

最終報告書

p-ニトロフェノールナトリウムのラットを用いた
経口投与による簡易生殖毒性試験

(試験番号：B041801)

2007 年 1 月 23 日

株式会社三菱化学安全科学研究所

2. 目次

2. 目次	3
-------------	---

5. 要約	11
6. 緒言	12
7. 材料および方法	13
7.1 被験物質	13
7.1.1 名称	13
7.1.2 CAS 番号	13
7.1.3 物理化学的性状	13
7.1.4 入手先	13
7.1.5 入手日	13
7.1.6 ロット番号	13
7.1.7 純度	13
7.1.8 保存条件	13
7.1.9 保管場所	13
7.1.10 安定性の確認	13
7.1.11 取扱上の注意	14
7.1.12 実験終了後の被験物質の取扱い	14
7.2 媒体	14

7.2.1 名称.....	14
7.2.2 調製方法.....	14
7.2.3 保存条件.....	14
7.2.4 保管場所.....	14
7.2.5 保存期間.....	14
7.3 試験動物.....	15
7.3.1 動物種.....	15
7.3.2 系統.....	15
7.3.3 系統選択理由.....	15
7.3.4 微生物レベル.....	15
7.3.5 購入先.....	15
7.3.6 購入動物数.....	15
7.3.7 検疫・馴化.....	15
7.3.8 投与開始時週齢.....	15
7.3.9 投与開始時体重.....	15
7.3.10 群分け.....	15
7.3.11 動物の識別.....	16
7.3.12 余剰動物の措置.....	16
7.4 動物飼育.....	16
7.4.1 飼育室.....	16
7.4.2 飼育環境.....	16
7.4.2.1 温度.....	16
7.4.2.2 相対湿度.....	16
7.4.2.3 換気.....	16
7.4.2.4 照明時間.....	16
7.4.3 飼育器材.....	16
7.4.3.1 ケージ.....	16
7.4.3.2 トレー.....	17
7.4.3.3 給餌器.....	17
7.4.3.4 給水器.....	17
7.4.3.5 架台.....	17
7.4.4 床敷.....	17
7.4.4.1 種類.....	17
7.4.4.2 汚染物質の確認.....	18
7.4.5 飼料.....	18
7.4.5.1 種類.....	18
7.4.5.2 給餌法.....	18
7.4.5.3 汚染物質の確認.....	18

7.4.6 飲用水.....	18
7.4.6.1 種類.....	18
7.4.6.2 給水法.....	18
7.4.6.3 分析.....	18
7.4.7 収容動物数.....	18
7.5 投与.....	18
7.5.1 経路・方法.....	18
7.5.2 投与方法の選択理由.....	19
7.5.3 回数.....	19
7.5.4 期間.....	19
7.5.5 用量および用量設定理由.....	19
7.5.6 投与液量.....	20
7.6 投与液の調製.....	20
7.6.1 方法・頻度.....	20
7.6.2 安定性および均一性の確認.....	20
7.6.3 濃度および均一性の確認.....	20
7.7 投与液の分析方法.....	20
7.7.1 高速液体クロマトグラフ (HPLC) 操作条件.....	20
7.7.2 内標準溶液の調製.....	21
7.7.3 標準溶液の調製.....	21
7.7.4 試料溶液の調製.....	22
7.7.5 各溶液の HPLC 測定.....	22
7.8 群構成.....	23
7.9 反復投与毒性に関する観察・測定項目.....	23
7.9.1 一般状態の観察.....	23
7.9.2 体重.....	23
7.9.3 摂餌量.....	23
7.9.4 病理学検査.....	24
7.9.4.1 器官重量.....	24
7.9.4.2 病理解剖検査.....	24
7.9.4.3 病理組織学検査.....	24
7.10 生殖発生毒性に関する観察・検査項目.....	24
7.10.1 生殖機能検査.....	24
7.10.1.1 性周期.....	24
7.10.1.2 交配.....	25
7.10.2 分娩および哺育の観察.....	25
7.10.3 哺育終了後の検査.....	25
7.10.4 新生児の観察・検査.....	25

7.10.4.1	新生児の観察.....	25
7.10.4.2	体重.....	26
7.10.4.3	剖検.....	26
7.11	統計学的解析.....	26
7.12	コンピュータシステムの使用.....	27
8.	結果.....	28
8.1	反復投与毒性.....	28
8.1.1	一般状態.....	28
8.1.2	体重.....	28
8.1.3	摂餌量.....	28
8.1.4	器官重量.....	28
8.1.5	剖検所見.....	28
8.1.6	病理組織所見.....	29
8.2	生殖発生毒性.....	29
8.2.1	生殖機能.....	29
8.2.2	分娩および哺育状態.....	29
8.2.3	新生児への影響.....	29
8.2.3.1	新生児の観察.....	29
8.2.3.2	体重.....	29
8.2.3.3	剖検.....	30
9.	考察および結論.....	31
10.	参考文献.....	33

図および群別表（ページ 1 – 50）

5. 要約

p-ニトロフェノールナトリウムを 60, 160 および 400 mg/kg の用量で SD 系ラット〔Crj:CD(SD)IGS〕の雄に交配前 14 日から交配を経て計 42 日間、雌は交配前 14 日から交配、妊娠、分娩を経て哺育 3 日まで経口投与し、生殖発生毒性について検討した。1 群の動物数は雌雄各 12 匹とし、対照群には媒体（0.5w/v%カルメロースナトリウム水溶液）のみを投与した。

一般毒性学的変化として、400 mg/kg 群で投与第 28 日に雄 1 例、投与第 14 日および妊娠 22 日（分娩途中）に雌各 1 例が死亡した。雄は投与直後から自発運動低下および呼吸不整を示し、雌は明確な症状を示すことなく、いずれも投与後 1 時間以内に死亡した。生存動物の一般状態では自発運動低下および流涎が観察されたが、いずれも一過性の変化であった。体重、摂餌量、器官重量、剖検および病理組織学検査では被験物質に起因する変化は雌雄とも認められなかった。

親動物の生殖機能への影響としては、平均性周期日数、異常性周期動物の発現率、交尾率、交尾所要日数、交尾成立までに逸した発情期の回数、受胎率、分娩率、妊娠期間、黄体数、着床数、着床率および出産率のいずれにも被験物質に起因する変化は認められなかった。また、分娩および哺育異常は認められなかった。新生児に及ぼす影響としては、出産児数、出産生児数、性比、出生率および新生児の 4 日生存率、外表検査、一般状態、体重および剖検のいずれにも被験物質に起因する変化は認められなかった。

以上のように、一般毒性に関しては 400 mg/kg で雌雄とも死亡がみられたが、体重、摂餌量、器官重量、剖検および生殖器の病理組織検査では被験物質に起因する変化は認められなかった。生殖発生毒性に関しては、雌雄の親動物とも生殖機能への影響はみられず、新生児に対しても被験物質に起因すると考えられる変化は認められなかった。したがって、本試験条件下における雌雄の一般毒性学的無影響量は 160 mg/kg/day、雌雄親動物の生殖機能に対する無影響量ならびに新生児に対する無影響量はいずれも 400 mg/kg/day と考えられる。

6. 緒言

p-ニトロフェノールナトリウムは農薬パラチオンの原料として大量に生産されていたが、同農薬の製造中止により生産量は減少した。現在では医農薬の原料、染料として用いられている[1]。被験物質が属する芳香族ニトロ化合物のうち、ニトロベンゼンおよび1,3-ジニトロベンゼンは精巣毒性を有することが知られている[2]が、*p*-ニトロフェノールナトリウムに関する精巣毒性の情報は無い。毒性情報として、単回経口投与毒性試験[3]ではLD₅₀値が雄で550 mg/kg、雌で467 mg/kgとの報告がある。また、28日間反復経口投与毒性試験[4]では、1000 mg/kgの雌雄で死亡が各12例中10例、雄の腎臓で尿細管上皮の好酸性小体の出現が400および1000 mg/kgで増強され、無影響量（NOEL）は雄で160 mg/kg/day、雌で400 mg/kg/dayと報告されている。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、ラットを用いて簡易生殖毒性試験を実施し、生殖発生に及ぼす影響について検討したので報告する。

7. 材料および方法

7.1 被験物質

7.1.1 名称

p-ニトロフェノールナトリウム（略称；PNPS）

英名称は次の3つを併記する（いずれも同一物質である）。

①Phenol, *p*-nitro-, sodium salt ②*p*-Nitrophenol sodium salt ③Sodium 4-nitrophenoxide

7.1.2 CAS 番号

824-78-2

7.1.3 物理化学的性状

物理的および化学的性状の情報なし。外観は湿った感じの黄色結晶である。自己反応物質であり、衝撃、摩擦、加熱などにより、多量に発熱または爆発的に分解する危険性がある。

7.1.4 入手先

7.1.5 入手日

2005年2月18日

7.1.6 ロット番号

7.1.7 純度

99.7 %

7.1.8 保存条件

冷蔵（温度実測値 2.8～8.4℃，許容範囲 1～10℃），暗所，密栓

7.1.9 保管場所

被験物質保管場所（42）

7.1.10 安定性の確認

当研究所において、投与開始前と投与終了後に赤外吸収スペクトル法（IR 法）で赤外吸収スペクトルを測定し、試験に使用した被験物質の特性に変化がないこと

を確認した（添付資料 12.1, 12.2）。

測定機器：島津フーリエ変換赤外分光光度計（FTIR-8300, 株式会社島津製作所）

方法：

- (1) KBr 粒状結晶をメノウ乳鉢で粉末にした。
- (2) KBr 粉末をミニハンドプレスにて加圧し、錠剤を作製した。
- (3) KBr 粉末約 1 g と被験物質 約 5 mg を秤量した。
- (4) (3) で秤量した KBr 粉末と被験物質をメノウ乳鉢にて混合させた。
- (5) (4) の混合物をミニハンドプレスにて加圧し、錠剤を作製した。
- (6) 分光光度計にセットし、IR スペクトルを測定した。

7.1.11 取扱上の注意

保護具（ゴム手袋、マスク、眼鏡）を着用した。

7.1.12 実験終了後の被験物質の取扱い

被験物質は投与終了後の安定性の確認後、保存用サンプルを分取し、試験終了までに廃棄した。

7.2 媒体

7.2.1 名称

0.5 w/v%カルメロースナトリウム水溶液

7.2.2 調製方法

所定量のカルメロースナトリウム（丸石製薬株式会社, ロット番号 4Y01）を秤量し、調製量より少ない精製水（純水製造装置 MILLIPORE Elix-5 を用いて精製した水）に少量加えながらスターラーを用いて攪拌し、溶解させた。溶解したことを確認した後、所定の濃度になるようにメスシリンダーを用いてメスアップした。

7.2.3 保存条件

冷蔵（温度実測値 2.8～8.4℃，許容範囲 1～10℃）

7.2.4 保管場所

被験物質保管場所（42）

7.2.5 保存期間

投与液と同様の保存期間とした。

7.3 試験動物

7.3.1 動物種

ラット

7.3.2 系統

Crj:CD(SD)IGS

7.3.3 系統選択理由

げっ歯類を用いた毒性試験に広く使用され、背景データが豊富であり、多数の個体の入手が可能である。

7.3.4 微生物レベル

SPF

7.3.5 購入先

日本チャールス・リバー株式会社（厚木生産所）

7.3.6 購入動物数

雌雄各 55 匹

7.3.7 検疫・馴化

検疫期間には一般状態を 5 日間 1 日 1 回観察し、健康状態が良好であることを確認した。また、動物入荷日および検疫終了日に体重を測定し、体重増加が認められることを確認した。検疫終了後も馴化を継続し、投与開始日まで一般状態を毎日観察した。さらに雌については、検疫終了日から性周期を 8 日間毎日観察した。その結果、雌雄全例に体重増加および一般状態に異常は認められなかった。なお、雌の性周期検査において、ほとんどの動物が 4 日周期を示したが、2 例（検疫馴化動物番号 59037, 59049）は 5 日周期を示した。

