



Trimethyl Phosphate
(リン酸トリメチル)
のラットにおける
反復投与毒性・生殖発生毒性
併合試験

厚生省生活衛生局 委託

財団法人食品薬品安全センター

秦 野 研 究 所

目 次

	頁
要 約	1
緒 言	7
試験材料および方法	8
1. 被験物質	8
2. 使用動物および飼育条件	8
3. 群分け法	8
4. 投与量、群構成、投与期間および投与方法	8
5. 観察方法	9
6. 動物の個体識別法	13
7. 統計処理	13
結 果	14
I. 反復投与毒性（親動物所見）	14
II. 生殖発生毒性	20
1. 生殖学的検査所見	20
2. 出生児所見	21
考 察	22
文 献	24

Tables (Table 1 ~ 28)

【TABLE INDEX】

TABLES	(APPENDIXES)	TABLE TITLE
1	(1-1 ~ 1-4)	Summary of clinical signs of F ₀ males
2	(2-1 ~ 2-4)	Summary of clinical signs of F ₀ females
3	(3-1 ~ 3-4)	Body weight of F ₀ males in the treatment period
4	(4-1 ~ 4-4)	Body weight gain data of F ₀ males in the treatment period
5	(5-1 ~ 5-4)	Body weight of F ₀ females in the pre-mating period
6	(6-1 ~ 6-4)	Body weight gain data of F ₀ females in the pre-mating period
7	(7-1 ~ 7-4)	Body weight of F ₀ females in the pregnant period
8	(8-1 ~ 8-4)	Body weight gain data of F ₀ females in the pregnant period
9	(9-1 ~ 9-4)	Body weight of F ₀ females in the lactation period
10	(10-1 ~10-4)	Body weight gain data of F ₀ females in the lactation period
11	(11-1 ~11-4)	Food consumption of F ₀ males in the treatment period
12	(12-1 ~12-4)	Food consumption of F ₀ females in the pre-mating period
13	(13-1 ~13-4)	Food consumption of F ₀ females in the pregnant period
14	(14-1 ~14-4)	Food consumption of F ₀ females in the lactation period
15	(15-1 ~15-4)	Summary of hematological findings of males
16	(16-1 ~16-4)	Summary of biochemical findings of F ₀ males
17	(17-1 ~17-4)	Summary of macroscopic findings in F ₀ males
18	(18-1 ~18-4)	Summary of macroscopic findings in F ₀ females
19	(19-1 ~19-4)	Absolute and relative organ weight of F ₀ males
20	(20-1 ~20-4)	Absolute and relative organ weight of F ₀ females
21		Absolute and relative organ weight of F ₀ females; Organ weight of animals, which sacrificed on the way of test period
22	(22-1 ~22-4)	Summary of histopathological findings in F ₀ males
23-1	(23-1 ~23-4)	Summary of histopathological findings in F ₀ females
23-2	"	" (Subjected to autopsy on day 4 of lactation)

23-3	"	" (Not pregnant)
23-4	"	" (Total implantation loss)
23-5	"	" (Total litter loss)
23-6	"	" (Not copulated)
24	(24-1 ~24-4)	Summary of reproductive performance
25	(25-1 ~25-4)	Summary of development of F ₁ pups up to day 4 of lactation
26	(26-1 ~26-4)	Body weight of F ₁ pups up to day 4 of lactation
27		Summary of morphological observation of pups
28		Summary of morphological observation of F ₁ dead pups

要 約

OBCD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 Trimethyl Phosphate (リン酸トリメチル) の反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験を行った。すなわち Trimethyl Phosphate の 0 (溶媒対照)、40、100 および 250 mg/kg を Sprague-Dawley 系 (Crj:CD) ラットの雌雄 (各13匹/群) に交配前 2 週間および交配期間 2 週間を通して経口投与し、さらに雄では交配期間終了後 2 週間、雌では妊娠期間を通して分娩後哺育 3 日まで投与を継続して親動物に対する反復投与毒性およびその生殖能力なら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。

I. 反復投与毒性 (親動物所見)

1) 死亡例、一般状態

250 mg/kg 投与群において雄12例、雌 1 例が投与第 4 週から第 6 週にかけて死亡した。この群の雌雄では、主要な一般状態の変化として活動性の低下、麻痺性歩行がみられ、雄では投与第 2 週以降に症状の増悪を示す例が増加した。雌の症状は、雄と比較して軽度であった。100 mg/kg 以下の投与群では、毒性変化とみなされる一般状態の異常は雌雄ともにみられず、死亡例もなかった。

2) 体重、摂餌量

250 mg/kg 投与群の雌雄では、体重増加が有意に抑制され、雄の体重は投与回数の増加に伴って有意に減少した。100 mg/kg 以下の投与群では、雌において妊娠中期から後期にかけての体重増加に有意な抑制 (40 mg/kg投与群) または抑制傾向 (100 mg/kg 投与群、^{注)} 2 例のデータ) がみられたが、雄の体重に有意性のある変化は認められなかった。摂餌量は、250 mg/kg 投与群の雄で有意に低下した。

注)

100 mg/kg 投与群の雌では妊娠率、250 mg/kg 投与群の雌では交尾率が低下した (後述) ため、これらの群の雌については妊娠期間以後に相当する時期の体重と摂餌量を評価することが困難であった。

3) 解剖時検査所見

A. 雄〔解剖日：投与期間（42回投与）終了翌日〕

a) 血液学的検査所見

赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値の有意な減少ならびに血小板数、分葉核好中球比率の有意な増加が、100 mg/kg 投与群において認められた。40 mg/kg 投与群の所見には被験物質の投与に起因したと推定される変化はみられなかった。250 mg/kg 投与群の生存例1例では、赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値が明らかな低値を示し、分葉核好中球比率、単球比率の増加およびリンパ球比率の低下がみられたが、血小板数に変化は認められなかった。

b) 血液生化学的検査所見

用量依存的な変化としてA/G比の有意な低下、コリンエステラーゼ活性、総コレステロール濃度、カルシウム濃度の有意な上昇が、40 および100 mg/kg 投与群に、ブドウ糖濃度の有意な低下、総タンパク濃度、ナトリウム濃度の有意な上昇が、100 mg/kg 投与群に認められた。これらの傾向は、250 mg/kg 投与群の生存例1例においても明らかであった。

c) 器官重量（胸腺、肝臓、腎臓、精巣、精巣上体）

用量依存的な変化として腎臓重量とその比体重値の有意な増加が40 および100 mg/kg 投与群に、胸腺重量とその比体重値、肝臓の比体重値の有意な増加ならびに精巣上体重量とその比体重値の有意な低下が100 mg/kg 投与群に認められた。250 mg/kg 投与群の生存例1例では、低体重であることと関連して測定器官の重量は全て対照群の平均値を下回った。比体重値では胸腺、肝臓、腎臓の比体重値が高値を示したが、精巣および精巣上体の比体重値は対照群と比較して低値であった。

d) 剖検所見

100 mg/kg 投与群では、肺の暗色点、脾臓の暗色化、腎臓の淡色化、精巣、精巣上体の萎縮などが、低率に認められた。250 mg/kg 投与群では、死亡例、生存例ともに消瘦、体脂肪の減少が顕著であり、胸腺の萎縮、肺の暗色領域、肝臓の暗色化・萎縮、腺胃の暗色領域、腸管内容の鬱滞、腸間膜リンパ節の萎縮、脾臓の萎縮・暗色化・濾胞の不明瞭化、副腎の腫大、腎臓の腫大、大量の膀胱内尿貯留、精巣・副生殖器の萎縮、骨髓の暗色化が高率に観察された。40 mg/kg 投与群には、特記すべき異常所見は認められなかった。

e) 病理組織学的検査所見

40 mg/kg 投与群：肝臓について小葉周辺性の脂肪化に軽減傾向がみられた。腎臓では、全例で近位尿細管上皮細胞内に好酸性で球状の滴状物がみられたほか、eosinophilic bodyおよび再生尿細管の頻度・程度が増強し、4例で再生尿細管腔内に細胞変性物がみられた。他の器官・組織については、ごく軽度の精巣萎縮が1例に認められたほかの特記すべき変化はみられなかった。

100 mg/kg 投与群：肝臓で小葉周辺性の脂肪化に軽減傾向がみられ、ごく軽度の巣状壊死と出血が各1例に認められた。腎臓では、全例で近位尿細管上皮細胞内に好酸性で球状の滴状物が高度にみられ、eosinophilic bodyおよび再生尿細管の頻度・程度が増強したほか、1例で尿円柱の形成、4例で再生尿細管腔内に細胞変性物がみられた。脾臓については全例で髄外造血の軽度の亢進がみられた。精巣では、1例に中等度の萎縮がみられ、この例の精巣上体では腔内の精子が乏しかった。このほか2例の頸髄薄束、1例の腰髄背索、4例の骨格筋を走行する神経、9例の坐骨神経に神経線維の変性が認められた。

250 mg/kg 投与群：死亡例全例で胸腺の萎縮がみられ、うち10例の変化は高度であった。生存例に胸腺の萎縮はみられなかった。肝臓では、死亡例全例で肝細胞に萎縮があり、生存例を含む6例のKupffer細胞に色素沈着が認められた。一方、小肉芽腫はいずれの例にもみられず、小葉周辺性の脂肪化にも軽減傾向がみられた。腎臓では、死亡例2例でのみ近位尿細管上皮細胞内に好酸性・球状滴状物がみられ、eosinophilic bodyの出現も対照群より軽度であったが、再生尿細管の頻度・程度は増強し、腎乳頭の壊死が死亡例2例に認められた。副腎については、皮質束状帯細胞の肥大が死亡例8例にみられた。脾臓では、色素沈着の程度がやや強く、髄外造血は軽度であったが、濾胞の萎縮が全例に認められた。精巣については、全例で高度の萎縮がみられ、顕著な例では精細管内に精子形成細胞がなく、腔内はセルトリ細胞でほぼ占有されていた。精巣上体の腔内に精子はほとんどみられなかった。このほか生存例を含む3例の頸髄薄束、10例の骨格筋を走行する神経、全例の坐骨神経に神経線維の変性がみられ、11例に骨格筋線維のびまん性の萎縮が認められた。

B. 雌〔解剖日：哺育4日、全児死亡日、妊娠25日相当日（全胚吸収および不妊例）〕

a) 器官重量（胸腺、肝臓、腎臓）

胸腺重量とその比体重値は、40 mg/kg投与群において有意な高値を示し、100 mg/kg 投与群では高値となる傾向がみられた。250 mg/kg 投与群の胸腺重量には対照群と比較して

著しい差は認められなかった。肝臓重量は、100 mg/kg 以上の投与群で低下傾向を示し、腎臓重量は 100 mg/kg 投与群で増加傾向、250 mg/kg 投与群で低下傾向を示した。

b) 剖検所見

100 mg/kg 投与群では、肝臓の暗色化が比較的高率に、250 mg/kg 投与群では、肺の暗色領域、肝臓の暗色化、腸管内容の鬱滞、脾臓の暗色化、副腎の腫大、卵巣の萎縮、骨髄の暗色化などが高率に観察された。40 mg/kg 投与群には、特記すべき異常所見は認められなかった。

c) 病理組織学的検査所見

40 mg/kg 投与群：胸腺の軽度の萎縮が2例にみられたのみであった。（対照群では全例の胸腺が萎縮していた。）他の器官・組織に特記すべき変化は認められなかった。

100 mg/kg 投与群：胸腺の萎縮は、いずれの例にもみられなかった。肝臓では、1例に巣状壊死が認められた。腎臓については、再生尿細管の頻度が増加し、1例で再生尿細管腔内に細胞変性物の貯留がみられたが、そのほかには石灰沈着あるいは腎盂の拡張が各1例にみられたのみであった。脾臓では、色素沈着の増強、髄外造血の減少がみられた。他の器官・組織に特記すべき変化は認められなかった。

250 mg/kg 投与群：胸腺の萎縮が約半数にみられた。肝臓では、3例の肝細胞に萎縮があり、巣状壊死が1例に認められた。腎臓では、再生尿細管の頻度・程度が増強し、1例の再生尿細管腔内に細胞変性物の貯留を認めた。また、8例で腎乳頭の毛細血管腔内に血小板の凝集があり、6例で腎乳頭間質に細胞変性物と推定される好酸性の小塊が認められた。副腎については、皮質束状帯細胞の肥大が1例にみられた。脾臓では、色素沈着の増強、髄外造血の減少があり、濾胞の萎縮が2例に認められた。卵巣については、観察した9例中1例に卵胞性嚢胞、6例に閉鎖卵胞の増加、1例に黄体嚢胞がみられた。このほか神経線維の変性が、2例の頸髄薄束および腰髄背索、9例の骨格筋神経、11例の坐骨神経にみられ、1例では骨格筋線維にびまん性の萎縮が認められた。

II. 生殖発生毒性

1. 生殖学的検査所見

1) 交配成績

250 mg/kg 投与群では、交尾率が著しく低下し、13組中2組でしか交尾が成立しなかった。また、交尾した2例の雌のいずれにも胚の着床はみられなかった。100 mg/kg 以下の

投与群および対照群では、全例で交尾が成立し、同居開始から交尾成立までに要した日数にも対照群と各被験物質投与群との間で有意差は認められなかった。しかし、胚の着床は 100 mg/kg 投与群では 2 例にしかみられず、同投与群では受胎率が著しく低下した。40 mg/kg 投与群の受胎率には、対照群と比較して有意差は認められなかった。

2) 分娩および哺育状態

対照群では13例全例、40 mg/kg投与群では12例中10例の妊娠雌が児を分娩したが、いずれの雌においても分娩状態に異常があった証拠は得られなかった。哺育状態についても生児 1 例を分娩した40 mg/kg投与群の雌 1 例で分娩当日に児が死亡したほかには、異常を示唆する所見は認められなかった。なお、40 mg/kg投与群の 2 例、100 mg/kg 投与群の 2 例の妊娠雌は、いずれも早期全胚吸収例であり、これらの雌では必然的に分娩はみられなかった。

3) 妊娠黄体数、着床数および着床率

対照群と40 mg/kg投与群の妊娠黄体数、着床数および着床率に有意差は認められなかった。100 mg/kg 投与群の早期全胚吸収例 2 例では、妊娠黄体数、着床数が対照群の平均値と比較して明らかに少なく、着床率も顕著に低下した。

4) 出産率および妊娠期間

対照群と40 mg/kg投与群の出産率および妊娠期間に有意差は認められなかった。

2. 出生児所見

1) 生存性

40 mg/kg投与群では、産児数および出產生児数が有意に減少し、児の分娩率〔(産児数／着床痕数) × 100〕および出生率〔(出產生児数／着床痕数) × 100〕も有意に低下した。しかし、新生児に死亡はみられず、哺育 0 日および 4 日の生存率はともに 100%であった。

2) 体重

40 mg/kg 投与群の児の体重は、哺育 0 日および 4 日のいずれにおいても対照群と比較して有意な高値を示した。

3) 形態

哺育 0 日の外表観察、死亡児および哺育 4 日における全新生児の剖検において被験物質の投与に起因したと推定される外表および内臓の異常は認められなかった。

Ⅲ. 評価

以上の試験成績から、Trimethyl Phosphate の 250 mg/kgは、ラットに対して後肢の麻痺を主とする神経症状、体重増加の抑制、赤血球数、血色素量およびヘマトクリット値の減少、血漿ブドウ糖濃度の低下、血漿中へのタンパク質、脂質の動員、血漿コリンエステラーゼ活性、カルシウムおよびナトリウム濃度の上昇、腎乳頭および尿細管上皮細胞の障害、胸腺、肝臓および精巣の萎縮、脊髄および末梢における神経線維の変性ならびに骨格筋線維にびまん性の萎縮を惹起する毒性を有し、雄では高度の、雌では軽度の致死性を示す中毒量であること、100 mg/kg は、相対的に軽度ながら 250 mg/kgと同質の毒性を示す毒性発現量であることが示唆された。雌に観察された毒性変化は、いずれも雄と比較して相対的に軽度であり、本化合物は、雌より雄に対して明らかに強い毒性を示すと推察される。40 mg/kgについては、雄でA/G比の低下、コリンエステラーゼ活性、総コレステロール濃度、カルシウム濃度の上昇があり、腎尿細管上皮細胞に障害がみられたほか、1例に軽度の精巣萎縮が認められたが、雌では胸腺に萎縮性的変化が生じなかったことのほかに被験物質に起因したと推定される変化は認められなかった。生殖・発生毒性に関しては、250 mg/kg の投与で交尾率、100 mg/kg の投与で受胎率、着床率が顕著に低下し、40 mg/kgの投与では着床胚の子宮内生存性が低下した。本化合物については、すでに100または 250 mg/kgの反復投与（5回/週）で雄ラットの妊孕性を低下させること、マウスへの 500 mg/kgの 5回反復投与では優性致死作用がみられ、初期胚の子宮内生存性が低下することが報告⁶⁾されているが、本試験結果は同様の作用がラットではより低い用量で発現する可能性を示唆するものと考えられる。なお、40 mg/kg投与群の新生児の体重は、対照群に比して有意に高値であったが、外表および内臓にはなんら異常はみられなかった。

