

チオウレアS,S-ジオキシドの
ラットにおける
反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験

－最終報告書－

試験施設 ： 株式会社パナファーム・ラボラトリーズ 安全性研究所

目 次

頁

要 約		1
緒 言		3
試験材料及び方法		3
試験成績		10
考 察		14
文 献		17
Fig. 1	Mean body weight changes of male rats treated orally with Thiourea S, S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	18
Fig. 2	Mean body weight changes of female rats treated orally with Thiourea S, S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	19
Fig. 3	Mean food consumption of male rats treated orally with Thiourea S, S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	20
Fig. 4	Mean food consumption of female rats treated orally with Thiourea S, S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	21
Table 1	Clinical signs of male rats treated orally with Thiourea S, S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	22

Table 2	Clinical signs of female rats treated orally with Thiourea S, S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	25
Table 3	Body weights of male rats treated orally with Thiourea S, S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	29
Table 4	Body weights of female rats treated orally with Thiourea S, S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	30
Table 5	Food consumption of male rats treated orally with Thiourea S, S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	31
Table 6	Food consumption of female rats treated orally with Thiourea S, S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	32
Table 7	Hematological findings of male rats treated orally with Thiourea S, S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	33
Table 8	Myelogram of male rats treated orally with Thiourea S, S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	34
Table 9	Biochemical findings of male rats treated orally with Thiourea S, S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	35
Table 10	Necropsy findings of male rats treated orally with Thiourea S, S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	36
Table 11	Necropsy findings of female rats treated orally with Thiourea S, S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	37
Table 12	Absolute and relative organ weights of male rats treated orally with Thiourea S, S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	39
Table 13	Absolute and relative organ weights of female rats treated orally with Thiourea S, S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	40
Table 14A	Histopathological findings of male rats treated orally with Thiourea S, S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	41
Table 14B	Histopathological findings of male rats treated orally with Thiourea S, S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	43
Table 15A	Histopathological findings of female rats treated orally with Thiourea S, S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	45
Table 15B	Histopathological findings of female rats treated orally with Thiourea S, S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	47
Table 16	Reproductive performance of rats treated orally with Thiourea S, S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	49

Table 17	Findings of delivery of F ₀ dams treated orally with Thiourea S,S-dioxide and observations on their offspring in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	50
----------	---	----

要

約

OECD既存化学物質安全性点検に係わる毒性調査の一環として、チオウレアS,S-ジオキシドの0 (媒体対照), 4, 20及び100 mg/kg/dayをCrj:CD (SD系) IGSラットの雌雄 (各12匹/群) に交配前14日間, 雄ではその後交配期間を含む35日間, 雌では交配期間, 妊娠期間及び哺育3日まで通して経口投与し, 親動物に対する反復投与毒性及び生殖能力並びに次世代児の発生・発育に及ぼす影響について検討し, 以下の結果を得た。

1. 反復投与毒性

雌雄とも死亡の発生はなかった。一般状態では, 100 mg/kg群の雄1例及び雌2例で脱毛が認められた。体重では, 雌雄の100 mg/kg群で投与期間を通して増加抑制がみられ, 同群では摂餌量も減少した。

雄の血液学検査では, 100 mg/kg群で赤血球数及びヘマトクリット値の減少及び網状赤血球数の増加並びにプロトロンビン時間及び活性化部分トロンボプラスチン時間の短縮が認められた。

雄の骨髓検査では, 100 mg/kg群で有核細胞数及びM/E比の減少がみられ, 細胞分画では, 好中球系細胞, 好酸球及びリンパ球の減少並びに好塩基性赤芽球, 多染性及び正染性赤芽球の減少が認められた。

雄の血液生化学検査では, 20 mg/kg以上の群でアルカリ性フォスファターゼの減少, 100 mg/kg群でアルブミン, A/G比, トリグリセライド, リン脂質, 総ビリルビン, 尿素窒素, クレアチニン, 無機リン及びカルシウムの増加並びにグルコース, GOT, GPT及びカリウムの減少が認められた。

器官重量では, 100 mg/kg群の雌雄で肝臓及び脾臓重量の増加, 雄で精巣重量の増加が認められた。

病理組織学検査では, 肝臓において100 mg/kg群の雌雄で小葉中心性の肝細胞肥大, 胆管内の好塩基性物 (胆汁色素染色陰性) 及び肝細胞の空胞変性 (脂肪染色陰性) が認められたほか, クッパー細胞へのヘモジデリン沈着が認められた。腎臓では, 100 mg/kg群の雌で尿細管壊死及び雌雄で尿細管上皮の好塩基性化がみられ, これらのなかにはリンパ球を主体とした細胞浸潤又は尿細管の拡張を伴うものも認められた。胃では, 100 mg/kg群雌雄で腺胃のびらん又は潰瘍が認められた。脾臓では, 100 mg/kg群の雌雄で髄外

造血の亢進及び赤脾髄へのヘモジデリン沈着の増強が認められた。大腿骨骨髄では、100 mg/kg群の雄で造血低下が認められた。更に、雄の生殖器では、100 mg/kg群で、精巣において精細管拡張、多核巨細胞の出現を伴う生殖細胞の変性及びセルトリ細胞の空胞変性がみられたほか、精巣上体において管腔内の生殖細胞残屑、浮腫及びリンパ球性細胞浸潤が認められた。

2. 生殖発生毒性

母動物の生殖機能に関しては、100 mg/kg群で発情回数の減少及び発情周期の延長、黄体数及び着床痕数の減少がみられたほか、妊娠期間の延長及び出産率の減少傾向が認められた。交尾率、授(受)胎率及び交尾所要日数に被験物質投与の影響は認められなかった。

また、100 mg/kg群では3母動物で全胚吸収がみられたほか、新生児に対する影響として出産児数、新生児数及び出生率の減少又は減少傾向が認められた。性比、新生児の体重及び生存性に被験物質投与の影響はみられず、新生児の外表検査においても異常はなかった。

以上のように、反復投与毒性では100 mg/kg群の雌雄で体重の増加抑制、摂餌量の減少並びに肝臓及び腎臓に及ぼす影響がみられたほか、20 mg/kg以上の群の雄でアルカリ性フォスファターゼの減少が認められたことから、本試験条件下における無影響量は雌で20 mg/kg、雄で4 mg/kgと推察された。生殖発生毒性では、雄の生殖機能に被験物質投与の影響はみられなかったが、100 mg/kg群の雌で発情回数の減少及び発情周期の延長、黄体数及び着床痕数の減少並びに妊娠期間の延長及び出産率の減少傾向がみられ、100 mg/kg群では新生児に対する影響として出産児数、新生児数及び出生率の減少又は減少傾向が認められたことから、本試験条件下における無影響量は、親動物に対しては雄で100 mg/kg、雌で20mg/kg、児動物に対しては20 mg/kgと推察された。

結 言

チオウレアS,S-ジオキシドは、繊維工業において古くから利用され、近年では紙パルプ工業、化学工業及び写真工業等、多岐に渡って使用されている化学物質である。本被験物質の経口投与によるLD₅₀値は、雄ラットで2260 mg/kg, 雌ラットで1780 mg/kgであることが報告されているが¹⁾, 反復毒性あるいは生殖発生毒性についての報告は見あたらない。今回, OECD既存化学物質安全性点検に係わる毒性調査の一環として, チオウレアS,S-ジオキシドの反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験を実施し, 親動物に対する反復投与毒性及び生殖能力並びに次世代児の発生・発育に及ぼす影響を検討したので報告する。

試験材料及び方法

1. 被験物質

より提供されたチオウレアS,S-ジオキシド(純度99.7%, Lot No.)を試験に使用した(添付資料1)。本被験物質は、水にわずかに溶ける白色粉末であり、本試験の投与期間終了後に上記の提供先にて分析を行った結果、投与期間中安定であったことが確認された(添付資料2)。媒体はカルボキシメチルセルロース・ナトリウム(CMC-Na, ナカライテスク株式会社, Lot No. M7T4661)の0.5 W/V%溶液を使用した。なお、被験物質は低温室の被験物質保管庫内に保管し、媒体原末は被験物質室の保管庫内に室温で保管した。

2. 使用動物及び飼育条件

8週齢のCrj:CD(SD系)IGSラット(日本チャールス・リバー株式会社)を雌雄各55匹購入し、13日間の検疫馴化を行った。この期間中に一般状態の観察及び体重測定を実施するとともに、雌雄各3匹について剖検を行い、異常がないことを確認したのち、順調な発育を示した動物を選んで10週齢で試験に使用した。なお、投与開始時の体重は雄で329.2～405.8 g, 雌で217.6～254.9 gであった。動物は温度24±2℃(許容範囲21～27℃), 湿度55±10%(許容範囲35～75%), 照明12時間(午前7時～午後7時)及び換気回数13～15回/時に設定したバリアーシステムC区域の飼育室(93番)で、ステンレススチール製ケージ(W260×H200×D380 mm)に、検疫馴化期間中は雌雄別に2～3匹、投与期

間中は雌雄別に1匹(ただし、交配期間中は雌雄各1匹)、妊娠及び哺育期間中は床敷(ホワイトフレーク、日本チャールス・リバー株式会社製)を入れたポリカーボネイト製ケージ(W265×H185×D425 mm)に1匹ずつ(哺育期間中は哺育児を含む)収容し、飼育した。なお、温度の実測値は最高26℃、最低22℃、湿度の実測値は最高61%、最低53%であった。飼料は固型飼料(MF、オリエンタル酵母工業株式会社製)を、飲水は次亜塩素酸ナトリウムを添加した井戸水(約2 ppm)を自動給水装置又は給水瓶によりそれぞれ自由に摂取させた。飼料及び床敷については財団法人日本食品分析センターにて、飲水については株式会社 鶴城 南九科研センターにて分析し、いずれも許容基準に適合していることを確認した。なお、飼育器材及び飼料は高圧蒸気滅菌したものを使用し、ケージ架台及びポリカーボネイト製ケージ用上蓋は4週間に1回、ステンレススチール製ケージは2週間に1回、ポリカーボネイト製ケージ及び給水瓶は週1回以上、受皿は週3回(ただし、交配期間中は毎日)交換するとともに、飼育室は毎日清掃し、消毒薬を浸したモップで清拭した。

3. 試験群構成、投与量設定の根拠及び群分け

試験群構成を下表に示した。

試験群	投与量 (mg/kg)	性別	動物数	動物番号
対照群	0	♂	12	101～112
		♀	12	151～162
低用量群	4	♂	12	113～124
		♀	12	163～174
中間用量群	20	♂	12	125～136
		♀	12	175～186
高用量群	100	♂	12	137～148
		♀	12	187～198

投与量は、先に実施した予備試験²⁾の結果より設定した。すなわち、本被験物質の40、200及び1000 mg/kgを2週間反復経口投与した結果、1000 mg/kg群では死亡がみられ、

200 mg/kg群では体重減少、摂餌量の減少、前胃粘膜面の白色点及び腺胃粘膜面の暗赤色点並びに肝臓重量の増加がみられたが、40 mg/kg群では被験物質投与による明らかな変化はみられなかった。したがって、本試験での投与量は投与期間を考慮して、40 mg/kgと200 mg/kgの間の用量の100 mg/kgを最高用量とし、以下公比5で除した20及び4 mg/kgをそれぞれ中間用量及び低用量に設定した。

群分けは、投与開始前日に当日の体重を基に層別連続無作為化法により行い、群分け後の動物には動物番号を刻印した耳標を取り付けて個体識別した。また、各ケージには試験番号、動物番号、投与量及び性別を表示したラベルを付けた。なお、残余の動物は試験から除外した。

4. 投与経路、投与方法及び投与期間

投与経路は、OECD試験法ガイドラインで指定されており、また、予想されるヒトへの曝露経路の一つである経口投与とした。雄及び未交尾の雌については交配前14日間及びその後交配期間を含む35日間の合計49日間、雌については交配前14日間、交配期間(最長14日間)、妊娠期間及び哺育3日までの期間、連日1日1回、胃管を用いて投与した。投与容量は2.5 ml/kgとし、動物ごとの投与液量は、雄並びに交配前及び交配期間中の雌については最新の体重を基に、交尾成立後の雌については妊娠0日の体重を基にそれぞれ算出した。対照群には0.5 W/V% CMC-Na溶液を同様に投与した。

5. 被験物質と媒体の混合物調製法

チオウレアS, S-ジオキシドの必要量(純度換算せず)を秤り取り、0.5% CMC-Na溶液に溶解又は懸濁し、0.16, 0.8及び4 W/V%の溶液又は懸濁液を調製した。調製は週1～2回の頻度で行い、被験液は投与時まで飼育区域内の保管庫に冷蔵遮光下で保存した。本調製法による被験液の均一性及び安定性試験は当研究所にて実施し、0.1 W/V%溶液及び20 W/V%懸濁液は、冷蔵遮光下で9日間安定であり、20 W/V%懸濁液は均一であることを確認した(添付資料3)。なお、0.1 W/V%液は溶液であるため、均一性試験は実施しなかった。更に、初回に調製した被験液については当研究所にて分析を行い、設定濃度の許容範囲(溶液：±5%以内、懸濁液：10%以内)にあることも確認した(添付資料4)。

