
メタクリル酸 2-ヒドロキシエ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

N B R - 1

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	10
結 果	
I. 反復投与毒性	11
1. 雄(P)に及ぼす影響	11
2. 雌(P)に及ぼす影響	13
II. 生殖発生毒性	15
1. 親動物(P)の生殖発生に及ぼす影響	15
2. 新生児(F ₁)に及ぼす影響	15
考 察	16
文 献	18

Table 1-1	General sign of male rats (P) in combined repeat dose and	
~ 1-2	reproductive/developmental toxicity screening test of	
	2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration	22~23
Table 2	Body weight of male rats (P) in combined repeat dose and	
	reproductive/developmental toxicity screening test of	
	2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration	24
Table 3	Food consumption of male rats (P) in combined repeat dose and	
	reproductive/developmental toxicity screening test of	
	2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration	25
Table 4	Hematological examination of male rats (P) in combined repeat	
	dose and reproductive/developmental toxicity screening test of	
	2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration	26
Table 5	Blood chemical examination of male rats (P) in combined repeat	
	dose and reproductive/developmental toxicity screening test of	
	2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration	27
Table 6-1	Necropsy finding of male rats (P) in combined repeat dose	
	and reproductive/developmental toxicity screening test of	
	2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration	28
Table 6-2	Necropsy finding of dead male rats (P) in combined repeat dose	
	and reproductive/developmental toxicity screening test of	
	2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration	29
Table 7	Organ weight of male rats (P) in combined repeat dose	
	and reproductive/developmental toxicity screening test of	
	2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration	30
Table 8	Histopathological finding of male rats (P) in combined repeat	
	dose and reproductive/developmental toxicity screening test of	
	2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration	31
Table 9-1	General sign of female rats (P) during pre-mating period	
	in combined repeat dose and reproductive/developmental	
	toxicity screening test of 2-hydroxyethyl methacrylate	
	by oral administration	32

Table 9-2	General sign of female rats (P) during mating period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration	33
Table 10	General sign of dams (P) during pregnancy period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration	34
Table 11	General sign of dams (P) during lactation period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration	35
Table 12	Body weight of female rats (P) during pre-mating period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration	36
Table 13	Body weight of dams (P) during pregnancy period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration	37
Table 14	Body weight of dams (P) during lactation period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration	38
Table 15	Food consumption of female rats (P) during pre-mating period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration	39
Table 16	Food consumption of dams (P) during pregnancy period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration	40
Table 17	Food consumption of dams (P) during lactation period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration	41

	頁
Table 18-1 Necropsy finding of female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration	42
Table 18-2 Necropsy finding of dead female rat (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration	43
Table 19 Organ weight of dams (P) on day 4 of lactation in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration	44
Table 20 Histopathological finding of female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration	45
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 2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration	46
Table 22 Observation of pups (F1) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration	47
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 2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration	48
Table 24 Necropsy finding of pups (F1) on day 4 of lactation in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration	49
Fig. 1 Body weight of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration	50
Fig. 2 Food consumption of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration	51

Fig. 3	Body weight of female rats (P) during pre-mating period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration	52
Fig. 4	Body weight of dams (P) during pregnancy and lactation periods in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration	53
Fig. 5	Food consumption of female rats (P) during pre-mating period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration	54
Fig. 6	Food consumption of dams (P) during pregnancy and lactation periods in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration	55
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 2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration	56

要約

メタクリル酸2-ヒドロキシエ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(注射用水)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：1000 mg/kg群では，流涎がみられ，1/12 例が死亡した．

体重：1000 mg/kg群で増加抑制がみられた．

摂餌量：1000 mg/kg群で減少がみられた．

血液学的検査：各投与群とも対照群との間に差はみられなかった．

血液化学的検査：30 mg/kg以上の群で尿素窒素の高値あるいは高値傾向，1000 mg/kg群でK，Clおよび無機リンの高値およびトリグリセライドの低値がみられた．

剖検：各投与群とも，投与による影響はみられなかった．死亡例では，胸腺および肺の暗赤色化，副腎の肥大がみられた．

器官重量：100 mg/kg以上の群で腎臓の相対重量の高値，1000 mg/kg群で肝臓の相対重量の高値がみられた．

病理組織学的検査：1000 mg/kg群で腎臓に尿細管拡張および集合管拡張がみられた．しかし，死亡例において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：1000 mg/kg群では，流涎，自発運動の低下，腹臥，流涙，被毛の汚れ，表皮温下降および呼吸緩徐がみられ，6/12 例が死亡した．

体重：1000 mg/kg群で交配前投与期間に増加抑制がみられた．

摂餌量：1000 mg/kg群で交配前投与期間に減少がみられた．

剖検所見：1000 mg/kg群で胸腺の萎縮および副腎の肥大がみられた．死亡例では，胸腺の萎縮，肺の暗赤色化，脾臓の萎縮，副腎の肥大，腺胃粘膜の暗赤色化および小腸の暗赤色化がみられた．

器官重量：100 mg/kg以上の群で腎臓の絶対重量の高値，1000 mg/kg群で腎臓の絶対・相対重量の高値がみられた．

病理組織学的検査：1000 mg/kg群で脳に延髄広範軟化がみられた．死亡例においては，脾臓の萎縮，副腎の束状帯の過形成など死戦期のストレスに起因すると思われる変化がみられた．

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，メタクリル酸2-ヒドロキシエチルエステルの一般毒性学的無影響量は，雄では 30 mg/kg投与により尿素窒素の高値が認められたことから 30 mg/kg未満，雌では 100 mg/kg投与により腎臓の相対重量の高値が認められたことから 30 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

メタクリル酸2-ヒドロキシエチルエステルは、熱硬化性塗料、繊維処理剤、接着剤、紙加工用の原料として広く使用されている。当物質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⁾に従ってメタクリル酸2-ヒドロキシエチルエステルを雌雄ラットに1日1回、41～49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。

なお、当物質の経口投与によるLD₅₀値はマウスで5888 mg/kgもしくは3273 mg/kg、モルモットで4680 mg/kgと報告されている²⁾。しかし、反復投与毒性に関する報告には接していない。

方法

1. 被験物質および媒体

被験物質のメタクリル酸2-ヒドロキシエチルエステル(CAS No.868-77-9)は、分子量：130.14、融点：-10℃以下、沸点：87℃の無色透明の液体であり、水およびアセトンにきわめて溶けやすい。当試験には、平成7年9月18日に

から提供されたものを用いた(製造元：

Lot No.

純度：97.6%，ただし、不純物としてエチレングリコールジメタクリレート(0.2～0.3%，ジエチレングリコールモノメタクリレートを2.0～2.5%含有)。入手後は少量ずつ分割し、試験施設の被験物質保管室の冷蔵・遮光条件下の保管庫に気密容器に入れて保管した。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97.6%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、注射用水を用いた。注射用水(株式会社大塚製薬工場，Lot No.5D72N，入手日：平成7年11月17日，使用期限：平成12年3月)は、入手後、試験施設の室温条件下の被験物質保管室に保管した。

2. 投与検体および濃度確認

被験物質を秤取し、注射用水に溶解して必要濃度の投与検体を調製した。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。また、被験物質は純度換算を行い、投与量は原体重量で表示した。

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 99.6~100.9 % で、設定した適正濃度範囲内(表示濃度の ± 5 % 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 1 月 17 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 263~300 g、雌が 197~228 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 7 日間の馴化期間を設けた。この間に、3 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(E 棟 9 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:755x 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

メタクリル酸2-ヒドロキシエチルエステルは，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 8 時 46 分～11 時 58 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 341～380 g，雌が 232～

256 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、その他に对照群を設けた。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	对照(注射用水)	0 mg/kg	(0 mg/ml)	12(001~012)	12(051~062)
第2群	メタクリル酸2-ヒドロキシエチルエステル	30 mg/kg	(6 mg/ml)	12(101~112)	12(151~162)
第3群	メタクリル酸2-ヒドロキシエチルエステル	100 mg/kg	(20 mg/ml)	12(201~212)	12(251~262)
第4群	メタクリル酸2-ヒドロキシエチルエステル	300 mg/kg	(60 mg/ml)	12(301~312)	12(351~362)
第5群	メタクリル酸2-ヒドロキシエチルエステル	1000 mg/kg	(200 mg/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群で投与直後に流涎がみられたのみで、各群とも死亡発現はなく、体重推移、摂餌量および剖検でも異常はみられなかった³⁾。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、对照として被験物質と同一液量の媒体(注射用水)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 8 日間)、妊娠期間および哺育 4 日の剖検前日までの合計 41~48 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。なお、死亡例は、発見後速やかに剖検し、異常の認められた器官・組織を 10 %中性緩衝ホルマリン液に固定後、H-E染色組織標本を作製し、病理組織学的に検査した。

(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(残量測定日: 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 時から絶食とした。

(4) 血液学的検査

投与期間(49 日間)終了の翌日に、ペ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ー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 個中の網状赤血球数を計数した。

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には冷凍庫(-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。1000 mg/kg群の検査で対照群と比べて異常を示す動物数に差があると考えられた腎臓は30, 100および300 mg/kg群についても同様に検査した。

2) 雌(P)

(1) 一般状態および死亡の有無

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。なお、死亡例は、発見後速やかに剖検し、卵巣、子宮および異常の認められた器官・組織を10%中性緩衝ホルマリン液に固定後、H-E染色組織標本を作製し、病理組織学的に検査した。