これらのことから本試験条件下では、Trimethyl Phosphate の反復投与毒性および生殖発生毒性に関する無毒性量は、雌雄ともにいずれも 40 mg/kg/day を下回る量と推定される。

緒 言

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Trimethyl Phosphate の反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験を行い、同化合物の雌雄ラットに及ぼす反復投与毒性ならびに生殖・発生毒性について検討したのでその結果を報告する。

Trimethyl Phosphate (CAS No. 512-56-1 ; 化学式, $(\text{O})\text{P}(\text{OCH}_3)_3$; 分子量, 140 ; 別名, Phosphoric Acid Trimethyl Ester , リン酸トリメチル) は、アルキル化剤であることから着火制御のためのガソリン添加物や塗料等の燃焼防止剤に使用される一方で、化学産業の分野ではメチル化剤あるいは樹脂やポリマー合成の触媒として広く使用されている化合物である。本化合物については比較的多くの毒性情報が存在し、経口投与によるラット、マウス、ウサギおよびモルモットの LD_{50} 値が、それぞれ 840または 2000 、1470、1275および 1142 mg/kg であること^{1, 2)}、ほぼすべてのassay systemで弱い変異原性を示すこと¹⁾、複数の系統のマウスに優性致死作用を示すこと¹⁾、雄ラットおよび雌マウスに癌原性を示すこと³⁾、ウサギへの 300 mg/kgの反復投与で振戦、脱力麻痺等の神経症状が発現すること²⁾、ラットへの週5回、100 mg/kg の反復投与では鎮静が発現し、約1年後には後肢に麻痺が生じることなどが報告⁴⁾されているほか、生殖毒性については、ラットで 100 mg/kg以上、マウスで 500 mg/kg以上の反復投与により雄ラットあるいは雄マウスの妊孕性を高率に阻害することが多数報告^{1, 5, 6)}されている。

試験材料および方法

1. 被験物質

Trimethyl Phosphate [ロット番号, ; 純度, 99.9wt %] は、水、アセトン、DMSOに可溶の無色透明の液体である (Annex 1)。本被験物質は、使用時まで冷暗所に密封保管し、注射用蒸留水 [製造番号、CC003 (三亜製薬株式会社)] に溶解して、いずれの用量においても1回の投与液量が5 ml/kg になるように濃度を調整し、投与検体とした。調製した投与検体は、冷暗条件下で密封保管し、調製後7日以内に投与した。調製液中の被験物質は、冷暗条件下で少なくとも7日間安定であり (Annex 2)、また、使用した投与検体にはほぼ所定量のTrimethyl Phosphate が含有されていたことを確認した (Annex 3)。

2. 使用動物および飼育条件

試験には、雌雄とも7週齢にて購入した日本チャールス・リバー(株)厚木飼育センター生産の Sprague-Dawley 系ラット (Crj:CD, SPF) を使用した (Annex 4)。購入した動物は、入荷後1週間、馴化と検疫を兼ねて予備飼育し、一般状態に異常が認められなかったものを試験に供した [体重範囲 (群分け時) : 雌 193.8~237.3g、雄 289.0~332.0g]。

各動物は、温度 $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、相対湿度 $55 \pm 5\%$ 、換気回数約15回/時間、照明12時間 (午前7時~午後7時) に調節されたバリアーシステムの飼育室で、金属製金網床ケージ (22×27×19cm、日本ケージ(株)) に個別に収容して飼育し、固型飼料 (CA-1、日本クレア(株)) および水道水を自由に摂取させた。妊娠18日以後の母動物には、飼育ケージの床に金属製床板を敷き、床敷として木製チップ (ホワイトフレーク®、日本チャールス・リバー(株)) を適宜供給した。供給した飼料、水、および床敷には試験に支障を来す可能性の考えられる夾雑物の混在はなかった。

3. 群分け法

雌雄とも初回投与日の体重をもとに体重別層化無作為抽出法に準じて群分けし、1群につき各13匹を用意した。

4. 投与量、群構成、投与期間および投与方法

Trimethyl Phosphate の投与量は、文献情報¹⁻⁷⁾ を参考に設定した。すなわち、雄ラ

ットの妊孕性を確実に低下させることが明らかな量として 250 mg/kgを最高用量に、雌雄ラットに神経症状（鎮静）を来す可能性のある投与量として 100 mg/kgを中間用量に、無毒性量である可能性が高い量として 40 mg/kg を最低用量に設定した。投与液量は、各用量とも 5 ml/kg とし、対照群のラットには、Trimethyl Phosphate の媒体とした注射用蒸留水を Trimethyl Phosphate投与群と同一条件にて投与した。以下に群構成を示す。

群	被験物質	投与量 (mg/kg)	投与液量 (ml/kg)	匹数（動物番号）	
				雄	雌
1	溶媒対照 ^a	0	5	13 (MX01001-013)	13 (FB01001-013)
2	Trimethyl Phosphate	40	5	13 (MX02001-013)	13 (FB02001-013)
3	Trimethyl Phosphate	100	5	13 (MX03001-013)	13 (FB03001-013)
4	Trimethyl Phosphate	250	5	13 (MX04001-013)	13 (FB04001-013)

a：注射用蒸留水

各用量の投与検体は、雄に対しては交配前14日間と交配期間14日間および交配期間終了後14日間の連続42日間、また、雌に対しては交配前14日間と交配期間中（交尾成立まで；最長14日間）ならびに交尾成立雌では妊娠期間を通して分娩後の哺育3日まで毎日1回、ラット用胃管を用いて強制的に経口投与した。毎日の投与は、原則として一定時刻の間（通常13時～16時）に行い、各動物の投与液量は、雄ならびに交配前および交配期間中の雌については週1回の測定体重をもとに、また、交尾成立後の雌については妊娠0日の体重をもとにそれぞれ算出した。

5. 観察方法

1) 親動物

A. 一般状態

雌雄とも、全例について試験期間中毎日観察した。

B. 体重

雌雄とも、全例について体重を投与期間中週1回〔雄：投与0、7、14、21、28、35、42日、雌：投与0、7、14、21日（21日は、未交尾の雌のみ測定）〕および解剖日に測定した。また、交尾成立雌では、妊娠0、7、14、20日、分娩した雌では、分娩後0および4日（哺育0および4日）の体重を測定した。

C. 摂餌量

雌雄とも、全例について体重測定日と同日に餌重量を測定し、測定日から次の測定日まで

での間の摂餌量を算定した。交配期間中の摂餌量は測定しなかった。交尾成立雌では、妊娠 0-7、7-14、14-20日および分娩した雌では、哺育 0-4日の摂餌量を測定した。

D. 交配

交配は、投与14日（15回投与日）の夕方から最長2週間、同一群内の雌雄を1対1で同居させて行った。交尾成立の確認は、毎朝、腔内の腔栓および腔垢中の精子の存在を調べるにより行い、交尾が確認された雌は、その日を妊娠0日と起算して雄から分離し、個別に飼育した。

交配結果から、各群について交尾率 $\left[\left(\text{交尾動物数} / \text{同居動物数} \right) \times 100 \right]$ 、受胎率 $\left[\left(\text{妊娠動物数} / \text{交尾動物数} \right) \times 100 \right]$ 、同居開始日から交尾確認日までの日数および雌の回帰発情回数を求めた。

B. 分娩状態

各群とも交尾成立雌は、全例を自然分娩させた。分娩状態の直接観察は、可能なものについて行った。ただし、直接観察できなかった個体についても、分娩後の徴候から分娩困難や分娩遅延などの分娩障害の有無を判断し、個別に記録した。

F. 分娩日の算定

分娩の確認は、午前9時～11時に限定し、この時間帯に分娩が完了していることを確認した個体について、その日を哺育0日、その前日を分娩日と規定した。午前11時を過ぎて分娩した個体については、翌日を哺育0日とした。

分娩を確認した全例について妊娠期間（妊娠0日～分娩日の日数）を算定し、出産率 $\left[\left(\text{生児出産雌数} / \text{妊娠雌数} \right) \times 100 \right]$ を各群について求めた。

G. 病理学的検査

a) 雄動物

4. 剖検、器官重量および病理組織学的検査

最終投与日の翌日〔投与42日相当日（投与開始日＝投与0日）〕にペントバルビタール深麻酔下で放血・致死させて剖検した。その際、全例について胸腺、肝臓、腎臓、精巣および精巣上体の重量を測定した。また、これらの器官と脳、心臓、脾臓、副腎、膀胱および頸髄、腰髄、坐骨神経、骨格筋（以上の4組織は、神経症状が発現したため追加）ならびに剖検において異常を認めた器官は10%ホルマリンに固定して保存し、パラフィン包埋、薄切、ヘマトキシリン・エオジン染色を施した後に全例について病理組織学的検査を行った。なお、精巣および精巣上体は、いったんブアン液に固定した後に10%ホルマリンに固

定して保存した。

ロ. 血液学的検査

全例について、剖検に先立ち、ペントバルビタール麻酔下で腹部後大静脈より EDTA を抗凝固剤として採血し、以下の項目について検査した。

項 目	測 定 法	使 用 機 器
赤血球数 (RBC)	自動 (電気抵抗法)	Coulter Counter Model S-PLUS IV (コルターエレクトロニクス)
白血球数 (WBC)	" (")	"
血色素量 (Hb)	" (吸光度法)	"
平均赤血球容積 (MCV)	" (電気抵抗法)	"
ヘマトクリット値 (Ht)	" ($0.001 \times \text{RBC} \times \text{MCV}$)	"
平均赤血球血色素量	" ($1000 \times \text{Hb} / \text{RBC}$)	"
平均赤血球血色素濃度	" ($100 \times \text{Hb} / \text{Ht}$)	"
血小板数	" (電気抵抗法)	"
白血球分類	視算 (塗抹標本, Wright-Giemsa 染色)	光学顕微鏡

ハ. 血液生化学的検査

全例について、血液学的検査のための採血に引き続き、ヘパリンを抗凝固剤として用いて採血し、それぞれ血漿を分離して次の項目について検査を行った。

項 目	測 定 法	使 用 機 器
総タンパク濃度	ビウレット法	遠心方式生化学自動分析装置 COBAS- FARA (ロシュ)
アルブミン濃度	B C G 法	"
総コレステロール濃度	C O D ・ D A O S 法	"
ブドウ糖濃度	グルコキナーゼ G6PDH 法	"
尿素窒素濃度	ウレアーゼ G L D H 法	"
クレアチニン濃度	Jaffe 法	"
アルカリフォスファターゼ活性	p-ニトロフェニル酸基質法	"
G O T 活性	S S C C 法	"
G P T 活性	S S C C 法	"
総ビリルビン濃度	エルベソ「ロシュ」キット S シリーズ	"
カルシウム濃度	O C P C 法	"
ナトリウム濃度	イオン電極法	Na-K-Cl アナライザー IT-3 型 (常光)
カリウム濃度	イオン電極法	"
塩素濃度	電量滴定法	"
無機リン濃度	モリブデン酸直接法	遠心方式生化学自動分析装置 COBAS- FARA (ロシュ)
コリンエステラーゼ活性	DTNB 法	"
γ -G T P 活性	γ -グルタミル-p-ニトロアニリド 基質法	"
A/G 比	計算	—

b) 雌動物

1. 剖検、器官重量および病理組織学的検査

分娩した雌は哺育4日に、交尾したが分娩しない雌は妊娠25日相当日に、また、交尾のみられなかった雌（未交尾雌）は交配期間終了日にそれぞれエーテル深麻酔下で放血・致死させ、剖検した。妊・不妊および未交尾のいずれの例においても卵巣および子宮を摘出し、子宮については Salewski 法を応用して着床痕を染色して着床数を確認した。卵巣はブアン液に固定して保存し、実体顕微鏡下で黄体数を数えた。不妊例および未交尾例の卵巣については、病理組織学的検査を行った。また、胸腺、肝臓および腎臓の重量を全例について測定した。これらの器官と脳、心臓、脾臓、副腎、膀胱、子宮および頸髄、腰髄、坐骨神経、骨格筋（以上の4組織は、神経症状が発現したため追加）ならびに剖検において異常を認めた器官は10%ホルマリンに固定して保存し、パラフィン包埋、薄切、ヘマトキシリン・エオジン染色を施した後に全例について病理組織学的検査を行った。

2) 出生児

A. 産児数の算定

哺育0日に産児数（生存児＋死亡児）を調べ、児の分娩率 $\left[\left(\text{産児数} / \text{着床痕数} \right) \times 100 \right]$ および出生率 $\left[\left(\text{出産児数} / \text{着床痕数} \right) \times 100 \right]$ を求めた。産児の性別を調べ、外表異常の有無を観察した。性比は、雄児数を産児数で除して算出した。

B. 死亡児数の算定

死亡児数を毎日調べ、哺育0日の生存率 $\left[\left(\text{生児数} / \text{産児数} \right) \times 100 \right]$ および哺育4日の生存率 $\left[\left(\text{哺育4日の生児数} / \text{哺育0日の生児数} \right) \times 100 \right]$ を求めた。死亡児は剖検し、胸腔および腹腔内の器官を除去した後、エタノールに固定して保存した。

C. 体重測定

哺育0日および4日に一腹単位で雌雄別に体重（litter 重量）を測定し、 $\left[\text{litter 重量} / \text{測定児数} \right]$ を各腹について求めた。

D. 剖検

哺育4日に全例をエーテル深麻酔下で致死させ、剖検した。胸腔および腹腔内の器官は、一括して摘出し、各腹ごとに10%ホルマリンに固定して保存した。カーカスは、各腹ごとにエタノールに固定して保存した。

6. 動物の個体識別法

試験に使用した動物には、F₁出生児を除き、すべて尾にフェルトペンで群および個体番号を記して個体識別した。各飼育ケージには、個体番号等の必要事項を記入した、群ごとに色彩の異なるカードを掛けて個体識別の補助とした。F₁出生児は、個体を識別しなかった。

7. 統計処理

交尾率および受胎率については χ^2 検定を行った。その他のすべてのデータは、個体ごとに得られた値あるいは litter ごとの平均値を1 標本として、先ず、Bartlett法により各群の分散の一意性について検定した。その結果、分散が一意とされた場合には、一元配置型の分散分析を行い、群間に有意性が認められた場合には Dunnett法あるいは Scheffé 法により対照群と各被験物質投与群との間で平均値の差の検定を行った。分散が一意でなかった場合は、Kruskal-Wallisの順位検定を行い、群間に有意性が認められた場合に対照群と各被験物質投与群との差について Dunnett型あるいは Scheffé型の検定を行った。なお、病理組織学的検査所見中、対照群と被験物質投与群の双方に認められ、被験物質投与群において頻度、程度が増強している所見については、Wilcoxonの順位和検定法 (= Mann-Whitney U-test) による有意差検定を追加した。有意水準は、5 %および1 %とした。

I. 反復投与毒性（親動物所見）

1) 途中死亡例

250 mg/kg 投与群において、雄では投与第4週に4例、第5週に5例、第6週に3例、雌では投与第5週に1例が死亡した。100 mg/kg 以下の投与群に死亡例はなかった。

2) 一般状態 (Tables 1, 2; Appendices 1-1~2-4)

250 mg/kg 投与群の雌雄では、主要な一般状態の変化として活動性の低下、後肢の麻痺に起因する麻痺性歩行がみられ、このほかに頸部皮膚のひきつり、眼瞼下垂、閉眼、活動性の消退、腹臥、鎮静、削瘦、立毛、糞量の減少、下腹部の汚れ、体表温の低下、紅涙などが散見された。これらの症状は、雌では頻度・程度ともに雄と比較して軽度であり、発症時期も遅れる傾向にあった。雄では、投与回数が増すにしたがい症状の増悪を示す例が増加した。

100 mg/kg 以下の投与群では、雌雄ともに毒性変化とみなされる一般状態の異常はみられなかった。

3) 体重

A. 雄 (Tables 3, 4; Appendices 3-1~4-4)

250 mg/kg 投与群では、体重の区間増加量が一貫して有意 ($p < 0.01$, 0.05) な低値を示し、体重は、投与第2週以降、投与回数の増加に伴って減少した。100 mg/kg 以下の投与群では、体重、区間増加量ともに有意な変化は認められなかった。

