 11 例に病変が認められ、既存の報告と比べその発現例数が増加した。本試験の投与期間が 42 日間であることから、投与期間の延長に伴い発現例数が増加したものと考えられる。さらに精巣、精巣上体、前立腺腹葉および精嚢（凝固腺含む）の重量にも低値が認められた。なお、精巣について PAS 染色標本作製し検査したが、精子形成ステージとの関連性は認められなかった。

肝臓では小葉中心性の肝細胞腫大が認められ、同被験物質を用いた 28 日間反復投与毒性試験[4,6]の変化と同様であった。さらに、oval cell の増殖および肝細胞の有糸分裂像増加が認められ、これら増殖性変化の発現頻度および程度は雌より雄で強かった。雄の変異肝細胞巣は腫瘍に移行する前癌病変とみなされる病変であると言われている[7]。

親動物の生殖機能への影響としては、1000 mg/kg 群で妊娠末期の死亡が 12 例中 7 例にみられ、膣口からの出血を示し分娩には至らず死亡した。この結果、出産率の低下が認められた。その他、平均性周期日数、異常性周期動物の発現率、交尾率、交尾所要日数、交尾成立までに逸した発情期の回数、受胎率、分娩率、妊娠期間、黄体数、着床数および着床率のいずれにも被験物質に起因する変化は認められなかった。また、死亡動物以外の母動物は正常に分娩し、哺育行動にも異常は認められなかった。病理学検査において、1000 mg/kg 群の雄では精巣および精巣上体の病変がみられたが、全例が交尾し受胎が成立した。精巣で産生された精子は精巣上体内を移動しながら成熟し、精巣上体尾部へ到達するのに約 2 週間を要し、その後射精する。投与初期に被験物質の影響を受けた精子は、約 2 週間後の交配開始頃に射精されることになる。1000 mg/kg 群では交配開始から 4 日以内に全例が交尾していることから、交尾時期の精子は被験物質の影響を受けた可能性が低かったか、あるいは影響を受けてもその程度が軽かったものと予想され、受胎には影響しなかったものと推察される。なお、精巣および精巣上体の病変程度から、交配前の投与期間を 2 週間以上とした場合には、生殖機能への何らかの影響を示す可能性は否定できない。

新生児に及ぼす影響としては、1000 mg/kg 群の雌雄で体重が低値傾向を示した。しかし、新生児に対する他のパラメータに変化がないこと、母動物は哺育期間中の体重および摂餌量が減少していることから、母動物に起因する二次的な影響による可能性が考えられる。その他、出産児数、出生児数、性比、出生率および新生児の 4 日生存率、一般状態、外表検査、肛門・生殖突起間距離（AGD）および剖検のいずれにも被験物質に起因する変化は認められなかった。

被験物質が属するフタル酸エステル類では、雄性生殖器系への重量変化、出生児

数、児の体重、受胎能と出生児生存数の抑制、さらに催奇形作用を示唆する変化を示し、次世代の発生への影響を及ぼすことが報告されている[1]。本試験条件では雄性生殖器系への重量および病理変化や母動物の死亡による出産率の低下がみられたものの、交尾能や受胎能、新生児の生存性には被験物質の影響は認められなかった。また、フタル酸ジ(n-ブチル)やフタル酸ジシクロヘキシルなどの類似物質では、児動物の雄に肛門・生殖突起間距離(AGD)の短縮が観察されている[8, 9, 10]が、本試験では認められておらず、被験物質は児動物に対し抗アンドロゲン様活性を示さない可能性が示唆された。

以上のように、フタル酸ジヘプチルエステルを反復投与した結果、1000 mg/kg 群で妊娠末期における雌の死亡、生殖器系への影響が1000 mg/kg 群の雄、肝臓への影響が300 mg/kg 以上の群の雌雄で認められた。生殖発生毒性に関しては、1000 mg/kg 群で母動物の死亡に伴う出産率の低下と新生児における体重の低値傾向が認められた。

したがって、本試験条件下における雌雄の一般毒性学的無影響量は100 mg/kg/day、親動物の生殖機能に対する無影響量ならびに新生児に対する無影響量はいずれも300 mg/kg/dayと考えられる。

10. 参考文献

- [1] 芳香族ジカルボン酸のエステル. In「化学物質毒性ハンドブック 第IV巻」内藤裕史, 横手規子(監修), 丸善, 東京(2000) p.306-311.
- [2] Gangolli SD.; Testicular effects of phthalate esters. *Environ. Health Perspect.*, 1982, 45, 77-84.
- [3] 小林典子ら, フタル酸ジヘプチルエステルのラットを用いる単回経口投与毒性試験, 化学物質毒性試験報告 Vol.4, 化学物質点検推進連絡協議会, 1997, p.727-728.
- [4] 小林典子ら, フタル酸ジヘプチルエステルのラットを用いる28日間反復経口投与毒性試験, 化学物質毒性試験報告 Vol.4, 化学物質点検推進連絡協議会, 1997, p.729-739.
- [5] Material Safety Data Sheets (MSDS's), Alfa Aesar, A Johnson Matthey Company (2005)
- [6] Matsushima Y, Onodera H, Mitsumori K, Maekawa A, Kurokawa Y, Takahashi M. Twenty-eight day repeated dose toxicity test of diheptyl phthalate in F344 rats. *Eisei Shikenjo Hokoku* 1992; 110: p.26-31.
- [7] Greaves P. Digestive system 2. Liver. Foci of hepatocellular alteration. In: Greaves P, editor. *Histopathology of preclinical toxicity studies*. 2nd. ed. Amsterdam: Elsevier; 2000. p.473-5.
- [8] Gray, L.E., *et al.*: Effects of environmental antiandrogens on reproductive development in experimental animals. *Human Reproduction Update*, 7, p.248-264 (2001),
- [9] Shultz, V.D., *et al.*: Altered Gene Profiles in Fetal Rat Testes after *in Utero* Exposure to Exposure to Di(n-butyl) Phthalate. *Toxicol. Sci.* 64, p 233-242 (2001).
- [10] Hoshino N. A two-generation reproductive toxicity study of dicyclohexyl phthalate in rats. *J. Toxicol. Sci.* 投稿中

図および群別表

目 次

Fig. 1	体重(雄).....	1
Fig. 2	体重(雌).....	2
Fig. 3	摂餌量(雄).....	3
Fig. 4	摂餌量(雌).....	4
Table 1	一般状態(雄).....	5
Table 2	一般状態(雌 交配前期間).....	11
Table 3	一般状態(雌 交配期間).....	13
Table 4	一般状態(妊娠期間).....	15
Table 5	一般状態(哺育期間).....	17
Table 6	体重(雄).....	19
Table 7	体重(雌 交配前期間).....	21
Table 8	体重(妊娠期間).....	22
Table 9	体重(哺育期間).....	23
Table 10	体重増加量(雄).....	24
Table 11	体重増加量(雌 交配前期間).....	26
Table 12	体重増加量(妊娠期間).....	27
Table 13	体重増加量(哺育期間).....	28
Table 14	摂餌量(雄).....	29
Table 15	摂餌量(雌 交配前期間).....	31
Table 16	摂餌量(妊娠期間).....	32
Table 17	摂餌量(哺育期間).....	33
Table 18	器官重量(雄 絶対重量).....	34
Table 19	器官重量(雄 相対重量).....	35
Table 20	剖検所見.....	36
Table 21	病理組織所見.....	39
Table 22	生殖機能検査.....	46
Table 23	分娩成績.....	47
Table 24	生存率(F1児動物).....	48

Table 25	一般狀態 (F1 兒動物)	49
Table 26	體重 (F1 兒動物)	50
Table 27	體重增加量 (F1 兒動物)	52
Table 28	肛門・生殖突起間距離 (F1 兒動物)	54
Table 29	外表異常 (F1 兒動物)	55
Table 30	剖檢所見 (F1 兒動物)	56

