

2-ブタノン=オキシムのラットを用いる経口投与簡易生殖毒性試験

試験番号：3208（115-075）

目 次

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

Figures, Tables and Reference data

Figure 1	Body weight change of male rats
Figure 2	Body weight change of female rats
Figure 3	Food consumption of male rats
Figure 4	Food consumption of female rats
Table 1-1	Clinical observations in male rats
Table 1-2	Clinical observations in female rats (Before and during mating period)
Table 1-3	Clinical observations in female rats (Gestation period)
Table 1-4	Clinical observations in female rats (Lactation period)
Table 2-1	Body weight change of male rats
Table 2-2	Body weight change of female rats
Table 3-1	Food consumption of male rats
Table 3-2	Food consumption of female rats
Table 4-1	Absolute and relative organ weight of male rats
Table 4-2	Absolute and relative organ weight of female rats
Table 5-1	Summary of gross findings (successful pregnancy, male)
Table 5-2	Summary of gross findings (day 4 of lactation)
Table 5-3	Summary of gross findings (not copulation, male)
Table 5-4	Summary of gross findings (not copulation, female)
Table 6-1-1	Summary of histological findings (successful pregnancy, male)

Table 6-1-2	Summary of histological findings (successful pregnancy, male)
Table 6-2-1	Summary of histological findinds (day 4 of lactation)
Table 6-2-2	Summary of histological findinds (day 4 of lactation)
Table 6-3	Summary of histological findings (not copulation, male)
Table 6-4	Summary of histological findings (not copulation, female)
Table 6-5	Summary of histological findings (non-pregnancy, male)
Table 6-6	Summary of histological findings (non-pregnancy, female)
Table 7	Copulation and fertility results in rats
Table 8	Findings of delivery in dams(F0)
Table 9	External observations on live pups(F1) from rats
Table 10	Body weight change of pups(F1) from rats
Table 11-1	Summary of gross findings of pups(F1) from rats (sacrificed, male)
Table 11-2	Summary of gross findings of pups(F1) from rats (sacrificed, female)

1. 要 約 :

既存化学物質の毒性学的性質を評価するため、2-ブタノン=オキシムの0（溶媒対照群）、10、30 および 100 mg/kg/dayをラットの交配前14日から交配期間、妊娠期間および哺育3日まで連続経口投与し、生殖・発生に及ぼす影響を検討した。

1) 親動物（F0）に及ぼす影響

投与期間を通じて死亡例は認められなかった。一般状態、体重および摂餌量には雌雄ともに被験物質投与による影響は認められなかった。

器官重量では、雌雄の30 および 100 mg/kg群で脾臓の実重量および相対重量が高値を示した。さらに、雄の100 mg/kg群で肝臓の実重量および相対重量が高値を示し、雌の100 mg/kg群で心臓の実重量が高値傾向、相対重量が高値を示した。剖検では、30 および 100 mg/kg群の雌雄に脾臓の黒色化および肥大が観察された。病理組織学検査では、雌雄の10 mg/kg以上の投与群で脾臓のうっ血、色素沈着、髓外造血、肝臓の糖質沈着、クッパー細胞の色素沈着、髓外造血、腎臓の褐色色素沈着の発生数あるいは程度の増強が認められた。

2) 生殖能に及ぼす影響

交尾能、受胎能および性周期に被験物質投与の影響は認められなかった。100 mg/kg群の分娩率が低値を示した。

3) 新生児に及ぼす影響

新生児の外表検査には被験物質投与によると考えられる異常はなく、体重にも群間差は認められなかった。死亡児および哺育4日の剖検では被験物質投与によると考えられる異常所見は観察されなかった。

以上の結果から、本試験条件下における2-ブタノン=オキシムの親動物に対する無影響量は雌雄とも10 mg/kg/day未満と判断された。雄の生殖に及ぼす影響は100 mg/kg/day投与でも認められず、無影響量は100 mg/kg/dayと判断された。雌の生殖に及ぼす影響は100 mg/kg/day投与で分娩率が低値を示したことから、無影響量は30 mg/kg/dayと判断された。児動物の発生・発育に及ぼす影響は100 mg/kg/day投与によっても認められず、無影響量は100 mg/kg/dayと判断された。

2. 緒 言 :

2-ブタノン=オキシム (2-Butanone oxime) は塗料の皮張り防止剤, シリコン樹脂の硬化剤およびウレタンのブロッキング剤として使用される化合物である. 本化合物の急性あるいは亜急性毒性に関する情報は若干あるものの¹⁾, 生殖毒性に関する報告はない. 今回, OECDによる既存化学物質の安全性点検に係わる毒性調査事業の一環として, 2-ブタノン=オキシムの親ラットの生殖能力および次世代児の発生・発育に及ぼす影響について検討したのでその結果を報告する.

3. 試 験 題 目 : 2-ブタノン=オキシムのラットを用いる経口投与簡易生殖毒性試験

4. 試 験 目 的 : 既存化学物質の毒性学的性質を評価する一環として行うOECDガイドライン「経口投与簡易生殖毒性試験」(1990年3月22日)に従い、ラットを用いて生殖・発生に及ぼす影響を検討した。
なお、試験の実施は環企研第233号、衛生第38号、63基局第823号(昭和63年11月18日)の「新規化学物質に係る試験及び指定化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める命令第4条に規定する試験施設について」の基準を満たすものとした。

5. 試 験 番 号 : 3 2 0 8 (115-075)

10. 試験材料および方法：

1) 被験物質

2-ブタノン=オキシム (2-Butanone oxime, 別名メチルエチルケトンオキシム, CAS No. 96-29-7, Lot.No. 純度 99.99wt%, 分子量 87.12, 凝固点 -17°C , 沸点 152°C) は透明な液体であり, 使用時まで室温, 遮光下で密栓して保管した. 2-ブタノン=オキシムを実測した結果は, Reference data 2 に示した.

被験物質は, 注射用蒸留水 (Lot. No. 5K84N, 6I88N 株式会社 大塚製薬工場製造) に溶解し, 1, 3 および 10 mg/ml の濃度になるよう各群の投与液を調製した. 調製後は, 使用時まで冷暗条件下で密閉保管した. 投与液中の被験物質の安定性試験は株式会社 帝人バイオ・ラボラトリーズ (東京都羽村市) で実施した. その結果, 1 mg/ml 溶液の場合, 冷暗条件下で少なくとも 1 週間安定であることが確認されたため (Reference data 3), 調製は 1 週間に 1 回以上の頻度で行い, 調製後 7 日以内に使用した.

投与液の濃度分析は, 調製開始時に調製したすべての試験群の投与液についてそれぞれ 5 ml を分取し, 冷蔵下にて 株式会社 帝人バイオ・ラボラトリーズ (東京都羽村市) に送付し, 実施した. その結果, 表示濃度に対する誤差が $-11.60\sim-0.18\%$ の範囲で 1 mg/ml 溶液 (10 mg/kg 群の投与液) が基準範囲 ($\pm 10\%$ 以内) から逸脱していたため, 再度同群の投与液のみ調製して同様に送付し, 濃度分析を行った. その結果, 表示濃度に対する誤差が 2.50% の範囲であった (Reference data 4). したがって, 投与液にはほぼ所定量の 2-ブタノン=オキシムが含有されていることを確認した.

投与終了後に製造元に返却した被験物質について, 製造元で再分析した結果, 純度は 99.98% であり, 被験物質は投与期間中安定であったことが確認された (Reference data 5).

2) 使用動物および飼育条件

試験には, 日本チャールス・リバー株式会社 (神奈川県厚木市) から購入した生後 8 週齢の Sprague-Dawley (Crj: CD (SD), SPF) 系雌雄ラットを使用した. 購入した動物は 7 日間検疫・馴化飼育した後, 一般状態に異常が認められなかったものを 10 週齢で群分けして試験に用いた. 群分け終了時の体重は, 雄で 361~398 g, 雌で 229~270 g の範囲であった.

動物は, 温度 $24\pm 2^{\circ}\text{C}$, 湿度 $55\pm 10\%$, 換気回数 15 回/時間, 照度 150~300 lux, 照明時間 12 時間 (午前 7 時点灯, 午後 7 時消灯) に設定されたバリアシステムの飼育室 (W 4.5×D 10.0×H 2.5 m, 112.5 m³) で飼育した. 動物の馴化期間も含め, 飼育期間中の実測温度および湿度範囲は, それぞれ $23.6\sim 25.0^{\circ}\text{C}$ および 47~64% であった. 株式会社 東京技研サービス (東京都府中市) の自動水洗式飼育機 (W 691.0×D 79.0×H 195.0 cm) を使用し, アルミ製前面・床ステンレス網目飼育ケージ (W 15.8×D 23.8×H 16.0 cm, 飼育ケージ・スペース 6017 cm³) に動物を 1 匹ずつ収容し飼育し

た。但し、交配期間中は、雄をアルミ製前面、床ステンレス網目飼育ケージ（W 36.8 × D 25.0 × H 16.0 cm, 飼育ケージ・スペース 14720 cm³）に1匹ずつ収容し飼育した。妊娠18日以降の母動物は哺育4日までアルミ製前面・床ステンレス網目飼育ケージ（W 36.8 × D 25.0 × H 16.0 cm）に哺育トレーおよび巣作り材料（Care FRESH_{TM}）を入れて飼育した。

飼育ケージは隔週1回、給餌器は週1回交換した。

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

供給した飼料および水には Reference data 6 および 7 に示した如く試験に支障を来す可能性の考えられる夾雑物の混在はなかった。

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

3) 群分け・個体識別

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

群分け後の動物の識別は個体別に耳パンチをするとともにケージごとに動物標識番号（Animal ID-No.）をつけた。

余剰動物は炭酸ガスにより安楽死させた。

4) 投与量、群構成、投与期間および投与方法

本試験の用量は先に実施した予備試験「2-ブタノン=オキシムのラットを用いる経口投与簡易生殖毒性試験-2週間毒性試験（試験番号 3207）」の結果を参考にして決定した。すなわち、0, 20, 60, 200 および 600 mg/kgを雄および雌に14日間連続経口投与した結果、死亡例は認められなかったが、200 および 600 mg/kg群で投与後に縮瞳、散瞳および自発運動低下が雌雄ともに観察され、さらに 600 mg/kg群でよろめき歩行、腹臥位および流涎が観察された。また、600 mg/kg群の雄に体重増加抑制が認められ、同群の雌雄に摂餌量の低値が認められた。

剖検では、60 mg/kg以上の投与群で雌雄のほぼ全例に脾臓の黒色化および肥大が観察されたほか、雄の 60 mg/kg以上および雌の 200 mg/kg以上の投与群で肝臓の肥大が少数例に、雌雄の 200 mg/kg群で肝臓および腎臓の褐色化がほぼ全例に、雌雄の 600 mg/kg群で肝臓および腎臓の黒色化が全例に観察された。