6. 観察、測定及び検査方法

1) 一般状態観察並びに体重及び摂餌量測定

雌雄とも、全例について一般状態の観察及び生死の確認を毎日、投与前及び投与後の2回行った。

体重については、雄では投与期間を通して週2回測定した。雌では、交配前の投与期間及び交配期間中は週2回、妊娠期間中は妊娠0, 4, 7, 10, 14, 17及び21日、哺育期間中は哺育0 (分娩日) 及び4日に測定した。

摂餌量については、雄では交配期間を除く投与期間中、週2回測定した。雌では、交配前の投与期間中は週2回、妊娠期間中は妊娠1, 4, 7, 10, 14, 17及び21日、哺育期間中は哺育1 (分娩日翌日) 及び4日に測定した。

2) 血液学検査

雄の全例について、投与期間終了後に、18時間以上絶食させたのち、ペントバルビタール・ナトリウム30 mg/kgを腹腔内投与して麻酔し、開腹後、後大静脈腹部から採血を行った。採取した血液の一部はEDTA-2K処理 (EDTA-2K加血液) して多項目自動血球計数装置 (Sysmex CC-780, 東亜医用電子株式会社) を用いて、白血球数 (電気抵抗検出方式), 赤血球数 (電気抵抗検出方式), ヘモグロビン量 (オキシヘモグロビン法), ヘマトクリット値 (血球パルス波高値検出方式) 及び血小板数 (電気抵抗検出方式) を測定し、赤血球数, ヘモグロビン量及びヘマトクリット値の測定結果を基にWintrobeの赤血球恒数 [平均赤血球容積 (MCV), 平均赤血球血色素量 (MCH) 及び平均赤血球血色素濃度 (MCHC)] を算出した。更に、血液の一部は塗抹標本とし、May-Grünwald-Giemsa染色を施して白血球百分比を算出するとともに、ニューメチレンブルー超生体染色を施したのち、光学顕微鏡下で網状赤血球率を算出した。また、3.8%クエン酸ナトリウム加血液を3000回転/分で15分間遠心分離し、得られた血漿を用いて、全自動血液凝固測定装置 (Sysmex CA-5000, 東亜医用電子株式会社) によりプロトロンビン時間 (散乱光検出方式), 活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT, 散乱光検出方式) 及びフィブリノーゲン量 (散乱光検出方式) を測定した。

3) 骨髓検査

雄の全例について、投与期間終了後の剖検時に、右大腿骨より骨髓を採取した。採取した骨髓の一部は多項目自動血球計数装置 (Sysmex CC-780, 東亜医用電子株式会社) により有核細胞数を測定した。また、骨髓の一部は塗抹標本 (May-Grünwald-Giemsa染色) とし、血液学検査において100 mg/kg群で貧血所見がみられたため、対照群及び100 mg/kg群について光学顕微鏡下に観察し、細胞分画を行うとともに、M/E比 (顆粒球系細胞/赤芽球系細胞比) を算出した。その結果、100 mg/kg群に変化がみられたため20 mg/kg群まで同様な検査を実施した。なお、細胞分画については、有核細胞数に分画百分比を乗じて算出した絶対値 (10^4 cells/ μ l) で評価した。

4) 血液生化学検査

雄の全例について、血液学検査用の採血に引き続き採取した血液を室温で約60分間放置後、3000回転/分で10分間遠心分離し、得られた血清を用いて自動分析装置 (7170, 株式会社 日立製作所) により、総蛋白質 (ビウレット法), アルブミン (BCG法), GOT (UVレート法), GPT (UVレート法), γ -GTP (L- γ -グルタミル-3-ヒドロキシメチル-4-ニトロアニリド基質法), アルカリ性フォスファターゼ (ALP, p-ニトロフェニルリン酸基質法), 総コレステロール (COD-HDAOS法), トリグリセライド (GPO-HDAOS法・グリセリン消去法), リン脂質 (コリンオキシダーゼ・DAOS法), 総ビリルビン (バナジン酸酸化法), グルコース (ヘキソキナーゼ・G-6-PDH法), 尿素窒素 (BUN, ウレアーゼ・GtDH法), クレアチニン (Jaffé法), 無機リン (IP, PNP-XOD法) 及びカルシウム (Ca, MXB法) を測定した。また、総蛋白質及びアルブミンからA/G比を算出した。更に、電解質分析装置 (PVA- α III, 株式会社 アナリティカル・インスツルメンツ) によりナトリウム (Na, 電極法), カリウム (K, 電極法) 及びクロール (Cl, 電量滴定法) を測定した。

5) 剖検、器官重量の測定及び病理組織学検査

雄では投与期間終了後の採血を行ったのちに、雌では哺育4日 (ただし、全児死亡例及び妊娠24日になっても分娩しなかった例については、その都度、また、未交尾の雌については、雄の剖検日) にエーテル麻酔下で外側腸骨動脈を切断して放血死させ、解剖して諸器官及び組織の肉眼的観察を行った。更に、雌については黄体数及び着床

痕数を調べるとともに、着床率 $[(\text{着床痕数}/\text{黄体数}) \times 100]$ を算出した。次いで、脳、心臓、肺(気管支を含む)、甲状腺(上皮小体を含む)、胸腺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣、精巣上体及び卵巣を摘出して器官重量(絶対重量)を測定するとともに、剖検日の体重を基に体重比器官重量(相対重量)を算出した。重量測定器官に加え、大腿骨骨髓及び肉眼的異常部位を採取して10%中性緩衝ホルマリン溶液に固定した。なお、10%中性緩衝ホルマリン溶液による固定に先だって、精巣及び精巣上体はブアン液で前固定した。固定後、全群の肉眼的異常部位、対照群及び100 mg/kg群の脳、心臓、肺(気管支を含む)、甲状腺(上皮小体を含む)、胸腺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣、精巣上体、卵巣及び大腿骨骨髓(ただし、大腿骨骨髓は雄のみ)について、常法に従ってパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色を施して光学顕微鏡下で観察した。また、100 mg/kg群で変化がみられた胸腺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣、精巣上体及び大腿骨骨髓については20 mg/kg群まで同様に検査を行うとともに、対照群、20及び100 mg/kg群の肝臓及び脾臓について鉄染色(ベルリン青染色)を施して観察した。更に、100 mg/kg群の肝臓については、雌雄の代表例を用いて脂肪染色(Oil red O染色)、胆汁色素染色(ホール法)及び消耗性色素染色(シュモール反応)を行って観察した。

6) 性周期検査及び生殖能力検査

雌について、投与開始日(投与1日)から15日間、毎日午前の一定時間に膣垢を採取し、性周期検査を行った。性周期検査では、発情回数を算出するとともに、発情期から次の発情期までの間の日数を発情周期日数とし、平均発情周期を算出した。

交配は投与15日の午後4時頃から、雌雄(12週齢)1対1で一晩同居させる方法で行い、翌朝膣垢中の精子又は膣栓の存在により交尾を確認し、その日を妊娠0日とした。また、交配は同一群内で行い、交配期間は最長2週間とした。交配期間終了後、交尾所要日数、交尾率 $[(\text{交尾動物数}/\text{同居動物数}) \times 100]$ 及び授(受)胎率 $[(\text{妊娠動物数}/\text{交尾動物数}) \times 100]$ を算出した。

7) 分娩及び哺育期(哺育4日まで)検査並びに新生児検査

交尾が確認された雌については、全例を自然分娩させ、分娩徴候を含めた分娩状態並びに授乳、営巣などの哺育状態を観察するとともに、妊娠期間、出産率 $[(\text{生児出$

産雌数／妊娠雌数) × 100] を算出した。なお、分娩の確認は午前中に限定し、12時を過ぎて分娩した個体は翌日に分娩したものと見なした。出産児については、分娩時に出産児数、新生児数、死産児数、新生児の性別及び外表異常を検査した。新生児については、出生日及び哺育4日に体重を個体ごとに測定するとともに出生率[(出生児数／着床痕数) × 100]、死産率[(死産児数／出産児数) × 100]及び新生児の4日の生存率[(哺育4日の生児数／出生児数) × 100] を算出した。哺育4日に新生児の全例をエーテル麻酔下で、器官・組織の肉眼的観察を行った。また、出産児(死産児及び死亡児を含む)については、剖検後一腹単位で純エタノールに固定保存した。

7. 統計解析

体重、摂餌量、血液学検査値、骨髓検査値、血液生化学検査値、交尾所要日数、性周期検査値(発情回数、発情周期)、器官重量、妊娠期間、黄体数、着床痕数、出産児数、新生児数及び新生児体重については、各群ごとに平均値と標準偏差を求め、対照群と被験物質投与群間でまず分散の均一性をBartlett法により検定した。分散が均一な場合は、Dunnettの多重比較検定を用いて対照群との比較を行い、分散が均一でない場合は、Steelの多重比較検定を用いて対照群との比較を行った。また、交尾率、受(授)胎率、出産率及び新生児の性比については χ^2 検定により、着床率、死産率、出生率及び新生児の4日の生存率についてはWilcoxonの順位和検定により、病理組織学検査についてはMann-WhitneyのU検定により対照群と各投与群間の比較を行った。いずれの場合も有意水準を5%とした。なお、新生児に関する測定値については一腹単位で処理した。

試 験 成 績

1. 反復投与毒性

1) 一般状態

一般状態観察をTable 1, 2 及びAppendix 1, 2 に示した。

雌雄とも死亡の発生はなかった。

雄では, 100 mg/kg群の1例で投与8～47日に腰部に脱毛が認められた。

雌では, 100 mg/kg群の1例で投与8～17日及び妊娠0～19日, 同群の別の1例(未交尾例)で投与21～37日に腹部あるいは腰部に脱毛が認められた。

2) 体重

体重推移をFig. 1, 2, Table 3, 4 及びAppendix 3, 4 に示した。

雌雄とも, 100 mg/kg群で投与8日まで減少が認められた。その後, 増加に転じたものの, 投与期間を通して増加抑制が認められた。

3) 摂餌量

摂餌量をFig. 3, 4, Table 5, 6 及びAppendix 5, 6 に示した。

雌雄とも, 100 mg/kg群で投与期間を通して減少が認められた。

このほか, 4 mg/kg群の雌で投与4及び8日に減少がみられたが, 一過性の軽微な変動であり, 20 mg/kg群に同様な傾向がなかったことから, 被験物質投与との関連性はないと判断した。

4) 血液学検査

雄の血液学的検査結果をTable 7 及びAppendix 7 に示した。

100 mg/kg群で赤血球数及びヘマトクリット値の減少, MCV, MCH, MCHC及び網状赤血球数の増加が認められた。また, 同群ではプロトロンビン時間及び活性化部分トロンボプラスチン時間の短縮も認められた。なお, 20 mg/kg群においてもMCH及びMCHCの増加が認められた。そのほか, 白血球百分比において4 mg/kg群で分葉核好中球比の増加及びリンパ球比の減少がみられたが, 20 mg/kg以上の群に同様の変化はみられていないことから, 偶発的変化と考えられた。

5) 骨髓検査

雄の骨髓検査結果をTable 8 及びAppendix 8 に示した。

100 mg/kg群で有核細胞数の減少がみられ、細胞分画では好中球系細胞、好酸球及びリンパ球の減少並びに好塩基性、多染性及び正染性赤芽球に減少が認められた。また、赤芽球系細胞に比較して、顆粒系細胞の減少の程度が強かったため、M/E比も低下した。

6) 血液生化学検査

雄の血液生化学検査結果をTable 9 及びAppendix 9 に示した。

20 mg/kg以上の群でアルカリ性フォスファターゼの減少、100 mg/kg群でアルブミン、A/G比、トリグリセライド、リン脂質、総ビリルビン、尿素窒素、クレアチニン、無機リン及びカルシウムの増加、並びにグルコース、GOT、GPT及びカリウムの減少が認められた。

7) 剖検

雌雄の剖検所見をTable 10, 11及びAppendix 10, 11に示した。

雄では、対照群の1例及び100 mg/kg群の3例で腺胃粘膜の黒赤色点がみられ、100 mg/kg群の1例で腎臓表面の粗造化、同群の4例で精巣の肥大が認められた。これらのほか、対照群及び100 mg/kg群の各1例で肝臓の横隔膜ヘルニア、100 mg/kg群の1例で肺の灰白色斑がみられ、対照群の1例で精巣の白色点、100 mg/kg群の1例で精巣の灰白色結節、対照群及び20 mg/kg群の各1例で精巣上体の灰白色結節が認められた。