7.3.8 投与開始時週齢

9 週齢

7.3.9 投与開始時体重

動物の体重範囲は平均体重 $\pm$ 20%であることを確認した。

雄；328～380 g, 雌；194～247 g

7.3.10 群分け

投与開始前日に体重層別無作為抽出法により、各群の平均体重がほぼ均一になる

ように群分けし、雌雄各 48 匹を使用した。なお、雌の性周期検査において、5 日周期で回帰している動物 2 例を群分けから除外した。

7.3.11 動物の識別

群分け前は尾に油性ペンで標識して個体識別し、ケージには試験番号、性別、検疫・馴化中の動物番号、動物種、系統およびケージ番号を記載したラベルを付けた。群分け後は耳パンチ法により個体識別し、ケージには試験番号、動物番号、性別、群名（用量）、動物種、系統、交配番号、分娩番号およびケージ番号を記載したラベルを付けた。新生児については、生後 0 日は個体識別を行わず、生後 4 日は体重測定を行った順に通し番号（1 腹当たり 1 番から全新生児数）を油性ペンで標識し個体識別した。

7.3.12 余剰動物の措置

群分け後の余剰動物は雌雄とも投与開始日に試験系から除外した。

7.4 動物飼育

7.4.1 飼育室

ラット・マウス飼育室（検疫室 2113 室、検疫終了後 2115 室）

7.4.2 飼育環境

7.4.2.1 温度

20.7～23.5℃（許容範囲 19.0～25.0℃）

7.4.2.2 相対湿度

47.3～71.5%（許容範囲 35.0～75.0%）

7.4.2.3 換気

6～12 回／時、オールフレッシュエアー供給

7.4.2.4 照明時間

12 時間／日（7:00～19:00）

7.4.3 飼育器材

7.4.3.1 ケージ

(1) 雄の全期間と雌の妊娠・哺育期間を除く期間

オートクレーブ滅菌したステンレス製つり下げ型金網製ケージ（195W×325D×180H mm、トキワ科学器械株式会社）を使用し、2 週間に 1 回以上の頻度で交換した。

(2) 妊娠・哺育期間

オートクレーブ滅菌したポリカーボネート製ケージ(265W×426D×200H mm, トキワ科学器械株式会社)を使用し, 1週間に1回以上の頻度で交換した.

7.4.3.2 トレー

交配期間はオートクレーブ滅菌したアルミニウム製トレー(トキワ科学器械株式会社)のみを使用し, 毎日交換した. その他のステンレス製つり下げ型金網製ケージの使用期間は, オートクレーブ滅菌した実験動物用床敷(ベータチップ, 日本チャールス・リバー株式会社)を敷いたトレーを使用し, 検疫終了時, 群分け時, 投与第7日およびその後は1週間に1回以上の頻度で交換した.

7.4.3.3 給餌器

オートクレーブ滅菌した固型用ステンレス製給餌器(トキワ科学器械株式会社)を使用し, 検疫終了時, 群分け時, 投与第7日およびその後は1週間に1回以上の頻度で交換した.

7.4.3.4 給水器

(1) 雄の全期間と雌の妊娠・哺育期間を除く期間

オートクレーブ滅菌したポリカーボネート製給水瓶(200 mL, トキワ科学器械株式会社)を使用し, 検疫終了時, 群分け時, 投与第7日およびその後は1週間に1回以上の頻度で交換した.

(2) 妊娠・哺育期間

オートクレーブ滅菌したポリカーボネート製給水瓶(700 mL, トキワ科学器械株式会社)を使用し, 1週間に1回以上の頻度で交換した.

7.4.3.5 架台

(1) 雄の全期間と雌の妊娠・哺育期間を除く期間

オートクレーブ滅菌したステンレス製架台(トキワ科学器械株式会社)を使用し, 2週間に1回以上の頻度で交換した.

(2) 妊娠・哺育期間

ベンザルコニウム系特殊洗浄剤(マイクロカット, エコラボ株式会社)の希釈液で消毒したスチール製架台(トキワ科学器械株式会社)を使用した.

7.4.4 床敷

7.4.4.1 種類

妊娠・哺育期間のケージにはオートクレーブ滅菌した実験動物用床敷(ベータチップ, 日本チャールス・リバー株式会社)を使用し, 1週間に1回以上の頻度で交換した.

7.4.4.2 汚染物質の確認

財団法人日本食品分析センターで実施した分析結果を供給者から定期的に入手し、残留農薬等の汚染物質濃度が、当研究所の標準操作手順書の基準に適合していることを確認した。

7.4.5 飼料

7.4.5.1 種類

放射線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株式会社）

7.4.5.2 給餌法

自由摂取とした。飼料は給餌器交換時に交換した。

7.4.5.3 汚染物質の確認

財団法人日本食品分析センターで実施した分析結果を供給者から入手し、使用したロット（ロット番号 050112, 050307）の残留農薬等の汚染物質濃度が、当研究所の標準操作手順書の基準に適合していることを確認した。

7.4.6 飲用水

7.4.6.1 種類

5 μm フィルター濾過後、紫外線照射した水道水

7.4.6.2 給水法

自由摂取とした。

7.4.6.3 分析

株式会社ダイヤ分析センターで水質検査を定期的の実施し、得られた分析値が当研究所の標準操作手順書の基準に適合することを確認した。

7.4.7 収容動物数

1 ケージあたり交配期間は雌雄各 1 匹、哺育期間は 1 腹、検疫・馴化期間を含むその他の期間は 1 匹とした。

7.5 投与

7.5.1 経路・方法

経口（強制経口投与）

ラット用胃ゾンデを装着したディスポーザブル注射筒を用いて投与した。

7.5.2 投与方法の選択理由

OECD ガイドラインで規定されている。

7.5.3 回数

1 日 1 回, 8:10~11:28 の間に投与した。

7.5.4 期間

(1) 雄

交配前 14 日間および交配期間を経て剖検前日までの計 42 日間とした。

(2) 妊娠・哺育動物

交配前 14 日間, 交配期間, 妊娠期間および分娩を経て哺育 3 日 (分娩日を哺育 0 日とした) までとした。

7.5.5 用量および用量設定理由

60, 160 および 400 mg/kg の 3 用量を設定した。

既存化学物質点検事業として, 株式会社ボゾリサーチセンターにおいて *p*-ニトロフェノールナトリウムのラットを用いた毒性試験が以下の通り実施されている。

①単回経口投与毒性試験 (用量: 125, 250, 500, 1000 mg/kg, 1 群雌雄各 5 例) [3]
②28 日間反復投与毒性試験 (用量: 60, 160, 400, 1000 mg/kg, 1 群雌雄各 6~12 例) [4]いずれも化学物質毒性試験報告 (Vol. 8) に掲載されており, これらの結果を参考に用量を設定した。

①試験では, 死亡が 1000 mg/kg 群で雄 4/5 例と雌全例, 500 mg/kg 群で雌雄各 3/5 例に認められ, LD₅₀ 値は雄で 550 mg/kg, 雌で 467 mg/kg であった。②試験では, 死亡が 1000 mg/kg 群の雌雄各 10/12 例にみられ, 雄 7 例と雌 6 例は投与開始日に死亡した。被験物質に起因する変化として, 雄の腎臓で尿細管上皮の好酸性小体の出現が 400 mg/kg 群で増強され, 尿 pH の低下が同群の雄で認められた。400 mg/kg 群の雌では何ら変化は認められず, NOEL は雄で 160 mg/kg/day, 雌で 400 mg/kg/day であった。

本試験 (簡易生殖毒性試験) は生殖発生毒性に関する初期の知見を収集することを目的とし, 高用量には死亡が認められない用量を設定すべきと考えられる。これらのことから本試験の高用量には, 28 日間反復投与毒性試験でほとんどの動物が死亡した 1000 mg/kg の次の用量である 400 mg/kg とし, 以下公比約 2.5 で減じ中用量は 160 mg/kg, 低用量は 60 mg/kg の 3 用量を設定する。また, 媒体 (0.5 w/v% カルメ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。

7.5.6 投与液量

10 mL/kg とし、至近日に測定した体重に基づいて算出した。

7.6 投与液の調製

7.6.1 方法・頻度

被験物質を用量毎に所定量秤量し、各用量とも媒体 (0.5 w/v% カルメロースナトリウム水溶液) を少量加えながら乳鉢と乳棒で十分に懸濁した。乳鉢と乳棒を媒体で共洗いしながら全量をメートルグラスに移した後メスアップし、6, 16 および 40 mg/mL の濃度に調製した。投与液は十分に攪拌した後、投与瓶 (褐色) に分注し、投与に供するまで 8 日間を限度に冷蔵 (実測値: 2.8~8.4℃, 許容範囲: 1~10℃) ・暗所で保存した。調製頻度は 3~7 日間に 1 回とし、イエローランプ照明下の調剤室にて実施した。

7.6.2 安定性および均一性の確認

投与液中の安定性および均一性は、株式会社ボゾリサーチセンターで実施された「HPLC による *p*-ニトロフェノールナトリウムの被験液中安定性試験 (A-1108)」において、冷蔵保存条件下で 8 日後室温 24 時間の安定性が、1 および 100 mg/mL の濃度で HPLC 法により確認されている (別ロットの被験物質, 添付資料 12.3)。

7.6.3 濃度および均一性の確認

初回調製および最終調製時の投与液を用量毎に HPLC 法により分析し、各濃度の平均値が設定濃度 $\pm 10\%$ 以内であることを確認した。また、初回調製時には投与液の上層、中層および下層の 3 点からサンプリング後に分析し、C.V. 値が 10% 以内であることを確認した。その結果、各投与液の対設定濃度は 95.8~102.2%, 初回調製時の C.V. 値は 0.4~0.6% で、いずれも基準を満たす値であった (添付資料 12.4, 12.5)。

7.7 投与液の分析方法

被験物質溶液の分析は、株式会社ボゾリサーチセンターで実施された分析方法を確認し、当研究所において分析バリデーション (試験番号: B050281, 表題: Validation of the Analytical Method for PNPS Concentration in Preparation) を行った方法に従って実施した。分析方法を以下に示す。

7.7.1 高速液体クロマトグラフ (HPLC) 操作条件

HPLC システム: 2695 Separations Module, Waters Corporation

検出器: 2487 Dual λ Absorbance Detector, Waters Corporation

カラム: Inertsil ODS-3V, 4.6 mm I.D. $\times$ 150 mm, GL Sciences Inc.

