

2-アミノ-5-メチルベンゼンスルホン酸のラットを用いる経口投与簡易生殖毒性試験

試験番号：3651（115-084）

財 団 法 人
食 品 農 医 薬 品 安 全 性 評 価 セ ン タ ー

目 次

		1~24
1. 要 約		8
2. 諸 言		9
3. 試 験 題 目		10
4. 試 験 目 的		10
5. 試 験 番 号		10
10. 試験材料および方法		12
11. 試 験 結 果		18
12. 考察および結論		21
13. 参 考 文 献		23

Figures		F-1~4
Figure 1	Body weight change of male rats	F-1
Figure 2	Body weight change of female rats	F-2
Figure 3	Food consumption of male rats	F-3
Figure 4	Food consumption of female rats	F-4
Tables		T-01~23
Table 1-1	Clinical observations in male rats	T-01
Table 1-2	Clinical observations in female rats (Before and during mating period)	T-02
Table 1-3	Clinical observations in female rats (Gestation period)	T-03
Table 1-4	Clinical observations in female rats (Lactation period)	T-05
Table 2-1	Body weight change of male rats	T-06
Table 2-2	Body weight change of female rats	T-07
Table 3-1	Food consumption of male rats	T-08
Table 3-2	Food consumption of female rats	T-09
Table 4	Absolute and relative organ weight of male rats	T-10
Table 5-1	Summary of gross findings (sacrificed, non-pregnancy and not copulation, male)	T-11
Table 5-2	Summary of gross findings (sacrificed, female)	T-12
Table 5-3	Summary of gross findings (all pups died)	T-13

Table 6-1	Summary of histological findings (all pups died)	T-14
Table 6-2-1	Summary of histological findings (sacrificed, male)	T-15
Table 6-2-2	Summary of histological findings (sacrificed, male)	T-16
Table 6-3-1	Summary of histological findings (sacrificed, female)	T-17
Table 6-3-2	Summary of histological findings (sacrificed, female)	T-18
Table 7	Copulation and fertility results in rats	T-19
Table 8	Findings of delivery in dams(F0)	T-20
Table 9	Body weight change of pups(F1) from rats	T-21
Table 10-1	Summary of gross findings of pups(F1) from rats (sacrificed, male)	T-22
Table 10-2	Summary of gross findings of pups(F1) from rats (sacrificed, female)	T-23

1. 要 約 :

既存化学物質の毒性学的性質を評価するため、2-アミノ-5-メチルベンゼンスルホン酸の0（溶媒対照群）、100、300 および 1000 mg/kg/dayをラットの交配前14日から交配期間、妊娠期間および哺育3日まで連続経口投与し、生殖・発生に及ぼす影響を検討した。

1) 親動物（F0）に及ぼす影響

投与期間を通じて死亡例は認められなかった。

一般状態、体重および摂餌量には雌雄ともに被験物質投与による影響は認められなかった。

雄の精巣および精巣上体重量には、被験物質投与による影響は認められなかった。剖検および生殖器系の病理組織学検査では、雌雄とも被験物質投与に起因すると考えられる所見は観察されなかった。

2) 生殖能に及ぼす影響

交尾能、受胎能および性周期に被験物質投与の影響は認められなかった。また、分娩状態にも異常は観察されなかった。

3) 新生児に及ぼす影響

新生児の外表検査には、異常は認められず、体重にも群間差は認められなかった。

死亡児および哺育4日の剖検では、被験物質投与によると考えられる異常所見は観察されなかった。

以上の結果から、本試験条件下における2-アミノ-5-メチルベンゼンスルホン酸の親動物に対する無影響量は雌雄とも 1000 mg/kg/dayと判断された。生殖能および次世代児に対する影響はともに 1000 mg/kg/day投与によっても認められず、無影響量は 1000 mg/kg/dayと判断された。

2. 緒 言 :

2-アミノ-5-メチルベンゼンスルホン酸 (4-amino toluene-3-sulfonic acid) は赤色顔料の合成原料等に使用される化合物である。本化合物の急性¹⁾あるいは亜急性毒性に関する情報は若干あるものの²⁾、生殖毒性に関する報告はない。今回、OECD による既存化学物質の安全性点検に係わる毒性調査事業の一環として、2-アミノ-5-メチルベンゼンスルホン酸の親ラットの生殖能力および次世代児の発生・発育に及ぼす影響について検討したのでその結果を報告する。

3. 試 験 題 目 :

2-アミノ-5-メチルベンゼンスルホン酸のラットを用いる経口投与簡易生殖毒性試験

4. 試 験 目 的 :

既存化学物質の毒性学的性質を評価する一環として行うOECDガイドライン「経口投与簡易生殖毒性試験」（1990年3月22日）に従い、ラットを用いて生殖・発生に及ぼす影響を検討した。

なお、試験の実施は環企研第233号，衛生第38号，63基局第823号（昭和63年11月18日）の「新規化学物質に係る試験及び指定化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める命令第4条に規定する試験施設について」の基準を満たすものとした。

5. 試 験 番 号 :

3 6 5 1 (115-084)

10. 試験材料および方法：

10.1 被験物質

2-アミノ-5-メチルベンゼンスルホン酸 (4-amino toluene-3-sulfonic acid, 別名 4 B acid, CAS No.88-44-8, Lot No. 純度 99.3 wt%, 分子量187.20) は微黄色の粉末であり, 使用時まで被験物質保管用冷蔵庫に密栓して保管した. 2-アミノ-5-メチルベンゼンスルホン酸を実測した結果は, Reference data 1 に示した.

被験物質は, 瑪瑙製乳鉢を用いてゴマ油 (Lot No.V7H8040, V7R2398, V7N1095 ナカライテスク株式会社製造) に懸濁し, 20, 60 および 200 mg/mLの濃度になるよう各群の投与液を調製した. 調製後は, 使用時まで遮光・冷蔵下で保管した.

投与液中の被験物質は 6 および 200 mg/mLの濃度について, 調製後冷蔵庫保存で 8 日間まで安定であることが予備試験において確認されている.

投与液の濃度分析は, 調製開始時に調製したすべての試験群の投与液について行った. その結果, 表示濃度に対し88.5~99.6%の範囲であった (Reference data 2). したがって, 投与液にはほぼ所定量の 2-アミノ-5-メチルベンゼンスルホン酸が含有されていることを確認した.

投与終了後に製造元に返却した被験物質について, 製造元で再分析した結果, 純度は 99.3%であり, 被験物質は投与期間中安定であったことが確認された (Reference data 3).

10.2 使用動物および飼育条件

試験には, 日本チャールス・リバー株式会社 (神奈川県厚木市) から購入した生後 8.5週齢の Sprague-Dawley (Crj: CD (SD), SPF) 系雌雄ラットを使用した. 購入した動物は 5 日間検疫・馴化飼育した後, 一般状態に異常が認められなかったものを 10 週齢で群分けして試験に用いた. 群分け終了時の体重は, 雄で 375~414 g, 雌で 239~266 gの範囲であった.

動物は, 温度 $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$, 湿度 $55 \pm 10\%$, 換気回数15回/時間, 照度 150~300 lux, 照明時間12時間 (午前 7 時点灯, 午後 7 時消灯) に設定されたバリアシステムの飼育室 (W 5.7×D 10.0×H 2.5 m, 142.5 m³) で飼育した. 飼育室内の温度および湿度の実測値は, それぞれ $23.7 \sim 24.6^{\circ}\text{C}$ および47~59%であった.

株式会社 東京技研サービス (東京都府中市) の自動水洗式飼育機 (W 691.0×D 79.0×H 195.0 cm) を使用し, アルミ製前面・床ステンレス網目飼育ケージ (W 15.8×D 23.8×H 16.0 cm, 飼育ケージ・スペース 6017 cm³) に動物を 1 匹ずつ収容し飼育した. 但し, 交配期間中は, 雄をアルミ製前面, 床ステンレス網目飼育ケージ (W 36.8×D 25.0×H 16.0 cm, 飼育ケージ・スペース 14720 cm³) に 1 匹ずつ収容し飼育した. 妊娠18日以降の母動物は哺育 4 日までアルミ製前面・床ステンレス網目飼育ケージ (W 36.8×D 25.0×H 16.0 cm) に哺育トレイおよび巣作り材料 (Care FRESH_{TM}) を入れて飼育した.

