

最終報告書

表 題：4-メチル-1-ペンテンのラットにおける反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験

試験番号：S R 0 2 1 9 4

株式会社 化合物安全性研究所

目 次

	頁
表紙 -----	1
目次 -----	5
要約 -----	13
緒言 -----	14
材料および方法 -----	14
成績 -----	27
考察 -----	34

Figures

1. Body weight changes of male rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	38
2. Body weight changes before gestation period of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	39
3. Body weight changes during gestation period of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	40
4. Body weight changes during lactation period of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	41
5. Body weight changes of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	42
6. Food consumption of male rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	43
7. Food consumption before gestation period of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	44

8. Food consumption during gestation period of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	45
9. Food consumption during lactation period of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	46
10. Food consumption of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	47
11. Body weight changes of pups in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of 4-methyl-1-pentene in rats (SR02194) -----	48

Tables

1. General appearance of male rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	49
2. General appearance of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	50
3-1~3-3. Detailed clinical observation of male rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	51
4-1~4-3. Detailed clinical observation of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	57
5. Functional test of male rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	63
6. Functional test of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	65
7. Body weight changes of male rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	67
8. Body weight changes before gestation period of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	68
9. Body weight changes during gestation period of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	69
10. Body weight changes during lactation period of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	70

11. Body weight changes of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	71
12. Food consumption of male rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	72
13. Food consumption before gestation period of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	73
14. Food consumption during gestation period of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	74
15. Food consumption during lactation period of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	75
16. Food consumption of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	76
17. Urinary findings of male rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	77
18. Urinary findings of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	78
19. Urinary findings of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	79
20. Urinary findings of male rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	80
21. Urinary findings of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	81
22. Hematological findings of male rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	82
23. Hematological findings of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	83
24. Hematological findings of male rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	84

25. Hematological findings of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	85
26. Biochemical findings of male rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	86
27. Biochemical findings of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	87
28. Biochemical findings of male rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	88
29. Biochemical findings of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	89
30. Gross findings of male rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	90
31. Gross findings of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	91
32. Gross findings of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	92
33. Absolute and relative organ weights of male rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	93
34. Absolute and relative organ weights of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	94
35. Absolute and relative organ weights of male rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	95
36. Absolute and relative organ weights of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	96
37. Histopathological findings of male rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	97
38. Stages of spermatogenesis of male rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	99

39. Histopathological findings of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	101
40. Histopathological findings of male rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	103
41. Stages of spermatogenesis of male rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	105
42. Histopathological findings of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	107
43. Reproduction performance in parental rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	109
44. Estrus cycle of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	110
45. Pregnancy and litter data of rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) -----	111
46. General appearance of pups in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of 4-methyl-1-pentene in rats (SR02194) -----	112
47. Body weight changes of pups in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of 4-methyl-1-pentene in rats (SR02194) -----	113
48. Gross findings of pups in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of 4-methyl-1-pentene in rats (SR02194) -----	114

要 約

4-メチル-1-ペンテンの0(対照群)、40、200および1000 mg/kgを1群雄雌各12匹のCrj:CD(SD)IGSラットに対して、雄は交配前、交配期間および交配後を含む計42日間、雌は交配前、交配および妊娠期間、ならびに哺育5日までの期間経口投与し、反復投与による影響と生殖および新生児の発生に及ぼす影響について検討した。また、0(対照群)および1000 mg/kgについて、雄動物は各5匹を選抜し、雌動物は各5匹を別に設け、42日間の投与終了後14日間の休薬による回復性についても併せて検討し、以下の成績を得た。

1. 反復投与毒性

- (1) 一般状態、詳細な一般状態観察、機能検査、体重、摂餌量、尿検査および血液学的検査では、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。
- (2) 血液化学的検査では、1000 mg/kg群の雌で哺育6日に尿素窒素の高値がみられ、回復終了時にもクレアチニンおよびクロールの高値が認められた。
- (3) 剖検所見、器官重量および精子形成では、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。
- (4) 病理組織学的所見では、200 mg/kg以上の群の雄で腎臓の軽度な近位尿細管上皮の硝子滴および好酸性小体の用量依存的な増加が認められた。しかし、この変化も2週間の休薬により軽減した。

以上のことから、本試験条件下における4-メチル-1-ペンテンの無影響量(NOEL)は雄で40 mg/kg/day、雌で200 mg/kg/dayと考えられた。

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。
- (2) 母動物の黄体数、着床痕数、着床率、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、哺育4日の生存児数および新生児生存率には、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。
- (3) 新生児の体重で1000 mg/kg群に体重増加抑制傾向が認められたが、各投与群とも一般状態および剖検では、被験物質投与に関連した変化は認められなかった。

以上のことから、本試験条件下における4-メチル-1-ペンテンの反復投与による無影響量(NOEL)は、親動物の生殖能に対しては1000 mg/kg/day、新生児の発生に対しては200 mg/kg/dayと考えられた。

緒 言

4-メチル-1-ペンテンの0(対照群)、40、200および1000 mg/kgを1群雄雌各12匹のCrj:CD (SD) IGSラットに対して、雄は交配前、交配期間および交配後を含む計42日間、雌は交配前、交配および妊娠期間、ならびに哺育5日までの期間経口投与し、反復投与による影響と生殖および新生児の発生に及ぼす影響について検討した。また、0(対照群)および1000 mg/kgについて、雄動物は各5匹を選抜し、雌動物は各5匹を別に設け、42日間の投与終了後14日間の休薬による回復性についても併せて検討を行った。

材料および方法

1. 被験物質

被験物質は、4-メチル-1-ペンテン[4-Methyl-1-pentene、略名：4MP-1、化学名：[1,1'-Biphenyl]-4,4'-diol、別名：4-Methylpent-1-ene、Isobutylethylene、1-Isohexene、CAS No. : 691-37-2、ロット番号：　　、純度：98.36%、提供者：

1で、分子式C₆H₁₂、分子量84.16、沸点54°C、蒸気圧35.6 kPa(267 mmHg)/25°C、融点-154°C、比重0.664(20/4°C)、蒸気密度2.9(空気=1)、引火点-25°C、発火点300°Cの水にほとんど不溶な無色透明の液体である(Appendix 1-1～1-2)。

4-メチル-1-ペンテンは強酸化剤と接触すると激しい反応が起こりうるため、直射日光を避け、火気、熱源より遠ざけて室温、気密の条件下で保存(実測範囲20～26°C、受入から最終調製日まで)した。

2. 対照物質

トウモロコシ油(ロット番号V2T2225、ナカライトスク株式会社)を対照物質として投与および投与液の調製に使用した。

3. 投与液の調製および化学分析

(1) 投与液の調製

投与量ごとに被験物質を精秤し、所定の濃度となるように媒体に混和し、均一化させた(詳細を以下に示す)。調製の際には眼、皮膚および衣服にふれないように、適切な保護具を着用した。調製液は遮光気密容器に入れ、室温保存(実測範囲22～25°C)した。残余調製液は焼却処分とした。

調製日	調製濃度 (mg/mL)	被験物質秤量値 (g)	投与液調製量 (mL)
2004年8月16日	8	2.72	340
	40	13.60	340
	200	88.00	440
2004年8月23日	8	2.72	340
	40	13.60	340
	200	88.00	440
2004年8月30日	8	3.36	420
	40	16.80	420
	200	100.00	500
2004年9月6日	8	3.36	420
	40	16.80	420
	200	100.00	500
2004年9月13日	8	3.36	420
	40	16.80	420
	200	100.00	500
2004年9月17日	8	3.04	380
	40	15.20	380
	200	84.00	420
2004年9月24日	8	3.36	420
	40	16.80	420
	200	100.00	500
2004年9月30日	8	0.8000	100
	40	5.6008	140
	200	20.0035	100

(2) 投与液の化学分析

調製液の安定性について、1および400 mg/mL 調製液中で、室温保存4日間および8日間安定であることを確認した。

また、投与に用いる各濃度の調製液について、初回、中間および最終回の調製時に計3回、被験物質の濃度を分析し、含有率が90~110%、変動係数が5%以下であることを確認した。分析は株式会社 日曹分析センターで実施し、その報告書を入手した。安定性試験および濃度確認試験について、試験計画書および最終報告書を添付する(Appendix 2-1-1~2-2-2)。

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 Crj:CD (SD) IGS 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 54 匹、雌 64 匹を 2004 年 8 月 4 日に 8 週齢で購入した。受入時の動物の体重範囲は、雄で 257~285 g、雌で 161~193 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 13 日間、一般状態を 1 日 1 回観察し、体重を受入時、受入 8 日および群分け時(検疫および馴化期間終了日)に測定した。さらに、雌動物について性周期検査を膣垢スメア塗抹法により投与開始前の 10 日間に行った。雌 1 例に連続非発情がみられたためこの例を群分け前に試験系から除外した。

(3) 群分け

検疫および馴化期間中に実施した一般状態観察および体重測定ならびに雌の性周期検査の結果を参考にして、動物の使用の適否を決定し、健康な雄 48 匹および雌 58 匹を選抜し、10 週齢で試験に供した。検疫および馴化期間終了日の体重に基づいて、投与前々日に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。試験に供された動物の体重範囲は、雄で 346~398 g、雌で 207~257 g であり、平均体重(雄 371.7 g、雌 230.5 g)の±20%以内であった。群分け前の除外例および選抜から外れた動物は試験から除外し安楽死とした。

(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、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、群分け後は試験群も明記して、それぞれ各ケージの前面に標示した。

(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 $20 \sim 25^{\circ}\text{C}$)、湿度 $50 \pm 20\%$ (実測範囲 $46 \sim 72\%$)、換気回数 10~15 回／時間、照明時間 12 時間 (8:00~20:00 の人工照明) の動物飼育室 (305 号室) で飼育した。動物飼育室の温度および湿度を毎日監視した。

2) 飼育器材および飼育方法

プ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 2 匹ずつ、群分け後は 1 匹ずつ、交配中は雄雌各 1 匹ずつ、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 (040512、040608) の飼料について、汚染物質の分析は財団法人日本食品分析センター、また微生物検査はオリエンタル酵母工業株式会社がそれぞれ行った。分析項目と許容基準値は㈱化合物安全性研究所の標準操作手順書に準拠した。分析の結果、いずれの項目にも許容基準値を超える値は認められなかった (Appendix 3-1-1~3-2-2)。

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。ただし、尿検査時には給水器を使用した。

試験に悪影響を及ぼす恐れのある汚染物質の有無を、2004 年 7 月 1 日、2004 年 10 月 1 日および 2005 年 1 月 6 日に試料を採取して、日本衛生株式会社において分析した。分析項目と許容基準値は㈱化合物安全性研究所の標準操作手順書に準拠した。分析の結果、いずれの項目にも許容基準値を超える値は認められなかった (Appendix 4-1~4-3)。

(6) 試験群の構成

試験群	投与量 (mg/kg)	濃度 (mg/mL)	動物数(動物番号)	
			雄	雌
<主試験群>				
対照群	0	0	12 (101～112)	12 (151～162)
低用量群	40	8	12 (201～212)	12 (251～262)
中用量群	200	40	12 (301～312)	12 (351～362)
高用量群	1000	200	12 (401～412)	12 (451～462)
<回復群>				
対照群	0	0	5 (102、103 106、107 111)	5 (163～167)
高用量群	1000	200	5 (403、404 407、408 410)	5 (463～467)

対照群は他の群と同様の方法でトウモロコシ油を投与した。

回復群の雄は、主試験群から交配期間終了後に投与 28 日の体重に基づいて、全体の平均値に近似するよう集団の中央値の周辺に位置する動物を各群から 5 匹ずつ選抜した。

(7) 被験物質の投与

1) 投与量の設定

トウモロコシ油に溶解させた 4-メチル-1-ペンテンの 0 (対照群)、40、200 および 1000 mg/kg を 1 群雄雌各 4 匹の Crj:CD (SD) IGS ラットに、14 日間反復経口投与して毒性の概要を検討した結果、一般状態、体重推移、摂餌量、尿検査、血液学的検査、血液化学的検査、剖検所見および器官重量のいずれにおいても、各群の雄雌と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。このことから、本試験では、予備試験と同様に 40、200 および 1000 mg/kg を低用量、中用量および高用量に設定し、対照を含めた雄雌各 4 群構成とした。

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 (422) を参考として、1 日 1 回、雄については交配 14 日前より 42 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 5 日までの期間、交尾不成立例は交配期間終了後 23 日までの期間、回復群については 42 日間、9 : 00 から 14 : 00 の間に胃ゾンデを用いて強制的に胃内に経口投与した。なお、妊娠期間は交尾成立後 25 日間とした。

投与容量は 5 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. 反復投与毒性

投与開始日を投与 1 日と起算し、さらに、主試験群の雌は交尾成立日を妊娠 0 日、分娩終了日を哺育 0 日、雄および回復群の雌は投与 42 日の翌日を回復 1 日と起算した。

1) 一般状態観察

全例について投与 1 日から剖検日まで、個々の動物の生死、外観、行動等について午前(投与前および投与直後)ならびに午後の毎日 1 日最低 3 回、回復期間中は午前および午後の毎日最低 2 回、剖検日は午前中に少なくとも 1 回観察した。

2) 詳細な一般状態観察

全例について、投与開始前ならびに投与 7、14、21、28、35 および 42 日、および回復 7 および 14 日に、主試験群の雌は投与 42 日以降も 1 回/週の頻度で、ケージ外から姿勢、眼瞼閉鎖、呼吸、振戦・痙攣、常同行動(回転・旋回)、異常行動(自傷)について、ケージから取り出す時に取り出し易さ、扱い易さ、筋緊張、立毛、被毛の状態、皮膚、眼球突出、瞳孔径、可視粘膜、流涙、流涎、体温について、オープンフィールド内で痙攣、歩行、覚醒状態、排尿、排糞、常同行動(毛繕い・匂嗅ぎ)、異常行動(後方突進・発声)、呼吸について、それぞれあらかじめ定めたスコアリング法を用いてそのスコアを記録した。

3) 機能検査

各群 5 例(回復群として選抜された例を含む)について、投与 6 週(投与 36 日)および回復 2 週(回復 11 日)に、主試験群の雌は哺育 4 日に、作業台上で視覚(接近反応)、触覚(接触反応)、聴覚(音に対する反応)、痛覚(尾根部を挟む)、固有受容反応(強制姿勢からの復帰)、空中正向反射についてあらかじめ定めたスコアリング法を用いて観察し、そのスコアを記録した。また、握力および後肢の開脚幅に引き続き自発運動量を測定した。握力は CPU グージ(アイコーエンジニアリング株式会社)を用いて前肢および後肢の握力を各 3 回測定し、1 g 単位で記録した。後肢の開脚幅は後肢の足底に墨汁を塗り、胴を持って 30 cm 上方から床に落した時の後肢の開脚幅を 2 回測定し、0.1 cm 単位で記録した。自発運動量は自発運動量測定システム(CompACT AMS)を用いて測定し、データの収集間隔を 10 分として 1 時間測定した。

4) 体重測定

全例について、投与 1、3、5、7、10、14、21、28、35 および 42 日の投与前、回復 7 および 14 日、主試験群の雌は投与 1、3、5、7、10、14 日の投与前、妊娠 0、1、3、5、7、10、14、17 および 20 日の投与前、哺育 0、1 および 4 日の投与前ならびに剖検日に、交尾不成立例については投与 21、28、35、42 および 49 日の投与前に、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。

体重増加量および体重増加率を以下の計算式により算出した。

〈主試験群の雄〉

$$\text{体重増加量} = (\text{投与 42 日体重}) - (\text{投与 1 日体重})$$

$$\text{体重増加率} = \frac{\text{体重増加量}}{\text{投与 1 日体重}} \times 100$$

〈主試験群の雌〉

妊娠前投与期間

$$\text{体重増加量} = (\text{投与 14 日体重}) - (\text{投与 1 日体重})$$

$$\text{体重増加率} = \frac{\text{体重増加量}}{\text{投与 1 日体重}} \times 100$$

妊娠期間

$$\text{体重増加量} = (\text{妊娠 20 日体重}) - (\text{妊娠 0 日体重})$$

$$\text{体重増加率} = \frac{\text{体重増加量}}{\text{妊娠 0 日体重}} \times 100$$

哺育期間

$$\text{体重増加量} = (\text{哺育 4 日体重}) - (\text{哺育 0 日体重})$$

$$\text{体重増加率} = \frac{\text{体重増加量}}{\text{哺育 0 日体重}} \times 100$$

〈回復群〉

$$\text{体重増加量} = (\text{回復 14 日体重}) - (\text{投与 42 日体重})$$

$$\text{体重増加率} = \frac{\text{体重増加量}}{\text{投与 42 日体重}} \times 100$$

5) 摂餌量測定

全例について、交配期間と剖検日および雌の哺育 0 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・ディ)を用いて各ケージの給与量と残量を測定した。給与量から残量を減じた後、1 日分の消費量を算出して摂餌量(g/rat/day)とした。

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

6) 尿検査

機能検査と同一の各群 5 例について、投与 6 週(投与 40~41 日)および回復 2 週(回復 12~13 日)、主試験群の雌は哺育 4~5 日に、非絶食下でラット用代謝ケージ(KN-646, B-1 型、株式会社夏目製作所)を用いて採尿し、3 時間前後までに排泄した新鮮尿について①~⑨を、また約 21 時間の蓄尿で⑩および⑪を実施し、同時に⑫を測定した。採取した尿は検査終了後、廃棄した。

検査項目および検査方法：

①pH	試験紙法(マルティステックス、バイエル メディカル)
②蛋白(Protein)	試験紙法(マルティステックス、バイエル メディカル)
③糖(Glucose)	試験紙法(マルティステックス、バイエル メディカル)
④ケトン体(Ketone body)	試験紙法(マルティステックス、バイエル メディカル)
⑤ウロビリノーゲン(Urobilinogen)	試験紙法(マルティステックス、バイエル メディカル)
⑥ビリルビン(Bilirubin)	試験紙法(マルティステックス、バイエル メディカル)
⑦潜血反応(Occult blood)	試験紙法(マルティステックス、バイエル メディカル)
⑧色調(Color)	肉眼観察
⑨沈渣(Urinary sediments)	鏡検
⑩尿量(Urine Volume)	容量測定
⑪比重(Specific gravity)	屈折計法(尿比重屈折計ヨリコン-S、アコ)
⑫採尿中の飲水量(Water consumption)	給水瓶の重量測定による

7) 血液学的検査

剖検時に一晩(16~21 時間)絶食後、ラットをエーテル麻酔し、無作為に選抜した各群 5 例について腹部大動脈から採血した。①~⑩については EDTA・2K(ベノジェクト II 真空採血管、テルモ株式会社)で処理した血液約 1 mL を用い、⑪および⑫については 3.8% クエン酸ナトリウムで処理し、3500 回転/分で 10 分間の遠心分離して得られた血漿を用いた。なお、得られた血液および血漿は検査終了後、廃棄した。

検査項目および検査方法：

①赤血球数(RBC)	電気抵抗法(自動血球計数装置 F-820、システムズ)
②ヘマトクリット値(Ht)	電気抵抗法(自動血球計数装置 F-820、システムズ)
③ヘモグロビン量(Hb)	シアンメトヘモグロビン法 (自動血球計数装置 F-820、システムズ)
④平均赤血球容積(MCV)	RBC, Ht 値より算出 (自動血球計数装置 F-820、システムズ)
⑤平均赤血球ヘモグロビン量(MCH)	RBC, Hb 値より算出 (自動血球計数装置 F-820、システムズ)
⑥平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)	Ht, Hb 値より算出 (自動血球計数装置 F-820、システムズ)
⑦網赤血球数(Reticulocyte)	Brecher 法(鏡検)
⑧血小板数(Platelet)	電気抵抗法(自動血球計数装置 F-820、システムズ)
⑨白血球数(WBC)	電気抵抗法(自動血球計数装置 F-820、システムズ)
⑩白血球百分比 (Differential count of WBC)	May-Grünwald-Giemsa 染色(鏡検)
⑪プロトロンビン時間(PT)	トロンボプラスチン法 (血液凝固自動測定装置アルング KC-10A、パクスター)
⑫活性化部分トロンボプラスチン 時間(APTT)	エラジン酸法 (血液凝固自動測定装置アルング KC-10A、パクスター)

8) 血液化学的検査

剖検時に一晩(16~21時間)絶食後、ラットをエーテル麻酔し、血液学的検査と同一の各群5例について腹部大動脈より採血した。①および⑤については、血液1mLあたりヘパリンナトリウム(ヘパリンナトリウム注N「シミズ」、1000単位/mL、清水製薬株式会社)約20単位で処理後、3500回転/分で10分間の遠心分離で得られた血漿を用いて検査した。他の項目については分離剤入り試験管(セパクリーン、栄研器材株式会社)に血液を採取し、3500回転/分で10分間の遠心分離で得られた血清を用いて検査した。得られた血漿および血清は検査終了後、-20°C以下で凍結保存し、最終報告書(草案)提出後、廃棄する。

