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

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

ＮＢＲ－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 …… 3

3．使用動物および飼育条件 …… 4

4．投与経路，投与方法，群構成および投与量 …… 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 …… 14

1．親動物(P)の生殖発生に及ぼす影響 …… 14

2．新生児(F_1)に及ぼす影響 …… 14

考　察 …… 15

文　献 …… 17

Table, Fig. の目次

頁

Table 1-1 ～ 1-2 General sign of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxypropyl methacrylate by oral administration ····· 21～22

Table 2 Body weight of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxypropyl methacrylate by oral administration ····· 23

Table 3 Food consumption of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxypropyl methacrylate by oral administration ····· 24

Table 4 Hematological examination of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxypropyl methacrylate by oral administration ····· 25

Table 5 Blood chemical examination of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxypropyl methacrylate by oral administration ····· 26

Table 6-1 Necropsy finding of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxypropyl methacrylate by oral administration ····· 27

Table 6-2 Necropsy finding of dead male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxypropyl methacrylate by oral administration ····· 28

Table 7 Organ weight of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxypropyl methacrylate by oral administration ····· 29

Table 8 Histopathological finding of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxypropyl methacrylate by oral administration ····· 30

Table 9 General sign of female rats (P) during pre-mating period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxypropyl methacrylate by oral administration ····· 31

頁

Table 10 General sign of dams (P) during pregnancy period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxypropyl methacrylate by oral administration ····· 32

Table 11 General sign of dams (P) during lactation period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxypropyl methacrylate by oral administration ····· 33

Table 12 Body weight of female rats (P) during pre-mating period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxypropyl methacrylate by oral administration ····· 34

Table 13 Body weight of dams (P) during pregnancy period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxypropyl methacrylate by oral administration ····· 35

Table 14 Body weight of dams (P) during lactation period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxypropyl methacrylate by oral administration ····· 36

Table 15 Food consumption of female rats (P) during pre-mating period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxypropyl methacrylate by oral administration ····· 37

Table 16 Food consumption of dams (P) during pregnancy period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxypropyl methacrylate by oral administration ····· 38

Table 17 Food consumption of dams (P) during lactation period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxypropyl methacrylate by oral administration ····· 39

Table 18-1 Necropsy finding of female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxypropyl methacrylate by oral administration ····· 40

頁

Table 18-2 Necropsy finding of dead female rat (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxypropyl methacrylate by oral administration ····· 41

Table 19 Organ weight of dams (P) on day 4 of lactation in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxypropyl methacrylate by oral administration ····· 42

Table 20 Histopathological finding of dams (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxypropyl methacrylate by oral administration ····· 43

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-hydroxypropyl methacrylate by oral administration ····· 44

Table 22 Observation of pups (F_1) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxypropyl methacrylate by oral administration ····· 45

Table 23 Body weight of pups (F_1) on days 0 and 4 of lactation in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxypropyl methacrylate by oral administration ····· 46

Table 24 Necropsy finding of pups (F_1) on day 4 of lactation in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxypropyl methacrylate by oral administration ····· 47

Fig. 1 Body weight of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxypropyl methacrylate by oral administration ····· 48

Fig. 2 Food consumption of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxypropyl methacrylate by oral administration ····· 49

Fig. 3 Body weight of female rats (P) during pre-mating period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxypropyl methacrylate by oral administration ····· 50

頁

Fig. 4 Body weight of dams (P) during pregnancy and lactation periods in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxypropyl methacrylate by oral administration 51

Fig. 5 Food consumption of female rats (P) during pre-mating period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxypropyl methacrylate by oral administration 52

Fig. 6 Food consumption of dams (P) during pregnancy and lactation periods in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxypropyl methacrylate by oral administration 53

Fig. 7 Body weight of pups (F_1) on days 0 and 4 of lactation in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxypropyl methacrylate by oral administration 54

要　　約

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発生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投与群では，流涎，自発運動の低下，眼瞼下垂がみられ，2/12 例が死亡した．

体重：各投与群とも，対照群との間に差はみられなかった．

摂餌量：各投与群とも，対照群との間に差はみられなかった．

血液学的検査：1000 mg/kg投与群でヘマトクリット値の低値，赤血球数およびヘモグロビン量の低値傾向がみられた．

血液化学的検査：各投与群とも，各検査項目にメタクリル酸（2-ヒドロキシプロピル）エステルの投与による変動はみられなかった．

剖検：各投与群とも，メタクリル酸（2-ヒドロキシプロピル）エステルの投与による異常はみられなかった．死亡例では，肺・肝臓・腎臓の暗赤色化および空腸・回腸の赤色化がみられた．

器官重量：1000 mg/kg投与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投与群では，心臓，胸腺，肝臓，脾臓，腎臓，精巣，精巣上体，副腎および脳にメタクリル酸（2-ヒドロキシプロピル）エステルの投与に起因すると思われる変化はみられなかった．また，死亡例においても，剖検時に異常が観察された器官・組織にメタクリル酸（2-ヒドロキシプロピル）エステルの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投与群では，流涎，自発運動の低下，眼瞼下垂がみられ，1/12 例が死亡した．

体重：各投与群とも，対照群との間に差はみられなかった．

摂餌量：各投与群とも，メタクリル酸（2-ヒドロキシプロピル）エステルの投与による変動はみられなかった．

剖検所見：いずれの群においても，異常はみられなかった．死亡例では，肺の暗赤色化および空腸・回腸の赤色化がみられた．

器官重量：各投与群とも，対照群との間に差はみられなかった．

病理組織学的検査：1000 mg/kg投与群では，心臓，胸腺，肝臓，脾臓，腎臓，卵巣，副腎および脳にメタクリル酸（2-ヒドロキシプロピル）エステルの投与に起因すると思われる変化はみられなかった．また，死亡例においても，剖検時に異常が観察された器官・組織にメタクリル酸（2-ヒドロキシプロピル）エステルの投与に起因すると思われる変化はみられなかった．

II．生殖発生毒性

1．親動物(P)の生殖発生に及ぼす影響

発情回数，交尾率，交尾日数：各投与群とも，対照群との間に差はみられなかった．

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

受胎率：各投与群とも，対照群との間に差はみられなかった．

黄体数，着床痕数，着床率：各投与群とも，対照群との間に差はみられなかった．

出産率：各投与群とも，対照群との間に差はみられなかった．

2．新生児(F_1)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：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．

性比：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 日の新生児数：各投与群とも，対照群との間に差はみられなかった．

哺育 4 日の生存率：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：各投与群の雌雄とも，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．

以上のことから，当試験条件下におけるメタクリル酸（2-ヒドロキシプロピル）エステルの一般毒性学的無影響量は，雌雄とも 300 mg/kgと考えられる．また，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．

緒　　言

メタクリル酸（2-ヒドロキシプロピル）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．今回，著者らは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 Test[1]に従ってメタクリル酸（2-ヒドロキシプロピル）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発生に及ぼす影響について検討した．

なお，当物質のラットにおける経口投与によるLD_{50}値は 2000 mg/kg以上であった[2]．しかし，亜急性および慢性毒性に関する情報には接していない．

方　　法

1．試験物質および媒体

被験物質のメタクリル酸（2-ヒドロキシプロピル）エステル（CAS No.923-26-2）は，分子量： 144.17，融点：-57 ℃，沸点： 96 ℃の無色透明の液体であり，水に溶けやすく，アセトンおよびDMSOにきわめて溶けやすい．当試験には，

から提供されたものを用いた（

Lot No.　　純度： 98 %，ただし，不純物としてジプロピレングリコールモノメタクリレートを 2 %以下含有）．入手後は少量ずつ分割し，試験施設の被験物質保管室の室温・遮光条件下の保管庫に気密容器に入れて保管した．なお，当試験の投与期間終了後に残余被験物質の一部を製造元に送付して分析した結果，純度は 99.0 %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，大塚注射用水，Lot No.4L74N，入手日：平成 7 年 2 月 23 日，使用期限：平成 11 年 11 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，0.8 お

よび 20 %濃度の調製液は，室温・遮光条件下で 7 日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），2，6 および 20 %濃度の調製液は調製後，1 日毎に分割して室温・遮光条件下で保管し，調製後 7 日以内に使用した．0.6 %濃度の調製液は，定量限界以下の濃度であり，安定性の確認ができなかったため，用時に 6 %濃度の調製液を注射用水で希釈して調製し，速やかに投与に用いた．投与終了後の残余投与検体は廃棄した．また，被験物質は純度換算しないで，投与量は原体重量で表示した．

投与開始日および投与期間終了日に使用した 2，6 および 20 %濃度の投与検体中の被験物質濃度を試験施設内で滴定法により測定した．その結果，被験物質濃度は表示濃度の 95.5～99.0 %で，設定した適正濃度範囲内（表示濃度の± 10 %以内）を示し，濃度に問題はなかった（Attached table 2 および 3）．

3．使用動物および飼育条件

1）動物種および系統

試験には，一般毒性試験および生殖・発生毒性試験に汎用され，自然発生奇形等の成績に関する知見が多く得られているSprague-Dawley系雌雄ラット［（SPF），Crj：CD（SD）］を用いた．動物は，平成 7 年 3 月 15 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 2 日の体重範囲は，雄が 236～294 g，雌が 185～209 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 6 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の前日に行った．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 3 号室）で飼育した．