剖検時の器官重量では、雌雄の 200 および 600 mg/kg群で脾臓の実重量および相対重量が高値を示し、雄の 200 および 600 mg/kg群、雌の 600 mg/kg群で心臓の実重量および相対重量および肝臓の相対重量が高値を示した。さらに、雄の 600 mg/kg群で胸腺の実重量および相対重量が低値を、肺および腎臓の実重量および相対重量が高値を示し、雌の 600 mg/kg群で肺の実重量および相対重量が高値を示した。

以上の結果から、本試験の最高用量を明らかな毒性兆候が現れることが予想される

100 mg/kgに設定し、以下公比約3で除し、30 および 10 mg/kgを設定した。

投与経路は、OECDガイドライン「簡易生殖毒性試験」²⁾で指示されている投与経路に準じて強制経口投与とした。投与容量は、体重 100 g当り 1 mlとし、交配前および交配期間中の雌雄では、個体別に測定した最新体重に基づいて算出を行った。また、妊娠期間および哺育期間中の雌は、妊娠0, 7, 14, 21および哺育0日に測定した個体別体重に基づいて算出を行った。胃ゾンデを用いて毎日1回(7日/週)強制経口投与した。対照群には注射用蒸留水のみを同様に投与した。

雄の投与期間は、交配前14日間と交配期間14日間および交配期間終了後20日間の連続48日間とした。雌の投与期間は、交配前14日間と交配期間中(最長14日間)ならびに交尾成立雌の妊娠期間を通じて分娩後の哺育3日まで(41~48日間)とした。なお、交尾成立後分娩しなかった雌は妊娠25日の解剖前日までの42日間とした。交尾不成立の雌は交配期間終了後20日間の連続48日間とした。

5) 観察および検査

a. 一般状態

雌雄とも、全例について試験期間中毎日観察した。

b. 体 重

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

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

c. 摂 餌 量

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

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

なお、交配期間中の同居動物は摂餌量を測定しなかった。

d. 交 配

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

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

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

e. 自然分娩時および新生児の観察

妊娠動物は全例を自然分娩させた。分娩の確認は午前9～10時に行い、この時間帯に分娩が完了していることを確認した個体についてその日を哺育0日とした。午前10時を過ぎて分娩が完了した個体については、翌日を哺育0日とした。分娩を確認した全例について妊娠期間（哺育0日の年月日から妊娠0日の年月日を減じた日数）、受胎率 $\left[\left(\text{受胎動物数} / \text{交尾成立動物数} \right) \times 100 \right]$ 、出産率 $\left[\left(\text{生児出産雌数} / \text{妊娠雌数} \right) \times 100 \right]$ 、着床率 $\left[\left(\text{着床痕数} / \text{妊娠黄体数} \right) \times 100 \right]$ 、分娩率 $\left[\left(\text{総出産児数} / \text{着床痕数} \right) \times 100 \right]$ 、出生率 $\left[\left(\text{出產生児数} / \text{総出産児数} \right) \times 100 \right]$ を算出した。妊娠25日の午前9時までに分娩のみられない動物は病理解剖した。母動物は哺育4日に病理解剖した。

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

哺育4日に新生児全例を屠殺し、器官・組織の肉眼的観察を行った。哺育期間中の死亡児も同様に器官・組織の肉眼的観察を行った。また、新生児の4日生存率 $\left[\left(\text{哺育4日生児数} / \text{出產生児数} \right) \times 100 \right]$ を算出した。

f: 病理学検査

(1) 剖検および器官重量

①雄動物

48日間投与した翌日、エーテル麻酔下で放血安楽死させた。器官・組織の肉眼的観察を行った後、肺、肝臓、腎臓、脾臓、精巣および精巣上体重量を測定し器官重量・体重比（相対重量）を算出した。また、全動物の重量測定器官に加えて、精囊および前立腺を10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。なお、精巣および精巣上体はブアン氏液で固定した。

②自然分娩した雌

哺育4日にエーテル麻酔下で放血安楽死させた。器官・組織の肉眼的観察を行った後、心臓、肝臓、腎臓および脾臓重量を測定し器官重量・体重比（相対重量）を算出した。また、全動物の重量測定器官に加えて卵巣、子宮、膣および肉眼所見として変化が認められた器官・組織として肺および皮膚を10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。また、剖検時に黄体数および着床痕数を調べた。

③交尾の成立しなかった雌

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

④自然分娩の認められない雌

妊娠25日に、エーテル麻酔下で放血安楽死させた。器官・組織の肉眼的観察を行った後、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、卵巣、子宮および腔を10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。着床痕が認められない動物は妊娠不成立と判定した。

(2) 病理組織学検査

下記に該当する動物の組織について 株式会社 組織科学研究所（東京都青梅市）で常法に従ってパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色した。また対照群および 100 mg/kg群の雌雄各2例の肝臓についてグリコーゲンおよびヘモジリン同定のために安評センターにおいて特殊染色（PAS染色、ジアスターゼ消化後PAS染色およびベルリンブルー染色）を行った。鏡検は安評センターで実施した。

①妊娠を成立させた雄

全群全例の肝臓、腎臓、脾臓、精巣および精巣上体について実施した。

②自然分娩した雌

全群全例、肝臓、腎臓、脾臓および卵巣について実施し、加えて対照群および高用量群各1例（動物番号2006および2303）、低用量群2例（動物番号2101および2104）の肺、高用量群2例（動物番号2302および2307）の皮膚について実施した。

③交尾の成立しなかった雌雄

30 mg/kg群の雌雄各1例の肝臓、腎臓、脾臓、卵巣、子宮、腔、精巣、精巣上体、精囊および前立腺について実施した。

④妊娠を成立させなかった雄および妊娠不成立の雌

10 mg/kg群の雌雄各1例の肝臓、腎臓、脾臓、卵巣、子宮、腔、精巣、精巣上体、精囊および前立腺について実施した。

g. 統計解析

体重、摂餌量、黄体数、着床痕数、出産児数、死産児数、性比、平均性周期、妊娠期間、着床率、分娩率、出生率、外表異常発現率、出生児の4日生存率、器官重量および器官重量・体重比（相対重量）については多重比較検定³⁾を行った。まず Bartlettの等分散検定を実施し、等分散の場合は一元配置分散分析を行った。分散が有意な場合は Dunnettの多重比較検定^{4)・5)}で対照群と各投与群間の有意差を検定した。Bartlettの等分散検定で不等分散の場合は Kruskal-Wallisの順位検定を実施し、

有意の場合はノンパラメトリックの Dunnettの多重比較検定^{4), 5)}で対照群と各投与群間の有意差を検定した。出産率、交尾率および受胎率については χ^2 検定^{6), 7)}を用いた。病理学検査の所見の発生率の検定は、Fisherの直接確率検定法⁷⁾を用いて検定し、程度の増強が認められた所見は、－を「1」、+1を「2」、+2を「3」および+3を「4」に割り当てた後、順位和検定であるMann-WhitneyのU検定⁷⁾を用いて検定した。なお、哺育期間中の新生児に関する成績は1母体当りの平均を1標本とした。有意水準は* : $P < 0.05$ および** : $P < 0.01$ の2段階とした。

11. 試 験 結 果 :

1) 親動物 (F0) に及ぼす影響

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

死亡例は、投与期間を通じ雌雄いずれの群にも観察されなかった。一般状態の観察では、脱毛が雌の 30 および 100 mg/kg群でそれぞれ 1 および 2 例に妊娠期間中に観察され、100 mg/kg群の 2 例は哺育 4 日の剖検日まで継続して観察された。雄については投与期間を通じていずれの群にも異常は認められなかった。

b. 体 重 (Figure 1~2, Table 2-1~2-2, Appendix 2-1~2-2)

雄では、対照群に比べて 30 および 100 mg/kg群で投与 1~43日の体重増加量が統計学的に有意な高値を示した。

雌では投与期間を通じて対照群と被験物質投与群との間に差は認められなかった。

c. 摂 餌 量 (Figure 3~4, Table 3-1~3-2, Appendix 3-1~3-2)

雌雄ともに投与期間を通じて対照群と被験物質投与群との間に差は認められなかった。

d. 器官重量 (Table 4-1~4-2, Appendix 4-1~4-2)

雄では、対照群に比べて 30 および 100 mg/kg群で脾臓の実重量および相対重量が統計学的に有意な高値を示し、さらに 100 mg/kg群で肝臓の実重量および相対重量が有意な高値を示した。

雌では、対照群に比べて 30 および 100 mg/kg群で脾臓の実重量および相対重量が高値を示し、さらに 100 mg/kg群で心臓の相対重量が有意な高値を、実重量が高値傾向を示した。

e. 剖検所見 (Table 5-1~5-4, Appendix 5-1~5-2)

雄では、脾臓の黒色化が 30 および 100 mg/kg群で10および12例、肥大が 30 および 100 mg/kg群で 9 および12例観察され、対照群に比べそれぞれ発生率に有意な差が認められた。その他、肺の褐色斑／区域が 100 mg/kg群で 1 例、肝臓の横隔膜ヘルニアが対照群で 1 例、腎臓の褐色化が 100 mg/kg群で 1 例、嚢胞が対照群および 30 mg/kgで 1 および 2 例、癒痕が対照群および 100 mg/kg群で各 1 例に観察された。

雌では、脾臓の黒色化が 30 および 100 mg/kg群で 9 および12例、肥大が 30 および 100 mg/kg群で 5 および12例観察され、対照群に比べ発生率に有意な差が認められた。その他、肺の黒色斑／区域が 100 mg/kg群で 1 例、褐色斑／区域が対照群および 10 mg/kg群で 1 および 2 例、肝臓の結節が 100 mg/kg群で 1 例、赤色斑／区域が 10 および 30 mg/kg群で各 1 例、腎臓の褐色化が 100 mg/kg群で 2 例、癒痕が 10 mg/kg群で 1 例、卵巣の嚢胞が対照群で 1 例、脱毛が 100 mg/kg群で 2 例に観察された。

交尾の成立しなかった動物は、30 mg/kg群の雌雄各 1 例であった。雄では脾臓の黒色化および肥大、雌では脾臓の黒色化が観察された。

妊娠を成立させなかった雄および妊娠不成立の雌は 10 mg/kg群で各 1 例であったが、これらの動物に異常所見は認められなかった。

f. 病理組織学検査 (Table 6-1-1~6-6, Appendix 6-1~6-2)