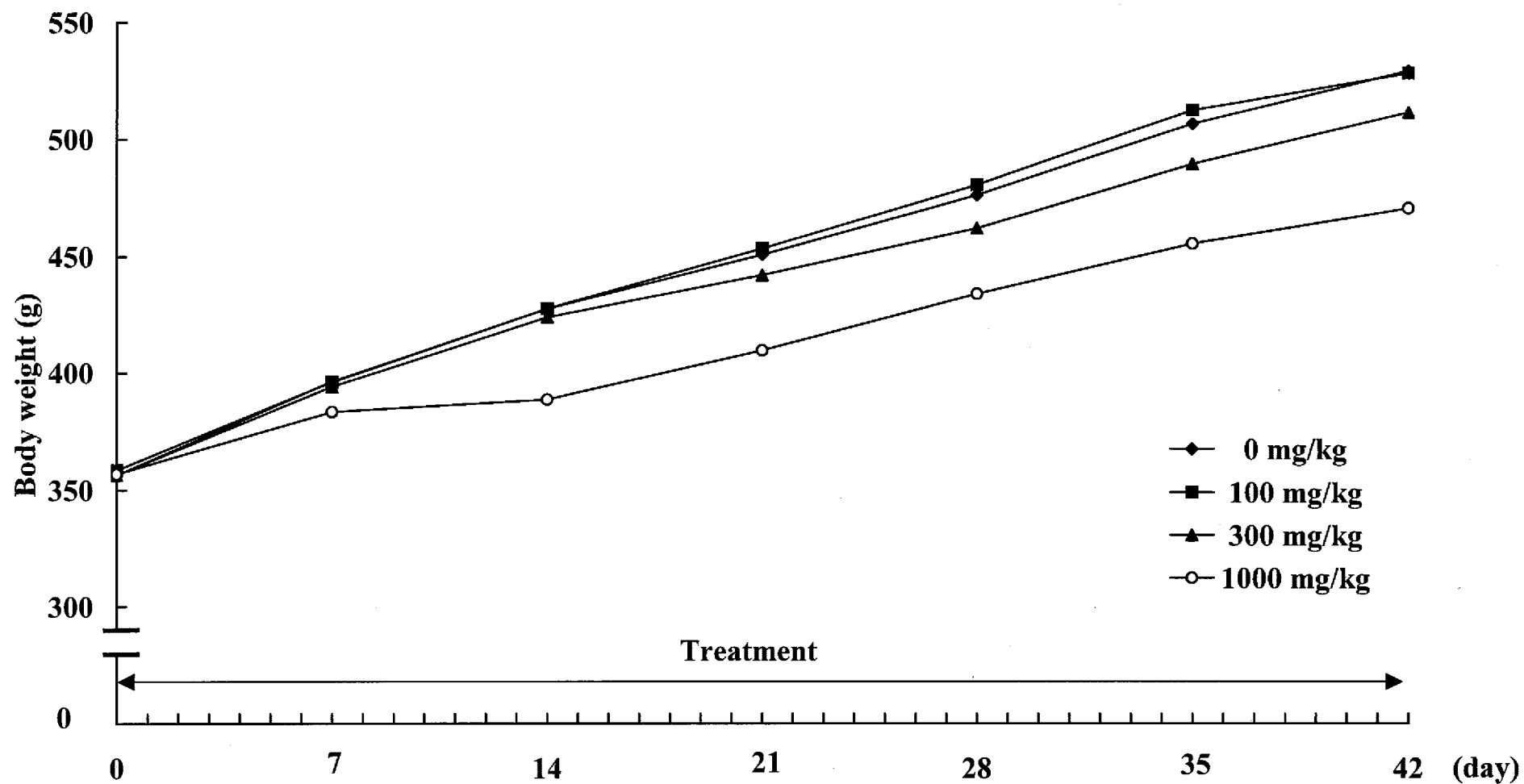


Fig. 1 Body weight changes of male rats treated orally with Di-n-Heptyl phthalate in the preliminary toxicity screening test.

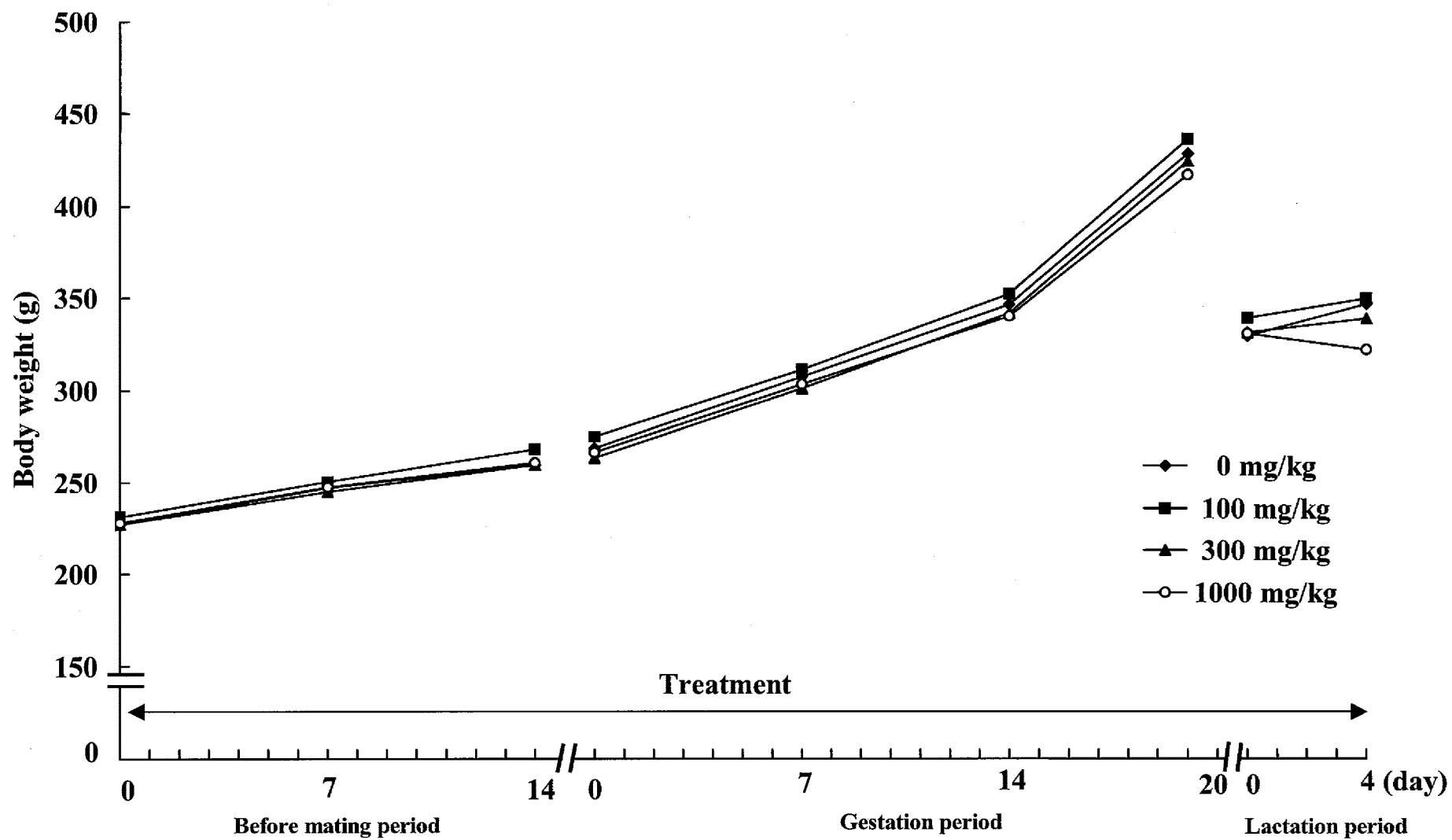


Fig. 2 Body weight changes of female rats treated orally with Di-n-Heptyl phthalate in the preliminary toxicity screening test.

