

試 験 報 告 書

ジサイクロペンタジエンの経口投与によるラットの
反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験

(試験番号：3 L 3 1 9)

株式会社三菱化学安全科学研究所

目 次

	頁
要 約	1
緒 言	2
方 法	
1. 被験物質	2
2. 試験動物および飼育条件	3
3. 投与量および投与方法	3
4. 群構成	4
5. 反復投与毒性に関する観察・検査	4
1) 一般状態	4
2) 体重	4
3) 摂餌量	4
4) 雄の血液学的検査	5
5) 雄の臨床化学的検査	5
6) 病理学的検査	6
6. 生殖発生毒性に関する観察・検査	6
1) 生殖機能	6
2) 分娩・哺育状態	7
3) 新生児の観察・検査	7
7. 統計学的解析	8
結 果	
1. 反復投与毒性	9
1) 死亡動物	9
2) 一般状態	9
3) 体重	9
4) 摂餌量	9
5) 雄の血液学的検査	9
6) 雄の臨床化学的検査	9

7) 器官重量	9
8) 剖検所見	10
9) 組織所見	10
2. 生殖発生毒性	11
1) 生殖機能	11
2) 分娩・哺育状態	11
3) 新生児に及ぼす影響	11
考察および結論	13
文 献	16

図 表

図 表

	図	頁
Fig. 1	体重 (雄)	1
Fig. 2	体重 (雌)	2
Fig. 3	摂餌量 (雄)	3
Fig. 4	摂餌量 (雌)	4

平均値表

Table 1	一般状態	5
Table 2	体重 (雄)	7
Table 3	体重 (雌: 交配期間)	8
Table 4	体重 (雌: 妊娠期間)	9
Table 5	体重 (雌: 哺育期間)	10
Table 6	体重増加量 (雄)	11
Table 7	体重増加量 (雌: 交配前)	12
Table 8	体重増加量 (雌: 妊娠期間)	13
Table 9	体重増加量 (雌: 哺育期間)	14
Table 10	摂餌量 (雄)	15
Table 11	摂餌量 (雌: 交配前)	16
Table 12	摂餌量 (雌: 妊娠期間)	17
Table 13	摂餌量 (雌: 哺育期間)	18
Table 14	血液学的検査 (雄)	19
Table 15	白血球百分率 (雄)	20
Table 16	臨床化学検査 (雄)	21
Table 17	器官重量	23
Table 18	器官重量対体重比	25
Table 19	生殖機能検査	27
Table 20	分娩成績	28
Table 21	生存率	29
Table 22	体重 (F ₁ 動物)	30

Table 23	体重増加量 (F ₁ 動物)	32
Table 24	剖検所見	34
Table 25	組織所見	35
Table 26	死亡動物の剖検および組織所見	36

要 約

ジサイクロペンタジエンの4、20および100mg/kgをSD系ラット(Crj:CD)の雌雄に交配前14日間、および交配を経て雄は計44日間、雌は妊娠、分娩を経て哺育3日までの計41～45日間経口投与し、反復投与による影響および生殖・発生に及ぼす影響を検討した。1群の動物数は雌雄各10匹とし、対照群には溶媒（オリーブ油）のみを投与した。

1) 反復投与毒性

100mg/kg群において、雌雄ともに体重増加抑制の傾向および摂餌量減少が認められ、雌の2例が死亡した。病理学的検査では、肝臓の重量増加と単細胞壊死、腎臓の重量増加および尿細管上皮の硝子滴の増加と好塩基性変化が雄で、副腎束状帯の脂肪滴の増加が雌雄で認められた。また、雄の臨床化学的検査ではGOTおよびGPTの上昇が認められた。雄では20mg/kg群の腎臓および副腎、4mg/kg群の腎臓においても同様な病理組織学的変化が認められた。雄の血液学的検査では被験物質投与に起因する変化は認められなかった。

2) 生殖発生毒性

親動物の検査において、交尾率、受胎率、妊娠期間、黄体数、着床数、着床率、出産率、分娩率および分娩には被験物質投与の影響は認められなかった。哺育期間の観察では、100mg/kg群の母動物2例で全新生児死亡が認められた。

新生児の検査において、100mg/kg群で新生児生存率の低下が認められ、さらに低体重および体重増加抑制の傾向が認められた。出産児数、出産生存児数、性比、出生率、外表、一般状態および剖検においては被験物質投与に起因する異常は認められなかった。

以上の結果より、本試験条件下におけるジサイクロペンタジエンの反復投与毒性に関する無影響量は雄が4mg/kg未満、雌が20mg/kg、生殖発生毒性に関する無影響量は親動物に対して雄が100mg/kg、雌が20mg/kg、児動物に対しては20mg/kgと考えられる。

結 言

ジサイクロペンタジエンはエチレン-プロピレンゴムの架橋用ジエン成分として、またジサイクロペンタジエン変性ポリエステルなどに用いられ、アダマンタンの原料や、熱分解によりシクロペンタジエンに導き高分子原料、医薬品、農薬等の有機合成原料としても用いられている。毒性に関する情報として、ラットに経口投与した際には、多くの組織に刺激性のある炭化水素の大量投与時にみられる典型的なうっ血、充血、巣状出血を示し、LD₅₀値は410mg/kgであるとの報告がある¹⁾。

今回、OECDによる既存化学物質の安全性点検に係わる毒性調査事業の一環として、ラットを用いてジサイクロペンタジエンの反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験を実施し、生体への一般毒性学的影響および生殖・発生に及ぼす影響について検討したので報告する。

方 法

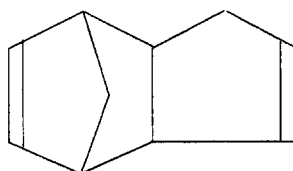
1. 被験物質

より提供されたジサイクロペンタジエン（日本ゼオン，Lot No. 純度94.65%，略称:DCP）を室温で保管し、試験に使用した。被験物質はエーテル、エタノールに可溶で、水には不溶の樟脳様の臭いがする無色の液体である。なお、本ロットは投与期間中安定であったことが製造者により確認された。

化学名： dicyclopentadiene

化学式： C₁₀H₁₂

構造式：



分子量： 132.21

CAS No.： 77-73-6

2. 試験動物および飼育条件

SD系ラット(Crj:CD, SPF)の雌雄を日本チャールス・リバー株式会社より1993年9月29日に入手し、6日間検疫・馴化後、健康状態が良好なものを試験に供した。

投与開始前日に動物を体重別層化無作為抽出法により各群の平均体重がほぼ均一になるよう群分けした。1群の動物数は雌雄各10匹とし、イヤープンチにより群および個体を識別した。投与開始時の週齢は雌雄とも8週齢、体重範囲は雄が304～339g、雌が186～227gであった。

検疫・馴化期間を含めた全飼育期間中、温度20～25℃、湿度40～70％R. H.、換気約12回／時、照明12時間／日（7:00～19:00）に自動調節された飼育室を使用した。

動物は実験動物用床敷（ベータチップ：日本チャールス・リバー）を敷いたポリカーボネート製ケージ（265W×426D×200Hmm）に、1ケージあたり検疫・馴化期間中は2匹（同性）、投与開始後は1匹、交配期間中は雌雄各1匹、哺育期間は1腹で収容し、スチール製架台上で飼育した。飼育器材は週1回の頻度でオートクレーブ滅菌したものと交換した。

動物には、飼料としてオートクレーブ滅菌した実験動物用固型飼料（CRF-1：オリエンタル酵母工業）を、また飲水として5 μ mのフィルター濾過後、紫外線照射した水道水をそれぞれ自由摂取させた。なお、飼料は残留農薬等の汚染物質の分析値が当社の定めた濃度以下であることが保証されたものを使用した。また、飲水については水道法に準拠した水質検査を定期的に行い、その検査値が基準の範囲内であることを確認した。

3. 投与量および投与方法

SD系ラットの雌雄を用いて10日間の反復投与予備試験（用量：0、30、100、300mg/kg）を行った結果、300mg/kg群で死亡、100mg/kg群で体重増加抑制が認められた。従って、本試験の高用量には親動物に毒性を示す用量として100mg/kgを設定し、以下公比5で中用量を20mg/kg、低用量を4mg/kgとした。さらに溶媒（オリーブ油）のみを投与する対照群を設けた。

投与期間は、雌雄とも交配前14日間、交配期間中、および雄は計画殺前日までの計44日間、雌は交尾成立後分娩を経て哺育3日までの計41～45日間とし、胃ゾンデを用いて1日1回、午前中に強制経口投与した。投与液量は5ml/kgとし、至近測定日の体重を基に算出した。

投与液については、各用量毎に被験物質をオリーブ油（丸石製薬，Lot No. 3525, 3708）に溶解させ、所定の濃度に調製した。調製頻度は週1回とし、投与に供する

まで冷暗所保存した。投与開始前に投与液の本保存条件下における 8 日間の安定性を確認した。また、各用量の濃度は設定濃度に対して 95.5～97.5%であった（補足資料参照）。

4. 群構成

群略名	群 名	動物数（匹）	
		雄	雌
A	対 照 群	10	10
B	4mg/kg群	10	10
C	20mg/kg群	10	10
D	100mg/kg群	10	10
計		40	40

5. 反復投与毒性に関する観察・検査

1) 一般状態

全例について生死および外観・行動等を投与前および投与後に毎日観察した。死亡動物は発見後速やかに剖検した。

2) 体 重

雄については投与開始日（投与 0 日）およびその後毎週 1 回、雌については投与開始日および交尾成立までは毎週 1 回、交尾成立後は妊娠 0、7、14、20 日および哺育 0、4 日に電子上皿天秤（BB-3200S：島津製作所）を用いて測定した（交尾確認日を妊娠 0 日、分娩確認日を哺育 0 日とする）。また、体重増加量を雄については投与 0 日、雌については交配前は投与 0 日、妊娠期間は妊娠 0 日、哺育期間は哺育 0 日の体重を基準に算出した。

3) 摂餌量

雄については投与開始日から交配期間中を除き毎週 1 回、雌については交配前は毎週 1 回、交尾成立後は妊娠 0、7、14、20 日および哺育 0、4 日に前記天秤を用いて風袋込み重量を測定し、各期間の摂餌量から 1 匹あたりの 1 日の平均摂餌量を算出した。