雄では、脾臓のうっ血 (photo 1, 2) および色素沈着 (photo 1, 2) が 10 mg/kg以上の投与群で、髓外造血 (photo 1, 2) が 30 および 100 mg/kg群でそれぞれ対照群に比べ統計学的に有意な発生率の増加を示した。このうち、脾臓のうっ血は 10 および 30 mg/kg群で観察されたものがすべて軽度であったのに対し、100 mg/kg群では12例中5例が中等度であり、色素沈着は対照群および 10 mg/kg群で認められたものがすべて軽度であったのに対し、30 および 100 mg/kg群でそれぞれ11例中5例および12例中9例が中等度であり対照群に比べ 30 ないし 100 mg/kg群で程度の増強に有意な差が認められた。代表例においてベルリンブルー染色陽性を示した肝臓のクッパー細胞の色素沈着 (photo 3) が 30 および 100 mg/kg群で、髓外造血 (photo 3) が 100 mg/kg群でそれぞれ対照群に比べ発生率の有意な増加を示した。肝臓の糖質沈着 (photo 4, 5) は各群の発生率に有意な変化は認められなかったが、対照群で認められたものが全例軽度であったのに対し、100 mg/kg群で軽度が7例および中等度が5例観察され、100 mg/kg群で程度の増強に有意な差が認められた。また、腎臓の褐色色素沈着 (photo 6, 7) が 30 および 100 mg/kg群で、硝子滴 (photo 6, 7) が 100 mg/kg群でそれぞれ対照群に比べ有意な発生率の増加を示した。その他観察された所見として、肝臓の脂肪化、小肉芽腫、腎臓の尿細管好塩基化、硝子円柱、好酸性小体、リンパ球浸潤および精巣上体のリンパ球浸潤が用量に関係なく各群に散見され、脾臓の細胞浸潤、肺の出血、肝臓の巣状壊死およびヘルニア形成、腎臓の嚢胞、尿細管の管腔拡張、鉍物沈着、小肉芽腫および瘢痕性線維化は少数例あるいは単発性の発生であった。

雌では、脾臓の色素沈着が 10 mg/kg以上の投与群で、うっ血および髓外造血が 30 および 100 mg/kg群でそれぞれ対照群に比べ有意な発生率の増加を示した。このうち脾臓のうっ血は 10 および 30 mg/kg群で観察されたものはすべて軽度であったのに対し、100 mg/kg群で12例中5例は中等度であり、色素沈着は対照群および 10 mg/kg群で認められたものはすべて軽度であったのに対し、30 および 100 mg/kg群で11例中3例および12例中7例が中等度であり、対照群に比べ 30 ないし 100 mg/kg群で程度の増強に有意な差が認められた。肝臓のクッパー細胞の色素沈着が 30 および 100 mg/kg群で、髓外造血が 100 mg/kg群でそれぞれ対照群に比べ発生率の有意な増加を示した。肝臓の糖質沈着は各群の発生率に有意な変化は認められなかったが、対照群で認められたものが全例軽度であったのに対し、100 mg/kg群で軽度が8例および中等度が4例観察され、100 mg/kg群で程度の増強に有意な差が認められた。また、腎臓の褐色色素沈着が 30 および 100 mg/kg群で対照群に比べ有意な発生率の増加を示した。その他観察された所見として、肝臓の脂肪化、小肉芽腫、腎臓の尿細管好塩基化、硝子円柱、鉍物沈着、リンパ球浸潤および卵巣の色素沈着が用量に関係なく各群に散見され、肺の出血および気管支肺炎、肝臓の血管拡張、細胞質内封入体、鉍物沈着、壊死および巣状壊死、腎臓の水腫、尿細管の管腔拡張、硝子滴および瘢痕性線維化、卵巣嚢胞および皮膚の糜爛は少数例あるいは単発性の発生であった。

交尾の成立しなかった動物は、30 mg/kg群の雌雄各1例であった。雄では脾臓のうっ血、髓外造血および中等度の色素沈着、肝臓の糖質沈着およびクッパー細胞の色素沈

着，腎臓の尿細管好塩基化およびリンパ球浸潤が，雌では脾臓のうっ血および中等度の色素沈着，肝臓の糖質沈着，クッパー細胞の色素沈着，脂肪化および小肉芽腫，卵巢の色素沈着および子宮の糜爛が観察された。

妊娠を成立させなかった雄および妊娠不成立の雌は，10 mg/kg群でそれぞれ1例であった。雄では脾臓の色素沈着，肝臓の糖質沈着および脂肪化，腎臓の尿細管好塩基化，好酸性小体および硝子滴，精巣上体のリンパ球浸潤が，雌では脾臓のうっ血および色素沈着，肝臓の糖質沈着，クッパー細胞の色素沈着および小肉芽腫，腎臓のリンパ球浸潤および卵巢の色素沈着が観察された。

2) 生殖能に及ぼす影響

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

交尾は，30 mg/kgを除くすべての群で全例成立し，30 mg/kg群では12例中11例 (91.7%) で成立した。受胎は，0，30 および 100 mg/kg群の交尾が成立した雌の全例で成立し，10 mg/kg群では12例中11例 (91.7%) で成立した。

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

b. 分娩および哺育 (Table 8, Appendix 8)

10 mg/kg群の妊娠期間が対照群に比べ軽微な延長を示した。また，100 mg/kg群の出産児数および出産生児数が対照群に比べ低値傾向を示し，同群の分娩率が統計学的に有意な低値を示した。その他，分娩状態には異常が観察されず，各群の黄体数，着床痕数および死産児数はほぼ同様な値を示し，出産率，着床率，出生率および生後4日生存率に群間差は認められなかった。

3) 新生児に及ぼす影響

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

新生児の外表検査では，無尾および内反足が対照群の同一個体の1例，矮小児が30 mg/kg群の1例に観察された。哺育期間中の体重では，雌雄ともに群間差は認められなかった。死亡児の剖検では，右大動脈弓が対照群の雄の1例のみに観察された。哺育4日の剖検では，雄に胸腺の頸部残留および肝臓の白色斑／区域が，雌に胸腺の頸部残留あるいは赤色斑／区域，肝臓の黒色斑／区域あるいは奇形結節がそれぞれ散見された。

12. 考察および結論：

1) 親動物 (F0) に及ぼす影響

死亡例は、投与期間を通じ雌雄いずれの群にも認められなかった。一般状態の観察では、雌の 30 および 100 mg/kg群で脱毛が観察されたが少数例の発現であり、被験物質投与と関連のない変化と考えられた。

体重については雄の 30 および 100 mg/kg群で対照群に比べ投与 1 から43日の体重増加量が高値を示したが各測定日では明らかな変化は認められず、軽微な変化であることから被験物質投与による影響とは判断しなかった。摂餌量については、雌雄ともに被験物質投与の影響は認められなかった。

器官重量では、脾臓重量の増加が雌雄の 30 および 100 mg/kg群で認められ、さらに肝臓重量の増加が雄の 100 mg/kg群で、心臓重量の増加が雌の 100 mg/kg群で認められた。病理学検査の結果、剖検所見では脾臓の黒色化および肥大が雌雄の 30 および 100 mg/kg群で認められ、組織所見では雌雄の 10 mg/kg以上の投与群で脾臓のうっ血、色素沈着および肝臓の糖質沈着、雄の 10 mg/kg以上および雌の 30 mg/kg以上の投与群でクッパー細胞の色素沈着、雌雄の 30 mg/kg以上の投与群で脾臓の髄外造血、腎臓の褐色色素沈着、雄の 100 mg/kgおよび雌の 30 mg/kg以上の投与群で肝臓の髄外造血が観察され、それぞれの発生率あるいは程度の増強が認められた。このうち、雌雄の脾臓重量および雌の心臓重量の変化、脾臓の肥大、脾臓、肝臓あるいは腎臓に観察された組織所見は同化合物を用いたラットの28日間反復経口投与毒性試験¹⁾においても 20 あるいは 100 mg/kg群で同様に認められており、被験物質投与の影響と考えられた。上記試験において肝臓重量の増加は認められていないが、本試験で認められた変化が実重量および相対重量ともに一致した明らかな変化であり、投与期間も長いことから被験物質投与によるものと考えられた。

クッパー細胞内に観察された褐色色素は、代表例のベルリンブルー染色において陽性を示したことからヘモジテリンであると考えられた。また、脾臓の色素沈着および腎臓の褐色色素沈着も肝臓のヘモジテリンの沈着と同様に被験物質投与群で発生数の増加が認められることから、これらの色素もヘモジテリンと考えられた。脾臓のうっ血は老廃赤血球の処理機能が亢進する場合に認められることが知られており⁸⁾、脾臓および肝臓でヘモジテリン沈着も増加していることから赤血球系に何らかの障害があることが推察された。脾臓の髄外造血はこの赤血球の障害に対する代償性の造血亢進と考えられた。剖検所見で脾臓の黒色化および肥大はそれぞれ組織学的に色素沈着およびうっ血に一致するものと考えられた。上記の28日間反復経口投与毒性試験¹⁾では雌雄の 20 mg/kg以上の群に網状赤血球率の上昇や脾臓の変化等の溶血性貧血の状態を示唆する被験物質の影響が認められており、本試験においても同様な結果が得られたと考えられた。肝臓の糖質沈着は対照群にも観察されてはいるが、投与群に程度の増強が認められ、肝細胞の糖代謝に変化が生じたと考えられた。なお、雄の腎臓に観察された硝子滴については被験物質投与群において特に程度の増強は認められず、通常対照群にもよく認められる所見であり被験物質投与の影響か否かについては明らかではなかった。また、交尾不成立あるいは妊娠不成立動物に観察された精巣上体のリ

ンパ球浸潤，卵巢の色素沈着および子宮の糜爛は対照群でも観察されているか，あるいは単発性の病変であることから自然発生性の病変と考えられた．その他観察された所見では，被験物質の影響を示唆する変化は認められなかった．

以上のことから，本試験条件下における2-ブタノン=オキシムの親動物に対する無影響量は雌雄の10 mg/kg以上の投与群に脾臓のうっ血および色素沈着等の組織所見が認められたことから，雌雄とも10 mg/kg/day未満と判断された．

2) 生殖発生毒性

10 mg/kg群の妊娠期間が延長を示したが対照群のMean $\pm$ 1 S.D. の範囲内の軽微な変化であり，また，個体別の妊娠期間も22あるいは23日と正常の範囲内と考えられた．さらに30 mg/kg以上の投与群で同様な変化が認められないことから被験物質投与に起因したものとは考えなかった．100 mg/kg群で出産児数および出產生児数の低値傾向が認められ，同群の分娩率が低値を示し，被験物質投与の影響が示唆された．その他，性周期，交尾率，受胎率，出産率，着床率，出生率および生後4日生存率に被験物質投与の影響は認められなかった．また，新生児の外表検査でも被験物質投与によると考えられる異常はなく，体重にも群間差は認められなかった．死亡児および哺育4日の剖検では被験物質投与によると考えられる異常所見は観察されなかった．

以上のことから，2-ブタノン=オキシムの雄の生殖に及ぼす影響は100 mg/kg/day投与でも認められず，無影響量は100 mg/kg/dayと判断された．雌の生殖に及ぼす影響は100 mg/kg/day投与で分娩率が低値を示したことから，無影響量は30 mg/kg/dayと判断された．児動物の発生・発育に及ぼす影響は100 mg/kg/day投与によっても認められず，無影響量は100 mg/kg/dayと判断された．

13. 参 考 文 献 :

- 1) エチルメチルケトキシムのラットを用いる28日間反復経口投与毒性試験, Toxicity Testing Reports of Environmental Chemicals Vol.4 化学物質毒性試験報告, 203(1996).
- 2) OECD guideline for testing of chemicals: Extended Steering Group Document. No. 3(1990).
- 3) Shayne, C.G. and Carrol, S.W.: Statics and Experimental Design For Toxicologists. Telford Press (1986).
- 4) 佐野正樹, 岡山佳弘: 医薬安全性研究会会報, No. 32, p. 21 (1990).
- 5) YOSHIDA, M. : J.J. Soc. comp. Stat., 1, p. 111 (1988).
- 6) 佐久間昭: 薬効評価 I - 計画と解析 -, 東京大学出版会 (1977) .
- 7) 石居 進: 生物統計学入門, 培風館 (1975) .
- 8) 伊藤 信行 編著: 最新 毒性病理学 p 276 (1994) .