カラム温度: 30℃

移動相 : メタノール／水／トリフルオロ酢酸 (TFA) (50:50:0.1, v/v/v)
 流速 : 1.0 mL/min
 検出波長 : UV 225 nm
 注入量 : 10 μ L
 オートインジェクタ温度 : 室温
 オートインジェクタ洗浄液 : メタノール／水 (80:20, v/v)

7.7.2 内標準溶液の調製

下表に従い内標準溶液 (IS) を調製した。

溶液略号	調製方法	濃度 (μ g/mL)
IS	<i>p</i> -ヒドロキシ安息香酸エチル, ca. 20 mg → 25 mL/ メタノール*	800

* 超音波処理により溶解させた。

7.7.3 標準溶液の調製

下表に従い標準溶液を調製した。

溶液略号	調製方法	濃度 (μ g/mL)
SS-1	被験物質, ca. 50 mg → 25 mL/ メタノール	2000
SS-2	SS-1, 2.5 mL → 25 mL/ 希釈液	200
ST-1	SS-2, 1 mL + IS, 1 mL → 20 mL/ 希釈液	10
ST-2	SS-2, 2 mL + IS, 1 mL → 20 mL/ 希釈液	20
ST-3	SS-2, 4 mL + IS, 1 mL → 20 mL/ 希釈液	40

希釈液 : メタノール／水 (50:50, v/v)

7.7.4 試料溶液の調製

下表に従い試料溶液を調製した。

投与液 (mg/mL)	調製方法	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)
6	投与液, 1 mL + 水, 1 mL	30
	→ 20 mL/ メタノール* (A 液)	
	A 液, 2 mL + IS, 1 mL	
	→ 20 mL/ 希釈液	
16	投与液, 1 mL + 水, 1 mL	32
	→ 25 mL/ メタノール* (B 液)	
	B 液, 1 mL + IS, 1 mL	
	→ 20 mL/ 希釈液	
40	投与液, 1 mL + 水, 1 mL	20
	→ 100 mL/ メタノール* (C 液)	
	C 液, 1 mL + IS, 1 mL	
	→ 20 mL/ 希釈液	

* 超音波処理により溶解させた。

希釈液：メタノール／水 (50:50, v/v)

7.7.5 各溶液の HPLC 測定

標準溶液 (ST-1～ST-3) およびフィルター (Millex-LH 0.45 μm , Millipore Corporation) ろ過した試料溶液を条件設定した HPLC に注入して、クロマトグラム上の PNPS および内標準物質のピーク面積を測定し、そのピーク面積比 (PNPS／内標準物質) を算出した。測定した標準溶液の濃度およびそのピーク面積比から検量線の一次式を求めた。検量線の一次式および試料溶液測定から得られたピーク面積比から試料溶液中の PNPS の濃度を求め、試料溶液の希釈倍率から投与液中の PNPS の濃度を算出した。

7.8 群構成

群 名	濃度 (mg/mL)	動物数および動物番号	
		雄	雌
対照	0	12 ¹⁾	12
		(00101-00112) ²⁾	(50101-50112)
60 mg/kg	6	12	12
		(00201-00212)	(50201-50212)
160 mg/kg	16	12	12
		(00301-00312)	(50301-50312)
400 mg/kg	40	12	12
		(00401-00412)	(50401-50412)

1), 動物数 ; 2), 動物番号

7.9 反復投与毒性に関する観察・測定項目

以下に示す項目を観察・測定した。なお、日と週の表記は投与開始日を第 0 日、第 0 日～6 日を第 1 週とした。雌の交尾確認日を妊娠 0 日、分娩完了日を哺育 0 日とした。

7.9.1 一般状態の観察

投与期間は 1 日 2 回（投与前、投与後），その他の期間は 1 日 1 回午前中に観察した。

7.9.2 体重

雄は第 0, 7, 14, 21, 28, 35 および 42 日に測定した。雌は第 0, 7 および 14 日、交尾した雌は妊娠 0, 7, 14 および 20 日、分娩した雌は哺育 0 および 4 日に測定した。交尾しなかった雌は雄と同頻度で測定した。測定には動物用天秤 (BX3200H, UX4200H: 株式会社島津製作所) を用いた。体重増加量を雄では交配前は第 0 日、交配後は第 21 日の体重を基準に、雌は交配前、妊娠および哺育期間をそれぞれ第 0 日、妊娠 0 日および哺育 0 日の体重を基準に算出した。

死亡動物は発見時に測定したが、体重測定日あるいは分娩途中の死亡であることから帳票には反映しなかった。

7.9.3 摂餌量

雄は第 0～7, 7～14, 21～28, 28～35 および 35～42 日に測定した。雌は第 0～7 および 7～14 日、交尾した雌は妊娠 0～7, 7～14 および 14～20 日、分娩した雌は哺育 0～4 日に測定した。ただし、交配期間中で同居している間は測定しなかった。測定には体重測定と同じ動物用天秤を用いた。いずれもケージ毎の風袋込み重量を測定し、各測定日間の 1 匹あたりの 1 日平均摂餌量を算出した。

なお、死亡した 400 mg/kg 群の雌 1 例（動物番号 50403）は死亡当日が摂餌量測定であった。しかし、投与後の死亡であったにも係わらず、システム入力への失念によりデータを得ることができなかった。

7.9.4 病理学検査

7.9.4.1 器官重量

計画解剖動物の下記の器官重量を測定（両側をまとめて測定）した。測定には天秤（ED-H60：株式会社島津製作所）を用いた。また、最終体重に基づいて相対重量（対体重比）を算出した。

精巣、精巣上部

7.9.4.2 病理解剖検査

雄は第 42 日、分娩した雌は哺育 4 日にペントバルビタールナトリウム（ネンブタール注射液、大日本製薬株式会社）の腹腔内投与で麻酔し、腹大動脈から放血、安楽死させた後に剖検した。死亡動物は速やかに剖検した。

7.9.4.3 病理組織学検査

全動物の下記の器官・組織を採取し、10v/v%中性リン酸緩衝ホルマリン液で固定し、保存した。ただし、死亡動物以外の精巣および精巣上部はブアン液で固定後、10v/v%中性リン酸緩衝ホルマリン液に保存した。

精巣、精巣上部、前立腺腹葉、精嚢（凝固腺含む）、卵巢、肉眼的異常部位

対照群と 400 mg/kg 群の全例について精巣、精巣上部および卵巢、全動物の肉眼的異常部位について常法に従ってヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製し、鏡検した。

投与期間中に 400 mg/kg 群の雄 1 例、雌 2 例が死亡したため、上述の器官・組織の他、心臓、腎臓（両側）、肝臓、脾臓、肺、胃および腸管（十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸）を採取し、10v/v%中性リン酸緩衝ホルマリン液で固定し、保存した。さらに、死因を特定するため心臓、腎臓（両側）、肝臓、脾臓、肺を同様に鏡検した。

7.10 生殖発生毒性に関する観察・検査項目

7.10.1 生殖機能検査

7.10.1.1 性周期

各群の雌について投与開始日から交配開始日までの午前中に膣垢を採取して性周期を検査し、平均性周期日数および異常性周期動物（性周期が 4～6 日周期でない動物）の発現率を算出した。

7.10.1.2 交配

各群について雄 1 雌 1 の交配対を設け、第 14 日（交配開始日）の夕方から最長 12 日間昼夜同居させた。交配開始日の翌日から雌の膣垢を毎日午前中に採取し、膣栓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。なお、400 mg/kg 群の雌 1 例（動物番号 50403）が第 14 日の投与後に死亡したため、相手雄の交配は行わなかった。

これらの結果から次の項目を算出した。

- (1) 交尾所要日数：交配開始後、交尾成立までに要した日数
- (2) 交尾成立までに逸した発情期の回数
- (3) 交尾率（%）： $(\text{交尾動物数} / \text{同居動物数}) \times 100$
- (4) 受胎率（%）： $(\text{受胎動物数} / \text{交尾動物数}) \times 100$

7.10.2 分娩および哺育の観察

雌は全例を自然分娩させた。分娩の観察は妊娠 21 日から 23 日まで 1 日 2 回（午前 9 時、午後 4 時）行った。午前 9 時の時点で分娩が完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（午後 4 時分娩完了の動物は翌日を哺育 0 日とした）。分娩した動物（母動物）は新生児を生後 4 日（哺育 4 日）まで哺育させ、授乳、営巣、食殺の有無の哺育状態を毎日観察した。

7.10.3 哺育終了後の検査

母動物は剖検時に卵巣および子宮を摘出して黄体数および着床数を検査した。これらの結果から次の項目を算出した。

- (1) 妊娠期間：妊娠 0 日から分娩完了日までの期間
- (2) 出産率（%）： $(\text{生児出産雌数} / \text{受胎雌数}) \times 100$
- (3) 着床率（%）： $(\text{着床数} / \text{黄体数}) \times 100$
- (4) 分娩率（%）： $(\text{総出産児数} / \text{着床数}) \times 100$

7.10.4 新生児の観察・検査

7.10.4.1 新生児の観察

哺育 0 日に出産児数（出產生児数、死産児数）、性別および外表異常の有無を検査した。その後は一般状態、死亡の有無を毎日観察した。これらの結果から次の項目を算出した。

- (1) 出生率（%）： $(\text{出產生児数} / \text{総出産児数}) \times 100$
- (2) 新生児の 4 日生存率（%）： $(\text{哺育 4 日生児数} / \text{出產生児数}) \times 100$

7.10.4.2 体重

生後 0 および 4 日に全生存児を個体毎に測定した。測定には動物用天秤 (UX4200H: 株式会社島津製作所) を用いた。また、生後 0 日および 4 日の体重より同腹児単位で腹平均を算出し、増加量を求めた。

7.10.4.3 剖検

生後 4 日に全生存児の口腔を含む外表を検査し、親動物と同様に安楽死させた後、剖検した。死亡児および妊娠期間中に死亡した母動物の子宮内胎児については、10v/v% 中性リン酸緩衝ホルマリン液に浸漬、固定した後、剖検した。

7.11 統計学的解析

新生児に関するデータは、母動物毎に算出した数値を標本単位とした。

計量データは、多重比較検定法で統計学的有意性を解析した。すなわち Bartlett 法による等分散性の検定を行い、分散が等しい場合は一元配置分散分析、分散が等しくない場合は Kruskal-Wallis の検定を行った。群間に有意差が認められた場合は Dunnett 法または Dunnett 型の多重比較を行った。一部の項目は Kruskal-Wallis の検定から行い、群間に有意差が認められた場合は Dunnett 型の多重比較を行った。病理組織学検査における計数データは Wilcoxon の順位和検定で対照群との 2 群間比較を行った。その他の計数データは Fisher の直接確率法により検定した。各検定の有意水準は 5% とした。

検定は安全性試験システム (MiTOX, 三井造船システム技研株式会社) を用いて実施した。統計学的解析の対象項目は下記の通りである。一般状態および病理解剖検査については、統計学的解析を実施しなかった。

多重比較検定:

体重、体重増加量、摂餌量、器官重量、黄体数、着床数、出産児数 (出産生児数、死産児数)

Kruskal-Wallis と Dunnett 型の多重比較:

交尾所要日数、交尾成立までに逸した発情期の回数、平均性周期日数、妊娠期間、着床率、分娩率、出生率、外表異常の発現率、新生児の 4 日生存率

Wilcoxon の順位和検定:

病理組織学検査

Fisher の直接確率法:

異常性周期動物の発現率、交尾率、受胎率、出産率、性比 (雄/雌)、外表異常児を有する母動物の発現率

7.12 コンピュータシステムの使用

以下に示すデータの収集，算出および集計には安全性試験システム（MiTOX，三井造船システム技研株式会社）を使用した．当該システムのコンピュータプロトコールにはデータ収集範囲，データ収集の日程等を登録した．コンピュータシステムのプロトコール番号として B041801_（アンダーバーは空白）を用いた．

データ収集および算出：

体重，摂餌量，群分け，投与液量算出，器官重量，病理組織学検査，性周期，交配成績，分娩成績

データ集計：

一般状態，病理解剖検査

8. 結果

8.1 反復投与毒性

8.1.1 一般状態 (Tables 1-5, Appendices 1-5)

投与期間中、死亡が400 mg/kg 群の雄1例 (動物番号 00406) , 雌2例 (動物番号 50403, 50405) に認められた。雄1例では投与第28日の投与後に自発運動低下および呼吸不整を示し約20分後に死亡した。雌では自発運動低下が死亡前に1例にみられただけで、明確な一般状態の悪化を示さないまま、投与第14日および妊娠22日 (分娩途中) の投与後1時間以内に死亡した。

生存動物の症状として、400 mg/kg 群で自発運動低下が雌雄各2例、流涎が雄1例で認められたが、いずれも一過性の変化で継続するものではなかった。着色尿 (黄色) が各被験物質投与群の雌雄全例で認められ、投与後の観察においてその発症例が多かった。なお、発症例数および頻度では用量との間に明確な差は認められなかった。

その他、被験物質と関連のない変化として、痂皮形成が160 mg/kg 群の雄1例に認められた。

8.1.2 体重 (Fig.1, 2, Tables 6-13, Appendices 6-13)

投与期間を通し各被験物質投与群の雌雄とも、対照群との間に有意な差は認められなかった。

8.1.3 摂餌量 (Fig.3, 4, Tables 14-17, Appendices 14-17)

投与期間を通し各被験物質投与群の雌雄とも、対照群との間に有意な差は認められなかった。

8.1.4 器官重量 (Tables 18, 19, Appendices 18, 19)

各被験物質投与群とも精巣および精巣上体重量に変化は認められなかった。

8.1.5 剖検所見 (Table 20, Appendices 20, 21)

生存動物の剖検では、肝臓の赤色斑あるいは白色斑が160 mg/kg 群の雌雄各1例、腎盂拡張が対照群の雌1例に認められただけであった。なお、雌雄の生殖器に変化は認められなかった。