4) 雄の血液学的検査

雄の全生存動物について、解剖日の前日より約21時間絶食させ、チオペンタールナトリウム（ラボナール：田辺製薬）の腹腔内投与による麻酔下で後大静脈より採血し、次の項目を検査した。凝固阻止剤として、EDTA-2Kを用いた。

項 目	測 定 / 算 出 法
a) 赤血球数	シースフローDCインピーダンス検出法
b) 白血球数	RF/DCインピーダンス検出法
c) 血小板数	シースフローDCインピーダンス検出法
d) ヘモグロビン濃度	SLSヘモグロビン法
e) ヘマトクリット値	赤血球パルス波高値検出法
f) 白血球百分率	Wright染色塗抹標本について測定
g) 網状赤血球数	アルブミンを用いたフローサイトメトリ法
h) 平均赤血球容積(MCV)	a)、e)より算出
i) 平均赤血球血色素量(MCH)	a)、d)より算出
j) 平均赤血球血色素濃度(MCHC)	d)、e)より算出

a)～e)は多項目自動血球分析装置（NE-4500:東亜医用電子）、f)は血液細胞自動分析装置(MICROX HEG-70A:立石電機)、g)は自動網赤血球測定装置(R-2000:東亜医用電子)により測定した。

5) 雄の臨床化学的検査

雄の全生存動物について、解剖日に採取した血液を室温で約30分間放置した後、3000r. p. m.（最大遠心加速度:2050G）で10分間遠心分離し、得られた血清を用いて次の項目を自動分析装置（日立736-10形：日立製作所）により測定した。

項 目	測 定 / 算 出 法
a) G O T (AST)	UV-Rate法(SSCC改良法)
b) G P T (ALT)	UV-Rate法(SSCC改良法)
c) A L P	p-ニトロフェニル酸基質法(GSCC改良法)
d) γ -G T P	γ -グルタミル・p-ニトロフェニル基質法(SSCC改良法)
e) 尿素窒素	酵素-UV法(Urease-GLDH法)
f) グルコース	酵素-UV法(GK-G6PDH法)
g) 総コレステロール	酵素法(CES-CO-POD法)
h) トリグリセライド	酵素法(LPL-GK-G3PO-POD法)
i) クレアチニン	Jaffé法
j) 総ビリルビン	Jendrassik改良法
k) 総蛋白	Biuret法
l) アルブミン	BCG法
m) A/G比	k)およびl)より算出
n) カルシウム	O-CPC法
o) 無機リン	UV法
p) ナトリウム	イオン選択電極法
q) カリウム	イオン選択電極法
r) クロライド	イオン選択電極法

6) 病理学的検査

(1) 剖 検

雌雄とも最終投与日の翌日に、全生存動物についてチオペンタールナトリウムの腹腔内投与による麻酔下で腹大動脈切断により放血致死させ剖検した。

(2) 器官重量

投与終了後の剖検時に胸腺、肝臓、腎臓、精巣、精巣上体および死亡動物で腫大が認められた副腎の重量を電子上皿天秤（ED-H60：島津製作所）を用いて測定した。さらに、解剖日の体重を基に対体重比を算出した。なお、雌の未交尾、非妊娠および非分娩動物については、解剖日が異なるため測定の対象から除外した。

(3) 病理組織学的検査

全生存動物について脳、胸腺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣、精巣上体、卵巣を採取し、10%リン酸緩衝中性ホルマリン液（精巣および精巣上体はブアン液）にて固定後保存した。

雌雄とも対照および100mg/kg群の脳、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣および精巣上体について、常法に従いヘマトキシリン・エオジン染色標本作製し鏡検した。その結果、雄の肝臓および腎臓、雌雄の副腎に被験物質投与による変化が認められたため、20および4mg/kg群のこれらの器官についても検査を行った。途中死亡した100mg/kg群の雌2例については、自己融解が著しかった脳を除く上記器官の他、胸腺、肺、胃および卵巣を検査した。また、未交尾および非妊娠雌の卵巣、剖検時に異常が認められた20mg/kg群の雄2例の精巣、雌1例の皮下結節についても検査した。なお、一部の例の副腎については、オイルレッドO染色を実施した。

6. 生殖発生毒性に関する観察・検査

1) 生殖機能

交配前14日間の投与終了後、各群内で雄1匹対雌1匹の交配对を昼夜同居させ、毎日午前中に雌の膣垢を採取し、ギムザ染色して鏡検した。膣栓形成あるいは膣垢標本中に精子が認められた場合を交尾成立とし、その日を妊娠0日とした。交尾した対は雌雄を分離し、以後の検査に供した。なお、100mg/kg群の雄2例(DM01, DM06)については、それぞれ同居相手の雌(D01, D06)が死亡したため、交配は行わなかった。

7日間の交配で各群とも交尾率が90%以上で有意な差が認められなかったため、交尾能に被験物質投与の影響はないと判断し、以後の交配は行わなかった。この間に交尾しなかった雌については雄と分離し、着床の有無を確認するため交配終了後10日間投与した後剖検した。また、雄については他の雄と同様に検査した。

交配結果ならびに雌の妊娠状況から次の項目を算出した。

- a) 交尾所要日数：交配後、交尾成立までに要した日数
- b) 交尾が成立するまでに逸した発情期の回数
- c) 交尾率(%) : $(\text{交尾動物数} / \text{同居動物数}) \times 100$
- d) 受胎率(%) : $(\text{妊娠動物数} / \text{交尾動物数}) \times 100$

2) 分娩・哺育状態

交尾が確認された雌については全例を自然分娩させ、分娩状態を観察した。また、新生児を生後4日（哺育4日）まで哺育させ、一般状態、授乳、営巣、食殺の有無等の哺育状態を毎日観察した。なお、午前9時の時点で分娩が終了している動物を当該日分娩とし、その日を哺育0日とした。

哺育4日の解剖時に卵巣、子宮を摘出して黄体数および着床数を検査した。交尾確認後25日を経ても分娩しない雌は剖検し、着床の有無を検査した。肉眼的に着床が認められない動物の子宮については、2%KOH水溶液に浸漬し、着床が確認されなければ非妊娠動物とした。これらの検査結果から次の項目を算出した。

- a) 妊娠期間 : 妊娠0日から出産が確認された日までの期間
- b) 出産率(%) : $(\text{生存児出産雌数} / \text{妊娠雌数}) \times 100$
- c) 着床率(%) : $(\text{着床数} / \text{黄体数}) \times 100$
- d) 分娩率(%) : $(\text{総出産児数} / \text{着床数}) \times 100$

3) 新生児の観察・検査

(1) 新生児の検査

哺育0日に出産児数、出産生存児数、死産児数、性別および外表異常の有無を検査した。それ以後、一般状態、死亡の有無を毎日観察した。死亡動物は食殺等で検査に耐えないものを除き、10%リン酸緩衝中性ホルマリン液に浸漬・固定後、実体顕微鏡下で剖検した。哺育0および4日の生存児数から、次の項目を算出した。

- a) 出生率(%) : $(\text{出産確認時生存児数} / \text{総出産児数}) \times 100$
- b) 新生児生存率(%) : $(\text{哺育4日生存児数} / \text{出産確認時生存児数}) \times 100$

(2) 体 重

哺育0日および4日に1腹毎に雌雄単位でまとめて測定し、それぞれの平均値を算出した。また、哺育0日の体重を基に4日までの体重増加量を算出した。

(3) 剖 検

全ての生存児について哺育4日に口腔を含む外表を検査した後、チオペンタールナトリウムの腹腔内投与による麻酔下で開腹し、腹大動脈切断により放血致死させ剖検した。

7. 統計学的解析

計量データはBartlett法による等分散の検定を行い、分散が一樣の場合は一元配置分散分析を、一樣でない場合はKruskal-Wallisの検定を行った。群間に有意な差が認められた場合で各群の例数が一定ならばDunnettの方法、不定ならばSchefféの方法により平均値または順位の多重比較検定を行った。ただし、下記*印の項目については、はじめにKruskal-Wallisの検定を行い、有意差が認められた場合に順位の多重比較検定を行った。計数データはFisherの直接確率法により検定した。有意水準は5%以下とした。新生児に関するデータについては、各母動物毎に算出した平均値を統計単位とした。なお、非妊娠動物および全新生児が死亡した母動物の体重および摂餌量は集計から除外した。以下に検定の対象となる項目を示す。

(1)多重比較検定

体重、体重増加量、摂餌量、血液学的検査、臨床化学的検査、器官重量、
交尾所要日数*、交尾成立までに逸した発情期の回数*、妊娠期間*、
黄体数、着床数、着床率*、分娩率*、新生児数、出生率*、新生児生存率*、
新生児体重

(2)Fisherの直接確率法

交尾率、受胎率、出産率、性比(雄/雌)

結 果

1. 反復投与毒性

1) 死亡動物

100mg/kg群の雌2例が投与開始後3日(D01)および15日(D06)に死亡した。その他に死亡は認められなかった。

2) 一般状態 (Table 1)

投与直後の一過性の流涎が100mg/kg群で投与開始後8日以降、雌雄の半数以上に認められた。本所見は一部の動物では継続して観察されたが、ほとんどは断続的なものであった。20および4mg/kg群の雄でも観察されたが、少数例に散見されたのみであった。死亡例の一般状態には変化が認められなかった。その他、偶発性と考えられる所見として、乳腺の皮下結節が20mg/kg群の雌1例に認められた。

3) 体 重 (Fig. 1, 2, Table 2-9)

100mg/kg群において、雄の投与後期の体重、雌の妊娠期間および哺育期間の体重増加量が、有意差は認められなかったものの若干低値を示し、体重増加抑制の傾向が認められた。

4) 摂餌量 (Fig. 3, 4, Table 10-13)

100mg/kg群において、雌雄とも投与開始後7日に有意な減少が認められた。また、雌の哺育期間の摂餌量も有意差は認められなかったものの、若干低値を示した。

5) 雄の血液学的検査 (Table 14, 15)

赤血球数およびヘマトクリット値の減少が20mg/kg以上の群で、ヘモグロビン濃度の減少が100mg/kg群で認められた。

白血球百分率には対照群と被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。

6) 雄の臨床化学的検査 (Table 16)

GOTおよびGPTの上昇が100mg/kg群で認められた。その他、4mg/kg群のカルシウムが有意な低値を示したが、用量との関連がないことから偶発的な変化と考えられる。

