

2004年11月 8日

イソチオシアン酸メチルのラットを用いる
反復経口投与毒性・生殖発生毒性併合試験

厚生労働省医薬食品局審査管理課
化学物質安全対策室 委託

財団法人食品薬品安全センター

秦 野 研 究 所

【目 次】

要 約	1
試験目的	3
方 法	4
1. 被験物質	4
2. 使用動物および飼育方法	4
3. 投与検体の調製	5
4. 投与量の設定および投与方法	6
5. 観察および検査	7
6. データ解析法	12
結 果	15
I. 反復投与毒性および回復性試験	15
1. 一般状態	15
2. 詳細な症状観察	15
3. 機能検査	15
4. 体重	15
5. 摂餌量	16
6. 血液学検査	16
7. 血液生化学検査	16
8. 病理学検査	16
II. 生殖発生毒性	20
1. 性周期	20
2. 交配成績	20
3. 分娩および哺育所見	20
4. 黄体数および着床数	20
5. 出生児所見	20
考 察	22

文 献	24
-----------	----

Figures 1~6

Tables 1~33

【要 約】

イソチオシアン酸メチル（以下、ITCM と略記）の、雌雄動物に対する反復投与による影響とその回復性、親動物の生殖・発生および新生児の発育に及ぼす影響を検討するために、0（溶媒対照、コーン油）、0.5、2 および 8 mg/kg の ITCM を雌雄の Sprague-Dawley 系ラット（各 12 匹／群）に反復経口投与した。投与第 3 週から 2 週間を限度として交配させ、雄は交配期間終了 2 週間目に剖検した。雌は交配後、自然分娩させて母動物は哺育 5 日に、出生児は哺育 4 日に剖検した。また、0 および 8 mg/kg 投与群の各雄 5 匹および雌のサテライト群（0 および 8 mg/kg）は 42 日間投与した後、14 日間休薬させて剖検した。

1. 反復投与毒性および回復性試験

死亡および切迫屠殺動物はいずれの群でもみられなかった。ITCM 投与に起因した変化として、投与期間中、2 mg/kg 投与群の雄 1 例および 8 mg/kg 投与群の雌雄で、投与後に一時的な流涎が観察され、8 mg/kg 投与群の雄では体重増加抑制および摂餌量の減少が認められた。

投与期間終了時の血液学検査では、8 mg/kg 投与群の雄で赤血球数および血色素量の増加が認められ、病理学検査では、2 および 8 mg/kg 投与群の雌雄で、肉眼的に前胃粘膜が肥厚あるいは水腫を呈し、組織学的には前胃粘膜に扁平上皮細胞の乳頭状過形成が認められた。

14 日間の休薬により、8 mg/kg 投与群の体重は対照群に比較して有意に増加し、赤血球数および血色素量は対照群と比較して差は認められなかった。一方、前胃粘膜の器質的変化は投与期間終了時に比較して軽減する傾向はみられたものの、完全に回復するには至らなかった。

その他、血液生化学検査および器官重量結果には、ITCM 投与による影響と断定できる変化は認められなかった。また、詳細な症状観察および機能検査でも異常は認められず、神経毒性を示唆する所見はみられなかった。

2. 生殖発生毒性

8 mg/kg 投与群で、分娩／哺育状態の不良がみられ、1 例ではそれによると考えられる全出生児の死亡が認められた。また、哺育 4 日の哺育児数および新生児生存率が低い傾向が認められた。生殖発生毒性に関しては、性周期、交尾率、受胎率、出産率、妊娠期間、黄体数、着床数、着床率、分娩率に被験物質投与の影響は認められなかった。哺育児の観察については、生児出産率、出生率および性比に被験物質投与の影響は認められなかった。また、出生児の体重に変

化は認められず、投与に起因したと考えられる形態異常も認められなかった。

3. 無作用量

以上の結果より、本試験条件下での ITCM の無作用量は以下の通りと推定された。

反復投与毒性に関しては、8 mg/kg 投与群の雄で体重増加抑制および摂餌量の減少がみられ、2 mg/kg 以上の投与群で ITCM の刺激性に起因した流涎および前胃粘膜の器質的変化が認められたことから、雌雄ともに 0.5 mg/kg/day と判断された。また、前胃粘膜の病理所見は 14 日間の休薬で投与期間終了時の変化と比較して軽減する傾向はみられたものの、消失するには至らなかった。

生殖発生毒性に関しては、8 mg/kg 投与群の母動物で分娩／哺育状態の不良がみられたことから、雌では 2 mg/kg/day と判断された。雄および出生児については、8 mg/kg 投与群でも ITCM 投与に起因した影響が認められなかったことから、8 mg/kg/day 以上と判断された。

【試 験 目 的】

イソチオシアン酸メチル（別名 メチルイソチオシアネート）は、化学物質管理促進法（PRTR 法）で第一種指定化学物質に指定される劇物（化審法：2-1687）であるが、一部の野菜の辛味成分として含まれ、土壌燻蒸剤、ジチオカルバメート等のカルバメート系殺虫剤の分解物質として環境中にも存在する物質である^{1~3)}。

今回、OECD 既存化学物質安全性点検等に係る毒性調査の一環として、イソチオシアン酸メチルの安全性確認の資料を得るために、ラットを用いる反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験を行い、親動物に対する反復投与の影響およびその回復性、ならびに新生児の生存性、発育および形態を含む生殖発生に及ぼす影響について検討したので報告する。

本試験は、「OECD 化学物質試験法ガイドライン／反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験法」（1996 年 3 月 22 日）に準拠し、「化学物質 GLP」（平成 12 年 3 月 1 日改正、環保安第 41 号、生衛発第 268 号、平成 12・02・14 基局第 1 号）を遵守して実施した。

【方 法】

1. 被験物質

被験物質として用いたイソチオシアン酸メチル（以下、ITCM と略記）の性状は以下の通りである。

化学名	イソチオシアン酸メチル
別 名	メチルイソチオシアネート
英 名	Methane, isothiocyanato-
CAS No.	556-61-6
分子式	C ₂ H ₃ NS
分子量	73.12
物理化学的性質	性 状 : 黄褐色澄明の液体（強い刺激臭） 凝固点 : 34.4℃ 沸 点 : 119℃ 溶解性 : 水に不溶、エタノールおよびクロロホルムに混和
構造式	CH ₃ -N=C S

本試験には、 から購入した ITCM [ロット番号 、含量 99.8% (GC)、Appendix A] を用いた。被験物質は受領後（被験物質受領日：2002 年 10 月 8 日）使用時まで、被験物質受領保管室において密閉して冷蔵下（実測値：2～8℃）で保管した。また、本試験の投与終了後に残余被験物質を被験物質購入先に送付し、購入先にて再度品質試験を実施し、試験期間中、安定であったことを確認した（Appendix B）。

2. 使用動物および飼育方法

8 週齢の Sprague-Dawley (SD) 系 [Crj:CD (SD) IGS、SPF] の雌雄ラットを、日本チャールス・リバー株式会社厚木飼育センターから購入し、飼育環境への馴化と検疫を兼ねて入荷日を含めて 15 日間予備飼育した。検疫・馴化期間中、毎日一般状態を観察し、入荷日および検疫終了日に体重を測定した。また、雌全例の性周期を入荷翌日から 13 日間観察したほか、検疫期間中に雌雄全例の詳細な症状観察を実施した。その結果、検疫・馴化期間中、全例の一般状態に異常は認められず、体重増加量が少なかった雌 1 例（入荷動物番号 13）以外の動物の体重は順調に増加した。また、4 日間隔以外の性周期を示した動物が 15 例で認められ、詳細な症状観察では雌 1 例（入荷動物番号 66）の左瞳孔が不明瞭であった。群分けは以上の動物全てを除いたほか、検疫終了時（投与開始 2 日前）の測定体重をもとに体重の上位および下位を除いた動物を体重

別層化無作為抽出法により群分けした。投与時の週齢は雌雄とも 10 週齢であった。なお、群分けによって試験系から除外された動物（雄 9 例、雌 35 例）のうち、雄全例、雌 30 例は他の試験あるいは手技検討用に転用し、雌 5 例は微生物モニタリングに供した。

動物入荷日：2003 年 4 月 14 日

入荷匹数：雄 57 匹、雌 93 匹

入荷時体重：雄 257.2～276.8 g（平均 268.1 g）、雌 187.6～208.1 g（平均 197.6 g）

投与開始日：2003 年 4 月 30 日

投与時体重：雄 337.9～426.0 g（平均 380.8 g）、雌 210.2～279.2 g（平均 243.4 g）

群分け後の個体識別は、各動物の尾にフェルトペンで入荷動物番号を付し、各飼育ケージには群ごとに色の異なる動物カードに試験計画番号、動物番号および入荷動物番号を記入した動物カードを掛けた。出生児の個体識別は行わなかった。なお、検疫・馴化期間中の個体識別は各飼育ケージに試験計画番号および入荷動物番号を記入した動物カードを掛けて行った。

全飼育期間を通じ、動物を金属製金網床ケージ（220 w×270 d×190 h mm）に 1 匹ずつ収容し、許容温度 21.0～25.0℃、許容湿度 40.0～75.0%、換気回数約 15 回／時間、照明 12 時間（7 時～19 時点灯）に制御された飼育室（7 号室）で、固形飼料（CE-2、日本クレア株式会社）および水道水（秦野市水道局給水）を自由に摂取させて飼育した。妊娠 18 日（膣栓あるいは精子発見日＝妊娠 0 日）以降の母動物は、ラット用プラスチック製繁殖ケージ（350 w×400 d×180 h mm）に収容し、哺育 4 日（哺育 0 日＝分娩日）まで紙パルプ製チップ（ペパークリーン、日本エスエルシー株式会社）を床敷として供給して飼育した。なお、飼育期間中、飼育室の温湿度の実測値は、それぞれ 21.5～23.5℃、50.0～67.5%であった。また、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ある混入物は認められなかった。

3. 投与検体の調製

被験物質を約 37℃の温水中で融解させた後、秤量して媒体を加え、0.16 w/v%に調製した。これを媒体で段階希釈して 0.04 および 0.01 w/v%溶液を調製した。被験物質が水に不溶で、油に溶解するため、媒体は corn oil（ロット番号 V2E7069、製造元：ナカライテスク株式会社）を選択した。投与検体は冷蔵下に保管した。投与量と被験物質濃度は以下の通りである。

投与量 (mg/kg)	濃度 (w/v%)
0.5	0.01
2	0.04
8	0.16

投与に先立ち、被験物質の 0.01 w/v% 溶液について、秦野研究所で冷蔵条件下における調製後 8 日間の安定性を確認した (Appendix C)。なお、秦野研究所で行った本被験物質の急性毒性試験 (試験計画番号: A-02-028) において、0.1 および 40 w/v% の調製検体について、冷蔵条件下における 8 日間の安定性が確認されている (Appendix D)。これらの結果に基づき、投与検体の調製は投与前 8 日以内に行った。また、2003 年 4 月 28 日に調製した各濃度の調製検体中の被験物質含量を測定し、平均含量が調製指示濃度の 107~108% であり、規定範囲内にあったことを確認した (Appendix E)。なお、投与検体は溶液のため均一性試験は実施しなかった。

調製検体中の被験物質濃度の測定は、各調製検体を 1 mL ずつ採取し、ジクロロメタンで一定量とした後、ジクロロメタンで適宜希釈して試料溶液を調製した。別に、被験物質を必要量秤取し、ジクロロメタンに溶解して標準溶液 (1、2、5 μ g/mL) を調製した。試料溶液および標準溶液をガスクロマトグラフ (GC) 法により測定し、標準溶液から作成した検量線を用いて濃度を求めた。GC 条件を以下に示す。

分析カラム	: Pora PL0T Q (内径 0.53 mm、長さ 10 m、膜厚 20 μ m、CHROMPACK)
昇温条件	: 80°C (1 分間) $\rightarrow$ 20°C/分 $\rightarrow$ 150°C $\rightarrow$ 5°C/分 $\rightarrow$ 165°C $\rightarrow$ 20°C/分 $\rightarrow$ 220°C
キャリアーガス	: ヘリウム (50 kPa)
水素	: 60 kPa
空気	: 50 kPa
注入口温度	: 220°C
検出器温度	: 220°C
試料注入量	: 1 μ L (スプリットレス)

4. 投与量の設定および投与方法

秦野研究所にて実施した本被験物質の反復経口投与毒性・生殖発生毒性併合予備試験 (試験計画番号: R-02-005) の結果、妊娠 14 日から分娩までの投与で、ITCM の 50 mg/kg 投与群は 3 例中 2 例が死亡し、残る 1 例も切迫屠殺に至った。死亡例の剖検結果では、胃漿膜面と腹腔内諸器官との癒着、前胃粘膜の剥離と菲薄化、腹水の貯留が認められ、胸腺は著しく小型化していた。これらの所見から、50 mg/kg 投与群に認められた毒性の原因は、胃に対する本被験物質による刺激に基づくものと考えられた。同様の所見は、程度は軽いものの 25 mg/kg 投与群の 3 例全例、10 mg/kg 投与群の 3 例中 1 例でも認められた。以上の結果から、本試験での投与期間を考慮すると、本被験物質の 10 mg/kg の投与は最大耐量を若干上回るものと考えられた。従って、本試験における高用量群の投与量を 8 mg/kg に設定し、以下、公比 4 で除して中用量を 2

mg/kg、低用量を 0.5 mg/kg に設定した。

動物への投与は、雄では交配前 2 週間から最長 2 週間の交配期間を経て剖検前日に至るまでの連続 42 日間、雌は交配前 2 週間、交尾までの交配期間、妊娠期間および哺育 4 日まで、サテライト群の雌は連続 42 日間、それぞれ毎日 1 回、11 時～13 時 50 分にラット用胃管を用いて強制的に経口投与した。

各群の投与物質、投与量、濃度、投与容量および動物番号は以下の通りである。

群	投与物質	投与量 (mg/kg)	濃度 (w/v%)	投与容量* (mL/kg)	動物番号	
					雄	雌
1	corn oil (媒体)	0	0	5	MX01001～012	FB01001～012
2	ITCM	0.5	0.01	5	MX02001～012	FB02001～012
3	ITCM	2	0.04	5	MX03001～012	FB03001～012
4	ITCM	8	0.16	5	MX04001～012	FB04001～012
5 (サテライト群)	corn oil (媒体)	0	0	5	—	FB05001～005
6 (サテライト群)	ITCM	8	0.16	5	—	FB06001～005

*：雌雄とも最近時の体重をもとに個体別の投与液量を算出した。

回復試験動物として、雄は対照群および高用量群のうち動物番号の大きい各 5 例 (MX01008～MX01012、MX04008～MX04012)、雌はサテライト群の全例を最終投与翌日 (回復 1 日) から 14 日間休薬した。

5. 観察および検査

1) 一般状態の観察

全例について、飼育期間中および回復期間中は毎日 1 回、投与期間中は投与前後の毎日 2 回観察した。

2) 詳細な症状観察

雄の全例について、検疫期間中 (全入荷動物対象)、投与 7、14、21、28、35 および 42 日、回復 7 および 14 日にスコアリング法による詳細な症状観察を行った。雌の全例については、検疫期間中 (全入荷動物対象)、投与 7、14、21、28、35 および 42 日、観察日が分娩中であつた例は哺育 0 日に観察し、その他の分娩例は哺育 0 日から 4 日の間に 1 回観察し、さらに、サテライト群は回復 7 および 14 日に観察した。詳細な症状観察は 11 時～15 時に実施し、まずケージ越しでの観察 (姿勢・体位、自発運動、発声、振戦、痙攣) を行った後、ケージから取り出す際に外表を観察し (取り出し易さ、扱い易さ、心拍動、体温、被毛、皮膚色、可視粘膜、流

涙、眼球突出、瞳孔径、流涎)、作業台上での行動の正常性を観察(姿勢・体位、探索行動、身づくろい、発声、挙尾反応、歩行、常同行動、奇妙な行動、振戦、痙攣、立毛、眼裂)した。

3) 機能検査

雄では、投与 42 日の詳細な症状観察に引き続き、各群の動物番号の若い 5 例および回復観察に供する対照群および高用量群の各 5 例を、また、回復 14 日の詳細な症状観察後に、全例について機能検査を実施した。雌では、分娩例は哺育 4 日に投与期間が近接した各群の動物番号が若い 5 匹を検査した。サテライト群では、投与 42 日および回復 14 日のそれぞれ詳細な症状観察に引き続き、全例の機能検査を実施した。機能検査はプライエル反応、瞳孔反射、視覚定位、驚愕反応、後肢引込み反射、眼瞼(瞬目)反射、正向反射の有無を観察した。

4) 体重測定

雄およびサテライト群は全例について、投与 1 (投与開始日)、7、14、21、28、35 および 42 日、回復 1、7 および 14 日、解剖日(最終投与翌日および回復 15 日)に測定した。雌の母動物は、投与 1、7 および 14 日、交尾確認後は妊娠 0 (交尾確認日)、7、14 および 20 日、分娩後は哺育 0 (分娩日) および 4 日ならびに解剖日に測定した。

5) 摂餌量測定

雄およびサテライト群は全例について、投与 1~2、7~8、14~15、29~30、35~36 および 41~42 日、回復 6~7 および 13~14 日に測定した。雌の母動物は、投与 1~2、7~8 および 14~15 日、交尾確認後は妊娠 0~1、7~8、14~15 および 20~21 日、分娩後は哺育 3~4 日に測定した。

6) 性周期

サテライト群を除く雌全例について、群分け前日までの性周期観察に引き続いて投与開始以降、膣スメア標本を毎日採取し、各動物の同居後交尾が確認されるまで性周期を観察した。性周期は発情期、発情前期および発情休止期に分類した。これらの分類に基づき性周期の型を 4 日あるいは 5 日間隔で発情を回帰するものをそれぞれの周期に、それ以外を不正周期に分類し、投与開始後、4 あるいは 5 日間隔の性周期がそれ以外の性周期に変化した動物の頻度を群毎に算出した。