(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(残量測定日: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。不妊雌は、肝臓、腎臓、胸腺および卵巣を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) 妊娠 25 日の午前 10 時までに分娩しなかった動物

妊娠 25 日の午前 10 時までに分娩しなかった雌は、妊娠 25 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、着床の有無により妊娠の有無を確認した。不妊雌は、肝臓、腎臓、胸腺および卵巣を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。

(8) 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の切断により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。1000 mg/kg群の検査で対照群と比べて異常を示す動物数に差があると考えられた脳ならびに 1000 mg/kg群の死亡例で変化のみられた副腎は 30, 100 および 300 mg/kg群についても同様に検査した。

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(ただし、死後変化の著しい場合は除く)。

(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(ただし、死後変化の著しい場合は除く)。

(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メタクリル酸2-ヒドロキシエ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。なお、不妊雌の交尾後のデータは集計から除外した。

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]。

なお、病理組織学的検査において、最高用量群で毒性学的影響が示唆され他の用量群についても検査を実施した器官・組織については、対照群との群間比較を上記の順位を利用したDunnett法を用いて行った。そこで対照群との間に有意差が認められた所見については、Cochran・Armitageの傾向検定を用いて用量反応性の検定を実施した。

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、30, 100 および 300 mg/kg群では認められなかった。1000 mg/kg群では、投与 20 日に1例(No.402)が死亡したが、前日まで流涎の他には異常はみられなかった。

生存例の一般状態観察において、対照群、30, 100 および 300 mg/kg群では観察期間を通していずれの動物とも異常はみられなかった。1000 mg/kg群では、流涎が投与 3 日から投与後約 1 分~約 30 分の間にみられた。

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

30, 100 および 300 mg/kg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。1000 mg/kg群では、対照群と比べて投与 18~25 および 32~50 日に体重の有意な低値がみられた。

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

30 および 300 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。100 mg/kg群では、対照群と比べて投与 31 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。1000 mg/kg群では、対照群と比べて投与 13, 31, 38~45 日に摂餌量の有意な低値がみられた。

4) 血液学的検査(Table 4, Appendix 4-1~4-5)

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。

5) 血液化学的検査(Table 5, Appendix 5-1~5-5)

30 および 300 mg/kg群では、対照群と比べて尿素窒素の有意な高値がみられた。100 mg/kg群では、対照群と比べて有意差はないが尿素窒素の高値傾向がみられた。1000 mg/kg群では、対照群と比べて尿素窒素、K、Clおよび無機リンの有意な高値、トリグリセライドの有意な低値がみられた。

6) 剖検所見(Table 6-1 および 6-2, Appendix 6-1~6-5)

生存例の剖検において、対照群では片側性精巣上体の尾部に黄白色結節が 1 例にみられた。30 および 100 mg/kg群では、いずれにも異常はみられなかった。300 mg/kg群では、片側性腎臓に白色斑が 1 例、両側性精巣の萎縮と軟化が 1 例にみられた。1000 mg/kg群

では、胸腺の暗赤色化が 1 例、両側性腎臓の肥大が 1 例にみられた。

1000 mg/kg投与群の死亡例の剖検において、肺・胸腺の暗赤色化および両側性副腎の肥大が 1 例(No.402)にみられた。

7) 器官重量(Table 7, Appendix 7-1~7-5)

30 mg/kg群では、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。100 および 300 mg/kg群では、対照群と比べて腎臓の相対重量の有意な高値がみられた。

1000 mg/kg投与群では、対照群と比べて肝臓および腎臓の相対重量の有意な高値がみられた。

8) 病理組織学的検査(Table 8, Appendix 8-1~8-5)

(1) 生存例

胸腺：出血が 1000 mg/kg群で 1 例(剖検で胸腺の暗赤色化が観察された動物)にみられたが、その程度はごく軽度であった。

心臓：小肉芽腫が対照群で 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ごく軽度であった。

肝臓：小肉芽腫が対照群で 2 例と 1000 mg/kg群で 2 例、小葉中心性肝細胞空胞変性が対照群で 1 例にみられたが、それらの程度はいずれもごく軽度であった。

腎臓：尿細管拡張(Photo.1)が 1000 mg/kg群で 3 例、集合管拡張(Photo.2)が 1000 mg/kg群で 2 例にみられたが、それらの程度はいずれもごく軽度であった。なお、尿細管拡張は 1000 mg/kg群で対照群と比べて用量相関性はないものの有意差が認められ、集合管拡張は有意差はないものの増加傾向にあった。その他には、尿細管好塩基性化が対照群で 3 例、30 mg/kg群で 1 例と 1000 mg/kg群で 4 例、近位尿細管内の好酸性小体が対照群で 2 例、30 mg/kg群で 1 例、100 mg/kg群で 1 例と 1000 mg/kg群で 1 例、近位尿細管内の硝子滴が 100 mg/kg群で 1 例、嚢胞(片側性)が 1000 mg/kg群で 1 例、びまん性鉍質沈着が 1000 mg/kg群で 1 例、好中球浸潤が 1000 mg/kg群で 1 例、尿細管の巣状変性(片側性)が 300 mg/kg群で 1 例(剖検で腎臓に白色斑が観察された動物)にみられたが、それらの程度はいずれもごく軽度～軽度であった。

精巣上体：左尾部の精子肉芽腫が対照群で 1 例(剖検で精巣上体の尾部に黄白色結節が観察された動物)にみられたが、その程度は軽度であった。

その他には、脾臓、副腎、精巣および脳では対照群および 1000 mg/kg群で異常はみられなかった。

(2) 死亡例

1000 mg/kg群の 1 例で胸腺の出血、肺の浮腫、胸腺・肺・副腎の自己融解がみられたが、それらの程度はいずれもごく軽度～軽度であった。なお、剖検で異常の認められた副腎には肥大を示唆する変化はみられなかった。

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, 30, 100 および 300 mg/kg群では認められなかった。1000 mg/kg群では、投与 6 日に 3 例(No.457, 458 および 462), 投与 9 日に 1 例(No.459), 投与 12 日に 1 例(No.456)と投与 17 日に 1 例(No.461)の計 6 例が死亡した。死亡例では、流涎が投与 3 日から投与後約 1 分~約 30 分の間みられ、自発運動の低下、呼吸緩徐、腹臥、被毛の汚れ、表皮温下降、流涎あるいは消瘦が死亡する 1 ~ 9 日前から多くの例で認められた。

生存例の一般状態観察において、対照群, 30, 100 および 300 mg/kg群では観察期間を通していずれの動物とも異常はみられなかった。1000 mg/kg群では、流涎が投与 3 日から投与後約 1 分~約 30 分の間みられ、また、1 例では自発運動の低下、腹臥、被毛の汚れ、表皮温下降、消瘦も認められた。

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

交配開始前では、30, 100 および 300 mg/kg群の体重は対照群とほぼ同様の推移であり、有意差はみられなかった。1000 mg/kg群では、対照群と比べて投与 4 および 8 日に体重の有意な低値がみられた。なお、1000 mg/kg群の死亡例では、死亡前に急激な体重減少がみられた。

妊娠期間中では、30, 300 および 1000 mg/kg群の体重は対照群とほぼ同様の推移であり、有意差はみられなかった。100 mg/kg群では、対照群と比べて妊娠 21 日に体重の有意な高値がみられたが、投与量に依存したものではなかった。

哺育期間中では、30 および 100 mg/kg群の体重は対照群と比べて哺育 4 日に体重の有意な高値がみられたが、投与量に依存したものではなかった。300 および 1000 mg/kg群では、対照群と比べていずれの測定日の体重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)

交配開始前では、30, 100 および 300 mg/kg群の摂餌量は対照群とほぼ同様の推移であり、有意差はみられなかった。1000 mg/kg群では、対照群と比べて投与 3, 6 および 13 日に摂餌量の有意な低値がみられた。

妊娠期間中では、30 および 300 mg/kg群の摂餌量は対照群とほぼ同様の推移であり、有意差はみられなかった。100 および 1000 mg/kg群では、対照群と比べて妊娠 16 日に摂餌量の有意な高値がみられた。

哺育期間中では、各投与群とも対照群と比べて摂餌量に有意差はみられなかった。

4) 剖検所見(Table 18-1および18-2, Appendix 18-1~18-5)

生存例の剖検において、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、胸腺の萎縮と両側性副腎の肥大が 1 例(No.460)にみられた。

1000 mg/kg群の死亡例の剖検において、胸腺の萎縮が 1 例、肺の暗赤色化が 1 例、脾臓の萎縮が 6 例、両側性副腎の肥大が 6 例、腺胃粘膜の暗赤色化が 3 例、小腸の暗赤色化が 2 例にみられた。

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

30 mg/kg群では、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。100 mg/kg群では、対照群と比べて腎臓の絶対重量の有意な高値がみられた。300 mg/kg群では、対照群と比べて有意差はないが、腎臓の絶対重量の高値傾向がみられた。1000 mg/kg群では、対照群と比べて腎臓の絶対・相対重量の有意な高値がみられた。

6) 病理組織学的検査 (Table 20, Appendix 20-1~20-5)

(1) 生存例

胸腺：萎縮が対照群で 1 例と 1000 mg/kg群で 1 例にみられた。その程度は対照群で軽度であったが、1000 mg/kg群で中等度であった。また、出血が対照群で 1 例にみられたが、その程度はごく軽度であった。

