

2, 2' - アゾビス(2 - メチルプロパン
ニトリル) のラットを用いる
反復経口投与毒性・生殖発生毒性
併合試験

厚生省生活衛生局 委託

財団法人食品薬品安全センター

秦 野 研 究 所

【目 次】

	頁
要 約	1
緒 言	3
試験材料および方法	4
1. 被験物質	4
2. 使用動物および飼育条件	4
3. 群分けおよび個体識別	5
4. 投与量、群構成、投与期間および投与方法	5
5. 観察方法	6
6. 統計解析	9
結 果	10
I. 反復投与毒性（親動物所見）	10
1. 一般状態	10
2. 体重	10
3. 飼料消費量	11
4. 解剖時検査所見	12
II. 生殖発生毒性	16
1. 生殖学的検査所見	16
2. 産児所見	17
考 察	18
文 献	20

Figures (Figure 1 ～ Figure 4)

Tables (Table 1 ～ Table 27)

【要 約】

2,2'-アゾビス(2-メチルプロパンニトリル) (以下 ABMPN) の 0 (溶媒対照)、2、10 および 50 mg/kg を Sprague-Dawley 系 (Crj:CD) ラットの雌雄 (各13匹/群) に交配前2週間および交配期間2週間、経口投与し、さらに雄では交配期間終了後2週間、雌では妊娠期間を通して分娩後の哺育3日まで投与を継続して、親動物に対する反復投与毒性および生殖能力、ならびに次世代児の発生・発育に及ぼす影響について検討した。

I. 反復投与毒性 (親動物所見)

1. 雄動物

10 mg/kg 以上の投与量の ABMPN は、投与後に一過性の流涎を誘発させ、50 mg/kg 投与により、投与期間初期に体重増加および飼料消費量を抑制した。42回反復投与後の剖検では、2 mg/kg 以上の投与量により腎臓重量が増加し、10 mg/kg 以上の投与量により肝臓重量が増加した。病理組織学的検査では、2 mg/kg 以上の投与量により腎臓の eosinophilic body や好塩基性尿細管が増加し、顆粒状円柱がみられた。また、10 mg/kg 以上の投与群では、小葉中心性の肝細胞肥大が観察された。剖検時に採取した血液の検査では、50 mg/kg 投与により血小板および白血球数の増加がみられ、血液生化学的検査でも、50 mg/kg 投与により総蛋白、アルブミン、総コレステロール、カルシウムおよび無機リンの各濃度の増加、A/G比および塩素濃度の低下が認められた。

2. 雌動物

10 mg/kg 以上の投与量の ABMPN は、投与期間初期に体重増加および飼料消費量を抑制し、50 mg/kg 投与では、さらに妊娠期の体重増加および飼料消費量を抑制し、分娩後3日に1匹が死亡した。分娩後4日の剖検では、50 mg/kg の投与により肝臓および腎臓の重量が増加傾向を示した。病理組織学的検査では、10 mg/kg 以上の投与量により小葉中心性の肝細胞肥大が観察された。

II. 生殖発生毒性

1. 生殖学的検査所見

50 mg/kg までの投与量の ABMPN は、交尾率および受胎率に影響を示さなかった。また、

母動物の妊娠期間および出産率にも ABMPN 投与の影響はみられず、異常分娩も観察されなかった。哺育状態については、50 mg/kg 投与群の 3 匹に哺育行動の異常が観察された。

2. 産児所見

分娩率、生児出産率、出生率および哺育 0 日の性比および体重には、ABMPN 投与の影響は認められなかったが、50 mg/kg 投与により哺育 4 日の新生児生存率ならびに体重が低値の傾向を示した。産児の形態異常はいずれの ABMPN 投与群にも観察されなかった。

Ⅲ. 評価

以上の試験成績から、本試験条件下では、ABMPN の反復投与毒性に関する無影響量は、雄では 2 mg/kg/day を若干下回る量、雌では 2 mg/kg/day であり、生殖発生毒性に関する無影響量は、雄では 50 mg/kg/day、雌および産児では 10 mg/kg/day であると結論される。

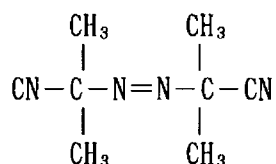
【 緒 言 】

2,2'-アゾビス(2-メチルプロパンニトリル)は、ビニル系ポリマーの重合開始剤や不飽和ポリエステル樹脂などの硬化触媒として使用されている化合物である。本化合物の毒性については、経口投与によるLD₅₀値がラット 670 mg/kg¹⁾、マウス 700 mg/kg²⁾であることが報告されているが、反復投与毒性や生殖発生毒性についてはほとんど知られていない。そこで今回、OECDによる既存化学物質の安全性点検に係わる毒性調査研究事業の一環として、ラットを用いて本化合物の反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験を行い、同化合物の雌雄動物に及ぼす反復投与毒性ならびに生殖発生毒性について検討したので、その結果を報告する。

【試験材料および方法】

1. 被験物質

2, 2'-アゾビス (2-メチルプロパンニトリル) (ABMPNと略記)〔別名: 2, 2'-アゾビスイソプロチロニトリル、CAS No.: 78-67-1、英名: 2, 2'-Azobis(2-methylpropionitrile)、ロット番号: 純度: 99.9 wt%、不純物: 水、メタノール 0.1%、分子量: 164.21、分子式: $C_8H_{12}N_4$ 、融点: 101.8℃〕は、下記の構造式を有する白色の結晶粉末であり、から入手し、使用時まで冷蔵、遮光条件下で保管した (Annex 1)。



被験物質は、コーンオイル (ロット番号: V5P5523、ナカライテスク(株)) に懸濁し、いずれの用量においても1回の投与液量が 5 ml/kg 体重になるように濃度を調整した。調製液は、冷蔵、遮光、密閉条件下で、各濃度ごとに小分けをして保管し、調製後7日以内に投与した。調製液中の被験物質は、冷蔵、遮光条件下で少なくとも8日間安定であることが確認されており (Annex 2)、試験期間中 (1995年12月12日) に調製した投与検体には、所定量の ABMPN が均一に含有されていたことを確認した (Annexes 3、4)。

2. 使用動物および飼育条件

試験には、雌雄とも7週齢にて購入した日本チャールス・リバー(株)日野飼育センター生産の Sprague-Dawley 系ラット (Crj:CD、SPF) を使用した。購入した動物は、雄については入荷後5日間、雌については入荷後4日間、検疫と馴化を兼ねて予備飼育し、一般状態に異常が認められなかった動物を試験に供した (Annex 5)。

各動物は、温湿度各 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ および 50~65%、換気回数約15回/時、照明12時間 (午前7時~午後7時) に制御された飼育室で、雄は金属製金網床ケージ (22×27×19cm、日本ケージ(株))、雌は床敷として紙パルプ製チップ (ALPHA-dri、加商(株)) を供給したラット用繁殖ケージ (35×40×18cm、日本クレア(株)) に個別に収容して飼育し、固型飼料 (CE-2、日本クレア(株)) および飲料水を自由に摂取させた。なお、供給した飼料、水および床敷には、試験に支障を来す可能性のある混入物はなかった。

3. 群分けおよび個体識別

雌雄とも初回投与日の体重をもとに体重別層化無作為抽出法により群分けし、各群とも雌雄各13匹を配した。これらのすべての雌雄動物には、油性フェルトペンを用いて、尾に群および個体番号を記した。また、投与群ごとに色彩の異なるカードを各飼育ケージに懸け、これに群および個体番号を記入し、個体識別の補助とした。なお、産児については、個体識別を行わなかった。

4. 投与量、群構成、投与期間および投与方法

先に実施した14日間反復経口投与による予備試験において、ABMPN の 50 mg/kg を投与した群に、飼料消費量の抑制、血小板数の増加、肝臓および腎臓重量の増加など毒性を示す変化が惹起されたが、体重および一般状態に重篤な変化がみられなかったことから、50 mg/kg は最大耐量を下回る量と推定された。また、予備試験で 5 mg/kg を投与した群では、雌の体重が対照群と比較してやや低い値を示したことから、14日間以上の反復投与により、5 mg/kg は母動物に対する影響量になる可能性が示唆された。したがって、本試験の最高用量には 50 mg/kg を設定し、以下公比5で減じて、中間用量には 10 mg/kg を、最低用量には 2 mg/kg を設定した。対照群のラットには、ABMPN の媒体としたコーンオイルを ABMPN 投与群と同一条件にて投与した。以下に群構成を示す。

群番号	被験物質	投与量 (mg/kg)	匹数（動物番号）	
			雄	雌
1	溶媒対照	0	13 (MX01001～13)	13 (FB01001～13)
2	ABMPN	2	13 (MX02001～13)	13 (FB02001～13)
3	ABMPN	10	13 (MX03001～13)	13 (FB03001～13)
4	ABMPN	50	13 (MX04001～13)	13 (FB04001～13)

各用量の投与検体は、雄に対しては交配前14日間と交配期間14日間および交配期間終了後14日間の連続42日間、また雌に対しては交配前14日間と最長14日間の交配期間中（交尾成立まで）ならびに交尾成立雌では妊娠期間を通して分娩後の哺育3日（分娩日＝哺育0日）まで毎日1回、ラット用胃管を用いて経口投与した。毎日の投与は午前9時～午後3時の間に行い、各動物の投与液量（5 ml/kg 体重）は、雄ならびに交配前および交配期間

中の雌については投与日に最も近接した時期の測定体重をもとに、また、交尾成立後の雌については妊娠 0 日（交尾確認日）の体重をもとにそれぞれ算出した。

5. 観察方法

1) 親動物

A. 一般状態

雌雄とも全例について、飼育期間中毎日観察した。死亡動物は、発見後直ちに体重を測定して剖検し、主要器官を10%ホルマリン液に固定して保存した。

B. 体重

雄は全例について、投与 1、4、8、15、22、29、36、42日および解剖日、雌は全例について、投与 1、4、8、15日に測定し、投与22日までに交尾が確認されなかった雌は、投与22日にも体重を測定した。また、交尾成立雌では、妊娠 0、7、14、20日に、分娩した雌では、哺育 0 および 4 日（解剖日）に体重を測定した。

C. 飼料消費量

雌雄とも全例について、体重測定日と同日に餌重量を測定し、飼料消費量を算出した。2 週間の交配期間中の餌重量は測定しなかった。交尾成立雌では妊娠 0～7、7～14、14～20日、分娩した雌では哺育 0～4 日の飼料消費量を測定した。なお、哺育途中で産児の全例が死亡した母動物の飼料消費量は、評価の対象から除外した。

D. 交配

交配は、投与15日（投与開始日＝投与 1 日）の夕方から最長 2 週間、同群内の雌雄を 1 対 1 で同居させて行った。交尾成立の確認は、毎朝、膣栓および膣スメアー中の精子の存在を調べることにより行い、交尾が確認された雌は、その日を妊娠 0 日と起算して雄から分離し、個別に飼育した。交配結果から、各群について交尾率〔（交尾確認動物数／交配動物数）× 100〕、受胎率〔（妊娠動物数／交尾確認動物数）× 100〕、同居開始から交尾成立に要した日数およびその間に回帰した発情期の回数を求めた。

E. 分娩・哺育状態

各群とも交尾成立雌は、全例を自然分娩させた。分娩状態の直接観察は観察が可能であったものについて行い、それ以外の動物については分娩後の徴候から分娩困難や遅延などの分娩障害の有無を判断した。分娩後は、哺育状態を観察した。

F. 分娩日の算定

分娩の確認は、午前9時～11時に限定し、この時間帯に分娩が完了していることを確認した動物について、その日を分娩日と規定した。午前11時を過ぎて分娩を終了した動物については、翌日を分娩日とした。

分娩を確認した全例について妊娠期間（妊娠0日から分娩日までの日数）を算定し、出産率〔（生児出産雌数／妊娠動物数）×100〕を各群について求めた。

G. 最終検査

a) 雄動物

1. 剖検、器官重量測定および病理組織学的検査

最終投与日の投与終了後から絶食を開始し、翌日にペントバルビタール麻酔下で放血・致死させて剖検した。その際、全例について肝臓、腎臓、副腎、精巣および精巣上体の重量を測定した。これらの器官のうち、精巣および精巣上体はブアン液に固定して保存し、その他の器官および胸腺、脳、心臓、脾臓は、10%ホルマリン液に固定して保存した。これらの器官は高用量群および対照群について常法に従ってパラフィン切片とし、ヘマトキシリン-エオジン染色を行って病理組織学的検査を行った。肝臓および腎臓については、高用量群に異常が認められたため、その他の投与群についても検査を実施した。

