

# 試 験 報 告 書

4,4'-ジアミノ-2,2'-スチルベジルスルホン酸  
の経口投与によるラットの簡易生殖毒性試験

(試験番号：3L321)

表 題 : 4,4'-ジアミノ-2,2'-スチルベンジスルホン酸の経口投与によるラットの簡易生殖毒性試験（試験番号：3L321）

試験目的 : 4,4'-ジアミノ-2,2'-スチルベンジスルホン酸を反復投与した時の動物に及ぼす影響および性腺機能、交尾行動、受胎および分娩等の生殖行動に及ぼす影響を検討する。

# 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 .....	2
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) 病理学的検査 .....	4
6. 生殖発生毒性に関する観察・検査 .....	5
1) 生殖機能 .....	5
2) 分娩・哺育状態 .....	6
3) 新生児の観察・検査 .....	6
7. 統計学的解析 .....	7
結果	
1. 反復投与毒性 .....	8
1) 死亡動物 .....	8
2) 一般状態 .....	8
3) 体重 .....	8
4) 摂餌量 .....	8
5) 器官重量 .....	8
6) 剖検所見 .....	8
7) 組織所見 .....	8

2. 生殖発生毒性 .....	9
1) 生殖機能 .....	9
2) 分娩・哺育状態 .....	9
3) 新生児に及ぼす影響 .....	9
考察および結論 .....	11
文 献 .....	13

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

平均值表

Table 1	体重 (雄) .....	5
Table 2	体重 (雌: 交配前) .....	6
Table 3	体重 (雌: 妊娠期間) .....	7
Table 4	体重 (雌: 哺育期間) .....	8
Table 5	体重増加量 (雄) .....	9
Table 6	体重増加量 (雌: 交配前) .....	10
Table 7	体重増加量 (雌: 妊娠期間) .....	11
Table 8	体重増加量 (雌: 哺育期間) .....	12
Table 9	摂餌量 (雄) .....	13
Table 10	摂餌量 (雌: 交配前) .....	14
Table 11	摂餌量 (雌: 妊娠期間) .....	15
Table 12	摂餌量 (雌: 哺育期間) .....	16
Table 13	器官重量 .....	17
Table 14	器官重量対体重比 .....	18
Table 15	生殖機能検査 .....	19
Table 16	分娩成績 .....	20
Table 17	生存率 .....	21
Table 18	体重 (F1動物) .....	22
Table 19	体重増加量 (F1動物) .....	24
Table 20	剖検所見 .....	26
Table 21	組織所見 .....	27

## 要 約

4,4'-ジアミノ-2,2'-スチルベンジルスルホン酸の40、200 および1000mg/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41日間、雌は妊娠、分娩を経て哺育3日までの計41~46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(0.5%カルボキシメチルセルロース・ナトリウム水溶液)のみを投与した。

### 1) 反復投与毒性

一般状態、体重、摂餌量に被験物質投与に起因する変化は認められなかった。また、投与終了後の剖検、雄の精巣および精巣上体の器官重量および病理組織学的検査においても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

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、分娩および哺育行動には、被験物質投与に起因する変化は認められなかった。新生児の検査では、出産児数、出產生存児数、性比、出生率、新生児生存率、外表、一般状態、体重および剖検のいずれにおいても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、4,4'-ジアミノ-2,2'-スチルベンジルスルホン酸は1000mg/kg においても反復投与による一般毒性学的影響は認められず、また生殖・発生に及ぼす影響も認められなかった。したがって、本試験条件下における生殖発生毒性に関する無影響量は親動物および児動物ともに1000mg/kg と考えられる。

## 緒 言

4,4'-ジアミノ-2,2'-スチルベンジルスルホン酸は染料クリソフェニンGおよび蛍光染料の中間体で、その構造はジエチルスチルベストロールに類似し、弱いエストロゲン様作用を有することが報告されている<sup>1)</sup>。

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4,4'-ジアミノ-2,2'-スチルベンジルスルホン酸の簡易生殖毒性試験を実施し、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

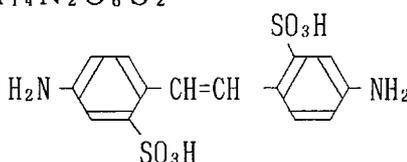
### 1. 被験物質

より提供された4,4'-ジアミノ-2,2'-スチルベンジルスルホン酸（東京化成工業, Lot No. GC01, 純度92.02%, 略称:DAS）を使用した。被験物質はアルコール、エーテルに可溶で、水には不溶の淡黄色の粉末である。なお、本ロットについては投与期間中安定であることが確認された。

化学名： 4,4'-diamino-2,2'-stilbendisulfonic acid

化学式：  $C_{14}H_{14}N_2O_6S_2$

構造式：



分子量： 370.41

CAS No.： 81-11-8

### 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313～350g、雌が183～222g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（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、飲水として5 μm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8日間の反復投与予備試験（用量：0、100、300、1000mg/kg）を行った結果、技術的投与限界量の1000mg/kg群でも体重および剖検には変化が認められなかった。従って、本試験の高用量には1000mg/kgを設定し、以下公比5で中用量を200mg/kg、低用量を40mg/kgとした。さらに溶媒（0.5％カルボキシメチルセルロース・ナトリウム水溶液）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41日間、雌は交尾成立後分娩を経て哺育3日までの計41～46日間とし、胃ゾンデを用いて毎日1回、午前中に強制経口投与した。投与液量は10ml/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0.5％カルボキシメチルセルロース・ナトリウム（岩井化学薬品、Lot No. 120105）水溶液に乳鉢を用いて懸濁させ、所定の濃度に調製した。調製はイエローランプ照明下で行った。調製頻度は週1回とし、投与に供するまで褐色瓶に入れて冷暗所保存した。投与開始前に投与液の均一性および本保存条件下における11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99.0～101.5％の値であった（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	40mg/kg群	10	10
C	200mg/kg群	10	10
D	1000mg/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-5000, EB-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) 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（ラボナール：田辺製薬）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

雄の全生存動物について、剖検時に精巣および精巣上体の重量を、電子上皿天秤（BD-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。

