

2, 4-ジクロロトルエンのラットにおける  
反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験報告書

株式会社化合物安全性研究所

# 目 次

	頁
要 約 .....	3
緒 言 .....	5
材料及び方法 .....	5
成 績 .....	15
考 察 .....	21
試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因 .....	23
参 考 文 献 .....	23
Figures and tables .....	別添

## 要 約

2,4-ジクロロトルエン (CAS No.95738) の 12.5、79及び 500mg/kg/dayを雄ラットの交配14日前より46日間、雌ラットの交配前14日間、交配及び妊娠期間、哺育3日目までの期間に経口反復投与し、雌雄動物への反復投与による影響及び生殖・発生に及ぼす影響についてスクリーニング試験し、以下の知見が得られた。

### 1. 雌雄動物への反復投与による影響

- (1) 一般状態観察では、500mg/kg群の雌雄全例、79mg/kg群の雄4例雌2例及び 12.5 mg/kg群の雌雄各1例で投与直後に流涎が認められた。
- (2) 体重推移では、500mg/kg群の雌で妊娠及び哺育期間中に体重増加量の減少あるいは増加率の低下が認められた。
- (3) 摂餌量では、500mg/kg 群の雄で投与2日目に減少が、同群の雌で投与 10日目及び妊娠3日目に減少が認められた。
- (4) 血液学及び血液生化学的検査では、500mg/kg群の雄で血小板数の減少、コリンエステラーゼの増加などが認められた。
- (5) 器官重量では、500mg/kg群で肝臓の体重重量比の上昇が雌雄に、腎臓の体重重量比の上昇が雄に認められた。
- (6) 剖検では、500mg/kg群の雄9例で肝臓の暗褐色化が認められた。
- (7) 病理組織学的検査では、肝臓において小葉中心性の肝細胞腫大が 500mg/kg 群の雄全例及び 79mg/kg群の雄2例で認められた。腎臓においては、尿細管上皮の萎縮及び再生、尿細管の拡張が 500mg/kg群の雄2例雌1例及び 79mg/kg 群の雄1例に認められた。また、尿細管上皮の硝子滴及び好酸体の沈着の出現頻度が 79mg/kg以上の群の雄で増加する傾向が認められた。
- (8) 以上より、CAS No.95738の反復投与による主な毒性は、79mg/kg 以上の群の雄で認められた肝臓の小葉中心性の肝細胞腫大など肝臓に対する影響、79mg/kg 以上の群の雄及び 500mg/kg 群の雌で認められた腎臓の尿細管上皮の萎縮及び再生、尿細管の拡張など腎臓に対する影響、及び 12.5mg/kg以上の群の雌雄で認められた流涎であった。これらのことから、本スクリーニング試験における CAS No.95738 反復投与による無影響量 (NOEL) は雌雄ともに 12.5mg/kg/day未満であることが示唆された。ただし、12.5

mg/kg 群では流涎が雌雄各1例に認められたのみであった。

## 2. 雌雄動物の生殖・発生に及ぼす影響

- (1) 雌雄動物の生殖能検査では、500mg/kg群で受胎率の低下が認められた。また、同群の不妊であった7組のうち6組で交尾成立時に膣栓がみられないあるいは膣垢中の精子数が少ないことが確認された。
- (2) 出生児の体重推移では、500mg/kg群の雌雄で哺育1及び4日目に体重の低値が認められた。
- (3) 雌動物の分娩及び母性行動観察、出生児の生存性、一般状態観察及び剖検では、CAS No.95738投与による影響は認められなかった。
- (4) 以上より、CAS No.95738の生殖・発生に対する主な影響として、500mg/kg群で受胎率の低下が認められた。また、その原因として雄の生殖器及び副生殖器の機能的障害を示唆する所見、すなわち、不妊の多数例で交尾成立時に膣栓がみられないあるいは膣垢中の精子数が少ないことが確認された。これらのことから、本スクリーニング試験におけるCAS No.95738の雌雄動物の生殖・発生に対する無影響量は雌雄ともに79mg/kg/dayであることが示唆された。

## 結 言

2,4-ジクロロトルエン (CAS No.95738) を雄ラットの交配 14日前より 46日間、雌ラットの交配前14日間、交配及び妊娠期間、哺育3日目までの期間に経口反復投与し、雌雄動物への反復投与による影響及び生殖・発生に及ぼす影響についてスクリーニング試験したので、その成績を報告する。

なお、本試験は「OECD優良試験所指針C (81) 30最終別添2」に従い、試験方法は OECDテストガイドライン及び OECD提案ガイドライン (Preliminary Reproduction Toxicity Screening test. Combined Repeat Dose and Reproduction/Developmental Toxicity Screening test) に準拠した。

## 材料及び方法

### 1. 被験物質

被験物質は、より提供された 2,4-ジクロロトルエン (以下、CAS No.95738 と称す。Lot番号： ，純度：98.96%) である。被験物質は、無色透明の液体 (比重 1.25 ) であり、室温、遮光下で保存した。なお、被験物質は、1992年1月まで品質が保証されており、原液をそのまま使用した。

### 2. 試験動物

生後8週齢の Crj:CD (SD) 系 SPFラット (雄:55匹, 体重範囲 251~289g, 雌:55匹, 体重範囲 159~202g) を、1991年11月27日に日本チャールス・リバー株式会社より受け入れ、15日間の馴化飼育を行った。馴化期間中、一般状態観察を1日1回、体重測定を期間中3回実施し、順調な発育を示した動物を試験に用いた。なお、雌については、期間中、性周期検査を行い、性周期に異常の認められない動物を用いた。

### 3. 飼育環境条件

動物の飼育は、温度  $23 \pm 3$  °C、湿度  $55 \pm 10$  %、換気回数 10~15回/時間、照明時間12時間（午前8時から午後8時まで点灯）に設定されたバリアシステムの飼育室(135号室)において、ブラケット式金属製金網床ケージ（260W×380D×180H, mm）を用いて行った。ただし、妊娠17日目より金属網床のかわりに実験動物用床敷（ホワイトフレーク、日本チャールス・リバー株式会社）を敷いたステンレス製受皿を使用した。ケージ当たりの収容匹数は、群分け前は4匹以内、群分け後は1匹、交配中は雌雄各1匹、妊娠期間中は1母動物、哺育期間中は1腹とした。ケージの交換は2週に1回の頻度で行った。

飼育室内の清掃は1日1回以上、床の清拭消毒は1日1回の頻度で行った。なお、消毒には塩素系消毒薬（ヤクラックス、ヤクハン製薬株式会社）及びヨウ素系消毒薬（ダイザン、旭硝子株式会社）を1週間単位で交互に使用した。

飼料は固型飼料(CRF-1、オリエンタル酵母工業株式会社)を金属製給餌器を用いて、飲料水は水道水（札幌市水道水）を自動給水装置及びポリプロピレン製給水器を用いて、それぞれ自由に摂取させた。給餌器の交換は2週に1回、自動給水装置の水抜きは週1回、給水器の交換は2日に1回の頻度で行った。

飼料の分析及び検査は財団法人日本食品分析センターで実施（分析試験成績書：第 44100152-001及び 44110115-001号）し、各混入物質について当社 SOPの許容範囲内であることを確認した。飲料水の水質検査は株式会社福田水文センターで実施（水質検査結果書：第 03529及び 04504号）し、当社 SOPの水質基準の範囲内であることを確認した。

### 4. 試験群の設定、群分け及び個体識別

試験群は、本試験の用量設定試験（14日間反復投与試験）の結果を参考に設定した。すなわち、最高用量である 500mg/kg 群で自発運動の減少が雌に、投与2日目の摂餌量のわずかな減少が雄に、肝臓及び腎臓重量の増加傾向が雌雄で認められたが、12.5及び 79mg/kg群では CAS No.95738投与による影響は認められなかった。これらのことから、本試験の高用量は投与期間の延長により雌雄動物に対して明確な影響が現れると推測される 500mg/kg/day、低用量は投与可能な最小量である 12.5mg/kg/day、中間用量はそれらの等比中項である 79mg/kg/day（公比約 6.3）とし、さらに日本薬局方精製水を投与する対照を設け、計4群とした（Table1）。

動物数は1群あたり雌雄各12匹とした。群分けは、馴化飼育の最終日（投与開始前日）に各群の体重が均一になるように体重別層化無作為抽出法により行った。

動物の識別は、受入時に油性フェルトペンを用いて尾部にケージ内個体識別を、群分け時にイヤープンチを用いて群識別を右耳に、ケージ内個体識別を左耳に行った。ケージには性別毎に色分けしたカードに試験番号、試験群、グループ番号及び動物番号を明記して標示した。なお、出生児については、油性フェルトペンを用いて背部に雄は青色、雌は紫色で動物番号を記し、ケージ内個体識別を行った。

## 5. 投与経路及び投与方法

投与経路は、被験物質が人体に経口的に暴露される可能性があることから、経口投与とした。投与は胃ゾンデを用いて強制的に胃内に行った。投与容量は、被験物質が原液として規定の用量となるように体重1kg当たり0.010、0.063及び0.400mlとして投与日に最も近い日に測定した体重に基づいて算出した。

投与期間は、雄については交配14日前より46日間、雌については交配前14日間及び交尾成立までの交配期間、さらに交尾成立例は妊娠期間及び哺育3日目までの期間とした。投与時刻は、午前10時から午後1時の間とした。

投与は10週齢から開始し、投与開始時の平均体重（体重範囲）は雄で386.5g（356～420g）、雌で230.6g（205～253g）であった。

## 6. 観察、測定及び検査項目

### 1) 雄動物について

#### (1) 一般状態観察

全例について、試験期間中1日1回以上の頻度で、視診及び触診により行動、外観などを観察した。また、症状が発現した場合は、その種類及び持続時間を記録した。

#### (2) 体重測定

全例について、投与1日目（投与前）、投与2、5、7、10及び14日目、その後は7日毎に（投与終了日を含む）、さらに剖検日に電子天秤（ザルトリウス 1401BM7-2及び1407MP8-1、カールツァイス株式会社）を用いて測定した。また、体重増加量〔投与46日目体重－投与1日目体重〕及び体重増加率〔（体重増加量／投与1日目体重）×100〕を算出した。

### (3) 摂餌量測定

全例について、投与1日目（投与前）、投与2、5、7、10及び14日目、その後は交配期間を除き体重測定日と同じ日（投与終了日を含む）に電子天秤（ザルトリウス 1401BM7-2及び 1407MP8-1、カールツァイス株式会社）を用いて測定した。一定量をケージ毎にセットし、翌日に残量を測定し、1匹当たりの1日分の摂餌量を算出した。

### (4) 生殖能検査

投与14日目の雄と同試験群内の雌を夕方より1対1で最長14日間同居させた。また、交尾成立は相手雌の腔垢中に精子が確認された場合とし、妊娠成立は相手雌の子宮に着床痕が確認された場合とした。また、交尾率〔（交尾を成立させた雄ラット数／同居ラット数）× 100〕及び受胎率〔（受胎を成立させた雄ラット数／交尾を成立させた雄ラット数）× 100〕を算出した。

### (5) 血液学的検査

投与46日目の翌日に全例について、約16時間絶食した後、エーテル麻酔下で大腿静脈より採血し、EDTA・2Kで処理した血液を用いて、①～⑨、⑬の項目について検査を行った。さらに、⑩の項目は無処理血液を用いて、⑪、⑫項目については腹部大動脈より採血し、クエン酸ナトリウムで処理した後、3000 rpmで10分間遠心分離して得られた血漿を用いて検査を行った。

- |                       |  |
|-----------------------|--|
| ①赤血球数 (RBC)           | 電気抵抗法 (コールター原理)<br>(コールターカウンター T660型)    |
| ②ヘマトクリット値 (Ht)        | RBC, MCV値より算出<br>(コールターカウンター T660型)      |
| ③血色素量 (Hb)            | シアンメトヘモグロビン法 (国際法)<br>(コールターカウンター T660型) |
| ④平均赤血球容積 (MCV)        | 電気抵抗法 (コールター原理)<br>(コールターカウンター T660型)    |
| ⑤平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH)   | RBC, Hb値より算出<br>(コールターカウンター T660型)       |
| ⑥平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC) | Ht, Hb値より算出<br>(コールターカウンター T660型)        |
| ⑦網赤血球率 (Ret)          | Brecher法                                 |

- |                             |  |
|-----------------------------|--|
| ⑧血小板数 (Plat)                | 電気抵抗法 (コールター原理)<br>(コールターカウンター T660型)        |
| ⑨白血球数 (WBC)                 | 電気抵抗法 (コールター原理)<br>(コールターカウンター T660型)        |
| ⑩凝固時間 (CT)                  | 流体粘度変化による空気圧測定法<br>(グライナー社製マイクロコアグロ<br>メーター) |
| ⑪プロトロンビン時間 (PT)             | トロンボプラスチン法<br>(AMELUNG KC-10A バクスターKK)       |
| ⑫活性化部分トロンボプラスチン時間<br>(APTT) | エラジン酸法<br>(AMELUNG KC-10A バクスターKK)           |
| ⑬白血球型別百分率 (Hemogram of WBC) | メイ・ギムザ染色標本鏡検                                 |

(6)血液化学的検査

投与46日目の翌日に全例について、血液学的検査のための採血後、腹部大動脈より採血し 3000rpm で 10分間の遠心分離して、得られた血清を用いて次の検査を行った。

- |                   |  |
|-------------------|--|
| ①GOT              | IFCC法 (日立 7150形自動分析装置)                               |
| ②GPT              | IFCC法 (日立 7150形自動分析装置)                               |
| ③ $\gamma$ -GTP   | 包接L- $\gamma$ -グルタミル-p-ニトロアニリド基質法<br>(日立7150形自動分析装置) |
| ④コリンエステラーゼ (ch-E) | ヨウ化ブチリルチオコリン基質法<br>(日立7150形自動分析装置)                   |
| ⑤血糖 (Glu)         | ヘキソキナーゼ法<br>(日立 7150形自動分析装置)                         |
| ⑥総コレステロール (T-Cho) | 酵素法 (日立 7150形自動分析装置)                                 |
| ⑦トリグリセリド (TG)     | 遊離グリセロール消去法<br>(日立 7150形自動分析装置)                      |
| ⑧リン脂質 (PL)        | 酵素法 (日立7150形自動分析装置)                                  |
| ⑨総ビリルビン (T-Bil)   | アゾビリルビン法 (日立7150形自動分析装置)                             |