検疫・馴化期間中はステンレス製懸垂式ケージ（W：240 x D：380 x H：200 mm）を用いて 1 ケージあたり 5 匹までの群飼育とし，群分け後はステンレス製五連ケージ（W：755 x D：210 x H：170 mm）を用いて個別飼育した．ただし，交配はステンレス製懸垂式ケージ内で行った．また，母動物は，妊娠 18 日にオートクレーブ処理した床敷（サンフレーク，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，ステンレス製懸垂式ケージ・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，群構成および投与量

1）投与経路および投与方法

メタクリル酸（2-ヒドロキシプロピル）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たため，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ポーザブル注射筒を用いて，強制経口投与した．投与液量は，雄では投与日あるいは投与日に最も近い測定日の体重を基準とし，5 ml/kgで算出した．雌では，交配前および交配期間中は投与日あるいは投与日に最も近い測定日の体重を，妊娠期間中は妊娠 0，7，14 および 21 日の体重を，授乳期間中は哺育 0 日の体重を基準とし，5 ml/kgで算出した．投与時刻は午前 9 時 12 分～11 時 56 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 315～359 g，雌が 210～243 gであった．

2）群構成および投与量

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

群	試験群	投与量（濃度）	雄（動物番号）	雌（動物番号）
第1群	対照（注射用水）	0 mg/kg (0 %)	12(001～012)	12(051～062)
第2群	ﾒﾀｸﾘﾙ酸(2-ﾋﾄﾞﾛｷｼﾌﾟﾛﾋﾟﾙ)ｴｽﾃﾙ	30 mg/kg (0.6%)	12(101～112)	12(151～162)
第3群	ﾒﾀｸﾘﾙ酸(2-ﾋﾄﾞﾛｷｼﾌﾟﾛﾋﾟﾙ)ｴｽﾃﾙ	100 mg/kg (2 %)	12(201～212)	12(251～262)
第4群	ﾒﾀｸﾘﾙ酸(2-ﾋﾄﾞﾛｷｼﾌﾟﾛﾋﾟﾙ)ｴｽﾃﾙ	300 mg/kg (6 %)	12(301～312)	12(351～362)
第5群	ﾒﾀｸﾘﾙ酸(2-ﾋﾄﾞﾛｷｼﾌﾟﾛﾋﾟﾙ)ｴｽﾃﾙ	1000 mg/kg (20 %)	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投与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，対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 Test[1)]に従って，雄では交配前 14 日間とその後 35 日間の合計 49 日間とし，雌では交配前 14 日間，交配期間中（最長 14 日間），妊娠期間および哺育 4 日の剖検前日までの合計 41～48 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毎週 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 時頃からは絶食とした．

(4) 血液学的検査

投与期間（49 日間）終了の翌日に，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コーティングしたシスメックス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．なお，300 mg/kg投与群の 1 例(No.304)は，採血ミスにより，凝固系の検査はできなかった．

(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 ℃，3000 rpm，15 分間）して得た血清について，以下の血液化学的検査を実施した．なお，測定用血清は測定時までは冷凍庫（-80 ℃）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 ℃）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（ただし，精巣および精巣上体はブアン液）に固定し，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）投与群の心臓，肝臓，脾臓，胸腺，腎臓，精巣，精巣上体，副腎および脳についてH-E染色組織標本を作製し，病理組織学的に検査した．

2）雌(P)

（1）一般状態および死亡の有無

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，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毎週 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 日間までは毎週 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の切断により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，胸腺および卵巣は摘出後に重量を測定し，副腎，脳，心臓および脾臓とともに 10 %中性緩衝ホルマリン液に固定し，保存した．

（6）分娩状態の観察

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

(7) 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の切断により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．

(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）投与群の心臓，肝臓，脾臓，胸腺，腎臓，卵巣，副腎および脳についてH-E染色組織標本を作製し，病理組織学的に検査した．

3) 親動物(P)の生殖発生に及ぼす影響

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

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

4) 新生児(F_1)

(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．

(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

新生児は，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-ヒドロキシプロピル）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を一単位として検定した．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（例数が等しい場合）またはScheffé法（例数が等しくない場合）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法（例数が等しい場合）またはScheffé法（例数が等しくない場合）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）x 100］，児の産出率＝［（哺育 0 日の新生児数／着床痕数）x 100］，黄体数，着床率＝［（着床痕数／黄体数）x 100］，出生率＝［（哺育 0 日の新生児数／総出産児数）x 100］，哺育 4 日の新生児数，哺育 4 日の生存率＝［（哺育 4 日の新生児数／哺育 0 日の新生児数）x 100］，外表異常出現率＝［（外表異常児数／新生児数）x 100］，性比＝（雄／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）x 100］，受胎率＝［（受胎雌数／交尾成立動物数）x 100］，出産率＝［（新生児出産雌数／受胎雌数）x 100］．

結　　果

Ⅰ．反復投与毒性

1．雄(P)に及ぼす影響

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

死亡は，対照群，30，100 および 300 mg/kg投与群では認められなかった．1000 mg/kg投与群では，投与 11 および 20 日に各1例の合計 2 例が死亡した．

一般状態観察において，対照群，30，100 および 300 mg/kg投与群では，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投与群では，流涎が投与 3 日から，自発運動の低下が投与 11 日から，眼瞼下垂が投与 16 日からみられた．なお，一般状態の変化の出現時間は，流涎が投与直後～約 30 分間，自発運動の低下が投与後約 5 分～約 1 時間，眼瞼下垂が投与後約 10 分～約1時間であった．また，最大出現例数は，流涎が 12 例全例，自発運動の低下が 6 例，眼瞼下垂が 2 例であった．

2）体重（Table 2，Fig.1，Appendix 2-1～2-5）

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

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

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

4）血液学的検査（Table 4, Appendix 4-1～4-5）

300 mg/kg以下の投与群では，対照群と比べていずれの測定項目にも有意差はみられなかった．1000 mg/kg投与群では，対照群と比べてヘマトクリット値の有意な低値，赤血球数およびヘモグロビン量の低値傾向がみられた．

5）血液化学的検査（Table 5, Appendix 5-1～5-5）

各投与群とも，対照群と比べていずれの測定項目にも有意差はみられなかった．

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

生存例の剖検において，対照群および 1000 mg/kg投与群では，いずれにも異常はみられなかった．30 mg/kg投与群では片側性腎盂拡張が 1 例と両側性精巣上体の尾部に黄白色結節が 1 例，100 mg/kg投与群では片側性精巣上体の尾部に黄白色結節が 1 例，300 mg/kg投与群では片側性腎盂拡張と片側性精巣上体の尾部に黄白色結節が 1 例，両側性精巣・精巣上体の小型が 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・肝臓・腎臓の暗赤色化および空腸・回腸の赤色化が 1 例(No.401)と肺の暗赤色化が 1 例(No.404)にみられた．

7）器官重量（Table 7, Appendix 7-1～7-5）

300 mg/kg以下の投与群では，対照群と比べていずれの器官重量とも有意差はみられなかった．1000 mg/kg投与群では，対照群と比べて肝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 8-1～8-3）

（1）生存例

肝臓：門脈周囲の肝細胞の空胞変性が対照群で 7 例（ごく軽度），1000 mg/kg投与群で 8 例（ごく軽度）にみられた．

精巣：精細管の萎縮が対照群で 1 例（ごく軽度）にみられた．

精巣上体：精子肉芽腫が1000 mg/kg投与群で 1 例（軽度）にみられた．

その他には，対照群および 1000 mg/kg投与群とも心臓，胸腺，脾臓，腎臓，副腎および脳に異常はみられなかった．

（2）死亡例

1000 mg/kg投与群の 1 例(No.401)で肝臓・肺・腎臓のうっ血（ごく軽度），肺・腎臓・空腸・回腸の自己融解（軽度～重度）がみられた．他の 1 例(No.404)で肺のうっ血（ごく軽度），肺の浮腫（軽度），肺の自己融解（軽度）がみられた．

2．雌(P)に及ぼす影響

1）一般状態（Table 9～11，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投与群では認められなかった．1000 mg/kg投与群では，投与 15 日に1例が死亡した．

一般状態観察において，対照群，30，100 および 300 mg/kg投与群では，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投与群では，流涎が投与 4 日から，自発運動の低下が投与 11 日から，眼瞼下垂が投与 11 日からみられた．なお，一般状態の変化の出現時間は，流涎が投与直後～約 30 分間，自発運動の低下が投与後約 5 分～約 1 時間，眼瞼下垂が投与後約 10 分～約1時間であった．また，最大出現例数は，流涎が 12 例全例，自発運動の低下が 4 例，眼瞼下垂が 4 例であった．

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

交配開始前および交配期間中，妊娠期間中ならびに哺育期間中を通じて，各投与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．

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

30 および 300 mg/kg投与群では，対照群と比べていずれの測定日の摂餌量にも有意差はみられなかった．100 および 1000 mg/kg投与群では，対照群と比べて投与 6 および 10 日に摂餌量の有意な低値がみられたが，妊娠期間および哺育期間には有意差は認められなかった．