## (3) 病理組織学的検査

全生存動物について精巣、精巣上体および卵巣を採取し、精巣、精巣上体はブアン液、卵巣は10%リン酸緩衝中性ホルマリン液にて固定後保存した。

雄の対照および1000mg/kg 群の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・エオジン染色標本を作製し鏡検した。また、未交尾および非妊娠雌の卵巣、剖検時に肉眼的な異常が認められた40mg/kg 群の1例の精巣についても同様に検査した。

## 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、200mg/kg群の雌1例(C05)については、同居する予定の雄(CM05)が死亡したため、同群内の既に交尾が確認された雄(CM01)と同居させた。

7日間の交配で各群とも交尾率が80%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、分散が一様の場合は一元配置分散分析を、一様でない場合は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、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

被験物質投与に起因する死亡は認められなかった。200mg/kg群の雄1例(CM05)が投与14日の投与直後に死亡したが、剖検の結果肺に穿孔が認められたことから、投与過誤による死亡と判断した。

#### 2) 一般状態

雌雄とも全観察期間を通して一般状態に変化は認められなかった。

#### 3) 体 重 (Fig. 1, 2, Table 1-8)

雌雄とも全期間を通して体重および体重増加量ともに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。

#### 4) 摂餌量 (Fig. 3, 4, Table 9-12)

雄の1000mg/kg 群の投与7、14日の摂餌量が有意な高値を示したが、以後は対照群と同様な値で推移し、対照群との間に有意な差は認められなかった。雌では全期間を通して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。

#### 5) 器官重量 (Table 13, 14)

雄の精巣および精巣上体には実重量および対体重比ともに対照群と被験物質投与群との間に有意な変化は認められなかった。

#### 6) 剖検所見 (Table 20)

両側精巣の小型化が40および1000mg/kg 群の各1例に認められた。

#### 7) 組織所見 (Table 21)

両側精巣の精細管の萎縮が対照群で1例および1000mg/kg 群で肉眼的に精巣の小型化を示した動物を含めて2例に認められたが、発現頻度から偶発性変化と判断した。なお、肉眼的に小型化していた40mg/kg 群の1例の精巣には異常は認められなかった。精巣上体、未交尾および非妊娠動物の卵巣には組織学的な変化は認められなかった。

## 2. 生殖発生毒性

### 1) 生殖機能 (Table 15)

交尾率および受胎率ともに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。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差は認められなかった。未交尾動物は対照群で1対、200mg/kg群で2対、非妊娠動物は1000mg/kg群で1例認められたのみであった。なお、200mg/kg群の雌1例(B06)は膣垢検査では交尾が確認されなかったが、剖検で妊娠が判明したため、交尾率および受胎率にはこの動物も含めた。

### 2) 分娩・哺育状態 (Table 16)

分娩および哺育行動には被験物質投与に起因する変化は認められなかった。また、妊娠期間、黄体数、着床数、着床率、出産率および分娩率ともに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、200mg/kg群の1例(C04)は死産児1例を娩出したのみであった。また、1000mg/kg群の1例(D08)も出産児数が1例のみで、その出産児は授乳状態が不良で哺育3日に死亡した。これらの2例については、同群内の他の母動物では分娩、哺育状態ともに異常がなく、かつ両群とも出産児数が少ない傾向もなかったことから、被験物質投与とは関連のないものと判断した。

### 3) 新生児に及ぼす影響

#### (1) 生存率 (Table 17)

各群で死産児および出生後の死亡が少数例観察されたが、出産児数、出产生存児数、性比、出生率および新生児生存率のいずれに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、200mg/kg群の出生率および1000mg/kg群の新生児生存率が他の群に比べやや低い値を示したが、出産児数が1例のみの腹の死亡率が100%を示したことが反映した見掛け上の変化であると判断した。

#### (2) 新生児の観察

一般状態に被験物質投与に起因する異常は認められなかった。また、外表異常については痕跡尾が200mg/kg群の1例に認められたのみであった。

(3) 体 重 (Table 18.19)

雌雄とも哺育0日および4日の体重、ならびにその間の体重増加量に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。

(4) 剖 検

生存動物および死亡動物ともに異常は認められなかった。

## 考察および結論

4,4'-ジアミノ-2,2'-スチルベンスルホン酸の40、200 および1000mg/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41日間、雌は妊娠、分娩を経て哺育3日までの計41～46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。

一般状態および体重には雌雄ともに被験物質投与の影響は認められなかった。摂餌量において雄の1000mg/kg 群で投与開始後2週まで有意な高値を示したが、以後は対照群と同様な値で推移し、かつ体重にも本変化と関連する変化は認められなかったことから、毒性学的意義に乏しい変化と判断した。投与終了後の雌雄の剖検、雄の精巣と精巣上体の重量および病理組織学的検査においても被験物質投与に起因する変化は認められなかった。

生殖機能検査の結果、交尾率、受胎率に被験物質投与の影響は認められなかった。交配中の膣垢検査では、1000mg/kg 群でもほとんどの雌に交配開始後4日以内に発情期が観察され、被験物質投与による性周期への影響を疑わせる変化は認められなかった。また、妊娠期間、黄体数、着床数、着床率、出産率および分娩率に被験物質投与の影響は認められなかった。さらに、分娩後の母動物の哺育行動、新生児の一般状態、出産児数、出産生存児数、性比、出生率、新生児生存率、体重および剖検においても被験物質投与に起因する変化は認められなかった。

被験物質は弱いエストロジェン様作用を有し<sup>1)</sup>、合成エストロジェン剤のジエチルスチルベストロール(DES)と構造が類似している。DES やエストロジェン剤は、反復投与による影響として、精巣の萎縮性変化あるいはライデッヒ細胞の増生、精巣上体の組織変化、子宮内膜の増生など、生殖器に障害を起こすことが知られている<sup>2)</sup>。しかし、被験物質のナトリウム塩である4,4'-ジアミノ-2,2'-スチルベンスルホン酸・ジナトリウムについては、混餌法による長期毒性試験が実施されており、13週間投与試験では100000ppm 投与においてもマウスおよびラットともに精巣には病理組織学的変化は認められなかったことが報告されている<sup>3)</sup>。さらに13週間投与試験においては、マウスで子宮内膜の増生が認められたが、ラットではこのような変化は認められなかったこと、および2年間投与試験においてはマウス、ラットともに生殖器も含めてエストロジェン作用による影響を示唆する変化は認めら