脾臓：髄外造血亢進が対照群で 1 例にみられたが、その程度は軽度であった。

腎臓：髄質および乳頭部への好中球浸潤(片側性)が 1000 mg/kg群で 1 例にみられたが、その程度は軽度であった。

副腎：束状帯広範壊死が対照群で 2 例、束状帯巣状類洞拡張が対照群で 1 例、束状帯巣状空胞変性が対照群で 1 例、束状帯肥大が対照群で 1 例にみられたが、それらの程度はいずれもごく軽度～軽度であった。なお、これらの所見のいずれも、30, 100, 300 および 1000 mg/kg群と対照群との間に有意差はみられなかった。

脳：延髄広範軟化(Photo.3)が 1000 mg/kg群で 1 例にみられたが、その程度は軽度であった。

その他には、心臓、肝臓および卵巣では対照群および 1000 mg/kg群とも異常はみられなかった。また、剖検で異常の認められた 1000 mg/kg群の 1 例(No.460)の副腎の肥大と脾臓の萎縮を示唆する変化はみられなかった。

(2) 死亡例

1000 mg/kg投与群の死亡例 6 例において、肺に浮腫が 1 例、胸腺に萎縮が 1 例、脾臓に萎縮が 5 例と白脾髄の萎縮が 1 例、副腎に束状帯の過形成が 3 例と自己融解が 1 例、腺胃粘膜のびらんが 1 例と自己融解が 1 例、小腸粘膜にびらんが 1 例にみられた。なお、それらの程度は、胸腺の萎縮および白脾髄の萎縮が中等度であったが、その他の所見はいずれもごく軽度～軽度であった。また、剖検で異常の認められた 1000 mg/kg群の 2 例(No.456 および 461)の副腎の肥大、2例(No.461 および 462)の腺胃粘膜の暗赤色化、1 例(No.462)の小腸の暗赤色化を示唆す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

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)

対照群と 1000 mg/kg投与群の各 1 組を除いた全例で交尾が確認された。また, 1000 mg/kg群の 1 組で雌が交配期間中に死亡した。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、30 および 300 mg/kg投与群で各 1 例みられたが、受胎率には各投与群と対照群との間に有意差はみられなかった。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，各投与群ともいずれにも異常はみられなかった。

考察

メタクリル酸2-ヒドロキシエチルエステルのラットにおけ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(注射用水)投与群を設けた。

雄動物(P)に関しては，1000 mg/kg群で 1 例が死亡した。死亡例の剖検，異常の観察された器官・組織の病理組織学的検査において，死後変化に基づくと考えられる所見の他には，特筆すべき変化は認められず，死因は明らかにできなかった。一般状態観察において，1000 mg/kg群では投与期間の初期から投与直後に流涎がみられたが，持続時間は約 30 分間であり，投与を継続しても持続時間の延長は認められなかった。この流涎は，メタクリル酸2-ヒドロキシエチルエステルの刺激による変化の他には原因が考えられないことから，被験物質の刺激性に基づく変化と考えられる。また，1000 mg/kg群では，摂餌量の減少と関連した体重の増加抑制がみられた。30 mg/kg以上の群の尿素窒素の増加，100 mg/kg以上の群の腎臓の相対重量の増加，1000 mg/kg群のK, Cl, 無機リンの増加，腎臓の病理組織学的検査における尿細管拡張，集合管拡張などは腎機能の低下を示唆する変化と考えられる。しかし，尿素窒素，K, Cl, 無機リンの増加は軽度であり，腎臓の組織学的所見も発生頻度が低く，程度も軽微であった。1000 mg/kg群では，肝臓の相対重量の有意な高値，血液化学的検査においてトリグリセライドの低値が認められたが，肝臓の絶対重量には差がみられないこと，肝臓の病理組織学的検査でも異常がみられないことから，肝臓の相対重量の高値とトリグリセライドの低値は摂餌量の減少に伴う変化と考えられ，毒性学的に重篤なものではないと判断した。なお，血液学的検査においては，1000 mg/kg群でも各検査項目

に異常は認められなかった。剖検において、対照群で片側性精巣上体の尾部に黄白色結節が 1 例、300 mg/kg群で片側性腎臓に白色斑が 1 例と両側性精巣の萎縮と軟化が 1 例、1000 mg/kg群で胸腺の暗赤色化が 1 例と両側性腎臓の肥大が 1 例にみられたが、いずれも少数例であり、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胸腺の出血、心臓の小肉芽腫、肝臓の小肉芽腫および小葉中心性肝細胞空胞変性、腎臓の尿細管好塩基性化、近位尿細管内の好酸性小体、嚢胞、びまん性鉍質沈着および好中球浸潤は、対照群で同程度にみられているか、あるいは少数例であることから、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 6 例が死亡した。死亡例では、急激な体重減少、摂餌量の減少がみられ、剖検において肺の暗赤色化、胸腺の萎縮、脾臓の萎縮、副腎の肥大、腺胃粘膜および小腸の暗赤色化が認められた。死亡例で異常の観察された器官・組織の病理組織学的検査において肺の浮腫、胸腺の萎縮、脾臓の萎縮、副腎束状帯の過形成、腺胃粘膜および小腸粘膜のびらんがみられたが、これらの変化は死戦期のストレスに起因するものと考えられる。一般状態観察においては、雄の場合と同様に 1000 mg/kg群で流涎がみられた。その他には自発運動の低下、腹臥、流涙、被毛の汚れ、表皮温下降、呼吸緩徐が死亡例の多くにみられた。1000 mg/kg群では、雄と同様に摂餌量の減少と関連した体重の増加抑制が交配前投与期間にみられた。なお、100 および 1000 mg/kg群で妊娠期間中に摂餌量の高値がみられたが、一過性の変化であり、投与によるものではないと考えられる。器官重量では、100 mg/kg以上の群で腎臓の絶対重量の高値あるいは高値傾向、1000 mg/kg群で腎臓の相対重量の高値がみられた。また、剖検において、胸腺の萎縮および副腎の肥大がみられた動物で病理組織学的には胸腺に萎縮、腎臓に髓質および乳頭部への好中球浸潤、脳に延髄広範軟化巣が認められ、1 例のみの変化であるが、メタクリル酸2-ヒドロキシエチルエステルの投与により生じた可能性を否定できない。その他、病理組織学的検査において認められた胸腺の出血、脾臓の髓外造血亢進、副腎の束状帯広範壊死、束状帯巣状類洞拡張、束状帯巣状空胞変性および束状帯肥大は、いずれも少数例であることから、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メタクリル酸2-ヒドロキシエチルエステルの一般毒性学的無影響量は、雄で 30 mg/kg未満、雌で 30 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メタクリル酸2-ヒドロキシエ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、メタクリル酸2-ヒドロキシエチルエステルの一般毒性学的無影響量は、雄では 30 mg/kg投与により尿素窒素の高値が認められたことから 30 mg/kg未満、雌では 100 mg/kg投与により腎臓の相対重量の高値が認められたことから 30 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。なお、筆者らは類似物質であるメタクリル酸(2-ヒドロキシプロピル)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先に実施したが、その結果は一般毒性学的無影響量は雌雄とも 300 mg/kgであり⁴⁾、メタクリル酸2-ヒドロキシエチルエステルの方が毒性は強いと考えられる。

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) 製造元から提供された資料
- 3) メタクリル酸2-ヒドロキシエ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: 092115P) 最終報告書
- 4) メタクリル酸(2-ヒドロキシプロピル)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 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: 091914) 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 2-hydroxyethyl methacrylate 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
2-hydroxyethyl methacrylate	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	11	11	11	11	11
		Normal	12	12	8	5	9	2	2	2	2	3	3	4	2	2	2	0	2	1	1	3	3	0	0	0	3
		Salivation	0	0	4	7	3	10	10	10	10	9	9	8	10	10	10	12	10	11	11	8	8	11	11	11	8
		Death	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0

*: Commencement of pairing.

Table 1-2 General sign of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxyethyl methacrylate 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	
2-hydroxyethyl methacrylate	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	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	
		Normal	1	0	1	1	0	0	2	1	0	1	0	0	1	2	0	1	0	1	0	0	2	0	0	0	11	
		Salivation	10	11	10	10	11	11	9	10	11	10	11	11	10	9	11	10	11	10	11	11	9	11	11	11	0	

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

Group (mg/kg)	Control		2-hydroxyethyl methacrylate			
	0		30	100	300	1000
Number of males	12		12	12	12	12
Days of admin- istration						
1	359.3 ± 10.1		358.8 ± 10.9	358.2 ± 9.5	359.0 ± 10.4	358.2 ± 9.4
4	373.1 ± 15.2		375.8 ± 13.6	372.1 ± 11.7	371.6 ± 10.9	368.1 ± 13.6
8	392.0 ± 15.4		396.1 ± 11.0	390.0 ± 13.3	390.6 ± 11.7	383.8 ± 14.1
11	401.8 ± 16.9		405.6 ± 12.6	398.5 ± 16.3	398.4 ± 11.3	391.8 ± 12.9
15	415.5 ± 18.6		418.0 ± 12.8	414.8 ± 16.4	414.8 ± 14.6	403.3 ± 13.7
18	423.9 ± 19.3		427.1 ± 13.6	422.0 ± 17.1	420.2 ± 14.4	406.3 ± 19.0*
22	439.6 ± 21.4		441.8 ± 16.5	439.3 ± 18.2	434.6 ± 14.4	419.2 ± 18.2* (11)
25	456.1 ± 22.9		454.2 ± 18.3	450.6 ± 18.8	452.3 ± 16.5	432.1 ± 19.6* (11)
29	471.6 ± 27.4		469.8 ± 20.9	465.8 ± 20.3	468.8 ± 17.0	446.9 ± 21.1 (11)
32	479.2 ± 27.0		475.3 ± 20.7	470.0 ± 20.2	474.2 ± 16.8	449.7 ± 19.5** (11)
36	487.0 ± 28.1		484.0 ± 24.3	477.3 ± 16.7	481.3 ± 18.0	456.5 ± 20.3** (11)
39	496.3 ± 29.2		490.8 ± 24.7	486.7 ± 18.9	488.3 ± 19.1	459.9 ± 21.4** (11)
43	505.6 ± 31.6		500.3 ± 23.7	492.3 ± 21.3	496.8 ± 19.0	465.5 ± 22.2** (11)
46	508.6 ± 33.1		503.7 ± 26.4	493.2 ± 24.4	498.8 ± 18.8	466.6 ± 19.7** (11)
50	484.5 ± 34.2		483.2 ± 27.9	475.4 ± 26.5	478.8 ± 18.5	442.5 ± 20.9** (11)

Each value shows mean (g) ± S.D.

