
2, 6-ナフタレンジカルボン酸ジメチルエステルのラットを用いる
経口投与による反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験

最 終 報 告 書

株式会社日本バイオリサーチセンター
羽島研究所

目次

	頁
要 約	1
緒 言	3
方 法	
1. 試験物質および媒体	3
2. 投与検体および濃度確認	4
3. 使用動物および飼育条件	4
4. 投与経路, 投与方法, 群構成, 投与量および投与期間	5
5. 観察および検査項目	6
6. 統計学的方法	9
結 果	
I. 反復投与毒性	10
1. 雄(P)に及ぼす影響	10
2. 雌(P)に及ぼす影響	11
II. 生殖発生毒性	12
1. 親動物(P)の生殖発生に及ぼす影響	12
2. 新生児(F ₁)に及ぼす影響	13
考 察	14
文 献	15

Table 1-1	General sign of male rats (P) in combined repeat dose and	
~ 1-2	reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration	19~20
Table 2	Body weight of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration	21
Table 3	Food consumption of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration	22
Table 4	Hematological examination of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration	23
Table 5	Blood chemical examination of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration	24
Table 6	Necropsy finding of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration	25
Table 7	Organ weight of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration	26
Table 8	Histopathological finding of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration	27
Table 9-1	General sign of female rats (P) during pre-mating period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration	28

Table 9-2	General sign of female rats (P) during mating period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration	 29
Table 10	General sign of dams (P) during pregnancy period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration	 30
Table 11	General sign of dams (P) during lactation period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration	 31
Table 12	Body weight of female rats (P) during pre-mating period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration	 32
Table 13	Body weight of dams (P) during pregnancy period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration	 33
Table 14	Body weight of dams (P) during lactation period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration	 34
Table 15	Food consumption of female rats (P) during pre-mating period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration	 35
Table 16	Food consumption of dams (P) during pregnancy period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration	 36
Table 17	Food consumption of dams (P) during lactation period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration	 37

Table 18	Necropsy finding of female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration	38
Table 19	Organ weight of dams (P) on day 4 of lactation in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration	39
Table 20	Histopathological finding of female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration	40
Table 21	Number of estrous cases and reproductive performance of male and female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration	41
Table 22	Observation of pups (F1) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration	42
Table 23	Body weight of pups (F1) on days 0 and 4 of lactation in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration	43
Table 24	Necropsy finding of pups (F1) on day 4 of lactation in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration	44
Fig. 1	Body weight of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration	45
Fig. 2	Food consumption of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration	46
Fig. 3	Body weight of female rats (P) during pre-mating period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration	47

Fig. 4	Body weight of dams (P) during pregnancy and lactation periods in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration	48
Fig. 5	Food consumption of female rats (P) during pre-mating period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration	49
Fig. 6	Food consumption of dams (P) during pregnancy and lactation periods in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration	50
Fig. 7	Body weight of pups (F1) on days 0 and 4 of lactation in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration	51

要約

2,6-ナフタレンジカルボン酸ジメチルエステルのラットを用いる経口投与による反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験を行い，雌雄動物に対する反復投与による一般毒性学的な影響を検討するとともに，性腺機能，交尾行動，受胎および分娩などの生殖行動に及ぼす影響について検討した．投与量は，1000 mg/kgを最高用量とし，以下 300，100 および 30 mg/kgとした．対照として媒体(0.5 %カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液)投与群を設けた．

I．反復投与毒性

1.雄(P)に及ぼす影響

一般状態：いずれの群とも異常はみられなかった．

体重：各投与群とも対照群との間に差はみられなかった．

摂餌量：各投与群とも，投与による影響はみられなかった．

血液学的検査：各投与群とも，投与による影響はみられなかった．

血液化学的検査：各投与群とも対照群との間に差はみられなかった．

剖検所見：各投与群とも，投与による影響はみられなかった．

器官重量：各投与群とも対照群との間に差はみられなかった．

病理組織学的検査：1000 mg/kg群では，投与に起因すると思われる変化はみられなかった．

2.雌(P)に及ぼす影響

一般状態：いずれの群とも異常はみられなかった．

体重：各投与群とも対照群との間に差はみられなかった．

摂餌量：各投与群とも対照群との間に差はみられなかった．

剖検所見：各投与群とも，投与による影響はみられなかった．

器官重量：各投与群とも対照群との間に差はみられなかった．

病理組織学的検査：1000 mg/kg群では，投与に起因すると思われる変化はみられなかった．

II．生殖発生毒性

1.親動物(P)の生殖発生に及ぼす影響

発情回数，交尾率，交尾日数：各投与群とも対照群との間に差はみられなかった．

受胎雌数，妊娠期間：各投与群とも対照群との間に差はみられなかった．また，分娩状態にも異常はみられなかった．

受胎率：各投与群とも対照群との間に差はみられなかった。

黄体数，着床痕数，着床率：各投与群とも対照群との間に差はみられなかった。

出産率：各投与群とも対照群との間に差はみられなかった。

2. 新生児(F₁)に及ぼす影響

総出産児数，分娩率，哺育 0 日の新生児数，児の産出率，性比：各投与群とも対照群との間に差はみられなかった。

死産児数，出生率：各投与群とも対照群との間に差はみられなかった。

一般状態：対照群および各投与群とも異常症状はみられなかった。

哺育 4 日の生存児数，生存率，性比：各投与群とも対照群との間に差はみられなかった。

外表観察：いずれの群においても異常はみられなかった。

体重：各投与群とも，哺育 0 日および哺育 4 日ともに対照群との間に差はみられなかった。

剖検所見：いずれの群においても異常はみられなかった。

以上のように，2,6-ナフタレンジカルボン酸ジメチルエステルの一般毒性学的無影響量は，いずれの項目にも影響が認められなかったことから雌雄とも 1000 mg/kgと考えられる。また，生殖発生毒性学的な無影響量は，いずれの項目にも影響が認められなかったことから雌雄の生殖および児動物の発生とも 1000 mg/kgと推察される。

緒言

2,6-ナフタレンジカルボン酸ジメチルエステル(CAS No.840-65-3)が経口的に継続して人に摂取された場合の健康への影響を推定するために、OECD GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS, Combined Repeat Dose and Reproductive/Developmental Toxicity Screening Test¹⁾に従って 2,6-ナフタレンジカルボン酸ジメチルエステルを雌雄ラットに 1 日 1 回, 41~53 日間経口投与した反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験を行い, 雌雄動物に対する反復投与による一般毒性学的な影響を検討するとともに, 性腺機能, 交尾行動, 受胎および分娩などの生殖行動に及ぼす影響について検討した。

方法

1. 被験物質および媒体

被験物質の 2,6-ナフタレンジカルボン酸ジメチルエステル(CAS No.840-65-3)は, 分子量: 244.25, 融点: 190.1 °C, 沸点: 370 °C(推定値)の白色フレークで, 水に不溶である。当試験には, 平成 7 年 8 月 30 日に から提供されたものを用いた(製造元: Lot No. 純度: 99.9 %)。入手後は少量ずつ分割し, 試験施設の被験物質保管室の室温・遮光条件下の保管庫で保管した。なお, 投与期間終了後に当試験施設での保管分を除いた残余被験物質は提供者に返却し, その一部を分析した結果, 純度は 99.9 %であり, 使用期間中は安定であったことが確認された。

媒体として, 0.5 %カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液(以下、0.5 %CMC-Na水溶液と略す)を用いた。0.5 %CMC-Na水溶液は, カルボキシメチルセルロースナトリウム(丸石製薬株式会社, Lot No.2407, 入手日: 平成 4 年 7 月 16 日, 使用期限: 平成 9 年 7 月 15 日, 保管条件: 室温)を注射用水(株式会社大塚製薬工場, 大塚注射用水, Lot No.5I73, 入手日: 平成 7 年 11 月 17 日, 使用期限: 平成 12 年 8 月, 保管条件: 室温)に溶解して調製した。なお, 0.5 %CMC-Na水溶液は, 冷蔵保管し, 調製後 10 日以内に使用した。

2. 投与検体および濃度確認

被験物質は、各濃度毎に乳鉢を用いて 0.5 %CMC-Na水溶液に懸濁して調製した。被験物質は純度換算しないで、投与量は原体重量で表示した。なお、2, 20 および 200 mg/mlの調製液は、調製後冷蔵・遮光条件下で 7 日間、さらに室温・遮光条件下で 4 時間保存しても安定性に問題のないことが確認されていたため(Attached table 1)、各濃度の調製液は調製後、1 日毎に分割して冷蔵・遮光条件下で保管し、調製後 7 日以内に使用した。投与後の残余投与検体は廃棄した。

投与開始日および雄の投与期間終了日に使用した各濃度の投与検体中の被験物質濃度を試験施設内で高速液体クロマトグラフを用いて測定した。その結果、被験物質濃度は表示濃度の 98.4~105.0 %で、設定した適正濃度範囲内(表示濃度の ± 10 %以内)を示し、濃度に問題はなかった(Attached table 2 および 3)。

3. 使用動物および飼育条件

1) 動物種および系統

試験には、一般毒性試験および生殖・発生毒性試験に汎用され、自然発生奇形等の成績に関する知見が多く得られているSprague-Dawley系雌雄ラット [(SPF), Crj: CD(SD)] を用いた。動物は、平成 8 年 3 月 19 日に日本チャールス・リバー株式会社(日野飼育センター)から 8 週齢で雌雄各 73 匹を購入した。入手後 1 日の体重範囲は、雄が 244~306 g, 雌が 196~227 gであった。

2) 検疫および馴化, 群分け法ならびに個体識別法

入手した動物は、5 日間の検疫期間およびその後 8 日間の馴化期間を設けた。この間に、4 回の体重測定および毎日一般状態の観察を、さらに雌は馴化期間中に 7 日間の性周期観察を行った。一般状態および体重推移に異常がみられず、また性周期観察で異常が認められなかった動物を群分けして試験に用いた。

群分けは、コンピュータを用いて体重を層別に分けた後に、無作為抽出法により各群の平均体重および分散がほぼ等しくなるように投与開始日に行った。群分け後の残余動物は、投与開始日にエーテルで麻酔致死させた後に廃棄処分した。

動物は、検疫・馴化期間中は入手日に油性インクによる記入法および色素による染毛法により、群分け後は色素による染毛法および耳パンチ法を併用して識別した。さらに、検疫・馴化期間中の各ケージには試験番号、入手年月日、性別および馴化動物番号を記入したラベルを、群分け後の各ケージには試験番号、投与量、性別および動物番号を記入し、群ごとに色分けしたラベルを取り付けた。

