最終報告書

ブチルメタクリレートのラットを用いる 反復経口投与毒性・生殖発生毒性併合試験 (試験番号 96-064-2)

財団法人 畜産生物科学安全研究所

目 次

要約	1
緒言	2
試験目的	2
試験材料および方法	
1. 被験物質	2
2. 供試動物および飼育条件	2
3. 群分けおよび個体識別	3
4. 投与量の設定、試験群の構成および投与方法	3
5. 観察および検査	
1)親動物に関する項目	
(1)一般状態観察	4
(2)体重および摂餌量測定	4
(3)交配および分娩状態観察	4
(4)臨床病理学検査	4
(5)病理学検査	7
2)新生児に関する項目	
(1)産児数および性比の観察	7
(2) 外表異常および一般状態観察	8
(3)体重測定	8
(4)病理学検査	8
6. 統計処理	8
試験結果	(
1. 反復投与毒性	
1) 死亡動物	8
2)一般状態	8
3)体重	8
4)摂餌量	9
5)雄の尿所見	9
6)雄の血液学所見	9
7)雄の血液生化学所見	9
8)剖検所見	. 9
9)器官重量	9
10) 病理組織学所見	1 0

2. 生殖発生毒性 1) 親動物に及ぼす影響 (1) 交尾率および受胎率 ------1 0 (3) 出産率および妊娠期間 -------1 0 1 0 2) 新生児に及ぼす影響 (1) 生存性-----1 1 1 1 考察および結論 1 1 1 3 添付資料 A. 図·群別平均值表 体重 ------Figures 1, 2 1 3 Figures 3, 4 5 Tables 1, 2 一般状態 ------7 Tables 3, 4 体重 ------9 Tables 5, 6 摂餌量 ------Tables 7, 8 尿所見 ------1 3 Table 血液学所見 ------1 5 Table 10 血液生化学所見 -------16 Table 11 剖検所見 ------1 7 Tables 12, 13 Tables 14, 15 病理組織学所見 -------2 1 Tables 16, 17 生殖に及ぼす影響 ------Table 18 新生児に及ぼす影響 -------Table 19 ______ 新生児の外表所見 Table 20

21

Table

要約

アクリル樹脂モノマーで、種々の樹脂製品の成分として使用されている高生産量既存化学物質ブチルメタクリレートについて、反復経口投与毒性・生殖発生毒性併合試験を、SD系 [Crj: CD(SD)] ラットを用い、0、30、100、300および1000mg/kg/dayで実施した。動物は1群雌雄各10匹とし、被験物質は交配開始14日前から雄は44日間、雌は分娩後哺育3日(41-45日間)まで投与した。

1. 反復投与毒性

雄親について、100mg/kg以上の群で、脾臓の絶対および相対重量の減少が認められ、病理組織学検査では赤脾髄の萎縮が観察された。さらに、1000mg/kg群で、体重増加の抑制、摂餌量の減少、尿のケトン体および潜血の増加傾向、血液プロトロンビン時間の延長、血清尿素窒素および腎臓の相対重量の増加が認められた。

一方、雌親について、1000mg/kg群で、雄親と同様に体重増加の抑制、摂餌量の減少および病理組織学的に脾臓の赤脾髄の萎縮が認められた。

以上の結果から、ブチルメタクリレートのラットにおける主な反復投与毒性は脾臓に対する影響で、腎臓に対しても軽度な影響が認められた。無影響量は雄で30mg/kg/day、雌で300mg/kg/dayと推定された。

2。生殖発生毒性

雌親の生殖能について、1000mg/kg群で黄体数および着床数の減少が認められた。雄親の生殖 能および児動物の発生については、変化は認められなかった。

以上の結果から、雄親の生殖能および児動物の発生に対する無影響量は1000mg/kg/day、雌親の生殖能に対する無影響量は300mg/kg/dayと推定された。

緒言

ブチルメタクリレートは、メタクリル酸とn-ブタノールをエステル反応させて得られるアクリル樹脂モノマーで、これを重合させてポリマーとし、種々の樹脂製品の主成分として使用されている。