7) 器官重量 (Table 17, 18)

雄において、20mg/kg以上の群の腎臓および100mg/kg群の肝臓で実重量および対体重比の増加が認められた。雌では、いずれの器官においても対照群と被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。なお、20mg/kg群の1例(CM10)の肝臓

および腎臓重量が顕著な増加を示したが、病理組織学的検査から偶発病変と判断されたため、集計から除外した。

8) 剖検所見 (Table 24, 26)

計画解剖動物において、被験物質投与に起因する変化が肝臓、腎臓および副腎に認められた。

肝臓では腫大が100mg/kg群の雄に、腎臓では両側の褪色および粟粒大の多発性灰白色点、副腎では両側の腫大が100mg/kg群の雄に認められた。なお、肝臓の腫大は20mg/kg群の雄1例(CM10)でも認められたが、病理組織学的検査から偶発病変と判断された。

その他、両側腎臓の腫大および多発性のう胞、両側精巣の萎縮、脾臓の腫大、皮下結節が認められたが、用量との相関はなく偶発病変と判断した。

死亡した100mg/kg群の雌の2例(D01, D06)に認められた主要所見は、肺のうっ血、両側副腎の腫大、胸腺の出血、胃粘膜面の出血であった。

9) 組織所見 (Table 25, 26)

計画解剖動物では、被験物質投与に起因する変化が雄の肝臓および腎臓、雌雄の副腎に認められた。

肝臓では単細胞壊死が100mg/kg群の雄に認められた。壊死に陥り好酸性を示す肝細胞が、肝小葉内に散在性に認められた。

腎臓では尿細管上皮の硝子滴の増加が4mg/kg以上の群の雄に認められた。さらに、20mg/kg以上の群には尿細管上皮の好塩基性変化が認められ、有糸分裂像も散見された。好塩基性細胞からなる尿細管はしばしば巣状の石灰の沈着が認められた。

副腎では束状帯の脂肪滴の増加が20mg/kg以上の群の雄および100mg/kg群の雌に認められた。オイルレッドO染色では赤褐色に染まる大小の脂肪滴が認められた。

その他に認められた組織変化については、いずれも少数例であり、その発現状況から非特異的な偶発病変と考えられた。なお、未交尾および非妊娠雌の卵巣には病理組織学的変化は認められなかった。また、20mg/kg群の雄1例(CM10)の腫大した肝臓には多房性胆嚢性のう胞が認められ、腫大の原因と考えられたが、本所見は100mg/kg群では認められなかったことから、被験物質投与とは関連のない変化と判断した。

死亡した雌の2例(D01, D06)に共通してみられた所見は、肝臓のうっ血、うっ血

性肺水腫、副腎束状帯の出血を伴う壊死およびうっ血、胸腺のうっ血およびリンパ球の核崩壊であった。また1例(D06)に胃粘膜の出血、肝臓の小葉中間帯の出血を伴う壊死、肺の出血および胸腺の水腫性肥厚、脾臓の萎縮およびリンパ球の核崩壊が認められた。

2. 生殖発生毒性

1) 生殖機能 (Table 19)

未交尾動物は 20mg/kg群で1対認められたのみで、交尾率に被験物質投与の影響は認められなかった。非妊娠動物が対照群より順次、1、1、4、1例認められ、受胎率が 20mg/kg群で低値を示したが、用量との関連がなかったことから偶発的なものと考えられる。また、各群ともほとんどの雌が交配開始後4日以内に発情期を示して交尾し、交尾所要日数および交尾成立までに逸した発情期の回数ともに有意な差は認められなかった。

2) 分娩・哺育状態 (Table 20)

非分娩動物が4mg/kg群で1例認められたが、その他の母動物については各群いずれも正常な分娩を示し、妊娠期間、出産率、黄体数、着床数、着床率および分娩率には、対照群と被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。なお、非分娩動物には、剖検で子宮内に着床痕のみが観察された。

哺育期間の観察において、100mg/kg群の母動物2例(D03, D05)で哺育1日に全新生児死亡が観察された。これらのうち1例(D03)では新生児への授乳が認められず、いずれの母動物も哺育1日には多数の新生児を食殺していた。その他の母動物には異常は認められなかった。

3) 新生児に及ぼす影響

(1) 生存率 (Table 21)

100mg/kg群で哺育4日の生存児数および新生児生存率に有意な低下が認められた。これは、100mg/kg群では2腹の新生児全例が死亡したことに加えて、他の腹でも生後の死亡が散見されたことに起因したものであった。

出産児数、出産生存児数、出生率および性比には対照群と被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。

(2) 新生児の観察

外表異常については、無尾が 20mg/kg群で 1 例観察されたのみであった。生後の一般状態には各群とも異常は認められなかった。

(3) 体 重 (Table 22, 23)

100mg/kg群において、哺育 0 日および 4 日の体重、ならびにその間の体重増加量が、有意差は認められなかったものの、雌雄とも若干低値を示した。

(4) 剖 検

生存動物では、肝横隔膜面結節が 4mg/kg群で 1 例、腎盂拡張および胸腺頸部残留が 20mg/kg群で各 1 例に認められた。また、死亡動物では、顎下の浮腫が対照群で 1 例、腎盂拡張が 100mg/kg群で 1 例観察された。いずれも極少数の発現であったことから、被験物質投与に起因したものではないと判断した。

考察および結論

ジサイクロペンタジエンの4、20および100mg/kgをSD系ラットの雌雄に交配前14日間、および交配を経て雄は計44日間、雌は妊娠、分娩を経て哺育3日までの計41～45日間経口投与し、反復投与による影響および生殖・発生に及ぼす影響について検討した。

1) 反復投与毒性

被験物質の反復投与による影響として、100mg/kg群で雌雄とも体重増加抑制の傾向および摂餌量減少が認められ、雌では2例が死亡した。死亡例には諸臓器にうっ血あるいは出血が認められた。全身臓器のうっ血は被験物質の毒性変化として報告されていることから¹⁾、これらの動物は循環障害を引き起こし死亡したものと推察された。

肝臓への影響として、肝臓重量の増加および病理組織学的変化が100mg/kg群の雄で認められた。肝臓の単細胞壊死は細胞障害性の変化であり^{2, 3)}、臨床化学的検査において認められたGOTおよびGPTの上昇も被験物質による肝細胞への障害を裏付けるものと考えられる。

腎臓への影響として、病理組織学的変化が4mg/kg以上の群で、また腎臓重量の増加が20mg/kg以上の群で雄のみに認められた。腎臓の尿細管上皮に認められた硝子滴の増加は雄ラットに特異的な変化であり、炭化水素化合物の投与により生じることが知られている^{4, 5)}。硝子滴が過剰に沈着すると上皮は変性・壊死・脱落を生じ、その反応として好塩基性の再生性上皮が出現する^{4, 5)}。本試験においても、これと同様の一連の変化が認められたことから、他の炭化水素化合物と同様の現象が生じたものと考えられる。本変化は低用量の4mg/kg群でも認められたが、臨床化学的検査においては100mg/kg群でも腎機能障害を示す変化は認められなかった。なお、被験物質は吸入暴露でも雄の腎臓に同様な変化を起こし^{1, 6)}、その変化は投与中止により回復することが報告されている⁶⁾。また、雄ラットの尿細管上皮における硝子滴の増加については、投与物質あるいはその代謝物が α -2u-グロブリンと結合し、ライソゾームの加水分解に対し抵抗性が大きい硝子滴を形成するためと解釈されているが^{7, 8)}、雌ラットおよび他の動物では発現しないこと、またヒトではこの低分

白はみられないことなどから、ヒトの腎臓への影響との関連は否定的である⁹⁾。

その他、副腎束状帯の脂肪滴の増加が 20mg/kg以上の群の雄、100mg/kg群の雌で認められた。本変化は束状帯細胞への直接作用あるいはステロイド合成阻害作用により生じるものであるが^{10, 11)}、本試験では細胞障害像あるいは本変化と関係すると思われる臨床生化学的検査値の変動は認められておらず、毒性学的意義は不明であった。

雄の血液学的検査において、赤血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン濃度が 20mg/kg以上の群で有意な低値を示したが、対照群との差はわずかであり、網状赤血球および脾臓の病理組織学的検査においても貧血を示唆する変化は認められなかった。さらに、いずれも当研究所の背景データ（補足資料参照）の範囲内の値であったことから、偶発的な変化と判断した。

投与直後の一過性の流涎が、全被験物質投与群の雄および100mg/kg群の雌で観察されたが、ほとんどは断続的で経時的な増強もみられなかったことから、被験物質が有する刺激性¹⁾あるいは物理的性状に起因したもので、反復投与毒性を示す変化ではないと判断した。

2) 生殖発生毒性

親動物の検査において、交尾率、受胎率、妊娠期間、黄体数、着床数、着床率、出産率、分娩率には、被験物質投与の影響は認められなかった。また、分娩にも異常は認められなかった。よって、被験物質による親動物の生殖機能および分娩への影響はないと考えられる。一方、哺育期間の観察において、100mg/kg群の母動物2例で全新生児死亡が観察された。いずれも多数の新生児を食殺しており、さらに1例では新生児への授乳も認められなかったことから、被験物質投与により哺育機能に何らかの障害を来した可能性が考えられる。

新生児の検査において、出産児数、出産生存児数、性比および出生率には被験物質投与の影響は認められなかったが、100mg/kg群では新生児生存率の低下が認められ、さらに低体重および体重増加抑制の傾向が認められた。新生児生存率の低下については、全新生児が死亡した以外の腹でも死亡児が散見されたことから、母動物の哺育機能障害に加えて、新生児側の要因である可能性も考えられる。一般状態、外表検査および剖検では被験物質投与に起因する変化は認められなかった。

以上のように、本試験では反復投与による影響として、4mg/kg以上の群で雄の腎臓に、また 20mg/kg以上の群で雄の副腎に病理組織学的変化が認められた。さらに、100mg/kg群では雌雄の体重増加抑制傾向と摂餌量減少、雌の死亡、雄の肝臓および雌の副腎に病理組織学的変化が認められた。生殖・発生に及ぼす影響として、親動物の生殖機能および分娩には異常は認められなかったが、100mg/kg群で母動物の哺育機能および新生児の発育への影響を示唆する変化が認められた。従って、本試験条件下における反復投与毒性に関する無影響量は雄が4mg/kg未満、雌が 20mg/kg、生殖発生毒性に関する無影響量は親動物に対して雄が100mg/kg、雌が 20mg/kg、児動物に対しては20mg/kgと考えられる。