検査項目および検査方法：

①AST (GOT)	JSCL 法(自動分析装置 7150 形、日立製作所)
②ALT (GPT)	JSCL 法(自動分析装置 7150 形、日立製作所)
③アルカリホスファターゼ(ALP)	JSCL 法(自動分析装置 7150 形、日立製作所)
④γ-GTP	L-γ-グルタミル-3-カルボキシ-4-ニトロアニリド基質法(自動分析装置 7150 形、日立製作所)
⑤グルコース(Glucose)	ヘキソキナーゼ法 (自動分析装置 7150 形、日立製作所)
⑥コリンエステラーゼ(ChE)	ヨウ化ブチリルチオコリン基質法 (自動分析装置 7150 形、日立製作所)
⑦総コレステロール(T-Chol)	酵素法(自動分析装置 7150 形、日立製作所)
⑧リン脂質(PL)	COD・DAOS 法(自動分析装置 7150 形、日立製作所)
⑨トリグリセリド(TG)	遊離グリセロール消去法 (自動分析装置 7150 形、日立製作所)
⑩総ビリルビン(T-Bil)	アゾビリルビン法 (自動分析装置 7150 形、日立製作所)
⑪尿素窒素(UN)	ウレアーゼ・GLDH 法 (自動分析装置 7150 形、日立製作所)
⑫クレアチニン(Crea)	Jaffé 法(自動分析装置 7150 形、日立製作所)
⑬ナトリウム(Na)	炎光光度法(自動炎光光度計 480 型、ヨーニング)
⑭カリウム(K)	炎光光度法(自動炎光光度計 480 型、ヨーニング)
⑮クロール(Cl)	電量滴定法(クロラドカントーCL-6M、平沼産業)
⑯カルシウム(Ca)	OCPC 法(自動分析装置 7150 形、日立製作所)
⑰無機リン(IP)	Fiske-Subba Row 法 (自動分析装置 7150 形、日立製作所)
⑱総蛋白(TP)	ピウレット法(自動分析装置 7150 形、日立製作所)
⑲蛋白分画(Protein fraction)	セルロースアセテート膜電気泳動法 (全自動電気泳動装置 CTE-150、常光)
⑳アルブミン(Albumin)	セルロースアセテート膜電気泳動法 (全自動電気泳動装置 CTE-150、常光)
㉑A/G 比(A/G ratio)	セルロースアセテート膜電気泳動法 (全自動電気泳動装置 CTE-150、常光)

9) 剖検

回復群を除く雄は投与 42 日の翌日に、主試験群の雌のうち分娩例は哺育 4 日の翌々日(哺育 6 日)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 日に、交尾不成立例は投与 51 日の翌日に、回復群は雄雌とも回復 14 日の翌日に全例について実施した。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。肺は注入固定した。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。左右のある器官は原則として左右とも保存した。

脳(大脳・小脳)、脊髄(頸部)、下垂体、胸腺、甲状腺(上皮小体を含む)、副腎、脾臓、心臓、食道、胃(前胃および腺胃)、肝臓、胰臓、十二指腸、空腸、回腸(ペイエル板を含む)、盲腸、結腸、直腸、気管、肺(気管支を含む)、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、卵巣(左右)、子宮(角部および頸部)、眼球およびハーダー腺、皮膚(原則として右腹部)、胸骨、大腿骨(骨髓を含む)、腸間膜リンパ節、下頸リンパ節、骨格筋(腓腹筋)、坐骨神経(右)および 1000 mg/kg 群の雌 1 例(No. 457)の腫。

10) 器官重量測定

血液学的検査と同一の各群 5 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・ディ)を用いて以下の器官について重量を測定した。ただし、精巣および精巣上体については全例実施した。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、卵巣

個々の器官の絶対重量と剖検当日に測定した体重から以下の式により相対重量を算出した。

$$\text{相対重量} = \frac{\text{絶対重量}}{\text{体重}} \times 100$$

11) 病理組織学的検査

全例について剖検時に固定・保存した全器官・組織をパラフィン包埋後薄切りし、ヘマトキシリン・エオジン染色標本あるいは特殊染色(Oil red O、アルシアンブルー、PAS)標本を作製し、対照群および高用量群の 5 例について鏡検した。また、雄では精巣の精子形成について精査した。腎臓については雄で硝子滴および好酸性小体の増加傾向がみられたため、全投与群の雄雌全例について鏡検を行い、また各群の雄の代表例(各 2 例)について α 2u グロブリン抗体を用いた免疫組織学的染色標本を作製して α 2u グロブリンの確認を行った。

なお、剖検所見として脾臓に囊胞や腫大がみられた対照群の雌 1 例(No. 155)、40 mg/kg 群の雄 1 例(No. 209)、200 mg/kg 群の雌 1 例(No. 361)の脾臓、子宮角や子宮頸部に拡張等のみられた 1000 mg/kg 群の雌 1 例(No. 457)の子宮角、子宮頸部および腫についても鏡検した。

II. 生殖発生毒性

1) 性周期検査

雌全例について、投与開始前 10 日から主試験群は交尾成立まで、交尾不成立例は投与 51 日の翌日の剖検日まで、回復群は回復 14 日までの連日、ギムザ染色による膣垢塗抹標本を作製し、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)の判定を行い、性周期の各段階を 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。発情休止期が 7 日以上継続してみられる例は連續非発情とし異常と判定した。

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(末尾同一番号)で 14 日間を限度として同居させた。交尾の成立は、膣内または受皿上に落下した膣栓、あるいは膣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。交尾率および受胎率を以下の式により算出した。

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

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

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 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)までの日数とした。

また、出産率、分娩率、着床率、出生率、哺育4日時の哺育率および性比を以下の式より算出した。

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

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

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

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

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

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

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以下の式より1腹単位で算出した。

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

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0.1 g単位で測定した。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

握力、後肢の開脚幅、自発運動量、体重、体重増加量および増加率、摂餌量、尿検査の定量的項目(尿比重を除く)、血液学的検査、血液化学的検査、器官の絶対重量および相対重量、正常発情期間隔、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。等分散の場合は一元配置分散分析法で解析し、不等分散の場合は 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は Mann-Whitney の U-検定法を用い対照との比較を行った。なお、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 腹を標本単位として処理した。

詳細な一般状態観察、検査台上の機能検査、尿検査の定性的項目および尿比重の成績、ならびに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 X² 検定を行い、その結果有意差が認められた場合には 2 試料 X² 検定で対照との比較を行った。ただし、2 試料 X² 検定に不適合の場合には Fisher の直接確率検定法を用いた。

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

成 績

I. 反復投与毒性

1. 一般状態

一般状態の成績を Table 1 および 2、 INDIVIDUAL DATA 1-1-1～1-3-2 に示す。

(1) 主試験群雄

対照群、40、200 および 1000 mg/kg 群のいずれにも投与期間中に異常は認められなかった。

(2) 主試験群雌

対照群、40、200 および 1000 mg/kg 群のいずれにも交配前および交配期間、さらに妊娠および哺育期間中を通して異常は認められなかった。

(3) 回復群雄

対照群および 1000 mg/kg 群のいずれにも回復期間中に異常は認められなかった。

(4) 回復群雌

対照群では、投与期間中は異常が認められなかつたが、回復期間中に 1 例(No. 167)が回復 1 日から剖検日まで眼球の小型および暗赤色化を示した。

1000 mg/kg 群では、投与期間中および回復期間中に異常は認められなかつた。

2. 詳細な一般状態観察

詳細な一般状態観察の成績を Table 3-1～4-3、 INDIVIDUAL DATA 2-1-1～2-18-6、スコアリングの基準を Appendix 6 に示す。

(1) 主試験群雄

40、200 および 1000 mg/kg 群のいずれにも投与期間中に対照群と比較して有意な変化は認められなかつた。

(2) 主試験群雌

40、200 および 1000 mg/kg 群のいずれにも投与期間中に対照群と比較して有意な変化は認められなかつた。

(3) 回復群雄

1000 mg/kg 群では、回復期間中も対照群と比較して有意な変化は認められなかつた。

(4) 回復群雌

1000 mg/kg 群では、投与期間中、回復期間中のいずれにも対照群と比較して有意な変化は認められなかつた。

なお、対照群の 1 例(No. 167)では眼球の小型および暗赤色化のため回復期間中に瞳孔径の観察が行えなかつた。

3. 機能検査

機能検査の成績を Table 5 および 6、INDIVIDUAL DATA 3-1-1～3-10-2、スコアリングの基準を Appendix 6 に示す。

(1) 主試験群雄

各投与群とも投与 6 週の検査に対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

(2) 主試験群雌

40 mg/kg 群では、哺育 4 日の検査で自発運動量の測定開始後 50-60 分に対照群と比較して有意な高値が認められたが、200 および 1000 mg/kg 群では有意な変化は認められなかった。

(3) 回復群雄

1000 mg/kg 群では、回復 2 週の検査に対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

(4) 回復群雌

1000 mg/kg 群では、投与 6 週の検査で自発運動量の測定開始後 0-20 分にのみ対照群と比較して有意な高値が認められたが、他の機能検査や握力等には有意な差は認められなかった。

回復 2 週の検査では、1000 mg/kg 群で後肢の開脚幅に有意な高値が認められたが、他の機能検査や握力等には有意な差は認められなかった。

4. 体重推移

体重推移を Figure 1～5、Table 7～11、INDIVIDUAL DATA 4-1-1～4-5-2 に示す。

(1) 主試験群雄

各投与群とも体重推移、体重増加量および体重増加率に対照群と比較して有意な差は認められなかった。

(2) 主試験群雌

各投与群とも交配前および交配期間、さらに妊娠および哺育期間中を通して体重推移、体重増加量および体重増加率に対照群と比較して有意な差は認められなかった。

(3) 回復群雄

1000 mg/kg 群では、回復期間中に体重推移、体重増加量および体重増加率に対照群と比較して有意な差は認められなかった。

(4) 回復群雌

1000 mg/kg 群では、投与期間中および回復期間中を通して体重推移、体重増加量および体重増加率に対照群と比較して有意な差は認められなかった。

5. 摂餌量

摂餌量を Figure 6~10、Table 12~16、INDIVIDUAL DATA 5-1-1~5-5-2 に示す。

(1) 主試験群雄

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。

(2) 主試験群雌

各投与群とも、交配前および交配期間、さらに妊娠期間および哺育期間中を通して有意な差は認められなかった。

(3) 回復群雄

1000 mg/kg 群では、回復期間中に対照群と比較して有意な差は認められなかった。

(4) 回復群雌

1000 mg/kg 群では、投与期間中および回復期間中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. 尿検査

尿検査の成績を Table 17~21、INDIVIDUAL DATA 6-1-1~6-5-2 に示す。

(1) 主試験群雄

各投与群とも投与 6 週に対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

(2) 主試験群雌

各投与群とも哺育 4~5 日に対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

(3) 回復群雄

1000 mg/kg 群では、回復 2 週に対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

(4) 回復群雌

1000 mg/kg 群では、投与 6 週および回復 2 週のいずれも対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

7. 血液学的検査

血液学的検査の成績を Table 22~25、INDIVIDUAL DATA 7-1-1~7-4-4 に示す。

(1) 主試験群雄

40 mg/kg 群では、血小板数に対照群と比較して有意な高値が認められた。

200 および 1000 mg/kg 群では有意な変化は認められなかった。

(2) 主試験群雌

40 mg/kg 群ではいずれの検査項目にも対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

200 mg/kg 群では、活性化部分トロンボプラスチン時間に有意な延長が認められた。

1000 mg/kg 群では有意な変化は認められなかった。

(3) 回復群雄

1000 mg/kg 群では、対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

(4) 回復群雌

1000 mg/kg 群では、対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

8. 血液化学的検査

血液化学的検査の成績を Table 26~29、INDIVIDUAL DATA 8-1-1~8-4-4 に示す。

(1) 主試験群雄

40 および 200 mg/kg 群ではいずれの検査項目にも対照群と比較して有意な変化は認められなかつた。

1000 mg/kg 群ではグルコースの有意な高値が認められた。

(2) 主試験群雌

40 mg/kg 群ではいずれの検査項目にも対照群と比較して有意な変化は認められなかつた。

200 mg/kg 群では、AST の有意な高値が認められた。

1000 mg/kg 群では、尿素窒素の有意な高値が認められた。

(3) 回復群雄

1000 mg/kg 群では、アルブミン分画比および A/G 比に対照群と比較して有意な高値が認められた。

(4) 回復群雌

1000 mg/kg 群では、クレアチニンおよびクロールの有意な高値ならびに β -グロブリン分画比の有意な低値が認められた。

9. 剖検所見

剖検所見を Table 30~32、INDIVIDUAL DATA 9-1-1~9-4-2 に示す。

(1) 主試験群雄

対照群では、1 例 (No. 109) に右大腿骨に変形が認められた。

40 mg/kg 群では、1 例 (No. 205) に右腎臓の腎孟拡張、他の 1 例 (No. 209) に脾臓の囊胞が認められた。

200 および 1000 mg/kg 群では、異常所見は認められなかつた。

(2) 主試験群雌

対照群では、1 例 (No. 155) に脾臓の腫大、黄色部および脂肪織との癒着が認められた。

40 mg/kg 群では、異常所見は認められなかつた。

200 mg/kg 群では、1 例 (No. 361) に脾臓の腫大が認められた。

1000 mg/kg 群では、妊娠が成立しなかつた 1 例 (No. 457) に左右子宮角部および子宮頸部の拡張、漿液性の黄白色混濁液体の貯留ならびに膣閉鎖が認められた。

(3) 回復群雄

対照群および 1000 mg/kg 群とも異常所見は認められなかった。

(4) 回復群雌

対照群では、1 例 (No. 167) で眼球の小型および眼底の暗赤色化が認められたが、1000 mg/kg 群には異常所見は認められなかった。

10. 器官重量

器官の絶対重量および相対重量の成績を Table 33~36、INDIVIDUAL DATA 10-1-1~10-4-4 に示す。

(1) 主試験群雄

各投与群とも対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

(2) 主試験群雌

40 mg/kg 群では、対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

200 mg/kg 群では、胸腺の相対重量に有意な低値が認められた。

1000 mg/kg 群では、有意な変化は認められなかった。

(3) 回復群雄

1000 mg/kg 群では、精巣の絶対および相対重量に対照群と比較して有意な高値が認められた。

(4) 回復群雌

1000 mg/kg 群では、対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

11. 病理組織学的検査

病理組織学的検査および精巣の精子形成の成績を Table 37~42、INDIVIDUAL DATA 11-1-1~12-2-8 に示す。

(1) 主試験群雄

腎臓に軽度な近位尿細管上皮の硝子滴が 40 mg/kg 群で 3 例、200 mg/kg 群で 7 例、1000 mg/kg 群で 6 例に、また軽度な近位尿細管上皮の好酸性小体が 40 mg/kg 群で 1 例、200 mg/kg 群で 7 例、1000 mg/kg 群で 6 例にみられ、いずれの所見も 200 mg/kg 以上の群に対照群と比較して有意な差が認められた。なお、 α 2u 免疫組織学的染色により、各被験物質投与群において陽性反応が認められた。

他には、雄で前立腺のリンパ球浸潤が散見されたが、1000 mg/kg 群で被験物質投与に関連した所見あるいは発現頻度の増加を示す所見は認められなかった。

剖検時に肉眼的所見がみられた例では、対照群の 1 例 (No. 109) で変形した大腿骨に中等度の仮骨形成が認められた。

40 mg/kg 群の 1 例 (No. 205) に右腎臓の腎孟で軽度な拡張が、また、脾臓に囊胞がみられた 1 例 (No. 209) では、被膜に囊胞が認められた。

精巣の精子形成の検査では、各ステージとも 1000 mg/kg 群に対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

(2) 主試験群雌

1000 mg/kg 群で被験物質投与に関連した所見あるいは発現頻度の増加を示す所見は認められなかった。

剖検時に肉眼的所見でみられた対照群の脾臓の腫大(No. 155)については、中等度な壞死および被膜の肉芽形成がみられ、軽度な髄外造血の亢進も認められた。

200 mg/kg 群でみられた脾臓の腫大(No. 361)については軽度なうつ血が認められた。

1000 mg/kg 群の左右子宮角部および子宮頸部の拡張(No. 457)については軽度な子宮内膜の炎症性細胞浸潤が認められた。

(3) 回復群雄

1000 mg/kg 群で被験物質投与に関連した所見あるいは発現頻度の増加を示す所見は認められなかった。

精巣の精子形成の検査では、1000 mg/kg 群のステージ I-VI におけるパキテン期精母細胞数および精子細胞数(round)、ステージ VII-VIII におけるプレレプトテン期およびパキテン期精母細胞数と精子細胞数(round)、ステージ IX-XI におけるパキテン期精母細胞数、ステージ XII-XIV におけるザイゴテン期/パキテン期精母細胞数にいずれも対照群と比較して有意な高値が認められた。

(4) 回復群雌

1000 mg/kg 群で被験物質投与に関連した所見あるいは発現頻度の増加を示す所見は認められなかった。

剖検時に肉眼的所見でみられた対照群の眼球の小型(No. 167)については中等度な水晶体の萎縮、脈絡膜、虹彩および毛様体の重度な線維化および軽度なヘモジデリン沈着が認められた。

II. 生殖発生毒性

(1) 生殖能検査

生殖能検査の成績を Table 43 および 44、INDIVIDUAL DATA 13-1-1~14-4 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 日の哺育率について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。

性周期では連續非発情と判定された例が対照群に 1 例(No. 153)および 200 mg/kg 群に 1 例(No. 360)認められた。

交尾が成立しなかった例が対照群に 1 例(No. 153)認められた。

妊娠が成立しなかった例が 200 mg/kg 群に 1 例(No. 360)および 1000 mg/kg 群に 3 例(No. 451、457、461)認められた。

(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 45、INDIVIDUAL DATA 15-1～15-4 に示す。

黄体数、着床数、着床率、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、哺育 4 日の生存児数および新生児生存率には、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 46、INDIVIDUAL DATA 16-1～16-4 に示す。

分娩終了確認時の死亡児あるいは不明例が対照群の雄で 3 例と雌に 1 例、40 mg/kg 群の雄で 6 例と雌に 2 例、200 mg/kg 群の雄で 1 例と雌に 2 例、1000 mg/kg 群の雌で 2 例みられた。

哺育 4 日までの期間の死亡児は対照群の雄で 2 例と雌に 1 例、40 mg/kg 群の雄で 1 例と雌に 2 例、200 mg/kg 群の雌で 2 例みられた。

死亡児および生存児ともミルクバンドのみられない例が各投与群に散見されたが、他には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 11、Table 47、INDIVIDUAL DATA 17-1～17-4 に示す。

40 および 200 mg/kg 群では、生後 0、1 および 4 日のいずれも雄雌とも対照群と比較して有意な差は認められなかった。

1000 mg/kg 群では、他の投与群と比較して低値傾向で推移し、雄では生後 1 日にのみ有意な差も認められた。

(5) 新生児の剖検

新生児の剖検の成績を Table 48、INDIVIDUAL DATA 18～19-4 に示す。

死亡児では、対照群の雄雌各 1 例、40 mg/kg 群の雄 1 例および 200 mg/kg 群の雌 1 例に自己融解が認められたが、他の例に異常は認められなかった。

哺育 4 日の生存児では、40 mg/kg 群の雄で大脳の脳室拡張と胸郭の変形が各 1 例に、1000 mg/kg 群の雄 1 例で肝臓の外側左葉に黄色部がみられたが、その他の例には異常は認められなかった。

考 察

4-メチル-1-ベンテンの0(対照群)、40、200および1000 mg/kgを1群雄雌各12匹のCrj:CD (SD) IGSラットに対して、雄は交配前、交配期間および交配後を含む計42日間、雌は交配前、交配および妊娠期間、ならびに哺育5日までの期間経口投与し、反復投与による影響と生殖および新生児の発生に及ぼす影響について検討した。また、0(対照群)および1000 mg/kgについて、雄は12匹の中から選抜した各5匹、雌は12匹とは別に42日間経口投与後の各5匹を用いて、投与終了後14日間の休薬による回復性についても併せて検討を行った。

1. 反復投与毒性

一般状態では、投与期間および回復期間中を通して、雄雌のいずれの投与群にも被験物質投与に関連した変化は認められなかった。対照群の雌1例で、回復期間中に眼球の小型および暗赤色化がみられ、病理組織学的検査でも水晶体の萎縮や脈絡膜、虹彩と毛様体の重度な線維化、軽度なヘモジデリン沈着が認められた。対照群での所見であり、偶発的な発現と考えられたが、その原因については明らかでなかった。

詳細な一般状態観察では、投与期間および回復期間中を通して、雄雌のいずれの投与群にも被験物質投与に関連した変化は認められなかった。

機能検査では、回復群の1000 mg/kg群の雌において、投与6週の自発運動量が測定開始後0-20分でのみ有意な増加を示し、回復2週にも後肢の開脚幅に有意な高値が認められた。しかし、このような変化は、雄ではみられないこと、また1000 mg/kg群の雄雌とともにその他の機能検査や握力等に変化が認められていないことから、被験物質投与と関連性のない変化と考えられた。また、40 mg/kg群の哺育4日の母動物で、自発運動量が測定開始後50-60分でのみ有意な高値を示したが、この変化も用量依存性がみられていないことから、被験物質投与との関連性がない変化と考えられた。

