

最終報告書

表 題：*p*-トルエンスルホン酸ナトリウムのラットにおける簡易生殖試験

試験番号：S R 0 4 2 2 0

株式会社 化合物安全性研究所

目 次

	頁
表紙-----	1
目次-----	5
要約-----	11
緒言-----	12
材料および方法-----	13
成績-----	24
考察-----	28
参考文献-----	29

Figures

1	Body weight changes of male rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220) -----	31
2	Food consumption of male rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220) -----	32
3	Body weight changes of female rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220) -----	33
4	Food consumption of female rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220) -----	34
5	Body weight changes of pups in the reproduction/developmental toxicity screening test of sodium p-toluenesulfonate in rats (SR04220) -----	35

Tables

1	General appearance of male rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220) -----	36
2	Body weight changes of male rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220) -----	38
3	Food consumption of male rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220) -----	39

4	Gross findings of male rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220) -----	40
5	Absolute and relative organ weights of male rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220) -----	41
6	Histopathological findings of male rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220) -----	42
7	Stages of spermatogenesis of male rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220) -----	43
8	General appearance of female rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220) -----	45
9	Body weight changes during pre-mating days of female rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220) -----	46
10	Body weight changes during gestation days of female rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220) -----	47
11	Body weight changes during lactation days of female rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220) -----	48
12	Food consumption changes during pre-mating days of female rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220) -----	49
13	Food consumption changes during gestation days of female rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220) -----	50
14	Food consumption changes during lactation days of female rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220) -----	51
15	Gross findings of female rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220) -----	52
16	Absolute and relative organ weights of female rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220) -----	53
17	Histopathological findings of female rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220) -----	54
18	Reproduction performance of parental rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220) -----	55
19	Pregnancy and litter data of rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220) -----	56
20	General appearance of pups in the reproduction/developmental toxicity screening test of sodium p-toluenesulfonate in rats (SR04220) -----	57

21	Body weight changes of pups in the reproduction/developmental toxicity screening test of sodium p-toluenesulfonate in rats (SR04220) -----	58
22	Gross findings of pups in the reproduction/developmental toxicity screening test of sodium p-toluenesulfonate in rats (SR04220) -----	59

要 約

p-トルエンスルホン酸ナトリウムの0(対照群)、100、300 および 1000 mg/kg を1群雄雌各12匹のCr1:CD(SD)ラットに、雄ラットに対しては交配前、交配期間および交配後を含む計46日間、雌ラットに対しては交配前、交配および妊娠期間、ならびに哺育3日までの期間経口投与し、その精腺機能、交尾行動、受胎および分娩等の生殖機能に及ぼす毒性および次世代の発生・発育に及ぼす影響について検討し、以下の成績を得た。

1. 親動物

- (1) 一般状態では、1000 mg/kg 投与群の雄雌で下痢あるいは軟便が認められた。
- (2) 体重推移および摂餌量では、各投与群の雄雌ともに被験物質投与に関連した変化は認められなかった。
- (3) 剖検所見では、1000 mg/kg 投与群の雄で胃の境界縁肥厚が認められた。
- (4) 器官重量では、各投与群の雄雌ともに被験物質投与に関連した変化は認められなかった。
- (5) 病理組織学的検査では、精巢、精巢上体および卵巣に被験物質投与に関連した変化は認められなかったが、1000 mg/kg 投与群の雄で胃の境界縁に軽度な粘膜固有層の炎症性細胞浸潤および扁平上皮過形成が認められた。なお、精子形成の Stage 分類に関しては被験物質投与に関連した変化は認められなかった。

2. 生殖発生毒性

- (1) 生殖能検査では、雌の性周期、雄雌の交尾率、受胎率、出産率および哺育4日の哺育率には各投与群とも変化はみられなかった。
- (2) 母動物の黄体数、着床痕数、分娩率、総出産児数、出産児の性比、哺育0日の生存児数、出生率、新生児生存率および哺育4日の生存児数には、各投与群とも被験物質投与による影響は認められなかった。
- (3) 新生児の一般状態、体重および剖検所見では、各投与群とも被験物質投与に関連した変化は認められなかった。

以上のように、親動物で1000 mg/kg 投与群の雄雌に下痢あるいは軟便、雄に胃の境界縁における軽度な粘膜固有層の炎症性細胞浸潤および扁平上皮過形成がみられたが、生殖能および次世代の発生・発育については各投与群とも被験物質投与による影響は認められなかった。

したがって、本試験条件下における*p*-トルエンスルホン酸ナトリウムの親動物における無影響量(NOEL)は300 mg/kg/day、親動物の生殖能および次世代の発生・発育に対する無影響量(NOEL)はいずれも1000 mg/kg/dayと考えられた。

緒 言

p-トルエンスルホン酸ナトリウムの 0(対照群)、100、300 および 1000 mg/kg を 1 群雄雌各 12 匹の Cr1:CD(SD) ラットに、雄ラットに対しては交配前、交配期間および交配後を含む計 46 日間、雌ラットに対しては交配前、交配および妊娠期間、ならびに哺育 3 日までの期間経口投与し、その精腺機能、交尾行動、受胎および分娩等の生殖機能に及ぼす毒性および次世代の発生・発育に及ぼす影響について検討した。

材料および方法

1. 被験物質

被験物質は、*p*-トルエンスルホン酸ナトリウム[Sodium *p*-toluenesulfonate、別名：4-メチルベンゼンスルホン酸ナトリウム、CAS No.：657-84-1、純度：94.9%、ただし不純物として不明(無機分 4.7%、乾燥減量 0.4%)を含有する]で、分子式 $C_7H_7NaO_3S$ 、分子量 194.18、融点 290℃、嵩比重 0.4～0.5、水に易溶の白色の粉末である。*p*-トルエンスルホン酸ナトリウムは熱および光に安定であることから、高温・多湿・直射日光を避け、風通しの良い場所に室温(実測範囲 20～25℃)で保存した。試験期間中の被験物質の安定性を、から残余被験物質を用いた純度の分析成績を入手し確認した(Appendix 1-1～1-3)。

2. 媒体

精製水(ロット番号 55B1、ヤクハン製薬株式会社)を室温(実測範囲 20～25℃)で保存し、媒体として投与液の調製に使用し、また対照群の投与液とした。

3. 投与液の調製および化学分析

(1) 投与液の調製

被験物質を純度換算の上精秤し、所定の濃度となるように媒体に溶解させた。調製の際には皮膚への付着を避け、目に入らないように手袋、マスク、保護メガネ等を着用してクリーンベンチ内で行った。調製液は、調製後速やかに遮光気密容器に入れ、冷蔵庫内(実測範囲 2～6℃)で保存し、調製後 11 日以内に投与に用いた。残余の投与液は、焼却処分するために、産業廃棄物として回収した。

調製日	調製濃度 (mg/mL)	被験物質秤量値 (g)	投与液調製量 (mL)
2005 年 7 月 26 日 濃度確認実施	10	5.2703	500
	30	15.8003	500
	100	52.7014	500
2005 年 8 月 2 日	10	10.5001	1000
	30	31.6001	1000
	100	105.00	1000
2005 年 8 月 12 日	10	10.5003	1000
	30	31.6004	1000
	100	105.00	1000
2005 年 8 月 22 日	10	10.5050	1000
	30	31.6007	1000
	100	105.0000	1000
2005 年 8 月 31 日 濃度確認実施	10	12.6003	1200
	30	37.9002	1200
	100	126.00	1200

(2) 投与液の化学分析

投与開始までに、10 および 100 mg/mL の溶液について、室温保存 24 時間、冷蔵保存 8 日 および冷蔵保存 14 日（調製日を 0 日として起算）の安定性を確認した結果、10 および 100 mg/mL の調製液中で、残存率が室温保存 24 時間ではそれぞれ 99.0 および 101.0%、冷蔵保存 8 日 および 14 日ではいずれもそれぞれ 99.0 および 100.0%であった。この成績から、いずれの条件下でも被験物質は調製液中で安定と考えられた（Appendix 2-1）。

初回および最終回調製時のすべての投与液について、被験物質の濃度を分析した結果、10、30 および 100 mg/mL 調製液の含有率は、所定の濃度に対して初回調製時で 101.0、100.0 および 98.8%、最終回調製時で 101.0、101.7 および 99.3%であった。これらの投与液はいずれも規定範囲とした 95～105%の範囲内にあり、調製液の濃度は適正と考えられた（Appendix 2-2 および 2-3）。

(3) 濃度分析方法

標準溶液（20 μ g/mL：標準溶液濃度とし純度換算値 18.98 μ g/mL を使用）：*p*-トルエンスルホン酸ナトリウム（室温保存）の 0.05 g を正確に量り、蒸留水を加えて正確に 100 mL とした。この液を正確に 1 mL 採取し、蒸留水を加えて 25 mL とした（標準溶液）。調製は 1 回、HPLC への注入は 3 回とした。調製後は冷蔵庫で保存し、20 日以内に使用した（調製日を 0 日として起算）。

0.1 mol/L 水酸化カリウム溶液：1 mol/L 水酸化カリウム溶液の 10 mL を量り、蒸留水を加えて 100 mL とした。調製後は冷蔵庫で保存し、6 ヶ月以内に使用した（調製日を 0 日として起算）。

0.1 mol/L リン酸二水素カリウム溶液（pH 5.5）：リン酸二水素カリウムの 13.61 g を量り、蒸留水を加えて 1000 mL とした（0.1 mol/L リン酸二水素カリウム溶液）。これを 0.1 mol/L 水酸化カリウム溶液で pH5.5 に調製した。ただし、0.1 mol/L リン酸二水素カリウム溶液 1000 mL に対して 0.1 mol/L 水酸化カリウム溶液は 50 mL 前後とした。調製後は冷蔵庫で保存し、4 週間以内に使用した（調製日を 0 日として起算）。

移動相：0.1 mol/L リン酸二水素カリウム溶液（pH 5.5）900 mL にアセトニトリル 100 mL を加え十分に混合したものを移動相とした。調製後は室温で保存し、2週間以内に使用した（調製日を 0 日として起算）。

オートサンブラ洗浄液：蒸留水 90 mL にアセトニトリル 10 mL を加えて混合したものをオートサンブラ洗浄液とした。調製後は室温で保存し、4 週間以内に使用した（調製日を 0 日として起算）。

試料溶液の調製：各被験物質調製液を採取し、被験物質の最終濃度が 5～80 μ g/mL となるように蒸留水を加えたものを試料溶液とした。調製は 3 回、HPLC への注入は 1 回とした。

HPLC システムおよび測定条件は以下の通りである。

HPLC システム

UV Detector	L-4000	株式会社 日立製作所
Intelligent Pump	L-6200	株式会社 日立製作所
Column Oven	655A-52	株式会社 日立製作所
Autosampler	AS-2000	株式会社 日立製作所
Degasser	ERC-3315 α	株式会社 イーアールシー
Millennium ³² Chromatography Manager	M32SW	日本ウォーターズ 株式会社

測定条件

カラム	TSK-GEL ODS-80TS、4.6 mm I.D. ×150 mm (東ソー株式会社)
移動相	アセトニトリル : 0.1 mol/L リン酸二水素カリウム溶液 (pH 5.5) =1 : 9
測定波長	222 nm
カラム温度	40°C
流量	1 mL/min
注入量	10 μL
オートサンブラ温度	10°C
分析時間	9 分
オートサンブラ洗浄液	アセトニトリル : 蒸留水 = 1 : 9