B. 雌

(1) 交配開始前 (Tables 5, 6; Appendices 5-1~6-4)

投与第1~2週の区間増加量が、250 mg/kg 投与群において有意 ($p < 0.01$) に低下した。100 mg/kg 以下の投与群では、体重、区間増加量ともに有意な変化は認められなかった。

(2) 妊娠期間中 (Tables 7, 8; Appendixes 7-1~8-4)

100 mg/kg 投与群では妊娠率、250 mg/kg 投与群では交尾率が低下した（後述）ため、これらの群の雌については妊娠期間以後の体重、摂餌量を十分に評価することができな

った。40 mg/kg投与群では、妊娠20日の体重、妊娠7～14日および14～20日の区間増加量が有意 ($p<0.05$, 0.01) な低値を示した。同様の傾向は、100 mg/kg 投与群の妊娠成立雌2例においても認められた。

(3) 分娩後 (Tables 9, 10; Appendices 9-1～10-4)

40 mg/kg投与群では哺育0日の体重が、有意 ($p<0.05$) に高値であった。区間増加量については、対照群と40 mg/kg投与群との間に有意差は認められなかった。

4) 摂餌量

A. 雄 (Table 11; Appendices 11-1～11-4)

250 mg/kg 投与群の摂餌量は、一貫して有意 ($p<0.01$) に抑制された。40 および 100 mg/kg 投与群の摂餌量には、有意な変化は認められなかった。

B. 雌

(1) 交配前 (Table 12; Appendices 12-1～12-4)

いずれの被験物質投与群においても対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

(2) 妊娠期間中 (Table 13; Appendices 13-1～13-4)

対照群と 40 mg/kg 投与群の摂餌量に有意差は認められなかった。100 mg/kg 投与群の妊娠成立雌2例においても異常な変化はみられなかった。

(3) 分娩後 (Table 14; Appendices 14-1～14-4)

対照群と 40 mg/kg 投与群の摂餌量に有意差は認められなかった。

5) 解剖時検査所見

A. 雄〔解剖日：投与期間（42回投与）終了翌日〕

(1) 血液学的検査所見 (Table 15; Appendices 15-1～15-4)

赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値の有意 ($p<0.01$) な減少ならびに血小板数、分葉核好中球比率の有意 ($p<0.05$) な増加が100 mg/kg 投与群において認められた。40 mg/kg 投与群の所見には、被験物質の投与に起因したと推定される変化はみられなかった。

250 mg/kg 投与群の生存例1例では、赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値が明らかな低値を示し、分葉核好中球比率、単球比率の増加およびリンパ球比率の低下がみられたが、血小板数に変化は認められなかった。

(2) 血液生化学的検査所見 (Table 16; Appendices 16-1~16-4)

用量依存的な変化としてA/G比の有意 ($p<0.05$, 0.01) な低下、コリンエステラーゼ活性、総コレステロール濃度、カルシウム濃度の有意 ($p<0.05$, 0.01) な上昇が、40 および100 mg/kg 投与群に、ブドウ糖濃度の有意 ($p<0.01$) な低下、総タンパク濃度、ナトリウム濃度の有意 ($p<0.01$) な上昇が、100 mg/kg 投与群に認められた。これらの傾向は、250 mg/kg 投与群の生存例1例においても明らかであった。

(3) 剖検所見 (Table 17; Appendices 17-1 ~17-4)

100 mg/kg 投与群では、肺の暗色点、脾臓の暗色化、腎臓の淡色化、精巣、精巣上体の萎縮などが、低率に認められた。250 mg/kg 投与群では、死亡例、生存例ともに消瘦、外陰部および眼、口周囲の汚れ、体脂肪の減少が顕著であり、胸腺の萎縮、肺の暗色領域、肝臓の暗色化・萎縮、腺胃の暗色領域、腸管内容の鬱滞、腸間膜リンパ節の萎縮、脾臓の萎縮・暗色化・濾胞の不明瞭化、副腎の腫大、腎臓の腫大、大量の膀胱内尿貯留、精巣・副生殖器官の萎縮、骨髄の暗色化が高率に観察された。40 mg/kg投与群には、特記すべき異常所見は認められなかった。

(4) 器官重量 (Table 19; Appendices 19-1~19-4)

用量依存的な変化として腎臓重量とその比体重値の有意 ($p<0.01$) な増加が 40 および100 mg/kg 投与群に、胸腺重量とその比体重値、肝臓の比体重値の有意 ($p<0.01$) な増加ならびに精巣上体重量とその比体重値の有意 ($p<0.01$) な低下が 100 mg/kg投与群に認められた。250 mg/kg 投与群の生存例1例では、低体重であることと関連して測定器官の重量は全て対照群の平均値を下回った。比体重値では胸腺、肝臓、腎臓の比体重値が高値を示したが、精巣および精巣上体の比体重値は対照群と比較して低値であった。

(5) 病理組織学的検査所見 (Table 22; Appendices 22-1 ~22-4)

各器官における観察所見の概要を以下に示す。

(脳)

微細な出血が、250 mg/kg 投与群の死亡例1例にみられたほかには異常所見はなかった。

(胸腺)

250 mg/kg 投与群の死亡例12例に萎縮がみられた。100 mg/kg 投与群の1例ではリンパ球の崩壊像が散在していた。

(心臓)

対照群において心筋変性、心筋線維化が各1例にみられたほか、100 mg/kg 投与群の1

例に右心室の肥大が認められた。

(肝臓)

250 mg/kg 投与群の死亡例12例では、肝細胞が萎縮しており、死亡例 5 例、生存例 1 例において Kupffer細胞に色素沈着が認められた。100 mg/kg 投与群では、ごく軽度の巣状壊死および出血が各 1 例にみられた。小肉芽腫は、250 mg/kg 投与群において、小葉周辺性の脂肪化は、各被験物質投与群において軽減する傾向を示した。

(脾臓)

濾胞の萎縮が、250 mg/kg 投与群の全例に、うっ血が 100および 250 mg/kg投与群の各 1 例にみられた。このほか、色素沈着、髄外造血が各投与群にみられたが、250 mg/kg 投与群では色素沈着の程度がやや強く、髄外造血は対照群に比して有意 ($p<0.01$) に軽度であった。

(腎臓)

250 mg/kg 投与群では、死亡例において尿円柱の形成、尿細管腔の拡張、細菌の集塊、好中球の浸潤などがみられたほか、腎乳頭の壊死が 2 例の死亡例に認められた (Photo 3)。一方、40および 100 mg/kg投与群では、全例の腎で近位尿細管上皮細胞内に好酸性で球状を呈する滴状物が認められ (Photo 2)、100 mg/kg 投与群において程度が著しかったが、同様の変化は、250 mg/kg 投与群では死亡例 2 例にみられたにすぎなかった。また、eosinophilicbodyの頻度および程度は、40および 100 mg/kg投与群において有意 ($p<0.01$) に増強したが、250 mg/kg 投与群では対照群 (Photo 1)よりも軽度であった。再生尿細管は、各被験物質投与群において頻度、程度ともに有意 ($p<0.01$) に増強し、40および 100 mg/kg 投与群の各 4 例では、再生した尿細管の腔内に細胞変性物が認められた。

(副腎)

250 mg/kg 投与群の死亡例 8 例において皮質束状帯細胞の肥大がみられた。

(膀胱)

いずれの投与群においても異常所見は認められなかった。

(精巣)

250 mg/kg 投与群の全例に萎縮がみられた。このうち顕著な例では精細管内に精子形成細胞がみられず、腔内はほぼセルトリ細胞で占有されていた (Photo 4, 5)。同様の変化は、100 mg/kg 投与群の 1 例にも認められ、ごく軽度の変化は 40 mg/kg 投与群の 1 例にもみられた。

(精巣上体)

精巣に明らかな萎縮がみられた例において腔内の精子の減少が認められた。

(頸髄)

250 mg/kg 投与群の死亡例 2 例、生存例 1 例および 100 mg/kg 投与群の 2 例の薄束に変性した神経線維がみられた (Photo 6)。なお、ごく軽度の変化は対照群の 1 例にも認められた。

(腰髄)

100 mg/kg 投与群の 1 例の背索にごく少数の変性した神経線維がみられた。

(坐骨神経)

250 mg/kg 投与群の全例に変性した神経線維がみられ、100 mg/kg 投与群の 9 例にもごく軽度の変性が認められた (Photo 7)。

(骨格筋)

筋線維のびまん性の萎縮が、250 mg/kg 投与群の死亡例 10 例、生存例 1 例にみられた。また、250 mg/kg 投与群の死亡例 9 例、生存例 1 例、100 mg/kg 投与群の 4 例および対照群の 1 例において神経線維に変性がみられた。

(肺)

右心室に肥大がみられた 100 mg/kg 投与群の 1 例について観察したところ、4 か所に好中球の浸潤、肺泡マクロファージの増加を伴う出血巣が認められ、他の部位の肺胞内に泡沫細胞の集簇がみられたほか、骨化生が認められた。

B. 雌〔解剖日：哺育 4 日、全児死亡日、妊娠 25 日相当日（全胚吸収および不妊例）〕

(1) 剖検所見 (Table 18; Appendices 18-1 ~18-4)

100 mg/kg 投与群では、肝臓の暗色化が比較的高率に、250 mg/kg 投与群では、肺の暗色領域、肝臓の暗色化、腸管内容の鬱滞、脾臓の暗色化、副腎の腫大、卵巣の萎縮、骨髄の暗色化などが高率に観察された。40 mg/kg 投与群には、特記すべき異常所見は認められなかった。

(2) 器官重量

a) 哺育 4 日解剖例 (Table 20; Appendices 20-1~20-4)

胸腺重量とその比体重値が、40 mg/kg 投与群において有意 ($p < 0.01$) な高値を示した。

b) 不妊例、全児死亡例、全胚吸収例、除外例 (Table 21)

100 mg/kg 投与群では、胸腺重量とその比体重値が高値となる傾向がみられた。250 mg/kg 投与群の胸腺重量には対照群 (Table 20) と比較して著しい差は認められなかった。肝臓重量は、100 mg/kg 以上の投与群で低下傾向を示し、腎臓重量は 100 mg/kg 投与群で増加傾向、250 mg/kg 投与群で低下傾向を示した。

(3) 病理組織学的所見 (Tables 23-1~23-6; Appendices 23-1~23-4)

雌全例の所見を Table 23-1 に、各経過別に分けた所見を Table 23-2 ~23-6 に示した。

各器官における観察所見の概要を以下に示す。

(脳)

側脳室の拡張が、250 mg/kg 投与群の 1 例にみられた。

(胸腺)

対照群の全例および 250 mg/kg 投与群の約半数例では胸腺が萎縮していたが、頻度、程度は、250 mg/kg 投与群において有意 ($p < 0.05$) に軽減した。40 mg/kg 投与群では軽度の萎縮が 2 例にみられたにすぎず、100 mg/kg 投与群の雌に萎縮は認められなかった。250 mg/kg 投与群の 1 例では、出血と色素沈着が認められた。

(心臓)

いずれの投与群においても異常所見は認められなかった。

(肝臓)

肝細胞の萎縮が、250 mg/kg 投与群の 3 例に、巣状壊死が 100 および 250 mg/kg 投与群の各 1 例に認められた。小肉芽腫の形成は、対照群を含む各投与群に認められたが、頻度および程度に差はみられなかった。

(脾臓)

濾胞の萎縮が、250 mg/kg 投与群の 2 例にみられた。このほか、赤脾髄の色素沈着、髄外造血が各投与群にみられたが、100 および 250 mg/kg 投与群では色素沈着の頻度、程度が有意 ($p < 0.01$) に増強し、髄外造血の頻度、程度は、各被験物質投与群において有意 ($p < 0.05, 0.01$) に軽減した。

(腎臓)

各投与群に再生尿細管がみられたが、100 mg/kg 投与群では頻度が高く、250 mg/kg 投与群では頻度、程度ともに増強する傾向がみられた (Photos 8, 9)。また、250 mg/kg 投

与群では8例で腎乳頭の毛細血管内に血小板の凝集がみられ、6例において腎乳頭間質に間質細胞の変性物と思われる好酸性の小塊が認められた (Photo 10)。このほか、100 および 250 mg/kg投与群の各1例で再生尿細管の腔内に細胞変性物がみられ、石灰沈着、腎盂の拡張が100 mg/kg 投与群の各1例に認められた。

(副腎)

250 mg/kg 投与群の1例に皮質束状帯細胞の肥大がみられたほか、対照群の1例に広範囲にわたる皮質の壊死が認められた。

(膀胱)

いずれの投与群においても異常所見は認められなかった。

(卵巣)

未交尾あるいは不妊例の卵巣を観察した結果、40 mg/kg投与群の1例に黄体嚢胞、250 mg/kg 投与群の1例に卵胞性嚢胞、6例に閉鎖卵胞の増加、1例に黄体嚢胞がみられた。

(頸髄および腰髄)

250 mg/kg 投与群の2例において頸髄薄束および腰髄背索に神経線維の変性がみられた。

(坐骨神経)

250 mg/kg 投与群の11例に神経線維の変性がみられた。

(骨格筋)

筋線維のびまん性の萎縮が、250 mg/kg 投与群の1例にみられたほか、神経線維の変性が250 mg/kg投与群の9例に認められた。

II. 生殖発生毒性

1. 生殖学的検査所見

1) 交配成績 (Table 24; Appendices 24-1~24-4)

250 mg/kg 投与群では、交尾率が著しく低下し、13組中2組でしか交尾が成立しなかった。また、交尾した2例の雌のいずれにも胚の着床はみられなかった。100 mg/kg 以下の投与群および対照群では、全例で交尾が成立し、同居開始から交尾成立までに要した日数にも対照群と各被験物質投与群との間で有意差は認められなかった。しかし、胚の着床は100 mg/kg 投与群では2例にしかみられず、同投与群では受胎率が著しく低下した。40 mg/kg 投与群の受胎率には、対照群と比較して有意差は認められなかった。

2) 分娩および哺育状態

対照群では13例全例、40 mg/kg投与群では12例中10例の妊娠雌が児を分娩したが、いずれの雌においても分娩状態に異常があった証拠は得られなかった。哺育状態についても生児1例を分娩した40 mg/kg投与群の雌1例で分娩当日に児が死亡したほかには、異常を示唆する所見は認められなかった。なお、40 mg/kg投与群の2例、100 mg/kg投与群の2例の妊娠雌は、いずれも早期全胚吸収例であり、これらの雌では必然的に分娩はみられなかった。

3) 黄体数、着床数および着床率 (Table 25; Appendices 25-1~25-4)

対照群と40 mg/kg投与群の妊娠黄体数、着床数および着床率に有意差は認められなかった。100 mg/kg投与群の早期全胚吸収例2例では、妊娠黄体数、着床数が対照群の平均値と比較して明らかに少なく、着床率も顕著に低下した。

4) 出産率および妊娠期間 (Table 25; Appendices 25-1~25-4)

対照群と40 mg/kg投与群の出産率および妊娠期間に有意差は認められなかった。

2. 出生児所見

1) 生存性 (Table 25; Appendices 25-1~25-4)

40 mg/kg投与群では、産児数および出产生児数が有意 ($p < 0.01$) に減少し、児の分娩率 $[(\text{産児数} / \text{着床痕数}) \times 100]$ および出生率 $[(\text{出产生児数} / \text{着床痕数}) \times 100]$ も有意 ($p < 0.01$) に低下した。しかし、新生児に死亡はみられず、哺育0日および4日の生存率には、対照群と比較して有意差は認められなかった。

2) 体重 (Table 26; Appendices 26-1~26-4)

40 mg/kg投与群の児の体重は、哺育0日および4日のいずれにおいても対照群と比較して有意 ($p < 0.01$) に高値であった。

3) 形態 (Tables 27, 28)