Figures in parentheses indicate number of males.

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

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

Group (mg/kg)		Control		2-hydroxyethyl methacrylate							
		0		30		100		300		1000	
Number of males		12		12		12		12		12	
Days of admin- istration	3	26.5 ±	2.8	28.5 ±	3.3	26.8 ±	2.0	26.7 ±	2.5	24.9 ±	2.1
	6	28.4 ±	2.7	28.8 ±	2.4	27.9 ±	3.6	27.3 ±	2.6	26.6 ±	2.2
	10	26.6 ±	2.7	27.5 ±	2.6	27.2 ±	2.7	26.9 ±	2.5	24.6 ±	2.7
	13	26.5 ±	3.1	27.2 ±	2.4	26.8 ±	2.0	25.6 ±	2.1	23.8 ±	2.1*
	31	27.9 ±	2.7	27.6 ±	3.1	25.2 ±	2.3*	27.6 ±	1.6	25.2 ±	1.8* (11)
	34	28.3 ±	2.6	29.1 ±	2.9	27.1 ±	1.8	28.4 ±	1.6	26.7 ±	1.4 (11)
	38	28.9 ±	2.4	29.3 ±	2.1	27.8 ±	2.7	28.3 ±	2.4	24.7 ±	2.9** (11)
	41	28.3 ±	2.6	29.0 ±	2.3	27.8 ±	2.5	27.9 ±	1.9	24.9 ±	3.2** (11)
45	27.4 ±	3.1	28.7 ±	2.6	26.8 ±	2.9	26.6 ±	2.3	24.3 ±	2.3* (11)	
48	25.8 ±	3.2	27.4 ±	2.8	26.4 ±	3.8	26.9 ±	2.0	24.0 ±	2.5 (11)	

Each value shows mean (g/day) ± S.D.

Figures in parentheses indicate number of males.

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

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

Group (mg/kg)	Control		2-hydroxyethyl methacrylate									
	0		30		100		300		1000			
Number of males	12		12		12		12		11			
RBC ($10^4/\text{mm}^3$)	859.9 ±	32.2	874.3 ±	32.3	847.8 ±	46.8	851.7 ±	30.3	845.7 ±	62.4		
Hemoglobin (g/dl)	15.43 ±	0.84	15.81 ±	0.68	15.63 ±	0.81	15.37 ±	0.67	15.42 ±	1.10		
Hematocrit (%)	44.54 ±	1.66	45.52 ±	1.33	44.93 ±	1.44	44.64 ±	1.21	45.01 ±	2.72		
MCV (μm^3)	51.80 ±	1.23	52.09 ±	1.89	53.09 ±	2.51	52.44 ±	1.35	53.28 ±	1.51		
MCH (Pg)	17.95 ±	0.63	18.08 ±	0.90	18.46 ±	1.10	18.06 ±	0.72	18.25 ±	0.56		
MCHC (g/dl)	34.60 ±	0.90	34.73 ±	1.09	34.78 ±	1.08	34.42 ±	1.05	34.25 ±	0.90		
Platelet ($10^4/\text{mm}^3$)	109.02 ±	12.78	115.20 ±	12.08	109.88 ±	12.66	107.55 ±	9.71	109.95 ±	14.15		
RET (%)	23.8 ±	5.2	24.8 ±	5.2	23.3 ±	6.3	24.2 ±	6.8	22.0 ±	3.5		
PT (SEC.)	16.91 ±	1.47	16.44 ±	1.24	15.96 ±	0.96	17.78 ±	2.16	16.80 ±	1.80		
APTT (SEC.)	31.99 ±	2.70	32.98 ±	5.59	30.23 ±	2.24	32.17 ±	2.31	31.03 ±	2.85		
Fibrinogen (mg/dl)	253.8 ±	15.5	256.6 ±	20.6	254.9 ±	16.1	241.7 ±	12.3	258.3 ±	29.6		
WBC ($10^2/\text{mm}^3$)	54.3 ±	10.0	53.1 ±	8.0	58.5 ±	14.6	53.6 ±	11.8	57.3 ±	10.7		
Differential leukocyte (%)												
Lymphocyte	84.0 ±	6.9	84.9 ±	7.3	86.8 ±	6.9	84.3 ±	7.4	82.4 ±	11.9		
Neutrophil	15.1 ±	6.7	13.8 ±	6.8	12.1 ±	6.3	14.6 ±	7.3	17.0 ±	12.1		
Eosinophil	0.5 ±	0.8	0.8 ±	1.0	0.8 ±	0.9	0.8 ±	1.0	0.1 ±	0.3		
Basophil	0.0 ±	0.0	0.0 ±	0.0	0.0 ±	0.0	0.0 ±	0.0	0.0 ±	0.0		
Monocyte	0.4 ±	0.7	0.6 ±	0.5	0.3 ±	0.6	0.3 ±	0.5	0.5 ±	0.5		

Each value shows mean ± S.D.

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

Group (mg/kg)		Control		2-hydroxyethyl methacrylate									
		0		30		100		300		1000			
Number of males		12		12		12		12		11			
GOT	(IU/l)	70.94 ± 12.29	68.81 ± 10.63	70.82 ± 10.88	66.21 ± 10.88	62.32 ± 12.26							
GPT	(IU/l)	21.38 ± 3.24	22.33 ± 3.15	21.38 ± 4.14	21.48 ± 2.20	21.06 ± 5.94							
ALP	(IU/l)	75.68 ± 11.70	79.52 ± 15.80	84.17 ± 18.07	71.48 ± 14.95	75.33 ± 28.16							
γ-GTP	(IU/l)	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000							
TP	(g/dl)	5.62 ± 0.29	5.88 ± 0.27	5.74 ± 0.20	5.73 ± 0.24	5.54 ± 0.36							
Albumin	(g/dl)	2.892 ± 0.141	2.991 ± 0.164	2.912 ± 0.144	2.970 ± 0.135	2.873 ± 0.169							
Protein fraction (%)													
Albumin		51.49 ± 1.34	50.90 ± 1.92	50.72 ± 1.46	51.81 ± 1.52	51.95 ± 2.40							
α ₁ -glo		22.78 ± 2.13	23.61 ± 1.68	23.21 ± 1.74	22.38 ± 2.50	22.44 ± 2.13							
α ₂ -glo		4.52 ± 0.97	4.98 ± 0.71	4.83 ± 0.67	4.64 ± 0.70	4.67 ± 0.96							
α ₃ -glo		5.60 ± 0.49	5.50 ± 0.22	5.54 ± 0.51	5.33 ± 0.26	5.20 ± 0.53							
β-glo		12.25 ± 1.46	11.50 ± 0.77	11.77 ± 0.69	12.04 ± 0.85	12.11 ± 0.97							
γ-glo		3.37 ± 0.79	3.51 ± 0.55	3.93 ± 1.03	3.81 ± 0.62	3.63 ± 0.76							
A/G ratio		1.064 ± 0.057	1.039 ± 0.082	1.032 ± 0.062	1.076 ± 0.066	1.085 ± 0.101							
T-BIL	(mg/dl)	0.072 ± 0.006	0.075 ± 0.007	0.077 ± 0.011	0.076 ± 0.010	0.070 ± 0.012							
BUN	(mg/dl)	17.36 ± 2.04	19.97 ± 2.57*	19.42 ± 2.11	20.82 ± 2.07**	25.06 ± 4.57**							
Creatinine	(mg/dl)	0.535 ± 0.025	0.546 ± 0.051	0.538 ± 0.026	0.542 ± 0.056	0.544 ± 0.063							
Glucose	(mg/dl)	125.26 ± 10.06	125.89 ± 8.99	124.38 ± 8.77	126.18 ± 9.70	142.55 ± 43.06							
T-CHO	(mg/dl)	65.68 ± 13.77	61.31 ± 14.52	63.34 ± 16.35	67.97 ± 9.88	56.11 ± 13.66							
IG	(mg/dl)	83.18 ± 47.03	99.67 ± 45.12	54.01 ± 20.45	72.99 ± 29.19	47.85 ± 26.99*							
Na	(mEq/l)	144.41 ± 1.76	144.08 ± 1.57	144.38 ± 1.72	144.03 ± 1.72	143.38 ± 1.21							
K	(mEq/l)	4.130 ± 0.184	4.173 ± 0.231	4.293 ± 0.154	4.291 ± 0.220	4.535 ± 0.418**							
Cl	(mEq/l)	105.71 ± 1.91	105.97 ± 0.99	107.15 ± 2.25	107.09 ± 0.98	107.08 ± 3.36*							
Ca	(mg/dl)	9.76 ± 0.35	9.86 ± 0.30	9.68 ± 0.18	9.66 ± 0.26	9.61 ± 0.39							
IP	(mg/dl)	6.55 ± 0.70	6.55 ± 0.66	6.96 ± 0.61	6.98 ± 0.74	7.95 ± 0.80**							

Each value shows mean ± S.D.