⑩尿素窒素 (BUN)	ウレアーゼ・インドフェノール法 (日立 7150形自動分析装置)
⑪クレアチニン (Crea)	ヤッフエ法 (日立 7150形自動分析装置)
⑫ナトリウム (Na)	炎光法 (コーニング 480型炎光光度計)
⑬カリウム (K)	炎光法 (コーニング 480型炎光光度計)
⑭クロール (Cl)	電量滴定法 (平沼 CL-6M型クロライドカウンター)
⑮カルシウム (Ca)	OCPC法 (日立 7150形自動分析装置)
⑯無機リン (P)	フィスケ・サバロー法 (日立 7150形自動分析装置)
⑰総蛋白 (TP)	ビウレット法 (日立 7150形自動分析装置)
⑱アルブミン (Alb)	BCG法 (日立 7150形自動分析装置)
⑲A/G比 (A/G)	TP, Alb値より算出する。
⑳蛋白分画	セルロースアセテート膜電気泳動法

#### (7)剖検及び器官重量測定

投与46日目の翌日に全例について、エーテル麻酔下で採血後放血致死させ、全身の器官・組織を肉眼的に観察した。摘出器官のうち、肝臓、腎臓（左右）、胸腺、副腎（左右）、精巣及び精巣上体（左右）の重量を電子天秤（FX-300、エー・アンド・デイ株式会社）を用いて測定した。また、器官体重重量比〔（器官重量／動物体重）×100〕を算出した。

#### (8)病理組織学的検査

全例について、剖検時に肝臓、腎臓、脾臓、心臓、肺、脳、下垂体、副腎、甲状腺、上皮小体、胸腺、腸間膜リンパ節、脾臓、舌、下顎リンパ節、顎下腺、舌下腺、耳下腺、乳腺、皮膚、眼球、ハーダー腺、胸骨及び大腿骨（骨髄を含む）、脊髄（頸部）骨格筋（外側広筋）、胸部大動脈、喉頭、気管、気管支、食道、胃（前胃、腺胃）、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膀胱、精巣、精巣上体、精嚢（凝固腺を含む）、前立腺及び異常所見部位を10%中性緩衝ホルマリン液で固定し、保存した。なお、眼球及びハーダー腺はデビッドソン液で、精巣及び精巣上体はブアン液で固定・保存した。摘出器官のうち、全例の肝臓、腎臓、脾臓、心臓、肺、脳、下垂体、胸

腺、副腎、甲状腺、胸骨及び大腿骨（骨髄）、精巢、精巢上体、前立腺及び異常所見部位について、パラフィン包埋後薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製し、病理組織学的検査を行った。

## 2) 雌動物について

### (1) 性周期検査

全例について、投与10日前から交尾成立までの連日、ギムザ染色による腔垢塗抹標本を作製し、光学顕微鏡下で性周期段階の判定を行った。

### (2) 一般状態観察

全例について、試験期間中1日1回以上の頻度で、視診及び触診により行動、外観などを観察した。また、症状が発現した場合は、その種類及び持続時間を記録した。

### (3) 体重測定

全例について、投与1日目（投与前）、投与2、5、7、10及び14日目、妊娠0、1、3、5、7、10、14、17及び20日目、哺育1及び4日目に、電子天秤（ザルトリウス 1401BM7-2及び 1407MP8-1、カールツァイス株式会社）を用いて測定した。なお、交配期間中は、相手雄と同じ測定日に測定した。

また、体重増加量〔（投与14日目体重－投与1日目体重）、（妊娠20日目体重－妊娠0日目体重）及び（哺育4日目体重－哺育1日目体重）〕、及びそれぞれの体重増加量に対応した体重増加率〔（体重増加量／投与1日目体重）× 100、（体重増加量／妊娠0日目体重）× 100及び（体重増加量／哺育1日目体重）× 100〕を算出した。

### (4) 摂餌量測定

全例について、投与1日目（投与前）、投与2、5、7、10及び14日目、妊娠1、3、5、7、10、14、17及び20日目、哺育1及び4日目に、電子天秤（ザルトリウス 1401BM7-2 及び 1407MP8-1、カールツァイス株式会社）を用いて測定した。一定量をケージ毎にセットし、翌日に残量を測定し、1匹当たりの1日分の摂餌量を算出した。

### (5) 生殖能検査

投与14日目の雌と同試験群内の雄を夕方より1対1で最長14日間同居させた。交尾の成立は雌の腔垢中に精子が確認された場合とし、妊娠の成立は子宮に着床痕が確認された場合とした。また、交尾率〔（交尾が成立した雌ラット数／同居ラット数）× 100〕及び受胎率〔（受胎した雌ラット数／交尾が成立した雌ラット数）× 100〕を算出した。

#### (6)分娩及び母性行動観察

全例について、分娩状態、母性行動、生存児数及び死亡児数、出産児の性別及び外表を観察した。また、着床率〔(着床痕数/妊娠黄体数)×100〕、出産率〔(生児を出産した雌ラット数/妊娠雌ラット数)×100〕、分娩率〔(総出産児数/着床痕数)×100〕、出生率〔(出産確認時生存児数/総出産児数)×100〕、哺育率

〔(正常に哺育した雌ラット数/正常に分娩した雌ラット数)×100〕及び性比〔雌生児数/雄生児数〕を算出した。妊娠期間は妊娠21日目の午前9時から妊娠22日目の午前9時までで分娩が終了した場合を21日間とし、それ以降同様に午前9時から翌日午前9時までを1日として算出した。なお、分娩日を哺育0日目として起算した。

#### (7)剖検及び器官重量測定

交尾成立例は哺育4日目に、交尾不成立例は交配期間終了の翌日に、妊娠25日目まで分娩の認められない例(不妊例)は妊娠26日目にエーテル麻酔下で放血致死させ、全身の器官・組織を肉眼的に観察した。また、子宮の着床痕及び卵巣の妊娠黄体を計数した。摘出器官のうち、肝臓、腎臓(左右)、胸腺、副腎(左右)及び卵巣(左右)の重量を電子天秤(ザルトリウス 1601MP8、カールツァイス株式会社, PT320、メトラ一社)を用いて測定した。また、器官体重重量比〔(器官重量/動物体重)×100〕を算出した。

#### (8)病理組織学的検査

全例について、剖検時に肝臓、腎臓、脾臓、心臓、肺、脳、下垂体、副腎、甲状腺、上皮小体、胸腺、腸間膜リンパ節、脾臓、舌、下顎リンパ節、顎下腺、舌下腺、耳下腺、乳腺、皮膚、眼球、ハーダー腺、胸骨及び大腿骨(骨髄を含む)、脊髄(頸部)骨格筋(外側広筋)、胸部大動脈、喉頭、気管、気管支、食道、胃(前胃、腺胃)、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膀胱、卵巣、子宮、陰及び異常所見部位を10%中性緩衝ホルマリン液で固定し、保存した。なお、眼球及びハーダー腺はデビッドソン液で固定・保存した。摘出器官のうち、全例の肝臓、腎臓、脾臓、心臓、肺、脳、下垂体、胸腺、副腎、甲状腺、胸骨及び大腿骨(骨髄)、卵巣及び異常所見部位について、パラフィン包埋後薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色あるいは特殊染色(PAS、 $\alpha$ -アミラーゼ及び oil red O染色)標本を作製し、病理組織学的検査を行った。

### 3) 出生児について

#### (1) 一般状態観察及び生存性

全例について、分娩日から剖検日（哺育4日目）まで1日1回、生存及び死亡を確認し、一般状態及び外表について観察した。なお、哺育日数は分娩日を哺育0日目として起算した。ただし、分娩の終了を朝9時に確認した場合は、その前日を哺育0日目とした。また、新生児生存率〔（哺育4日目生存児数／出産確認時生存児数）×100〕を1腹を単位として算出した。ただし、捕喰を受け死亡あるいは行方不明となった出生児は死亡例として扱った。

#### (2) 体重測定

全例について、哺育1及び4日目に電子天秤（ザルトリウス 1401BM7-2及び1407MP8-1、カールツァイス株式会社）を用いて測定した。なお、体重値は雌雄別に1腹を単位とした平均値で示した。

また、体重増加量〔哺育4日目－哺育1日目〕及び体重増加率〔（体重増加量／哺育1日目）×100〕を算出した。

#### (3) 剖検

死亡例は、直ちに剖検し、whole bodyを10%中性緩衝ホルマリン液で固定し、保存した。その他の例については、哺育4日目に体外表（口腔内を含む）を観察し、二酸化炭素吸入法により安楽致死させ、全身の器官・組織を肉眼的に観察した。異常所見部位の認められた例については、whole bodyを10%中性緩衝ホルマリン液で固定・保存した。

## 7. 統計処理

体重、摂餌量、体重増加量及び体重増加率、器官重量、器官体重重量比、妊娠黄体数、着床痕数及び着床率、総出産児数、出産確認時生存児数、分娩率、出生率、性比、出産確認時死亡児数及び新生児生存率については、Bartlettの検定法によって分散を検定した。その結果、等分散（ $p > 0.05$ ）を示した項目については一元配置分散分析法によって解析し、有意な場合（ $p < 0.01$ ）、Dunnettの検定法により対照群とCAS No.95738投与群との比較を行った。一方、不等分散（ $p < 0.05$ ）を示した項目についてはKruskal-Wallis法により解析し、有意な場合（ $p < 0.10$ ）、Mann-WhitneyのU-検定法により対照群とCAS No.95738投与群との比較を行った。なお、分娩及び母性行動観察結果、出生児の生存性及び体重については、1腹を単位として検定を行った。

交尾率、受胎率、出産率及び哺育率については多試料 $\chi^2$ -検定を行い、その結果、有意な場合は2試料 $\chi^2$ -検定を行った。ただし、2試料 $\chi^2$ -検定あるいは多試料 $\chi^2$ -検定に不適合の場合は Fisherの正確確率検定法により行った。

一般状態観察結果（雌雄の流涎）及び病理組織学的検査結果（雄）について、Fisherの正確確率検定法により対照群と CAS No.95738投与群との比較を行った。

なお、対照群との検定については、危険率5%以下を統計学的に有意とした。

## 成 績

### 1. 雄動物に対する影響

#### (1) 一般状態観察

一般状態観察の成績を Table 2、INDIVIDUAL DATA 1-1~1-4、Appendix 2-1~2-4 に示した。

流涎が 500mg/kg群で 12例中全例に認められ、対照群と比較して出現頻度の有意な増加が認められた。同症状は 79mg/kg以下の群でも認められ（12.5mg/kg群：1例、79mg/kg群：4例）、その出現頻度は CAS No.95738投与群で用量依存的に増加する傾向がみられたものの、対照群と比較して 79mg/kg以下の群では有意な差は認められなかった。なお、同症状は、投与4日目以降に投与直後から約2時間までの間に認められ、高用量群ほど出現期間も長かった。

その他に、鼻周囲に痂皮、喘鳴、尿道口周囲被毛に血液様液付着、尿道口周囲被毛汚染及び右上眼瞼の皮膚腫瘍が用量依存性はなく散発的に認められた。

#### (2) 体重推移

体重推移を Figure 1、Table 3、INDIVIDUAL DATA 2-1~2-4に示した。

投与期間を通して、対照群と比較して有意な差は認められなかった。

#### (3) 摂餌量

摂餌量の変化を Figure 2、Table 4、INDIVIDUAL DATA 3-1~3-4に示した。

対照群と比較して 500mg/kg群で投与2日目に摂餌量の減少が認められた。

#### (4) 血液学的検査

血液学的検査の成績を Table 5、INDIVIDUAL DATA 4-1~4-8に示した。

対照群と比較して 500mg/kg群で血小板数の減少が認められた。

#### (5) 血液化学的検査

血液化学的検査の成績を Table 6、INDIVIDUAL DATA 5-1~5-8に示した。

対照群と比較して 500mg/kg群で $\alpha_1$ -グロブリン分画の低下、コリンエステラーゼの増加、トリグリセリド及び尿素窒素の減少が認められた。

## (6) 器官重量

器官重量及び器官体重重量比の成績を Table 8、INDIVIDUAL DATA 7-1~7-8 に示した。

対照群と比較して 500mg/kg 群で肝臓及び腎臓重量の増加及び体重重量比の上昇が認められた。

## (7) 剖検

剖検の成績を Table 9、INDIVIDUAL DATA 8-1~8-4、Photo.M-1に示した。

肝臓全葉の暗褐色化が 500mg/kg群の 12例中9例に認められた。その他に外表所見として尿道口周囲被毛汚染及び右上眼瞼の皮膚腫瘍が認められた。

## (8) 病理組織学的検査

病理組織学的検査の成績を Table 10、INDIVIDUAL DATA 9-1~9-4、Photo.H-1~H-6に示した。

肝臓への影響を示唆する所見として、小葉中心性の肝細胞腫大が 500mg/kg群で 12例中全例に認められ、対照群と比較して出現頻度の有意な増加が認められた。同所見は、統計学的に有意な出現頻度ではなかったものの、79mg/kg群でも2例に認められた。

腎臓への影響を示唆する所見として、顆粒円柱、尿細管の拡張、尿細管上皮の萎縮及び再生が、統計学的に有意な出現頻度ではなかったものの、500mg/kg群の2例及び79mg/kg 群の1例に認められた。また、尿細管上皮の硝子滴沈着及び好酸体沈着の出現頻度が 79mg/kg以上の群で増加する傾向がみられ（対照群：5例、12.5mg/kg 群：3例、79mg/kg群：10例、500mg/kg群：全例）、対照群と比較して 500mg/kg群で有意な差が認められた。

不妊の原因を示唆する所見は認められなかった。

その他に、腎臓に硝子円柱、心臓に心外膜直下におけるリンパ球を主とする層状細胞浸潤、組織球性細胞を主とする限局性細胞浸潤、肺の血管壁における石灰沈着、肺胞内骨化石灰化、下垂体に線毛上皮嚢胞及び前立腺炎が用量依存性なく散発的に認められた。なお、剖検における右上眼瞼の皮膚腫瘍に対応して真皮における組織球増生を伴う膿瘍が認められた。