- 1) Kinkead, E. R. et al., :The mammalian toxicity of dicyclopentadiene.,
Toxicol. Appl. Pharmacol., 20, 552-561(1971).
- 2) Gopinath, C. et al., " Atlas of experimental toxicological pathology:
Necrosis, The liver," MTP Press Limited, Lancaster, 1987, pp. 43-60.
- 3) 榎本眞, 赤崎兼義, " 毒性病理学, 消化器病変," ソフトサイエンス社, 東京,
1987, pp. 109-159.
- 4) Greaves, P., "Histology of preclinical toxicity studies: Urinary tract,
Kidney, Hyaline droplets," Elsevier, Amsterdam, 1990, pp. 532-538.
- 5) 渡辺満利, " 毒性病理学, 泌尿器系, 非腫瘍性病変, 腎臓 (前川昭彦, 林裕造 編),
地人書館, 東京, 1991, pp. 267-293.
- 6) Bevan, C. et al., :Subchronic toxicity study of dicyclopentadinene vaper
in rats., Toxicol. Ind. Health, 8, 353-367(1990).
- 7) Lehman-McKeeman, L. D. et al., :Lysosomal degradation of α 2u-globulin and
 α 2u-globulin-xenobiotic conjugates.
Toxicol. Appl. Pharmacol., 103, 539-548(1990).
- 8) Swenberg, J. A. et al., :The comparative pathobiology of α 2u-globulin
nephropathy. Toxicol. Appl. Pharmacol., 97, 35-46(1989).
- 9) Alden, C. L., :A review of unique male rat hydrocarbon nephropathy.
Toxicol. Pathology, 14, 109-111(1986).
- 10) 榎本眞, 赤崎兼義, " 毒性病理学, 内分泌器系病変," ソフトサイエンス社, 東京,
1987, pp. 211-224.
- 11) Gopinath, C. et al., "Atlas of experimental toxicological pathology:The
endocrine glands, Adrenals," MTP Press Limited, Lancaster, 1987, pp. 104-108.

图 表

目 次

	図	頁
Fig. 1	体重（雄）	1
Fig. 2	体重（雌）	2
Fig. 3	摂餌量（雄）	3
Fig. 4	摂餌量（雌）	4

平均值表

Table 1	一般状態	5
Table 2	体重（雄）	7
Table 3	体重（雌：交配期間）	8
Table 4	体重（雌：妊娠期間）	9
Table 5	体重（雌：哺育期間）	10
Table 6	体重増加量（雄）	11
Table 7	体重増加量（雌：交配前）	12
Table 8	体重増加量（雌：妊娠期間）	13
Table 9	体重増加量（雌：哺育期間）	14
Table 10	摂餌量（雄）	15
Table 11	摂餌量（雌：交配前）	16
Table 12	摂餌量（雌：妊娠期間）	17
Table 13	摂餌量（雌：哺育期間）	18
Table 14	血液学的検査（雄）	19
Table 15	白血球百分率（雄）	20
Table 16	臨床化学検査（雄）	21
Table 17	器官重量	23
Table 18	器官重量対体重比	25
Table 19	生殖機能検査	27

Table 20	分娩成績	28
Table 21	生存率	29
Table 22	体重 (F ₁ 動物)	30
Table 23	体重増加量 (F ₁ 動物)	32
Table 24	剖検所見	34
Table 25	組織所見	35
Table 26	死亡動物の剖検および組織所見	36