3) 環境条件および飼育管理

動物は、室温 20～24 ℃、湿度 40～70 %、明暗各 12 時間(照明：午前 6 時～午後 6 時)、換気回数 12 回/時(フィルターにより除菌した新鮮空気)に設定した飼育室(C 棟 5 号室)で飼育した。

検疫・馴化期間中はステンレス製懸垂式ケージ(W: 240 x D: 380 x H: 200 mm)を用いて 1 ケージあたり 5 匹までの群飼育とし、群分け後はステンレス製五連ケージ(W: 755 x D: 210 x H: 170 mm)を用いて個別飼育した。ただし、交配はステンレス製懸垂式ケージ内で行った。また、母動物は、妊娠 18 日にオートクレーブ処理した床敷(サンフレイク、日本チャールス・リバー株式会社)を入れたプラスチック製ケージ(W: 310 x D: 360 x H: 175 mm)に個別に移し、自然分娩および哺育をさせた。ケージの受け皿、給水瓶およびプラスチック製ケージの交換は 1 週間に 2 回以上、ステンレス製五連ケージおよび給餌器の交換は 2 週間に 1 回以上行った。なお、動物飼育室の清掃(床の掃き掃除)および 0.02 %次亜塩素酸ナトリウム水溶液での床のモップ拭きによる消毒は毎日行った。

床敷の微量金属および汚染物質の分析結果は、ほぼ半年毎に財団法人日本食品分析センターで実施した成績を日本チャールス・リバー株式会社から入手した。その結果、分析成績は当試験施設で定めた基準値の範囲内であった。

4) 飼料および飲料水

飼料は、入手後 3 カ月以内の固型飼料(CRF-1, オリエンタル酵母工業株式会社)を給餌器に入れ、自由に摂取させた。使用した飼料の分析結果は、財団法人日本食品分析センターおよびオリエンタル酵母工業株式会社から入手した。

飲料水は、水道水を給水瓶を用いて自由に摂取させた。飲料水の水質検査結果は、ほぼ 3 カ月ごとに財団法人岐阜県公衆衛生検査センターで実施した成績を入手した。

飼料および飲料水の検査結果は、いずれも試験施設で定めた基準値の範囲内であった。

4. 投与経路、投与方法、群構成、投与量および投与期間

1) 投与経路および投与方法

2,6-ナフタレンジカルボン酸ジメチルエステルは、継続して経口的に人に摂取される可能性が考えられるため、投与経路として経口投与を選択した。

投与に際しては、金属製経口胃ゾンデを取り付けたプラスチック製ディスプレイ注射筒を用いて、強制経口投与した。投与液量は、雄では投与日あるいは投与日に最も近い測定日の体重を基準とし、5 ml/kgで算出した。雌では、交配前および交配期間中は投与日あるいは投与日に最も近い測定日の体重を、妊娠期間中は妊娠 0, 7, 14 および 21 日の体重を、授乳期間中は哺育 0 日の体重を基準とし、5 ml/kgで算出した。投与時刻は午前 9 時 10 分～12 時 00 分の間で、投与回数は 1 日 1 回とした。

投与開始日の週齢は雌雄とも 10 週齢であり、体重範囲は雄が 349～387 g、雌が 230～

262 gであった。

2) 群構成および投与量

群構成は、以下の如くとした。すなわち、被験物質投与群として 4 群を設定し、その他に対照群を設けた。1 群の動物数は、雌雄それぞれ 12 匹とした。

群	試験群	投与量 (濃度)	雄(動物番号)	雌(動物番号)
第1群	対照(0.5 %CMC-Na水溶液)	0mg/kg (0mg/ml)	12(001~012)	12(051~062)
第2群	2,6-ナフタレンジカルボン酸ジメチルエステル	30mg/kg (6mg/ml)	12(101~112)	12(151~162)
第3群	2,6-ナフタレンジカルボン酸ジメチルエステル	100mg/kg (20mg/ml)	12(201~212)	12(251~262)
第4群	2,6-ナフタレンジカルボン酸ジメチルエステル	300mg/kg (60mg/ml)	12(301~312)	12(351~362)
第5群	2,6-ナフタレンジカルボン酸ジメチルエステル	1000mg/kg (200mg/ml)	12(401~412)	12(451~462)

投与量は、雄ラットを用いた 2 週間経口投与による予備試験(投与段階: 0, 30, 100, 300 および 1000 mg/kg, 各群 5 例)の結果により決定した。すなわち、1000 mg/kg群でも死亡発現はなく、体重推移および剖検でも異常はみられなかった²⁾。そこで、当試験の投与量は、OECDガイドラインで限界用量とされている 1000 mg/kgを最高用量とし、以下公比約 3 で 300, 100 および 30 mg/kgとした。また、対照として被験物質と同一液量の媒体(0.5 %CMC-Na水溶液)を投与する群を設けた。

3) 投与期間

投与期間は、OECD GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS, Combined Repeat Dose and Reproductive/Developmental Toxicity Screening Test¹⁾に従って、雄では交配前 14 日間とその後 35 日間の合計 49 日間とし、雌では交配前 14 日間、交配期間中(最長 14 日間)、妊娠期間および哺育 4 日の剖検前日までの合計 41~53 日間とした。なお、投与開始日を投与 1 日とした。

5. 観察および検査項目

1) 雄(P)

(1) 一般状態

一般状態および死亡の有無は、投与期間中には投与前・後の 1 日 2 回(ただし、剖検日は剖検前 1 回)観察した。

(2) 体重測定

体重は、1週間に 2 回測定した(測定日: 投与 1, 4, 8, 11, 15, 18, 22, 25, 29, 32, 36, 39, 43, 46日および剖検日)。

(3) 摂餌量測定

摂餌量は、交配開始前 14 日間および交配期間終了後から1週間に 2 回測定した(測定日: 投与 3, 6, 10, 13, 31, 34, 38, 41, 45 および 48 日)。なお、剖検前日の午後 4 時頃からは絶食とした。

(4) 血液学的検査

投与期間(49 日間)終了の翌日に、ベントバルビタールナトリウムの腹腔内投与(約 40 mg/kg)による麻酔下で腹大動脈からカニュレーションにより血液を採取し、以下の血液学的検査を実施した。なお、残余血液は廃棄した。

赤血球数(RBC)、ヘモグロビン量(HGB)、ヘマトクリット値(HCT)、血小板数(PLT)および白血球数(WBC)は、EDTA-2KコーティングしたSysmexサンプルカップに採取した血液について、多項目自動血球計数装置(Sysmex E-2000, 東亜医用電子株式会社)を用いて測定した。さらに、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球血色素量(MCH)および平均赤血球血色素濃度(MCHC)を算出した。

網状赤血球数(RET)は、EDTA-2K処理した血液をBrecher法により超生体染色してスライドグラスに塗抹後、Giemsa染色した標本を作製して顕微鏡下で赤血球 1000 個中の網状赤球数を計数した。

白血球百分率は、EDTA-2K処理した血液をスライドグラスに塗抹し、May-Giemsa染色した標本を作製して顕微鏡下で白血球 100 個を分類計数した。

プロトロンビン時間(PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)およびフィブリノーゲン濃度(FIB)は、3.13 %クエン酸ナトリウムで処理した血漿について、散乱光検出方式により血液凝固分析装置(コアグマスターII, 三共株式会社)を用いて測定した。

(5) 血液化学的検査

血液学的検査用の血液と同時期に腹大動脈から採取した血液から遠心分離(約 4 °C, 3000 rpm, 15 分間)して得た血清について、以下の血液化学的検査を実施した。なお、測定用血清は測定時までは冷凍庫(-80 °C)内に保存し、保存用血清は最終報告書提出時まで冷凍庫(-80 °C)内に保管した。

GOTおよびGPTはHenry変法、ALPはp-NPP基質法、 γ -GTPは γ -G-P-NA基質法、総蛋白(TP)はBiuret法、総ビリルビン(T-BIL)はAzobilirubin法、尿素窒素(BUN)はUrease-GLDH法、クレアチニン(CRE)はJaffé法、ブドウ糖(GLU)はGlucose dehydrogenase法、総コレステロール(T-CHO)はCOD-DAOS法、トリグリセライド(TG)はGPO-DAOS法、Caはo-CPC法、無機リン(IP)はMolybdenum blue法により、自動分析装置(AU 500, オリンパス光学工業株式会社)を用いて測定した。

NaおよびKはイオン選択電極法により、Clは電量滴定法により、いずれも全自動電解質分析装置(EA04, 株式会社 A & T)を用いて測定した。

蛋白分画は、電気泳動法により自動電気泳動装置(AES 600, オリンパス光学工業株式会社)を用いて測定した。

アルブミン量は総蛋白量および蛋白分画値から、A/G(アルブミン/グロブリン)比は蛋白分画値から算出した。

(6) 剖検

上記の (4) および (5) で採血した動物をさらに放血致死させた後に器官・組織の肉眼的観察を行った。胸腺、肝臓、腎臓、精巣および精巣上体は摘出後に重量を測定し、副腎、脳、心臓および脾臓とともに 10 % 中性緩衝ホルマリン液に固定し、保存した。ただし、精巣および精巣上体はブアン液に約 24 時間固定後、アルコールに保存した。

(7) 病理組織学的検査

摘出した器官・組織について常法に従ってパラフィン包埋標本を作製した。

対照群および最高用量 (1000 mg/kg) 群の心臓、肝臓、脾臓、胸腺、腎臓、精巣、精巣上体、副腎および脳について H-E 染色組織標本を作製し、病理組織学的に検査した。

2) 雌 (P)

(1) 一般状態

一般状態および死亡の有無は、投与期間中には投与前・後の 1 日 2 回 (ただし、剖検日は剖検前 1 回) 観察した。

(2) 性周期

性周期は、投与開始日から交尾確認日まで毎日 1 回観察した。なお、発情期が連続 2 日間にわたって観察される場合は 1 回と計数した。

(3) 体重測定

体重は、交配開始前 14 日間および交配期間中には 1 週間に 2 回 (測定日: 投与 1, 4, 8, 11, 15, 18, 22, 25 および 29 日), 妊娠期間中には妊娠 0, 7, 14 および 21 日に、哺育期間には哺育 0 および 4 日にそれぞれ測定した。

(4) 摂餌量測定

摂餌量は、交配開始前 14 日間までは 1 週間に 2 回測定した (測定日: 投与 3, 6, 10 および 13 日)。また、妊娠期間中は妊娠 2, 9, 16 および 21 日に、哺育期間中は哺育 4 日に測定した。