れなかったことが報告されている<sup>3)</sup>。本試験の結果も同様、技術的投与限界用量である1000mg/kg 群においても精巣および精巣上体ともに被験物質投与の影響は認められなかった。また、生殖・発生への影響に関しては、DES あるいはエストロジェン剤は繁殖障害、性周期の変化、着床阻害、妊娠期間延長、胚の死亡および発育抑制などを起こすことが知られている<sup>4-8)</sup>。しかし、本試験においては親動物および児動物ともに被験物質による生殖・発生への影響を示唆する変化は認められなかった。

以上のように、本試験では技術的投与限界用量である1000mg/kg 群においても反復投与による一般毒性学的影響は認められず、また生殖・発生に及ぼす影響も認められなかった。したがって、本試験条件下における生殖発生毒性に関する無影響量は親動物および児動物ともに1000mg/kg と考えられる。

## 文 献

- 1) Smith, E. R. and Quinn, M. M. : Uterotropic action in rats of amsonic acid and three of its synthetic precursors, *J. Toxicol. Environ. Health*, 36, 13-25(1992).
- 2) 宮嶋宏彰, "毒性病理学, 7. 生殖器系, 7.1非腫瘍性病変, 毒性試験講座5(前川昭彦, 林裕造編)," 地人書館, 1991, pp. 387-407.
- 3) National Toxicology Program(NTP) (1992). Toxicology and carcinogenesis studies of 4,4'-diamino-2,2'-stilbendisulfonic acid, disodium salt(CAS No. 7336-20-1) in F344/N rats and B6C3F<sub>1</sub> mice(Feed Studies). Technical Report Series No. 412. NIH Publication No. 92-3143. U. S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health, Research Triangle Park, NC 27709.
- 4) 鈴木勝士, :雄の側からの生殖毒性, トキシコロジーフォーラム, 7, 572-576(1984).
- 5) 高橋日出彦, "くすりの毒性:10. 雄の生殖機能に対する毒性," 南江堂, 1974, pp. 276-312.
- 6) Shepard, T. H., "Catalog of teratogenic agents," 6th ed. The Johns Hopkins University Press, London, 1989, pp. 217-220.
- 7) 清藤英一, "催奇形性等発生毒性に関する薬品情報 (西村秀雄監修)," 東洋書店, 1977, pp. 497-505.
- 8) Schardein, J. L., "Chemical induced birth defects: 9. Hormones and hormonal antagonists," 2nd ed., Marcel Dekker, New York, 1993, pp. 271-339.

## 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	体重（雄） .....	5
Table 2	体重（雌：交配前） .....	6
Table 3	体重（雌：妊娠期間） .....	7
Table 4	体重（雌：哺育期間） .....	8
Table 5	体重増加量（雄） .....	9
Table 6	体重増加量（雌：交配前） .....	10
Table 7	体重増加量（雌：妊娠期間） .....	11
Table 8	体重増加量（雌：哺育期間） .....	12
Table 9	摂餌量（雄） .....	13
Table 10	摂餌量（雌：交配前） .....	14
Table 11	摂餌量（雌：妊娠期間） .....	15
Table 12	摂餌量（雌：哺育期間） .....	16
Table 13	器官重量 .....	17
Table 14	器官重量対体重比 .....	18
Table 15	生殖機能検査 .....	19
Table 16	分娩成績 .....	20
Table 17	生存率 .....	21
Table 18	体重（F1動物） .....	22
Table 19	体重増加量（F1動物） .....	24
Table 20	剖検所見 .....	26
Table 21	組織所見 .....	27