哺育4日に剖検した雌では、100 mg/kg群の1例で胸腺の萎縮が認められた。

全児死亡のため剖検した100 mg/kg群の雌1例では、腺胃粘膜の黒赤色点及び腎臓の灰白色化が認められた。

妊娠24日になっても分娩を開始しなかったため剖検した100 mg/kg群の雌5例では、いずれの例にも異常はみられなかった。

雄の剖検日に剖検した100 mg/kg群の未交尾の雌1例では、異常はみられなかった。

8) 器官重量

雌雄の測定結果をTable 12, 13及びAppendix 12, 13に示した。

雄では、20 mg/kg以上の群で副腎の絶対及び相対重量の増加又は増加傾向、100 mg/kg群で胸腺の絶対及び相対重量の減少が認められた。また、100 mg/kg群で心臓、甲状腺、腎臓及び精巣上体の絶対重量の減少、脳、肺、肝臓、脾臓及び精巣の相対重量の増加が認められた。

雌では、100 mg/kg群で心臓、胸腺及び卵巣の絶対重量の減少、脳、肺、肝臓、脾臓及び腎臓の相対重量の増加が認められた。このほか、20 mg/kg群では心臓の絶対重量の減少が認められた。

9) 病理組織学検査

雄の検査結果をTable 14A(グレード別出現例数)及び14B(総出現例数)並びにAppendix 14, 雌の検査結果をTable 15A(グレード別出現例数)及び15B(総出現例数)並びにAppendix 15に示した。

肝臓では、100 mg/kg群の雌雄各2例で小葉中心性の肝細胞肥大、雌1例で肝細胞の空胞変性(脂肪染色陰性)、雄9例及び雌6例で胆管内の好塩基性物(胆汁色素染色陰性, Photo. 1)、雌雄各2例でクッパー細胞へのヘモジデリン沈着が認められた。

胃では、対照群の雄1例及び100 mg/kg群の雄3例で腺胃のびらん(Photo. 2)、100 mg/kg群の雌1例で腺胃の潰瘍が認められた。

腎臓では、100 mg/kg群の雌1例で腎臓の尿細管壊死(Photo. 3)、対照群及び20 mg/kg群の雄各2例、100 mg/kg群の雌雄全例で尿細管上皮の好塩基性化(Photo. 4)がみられ、そのうち100 mg/kg群の雄9例及び雌8例がリンパ球を主体とした細胞浸潤、雌1例が好中球を主体とした細胞浸潤を、また、同群の雌雄各1例が尿細管の拡張を伴っていた。

脾臓では、100 mg/kg群の雄3例及び雌9例で髄外造血の亢進、100 mg/kg群の雌雄全例で赤脾髄へのヘモジデリン沈着の増強が認められた。

骨髄では、100 mg/kg群の雄11例で大腿骨骨髄の造血低下(Photo. 5, 6)が認められた。

胸腺では、100 mg/kg群の雄1例及び雌4例で萎縮が認められた。

副腎では、100 mg/kg群の雌1例で副腎の皮質全域の壊死が認められた。

精巣では、100 mg/kg群の雄4例で精巣の精細管拡張，雄2例でセルトリ細胞の空胞変性，雄1例で限局性の生殖細胞の変性及び多核巨細胞の出現 (Photo. 7) が認められた。

精巣上体では、100 mg/kg群の雄2例で精巣上体のリンパ球性細胞浸潤，雄1例で精巣上体の管腔内の生殖細胞残屑及び浮腫が認められた。

以上のほか，自然発生の変化として，対照群を含む各群を通して肝細胞の巣状壊死，肺の泡沫細胞集簇及び動脈壁への鉍質沈着，胸腺又は肺の出血，心臓の心筋変性／線維化，精巣の精細管萎縮，精巣及び精巣上体の精子肉芽腫が散見された。

2. 生殖発生毒性

1) 性周期検査及び生殖能力検査

性周期検査及び生殖能力検査の成績をTable 16及びAppendix 16に示した。

性周期検査では、100 mg/kg群で発情回数の減少及び発情周期の延長が認められた。

生殖能力検査では、100 mg/kg群の1組で交尾がみられず，交尾がみられたうち100 mg/kg群の2例が不妊であったが，交尾率及び授(受)胎率とも対照群と各群との間に差は認められなかった。交尾所要日数においては，4 mg/kg群で短縮が認められたが，20 mg/kg以上の群では同様の変化はみられず，偶発的な変化であると判断した。

2) 分娩及び哺育期(哺育4日まで)検査並びに新生児検査

分娩及び哺育期検査並びに新生児検査の成績をTable 17及びAppendix 17に示した。

分娩時の検査では，100 mg/kg群で妊娠期間の延長，黄体数，着床痕数，出産率，出産児数，新生児数及び出生率の減少又は減少傾向が認められた。また，100 mg/kg群では，1母動物で分娩直後の児の回集及び保温の不良などがみられ，死産児数が増加し，死産率の増加が認められた。着床率，性比及び新生児の体重では各群とも対照群との間に差はみられず，新生児の外表検査において各群に異常の発生はなかった。なお，100 mg/kg群の3例で全胚吸収がみられ，これらの例の黄体については不明瞭で算定することができなかった。

哺育期の検査では，前述した100 mg/kg群の1母動物で児の回集，授乳及び保温など哺育行動の不良がみられ，分娩後2日には全児が死亡した。新生児の4日の生存率及び体重については，各群とも対照群との間に差は認められなかった。

考 察

OECD既存化学物質安全性点検に係わる毒性調査の一環として、チオウレアS,S-ジオキシドの反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験を実施し、親動物に対する反復投与毒性及び生殖能力並びに次世代児の発生・発育に及ぼす影響について検討した。

1. 反復投与毒性

各群とも死亡の発生はなかった。一般状態では、100 mg/kg群の雄1例及び雌2例で腹部あるいは腰部に脱毛がみられたが、いずれも投与後期には回復しており、脱毛は動物が身づくろいを行うところに認められたことから、動物が被毛を咬むことにより生じた可能性が高いものと考えられた。また、100 mg/kg群では、雌雄とも摂餌量の減少を伴った体重の減少及び増加抑制が認められた。

雄の血液学検査では、100 mg/kg群で赤血球数及びヘマトクリット値の減少、MCV、MCH及びMCHCの増加が認められた。これらの変化は、血清中の総ビリルビンの増加と肝臓及び脾臓へのヘモジデリン沈着が認められたことから、赤血球の破壊亢進に起因したものであろうと考えられた。更に、100 mg/kg群では骨髓検査で顆粒球系細胞、リンパ球及び赤芽球系細胞の減少による有核細胞数の減少及びM/E比の低下、病理組織学検査で大腿骨骨髓の造血低下がみられたことから、上述した血液学検査パラメータの変動は赤血球の破壊亢進に加え、骨髓での造血抑制が影響していると考えられた。なお、末梢血中の白血球数及び白血球百分比には変動はなく、本試験の投与期間においては、骨髓での顆粒系細胞の減少が末梢血中に反映されることはなかった。このほか、赤血球数の減少に伴う反応性の変化として、網状赤血球数の増加並びに脾臓での髄外造血及びそれに伴う脾臓重量の増加傾向が認められた。20 mg/kg群においてもMCH及びMCHCの増加が認められた。また、100 mg/kg群ではプロトロンビン時間及び活性化部分トロンボプラスチン時間の短縮がみられたが、短縮した場合にみられる血栓等の変化はみられず、毒性学的意義は低いものと考えられた。

雄の血液生化学検査では、100 mg/kg群でアルブミン、A/G比、トリグリセライド及びリン脂質の増加並びにグルコースの減少がみられ、本被験物質の肝臓への影響が示唆された。更に、100 mg/kg群では尿素窒素、クレアチニン及び無機リンの増加並びにカリウムの減少がみられ、後述する病理組織学検査とともに本被験物質の腎臓への影響が示

唆された。このほか、20 mg/kg以上の群でアルカリ性フォスファターゼの減少、100 mg/kg群でGOT及びGPTの減少が認められた。また、100 mg/kg群でカルシウムの増加がみられたが、血清中のカルシウムの一部はアルブミンと結合している³⁾ことから、アルブミンの増加に伴った二次的な変化と考えられた。

病理学検査では、上述した造血器系の変化のほか、肝臓では、100 mg/kg群の雌雄で重量の増加がみられ、組織学的に小葉中心性の肝細胞の肥大及び胆汁色素染色で陰性を示す起源不明の好塩基性物が胆管内に認められた。また、100 mg/kg群の雌1例では肝細胞の空胞変性が認められた。腎臓では、100 mg/kg群の雌雄で対照群と比較して尿細管上皮の好塩基性化の発生頻度が増加し、これらのなかにはリンパ球を主体とした細胞浸潤及び尿細管の拡張を伴うものも認められた。更に、100 mg/kg群の雌1例では尿細管壊死が認められた。なお、20 mg/kg群の雄においても尿細管上皮の好塩基性化がみられたが、その発生頻度及び程度も対照群と同等であったことから、被験物質投与との関連性はないものと考えられた。胃では、100 mg/kgの雌雄で腺胃のびらん及び潰瘍がみられ、本被験物質が胃粘膜に対する刺激性を有するものと考えられた。また、雄では100 mg/kg群で精巣重量の増加傾向がみられ、組織学的には精巣の精細管拡張、多核巨細胞の出現を伴う生殖細胞の変性、セルトリ細胞の空胞変性、精巣上体の管腔内の生殖細胞残屑、浮腫及びリンパ球性細胞浸潤が認められ、本被験物質の雄性生殖器への影響が示唆された。これらの変化については、生殖細胞の変性にステージ特異性及び細胞特異性がなく、局所的に生殖上皮の全層が変性を起こしており、塩化カドミウム投与による血行障害時の初期の変化⁴⁾に類似していること、更に、精巣上体にも浮腫が認められたことから、循環障害に起因した可能性が高いと推察されたが、授胎能に影響を及ぼすほど強い変化ではなかった。雌では、100 mg/kg群の全児死亡の母動物で副腎の皮質全域に及ぶ壊死がみられたが、同群の雄及び他の母動物には同様な組織学的変化がなかったこと、本母動物では分娩及び哺育行動の不良がみられていることから、妊娠あるいは分娩に起因したストレスに起因したものであり⁵⁾、被験物質投与との関連はないものと考えられた。なお、20 mg/kg以上の群の雄で副腎重量の増加、100 mg/kg群の雌雄で胸腺重量の減少傾向がみられ、胸腺では組織学的にも萎縮が認められた。これらの変化はストレスが負荷された動物で観察されるものであり、本試験においても同様にストレスに起因したものと考えられた。これらのほか、器官重量では、20 mg/kg以上の群の雌雄で脳、肺、心臓、甲状腺等の重量変動がみられたが、絶対重量のみの減少及び相対重量

のみの増加であり、対応する組織学的変化もなかったことから、毒性学的な意義はないものと考えられた。

以上のように、100 mg/kg群の雌雄で体重の増加抑制、摂餌量の減少並びに肝臓及び腎臓に及ぼす影響がみられたほか、20 mg/kg以上の群の雄でアルカリ性フォスファターゼの減少が認められたことから、本試験条件下における反復投与毒性試験に関する無影響量は雄で4 mg/kg、雌で20 mg/kgと推察された。

2. 生殖発生毒性

親動物の生殖機能に関しては、100 mg/kg群で発情回数の減少及び発情周期の延長並びに黄体数の減少がみられ、本被験物質の排卵に及ぼす影響が示唆された。更に、同群では着床痕数の減少もみられたが、着床率に変化は認められなかったことから、黄体数の減少を反映した変化と考えられた。交尾率、授(受)胎能及び交尾所要日数に被験物質投与の影響は認められなかった。

分娩時の検査では、100 mg/kg群で母動物において妊娠期間の延長及び出産率の減少傾向、出生児において出産児数、新生児数及び出生率の減少又は減少傾向が認められた。出産率の減少傾向については、全胚吸収が3例みられたことに起因したものであり、これらの例では黄体数の算定も困難であったことから、妊娠の早期に胚致死が誘発されたものと考えられた。妊娠期間の延長については、産児数が少ない場合に妊娠期間が長くなることが知られており⁶⁾、本試験においてみられた出産児数の減少に起因している可能性が考えられた。出産児数及び新生児数の減少については、上述の黄体数の減少並びに出生率の減少傾向を反映したのと考えられた。このほか、100 mg/kg群では死産率の増加が認められたが、これは全児死亡の母動物1例で分娩直後の児の回集及び保温の不良がみられ、死産児数が増加したことに起因したものであり、分娩直後の哺育行動の不良はそのほかの例ではみられていないことから、被験物質投与との関連性はないものと考えられた。性比、新生児の体重及び新生児の外表検査並びに新生児の生存性においては被験物質投与の影響は認められなかった。

以上のように、雄の生殖機能に被験物質投与の影響はみられなかったが、100 mg/kg群の雌で発情回数の減少及び発情周期の延長、黄体数及び着床痕数の減少並びに妊娠期間の延長及び出産率の減少傾向がみられ、100 mg/kg群では新生児に対する影響として出産児数、新生児数及び出生率の減少又は減少傾向が認められたことから、本試験条件