(5) 交尾不成立雌の剖検

交尾不成立雌は、交配期間終了後にエーテル麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後に剖検し、着床の有無により妊娠の有無を確認した。不妊娠は、肝臓、腎臓、胸腺および卵巣は摘出後に重量を測定し、副腎、脳、心臓および脾臓とともに 10 % 中性緩衝ホルマリン液に固定し、保存した。

(6) 分娩状態の観察

交尾雌は自然分娩させ、分娩状態の異常の有無、分娩終了の確認を妊娠 21 日から妊娠 25 日の午前 10 時まで毎日行った。午前 10 時に分娩が終了していた場合、その日を哺育 0 日とした。

(7) 哺育状態の観察および剖検

母動物は、哺育状態を哺育 4 日まで毎日観察し、哺育 4 日にエーテル麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後に剖検し、着床痕数および黄体数を数えた。肝臓、腎臓、胸腺および卵巣は摘出後に重量を測定し、副腎、脳、心臓および脾臓とともに 10 % 中性緩衝ホ

ホルマリン液に固定し、保存した。

(8) 全出生児が死亡した母動物の剖検

全出生児が死亡した母動物は、発見後速やかにエーテル麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後に剖検し、着床痕数および黄体数を数えた。肝臓、腎臓、胸腺および卵巣は摘出後に重量を測定し、副腎、脳、心臓および脾臓とともに 10 % 中性緩衝ホルマリン液に固定し、保存した。

(9) 病理組織学的検査

摘出した器官・組織について常法に従ってパラフィン包埋標本を作製した。

対照群および最高用量(1000 mg/kg)群の心臓、肝臓、脾臓、胸腺、腎臓、卵巣、副腎および脳についてH-E染色組織標本を作製し、病理組織学的に検査した。

3) 親動物(P)の生殖発生に及ぼす影響

14 日間にわたって投与された雌雄は、同一群内で 1 対 1 に組み合わせて同居交配した。交配期間は 14 日を限度として、交尾を確認するまでの連続同居交配とした。

交尾確認は毎朝ほぼ一定時刻に行い、膣垢内に精子または膣栓を確認した雌を交尾成立動物として、その日を妊娠 0 日として起算した。

4) 新生児(F₁)

(1) 出産時の観察

出産時に総出産児数と性、死産児数、新生児数および外表異常の有無を観察した。死産児は、10 % 中性緩衝ホルマリン液に固定し、保存した。

(2) 新生児の観察

新生児は、一般状態および死亡の有無を生存期間中毎日 1 回観察した。死亡児は、剖検後 10 % 中性緩衝ホルマリン液に固定し、保存した。

(3) 体重

体重は、哺育 0 日(出生日)および 4 日に測定した。

(4) 剖検

生存児は、哺育 4 日の観察終了後にエーテル麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後に剖検した。

6. 統計学的方法

測定値の統計学的方法は下記の検定法を用い、有意差検定は対照群と 2,6-ナフタレンジカルボン酸ジメチルエステルの各投与群との間で行った。いずれの検定においても、危険率 5 % 未満を有意とし、5 % 未満($p < 0.05$)と 1 % 未満($p < 0.01$)とに分けて表示した。新生児は一腹の平均値と腹重量を検定した。

1) 多重比較検定

Bartlett法による等分散性の検定を行い、等分散ならば一元配置法による分散分析を行い、有意ならば対照群との群間比較はDunnett法を用いて行った。一方、等分散と認められなかった場合は、順位を利用した一元配置法による分析(Kruskal-Wallisの検定)を行い、有意ならば対照群との群間比較は順位を利用したDunnett型の検定法を用いて行った。

体重(親動物、新生児)、摂餌量、発情回数、交尾日数、妊娠期間 = [分娩日(哺育 0日) - 交尾確認日]、着床痕数、総出産児数 = (新生児数 + 死産児数)、新生児数、死産児数、分娩率 = [(総出産児数 / 着床痕数) × 100]、児の産出率 = [(哺育 0日の新生児数 / 着床痕数) × 100]、黄体数、着床率 = [(着床痕数 / 黄体数) × 100]、出生率 = [(哺育 0日の新生児数 / 総出産児数) × 100]、哺育 4日の生存児数、哺育 4日の生存率 = [(哺育 4日の生存児数 / 哺育 0日の新生児数) × 100]、外表異常出現率 = [(外表異常児数 / 新生児数) × 100]、性比 = (雄 / 雌)、器官重量(相対重量を含む)、血液学的検査成績、血液化学的検査成績。

2) χ^2 検定

交尾率 = [(交尾成立動物数 / 同居動物数) × 100]、受胎率 = [(受胎雌数 / 交尾成立動物数) × 100]、出産率 = [(新生児出産雌数 / 受胎雌数) × 100]。

結果

I. 反復投与毒性

1. 雄(P)に及ぼす影響

1) 一般状態(Table 1-1~1-2, Appendix 1-1~1-5)

死亡は、対照群、各投与群とも認められなかった。

一般状態観察において、対照群、30, 100, 300 および 1000 mg/kg群とも観察期間を通していずれの動物にも異常はみられなかった。

2) 体重(Table 2, Fig.1, Appendix 2-1~2-5)

各投与群の体重は、対照群とほぼ同様の推移であり、いずれの測定日にも有意差はみられなかった。

3) 摂餌量(Table 3, Fig.2, Appendix 3-1~3-5)

30, 100 および 1000 mg/kg群の摂餌量は, 対照群とほぼ同程度であり, いずれの測定日にも有意差はみられなかった. 300 mg/kg群では, 対照群と比べて投与 41 日に摂餌量の有意な低値がみられたが, 投与量に依存したものではなかった.

4) 血液学的検査(Table 4, Appendix 4-1~4-5)

30, 100 および 300 mg/kg群では, 対照群と比べていずれの測定項目にも有意差はみられなかった. 1000 mg/kg群では, 対照群と比べてヘマトクリット値の有意な低値がみられた.

5) 血液化学的検査(Table 5, Appendix 5-1~5-5)

各投与群とも, 対照群と比べていずれの測定項目にも有意差はみられなかった.

6) 剖検所見(Table 6, Appendix 6-1~6-5)

片側性精巣上体の尾部に黄白色結節が対照群で 1 例, 100 mg/kg群で 2 例と 1000 mg/kg群で 1 例にみられた. 30 および 300 mg/kg群では, いずれにも異常はみられなかった.

7) 器官重量(Table 7, Appendix 7-1~7-5)

各投与群とも, 対照群と比べていずれの器官重量にも有意差はみられなかった.

8) 病理組織学的検査(Table 8, Appendix 8-1~8-2)

腎臓: 近位尿細管内の好酸性小体が対照群で 2 例と 1000 mg/kg群で 1 例にみられたが, それらの程度はごく軽度~軽度であった.

精巣上体: 尾部の精子肉芽腫が対照群で 1 例と 1000 mg/kg群で 1 例にみられたが, その程度はいずれも軽度であった. なお, いずれも剖検において, 精巣上体の尾部に黄白色結節が観察された動物であった.

その他には, 心臓, 肝臓, 脾臓, 胸腺, 精巣, 副腎および脳では対照群および 1000 mg/kg群とも異常はみられなかった.

2. 雌(P)に及ぼす影響

1) 一般状態(Table 9-1, 9-2, 10, 11, Appendix 9-1~9-5, 10-1~10-5, 11-1~11-5)

死亡は, 対照群, 各投与群とも認められなかった.

一般状態観察において, 対照群, 30, 100, 300 および 1000 mg/kg群とも観察期間を通していずれの動物にも異常はみられなかった.

2) 体重 (Table 12~14, Fig.3~4, Appendix 12-1~12-5, 13-1~13-5, 14-1~14-5)

各投与群の体重は、対照群とほぼ同様の推移であり、いずれの測定日にも有意差はみられなかった。

3) 摂餌量 (Table 15~17, Fig.5~6, Appendix 15-1~15-5, 16-1~16-5, 17-1~17-5)

各投与群の摂餌量は、対照群とほぼ同程度であり、いずれの測定日にも有意差はみられなかった。

4) 剖検所見 (Table 18, Appendix 18-1~18-5)

対照群, 30, 100 および 300 mg/kg群では異常はみられなかった。1000 mg/kg群では、脾臓と腹壁と大網との癒着が 1 例にみられたのみであった。

5) 器官重量 (Table 19, Appendix 19-1~19-5)

各投与群とも、対照群と比べていずれの器官重量にも有意差はみられなかった。

6) 病理組織学的検査 (Table 20, Appendix 20-1~20-2)

副腎：片側性の束状帯巣状変性が 1000 mg/kg群で 1 例にみられたが、その程度はごく軽度であった。

脾臓：癒着性の炎症が 1000 mg/kgで 1 例(剖検で脾臓と腹壁と大網との癒着が観察された動物)にみられたが、その程度はごく軽度であった。

その他には、心臓、肝臓、胸腺、卵巣、腎臓および脳では対照群および 1000 mg/kg群とも異常はみられなかった。

II. 生殖発生毒性

1. 親動物(P)の生殖発生に及ぼす影響

1) 発情回数 (Table 21, Appendix 21-1~21-5)

交配前の投与期間(14 日間)の発情回数は、各投与群とも対照群との間に有意差はみられなかった。

2) 交尾日数, 交尾率, 受胎雌数および受胎率 (Table 21, Appendix 21-1~21-5)

1000 mg/kg投与群の 1 組を除いた全例で交尾が確認された。交尾日数は、各投与群とも対照群との間に有意差はみられなかった。また、交尾率にも、各投与群と対照群との間に有意差はみられなかった。

不受胎雌は、いずれの群にもみられなかった。したがって、受胎率はいずれの群とも 100 %であった。なお、受胎雌の全例が新生児を分娩した。

3) 妊娠期間および分娩状態 (Table 22, Appendix 22-1~22-5)

妊娠期間は、各投与群とも対照群との間に有意差はみられなかった。また、いずれの動物とも分娩状態に異常はみられなかった。

4) 黄体数、着床痕数および着床率 (Table 22, Appendix 22-1~22-5)

黄体数、着床痕数および着床率は、各投与群とも対照群との間に有意差はみられなかった。

5) 出産率 (Table 22, Appendix 22-1~22-5)

対照群、各投与群とも出産率は 100 %であった。

2. 新生児 (F₁) に及ぼす影響

1) 総出産児数および分娩率 (Table 22, Appendix 22-1~22-5)

総出産児数および分娩率は、各投与群とも対照群の間に有意差はみられなかった。

2) 出生率、児の産出率および性比 (Table 22, Appendix 22-1~22-5)