STUDY NO. 3L321KE0

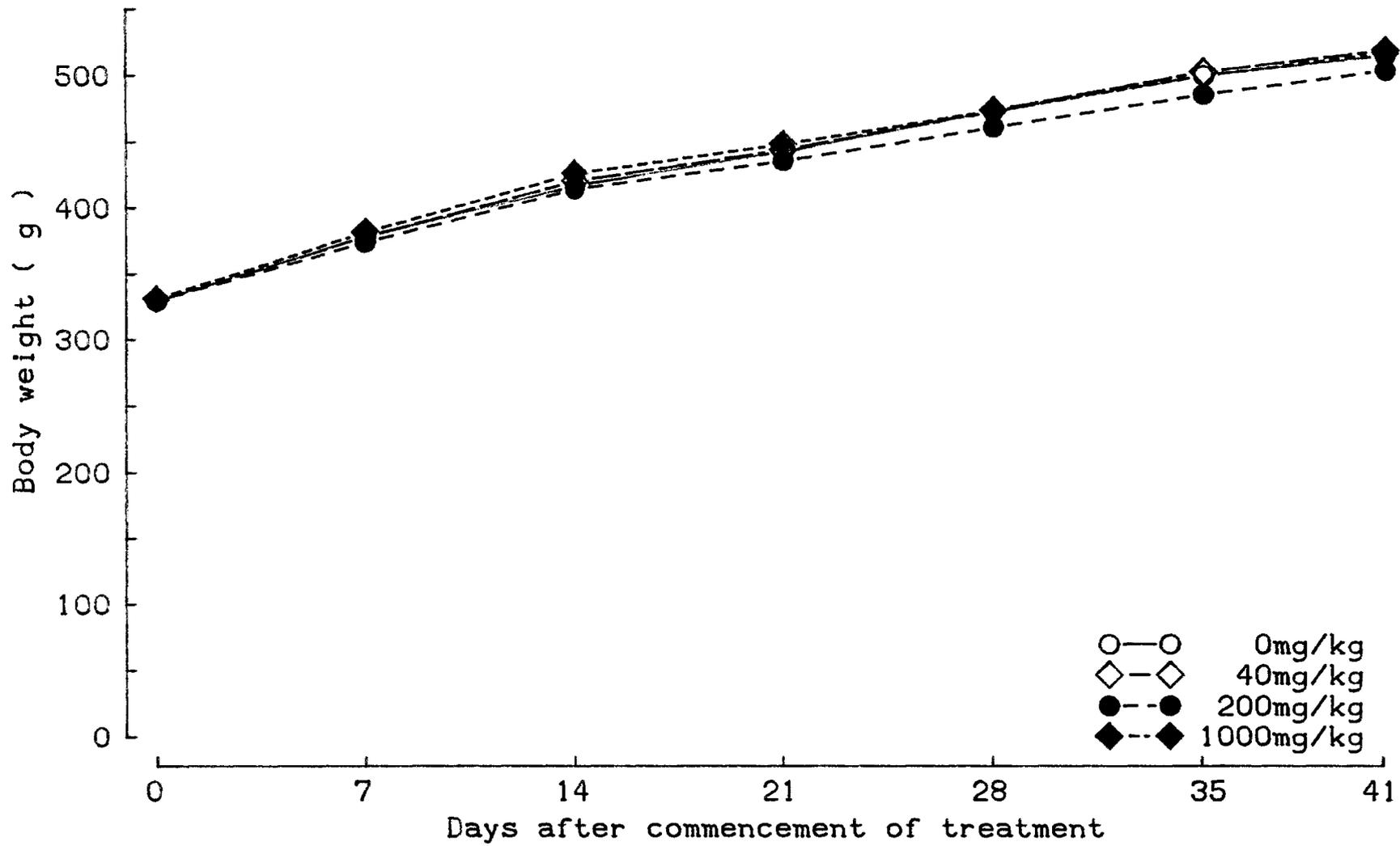


FIG.1 Body weight change of male rats treated with DAS

STUDY NO. 3L321KE0

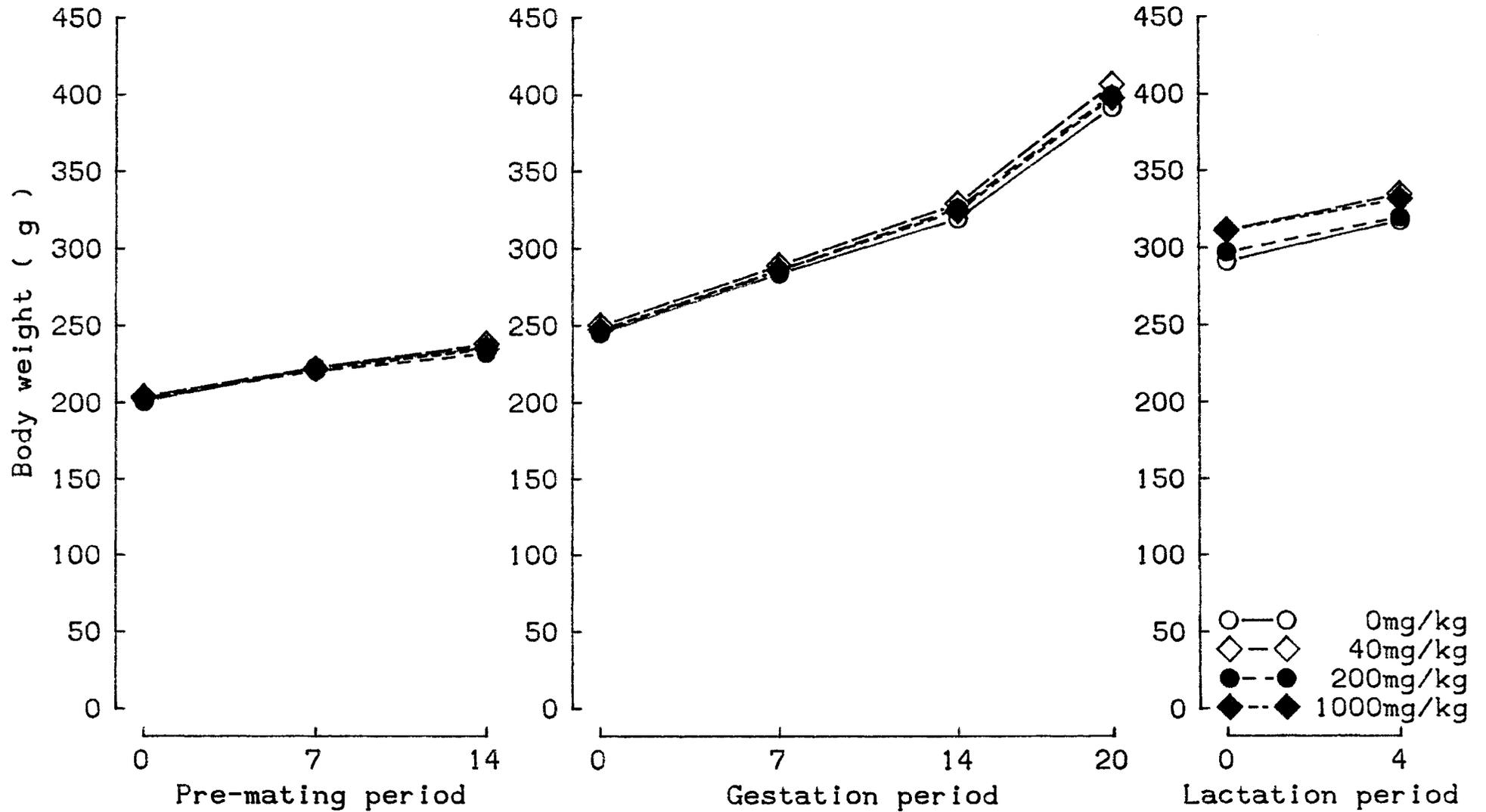


FIG.2 Body weight change of female rats treated with DAS

STUDY NO. 3L321KE0

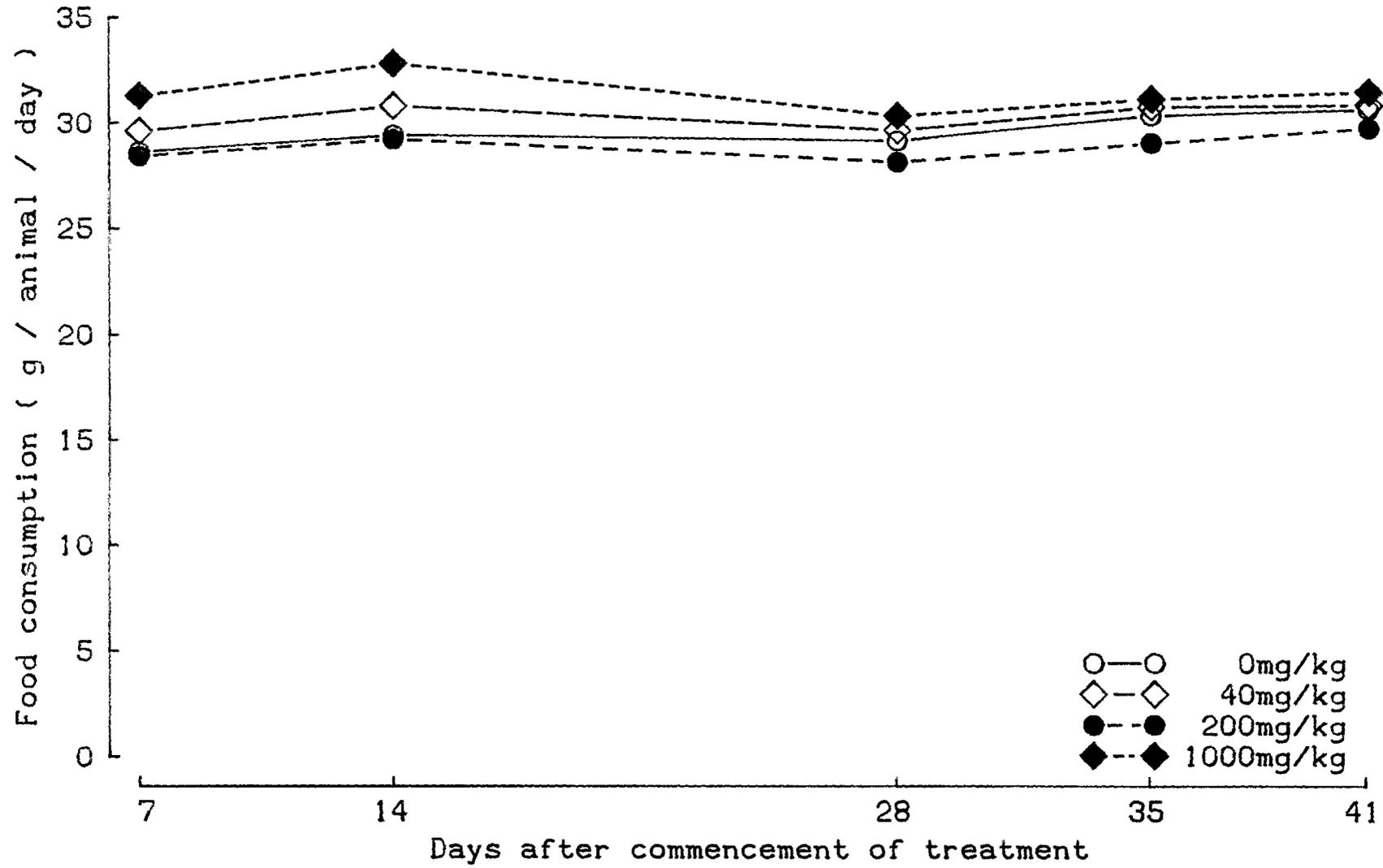


FIG.3 Food consumption change of male rats treated with DAS

STUDY NO. 3L321KE0

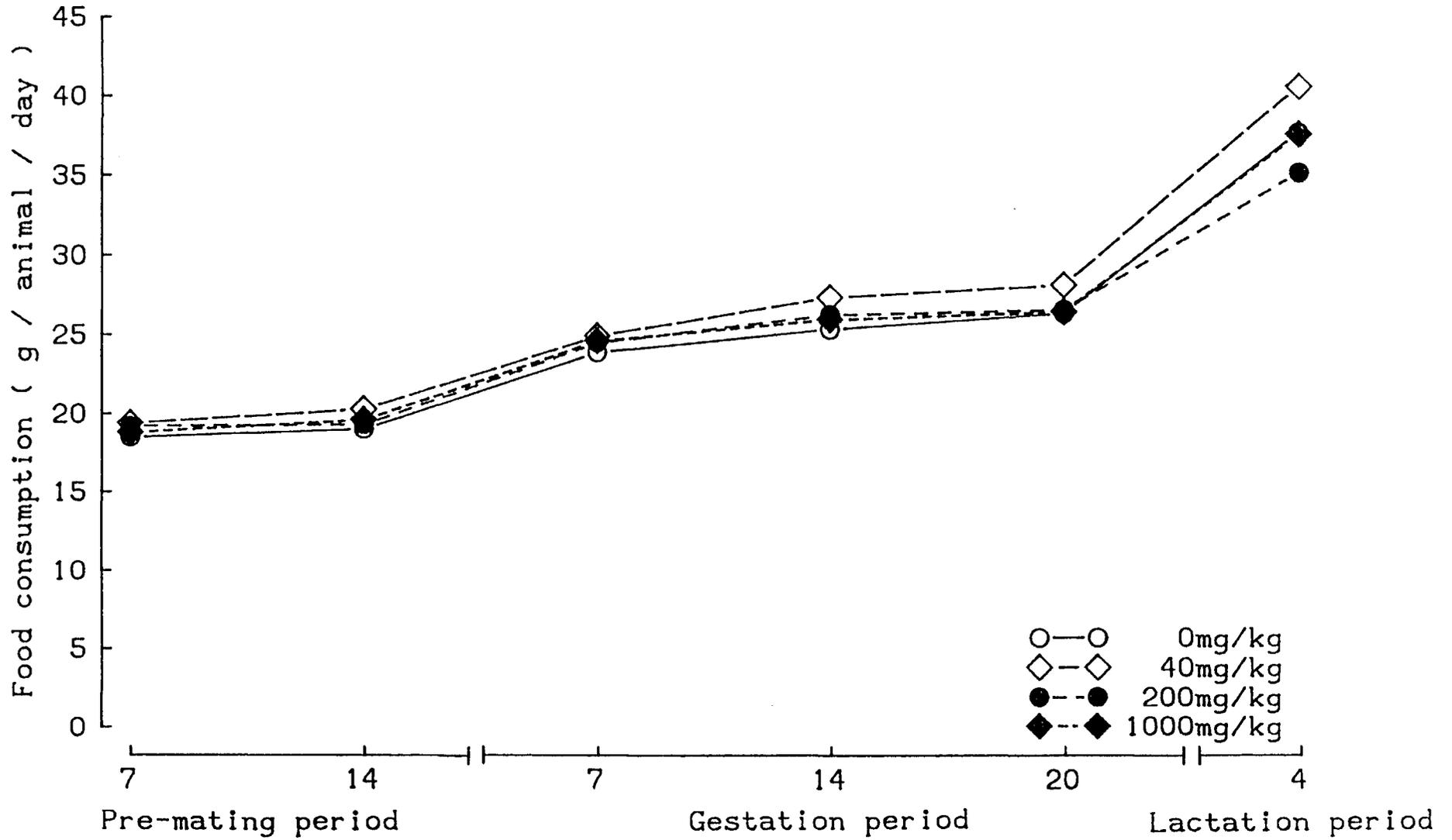


FIG.4 Food consumption change of female rats treated with DAS

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

STUDY NO. 3L321KE0

UNIT : G

DOSE LEVEL MG/KG		DAYS AFTER COMMENCEMENT OF TREATMENT						
		0	7	14	21	28	35	41
0	MEAN	329.	378.	416.	442.	472.	499.	514.
	S.D.	8.1	13.1	19.4	23.6	23.6	28.3	28.8
	N	10	10	10	10	10	10	10
40	MEAN	329.	378.	420.	443.	473.	502.	518.
	S.D.	8.1	13.3	19.6	21.2	24.9	21.5	26.1
	N	10	10	10	10	10	10	10
200	MEAN	329.	374.	414.	435.	460.	485.	503.
	S.D.	9.3	12.0	16.5	19.2	22.9	21.7	21.5
	N	10	10	10	9	9	9	9
1000	MEAN	331.	382.	426.	448.	473.	499.	516.
	S.D.	10.7	19.0	23.3	27.8	36.7	39.8	45.0
	N	10	10	10	10	10	10	10

TABLE 2 - F - 1  
 BODY WEIGHT - GROUP MEAN VALUES  
 TEST ARTICLES : DAS  