下における無影響量は、動物に対しては雄で100 mg/kg, 雌で20 mg/kg, 児動物に対しては20 mg/kgと推察された。

文 献

- 1) David R. Damske et al., ACUTE ORAL TOXICITY STUDY IN RATS -THIO UREA DIOXIDE-, Litton Bionetics Inc., LBI Project No. 21048, 1979.
- 2) チオウレア S,S-ジオキシドのラットにおける単回投与毒性試験
及び反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験のための予備試験(試験番号：29735),
株式会社パナファーム・ラボラトリーズ, 1997.
- 3) 谷本 義文, “実験動物の臨床化学,” 清至書院, 東京, 1981, pp. 163-164
- 4) 高橋 道人編, “精巣毒性評価のための精細管アトラス—ラット, マウス, イヌ—,”
ソフトサイエンス社, 東京, 1994, p. 66
- 5) 笹野 公伸, 笹野 伸昭, “現代病理学体系 17(B) 巻 副甲状腺 副腎 胃腸膵内分泌系
副腎皮質, 6. 変性・壊死・炎症・ストレスに伴う変化,” 飯島 宗一ら編, 中山書店,
東京, 1991, pp. 139-154
- 6) 佐久間 勇次監, “ウサギ—生殖生理と実験手技,” 近代出版, 東京, 1988, p. 24

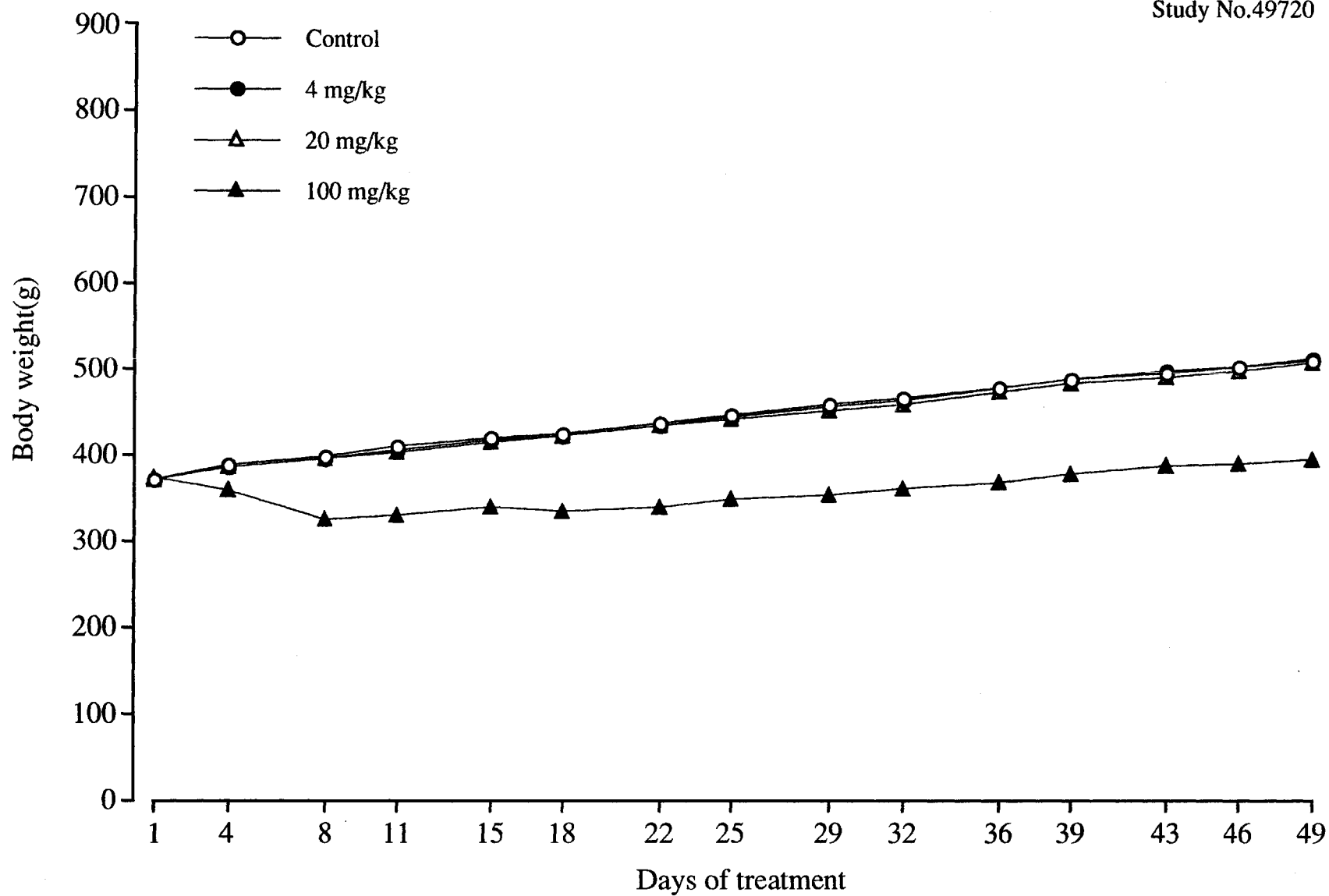


Fig. 1 Mean body weight changes of male rats treated orally with Thiourea S,S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test.

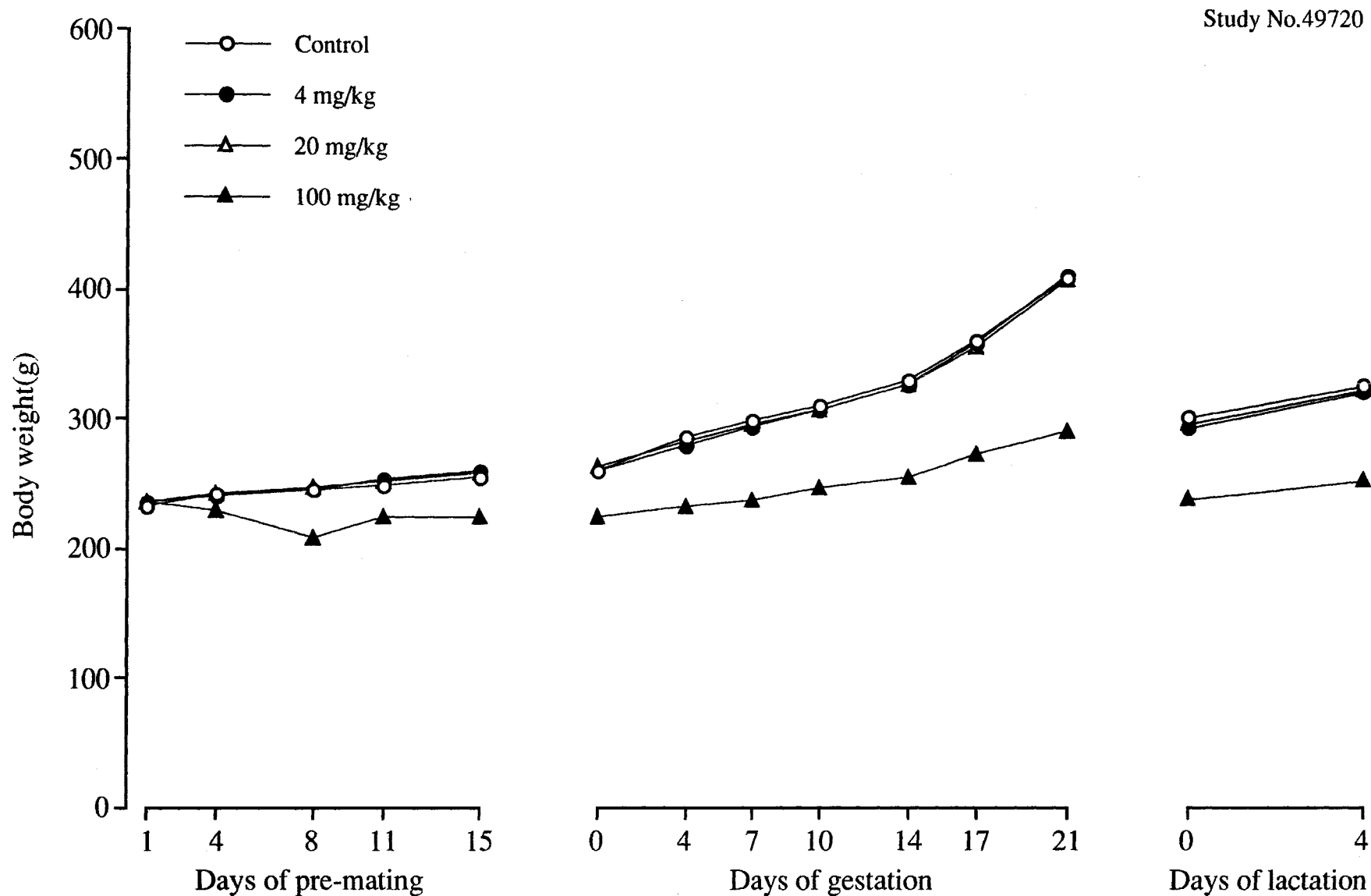


Fig. 2 Mean body weight changes of female rats treated orally with Thiourea S,S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test.

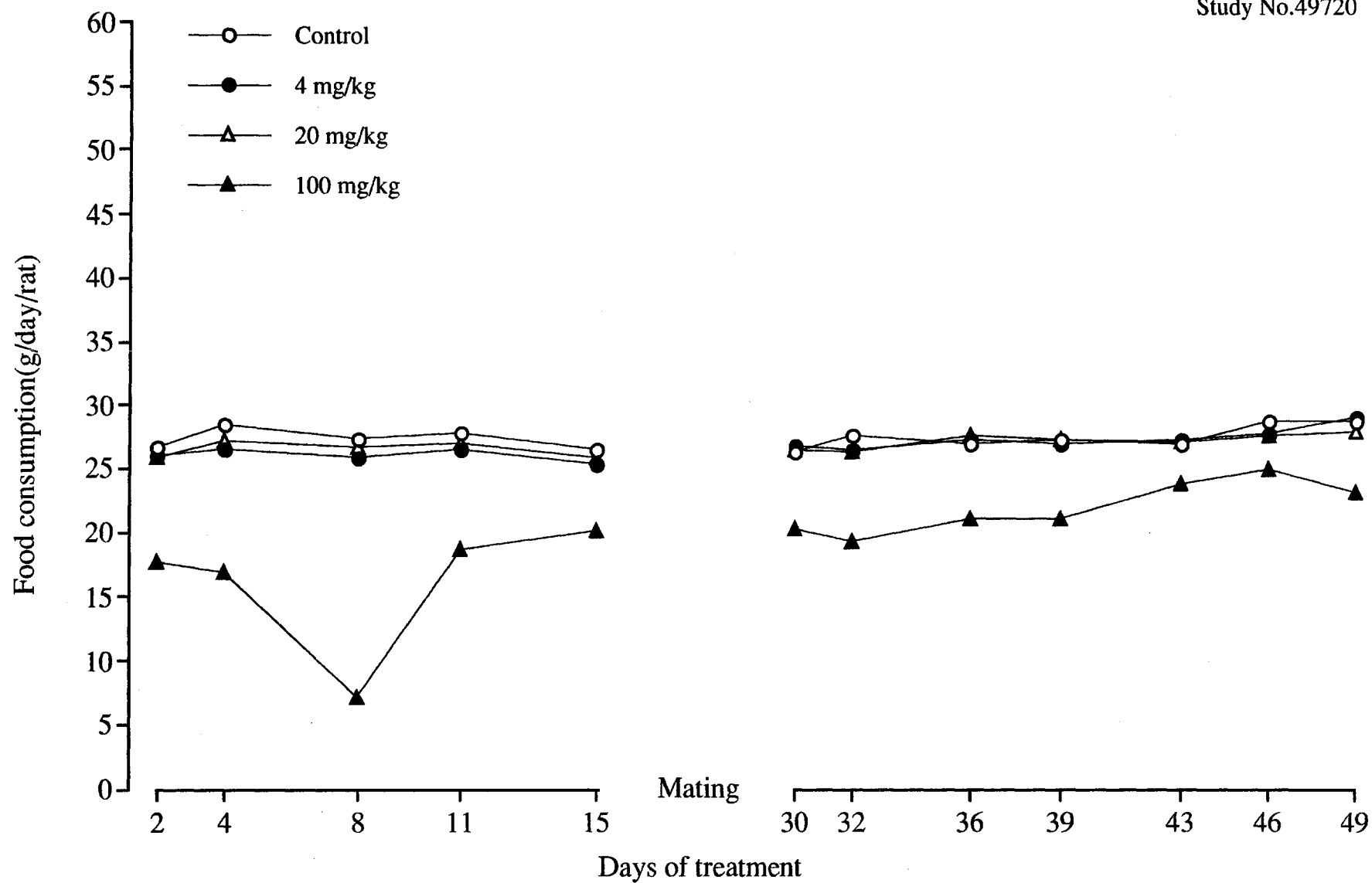


Fig. 3 Mean food consumption of male rats treated orally with Thiourea S,S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test.