ブチルメタクリレートの毒性について、ラットにおける急性経口LD $_5$ </code>。値は5000mg/kg以上いで、ラットを用いた28日間の吸入毒性試験では、主な影響として上部気道に対する刺激性が認められ、無影響濃度は1801mg/m³と報告 2)されている。眼や皮膚に対しても軽度な刺激性を有するが、感作性は認められていない 2)。変異原性について、エームス試験で陰性と報告 3 . 4)されている。生殖発生毒性について、Singhら 5)はラットを用いた腹腔内投与による催奇形性試験で、吸収胚および胎仔の外形異常の増加を認めている。しかし、ブチルメタクリレートについて、経口投与による反復投与毒性および生殖発生毒性については明らかにされていない。

この試験は、OECDにおける高生産量既存化学物質の安全性点検プログラムの一環として、実施したものである。

試験目的

ブチルメタクリレートを雌雄ラットに反復経口投与し、投与期間中に交配、妊娠および分娩 させ、本物質の反復投与毒性ならびに生殖発生毒性を検討する。

試験材料および方法

1. 被験物質 (Appendices 1~4)

ブチルメタクリレート (CAS No. 97-88-1) は、分子量142.20、融点-60℃以下、有機溶剤、植物油に可溶、水に難溶な無色透明の液体である。試験には、

のもの(ロット番号 純度 99.6%、重合防止剤としてハイドロキノンモノメチルエーテル24ppm添加)を入手し、冷暗所(4 $^{\circ}$)で密栓保管し使用した。本物質の詳細はAppendix 1に示した。用いた被験物質は使用期間中安定であったことを確認した(Appendix 2)。被験物質は溶媒として局方ゴマ油(宮澤薬品株式会社、ロット番号DD16、DJ04)を用いて所定の投与用量になるような濃度の溶液に調製して投与液とし、1日の使用量ごとに小分けし、使用時まで冷暗所(4 $^{\circ}$)で密栓保管した。投与液は少なくとも7日間は安定であることが確認された(Appendix 3)ので、週1回調製し、調製後7日以内に使用した。また、初回と最後に調製した投与液について分析し、所定濃度で調製されていることを確認した(Appendix 4)。なお、被験物質の分析のうち原体の分析は、 に委託して実施した。

2. 供試動物および飼育条件 (Appendices 5~8)

動物はSD系 [Crj:CD(SD)] のSPFラットを用いた。ラットは日本チャールス・リバー株式会社

(神奈川県厚木市下古沢795)から雄は8週齢、雌は7週齢で搬入(雄57匹,雌57匹)し、5日間試験環境に馴化させ、その間に検疫を行い、発育が順調で一般健康状態の良好な雌雄各50匹を雄は9週齢、雌は8週齢で試験に供した。投与開始時の平均体重(体重範囲)は、雄356(340~373)g、雌 211(198~222)g であった。

ラットは、温度21~23℃、湿度54~61%(Appendix 5)、換気回数10回以上/時(オールフレッシュエアー方式)、照明12時間(午前6時点灯、午後6時消灯)のバリアーシステム動物室(1室)で、個体別にステンレス製金網ケージ〔260W×380D×180H(mm)〕に収容し、これをステンレス製5段のラックに配して飼育した。ただし、交尾確認後の雌は、巣作り材料〔日本チャールス・リバー株式会社、ホワイトフレーク(ロット番号8.5.18)、汚染物質の分析結果:Appendix 6〕を入れたポリカーボネート製ケージ〔265W×426D×200H(mm)〕に収容した。飼料(日本農産工業株式会社、固型飼料ラボMRストック、ロット番号960955、汚染物質の分析結果:Appendix 7)と水(神奈川県営水道水を1μmカートリッジフィルター濾過後紫外線照射して使用、汚染物質の分析結果:Appendix 8)は、それぞれ給餌器および自動給水装置または給水瓶(ポリカーボネート製ケージの場合)により自由摂取させた。動物室の温度・湿度測定結果、飼料・水・巣作り材料の分析結果などから、動物の飼育期間を通じて、試験成績の信頼性に影響を及ぼすと思われる環境要因の変化はなかったものと判断された。

