

R-1029

最終報告書

試験名：プロモクロロメタンのラットを用いた
経口投与による反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験

試験番号：R-1029

試験期間：2009年7月16日～2011年6月17日

試験施設

株式会社ボズリサーチセンター 御殿場研究所
〒412-0039 静岡県御殿場市かまど 1284

試験委託者

厚生労働省医薬食品局審査管理課 化学物質安全対策室
〒100-8916 東京都千代田区霞が関 1-2-2

株式会社ボズリサーチセンター
〒151-0065 東京都渋谷区大山町 36-7

1. 目次

1. 目次	2
4. 要約	11
5. 緒言	13
6. 試験材料及び方法.....	14
6.1 被験物質及び媒体	14
6.1.1 被験物質	14
6.1.2 媒体.....	14
6.2 被験液の調製.....	15
6.2.1 被験液の調製及び保存方法	15
6.2.2 被験液の安定性	15
6.2.3 被験液の濃度確認	15
6.3 試験動物	17
6.4 飼育条件	17
6.5 動物の識別.....	18
6.6 投与経路、投与期間及び投与回数並びに回復期間とそれらの選択理由	18
6.7 投与方法	18
6.8 投与量及び群構成	18
6.9 投与量の設定根拠	19
6.10 観察及び検査の方法.....	19
6.10.1 一般状態の観察	19
6.10.2 詳細な一般状態の観察、機能検査、握力及び自発運動量の測定	20

6.10.3	体重測定	21
6.10.4	摂餌量測定	21
6.10.5	膣垢検査	21
6.10.6	交配方法	21
6.10.7	分娩及び授乳観察	22
6.10.8	尿検査（摂水量測定を含む）	22
6.10.9	血液学検査	23
6.10.10	血液化学検査.....	24
6.10.11	病理学検査	25
6.11	統計解析	26
6.11.1	パラメータの算出	26
6.11.2	検定.....	27
7.	試験結果.....	29
7.1	一般状態（Table 1-1~1-7、Appendix 1-1~1-22）	29
7.2	詳細な一般状態の観察、機能検査、握力測定及び自発運動量の測定 (Fig. 1~5、Table 2-1~2-84、Appendix 2-1~2-258)	29
7.3	体重 (Fig. 6~8、Table 3-1~3-7、Appendix 3-1~3-22)	30
7.4	摂餌量 (Fig. 9~11、Table 4-1~4-7、Appendix 4-1~4-22)	31
7.5	尿検査（摂水量測定を含む） (Table 5-1~5-8、Appendix 5-1~5-18)	31
7.6	血液学検査 (Table 6-1~6-8、Appendix 6-1~6-8)	31
7.7	血液化学検査 (Table 7-1~7-8、Appendix 7-1~7-8)	31
7.8	器官重量 (Table 8-1~8-9、Appendix 8-1~8-30)	32
7.9	剖検所見 (Table 9-1、9-2、Appendix 9-1~9-106)	32
7.10	病理組織学検査 (Table 10-1~10-5、Appendix 9-1~9-106)	32
7.11	性周期 (Table 11、Appendix 10-1~10-4)	37
7.12	交配成績 (Table 12、Appendix 11-1~11-4)	37
7.13	分娩成績及び分娩・授乳状態 (Table 13、Appendix 12-1~12-4)	37
7.14	出生児の観察 (Table 14、Appendix 13-1~13-4)	37
7.15	出生児の生存率 (Table 15、Appendix 14-1~14-4)	37
7.16	出生児の体重 (Table 16、Appendix 15-1~15-4)	38
7.17	出生児の生後 4 日剖検所見 (Table 17、Appendix 16-1~16-4)	38
8.	考察	39
9.	文献	41

図

Fig. 1~5	自発運動量の測定
Fig. 6~8	体重
Fig. 9~11	摂餌量

表

Table 1-1~1-7	一般状態
Table 2-1~2-23	ホームケージ内観察
Table 2-24~2-46	手に持つての観察
Table 2-47~2-69	オープンフィールド内観察
Table 2-70~2-74	機能検査
Table 2-75~2-79	握力測定
Table 2-80~2-84	自発運動量の測定
Table 3-1~3-7	体重
Table 4-1~4-7	摂餌量
Table 5-1~5-8	尿検査（含、摂水量）
Table 6-1~6-8	血液学検査
Table 7-1~7-8	血液化学検査
Table 8-1~8-9	器官重量
Table 9-1、9-2	剖検所見
Table 10-1~10-5	病理組織学検査
Table 11	性周期
Table 12	交配成績
Table 13	分娩成績
Table 14	出生児の観察
Table 15	出生児の生存率
Table 16	出生児の体重
Table 17	出生児の生後4日剖検所見

4. 要約

プロモクロロメタンの 0 (対照群: コーンオイル)、30、100 及び 300 mg/kg を、Sprague-Dawley 系 SPF ラットの雄には交配前 14 日間及び交配期間を通して剖検前日 (42 日間) まで、雌には交配前 14 日間及び交配期間並びに妊娠期間を通して授乳 4 日まで (42~53 日間) 投与し、反復投与毒性及び生殖発生毒性を検討した。更に、0 及び 300 mg/kg 投与群については 42 日間投与した後、14 日間の回復期間を設け、毒性変化の可逆性を検討した。

1) 反復投与毒性

一般状態、詳細な一般状態の観察、機能検査、握力測定、自発運動量の測定、体重、摂餌量、尿検査（摂水量を含む）、血液学検査及び血液化学検査では、被験物質投与による影響は認められなかった。

病理学検査では、器官重量において、主群の雄の 300 mg/kg 投与群で肝臓の絶対及び相対重量の高値、300 mg/kg 投与群の雌で肝臓、脾臓及び副腎の相対重量の高値が認められた。組織学的には肝臓で小葉中心性肝細胞肥大、肝細胞の単細胞壊死及び微小肉芽腫の増強が 100 mg/kg 以上の投与群の雄及び 300 mg/kg 投与群の雌に、副腎で束状帶細胞の空胞化の程度の増強が 300 mg/kg 投与群の雌に認められたが、脾臓に組織変化はなかった。剖検所見においては、腺胃部の暗赤色巣が 100 及び 300 mg/kg 投与群の雌雄で発現頻度が増強し、組織学的に腺胃部のびらんが 100 mg/kg 以上の投与群の雌及び 300 mg/kg 投与群の雄に認められた。組織学検査においては、前述の肝臓、副腎及び胃の変化に加え、腎臓で近位尿細管の空胞変性及び壊死、尿細管の好塩基化並びに乳頭管上皮細胞の顆粒状変化が 300 mg/kg 投与群の雌に、甲状腺の濾胞上皮細胞の肥大が 100 mg/kg 以上の投与群の雄及び 300 mg/kg 投与群の雌にみられたが、重量の増加はみられず、組織変化の程度も弱いことから、生理的変動内の変化である可能性も考えられたが詳細は不明であった。

なお、2 週間の休薬により、上記変化の頻度及び程度が軽減したことから可逆性の変化と考えられた。

2) 生殖発生毒性

性周期、交尾までに要した日数、交尾率、授精率及び受胎率には対照群と各被験物質投与群の間に有意差は認められなかった。また、出産率、黄体数、着床痕数、着床率及び出生児数にも対照群と各被験物質投与群の間に有意差は認められなかった。

出生児では、性比、外表観察、出生時及び生後 4 日の体重及び生後 4 日剖検所見及び生存率には対照群と各被験物質投与群の間に有意差は認められなかった。また、哺育行動にも被験物質投与による明らかな変化はみられなかった。

一方、対照群で交配動物 12 例全例が交尾、受胎、分娩したのに対し、300 mg/kg 投与群では未交尾動物が 2 例、不妊動物が 2 例みられ、300 mg/kg 投与群で妊娠期間が

延長し、死産児率の高値及び出生率の低値がみられた。哺育行動の減少が対照群及び30 mg/kg 投与群に各 1 例、出生児の著しい減少が 300 mg/kg 投与群に 1 例みられたが、哺育行動の不良母動物の発現状況に差がなく、他動物の授乳状態に異常はなかった。しかし、300 mg/kg 投与群で出生児の生後 4 日生存率が 80.8% と低下傾向を示した。

これらの結果から、プロモクロロメタンの反復投与毒性に対する無影響量は、腺胃部の暗赤色巣が 100 mg/kg 以上の投与群の雌雄で認められたことから、雌雄ともに 30 mg/kg/day と判断した。

生殖発生毒性に対しては雌雄親動物及び児動物に対する無影響量は、300 mg/kg 投与群で未交尾動物が 2 例、不妊動物が 2 例みられ、妊娠期間が延長し、死産児率の高値、出生率の低値、出生児の生後 4 日生存率の低下傾向が認められたことから、いずれも 100 mg/kg/day と判断した。

5. 結言

厚生労働省医薬食品局審査管理課 化学物質安全対策室の委託により、プロモクロロメタンのラットを用いた経口投与による反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験を実施したので、その成績を報告する。

6. 試験材料及び方法

6.1 被験物質及び媒体

6.1.1 被験物質

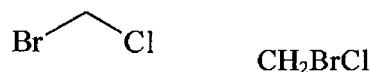
プロモクロロメタンは
番号 : A-2187、添付資料 1)。

名称 (英名) : プロモクロロメタン (Bromochloromethane)

別名 : Methylene Bromochloride

CAS 番号 : 74-97-5

構造式又は示性式 :



分子量 : 129.38

純度 (GC) : 99.1%

入手量 : 1000 g (500 g を 2 本)

常温における性状 : 無色透明液体

保存方法 : 冷暗所 (許容値 : 1~10°C、実測値 : 3~6°C)、密栓、遮光

保存場所 : 御殿場研究所 被験物質保存室及び第 1 研究棟被験物質調製室

取扱い上の注意 : 作業場の換気を十分に行い、マスク、保護眼鏡、保護手袋等の適切な保護具を着用し、直接の接触を防ぐ。粉塵が飛散しないように取り扱う。取り扱い後は、手、顔等を良く洗い、うがいをする。

安定性 : 投与期間終了後に株式会社ボゾリサーチセンター御殿場研究所で分析を行い、投与期間中の安定性を確認した結果、安定性に問題はなかった (添付資料 2)。

残量の処置 : 被験物質 5 g を保存試料として御殿場研究所 被験物質保存室に保存した。分析用に小分けした残量は廃棄し、動物試験終了後の残量はすべて焼却処分した。

6.1.2 媒体

名称 : コーンオイル

ロット番号 : PEJ5231、PEG0519

製造者 : 和光純薬工業株式会社

保存方法 : 室温

保存場所 : 御殿場研究所 第1研究棟被験物質調製室

6.2 被験液の調製

6.2.1 被験液の調製及び保存方法

濃度ごとに必要量の被験物質を秤取し、コーンオイルに溶解させ、規定量とし、6、20及び60 mg/mL 液を調製した。調製は最大7日分を7日に1回以上の頻度で行い、使用時まで遮光容器（褐色ガラス瓶）に入れて冷暗所（冷蔵庫内、許容範囲：1~10°C、実測値：3~7°C）で保存した。被験液は調製後7日以内に使用した。残液は吸水性のよいもの（ペーパータオル等）に吸収させて焼却処分した。

6.2.2 被験液の安定性

本被験物質の1及び200 mg/mL 溶液（媒体：コーンオイル）は、褐色瓶に入れ冷所（冷蔵庫内、1~10°C）で8日間、その後室温で24時間安定であることが株式会社ボゾリサーチセンターで確認されている（試験番号：A-2187、添付資料3）。

6.2.3 被験液の濃度確認

投与1週と雄の投与最終週（投与6週）の2回、投与に用いる各濃度液について株式会社ボゾリサーチセンター御殿場研究所でGC法により分析した。その結果、各濃度液ともに表示値に対する割合は94.3~101.0%であり、許容範囲内（濃度：表示値に対する割合；100.0±10.0%）であった（添付資料4、5）。

[測定対象標準物質]

名称	:	ブロモクロロメタン Methylene Bromochloride
ロット番号	:	FGJ01
純度	:	99.1%
保存方法	:	冷暗所（実測値：2~7°C）、密栓、遮光
保存場所	:	御殿場研究所 被験物質保存室及び生化学部標準物質保存場所

[GC測定用試料溶液の調製]

ブロモクロロメタンの0.5000 gを精密に秤量し、N-メチル-2-ピロリジノンを加えて希釈して全量50 mLとした標準原液を用時調製した（調製濃度：10.0 mg/mL）。この1 mLを正確に採取し、N-メチル-2-ピロリジノンで希釈して全量100 mLとした標準溶液を用時調製した（調製濃度：0.1 mg/mL）。

各測定試料をn=3で採取し、以下の表に従って測定実測試料を用時調製した。

測定試料 (mg/mL)	1次希釀		2次希釀		希釈率
	採取量 (mL)	定容量 (mL)	採取量 (mL)	定容量 (mL)	
6	0.5	30	—	—	60
20	1	20	1	10	200
60	0.5	30	1	10	600

溶媒：*N*-メチル-2-ピロリジノン

[測定条件]

CG 条件

カラム	:	DB-17MS (0.25 mm I.D.×30 m、膜厚 0.25 μm、J&W)
キャリアガス	:	He
流量モード	:	コンスタントフロー モード
He 流量	:	0.5 mL/min
注入モード	:	スプリット
スプリット比	:	5:1
注入口温度	:	140°C
検出器	:	Flame ionization detector (FID)
検出器温度	:	250°C
H ₂ 流量	:	40 mL/min
Air 流量	:	450 mL/min
メーカーアップガス	:	N ₂
メーカーアップガスモード	:	コンスタント カラム+メーカーアップ流量モード
メーカーアップ流量	:	30 mL/min
オーブン温度	:	40°C→60°C (10°C/分、2 分保持) →240°C (30°C/分、13 分保持)
注入量	:	1 μL

[システム適合性]

測定開始時に標準溶液を3回連続注入し、プロモクロロメタンの保持時間及びピーク面積の再現性を確認した。評価基準は保持時間及びピーク面積の相対標準偏差が5%以下とした。

その結果、ピーク面積の相対標準偏差は0.9%以下、保持時間の相対標準偏差は0.0%であり、すべて判定基準を満たす結果であったことから、本測定の信頼性は保証された。

[測定値の算出]

標準溶液を3回注入してプロモクロロメタンのピーク面積の平均値(Q_s)を求めた。別に測定実測試料を1回注入してプロモクロロメタンのピーク面積(Q_t)を求め、以

以下の式により測定試料中のプロモクロロメタン濃度を求め、その平均値を算出した。また、その平均値を用いて表示値に対する割合（%）を算出した。

$$\text{測定試料中プロモクロロメタン濃度 (mg/mL)} = \frac{Qt}{Qs} \times A \times F$$

Qt : 測定実測試料のプロモクロロメタンのピーク面積

Qs : 標準溶液のプロモクロロメタンの平均ピーク面積

A : 標準溶液中のプロモクロロメタン濃度 (mg/mL)

F : 希釈率

6.3 試験動物

Sprague-Dawley 系 SPF ラット [Crl:CD(SD)、日本チャールス・リバー株式会社、厚木飼育センター] の雄 62 匹及び雌 73 匹をそれぞれ 8 週齢で入手^{注1)}し、15 日間の検疫・馴化飼育を行った。その間、一般状態の観察（1 回/日、詳細な一般状態の観察は馴化期間中 1 回）、体重測定（動物入荷日及び入所 3 日、その後は週 1 回）及び性周期検査（検疫期間終了後の 11 日間）を基に、雄は一般状態、雌は一般状態及び性周期にそれぞれ異常がなく^{注2)}、体重増加が良好な雄 48 匹及び雌 58 匹をそれぞれ選択し、10 週齢で投与に使用した。投与開始時の体重範囲は雄で 350~419g、雌は 212~267g であった。

なお、群分けは群分け当日（投与開始の前日）の体重により各群の平均体重ができるだけ均等となるよう各群に割り付けた。個体の割付けはコンピュータを用いたブロック配置法及び無作為抽出法の組み合わせ（ブロック配置法で必要な群を構成し、試験群及び群内の個体番号を無作為に割当てた）で行った。群分けから除外された動物のうち、雄 14 匹及び性周期異常の雌 1 匹はエーテル深麻酔下で安楽死させた。残りの雌 14 匹は無処置動物として継続飼育した。なお、継続飼育した無処置雌動物は死亡などにより交配すべき相手がない動物がみられなかつたため、交配終了後、試験系から除外しエーテル深麻酔下で安楽死させた。

注 1) : 試験計画書に従い、動物発注数は雄 60 匹及び雌 70 匹であったが、実際には雄 62 匹及び雌 73 匹が納入された。

注 2) : 膀胱像は発情前期 (P)、発情期 (E)、発情後期 (M) 及び発情休止期 (D) に分類し、P→E→M→D (→P) の順序で周期的变化を示し、4 又は 5 日の周期を繰り返す個体を正常、それ以外を性周期異常とした。

6.4 飼育条件

動物は、温度 21~25°C、相対湿度 42~64%、換気回数 1 時間 10~15 回、照明 1 日 12 時間 (07:00~19:00) の動物飼育室（飼育室番号：302 号室）でプラスチック製ケージ (W 250×D 350×H 200mm : 日本ケージ株式会社) で個別に、交配期間中は雌雄各 1 匹の計 2 匹を収容した。なお、妊娠 17 日から授乳 4 日までは、床敷（ホワイト

フレーク：日本チャールス・リバー株式会社)を入れたプラスチック製エコンケージ（W340×D400×H185 mm：日本クレア株式会社）に母体単位で収容した。飼料は固形飼料 NMF(放射線滅菌、オリエンタル酵母工業株式会社、ロット番号：090423、090521)をステンレス製給餌器を用いて自由に摂取させた。飲料水は水道水（御殿場市営水道水：給水瓶使用）を自由に摂取させた。

飼料中の混入物質等については使用したロットについて、Eurofis Scientific Analyticeで実施した分析結果を入手し、床敷については、Eurofis Scientific Analyticeで定期的（年6回）に実施した分析結果を入手した。飲料水については、水道法に準拠した水質の分析を東芝機械環境センター株式会社に定期的（年4回）に依頼し、結果を入手した。これらのデータにより飼料、飲料水及び床敷中の混入物質が試験成績に影響を与える可能性のないことを確認し、分析報告書の写しを保存した。

6.5 動物の識別

動物の個体識別は入荷時に小動物用耳標をつけて行った。群分け後は、飼育ケージに群ごとに色分けしたケージラベルを付け、試験番号、投与経路、投与量、性、動物番号、耳標番号、剖検予定日（主群の雄及び回復群の雌雄）、交尾成立日（主群の雌雄）及び分娩日（主群の雌）を明記した。

6.6 投与経路、投与期間及び投与回数並びに回復期間とそれらの選択理由

投与経路は、OECD Guideline for Testing of Chemicals 422に準じ、経口投与を選択した。投与期間は、主群の雄及び回復群の雌雄で交配前14日間、交配期間14日間及び交配期間終了後14日間の42日間、主群の雌で交配前14日間、交配期間及び妊娠期間を通して授乳4日までの42~53日間とした。

回復期間は回復群の雌雄について、投与終了後14日間とし、その間休薬し、観察を行った。

6.7 投与方法

投与方法は、げっ歯類の経口投与に際して一般的な強制経口投与とした。投与容量は5mL/kg体重とし、フレキシブル胃ゾンデを用いて1日1回強制経口投与した（07:50~11:19、ただし、投与時に分娩中であった動物は、分娩終了後の13:56~14:44に投与した）。対照群には媒体（コーンオイル）を同様に投与した。個体ごとの投与液量（表示単位：0.1mL）は最新の体重を基準に算出した。なお、雌の妊娠中の妊娠7日以降については妊娠7日の体重を基準に算出した。

6.8 投与量及び群構成

投与量は30、100及び300mg/kg/dayの3用量とし、対照群を加え4群構成とした。1群当たりの動物数は交配を行う主群の各群で雌雄各12匹、交配しない回復群として対照群及び高用量群で雌各5匹とした。なお、雄の対照群及び高用量群の群内番号8

番以降の動物は、最終投与終了日以降は回復群に移行した。群構成表を表1に示した。

表1. 群構成表

試験群	投与量 (mg/kg/day)	被験液濃度 (mg/mL)	投与容量 (mL/kg)	性	主群		回復群	
					動物数	動物番号	動物数	動物番号
対照群	0	0	5	雄	12	1001~1012	5 ^{注)}	1008~1012
				雌	12	1101~1112	5	1113~1117
低用量群	30	6	5	雄	12	2001~2012	—	—
				雌	12	2101~2112	—	—
中用量群	100	20	5	雄	12	3001~3012	—	—
				雌	12	3101~3112	—	—
高用量群	300	60	5	雄	12	4001~4012	5 ^{注)}	4008~4012
				雌	12	4101~4112	5	4113~4117

注) : 雄の回復群は主群より移行した。

6.9 投与量の設定根拠

先に実施した「ブロモクロロメタンのラットを用いた14日間反復経口投与毒性試験（予備試験）」（株式会社ボゾリサーチセンター、試験番号：C-R125、投与量：100、300及び1000 mg/kg、添付資料6）¹⁾において、1000 mg/kg 投与群の雌雄で流涎、はいざり姿勢及び歩行異常がみられ、雄で体重の増加抑制傾向、雌で体重の増加傾向並びに摂餌量の高値が認められた。また、雌雄で血小板数及び白血球数の高値、肝臓重量の高値、肝臓の大型化、雌で腎臓重量の高値、卵巣重量の低値が認められた。300 mg/kg 投与群では、雄の肝臓及び雌の腎臓重量の高値が認められた。これらの結果から、本試験では投与期間が予備試験の約3倍強になることを考慮すると、1000 mg/kg は本試験の投与量には高すぎると考えられた。したがって、その約1/3量で明らかな被験物質の影響がみられると思われる、300 mg/kg を高用量とし、以下公比約3で除して100及び30 mg/kg の3用量を設定した。

6.10 観察及び検査の方法

試験日の起算は下記の通りとした。

投与期間開始日	: 投与 1 日
投与 1 日から 7 日	: 投与 1 週
交尾成立日	: 妊娠 0 日
交尾までに要した日数	: 交配開始日を 0 日として起算
分娩終了日	: 授乳 0 日
回復期間開始日	: 回復 1 日（投与期間終了の翌日）
回復 1 日から 7 日	: 回復 1 週

6.10.1 一般状態の観察

全個体について、投与期間中は3回/日（投与前、投与約15分後及び投与約2時間後）、回復期間中は1回/日（午前）、それぞれ体外表、栄養状態、姿勢、行動及び排

泄物の異常などの一般状態を観察した。なお、動物を手に持てての定期的な観察は、詳細な一般状態の観察と兼ねた。

6.10.2 詳細な一般状態の観察、機能検査、握力及び自発運動量の測定

詳細な一般状態の観察は全個体について、投与期間開始前（馴化期間中）に1回、主群の雄は投与期間中毎週1回、主群の雌は交配前投与期間中毎週1回、交配期間中、妊娠期間中及び授乳期間中は指定された日（交尾動物は妊娠1、7、14及び20日、未交尾動物は交配7及び14日、分娩動物は授乳4日）にそれぞれ行った。回復群は投与期間中及び回復期間中毎週1回行った。

機能検査、握力測定及び自発運動量の測定は、対照群及び高用量群の雄で群内番号8~12番の5匹、その他の主群及び回復群で動物番号が若い順（但し、主群雌は分娩順）の5匹について行った。投与期間中は主群の雌で授乳4日（投与42~45日）に、その他は投与期間終了週（投与6週、投与41日）に、回復期間中は対照群及び高用量群の雌雄で回復期間終了週（回復2週、雌雄ともに回復12日）に行った。

上記の観察、検査及び測定は、動物をランダムに配置し、観察者に対して投与量などの情報を制限（ブラインド化）した状態で行った。なお、詳細な一般状態の観察及び機能検査の観察・検査結果について、実数データ以外はスコア化した評点法を用いて記録した。

- 1) 詳細な一般状態の観察
 - ケージ内観察
 - 姿勢、痙攣、異常行動
 - 手に持てての観察
 - ケージからの取り出し易さ、被毛・皮膚の状態、眼・鼻の分泌物、眼球突出、眼瞼閉鎖状態、可視粘膜、自律神経機能（流涙、流涎、立毛、瞳孔径、異常呼吸）、ハンドリングに対する反応、ハンドリング時の発声
 - オープンフィールド内観察
 - 覚醒状態、痙攣、異常行動、常同行動、歩行、姿勢、身繕い、立ち上がり回数、排泄物（排糞数、排尿）
- 2) 機能検査
 - 聴覚反応、接近反応、接触反応、痛覚反応、瞳孔反射、空中正向反射、着地開脚幅
- 3) 握力測定
 - 機能検査に引き続き、CPUゲージ MODEL-9502A（アイコーエンジニアリング株式会社）を用いて前肢及び後肢の握力を測定した。
- 4) 自発運動量の測定
 - 握力測定に引き続き、実験動物用自発運動センサーNS-AS01（株式会社ニューロサイエンス）を用いて自発運動量を測定した。測定は1時間とし、10分間隔及び0~60分の測定値の集計をした。

6.10.3 体重測定

主群の雄は投与 1、4、8、11、15、18、22、25、29、32、36、39、42 及び剖検日に、回復群の雌雄は主群の雄の測定日に加え、回復 1、4、8、11、14 及び剖検日に、主群の雌は投与 1、4、8、11、15 日（未交尾動物は投与 18、22、25 及び 29 日（交配中））、妊娠 0、4、7、11、14、17 及び 20 日、授乳 0 及び 4 日並びに剖検日に体重を測定した。

なお、午後の分娩観察時に分娩の終了が確認された個体の授乳 0 日の体重測定（13:44~17:00）を除き、08:04~10:25 の間に行った。剖検日には相対器官重量算出のため、前日から約 16 時間絶食させた後の体重を測定した。

6.10.4 摂餌量測定

全個体について、主群の雄は投与 1、4、8、11、15、32、36、39 及び 42 日に、回復群の雌雄は主群の雄の測定日に加え、回復 1、4、8、11 及び 14 日に、主群の雌は投与 1、4、8、11 及び 15 日、妊娠 1、4、7、11、14、17 及び 20 日並びに授乳 2 及び 4 日に残餌量を測定し、前日の給餌量から 1 匹当たりの 1 日摂餌量を算出した。給餌量及び残餌量の測定は 08:06~10:36 の間に行った。

6.10.5 膀胱検査

主群の雌の全個体について、投与開始翌日から交尾が認められるまで毎日（午前）膀胱を採取した。交配前投与期間中は膀胱像を発情前期（P）、発情期（E）、発情後期（M）及び発情休止期（D）に分類し、発情期像発現回数及び発情期から次の発情期までの日数（性周期）を調べた。また、観察雌個体数に対する性周期異常を示した個体数の割合を調べた。なお、P→E→M→D（→P）の順序で周期的変化を示し、4 又は 5 日の周期を繰り返す個体を正常、それ以外を性周期異常とした。交配期間中は膀胱内の精子の有無を調べた。

6.10.6 交配方法

交配前投与期間終了後、同じ投与群の主群の雌雄を 1:1 で終夜同居させ、翌朝、膀胱形成あるいは膀胱中に精子を確認したものを交尾成立とみなした。交配開始日を 0 日と起算して交尾までに要した日数を調べた。

なお、交尾が確認されなかった 300 mg/kg 投与群の 2 例（動物番号 4102、4111）は、交配期間終了日を妊娠 0 日として、一般状態の観察、詳細な一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定並びに投与を行った。また、交配開始 6 日に未交尾動物について、精子の有無と性周期を再確認した結果、300 mg/kg 投与群の 1 例（動物番号 4101）は精子数が少なく、交配開始 3 日の交尾を見逃していたことが判明した。そこで交配開始 3 日を妊娠 0 日とし、妊娠動物として扱った。これら動物は妊娠 25 日の 10 時までに分娩が終了しなかつたため剖検を行い、妊娠の有無を確認した結果、着床は認められず、不妊とみなし、妊娠期間中のデータを統計解析より除外した。