 SEX : FEMALE

STUDY NO. 3L321KEO

UNIT : G

DOSE LEVEL MG/KG		DAYS AFTER COMMENCEMENT OF TREATMENT		
		0	7	14
0	MEAN	201.	223.	236.
	S.D.	9.2	13.1	17.5
	N	10	10	10
40	MEAN	204.	223.	238.
	S.D.	11.7	13.1	13.1
	N	10	10	10
200	MEAN	203.	221.	232.
	S.D.	13.7	15.4	17.7
	N	10	10	10
1000	MEAN	203.	222.	235.
	S.D.	11.0	14.9	17.3
	N	10	10	10

TABLE 3  
 BODY WEIGHT - GROUP MEAN VALUES  
 TEST ARTICLES : DAS

STUDY NO. 3L321KEO

UNIT : G

DOSE LEVEL MG/KG		DAYS (GESTATION)			
		0	7	14	20
0	MEAN	245.	284.	319.	391.
	S.D.	16.2	17.7	18.7	29.7
	N	9	9	9	9
40	MEAN	250.	289.	329.	406.
	S.D.	18.6	23.8	21.9	34.5
	N	9	9	9	9
200	MEAN	246.	286.	326.	399.
	S.D.	15.0	18.7	21.4	37.5
	N	8	8	8	8
1000	MEAN	247.	286.	324.	397.
	S.D.	12.7	15.6	18.6	36.4
	N	9	9	9	9

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

STUDY NO. 3L321KE0

UNIT : G

DOSE LEVEL MG/KG	DAYS (LACTATION)		
		0	4
0	MEAN	291.	317.
	S.D.	19.6	18.9
	N	9	9
40	MEAN	311.	334.
	S.D.	18.8	26.1
	N	9	9
200	MEAN	297.	319.
	S.D.	27.9	18.9
	N	8	8
1000	MEAN	311.	331.
	S.D.	14.4	24.9
	N	9	9

TABLE 5 - M - 1  
 BODY WEIGHT GAIN - GROUP MEAN VALUES  
 TEST ARTICLES : DAS  
 SEX : MALE

STUDY NO. 3L321KE0