飼育ケージは隔週 1 回、給餌器は週 1 回交換した。

飼料は、オリエンタル酵母工業株式会社（東京都中央区）製造の NMF 固型飼料（放射線滅菌飼料）を使用し、飼育期間中自由に摂取させた。飲水は、水道水を自動給水ノズルより自由に摂取させた。

供給した飼料および水には Reference data 4 および 5 に示した如く試験に支障を来す可能性の考えられる夾雑物の混在はなかった。

なお、動物の馴化期間を含め、飼育期間中、データの信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因の変化はなかった。

10.3 群分け・個体識別

動物はあらかじめ体重によって層別化し、無作為抽出法により各試験群を構成するように群分けし、1 群当たり雌雄各 12 匹を用意した。なお、雌は群分け前に 8 日間の性周期観察を行い、正常な性周期を有する動物を群分けに用いた。

群分け後の動物の識別は、個体別に耳介に入墨するとともにケージごとに動物標識番号（Animal ID-No.）をつけた。

余剰動物は炭酸ガスにより安楽死させた。

10.4 投与量、群構成、投与期間および投与方法

「2-アミノ-5-メチルベンゼンスルホン酸のラットを用いる 28 日間の反復投与毒性試験」では上限量である 1000 mg/kg 群の雄で尿比重の増加、尿 pH、白血球数および総コレステロールの低下あるいは減少が、雌で GPT の増加、血糖の減少が認められ、剖検では雌雄ともに盲腸の拡張が認められた。これらの結果をもとに、0, 30, 100, 300 および 1000 mg/kg の用量で実施した予備試験「2-アミノ-5-メチルベンゼンスルホン酸のラットを用いる経口投与簡易生殖毒性試験-2 週間投与予備試験（試験番号 3650）」では、投与後症状、体重、摂餌量、器官重量に明らかな被験物質投与によると考えられる変化は認められなかった。

従って、本試験においても予備試験同様 1000 mg/kg/day を高用量とし、以下公比約 3 で除し、300 および 100 mg/kg/day を設定した。

投与経路は、OECD ガイドライン「簡易生殖毒性試験」³⁾ で指示されている投与経路に準じて強制経口投与とした。投与容量は、体重 100 g 当り 0.5 mL とし、交配前および交配期間中の雌雄では、個体別に測定した最新体重に基づいて算出を行った。また、妊娠期間および哺育期間中の雌は、妊娠 0, 7, 14, 21 および哺育 0 日に測定した個体別体重に基づいて算出を行った。胃ゾンデを用いて毎日 1 回（7 日/週）8:50～13:59 に強制経口投与した。対照群にはゴマ油のみを同様に投与した。

雄の投与期間は、交配前 14 日間と交配期間 14 日間および交配期間終了後 20 日間の連続 48 日間とした。雌の投与期間は、交配前 14 日間と交配期間中（最長 14 日間）ならびに交尾成立雌の妊娠期間を通じて分娩後の哺育 3 日まで（41～46 日間）とした。なお、交尾成立後分娩しなかった雌は妊娠 25 日の解剖前日までの 41 および 43 日間とした。交尾不成立の雌は交配期間終了後 20 日間の連続 48 日間とした。

10.5 観察および検査

10.5.1 一般状態

雌雄とも、全例について試験期間中毎日観察した。

10.5.2 体 重

雄では、投与1（投与開始日），8，15，22，29，36，43および49日（剖検日）に測定し、投与1から43日までの体重増加量を算出した。

雌では、投与1（投与開始日），8および15日に測定し、投与1から15日までの体重増加量を算出した。交尾不成立の雌はそれ以降の投与22，29，36，43および49日に測定した。また、交尾成立後の雌は、妊娠0，7，14および21日に、分娩した雌は哺育0および4日に測定し、それぞれ妊娠0から21日および哺育0から4日までの体重増加量を算出した。

10.5.3 摂 餌 量

雄では、投与1（投与開始日），8，15，22，29，36，43および48日（剖検前日）に餌重量を測定し、測定日から次の測定日までの摂餌量を求め平均1日摂餌量を算出するとともに、投与1から15日および投与22から48日までの累積摂餌量を算出した。

雌では、投与1（投与開始日），8および15日に、交尾しなかった雌はそれ以降の投与29，36，43および48日（剖検前日）に測定し、測定日から次の測定日までの摂餌量を求め平均1日摂餌量を算出するとともに投与1から15日までの累積摂餌量を算出した。また、交尾成立の雌は妊娠0，7，14および21日に、分娩した雌は哺育0および4日に餌重量を測定し、測定日から次の測定日までの摂餌量を求め平均1日摂餌量を算出するとともに妊娠0から21日までの累積摂餌量を算出した。

なお、交配期間中の同居動物は摂餌量を測定しなかった。

10.5.4 交 配

交配前14日間の性周期観察を行った雌を同群内の雄のケージに入れ1対1で最長14日間毎晩同居させた。翌朝、膣垢中の精子確認をもって交尾成立とし、その日を妊娠0日とした。

性周期観察は交尾成立日まで行い、発情期から次の発情期までの間の日数を性周期日数として平均性周期を算出した。

交配結果から、各群について交尾率 $\left[\left(\text{交尾成立動物数} / \text{同居動物数} \right) \times 100 \right]$ を算出した。

10.5.5 自然分娩時および新生児の観察

妊娠動物は全例を自然分娩させた。分娩の確認は午前9～10時に行い、この時間帯に分娩が完了していることを確認した個体および分娩を開始した個体については分娩完了まで待って、その日を哺育0日とした。午前10時を過ぎて分娩を開始した個体については、翌日を哺育0日とした。分娩を確認した全例について妊娠期間（哺育0日の年月日から妊娠0日の年月日を減じた日数）、受胎率〔（受胎動物数／交尾成立動物数）×100〕、出産率〔（生児出産雌数／妊娠雌数）×100〕、着床率〔（着床痕数／妊娠黄体数）×100〕、分娩率〔（総出産児数／着床痕数）×100〕、出生率〔（出產生児数／総出産児数）×100〕を算出した。

妊娠25日の午前9時までに分娩のみられない動物は病理解剖した。母動物は哺育4日に病理解剖した。

新生児は哺育0日に出産児数（生存児＋死亡児）を調べ、性別を判定するとともに外表異常の有無を調べた。また、哺育0および4日に雌雄別の同腹児重量を測定し、1腹の雌雄別1匹当たりの平均体重を算出した。

哺育4日に新生児全例を屠殺し、器官・組織の肉眼的観察を行った。哺育期間中の死亡児はブアン氏液に固定し、器官・組織の肉眼的観察を行った。また、新生児の4日生存率〔（哺育4日生児数／出產生児数）×100〕を算出した。

10.5.6 病理学検査

10.5.6.1 剖検および器官重量

①雄動物

48日間投与した翌日、エーテル麻酔下で放血安楽死させた。器官・組織の肉眼的観察を行った後、精巣および精巣上体重量を測定し器官重量・体重比（相対重量）を算出した。また、全動物の精囊、前立腺および肉眼所見で変化が認められた器官・組織として肺、肝臓および皮膚を10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。なお、精巣および精巣上体はブアン氏液で固定した。

②自然分娩した雌

哺育4日にエーテル麻酔下で放血安楽死させた。器官・組織の肉眼的観察を行った後、卵巣、子宮、膣および肉眼所見で変化が認められた器官・組織として肺、皮膚、胸腺、胃および副腎を10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。また、剖検時に黄体数および着床痕数を調べた。

③交尾しなかった雌

48日間投与した翌日、エーテル麻酔下で放血安楽死させた。器官・組織の肉眼的観察を行った後、卵巣、子宮、膣を10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。

④自然分娩の認められない雌

妊娠25日に、エーテル麻酔下で放血安楽死させた。器官・組織の肉眼的観察を行った後、卵巢、子宮および膣を10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。着床痕が認められない動物は不妊と判定した。

⑤哺育期間中に全児が死亡した母動物（全児死亡動物）

生存児すべての死亡または喰殺が確認された日に、エーテル麻酔下で放血安楽死させた。器官・組織の肉眼的観察を行った後、卵巢、子宮、膣および肉眼所見で変化が認められた器官・組織として胸腺を10%中性緩衝ホルマリン液に固定した。

なお、剖検時に黄体数および着床痕数を調べた。

10.5.6.2 病理組織学検査

下記に該当する動物の組織について 株式会社 組織科学研究所（東京都青梅市）で常法に従ってパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色した。鏡検は安評センターで実施し、病変の種類および程度について記録した。

①全児死亡動物

対照群の2例（動物番号2003, 2008）で卵巢、子宮および膣について実施した。加えて、動物番号2003では胸腺について実施した。

②妊娠を成立させた雄

対照群および 1000 mg/kg群のそれぞれ11および12例で精巣および精巣上体について実施した。加えて、対照群の肺（動物番号1001）、300 mg/kg群の皮膚（動物番号1202）、精巣および精巣上体（動物番号1205）、肺および肝臓（動物番号1208）、1000 mg/kg群の皮膚（動物番号1306）についても実施した。

③自然分娩した雌

対照群および 1000 mg/kg群のそれぞれ9および12例で卵巢について実施した。加えて、100 mg/kg群の卵巢（動物番号2110）および皮膚（動物番号2112）、300 mg/kg群の胸腺（動物番号2203）、1000 mg/kg群の胃（動物番号2302）、胸腺（動物番号2304および2305）、副腎（動物番号2306）および肺（動物番号2312）について実施した。

④交尾しなかった雌雄

100 mg/kg群の雌雄各1例（動物番号1106および2106）で卵巢、子宮、膣、精巣、精巣上体、精囊および前立腺について実施した。

⑤妊娠を成立させなかった雄および妊娠不成立の雌

対照群および 100 mg/kg群の各1組（動物番号1005, 2005, 1104, 2104）で卵巢、子宮、膣、精巣、精巣上体、精囊および前立腺について実施した。