Millennium³² を用いて標準溶液のピーク面積と濃度から作成した検量線より、各試料溶液の測定濃度を求め、調製液中の被験物質濃度、変動係数、含有率および残存率を算出した。

$$\text{被験物質濃度 (mg/mL)} = \frac{\text{測定濃度 (}\mu\text{g/mL)} \times \text{希釈係数}}{1000}$$

$$\text{変動係数 (\%)} = \frac{\text{被験物質濃度標準偏差}}{\text{被験物質濃度平均値}} \times 100$$

$$\text{含有率 (\%)} = \frac{\text{被験物質濃度平均値}}{\text{調製液の表示濃度}} \times 100$$

$$\text{残存率 (\%)} = \frac{\text{保存後の被験物質濃度平均値}}{\text{調製時の被験物質濃度平均値}} \times 100$$

4. 試験方法

(1) 試験系

試験には、日本チャールス・リバー株式会社 厚木飼育センター生産の SPF Cr1:CD(SD) ラットを用いた。ラットはこの種の試験で通常用いられている動物種であり、当研究所での使用経験が豊富であることからこの系統を選定した。

雄雌各 57 匹を 2005 年 7 月 13 日に 8 週齢で購入した。受入時の動物の体重範囲は、雄で 253～300 g、雌で 161～203 g であった。

(2) 検疫および馴化

受入後、個々の動物について 14 日間、一般状態観察を 1 日 1 回、さらに期間中に体重測定を 3 回実施した。雌については馴化期間中に 9 日間の性周期検査を実施した。検疫および馴化期間中、膈口肉柱が 2 例、性周期の不規則が 2 例、体重減少が 3 例で認められた。

(3) 群分け

検疫および馴化期間終了後、健康な動物で、雌については性周期にも異常の認められない動物を雄雌各々 48 匹選抜して、10 週齢で試験に供した。検疫および馴化期間最終日(投与前々日)の体重に基づいて、層化無作為抽出法により各群の平均体重が均一になるように群分けを行った。群分け時の動物の体重範囲は、雄で 341～411 g、雌で 200～255 g であり、平均体重(雄 381.5 g、雌 225.1 g)の±20%以内であった。選抜から外れた動物は試験から除外して安楽死とした。なお、選抜された動物について投与開始前日に一般状態および性周期の異常がないことを確認した。

(4) 動物およびケージの識別

動物は、群分け前は油性フェルトペンで尾部に印を付け、群分け後は耳介に動物番号を入墨し、個体識別を行った。出生児については、個体の識別は行わなかった。飼育ケージは、群分け前は性別毎に色分けしたラベルに試験番号および動物番号を明記し、各ケージの前面に標示した。群分け後はさらに試験群を明記し、雌動物には妊娠期間中は交尾成立日毎のグループ名および分娩予定日、哺育期間中は分娩終了日毎のグループ名も明記した。

(5) 動物飼育

1) 飼育環境

動物は温度 $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ (実測範囲 $21 \sim 25^{\circ}\text{C}$)、湿度 $50 \pm 20\%$ (実測範囲 $41 \sim 77\%$)、換気回数 $10 \sim 15$ 回/時間、照明時間 人工照明 12 時間 (8 : 00 ~ 20 : 00) の動物飼育室 (308 号室) で飼育した。

2) 飼育器材および飼育方法

ブラケット式金属製金網床ケージ (260W×380D×180H, mm) に、検疫および馴化期間中は雄雌別に 1 または 2 匹、群分け後は 1 匹、交配中は雄雌各 1 匹、妊娠期間中は 1 母動物、哺育期間中は 1 腹を収容した。なお、交尾成立雌動物については妊娠 17 日から哺育 4 日まで小型受皿と共に実験動物用床敷 (ホワイトフレーク、日本チャールス・リバー株式会社) を使用した。ケージおよび給餌器は群分け時に 1 回、その後は 2 週に 1 回交換した。受皿は週 2 回洗浄滅菌済みのものと交換した。自動給水装置の水抜きは週 1 回実施した。動物飼育室内の清掃および清拭消毒は、1 日 1 回実施した。清拭消毒に際しては、塩素系消毒薬およびヨウ素系消毒薬を 1 週間単位で交互に使用した。

3) 飼料

オリエンタル酵母工業株式会社製、 γ 線照射固型飼料 CRF-1 を、金属製給餌器を用いて自由に摂取させた。

試験に悪影響を及ぼす恐れのある汚染物質あるいは微生物の有無を、使用したロット (050204、050307、050406) の飼料について分析した。汚染物質の分析は財団法人 日本食品分析センターにおいて、微生物検査は飼料製造業者がそれぞれ行った。分析データを飼料製造業者から入手し、異常のないことを確認した (Appendix 3-1-1 ~ 3-2-3)。

4) 飲料水

札幌市水道水を、自動給水装置を用いて自由に摂取させた。

試験に悪影響を及ぼす恐れのある汚染物質の有無を、2005 年 7 月 1 日および 2005 年 10 月 3 日に当該飼育室と同系統配管の最末端 (306 号室) から試料を採取して分析した。分析は日本衛生株式会社がを行い、分析データを入手し、異常のないことを確認した (Appendix 4-1 および 4-2)。

(6) 試験群の構成

試験群の構成と各群の動物番号を以下に示す。

試験群	投与量 (mg/kg)	濃度 (mg/mL)	動物数(動物番号)	
			雄	雌
対照群	0	0	12 (101～112)	12 (151～162)
低用量群	100	10	12 (201～212)	12 (251～262)
中用量群	300	30	12 (301～312)	12 (351～362)
高用量群	1000	100	12 (401～412)	12 (451～462)

対照群には媒体(精製水)を投与した。

(7) 被験物質の投与

1) 投与量の設定

既に実施されている 28 日間反復経口投与毒性試験¹⁾では、無影響量が 1000 mg/kg であることから、高用量を 1000 mg/kg とし、以下公比約 3 で除し、300 および 100 mg/kg を中用量および低用量に設定した。

2) 投与

被験物質がヒトに経口的に暴露される可能性を考慮し、OECD 試験法ガイドライン(421)に従って、1 日 1 回、雄については交配 14 日前より 46 日間、雌については交配前 14 日間および交尾成立までの交配期間、さらに交尾成立例は妊娠期間および哺育 3 日までの期間、9:00～14:00 の間に胃ゾンデおよびディスポーザブルシリンジを用いて強制的に胃内に経口投与した。

投与容量 10 mL/kg とし、各個体の投与液量は投与日に最も近い測定日の体重に基づいて算出した。

(8) 観察、測定および検査項目

I. 雄動物について

1) 一般状態観察

全例について、投与開始日を投与 1 日として起算し、投与 1 日から投与 46 日の翌日の剖検日まで、個々の動物の生死、外観、行動等について 1 日最低 2 回観察した。ただし、剖検日は午前中に 1 回観察した。

2) 体重測定

全例について、投与 1、2、5、7、10、14、その後は 7 日毎の投与前、投与終了日および剖検日に電子式上皿天秤 (GX-2000、株式会社 エー・アンド・デイ) を用いて測定し、1 g 単位で記録した。

以下の式により体重増加量および体重増加率を算出した。

$$\begin{aligned}\text{体重増加量 (g)} &= \text{投与 46 日体重 (g)} - \text{投与 1 日体重 (g)} \\ \text{体重増加率 (\%)} &= \frac{\text{体重増加量 (g)}}{\text{投与 1 日体重 (g)}} \times 100\end{aligned}$$

3) 摂餌量測定

全例について、交配期間および剖検日を除き、体重測定日と同じ日に実施した。各測定日に、電子式上皿天秤 (GX-2000、株式会社 エー・アンド・デイ) を用いて各ケージの給与量と残量を測定し、1 g 単位で記録した。以下の式により摂餌量を算出した。

$$\text{摂餌量 (g/day)} = \frac{\text{給与量 (g)} - \text{残量 (g)}}{\text{測定日間の日数 (day)}}$$

4) 剖検

全例について、投与 46 日の翌日に剖検した。体外表を観察した後、エーテル麻酔下で放血致死させ、全身の器官・組織を肉眼的に観察した。また、以下の器官・組織を 10% 中性緩衝ホルマリンに固定・保存した。なお、眼球およびハーダー腺はデビッドソン液で固定・保存し、精巣および精巣上体はブアン液で固定、70% エタノールに保存した。対の器官は左右とも保存した。

脳(大脳・小脳)、下垂体、胸腺、甲状腺(上皮小体を含む)、副腎、脾臓、心臓、胸部大動脈、舌、食道、胃(前胃および腺胃)、肝臓、脾臓、十二指腸、空腸、回腸(パイエル板を含む)、盲腸、結腸、直腸、喉頭、気管、肺(気管支を含む)、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精囊および凝固腺、眼球およびハーダー腺、皮膚(原則として右腹部)、胸骨および大腿骨(骨髄を含む、右)、脊髓(頸部)、腸間膜リンパ節、下顎リンパ節、顎下腺、舌下腺、耳下腺、骨格筋(腓腹筋、右)および、坐骨神経(右)。

5) 器官重量測定

全例について、剖検時に電子式上皿天秤(ER-180A、株式会社 エー・アンド・デイ)を用いて以下の器官について重量を測定し、また相対重量を算出した。なお、左右の表示のある器官については、左右併せて測定した。

脳、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、胸腺、精巣、精巣上体

$$\text{相対重量(\%)} = \frac{\text{絶対重量(g)}}{\text{剖検日体重(g)}} \times 100$$

6) 病理組織学的検査

全例の精巣、精巣上体についてパラフィン包埋後薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製し、対照群(0 mg/kg)および高用量群(1000 mg/kg)の全例について鏡検および精巣の精子形成の Stage 分類を行った。他に、肉眼的異常部位を含む以下の標本作製および鏡検を行った。

器官・組織名	群(mg/kg)	動物番号
前胃	0、100、300、1000	全例
胃、境界縁	0、100、300、1000	全例
腺胃	0、100、300、1000	全例
肝臓	1000	409、412
心臓	300	306

II. 雌動物について

1) 一般状態観察

全例について、投与開始日から剖検日まで、雄動物と同様に観察した。

2) 体重測定

投与開始日を投与 1 日、交尾成立日を妊娠 0 日、分娩終了日を哺育 0 日と起算し、投与 1、2、5、7、10、14 日、妊娠 0、1、3、5、7、10、14、17 および 20 日、哺育 0 および 1 日の投与前ならびに哺育 4 日(剖検日)に、電子式上皿天秤(GX-2000、株式会社 エー・アンド・デイ)を用いて測定した。

以下の式により体重増加量および体重増加率を算出した。

交配前投与期間

$$\begin{aligned} \text{体重増加量(g)} &= \text{投与 14 日体重(g)} - \text{投与 1 日体重(g)} \\ \text{体重増加率(\%)} &= \frac{\text{体重増加量(g)}}{\text{投与 1 日体重(g)}} \times 100 \end{aligned}$$

妊娠期間

$$\begin{aligned} \text{体重増加量(g)} &= \text{妊娠 20 日体重(g)} - \text{妊娠 0 日体重(g)} \\ \text{体重増加率(\%)} &= \frac{\text{体重増加量(g)}}{\text{妊娠 0 日体重(g)}} \times 100 \end{aligned}$$