Figures, Tables

Exp. No. 3208 (115-075)

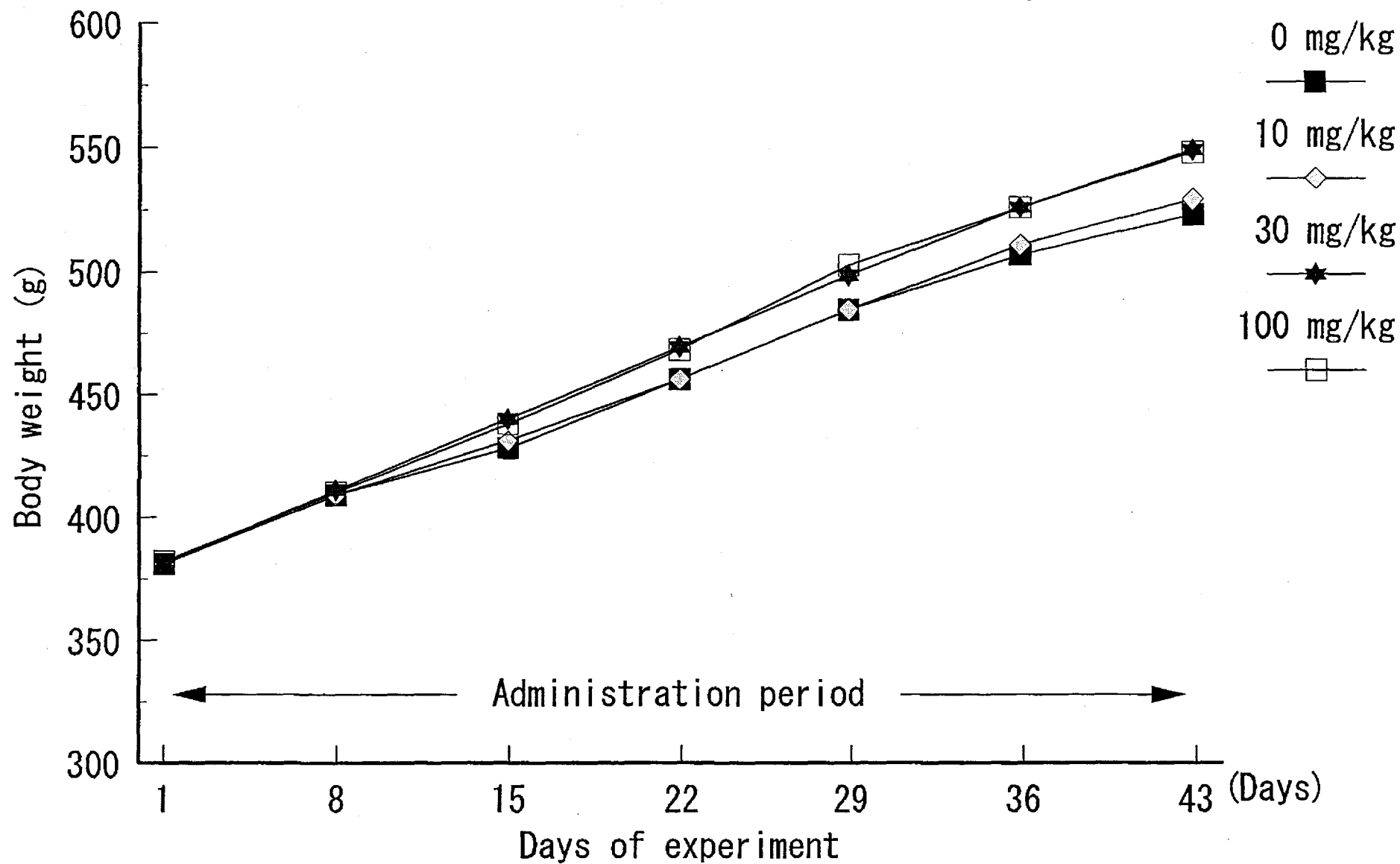


Figure 1 Body weight change of male rats

Exp. No. 3208 (115-075)

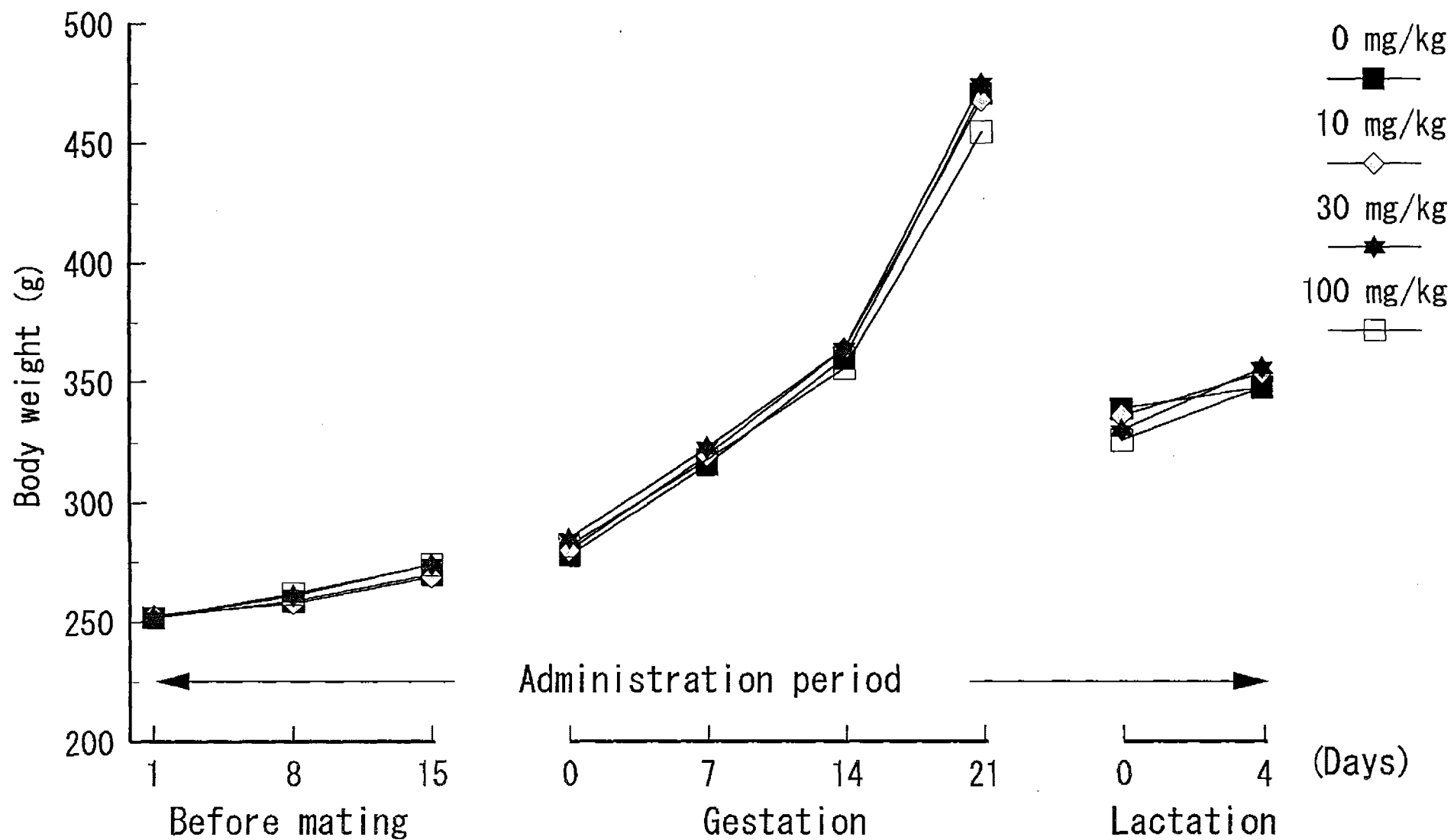


Figure 2 Body weight change of female rats

Exp. No. 3208 (115-075)