10.6 統計解析

体重、摂餌量、黄体数、着床痕数、出産児数、死産児数、性比、平均性周期、妊娠期間、着床率、分娩率、出生率、外表異常発現率、出生児の4日生存率、器官重量および器官重量・体重比（相対重量）については多重比較検定⁴⁾を行った。まず Bartlettの等分散検定を実施し、等分散の場合は一元配置分散分析を行った。分散が有意な場合は Dunnettの多重比較検定^{5)・6)}で対照群と各投与群間の有意差を検定した。Bartlettの等分散検定で不等分散の場合は Kruskal-Wallisの順位検定を実施し、有意の場合はノンパラメトリックの Dunnettの多重比較検定^{5)・6)}で対照群と各投与群間の有意差を検定した。出産率、交尾率および受胎率については χ^2 検定^{7)・8)}を用いた。病理学検査の所見の発生率の検定は、Fisherの直接確率検定法⁶⁾を用いて検定した。なお、哺育期間中の新生児に関する成績は1母体当りの平均を1標本とした。有意水準は * : $P < 0.05$ および ** : $P < 0.01$ の2段階とした。

11. 試 験 結 果：

11.1 反復投与毒性

11.1.1 死亡および一般状態 (Table 1-1～1-4, Appendix 1-1～1-4)

死亡例は、投与期間を通じ雌雄いずれの群にも観察されなかった。一般状態の観察では、雄については 100 mg/kg群で眼分泌物が 1 例、300 mg/kg群で脱毛が 1 例、1000 mg/kg群で痂皮および脱毛が同一の 1 例に認められた。雌については妊娠期間および哺育期間を通じ 100 mg/kg群で脱毛が 1 例に、対照群で全児死亡動物が哺育 2 および 3 日に各 1 例（動物番号2003, 2008）認められた。

11.1.2 体 重 (Fig 1～2, Table 2-1～2-2, Appendix 2-1～2-2)

雄では、投与期間を通じて対照群と各被験物質投与群との間に差は認められなかった。雌では、100 および 1000 mg/kg群で対照群に比べ哺育 4 日に統計学的に有意な低値を示した。

11.1.3 摂 餌 量 (Fig 3～4, Table 3-1～3-2, Appendix 3-1～3-2)

雄では、1000 mg/kg群で投与 8 から15日の平均 1 日摂餌量が統計学的に有意な高値を示し、投与 1 から15日の累積摂餌量も高値を示した。

雌では、投与期間を通じて対照群と各被験物質投与群との間に差は認められなかった。

11.1.4 器官重量 (Table 4, Appendix 4)

300 mg/kg群で対照群に比べ精巣上体の実重量が統計学的に有意な低値を示した。

11.1.5 剖検所見 (Table 5-1～5-3, Appendix 5-1～5-2)

雄動物では、所見として肺の黒色斑点が対照群および 300 mg/kg群で各 1 例、肝臓の赤色斑点および白色斑点が 300 mg/kg群で同一個体の 1 例、精巣および精巣上体の萎縮が 300 mg/kg群で同一個体の 1 例、被毛の菲薄化が 300 および 1000 mg/kg群で各 1 例に観察された。

自然分娩した雌は対照群、100, 300 および 1000 mg/kg群でそれぞれ 9, 10, 12 および 12 例であった。所見として胸腺の萎縮が 300 および 1000 mg/kg群でそれぞれ 1 および 2 例、肺の黒色斑点が 1000 mg/kg群で 1 例、胃の潰瘍が 1000 mg/kg群で 1 例、卵巣の嚢胞が 100 mg/kg群で 1 例、副腎の白色斑点が 1000 mg/kg群で 1 例、被毛の菲薄化が 100 mg/kg群で 1 例に観察された。

交尾しなかった 100 mg/kg群の雌（動物番号2106）では、異常所見は観察されなかった。

自然分娩の認められない雌は対照群および 100 mg/kg群で各 1 例（動物番号2005, 2104）であったが、いずれの動物にも異常所見は観察されなかった。

対照群の全児死亡動物 2 例（動物番号2003, 2008）では、1 例に胸腺の萎縮および子宮の結節が観察され、他の 1 例には異常所見は認められなかった。

11.1.6 組織所見 (Table 6-1～6-3, Appendix 6-1～6-3-2)

全児死亡動物では、卵巢、子宮、膣および異常病変部組織について観察を行った。所見として、胸腺の萎縮および子宮の化膿性炎症が1例に観察された。他の1例には異常所見は観察されなかった。

雄では対照群および 1000 mg/kg群の精巣および精巣上体、さらに、肉眼所見で認められた異常病変部組織全てについて観察を行った。所見として、精巣の精細管萎縮と間質細胞増生および精巣上体の精子減少が 300 mg/kg群で1例に、精巣上体の細胞浸潤が 1000 mg/kg群で1例に観察された。その他、肺の炎症が対照群および 300 mg/kg群で各1例、肝臓の壊死が 300 mg/kg群で1例、皮膚の糜爛および扁平上皮増生が 1000 mg/kg群で1例に観察された。

自然分娩した雌では対照群および 1000 mg/kg群の卵巢、さらに、肉眼所見で認められた異常病変部組織全てについて観察を行った。所見として、卵巢では卵黄囊嚢胞が 100 mg/kg群の1例に観察された。その他、胸腺の萎縮が 300 および 1000 mg/kg群でそれぞれ1および2例、肺の炎症が 1000 mg/kg群で1例、胃の潰瘍が 1000 mg/kg群で1例、副腎皮質の局所的肥大が 1000 mg/kg群で1例、皮膚の炎症浸潤と扁平上皮増生が 100 mg/kg群の1例に観察された。

交尾しなかった雌雄では、卵巢、子宮、膣、精巣、精巣上体、精囊および前立腺について観察を行った。所見として雄で精巣の精細管萎縮が観察された。

妊娠を成立させなかった雄および不妊の雌では、卵巢、子宮、膣、精巣、精巣上体、精囊および前立腺について観察を行った。いずれの組織にも異常所見は観察されなかった。

11.2 生殖発生毒性

11.2.1 交尾および受胎能 (Table 7, Appendix 7-1～7-2)

交尾は、100 mg/kg群を除くすべての群で全例成立し、100 mg/kg群では1組（動物番号1106, 2106）が交尾不成立で12例中11例（91.7%）で成立した。受胎は、300 および 1000 mg/kg群で交尾が成立した雌の全例で成立した。対照群および 100 mg/kg群の各1例（動物番号2005, 2104）では、妊娠25日剖検で着床痕が認められなかったため不妊と判断した。したがって、対照群では12例中11例（91.7%）、100 mg/kg群では11例中10例（90.9%）で受胎が成立した。

性周期観察では、いずれの群もほぼ4～5日の性周期を示し平均性周期に群間差は認められなかった。

11.2.2 分娩および哺育 (Table 8, Appendix 8)

分娩状態に異常は観察されず、各群の妊娠期間、黄体数、着床痕数、出産児数、出産生児数および死産児数はほぼ同様な値を示し、出産率、着床率、出生率および生後4日生存率に群間差は認められなかった。

11.2.3 新生児の形態、体重および剖検所見 (Table 9~10-2, Appendix 9~11-2)

新生児の外表検査では、異常をともなう児は1例も認められなかった。

哺育期間中の体重では、雌雄ともにいずれの測定日にも群間差は認められなかった。

哺育期間中の死亡児の剖検では、胸腺頸部残留および腎盂拡大が対照群の雄に散見された。雌には異常所見は認められなかった (Table, Appendixには示していない)。

生後4日の剖検では、雄では胸腺頸部残留が対照群で1例、腎臓の腎盂拡大が300 mg/kg群で1例、雌では腎臓の腎盂拡大が対照群および300 mg/kg群でそれぞれ1および3例に認められた。

12. 考察および結論：

12.1 親動物（F0）に及ぼす影響

死亡例は、投与期間を通じ雌雄いずれの群にも認められなかった。一般状態の観察では、雄で眼分泌物、痂皮および脱毛が、雌で脱毛が散見された。しかし、いずれも少数例の発現であり、被験物質投与と関連のない変化と考えられた。

体重については、雌の 100 および 1000 mg/kg群で哺育 4 日に低値を示した。しかし、他の測定日、すなわち交配前期間、妊娠期間および哺育 0 日の体重には明らかな差は認められず 1 日のみの変化であること、また、哺育期間の体重増加量には明らかな変化が認められていないことから、被験物質投与の影響では無く偶発的な変化と考えられた。

摂餌量については、雄の 1000 mg/kg群で投与 8～15日の間の平均 1 日摂餌量および投与 1～15日の累積摂餌量が高値を示した。しかし、同群の体重には明らかな変化は認められていないこと、28日間反復投与毒性試験および 2 週間投与予備試験では同様の結果は認められていないことから、被験物質投与による毒性影響とは判断しなかった。