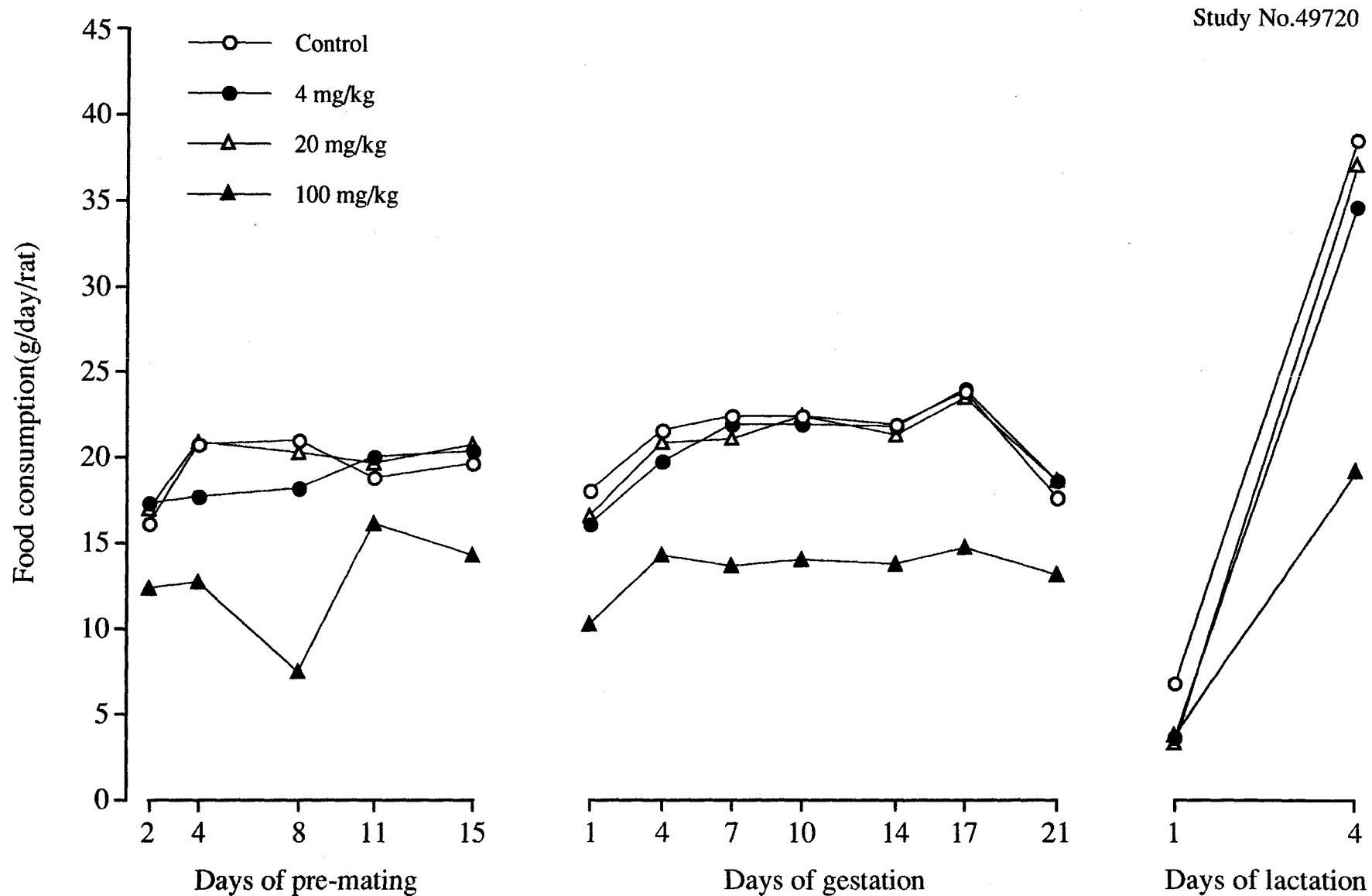


Fig. 4 Mean food consumption of female rats treated orally with Thiourea S,S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test.

Table 1 Clinical signs of male rats treated orally with Thiourea S,S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group and dose	Clinical sign	Days of treatment																					
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
Control	Number of examined	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
4 mg/kg	Number of examined	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
20 mg/kg	Number of examined	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
100 mg/kg	Number of examined	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	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
	Loss of hair	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Table 1 - continued Clinical signs of male rats treated orally with Thiourea S,S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group and dose	Clinical sign	Days of treatment																				
		23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43
Control	Number of examined	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
4 mg/kg	Number of examined	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
20 mg/kg	Number of examined	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
100 mg/kg	Number of examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No abnormality	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
	Loss of hair	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Table 1 - continued Clinical signs of male rats treated orally with Thiourea S,S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group and dose	Clinical sign	Days of treatment					
		44	45	46	47	48	49
Control	Number of examined	12	12	12	12	12	12
	No abnormality	12	12	12	12	12	12
4 mg/kg	Number of examined	12	12	12	12	12	12
	No abnormality	12	12	12	12	12	12
20 mg/kg	Number of examined	12	12	12	12	12	12
	No abnormality	12	12	12	12	12	12
100 mg/kg	Number of examined	12	12	12	12	12	12
	No abnormality	11	11	11	11	12	12
	Loss of hair	1	1	1	1	0	0

Table 2 Clinical signs of female rats treated orally with Thiourea S,S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group and dose	Clinical sign	Days of pre-mating														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Control	Number of examined	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
4 mg/kg	Number of examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	11	12
	No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	11	12
20 mg/kg	Number of examined	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
100 mg/kg	Number of examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	11	11	11	11	11	11	11	11
	Loss of hair	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1

Table 2 - continued Clinical signs of female rats treated orally with Thiourea S,S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group and dose	Clinical sign	Days of mating														Days of treatment (non-copulating)																			
		16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49
Control	Number of examined	12	10	3																															
	No abnormality	12	10	3																															
4 mg/kg	Number of examined	7	5																																
	No abnormality	7	5																																
20 mg/kg	Number of examined	10	9	3																															
	No abnormality	10	9	3																															
100 mg/kg	Number of examined	10	8	5	4	2	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
	No abnormality	9	7	5	4	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	Loss of hair	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Table 2 - continued Clinical signs of female rats treated orally with Thiourea S, S-dioxide in the combined repeat dose
and reproductive/developmental toxicity screening test

Group and dose	Clinical sign	Days of gestation																							
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
Control	Number of examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	4	
	No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	4	
4 mg/kg	Number of examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	2	
	No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	2	
20 mg/kg	Number of examined	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	
100 mg/kg	Number of examined	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	3	3
	No abnormality	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	9	9	3	3
	Loss of hair	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0

Table 2 - continued Clinical signs of female rats treated orally with Thiourea S,S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group and dose	Clinical sign	Days of lactation				
		0	1	2	3	4
Control	Number of examined	12	12	12	12	12
	No abnormality	12	12	12	12	12
4 mg/kg	Number of examined	12	12	12	12	12
	No abnormality	12	12	12	12	12
20 mg/kg	Number of examined	12	12	12	12	12
	No abnormality	12	12	12	12	12
100 mg/kg	Number of examined	6	6	5	5	5
	No abnormality	6	6	5	5	5
	Loss of hair	0	0	0	0	0

All newborns from one dam of 100 mg/kg group died on day 2 of lactation, and so this dam was sacrificed immediately.

Table 3 Body weights of male rats treated orally with Thiourea S.S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group and dose	Control	4 mg/kg	20 mg/kg	100 mg/kg
Body weight (g)				
Days of treatment				
1	370.7 ± 17.6 (12)	370.6 ± 20.6 (12)	371.1 ± 18.3 (12)	371.8 ± 18.7 (12)
4	386.1 ± 21.3 (12)	384.2 ± 22.6 (12)	384.6 ± 19.6 (12)	358.6 ± 22.7** (12)
8	397.6 ± 26.7 (12)	394.5 ± 26.3 (12)	394.2 ± 22.2 (12)	323.4 ± 32.7** (12)
11	409.5 ± 30.5 (12)	405.2 ± 29.3 (12)	401.6 ± 23.7 (12)	329.6 ± 27.2** (12)
15	419.7 ± 33.2 (12)	416.7 ± 30.6 (12)	413.9 ± 25.4 (12)	337.3 ± 30.4** (12)
18	423.6 ± 35.1 (12)	422.2 ± 27.7 (12)	422.5 ± 27.6 (12)	333.3 ± 28.2** (12)
22	435.3 ± 37.9 (12)	433.3 ± 30.2 (12)	432.8 ± 28.5 (12)	338.4 ± 30.3** (12)
25	446.6 ± 39.9 (12)	443.5 ± 32.3 (12)	440.4 ± 30.7 (12)	347.5 ± 33.9** (12)
29	457.2 ± 41.2 (12)	454.3 ± 33.7 (12)	450.4 ± 32.3 (12)	353.7 ± 39.0** (12)
32	464.7 ± 41.8 (12)	463.8 ± 35.6 (12)	458.3 ± 34.3 (12)	359.6 ± 41.3** (12)
36	477.1 ± 43.4 (12)	478.3 ± 37.2 (12)	473.2 ± 38.7 (12)	368.3 ± 40.9** (12)
39	487.0 ± 44.8 (12)	487.2 ± 37.6 (12)	482.0 ± 40.1 (12)	378.1 ± 41.7** (12)
43	495.7 ± 47.2 (12)	496.5 ± 38.6 (12)	490.8 ± 41.2 (12)	386.2 ± 44.2** (12)
46	502.8 ± 47.1 (12)	502.6 ± 38.2 (12)	495.9 ± 41.1 (12)	389.9 ± 39.8** (12)
49	509.7 ± 48.5 (12)	512.3 ± 39.5 (12)	506.1 ± 42.6 (12)	394.3 ± 38.2** (12)

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

Values are mean ± S.D. and the values in parentheses represent the number of animals.

Table 4 Body weights of female rats treated orally with Thiourea S,S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group and dose	Control	4 mg/kg	20 mg/kg	100 mg/kg
Body weight (g)				
Days of pre-mating				
1	231.6 ± 9.0 (12)	234.9 ± 8.7 (12)	235.8 ± 6.9 (12)	235.6 ± 8.1 (12)
4	241.4 ± 9.9 (12)	239.5 ± 8.5 (12)	241.5 ± 8.7 (12)	228.3 ± 8.3** (12)
8	245.8 ± 11.6 (12)	245.3 ± 10.8 (12)	247.1 ± 12.2 (12)	207.3 ± 13.1** (12)
11	248.3 ± 15.8 (12)	253.9 ± 12.4 (12)	251.1 ± 11.8 (12)	223.1 ± 9.7** (12)
15	255.4 ± 17.1 (12)	259.1 ± 14.6 (12)	258.8 ± 12.3 (12)	224.3 ± 10.8** (12)
Days of gestation				
0	260.5 ± 15.5 (12)	260.0 ± 14.1 (12)	263.0 ± 13.9 (12)	224.8 ± 10.5** (9)
4	287.2 ± 16.8 (12)	280.4 ± 13.2 (12)	284.0 ± 18.3 (12)	232.7 ± 12.8** (9)
7	299.7 ± 17.1 (12)	294.6 ± 13.6 (12)	296.5 ± 21.3 (12)	238.4 ± 9.4** (9)
10	311.0 ± 18.3 (12)	308.2 ± 13.7 (12)	308.2 ± 22.4 (12)	246.9 ± 11.2** (9)
14	330.3 ± 19.6 (12)	326.5 ± 13.9 (12)	327.2 ± 25.6 (12)	256.2 ± 13.8** (9)
17	361.2 ± 22.0 (12)	359.5 ± 15.0 (12)	356.2 ± 25.4 (12)	272.8 ± 20.6** (9)
21	409.9 ± 24.1 (12)	412.0 ± 16.4 (12)	408.2 ± 32.0 (12)	292.1 ± 34.0** (9)
Days of lactation				
0	303.0 ± 18.9 (12)	293.9 ± 15.3 (12)	298.3 ± 30.3 (12)	238.7 ± 7.9** (6)
4	327.8 ± 19.4 (12)	322.2 ± 16.0 (12)	324.0 ± 33.5 (12)	254.2 ± 15.3** (5)

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

Values are mean ± S.D. and the values in parentheses represent the number of animals.

Two animals of 100 mg/kg group were non-pregnant and one animal was non-copulating.

Three dams of 100 mg/kg group didn't deliver on day 24 of gestation, and so these dams were sacrificed immediately.

All newborns from one dam of 100 mg/kg group died on day 2 of lactation, and so this dam was sacrificed immediately.