哺育0日の外表観察、死亡児および哺育4日における全新生児の剖検において被験物質の投与に起因したと推定される外表および内臓の異常は認められなかった。

以上の試験成績から、Trimethyl Phosphate の 250 mg/kg は、雌雄ラットに対し、摂餌量、体重増加を抑制し、脊髄および末梢神経線維の変性、骨格筋線維のびまん性の萎縮を来して後肢の麻痺を主とする神経症状を惹起するほか、腎乳頭、尿細管上皮細胞の障害ならびに胸腺、肝臓および精巣の萎縮をもたらす、雄に高度の、雌に軽度の致死性を示す中毒量であることが示唆された。100 mg/kg は、250 mg/kg と同質で相対的に軽度の毒性を示す毒性発現量であり、雄ではこれらの量の投与によって赤血球数、血色素量およびヘマトクリット値の減少、血漿ブドウ糖濃度の低下、血漿中へのタンパク質、脂質の動員、血漿コリンエステラーゼ活性、カルシウムおよびナトリウム濃度の上昇を生じることが明らかであった。有機リン系の化合物は、一般に抗コリンエステラーゼ活性を有するものが多く、血漿コリンエステラーゼ活性を逆に上昇させるものについての報告はほとんどない。なお、本化合物の 0.5% 混餌による 9 週間投与では、雄ラットにおいて腎臓重量の増加、精巣重量の低下があり、GOT および GPT 活性の低下がみられるものの血漿コリンエステラーゼ活性には有意な変化が認められなかったことが報告⁷⁾されているが、本試験結果との差異は、投与量および投与方法の相違に起因するものと考えられる。40 mg/kg の投与では、雄で A/G 比の低下、コリンエステラーゼ活性、総コレステロールおよびカルシウム濃度の上昇があり、腎尿細管上皮細胞の障害も認められたほか、1 例に軽度の精巣萎縮があり、軽度に精巣毒性を示す可能性が示唆されたが、脊髄および末梢神経に病変はなく、神経毒性は発現しなかった。また、雌では、胸腺の萎縮がなく、胸腺重量が相対的に高値を示したほかに被験物質との関連を示唆する変化はみられなかった。本化合物の投与で雌ラットに発現した毒性変化は、雄と比較していずれの用量においても頻度・程度ともに軽度であり、本化合物は雌より雄に対して明らかに強い毒性を示すと推察される。本化合物には、雌ラットに対する癌原性の証拠がないが³⁾、このことにも、このような性差が関与している可能性が高いと考えられる。一方、生殖・発生毒性に関しては、250 mg/kg の投与で交尾率、100 mg/kg の投与で受胎率、着床率が低下し、40 mg/kg の投与で胚の子宮内生存性の低下がみられた。本化合物については、すでに 100 または 250 mg/kg の反復投与（5 回/週）で雄ラットの妊孕性を低下させることが報告⁵⁾されており、本試験結果はこのことを追認したものとみなせる。また、マウスでは、500 mg/kg の 5 回反復投与で優性致死作用を示し、初期胚の子宮内生存性を低下させることが報告⁶⁾されており、本化合物

の優性致死作用は、ラットではより低い用量で発現する可能性が示唆された。なお、40 mg/kg 投与群の新生児の体重は、対照群に比して有意に高値であったが、外表および内臓にはなんら異常はみられなかったことから、この量に催奇形作用がある可能性は低いと考えられる。

本試験条件下では、Trimethyl Phosphate の反復投与毒性および生殖発生毒性に関する無毒性量は、雌雄ともにいずれも 40 mg/kg/day を下回る量と推定される。

文 献

- 1) Connor T.H., Mutat. Res. 65:121-131 (1979)
- 2) Deichmann W.B. and S. Witherup, J. Pharm. Exp. Ther. 88: 338-342 (1946)
- 3) Bioassay of trimethylphosphate for possible carcinogenicity, National Cancer Institute, Technical Report Series No. 81 (NIH) (1978)
- 4) Jones A.R. and H. Jackson, Br. J. Pharm. 37: 531-532 (1969)
- 5) Jackson H. and A.R. Jones, Nature (London) 220: 591-592 (1968)
- 6) Harbison R.D., D. Dwivedi and M.A. Evans, Toxicol. Appl. Pharmacol. 35: 481-490 (1976)
- 7) Oishi H., S. Oishi and K. Hiraga, Toxicol. Lett. (AMST) 13: 29-34 (1982)

Table 1
Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl phosphate

Summary of clinical signs of F₀ males

Clinical signs	Dose groups (mg/kg)	Number of treated animals	Number of animals with clinical signs Day of treatment					
			0- 6	7-13	14-20	21-27	28-34	35-41
Decrease in motor activity	Vehicle control	13	0	0	0	0	0	0
	40	13	0	0	0	0	0	0
	100	13	0	0	0	0	0	0
	250	13	0	10	13	13	8	4
Neck twitching	Vehicle control	13	0	0	0	0	0	0
	40	13	0	0	0	0	0	0
	100	13	0	0	0	0	0	0
	250	13	0	3	0	0	0	0
Paralytic gait	Vehicle control	13	0	0	0	0	0	0
	40	13	0	0	0	0	0	0
	100	13	0	0	0	0	0	0
	250	13	0	5	10	13	8	4
Recumbent posture	Vehicle control	13	0	0	0	0	0	0
	40	13	0	0	0	0	0	0
	100	13	0	0	0	0	0	0
	250	13	0	0	1	3	3	1
Piloerection	Vehicle control	13	0	0	0	0	0	0
	40	13	0	0	0	0	0	0
	100	13	0	0	0	0	0	0
	250	13	0	0	0	3	5	3
Decrease in fecal volume	Vehicle control	13	0	0	0	0	0	0
	40	13	0	0	0	0	0	0
	100	13	0	0	0	0	0	0
	250	13	0	0	0	2	6	3
Soiled perineal region	Vehicle control	13	0	0	0	0	0	0
	40	13	0	0	0	0	0	0
	100	13	0	0	0	0	0	0
	250	13	0	3	4	5	6	2
Ptosis	Vehicle control	13	0	0	0	0	0	0
	40	13	0	0	0	0	0	0
	100	13	0	0	0	0	0	0
	250	13	0	0	1	5	5	3
Subnormal temperature	Vehicle control	13	0	0	0	0	0	0
	40	13	0	0	0	0	0	0
	100	13	0	0	0	0	0	0
	250	13	0	0	0	1	3	1

Vehicle control: Distilled water

Table 1 (continued)
Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl phosphate

Summary of clinical signs of P₀ males

Clinical signs	Dose groups (mg/kg)	Number of treated animals	Number of animals with clinical signs					
			Day of treatment					
			0- 6	7-13	14-20	21-27	28-34	35-41
Penile haemorrhage	Vehicle control	13	0	0	0	0	0	0
	40	13	0	0	0	0	0	0
	100	13	0	0	0	0	0	0
	250	13	0	0	0	0	1	0
Sedation	Vehicle control	13	0	0	0	0	0	0
	40	13	0	0	0	0	0	0
	100	13	0	0	0	0	0	0
	250	13	0	0	0	1	1	1
Loss of locomotor activity	Vehicle control	13	0	0	0	0	0	0
	40	13	0	0	0	0	0	0
	100	13	0	0	0	0	0	0
	250	13	0	0	1	1	1	0
Eyelid closure	Vehicle control	13	0	0	0	0	0	0
	40	13	0	0	0	0	0	0
	100	13	0	0	0	0	0	0
	250	13	0	0	1	1	0	0
Wasting	Vehicle control	13	0	0	0	0	0	0
	40	13	0	0	0	0	0	0
	100	13	0	0	0	0	0	0
	250	13	0	0	1	2	0	1
Chromodacryorrhea	Vehicle control	13	0	0	0	0	0	0
	40	13	0	0	0	0	0	0
	100	13	0	0	0	0	0	0
	250	13	1	0	0	0	0	0
Anemic	Vehicle control	13	0	0	0	0	0	0
	40	13	0	0	0	0	0	0
	100	13	0	0	0	0	0	0
	250	13	0	0	0	0	1	0
Cumulative number of death	Vehicle control	13	0	0	0	0	0	0
	40	13	0	0	0	0	0	0
	100	13	0	0	0	0	0	0
	250	13	0	0	0	4	9	12

Vehicle control: Distilled water

Table 2
Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl phosphate

Summary of clinical signs of F₀ females

Clinical signs	Dose groups (mg/kg)	Number of treated animals	Number of animals with clinical signs						
			Day of treatment						
			0- 6	7-13	14-20	21-27	28-34	35-41	42- 47
Decrease in motor activity	Vehicle control	13	0	0	0	0	0	0	0
	40	13	0	0	0	0	0	0	0
	100	13	0	0	0	0	0	0	0
	250	13	0	7	13	13	2	1 ^a	1 ^a
Neck twitching	Vehicle control	13	0	0	0	0	0	0	0
	40	13	0	0	0	0	0	0	0
	100	13	0	0	0	0	0	0	0
	250	13	0	1	0	0	0	0	0
Paralytic gait	Vehicle control	13	0	0	0	0	0	0	0
	40	13	0	0	0	0	0	0	0
	100	13	0	0	0	0	0	0	0
	250	13	0	0	1	4	1	1 ^a	1 ^a
Recumbent posture	Vehicle control	13	0	0	0	0	0	0	0
	40	13	0	0	0	0	0	0	0
	100	13	0	0	0	0	0	0	0
	250	13	0	0	0	0	1	0	0
Piloerection	Vehicle control	13	0	0	0	0	0	0	0
	40	13	0	0	0	0	0	0	0
	100	13	0	0	0	0	0	0	0
	250	13	0	1	0	0	0	0	0
Decrease in fecal volume	Vehicle control	13	0	0	0	0	0	0	0
	40	13	0	0	0	0	0	0	0
	100	13	0	0	0	0	0	0	0
	250	13	0	0	0	0	1	0	0
Soiled perineal region	Vehicle control	13	0	0	0	0	0	0	0
	40	13	0	0	0	0	0	0	0
	100	13	0	0	0	0	0	0	0
	250	13	0	0	1	1	0	0	0
Ptosis	Vehicle control	13	0	0	0	0	0	0	0
	40	13	0	0	0	0	0	0	0
	100	13	0	0	0	0	0	0	0
	250	13	0	0	1	1	1	0	0

Vehicle control: Distilled water

a: Non-pregnant

Table 2 (Continued)
Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl phosphate

Summary of clinical signs of P₀ females

Clinical signs	Dose groups (mg/kg)	Number of treated animals	Number of animals with clinical signs						
			Day of treatment						
			0- 6	7-13	14-20	21-27	28-34	35-41	42- 47
Subnormal temperature	Vehicle control	13	0	0	0	0	0	0	0
	40	13	0	0	0	0	0	0	0
	100	13	0	0	0	0	0	0	0
	250	13	0	0	0	0	1	0	0
Sedation	Vehicle control	13	0	0	0	0	0	0	0
	40	13	0	0	0	0	0	0	0
	100	13	0	0	0	0	0	0	0
	250	13	0	1	0	0	0	0	0
Loss of locomotor activity	Vehicle control	13	0	0	0	0	0	0	0
	40	13	0	0	0	0	0	0	0
	100	13	0	0	0	0	0	0	0
	250	13	0	0	0	0	1	0	0
Eyelid closure	Vehicle control	13	0	0	0	0	0	0	0
	40	13	0	0	0	0	0	0	0
	100	13	0	0	0	0	0	0	0
	250	13	0	0	1	1	1	0	0
Epidermal scab	Vehicle control	13	0	0	0	0	0	0	0
	40	13	0	0	0	0	0	0	0
	100	13	0	0	0	0	0	0	0
	250	13	1	2	2	0	0	0	0
Chromodacryorrhea	Vehicle control	13	0	0	0	0	0	0	0
	40	13	0	0	0	0	0	0	0
	100	13	0	0	1	2	1	0	0
	250	13	0	1	1	1	1	0	0
Dry eye	Vehicle control	13	0	0	0	0	0	0	0
	40	13	0	0	0	0	0	0	0
	100	13	0	0	0	0	0	0	0
	250	13	0	1	1	1	1	0	0
Cumulative number of death	Vehicle control	13	0	0	0	0	0	0	0
	40	13	0	0	0	0	0	0	0
	100	13	0	0	0	0	0	0	0
	250	13	0	0	0	0	1	1	1

Vehicle control: Distilled water

Table 3

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl Phosphate in rats

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

Compounds		Vehicle control	Trimethyl Phosphate	Trimethyl Phosphate	Trimethyl Phosphate
Dose groups (mg/kg)		0	40	100	250
Treatment Week					
0	(Init. wt.)	304.8 $\pm$ 12.4 (13)	303.5 $\pm$ 8.9 (13)	303.8 $\pm$ 10.1 (13)	304.4 $\pm$ 10.7 (13)
1		351.8 $\pm$ 15.1 (13)	352.9 $\pm$ 12.8 (13)	343.7 $\pm$ 15.6 (13)	333.8 $\pm$ 14.3** (13)
2		386.6 $\pm$ 21.3 (13)	386.1 $\pm$ 20.5 (13)	378.2 $\pm$ 20.0 (13)	324.8 $\pm$ 27.7** (13)
3		413.2 $\pm$ 29.9 (13)	410.1 $\pm$ 20.9 (13)	402.2 $\pm$ 24.6 (13)	269.6 $\pm$ 42.0** (13)
4		439.3 $\pm$ 34.5 (13)	437.7 $\pm$ 23.2 (13)	431.7 $\pm$ 29.6 (13)	234.0 $\pm$ 35.3** (8)
5		461.3 $\pm$ 39.8 (13)	460.4 $\pm$ 26.2 (13)	452.0 $\pm$ 29.1 (13)	216.3 $\pm$ 33.4** (4)
6		479.7 $\pm$ 48.7 (13)	480.7 $\pm$ 27.2 (13)	468.8 $\pm$ 28.8 (13)	244.8 (1)

Vehicle control : Distilled water

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

Table 4

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl Phosphate in rats

Body weight gain data of F₀ males in the treatment period (g); Mean±S.D.(N)

Compounds	Vehicle control	Trimethyl Phosphate	Trimethyl Phosphate	Trimethyl Phosphate
Dose groups (mg/kg)	0	40	100	250
Treatment Week				
0~ 1	46.9 ± 8.2 (13)	49.4 ± 8.8 (13)	40.0 ± 7.8 (13)	29.5 ± 8.8**(13)
1~ 2	34.8 ± 7.3 (13)	33.2 ± 9.1 (13)	34.5 ± 6.0 (13)	-9.0 ± 33.5**(13)
2~ 3	26.6 ± 11.0 (13)	24.0 ± 5.0 (13)	24.0 ± 7.6 (13)	-55.3 ± 22.1**(13)
3~ 4	26.1 ± 7.5 (13)	27.6 ± 4.5 (13)	29.5 ± 9.2 (13)	-58.7 ± 11.3**(8)
4~ 5	22.1 ± 9.2 (13)	22.7 ± 6.5 (13)	20.3 ± 6.6 (13)	-38.3 ± 19.2* (4)
5~ 6	18.4 ± 13.2 (13)	20.3 ± 8.5 (13)	16.8 ± 6.5 (13)	-8.8 (1)

Vehicle control : Distilled water

* : Significant difference from control, p<0.05

** : Significant difference from control, p<0.01

Table 5

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl Phosphate in rats

Body weight of F₀ females in the pre-mating period (g); Mean±S.D.(N)

Compounds	Vehicle control	Trimethyl Phosphate	Trimethyl Phosphate	Trimethyl Phosphate
Dose groups (mg/kg)	0	40	100	250
Pre-mating Week				
0 (Init. wt.)	212.4 ± 8.1 (13)	212.7 ± 10.1 (13)	213.0 ± 8.7 (13)	213.8 ± 11.0 (13)
1	229.4 ± 10.6 (13)	228.9 ± 10.7 (13)	228.5 ± 9.2 (13)	226.6 ± 12.1 (13)
2	247.0 ± 11.6 (13)	244.4 ± 13.1 (13)	246.7 ± 10.9 (13)	237.4 ± 9.3 (13)

Vehicle control : Distilled water

Table 6

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl Phosphate in rats

Body weight gain data of F₀ females in the pre-mating period (g); Mean±S.D.(N)

Compounds	Vehicle control	Trimethyl Phosphate	Trimethyl Phosphate	Trimethyl Phosphate
Dose groups (mg/kg)	0	40	100	250
Pre-mating Week				
0~ 1	17.0 ± 5.6 (13)	16.2 ± 3.9 (13)	15.5 ± 6.8 (13)	12.8 ± 7.1 (13)
1~ 2	17.6 ± 5.0 (13)	15.5 ± 4.8 (13)	18.2 ± 4.4 (13)	10.8 ± 6.6** (13)

Vehicle control : Distilled water

** : Significant difference from control, p<0.01

Table 7

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl Phosphate in rats

Body weight of F₀ females in the pregnant period (g); Mean ± S.D.(N)

Compounds	Vehicle control	Trimethyl Phosphate	Trimethyl Phosphate	Trimethyl Phosphate
Dose groups (mg/kg)	0	40	100	250
Pregnant Day				
0	256.3 ± 15.5 (13)	253.0 ± 15.7 (12)	253.7 (2)	a)
7	290.4 ± 15.6 (13)	286.3 ± 14.3 (12)	296.5 (2)	
14	327.9 ± 19.5 (13)	316.0 ± 15.6 (12)	322.1 (2)	
20	404.2 ± 24.4 (13)	357.2 ± 26.9** (12)	319.5 (2)	