哺育期間

$$\begin{aligned} \text{体重増加量(g)} &= \text{哺育 4 日体重(g)} - \text{哺育 0 日体重(g)} \\ \text{体重増加率(\%)} &= \frac{\text{体重増加量(g)}}{\text{哺育 0 日体重(g)}} \times 100 \end{aligned}$$

3) 摂餌量測定

全例について、交配期間を除き、体重測定日と同じ日に雄と同様に実施した。ただし、妊娠 0 日および哺育 0 日は給餌量のみ測定した。

4) 剖検

分娩例は哺育 4 日に、死亡例は発見後速やかに、妊娠 25 日まで分娩が認められない交尾成立例は妊娠 26 日の朝に雄動物と同様に剖検し、以下の器官・組織を 10% 中性緩衝ホルマリンに固定・保存した。なお、眼球およびハーダー腺はデビッドソン液で固定・保存した。

脳(大脳・小脳)、下垂体、胸腺、甲状腺(上皮小体を含む)、副腎、脾臓、心臓、胸部大動脈、舌、食道、胃(前胃および腺胃)、肝臓、膵臓、十二指腸、空腸、回腸(パイエル板を含む)、盲腸、結腸、直腸、喉頭、気管、肺(気管支を含む)、腎臓、膀胱、卵巣、子宮(角部および頸部)、膣、眼球およびハーダー腺、乳腺および皮膚(原則として右腹部)、胸骨および大腿骨(骨髄を含む、右)、脊髄(頸部)、腸間膜リンパ節、下顎リンパ節、顎下腺、舌下腺、耳下腺、骨格筋(腓腹筋、右)、坐骨神経(右)。

5) 器官重量測定

全例について、剖検時に雄と同様に以下の器官について重量を測定し、相対重量を算出した。対の器官は左右併せて測定した。

脳、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、胸腺、卵巣

6) 病理組織学的検査

全例の卵巣についてパラフィン包埋後薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色標本作製し、対照群(0 mg/kg)および高用量群(1000 mg/kg)の全例について鏡検を行った。他に、肉眼的異常部位を含む以下の標本作製および鏡検を行った。

器官・組織名	群(mg/kg)	動物番号
肺	100	258
気管	100	258

Ⅲ. 雄雌動物の生殖および新生児の発生について

1) 性周期検査

雌全例について、投与開始の 10 日前から交尾成立までの連日、ギムザ染色による膣垢塗抹標本作製し、光学顕微鏡下で性周期の各段階(発情前期、発情期、発情後期および発情休止期)の観察を行い、4 日から 6 日の間隔で 2 回以上繰り返すものを正常と判定し、発情期間隔を算出した。各段階の一部がみられない場合や同一の性周期段階が 3 日を超え継続してみられる場合を不規則、発情期あるいは発情休止期が 7 日以上継続してみられるものを連続発情または連続非発情とし、いずれも異常と判定するとしたが、異常例は認められなかった。

2) 雄雌の生殖能検査

投与 14 日の夕方から、同試験群内の雄雌を 1 対 1 (動物番号末尾が同一動物) で 14 日間を限度として同居させた。交尾の成立は、膈内または受皿上に落下した膈栓、あるいは膈垢スメア標本中の精子が確認された場合とし、いずれかが認められた日を妊娠 0 日とした。妊娠成立の確認を、分娩の有無および剖検時に子宮内の着床痕の有無を調べることによって行った。

なお、交尾率および受胎率を群毎に算出した。

$$\text{交尾率 (Copulation index, \%)} = \frac{\text{交尾した雄雌対の数}}{\text{同居させた雄雌対の数}} \times 100$$

$$\text{受胎率 (Fertility index, \%)} = \frac{\text{受胎した雌数}}{\text{交尾した雄雌対の数}} \times 100$$

3) 分娩および哺育状態観察

交尾確認雌動物は全例自然分娩させた。分娩状態を、妊娠 21 日から最長 25 日まで毎日少なくとも 3 回 (9:00、13:00 および 17:00) 観察した。9:00 に母動物が児を巣の中に集めて腹の下に抱え込んでいるのを観察することによって分娩終了を確認し、その日を哺育 0 日とした。哺育 0 日に、腹毎に生存児数および死亡児数を数え、哺育状態、出産児の性別および外表を観察した。生存児数および死亡児数の合計を出産児数とした。児動物の性は、肛門と生殖突起の間の長さで判定した。各雌の卵巣の妊娠黄体数および子宮内の着床痕の数を肉眼的に数えて記録した。

妊娠期間を妊娠 0 日 (交尾成立日) から哺育 0 日 (分娩終了日) までの日数として算出した。

出産率、出生率、性比、分娩率、着床率および哺育 4 日の哺育率を算出した。

$$\text{出産率 (Gestation index, \%)} = \frac{\text{生児出産雌数}}{\text{妊娠雌数}} \times 100$$

$$\text{出生率 (Live birth index, \%)} = \frac{\text{出産時生児数}}{\text{出産児数}} \times 100$$

$$\text{性比 (Sex ratio)} = \frac{\text{雄生産児数}}{\text{雄出産児数} + \text{雌出産児数}}$$

$$\text{分娩率 (Delivery index, \%)} = \frac{\text{出産児数}}{\text{着床痕数}} \times 100$$

$$\text{着床率 (Implantation index, \%)} = \frac{\text{着床痕数}}{\text{妊娠黄体数}} \times 100$$

$$\text{哺育率 (Nursing index, \%)} = \frac{\text{哺育 4 日に哺育児を持つ雌数}}{\text{生児出産雌数}} \times 100$$

4) 新生児の一般状態観察および生存率

全例について、哺育 0 日から哺育 4 日まで 1 日 1 回、生存および死亡を確認し、一般状態および外表について観察した。

観察結果から新生児生存率を 1 腹単位で算出した。ただし、喰殺あるいは行方不明となった新生児は死亡例として扱った。

$$\text{新生児生存率 (Viability index, \%)} = \frac{\text{哺育 4 日の生存児数}}{\text{出産時生児数}} \times 100$$

5) 新生児の体重測定

全例について、哺育 0、1 および 4 日に電子式上皿天秤 (GX-2000、株式会社 エー・アンド・デイ) を用いて個体毎に測定し、0.1 g まで記録した。腹毎に雄雌別の平均体重を求めた。

6) 新生児の剖検

死亡例は発見後速やかに剖検し、whole body を 10% 中性緩衝ホルマリン液で固定・保存した。生存例については、哺育 4 日に体外表 (口腔内を含む) を観察後、二酸化炭素吸入法により安楽死させ、全身の器官・組織を肉眼的に観察した。異常が認められた個体は、whole body を 10% 中性緩衝ホルマリン液で固定・保存した。

5. 統計学的方法

体重、体重増加量および増加率、摂餌量、器官の絶対重量および相対重量、発情期間隔、妊娠黄体数、着床痕数および着床率、出産児数、出産時の生存児数および死亡児数、分娩率、出生率、性比、妊娠期間、哺育 4 日の生存児数および新生児生存率の成績について群毎の平均値および標準偏差を算出し、項目毎に Bartlett の検定法を行い、等分散性を解析した。等分散 ($p > 0.05$) の場合は一元配置分散分析法で解析し、不等分散 ($p \leq 0.05$) の場合は Kruskal-Wallis の検定法で解析した。一元配置分散分析の結果、有意差がみられた場合 ($p \leq 0.10$) は Dunnett の検定法を用いて対照との比較を行った。Kruskal-Wallis 法の解析の結果、有意差がみられた場合 ($p \leq 0.10$) は Mann-Whitney の U-検定法を用いて対照との比較を行った。

病理組織学的検査のうち 2 段階以上のグレードが認められた所見については、群毎の傾向を Kruskal-Wallis の検定法で解析し、有意差がみられた場合 ($p \leq 0.10$) は Mann-Whitney の U-検定法を用いて対照との比較を行った。

性周期の異常の発現率、交尾率、受胎率、出産率、哺育 4 日の哺育率、ならびに病理組織学的検査のうち 1 段階のグレードが認められた所見については、多試料 X^2 検定を行い、その結果有意差が認められた場合 ($p \leq 0.10$) には 2 試料 X^2 検定で対照との比較を行った。ただし、2 試料 X^2 検定に不適合の場合には Fisher の直接確率検定法を用いた。

新生児の出生率、性比、新生児生存率および雄雌別体重は 1 腹を標本単位とした。

対照との比較検定については、有意水準は 5% とした。なお、統計学的方法に関する表示方法を Individual data の冒頭に示す。

成 績

1. 親動物(雄)

(1) 一般状態

一般状態の成績を Table 1、INDIVIDUAL DATA 1-1～1-4 に示す。

対照群では、1 例(No. 109)に投与 45 および 46 日に血尿がみられたが、他の例には異常は認められなかった。

100 mg/kg 投与群では、投与期間中に全例に異常は認められなかった。

300 mg/kg 投与群では、投与期間中に下痢および軟便が 1 例(No. 302)に各 1 回みられたが、他の例には異常は認められなかった。

1000 mg/kg 投与群では、投与期間中に下痢あるいは軟便が全例に 2 回から 19 回認められた。

(2) 体重推移

体重推移を Figure 1、Table 2、INDIVIDUAL DATA 2-1～2-4 に示す。

各投与群とも投与期間中の体重推移、体重増加量および体重増加率に对照群と比較して有意な差は認められなかった。

(3) 摂餌量

摂餌量を Figure 2、Table 3、INDIVIDUAL DATA 3-1～3-4 に示す。

各投与群とも投与期間中に对照群と比較して有意な差は認められなかった。

(4) 剖検

剖検所見を Table 4、INDIVIDUAL DATA 4-1～4-4 に示す。

対照群および 100 mg/kg 投与群では、異常所見は認められなかった。

300 mg/kg 投与群では、1 例(No. 306)に心臓の肥大がみられたが、他の例には異常所見は認められなかった。

1000 mg/kg 投与群では、胃の境界縁肥厚が 7 例(No. 402、404、407、408、409、411、412)、肝臓の黄白色斑が外側左葉あるいは尾状葉の乳頭突起に 2 例(No. 409、412)および精巣上体の尾部に黄白色斑が 3 例(No. 401、402、410)にそれぞれ認められた。

(5) 器官重量

器官の絶対重量および相対重量を Table 5、INDIVIDUAL DATA 5-1～5-8 に示す。

各投与群ともに対照群と比較して有意な差は認められなかった。

(6) 病理組織学的検査

病理組織学的検査の成績を Table 6、INDIVIDUAL DATA 6-1～6-4、統計学的処理結果を INDIVIDUAL DATA 7-1～7-4、精子形成の Stage 分類の成績を Table 7、INDIVIDUAL DATA 8-1～8-8 に示す。

1000 mg/kg 投与群では、1 例 (No. 410) に精巣の軽度な精細管の萎縮、3 例 (No. 401、402、410) に精巣上体の軽度な精子肉芽腫がみられたが、対照群にも 2 例 (No. 104、108) に精巣の軽度な精細管の萎縮、1 例 (No. 103) に精巣上体管の軽度な空胞変性がみられ、いずれも統計学的な有意差は認められなかった。

肉眼所見を伴う器官については、胃の境界縁で 1000 mg/kg 投与群の 7 例 (No. 403、404、406、407、408、410、411) に軽度な粘膜固有層の炎症性細胞浸潤、9 例 (No. 402、404、405、406、407、408、409、411、412) に軽度な扁平上皮過形成がみられ、いずれも統計学的な有意差が認められた。