死亡動物の剖検では、いずれの動物においても肉眼的な異常は認められなかった。400 mg/kg 群の雌1例 (動物番号 50405) では、母体外に娩出された児が1例、腔内に残存する胎児が1例、子宮内に残存する胎児が14例認められた。いずれの胎児においても肉眼的な異常は認められなかった。

8.1.6 病理組織所見 (Table 21, Appendices 20, 21)

生存動物の病理組織学検査では、生殖器に対する変化として、精巣あるいは精巣上体に限局性の間質へのリンパ球浸潤が対照群の1例、400 mg/kg 群の2例、精巣の限局性精上皮変性が400 mg/kg 群の1例に認められ、いずれも片側性の変化であった。これらの雄動物は交尾能および相手雌の受胎に影響は認められなかった。なお、400 mg/kg 群の1例（動物番号 00403）は、相手雌（動物番号 50403）が投与第14日に死亡したことから、交尾能について検査できなかった。その他、剖検でみられた肝臓の白色斑は組織学的に限局性の肝細胞壊死、赤色斑は変化がなく、腎盂拡張がみられた動物では限局性の好塩基性近位尿細管および腎盂拡張が認められた。

死亡動物の病理組織学検査では、雄では限局性の近位尿細管硝子円柱、雌では限局性の好塩基性近位尿細管が認められた。また雌では脾臓の赤血球系髄外造血がみられたが、いずれも死因を特定するような異常所見は認められなかった。なお、雌雄とも生殖器に変化は認められなかった。

8.2 生殖発生毒性

8.2.1 生殖機能 (Table 22, Appendices 22, 23)

性周期検査では、60 mg/kg 群の1例（動物番号 50209）を除きすべての動物が4日周期で回帰した。上述の1例は発情休止期の連続を示した。交配の結果、交配対全例が交尾し、交尾率、交尾所要日数、交尾成立までに逸した発情期の回数、ならびに受胎率のいずれにも被験物質投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。

8.2.2 分娩および哺育状態 (Table 23, Appendices 24)

妊娠期間、黄体数、着床数、着床率、出産率および分娩率のいずれにも被験物質投与群と対照群との間に有意な差は認められなかった。さらに、分娩および哺育状態の観察では各群いずれにも異常は認められなかった。

8.2.3 新生児への影響

8.2.3.1 新生児の観察 (Tables 24, 25, 28 Appendices 25, 26, 29)

出産児数、出產生児数、性比、出生率および新生児の4日生存率のいずれにも被験物質投与群と対照群との間に有意な差は認められなかった。さらに、新生児の一般状態および外表検査では各群いずれにも異常は認められなかった。

8.2.3.2 体重 (Tables 26, 27, Appendices 27, 28, 31)

雌雄とも被験物質投与群と対照群との間に有意な差は認められなかった。

8.2.3.3 剖検 (Table 29, Appendix 30)

生後 4 日の生存児の剖検では異常所見は認められなかった。死亡児の剖検では、左側腎臓および副腎の無形性が対照群の 1 例に認められただけであった。

9. 考察および結論

p-ニトロフェノールナトリウムを 60, 160 および 400 mg/kg の用量で SD 系ラット〔Crj:CD(SD)IGS〕の雄に交配前 14 日から交配を経て計 42 日間、雌は交配前 14 日から交配、妊娠、分娩を経て哺育 3 日まで経口投与し、生殖発生毒性について検討した。

一般毒性学的変化としては、400 mg/kg 群で投与第 28 日に雄 1 例、投与第 14 日および妊娠 22 日（分娩途中）に雌各 1 例が死亡した。雄は投与直後から自発運動低下および呼吸不整を示し、雌は明確な症状を示すことなくいずれも投与後 1 時間以内に死亡した。病理学検査の結果、剖検および病理組織学検査とも被験物質に起因すると考えられる変化、ならびに死因に繋がるような変化は認められなかった。同被験物質の 28 日間反復経口投与毒性試験（用量：60, 160, 400, 1000 mg/kg）[4]では、死亡が 1000 mg/kg 群の雌雄とも 12 例中 10 例にみられ、投与開始直後に死亡した動物の症状は自発運動の減少、呼吸数の減少や強直性痙攣を、投与 6～14 日で死亡した動物は何ら症状を示すことなく死亡している。これら死亡動物の剖検および病理組織学検査の結果、被験物質投与に起因する変化は認められておらず、その症状から中枢神経系への影響によるものと考察している。一方、同試験の 400 mg/kg では雌雄とも死亡は認められていない。また、同被験物質の単回投与毒性試験[3]（用量：125, 250, 500, 1000 mg/kg）では、雌雄とも 500 mg/kg で 5 例中 3 例の死亡が認められている。このことから、本試験と 28 日間反復投与毒性試験とでは投与開始時週齢および死亡用量が異なるものの、400 mg/kg は反復投与により死亡する可能性のある用量と考えられること、反復投与による死亡状況が類似していることから、同様の作用により死亡した可能性が高いと推察される。なお、分娩途中で死亡した雌 1 例は分娩時の影響も加わったものと考えられる。

生存動物の一般状態観察では、400 mg/kg の雌雄で自発運動低下、雄で流涎がみられたが、いずれも一過性の変化であった。着色尿（黄色）が各被験物質投与群の雌雄全例に認められたが、被験物質が黄色結晶であることから、被験物質の色調に由来するものと考えられ毒性変化とはみなさなかった。なお、28 日間反復投与毒性試験[4]でも着色尿（黄色）が被験物質投与群の雌雄全例で認められている。体重、摂餌量、器官重量および剖検では被験物質に起因する変化は雌雄とも認められなかった。病理組織学検査では、雄の生殖器に変化がみられたが対照群と 400 mg/kg 群の発現状況に差がないことから、被験物質とは関連のない変化と判断した。

親動物の生殖機能への影響としては、平均性周期日数、異常性周期動物の発現率、

交尾率，交尾所要日数，交尾成立までに逸した発情期の回数，受胎率，分娩率，妊娠期間，黄体数，着床数，着床率および出産率のいずれにも被験物質に起因する変化は認められなかった．新生児に及ぼす影響としては，出産児数，出生児数，性比，出生率および新生児の4日生存率，一般状態，外表検査，体重および剖検のいずれにも被験物質に起因する変化は認められなかった．

被験物質が属する芳香族ニトロ化合物のうち，ニトロベンゼンおよび1,3-ジニトロベンゼンは精巣毒性を有することが知られている．すなわち，精巣および副睾丸重量の低下，精細管の萎縮，精母細胞の変性，巨大合胞体細胞が認められ，生殖能の低下が報告されている[2]．しかし，本試験の結果，被験物質が起因すると考えられる精巣の病理組織変化はなく，受胎率の低下など生殖機能に影響を及ぼすような変化が認められなかった．これらのことから，*p*-ニトロフェノールナトリウムは精巣毒性物質ではないと判断された．

以上のように，一般毒性に関しては400 mg/kgで雌雄とも死亡がみられたが，体重，摂餌量，器官重量，剖検および生殖器の病理組織学検査でも被験物質に起因する変化は認められなかった．生殖発生毒性に関しては，雌雄の親動物とも生殖機能への影響はみられず，新生児に対しても被験物質に起因すると考えられる変化は認められなかった．したがって，本試験条件下における雌雄の一般毒性学的無影響量は160 mg/kg/day，雌雄親動物の生殖機能に対する無影響量ならびに新生児に対する無影響量はいずれも400 mg/kg/dayと考えられる．

10. 参考文献

- [1] 13901 の化学商品, 化学工業日報社, 2001, p.710.
- [2] Theodore, J.B. and Herbert, H.C. 飯沼佑子 (訳) : 芳香族ニトロ化合物. In 「化学物質毒性ハンドブック 第Ⅱ巻」内田裕史, 横手規子 (監修), 丸善, 東京 (1999) p.9-10.
- [3] 榎並倫宣ら, *p*-ニトロフェノールナトリウムのラットを用いる単回経口投与毒性試験, 化学物質毒性試験報告 Vol.8, 化学物質点検推進連絡協議会, 2001, p.813-815.
- [4] 榎並倫宣ら, *p*-ニトロフェノールナトリウムのラットを用いる 28 日間反復経口投与毒性試験, 化学物質毒性試験報告 Vol.8, 化学物質点検推進連絡協議会, 2001, p.816-827.

図および群別表

目 次

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
Table 1	一般状態(雄).....	5
Table 2	一般状態(雌 交配前期間).....	11
Table 3	一般状態(雌 交配期間).....	13
Table 4	一般状態(妊娠期間).....	15
Table 5	一般状態(哺育期間).....	17
Table 6	体重(雄).....	19
Table 7	体重(雌 交配前期間).....	21
Table 8	体重(妊娠期間).....	22
Table 9	体重(哺育期間).....	23
Table 10	体重増加量(雄).....	24
Table 11	体重増加量(雌 交配前期間).....	26
Table 12	体重増加量(妊娠期間).....	27
Table 13	体重増加量(哺育期間).....	28
Table 14	摂餌量(雄).....	29
Table 15	摂餌量(雌 交配前期間).....	31
Table 16	摂餌量(妊娠期間).....	32
Table 17	摂餌量(哺育期間).....	33
Table 18	器官重量(雄 絶対重量).....	34
Table 19	器官重量(雄 相対重量).....	35
Table 20	剖検所見.....	36
Table 21	病理組織所見.....	38
Table 22	生殖機能検査.....	41
Table 23	分娩成績.....	42
Table 24	生存率(F1児動物).....	43

Table 25	一般状態(F1児動物).....	44
Table 26	体重(F1児動物).....	45
Table 27	体重増加量(F1児動物).....	47
Table 28	外表異常(F1児動物).....	49
Table 29	剖検所見(F1児動物).....	50

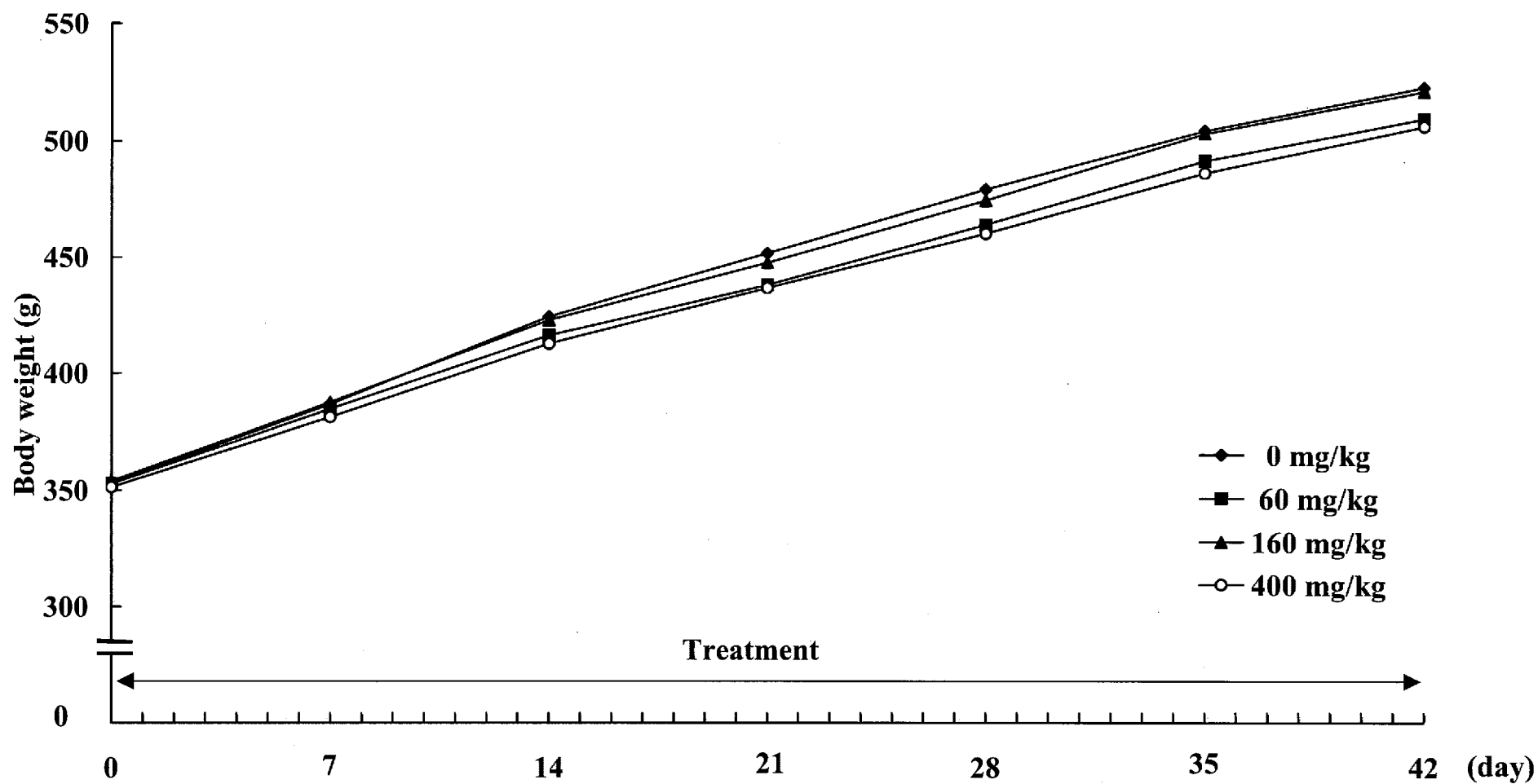


Fig. 1 Body weight changes of male rats treated orally with Sodium 4-nitrophenoxide in the preliminary toxicity screening test.