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，各投与群ともいずれにも異常はみられなかった．

1000 mg/kg投与群の死亡例の剖検において，肺の暗赤色化および空腸・回腸の赤色化が 1 例(No.456)にみられた．

5）器官重量（Table 19，Appensix 19-1～19-5）

各投与群とも，対照群と比べていずれの器官重量にも有意差はみられなかった．

6）病理組織学的検査（Table 20，Appendix 20-1～20-3）

（1）生存例

胸腺：萎縮が 1000 mg/kg投与群で 1 例（中等度）にみられた．

腎臓：尿細管内にカルシウム沈着が対照群で 1 例（ごく軽度）にみられた．

その他には，対照群および 1000 mg/kg投与群とも心臓，肝臓，脾臓，卵巣，副腎および脳に異常はみられなかった．

（2）死亡例

1000 mg/kg投与群の 1 例(No.456)で肺の浮腫（軽度），空腸・回腸の自己融解（軽度）

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

1）発情回数（Table 21，Appendix 21-1～21-5）

馴化期間中の 7 日間および交配前の投与期間（14 日間）の発情回数は，30，300 および 1000 mg/kg投与群と対照群とはほぼ同程度であり，有意差はみられなかった．なお，100 mg/kg投与群で対照群と比べて交配前の投与期間（14 日間）の発情回数の有意な高値がみられたが，投与量に依存した変化ではなかった．

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

100 mg/kg投与群の 3 組を除いた全例で交尾が確認された．交尾日数は，各投与群とも対照群との間に有意差はみられなかった．また，交尾率にも，各投与群とも対照群との間に有意差はみられなかった．

不受胎雌は，100 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も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）

各投与群の妊娠期間は，対照群とほぼ同程度であり，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）

30，100 および 300 mg/kg投与群で対照群と比べて黄体数の有意な低値および着床率の有意な高値がみられたが，1000 mg/kg投与群では有意差は認められず，投与量に依存した変化ではなかった．なお，着床痕数は，各投与群とも対照群との間に有意差はみられなかった．

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(F_1)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とほぼ同程度であり，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ほぼ同程度であり，有意差はみられなかった．

3）新生児の一般状態，哺育 4 日の新生児数，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 日の新生児数および哺育 4 日の生存率は，各投与群と対照群と同程度であり，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，Appendix 23-1～23-5）

各投与群の体重は，哺育 0 日および 4 日とも雌雄ともに対照群とほぼ同程度であり，有意差はみられなかった．

5）新生児の剖検所見（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-ヒドロキシプロピル）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)に対しては，1000 mg/kg投与群で 2 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，消化管の変化あるいは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投与群では投与期間の初期から少数例～全例で投与直後から流涎がみられたが，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．また，投与期間の中期に自発運動の低下が少数例～半数例，眼瞼下垂が少数例にみられた．300 mg/kg以下の投与群では，死亡発現はなく，一般状態の異常もみられなかった．体重および摂餌量には，1000 mg/kgの投与でも影響はみられなかった．1000 mg/kg投与群で観察された流涎は，メタクリル酸（2-ヒドロキシプロピル）エステルの刺激性に基づく変化と考えられる．また，自発運動の低下および眼瞼下垂は，メタクリル酸（2-ヒドロキシプロピル）エステルの大量投与による毒性学的変化と考えられるが，体重推移および摂餌量に影響を及ぼすほどのものではなかった．1000 mg/kg投与群

で肝臓の相対重量の有意な高値がみられた．しかし，肝臓の絶対重量には差が認められないこと，血液化学的検査でも関連項目に異常がみられないこと，さらに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，肝臓の相対重量の変動がメタクリル酸（2-ヒドロキシプロピル）エステルの投与によるものとしても毒性学的に重篤なものではないと考えられる．血液学的検査において，1000 mg/kg投与群でヘマトクリット値の低値，赤血球数およびヘモグロビン量の低値傾向がみられたが，他の項目に異常が認められないことから，メタクリル酸（2-ヒドロキシプロピル）エステルの投与によるものとしても重篤な影響とは考えられない．剖検において，30 mg/kg投与群で片側性腎盂拡張と両側性精巣上体の尾部に黄白色結節，100 mg/kg投与群で片側性精巣上体の尾部に黄白色結節，300 mg/kg投与群で片側性腎盂拡張と片側性精巣上体の尾部に黄白色結節，両側性精巣・精巣上体の小型がみられたが，いずれも少数例であり，かつ，最高用量群では認められないことから，メタクリル酸（2-ヒドロキシプロピル）エステルの投与によるものではないと考えられる．病理組織学的検査において，1000 mg/kg投与群でもメタクリル酸（2-ヒドロキシプロピル）エステルの投与に起因すると思われる変化はみられなかった．

雌動物(P)に対しては，1000 mg/kg投与群で 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も，雄と同様に消化管の変化あるいは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も，雄の場合と同様に 1000 mg/kg投与群で流涎，自発運動の低下および眼瞼下垂がみられた．摂餌量は，100 および 1000 mg/kg投与群で対照群と比べて投与 6 および 10 日に有意な低値がみられたが，軽度な差であること，100 および 1000 mg/kg投与群の数値はほぼ同じであること，300 mg/kg投与群では対照群との間に差はみられないことから，メタクリル酸（2-ヒドロキシプロピル）エステルの投与によるものではないと判断した．また，体重，剖検および病理組織学的検査ではメタクリル酸（2-ヒドロキシプロピル）エステルの投与に起因すると思われる変化はみられなかった．

したがって，当試験条件下におけるメタクリル酸（2-ヒドロキシプロピル）エステルの一般毒性学的無影響量は，雌雄とも 300 mg/kgと考えられる．

親動物(P)の生殖発生に対しては，発情回数，交尾率，交尾日数，受胎率および受胎雌数には，各投与群とも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(F_1)に対しては，各投与群で総出産児数，分娩率，死産児数，哺育 0 日の新生児数，出生率，児の産出率，性比には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 日の新生児数，生存率，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-ヒドロキシプロピル）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．

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)　「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単回経口投与毒性試験（試験番号：402014）の最終報告書」（平成 8 年 4 月 16 日）（株式会社日本バイオリサーチセンター　羽島研究所）

3)　「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の予備試験（試験番号：091914P）の最終報告書」（平成 8 年 4 月 16 日）（株式会社日本バイオリサーチセンター　羽島研究所）

Table 1-1 General sign of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxypropyl 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-hydroxypropyl 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	11	11	11	11	11	11	11	11	11	10	10	10	10	10
		Normal	12	12	10	9	7	4	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Decrease in locomotor activity	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2	2	4	4	2	4	3	6	5	5	4	6
		Salivation	0	0	2	3	5	8	11	11	12	12	11	11	11	11	11	11	11	11	11	10	10	10	10	10	10
		Ptosis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	1	2	1	2	1	2	1	1
		Death	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	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-hydroxypropyl 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-hydroxypropyl 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	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
		Normal	0	0	0	0	0	0	0	2	3	3	4	4	5	5	6	6	6	6	6	7	6	7	7	6	10
		Decrease in locomotor activity	4	5	3	2	3	3	1	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Salivation	10	10	10	10	10	10	10	8	7	7	6	6	5	5	4	4	4	4	4	3	4	3	3	4	0
		Ptosis	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

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

Group		Control	2-hydroxypropyl methacrylate			
(mg/kg)		0	30	100	300	1000
Number of males		12	12	12	12	12
Days of administration	1	338.2 ± 10.7	335.9 ± 10.5	338.0 ± 11.8	337.2 ± 12.0	338.1 ± 12.1
	4	354.0 ± 12.5	354.7 ± 14.3	354.5 ± 14.6	353.8 ± 14.5	349.4 ± 16.1
	8	371.3 ± 15.4	373.1 ± 17.3	372.3 ± 17.8	371.1 ± 16.6	366.4 ± 17.8
	11	382.0 ± 17.4	385.7 ± 19.5	386.3 ± 19.4	384.4 ± 18.7	380.0 ± 20.5 (11)
	15	400.4 ± 21.2	404.5 ± 22.0	406.0 ± 23.1	401.2 ± 21.4	393.5 ± 20.7 (11)
	18	407.6 ± 22.3	410.8 ± 21.7	411.9 ± 22.2	407.8 ± 22.8	403.8 ± 22.3 (11)
	22	424.4 ± 23.1	427.0 ± 22.8	431.3 ± 23.9	426.5 ± 24.1	406.7 ± 40.5 (10)
	25	436.0 ± 24.6	439.3 ± 25.1	442.6 ± 25.4	438.3 ± 23.9	420.8 ± 33.3 (10)
	29	442.9 ± 26.8	451.7 ± 27.8	452.2 ± 26.9	450.9 ± 26.2	433.2 ± 32.8 (10)
	32	454.1 ± 28.3	461.6 ± 29.1	459.3 ± 26.9	459.3 ± 27.8	440.4 ± 31.8 (10)
	36	465.6 ± 31.5	475.8 ± 30.3	473.0 ± 28.2	470.8 ± 29.3	452.6 ± 31.4 (10)
	39	472.5 ± 32.5	482.3 ± 31.5	479.0 ± 29.3	477.6 ± 29.8	459.5 ± 31.8 (10)
	43	479.8 ± 32.7	491.2 ± 33.4	488.0 ± 31.4	487.0 ± 30.4	467.3 ± 32.8 (10)
	46	489.6 ± 34.6	500.7 ± 34.7	495.8 ± 33.9	496.9 ± 31.6	478.7 ± 32.7 (10)
	50	472.1 ± 32.9	480.8 ± 33.6	476.1 ± 31.1	474.4 ± 30.5	456.9 ± 34.2 (10)

Each value shows mean (g) ± S.D.
Figures in parentheses indicate number of males.