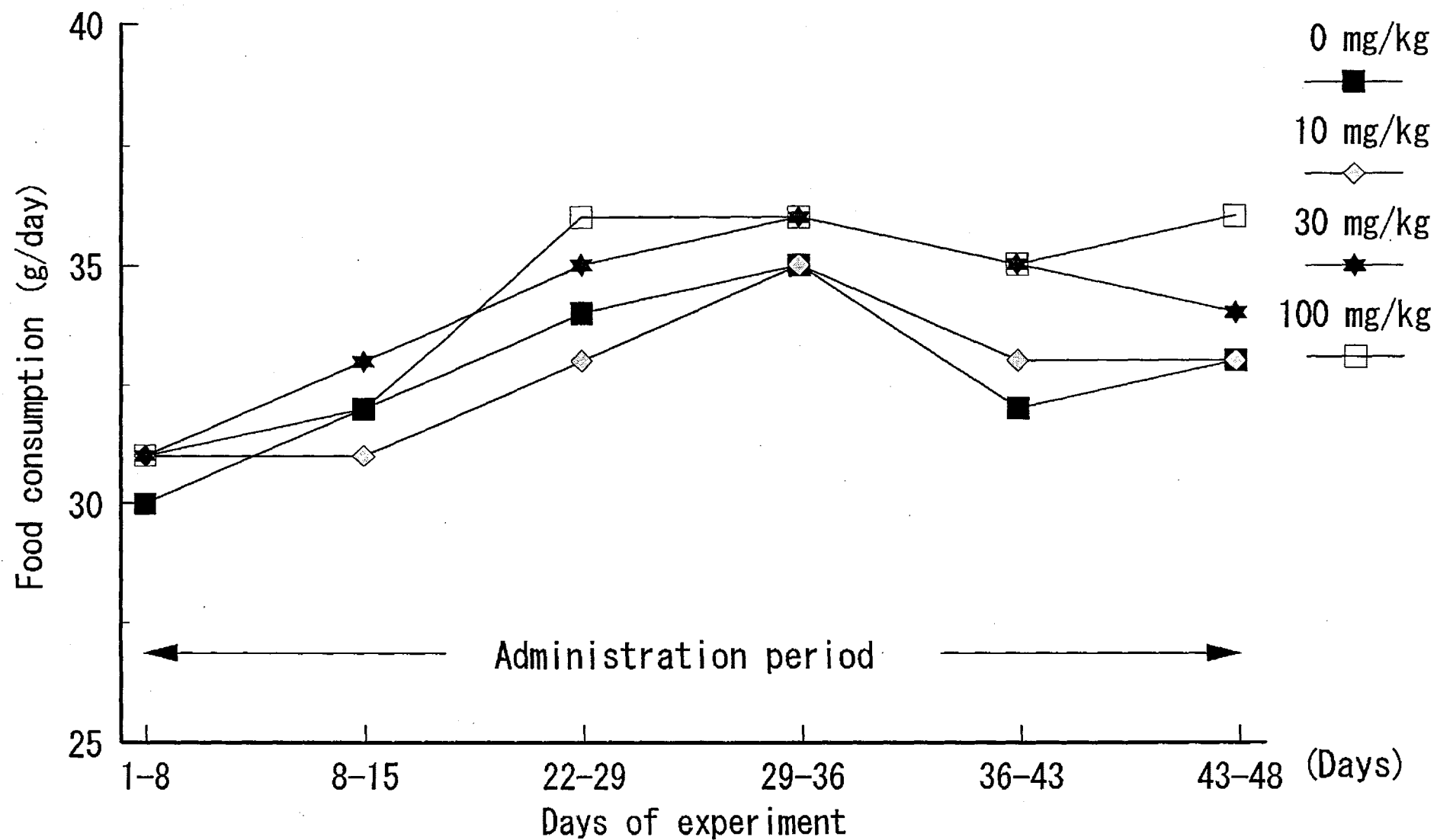


Figure 3 Food consumption of male rats

Exp. No. 3208 (115-075)

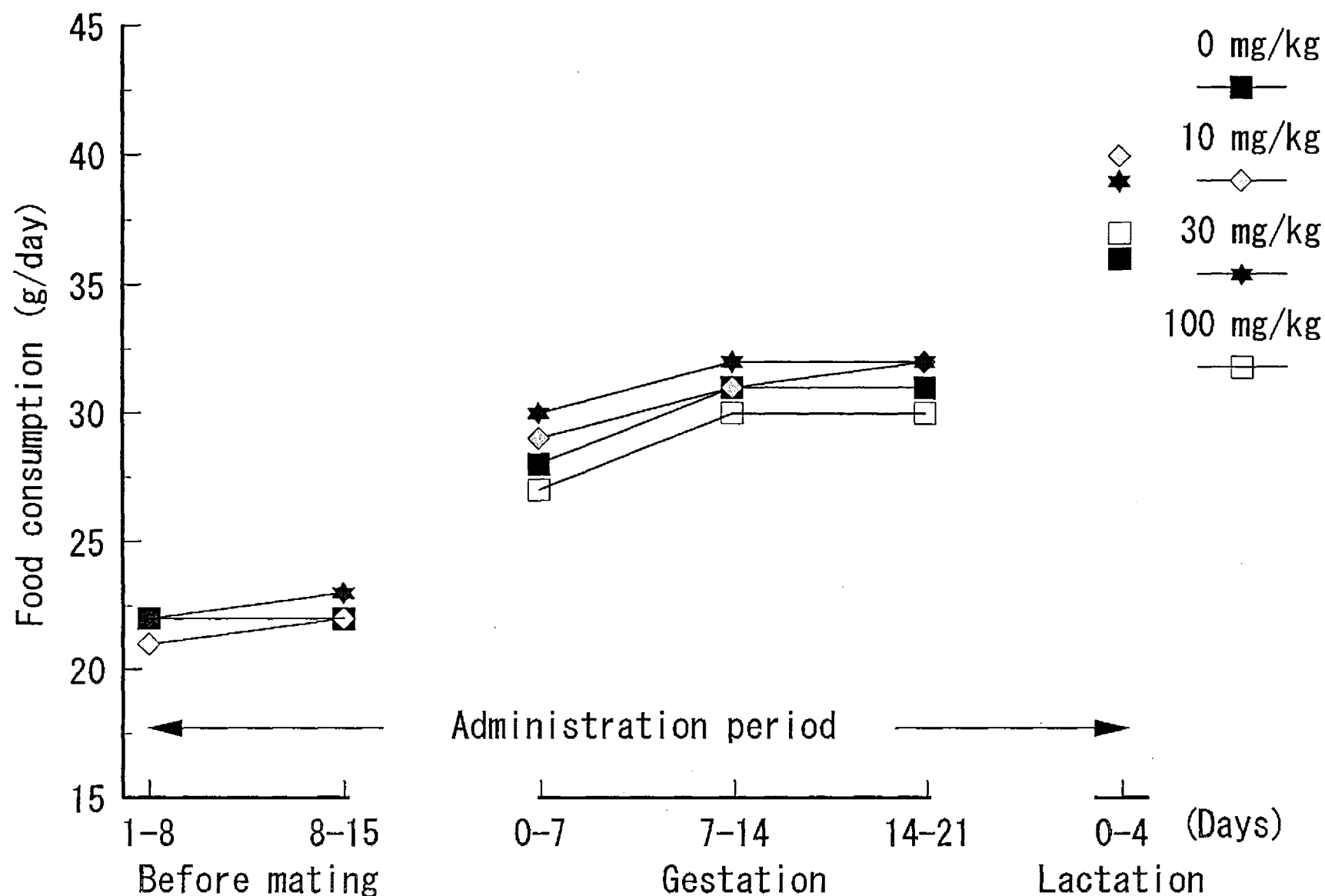


Figure 4 Food consumption of female rats

Table 1-1

Clinical observations in male rats

Exp. No. 3208 (115-075)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of experiment							Total (1-49)
		1- 7	8-14	15-21	22-28	29-35	36-42	43-49	
number per group	0	12	12	12	12	12	12	12	
	10	12	12	12	12	12	12	12	
	30	12	12	12	12	12	12	12	
	100	12	12	12	12	12	12	12	
normal	0	12	12	12	12	12	12	12	12
	10	12	12	12	12	12	12	12	12
	30	12	12	12	12	12	12	12	12
	100	12	12	12	12	12	12	12	12

Table 1-2

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

Exp. No. 3208 (115-075)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of experiment							Total (1-49)
		1- 7	8-14	15-21	22-28	29-35	36-42	43-49	
number per group	0	12	12	12	0	0	0	0	
	10	12	12	12	0	0	0	0	
	30	12	12	12	1	1	1	1	
	100	12	12	12	1	0	0	0	
normal	0	12	12	12	0	0	0	0	12
	10	12	12	12	0	0	0	0	12
	30	12	12	12	1	1	1	1	12
	100	12	12	12	1	0	0	0	12

Table 1-3

Clinical observations in female rats
(Gestation period)

Exp. No. 3208 (115-075)

[illegible]

Table 1-3 -continued

Clinical observations in female rats
(Gestation period)

Exp. No. 3208 (115-075)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of gestation											Total (0- 23)
		13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	
number per group	0	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	5	
	10	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	10	
	30	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	7	
	100	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	10	
normal	0	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	5	12
	10	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	10	11
	30	10	10	10	10	10	10	10	11	11	11	7	10
	100	11	11	11	10	10	10	10	10	10	10	9	10
loss of hair	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	30	1	1	1	1	1	1	1 a)	0	0	0	0	1 b)
	100	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	1	2

a) No. of animals with clinical sign in group

b) Total of animals with clinical sign in group

Table 1-4

Clinical observations in female rats
(Lactation period)

Exp. No. 3208 (115-075)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of lactation					Total (0- 4)
		0	1	2	3	4	
number per group	0	12	12	12	12	12	
	10	11	11	11	11	11	
	30	11	11	11	11	11	
	100	12	12	12	12	12	
normal	0	12	12	12	12	12	12
	10	11	11	11	11	11	11
	30	11	11	11	11	11	11
	100	10	10	10	10	10	10
loss of hair	0	0	0	0	0	0	0
	10	0	0	0	0	0	0
	30	0	0	0	0	0	0
	100	2	2	2	2	2 a)	2 b)

a) No. of animals with clinical sign in group

b) Total of animals with clinical sign in group

Table 2-1

Body weight change of male rats

Exp. No. 3208 (115-075)

Unit : g

Dose level (mg/kg)		0			10			30			100		
No. of animals		12			12			12			12		
		Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)		
Days of experiment	1	381 $\pm$	11	(12)	381 $\pm$	11	(12)	381 $\pm$	12	(12)	382 $\pm$	11	(12)
	8	409 $\pm$	15	(12)	409 $\pm$	15	(12)	411 $\pm$	15	(12)	410 $\pm$	13	(12)
	15	428 $\pm$	17	(12)	431 $\pm$	17	(12)	440 $\pm$	19	(12)	438 $\pm$	17	(12)
	22	456 $\pm$	20	(12)	456 $\pm$	19	(12)	469 $\pm$	18	(12)	468 $\pm$	16	(12)
	29	484 $\pm$	22	(12)	484 $\pm$	22	(12)	498 $\pm$	23	(12)	502 $\pm$	17	(12)
	36	506 $\pm$	26	(12)	510 $\pm$	24	(12)	525 $\pm$	26	(12)	525 $\pm$	20	(12)
	43	522 $\pm$	34	(12)	528 $\pm$	26	(12)	548 $\pm$	27	(12)	547 $\pm$	22	(12)
	49	538 $\pm$	39	(12)	543 $\pm$	31	(12)	560 $\pm$	27	(12)	565 $\pm$	25	(12)
Gain 1-43		141 $\pm$	26	(12)	146 $\pm$	21	(12)	168 $\pm$	21*	(12)	166 $\pm$	20*	(12)

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

Table 2-2

Body weight change of female rats

Exp. No. 3208 (115-075)

Unit : g

Dose level (mg/kg)		0			10			30			100		
Before mating period		12			12			12			12		
No. of animals		Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)		
Days of before mating	1	252 $\pm$ 11	(12)		253 $\pm$ 10	(12)		252 $\pm$ 10	(12)		252 $\pm$ 11	(12)	
	8	259 $\pm$ 17	(12)		258 $\pm$ 13	(12)		261 $\pm$ 13	(12)		262 $\pm$ 11	(12)	
	15	270 $\pm$ 16	(12)		269 $\pm$ 15	(12)		274 $\pm$ 12	(12)		274 $\pm$ 13	(12)	
Gain 1-15		18 $\pm$ 8	(12)		16 $\pm$ 11	(12)		22 $\pm$ 11	(12)		22 $\pm$ 7	(12)	
Gestation period		12			11			11			12		
No. of dams		Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)		
Days of gestation	0	278 $\pm$ 15	(12)		280 $\pm$ 15	(11)		285 $\pm$ 17	(11)		282 $\pm$ 13	(12)	
	7	316 $\pm$ 19	(12)		320 $\pm$ 17	(11)		323 $\pm$ 19	(11)		318 $\pm$ 17	(12)	
	14	360 $\pm$ 26	(12)		364 $\pm$ 23	(11)		364 $\pm$ 19	(11)		356 $\pm$ 20	(12)	
	21	471 $\pm$ 27	(12)		468 $\pm$ 29	(11)		475 $\pm$ 30	(11)		455 $\pm$ 32	(12)	
Gain 0-21		193 $\pm$ 19	(12)		188 $\pm$ 20	(11)		190 $\pm$ 23	(11)		173 $\pm$ 27	(12)	
Lactation period		12			11			11			12		
No. of dams		Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)		
Days of lactation	0	339 $\pm$ 24	(12)		336 $\pm$ 30	(11)		330 $\pm$ 30	(11)		326 $\pm$ 20	(12)	
	4	348 $\pm$ 25	(12)		354 $\pm$ 23	(11)		356 $\pm$ 15	(11)		348 $\pm$ 26	(12)	
Gain 0-4		10 $\pm$ 11	(12)		18 $\pm$ 22	(11)		26 $\pm$ 21	(11)		21 $\pm$ 27	(12)	