また、1 例 (No. 407) に軽度な扁平上皮嚢胞がみられたが、前胃および腺胃には異常所見はみられず、また他の用量群には同様の変化はまったく認められなかった。

1000 mg/kg 投与群の 2 例 (No. 409、412) にみられた肝臓の黄白色斑の部位では、軽度な塊状壊死 (No. 409) や被膜の軽度な組織球集簇および鉍質沈着 (No. 412) が認められた。

300 mg/kg 投与群の 1 例 (No. 306) にみられた心臓の肥大部位には異常所見は認められなかった。

精子形成の Stage 分類では、ステージ IX-XI のレプトテン期精母細胞に対照群と比較して有意な低値が認められたが、他のステージではセルトリ細胞、精祖細胞、精母細胞、精子細胞のいずれにも有意な変化は認められなかった。

2. 親動物(雌)

(1) 一般状態

一般状態の成績を Table 8、INDIVIDUAL DATA 9-1～11-4 に示す。

対照群では、交配前、交配期間、妊娠期間および哺育期間のいずれにおいても全例に異常は認められなかった。

100 mg/kg 投与群では、交配前の投与 4 日にのみ 2 例 (No. 251、255) に軟便がみられたが、交配期間、妊娠期間および哺育期間では全例で異常は認められなかった。

なお、妊娠 13 日に 1 例 (No. 258) が投与の過誤により死亡した。

300 mg/kg 投与群では、交配前、交配期間、妊娠期間および哺育期間のいずれにおいても全例に異常は認められなかった。

1000 mg/kg 投与群では、交配前、交配期間あるいは妊娠期間に、下痢あるいは軟便が 9 例 (No. 453、454、455、456、457、459、460、461、462) に 1 回から 8 回認められたが、哺育期間では全例に異常は認められなかった。

(2) 体重推移

体重推移を Figure 3、Table 9～11、INDIVIDUAL DATA 12-1～14-4 に示す。

各投与群とも交配前、交配期間、妊娠期間および哺育期間のいずれにおいても体重推移、体重増加量および体重増加率に对照群と比較して有意な差は認められなかった。

(3) 摂餌量

摂餌量の変化を Figure 4、Table 12～14、INDIVIDUAL DATA 15-1～17-4 に示す。

各投与群とも交配前、交配期間、妊娠期間および哺育期間のいずれにおいても对照群と比較して有意な差は認められなかった。

(4) 剖検

剖検所見を Table 15、INDIVIDUAL DATA 18-1～18-4 に示す。

各投与群とも全例に異常所見は認められなかった。

なお、100 mg/kg 投与群の妊娠 13 日の死亡例(No. 258)には、肺の全葉に限局性赤色化、また、気管内に泡沫状液体の貯留がみられ、投与の過誤による死亡と判断した。

(5) 器官重量

器官の絶対および相対重量の成績を Table 16、INDIVIDUAL DATA 19-1～19-8 に示す。

各投与群とも对照群と比較して有意な差のみられる器官はなかった。

(6) 病理組織学的検査

病理組織学的検査の成績を Table 17、INDIVIDUAL DATA 20-1～20-3 に示す。

卵巣には对照群および 1000 mg/kg 投与群のいずれも、不妊例(No. 151、456)を含め全例に異常所見は認められなかった。

なお、100 mg/kg 投与群の妊娠 13 日の死亡例(No. 258)には、肺に軽度な水腫と中等度な出血が認められた。

3. 生殖発生毒性

(1) 生殖能検査

生殖能検査の成績を Table 18、INDIVIDUAL DATA 21-1～22-4 に示す。

正常性周期を示す雌の出現率、発情期間隔、交尾率、受胎率、出産率、妊娠期間および哺育 4 日の哺育率では各投与群とも对照群と比較して有意な差は認められなかった。

(2) 妊娠、分娩、哺育状態および新生児生存率

妊娠、分娩、哺育状態および新生児生存率の成績を Table 19、INDIVIDUAL DATA 23-1～23-4 に示す。

黄体数、着床痕数、着床率、総出産児数、出産児の性比、哺育 0 日の生存児数、出生率、新生児生存率および哺育 4 日の生存児数では、各投与群とも対照群と比較して有意な差は認められなかった。

(3) 新生児の一般状態

新生児の一般状態の成績を Table 20、INDIVIDUAL DATA 24-1～24-4 に示す。

哺育 0 日から 4 日の間に死亡例(不明例を含む)が対照群で雄 1 例、100 mg/kg 投与群で雄 2 例、300 mg/kg 投与群で雌 1 例および 1000 mg/kg 投与群で雌 2 例に認められた。

他には、各投与群ともに異常は認められなかった。

(4) 新生児の体重推移

新生児の体重推移を Figure 5、Table 21、INDIVIDUAL DATA 25-1～25-4 に示す。

100 mg/kg 投与群では、対照群と比較して有意な差は認められなかった。

300 mg/kg 投与群では、哺育(生後)1 および 4 日で雄雌に対照群と比較して有意な低値あるいは低値傾向が認められた。

1000 mg/kg 投与群では、対照群と比較して有意な差は認められなかった。

(5) 新生児の剖検

新生児の剖検の成績を Table 22、INDIVIDUAL DATA 26～27-4 に示す。

死亡例および哺育 4 日の生存例ともに異常所見は認められなかった。

考 察

p-トルエンスルホン酸ナトリウムの0(対照群)、100、300 および 1000 mg/kg を1群雄雌各12匹のCr1:CD(SD)ラットに、雄ラットに対しては交配前、交配期間および交配後を含む計46日間、雌ラットに対しては交配前、交配および妊娠期間、ならびに哺育3日までの期間経口投与し、その精腺機能、交尾行動、受胎および分娩等の生殖機能に及ぼす毒性および次世代の発生・発育に及ぼす影響について検討した。

1. 親動物

一般状態では、下痢あるいは軟便が100 mg/kg 投与群の雌12例中の2例に、300 mg/kg 投与群の雄12例中の1例に各1回みられたが、1000 mg/kg 投与群の雄雌では多数例に複数回(最高19回)認められていることから、1000 mg/kg 投与群の下痢あるいは軟便については被験物質投与に関連した変化と考えられた。

体重推移および摂餌量では、各投与群の雄雌ともに被験物質投与に関連した変化は認められなかった。

剖検所見では、1000 mg/kg 投与群の雄12例中の7例に胃の境界縁肥厚がみられ、同様の変化は雌には認められなかったが、その発現頻度から被験物質投与に関連した変化と考えられた。

300 mg/kg 投与群の雄1例にみられた心臓の肥大や1000 mg/kg 投与群の雄2例または3例にみられた肝臓の外側左葉や尾状葉の乳頭突起の黄白色斑や精巣上体尾部の黄白色斑については、自然発生でも散見される変化であり、その発現頻度が低いことから被験物質投与に関連した変化ではないと考えられた。

器官重量では、各投与群の雄雌ともに被験物質投与に関連した変化は認められなかった。

精巣、精巣上体および卵巣の病理組織学的検査では、1000 mg/kg 投与群の3例に精巣上体の軽度な精子肉芽腫が認められた。精巣上体の精子肉芽腫は、精管の断裂等の要因により精子が精管外に漏れ出たときの異物反応であり、化学物質等に起因する場合には精管等の壊死に伴って認められる。本試験では、いずれも肉眼所見で黄白色斑の認められている例と一致していること、また、その他の例も含め精子が精管外に漏れ出る要因となる精巣あるいは精巣上体の壊死等がまったく認められていないこと、これらのことから本変化は被験物質投与に関連するものではなく、自然発生したのと考えられた。なお、病理組織学的検査において、1000 mg/kg 投与群に対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

一方、1000 mg/kg 投与群の雄12例中の7例に胃の境界縁の軽度な粘膜固有層の炎症性細胞浸潤、同様に9例に扁平上皮過形成が認められ、その発現率には統計学的に有意な差がみられ、明らかに被験物質投与に関連した変化と考えられた。この変化は、被験物質のpHが9.93と弱アルカリ性(Appendix 1-3 参照)であることから、反復投与することにより胃の境界縁に対して極軽度

な刺激性を示したものと推察された。

なお、1000 mg/kg 投与群のステージ IX-XI でレプトテン期精母細胞にのみ対照群と比較して有意な低値がみられたが、他のステージおよび他の生殖細胞に異常が認められないことから、被験物質投与との関連性はないと考えられた。

2. 生殖発生毒性

生殖能では、各投与群ともに交尾率、受胎率、出産率等に変化はみられず、また雌の性周期等にも異常は認められなかった。

妊娠、分娩および哺育状態では、各投与群ともに被験物質投与に関連した変化は認められなかった。

新生児の検査では、300 mg/kg 投与群の雄雌で体重増加抑制傾向がみられたが、高用量群では同様の変化がみられないことから、用量依存性のない変化であり、被験物質投与との関連性はないと考えられた。

生存率、一般状態および剖検所見では、各投与群ともに被験物質投与に関連した変化は認められなかった。

不妊例については、対照群と高用量群に各 1 例 (No. 151、456) ずつ認められたが、不妊例および対の雄 (No. 101、406) のいずれにも一般状態、体重推移、剖検所見あるいは病理組織学的所見に異常は認められず、この不妊は偶発的なものと推察された。

以上のように、親動物で 1000 mg/kg 投与群の雄雌に下痢あるいは軟便、雄に胃の境界縁における軽度の粘膜固有層の炎症性細胞浸潤および扁平上皮過形成がみられたが、生殖能および次世代の発生・発育については各投与群とも被験物質投与による影響は認められなかった。

したがって、本試験条件下における *p*-トルエンスルホン酸ナトリウムの親動物における無影響量 (NOEL) は 300 mg/kg/day、親動物の生殖能および次世代の発生・発育に対する無影響量 (NOEL) はいずれも 1000 mg/kg/day と考えられた。

参考文献

- 1) 渡 修明 他、*p*-トルエンスルホン酸ナトリウムのラットを用いる 28 日間反復経口投与毒性試験. 化学物質毒性試験報告. 8, 775-786, 2001.