6.10.7 分娩及び授乳観察

1) 母動物の観察

交尾確認雌動物は全例自然分娩させ、分娩状態の異常の有無を観察した。分娩終了の確認は妊娠 21 日から妊娠 25 日の 10 時まで 1 日 2 回（午前、午後）を行い、妊娠期間を 0.5 日単位で算出したが、帳票への記載は 1 日単位とした。分娩が 17 時までに終了した場合、その日を授乳 0 日とした。妊娠 25 日の午前 10 時までに分娩しなかった 300 mg/kg 投与群の 2 例（動物番号 4101、4108）は、エーテル麻酔下で腹大動脈切断により放血致死させた後剖検を行い、妊娠の有無を確認した。その結果、着床は認められなかつたため、妊娠期間中のデータを統計解析より除外した。分娩が終了した母動物は胎盤及び羊膜の処理の有無を観察し、授乳 4 日まで出生児を授乳させ、児集め、宮巣及び授乳を指標として授乳状態を観察した。

分娩した母動物は授乳 4 日から一夜（約 16~20 時間）絶食させた授乳 5 日に、各群 5 匹は血液学検査及び血液化学検査のための採血後に、その他の動物はエーテル麻酔下で腹大動脈切断により放血致死させ、黄体数及び着床痕数を数えた。

対照群及び 30 mg/kg 投与群の各 1 例（動物番号 1107、2101）は授乳 2 日までに出生児全例が死亡したため、授乳 2 日にエーテル麻酔下で腹大動脈切断により放血致死させた後剖検を行い、黄体数及び着床痕数を数えた。

2) 出生児の観察

出生日（生後 0 日）に出生児数、死産児数を数えた。出生児は外表異常の有無を観察^{注)}し、性別を判定して体重を測定した後、母動物に授乳させた。出生児は生死の観察を生後 4 日まで毎日 1 回行った。なお、死産児及び死亡児は廃棄した。

生後 4 日に体重を測定した後、全例をエーテル麻酔下で放血致死させて剖検を行い、体外表、胸部・腹部を含む器官・組織の異常の有無を調べた。なお、出生児の体重は個体別に体重を測定し、各腹単位で雌雄別に平均値を算出した。

注)：頭部の陥没や裂、顔面の鼻吻や上下顎、口唇のゆがみや裂、眼瞼や耳介の大きさ、形状、左右のバランス、胸腔部のゆがみや大きさ、内部臓器の突出、尾部の長さ、形状、数、欠損、四肢部の長さ、形状、指の数、欠損及び左右のバランスに注意して観察し、正常と異なる場合を異常とした。

6.10.8 尿検査（摂水量測定を含む）

投与終了週（投与 6 週、投与 37~38 日）及び回復終了週（回復 2 週、回復 9~10 日）に雄の各群 5 例（対照群及び高用量群の群内番号 8~12 番の 5 匹、その他の群は動物番号が若い 5 例）について、それぞれ採尿器をセットしたケージに収容し、絶食・自由摂水下で 4 時間尿を、次いで自由摂食・自由摂水下でその後の 20 時間尿を採取した。採取した最初の 4 時間尿について、pH 以下沈渣までの検査と尿量を、その後に得られた 20 時間尿について浸透圧及び尿量の測定を行った。尿量は 4 時間の尿量と 20 時間の尿量を合計して 1 日量を算出した。摂水量は、採尿器をセットしたケージに収容した状態で前日からの 1 日の摂水量を給水瓶を用いて測定した。

なお、投与 6 週の尿検査において、水遊びによると考えられる摂水量の著明な高値

が雄 1 例（動物番号 1008）にみられたため、全項目について再検査（投与 6 週、投与 40~41 日）を実施した。再検査の結果、摂水量は背景データと同程度であることから、再検査の値を採用した。

<u>検査項目</u>	<u>測定方法</u>
pH	オーションスティックス-7EA 試験紙 [アークレイ株式会社] ^{a)}
たん白質	オーションスティックス-7EA 試験紙 [アークレイ株式会社] ^{a)}
ケトン体	オーションスティックス-7EA 試験紙 [アークレイ株式会社] ^{a)}
グルコース	オーションスティックス-7EA 試験紙 [アークレイ株式会社] ^{a)}
潜血	オーションスティックス-7EA 試験紙 [アークレイ株式会社] ^{a)}
ビリルビン	オーションスティックス-7EA 試験紙 [アークレイ株式会社] ^{a)}
ウロビリノーゲン	オーションスティックス-7EA 試験紙 [アークレイ株式会社] ^{a)}
色調	肉眼観察
沈渣	鏡検法
尿量（4 時間量）	目盛付スピッツ管を用いた容量測定（単位：mL）
浸透圧	氷点降下法 ^{b)} （単位：mOsm/kg）
尿量（20 時間量）	メスシリンドーを用いた容量測定（単位：mL）
摂水量（24 時間量）	重量測定
使用測定機器	

a) : AUTION MINI™ AM-4290 (アークレイ株式会社)

b) : 自動浸透圧測定装置 オートアンドスタット OM-6030 (アークレイ株式会社)

6.10.9 血液学検査

最終投与翌日及び回復期間終了日に、前日から一夜（約 16~20 時間）絶食させた各群雌雄各 5 匹^{注1)}について、エーテル麻酔下に開腹し、腹大動脈から EDTA-2K 加採血瓶（SB-41 : シスマックス株式会社）に血液約 1mL を採取し、以下の項目について測定した。なお、採血した全例について、May-Grünwald-Giemsa 染色法による血液塗抹標本を作製した。ただし、プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間及びフィブリノーゲン量については、3.8% クエン酸ナトリウム溶液加試験管（血液 9 容に対し 1 容の割合）に採取した血液を遠心分離（約 3,000 rpm、約 1,600×g、約 10 分間）して得られた血漿を用いて測定した。

<u>検査項目</u>	<u>測定方法</u>	<u>単位</u>
赤血球数(RBC)	2 角度レーザーフローサイトメトリー法 ^{c)}	10 ⁴ /μL
ヘモグロビン量(Hb)	シアノメトヘモグロビン変法 ^{c)}	g/dL
ヘマトクリット値(Ht)	赤血球数及び平均赤血球容積から算出 ^{c)}	%
平均赤血球容積(MCV)	2 角度レーザーフローサイトメトリー法 ^{c)}	fL
平均赤血球血色素量(MCH)	赤血球数及びヘモグロビン量から算出 ^{c)}	pg

検査項目	測定方法	単位
平均赤血球血色素濃度(MCHC)	ヘモグロビン量及びヘマトクリット値から算出 ^{c)}	g/dL
網赤血球率(Reticulocyte)	RNA染色によるレーザーフローサイトメトリー法 ^{c)}	%
血小板数(Platelet)	2角度レーザーフローサイトメトリー法 ^{c)}	10 ⁴ /μL
白血球数(WBC)	2角度レーザーフローサイトメトリー法 ^{c)}	10 ² /μL
白血球百分率 ^{注2)}	ペルオキシダーゼ染色によるフローサイト メトリー法+2角度レーザーフローサイトメトリー法 ^{c)}	%
白血球各細胞の絶対数 ^{注2)}	ペルオキシダーゼ染色によるフローサイト メトリー法+2角度レーザーフローサイトメトリー法 ^{c)}	10 ² /μL
プロトロンビン時間 (PT)	クロット法 ^{d)}	s
活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)	クロット法 ^{d)}	s
フィブリノゲン量 (FIB)	トロンボプラスチン法 ^{d)}	mg/dL
使用測定機器		

c)：総合血液学検査装置 アドヴィア 120 (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Illinois, USA)

d)：血液凝固自動測定装置 ACL 100 (Instrumentation Laboratory)

注 1)：主群の検査対象各群雌雄各5匹は以下の例とした。なお、雌4104を追加検査したが、参考値とした。

雄	雌
1001~1005	1101、1104、1108、1110、1111
2001~2005	2103、2106、2107、2108、2110
3001~3005	3101、3102、3104、3109、3112
4001~4005	4103、4105、4106、4109、4110

注 2)：好中球、好酸球、好塩基球、リンパ球、单球及び大型非染色球

6.10.10 血液化学検査

血液学検査用試料と同時に採取した血液を凝固促進剤入り試験管（ベノジェクト II-オートセップ：テルモ株式会社）に取り、遠心分離（約 3,000 rpm、約 1,600×g、約 10 分間）して得られた血清を用いて以下の項目について測定した。ただし、AST、ALT、LDH 及び γ-GTP については、ヘパリン加試験管（血液 1 mL 当たり約 20 単位のヘパリン）に採取した血液約 2mL を遠心分離（約 3,000 rpm、約 1,600×g、約 10 分間）して得られた血漿を用いて測定した。

検査項目	測定方法	単位
ALP	Bessey-Lowry 法 ^{e)}	IU/L
総コレステロール	CEH-COD-POD 法 ^{e)}	mg/dL
トリグリセライド	LPL-GK-GPO-POD 法 ^{e)}	mg/dL
リン脂質	PLD-ChOD-POD 法 ^{e)}	mg/dL

検査項目	測定方法	単位
総ビリルビン	ビリルビンオキシダーゼ法 ^{e)}	mg/dL
グルコース	グルコースデヒドログナーゼ法 ^{e)}	mg/dL
尿素窒素	Urease-LEDH 法 ^{e)}	mg/dL
クレアチニン	Creatininase-creatinase-sarcosine-oxidase-POD 法 ^{e)}	mg/dL
ナトリウム	イオン選択電極法 ^{e)}	mmol/L
カリウム	イオン選択電極法 ^{e)}	mmol/L
塩素	電量滴定法 ^{f)}	mmol/L
カルシウム	OCPC 法 ^{e)}	mg/dL
無機リン	モリブデン酸法 ^{e)}	mg/dL
総たん白質	Biuret 法 ^{e)}	g/dL
アルブミン	BCG 法 ^{e)}	g/dL
A/G 比	総たん白質及びアルブミンから算出	
AST(GOT)	UV-rate 法 ^{e)}	IU/L
ALT(GPT)	UV-rate 法 ^{e)}	IU/L
LDH	UV-rate 法 ^{e)}	IU/L
γ-GTP	L-γ-グルタミル-3-カルボキシ-4-ニトロアニリド 法 ^{e)}	IU/L
使用測定機器		

e) : 臨床化学自動分析装置 TBA-120FR 形 (東芝メディカルシステムズ株式会社)

f) : 全自動電解質分析装置 PVA-aII (株式会社アナリティカル・インスツルメンツ)

6.10.11 病理学検査

1) 剖検及び器官重量測定

すべての生存動物について、最終投与翌日及び回復期間終了日の血液・血液化学検査に供した動物（各群雌雄各 5 匹）は採血後に、その他の動物はエーテル麻酔下で腹大動脈切断により放血致死させた後に、それぞれ体外表・頭部・胸部・腹部を含む全身の器官・組織の肉眼による詳細な病理解剖を行い、結果を記録した。なお、雌動物（母動物）は授乳 5 日の剖検時に黄体数及び着床痕数を数えた。次いで、血液・血液化学検査に供した各群雌雄各 5 匹について、以下に示す器官（精巣及び精巣上体は全例）の重量（絶対重量）を測定するとともに、絶対重量と剖検時の体重から体重 100g 当たりの相対重量を算出した。なお、*印をつけた両側性の器官については左右別々に測定し、その合計値で評価した。

脳、甲状腺*（上皮小体を含む）、胸腺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓*、副腎*、精巣*、精巣上体*

2) 病理組織学検査

全動物について、以下に示す器官・組織をリン酸緩衝 10 vol% ホルマリン液で固定、

保存した（固定時に肺にはリン酸緩衝 10 vol%ホルマリン液を注入した。ただし、精巣及び精巣上体はブアン液で固定した後リン酸緩衝 10 vol%ホルマリン液で保存した）。次いで、パラフィン包埋した後、切片とし（下線を施した器官・組織は固定・保存のみとした）、ヘマトキシリン・エオジン（H・E）染色を行い、このうち対照群及び高用量群の血液・血液化学検査に供した雌雄各 5 匹並びに全動物の肉眼的異常部位について鏡検した（精巣、精巣上体、子宮、精嚢については両側を摘出し、両側を鏡検、坐骨神経、甲状腺、上皮小体、副腎、腎臓及び大腿骨（骨髄を含む）については両側を摘出し、片側を鏡検）。その結果、雌雄の肝臓、甲状腺及び胃、雌の副腎及び腎臓に被験物質投与の影響が疑われたため、主群及び回復群の全例について鏡検した。なお、精巣については、ヘマトキシリン・エオジン（H・E）染色で被験物質投与の影響が疑われなかつたため、PAS・ヘマトキシリン染色標本の作製及び精子形成サイクル（ステージVII又はVIII）の観察は行わなかつた。

大脳、小脳、下垂体、脊髄（胸部）、坐骨神経、甲状腺、上皮小体、副腎、胸腺、脾臓、頸下リンパ節、腸間膜リンパ節、心臓、肺（気管支を含む）、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、肝臓、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、卵巣、子宮、精嚢、胸骨（骨髄を含む）、大腿骨（骨髄を含む）、肉眼的異常部位、個体識別部（耳介）

6.11 統計解析

6.11.1 パラメータの算出

以下の式により交尾率、受胎率、授精率、出産率及び出生児の性比を群ごとに、妊娠期間、着床率、死産児率、出生率、外表異常率及び生後 4 日生存率を母動物ごとに算出した。なお、出生児の体重については母動物ごと雌雄別に平均値を求めた。

$$\text{交尾率}(\%) = (\text{交尾動物数}/\text{同居動物数}) \times 100$$

$$\text{受胎率}(\%) = (\text{妊娠した雌の数}/\text{交尾した雌の数}) \times 100$$

$$\text{授精率}(\%) = (\text{妊娠した雌の数}/\text{交尾した雄の数}) \times 100$$

$$\text{妊娠期間(日)} = \text{妊娠 0 日から分娩した日までの日数}$$

$$\text{出産率}(\%) = (\text{出生児出産雌数}/\text{妊娠雌数}) \times 100$$

$$\text{着床率}(\%) = (\text{着床痕数}/\text{黄体数}) \times 100$$

$$\text{死産児率}(\%) = (\text{死産児数}/\text{総出産児数}) \times 100$$

$$\text{出生率}(\%) = (\text{出生児数}/\text{総出産児数}) \times 100$$

$$\text{外表異常率}(\%) = (\text{外表異常児数}/\text{出生児数}) \times 100$$

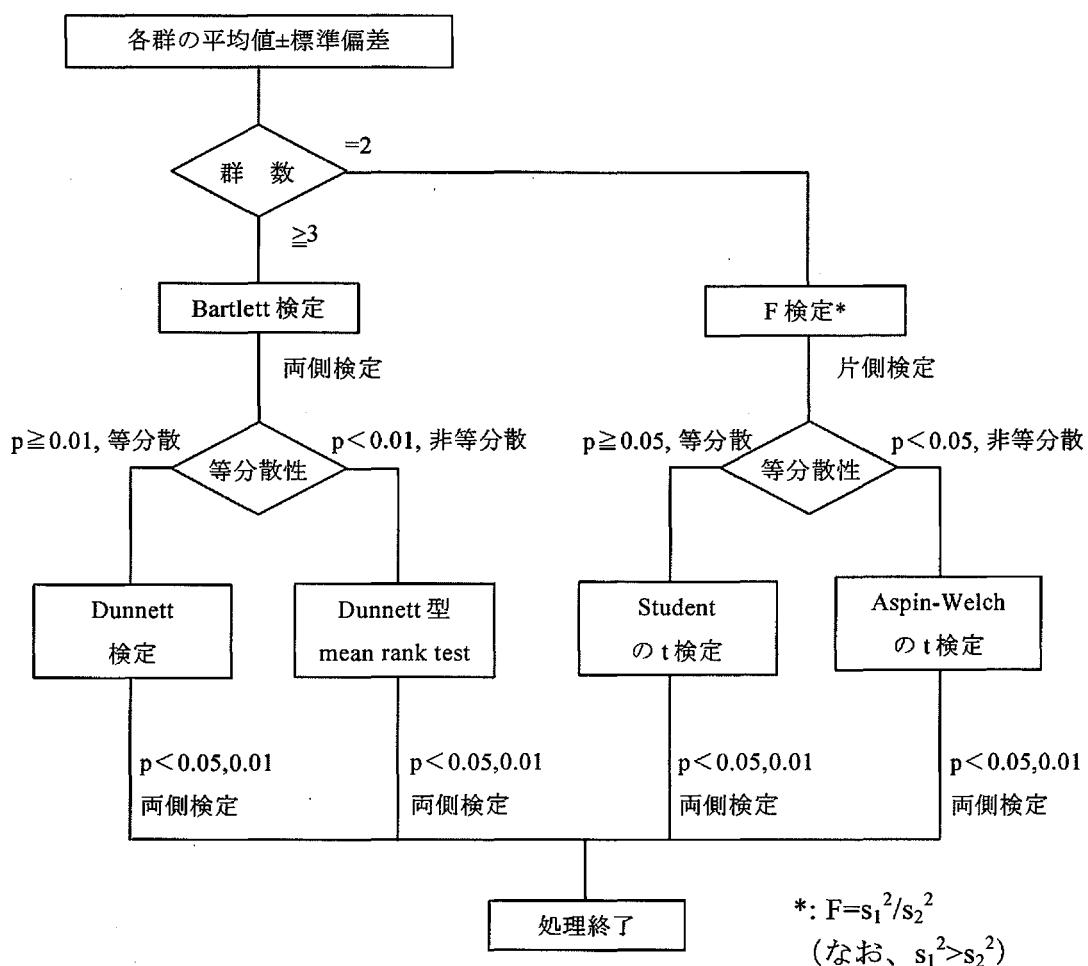
$$\text{性比} = \text{雄数} / (\text{雄数} + \text{雌数})$$

$$\text{生後 4 日生存率}(\%) = (\text{生後 4 日生存児数}/\text{出生児数}) \times 100$$

6.11.2 検定

データは対照群と各用量群との差について統計学的有意性の検定を行った。

体重、体重増加量（雄及び回復群雌：投与1~42日及び回復1~14日、主群雌：投与1~15日、妊娠0~20日及び授乳0~4日、出生児：生後0~4日）、摂餌量、摂水量、発情期像発現回数、性周期、交尾までに要した日数、妊娠期間、黄体数、着床痕数、生存児数、オープンフィールド内観察（排糞数、立ち上がり回数）、機能検査（着地開脚幅）、握力及び自発運動量、尿検査の定量的項目、血液学検査、血液化学検査及び器官重量は、群ごとに平均値及び標準偏差を求め、次に示す模式図の方法に従って検定した^{2)、3)}。



着床率、死産児率、出生率、外表異常率、生後4日生存率については Dunnett型検定を行った（有意水準0.05及び0.01、両側）³⁾。

交尾率、授精率、受胎率、出産率、出生児の性比は、各群の交尾動物数、妊娠雌動物数、生存児出産雌動物数、雄生存児数、雌生存児数より算出し、Yeatesの連続修正による χ^2 検定を行った（有意水準0.05及び0.01、両側）。ただし、期待度数が5以下のセルがみられる場合には Fisher の直接確率計算法により検定を行った（有意水準

R-1029

0.05 及び 0.01、両側)³⁾。なお、聴覚反応、接近反応、接触反応、痛覚反応、瞳孔反射、空中正向反射については、全例が正常な反応を示したため、統計解析は行わなかつた。

7. 試験結果

7.1 一般状態 (Table 1-1~1-7、Appendix 1-1~1-22)

1) 投与期間

主群の雄の投与期間中は、いずれの動物にも異常はなかった。

主群の雌の交配前及び妊娠期間中は、いずれの動物にも異常はなかった。しかし、主群の雌の授乳期間中において、対照群の1例（動物番号1107）で授乳1日に哺育行動の減少がみられ、授乳2日までに出生児全例が死亡した。また、30 mg/kg投与群の1例（動物番号2101）で授乳1日に哺育行動の減少、体温低下及び膣からの出血による被毛の汚れ、授乳2日に膣からの出血による被毛の汚れが継続してみられ、授乳2日までに出生児全例が死亡した。更に300 mg/kg投与群の1例（動物番号4106）で授乳3日によろめき歩行及び体温低下、授乳4日に体温低下が継続してみられ、出生児14/15例が死亡した。これら変化は分娩を契機に発現していることから、母体に対して分娩が過負荷であったことが原因と考えられ、発現状況に用量との関連がないことから、偶発的変化と判断した。

回復群の雌雄の投与期間中は、いずれの動物にも異常はなかった。

2) 回復期間

回復群の雌雄のいずれの動物にも異常はなかった。

7.2 詳細な一般状態の観察、機能検査、握力測定及び自発運動量の測定

(Fig. 1~5、Table 2-1~2-84、Appendix 2-1~2-258)

1) ケージ内観察 (Table 2-1~2-23、Appendix 2-1~2-72)

主群及び回復群の雌雄の投与期間中及び回復群の雌雄の回復期間中は、いずれの動物にも異常はなかった。

2) 手に持つての観察 (Table 2-24~2-46、Appendix 2-73~2-144)

主群及び回復群の雌雄の投与期間中及び回復群の雌雄の回復期間中において、軽度にケージから取り出しにくい動物、ハンドリング時取り扱いにくい動物又は発声する動物あるいは僅かに流涎のみられた動物が対照群を含む各群でみられたが、被験物質投与群に偏った発現ではなかった。

3) オープンフィールド内観察 (Table 2-47~2-69、Appendix 2-145~2-216)

主群及び回復群の雌雄の投与期間中及び回復群の雌雄の回復期間中は、いずれの動物にも異常はなかった。また、立ち上がり回数及び排糞の個数には対照群と各投与群との間に有意差は認められなかった。

4) 機能検査 (Table 2-70~2-74、Appendix 2-217~2-230)

主群の雌雄の投与期間終了時及び回復群の雌雄の回復期間終了時は、いずれの動物にも異常はなかった。また、着地開脚幅にも対照群と各投与群との間に有意差はなく、空中正向反射にも異常はなかった。

5) 握力測定 (Table 2-75~2-79、Appendix 2-231~2-244)

主群の雌雄の投与期間終了時は、対照群と各投与群との間に有意差は認められなかった。

回復群の雄の回復期間終了時は、対照群と 300 mg/kg 投与群の間に有意差は認められなかつたが、雌の回復期間終了時に 300 mg/kg 投与群で後肢の握力に有意な高値が認められた。しかし、投与期間終了時にみられない変化であり、高値であることから、変動範囲内の変化と判断した。

6) 自発運動量の測定 (Fig. 1~5、Table 2-80~2-84、Appendix 2-245~2-258)

主群の雄の投与期間終了時は、30 mg/kg 投与群で 0~10 分値、100 mg/kg 投与群で 30~40 分値、300 mg/kg 投与群で 0~10 分値、30~40 分値及び 0~60 の合計値に有意な高値が認められた。本変化は背景データと比べると、雄の対照群の投与期間終了時が低値であったことによるものであり、変動範囲内の変化と判断した。主群の雌の投与期間終了時は、対照群と各投与群との間に有意差は認められなかつた。

回復群の雌雄の回復期間終了時は、対照群と 300 mg/kg 投与群との間に有意差は認められなかつた。

7.3 体重 (Fig. 6~8、Table 3-1~3-7、Appendix 3-1~3-22)

1) 投与期間

主群の雌雄とともに、対照群と各投与群との間に有意差はなかつた。

回復群の雌雄とともに、対照群と 300 mg/kg 投与群との間に有意差は認められなかつた。

2) 回復期間

300 mg/kg 投与群の雌で回復期間中の体重増加量に有意な低値が認められたが、投与期間中にみられない変化であること、投与を継続した主群雌の授乳期間中の体重は順調に体重増加していること、雌は 17 週齢であり、体重がプラトーに達していること、更には雄に同変化が認められないことを考慮すれば、被験物質投与の影響とは判断しなかつた。

7.4 摂餌量 (Fig. 9~11、Table 4-1~4-7、Appendix 4-1~4-22)

1) 投与期間

主群及び回復群の雌雄とともに、対照群と各投与群との間に有意差は認められなかつた。

2) 回復期間

300 mg/kg 投与群の雌雄とともに、対照群と間に有意差は認められなかつた。

7.5 尿検査 (摂水量測定を含む) (Table 5-1~5-8、Appendix 5-1~5-18)

1) 投与期間終了週検査

定性項目については、いずれの動物にも異常はなかつた。

定量項目については、いずれの検査項目においても対照群と各投与群との間に有意差は認められなかつた。

2) 回復期間終了週検査

定性項目については、いずれの動物にも異常はなかつた。

定量項目については、いずれの検査項目においても対照群と各投与群との間に有意差は認められなかつた。

7.6 血液学検査 (Table 6-1~6-8、Appendix 6-1~6-8)

1) 投与期間終了時検査

主群の雌雄ともに被験物質投与による影響は認められなかつた。

その他、100 mg/kg 以上の投与群の雄でヘモグロビン量の有意な高値、更に 300 mg/kg 投与群の雄でフィブリノーゲン量の有意な高値、単球率（数）に有意な高値が認められたが、いずれも軽微であり、生理学的変動範囲内の変化と判断した。

2) 回復期間終了時検査

回復群の雌雄ともに被験物質投与による影響は認められなかつた。

その他、300 mg/kg 投与群の雄で赤血球数の有意な低値、MCV 及び MCH の有意な高値、プロトロンビン時間の有意な低値が認められたが、いずれも軽微であることから、生理学的変動範囲内の変化と判断した。

7.7 血液化学検査 (Table 7-1~7-8、Appendix 7-1~7-8)

1) 投与期間終了時検査

30 及び 300 mg/kg 投与群の雄で AST 活性の有意な高値が認められた。この変化は 30 mg/kg 投与群の雄 3 例（動物番号 2001、2003、2004）と 300 mg/kg 投与群の雄 1 例（動物番号 4002）に AST 活性の高値の動物がいたためであり、高値の動物数、高値の程度に用量との関連がないことから、偶発的変化と判断した。また、100 及び 300

mg/kg 投与群の雌で総コレステロール及びリン脂質の有意な低値、300 mg/kg 投与群の雌で塩素の有意な高値が認められたが、軽微な変化であり、明確な用量との関連がないことから、偶発的変化と判断した。

2) 回復期間終了時検査

回復群では、300 mg/kg 投与群の雄でクレアチニンの有意な高値、同群の雌で尿素窒素の有意な低値が認められたが、クレアチニンについては投与終了時にみられない軽微な変化であり、偶発的変化と判断した。尿素窒素については、投与終了時にみられない変化であり、かつ低値であることから毒性学的意義はない。

7.8 器官重量 (Table 8-1~8-9、Appendix 8-1~8-30)

1) 投与期間終了時検査

主群では、300 mg/kg 投与群の雄で肝臓の絶対及び相対重量の有意な高値、300 mg/kg 投与群の雌で肝臓、脾臓及び副腎の相対重量の有意な高値が認められた。

その他、30 mg/kg 投与群の雄で脾臓の相対重量に有意な低値が認められたが、用量との関連はなかった。

2) 回復期間終了時検査

いずれの器官・組織においても対照群と 300 mg/kg 投与群との間に有意差は認められなかった。

7.9 剖検所見 (Table 9-1、9-2、Appendix 9-1~9-106)

1) 投与期間終了時検査

腺胃部における暗赤色巣が対照群、30、100 及び 300 mg/kg 投与群の雄でそれぞれ 0、1、2 及び 3 例、雌でそれぞれ 0、1、4 及び 4 例みられた。

その他、Table 及び Appendix に示す器官・組織に所見がみられたが、出現頻度及び病理学的性状から偶発的変化と考えられた。

2) 回復期間終了時検査

Table 及び Appendix に示す器官・組織に所見がみられたが、出現頻度及び病理学的性状から偶発的変化と考えられた。

7.10 病理組織学検査 (Table 10-1~10-5、Appendix 9-1~9-106)