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

Group	Control	2-hydroxypropyl methacrylate				
(mg/kg)	0	30	100	300	1000	
Number of males	12	12	12	12	12	
Days of administration 3	26.3 ± 1.6	26.8 ± 1.5	25.7 ± 3.1	26.7 ± 2.3	25.3 ± 2.4	
6	27.0 ± 2.7	27.3 ± 2.5	27.2 ± 2.8	27.8 ± 2.5	26.2 ± 2.9	
10	26.3 ± 2.7	27.1 ± 2.3	27.3 ± 2.7	27.0 ± 2.4	26.0 ± 2.9	
13	25.5 ± 2.5	25.8 ± 2.1	27.1 ± 2.9	26.7 ± 2.1	25.2 ± 2.4	(11)
31	26.0 ± 2.5	27.8 ± 2.7	26.1 ± 2.2	27.0 ± 2.1	24.8 ± 2.4	(10)
34	26.0 ± 2.0	27.3 ± 2.4	26.4 ± 2.3	26.9 ± 2.4	25.9 ± 2.0	(10)
38	25.3 ± 2.1	26.7 ± 2.8	26.3 ± 2.4	25.9 ± 2.5	24.5 ± 2.1	(10)
41	25.0 ± 2.0	26.7 ± 2.8	26.5 ± 2.2	25.8 ± 2.3	25.5 ± 2.4	(10)
45	24.6 ± 2.4	26.1 ± 2.5	25.4 ± 2.2	25.9 ± 2.8	25.4 ± 2.3	(10)
48	25.4 ± 2.3	26.9 ± 2.6	25.7 ± 2.2	25.6 ± 2.7	25.6 ± 2.3	(10)

Each value shows mean (g/day) ± S.D.
Figures in parentheses indicate number of males.

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

Group	Control	2-hydroxypropyl methacrylate			
(mg/kg)	0	30	100	300	1000
Number of males	12	12	12	12	10
RBC (10^4/mm³)	871.3 ± 41.5	884.9 ± 18.5	849.9 ± 38.4	841.8 ± 40.5	834.6 ± 36.6
Hemoglobin (g/dl)	15.63 ± 0.63	15.64 ± 0.56	15.27 ± 0.63	15.07 ± 0.51	14.85 ± 0.57
Hematocrit (%)	46.13 ± 1.61	46.11 ± 1.18	44.93 ± 1.37	44.63 ± 1.37	43.72 ± 1.66**
MCV (μm³)	52.98 ± 1.31	52.11 ± 1.30	52.91 ± 1.28	53.08 ± 2.22	52.43 ± 2.11
MCH (pg)	17.94 ± 0.33	17.68 ± 0.55	17.97 ± 0.54	17.93 ± 0.75	17.80 ± 0.70
MCHC (g/dl)	33.88 ± 0.38	33.91 ± 0.62	33.98 ± 0.65	33.77 ± 0.62	33.98 ± 0.44
Platelet (10^4/mm³)	105.18 ± 18.55	113.82 ± 11.54	101.77 ± 8.45	107.96 ± 15.79	106.74 ± 11.02
RET (‰)	28.4 ± 13.8	23.7 ± 5.3	25.8 ± 5.7	24.0 ± 4.2	24.0 ± 6.4
PT (sec.)	14.63 ± 1.56	15.26 ± 1.61	15.20 ± 2.20	15.44 ± 1.64(11)	15.36 ± 1.53
APTT (sec.)	28.33 ± 3.72	28.32 ± 2.32	27.85 ± 2.83	29.36 ± 2.54(11)	29.33 ± 1.67
Fibrinogen (mg/dl)	237.4 ± 17.5	250.4 ± 15.1	238.8 ± 23.7	235.0 ± 16.3(11)	229.0 ± 14.6
WBC (10^2/mm³)	50.9 ± 17.8	60.0 ± 13.2	51.8 ± 8.9	60.8 ± 19.6	55.3 ± 19.1
Differential leukocyte (%)					
Lymphocyte	90.7 ± 3.8	91.3 ± 4.5	90.5 ± 4.5	90.4 ± 4.5	90.8 ± 3.3
Neutrophil	8.3 ± 4.2	7.8 ± 4.3	8.9 ± 4.4	8.8 ± 4.2	8.3 ± 3.1
Eosinophil	0.4 ± 0.5	0.3 ± 0.5	0.1 ± 0.3	0.3 ± 0.5	0.3 ± 0.5
Basophil	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Monocyte	0.7 ± 0.7	0.6 ± 0.7	0.5 ± 0.7	0.6 ± 0.8	0.6 ± 0.7

Each value shows mean ± S.D.
Significantly different from control (**: $P<0.01$).
Figures in parentheses indicate number of males.

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

Group	Control	2-hydroxypropyl methacrylate			
(mg/kg)	0	30	100	300	1000
Number of males	12	12	12	12	10
GOT (IU/l)	73.71 ± 9.19	70.58 ± 12.88	67.52 ± 5.87	69.58 ± 6.96	67.51 ± 12.68
GPT (IU/l)	25.93 ± 2.97	24.50 ± 3.87	24.19 ± 4.85	21.55 ± 3.48	21.91 ± 4.28
ALP (IU/l)	93.31 ± 11.74	89.27 ± 12.07	88.77 ± 7.80	94.59 ± 13.91	87.82 ± 11.08
γ-GTP (IU/l)	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
TP (g/dl)	5.66 ± 0.18	5.69 ± 0.17	5.54 ± 0.33	5.43 ± 0.35	5.39 ± 0.21
Albumin (g/dl)	2.940 ± 0.149	2.901 ± 0.107	2.892 ± 0.143	2.820 ± 0.169	2.884 ± 0.089
Protein fraction (%)					
Albumin	51.98 ± 2.50	50.99 ± 1.61	52.22 ± 2.05	52.02 ± 2.15	53.56 ± 1.68
α_1-glo	23.18 ± 2.10	24.79 ± 2.04	23.47 ± 2.17	22.67 ± 2.59	21.43 ± 1.42
α_2-glo	5.22 ± 0.64	4.81 ± 0.73	5.31 ± 0.71	5.26 ± 0.54	5.66 ± 0.66
α_3-glo	5.74 ± 0.44	6.00 ± 0.46	5.71 ± 0.29	5.87 ± 0.32	5.29 ± 0.58
β-glo	11.22 ± 0.69	10.83 ± 0.60	10.83 ± 0.84	11.37 ± 0.88	11.50 ± 0.89
γ-glo	2.68 ± 0.41	2.58 ± 0.38	2.48 ± 0.46	2.83 ± 0.63	2.56 ± 0.40
A/G ratio	1.088 ± 0.107	1.043 ± 0.069	1.096 ± 0.095	1.089 ± 0.098	1.156 ± 0.075
T-BIL (mg/dl)	0.069 ± 0.011	0.057 ± 0.013	0.066 ± 0.014	0.059 ± 0.010	0.066 ± 0.014
BUN (mg/dl)	17.44 ± 1.86	18.23 ± 2.23	17.67 ± 3.07	18.22 ± 2.37	20.63 ± 2.00
Creatinine (mg/dl)	0.493 ± 0.036	0.515 ± 0.021	0.514 ± 0.036	0.523 ± 0.037	0.519 ± 0.040
Glucose (mg/dl)	122.73 ± 12.69	124.62 ± 8.27	122.03 ± 12.60	123.51 ± 9.16	122.34 ± 6.50
T-CHO (mg/dl)	43.40 ± 7.51	47.68 ± 6.52	49.48 ± 10.10	38.66 ± 7.71	34.80 ± 8.04
TG (mg/dl)	42.22 ± 13.56	46.70 ± 8.64	40.99 ± 7.62	39.83 ± 17.44	37.30 ± 17.12
Na (mEq/l)	145.45 ± 1.00	145.48 ± 0.76	145.38 ± 0.94	145.19 ± 0.73	145.05 ± 1.03
K (mEq/l)	4.608 ± 0.264	4.505 ± 0.214	4.563 ± 0.247	4.570 ± 0.321	4.339 ± 0.250
Cl (mEq/l)	106.91 ± 1.13	106.56 ± 1.06	107.18 ± 1.20	107.45 ± 1.57	107.22 ± 1.67
Ca (mg/dl)	10.02 ± 0.23	10.01 ± 0.28	9.95 ± 0.25	9.76 ± 0.23	9.82 ± 0.23
IP (mg/dl)	6.60 ± 0.61	6.46 ± 0.60	6.57 ± 0.58	6.88 ± 0.59	7.30 ± 0.58

Each value shows mean ± S.D.