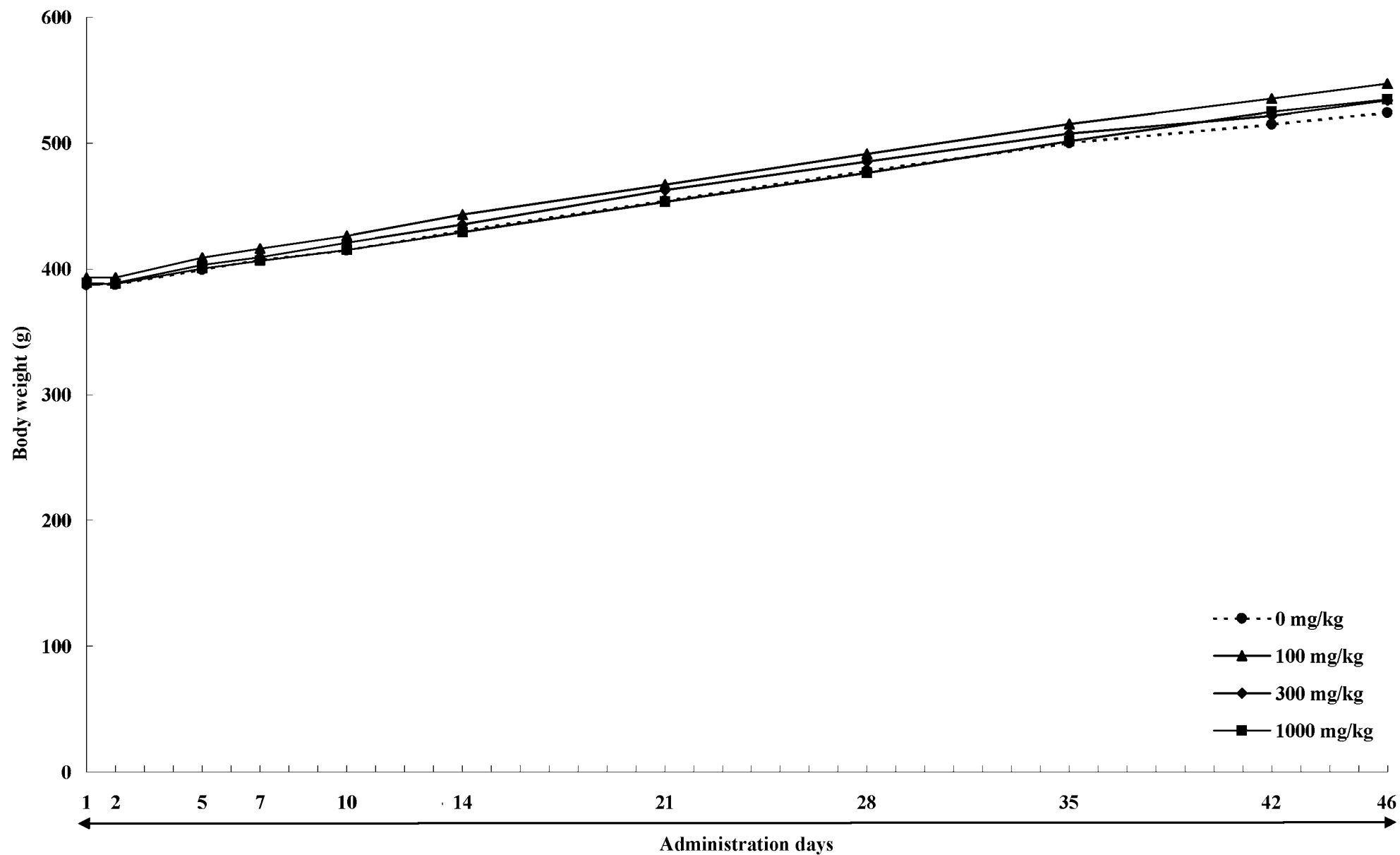


Figure 1 Body weight changes of male rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220)

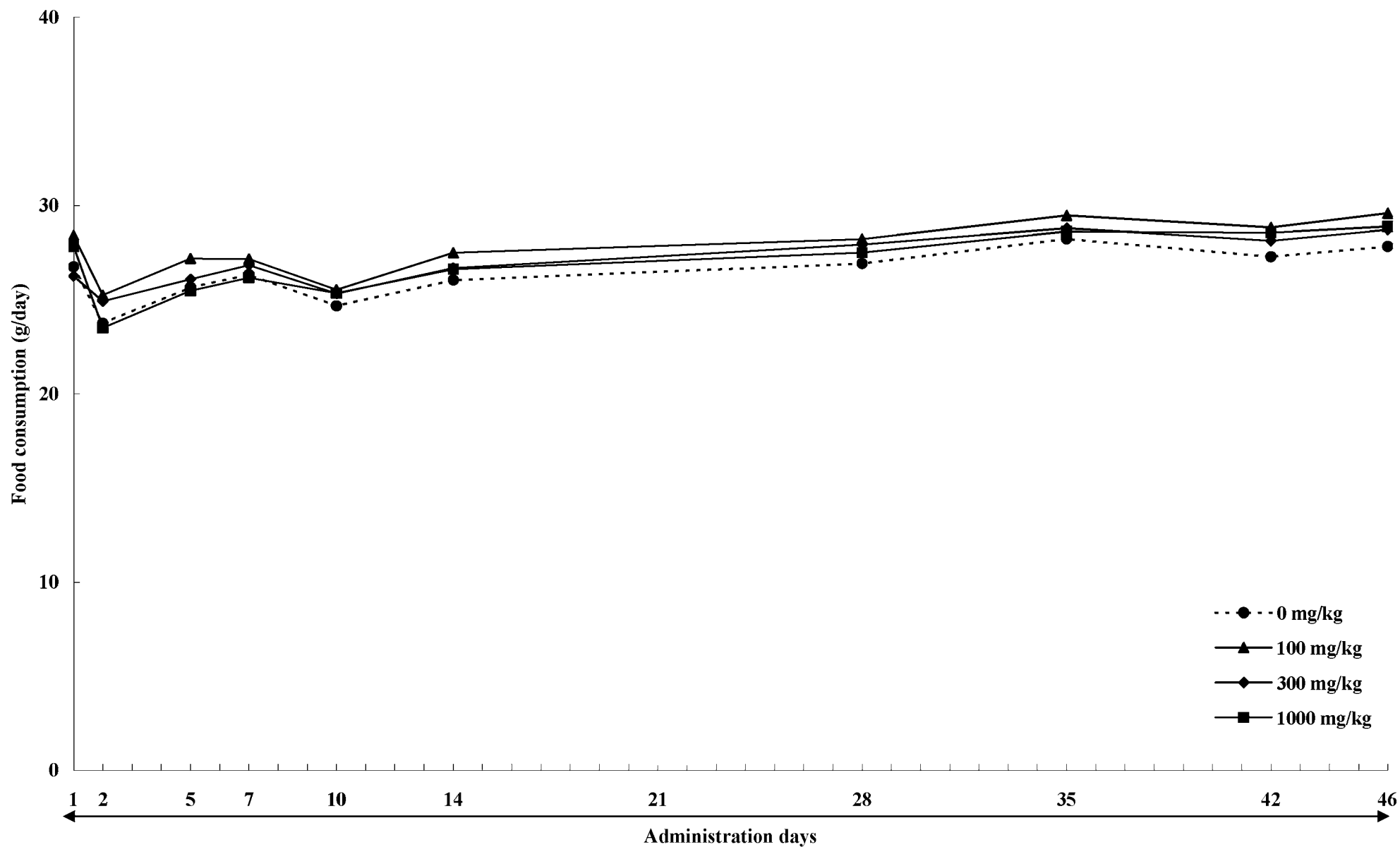


Figure 2 Food consumption of male rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220)

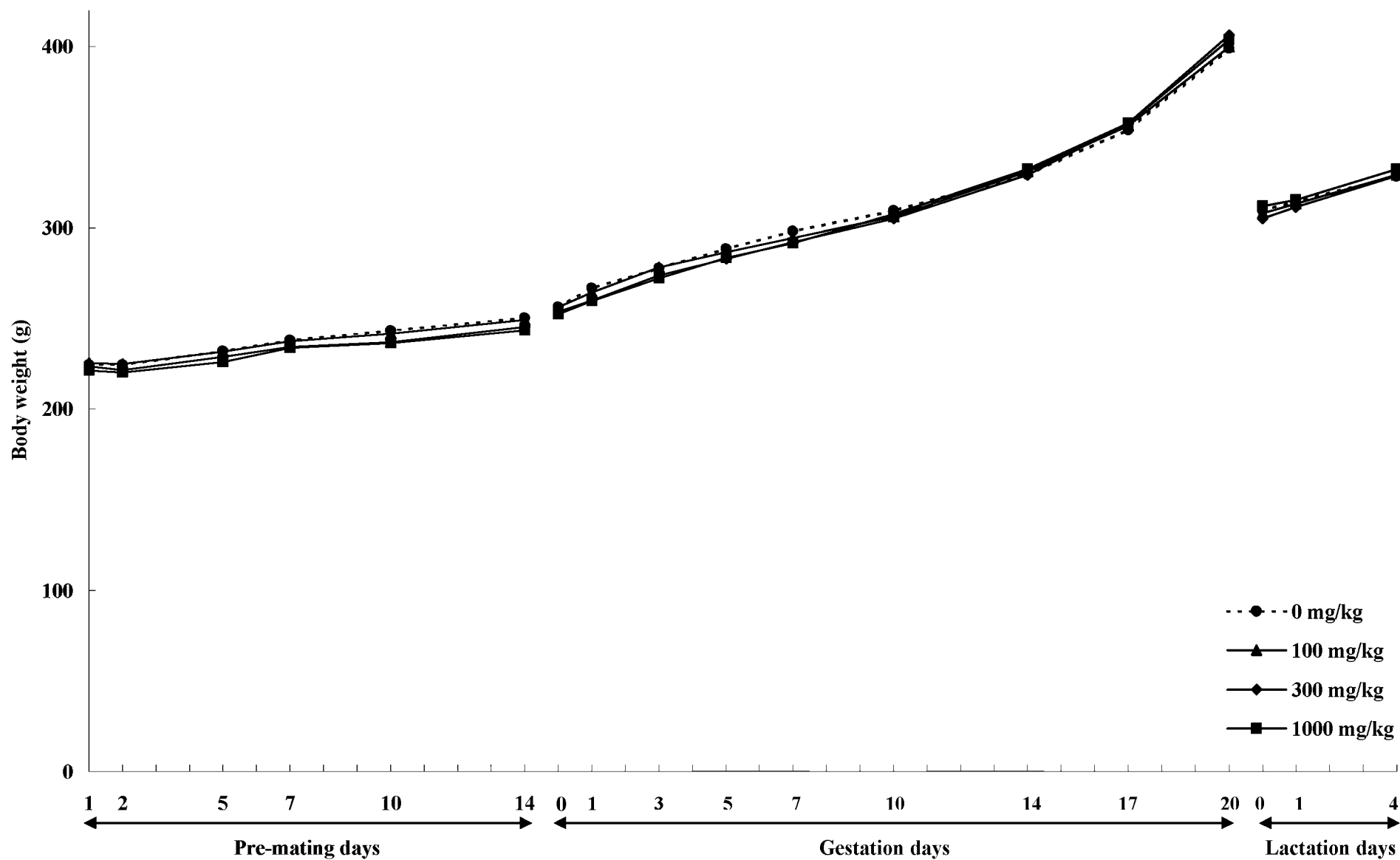


Figure 3 Body weight changes of female rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220)