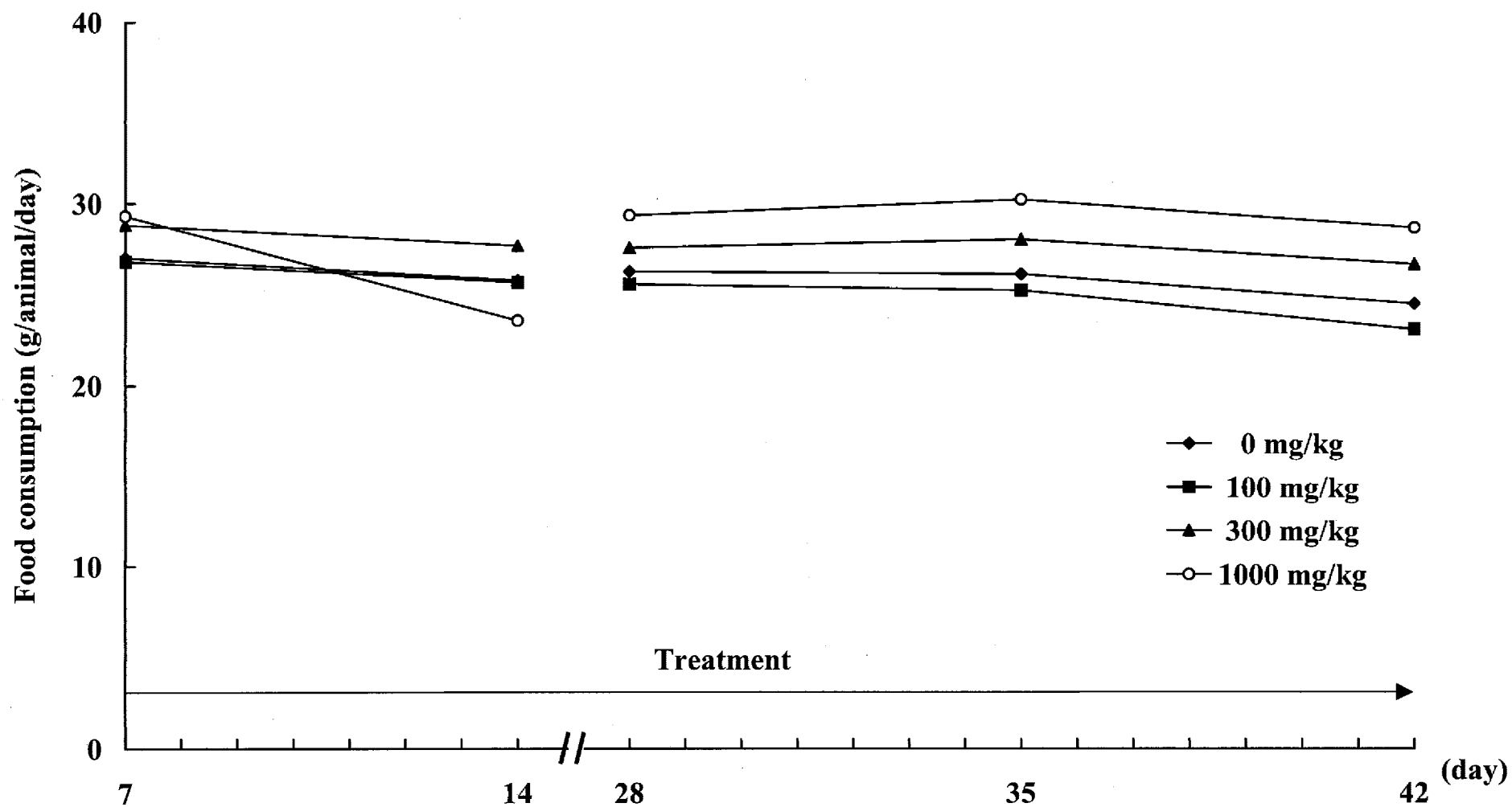


Fig. 3 Food consumption of male rats treated orally with Di-n-Heptyl phthalate in the preliminary toxicity screening test.

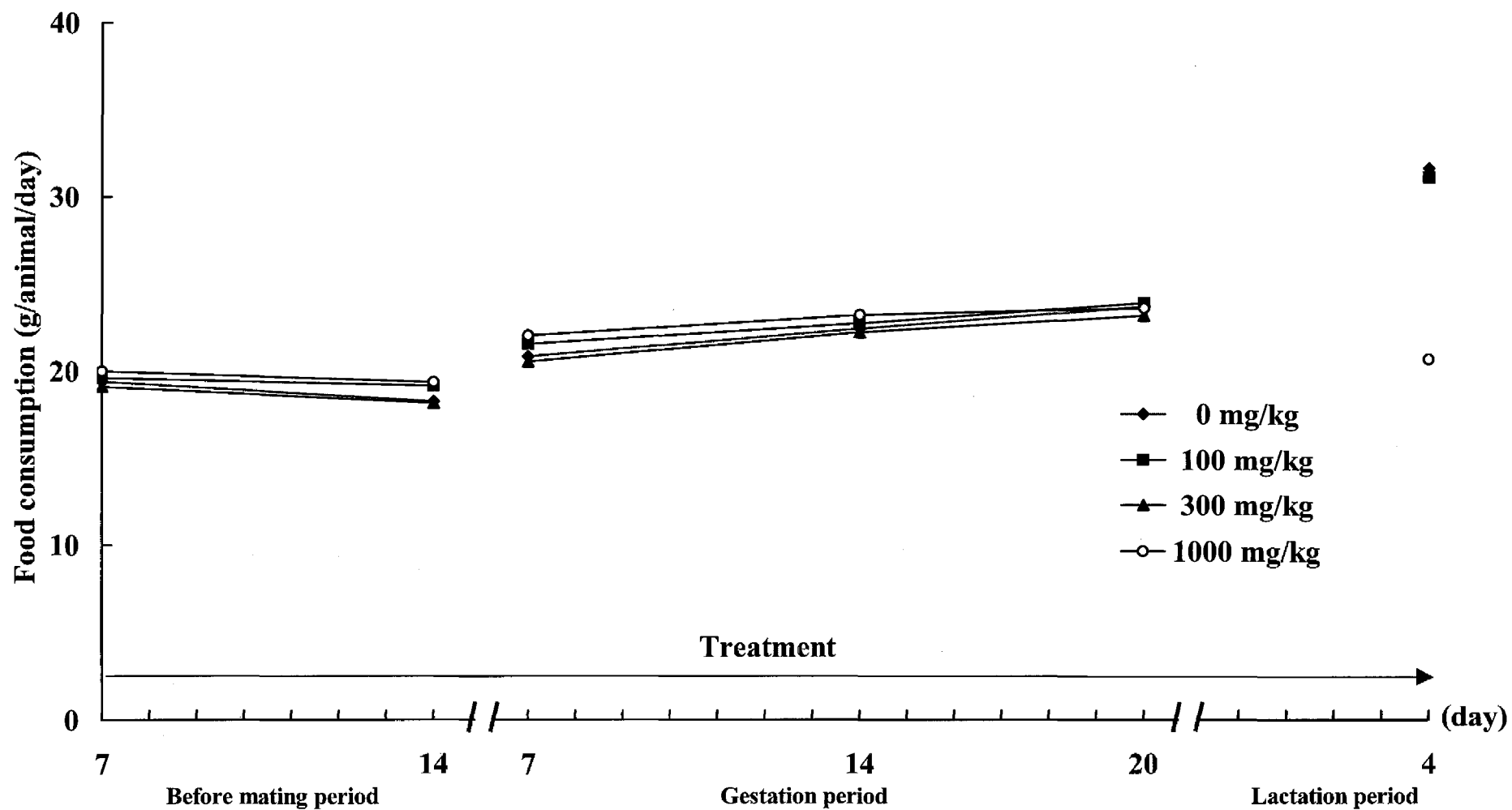


Fig. 4 Food consumption of female rats treated orally with Di-n-Heptyl phthalate in the preliminary toxicity screening test.