2. 血液学的検査

全例について、剖検に先立ち、ペントバルビタール麻酔下で腹部後大静脈より抗凝固剤として EDTA 処理した注射筒を用いて採血し、下記の項目について検査した。

項 目	測 定 法	使 用 機 器
赤血球数 (RBC)	自動 (電気抵抗法)	Coulter Counter Model S-PLUS IV (コールター・エレクトロニクス)
白血球数 (WBC)	" (")	"
血色素量 (Hb)	" (吸光度法)	"
平均赤血球容積 (MCV)	" (電気抵抗法)	"
血小板数	" (")	"
ヘマトクリット 値 (Ht)	計算 (RBC×MCV×0.001)	
平均赤血球血色素量 (MCH)	計算 (Hb×1000/RBC)	
平均赤血球血色素濃度 (MCHC)	計算 (Hb×100/Ht)	
白血球分類	視算 (静脈血塗抹標本 Wright-Giemsa 染色)	光学顕微鏡

ハ. 血液生化学的検査

全例について、血液学的検査のための採血に引き続き、抗凝固剤としてヘパリン処理した注射筒を用いて採血し、血漿を分離して下記の項目について検査を行った。

項 目	測 定 法	使 用 機 器
総蛋白濃度	ビュレット 法	遠心方式生化学自動分析装置 COBAS- FARA (ロシュ)
アルブミン 濃度	BCG 法	"
総コレステロール 濃度	COD・DAOS法	"
ブドウ糖濃度	グルコキナーゼ G6PDH 法	"
尿素窒素濃度 (BUN)	ウレアーゼ G.DH 法	"
クレアチニン濃度	Jaffe 法	"
アルカリフォスファターゼ活性	パラニトロフェニルリン 酸基質法	"
GOT 活性	SSCC法	"
GPT 活性	SSCC法	"
総ビリルビン 濃度	ビリルビン「ロシュ」キット S シリーズ	"
カルシウム 濃度	OCPC法	"
無機リン濃度	モリブデン 酸直接法	"
γ-GTP活性	γ-グルタミル-3-カルボキシ-4-ニトロアニリド 基質法	"
ナトリウム 濃度	イオン 電極法	全自動電解質分析装置 EA05 (A&T)
カリウム濃度	イオン 電極法	"
塩素濃度	イオン 電極法	"
A/G 比	計算	

h) 雌動物

分娩した雌は哺育4日に、交尾をしたが分娩しない雌は妊娠25日相当日に、それぞれ致死量のペントバルビタールを投与後に放血・致死させ、剖検した。妊・不妊のいずれの例においても卵巣および子宮を摘出し、子宮については Salewski 法⁹⁾を応用して着床痕を染色して着床数を確認し、着床率〔(着床数/妊娠黄体数)×100〕を算出した。卵巣は実体顕微鏡下で妊娠黄体数を数えた後、ブアン液に固定して保存した。不妊例の卵巣については、病理組織学的検査を行った。また、肝臓、腎臓および副腎の重量を全例について測定した。これらの器官および胸腺、脳、心臓、脾臓、子宮は10%ホルマリン液に固定して保存した。これらの器官は、高用量群および対照群について常法に従ってパラフィン切片とし、ヘマトキシリン-エオジン染色を行って病理組織学的検査を行った。高用量群に異常が認められた肝臓、腎臓および副腎は、その他の用量群についても検査を実施した。なお、一部の動物の肝臓または腎臓について、Oil red O 染色、ベンチジン反応およびPAS 染色を行った。

2) 産児

A. 産児数

哺育0日に産児数（生存児＋死亡児）を調べ、分娩率〔（産児数／着床痕数）× 100〕および生児出産率〔（出產生児数／着床痕数）× 100〕を求めた。また、産児の外表奇形の有無および性別を調べ、生存児の性比〔（雄の生児数／出產生児数）× 100〕を算出した。

B. 死亡児

死亡児数を毎日調べ、出生率〔（出產生児数／産児数）× 100〕および新生児生存率〔（哺育4日の生児数／哺育0日の生児数）× 100〕を求めた。死亡児は剖検し、胸腔および腹腔内の器官を除去した後、エタノールに固定して保存した。

C. 体重

哺育0日および4日に一腹単位で雌雄別に体重（litter 重量）を測定し、（litter 重量／測定児数）を各腹について求めた。

D. 剖検

哺育4日に全例を致死させ、剖検した。胸腔および腹腔内の器官は、一括して摘出し、一腹ごとに10%ホルマリン液に固定して保存した。カーカスは、一腹ごとにエタノールに固定して保存した。

6. 統計解析

交尾率、受胎率および産児の形態異常発現頻度については Yates の補正を含む χ^2 検定を行った。病理組織所見については、グレード分けしたデータは Mann-Whitney の U 検定^{4, 5)} により、陽性グレードの合計値は Fisher 直接確率の片側検定⁵⁾ により行った。その他のすべてのデータは、個体ごとに得られた値あるいは一腹ごとの平均値を1標本として、先ず Bartlett 法⁶⁾ により各群の分散の一樣性について検定し、その結果、分散が一樣とされた場合には一元配置型の分散分析を行い、群間に有意性が認められた場合で、各群の匹数が同一であれば Dunnett 法⁷⁾ を用い、同一で無い場合は Scheffé 法⁸⁾ を用いて対照群と ABMPN 各投与群との平均値の差の検定を行った。分散が一樣でなかった場合、または分散が0となる群が存在した場合は、Kruskal-Wallis の順位検定⁹⁾ を行い、群間に有意性が認められた場合に、対照群と ABMPN 各投与群との差について Dunnett 法⁷⁾ あるいは Scheffé 法⁸⁾ の検定を行った。有意水準は、5%および1%とした。

【結 果】

本試験の試験期間中に、試験の信頼性に悪影響を及ぼす疑いのある予期しえなかった事態の発生および試験計画書からの逸脱はなかった。

I. 反復投与毒性（親動物所見）

1. 一般状態（Tables 1、2; Appendices 1-1~2-4）

1) 死亡動物

雌では、50 mg/kg 投与群の1匹（動物番号：FB04006）が、投与43日（分娩日）から消瘦を呈し、投与46日（分娩後3日）に死亡した。雄では、いずれの投与群にも死亡は認められなかった。

2) 生存動物

雄では、10 mg/kg 以上の投与群において、投与後に一過性の流涎を示す動物が、用量に依存してほぼ全投与期間にわたって観察された。その他、2 mg/kg 投与群の1匹（動物番号：FB02011）に投与8日から消瘦、紅涙（片側）および排便数減少が観察されたが、投与11日までに回復した。

雌では、50 mg/kg 投与群の1匹（動物番号：FB04012）に、投与後一過性の流涎が観察された。その他、対照群の1匹（動物番号：FB01008）に痂皮形成（右側頸部）が、2 mg/kg 投与群の1匹（動物番号：FB02009）に脱毛（左側腹部）が観察されたが、10 mg/kg 以上の投与群には、これらの変化は認められなかった。

2. 体重

1) 雄（Figure 1; Tables 3、4; Appendices 3-1~4-4）

10 mg/kg 以下の投与群については、体重推移に ABMPN 投与の影響は認められなかった。50 mg/kg 投与群では、投与1~4日の増加量が対照群と比較して有意（ $p<0.01$ ）に抑制された。また、50 mg/kg 投与群では、投与22~29日の増加量が対照群と比較して有意（ $p<0.05$ ）な低値を示した。

2) 雌 (Figure 2)

(1) 交配前 (Tables 5, 6; Appendices 5-1~6-4)

2 mg/kg 投与群では、体重および増加量のいずれにも統計学的に有意な変化は認められなかった。10 mg/kg 投与群では、投与 8~15日の増加量が対照群と比較して有意 ($p < 0.01$) に抑制されたため、投与 1~15日の累積増加量も対照群と比較して有意 ($p < 0.05$) な低値を示した。50 mg/kg 投与群では投与 4日の体重および投与 1~4日の増加量が対照群と比較して有意 ($p < 0.01$) な低値を示したが、投与 4~8日の増加量は逆に対照群と比較して有意 ($p < 0.01$) な高値を示したため、投与 8日の体重には、対照群と差は認められなかった。しかし、50 mg/kg 投与群では、投与 8~15日の増加量が再び有意 ($p < 0.05$) に抑制されたため、投与 15日の体重および投与 1~15日の累積増加量が有意 ($p < 0.05$ 、 $p < 0.01$) な低値を示した。

(2) 妊娠期 (Tables 7, 8; Appendices 7-1~8-4)

2 mg/kg 投与群については、妊娠期の体重推移に投与の影響は認められなかった。10 mg/kg 投与群では、交配前の体重が低値であったため、妊娠期の体重も対照群と比較して低値で推移したが統計学的有意差は認められなかった。50 mg/kg 投与群では、交配前の体重が低値であった上に、妊娠 0~7日および 7~14日の増加量が対照群と比較して有意 ($p < 0.05$) に抑制されたことから、妊娠期の体重はより低値で推移し、妊娠 7日以降の体重および妊娠 0~14日の累積増加量に有意差 ($p < 0.05$ 、 $p < 0.01$) が認められた。

(3) 哺育期 (Tables 9, 10; Appendices 9-1~10-4)

10 mg/kg 以下の投与群の体重は、対照群と同様に推移した。50 mg/kg 投与群では、哺育 0日の体重が、対照群と比較して有意 ($p < 0.01$) な低値を示したが、哺育 0~4日の増加量が対照群よりも増加の傾向を示したため、哺育 4日の体重には対照群との間に差は認められなかった。

3. 飼料消費量

1) 雄 (Figure 3; Table 11; Appendices 11-1~11-4)

10 mg/kg 以下の投与群の飼料消費量には、投与の影響は認められなかった。50 mg/kg 投与群では、投与 1~4日の飼料消費量が対照群と比較して有意 ($p < 0.01$) に抑制

されたが、その後は対照群と同様な値で推移した。

2) 雌 (Figure 4)

(1) 交配前 (Table 12; Appendices 12-1~12-4)

2 mg/kg 投与群では、いずれの時期の飼料消費量も対照群との間で有意差は認められなかった。10 mg/kg 以上の投与群では、投与 1~4 日の飼料消費量が対照群と比較して有意 ($p<0.05$ 、 $p<0.01$) に抑制されたが、投与 4~8 日および 8~15 日の飼料消費量には、対照群との間に有意差は認められなかった。

(2) 妊娠期 (Table 13; Appendices 13-1~13-4)

10 mg/kg 以下の投与群では、いずれの時期の飼料消費量も対照群との間で有意差は認められなかった。50 mg/kg 投与群では、妊娠 0~7 日の飼料消費量が対照群と比較して有意 ($p<0.05$) に抑制されたが、妊娠 7~14 日および 14~20 日の飼料消費量には、対照群との間に有意差は認められなかった。

(3) 哺育期 (Table 14; Appendices 14-1~14-4)

いずれの ABMPN 投与群の飼料消費量も、対照群と同様に推移した。

4. 解剖時検査所見

A) 雄

(1) 血液学的検査所見 (Table 15; Appendices 15-1~15-4)

赤血球については、2 mg/kg 投与群において平均赤血球血色素濃度が有意 ($p<0.05$) に増加したが、その程度は生理的変動の範囲内であった。血小板については、50 mg/kg 投与群で有意 ($p<0.01$) に増加した。白血球については、50 mg/kg 投与群においてその数が有意 ($p<0.01$) に増加し、百分比では、10 mg/kg 以上の投与群において、好中球の有意 ($p<0.05$ 、 $p<0.01$) な増加とリンパ球の有意 ($p<0.05$) な減少が認められた。

(2) 血液生化学的検査所見 (Table 16; Appendices 16-1~16-4)

2 mg/kg 投与群では、カルシウム濃度が有意 ($p<0.05$) に増加し、 γ -GTP 活性が有意 ($p<0.05$) に低下したが、その程度は生理的変動の範囲内であった。10 mg/kg 投

与群では、いずれの検査項目についても対照群との間で有意差は認められなかった。50 mg/kg 投与群においては、総蛋白、アルブミン、総コレステロール、カルシウムおよび無機リンの各濃度が、対照群と比較して有意 ($p < 0.01$) に増加し、A/G 比および塩素濃度が有意 ($p < 0.01$) に低下した。その他、50 mg/kg 投与群では、クレアチニン濃度が有意 ($p < 0.05$) に増加したが、毒性学的意義のない変化と思われた。

(3) 剖検所見 (Table 17; Appendices 17-1~17-4)