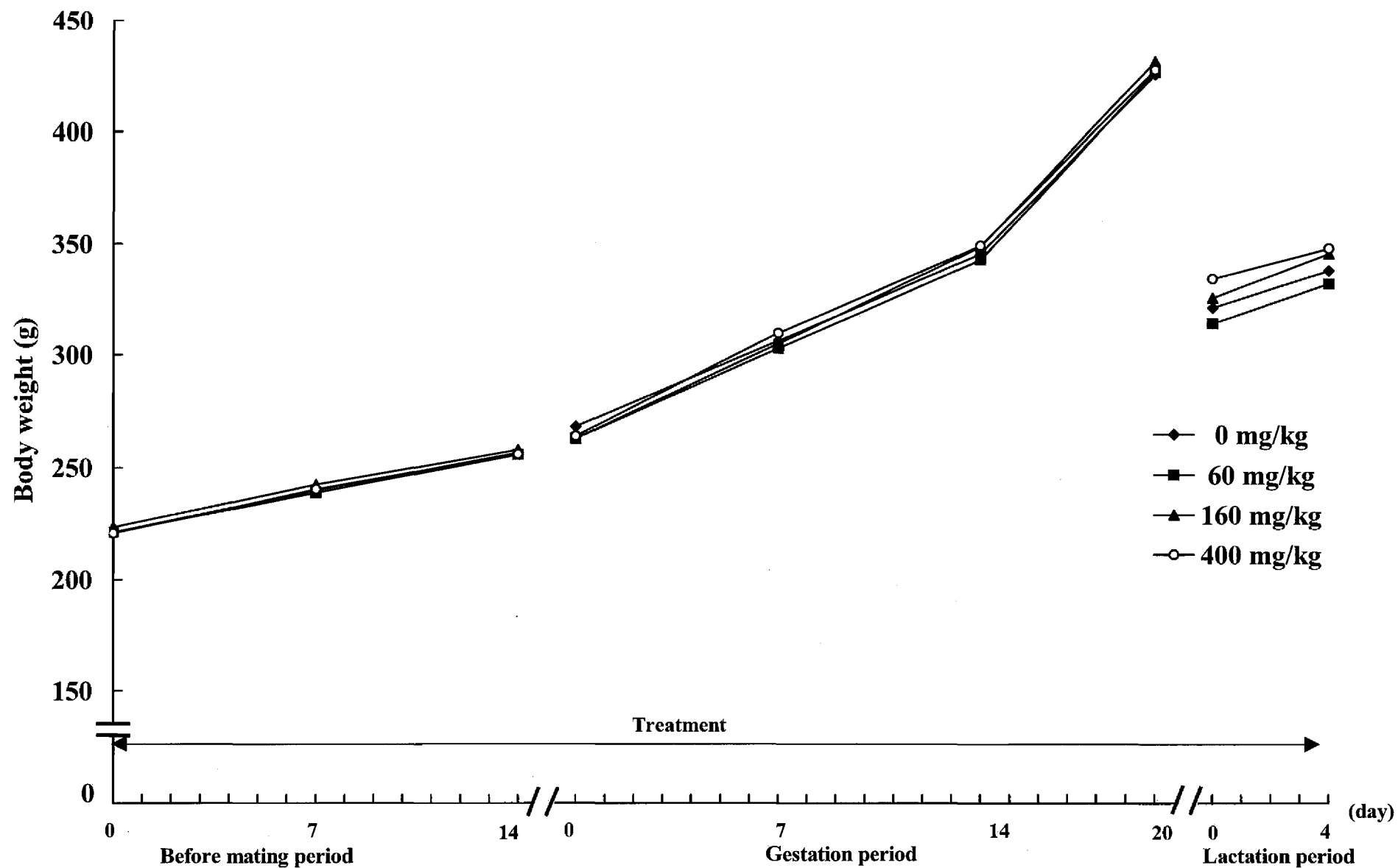


Fig. 2 Body weight changes of female rats treated orally with Sodium 4-nitrophenoxide in the preliminary toxicity screening test.

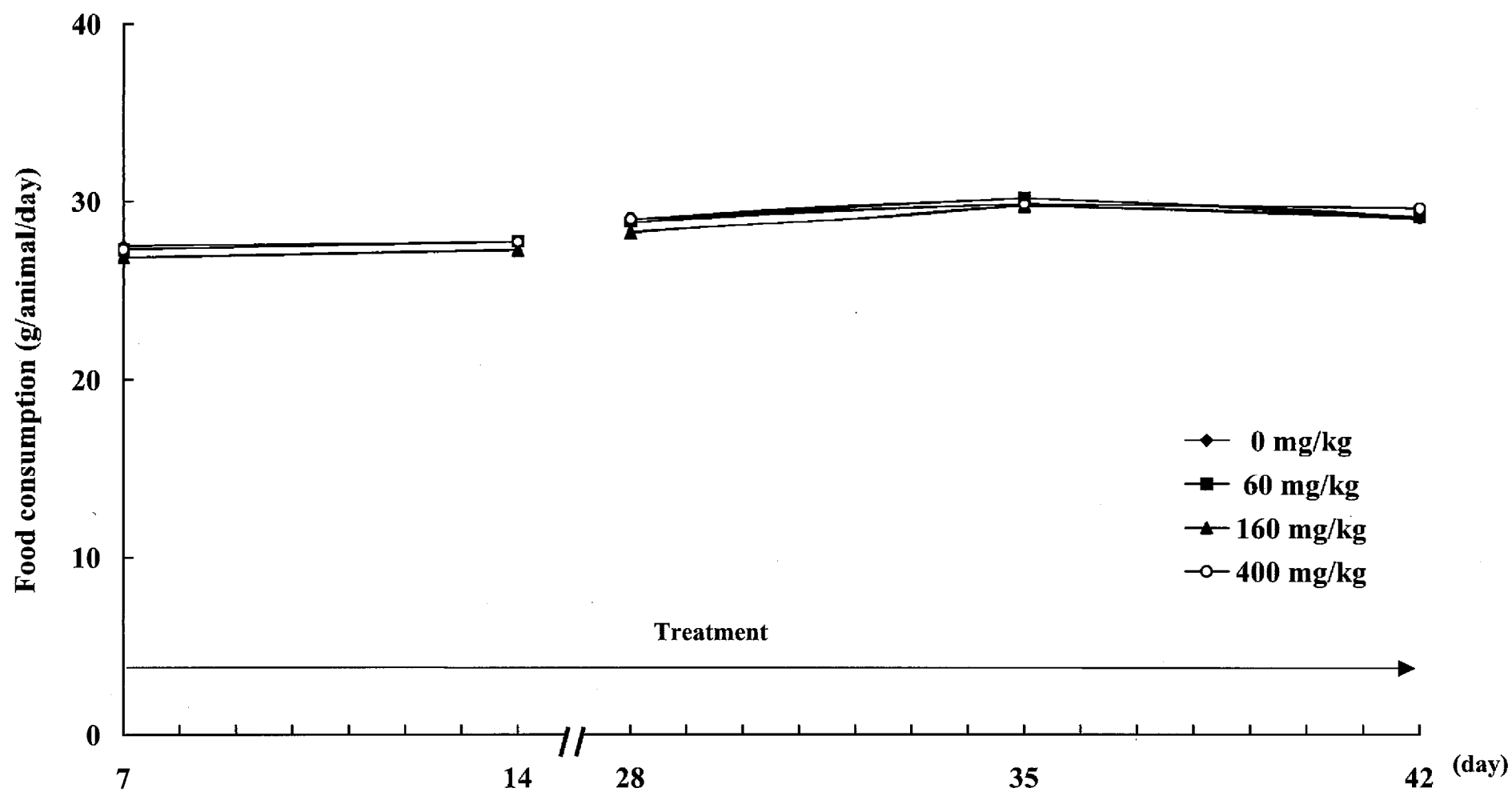


Fig. 3 Food consumption of male rats treated orally with *p*-nitrophenol sodium salt in the preliminary toxicity screening test.

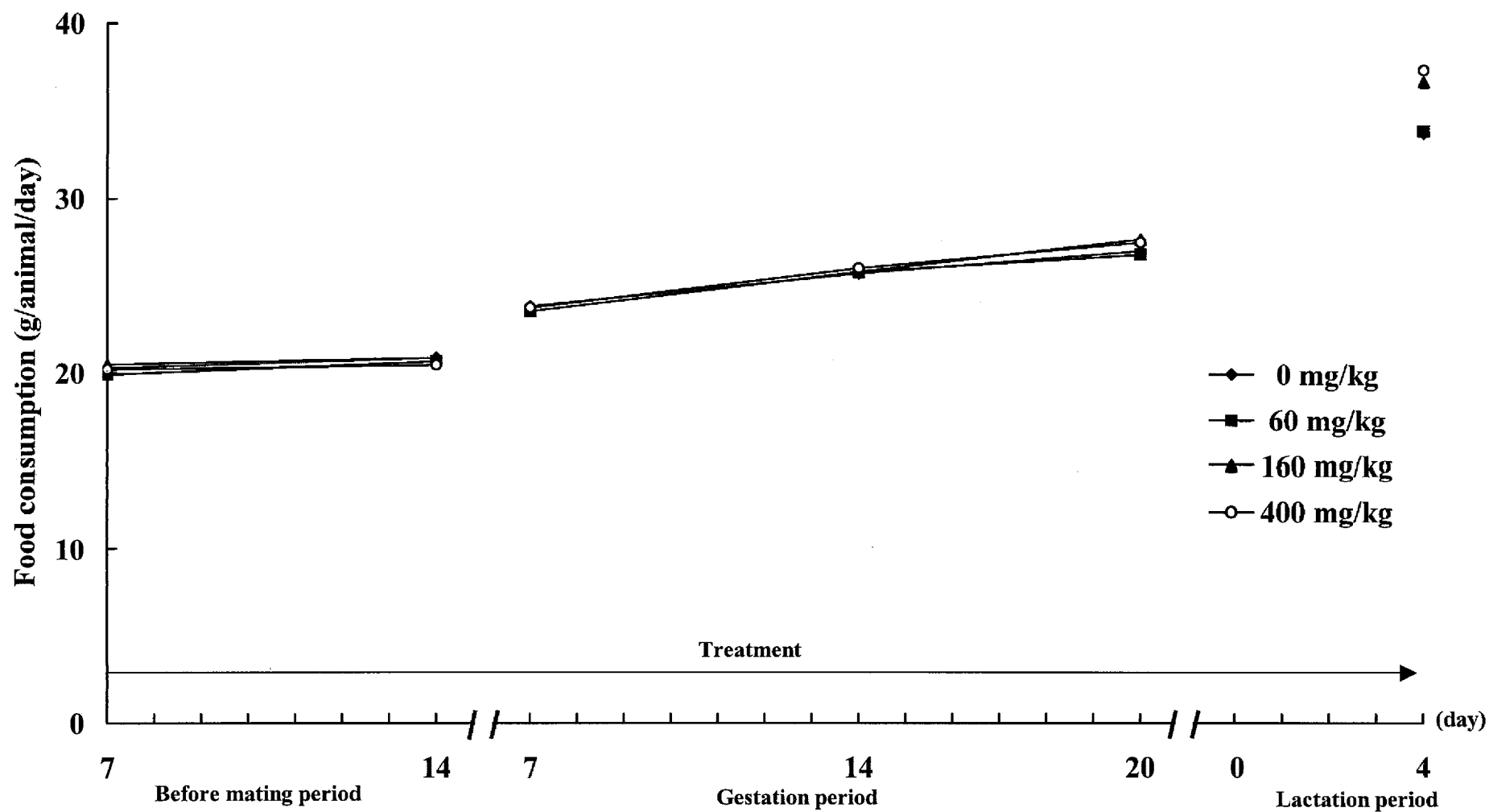


Fig. 4 Food consumption of female rats treated orally with *p*-nitrophenol sodium salt in the preliminary toxicity screening test.