UNIT : G

DOSE LEVEL MG/KG	DAYS AFTER COMMENCEMENT OF TREATMENT						
	7	14	21	28	35	41	
0	MEAN	49.	87.	113.	142.	170.	185.
	S.D.	6.9	13.9	17.7	18.1	22.7	22.7
	N	10	10	10	10	10	10
40	MEAN	49.	91.	115.	144.	173.	189.
	S.D.	6.0	13.3	15.1	19.2	16.7	21.3
	N	10	10	10	10	10	10
200	MEAN	45.	85.	105.	131.	155.	173.
	S.D.	6.9	12.6	13.5	17.5	17.0	17.0
	N	10	10	9	9	9	9
1000	MEAN	51.	95.	117.	142.	168.	185.
	S.D.	10.9	16.4	20.0	28.7	31.6	37.1
	N	10	10	10	10	10	10

TABLE 6 - F - 1  
 BODY WEIGHT GAIN - GROUP MEAN VALUES  
 TEST ARTICLES : DAS  
 SEX : FEMALE

STUDY NO. 3L321KE0

UNIT : G

DOSE LEVEL MG/KG		DAYS AFTER COMMENCEMENT OF TREATMENT	
		7	14
0	MEAN	22.	35.
	S.D.	7.9	14.4
	N	10	10
40	MEAN	19.	34.
	S.D.	5.4	7.0
	N	10	10
200	MEAN	18.	28.
	S.D.	8.3	10.8
	N	10	10
1000	MEAN	19.	32.
	S.D.	8.1	11.0
	N	10	10

TABLE 7  
 BODY WEIGHT GAIN - GROUP MEAN VALUES  
 TEST ARTICLES : DAS

STUDY NO. 3L321KE0

UNIT : G

DOSE LEVEL MG/KG		DAYS (GESTATION)		
		7	14	20
0	MEAN	39.	74.	146.
	S.D.	7.9	11.2	18.9
	N	9	9	9
40	MEAN	39.	79.	155.
	S.D.	9.2	8.1	22.9
	N	9	9	9
200	MEAN	40.	80.	153.
	S.D.	11.4	15.2	35.9
	N	8	8	8
1000	MEAN	39.	77.	150.
	S.D.	7.2	12.0	30.0
	N	9	9	9