## 2. 雌動物に対する影響

### (1) 一般状態観察

一般状態観察の成績を Table 11、INDIVIDUAL DATA 10-1~12-4に示した。

妊娠前期間では、流涎が 500mg/kg群で 12例中全例に認められ、対照群と比較して出現頻度の有意な増加が認められた。同症状は 79mg/kg以下の群でもみられた（12.5 mg/kg群：1例、79mg/kg群：2例）が、対照群と比較して 79mg/kg以下の群では有意な差は認められなかった。なお、同症状は、投与4日目以降に投与前から投与後約20分までの間に認められ、高用量群ほど出現期間も長かった。その他に、投与誤操作によると判断された死亡が対照群の1例に、喘鳴、尿道口周囲の被毛汚染、左上切歯の破折が用量依存性なく散発的に認められた。

妊娠期間中では、流涎が投与前から投与後約1時間までの間に、500mg/kg群の11例中全例に認められた。その他に、喘鳴、尿道口周囲の被毛汚染、左上切歯の破折が 500mg/kg群の1例に認められた。

哺育期間中では、流涎が投与直後から3分の間に、500mg/kg群の5例中全例に認められた。その他に、右鼻部の痂皮が対照群の1例に認められた。

### (2) 体重推移

体重推移を Figure 3~5、Table 12~14、INDIVIDUAL DATA 13-1~15-4に示した。

妊娠前投与期間では、対照群と比較して有意な差は認められなかった。

妊娠期間では、500mg/kg群で体重の増加抑制がみられ、対照群と比較して体重増加量及び増加率に有意な差が認められた。

哺育期間では、500mg/kg群で体重の増加抑制がみられ、対照群と比較して体重増加量に有意な差が認められた。

### (3) 摂餌量

摂餌量の変化を Figure 6~8、Table 15~17、INDIVIDUAL DATA 16-1~18-4に示した。

妊娠前投与期間及び妊娠期間では、500mg/kg群の摂餌量は対照群よりも低く推移し、対照群と比較して投与10日目及び妊娠3日目に有意な差が認められた。

哺育期間では、対照群と比較して有意な差は認められなかった。

#### (4) 器官重量

器官重量及び器官体重重量比の成績を Table 19、INDIVIDUAL DATA 20-1～20-4 に示した。

対照群と比較して 500mg/kg群で肝臓体重重量比の上昇が認められた。その他に、12.5mg/kg 群で腎臓（右）重量の減少及び体重重量比の低下が認められたが、用量依存性を欠いた変動であった。

#### (5) 剖検

剖検の成績を Table 20、INDIVIDUAL DATA 21-1～21-4に示した。

子宮の内腔拡張が 500mg/kg 群の不妊の 1 例に認められた。その他に肝臓の外側左葉に黄白色斑及び右鼻部に痂皮が用量依存性なく散発的に認められた。

#### (6) 病理組織学的検査

病理組織学的検査の成績を Table 21、INDIVIDUAL DATA 22-1～22-4に示した。

腎臓への影響を示唆する所見として尿細管の拡張、尿細管上皮の萎縮及び再生が 500mg/kg群の 1 例に認められた。

不妊の原因を示唆する所見として、剖検における子宮の内腔拡張に対応して子宮内膜炎及び子宮頸炎が 500mg/kg群の 1 例に認められた。

その他に、肝臓に被膜直下層における肝細胞の限局性萎縮、腎臓に腎盂粘膜における石灰沈着、皮髓境界部における石灰沈着及び腎盂内結石、肺の血管壁における石灰沈着、肺胞内骨化石灰化、限局性のうっ血、肉芽腫、好中球を主とする気管支周囲細胞浸潤及び肺胞内泡沫細胞の増生及び卵巣（左）に卵胞嚢胞が用量依存性なく散発的に認められた。なお、剖検における右鼻部の痂皮に対応して膿瘍、真皮の肥厚及び痂皮形成が認められた。

### 3. 雌雄動物の生殖・発生に及ぼす影響

#### (1) 生殖能検査

生殖能検査の成績を Table 7、18、INDIVIDUAL DATA 6-1～6-4、19-1～19-4、Appendix 1-1～1-4に示した。

雌の性周期検査では、投与前あるいは投与期間に不規則な性周期が対照群の 2 例及び 79mg/kg群の 1 例（いずれも妊娠が成立した例）に、投与期間中に発情休止期の継続が 500mg/kg 群の 2 例（不妊例）に認められた。その他の例では正常な性周期を示し、投与前期間と投与期間の性周期に変化は認められなかった。

対照群と比較して 500mg/kg群で受胎率の低下が認められ、その不妊例数は 12組中 7組であった。なお、交尾までの日数に有意な差は認められず、交尾率はいずれの群も 100%であった。

500mg/kg群では、不妊であった7組のうち、雌の生殖器に異常の認められた1組を除いた6組で交尾成立時に膣栓がみられないあるいは膣垢中の精子数が1～2匹であることが確認された。また、対照群、12.5、79及び 500mg/kg 群の妊娠が成立した組では、ほとんどの組で膣栓がみられ、膣垢中の精子数も多数認められた。

## (2)分娩及び母性行動観察

分娩及び母性行動観察の成績を Table 22、INDIVIDUAL DATA 23-1～23-4に示した。

対照群と比較して、妊娠黄体数、着床痕数、着床率、総出産児数、出産確認時生存児数、分娩率、出生率、性比、出産確認時死亡児数、妊娠期間、出産率及び哺育率について有意な差は認められなかった。

なお、分娩及び哺育異常はいずれの群においても認められなかった。

## (3)出生児の生存性

出生児の生存性の成績を Table 23、INDIVIDUAL DATA 24-1～24-4に示した。

対照群と比較して、新生児生存率に有意な差は認められなかった。

## (4)出生児の一般状態観察

出生児の一般状態観察の成績を Table 24、INDIVIDUAL DATA 25-1～25-4に示した。

雌雄ともに CAS No.95738投与との関連を示唆する症状は認められなかった。なお、認められた症状は次の通りであった。

対照群では、哺育1～3日目の死亡が雄 85例雌 84例中、雄 2例雌 3例に、右側背部の外傷及び痂皮、腹部皮膚の暗紫色化及び腹部膨満が雄各 1例に認められた。12.5 mg/kg群では、哺育2～4日目の死亡が雄 89例雌78例中雄 2例雌 1例に認められた。79mg/kg群では、哺育2日目死亡が雄 95例雌85例中、雌 1例に、尾先端部欠落が雌 1例に認められた。500mg/kg群では、哺育2日目死亡が雄 35雌 30例中、雄 2例に認められた。

## (5)出生児の体重推移

出生児の体重推移を Figure 9、Table 25、INDIVIDUAL DATA 26-1～26-4に示した。

対照群と比較して、500mg/kg群の雌雄で哺育1及び4日目に体重の低値が認められた。

(6) 出生児の剖検

出生児の剖検の成績を Table 26、INDIVIDUAL DATA 27-1-1～27-4-2に示した。

雌雄ともに CAS No.95738投与との関連を示唆する所見は認められなかった。なお、認められた所見は次の通りであった。

死亡例では、いずれの群においても異常は認められなかった。

哺育4日目に屠殺した例のうち、対照群で右側背部の痂皮が雄1例、肝臓の内側右葉の黄白色斑、腹部皮膚の暗紫色化及び腹部皮下に暗赤色斑が雄1例に、79mg/kg 群で尾先端部の欠落が雌1例に認められた。

## 考 察

2,4-ジクロロトルエン (CAS No.95738) の 12.5、79及び 500mg/kg/dayを雄ラットの交配14日前より46日間、雌ラットの交配前14日間、交配及び妊娠期間、哺育3日目までの期間に経口反復投与し、雌雄動物への反復投与による影響及び生殖・発生に及ぼす影響についてスクリーニング試験を行った。

一般状態観察では、投与直後に流涎が CAS No.95738投与群の雌雄に認められた。同症状は、高用量群ほど出現頻度が高く、出現期間も長い傾向が認められ、CAS No.95738投与によるものと考えられた。ただし、12.5mg/kg群の出現頻度は雌雄各1例と低かった。流涎の原因としては被験物質の物性が考えられたが、剖検で顎下腺などの分泌腺に関連した異常所見は何ら認められなかった。なお、本試験において、CAS No.95738を大量投与した場合に観察された自発運動の減少やよろめき歩行<sup>1)</sup>などの中枢性に作用したと考えられる症状は何ら認められなかった。

体重推移では、500mg/kg群の雌で、妊娠及び哺育期間中の体重増加量の減少あるいは増加率の低下が、また、妊娠前及び妊娠期間には摂餌量の減少も認められ、CAS No.95738投与による影響と考えられた。同群の雄では、投与2日目に摂餌量の減少が認められ、14日間投与試験と同様に CAS No.95738 の初回投与による影響と考えられた。

血液学的検査では、500mg/kg群の雄で血小板数の減少が認められた。トルエンを含む接着剤やシンナーの長期間吸入によって骨髓機能の減退や形成不全性貧血が認められることが報告されており<sup>2)</sup>、CAS No.95738においても同様な原因による可能性が懸念されたが、本試験では病理組織学的検査の結果、胸骨及び大腿骨の骨髓に異常は認められなかった。

器官・組織では、肝臓において小葉中心性の肝細胞腫大が 500mg/kg群の雄で 12例中全例に認められ、統計学的にも有意な出現頻度の増加を示し、CAS No.95738投与による肝臓に対する影響と考えられた。また、同所見は 79mg/kg群の雄でも2例に認められたことから、CAS No.95738投与による影響は 79mg/kgの用量にも及んでいるものと推察された。その他に、肝臓における変化として、500mg/kg群で体重重量比の上昇が雌雄に、暗褐色化が雄に認められた。腎臓においては、尿細管上皮の萎縮及び再生、尿細管の拡張などが 75 mg/kg以上の群の雄及び 500mg/kg群の雌の1～2例に認められ、CAS No.95738投与により腎臓に障害を受けていることが示唆された。また、尿細管上皮の硝子滲及び好酸体の沈着が 500mg/kg群の雄で統計学的に有意な出現頻度の増加が認められ、また、79mg/kg群の雄

でも増加の傾向が認められたことから、自然発生する所見ではあるが CAS No.95738 投与により増強するものと考えられた。なお、トルエンの毒性として肝臓及び腎臓の損傷が知られており<sup>2)3)</sup>、類似物質である CAS No.95738 もこれらの器官へ影響を及ぼすものと考えられた。

500mg/kg群の雄では、血清中のコリンエステラーゼの増加及び尿素窒素の減少が認められ、機序は不明であったが、CAS No.95738の肝臓あるいは腎臓に対する影響との関連性が考えられた。その他に、500mg/kg群の雄では、 $\alpha_1$ -グロブリン分画の低下が認められたが、総蛋白、アルブミン及び A/G比に对照群との差は認められないことから、毒性学的意義はないものと考えられた。また、同群の雄でトリグリセリドの減少が認められたが、对照群でみられた背景データよりも高値を示す1例を除いて統計処理を行った場合、有意な差はみられなかったことから、CAS No.95738投与との関連性はないものと考えられた。

以上より、CAS No.95738の反復投与による主な毒性は、79mg/kg 以上の群の雄で認められた肝臓の小葉中心性の肝細胞腫大など肝臓に対する影響、79mg/kg 以上の群の雄及び500mg/kg群の雌で認められた腎臓の尿細管上皮の萎縮及び再生、尿細管の拡張など腎臓に対する影響、及び 12.5mg/kg以上の群の雌雄で認められた流涎であった。これらのことから、本スクリーニング試験における CAS No.95738 反復投与による無影響量 (NOEL) は雌雄ともに 12.5mg/kg/day未満であることが示唆された。ただし、12.5mg/kg 群では流涎が雌雄各1例に認められたのみであった。

雌雄動物の生殖能検査では、500mg/kg群で受胎率の低下が認められ、不妊例数は12組中7組であった。そのうち、6組については、生殖器及び内分泌器系に不妊を示唆する病理学的所見は認められなかったが、全例が交尾成立時に膣栓がみられないあるいは膣垢中の精子数が少ないことが確認された。これらのことから、CAS No.95738投与により雄の生殖器及び副生殖器の機能的障害が生じたことが推察された。雌については被験物質投与により発情休止期の継続が2例に、子宮の炎症が1例に認められた。しかしながら、いずれも交尾は確認されており、また、出現例数も少ないことから、不妊の原因は雌では明らかではなかった。

一方、妊娠成立した雌動物では、分娩及び哺育4日目までの哺育行動に CAS No.95738 投与による異常は認められなかった。出生児の観察では、500mg/kg群で哺育1日目より低体重を示し、CAS No.95738の胎生期投与による影響が認められた。

なお、出生後の体重増加量に对照群との差は認められず、また、出生児の生存性、一般

状態観察及び剖検において CAS No.95738投与による影響は認められなかった。

以上より、CAS No.95738の生殖・発生に対する主な影響として、500mg/kg群で受胎率の低下が認められた。また、その原因として雄の生殖器及び副生殖器の機能的障害を示唆する所見、すなわち、不妊の多数例で交尾成立時に膣栓がみられないあるいは膣垢中の精子数が少ないことが確認された。これらのことから、本スクリーニング試験における CAS No.95738の雌雄動物の生殖・発生に対する無影響量は雌雄ともに 79mg/kg/dayであることが示唆された。

## 試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因

試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因は認められなかった。

## 参考文献

1. 釜田 悟ら (1991) . 2,4-ジクロロトルエンのラットにおける急性経口毒性試験.
2. 白須泰彦ら (1977) . 新毒性学の基礎と応用. p.557, 684-685.  
日本メディカルセンター 出版部.
3. 北川晴雄ら (1982) . 毒性学, p.195. 株式会社南江堂. 第1刷発行.