体重推移、摂餌量および尿検査では、雄雌のいずれの投与群にも被験物質投与に関連した変化は認められなかった。

血液学的検査では、投与終了時に40 mg/kg群の雄で血小板数の有意な高値、哺育6日に200 mg/kg群の雌で活性化部分トロンボプラスチン時間の有意な延長がみられたが、いずれも用量依存性がみられていないことから、被験物質投与に関連した変化ではないと考えられた。

血液化学的検査では、1000 mg/kg群の雌で哺育6日に尿素窒素の有意な高値が認められ、回復終了時にもクレアチニンおよびクロールの有意な高値が認められた。しかし、雌の腎臓に病理組織学的所見はみられず、その発現機序については明らかでなかった。

血液化学的検査では、その他に1000 mg/kg群の雄で投与終了時にグルコースの有意な高値、回復終了時にアルブミン分画比とA/G比の有意な高値、1000 mg/kg群の雌でβ-グロブリン分画

比の有意な低値が認められたが、総蛋白質、脂質系、凝固系や酵素系などの肝機能検査値や肝臓の病理組織学的検査でこれらの変化と関連する異常がみられないこと、また 200 mg/kg 群の雌で哺育 6 日に認められた AST の有意な高値については用量依存性がないことから、いずれも被験物質投与と関連性のない変化と考えられた。

剖検所見では、投与終了時および哺育 6 日に腎孟の拡張や脾臓の腫大等が散見されたが、いずれも自然発生することが知られており、その発現頻度も低いことから、被験物質投与と関連性のない変化と考えられた。

器官重量では、雄の回復終了時に 1000 mg/kg 群で精巣の絶対および相対重量の有意な高値が認められ、精巣の精子形成の検査でも 1000 mg/kg 群のステージ I-VI におけるパキテン期精母細胞数および精子細胞数(round)、ステージ VII-VIII におけるプレレプトテン期およびパキテン期精母細胞数と精子細胞数(round)、ステージ IX-XI におけるパキテン期精母細胞数、ステージ XII-XIV におけるザイゴテン期/パキテン期精母細胞数にいずれも有意な高値が認められた。しかし、病理組織学的には被験物質投与に関連した所見や発現頻度の増加を示す所見は認められることから、器官重量および精子形成の検査にみられた有意差には毒性学的意義はないと推察された。

哺育 6 日に 200 mg/kg 群の雌に胸腺の相対重量に有意な低値が認められたが、この変化には用量依存性がないことから、被験物質投与との関連性はないと考えられた。

病理組織学的所見では、投与終了時に 200 mg/kg 以上の群の雄で腎臓に軽度な近位尿細管上皮の硝子滴および好酸性小体の有意な増加が認められた。この変化には用量依存的に増加する傾向がみられ、被験物質投与に関連した変化と考えられたが、免疫組織学的検査により α 2u グロブリンの陽性反応が確認されたこと、ラットの雄では α 2u グロブリンの増加により慢性腎症が発生すること、また、 α 2u グロブリンによる変化は種特異性が強いこと等を考慮すると、この変化はラットの雄に特有の変化であると考えられた。

精巣の精子形成では、回復終了時に 1000 mg/kg 群で複数のステージにおいて精母細胞と精子細胞の有意な高値がみられたが、投与終了時には変化が認められていないことや生殖能にも異常がないことから、これらは被験物質投与と関連性のない変化と推察された。

以上のことから、被験物質の反復投与に関連した変化として、雄では 200 mg/kg 以上の群で腎臓の軽度な近位尿細管上皮の硝子滴および好酸性小体の用量依存的な増加、雌では哺育 6 日に 1000 mg/kg 群で尿素窒素の有意な高値が認められ、腎臓に対する影響が示唆された。回復終了時の雄には同様の変化がみられないことから休薬による回復性が示唆された。

したがって、本試験条件下における 4-メチル-1-ペンテンの無影響量(NOEL)は雄で 40 mg/kg/day、雌で 200 mg/kg/day と考えられた。

2. 生殖発生毒性

雄雌の生殖能検査や母動物の妊娠、分娩、哺育状態等については、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。

新生児では、出生後の体重に雄雌とも低値傾向がみられ、生後1日の雄の体重では1000 mg/kg群で有意な差もみられ、被験物質投与との関連性が考えられた。しかし、出生児の生後4日の体重には有意な差が認められないことから、哺育あるいは出生児の成長については被験物質投与による影響は極く軽微なものと推察された。

一方、交尾は確認されたが妊娠が成立しなかった200 mg/kg群の1例(No. 360)では、剖検所見や病理組織学的所見で異常は認められなかつたが、連続非発情を示した時期があり、交配相手の雄(No. 110)には剖検所見や病理組織学的所見に異常はないことから、不妊の要因は雌の連続非発情と関連性があると推察された。

また、1000 mg/kg群の不妊例3例(No. 451、457、461)のうち、1例(No. 457)では交尾は確認されたが、剖検所見で左右子宮角および子宮頸部の拡張、漿液性の黄白色混濁液体の貯留ならびに膣閉鎖がみられており、交配相手の雄(回復群のNo. 407)にも前立腺の軽度なリンパ球浸潤がみられていることから、これらの要因による不妊と考えられた。

他に2例中の1例(No. 451)では交配相手の雄(No. 401)に前立腺の軽度なリンパ球浸潤がみられたのみであり、また他の1例(No. 461)は交配相手の雄(No. 411)に剖検所見および病理組織学的所見に異常がなく、これらの不妊例については要因が明らかでなかった。

なお、交尾が確認できなかつた対照群の1例(No. 153)では剖検所見や病理組織学的所見に異常は認められなかつたが、連続非発情を示した時期があること、また、交配相手の雄(回復群のNo. 103)には病理組織学的所見で前立腺に中等度なリンパ球浸潤がみられていることから、交尾不成立の要因は雄雌相互に起因するものと推察された。

連続非発情は、対照群にもみられていることや発現頻度が低いことから、被験物質投与との関連性はないと考えられた。

以上のことから、親動物の生殖能については各投与群とともに被験物質に関連した変化は認められなかつた。一方、新生児の発生については1000 mg/kg投与群で体重増加抑制傾向が認められた。

したがつて、本試験条件下における4-メチル-1-ペンテンの反復投与による無影響量(NOEL)は、親動物の生殖能に対しては1000 mg/kg/day、新生児の発生に対しては200 mg/kg/dayと考えられた。

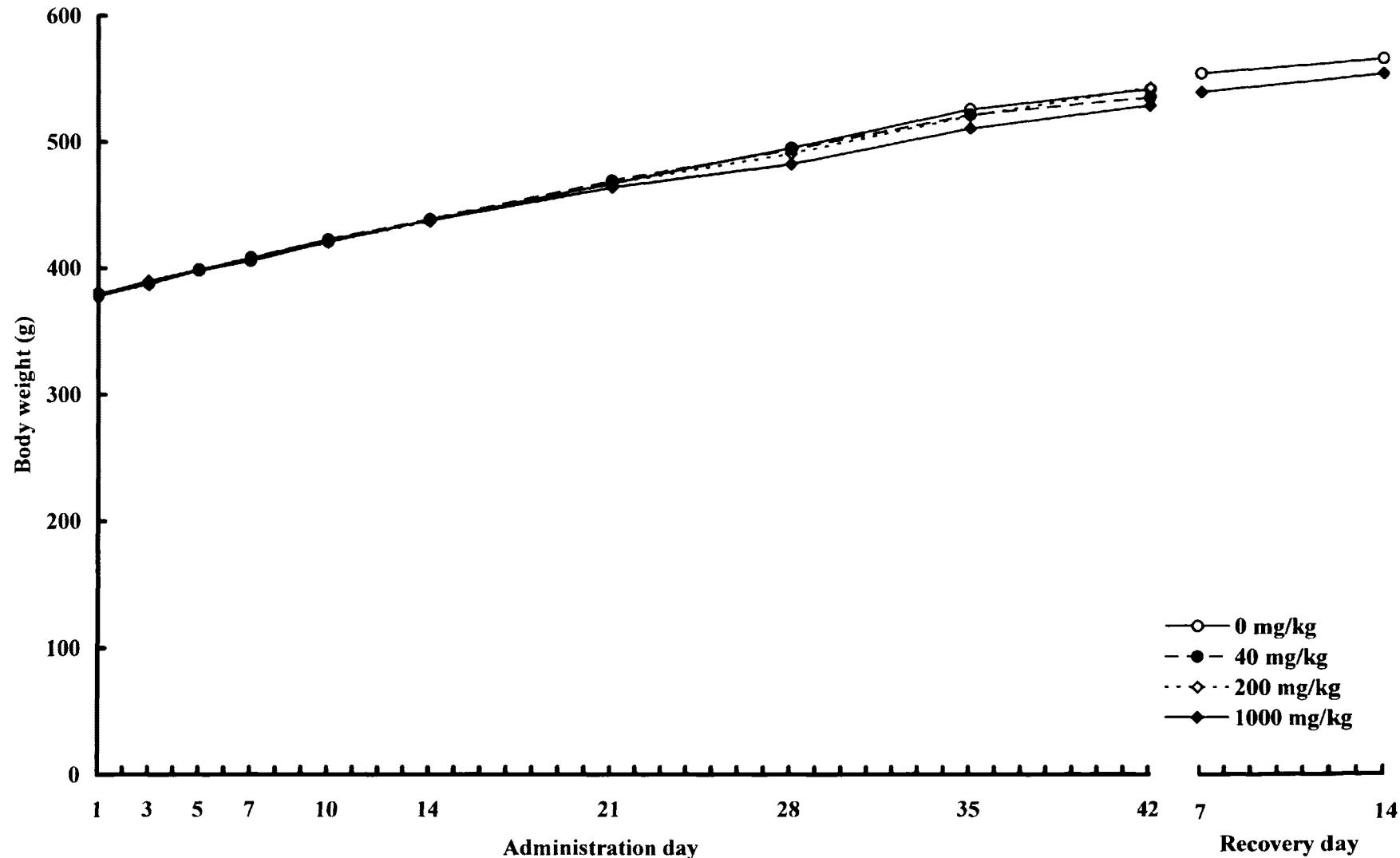


Figure 1 Body weight changes of male rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

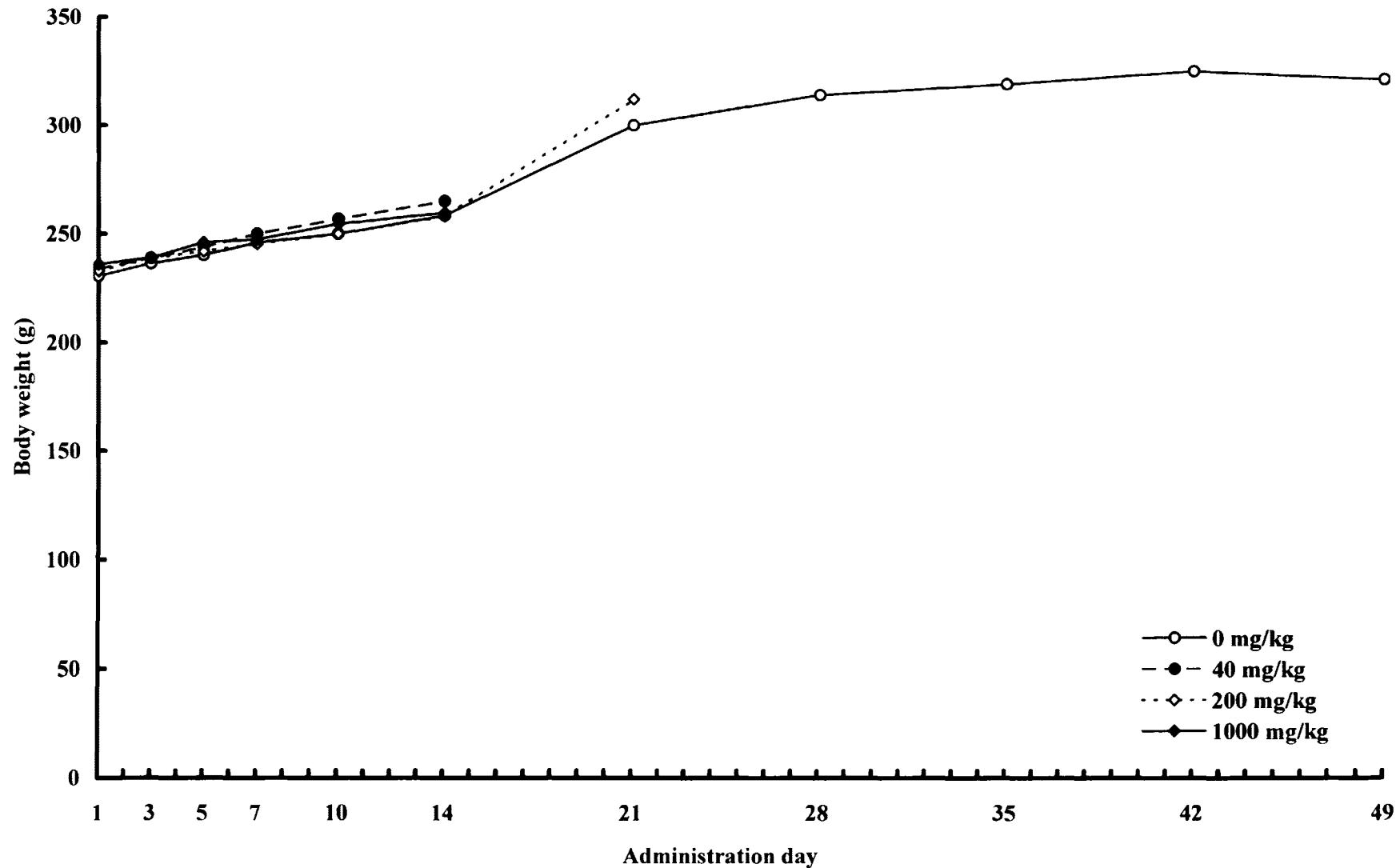


Figure 2 Body weight changes before gestation period of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

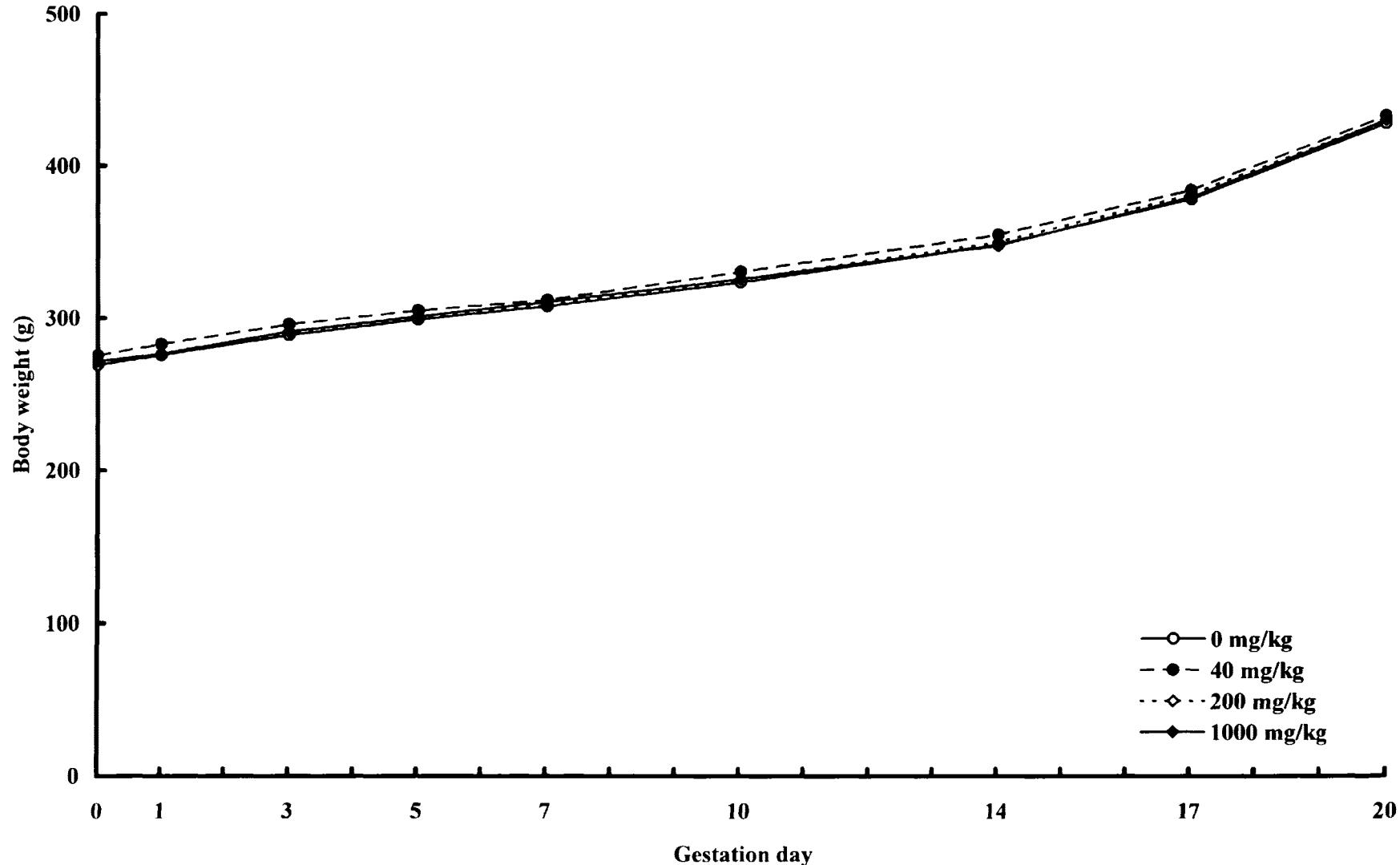


Figure 3 Body weight changes during gestation period of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

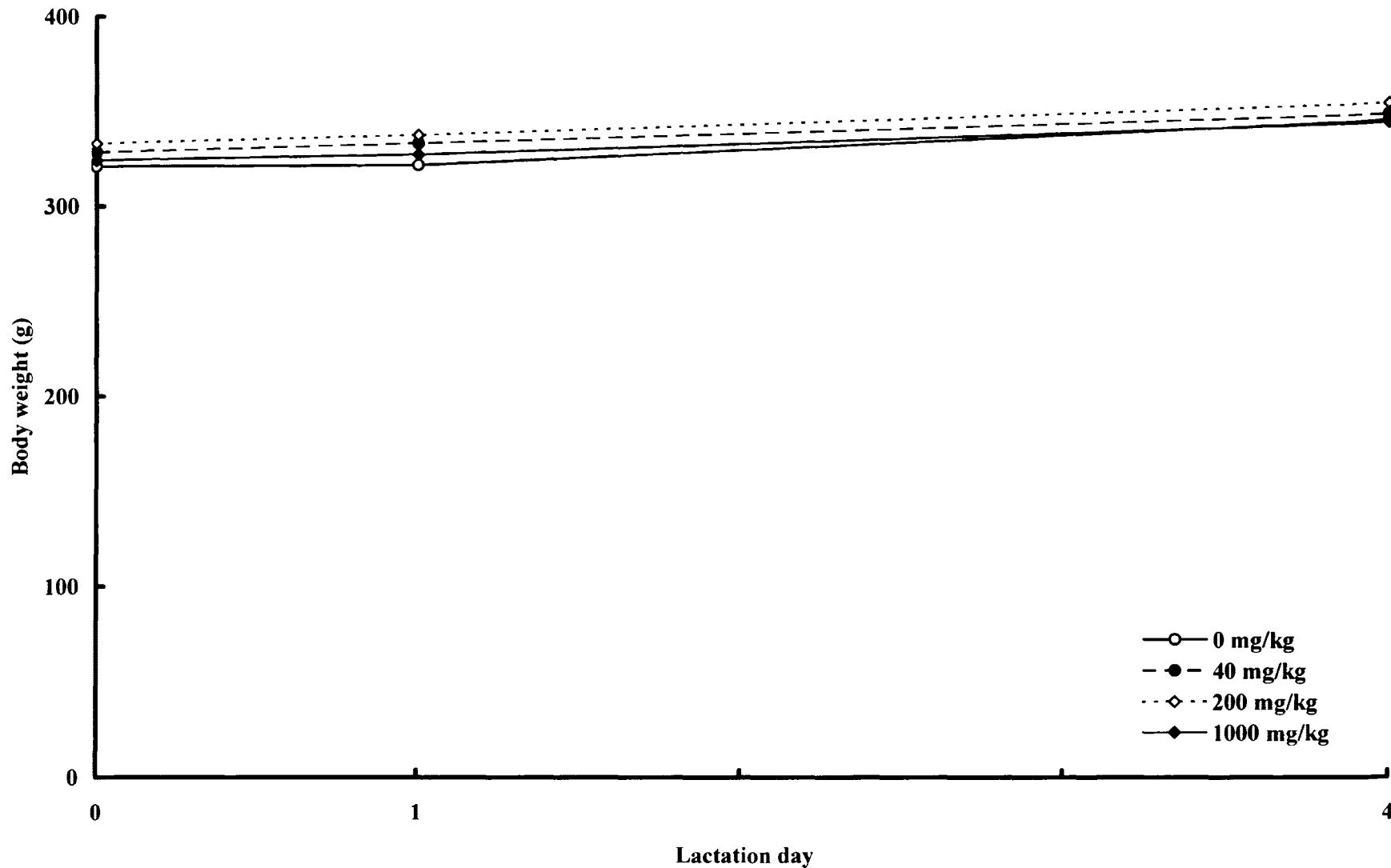


Figure 4 Body weight changes during lactation period of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