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

Table 6-1 Necropsy finding of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration

Group	Control	2-hydroxyethyl methacrylate			
(mg/kg)	0	30	100	300	1000
Number of males	12	12	12	12	11
Normal	11	12	12	10	9
Thymus					
Dark red	0	0	0	0	1
Kidney					
Hypertrophy(bilateral)	0	0	0	0	1
White spot(right)	0	0	0	1	0
Testis					
Atrophy(bilateral)	0	0	0	1	0
Soften(bilateral)	0	0	0	1	0
Epididymis(tail)					
Yellow-white nodule(left)	1	0	0	0	0

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

Group (mg/kg)	Control	2-hydroxyethyl methacrylate			
	0	30	100	300	1000
Number of males	0	0	0	0	1
Normal	-	-	-	-	0
Thymus	-	-	-	-	1
Dark red	-	-	-	-	1
Lung	-	-	-	-	1
Dark red	-	-	-	-	1
Adrenal	-	-	-	-	1
Hypertrophy (bilateral)	-	-	-	-	1

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

Group (mg/kg)	Control		2-hydroxyethyl methacrylate				
	0		30	100	300	1000	
Number of males	12		12	12	12	11	
Body weight (g)	484.5 ± 34.2		483.2 ± 27.9	475.4 ± 26.5	478.8 ± 18.5	442.5 ± 20.9**	
Thymus (mg)	310.63 ± 80.69		273.98 ± 72.28	277.63 ± 67.98	289.81 ± 85.98	265.77 ± 64.35	
(mg%)	64.41 ± 17.67		56.42 ± 13.56	58.31 ± 13.24	60.68 ± 18.21	60.33 ± 15.66	
Liver (g)	12.099 ± 1.758		12.532 ± 1.413	12.263 ± 1.484	12.647 ± 0.840	12.115 ± 0.755	
(g%)	2.489 ± 0.216		2.590 ± 0.184	2.572 ± 0.196	2.640 ± 0.124	2.741 ± 0.139**	
Kidneys (g)	2.823 ± 0.246		2.921 ± 0.247	3.017 ± 0.250	3.028 ± 0.260	3.200 ± 0.466	
(g%)	0.583 ± 0.044		0.605 ± 0.055	0.635 ± 0.046*	0.634 ± 0.060*	0.723 ± 0.110**	
Testes (g)	3.283 ± 0.232		3.344 ± 0.178	3.418 ± 0.286	3.158 ± 0.475	3.281 ± 0.213	
(g%)	0.682 ± 0.075		0.694 ± 0.063	0.721 ± 0.070	0.662 ± 0.100	0.744 ± 0.054	
Epididymides (g)	1.303 ± 0.077		1.298 ± 0.143	1.295 ± 0.093	1.236 ± 0.161	1.305 ± 0.093	
(g%)	0.271 ± 0.028		0.270 ± 0.042	0.271 ± 0.019	0.259 ± 0.036	0.296 ± 0.030	

Each value shows mean ± S.D.

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

Table 8

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

Group (mg/kg)	Control		2-hydroxyethyl methacrylate											
	0		30		100		300		1000					
Incidence & Grade	N	A	±	+	‡	‡‡	N	A	±	+	‡	‡‡		
Thymus	[12]						[0]							
Hemorrhage	12	0												
Heart	[12]						[0]							
Microgranuloma	11	1	1	0	0	0								
Liver	[12]						[0]							
Microgranuloma	10	2	2	0	0	0								
Degeneration, vacuolar, centrilobular	11	1	1	0	0	0								
Kidney	[12]						[12]							
Basophilic tubules	9	3	3	0	0	0	11	1	1	0	0	0		
Eosinophilic body, proximal tubule	10	2	2	0	0	0	11	1	1	0	0	0		
Hyaline droplet, proximal tubule	12	0					12	0	1	0	0	0		
Dilatation, renal tubule	12	0					12	0						
Dilatation, collecting tubule	12	0					12	0						
Cyst, unilateral	12	0					12	0						
Mineralization, diffuse	12	0					12	0						
Cellular infiltration, neutrophil	12	0					12	0						
Degeneration, renal tubule, focal, unilateral	12	0					12	0	11	1	1	0	0	0
Epididymis	[12]						[0]							
Granuloma, spermatic, left tail	11	1	0	1	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 spleen, adrenal, testis and brain of control and 2-hydroxyethyl methacrylate 1000 mg/kg groups.

Significantly different from control (**: P<0.01).

Table 9-1 General sign of female rats (P) during pre-mating period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxyethyl methacrylate 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
2-hydroxyethyl methacrylate	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	9	9	9	8	8	8	7	7	7
		Normal	12	12	8	6	8	2	2	2	2	1	2	1	1	0	0
		Decrease in locomotor activity	0	0	0	0	2	0	1	3	3	3	3	2	2	2	2
		Prone position	0	0	0	0	0	0	0	1	2	1	3	1	0	0	0
		Salivation	0	0	4	6	4	7	7	7	7	7	6	7	5	7	7
		Lacrimation	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
		Soiled fur	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2
		Hypothermia	0	0	0	0	0	0	0	1	2	1	2	1	0	0	0
		Bradypnea	0	0	0	0	2	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
		Wasting	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Death	0	0	0	0	0	3	0	0	1	0	0	1	0	0	0

*: 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 2-hydroxyethyl methacrylate 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	8	7	4	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1
		Normal	8	7	4	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1
2-hydroxyethyl methacrylate	30	Number of females	12	9	4	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
		Normal	12	9	4	1	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-
	100	Number of females	11	6	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Normal	11	6	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	300	Number of females	9	8	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Normal	9	8	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1000	Number of females	6	5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
		Normal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Decrease in locomotor activity	2	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
		Prone position	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Salivation	5	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
		Lacrimation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Soiled fur	2	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		Hypothermia	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Bradypnea	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Wasting	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1
		Death	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Table 10 General sign of dams (P) during pregnancy period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxyethyl methacrylate 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	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	11
2-hydroxyethyl methacrylate	30	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	11
	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	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
	300	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	11
	1000	Number of dams	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Normal	1	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			Salivation	4	4	5	5	4	4	5	5	5	4	5	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

Table 11 General sign of dams (P) during lactation period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxyethyl methacrylate 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	11	11	11	11	11
		Normal	11	11	11	11	11
2-hydroxyethyl methacrylate	30	Number of dams	11	11	11	11	11
		Normal	11	11	11	11	11
	100	Number of dams	12	12	12	12	12
		Normal	12	12	12	12	12
	300	Number of dams	11	11	11	11	11
		Normal	11	11	11	11	11
	1000	Number of dams	5	5	5	5	5
		Normal	0	0	0	0	5
		Salivation	5	5	5	5	0

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

Group (mg/kg)	Control		2-hydroxyethyl methacrylate				
	0		30	100	300	1000	
Number of females	12		12	12	12	12	
Days of admin- istration	1	243.6 ± 6.9	244.0 ± 6.8	244.0 ± 7.0	244.6 ± 6.7	244.4 ± 6.6	
	4	243.3 ± 9.1	247.8 ± 7.4	245.3 ± 8.4	241.8 ± 7.0	228.5 ± 11.5**	
	8	250.2 ± 9.1	256.5 ± 8.2	253.6 ± 11.7	251.3 ± 9.4	217.4 ± 32.4*	(9)
	11	251.0 ± 10.8	255.4 ± 12.7	254.5 ± 13.1	251.9 ± 10.9	217.9 ± 44.4	(8)
	15	257.7 ± 11.1	263.5 ± 11.7	260.4 ± 13.8	252.7 ± 12.5	223.6 ± 52.4	(7)

Each value shows mean (g) ± S.D.

Figures in parentheses indicate number of females.

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

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

Group (mg/kg)	Control		2-hydroxyethyl methacrylate								
	0		30		100		300		1000		
Number of dams	11		11		12		11		5		
Days of pregnancy											
0	264.2 ±	10.5	272.5 ±	11.4	270.8 ±	9.0	260.5 ±	9.5	262.0 ±	11.2	
7	298.9 ±	11.7	305.4 ±	10.8	303.7 ±	11.5	296.4 ±	14.9	292.4 ±	9.5	
14	329.8 ±	15.8	338.0 ±	7.8	341.3 ±	13.6	325.0 ±	17.2	326.4 ±	14.5	
21	411.9 ±	14.2	429.3 ±	9.7	435.9 ±	25.1*	412.8 ±	20.7	413.6 ±	20.2	

Each value shows mean (g) ± S.D.

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

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

Group (mg/kg)	Control		2-hydroxyethyl methacrylate			
	0	30	100	300	1000	
Number of dams	11	11	12	11	5	
Days of lactation						
0	286.0 ± 17.8	302.2 ± 16.2	297.6 ± 17.0	290.0 ± 13.4	298.8 ± 18.9	
4	300.7 ± 40.0	328.8 ± 12.7**	326.1 ± 11.5*	315.1 ± 17.4	309.2 ± 19.1	

Each value shows mean (g) ± S.D.