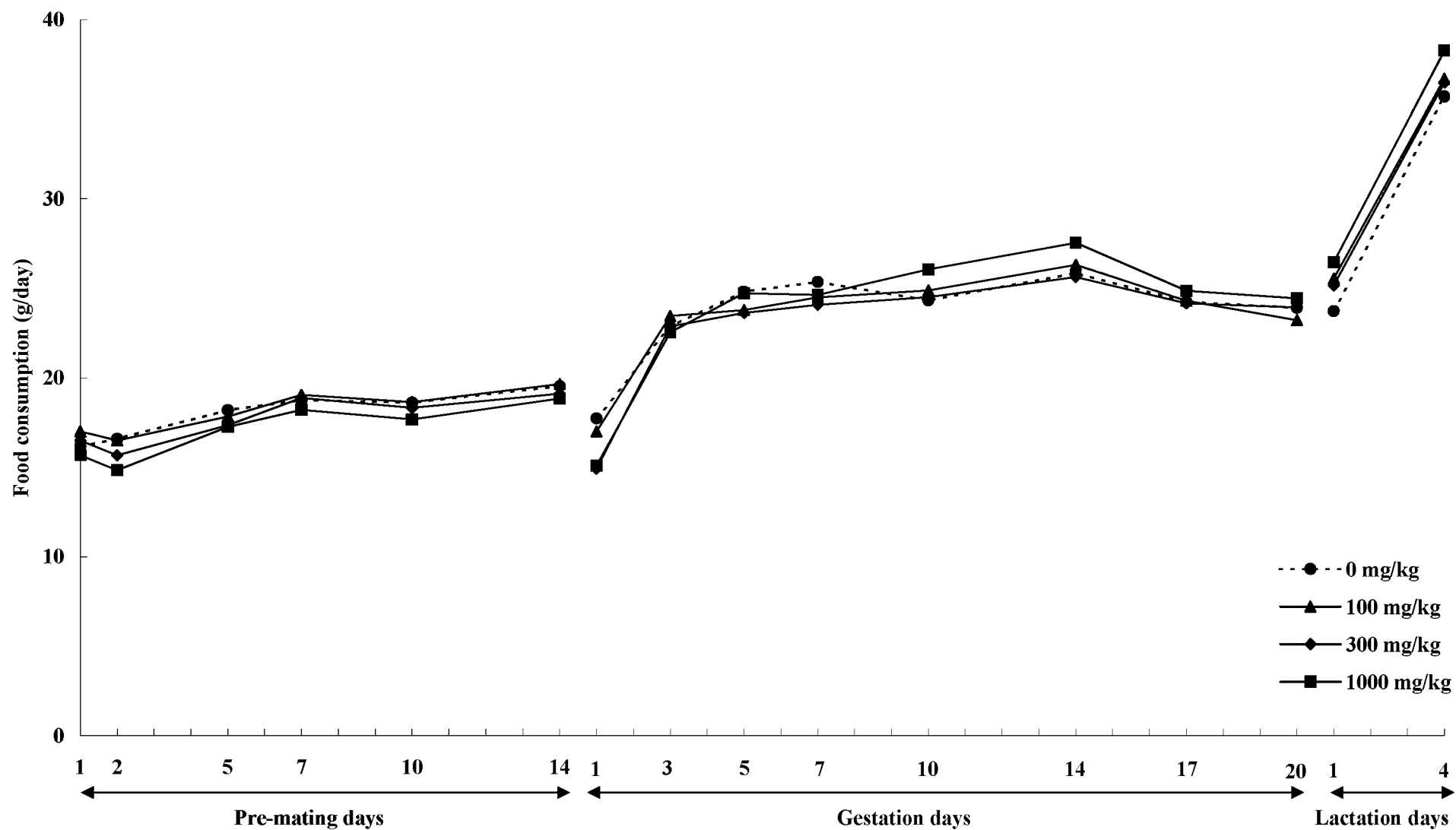


Figure 4 Food consumption of female rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220)

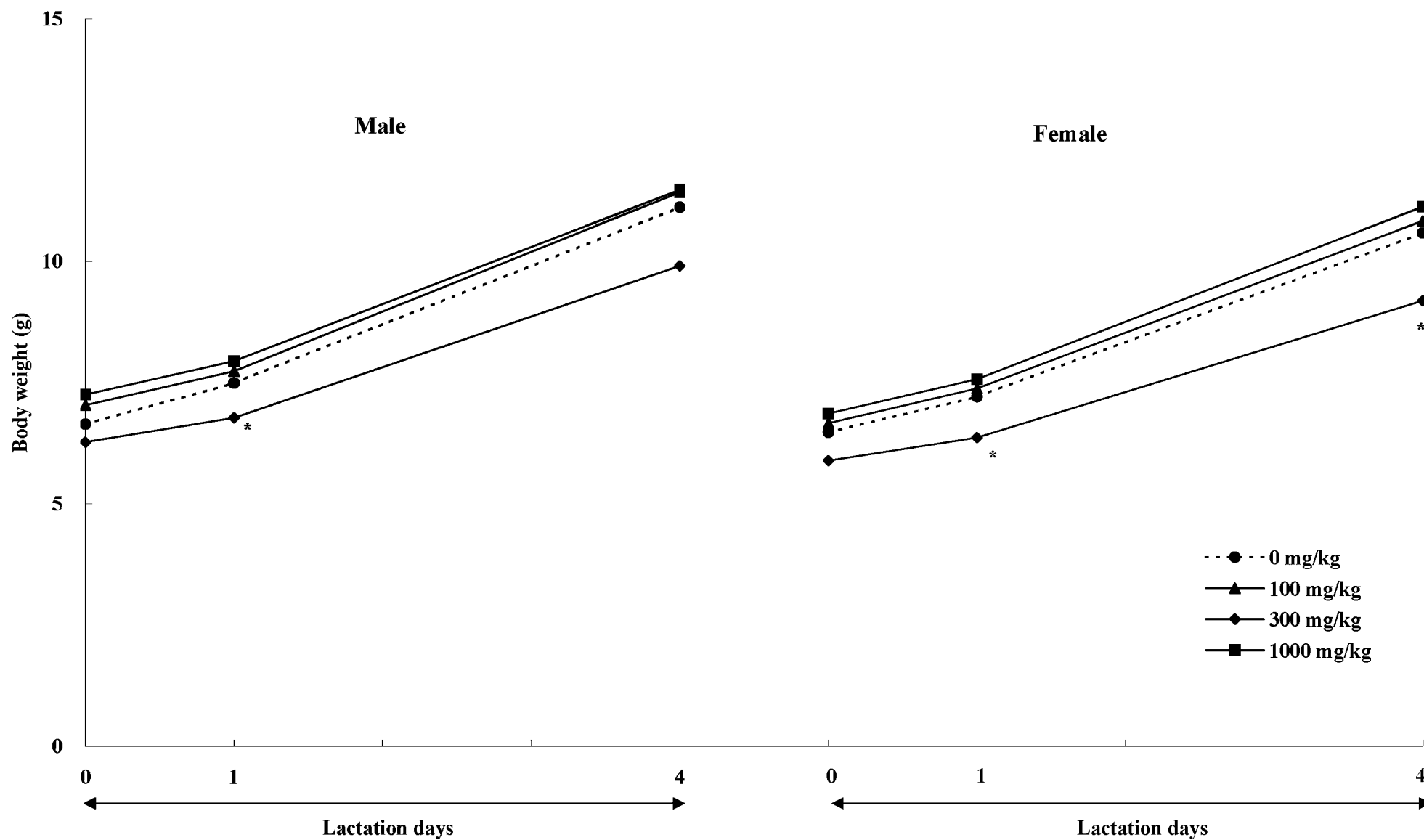


Figure 5 Body weight changes of pups in the reproduction/developmental toxicity screening test of sodium p-toluenesulfonate in rats (SR04220)

* : Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leq 0.05$.

Table 1 General appearance of male rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220)

Group	Findings	Administration days																		
		1-2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
0 mg/kg	Number of animals examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No abnormal findings	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
100 mg/kg	Number of animals examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No abnormal findings	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
300 mg/kg	Number of animals examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No abnormal findings	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
1000 mg/kg	Number of animals examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No abnormal findings	12	1	8	4	3	2	8	5	8	6	7	7	7	7	6	6	6	5	10
	Diarrhea	0	4	2	4	4	2	3	2	1	3	2	2	2	2	2	1	0	0	0
	Soft feces	0	7	2	4	6	8	2	6	3	3	3	4	3	3	4	6	6	7	2

Values are number of animals with findings.

(to be continued)

Table 1 General appearance of male rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220) (continued)

Group	Findings	Administration days																			Autopsy day
		21	22	23	24	25	26	27	28	29-30	31	32	33	34-40	41	42	43	44	45	46	
0 mg/kg	Number of animals examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No abnormal findings	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	11	11	11
	Hematuria	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
100 mg/kg	Number of animals examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No abnormal findings	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
300 mg/kg	Number of animals examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No abnormal findings	12	12	12	12	12	12	11	12	12	12	12	12	12	12	11	12	12	12	12	12
	Diarrhea	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Soft feces	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
1000 mg/kg	Number of animals examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No abnormal findings	8	11	10	8	10	11	12	10	12	11	12	11	12	11	11	11	12	12	9	10
	Diarrhea	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Soft feces	4	0	1	3	2	1	0	2	0	1	0	1	0	1	1	1	0	0	3	2

Values are number of animals with findings.

Table 2 Body weight changes of male rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220)

Group	Number of animals		Body weight (g) on administration days											Body weight gain	
														Day 1-46	
			1	2	5	7	10	14	21	28	35	42	46	g	%
0 mg/kg	12	Mean	387.3	387.3	399.1	407.2	414.7	430.3	453.8	477.6	500.1	514.7	524.2	136.8	35.051
		S.D.	21.7	23.5	26.5	28.4	30.3	33.8	35.8	41.6	46.7	51.2	53.0	34.4	7.873
100 mg/kg	12	Mean	393.0	393.2	408.9	416.2	426.3	443.2	466.8	491.3	515.0	535.2	546.9	153.9	39.087
		S.D.	18.1	20.8	21.4	22.5	24.0	27.3	30.4	35.2	37.4	39.8	40.1	27.3	6.421
300 mg/kg	12	Mean	386.9	388.6	403.2	409.4	420.7	435.1	462.4	485.2	507.3	521.4	533.8	146.9	37.776
		S.D.	22.6	22.6	24.9	26.6	29.2	31.8	34.5	39.0	42.2	50.0	49.6	30.5	6.596
1000 mg/kg	12	Mean	388.7	388.0	400.3	406.5	415.2	429.0	453.2	476.2	501.3	524.8	534.5	145.8	37.500
		S.D.	23.0	22.7	26.2	24.6	26.2	30.0	28.6	30.1	33.4	36.7	36.3	17.9	3.733

Body weight gain (%) = (body weight gain / body weight on day 1) x 100.

Table 3 Food consumption of male rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220)

Group	Number of animals		Food consumption (g/day) on administration days									
			1	2	5	7	10	14	28	35	42	46
0 mg/kg	12	Mean	26.75	23.75	25.66	26.33	24.68	26.05	26.93	28.23	27.28	27.83
		S.D.	2.63	2.01	1.89	2.36	2.01	1.93	1.87	2.25	2.43	2.28
100 mg/kg	12	Mean	28.42	25.25	27.19	27.17	25.53	27.50	28.23	29.48	28.84	29.60
		S.D.	2.91	3.60	2.32	2.88	2.55	2.43	2.89	2.78	2.69	2.83
300 mg/kg	12	Mean	26.25	24.92	26.09	26.83	25.33	26.68	27.93	28.80	28.13	28.72
		S.D.	2.93	2.61	2.37	3.02	2.51	2.64	2.40	2.30	3.21	2.92
1000 mg/kg	12	Mean	27.83	23.50	25.48	26.17	25.35	26.63	27.51	28.62	28.57	28.89
		S.D.	2.48	2.07	1.82	1.74	1.98	2.29	1.95	2.04	2.35	1.76

Table 4 Gross findings of male rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220)

	Group	0 mg/kg	100 mg/kg	300 mg/kg	1000 mg/kg
Number of animals examined		12	12	12	12
No abnormal findings		12	12	11	3
Organ : Findings					
Stomach : Thickening, limiting ridge		0	0	0	7
Liver : Yellowish white patch, lateral left lobe		0	0	0	2
Yellowish white patch, papillary process of caudate lobe		0	0	0	1
Heart : Hypertrophy		0	0	1	0
Epididymis : Yellowish white patch, cauda, unilateral		0	0	0	2
Yellowish white patch, cauda, bilateral		0	0	0	1

Values are number of animals with findings.