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

Group	Control	2-hydroxypropyl methacrylate			
(mg/kg)	0	30	100	300	1000
Number of males	12	12	12	12	10
Normal	12	10	11	10	10
Kidney					
Pyelectasia	0	1	0	1	0
Testis					
Small	0	0	0	1	0
Epididymis					
Small	0	0	0	1	0
Yellow-white nodule	0	1	1	1	0

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

Group	Control	2-hydroxypropyl methacrylate			
(mg/kg)	0	30	100	300	1000
Number of males	0	0	0	0	2
Lung					
Dark red	-	-	-	-	2
Liver					
Dark red	-	-	-	-	1
Kidney					
Dark red	-	-	-	-	1
Jejunum					
Red	-	-	-	-	1
Ileum					
Red	-	-	-	-	1

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

Group		Control	2-hydroxypropyl methacrylate			
(mg/kg)		0	30	100	300	1000
Number of males		12	12	12	12	10
Body weight	(g)	472.1 ± 32.9	480.8 ± 33.6	476.1 ± 31.1	474.4 ± 30.5	456.9 ± 34.2
Thymus	(mg)	321.79 ± 105.03	349.81 ± 80.14	336.23 ± 44.71	363.99 ± 90.47	347.51 ± 59.01
	(mg%)	67.93 ± 20.66	73.07 ± 17.12	70.63 ± 8.30	76.84 ± 19.15	76.17 ± 12.31
Liver	(g)	11.675 ± 0.984	12.306 ± 1.292	11.871 ± 1.240	12.154 ± 1.234	12.337 ± 1.795
	(g%)	2.473 ± 0.108	2.556 ± 0.132	2.488 ± 0.123	2.558 ± 0.126	2.689 ± 0.225*
Kidneys	(g)	3.028 ± 0.208	2.996 ± 0.256	3.003 ± 0.242	2.978 ± 0.286	3.177 ± 0.274
	(g%)	0.642 ± 0.037	0.624 ± 0.050	0.633 ± 0.038	0.628 ± 0.045	0.697 ± 0.052
Testes	(g)	3.279 ± 0.254	3.335 ± 0.285	3.385 ± 0.213	3.320 ± 0.573	3.271 ± 0.155
	(g%)	0.697 ± 0.044	0.696 ± 0.077	0.713 ± 0.065	0.701 ± 0.120	0.718 ± 0.051
Epididymides	(g)	1.295 ± 0.088	1.297 ± 0.106	1.363 ± 0.169	1.258 ± 0.214	1.274 ± 0.128
	(g%)	0.277 ± 0.027	0.272 ± 0.030	0.288 ± 0.042	0.265 ± 0.043	0.280 ± 0.028

Each value shows mean± S.D.
Significantly different from control (*; $P<0.05$).

Table 8 Histopathological finding of male rats (P) in combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxypropyl methacrylate by oral administration

Group	Control					2-hydroxypropyl methacrylate				
(mg/kg)	0					1000				
Number of males	12					10				
Grade	−	±	+	++	+++	−	±	+	++	+++
Liver										
Vacuolar degeneration of periportal hepatocytes	5	7	0	0	0	2	8	0	0	0
Testis										
Atrophy of seminiferous tubules	11	1	0	0	0	10	0	0	0	0
Epididymis										
Spermatogenic granuloma	12	0	0	0	0	9	0	1	0	0

Grade of histopathological finding; −: No abnormality detected, ±: Slight, +: Mild, ++: Moderate, +++: Marked.
No remarkable changes were recognized in heart, thymus, spleen, kidney, adrenal and brain.

Table 9 General sign of female rats (P) during pre-mating period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydoroxpropyl 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-hydroxpropyl 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	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Normal	12	12	12	9	7	5	2	2	0	0	0	0	0	0	0
		Decrease in locomotor activity	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	4	2	3	3
		Salivation	0	0	0	3	5	7	10	10	12	12	12	12	12	12	11
		Ptosis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	4	2	1	2
		Death	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

*: Commencement of pairing.

Table 10 General sign of dams (P) during pregnancy period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxpropyl 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	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
2-hydroxpropyl methacrylate	30	Number of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	100	Number of dams	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
		Normal	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	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
		Normal	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	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
		Normal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	2	1	5	5	6	6	6	6
		Decrease in locomotor activity	3	0	1	3	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
		Salivation	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	10	10	11	9	10	6	6	5	5	5	5
		Ptosis	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Table 11 General sign of dams (P) during lactation period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxpropyl 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	12	12	12	12	12
		Normal	12	12	12	12	12
2-hydroxpropyl methacrylate	30	Number of dams	12	12	12	12	12
		Normal	12	12	12	12	12
	100	Number of dams	8	8	8	8	8
		Normal	8	8	8	8	8
	300	Number of dams	11	11	11	11	11
		Normal	11	11	11	11	11
	1000	Number of dams	11	11	11	11	11
		Normal	9	8	8	6	11
		Salivation	2	3	3	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-hydroxypropyl methacrylate by oral administration

Group	Control	2-hydroxypropyl methacrylate			
(mg/kg)	0	30	100	300	1000
Number of females	12	12	12	12	12
Days of administration 1	225.0 ± 7.8	226.3 ± 8.8	220.7 ± 7.5	224.9 ± 8.6	225.3 ± 8.5
4	230.2 ± 9.0	230.0 ± 7.7	230.8 ± 8.7	230.4 ± 9.1	230.2 ± 9.0
8	238.1 ± 10.0	237.9 ± 8.1	235.3 ± 8.6	237.1 ± 8.5	236.7 ± 10.3
11	244.8 ± 11.6	244.2 ± 11.5	239.5 ± 9.0	241.3 ± 10.8	241.0 ± 11.0
15	256.0 ± 13.6	254.1 ± 13.5	249.0 ± 9.0	251.9 ± 14.4	250.3 ± 12.5

Each value shows mean (g) ± S.D.

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

Group	Control	2-hydroxypropyl methacrylate			
(mg/kg)	0	30	100	300	1000
Number of dams	12	12	8	11	11
Days of pregnancy					
0	261.5 ± 13.7	259.7 ± 10.9	253.6 ± 10.2	255.0 ± 16.6	263.5 ± 11.9
7	299.4 ± 15.4	292.3 ± 12.1	289.6 ± 15.3	288.3 ± 19.5	297.2 ± 16.2
14	331.7 ± 17.9	326.3 ± 13.4	321.0 ± 12.6	321.6 ± 25.1	334.4 ± 16.5
21	422.8 ± 26.5	416.1 ± 18.9	411.0 ± 21.3	409.6 ± 38.7	424.0 ± 33.8

Each value shows mean (g) ± S.D.

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

Group	Control	2-hydroxypropyl methacrylate			
(mg/kg)	0	30	100	300	1000
Number of dams	12	12	8	11	11
Days of lactation					
0	309.3 ± 15.6	295.2 ± 15.4	289.1 ± 15.0	294.7 ± 25.4	307.2 ± 16.6
4	328.0 ± 18.7	328.5 ± 13.7	322.9 ± 22.3	318.0 ± 27.5	327.5 ± 21.1

Each value shows mean (g) ± S.D.

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

Group	Control	2-hydroxypropyl methacrylate			
(mg/kg)	0	30	100	300	1000
Number of females	12	12	12	12	12
Days of administration 3	18.7 ± 2.4	18.6 ± 2.6	17.4 ± 1.9	17.8 ± 2.3	17.7 ± 2.6
6	20.0 ± 1.3	19.3 ± 2.3	17.3 ± 1.4**	18.9 ± 2.3	18.0 ± 2.0*
10	20.7 ± 1.6	19.8 ± 1.9	17.4 ± 1.6**	19.3 ± 2.2	18.5 ± 2.5*
13	20.1 ± 2.1	19.8 ± 2.1	18.9 ± 1.5	19.7 ± 1.6	18.7 ± 2.8

Each value shows mean (g/day) ± S.D.
Significantly different from control (*: $P<0.05$, **: $P<0.01$).

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

Group	Control	2-hydroxypropyl methacrylate			
(mg/kg)	0	30	100	300	1000
Number of dams	12	12	8	11	11
Days of pregnancy					
2	23.7 ± 1.8	23.2 ± 2.2	21.3 ± 1.8	22.3 ± 2.9	21.9 ± 2.5
9	25.3 ± 2.3	25.6 ± 3.6	23.1 ± 1.4	24.5 ± 2.6	24.6 ± 2.0
16	25.6 ± 1.9	24.3 ± 1.9	22.5 ± 1.6	23.9 ± 2.9	24.8 ± 2.4
21	23.0 ± 2.2	22.8 ± 2.1	22.4 ± 2.1	23.2 ± 2.4	24.0 ± 3.0

Each value shows mean (g/day) ± S.D.

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

Group	Control	2-hydroxypropyl methacrylate			
(mg/kg)	0	30	100	300	1000
Number of dams	12	12	8	11	11
Days of lactation 4	32.6 ± 4.7	35.3 ± 3.1	34.6 ± 5.5	32.6 ± 3.8	33.0 ± 4.7

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-hydroxypropyl methacrylate by oral administration

Group	Control	2-hydroxypropyl methacrylate			
(mg/kg)	0	30	100	300	1000
Number of females	12	12	12	12	11
Normal	12	12	12	12	11

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

Group	Control	2-hydroxypropyl methacrylate			
(mg/kg)	0	30	100	300	1000
Number of females	0	0	0	0	1
Lung					
Dark red	-	-	-	-	1
Jejunum					
Red	-	-	-	-	1
Ileum					
Red	-	-	-	-	1

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

Group		Control	2-hydroxypropyl methacrylate			
(mg/kg)		0	30	100	300	1000
Number of dams		12	12	8	11	11
Body weight	(g)	328.0 ± 18.7	328.5 ± 13.7	322.9 ± 22.3	318.0 ± 27.5	327.5 ± 21.1
Thymus	(mg)	286.03 ± 79.55	280.54 ± 97.30	274.96 ± 40.92	239.55 ± 71.66	256.11 ± 72.58
	(mg%)	87.28 ± 24.24	84.63 ± 26.50	84.98 ± 9.58	74.32 ± 16.56	78.04 ± 22.51
Liver	(g)	13.739 ± 1.276	14.225 ± 0.809	14.390 ± 1.148	13.312 ± 1.537	14.164 ± 1.563
	(g%)	4.183 ± 0.200	4.331 ± 0.169	4.461 ± 0.256	4.185 ± 0.322	4.316 ± 0.271
Kidneys	(g)	2.068 ± 0.215	2.053 ± 0.272	2.128 ± 0.251	1.900 ± 0.196	2.085 ± 0.113
	(g%)	0.633 ± 0.067	0.627 ± 0.081	0.660 ± 0.069	0.597 ± 0.039	0.637 ± 0.038
Ovaries	(mg)	111.64 ± 7.09	108.48 ± 19.40	108.60 ± 13.11	103.16 ± 12.88	107.12 ± 9.71
	(mg%)	34.11 ± 2.49	33.03 ± 5.73	33.70 ± 3.89	32.63 ± 4.69	32.85 ± 3.75

Each value shows mean± S.D.