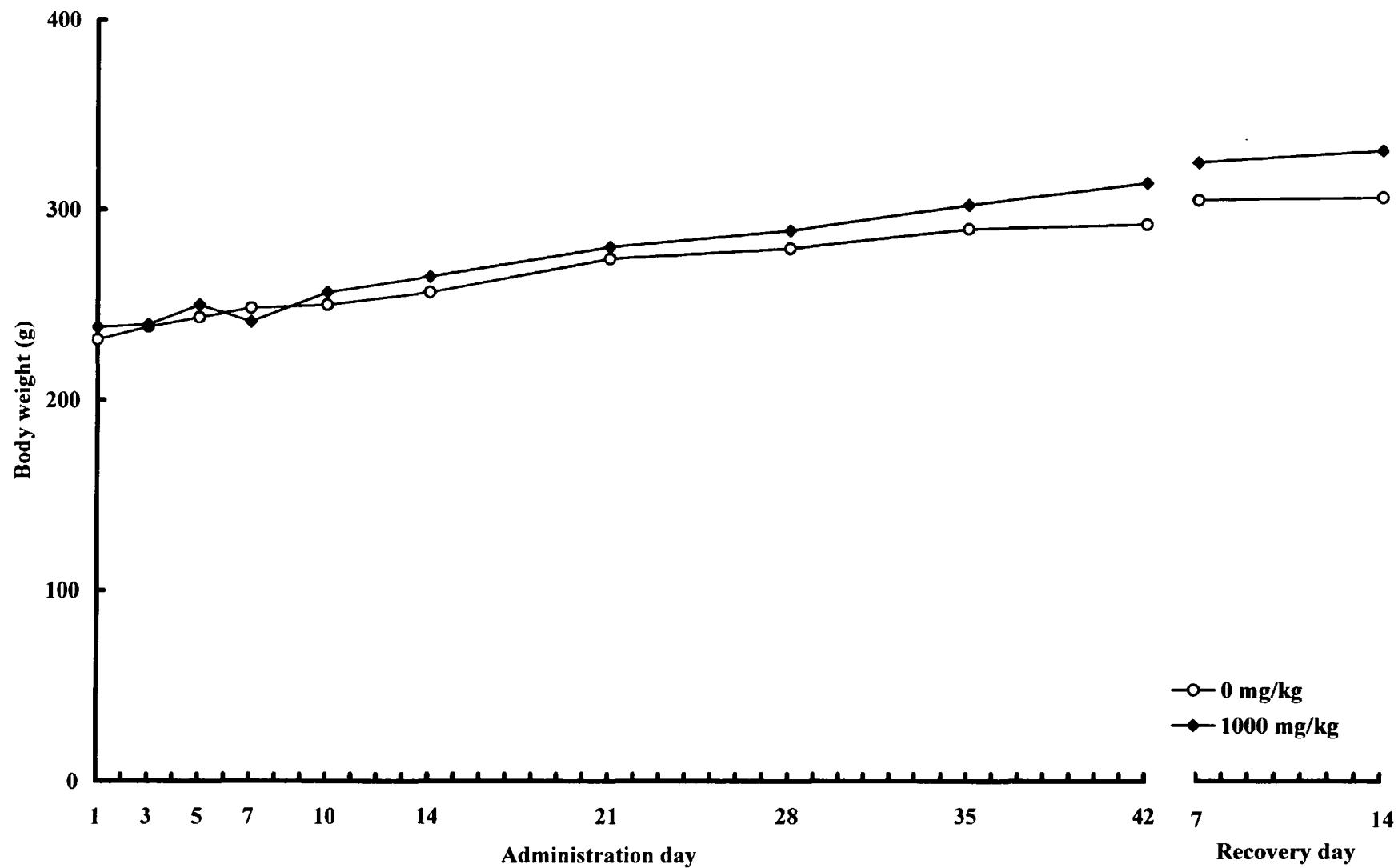


Figure 5 Body weight changes of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

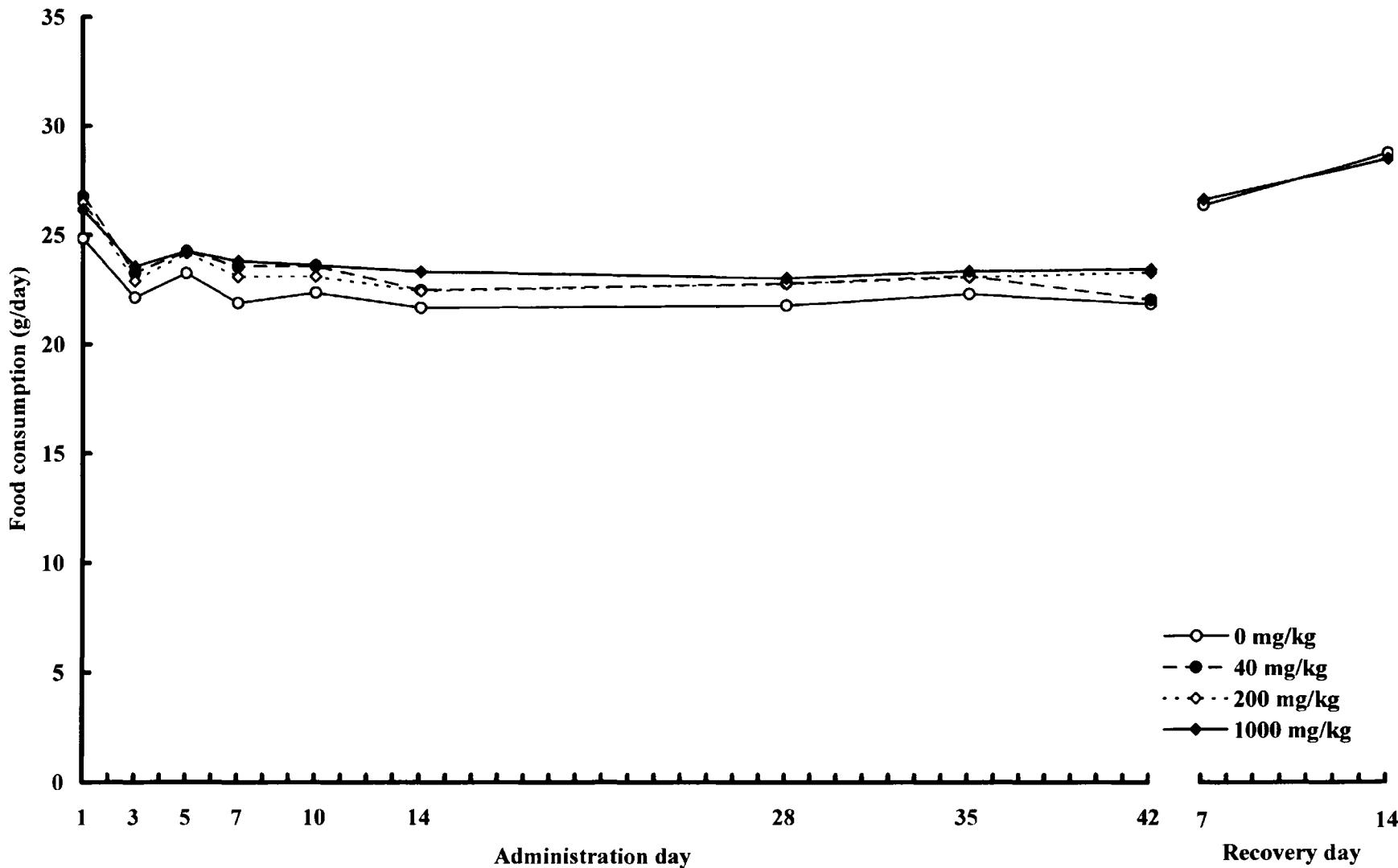


Figure 6 Food consumption of male rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

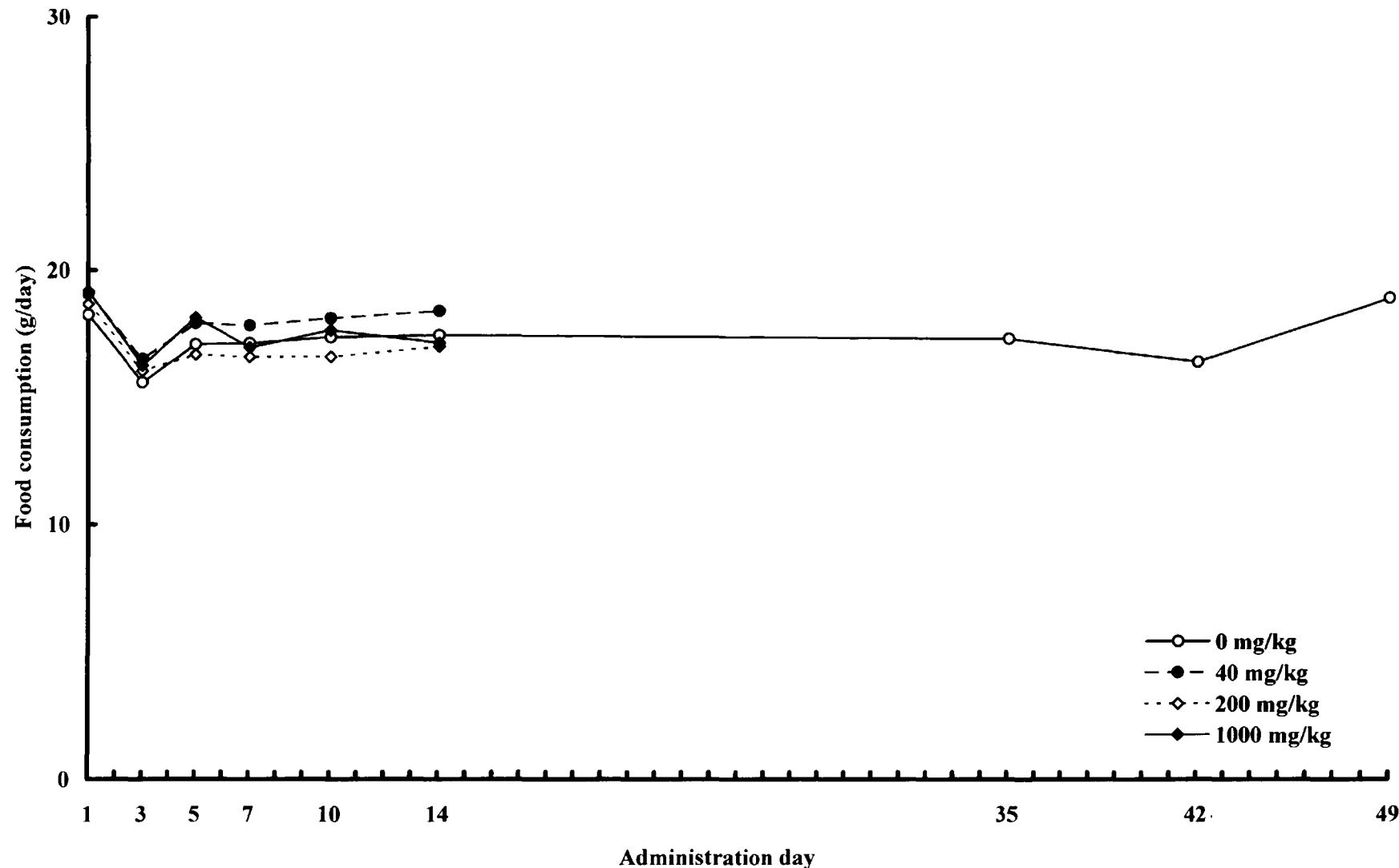


Figure 7 Food consumption before gestation period of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

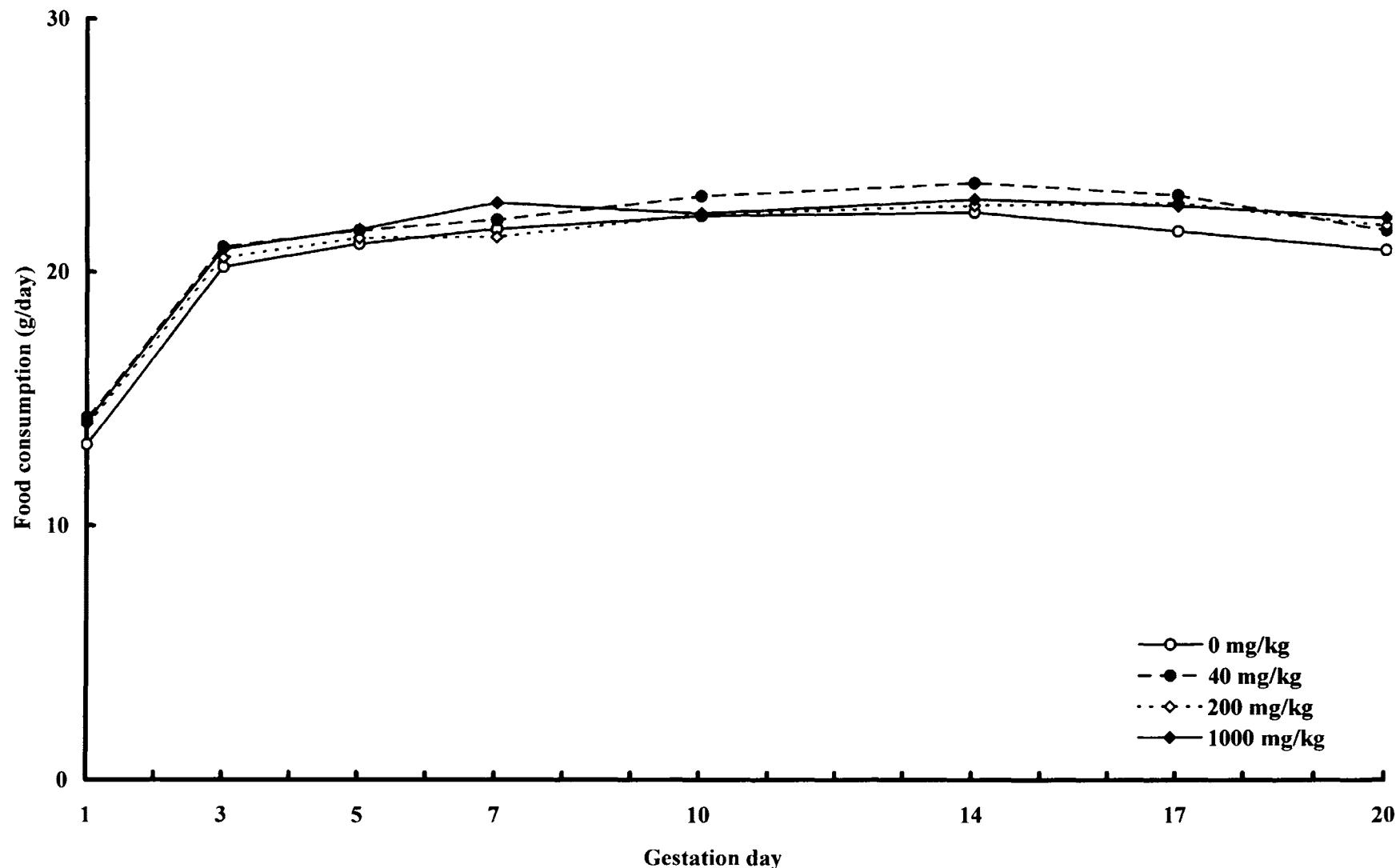


Figure 8 Food consumption during gestation period of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

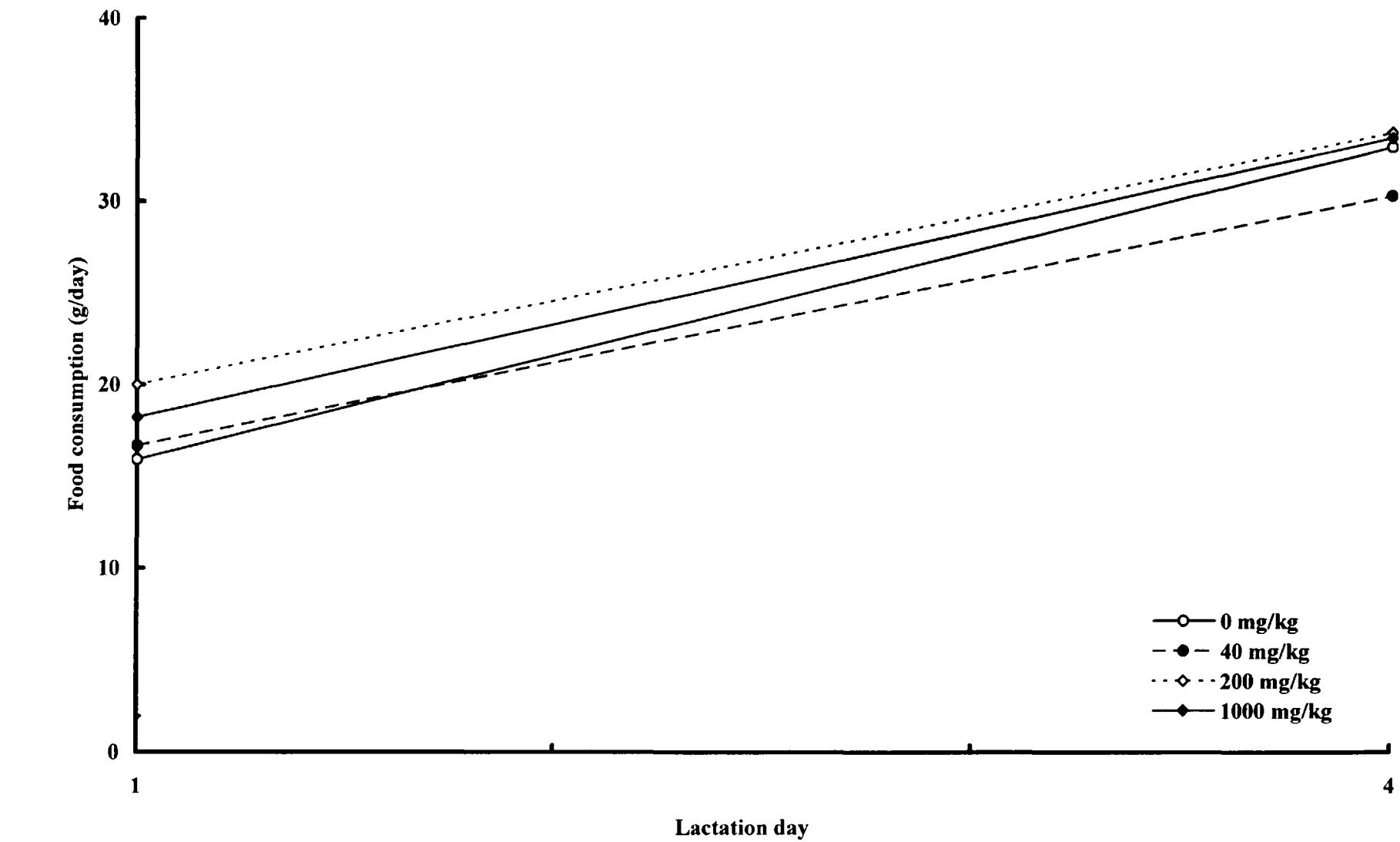


Figure 9 Food consumption during lactation period of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