1) 投与期間終了時検査

被験物質投与の影響と考えられる変化が雌雄の肝臓、甲状腺及び胃、雌の副腎及び腎臓にみられた。

肝臓 : 小葉中心性肝細胞肥大、肝細胞の単細胞壊死及び微小肉芽腫の増強が 100 mg/kg 以上の投与群の雄及び 300

mg/kg 投与群の雌に、小葉中心性の肝細胞の空胞化が 100 mg/kg 以上の投与群の雌にみられた。肥大した肝細胞は、細胞質が好酸性化を示したが、所謂すりガラス様変化とは異なった像を呈していた。また、このような肝細胞肥大に混じり、小葉中心帯では肝細胞の単細胞壊死や微小肉芽腫がやや増強してみられた。小葉中心性の肝細胞空胞化は、分娩母体に限られた変化であり、妊娠・分娩が影響を及ぼした可能性も考えられた。また、小葉周辺性の肝細胞空胞化の増強が 100 mg/kg 以上の投与群の雄及び 300 mg/kg 投与群の雌にみられた。このような空胞化は、一般的には絶食時に現れる準生理的変化と考えられており、毒性学的意義は少ないものと考えられた。

Tissue Observation	Sex: Group: mg/kg/day:	Male				Female			
		Main				Main			
		0	30	100	300	0	30	100	300
Liver									
Number examined		7	12	12	7	12	12	12	12 (4)
Vacuolation, hepatocyte, central	Minimal	0	0	0	0	0	0	2	5 (0)
Vacuolation, hepatocyte, periportal	Minimal	0	0	0	0	0	0	2	5 (0)
Mild	3	5	1	0	3	3	4	1 (0)	
Moderate	3	7	10	3	1	1	4	1 (0)	
Necrosis, single cell, hepatocyte	Minimal	0	0	1	3	0	0	0	1 (0)
Mild	0	0	1	3	0	0	0	0	0 (0)
Microgranuloma	Minimal	7	11	12	7	9	8	10	11 (3)
Mild	7	11	8	4	9	8	10	10 (3)	
Hypertrophy, hepatocytic, central	Minimal	0	0	4	3	0	0	0	1 (0)
Mild	0	0	3	2	0	0	0	0	2 (0)
		0	0	0	5	0	0	0	0 (0)

()内は未分姪動物

甲状腺 : 濾胞上皮細胞の肥大が 100 mg/kg 投与群の雄及び 300 mg/kg 投与群の雌雄にみられた。本変化は小型濾胞の増数を特徴としていた。

Tissue Observation	Sex: Group: mg/kg/day:	Male				Female			
		Main				Main			
		0	30	100	300	0	30	100	300
Thyroid									
Number examined		7	12	12	7	12	12	12	12 (4)
Hypertrophy, follicular cell	Minimal	0	0	2	5	0	0	0	6 (4)
Mild	0	0	2	0	0	0	0	2 (1)	

()内は未分姪動物

胃 : 腺胃のびらんが 30 mg/kg 以上の投与群の雌雄にみられた。このような変化は、この種の動物の背景病変としてしばしば発生するものであるが、300 mg/kg 投与群の雄及び 100 及び 300 mg/kg 投与群の雌で発生頻度がやや高く、かつ 300 mg/kg 投与群では程度もやや強くみられたため、被験物質投与の影響と判断した。以上その他に、300 mg/kg 投与群の雌 1 例に軽微な前胃粘膜の肥厚がみられた。本変化は、1 例のみの発生であり、同群の他の例を含め、他に関連病変は認められず、偶発性変化の可能性が高いと考えられた。

Tissue Observation	Sex: Group: mg/kg/day:	Male				Female			
		Main				Main			
		0	30	100	300	0	30	100	300
Stomach									
Number examined		7	12	12	7	12	12	12	12 (4)
Erosion, glandular stomach	0	1	2	3	0	1	4	4	(0)
Minimal	0	1	2	2	0	1	4	1	(0)
Mild	0	0	0	1	0	0	0	3	(0)
Thickening, mucosal, forestomach	0	0	0	0	0	0	0	1	(0)
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1	(0)

()内は未分姪動物

副腎 : 主に束状帶細胞の空胞化が対照群、30 及び 300 mg/kg 投与群の各雌 1 例にみられた。これら動物のうち、300 mg/kg 投与群の雌 1 例（動物番号 4106）は、対照群の程度を超える、かつ腎臓、肝臓及び甲状腺に被験物質投与の影響が比較的強く現れていることから推察して、被験物質投与との関連性が示唆された。

Tissue Observation	Sex: Group: mg/kg/day:	Male				Female			
		Main				Main			
		0	30	100	300	0	30	100	300
Adrenal									
Number examined		5	0	0	5	12	12	12	12 (4)
Vacuolation, cortical cell	0	0	0	0	1	1	0	1	(0)
Minimal	0	0	0	0	1	1	0	0	(0)
Mild	0	0	0	0	0	0	0	1	(0)

()内は未分姪動物

腎臓 : 近位尿細管を主とする上皮細胞の空胞変性及び壊死、尿細管の好塩基化あるいは乳頭管上皮細胞の顆粒状変化が 300 mg/kg 投与群の雌 2 例（動物番号 4106、4110）にみられた。近位尿細管の空胞は、脂肪滴と異なり、大型不定形を呈し、また、空胞化を示す尿細管の一部では弱い程度ながら壊死も伴ってみられた。乳頭管上

皮細胞の顆粒状変化は、細胞質に多数の好酸性微細顆粒が出現してみられたが、明らかな変性や壊死所見は伴わず、病変意義は不明であった。同様な腎病変は、100 mg/kg 投与群では認められなかつたが、低用量群の 30 mg/kg 投与群の雌 1 例（動物番号 2101）に弱い程度で認められた。このような用量依存性を欠く低用量群の単発性の発生には、単に個体の感受性を考える以外に、本例が分娩を契機として一般状態の悪化を来たしていたことを考慮すると、分娩時に生じた被験物質との関連性のない何らかの異常を背景として、被験物質投与の影響を受け易い特殊な条件下にあった可能性も否定できなかつた。

Tissue Observation	Sex: Group: mg/kg/day:	Male				Female			
		Main				Main			
		0	30	100	300	0	30	100	300
Kidney									
Number examined		5	1	0	6	12	12	12	12 (4)
Vacuolar degeneration, tubular		0	0	0	0	0	1	0	2 (0)
Minimal		0	0	0	0	0	1	0	0 (0)
Mild		0	0	0	0	0	0	0	1 (0)
Moderate		0	0	0	0	0	0	0	1 (0)
Necrosis, tubular		0	0	0	0	0	1	0	2 (0)
Minimal		0	0	0	0	0	1	0	1 (0)
Mild		0	0	0	0	0	0	0	1 (0)
Basophilic change, tubular		0	0	0	0	0	1	0	1 (0)
Mild		0	0	0	0	0	1	0	0 (0)
Moderate		0	0	0	0	0	0	0	1 (0)
Granular change, papillary duct		0	0	0	0	0	1	0	1 (0)
Minimal		0	0	0	0	0	1	0	0 (0)
Mild		0	0	0	0	0	0	0	1 (0)

()内は未分娩動物

Table 及び Appendix に示すその他の所見は、出現状況及び病理組織学的性状から偶発病変と考えられた。

2) 回復期間終了時検査

肝臓、甲状腺及び胃に被験物質投与の影響が認められたが、主群と比べて発現頻度及び所見の程度が軽減した。

肝臓 : 小葉中心性肝細胞肥大が 300 mg/kg 投与群の雄にみられたが、主群と比べてその程度及び頻度は軽減し、回復性が示唆された。また、300 mg/kg 投与群の雄 1 例に肝細胞の単細胞壊死がみられたが、変化の程度は軽微であり、かつ、微小肉芽腫の形成を伴わず、休薬後 14 日間に亘り肝細胞障害が持続していたとは考え難

く、偶発性変化と推察された。その他、小葉周辺性の肝細胞空胞化が 300 mg/kg 投与群の雌雄にみられたが、主群と比べてその程度及び頻度は軽減した。

Tissue Observation	Sex: Group: mg/kg/day:	Male		Female	
		Recovery 0	300	Recovery 0	300
Liver					
Number examined		5	5	5	5
Vacuolation, hepatocyte, periportal		0	4	2	1
Minimal		0	2	2	1
Mild		0	2	0	0
Necrosis, single cell, hepatocyte		0	1	0	0
Minimal		0	1	0	0
Microgranuloma		5	5	5	5
Minimal		5	5	5	5
Hypertrophy, hepatocytic, central		0	1	0	0
Minimal		0	1	0	0

Recovery 群は未交配

甲状腺 : 濾胞上皮細胞の肥大が 300 mg/kg 投与群の雌 1 例にも軽微な程度でみられたが、主群に比べて病変の程度及び頻度は軽減し、回復性が示唆された。

Tissue Observation	Sex: Group: mg/kg/day:	Male		Female	
		Recovery 0	300	Recovery 0	300
Thyroid					
Number examined		5	5	5	5
Hypertrophy, follicular cell		0	0	0	1
Minimal		0	0	0	1

Recovery 群は未交配

胃 : 腺胃のびらんが対照群及び 300 mg/kg 投与群の雌各 1 例に軽微な程度でみられたのみであり、14 日間の休薬により被験物質投与の影響は消失したと考えられた。

Tissue Observation	Sex: Group: mg/kg/day:	Male		Female	
		Recovery 0	300	Recovery 0	300
Stomach					
Number examined		5	5	5	5
Erosion glandular stomach		0	0	1	1
Minimal		0	0	1	1

Recovery 群は未交配

Table 及び Appendix に示すその他の所見は、出現状況及び病理組織学的性状から偶発病変と考えられた。

7.11 性周期 (Table 11、Appendix 10-1~10-4)

性周期異常の動物はみられず、平均性周期日数には対照群と各投与群との間に差は認められなかった。

7.12 交配成績 (Table 12、Appendix 11-1~11-4)

交配成績においては、30 mg/kg 投与群の 1 組が交配開始後 13 日に交尾したが、300 mg/kg 投与群の 2 組が交尾しなかった。また、交尾は成立したもののが不妊であった組み合わせは、300 mg/kg 投与群の 2 組にみられた。しかし、交尾までに要した日数、交尾率、授精率及び受胎率には対照群と各投与群との間に有意差は認められなかったものの、受胎動物は対照群の 12 例中 12 例 (100%) に対し、10 例中 8 例 (80.0%) と低下した。

7.13 分娩成績及び分娩・授乳状態 (Table 13、Appendix 12-1~12-4)

分娩状態では、妊娠 21~23 日に全例が正常に分娩したが、300 mg/kg 投与群で妊娠 23 日の動物が多く、妊娠期間の有意な延長が認められ、死産児率の有意な高値及び出生率の有意な低値が認められた。しかし、出産率、黄体数、着床痕数、着床率及び出生児数には対照群と各投与群との間に有意差は認められなかった。

授乳状態では、一般状態で記載したように、対照群の 1 例 (動物番号 1107) で分娩後 1 日に哺育行動の減少がみられ、分娩後 2 日までに出生児全例が死亡した。また、30 mg/kg 投与群の 1 例 (動物番号 2101) で分娩後 1 日に哺育行動の減少、体温低下及び膣からの出血による被毛の汚れ、分娩後 2 日に膣からの出血による被毛の汚れが継続してみられ、分娩後 2 日までに出生児全例が死亡した。更に 300 mg/kg 投与群の 1 例 (動物番号 4106) で分娩後 3 日によろめき歩行及び体温低下、分娩後 4 日に体温低下が継続してみられ、出生児 14/15 例が死亡した。その他の母動物の営巣及び哺育行動に異常はなかった。

7.14 出生児の観察 (Table 14、Appendix 13-1~13-4)

性比及び出生時体重には対照群と各投与群との間に有意差はなく、外表異常もみられなかった。

7.15 出生児の生存率 (Table 15、Appendix 14-1~14-4)

母動物の一般状態の悪化に伴い対照群の 1 例 (動物番号 1107) 及び 30 mg/kg 投与群の 1 例 (動物番号 2101) の出生児全例が死亡したことにより、授乳期間中の死亡児は対照群、30、100 及び 300 mg/kg 投与群でそれぞれ 7、19、2 及び 23 例であり、300 mg/kg 投与群で生後 4 日生存率が対照群の 91.7% に対し、80.8% と低下傾向を示した。

7.16 出生児の体重 (Table 16、Appendix 15-1~15-4)

出生時及び生後 4 日の雌雄体重及び体重増加量は、対照群と各投与群との間に有意差は認められなかった。

7.17 出生児の生後 4 日剖検所見 (Table 17、Appendix 16-1~16-4)

胸腺の頸部残留が対照群の雌 1 例と 30 mg/kg 投与群の雌雄各 1 例にみられたが、発現頻度に用量との関連はなかった。その他の出生児にも異常はみられなかった。

8. 考察

プロモクロロメタンの 0 (対照群: コーンオイル)、30、100 及び 300 mg/kg を、Sprague-Dawley 系 SPF ラットの雄には交配前 14 日間及び交配期間を通して剖検前日 (42 日間) まで、雌には交配前 14 日間及び交配期間並びに妊娠期間を通して授乳 4 日まで (42~53 日間) 投与し、反復投与毒性及び生殖発生毒性を検討した。更に、0 及び 300 mg/kg 投与群については 42 日間投与した後、14 日間の回復期間を設け、毒性変化の可逆性を検討した。

1) 反復投与毒性

一般状態、詳細な一般状態の観察、機能検査、握力測定、自発運動量の測定、体重、摂餌量、尿検査（摂水量を含む）、血液学検査及び血液化学検査では、被験物質投与による影響は認められなかった。

器官重量では、主群の雄の 300 mg/kg 投与群で肝臓の絶対及び相対重量の高値、300 mg/kg 投与群の雌で肝臓、脾臓及び副腎の相対重量の高値が認められた。組織学検査では肝臓で小葉中心性肝細胞肥大、肝細胞の単細胞壊死及び微小肉芽腫の増強が 100 mg/kg 以上の投与群の雄及び 300 mg/kg 投与群の雌に、副腎で束状帯細胞の空胞化の程度の増強が 300 mg/kg 投与群の雌にみられ、被験物質投与の影響が示唆された。脾臓については、組織学的变化はなく、毒性学的意義は少ないと考えられた。

剖検所見では、腺胃部の暗赤色巣が 100 及び 300 mg/kg 投与群の雌雄で発現頻度が増強し、組織学的に腺胃部のびらんが 100 mg/kg 以上の投与群の雌及び 300 mg/kg 投与群の雄にみられ、被験物質の刺激性が示唆された。

病理組織学検査では、前述の肝臓、副腎及び胃の変化に加えて、腎臓で近位尿細管の空胞変性及び壊死、尿細管の好塩基化並びに乳頭管上皮細胞の顆粒状変化が 300 mg/kg 投与群の雌にみられた。更に甲状腺の濾胞上皮細胞の肥大が 100 mg/kg 以上の投与群の雄及び 300 mg/kg 投与群の雌にみられたが、甲状腺重量の増加はみられず、組織変化の程度も弱いことから、生理的変動内の変化である可能性も考えられたが詳細は不明であった。

なお、2 週間の休薬により、上記変化の頻度及び程度が軽減したことから可逆性の変化と考えられた。

2) 生殖発生毒性

性周期、交尾までに要した日数、交尾率、授精率及び受胎率には対照群と各被験物質投与群の間に有意差は認められなかった。しかし、300 mg/kg 投与群で交配動物 12 匹に対し未交尾動物が 2 例、不妊動物が 2 例みられたことから、雌雄動物の交尾能、授精能及び受胎能、母動物の妊娠維持への被験物質投与による影響の可能性が疑われた。また、出産率、黄体数、着床痕数、着床率及び出生児数にも対照群と各被験物質投与群の間に有意差は認められなかつたが、300 mg/kg 投与群で妊娠期間が延長し、

死産児率の高値及び出生率の低値がみられた。死産児率が高い母動物及び出生率が低下した母動物は必ずしも妊娠期間が 23 日の母動物ではなく、かつ妊娠期間の延長、死産児率の高値及び出生率の低値の詳細も明らかでないものの、妊娠・分娩あるいは胎児の生存性への被験物質投与による影響の可能性が疑われた。

出生児では、性比、外表観察、出生時及び生後 4 日の体重及び生後 4 日剖検所見及び生存率には対照群と各被験物質投与群の間に有意差は認められなかつた。また、哺育行動の減少が対照群及び 30 mg/kg 投与群に各 1 例、出生児の著しい減少が 300 mg/kg 投与群に 1 例みられたが、哺育行動の不良母動物の発現状況に差がなく、他動物の授乳状態に異常はなかつた。しかし、300 mg/kg 投与群のその他の母体でも出生児死亡が発生し、生後 4 日生存率が 80.8% と低下傾向を示した。出生児の生後 4 日生存率の低下傾向の原因が出生児あるいは母動物の哺育行動にあるかは明らかでないが、児動物の生存性への被験物質投与による影響の可能性が疑われた。

これらの結果から、プロモクロロメタンの反復投与毒性に対する無影響量は、腺胃部の暗赤色巣が 100 mg/kg 以上の投与群の雌雄で認められたことから、雌雄ともに 30 mg/kg/day と判断した。

生殖発生毒性に対しては雌雄親動物及び児動物に対する無影響量は、300 mg/kg 投与群で未交尾動物が 2 例、不妊動物が 2 例みられ、妊娠期間が延長し、死産児率の高値、出生率の低値、出生児の生後 4 日生存率の低下傾向が認められたことから、いずれも 100 mg/kg/day と判断した。

9. 文献

- 1) ブロモクロロメタンのラットを用いた14日間反復経口投与毒性試験（予備試験）（株式会社ボヅリサーチセンター、試験番号：C-R125、2009年）
- 2) Shayne C. Gad and Carroll S. Weil (1994) : Chapter 7. Statistics for Toxicologists, In Principles and Methods of Toxicology (A. Wallace Hayes, ed.), 3rd ed., pp.221-274, Raven Press, Ltd., New York.
- 3) 佐久間昭 (1981) : 薬効評価—計画と分析-II, pp.23-27, 387-389, 東京大学出版会, 東京.

R-1029

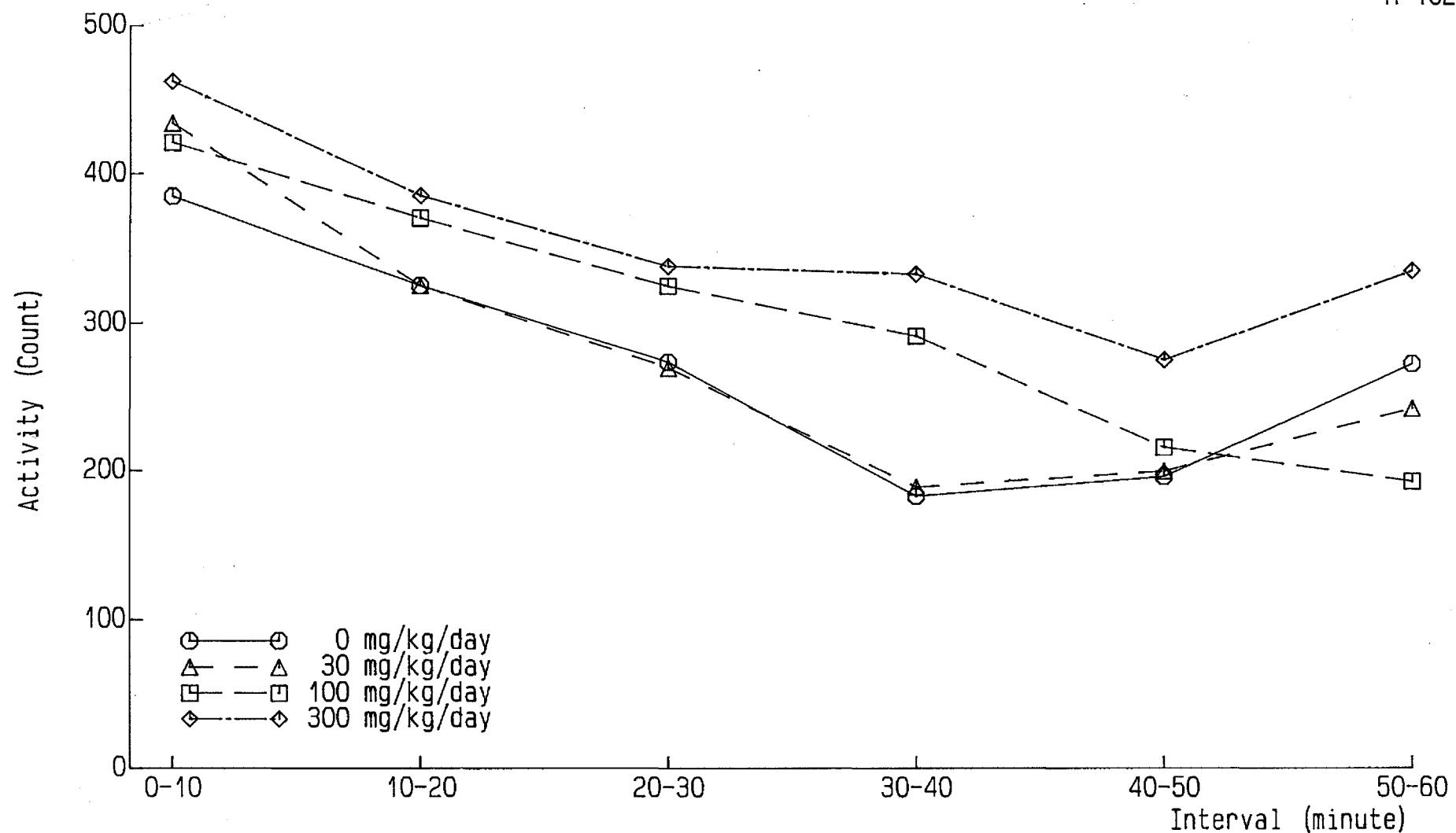


Fig.1 A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bromochloromethane
Motor activity of male rats (Week 6 of administration)

R-1029

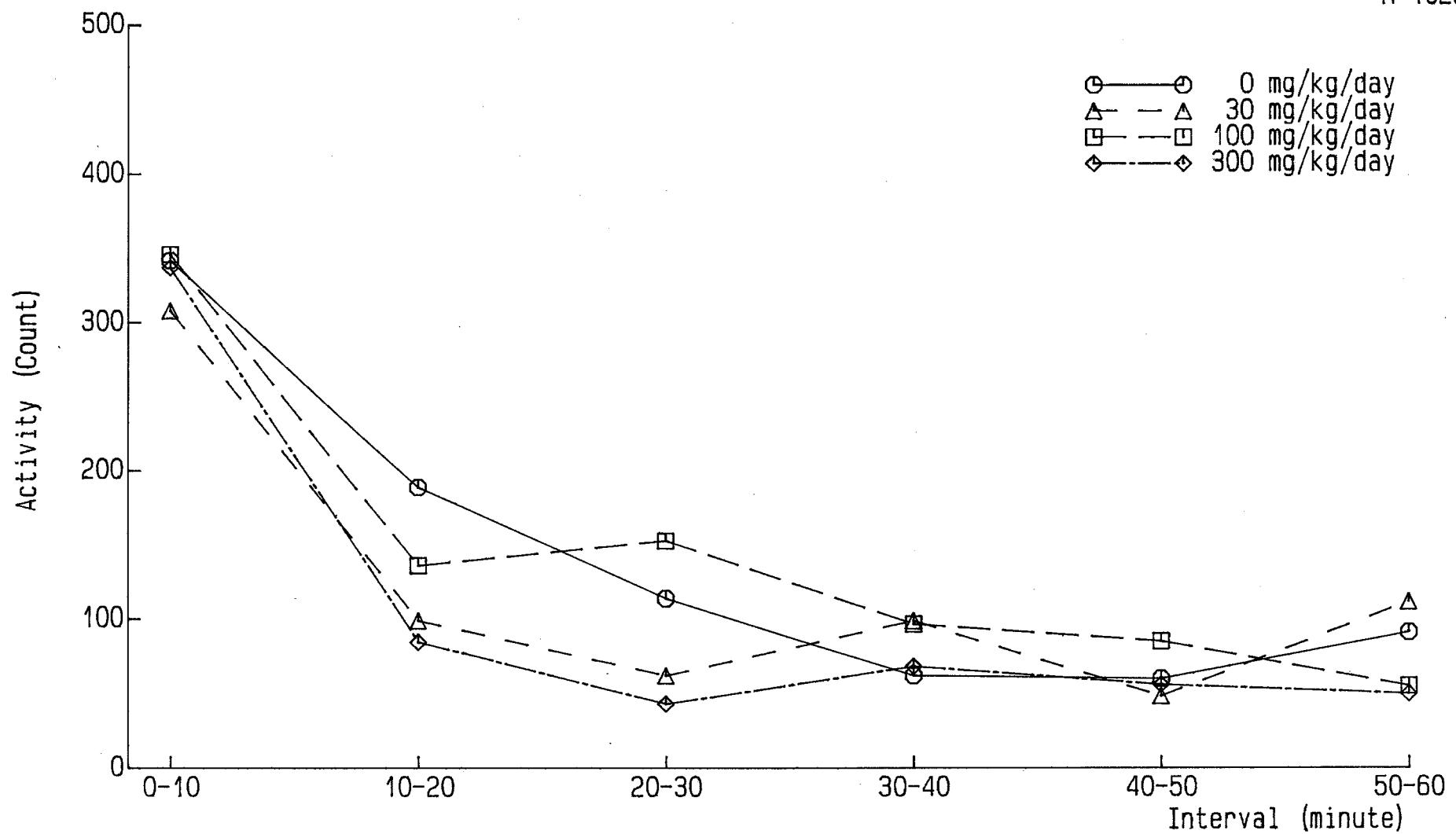


Fig.2 A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bromochloromethane
Motor activity of female rats (Main group, Day 4 of lactation)

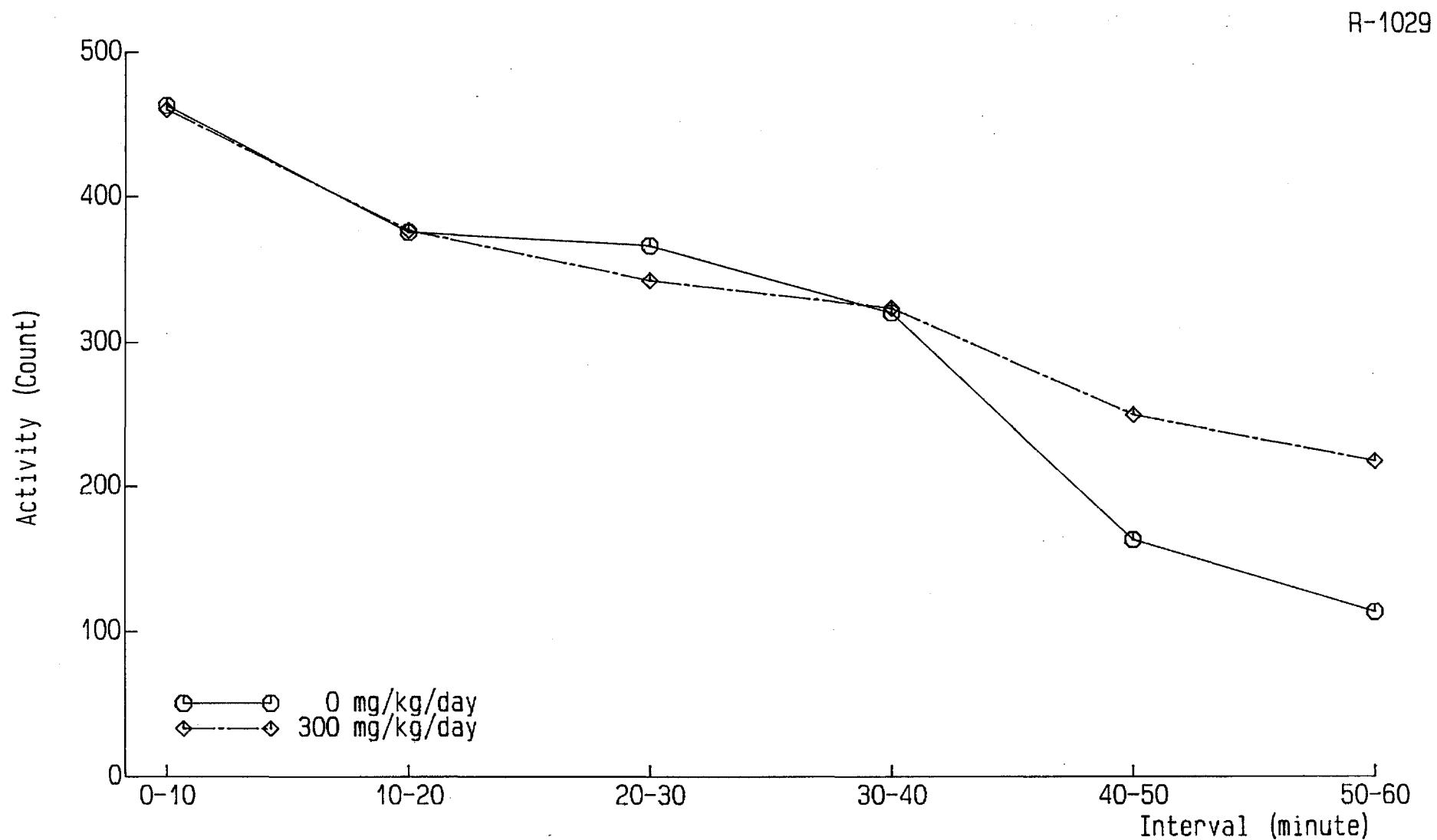


Fig.3 A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bromochloromethane
Motor activity of female rats (Recovery group, Week 6 of administration)