肝臓は、50 mg/kg 投与群において暗色調で腫大する例が多くみられ、10 mg/kg 投与群でも低頻度に認められた。腎臓は、50 mg/kg 投与群において腫大して皮質が淡色化する例がみられ、10 mg/kg 投与群でも低頻度に認められた。その他の器官に、ABMPN 投与に起因すると思われる所見はなかった。

(4) 器官重量 (Table 18; Appendices 18-1~18-4)

肝臓は、10 mg/kg 以上の投与群において、実重量および比体重値ともに対照群と比較して有意 ($p < 0.05$, $p < 0.01$) に増加した。腎臓は、実重量および比体重値ともに用量に依存して増加する傾向がみられ、実重量は 2 mg/kg 以上、比体重値は 10 mg/kg 以上の投与群において対照群との間に有意差 ($p < 0.05$, $p < 0.01$) が認められた。その他の器官に、対照群と ABMPN 各投与群との間で有意差は認められなかった。

(5) 病理組織学的検査所見 (Table 19; Appendices 19-1~19-4)

各器官における観察所見を以下に示す。

(肝臓)

50 mg/kg 投与群の全例に、小葉中心性の肝細胞肥大がみられ、10 mg/kg 投与群でも肥大の程度は軽いが全例に認められた。門脈周囲性の脂肪化および小肉芽腫が対照群を含む全例に認められたが、対照群と ABMPN 各投与群との間に頻度および程度の差はなかった。その他、10 mg/kg 投与群の 1 匹 (動物番号: MX03002) に、胆管の嚢胞形成がみられ、50 mg/kg 投与群の 1 匹 (動物番号: MX04013) にごく軽度な胆管増生が認められた。

(腎臓)

全ての ABMPN 投与群で、eosinophilic body および尿細管の再生像と思われる皮質の好塩基性尿細管が増加した (Photo 1)。また、ABMPN 各投与群では、壊死した細胞を

含むと思われる、顆粒状の円柱がみられた。その他、10 および 50 mg/kg 投与群の各 1 匹（動物番号：MX03009、MX04012）に、蛋白性の円柱が認められ、各投与群の 1 匹（動物番号：MX01004、MX02003、MX03005、MX04001）に少数の嚢胞がみられた。また、肝臓に胆管の嚢胞形成がみられた 10 mg/kg 投与群の 1 匹（動物番号：MX03002）では、多数の嚢胞が認められた。

（脾臓）

対照群および 50 mg/kg 投与群に褐色色素の沈着および髓外造血がみられたが、両群間に頻度および程度の差は認められなかった。

（心臓）

対照群および 50 mg/kg 投与群に心筋変性・線維化がみられたが、両群間に頻度および程度の差は認められなかった。

（精巣）

対照群および 50 mg/kg 投与群の各 1 匹（動物番号：MX01011、MX04008）に、精子形成の低下がみられたほかに、異常はなかった。

（精巣上体）

50 mg/kg 投与群の精子形成の低下が認められた例（動物番号：MX04008）に、精子の消失がみられたほかに、異常はみられなかった。

（脳、胸腺、および副腎）

対照群および 50 mg/kg 投与群に異常はみられなかった。

B) 雌

(1) 剖検所見 (Table 20; Appendices 20-1~20-4)

死亡した 50 mg/kg 投与群の 1 匹（動物番号：FB04006）では、腎皮質の淡色化、胸腺および脾臓の萎縮などが認められた。その他の例では、肝臓が暗色調で腫大する例がみられた。他の器官には、ABMPN 投与に起因すると思われる所見はなかった。

(2) 器官重量 (Table 21; Appendices 21-1~21-4)

10 mg/kg 以下の投与群には、実重量および比体重値ともに対照群と比較して有意差の認められた器官はなかった。50 mg/kg 投与群では、肝臓の実重量および比体重値が対照群と比較して有意 ($p < 0.01$) に増加し、腎臓の比体重値が対照群と比較して有

意 ($p < 0.01$) な高値を示した。しかし、副腎重量については、対照群との間に有意差は認められなかった。

(3) 病理組織学的所見 (Table 22; Appendices 22-1~22-4)

死亡した 50 mg/kg 投与群の 1 匹 (動物番号: FB04006) では、肝臓に小葉中心性の肝細胞肥大がみられ、腎臓には、近位尿細管の脂肪変性 (Oil red O 染色陽性) および空胞変性、尿細管の再生像と思われる皮質の多数の好塩基性尿細管、壊死細胞を含む顆粒状の円柱、ヘモグロビン円柱 (ベンチジン反応陽性) および蛋白円柱 (PAS 染色陽性) がみられた。脾臓および胸腺では著しい萎縮がみられた。

その他の生存例における観察所見を以下に示す。

(肝臓)

50 mg/kg 投与群の全例に、小葉中心性の肝細胞肥大がみられ、10 mg/kg 投与群でも肥大の認められる例があった。また、50 mg/kg 投与群では巣状壊死や小葉中間帯の脂肪化 (いずれも Oil red O 染色陽性) がみられた。その他、各群に小肉芽腫がみられたが、対照群と ABMPN 各投与群との間に頻度および程度の差はみられなかった。

(腎臓)

50 mg/kg 投与群の 2 匹 (動物番号: FB04002、FB04005) に近位尿細管の空胞変性がみられ、そのうちの 1 匹の皮質には好塩基性の尿細管がみられ (Photo 2)、他の 1 匹には近位尿細管の脂肪変性 (Oil red O 染色陽性) がみられたが、対照群の 1 匹 (動物番号: FB01002) にも近位尿細管の空胞変性および皮質の好塩基性尿細管は認められた。その他、自然発生によると思われる少数の皮質の好塩基性尿細管が、対照群を含む ABMPN 各投与群にみられた。

(脾臓)

対照群および 50 mg/kg 投与群に褐色色素の沈着および髄外造血がみられたが、両群間に頻度および程度の差は認められなかった。

(副腎)

束状帯の空胞形成の増加が、50 mg/kg 投与群の 2 匹 (動物番号: FB04002、FB04005) にみられたが、対照群および他の ABMPN 投与群に異常は認められなかった。

(胸腺、脳および心臓)

対照群および 50 mg/kg 投与群に異常はみられなかった。

(卵巣)

観察した不妊例（動物番号：FB01009、FB02002、FB03005、FB03011、FB04008）に、異常はなかった。

II. 生殖発生毒性

1. 生殖学的検査所見

1) 交配成績 (Table 23; Appendices 23-1~23-4)

交尾率、受胎率および同居開始から交尾成立までに要した日数ならびにその間に回帰した発情期の回数に対照群と ABMPN 各投与群との間で有意差は認められなかった。

2) 分娩および哺育状態

分娩状態の直接観察が可能であった動物（対照群：2匹、2 mg/kg 投与群：3匹、10 mg/kg 投与群：4匹、50 mg/kg 投与群：1匹）に、異常分娩は観察されなかった。また、直接観察ができなかった動物についても、異常分娩を示唆する徴候は認められなかった。

10 mg/kg 以下の投与群では、哺育状態に異常は認められなかった。50 mg/kg 投与群においては、哺育4日までに全産児が死亡した動物が2匹みられ、そのうちの1匹（動物番号：FB04002）では哺育1日に喰殺が観察され、他の1匹（動物番号：FB04006）では哺育1日から哺育行動（児集め、児の保温、授乳）がみられなかった。その他、50 mg/kg 投与群の1匹（動物番号：FB04005）においても、哺育1～2日に授乳行動がみられなかったが、哺育3日以降の哺育状態に異常は認められなかった。

3) 出産率および妊娠期間 (Table 24; Appendices 24-1~24-4)

出産率はすべての投与群とも 100%を示し、妊娠期間についても対照群と ABMPN 各投与群との間で有意差は認められなかった。

4) 黄体数、着床数および着床率 (Table 24; Appendices 24-1~24-4)

妊娠動物の黄体数、着床数および着床率に対照群と ABMPN 各投与群との間で有意差は認められなかった。

2. 産児所見

1) 生存性 (Table 24; Appendices 24-1~24-4)

10 mg/kg 以下の投与群では、哺育 0 および 4 日の生存性に対照群との間で差は認められなかった。50 mg/kg 投与群では、分娩率、生児出産率および出生率には投与の影響は認められなかったが、生後 4 日の新生児生存率が低値の傾向を示した。性比については対照群と ABMPN 各投与群との間で有意差は認められなかった。

2) 体重 (Table 25; Appendices 25-1~25-4)

10 mg/kg 以下の投与群については、対照群との間に差は認められなかった。50 mg/kg 投与群では、哺育 4 日の体重が雌雄ともに低値の傾向を示したが、対照群との間に有意差は認められなかった。

3) 形態 (Tables 26、27)

出生日の生存産児に、外表奇形は観察されなかった。また、哺育 4 日における産児の剖検でも、異常は認められなかった。死亡児の剖検においては、対照群の 1 匹 (母動物番号: FB01013) に腎盂拡張 (両側) が観察されたが、ABMPN 各投与群の死亡児に異常は認められなかった。

【考 察】

ABMPN の 50 mg/kg の投与量は、雌雄動物の体重増加および飼料消費量を抑制した。14 日間反復投与した予備試験においても、50 mg/kg 投与群で同様の変化が認められていることから、ABMPN の影響と考えられるが、雌ではさらに 10 mg/kg 投与群においても体重増加が抑制されたことから性差が示唆された。投与期間中の一般状態に関しては、10 mg/kg 以上を投与した雄で、投与直後に流涎が散見されたが、いずれも発現後すみやかに回復したことから、毒性を示唆する変化ではなく、被験物質の刺激性によって惹起されたものと考えられた。剖検時に、雄では 10 mg/kg 以上の投与群で、雌では 50 mg/kg 投与群で肝臓の重量が増加し、病理組織学的検査により、雌雄とも 10 mg/kg 以上の投与群で小葉中心性の肝細胞肥大が確認された。体内に入った ABMPN は肝臓へ移行することが確認されており²⁾、血液生化学的検査では雄の 50 mg/kg 投与群における総蛋白、アルブミン、総コレステロールの各濃度の増加が認められたことから、肝細胞肥大は ABMPN 投与により惹起された肝機能亢進を反映した所見と考えられる。50 mg/kg 投与群においてみられたカルシウム濃度の増加は、アルブミンの増加に伴った変化と推定される。また、同群においては A/G 比が低下したことから、血中グロブリン濃度も増加しているものと推察される。剖検時には、腎臓重量についても雄の 2 mg/kg 以上の投与群と、雌の 50 mg/kg 投与群において増加する傾向がみられ、病理組織学的検査により雄の 2 mg/kg 以上の投与群で eosinophilic body および尿細管再生像の増加が認められた。両者とも雄では自然発生的にみられる所見であるが、その頻度および程度は対照群と比較すると明らかに異なり、さらに壊死細胞を含む顆粒状円柱も認められていることから、雄の 50 mg/kg 投与群でみられた無機リン濃度の増加および塩素濃度の低下と併せて、ABMPN の腎臓に対する影響が示唆される。雄の血液検査で 50 mg/kg 投与群にみられた血小板の増加については、予備試験の 50 mg/kg 投与群においても認められていることから、ABMPN の影響と考えられるが、今回の試験ではその毒性学的意義は明らかに出来なかった。

生殖学的検査では、交配したすべての動物で交尾が確認され、ABMPN 投与群の受胎率にも対照群との間に差はなかった。交尾相手雌が不妊であった 50 mg/kg 投与群の雄 1 匹では、精巣が萎縮し、病理組織学的検査において精子形成の低下が確認されたが、ABMPN を投与したその他の雄では精巣の異常は認められず、精巣および精巣上体の重量にも対照群との間で差がなかった。さらに、対照群の 1 匹にも精巣の萎縮がみられ、その雄の交尾相

手雌は不妊であったことから、50 mg/kg 投与群にみられた精巣の萎縮は自然発生的な変化と推察された。母動物については、妊娠期の体重が 50 mg/kg 投与群において低値を示したが、妊娠期間および出産率に ABMPN 投与の影響はみられず、異常分娩も観察されなかった。分娩後は、50 mg/kg 投与群の 3 匹に哺育行動の異常が観察され、うち 1 匹は分娩後 3 日に死亡した。この死亡例の剖検では、胸腺および脾臓の萎縮が認められ、病理組織学的検査では肝細胞肥大以外に、近位尿細管の空胞変性、尿細管再生像などがみられたが、死因に結びつく所見はなかった。近位尿細管の空胞変性は、哺育行動の異常を示した残りの 2 匹にも認められた。50 mg/kg 投与群においては、分娩日の母体重が著しく低下していたことから、哺育行動の異常は、ABMPN 投与による体重増加抑制が引き金となった可能性は否定できないが、ABMPN との関連は明らかとされなかった。