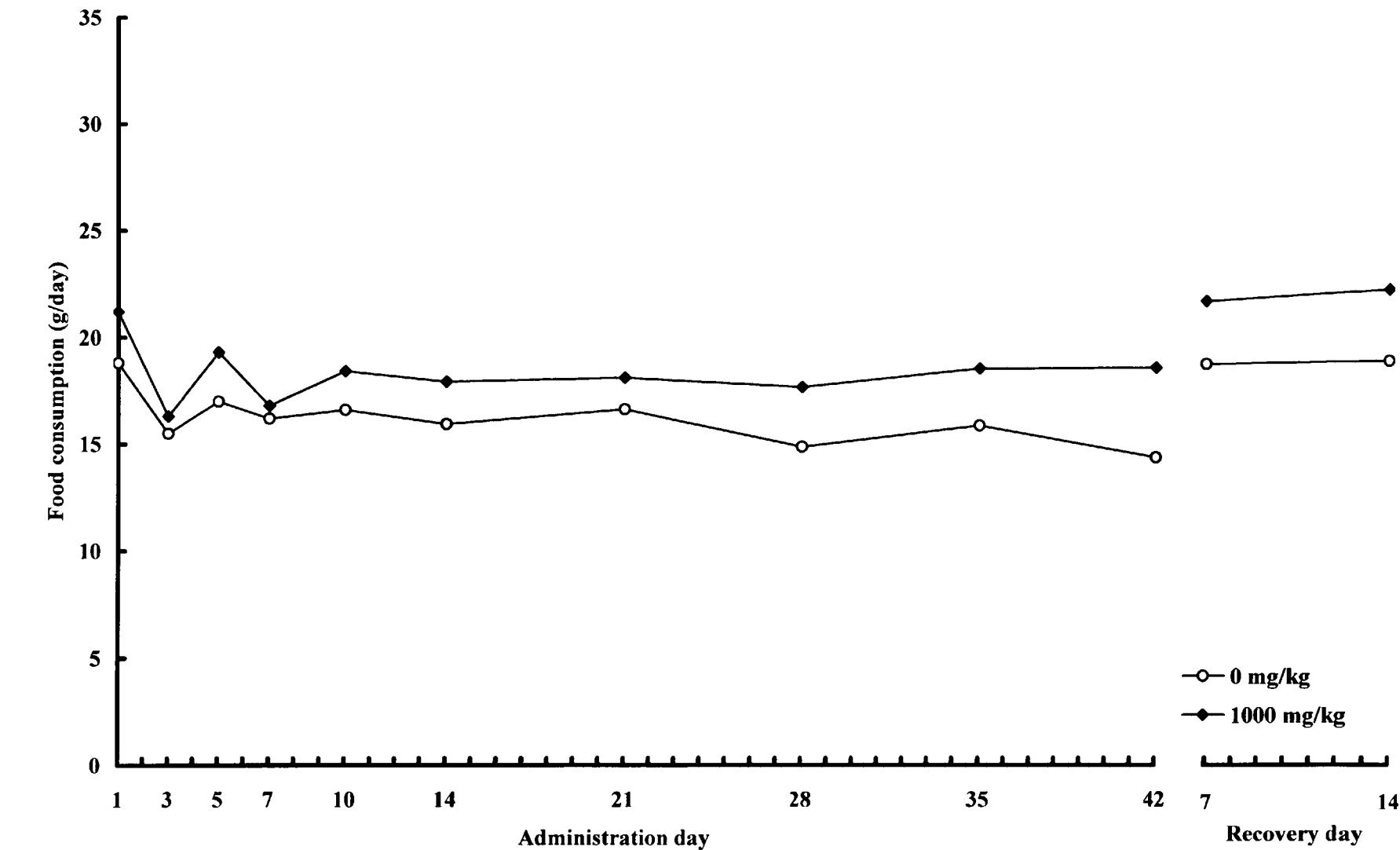


Figure 10 Food consumption of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

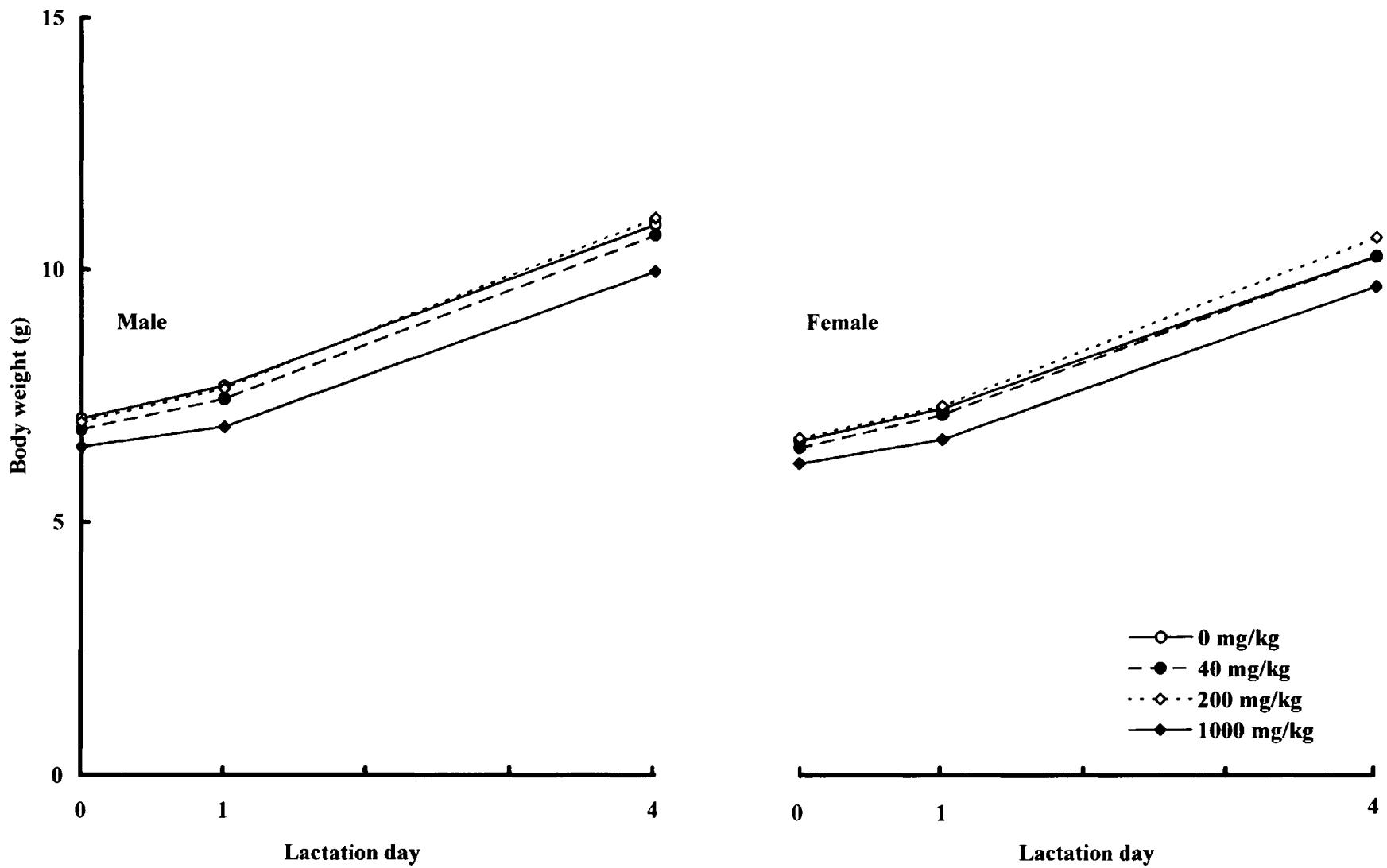


Figure 11 Body weight changes of pups in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of 4-methyl-1-pentene in rats (SR02194)

Table 1 General appearance of male rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

Group	Findings	Administration day	Autopsy	Recovery day	Autopsy
		1-42	day	1-14	day
0 mg/kg	Number of animals examined	12	7	5	5
	No abnormal findings	12	7	5	5
40 mg/kg	Number of animals examined	12	12	-	-
	No abnormal findings	12	12	-	-
200 mg/kg	Number of animals examined	12	12	-	-
	No abnormal findings	12	12	-	-
1000 mg/kg	Number of animals examined	12	7	5	5
	No abnormal findings	12	7	5	5

Values are number of animals with findings.

- : Blank.

Table 2 General appearance of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

Main group	Findings	Administration day											Autopsy day	
		Before gestation day						Gestation day			Lactation day			
		1-14	15	16	17	18	19	20-23	24-51	0-21	22	23-25	0-5	
0 mg/kg	Number of animals examined	12	11	7	6	1	1	1	1	11	8	0	11	12
	No abnormal findings	12	11	7	6	1	1	1	1	11	8	-	11	12
40 mg/kg	Number of animals examined	12	10	7	5	0	0	0	0	12	6	0	12	12
	No abnormal findings	12	10	7	5	-	-	-	-	12	6	-	12	12
200 mg/kg	Number of animals examined	12	10	7	6	1	1	1	0	12	8	1	11	12
	No abnormal findings	12	10	7	6	1	1	1	-	12	8	1	11	12
1000 mg/kg	Number of animals examined	12	8	6	6	3	1	0	0	12	7	3	9	12
	No abnormal findings	12	8	6	6	3	1	-	-	12	7	3	9	12

Recovery group	Findings	Administration day		Recovery day	Autopsy day
		1-42	1-14		
0 mg/kg	Number of animals examined	5		5	5
	No abnormal findings	5		4	4
	Dark red discoloration of eyeball, unilateral	0		1	1
	Small size of eyeball, unilateral	0		1	1
1000 mg/kg	Number of animals examined	5		5	5
	No abnormal findings	5		5	5

Values are number of animal with findings.

- : Blank value.

Table 3-1 Detailed clinical observation of male rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

(Observations in the cage)										
Period	Group	Number of animals	Category No.	Posture	Ptosis	Respiratory pattern	Tremor / Convulsion	Stereotype		Bizarre behavior
				1	1	1	1	0	0	Selfmutilation
Pre	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
Day 7	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
Day 14	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
Day 21	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
Day 28	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12

Values are expressed as the number of animals.

(To be continued)

Pre : Pre-administration.

Table 3-1 Detailed clinical observation of male rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) (Continued)

(Observations in the cage)										
Period	Group	Number of animals	Category No.	Posture	Ptosis	Respiratory pattern	Tremor / Convulsion	Stereotype		Bizarre behavior
				1	1	1	1	0	0	Selfmutilation
Day 35	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
Day 42	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
Recovery day 7	0 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5
Recovery day 14	0 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5

Values are expressed as the number of animals.

Table 3-2 Detailed clinical observation of male rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

(Observation on the hand)															
Period	Group	Number of animals	Category No.	Handling	Treating	Muscle tone	Pilo- erection	Fur	Skin	Eyes	Pupil size	Mucous membranes	Lacrima- tion	Saliva- tion	Body temperature
				2	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	
Pre	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
Day 7	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
Day 14	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
Day 21	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
Day 28	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	

Values are expressed as the number of animals.

(To be continued)

Pre : Pre-administration.

Table 3-2 Detailed clinical observation of male rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) (Continued)

(Observation on the hand)															
Period	Group	Number of animals	Category No.	Handling	Treating	Muscle tone	Pilo- erection	Fur	Skin	Eyes	Pupil size	Mucous membranes	Lacrima- tion	Saliva- tion	Body temperature
				2	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	
Day 35	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
Day 42	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
Recovery day 7	0 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
Recovery day 14	0 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	

Values are expressed as the number of animals.

Table 3-3 Detailed clinical observation of male rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

(Observation in the open-field)															
Period	Group	Number of animals	Category No.	Convulsion	Gait	Arousal	Urination		Defecation		Stereotype		Bizarre behavior		
				1	1	1	0	1	0	1	0	1	Walking backward	Vocaliza- tion	Respiratory pattern
Pre	0 mg/kg	12		12	12	12	11	1	9	3	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	11	1	11	1	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	0	10	2	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	0	11	1	12	12	12	12	12
Day 7	0 mg/kg	12		12	12	12	12	0	12	0	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	11	1	10	2	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	0	10	2	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	0	12	0	12	12	12	12	12
Day 14	0 mg/kg	12		12	12	12	11	1	10	2	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	10	2	8	4	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	10	2	10	2	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	11	1	9	3	12	12	12	12	12
Day 21	0 mg/kg	12		12	12	12	10	2	11	1	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	0	11	1	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	0	10	2	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	0	12	0	12	12	12	12	12
Day 28	0 mg/kg	12		12	12	12	8	4	11	1	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	0	11	1	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	11	1	12	0	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	10	2	10	2	12	12	12	12	12

Values are expressed as the number of animals.

(To be continued)

Pre : Pre-administration.

Table 3-3 Detailed clinical observation of male rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) (Continued)

(Observation in the open-field)															
Period	Group	Number of animals	Category No.	Convulsion	Gait	Arousal	Urination		Defecation		Stereotype		Bizarre behavior		
				1	1	1	0	1	0	1	0	1	Walking backward	Vocalization	Respiratory pattern
Day 35	0 mg/kg	12		12	12	12	9	3	10	2	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	11	1	11	1	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	10	2	12	0	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	10	2	12	0	12	12	12	12	12
Day 42	0 mg/kg	12		12	12	12	11	1	12	0	12	12	12	12	12
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	0	12	0	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	0	12	0	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	12		12	12	12	11	1	12	0	12	12	12	12	12
Recovery day 7	0 mg/kg	5		5	5	5	3	2	4	1	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	3	2	5	0	5	5	5	5	5
Recovery day 14	0 mg/kg	5		5	5	5	3	2	5	0	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	4	1	5	0	5	5	5	5	5

Values are expressed as the number of animals.

Table 4-1 Detailed clinical observation of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

(Observations in the cage)										
Period	Group	Number of animals	Category No.	Posture	Ptosis	Respiratory pattern	Tremor / Convulsion	Stereotype		Bizarre behavior
				1	1	1	1	0	0	Selfmutilation
Pre	0 mg/kg	17		17	17	17	17	17	17	17
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	17		17	17	17	17	17	17	17
Day 7	0 mg/kg	17		17	17	17	17	17	17	17
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	17		17	17	17	17	17	17	17
Day 14	0 mg/kg	17		17	17	17	17	17	17	17
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	17		17	17	17	17	17	17	17
Day 21	0 mg/kg	17		17	17	17	17	17	17	17
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	17		17	17	17	17	17	17	17
Day 28	0 mg/kg	17		17	17	17	17	17	17	17
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	17		17	17	17	17	17	17	17

Values are expressed as the number of animals.

(To be continued)

Pre : Pre-administration.

Table 4-1 Detailed clinical observation of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) (Continued)

(Observations in the cage)										
Period	Group	Number of animals	Category No.	Posture	Ptosis	Respiratory pattern	Tremor / Convulsion	Stereotype		Bizarre behavior
				1	1	1	1	0	0	Selfmutilation
Day 35	0 mg/kg	17		17	17	17	17	17	17	17
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	17		17	17	17	17	17	17	17
Day 42	0 mg/kg	17		17	17	17	17	17	17	17
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	17		17	17	17	17	17	17	17
Recovery day 7	0 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5
Recovery day 14	0 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5

Values are expressed as the number of animals.

Table 4-2 Detailed clinical observation of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

(Observation on the hand)															
Period	Group	Number of animals	Category No.	Handling	Treating	Muscle tone	Pilo- erection	Fur	Skin	Eyes	Pupil size	Mucous membranes	Lacrima- tion	Saliva- tion	Body temperature
				2	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	
Pre	0 mg/kg	17		17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	1000 mg/kg	17		17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	
Day 7	0 mg/kg	17		17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	1000 mg/kg	17		17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	
Day 14	0 mg/kg	17		17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	1000 mg/kg	17		17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	
Day 21	0 mg/kg	17		17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	1000 mg/kg	17		17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	
Day 28	0 mg/kg	17		17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	1000 mg/kg	17		17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	

Values are expressed as the number of animals.

(To be continued)

Pre : Pre-administration.

Table 4-2 Detailed clinical observation of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) (Continued)

(Observation on the hand)																	
Period	Group	Number of animals	Category No.	Handling		Treating		Muscle tone	Pilo- erection	Fur	Skin	Eyes	Pupil size	Mucous membranes	Lacrima- tion	Saliva- tion	Body temperature
				2	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
Day 35	0 mg/kg	17		17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	1000 mg/kg	17		17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	
Day 42	0 mg/kg	17		17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	1000 mg/kg	17		17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	
Recovery day 7	0 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5	5	4 (4)	5	5	5	5	
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
Recovery day 14	0 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5	5	4 (4)	5	5	5	5	
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	

Values are expressed as the number of animals.

Values in parentheses are the number of animals examined.

Table 4-3 Detailed clinical observation of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

(Observation in the open-field)															
Period	Group	Number of animals	Category No.	Convulsion	Gait	Arousal	Urination		Defecation		Stereotype		Bizarre behavior		
				1	1	1	0	1	0	1	0	1	Walking backward	Vocaliza- tion	Respiratory pattern
Pre	0 mg/kg	17		17	17	17	17	0	17	0	17	17	17	17	17
	40 mg/kg	12		12	12	12	10	2	12	0	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	9	3	11	1	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	17		17	17	17	11	6	17	0	17	17	17	17	17
Day 7	0 mg/kg	17		17	17	17	14	3	17	0	17	17	17	17	17
	40 mg/kg	12		12	12	12	10	2	12	0	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	0	12	0	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	17		17	17	17	13	4	17	0	17	17	17	17	17
Day 14	0 mg/kg	17		17	17	17	17	0	17	0	17	17	17	17	17
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	0	12	0	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	11	1	12	0	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	17		17	17	17	16	1	17	0	17	17	17	17	17
Day 21	0 mg/kg	17		17	17	17	15	2	17	0	17	17	17	17	17
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	0	12	0	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	11	1	12	0	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	17		17	17	17	13	4	16	1	17	17	17	17	17
Day 28	0 mg/kg	17		17	17	17	17	0	17	0	17	17	17	17	17
	40 mg/kg	12		12	12	12	12	0	12	0	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	0	12	0	12	12	12	12	12
	1000 mg/kg	17		17	17	17	16	1	17	0	17	17	17	17	17

Values are expressed as the number of animals.

(To be continued)

Pre : Pre-administration.

Table 4-3 Detailed clinical observation of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) (Continued)

(Observation in the open-field)												Bizarre behavior		
Period	Group	Number of animals	Category No.	Convulsion	Gait	Arousal	Urination		Defecation 0	Stereotype		Walking backward 1	Vocalization 1	Respiratory pattern 1
				1	1	1	0	1		0	1			
Day 35	0 mg/kg	17		17	17	17	16	1	17	17	0	17	17	17
	40 mg/kg	12		12	12	12	11	1	12	12	0	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	12	0	12	12	0	12	12	12
	1000 mg/kg	17		17	17	17	17	0	17	17	0	17	17	17
Day 42	0 mg/kg	17		17	17	17	16	1	17	17	0	17	17	17
	40 mg/kg	12		12	12	12	11	1	12	11	1	12	12	12
	200 mg/kg	12		12	12	12	11	1	12	12	0	12	12	12
	1000 mg/kg	17		17	17	17	16	1	17	17	0	17	17	17
Recovery day 7	0 mg/kg	5		5	5	5	5	0	5	5	0	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	0	5	5	0	5	5	5
Recovery day 14	0 mg/kg	5		5	5	5	5	0	5	5	0	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	0	5	5	0	5	5	5

Values are expressed as the number of animals.

Table 5 Functional test of male rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

Period	Group	Number of animals	Category No.	Reactivity					Righting reflex
				Visual 4	Touch 2	Auditory 1	Pain 2	Proprioceptive 1	
Week 6	0 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5
	40 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5
	200 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5
Recovery week 2	0 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5

Values are expressed as the number of animals.

(To be continued)

Table 5 Functional test of male rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) (Continued)

Period	Group	Number of animals	Grip strength		Hindlimb splay (cm)	Locomotor activity count							
			Forelimb (g)	Hindlimb (g)		0'-10'	10'-20'	20'-30'	30'-40'	40'-50'	50'-60'	0'-60'	
Week 6	0 mg/kg	5	Mean	1651.00	555.06	5.840	483.2	244.6	139.8	94.8	62.4	42.8	1067.6
			S.D.	207.56	44.08	2.184	165.2	110.0	132.7	163.2	80.4	78.3	617.5
	40 mg/kg	5	Mean	1544.32	534.32	5.880	514.4	287.4	124.2	85.4	58.4	52.6	1122.4
			S.D.	177.91	84.46	1.192	150.7	106.7	63.2	69.9	41.8	44.7	330.3
	200 mg/kg	5	Mean	1563.88	576.54	6.250	518.4	314.0	188.8	90.0	41.0	25.8	1178.0
			S.D.	159.25	86.45	1.043	253.1	157.1	105.4	55.3	37.6	27.2	515.7
	1000 mg/kg	5	Mean	1381.94	608.60	5.240	357.4	270.4	216.8	169.6	82.6	86.4	1183.2
			S.D.	89.94	74.53	1.196	135.8	114.6	84.6	75.0	52.3	94.3	389.4
	Recovery week 2	0 mg/kg	Mean	2019.52	607.66	6.160	354.6	216.8	112.0	136.8	102.0	64.2	986.4
			S.D.	119.02	115.87	0.736	48.9	85.2	55.6	27.9	86.4	46.9	184.7
	1000 mg/kg	5	Mean	1765.20	639.54	5.040	417.6	291.8	150.2	165.0	70.8	77.0	1172.4
			S.D.	271.13	84.89	0.810	180.2	156.0	63.3	111.4	39.5	25.3	473.2

Table 6 Functional test of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

Period	Group	Number of animals	Category No.	Reactivity					Righting reflex 1
				Visual 4	Touch 2	Auditory 1	Pain 2	Proprioceptive 1	
<Main group>									
Lactation	0 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5
day 4	40 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5
	200 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5
<Recovery group>									
Week 6	0 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5
	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5
Recovery	0 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5
week 2	1000 mg/kg	5		5	5	5	5	5	5

Values are expressed as the number of animals.