R-1029

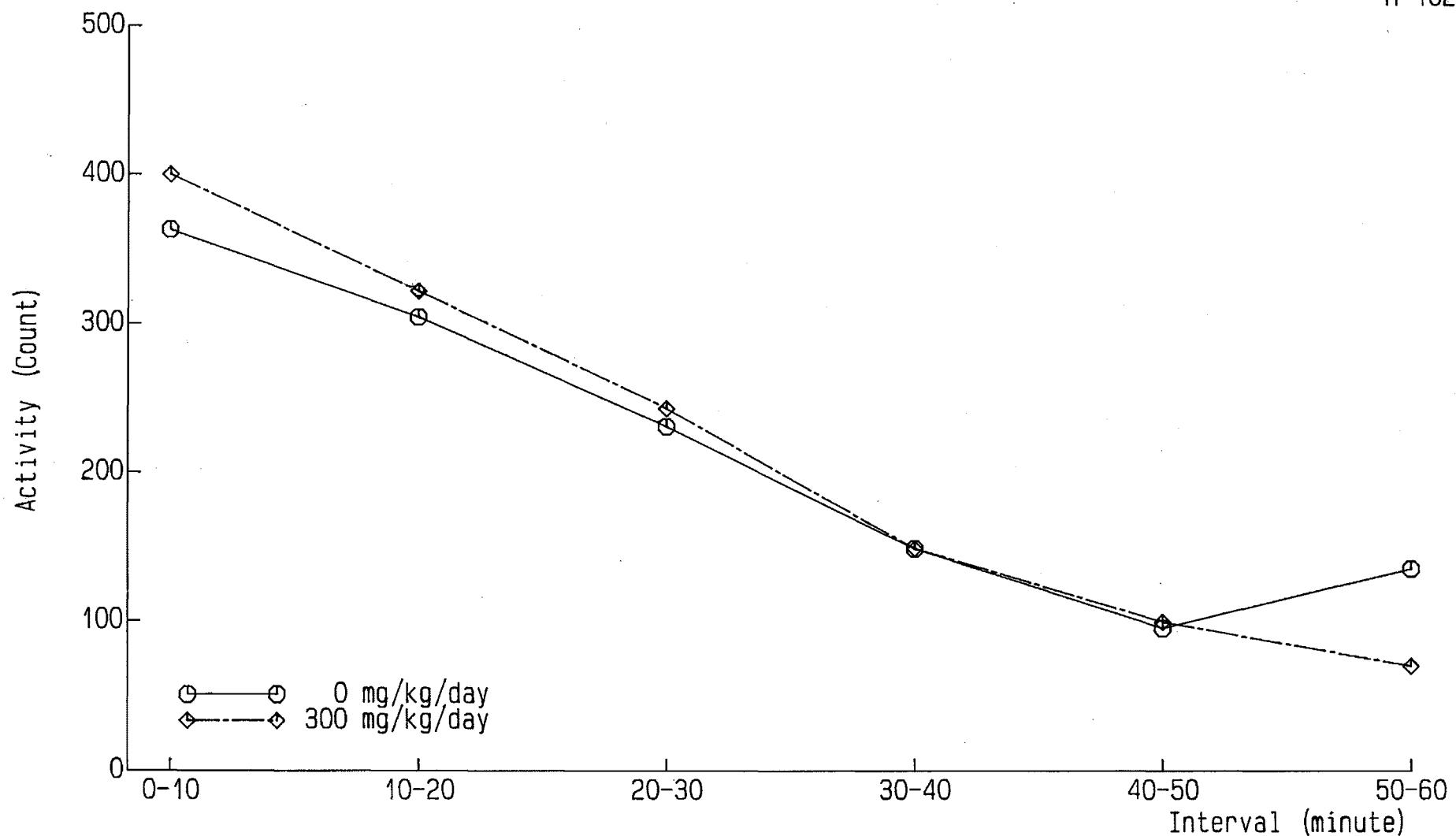


Fig.4 A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bromochloromethane
Motor activity of male rats (Week 2 of recovery)

R-1029

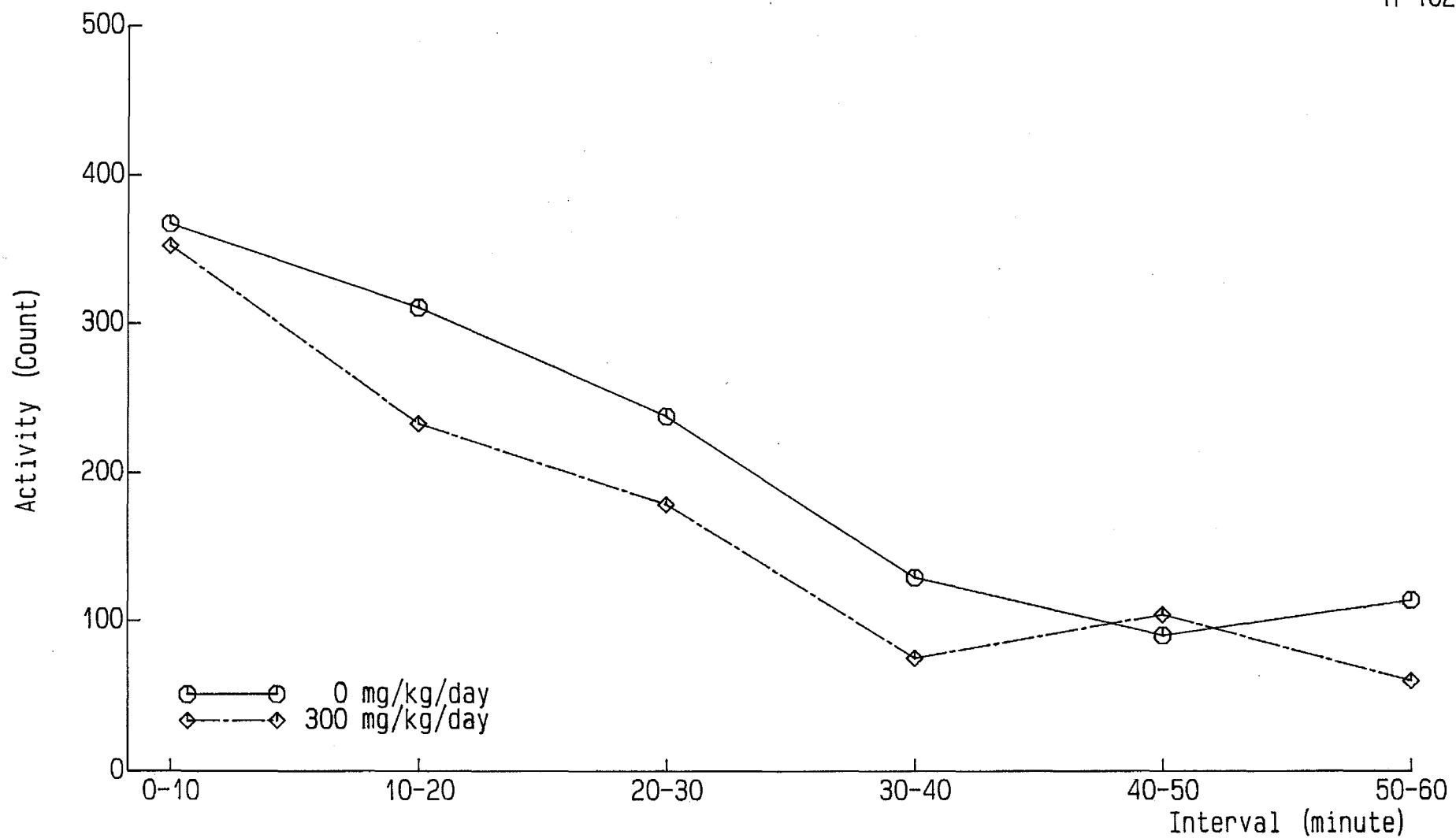


Fig.5 A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bromochloromethane
Motor activity of female rats (Week 2 of recovery)

R-1029

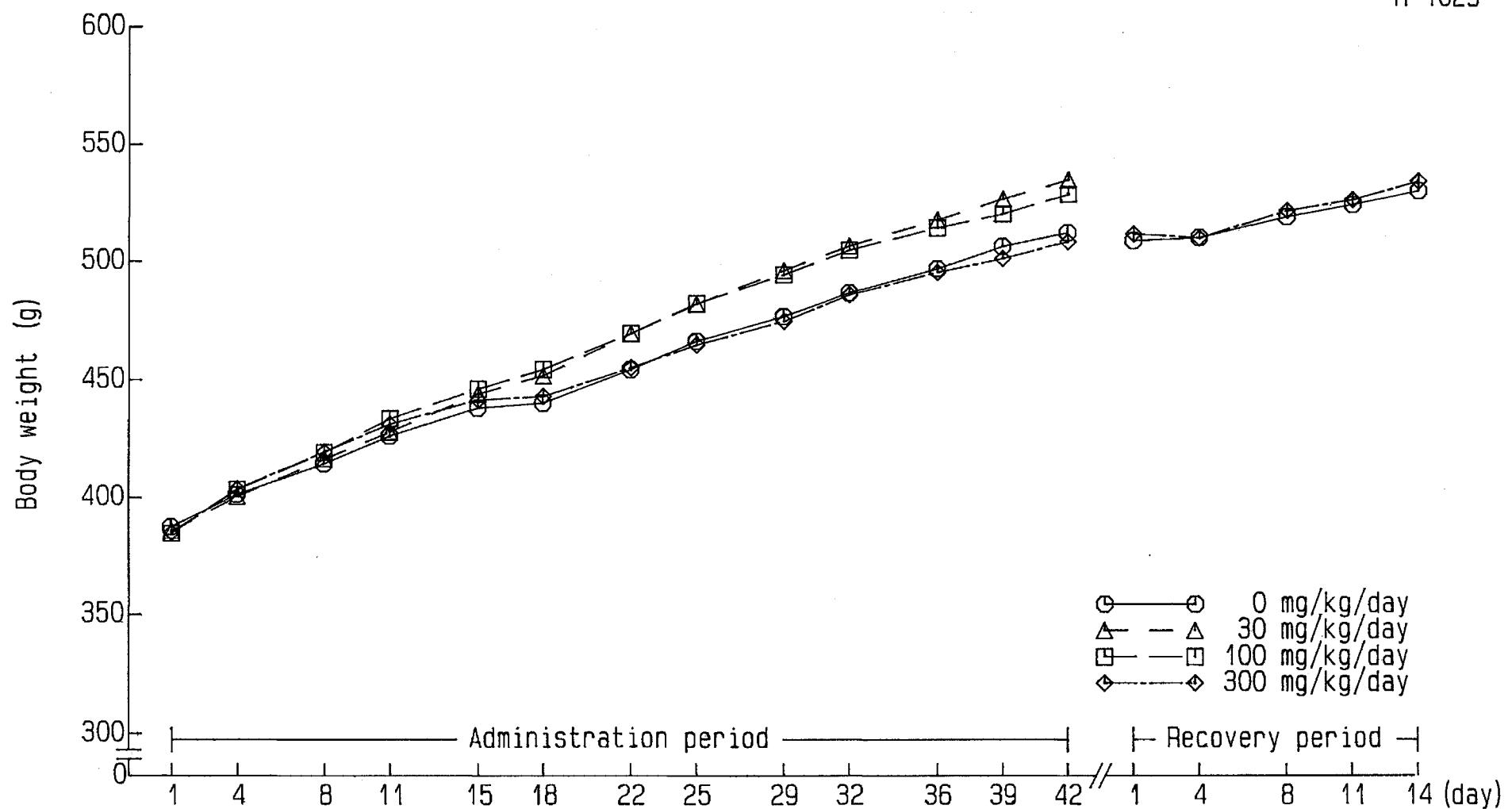


Fig.6 A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bromochloromethane
Body weight changes of male rats

R-1029

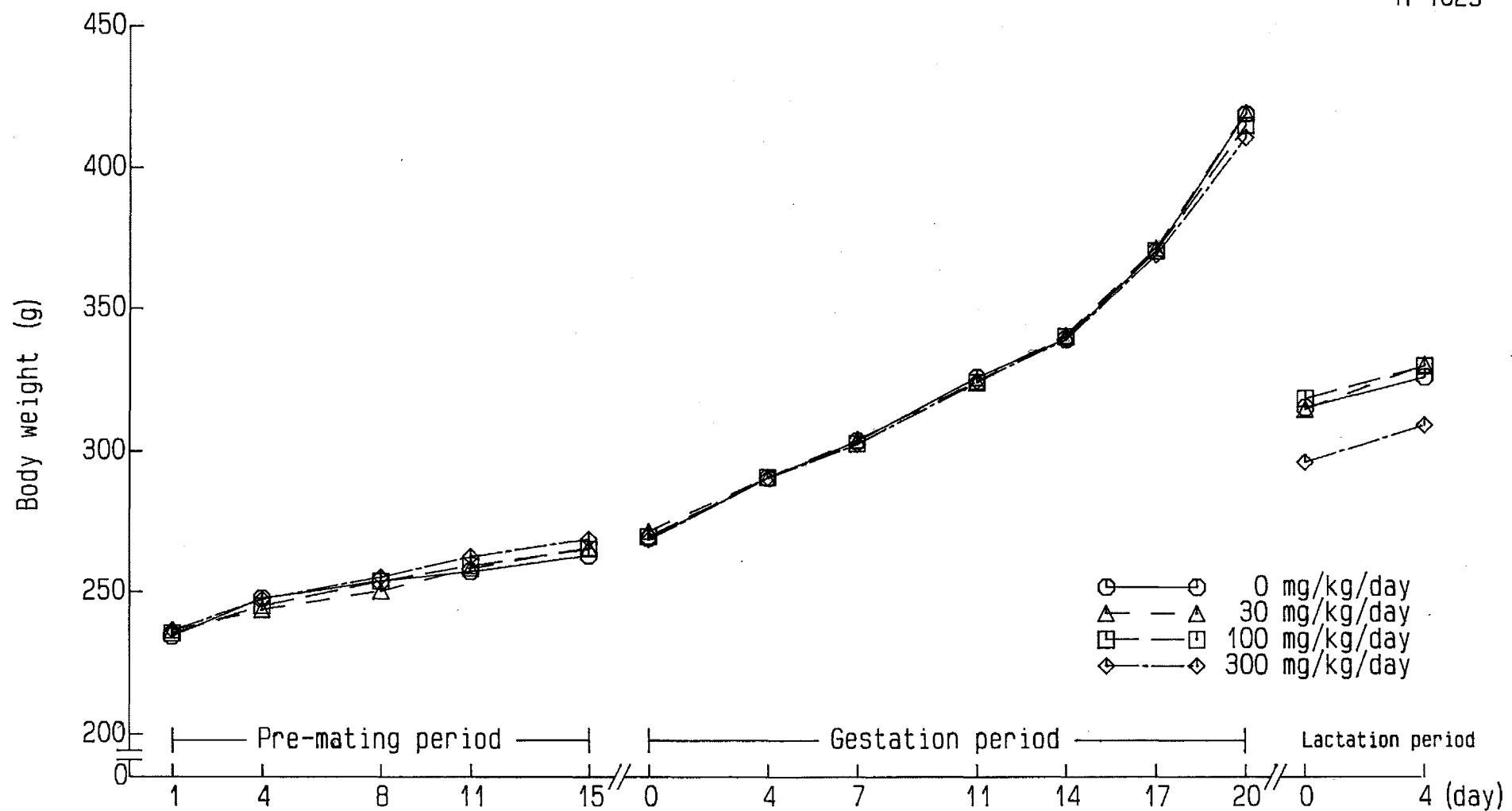


Fig. 7 A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bromochloromethane
Body weight changes of female rats (Main group)

R-1029

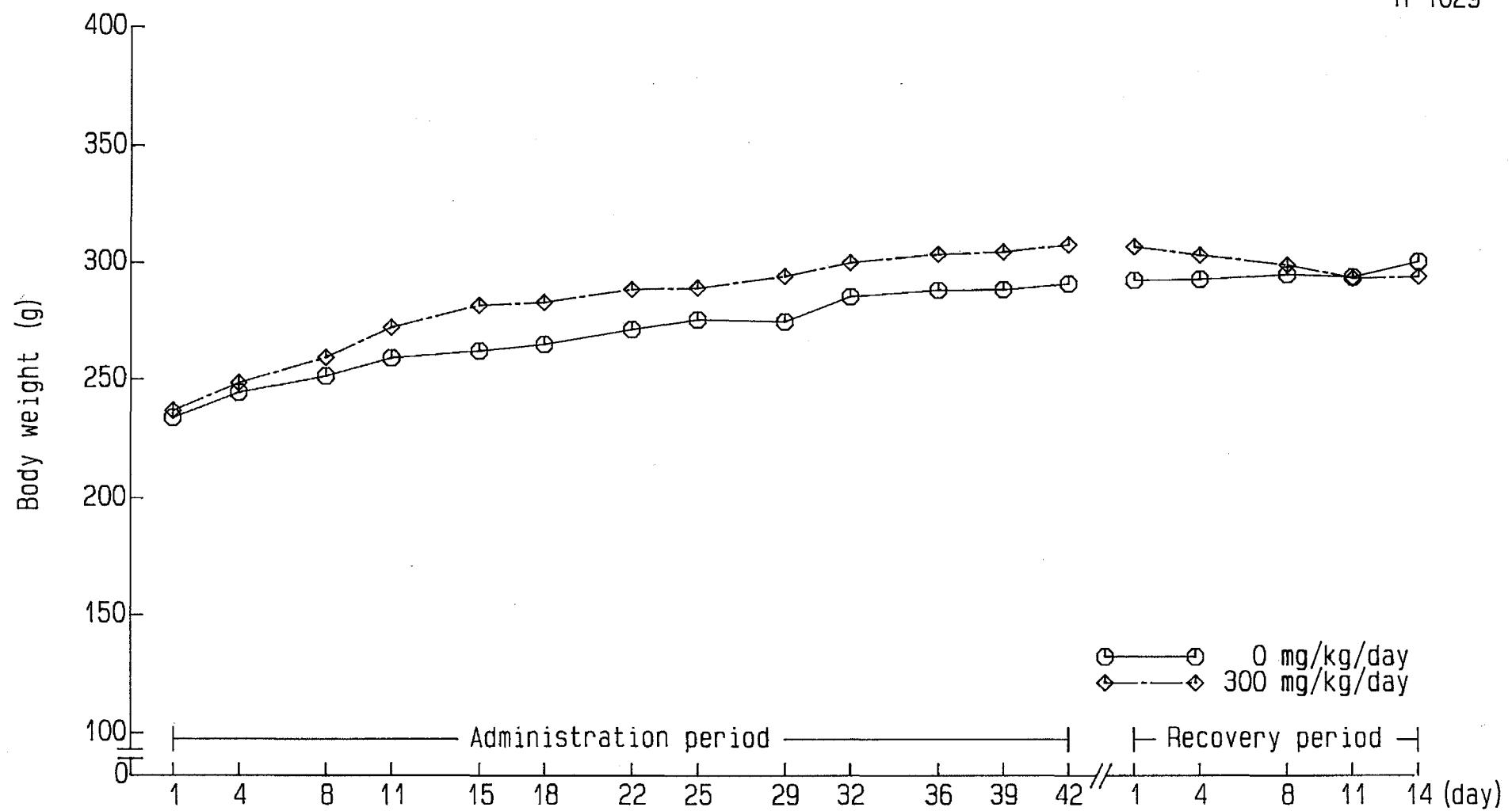


Fig.8 A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bromochloromethane
Body weight changes of female rats (Recovery group)

R-1029

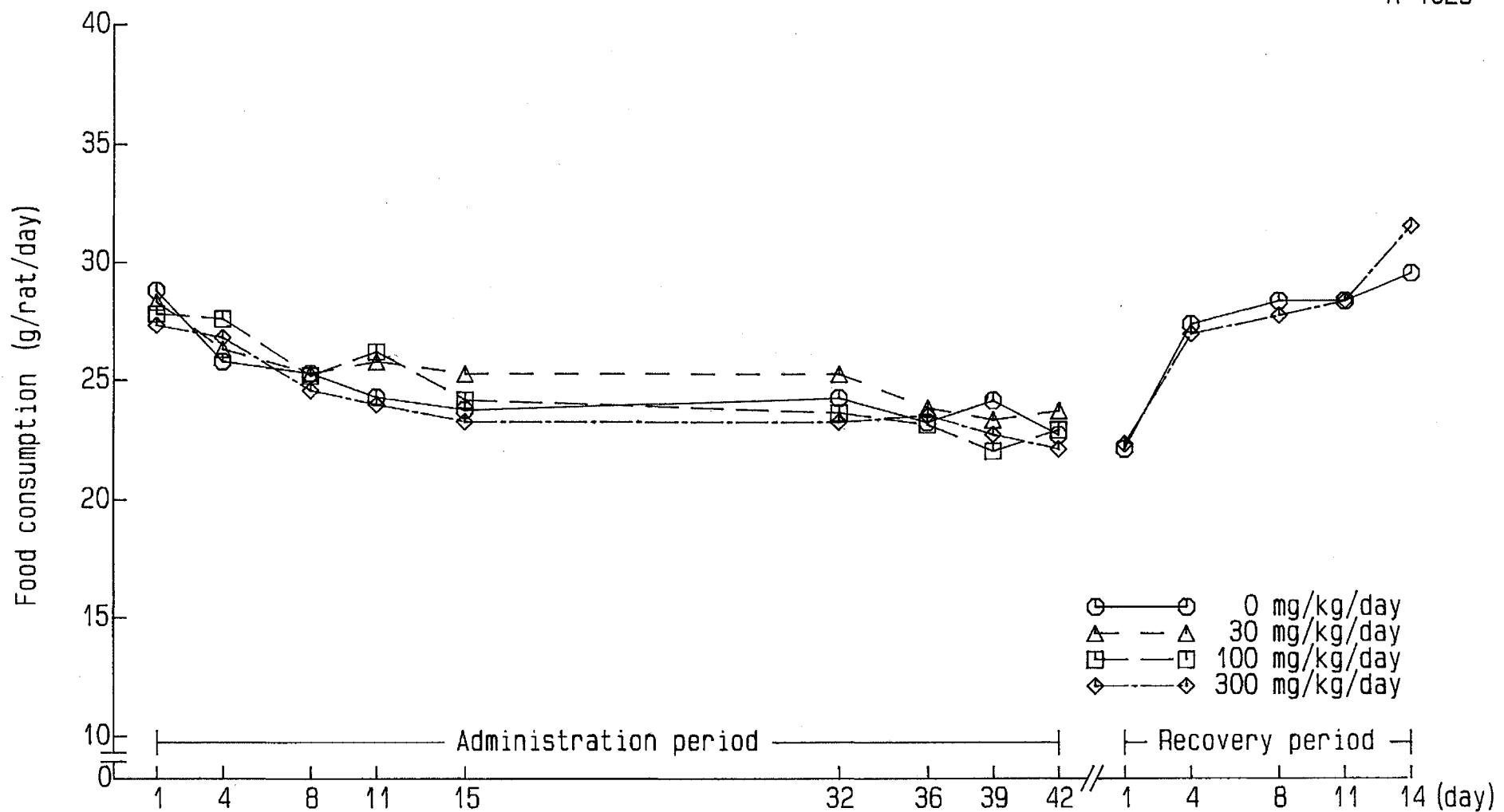


Fig.9 A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bromochloromethane
Food consumption of male rats

R-1029

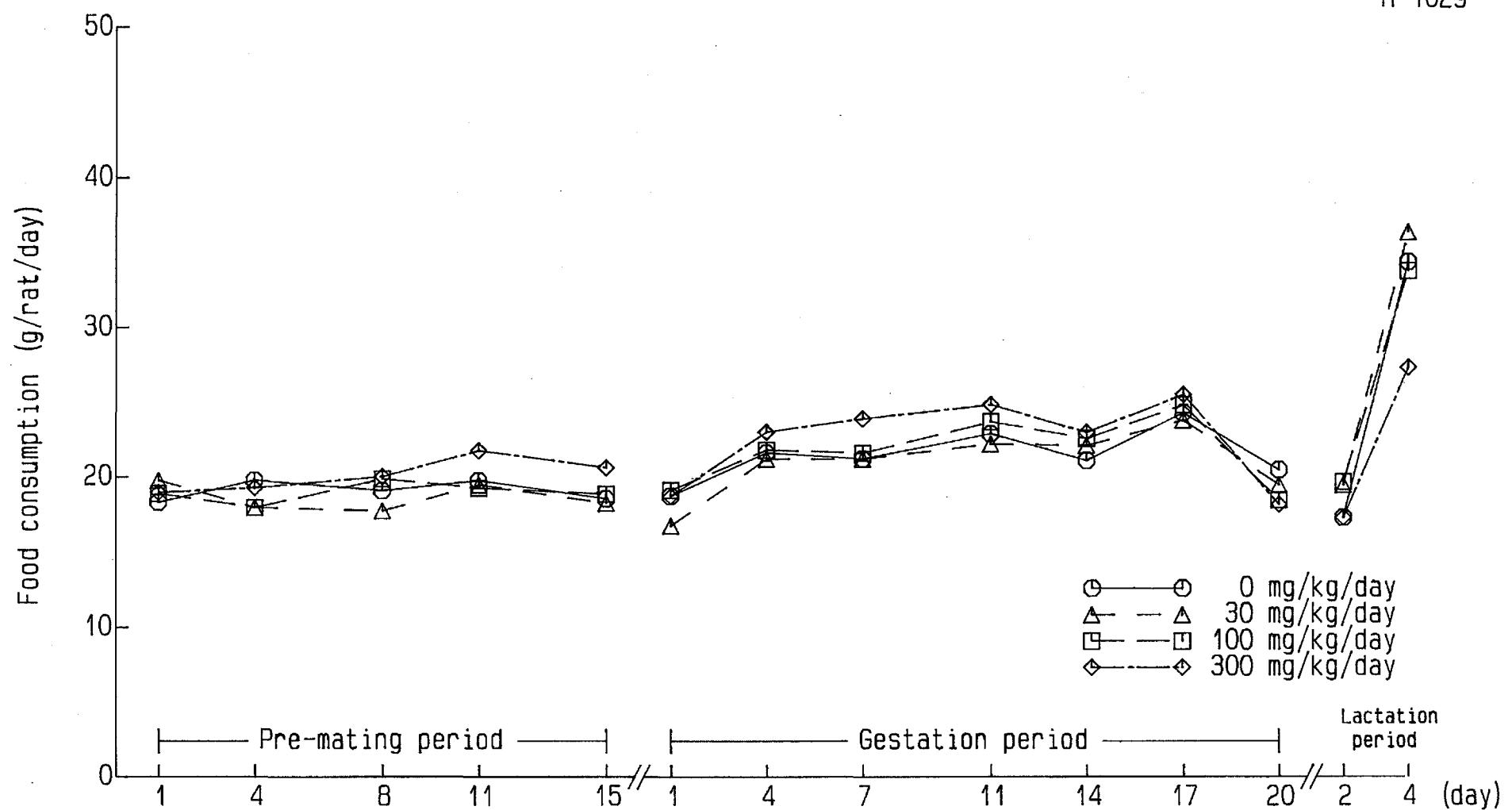


Fig. 10 A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bromochloromethane
Food consumption of female rats (Main group)