7) 交配

交配は、サテライト群を除く雌雄全例を2週間投与後（投与15日）の12週齢から、交尾を確認するまで、2週間を限度として同群内の雌雄1:1で連日同居させることにより行った。交尾の確認は、膣スメアの中の精子の存在あるいは膣栓を確認することにより行い、いずれかが確認された日を妊娠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、雌雄同居開始日から交尾確認日までの日数およびその間に回帰した発情期の回数、各群の交尾率 $\left[\frac{\text{交尾動物数}}{\text{交配動物数}} \times 100, \%\right]$ および子宮に着床痕が確認された動物を妊娠例として受胎率 $\left[\frac{\text{妊娠動物数}}{\text{交尾動物数}} \times 100, \%\right]$ を算出した。

8) 分娩・哺育状態の観察

各群とも交尾した雌は全例を自然分娩させて哺育させた。

分娩の確認は、妊娠21日から分娩が確認されるまで毎日行い、午前11時までに分娩が完了した例について、その日を哺育0日とした。分娩状態を直接観察できた例は異常の有無を断続的に観察し、直接観察できなかった例は分娩前後の一般状態および産児の状態から異常の有無を判断した。

分娩した全例の妊娠期間（妊娠0日から分娩日までの日数）を求め、各群の出産率 $\left[\frac{\text{生児出産数}}{\text{妊娠動物数}} \times 100, \%\right]$ を算出した。また、哺育1日から毎日、哺育状態を観察し、哺育5日の剖検時に観察した着床数および妊娠黄体数から着床率 $\left[\frac{\text{着床数}}{\text{妊娠黄体数}} \times 100, \%\right]$ を算出した。

9) F_1 出生児の観察

哺育0日に生存児数および死亡児数を雌雄別に数えて性別および外表奇形の有無を観察し、分娩率 $\left[\frac{\text{産児数}}{\text{着床痕数}} \times 100, \%\right]$ 、生児出産率 $\left[\frac{\text{出產生児数}}{\text{着床痕数}} \times 100, \%\right]$ および出生率 $\left[\frac{\text{出產生児数}}{\text{産児数}} \times 100, \%\right]$ を算出した。哺育1～4日まで毎日、一般状態を観察し、生児数と死亡児数を雌雄別に数え、新生児生存率 $\left[\frac{\text{哺育4日の生児数}}{\text{哺育0日の生児数}} \times 100, \%\right]$ を算出した。生存児については、哺育0および4日に個別の体重を測定し、各腹ごとに雌雄別の平均値を算出するとともに、哺育0および4日における性比 $\left[\frac{\text{哺育0あるいは4日の雄生児数}}{\text{哺育0あるいは4日総生児数}} \times 100, \%\right]$ を算出した。

10) 剖検および採血

雄の投与終了時剖検例は投与 42 日の翌日に、回復観察例は回復 15 日に解剖した。また、雌の分娩例は哺育 4 日の翌日に、サテライト群は回復 15 日に解剖した。全例いずれも解剖前 18～24 時間絶食させた後、ペントバルビタールナトリウム麻酔下で放血致死あるいは採血後に放血致死させて解剖し、血液学検査、血液生化学検査および病理学検査を実施した。なお、採血は、腹部後大静脈から以下の手順で行い、雄の投与終了時剖検では各群の動物番号が若い 5 例、回復 15 日における剖検では全例で採血を行い、また、雌の投与終了時剖検では、分娩例について哺育 4 日に投与期間が近接した各群の動物番号が若い 5 例、サテライト群は全例で採血を行った。

①血液学検査用採血（抗凝固剤：クエン酸ナトリウム）

②血液学検査用採血（抗凝固剤：EDTA-2K）

③血液生化学検査用採血（抗凝固剤：ヘパリン）

出生児のうち、死亡児は発見後すみやかに剖検し、0.1M リン酸緩衝 10%ホルマリン溶液に固定して保存した。生存児は全例を哺育 4 日にエーテル吸入により致死させ剖検した。

11) 血液学検査

抗凝固剤としてクエン酸ナトリウムを用いて採取した血液から血漿を分離して、プロトロンビン時間および活性部分トロンボプラスチン時間を測定し、その他の項目は抗凝固剤として EDTA-2K を用いて採取した血液で測定した。また、雄の投与終了時解剖例で赤血球数、血色素量およびヘマトクリット値の増加がみられ、被験物質の影響が疑われたことから採血した全例の網状赤血球比率の観察を行った。なお、採血時に作製した静脈血塗抹標本（Wright-Giemsa 染色）は観察の必要がなかったため使用しなかった。

項目	測定法	使用機器
赤血球数 (RBC)	電気抵抗法	血液自動分析装置 CELL-DYN3500SL (ダイネット)
白血球数 (WBC)	フローサイトメトリー・ レーザー光散乱法/電気抵抗法	同上
白血球分類	同上	同上
血色素量 (Hb)	吸光度法	同上
平均赤血球容積 (MCV)	電気抵抗法	同上
血小板数	同上	同上
ヘマトクリット値 (Ht)	計算 ($RBC \times MCV \times 0.001$)	
平均赤血球血色素 (MCH)	計算 ($Hb \times 1000 / RBC$)	

項目	測定法	使用機器
平均赤血球血色素濃度 (MCHC)	計算 (Hb×100/Ht)	
網状赤血球比率	Brecher 法	光学顕微鏡
プロトロンビン時間 (PT)	光散乱検出法	全自動血液凝固測定装置 CA-1000 (東亜医用電子)
活性部分トロンボプラスチン時間 (APTT)	同上	同上

12) 血液生化学検査

前述の血液学検査のための採血に引き続き、抗凝固剤としてヘパリンを用いて採取した血液から血漿を分離して、以下の項目について検査した。

項目	測定法	使用機器
総蛋白濃度	ビュレット法	生化学自動分析装置 COBAS MIRA plus (ロシュ・ダイアグノスティクス)
アルブミン濃度	BCG 法	同上
総コレステロール濃度	コレステロールオキシダーゼ・HDAOS 法	同上
グルコース濃度	ヘキソキナーゼ・G-6-PDH 法	同上
尿素窒素濃度	ウレアーゼ・GIDH 法	同上
クレアチニン濃度	Jaffé 法	同上
アルカリフォスファターゼ (ALP) 活性	GSCC 法	同上
AST (GOT) 活性	IFCC 法	同上
ALT (GPT) 活性	同上	同上
γ-グルタミルトランスフェリナーゼ (γ-GTP) 活性	同上	同上
トリグリセリド濃度	GPO・HDAOS (グリセリン消去) 法	同上
無機リン濃度	モリブデン酸直接法	同上
総ビリルビン濃度	アゾビリルビン法	同上
カルシウム濃度	OCPC 法	同上
A/G 比	計算	
ナトリウム濃度	イオン電極法	全自動電解質分析装置 EA05 (エイントナー)
カリウム濃度	同上	同上
塩素濃度	同上	同上

13) 病理学検査

(1) 肉眼的観察

全例を剖検し、器官・組織の肉眼的観察を行った。雌雄ともに血液学検査および血液生化学検査を実施した動物の脳、心臓、胸腺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣および精巣上体の重量(実重量)を測定し、相対重量を算出した。また、全例の脳、下垂体、脊髄、心臓、気管、肺(気管支を含む)、肝臓、腎臓、胸腺、脾臓、副腎、甲状腺および上皮小体、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、精巣、精巣上体、前立腺腹葉、凝固腺を含む精嚢、卵巣、子宮、

腔、膀胱、下顎リンパ節、腸間膜リンパ節、坐骨神経、大腿骨および骨髓、病変部を採取し、保存した。肺は 0.1M リン酸緩衝 10%ホルマリン溶液で注入固定してから採取した。子宮は着床数を数えて、分娩例の卵巢は実体顕微鏡下で妊娠黄体数を数えた。採取した器官・組織のうち、精巣ならびに精巣上体はブアン液（長期保存は 0.1M リン酸緩衝 10%ホルマリン溶液を使用）に固定し、その他は 0.1M リン酸緩衝 10%ホルマリン溶液に固定した。

(2) 病理組織学検査

卵巢、精巣および精巣上体は全例について、肉眼的観察で変化がみられた病変部は該当動物のみについて、これ以外の器官・組織は、雄の投与終了時剖検および雌の分娩例では対照群と高用量群のうち、血液学検査および血液生化学検査を実施した各 5 例について病理組織学検査を実施した。大腿骨は大腿骨髓の組織検査を目的に採材したものであることから、試験計画通り、骨組織は病理組織学検査の対象から除外した。また、肉眼的観察の結果、被験物質投与によると推定される異常が認められた胃については、投与終了時剖検時での雌雄の低用量および中用量群の血液学検査および血液生化学検査を実施した各 5 例について、および回復期間終了時剖検時の雌雄全例について病理組織学検査を実施した。これらの器官・組織はパラフィン包埋して薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製し、光学顕微鏡を用いて検査した。

なお、対照群および 8 mg/kg 投与群の雌雄 4 例（動物番号 MX01003、FB01006、FB04001、FB04005）のヘマトキシリン・エオジン染色標本上に、上皮小体の組織が存在していなかったため、病理組織学検査において、同例の上皮小体の組織所見を評価することは出来なかったが、他の例に被験物質投与に起因すると考えられる上皮小体の異常はみられなかったことから、追加の検討は必要ないと判断した。

6. データ解析法

機能検査結果、性周期の変化した動物の頻度、交尾率、受胎率ならびに出生児の形態異常の出現頻度については Fisher の直接確率検定を行った（有意水準：5%）。

被験物質投与群の病理組織学検査所見のうち、グレード分けしたデータは Mann-Whitney の U 検定（有意水準：5%）により、陽性グレードの合計値は Fisher の直接確率の片側検定（有意水準：5%）により対照群との間で有意差検定を行った。

その他のデータは、個体ごとに得られた値あるいは litter ごとの平均値を 1 標本とし、サテライト群内あるいはその他の群内で比較した。その際、解析の対象が 2 群の場合には、まず F

検定を行い、有意差が認められなければ Student's-t 検定を行った。F 検定において有意差が認められた場合は、Aspin-Welch 検定を行った。解析の対象が 3 群以上の場合は、先ず、Bartlett の方法により各群の分散の一意性について検定（有意水準：5%）を行った。分散が一意である場合には、一元配置型の分散分析（有意水準：5%）を行い、群間に有意性が認められた場合は、Dunnett 法により多重比較を行った（有意水準：5%）。一方、いずれかの群で分散が 0 となる場合および分散が一意でなかった場合には、Kruskal-Wallis の順位検定（有意水準：5%）を行い、群間に有意性が認められた場合には、Dunnett 型の検定法により多重比較を行った（有意水準：5%）。

【結 果】

I. 反復投与毒性および回復性試験

1. 一般状態 (Table 1~2、Appendix 1~2)

死亡および瀕死動物はいずれの群でも認められなかった。

投与期間中、8 mg/kg 投与群の雌雄で投与直後の一時的な流涎が投与 6 日以降から投与期間を通して観察された。この流涎は、雄では 12 例中 11 例で、雌では 17 例中 8 例で認められ、雄では雌に比較して発現頻度が高かった。また、2 mg/kg 投与群の雄 1 例でも、投与直後の一時的な流涎が 1 回のみ認められた。

8 mg/kg 投与群の雌 1 例 (動物番号 FB04007) では分娩日 (哺育 0 日) から膣からの出血によると思われる膣周囲の褐色の汚れが認められ、哺育 2 日には眼瞼周囲の汚れも観察された。同例の被毛の汚れは哺育 3 日には消失した。

その他、2 mg/kg 投与群の雄 1 例 (動物番号 MX03005) で上顎切歯の欠損が投与 3~4 週に観察されたが、これは被験物質投与の影響ではなく物理的衝撃によるものとみられた。この例では体重増加が一過性に抑制されたが、切歯の萌出とともに回復した。

回復期間中には、いずれの群にも流涎等の一般状態の変化は認められなかった。

2. 詳細な症状観察 (Table 3~4、Appendix 3~4)

投与期間中および回復期間中ともに、いずれの群においても特記すべき変化は認められず、神経毒性を示唆する所見は観察されなかった。

3. 機能検査 (Table 5~6、Appendix 5~6)

投与期間終了時および回復期間終了時ともに、いずれの群においても異常は認められなかった。

4. 体重 (Fig. 1~3、Table 7~12、Appendix 7~12)

投与期間中、8 mg/kg 投与群の雄では体重増加量が投与 1 および 2 週に、累積体重増加量が投与期間を通じて、対照群に比較して有意な低値を示した。一方、投与期間中の雌の体重はいずれの投与群においても対照群との間に有意差は認められなかった。

回復期間中、8 mg/kg 投与群の雄では体重増加量が回復 1 週に、累積体重増加量が回復期間

を通じて、対照群に比較して有意な高値を示した。一方、回復期間中の雌の体重はいずれの投与群においても対照群との間に有意差は認められなかった。

5. 摂餌量 (Fig. 4~6、Table 13~14、Appendix 13~14)

投与期間中、8 mg/kg 投与群の雄では摂餌量が投与 7~8 日および 41~42 日に対照群に比較して有意な低値を示した。一方、雌の摂餌量はいずれの投与群においても対照群との間に有意差は認められなかった。

回復期間中には、雌雄ともいずれの投与群においても摂餌量に対照群との間に有意差は認められなかった。

6. 血液学検査 (Table 15~16、Appendix 15~16)

投与期間終了時の検査では、8 mg/kg 投与群の雄で赤血球数、血色素量および血小板数が対照群に比較して有意に増加した。一方、雌ではいずれの投与群においても対照群との間に有意差は認められなかった。

回復期間終了時の検査では、雌雄いずれの投与群においても対照群との間に有意差は認められなかった。

7. 血液生化学検査 (Table 17~18、Appendix 17~18)

投与期間終了時の検査では、8 mg/kg 投与群の雄でグルコース濃度が対照群に比較して有意に増加した。一方、雌ではいずれの投与群においても対照群との間に有意差は認められなかった。

回復期間終了時の検査では、雌雄いずれの投与群においても対照群との間に有意差は認められなかった。

8. 病理学検査

1) 器官重量 (Table 19~20、Appendix 19~20)

投与期間終了時の検査では、8 mg/kg 投与群の雄で精巣上体の相対重量が対照群に比較して有意に増加した。一方、雌ではいずれの投与群においても対照群との間に有意差は認められなかった。

回復期間終了時の検査では、雌雄いずれの投与群においても対照群との間に有意差は認めら

れなかった。

2) 剖検所見

(1) 投与期間終了時の雄 (Table 21、Appendix 21)

前胃粘膜の肥厚が 2 mg/kg 投与群の 7 例および 8 mg/kg 投与群の全例に認められ、そのうち 8 mg/kg 投与群の前胃粘膜には、5 例で水腫が、他の 1 例で白濁および黄色域が観察された。また、2 mg/kg 投与群の 1 例には腺胃粘膜に白色結節が認められた。肝臓の腫大が 0.5 mg/kg 投与群の 1 例および 2 mg/kg 投与群の 5 例にみられたが、8 mg/kg 投与群には同様の所見は認められなかった。その他、右側腎臓の皮質に陥凹部が対照群および 8 mg/kg 投与群の各 1 例でみられたほか、空腸の憩室が 0.5 mg/kg 投与群の 1 例で、右側精巣上体尾部の結節および下顎リンパ節の腫大が 8 mg/kg 投与群の各 1 例で観察された。

(2) 投与期間終了時の雌 (Table 22、Appendix 22)

前胃粘膜の肥厚が 2 mg/kg 投与群の 4 例および 8 mg/kg 投与群の 6 例で認められ、そのうち 8 mg/kg 投与群の前胃粘膜には、4 例で水腫が、他の 1 例で鋸の歯様の領域が観察された。また、腺胃粘膜の黒色点が対照群、0.5 および 2 mg/kg 投与群の各 1 例にみられた。胸腺の小型化が対照群および 8 mg/kg 投与群の各 1 例にみられ、そのうち 8 mg/kg 投与群の例では脾臓も小型化を呈し、腎臓表面の粗造化も観察された。

(3) 回復試験期間終了時の雌雄 (Table 23～24、Appendix 23～24)

前胃粘膜の肥厚が 8 mg/kg 投与群の雄 2 例および雌 1 例で観察された。

3) 病理組織学所見

(1) 投与期間終了時の雄 (Table 25、Appendix 25、Photo 1～2)

精巣では、異常所見は認められなかった。

精巣上体では、肉眼的観察で右側尾部に結節が認められた 8 mg/kg 投与群の 1 例で、右側尾部における精子肉芽腫が観察されたが、発現頻度および程度には対照群との間で差は認められなかった。

胃では、剖検時に異常所見が認められた例も含み、対照群および 0.5 mg/kg 投与群の 5 例、2 mg/kg 投与群の 10 例および 8 mg/kg 投与群の 7 例について病理組織学検査を実施した。その結

果、2 および 8 mg/kg 投与群の観察した全例の前胃粘膜に扁平上皮細胞の乳頭状過形成がみられ (Photo 1、2)、発現頻度および程度は対照群に比較して有意に高かった。また、8 mg/kg 投与群での前胃粘膜の変化の程度は、2 mg/kg 投与群に比較して強い傾向がみられた。0.5 mg/kg 投与群では、前胃粘膜に異常所見は認められなかった。剖検所見において、2 mg/kg 投与群の 1 例の腺胃粘膜に白色結節が認められたが、病理組織学検査の結果、肉眼所見を示唆する異常は、みられなかった。

肝臓では、門脈周囲性の脂肪化が対照群および 8 mg/kg 投与群の観察した全例でみられたが、両群間に程度の差は認められなかった。また、小肉芽腫が対照群および 8 mg/kg 投与群で観察されたが、両群間に発現頻度および程度に差は認められなかった。その他、肉眼的観察で肝臓の腫大が認められた 0.5 および 2 mg/kg 投与群でも、門脈周囲性の脂肪化や小肉芽腫が観察された。