3. 群分けおよび個体識別

各群の動物数は雌雄各10匹とし、各群への動物の割り付けは投与開始日(投与前)の体重に基づく層化無作為抽出法を行い、各群の体重分布が均一化するようにした。

群分け後の動物の個体識別は耳パンチ法により行い、ラックおよびケージには標識札を貼付した。

4. 投与量の設定、試験群の構成および投与方法

投与量設定試験として、ラットを1群雌雄各4匹とし、ブチルメタクリレートを0、100、250、500、1000および2000mg/kg/dayで14日間反復経口投与した。投与7日の夕方から交尾が成立するまで、雌雄各1匹づつを同居させた。500および1000mg/kg群で、雄にヘマトクリット値の減少が認められた。さらに、1000mg/kg群で、雌雄に前胃粘膜の肥厚例、肝臓の退色例、雄に血清尿素窒素の増加、総コレステロールおよびナトリウムの減少、雌に血液プロトロンビン時間の延長、肝臓の相対重量増加が認められた。2000mg/kg群では、雌雄に摂餌量および体重の著減、各2匹の死亡が認められた。交配成績については、全例が生存した1000mg/kg以下の群で、全ての対に交尾が確認された。

以上の結果から、本試験における投与量については、確実に反復投与毒性の発現が予測される1000mg/kg/dayを最高用量、投与の影響が発現しないと予測される30mg/kg/dayを最低用量とし、それらの間に300および100mg/kg/dayを設定した。

試験群の構成は、①溶媒投与群(以下、対照群)、②ブチルメタクリレート30mg/kg/day投与群(30mg/kg群)、同100mg/kg/day投与群(100mg/kg群)、④同300mg/kg/day投与群(300mg/kg群)、⑤同1000mg/kg/day投与群(1000mg/kg群)の5群とした。

投与方法は、投与液量を体重 1 kg当たり 5 mlとし、テフロン製胃ゾンデを装着した注射筒を用いてブチルメタクリレートの0.6 w/v%液(30 mg/kg群)、2 w/v%液(100 mg/kg群)、6 w/v%液(300 mg/kg群)あるいは20 w/v%液(1000 mg/kg群)を、雌雄とも交配開始14日前から雄は44日間、雌は分娩後の哺育3日(41~45日間)まで、1日1回(午前中)経口投与した。各個体の投与液量は、至近日の測定体重に基づいて算出した。対照群には、被験物質の溶媒として用いた局方ゴマ油を同様に投与した。

5. 観察および検査

- 1) 親動物に関する項目
- (1) 一般状態観察

投与期間中毎日、動物の生死、外観、行動等について観察した。

(2) 体重および摂餌量測定

体重の測定は、投与開始日(投与開始直前)およびその後は7日間隔で行い、さらに最終投与日と屠殺日に測定した。ただし、雌の妊娠後は、妊娠0、7、14 および 20日と哺育0 および4日に測定した。摂餌量は、体重測定日に合わせて翌日までの24時間の飼料消費量を測定した。摂餌量の最終測定は、雄は投与43日、雌は哺育3日に行った。交配期間中は摂餌量を測定しなかった。これらの測定には、電子上皿天秤(メトラー社製、PL3000)を用いた。

(3) 交配および分娩状態観察

投与15日の午後に、雄のケージに同一群内の雌を入れて1対1の組み合わせを作り、交尾が確認されるまで(5日間で全例の交尾を確認)連続同居させた。交尾の確認は毎朝一定時刻(9:30分頃)に行い、膣栓形成あるいは膣垢中に精子が確認された日を妊娠0日とした。分娩状態の観察も同じ時刻に行い、1腹ごとに分娩の終了が確認された日を哺育0日とした。交配および分娩の観察結果から、各群について同居開始から交尾成立までの期間、交尾率〔(交尾成立動物数/同居動物数)×100〕、受胎率〔(受胎雌数/交尾成立雌数)×100〕および出産率〔(生児出産雌数/妊娠雌数)×100〕ならびに分娩の確認された例について妊娠期間(妊娠0日から分娩が確認された日までの期間)を算定した。