Table 5 Food consumption of male rats treated orally with Thiourea S,S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group and dose	Control	4 mg/kg	20 mg/kg	100 mg/kg
Food consumption (g/day/rat)				
Days of treatment				
2	26.7 ± 2.5 (12)	26.0 ± 3.1 (12)	25.8 ± 3.1 (12)	17.7 ± 3.5** (12)
4	28.4 ± 2.3 (12)	26.4 ± 2.6 (12)	27.1 ± 3.2 (12)	16.9 ± 4.8** (12)
8	27.2 ± 3.1 (12)	25.8 ± 2.1 (12)	26.6 ± 3.1 (12)	7.1 ± 7.5** (12)
11	27.7 ± 3.1 (12)	26.4 ± 3.4 (12)	27.0 ± 3.2 (12)	18.7 ± 3.1** (12)
15	26.4 ± 3.1 (12)	25.4 ± 2.3 (12)	25.8 ± 2.1 (12)	20.1 ± 4.2** (12)
30	26.4 ± 1.7 (12)	26.9 ± 2.2 (12)	26.5 ± 2.1 (12)	20.4 ± 4.3** (12)
32	27.6 ± 2.0 (12)	26.6 ± 2.1 (12)	26.4 ± 1.8 (12)	19.4 ± 4.3** (12)
36	27.0 ± 2.2 (12)	27.3 ± 2.2 (12)	27.6 ± 2.7 (12)	21.1 ± 3.5** (12)
39	27.3 ± 2.3 (12)	27.1 ± 2.7 (12)	27.3 ± 2.4 (12)	21.1 ± 4.1** (12)
43	27.1 ± 2.5 (12)	27.3 ± 2.0 (12)	27.2 ± 2.9 (12)	24.0 ± 8.0 (12)
46	28.9 ± 2.7 (12)	27.9 ± 2.3 (12)	27.6 ± 2.1 (12)	25.0 ± 8.8** (12)
49	28.9 ± 2.4 (12)	29.2 ± 2.7 (12)	28.0 ± 2.9 (12)	23.3 ± 3.6** (12)

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

Values are mean ± S.D. and the values in parentheses represent the number of animals.

Table 6 Food consumption of female rats treated orally with Thiourea S,S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group and dose	Control	4 mg/kg	20 mg/kg	100 mg/kg
Food consumption (g/day/rat)				
Days of pre-mating				
2	16.1±3.7 (12)	17.3±2.7 (12)	16.9±2.7 (12)	12.3±2.2** (12)
4	20.7±2.0 (12)	17.7±3.1* (12)	20.8±2.4 (12)	12.6±2.2** (12)
8	21.0±2.0 (12)	18.1±2.3* (12)	20.2±2.3 (12)	7.4±5.0** (12)
11	18.7±3.2 (12)	20.0±1.5 (12)	19.6±1.9 (12)	16.1±2.4* (12)
15	19.6±3.2 (12)	20.3±1.5 (12)	20.7±2.4 (12)	14.2±3.8** (12)
Days of gestation				
1	18.1±2.1 (12)	16.1±2.4 (12)	16.6±3.4 (12)	10.2±3.5** (9)
4	21.6±2.4 (12)	19.8±2.1 (12)	20.9±3.5 (12)	14.2±3.3** (9)
7	22.4±2.3 (12)	22.0±1.8 (12)	21.1±3.0 (12)	13.6±2.3** (9)
10	22.5±2.6 (12)	22.0±2.3 (12)	22.4±4.1 (12)	14.0±2.4** (9)
14	22.0±1.7 (12)	21.8±2.4 (12)	21.4±4.0 (12)	13.8±1.7** (9)
17	23.9±1.8 (12)	24.0±1.8 (12)	23.5±3.3 (12)	14.7±3.1** (9)
21	17.7±4.4 (12)	18.6±3.8 (12)	18.7±5.6 (12)	13.1±3.0 (9)
Days of lactation				
1	15.3±6.7 (12)	12.9±6.5 (12)	12.6±8.0 (12)	13.0±9.0 (6)
4	40.1±4.4 (12)	37.1±2.6 (12)	39.0±5.9 (12)	25.0±4.1** (5)

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

Values are mean ±S.D. and the values in parentheses represent the number of animals.

Two animals of 100 mg/kg group were non-pregnant and one animal was non-copulating.

Three dams of 100 mg/kg group didn't deliver on day 24 of gestation, and so these dams were sacrificed immediately.

All newborns from one dam of 100 mg/kg group died on day 2 of lactation, and so this dam was sacrificed immediately.

Table 7 Hematological findings of male rats treated orally with Thiourea S,S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group and dose	Control	4 mg/kg	20 mg/kg	100 mg/kg
No. of animals	12	12	12	12
Leucocyte ($10^2/\mu\text{l}$)	77 $\pm$ 22	80 $\pm$ 31	77 $\pm$ 19	76 $\pm$ 23
Erythrocyte ($10^4/\mu\text{l}$)	902 $\pm$ 30	905 $\pm$ 52	872 $\pm$ 29	806 $\pm$ 59**
Hemoglobin (g/dl)	15.4 $\pm$ 0.5	15.5 $\pm$ 0.8	15.4 $\pm$ 0.6	15.1 $\pm$ 0.9
Hematocrit (%)	48.5 $\pm$ 1.8	49.2 $\pm$ 2.9	47.7 $\pm$ 1.5	44.9 $\pm$ 3.0**
Platelet ($10^4/\mu\text{l}$)	93.1 $\pm$ 14.2	91.4 $\pm$ 9.5	86.9 $\pm$ 8.7	94.1 $\pm$ 8.8
MCV (fl)	54 $\pm$ 2	55 $\pm$ 2	55 $\pm$ 2	56 $\pm$ 2*
MCH (pg)	17.0 $\pm$ 0.4	17.1 $\pm$ 0.6	17.7 $\pm$ 0.5*	18.8 $\pm$ 0.6**
MCHC (%)	31.7 $\pm$ 0.5	31.5 $\pm$ 0.5	32.3 $\pm$ 0.6*	33.6 $\pm$ 0.5**
Reticulocyte (%)	33 $\pm$ 5	33 $\pm$ 2	35 $\pm$ 4	38 $\pm$ 5*
Prothrombin time (sec)	14.6 $\pm$ 1.8	14.8 $\pm$ 3.5	13.3 $\pm$ 1.4	12.0 $\pm$ 0.5**
APTT (sec)	26.3 $\pm$ 2.7	24.5 $\pm$ 2.8	25.1 $\pm$ 2.5	23.3 $\pm$ 2.7*
Fibrinogen (mg/dl)	202.3 $\pm$ 17.1	198.9 $\pm$ 11.0	205.0 $\pm$ 15.2	200.6 $\pm$ 12.2
Differential leucocyte count				
Eosinophil (%)	1.3 $\pm$ 1.9	1.2 $\pm$ 1.6	0.8 $\pm$ 1.0	0.6 $\pm$ 0.8
Neutro-Stab. (%)	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0
Neutro-Seg. (%)	10.8 $\pm$ 6.1	18.8 $\pm$ 4.7**	15.7 $\pm$ 8.2	13.5 $\pm$ 4.7
Lymphocyte (%)	86.3 $\pm$ 7.3	78.7 $\pm$ 5.5*	82.7 $\pm$ 8.6	84.9 $\pm$ 5.7
Basophil (%)	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0
Monocyte (%)	1.6 $\pm$ 1.3	1.3 $\pm$ 1.3	0.8 $\pm$ 0.9	1.0 $\pm$ 0.7

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

Values are mean $\pm$ S. D.

Table 8 Myelogram of male rats treated orally with Thiourea S,S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group and dose		Control	4 mg/kg	20 mg/kg	100 mg/kg
No. of animals		12	12	12	12
Nucreated cell (10^4 cells/ μ l)		191 $\pm$ 19	193 $\pm$ 14	187 $\pm$ 22	130 $\pm$ 17**
Myeloid/Erythroid		1.09 $\pm$ 0.23	—	1.07 $\pm$ 0.19	0.77 $\pm$ 0.17**
Differential myelocyte count					
Myeloblast	(10^4 cells/ μ l)	0.2 $\pm$ 0.2	—	0.2 $\pm$ 0.2	0.1 $\pm$ 0.2
Neutr. promyelocyte	(10^4 cells/ μ l)	5.2 $\pm$ 1.7	—	4.8 $\pm$ 1.6	3.6 $\pm$ 1.6*
Neutr. myelocyte	(10^4 cells/ μ l)	11.5 $\pm$ 1.7	—	10.7 $\pm$ 3.4	5.7 $\pm$ 1.5**
Neutr. metamyelocyte	(10^4 cells/ μ l)	17.9 $\pm$ 4.1	—	19.3 $\pm$ 6.1	9.7 $\pm$ 2.3**
Mature neutrophil	(10^4 cells/ μ l)	35.0 $\pm$ 9.5	—	35.5 $\pm$ 5.7	21.7 $\pm$ 4.8**
Eosinophil	(10^4 cells/ μ l)	4.4 $\pm$ 1.1	—	4.8 $\pm$ 1.5	2.9 $\pm$ 1.6*
Basophil	(10^4 cells/ μ l)	1.0 $\pm$ 0.7	—	0.9 $\pm$ 0.6	0.8 $\pm$ 0.4
Lymphocyte	(10^4 cells/ μ l)	43.5 $\pm$ 13.7	—	36.3 $\pm$ 6.6	25.3 $\pm$ 7.8**
monocyte	(10^4 cells/ μ l)	0.3 $\pm$ 0.2	—	0.3 $\pm$ 0.4	0.1 $\pm$ 0.2
Pro-erythroblast	(10^4 cells/ μ l)	0.1 $\pm$ 0.2	—	0.1 $\pm$ 0.3	0.1 $\pm$ 0.2
Basophilic erythroblast	(10^4 cells/ μ l)	2.0 $\pm$ 0.8	—	2.1 $\pm$ 0.9	1.1 $\pm$ 0.7*
Poly and Orthochrom erythroblast	(10^4 cells/ μ l)	67.7 $\pm$ 6.7	—	69.6 $\pm$ 10.6	57.5 $\pm$ 9.2*
Megakaryocyte	(10^4 cells/ μ l)	0.5 $\pm$ 0.5	—	0.5 $\pm$ 0.5	0.1 $\pm$ 0.2
Plasmocyte	(10^4 cells/ μ l)	1.0 $\pm$ 0.7	—	0.9 $\pm$ 0.5	0.6 $\pm$ 0.5
Other	(10^4 cells/ μ l)	0.4 $\pm$ 0.4	—	0.7 $\pm$ 0.5	0.3 $\pm$ 0.4

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

Values are mean $\pm$ S.D.

— : Not examined.

Table 9 Biochemical findings of male rats treated orally with Thiourea S, S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group and dose	Control	4 mg/kg	20 mg/kg	100 mg/kg
No. of animals	12	12	12	12
T. protein (g/dl)	5.5±0.3	5.3±0.2	5.3±0.1	5.4±0.2
Albumin (g/dl)	3.6±0.2	3.6±0.2	3.6±0.2	3.8±0.2**
A/G ratio	1.98±0.17	2.06±0.18	2.14±0.24	2.47±0.28**
GOT (IU/l)	106±18	103±19	93±12	80±25**
GPT (IU/l)	25±6	27±7	23±8	17±5*
γ-GTP (IU/l)	0.1±0.2	0.1±0.1	0.2±0.2	0.3±0.3
ALP (IU/l)	192±28	188±49	158±21*	132±20**
T. cholesterol (mg/dl)	49±9	47±9	47±10	59±15
Triglycerides (mg/dl)	32±15	32±10	40±17	57±25*
Phospholipids (mg/dl)	89±13	87±11	90±16	111±18**
T. bilirubin (mg/dl)	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.1±0.0**
Glucose (mg/dl)	105±15	115±11	103±14	74±7**
BUN (mg/dl)	17.0±1.9	18.6±2.3	19.5±3.3	29.9±7.4**
Creatinine (mg/dl)	0.5±0.1	0.6±0.1	0.5±0.2	0.7±0.2**
IP (mg/dl)	6.5±0.5	6.7±0.7	7.1±0.7	7.9±0.7**
Ca (mg/dl)	9.6±0.4	9.7±0.3	9.8±0.2	10.4±0.5**
Na (mEq/l)	146.7±0.8	146.5±1.1	147.1±0.9	147.1±1.2
K (mEq/l)	4.25±0.18	4.29±0.21	4.16±0.12	4.05±0.21*
Cl (mEq/l)	105.6±1.6	105.8±1.8	106.5±1.1	105.3±2.2

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

Values are mean ± S.D.