## Figures

- Figure 1. Body weight changes of male rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study
- Figure 2. Food consumption of male rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study
- Figure 3. Body weight changes before gestation period of female rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study
- Figure 4. Body weight changes during gestation period of female rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study
- Figure 5. Body weight changes during lactation period of female rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study
- Figure 6. Food consumption before gestation period of female rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study
- Figure 7. Food consumption during gestation period of female rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study
- Figure 8. Food consumption during lactation period of female rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study
- Figure 9. Body weight changes of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study of CAS No.95738 in rats

## Tables

- Table 1. Experimental design for the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study of CAS No.95738 in rats
- Table 2. General appearance of male rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study
- Table 3. Body weight changes of male rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study
- Table 4. Food consumption of male rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study
- Table 5. Hematological findings of male rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study
- Table 6. Biochemical findings of male rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study
- Table 7. Influence of CAS No.95738 on reproductive ability of male rats in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study
- Table 8. Absolute and relative organ weights of male rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study

- Table 9. Gross findings of male rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study
- Table 10. Histopathological findings of male rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study
- Table 11. General appearance of female rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study
- Table 12. Body weight changes before gestation period of female rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study
- Table 13. Body weight changes during gestation period of female rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study
- Table 14. Body weight changes during lactation period of female rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study
- Table 15. Food consumption before gestation period of female rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study
- Table 16. Food consumption during gestation period of female rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study
- Table 17. Food consumption during lactation period of female rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study
- Table 18. Influence of CAS No.95738 on reproductive ability of female rats in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study
- Table 19. Absolute and relative organ weights of female rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study
- Table 20. Gross findings of female rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study
- Table 21. Histopathological findings of female rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study
- Table 22. Influence of CAS No.95738 on delivery and maternal behavior in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study in rats
- Table 23. Influence of CAS No.95738 on viability of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study in rats
- Table 24. General appearance of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study of CAS No.95738 in rats
- Table 25. Body weight changes of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study of CAS No.95738 in rats
- Table 26. Gross findings of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study of CAS No.95738 in rats

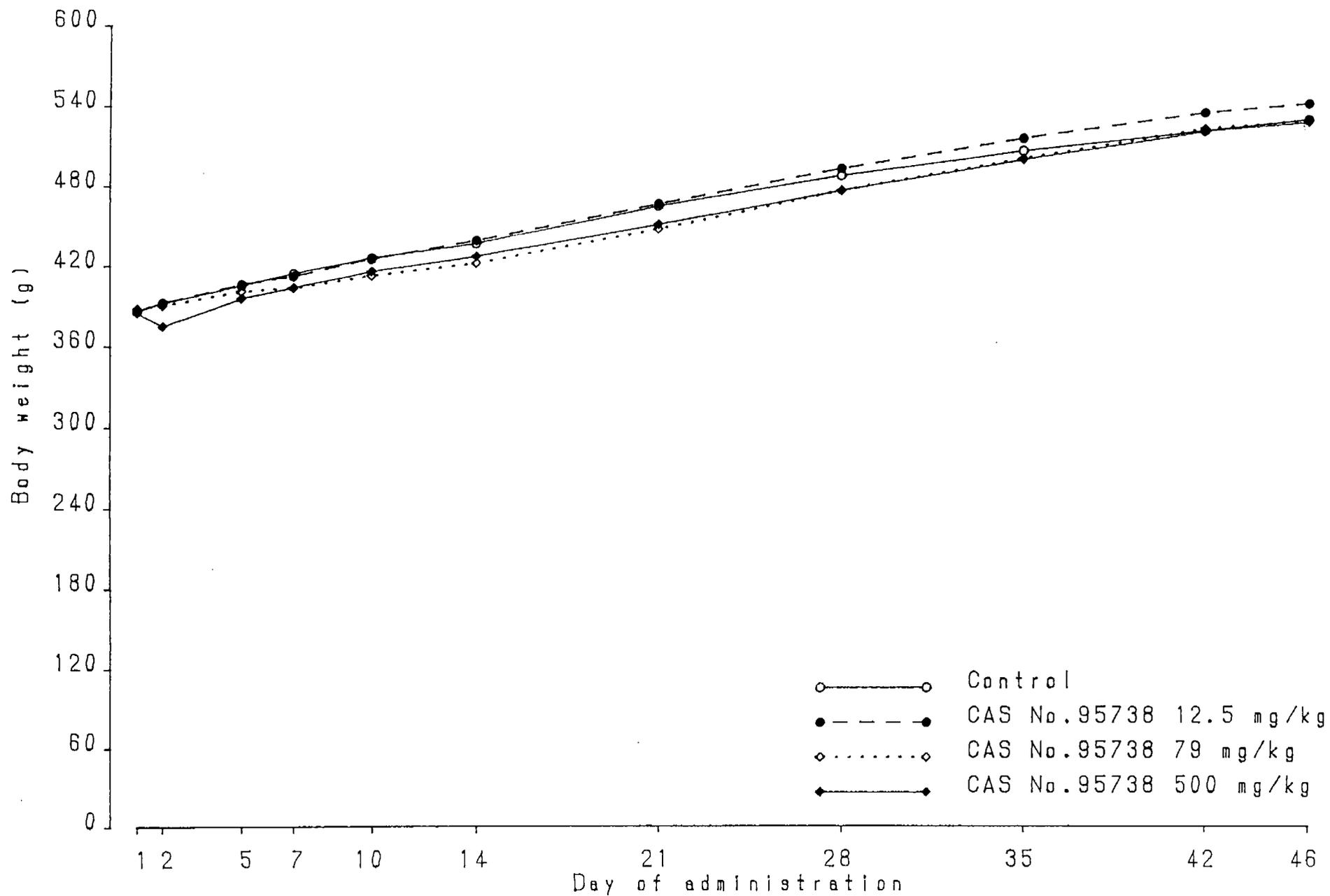


Figure 1. Body weight changes of male rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study

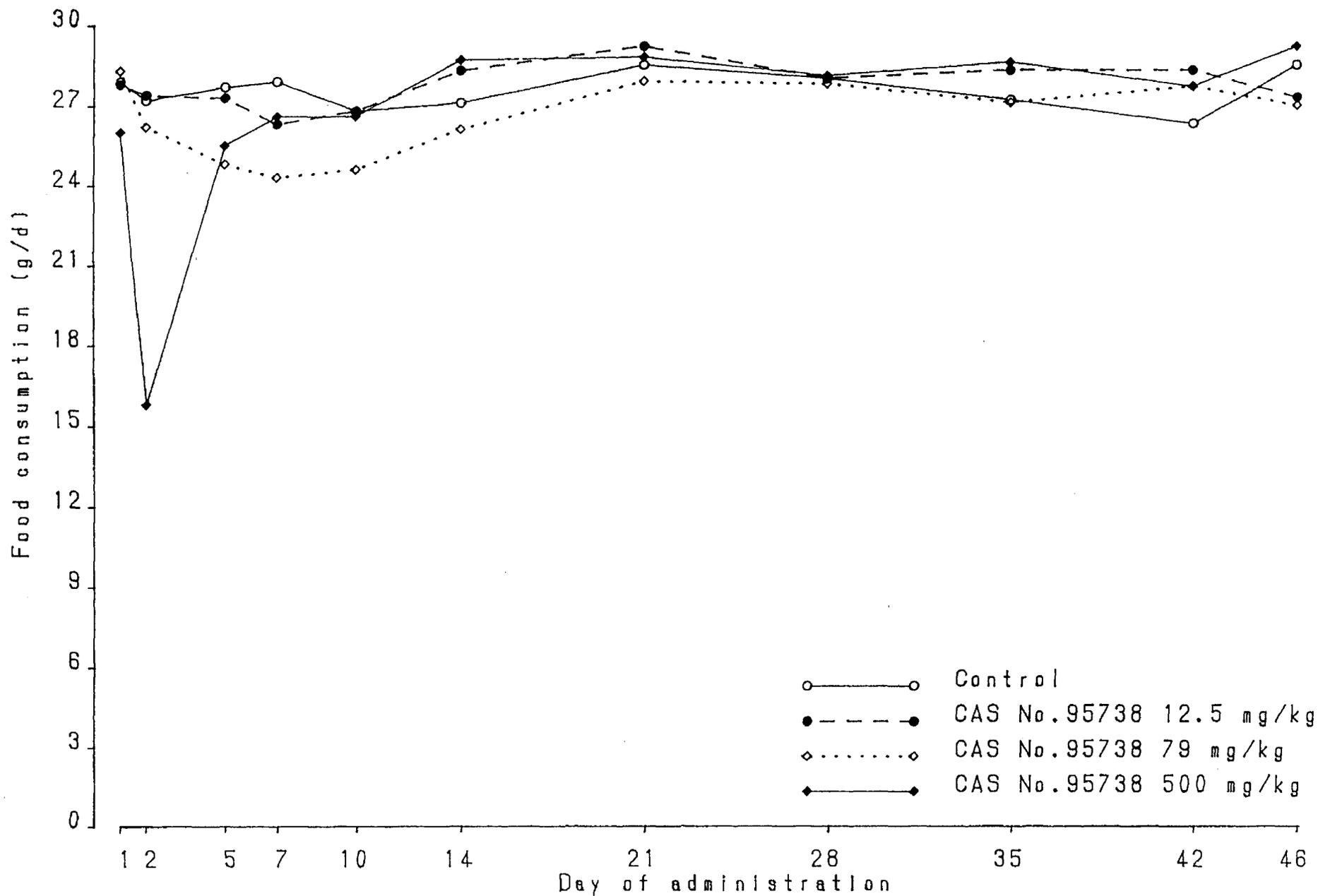


Figure 2. Food consumption of male rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study

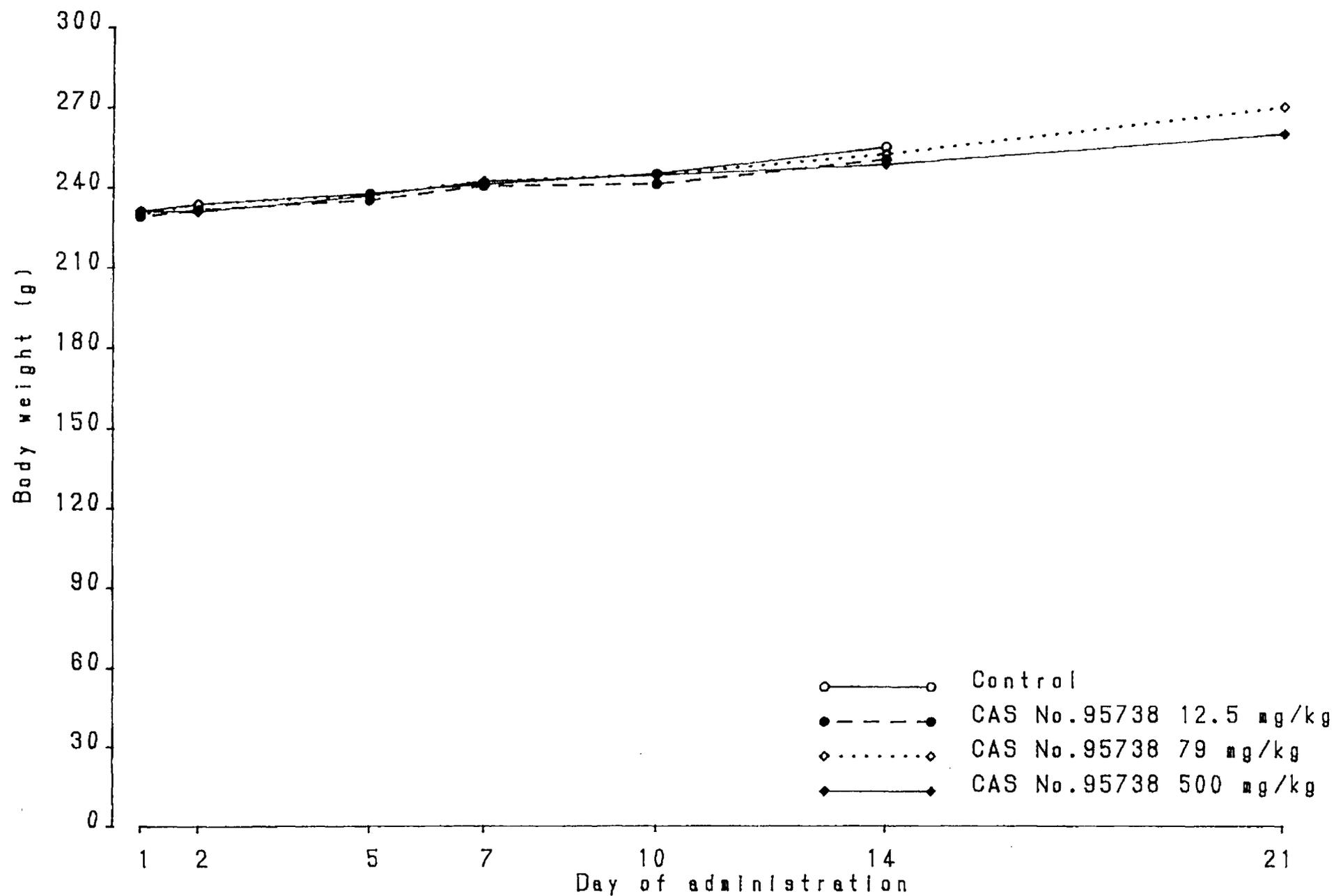


Figure 3. Body weight changes before gestation period of female rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study