腎臓では、皮質の近位尿細管における好酸性小体が対照群の 3 例および 8 mg/kg 投与群の 1 例で、皮質に塩基性尿細管の出現が対照群の 4 例および 8 mg/kg 投与群の 1 例でみられたが、いずれの例もごく軽度な変化であり、対照群との間に発現頻度および程度に差は認められなかった。また、肉眼的観察で皮質に陥凹部がみられた対照群の 1 例では、皮髄境界部に限局性の嚢胞、間質にリンパ球の浸潤も観察された。

その他、対照群および 8 mg/kg 投与群の全例で、脾臓では髄外造血および褐色色素の沈着が、前立腺腹葉では上皮あるいは間質に好中球およびリンパ球の浸潤がみられたが、両群間に程度の差は認められなかった。また、対照群あるいは 8 mg/kg 投与群で、肺では肺胞腔に限局性の泡沫細胞の集簇および動脈壁に鉍質沈着が、心臓では限局性の心筋の変性あるいは線維化が、膀胱では粘膜固有層にリンパ球の浸潤が散見されたほか、8 mg/kg 投与群の 1 例では脳に星状膠細胞腫が観察されたが、いずれの変化も対照群との間に発現頻度および程度に差は認められなかった。0.5 mg/kg の 1 例では空腸に憩室が観察され、また肉眼的観察で下顎リンパ節の腫大がみられた 8 mg/kg 投与群の 1 例の下顎リンパ節には、異常所見は認められなかった。

病理組織学検査を実施したその他の器官には、異常所見は認められなかった。

(2) 投与期間終了時の雌 (Table 26、Appendix 26)

卵巣では、異常所見は認められなかった。

胃では、剖検時に異常所見が認められた例も含み、対照群、0.5 および 2 mg/kg 投与群の各 6 例、8 mg/kg 投与群の 8 例について病理組織学検査を実施した。その結果、2 mg/kg 投与群の 1

例および 8 mg/kg 投与群の全例の前胃粘膜に扁平上皮細胞の乳頭状過形成がみられ、8 mg/kg 投与群での同変化の発現頻度および程度は対照群に比較して有意に高かった。また、8 mg/kg 投与群での前胃粘膜の変化の程度は、2 mg/kg 投与群に比較して強かった。

肝臓では、門脈周囲性の脂肪化が対照群および 8 mg/kg 投与群の観察した全例でみられたが、両群間に程度の差は認められなかった。その他、対照群では小肉芽腫および被膜下に限局した壊死巣が各 1 例で観察された。

腎臓では、皮質に塩基性尿細管の出現が対照群の 2 例および 8 mg/kg 投与群の 1 例で、鉍質沈着が対照群の 2 例および 8 mg/kg 投与群の 1 例でみられ、皮質近位尿細管上皮の空胞変性が 8 mg/kg 投与群の 2 例で観察された。しかし、これらの腎臓の変化は、いずれも対照群との間に発現頻度および程度に差は認められなかった。また、肉眼的観察で腎臓表面の粗造化が認められた 8 mg/kg 投与群の 1 例の皮質には、中等度の塩基性尿細管のほか、ごく軽度あるいは軽度の近位尿細管上皮への脂肪滴の貯留および遠位尿細管の乳頭状拡張が、乳頭部では集合管上皮に硝子滴が観察された。

脾臓では、髄外造血および褐色色素の沈着が対照群および 8 mg/kg 投与群の全例でみられたが、両群間に程度の差は認められなかった。また、肉眼的観察で脾臓の小型化が認められた 8 mg/kg 投与群の 1 例では、さらに赤脾髄領域の減少が観察された。

胸腺では、萎縮が対照群の 1 例および 8 mg/kg 投与群の 2 例でみられたが、両群間に発現頻度および程度に差は認められなかった。また、肉眼的観察で胸腺の小型化が認められた対照群および 8 mg/kg 投与群の各 1 例のうち、対照例には重度の萎縮が観察された。

肺では、対照群および 8 mg/kg 投与群の肺胞腔に限局性の泡沫細胞の集簇、あるいは動脈壁に鉍質沈着が散見されたが、両群間に発現頻度および程度に差は認められなかった。

病理組織学検査を実施したその他の器官には、異常所見は認められなかった。

(3) 回復試験期間終了時の雌雄 (Table 27~28, Appendix 27~28)

胃では、8 mg/kg 投与群の雌雄全例の前胃粘膜に扁平上皮細胞の乳頭状過形成がみられ、雌雄ともにこの変化の発現頻度および程度は対照群に比較して有意に高かった。しかし、同群の投与期間終了時屠殺例と比較すると、変化の程度は軽減している傾向がみられた。

精巣では、異常所見は認められなかった。

精巣上体では、間質のリンパ球浸潤が対照群および 8 mg/kg 投与群の各 1 例でみられたが、両群間に発現頻度および程度に差は認められなかった。

卵巣では、異常所見は認められなかった。

II. 生殖発生毒性

1. 性周期 (Table 29、Appendix 29)

交配前の投与期間中、発情回帰しない動物が対照群で 1 例 (動物番号 FB01006) 認められた以外、いずれの投与群においても投与による性周期への影響は認められなかった。

2. 交配成績 (Table 29～30、Appendix 29～30)

いずれの群においても全例の交尾が成立し、受胎した。また、全例いずれも交尾は初回の発情期であった。

3. 分娩および哺育所見 (Table 31、Appendix 31)

妊娠動物の全例が生児を出産し、妊娠期間は対照群と投与群との間に有意差は認められなかった。一方、直接観察できなかったものの分娩/哺育状態が不良であったと判断された動物が 8 mg/kg 投与群の 2 例 (動物番号 FB04001、FB04007) で観察された。すなわち、動物番号 FB04001 では分娩後に産児を集めず、分娩/哺育状態は不良であったが、分娩翌日以降は哺育状態の異常は認められなかった。動物番号 FB04007 では分娩後に産児を集めず、産児に哺乳した形跡が認められなかった。この動物では分娩日に膈からの出血によると思われる膈周囲の褐色の汚れが認められ、哺育 2 日にも継続してみられた。さらに、分娩翌日 (哺育 1 日) にも産児の哺育が認められず、哺育 2 日までに全出生児が死亡した。

4. 黄体数および着床数 (Table 31、Appendix 31)

黄体数および着床数ともに、対照群と投与群との間に有意差は認められなかった。

5. 出生児所見

1) 一般状態および生存性 (Table 31、Appendix 31)

前述した通り、分娩/哺育状態が不良であった 8 mg/kg 投与群の 1 例 (動物番号 FB04007) では、哺育 0 および 1 日の産児に哺乳による腹部の白色化が認められず、哺育 2 日までに全出生児が死亡した。また、8 mg/kg 投与群では哺育 4 日の生児数および新生児生存率が対照群に比べて低い傾向がみられた。0.5 および 2 mg/kg 投与群では、雌出生児数が哺育 0 および 4 日と

もに対照群に比較して有意に増加したが、性比には有意な変化は認められなかったことから、被験物質投与による影響ではないと判断した。

その他、分娩状態に異常が認められず出生児の一般状態にも異常が認められなかったものの、対照群の1例(動物番号FB01012)では哺育4日までに、8 mg/kg 投与群の1例(動物番号FB04008)では哺育2日までに全出生児が死亡した。

2) 体重 (Table 32、Appendix 32)

対照群と投与群との間で、哺育児体重に差は認められなかった。

3) 形態観察所見 (Table 33)

生存産児および哺育4日の剖検時の形態観察では、8 mg/kg 投与群の1例(母動物番号FB04002)の雌生存産児1例で無尾が観察されたが、同腹の他の生存産児には形態異常は認められないことから、自然発生奇形と考えられた。死亡児では、いずれの動物にも形態異常は観察されなかった。

【考 察】

1. 反復投与毒性および回復性試験

8 mg/kg 投与群においては、雄のみであるが、体重増加抑制および摂餌量の減少が認められた。Fischer 344 系ラットに ITCM を吸入曝露した結果、3.1 ppm 投与群の雄では血中酸素分圧の低下、血色素量および肺重量の増加が、同群の雌雄では体重および摂餌量の減少、呼吸器の組織学的変化が報告されている⁴⁾。本試験の投与経路は経口であり、呼吸器系への影響や循環不全を示唆する所見はみられていないが、体重増加抑制および摂餌量の減少は ITCM の影響であると判断される。一方、本試験においては赤血球数および血色素量の増加がみられたが、骨髓像には変化がみられず脾臓ならびに肝臓等における髄外造血の亢進も認められないことから、造血機構が亢進しているとは考え難い。これらの変化が体液量の減少等を示唆する可能性も考えられるが、本試験のみからは機序を明らかにする事はできなかった。14 日間の回復性試験の結果、休薬により 8 mg/kg 投与群の体重は対照群に比較して有意に増加し、赤血球数および血色素量は対照群と比較して差は認められなかったことから、これらの変化は可逆的であることが確認された。

また、8 mg/kg 投与群の雌雄では、投与直後の流涎が観察され、前胃粘膜は肉眼的に肥厚および水腫を呈し、組織学的に扁平上皮細胞の乳頭状過形成が認められた。投与直後の流涎は 2 mg/kg 投与群の雄 1 例で、前胃粘膜の病理学的変化は 2 mg/kg 投与群の雌雄でも認められた。8 mg/kg 投与群の前胃粘膜の病理学的変化の発現頻度および程度は 2 mg/kg 投与群に比較して強い傾向がみられた。これらの変化は刺激性のある物質を経口投与した結果によるものと考えられ、ITCM が刺激性を有しているという報告^{4~8)}と一致する。秦野研究所で行った ITCM の急性毒性試験（試験計画番号：A-02-028）においても、流涎と前胃粘膜の肥厚および水腫が観察されている。回復性試験の結果、休薬中に流涎は認められず、前胃粘膜の器質的な変化は投与期間終了時に比較して軽減する傾向がみられたものの、完全に回復するには至らなかった。

投与期間終了時に 8 mg/kg 投与群の雄で認められた血小板数ならびに血漿中グルコース濃度の増加は、ITCM 投与による継続的影響に対する代償的な変化である可能性を否定できない。その他、8 mg/kg 投与群の雄では精巣上体重量の増加がみられたが、器質的な変化は認められず、偶発的な変化の可能性が高いと考えられる。詳細な症状観察および機能検査においては、神経毒性を示唆する所見は認められなかった。

2. 生殖発生毒性

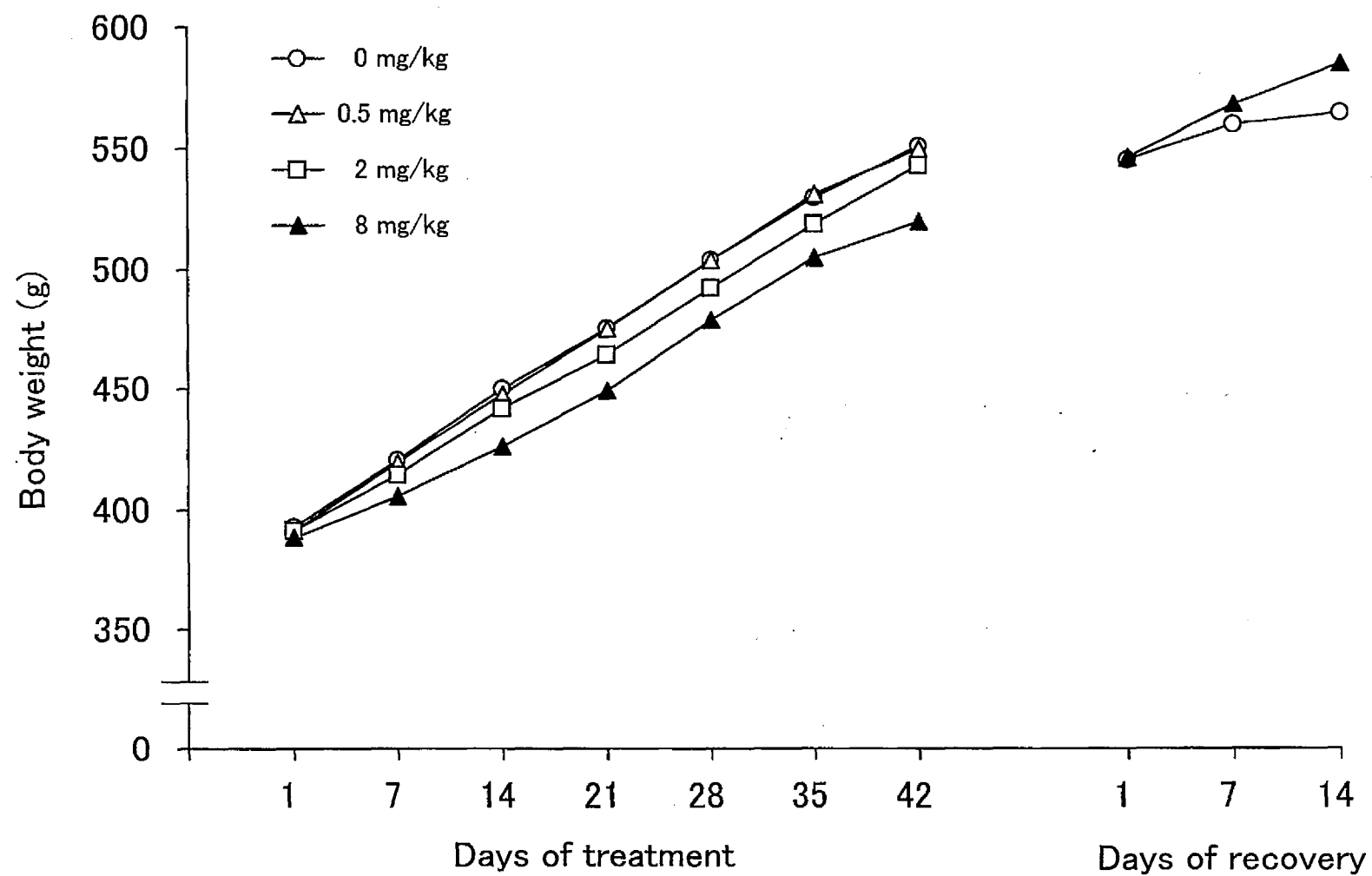
8 mg/kg 投与群で、分娩／哺育状態の不良とそれによると考えられる全出生児の死亡がみられたほか、哺育4日の新生児生存率が低い傾向が認められた。これは ITCM の投与で分娩時の母動物の状態が悪化した結果、母児とも一般状態に特記すべき変化はみられなかったものの出生児が死亡したためと考えられた。性周期、排卵、交尾、受胎、着床、妊娠期間、分娩率、生児出産率および出生率に被験物質投与の影響は認められなかった。また、出生児の体重および性比に変化は認められず、投与に起因したと考えられる形態異常も認められなかった。

3. 無作用量

以上の結果より、本試験条件下での ITCM の無作用量は、反復投与毒性に関しては、8 mg/kg 投与群の雄で体重増加抑制および摂餌量の減少がみられ、2 mg/kg 以上の投与群で ITCM の刺激性に起因した流涎および前胃粘膜の器質的変化が認められたことから、雌雄ともに 0.5 mg/kg/day と判断された。また、前胃粘膜の病理所見は14日間の休薬で投与期間終了時の変化と比較して軽減する傾向はみられたものの、消失するには至らなかった。生殖発生毒性に関しては、8 mg/kg 投与群の母動物で分娩／哺育状態の不良がみられたことから、雌では 2 mg/kg/day と判断された。雄および出生児については、8 mg/kg 投与群でも ITCM 投与に起因した影響が認められなかったことから、8 mg/kg/day 以上と判断された。

【文 献】

- 1) Kassie, F., Laky, B., Nobis, E., Kundi, M., Knasmuller, S. : Genotoxic effects of methyl isothiocyanate. *Mutat Res.* 490(1):1-9 (2001)
- 2) Matthiessen, J.N., Shackleton, M.A. : Advantageous attributes of larval whitefringed weevil, *Naupactus leucoloma* (Coleoptera: Curculionidae) for bioassaying soil fumigants and responses to pure and plant-derived isothiocyanates. *Bull. Entomol. Res.* 90(4): 349-355 (2000)
- 3) Pruett, S.B., Myers, L.P. : Toxicology of metam sodium. *J. Toxicol. Environ. Health B. Crit. Rev.* 4(2): 207-222 (2001)
- 4) Dodd, D.E., Fowler, E.H. : Methyl isocyanate subchronic vapor inhalation studies with Fischer 344 rats. *Fundam Appl Toxicol.* 7(3): 502-522 (1986)
- 5) Alexeeff, G.V., Shusterman, D.J., Howd, R.A., Jackson, R.J. : Dose-response assessment of airborne methyl isothiocyanate (MITC) following a metam sodium spill. *Risk Anal.* 14(2): 191-198 (1994)
- 6) Cone, J.E, Wugofski, L., Balmes, J.R., Das, R., Bowler, R., Alexeeff, G., Shusterman, D. : Persistent respiratory health effects after a metam sodium pesticide spill. *Chest.* 106(2): 500-508 (1994)
- 7) Rostron, C. : Metyl isothiocyanate in wine. *Fd Chem. Toxic.* 30(9): 821-828 (1992)
- 8) Sharma, B.K., Singh, S., Mehta, R. : Fetal poisoning with methyl isothiocyanate. *Br. Med. J.* 283(6283): 18-19 (1981)