Table 1

Study No. B041803

Clinical Sign (FO before Mating) - Summary
 Sex : Male Time 10 : Before dosing

Test Substance Dose (mg/kg)		Findings	/Day 0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
DHP	0	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
DHP	100	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
DHP	300	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
DHP	1000	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12

Table 1
Table ContinuedClinical Sign (FO before Mating) - Summary
Sex : Male Time 20 : After dosing

Test Substance Dose (mg/kg)		Findings	/Day 0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
DHP	0	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
DHP	100	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
DHP	300	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
DHP	1000	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Salivation															6 6

Table 1

Study No. B041803

Clinical Sign (F0 Mating) - Summary
 Sex : Male Time 10 : Before dosing

Test Substance Dose (mg/kg)		Findings	/Day 15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39
DHP	0	Number of animals	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
		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
DHP	100	Number of animals	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
		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
DHP	300	Number of animals	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
		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
DHP	1000	Number of animals	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
		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

Table 1
Table Continued

Study No. B041803

Clinical Sign (F0 Mating) - Summary
Sex : Male Time 10 : Before dosing

Test Substance Dose (mg/kg)		Findings	/Day 40 41 42		
DHP 0		Number of animals	12	12	12
		No abnormality	12	12	12
DHP 100		Number of animals	12	12	12
		No abnormality	12	12	12
DHP 300		Number of animals	12	12	12
		No abnormality	12	12	12
DHP 1000		Number of animals	12	12	12
		No abnormality	12	12	12

Table 1
Table Continued

Study No. B041803

Clinical Sign (F0 Mating) - Summary
Sex : Male Time 20 : After dosing

Test Substance Dose(mg/kg)		Findings	/Day 15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39
DHP	0	Number of animals	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
		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
DHP	100	Number of animals	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
		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
DHP	300	Number of animals	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
		No abnormality	12	12	12	12	12	11	11	12	12	11	11	11	11	11	12	11	12	12	11	12	12	12	12	11	12
		Salivation						1	1			1	1	1	1	1		1			1					1	
DHP	1000	Number of animals	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
		No abnormality	10	10	9	8	6	6	5	6	7	7	4	6	7	6	7	8	9	8	8	7	7	9	9	8	9
		Salivation	2	2	3	4	6	6	7	6	5	5	8	6	5	6	5	4	3	4	4	5	5	3	3	4	3

Table 1
Table Continued

Study No. B041803

Clinical Sign (FO Mating) - Summary
Sex : Male Time 20 : After dosing

Test Substance Dose (mg/kg)		Findings	/Day 40 41	
DHP	0	Number of animals	12	12
		No abnormality	12	12
DHP	100	Number of animals	12	12
		No abnormality	12	12
DHP	300	Number of animals	12	12
		No abnormality	12	12
DHP	1000	Number of animals	12	12
		No abnormality	10	10
		Salivation	2	2

Table 2

Study No. B041803

Clinical Sign (F0 before Mating) - Summary
 Sex : Female Time 10 : Before dosing

Test Substance Dose(mg/kg)	Findings	/Day														
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
DHP 0	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
DHP 100	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
DHP 300	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
DHP 1000	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12

Table 2
Table ContinuedClinical Sign (FO before Mating) - Summary
Sex : Female Time 20 : After dosing

Test Substance Dose (mg/kg)		Findings	/Day 0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
DHP	0	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
DHP	100	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
DHP	300	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
DHP	1000	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12

Table 3

Study No. B041803

Clinical Sign (F0 Mating) - Summary
 Sex : Female Time 10 : Before dosing

Test Substance Dose (mg/kg)		Findings	/Day	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39
DHP	0	Number of animals		9	5	4	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1												
		No abnormality		9	5	4	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1												
DHP	100	Number of animals		7	5	3																						
		No abnormality		7	5	3																						
DHP	300	Number of animals		9	7	3																						
		No abnormality		9	7	3																						
DHP	1000	Number of animals		10	6	3																						
		No abnormality		10	6	3																						

Table 3
Table Continued

Study No. B041803

Clinical Sign (F0 Mating) - Summary
Sex : Female Time 20 : After dosing

Test Substance Dose (mg/kg)		Findings	/Day 15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39
DHP	0	Number of animals	9	5	4	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1												
		No abnormality	9	5	4	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1												
DHP	100	Number of animals	7	5	3																						
		No abnormality	7	5	3																						
DHP	300	Number of animals	9	7	3																						
		No abnormality	9	7	3																						
DHP	1000	Number of animals	10	6	3																						
		No abnormality	10	6	3																						

Table 4

Study No. B041803

Clinical Sign (F0 Gestation) - Summary
 Sex : Female Time 10 : Before dosing

Test Substance		Findings	/Day																								
Dose (mg/kg)			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
DHP	0	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	7		
		No abnormality	12	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	6		
		Mass		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
DHP	100	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	7		
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	7		
DHP	300	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	5		
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	5		
DHP	1000	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	11	5	1	
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	11	6	4	1	
		Death																						1	1		
		Prone position																						1			
		Decrease in locomotor activity																					1	5			
		Anemic																						1	5		
		Vaginal hemorrhage																					1	2	1		

Table 4
Table Continued

Study No. B041803

Clinical Sign (F0 Gestation) - Summary
Sex : Female Time 20 : After dosing

Test Substance Dose (mg/kg)		Findings	/Day 0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
DHP	0	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	7		
		No abnormality	12	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	6		
		Mass		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
DHP	100	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	7		
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	7		
DHP	300	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	5		
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	5		
DHP	1000	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	10	4	1	
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	11	5	4	1	
		Death																					1	4			
		Decrease in locomotor activity																					1	5			
		Anemic																					1	5			
		Vaginal hemorrhage																					1	3			

Table 5

Study No. B041803

Clinical Sign (F0 Lactation) - Summary
Sex : Female Time 10 : Before dosing

Test Substance Dose(mg/kg)	Findings	/Day				
		0	1	2	3	4
DHP 0	Number of animals	12	12	12	12	12
	No abnormality	11	11	11	11	11
	Mass	1	1	1	1	1
DHP 100	Number of animals	12	12	12	12	12
	No abnormality	12	12	12	12	12
DHP 300	Number of animals	12	12	12	12	12
	No abnormality	12	12	12	12	12
DHP 1000	Number of animals	5	5	5	5	5
	No abnormality	5	5	5	5	5

Table 5
Table Continued

Study No. B041803

Clinical Sign (F0 Lactation) - Summary
Sex : Female Time 20 : After dosing

Test Substance Dose (mg/kg)		Findings	/Day			
			0	1	2	3
DHP	0	Number of animals	12	12	12	12
		No abnormality	11	11	11	11
		Mass	1	1	1	1
DHP	100	Number of animals	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12
DHP	300	Number of animals	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12
DHP	1000	Number of animals	5	5	5	5
		No abnormality	5	5	5	5

Table 6

Study No. B041803

Body Weight (F0 before Mating) - Summary
Sex : Male

Unit : g

Test Substance Dose (mg/kg)		/Day	0	7	14
DHP	0	Mean	356.3	396.3	427.9
		S. D.	10.8	16.3	23.6
		n	12	12	12
DHP	100	Mean	358.4	396.1	427.9
		S. D.	9.8	14.9	20.4
		n	12	12	12
DHP	300	Mean	356.4	394.1	424.2
		S. D.	13.3	18.8	22.1
		n	12	12	12
DHP	1000	Mean	356.8	383.3	388.6**
		S. D.	10.3	12.2	16.4
		n	12	12	12

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

Table 6

Study No. B041803

Body Weight (F0 Mating) - Summary
Sex : Male

Unit : g

Test Substance Dose (mg/kg)	/Day	21	28	35	42
DHP 0	Mean	451.3	477.0	507.4	530.4
	S.D.	26.4	25.5	30.4	34.7
	n	12	12	12	12
DHP 100	Mean	453.9	481.3	513.3	529.3
	S.D.	21.7	26.2	30.8	29.9
	n	12	12	12	12
DHP 300	Mean	442.5	462.8	490.3	512.5
	S.D.	26.8	31.5	34.2	34.6
	n	12	12	12	12
DHP 1000	Mean	410.0**	434.5**	456.3**	471.6**
	S.D.	17.0	21.9	18.6	26.7
	n	12	12	12	12