Table 20 Histopathological finding of dams (P) in combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxypropyl methacrylate by oral administration

Group	Control					2-hydroxypropyl methacrylate				
(mg/kg)	0					1000				
Number of dams	12					11				
Grade	−	±	+	++	+++	−	±	+	++	+++
Thymus										
Atrophy	12	0	0	0	0	10	0	0	1	0
Kidney										
Calcium deposition in urinary tubules	11	1	0	0	0	11	0	0	0	0

Grade of histopathological finding; −: No abnormality detected, ±: Slight, +: Mild, ++: Moderate, +++: Marked.
No remarkable changes were recognized in heart, liver, spleen, ovary, adrenal and brain.

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

Group	Control	2-hydroxypropyl methacrylate			
(mg/kg)	0	30	100	300	1000
Number of females	12	12	12	12	12
Number of estrous cases before administration (7 days) Mean±S.D.	1.8 ± 0.5	1.8 ± 0.5	1.4 ± 0.5	1.8 ± 0.5	1.8 ± 0.4
Number of estrous cases before mating (14 days) Mean±S.D.	3.1 ± 0.3	3.5 ± 0.5	3.8 ± 0.4**	3.3 ± 0.5	3.4 ± 0.5
Number of pairs	12	12	12	12	11
Number of pairs with successful copulation	12	12	9	12	11
Copulation index (%) a)	100.0	100.0	75.0	100.0	100.0
Number of days till copulation Mean±S.D.	2.4 ± 1.4	2.8 ± 1.7	2.3 ± 0.5	2.8 ± 1.5	3.5 ± 1.6
Number of pregnant females	12	12	8	11	11
Fertility index (%) b)	100.0	100.0	88.9	91.7	100.0
Number of pregnant females with live pups	12	12	8	11	11

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

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

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

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

Group	Control	2-hydroxypropyl methacrylate			
(mg/kg)	0	30	100	300	1000
Number of dams	12	12	8	11	11
Length of gestation (days)					
Mean±S.D. per dam	22.17 ± 0.39	22.25 ± 0.45	22.00 ± 0.00	22.18 ± 0.40	22.09 ± 0.30
Number of corpora lutea					
Total	242	198	133	187	192
Mean±S.D. per dam	20.2 ± 2.2	16.5 ± 1.9**	16.6 ± 2.6*	17.0 ± 2.1*	17.5 ± 1.8
Number of implantation scars					
Total	196	181	125	167	178
Mean±S.D. per dam	16.3 ± 1.7	15.1 ± 1.8	15.6 ± 1.6	15.2 ± 2.9	16.2 ± 3.3
Implantation index a)					
Mean%±S.D. per dam	81.7 ± 10.1	91.6 ± 6.4**	94.8 ± 7.1*	90.0 ± 15.8*	91.9 ± 13.1
Gestation index (%) b)	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
Number of live pups born					
Male	84	73	55	75	87
Female	93	90	62	82	79
Total	177	163	117	157	166
Mean±S.D. per dam	14.8 ± 2.3	13.6 ± 1.9	14.6 ± 1.4	14.3 ± 3.0	15.1 ± 4.0
Sex ratio c)					
Mean±S.D. per dam	0.47 ± 0.05	0.45 ± 0.10	0.46 ± 0.16	0.46 ± 0.15	0.52 ± 0.11
Birth index d)					
Mean%±S.D. per dam	90.0 ± 6.6	90.2 ± 7.9	93.9 ± 7.4	93.9 ± 6.4	91.3 ± 14.3
Number of dead pups on day 0 of lactation					
Total	4	7	3	0	3
Mean±S.D. per dam	0.3 ± 0.7	0.6 ± 0.8	0.4 ± 0.7	0.0 ± 0.0	0.3 ± 0.5
Number of pups born					
Total	181	170	120	157	169
Mean±S.D. per dam	15.1 ± 2.4	14.2 ± 1.9	15.0 ± 1.9	14.3 ± 3.0	15.4 ± 4.1
Delivery index e)					
Mean%±S.D. per dam	91.9 ± 7.2	93.9 ± 5.9	96.1 ± 7.4	93.9 ± 6.4	92.8 ± 14.7
Live birth index f)					
Mean%±S.D. per dam	97.9 ± 4.0	96.0 ± 5.4	97.8 ± 4.5	100.0 ± 0.0	98.4 ± 2.8
Number of live pups on day 4 of lactation					
Male	81	71	54	74	86
Female	90	89	62	82	77
Total	171	160	116	156	163
Mean±S.D. per dam	14.3 ± 2.0	13.3 ± 2.0	14.5 ± 1.5	14.2 ± 3.1	14.8 ± 3.9
Viability index g)					
Mean%±S.D. per dam	97.0 ± 4.6	98.1 ± 3.5	99.1 ± 2.5	99.3 ± 2.4	98.3 ± 3.0
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 females with live pups / number of pregnant females)×100.
c): Number of male pups / number of live 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.
Significantly different from control (*: P<0.05, **: P<0.01).

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-hydroxypropyl methacrylate by oral administration

Group	Control	2-hydroxypropyl methacrylate			
(mg/kg)	0	30	100	300	1000
Number of dams	12	12	8	11	11
Male					
Days of lactation					
0	6.43 ± 0.50	6.86 ± 0.62	6.49 ± 0.39	6.67 ± 0.61	6.51 ± 0.58
4	10.72 ± 1.07	11.69 ± 1.04	10.69 ± 0.85	11.23 ± 2.03	10.46 ± 1.70
Number of dams	12	12	8	11	11
Female					
Days of lactation					
0	6.13 ± 0.51	6.41 ± 0.65	6.15 ± 0.29	6.24 ± 0.49	6.22 ± 0.88
4	10.28 ± 1.21	11.03 ± 1.35	9.96 ± 0.67	10.45 ± 1.66	10.06 ± 2.14

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

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

Group	Control	2-hydroxypropyl methacrylate			
(mg/kg)	0	30	100	300	1000
Number of males	81	71	54	74	86
Normal	81	71	54	74	86
Number of females	90	89	62	82	77
Normal	90	89	62	82	77

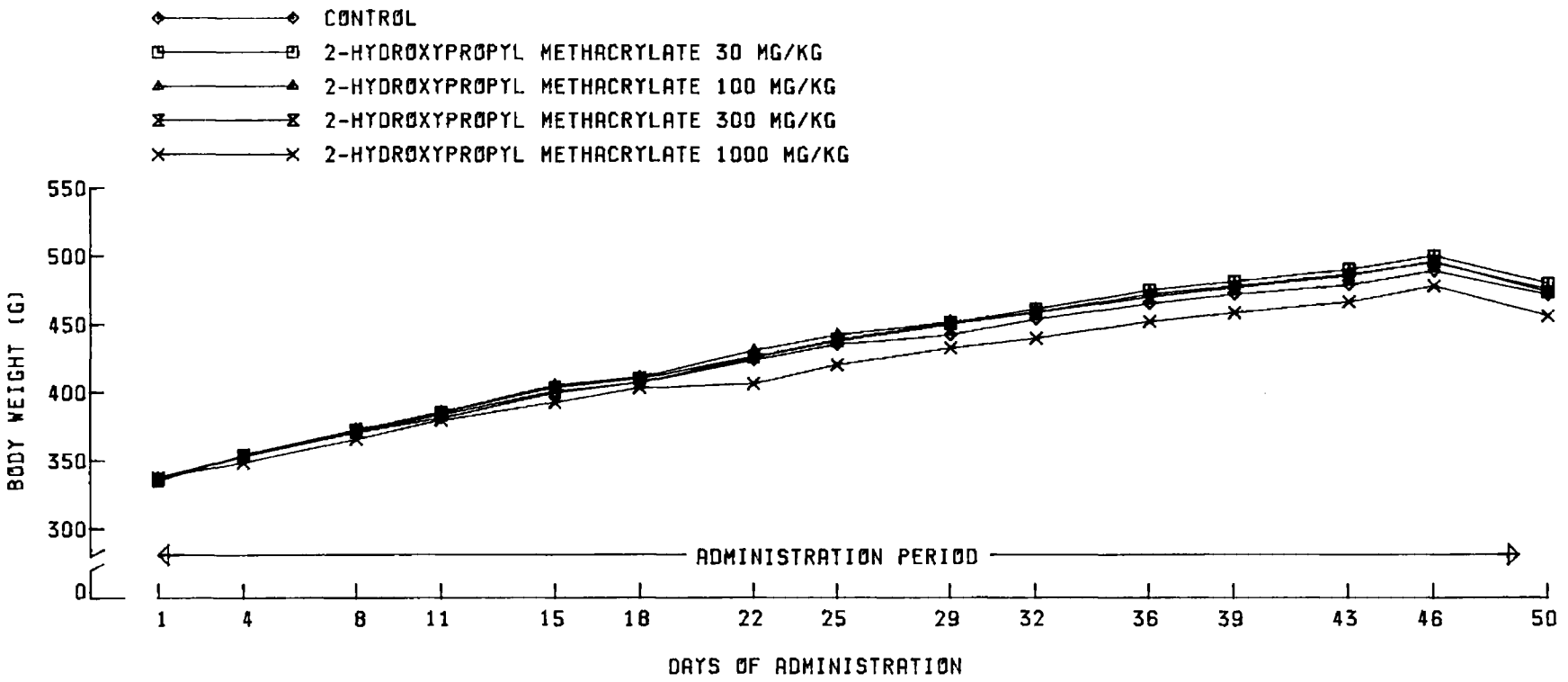

Fig. 1 Body weight of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxypropyl methacrylate by oral administration