**Fig.1 Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats.
Body weight of males.**

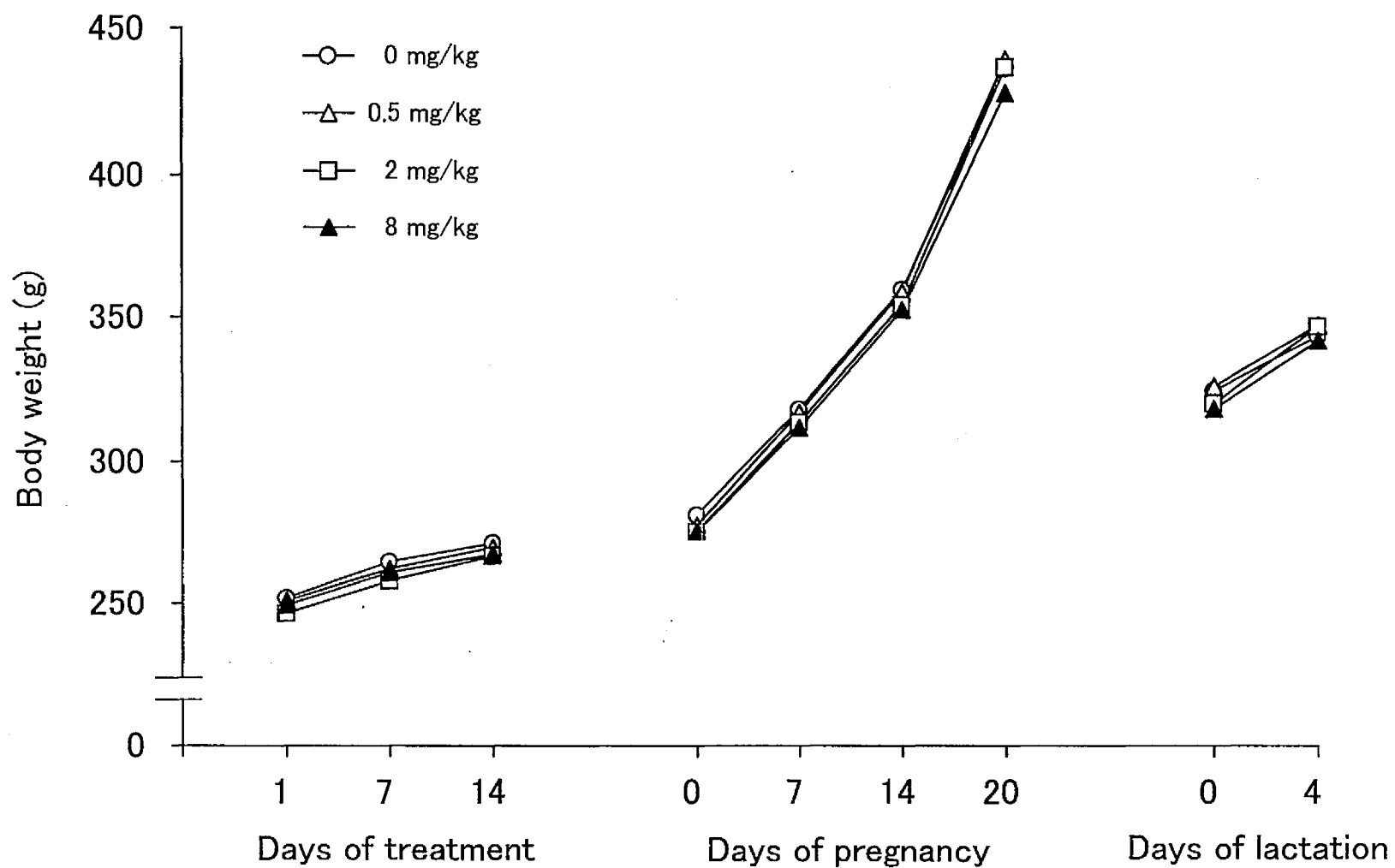


Fig.2 Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats. Body weight of dams.

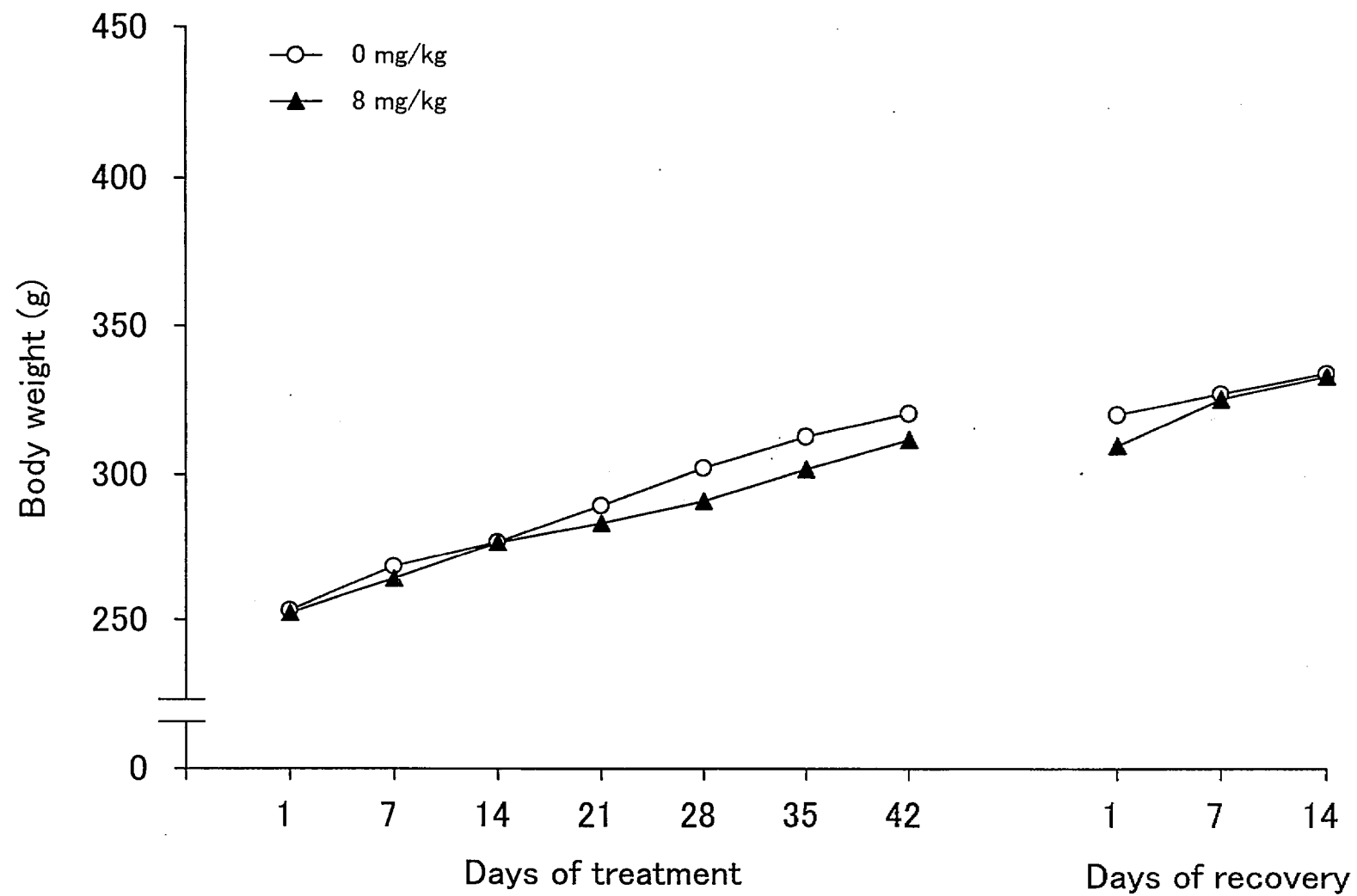


Fig.3 Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats. Body weight of satellite groups.

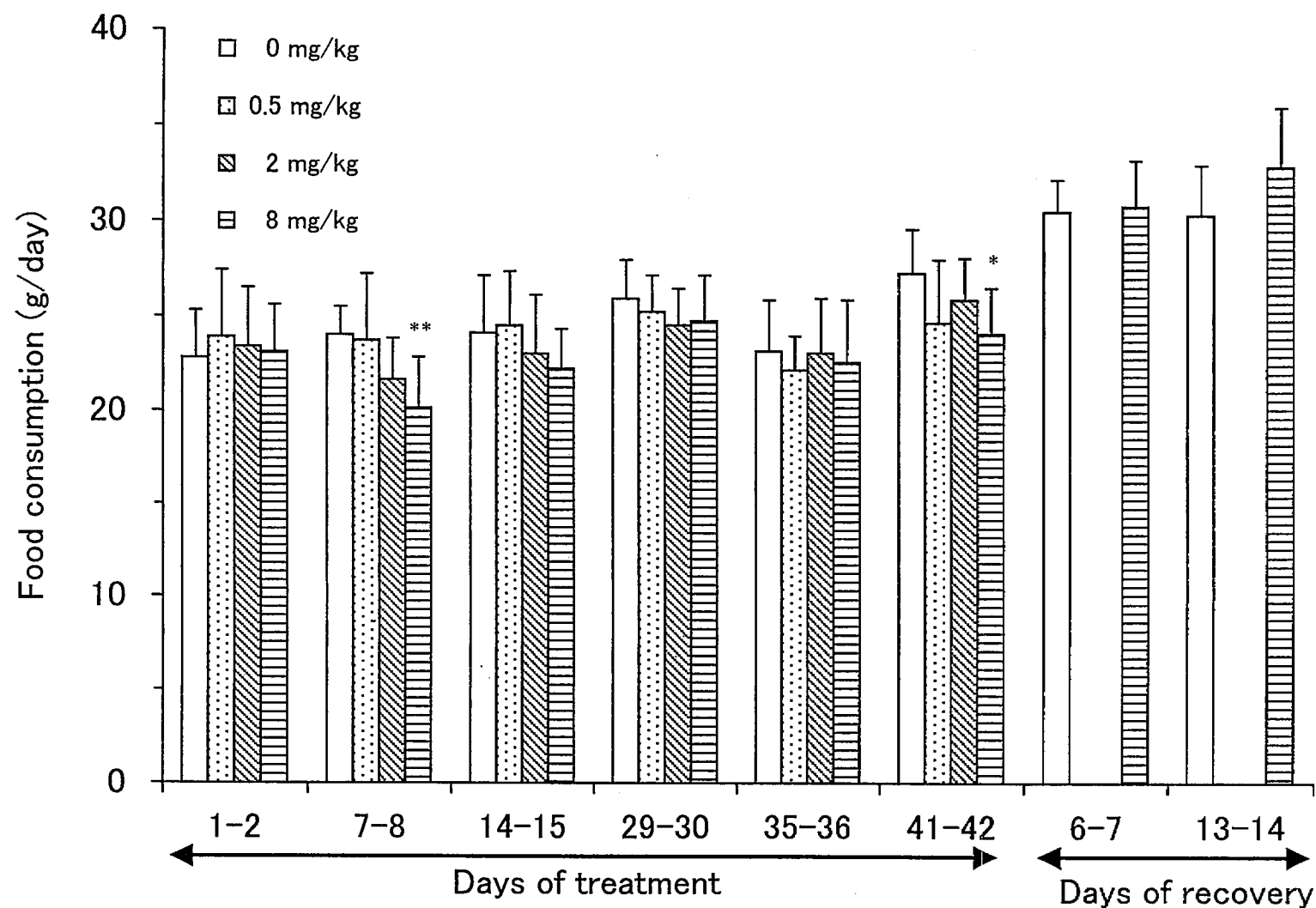


Fig.4 Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats.

Food consumption of males.

* significantly different from control, $p < 0.05$; ** significantly different from control, $p < 0.01$

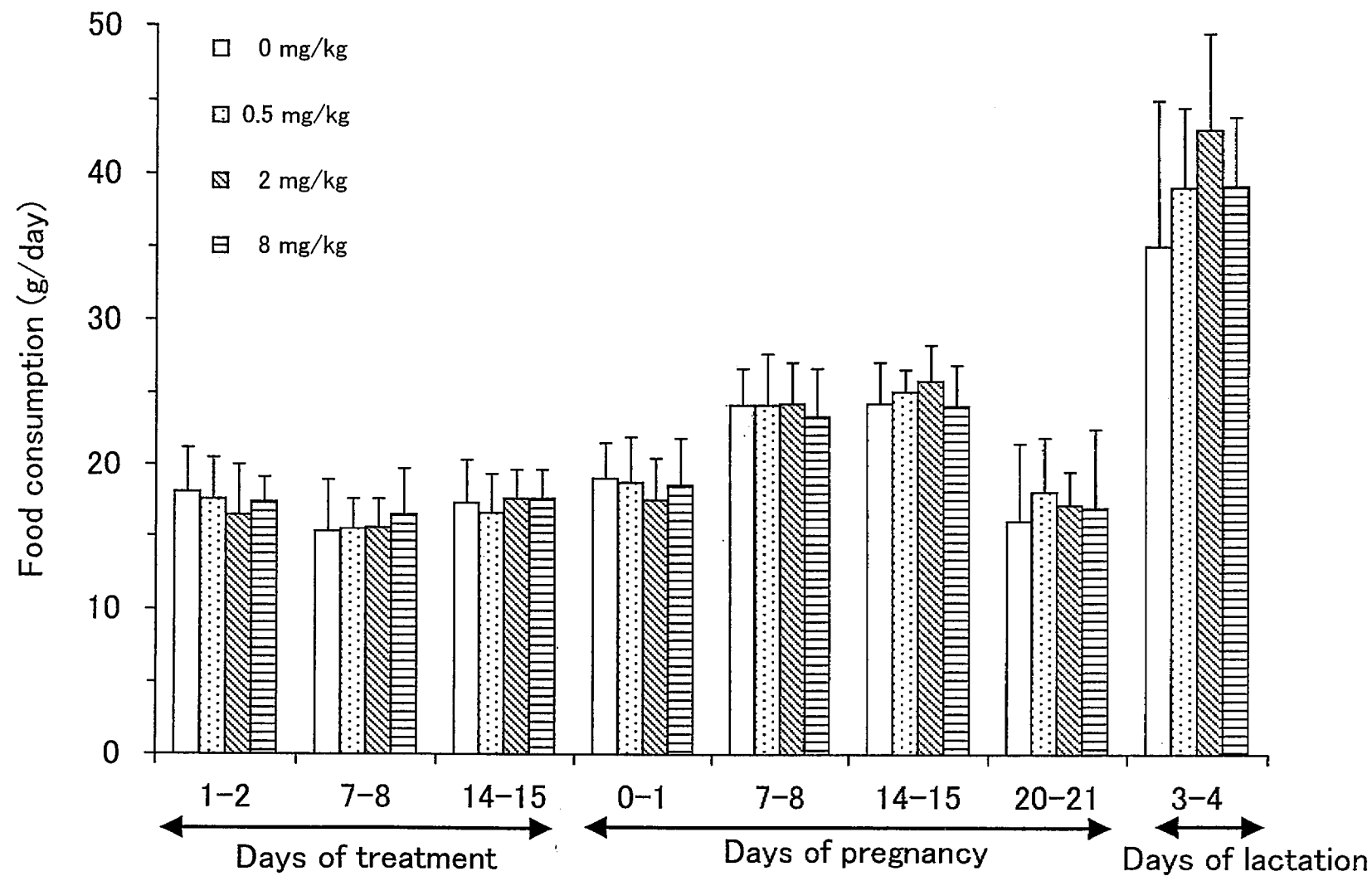


Fig.5 Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats. Food consumption of dams.

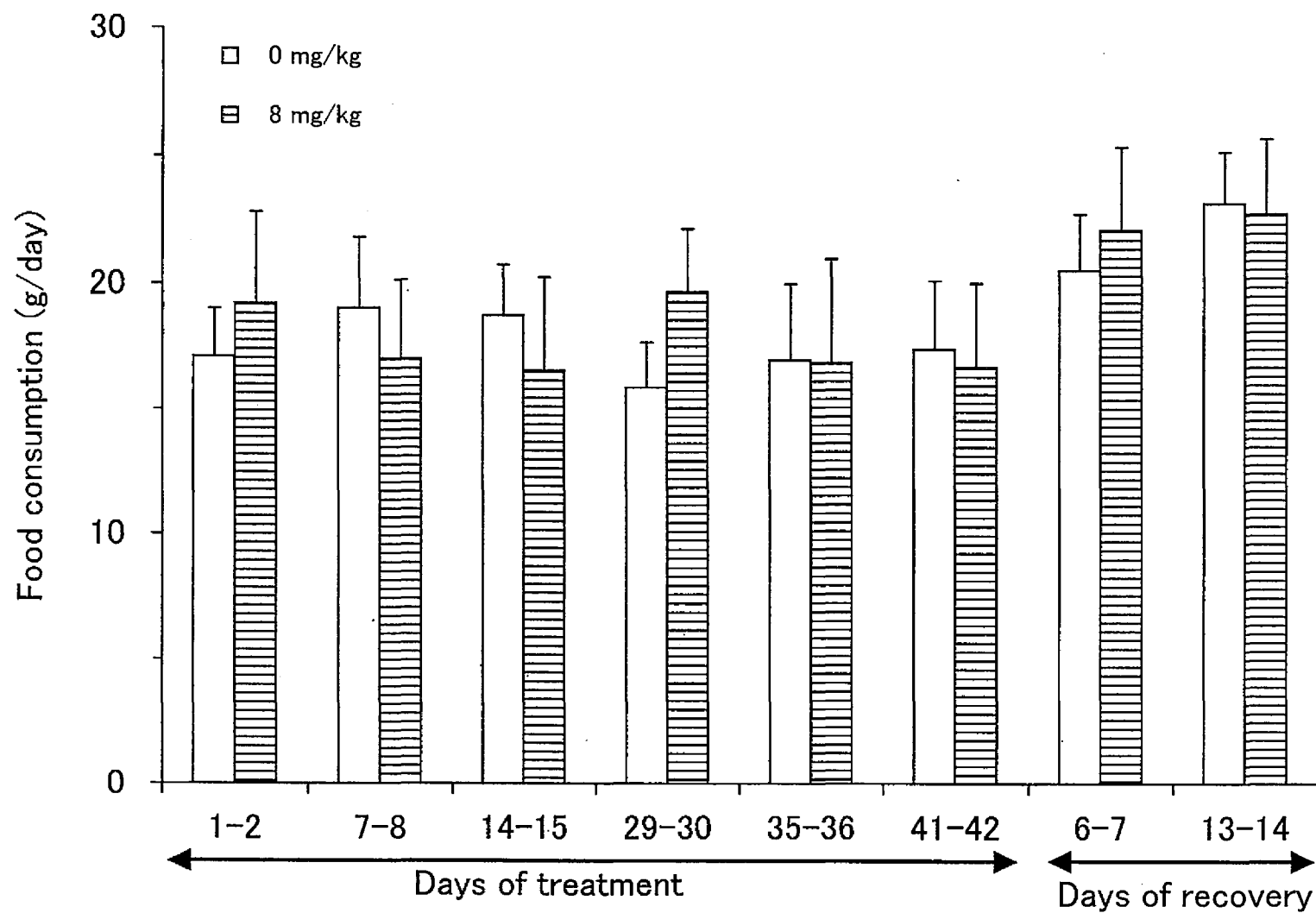


Fig.6 Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats.
Food consumption of satellite groups.