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

Table 7

Study No. B041803

Body Weight (F0 before Mating) - Summary
Sex : Female

Unit : g

Test Substance Dose (mg/kg)		/Day	0	7	14
DHP	0	Mean	227.1	247.3	259.8
		S. D.	11.3	12.9	13.6
		n	12	12	12
DHP	100	Mean	231.4	250.4	268.4
		S. D.	10.1	12.9	12.3
		n	12	12	12
DHP	300	Mean	227.2	245.0	259.8
		S. D.	11.0	12.9	17.8
		n	12	12	12
DHP	1000	Mean	228.1	247.5	260.8
		S. D.	12.8	14.1	17.3
		n	12	12	12

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

Table 8

Study No. B041803

Body Weight (F0 Gestation) - Summary

Unit : g

Test Substance Dose (mg/kg)		/Day	0	7	14	20
DHP	0	Mean	268.8	307.8	347.4	429.7
		S. D.	19.8	18.2	18.9	31.0
		n	12	12	12	12
DHP	100	Mean	275.3	311.7	353.0	437.8
		S. D.	12.3	13.8	15.8	22.2
		n	12	12	12	12
DHP	300	Mean	263.7	301.6	342.7	425.6
		S. D.	16.6	21.0	21.6	22.8
		n	12	12	12	12
DHP	1000	Mean	266.8	303.7	340.9	418.3
		S. D.	19.3	19.5	24.6	36.4
		n	12	12	12	12
Significantly different from control			: *, P<0.05; **, P<0.01.			

Table 9

Study No. B041803

Body Weight (F0 Lactation) - Summary

Unit : g

Test Substance Dose (mg/kg)		/Day	0	4
DHP	0	Mean	330.2	347.8
		S. D.	23.7	21.1
		n	12	12
DHP	100	Mean	340.3	350.8
		S. D.	17.6	16.6
		n	12	12
DHP	300	Mean	332.2	340.0
		S. D.	26.7	27.8
		n	12	12
DHP	1000	Mean	331.6	323.0
		S. D.	23.0	39.3
		n	5	5

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

Table 10

Study No. B041803

Body Weight Gain (F0 before Mating) - Summary
 Sex : Male Base : Day 0 of Treatment

Unit : g

Test Substance Dose (mg/kg)		/Day	0	7	14
DHP 0	Mean		0.0	40.1	71.7
	S. D.		0.0	8.9	16.7
	n		12	12	12
DHP 100	Mean		0.0	37.7	69.5
	S. D.		0.0	8.1	14.2
	n		12	12	12
DHP 300	Mean		0.0	37.7	67.8
	S. D.		0.0	9.4	14.0
	n		12	12	12
DHP 1000	Mean		0.0	26.4**	31.8**
	S. D.		0.0	8.1	13.0
	n		12	12	12

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

Table 10

Study No. B041803

Body Weight Gain (F0 Mating) - Summary						Unit : g
Sex : Male		Base : Day 21 of Treatment				
Test Substance	Dose (mg/kg)	/Day	21	28	35	42
DHP	0	Mean	0.0	25.8	56.2	79.2
		S. D.	0.0	5.6	11.2	12.9
		n	12	12	12	12
DHP	100	Mean	0.0	27.4	59.4	75.4
		S. D.	0.0	5.9	11.4	12.6
		n	12	12	12	12
DHP	300	Mean	0.0	20.3	47.8	70.0
		S. D.	0.0	10.0	11.8	12.5
		n	12	12	12	12
DHP	1000	Mean	0.0	24.5	46.3	61.6**
		S. D.	0.0	8.0	9.9	16.2
		n	12	12	12	12
Significantly different from control			: *, P<0.05; **, P<0.01.			

Table 11

Study No. B041803

Body Weight Gain (FO before Mating) - Summary
 Sex : Female Base : Day 0 of Treatment

Unit : g

Test Substance Dose (mg/kg)		/Day	0	7	14
DHP	0	Mean	0.0	20.2	32.7
		S.D.	0.0	7.1	7.4
		n	12	12	12
DHP	100	Mean	0.0	19.0	37.0
		S.D.	0.0	7.8	10.7
		n	12	12	12
DHP	300	Mean	0.0	17.8	32.7
		S.D.	0.0	6.3	10.3
		n	12	12	12
DHP	1000	Mean	0.0	19.4	32.7
		S.D.	0.0	8.4	11.7
		n	12	12	12

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

Table 12

Study No. B041803

Body Weight Gain (FO Gestation) - Summary
 Base : Day 0 of Gestation

Unit : g

Test Substance Dose (mg/kg)		/Day	0	7	14	20
DHP 0	Mean		0.0	38.9	78.6	160.8
	S. D.		0.0	5.5	9.8	17.7
	n		12	12	12	12
DHP 100	Mean		0.0	36.4	77.8	162.5
	S. D.		0.0	6.2	11.4	18.8
	n		12	12	12	12
DHP 300	Mean		0.0	37.9	79.0	161.9
	S. D.		0.0	7.3	8.9	12.1
	n		12	12	12	12
DHP 1000	Mean		0.0	36.8	74.1	151.5
	S. D.		0.0	6.0	10.1	23.4
	n		12	12	12	12

Significantly different from control

: *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 13

Study No. B041803

Body Weight Gain (F0 Lactation) - Summary
 Base : Day 0 of Lactation

Unit : g

Test Substance Dose (mg/kg)		/Day	0	4
DHP 0		Mean	0.0	17.7
		S. D.	0.0	10.7
		n	12	12
DHP 100		Mean	0.0	10.5
		S. D.	0.0	8.0
		n	12	12
DHP 300		Mean	0.0	7.8
		S. D.	0.0	14.9
		n	12	12
DHP 1000		Mean	0.0	-8.6*
		S. D.	0.0	22.2
		n	5	5

Significantly different from control

: *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 14

Study No. B041803

Food Consumption (F0 before Mating) - Summary
Sex : Male

Unit : g/animal/day

Test Substance Dose (mg/kg)		/Day	7	14
DHP	0	Mean	27.0	25.8
		S. D.	2.5	2.5
		n	12	12
DHP	100	Mean	26.8	25.7
		S. D.	2.3	2.3
		n	12	12
DHP	300	Mean	28.8	27.7
		S. D.	3.0	3.2
		n	12	12
DHP	1000	Mean	29.3	23.6
		S. D.	1.7	3.0
		n	12	12

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

Table 14

Study No. B041803

Food Consumption (F0 Mating) - Summary
Sex : Male

Unit : g/animal/day

Test Substance Dose (mg/kg)		/Day	28	35	42
DHP 0	Mean		26.3	26.2	24.6
	S. D.		1.8	2.7	2.3
	n		11	12	12
DHP 100	Mean		25.6	25.3	23.2
	S. D.		2.1	2.2	1.9
	n		12	12	12
DHP 300	Mean		27.6	28.1	26.8
	S. D.		3.9	3.1	3.0
	n		12	12	12
DHP 1000	Mean		29.4*	30.3**	28.8**
	S. D.		2.8	2.8	3.4
	n		12	12	12

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

Table 15

Study No. B041803

Food Consumption (FO before Mating) - Summary
Sex : Female

Unit : g/animal/day

Test Substance Dose (mg/kg)		/Day	7	14
DHP	0	Mean	19.4	18.3
		S. D.	1.7	1.4
		n	12	12
DHP	100	Mean	19.6	19.2
		S. D.	1.2	1.5
		n	12	12
DHP	300	Mean	19.1	18.2
		S. D.	1.6	1.9
		n	12	12
DHP	1000	Mean	20.0	19.4
		S. D.	2.2	2.3
		n	12	12