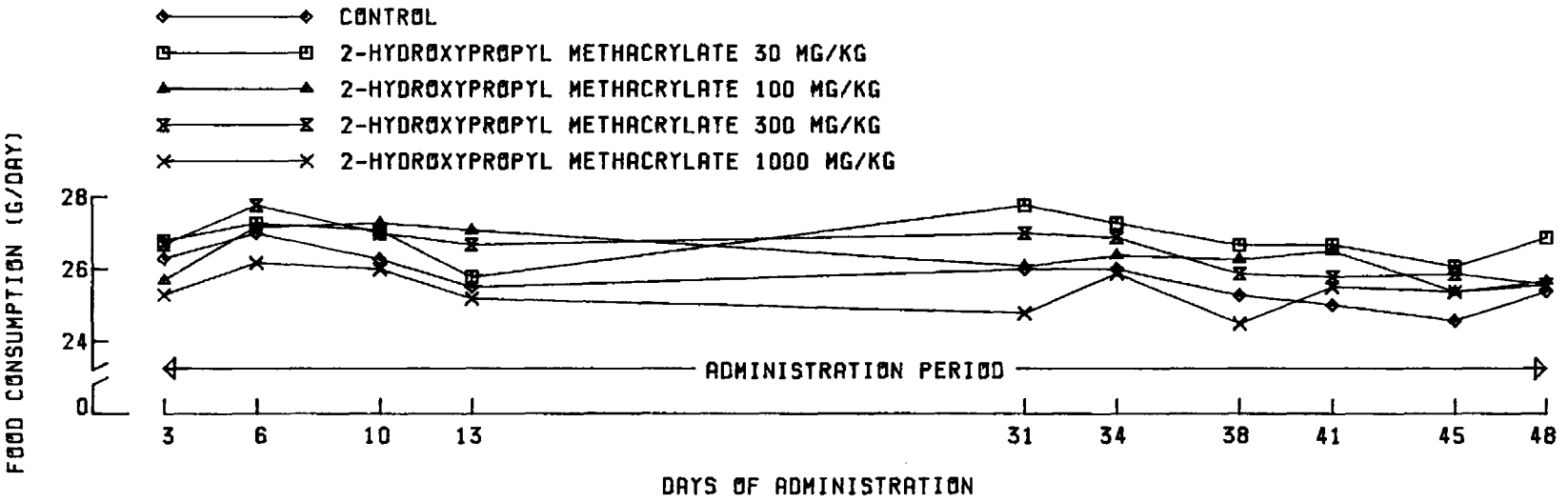

Fig. 2 Food consumption of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxypropyl methacrylate by oral administration

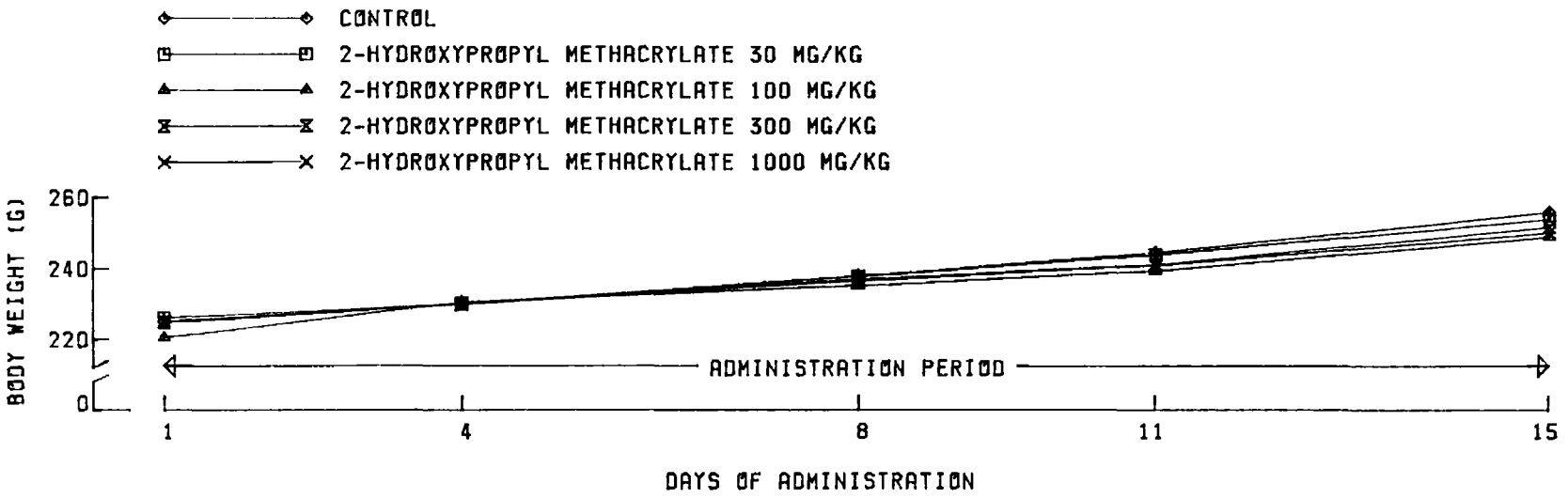

Fig. 3 Body weight of female rats (P) during pre-mating period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxypropyl methacrylate by oral administration

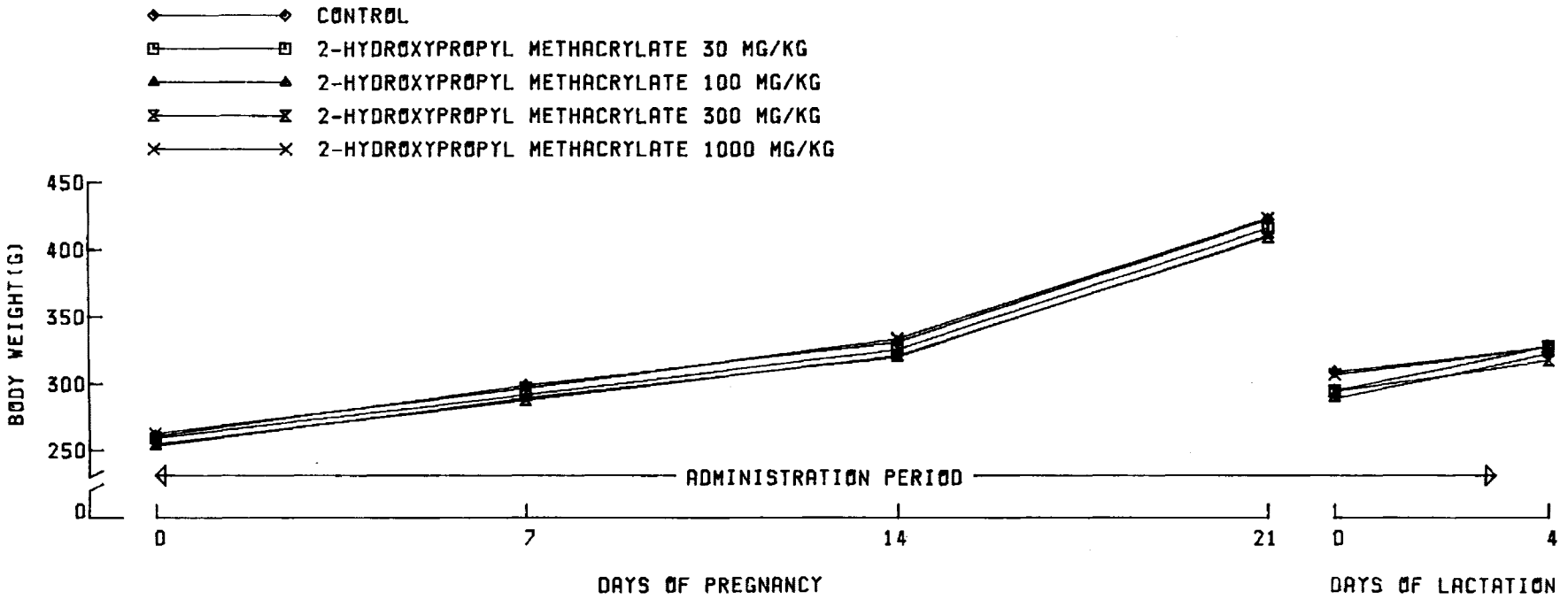

Fig. 4 Body weight of dams (P) during pregnancy and lactation periods in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxypropyl methacrylate by oral administration