Table 1

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats

Clinical signs of males

Clinical sings	Dose (mg/kg)	Initial number of animals	Number of animals with clinical signs								Total
			Days of treatment						Days of recovery ^b		
			1-7	8-14	15-21	22-28	29-35	36-42	1-7	8-14	
Salivation (temporary, after administration)	0 ^a	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0.5	12	0	0	0	0	0	0			0
	2	12	0	0	0	0	1	0			1
	8	12	3	10	9	10	6	7	0	0	11
Loss of tooth	0	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0.5	12	0	0	0	0	0	0			0
	2	12	0	0	1	1	0	0			1
	8	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0

^a vehicle control, corn oil (5 mL/kg)^b the recovery test was performed in 5 animals for each of the 0 and 8 mg/kg groups

Table 2-1

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats

Clinical signs of females, dams

Clinical sings	Dose (mg/kg)	Initial number of animals	Number of animals with clinical signs							Total
			Days of treatment							
			1-7	8-14	15-21	22-28	29-35	36-42	43-49	
Salivation (temporary, after administration)	0 ^a	12	0	0	0	0	0	0	0	0
	0.5	12	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	12	0	0	0	0	0	0	0	0
	8	12	3	2	2	2	1	4	0	5
Soiled perineal region/ around eye	0	12	0	0	0	0	0	0	0	0
	0.5	12	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	12	0	0	0	0	0	0	0	0
	8	12	0	0	0	0	0	1	1	1

^a vehicle control, corn oil (5 mL/kg)

Table 2-2

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats

Clinical signs of females, satellite groups

Clinical sings	Dose (mg/kg)	Initial number of animals	Number of animals with clinical signs								Total
			Days of treatment						Days of recovery		
			1-7	8-14	15-21	22-28	29-35	36-42	1-7	8-14	
Salivation	0 ^a	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(temporary, after administration)	8	5	0	1	2	1	0	0	0	0	3

^a vehicle control, corn oil (5 mL/kg)

Table 3

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats

Detailed clinical observations of males

Findings	Dose (mg/kg)	Initial number of animals	Pre-treatment	Days of treatment						Days of recovery ^b	
				7	14	21	28	35	42	7	14
[Posture in home-cage]	0 ^a	12	0 ^c	2	0	0	0	1	0	0	0
Rearing	0.5	12	0	1	1	0	0	0	0		
	2	12	1	0	0	0	0	1	0		
	8	12	1	0	2	0	0	0	0	0	0
[Home-cage activity]	0	12	0 ^c	0	4	7	7	1	4	4	1
Asleep	0.5	12	0	0	5	10	10	5	3		
	2	12	0	0	5	6	12	5	2		
	8	12	0	0	6	9	12	4	4	4	0
[Ease of removing rat from cage]	0	12	8 ^d	4	4	6	2	2	2	0	0
Very easy (score 0)	0.5	12	2	0	0	0	0	0	0		
Vocalization without resistance (score 2)	2	12	4	2	0	2	0	0	2		
Rat flinched (score 4)	8	12	12	6	0	0	0	0	0	0	0
[Reactivity to being handled]	0	12	6 ^d	2	4	2	0	2	2	0	0
Very low (score 0)	0.5	12	0	0	0	0	0	0	0		
Vocalization without resistance (score 2)	2	12	6	2	0	2	0	4	0		
Slight resistance to being handled (score 4)	8	12	6	0	0	0	0	2	0	2	0

^a vehicle control, corn oil (5 mL/kg)^b the recovery test was performed in 5 animals for each of the 0 and 8 mg/kg groups^c Values represent number of animals with the findings.^d Values represent total score of each groups.

Table 4-1

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats

Detailed clinical observations of females, dams

Findings	Dose (mg/kg)	Initial number of animals	Pre-treatment	Days of treatment					The lactation period
				7	14	21	28	35	
[Posture in home-cage]	0 ^a	12	2 ^b	1	5	0	0	0	0
Rearing	0.5	12	2	1	2	0	0	0	0
	2	12	1	0	5	1	0	0	0
	8	12	0	0	1	0	0	0	0
[Home-cage activity]	0	12	0 ^b	0	0	4	7	11	2
Asleep	0.5	12	0	1	2	6	8	10	3
	2	12	0	0	0	7	4	10	3
	8	12	0	0	0	6	7	11	2
[Ease of removing rat from cage]	0	12	6 ^c	2	0	0	0	0	0
Very easy (score 0)	0.5	12	2	0	0	4	0	0	0
Vocalization without resistance (score 2)	2	12	0	0	0	2	0	0	0
Rat flinched (score 4)	8	12	0	4	4	0	0	0	0
[Reactivity to being handled]	0	12	4 ^c	2	0	0	0	0	0
Very low (score 0)	0.5	12	6	0	0	2	2	0	0
Vocalization without resistance (score 2)	2	12	2	2	2	0	0	0	0
Slight resistance to being handled (score 4)	8	12	0	2	2	0	0	0	0
[Fur]	0	12	0 ^b	0	0	0	0	0	0
Solied fur	0.5	12	0	0	0	0	0	0	0
	2	12	0	0	0	0	0	0	0
	8	12	0	0	0	0	0	0	1

^a vehicle control, corn oil (5 mL/kg)^b Values represent number of animals with the findings.^c Values represent total score of each groups.

Table 4-2

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats

Detailed clinical observations of females, satellite groups

Findings	Dose (mg/kg)	Initial number of animals	Pre-treatment	Days of treatment						Days of recovery ^b	
				7	14	21	28	35	42	7	14
[Posture in home-cage]	0 ^a	12	0 ^c	0	0	1	0	0	0	0	0
Rearing	8	12	3	0	4	0	0	0	0	2	0
[Home-cage activity]	0	12	0 ^c	0	1	1	2	2	1	2	0
Asleep	8	12	0	0	0	1	1	2	1	2	0
[Ease of removing rat from cage]	0	12	0 ^d	0	0	0	0	0	0	0	0
Very easy (score 0)											
Vocalization without resistance (score 2)											
Rat flinched (score 4)	8	12	4	6	2	2	0	2	2	0	0
[Reactivity to being handled]	0	12	0 ^d	0	0	0	0	0	0	0	0
Very low (score 0)											
Vocalization without resistance (score 2)											
Slight resistance to being handled (score 4)											
Resistance to being handled (score 6)	8	12	4	8	2	0	0	2	2	2	0

^a vehicle control, corn oil (5 mL/kg)^b the recovery test was performed in 5 animals for each of the 0 and 8.0 mg/kg groups^c Values represent number of animals with the findings.^d Values represent total score of each groups.

Table 5

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats
Functional findings of males and females at the end of dosing period

Compound	methane, isothiocyanato-			
	0 ^a	0.5	2	8
<u>Male</u>				
Number of animals	10	5	5	10
Pupillary reflex	100	100	100	100
Eyelid reflex	100	100	100	100
Visual placing response	100	100	100	100
Withdrawal reflex	100	100	100	100
Prayer's response	100	100	100	100
Startle reaction	100	100	100	100
Righting reflex	100	100	100	100
<u>Female, dam</u>				
Number of animals	5	5	5	5
Pupillary reflex	100	100	100	100
Eyelid reflex	100	100	100	100
Visual placing response	100	100	100	100
Withdrawal reflex	100	100	100	100
Prayer's response	100	100	100	100
Startle reaction	100	100	100	100
Righting reflex	100	100	100	100
<u>Female, satellite group</u>				
Number of animals	5			5
Pupillary reflex	100			100
Eyelid reflex	100			100
Visual placing response	100			100
Withdrawal reflex	100			100
Prayer's response	100			100
Startle reaction	100			100
Righting reflex	100			100

Values other than number of animals represent % of animals showing normal responses.

^a vehicle control, corn oil (5 mL/kg)

Table 6

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats
Functional findings of males and females at the end of recovery period

Compound	methane, isothiocyanato-	
	0 ^a	8
<u>Male</u>		
Number of animals	5	5
Pupillary reflex	100	100
Eyelid reflex	100	100
Visual placing response	100	100
Withdrawal reflex	100	100
Prayer's response	100	100
Startle reaction	100	100
Righting reflex	100	100
<u>Female, satellite group</u>		
Number of animals	5	5
Pupillary reflex	100	100
Eyelid reflex	100	100
Visual placing response	100	100
Withdrawal reflex	100	100
Prayer's response	100	100
Startle reaction	100	100
Righting reflex	100	100

Values other than number of animals represent % of animals showing normal responses.

^a vehicle control, corn oil (5 mL/kg)

Table 7

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats

Body weight of males (g)

Compound	methane, isothiocyanato-															
Dose (mg/kg)	0 ^a				0.5				2				8			
<u>Days of treatment</u>																
1 (initial body weight)	393.1	±	16.4	(12)	391.4	±	16.0	(12)	391.6	±	14.4	(12)	388.6	±	18.5	(12)
7	420.3	±	20.4	(12)	419.3	±	21.8	(12)	414.3	±	18.6	(12)	405.4	±	21.7	(12)
14	449.8	±	23.9	(12)	447.3	±	28.0	(12)	441.6	±	21.1	(12)	425.7	±	25.6	(12)
21	474.8	±	30.2	(12)	474.6	±	26.9	(12)	463.8	±	29.5	(12)	448.7	±	25.4	(12)
28	503.4	±	32.6	(12)	503.2	±	26.3	(12)	491.7	±	26.0	(12)	478.1	±	29.1	(12)
35	528.9	±	36.5	(12)	530.1	±	29.3	(12)	518.1	±	26.0	(12)	504.1	±	33.0	(12)
42	549.6	±	34.4	(12)	548.5	±	31.1	(12)	541.8	±	29.4	(12)	518.8	±	35.0	(12)
<u>Days of recovery</u>																
1	543.7	±	41.5	(5)									544.5	±	26.2	(5)
7	557.8	±	41.0	(5)									566.1	±	28.6	(5)
14	562.5	±	40.9	(5)									582.7	±	34.9	(5)

Values represent mean±S.D. (N)

^a vehicle control, corn oil (5 mL/kg)

Table 8-1

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats

Body weight of females, dams (g)

Compound	methane, isothiocyanato-											
Dose (mg/kg)	0 ^a			0.5			2			8		
<u>Days of treatment</u>												
1 (initial body weight)	252.0	±	12.6 (12)	251.0	±	17.1 (12)	246.5	±	6.8 (12)	249.4	±	13.9 (12)
7	264.7	±	15.3 (12)	262.2	±	16.2 (12)	257.9	±	10.9 (12)	260.8	±	11.4 (12)
14	271.2	±	17.7 (12)	269.7	±	21.2 (12)	266.7	±	14.0 (12)	267.3	±	10.1 (12)
<u>Days of pregnancy</u>												
0	281.1	±	15.9 (12)	277.4	±	22.4 (12)	275.2	±	10.7 (12)	275.2	±	16.0 (12)
7	317.6	±	17.2 (12)	316.4	±	18.8 (12)	313.0	±	12.3 (12)	311.1	±	19.8 (12)
14	358.9	±	17.0 (12)	358.0	±	16.9 (12)	353.5	±	14.4 (12)	351.7	±	21.3 (12)
20	435.2	±	25.2 (12)	438.2	±	24.2 (12)	435.6	±	19.0 (12)	426.7	±	27.9 (12)
<u>Days of lactation</u>												
0	323.7	±	30.3 (12)	325.2	±	14.9 (12)	319.2	±	16.5 (12)	317.4	±	33.5 (12)
4	342.3	±	26.2 (11)	345.9	±	22.0 (12)	345.5	±	16.0 (12)	340.6	±	26.8 (10)

Values represent mean±S.D. (N)

^a vehicle control, corn oil (5 mL/kg)

Table 8-2

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats

Body weight of females, satellite groups (g)

Compound	methane, isothiocyanato-					
Dose (mg/kg)	0 ^a			8		
<u>Days of treatment</u>						
1 (initial body weight)	253.2	±	14.3	(5)	252.3	± 14.4 (5)
7	268.4	±	15.0	(5)	264.1	± 16.7 (5)
14	276.9	±	17.0	(5)	276.7	± 20.6 (5)
21	289.4	±	19.9	(5)	283.3	± 24.4 (5)
28	302.2	±	20.8	(5)	290.9	± 28.0 (5)
35	312.6	±	20.8	(5)	301.6	± 31.8 (5)
42	320.3	±	18.9	(5)	311.5	± 36.8 (5)
<u>Days of recovery</u>						
1	319.7	±	19.7	(5)	309.4	± 34.2 (5)
7	326.5	±	22.4	(5)	324.8	± 37.4 (5)
14	333.4	±	21.2	(5)	332.3	± 38.7 (5)

Values represent mean±S.D. (N)

^a vehicle control, corn oil (5 mL/kg)

Table 9

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats

Body weight gain of males (g)

Compound	methane, isothiocyanato-											
Dose (mg/kg)	0 ^a			0.5			2			8		
<u>Days of treatment</u>												
1 - 7	27.1	±	6.9 (12)	27.9	±	9.1 (12)	22.8	±	6.9 (12)	16.8	±	6.2 ** (12)
7 -14	29.6	±	9.3 (12)	28.0	±	8.9 (12)	27.2	±	5.3 (12)	20.3	±	6.0 * (12)
14 -21	24.9	±	8.0 (12)	27.3	±	5.3 (12)	22.2	±	17.5 (12)	22.9	±	5.5 (12)
21 -28	28.6	±	6.8 (12)	28.6	±	5.3 (12)	27.9	±	8.5 (12)	29.4	±	7.1 (12)
28 -35	25.5	±	7.6 (12)	26.9	±	6.8 (12)	26.4	±	7.0 (12)	26.0	±	7.1 (12)
35 -42	20.7	±	8.5 (12)	18.3	±	5.1 (12)	23.7	±	6.2 (12)	14.7	±	6.1 (12)
<u>Days of recovery</u>												
1 - 7	14.1	±	3.2 (5)							21.6	±	3.9 * (5)
7 -14	4.7	±	2.2 (5)							16.6	±	10.2 (5)

Values represent mean±S.D. (N)

^a vehicle control, corn oil (5 mL/kg)

* significantly different from control, p<0.05

** significantly different from control, p<0.01

Table 10-1

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats

Body weight gain of females, dams (g)

Compound	methane, isothiocyanato-											
Dose (mg/kg)	0 ^a			0.5			2			8		
<u>Days of treatment</u>												
1 -7	12.7	±	6.7 (12)	11.2	±	5.9 (12)	11.4	±	6.1 (12)	11.4	±	7.0 (12)
7 -14	6.6	±	8.2 (12)	7.6	±	5.7 (12)	8.9	±	6.7 (12)	6.5	±	3.9 (12)
<u>Days of pregnancy</u>												
0 - 7	36.5	±	7.3 (12)	39.0	±	7.1 (12)	37.8	±	7.5 (12)	35.9	±	7.6 (12)
7 -14	41.3	±	7.5 (12)	41.6	±	5.9 (12)	40.5	±	6.3 (12)	40.7	±	3.6 (12)
14 -20	76.3	±	14.6 (12)	80.2	±	9.4 (12)	82.1	±	9.3 (12)	75.0	±	10.0 (12)
<u>Days of lactation</u>												
0 - 4	14.5	±	22.0 (11)	20.8	±	24.0 (12)	26.3	±	10.6 (12)	18.9	±	16.2 (10)

Values represent mean±S.D. (N)

^a vehicle control, corn oil (5 mL/kg)

Table 10-2

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats

Body weight gain of females, satellite groups (g)

Compound	methane, isothiocyanato-					
Dose (mg/kg)	0 ^a			8		
<u>Days of treatment</u>						
1 - 7	15.2	±	5.3	(5)	11.8	± 5.1 (5)
7 -14	8.5	±	4.0	(5)	12.6	± 6.6 (5)
14 -21	12.5	±	5.1	(5)	6.6	± 8.8 (5)
21 -28	12.8	±	3.7	(5)	7.6	± 6.8 (5)
28 -35	10.4	±	2.8	(5)	10.7	± 7.5 (5)
35 -42	7.7	±	4.2	(5)	10.0	± 5.2 (5)
<u>Days of recovery</u>						
1 - 7	6.9	±	4.6	(5)	15.4	± 5.3 (5)
7 -14	6.9	±	6.2	(5)	7.5	± 3.5 (5)

Values represent mean±S.D. (N)

^a vehicle control, corn oil (5 mL/kg)

Table 11

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats

Cumulative body weight gain of males (g)