精巣および精巣上体重量では、精巣重量に群間差は認められず、300 mg/kg群で精巣上体重量が低値を示した。しかし、相対重量に変化はなく、また、1000 mg/kg群では認められず用量に関連した変化ではないことから被験物質投与の影響とは考えなかった。

病理学検査では、雄の精巣および精巣上体、雌の卵巣に被験物質投与の影響は認められなかった。その他、雌雄に認められた剖検所見はいずれも単発的な発現頻度であり、また、それらの組織所見にも被験物質投与に起因すると考えられる変化は認められなかったことから自然発生性の変化と考えられた。なお、全児死亡動物、妊娠を成立させなかった雄および不妊の雌については、特に原因を示唆する所見は認められなかった。交尾しなかった雄（動物番号1106）では、組織所見で精巣の精細管萎縮が認められた。しかし、交尾不成立の一要因となった可能性が示唆されるものの、発現頻度から被験物質投与との関連は無いと判断された。

したがって、本試験条件下における 2-アミノ-5-メチルベンゼンスルホン酸の親動物に対する無影響量は、最高用量の 1000 mg/kgでも影響は認められなかったことから雌雄とも 1000 mg/kg/dayと判断された。

12.2 生殖発生毒性

性周期、交尾率、受胎率、妊娠期間、妊娠黄体数、着床痕数、出産児数、出產生児数、性比、哺育 4 日生児数、出産率、着床率、出生率および生後 4 日生存率に被験物質投与の影響は認められなかった。また、新生児の外表検査でも異常は認められず、体重にも群間差は認められなかった。死亡児および哺育 4 日の剖検では、被験物質投与によると考えられる異常所見は観察されなかった。

以上のことから、2-アミノ-5-メチルベンゼンスルホン酸の生殖能および次世代児に対する影響はともに 1000 mg/kg/day 投与によっても認められず、無影響量は 1000 mg/kg/day と判断された。

13. 参 考 文 献 :

- 1) Registry of toxic effects of chemical substances, 1981-1982
- 2) : 2-アミノ-5-メチルベンゼンスルホン酸のラットを用いる28日間
反復経口投与毒性試験, Toxicity Testing Reports of Environmental Chemicals
Vol.4 化学物質毒性試験報告, 99(1996).
- 3) OECD guideline for testing of chemicals: Extended Steering Group Document.
No. 3(1990).
- 4) Shayne, C.G. and Carrol, S.W. : Statics and Experimental Design For
Toxicologists. Telford Press (1986).
- 5) 佐野正樹, 岡山佳弘 : 医薬安全性研究会会報, No.32, p.21 (1990).
- 6) YOSHIDA, M. : J. J. Soc. comp. Stat., 1, p.111 (1988).
- 7) 佐久間昭 : 薬効評価 I - 計画と解析 -, 東京大学出版会 (1977) .
- 8) 石居 進 : 生物統計学入門, 培風館 (1975) .