R-1029

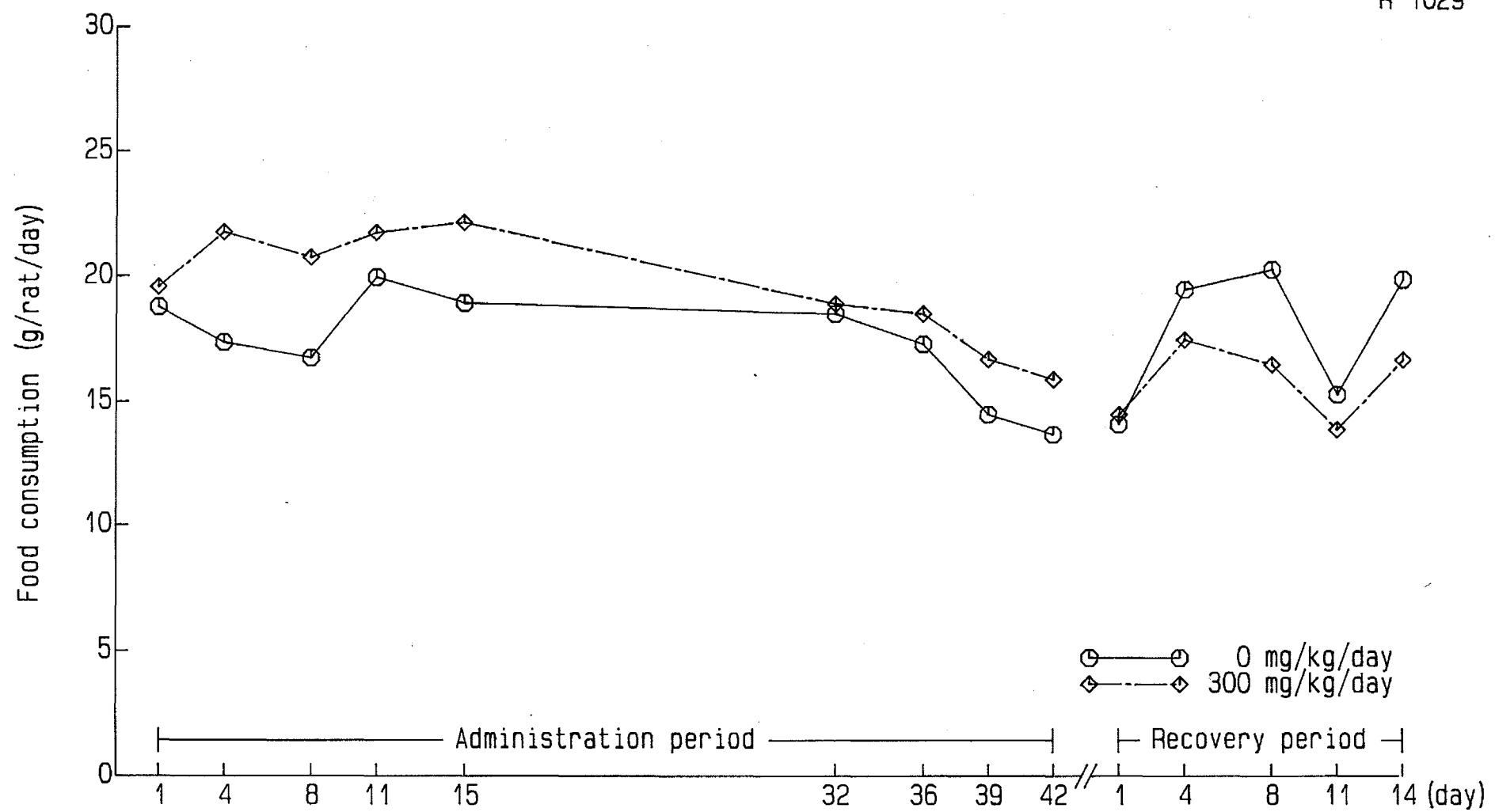


Fig.11 A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bromochloromethane
Food consumption of female rats (Recovery group)

Table 1-1

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Clinical signs in male rats (Administration period)

Dose mg/kg/day	Signs	Day of administration					
		1-7	8-14	15-21	22-28	29-35	36-42
0	No. of animals	12	12	12	12	12	12
	No. of animals with abnormal findings	0	0	0	0	0	0
30	No. of animals	12	12	12	12	12	12
	No. of animals with abnormal findings	0	0	0	0	0	0
100	No. of animals	12	12	12	12	12	12
	No. of animals with abnormal findings	0	0	0	0	0	0
300	No. of animals	12	12	12	12	12	12
	No. of animals with abnormal findings	0	0	0	0	0	0

Table 1-2

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bromochloromethane

Clinical signs in female rats during the pre-mating period (Main group)

Table 1-3

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Clinical signs in dams during the gestation period (Main group)

Dose mg/kg/day	Signs	Administration																								
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23a)	
0	No. of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	1	0
	No. of dams with abnormal findings	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30	No. of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	10	1	0
	No. of dams with abnormal findings	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100	No. of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	2	0
	No. of dams with abnormal findings	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
300	No. of dams	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	5	0
	No. of dams with abnormal findings	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

a): Day of gestation

Table 1-4

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Clinical signs in dams during the lactation period (Main group)

Dose mg/kg/day	Signs	Administration				
		0	1	2	3	4a)
0	No. of dams	12	12	12	11 ^{b)}	11
	No. of dams with abnormal findings	0	1	0	0	0
	Decrease in nursing behavior	0	1	0	0	0
30	No. of dams	12	12	12	11 ^{b)}	11
	No. of dams with abnormal findings	0	1	1	0	0
	Decrease in nursing behavior	0	1	0	0	0
	Hypothermia	0	1	0	0	0
100	Soiled fur (vaginal hemorrhage)	0	1	1	0	0
	No. of dams	12	12	12	12	12
	No. of dams with abnormal findings	0	0	0	0	0
300	No. of dams	8	8	8	8	8
	No. of dams with abnormal findings	0	0	0	1	1
	Ataxia	0	0	0	1	0
	Hypothermia	0	0	0	1	1

a): Day of lactation

b): One dam was necropsied on day 2 of lactation because all pups died.

Table 1-5

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Clinical signs in female rats (Recovery group, administration period)

Dose mg/kg/day	Signs	Day of administration					
		1-7	8-14	15-21	22-28	29-35	36-42
0	No. of animals	5	5	5	5	5	5
	No. of animals with abnormal findings	0	0	0	0	0	0
300	No. of animals	5	5	5	5	5	5
	No. of animals with abnormal findings	0	0	0	0	0	0

Table 1-6

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bromochloromethane

Clinical signs in male rats (Recovery period)

Table 1-7

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bromochloromethane

Clinical signs in female rats (Recovery period)

Table 2-1

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in male rats: home cage observations (Week 1 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Posture					
Normal		12	12	12	12
Convulsion					
None		12	12	12	12
Abnormal behavior					
None		12	12	12	12

Table 2-2

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in male rats: home cage observations (Week 2 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Posture					
Normal		12	12	12	12
Convulsion					
None		12	12	12	12
Abnormal behavior					
None		12	12	12	12

Table 2-3

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in male rats: home cage observations (Week 3 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Posture					
Normal		12	12	12	12
Convulsion					
None		12	12	12	12
Abnormal behavior					
None		12	12	12	12

Table 2-4

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in male rats: home cage observations (Week 4 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Posture					
Normal		12	12	12	12
Convulsion					
None		12	12	12	12
Abnormal behavior					
None		12	12	12	12

Table 2-5

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in male rats: home cage observations (Week 5 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Posture					
Normal		12	12	12	12
Convulsion					
None		12	12	12	12
Abnormal behavior					
None		12	12	12	12

Table 2-6

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in male rats: home cage observations (Week 6 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Posture					
Normal		12	12	12	12
Convulsion					
None		12	12	12	12
Abnormal behavior					
None		12	12	12	12

Table 2-7

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: home cage observations (Main group, Week 1 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	80	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Posture					
Normal		12	12	12	12
Convulsion					
None		12	12	12	12
Abnormal behavior					
None		12	12	12	12

Table 2-8

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: home cage observations (Main group, Week 2 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Posture					
Normal		12	12	12	12
Convulsion					
None		12	12	12	12
Abnormal behavior					
None		12	12	12	12

Table 2-9

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: home cage observations (Main group, Day 1 of gestation)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	8
Posture					
Normal		12	12	12	8
Convulsion					
None		12	12	12	8
Abnormal behavior					
None		12	12	12	8

Table 2-10

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: home cage observations (Main group, Day 7 of gestation)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	8
Posture					
Normal		12	12	12	8
Convulsion					
None		12	12	12	8
Abnormal behavior					
None		12	12	12	8

Table 2-11

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: home cage observations (Main group, Day 14 of gestation)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	8
Posture					
Normal		12	12	12	8
Convulsion					
None		12	12	12	8
Abnormal behavior					
None		12	12	12	8

Table 2-12

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: home cage observations (Main group, Day 20 of gestation)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	8
Posture					
Normal		12	12	12	8
Convulsion					
None		12	12	12	8
Abnormal behavior					
None		12	12	12	8

Table 2-13

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: home cage observations (Main group, Day 4 of lactation)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	30	100	300
	No. of animals	11	11	12	8
Posture					
Normal		11	11	12	8
Convulsion					
None		11	11	12	8
Abnormal behavior					
None		11	11	12	8

Table 2-14

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: home cage observations (Recovery group, Week 1 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	300
	No. of animals	5	5
Posture			
Normal		5	5
Convulsion			
None		5	5
Abnormal behavior			
None		5	5

Table 2-15

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: home cage observations (Recovery group, Week 2 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	300
	No. of animals	5	5
Posture			
Normal		5	5
Convulsion			
None		5	5
Abnormal behavior			
None		5	5

Table 2-16

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: home cage observations (Recovery group, Week 3 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	300
	No. of animals	5	5
Posture			
Normal		5	5
Convulsion			
None		5	5
Abnormal behavior			
None		5	5

Table 2-17

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: home cage observations (Recovery group, Week 4 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	300
	No. of animals	5	5
Posture			
Normal		5	5
Convulsion			
None		5	5
Abnormal behavior			
None		5	5

Table 2-18

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: home cage observations (Recovery group, Week 5 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	300
	No. of animals	5	5
Posture			
Normal		5	5
Convulsion			
None		5	5
Abnormal behavior			
None		5	5

Table 2-19

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: home cage observations (Recovery group, Week 6 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	300
	No. of animals	5	5
Posture			
Normal		5	5
Convulsion			
None		5	5
Abnormal behavior			
None		5	5

Table 2-20

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in male rats: home cage observations (Week 1 of recovery)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	300
	No. of animals	5	5
Posture			
Normal		5	5
Convulsion			
None		5	5
Abnormal behavior			
None		5	5

Table 2-21

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in male rats: home cage observations (Week 2 of recovery)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	300
	No. of animals	5	5
Posture			
Normal		5	5
Convulsion			
None		5	5
Abnormal behavior			
None		5	5

Table 2-22

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: home cage observations (Week 1 of recovery)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	300
	No. of animals	5	5
Posture			
Normal		5	5
Convulsion			
None		5	5
Abnormal behavior			
None		5	5

Table 2-23

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: home cage observations (Week 2 of recovery)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	300
	No. of animals	5	5
Posture			
Normal		5	5
Convulsion			
None		5	5
Abnormal behavior			
None		5	5

Table 2-24

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in male rats: in-the-hand observations (Week 1 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Ease of removal from cage					
Easy	10	11	11	12	
Some resistance/avoidance	2	1	1	0	
Fur condition					
Normal	12	12	12	12	
Skin					
Normal	12	12	12	12	
Secretions-Eye, Nose					
Absent	12	12	12	12	
Exophthalmos					
Absent	12	12	12	12	
Palpebral closure					
Normal	12	12	12	12	
Mucosal membranes					
Normal	12	12	12	12	
Lacrimation					
Normal	12	12	12	12	
Piloerection					
Absent	12	12	12	12	
Pupil size					
Normal	12	12	12	12	
Salivation					
None	12	12	12	12	
Abnormal respiration					
Absent	12	12	12	12	
Vocalization					
None	8	11	8	12	
Soft	4	1	4	0	
Reactivity to handling					
Easy	10	12	10	12	
Slightly awkward	2	0	2	0	

Table 2-25

**A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane**

Detailed clinical signs in male rats: in-the-hand observations (Week 2 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Ease of removal from cage					
Easy	11	12	12	12	12
Difficult	1	0	0	0	0
Fur condition					
Normal	12	12	12	12	12
Skin					
Normal	12	12	12	12	12
Secretions-Eye, Nose					
Absent	12	12	12	12	12
Exophthalmos					
Absent	12	12	12	12	12
Palpebral closure					
Normal	12	12	12	12	12
Mucosal membranes					
Normal	12	12	12	12	12
Lacrimation					
Normal	12	12	12	12	12
Piloerection					
Absent	12	12	12	12	12
Pupil size					
Normal	12	12	12	12	12
Salivation					
None	12	12	12	11	11
Slight	0	0	0	1	1
Abnormal respiration					
Absent	12	12	12	12	12
Vocalization					
None	9	8	9	12	12
Soft	2	4	3	0	0
Moderate	1	0	0	0	0
Reactivity to handling					
Easy	11	12	12	12	12
Slightly awkward	1	0	0	0	0

Table 2-26

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in male rats: in-the-hand observations (Week 3 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Ease of removal from cage					
Easy	11	12	12	12	12
Some resistance/avoidance	1	0	0	0	0
Fur condition					
Normal	12	12	12	12	12
Skin					
Normal	12	12	12	12	12
Secretions-Eye, Nose					
Absent	12	12	12	12	12
Exophthalmos					
Absent	12	12	12	12	12
Palpebral closure					
Normal	12	12	12	12	12
Mucosal membranes					
Normal	12	12	12	12	12
Lacrimation					
Normal	12	12	12	12	12
Piloerection					
Absent	12	12	12	12	12
Pupil size					
Normal	12	12	12	12	12
Salivation					
None	12	12	12	12	12
Abnormal respiration					
Absent	12	12	12	12	12
Vocalization					
None	9	8	11	12	12
Soft	3	4	1	0	0
Reactivity to handling					
Easy	12	12	12	12	12

Table 2-27

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in male rats: in-the-hand observations (Week 4 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Ease of removal from cage					
Easy	10	12	12	12	12
Some resistance/avoidance	2	0	0	0	0
Fur condition					
Normal	12	12	12	12	12
Skin					
Normal	12	12	12	12	12
Secretions-Eye, Nose					
Absent	12	12	12	12	12
Exophthalmos					
Absent	12	12	12	12	12
Palpebral closure					
Normal	12	12	12	12	12
Mucosal membranes					
Normal	12	12	12	12	12
Lacrimation					
Normal	12	12	12	12	12
Piloerection					
Absent	12	12	12	12	12
Pupil size					
Normal	12	12	12	12	12
Salivation					
None	12	12	12	12	12
Abnormal respiration					
Absent	12	12	12	12	12
Vocalization					
None	10	9	11	12	12
Soft	2	3	1	0	0
Reactivity to handling					
Easy	12	12	12	12	12

Table 2-28

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in male rats: in-the-hand observations (Week 5 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Ease of removal from cage					
Easy	10	12	12	12	12
Some resistance/avoidance	2	0	0	0	0
Fur condition					
Normal	12	12	12	12	12
Skin					
Normal	12	12	12	12	12
Secretions-Eye, Nose					
Absent	12	12	12	12	12
Exophthalmos					
Absent	12	12	12	12	12
Palpebral closure					
Normal	12	12	12	12	12
Mucosal membranes					
Normal	12	12	12	12	12
Lacrimation					
Normal	12	12	12	12	12
Piloerection					
Absent	12	12	12	12	12
Pupil size					
Normal	12	12	12	12	12
Salivation					
None	12	12	12	12	12
Abnormal respiration					
Absent	12	12	12	12	12
Vocalization					
None	9	7	11	12	12
Soft	3	5	1	0	0
Reactivity to handling					
Easy	10	11	12	12	12
Slightly awkward	2	1	0	0	0

Table 2-29

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in male rats: in-the-hand observations (Week 6 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Ease of removal from cage					
Easy	10	12	12	12	12
Some resistance/avoidance	2	0	0	0	0
Fur condition					
Normal	12	12	12	12	12
Skin					
Normal	12	12	12	12	12
Secretions-Eye, Nose					
Absent	12	12	12	12	12
Exophthalmos					
Absent	12	12	12	12	12
Palpebral closure					
Normal	12	12	12	12	12
Mucosal membranes					
Normal	12	12	12	12	12
Lacrimation					
Normal	12	12	12	12	12
Piloerection					
Absent	12	12	12	12	12
Pupil size					
Normal	12	12	12	12	12
Salivation					
None	12	12	12	12	12
Abnormal respiration					
Absent	12	12	12	12	12
Vocalization					
None	9	11	11	12	12
Soft	3	1	1	0	0
Reactivity to handling					
Easy	12	12	12	12	12

Table 2-30

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: in-the-hand observations (Main group, Week 1 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Ease of removal from cage					
Easy	12	12	12	12	12
Fur condition					
Normal	12	12	12	12	12
Skin					
Normal	12	12	12	12	12
Secretions-Eye, Nose					
Absent	12	12	12	12	12
Exophthalmos					
Absent	12	12	12	12	12
Palpebral closure					
Normal	12	12	12	12	12
Mucosal membranes					
Normal	12	12	12	12	12
Lacration					
Normal	12	12	12	12	12
Piloerection					
Absent	12	12	12	12	12
Pupil size					
Normal	12	12	12	12	12
Salivation					
None	12	12	12	12	12
Abnormal respiration					
Absent	12	12	12	12	12
Vocalization					
None	12	11	12	11	1
Soft	0	1	0	1	1
Reactivity to handling					
Easy	12	12	12	12	12

Table 2-31

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: in-the-hand observations (Main group, Week 2 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Ease of removal from cage					
Easy	12	12	12	12	12
Fur condition					
Normal	12	12	12	12	12
Skin					
Normal	12	12	12	12	12
Secretions-Eye, Nose					
Absent	12	12	12	12	12
Exophthalmos					
Absent	12	12	12	12	12
Palpebral closure					
Normal	12	12	12	12	12
Mucosal membranes					
Normal	12	12	12	12	12
Lacrimation					
Normal	12	12	12	12	12
Piloerection					
Absent	12	12	12	12	12
Pupil size					
Normal	12	12	12	12	12
Salivation					
None	12	12	12	10	
Slight	0	0	0	2	
Abnormal respiration					
Absent	12	12	12	12	12
Vocalization					
None	10	11	9	11	
Soft	2	1	3	1	
Reactivity to handling					
Easy	12	12	11	12	
Slightly awkward	0	0	1	0	

Table 2-32

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: in-the-hand observations (Main group, Day 1 of gestation)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	8
Ease of removal from cage					
Easy	12	12	12	8	
Fur condition					
Normal	12	12	12	8	
Skin					
Normal	12	12	12	8	
Secretions-Eye, Nose					
Absent	12	12	12	8	
Exophthalmos					
Absent	12	12	12	8	
Palpebral closure					
Normal	12	12	12	8	
Mucosal membranes					
Normal	12	12	12	8	
Lacrimation					
Normal	12	12	12	8	
Piloerection					
Absent	12	12	12	8	
Pupil size					
Normal	12	12	12	8	
Salivation					
None	12	12	12	7	
Slight	0	0	0	1	
Abnormal respiration					
Absent	12	12	12	8	
Vocalization					
None	12	12	12	7	
Soft	0	0	0	1	
Reactivity to handling					
Easy	12	12	12	8	

Table 2-33

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: in-the-hand observations (Main group, Day 7 of gestation)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	8
Ease of removal from cage					
Easy		12	12	12	8
Fur condition					
Normal		12	12	12	8
Skin					
Normal		12	12	12	8
Secretions-Eye, Nose					
Absent		12	12	12	8
Exophthalmos					
Absent		12	12	12	8
Palpebral closure					
Normal		12	12	12	8
Mucosal membranes					
Normal		12	12	12	8
Lacrimation					
Normal		12	12	12	8
Piloerection					
Absent		12	12	12	8
Pupil size					
Normal		12	12	12	8
Salivation					
None		12	12	12	7
Slight		0	0	0	1
Abnormal respiration					
Absent		12	12	12	8
Vocalization					
None		12	11	11	7
Soft		0	1	1	1
Reactivity to handling					
Easy		12	12	12	8

Table 2-34

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: in-the-hand observations (Main group, Day 14 of gestation)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	8
Ease of removal from cage					
Easy	12	12	12	8	
Fur condition					
Normal	12	12	12	8	
Skin					
Normal	12	12	12	8	
Secretions-Eye, Nose					
Absent	12	12	12	8	
Exophthalmos					
Absent	12	12	12	8	
Palpebral closure					
Normal	12	12	12	8	
Mucosal membranes					
Normal	12	12	12	8	
Lacrimation					
Normal	12	12	12	8	
Piloerection					
Absent	12	12	12	8	
Pupil size					
Normal	12	12	12	8	
Salivation					
None	12	12	12	8	
Abnormal respiration					
Absent	12	12	12	8	
Vocalization					
None	11	12	12	8	
Soft	1	0	0	0	
Reactivity to handling					
Easy	12	12	12	8	

Table 2-35

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: in-the-hand observations (Main group, Day 20 of gestation)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	8
Ease of removal from cage					
Easy	12	12	11	8	
Some resistance/avoidance	0	0	1	0	
Fur condition					
Normal	12	12	12	8	
Skin					
Normal	12	12	12	8	
Secretions-Eye, Nose					
Absent	12	12	12	8	
Exophthalmos					
Absent	12	12	12	8	
Palpebral closure					
Normal	12	12	12	8	
Mucosal membranes					
Normal	12	12	12	8	
Lacrimation					
Normal	12	12	12	8	
Piloerection					
Absent	12	12	12	8	
Pupil size					
Normal	12	12	12	8	
Salivation					
None	12	12	12	7	
Slight	0	0	0	1	
Abnormal respiration					
Absent	12	12	12	8	
Vocalization					
None	12	12	11	8	
Soft	0	0	1	0	
Reactivity to handling					
Easy	11	12	11	8	
Slightly awkward	1	0	1	0	

Table 2-36

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: in-the-hand observations (Main group, Day 4 of lactation)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	30	100	300
	No. of animals	11	11	12	8
Ease of removal from cage					
Easy		11	11	12	8
Fur condition					
Normal		11	11	12	8
Skin					
Normal		11	11	12	8
Secretions-Eye, Nose					
Absent		11	11	12	8
Exophthalmos					
Absent		11	11	12	8
Palpebral closure					
Normal		11	11	12	8
Mucosal membranes					
Normal		11	11	12	8
Lacrimation					
Normal		11	11	12	8
Piloerection					
Absent		11	11	12	8
Pupil size					
Normal		11	11	12	8
Salivation					
None		11	11	11	8
Slight		0	0	1	0
Abnormal respiration					
Absent		11	11	12	8
Vocalization					
None		11	10	12	8
Soft		0	1	0	0
Reactivity to handling					
Easy		11	11	12	8

Table 2-37

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: in-the-hand observations (Recovery group, Week 1 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	300
	No. of animals	5	5
Ease of removal from cage			
Easy		5	5
Fur condition			
Normal		5	5
Skin			
Normal		5	5
Secretions-Eye, Nose			
Absent		5	5
Exophthalmos			
Absent		5	5
Palpebral closure			
Normal		5	5
Mucosal membranes			
Normal		5	5
Lacrimation			
Normal		5	5
Piloerection			
Absent		5	5
Pupil size			
Normal		5	5
Salivation			
None		5	5
Abnormal respiration			
Absent		5	5
Vocalization			
None		5	4
Soft		0	1
Reactivity to handling			
Easy		5	5

Table 2-38

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: in-the-hand observations (Recovery group, Week 2 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	300
	No. of animals	5	5
Ease of removal from cage			
Easy		5	5
Fur condition			
Normal		5	5
Skin			
Normal		5	5
Secretions-Eye, Nose			
Absent		5	5
Exophthalmos			
Absent		5	5
Palpebral closure			
Normal		5	5
Mucosal membranes			
Normal		5	5
Lacrimation			
Normal		5	5
Piloerection			
Absent		5	5
Pupil size			
Normal		5	5
Salivation			
None		5	5
Abnormal respiration			
Absent		5	5
Vocalization			
None		4	5
Soft		1	0
Reactivity to handling			
Easy		5	5

Table 2-39

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: in-the-hand observations (Recovery group, Week 3 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	300
	No. of animals	5	5
Ease of removal from cage			
Easy		5	5
Fur condition			
Normal		5	5
Skin			
Normal		5	5
Secretions-Eye, Nose			
Absent		5	5
Exophthalmos			
Absent		5	5
Palpebral closure			
Normal		5	5
Mucosal membranes			
Normal		5	5
Lacrimation			
Normal		5	5
Piloerection			
Absent		5	5
Pupil size			
Normal		5	5
Salivation			
None		5	5
Abnormal respiration			
Absent		5	5
Vocalization			
None		4	4
Soft		1	1
Reactivity to handling			
Easy		5	5

Table 2-40

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: in-the-hand observations (Recovery group, Week 4 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	300
	No. of animals	5	5
Ease of removal from cage			
Easy	5	5	
Fur condition			
Normal	5	5	
Skin			
Normal	5	5	
Secretions-Eye, Nose			
Absent	5	5	
Exophthalmos			
Absent	5	5	
Palpebral closure			
Normal	5	5	
Mucosal membranes			
Normal	5	5	
Lacrimation			
Normal	5	5	
Piloerection			
Absent	5	5	
Pupil size			
Normal	5	5	
Salivation			
None	5	4	
Slight	0	1	
Abnormal respiration			
Absent	5	5	
Vocalization			
None	5	5	
Reactivity to handling			
Easy	5	5	

Table 2-41

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: in-the-hand observations (Recovery group, Week 5 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	300
	No. of animals	5	5
Ease of removal from cage			
Easy	5	5	
Fur condition			
Normal	5	5	
Skin			
Normal	5	5	
Secretions-Eye, Nose			
Absent	5	5	
Exophthalmos			
Absent	5	5	
Palpebral closure			
Normal	5	5	
Mucosal membranes			
Normal	5	5	
Lacrimation			
Normal	5	5	
Piloerection			
Absent	5	5	
Pupil size			
Normal	5	5	
Salivation			
None	5	5	
Abnormal respiration			
Absent	5	5	
Vocalization			
None	5	5	
Reactivity to handling			
Easy	5	5	

Table 2-42

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: in-the-hand observations (Recovery group, Week 6 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	300
	No. of animals	5	5
Ease of removal from cage			
Easy		5	5
Fur condition			
Normal		5	5
Skin			
Normal		5	5
Secretions-Eye, Nose			
Absent		5	5
Exophthalmos			
Absent		5	5
Palpebral closure			
Normal		5	5
Mucosal membranes			
Normal		5	5
Lacrimation			
Normal		5	5
Piloerection			
Absent		5	5
Pupil size			
Normal		5	5
Salivation			
None		5	5
Abnormal respiration			
Absent		5	5
Vocalization			
None		5	5
Reactivity to handling			
Easy		5	5