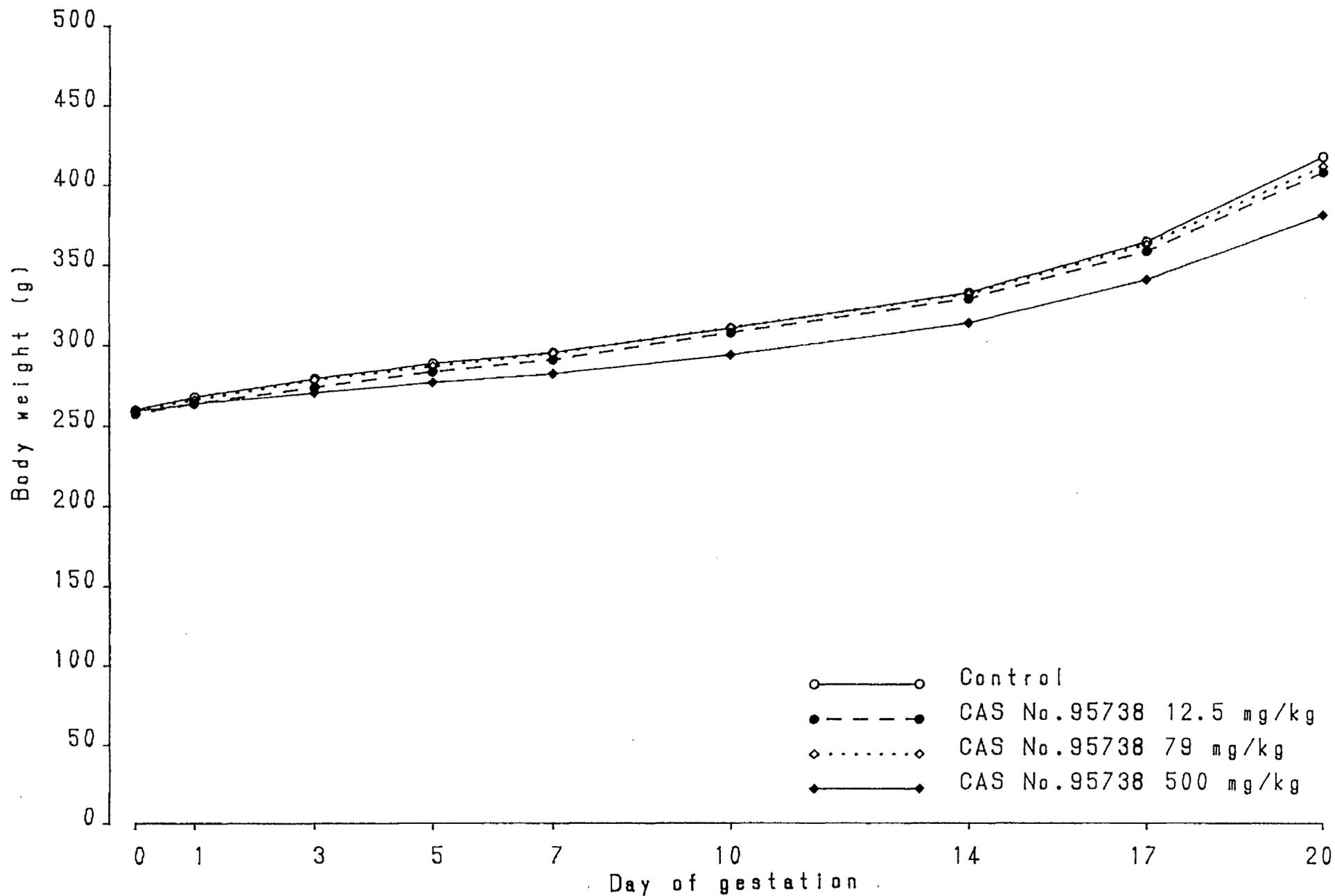


Figure 4. Body weight changes during gestation period of female rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study

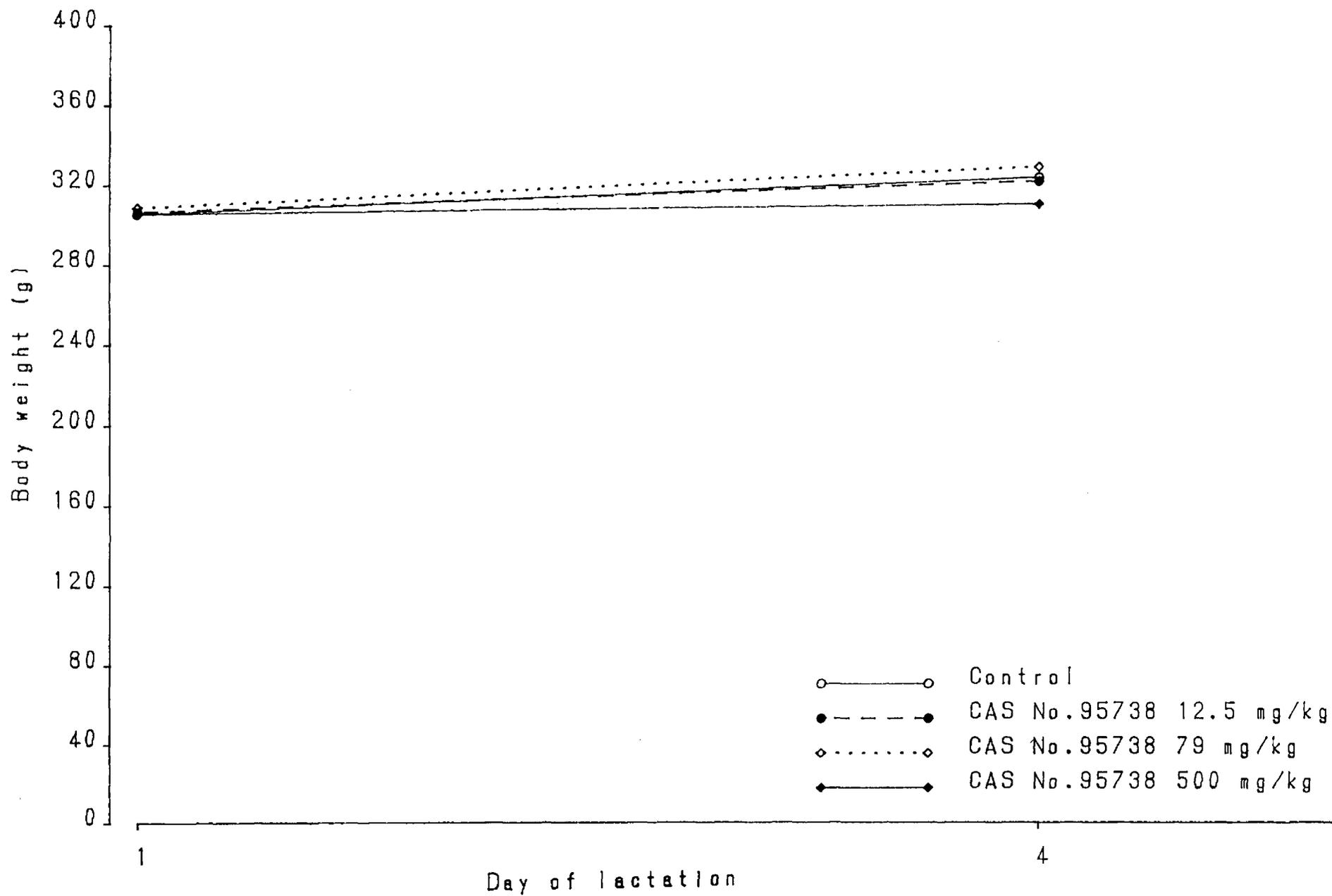


Figure 5. Body weight changes during lactation period of female rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study

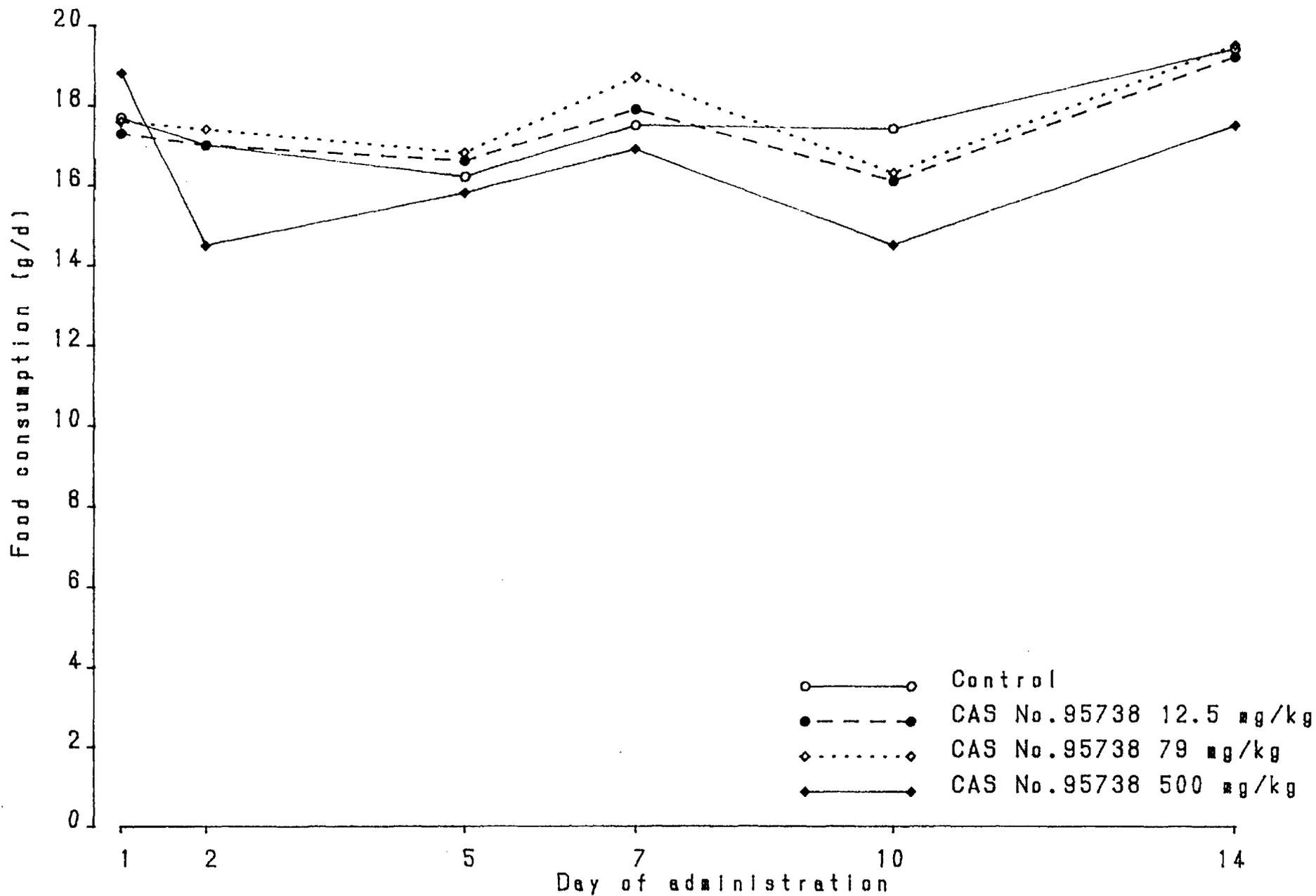


Figure 6. Food consumption before gestation period of female rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study

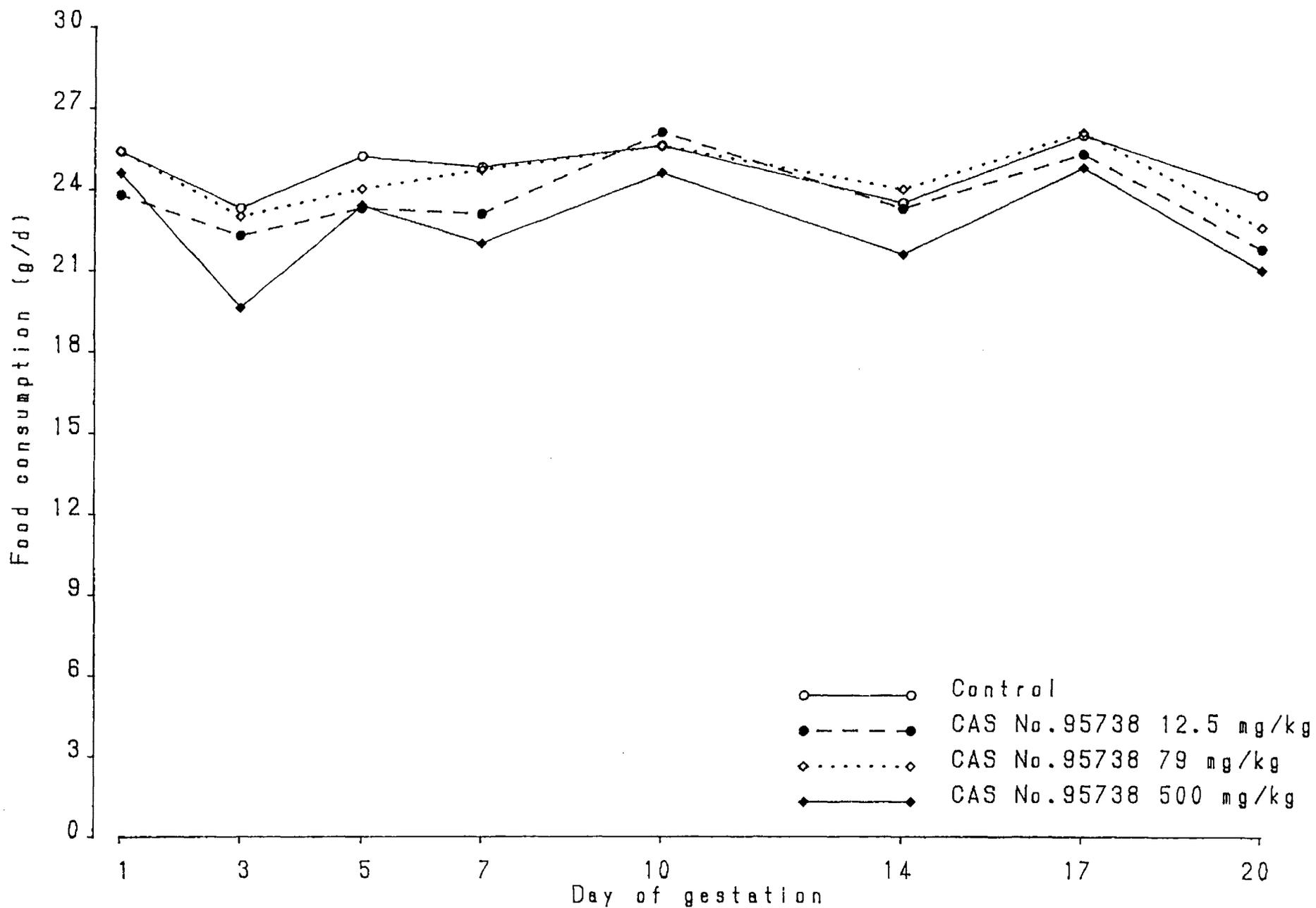


Figure 7. Food consumption during gestation period of female rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study