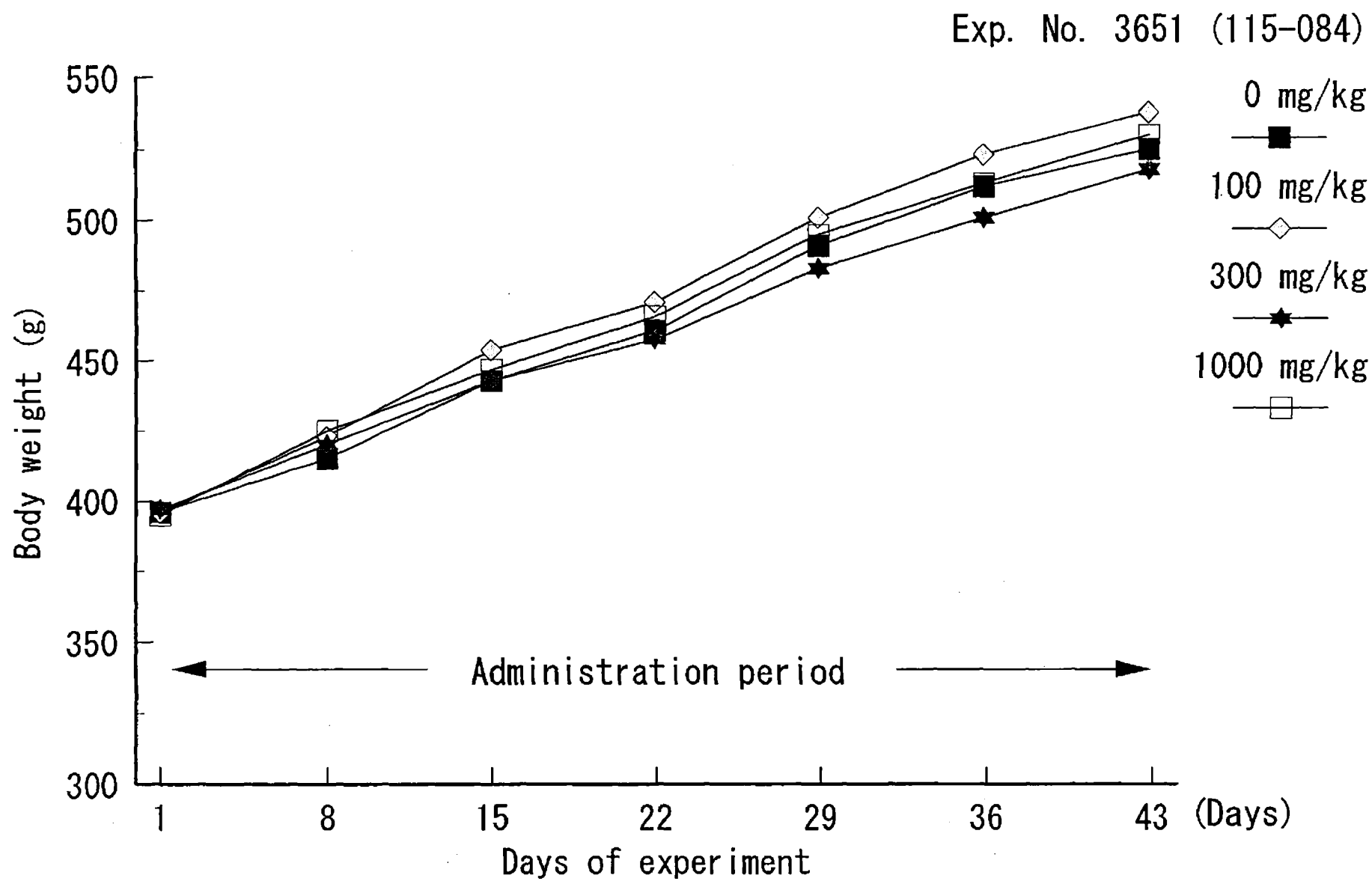


Figure 1 Body weight change of male rats

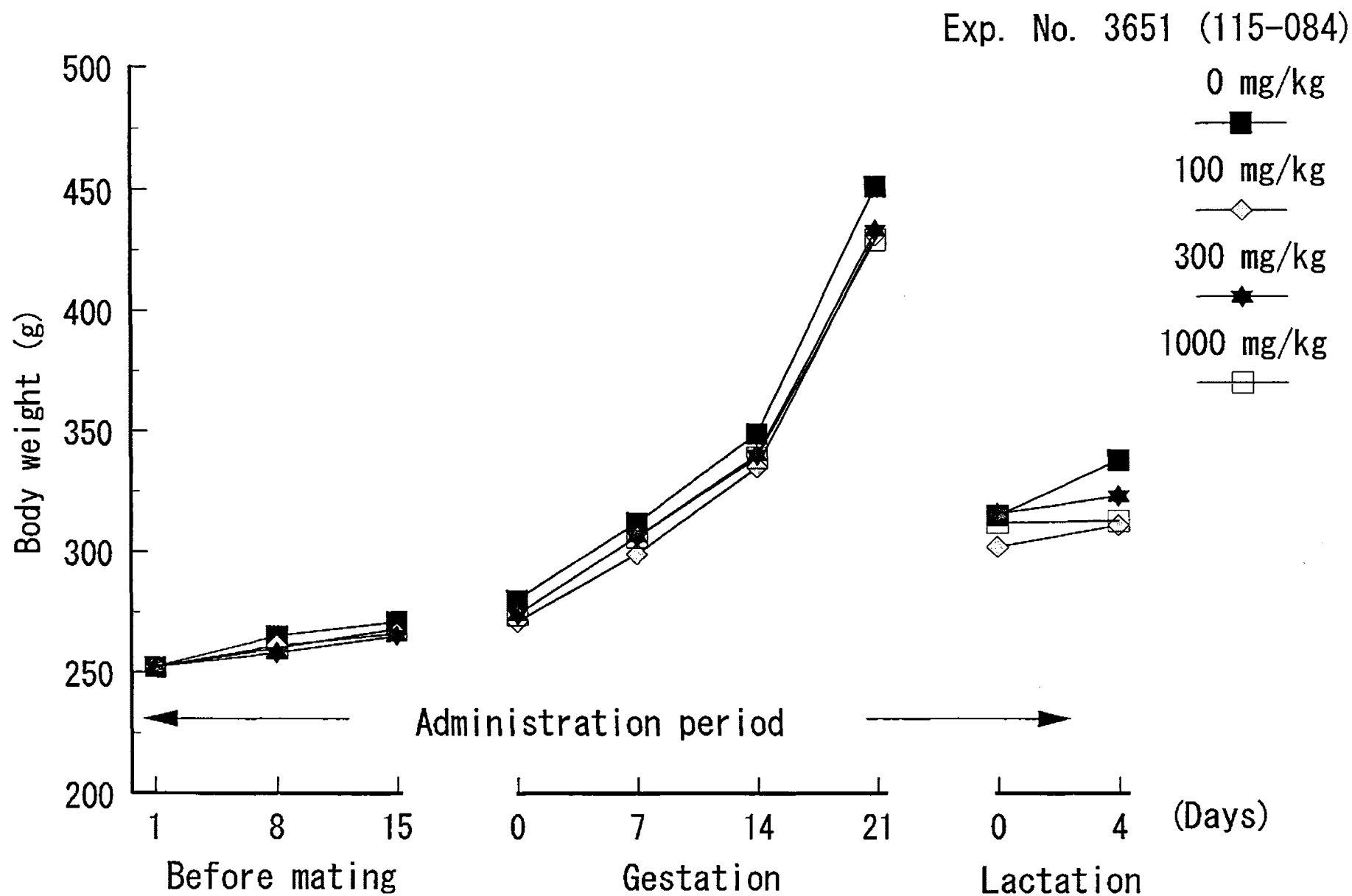


Figure 2 Body weight change of female rats

Exp. No. 3651 (115-084)