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

Table 16

Study No. B041803

Food Consumption (F0 Gestation) - Summary

Unit : g/animal/day

Test Substance Dose (mg/kg)		/Day	7	14	20
DHP	0	Mean	20.9	22.5	23.8
		S. D.	2.0	2.2	2.3
		n	12	12	12
DHP	100	Mean	21.6	22.8	24.0
		S. D.	1.6	2.6	1.8
		n	12	12	12
DHP	300	Mean	20.6	22.3	23.3
		S. D.	2.1	1.7	2.2
		n	12	12	12
DHP	1000	Mean	22.1	23.3	23.7
		S. D.	2.5	2.7	2.7
		n	12	12	12

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

Table 17

Study No. B041803

Food Consumption (F0 Lactation) - Summary

Unit : g/animal/day

Test Substance Dose (mg/kg)		/Day	4
DHP	0	Mean	31.8
		S. D.	3.7
		n	12
DHP	100	Mean	31.3
		S. D.	3.4
		n	12
DHP	300	Mean	31.3
		S. D.	5.5
		n	12
DHP	1000	Mean	20.8**
		S. D.	8.8
		n	5

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

Table 18

Study No. B041803

Organ Weight - Summary (F0)
Sex : Male

Test Substance Dose (mg/kg)			F. B. W. (g)	Testes (g)	Prostate (g)	Sem. Ves. (g)	Epididy. (g)
DHP	0	Mean	530.4	3.633	0.812	2.835	1.349
		S. D.	34.7	0.414	0.133	0.203	0.071
		n	12	12	12	12	12
DHP	100	Mean	529.3	3.421	0.805	2.899	1.297
		S. D.	29.9	0.362	0.114	0.345	0.126
		n	12	12	12	12	12
DHP	300	Mean	512.5	3.451	0.740	2.613	1.283
		S. D.	34.6	0.205	0.140	0.426	0.094
		n	12	12	12	12	12
DHP	1000	Mean	471.6**	2.988**	0.537**	2.033**	1.200**
		S. D.	26.7	0.614	0.137	0.330	0.126
		n	12	12	12	12	12

Significantly different from control

: *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 19

Study No. B041803

Relative Organ Weight - Summary (F0)
Sex : Male

Unit : g/100gBW

Test Substance Dose (mg/kg)		F. B. W. (g)	Testes	Prostate	Sem. Ves.	Epididy.
DHP 0	Mean	530.4	0.689	0.154	0.536	0.257
	S. D.	34.7	0.105	0.025	0.044	0.020
	n	12	12	12	12	12
DHP 100	Mean	529.3	0.648	0.153	0.549	0.246
	S. D.	29.9	0.081	0.026	0.072	0.031
	n	12	12	12	12	12
DHP 300	Mean	512.5	0.675	0.146	0.508	0.249
	S. D.	34.6	0.047	0.028	0.072	0.022
	n	12	12	12	12	12
DHP 1000	Mean	471.6**	0.638	0.113**	0.430**	0.256
	S. D.	26.7	0.140	0.029	0.069	0.031
	n	12	12	12	12	12

Significantly different from control

: *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 20 Necropsy Findings - Summary

Scheduled Sacrifice

Organ Findings	Sex	Male				Female			
	Test Substance	DHP	DHP	DHP	DHP	DHP	DHP	DHP	DHP
	Dose	0	100	300	1000	0	100	300	1000
	Dose Unit	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
	Number of Animals	12	12	12	12	12	12	12	5
	Number of Animals Examined	<12>	<12>	<12>	<12>	<12>	<12>	<12>	<5>
Thymus									
Small		0	0	0	0	0	0	0	1
Liver									
Enlargement		0	0	0	0	0	0	0	1
Whitish change		0	0	10	12	0	0	8	5
Kidney									
Dilatation, pelvis		0	1	0	0	0	0	0	0
Testis									
Small		0	0	0	3				
Soft		0	0	0	1				
Epididymis									
Small		0	0	0	1				
Yellowish change		1	1	0	0				
Seminal vesicle									
Small		0	0	0	1				
Prostate									
Small		0	0	0	1				
Coagulating gland									
Small		0	0	0	1				

Table 20 Necropsy Findings - Summary

Scheduled Sacrifice

	Sex	Male				Female			
	Test Substance	DHP	DHP	DHP	DHP	DHP	DHP	DHP	DHP
Organ Findings	Dose	0	100	300	1000	0	100	300	1000
	Dose Unit	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
	Number of Animals	12	12	12	12	12	12	12	5
	Number of Animals Examined	<12>	<12>	<12>	<12>	<12>	<12>	<12>	<5>
Subcutis Mass		0	0	0	0	1	0	0	0

Table 20 Necropsy Findings - Summary

Death

Organ Findings	Sex	Female
	Test Substance	DHP
	Dose	1000
	Dose Unit	mg/kg
	Number of Animals	7
	Number of Animals Examined	<7>
Lung (and bronchus)		
Edema		1
Stomach		
Dark reddish change, glandular stomach, mucosa		2
Small intestine, ileum		
Reddish change, mucosa		1
Large intestine, cecum		
Reddish change, mucosa		2
Liver		
Whitish change		7
Kidney		
Whitish change, corticomedullary junction		7
Uterus		
Hemorrhage, Uterine cavity		7
Adrenal		
Dark reddish change		2
Thoracic cavity		
Increase, pleural fluid		1

Table 21 Histological Findings - Summary

Scheduled Sacrifice

Organ Findings	Sex Test Substance Dose Dose Unit Number of Animals	Grade	Male				Female			
			DHP 0 mg/kg 12	DHP 100 mg/kg 12	DHP 300 mg/kg 12	DHP 1000 mg/kg 12	DHP 0 mg/kg 12	DHP 100 mg/kg 12	DHP 300 mg/kg 12	DHP 1000 mg/kg 5
Thymus			<0>	<0>	<0>	<0>	<0>	<0>	<0>	<1>
Atrophy		1								0
		2								0
		3								0
		4								1
Liver			<0>	<0>	<10>	<12>	<0>	<0>	<8>	<5>
Cell infiltration, inflammatory, focal		1			7	11			0	0
		2			0	0			0	0
		3			0	0			0	0
		4			0	0			0	0
Focus of altered hepatocyte, eosinophilic		1			2	7			0	0
		2			0	0			0	0
		3			0	0			0	0
		4			0	0			0	0
Increase, mitotic figure, hepatocyte, perilobular		1			5	9			0	1
		2			0	0			0	0
		3			0	0			0	0
		4			0	0			0	0
Necrosis, hepatocyte, focal		1			2	5			1	1
		2			2	0			1	2
		3			0	0			0	0
		4			0	0			0	0

◇, Number of animals examined

1, Minimal; 2, Mild; 3, Moderate; 4, Severe

Table 21 Histological Findings - Summary

Scheduled Sacrifice

Organ Findings	Sex Test Substance Dose Dose Unit Number of Animals	Grade	Male				Female			
			DHP 0 mg/kg 12	DHP 100 mg/kg 12	DHP 300 mg/kg 12	DHP 1000 mg/kg 12	DHP 0 mg/kg 12	DHP 100 mg/kg 12	DHP 300 mg/kg 12	DHP 1000 mg/kg 5
Liver			<0>	<0>	<10>	<12>	<0>	<0>	<8>	<5>
Proliferation, oval cell, perilobular		1			1	12			0	1
		2			0	0			0	0
		3			0	0			0	0
		4			0	0			0	0
Single cell necrosis, hepatocyte, diffuse		1			10	12			5	5
		2			0	0			0	0
		3			0	0			0	0
		4			0	0			0	0
Swelling, hepatocyte, centrilobular		1			1	0			6	1
		2			9	12			2	3
		3			0	0			0	1
		4			0	0			0	0
Vacuolation, hepatocyte, perilobular		1			8	12			1	2
		2			0	0			0	1
		3			0	0			0	1
		4			0	0			0	0
Kidney			<0>	<1>	<0>	<0>	<0>	<0>	<0>	<0>
Dilatation, pelvis		1		1						
		2		0						
		3		0						
		4		0						