Table 2-43

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in male rats: in-the-hand observations (Week 1 of recovery)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	300
	No. of animals	5	5
Ease of removal from cage			
Easy	4	5	
Difficult	1	0	
Fur condition			
Normal	5	5	
Skin			
Normal	5	5	
Secretions-Eye, Nose			
Absent	5	5	
Exophthalmos			
Absent	5	5	
Palpebral closure			
Normal	5	5	
Mucosal membranes			
Normal	5	5	
Lacration			
Normal	5	5	
Piloerection			
Absent	5	5	
Pupil size			
Normal	5	5	
Salivation			
None	5	5	
Abnormal respiration			
Absent	5	5	
Vocalization			
None	4	5	
Soft	1	0	
Reactivity to handling			
Easy	4	5	
Slightly awkward	1	0	

Table 2-44

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in male rats: in-the-hand observations (Week 2 of recovery)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	300
	No. of animals	5	5
Ease of removal from cage			
Easy	4	5	
Some resistance/avoidance	1	0	
Fur condition			
Normal	5	5	
Skin			
Normal	5	5	
Secretions-Eye, Nose			
Absent	5	5	
Exophthalmos			
Absent	5	5	
Palpebral closure			
Normal	5	5	
Mucosal membranes			
Normal	5	5	
Lacration			
Normal	5	5	
Piloerection			
Absent	5	5	
Pupil size			
Normal	5	5	
Salivation			
None	5	5	
Abnormal respiration			
Absent	5	5	
Vocalization			
None	4	5	
Soft	1	0	
Reactivity to handling			
Easy	4	5	
Slightly awkward	1	0	

Table 2-45

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: in-the-hand observations (Week 1 of recovery)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	300
	No. of animals	5	5
Ease of removal from cage			
Easy	5	5	
Fur condition			
Normal	5	5	
Skin			
Normal	5	5	
Secretions-Eye, Nose			
Absent	5	5	
Exophthalmos			
Absent	5	5	
Palpebral closure			
Normal	5	5	
Mucosal membranes			
Normal	5	5	
Lacrimation			
Normal	5	5	
Piloerection			
Absent	5	5	
Pupil size			
Normal	5	5	
Salivation			
None	5	5	
Abnormal respiration			
Absent	5	5	
Vocalization			
None	5	5	
Reactivity to handling			
Easy	5	5	

Table 2-46

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: in-the-hand observations (Week 2 of recovery)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	300
	No. of animals	5	5
Ease of removal from cage			
Easy		5	5
Fur condition			
Normal		5	5
Skin			
Normal		5	5
Secretions-Eye, Nose			
Absent		5	5
Exophthalmos			
Absent		5	5
Palpebral closure			
Normal		5	5
Mucosal membranes			
Normal		5	5
Lacrimation			
Normal		5	5
Piloerection			
Absent		5	5
Pupil size			
Normal		5	5
Salivation			
None		5	5
Abnormal respiration			
Absent		5	5
Vocalization			
None		5	5
Reactivity to handling			
Easy		5	5

Table 2-47

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in male rats: open field observation (Week 1 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Arousal					
Normal		12	12	12	12
Convulsion					
None		12	12	12	12
Abnormal behavior					
None		12	12	12	12
Stereotypy					
None		12	12	12	12
Gait					
No/minimal location		1	0	1	0
Normal		11	12	11	12
Posture					
Normal		12	12	12	12
Grooming					
None		12	12	12	12
Rearing (Mean \pm S.D.)		3 \pm 3	4 \pm 2	4 \pm 1	4 \pm 2
Defecation count (Mean \pm S.D.)		0 \pm 1	0 \pm 0	1 \pm 1	0 \pm 0
Urination					
None		11	10	10	10
Small amount		1	2	2	2

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-48

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in male rats: open field observation (Week 2 of administration)

Parameter	No. of animals	Dose (mg/kg/day)			
		0	30	100	300
Arousal					
Normal	12	12	12	12	12
Convulsion					
None	12	12	12	12	12
Abnormal behavior					
None	12	12	12	12	12
Stereotypy					
None	12	12	12	12	12
Gait					
No/minimal location	0	1	0	0	
Normal	12	11	12	12	
Posture					
Normal	12	12	12	12	
Grooming					
None	12	12	12	12	
Rearing (Mean+S.D.)	3± 2	3± 2	4± 2	4± 2	
Defecation count (Mean+S.D.)	0± 0	0± 1	0± 1	0± 0	
Urination					
None	9	11	9	8	
Small amount	3	1	3	3	
Moderate amount	0	0	0	1	

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-49

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in male rats: open field observation (Week 3 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Arousal					
Normal		12	12	12	12
Convulsion					
None		12	12	12	12
Abnormal behavior					
None		12	12	12	12
Stereotypy					
None		12	12	12	12
Gait					
Normal		12	12	12	12
Posture					
Normal		12	12	12	12
Grooming					
None		12	12	12	12
Rearing (Mean±S.D.)		4± 2	4± 2	4± 2	4± 1
Defecation count (Mean±S.D.)		0± 0	0± 1	1± 1	0± 0
Urination					
None		11	10	11	8
Small amount		1	2	1	4

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-50

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in male rats: open field observation (Week 4 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Arousal					
Normal		12	12	12	12
Convulsion					
None		12	12	12	12
Abnormal behavior					
None		12	12	12	12
Stereotypy					
None		12	12	12	12
Gait					
Normal		12	12	12	12
Posture					
Normal		12	12	12	12
Grooming					
None		12	12	12	12
Rearing (Mean \pm S.D.)		5 \pm 2	5 \pm 1	4 \pm 2	5 \pm 2
Defecation count (Mean \pm S.D.)		0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
Urination					
None		9	10	10	8
Small amount		3	2	2	4

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-51

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in male rats: open field observation (Week 5 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Arousal					
Normal		12	12	12	12
Convulsion					
None		12	12	12	12
Abnormal behavior					
None		12	12	12	12
Stereotypy					
None		12	12	12	12
Gait					
Normal		12	12	12	12
Posture					
Normal		12	12	12	12
Grooming					
None		12	12	12	12
Rearing (Mean \pm S.D.)		4 \pm 1	4 \pm 1	4 \pm 3	4 \pm 2
Defecation count (Mean \pm S.D.)		0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
Urination					
None		10 2	11 1	10 2	11 1
Small amount					

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-52

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in male rats: open field observation (Week 6 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Arousal					
Normal		12	12	12	12
Convulsion					
None		12	12	12	12
Abnormal behavior					
None		12	12	12	12
Stereotypy					
None		12	12	12	12
Gait					
Normal		12	12	12	12
Posture					
Normal		12	12	12	12
Grooming					
None		12	12	12	12
Rearing (Mean \pm S.D.)	3 \pm 1	4 \pm 1	4 \pm 2	4 \pm 1	
Defecation count (Mean \pm S.D.)	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	
Urination					
None	11	11	10	9	
Small amount	1	0	2	3	
Moderate amount	0	1	0	0	

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-53

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: open field observation (Main group, Week 1 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Arousal					
Normal		12	12	12	12
Convulsion					
None		12	12	12	12
Abnormal behavior					
None		12	12	12	12
Stereotypy					
None		12	12	12	12
Gait					
Normal		12	12	12	12
Posture					
Normal		12	12	12	12
Grooming					
None		12	12	12	12
Rearing (Mean \pm S.D.)		7 \pm 3	7 \pm 2	7 \pm 2	7 \pm 2
Defecation count (Mean \pm S.D.)		0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
Urination					
None		12	12	12	12

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-54

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: open field observation (Main group, Week 2 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Arousal					
Normal		12	12	12	12
Convulsion					
None		12	12	12	12
Abnormal behavior					
None		12	12	12	12
Stereotypy					
None		12	12	12	12
Gait					
Normal		12	12	12	12
Posture					
Normal		12	12	12	12
Grooming					
None		12	12	12	12
Rearing (Mean \pm S.D.)	8 \pm 2	7 \pm 2	7 \pm 3	8 \pm 3	
Defecation count (Mean \pm S.D.)	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	
Urination					
None		12	12	12	12

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-55

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: open field observation (Main group, Day 1 of gestation)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	8
Arousal					
Normal		12	12	12	8
Convulsion					
None		12	12	12	8
Abnormal behavior					
None		12	12	12	8
Stereotypy					
None		12	12	12	8
Gait					
Normal		12	12	12	8
Posture					
Normal		12	12	12	8
Grooming					
None		12	12	12	8
Rearing (Mean \pm S.D.)	6 \pm 2	7 \pm 2	7 \pm 1	6 \pm 2	
Defecation count (Mean \pm S.D.)	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	
Urination					
None		12	12	12	8

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-56

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: open field observation (Main group, Day 7 of gestation)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	8
Arousal					
Normal		12	12	12	8
Convulsion					
None		12	12	12	8
Abnormal behavior					
None		12	12	12	8
Stereotypy					
None		12	12	12	8
Gait					
Normal		12	12	12	8
Posture					
Normal		12	12	12	8
Grooming					
None		12	12	12	8
Rearing (Mean \pm S.D.)	6 \pm 2	7 \pm 1	6 \pm 1	6 \pm 2	
Defecation count (Mean \pm S.D.)	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	
Urination					
None		12	12	12	8

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-57

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: open field observation (Main group, Day 14 of gestation)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	8
Arousal					
Normal		12	12	12	8
Convulsion					
None		12	12	12	8
Abnormal behavior					
None		12	12	12	8
Stereotypy					
None		12	12	12	8
Gait					
Normal		12	12	12	8
Posture					
Normal		12	12	12	8
Grooming					
None		12	12	12	8
Rearing (Mean \pm S.D.)		6 \pm 1	7 \pm 2	6 \pm 2	5 \pm 1
Defecation count (Mean \pm S.D.)		0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
Urination					
None		12	12	12	7
Small amount		0	0	0	1

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-58

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: open field observation (Main group, Day 20 of gestation)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	8
Arousal					
Normal		12	12	12	8
Convulsion					
None		12	12	12	8
Abnormal behavior					
None		12	12	12	8
Stereotypy					
None		12	12	12	8
Gait					
Normal		12	12	12	8
Posture					
Normal		12	12	12	8
Grooming					
None		12	12	12	8
Rearing (Mean \pm S.D.)	5 \pm 2	6 \pm 1	5 \pm 1	5 \pm 2	
Defecation count (Mean \pm S.D.)	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	
Urination					
None		12	12	12	7
Small amount		0	0	0	1

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-59

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: open field observation (Main group, Day 4 of lactation)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	30	100	300
	No. of animals	11	11	12	8
Arousal					
Normal		11	11	12	8
Convulsion					
None		11	11	12	8
Abnormal behavior					
None		11	11	12	8
Stereotypy					
None		11	11	12	8
Gait					
Normal		11	11	12	8
Posture					
Normal		11	11	12	8
Grooming					
None		11	11	12	8
Rearing (Mean \pm S.D.)		7 \pm 2	8 \pm 3	7 \pm 2	5 \pm 1
Defecation count (Mean \pm S.D.)		0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
Urination					
None		11	11	12	8

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-60

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: open field observation (Recovery group, Week 1 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	300
	No. of animals	5	5
Arousal			
Normal		5	5
Convulsion			
None		5	5
Abnormal behavior			
None		5	5
Stereotypy			
None		5	5
Gait			
Normal		5	5
Posture			
Normal		5	5
Grooming			
None		5	5
Rearing (Mean \pm S.D.)		7 \pm 1	7 \pm 2
Defecation count (Mean \pm S.D.)		0 \pm 0	0 \pm 0
Urination			
None		5	5

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-61

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: open field observation (Recovery group, Week 2 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	300
	No. of animals	5	5
Arousal			
Normal		5	5
Convulsion			
None		5	5
Abnormal behavior			
None		5	5
Stereotypy			
None		5	5
Gait			
Normal		5	5
Posture			
Normal		5	5
Grooming			
None		5	5
Rearing (Mean \pm S.D.)		9 \pm 2	7 \pm 3
Defecation count (Mean \pm S.D.)		0 \pm 0	0 \pm 0
Urination			
None		5	5

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-62

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: open field observation (Recovery group, Week 3 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	300
	No. of animals	5	5
Arousal			
Normal		5	5
Convulsion			
None		5	5
Abnormal behavior			
None		5	5
Stereotypy			
None		5	5
Gait			
Normal		5	5
Posture			
Normal		5	5
Grooming			
None		5	5
Rearing (Mean \pm S.D.)		8 \pm 2	8 \pm 2
Defecation count (Mean \pm S.D.)		0 \pm 0	0 \pm 0
Urination			
None		5	5

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-63

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: open field observation (Recovery group, Week 4 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	300
	No. of animals	5	5
Arousal			
Normal		5	5
Convulsion			
None		5	5
Abnormal behavior			
None		5	5
Stereotypy			
None		5	5
Gait			
Normal		5	5
Posture			
Normal		5	5
Grooming			
None		5	5
Rearing (Mean \pm S.D.)		10 \pm 2	8 \pm 1
Defecation count (Mean \pm S.D.)		0 \pm 0	0 \pm 0
Urination			
None		5	5

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-64

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: open field observation (Recovery group, Week 5 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	300
	No. of animals	5	5
Arousal			
Normal		5	5
Convulsion			
None		5	5
Abnormal behavior			
None		5	5
Stereotypy			
None		5	5
Gait			
Normal		5	5
Posture			
Normal		5	5
Grooming			
None		5	5
Rearing (Mean \pm S.D.)		9 \pm 3	8 \pm 2
Defecation count (Mean \pm S.D.)		0 \pm 0	0 \pm 0
Urination			
None		5	5

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-65

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: open field observation (Recovery group, Week 6 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	300
	No. of animals	5	5
Arousal			
Normal		5	5
Convulsion			
None		5	5
Abnormal behavior			
None		5	5
Stereotypy			
None		5	5
Gait			
Normal		5	5
Posture			
Normal		5	5
Grooming			
None		5	5
Rearing (Mean \pm S.D.)		9 \pm 3	9 \pm 2
Defecation count (Mean \pm S.D.)		0 \pm 0	0 \pm 0
Urination			
None		5	5

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-66

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in male rats: open field observation (Week 1 of recovery)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	300
	No. of animals	5	5
Arousal			
Normal		5	5
Convulsion			
None		5	5
Abnormal behavior			
None		5	5
Stereotypy			
None		5	5
Gait			
Normal		5	5
Posture			
Normal		5	5
Grooming			
None		5	5
Rearing (Mean \pm S.D.)		3 \pm 1	4 \pm 2
Defecation count (Mean \pm S.D.)		0 \pm 0	0 \pm 0
Urination			
None		5	4
Small amount		0	1

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-67

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in male rats: open field observation (Week 2 of recovery)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	300
	No. of animals	5	5
Arousal			
Normal		5	5
Convulsion			
None		5	5
Abnormal behavior			
None		5	5
Stereotypy			
None		5	5
Gait			
Normal		5	5
Posture			
Normal		5	5
Grooming			
None		5	5
Rearing (Mean \pm S.D.)		3 \pm 1	4 \pm 2
Defecation count (Mean \pm S.D.)		0 \pm 0	0 \pm 0
Urination			
None		5	5

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-68

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: open field observation (Week 1 of recovery)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	300
	No. of animals	5	5
Arousal			
Normal		5	5
Convulsion			
None		5	5
Abnormal behavior			
None		5	5
Stereotypy			
None		5	5
Gait			
Normal		5	5
Posture			
Normal		5	5
Grooming			
None		5	5
Rearing (Mean \pm S.D.)		9 \pm 2	10 \pm 3
Defecation count (Mean \pm S.D.)		0 \pm 0	0 \pm 0
Urination			
None		5	5

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-69

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Detailed clinical signs in female rats: open field observation (Week 2 of recovery)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	300
	No. of animals	5	5
Arousal			
Normal		5	5
Convulsion			
None		5	5
Abnormal behavior			
None		5	5
Stereotypy			
None		5	5
Gait			
Normal		5	5
Posture			
Normal		5	5
Grooming			
None		5	5
Rearing (Mean \pm S.D.)		9 \pm 3	9 \pm 1
Defecation count (Mean \pm S.D.)		0 \pm 0	0 \pm 0
Urination			
None		5	5

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-70

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Manipulative test of male rats (Week 6 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	30	100	300
	No. of animals	5	5	5	5
Auditory response					
Normal		5	5	5	5
Approach response					
Normal		5	5	5	5
Touch response					
Normal		5	5	5	5
Tail pinch response					
Normal		5	5	5	5
Pupillary reflex					
Pass, both		5	5	5	5
Aerial righting reflex					
(Total score: Mean \pm S.D.)	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	
Landing foot splay (mm: Mean \pm S.D.)	105 \pm 7	83 \pm 17	87 \pm 13	103 \pm 16	

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-71

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Manipulative test of female rats (Main group, Day 4 of lactation)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	30	100	300
	No. of animals	5	5	5	5
Auditory response					
Normal		5	5	5	5
Approach response					
Normal		5	5	5	5
Touch response					
Normal		5	5	5	5
Tail pinch response					
Normal		5	5	5	5
Pupillary reflex					
Pass, both		5	5	5	5
Aerial righting reflex					
(Total score: Mean+S.D.)		0± 0	0± 0	0± 0	0± 0
Landing foot splay (mm: Mean+S.D.)		69± 7	59±15	64±16	55±10

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-72

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Manipulative test of female rats (Recovery group, Week 6 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	300
	No. of animals	5	5
Auditory response			
Normal		5	5
Approach response			
Normal		5	5
Touch response			
Normal		5	5
Tail pinch response			
Normal		5	5
Pupillary reflex			
Pass, both		5	5
Aerial righting reflex			
(Total score: Mean \pm S.D.)		0 \pm 0	0 \pm 0
Landing foot splay (mm: Mean \pm S.D.)		57 \pm 25	68 \pm 18

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-73

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Manipulative test of male rats (Week 2 of recovery)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	300
	No. of animals	5	5
Auditory response			
Normal		5	5
Approach response			
Normal		5	5
Touch response			
Normal		5	5
Tail pinch response			
Normal		5	5
Pupillary reflex			
Pass, both		5	5
Aerial righting reflex			
(Total score: Mean \pm S.D.)		0 \pm 0	0 \pm 0
Landing foot splay (mm: Mean \pm S.D.)		87 \pm 23	94 \pm 29

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-74

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Manipulative test of female rats (Week 2 of recovery)

Parameter	Dose (mg/kg/day)	0	300
	No. of animals	5	5
Auditory response			
Normal		5	5
Approach response			
Normal		5	5
Touch response			
Normal		5	5
Tail pinch response			
Normal		5	5
Pupillary reflex			
Pass, both		5	5
Aerial righting reflex			
(Total score: Mean+S.D.)		0± 0	0± 0
Landing foot splay (mm: Mean+S.D.)		72±17	57±18

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-75

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Grip strength of male rats (Week 6 of administration)

Dose mg/kg/day		Fore limb g	Hind limb g
0	No.	5	5
	Mean	1305	959
	S.D.	134	134
30	No.	5	5
	Mean	1404	1042
	S.D.	317	106
100	No.	5	5
	Mean	1342	856
	S.D.	126	82
300	No.	5	5
	Mean	1383	838
	S.D.	164	141

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-76

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Grip strength of female rats (Main group, Day 4 of lactation)

Dose mg/kg/day		Fore limb g	Hind limb g
0	No.	5	5
	Mean	1077	676
	S.D.	251	134
30	No.	5	5
	Mean	1081	723
	S.D.	219	133
100	No.	5	5
	Mean	1182	748
	S.D.	267	120
300	No.	5	5
	Mean	1017	621
	S.D.	157	166

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-77

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Grip strength of female rats (Recovery group, Week 6 of administration)

Dose mg/kg/day		Fore limb g	Hind limb g
0	No.	5	5
	Mean	992	762
	S.D.	58	97
300	No.	5	5
	Mean	954	848
	S.D.	73	90

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-78

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Grip strength of male rats (Week 2 of recovery)

Dose mg/kg/day		Fore limb g	Hind limb g
0	No.	5	5
	Mean	1614	951
	S.D.	141	114
300	No.	5	5
	Mean	1630	1004
	S.D.	90	185

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-79

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Grip strength of female rats (Week 2 of recovery)

Dose mg/kg/day		Fore limb g	Hind limb g
0	No.	5	5
	Mean	990	601
	S.D.	143	100
300	No.	5	5
	Mean	1080	800*
	S.D.	121	108T

* : p<0.05 (Significant difference from control group)
T: Student's t-test

Table 2-80

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Motor activity of male rats (Week 6 of administration)

Dose mg/kg/day	Interval (minutes)							
	0-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60	Total(0-60)	
0	No. Mean S.D.	5 385 26	5 326 34	5 274 49	5 184 69	5 197 79	5 273 103	5 1640 124
30	No. Mean S.D.	5 434* 21D	5 326 50	5 270 83	5 190 68	5 201 121	5 243 123	5 1663 364
100	No. Mean S.D.	5 421 24	5 371 32	5 326 64	5 292* 70D	5 217 99	5 194 128	5 1822 309
300	No. Mean S.D.	5 462** 29D	5 386 37	5 339 77	5 334** 34D	5 276 139	5 336 44	5 2133* 303D

* : p<0.05 ; ** : p<0.01 (Significant difference from control group)

D: Dunnett's test

Table 2-81

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Motor activity of female rats (Main group, Day 4 of lactation)

Dose mg/kg/day	Interval (minutes)						
	0-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60	Total(0-60)
0	No. Mean S.D.	5 342 47	5 189 99	5 114 146	5 63 82	5 61 108	5 92 77
30	No. Mean S.D.	5 308 72	5 99 65	5 63 63	5 99 62	5 49 72	5 112 89
100	No. Mean S.D.	5 346 31	5 136 81	5 153 119	5 97 80	5 86 64	5 56 55
300	No. Mean S.D.	5 337 91	5 85 110	5 44 65	5 69 86	5 57 38	5 51 52
							860 731 875 644 373
							503 236 300

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-82

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Motor activity of female rats (Recovery group, Week 6 of administration)

Dose mg/kg/day	Interval (minutes)						
	0-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60	Total(0-60)
0	No. Mean S.D.	5 463 18	5 376 24	5 367 82	5 321 48	5 164 108	5 114 86
300	No. Mean S.D.	5 460 29	5 377 27	5 343 14	5 324 33	5 251 84	5 219 114
							1806 176
							1975 216

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-83

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Motor activity of male rats (Week 2 of recovery)

Dose mg/kg/day	Interval (minutes)						
	0-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60	Total(0-60)
0	No. Mean S.D.	5 363 24	5 305 21	5 232 51	5 149 39	5 96 97	5 136 117
300	No. Mean S.D.	5 400 28	5 322 67	5 244 91	5 149 97	5 100 97	5 71 63
							1282 264
							1287 392

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-84

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Motor activity of female rats (Week 2 of recovery)

Dose mg/kg/day	Interval (minutes)						
	0-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60	Total(0-60)
0	No. Mean S.D.	5 367 50	5 311 110	5 239 122	5 130 160	5 91 121	5 115 152
300	No. Mean S.D.	5 352 24	5 234 49	5 179 132	5 76 68	5 105 131	5 61 98
							1253 513
							1007 389

No significant difference between treated group and control group.

Table 3-1

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Body weight of male rats (Administration period)

Dose mg/kg/day	Day of administration												Gain 1-42
	1	4	8	11	15	18	22	25	29	32	36	39	
0	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
0	Mean	387.3	401.3	414.7	426.4	438.4	440.4	454.7	466.7	477.3	487.3	497.5	507.0
0	S.D.	17.1	20.9	25.6	28.0	31.3	33.2	36.9	39.7	44.2	47.8	49.5	51.8
30	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
30	Mean	385.7	400.6	416.6	428.3	444.3	452.1	469.8	482.3	496.7	507.3	518.1	527.2
30	S.D.	16.8	17.4	20.9	21.8	27.1	28.1	29.9	30.1	30.0	31.9	32.2	33.5
100	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
100	Mean	384.6	403.7	419.6	433.9	446.3	454.7	469.7	482.5	494.8	505.5	514.8	520.7
100	S.D.	17.5	19.6	22.4	22.1	23.1	22.8	22.0	23.4	24.3	26.5	24.5	25.6
300	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
300	Mean	384.8	403.9	419.7	431.5	441.8	443.3	455.3	465.0	475.1	486.3	495.8	501.9
300	S.D.	18.5	19.5	21.7	22.9	26.4	30.8	34.4	38.1	40.6	40.3	40.3	39.5

Unit: g

No.: No. of animals

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 3-2

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Body weight of female rats during the pre-mating period (Main group)

Dose mg/kg/day	Day of administration					Gain 1-15
	1	4	8	11	15	
0	No.	12	12	12	12	12
	Mean	234.3	247.6	253.8	257.3	263.1
	S.D.	8.5	9.7	10.8	13.0	16.0
30	No.	12	12	12	12	12
	Mean	236.5	243.7	250.4	258.6	265.9
	S.D.	10.6	10.1	9.6	11.6	13.1
100	No.	12	12	12	12	12
	Mean	235.4	245.1	253.9	259.3	265.3
	S.D.	13.0	11.6	14.2	16.2	15.7
300	No.	12	12	12	12	12
	Mean	236.6	247.5	255.3	262.7	269.1
	S.D.	13.6	11.4	14.8	17.1	18.6

Unit: g

No.: No. of animals

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 3-3

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Body weight of dams during the gestation period (Main group)

Dose mg/kg/day	Administration							Gain 0-20
	0	4	7	11	14	17	20a)	
0	No.	12	12	12	12	12	12	12
	Mean	269.2	291.0	304.0	326.3	339.8	371.0	419.4
	S.D.	12.6	12.5	15.1	16.3	17.2	18.2	21.1
30	No.	12	12	12	12	12	12	12
	Mean	271.9	291.3	304.5	325.0	341.0	372.0	419.8
	S.D.	17.8	17.7	21.0	21.1	23.6	29.0	29.7
100	No.	12	12	12	12	12	12	12
	Mean	269.8	291.3	303.1	324.5	340.5	371.1	415.4
	S.D.	18.0	15.7	16.0	16.1	18.9	23.1	30.1
300	No.	8	8	8	8	8	8	8
	Mean	268.8	291.1	303.0	325.1	339.6	369.6	411.1
	S.D.	22.0	21.9	23.4	28.1	29.2	35.0	36.5

Unit: g

No.: No. of dams

a): Day of gestation

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 3-4

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Body weight of dams during the lactation period (Main group)

Dose mg/kg/day	Administration			Gain 0-4
	0	4a)		
0	No.	12	11 ^{b)}	11
	Mean	316.0	326.7	7.3
	S.D.	20.3	20.1	16.3
30	No.	12	11 ^{b)}	11
	Mean	315.7	330.9	14.0
	S.D.	30.3	21.8	17.3
100	No.	12	12	12
	Mean	319.3	330.6	11.3
	S.D.	21.1	23.4	14.6
300	No.	8	8	8
	Mean	297.1	310.0	12.9
	S.D.	19.1	34.3	21.7

Unit: g

No.: No. of dams

a): Day of lactation

b): One dam was necropsied on day 2 of lactation because all pups died.

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 3-5

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Body weight of female rats during the administration period (Recovery group)

Dose mg/kg/day	Day of administration												Gain 1-42
	1	4	8	11	15	18	22	25	29	32	36	39	
0	No.	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
0	Mean	234.2	244.6	251.6	259.2	262.4	265.2	271.6	275.8	275.2	285.8	288.6	289.0
0	S.D.	13.8	12.1	14.9	11.9	13.4	20.0	17.7	16.6	21.4	20.8	21.3	23.3
300	No.	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
300	Mean	237.2	248.6	259.6	272.2	281.8	283.0	288.6	289.4	294.6	300.6	304.0	305.2
300	S.D.	10.6	12.8	14.3	13.9	15.2	12.4	12.5	13.0	21.1	19.4	24.8	26.5

Unit: g

No.: No. of animals

No significant difference between treated group and control group.