(To be continued)

Table 6 Functional test of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) (Continued)

Period	Group	Number of animals	Grip strength		Hindlimb splay (cm)	Locomotor activity count						
			Forelimb (g)	Hindlimb (g)		0'-10'	10'-20'	20'-30'	30'-40'	40'-50'	50'-60'	0'-60'
<Main group>												
Lactation day 4	0 mg/kg	5	Mean 1434.94	486.06	5.590	428.4	145.0	115.8	114.4	136.8	7.2	947.6
			S.D. 259.39	53.77	2.536	147.0	121.1	176.2	147.8	200.2	16.1	703.4
	40 mg/kg	5	Mean 1416.22	529.20	6.530	587.6	268.4	144.0	146.4	220.0	169.2**	1535.6
			S.D. 197.60	91.71	1.653	127.1	168.6	123.8	107.0	226.8	105.6	607.6
	200 mg/kg	5	Mean 1483.74	459.94	6.090	529.8	163.4	66.2	97.6	71.2	66.4	994.6
			S.D. 217.73	68.23	1.015	73.1	83.1	63.1	71.1	56.8	90.6	199.5
	1000 mg/kg	5	Mean 1463.26	517.66	4.610	496.2	192.4	107.2	33.0	108.4	160.6	1097.8
			S.D. 146.52	73.16	1.005	179.6	164.1	128.5	45.7	129.2	116.9	662.5
<Recovery group>												
Week 6	0 mg/kg	5	Mean 1078.40	483.48	2.960	427.8	352.6	268.4	200.8	117.0	75.6	1442.2
			S.D. 142.70	65.98	1.187	104.1	89.9	110.3	192.7	99.7	87.6	541.8
	1000 mg/kg	5	Mean 1249.46	447.28	4.950	720.6**	553.6**	375.6	305.8	342.6	153.8	2452.0
			S.D. 143.92	26.67	1.995	157.1	97.6	203.3	188.0	331.1	185.3	1056.5
Recovery week 2	0 mg/kg	5	Mean 1370.74	519.52	2.920	629.2	429.4	291.8	337.4	203.2	205.4	2096.4
			S.D. 166.72	49.89	0.652	104.3	51.5	94.2	220.9	158.8	235.3	568.1
	1000 mg/kg	5	Mean 1656.66	571.54	4.800*	584.8	482.8	329.4	248.2	294.6	250.4	2190.2
			S.D. 234.35	44.92	1.503	135.3	241.0	103.2	166.0	239.1	154.4	943.3

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

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

Table 7 Body weight changes of male rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

Group	Number of animals	Body weight (g) on administration day										Body weight gain		
		1	3	5	7	10	14	21	28	35	42	Day 1-42 g	% ^a	
0 mg/kg	12	Mean	377.8	387.3	397.8	405.4	420.5	437.7	466.8	494.9	525.4	541.3	163.6	43.186
		S.D.	17.2	16.9	18.2	20.7	24.5	25.8	30.2	34.1	37.1	40.0	25.7	5.586
40 mg/kg	12	Mean	379.5	387.7	398.6	407.8	422.3	438.3	468.7	493.7	521.2	534.8	155.3	40.808
		S.D.	16.3	16.5	18.4	20.3	21.5	24.3	26.6	29.0	34.8	39.8	27.7	6.281
200 mg/kg	12	Mean	379.2	386.7	398.1	406.2	420.3	436.8	466.7	490.4	520.3	542.6	163.4	43.103
		S.D.	13.2	13.4	16.4	19.0	22.3	24.1	24.5	29.6	31.3	33.5	28.6	7.235
1000 mg/kg	12	Mean	379.0	389.7	398.6	407.5	421.9	437.2	463.4	482.1	510.3	528.4	149.4	39.384
		S.D.	15.8	17.4	19.5	20.3	22.0	22.4	23.6	25.2	30.7	31.6	20.2	4.626

Group	Number of animals	Body weight (g) on recovery day		Body weight gain		
		7	14	Day 42-R14 g	% ^b	
0 mg/kg	5	Mean	553.8	565.0	31.0	5.806
		S.D.	12.3	12.1	2.5	0.491
1000 mg/kg	5	Mean	539.2	553.0	29.0	5.520
		S.D.	13.7	20.5	3.9	0.586

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

b: Body weight gain (%) = (Body weight gain / body weight on day 42) x 100.

Table 8 Body weight changes before gestation period of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

Group	Number of animals	Body weight (g) on administration day											Body weight gain	
		1	3	5	7	10	14	21	28	35	42	49	Day 1-14 g	%
0 mg/kg	12	Mean	230.5	236.3	240.1	245.8	249.8	258.3	(1)	(1)	(1)	(1)	27.8	12.012
		S.D.	13.6	13.8	14.5	15.4	19.6	20.9					11.5	4.770
40 mg/kg	12	Mean	233.8	238.7	243.7	249.8	256.7	264.9	-	-	-	-	31.2	13.345
		S.D.	12.6	15.0	14.1	14.9	14.1	15.4					7.7	3.287
200 mg/kg	12	Mean	232.9	238.7	241.8	245.3	249.9	258.0	(1)				25.1	10.657
		S.D.	14.1	14.7	15.1	17.3	22.3	22.3	312.0	-	-	-	11.0	4.354
1000 mg/kg	12	Mean	235.9	238.9	245.9	247.2	254.4	259.6	-	-	-	-	23.7	9.991
		S.D.	11.6	12.0	12.6	15.1	13.7	16.3					7.6	3.090

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

Values in parentheses are the number of animals examined.

-: Blank value.

Table 9 Body weight changes during gestation period of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

Group	Number of animals	Body weight (g) on gestation day									Body weight gain		
		0	1	3	5	7	10	14	17	20	Day 0-20	%	
0 mg/kg	11	Mean	269.3	275.6	288.6	298.9	307.8	323.5	348.2	378.1	427.7	158.5	59.011
		S.D.	17.5	17.1	19.0	20.0	21.5	22.8	23.5	25.9	25.8	16.6	6.678
40 mg/kg	12	Mean	275.3	282.8	295.7	304.9	311.7	330.4	354.8	384.0	432.7	157.4	57.140
		S.D.	17.4	16.9	18.2	18.7	20.7	19.1	22.4	27.3	33.4	20.0	6.245
200 mg/kg	11	Mean	268.9	275.5	290.6	300.6	308.4	325.5	349.9	381.2	430.1	161.2	60.079
		S.D.	18.9	20.1	19.2	19.0	18.1	21.1	22.7	24.3	26.7	12.2	4.634
1000 mg/kg	9	Mean	271.6	276.4	291.0	300.9	310.6	325.8	347.7	379.4	429.9	158.3	58.583
		S.D.	21.4	21.3	20.8	20.7	23.4	25.4	26.7	26.0	26.3	14.4	6.655

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

Table 10 Body weight changes during lactation period of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

Group	Number of animals	Body weight (g) on lactation day			Body weight gain		
		0	1	4	g	%	
0 mg/kg	11	Mean	320.9	321.7	345.3	24.4	7.809
		S.D.	31.9	31.0	27.7	10.2	3.641
40 mg/kg	12	Mean	328.3	333.1	348.5	20.3	6.401
		S.D.	31.0	30.5	26.2	12.3	4.209
200 mg/kg	11	Mean	333.0	337.4	354.3	21.3	6.595
		S.D.	28.3	25.0	24.7	13.4	4.489
1000 mg/kg	9	Mean	324.1	327.2	344.1	20.0	6.382
		S.D.	33.9	33.7	30.9	11.7	4.094

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

Table 11 Body weight changes of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

Group	Number of animals	Body weight (g) on administration day										Body weight (g) on recovery day		Body weight gain				
		1	3	5	7	10	14	21	28	35	42	7	14	Day 1-42	Day 42-R14			
		Mean	231.6	238.4	243.2	248.2	249.8	256.4	274.0	279.4	289.6	292.0	305.0	306.2	g	% ^a	g	% ^b
0 mg/kg	5	Mean	231.6	238.4	243.2	248.2	249.8	256.4	274.0	279.4	289.6	292.0	305.0	306.2	60.4	25.940	14.2	5.040
		S.D.	11.6	13.1	15.2	15.2	17.5	20.5	18.2	20.0	20.6	26.8	20.9	21.6	17.9	7.160	6.9	2.778
1000 mg/kg	5	Mean	238.2	239.6	249.8	241.0	256.4	264.6	280.2	288.8	302.2	313.8	324.8	330.8	75.6	31.302	17.0	5.584
		S.D.	14.6	16.5	17.3	12.9	14.9	15.4	21.7	27.2	35.9	47.9	42.9	49.3	36.1	13.101	22.3	7.305

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

b: Body weight gain (%) = (Body weight gain / body weight on day 42) x 100.

Table 12 Food consumption of male rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

Group	Number of animals	Food consumption (g/day) on administration day									
		1	3	5	7	10	14	28	35	42	
0 mg/kg	12	Mean	24.83	22.13	23.25	21.88	22.36	21.66	21.77	22.29	21.83
		S.D.	2.62	2.74	2.46	2.24	2.28	1.85	1.41	1.72	1.82
40 mg/kg	12	Mean	26.75	23.25	24.25	23.54	23.58	22.47	22.78	23.12	22.03
		S.D.	3.39	3.18	3.21	2.79	2.87	2.83	2.13	2.08	2.16
200 mg/kg	12	Mean	26.50	22.88	24.17	23.08	23.10	22.43	22.76	23.06	23.28
		S.D.	2.78	2.24	2.99	2.85	2.72	2.97	2.22	1.87	1.65
1000 mg/kg	12	Mean	26.17	23.54	24.25	23.79	23.61	23.31	23.02	23.33	23.43
		S.D.	2.12	2.68	3.10	2.47	2.58	2.60	2.28	2.64	2.48

Group	Number of animals	Food consumption (g/day) on recovery day		
		7	14	
0 mg/kg	5	Mean	26.36	28.74
		S.D.	1.09	0.84
1000 mg/kg	5	Mean	26.62	28.48
		S.D.	0.60	1.44

Values in parentheses are the number of animals examined.

Table 13 Food consumption before gestation period of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

Group	Number of animals	Food consumption (g/day) on administration day								
		1	3	5	7	10	14	35	42	49
0 mg/kg	12	Mean	18.25	15.58	17.08	17.13	17.36	17.44	(1)	(1)
		S.D.	3.19	2.10	1.84	2.18	1.64	1.97	17.30	16.40
40 mg/kg	12	Mean	19.08	16.50	17.92	17.83	18.11	18.39	-	-
		S.D.	2.91	2.15	2.15	2.17	1.46	1.70		
200 mg/kg	12	Mean	18.67	16.04	16.67	16.58	16.59	16.99	-	-
		S.D.	2.35	2.78	1.66	2.98	2.49	2.11		
1000 mg/kg	12	Mean	19.17	16.25	18.13	16.96	17.63	17.14	-	-
		S.D.	1.27	1.39	1.52	1.74	1.32	1.87		

Values in parentheses are the number of animals examined.

-: Blank value.

Table 14 Food consumption during gestation period of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

Group	Number of animals	Food consumption (g/day) on gestation day								
		1	3	5	7	10	14	17	20	
0 mg/kg	11	Mean	13.18	20.18	21.09	21.68	22.20	22.35	21.61	20.85
		S.D.	3.22	2.21	2.59	2.93	2.81	3.08	2.24	1.70
40 mg/kg	12	Mean	14.25	20.96	21.63	22.04	22.98	23.51	23.03	21.63
		S.D.	2.26	2.64	2.81	2.78	2.44	2.37	2.56	3.74
200 mg/kg	11	Mean	14.00	20.55	21.32	21.36	22.27	22.62	22.72	21.82
		S.D.	3.29	2.41	2.28	2.51	2.38	2.35	2.68	1.28
1000 mg/kg	9	Mean	14.11	20.89	21.67	22.72	22.30	22.86	22.61	22.12
		S.D.	2.20	2.81	2.46	3.17	3.33	2.62	2.02	2.05

Table 15 Food consumption during lactation period of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

Group	Number of animals	Food consumption (g/day) on lactation day		
		1	4	
0 mg/kg	11	Mean S.D.	15.91 4.76	32.93 3.95
40 mg/kg	12	Mean S.D.	16.67 4.56	30.28 5.53
200 mg/kg	11	Mean S.D.	20.00 5.10	33.73 4.60
1000 mg/kg	9	Mean S.D.	18.22 2.86	33.43 3.41

Table 16 Food consumption of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

Group	Number of animals	Food consumption (g/day) on administration day										Food consumption (g/day) on recovery day		
		1	3	5	7	10	14	21	28	35	42	7	14	
0 mg/kg	5	Mean	18.80	15.50	17.00	16.20	16.60	15.94	16.62	14.86	15.86	14.36	18.72	18.86
		S.D.	1.64	1.37	1.73	1.79	1.16	1.25	1.58	1.90	1.74	0.94	0.85	0.86
1000 mg/kg	5	Mean	21.20	16.30	19.30	16.80	18.42	17.92	18.10	17.66	18.52	18.56	21.66	22.20
		S.D.	3.35	1.72	2.25	1.44	1.76	2.09	2.53	2.17	2.93	5.73	4.94	4.06

Table 17 Urinary findings of male rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

<Week 6 of administration>

Group	Number of animals	pH		Protein				Glucose	Ketone body	Urobilinogen 0.1 EU/dL	Bili-rubin	Occult blood		Color A
		8.0	8.5	-	±	+	++					-	±	
0 mg/kg	5	2	3	0	0	4	1	5	5	5	5	2	3	5
40 mg/kg	5	1	4	2	0	1	2	5	5	5	5	4	1	5
200 mg/kg	5	3	2	0	0	5	0	5	5	5	5	3	2	5
1000 mg/kg	5	0	5	0	0	4	1	5	5	5	5	4	1	5

Group	Number of animals	Urinary sediments							Specific gravity					Urine volume (mL/21hr., mean±S.D.)	Water consumption (g, mean±S.D.)			
		Epithelial cell																
		RBC	WBC	Squamous	Round	Small round	Cast	1.011-1.021-1.031-1.041-1.051≤	1.020	1.030	1.040	1.050						
0 mg/kg	5	5	0	5	0	5	5	1	1	0	1	2	18.20±13.16	40.8±32.3				
40 mg/kg	5	5	0	5	0	5	5	1	0	0	1	3	16.10±17.70	24.4±17.8				
200 mg/kg	5	5	0	5	4	1	5	0	0	3	1	1	11.80±3.96	25.0±15.6				
1000 mg/kg	5	4	1	5	3	2	5	0	0	1	2	2	10.30±3.95	16.2±8.3				

Color: A = Pale yellow or yellow.

Values are number of animals with findings.

Table 18 Urinary findings of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

<Day 4-5 of lactation>

Group	Number of animals	pH					Protein			Glucose		Ketone body	Urobilinogen	Bili-rubin	Occult blood		Color A
		6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	-	±	+	-	-	-	0.1 EU/dL	-	-	-	
0 mg/kg	5	0	0	0	0	5	0	0	5	5	5	5	5	5	5	0	5
40 mg/kg	5	0	0	0	2	3	1	1	3	5	5	5	5	5	4	1	5
200 mg/kg	5	1	0	0	1	3	1	0	4	5	5	5	5	5	4	1	5
1000 mg/kg	5	0	0	0	2	3	0	1	4	5	5	5	5	5	4	1	5

Group	Number of animals	Urinary sediments							Specific gravity			Urine volume (mL/21hr., mean±S.D.)	Water consumption (g, mean±S.D.)
		Epithelial cell							1.031-1.041-	1.051≤	1.040		
		RBC	WBC	Squamous	Round	Small round	Cast	1.040	1.050	1.040	1.050		
0 mg/kg	5	5	5	3	2	5	5	0	1	4	14.30±3.21	25.6±9.2	
40 mg/kg	5	5	5	4	1	5	5	0	2	3	12.60±5.99	35.8±33.3	
200 mg/kg	5	5	5	5	0	5	5	0	1	4	11.90±2.68	32.4±12.4	
1000 mg/kg	5	5	5	3	2	5	5	3	0	2	17.10±4.35	46.6±28.4	

Color: A = Pale yellow or yellow.

Values are number of animals with findings.

Table 19 Urinary findings of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

<Week 6 of administration>

Group	Number of animals	pH						Protein — ±	Glucose —	Ketone body —	Urobilinogen 0.1 EU/dL	Bili-rubin —	Occult blood —	Color A
		6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5							
0 mg/kg	5	0	0	1	1	0	3	3	2	5	5	5	5	5
1000 mg/kg	5	1	0	0	1	0	3	2	3	5	5	5	5	5
Urinary sediments														
Group	Number of animals	Epithelial cell		Specific gravity						Urine volume		Water consumption		
		RBC —	WBC —	Squamous — ±	Round —	Small round —	Cast —	1.021-1.031-1.041- 1.030 1.040 1.050	—	(mL/24hr., mean±S.D.)	—	(g, mean±S.D.)	—	—
0 mg/kg	5	5	5	3 2	5	5	5	1	2	2	12.70±3.37	21.4±9.4	—	—
1000 mg/kg	5	5	5	4 1	5	5	5	1	1	3	14.50±7.03	41.0±43.1	—	—

Color: A = Pale yellow or yellow.

Values are number of animals with findings.

Table 20 Urinary findings of male rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

<Week 2 of recovery>

Group	Number of animals	pH			Protein			Glucose		Ketone body	Urobilinogen	Bili-rubin	Occult blood		Color					
		8.5	±	+	++	-	-	-	-	-	0.1 EU/dL	-	-	-	A					
0 mg/kg	5	5	1	3	1	5	5	5	5	5	5	5	4	1	5					
1000 mg/kg	5	5	1	4	0	5	5	5	5	5	5	5	5	0	5					
Urinary sediments																				
Group	Number of animals	RBC		WBC		Squamous		Round		Small round		Cast		Specific gravity		Urine volume	Water consumption			
		-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	1.011-1.021-1.031-1.041-1.051≤	(mL/24hr., mean±S.D.)	(g, mean±S.D.)				
0 mg/kg	5	5	5	5	3	2	5	5	5	5	5	5	5	1	0	0	19.90±10.32	26.4±10.3		
1000 mg/kg	5	5	5	5	3	2	5	5	5	5	5	5	5	0	0	2	3	0	19.50±5.65	30.2±8.8

Color: A = Pale yellow or yellow.

Values are number of animals with findings.

Table 21 Urinary findings of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

<Week 2 of recovery>

Group	Number of animals	pH					Protein — ±	Glucose —	Ketone body —	Urobilinogen 0.1 EU/dL	Bili-rubin —	Occult blood —	Color A
		6.5	7.0	7.5	8.0	8.5							
0 mg/kg	5	1	0	1	1	2	4	1	5	5	5	5	5
1000 mg/kg	5	0	1	1	0	3	2	3	5	5	5	5	5
Urinary sediments													
Group	Number of animals	RBC		WBC		Squamous — ±		Round —		Small round —		Cast —	
		—	—	—	—	—	— ±	—	—	—	—	—	—
0 mg/kg	5	5	5	3	2	5	5	5	5	0	0	3	2
1000 mg/kg	5	5	5	4	1	5	5	5	5	1	1	1	0
Specific gravity										Urine volume (mL/24hr., mean±S.D.)		Water consumption (g, mean±S.D.)	
1.011-1.021-1.031-1.041-1.051≤ 1.020 1.030 1.040 1.050													

Color: A = Pale yellow or yellow.

Values are number of animals with findings.

Table 22 Hematological findings of male rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

Group	Number of animals	RBC		Ht	Hb	MCV	MCH	MCHC	WBC	Platelet
		10 ⁶ /µL	%	g/dL	fL	pg	g/dL	10 ³ /µL	10 ³ /µL	
0 mg/kg	5	Mean	920.6	50.64	17.26	55.02	18.76	34.12	119.2	101.98
		S.D.	29.0	1.89	0.34	1.42	0.41	0.87	11.6	11.18
40 mg/kg	5	Mean	911.4	48.38	16.68	53.10	18.30	34.48	126.0	117.92*
		S.D.	32.1	1.29	0.40	1.58	0.48	0.48	22.4	11.92
200 mg/kg	5	Mean	908.2	49.48	16.80	54.46	18.50	33.96	136.6	111.58
		S.D.	25.6	2.23	0.52	1.83	0.37	0.73	47.4	6.81
1000 mg/kg	5	Mean	938.2	50.80	17.06	54.16	18.18	33.58	115.2	105.22
		S.D.	27.8	2.22	0.56	1.81	0.53	0.55	19.2	4.38

Group	Number of animals	Reticulo- cyte %.	Differential count of WBC %								
			Neutrophil			Eosino- phil			Lympho- cyte		
			PT sec	APTT sec	Stab form	Seg- mented	Basophil	Monocyte			
0 mg/kg	5	Mean	24.8	20.78	31.36	0.88	17.68	1.20	0.00	1.52	78.72
		S.D.	3.9	3.38	3.89	0.52	2.30	0.85	0.00	1.25	1.84
40 mg/kg	5	Mean	24.4	20.20	32.88	1.44	14.48	1.04	0.00	1.84	81.20
		S.D.	3.0	2.35	3.91	0.96	2.93	0.61	0.00	0.67	3.35
200 mg/kg	5	Mean	27.4	21.50	29.62	0.80	11.92	1.04	0.00	2.24	84.00
		S.D.	3.3	3.84	3.55	0.57	7.52	0.78	0.00	1.08	8.06
1000 mg/kg	5	Mean	23.2	20.74	30.94	0.56	11.28	1.28	0.00	1.92	84.96
		S.D.	5.0	2.20	3.91	0.46	3.62	1.18	0.00	0.91	4.24

*: Significantly different from the 0 mg/kg group at p ≤ 0.05.