産児に関しては、50 mg/kg 投与群において、哺育状態の悪化に起因したと考えられる新生児生存率の低下および哺育 4 日における体重低下がみられたが、出生日における生存産児数、性比および体重に ABMPN 投与の影響は認められなかった。また、産児の形態異常は、いずれの ABMPN 投与群においても観察されなかった。

以上の成績から、本試験条件下では、ABMPN の反復投与毒性に関する無影響量は、雄に対しては 2 mg/kg 以上の投与群で腎臓に対する影響が示唆されたことから 2 mg/kg/day を下回る量、雌に対しては 10 mg/kg 以上の投与群において体重増加抑制および肝細胞肥大がみられたことから 2 mg/kg/day と考えられ、生殖発生毒性に関する無影響量は、雄に対しては 50 mg/kg/day、雌および産児に対しては 50 mg/kg 投与群でみられた哺育行動の異常と新生児生存率の低下を考慮して 10 mg/kg/day と考えられる。

【文 献】

- 1) Deichmann, W. B., Gerarde, H. W.: Toxicology of drugs and chemicals, Academic press, New York and London (1969) pp. 117
- 2) Rusin, V. Y.: Toxicological examination of porofo-57 (α, α' -azodiisobutyronitrile), C. A. 56 : 2682f (1962)
- 3) Salewski, E.: Färbemethode zum makroskopischen Nachweis von Implantationsstellen am Uterus der Ratte. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Exp. Pathol. Pharmacol. 247 : 367 (1964)
- 4) 丹後俊郎:「医学への統計学」(古川俊之 監修), 朝倉書店, 東京 (1985)
- 5) 石居進:「生物統計学入門」, 培風館 (1992)
- 6) 佐久間昭:「薬効評価—計画と解析」, 東大出版会, 東京 (1977)
- 7) Dunnett, C. W.: New tables for multiple comparisons with a control. Biometrics 20 : 482-491 (1964)
- 8) Scheffé, H.: A method for judging all contrasts in the analysis of variance. Biometrika 40 : 87-104 (1953)
- 9) Kruskal, W. H., W. A. Wallis: Use of ranks in one-criterion variance analysis. J. Amer. Statist. Assoc. 47 : 583-621 (1952)