Table 5 Absolute and relative organ weights of male rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220)

Group	Number of animals		Body weight g	Liver		Kidney		Spleen		Heart		Brain	
				g	%	g	%	g	%	g	%	g	%
0 mg/kg	12	Mean	527.2	18.202	3.445	3.570	0.676	0.847	0.159	1.479	0.282	2.258	0.430
		S.D.	52.5	2.682	0.315	0.544	0.067	0.194	0.024	0.147	0.022	0.105	0.040
100 mg/kg	12	Mean	551.2	20.036	3.628	3.790	0.688	0.888	0.161	1.528	0.278	2.210	0.403
		S.D.	41.4	2.512	0.275	0.442	0.073	0.133	0.019	0.145	0.018	0.085	0.032
300 mg/kg	12	Mean	537.3	19.095	3.547	3.515	0.655	0.805	0.148	1.538	0.288	2.171	0.408
		S.D.	50.6	2.710	0.289	0.438	0.055	0.160	0.024	0.281	0.051	0.088	0.047
1000 mg/kg	12	Mean	537.0	19.003	3.543	3.743	0.697	0.898	0.168	1.442	0.269	2.196	0.411
		S.D.	37.7	2.066	0.335	0.460	0.070	0.143	0.023	0.094	0.016	0.126	0.025

Group	Number of animals		Thymus		Adrenal		Testis		Epididymis	
			mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	g	%	g	%
0 mg/kg	12	Mean	362.3	68.211	56.2	10.586	3.606	0.688	1.406	0.268
		S.D.	107.8	16.783	11.7	1.546	0.441	0.077	0.155	0.031
100 mg/kg	12	Mean	338.9	61.664	63.1	11.479	3.545	0.645	1.447	0.263
		S.D.	54.0	9.927	7.4	1.468	0.326	0.064	0.161	0.028
300 mg/kg	12	Mean	319.1	59.306	58.2	10.936	3.537	0.662	1.400	0.264
		S.D.	79.4	13.541	9.4	2.274	0.350	0.076	0.093	0.038
1000 mg/kg	12	Mean	321.1	60.012	62.0	11.528	3.526	0.658	1.368	0.258
		S.D.	84.1	16.064	9.5	1.430	0.292	0.062	0.095	0.019

Table 6 Histopathological findings of male rats dosed orally with sodium *p*-toluensulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220)

Item		0 mg/kg	100 mg/kg	300 mg/kg	1000 mg/kg
Number of animals examined		12	12	12	12
Organ: Findings	Grade				
Forestomach: Abnormal findings		0	0	0	0
Stomach, limiting ridge: Cellular infiltration, inflammatory cell, lamina propria	+	0	0	0	7 **
Squamous cell hyperplasia	+	0	0	0	9 **
Cyst, squamous cell	+	0	0	0	1
Glandular stomach: Abnormal findings		0	0	0	0
Liver: Necrosis, massive	+	-	-	-	1 (2)
Accumulation, histiocyte, capsule	+	-	-	-	1 (2)
Mineralization, capsule	+	-	-	-	1 (2)
Heart: Abnormal findings		-	-	0 (1)	-
Testis: Atrophy, seminiferous tubule	+	2	-	-	1
Epididymis: Degeneration, vacuolar, ductal epithelium	+	1	-	-	0
Granuloma, spermatic	+	0	-	-	3

Values are number of animals with findings.

Values in parentheses are number of animals examined.

-: Blank value.

Grade; +: slight change.

** : Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leq 0.01$.

Table 7 Stages of spermatogenesis of male rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220)

		Stage I-VI					
Group	Number of animals		Sertoli cells Number ^a	Spermatogonia Number	Pachytene spermatocytes Number	Round spermatids Number	
0 mg/kg	12	Mean	21.48	15.38	48.53	127.62	
		S.D.	2.12	2.85	3.32	9.74	
1000 mg/kg	12	Mean	21.07	14.48	48.23	135.63	
		S.D.	1.39	3.29	3.83	11.06	
		Stage VII-VIII					
Group	Number of animals		Sertoli cells Number	Spermatogonia Number	Preleptotene spermatocytes Number	Pachytene spermatocytes Number	Round spermatids Number
0 mg/kg	12	Mean	21.00	3.17	40.38	59.65	135.92
		S.D.	2.62	1.03	3.12	4.41	11.62
1000 mg/kg	12	Mean	19.37	2.75	38.48	59.03	138.32
		S.D.	1.72	0.71	4.77	6.24	7.94

a: Expressed in number of cells in a seminiferous tubule.

(to be continued)

Table 7 Stages of spermatogenesis of male rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220) (continued)

			Stage IX-XI			
Group	Number of animals		Sertoli cells Number ^a	Spermatogonia Number	Leptotene spermatocytes Number	Pachytene spermatocytes Number
0 mg/kg	12	Mean	21.73	5.25	44.90	61.90
		S.D.	1.71	1.38	4.40	4.86
1000 mg/kg	12	Mean	21.82	4.77	41.13*	62.13
		S.D.	1.64	1.50	3.10	3.79
			Stage XII-XIV			
Group	Number of animals		Sertoli cells Number	Spermatogonia Number	Spermatocytes 1 Number	Spermatocytes 2 Number
0 mg/kg	12	Mean	21.55	5.03	46.75	66.07
		S.D.	2.71	1.39	5.17	5.33
1000 mg/kg	12	Mean	21.77	4.98	46.80	68.75
		S.D.	1.85	1.37	4.86	6.89

a: Expressed in number of cells in a seminiferous tubule.

Spermatocytes 1: Zygotene / Pachytene spermatocytes.

Spermatocytes 2: Pachytene / Diplotene spermatocytes.

*: Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leq 0.05$.

Table 8 General appearance of female rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220)

Group	Findings	Pre-mating days												Gestation days							Lactation days
		1 - 2	3	4	5	6	7	8 - 12	13	14	15	16	17	0	1	2 - 12	13	14 - 21	22	23-26	0-4
0 mg/kg	Number of animals examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	8	7	1	12	12	12	12	12	5	1	11
	No abnormal findings	12	12	12	12	12	12	12	12	12	8	7	1	12	12	12	12	12	5	1	11
100 mg/kg	Number of animals examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	10	8	4	12	12	12	12	11	6	-	11
	No abnormal findings	12	12	10	12	12	12	12	12	12	10	8	4	12	12	12	11	11	6	-	11
	Soft feces	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0
	Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	-	0
300 mg/kg	Number of animals examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	10	9	4	12	12	12	12	12	-	-	12
	No abnormal findings	12	12	12	12	12	12	12	12	12	10	9	4	12	12	12	12	12	-	-	12
1000 mg/kg	Number of animals examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	10	4	12	12	12	12	12	9	1	11
	No abnormal findings	12	9	10	8	9	11	12	11	10	7	6	3	6	10	12	12	12	9	1	11
	Diarrhea	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2	1	0	2	0	0	0	0	0	0	0
	Soft feces	0	2	2	4	3	1	0	1	2	3	3	1	5	2	0	0	0	0	0	0

Values are number of animal with findings.

- : Blank value.

Table 9 Body weight changes during pre-mating days of female rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220)

Group	Number of animals		Body weight (g) on pre-mating days						Body weight gain	
			1	2	5	7	10	14	Day 1-14	
									g	%
0 mg/kg	12	Mean	224.3	224.3	231.9	238.1	243.1	250.3	26.0	11.566
		S.D.	15.7	17.0	15.2	18.5	17.3	18.9	5.7	2.352
100 mg/kg	12	Mean	225.4	225.0	231.8	237.6	241.7	249.3	23.8	10.476
		S.D.	9.7	13.9	11.1	15.4	16.7	17.7	9.6	4.006
300 mg/kg	12	Mean	223.7	221.6	228.8	234.4	236.9	245.4	21.8	9.689
		S.D.	10.3	14.2	12.9	15.6	16.4	16.5	10.4	4.574
1000 mg/kg	12	Mean	221.3	220.1	226.0	233.9	236.5	243.4	22.2	9.997
		S.D.	15.2	14.8	15.7	16.9	17.9	20.9	11.4	4.889

Body weight gain (%) = (body weight gain / body weight on day 1) x 100.

Table 10 Body weight changes during gestation days of female rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220)

Group	Number of animals		Body weight (g) on gestation days									Body weight gain	
												Day 0-20	
			0	1	3	5	7	10	14	17	20	g	%
0 mg/kg	11	Mean	256.4	266.8	277.6	288.5	298.2	309.4	329.5	354.0	399.1	142.7	55.667
		S.D.	18.1	21.0	20.8	21.7	23.2	24.8	25.2	27.1	30.7	15.6	4.686
100 mg/kg	12	Mean	256.3	264.3	278.3	286.5	294.5	306.3	331.0	356.4	399.9	143.5	55.946
		S.D.	16.0	18.7	20.1	21.7	24.1	26.3	27.0	27.5	29.1	16.2	5.447
300 mg/kg	12	Mean	253.6	259.9	273.8	282.8	292.1	305.1	329.3	357.7	406.3	152.8	60.090
		S.D.	18.7	17.9	18.7	20.7	23.5	24.6	25.8	27.8	36.7	19.6	4.765
1000 mg/kg	11	Mean	252.5	259.7	272.2	283.5	291.5	307.6	332.5	357.7	403.9	151.5	60.292
		S.D.	19.6	23.7	23.4	25.6	24.5	24.5	26.9	26.1	26.9	16.5	7.735

Body weight gain (%) = (body weight gain / body weight on day 0) x 100.

Values in parentheses were number of animals examined.

Table 11 Body weight changes during lactation days of female rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220)

Group	Number of animals		Body weight (g) on lactation days			Body weight gain	
			0	1	4	Day 0-4	
						g	%
0 mg/kg	11	Mean	309.7	314.5	328.5	18.7	6.247
		S.D.	29.0	25.3	26.1	12.3	4.315
100 mg/kg	11	Mean	308.2	313.4	329.2	21.0	6.863
		S.D.	29.0	27.4	30.3	9.6	3.336
300 mg/kg	12	Mean	305.3	311.5	328.7	23.4	7.683
		S.D.	23.4	25.6	26.1	7.9	2.626
1000 mg/kg	11	Mean	312.1	315.3	332.4	20.3	6.646
		S.D.	26.7	25.5	24.6	10.6	3.852

Body weight gain (%) = (body weight gain / body weight on day 0) x 100.