Table 10 Necropsy findings of male rats treated orally with Thiourea S,S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Organs and findings	Group and dose Number of animals	Control	4 mg/kg	20 mg/kg	100 mg/kg
		Terminal sacrifice 12	Terminal sacrifice 12	Terminal sacrifice 12	Terminal sacrifice 12
Digestive system					
Liver					
Hernia, diaphragm		1	0	0	1
Stomach					
Spot, black red, mucosa, glandular stomach		1	0	0	3
Respiratory system					
Lung					
Macule, light gray		0	0	0	1
Urinary system					
Kidney					
Rough surface		0	0	0	1
Genital system					
Testis					
Spot, white		1	0	0	0
Enlargement		0	0	0	4
Nodule, light gray		0	0	0	1
Epididymis					
Nodule, light gray		1	0	1	0

No appreciable changes in all other organs and tissues.

Table 11 Necropsy findings of female rats treated orally with Thiourea S,S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Organs and findings	Group and dose Number of animals	Control	4 mg/kg	20 mg/kg
		<u>Terminal sacrifice</u> 12	<u>Terminal sacrifice</u> 12	<u>Terminal sacrifice</u> 12
Digestive system				
Stomach				
Spot, black red, mucosa, glandular stomach		0	0	0
Hematopoietic system				
Thymus				
Atrophy		0	0	0
Urinary system				
Kidney				
Coloration, light gray		0	0	0

No appreciable changes in all other organs and tissues.

Table 11 - continued Necropsy findings of female rats treated orally with Thiourea S,S-dioxide the combined repeat dose
and reproductive/developmental toxicity screening test

Organs and findings	Group and dose Number of animals	100 mg/kg		
		Terminal sacrifice	Imminent sacrifice	Total
		6	6 ^{a)}	12
Digestive system				
Stomach				
Spot, black red, mucosa, glandular stomach		0	1	1
Hematopoietic system				
Thymus				
Atrophy		1	0	1
Urinary system				
Kidney				
Coloration, light gray		0	1	1

No appreciable changes in all other organs and tissues.

a) One animal was imminently sacrificed due to death of all newborns. Three animals were non-delivery. Two animals were non-pregnant.

Table 12 Absolute and relative organ weights of male rats treated orally with Thiourea S,S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group and dose	Control	4 mg/kg	20 mg/kg	100 mg/kg
No. of animals	12	12	12	12
Absolute organ weight				
Final Body Weight (g)	478.7±46.9	478.9±38.2	474.4±40.9	363.2±38.6**
Brain (g)	2.16±0.11	2.21±0.10	2.15±0.06	2.09±0.06
Heart (g)	1.68±0.24	1.66±0.18	1.53±0.17	1.22±0.14**
Lungs (g)	1.48±0.10	1.45±0.15	1.49±0.09	1.40±0.12
Thyroids (mg)	26.3±4.6	26.4±3.3	24.5±3.5	20.7±2.7**
Thymus (g)	0.32±0.08	0.26±0.05	0.29±0.09	0.16±0.03**
Liver (g)	12.42±1.43	12.28±1.44	12.14±1.10	11.30±1.60
Spleen (g)	0.79±0.12	0.81±0.08	0.77±0.10	0.78±0.19
Kidneys (g)	3.14±0.23	3.09±0.33	2.98±0.22	2.50±0.27**
Adrenals (mg)	59.5±8.8	58.8±7.3	67.8±8.1	73.0±10.1**
Testes (g)	3.36±0.28	3.29±0.30	3.50±0.24	4.17±1.00
Epididymides (g)	1.39±0.18	1.28±0.12	1.33±0.12	1.16±0.16**
Relative organ weight				
Brain (g/100g B.W.)	0.46±0.04	0.46±0.03	0.46±0.04	0.58±0.06**
Heart (g/100g B.W.)	0.35±0.05	0.35±0.03	0.32±0.03	0.34±0.03
Lungs (g/100g B.W.)	0.31±0.03	0.30±0.02	0.32±0.03	0.39±0.04**
Thyroids (mg/100g B.W.)	5.5±0.9	5.5±0.7	5.2±0.6	5.8±1.1
Thymus (g/100g B.W.)	0.07±0.02	0.05±0.01	0.06±0.02	0.05±0.01**
Liver (g/100g B.W.)	2.60±0.14	2.56±0.16	2.56±0.12	3.11±0.24**
Spleen (g/100g B.W.)	0.17±0.02	0.17±0.01	0.16±0.02	0.21±0.04*
Kidneys (g/100g B.W.)	0.66±0.05	0.65±0.05	0.63±0.05	0.69±0.04
Adrenals (mg/100g B.W.)	12.5±1.7	12.3±1.4	14.3±1.4*	20.1±1.8**
Testes (g/100g B.W.)	0.71±0.09	0.69±0.04	0.74±0.07	1.15±0.30**
Epididymides (g/100g B.W.)	0.29±0.03	0.27±0.03	0.28±0.03	0.32±0.03

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

Values are mean ±S.D.

Table 13 Absolute and relative organ weights of female rats treated orally with Thiourea S,S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group and dose	Control	4 mg/kg	20 mg/kg	100 mg/kg
No. of animals	12	12	12	5
Absolute organ weight				
Final Body Weight (g)	327.8 ± 19.4	322.2 ± 16.0	324.0 ± 33.5	254.2 ± 15.3**
Brain (g)	2.07 ± 0.08	2.11 ± 0.09	2.06 ± 0.09	2.02 ± 0.07
Heart (g)	1.10 ± 0.10	1.04 ± 0.11	1.00 ± 0.08*	0.90 ± 0.06**
Lungs (g)	1.13 ± 0.08	1.16 ± 0.07	1.13 ± 0.06	1.15 ± 0.08
Thyroids (mg)	16.6 ± 2.4	16.8 ± 4.1	14.3 ± 2.2	15.7 ± 3.9
Thymus (g)	0.19 ± 0.05	0.19 ± 0.07	0.19 ± 0.07	0.10 ± 0.04*
Liver (g)	13.58 ± 1.40	14.05 ± 0.92	13.90 ± 1.50	11.97 ± 1.60
Spleen (g)	0.64 ± 0.09	0.67 ± 0.09	0.69 ± 0.10	0.62 ± 0.11
Kidneys (g)	1.94 ± 0.12	2.05 ± 0.19	1.90 ± 0.16	1.76 ± 0.21
Adrenals (mg)	73.5 ± 8.9	68.2 ± 13.5	72.1 ± 7.4	65.7 ± 6.1
Ovaries (mg)	95.9 ± 13.0	95.0 ± 12.2	95.2 ± 10.3	73.8 ± 14.1**
Relative organ weight				
Brain (g/100g B.W.)	0.63 ± 0.04	0.66 ± 0.03	0.64 ± 0.07	0.80 ± 0.05**
Heart (g/100g B.W.)	0.33 ± 0.03	0.32 ± 0.03	0.31 ± 0.02	0.36 ± 0.02
Lungs (g/100g B.W.)	0.35 ± 0.03	0.36 ± 0.03	0.35 ± 0.03	0.45 ± 0.03**
Thyroids (mg/100g B.W.)	5.1 ± 0.8	5.2 ± 1.2	4.4 ± 0.7	6.3 ± 1.9
Thymus (g/100g B.W.)	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0.02	0.06 ± 0.02	0.04 ± 0.02
Liver (g/100g B.W.)	4.14 ± 0.29	4.37 ± 0.40	4.30 ± 0.27	4.70 ± 0.36**
Spleen (g/100g B.W.)	0.19 ± 0.03	0.21 ± 0.02	0.21 ± 0.02	0.24 ± 0.03**
Kidneys (g/100g B.W.)	0.59 ± 0.04	0.64 ± 0.06	0.59 ± 0.06	0.69 ± 0.06**
Adrenals (mg/100g B.W.)	22.5 ± 2.9	21.2 ± 4.0	22.5 ± 3.1	25.8 ± 1.5
Ovaries (mg/100g B.W.)	29.3 ± 4.2	29.6 ± 4.6	29.5 ± 2.5	28.9 ± 4.7

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

Values are mean ± S.D.

Table 14A Histopathological findings of male rats treated orally with Thiourea S,S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Organs and findings	Group and dose Number of animals	Control				4 mg/kg				20 mg/kg				100 mg/kg			
		Terminal sacrifice				Terminal sacrifice				Terminal sacrifice				Terminal sacrifice			
		12				12				12				12			
		-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++
Digestive system																	
Liver		(12)				(0)				(12)				(12)			
Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular		12	0	0	0					12	0	0	0	10	2	0	0
Necrosis, hepatocyte, focal		11	1	0	0					12	0	0	0	12	0	0	0
Basophilic material, bile duct		12	0	0	0					12	0	0	0	3	9	0	0**
Deposit, hemosiderin, kupffer cell		12	0	0	0					12	0	0	0	10	2	0	0
Stomach		(1)				(0)				(0)				(3)			
Erosion, glandular stomach		0	1	0	0									0	3	0	0
Respiratory system																	
Lung		(12)				(0)				(0)				(12)			
Accumulation, foam cell		5	7	0	0									4	8	0	0
Mineralization, artery		12	0	0	0									11	1	0	0
Hematopoietic system																	
Thymus		(12)				(0)				(12)				(12)			
Atrophy		12	0	0	0					12	0	0	0	11	1	0	0
Hemorrhage		10	2	0	0					12	0	0	0	12	0	0	0
Spleen		(12)				(0)				(12)				(12)			
Hematopoiesis, extramedullary		12	0	0	0					12	0	0	0	9	3	0	0
Deposit, hemosiderin, red pulp		0	12	0	0					0	12	0	0	0	4	8	0**
Bone marrow (femur)																	
Hematopoiesis, decreased		(12)				(0)				(12)				(12)			
		12	0	0	0					12	0	0	0	1	11	0	0**
Circulatory system																	
Heart		(12)				(0)				(0)				(12)			
Myocardial degeneration/fibrosis		9	3	0	0									9	3	0	0

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

Grade sign: -, none; +, mild; ++, moderate; +++, marked.

There are no remarkable changes in the brain, thyroid and parathyroid in control and 100 mg/kg groups.

Figures in parentheses are number of animals with tissues examined histopathologically.

Table 14A - continued Histopathological findings of male rats treated orally with Thiourea S,S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Organs and findings	Group and dose Number of animals	Control				4 mg/kg				20 mg/kg				100 mg/kg			
		Terminal sacrifice				Terminal sacrifice				Terminal sacrifice				Terminal sacrifice			
		12				12				12				12			
		-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++
Urinary system																	
Kidney					(12)				(0)				(12)				(12)
Basophilic tubule		10	2	0	0					10	2	0	0	0	4	8	0**
Dilatation, tubule		12	0	0	0					12	0	0	0	11	1	0	0
Cellular infiltration, lymphocyte		12	0	0	0					12	0	0	0	3	9	0	0**
Genital system																	
Testis					(12)				(0)				(12)				(12)
Dilatation, seminiferous tubule		12	0	0	0					12	0	0	0	8	4	0	0*
Degeneration, germ cell		12	0	0	0					12	0	0	0	11	1	0	0
Giant cell, multinucleated		12	0	0	0					12	0	0	0	11	1	0	0
Vacuolization, sertoli cell		12	0	0	0					12	0	0	0	10	2	0	0
Atrophy, seminiferous tubule		11	0	1	0					12	0	0	0	11	1	0	0
Granuloma, spermatoc		11	1	0	0					12	0	0	0	11	1	0	0
Epididymis					(12)				(2)				(12)				(12)
Debris, germ cell, lumen		12	0	0	0	2	0	0	0	12	0	0	0	11	1	0	0
Edema		12	0	0	0	2	0	0	0	12	0	0	0	11	1	0	0
Cellular infiltration, lymphocyte		12	0	0	0	2	0	0	0	12	0	0	0	10	2	0	0
Granuloma, Spermatoc		11	1	0	0	2	0	0	0	11	1	0	0	12	0	0	0
Endocrine system																	
Adrenal					(12)				(0)				(12)				(12)
Necrosis, cortex		12	0	0	0					12	0	0	0	12	0	0	0

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

Grade sign: -, none; +, mild; ++, moderate; +++, marked.

There are no remarkable changes in the brain, thyroid and parathyroid in control and 100 mg/kg groups.

Figures in parentheses are number of animals with tissues examined histopathologically.

Table 14B Histopathological findings of male rats treated orally with Thiourea S,S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Organs and findings	Group and dose Number of animals	Control	4 mg/kg	20 mg/kg	100 mg/kg
		<u>Terminal sacrifice</u> 12	<u>Terminal sacrifice</u> 12	<u>Terminal sacrifice</u> 12	<u>Terminal sacrifice</u> 12
Digestive system					
Liver		(12)	(0)	(12)	(12)
Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular		0		0	2
Necrosis, hepatocyte, focal		1		0	0
Basophilic material, bile duct		0		0	9**
Deposit, hemosiderin, kupffer cell		0		0	2
Stomach		(1)	(0)	(0)	(3)
Erosion, glandular stomach		1			3
Respiratory system					
Lung		(12)	(0)	(0)	(12)
Accumulation, foam cell		7			8
Mineralization, artery		0			1
Hematopoietic system					
Thymus		(12)	(0)	(12)	(12)
Atrophy		0		0	1
Hemorrhage		2		0	0
Spleen		(12)	(0)	(12)	(12)
Hematopoiesis, extramedullary		0		0	3
Deposit, hemosiderin, red pulp		12		12	12**
Bone marrow (femur)		(12)	(0)	(12)	(12)
Hematopoiesis, decreased		0		0	11**
Circulatory system					
Heart		(12)	(0)	(0)	(12)
Myocardial degeneration/fibrosis		3			3

** : $P < 0.01$ (significantly different from control).

There are no remarkable changes in the brain, thyroid and parathyroid in control and 100 mg/kg groups. Figures in parentheses are number of animals with tissues examined histopathologically.