Vehicle control : Distilled water

** : Significant difference from control, p<0.01

a): All animals receiving 250 mg/kg performed non-copulation or non-pregnancy

Table 8

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl Phosphate in rats

Body weight gain data of F₀ females in the pregnant period (g); Mean±S.D.(N)

Compounds	Vehicle control	Trimethyl Phosphate	Trimethyl Phosphate	Trimethyl Phosphate
Dose groups (mg/kg)	0	40	100	250
Pregnant Day				
0~ 7	34.2 ± 9.4 (13)	33.3 ± 9.3 (12)	42.8 (2)	a)
7~ 14	37.5 ± 5.8 (13)	29.6 ± 8.6* (12)	25.6 (2)	
14~ 20	76.3 ± 9.4 (13)	41.3 ± 21.2** (12)	-2.6 (2)	

Vehicle control : Distilled water

* : Significant difference from control, p<0.05

** : Significant difference from control, p<0.01

a): All animals receiving 250 mg/kg performed non-copulation or non-pregnancy

Table 9

me

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl Phosphate in rats

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

Compounds	Vehicle control	Trimethyl Phosphate	Trimethyl Phosphate	Trimethyl Phosphate
Dose groups (mg/kg)	0	40	100	250
Post partum Day				
0	277.2 $\pm$ 19.9 (13)	295.4 $\pm$ 20.9* (10)	a)	a)
4	307.8 $\pm$ 18.6 (13)	317.4 $\pm$ 11.6 (9)		

Vehicle control : Distilled water

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

a): No animals showed parturition

Table 10

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl Phosphate in rats

Body weight gain data of F₀ females in the lactation period (g); Mean $\pm$ S.D.(N)

Compounds	Vehicle control	Trimethyl Phosphate	Trimethyl Phosphate	Trimethyl Phosphate
Dose groups (mg/kg)	0	40	100	250
Post partum Day				
0~ 4	30.6 $\pm$ 15.7 (13)	23.8 $\pm$ 14.6 (9)	a)	a)

Vehicle control : Distilled water

a): No animals showed parturition

Table 11

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl Phosphate in rats

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

Compounds	Vehicle control	Trimethyl Phosphate	Trimethyl Phosphate	Trimethyl Phosphate
Dose groups (mg/kg)	0	40	100	250
Treatment Week				
1	204.6 $\pm$ 16.6 (13)a)	206.3 $\pm$ 10.7 (13)	193.8 $\pm$ 15.1 (13)	183.4 $\pm$ 14.9**(13)
2	202.5 $\pm$ 20.3 (13)	199.8 $\pm$ 16.7 (13)	194.8 $\pm$ 15.2 (13)	160.5 $\pm$ 41.1**(13)
5	196.1 $\pm$ 24.3 (13)	196.3 $\pm$ 16.1 (13)	195.5 $\pm$ 17.1 (13)	58.3 $\pm$ 35.1**(4)
6	193.3 $\pm$ 26.2 (13)	193.0 $\pm$ 16.1 (13)	189.7 $\pm$ 14.4 (13)	98.9 (1)

Vehicle control : Distilled water

a): Total consumption for a week

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

Table 12

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl Phosphate in rats

Food consumption of F₀ females in the pre-mating period (g); Mean $\pm$ S.D.(N)

Compounds	Vehicle control	Trimethyl Phosphate	Trimethyl Phosphate	Trimethyl Phosphate
Dose groups (mg/kg)	0	40	100	250
Pre-mating Week				
1	142.6 $\pm$ 8.8 (13)a)	144.8 $\pm$ 12.1 (13)	139.5 $\pm$ 10.8 (13)	140.8 $\pm$ 10.2 (13)
2	147.7 $\pm$ 11.8 (13)	146.3 $\pm$ 14.0 (13)	148.5 $\pm$ 13.4 (13)	145.4 $\pm$ 11.4 (13)

Vehicle control : Distilled water

a): Total consumption for a week

Table 13

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl Phosphate in rats

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

Compounds	Vehicle control	Trimethyl Phosphate	Trimethyl Phosphate	Trimethyl Phosphate
Dose groups (mg/kg)	0	40	100	250
Pregnant Day				
0 ~ 7	177.8 $\pm$ 14.2 (13)	171.8 $\pm$ 18.1 (12)	202.0 (2)	a)
7 ~ 14	192.0 $\pm$ 19.5 (13)	181.7 $\pm$ 18.7 (12)	207.2 (2)	
14 ~ 20	157.0 $\pm$ 10.8 (13)	146.8 $\pm$ 14.5 (12)	142.0 (2)	

Vehicle control : Distilled water

a): All animals receiving 250 mg/kg performed non-copulation or non-pregnancy

Table 14

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl Phosphate in rats

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

Compounds	Vehicle control	Trimethyl Phosphate	Trimethyl Phosphate	Trimethyl Phosphate
Dose groups (mg/kg)	0	40	100	250
Post partum Day				
0~ 4	117.2 $\pm$ 33.0 (13)	125.7 $\pm$ 23.2 (9)	a)	a)

Vehicle control : Distilled water
a): No animals showed parturition

Table 15

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl Phosphate in rats

Summary of hematological findings of F0 males ; Mean $\pm$ S.D. (N)

Dose	RBC	Hemoglobin	Hematocrit	MCV	MCH	MCHC			
(mg/kg)	($\times 10^4/\text{mm}^3$)	(g/dl)	(%)	(μm^3)	(pg)	(%)			
Control	(13) 781 ± 37	(13) 14.5 ± 0.5	(13) 42.7 ± 1.5	(13) 54.7 ± 1.4	(13) 18.6 ± 0.5	(13) 34.1 ± 0.4			
40	(12) 768 ± 34	(12) 14.2 ± 0.5	(12) 41.4 ± 1.7	(12) 53.9 ± 1.3	(12) 18.5 ± 0.5	(12) 34.3 ± 0.4			
100	(13) 739** ± 24	(13) 13.7** ± 0.4	(13) 40.0** ± 1.1	(13) 54.1 ± 1.3	(13) 18.5 ± 0.4	(13) 34.3 ± 0.3			
250	(1) 702	(1) 13.2	(1) 37.6	(1) 53.5	(1) 18.8	(1) 35.1			

Dose	WBC	Band neutrophil	Segmented neutrophil	Eosinophil	Basophil	Monocyte	Lymphocyte	Platelet
(mg/kg)	($\times 100/\text{mm}^3$)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	($\times 10^4/\text{mm}^3$)
Control	(13) 96 ± 29	(13) 0 ± 0	(13) 8 ± 4	(13) 2 ± 3	(13) 0 ± 0	(13) 2 ± 1	(13) 88 ± 6	(13) 100.3 ± 6.7
40	(12) 96 ± 28	(12) 0 ± 0	(12) 9 ± 4	(12) 2 ± 2	(12) 0 ± 0	(12) 1 ± 2	(12) 88 ± 4	(12) 105.9 ± 7.2
100	(13) 82 ± 28	(13) 0 ± 0	(13) 16* ± 8	(13) 2 ± 3	(13) 0 ± 0	(13) 3 ± 3	(13) 79 ± 11	(13) 114.5** ± 10.8
250	(1) 104	(1) 0	(1) 52	(1) 0	(1) 0	(1) 8	(1) 40	(1) 106.4

*:Significantly different from control $p < 0.05$ **:Significantly different from control $p < 0.01$

Table 16

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl Phosphate in rats

Summary of biochemical findings of F0 males ; Mean±S.D. (N)

Dose	Total protein	Albumin	A/G	BUN	Creatinine	Glucose	Total cholesterol	GPT	GOT
(mg/kg)	(g/dl)	(g/dl)		(mg/dl)	(mg/dl)	(mg/dl)	(mg/dl)	(U/l)	(U/l)
Control	(13) 5.6 ±0.3	(13) 3.0 ±0.2	(13) 1.17 ±0.13	(13) 26 ±2	(13) 0.7 ±0.1	(13) 203 ±19	(13) 56 ±9	(13) 35 ±7	(13) 57 ±6
40	(12) 5.8 ±0.2	(12) 3.0 ±0.1	(12) 1.07* ±0.07	(12) 25 ±2	(12) 0.7 ±0.0	(12) 190 ±15	(12) 70* ±13	(12) 31 ±6	(12) 55 ±8
100	(13) 6.1** ±0.3	(13) 3.1 ±0.2	(13) 1.02** ±0.10	(13) 25 ±4	(13) 0.8 ±0.1	(13) 183** ±11	(13) 75** ±16	(13) 35 ±9	(13) 61 ±15
250	(1) 6.3	(1) 2.8	(1) 0.80	(1) 16	(1) 0.5	(1) 152	(1) 145	(1) 36	(1) 63

Dose	ChE	Total bilirubin	γ-GTP	ALP	Inorg. Phos.	Ca	Na	K	Cl
(mg/kg)	(U/l)	(mg/dl)	(U/l)	(U/l)	(mg/dl)	(mg/dl)	(mEq/l)	(mEq/l)	(mEq/l)
Control	(13) 288 ±47	(13) 0.05 ±0.02	(13) 0 ±0	(13) 358 ±86	(13) 5.6 ±0.8	(13) 8.9 ±0.4	(13) 140.2 ±0.5	(13) 4.26 ±0.24	(13) 100.7 ±1.5
40	(12) 340* ±42	(12) 0.04 ±0.02	(12) 0 ±0	(12) 407 ±71	(12) 6.0 ±0.7	(12) 9.3* ±0.2	(12) 140.9 ±0.7	(12) 4.44 ±0.16	(12) 100.1 ±1.5
100	(13) 422** ±93	(13) 0.06 ±0.02	(13) 0 ±0	(13) 349 ±104	(13) 6.0 ±0.5	(13) 9.5** ±0.3	(13) 141.8** ±1.3	(13) 4.22 ±0.25	(13) 101.4 ±2.4
250	(1) 485	(1) 0.11	(1) 1	(1) 354	(1) 7.0	(1) 9.2	(1) 142.8	(1) 4.19	(1) 105.3

*:Significantly different from control p<0.05
**:Significantly different from control p<0.01

Table 17

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl Phosphate in rats

Summary of macroscopic findings in Fo males

Group Grade	Control		40 mg/kg		100 mg/kg		250 mg/kg	
	-	+	-	+	-	+	-	+
(General)	[13]		[13]		[13]		[13]	
emaciation	13	0	13	0	13	0	7	6
pale colored organ	13	0	13	0	13	0	12	1
(Adipose tissue)	[13]		[13]		[13]		[13]	
decrease	13	0	13	0	12	1	6	7
(Thymus)	[13]		[13]		[13]		[13]	
small	13	0	13	0	13	0	0	13
dark color	13	0	13	0	12	1	13	0
dark colored area	13	0	13	0	13	0	13	0
enlargement	13	0	13	0	13	0	13	0
(Heart)	[13]		[13]		[13]		[13]	
dilated left ventricle	13	0	13	0	13	0	11	2
dark colored area	13	0	13	0	13	0	12	1
blood clot in ventricle	13	0	13	0	13	0	12	1
(Aorta)	[13]		[13]		[13]		[13]	
thin wall	13	0	13	0	13	0	12	1
(Lung)	[13]		[13]		[13]		[13]	
dark colored spot	13	0	13	0	9	4	13	0
dark colored area	13	0	13	0	13	0	2	11
dark color	13	0	12	1	12	1	12	1
insufficient retraction	13	0	13	0	13	0	11	2
(Esophagus)	[13]		[13]		[13]		[13]	
containing food	13	0	13	0	13	0	12	1
(Trachea)	[13]		[13]		[13]		[13]	
foamy fluid in the lumen	13	0	13	0	13	0	12	1
(Liver)	[13]		[13]		[13]		[13]	
dark color	13	0	12	1	11	2	3	10
pale color	12	1	13	0	12	1	13	0
pale colored spot	13	0	13	0	13	0	13	0
adhesion	13	0	13	0	13	0	13	0
accentuated lobular pattern	10	3	13	0	13	0	13	0
enlargement	13	0	12	1	11	2	13	0
small	13	0	13	0	13	0	9	4
abnormal lobulation	13	0	13	0	12	1	13	0

-, Negative; +, Positive

[], Number of animals examined

Table 17 (continued)

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl Phosphate in rats

Summary of macroscopic findings in Fo males

Group Grade	Control		40 mg/kg		100 mg/kg		250 mg/kg	
	-	+	-	+	-	+	-	+
(Glandular stomach)	[13]		[13]		[13]		[13]	
dark colored spot	13	0	13	0	13	0	12	1
dark colored area	13	0	13	0	13	0	9	4
hematin	13	0	13	0	13	0	10	3
thin wall	13	0	13	0	13	0	12	1
containing food	13	0	13	0	13	0	12	1
ulcer	13	0	13	0	13	0	12	1
(Intestine)	[13]		[13]		[13]		[13]	
accumulation of gas	13	0	13	0	13	0	10	3
stagnation of stool	13	0	13	0	13	0	3	10
dark colored content	13	0	13	0	13	0	11	2
enlargement	13	0	13	0	13	0	12	1
dark colored area	13	0	13	0	13	0	12	1
dark colored mucosa	13	0	13	0	13	0	12	1
(Mesenteric lymph node)	[13]		[13]		[13]		[13]	
small	13	0	13	0	13	0	5	8
(Spleen)	[13]		[13]		[13]		[13]	
small	13	0	13	0	11	2	3	10
dark color	13	0	13	0	10	3	8	5
indistinct follicle	13	0	13	0	11	2	6	7
(Pancreas)	[13]		[13]		[13]		[13]	
pale color	13	0	13	0	13	0	13	0
(Adrenal)	[13]		[13]		[13]		[13]	
enlargement	13	0	13	0	13	0	2	11
dark color	13	0	13	0	13	0	11	2
(Kidney)	[13]		[13]		[13]		[13]	
pale color	13	0	13	0	10	3	12	1
dark color	13	0	13	0	12	1	12	1
enlargement	13	0	12	1	11	2	6	7
dilatation of pelvis	13	0	13	0	13	0	13	0
granular surface/cut surface	13	0	13	0	12	1	8	5
pale colored spot	13	0	11	2	12	1	13	0
decrease of elasticity	13	0	13	0	12	1	13	0
(Urinary bladder)	[13]		[13]		[13]		[13]	
dark colored urine	13	0	13	0	13	0	11	2
increase of urine/enlargement	13	0	12	1	12	1	2	11

-, Negative; +, Positive

[], Number of animals examined

Table 17 (continued)

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl Phosphate in rats

Summary of macroscopic findings in Fo males

Group Grade	Control		40 mg/kg		100 mg/kg		250 mg/kg	
	-	+	-	+	-	+	-	+
(Prostate)	[13]		[13]		[13]		[13]	
small	13	0	13	0	12	1	1	12
(Seminal vesicle)	[13]		[13]		[13]		[13]	
small	13	0	13	0	12	1	0	13
(Testis)	[13]		[13]		[13]		[13]	
small	13	0	12	1	10	3	0	13
decrease of elasticity	13	0	13	0	12	1	9	4
(Epididymis)	[13]		[13]		[13]		[13]	
small	13	0	12	1	10	3	1	12
(Preputial gland)	[13]		[13]		[13]		[13]	
small	13	0	13	0	13	0	11	2
(Bone marrow)	[13]		[13]		[13]		[13]	
dark color	13	0	13	0	12	1	3	10
(Brain/Spinal cord)	[13]		[13]		[13]		[13]	
subarachnoid hemorrhage	13	0	13	0	13	0	8	5
(Pituitary)	[13]		[13]		[13]		[13]	
enlargement	13	0	13	0	13	0	13	0
dark color	13	0	13	0	13	0	7	6
small	13	0	13	0	13	0	12	1
(Skin)	[13]		[13]		[13]		[13]	
thin	13	0	13	0	13	0	9	4
dry	13	0	13	0	13	0	11	2
soiled	13	0	13	0	13	0	3	10
(Mammary gland)	[13]		[13]		[13]		[13]	
enlargement	13	0	13	0	13	0	13	0
small	13	0	13	0	13	0	12	1
(Sciatic nerve)	[13]		[13]		[13]		[13]	
thin	13	0	13	0	13	0	12	1
(Skeletal muscle)	[13]		[13]		[13]		[13]	
thin	13	0	13	0	12	1	7	6
decrease of elasticity	13	0	13	0	13	0	9	4
hemorrhage	13	0	13	0	13	0	12	1

-, Negative; +, Positive

[], Number of animals examined

Table 18
Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl Phosphate in rats