Table 3-6

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Body weight of male rats (Recovery period)

Dose mg/kg/day	Day of recovery					Gain 1-14
	1	4	8	11	14	
0	No.	5	5	5	5	5
	Mean	509.6	510.8	519.8	524.8	530.8
	S.D.	55.2	56.8	57.2	57.9	57.8
300	No.	5	5	5	5	5
	Mean	512.4	510.4	522.2	527.0	534.8
	S.D.	49.9	46.0	40.7	43.7	43.8

Unit: g

No.: No. of animals

No significant difference between treated group and control group.

Table 3-7

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Body weight of female rats during the recovery period (Recovery group)

Dose mg/kg/day	Day of recovery					Gain 1-14
	1	4	8	11	14	
0	No.	5	5	5	5	5
	Mean	293.0	293.6	295.6	294.6	301.2
	S.D.	21.8	24.0	18.7	19.5	17.6
300	No.	5	5	5	5	5
	Mean	307.4	303.8	299.8	294.2	294.8
	S.D.	24.0	22.2	22.5	22.1	14.8

Unit: g

No.: No. of animals

**: p<0.01 (Significant difference from control group)

T: Student's t-test

Table 4-1

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Food consumption of male rats (Administration period)

Dose mg/kg/day	Day of administration									
	1	4	8	11	15	32	36	39	42	
0	No. Mean S.D.	12 28.8 2.9	12 25.8 3.4	12 25.3 3.1	12 24.3 2.7	12 23.8 2.8	12 24.3 3.1	12 23.3 2.8	12 24.2 3.0	12 22.8 3.6
30	No. Mean S.D.	12 28.3 3.0	12 26.3 2.4	12 25.3 2.7	12 25.8 2.5	12 25.3 2.0	12 25.3 2.1	12 23.9 1.2	12 23.4 2.3	12 23.8 2.8
100	No. Mean S.D.	12 27.8 4.1	12 27.6 2.2	12 25.2 2.4	12 26.2 1.9	12 24.2 2.2	12 23.7 2.5	12 23.2 2.0	12 22.1 2.1	12 23.0 2.3
300	No. Mean S.D.	12 27.3 3.4	12 26.8 2.8	12 24.6 2.2	12 24.0 2.3	12 23.3 3.4	12 23.3 2.2	12 23.6 2.6	12 22.8 2.8	12 22.2 2.4

Unit: g/rat/day

No.: No. of animals

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 4-2

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Food consumption of female rats during the pre-mating period (Main group)

Dose mg/kg/day	Day of administration					
	1	4	8	11	15	
0	No. Mean S.D.	12 18.3 2.2	12 19.8 2.1	12 19.1 2.1	12 19.8 3.2	12 18.6 3.5
30	No. Mean S.D.	12 19.8 2.5	12 18.0 2.8	12 17.8 2.5	12 19.5 2.6	12 18.3 2.2
100	No. Mean S.D.	12 18.9 2.7	12 18.0 3.0	12 19.9 3.0	12 19.3 3.0	12 18.9 2.2
300	No. Mean S.D.	12 19.0 3.0	12 19.3 1.9	12 20.1 2.4	12 21.8 3.7	12 20.7 3.8

Unit: g/rat/day

No.: No. of animals

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 4-3

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Food consumption of dams during the gestation period (Main group)

Dose mg/kg/day	Administration							
	1	4	7	11	14	17	20a)	
0	No. Mean S.D.	12 18.8 2.7	12 21.7 1.8	12 21.3 3.2	12 23.0 2.6	12 21.2 4.2	12 24.4 3.1	12 20.6 2.0
30	No. Mean S.D.	12 16.8 3.5	12 21.3 2.7	12 21.3 3.1	12 22.3 2.5	12 22.2 2.8	12 23.9 3.0	12 19.6 2.6
100	No. Mean S.D.	12 19.2 1.9	12 21.9 2.5	12 21.7 3.1	12 23.8 2.9	12 22.7 1.9	12 24.9 2.2	12 18.6 2.6
300	No. Mean S.D.	8 18.8 4.5	8 23.1 2.2	8 24.0 3.5	8 24.9 3.6	8 23.1 3.1	8 25.6 4.8	8 18.3 1.7

Unit: g/rat/day

No.: No. of dams

a): Day of gestation

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 4-4

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Food consumption of dams during the lactation period (Main group)

Dose mg/kg/day	Administration	
	2	4a)
0	No. 11 ^{b)}	11
	Mean 17.4	34.5
	S.D. 7.8	5.8
30	No. 11 ^{b)}	11
	Mean 19.6	36.5
	S.D. 7.0	7.0
100	No. 12	12
	Mean 19.8	33.9
	S.D. 6.7	7.4
300	No. 8	8
	Mean 17.4	27.4
	S.D. 8.3	11.3

Unit: g/rat/day

No.: No. of dams

a): Day of lactation

b): One dam was necropsied on day 2 of lactation because all pups died.

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 4-5

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Food consumption of female rats during the administration period (Recovery group)

Dose mg/kg/day	Day of administration								
	1	4	8	11	15	32	36	39	42
0	No.	5	5	5	5	5	5	5	5
0	Mean	18.8	17.4	16.8	20.0	19.0	18.6	17.4	14.6
0	S.D.	3.7	3.5	2.8	3.7	3.1	3.4	3.6	3.4
300	No.	5	5	5	5	5	5	5	5
300	Mean	19.6	21.8	20.8	21.8	22.2	19.0	18.6	16.8
300	S.D.	1.9	3.1	3.6	0.8	1.9	2.3	2.5	3.3
									2.0

Unit: g/rat/day

No.: No. of animals

No significant difference between treated group and control group.

Table 4-6

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Food consumption of male rats (Recovery period)

Dose mg/kg/day	Day of recovery					
	1	4	8	11	14	
0	No. Mean S.D.	5 22.2 2.4	5 27.4 3.0	5 28.4 3.4	5 28.4 2.9	5 29.6 2.9
300	No. Mean S.D.	5 22.4 3.3	5 27.0 3.1	5 27.8 1.6	5 28.4 2.4	5 31.6 3.0

Unit: g/rat/day

No.: No. of animals

No significant difference between treated group and control group.

Table 4-7

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Food consumption of female rats during the recovery period (Recovery group)

Dose mg/kg/day	Day of recovery					
	1	4	8	11	14	
0	No. Mean S.D.	5 14.2 2.4	5 19.6 4.4	5 20.4 4.0	5 15.4 3.2	5 20.0 3.3
300	No. Mean S.D.	5 14.6 3.1	5 17.6 1.1	5 16.6 2.5	5 14.0 4.5	5 16.8 2.3

Unit: g/rat/day

No.: No. of animals

No significant difference between treated group and control group.

Table 5-1

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Urinalysis of male rats (Week 6 of administration)

Dose mg/kg/day	No.	pH									1) Protein					2) Ketone body					3) Glucose							
		5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0	-	+-	+	++	+++	++++	-	+-	+	++	+++	++++	-	+-	+	++	+++	++++
0	5	0	0	0	0	0	3	2	0		0	1	4	0	0	0	0	2	3	0	0	0	5	0	0	0	0	0
30	5	0	0	0	0	2	1	0	1	1	1	0	4	0	0	0	1	2	2	0	0	0	5	0	0	0	0	0
100	5	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	4	1	0	0	1	3	1	0	0	0	5	0	0	0	0	0
300	5	0	0	0	0	0	2	1	2	0	0	0	5	0	0	0	0	4	1	0	0	0	5	0	0	0	0	0

1) - : <10 mg/dL +- : 10 - 25 mg/dL + : 26 - 85 mg/dL ++ : 86 - 250 mg/dL +++ : 251 - 600 mg/dL ++++ : >600 mg/dL
 2) - : <5 mg/dL +- : 5 - 7.5 mg/dL + : 7.6 - 30 mg/dL ++ : 31 - 70 mg/dL +++ : 71 - 125 mg/dL ++++ : >125 mg/dL
 3) - : <30 mg/dL +- : 30 - 60 mg/dL + : 61 - 125 mg/dL ++ : 126 - 250 mg/dL +++ : 251 - 750 mg/dL ++++ : >750 mg/dL

Table 5-2

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Urinalysis of male rats (Week 6 of administration)

Dose mg/kg/day	No.	4) Occult blood				5) Bilirubin					6) Urobilinogen					7) Color			
		-	+-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	++++	LY	Y	DY	
0	5	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	3	2	0	0	0	0	5	0
30	5	4	1	0	0	0	5	0	0	0	0	4	1	0	0	0	0	5	0
100	5	2	3	0	0	0	5	0	0	0	0	4	1	0	0	0	0	5	0
300	5	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	3	2	0	0	0	0	5	0

4) - : <0.03 mg/dL

- : <0.03 - 0.05 mg/dL + : 0.06 - 0.15 mg/dL ++ : 0.16 - 0.75 mg/dL +++ : >0.75 mg/dL

5) - : <0.5 mg/dL

+ : 0.5 - 1.5 mg/dL ++ : 1.6 - 5.0 mg/dL +++ : 5.1 - 10.0 mg/dL ++++ : >10.0 mg/dL

6) +- : <2.0 mg/dL

+ : 2.0 - 3.5 mg/dL ++ : 3.6 - 7.0 mg/dL +++ : 7.1 - 12.0 mg/dL ++++ : >12.0 mg/dL

7) LY : Light yellow

Y : Yellow DY : Dark yellow

Table 5-3

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Urinalysis of male rats (Week 6 of administration)

Dose mg/kg/day	No.	URINE SEDIMENT												CRYSTALLIZATION																
		RBC				WBC				SEC				SREC			Cast		PS			CO								
		-	+-	++	+++	-	+-	++	+++	-	+-	++	+++	-	+-	++	+++	-	+-	+	-	+-	++	+++						
0	5	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	1	2	2	0	0	5	0	0	0	0	0
30	5	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	1	4	0	0	0	5	0	0	0	0	0
100	5	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	2	3	0	0	5	0	0	0	0	0
300	5	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	

SEC : Squamous Epithelial Cell - : Negative
 SREC : Small Round Epithelial Cell +- : Slight
 PS : Phosphate Salts + : Mild
 CO : Calcium Oxalate ++ : Moderate
 +++ : Severe

Table 5-4

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Water intake and urinalysis (Week 6 of administration)

Male

Dose mg/kg/day	No.		Water intake mL/24h	Urine volume mL/24h	Osmolality mOsm/kg
0	5	Mean	35	13.0	1960
		S.D.	3	5.1	473
30	5	Mean	33	10.3	1930
		S.D.	5	3.2	293
100	5	Mean	34	12.4	1883
		S.D.	6	2.7	507
300	5	Mean	34	11.9	1788
		S.D.	11	2.0	469

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 5-5

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bromochloromethane

Urinalysis of male rats (Week 2 of recovery)

Table 5-6

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Urinalysis of male rats (Week 2 of recovery)

Dose mg/kg/day	No.	4) Occult blood				5) Bilirubin					6) Urobilinogen					7) Color			
		-	+-	+	++	+++	-	+	++	+++	++++	-	+	++	+++	++++	LY	Y	DY
0	5	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5	0
300	5	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5	0

4) - : <0.03 mg/dL +- : 0.03 - 0.05 mg/dL + : 0.06 - 0.15 mg/dL ++ : 0.16 - 0.75 mg/dL +++ : >0.75 mg/dL

5) - : <0.5 mg/dL + : 0.5 - 1.5 mg/dL ++ : 1.6 - 5.0 mg/dL +++ : 5.1 - 10.0 mg/dL ++++ : >10.0 mg/dL

6) +- : <2.0 mg/dL + : 2.0 - 3.5 mg/dL ++ : 3.6 - 7.0 mg/dL +++ : 7.1 - 12.0 mg/dL ++++ : >12.0 mg/dL

7) LY : Light yellow Y : Yellow DY : Dark yellow

Table 5-7

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bromochloromethane

Urinalysis of male rats (Week 2 of recovery)

URINE SEDIMENT																																
Dose mg/kg/day	No.	RBC					WBC					SEC					SREC			Cast			CRYSTALLIZATION									
		-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	-	+-	+	-	+-	+	++	+++					
0	5	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0	0	4	1	0	0	5	0	0	0	0	
300	5	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0	0	4	1	0	0	5	0	0	0	0

SEC	Squamous Epithelial Cell	-	Negative
SREC	Small Round Epithelial Cell	+-	Slight
PS	Phosphate Salts	+	Mild
CO	Calcium Oxalate	++	Moderate
		+++	Severe

Table 5-8

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Water intake and urinalysis (Week 2 of recovery)

Male

Dose mg/kg/day	No.	Water intake mL/24h	Urine volume mL/24h	Osmolality mOsm/kg
0	5	Mean S.D.	46 12	17.4 5.2
300	5	Mean S.D.	37 12	18.3 3.3

No significant difference between treated group and control group.

Table 6-1

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Hematology (Day 42 of administration)

Male

Dose mg/kg/day	No.	RBC ×10 ⁴ /μL	Hb g/dL	Ht %	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	Reticu- locyte %	Plate- let ×10 ⁴ /μL	PT s	APTT s	FIB mg/dL	
0	5	Mean 34	907 0.5	15.7 1.7	45.1 0.7	49.8 0.2	17.3 0.3	34.7 0.3	1.8 0.3	106.7 10.0	13.2 0.6	21.9 3.6	296 27
30	5	Mean 28	908 0.3	16.0 1.4	46.1 1.4	50.8 1.9	17.6 0.5	34.7 0.5	1.8 0.3	104.0 9.3	13.3 0.9	23.0 3.0	288 12
100	5	Mean 46	933 0.3D	16.4* 1.2	46.9 1.7	50.4 1.7	17.6 0.7	34.9 0.3	1.8 0.2	109.1 10.6	13.8 1.0	24.9 2.6	295 8
300	5	Mean 40	936 0.4D	16.4* 1.8	46.8 0.5	50.0 0.4	17.6 0.4	35.2 0.4	1.7 0.2	106.8 4.6	13.4 1.2	24.7 3.2	330* 22D

* : p<0.05 (Significant difference from control group)
D : Dunnett's test

Table 6-2

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Hematology (Day 42 of administration)

Male

Dose mg/kg/day	No.	WBC X10 ³ /μL	Differential leukocyte counts (%)					Differential leukocyte counts (X10 ³ /μL)							
			Lymph.	Neut.	Eosino.	Baso.	Mono.	LUC	Lymph.	Neut.	Eosino.	Baso.	Mono.	LUC	
0	5	Mean	96.2	77.0	19.8	0.8	0.3	1.5	0.5	73.9	19.2	0.8	0.3	1.5	0.5
		S.D.	19.5	9.5	9.9	0.3	0.1	0.3	0.1	17.0	9.9	0.5	0.1	0.4	0.1
30	5	Mean	81.4	75.0	21.3	1.2	0.3	1.6	0.5	61.3	17.2	1.0	0.2	1.3	0.5
		S.D.	10.6	2.9	3.3	0.4	0.1	0.5	0.3	9.7	1.8	0.4	0.1	0.5	0.3
100	5	Mean	112.5	78.8	17.8	0.8	0.3	1.6	0.6	89.0	19.6	0.9	0.4	1.9	0.7
		S.D.	13.2	5.6	5.6	0.2	0.1	0.4	0.2	15.0	4.4	0.2	0.1	0.6	0.3
300	5	Mean	107.1	72.8	23.0	0.7	0.3	2.5**	0.6	78.5	24.2	0.8	0.3	2.7**	0.6
		S.D.	11.3	7.7	7.5	0.1	0.1	0.5D	0.3	15.3	6.3	0.1	0.1	0.5D	0.3

LUC : Large unstained cells

** : p<0.01 (Significant difference from control group)

D : Dunnett's test

Table 6-3

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Hematology (Day 5 of lactation)

Female

Dose mg/kg/day	No.	RBC X10 ⁴ /μL	Hb g/dL	Ht %	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	Reticu- locyte %	Plate- let X10 ⁴ /μL	PT s	APTT s	FIB mg/dL	
0	5	Mean S.D.	683 39	12.5 0.5	36.6 1.8	53.6 1.5	18.4 0.4	34.3 0.7	7.0 1.7	146.9 31.9	11.9 0.6	19.0 2.1	371 35
30	5	Mean S.D.	713 41	12.9 0.7	37.9 1.4	53.3 1.6	18.1 0.3	34.0 0.7	8.0 2.6	158.1 18.0	12.5 0.4	20.1 3.3	328 88
100	5	Mean S.D.	717 23	13.4 0.6	39.4 1.4	54.9 1.5	18.7 0.5	34.1 0.4	7.4 1.1	122.5 24.6	13.2 1.3	20.3 4.4	355 66
300	5a)	Mean S.D.	720 106	13.5 1.3	39.3 2.9	55.2 5.3	18.8 1.3	34.3 1.7	10.1 3.7	178.6 30.3	12.4 1.6	18.4 5.5	360 78

a) : The animal(No.4104) was excluded from statistical analysis.
No significant difference in any treated groups from control group.

Table 6-4

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Hematology (Day 5 of lactation)

Female

Dose mg/kg/day	No.	WBC X10 ³ /μL	Differential leukocyte counts (%)					Differential leukocyte counts (X10 ³ /μL)							
			Lymph.	Neut.	Eosino.	Baso.	Mono.	LUC	Lymph.	Neut.	Eosino.	Baso.	Mono.	LUC	
0	5	Mean	113.3	57.8	38.3	0.6	0.2	2.2	0.9	65.4	43.3	0.7	0.2	2.6	1.1
		S.D.	11.1	2.1	1.8	0.4	0.1	0.9	0.3	6.8	3.8	0.5	0.1	1.3	0.4
30	5	Mean	135.5	61.5	34.9	0.6	0.2	2.1	0.8	83.6	46.7	0.8	0.3	2.9	1.1
		S.D.	34.6	3.3	3.6	0.1	0.1	0.7	0.2	22.8	10.4	0.4	0.2	1.7	0.4
100	5	Mean	116.2	66.1	29.8	0.5	0.3	2.4	0.9	77.6	33.7	0.6	0.3	2.9	1.1
		S.D.	45.3	9.3	9.6	0.2	0.1	0.2	0.3	31.8	18.1	0.4	0.2	1.2	0.7
300	5a)	Mean	128.2	54.8	40.0	0.4	0.2	3.1	1.3	70.6	50.6	0.5	0.3	4.7	1.6
		S.D.	44.4	9.5	10.4	0.3	0.1	1.9	1.7	27.6	18.1	0.3	0.0	4.8	1.8

LUC : Large unstained cells

a) : The animal(No.4104) was excluded from statistical analysis.
No significant difference in any treated groups from control group.

Table 6-5

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Hematology (Day 14 of recovery)

Male

Dose mg/kg/day	No.	RBC ×10 ⁴ /μL	Hb g/dL	Ht %	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	Reticu- locyte %	Plate- let ×10 ⁴ /μL	PT s	APTT s	FIB mg/dL
0	5	Mean 914	15.8	44.6	48.8	17.3	35.4	1.9	120.2	14.7	22.6	309
		S.D. 21	0.5	1.3	0.7	0.5	0.5	0.3	18.0	0.6	1.7	43
300	5	Mean 835**	15.5	43.4	52.0**	18.6**	35.7	2.3	128.8	13.1**	21.5	295
		S.D. 36T	0.4	1.8	1.6T	0.6T	0.6	0.6	20.7	0.9T	3.1	28

** : p<0.01 (Significant difference from control group)

T : Student's t-test

Table 6-6

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Hematology (Day 14 of recovery)

Male

Dose mg/kg/day	No.	WBC $\times 10^3/\mu\text{L}$	Differential leukocyte counts (%)					Differential leukocyte counts ($\times 10^2/\mu\text{L}$)							
			Lymph.	Neut.	Eosino.	Baso.	Mono.	LUC	Lymph.	Neut.	Eosino.	Baso.	Mono.	LUC	
0	5	Mean	94.4	80.7	15.2	1.1	0.3	1.8	0.8	77.2	13.5	1.0	0.3	1.6	0.8
		S.D.	27.6	5.6	4.6	0.4	0.1	0.9	0.5	27.0	2.2	0.3	0.2	0.6	0.6
300	5	Mean	96.6	79.4	16.8	1.4	0.3	1.5	0.5	76.8	16.2	1.3	0.3	1.4	0.5
		S.D.	24.9	3.5	3.1	0.7	0.1	0.3	0.2	20.8	5.3	0.4	0.2	0.5	0.1

LUC : Large unstained cells

No significant difference between treated group and control group.

Table 6-7

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Hematology (Day 14 of recovery)

Female

Dose mg/kg/day	No.	RBC ×10 ⁴ /μL	Hb g/dL	Ht %	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	Reticu- locyte %	Plate- let ×10 ⁴ /μL	PT s	APTT s	FIB mg/dL
0	5	Mean 822	14.8	40.5	49.3	18.0	36.5	2.1	120.5	11.8	18.7	234
		S.D. 44	0.7	2.1	1.4	0.3	0.8	0.6	10.4	0.4	1.2	23
300	5	Mean 813	14.9	40.9	50.3	18.4	36.5	2.3	123.1	11.7	20.8	212
		S.D. 41	0.4	1.4	1.7	0.6	0.4	0.4	13.5	0.3	2.1	16

No significant difference between treated group and control group.

Table 6-8

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Hematology (Day 14 of recovery)

Female

Dose mg/kg/day	No.	WBC $\times 10^2/\mu\text{L}$	Differential leukocyte counts (%)					Differential leukocyte counts ($\times 10^2/\mu\text{L}$)							
			Lymph.	Neut.	Eosino.	Baso.	Mono.	LUC	Lymph.	Neut.	Eosino.	Baso.	Mono.	LUC	
0	5	Mean	49.8	73.4	22.1	1.4	0.3	2.2	0.7	36.6	10.9	0.7	0.1	1.1	0.4
		S.D.	15.1	4.6	4.4	0.5	0.1	0.4	0.3	11.8	3.5	0.3	0.1	0.4	0.2
300	5	Mean	56.2	75.5	19.9	1.8	0.2	2.0	0.6	42.3	11.4	0.9	0.1	1.0	0.4
		S.D.	20.8	4.7	4.4	0.7	0.1	0.6	0.2	15.6	5.4	0.3	0.1	0.2	0.3

LUC : Large unstained cells

No significant difference between treated group and control group.

Table 7-1

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Blood chemistry (Day 42 of administration)

Male

Dose mg/kg/day	No.		AST (GOT) IU/L	ALT (GPT) IU/L	LDH IU/L	γ -GTP IU/L	AlP IU/L	T.cho mg/dL	TG mg/dL	PL mg/dL	T.bili- rubin mg/dL	Glucose mg/dL
0	5	Mean	59	32	58	1	452	56	36	87	0.0	140
		S.D.	3	5	17	0	42	20	15	21	0.1	25
30	5	Mean	104*	36	87	1	454	49	30	78	0.1	143
		S.D.	48DT	10	40	0	136	8	12	9	0.0	4
100	5	Mean	79	31	92	1	482	44	31	73	0.1	134
		S.D.	8	3	70	0	45	9	7	10	0.0	17
300	5	Mean	240*	73	215	1	451	42	23	70	0.1	119
		S.D.	359DT	87	344	0	87	4	6	5	0.0	17

* : p<0.05 (Significant difference from control group)

DT : Dunnett-type rank test

Table 7-2

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Blood chemistry (Day 42 of administration)

Male

Dose mg/kg/day	No.	BUN mg/dL	Crea- tinine mg/dL	Na mmol/L	K mmol/L	Cl mmol/L	Ca mg/dL	P mg/dL	TP g/dL	Albumin g/dL	A/G
0	5	Mean 13	0.27	145	4.9	111	10.0	6.8	6.3	3.1	1.01
		S.D. 3	0.03	2	0.2	2	0.2	0.3	0.2	0.1	0.06
30	5	Mean 12	0.29	145	4.5	110	9.9	6.5	6.3	3.2	1.01
		S.D. 1	0.04	1	0.2	2	0.1	0.3	0.2	0.1	0.04
100	5	Mean 11	0.28	144	4.7	112	9.8	6.9	6.1	3.1	1.05
		S.D. 1	0.03	1	0.3	1	0.1	0.5	0.2	0.1	0.05
300	5	Mean 11	0.29	144	4.5	111	10.0	6.7	6.4	3.3	1.06
		S.D. 1	0.04	1	0.3	1	0.1	0.6	0.3	0.1	0.03

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 7-3

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Blood chemistry (Day 5 of lactation)

Female

Dose mg/kg/day	No.		AST (GOT) IU/L	ALT (GPT) IU/L	LDH IU/L	γ -GTP IU/L	A1P IU/L	T.cho mg/dL	TG mg/dL	PL mg/dL	T.bili- rubin mg/dL	Glucose mg/dL
0	5	Mean	97	56	48	1	262	60	43	109	0.1	130
		S.D.	29	21	12	0	86	9	27	15	0.1	14
30	5	Mean	75	44	44	1	240	52	61	100	0.1	131
		S.D.	9	5	8	0	82	6	35	9	0.1	12
100	5	Mean	78	38	44	1	239	43*	36	80**	0.1	121
		S.D.	23	12	20	0	86	13D	18	14D	0.0	11
300	5a)	Mean	85	48	59	1	342	43*	48	85*	0.1	120
		S.D.	32	14	28	0	193	6D	6	9D	0.1	8

a) : The animal(No.4104) was excluded from statistical analysis.

* : p<0.05 ; ** : p<0.01 (Significant difference from control group)

D : Dunnett's test

Table 7-4

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Blood chemistry (Day 5 of lactation)

Female

Dose mg/kg/day	No.		BUN mg/dL	Crea- tinine mg/dL	Na mmol/L	K mmol/L	Cl mmol/L	Ca mg/dL	P mg/dL	TP g/dL	Albumin g/dL	A/G
0	5	Mean	11	0.32	142	4.3	108	10.1	7.6	5.9	3.0	1.06
		S.D.	3	0.04	1	0.5	2	0.4	0.9	0.4	0.2	0.05
30	5	Mean	13	0.31	142	4.5	108	10.1	7.3	6.3	3.2	1.05
		S.D.	2	0.03	3	0.8	2	0.2	0.6	0.2	0.2	0.08
100	5	Mean	11	0.31	142	4.6	109	10.1	7.7	6.0	3.1	1.05
		S.D.	3	0.04	1	0.5	1	0.3	0.9	0.2	0.1	0.08
300	5a)	Mean	10	0.34	142	3.9	112*	9.9	6.9	6.1	3.2	1.08
		S.D.	4	0.10	2	0.7	1D	0.3	0.4	0.4	0.2	0.06

a) : The animal(No.4104) was excluded from statistical analysis.

* : p<0.05 (Significant difference from control group)

D : Dunnett's test

Table 7-5

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Blood chemistry (Day 14 of recovery)

Male

Dose mg/kg/day	No.	AST (GOT) IU/L	ALT (GPT) IU/L	LDH IU/L	γ -GTP IU/L	AlP IU/L	T.cho mg/dL	TG mg/dL	PL mg/dL	T.bili- rubin mg/dL	Glucose mg/dL
0	5	Mean S.D.	59 7	27 3	47 6	1 1	415 62	43 6	49 18	76 8	0.1 0.0
300	5	Mean S.D.	63 6	29 4	54 7	1 0	390 36	54 9	31 9	83 8	0.1 0.0

No significant difference between treated group and control group.

Table 7-6

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Blood chemistry (Day 14 of recovery)

Male

Dose mg/kg/day	No.	BUN mg/dL	Crea- tinine mg/dL	Na mmol/L	K mmol/L	Cl mmol/L	Ca mg/dL	P mg/dL	TP g/dL	Albumin g/dL	A/G
0	5	Mean 1	0.24 0.03	144 2	5.0 0.3	110 1	9.7 0.2	6.3 0.3	6.3 0.1	3.1 0.1	0.96 0.06
300	5	Mean 2	0.29* 0.04T	144 1	5.2 0.4	110 1	9.8 0.2	6.1 0.4	6.4 0.1	3.1 0.1	0.93 0.06

* : p<0.05 (Significant difference from control group)

T : Student's t-test

Table 7-7

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Blood chemistry (Day 14 of recovery)

Female

Dose mg/kg/day	No.	AST (GOT) IU/L	ALT (GPT) IU/L	LDH IU/L	γ -GTP IU/L	AlP IU/L	T.cho mg/dL	TG mg/dL	PL mg/dL	T.bili- rubin mg/dL	Glucose mg/dL
0	5	Mean S.D.	73 9	35 9	46 12	1 0	168 60	65 8	17 4	122 15	0.1 0.0
300	5	Mean S.D.	72 16	27 14	47 5	1 0	154 21	54 15	13 5	98 25	0.1 0.0

No significant difference between treated group and control group.