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

STUDY NO. 3L321KEO

UNIT : G

DOSE LEVEL		DAYS (LACTATION)	
MG/KG			
	4		
0	MEAN	26.	
	S.D.	15.5	
	N	9	
40	MEAN	23.	
	S.D.	13.5	
	N	9	
200	MEAN	22.	
	S.D.	17.6	
	N	8	
1000	MEAN	20.	
	S.D.	19.9	
	N	9	

TABLE 9 - M - 1  
 FOOD CONSUMPTION - GROUP MEAN VALUES  
 TEST ARTICLES : DAS  
 SEX : MALE

STUDY NO. 3L321KE0

UNIT : G/ANIMAL/DAY

DOSE LEVEL MG/KG	DAYS AFTER COMMENCEMENT OF TREATMENT					
	7	14	28	35	41	
0	MEAN	28.6	29.4	29.1	30.3	30.6
	S.D.	1.38	2.43	1.96	2.28	2.35
	N	10	10	9	10	10
40	MEAN	29.6	30.8	29.6	30.7	30.8
	S.D.	1.91	2.82	2.38	1.87	2.14
	N	10	10	9	10	10
200	MEAN	28.4	29.2	28.1	29.0	29.7
	S.D.	1.79	2.51	2.36	2.27	2.02
	N	10	10	7	9	9
1000	MEAN	31.3*	32.8*	30.3	31.1	31.4
	S.D.	2.61	3.16	3.60	3.40	3.54
	N	10	10	10	10	10

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

TABLE 10 - F - 1  
 FOOD CONSUMPTION - GROUP MEAN VALUES  
 TEST ARTICLES : DAS  
 SEX : FEMALE

STUDY NO. 3L321KEO

UNIT : G/ANIMAL/DAY

DOSE LEVEL MG/KG		DAYS AFTER COMMENCEMENT OF TREATMENT	
		7	14
0	MEAN	18.5	19.0
	S.D.	1.39	1.73
	N	10	10
40	MEAN	19.4	20.3
	S.D.	1.12	1.65
	N	10	10
200	MEAN	19.2	19.3
	S.D.	1.87	2.37
	N	10	10
1000	MEAN	18.8	19.6
	S.D.	1.67	1.58
	N	10	10

TABLE 11  
 FOOD CONSUMPTION - GROUP MEAN VALUES  
 TEST ARTICLES : DAS

STUDY NO. 3L321KEO

UNIT : G/ANIMAL/DAY

DOSE LEVEL MG/KG		DAYS (GESTATION)		
		7	14	20
0	MEAN	23.9	25.3	26.3
	S.D.	2.40	2.80	1.98
	N	9	9	9
40	MEAN	24.9	27.3	28.1
	S.D.	2.25	1.78	1.70
	N	9	9	9
200	MEAN	24.5	26.2	26.5
	S.D.	2.46	2.52	1.97
	N	8	8	8
1000	MEAN	24.8	26.1	27.4
	S.D.	1.85	2.28	2.73
	N	9	9	9

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

STUDY NO. 3L321KE0

UNIT : G/ANIMAL/DAY

---

DOSE LEVEL		DAYS (LACTATION)	
MG/KG		4	
0	MEAN	37.6	
	S.D.	5.86	
	N	9	
40	MEAN	40.5	
	S.D.	10.19	
	N	9	
200	MEAN	35.1	
	S.D.	7.46	
	N	8	
1000	MEAN	37.5	
	S.D.	9.63	
	N	9	

---

TABLE 13 - FS - M - 1  
 ORGAN WEIGHT (ABSOLUTE) - GROUP MEAN VALUES  
 TEST ARTICLES : DAS  
 SEX : MALE  
 ANIMALS KILLED ON SCHEDULE ( 6 WEEK)

STUDY NO. 3L321KE0

DOSE LEVEL MG/KG		FINAL BODY WEIGHT (G)	TESTES (G)	EPIDIDYMIDES (G)
0	MEAN	514.	3.36	1.22
	S.D.	29.3	0.189	0.085
	N	10	10	10
40	MEAN	518.	3.30	1.10
	S.D.	25.9	0.309	0.102
	N	10	10	10
200	MEAN	503.	3.38	1.18
	S.D.	21.6	0.200	0.103
	N	9	9	9
1000	MEAN	516.	3.27	1.11
	S.D.	44.7	0.362	0.140
	N	10	10	10

TABLE 14 - FS - M - 1  
 ORGAN WEIGHT (RELATIVE : PERCENTAGE OF BODY WEIGHT) - GROUP MEAN VALUES  
 TEST ARTICLES : DAS  
 SEX : MALE  
 ANIMALS KILLED ON SCHEDULE ( 6 WEEK)

STUDY NO. 3L321KE0

DOSE LEVEL MG/KG		FINAL BODY WEIGHT (G)	TESTES EPIDIDYMIDES	
0	MEAN	514.	0.65	0.24
	S.D.	29.3	0.031	0.022
	N	10	10	10
40	MEAN	518.	0.64	0.21
	S.D.	25.9	0.073	0.025
	N	10	10	10
200	MEAN	503.	0.67	0.24
	S.D.	21.6	0.044	0.022
	N	9	9	9
1000	MEAN	516.	0.64	0.22
	S.D.	44.7	0.059	0.024
	N	10	10	10

TABLE 15  
REPRODUCTIVE PERFORMANCE - GROUP MEAN VALUES

STUDY NO. 3L321KEO

TEST ARTICLES : DAS

GENERATION : FO

DOSE LEVEL MG/KG	NUMBER OF PAIRS	PRE-COITAL		COPULATION INDEX (%)	FERTILITY INDEX (%)
		DAYS	E.S.		
0	MEAN S.D. N	10	2.3 1.12 9	0.1 0.33 9	90.0( 9/10) 100.0( 9/ 9)
40	MEAN S.D. N	10	2.9 1.27 9	0.0 0.00 9	100.0(10/10) 100.0(10/10)
200	MEAN S.D. N	10	2.9 1.25 8	0.0 0.00 8	80.0( 8/10) 100.0( 8/ 8)
1000	MEAN S.D. N	10	2.7 1.16 10	0.0 0.00 10	100.0(10/10) 90.0( 9/10)