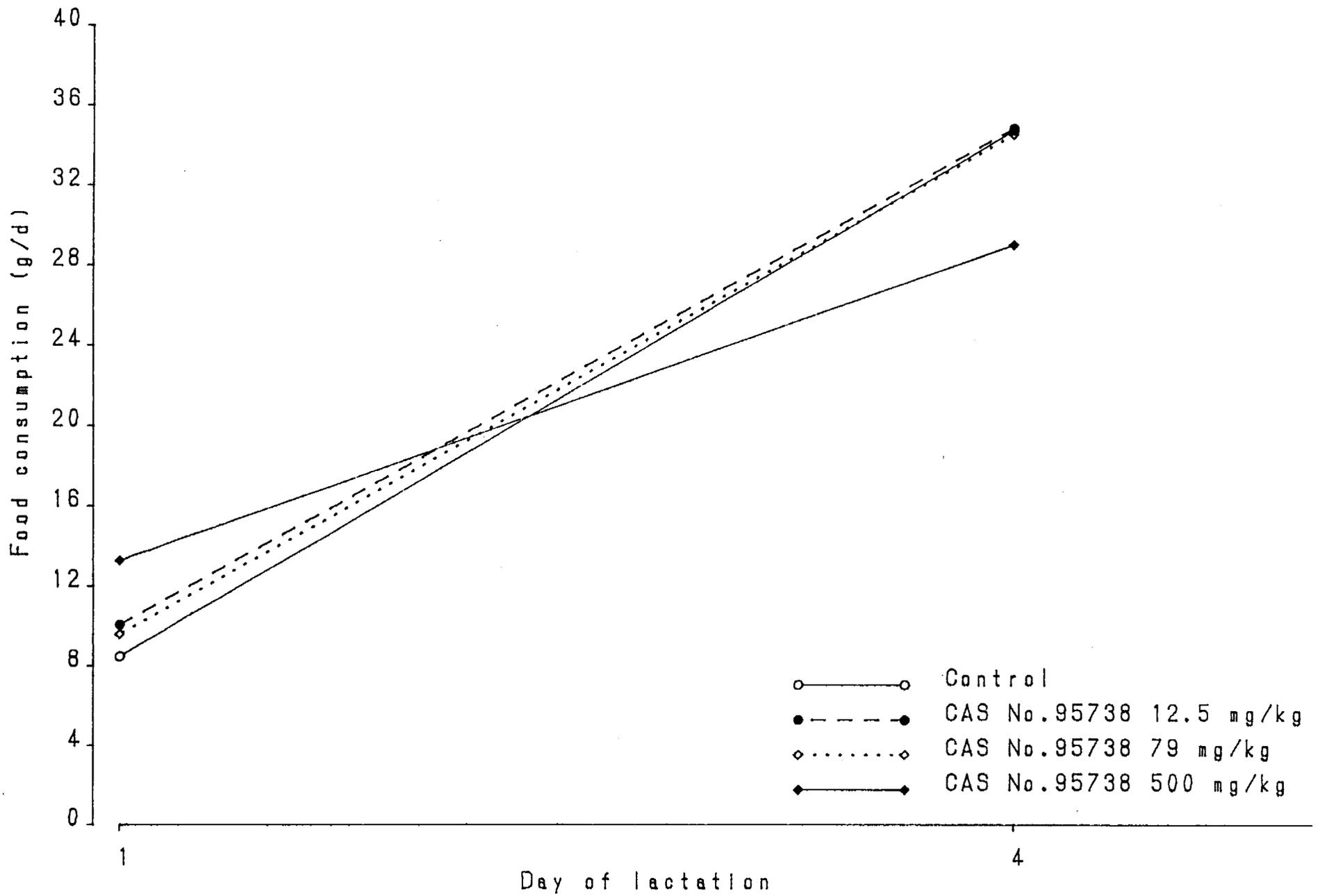


Figure 8. Food consumption during lactation period of female rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study

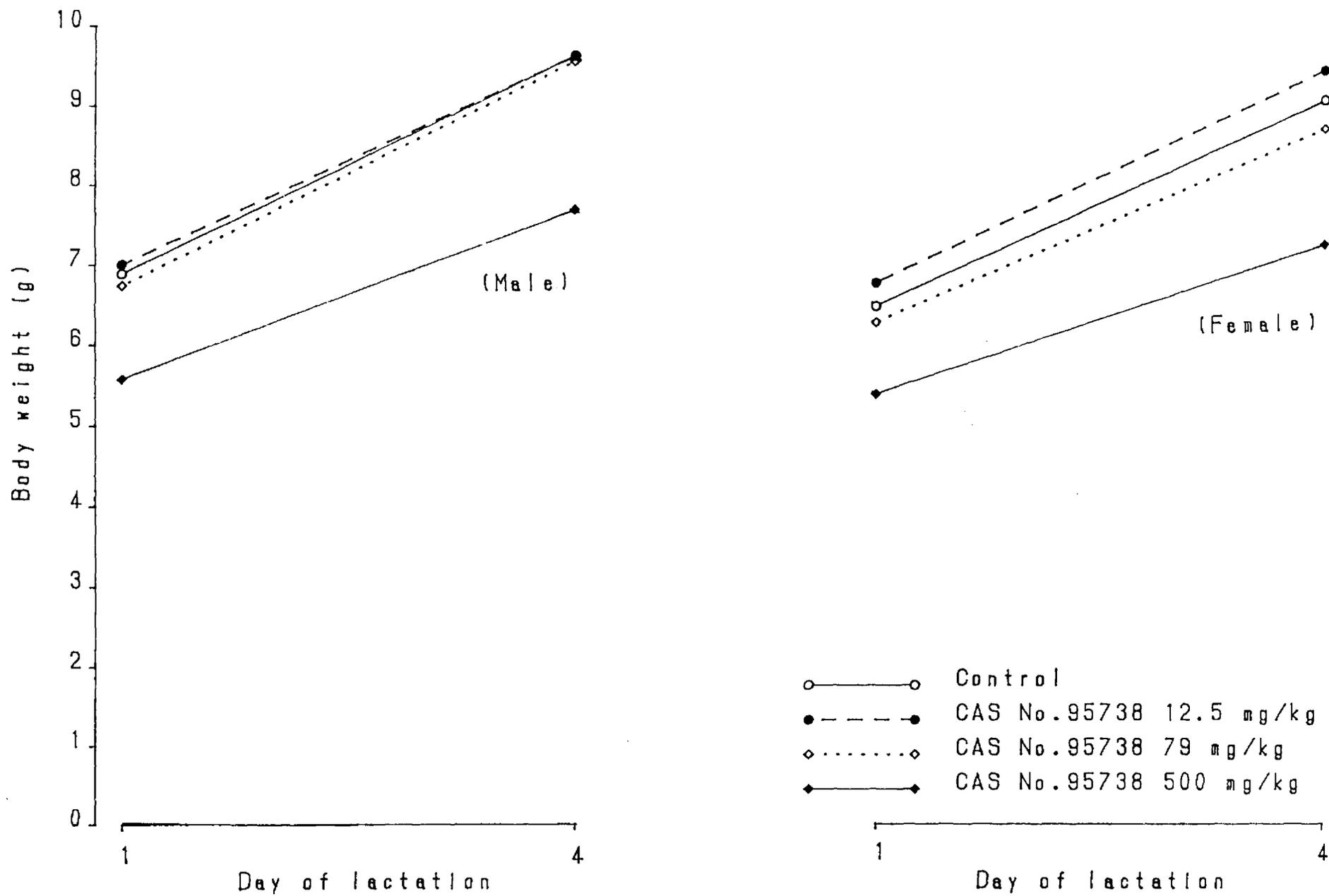


Figure 9. Body weight changes of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study of CAS No.95738 in rats

Table 1. Experimental design for the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study of CAS No.95738 in rats

Group	Concentration of CAS No.95738 (v/v %)	Volume (ml/kg)	No. of animals <sup>a</sup>	
			Male	Female
<sup>b</sup> Control	0	0.400	12	<sup>c</sup> 12
CAS No.95738 12.5 mg/kg	100	0.010	12	12
CAS No.95738 79 mg/kg	100	0.063	12	12
CAS No.95738 500 mg/kg	100	0.400	12	12

a: CAS No.95738 was dosed orally to male rats for 46 days included before mating and mating period, and to female rats from day 14 before mating to day 3 of lactation.

b: Control was purified water.

c: One of 12 animals died on day 13 of administration because of an operation error.

Table 2. General appearance of male rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study

Group	Control	CAS No.95738 (mg/kg)		
		12.5	79	500
No. of animals examined	12	12	12	12
Scab of perinasal region	0 <sup>a</sup>	2	0	0
Stridor	0	1	1	0
Salivation	0	1	4	12
Bloody soiling hair of perigenital region	0	1	0	0
Soiling hair of perigenital region	0	0	0	2
Cutaneous mass on right upper eyelid	0	0	0	1

a: Values are no. of animals with findings.

Table 3. Body weight changes of male rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study

Group	No. of animals	Day of administration											Autopsy day	Body weight gain	
		1	2	5	7	10	14	21	28	35	42	46		Day 1-46	% a
Control	12	b											501.2	142.250	36.638
		386.6 20.1	392.3 19.9	405.2 24.7	414.0 26.3	425.6 30.1	436.5 32.7	464.6 37.2	487.5 39.4	505.7 42.1	520.4 44.9	528.8 46.9			
CAS No.95738 12.5 mg/kg	12	386.3 18.5	392.7 18.9	406.1 22.6	412.1 25.0	424.8 29.4	438.9 30.2	466.2 32.6	492.7 36.5	514.8 37.6	534.0 42.8	540.9 45.0	512.7 43.0	154.583 28.372	39.829 5.689
		388.2 20.5	390.6 18.4	401.0 19.8	403.3 26.6	412.5 31.5	421.8 34.4	447.3 35.7	476.3 36.7	500.0 39.0	522.3 39.7	528.3 39.9	501.1 34.7	140.083 26.593	36.043 6.400
CAS No.95738 500 mg/kg	12	384.8 17.3	375.0 22.6	395.6 20.4	403.7 22.2	415.7 23.9	426.8 25.9	451.1 27.4	476.1 28.0	499.3 29.0	520.0 31.3	527.1 32.9	496.0 29.9	142.250 28.101	37.028 7.354

a: (Body weight gain / body weight on day 1) x 100.

b: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram.

Table 4. Food consumption of male rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study

Group	No. of animals	Day of administration										
		1	2	5	7	10	14	21	28	35	42	46
Control	12	27.9 <sup>a</sup> 3.1	27.2 1.9	27.7 3.0	27.9 3.0	26.8 4.1	27.1 3.5	28.5 3.9	28.0 3.4	27.2 3.5	26.3 3.7	28.5 3.2
CAS No.95738 12.5 mg/kg	12	27.8 2.9	27.4 2.7	27.3 5.1	26.3 2.5	26.8 3.2	28.3 2.1	29.2 2.8	28.0 3.2	28.3 2.7	28.3 4.8	27.3 3.2
CAS No.95738 79 mg/kg	12	28.3 3.1	26.2 3.6	24.8 2.9	24.3 7.1	24.6 4.9	26.1 5.3	(11) <sup>b</sup> 27.9 3.8	27.8 4.3	27.1 3.7	27.7 3.8	27.0 3.9
CAS No.95738 500 mg/kg	12	26.0 2.9	15.8** 4.7	25.5 2.5	26.6 3.1	26.6 3.1	28.7 5.1	(10) 28.8 4.5	28.1 3.4	28.6 2.6	27.7 2.3	29.2 3.2

a: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram/day.

b: Values in parentheses are no. of animals examined.

\*\* : Differs from control,  $p < 0.01$ .

Table 5. Hematological findings of male rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study

Group	No. of animals	RBC 10 <sup>6</sup> /μl	Ht. %	Hb. g/dl	MCV fl	MCH pg	MCHC %	WBC 10 <sup>3</sup> /μl	Plat 10 <sup>3</sup> /μl
Control	12	8.438 <sup>a</sup>	46.45	15.28	55.08	18.05	32.81	12.89	1154.8
		0.300	1.31	0.69	1.41	0.61	0.99	4.06	114.5
CAS No.95738 12.5 mg/kg	12	8.540	48.02	15.50	56.28	18.13	32.26	11.35	1129.3
		0.439	2.02	0.49	1.71	0.65	0.83	1.95	80.4
CAS No.95738 79 mg/kg	12	8.608	47.66	15.50	55.38	17.97	32.48	11.43	1076.4
		0.383	2.26	0.65	1.39	0.55	0.81	3.26	80.0
CAS No.95738 500 mg/kg	12	8.248	46.44	15.17	56.36	18.36	32.62	9.78	1047.9**
		0.265	1.16	0.40	1.58	0.68	0.72	3.39	55.0

(continued)

Table 5. (continued)

Group	No. of animals	Ret %	CT sec.	PT sec.	APTT sec.	Hemogram of WBC						
						Neutro.		Eos. %	Bas. %	Mono. %	Lymp. %	Others %
						Stab. %	Seg. %					
Control	12	14.1	260.3	14.06	28.98	0.1	13.8	0.6	0.0	0.0	85.6	0.0
		2.4	48.4	0.71	1.81	0.3	5.4	0.5	0.0	0.0	5.7	0.0
CAS No.95738 12.5 mg/kg	12	13.5	250.1	14.35	29.99	0.2	14.1	0.3	0.0	0.0	85.4	0.0
		2.7	62.7	1.09	3.16	0.4	4.9	0.7	0.0	0.0	5.1	0.0
CAS No.95738 79 mg/kg	12	13.1	237.6	14.99	31.13	0.1	14.2	0.3	0.0	0.0	85.4	0.0
		2.3	60.1	2.11	3.94	0.3	5.3	0.5	0.0	0.0	5.3	0.0
CAS No.95738 500 mg/kg	12	12.8	242.7	15.61	31.75	0.2	15.2	0.7	0.0	0.0	84.0	0.0
		1.3	52.3	1.94	3.77	0.4	4.4	1.0	0.0	0.0	5.0	0.0

a: Values are means and S.D. thereunder.