Table 1

Study No. B041801

Clinical Sign (F0 before Mating) - Summary
 Sex : Male Time 10 : Before dosing

Test Substance Dose (mg/kg)		Findings	/Day 0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
PNPS	0	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
PNPS	60	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	7	10	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Chromaturia				5	2										
PNPS	160	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	7	11	12	12	12	11	11	11	11	11	9	12
		Crust formation									1	1	1	1	1	1	
		Chromaturia				5	1									2	
PNPS	400	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	5	8	10	11	12	12	12	12	12	12	10	11
		Chromaturia				7	4	2	1							2	1

Table 1
Table Continued

Study No. B041801

Clinical Sign (F0 before Mating) - Summary
Sex : Male Time 20 : After dosing

Test Substance		Findings	/Day														
Dose (mg/kg)			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
PNPS	0	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
PNPS	60	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	9	12	11	12	12	12	12	9	11	10	10	11	11
		Chromaturia			3		1					3	1	2	2	1	1
PNPS	160	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	8	12	11	11	10	10	10	9	9	9	7	8	9
		Crust formation									1	1	1	1	1	1	
		Chromaturia			4		1	1	2	2	1	2	3	3	5	3	3
PNPS	400	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	8	12	11	12	10	10	10	10	10	9	7	9	8
		Chromaturia			4		1		2	2	2	2	2	3	5	3	4

Table 1

Study No. B041801

Clinical Sign (F0 Mating) - Summary
 Sex : Male Time 10 : Before dosing

Test Substance		Findings	/Day		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
Dose (mg/kg)																													
PNPS	0	Number of animals		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
PNPS	60	Number of animals		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
PNPS	160	Number of animals		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
PNPS	400	Number of animals		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
		No abnormality		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11

Table 1
Table Continued

Study No. B041801

Clinical Sign (F0 Mating) - Summary
Sex : Male Time 10 : Before dosing

Test Substance Dose (mg/kg)		Findings	/Day 40 41 42		
PNPS 0		Number of animals	12	12	12
		No abnormality	12	12	12
PNPS 60		Number of animals	12	12	12
		No abnormality	12	12	12
PNPS 160		Number of animals	12	12	12
		No abnormality	12	12	12
PNPS 400		Number of animals	11	11	11
		No abnormality	11	11	11

Table 1
Table Continued

Study No. B041801

Clinical Sign (F0 Mating) - Summary
Sex : Male Time 20 : After dosing

Test Substance Dose (mg/kg)	Findings	/Day	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
PNPS 0	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
PNPS 60	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No abnormality	12	7	9	7	10	8	7	7	7	7	8	8	7	7	8	7	8	8	9	9	8	10	9	9	9	9
	Chromaturia		5	3	5	2	4	5	5	5	4	4	5	5	4	5	4	4	3	3	4	2	3	3	3	3	3
PNPS 160	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No abnormality	9	7	10	7	8	10	7	8	8	7	8	9	8	7	8	9	9	9	9	9	11	8	10	9	9	9
	Chromaturia	3	5	2	5	4	2	5	4	4	5	4	3	4	5	4	3	3	3	3	3	1	4	2	3	3	3
PNPS 400	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
	No abnormality	11	7	9	4	7	8	7	6	7	6	7	8	7	8	7	6	8	7	7	6	7	8	6	8	8	7
	Death																										
	Decrease in locomotor activity							1								1											
	Irregular respiration															1											
	Salivation							1																			
	Chromaturia	1	5	3	8	5	4	5	6	5	6	5	4	5	4	5	3	4	4	5	4	3	5	3	3	4	4

Table 1
Table Continued

Study No. B041801

Clinical Sign (F0 Mating) - Summary
Sex : Male Time 20 : After dosing

Test Substance Dose (mg/kg)		Findings	/Day 40 41	
PNPS	0	Number of animals	12	12
		No abnormality	12	12
PNPS	60	Number of animals	12	12
		No abnormality	9	10
		Chromaturia	3	2
PNPS	160	Number of animals	12	12
		No abnormality	9	8
		Chromaturia	3	4
PNPS	400	Number of animals	11	11
		No abnormality	8	7
		Decrease in locomotor activity		1
		Chromaturia	3	3

Table 2

Study No. B041801

Clinical Sign (F0 before Mating) - Summary
 Sex : Female Time 10 : Before dosing

Test Substance		Findings	/Day														
Dose (mg/kg)			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
PNPS	0	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
PNPS	60	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	9	11	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Chromaturia				3	1										
PNPS	160	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	7	11	11	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Chromaturia				5	1	1									
PNPS	400	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	7	10	12	12	12	12	12	12	12	12	11	12
		Chromaturia				5	2								1		

Table 2
Table Continued

Study No. B041801

Clinical Sign (F0 before Mating) - Summary
Sex : Female Time 20 : After dosing

Test Substance Dose (mg/kg)		Findings	/Day 0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
PNPS	0	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
PNPS	60	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	10	12	12	12	11	12	11	11	11	10	10	11	9
		Chromaturia			2				1		1	1	1	2	2	1	3
PNPS	160	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	8	11	10	11	9	10	12	8	10	11	9	12	10
		Chromaturia			4	1	2	1	3	2		4	2	1	3		2
PNPS	400	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	8	12	10	11	9	10	9	10	9	9	7	10	8
		Death															1
		Decrease in locomotor activity													1		
		Chromaturia			4		2	1	3	2	3	2	3	3	4	2	3

Table 3

Study No. B041801

Clinical Sign (FO Mating) - Summary
 Sex : Female Time 10 : Before dosing

Test Substance		Findings	/Day		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
Dose (mg/kg)																													
PNPS	0	Number of animals	11	6	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1														
		No abnormality	11	6	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1														
PNPS	60	Number of animals	12	9	3	1	1	1																					
		No abnormality	12	9	3	1	1	1																					
PNPS	160	Number of animals	10	4	2																								
		No abnormality	10	4	2																								
PNPS	400	Number of animals	11	7	3	1	1																						
		No abnormality	11	7	3	1	1																						

Table 3
Table Continued

Study No. B041801

Clinical Sign (P0 Mating) - Summary
Sex : Female Time 20 : After dosing

Test Substance Dose (mg/kg)		Findings	/Day	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
PNPS	0	Number of animals		11	6	4	1	1	1	1	1	1	1	1														
		No abnormality		11	6	4	1	1	1	1	1	1	1	1														
PNPS	60	Number of animals		12	9	3	1	1	1																			
		No abnormality		11	6	2	1	1	0																			
		Chromaturia		1	3	1			1																			
PNPS	160	Number of animals		10	4	2																						
		No abnormality		9	0	1																						
		Chromaturia		1	4	1																						
PNPS	400	Number of animals		11	7	3	1	1																				
		No abnormality		8	4	1	1	0																				
		Chromaturia		3	3	2		1																				

Table 4

Study No. B041801

Clinical Sign (F0 Gestation) - Summary
 Sex : Female Time 10 : Before dosing

Test Substance		Findings	/Day																								
Dose (mg/kg)			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
PNPS	0	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	4		
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	4		
PNPS	60	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	3		
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	3		
PNPS	160	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	1		
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	1		
PNPS	400	Number of animals	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	6		
		No abnormality	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	6		

Table 4
Table Continued

Study No. B041801

Clinical Sign (F0 Gestation) - Summary
Sex : Female Time 20 : After dosing

Test Substance	Findings	/Day	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
PNPS	Number of animals		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	4		
0	No abnormality		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	4		
PNPS	Number of animals		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	3		
60	No abnormality		12	9	9	8	7	7	7	9	8	9	10	8	9	9	8	10	10	10	8	9	9	11	2		
	Chromaturia			3	3	4	5	5	5	3	4	3	2	4	3	3	4	2	2	2	4	3	3	1	1		
PNPS	Number of animals		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	1		
160	No abnormality		8	10	5	8	9	7	9	9	9	9	9	9	9	8	9	10	9	11	10	9	9	8	1		
	Chromaturia		4	2	7	4	3	5	3	3	3	3	3	3	3	4	3	2	3	1	2	3	3	4			
PNPS	Number of animals		11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	6		
400	No abnormality		7	9	10	8	5	6	9	8	8	8	8	8	9	9	9	9	9	9	8	8	9	10	5		
	Death																							1			
	Decrease in locomotor activity		2																						1		
	Chromaturia		2	2	1	3	6	5	2	3	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2	3	3	2	1			

Table 5

Study No. B041801

Clinical Sign (F0 Lactation) - Summary
Sex : Female Time 10 : Before dosing

Test Substance		Findings	/Day				
Dose (mg/kg)			0	1	2	3	4
PNPS	0	Number of animals	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12
PNPS	60	Number of animals	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12
PNPS	160	Number of animals	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12
PNPS	400	Number of animals	10	10	10	10	10
		No abnormality	10	10	10	10	10

Table 5
Table Continued

Study No. B041801

Clinical Sign (F0 Lactation) - Summary
Sex : Female Time 20 : After dosing

Test Substance Dose (mg/kg)		Findings	/Day 0	1	2	3
PNPS 0		Number of animals	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12
PNPS 60		Number of animals	12	12	12	12
		No abnormality	9	10	8	6
		Chromaturia	3	2	4	6
PNPS 160		Number of animals	12	12	12	12
		No abnormality	11	7	8	8
		Chromaturia	1	5	4	4
PNPS 400		Number of animals	10	10	10	10
		No abnormality	10	5	6	8
		Chromaturia		5	4	2

Table 6

Study No. B041801

Body Weight (F0 before Mating) - Summary
Sex : Male

Unit : g

Test Substance Dose (mg/kg)		/Day	0	7	14
PNPS 0		Mean	353.3	386.8	424.5
		S. D.	13.9	20.6	26.0
		n	12	12	12
PNPS 60		Mean	352.8	384.8	416.4
		S. D.	12.8	15.3	16.9
		n	12	12	12
PNPS 160		Mean	353.9	387.6	423.1
		S. D.	14.8	19.9	21.4
		n	12	12	12
PNPS 400		Mean	351.3	381.3	412.8
		S. D.	12.9	18.4	23.4
		n	12	12	12

Significantly different from control : *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 6

Study No. B041801

Body Weight (F0 Mating) - Summary
Sex : Male

Unit : g

Test Substance Dose (mg/kg)		/Day	21	28	35	42
PNPS 0		Mean	452.1	479.7	505.2	523.8
		S. D.	27.9	31.6	33.4	34.7
		n	12	12	12	12
PNPS 60		Mean	438.3	464.6	492.2	510.5
		S. D.	22.3	24.1	27.2	31.3
		n	12	12	12	12
PNPS 160		Mean	448.0	475.0	504.0	522.2
		S. D.	23.9	25.2	32.2	36.4
		n	12	12	12	12
PNPS 400		Mean	437.1	460.8	486.9	507.2
		S. D.	23.4	24.5	25.6	26.0
		n	12	12	11	11