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

Table 3-1

Food consumption of male rats

Exp. No. 3208 (115-075)

Unit : g/day

Dose level (mg/kg)		0			10			30			100		
No. of animals		12			12			12			12		
		Mean	±	S.D. (N)	Mean	±	S.D. (N)	Mean	±	S.D. (N)	Mean	±	S.D. (N)
Days of experiment	1- 8	30	±	3 (12)	31	±	3 (12)	31	±	2 (12)	31	±	3 (12)
	8-15	32	±	2 (12)	31	±	3 (12)	33	±	2 (12)	32	±	3 (12)
	22-29	34	±	3 (12)	33	±	2 (12)	35	±	2 (11)	36	±	2 (12)
	29-36	35	±	3 (12)	35	±	3 (12)	36	±	2 (12)	36	±	3 (12)
	36-43	32	±	4 (12)	33	±	3 (12)	35	±	2 (12)	35	±	3 (12)
	43-48	33	±	3 (12)	33	±	3 (12)	34	±	2 (12)	36	±	3 (12)
Cumulative consumption (g)	1-15	435	±	33 (12)	434	±	37 (12)	448	±	25 (12)	444	±	36 (12)
	22-48	871	±	81 (12)	879	±	69 (12)	907	±	53 (11)	928	±	68 (12)

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

Table 3-2

Food consumption of female rats

Exp. No. 3208 (115-075)

		Unit : g/day							
Dose level (mg/kg)		0		10		30		100	
Before mating period		12		12		12		12	
No. of animals									
		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)	
Days of before mating	1- 8	22 $\pm$ 2	(12)	21 $\pm$ 2	(12)	22 $\pm$ 2	(12)	22 $\pm$ 1	(12)
	8-15	22 $\pm$ 2	(12)	22 $\pm$ 1	(12)	23 $\pm$ 1	(12)	22 $\pm$ 1	(12)
Cumulative consumption (g)									
	1-15	307 $\pm$ 29	(12)	299 $\pm$ 22	(12)	318 $\pm$ 21	(12)	310 $\pm$ 15	(12)
Gestation period		12		11		11		12	
No. of dams									
		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)	
Days of gestation	0- 7	28 $\pm$ 3	(12)	29 $\pm$ 2	(11)	30 $\pm$ 2	(11)	27 $\pm$ 2	(12)
	7-14	31 $\pm$ 4	(12)	31 $\pm$ 4	(11)	32 $\pm$ 3	(11)	30 $\pm$ 3	(12)
	14-21	31 $\pm$ 4	(12)	32 $\pm$ 2	(11)	32 $\pm$ 2	(11)	30 $\pm$ 2	(12)
Cumulative consumption (g)									
	0-21	628 $\pm$ 71	(12)	641 $\pm$ 59	(11)	654 $\pm$ 48	(11)	608 $\pm$ 46	(12)
Lactation period		12		11		11		12	
No. of dams									
		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)	
Days of lactation	0-4	36 $\pm$ 7	(12)	40 $\pm$ 8	(11)	39 $\pm$ 6	(11)	37 $\pm$ 9	(12)

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

Table 4-1

Absolute and relative organ weight of male rats

Exp. No. 3208 (115-075)

Dose level (mg/kg)		0		10		30		100	
No. of animal examined		12		12		12		12	
		Mean $\pm$ S.D.		Mean $\pm$ S.D.		Mean $\pm$ S.D.		Mean $\pm$ S.D.	
Body weight (g)		538 $\pm$ 39		543 $\pm$ 31		560 $\pm$ 27		565 $\pm$ 25	
Lung	(g)	1.56 $\pm$ 0.16		1.62 $\pm$ 0.12		1.68 $\pm$ 0.18		1.66 $\pm$ 0.12	
	(g%)	0.292 $\pm$ 0.044		0.299 $\pm$ 0.031		0.300 $\pm$ 0.027		0.295 $\pm$ 0.029	
Liver	(g)	21.22 $\pm$ 2.09		21.55 $\pm$ 2.67		22.05 $\pm$ 2.53		24.17 $\pm$ 1.72**	
	(g%)	3.942 $\pm$ 0.241		3.957 $\pm$ 0.349		3.932 $\pm$ 0.376		4.276 $\pm$ 0.215*	
Spleen	(g)	0.82 $\pm$ 0.07		0.92 $\pm$ 0.06		1.27 $\pm$ 0.17**		2.40 $\pm$ 0.48**	
	(g%)	0.153 $\pm$ 0.019		0.169 $\pm$ 0.014		0.227 $\pm$ 0.029**		0.423 $\pm$ 0.073**	
Kidneys	(g)	3.64 $\pm$ 0.33		3.76 $\pm$ 0.25		3.92 $\pm$ 0.39		3.91 $\pm$ 0.35	
	(g%)	0.678 $\pm$ 0.049		0.694 $\pm$ 0.054		0.700 $\pm$ 0.065		0.693 $\pm$ 0.063	
Testes	(g)	3.43 $\pm$ 0.21		3.50 $\pm$ 0.24		3.51 $\pm$ 0.36		3.71 $\pm$ 0.34	
	(g%)	0.640 $\pm$ 0.048		0.646 $\pm$ 0.055		0.626 $\pm$ 0.058		0.657 $\pm$ 0.068	
Epididymides	(mg)	1433 $\pm$ 201		1382 $\pm$ 122		1406 $\pm$ 234		1418 $\pm$ 119	
	(mg%)	266.929 $\pm$ 38.162		255.211 $\pm$ 28.086		250.639 $\pm$ 39.258		251.664 $\pm$ 26.169	

(*) (Organ weight / body weight) $\times$ 100Significant difference from control group; *: $p \leq 0.05$ **: $p \leq 0.01$

Table 4-2

Absolute and relative organ weight of female rats

Exp. No. 3208 (115-075)

Dose level (mg/kg)		0		10		30		100	
No. of dams examined		12		11		11		12	
		Mean $\pm$ S.D.		Mean $\pm$ S.D.		Mean $\pm$ S.D.		Mean $\pm$ S.D.	
Body weight (g)		348 $\pm$ 25		354 $\pm$ 23		356 $\pm$ 15		348 $\pm$ 26	
Heart	(g)	1.12 $\pm$ 0.15		1.14 $\pm$ 0.10		1.17 $\pm$ 0.07		1.24 $\pm$ 0.14	
	(g%)	0.321 $\pm$ 0.022		0.323 $\pm$ 0.029		0.330 $\pm$ 0.021		0.357 $\pm$ 0.023**	
Liver	(g)	14.58 $\pm$ 1.67		15.10 $\pm$ 1.52		15.27 $\pm$ 1.41		15.40 $\pm$ 1.71	
	(g%)	4.178 $\pm$ 0.284		4.269 $\pm$ 0.330		4.304 $\pm$ 0.457		4.422 $\pm$ 0.253	
Spleen	(g)	0.68 $\pm$ 0.11		0.74 $\pm$ 0.13		1.03 $\pm$ 0.21**		1.47 $\pm$ 0.23**	
	(g%)	0.195 $\pm$ 0.024		0.209 $\pm$ 0.030		0.287 $\pm$ 0.051**		0.424 $\pm$ 0.071**	
Kidneys	(g)	2.41 $\pm$ 0.18		2.39 $\pm$ 0.15		2.39 $\pm$ 0.19		2.39 $\pm$ 0.20	
	(g%)	0.691 $\pm$ 0.038		0.679 $\pm$ 0.059		0.672 $\pm$ 0.055		0.689 $\pm$ 0.058	

(g) (Organ weight / body weight) $\times$ 100Significant difference from control group; *: $p \leq 0.05$ **: $p \leq 0.01$

Table 5-1

Summary of gross findings (successful pregnancy)

Exp. No. 3208 (115-075)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)		0	10	30	100
No. of animals necropsied		12	11	11	12
Organ	Findings				
HEMATOPOIETIC SYSTEM					
spleen	black	0	0	10**	12**
	enlarged	0	0	9**	12**
RESPIRATORY SYSTEM					
lung	brown patch/zone	0	0	0	1
DIGESTIVE SYSTEM					
liver	diaphragmatic hernia	1	0	0	0
URINARY SYSTEM					
kidney	brown	0	0	0	1
	cyst	1	0	2	0
	scarred	1	0	0	1

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

Table 5-2

Summary of gross findings (day 4 of lactation)

Exp. No. 3208 (115-075)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)		0	10	30	100
No. of animals necropsied		12	11	11	12
Organ	Findings				
HEMATOPOIETIC SYSTEM					
spleen	black	0	0	9**	12**
	enlarged	0	0	5*	12**
RESPIRATORY SYSTEM					
lung	black patch/zone	0	0	0	1
	brown patch/zone	1	2	0	0
DIGESTIVE SYSTEM					
liver	nodule	0	0	0	1
	red patch/zone	0	1	1	0
URINARY SYSTEM					
kidney	brown	0	0	0	2
	scarred	0	1	0	0
REPRODUCTIVE SYSTEM					
ovary	cyst	1	0	0	0
INTEGUMENTARY SYSTEM					
hair	thin	0	0	0	2

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

Table 5-3

Summary of gross findings (not copulation)

Exp. No. 3208 (115-075)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)		0	10	30	100
No. of animals necropsied		0	0	1	0
Organ	Findings				
HEMATOPOIETIC SYSTEM					
spleen	black	-	-	1	-
	enlarged	-	-	1	-

Table 5-4

Summary of gross findings (not copulation)

Exp. No. 3208 (115-075)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)					
No. of animals necropsied					
Organ	Findings				
		0	0	10	30
		0	0	0	1
					100
					0
HEMATOPOIETIC SYSTEM					
spleen		-	-	-	1
black					-

Table 6-1-1

Summary of histological findings (successful pregnancy)

Exp. No. 3208 (115-075)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)	0	10	30	100
No. of animals sacrificed	12	11	11	12
No. of animals necropsied	12	11	11	12
No. of animals examined histologically	12	11	11	12
Organ Findings				
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
spleen				
congestion	0	5*	11**	12**
deposit, pigment	6	11**	11**	12**
cellular infiltration	0	0	0	1
hematopoiesis, extramedullary	0	0	10**	12**
RESPIRATORY SYSTEM				
lung				
hemorrhage	-	-	-	1
DIGESTIVE SYSTEM				
liver				
deposit, glycogen	12	11	11	12
deposit, pigment	0	3	11**	12**
fatty change	3	2	4	2
necrosis, focal	1	0	0	0
microgranuloma	6	5	5	5
hematopoiesis, extramedullary	0	0	0	11**
herniation	1	0	0	0
URINARY SYSTEM				
kidney				
basophilic tubules	11	10	9	10
cast, hyaline	3	4	0	1
cyst	0	0	2	0
deposit, brown pigment	0	0	4*	12**
dilatation, tubules	1	2	1	0
eosinophilic body	6	4	2	5
hyaline droplet	7	6	7	12*
mineralization	1	0	2	2
cellular infiltration, lymphocyte	3	2	2	3
microgranuloma	0	1	1	1
fibrosis, scar	3	0	0	1
REPRODUCTIVE SYSTEM				
epididymis				
cellular infiltration, lymphocyte	4	3	6	4

-: Not applicable.