\*\* : Differs from control,  $p < 0.01$ .

Table 6. Biochemical findings of male rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study

Group	No. of animals	TP g/dl	Alb g/dl	A/G	Protein fractions (%)				GOT IU/l	GPT IU/l	CHE IU/l	$\gamma$ -GTP IU/l	T-Bil mg/dl	Glu mg/dl	T-Cho mg/dl	
					Alb	Globulin										
					$\alpha_1$	$\alpha_2$	$\beta$	$\gamma$								
Control	12	6.19 <sup>a</sup>	2.37	0.614	46.48	21.85	6.90	16.72	8.03	108.0	28.8	53.8	0.88	0.10	143.8	68.3
		0.21	0.10	0.030	2.55	1.71	0.99	1.11	1.47	22.9	4.8	7.7	0.29	0.00	14.7	13.0
CAS No.95738 12.5 mg/kg	12	6.31	2.42	0.617	47.22	22.75	6.67	16.52	6.85	114.7	30.5	57.0	0.88	0.10	138.4	58.6
		0.13	0.08	0.025	2.11	1.71	0.87	0.71	1.64	14.2	5.2	13.9	0.32	0.00	12.6	10.7
CAS No.95738 79 mg/kg	12	6.28	2.45	0.635	47.57	21.81	7.18	16.48	6.95	107.0	27.8	52.8	0.91	0.10	150.2	62.8
		0.23	0.09	0.035	2.58	1.72	1.76	1.05	1.16	17.4	4.4	24.3	0.23	0.00	15.3	11.6
CAS No.95738 500 mg/kg	12	6.23	2.44	0.642	48.70	19.83*	7.36	16.49	7.63	111.8	33.8	96.9**	0.88	0.10	146.8	76.6
		0.36	0.14	0.032	1.93	2.47	1.10	1.02	2.24	16.9	12.7	41.6	0.30	0.00	22.4	14.1

(continued)

Table 6. (continued)

Group	No. of animals	TG mg/dl	PL mg/dl	BUN mg/dl	Crea mg/dl	Na mEq/l	K mEq/l	Cl mEq/l	Ca mg/dl	P mg/dl
Control	12	57.0	115.1	18.43	0.57	144.13	4.843	106.1	9.52	7.58
		43.3	25.2	1.44	0.09	1.35	0.271	1.2	0.37	0.87
CAS No.95738 12.5 mg/kg	12	48.3	103.3	18.76	0.56	144.79	4.698	107.1	9.36	7.33
		12.6	12.6	1.42	0.07	0.86	0.275	1.6	0.33	0.69
CAS No.95738 79 mg/kg	12	69.3	112.9	19.07	0.59	143.71	4.576	106.7	9.38	7.19
		44.4	19.0	1.65	0.05	1.59	0.273	1.2	0.22	0.61
CAS No.95738 500 mg/kg	12	30.3*	122.1	16.44*	0.52	143.79	4.808	104.8	9.42	6.96
		7.2	17.7	2.13	0.06	1.03	0.263	1.5	0.32	0.63

a: Values are means and S.D. thereunder.

\*: Differs from control,  $p < 0.05$ .

\*\*: Differs from control,  $p < 0.01$ .

Table 7. Influence of CAS No.95738 on reproductive ability of male rats in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study

Group	No. of animals examined	No. of pairs mated	No. of pairs with successful copulation	Days between the starting of mating and copulation	Copulation index % <sup>a</sup>	No. of pregnant animals	Fertility index % <sup>b</sup>
Control	12	<sup>c</sup> 11	11	<sup>d</sup> 1.9±0.9	100.0	11	100.0
CAS No.95738 12.5 mg/kg	12	12	12	2.4±0.9	100.0	12	100.0
CAS No.95738 79 mg/kg	12	12	12	2.8±1.7	100.0	12	100.0
CAS No.95738 500 mg/kg	12	12	12	2.2±2.0	100.0	5	41.7**

a: (No. of pairs with successful copulation / no. of pairs mated) x 100.

b: (No. of pregnant animals / no. of pairs with successful copulation) x 100.

c: Excludes one pair made no examination because the preassigned mate died.

d: Values are means and S.D., and expressed in day.

\*\* : Differs from control, p<0.01.

Table 8. Absolute and relative organ weights of male rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study

Group	No. of animals	Body weight g	Thymus		Liver		Kidney				Adrenal			
			mg	10 <sup>-3</sup> %	g	%	Right		Left		Right		Left	
							g	%	g	%	mg	10 <sup>-3</sup> %	mg	10 <sup>-3</sup> %
Control	12	501.2 <sup>a</sup>	317.3	63.388	13.584	2.706	1.691	0.339	1.665	0.333	27.4	5.497	29.4	5.921
		43.9	59.9	11.305	1.612	0.130	0.190	0.038	0.192	0.036	3.8	0.822	4.4	1.076
CAS No.95738 12.5 mg/kg	12	512.7	371.9	73.134	13.569	2.651	1.736	0.338	1.715	0.333	26.4	5.182	28.6	5.595
		43.0	64.0	14.830	1.305	0.181	0.223	0.028	0.229	0.030	2.9	0.689	3.9	0.799
CAS No.95738 79 mg/kg	12	501.1	314.8	63.133	14.354	2.856	1.793	0.358	1.746	0.349	25.8	5.158	27.6	5.512
		34.7	65.2	13.639	1.879	0.226	0.219	0.034	0.254	0.041	4.6	0.965	5.4	1.047
CAS No.95738 500 mg/kg	12	496.0	315.1	63.698	16.104**	3.243**	1.973**	0.398**	1.948**	0.395**	27.4	5.556	29.5	5.968
		29.9	47.2	10.242	1.954	0.292	0.196	0.038	0.173	0.037	4.2	0.971	3.5	0.798

(continued)

Table 8. (continued)

Group	No. of animals	Testis				Epididymis			
		Right		Left		Right		Left	
		g	%	g	%	g	%	g	%
Control	12	1.668 0.086	0.335 0.040	1.658 0.116	0.334 0.044	0.612 0.038	0.123 0.014	0.603 0.054	0.122 0.016
CAS No.95738 12.5 mg/kg	12	1.708 0.118	0.333 0.017	1.668 0.106	0.327 0.019	0.602 0.053	0.118 0.008	0.586 0.046	0.115 0.010
CAS No.95738 79 mg/kg	12	1.622 0.149	0.326 0.034	1.607 0.153	0.322 0.034	0.593 0.042	0.118 0.011	0.585 0.041	0.118 0.011
CAS No.95738 500 mg/kg	12	1.628 0.102	0.329 0.022	1.603 0.105	0.323 0.021	0.594 0.024	0.121 0.007	0.574 0.028	0.118 0.006

a: Values are means and S.D. thereunder.

\*: Differs from control,  $p < 0.05$ .

\*\* : Differs from control,  $p < 0.01$ .

Table 9. Gross findings of male rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study

Group	Control	CAS No.95738 (mg/kg)		
		12.5	79	500
No. of animals examined	12	12	12	12
Liver : Dark brown discoloration of all lobes	<sup>a</sup> 0	0	0	9
Soiling hair of perigenital region	0	0	0	2
Upper eyelid (right) : Cutaneous mass	0	0	0	1

a: Values are no. of animals with findings.

Table 10. Histopathological findings of male rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study

Group	a Grade	CAS No.95738 (mg/kg)			
		Control	12.5	79	500
No. of animals examined		12	12	12	12
Liver : Centrilobular swelling of hepatocytes	+	0 <sup>b</sup>	0	2	12
Kidney (right/left) : Hyaline droplet deposition in tubular epithelium	+	5	3	10	12
Eosinophilic body deposition in tubular epithelium	+	5	3	10	12
Hyaline cast	+	2	0	0	1
Granular cast	+	0	0	1	2
Dilation of tubules	+	0	0	1	2
Atrophy of tubular epithelium	+	0	0	1	2
Regeneration of tubular epithelium	+	0	0	0	1
	++	0	0	1	1
Heart : Zonal infiltration of cells, mainly lymphocytes in periepicardial region	+	1	0	0	0
Zonal infiltration of cells, mainly histiocytic cells in periepicardial region	+	0	0	0	1
Focal infiltration of cells, mainly histiocytic cells	+	1	1	1	2
Lung : Calcium deposition in blood-vessel wall	+	2	3	0	2
Ossifying calcification in alveoli	+	1	0	1	1
Pituitary gland : Ciliated epithelial cyst	+	3	1	1	0
Prostate : Prostatitis	+	2	0	1	2
Upper eyelid (right) : Abscess with proliferation of histiocytes in dermis	+	# <sup>c</sup>	#	#	1(1) <sup>d</sup>

There were no abnormal findings in the spleen, cerebrum, cerebellum, thymus, thyroids, adrenals, sternum and femur (bone marrow), testes or epididymides.

a: + = slight and ++ = moderate changes.

b: Values are no. of animals with findings.

c: # = not examined.

d: Values in parentheses are no. of animals examined.

Table 11. General appearance of female rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study

Group	Control	CAS No.95738 (mg/kg)		
		12.5	79	500
<b>&lt;Before gestation period&gt;</b>				
No. of animals examined	12	12	12	12
	a,b			
Clonic convulsion, death	1	0	0	0
Salivation	0	1	2	12
Stridor	0	0	0	1
Soiling hair of perigenital region	1	0	0	2
Fracture of left upper incisor	0	0	0	1
<b>&lt;Gestation period&gt;</b>				
No. of animals examined	11	12	12	11 <sup>c</sup>
Salivation	0	0	0	11
Stridor	0	0	0	1
Soiling hair of perigenital region	0	0	0	1
Fracture of left upper incisor	0	0	0	1
<b>&lt;Lactation period&gt;</b>				
No. of animals examined	11	12	12	5
Salivation	0	0	0	5
Scab of right nasal region	1	0	0	0

a: Values are no. of animals with findings.

b: Judged death because of an operation error by the autopsy findings.

c: Excludes one animal because of error in confirming successful copulation.

Table 12. Body weight changes before gestation period of female rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study

Group	No. of animals	Day of administration							Body weight gain	
		1	2	5	7	10	14	21	Day 1-14	% a
Control	12	b					(11)c		(11)	(11)
		231.3	233.8	237.8	241.2	245.0	255.0	-	21.273	9.147
		15.6	12.8	17.3	16.5	19.3	19.1		13.907	6.033
CAS No.95738 12.5 mg/kg	12	229.3	231.8	235.3	240.6	241.2	250.4	-	21.083	9.237
		9.0	9.5	10.0	11.7	12.4	13.3		11.253	5.063
CAS No.95738 79 mg/kg	12	230.3	234.1	237.3	242.5	244.8	252.5	(1)	22.250	9.708
		9.7	10.6	9.8	9.7	9.8	10.3		6.982	3.015
CAS No.95738 500 mg/kg	12	231.5	231.0	237.1	242.4	244.6	248.7	(1)	17.167	7.452
		13.3	14.8	14.9	14.8	16.3	17.7		12.187	5.161

a: (Body weight gain / body weight on day 1) x 100.

b: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram.

c: Values in parentheses are no. of animals examined.

Table 13. Body weight changes during gestation period of female rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study

Group	No. of animals	Day of gestation									Body weight gain	
		0	1	3	5	7	10	14	17	20	Day 0-20	% a
Control	11	b										
		260.0	268.1	279.4	288.8	295.5	310.5	332.5	364.5	417.6	157.636	60.959
		19.6	19.9	18.3	21.0	21.3	23.0	24.8	25.1	28.7	20.844	8.991
CAS No.95738 12.5 mg/kg	12	257.8	264.3	274.3	283.8	291.0	307.7	328.9	358.6	407.9	150.083	58.253
		15.2	15.6	14.9	17.2	18.8	21.8	23.8	25.6	27.6	17.962	6.482
CAS No.95738 79 mg/kg	12	260.5	266.4	278.9	287.3	295.1	310.8	331.8	362.7	411.4	150.917	57.993
		13.9	14.6	13.1	14.5	16.1	17.1	18.1	23.2	28.6	21.973	8.260
CAS No.95738 500 mg/kg	5	259.6	264.0	270.8	277.2	282.4	294.2	313.8	340.8	381.0	121.400*	46.694**
		22.1	23.2	24.2	25.7	26.7	25.1	31.0	37.0	46.1	31.926	10.895

a: (Body weight gain / body weight on day 0) x 100.

b: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram.

\*: Differs from control, p<0.05.

\*\* : Differs from control, p<0.01.

Table 14. Body weight changes during lactation period of female rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study

Group	No. of animals	Day of lactation		Body weight gain	
		1	4	Day 1-4	% a
Control	11	b		18.000	6.002
		305.7	323.7	8.307	2.947
CAS No.95738 12.5 mg/kg	12	306.8	321.7	14.917	4.916
		17.1	18.9	12.258	4.076
CAS No.95738 79 mg/kg	12	308.9	329.0	20.083	6.678
		20.0	13.5	10.122	3.609
CAS No.95738 500 mg/kg	5	305.8	310.2	4.400*	1.486
		35.6	35.2	6.656	2.373

a: (Body weight gain / body weight on day 1) x 100.

b: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram.

\*: Differs from control, p<0.05.

Table 15. Food consumption before gestation period of female rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study

Group	No. of animals	Day of administration					
		1	2	5	7	10	14
Control	12	a (11)		(11)			(11)
		17.7 b	17.0	16.2	17.5	17.4	19.4
CAS No.95738 12.5 mg/kg	12	3.5	2.4	3.6	2.5	3.2	2.9
		(11)	(11)	(10)		(11)	(11)
CAS No.95738 79 mg/kg	12	17.3	17.0	16.6	17.9	16.1	19.2
		1.8	1.8	1.8	1.9	2.3	3.0
CAS No.95738 500 mg/kg	12	(10)	(11)		(11)		(11)
		17.6	17.4	16.8	18.7	16.3	19.5
CAS No.95738 500 mg/kg	12	2.4	2.2	2.8	3.4	2.0	1.3
		(11)		(11)			(11)
CAS No.95738 500 mg/kg	12	18.8	14.5	15.8	16.9	14.5*	17.5
		3.4	3.3	1.4	1.6	2.3	3.3

a: Values in parentheses are no. of animals examined.

b: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram/day.