Table 23 Hematological findings of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

Group	Number of animals	RBC	Ht	Hb	MCV	MCH	MCHC	WBC	Platelet
		10 ⁶ /µL	%	g/dL	fL	pg	g/dL	10 ³ /µL	10 ⁴ /µL
0 mg/kg	5	Mean	793.8	43.70	15.52	55.12	19.56	35.52	128.4
		S.D.	43.3	1.49	0.41	2.14	0.73	0.63	46.7
40 mg/kg	5	Mean	771.2	43.60	15.34	56.56	19.90	35.16	120.4
		S.D.	30.9	1.28	0.50	1.26	0.32	0.30	24.9
200 mg/kg	5	Mean	799.0	45.40	15.96	56.86	19.98	35.18	116.0
		S.D.	36.7	1.53	0.47	2.31	0.58	0.66	13.7
1000 mg/kg	5	Mean	815.6	45.50	15.86	55.76	19.44	34.86	117.0
		S.D.	33.1	2.25	0.62	0.85	0.51	0.74	29.2
									114.34
									13.55

Group	Number of animals	Reticu- locyte %	PT sec	APTT sec	Differential count of WBC %							
					Neutrophil	Stab form	Seg- mented	Eosino- phil	Basophil	Monocyte	Lympho- cyte	Others
0 mg/kg	5	Mean	63.8	15.68	18.96	1.20	20.72	1.28	0.00	4.40	72.40	0.00
		S.D.	11.8	0.80	0.85	0.49	5.22	0.33	0.00	1.70	4.05	0.00
40 mg/kg	5	Mean	62.4	16.30	20.46	0.88	28.80	0.40	0.00	4.00	65.92	0.00
		S.D.	11.7	0.66	1.13	0.77	13.27	0.57	0.00	1.10	12.76	0.00
200 mg/kg	5	Mean	60.8	15.72	21.46**	0.56	22.80	0.72	0.00	4.80	71.12	0.00
		S.D.	16.3	0.33	1.13	0.46	5.49	0.59	0.00	2.06	7.59	0.00
1000 mg/kg	5	Mean	57.6	16.24	20.18	1.20	16.88	0.88	0.00	3.92	77.12	0.00
		S.D.	13.6	1.06	1.06	0.63	6.62	1.07	0.00	2.29	7.71	0.00

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

Table 24 Hematological findings of male rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

Group	Number of animals	RBC	Ht	Hb	MCV	MCH	MCHC	WBC	Platelet
		10 ⁶ /µL	%	g/dL	fL	pg	g/dL	10 ³ /µL	10 ⁴ /µL
0 mg/kg	5	Mean	906.8	47.00	16.42	51.92	18.12	34.96	96.8
		S.D.	41.4	2.24	0.47	2.69	0.88	0.77	12.2
1000 mg/kg	5	Mean	906.8	46.66	16.54	51.48	18.26	35.46	115.0
		S.D.	30.7	1.30	0.51	1.66	0.80	0.58	47.1
Differential count of WBC %									
Group	Number of animals	Reticu- locyte %.	PT sec	APTT sec	Neutrophil		Eosino- phil	Basophil	Monocyte
					Stab form	Seg- mented			Lympho- cyte
0 mg/kg	5	Mean	24.0	18.16	28.56	0.64	10.80	0.40	0.00
		S.D.	3.1	2.39	2.83	0.22	3.49	0.40	0.00
1000 mg/kg	5	Mean	24.2	16.98	27.04	0.80	7.84	0.80	0.00
		S.D.	2.3	1.88	1.57	0.40	3.39	0.94	0.00
								0.33	4.01
								0.00	0.00

Table 25 Hematological findings of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

Group	Number of animals	RBC	Ht	Hb	MCV	MCH	MCHC	WBC	Platelet		
		10 ⁶ /µL	%	g/dL	fL	pg	g/dL	10 ² /µL	10 ⁴ /µL		
0 mg/kg	5	Mean	860.6	45.54	16.26	52.94	18.90	35.72	60.6		
		S.D.	23.6	1.45	0.42	1.36	0.48	0.47	8.0		
<hr/>											
1000 mg/kg	5	Mean	847.0	47.06	16.48	55.62	19.48	35.02	68.0		
		S.D.	38.3	1.67	0.39	2.42	0.77	0.65	16.3		
<hr/>											
Differential count of WBC %											
Group	Number of animals	Reticu-	PT sec	APTT sec	Neutrophil		Eosino-	Basophil	Monocyte	Lympho-	Others
		locyte %			Stab form	Seg- mented	phil				
0 mg/kg	5	Mean	21.0	16.26	18.70	0.72	14.08	1.04	0.00	1.76	82.40
		S.D.	6.5	0.53	0.91	0.59	4.86	0.46	0.00	0.61	4.86
<hr/>											
1000 mg/kg	5	Mean	22.2	15.98	19.28	0.88	13.12	0.80	0.00	1.68	83.52
		S.D.	4.1	1.10	0.90	0.72	4.02	0.63	0.00	1.40	4.79

Table 26 Biochemical findings of male rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

Group	Number of animals	Protein fraction (%)											ChE IU/L	γ -GTP IU/L	
		TP g/dL	Albumin g/dL	A/G ratio	Albumin				Globulin			AST IU/L	ALT IU/L	ALP IU/L	
					α_1	α_2	β	γ							
0 mg/kg	5	Mean	5.52	2.882	1.090	52.30	21.62	6.66	16.94	2.48	76.4	32.6	404.0	61.4	0.44
		S.D.	0.16	0.095	0.042	1.00	1.96	0.15	0.98	0.93	26.0	16.5	74.1	24.2	0.13
40 mg/kg	5	Mean	5.64	2.908	1.064	51.64	21.80	7.06	16.86	2.64	66.8	26.2	376.4	65.4	0.26
		S.D.	0.19	0.090	0.047	1.11	1.45	0.47	0.92	0.25	10.8	3.3	51.5	26.8	0.19
200 mg/kg	5	Mean	5.62	2.906	1.070	51.78	21.96	6.38	16.78	3.10	64.4	26.8	368.8	54.4	0.46
		S.D.	0.13	0.045	0.048	1.11	2.50	0.58	1.54	1.16	9.6	6.1	47.7	5.5	0.05
1000 mg/kg	5	Mean	5.78	2.910	1.016	50.44	23.52	6.36	17.22	2.46	55.4	22.4	350.2	52.2	0.30
		S.D.	0.26	0.138	0.081	2.01	0.64	0.73	1.26	0.92	3.4	3.4	30.2	4.1	0.12

Group	Number of animals	T-Bil mg/dL	Glucose mg/dL	T-Chol mg/dL	TG mg/dL	PL mg/dL	UN mg/dL	Crea mg/dL	Na mEq/L	K mEq/L	Cl mEq/L	Ca mg/dL	IP mg/dL	
0 mg/kg	5	Mean	0.064	146.4	64.6	31.0	101.2	12.36	0.462	144.0	4.510	107.6	9.96	7.66
		S.D.	0.021	7.8	19.4	22.7	29.0	2.54	0.022	0.7	0.292	1.7	0.48	0.15
40 mg/kg	5	Mean	0.056	145.0	61.0	24.2	96.2	12.24	0.456	143.8	4.646	106.6	10.00	7.66
		S.D.	0.005	10.1	8.4	3.7	9.5	1.08	0.021	0.8	0.297	1.1	0.07	0.34
200 mg/kg	5	Mean	0.060	158.8	61.4	24.0	95.2	12.72	0.492	143.2	4.698	106.2	10.00	7.62
		S.D.	0.012	16.3	9.4	6.3	11.5	1.71	0.029	1.5	0.284	1.3	0.14	0.30
1000 mg/kg	5	Mean	0.052	166.0*	66.4	39.2	100.2	13.56	0.494	142.4	4.864	105.8	9.82	7.36
		S.D.	0.011	10.3	8.7	20.1	10.8	0.97	0.026	1.1	0.283	1.3	0.29	0.65

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

Table 27 Biochemical findings of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

Group	Number of animals	Protein fraction (%)										AST IU/L	ALT IU/L	ALP IU/L	ChE IU/L	γ -GTP IU/L					
		TP g/dL	Albumin g/dL	A/G ratio	Albumin				Globulin												
					α_1	α_2	β	γ													
0 mg/kg	5	Mean S.D.	6.14 0.29	3.370 0.174	1.218 0.104	54.94 2.09	18.88 1.62	5.70 0.54	18.10 0.56	2.38 1.16	67.2 8.3	25.0 6.8	212.0 86.8	277.4 59.7	0.60 0.14						
40 mg/kg	5	Mean S.D.	6.26 0.44	3.198 0.320	1.062 0.218	51.24 4.86	19.50 2.23	6.46 1.15	19.84 3.44	2.96 0.88	89.0 15.8	31.0 5.6	187.4 56.0	330.2 136.0	0.46 0.18						
200 mg/kg	5	Mean S.D.	6.26 0.24	3.256 0.214	1.080 0.069	52.00 1.67	20.78 1.23	6.00 0.45	18.82 0.91	2.40 0.47	105.0* 33.0	27.2 2.4	149.2 21.1	361.6 78.7	0.64 0.17						
1000 mg/kg	5	Mean S.D.	6.34 0.37	3.310 0.267	1.096 0.128	52.24 2.98	20.78 1.57	6.30 0.39	17.62 1.39	3.06 0.97	77.0 13.1	26.6 8.6	164.0 27.7	259.8 26.7	0.70 0.37						

Group	Number of animals	T-Bil mg/dL	Glucose mg/dL	T-Chol mg/dL	TG mg/dL	PL mg/dL	UN mg/dL	Crea mg/dL	Na mEq/L	K mEq/L	Cl mEq/L	Ca mg/dL	IP mg/dL	
0 mg/kg	5	Mean S.D.	0.056 0.015	148.2 9.2	62.4 6.9	36.6 18.4	114.8 19.1	19.80 1.99	0.490 0.048	140.0 0.7	4.826 0.333	106.0 1.2	10.78 0.56	9.60 0.45
40 mg/kg	5	Mean S.D.	0.056 0.015	146.2 15.6	64.2 6.1	22.4 7.7	118.0 17.3	19.56 2.43	0.502 0.033	140.0 1.2	5.014 0.260	107.0 1.2	11.06 0.26	8.90 0.51
200 mg/kg	5	Mean S.D.	0.056 0.011	146.0 14.9	67.6 20.5	23.8 15.2	118.8 26.4	22.26 2.60	0.560 0.075	140.4 0.9	4.796 0.462	106.6 2.3	11.10 0.25	9.42 0.60
1000 mg/kg	5	Mean S.D.	0.054 0.005	147.2 9.4	70.6 10.5	20.6 3.2	121.6 13.8	25.68** 2.20	0.556 0.029	141.4 1.1	4.354 0.272	106.8 1.3	11.30 0.56	8.98 0.54

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

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

Table 28 Biochemical findings of male rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

Group	Number of animals	Protein fraction (%)										ChE IU/L	γ -GTP IU/L		
		TP g/dL	Albumin g/dL	A/G ratio	Globulin				AST IU/L	ALT IU/L	ALP IU/L				
					Albumin	α_1	α_2	β							
0 mg/kg	5	Mean	5.76	2.786	0.936	48.44	24.30	6.56	17.94	2.76	69.8	32.8	312.6	62.4	0.64
		S.D.	0.13	0.098	0.030	0.83	1.01	0.71	0.79	0.49	7.3	3.3	46.7	20.6	0.05
1000 mg/kg	5	Mean	5.72	2.904	1.028*	50.78*	22.28	6.62	17.78	2.54	69.0	31.6	407.2	58.2	0.78
		S.D.	0.27	0.208	0.072	1.85	1.88	0.65	1.37	1.43	16.6	7.5	137.1	9.2	0.15

Group	Number of animals	T-Bil mg/dL	Glucose mg/dL	T-Chol mg/dL	TG mg/dL	PL mg/dL	UN mg/dL	Crea mg/dL	Na mEq/L	K mEq/L	Cl mEq/L	Ca mg/dL	IP mg/dL	
0 mg/kg	5	Mean	0.048	171.0	79.8	43.2	117.6	14.16	0.502	142.4	4.996	106.0	9.42	6.66
		S.D.	0.016	13.9	11.6	12.4	10.1	1.43	0.061	1.5	0.240	1.4	0.26	0.42
1000 mg/kg	5	Mean	0.048	169.2	70.4	47.2	109.4	15.40	0.476	143.0	4.790	107.6	9.34	6.62
		S.D.	0.008	19.4	19.1	20.9	28.5	1.35	0.054	1.2	0.574	2.1	0.29	0.50

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

Table 29 Biochemical findings of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

Group	Number of animals	Protein fraction (%)													
		TP g/dL	Albumin g/dL	A/G ratio	Globulin				AST IU/L	ALT IU/L	ALP IU/L	ChE IU/L	γ -GTP IU/L		
					Albumin	α_1	α_2	β							
0 mg/kg	5	Mean	6.20	3.502	1.296	56.46	19.10	4.32	16.26	3.86	152.2	94.4	161.0	676.2	1.20
		S.D.	0.59	0.367	0.067	1.30	1.78	0.63	1.29	0.92	121.4	120.1	62.3	262.7	0.32
1000 mg/kg	5	Mean	6.44	3.742	1.384	58.12	20.00	3.72	14.22*	3.94	103.4	35.4	148.0	730.0	1.02
		S.D.	0.27	0.189	0.088	1.48	1.10	0.36	0.97	1.05	100.1	27.5	37.8	254.9	0.13

Group	Number of animals	T-Bil mg/dL	Glucose mg/dL	T-Chol mg/dL	TG mg/dL	PL mg/dL	UN mg/dL	Crea mg/dL	Na mEq/L	K mEq/L	Cl mEq/L	Ca mg/dL	IP mg/dL	
0 mg/kg	5	Mean	0.066	155.6	73.2	13.2	132.6	14.60	0.506	143.6	4.106	108.8	9.64	5.78
		S.D.	0.009	18.5	19.1	7.5	26.1	0.91	0.026	0.9	0.326	1.1	0.31	0.83
1000 mg/kg	5	Mean	0.074	145.6	77.2	12.8	134.4	18.30	0.590*	143.2	4.224	110.6*	9.68	5.98
		S.D.	0.017	15.7	6.1	6.8	15.2	3.15	0.077	0.4	0.314	0.5	0.28	0.76

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

Table 30 Gross findings of male rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

Group	End of administration				End of recovery	
	0 mg/kg	40 mg/kg	200 mg/kg	1000 mg/kg	0 mg/kg	1000 mg/kg
Number of animals examined	7	12	12	7	5	5
No abnormal findings	6	10	12	7	5	5
Organ : Findings						
Kidney : Dilatation, renal pelvis, unilateral	0	1	0	0	0	0
Spleen : Cyst	0	1	0	0	0	0
Femur : Deformity, unilateral	1	0	0	0	0	0

Values are number of animals with findings.

Table 31 Gross findings of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

	Group	0 mg/kg	40 mg/kg	200 mg/kg	1000 mg/kg
Number of animals examined		12	12	12	12
Number of pregnant animals		11	12	11	9
No abnormal findings		10	12	10	9
Organ : Findings					
Spleen : Swelling		1	0	1	0
Yellow region		1	0	0	0
Adhesion, adipose tissue		1	0	0	0
Number of non-pregnant animals		1	0	1	3
No abnormal findings		1	-	1	2
Organ : Findings					
Uterus : Dilatation, uterine horn, bilateral		0	-	0	1
Dilatation, cervix		0	-	0	1
Retention, fluid, yellowish white, serous, cloudy		0	-	0	1
Vagina : Atresia		0	-	0	1

Values are number of animals with findings.

- : Blank value.

Table 32 Gross findings of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

	Group	0 mg/kg	1000 mg/kg
Number of animals examined		5	5
No abnormal findings		4	5
Eyeball : Small size, unilateral		1	0
Dark red discoloration, fundus		1	0

Values are number of animals with findings.

Table 33 Absolute and relative organ weights of male rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

Group	Number of animals	Body weight g	Liver		Kidney		Spleen		Heart		Brain		Thymus		Adrenal		
			g	%	g	%	g	%	g	%	g	%	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	
0 mg/kg	5	Mean	501.2	13.340	2.666	3.276	0.654	0.774	0.154	1.480	0.294	2.146	0.432	344.0	68.220	72.0	14.344
		S.D.	49.0	2.039	0.315	0.326	0.031	0.075	0.027	0.193	0.018	0.064	0.034	119.1	21.028	12.8	1.941
40 mg/kg	5	Mean	505.4	13.462	2.666	3.332	0.662	0.754	0.150	1.480	0.292	2.176	0.434	379.4	74.948	70.8	14.030
		S.D.	21.0	0.627	0.099	0.170	0.050	0.109	0.023	0.157	0.033	0.026	0.018	72.8	13.447	8.2	1.703
200 mg/kg	5	Mean	498.0	12.808	2.574	3.190	0.644	0.768	0.154	1.460	0.294	2.168	0.436	343.8	69.056	62.0	12.454
		S.D.	10.3	0.684	0.162	0.178	0.045	0.078	0.013	0.062	0.017	0.105	0.025	51.4	10.451	10.5	2.145
1000 mg/kg	5	Mean	484.8	13.928	2.866	3.206	0.660	0.722	0.150	1.480	0.306	2.152	0.446	367.0	75.224	66.0	13.690
		S.D.	30.3	1.859	0.205	0.240	0.016	0.080	0.012	0.125	0.013	0.057	0.017	110.0	19.461	6.4	1.902

Group	Number of animals	Body weight g	Testis		Epididymis		
			g	%	g	%	
0 mg/kg	7	Mean	518.1	3.291	0.639	1.426	0.277
		S.D.	50.0	0.416	0.085	0.169	0.040
40 mg/kg	12	Mean	511.1	3.436	0.676	1.453	0.287
		S.D.	40.3	0.195	0.064	0.105	0.039
200 mg/kg	12	Mean	513.8	3.278	0.640	1.401	0.272
		S.D.	32.6	0.270	0.069	0.167	0.029
1000 mg/kg	7	Mean	500.4	3.337	0.669	1.430	0.284
		S.D.	36.8	0.254	0.063	0.133	0.013

Table 34 Absolute and relative organ weights of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

Group	Number of animals	Body weight g	Liver		Kidney		Spleen		Heart		Brain		Thymus		
			g	%	g	%	g	%	g	%	g	%	mg	$10^{-3}\%$	
0 mg/kg	5	Mean	298.2	10.006	3.364	1.908	0.640	0.644	0.216	0.996	0.336	2.030	0.686	335.2	112.984
		S.D.	25.6	0.758	0.192	0.229	0.062	0.149	0.055	0.050	0.021	0.080	0.059	36.6	15.046
40 mg/kg	5	Mean	304.2	10.350	3.408	1.936	0.636	0.568	0.188	0.996	0.328	1.990	0.656	256.6	84.240
		S.D.	16.8	0.580	0.220	0.165	0.061	0.063	0.008	0.066	0.026	0.053	0.044	66.7	20.909
200 mg/kg	5	Mean	317.4	10.774	3.396	2.084	0.658	0.652	0.206	1.024	0.324	2.056	0.650	251.8	79.440*
		S.D.	21.7	1.146	0.299	0.167	0.049	0.063	0.022	0.032	0.018	0.069	0.050	41.7	13.295
1000 mg/kg	5	Mean	297.8	10.514	3.530	2.102	0.708	0.622	0.210	1.060	0.354	2.050	0.690	279.4	94.232
		S.D.	12.2	0.868	0.268	0.122	0.061	0.088	0.033	0.074	0.023	0.041	0.027	59.2	21.894

Group	Number of animals	Adrenal		Ovary		
		mg	$10^{-3}\%$	mg	$10^{-3}\%$	
0 mg/kg	5	Mean	76.8	25.786	100.8	34.084
		S.D.	7.2	1.825	12.2	5.695
40 mg/kg	5	Mean	75.8	24.940	117.8	38.812
		S.D.	5.4	1.701	22.5	7.786
200 mg/kg	5	Mean	79.4	25.052	113.6	35.902
		S.D.	9.7	3.011	7.5	3.118
1000 mg/kg	5	Mean	83.4	28.006	109.0	36.606
		S.D.	10.2	3.160	5.4	1.216

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

Table 35 Absolute and relative organ weights of male rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