Compound	methane, isothiocyanato-											
Dose (mg/kg)	0 ^a			0.5			2			8		
<u>Days of treatment</u>												
1 - 7	27.1	±	6.9 (12)	27.9	±	9.1 (12)	22.8	±	6.9 (12)	16.8	±	6.2 ** (12)
1 -14	56.7	±	13.0 (12)	56.0	±	15.8 (12)	50.0	±	9.8 (12)	37.1	±	9.3 ** (12)
1 -21	81.6	±	18.7 (12)	83.3	±	15.5 (12)	72.2	±	21.0 (12)	60.0	±	9.2 ** (12)
1 -28	110.2	±	21.9 (12)	111.9	±	14.6 (12)	100.1	±	17.0 (12)	89.5	±	14.2 * (12)
1 -35	135.8	±	26.9 (12)	138.8	±	18.7 (12)	126.6	±	15.4 (12)	115.5	±	18.1 * (12)
1 -42	156.5	±	24.5 (12)	157.1	±	20.8 (12)	150.3	±	17.6 (12)	130.2	±	20.4 * (12)
<u>Days of recovery</u>												
1 - 7	14.1	±	3.2 (5)							21.6	±	3.9 * (5)
1 -14	18.7	±	3.4 (5)							38.2	±	12.8 * (5)

Values represent mean±S.D. (N)

^a vehicle control, corn oil (5 mL/kg)

* significantly different from control, p<0.05

** significantly different from control, p<0.01

Table 12-1

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats

Cumulative body weight gain of females, dams (g)

Compound	methane, isothiocyanato-															
Dose (mg/kg)	0 ^a				0.5				2				8			
<u>Days of treatment</u>																
1 -7	12.7	±	6.7	(12)	11.2	±	5.9	(12)	11.4	±	6.1	(12)	11.4	±	7.0	(12)
1 -14	19.3	±	8.0	(12)	18.7	±	7.4	(12)	20.3	±	10.4	(12)	17.9	±	7.7	(12)
<u>Days of pregnancy</u>																
0 -7	36.5	±	7.3	(12)	39.0	±	7.1	(12)	37.8	±	7.5	(12)	35.9	±	7.6	(12)
0 -14	77.7	±	12.3	(12)	80.6	±	10.2	(12)	78.3	±	9.2	(12)	76.5	±	9.7	(12)
0 -20	154.1	±	23.6	(12)	160.8	±	9.7	(12)	160.4	±	14.3	(12)	151.6	±	13.6	(12)
<u>Days of lactation</u>																
0 -4	14.5	±	22.0	(11)	20.8	±	24.0	(12)	26.3	±	10.6	(12)	18.9	±	16.2	(10)

Values represent mean±S.D. (N)

^a vehicle control, corn oil (5 mL/kg)

Table 12-2

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats

Cumulative body weight gain of females, satellite groups (g)

Compound	methane, isothiocyanato-					
Dose (mg/kg)	0 ^a			8		
<u>Days of treatment</u>						
1 - 7	15.2	±	5.3	(5)	11.8	± 5.1 (5)
1 -14	23.7	±	8.3	(5)	24.3	± 8.1 (5)
1 -21	36.2	±	9.0	(5)	31.0	± 14.3 (5)
1 -28	49.1	±	11.7	(5)	38.5	± 17.8 (5)
1 -35	59.4	±	11.6	(5)	49.3	± 19.6 (5)
1 -42	67.1	±	10.3	(5)	59.2	± 24.7 (5)
<u>Days of recovery</u>						
1 - 7	6.9	±	4.6	(5)	15.4	± 5.3 (5)
1 -14	13.8	±	8.3	(5)	22.9	± 8.3 (5)

Values represent mean±S.D. (N)

^a vehicle control, corn oil (5 mL/kg)

Table 13

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats

Food consumption of males (g/day)

Compound	methane, isothiocyanato-											
Dose (mg/kg)	0 ^a			0.5			2			8		
<u>Days of treatment</u>												
1 - 2	22.8	±	2.5 (12)	23.9	±	3.5 (12)	23.4	±	3.1 (12)	23.1	±	2.5 (12)
7 - 8	24.0	±	1.5 (12)	23.7	±	3.5 (12)	21.6	±	2.2 (12)	20.1	±	2.7 ** (12)
14 -15	24.1	±	3.0 (12)	24.5	±	2.8 (12)	23.0	±	3.1 (12)	22.2	±	2.1 (12)
29 -30	25.9	±	2.0 (12)	25.2	±	1.9 (12)	24.5	±	1.9 (12)	24.7	±	2.4 (12)
35 -36	23.1	±	2.7 (12)	22.1	±	1.8 (12)	23.0	±	2.9 (12)	22.5	±	3.3 (12)
41 -42	27.2	±	2.3 (12)	24.6	±	3.3 (12)	25.8	±	2.2 (12)	24.0	±	2.4 * (12)
<u>Days of recovery</u>												
6 - 7	30.4	±	1.7 (5)							30.7	±	2.4 (5)
13 -14	30.2	±	2.6 (5)							32.7	±	3.1 (5)

Values represent mean±S.D. (N)

^a vehicle control, corn oil (5 mL/kg)

* significantly different from control, p<0.05

** significantly different from control, p<0.01

Table 14-1

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats

Food consumption of females, dams (g/day)

Compound	methane, isothiocyanato-											
Dose (mg/kg)	0 ^a			0.5			2			8		
<u>Days of treatment</u>												
1 - 2	18.1	±	3.1 (12)	17.6	±	2.9 (12)	16.5	±	3.5 (12)	17.4	±	1.7 (12)
7 - 8	15.3	±	3.6 (12)	15.5	±	2.1 (12)	15.6	±	2.0 (12)	16.5	±	3.2 (12)
14 -15	17.3	±	3.0 (12)	16.6	±	2.7 (12)	17.6	±	2.0 (12)	17.6	±	2.0 (12)
<u>Days of pregnancy</u>												
0 - 1	19.0	±	2.5 (12)	18.7	±	3.2 (12)	17.5	±	2.9 (12)	18.5	±	3.3 (12)
7 - 8	24.1	±	2.5 (12)	24.1	±	3.5 (12)	24.2	±	2.8 (12)	23.3	±	3.3 (12)
14 -15	24.2	±	2.8 (12)	25.0	±	1.5 (12)	25.7	±	2.5 (12)	24.0	±	2.8 (12)
20 -21	16.0	±	5.4 (12)	18.0	±	3.8 (12)	17.1	±	2.3 (12)	16.9	±	5.5 (12)
<u>Days of lactation</u>												
3 - 4	34.9	±	9.9 (11)	38.9	±	5.4 (12)	42.8	±	6.5 (12)	39.0	±	4.7 (10)

Values represent mean±S.D. (N)

^a vehicle control, corn oil (5 mL/kg)

Table 14-2

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats

Food consumption of females, satellite groups (g/day)

Compound	methane, isothiocyanato-					
Dose (mg/kg)	0 ^a			8		
<u>Days of treatment</u>						
1 - 2	17.1	±	1.9	(5)	19.2	± 3.6 (5)
7 - 8	19.0	±	2.8	(5)	17.0	± 3.1 (5)
14 -15	18.7	±	2.0	(5)	16.5	± 3.7 (5)
29 -30	15.8	±	1.8	(5)	19.6	± 2.5 (5)
35 -36	16.9	±	3.0	(5)	16.8	± 4.1 (5)
41 -42	17.3	±	2.7	(5)	16.6	± 3.3 (5)
<u>Days of recovery</u>						
6 - 7	20.4	±	2.2	(5)	22.0	± 3.2 (5)
13 -14	23.0	±	2.0	(5)	22.6	± 2.9 (5)

Values represent mean±S.D. (N)

^a vehicle control, corn oil (5 mL/kg)

Table 15

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats
Hematological findings of males and females at the end of dosing period

Compound	methane, isothiocyanato-							
Dose (mg/kg)	0 ^a		0.5		2		8	
<u>Male</u>								
Number of animals	5		5		5		5	
RBC (×10 ⁴ /μ L)	805 ±	27	842 ±	38	846 ±	40	875 ±	32 *
Hemoglobin (g/dL)	14.6 ±	0.3	14.8 ±	0.4	15.3 ±	0.4	15.5 ±	0.8 *
Hematocrit (%)	44.0 ±	1.2	44.7 ±	1.4	45.9 ±	1.2	46.9 ±	2.4
MCV (fL)	54.8 ±	0.5	53.2 ±	1.5	54.2 ±	1.5	53.6 ±	0.9
MCH (pg)	18.2 ±	0.4	17.6 ±	0.5	18.1 ±	0.5	17.7 ±	0.4
MCHC (g/dL)	33.1 ±	0.5	33.2 ±	0.3	33.3 ±	0.1	33.1 ±	0.2
Reticulocyte (%)	1.7 ±	0.5	1.7 ±	0.6	2.2 ±	0.5	1.7 ±	0.7
WBC (×100/μ L)	76.4 ±	16.8	114.0 ±	40.0	88.6 ±	46.2	84.6 ±	30.7
Differential leukocyte count (%)								
Neutrophil	20 ±	5	16 ±	8	16 ±	4	20 ±	8
Eosinophil	1 ±	1	1 ±	0	1 ±	1	2 ±	1
Basophil	0 ±	0	0 ±	0	0 ±	0	0 ±	0
Monocyte	4 ±	2	4 ±	2	5 ±	3	6 ±	4
Lymphocyte	75 ±	6	79 ±	7	78 ±	6	72 ±	12
Platelet (×10 ⁴ /μ L)	108.9 ±	6.1	106.1 ±	9.7	112.6 ±	11.2	130.3 ±	19.7 *
PT (sec)	14.5 ±	2.1	16.5 ±	1.8	14.6 ±	2.2	17.7 ±	3.1
APTT (sec)	21.2 ±	1.0	22.0 ±	1.9	20.7 ±	1.7	23.3 ±	1.4
<u>Female, dam</u>								
Number of animals	5		5		5		5	
RBC (×10 ⁴ /μ L)	676 ±	33	688 ±	27	688 ±	42	693 ±	65
Hemoglobin (g/dL)	13.0 ±	0.5	13.3 ±	0.4	13.5 ±	0.5	13.1 ±	0.8
Hematocrit (%)	38.7 ±	1.5	39.7 ±	1.2	40.1 ±	1.7	40.4 ±	3.2
MCV (fL)	57.3 ±	1.2	57.8 ±	1.3	58.4 ±	2.0	58.3 ±	1.6
MCH (pg)	19.3 ±	0.4	19.3 ±	0.5	19.6 ±	0.6	19.0 ±	0.8
MCHC (g/dL)	33.7 ±	0.3	33.4 ±	0.2	33.6 ±	0.4	32.6 ±	1.1
Reticulocyte (%)	4.9 ±	1.9	3.3 ±	0.8	4.1 ±	0.5	4.0 ±	2.1
WBC (×100/μ L)	79.2 ±	11.2	96.1 ±	16.9	102.9 ±	26.8	84.8 ±	17.2
Differential leukocyte count (%)								
Neutrophil	22 ±	8	20 ±	3	26 ±	7	25 ±	7
Eosinophil	1 ±	1	1 ±	0	1 ±	0	1 ±	1
Basophil	0 ±	0	0 ±	0	0 ±	0	0 ±	0
Monocyte	6 ±	3	5 ±	1	5 ±	1	6 ±	1
Lymphocyte	71 ±	7	75 ±	3	68 ±	8	68 ±	7
Platelet (×10 ⁴ /μ L)	108.1 ±	10.8	110.2 ±	16.8	111.7 ±	18.8	126.2 ±	17.7
PT (sec)	12.7 ±	0.5	12.0 ±	0.7	12.4 ±	0.4	12.5 ±	0.4
APTT (sec)	18.7 ±	1.5	18.8 ±	1.3	18.7 ±	0.8	18.2 ±	0.9

Values other than number of animals represent mean $\pm$ S.D.

^a vehicle control, corn oil (5 mL/kg)

* significantly different from control, $p < 0.05$

Table 16

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats
Hematological findings of males and females at the end of recovery period

Compound	methane, isothiocyanato-			
Dose (mg/kg)	0 ^a		8	
Male				
Number of animals	5		5	
RBC (×10 ⁴ /μ L)	853 ±	13	862 ±	18
Hemoglobin (g/dL)	15.0 ±	0.4	15.1 ±	0.3
Hematocrit (%)	44.8 ±	1.4	45.0 ±	0.8
MCV (fL)	52.4 ±	1.4	52.2 ±	1.4
MCH (pg)	17.6 ±	0.5	17.5 ±	0.5
MCHC (g/dL)	33.5 ±	0.3	33.5 ±	0.2
Reticulocyte (%)	1.4 ±	0.4	1.5 ±	0.4
WBC (×100/μ L)	125.6 ±	3.8	119.0 ±	24.4
Differential leukocyte count (%)				
Neutrophil	10 ±	2	9 ±	2
Eosinophil	1 ±	0	1 ±	1
Basophil	0 ±	0	0 ±	0
Monocyte	4 ±	1	4 ±	1
Lymphocyte	84 ±	3	86 ±	3
Platelet (×10 ⁴ /μ L)	106.6 ±	10.1	102.6 ±	4.4
PT (sec)	17.9 ±	3.5	18.8 ±	4.0
APTT (sec)	23.0 ±	2.0	23.9 ±	2.3
Female, satellite group				
Number of animals	5		5	
RBC (×10 ⁴ /μ L)	786 ±	22	781 ±	32
Hemoglobin (g/dL)	14.7 ±	0.4	14.3 ±	0.5
Hematocrit (%)	44.0 ±	1.4	42.8 ±	1.2
MCV (fL)	56.1 ±	1.3	54.8 ±	1.4
MCH (pg)	18.8 ±	0.4	18.4 ±	0.6
MCHC (g/dL)	33.4 ±	0.4	33.5 ±	0.6
Reticulocyte (%)	1.6 ±	0.6	1.7 ±	0.7
WBC (×100/μ L)	50.1 ±	14.7	43.6 ±	8.7
Differential leukocyte count (%)				
Neutrophil	11 ±	6	18 ±	6
Eosinophil	1 ±	0	3 ±	1
Basophil	0 ±	0	0 ±	0
Monocyte	5 ±	2	4 ±	2
Lymphocyte	84 ±	7	75 ±	8
Platelet (×10 ⁴ /μ L)	98.5 ±	15.6	105.7 ±	7.6
PT (sec)	11.9 ±	0.5	11.8 ±	0.5
APTT (sec)	19.0 ±	0.9	18.4 ±	1.3

Values other than number of animals represent mean $\pm$ S.D.

^a vehicle control, corn oil (5 mL/kg)

Table 17

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats
Biochemical findings of males and females at the end of dosing period

Compound	methane, isothiocyanato-							
Dose (mg/kg)	0 ^a		0.5		2		8	
Male								
Number of animals	5		5		5		5	
Total protein (g/dL)	5.7 ±	0.1	5.8 ±	0.1	5.8 ±	0.5	5.8 ±	0.2
Albumin (g/dL)	3.3 ±	0.1	3.3 ±	0.1	3.3 ±	0.2	3.4 ±	0.3
A/G	1.40 ±	0.12	1.31 ±	0.05	1.34 ±	0.25	1.42 ±	0.21
Blood urea nitrogen (mg/dL)	15 ±	3	14 ±	2	14 ±	1	15 ±	2
Creatinine (mg/dL)	0.7 ±	0.1	0.8 ±	0.1	0.8 ±	0.1	0.8 ±	0.1
Glucose (mg/dL)	162 ±	9	170 ±	7	166 ±	15	184 ±	13 *
Total cholesterol (mg/dL)	54 ±	7	46 ±	12	52 ±	8	57 ±	4
Triglyceride (mg/dL)	44 ±	28	34 ±	9	32 ±	20	36 ±	13
ALP (U/L)	230 ±	75	189 ±	33	203 ±	33	164 ±	29
ALT (U/L)	25 ±	2	27 ±	3	29 ±	9	23 ±	3
AST (U/L)	54 ±	5	57 ±	8	62 ±	10	52 ±	2
γ -GTP (U/L)	1 ±	1	2 ±	2	1 ±	1	1 ±	1
Total bilirubin (mg/dL)	0.05 ±	0.01	0.04 ±	0.02	0.06 ±	0.02	0.04 ±	0.00
Inorganic phosphorus (mg/dL)	6.1 ±	0.7	6.5 ±	0.7	6.1 ±	0.7	6.1 ±	0.8
Calcium (mg/dL)	9.0 ±	0.2	9.0 ±	0.1	9.0 ±	0.2	9.0 ±	0.1
Na (mEq/dL)	144.0 ±	1.3	143.3 ±	1.0	144.0 ±	0.9	143.1 ±	0.7
K (mEq/dL)	4.07 ±	0.24	4.26 ±	0.12	3.94 ±	0.11	4.16 ±	0.12
Cl (mEq/dL)	108.1 ±	1.3	107.2 ±	1.8	107.7 ±	1.5	106.7 ±	1.0
Female, dam								
Number of animals	5		5		5		5	
Total protein (g/dL)	6.0 ±	0.3	5.9 ±	0.5	5.7 ±	0.2	5.6 ±	0.1
Albumin (g/dL)	3.8 ±	0.2	3.6 ±	0.3	3.6 ±	0.1	3.4 ±	0.2
A/G	1.77 ±	0.16	1.54 ±	0.06	1.78 ±	0.14	1.62 ±	0.30
Blood urea nitrogen (mg/dL)	13 ±	3	16 ±	2	15 ±	2	15 ±	3
Creatinine (mg/dL)	0.7 ±	0.1	0.6 ±	0.0	0.7 ±	0.1	0.7 ±	0.1
Glucose (mg/dL)	142 ±	11	133 ±	9	142 ±	9	144 ±	9
Total cholesterol (mg/dL)	49 ±	14	52 ±	5	59 ±	4	56 ±	13
Triglyceride (mg/dL)	30 ±	18	35 ±	13	27 ±	2	23 ±	8
ALP (U/L)	81 ±	10	77 ±	21	75 ±	19	91 ±	22
ALT (U/L)	33 ±	11	30 ±	5	32 ±	7	35 ±	10
AST (U/L)	69 ±	24	61 ±	5	70 ±	15	68 ±	19
γ -GTP (U/L)	2 ±	1	3 ±	2	2 ±	1	2 ±	0
Total bilirubin (mg/dL)	0.06 ±	0.01	0.04 ±	0.01	0.05 ±	0.01	0.05 ±	0.02
Inorganic phosphorus (mg/dL)	7.3 ±	0.8	7.2 ±	0.4	7.3 ±	0.7	7.3 ±	1.1
Calcium (mg/dL)	9.5 ±	0.1	9.3 ±	0.2	9.2 ±	0.2	9.3 ±	0.2
Na (mEq/dL)	143.3 ±	1.1	143.0 ±	0.5	143.1 ±	0.4	144.1 ±	0.9
K (mEq/dL)	4.08 ±	0.36	4.20 ±	0.31	3.94 ±	0.07	3.92 ±	0.24
Cl (mEq/dL)	107.3 ±	0.8	108.3 ±	1.5	108.6 ±	1.6	108.6 ±	0.7

Values other than number of animals represent mean±S.D.