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

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

Group (mg/kg)	Control		2-hydroxyethyl methacrylate					
	0		30		100		300	1000
Number of females	12		12		12		12	12
Days of admin- istration								
3	19.2 ±	2.2	19.2 ±	2.4	18.8 ±	2.3	16.8 ±	2.4
6	19.6 ±	2.4	20.2 ±	2.8	19.4 ±	1.8	17.5 ±	1.9
10	19.3 ±	2.5	19.9 ±	3.4	19.7 ±	1.6	19.4 ±	1.8
13	19.9 ±	2.6	20.3 ±	2.5	19.3 ±	1.9	17.7 ±	2.8
								13.7 ± 3.1** 12.9 ± 2.7** (9) 14.3 ± 6.8 (8) 13.6 ± 6.7** (7)

Each value shows mean (g/day) ± S.D.

Figures in parentheses indicate number of females.

Significantly different from control (**: P<0.01).

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

Group (mg/kg)	Control		2-hydroxyethyl methacrylate							
	0		30		100		300		1000	
Number of dams	11		11		12		11		5	
Days of pregnancy										
2	23.3	± 2.7	24.1	± 3.3	23.0	± 2.9	23.1	± 2.7	23.4	± 2.7
9	26.5	± 3.6	27.4	± 2.2	27.8	± 2.4	23.6	± 2.1	25.0	± 5.0
16	24.7	± 1.7	25.5	± 1.4	27.3	± 1.9*	25.0	± 2.6	28.4	± 3.2**
21	19.9	± 2.6	22.3	± 1.3	21.3	± 2.6	21.0	± 3.2	21.8	± 1.3

Each value shows mean (g/day) ± S.D.

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

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

Group (mg/kg)	Control	2-hydroxyethyl methacrylate			
	0	30	100	300	1000
Number of dams	11	11	12	11	5
Days of lactation 4	31.4 ± 4.5	33.0 ± 4.2	32.2 ± 6.0	33.4 ± 5.2	29.6 ± 5.3

Each value shows mean (g/day) ± S.D.

Table 18-1 Necropsy finding of female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration

Group (mg/kg)	Control	2-hydroxyethyl methacrylate			
	0	30	100	300	1000
Number of females	12	12	12	12	6
Normal	12	12	12	12	5
Thymus					
Atrophy	0	0	0	0	1
Adrenal					
Hypertrophy (bilateral)	0	0	0	0	1

Table 18-2 Necropsy finding of dead female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration

Group	Control	2-hydroxyethyl methacrylate			
(mg/kg)	0	30	100	300	1000
Number of females	0	0	0	0	6
Normal	-	-	-	-	0
Thymus	-	-	-	-	1
Atrophy	-	-	-	-	1
Lung	-	-	-	-	6
Dark red	-	-	-	-	6
Spleen	-	-	-	-	6
Atrophy	-	-	-	-	3
Adrenal	-	-	-	-	2
Hypertrophy(bilateral)	-	-	-	-	
Stomach(glandular mucosa)	-	-	-	-	
Dark red	-	-	-	-	
Small intestine	-	-	-	-	
Dark red	-	-	-	-	

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

Group (mg/kg)	Control		2-hydroxyethyl methacrylate									
	0		30		100		300		1000			
Number of dams	11		11		12		11		5			
Body weight (g)	300.7 ± 40.0		328.8 ± 12.7**		326.1 ± 11.5*		315.1 ± 17.4		309.2 ± 19.1			
Thymus	(mg) 163.16 ± 74.90		176.37 ± 30.67		159.91 ± 54.09		160.71 ± 44.26		174.02 ± 76.33			
	(mg%) 54.11 ± 22.37		53.74 ± 9.84		48.94 ± 16.16		51.51 ± 15.76		56.30 ± 24.76			
Liver	(g) 12.775 ± 1.020		13.159 ± 0.833		13.661 ± 1.182		13.021 ± 1.717		13.050 ± 1.537			
	(g%) 4.342 ± 0.849		4.005 ± 0.264		4.187 ± 0.286		4.118 ± 0.349		4.216 ± 0.333			
Kidneys	(g) 1.785 ± 0.158		1.848 ± 0.084		1.953 ± 0.151*		1.947 ± 0.162		2.056 ± 0.261**			
	(g%) 0.605 ± 0.107		0.564 ± 0.037		0.598 ± 0.038		0.618 ± 0.048		0.662 ± 0.049*			
Ovaries	(mg) 98.96 ± 8.50		100.55 ± 15.13		102.85 ± 11.51		95.71 ± 11.23		97.44 ± 10.80			
	(mg%) 33.83 ± 8.14		30.57 ± 4.40		31.53 ± 3.28		30.35 ± 2.94		31.52 ± 2.69			

Each value shows mean ± S.D.

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

Table 20

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

Group (mg/kg)	Control			2-hydroxyethyl methacrylate								
	0			30		100		300		1000		
Incidence & Grade	N	A	± + ‡ ‡	N	A	± + ‡ ‡	N	A	± + ‡ ‡	N	A	± + ‡ ‡
Thymus	[12]			[0]			[0]			[6]		
Atrophy	11	1	0 1 0 0							5	1	0 0 1 0
Hemorrhage	11	1	1 0 0 0							6	0	
Spleen	[12]			[0]			[0]			[6]		
Hematopoiesis, extramedullary, increased	11	1	0 1 0 0							6	0	
Kidney	[12]			[0]			[0]			[6]		
Cellular infiltration, papilla and medulla, neutrophil, unilateral	12	0								5	1	0 1 0 0
Adrenal	[12]			[12]			[12]			[6]		
Necrosis, zona fasciculata, massive	10	2	0 2 0 0	12	0		12	0		6	0	
Dilatation, sinusoid, zona fasciculata, focal	11	1	1 0 0 0	12	0		12	0		6	0	
Degeneration, vacuolar, zona fasciculata, focal	11	1	1 0 0 0	12	0		12	0		6	0	
Hypertrophy, zona fasciculata	11	1	1 0 0 0	12	0		12	0		6	0	
Brain	[12]			[12]			[12]			[6]		
Malacia, medulla oblongata, massive	12	0		12	0		12	0		5	1	0 1 0 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 and ovary of control and 2-hydroxyethyl methacrylate 1000 mg/kg groups.

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 2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration

Group (mg/kg)	Control	2-hydroxyethyl methacrylate			
	0	30	100	300	1000
Number of females	12	12	12	12	7
Number of estrous cases before mating (14 days)					
Mean±S.D.	3.4 ± 0.5	3.3 ± 1.2	3.5 ± 0.5	3.3 ± 0.6	2.9 ± 1.7
Number of pairs	12	12	12	12	7
Number of pairs with successful copulation	11	12	12	12	5
Copulation index (%) ^{a)}	91.7	100.0	100.0	100.0	71.4
Number of conceiving days					
Mean±S.D.	2.7 ± 1.8	3.4 ± 1.6	2.8 ± 1.1	2.8 ± 1.2	2.4 ± 0.9
Conceiving days 1-5	10	11	12	12	5
Conceiving days ≥6	1	1	0	0	0
Number of pregnant females	11	11	12	11	5
Fertility index (%) ^{b)}	100.0	91.7	100.0	91.7	100.0
Number of pregnant females with live pups	11	11	12	11	5

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 2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration

Group (mg/kg)	Control	2-hydroxyethyl methacrylate			
	0	30	100	300	1000
Number of dams	11	11	12	11	5
Length of gestation (days)					
Mean±S.D. per dam	22.64 ± 0.50	22.27 ± 0.47	22.50 ± 0.52	22.18 ± 0.40	22.40 ± 0.55
Pregnancy days ≤ 21	0	0	0	0	0
Pregnancy days = 22	4	8	6	9	3
Pregnancy days ≥ 23	7	3	6	2	2
Number of corpora lutea					
Total	194	201	225	188	84
Mean±S.D. per dam	17.6 ± 1.4	18.3 ± 2.0	18.8 ± 2.1	17.1 ± 2.2	16.8 ± 2.8
Number of implantation scars					
Total	181	182	206	175	79
Mean±S.D. per dam	16.5 ± 1.4	16.5 ± 0.9	17.2 ± 2.1	15.9 ± 1.8	15.8 ± 2.7
Implantation index ^{a)}					
Mean±S.D. per dam	93.5 ± 6.4	91.1 ± 7.6	91.9 ± 9.2	93.5 ± 7.2	93.8 ± 4.0
Gestation index (%) ^{b)}	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
Number of live pups born					
Male	80	88	99	75	40
Female	80	78	90	91	30
Total	160	166	189	166	70
Mean±S.D. per dam	14.5 ± 1.0	15.1 ± 1.0	15.8 ± 1.8	15.1 ± 2.3	14.0 ± 2.9
Sex ratio at birth ^{c)}					
Mean±S.D. per dam	1.42 ± 1.45	1.31 ± 0.71	1.47 ± 1.37	0.83 ± 0.21	1.44 ± 0.63
Sex ratio on day 4 of lactation ^{d)}					
Mean±S.D. per dam	1.41 ± 1.44	1.32 ± 0.71	1.45 ± 1.35	0.85 ± 0.23	1.44 ± 0.63
Birth index ^{e)}					
Mean±S.D. per dam	88.5 ± 6.1	91.3 ± 6.7	91.9 ± 5.0	94.5 ± 6.6	88.0 ± 6.0
Number of dead pups on day 0 of lactation					
Total	9	3	9	1	2
Mean±S.D. per dam	0.8 ± 1.0	0.3 ± 0.5	0.8 ± 1.0	0.1 ± 0.3	0.4 ± 0.5
Number of pups born					
Total	169	169	198	167	72
Mean±S.D. per dam	15.4 ± 1.2	15.4 ± 1.1	16.5 ± 2.3	15.2 ± 2.4	14.4 ± 3.2
Delivery index ^{f)}					
Mean±S.D. per dam	93.5 ± 4.8	92.8 ± 6.5	95.9 ± 5.4	95.1 ± 6.8	90.4 ± 8.0
Live birth index ^{g)}					
Mean±S.D. per dam	94.9 ± 5.9	98.3 ± 3.0	95.9 ± 4.9	99.5 ± 1.8	97.6 ± 3.3
Number of live pups on day 4 of lactation					
Male	79	87	96	74	40
Female	78	76	88	89	30
Total	157	163	184	163	70
Mean±S.D. per dam	14.3 ± 0.9	14.8 ± 1.1	15.3 ± 2.0	14.8 ± 2.3	14.0 ± 2.9
Viability index ^{h)}					
Mean±S.D. per dam	98.2 ± 3.1	98.3 ± 4.0	97.3 ± 4.5	98.2 ± 4.4	100.0 ± 0.0
Number of external anomalies	0	0	0	0	0
Mean±S.D. per dam	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0

a): (Number of implantation scars / number of corpora lutea)×100.

b): (Number of dams with live pups / number of pregnant dams)×100.