Table 7-8

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Blood chemistry (Day 14 of recovery)

Female

Dose mg/kg/day	No.	BUN mg/dL	Crea- tinine mg/dL	Na mmol/L	K mmol/L	Cl mmol/L	Ca mg/dL	P mg/dL	TP g/dL	Albumin g/dL	A/G	
0	5	Mean	19	0.33	144	4.1	113	9.9	5.1	6.6	3.4	1.09
		S.D.	3	0.02	1	0.4	2	0.4	0.4	0.5	0.3	0.04
300	5	Mean	14**	0.32	143	4.6	115	9.8	4.9	6.4	3.4	1.14
		S.D.	2T	0.04	1	0.2	1	0.2	0.6	0.2	0.1	0.07

** : p<0.01 (Significant difference from control group)

T : Student's t-test

Table 8-1

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Organ weight of male rats (Main group)

		Dose mg/kg/day	Body weight g	Brain g(g/100g BW)	Thyroid (R+L) mg(mg/100g BW)	Thymus mg(mg/100g BW)	Heart g(g/100g BW)	Liver g(g/100g BW)
	0	No. Mean S.D.	5 477 42	5 2.06 0.10	5 22.7 5.0	5 305 66	5 1.39 0.19	5 13.35 1.60
Absolute	30	No. Mean S.D.	5 528 45	5 2.13 0.09	5 21.8 2.0	5 281 77	5 1.46 0.15	5 15.08 2.01
	100	No. Mean S.D.	5 494 19	5 2.12 0.04	5 27.9 9.1	5 310 81	5 1.41 0.09	5 14.12 0.90
	300	No. Mean S.D.	5 479 20	5 2.01 0.06	5 23.2 1.5	5 305 82	5 1.31 0.15	5 16.88* 2.50D
	0	No. Mean S.D.	5 0.43 0.04	5 4.7 0.6	5 64 13	5 0.29 0.01	5 2.79 0.10	
Relative	30	No. Mean S.D.	5 0.41 0.02	5 4.2 0.6	5 53 12	5 0.28 0.01	5 2.85 0.21	
	100	No. Mean S.D.	5 0.43 0.02	5 5.6 1.6	5 63 17	5 0.28 0.02	5 2.86 0.11	
	300	No. Mean S.D.	5 0.42 0.03	5 4.8 0.3	5 64 17	5 0.27 0.02	5 3.51** 0.38D	

*: p<0.05; **: p<0.01 (Significant difference from control group)

D: Dunnett's test

Table 8-2

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Organ weight of male rats (Main group)

	Dose mg/kg/day	Spleen g(g/100g BW)	Kidney (R+L) g(g/100g BW)	Adrenal (R+L) mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	5	5
		Mean	0.80	64
		S.D.	0.12	4
	30	No.	5	5
		Mean	0.72	66
		S.D.	0.15	9
	100	No.	5	5
		Mean	0.83	72
		S.D.	0.06	13
	300	No.	5	5
		Mean	0.84	61
		S.D.	0.10	7
Relative	0	No.	5	5
		Mean	0.17	13
		S.D.	0.01	1
	30	No.	5	5
		Mean	0.14*	12
		S.D.	0.02D	2
	100	No.	5	5
		Mean	0.17	14
		S.D.	0.02	2
	300	No.	5	5
		Mean	0.18	13
		S.D.	0.02	2

*: p<0.05 (Significant difference from control group)

D: Dunnett's test

Table 8-3

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Organ weight of male rats (Main group)

	Dose mg/kg/day	Body weight g	Testis (R+L) g(g/100g BW)	Epididymis (R+L) mg(mg/100g BW)
	0	No. Mean S.D.	7 497 52	7 3.39 0.40
Absolute	30	No. Mean S.D.	12 513 33	12 3.38 0.25
	100	No. Mean S.D.	12 503 28	12 3.25 0.19
	300	No. Mean S.D.	7 481 32	7 3.20 0.30
	0	No. Mean S.D.	7 0.69 0.08	7 259 32
Relative	30	No. Mean S.D.	12 0.66 0.05	12 250 21
	100	No. Mean S.D.	12 0.65 0.04	12 251 21
	300	No. Mean S.D.	7 0.67 0.08	7 270 40

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 8-4

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Organ weight of female rats (Main group)

		Dose mg/kg/day	Body weight g	Brain g(g/100g BW)	Thyroid (R+L) mg(mg/100g BW)	Thymus mg(mg/100g BW)	Heart g(g/100g BW)	Liver g(g/100g BW)
	0	No. Mean S.D.	5 304 18	5 1.94 0.08	5 17.0 2.7	5 155 60	5 0.97 0.11	5 9.76 0.86
Absolute	30	No. Mean S.D.	5 305 19	5 1.88 0.04	5 17.0 4.0	5 207 50	5 0.95 0.10	5 10.05 0.64
	100	No. Mean S.D.	5 300 19	5 1.92 0.10	5 19.6 2.2	5 192 43	5 0.97 0.04	5 9.94 0.97
	300	No. a) Mean S.D.	5 281 39	5 1.88 0.05	5 15.0 2.5	5 135 57	5 0.97 0.11	5 10.62 1.68
	0	No. Mean S.D.	5 0.64 0.03	5 5.6 0.7	5 50 18	5 0.32 0.02	5 3.20 0.19	
Relative	30	No. Mean S.D.	5 0.62 0.04	5 5.5 1.1	5 67 14	5 0.31 0.04	5 3.31 0.29	
	100	No. Mean S.D.	5 0.64 0.03	5 6.5 0.6	5 64 15	5 0.32 0.01	5 3.31 0.18	
	300	No. a) Mean S.D.	5 0.68 0.08	5 5.4 1.1	5 47 15	5 0.35 0.02	5 3.78** 0.18D	

a): The animal(No.4104) was excluded from statistical analysis.

**: p<0.01 (Significant difference from control group)

D: Dunnett's test

Table 8-5

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Organ weight of female rats (Main group)

	Dose mg/kg/day	Spleen g(g/100g BW)	Kidney (R+L) g(g/100g BW)	Adrenal (R+L) mg(mg/100g BW)	
	0	No. Mean S.D.	5 0.58 0.04	5 1.85 0.19	5 83 11
Absolute	30	No. Mean S.D.	5 0.68 0.11	5 1.88 0.21	5 77 6
	100	No. Mean S.D.	5 0.65 0.07	5 2.01 0.13	5 88 14
	300	No. a) Mean S.D.	5 0.66 0.04	5 2.06 0.32	5 91 19
	0	No. Mean S.D.	5 0.19 0.00	5 0.60 0.05	5 27 2
Relative	30	No. Mean S.D.	5 0.22 0.03	5 0.62 0.08	5 26 2
	100	No. Mean S.D.	5 0.22 0.02	5 0.67 0.03	5 29 3
	300	No. a) Mean S.D.	5 0.24** 0.02D	5 0.75 0.17	5 33* 4D

a): The animal(No.4104) was excluded from statistical analysis.

*: p<0.05; **: p<0.01 (Significant difference from control group)

D: Dunnett's test

Table 8-6

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Organ weight of male rats (Recovery group)

	Dose mg/kg/day	Body weight g	Brain	Thyroid (R+L)	Thymus	Heart	Liver
			g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)	mg(mg/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)
Absolute	0	No.	5	5	5	5	5
		Mean	496	2.20	25.0	259	13.23
		S.D.	54	0.10	3.4	45	2.44
	300	No.	5	5	5	5	5
		Mean	498	2.09	22.9	271	13.64
		S.D.	41	0.14	2.0	50	1.58
Relative	0	No.	5	5	5	5	5
		Mean	0.45	5.0	53	0.28	2.65
		S.D.	0.05	0.6	12	0.02	0.21
	300	No.	5	5	5	5	5
		Mean	0.42	4.7	55	0.28	2.74
		S.D.	0.02	0.8	14	0.03	0.16

No significant difference between treated group and control group.

Table 8-7

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Organ weight of male rats (Recovery group)

	Dose mg/kg/day	Spleen g(g/100g BW)	Kidney (R+L) g(g/100g BW)	Adrenal (R+L) mg(mg/100g BW)	Testis (R+L) g(g/100g BW)	Epididymis (R+L) mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	5	5	5	5
		Mean	0.70	3.44	63	3.49
		S.D.	0.11	0.39	8	0.27
	300	No.	5	5	5	5
		Mean	0.78	3.15	59	3.22
		S.D.	0.11	0.21	7	0.13
Relative	0	No.	5	5	5	5
		Mean	0.14	0.69	13	0.71
		S.D.	0.01	0.05	3	0.07
	300	No.	5	5	5	5
		Mean	0.16	0.63	12	0.65
		S.D.	0.03	0.04	2	0.07

No significant difference between treated group and control group.

Table 8-8

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Organ weight of female rats (Recovery group)

	Dose mg/kg/day	Body weight g	Brain g(g/100g BW)	Thyroid (R+L) mg(mg/100g BW)	Thymus mg(mg/100g BW)	Heart g(g/100g BW)	Liver g(g/100g BW)
Absolute	0	No.	5	5	5	5	5
		Mean	282	1.95	19.6	283	6.90
		S.D.	19	0.06	4.5	105	0.54
	300	No.	5	5	5	5	5
		Mean	277	1.94	16.7	253	6.85
		S.D.	19	0.07	1.5	67	0.39
Relative	0	No.	5	5	5	5	5
		Mean	0.69	6.9	100	0.30	2.45
		S.D.	0.05	1.3	36	0.02	0.08
	300	No.	5	5	5	5	5
		Mean	0.70	6.0	92	0.32	2.47
		S.D.	0.04	0.7	28	0.03	0.09

No significant difference between treated group and control group.

Table 8-9

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Organ weight of female rats (Recovery group)

		Dose mg/kg/day	Spleen g(g/100g BW)	Kidney (R+L) g(g/100g BW)	Adrenal (R+L) mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	5	5	5
		Mean	0.52	1.83	72
		S.D.	0.08	0.14	9
	300	No.	5	5	5
		Mean	0.50	1.88	64
		S.D.	0.04	0.14	7
Relative	0	No.	5	5	5
		Mean	0.19	0.65	25
		S.D.	0.03	0.03	2
	300	No.	5	5	5
		Mean	0.18	0.68	23
		S.D.	0.03	0.08	2

No significant difference between treated group and control group.

Table 9-1

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Gross pathological findings (End of administration period)

Organs Findings	Sex: Number:	Dose(mg/kg/day):		M	M	M	M	F	F	F	F			
		0	30	12	100	12	300	7	0	30	12	100	12	300
General descriptions														
Smudge,lower abdominal fur		0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Intestine,duodenum														
Thickening,wall		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
Intestine,ileum														
Diverticulum		0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
Kidney														
Focus,depressed		0	1	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	
Cyst		0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
Lung(bronchus)														
Discoloration,pale,lobar		0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
Nodule		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
Focus,dark red		0	1	2	0	1	0	0	0	0	0	0	1	
Stomach														
Focus,dark red,glandular stomach		0	1	2	3	0	0	1	4	4	4	4	4	
Thymus														
Small		0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	
Thyroid														
Aplasia,unilateral		0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	

M : Male, F : Female

Table 9-2

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Gross pathological findings (End of recovery period)

Organs Findings	Sex: Dose(mg/kg/day): Number:	M 0 5	M 300 5	F 0 5	F 300 5
Lung(bronchus) Focus,dark red		0	2	0	0
Stomach Focus,raised,glandular stomach		0	1	0	0
Focus,dark red,glandular stomach		0	0	1	0

M : Male, F : Female

Table 10-1

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Histopathological findings (End of administration period)

Organs	Sex:	M	M	M	M	F	F	F	F
Findings	Dose(mg/kg/day):	0	30	100	300	0	30	100	300
	Number:	7	12	12	7	12	12	12	12
Adrenal									
Number examined		5	0	0	5	12	12	12	12
Not remarkable		5	0	0	5	11	11	12	10
Vacuolation,cortical cell		0	0	0	0	1	1	0	1
minimal		0	0	0	0	1	1	0	0
mild		0	0	0	0	0	0	0	0
Necrosis,focal		0	0	0	0	0	0	0	1
mild		0	0	0	0	0	0	0	1
Bone+Bone marrow,femoral		5	0	0	5	5	0	0	5
Number examined		5	0	0	5	5	0	0	5
Not remarkable		5	0	0	5	5	0	0	5
Bone+Bone marrow,sternal		5	0	0	5	5	0	0	5
Number examined		5	0	0	5	5	0	0	5
Not remarkable		5	0	0	5	5	0	0	5
Cerebellum		5	0	0	5	5	0	0	5
Number examined		5	0	0	5	5	0	0	5
Not remarkable		5	0	0	5	5	0	0	5
Cerebrum		5	0	0	5	5	0	0	5
Number examined		5	0	0	5	5	0	0	5
Not remarkable		5	0	0	5	5	0	0	5
Epididymis		5	0	0	5	-	-	-	-
Number examined		5	0	0	5	-	-	-	-
Not remarkable		5	0	0	5	-	-	-	-
Heart		5	0	0	5	5	0	0	5
Number examined		5	0	0	5	5	0	0	5
Not remarkable		3	0	0	3	5	0	0	4
Cell infiltration,focal		2	0	0	1	0	0	0	1
minimal		2	0	0	1	0	0	0	1
Fibrosis,focal		0	0	0	1	0	0	0	0
minimal		0	0	0	1	0	0	0	0
Intestine,duodenum		5	0	0	5	5	0	0	5
Number examined		5	0	0	5	5	0	0	5
Not remarkable		5	0	0	5	5	0	0	5
Intestine,jejunum		5	0	0	5	5	0	0	5
Number examined		5	0	0	5	5	0	0	5
Not remarkable		5	0	0	5	5	0	0	5
Intestine,ileum		5	0	0	5	5	0	1	5
Number examined		5	0	0	5	5	0	0	5
Not remarkable		5	0	0	5	5	0	0	5
Diverticulum		0	0	0	0	0	0	1	0
minimal		0	0	0	0	0	0	1	0
Intestine,cecum		5	0	0	5	5	0	0	5
Number examined		5	0	0	5	5	0	0	5
Not remarkable		5	0	0	5	5	0	0	5
Intestine,colon		5	0	0	5	5	0	0	5
Number examined		5	0	0	5	5	0	0	5
Not remarkable		5	0	0	5	5	0	0	5
Intestine,rectum		5	0	0	5	5	0	0	5
Number examined		5	0	0	5	5	0	0	5
Not remarkable		5	0	0	5	5	0	0	5

M : Male, F : Female

- : Not applicable

Table 10-2

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Histopathological findings (End of administration period)

Organs Findings	Sex: Number:	M 0 7		M 30 12		M 100 12		M 300 7		F 0 12		F 30 12		F 100 12		F 300 12	
		Dose(mg/kg/day):															
Kidney																	
Number examined		5	1	0	6	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Not remarkable		2	0	0	1	7	5	8	6	0	0	0	0	0	0	0	0
Cyst		0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
minimal		0	0	0	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Vacuolar degeneration,tubular		0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
minimal		0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
mild		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
moderate		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Necrosis,tubular		0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2
minimal		0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
mild		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Regeneration,tubular		3	1	0	5	5	6	6	4	5	5	4	5	5	5	5	5
minimal		3	1	0	5	5	6	6	4	5	5	4	5	5	5	5	5
Basophilic change,tubular		0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
mild		0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
moderate		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Fibrosis,focal		0	1	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
minimal		0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
mild		0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Granular change,papillary duct		0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
minimal		0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
mild		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Liver																	
Number examined		7	12	12	7	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Not remarkable		0	0	0	0	3	2	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2
Vacuolation,hepatocyte,central		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5
minimal		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5
Vacuolation,hepatocyte,periportal		6	12	12	7	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3
minimal		3	5	1	0	3	3	3	3	3	4	4	4	4	4	4	1
mild		3	7	10	3	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1
moderate		0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Necrosis,single cell,hepatocyte		0	0	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
minimal		0	0	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
mild		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Microgranuloma		7	11	12	7	9	9	8	8	10	10	10	10	10	10	11	11
minimal		7	11	8	4	9	9	8	8	10	10	10	10	10	10	10	10
mild		0	0	4	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Hypertrophy,hepatocytic,central		0	0	3	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
minimal		0	0	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
mild		0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Lung(bronchus)																	
Number examined		5	1	2	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6
Not remarkable		4	0	1	4	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
Hemorrhage,focal		0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
minimal		0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Accumulation,alveolar macrophage		1	0	1	1	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
minimal		1	0	1	1	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Lymph node,mesenteric																	
Number examined		5	0	0	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5
Not remarkable		5	0	0	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5
Lymph node,submandibular																	
Number examined		5	0	0	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5
Not remarkable		5	0	0	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5

M : Male, F : Female

Table 10-3

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Histopathological findings (End of administration period)

Organs	Sex:	M	M	M	M	F	F	F	F
Findings	Dose(mg/kg/day):	0	30	100	300	0	30	100	300
	Number:	7	12	12	7	12	12	12	12
Parathyroid									
Number examined		5	0	0	5	5	0	0	5
Not remarkable		5	0	0	5	5	0	0	5
Pituitary									
Number examined		5	0	0	5	5	0	0	5
Not remarkable		5	0	0	5	4	0	0	5
Aberrant craniopharyngeal tissue		0	0	0	0	1	0	0	0
minimal		0	0	0	0	1	0	0	0
Thymus									
Number examined		5	0	0	5	6	1	0	5
Not remarkable		5	0	0	5	2	0	0	3
Atrophy		0	0	0	0	4	1	0	2
minimal		0	0	0	0	2	0	0	1
mild		0	0	0	0	1	0	0	0
moderate		0	0	0	0	1	1	0	1
Thyroid									
Number examined		7	12	12	7	12	12	12	12
Not remarkable		7	12	9	2	11	12	12	6
Aplasia,unilateral		0	0	0	0	1	0	0	0
minimal		0	0	0	0	1	0	0	0
Thyroiditis		0	0	1	0	0	0	0	0
minimal		0	0	1	0	0	0	0	0
Hypertrophy,follicular cell		0	0	2	5	0	0	0	6
minimal		0	0	2	0	0	0	0	2
mild		0	0	0	5	0	0	0	4
Sciatic nerve									
Number examined		5	0	0	5	5	0	0	5
Not remarkable		5	0	0	5	5	0	0	5
Seminal vesicle									
Number examined		5	0	0	5	-	-	-	-
Not remarkable		5	0	0	5	-	-	-	-
Spinal cord,thoracic									
Number examined		5	0	0	5	5	0	0	5
Not remarkable		5	0	0	5	5	0	0	5
Spleen									
Number examined		5	0	0	5	5	0	0	5
Not remarkable		5	0	0	1	0	0	0	0
Hematopoiesis,extramedullary		5	0	0	4	5	0	0	5
minimal		5	0	0	4	1	0	0	2
mild		0	0	0	0	4	0	0	3
Stomach									
Number examined		7	12	12	7	12	12	12	12
Not remarkable		7	11	10	4	12	11	8	7
Erosion,glandular stomach		0	1	2	3	0	1	4	4
minimal		0	1	2	2	0	1	4	1
mild		0	0	0	1	0	0	0	3
Thickening,mucosal,forestomach		0	0	0	0	0	0	0	1
minimal		0	0	0	0	0	0	0	1
Testis									
Number examined		5	0	0	5	-	-	-	-
Not remarkable		5	0	0	5	-	-	-	-

M : Male, F : Female
- : Not applicable

Table 10-4

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Histopathological findings (End of administration period)

Organs Findings	Dose(mg/kg/day): Number:	Sex: M 0 7		M 30 12		M 100 12		M 300 7		F 0 12		F 30 12		F 100 12		F 300 12	
		M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
Urinary bladder																	
Number examined		5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	0	5	5	0	5
Not remarkable		5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	0	5	5	0	5
Uterus		-	-	-	-	-	-	-	-	5	0	0	0	5	5	0	5
Number examined		-	-	-	-	-	-	-	-	5	0	0	0	5	5	0	5
Not remarkable		-	-	-	-	-	-	-	-	5	0	0	0	5	5	0	5

M : Male, F : Female

- : Not applicable

Table 10-5

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Histopathological findings (End of recovery period)

Organs	Sex:	M	M	F	F
Findings	Dose(mg/kg/day):	0	300	0	300
	Number:	5	5	5	5
Adrenal					
Number examined		0	0	5	5
Not remarkable		0	0	5	5
Kidney					
Number examined		0	0	5	5
Not remarkable		0	0	4	4
Regeneration,tubular		0	0	3	1
minimal		0	0	3	1
Liver					
Number examined		5	5	5	5
Vacuolation,hepatocyte,periportal		0	4	2	1
minimal		0	2	2	1
mild		0	2	0	0
Necrosis,single cell,hepatocyte		0	1	0	0
minimal		0	1	0	0
Microgranuloma		5	5	5	5
minimal		5	5	5	5
Hypertrophy,hepatocytic,central		0	1	0	0
minimal		0	1	0	0
Lung(bronchus)					
Number examined		0	2	0	0
Hemorrhage,focal		0	1	0	0
minimal		0	1	0	0
Accumulation,alveolar macrophage		0	1	0	0
minimal		0	1	0	0
Thyroid					
Number examined		5	5	5	5
Not remarkable		5	5	5	4
Hypertrophy,follicular cell		0	0	0	1
minimal		0	0	0	1
Stomach					
Number examined		5	5	5	5
Not remarkable		5	5	4	4
Erosion,glandular stomach		0	0	1	1
minimal		0	0	1	1

M : Male, F : Female

Table 11

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Estrous cycle in female rats during the pre-mating period (Main group)

Dose mg/kg/day	No. of animals	Count of estrus					Mean duration of cycles Mean±S.D.
		0	1	2	3	4	
0	12	0	0	0	8	4	3.3±0.5
30	12	0	0	0	8	4	3.3±0.5
100	12	0	0	0	9	3	3.3±0.5
300	12	0	0	0	9	3	3.3±0.5

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 12

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Mating and fertility of animals

Dose mg/kg/day	No. of males	Male			Female			Fertility index (%) c)
		Days until copulation Mean+S.D.	Copulation index (%) a)	Insemination index (%) b)	No. of females	Days until copulation Mean+S.D.	Copulation index (%) a)	
0	12	2.8±0.7	12/12(100.0)	12/12(100.0)	12	2.8±0.7	12/12(100.0)	12/12(100.0)
30	12	3.3±3.2	12/12(100.0)	12/12(100.0)	12	3.3±3.2	12/12(100.0)	12/12(100.0)
100	12	2.2±1.1	12/12(100.0)	12/12(100.0)	12	2.2±1.1	12/12(100.0)	12/12(100.0)
300	12	2.8±1.2	10/12(83.3)	8/10(80.0)	12	2.8±1.2	10/12(83.3)	8/10(80.0)

a): (No. of copulated animals / No. of mated animals) × 100

b): (No. of pregnant females / No. of copulated males) × 100

c): (No. of pregnant females / No. of copulated females) × 100

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 13

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Delivery data on dams

Dose mg/kg/day		No. of pregnant females	No. of females with live pups	Delivery index % a)	Gestation period	No. of corpora lutea	No. of implan- tation sites	Implan- tation index % b)	No. of stillborn pups (%c)	No. of liveborn pups	Live birth index % d)
0	Total	12	12	100.0	22.1 0.3	196	177	90.5 10.1	7 (4.2)	163	95.8 14.4
	Mean					16.3	14.8		(14.4)	13.6	
	S.D.					1.1	1.7			2.6	
30	Total	12	12	100.0	21.9 0.5	203	187	92.3 5.9	6 (2.9)	169	97.1 6.6
	Mean					16.9	15.6		(6.6)	14.1	
	S.D.					1.7	1.4			1.1	
100	Total	12	12	100.0	22.2 0.4	193	180	92.6 8.6	0 (0.0)	164	100.0 0.0
	Mean					16.1	15.0		(0.0)	13.7	
	S.D.					2.9	3.5			3.8	
300	Total	8	8	100.0	22.6* 0.5D	135	131	97.1 3.1	8 (6.6)*	117	93.4* 6.2DT
	Mean					16.9	16.4		(6.2)DT	14.6	
	S.D.					1.2	1.1			1.9	

a): (No. of females which delivered live pups / No. of pregnant females) × 100

b): (No. of implantation sites / No. of corpora lutea) × 100

c): (No. of stillborn pups / No. of stillborn and liveborn pups) × 100

d): (No. of liveborn pups / No. of stillborn and liveborn pups) × 100

*: p<0.05 (Significant difference from control group)

D: Dunnett's test

DT: Dunnett-type rank test

Table 14

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

External examination of liveborn pups

Dose mg/kg/day	No. of dams	No. of males	No. of females	a) Sex ratio	Body weight(g)		External b) abnor- malities(%)c)
					Male	Female	
0	12	Total	84	79	0.52		0
		Mean	7.0	6.6		6.7	(0.0)
		S.D.	1.8	1.9		0.3	(0.0)
30	12	Total	83	86	0.49		0
		Mean	6.9	7.2		6.5	(0.0)
		S.D.	1.4	1.2		0.5	(0.0)
100	12	Total	79	85	0.48		0
		Mean	6.6	7.1		6.8	(0.0)
		S.D.	3.1	2.5		0.5	(0.0)
300	8	Total	55	62	0.47		0
		Mean	6.9	7.8		6.4	(0.0)
		S.D.	1.6	2.3		0.5	(0.0)

a): No. of males / (No. of males + No. of females)

b): No. of liveborn pups with external abnormalities

c): (No. of liveborn pups with external abnormalities / No. of liveborn pups) × 100

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 15

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Viability index of pups

Dose mg/kg/day	No. of dams	No. of live pups		Viability index on day 4 after birth % a)
		Day 0	Day 4	
0	Total	12	163	156
	Mean		13.6	13.0
	S.D.		2.6	4.4
30	Total	12	169	150
	Mean		14.1	12.5
	S.D.		1.1	4.1
100	Total	12	164	162
	Mean		13.7	13.5
	S.D.		3.8	3.6
300	Total	8	117	94
	Mean		14.6	11.8
	S.D.		1.9	5.0

a): (No. of live pups on day 4 / No. of liveborn pups on day 0) × 100
No significant difference in any treated groups from control group.

Table 16

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Body weight of pups

Dose mg/kg/day	Male			Female		
	0	4a)	Gain	0	4a)	Gain
0	No.	12	11 ^{b)}	11	12	11 ^{b)}
	Mean	6.7	9.7	3.0	6.3	9.2
	S.D.	0.3	1.0	1.0	0.3	1.0
30	No.	12	11 ^{b)}	11	12	11 ^{b)}
	Mean	6.5	9.9	3.4	6.1	9.4
	S.D.	0.5	0.9	0.6	0.5	0.9
100	No.	12	12	12	12	12
	Mean	6.8	10.4	3.6	6.4	9.7
	S.D.	0.5	1.6	1.1	0.5	1.2
300	No.	8	8	8	8	7 ^{b)}
	Mean	6.4	9.4	3.0	6.0	8.9
	S.D.	0.5	1.8	1.6	0.3	0.7

Unit: g

No.: No. of dams

a): Day after birth

b): All pups in one dam died.

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 17

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats
treated orally with Bromochloromethane

Gross pathological findings in pups on day 4 after birth

	Dose (mg/kg/day)	0	30	100	300
Male					
No. of pups examined	80	72	78	43	
No. of pups with abnormal findings	0	1	0	0	
Thymic remnant in neck	0	1	0	0	
Female					
No. of pups examined	76	78	84	51	
No. of pups with abnormal findings	1	1	0	0	
Thymic remnant in neck	1	1	0	0	