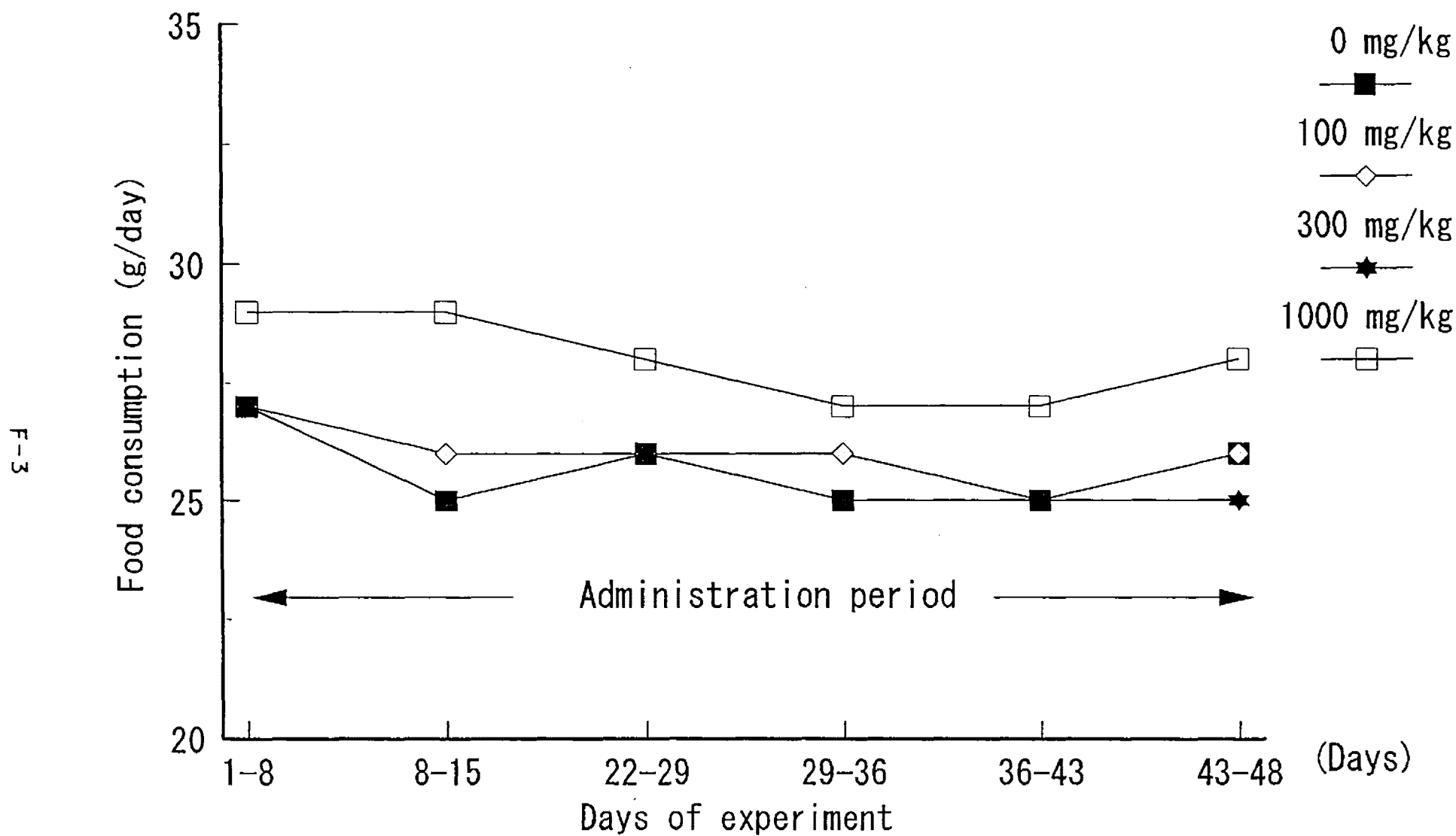


Figure 3 Food consumption of male rats

F-4

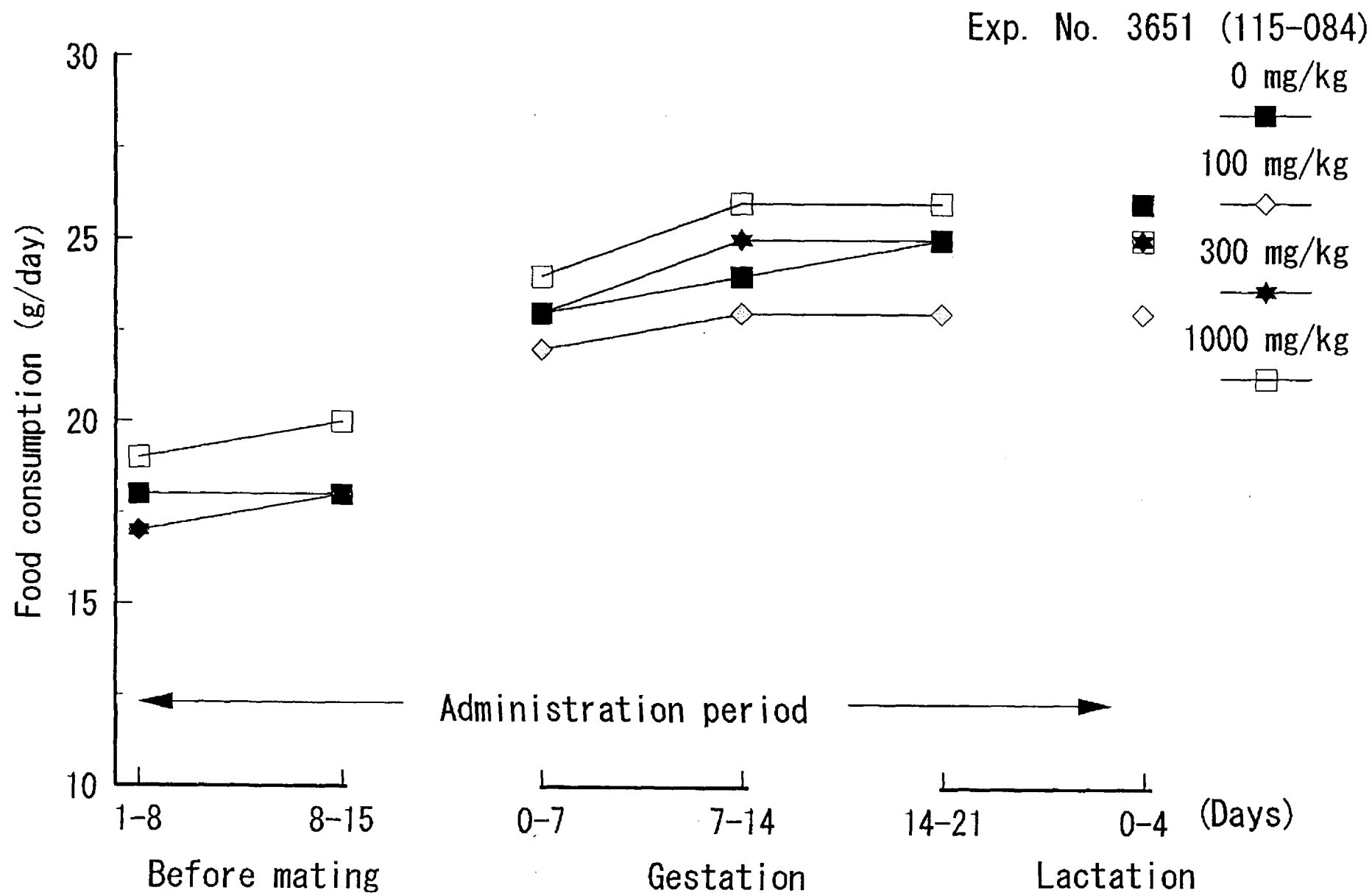


Figure 4 Food consumption of female rats

Table 1-1

Clinical observations in male rats

Exp. No. 3651 (115-084)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of experiment							Total (1-49)
		1-7	8-14	15-21	22-28	29-35	36-42	43-49	
number per group	0	12	12	12	12	12	12	12	
	100	12	12	12	12	12	12	12	
	300	12	12	12	12	12	12	12	
	1000	12	12	12	12	12	12	12	
normal	0	12	12	12	12	12	12	12	12
	100	11	11	12	12	12	12	12	11
	300	12	12	12	11	11	11	11	11
	1000	12	12	12	12	12	11	11	11
loss of hair	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100	0	0	0	0	0	0	0	0
	300	0	0	0	1	1	1	1 a)	1 b)
	1000	0	0	0	0	0	0	1	1
crust	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100	0	0	0	0	0	0	0	0
	300	0	0	0	0	0	0	0	0
	1000	0	0	0	0	0	1	0	1
discharge of eye	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100	1	1	0	0	0	0	0	1
	300	0	0	0	0	0	0	0	0
	1000	0	0	0	0	0	0	0	0

a) No. of animals with clinical sign in group

b) Total no. of animals with clinical sign in group

Table 1-2

Clinical observations in female rats
(Before and during mating period)

Exp. No. 3651 (115-084)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of experiment							Total (1-49)
		1- 7	8-14	15-21	22-28	29-35	36-42	43-49	
number per group	0	12	12	12	0	0	0	0	
	100	12	12	12	1	1	1	1	
	300	12	12	12	0	0	0	0	
	1000	12	12	12	0	0	0	0	
normal	0	12	12	12	0	0	0	0	12
	100	12	12	12	1	1	1	1	12
	300	12	12	12	0	0	0	0	12
	1000	12	12	12	0	0	0	0	12

Table 1-3

Clinical observations in female rats
(Gestation period)

Exp. No. 3651 (115-084)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of gestation												
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
number per group	0	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
	100	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	300	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	1000	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
normal	0	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
	100	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9	9	9	9
	300	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	1000	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
loss of hair	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
	300	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Table 1-3 -continued

Clinical observations in female rats
(Gestation period)

Exp. No. 3651 (115-084)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of gestation												Total (0- 24)
		13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	
number per group	0	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	7	1	
	100	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	4	0	
	300	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	4	0	
	1000	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	10	0	
normal	0	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	7	1	11
	100	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	4	0	9
	300	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	4	0	12
	1000	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	10	0	12
loss of hair	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1
	300	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Table 1-4

Clinical observation in female rats
(Lactation period)

Exp. No. 3651 (115-084)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of lactation					Total (0- 4)
		0	1	2	3	4	
number per group	0	11	11	11	10	9	
	100	10	10	10	10	10	
	300	12	12	12	12	12	
	1000	12	12	12	12	12	
all pups died	0	0	0	1	1	0	2
	100	0	0	0	0	0	0
	300	0	0	0	0	0	0
	1000	0	0	0	0	0	0
normal	0	11	11	10	9	9	9
	100	9	9	9	9	9	9
	300	12	12	12	12	12	12
	1000	12	12	12	12	12	12
loss of hair	0	0	0	0	0	0	0
	100	1	1	1	1	1	1
	300	0	0	0	0	0	0
	1000	0	0	0	0	0	0

Table 2-1

Body weight change of male rats

Exp. No. 3651 (115-084)

Unit : g

Dose level (mg/kg)		0			100			300			1000		
No. of animals		12			12			12			12		
		Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)		
Days of experiment	1	396 $\pm$ 11	(12)		396 $\pm$ 11	(12)		397 $\pm$ 11	(12)		395 $\pm$ 12	(12)	
	8	415 $\pm$ 15	(12)		423 $\pm$ 20	(12)		420 $\pm$ 16	(12)		425 $\pm$ 17	(12)	
	15	443 $\pm$ 15	(12)		454 $\pm$ 18	(12)		443 $\pm$ 20	(12)		447 $\pm$ 17	(12)	
	22	461 $\pm$ 18	(12)		471 $\pm$ 23	(12)		458 $\pm$ 26	(12)		466 $\pm$ 22	(12)	
	29	491 $\pm$ 21	(12)		501 $\pm$ 34	(12)		483 $\pm$ 29	(12)		495 $\pm$ 25	(12)	
	36	512 $\pm$ 26	(12)		523 $\pm$ 37	(12)		501 $\pm$ 33	(12)		513 $\pm$ 27	(12)	
	43	525 $\pm$ 31	(12)		538 $\pm$ 41	(12)		518 $\pm$ 33	(12)		530 $\pm$ 28	(12)	
	49	542 $\pm$ 33	(12)		554 $\pm$ 45	(12)		534 $\pm$ 36	(12)		546 $\pm$ 31	(12)	
Gain 1-43		129 $\pm$ 29	(12)		142 $\pm$ 32	(10)		121 $\pm$ 27	(12)		134 $\pm$ 24	(12)	

Significant difference from control group; *: $p < 0.05$ **: $p < 0.01$

Table 2-2

Body weight change of female rats

Exp. No. 3651 (115-084)

Unit : g

Dose level (mg/kg)		0		100		300		1000	
Before mating period		12		12		12		12	
No. of animals		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)	
Days of before mating	1	252 $\pm$ 7	(12)	252 $\pm$ 8	(12)	252 $\pm$ 8	(12)	252 $\pm$ 7	(12)
	8	265 $\pm$ 10	(12)	261 $\pm$ 17	(12)	258 $\pm$ 7	(12)	260 $\pm$ 13	(12)
	15	271 $\pm$ 11	(12)	266 $\pm$ 19	(12)	265 $\pm$ 10	(12)	268 $\pm$ 17	(12)
	Gain 1-15	20 $\pm$ 10	(12)	14 $\pm$ 14	(12)	13 $\pm$ 6	(12)	16 $\pm$ 12	(12)
Gestation period		11		10		12		12	
No. of dams		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)	
Days of gestation	0	280 $\pm$ 15	(11)	271 $\pm$ 14	(10)	274 $\pm$ 10	(12)	274 $\pm$ 20	(12)
	7	312 $\pm$ 16	(11)	299 $\pm$ 23	(10)	306 $\pm$ 14	(12)	306 $\pm$ 16	(12)
	14	349 $\pm$ 18	(11)	335 $\pm$ 31	(10)	340 $\pm$ 19	(12)	339 $\pm$ 17	(12)
	21	451 $\pm$ 26	(11)	431 $\pm$ 36	(10)	433 $\pm$ 29	(12)	429 $\pm$ 30	(12)
Gain 0-21		171 $\pm$ 18	(11)	160 $\pm$ 25	(10)	159 $\pm$ 23	(12)	155 $\pm$ 21	(12)
Lactation period		11		10		12		12	
No. of dams		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)	
Days of lactation	0	315 $\pm$ 34	(11)	302 $\pm$ 31	(10)	316 $\pm$ 28	(12)	312 $\pm$ 20	(12)
	4	338 $\pm$ 25	(9)	311 $\pm$ 28*	(10)	323 $\pm$ 20	(12)	313 $\pm$ 15*	(12)
	Gain 0- 4	15 $\pm$ 19	(9)	9 $\pm$ 19	(10)	7 $\pm$ 19	(12)	1 $\pm$ 19	(12)

Significant difference from control group; *: $p < 0.05$ **: $p < 0.01$

Table 3-1

Food consumption of male rats

Exp. No. 3651 (115-084)

Unit : g/day

Dose level (mg/kg)		0		100		300		1000	
No. of animals		12		12		12		12	
		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)	
Days of experiment	1- 8	27 $\pm$ 2	(12)	27 $\pm$ 3	(12)	27 $\pm$ 2	(12)	29 $\pm$ 2	(12)
	8-15	25 $\pm$ 2	(12)	26 $\pm$ 3	(12)	25 $\pm$ 2	(12)	29 $\pm$ 2**	(12)
	22-29	26 $\pm$ 2	(12)	26 $\pm$ 5	(11)	26 $\pm$ 3	(12)	28 $\pm$ 2	(12)
	29-36	25 $\pm$ 3	(12)	26 $\pm$ 4	(12)	25 $\pm$ 3	(12)	27 $\pm$ 2	(12)
	36-43	25 $\pm$ 3	(12)	25 $\pm$ 3	(12)	25 $\pm$ 3	(12)	27 $\pm$ 2	(12)
	43-48	26 $\pm$ 3	(12)	26 $\pm$ 3	(12)	25 $\pm$ 3	(12)	28 $\pm$ 3	(12)
Cumulative consumption (g)	1-15	363 $\pm$ 21	(12)	375 $\pm$ 35	(12)	369 $\pm$ 28	(12)	402 $\pm$ 26**	(12)
	22-48	662 $\pm$ 62	(12)	664 $\pm$ 96	(11)	656 $\pm$ 72	(12)	715 $\pm$ 49	(12)