(4) 臨床病理学検査

雄について、以下の検査を実施した。

a. 尿検査:投与39日あるいは42日に新鮮尿を採取し、試験紙法(マイルス・三共株式会社、マルティスティックス®)によるpH、潜血、タンパク、糖、ケトン体、ビリルビンおよびウロビリノーゲンの定性的検査を行った。また、ラットを代謝ケージに収容(約3時間)して得た蓄尿について、外観の観察、比重の測定(エルマ光学株式会社、屈折計)ならびに尿沈渣の検査

(URI-CELL® 液、ケンブリッジケミカルプロダクト社)を行った。

b. 血液学検査:供試血液の採取は投与期間終了翌日(投与開始 45 日)の解剖直前に行った。動物は採血前日の午後5時より除餌し、水のみを給与した。採血はエーテル麻酔下で開腹して腹大動脈より行ない、以下の項目について検査した。なお、採取した血液は3分割し、その一部は3.8%クエン酸ナトリウム液で凝固阻止処理して血漿を得、プロトロンビン時間および活性化部分トロンボプラスチン時間の測定に、一部は、EDTA-2K処理してその他の血液検査に供した。

項目(略号)	測定法	測定機器
①赤血球数(RBC)	電気抵抗検出方式)
②血色素量(Hb)	ラウリル硫酸ナトリウムー ヘモグロビン法	
③ヘマトクリット値(Ht)	パルス検出方式	
④平均赤血球容積(MCV)	計算値	夕 在日白毛山石(1431米)
⑤平均赤血球血色素量(MCH)	計算值	多項目自動血球計数 装置〔E-4000:東頭
⑥平均赤血球血色素濃度(MCHC)	計算值	医用電子 (株)]
⑦白血球数(WBC)	電気抵抗検出方式	
⑧血小板数(Plat.)	電気抵抗検出方式	
⑨網状赤血球数(Ret.)	Brilliant cresyl blue 染色した塗抹標本の鏡検	
⑪プロトロンビン時間(PT)	Quick一段法	A. M. 127 Ed to #1 201 -1-
⑪活性化部分トロンボプラスチン 時間(APTT)	エラジン酸活性化法	血液凝固自動測定 装置(KC-10A : 米 アメルング社)

なお、白血球百分率算定用に血液塗抹標本を作製したが、白血球数に変化が認められなかったか、観察は実施しなかった。

c. 血液生化学検査:採取した血液の一部から血清を分離し、次の項目を測定した。

	項目(略号)	測定法	測定機器
1	総タンパク (T.P.)	Biuret 法	<u> </u>
2	アルブミン (Alb.)	BCG 法	
3	A/G比 (A/G)	計算值	
4	血糖 (Glu.)	酵素法 (GK ¹ '-G6PDH ² '-UV 系)	
5	トリグリセライド (T. G.)	酵素法 (LPL ³⁾ -GPO ⁴⁾ -POD ⁵⁾ 系)	
6	総コレステロール(T-Cho.)	酵素法 (CES ⁵)-COD ⁷⁾ -POD 系)	·
7	総ビリルビン(T-Bil.)	Jendrassik 法	
8	尿素窒素 (BUN)	Urease-UV 法	生化学自動分析
9	クレアチニン (Crea.)	Jaffé 法	装置〔JCA-VX- 1000 型クリナ ニノギ ・ロオ
10	GOT (GOT)	SSCC®)法	ライザー:日本 電子(株)]
1	G P T (GPT)	SSCC 法	•
12	γ - G T P (γ -GTP)	SSCC 法	
(3)	L D H (LDH)	SSCC 法	
4	A L P (ALP)	GSCC°')法	,
(15)	コリンエステラーゼ (ChE)	BTC ¹⁰⁾ -DTNB ¹¹⁾ 法	
16	カルシウム (Ca)	OCPC 法	
17	無機リン (P)	酵素法 (PNP ¹²⁾ -XOD ¹⁸⁾ -POD系)	J
18	ナトリウム (Na)	イオン電極法	最初所白新八七
19	カリウム (K)	イオン電極法	電解質目動分析 装置〔NAKL-1: 東西電池工業(性)〕
20	塩素 (C1)	イオン電極法	」 宋 型 电 仮 上 耒 (体) 」