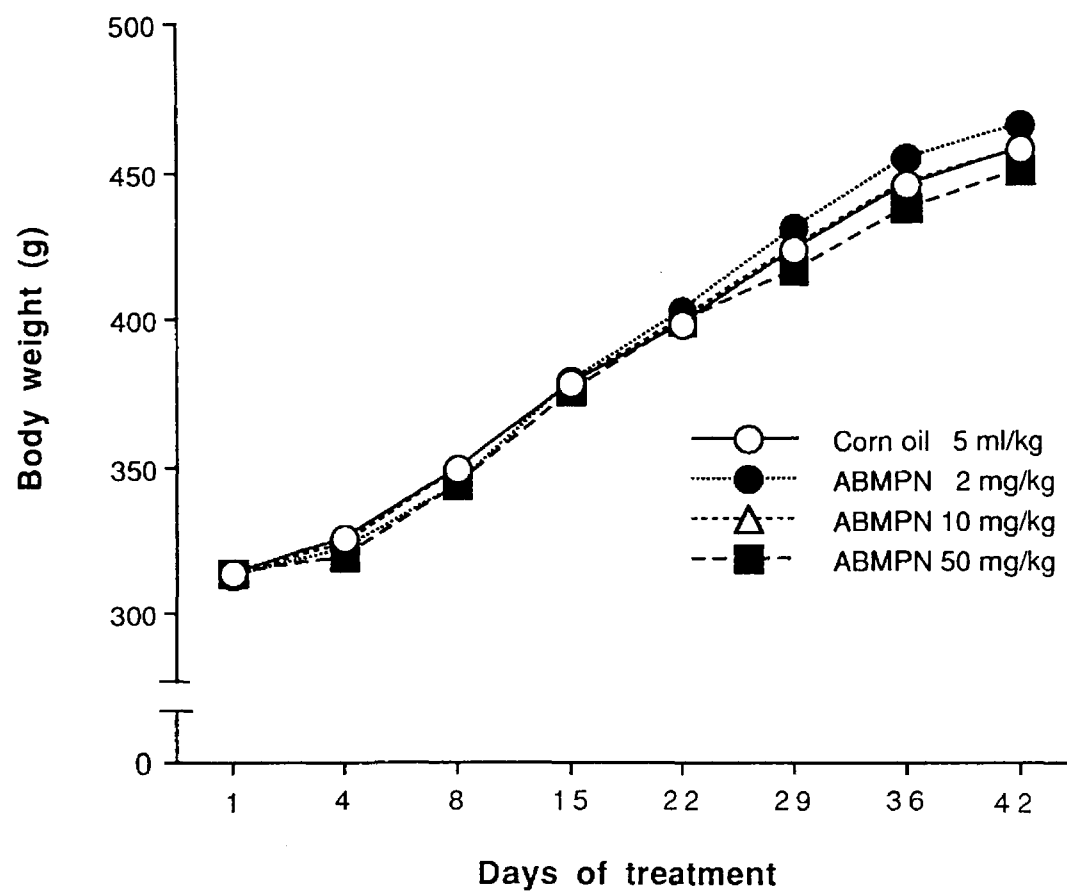


Fig. 1 Mean body weight of Fo males

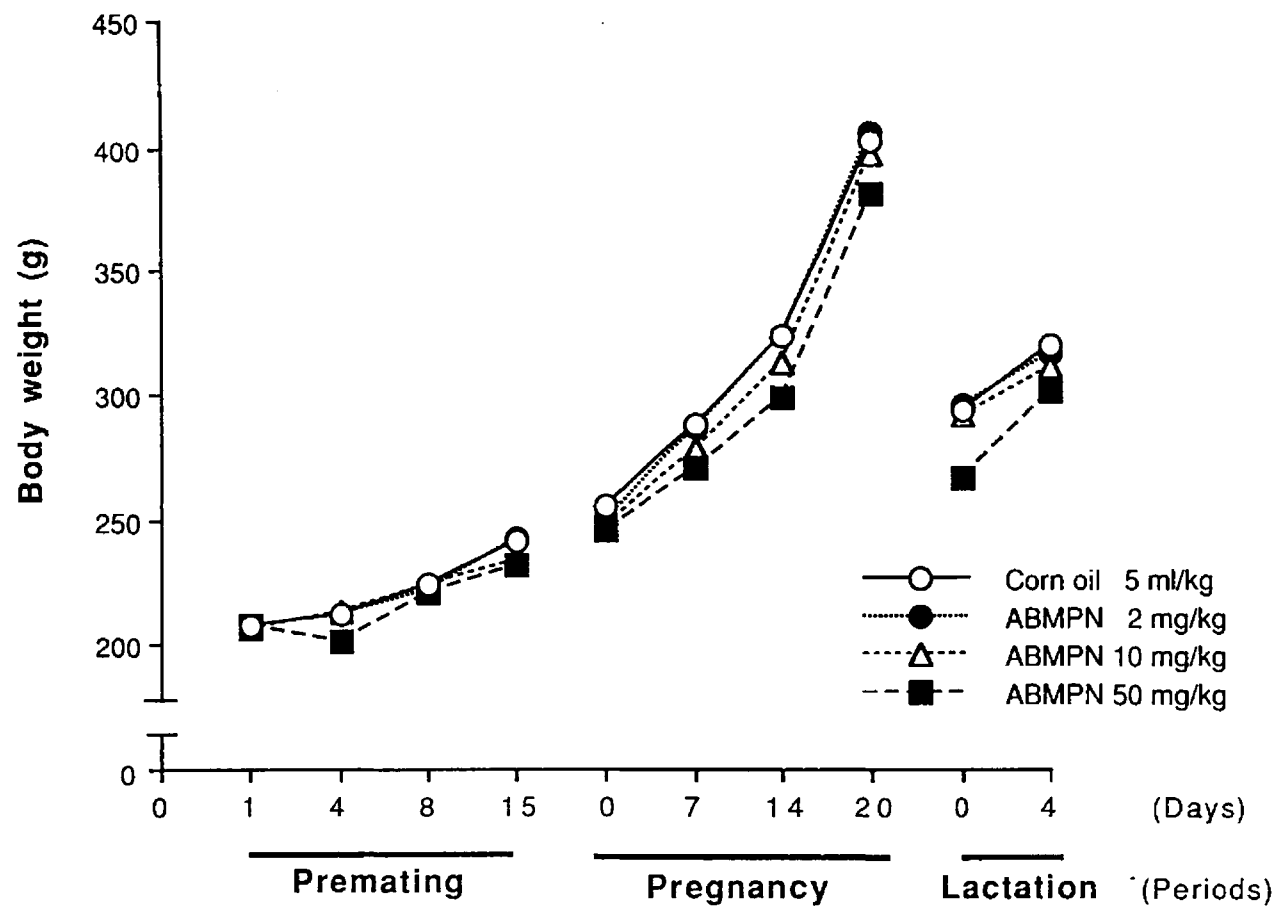


Fig. 2 Mean body weight of Fo females

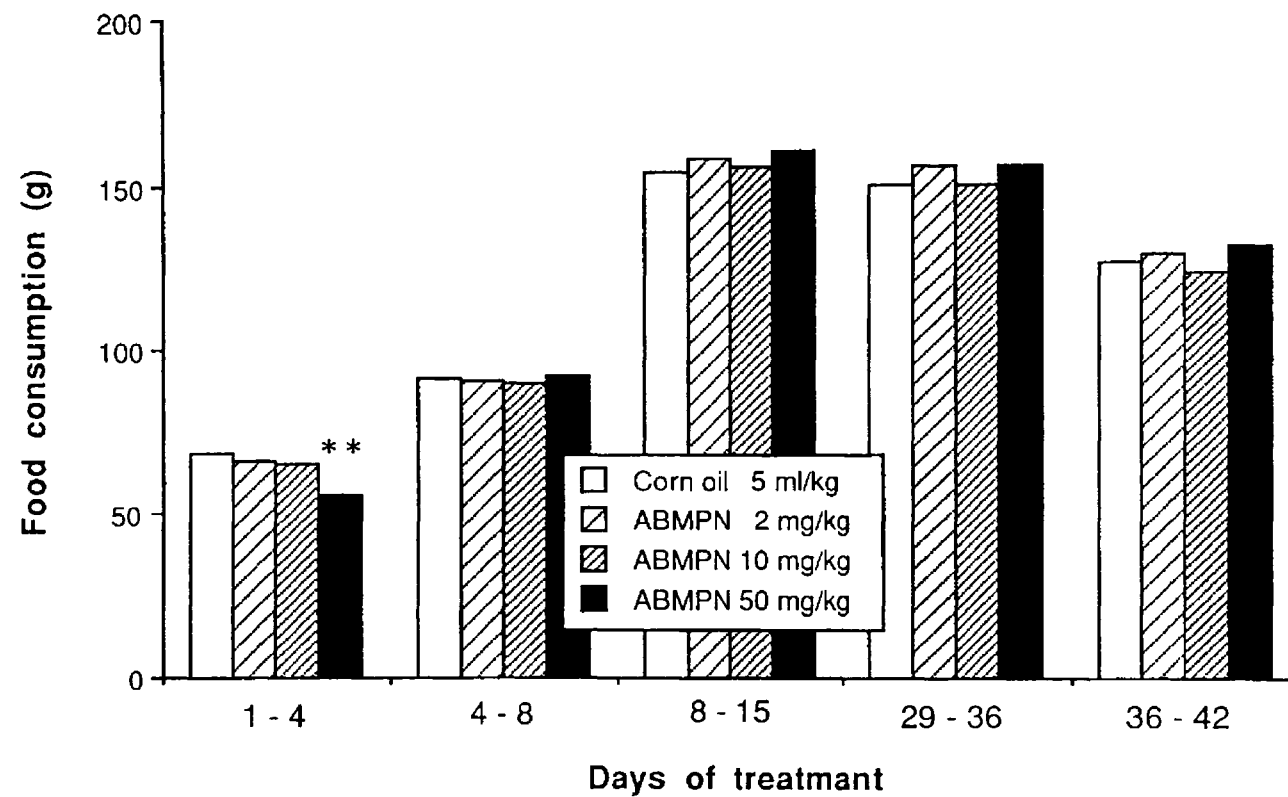


Fig. 3 Mean food consumption of Fo males

** : significant difference from control, $p < 0.01$

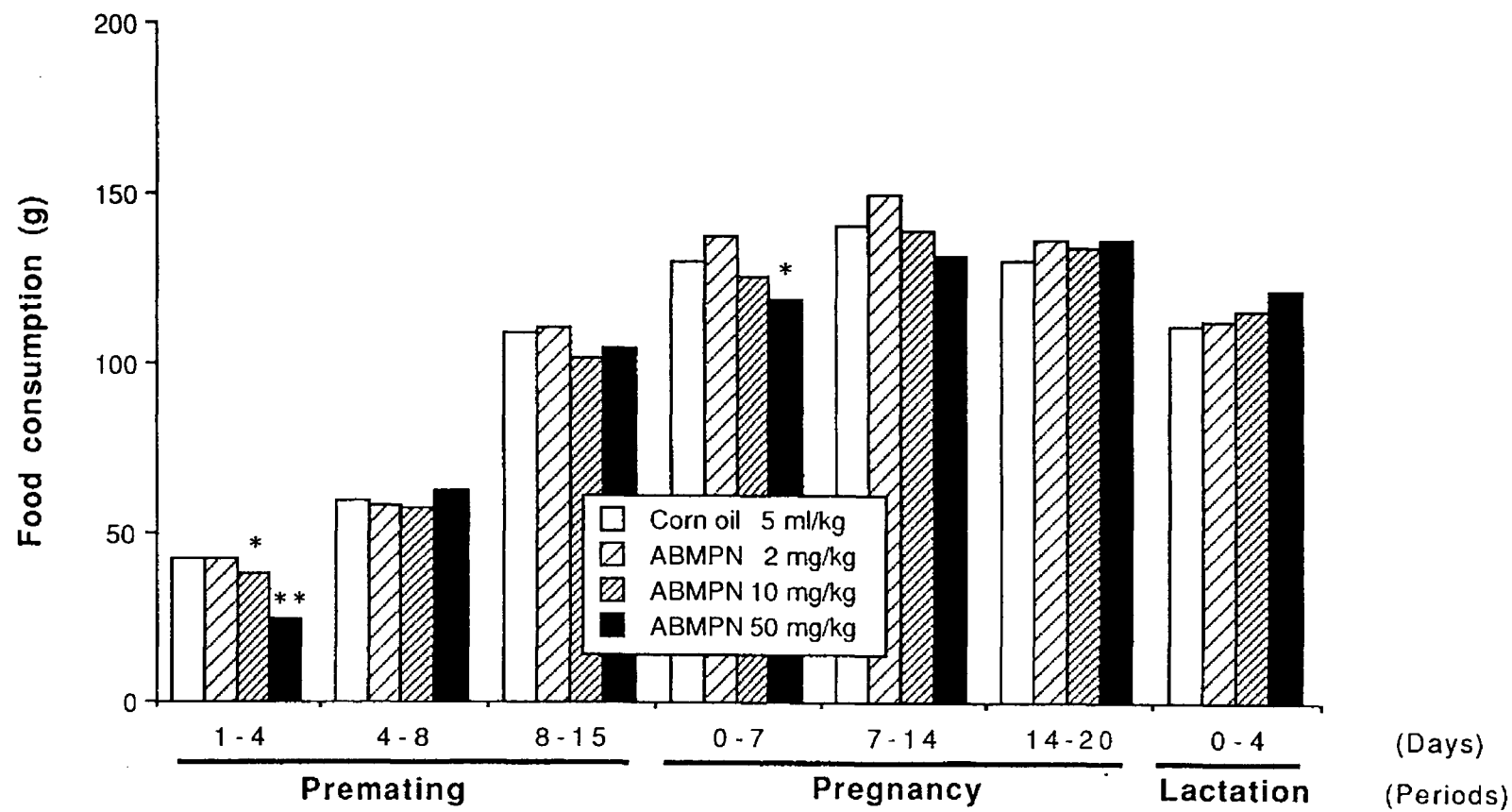


Fig. 4 Mean food consumption of Fo females

* : significant difference from control, $p < 0.05$

** : significant difference from control, $p < 0.01$

【TABLE INDEX】

ABMPN: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test
in rats

TABLE No. (APPENDIX No.)	TABLE TITLE
1 (1-1 ~ 1-4)	Clinical signs of F ₀ males
2 (2-1 ~ 2-4)	Clinical signs of F ₀ females
3 (3-1 ~ 3-4)	Body weight of F ₀ males
4 (4-1 ~ 4-4)	Body weight gain of F ₀ males
5 (5-1 ~ 5-4)	Body weight of F ₀ females during premating period
6 (6-1 ~ 6-4)	Body weight gain of F ₀ females during premating period
7 (7-1 ~ 7-4)	Body weight of F ₀ females during pregnancy period
8 (8-1 ~ 8-4)	Body weight gain of F ₀ females during pregnancy period
9 (9-1 ~ 9-4)	Body weight of F ₀ females during lactation period
10 (10-1 ~10-4)	Body weight gain of F ₀ females during lactation period
11 (11-1 ~11-4)	Food consumption of F ₀ males
12 (12-1 ~12-4)	Food consumption of F ₀ females during premating period
13 (13-1 ~13-4)	Food consumption of F ₀ females during pregnancy period
14 (14-1 ~14-4)	Food consumption of F ₀ females during lactation period
15 (15-1 ~15-4)	Hematological findings of F ₀ males after oral administration for 42 days
16 (16-1 ~16-4)	Biochemical findings of F ₀ males after oral administration for 42 days
17 (17-1 ~17-4)	Summary of macroscopic findings in F ₀ males after oral administration for 42 days
18 (18-1 ~18-4)	Absolute and relative organ weights of F ₀ males after oral administration for 42 days
19 (19-1 ~19-4)	Summary of histopathological findings in F ₀ males after oral administration for 42 days
20 (20-1 ~20-4)	Summary of macroscopic findings in F ₀ females
21 (21-1 ~21-4)	Absolute and relative organ weights of F ₀ females on day 4 of lactation

TABLE No. (APPENDIX No.)	TABLE TITLE
22 (22-1 ~22-4)	Summary of histopathological findings in F ₀ females
23 (23-1 ~23-4)	Reproductive performance of F ₀ animals
24 (24-1 ~24-4)	Development of F ₁ pups up to day 4 of lactation
25 (25-1 ~25-4)	Body weight of F ₁ pups up to day 4 of lactation
26	Morphological findings in F ₁ pups on day 4 of lactation
27	Morphological findings in F ₁ dead pups

Table 1

ABMPN: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats

Clinical signs of Fo males

Clinical signs	Group	No. of animals examined	No. of animals showing clinical signs							Total
			1-7 ^{a)}	8-14	15-21	22-28	29-35	36-42	43	
Salivation after dosing	0 mg/kg ^{b)}	13	-	-	-	-	-	-	-	-
	2 mg/kg	13	-	-	-	-	-	-	-	-
	10 mg/kg	13	-	6	4	4	4	2	-	6
	50 mg/kg	13	5	10	10	11	12	12	-	13
Emaciation	0 mg/kg	13	-	-	-	-	-	-	-	-
	2 mg/kg	13	-	1	-	-	-	-	-	1
	10 mg/kg	13	-	-	-	-	-	-	-	-
	50 mg/kg	13	-	-	-	-	-	-	-	-
Reddish tear	0 mg/kg	13	-	-	-	-	-	-	-	-
	2 mg/kg	13	-	1	-	-	-	-	-	1
	10 mg/kg	13	-	-	-	-	-	-	-	-
	50 mg/kg	13	-	-	-	-	-	-	-	-
Decrease of fecal volume	0 mg/kg	13	-	-	-	-	-	-	-	-
	2 mg/kg	13	-	1	-	-	-	-	-	1
	10 mg/kg	13	-	-	-	-	-	-	-	-
	50 mg/kg	13	-	-	-	-	-	-	-	-

^{a)}: days of treatment^{b)}: vehicle control: corn oil (5 ml/kg)

Table 2

ABMPN: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats

Clinical signs of F₀ females

Clinical signs	Group	No. of animals examined	No. of animals showing clinical signs							Total
			1-7 ^{a)}	8-14	15-21	22-28	29-35	36-42	43-	
Death	0 mg/kg ^{b)}	13	-	-	-	-	-	-	-	-
	2 mg/kg	13	-	-	-	-	-	-	-	-
	10 mg/kg	13	-	-	-	-	-	-	-	-
	50 mg/kg	13	-	-	-	-	-	-	1	1
Emaciation	0 mg/kg	13	-	-	-	-	-	-	-	-
	2 mg/kg	13	-	-	-	-	-	-	-	-
	10 mg/kg	13	-	-	-	-	-	-	-	-
	50 mg/kg	13	-	-	-	-	-	-	1	1
Salivation after dosing	0 mg/kg	13	-	-	-	-	-	-	-	-
	2 mg/kg	13	-	-	-	-	-	-	-	-
	10 mg/kg	13	-	-	-	-	-	-	-	-
	50 mg/kg	13	-	-	1	-	-	-	-	1
Crust formation	0 mg/kg	13	1	1	-	-	-	-	-	1
	2 mg/kg	13	-	-	-	-	-	-	-	-
	10 mg/kg	13	-	-	-	-	-	-	-	-
	50 mg/kg	13	-	-	-	-	-	-	-	-
Loss of fur	0 mg/kg	13	-	-	-	-	-	-	-	-
	2 mg/kg	13	-	1	1	1	1	1	1	1
	10 mg/kg	13	-	-	-	-	-	-	-	-
	50 mg/kg	13	-	-	-	-	-	-	-	-

^{a)}: days of treatment^{b)}: vehicle control: corn oil (5 ml/kg)

Table 3

ABMPN: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats

Body weight of Fo males (g) ; mean $\pm$ S.D. (N)

Compound		ABMPN			
Dose group (mg/kg)		0 ^{a)}	2	10	50
Days of treatment					
1 (Initial weight)	313.4 $\pm$ 11.3 (13)	313.2 $\pm$ 10.4 (13)	313.9 $\pm$ 11.5 (13)	313.6 $\pm$ 10.7 (13)	
4	325.9 $\pm$ 13.2 (13)	321.5 $\pm$ 12.4 (13)	324.1 $\pm$ 13.9 (13)	319.6 $\pm$ 13.5 (13)	
8	348.6 $\pm$ 16.1 (13)	343.8 $\pm$ 20.2 (13)	349.1 $\pm$ 17.7 (13)	343.6 $\pm$ 16.0 (13)	
15	377.9 $\pm$ 20.8 (13)	378.6 $\pm$ 24.4 (13)	378.1 $\pm$ 25.0 (13)	375.0 $\pm$ 20.7 (13)	
22	397.1 $\pm$ 23.8 (13)	402.4 $\pm$ 23.7 (13)	399.4 $\pm$ 28.1 (13)	398.1 $\pm$ 21.6 (13)	
29	422.3 $\pm$ 25.3 (13)	429.9 $\pm$ 26.5 (13)	423.9 $\pm$ 32.4 (13)	415.9 $\pm$ 23.6 (13)	
36	444.5 $\pm$ 27.4 (13)	453.1 $\pm$ 30.9 (13)	445.1 $\pm$ 36.5 (13)	436.6 $\pm$ 27.6 (13)	
42	456.1 $\pm$ 33.5 (13)	464.0 $\pm$ 28.5 (13)	456.0 $\pm$ 38.7 (13)	448.7 $\pm$ 29.8 (13)	

^{a)}: vehicle control: corn oil (5 ml/kg)

Table 4

ABMPN: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats

Body weight gain of F₀ males (g) ; mean $\pm$ S.D. (N)

Compound	ABMPN							
Dose group (mg/kg)	0 ^{a)}		2		10		50	
Days of treatment								
1 ~ 4	12.5 ± 3.7	(13)	8.3 ± 4.0	(13)	10.2 ± 5.6	(13)	6.0 ± 6.8 ^{**}	(13)
4 ~ 8	22.7 ± 3.7	(13)	22.2 ± 14.7	(13)	24.9 ± 7.6	(13)	23.9 ± 4.9	(13)
8 ~ 15	29.4 ± 7.3	(13)	34.9 ± 6.5	(13)	29.0 ± 10.1	(13)	31.4 ± 8.4	(13)
15 ~ 22	19.1 ± 6.4	(13)	23.8 ± 5.1	(13)	21.3 ± 5.3	(13)	23.1 ± 6.6	(13)
22 ~ 29	25.2 ± 5.5	(13)	27.5 ± 5.7	(13)	24.6 ± 7.0	(13)	17.8 ± 7.1 [*]	(13)
29 ~ 36	22.2 ± 5.5	(13)	23.2 ± 5.8	(13)	21.2 ± 5.4	(13)	20.7 ± 8.2	(13)
36 ~ 42	11.6 ± 9.0	(13)	11.0 ± 9.5	(13)	10.9 ± 7.6	(13)	12.1 ± 5.8	(13)