哺育 0 日の新生児数、死産児数、出生率、児の産出率および性比は、各投与群とも対照群との間に有意差はみられなかった。

3) 新生児の一般状態、哺育 4 日の生存児数、哺育 4 日の生存率および外表異常の観察 (Table 22, Appendix 22-1~22-5)

新生児の一般状態では、いずれの群とも異常症状は観察されなかった。

哺育 4 日の生存児数、哺育 4 日の生存率および哺育 4 日の性比は、各投与群とも対照群との間に有意差はみられなかった。

新生児の外表異常の観察では、いずれの群とも異常はみられなかった。

4) 新生児の体重 (Table 23, Fig.7, Appendix 23-1~23-5)

哺育 0 日および 4 日の雌雄別平均、腹平均および腹合計の体重は、各投与群とも対照群との間に有意差はみられなかった。

5) 生存児の剖検所見 (Table 24, Appendix 24-1~24-5)

対照群、300 および 1000 mg/kg 群では、いずれにも異常はみられなかった。30 mg/kg 群で片側性水腎症が 1 例、100 mg/kg 群で肝臓の白色化が 1 例にみられたのみであった。

考察

2,6-ナフタレンジカルボン酸ジメチルエステルのラットを用いる経口投与による反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験を実施した。投与量は、1000 mg/kgを最高用量とし、以下300, 100 および 30 mg/kgとした。なお、対照として媒体(0.5 %カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液)投与群を設けた。

雄動物(P)に関しては、1000 mg/kg群でヘマトクリット値の軽度な低値がみられたが、当所のバックグラウンドデータの範囲内であることから、生理的範囲内の変動と考えられる。一般状態、体重推移、摂餌量、血液化学的検査結果、器官重量には投与に起因すると思われる変化はみられなかった。なお、剖検において片側性精巣上体の尾部に黄白色結節が、病理組織学的検査において腎臓の近位尿細管内の好酸性小体、精巣上体の尾部の精子肉芽腫がみられたが、いずれも少数例であり、対照群でも同程度にみられていることから、偶発的变化と考えられる。

雌動物(P)に関しては、1000 mg/kg群でも一般状態、体重推移、摂餌量、器官重量には投与に起因すると思われる変化はみられなかった。なお、剖検において脾臓と腹壁と大網との癒着が 1000 mg/kg群でみられたが、1 例のみであり、投与によるものではないと考えられる。また、病理組織学的検査で認められた副腎の片側性の束状帯巣状変性も 1 例のみであることから、偶発的变化と考えられる。

したがって、当試験条件下における 2,6-ナフタレンジカルボン酸ジメチルエステルの一般毒性学的無影響量は、雌雄とも 1000 mg/kgと考えられる。

親動物(P)の生殖発生に対しては、各投与群とも発情回数、交尾率、交尾日数、受胎率および受胎雌数に影響はみられなかった。また、各投与群とも妊娠期間、分娩状態、黄体数、着床痕数、着床率および出産率にも影響はみられなかった。

新生児(F₁)に対しては、各投与群とも総出産児数、分娩率、死産児数、哺育 0 日の新生児数、出生率、児の産出率、性比に影響はみられなかった。外表観察では、いずれの群とも異常はみられなかった。また、一般状態、哺育 4 日の生存児数、生存率、性比、体重、剖検にも影響はみられなかった。

したがって、当試験条件下における 2,6-ナフタレンジカルボン酸ジメチルエステルの生殖発生毒性学的な無影響量は、雌雄の生殖および児動物の発生に関していずれも 1000 mg/kgと推察される。

以上のように、2,6-ナフタレンジカルボン酸ジメチルエステルの一般毒性学的無影響量は、いずれの項目にも影響が認められなかったことから雌雄とも 1000 mg/kgと考えられる。また、生殖発生毒性学的な無影響量は、いずれの項目にも影響が認められなかったことから雌雄の生殖および児動物の発生とも 1000 mg/kgと推察される。

文献

- 1) OECD GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS, Combined Repeat Dose and Reproductive /Developmental Toxicity Screening Test(厚生省 生活衛生局企画課 生活化学安全対策室から提供された資料)
- 2) 2,6-ナフタレンジカルボン酸ジメチルエステルのラットを用いる経口投与による反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験の予備試験 株式会社日本バイオリサーチセンター 羽島研究所 (試験番号: 092015P) 最終報告書

Table 1-1 General sign of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration

Group (mg/kg)		Number of males and general sign	Days of administration																								
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15*	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
Control	0	Number of males	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
		Normal	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
dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate	30	Number of males	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
		Normal	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
	100	Number of males	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
		Normal	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
	300	Number of males	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
		Normal	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
	1000	Number of males	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
		Normal	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

*: Commencement of pairing.

Table 1-2 General sign of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration

Group (mg/kg)		Number of males and general sign	Days of administration																									
			26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	
Control	0	Number of males	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	
		Normal	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	
dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate	30	Number of males	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	
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12		
	100	Number of males	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	
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12		
	300	Number of males	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	
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12		
	1000	Number of males	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	
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12		

Table 2 Body weight of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration

Group (mg/kg)	Control		dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate				
	0		30	100	300	1000	
Number of males	12		12	12	12	12	
Days of admin- istration							
1	365.2 ± 10.5		365.3 ± 9.9	365.5 ± 10.0	365.8 ± 10.7	365.2 ± 10.1	
4	379.8 ± 13.1		381.2 ± 13.3	382.4 ± 8.6	383.6 ± 11.9	387.5 ± 13.0	
8	393.6 ± 16.8		395.6 ± 17.2	401.9 ± 11.2	402.3 ± 16.8	404.3 ± 16.1	
11	403.8 ± 19.2		404.6 ± 17.6	413.1 ± 10.8	413.5 ± 17.1	416.0 ± 17.1	
15	417.4 ± 21.2		417.3 ± 23.3	428.7 ± 12.4	430.3 ± 21.1	430.5 ± 21.7	
18	424.3 ± 21.7		423.3 ± 22.6	434.8 ± 13.4	438.0 ± 20.1	441.3 ± 21.7	
22	443.2 ± 24.6		442.3 ± 23.0	455.3 ± 14.4	458.9 ± 22.8	458.7 ± 22.7	
25	453.0 ± 25.3		450.7 ± 23.2	466.9 ± 14.1	467.3 ± 24.5	467.0 ± 23.0	
29	469.3 ± 28.1		464.1 ± 25.3	487.3 ± 16.3	488.9 ± 26.5	485.6 ± 22.0	
32	469.8 ± 27.3		466.8 ± 24.2	488.1 ± 16.1	489.1 ± 26.5	488.0 ± 23.8	
36	481.7 ± 27.3		479.3 ± 25.8	501.7 ± 18.1	499.8 ± 27.2	498.9 ± 25.9	
39	484.0 ± 29.8		480.3 ± 29.2	507.1 ± 20.9	505.8 ± 27.2	503.8 ± 27.3	
43	492.8 ± 31.2		489.8 ± 32.6	516.6 ± 20.9	514.3 ± 27.7	513.2 ± 27.5	
46	490.5 ± 32.3		491.0 ± 32.2	519.5 ± 21.3	514.6 ± 29.3	513.0 ± 28.0	
50	474.3 ± 31.6		473.0 ± 34.2	501.3 ± 19.4	500.3 ± 28.9	496.8 ± 29.0	

Each value shows mean (g) ± S.D.

Table 3 Food consumption of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration

Group (mg/kg)	Control		dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate									
	0		30		100		300		1000			
Number of males	12		12		12		12		12		12	
Days of administration												
3	28.3 ±	3.2	29.3 ±	2.8	29.9 ±	2.8	28.9 ±	2.1	29.8 ±	2.2	29.8 ±	2.2
6	30.8 ±	1.7	29.9 ±	3.2	30.7 ±	1.7	29.8 ±	2.2	31.6 ±	2.2	31.6 ±	2.2
10	29.2 ±	2.2	28.4 ±	2.5	29.8 ±	2.2	29.2 ±	2.1	29.6 ±	2.6	29.6 ±	2.6
13	29.3 ±	2.1	29.0 ±	2.5	29.7 ±	2.1	28.9 ±	1.7	30.2 ±	2.7	30.2 ±	2.7
31	30.1 ±	2.7	28.9 ±	1.8	29.8 ±	2.1	28.3 ±	2.6	30.0 ±	2.4	30.0 ±	2.4
34	29.4 ±	2.7	27.8 ±	1.8	29.5 ±	2.6	27.8 ±	1.8	28.4 ±	3.0	28.4 ±	3.0
38	29.6 ±	3.0	29.0 ±	2.4	30.4 ±	1.7	28.5 ±	1.9	30.4 ±	2.8	30.4 ±	2.8
41	27.6 ±	3.0	25.8 ±	3.4	28.0 ±	2.3	25.4 ±	0.8*	25.9 ±	2.2	25.9 ±	2.2
45	28.3 ±	2.6	27.7 ±	2.9	28.8 ±	2.8	26.9 ±	1.9	27.6 ±	2.8	27.6 ±	2.8
48	27.8 ±	2.4	27.5 ±	2.5	28.5 ±	2.5	26.9 ±	1.6	26.4 ±	2.7	26.4 ±	2.7

Each value shows mean (g/day) ± S.D.

Significantly different from control (*: P<0.05).