Significantly different from control : *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 7

Study No. B041801

Body Weight (FO before Mating) - Summary
Sex : Female

Unit : g

Test Substance Dose (mg/kg)	/Day	0	7	14
PNPS 0	Mean	221.3	240.0	256.9
	S. D.	10.9	14.0	21.0
	n	12	12	12
PNPS 60	Mean	221.2	238.9	256.0
	S. D.	12.9	16.3	18.1
	n	12	12	12
PNPS 160	Mean	223.5	242.5	258.3
	S. D.	13.6	16.4	21.7
	n	12	12	12
PNPS 400	Mean	220.9	240.4	256.3
	S. D.	9.0	12.8	14.9
	n	12	12	12

Significantly different from control : *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 8

Study No. B041801

Body Weight (F0 Gestation) - Summary

Unit : g

Test Substance Dose (mg/kg)		/Day	0	7	14	20
PNPS 0		Mean	268.5	306.7	346.6	426.8
		S. D.	25.6	27.3	28.3	39.8
		n	12	12	12	12
PNPS 60		Mean	263.3	303.4	343.8	427.8
		S. D.	17.8	19.5	21.9	26.2
		n	12	12	12	12
PNPS 160		Mean	263.3	305.5	349.6	432.7
		S. D.	19.0	22.1	23.7	29.7
		n	12	12	12	12
PNPS 400		Mean	264.3	310.3	350.0	428.8
		S. D.	16.7	16.8	17.9	18.8
		n	11	11	11	11

Significantly different from control : *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 9

Study No. B041801

Body Weight (F0 Lactation) - Summary

Unit : g

Test Substance Dose (mg/kg)	/Day	0	4
PNPS 0	Mean	322.4	339.4
	S. D.	21.2	24.4
	n	12	12
PNPS 60	Mean	315.3	333.3
	S. D.	29.8	22.2
	n	12	12
PNPS 160	Mean	326.8	346.9
	S. D.	31.9	29.8
	n	12	12
PNPS 400	Mean	335.6	349.2
	S. D.	19.2	16.3
	n	10	10

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 10

Study No. B041801

Body Weight Gain (F0 before Mating) - Summary
 Sex : Male Base : Day 0 of Treatment

Unit : g

Test Substance Dose (mg/kg)		/Day	0	7	14
PNPS 0		Mean	0.0	33.5	71.3
		S. D.	0.0	8.2	14.7
		n	12	12	12
PNPS 60		Mean	0.0	32.0	63.6
		S. D.	0.0	6.0	8.5
		n	12	12	12
PNPS 160		Mean	0.0	33.7	69.2
		S. D.	0.0	7.5	10.4
		n	12	12	12
PNPS 400		Mean	0.0	30.1	61.6
		S. D.	0.0	8.5	13.5
		n	12	12	12

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 10

Study No. B041801

Body Weight Gain (F0 Mating) - Summary						Unit : g
Sex : Male						Base : Day 21 of Treatment
Test Substance	Dose (mg/kg)	/Day	21	28	35	42
PNPS	0	Mean	0.0	27.6	53.1	71.8
		S. D.	0.0	7.5	10.8	12.4
		n	12	12	12	12
PNPS	60	Mean	0.0	26.3	53.8	72.2
		S. D.	0.0	5.9	9.1	14.2
		n	12	12	12	12
PNPS	160	Mean	0.0	27.0	56.0	74.2
		S. D.	0.0	7.3	13.7	18.0
		n	12	12	12	12
PNPS	400	Mean	0.0	23.8	46.5	66.8
		S. D.	0.0	4.5	7.1	8.5
		n	12	12	11	11
Significantly different from control						: *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 11

Study No. B041801

Body Weight Gain (F0 before Mating) - Summary
 Sex : Female Base : Day 0 of Treatment

Unit : g

Test Substance Dose (mg/kg)		/Day	0	7	14
PNPS 0		Mean	0.0	18.7	35.6
		S.D.	0.0	7.0	15.0
		n	12	12	12
PNPS 60		Mean	0.0	17.8	34.8
		S.D.	0.0	8.6	13.8
		n	12	12	12
PNPS 160		Mean	0.0	19.0	34.8
		S.D.	0.0	9.0	15.0
		n	12	12	12
PNPS 400		Mean	0.0	19.5	35.4
		S.D.	0.0	6.5	9.5
		n	12	12	12

Significantly different from control : *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 12

Study No. B041801

Body Weight Gain (F0 Gestation) - Summary
 Base : Day 0 of Gestation

Unit : g

Test Substance Dose (mg/kg)	/Day	0	7	14	20
PNPS 0	Mean	0.0	38.2	78.1	158.3
	S. D.	0.0	7.2	12.8	24.0
	n	12	12	12	12
PNPS 60	Mean	0.0	40.1	80.5	164.5
	S. D.	0.0	9.4	10.8	17.9
	n	12	12	12	12
PNPS 160	Mean	0.0	42.2	86.3	169.3
	S. D.	0.0	9.5	10.0	12.9
	n	12	12	12	12
PNPS 400	Mean	0.0	46.0	85.7	164.5
	S. D.	0.0	9.0	13.4	17.6
	n	11	11	11	11

Significantly different from control : *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 13

Study No. B041801

Body Weight Gain (F0 Lactation) - Summary
 Base : Day 0 of Lactation

Unit : g

Test Substance Dose (mg/kg)		/Day	0	4
PNPS 0		Mean	0.0	17.0
		S. D.	0.0	9.5
		n	12	12
PNPS 60		Mean	0.0	18.0
		S. D.	0.0	16.1
		n	12	12
PNPS 160		Mean	0.0	20.1
		S. D.	0.0	10.9
		n	12	12
PNPS 400		Mean	0.0	13.6
		S. D.	0.0	12.5
		n	10	10

Significantly different from control : *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 14

Study No. B041801

Food Consumption (F0 before Mating) - Summary
Sex : Male

Unit : g/animal/day

Test Substance Dose (mg/kg)		/Day	7	14
PNPS 0		Mean	27.5	27.8
		S. D.	2.8	2.9
		n	12	12
PNPS 60		Mean	27.3	27.8
		S. D.	2.0	1.9
		n	12	12
PNPS 160		Mean	26.9	27.3
		S. D.	1.9	1.8
		n	12	12
PNPS 400		Mean	27.3	27.8
		S. D.	2.0	1.9
		n	12	12

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 14

Study No. B041801

Food Consumption (F0 Mating) - Summary
Sex : Male

Unit : g/animal/day

Test Substance Dose (mg/kg)		/Day	28	35	42
PNPS 0		Mean	29.1	30.3	29.2
		S. D.	2.9	3.3	2.5
		n	11	12	12
PNPS 60		Mean	28.9	30.3	29.3
		S. D.	1.8	2.1	2.3
		n	12	12	12
PNPS 160		Mean	28.3	29.8	29.3
		S. D.	1.7	2.3	2.3
		n	12	12	12
PNPS 400		Mean	29.1	29.9	29.7
		S. D.	1.7	2.0	2.0
		n	12	11	11

Significantly different from control

: *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 15

Study No. B041801

Food Consumption (F0 before Mating) - Summary
Sex : Female

Unit : g/animal/day

Test Substance Dose (mg/kg)		/Day	7	14
PNPS 0		Mean	20.3	20.9
		S. D.	1.7	1.9
		n	12	12
PNPS 60		Mean	19.9	20.7
		S. D.	2.1	2.5
		n	12	12
PNPS 160		Mean	20.5	20.9
		S. D.	2.1	2.4
		n	12	12
PNPS 400		Mean	20.2	20.5
		S. D.	1.3	1.3
		n	12	11

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 16

Study No. B041801

Food Consumption (F0 Gestation) - Summary

Unit : g/animal/day

Test Substance Dose (mg/kg)		/Day	7	14	20
PNPS 0	Mean		23.9	25.8	27.1
	S. D.		2.5	2.5	2.5
	n		12	12	12
PNPS 60	Mean		23.6	25.9	26.9
	S. D.		2.1	2.4	2.1
	n		12	12	12
PNPS 160	Mean		23.6	25.9	27.8
	S. D.		1.9	2.6	2.4
	n		12	12	12
PNPS 400	Mean		23.8	26.1	27.6
	S. D.		1.7	1.5	1.7
	n		11	11	11

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 17

Study No. B041801

Food Consumption (F0 Lactation) - Summary

Unit : g/animal/day

Test Substance Dose (mg/kg)		/Day	4
PNPS 0		Mean	33.9
		S. D.	5.4
		n	12
PNPS 60		Mean	34.0
		S. D.	4.0
		n	12
PNPS 160		Mean	36.8
		S. D.	2.6
		n	12
PNPS 400		Mean	37.5
		S. D.	4.5
		n	10

Significantly different from control : *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 18

Study No. B041801

Organ Weight - Summary (F0)
Sex : Male

Test Substance Dose (mg/kg)		F. B. W. (g)	Testes (g)	Epididy. (g)
PNPS 0	Mean	523.8	3.477	1.318
	S. D.	34.7	0.244	0.080
	n	12	12	12
PNPS 60	Mean	510.5	3.352	1.304
	S. D.	31.3	0.261	0.096
	n	12	12	12
PNPS 160	Mean	522.2	3.362	1.279
	S. D.	36.4	0.257	0.104
	n	12	12	12
PNPS 400	Mean	507.2	3.483	1.312
	S. D.	26.0	0.264	0.045
	n	11	11	11

Significantly different from control : *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 19

Study No. B041801

Relative Organ Weight - Summary (F0)
Sex : Male

Unit : g/100gBW

Test Substance Dose (mg/kg)		F. B. W. (g)	Testes	Epididy.
PNPS 0	Mean	523.8	0.666	0.252
	S. D.	34.7	0.060	0.016
	n	12	12	12
PNPS 60	Mean	510.5	0.660	0.258
	S. D.	31.3	0.070	0.023
	n	12	12	12
PNPS 160	Mean	522.2	0.646	0.245
	S. D.	36.4	0.059	0.015
	n	12	12	12
PNPS 400	Mean	507.2	0.690	0.261
	S. D.	26.0	0.072	0.016
	n	11	11	11

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 20 Necropsy Findings - Summary

Scheduled Sacrifice

Organ Findings	Sex	Male				Female			
	Test Substance	PNPS	PNPS	PNPS	PNPS	PNPS	PNPS	PNPS	PNPS
	Dose	0	60	160	400	0	60	160	400
	Dose Unit	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
	Number of Animals	12	12	12	11	12	12	12	10
	Number of Animals Examined	<12>	<12>	<12>	<11>	<12>	<12>	<12>	<10>
Liver									
Reddish patch, left lateral lobe		0	0	0	0	0	0	1	0
Whitish patch, left lateral lobe		0	0	1	0	0	0	0	0
Kidney									
Dilatation, pelvis		0	0	0	0	1	0	0	0

Table 20 Necropsy Findings - Summary
Table Continued

Death

Organ Findings	Sex	Male	Female
	Test Substance	PNPS	PNPS
	Dose	400	400
	Dose Unit	mg/kg	mg/kg
	Number of Animals	1	2
	Number of Animals Examined	<1>	<2>

Table 21 Histological Findings - Summary

Scheduled Sacrifice

Organ Findings	Sex Test Substance Dose Dose Unit Number of Animals	Grade	Male				Female			
			PNPS 0 mg/kg 12	PNPS 60 mg/kg 12	PNPS 160 mg/kg 12	PNPS 400 mg/kg 11	PNPS 0 mg/kg 12	PNPS 60 mg/kg 12	PNPS 160 mg/kg 12	PNPS 400 mg/kg 10
Liver			<0>	<0>	<1>	<0>	<0>	<0>	<1>	<0>
Necrosis, hepatocyte, focal		1			0				0	
		2			1				0	
		3			0				0	
		4			0				0	
Kidney			<0>	<0>	<0>	<0>	<1>	<0>	<0>	<0>
Basophilic tubule, proximal tubule, focal		1					1			
		2					0			
		3					0			
		4					0			
Dilatation, pelvis		1					1			
		2					0			
		3					0			
		4					0			
Testis			<12>	<0>	<0>	<11>				
Cell infiltration, lymphocyte, interstitium, focal		1	0			1				
		2	0			0				
		3	0			0				
		4	0			0				
Degeneration, seminiferous tubular epithelium, focal		1	0			1				
		2	0			0				
		3	0			0				
		4	0			0				