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 16  
 GESTATION LENGTH AND INDEX - GROUP MEAN VALUES

STUDY NO. 3L321KEO

TEST ARTICLES : DAS

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	22.9	18.8	15.3	14.2	81.2	93.7	100.0( 9/ 9)
	S. D.	0.33	4.68	4.77	4.27	21.71	7.23	
	N	9	9	9	9	9	9	
40	MEAN	22.7	18.7	15.6	14.7	82.9	94.8	100.0( 9/ 9)
	S. D.	0.50	2.74	4.45	4.24	22.94	6.81	
	N	9	9	9	9	9	9	
200	MEAN	22.5	17.1	15.4	13.0	85.9	80.0	87.5( 7/ 8)
	S. D.	0.76	5.36	5.60	5.95	16.28	20.40	
	N	8	8	8	8	8	8	
1000	MEAN	22.6	17.1	14.8	14.0	83.0	90.3	100.0( 9/ 9)
	S. D.	0.53	3.98	5.02	5.15	22.96	15.72	
	N	9	9	9	9	9	9	

TABLE 17  
 VIABILITY INDICES AND LITTER SIZES - GROUP MEAN VALUES

STUDY NO. 3L321KEO

TEST ARTICLES : DAS

GENERATION : F1

DOSE LEVEL MG/KG	VIABILITY (%)		TOTAL NUMBER OF OFFSPRING AT BIRTH			NUMBER OF LIVE OFFSPRING AT BIRTH			NUMBER OF LIVE OFFSPRING ON DAY 4			
	BIRTH	ON DAY AFTER BIRTH	M	F	TOTAL	M	F	TOTAL	M	F	TOTAL	
	0	4	(M/F)			(M/F)			(M/F)			
0	MEAN	99.1	100.0	6.0	8.2	14.2	5.9	8.2	14.1	5.9	8.2	14.1
	S.D.	2.57	0.00	1.66	2.86	4.27	1.62	2.86	4.31	1.62	2.86	4.31
	N	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
	SEX RATIO			( 54/ 74)			( 53/ 74)			( 53/ 74)		
40	MEAN	100.0	98.6	8.0	6.7	14.7	8.0	6.7	14.7	7.9	6.6	14.4
	S.D.	0.00	2.73	2.78	2.78	4.24	2.78	2.78	4.24	2.85	2.70	4.16
	N	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
	SEX RATIO			( 72/ 60)			( 72/ 60)			( 71/ 59)		
200	MEAN	87.5	100.0	6.8	6.3	13.0	6.8	6.1	12.9	7.7	7.0	14.7
	S.D.	35.36	0.00	3.54	3.45	5.95	3.54	3.68	6.24	2.43	2.94	3.73
	N	8	7	8	8	8	8	8	8	7	7	7
	SEX RATIO			( 54/ 50)			( 54/ 49)			( 54/ 49)		
1000	MEAN	99.4	87.5	7.1	6.9	14.0	7.1	6.8	13.9	7.0	6.6	13.6
	S.D.	1.87	33.07	3.30	3.02	5.15	3.30	2.82	5.06	3.32	3.00	5.32
	N	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
	SEX RATIO			( 64/ 62)			( 64/ 61)			( 63/ 59)		

TABLE 18  
 BODY WEIGHT - GROUP MEAN VALUES

STUDY NO. 3L321KE0

TEST ARTICLES : DAS

GENERATION AND SEX : F1 MALE

UNIT : G

DOSE LEVEL MG/KG		DAYS AFTER BIRTH	
		0	4
0	MEAN	7.0	11.6
	S.D.	0.81	1.90
	N	9	9
40	MEAN	7.1	11.3
	S.D.	0.88	1.65
	N	9	9
200	MEAN	6.5	10.6
	S.D.	0.38	1.20
	N	6	7
1000	MEAN	6.9	10.4
	S.D.	0.52	1.19
	N	8	8

TABLE 18  
 BODY WEIGHT - GROUP MEAN VALUES

STUDY NO. 3L321KE0

TEST ARTICLES : DAS

GENERATION AND SEX : F1 FEMALE

UNIT : G

DOSE LEVEL MG/KG		DAYS AFTER BIRTH	
		0	4
0	MEAN	6.7	11.1
	S.D.	0.78	2.26
	N	9	9
40	MEAN	6.7	10.7
	S.D.	0.74	1.41
	N	9	9
200	MEAN	6.1	9.9
	S.D.	0.51	1.30
	N	6	7
1000	MEAN	6.5	9.8
	S.D.	0.67	1.06
	N	9	8

TABLE 19  
 BODY WEIGHT GAIN - GROUP MEAN VALUES

STUDY NO. 3L321KE0

TEST ARTICLES : DAS

GENERATION AND SEX : F1 MALE

UNIT : G

DOSE LEVEL MG/KG		DAYS AFTER BIRTH
		4
0	MEAN	4.5
	S.D.	1.17
	N	9
40	MEAN	4.2
	S.D.	0.93
	N	9
200	MEAN	4.0
	S.D.	0.99
	N	6
1000	MEAN	3.5
	S.D.	0.84
	N	8

TABLE 19  
 BODY WEIGHT GAIN - GROUP MEAN VALUES

STUDY NO. 3L321KE0

TEST ARTICLES : DAS

GENERATION AND SEX : F1 FEMALE

UNIT : G

DOSE LEVEL MG/KG		DAYS AFTER BIRTH	
		4	
0	MEAN	4.4	
	S.D.	1.50	
	N	9	
40	MEAN	4.0	
	S.D.	0.75	
	N	9	
200	MEAN	3.6	
	S.D.	1.02	
	N	6	
1000	MEAN	3.4	
	S.D.	0.68	
	N	8	

TABLE 20  
 NECROPSY FINDINGS  
 TEST ARTICLE : DAS

STUDY NO. 3L321KE0

		Sex	Male			
Organ	Dose level (mg/kg)	:	0	40	200	1000
Fingings	No. of animals	:	10	10	9	10
Testes						
	Small size, bilateral		0	1	0	1

TABLE 21  
HISTOLOGICAL FINDINGS  
TEST ARTICLE : DAS

STUDY NO. 3L321KEO

		Sex	Male			
Organ	Dose level (mg/kg)	:	0	40	200	1000
Findings	No. of animals	:	10	10	9	10
-----						
Testes						
Atrophy of seminiferous tubules, bilateral			1	0/1#)	*	2

\* : Not examined.

#) : Number of animals with lesion / number of animals examined.