◇, Number of animals examined

1, Minimal; 2, Mild; 3, Moderate; 4, Severe

Table 21 Histological Findings - Summary

Scheduled Sacrifice

Organ Findings	Sex Test Substance Dose Dose Unit Number of Animals	Male				Female			
		DHP 0 mg/kg 12	DHP 100 mg/kg 12	DHP 300 mg/kg 12	DHP 1000 mg/kg 12	DHP 0 mg/kg 12	DHP 100 mg/kg 12	DHP 300 mg/kg 12	DHP 1000 mg/kg 5
	Grade								
Testis		<12>	<12>	<12>	<12>				
Atrophy, seminiferous tubule, diffuse	1	2	1	2	6	**			
	2	0	2	0	4				
	3	0	0	0	0				
	4	0	0	0	1				
Cell infiltration, lymphocyte, interstitium, focal	1	1	0	0	0				
	2	0	0	0	0				
	3	0	0	0	0				
	4	0	0	0	0				
Vacuolation, Sertoli cell	1	1	0	0	0				
	2	0	0	0	0				
	3	0	0	0	0				
	4	0	0	0	0				
Epididymis		<12>	<12>	<12>	<12>				
Atrophy, duct	1	0	0	0	1				
	2	0	0	0	0				
	3	0	0	0	1				
	4	0	0	0	0				
Cell debris, duct	1	0	1	1	6	**			
	2	0	1	0	4				
	3	0	0	0	1				
	4	0	0	0	0				

◇, Number of animals examined

1, Minimal; 2, Mild; 3, Moderate; 4, Severe

Significantly different from control : **, P<0.01.

Table 21 Histological Findings - Summary

Scheduled Sacrifice

Organ Findings	Sex Test Substance Dose Dose Unit Number of Animals	Male				Female			
		DHP 0 mg/kg 12	DHP 100 mg/kg 12	DHP 300 mg/kg 12	DHP 1000 mg/kg 12	DHP 0 mg/kg 12	DHP 100 mg/kg 12	DHP 300 mg/kg 12	DHP 1000 mg/kg 5
	Grade								
Epididymis		<12>	<12>	<12>	<12>				
Cell infiltration, lymphocyte, interstitium, focal	1	3	1	1	1				
	2	0	0	0	0				
	3	0	0	0	0				
	4	0	0	0	0				
Decrease, sperm, duct	1	0	0	0	0				
	2	0	0	0	0				
	3	0	0	0	0				
	4	0	0	0	1				
Granuloma, spermatic	1	1	1	0	0				
	2	0	0	0	0				
	3	0	0	0	0				
	4	0	0	0	0				
Seminal vesicle		<0>	<0>	<0>	<1>				
Prostate		<0>	<0>	<0>	<1>				
Coagulating gland		<0>	<0>	<0>	<1>				
Ovary						<12>	<0>	<0>	<5>
Mammary gland		<0>	<0>	<0>	<0>	<1>	<0>	<0>	<0>
Adenocarcinoma						1			

◇, Number of animals examined

1, Minimal; 2, Mild; 3, Moderate; 4, Severe

Table 21 Histological Findings - Summary

Death

Organ	Sex	Female
Findings	Test Substance	DHP
	Dose	1000
	Dose Unit	mg/kg
	Number of Animals	7
	Grade	
Lung (and bronchus)		<1>
Edema, alveolus	1	1
	2	0
	3	0
	4	0
Stomach		<1>
Hemorrhage, mucosa, focal	1	1
	2	0
	3	0
	4	0
Small intestine, ileum		<1>
Hemorrhage, mucosa	1	1
	2	0
	3	0
	4	0
Large intestine, cecum		<2>
Hemorrhage, mucosa	1	1
	2	0
	3	0
	4	0
Necrosis, mucosal epithelium, focal	1	1
	2	0
	3	0
	4	0

◇, Number of animals examined

1, Minimal; 2, Mild; 3, Moderate; 4, Severe

Table 21 Histological Findings - Summary

Death

Organ	Sex	Female
Findings	Test Substance	DHP
	Dose	1000
	Dose Unit	mg/kg
	Number of Animals	7
	Grade	
Liver		<7>
Cell infiltration, inflammatory, focal	1	3
	2	0
	3	0
	4	0
Proliferation, oval cell	1	3
	2	0
	3	0
	4	0
Swelling, hepatocyte, centrilobular	1	0
	2	7
	3	0
	4	0
Vacuolation, hepatocyte, perilobular	1	7
	2	0
	3	0
	4	0
Kidney		<5>
Necrosis, proximal tubular epithelium, diffuse	1	1
	2	0
	3	2
	4	0

◇, Number of animals examined

1, Minimal; 2, Mild; 3, Moderate; 4, Severe

Table 21 Histological Findings - Summary

Death

Organ	Sex	Female
Findings	Test Substance	DHP
	Dose	1000
	Dose Unit	mg/kg
	Number of Animals	7
	Grade	
Kidney		<5>
Thrombus	1	3
	2	0
	3	0
	4	0
Ovary		<7>
Uterus		<6>
Placenta		<6>
Adrenal		<2>
Congestion, cortex	1	1
	2	1
	3	0
	4	0
Hemorrhage, cortex	1	1
	2	0
	3	0
	4	0

◇ , Number of animals examined

1 , Minimal; 2 , Mild; 3 , Moderate; 4 , Severe

Table 22

Study No. B041803

Reproductive Performance (F0) - Summary
Mating Stage : 1st

Test Substance Dose (mg/kg)			Number of Pairs	Mean Estrous Cycle	Incidence of Females with Irregular Estrous Cycle	Mating Period		Copulation Index (%)	Fertility Index (%)
						Number of Estrus	Day of Conceiving		
DHP		Mean		4.00		0.1	3.5	100.0	100.0
M	0	S. D.		0.00		0.3	3.6		
F	0	n	12	12	0/12	12	12	a) (12/12)	b) (12/12)
DHP		Mean		4.00		0.0	2.3	100.0	100.0
M	100	S. D.		0.00		0.0	1.3		
F	100	n	12	11	1/12	12	12	(12/12)	(12/12)
DHP		Mean		4.00		0.0	2.6	100.0	100.0
M	300	S. D.		0.00		0.0	1.2		
F	300	n	12	12	0/12	12	12	(12/12)	(12/12)
DHP		Mean		4.03		0.0	2.6	100.0	100.0
M	1000	S. D.		0.09		0.0	1.1		
F	1000	n	12	12	0/12	12	12	(12/12)	(12/12)

a): Number of copulated females / Number of pairs

b): Number of pregnant females / Number of copulated females

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

Table 23

Study No. B041803

Delivery Data (F0) - Summary

Test Substance Dose (mg/kg)		Gestation Length (days)	Number of Corpora Lutea	Number of Implantation Sites	Total Number of Offspring	Implantation Index (%)	Delivery Index (%)	Gestation Index (%)
DHP 0	Mean	22.6	15.8	15.1	13.8	95.38	90.98	100.0
	S. D.	0.5	1.5	1.6	2.1	6.33	7.70	(12/12) a)
	n	12	12	12	12	12	12	
DHP 100	Mean	22.6	16.3	15.8	15.0	96.89	94.45	100.0
	S. D.	0.5	1.2	1.5	2.0	4.98	5.90	(12/12)
	n	12	12	12	12	12	12	
DHP 300	Mean	22.4	15.5	15.2	14.0	98.02	92.49	100.0
	S. D.	0.5	1.8	1.6	1.9	3.87	9.56	(12/12)
	n	12	12	12	12	12	12	
DHP 1000	Mean	23.0	14.4	13.3	11.0	90.33	92.00	41.7**
	S. D.	0.7	2.0	3.9	5.2	22.98	5.15	(5/12)
	n	5	12	12	5	12	5	

a): Number of pregnant animals delivered live offspring / number of pregnant animals
Significantly different from control : *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 24