1 ~ 8	35.2 ± 6.3	(13)	30.5 ± 14.7	(13)	35.1 ± 10.2	(13)	30.0 ± 9.7	(13)
1 ~ 15	64.5 ± 11.7	(13)	65.4 ± 17.7	(13)	64.2 ± 16.8	(13)	61.4 ± 14.8	(13)
1 ~ 22	83.7 ± 15.2	(13)	89.1 ± 16.5	(13)	85.4 ± 19.0	(13)	84.5 ± 16.9	(13)
1 ~ 29	108.9 ± 17.5	(13)	116.7 ± 18.4	(13)	110.0 ± 23.5	(13)	102.3 ± 19.6	(13)
1 ~ 36	131.1 ± 19.7	(13)	139.8 ± 23.1	(13)	131.2 ± 27.9	(13)	123.0 ± 24.2	(13)
1 ~ 42	142.7 ± 26.3	(13)	150.8 ± 21.7	(13)	142.1 ± 31.4	(13)	135.2 ± 26.5	(13)

^{a)}: vehicle control: corn oil (5 ml/kg)

*: significant difference from control, p<0.05

**: significant difference from control, p<0.01

Table 5

ABMPN: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats

Body weight of Fo females during pre mating period (g) ; mean $\pm$ S.D. (N)

Compound	ABMPN											
Dose group (mg/kg)	0 ^{a)}			2			10			50		
Days of treatment												
1 (Initial weight)	207.7	± 5.2	(13)	207.7	± 5.4	(13)	207.3	± 5.3	(13)	207.4	± 5.4	(13)
4	212.1	± 7.5	(13)	212.4	± 4.4	(13)	213.0	± 6.5	(13)	201.1	± 7.6 ^{**}	(13)
8	224.2	± 10.3	(13)	222.3	± 5.5	(13)	224.0	± 5.9	(13)	220.8	± 7.8	(13)
15	241.6	± 11.2	(13)	242.3	± 8.1	(13)	233.5	± 8.1	(13)	231.8	± 6.4 [*]	(13)

^{a)}: vehicle control: corn oil (5 ml/kg)^{*}: significant difference from control, $p < 0.05$ ^{**}: significant difference from control, $p < 0.01$

Table 6

ABMPN: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats

Body weight gain of F₀ females during premating period (g) ; mean $\pm$ S.D. (N)

Compound	ABMPN							
Dose group (mg/kg)	0 ^{a)}		2		10		50	
Days of treatment								
1 ~ 4	4.3 ±	4.4 (13)	4.6 ±	3.7 (13)	5.7 ±	4.0 (13)	-6.3 ±	7.2** (13)
4 ~ 8	12.1 ±	4.5 (13)	10.0 ±	5.0 (13)	11.0 ±	2.9 (13)	19.8 ±	6.2** (13)
8 ~15	17.5 ±	6.7 (13)	19.9 ±	6.3 (13)	9.5 ±	5.0** (13)	11.0 ±	3.6* (13)

1 ~ 8	16.4 ±	6.4 (13)	14.6 ±	6.6 (13)	16.6 ±	5.1 (13)	13.5 ±	5.7 (13)
1 ~15	33.9 ±	7.3 (13)	34.5 ±	8.0 (13)	26.1 ±	6.8* (13)	24.5 ±	6.3** (13)

^{a)}: vehicle control: corn oil (5 ml/kg)

* : significant difference from control, p<0.05

** : significant difference from control, p<0.01

Table 7

ABMPN: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats

Body weight of Fo females during pregnancy period (g) ; mean $\pm$ S.D. (N)

Compound	ABMPN			
	0 ^{a)}	2	10	50
Dose group (mg/kg)				
Days of pregnancy				
0	254.8 $\pm$ 17.7 (12)	249.2 $\pm$ 8.0 (12)	247.2 $\pm$ 6.3 (11)	245.4 $\pm$ 8.5 (12)
7	286.9 $\pm$ 17.6 (12)	285.7 $\pm$ 7.1 (12)	277.2 $\pm$ 12.1 (11)	269.8 $\pm$ 13.7* (12)
14	322.5 $\pm$ 18.5 (12)	322.6 $\pm$ 7.7 (12)	312.0 $\pm$ 14.4 (11)	297.6 $\pm$ 14.5** (12)
20	400.4 $\pm$ 20.7 (12)	403.9 $\pm$ 12.0 (12)	395.8 $\pm$ 17.0 (11)	379.3 $\pm$ 19.7* (12)

^{a)}: vehicle control: corn oil (5 ml/kg)

*: significant difference from control, p<0.05

**: significant difference from control, p<0.01

Table 8

ABMPN: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats

Body weight gain of F₀ females during pregnancy period (g) ; mean $\pm$ S.D. (N)

Compound	ABMPN			
	0 ^{a)}	2	10	50
Days of pregnancy				
0 ~ 7	32.2 $\pm$ 5.5 (12)	36.5 $\pm$ 4.4 (12)	29.9 $\pm$ 7.4 (11)	24.5 $\pm$ 9.7* (12)
7 ~ 14	35.6 $\pm$ 6.3 (12)	37.0 $\pm$ 6.2 (12)	34.8 $\pm$ 7.6 (11)	27.8 $\pm$ 5.6* (12)
14 ~ 20	77.9 $\pm$ 10.4 (12)	81.3 $\pm$ 8.4 (12)	83.8 $\pm$ 7.6 (11)	81.7 $\pm$ 8.3 (12)
0 ~ 14	67.7 $\pm$ 10.2 (12)	73.4 $\pm$ 7.8 (12)	64.7 $\pm$ 10.1 (11)	52.3 $\pm$ 11.2** (12)
0 ~ 20	145.6 $\pm$ 18.0 (12)	154.7 $\pm$ 14.0 (12)	148.6 $\pm$ 13.7 (11)	133.9 $\pm$ 17.1 (12)

^{a)}: vehicle control: corn oil (5 ml/kg)

*: significant difference from control, p<0.05

**: significant difference from control, p<0.01

Table 9

ABMPN: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats

Body weight of F₀ females during lactation period (g) ; mean $\pm$ S.D. (N)

Compound		ABMPN			
Dose group (mg/kg)		0 ^{a)}	2	10	50
Days of lactation					
0		292.4 $\pm$ 26.0 (12)	294.7 $\pm$ 14.2 (12)	289.9 $\pm$ 15.6 (11)	265.4 $\pm$ 20.3** (12)
4		317.8 $\pm$ 22.0 (12)	315.0 $\pm$ 13.4 (12)	310.0 $\pm$ 11.5 (11)	300.0 $\pm$ 21.5 (10)

^{a)}: vehicle control: corn oil (5 ml/kg)

**: significant difference from control, p<0.01

Table 10

ABMPN: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats

Body weight gain of F₀ females during lactation period (g) ; mean $\pm$ S.D. (N)

Compound	ABMPN			
	0 ^{a)}	2	10	50
Dose group (mg/kg)				
Days of lactation				
0 ~ 4	25.5 $\pm$ 13.4 (12)	20.4 $\pm$ 11.4 (12)	20.0 $\pm$ 10.4 (11)	29.7 $\pm$ 10.3 (10)

^{a)}: vehicle control: corn oil (5 ml/kg)

Table 11

ABMPN: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats

Food consumption of F₀ males (g) ; mean $\pm$ S.D. (N)

Compound	ABMPN			
	0 ^{a)}	2	10	50
Dose group (mg/kg)				
Days of treatment				
1 ~ 4	68.9 $\pm$ 7.1 (13)	66.0 $\pm$ 6.7 (13)	65.7 $\pm$ 6.1 (13)	56.0 $\pm$ 5.1 ^{**} (13)
4 ~ 8	91.4 $\pm$ 10.0 (13)	91.0 $\pm$ 13.8 (13)	89.5 $\pm$ 9.1 (13)	92.7 $\pm$ 9.5 (13)
8 ~ 15	154.0 $\pm$ 15.5 (13)	157.8 $\pm$ 25.4 (13)	155.7 $\pm$ 17.0 (13)	160.5 $\pm$ 15.0 (13)
29 ~ 36	149.8 $\pm$ 19.1 (13)	155.6 $\pm$ 17.1 (13)	149.7 $\pm$ 17.2 (13)	155.3 $\pm$ 16.6 (13)
36 ~ 42	126.0 $\pm$ 17.8 (13)	128.5 $\pm$ 12.8 (13)	122.9 $\pm$ 13.4 (13)	131.5 $\pm$ 14.4 (13)

^{a)}: vehicle control: corn oil (5 ml/kg)^{**}: significant difference from control, p<0.01

Table 12

ABMPN: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats

Food consumption of F₀ females during pre mating period (g) ; mean $\pm$ S.D. (N)

Compound	ABMPN							
Dose group (mg/kg)	0 ^{*)}		2		10		50	
Days of treatment								
1 ~ 4	42.3 ± 4.0	(13)	42.2 ± 3.3	(13)	38.2 ± 3.0 [*]	(13)	24.7 ± 5.9 ^{**}	(13)
4 ~ 8	59.5 ± 5.6	(13)	58.2 ± 4.0	(13)	57.6 ± 3.5	(13)	62.7 ± 5.3	(13)
8 ~ 15	109.0 ± 9.3	(13)	110.4 ± 6.6	(13)	101.5 ± 8.5	(13)	104.8 ± 7.0	(13)

*) : vehicle control: corn oil (5 ml/kg)

* : significant difference from control, p<0.05

** : significant difference from control, p<0.01

Table 13

ABMPN: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats

Food consumption of F₀ females during pregnancy period (g) ; mean $\pm$ S.D. (N)

Compound	ABMPN			
	0 ^{a)}	2	10	50
Days of pregnancy				
0 ~ 7	130.0 $\pm$ 12.1 (12)	137.6 $\pm$ 6.1 (12)	125.5 $\pm$ 9.7 (11)	118.3 $\pm$ 10.6* (12)
7 ~ 14	140.2 $\pm$ 15.4 (12)	149.6 $\pm$ 8.2 (12)	138.8 $\pm$ 16.4 (11)	131.5 $\pm$ 11.0 (12)
14 ~ 20	130.1 $\pm$ 13.1 (12)	136.0 $\pm$ 11.7 (12)	133.9 $\pm$ 13.5 (11)	136.0 $\pm$ 14.4 (12)

^{a)}: vehicle control: corn oil (5 ml/kg)

*: significant difference from control, p<0.05

Table 14

ABMPN: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats

Food consumption of F₀ females during lactation period (g) ; mean $\pm$ S.D. (N)

Compound	ABMPN			
	0 ^{a)}	2	10	50
Days of lactation				
0 ~ 4	110.5 $\pm$ 22.1 (12)	112.0 $\pm$ 20.0 (12)	115.0 $\pm$ 16.8 (11)	121.1 $\pm$ 32.6 (10)

^{a)}: vehicle control: corn oil (5 ml/kg)

Table 15

ABMPN: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats
Hematological findings of Fo males after oral administration for 42 days

ABMPN (mg/kg)	R B C ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	Hemoglobin (g/dl)	Hematocrit (%)	M C V (μm^3)	M C H (pg)	M C H C (%)	Platelet ($\times 10^4/\text{mm}^3$)
0	(13) 821 ± 31	(13) 15.4 ± 0.5	(13) 44.3 ± 1.6	(13) 53.9 ± 1.4	(13) 18.7 ± 0.5	(13) 34.7 ± 0.6	(13) 101.4 ± 9.9
2	(13) 809 ± 38	(13) 15.4 ± 0.4	(13) 43.7 ± 1.2	(13) 54.0 ± 1.6	(13) 19.1 ± 0.7	(13) 35.3* ± 0.5	(13) 105.2 ± 11.6
10	(13) 791 ± 37	(13) 15.0 ± 0.6	(13) 43.0 ± 1.8	(13) 54.4 ± 1.7	(13) 19.0 ± 0.7	(13) 34.9 ± 0.4	(13) 105.7 ± 7.0
50	(13) 814 ± 34	(13) 15.3 ± 0.6	(13) 43.8 ± 1.7	(13) 53.9 ± 1.6	(13) 18.9 ± 0.5	(13) 35.0 ± 0.6	(13) 120.2** ± 10.1