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

Table 6-1-2

Summary of histological findings (successful pregnancy)

Exp. No. 3208 (115-075)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)		0				10				30				100			
No. of animals sacrificed		12				11				11				12			
No. of animals necropsied		12				11				11				12			
No. of animals examined histologically		12				11				11				12			
Organ	Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
HEMATOPOIETIC SYSTEM																	
spleen		(12)				(11)				(11)				(12)			
	congestion	-	0	0	0	-	5	0	0**	-	11	0	0**	-	7	5	0**
	deposit, pigment	-	6	0	0	-	11	0	0**	-	6	5	0**	-	3	9	0**
	cellular infiltration	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	-	1	0	0
	hematopoiesis, extramedullary	-	0	0	0	-	0	0	0	-	10	0	0	-	12	0	0
RESPIRATORY SYSTEM																	
lung		(0)				(0)				(0)				(1)			
	hemorrhage	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
DIGESTIVE SYSTEM																	
liver		(12)				(11)				(11)				(12)			
	deposit, glycogen	-	12	0	0	-	11	0	0	-	9	2	0	-	7	5	0**
	deposit, pigment	-	0	0	0	-	3	0	0	-	11	0	0	-	12	0	0
	fatty change	-	3	0	0	-	2	0	0	-	4	0	0	-	2	0	0
	necrosis, focal	-	1	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0
	microgranuloma	-	6	0	0	-	5	0	0	-	5	0	0	-	5	0	0
	hematopoiesis, extramedullary	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	-	11	0	0
	herniation	-	1	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0
URINARY SYSTEM																	
kidney		(12)				(11)				(11)				(12)			
	basophilic tubules	-	11	0	0	-	10	0	0	-	9	0	0	-	10	0	0
	cast, hyaline	-	3	0	0	-	4	0	0	-	0	0	0	-	1	0	0
	cyst	-	0	0	0	-	0	0	0	-	2	0	0	-	0	0	0
	deposit, brown pigment	-	0	0	0	-	0	0	0	-	4	0	0	-	12	0	0
	dilatation, tubules	-	1	0	0	-	2	0	0	-	1	0	0	-	0	0	0
	eosinophilic body	-	6	0	0	-	4	0	0	-	2	0	0	-	5	0	0
	hyaline droplet	-	7	0	0	-	6	0	0	-	7	0	0	-	12	0	0
	mineralization	-	1	0	0	-	0	0	0	-	2	0	0	-	2	0	0
	cellular infiltration, lymphocyte	-	3	0	0	-	2	0	0	-	2	0	0	-	3	0	0
	microgranuloma	-	0	0	0	-	1	0	0	-	1	0	0	-	1	0	0
	fibrosis, scar	-	3	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	-	1	0	0
REPRODUCTIVE SYSTEM																	
epididymis		(12)				(11)				(11)				(12)			
	cellular infiltration, lymphocyte	-	4	0	0	-	3	0	0	-	6	0	0	-	4	0	0

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

=: benign #: malignant

{}: No. of animals examined microscopically at this site.

-: Not applicable.

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

Table 6-2-1

Summary of histological findings (day 4 of lactation)

Exp. No. 3208 (115-075)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0	10	30	100
No. of animals sacrificed	12	11	11	12
No. of animals necropsied	12	11	11	12
No. of animals examined histologically	12	11	11	12
Organ Findings				
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
spleen				
congestion	0	3	11**	12**
deposit, pigment	6	11**	11**	12**
hematopoiesis, extramedullary	0	0	7**	12**
RESPIRATORY SYSTEM				
lung				
hemorrhage	1	1	-	1
bronchopneumonia	0	1	-	0
DIGESTIVE SYSTEM				
liver				
angiectasis	0	1	1	0
deposit, glycogen	10	9	9	12
deposit, pigment	0	0	10**	12**
fatty change	6	7	7	6
inclusion body, intracytoplasmic	0	0	1	0
mineralization	0	0	0	1
necrosis	0	0	0	1
necrosis, focal	1	0	0	0
microgranuloma	1	3	3	3
hematopoiesis, extramedullary	0	0	2	5*
URINARY SYSTEM				
kidney				
edema	1	0	0	0
basophilic tubules	5	4	4	5
cast, hyaline	0	3	0	0
deposit, brown pigment	0	0	4*	12**
dilatation, tubules	0	1	0	0
hyaline droplet	0	1	0	0
mineralization	1	1	1	3
cellular infiltration, lymphocyte	3	0	0	3
fibrosis, scar	0	1	0	0
REPRODUCTIVE SYSTEM				
ovary				
cyst, brusa	1	0	0	0
deposit, pigment	6	6	5	5

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

Table 6-2-1 -continued

Summary of histological findings (day 4 of lactation)

Exp. No. 3208 (115-075)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0	10	30	100
No. of animals sacrificed	12	11	11	12
No. of animals necropsied	12	11	11	12
No. of animals examined histologically	12	11	11	12
Organ Findings				

INTEGUMENTARY SYSTEM

skin				
erosion	-	-	-	1

-: Not applicable.

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

Table 6-2-2

Summary of histological findings (day 4 of lactation)

Exp. No. 3208 (115-075)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0	10	30	100
No. of animals sacrificed	12	11	11	12
No. of animals necropsied	12	11	11	12
No. of animals examined histologically	12	11	11	12
Organ Findings	T 1 2 3	T 1 2 3	T 1 2 3	T 1 2 3
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
spleen	(12)	(11)	(11)	(12)
congestion	- 0 0 0	- 3 0 0*	- 11 0 0**	- 7 5 0**
deposit, pigment	- 6 0 0	- 11 0 0**	- 8 3 0**	- 5 7 0**
hematopoiesis, extramedullary	- 0 0 0	- 0 0 0	- 7 0 0	- 12 0 0
RESPIRATORY SYSTEM				
lung	(1)	(2)	(0)	(1)
hemorrhage	- 1 0 0	- 1 0 0	- - - -	- 1 0 0
bronchopneumonia	- 0 0 0	- 1 0 0	- - - -	- 0 0 0
DIGESTIVE SYSTEM				
liver	(12)	(11)	(11)	(12)
angiectasis	- 0 0 0	- 1 0 0	- 1 0 0	- 0 0 0
deposit, glycogen	- 10 0 0	- 9 0 0	- 7 2 0	- 8 4 0**
deposit, pigment	- 0 0 0	- 0 0 0	- 10 0 0	- 12 0 0
fatty change	- 6 0 0	- 7 0 0	- 7 0 0	- 6 0 0
inclusion body, intracytoplasmic	- 0 0 0	- 0 0 0	- 1 0 0	- 0 0 0
mineralization	- 0 0 0	- 0 0 0	- 0 0 0	- 1 0 0
necrosis	- 0 0 0	- 0 0 0	- 0 0 0	- 1 0 0
necrosis, focal	- 1 0 0	- 0 0 0	- 0 0 0	- 0 0 0
microgranuloma	- 1 0 0	- 3 0 0	- 3 0 0	- 3 0 0
hematopoiesis, extramedullary	- 0 0 0	- 0 0 0	- 2 0 0	- 5 0 0
URINARY SYSTEM				
kidney	(12)	(11)	(11)	(12)
edema	- 1 0 0	- 0 0 0	- 0 0 0	- 0 0 0
basophilic tubules	- 5 0 0	- 4 0 0	- 4 0 0	- 5 0 0
cast, hyaline	- 0 0 0	- 3 0 0	- 0 0 0	- 0 0 0
deposit, brown pigment	- 0 0 0	- 0 0 0	- 4 0 0	- 12 0 0
dilatation, tubules	- 0 0 0	- 1 0 0	- 0 0 0	- 0 0 0
hyaline droplet	- 0 0 0	- 1 0 0	- 0 0 0	- 0 0 0
mineralization	- 1 0 0	- 1 0 0	- 1 0 0	- 3 0 0
cellular infiltration, lymphocyte	- 3 0 0	- 0 0 0	- 0 0 0	- 3 0 0
fibrosis, scar	- 0 0 0	- 1 0 0	- 0 0 0	- 0 0 0
REPRODUCTIVE SYSTEM				
ovary	(12)	(11)	(11)	(11)
cyst, brusa	- 1 0 0	- 0 0 0	- 0 0 0	- 0 0 0
deposit, pigment	- 6 0 0	- 6 0 0	- 5 0 0	- 5 0 0

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

=: benign #: malignant

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

-: Not applicable.

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

Table 6-2-2 -continued

Summary of histological findings (day 4 of lactation)

Exp. No. 3208 (115-075)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0	10	30	100
No. of animals sacrificed	12	11	11	12
No. of animals necropsied	12	11	11	12
No. of animals examined histologically	12	11	11	12
Organ Findings	T 1 2 3	T 1 2 3	T 1 2 3	T 1 2 3

INTEGUMENTARY SYSTEM

skin	(0)	(0)	(0)	(2)
erosion	- - - -	- - - -	- - - -	- 1 0 0

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

=: benign #: malignant

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

-: Not applicable.

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

Table 6-3

Summary of histological findings (not copulation)

Exp. No. 3208 (115-075)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)		0				10				30				100			
No. of animals not copulation		0				0				1				0			
No. of animals necropsied		0				0				1				0			
No. of animals examined histologically		0				0				1				0			
Organ	Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
HEMATOPOIETIC SYSTEM																	
spleen										(1)							
	congestion	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0	-	-	-	-
	deposit, pigment	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	1	0	-	-	-	-
	hematopoiesis, extramedullary	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0	-	-	-	-
DIGESTIVE SYSTEM																	
liver										(1)							
	deposit, glycogen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0	-	-	-	-
	deposit, pigment	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0	-	-	-	-
URINARY SYSTEM																	
kidney										(1)							
	basophilic tubules	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0	-	-	-	-
	cellular infiltration, lymphocyte	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0	-	-	-	-

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

=: benign #: malignant

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

-: Not applicable.