◇, Number of animals examined

1, Minimal; 2, Mild; 3, Moderate; 4, Severe

Table 21 Histological Findings - Summary
Table Continued

Scheduled Sacrifice

Organ	Sex	Test Substance	Dose	Dose Unit	Number of Animals	Grade	Male				Female			
							PNPS	PNPS	PNPS	PNPS	PNPS	PNPS	PNPS	PNPS
Findings							0	60	160	400	0	60	160	400
							mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
							12	12	12	11	12	12	12	10
Epididymis							<12>	<0>	<0>	<11>				
Cell infiltration, lymphocyte, interstitium, focal						1	1			1				
						2	0			0				
						3	0			0				
						4	0			0				
Ovary											<12>	<0>	<0>	<10>

<>, Number of animals examined

1, Minimal; 2, Mild; 3, Moderate; 4, Severe

Table 21 Histological Findings - Summary
Table Continued

Death

Organ Findings	Sex Test Substance Dose Dose Unit Number of Animals	Grade	Male	Female
			PNPS 400 mg/kg 1	PNPS 400 mg/kg 2
Heart			<1>	<2>
Spleen			<1>	<2>
Extramedullary hematopoiesis, erythrocytic		1	0	1
		2	0	0
		3	0	0
		4	0	0
Lung (and bronchus)			<1>	<2>
Liver			<1>	<2>
Kidney			<1>	<2>
Basophilic tubule, proximal tubule, focal		1	0	1
		2	0	0
		3	0	0
		4	0	0
Cast, hyaline, proximal tubule, focal		1	1	0
		2	0	0
		3	0	0
		4	0	0
Testis			<1>	
Epididymis			<1>	
Ovary				<2>

◇, Number of animals examined

1, Minimal; 2, Mild; 3, Moderate; 4, Severe

Table 22

Study No. B041801

Reproductive Performance (F0) - Summary
Mating Stage : 1st

Test Substance Dose (mg/kg)			Number of Pairs	Mean Estrous Cycle	Incidence of Females with Irregular Estrous Cycle	Mating Period		Copulation Index (%)	Fertility Index (%)
						Number of Estrus	Day of Conceiving		
PNPS		Mean		4.00		0.0	3.4	100.0	100.0
M	0	S. D.		0.00		0.0	2.9		
F	0	n	12	12	0/12	12	12	a) (12/12)	b) (12/12)
PNPS		Mean		4.00		0.0	3.3	100.0	100.0
M	60	S. D.		0.00		0.0	1.4		
F	60	n	12	11	1/12	12	12	(12/12)	(12/12)
PNPS		Mean		4.00		0.0	2.3	100.0	100.0
M	160	S. D.		0.00		0.0	1.0		
F	160	n	12	12	0/12	12	12	(12/12)	(12/12)
PNPS		Mean		4.00		0.1	3.1	100.0	100.0
M	400	S. D.		0.00		0.3	1.2		
F	400	n	11	12	0/12	11	11	(11/11)	(11/11)

a) : Number of copulated females / Number of pairs

b) : Number of pregnant females / Number of copulated females

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 23

Study No. B041801

Delivery Data (F0) - Summary

Test Substance Dose (mg/kg)			Gestation Length (days)	Number of Corpora Lutea	Number of Implantation Sites	Total Number of Offspring	Implantation Index (%)	Delivery Index (%)	Gestation Index (%)
PNPS 0	Mean		22.3	16.6	15.7	14.6	94.87	92.85	100.0
	S. D.		0.5	2.7	2.2	2.5	6.10	4.97	(12/12) a)
	n		12	12	12	12	12	12	
PNPS 60	Mean		22.3	16.7	16.2	15.2	97.33	93.87	100.0
	S. D.		0.5	1.8	1.3	1.6	4.65	6.71	(12/12)
	n		12	12	12	12	12	12	
PNPS 160	Mean		22.1	17.1	16.2	15.3	94.79	94.84	100.0
	S. D.		0.3	1.2	1.2	1.4	5.51	4.39	(12/12)
	n		12	12	12	12	12	12	
PNPS 400	Mean		22.5	16.8	15.3	13.2	90.30	86.97	90.9
	S. D.		0.5	2.0	2.9	3.0	11.16	10.25	(10/11)
	n		10	11	11	10	11	10	

a) :Number of pregnant animals delivered live offspring / number of pregnant animals
Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 24

Study No. B041801

Litter Size and Viability Index (F1) - Summary

Test Substance Dose (mg/kg)			Total Number of Offspring at Birth			Number of Live Offspring at Birth			Number of Live Offspring on Day 4						Number of Live Offspring on Day 4			Viability Index (%)		
									before Culling			after Culling						Day 0	Day 4	Day 4
			M	F	Total	M	F	Total	M	F	Total	M	F	Total	M	F	Total			
PNPS 0		Mean	7.3	7.3	14.6	7.2	7.3	14.5	7.2	7.3	14.4							99.44	99.36	
		S.D.	3.2	2.1	2.5	3.2	2.1	2.5	3.2	2.0	2.5							1.93	2.22	
		n	12	12	12	12	12	12	12	12	12							12	12	
		(M/F)	(87/88)			(86/88)			(86/87)											
PNPS 60		Mean	7.7	7.5	15.2	7.7	7.4	15.1	7.7	7.4	15.1							99.48	100.00	
		S.D.	1.2	1.6	1.6	1.2	1.5	1.6	1.2	1.5	1.6							1.79	0.00	
		n	12	12	12	12	12	12	12	12	12							12	12	
		(M/F)	(92/90)			(92/89)			(92/89)											
PNPS 160		Mean	7.7	7.7	15.3	7.7	7.7	15.3	7.5	7.7	15.2							100.00	99.00	
		S.D.	2.2	2.0	1.4	2.2	2.0	1.4	2.0	2.0	1.2							0.00	2.35	
		n	12	12	12	12	12	12	12	12	12							12	12	
		(M/F)	(92/92)			(92/92)			(90/92)											
PNPS 400		Mean	7.1	6.1	13.2	7.1	6.1	13.2	7.1	6.1	13.2							100.00	100.00	
		S.D.	2.6	2.8	3.0	2.6	2.8	3.0	2.6	2.8	3.0							0.00	0.00	
		n	10	10	10	10	10	10	10	10	10							10	10	
		(M/F)	(71/61)			(71/61)			(71/61)											

Significantly different from control

: *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 25

Study No. B041801

Clinical Sign (F1 before Weaning) - Summary
 Stage : Before Culling

Test Substance		Day	0	1	2	3	4
Dose (mg/kg)							
/Findings (M/F)							
PNPS	0	Number of dams	12	12	12	12	12
		Number of offspring	87/88/0	86/88	86/88	86/87	86/87
		Number of dams with abnormal offspring	0	0	0	0	0
		No Abnormality	86/88	86/88	86/87	86/87	86/87
		Death (M/F/U)	1/0/0	0/0	0/1	0/0	0/0
PNPS	60	Number of dams	12	12	12	12	12
		Number of offspring	92/90/0	92/89	92/89	92/89	92/89
		Number of dams with abnormal offspring	0	0	0	0	0
		No Abnormality	92/89	92/89	92/89	92/89	92/89
		Death (M/F/U)	0/1/0	0/0	0/0	0/0	0/0
PNPS	160	Number of dams	12	12	12	12	12
		Number of offspring	92/92/0	92/92	91/92	91/92	91/92
		Number of dams with abnormal offspring	0	0	0	1	0
		No Abnormality	92/92	91/92	91/92	90/92	90/92
		Death (M/F/U)	0/0/0	1/0	0/0	0/0	1/0
		Loss of suckling				1/0	
PNPS	400	Number of dams	10	10	10	10	10
		Number of offspring	71/61/0	71/61	71/61	71/61	71/61
		Number of dams with abnormal offspring	0	0	0	0	0
		No Abnormality	71/61	71/61	71/61	71/61	71/61
		Death (M/F/U)	0/0/0	0/0	0/0	0/0	0/0

M:Male, F:Female, U:Unable to be sexed on day 0

Table 26

Study No. B041801

Body Weight of Offspring (P1 before Weaning) - Summary
 Sex : Male

Unit : g

Test Substance		before Culling		/	after Culling
Dose (mg/kg)	/Day	0	4		
PNPS 0	Mean	6.8	11.3		
	S. D.	0.8	1.6		
	n	12	12		
PNPS 60	Mean	6.9	11.0		
	S. D.	0.5	0.9		
	n	12	12		
PNPS 160	Mean	6.5	10.5		
	S. D.	0.4	1.0		
	n	12	12		
PNPS 400	Mean	7.2	11.9		
	S. D.	0.7	1.8		
	n	10	10		

Significantly different from control

: *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 26

Study No. B041801

Body Weight of Offspring (F1 before Weaning) - Summary
 Sex : Female

Unit : g

Test Substance		before Culling		/	after Culling
Dose (mg/kg)	/Day	0	4		
PNPS 0	Mean	6.4	10.6		
	S. D.	0.7	1.3		
	n	12	12		
PNPS 60	Mean	6.6	10.7		
	S. D.	0.5	1.0		
	n	12	12		
PNPS 160	Mean	6.2	10.1		
	S. D.	0.2	0.9		
	n	12	12		
PNPS 400	Mean	6.8	11.4		
	S. D.	0.6	1.8		
	n	10	10		

Significantly different from control

: *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 27

Study No. B041801

Body Weight Gain of Offspring (F1 before Weaning) - Summary
 Sex : Male Base : Day 4 after Birth

Unit : g

Test Substance		before Culling		after Culling
Dose (mg/kg)	/Day	0 - 4		
PNPS 0	Mean	4.4		
	S. D.	0.9		
	n	12		
PNPS 60	Mean	4.2		
	S. D.	0.6		
	n	12		
PNPS 160	Mean	4.0		
	S. D.	0.8		
	n	12		
PNPS 400	Mean	4.7		
	S. D.	1.2		
	n	10		

Significantly different from control

: *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 27

Study No. B041801

Body Weight Gain of Offspring (F1 before Weaning) - Summary
 Sex : Female Base : Day 4 after Birth

Unit : g

Test Substance		before Culling		after Culling
Dose (mg/kg)	/Day	0 - 4		
PNPS 0	Mean	4.2		
	S. D.	0.7		
	n	12		
PNPS 60	Mean	4.1		
	S. D.	0.6		
	n	12		
PNPS 160	Mean	3.9		
	S. D.	0.7		
	n	12		
PNPS 400	Mean	4.6		
	S. D.	1.2		
	n	10		

Significantly different from control

: *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 28

Study No. B041801

External Examination of Offspring (F1) - Summary
Day : 0 (Birth Day)

Test Substance	PNPS	PNPS	PNPS	PNPS
Dose (mg/kg)	0	60	160	400
Number of Dams	12	12	12	10
Number of Offspring	174	181	184	132
Number of Dams with Anomalous Offspring	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
Number of Offspring with Any Anomalies	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)

Significantly different from control : *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 29

Study No. B041801

Necropsy Findings (F1 Offspring)
Test Substance : PNPS

Test Substance Dose (mg/kg)	/Findings	Day:	Scheduled Sacrifice		Dead		Dead		Dead		Dead		Dead	
			4		0		1		2		3		4	
			M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
PNPS 0	Number of offspring examined		86	87		1								
	No abnormality		86	87		0								
	Kidney													
	aplasia, unilateral					1								
PNPS 60	Adrenal													
	aplasia, unilateral					1								
PNPS 160	Number of offspring examined		92	89				1						1
	No abnormality		92	89				1						1
PNPS 400	Number of offspring examined		71	61										
	No abnormality		71	61										

M:Male, F:Female