Summary of macroscopic findings in Fo females

Group Grade	Control		40 mg/kg		100 mg/kg		250 mg/kg	
	-	+	-	+	-	+	-	+
(General)	[13]		[13]		[13]		[13]	
emaciation	13	0	13	0	13	0	11	2
pale colored organ	13	0	13	0	13	0	13	0
(Adipose tissue)	[13]		[13]		[13]		[13]	
decrease	13	0	13	0	13	0	10	3
(Thymus)	[13]		[13]		[13]		[13]	
small	7	6	13	0	13	0	10	3
dark color	13	0	13	0	13	0	13	0
dark colored area	13	0	13	0	13	0	12	1
enlargement	13	0	13	0	13	0	11	2
(Heart)	[13]		[13]		[13]		[13]	
dilated left ventricle	13	0	13	0	12	1	11	2
dark colored area	13	0	13	0	13	0	13	0
blood clot in ventricle	13	0	13	0	13	0	13	0
(Aorta)	[13]		[13]		[13]		[13]	
thin wall	13	0	13	0	13	0	13	0
(Lung)	[13]		[13]		[13]		[13]	
dark colored spot	12	1	13	0	13	0	13	0
dark colored area	13	0	13	0	13	0	9	4
dark color	13	0	13	0	13	0	12	1
insufficient retraction	13	0	13	0	13	0	13	0
(Esophagus)	[13]		[13]		[13]		[13]	
containing food	13	0	13	0	13	0	13	0
(Trachea)	[13]		[13]		[13]		[13]	
foamy fluid in the lumen	13	0	13	0	13	0	13	0
(Liver)	[13]		[13]		[13]		[13]	
dark color	13	0	11	2	8	5	7	6
pale color	12	1	13	0	13	0	13	0
pale colored spot	12	1	13	0	13	0	13	0
adhesion	13	0	13	0	12	1	13	0
accentuated lobular pattern	13	0	13	0	13	0	13	0
enlargement	13	0	13	0	13	0	13	0
small	13	0	13	0	13	0	13	0
abnormal lobulation	13	0	13	0	13	0	13	0

-, Negative; +, Positive

[], Number of animals examined

Table 18 (continued)

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl Phosphate in rats

Summary of macroscopic findings in Fo females

Group	Control		40 mg/kg		100 mg/kg		250 mg/kg	
Grade	-	+	-	+	-	+	-	+
(Glandular stomach)	[13]		[13]		[13]		[13]	
dark colored spot	12	1	13	0	13	0	13	0
dark colored area	13	0	13	0	13	0	13	0
hematin	13	0	13	0	13	0	12	1
thin wall	13	0	13	0	13	0	13	0
containing food	13	0	13	0	13	0	13	0
ulcer	13	0	13	0	13	0	13	0
(Intestine)	[13]		[13]		[13]		[13]	
accumulation of gas	13	0	13	0	13	0	12	1
stagnation of stool	13	0	13	0	13	0	9	4
dark colored content	13	0	13	0	13	0	13	0
enlargement	13	0	13	0	13	0	13	0
dark colored area	13	0	13	0	13	0	13	0
dark colored mucosa	13	0	13	0	13	0	13	0
(Mesenteric lymph node)	[13]		[13]		[13]		[13]	
small	13	0	13	0	13	0	11	2
(Spleen)	[13]		[13]		[13]		[13]	
small	13	0	13	0	13	0	11	2
dark color	13	0	13	0	13	0	9	4
indistinct follicle	13	0	13	0	13	0	12	1
(Pancreas)	[13]		[13]		[13]		[13]	
pale color	13	0	13	0	13	0	12	1
(Adrenal)	[13]		[13]		[13]		[13]	
enlargement	11	2	13	0	13	0	7	6
dark color	13	0	13	0	13	0	13	0
(Ovary)	[13]		[13]		[13]		[13]	
small	13	0	13	0	13	0	4	9
pale color	13	0	13	0	13	0	11	2
(Uterus)	[13]		[13]		[13]		[13]	
small	13	0	13	0	13	0	12	1
(Kidney)	[13]		[13]		[13]		[13]	
pale color	13	0	10	3	11	2	12	1
dark color	13	0	13	0	13	0	12	1
enlargement	13	0	13	0	13	0	12	1
dilatation of pelvis	13	0	13	0	12	1	13	0
granular surface/cut surface	13	0	13	0	13	0	12	1
pale colored spot	13	0	13	0	13	0	13	0
decrease of elasticity	13	0	13	0	13	0	13	0

-, Negative; +, Positive

[], Number of animals examined

Table 18 (continued)

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl Phosphate in rats

Summary of macroscopic findings in Fo females

Group	Control		40 mg/kg		100 mg/kg		250 mg/kg	
Grade	-	+	-	+	-	+	-	+
(Urinary bladder)	[13]		[13]		[13]		[13]	
dark colored urine	13	0	13	0	13	0	12	1
increase of urine/enlargement	13	0	13	0	13	0	10	3
(Bone marrow)	[13]		[13]		[13]		[13]	
dark color	13	0	13	0	10	3	8	5
(Brain/Spinal cord)	[13]		[13]		[13]		[13]	
subarachnoid hemorrhage	13	0	13	0	13	0	12	1
(Pituitary)	[13]		[13]		[13]		[13]	
enlargement	13	0	13	0	13	0	12	1
dark color	13	0	13	0	13	0	12	1
small	13	0	13	0	13	0	13	0
(Skin)	[13]		[13]		[13]		[13]	
thin	13	0	13	0	13	0	12	1
dry	13	0	13	0	13	0	13	0
soiled	13	0	13	0	13	0	13	0
(Mammary gland)	[13]		[13]		[13]		[13]	
enlargement	12	1	13	0	13	0	13	0
small	13	0	13	0	13	0	13	0
(Sciatic nerve)	[13]		[13]		[13]		[13]	
thin	13	0	13	0	13	0	13	0
(Skeletal muscle)	[13]		[13]		[13]		[13]	
thin	13	0	13	0	13	0	11	2
decrease of elasticity	13	0	13	0	13	0	12	1
hemorrhage	13	0	13	0	13	0	13	0

-, Negative; +, Positive

[], Number of animals examined

Table 19

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl Phosphate in rats

Absolute and relative organ weight of males; Mean $\pm$ S.D. (N)

Compounds		Vehicle control	Trimethyl Phosphate	Trimethyl Phosphate	Trimethyl Phosphate
Dose groups (mg/kg)		0	40	100	250
Final body weight	(g)	479.7 $\pm$ 48.7 (13)	480.7 $\pm$ 27.2 (13)	468.8 $\pm$ 28.8 (13)	244.8 (1)
Liver	(g)	18.39 $\pm$ 2.72 ^{a)} (13) 3.82 $\pm$ 0.28 ^{b)}	19.62 $\pm$ 2.49 (13) 4.07 $\pm$ 0.36	20.00 $\pm$ 2.02 (13) 4.26 $\pm$ 0.29**	9.91 (1) 4.05
Kidneys	(g)	2.97 $\pm$ 0.32 (13) 0.62 $\pm$ 0.04	3.49 $\pm$ 0.44** (13) 0.73 $\pm$ 0.08**	3.46 $\pm$ 0.34** (13) 0.74 $\pm$ 0.05**	2.87 (1) 1.17
Thymus	(mg)	337.7 $\pm$ 94.2 (13) 69.8 $\pm$ 15.9	409.2 $\pm$ 91.1 (13) 85.6 $\pm$ 20.6	458.7 $\pm$ 116.9** (13) 98.4 $\pm$ 27.2**	222.6 (1) 90.9
Testes	(g)	3.03 $\pm$ 0.19 (13) 0.64 $\pm$ 0.09	3.27 $\pm$ 0.19* (13) 0.68 $\pm$ 0.06	3.07 $\pm$ 0.35 (13) 0.66 $\pm$ 0.08	1.30 (1) 0.53
Epididymis	(g)	1.15 $\pm$ 0.11 (13) 0.24 $\pm$ 0.03	1.08 $\pm$ 0.08 (13) 0.22 $\pm$ 0.02	0.89 $\pm$ 0.07** (13) 0.19 $\pm$ 0.02**	0.50 (1) 0.20

Vehicle control: Distilled water

a): Absolute weight

b): Relative weight (g or mg per 100g body weight)

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

Table 20

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl Phosphate in rats

Absolute and relative organ weight of females; Mean $\pm$ S.D. (N)

Compounds		Vehicle control	Trimethyl Phosphate	Trimethyl Phosphate	Trimethyl Phosphate
Dose groups (mg/kg)		0	40	100	250
Final body weight	(g)	307.8 $\pm$ 18.6 (13)	317.4 $\pm$ 11.6 (9)	c)	c)
Liver	(g)	13.23 $\pm$ 1.66 ^{a)} (13) 4.29 $\pm$ 0.40 ^{b)}	13.19 $\pm$ 0.92 (9) 4.15 $\pm$ 0.24		
Kidneys	(g)	2.01 $\pm$ 0.22 (13) 0.65 $\pm$ 0.06	2.13 $\pm$ 0.15 (9) 0.67 $\pm$ 0.04		
Thymus	(mg)	138.1 $\pm$ 70.2 (13) 44.7 $\pm$ 22.3	261.9 $\pm$ 51.2** (9) 82.5 $\pm$ 15.4**		

Vehicle control: Distilled water

a): Absolute weight

b): Relative weight (g or mg per 100g body weight)

c): No animals showed parturition

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

Table 21

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl Phosphate in rats

Absolute and relative organ weight of F₀ females ; Organ weight of animals, which sacrificed on the way of test period

Origin of dissection	Dose groups (mg/kg)	Animal no.	Final body weight (g)	Liver		Kidneys		Thymus	
				Absolute (g)	Relative	Absolute (g)	Relative	Absolute (mg)	Relative
Not copulated									
	250	FB04001 a)	258.8	11.51	4.45	2.02	0.78	286.2	110.6
		FB04002	258.3	11.62	4.50	2.18	0.84	330.9	128.1
		FB04004	181.7	6.97	3.84	1.88	1.03	152.0	83.7
		FB04005	236.8	9.09	3.84	1.81	0.76	294.3	124.3
		FB04006	167.9	7.19	4.28	1.65	0.98	202.3	120.5
		FB04008	164.8	7.42	4.50	1.72	1.04	110.5	67.1
		FB04009	213.4	9.11	4.27	1.76	0.82	281.4	131.9
		FB04010	246.2	10.52	4.27	1.95	0.79	306.6	124.5
		FB04011	237.6	10.09	4.25	1.82	0.77	342.6	144.2
		FB04012	223.8	9.52	4.25	1.76	0.79	240.1	107.3
		FB04013	235.1	10.39	4.42	2.08	0.88	299.0	127.2
Not pregnant									
	40	FB02005	308.1	11.59	3.76	2.08	0.68	410.5	133.2
	100	FB03001	263.0	9.83	3.74	1.83	0.70	330.5	125.7
		FB03003	318.5	12.64	3.97	2.18	0.68	482.0	151.3
		FB03004	308.6	10.28	3.33	1.91	0.62	292.9	94.9
		FB03005	316.0	13.07	4.14	2.28	0.72	408.6	129.3
		FB03006	298.9	12.43	4.16	1.89	0.63	445.6	149.1
		FB03008	278.8	10.77	3.86	2.29	0.82	346.3	124.2
		FB03009	314.3	12.87	4.09	2.25	0.72	336.0	106.9
		FB03010	350.2	14.29	4.08	2.39	0.68	399.6	114.1
		FB03011	315.6	11.92	3.78	1.97	0.62	414.0	131.2
		FB03012	278.0	10.75	3.87	2.15	0.77	342.6	123.2
		FB03013	286.2	11.62	4.06	2.01	0.70	333.3	116.5
	250	FB04007	237.4	11.83	4.98	2.37	1.00	204.0	85.9
Total implantation loss									
	40	FB02003	307.0	10.94	3.56	1.90	0.62	310.4	101.1
		FB02011	349.7	13.08	3.74	2.26	0.65	276.3	79.0
	100	FB03002	301.0	12.36	4.11	2.19	0.73	339.3	112.7
		FB03007	320.8	11.42	3.56	2.20	0.69	444.1	138.4
Total litter loss									
	40	FB02013	306.8	10.05	3.28	1.90	0.62	234.4	76.4

Relative: g or mg per 100g body weight

a) Identification no. : sex- course- group no., individual no.

Table 22

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl Phosphate in rats

Summary of histopathological findings in Fo males

Group Grade	Control					40 mg/kg					100 mg/kg					250 mg/kg				
	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
(Thymus)	[13]					[13]					[13]					[13]				
atrophy	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	1	1	0	10**
destruction of lymphocyte	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	12	0	1	0	0	13	0	0	0	0
hemorrhage	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0
deposit of pigment	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0
(Liver)	[13]					[13]					[13]					[13]				
atrophy of hepatocyte	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	1	1	3	8 0**
focal necrosis	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	12	1	0	0	0	13	0	0	0	0
deposit of pigment																				
in Kupffer cell	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	7	6	0	0	0
fatty change																				
in peripheral zone	10	1	2	0	0	12	1	0	0	0	12	0	1	0	0	13	0	0	0	0
microgranuloma	1	12	0	0	0	3	10	0	0	0	3	10	0	0	0	12	1	0	0	0**
hemorrhage	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	12	0	1	0	0	13	0	0	0	0
(Kidney)	[13]					[13]					[13]					[13]				
eosinophilic droplet																				
in tubular epithelium	12	1	0	0	0	0	0	5	8	0**	0	0	0	13	0**	11	0	1	1	0
cell debris																				
in the tubular lumen	13	0	0	0	0	9	0	4	0	0	9	0	4	0	0	13	0	0	0	0
cast in the tubular lumen	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	12	0	1	0	0	11	0	1	1	0
regenerated tubule	7	6	0	0	0	0	1	5	7	0**	0	1	6	6	0**	1	1	7	4	0**
eosinophilic body	8	2	3	0	0	0	0	1	12	0**	0	0	2	11	0**	12	0	0	1	0
dilatation of tubule	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	7	1	5	0	0
infiltration of neutrophil	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	11	0	2	0	0
aggregation of platelets																				
in capillary of papilla	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0
debris in																				
papillary interstitium	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0
papillary necrosis	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	11	1	1	0	0
aggregation of bacteria	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	12	0	1	0	0
calcification	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0
dilatation of pelvis	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0
(Adrenal)	[13]					[13]					[13]					[13]				
hypertrophy of cortical cell	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	5	0	8	0	0**
necrosis in cortex	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe

[], Number of animals examined

Significantly different from control by Mann-Whitney U test, *p<0.05; **p<0.01

Table 22 (continued)

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl Phosphate in rats

Summary of histopathological findings in Fo males

Group Grade	Control					40 mg/kg					100 mg/kg					250 mg/kg				
	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
(Brain)	[12]					[12]					[13]					[13]				
hemorrhage	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	13	0	0	0	0	12	1	0	0	0
dilatation of lateral ventricle	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0
(Heart)	[13]					[13]					[13]					[13]				
myocardial fibrosis	12	1	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0
myocardial degeneration	12	1	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0
hypertrophy of right ventricle	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	12	0	0	1	0	13	0	0	0	0
(Spleen)	[13]					[13]					[13]					[13]				
atrophy of follicle	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	0	4	0	9**
congestion	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	12	0	1	0	0	12	0	0	1	0
deposit of pigment	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	9	4	0
extramedullary hematopoiesis	0	4	9	0	0	0	6	7	0	0	0	0	13	0	0	9	3	1	0	0**
(Urinary bladder)	[12]					[13]					[13]					[13]				
abnormality	12	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0
(Testis)	[13]					[13]					[13]					[13]				
atrophy	13	0	0	0	0	12	1	0	0	0	12	0	0	1	0	0	0	0	7	6**
(Epididymis)	[13]					[13]					[13]					[13]				
decreased number of sperm	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	12	0	0	1	0	0	0	0	1	12**
(Cervical cord)	[12]					[12]					[12]					[10]				
degeneration of nerve fiber in fasciculus gracilis	11	1	0	0	0	12	0	0	0	0	10	1	1	0	0	7	0	3	0	0
(Lumbar cord)	[11]					[12]					[10]					[13]				
degeneration of nerve fiber in dorsal funicle	11	0	0	0	0	12	0	0	0	0	9	1	0	0	0	13	0	0	0	0
(Skeletal muscle)	[13]					[13]					[13]					[12]				
atrophy of myofiber	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	1	1	10	0	0**
degeneration of nerve fiber	12	1	0	0	0	13	0	0	0	0	9	4	0	0	0	2	0	9	1	0**
(Sciatic nerve)	[13]					[13]					[13]					[12]				
degeneration of nerve fiber	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	4	9	0	0	0**	0	2	9	1	0**
(Lung)	[0]					[0]					[1]					[0]				
hemorrhage											0	0	1	0	0					
infiltration of neutrophil											0	0	1	0	0					
increased alveolar macrophage											0	0	1	0	0					
accumulation of foamy cell											0	0	1	0	0					
osseous metaplasia											0	0	1	0	0					