Table 12 Food consumption changes during pre-mating days of female rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220)

Group	Number of animals		Food consumption (g/day) on pre-mating days					
			1	2	5	7	10	14
0 mg/kg	12	Mean	16.17	16.58	18.19	18.75	18.61	19.53
		S.D.	3.21	3.42	1.84	3.08	1.85	1.94
100 mg/kg	12	Mean	17.00	16.50	17.83	19.04	18.64	19.65
		S.D.	1.95	3.55	1.43	2.32	1.49	1.68
300 mg/kg	12	Mean	16.50	15.67	17.35	18.88	18.33	19.11
		S.D.	3.29	2.50	1.41	2.38	0.98	1.11
1000 mg/kg	12	Mean	15.67	14.83	17.25	18.21	17.68	18.84
		S.D.	3.60	2.29	1.96	1.99	1.95	1.77

Table 13 Food consumption changes during gestation days of female rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220)

Group	Number of animals		Food consumption (g/day) on gestation days							
			1	3	5	7	10	14	17	20
0 mg/kg	11	Mean	17.73	22.86	24.82	25.36	24.33	25.85	24.25	23.91
		S.D.	3.64	2.64	3.19	3.32	3.30	2.71	2.34	2.28
100 mg/kg	12	Mean	17.00	23.46	23.79	24.50	24.88	(11) 26.32	(11) 24.31	(11) 23.22
		S.D.	2.92	2.77	2.59	3.97	3.04	2.87	3.14	3.00
300 mg/kg	12	Mean	14.92	22.88	23.63	24.08	24.51	25.63	24.17	23.93
		S.D.	2.64	1.64	2.43	2.31	2.52	2.13	2.46	3.36
1000 mg/kg	11	Mean	15.09	22.55	24.73	24.64	26.06	27.55	24.86	24.45
		S.D.	3.18	2.31	3.05	3.40	2.75	2.57	2.34	2.40

Values in parentheses were number of animals examined.

Table 14 Food consumption changes during lactation days of female rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220)

Group	Number of animals		Food consumption (g/day) on lactation days	
			1	4
0 mg/kg	11	Mean	23.73	35.72
		S.D.	3.07	5.83
100 mg/kg	11	Mean	25.55	36.71
		S.D.	6.64	4.42
300 mg/kg	12	Mean	25.17	36.50
		S.D.	6.34	4.53
1000 mg/kg	11	Mean	26.45	38.27
		S.D.	4.34	5.90

Table 15 Gross findings of female rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220)

	Group	0 mg/kg	100 mg/kg	300 mg/kg	1000 mg/kg
Number of animals examined		12	12	12	12
Number of pregnant animals		11	12	12	11
Number of surviving animals		11	11	12	11
No abnormal findings		11	11	12	11
Number of dead animals		0	1	0	0
Organ : Findings					
Lung : Red discoloration, focal, all lobes		-	1	-	-
Trachea : Retention, foamy fluid		-	1	-	-
Number of non- pregnant animals		1	0	0	1
No abnormal findings		1	-	-	1

Values are number of animals with findings.

- : Blank value.

Table 16 Absolute and relative organ weights of female rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220)

Group	Number of animals		Body weight g	Liver		Kidney		Spleen		Heart		Brain	
				g	%	g	%	g	%	g	%	g	%
0 mg/kg	11	Mean	328.5	13.145	4.006	2.172	0.661	0.634	0.193	0.989	0.301	1.991	0.608
		S.D.	26.1	1.268	0.306	0.171	0.018	0.097	0.027	0.065	0.019	0.061	0.039
100 mg/kg	11	Mean	329.2	13.529	4.112	2.139	0.650	0.615	0.187	0.992	0.302	2.036	0.623
		S.D.	30.3	1.542	0.300	0.214	0.039	0.056	0.022	0.074	0.020	0.077	0.049
300 mg/kg	12	Mean	328.7	13.811	4.203	2.131	0.648	0.653	0.200	0.978	0.298	2.028	0.620
		S.D.	26.1	1.375	0.269	0.226	0.024	0.078	0.026	0.070	0.021	0.094	0.046
1000 mg/kg	11	Mean	332.4	14.147	4.259	2.120	0.639	0.651	0.195	0.994	0.299	2.025	0.613
		S.D.	24.6	1.371	0.311	0.163	0.066	0.080	0.020	0.080	0.018	0.096	0.053

Group	Number of animals		Thymus		Adrenal		Ovary	
			mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %
0 mg/kg	11	Mean	242.6	73.381	77.3	23.585	111.4	33.925
		S.D.	71.2	19.305	7.9	2.202	16.9	4.584
100 mg/kg	11	Mean	224.8	68.812	75.4	22.976	108.7	33.289
		S.D.	57.5	19.420	8.8	2.623	9.8	4.364
300 mg/kg	12	Mean	268.4	81.834	78.1	23.669	102.6	31.238
		S.D.	78.5	23.728	12.6	2.731	10.5	2.372
1000 mg/kg	11	Mean	248.3	74.319	77.6	23.444	110.9	33.445
		S.D.	69.5	17.255	10.1	3.216	10.9	3.257

Table 17 Histopathological findings of female rats dosed orally with sodium *p*-toluensulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220)

Item		0 mg/kg	100 mg/kg	300 mg/kg	1000 mg/kg
Number of animals examined		12	1	0	12
Organ: Findings	Grade				
Lung: Hemorrhage	++	-	1	-	-
Edema	+	-	1	-	-
Trachea: Abnormal findings		-	0	-	-
Ovary: Abnormal findings		0	-	-	0

Values are number of animals with findings.

-. Blank value.

Grade; +: slight change, ++: moderate change.

Table 18 Reproduction performance of parental rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220)

Group	Estrous cycle	Length (days)	Copulation index		Fertility	Gestation	Gestation length (days)	Nursing
	Normality		Male	Female	index	index		index
	Incidence (%)		Incidence (%)	Incidence (%)	Incidence (%)	Incidence (%)		Incidence (%)
0 mg/kg	12/12	4.06	12/12	12/12	11/12	11/11	22.4	11/11
	(100)	0.20	(100)	(100)	(92)	(100)	0.5	(100)
100 mg/kg	12/12	4.00	12/12	12/12	12/12	11/11	22.5	11/11
	(100)	0.00	(100)	(100)	(100)	(100)	0.5	(100)
300 mg/kg	12/12	4.00	12/12	12/12	12/12	12/12	22.0	12/12
	(100)	0.00	(100)	(100)	(100)	(100)	0.0	(100)
1000 mg/kg	12/12	3.98	12/12	12/12	11/12	11/11	22.7	11/11
	(100)	0.06	(100)	(100)	(92)	(100)	0.5	(100)

Normal estrous cycle = (Number of female with normal estrous cycle / number of females examined) x 100.

Copulation index = (Number of animals with successful copulation / number of animals mated) x 100.

Fertility index = (Number of pregnant females / number of females with successful copulation) x 100.

Gestation index = (Number of females with live pups / number of pregnant females) x 100.

Nursing index = (number of females nursing live pups on lactation day 4 / number of females with live pups delivery) x 100.

Values are means and S.D.

Table 19 Pregnancy and litter data of rats dosed orally with sodium p-toluenesulfonate in the reproduction/developmental toxicity screening test (SR04220)

Group	Number of Pregnant animals		Number of corpora lutea	Number of implantation sites	Implantation index (%)	Delivery index (%)	Number of pups delivered	Sex ratio	Lactation day 0		Lactation day 4	
									Number of live pups	Live birth index (%)	Number of live pups	Viability index (%)
Pups data												
0 mg/kg	11	Mean	14.5	14.1	97.546	93.037	13.1	0.518	13.1	100.000	13.0	99.301
		S.D.	3.3	2.7	4.689	6.466	2.5	0.151	2.5	0.000	2.5	2.319
100 mg/kg	12	Mean	14.9	14.3	95.738	(11) 90.069	(11) 12.9	(11) 0.437	(11) 12.8	(11) 99.351	(11) 12.7	(11) 99.301
		S.D.	1.5	1.3	4.763	8.081	1.4	0.130	1.3	2.153	1.3	2.319
300 mg/kg	12	Mean	15.7	15.2	96.981	96.063	14.6	0.520	14.6	100.000	14.6	100.000
		S.D.	2.0	1.8	4.651	3.529	1.9	0.141	1.9	0.000	1.9	0.000
1000 mg/kg	11	Mean	16.0	14.7	91.365	94.202	13.8	0.488	13.6	98.931	13.6	100.000
		S.D.	1.5	4.0	23.449	8.849	4.0	0.125	3.9	3.546	3.9	0.000

Implantation index = (Number of implantation sites / number of corpora lutea) x 100.

Delivery index = (Number of pups born / number of implantation sites) x 100.

Sex ratio = Number of male pups born / number of pups born.

Live birth index = (Number of live pups on lactation day 0 / number of pups born) x 100.

Viability index on lactation day 4 = (Number of live pups on lactation day 4 / number of live pups on lactation day 0) x 100.

Values in parentheses were number of animals examined.

Table 20 General appearance of pups in the reproduction/developmental toxicity screening test of sodium p-toluenesulfonate in rats (SR04220)

Group	Findings	Male					Female				
		Lactation days					Lactation days				
		0	1	2	3	4	0	1	2	3	4
0 mg/kg	Number of pups examined	76	76	75	75	75	68	68	68	68	68
	No abnormal findings	75	75	75	75	74	68	68	68	68	68
	Milk-band negative	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	Lost	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
100 mg/kg	Number of pups examined	62	61	61	61	61	80	80	80	80	80
	No abnormal findings	61	61	61	61	60	80	80	80	80	80
	Death (milk-band negative)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Death (milk-band positive)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
300 mg/kg	Number of pups examined	89	89	89	89	89	86	86	86	86	86
	No abnormal findings	89	89	89	89	89	86	86	86	86	85
	Milk-band negative	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
1000 mg/kg	Number of pups examined	71	71	71	71	71	81	79	79	79	79
	No abnormal findings	71	71	71	71	71	79	79	79	79	79
	Death (milk-band negative)	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0

Values are number of animals with findings.

Table 21 Body weight changes of pups in the reproduction/developmental toxicity screening test of sodium p-toluenesulfonate in rats (SR04220)

Group	Number of litters		Male			Female		
			Body weight (g) on lactation days			Body weight (g) on lactation days		
			0	1	4	0	1	4
0 mg/kg	11	Mean	6.65	7.49	11.12	6.47	7.21	10.59
		S.D.	0.69	0.97	1.68	0.82	1.01	1.55
100 mg/kg	11	Mean	7.04	7.74	11.43	6.66	7.38	10.84
		S.D.	0.69	0.84	1.42	0.73	0.87	1.34
300 mg/kg	12	Mean	6.28	6.78*	9.91	5.89	6.37*	9.19*
		S.D.	0.24	0.32	0.60	0.29	0.33	0.62
1000 mg/kg	11	Mean	7.25	7.95	11.47	6.86	7.57	11.13
		S.D.	0.74	0.90	1.93	0.78	0.84	1.89

* : Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leq 0.05$.

Table 22 Gross findings of pups in the reproduction/developmental toxicity screening test of sodium p-toluenesulfonate in rats (SR04220)

Group	Male				Female			
	0 mg/kg	100 mg/kg	300 mg/kg	1000 mg/kg	0 mg/kg	100 mg/kg	300 mg/kg	1000 mg/kg
Total number of pups examined	75	62	89	71	68	80	86	81
Findings of dead pups during day 0-4 of lactation days								
Number of pups examined	0	2	0	0	0	0	0	2
No abnormal findings	-	2	-	-	-	-	-	2
Findings of pups euthanatized on day 4 of lactation days								
Number of pups examined	75	60	89	71	68	80	86	79
No abnormal findings	75	60	89	71	68	80	86	79

Values are number of pups with findings.

- : Blank value.