ABMPN (mg/kg)	W B C ($\times 100/\text{mm}^3$)	Band neutrophil (%)	Segmented neutrophil (%)	Eosinophil (%)	Basophil (%)	Monocyte (%)	Lymphocyte (%)
0	(13) 73 ± 25	(13) 0 ± 0	(13) 20 ± 7	(13) 1 ± 1	(13) 0 ± 0	(13) 3 ± 2	(13) 75 ± 7
2	(13) 77 ± 14	(13) 0 ± 0	(13) 24 ± 8	(13) 2 ± 1	(13) 0 ± 0	(13) 2 ± 1	(13) 72 ± 9
10	(13) 64 ± 16	(13) 0 ± 0	(13) 34** ± 11	(13) 1 ± 1	(13) 0 ± 0	(13) 2 ± 1	(13) 63* ± 11
50	(13) 98** ± 16	(13) 0 ± 0	(13) 32* ± 15	(13) 0 ± 1	(13) 0 ± 0	(13) 3 ± 2	(13) 64* ± 14

Parameter, mean: S.D.
(), number of animals

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

Table 16

ABMPN: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats

Biochemical findings of Fo males after oral administration for 42 days

ABMPN	Total Protein	Albumin	A/G	BUN	Creatinine	Glucose	Total cholesterol	Total bilirubin
(mg/kg)	(g/dl)	(g/dl)		(mg/dl)	(mg/dl)	(mg/dl)	(mg/dl)	(mg/dl)
0	(13) 5.6 ±0.3	(13) 2.9 ±0.2	(13) 1.11 ±0.11	(13) 16 ±2	(13) 0.7 ±0.1	(13) 132 ±12	(13) 51 ±9	(13) 0.07 ±0.01
2	(13) 5.7 ±0.2	(13) 2.9 ±0.1	(13) 1.05 ±0.04	(13) 18 ±3	(13) 0.7 ±0.1	(13) 129 ±10	(13) 57 ±11	(13) 0.06 ±0.01
10	(13) 5.7 ±0.4	(13) 2.9 ±0.2	(13) 1.02 ±0.09	(13) 17 ±3	(13) 0.8 ±0.1	(13) 138 ±11	(13) 51 ±12	(13) 0.06 ±0.01
50	(13) 6.6** ±0.3	(13) 3.2** ±0.2	(13) 0.93** ±0.08	(13) 18 ±4	(13) 0.8* ±0.1	(13) 131 ±13	(13) 68** ±9	(13) 0.07 ±0.01

ABMPN	Na	K	Cl	Ca	Inorg. phos.	ALP	GPT	GOT	γ-GTP
(mg/kg)	(mEq/l)	(mEq/l)	(mEq/l)	(mg/dl)	(mg/dl)	(U/l)	(U/l)	(U/l)	(U/l)
0	(13) 144.8 ±0.9	(13) 3.72 ±0.16	(13) 108.4 ±1.5	(13) 8.5 ±0.3	(13) 4.6 ±0.4	(13) 210 ±45	(13) 30 ±5	(13) 62 ±12	(13) 1 ±0
2	(13) 144.9 ±0.7	(13) 3.80 ±0.15	(13) 107.3 ±1.1	(13) 8.8* ±0.3	(13) 5.1 ±0.6	(13) 189 ±42	(13) 28 ±6	(13) 64 ±14	(13) 0* ±0
10	(13) 144.8 ±0.7	(13) 3.83 ±0.17	(13) 108.3 ±1.5	(13) 8.7 ±0.5	(13) 5.0 ±0.5	(13) 189 ±35	(13) 27 ±3	(13) 63 ±8	(13) 0 ±1
50	(13) 145.3 ±0.7	(13) 3.83 ±0.26	(13) 106.8** ±1.2	(13) 9.3** ±0.3	(13) 5.4** ±0.6	(13) 198 ±44	(13) 43 ±16	(13) 70 ±16	(13) 1 ±1

Parameter, mean±S.D.
(), number of animals

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

Table 17

ABMPN: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats

Summary of macroscopic findings in Fo males after oral administration for 42 days

Group	Control		2 mg/kg		10 mg/kg		50 mg/kg	
Grade	-	+	-	+	-	+	-	+
(Thymus)	[13]		[13]		[13]		[13]	
Small	13	0	13	0	12	1	11	2
(Lung)	[13]		[13]		[13]		[13]	
Dark colored spot / area	13	0	13	0	13	0	12	1
(Adrenal gland)	[13]		[13]		[13]		[13]	
Small	13	0	12	1	11	2	12	1
(Kidney)	[13]		[13]		[13]		[13]	
Recessed area	13	0	12	1	13	0	13	0
Granular surface	13	0	13	0	12	1	13	0
Enlargement	13	0	13	0	11	2	5	8
Yellowish red	13	0	13	0	12	1	13	0
Pale colored cortex	13	0	13	0	10	3	7	6
Focal lesion	13	0	13	0	12	1	13	0
Indistinct								
cortico-medullary junction	13	0	13	0	12	1	13	0
Pale colored spot	13	0	13	0	12	1	13	0
(Testis)	[13]		[13]		[13]		[13]	
Small	13	0	13	0	12	1	12	1
Edema	13	0	13	0	13	0	12	1
(Liver)	[13]		[13]		[13]		[13]	
Accentuated lobular pattern	12	1	11	2	11	2	10	3
Yellowish	13	0	12	1	13	0	13	0
Pale color	13	0	12	1	12	1	11	2
Dark color	13	0	13	0	11	2	3	10
Granular surface	13	0	13	0	12	1	11	2
Enlargement	13	0	13	0	12	1	3	10
Adhesion	13	0	12	1	13	0	13	0
(Skin)	[13]		[13]		[13]		[13]	
Soiled around the anus	13	0	13	0	12	1	13	0
(Stomach)	[13]		[13]		[13]		[13]	
White projection on mucosa								
of forestomach	13	0	13	0	12	1	13	0
Dark colored spot on mucosa								
of glandular stomach	13	0	12	1	13	0	12	1
White projection on mucosa								
of glandular stomach	13	0	13	0	12	1	13	0

-, Negative; +, Positive

[], Number of animals examined

Table 18

ABMPN: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats

Absolute and relative organ weights of F₀ males after oral administration for 42 days ; mean $\pm$ S.D. (N)

Compound	Dose group (mg/kg)	ABMPN			
		0a)	2	10	50
Terminal body weight (g)		437.8 $\pm$ 31.8 (13)	444.3 $\pm$ 28.6 (13)	435.7 $\pm$ 37.1 (13)	421.7 $\pm$ 29.1 (13)
Liver (g)		11.60 $\pm$ 1.37 ^{b)} (13) 2.64 $\pm$ 0.14 ^{c)}	12.33 $\pm$ 1.38 (13) 2.77 $\pm$ 0.19	13.17 $\pm$ 1.52* (13) 3.02 $\pm$ 0.25**	19.31 $\pm$ 1.94** (13) 4.58 $\pm$ 0.33**
Kidneys (g)		2.56 $\pm$ 0.25 (13) 0.59 $\pm$ 0.04	2.92 $\pm$ 0.27* (13) 0.66 $\pm$ 0.06	3.28 $\pm$ 0.52** (13) 0.76 $\pm$ 0.16**	3.33 $\pm$ 0.44** (13) 0.79 $\pm$ 0.11**
Adrenal glands (mg)		50.3 $\pm$ 7.4 (13) 11.5 $\pm$ 1.3	46.2 $\pm$ 7.8 (13) 10.4 $\pm$ 1.7	49.2 $\pm$ 5.8 (13) 11.4 $\pm$ 1.8	49.1 $\pm$ 11.0 (13) 11.6 $\pm$ 2.4
Testes (g)		3.07 $\pm$ 0.22 (13) 0.70 $\pm$ 0.07	2.90 $\pm$ 0.27 (13) 0.65 $\pm$ 0.06	2.92 $\pm$ 0.61 (13) 0.67 $\pm$ 0.14	2.90 $\pm$ 0.63 (13) 0.69 $\pm$ 0.15
Epididymides (g)		1.12 $\pm$ 0.07 (13) 0.26 $\pm$ 0.02	1.10 $\pm$ 0.09 (13) 0.25 $\pm$ 0.03	1.11 $\pm$ 0.16 (13) 0.26 $\pm$ 0.05	1.08 $\pm$ 0.17 (13) 0.26 $\pm$ 0.04

a): vehicle control: corn oil (5 ml/kg)

b): absolute weight

c): relative weight (g or mg per 100g body weight)

*: significant difference from control, $p < 0.05$ **: significant difference from control, $p < 0.01$

Table 19

ABMPN: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats

Summary of histopathological findings in Fo males after oral administration for 42 days

Group	Control						2 mg/kg						10 mg/kg						50 mg/kg					
Grade	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.
(Liver)	[13]						[13]						[13]						[13]					
Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular	13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	0	4	9	0	0**13##		0	0	0	13	0**13##	
Fatty change, periportal	0	0	10	3	0	13	0	1	9	3	0	13	0	2	11	0	0	13	0	1	12	0	0	13
Microgranuloma	3	10	0	0	0	10	4	9	0	0	0	9	3	10	0	0	0	10	4	9	0	0	0	9
Proliferation, bile duct	13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	12	1	0	0	0	1
Cyst, bile duct	13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	12	0	0	1	0	1	13	0	0	0	0	0
(Heart)	[13]						[0]						[0]						[13]					
Myocardial degeneration / fibrosis	11	2	0	0	0	2													11	2	0	0	0	2
(Thymus)	[13]						[0]						[0]						[13]					
No remarkable change																								
(Kidney)	[13]						[13]						[13]						[13]					
Eosinophilic body	11	2	0	0	0	2	0	0	8	5	0**13##		1	1	2	9	0**12##		0	0	0	9	4**13##	
Basophilic tubule, cortex	9	4	0	0	0	4	1	4	7	1	0**12##		1	0	5	7	0**12##		0	2	4	7	0**13##	
Cast, granular	13	0	0	0	0	0	11	0	2	0	0	2	6	0	7	0	0*	7##	5	2	6	0	0**	8##
Cast, proteinous	13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	12	1	0	0	0	1	12	0	1	0	0	1
Cyst, focal	12	0	1	0	0	1	12	0	1	0	0	1	12	0	1	0	0	1	12	0	1	0	0	1
Cyst, multiple	13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	12	0	0	0	1	1	13	0	0	0	0	0
(Spleen)	[13]						[0]						[0]						[13]					
Deposit, pigment, brown	0	0	13	0	0	13													0	0	13	0	0	13
Hematopoiesis, extramedullary	1	8	4	0	0	12													1	8	4	0	0	12
(Adrenal gland)	[13]						[0]						[0]						[13]					
No remarkable change																								
(Brain)	[13]						[0]						[0]						[13]					
No remarkable change																								
(Testis)	[13]						[0]						[0]						[13]					
Spermatogenesis, decreased	12	0	1	0	0	1													12	0	0	0	1	1
(Epididymis)	[13]						[0]						[0]						[13]					
Loss, sperm	13	0	0	0	0	0													12	0	0	0	1	1

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

[], Number of animals examined

*, Significantly different from control $p < 0.05$ (Mann-Whitney U test)**, Significantly different from control $p < 0.01$ (Mann-Whitney U test)##, Significantly different from control $p < 0.01$ (Fisher exact test)

Table 20

ABMPN: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats

Summary of macroscopic findings in Fo females

Group Grade	Control		2 mg/kg		10 mg/kg		50 mg/kg	
	-	+	-	+	-	+	-	+
(Thymus)	[13]		[13]		[13]		[13]	
Small	12	1	12	1	11	2	8	5
(Lung)	[13]		[13]		[13]		[13]	
Dark color	13	0	12	1	13	0	13	0
Dark colored spot	13	0	12	1	13	0	13	0
Dark colored area	13	0	13	0	13	0	12	1
(Ileum)	[13]		[13]		[13]		[13]	
Low moisture of content	13	0	13	0	13	0	12	1
(Cecum)	[13]		[13]		[13]		[13]	
Decreased content	13	0	13	0	13	0	12	1
(Spleen)	[13]		[13]		[13]		[13]	
Small	13	0	13	0	13	0	12	1
(Ovary)	[13]		[13]		[13]		[13]	
Cyst	13	0	13	0	11	2	13	0
(Uterus)	[13]		[13]		[13]		[13]	
Pale colored fluid in lumen	13	0	13	0	12	1	13	0
(Kidney)	[13]		[13]		[13]		[13]	
Pale colored nodule	13	0	12	1	13	0	13	0
Pale colored cortex	13	0	13	0	12	1	11	2
(Liver)	[13]		[13]		[13]		[13]	
Dark color	13	0	13	0	12	1	9	4
Enlargement	13	0	13	0	13	0	4	9
Accentuated lobular pattern	13	0	13	0	13	0	11	2
Pale colored spot	13	0	13	0	13	0	12	1
Dark colored area	13	0	13	0	13	0	12	1
(Skin)	[13]		[13]		[13]		[13]	
Alopecia	13	0	12	1	13	0	13	0
(Stomach)	[13]		[13]		[13]		[13]	
Granular surfaced mucosa of forestomach	13	0	13	0	13	0	12	1
Dark colored spot on mucosa of glandular stomach	13	0	13	0	13	0	12	1