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe

[], Number of animals examined

Significantly different from control by Mann-Whitney U test, *p<0.05; **p<0.01

Table 23-1

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl Phosphate in rats

Summary of histopathological findings in Fo females

Group Grade	Control					40 mg/kg					100 mg/kg					250 mg/kg				
	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
(Thymus)	[13]					[13]					[13]					[13]				
atrophy	0	3	3	7	0	11	1	1	0	0**	13	0	0	0	0**	6	2	3	1	1*
destruction of lymphocyte	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0
hemorrhage	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	12	0	1	0	0
deposit of pigment	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	12	1	0	0	0
(Liver)	[13]					[13]					[13]					[13]				
atrophy of hepatocyte	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	10	0	2	1	0
single cell necrosis	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0
focal necrosis	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	12	1	0	0	0	12	0	1	0	0
deposit of pigment																				
in Kupffer cell	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0
fatty change																				
in peripheral zone	11	0	1	1	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0
microgranuloma	9	4	0	0	0	6	7	0	0	0	7	6	0	0	0	8	4	1	0	0
hemorrhage	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0
(Kidney)	[13]					[13]					[13]					[13]				
eosinophilic droplet																				
in tubular epithelium	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0
cell debris																				
in the tubular lumen	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	12	1	0	0	0	12	1	0	0	0
cast in the tubular lumen	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0
regenerated tubule	12	1	0	0	0	12	1	0	0	0	6	7	0	0	0	8	0	3	2	0
eosinophilic body	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0
dilatation of tubule	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0
infiltration of neutrophil	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0
aggregation of platelets																				
in capillary of papilla	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	5	1	5	2	0**
debris in																				
papillary interstitium	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	7	1	5	0	0
papillary necrosis	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0
aggregation of bacteria	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0
calcification	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	12	0	1	0	0	13	0	0	0	0
dilatation of pelvis	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	12	0	0	1	0	13	0	0	0	0
(Adrenal)	[13]					[13]					[13]					[13]				
hypertrophy of cortical cell	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	12	0	1	0	0
necrosis in cortex	12	0	0	1	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe

[], Number of animals examined

*p<0.05; **p<0.01

Table 23-1 (continued)

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl Phosphate in rats

Summary of histopathological findings in Fo females

Group Grade	Control					40 mg/kg					100 mg/kg					250 mg/kg				
	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
(Brain)	[13]					[13]					[13]					[13]				
hemorrhage	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0
dilatation of lateral ventricle	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	12	0	1	0	0
(Heart)	[13]					[13]					[13]					[13]				
myocardial fibrosis	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0
myocardial degeneration	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0
hypertrophy of right ventricle	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0
(Spleen)	[13]					[13]					[13]					[13]				
atrophy of follicle	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	11	0	1	0	1
congestion	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0
deposit of pigment	0	0	13	0	0	0	0	11	2	0	0	0	4	9	0**	0	0	4	9	0**
extramedullary hematopoiesis	0	0	2	11	0	0	1	7	5	0*	0	10	3	0	0**	1	8	4	0	0**
(Urinary bladder)	[13]					[12]					[13]					[13]				
abnormality	13	0	0	0	0	12	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0
(Cervical cord)	[13]					[12]					[13]					[11]				
degeneration of nerve fiber in fasciculus gracilis	13	0	0	0	0	12	0	0	0	0	13	0	0	0	0	9	1	1	0	0
(Lumbar cord)	[12]					[12]					[13]					[13]				
degeneration of nerve fiber in dorsal funicle	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	13	0	0	0	0	11	2	0	0	0
(Skeletal muscle)	[13]					[13]					[13]					[13]				
atrophy of myofiber	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	12	0	1	0	0
degeneration of nerve fiber	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	4	4	5	0	0**
(Sciatic nerve)	[13]					[13]					[13]					[13]				
degeneration of nerve fiber	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	2	3	8	0	0**
(Ovary)	[0]					[1]					[13]					[13]				
follicular cyst						1	0	0	0	0	13	0	0	0	0	12	0	1	0	0
increase of atretic follicle						1	0	0	0	0	13	0	0	0	0	7	1	3	2	0
corpus luteum cyst						0	0	1	0	0	13	0	0	0	0	12	0	1	0	0

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe

[], Number of animals examined

*p<0.05; **p<0.01

Table 23-2

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl Phosphate in rats

Summary of histopathological findings in Fo females (Subjected to autopsy on day 4 of lactation)

Group Grade	Control					40 mg/kg					100 mg/kg					250 mg/kg				
	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
(Thymus)	[13]					[9]					[0]					[0]				
atrophy	0	3	3	7	0	8	0	1	0	0										
destruction of lymphocyte	13	0	0	0	0	9	0	0	0	0										
hemorrhage	13	0	0	0	0	9	0	0	0	0										
deposit of pigment	13	0	0	0	0	9	0	0	0	0										
(Liver)	[13]					[9]					[0]					[0]				
atrophy of hepatocyte	13	0	0	0	0	9	0	0	0	0										
single cell necrosis	13	0	0	0	0	9	0	0	0	0										
focal necrosis	13	0	0	0	0	9	0	0	0	0										
deposit of pigment																				
in Kupffer cell	13	0	0	0	0	9	0	0	0	0										
fatty change																				
in peripheral zone	11	0	1	1	0	9	0	0	0	0										
microgranuloma	9	4	0	0	0	5	4	0	0	0										
hemorrhage	13	0	0	0	0	9	0	0	0	0										
(Kidney)	[13]					[9]					[0]					[0]				
eosinophilic droplet																				
in tubular epithelium	13	0	0	0	0	9	0	0	0	0										
cell debris																				
in the tubular lumen	13	0	0	0	0	9	0	0	0	0										
cast in the tubular lumen	13	0	0	0	0	9	0	0	0	0										
regenerated tubule	12	1	0	0	0	9	0	0	0	0										
eosinophilic body	13	0	0	0	0	9	0	0	0	0										
dilatation of tubule	13	0	0	0	0	9	0	0	0	0										
infiltration of neutrophil	13	0	0	0	0	9	0	0	0	0										
aggregation of platelets																				
in capillary of papilla	13	0	0	0	0	9	0	0	0	0										
debris in																				
papillary interstitium	13	0	0	0	0	9	0	0	0	0										
papillary necrosis	13	0	0	0	0	9	0	0	0	0										
aggregation of bacteria	13	0	0	0	0	9	0	0	0	0										
calcification	13	0	0	0	0	9	0	0	0	0										
dilatation of pelvis	13	0	0	0	0	9	0	0	0	0										
(Adrenal)	[13]					[9]					[0]					[0]				
hypertrophy of cortical cell	13	0	0	0	0	9	0	0	0	0										
necrosis in cortex	12	0	0	1	0	9	0	0	0	0										

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe

[], Number of animals examined

Table 23-2 (continued)

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl Phosphate in rats

Summary of histopathological findings in Fo females (Subjected to autopsy on day 4 of lactation)

Group Grade	Control					40 mg/kg					100 mg/kg					250 mg/kg				
	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
(Brain)	[13]					[9]					[0]					[0]				
hemorrhage	13	0	0	0	0	9	0	0	0	0										
dilatation of																				
lateral ventricle	13	0	0	0	0	9	0	0	0	0										
(Heart)	[13]					[9]					[0]					[0]				
myocardial fibrosis	13	0	0	0	0	9	0	0	0	0										
myocardial degeneration	13	0	0	0	0	9	0	0	0	0										
hypertrophy																				
of right ventricle	13	0	0	0	0	9	0	0	0	0										
(Spleen)	[13]					[9]					[0]					[0]				
atrophy of follicle	13	0	0	0	0	9	0	0	0	0										
congestion	13	0	0	0	0	9	0	0	0	0										
deposit of pigment	0	0	13	0	0	0	0	8	1	0										
extramedullary hematopoiesis	0	0	2	11	0	0	0	4	5	0										
(Urinary bladder)	[13]					[8]					[0]					[0]				
abnormality	13	0	0	0	0	8	0	0	0	0										
(Cervical cord)	[13]					[8]					[0]					[0]				
degeneration of nerve fiber																				
in fasciculus gracilis	13	0	0	0	0	8	0	0	0	0										
(Lumbar cord)	[12]					[8]					[0]					[0]				
degeneration of nerve fiber																				
in dorsal funicle	12	0	0	0	0	8	0	0	0	0										
(Skeletal muscle)	[13]					[9]					[0]					[0]				
atrophy of myofiber	13	0	0	0	0	9	0	0	0	0										
degeneration of nerve fiber	13	0	0	0	0	9	0	0	0	0										
(Sciatic nerve)	[13]					[9]					[0]					[0]				
degeneration of nerve fiber	13	0	0	0	0	9	0	0	0	0										
(Ovary)	[0]					[0]					[0]					[0]				
follicular cyst																				
increase of atretic follicle																				
corpus luteum cyst																				

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe

[], Number of animals examined

Table 23-3

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl Phosphate in rats

Summary of histopathological findings in Fo females (Not pregnant)

Group	Control	40 mg/kg	100 mg/kg	250 mg/kg
Grade	- ± + ++ +++	- ± + ++ +++	- ± + ++ +++	- ± + ++ +++
(Thymus)	[0]	[1]	[11]	[2]
atrophy		1 0 0 0 0	11 0 0 0 0	0 0 1 0 1
destruction of lymphocyte		1 0 0 0 0	11 0 0 0 0	2 0 0 0 0
hemorrhage		1 0 0 0 0	11 0 0 0 0	2 0 0 0 0
deposit of pigment		1 0 0 0 0	11 0 0 0 0	2 0 0 0 0
(Liver)	[0]	[1]	[11]	[2]
atrophy of hepatocyte		1 0 0 0 0	11 0 0 0 0	1 0 0 1 0
single cell necrosis		1 0 0 0 0	11 0 0 0 0	2 0 0 0 0
focal necrosis		1 0 0 0 0	11 0 0 0 0	2 0 0 0 0
deposit of pigment				
in Kupffer cell		1 0 0 0 0	11 0 0 0 0	2 0 0 0 0
fatty change				
in peripheral zone		1 0 0 0 0	11 0 0 0 0	2 0 0 0 0
microgranuloma		0 1 0 0 0	5 6 0 0 0	2 0 0 0 0
hemorrhage		1 0 0 0 0	11 0 0 0 0	2 0 0 0 0
(Kidney)	[0]	[1]	[11]	[2]
eosinophilic droplet				
in tubular epithelium		1 0 0 0 0	11 0 0 0 0	2 0 0 0 0
cell debris				
in the tubular lumen		1 0 0 0 0	10 1 0 0 0	2 0 0 0 0
cast in the tubular lumen		1 0 0 0 0	11 0 0 0 0	2 0 0 0 0
regenerated tubule		0 1 0 0 0	5 6 0 0 0	0 0 1 1 0
eosinophilic body		1 0 0 0 0	11 0 0 0 0	2 0 0 0 0
dilatation of tubule		1 0 0 0 0	11 0 0 0 0	2 0 0 0 0
infiltration of neutrophil		1 0 0 0 0	11 0 0 0 0	2 0 0 0 0
aggregation of platelets				
in capillary of papilla		1 0 0 0 0	11 0 0 0 0	1 0 1 0 0
debris in				
papillary interstitium		1 0 0 0 0	11 0 0 0 0	2 0 0 0 0
papillary necrosis		1 0 0 0 0	11 0 0 0 0	2 0 0 0 0
aggregation of bacteria		1 0 0 0 0	11 0 0 0 0	2 0 0 0 0
calcification		1 0 0 0 0	11 0 0 0 0	2 0 0 0 0
dilatation of pelvis		1 0 0 0 0	10 0 0 1 0	2 0 0 0 0
(Adrenal)	[0]	[1]	[11]	[2]
hypertrophy of cortical cell		1 0 0 0 0	11 0 0 0 0	1 0 1 0 0
necrosis in cortex		1 0 0 0 0	11 0 0 0 0	2 0 0 0 0

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe

[], Number of animals examined

Table 23-3 (continued)

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl Phosphate in rats

Summary of histopathological findings in Fo females (Not pregnant)

Group Grade	Control					40 mg/kg					100 mg/kg					250 mg/kg				
	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
(Brain)	[0]					[1]					[11]					[2]				
hemorrhage						1	0	0	0	0	11	0	0	0	0	2	0	0	0	0
dilatation of lateral ventricle						1	0	0	0	0	11	0	0	0	0	1	0	1	0	0
(Heart)	[0]					[1]					[11]					[2]				
myocardial fibrosis						1	0	0	0	0	11	0	0	0	0	2	0	0	0	0
myocardial degeneration						1	0	0	0	0	11	0	0	0	0	2	0	0	0	0
hypertrophy of right ventricle						1	0	0	0	0	11	0	0	0	0	2	0	0	0	0
(Spleen)	[0]					[1]					[11]					[2]				
atrophy of follicle						1	0	0	0	0	11	0	0	0	0	1	0	0	0	1
congestion						1	0	0	0	0	11	0	0	0	0	2	0	0	0	0
deposit of pigment						0	0	1	0	0	0	0	3	8	0	0	0	0	2	0
extramedullary hematopoiesis						0	0	1	0	0	0	8	3	0	0	1	1	0	0	0
(Urinary bladder)	[0]					[1]					[11]					[2]				
abnormality						1	0	0	0	0	11	0	0	0	0	2	0	0	0	0
(Cervical cord)	[0]					[1]					[11]					[2]				
degeneration of nerve fiber in fasciculus gracilis						1	0	0	0	0	11	0	0	0	0	1	0	1	0	0
(Lumbar cord)	[0]					[1]					[11]					[2]				
degeneration of nerve fiber in dorsal funicle						1	0	0	0	0	11	0	0	0	0	1	1	0	0	0
(Skeletal muscle)	[0]					[1]					[11]					[2]				
atrophy of myofiber						1	0	0	0	0	11	0	0	0	0	1	0	1	0	0
degeneration of nerve fiber						1	0	0	0	0	11	0	0	0	0	0	0	2	0	0
(Sciatic nerve)	[0]					[1]					[11]					[2]				
degeneration of nerve fiber						1	0	0	0	0	11	0	0	0	0	0	0	2	0	0
(Ovary)	[0]					[1]					[11]					[2]				
follicular cyst						1	0	0	0	0	11	0	0	0	0	2	0	0	0	0
increase of atretic follicle						1	0	0	0	0	11	0	0	0	0	0	0	1	1	0
corpus luteum cyst						0	0	1	0	0	11	0	0	0	0	2	0	0	0	0

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe

[], Number of animals examined

Table 23-4

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl Phosphate in rats

Summary of histopathological findings in Fo females (Total implantation loss)

Group Grade	Control					40 mg/kg					100 mg/kg					250 mg/kg				
	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
(Thymus)	[0]					[2]					[2]					[0]				
atrophy						1	1	0	0	0	2	0	0	0	0					
destruction of lymphocyte						2	0	0	0	0	2	0	0	0	0					
hemorrhage						2	0	0	0	0	2	0	0	0	0					
deposit of pigment						2	0	0	0	0	2	0	0	0	0					
(Liver)	[0]					[2]					[2]					[0]				
atrophy of hepatocyte						2	0	0	0	0	2	0	0	0	0					
single cell necrosis						2	0	0	0	0	2	0	0	0	0					
focal necrosis						2	0	0	0	0	1	1	0	0	0					
deposit of pigment																				
in Kupffer cell						2	0	0	0	0	2	0	0	0	0					
fatty change																				
in peripheral zone						2	0	0	0	0	2	0	0	0	0					
microgranuloma						0	2	0	0	0	2	0	0	0	0					
hemorrhage						2	0	0	0	0	2	0	0	0	0					
(Kidney)	[0]					[2]					[2]					[0]				
eosinophilic droplet																				
in tubular epithelium						2	0	0	0	0	2	0	0	0	0					
cell debris																				
in the tubular lumen						2	0	0	0	0	2	0	0	0	0					
cast in the tubular lumen						2	0	0	0	0	2	0	0	0	0					
regenerated tubule						2	0	0	0	0	1	1	0	0	0					
eosinophilic body						2	0	0	0	0	2	0	0	0	0					
dilatation of tubule						2	0	0	0	0	2	0	0	0	0					
infiltration of neutrophil						2	0	0	0	0	2	0	0	0	0					
aggregation of platelets																				
in capillary of papilla						2	0	0	0	0	2	0	0	0	0					
debris in																				
papillary interstitium						2	0	0	0	0	2	0	0	0	0					
papillary necrosis						2	0	0	0	0	2	0	0	0	0					
aggregation of bacteria						2	0	0	0	0	2	0	0	0	0					
calcification						2	0	0	0	0	1	0	1	0	0					
dilatation of pelvis						2	0	0	0	0	2	0	0	0	0					
(Adrenal)	[0]					[2]					[2]					[0]				
hypertrophy of cortical cell						2	0	0	0	0	2	0	0	0	0					
necrosis in cortex						2	0	0	0	0	2	0	0	0	0					