^a vehicle control, corn oil (5 mL/kg)

* significantly different from control, p<0.05

Table 18

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats
 Biochemical findings of males and females at the end of recovery period

Compound Dose (mg/kg)	methane, isothiocyanato-	
	0 ^a	8
<u>Male</u>		
Number of animals	5	5
Total protein (g/dL)	6.0 ± 0.1	6.0 ± 0.2
Albumin (g/dL)	3.8 ± 0.1	3.7 ± 0.2
A/G	1.70 ± 0.24	1.56 ± 0.15
Blood urea nitrogen (mg/dL)	16 ± 2	17 ± 4
Creatinine (mg/dL)	0.7 ± 0.1	0.8 ± 0.2
Glucose (mg/dL)	186 ± 15	183 ± 18
Total cholesterol (mg/dL)	43 ± 8	56 ± 14
Triglyceride (mg/dL)	28 ± 10	42 ± 10
ALP (U/L)	157 ± 44	161 ± 43
ALT (U/L)	29 ± 7	36 ± 10
AST (U/L)	68 ± 14	70 ± 6
γ-GTP (U/L)	2 ± 1	1 ± 1
Total bilirubin (mg/dL)	0.05 ± 0.02	0.04 ± 0.01
Inorganic phosphorus (mg/dL)	6.2 ± 0.8	6.7 ± 0.5
Calcium (mg/dL)	9.0 ± 0.2	9.0 ± 0.3
Na (mEq/dL)	143.2 ± 0.7	143.1 ± 0.7
K (mEq/dL)	4.27 ± 0.23	4.13 ± 0.17
Cl (mEq/dL)	106.8 ± 1.1	105.6 ± 1.2
<u>Female, satellite group</u>		
Number of animals	5	5
Total protein (g/dL)	6.2 ± 0.3	6.3 ± 0.3
Albumin (g/dL)	4.3 ± 0.2	4.0 ± 0.4
A/G	2.24 ± 0.12	1.80 ± 0.27
Blood urea nitrogen (mg/dL)	21 ± 0	21 ± 4
Creatinine (mg/dL)	0.8 ± 0.0	0.8 ± 0.1
Glucose (mg/dL)	153 ± 8	159 ± 14
Total cholesterol (mg/dL)	60 ± 14	71 ± 12
Triglyceride (mg/dL)	30 ± 11	39 ± 23
ALP (U/L)	55 ± 15	61 ± 21
ALT (U/L)	28 ± 11	26 ± 9
AST (U/L)	59 ± 10	60 ± 14
γ-GTP (U/L)	1 ± 1	2 ± 0
Total bilirubin (mg/dL)	0.07 ± 0.02	0.06 ± 0.01
Inorganic phosphorus (mg/dL)	3.9 ± 0.7	4.6 ± 0.5
Calcium (mg/dL)	9.2 ± 0.2	9.1 ± 0.3
Na (mEq/dL)	142.5 ± 0.7	142.2 ± 1.4
K (mEq/dL)	3.93 ± 0.24	4.11 ± 0.29
Cl (mEq/dL)	108.1 ± 1.6	107.5 ± 1.9

Values other than number of animals represent mean±S.D.

^a vehicle control, corn oil (5 mL/kg)

Table 19

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats
Absolute and relative organ weight of males and females at the end of dosing period

Compound		methane, isothiocyanato-							
Dose (mg/kg)		0 ^a		0.5		2		8	
<u>Male</u>									
Number of animals		5		5		5		5	
Terminal body weight (g)		527.3 ± 27.6		530.7 ± 21.1		501.2 ± 42.3		479.2 ± 32.4	
Brain	(g)	2.07 ± 0.06		2.03 ± 0.06		2.02 ± 0.09		2.03 ± 0.06	
	(g%)	0.39 ± 0.02		0.38 ± 0.02		0.40 ± 0.02		0.43 ± 0.04	
Thymus	(mg)	300.7 ± 67.1		301.4 ± 63.7		260.7 ± 113.1		267.0 ± 42.7	
	(mg%)	57.0 ± 12.0		57.1 ± 13.4		52.0 ± 22.8		55.7 ± 8.7	
Heart	(g)	1.46 ± 0.06		1.40 ± 0.17		1.42 ± 0.12		1.35 ± 0.11	
	(g%)	0.28 ± 0.01		0.26 ± 0.03		0.29 ± 0.01		0.28 ± 0.02	
Liver	(g)	15.63 ± 0.37		15.18 ± 1.21		15.30 ± 2.98		15.21 ± 1.30	
	(g%)	2.97 ± 0.20		2.86 ± 0.12		3.03 ± 0.32		3.17 ± 0.11	
Kidneys	(g)	3.28 ± 0.09		3.33 ± 0.32		3.20 ± 0.38		2.98 ± 0.16	
	(g%)	0.62 ± 0.04		0.63 ± 0.07		0.64 ± 0.03		0.62 ± 0.02	
Spleen	(g)	0.80 ± 0.07		0.82 ± 0.10		0.80 ± 0.07		0.87 ± 0.16	
	(g%)	0.15 ± 0.02		0.15 ± 0.02		0.16 ± 0.01		0.18 ± 0.04	
Adrenal glands	(mg)	59.8 ± 5.3		61.7 ± 11.8		71.4 ± 12.4		57.6 ± 6.5	
	(mg%)	11.4 ± 1.5		11.7 ± 2.5		14.4 ± 3.1		12.0 ± 1.1	
Testes	(g)	3.32 ± 0.21		3.41 ± 0.21		3.31 ± 0.32		3.36 ± 0.19	
	(g%)	0.63 ± 0.04		0.64 ± 0.03		0.66 ± 0.08		0.70 ± 0.06	
Epididymides	(g)	1.19 ± 0.05		1.27 ± 0.09		1.30 ± 0.06		1.29 ± 0.15	
	(g%)	0.22 ± 0.02		0.24 ± 0.02		0.26 ± 0.02		0.27 ± 0.03 *	
<u>Female, dam</u>									
Number of animals		5		5		5		5	
Terminal body weight (g)		302.1 ± 17.0		310.9 ± 13.2		320.5 ± 7.7		296.3 ± 13.6	
Brain	(g)	1.89 ± 0.01		1.84 ± 0.04		1.89 ± 0.08		1.85 ± 0.05	
	(g%)	0.63 ± 0.04		0.59 ± 0.02		0.59 ± 0.03		0.62 ± 0.03	
Thymus	(mg)	163.4 ± 60.0		206.6 ± 49.9		159.1 ± 31.4		131.4 ± 43.2	
	(mg%)	54.7 ± 21.9		66.1 ± 14.1		49.7 ± 10.1		43.9 ± 13.2	
Heart	(g)	0.96 ± 0.08		1.02 ± 0.10		0.99 ± 0.04		0.96 ± 0.04	
	(g%)	0.32 ± 0.02		0.33 ± 0.02		0.31 ± 0.01		0.32 ± 0.01	
Liver	(g)	10.46 ± 1.11		10.84 ± 0.61		11.08 ± 0.74		10.55 ± 0.93	
	(g%)	3.45 ± 0.19		3.49 ± 0.18		3.46 ± 0.28		3.56 ± 0.29	
Kidneys	(g)	1.99 ± 0.19		2.16 ± 0.18		2.17 ± 0.18		2.11 ± 0.19	
	(g%)	0.66 ± 0.04		0.70 ± 0.06		0.68 ± 0.07		0.71 ± 0.03	
Spleen	(g)	0.62 ± 0.09		0.69 ± 0.06		0.67 ± 0.09		0.65 ± 0.06	
	(g%)	0.21 ± 0.03		0.22 ± 0.02		0.21 ± 0.03		0.22 ± 0.03	
Adrenal glands	(mg)	82.6 ± 6.6		79.3 ± 9.3		73.6 ± 6.3		70.3 ± 6.3	
	(mg%)	27.4 ± 2.4		25.6 ± 3.9		23.0 ± 2.4		23.7 ± 2.1	

Values other than number of animals represent mean±S.D.

^a vehicle control, corn oil (5 mL/kg)

* significantly different from control, p<0.05

Table 20

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats
Absolute and relative organ weight of males and females at the end of recovery period

Compound		methane, isothiocyanato-			
Dose (mg/kg)		0 ^a		8	
<u>Male</u>					
Number of animals		5		5	
Terminal body weight	(g)	527.6 ± 37.6		542.1 ± 32.7	
Brain	(g)	2.04 ± 0.11		2.01 ± 0.03	
	(g%)	0.39 ± 0.03		0.37 ± 0.02	
Thymus	(mg)	273.6 ± 54.9		272.4 ± 43.9	
	(mg%)	51.9 ± 9.6		50.1 ± 5.8	
Heart	(g)	1.50 ± 0.06		1.60 ± 0.09	
	(g%)	0.29 ± 0.02		0.30 ± 0.01	
Liver	(g)	14.50 ± 0.91		15.03 ± 1.04	
	(g%)	2.75 ± 0.16		2.77 ± 0.09	
Kidneys	(g)	3.56 ± 0.37		3.24 ± 0.22	
	(g%)	0.68 ± 0.09		0.60 ± 0.03	
Spleen	(g)	0.77 ± 0.13		0.80 ± 0.06	
	(g%)	0.15 ± 0.02		0.15 ± 0.01	
Adrenal glands	(mg)	57.2 ± 3.4		54.1 ± 5.6	
	(mg%)	10.9 ± 1.0		10.0 ± 0.9	
Testes	(g)	3.45 ± 0.31		3.49 ± 0.10	
	(g%)	0.66 ± 0.10		0.65 ± 0.05	
Epididymides	(g)	1.36 ± 0.15		1.34 ± 0.03	
	(g%)	0.26 ± 0.04		0.25 ± 0.01	
<u>Female, satellite group</u>					
Number of animals		5		5	
Terminal body weight	(g)	309.0 ± 19.1		309.3 ± 38.0	
Brain	(g)	1.90 ± 0.11		1.89 ± 0.03	
	(g%)	0.62 ± 0.02		0.62 ± 0.08	
Thymus	(mg)	273.1 ± 49.8		251.2 ± 56.2	
	(mg%)	88.0 ± 12.0		82.6 ± 24.7	
Heart	(g)	0.95 ± 0.04		0.97 ± 0.11	
	(g%)	0.31 ± 0.01		0.32 ± 0.04	
Liver	(g)	8.44 ± 0.62		8.88 ± 1.44	
	(g%)	2.73 ± 0.15		2.87 ± 0.28	
Kidneys	(g)	2.11 ± 0.17		2.19 ± 0.17	
	(g%)	0.69 ± 0.07		0.71 ± 0.07	
Spleen	(g)	0.57 ± 0.07		0.59 ± 0.06	
	(g%)	0.19 ± 0.03		0.19 ± 0.02	
Adrenal glands	(mg)	69.0 ± 14.9		64.1 ± 10.1	
	(mg%)	22.4 ± 4.9		20.7 ± 2.2	

Values other than number of animals represent mean±S.D.

^a vehicle control, corn oil (5 mL/kg)

Table 21

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats

Macroscopic findings of males at the end of dosing period

Group Grade	Control		0.5 mg/kg		2 mg/kg		8 mg/kg	
	—	+	—	+	—	+	—	+
(Stomach)	[7]		[12]		[12]		[7]	
Thickness, mucosa, forestomach	7	0	12	0	5	7	0	7
Whitish cloudy, mucosa, forestomach	7	0	12	0	12	0	6	1
Edema, mucosa, forestomach	7	0	12	0	12	0	2	5
Area, yellow, mucosa, forestomach	7	0	12	0	12	0	6	1
Nodule, white, mucosa, glandular stomach	7	0	12	0	11	1	7	0
(Liver)	[7]		[12]		[12]		[7]	
Enlargement	7	0	11	1	7	5	7	0
(Kidney)	[7]		[12]		[12]		[7]	
Recessed area, cortex, right side	6	1	12	0	12	0	6	1
(Jejunum)	[7]		[12]		[12]		[7]	
Diverticulum	7	0	11	1	12	0	7	0
(Epididymis)	[7]		[12]		[12]		[7]	
Nodule, cauda, right side	7	0	12	0	12	0	6	1
(Mandibular lymph node)	[7]		[12]		[12]		[7]	
Enlargement	7	0	12	0	12	0	6	1

—, Negative; +, Positive

[], Number of animals examined

Table 22

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats

Macroscopic findings of females at the end of dosing period

Group Grade	Control		0.5 mg/kg		2 mg/kg		8 mg/kg	
	—	+	—	+	—	+	—	+
(Stomach)	[12]		[12]		[12]		[12]	
Thickness, mucosa, forestomach	12	0	12	0	8	4	6	6
Edema, mucosa, forestomach	12	0	12	0	12	0	8	4
Area, indentation, mucosa, forestomach	12	0	12	0	12	0	11	1
Spot, black, mucosa, glandular stomach	11	1	11	1	11	1	12	0
(Kidney)	[12]		[12]		[12]		[12]	
Rough surface, bilateral	12	0	12	0	12	0	11	1
(Thymus)	[12]		[12]		[12]		[12]	
Small	11	1	12	0	12	0	11	1
(Spleen)	[12]		[12]		[12]		[12]	
Small	12	0	12	0	12	0	11	1

—, Negative; +, Positive

[], Number of animals examined

Table 23

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats

Macroscopic findings of males at the end of recovery period

Group Grade	Control		8 mg/kg	
	—	+	—	+
(Stomach)	[5]		[5]	
Thickness, mucosa, forestomach	5	0	3	2

—, Negative; +, Positive

[], Number of animals examined

Table 24

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats

Macroscopic findings of females at the end of recovery period

Group Grade	Control		8 mg/kg	
	—	+	—	+
(Stomach)	[5]		[5]	
Thickness, mucosa, forestomach	5	0	4	1

—, Negative; +, Positive

[], Number of animals examined

Table 25

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats

Histopathological findings of males at the end of dosing period

Group Grade	Control — ± + ++ ### Pos.	0.5 mg/kg — ± + ++ ### Pos.	2 mg/kg — ± + ++ ### Pos.	8 mg/kg — ± + ++ ### Pos.
(Testis)	[7]	[12]	[12]	[7]
No remarkable change				
(Epididymis)	[7]	[12]	[12]	[7]
Spermatic granuloma, cauda, right side	7 0 0 0 0 0	12 0 0 0 0 0	12 0 0 0 0 0	6 0 0 0 1 1
(Stomach)	[5]	[5]	[5]	[5]
Hyperplasia, papillary, squamous cell, forestomach	5 0 0 0 0 0	5 0 0 0 0 0	0 5 0 0 0 ** 5 ##	0 0 0 3 2 ** 5 ##
(Stomach) a)	[5]	[5]	[10]	[7]
Hyperplasia, papillary, squamous cell, forestomach	5 0 0 0 0 0	5 0 0 0 0 0	0 6 3 1 0 10	0 0 0 5 2 7
(Liver)	[5]	[0]	[0]	[5]
Fatty change, periportal	0 0 2 3 0 5			0 0 4 1 0 5
Microgranuloma	3 2 0 0 0 2			2 3 0 0 0 3
(Liver) a)	[5]	[1]	[5]	[5]
Fatty change, periportal	0 0 2 3 0 5	0 0 1 0 0 1	0 0 2 3 0 5	0 0 4 1 0 5
Microgranuloma	3 2 0 0 0 2	0 1 0 0 0 1	2 3 0 0 0 3	2 3 0 0 0 3
(Kidney)	[5]	[0]	[0]	[5]
Eosinophilic body	2 3 0 0 0 3			4 1 0 0 0 1
Basophilic tubule, cortex	1 4 0 0 0 4			4 1 0 0 0 1
Cyst, focal, cortico-medullary junction	4 1 0 0 0 1			5 0 0 0 0 0
Cellular infiltration, lymphocyte, interstitium	4 1 0 0 0 1			5 0 0 0 0 0
(Brain)	[5]	[0]	[0]	[5]
Astrocytoma	tumor = 0			tumor = 1
(Spinal cord)	[5]	[0]	[0]	[5]
No remarkable change				
(Pituitary gland)	[5]	[0]	[0]	[5]
No remarkable change				

a), This histopathological findings is data about all animals of examined.

—, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; ###, Severe; Pos., Total of positive grade

[], Number of animals examined

**, Significantly different from control $p < 0.01$ (Two-tailed Mann-Whitney U test)##, Significantly different from control $p < 0.01$ (One-tailed Fisher exact test)

Table 25(Continued-1)

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats

Histopathological findings of males at the end of dosing period

Group Grade	Control — ± + ++ ### Pos.	0.5 mg/kg — ± + ++ ### Pos.	2 mg/kg — ± + ++ ### Pos.	8 mg/kg — ± + ++ ### Pos.
(Heart)	[5]	[0]	[0]	[5]
Degeneration/fibrosis, focal, myocardium	2 2 1 0 0 3			4 1 0 0 0 1
(Lung & Bronchus)	[5]	[0]	[0]	[5]
Accumulation, foam cell, focal, alveolus	4 1 0 0 0 1			5 0 0 0 0 0
Mineralization, artery wall, lung	4 1 0 0 0 1			3 2 0 0 0 2
(Trachea)	[5]	[0]	[0]	[5]
No remarkable change				
(Thyroid gland)	[5]	[0]	[0]	[5]
No remarkable change				
(Parathyroid gland)	[4]	[0]	[0]	[5]
No remarkable change				
(Thymus)	[5]	[0]	[0]	[5]
No remarkable change				
(Mandibular lymph node)	[5]	[0]	[0]	[5]
No remarkable change				
(Spleen)	[5]	[0]	[0]	[5]
Hematopoiesis, extramedullary	0 2 3 0 0 5			0 2 3 0 0 5
Deposit, pigment, brown	0 0 4 1 0 5			0 0 4 1 0 5
(Duodenum)	[5]	[0]	[0]	[5]
No remarkable change				
(Jejunum)	[5]	[0]	[0]	[5]
No remarkable change				
(Jejunum) a)	[5]	[1]	[0]	[5]
Diverticulum	5 0 0 0 0 0	0 0 1 0 0 1		5 0 0 0 0 0
(Ileum)	[5]	[0]	[0]	[5]
No remarkable change				

a), This histopathological findings is data about all animals of examined.

—, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; ###, Severe; Pos., Total of positive grade

[], Number of animals examined

Table 25(Continued-2)

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats

Histopathological findings of males at the end of dosing period

Group Grade	Control — ± + ++ ### Pos.	0.5 mg/kg — ± + ++ ### Pos.	2 mg/kg — ± + ++ ### Pos.	8 mg/kg — ± + ++ ### Pos.
(Cecum)	[5]	[0]	[0]	[5]
No remarkable change				
(Colon)	[5]	[0]	[0]	[5]
No remarkable change				
(Rectum)	[5]	[0]	[0]	[5]
No remarkable change				
(Mesenteric lymph node)	[5]	[0]	[0]	[5]
No remarkable change				
(Adrenal gland)	[5]	[0]	[0]	[5]
No remarkable change				
(Sciatic nerve)	[5]	[0]	[0]	[5]
No remarkable change				
(Urinary bladder)	[5]	[0]	[0]	[5]
Cellular infiltration, lymphocyte, lamina propria	5 0 0 0 0 0			4 1 0 0 0 1
(Prostate: ventral lobe)	[5]	[0]	[0]	[5]
Cellular infiltration, lymphocyte & neutrophil, epithelium/interstitium	0 0 4 1 0 5			0 3 1 0 1 5
(Seminal vesicle & Coagulating gland)	[5]	[0]	[0]	[5]
No remarkable change				
(Bone marrow of Femur)	[5]	[0]	[0]	[5]
No remarkable change				

—, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; ###, Severe; Pos., Total of positive grade
[], Number of animals examined

Table 26

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats

Histopathological findings of females at the end of dosing period

Group Grade	Control						Pos.	0.5 mg/kg						Pos.	2 mg/kg						Pos.	8 mg/kg						Pos.			
	—	±	+	++	+++			—	±	+	++	+++			—	±	+	++	+++			—	±	+	++	+++					
(Ovary)	[12]							[12]							[12]																
No remarkable change																															
(Stomach)	[5]							[5]							[5]																
Hyperplasia, papillary, squamous cell, forestomach		5	0	0	0	0	0		5	0	0	0	0	0		4	1	0	0	0	1		0	0	1	2	2**	5##			
(Stomach) a)	[6]							[6]							[6]																
Hyperplasia, papillary, squamous cell, forestomach		6	0	0	0	0	0		6	0	0	0	0	0		5	1	0	0	0	1		0	0	1	4	3	8			
(Liver)	[5]							[0]							[0]																
Fatty change, periportal		0	4	0	1	0	5																	0	5	0	0	0	5		
Microgranuloma		4	1	0	0	0	1																	5	0	0	0	0	0		
Necrosis, focal, subcapsule		4	1	0	0	0	1																	5	0	0	0	0	0		
(Kidney)	[5]							[0]							[0]																
Basophilic tubule, cortex		3	2	0	0	0	2																		4	1	0	0	0	1	
Mineralization		3	2	0	0	0	2																		4	1	0	0	0	1	
Degeneration, vacuolar, epithelium, proximal tubule, cortex		5	0	0	0	0	0																		3	1	1	0	0	2	
(Kidney) a)	[5]							[0]							[0]																
Basophilic tubule, cortex		3	2	0	0	0	2																			4	1	0	1	0	2
Mineralization		3	2	0	0	0	2																			5	1	0	0	0	1
Degeneration, vacuolar, epithelium, proximal tubule, cortex		5	0	0	0	0	0																			4	1	1	0	0	2
Retention, fatty droplet, epithelium, proximal tubule, cortex		5	0	0	0	0	0																			5	0	1	0	0	1
Hyalin droplet, epithelium, collecting tubule, papilla		5	0	0	0	0	0																			5	1	0	0	0	1
Dilatation, lumen, diffuse, distal tubule, cortex		5	0	0	0	0	0																			5	1	0	0	0	1

a). This histopathological findings is data about all animals of examined.

—, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe; Pos., Total of positive grade

[], Number of animals examined

**, Significantly different from control $p < 0.01$ (Two-tailed Mann-Whitney U test)##, Significantly different from control $p < 0.01$ (One-tailed Fisher exact test)

Table 26(Continued-1)

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats

Histopathological findings of females at the end of dosing period

Group Grade	Control						Pos.	0.5 mg/kg						Pos.	2 mg/kg						Pos.	8 mg/kg						Pos.			
	—	±	+	++	+++			—	±	+	++	+++			—	±	+	++	+++			—	±	+	++	+++					
(Brain)	[5]							[0]							[0]										[5]						
No remarkable change																															
(Spinal cord)	[5]							[0]							[0]										[5]						
No remarkable change																															
(Pituitary gland)	[5]							[0]							[0]										[5]						
No remarkable change																															
(Heart)	[5]							[0]							[0]										[5]						
No remarkable change																															
(Lung & Bronchus)	[5]							[0]							[0]										[5]						
Accumulation, foam cell,																															
focal, alveolus		5	0	0	0	0	0																		2	3	0	0	0		3
Mineralization, artery wall, lung		4	1	0	0	0	1																		3	2	0	0	0		2
(Trachea)	[5]							[0]							[0]										[5]						
No remarkable change																															
(Thyroid gland)	[5]							[0]							[0]										[5]						
No remarkable change																															
(Parathyroid gland)	[4]							[0]							[0]										[3]						
No remarkable change																															
(Thymus)	[5]							[0]							[0]										[5]						
Atrophy		4	0	1	0	0	1																		3	0	2	0	0		2
(Thymus) a)	[6]							[0]							[0]										[6]						
Atrophy		4	0	1	0	1	2																		4	0	2	0	0		2
(Mandibular lymph node)	[5]							[0]							[0]										[5]						
No remarkable change																															
(Spleen)	[5]							[0]							[0]										[5]						
Hematopoiesis, extramedullary		0	0	2	3	0	5																		0	0	3	2	0		5
Deposit, pigment, brown		0	0	4	1	0	5																		0	0	3	2	0		5
(Spleen) a)	[5]							[0]							[0]										[6]						
Hematopoiesis, extramedullary		0	0	2	3	0	5																		0	1	3	2	0		6
Deposit, pigment, brown		0	0	4	1	0	5																		0	0	4	2	0		6
Decrease, area, red pulp		5	0	0	0	0	0																		5	0	1	0	0		1

a). This histopathological findings is data about all animals of examined.

—, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; ###, Severe; Pos., Total of positive grade

[], Number of animals examined

Table 26(Continued-2)

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats

Histopathological findings of females at the end of dosing period

Group Grade	Control					Pos.	0.5 mg/kg					Pos.	2 mg/kg					Pos.	8 mg/kg					Pos.
	—	±	+	++	+++		—	±	+	++	+++		—	±	+	++	+++		—	±	+	++	+++	
(Duodenum)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Jejunum)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Ileum)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Cecum)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Colon)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Rectum)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Mesenteric lymph node)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Adrenal gland)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Sciatic nerve)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Urinary bladder)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Uterus)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Vagina)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Bone marrow of Femur)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								

—, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe; Pos., Total of positive grade

[], Number of animals examined

Table 27

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats

Histopathological findings of males at the end of recovery period

Group Grade	Control						Pos.	8 mg/kg						Pos.
	—	±	+	++	+++	—		±	+	++	+++			
(Testis)	[5]							[5]						
No remarkable change														
(Epididymis)	[5]							[5]						
Cellular infiltration, lymphocyte, interstitium		4	1	0	0	0	1		4	1	0	0	0	1
(Stomach)	[5]							[5]						
Hyperplasia, papillary, squamus cell, forestomach		5	0	0	0	0	0		0	0	3	2	0 **	5 ##

—, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe; Pos., Total of positive grade

[], Number of animals examined

**, Significantly different from control $p < 0.01$ (Two-tailed Mann-Whitney U test)##, Significantly different from control $p < 0.01$ (One-tailed Fisher exact test)

Table 28

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats

Histopathological findings of females at the end of recovery period

Group Grade	Control					Pos.	8 mg/kg					Pos.
	—	±	+	++	+++		—	±	+	++	+++	
(Ovary)	[5]						[5]					
No remarkable change												
(Stomach)	[5]						[5]					
Hyperplasia, papillary, squamous cell, forestomach	5	0	0	0	0	0	0	3	2	0	0 **	5 ##

—, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe; Pos., Total of positive grade

[], Number of animals examined

**, Significantly different from control $p < 0.01$ (Two-tailed Mann-Whitney U test)##, Significantly different from control $p < 0.01$ (One-tailed Fisher exact test)

Table 29

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats

Estrous cycle of dams

Compound	methane, isothiocyanato-			
	0 ^a	0.5	2	8
Dose (mg/kg)				
Number of dams examined	12	12	12	12
<u>Pre-treatment period</u>				
Number of animals showing type of cycle				
4-day	12	12	12	12
<u>Treatment period</u>				
Number of animals showing each type of cycle				
4- or 5-day	11	12	12	12
unestrus	1	0	0	0
Frequency of animals of which type of estrous cycle was changed after the treatment	1 / 12	0 / 12	0 / 12	0 / 12
Mean times of vaginal estrus during meating period ^b	1.0 ± 0.0 (12)	1.0 ± 0.0 (12)	1.0 ± 0.0 (12)	1.0 ± 0.0 (12)

^a vehicle control, corn oil (5 mL/kg)^b values represent mean±S.D. (N)

Table 30

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats

Reproductive performance of animals

Compound	methane, isothiocyanato-			
	0 ^a	0.5	2	8
Dose (mg/kg)				
Number of pairs examined	12	12	12	12
Number of pairs copulated	12	12	12	12
Copulation index	100	100	100	100
Number of pregnant females	12	12	12	12
Fertility index	100	100	100	100
Pairing days until copulation ^b	2.3 ± 1.1	2.3 ± 1.2	2.4 ± 1.0	2.2 ± 0.9

^a vehicle control, corn oil (5 mL/kg)^b values represent mean±S.D.

Copulation index = (number of pairs copulated / number of pairs examined) × 100, %

Fertility index = (number of pregnant females / number of pairs copulated) × 100, %

Table 31

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats
Development of pups up to day 4 of lactation

Compound	methane, isothiocyanato-			
	0 ^a	0.5	2	8
Number of pregnant females	12	12	12	12
Number of pregnant females with live newborns	12	12	12	12
Gestation index	100	100	100	100
Gestation length in days	22.3 ± 0.5 (12)	22.8 ± 0.5 (12)	22.5 ± 0.5 (12)	22.6 ± 0.5 (12)
Number of corpora lutea	16.2 ± 1.8 (12)	15.8 ± 2.2 (12)	16.5 ± 1.6 (12)	15.5 ± 2.0 (12)
Number of implantations	15.8 ± 1.5 (12)	15.5 ± 2.0 (12)	16.0 ± 1.7 (12)	15.1 ± 2.3 (12)
Implantation index	97.7 ± 4.9 (12)	98.6 ± 3.3 (12)	97.1 ± 5.3 (12)	97.2 ± 6.0 (12)
<u>Day 0 of lactation (at birth)</u>				
Number of newborns	13.6 ± 3.8 (12)	14.7 ± 1.9 (12)	14.8 ± 2.3 (12)	14.0 ± 2.8 (12)
Delivery index	86.3 ± 22.1 (12)	94.8 ± 5.3 (12)	91.9 ± 7.8 (12)	92.3 ± 6.3 (12)
Number of live newborns	12.6 ± 3.8 (12)	14.5 ± 1.8 (12)	14.5 ± 2.2 (12)	12.8 ± 2.8 (12)
Males	7.1 ± 2.7 (12)	6.8 ± 2.0 (12)	6.8 ± 2.9 (12)	6.2 ± 3.1 (12)
Females	5.5 ± 2.4 (12)	7.8 ± 1.7 * (12)	7.7 ± 2.2 * (12)	6.6 ± 2.2 (12)
Birth index	79.7 ± 21.7 (12)	93.8 ± 6.4 (12)	90.5 ± 8.9 (12)	84.6 ± 12.1 (12)
Live birth index	92.9 ± 9.5 (12)	99.0 ± 3.6 (12)	98.4 ± 4.1 (12)	92.1 ± 14.2 (12)
Sex ratio on day 0	55.0 ± 14.2 (12)	46.3 ± 10.8 (12)	46.3 ± 16.7 (12)	47.8 ± 17.9 (12)
<u>Day 4 of lactation</u>				
Number of live pups	11.4 ± 5.2 (12)	14.5 ± 1.8 (12)	14.5 ± 2.2 (12)	9.8 ± 5.0 (12)
Males	6.3 ± 3.5 (12)	6.8 ± 2.0 (12)	6.8 ± 2.9 (12)	4.7 ± 2.7 (12)
Females	5.1 ± 2.7 (12)	7.8 ± 1.7 * (12)	7.7 ± 2.2 * (12)	5.2 ± 3.1 (12)
Viability index	90.4 ± 28.6 (12)	100.0 ± 0.0 (12)	100.0 ± 0.0 (12)	80.9 ± 38.3 (12)
Sex ratio on day 4	53.7 ± 15.2 (11)	46.3 ± 10.8 (12)	46.3 ± 16.7 (12)	48.4 ± 14.0 (10)
Breeding index	91.7	100	100	83.3

Values other than number of pregnant females, number of pregnant females with live newborns and gestation index represent mean ± S.D. (N)

^a vehicle control, corn oil (5 mL/kg)

* significantly different from control, $p < 0.05$

Gestation index = (number of pregnant females with live newborns / number of pregnant females) × 100, %

Implantation index = (number of implantations / number of corpora lutea) × 100, %

Delivery index = (number of newborns / number of implantations) × 100, %

Birth index = (number of live newborns / number of implantations) × 100, %

Live birth index = (number of live newborns / number of newborns) × 100, %

Sex ratio on day 0 = (number of male live newborns / number of live newborns) × 100, %

Viability index = (number of live pups on day 4 of lactation / number of live newborns) × 100, %

Sex ratio on day 4 = (number of male live pups on day 4 of lactation / number of live pups on day 4 of lactation) × 100, %

Breeding index = (number of females with live pups on day 4 of lactation / number of females with live newborns) × 100, %

Table 32

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats

Mean body weight of pups up to day 4 of lactation

Compound	methane, isothiocyanato-			
	0 ^a	0.5	2	8
<u>Day 0 of lactation</u>				
Number of live newborns				
Male	7.1 ± 2.7 (12)	6.8 ± 2.0 (12)	6.8 ± 2.9 (12)	6.2 ± 3.1 (12)
Female	5.5 ± 2.4 (12)	7.8 ± 1.7 * (12)	7.7 ± 2.2 * (12)	6.6 ± 2.2 (12)
Mean body weight (g)				
Male	6.8 ± 0.7 (12)	7.2 ± 0.6 (12)	6.9 ± 0.9 (12)	6.8 ± 0.7 (12)
Female	6.4 ± 0.8 (12)	6.7 ± 0.5 (12)	6.5 ± 0.7 (12)	6.4 ± 0.7 (12)
<u>Day 4 of lactation</u>				
Number of live newborns				
Male	6.9 ± 3.0 (11)	6.8 ± 2.0 (12)	6.8 ± 2.9 (12)	5.6 ± 1.7 (10)
Female	5.5 ± 2.3 (11)	7.8 ± 1.7 * (12)	7.7 ± 2.2 (12)	6.2 ± 2.1 (10)
Mean body weight (g)				
Male	11.3 ± 3.0 (11)	11.6 ± 1.2 (12)	11.6 ± 1.8 (12)	11.9 ± 1.0 (10)
Female	10.8 ± 2.7 (11)	11.0 ± 1.1 (12)	11.0 ± 1.4 (12)	11.1 ± 1.1 (10)

Values represent mean±S.D. (N)

^a vehicle control, corn oil (5 mL/kg)

* significantly different from control, p<0.05

Table 33

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of methane, isothiocyanato- by oral administration in rats

Morphological observations of pups

Compound	methane, isothiocyanato-			
	0 ^a	0.5	2	8
<u>Dead pups</u>				
Number of dead pups ^b	26	2	3	50
Number of missing pups	3	0	0	7
Number of dead pups examined	23	2	3	43
No. of dead pups with external changes	0	0	0	0
No. of dead pups with visceral changes	0	0	0	0
<u>Live pups</u>				
Number of newborns examined (Day 0 of lactation; at birth)	151	174	174	153
No. of newborns with external changes	0	0	0	1
Types and number				
Anury	0	0	0	1 ^c
Number of pups examined (Day 4 of lactation; at necropsy)	137	174	174	118
No. of pups with external changes	0	0	0	1
Types and number				
Anury	0	0	0	1 ^c
No. of pups with visceral changes	0	0	0	0

^a vehicle control, corn oil (5 mL/kg)^b including missing pups^c female pup under FB04002 (dam no.)