Table 4 Hematological examination of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration

Group (mg/kg)	Control		dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate							
	0		30		100		300		1000	
Number of males	12		12		12		12		12	
RBC ($10^4/\text{mm}^3$)	900.5 ±	51.7	890.5 ±	30.7	890.0 ±	46.0	881.3 ±	33.0	862.1 ±	45.7
Hemoglobin (g/dl)	15.77 ±	0.61	15.76 ±	0.59	15.78 ±	0.57	15.63 ±	0.41	15.33 ±	0.55
Hematocrit (%)	45.93 ±	1.61	45.76 ±	1.45	45.56 ±	1.32	45.20 ±	0.83	44.25 ±	1.47*
MCV (μm^3)	51.08 ±	1.45	51.40 ±	1.02	51.28 ±	2.19	51.33 ±	1.44	51.40 ±	1.84
MCH (pg)	17.54 ±	0.54	17.71 ±	0.45	17.76 ±	0.87	17.74 ±	0.60	17.81 ±	0.67
MCHC (g/dl)	34.34 ±	0.42	34.44 ±	0.33	34.63 ±	0.45	34.58 ±	0.47	34.65 ±	0.23
Platelet ($10^4/\text{mm}^3$)	103.66 ±	12.75	105.33 ±	6.18	109.18 ±	10.05	103.86 ±	11.00	105.66 ±	7.25
RET (%)	22.5 ±	5.3	22.3 ±	3.7	20.9 ±	3.3	22.6 ±	4.7	22.8 ±	4.5
PT (SEC.)	16.09 ±	0.71	16.69 ±	1.42	15.54 ±	0.64	15.62 ±	0.69	15.72 ±	1.11
APTT (SEC.)	31.74 ±	1.29	31.67 ±	3.06	30.89 ±	2.26	29.82 ±	2.26	31.00 ±	2.51
Fibrinogen (mg/dl)	258.5 ±	31.4	258.3 ±	19.7	257.3 ±	13.9	253.9 ±	14.4	253.7 ±	23.9
WBC ($10^2/\text{mm}^3$)	61.1 ±	22.1	58.8 ±	15.1	71.9 ±	14.5	60.5 ±	10.7	63.1 ±	17.1
Differential leukocyte (%)										
Lymphocyte	88.5 ±	3.1	88.2 ±	4.3	88.2 ±	5.9	88.0 ±	4.0	86.5 ±	6.6
Neutrophil	10.6 ±	3.2	10.4 ±	3.8	11.0 ±	5.4	11.2 ±	3.8	12.4 ±	6.1
Eosinophil	0.4 ±	0.7	0.8 ±	0.8	0.4 ±	0.9	0.3 ±	0.5	0.5 ±	0.7
Basophil	0.0 ±	0.0	0.0 ±	0.0	0.0 ±	0.0	0.0 ±	0.0	0.0 ±	0.0
Monocyte	0.5 ±	0.7	0.6 ±	0.8	0.4 ±	0.5	0.6 ±	0.5	0.6 ±	0.7

Each value shows mean ± S.D.

Significantly different from control (*: $P < 0.05$).

Table 5 Blood chemical examination of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration

Group (mg/kg)	Control		dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate									
	0		30		100		300		1000			
Number of males	12		12		12		12		12		12	
GOT (IU/l)	75.48 ± 18.55		69.05 ± 9.01		67.69 ± 6.36		67.64 ± 8.48		65.62 ± 8.39			
GPT (IU/l)	21.33 ± 3.77		22.61 ± 4.90		21.08 ± 4.43		22.73 ± 2.94		20.14 ± 2.30			
ALP (IU/l)	80.45 ± 22.57		79.31 ± 13.18		75.08 ± 16.02		83.75 ± 11.63		69.90 ± 15.75			
γ-GTP (IU/l)	0.19 ± 0.43		0.00 ± 0.00		0.19 ± 0.43		0.09 ± 0.32		0.00 ± 0.00			
TP (g/dl)	5.69 ± 0.24		5.65 ± 0.28		5.73 ± 0.26		5.75 ± 0.22		5.65 ± 0.20			
Albumin (g/dl)	2.927 ± 0.144		2.954 ± 0.202		2.943 ± 0.132		3.017 ± 0.111		2.968 ± 0.120			
Protein fraction (%)												
Albumin	51.47 ± 1.92		52.27 ± 1.40		51.44 ± 1.64		52.50 ± 1.75		52.53 ± 1.66			
α ₁ -glo	23.46 ± 1.90		22.91 ± 2.75		22.96 ± 1.40		22.53 ± 1.81		22.78 ± 1.67			
α ₂ -glo	4.50 ± 0.80		4.54 ± 1.09		5.00 ± 0.61		4.82 ± 0.47		4.53 ± 0.84			
α ₃ -glo	5.74 ± 0.36		5.56 ± 0.42		5.75 ± 0.25		5.74 ± 0.28		5.53 ± 0.47			
β-glo	11.43 ± 0.70		11.13 ± 0.65		11.63 ± 0.80		11.27 ± 0.78		11.43 ± 0.67			
γ-glo	3.40 ± 0.54		3.60 ± 0.65		3.23 ± 0.78		3.14 ± 0.59		3.22 ± 0.59			
A/G ratio	1.064 ± 0.085		1.097 ± 0.061		1.063 ± 0.070		1.108 ± 0.075		1.108 ± 0.077			
T-BIL (mg/dl)	0.083 ± 0.012		0.082 ± 0.021		0.085 ± 0.022		0.089 ± 0.020		0.086 ± 0.012			
BUN (mg/dl)	20.48 ± 1.95		20.28 ± 3.60		20.63 ± 2.34		19.98 ± 2.58		19.34 ± 2.07			
Creatinine (mg/dl)	0.517 ± 0.143		0.491 ± 0.095		0.498 ± 0.048		0.469 ± 0.089		0.508 ± 0.065			
Glucose (mg/dl)	127.80 ± 13.36		127.09 ± 11.64		121.61 ± 12.92		127.59 ± 8.35		118.13 ± 10.17			
T-CHO (mg/dl)	65.93 ± 10.29		62.53 ± 9.68		69.12 ± 10.31		64.58 ± 14.07		71.12 ± 16.96			
TG (mg/dl)	71.60 ± 26.81		76.93 ± 29.53		97.97 ± 49.69		71.73 ± 26.02		86.07 ± 39.55			
Na (mEq/l)	146.36 ± 1.99		147.10 ± 1.58		146.01 ± 1.55		147.03 ± 1.34		145.88 ± 1.84			
K (mEq/l)	4.350 ± 0.268		4.326 ± 0.209		4.413 ± 0.217		4.447 ± 0.213		4.383 ± 0.168			
Cl (mEq/l)	105.23 ± 1.34		105.43 ± 1.10		105.52 ± 1.32		105.29 ± 0.91		104.95 ± 1.57			
Ca (mg/dl)	10.02 ± 0.19		9.98 ± 0.40		10.15 ± 0.27		10.06 ± 0.30		10.09 ± 0.28			
IP (mg/dl)	6.58 ± 0.94		6.65 ± 0.81		6.64 ± 0.64		6.76 ± 0.87		6.57 ± 0.90			

Each value shows mean ± S.D.

Table 6 Necropsy finding of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration

Group (mg/kg)	Control	dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate			
	0	30	100	300	1000
Number of males	12	12	12	12	12
Normal	11	12	10	12	11
Epididymis(tail)					
Yellow-white nodule(left)	0	0	0	0	1
Yellow-white nodule(right)	1	0	2	0	0

Table 7 Organ weight of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration

Group (mg/kg)	Control		dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate									
	0		30		100		300		1000			
Number of males	12		12		12		12		12			
Body weight (g)	474.3 ±	31.6	473.0 ±	34.2	501.3 ±	19.4	500.3 ±	28.9	496.8 ±	29.0		
Thymus (mg)	267.68 ±	44.86	282.50 ±	89.79	294.58 ±	57.81	266.88 ±	50.29	310.02 ±	80.08		
(mg%)	56.63 ±	10.01	59.38 ±	15.68	58.78 ±	11.34	53.52 ±	10.59	62.38 ±	15.23		
Liver (g)	12.111 ±	1.057	11.889 ±	1.030	13.008 ±	1.547	12.755 ±	1.007	12.498 ±	1.192		
(g%)	2.552 ±	0.123	2.513 ±	0.088	2.589 ±	0.227	2.548 ±	0.099	2.512 ±	0.137		
Kidneys (g)	2.963 ±	0.221	2.993 ±	0.296	2.973 ±	0.207	3.093 ±	0.297	2.990 ±	0.268		
(g%)	0.626 ±	0.044	0.633 ±	0.055	0.593 ±	0.037	0.620 ±	0.059	0.603 ±	0.055		
Testes (g)	3.396 ±	0.187	3.472 ±	0.180	3.380 ±	0.297	3.421 ±	0.211	3.468 ±	0.161		
(g%)	0.718 ±	0.053	0.738 ±	0.070	0.676 ±	0.068	0.684 ±	0.044	0.701 ±	0.046		
Epididymides (g)	1.310 ±	0.081	1.290 ±	0.079	1.304 ±	0.082	1.324 ±	0.095	1.330 ±	0.052		
(g%)	0.277 ±	0.024	0.273 ±	0.023	0.261 ±	0.021	0.265 ±	0.026	0.268 ±	0.016		

Each value shows mean ± S.D.

Table 8

Histopathological finding of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration

Group (mg/kg)	Control				dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate							
	0				1000							
Incidence & Grade	N	A	±	+	‡	‡‡	N	A	±	+	‡	‡‡
Kidney	[12]						[12]					
Eosinophilic body, proximal tubule	10	2	1	1	0	0	11	1	0	1	0	0
Epididymis	[12]						[12]					
Spermatic granuloma	11	1	0	1 ^a	0	0	11	1	0	1 ^b	0	0

Grade of histopathological finding; ±: Slight, +: Mild, ‡: Moderate, ‡‡: Marked.

N : No abnormality detected.

A : Abnormality detected.

[] : Number of males examined.

No remarkable changes were recognized in heart, liver, spleen, thymus, testis, adrenal and brain.

a: right tail.

b: left tail.

Table 9-1 General sign of female rats (P) during pre-mating period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration

Group (mg/kg)		Number of females and general sign	Days of administration														
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15*
Control	0	Number of females	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate	30	Number of females	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	100	Number of females	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	300	Number of females	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	1000	Number of females	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12

*: Commencement of pairing.

Table 9-2 General sign of female rats (P) during mating period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration

Group (mg/kg)		Number of females and general sign	Days of administration													
			16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29
Control	0	Number of females	9	5	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
		Normal	9	5	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-	-
dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate	30	Number of females	9	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Normal	9	5	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	100	Number of females	8	6	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
		Normal	8	6	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-	-
	300	Number of females	10	9	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Normal	10	9	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1000	Number of females	10	6	5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
		Normal	10	6	5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Table 10 General sign of dams (P) during pregnancy period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration

Group (mg/kg)		Number of dams and general sign	Days of pregnancy																						
			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	
Control	0	Number of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate	30	Number of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	100	Number of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	300	Number of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	1000	Number of dams	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
		Normal	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	

Table 11 General sign of dams (P) during lactation period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration

Group (mg/kg)		Number of dams and general sign	Days of lactation				
			0	1	2	3	4
Control	0	Number of dams	12	12	12	12	12
		Normal	12	12	12	12	12
dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate	30	Number of dams	12	12	12	12	12
		Normal	12	12	12	12	12
	100	Number of dams	12	12	12	12	12
		Normal	12	12	12	12	12
	300	Number of dams	12	12	11	11	11
		Normal	12	12	11	11	11
	1000	Number of dams	11	11	11	11	11
		Normal	11	11	11	11	11

Table 12 Body weight of female rats (P) during pre-mating period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration

Group (mg/kg)		Control		dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate						
		0		30	100		300		1000	
Number of females		12		12	12		12		12	
Days of admin- istration		1	244.8 ± 9.6	244.2 ± 8.5	245.3 ± 9.1		244.4 ± 8.4		244.8 ± 8.3	
		4	251.5 ± 8.2	249.0 ± 7.1	246.1 ± 8.6		245.3 ± 9.2		248.4 ± 6.9	
		8	256.9 ± 9.1	253.2 ± 9.2	249.3 ± 10.2		252.1 ± 10.8		254.3 ± 9.5	
		11	258.0 ± 9.1	257.1 ± 10.7	252.9 ± 11.0		254.8 ± 13.1		260.9 ± 10.0	
		15	263.5 ± 9.4	263.0 ± 10.2	259.0 ± 11.4		260.5 ± 14.0		265.7 ± 11.9	

Each value shows mean (g) ± S.D.