Significant difference from control group; *: $p < 0.05$ **: $p < 0.01$

Table 3-2

Food consumption of female rats

Exp. No. 3651 (115-084)

Unit : g/day

Dose level (mg/kg)		0		100		300		1000	
Before mating period		12		12		12		12	
No. of animals		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)	
Days of before mating	1- 8	18 $\pm$ 1	(12)	17 $\pm$ 2	(12)	17 $\pm$ 2	(12)	19 $\pm$ 2	(12)
	8-15	18 $\pm$ 2	(12)	18 $\pm$ 2	(12)	18 $\pm$ 2	(12)	20 $\pm$ 2	(12)
Cumulative consumption (g)		1-15		254 $\pm$ 20		(12)		247 $\pm$ 34	
Gestation period		11		10		12		12	
No. of dams		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)	
Day of gestation	0- 7	23 $\pm$ 3	(11)	22 $\pm$ 4	(10)	23 $\pm$ 3	(12)	24 $\pm$ 3	(12)
	7-14	24 $\pm$ 3	(11)	23 $\pm$ 5	(10)	25 $\pm$ 3	(12)	26 $\pm$ 3	(12)
Cumulative consumption (g)	14-21	25 $\pm$ 3	(11)	23 $\pm$ 3	(10)	25 $\pm$ 3	(12)	26 $\pm$ 2	(12)
	0-21	501 $\pm$ 55	(11)	477 $\pm$ 78	(10)	504 $\pm$ 59	(12)	532 $\pm$ 49	(12)
Lactation period		9		10		12		12	
No. of dams		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)	
Days of lactation	0- 4	26 $\pm$ 10	(9)	23 $\pm$ 8	(10)	25 $\pm$ 9	(12)	25 $\pm$ 12	(12)

Significant difference from control group; *: $p < 0.05$ **: $p < 0.01$

Table 4

Absolute and relative organ weight of male rats

Exp. No. 3651 (115-084)

Dose level (mg/kg)	0	100	300	1000
No. of animal examined	12	12	12	12
	Mean $\pm$ S.D.	Mean $\pm$ S.D.	Mean $\pm$ S.D.	Mean $\pm$ S.D.
Body weight (g)	542 $\pm$ 33	554 $\pm$ 45	534 $\pm$ 36	546 $\pm$ 31
Testes (g)	3.62 $\pm$ 0.31 0.671 $\pm$ 0.074	3.65 $\pm$ 0.44 0.664 $\pm$ 0.094	3.28 $\pm$ 0.59 0.616 $\pm$ 0.119	3.70 $\pm$ 0.23 0.680 $\pm$ 0.066
Epididymides (mg)	1313 $\pm$ 98	1295 $\pm$ 138	1168 $\pm$ 121*	1316 $\pm$ 115
	243.378 $\pm$ 27.682	235.898 $\pm$ 34.456	219.293 $\pm$ 27.989	242.189 $\pm$ 27.983

(%) (Organ weight / body weight) x 100

Significant difference from control group; *: p < 0.05 **: p < 0.01

Table 5-1

Summary of gross findings (sacrificed , non-pregnancy and not copulation)

Exp. No. 3651 (115-084)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)		0	100	300	1000
No. of animals necropsied		12	12	12	12
Organ	Findings				
RESPIRATORY SYSTEM					
lung	black patch/zone	1	0	1	0
DIGESTIVE SYSTEM					
liver	red patch/zone	0	0	1	0
	white patch/zone	0	0	1	0
REPRODUCTIVE SYSTEM					
testis	atrophic	0	0	1	0
epididymis	atrophic	0	0	1	0
INTEGUMENTARY SYSTEM					
hair	thin	0	0	1	1

Significant difference from control group; * : P < 0.05 ** : P < 0.01

Table 5-2

Summary of gross findings (sacrificed)

Exp. No. 3651 (115-084)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0	100	300	1000
No. of animals necropsied	9	10	12	12
Organ Findings				
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
thymus atrophic	0	0	1	2
RESPIRATORY SYSTEM				
lung black patch/zone	0	0	0	1
DIGESTIVE SYSTEM				
stomach ulcer	0	0	0	1
REPRODUCTIVE SYSTEM				
ovary cyst	0	1	0	0
ENDOCRINE SYSTEM				
adrenal gland white patch/zone	0	0	0	1
INTEGUMENTARY SYSTEM				
hair thin	0	1	0	0

Significant difference from control group; * : P < 0.05 ** : P < 0.01

Table 5-3

Summary of gross findings (all pups died)

Exp. No. 3651 (115-084)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0	100	300	1000
No. of animals necropsied	2	0	0	0
Organ Findings				
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
thymus atrophic	1	-	-	-
REPRODUCTIVE SYSTEM				
uterus nodule	1	-	-	-

Table 6-1

Summary of histological findings (all pups died)

Exp. No. 3651 (115-084)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0	100	300	1000
No. of animals initially in study	2	0	0	0
No. of animals necropsied	2	0	0	0
No. of animals examined histologically	2	0	0	0
Organ_____ Findings_____	T 1 2 3	T 1 2 3	T 1 2 3	T 1 2 3
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
thymus	(1)			
atrophy	- 1 0 0	- - - -	- - - -	- - - -
REPRODUCTIVE SYSTEM				
uterus	(2)			
suppurative inflammation	- 1 0 0	- - - -	- - - -	- - - -

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked

=: benign #: malignant

(): No. of animals examined microscopically at this site.

-: Not applicable.

Table 6-2-1

Summary of histological findings (sacrificed)

Exp. No. 3651 (115-084)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)	0	100	300	1000
No. of animals initially in study	11	10	12	12
No. of animals necropsied	11	10	12	12
No. of animals examined histologically	11	0	3	12
Organ Findings				
RESPIRATORY SYSTEM				
lung				
inflammation	1 (1)	-	1 (1)	-
DIGESTIVE SYSTEM				
liver				
necrosis	-	-	1 (1)	-
REPRODUCTIVE SYSTEM				
testis				
atrophy, seminiferous tubule	0	-	1 (1)	0
interstitial cell hyperplasia	0	-	1 (1)	0
epididymis				
decrease, sperm	0	-	1 (1)	0
cellular infiltration	0	-	0 (1)	1
INTEGUMENTARY SYSTEM				
skin				
erosion	-	-	0 (1)	1 (1)
squamous hyperplasia	-	-	0 (1)	1 (1)

(): No. of animals examined microscopically at this site. -: Not applicable.
Significant difference from control group; * : P < 0.05 ** : P < 0.01

Table 6-2-2

Summary of histological findings (sacrificed)

Exp. No. 3651 (115-084)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)		0				100				300				1000			
No. of animals initially in study		11				10				12				12			
No. of animals necropsied		11				10				12				12			
No. of animals examined histologically		11				0				3				12			
Organ	Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
RESPIRATORY SYSTEM																	
lung		(1)				(0)				(1)				(0)			
	inflammation	-	1	0	0	-	-	-	-	-	0	1	0	-	-	-	-
DIGESTIVE SYSTEM																	
liver		(0)				(0)				(1)				(0)			
	necrosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	1	0	-	-	-	-
REPRODUCTIVE SYSTEM																	
testis		(11)				(0)				(1)				(12)			
	atrophy, seminiferous tubule	-	0	0	0	-	-	-	-	-	1	0	0	-	0	0	0
	interstitial cell hyperplasia	-	0	0	0	-	-	-	-	-	1	0	0	-	0	0	0
epididymis		(11)				(0)				(1)				(12)			
	decrease, sperm	-	0	0	0	-	-	-	-	-	1	0	0	-	0	0	0
	cellular infiltration	-	0	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0	-	1	0	0
INTEGUMENTARY SYSTEM																	
skin		(0)				(0)				(1)				(1)			
	erosion	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0	-	1	0	0
	squamous hyperplasia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0	-	1	0	0

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked
 =: benign #: malignant
 (): No. of animals examined microscopically at this site.

-: Not applicable.