STUDY NO. 3L319KE0

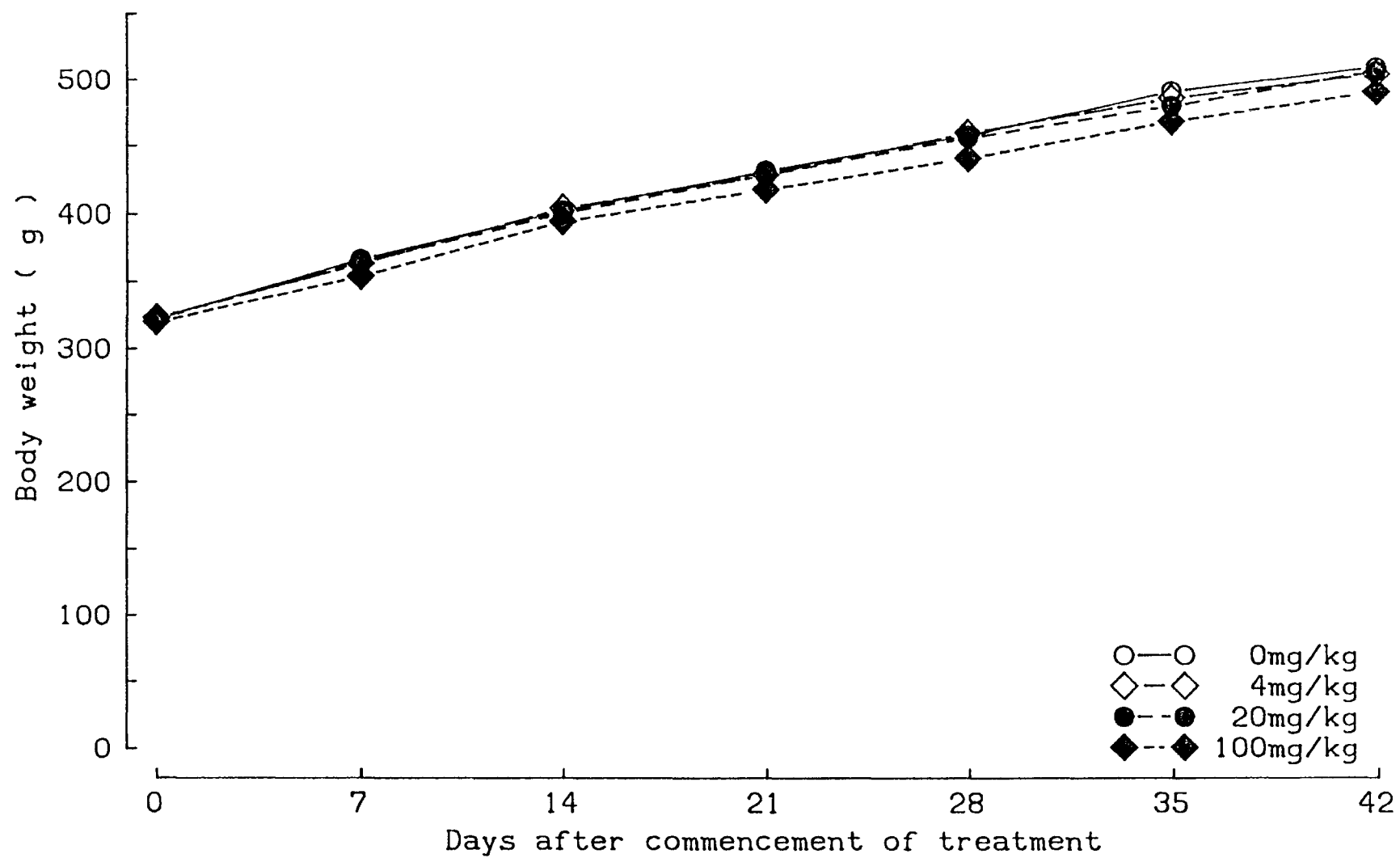


FIG.1 Body weight change of male rats treated with dicyclopentadiene

STUDY NO. 3L319KE0

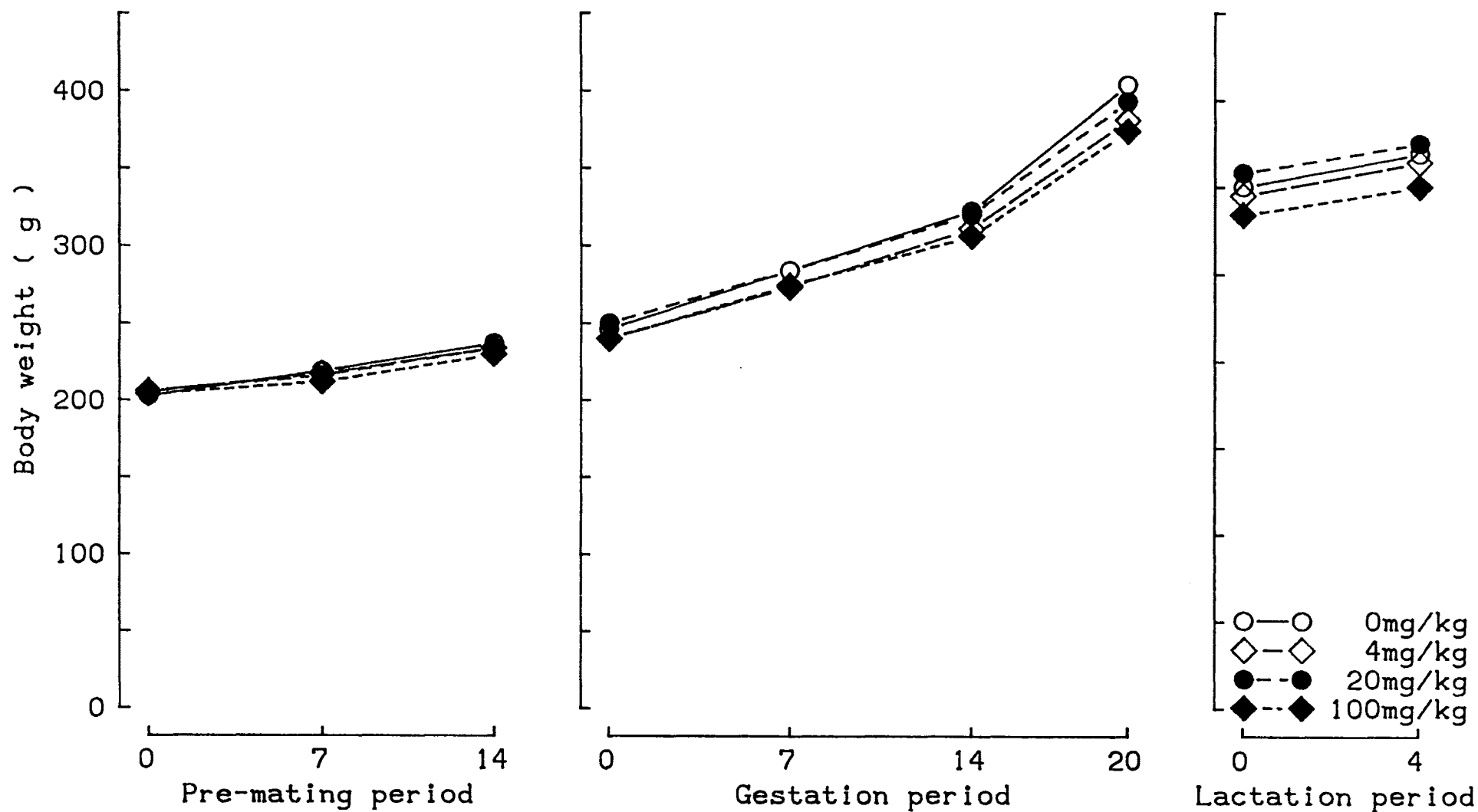


FIG.2 Body weight change of female rats treated with dicyclopentadiene

STUDY NO. 3L319KE0

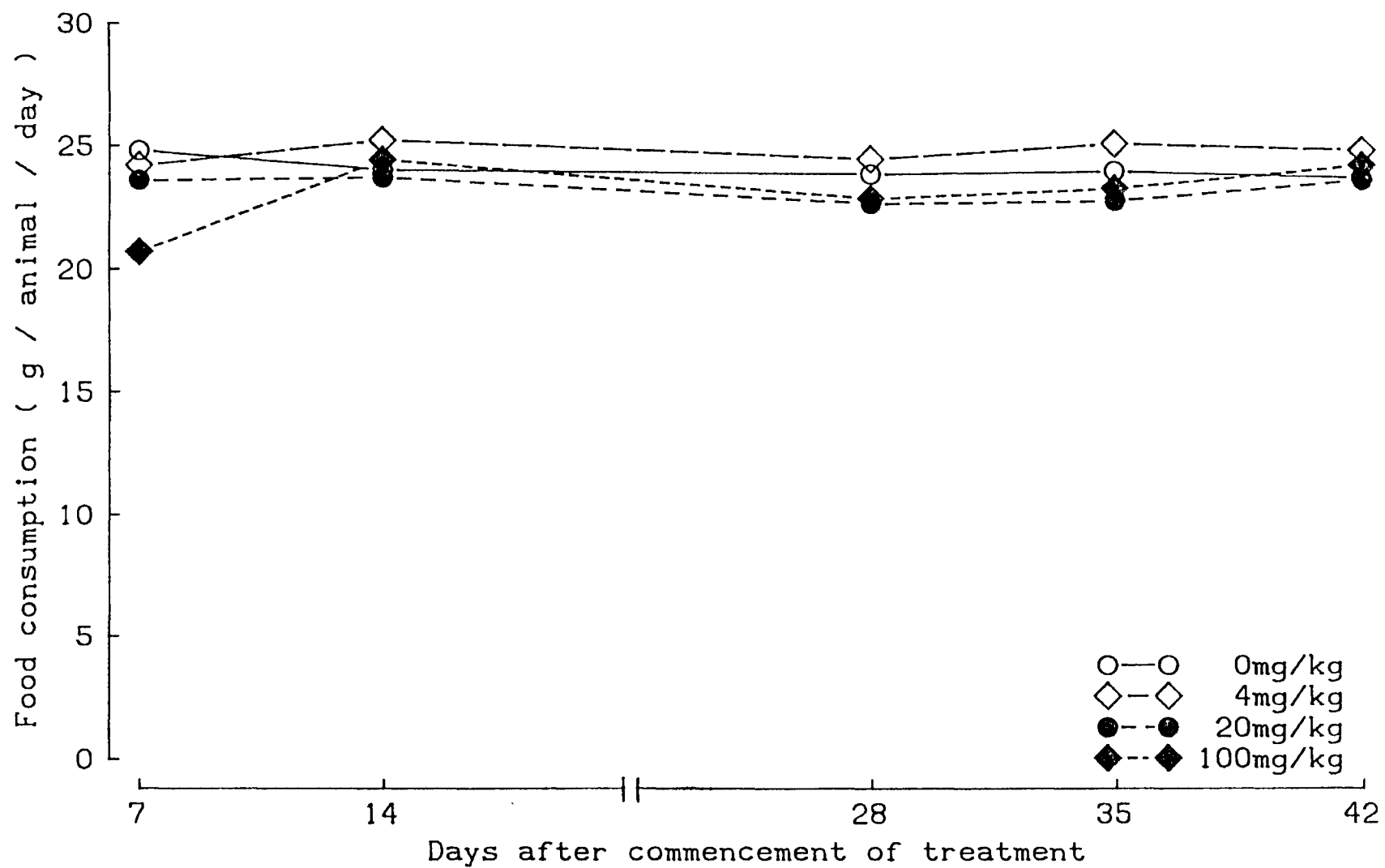


FIG.3 Food consumption change of male rats treated with dicyclopentadiene

STUDY NO. 3L319KE0

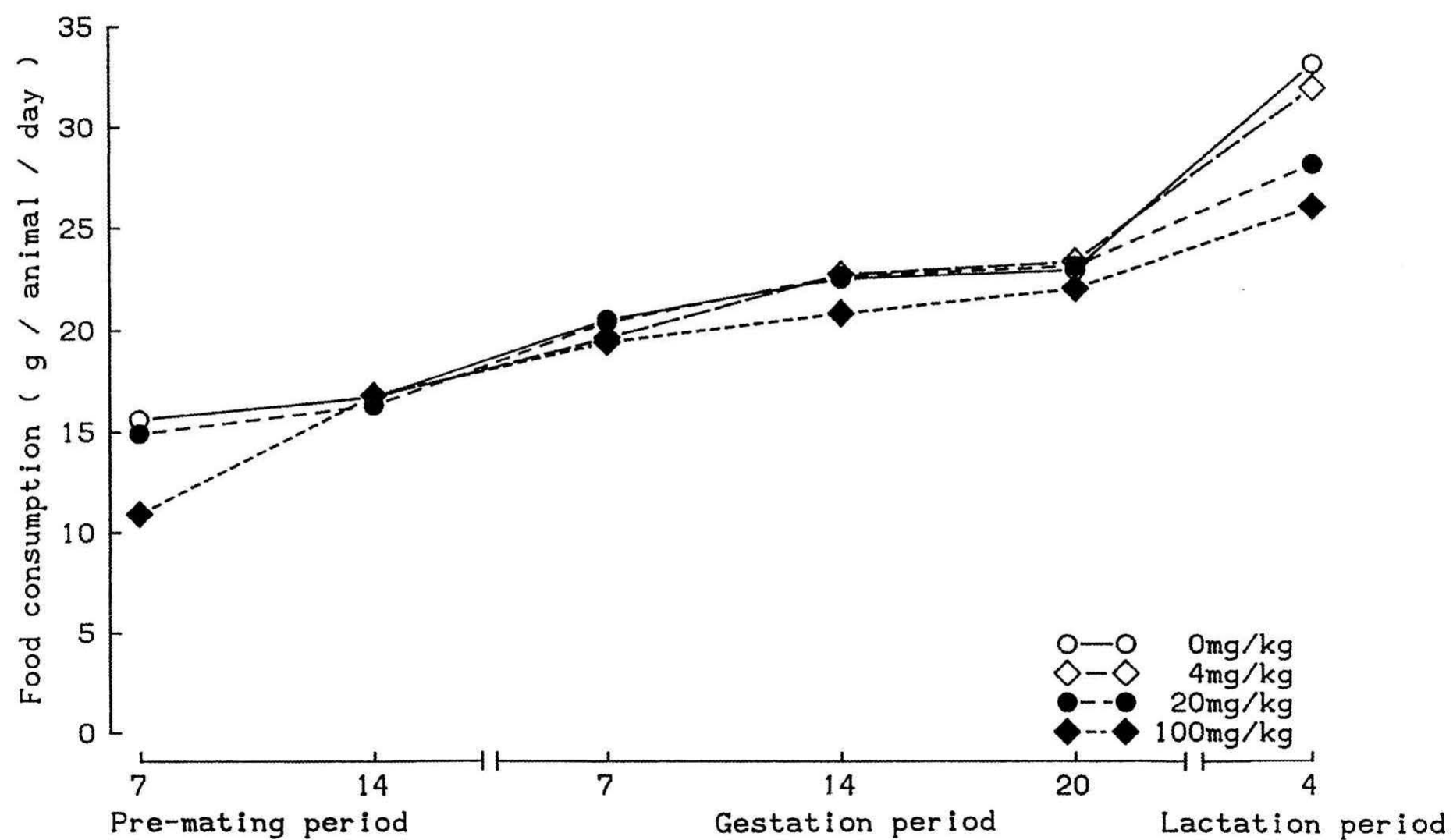


FIG.4 Food consumption change of female rats treated with dicyclopentadiene

TABLE 1 - M - 1
CLINICAL SIGNS AFTER TREATMENT
TEST ARTICLES : DCP
SEX : MALE

STUDY NO. 3L319KE0

DOSE LEVEL MG/KG	FINDINGS	DAYS AFTER COMMENCEMENT OF TREATMENT																																														
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44		
0	NO. OF ANIMALS	: 10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
	SALIVATION (+)	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	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
4	NO. OF ANIMALS	: 10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	SALIVATION (+)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	2	1	1	1	1	1	2	2	0	0	1	1	0	1	1	1	1	0	0	1	2	0	1	0	0	1	3	1	0	0
20	NO. OF ANIMALS	: 10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
	SALIVATION (+)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0	1	0	0	0	0	0	2	0	0	1	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
100	NO. OF ANIMALS	: 10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
	SALIVATION (+)	0	0	0	0	0	0	0	0	4	4	3	3	6	2	3	5	5	3	3	2	3	3	4	4	3	5	3	4	2	2	3	2	3	3	3	3	2	5	3	3	3	4	4	3	3	0	0

+, SLIGHT.