Table 6-4

Summary of histological findings (not copulation)

Exp. No. 3208 (115-075)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0	10	30	100
No. of animals not copulation	0	0	1	0
No. of animals necropsied	0	0	1	0
No. of animals examined histologically	0	0	1	0
Organ Findings	T 1 2 3	T 1 2 3	T 1 2 3	T 1 2 3
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
spleen			(1)	
congestion	- - - -	- - - -	- 1 0 0	- - - -
deposit, pigment	- - - -	- - - -	- 0 1 0	- - - -
DIGESTIVE SYSTEM				
liver			(1)	
deposit, glycogen	- - - -	- - - -	- 1 0 0	- - - -
deposit, pigment	- - - -	- - - -	- 1 0 0	- - - -
fatty change	- - - -	- - - -	- 1 0 0	- - - -
microgranuloma	- - - -	- - - -	- 1 0 0	- - - -
REPRODUCTIVE SYSTEM				
ovary			(1)	
deposit, pigment	- - - -	- - - -	- 1 0 0	- - - -
uterus			(1)	
erosion	- - - -	- - - -	- 1 0 0	- - - -

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

=: benign #: malignant

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

-: Not applicable.

Table 6-5

Summary of histological findings (non-pregnancy)

Exp. No. 3208 (115-075)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)		0				10				30				100			
No. of animals non-pregnancy		0				1				0				0			
No. of animals necropsied		0				1				0				0			
No. of animals examined histologically		0				1				0				0			
Organ	Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
HEMATOPOIETIC SYSTEM																	
spleen						(1)											
	deposit, pigment	-	-	-	-	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
DIGESTIVE SYSTEM																	
liver						(1)											
	deposit, glycogen	-	-	-	-	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	fatty change	-	-	-	-	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
URINARY SYSTEM																	
kidney						(1)											
	basophilic tubules	-	-	-	-	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	eosinophilic body	-	-	-	-	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	hyaline droplet	-	-	-	-	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
REPRODUCTIVE SYSTEM																	
epididymis						(1)											
	cellular infiltration, lymphocyte	-	-	-	-	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-

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

=: benign #: malignant

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

-: Not applicable.

Table 6-6

Summary of histological findings (non-pregnancy)

Exp. No. 3208 (115-075)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0	10	30	100
No. of animals non-pregnancy	0	1	0	0
No. of animals necropsied	0	1	0	0
No. of animals examined histologically	0	1	0	0
Organ Findings	T 1 2 3	T 1 2 3	T 1 2 3	T 1 2 3
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
spleen		(1)		
congestion	- - - -	- 1 0 0	- - - -	- - - -
deposit, pigment	- - - -	- 1 0 0	- - - -	- - - -
DIGESTIVE SYSTEM				
liver		(1)		
deposit, glycogen	- - - -	- 1 0 0	- - - -	- - - -
deposit, pigment	- - - -	- 1 0 0	- - - -	- - - -
microgranuloma	- - - -	- 1 0 0	- - - -	- - - -
URINARY SYSTEM				
kidney		(1)		
cellular infiltration, lymphocyte	- - - -	- 1 0 0	- - - -	- - - -
REPRODUCTIVE SYSTEM				
ovary		(1)		
deposit, pigment	- - - -	- 1 0 0	- - - -	- - - -

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

=: benign #: malignant

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

-: Not applicable.

Table 7

Copulation and fertility results in rats

Exp. No. 3208 (115-075)

Dose level (mg/kg)	0	10	30	100
No. of pairs mated	12	12	12	12
No. of pairs copulated	12	12	11	12
No. of pregnant females	12	11	11	12
Copulation index (%) 1)	100.0	100.0	91.7	100.0
Fertility index (%) 2)	100.0	91.7	100.0	100.0
Estrus cycle (days) (Mean $\pm$ S.D.)	4.3 $\pm$ 0.5 (12)	4.6 $\pm$ 0.5 (12)	4.2 $\pm$ 0.3 (12)	4.3 $\pm$ 0.6 (12)

1) (No. of animals with successful copulation / no. of animals mated) $\times$ 1002) (No. of pregnant animals / no. of animals with successful copulation) $\times$ 100

Values in parentheses are expressed no. of animals observed

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 8

Findings of delivery in dams(F0)

Exp. No. 3208 (115-075)

Dose level (mg/kg)	0	10	30	100
No. of dams observed	12	11	11	12
No. of dams delivered live pups	12	11	11	12
Duration of gestation (Mean $\pm$ S.D.)	22.4 $\pm$ 0.5	22.9 $\pm$ 0.3*	22.6 $\pm$ 0.5	22.8 $\pm$ 0.4
No. of total corpora lutea (Mean $\pm$ S.D.)	258(21.5 $\pm$ 2.2)	234(21.3 $\pm$ 3.1)	241(21.9 $\pm$ 3.1)	257(21.4 $\pm$ 2.8)
No. of total implants (Mean $\pm$ S.D.)	216(18.0 $\pm$ 1.3)	183(16.6 $\pm$ 2.2)	195(17.7 $\pm$ 2.1)	209(17.4 $\pm$ 1.8)
No. of total pups born (Mean $\pm$ S.D.)	198(16.5 $\pm$ 1.4)	170(15.5 $\pm$ 2.1)	174(15.8 $\pm$ 1.1)	172(14.3 $\pm$ 3.1)
No. of total live pups born (Mean $\pm$ S.D.)	196(16.3 $\pm$ 1.7)	169(15.4 $\pm$ 2.2)	174(15.8 $\pm$ 1.1)	171(14.3 $\pm$ 3.0)
Male	109(9.1 $\pm$ 2.1) a)	90(8.2 $\pm$ 1.0) a)	88(8.0 $\pm$ 2.2)	82(6.8 $\pm$ 2.6) a)
Female	87(7.3 $\pm$ 1.8) a)	79(7.2 $\pm$ 1.8) a)	86(7.8 $\pm$ 1.9)	89(7.4 $\pm$ 1.9) a)
Sex ratio (Mean $\pm$ S.D.)	1.38 $\pm$ 0.70	1.21 $\pm$ 0.40	1.23 $\pm$ 0.98	0.97 $\pm$ 0.42
No. of total live pups on day 4 (Mean $\pm$ S.D.)				
Male	100(8.3 $\pm$ 2.2)	83(7.5 $\pm$ 1.9)	86(7.8 $\pm$ 2.4)	75(6.3 $\pm$ 2.3)
Female	81(6.8 $\pm$ 1.6)	73(6.6 $\pm$ 2.1)	82(7.5 $\pm$ 1.8)	83(6.9 $\pm$ 1.9)
No. of total dead pups born (Mean $\pm$ S.D.)	2(0.2 $\pm$ 0.6)	1(0.1 $\pm$ 0.3)	0(0.0 $\pm$ 0.0)	1(0.1 $\pm$ 0.3)
stillbirth	0(0.0 $\pm$ 0.0)	0(0.0 $\pm$ 0.0)	0(0.0 $\pm$ 0.0)	0(0.0 $\pm$ 0.0)
cannibalism	2(0.2 $\pm$ 0.6)	1(0.1 $\pm$ 0.3)	0(0.0 $\pm$ 0.0)	1(0.1 $\pm$ 0.3)
Gestation index (%) 1)	100.0	100.0	100.0	100.0
Implantation index (% Mean $\pm$ S.D.) 2)	84.5 $\pm$ 10.4	79.5 $\pm$ 13.5	82.5 $\pm$ 15.1	82.0 $\pm$ 9.4
Delivery index (% Mean $\pm$ S.D.) 3)	91.9 $\pm$ 7.5	93.3 $\pm$ 8.3	90.0 $\pm$ 7.9	81.9 $\pm$ 13.8*
Live birth index (% Mean $\pm$ S.D.) 4)	98.9 $\pm$ 3.8	99.4 $\pm$ 2.0	100.0 $\pm$ 0.0	99.4 $\pm$ 1.9
Viability index on day 4 (% Mean $\pm$ S.D.) 5)				
Male	91.4 $\pm$ 9.1	92.0 $\pm$ 18.8	97.0 $\pm$ 6.8	91.7 $\pm$ 15.2
Female	93.7 $\pm$ 10.1	92.6 $\pm$ 15.4	95.9 $\pm$ 5.7	94.2 $\pm$ 15.1

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

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

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

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

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

a) Includes live pups died before observations

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 9

External observations on live pups(F1) from rats

Exp. No. 3208 (115-075)

Dose level (mg/kg)	0	10	30	100
No. of litters	12	11	11	12
No. of live pups examined a)	191	167	174	166
No. of live pups with external anomalies (% Mean $\pm$ S.D.)	0.6 $\pm$ 1.9 ¹	0 -	0.6 $\pm$ 1.9 ¹	0 -
Type and incidence of external anomalies (%) 1)				
absence tail	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
pes varus	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Nanooffspring	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.6)	0 (0.0)

1) (No. of live pups with external anomalies / no. of live pups examined) x 100

a) Excludes live pups died before observations

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

Table 10

Body weight change of pups(F1) from rats

Exp. No. 3208 (115-075)

		Unit : g							
Dose level (mg/kg)		0		10		30		100	
No. of litters		12		11		11		12	
		Mean $\pm$ S.D.		(N)		Mean $\pm$ S.D.		(N)	
Male									
Days after birth	0	6.8 $\pm$ 0.6 a)	(12)	7.0 $\pm$ 0.5 a)	(11)	6.8 $\pm$ 0.5	(11)	6.9 $\pm$ 0.6 a)	(12)
	4	9.4 $\pm$ 1.6	(12)	9.4 $\pm$ 1.6	(11)	9.2 $\pm$ 0.9	(11)	9.6 $\pm$ 1.4	(12)
Female									
Days after birth	0	6.4 $\pm$ 0.6 a)	(12)	6.6 $\pm$ 0.5 a)	(11)	6.5 $\pm$ 0.5	(11)	6.5 $\pm$ 0.6 a)	(12)
	4	8.8 $\pm$ 1.5	(12)	8.9 $\pm$ 1.6	(11)	8.8 $\pm$ 1.3	(11)	9.1 $\pm$ 1.2	(12)

a) Excludes live pups died before observations

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

Table 11-1

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

Exp. No. 3208 (115-075)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)	0	10	30	100	
No. of pups necropsied	100	83	86	75	
Organ Findings					
HEMATOPOIETIC SYSTEM					
thymus	thymic remnant in the neck	0	2	0	1
DIGESTIVE SYSTEM					
liver	white patch/zone	0	1	2	1

Table 11-2

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

Exp. No. 3208 (115-075)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0	10	30	100
No. of pups necropsied	81	73	82	83
Organ Findings				
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
thymus				
thymic remnant in the neck	0	0	3	0
red patch/zone	0	0	0	1
DIGESTIVE SYSTEM				
liver				
black patch/zone	0	1	0	0
malformative nodule	1	0	0	0