Table 6-3-1

Summary of histological findings (sacrificed)

Exp. No. 3651 (115-084)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0	100	300	1000
No. of animals initially in study	9	10	12	12
No. of animals necropsied	9	10	12	12
No. of animals examined histologically	9	2	1	12
Organ_____ Findings_____				
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
thymus				
atrophy	-	-	1 (1)	2 (2)
RESPIRATORY SYSTEM				
lung				
inflammation	-	-	-	1 (1)
DIGESTIVE SYSTEM				
stomach				
ulcer, forestomach	-	-	-	1 (1)
REPRODUCTIVE SYSTEM				
ovary				
cyst, brusa	0	1 (1)	-	0
ENDOCRINE SYSTEM				
adrenal gland				
hypertrophy	-	-	-	1 (1)
INTEGUMENTARY SYSTEM				
skin				
inflammatory infiltration	-	1 (1)	-	-
squamous hyperplasia	-	1 (1)	-	-

(): No. of animals examined microscopically at this site. -: Not applicable.
 Significant difference from control group; * : P < 0.05 ** : P < 0.01

Table 6-3-2

Summary of histological findings (sacrificed)

Exp. No. 3651 (115-084)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0	100	300	1000
No. of animals initially in study	9	10	12	12
No. of animals necropsied	9	10	12	12
No. of animals examined histologically	9	2	1	12
Organ Findings	T 1 2 3	T 1 2 3	T 1 2 3	T 1 2 3
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
thymus	(0)	(0)	(1)	(2)
atrophy	- - - -	- - - -	- 1 0 0	- 2 0 0
RESPIRATORY SYSTEM				
lung	(0)	(0)	(0)	(1)
inflammation	- - - -	- - - -	- - - -	- 1 0 0
DIGESTIVE SYSTEM				
stomach	(0)	(0)	(0)	(1)
ulcer, forestomach	- - - -	- - - -	- - - -	- 1 0 0
REPRODUCTIVE SYSTEM				
ovary	(9)	(1)	(0)	(12)
cyst, brusa	- 0 0 0	- 1 0 0	- - - -	- 0 0 0
ENDOCRINE SYSTEM				
adrenal gland	(0)	(0)	(0)	(1)
hypertrophy	- - - -	- - - -	- - - -	- 1 0 0
INTEGUMENTARY SYSTEM				
skin	(0)	(1)	(0)	(0)
inflammatory infiltration	- - - -	- 1 0 0	- - - -	- - - -
squamous hyperplasia	- - - -	- 1 0 0	- - - -	- - - -

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked

=: benign #: malignant

(): No. of animals examined microscopically at this site.

-: Not applicable.

Table 7

Copulation and fertility results in rats

Exp. No. 3651 (115-084)

Dose level (mg/kg)	0	100	300	1000
No. of pairs mated	12	12	12	12
No. of pairs copulated	12	11	12	12
No. of pregnant females	11	10	12	12
Copulation index (%) 1)	100.0	91.7	100.0	100.0
Fertility index (%) 2)	91.7	90.9	100.0	100.0
Estrus cycle (days) (Mean $\pm$ S.D.)	4.5 $\pm$ 0.7 (12)	4.2 $\pm$ 0.5 (12)	4.2 $\pm$ 0.4 (12)	4.5 $\pm$ 0.5 (12)

1) (No. of animals with successful copulation / no. of animals mated) x 100

2) (No. of pregnant animals / no. of animals with successful copulation) x 100

Values in parentheses are expressed no. of animals observed

Significant difference from control group; *: P < 0.05 **: P < 0.01

Table 8

Findings of delivery in dams(F0)

Exp. No. 3651 (115-084)

Dose level (mg/kg)	0	100	300	1000
No. of dams observed	11	10	12	12
No. of dams delivered live pups	11	10	12	12
Duration of gestation (Mean $\pm$ S.D.)	22.7 $\pm$ 0.6	22.4 $\pm$ 0.5	22.3 $\pm$ 0.5	22.8 $\pm$ 0.4
No. of total corpora lutea (Mean $\pm$ S.D.)	216(19.6 $\pm$ 4.5)	170(17.0 $\pm$ 2.1)	218(18.2 $\pm$ 3.7)	222(18.5 $\pm$ 3.2)
No. of total implants (Mean $\pm$ S.D.)	188(17.1 $\pm$ 1.6)	161(16.1 $\pm$ 2.0)	186(15.5 $\pm$ 3.0)	175(14.6 $\pm$ 3.0)
No. of total pups born (Mean $\pm$ S.D.)	172(15.6 $\pm$ 1.6)	150(15.0 $\pm$ 1.8)	178(14.8 $\pm$ 2.6)	160(13.3 $\pm$ 3.3)
No. of total live pups born (Mean $\pm$ S.D.)	168(15.3 $\pm$ 2.3)	150(15.0 $\pm$ 1.8)	178(14.8 $\pm$ 2.6)	160(13.3 $\pm$ 3.3)
Male	81(7.4 $\pm$ 1.9) a)	69(6.9 $\pm$ 2.3) a)	91(7.6 $\pm$ 2.4) a)	79(6.6 $\pm$ 1.8)
Female	87(7.9 $\pm$ 1.9) a)	81(8.1 $\pm$ 1.7) a)	87(7.3 $\pm$ 1.9) a)	81(6.8 $\pm$ 2.7)
Sex ratio (Mean $\pm$ S.D.)	1.00 $\pm$ 0.41	0.93 $\pm$ 0.51	1.13 $\pm$ 0.43	1.21 $\pm$ 0.81
No. of total live pups on day 4 (Mean $\pm$ S.D.)				
Male	66(6.0 $\pm$ 3.2)	66(6.6 $\pm$ 2.2)	85(7.1 $\pm$ 2.5)	78(6.5 $\pm$ 1.7)
Female	66(6.0 $\pm$ 3.3)	77(7.7 $\pm$ 1.4)	80(6.7 $\pm$ 1.6)	79(6.6 $\pm$ 2.6)
No. of total dead pups born (Mean $\pm$ S.D.)	4(0.4 $\pm$ 1.2)	0(0.0 $\pm$ 0.0)	0(0.0 $\pm$ 0.0)	0(0.0 $\pm$ 0.0)
stillbirth	0(0.0 $\pm$ 0.0)	0(0.0 $\pm$ 0.0)	0(0.0 $\pm$ 0.0)	0(0.0 $\pm$ 0.0)
cannibalism	4(0.4 $\pm$ 1.2)	0(0.0 $\pm$ 0.0)	0(0.0 $\pm$ 0.0)	0(0.0 $\pm$ 0.0)
Gestation index (%) 1)	100.0	100.0	100.0	100.0
Implantation index (% Mean $\pm$ S.D.) 2)	89.5 $\pm$ 12.3	94.7 $\pm$ 2.0	86.6 $\pm$ 15.8	80.2 $\pm$ 18.2
Delivery index (% Mean $\pm$ S.D.) 3)	91.6 $\pm$ 5.6	93.5 $\pm$ 7.7	96.2 $\pm$ 4.8	90.9 $\pm$ 8.6
Live birth index (% Mean $\pm$ S.D.) 4)	97.4 $\pm$ 8.6	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0
Viability Index on day 4 (% Mean $\pm$ S.D.) 5)				
Male	77.8 $\pm$ 39.1	96.0 $\pm$ 8.4	93.1 $\pm$ 9.7	99.1 $\pm$ 3.2
Female	77.0 $\pm$ 39.1	95.7 $\pm$ 5.6	94.4 $\pm$ 15.8	98.0 $\pm$ 4.8

1) (No. of females with live pups / no. of pregnant females) x 100

2) (No. of implants / no. of corpora lutea) x 100

3) (No. of pups born / no. of implants) x 100

4) (No. of live pups born / no. of pups born) x 100

5) (No. of live pups on day 4 after birth / no. of live pups born) x 100

a) Includes live pups died before observations

Significant difference from control group; *: P < 0.05 **: P < 0.01

Table 9

Body weight change of pups(F1) from rats

Exp. No. 3651 (115-084)

		Unit : g							
Dose level (mg/kg)		0		100		300		1000	
No. of litters		11		10		12		12	
		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)	
Male									
Days after birth	0	6.4 $\pm$ 0.5 a)	(11)	6.6 $\pm$ 0.4 a)	(10)	6.3 $\pm$ 0.6 a)	(12)	6.8 $\pm$ 0.6	(12)
	4	9.2 $\pm$ 1.4	(9)	8.9 $\pm$ 1.0	(10)	8.5 $\pm$ 1.5	(12)	9.7 $\pm$ 2.3	(12)
Female									
Days after birth	0	6.1 $\pm$ 0.5 a)	(11)	6.2 $\pm$ 0.4 a)	(10)	6.1 $\pm$ 0.5 a)	(12)	6.5 $\pm$ 0.5	(12)
	4	8.3 $\pm$ 1.8	(9)	8.3 $\pm$ 1.0	(10)	8.5 $\pm$ 1.5	(12)	9.2 $\pm$ 2.1	(12)

a) Excludes live pups died before observations

Significant difference from control group; *: $p < 0.05$ **: $p < 0.01$

Table 10-1

Summary of gross findings of pups(F1) from rats(sacrificed)

Exp. No. 3651 (115-084)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)	0	100	300	1000
No. of pups necropsied	66	66	85	78
Organ Findings				
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
thymus				
thymic remnant in the neck	1	0	0	0
URINARY SYSTEM				
Kidney				
dilated pelvis	0	0	1	0

Significant difference from control group; *: $p < 0.05$ **: $p < 0.01$

Table 10-2

Summary of gross findings of pups(F1) from rats(sacrificed)

Exp. No. 3651 (115-084)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0	100	300	1000
No. of pups necropsied	66	77	80	79
Organ Findings				
URINARY SYSTEM				
Kidney dilated pelvis	1	0	3	0

Significant difference from control group; *: $p < 0.05$ **: $p < 0.01$