Table 14B - continued Histopathological findings of male rats treated orally with Thiourea S,S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Organs and findings	Group and dose Number of animals	Control	4 mg/kg	20 mg/kg	100 mg/kg
		<u>Terminal sacrifice</u> 12	<u>Terminal sacrifice</u> 12	<u>Terminal sacrifice</u> 12	<u>Terminal sacrifice</u> 12
Urinary system					
Kidney		(12)	(0)	(12)	(12)
Basophilic tubule		2		2	12**
Dilatation, tubule		0		0	1
Cellular infiltration, lymphocyte		0		0	9**
Genital system					
Testis		(12)	(0)	(12)	(12)
Dilatation, seminiferous tubule		0		0	4*
Degeneration, germ cell		0		0	1
Giant cell, multinucleated		0		0	1
Vacuolization, sertoli cell		0		0	2
Atrophy, seminiferous tubule		1		0	1
Granuloma, spermatic		1		0	1
Epididymis		(12)	(2)	(12)	(12)
Debris, germ cell, lumen		0	0	0	1
Edema		0	0	0	1
Cellular infiltration, lymphocyte		0	0	0	2
Granuloma, Spermatic		1	0	1	0
Endocrine system					
Adrenal		(12)	(0)	(12)	(12)
Necrosis, cortex		0		0	0

* : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$ (significantly different from control).There are no remarkable changes in the brain, thyroid and parathyroid in control and 100 mg/kg groups.
Figures in parentheses are number of animals with tissues examined histopathologically.

Table 15A Histopathological findings of female rats treated orally with Thiourea S,S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Organs and findings		Group and dose		Control				4 mg/kg				20 mg/kg				100 mg/kg											
		Number of animals	Terminal sacrifice				Terminal sacrifice				Terminal sacrifice				Terminal sacrifice				Imminent sacrifice				Total				
			12				12				12				6				6				12				
			-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	
Digestive system																											
Liver			(12)				(0)				(12)				(6)				(6)				(12)				
Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular		12	0	0	0					12	0	0	0		4	2	0	0	6	0	0	0	10	2	0	0	
Degeneration, vacuolar, hepatocyte		12	0	0	0					12	0	0	0		6	0	0	0	5	1	0	0	11	1	0	0	
Basophilic material, bile duct		12	0	0	0					12	0	0	0		1	5	0	0	5	1	0	0	6	6	0	0**	
Deposit, hemosiderin, kupffer cell		12	0	0	0					12	0	0	0		5	1	0	0	5	1	0	0	10	2	0	0	
Stomach			(0)				(0)				(0)				(0)				(1)				(1)				
Ulcer, glandular stomach																		0	1	0	0	0	1	0	0		
Respiratory system																											
Lung			(12)				(0)				(0)				(6)				(6)				(12)				
Hemorrhage		12	0	0	0									5	1	0	0	6	0	0	0	11	1	0	0		
Accumulation, foam cell		8	4	0	0									3	3	0	0	4	2	0	0	7	5	0	0		
Mineralization, artery		12	0	0	0									5	1	0	0	6	0	0	0	11	1	0	0		
Hematopoietic system																											
Thymus			(12)				(0)				(12)				(6)				(6)				(12)				
Atrophy		12	0	0	0					12	0	0	0		3	2	0	1	5	0	1	0	8	2	1	1*	
Spleen			(12)				(0)				(12)				(6)				(6)				(12)				
Hematopoiesis, extramedullary		4	8	0	0					3	8	1	0		0	3	3	0	3	2	0	1	3	5	3	1	
Deposit, hemosiderin, red pulp		0	12	0	0					0	12	0	0		0	5	1	0	0	1	5	0	0	6	6	0**	

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

Grade sign: -, none; +, mild; ++, moderate; +++, marked.

There are no remarkable changes in the brain, thyroid, parathyroid and ovary in control and 100 mg/kg groups.

Figures in parentheses are number of animals with tissues examined histopathologically.

Table 15A - continued Histopathological findings of female rats treated orally with Thiourea S,S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Organs and findings	Group and dose Number of animals	Control				4 mg/kg				20 mg/kg				100 mg/kg				Total			
		Terminal sacrifice				Terminal sacrifice				Terminal sacrifice				Terminal sacrifice				Imminent sacrifice			
		12				12				12				6				6			
		-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++
Circulatory system																					
Heart		(12)				(0)				(0)				(6)				(6)			
Myocardial degeneration/fibrosis		11	1	0	0									6	0	0	0	5	1	0	0
Urinary system																					
Kidney		(12)				(0)				(12)				(6)				(6)			
Necrosis, tubule		12	0	0	0					12	0	0	0	6	0	0	0	5	0	1	0
Basophilic tubule		12	0	0	0					12	0	0	0	0	6	0	0	0	5	1	0
Dilatation, tubule		12	0	0	0					12	0	0	0	6	0	0	0	5	1	0	0
Cellular infiltration, lymphocyte		12	0	0	0					12	0	0	0	3	3	0	0	1	5	0	0
Cellular infiltration, neutrophil		12	0	0	0					12	0	0	0	6	0	0	0	5	1	0	0
Endocrine system																					
Adrenal		(12)				(0)				(12)				(6)				(6)			
Necrosis, cortex		12	0	0	0					12	0	0	0	6	0	0	0	5	0	0	1

46 **: P<0.01 (significantly different from control).

Grade sign: -, none; +, mild; ++, moderate; +++, marked.

There are no remarkable changes in the brain, thyroid, parathyroid and ovary in control and 100 mg/kg groups.

Figures in parentheses are number of animals with tissues examined histopathologically.

Table 15B Histopathological findings of female rats treated orally with Thiourea S, S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Organs and findings	Group and dose	Control	4 mg/kg	20 mg/kg	100 mg/kg		
	Number of animals	Terminal sacrifice	Terminal sacrifice	Terminal sacrifice	Terminal sacrifice	Imminent sacrifice	Total
		12	12	12	6	6	12
Digestive system							
Liver		(12)	(0)	(12)	(6)	(6)	(12)
Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular		0		0	2	0	2
Degeneration, vacuolar, hepatocyte		0		0	0	1	1
Basophilic material, bile duct		0		0	5	1	6**
Deposit, hemosiderin, kupffer cell		0		0	1	1	2
Stomach		(0)	(0)	(0)	(0)	(1)	(1)
Ulcer, glandular stomach						1	1
Respiratory system							
Lung		(12)	(0)	(0)	(6)	(6)	(12)
Hemorrhage		0			1	0	1
Accumulation, foam cell		4			3	2	5
Mineralization, artery		0			1	0	1
Hematopoietic system							
Thymus		(12)	(0)	(12)	(6)	(6)	(12)
Atrophy		0		0	3	1	4*
Spleen		(12)	(0)	(12)	(6)	(6)	(12)
Hematopoiesis, extramedullary		8		9	6	3	9
Deposit, hemosiderin, red pulp		12		12	6	6	12**

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

There are no remarkable changes in the brain, thyroid, parathyroid and ovary in control and 100 mg/kg groups. Figures in parentheses are number of animals with tissues examined histopathologically.

Table 15B - continued Histopathological findings of female rats treated orally with Thiourea S,S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Organs and findings	Group and dose Number of animals	Control	4 mg/kg	20 mg/kg	100 mg/kg		Total
		<u>Terminal sacrifice</u>	<u>Terminal sacrifice</u>	<u>Terminal sacrifice</u>	<u>Terminal sacrifice</u>	<u>Imminent sacrifice</u>	
		12	12	12	6	6	12
Circulatory system							
Heart		(12)	(0)	(0)	(6)	(6)	(12)
Myocardial degeneration/fibrosis		1			0	1	1
Urinary system							
Kidney		(12)	(0)	(12)	(6)	(6)	(12)
Necrosis, tubule		0		0	0	1	1
Basophilic tubule		0		0	6	6	12**
Dilatation, tubule		0		0	0	1	1
Cellular infiltration, lymphocyte		0		0	3	5	8**
Cellular infiltration, neutrophil		0		0	0	1	1
Endocrine system							
Adrenal		(12)	(0)	(12)	(6)	(6)	(12)
Necrosis, cortex		0		0	0	1	1

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

There are no remarkable changes in the brain, thyroid, parathyroid and ovary in control and 100 mg/kg groups. Figures in parentheses are number of animals with tissues examined histopathologically.

Table 16 Reproductive performance of rats treated orally with Thiourea S.S-dioxide in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group and dose	Control	4 mg/kg	20 mg/kg	100 mg/kg
No. of females examined	12	12	12	12
Count of estrus ^{a)}	4.00±0.00	3.67±0.49	3.67±0.65	3.25±0.62**
Estrous cycle ^{b)}	4.00±0.00	3.97±0.10	4.11±0.26	4.81±0.77**
No. of mated				
Male	12	12	12	12
Female	12	12	12	12
No. of copulated ^{c)}				
Male	12 (100)	12 (100)	12 (100)	11 (91.67)
Female	12 (100)	12 (100)	12 (100)	11 (91.67)
No. of impregnated ^{d)}	12 (100)	12 (100)	12 (100)	9 (81.82)
No. of pregnant ^{d)}	12 (100)	12 (100)	12 (100)	9 (81.82)
Duration of mating ^{b)}	3.08±0.67	2.00±0.95*	2.83±1.03	3.18±1.66

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

a) Values are mean ± S.D.

b) Values are mean ± S.D. (day).

c) Values in parentheses represent percentages to the number of mated.

d) Values in parentheses represent percentages to the number of copulated.

Table 17 Findings of delivery of F₀ dams treated orally with Thiourea S,S-dioxide and observations on their offspring in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group and dose	Control	4 mg/kg	20 mg/kg	100 mg/kg
No. of dams	12	12	12	9
Gestational days ^{a)}	22.33±0.49	22.17±0.39	22.58±0.51	23.00±0.00*
No. of corpora lutea ^{b)}	185 (15.42±2.23)	189 (15.75±1.76)	189 (15.75±1.91)	72 (12.00±2.00) ^{j)} **
No. of implantations ^{b)}	182 (15.17±2.33)	184 (15.33±1.92)	185 (15.42±2.07)	97 (10.78±2.17) **
Implant index ^{c)}	98.38	97.35	97.88	94.44 ^{j)}
No. of litter ^{b)}	164 (13.67±3.08)	173 (14.42±1.83)	172 (14.33±2.46)	59 (6.56±5.57) **
Gestation index ^{d)}	100	100	100	66.67
No. of stillborns ^{e)}				
Male	0	1	1	6
Female	0	0	0	3
Total	0	1 (0.58)	1 (0.58)	10 (16.95) ^{k)} *
No. of live newborns ^{b)}	164 (13.67±3.08)	172 (14.33±1.83)	171 (14.25±2.34)	49 (5.44±5.20) **
Birth index ^{f)}	90.11	93.48	92.43	50.52
Sex ratio of live newborns ^{g)}	1.13 (87/77)	0.74 (73/99)	0.99 (85/86)	1.04 (25/24)
Body weight of live newborns (g) ^{h)}				
Male On day 0	6.7±1.1	6.5±0.7	6.6±0.7	6.0±0.9
4	11.1±2.5	9.9±1.7	9.9±1.6	9.7±2.6
Female On day 0	6.2±0.6	6.2±0.6	6.2±0.6	5.6±0.8
4	10.1±1.7	9.5±1.6	9.5±1.5	9.0±2.4
Viability index ⁱ⁾	99.39	100	98.83	93.88
No. of external anomalies	0	0	0	0

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

a) Values are mean ±S.D. (day).

b) Values in parentheses represent mean ±S.D.

c) Values in parentheses represent percentages to the number of corpora lutea.

d) Gestation index = (Number of females with live newborns/Number of pregnant females) × 100.

e) Values in parentheses represent percentages to the number of litters.

f) Birth index = (Number of live newborns/Number of implantations) × 100.

g) Values in parentheses represent the number of male/female live newborns.

h) Values are mean ±S.D.

i) Viability index = (Number of live newborns on day 4 after birth/Number of live newborns) × 100.

j) Three dams were excluded from data because number of corpora lutea was not examined.

k) Included 1 cannibalized.