TABLE 1 - F - 1
CLINICAL SIGNS AFTER TREATMENT
TEST ARTICLES : DCP
SEX : FEMALE

STUDY NO. 3L319KE0

DOSE LEVEL MG/KG	FINDINGS	DAYS AFTER COMMENCEMENT OF TREATMENT														DAYS OF GESTATION																				DAYS OF LACTATION											
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	0	1	2	3						
0	NO. OF ANIMALS	:	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9		
	SALIVATION (+)		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	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
4	NO. OF ANIMALS	:	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	
	SALIVATION (+)		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	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
20	NO. OF ANIMALS	:	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	SALIVATION (+)		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	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
100	NO. OF ANIMALS	:	10	10	10	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	
	SALIVATION (+)		0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	2	1	2	3	2	1	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	

+, SLIGHT.

TABLE 2 - M - 1
 BODY WEIGHT - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : DCP
 SEX : MALE

STUDY NO. 3L319KEO

UNIT : G

DOSE LEVEL MG/KG		DAYS AFTER COMMENCEMENT OF TREATMENT						
		0	7	14	21	28	35	42
0	MEAN	322.	366.	402.	431.	457.	490.	508.
	S.D.	9.6	16.7	21.5	23.7	22.1	31.1	37.0
	N	10	10	10	10	10	10	10
4	MEAN	323.	363.	404.	428.	459.	485.	503.
	S.D.	9.3	15.3	14.0	16.3	21.4	25.2	26.0
	N	10	10	10	10	10	10	10
20	MEAN	322.	364.	400.	428.	455.	479.	505.
	S.D.	8.6	9.3	11.0	15.6	17.3	22.8	27.7
	N	10	10	10	10	10	10	10
100	MEAN	320.	354.	394.	417.	440.	467.	489.
	S.D.	7.7	13.9	15.7	18.8	27.4	26.3	31.2
	N	10	10	10	10	10	10	10

TABLE 3 - F - 1
 BODY WEIGHT - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : DCP
 SEX : FEMALE

STUDY NO. 3L319KE0

UNIT : G

DOSE LEVEL MG/KG		DAYS AFTER COMMENCEMENT OF TREATMENT		
		0	7	14
0	MEAN	203.	219.	237.
	S.D.	8.9	14.2	18.8
	N	10	10	10
4	MEAN	206.	217.	234.
	S.D.	7.1	8.2	9.7
	N	10	10	10
20	MEAN	206.	216.	234.
	S.D.	10.8	8.1	10.8
	N	10	10	10
100	MEAN	204.	212.	230.
	S.D.	9.8	9.8	8.6
	N	10	9	9

TABLE 4
BODY WEIGHT - GROUP MEAN VALUES
TEST ARTICLES : DCP

STUDY NO. 3L319KE0

UNIT : G

DOSE LEVEL MG/KG		DAYS (GESTATION)			
		0	7	14	20
0	MEAN	246.	284.	322.	404.
	S.D.	16.9	22.4	25.5	30.2
	N	9	9	9	9
4	MEAN	240.	273.	311.	381.
	S.D.	7.5	10.7	15.1	38.9
	N	9	9	9	9
20	MEAN	250.	284.	320.	393.
	S.D.	10.7	10.8	14.2	29.8
	N	5	5	5	5
100	MEAN	240.	274.	306.	374.
	S.D.	9.5	6.6	9.2	15.9
	N	7	7	7	7

TABLE 5
 BODY WEIGHT - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : DCP

STUDY NO. 3L319KEO

UNIT : G

DOSE LEVEL MG/KG		DAYS (LACTATION)	
		0	4
0	MEAN	300.	319.
	S.D.	19.0	23.6
	N	9	9
4	MEAN	295.	314.
	S.D.	8.6	9.4
	N	8	8
20	MEAN	308.	325.
	S.D.	21.5	24.3
	N	5	5
100	MEAN	284.	300.
	S.D.	12.1	9.6
	N	7	5

TABLE 6 - M - 1
 BODY WEIGHT GAIN - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : DCP
 SEX : MALE

STUDY NO. 3L319KE0

UNIT : G

DOSE LEVEL MG/KG		DAYS AFTER COMMENCEMENT OF TREATMENT					
		7	14	21	28	35	42
0	MEAN	44.	80.	109.	135.	167.	186.
	S.D.	9.2	14.3	16.8	16.6	25.6	31.5
	N	10	10	10	10	10	10
4	MEAN	41.	81.	106.	136.	163.	180.
	S.D.	13.0	10.8	13.0	18.0	22.7	22.4
	N	10	10	10	10	10	10
20	MEAN	42.	78.	107.	133.	158.	183.
	S.D.	6.9	9.3	15.9	16.4	22.3	27.8
	N	10	10	10	10	10	10
100	MEAN	34.	74.	97.	120.	147.	169.
	S.D.	8.6	9.8	14.1	25.0	22.1	27.7
	N	10	10	10	10	10	10

TABLE 7 - F - 1
 BODY WEIGHT GAIN - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : DCP
 SEX : FEMALE

STUDY NO. 3L319KEO

UNIT : G

DOSE LEVEL MG/KG		DAYS AFTER COMMENCEMENT OF TREATMENT	
		7	14
0	MEAN	16.	34.
	S.D.	10.2	12.3
	N	10	10
4	MEAN	11.	28.
	S.D.	7.7	8.6
	N	10	10
20	MEAN	10.	28.
	S.D.	8.7	7.1
	N	10	10
100	MEAN	7.	26.
	S.D.	8.7	5.7
	N	9	9

TABLE 8
BODY WEIGHT GAIN - GROUP MEAN VALUES
TEST ARTICLES : DCP

STUDY NO. 3L319KEO

UNIT : G

DOSE LEVEL MG/KG		DAYS (GESTATION)		
		7	14	20
0	MEAN	38.	76.	158.
	S.D.	9.3	11.4	18.0
	N	9	9	9
4	MEAN	33.	71.	140.
	S.D.	6.2	10.4	34.5
	N	9	9	9
20	MEAN	34.	70.	143.
	S.D.	5.4	8.1	20.9
	N	5	5	5
100	MEAN	33.	65.	133.
	S.D.	4.9	7.9	12.8
	N	7	7	7

TABLE 9
 BODY WEIGHT GAIN - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : DCP

STUDY NO. 3L319KEO

UNIT : G

DOSE LEVEL		4		DAYS (LACTATION)	
MG/KG					
0	MEAN	20.			
	S.D.	17.3			
	N	9			
4	MEAN	20.			
	S.D.	9.7			
	N	8			
20	MEAN	16.			
	S.D.	24.0			
	N	5			
100	MEAN	14.			
	S.D.	15.7			
	N	5			

TABLE 10 - M - 1
 FOOD CONSUMPTION - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : DCP
 SEX : MALE

STUDY NO. 3L319KEO

UNIT : G/ANIMAL/DAY

DOSE LEVEL MG/KG		DAYS AFTER COMMENCEMENT OF TREATMENT				
		7	14	28	35	42
0	MEAN	24.8	24.0	23.8	23.9	23.6
	S.D.	2.20	2.63	2.50	3.06	2.80
	N	10	10	10	10	10
4	MEAN	24.2	25.2	24.4	25.0	24.7
	S.D.	2.41	1.55	2.13	2.18	1.77
	N	10	10	10	10	10
20	MEAN	23.6	23.7	22.6	22.7	23.5
	S.D.	1.96	1.81	2.21	2.43	2.49
	N	10	10	10	10	10
100	MEAN	20.7 ^{**}	24.4	22.8	23.2	24.1
	S.D.	2.31	1.45	2.81	1.91	2.38
	N	10	10	10	10	10

* SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM CONTROL VALUE , ** , P<0.01.

TABLE 11 - F - 1
 FOOD CONSUMPTION - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : DCP
 SEX : FEMALE

STUDY NO. 3L319KE0

UNIT : G/ANIMAL/DAY

DOSE LEVEL MG/KG		DAYS AFTER COMMENCEMENT OF TREATMENT	
		7	14
0	MEAN	15.6	16.7
	S.D.	1.11	1.56
	N	10	10
4	MEAN	15.6	16.7
	S.D.	1.75	2.51
	N	10	10
20	MEAN	14.9	16.3
	S.D.	0.90	1.25
	N	10	10
100	MEAN	10.9**	16.8
	S.D.	1.67	0.96
	N	9	9

* SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM CONTROL VALUE , ** , P<0.01.

TABLE 12
FOOD CONSUMPTION - GROUP MEAN VALUES
TEST ARTICLES : DCP

STUDY NO. 3L319KE0

UNIT : G/ANIMAL/DAY

DOSE LEVEL MG/KG		DAYS (GESTATION)		
		7	14	20
0	MEAN	20.5	22.5	22.9
	S.D.	2.62	2.08	2.14
	N	9	9	9
4	MEAN	19.6	22.7	23.3
	S.D.	1.50	1.63	1.75
	N	9	9	9
20	MEAN	20.4	22.6	23.1
	S.D.	1.76	2.49	1.95
	N	5	5	5
100	MEAN	19.4	20.8	22.0
	S.D.	1.24	1.43	1.37
	N	7	7	7

TABLE 13
 FOOD CONSUMPTION - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : DCP

STUDY NO. 3L319KE0

UNIT : G/ANIMAL/DAY

DOSE LEVEL		DAYS (LACTATION)	
MG/KG			
	4		
0	MEAN	33.1	
	S.D.	8.37	
	N	9	
4	MEAN	31.9	
	S.D.	7.61	
	N	8	
20	MEAN	28.1	
	S.D.	7.31	
	N	5	
100	MEAN	26.0	
	S.D.	5.16	
	N	5	

TABLE 14 - FS - M - 1
 HEMATOLOGY - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : DCP
 SEX : MALE
 ANIMALS KILLED ON SCHEDULE (6 WEEK)

STUDY NO. 3L319KE0

DOSE LEVEL MG/KG		RBC COUNT ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	HT (%)	HB CONC. (G/DL)	RETICULO- CYTE COUNT (%)	MCV (μm^3)	MCH (PG)	MCHC (%)	PLATELET COUNT ($\times 10^6/\mu\text{L}$)
0	MEAN	887.	47.7	16.1	26.	53.9	18.2	33.7	103.6
	S.D.	31.1	1.42	0.52	3.5	1.04	0.51	0.58	14.82
	N	10	10	10	10	10	10	10	10
4	MEAN	885.	47.4	16.0	24.	53.6	18.1	33.8	101.3
	S.D.	22.7	1.55	0.57	2.6	1.67	0.61	0.45	12.53
	N	10	10	10	10	10	10	10	10
20	MEAN	836.**	45.9*	15.5	27.	54.9	18.6	33.9	104.6
	S.D.	28.4	1.75	0.64	4.0	1.55	0.64	0.40	16.55
	N	10	10	10	10	10	10	10	10
100	MEAN	849.*	45.9*	15.4*	30.	54.1	18.2	33.6	110.7
	S.D.	42.1	1.64	0.62	5.3	1.43	0.56	0.38	10.26
	N	10	10	10	10	10	10	10	10

* SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM CONTROL VALUE / * / $P < 0.05$; ** / $P < 0.01$.