Table 13 Body weight of dams (P) during pregnancy period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration

Group (mg/kg)	Control		dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate					
	0		30	100		300		1000
Number of dams	12		12	12		12		11
Days of pregnancy								
0	275.4 ±	12.2	275.8 ±	8.5	271.0 ±	16.1	281.0 ±	14.9
7	309.8 ±	13.7	307.0 ±	7.3	304.0 ±	12.7	308.4 ±	14.7
14	343.9 ±	16.1	341.1 ±	11.5	336.4 ±	14.2	342.1 ±	16.3
21	437.0 ±	23.7	435.3 ±	10.8	425.3 ±	19.7	429.7 ±	26.0
							428.0 ±	22.5

Each value shows mean (g) ± S.D.

Table 14 Body weight of dams (P) during lactation period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration

Group		Control	dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate			
(mg/kg)		0	30	100	300	1000
Number of dams		12	12	12	12	11
Days of lactation	0	313.8 ± 25.5	302.0 ± 18.4	305.8 ± 23.4	310.8 ± 21.5	303.5 ± 16.8
	4	335.8 ± 19.2	316.4 ± 20.6	324.8 ± 16.8	317.8 ± 29.8 (11)	312.1 ± 29.3

Each value shows mean (g) ± S.D.

Figures in parentheses indicate number of dams.

Table 15 Food consumption of female rats (P) during pre-mating period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration

Group (mg/kg)		Control		dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate							
		0		30		100		300		1000	
Number of females		12		12		12		12		12	
Days of admin- istration	3	21.2 ±	1.7	20.6 ±	2.2	20.3 ±	2.6	19.3 ±	2.6	20.6 ±	2.6
	6	21.3 ±	1.9	22.2 ±	2.5	21.2 ±	2.2	22.6 ±	1.7	22.2 ±	2.4
	10	20.8 ±	2.5	21.8 ±	2.9	21.3 ±	2.7	22.3 ±	1.8	22.3 ±	2.6
	13	20.9 ±	1.9	21.0 ±	2.6	21.1 ±	2.8	21.8 ±	2.2	21.5 ±	2.0

Each value shows mean (g/day) ± S.D.

Table 16 Food consumption of dams (P) during pregnancy period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration

Group (mg/kg)	Control		dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate							
	0		30		100		300		1000	
Number of dams	12		12		12		12		11	
Days of pregnancy										
2	26.4 ±	2.8	26.0 ±	1.7	24.4 ±	2.9	25.8 ±	2.1	26.5 ±	2.7
9	27.9 ±	4.3	26.8 ±	2.1	26.6 ±	3.8	27.2 ±	2.3	27.0 ±	1.5
16	27.9 ±	3.7	27.4 ±	2.5	26.8 ±	3.2	26.8 ±	1.6	26.4 ±	2.3
21	23.8 ±	3.0	23.0 ±	2.4	22.3 ±	3.8	22.4 ±	3.1	21.6 ±	2.8

Each value shows mean (g/day) ± S.D.

Table 17 Food consumption of dams (P) during lactation period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration

Group (mg/kg)	Control	dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate			
	0	30	100	300	1000
Number of dams	12	12	12	11	11
Days of lactation 4	32.3 ± 4.9	31.3 ± 10.9	31.7 ± 4.0	35.8 ± 7.3	35.2 ± 8.8

Each value shows mean (g/day) ± S.D.

Table 18 Necropsy finding of female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration

Group (mg/kg)	Control	dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate			
	0	30	100	300	1000
Number of females	12	12	12	12	12
Normal	12	12	12	12	11
Spleen					
Adhesion	0	0	0	0	1
(abdomen and greater omentum)					

Table 19 Organ weight of dams (P) on day 4 of lactation in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration

Group (mg/kg)	Control		dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate									
	0		30		100		300		1000			
Number of dams	12		12		12		11		11			
Body weight (g)	335.8 ± 19.2		316.4 ± 20.6		324.8 ± 16.8		317.8 ± 29.8		312.1 ± 29.3			
Thymus	(mg)		(mg)		(mg)		(mg)		(mg)			
	221.08 ± 61.39		166.57 ± 65.30		196.78 ± 61.12		171.25 ± 36.72		173.00 ± 66.47			
Liver	(mg%)		(mg%)		(mg%)		(mg%)		(mg%)			
	65.60 ± 17.10		52.01 ± 19.48		60.20 ± 17.26		54.30 ± 13.05		55.47 ± 19.77			
Kidneys	(g)		(g)		(g)		(g)		(g)			
	13.142 ± 1.224		12.885 ± 1.450		12.909 ± 1.004		12.939 ± 1.159		12.720 ± 1.251			
Ovaries	(g%)		(g%)		(g%)		(g%)		(g%)			
	3.915 ± 0.275		4.066 ± 0.310		3.978 ± 0.268		4.085 ± 0.332		4.097 ± 0.437			
Kidneys	(g)		(g)		(g)		(g)		(g)			
	1.990 ± 0.129		1.950 ± 0.153		1.938 ± 0.156		2.028 ± 0.170		1.975 ± 0.166			
Ovaries	(g%)		(g%)		(g%)		(g%)		(g%)			
	0.594 ± 0.036		0.618 ± 0.064		0.598 ± 0.042		0.643 ± 0.085		0.640 ± 0.093			
Ovaries	(mg)		(mg)		(mg)		(mg)		(mg)			
	106.99 ± 7.98		108.17 ± 15.37		105.69 ± 19.74		105.51 ± 12.64		107.41 ± 9.69			
Ovaries	(mg%)		(mg%)		(mg%)		(mg%)		(mg%)			
	31.91 ± 2.24		34.15 ± 3.77		32.67 ± 6.72		33.42 ± 5.01		34.76 ± 5.05			

Each value shows mean ± S.D.

Table 20

Histopathological finding of female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration

Group (mg/kg)	Control		dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate			
	0		1000			
Incidence & Grade	N	A	±	+	+	+
Adrenal	[12]					
Degeneration, zona fasciculata, focal, unilateral	12	0				
Spleen	[12]					
Adhesive inflammation	12	0				

Grade of histopathological finding; ±: Slight, +: Mild, ++: Moderate, +++: Marked.

N : No abnormality detected.

A : Abnormality detected.

[] : Number of females examined.

No remarkable changes were recognized in heart, liver, thymus, ovary, kidney and brain.

Table 21 Number of estrous cases and reproductive performance of male and female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration

Group (mg/kg)	Control	dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate			
	0	30	100	300	1000
Number of females	12	12	12	12	12
Number of estrous cases before mating (14 days)					
Mean±S.D.	3.4 ± 0.5	3.3 ± 0.5	3.3 ± 0.5	3.1 ± 0.3	3.3 ± 0.5
Number of pairs	12	12	12	12	12
Number of pairs with successful copulation	12	12	12	12	11
Copulation index (%) ^{a)}	100.0	100.0	100.0	100.0	91.7
Number of conceiving days					
Mean±S.D.	3.2 ± 3.3	2.6 ± 1.3	3.2 ± 3.3	3.3 ± 1.2	2.6 ± 1.2
Conceiving days 1-5	11	12	11	12	11
Conceiving days ≥6	1	0	1	0	0
Number of pregnant females	12	12	12	12	11
Fertility index (%) ^{b)}	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
Number of pregnant females with live pups	12	12	12	12	11

a): (Number of pairs with successful copulation / number of pairs)×100.

b): (Number of pregnant females / number of pairs with successful copulation)×100.

Table 22 Observation of pups (F1) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration

Group (mg/kg)	Control	dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate			
	0	30	100	300	1000
Number of dams	12	12	12	12	11
Length of gestation (days)					
Mean $\pm$ S.D. per dam	22.17 $\pm$ 0.39	22.50 $\pm$ 0.52	22.33 $\pm$ 0.49	22.58 $\pm$ 0.51	22.36 $\pm$ 0.50
Pregnancy days $\leq$ 21	0	0	0	0	0
Pregnancy days = 22	10	6	8	5	7
Pregnancy days $\geq$ 23	2	6	4	7	4
Number of corpora lutea					
Total	215	226	215	209	202
Mean $\pm$ S.D. per dam	17.9 $\pm$ 1.6	18.8 $\pm$ 1.6	17.9 $\pm$ 2.1	17.4 $\pm$ 1.9	18.4 $\pm$ 2.2
Number of implantation scars					
Total	198	212	201	193	182
Mean $\pm$ S.D. per dam	16.5 $\pm$ 2.4	17.7 $\pm$ 1.8	16.8 $\pm$ 2.9	16.1 $\pm$ 2.2	16.5 $\pm$ 2.2
Implantation index ^{a)}					
Mean $\pm$ S.D. per dam	92.0 $\pm$ 10.4	93.8 $\pm$ 5.7	93.3 $\pm$ 10.3	92.3 $\pm$ 6.5	90.2 $\pm$ 7.0
Gestation index (%) ^{b)}	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
Number of live pups born					
Male	85	96	93	96	85
Female	92	89	87	71	82
Total	177	185	180	167	167
Mean $\pm$ S.D. per dam	14.8 $\pm$ 2.2	15.4 $\pm$ 1.8	15.0 $\pm$ 2.0	13.9 $\pm$ 2.5	15.2 $\pm$ 1.8
Sex ratio at birth ^{c)}					
Mean $\pm$ S.D. per dam	0.96 $\pm$ 0.28	1.34 $\pm$ 1.05	1.22 $\pm$ 0.62	1.56 $\pm$ 0.96	1.28 $\pm$ 0.98
Sex ratio on day 4 of lactation ^{d)}					
Mean $\pm$ S.D. per dam	1.00 $\pm$ 0.35	1.33 $\pm$ 1.06	1.20 $\pm$ 0.57	1.65 $\pm$ 0.95 (11)	1.27 $\pm$ 0.90
Birth index ^{e)}					
Mean $\pm$ S.D. per dam	89.6 $\pm$ 6.3	87.2 $\pm$ 6.8	90.3 $\pm$ 8.3	87.6 $\pm$ 14.9	92.1 $\pm$ 6.2
Number of dead pups on day 0 of lactation					
Total	6	11	2	6	0
Mean $\pm$ S.D. per dam	0.5 $\pm$ 0.9	0.9 $\pm$ 0.9	0.2 $\pm$ 0.4	0.5 $\pm$ 1.4	0.0 $\pm$ 0.0
Number of pups born					
Total	183	196	182	173	167
Mean $\pm$ S.D. per dam	15.3 $\pm$ 2.3	16.3 $\pm$ 1.6	15.2 $\pm$ 2.2	14.4 $\pm$ 2.1	15.2 $\pm$ 1.8
Delivery index ^{f)}					
Mean $\pm$ S.D. per dam	92.3 $\pm$ 5.2	92.5 $\pm$ 4.7	91.3 $\pm$ 8.0	90.2 $\pm$ 9.4	92.1 $\pm$ 6.2
Live birth index ^{g)}					
Mean $\pm$ S.D. per dam	96.9 $\pm$ 5.5	94.4 $\pm$ 5.6	99.0 $\pm$ 2.3	96.5 $\pm$ 10.4	100.0 $\pm$ 0.0
Number of live pups on day 4 of lactation					
Male	83	92	92	91	84
Female	88	84	87	64	80
Total	171	176	179	155	164
Mean $\pm$ S.D. per dam	14.3 $\pm$ 2.1	14.7 $\pm$ 2.6	14.9 $\pm$ 2.1	12.9 $\pm$ 4.5	14.9 $\pm$ 1.9
Viability index ^{h)}					
Mean $\pm$ S.D. per dam	96.8 $\pm$ 5.5	95.4 $\pm$ 13.6	99.4 $\pm$ 2.0	89.8 $\pm$ 28.5	98.2 $\pm$ 3.1
Number of external anomalies	0	0	0	0	0
Mean $\pm$ S.D. per dam	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0