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe

[], Number of animals examined

Table 23-4 (continued)

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl Phosphate in rats

Summary of histopathological findings in Fo females (Total implantation loss)

Group Grade	Control					40 mg/kg					100 mg/kg					250 mg/kg				
	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
(Brain)	[0]					[2]					[2]					[0]				
hemorrhage						2	0	0	0	0	2	0	0	0	0					
dilatation of																				
lateral ventricle						2	0	0	0	0	2	0	0	0	0					
(Heart)	[0]					[2]					[2]					[0]				
myocardial fibrosis						2	0	0	0	0	2	0	0	0	0					
myocardial degeneration						2	0	0	0	0	2	0	0	0	0					
hypertrophy																				
of right ventricle						2	0	0	0	0	2	0	0	0	0					
(Spleen)	[0]					[2]					[2]					[0]				
atrophy of follicle						2	0	0	0	0	2	0	0	0	0					
congestion						2	0	0	0	0	2	0	0	0	0					
deposit of pigment						0	0	1	1	0	0	0	1	1	0					
extramedullary hematopoiesis						0	0	2	0	0	0	2	0	0	0					
(Urinary bladder)	[0]					[2]					[2]					[0]				
abnormality						2	0	0	0	0	2	0	0	0	0					
(Cervical cord)	[0]					[2]					[2]					[0]				
degeneration of nerve fiber																				
in fasciculus gracilis						2	0	0	0	0	2	0	0	0	0					
(Lumbar cord)	[0]					[2]					[2]					[0]				
degeneration of nerve fiber																				
in dorsal funicle						2	0	0	0	0	2	0	0	0	0					
(Skeletal muscle)	[0]					[2]					[2]					[0]				
atrophy of myofiber						2	0	0	0	0	2	0	0	0	0					
degeneration of nerve fiber						2	0	0	0	0	2	0	0	0	0					
(Sciatic nerve)	[0]					[2]					[2]					[0]				
degeneration of nerve fiber						2	0	0	0	0	2	0	0	0	0					
(Ovary)	[0]					[0]					[2]					[0]				
follicular cyst											2	0	0	0	0					
increase of atretic follicle											2	0	0	0	0					
corpus luteum cyst											2	0	0	0	0					

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe

[], Number of animals examined

Table 23-5

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl Phosphate in rats

Summary of histopathological findings in Fo females (Total litter loss)

Group Grade	Control					40 mg/kg					100 mg/kg					250 mg/kg				
	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
(Thymus)	[0]					[1]					[0]					[0]				
atrophy						1	0	0	0	0										
destruction of lymphocyte						1	0	0	0	0										
hemorrhage						1	0	0	0	0										
deposit of pigment						1	0	0	0	0										
(Liver)	[0]					[1]					[0]					[0]				
atrophy of hepatocyte						1	0	0	0	0										
single cell necrosis						1	0	0	0	0										
focal necrosis						1	0	0	0	0										
deposit of pigment																				
in Kupffer cell						1	0	0	0	0										
fatty change																				
in peripheral zone						1	0	0	0	0										
microgranuloma						1	0	0	0	0										
hemorrhage						1	0	0	0	0										
(Kidney)	[0]					[1]					[0]					[0]				
eosinophilic droplet																				
in tubular epithelium						1	0	0	0	0										
cell debris																				
in the tubular lumen						1	0	0	0	0										
cast in the tubular lumen						1	0	0	0	0										
regenerated tubule						1	0	0	0	0										
eosinophilic body						1	0	0	0	0										
dilatation of tubule						1	0	0	0	0										
infiltration of neutrophil						1	0	0	0	0										
aggregation of platelets																				
in capillary of papilla						1	0	0	0	0										
debris in																				
papillary interstitium						1	0	0	0	0										
papillary necrosis						1	0	0	0	0										
aggregation of bacteria						1	0	0	0	0										
calcification						1	0	0	0	0										
dilatation of pelvis						1	0	0	0	0										
(Adrenal)	[0]					[1]					[0]					[0]				
hypertrophy of cortical cell						1	0	0	0	0										
necrosis in cortex						1	0	0	0	0										

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe

[], Number of animals examined

Table 23-5 (continued)

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl Phosphate in rats

Summary of histopathological findings in Fo females (Total litter loss)

Group Grade	Control					40 mg/kg					100 mg/kg					250 mg/kg				
	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
(Brain)	[0]					[1]					[0]					[0]				
hemorrhage						1	0	0	0	0										
dilatation of																				
lateral ventricle						1	0	0	0	0										
(Heart)	[0]					[1]					[0]					[0]				
myocardial fibrosis						1	0	0	0	0										
myocardial degeneration						1	0	0	0	0										
hypertrophy																				
of right ventricle						1	0	0	0	0										
(Spleen)	[0]					[1]					[0]					[0]				
atrophy of follicle						1	0	0	0	0										
congestion						1	0	0	0	0										
deposit of pigment						0	0	1	0	0										
extramedullary hematopoiesis						0	1	0	0	0										
(Urinary bladder)	[0]					[1]					[0]					[0]				
abnormality						1	0	0	0	0										
(Cervical cord)	[0]					[1]					[0]					[0]				
degeneration of nerve fiber																				
in fasciculus gracilis						1	0	0	0	0										
(Lumbar cord)	[0]					[1]					[0]					[0]				
degeneration of nerve fiber																				
in dorsal funicle						1	0	0	0	0										
(Skeletal muscle)	[0]					[1]					[0]					[0]				
atrophy of myofiber						1	0	0	0	0										
degeneration of nerve fiber						1	0	0	0	0										
(Sciatic nerve)	[0]					[1]					[0]					[0]				
degeneration of nerve fiber						1	0	0	0	0										
(Ovary)	[0]					[0]					[0]					[0]				
follicular cyst																				
increase of atretic follicle																				
corpus luteum cyst																				

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe

[], Number of animals examined

Table 23-6

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl Phosphate in rats

Summary of histopathological findings in Fo females (Not copulated)

Group Grade	Control					40 mg/kg					100 mg/kg					250 mg/kg				
	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
(Thymus)	[0]					[0]					[0]					[11]				
atrophy																6	2	2	1	0
destruction of lymphocyte																11	0	0	0	0
hemorrhage																10	0	1	0	0
deposit of pigment																10	1	0	0	0
(Liver)	[0]					[0]					[0]					[11]				
atrophy of hepatocyte																9	0	2	0	0
single cell necrosis																11	0	0	0	0
focal necrosis																10	0	1	0	0
deposit of pigment																				
in Kupffer cell																11	0	0	0	0
fatty change																				
in peripheral zone																11	0	0	0	0
microgranuloma																6	4	1	0	0
hemorrhage																11	0	0	0	0
(Kidney)	[0]					[0]					[0]					[11]				
eosinophilic droplet																				
in tubular epithelium																11	0	0	0	0
cell debris																				
in the tubular lumen																10	1	0	0	0
cast in the tubular lumen																11	0	0	0	0
regenerated tubule																8	0	2	1	0
eosinophilic body																11	0	0	0	0
dilatation of tubule																11	0	0	0	0
infiltration of neutrophil																11	0	0	0	0
aggregation of platelets																11	0	0	0	0
in capillary of papilla																4	1	4	2	0
debris in																				
papillary interstitium																5	1	5	0	0
papillary necrosis																11	0	0	0	0
aggregation of bacteria																11	0	0	0	0
calcification																11	0	0	0	0
dilatation of pelvis																11	0	0	0	0
(Adrenal)	[0]					[0]					[0]					[11]				
hypertrophy of cortical cell																11	0	0	0	0
necrosis in cortex																11	0	0	0	0

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe

[], Number of animals examined

Table 23-6 (continued)

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl Phosphate in rats

Summary of histopathological findings in Fo females (Not copulated)

Group Grade	Control					40 mg/kg					100 mg/kg					250 mg/kg				
	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
(Brain)	[0]					[0]					[0]					[11]				
hemorrhage																11	0	0	0	0
dilatation of lateral ventricle																11	0	0	0	0
(Heart)	[0]					[0]					[0]					[11]				
myocardial fibrosis																11	0	0	0	0
myocardial degeneration																11	0	0	0	0
hypertrophy of right ventricle																11	0	0	0	0
(Spleen)	[0]					[0]					[0]					[11]				
atrophy of follicle																10	0	1	0	0
congestion																11	0	0	0	0
deposit of pigment																0	0	4	7	0
extramedullary hematopoiesis																0	7	4	0	0
(Urinary bladder)	[0]					[0]					[0]					[11]				
abnormality																11	0	0	0	0
(Cervical cord)	[0]					[0]					[0]					[9]				
degeneration of nerve fiber in fasciculus gracilis																8	1	0	0	0
(Lumbar cord)	[0]					[0]					[0]					[11]				
degeneration of nerve fiber in dorsal funicle																10	1	0	0	0
(Skeletal muscle)	[0]					[0]					[0]					[11]				
atrophy of myofiber																11	0	0	0	0
degeneration of nerve fiber																4	4	3	0	0
(Sciatic nerve)	[0]					[0]					[0]					[11]				
degeneration of nerve fiber																2	3	6	0	0
(Ovary)	[0]					[0]					[0]					[11]				
follicular cyst																10	0	1	0	0
increase of atretic follicle																7	1	2	1	0
corpus luteum cyst																10	0	1	0	0

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe

[], Number of animals examined

Table 24

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl Phosphate in rats

Summary of reproductive performance

Compounds	Vehicle control	Trimethyl Phosphate	Trimethyl Phosphate	Trimethyl Phosphate
Dose groups (mg/kg)	0	40	100	250
Number of mated pairs	13	13	13	13
Number of copulated pairs	13	13	13	2 **
Copulation index A)	100.0	100.0	100.0	15.4
Number of pregnant animals	13	12	2 **	0
Fertility index B)	100.0	92.3	15.4	0.0
Pairing days until copulation Mean $\pm$ S.D.	2.8 $\pm$ 1.2	3.4 $\pm$ 2.3	2.2 $\pm$ 1.2	5.0 $\pm$ 4.2
Times of vaginal estrous Mean $\pm$ S.D.	1.0 $\pm$ 0.0	1.2 $\pm$ 0.4	1.0 $\pm$ 0.0	1.0 $\pm$ 0.0

A): Copulation index = (Number of copulated pairs / Number of mated pairs) $\times$ 100 ; %B): Fertility index = (Number of pregnant animals / Number of copulated pairs) $\times$ 100 ; %

Vehicle control: Distilled water

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

Table 25

Combined repeat dose and reproductive/developmental, toxicity screening test of Trimethyl Phosphate in rats

Summary of development of F₁ pups up to day 4 of lactation; Mean $\pm$ S.D.

Compounds	Vehicle control	Trimethyl Phosphate	Trimethyl Phosphate	Trimethyl Phosphate
Dose groups (mg/kg)	0	40	100	250
Number of pregnant females	13	12	2	0
Number of pregnant females with pups alive	13	10	0	
Gestation index A)	100.0	83.3	0.0	
Gestation length in days	21.7 $\pm$ 0.5 (13)	22.2 $\pm$ 0.6 (10)	a)	
Number of corpora lutea	21.2 $\pm$ 3.4 (13)	20.0 $\pm$ 2.0 (12)	13.5	(2)
Number of implantation sites	16.7 $\pm$ 3.6 (13)	16.6 $\pm$ 1.6 (12)	4.0	(2)
Implantation index B)	80.0 $\pm$ 18.7 (13)	83.2 $\pm$ 6.3 (12)	32.5	(2)
Day 0 of lactation				
Number of pups born	14.0 $\pm$ 3.6 (13)	6.4 $\pm$ 4.4 ** (12)	0.0	(2)
Delivery index C)	85.6 $\pm$ 17.5 (13)	38.4 $\pm$ 26.5 ** (12)	0.0	(2)
Number of pups alive	13.4 $\pm$ 3.7 (13)	7.6 $\pm$ 3.8 ** (10)		
Birth index D)	82.3 $\pm$ 19.8 (13)	45.5 $\pm$ 22.8 ** (10)		
Live birth index E)	95.0 $\pm$ 8.1 (13)	90.0 $\pm$ 31.6 (10)		
Sex ratio F)	46.2 $\pm$ 14.2 (13)	49.2 $\pm$ 14.8 (9)		
Day 4 of lactation				
Number of pups alive	12.8 $\pm$ 4.4 (13)	8.4 $\pm$ 2.9 ** (9)		
Viability index G)	92.3 $\pm$ 21.9 (13)	100.0 $\pm$ 0.0 (9)		

Parenthesis indicates the number of litters evaluated

A): Gestation index = (Number of pregnant females with pups alive / Number of pregnant females) $\times$ 100 ; %B): Implantation index = (Number of implantation sites / Number of corpora lutea) $\times$ 100 ; %C): Delivery index = (Number of pups born / Number of implantation sites) $\times$ 100 ; %D): Birth index = (Number of pups alive on Day 0 / Number of implantation sites) $\times$ 100 ; %E): Live birth index = (Number of pups alive on Day 0 / Number of pups born) $\times$ 100 ; %F): Sex ratio = (Number of male pups alive on Day 0 / Number of pups alive on Day 0) $\times$ 100 ; %G): Viability index = (Number of pups alive on Day 4 / Number of pups alive on Day 0) $\times$ 100 ; %

a): No animals showed parturition

Vehicle control: Distilled water

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

Table 26

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl Phosphate in rats

Body weight of F₁ pups up to day 4 of lactation; Mean $\pm$ S.D.

Compounds	Vehicle control	Trimethyl Phosphate	Trimethyl Phosphate	Trimethyl Phosphate
Dose groups (mg/kg)	0	40	100	250
Day 0 (At birth)				
Live litter size	13.4 $\pm$ 3.7 (13)	8.4 $\pm$ 2.9 (9)	a)	a)
Male	6.3 $\pm$ 2.7	4.3 $\pm$ 2.1		
Female	7.1 $\pm$ 2.1	4.1 $\pm$ 1.4		
Pup weight in grams				
Male	6.3 $\pm$ 1.1	7.8 $\pm$ 0.6 **		
Female	5.9 $\pm$ 0.9	7.5 $\pm$ 0.5 **		
Day 4				
Live litter size	12.8 $\pm$ 4.4 (13)	8.4 $\pm$ 2.9 (9)		
Male	6.0 $\pm$ 3.0	4.3 $\pm$ 2.1		
Female	6.8 $\pm$ 2.2	4.1 $\pm$ 1.4		
Pup weight in grams				
Male	9.8 $\pm$ 2.0	12.8 $\pm$ 1.8 **		
Female	8.9 $\pm$ 2.4	12.5 $\pm$ 1.8 **		

Parenthesis indicates the number of litters evaluated

a): No animals showed parturition

Vehicle control: Distilled water

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

Table 27

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl Phosphate in rats

Summary of morphological observation of pups

Compounds	Vehicle control	Trimethyl Phosphate	Trimethyl Phosphate	Trimethyl Phosphate
Dose groups (mg/kg)	0	40	100	250
No. of pups examined				
<u>External observation</u>	167	76	a)	a)
<u>Visceral observation</u>	167	76		
No. of pups showing abnormalities				
<u>External abnormalities</u>	0	0		
<u>Visceral abnormalities</u>				
Major abnormalities	0	0		
Minor abnormalities	0	0		

a): No animals showed parturition

Vehicle control : Distilled water

Table 28

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of Trimethyl Phosphate in rats

Summary of morphological observation of F₁ dead pups

Compounds	Vehicle control	Trimethyl Phosphate	Trimethyl Phosphate	Trimethyl Phosphate
Dose groups (mg/kg)	0	40	100	250
No. of dead pups examined				
<u>External observation</u>	7	0	a)	a)
<u>Visceral observation</u>	5	0		
No. of dead pups showing abnormalities				
<u>External abnormalities</u>	1	-		
<u>Visceral abnormalities</u>				
Major abnormalities	0	-		
Minor abnormalities	0	-		
Types and frequencies (%) of external abnormalities				
proboscis	14.3			
micrognathia	14.3			
astomia	14.3			

a): No animals showed parturition

Vehicle control : Distilled water