TABLE 15 - FS - M - 1
 HEMATOLOGY - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : DCP
 SEX : MALE
 ANIMALS KILLED ON SCHEDULE (6 WEEK)

STUDY NO. 3L319KE0

DOSE LEVEL MG/KG		WBC COUNT ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	DIFFERENTIAL COUNT OF LEUKOCYTES (% OF TOTAL COUNTED CELLS)					
			LYMPHO- CYTES	NEUTROPHILS SEGMENTED	BAND	EOSINO- PHILS	BASO- PHILS	MONO- CYTES
0	MEAN	94.	80.	10.	0.	1.	\$	9.
	S.D.	27.8	5.4	4.4	0.7	1.1	0.0	3.3
	N	10	10	10	10	10	10	10
4	MEAN	98.	81.	12.	1.	1.	0.	7.
	S.D.	29.9	6.0	4.4	0.8	0.4	0.0	3.6
	N	10	10	10	10	10	10	10
20	MEAN	117.	81.	12.	0.	1.	0.	6.
	S.D.	27.6	8.1	7.3	0.5	1.1	0.0	2.6
	N	10	10	10	10	10	10	10
100	MEAN	114.	78.	16.	0.	1.	0.	5.
	S.D.	23.2	5.7	5.8	0.5	0.8	0.0	2.9
	N	10	10	10	10	10	10	10

\$, STATISTICAL ANALYSIS IMPOSSIBLE.

TABLE 16 - FS - M - 1
 CLINICAL CHEMISTRY - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : DCP
 SEX : MALE
 ANIMALS KILLED ON SCHEDULE (6 WEEK)

STUDY NO. 3L319KEO

DOSE LEVEL MG/KG		GOT (IU/L)	GPT (IU/L)	γ -GTP (IU/L)	ALP (IU/L)	TOTAL BILIRUBIN (MG/DL)	UREA NITROGEN (MG/DL)	CREATININ (MG/DL)	GLUCOSE (MG/DL)	TOTAL CHOL. (MG/DL)	TRI- GLYCERIDE (MG/DL)	TOTAL PROTEIN (G/DL)	ALBUMIN (G/DL)
0	MEAN	63.	24.	0.	285.	0.1	15.3	0.5	148.	80.	73.	6.64	3.91
	S.D.	11.1	4.2	0.0	55.6	0.07	2.86	0.07	32.9	12.7	32.0	0.266	0.109
	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
4	MEAN	70.	22.	0.	270.	0.1	16.2	0.5	141.	73.	65.	6.40	3.78
	S.D.	10.3	4.1	0.0	62.5	0.06	2.44	0.07	8.7	17.0	33.7	0.307	0.145
	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
20	MEAN	63.	23.	1.	257.	0.1	18.0	0.5	139.	85.	68.	6.43	3.79
	S.D.	10.8	5.2	2.2	42.5	0.08	7.98	0.08	18.3	27.3	25.3	0.254	0.076
	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
100	MEAN	88.	45.	1.	297.	0.1	15.6	0.5	133.	101.	63.	6.66	3.81
	S.D.	24.8	16.5	2.5	47.3	0.08	1.70	0.06	7.6	21.0	30.8	0.349	0.146
	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

* SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM CONTROL VALUE , ** , P<0.01

TABLE 16 - FS - M - 2
 CLINICAL CHEMISTRY - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : DCP
 SEX : MALE
 ANIMALS KILLED ON SCHEDULE (6 WEEK)

STUDY NO. 3L319KE0

DOSE LEVEL MG/KG		A/G RATIO	CALCIUM	INORGANIC PHOS.	NA	K	CL
			(MG/DL)	(MG/DL)	(MEQ/L)	(MEQ/L)	(MEQ/L)
0	MEAN	1.44	9.5	7.6	144.	4.5	103.
	S.D.	0.086	0.24	0.40	1.3	0.22	1.5
	N	10	10	10	10	10	10
4	MEAN	1.44	9.2	7.8	144.	4.3	103.
	S.D.	0.080	0.21	0.32	0.8	0.16	1.8
	N	10	10	10	10	10	10
20	MEAN	1.45	9.6	8.1	143.	4.6	102.
	S.D.	0.123	0.26	0.57	1.2	0.63	1.6
	N	10	10	10	10	10	10
100	MEAN	1.34	9.7	8.0	144.	4.6	101.
	S.D.	0.081	0.10	0.44	1.0	0.18	0.9
	N	10	10	10	10	10	10

* SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM CONTROL VALUE , ** , P<0.01.

TABLE 17 - FS - M - 1
 ORGAN WEIGHT (ABSOLUTE) - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : DCP
 SEX : MALE
 ANIMALS KILLED ON SCHEDULE (6 WEEK)

STUDY NO. 3L319KE0

DOSE LEVEL MG/KG		FINAL BODY WEIGHT (G)	THYMUS (MG)	LIVER (G)	KIDNEYS (G)	ADRENALS (MG)	TESTES (G)	EPIDIDYIMIDES (G)
0	MEAN	494.	310.	13.38	2.85	58.1	3.12	1.14
	S.D.	38.2	56.3	1.434	0.350	6.37	0.552	0.167
	N	10	10	10	10	10	10	10
4	MEAN	488.	366.	13.04	3.18	59.8	3.39	1.17
	S.D.	26.0	79.1	1.232	0.251	6.83	0.287	0.132
	N	10	10	10	10	10	10	10
20	MEAN	487.	348.	13.44	3.42*	59.6	3.05	1.08
	S.D.	24.2	56.0	0.851	0.271	7.32	0.706	0.222
	N	10	10	9	9	10	10	10
100	MEAN	469.	345.	15.27*	3.33*	61.5	3.06	1.10
	S.D.	29.2	56.0	1.439	0.497	6.59	0.676	0.110
	N	10	10	10	10	10	10	10

* SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM CONTROL VALUE , * , P<0.05.

TABLE 17 - FS - F - 1
 ORGAN WEIGHT (ABSOLUTE) - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : DCP
 SEX : FEMALE
 ANIMALS KILLED ON SCHEDULE (6 WEEK)

STUDY NO. 3L319KE0

DOSE LEVEL MG/KG		FINAL BODY WEIGHT (G)	THYMUS (MG)	LIVER (G)	KIDNEYS (G)	ADRENALS (MG)
0	MEAN	319.	207.	13.46	1.97	72.9
	S.D.	23.6	48.8	1.724	0.201	7.17
	N	9	9	9	9	9
4	MEAN	314.	223.	13.30	1.89	71.0
	S.D.	9.4	68.0	1.640	0.080	9.16
	N	8	8	8	8	8
20	MEAN	325.	217.	13.56	2.06	70.9
	S.D.	24.3	62.4	2.000	0.201	3.86
	N	5	5	5	5	5
100	MEAN	298.	205.	13.35	1.96	71.3
	S.D.	8.9	71.2	1.778	0.139	10.34
	N	7	7	7	7	7

TABLE 18 - FS - M - 1
 ORGAN WEIGHT (RELATIVE : PERCENTAGE OF BODY WEIGHT) - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : DCP
 SEX : MALE
 ANIMALS KILLED ON SCHEDULE (6 WEEK)

STUDY NO. 3L319KEO

DOSE LEVEL MG/KG		FINAL BODY WEIGHT (G)	THYMUS ($\times 10^{-3}$)	LIVER	KIDNEYS	ADRENALS ($\times 10^{-3}$)	TESTES	EPIDIDYMIDES
0	MEAN	494.	63.	2.71	0.58	11.8	0.63	0.23
	S.D.	38.2	12.1	0.141	0.057	1.17	0.103	0.035
	N	10	10	10	10	10	10	10
4	MEAN	488.	76.	2.67	0.65	12.3	0.70	0.24
	S.D.	26.0	19.4	0.153	0.054	1.40	0.073	0.033
	N	10	10	10	10	10	10	10
20	MEAN	487.	72.	2.76	0.70**	12.3	0.63	0.22
	S.D.	24.2	11.3	0.149	0.058	1.39	0.146	0.048
	N	10	10	9	9	10	10	10
100	MEAN	469.	74.	3.25**	0.71**	13.2	0.66	0.23
	S.D.	29.2	12.0	0.136	0.082	1.62	0.153	0.027
	N	10	10	10	10	10	10	10

* SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM CONTROL VALUE , ** , P<0.01.

TABLE 18 - FS - F - 1
 ORGAN WEIGHT (RELATIVE : PERCENTAGE OF BODY WEIGHT) - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : DCP
 SEX : FEMALE
 ANIMALS KILLED ON SCHEDULE (6 WEEK)

STUDY NO. 3L319KE0

DOSE LEVEL MG/KG		FINAL BODY WEIGHT (G)	THYMUS ($\times 10^{-3}$)	LIVER	KIDNEYS	ADRENALS ($\times 10^{-3}$)
0	MEAN	319.	65.	4.21	0.62	22.9
	S.D.	23.6	16.6	0.326	0.030	2.29
	N	9	9	9	9	9
4	MEAN	314.	71.	4.22	0.60	22.6
	S.D.	9.4	24.3	0.470	0.029	2.95
	N	8	8	8	8	8
20	MEAN	325.	67.	4.17	0.64	22.0
	S.D.	24.3	18.3	0.353	0.017	2.37
	N	5	5	5	5	5
100	MEAN	298.	69.	4.48	0.66	23.9
	S.D.	8.9	23.5	0.537	0.033	3.24
	N	7	7	7	7	7

TABLE 19
REPRODUCTIVE PERFORMANCE - GROUP MEAN VALUES

TEST ARTICLES : DCP

GENERATION : F0

DOSE LEVEL MG/KG	NUMBER OF PAIRS	PRE-COITAL		COPULATION INDEX (%)	FERTILITY INDEX (%)
		DAYS	E.S.		
0	MEAN S.D. N	2.2 1.03 10	0.0 0.00 10	100.0(10/10)	90.0(9/10)
4	MEAN S.D. N	2.2 1.14 10	0.0 0.00 10	100.0(10/10)	90.0(9/10)
20	MEAN S.D. N	1.8 0.83 9	0.0 0.00 9	90.0(9/10)	55.6(5/ 9)
100	MEAN S.D. N	3.0 1.07 8	0.0 0.00 8	100.0(8/ 8)	87.5(7/ 8)

1) DAYS , TIME(DAYS) BETWEEN INITIAL PAIRING AND DETECTION OF COITUS.
E.S. , NUMBER OF ESTROUS STAGES(E.S.) BETWEEN INITIAL PAIRING AND DETECTION OF COITUS.