Study No. B041803

Litter Size and Viability Index (F1) - Summary

Test Substance Dose (mg/kg)		Total Number of Offspring at Birth			Number of Live Offspring at Birth			Number of Live Offspring on Day 4						Number of Live Offspring on Day 4			Viability Index (%)		
								before Culling			after Culling						Day 0	Day 4	Day 4
		M	F	Total	M	F	Total	M	F	Total	M	F	Total						
DHP	0	Mean	6.3	7.5	13.8	6.3	7.5	13.8	6.2	7.5	13.7							100.00	99.44
		S. D.	2.6	1.9	2.1	2.6	1.9	2.1	2.5	1.9	2.0							0.00	1.93
		n	12	12	12	12	12	12	12	12	12							12	12
		(M/F)	(75/90)			(75/90)			(74/90)										
DHP	100	Mean	7.5	7.5	15.0	7.4	7.5	14.9	7.3	7.5	14.8						99.48	99.44	
		S. D.	1.9	2.6	2.0	1.9	2.6	2.0	2.0	2.6	2.0						1.79	1.93	
		n	12	12	12	12	12	12	12	12	12						12	12	
		(M/F)	(90/90)			(89/90)			(88/90)										
DHP	300	Mean	7.8	6.2	14.0	7.8	6.2	14.0	7.8	6.2	14.0						100.00	100.00	
		S. D.	1.2	2.3	1.9	1.2	2.3	1.9	1.2	2.3	1.9						0.00	0.00	
		n	12	12	12	12	12	12	12	12	12						12	12	
		(M/F)	(94/74)*			(94/74)*			(94/74)*										
DHP	1000	Mean	5.6	5.4	11.0	5.6	5.2	10.8	5.4	5.2	10.6						98.58	90.00	
		S. D.	2.7	3.2	5.2	2.7	3.0	5.1	3.1	3.0	5.5						3.18	22.36	
		n	5	5	5	5	5	5	5	5	5						5	5	
		(M/F)	(28/27)			(28/26)			(27/26)										

Significantly different from control

: *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 25

Study No. B041803

Clinical Sign (F1 before Weaning) - Summary
 Stage : Before Culling

Test Substance Dose (mg/kg)		Day	0	1	2	3	4
		/Findings (M/F)					
DHP	0	Number of dams	12	12	12	12	12
		Number of offspring	75/90/0	75/90	75/90	74/90	74/90
		Number of dams with abnormal offspring	0	1	0	0	0
		No Abnormality	75/90	75/90	74/90	74/90	74/90
		Death (M/F/U)	0/0/0	0/0	1/0	0/0	0/0
		Bite wound		1/0			
DHP	100	Number of dams	12	12	12	12	12
		Number of offspring	90/90/0	89/90	88/90	88/90	88/90
		Number of dams with abnormal offspring	0	0	0	0	0
		No Abnormality	89/90	88/90	88/90	88/90	88/90
		Death (M/F/U)	1/0/0	1/0	0/0	0/0	0/0
DHP	300	Number of dams	12	12	12	12	12
		Number of offspring	94/74/0	94/74	94/74	94/74	94/74
		Number of dams with abnormal offspring	0	0	0	0	0
		No Abnormality	94/74	94/74	94/74	94/74	94/74
		Death (M/F/U)	0/0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
DHP	1000	Number of dams	5	5	5	5	5
		Number of offspring	28/27/0	28/26	27/26	27/26	27/26
		Number of dams with abnormal offspring	0	0	2	0	0
		No Abnormality	28/26	27/26	27/23	27/26	27/26
		Death (M/F/U)	0/1/0	1/0	0/0	0/0	0/0
		Loss of suckling			0/3		

M:Male, F:Female, U:Unable to be sexed on day 0

Table 26

Study No. B041803

Body Weight of Offspring (F1 before Weaning) - Summary
Sex : Male

Unit : g

Test Substance		before Culling		/	after Culling
Dose (mg/kg)	/Day	0	4		
DHP 0	Mean	7.5	12.4		
	S. D.	0.6	1.1		
	n	12	12		
DHP 100	Mean	7.1	11.9		
	S. D.	0.7	1.6		
	n	11	12		
DHP 300	Mean	7.1	11.7		
	S. D.	0.7	1.5		
	n	12	12		
DHP 1000	Mean	7.1	10.5		
	S. D.	0.6	2.2		
	n	5	4		

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

Table 26

Study No. B041803

Body Weight of Offspring (F1 before Weaning) - Summary
 Sex : Female

Unit : g

Test Substance		before Culling		/ after Culling
Dose (mg/kg)	/Day	0	4	
DHP 0	Mean	7.0	11.8	
	S. D.	0.5	1.1	
	n	12	12	
DHP 100	Mean	6.8	11.3	
	S. D.	0.7	1.6	
	n	11	12	
DHP 300	Mean	6.8	11.2	
	S. D.	0.6	1.4	
	n	12	12	
DHP 1000	Mean	6.8	9.6	
	S. D.	0.5	2.0	
	n	5	5	

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

Table 27

Study No. B041803

Body Weight Gain of Offspring (F1 before Weaning) - Summary
 Sex : Male Base : Day 4 after Birth

Unit : g

Test Substance		before Culling		after Culling
Dose (mg/kg)	/Day	0 - 4		
DHP 0	Mean	4.9		
	S. D.	0.8		
	n	12		
DHP 100	Mean	4.6		
	S. D.	1.0		
	n	11		
DHP 300	Mean	4.6		
	S. D.	1.0		
	n	12		
DHP 1000	Mean	3.3		
	S. D.	1.6		
	n	4		

Significantly different from control

: *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 27

Study No. B041803

Body Weight Gain of Offspring (F1 before Weaning) - Summary
 Sex : Female Base : Day 4 after Birth

Unit : g

Test Substance		before Culling		after Culling
Dose (mg/kg)	/Day	0 - 4		
DHP 0	Mean	4.8		
	S. D.	0.8		
	n	12		
DHP 100	Mean	4.4		
	S. D.	1.0		
	n	11		
DHP 300	Mean	4.4		
	S. D.	0.9		
	n	12		
DHP 1000	Mean	2.8		
	S. D.	1.8		
	n	5		

Significantly different from control

: *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 28 Anogenital Distance (F1) - Summary
Day after Birth : 4

Test Substance		AGD (mm)		AGD/ $\sqrt[3]{\text{BW}}$	
Dose		Male	Female	Male	Female
DHP 0 mg/kg	Mean	4.692	2.226	2.027	0.982
	S. D.	0.515	0.224	0.206	0.102
	n	12	12	12	12
DHP 100 mg/kg	Mean	4.762	2.318	2.087	1.036
	S. D.	0.416	0.121	0.109	0.042
	n	12	12	12	12
DHP 300 mg/kg	Mean	4.819	2.268	2.123	1.016
	S. D.	0.626	0.125	0.202	0.051
	n	12	12	12	12
DHP 1000 mg/kg	Mean	4.564	2.300	2.094	1.091
	S. D.	0.511	0.162	0.182	0.089
	n	4	5	4	5

Table 29

Study No. B041803

External Examination of Offspring (F1) - Summary
 Day : 0 (Birth Day)

Test Substance	DHP	DHP	DHP	DHP
Dose (mg/kg)	0	100	300	1000
Number of Dams	12	12	12	5
Number of Offspring	165	179	168	54
Number of Dams with Anomalous Offspring	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
Number of Offspring with Any Anomalies	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)

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

Table 30

Study No. B041803

Necropsy Findings (F1 Offspring)

Test Substance : DHP

Test Substance		/Findings	Day:	Scheduled Sacrifice		Dead		Dead		Dead		Dead		Dead	
Dose (mg/kg)	4			0		1		2		3		4			
	M			F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	
DHP	0	Number of offspring examined	74	90					1						
		No abnormality	74	90					1						
DHP	100	Number of offspring examined	88	90	1		1								
		No abnormality	88	90	1		1								
DHP	300	Number of offspring examined	94	74											
		No abnormality	94	74											
DHP	1000	Number of offspring examined	27	26		1									
		No abnormality	27	26		1									

M:Male, F:Female