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

d): (Number of live pups born / number of implantation scars)×100.

e): (Number of pups born / number of implantation scars)×100.

f): (Number of live pups born / number of pups born)×100.

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

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 2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration

Group (mg/kg)	Control	2-hydroxyethyl methacrylate			
	0	30	100	300	1000
Number of dams	11	11	12	11	5
Male weight					
Days of lactation					
0	6.43 ± 0.50	6.39 ± 0.37	6.55 ± 0.56	6.37 ± 0.51	6.82 ± 0.74
4	10.19 ± 0.80	10.02 ± 0.77	10.23 ± 1.15	10.13 ± 1.10	10.44 ± 1.62
Female weight					
Days of lactation					
0	6.11 ± 0.45	6.07 ± 0.44	6.02 ± 0.48	6.04 ± 0.49	6.34 ± 0.67
4	9.66 ± 0.62	9.73 ± 0.88	9.48 ± 0.93	9.75 ± 1.04	9.90 ± 1.56
Mean pups weight					
Days of lactation					
0	6.28 ± 0.50	6.24 ± 0.40	6.33 ± 0.51	6.18 ± 0.46	6.62 ± 0.68
4	9.96 ± 0.74	9.87 ± 0.82	9.93 ± 1.11	9.93 ± 1.03	10.22 ± 1.54
Litter weight					
Days of lactation					
0	91.21 ± 6.99	93.97 ± 8.31	99.30 ± 11.66	92.59 ± 9.73	91.44 ± 16.17
4	141.81 ± 10.32	145.70 ± 10.61	150.79 ± 15.53	145.26 ± 15.28	140.68 ± 26.01

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

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

Group (mg/kg)	Control	2-hydroxyethyl methacrylate			
	0	30	100	300	1000
Number of males	79	87	96	74	40
	Normal	79	87	96	74
Number of females	78	76	88	89	30
	Normal	78	76	88	89

◆ CONTROL
 □ 2-HYDROXYETHYL METHACRYLATE 30 MG/KG
 ▲ 2-HYDROXYETHYL METHACRYLATE 100 MG/KG
 x 2-HYDROXYETHYL METHACRYLATE 300 MG/KG
 x 2-HYDROXYETHYL METHACRYLATE 1000 MG/KG

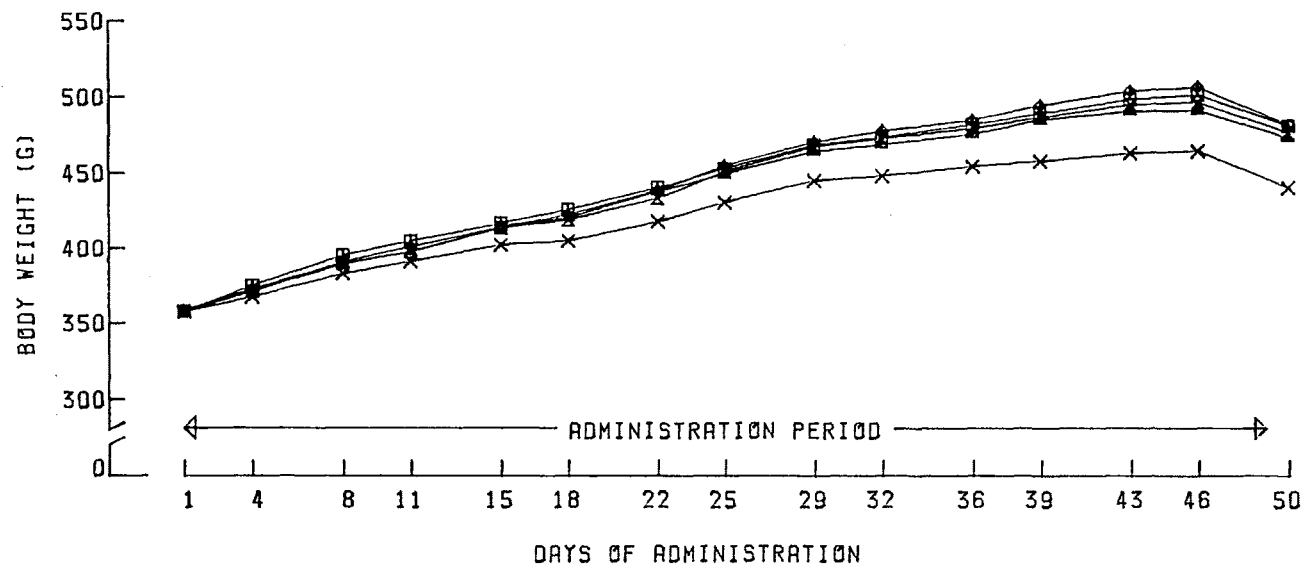


Fig. 1 Body weight of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration.

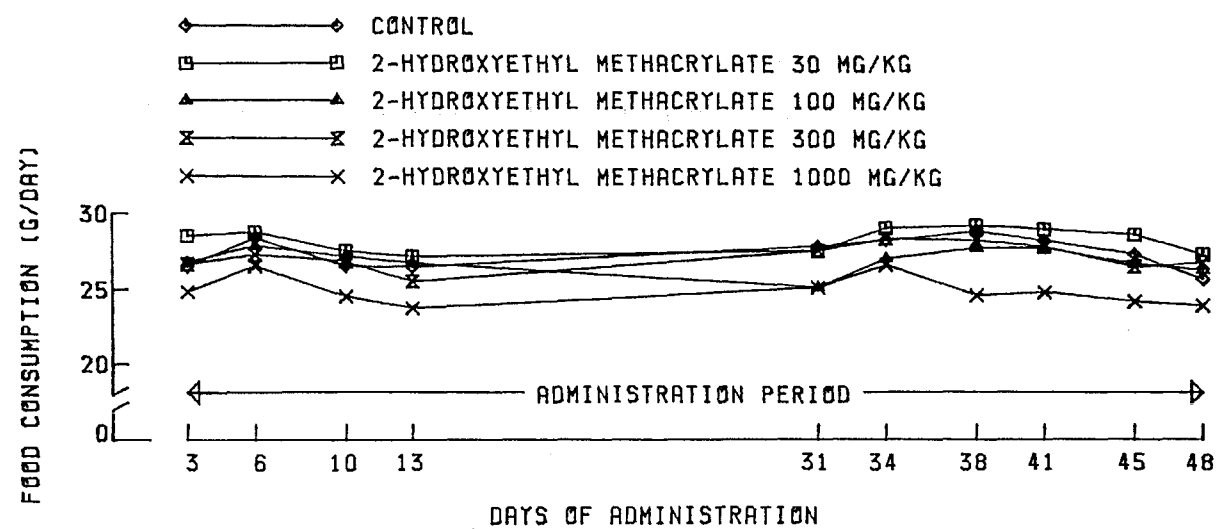


Fig. 2 Food consumption of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration.

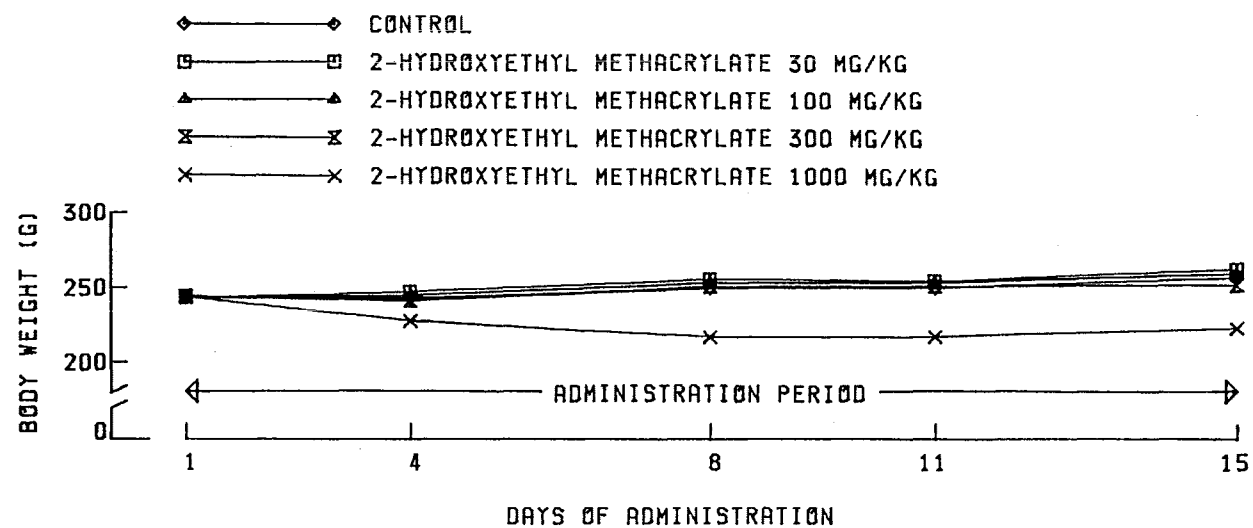


Fig. 3 Body weight of female rats (P) during pre-mating period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration.