a): (Number of implantation scars / number of corpora lutea) $\times$ 100.

c): Number of male pups / number of female pups.

e): (Number of pups born / number of implantation scars) $\times$ 100.

g): (Number of live pups on day 4 / number of live pups born) $\times$ 100.

b): (Number of dams with live pups / number of pregnant dams) $\times$ 100.

d): (Number of live pups born / number of implantation scars) $\times$ 100.

f): (Number of live pups born / number of pups born) $\times$ 100.

Figures in parentheses indicate number of dams.

Table 23 Body weight of pups (F1) on days 0 and 4 of lactation in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration

Group (wg/kg)	Control	dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate			
	0	30	100	300	1000
Number of dams	12	12	12	12	11
Male weight					
Days of lactation					
0	6.45 ± 0.36	6.36 ± 0.41	6.35 ± 0.58	6.70 ± 0.72	6.65 ± 0.74
4	10.03 ± 1.05	9.71 ± 1.63	10.06 ± 1.31	11.14 ± 1.18 (11)	10.51 ± 1.37
Female weight					
Days of lactation					
0	6.05 ± 0.41	5.93 ± 0.42	6.05 ± 0.59	6.33 ± 0.74	6.15 ± 0.71
4	9.59 ± 1.04	8.98 ± 1.49	9.70 ± 1.41	10.60 ± 1.30 (11)	9.86 ± 1.44
Mean pups weight					
Days of lactation					
0	6.26 ± 0.38	6.16 ± 0.43	6.23 ± 0.60	6.56 ± 0.72	6.40 ± 0.68
4	9.80 ± 1.03	9.38 ± 1.61	9.90 ± 1.36	10.94 ± 1.19 (11)	10.20 ± 1.35
Litter weight					
Days of lactation					
0	91.84 ± 12.65	95.02 ± 12.67	92.26 ± 8.76	90.73 ± 15.72	96.39 ± 9.60
4	138.23 ± 14.31	139.74 ± 36.35	145.37 ± 11.55	152.18 ± 13.43 (11)	150.28 ± 12.41

Each value shows mean (g) ± S.D. per dam.

Figures in parentheses indicate number of dams.

Table 24 Necropsy finding of pups (F1) on day 4 of lactation in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration

Group (mg/kg)	Control	dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate			
	0	30	100	300	1000
Number of males	83	92	92	91	84
Normal	83	91	91	91	84
Liver					
White	0	0	1	0	0
Kidney					
Hydronephrosis(right)	0	1	0	0	0
Number of females	88	84	87	64	80
Normal	88	84	87	64	80

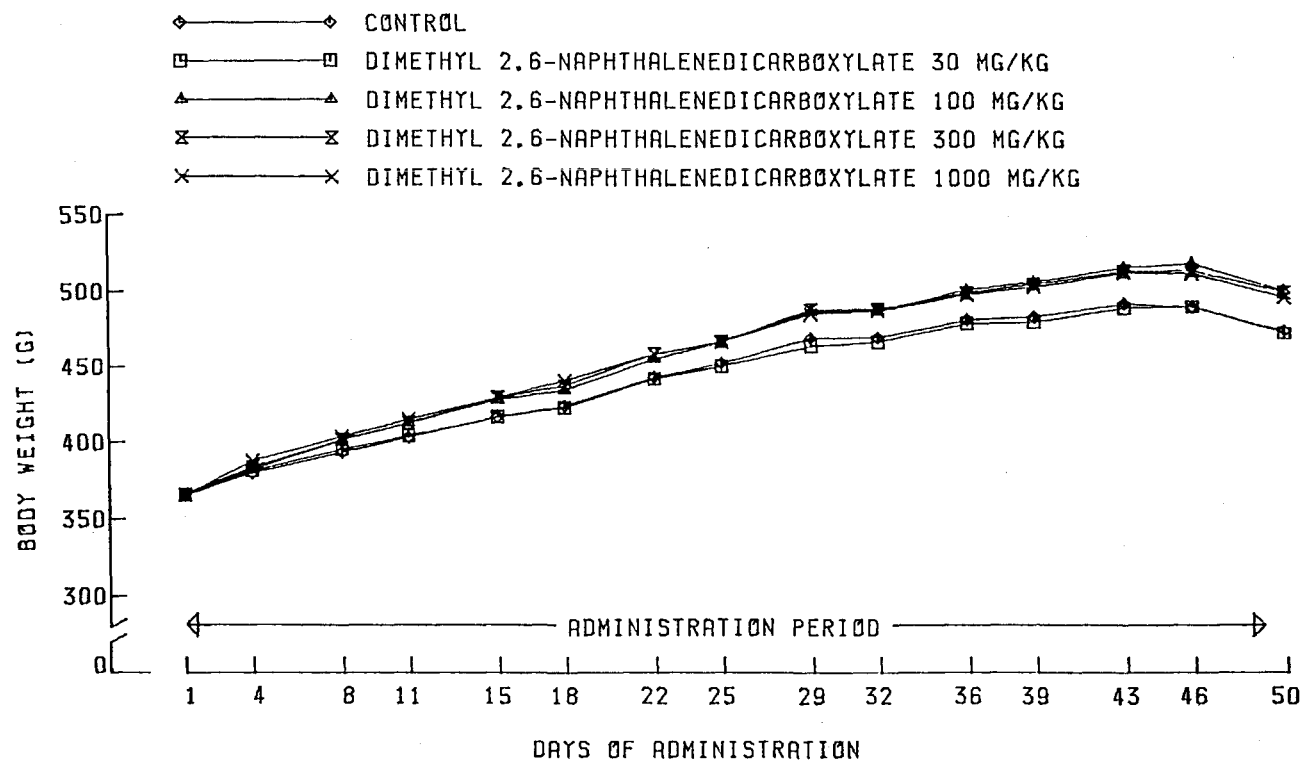


Fig. 1 Body weight of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration.

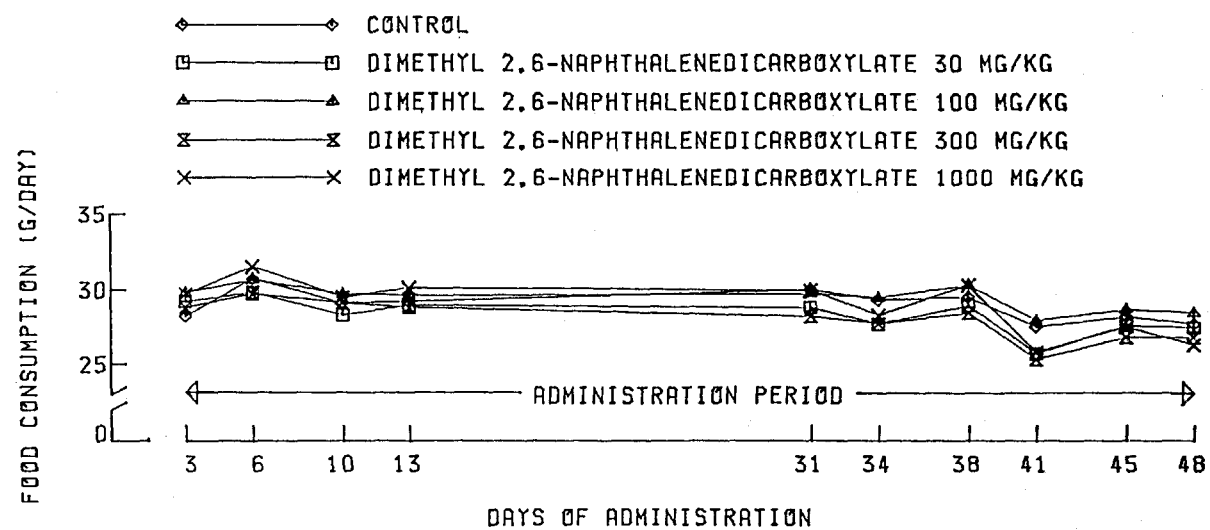


Fig. 2 Food consumption of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration.