Group	Number of animals	Body weight		Liver		Kidney		Spleen		Heart		Brain		Thymus	
		g	10 ⁻³ %	g	%	g	%	g	%	g	%	g	%	mg	10 ⁻³ %
0 mg/kg	5	Mean	534.2	14.090	2.636	3.360	0.630	0.742	0.138	1.546	0.292	2.184	0.408	353.4	66.074
		S.D.	13.6	0.591	0.076	0.324	0.067	0.194	0.030	0.090	0.022	0.092	0.013	51.5	8.895
1000 mg/kg	5	Mean	523.0	14.170	2.700	3.474	0.664	0.758	0.146	1.546	0.294	2.214	0.420	291.2	55.416
		S.D.	15.6	2.035	0.305	0.182	0.031	0.090	0.018	0.086	0.018	0.089	0.017	83.4	14.443

Group	Number of animals	Adrenal		Testis		Epididymis		
		mg	10 ⁻³ %	g	%	g	%	
0 mg/kg	5	Mean	66.2	12.384	3.264	0.612	1.436	0.270
		S.D.	8.1	1.407	0.183	0.024	0.218	0.038
1000 mg/kg	5	Mean	64.4	12.300	3.584*	0.686**	1.464	0.278
		S.D.	6.3	0.993	0.205	0.036	0.082	0.013

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

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

Table 36 Absolute and relative organ weights of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

Group	Number of animals	Body weight g	Liver		Kidney		Spleen		Heart		Brain		Thymus		
			g	%	g	%	g	%	g	%	g	%	mg	10 ⁻³ %	
0 mg/kg	5	Mean	286.0	7.386	2.584	1.902	0.666	0.508	0.176	0.938	0.328	2.072	0.726	339.6	118.780
		S.D.	21.3	0.745	0.200	0.121	0.073	0.053	0.009	0.054	0.023	0.100	0.054	81.0	26.441
1000 mg/kg	5	Mean	307.0	7.772	2.532	2.078	0.680	0.546	0.180	1.024	0.334	2.092	0.690	365.6	115.598
		S.D.	45.0	1.148	0.068	0.279	0.057	0.114	0.033	0.153	0.018	0.085	0.070	155.8	32.921

Group	Number of animals	Adrenal		Ovary		
		mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	
0 mg/kg	5	Mean	72.0	25.342	103.4	36.220
		S.D.	7.5	3.777	8.2	2.687
1000 mg/kg	5	Mean	82.2	27.030	100.4	32.396
		S.D.	10.8	3.866	24.6	3.306

Table 37 Histopathological findings of male rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

Organ/Findings	Grade	Control	4-Methyl-1-pentene (mg/kg)		
			40	200	1000
Number of animals examined		7	12	12	7
Lung (including bronchus):	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Trachea:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Esophagus:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Forestomach:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Glandular stomach:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Duodenum:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Jejunum:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Ileum (including Peyer's patch):	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Cecum:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Colon:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Rectum:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Pancreas: Regeneration, acinar cell	+	1 (5)	#	#	0 (5)
Liver: Microgranuloma Fatty change, periportal	+	2 (5)	#	#	2 (5)
Heart: Myocardial degeneration, focal	+	1 (5)	#	#	0 (5)
Kidney: Hyaline droplet, proximal tubular epithelium Eosinophilic body, proximal tubular epithelium	+	0	3	7 *	6 **
Regeneration, tubular epithelium	+	0	1	7 *	6 **
Cellular infiltration, inflammatory cell, renal pelvic mucosa	+	1	1	2	1
Cast, hyaline	+	0	1	1	0
Fibrosis, focal	+	0	0	1	0
Dilatation, renal pelvis	+	0	1	0	0
Urinary bladder: Cellular infiltration, lymphocyte, muscular layer	+	0 (5)	#	#	1 (5)
Testis:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Epididymis:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Prostate: Cellular infiltration, lymphocyte	+	2 (5)	#	#	2 (5)
	++	0 (5)	#	#	1 (5)

(Continued)

Table 37 Histopathological findings of male rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) (To be continued)

Organ: Findings	Grade	Control	4-Methyl-1-pentene (mg/kg)		
			40	200	1000
Number of animals examined		7	12	12	7
Cerebrum:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Cerebellum:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Spinal cord:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Sciatic nerve:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Spleen: Cyst, capsule	<+>	0 (5)	1 (1)	#	0 (5)
Thymus:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Bone marrow of sternum:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Bone marrow of right femur:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Submandibular lymph node:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Mesenteric lymph node:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Pituitary gland:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Thyroid:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Parathyroid:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Adrenal:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Eyeball:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Harderian gland: Cellular infiltration, lymphocyte	+	0 (5)	#	#	2 (5)
Skeletal muscle:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Sternum:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Femur: Callus formation	++	1 (5)	#	#	0 (5)
Skin	-	5 (5)	#	#	5 (5)

Values are number of animals with findings.

Values in parentheses are number of animals examined.

#: Blank value.

Grade; -: No abnormal findings, +: slight change, ++: moderate change, <+>: presence in "presence or not" basis.

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

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

Table 38 Stages of spermatogenesis of male rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

Group	Number of animals	Stage I-VI			
		Sertoli cells Number ^a	Spermatogonia Number	Pachytene spermatocytes Number	Round spermatids Number
0 mg/kg	5	Mean	22.36	25.68	54.76
		S.D.	2.54	2.43	4.93
1000 mg/kg	5	Mean	20.60	27.24	54.20
		S.D.	2.76	7.88	8.80

Group	Number of animals	Stage VII-VIII			
		Sertoli cells Number	Spermatogonia Number	Preleptotene spermatocytes Number	Pachytene spermatocytes Number
0 mg/kg	5	Mean	20.48	4.32	41.44
		S.D.	2.09	0.48	6.79
1000 mg/kg	5	Mean	17.80	5.04	46.72
		S.D.	1.82	1.08	12.35

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

(to be continued)

Table 38 Stages of spermatogenesis of male rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) (continued)

Group	Number of animals	Stage IX-XI			
		Sertoli cells Number ^a	Spermatogonia Number	Leptotene spermatocytes Number	Pachytene spermatocytes Number
0 mg/kg	5	Mean	22.48	5.28	47.00
		S.D.	3.65	1.00	6.03
1000 mg/kg	5	Mean	23.12	6.64	57.12
		S.D.	2.57	2.33	13.94

Group	Number of animals	Stage XII-XIV			
		Sertoli cells Number	Spermatogonia Number	Spermatocytes 1 Number	Spermatocytes 2 Number
0 mg/kg	5	Mean	22.12	7.16	50.96
		S.D.	0.99	1.12	9.69
1000 mg/kg	5	Mean	22.08	6.60	54.64
		S.D.	3.42	1.39	11.07

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

Spermatocytes 1: Zygote / Pachytene spermatocytes.

Spermatocytes 2: Pachytene / Diplotene spermatocytes.

Table 39 Histopathological findings of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

Organ: Findings	Grade	Control	4-Methyl-1-pentene (mg/kg)		
			40	200	1000
Number of animals examined		12	12	12	12
Lung (including bronchus):	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Trachea:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Esophagus:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Forestomach:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Glandular stomach:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Duodenum:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Jejunum:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Ileum (including Peyer's patch):	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Cecum:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Colon:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Rectum:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Pancreas:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Liver: Microgranuloma	+	3 (5)	#	#	2 (5)
Necrosis, focal	+	0 (5)	#	#	1 (5)
Heart:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Kidney: Necrosis, tubular epithelium	+	0	0	0	1
Regeneration, tubular epithelium	++	0	0	0	1
Cyst	<+>	1	0	0	0
Cellular infiltration, inflammatory cell, renal pelvic mucosa	+	1	1	0	1
Urinary bladder:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Ovary:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Uterus: Cellular infiltration, inflammatory cell, endometrium	+	0 (5)	#	#	1 (6)
Vagina :	-	#	#	#	1 (1)
Cerebrum:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Cerebellum:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Spinal cord:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Sciatic nerve:	-	5 (5)	#	#	5 (5)

(Continued)

Table 39 Histopathological findings of female rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) (To be continued)

Organ: Findings	Grade	Control	4-Methyl-1-pentene (mg/kg)		
			40	200	1000
		Number of animals examined	12	12	12
Spleen: Necrosis	++	1 (6)	#	0 (1)	0 (5)
Granulation, capsule	++	1 (6)	#	0 (1)	0 (5)
Increase, hematopoiesis, extramedullary	+	1 (6)	#	0 (1)	0 (5)
Congestion	+	0 (6)	#	1 (1)	0 (5)
Thymus:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Bone marrow of sternum:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Bone marrow of right femur:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Submandibular lymph node:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Mesenteric lymph node:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Pituitary gland:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Thyroid:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Parathyroid:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Adrenal:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Eyeball:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Harderian gland:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Skeletal muscle:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Sternum:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Femur:	-	5 (5)	#	#	5 (5)
Skin: Decrease, lactation, mammary gland	+	1 (5)	#	#	0 (5)
Cellular infiltration, inflammatory cell, mammary gland	+	0 (5)	#	#	1 (5)
	++	1 (5)	#	#	1 (5)

Values are number of animals with findings.

Values in parentheses are number of animals examined.

#: Blank value.

Grade; -: No abnormal findings, +: slight change, ++: moderate change, <+>: presence in "presence or not" basis.

Table 40 Histopathological findings of male rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

Organ: Findings	Number of animals examined	Grade	4-Methyl-1-pentene (mg/kg)	
			Control	1000
Lung: Accumulation, foam cell		+	1	2
Trachea:		-	5	5
Esophagus:		-	5	5
Forestomach:		-	5	5
Glandular stomach:		-	5	5
Duodenum:		-	5	5
Jejunum:		-	5	5
Ileum (including Peyer's patch):		-	5	5
Cecum:		-	5	5
Colon:		-	5	5
Rectum:		-	5	5
Pancreas: Atrophy, acinar cell, focal		+	0	1
Cellular infiltration, inflammatory cell, periductal		+	0	1
Liver: Microgranuloma		+	2	4
Fatty change, periportal		+	0	1
Heart: Myocardial degeneration, focal		+	1	0
Kidney: Hyaline droplet, proximal tubular epithelium		+	0	2
Eosinophilic body, proximal tubular epithelium		+	0	2
Regeneration, tubular epithelium		+	1	0
Cellular infiltration, inflammatory cell, renal pelvic mucosa		+	1	0
Urinary bladder:		-	5	5
Testis:		-	5	5
Epididymis:		-	5	5
Prostate: Cellular infiltration, lymphocyte		+	1	2
		++	1	1
Cerebrum:		-	5	5
Cerebellum:		-	5	5
Spinal cord:		-	5	5
Sciatic nerve:		-	5	5

(Continued)

Table 40 Histopathological findings of male rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) (To be continued)

Organ: Findings	Number of animals examined	Grade	4-Methyl-1-pentene (mg/kg)	
			Control	1000
Spleen:	-		5	5
Thymus:	-		5	5
Bone marrow of sternum:	-		5	5
Bone marrow of right femur:	-		5	5
Submandibular lymph node:	-		5	5
Mesenteric lymph node:	-		5	5
Pituitary gland:	-		5	5
Thyroid:	-		5	5
Parathyroid:	-		5	5
Adrenal:	-		5	5
Eyeball:	-		5	5
Harderian gland:	-		5	5
Skeletal muscle:	-		5	5
Sternum:	-		5	5
Femur:	-		5	5
Skin	-		5	5

Values are number of animals with findings.

Grade; -: No abnormal findings, +: slight change, ++: moderate change.

Table 41 Stages of spermatogenesis of male rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

Group	Number of animals	Stage I-VI			
		Sertoli cells Number ^a	Spermatogonia Number	Pachytene spermatocytes Number	Round spermatids Number
0 mg/kg	5	Mean	21.00	22.36	47.24
		S.D.	2.21	5.42	4.25
1000 mg/kg	5	Mean	22.16	21.16	58.44**
		S.D.	2.78	4.97	4.51
					138.36*
					16.20

Group	Number of animals	Stage VII-VIII			
		Sertoli cells Number	Spermatogonia Number	Preleptotene spermatocytes Number	Pachytene spermatocytes Number
0 mg/kg	5	Mean	18.52	4.00	39.60
		S.D.	1.42	1.19	4.72
1000 mg/kg	5	Mean	19.16	4.48	47.96*
		S.D.	1.21	1.02	3.21
					65.20*
					5.44
					135.28**
					11.80

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

(to be continued)

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

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

Table 41 Stages of spermatogenesis of male rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) (continued)

Group	Number of animals	Stage IX-XI			
		Sertoli cells Number ^a	Spermatogonia Number	Leptotene spermatocytes Number	Pachytene spermatocytes Number
0 mg/kg	5	Mean	20.72	6.52	44.84
		S.D.	2.52	3.22	6.30
1000 mg/kg	5	Mean	22.64	6.52	53.40
		S.D.	2.56	0.46	6.83
					68.12*
					3.19

Group	Number of animals	Stage XII-XIV			
		Sertoli cells Number	Spermatogonia Number	Spermatocytes 1 Number	Spermatocytes 2 Number
0 mg/kg	5	Mean	20.40	6.40	44.88
		S.D.	2.18	0.65	4.51
1000 mg/kg	5	Mean	22.52	7.88	52.48*
		S.D.	3.48	1.56	3.16
					71.56
					5.92

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

Spermatocytes 1: Zygote / Pachytene spermatocytes.

Spermatocytes 2: Pachytene / Diplotene spermatocytes.

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

Table 42 Histopathological findings of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

Organ: Findings	Grade	4-Methyl-1-pentene (mg/kg)	
		Control	1000
Number of animals examined		5	5
Lung (including bronchus):	-	5	5
Trachea:	-	5	5
Esophagus:	-	5	5
Forestomach:	-	5	5
Glandular stomach:	-	5	5
Duodenum:	-	5	5
Jejunum:	-	5	5
Ileum (including Peyer's patch):	-	5	5
Cecum: Cellular infiltration, inflammatory cell, submucosa	+	0	1
Edema, submucosa	+	0	1
Colon:	-	5	5
Rectum:	-	5	5
Pancreas:	-	5	5
Liver: Microgranuloma	+	4	5
Fatty change, periportal	+	0	1
Heart:	-	5	5
Kidney: Cellular infiltration, inflammatory cell, renal pelvic mucosa	+	0	1
Urinary bladder:	-	5	5
Ovary:	-	5	5
Uterus:	-	5	5
Cerebrum:	-	5	5
Cerebellum:	-	5	5
Spinal cord:	-	5	5
Sciatic nerve:	-	5	5
Spleen:	-	5	5
Thymus:	-	5	5
Bone marrow of sternum:	-	5	5
Bone marrow of right femur:	-	5	5
Submandibular lymph node:	-	5	5
Mesenteric lymph node:	-	5	5

(Continued)

Table 42 Histopathological findings of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194) (To be continued)

Organ: Findings	Number of animals examined	Grade	4-Methyl-1-pentene (mg/kg)	
			Control	1000
Pituitary gland:	-	-	5	5
Thyroid:	-	-	5	5
Parathyroid:	-	-	5	5
Adrenal:	-	-	5	5
Eyeball: Atrophy, lens	++	++	1	0
Fibrosis, choroid	+++	+++	1	0
Fibrosis, iris and ciliary body	+++	+++	1	0
Deposit, hemosiderin	+	+	1	0
Harderian gland: Cellular infiltration, lymphocyte	+	+	1	0
Skeletal muscle:	-	-	5	5
Sternum:	-	-	5	5
Femur:	-	-	5	5
Skin	-	-	5	5

Values are number of animals with findings.

Grade; -: No abnormal findings, +: slight change, ++: moderate change, +++: severe change.

Table 43 Reproduction performance in parental rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

Group	Estrous cycle		Copulation index		Fertility	Gestation	Nursing
	Normality		Male Incidence (%)	Female Incidence (%)	index Incidence (%)	index Incidence (%)	index Incidence (%)
	Incidence (%)	Length (days)					
0 mg/kg	11/12 (92)	4.09 0.30	11/12 (92)	11/12 (92)	11/11 (100)	11/11 (100)	22.7 0.5
40 mg/kg	12/12 (100)	4.03 0.09	12/12 (100)	12/12 (100)	12/12 (100)	12/12 (100)	22.5 0.5
200 mg/kg	11/12 (92)	4.00 0.00	12/12 (100)	12/12 (100)	11/12 (92)	11/11 (100)	22.6 0.5
1000 mg/kg	12/12 (100)	4.05 0.12	12/12 (100)	12/12 (100)	9/12 (75)	9/9 (100)	22.4 0.5

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 pairs 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 44 Estrus cycle of female rats in 14-day recovery test following 42-day repeated oral dose with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

Group	Normality	
	Incidence (%)	Length (days)
0 mg/kg	5/5 (100)	4.02 0.04
1000 mg/kg	3/5 (60)	4.00 0.00

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

Values are means and S.D.

Table 45 Pregnancy and litter data of rats dosed orally with 4-methyl-1-pentene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (SR02194)

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	
		Mean	S.D.	Mean	S.D.					Mean	S.D.	Mean	S.D.
Pups data													
0 mg/kg	11	MEAN	16.5	15.9	96.7	96.6	15.4	0.530	15.0	97.7	14.7	98.3	
		S.D.	1.4	1.6	4.2	5.2	1.7	0.166	1.7	3.3	1.7	4.0	
40 mg/kg	12	MEAN	16.8	15.7	93.5	92.6	14.5	0.541	13.8	95.6	13.6	98.1	
		S.D.	2.3	1.8	5.9	5.5	1.8	0.133	1.9	8.0	2.0	5.0	
200 mg/kg	11	MEAN	15.5	15.1	97.3	95.8	14.5	0.456	14.2	98.1	14.0	98.7	
		S.D.	1.4	1.1	4.0	4.6	1.3	0.089	1.3	3.2	1.3	2.8	
1000 mg/kg	9	MEAN	16.9	16.0	94.9	94.6	15.1	0.510	14.9	98.6	14.9	100.0	
		S.D.	0.9	0.9	5.4	8.1	1.2	0.113	1.1	2.8	1.1	0.0	

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.

Table 46 General appearance of pups in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of 4-methyl-1-pentene in rats (SR02194)

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	90	87	87	87	86	79	78	77	77	77
	No abnormal findings	86	86	87	86	82	76	76	77	77	77
	Milk-band negative	1	1	0	0	3	2	1	0	0	0
	Death or lost	3	0	0	1	1	1	1	0	0	0
40 mg/kg	Number of pups examined	93	87	86	86	86	81	79	77	77	77
	No abnormal findings	83	86	86	86	86	76	77	77	77	75
	Milk-band negative or unclear	4	0	0	0	0	3	0	0	0	2
	Death or lost	6	1	0	0	0	2	2	0	0	0
200 mg/kg	Number of pups examined	72	71	71	71	71	87	85	85	84	83
	No abnormal findings	71	71	71	71	71	82	85	84	83	82
	Milk-band negative or unclear	0	0	0	0	0	3	0	0	0	1
	Death or lost	1	0	0	0	0	2	0	1	1	0
1000 mg/kg	Number of pups examined	69	69	69	69	69	67	65	65	65	65
	No abnormal findings	69	69	69	69	67	65	65	65	65	65
	Milk-band negative or unclear	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
	Death	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0

Values are number of animals with findings.

Table 47 Body weight changes of pups in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of 4-methyl-1-pentene in rats (SR02194)

Group	Number of litters	Male			Female			
		Body weight (g) on Lactation day			Body weight (g) on Lactation day			
		0	1	4	0	1	4	
0 mg/kg	11	Mean	7.05	7.69	10.89	6.61	7.25	10.26
		S.D.	0.75	0.84	1.28	0.65	0.88	1.41
40 mg/kg	12	Mean	6.83	7.43	10.68	6.47	7.13	10.26
		S.D.	0.50	0.70	1.23	0.52	0.74	1.24
200 mg/kg	11	Mean	6.98	7.64	11.02	6.66	7.30	10.63
		S.D.	0.55	0.60	1.04	0.54	0.58	0.77
1000 mg/kg	9	Mean	6.49	6.88*	9.96	6.16	6.64	9.66
		S.D.	0.43	0.49	1.05	0.34	0.40	0.87

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

Table 48 Gross findings of pups in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of 4-methyl-1-pentene in rats (SR02194)

Group	Male				Female			
	0 mg/kg	40 mg/kg	200 mg/kg	1000 mg/kg	0 mg/kg	40 mg/kg	200 mg/kg	1000 mg/kg
Total number of pups examined	89	92	71	69	79	80	86	67
Findings of dead pups during day 0-4 of lactation								
Number of pups examined	4	6	0	0	2	3	3	2
No abnormal findings	3	5	-	-	1	3	2	2
Organ : Findings								
External : Autolysis	1	1	-	-	1	0	1	0
Findings of pups euthanatized on day 4 of lactation								
Number of pups examined	85	86	71	69	77	77	83	65
No abnormal findings	85	84	71	68	77	77	83	65
Cerebrum : Dilatation, ventricle	0	1	0	0	0	0	0	0
Thorax : Deformation	0	1	0	0	0	0	0	0
Liver : Yellowish focus, lateral left lobe	0	0	0	1	0	0	0	0

Values are number of pups with findings.

- : Blank value.