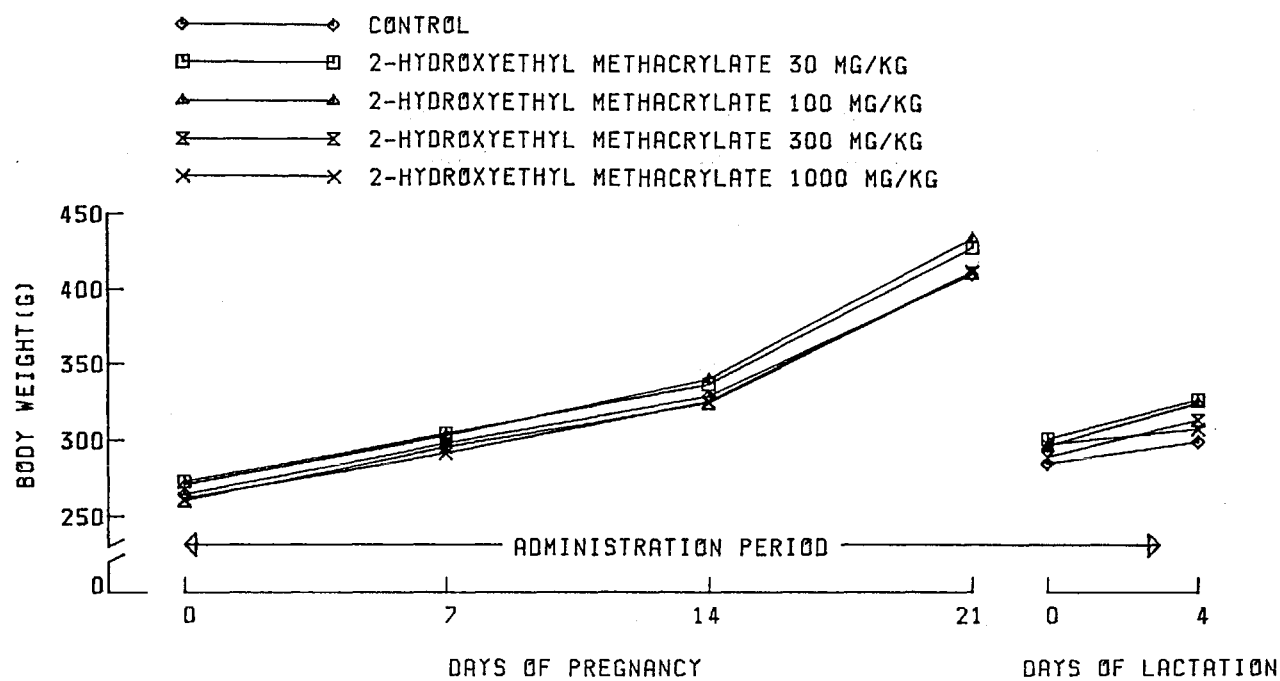


Fig. 4 Body weight of dams (P) during pregnancy and lactation periods in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration.

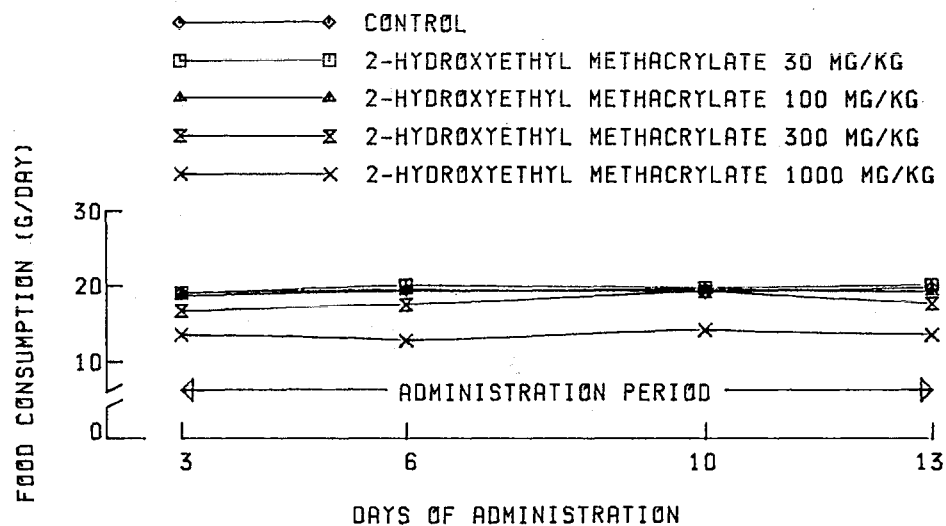


Fig. 5 Food consumption of female rats (P) during pre-mating period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration.

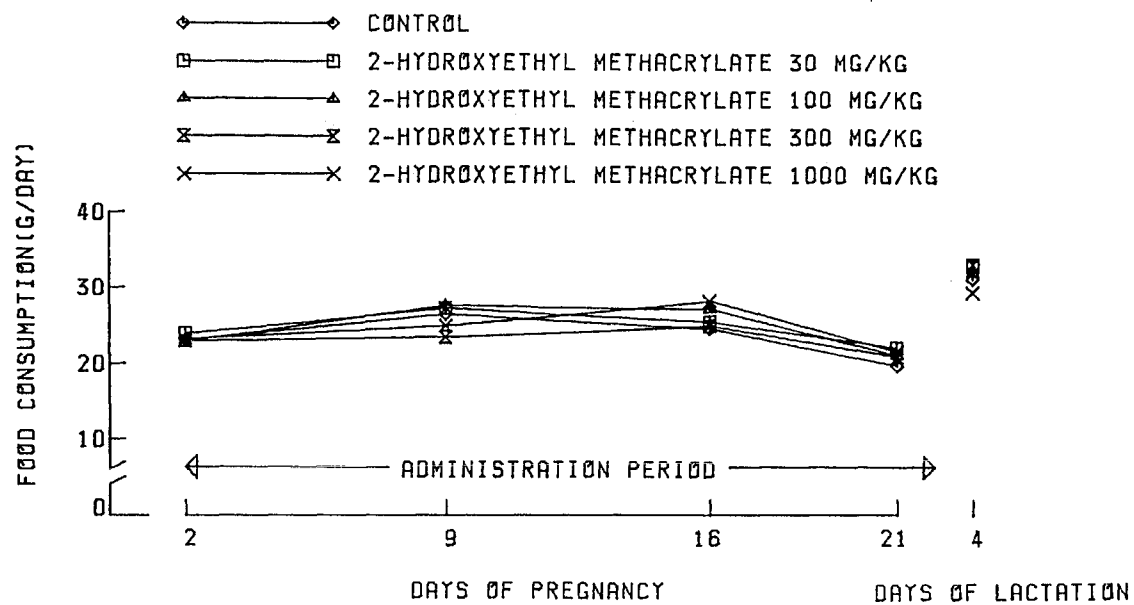


Fig. 6 Food consumption of dams (P) during pregnancy and lactation periods in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration.

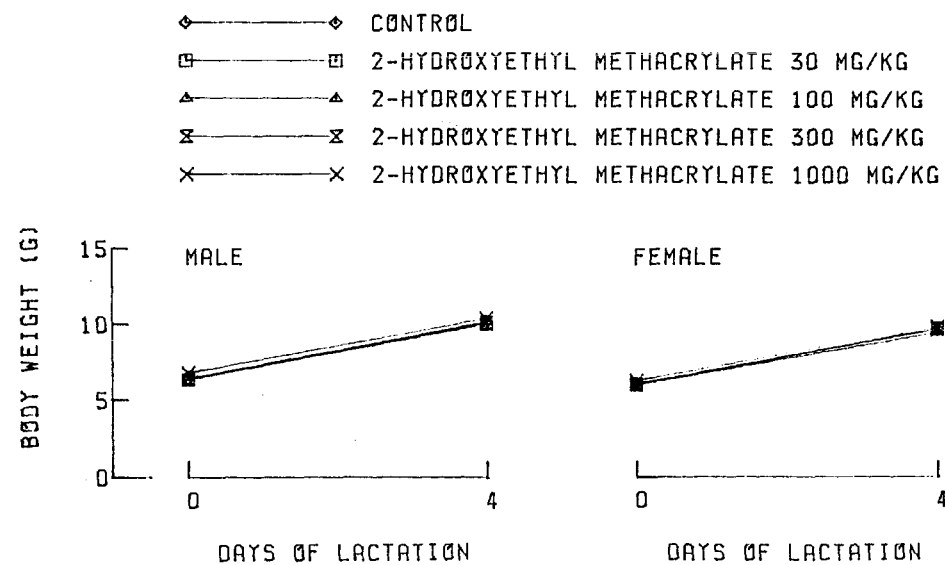


Fig. 7 Body weight of pups (F1) on days 0 and 4 of lactation in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxyethyl methacrylate by oral administration.