TABLE 20
GESTATION LENGTH AND INDEX - GROUP MEAN VALUES

STUDY NO. 3L319KEO

TEST ARTICLES : DCP

GENERATION : F0

DOSE LEVEL MG/KG		GESTATION LENGTH (DAYS)	CORPORA LUTEA	IMPLANTATION SITES	TOTAL NUMBER OF OFFSPRING	IMPLANTATION INDEX (%)	DELIVERY INDEX (%)	GESTATION INDEX (%)
0	MEAN	22.3	18.0	17.8	16.7	98.9	93.4	100.0(9/ 9)
	S. D.	0.50	2.06	1.72	2.55	2.12	7.86	
	N	9	9	9	9	9	9	
4	MEAN	22.6	15.7	13.6	12.4	79.7	81.2	88.9(8/ 9)
	S. D.	0.52	4.80	6.50	6.33	31.30	31.75	
	N	8	9	9	9	9	9	
20	MEAN	22.2	18.8	14.4	13.2	77.6	92.6	100.0(5/ 5)
	S. D.	0.45	3.27	4.28	3.63	24.90	5.15	
	N	5	5	5	5	5	5	
100	MEAN	22.1	17.9	15.9	15.0	87.6	94.0	100.0(7/ 7)
	S. D.	0.38	2.55	4.02	4.00	16.28	5.19	
	N	7	7	7	7	7	7	

TABLE 21
VIABILITY INDICES AND LITTER SIZES - GROUP MEAN VALUES

STUDY NO. 3L319KEO

TEST ARTICLES : DCP

GENERATION : F1

DOSE LEVEL MG/KG		VIABILITY (%)		TOTAL NUMBER			NUMBER OF LIVE			NUMBER OF LIVE			
		BIRTH	ON DAY AFTER BIRTH	OF OFFSPRING AT BIRTH			OFFSPRING AT BIRTH			OFFSPRING ON DAY 4			
		0	4	M	F	TOTAL	M	F	TOTAL	M	F	TOTAL	
					(M/F)			(M/F)			(M/F)		
0	MEAN	99.3	98.9	8.2	8.4	16.7	8.2	8.3	16.6	8.2	8.1	16.3	
	S.D.	1.97	2.27	2.54	2.35	2.55	2.54	2.45	2.55	2.54	2.15	2.29	
	N	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	
	SEX RATIO				(74/ 76)			(74/ 75)			(74/ 73)		
4	MEAN	97.0	99.2	7.8	6.1	14.0	7.5	6.0	13.5	7.4	6.0	13.4	
	S.D.	6.33	2.19	3.01	2.30	4.57	2.88	2.33	4.38	2.83	2.33	4.31	
	N	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	
	SEX RATIO				(62/ 49)			(60/ 48)			(59/ 48)		
20	MEAN	100.0	100.0	5.4	7.8	13.2	5.4	7.8	13.2	5.4	7.8	13.2	
	S.D.	0.00	0.00	2.07	1.64	3.63	2.07	1.64	3.63	2.07	1.64	3.63	
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
	SEX RATIO				(27/ 39)			(27/ 39)			(27/ 39)		
100	MEAN	94.7	** 66.1	6.9	8.1	15.0	6.4	7.7	14.1	4.4	4.7	* 9.1	
	S.D.	9.14	45.34	2.48	2.97	4.00	2.23	3.04	3.98	3.55	3.68	7.01	
	N	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	
	SEX RATIO				(48/ 57)			(45/ 54)			(31/ 33)		

* SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM CONTROL VALUE , * , P<0.05

TABLE 22
BODY WEIGHT - GROUP MEAN VALUES

STUDY NO. 3L319KE0

TEST ARTICLES : DCP

GENERATION AND SEX : F1 MALE

UNIT : G

DOSE LEVEL MG/KG		DAYS AFTER BIRTH	
		0	4
0	MEAN	6.4	10.1
	S.D.	0.72	1.25
	N	9	9
4	MEAN	6.9	10.8
	S.D.	0.70	1.25
	N	7	8
20	MEAN	6.6	10.7
	S.D.	0.51	1.86
	N	5	5
100	MEAN	5.6	8.8
	S.D.	0.81	1.92
	N	7	5

TABLE 22
BODY WEIGHT - GROUP MEAN VALUES

STUDY NO. 3L319KE0

TEST ARTICLES : DCP

GENERATION AND SEX : F1 FEMALE

UNIT : G

DOSE LEVEL MG/KG		DAYS AFTER BIRTH	
		0	4
0	MEAN	6.1	9.7
	S.D.	0.75	1.30
	N	9	9
4	MEAN	6.8	10.7
	S.D.	0.70	1.25
	N	7	8
20	MEAN	6.1	9.9
	S.D.	0.34	1.44
	N	5	5
100	MEAN	5.4	8.4
	S.D.	0.79	1.95
	N	7	5

TABLE 23
BODY WEIGHT GAIN - GROUP MEAN VALUES

STUDY NO. 3L319KE0

TEST ARTICLES : DCP

GENERATION AND SEX : F1 MALE

UNIT : G

DOSE LEVEL MG/KG		DAYS AFTER BIRTH
		4
0	MEAN	3.6
	S.D.	0.64
	N	9
4	MEAN	4.0
	S.D.	0.58
	N	7
20	MEAN	4.1
	S.D.	1.54
	N	5
100	MEAN	2.9
	S.D.	1.39
	N	5

TABLE 23
BODY WEIGHT GAIN - GROUP MEAN VALUES

STUDY NO. 3L319KEO

TEST ARTICLES : DCP

GENERATION AND SEX : F1 FEMALE

UNIT : G

DOSE LEVEL MG/KG		DAYS AFTER BIRTH
		4
0	MEAN	3.6
	S.D.	0.64
	N	9
4	MEAN	4.1
	S.D.	0.64
	N	7
20	MEAN	3.8
	S.D.	1.12
	N	5
100	MEAN	2.8
	S.D.	1.31
	N	5

Table 24
Necropsy findings
Test Articles : DCP

Organ Findings	Sex	Male				Female			
	:								
	Dose level(mg/kg) :	0	4	20	100	0	4	20	100
	Number of animals :	10	10	10	10	10	10	10	8
Liver									
Enlargement		0	0	1	3	0	0	0	0
Kidneys									
Discoloration		0	0	0	1	0	0	0	0
Whitish dots		0	0	0	1	0	0	0	0
Enlargement		0	0	1	0	0	0	0	0
Multiple cyst		0	0	1	0	0	0	0	0
Testes									
Atrophy		1	0	2	1				
Adrenals									
Enlargement		0	0	0	1	0	0	0	0
Spleen									
Enlargement		0	0	1	0	0	0	0	0
Subcutis									
Nodule		0	0	0	0	0	0	1	0

Table 25
Histological findings
Test Articles : DCP

Study No. 3L319KE0

Organ Findings	Sex :	Male				Female			
	Dose level(mg/kg) :	0	4	20	100	0	4	20	100
	Number of animals :	10	10	10	10	10	10	10	8
Liver									
Single cell necrosis		0	0	0	7	0	*	*	0
Focal necrosis		0	0	0	0	1	*	*	0
Multilocular biliary cyst		0	0	1	0	0	*	*	0
Kidneys									
Increase of hyaline droplets in the tubular epithelium		0	10	10	10	0	*	*	0
Basophilic change of the tubular epithelium		0	0	3	2	0	*	*	0
Cystic dilatation of renal tubules		1	0	0	0	0	*	*	0
Multiple cyst		0	0	1	0	0	*	*	0
Adrenals									
Increase of fatty droplets in the fascicular zone		0	0	3	8	0	0	0	1
Testes									
Atrophy of seminiferous tubules		1	*	2/2 [#]	1				
Spleen									
Hemosiderosis		0	*	*	0	1	*	*	0
Subcutis									
Mammary adenoma		*	*	*	*	*	*	1/1 [#]	*

, Number of animals showing lesion / number of animals examined.

Table 26-1
Individual necropsy and histological findings (Dead animal)
Test articles : DCP
Sex : Female

Study No. 3L319KE0

Dose level(mg/kg):		100
Animal number :		D01
Organ Necropsy findings	Organ Histological findings	
	Liver Congestion	
Lungs Dark reddish change	Lungs Congestive plumonary edema	
Adrenals Enlargement (B)	Adrenals Necrosis with hemorrhage in the fascicular zone (U) Congestion (B)	
Thymus Hemorrhage	Thymus Congestion Karyorrhaxis of lymphocytes	
B , Bilateral; U , Unilateral.		

Table 26-2
Individual necropsy and histological findings (Dead animal)
Test articles : DCP
Sex : Female

Study No. 3L319KE0

Dose level(mg/kg):		100
Animal number :		D06
Organ Necropsy findings	Organ Histopathological findings	
Stomach Hemorrhage in the mucosa	Stomach Hemorrhage in the mucosa	
	Liver Congestion Necrosis with hemorrhage in the intermediary zone	
Lungs Dark reddish change Whitish patch	Lungs Congestive pulmonary edema Hemorrhage Edematous thickening of pleura	
Adrenals Enlargement (B)	Adrenals Necrosis with hemorrhage in the fascicular zone (U) Congestion (B)	
Thymus Hemorrhage	Thymus Congestion Karyorrhexis of lymphocytes	
	Spleen Karyorrhexis of lymphocytes Atrophy	

B , Bilateral; U , Unilateral.