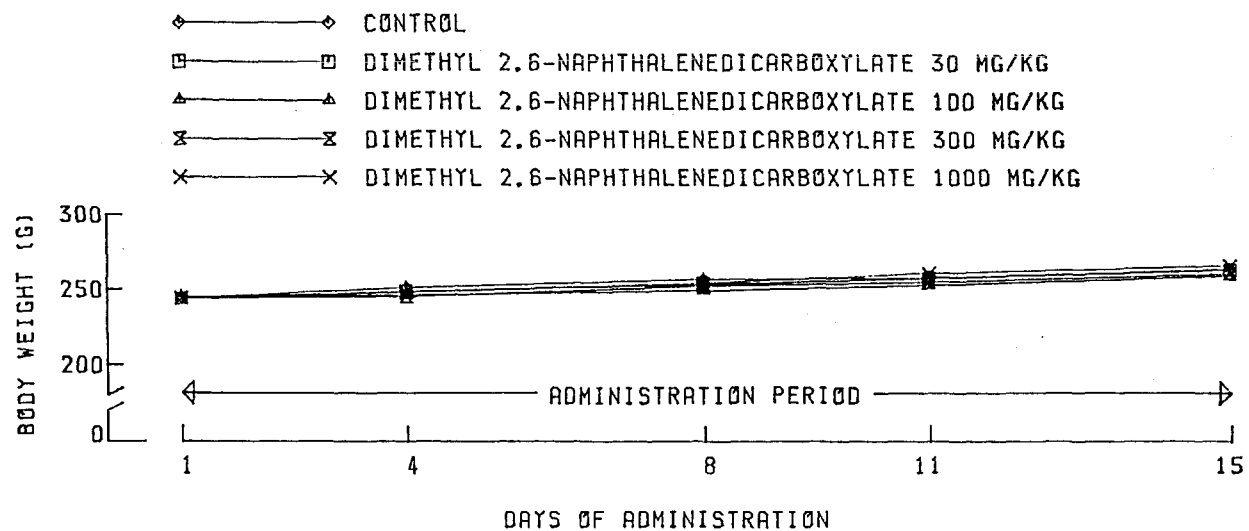


Fig. 3 Body weight of female rats (P) during pre-mating period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration.

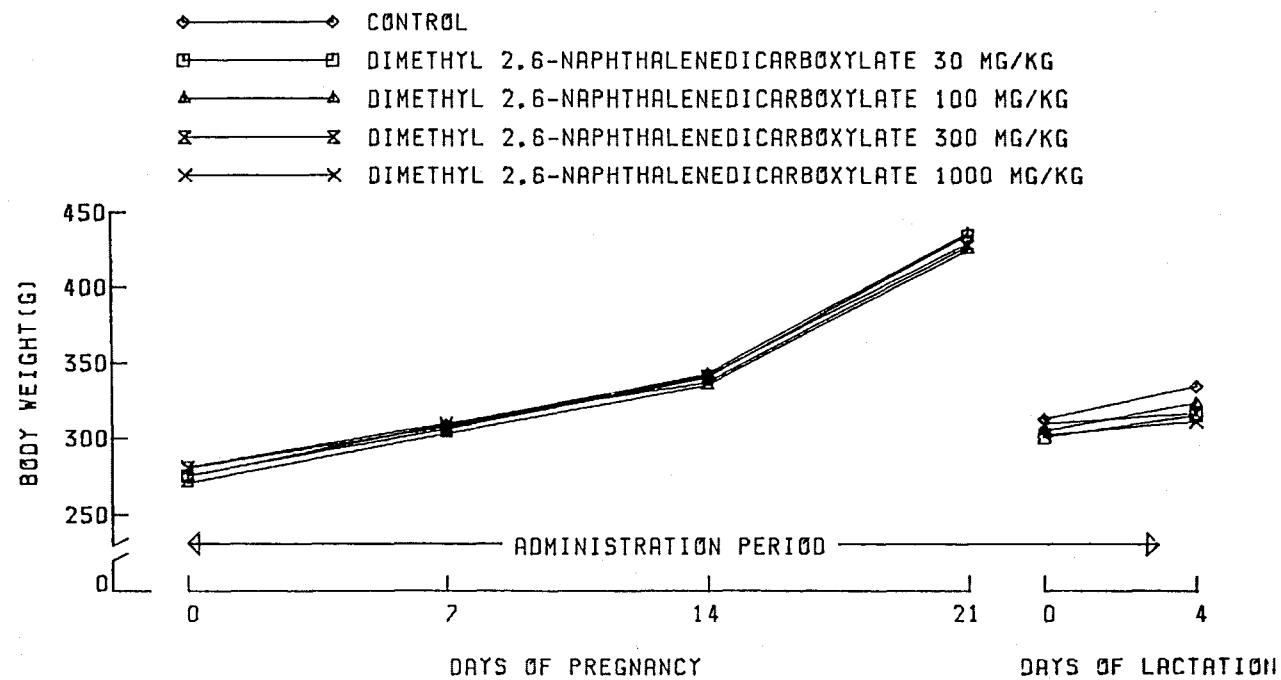


Fig. 4 Body weight of dams (P) during pregnancy and lactation periods in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration.

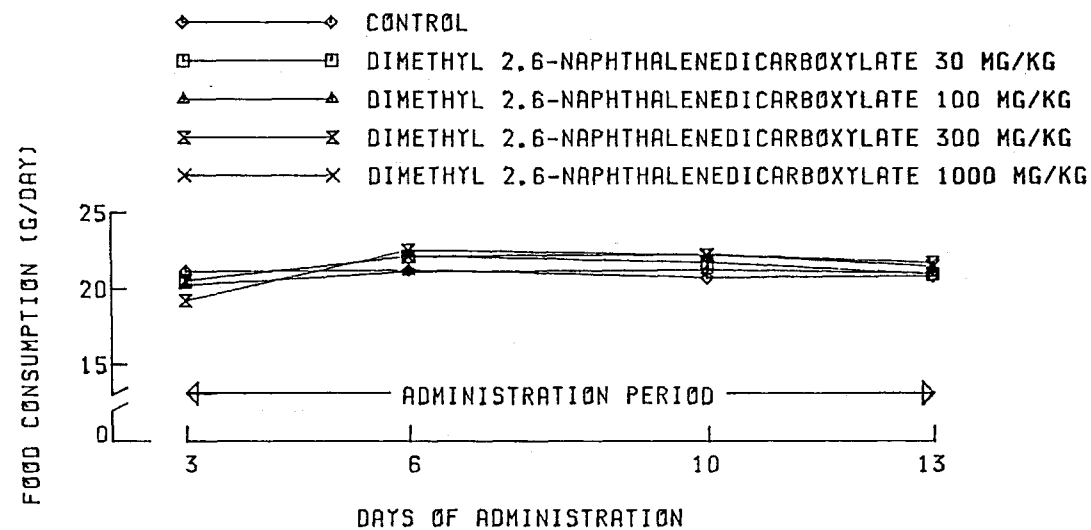


Fig. 5 Food consumption of female rats (P) during pre-mating period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration.

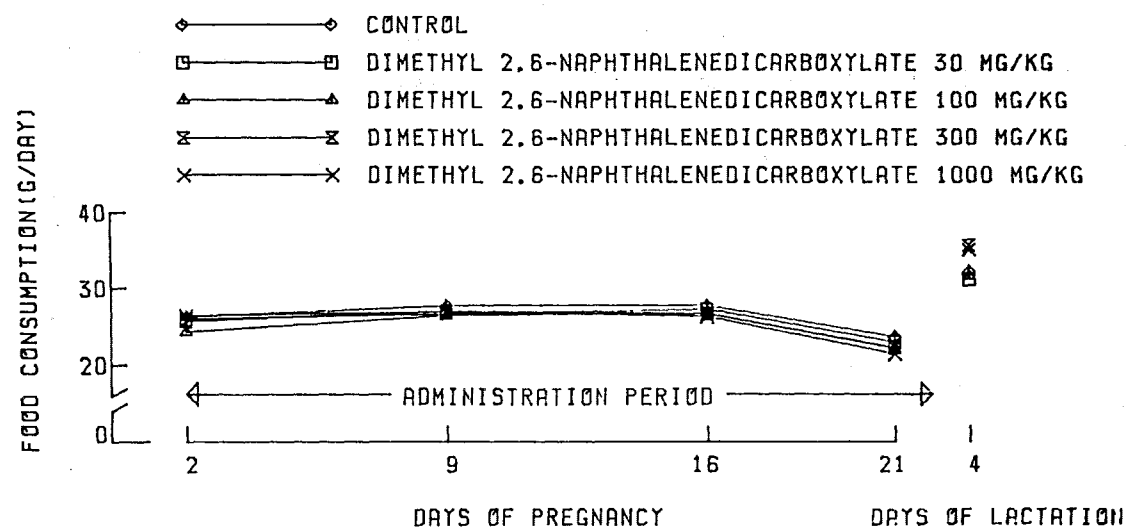


Fig. 6 Food consumption of dams (P) during pregnancy and lactation periods in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration.

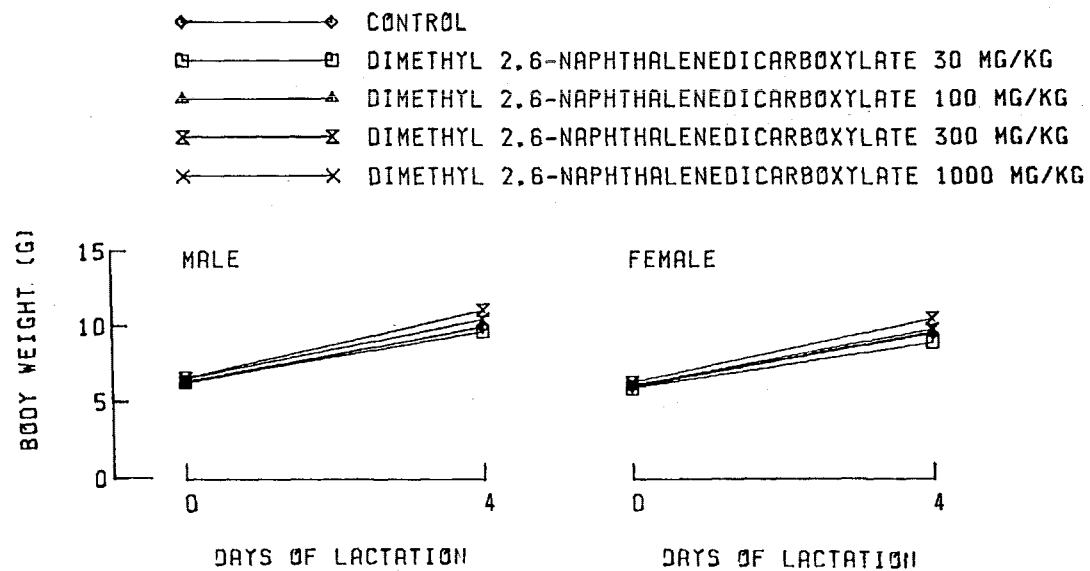


Fig. 7 Body weight of pups (F1) on days 0 and 4 of lactation in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate by oral administration.