\*: Differs from control,  $p < 0.05$ .

Table 16. Food consumption during gestation period of female rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study

Group	No. of animals	Day of gestation							
		1	3	5	7	10	14	17	20
Control	11	25.4 <sup>a</sup>	23.3	25.2	24.8	25.6	23.5	26.0	23.8
		4.0	2.1	2.7	4.1	4.3	3.4	2.9	3.0
CAS No.95738 12.5 mg/kg	12	23.8	22.3	23.3	23.1	26.1	23.3	25.3	21.8
		1.9	2.0	4.0	4.5	4.7	3.5	3.1	4.1
CAS No.95738 79 mg/kg	12		(11) <sup>b</sup>	(11)	(11)				
		25.4	23.0	24.0	24.7	25.6	24.0	26.1	22.6
		2.9	2.1	2.8	3.0	2.7	2.2	2.4	3.1
CAS No.95738 500 mg/kg	5	24.6	19.6*	23.4	22.0	24.6	21.6	24.8	21.0
		2.9	3.2	4.7	5.5	4.0	5.0	3.5	6.8

a: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram/day.

b: Values in parentheses are no. of animals examined.

\*: Differs from control,  $p < 0.05$ .

Table 17. Food consumption during lactation period of female rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study

Group	No. of animals	Day of Lactation	
		1	4
Control	11	a	(9)b
		8.5	34.7
CAS No.95738 12.5 mg/kg	12	3.9	4.3
			(11)
CAS No.95738 12.5 mg/kg	12	10.1	34.8
		4.7	9.6
CAS No.95738 79 mg/kg	12		(11)
		9.6	34.5
CAS No.95738 79 mg/kg	12	3.0	5.1
			(11)
CAS No.95738 500 mg/kg	4	13.3	29.0
		4.0	1.6

a: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram/day.

b: Values in parentheses are no. of animals examined.

Table 18. Influence of CAS No.95738 on reproductive ability of female rats in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study

Group	No. of animals examined	Estrous cycle								No. of pairs mated	No. of pairs with successful copulation	Days between the starting of mating and copulation	Copulation index % <sup>a</sup>	No. of pregnant animals	Fertility index % <sup>b</sup>
		Before treatment				Treatment									
		Normal	Abnormal			Normal	Abnormal								
			Total	Continuous diestrus	Irregular		Total	Continuous diestrus	Irregular						
Control	12	11	1	-	1	11	1	-	1	11 <sup>c</sup>	11	1.9±0.9 <sup>d</sup>	100.0	11	100.0
CAS No.95738 12.5 mg/kg	12	12	0	-	-	12	0	-	-	12	12	2.4±0.9	100.0	12	100.0
CAS No.95738 79 mg/kg	12	11	1	-	1	12	0	-	-	12	12	2.8±1.7	100.0	12	100.0
CAS No.95738 500 mg/kg	12	12	0	-	-	10	2	2	-	12	12	2.2±2.0	100.0	5	41.7**

a: (No. of pairs with successful copulation / no. of pairs mated) x 100.  
 b: (No. of pregnant animals / no. of pairs with successful copulation) x 100.  
 c: Excludes one pair made no examination because the female died.  
 d: Values are means and S.D., and expressed in day.  
 \*\*: Differs from control, p<0.01.

Table 19. Absolute and relative organ weights of female rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study

Group	No. of animals	Body weight g	Thymus		Liver		Kidney				Adrenal				Ovary			
			mg	10 <sup>-3</sup> %	g	%	Right		Left		Right		Left		Right		Left	
							g	%	g	%	mg	10 <sup>-3</sup> %	mg	10 <sup>-3</sup> %	mg	10 <sup>-3</sup> %	mg	10 <sup>-3</sup> %
Control	11	323.7 <sup>a</sup>	193.2	59.197	13.357	4.133	1.151	0.355	1.105	0.343	34.0	10.545	36.7	11.385	53.4	16.486	53.4	16.484
		21.4	57.5	14.922	1.428	0.414	0.096	0.025	0.070	0.026	4.8	1.653	4.5	1.495	10.2	2.967	10.7	3.074
CAS No.95738 12.5 mg/kg	12	321.7	194.3	60.506	13.136	4.081	1.041*	0.325*	1.049	0.328	34.8	10.828	36.1	11.239	51.5	16.003	52.3	16.291
		18.9	40.2	12.620	1.448	0.338	0.112	0.032	0.107	0.030	5.3	1.686	5.4	1.678	9.5	2.817	9.6	3.077
CAS No.95738 79 mg/kg	12	329.0	195.9	59.517	13.832	4.202	1.090	0.333	1.090	0.333	35.0	10.673	37.5	11.439	55.8	16.967	48.6	14.788
		13.5	26.7	7.266	1.265	0.294	0.062	0.017	0.067	0.022	4.0	1.436	4.6	1.662	11.6	3.612	6.4	2.034
CAS No.95738 500 mg/kg	5	310.2	222.2	71.384	15.106	4.870**	1.074	0.346	1.072	0.344	32.2	10.342	36.0	11.582	47.8	15.626	51.4	16.570
		35.2	35.2	4.363	1.869	0.198	0.141	0.015	0.151	0.018	6.3	1.148	5.7	0.834	10.1	4.003	12.6	3.634

a: Values are means and S.D. thereunder.

\*: Differs from control, p<0.05.

\*\* : Differs from control, p<0.01.

Table 20. Gross findings of female rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study

Group	Control	CAS No.95738 (mg/kg)		
		12.5	79	500
No. of animals examined	a 11	12	12	b 11
Uterus : Dilation of cavity	c 0	0	0	d 1
Skin of right nasal region : Scab	1	0	0	0
Liver : Yellowish white patches on lateral left lobe	0	0	1	0

a: Excludes one dead animal because of an operation error.

b: Excludes one animal because of error in confirming successful copulation.

c: Values are no. of animals with findings.

d: Observed in non-pregnant animal.

Table 21. Histopathological findings of female rats dosed orally with CAS No.95738 in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study

Group	Grade <sup>a</sup>	CAS No.95738 (mg/kg)			
		Control	12.5	79	500
No. of animals examined		b 11	12	12	c 11
Liver : Focal atrophy of hepatocytes in subcapsular region	+	d 0	0	1	0
Kidney (right/left) : Dilatation of tubules	+	0	0	0	1
Atrophy of tubular epithelium	+	0	0	0	1
Regeneration of tubular epithelium	+	0	0	0	1
Calcium deposition in renal pelvic mucosa	+	0	2	2	0
Calcium deposition in corticomedullary junction	+	1	2	0	0
Calculus in renal pelvis	+	0	1	0	1
Lung : Calcium deposition in blood-vessel wall	+	1	2	2	2
Ossifying calcification in alveoli	+	0	0	2	0
Focal congestion	+	1	3	0	0
Granuloma	+	1	0	0	1
Peribronchial infiltration of cells, mainly neutrophils	+	2	0	0	1
Proliferation of foam cells in alveoli	+	1	0	0	1
Uterus : Endometritis	+	#e	#	#	1(1)fg
Cervicitis	+	#	#	#	1(1)g
Ovary (left) : Follicular cyst	+	1	0	0	0
Skin of right nasal region : Ulcer	++	1(1)	#	#	#
Thickening of epidermis	+	1(1)	#	#	#
Scab formation	+	1(1)	#	#	#

There were no abnormal findings in the spleen, heart, cerebrum, cerebellum, pituitary gland, thymus, thyroids, adrenals, sternum and femur (bone marrow) or right ovary.

a: + = slight change.    b: Excludes one dead animal because of an operation error.    c: Excludes one animal because of error in confirming successful copulation.  
d: Values are no. of animals with findings.    e: # = not examined.    f: Values in parentheses are no. of animals examined.    g: Observed in non-pregnant animal.

Table 22. Influence of CAS No.95738 on delivery and maternal behavior in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study in rats

Group		No. of pregnant females	No. of corpora lutea	No. of implantation sites	Implantation index % <sup>a</sup>	No. of pups born	Delivery index % <sup>b</sup>	Live pups born				Dead pups born			Gestation length day	Gestation index % <sup>e</sup>	Nursing index % <sup>f</sup>	
								No.	Live birth index % <sup>c</sup>	Sex ratio <sup>d</sup>	Male	Female	No.	Male				Female
Control	Total	11	201	182		174	169				85	84	5	1	4			
	Mean		18.3	16.5	90.931	15.8	96.146	15.4	97.007	1.139	7.7	7.6	0.5	0.3	1.0	21.5	100.0	100.0
	S.D.		2.9	2.7	11.421	2.4	7.503	2.6	4.552	0.568	2.1	2.3	0.7	0.5	0.0	0.5		
CAS No.95738 12.5 mg/kg	Total	12	218	181		173	167				89	78	6	3	3			
	Mean		18.2	15.1	84.663	14.4	95.439	13.9	96.508	1.369	7.4	6.5	0.5	0.6	0.6	21.7	100.0	100.0
	S.D.		3.7	1.8	11.390	2.0	4.475	2.1	4.557	1.038	2.4	1.9	0.7	0.5	0.5	0.5		
CAS No.95738 79 mg/kg	Total	12	212	189		181	180				95	85	1	0	1			
	Mean		17.7	15.8	89.234	15.1	95.299	15.0	99.479	1.386	7.9	7.1	0.1	0.0	1.0	21.7	100.0	100.0
	S.D.		2.8	3.0	13.433	3.2	3.936	3.2	1.804	1.035	3.0	2.8	0.3			0.5		
CAS No.95738 500 mg/kg	Total	5	88	74		66	65				35	30	1	0	1			
	Mean		17.6	14.8	85.574	13.2	88.984	13.0	98.572	1.224	7.0	6.0	0.2	0.0	1.0	21.0	100.0	100.0
	S.D.		2.1	1.8	17.478	2.2	7.456	2.1	3.193	0.308	0.7	1.6	0.4			0.0		

a: (No. of implantation sites / no. of corpora lutea) x 100, using the litter as a unit of treatment.

b: (No. of pups born / no. of implantation sites) x 100, expressed in the same way as above.

c: (No. of live pups born / no. of pups born) x 100, expressed in the same way as above.

d: (No. of female pups / no. of male pups), expressed in the same way as above.

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

f: (No. of females with normal nursing / no. of females with complete delivery) x 100.

Table 23. Influence of CAS No.95738 on viability of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study in rats

Group	No. of live pups born	Live pups on day 4	
		No.	Viability index <sup>a</sup> %
Control	169	164	
	15.4	14.9	97.309
	2.6	2.3	3.109
CAS No.95738 12.5 mg/kg	167	164	
	13.9	13.7	98.166
	2.1	2.1	3.382
CAS No.95738 79 mg/kg	180	179	
	15.0	14.9	98.809
	3.2	3.4	4.125
CAS No.95738 500 mg/kg	65	63	
	13.0	12.6	97.212
	2.1	1.8	3.851

a: (No. of live pups on day 4 / no. of live pups born) x 100, using the litter as a unit of treatment.

Table 24. General appearance of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study of CAS No.95738 in rats

Group	Male				Female			
	Control	CAS No.95738 (mg/kg)			Control	CAS No.95738 (mg/kg)		
		12.5	79	500		12.5	79	500
No. of animals examined	<sup>a</sup> 85	89	95	35	84	78	85	30
<sup>b</sup> Death	<sup>c</sup> 2	2	0	2	3	1	1	0
Injury and scab of right dorsal region	1	0	0	0	0	0	0	0
Dark purple discoloration of skin and distention of abdominal region	1	0	0	0	0	0	0	0
Defect of tail tip	0	0	0	0	0	0	1	0

a: Values are no. of live animals at birth.  
b: Includes missing.  
c: Values are no. of animals with findings.

Table 25. Body weight changes of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study of CAS No.95738 in rats

Group	No. of litters	Male				Female			
		Day of lactation		Body weight gain		Day of lactation		Body weight gain	
		1	4	Day 1-4	% a	1	4	Day 1-4	%
Control	11	b							
		6.89	9.62	2.727	39.308	6.47	9.05	2.573	39.389
CAS No.95738 12.5 mg/kg	12	0.74	1.30	0.651	6.647	0.73	1.33	0.666	7.044
		7.01	9.61	2.600	36.823	6.76	9.42	2.658	39.306
CAS No.95738 79 mg/kg	12	0.66	1.16	0.566	5.884	0.57	0.89	0.419	4.631
		6.74	9.55	2.808	41.827	6.27	8.69	2.425	38.822
CAS No.95738 500 mg/kg	5	0.57	0.90	0.623	9.143	0.55	0.84	0.508	7.925
		5.58**	7.68**	2.100	37.462	5.38**	7.24**	1.860*	34.546
		0.27	0.63	0.367	4.835	0.36	0.55	0.261	4.140

a: (Body weight gain / body weight on day 1) x 100.

b: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram, using the litter as a unit of treatment.

\*: Differs from control, p<0.05.

\*\* : Differs from control, p<0.01.

Table 26. Gross findings of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity study of CAS No.95738 in rats

Group	Male				Female			
	Control	CAS No.95738 (mg/kg)			Control	CAS No.95738 (mg/kg)		
		12.5	79	500		12.5	79	500
No. of dead animals <sup>a</sup>	2	4	0	0	4	4	1	1
Abnormal findings	0	0	-	-	0	0	0	0
No. of animals killed on day 4 of lactation	83	87	95	33	81	77	84	30
Skin of right dorsal region : Scab	1	0	0	0	0	0	0	0
Liver : Yellowish white patch of quadrate lobe	1	0	0	0	0	0	0	0
Skin of abdominal region : Dark purple discoloration	1	0	0	0	0	0	0	0
Subcutaneous tissue of abdominal region : Dark red patch	1	0	0	0	0	0	0	0
Tail tip : Defect	0	0	0	0	0	0	1	0

a: Excludes missing.

b: Values are no. of animals with findings.