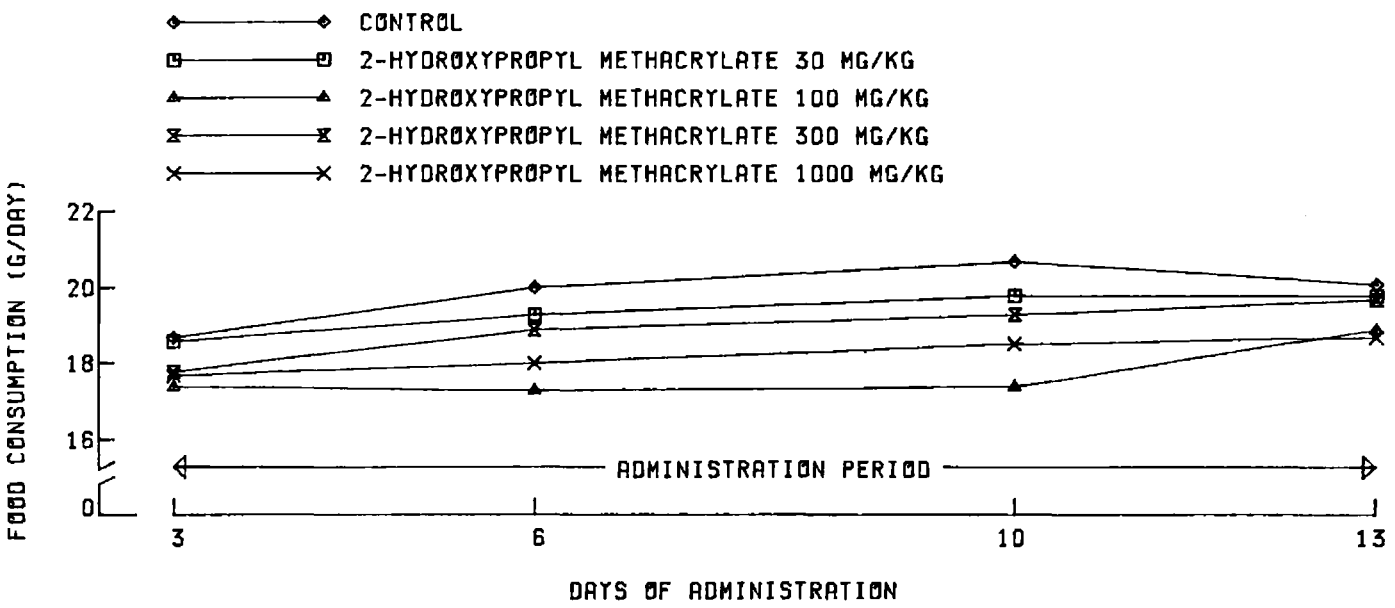

Fig. 5 Food consumption of female rats (P) during pre-mating period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxypropyl methacrylate by oral administration

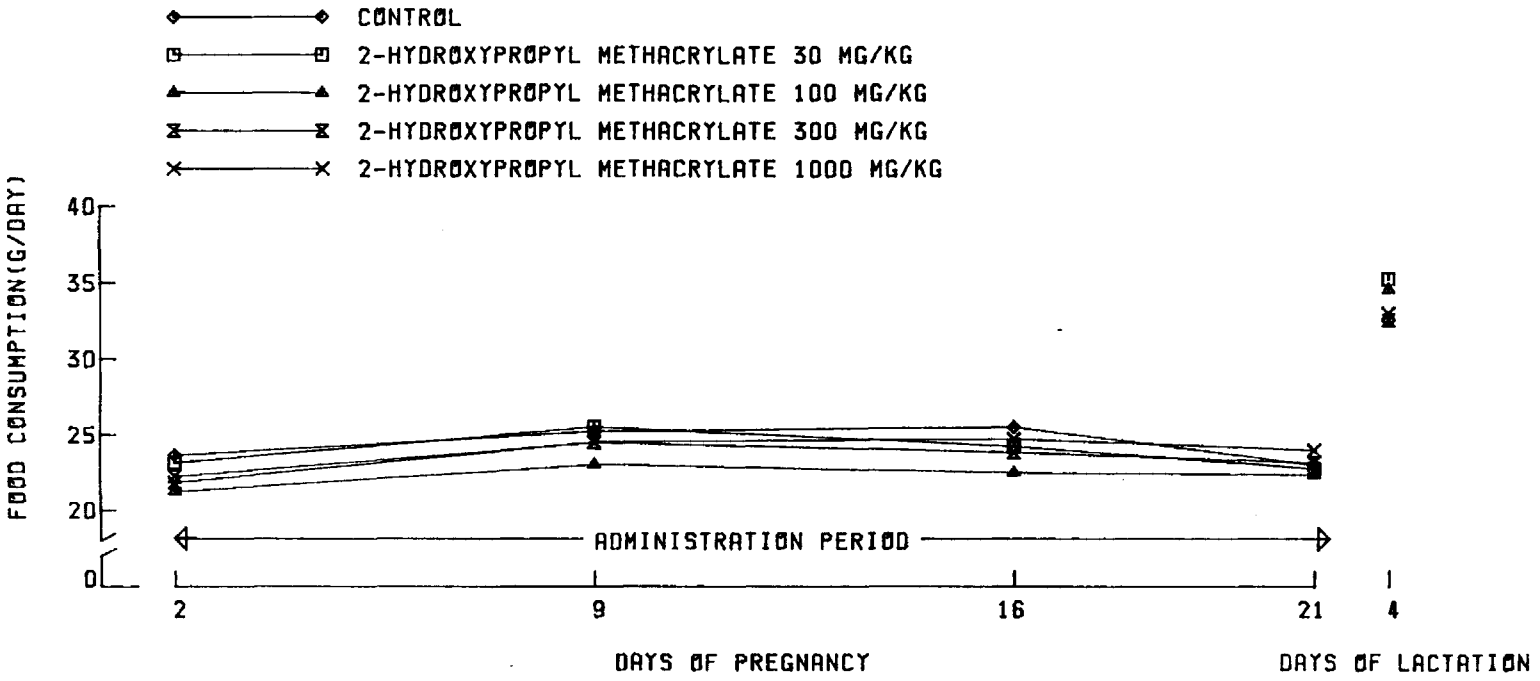

Fig. 6 Food consumption of dams (P) during pregnancy and lactation periods in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxypropyl methacrylate by oral administration

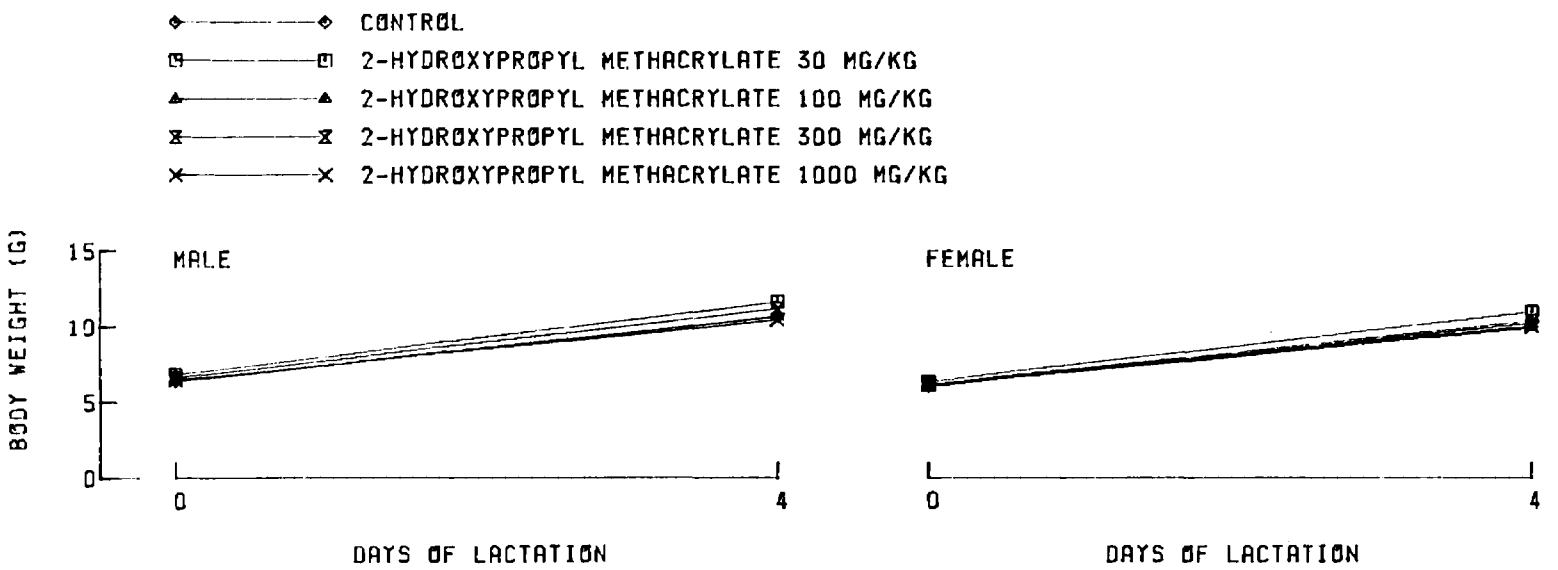

Fig. 7 Body weight of pups (F1) on days 0 and 4 of lactation in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2-hydroxypropyl methacrylate by oral administration