-, Negative; +, Positive

[], Number of animals examined

Table 21

ABMPN: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats

Absolute and relative organ weights of F₀ females on day 4 of lactation ; mean $\pm$ S.D. (N)

Compound		ABMPN			
Dose group (mg/kg)		0 a)	2	10	50
Terminal body weight (g)		317.8 $\pm$ 22.0 (12)	315.0 $\pm$ 13.4 (12)	310.0 $\pm$ 11.5 (11)	300.0 $\pm$ 21.5 (10)
Liver	(g)	14.06 $\pm$ 1.67 ^{b)} (12) 4.43 $\pm$ 0.54 ^{c)}	14.46 $\pm$ 1.18 (12) 4.59 $\pm$ 0.32	14.88 $\pm$ 1.24 (11) 4.80 $\pm$ 0.33	20.05 $\pm$ 2.40 ^{**} (10) 6.68 $\pm$ 0.61 ^{**}
Kidneys	(g)	1.92 $\pm$ 0.25 (12) 0.61 $\pm$ 0.09	1.95 $\pm$ 0.15 (12) 0.62 $\pm$ 0.05	1.90 $\pm$ 0.16 (11) 0.61 $\pm$ 0.05	2.11 $\pm$ 0.23 (10) 0.71 $\pm$ 0.09 ^{**}
Adrenal glands	(mg)	69.8 $\pm$ 10.6 (12) 22.0 $\pm$ 3.2	71.7 $\pm$ 8.5 (12) 22.7 $\pm$ 2.3	70.8 $\pm$ 9.8 (11) 22.8 $\pm$ 2.9	72.3 $\pm$ 9.7 (10) 24.0 $\pm$ 2.0

a): vehicle control: corn oil (5 ml/kg)

b): absolute weight

c): relative weight (g or mg per 100g body weight)

**: significant difference from control, p<0.01

Table 22

ABMPN: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats

Summary of histopathological findings in Fo females

Group	Control						2 mg/kg						10 mg/kg						50 mg/kg					
Grade	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.
(Liver)	[13]						[13]						[13]						[13]					
Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular	13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	6	6	1	0	0*	7##	0	1	11	1	0**	13##
Necrosis, focal	13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	9	3	1	0	0	4#
Microgranuloma	6	7	0	0	0	7	5	8	0	0	0	8	6	7	0	0	0	7	7	6	0	0	0	6
Fatty change, midzonal	13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	10	1	2	0	0	3
Oil red O stain																			0	1	2	0	0	3
(Heart)	[13]						[0]						[0]						[13]					
No remarkable change																								
(Thymus)	[13]						[0]						[0]						[13]					
Atrophy	0	0	8	5	0	13													0	0	8	4	1	13
(Kidney)	[13]						[13]						[13]						[13]					
Degeneration, vacuolar, proximal tubule	12	0	0	1	0	1	13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	10	0	0	3	0	3
Degeneration, fatty, proximal tubule	13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	11	1	1	0	0	2
Oil red O stain																			0	1	1	0	0	2
Basophilic tubule, cortex	9	3	0	1	0	4	9	4	0	0	0	4	9	4	0	0	0	4	9	2	0	2	0	4
Cast, granular	13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	12	0	0	1	0	1
Cast, hemoglobin	13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	12	0	0	1	0	1
Cast, benzidine reaction																			0	0	0	1	0	1
Cast, proteinous	13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	12	0	1	0	0	1
Cast, PAS stain																			0	0	1	0	0	1
(Spleen)	[13]						[0]						[0]						[13]					
Deposit, pigment, brown	0	0	13	0	0	13													0	0	13	0	0	13
Hematopoiesis, extramedullary	0	0	6	7	0	13													1	2	3	7	0	12
Atrophy	13	0	0	0	0	0													12	0	0	0	1	1
(Adrenal gland)	[13]						[13]						[13]						[13]					
Vacuolation, fascicular zone, increased	13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	11	0	2	0	0	2
(Brain)	[13]						[0]						[0]						[13]					
No remarkable change																								
(Ovary)	[1]						[1]						[2]						[1]					
No remarkable change																								

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

[], Number of animals examined

*, Significantly different from control $p < 0.05$ (Mann-Whitney U test)**, Significantly different from control $p < 0.01$ (Mann-Whitney U test)#, Significantly different from control $p < 0.05$ (Fisher exact test)##, Significantly different from control $p < 0.01$ (Fisher exact test)

Table 23

ABMPN: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats

Reproductive performance of F₀ animals

Compound	ABMPN			
	0 ^{a)}	2	10	50
Dose group (mg/kg)				
Number of mated pairs	13	13	13	13
Number of copulated pairs	13	13	13	13
Copulation index A)	100.0	100.0	100.0	100.0
Number of pregnant animals	12	12	11	12
Fertility index B)	92.3	92.3	84.6	92.3
Pairing days until copulation Mean ± S.D. (N)	3.2 ± 3.7(13)	2.4 ± 1.8(13)	2.8 ± 1.4(13)	3.5 ± 2.6(13)
Frequency of vaginal estrus Mean ± S.D. (N)	1.0 ± 0.0(13)	1.1 ± 0.3(13)	1.0 ± 0.0(13)	1.2 ± 0.6(13)

^{a)}: vehicle control: corn oil (5 ml/kg)

A): copulation index = (number of copulated pairs / number of mated pairs) × 100; %

B): fertility index = (number of pregnant animals / number of copulated pairs) × 100; %

Table 24

ABMPN: combined repeat dose and reproductive/development toxicity screening test in rats

Development of F₁ pups up to day 4 of lactation ; mean $\pm$ S.D. (N)

Compound Dose group (mg/kg)	ABMPN			
	0 a)	2	10	50
No. of pregnant females	12	12	11	12
No. of females with live pups	12	12	11	12
Gestation index (%) A)	100	100	100	100
Gestation length in days	22.3 $\pm$ 0.5 (12)	22.1 $\pm$ 0.3 (12)	22.2 $\pm$ 0.4 (11)	22.4 $\pm$ 0.5 (12)
No. of corpora lutea	18.8 $\pm$ 2.5 (12)	17.8 $\pm$ 1.5 (12)	18.1 $\pm$ 2.0 (11)	16.9 $\pm$ 2.0 (12)
No. of implantation scars	17.3 $\pm$ 2.5 (12)	16.8 $\pm$ 1.5 (12)	17.1 $\pm$ 2.1 (11)	15.6 $\pm$ 1.4 (12)
Implantation index (%) B)	92.9 $\pm$ 10.6 (12)	95.0 $\pm$ 5.7 (12)	94.7 $\pm$ 7.7 (11)	92.8 $\pm$ 9.3 (12)
Day 0 of lactation				
No. of pups	15.4 $\pm$ 2.5 (12)	15.8 $\pm$ 1.9 (12)	15.5 $\pm$ 1.8 (11)	14.8 $\pm$ 1.5 (12)
Delivery index (%) C)	88.8 $\pm$ 6.2 (12)	94.0 $\pm$ 6.1 (12)	91.6 $\pm$ 10.3 (11)	94.6 $\pm$ 4.4 (12)
No. of live pups	15.0 $\pm$ 2.5 (12)	15.8 $\pm$ 1.9 (12)	15.5 $\pm$ 1.8 (11)	14.8 $\pm$ 1.5 (12)
Birth index (%) D)	86.6 $\pm$ 8.3 (12)	93.5 $\pm$ 5.8 (12)	91.6 $\pm$ 10.3 (11)	94.6 $\pm$ 4.4 (12)
Live birth index (%) E)	97.4 $\pm$ 4.9 (12)	99.4 $\pm$ 1.9 (12)	100.0 $\pm$ 0.0 (11)	100.0 $\pm$ 0.0 (12)
Sex ratio (%) F)	50.5 $\pm$ 9.9 (12)	43.9 $\pm$ 12.8 (12)	54.4 $\pm$ 10.9 (11)	53.6 $\pm$ 11.7 (12)
Day 4 of lactation				
No. of live pups	14.6 $\pm$ 2.3 (12)	15.6 $\pm$ 1.9 (12)	15.5 $\pm$ 1.8 (11)	11.6 $\pm$ 5.9 (12)
Viability index (%) G)	97.5 $\pm$ 4.1 (12)	99.0 $\pm$ 2.4 (12)	100.0 $\pm$ 0.0 (11)	77.9 $\pm$ 38.0 (12)

a): corn oil (5 ml/kg)

A): Gestation index = (No. of females with live pups / No. of pregnant females) $\times$ 100B): Implantation index = (No. of implantation scars / No. of corpora lutea) $\times$ 100C): Delivery index = (No. of pups born / No. of implantation scars) $\times$ 100D): Birth index = (No. of live pups on day 0 / No. of implantation scars) $\times$ 100E): Live birth index = (No. of live pups on day 0 / No. of pups born) $\times$ 100F): Sex ratio = (No. of male live pups on day 0 / No. of live pups on day 0) $\times$ 100G): Viability index = (No. of live pups on day 4 / No. of live pups on day 0) $\times$ 100

Table 25

ABMPN: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats

Body weight of F₁ pups up to day 4 of lactation : mean $\pm$ S.D.

Compound	ABMPN			
Dose group (mg/kg)	0 a)	2	10	50
Day 0 of lactation				
No. of live pups	15.0 $\pm$ 2.5 (12)	15.8 $\pm$ 1.9 (12)	15.5 $\pm$ 1.8 (11)	14.8 $\pm$ 1.5 (12)
Male	7.6 $\pm$ 2.0	6.8 $\pm$ 1.9	8.5 $\pm$ 1.8	7.9 $\pm$ 1.9
Female	7.4 $\pm$ 1.9	8.9 $\pm$ 2.6	7.1 $\pm$ 1.9	6.8 $\pm$ 1.7
Weight of pup in grams				
Male	6.2 $\pm$ 0.6	6.3 $\pm$ 0.5	6.3 $\pm$ 0.4	6.1 $\pm$ 0.2
Female	5.9 $\pm$ 0.5	6.0 $\pm$ 0.5	6.0 $\pm$ 0.3	5.9 $\pm$ 0.2
Day 4 of lactation				
No. of live pups	14.6 $\pm$ 2.3 (12)	15.6 $\pm$ 1.9 (12)	15.5 $\pm$ 1.8 (11)	13.9 $\pm$ 2.6 (10)
Male	7.6 $\pm$ 2.0	6.8 $\pm$ 1.7	8.5 $\pm$ 1.8	7.4 $\pm$ 2.0
Female	7.0 $\pm$ 1.7	8.8 $\pm$ 2.6	7.1 $\pm$ 1.9	6.5 $\pm$ 1.7
Weight of pup in grams				
Male	9.8 $\pm$ 1.4	9.8 $\pm$ 1.1	9.8 $\pm$ 1.0	9.0 $\pm$ 1.2
Female	9.5 $\pm$ 1.2	9.5 $\pm$ 1.1	9.4 $\pm$ 1.0	8.5 $\pm$ 1.1

a): corn oil (5 ml/kg)

Parentheses indicate the number of litters evaluated

Table 26

ABMPN: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats

Morphological findings in F₁ pups on day 4 of lactation

Compound	ABMPN			
Dose group (mg/kg)	0 ^{a)}	2	10	50
No. of pups examined				
<u>External observation</u>	175	187	171	139
<u>Visceral observation</u>	175	187	171	139
No. of pups showing abnormalities				
<u>External malformations</u>	0	0	0	0
<u>Visceral malformations</u>	0	0	0	0
<u>Visceral variations</u>	0	0	0	0

^{a)}: vehicle control: corn oil (5 ml/kg)

Table 27

ABMPN: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats

Morphological findings in F₁ dead pups

Compound	ABMPN			
Dose group (mg/kg)	0 ^{a)}	2	10	50
No. of dead pups examined				
<u>External observation</u>	8	1	0	22
<u>Visceral observation</u>	8	1	0	22
No. of dead pups showing abnormalities				
<u>External malformations</u>	0	0		0
<u>Visceral malformations</u>	0	0		0
<u>Visceral variations</u>	1	0		0
Types and frequencies (%) of visceral variations				
Dilatation of renal pelvis	12.5			

^{a)}: vehicle control: corn oil (5 ml/kg)