1) グルコキナーゼ、2) グルコース6リン酸脱水素酵素、3) リポプロテインリパーゼ、4) グリセロリン酸酸化酵素、5) ペルオキシダーゼ、6) コレステロールエステラーゼ、7) コレステロールオキシダーゼ、8) スカンジナビア臨床化学会、9) ドイツ臨床化学会、10) ブチリルチオコリン、11) 5,5-ジチオビス-2-ニトロ安息香酸、12) プリンヌクレオシドホスフォリラーゼ、13)キサンチンオキシダーゼ

(5) 病理学検査

雄は採血に続いて、雌は哺育4日の観察終了後に、エーテル麻酔下で放血屠殺し、次の項目を 検査した。なお、対照群および100mg/kg群で各1匹、300mg/kg群で2匹認められた妊娠の成立し なかった雌については分娩予定日の4日後に、30mg/kg群で1匹認められた哺育期間中に全児が死 亡した雌については死亡が確認された日に、同様に屠殺して検査した。

- a. 剖検:全身諸器官を肉眼的に観察した。さらに、雌については、卵巣の黄体数および子宮 の着床数を調べ、着床率〔(着床数/黄体数)×100〕を算定した。
- b. 器官重量測定:電子上皿天秤(メトラー社、AT 200)を用いて、雌雄の脳、下垂体、甲状腺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、胸腺ならびに雄の精巣、精巣上体を秤量(絶対重量)し、対体重比(相対重量)を算出した。腎臓、副腎、精巣および精巣上体は左右を一括して、下垂体、甲状腺は固定後に秤量した。
- c. 病理組織学検査:次の器官を採取し、10%中性リン酸緩衝ホルマリン液(精巣および精巣上体のみブアン液)で固定した。

脳、下垂体、眼球、ハーダー腺、甲状腺(上皮小体含む)、唾液腺、胸腺、気管、肺、心臓、舌、食道、胃、腸、肝臓、脾臓、膵臓、副腎、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精嚢、卵巣、子宮、膣、大動脈(胸部)、脊髄(頚膨大部、腰膨大部)、坐骨神経、骨・骨髄(胸骨、大腿骨)、リンパ節(頚部リンパ節、腸間膜リンパ節)、骨格筋(下腿三頭筋)、皮膚(背部)、乳腺(腹部)、その他肉眼的異常部位

病理組織学検査は、対照群および1000mg/kg群の全例、ならびに他の群の妊娠の成立しなかった対および哺育期間中に全児が死亡した雌の脳、脊髄、下垂体、甲状腺、胸腺、心臓、気管、肺、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、胃、小腸(十二指腸・空腸・回腸)、大腸(盲腸・結腸・直腸)、膵臓、膀胱、骨髄、リンパ節、坐骨神経、その他肉眼的異常部位、さらに、雄では精巣、精巣上体、前立腺、精嚢、雌では卵巣、子宮、膣、乳腺について、常法に従いパラフィン切片を作製し、H・E染色を施して鏡検した。30、100および300mg/kg群の妊娠が成立した対では、1000mg/kg群で毒性影響と考えられる変化の認められた雌雄の脾臓および肉眼的異常部位を検査した。また、沈着物を同定するため、一部の雌雄の脾臓については鉄染色(ベルリンブルー法)、一部の雄の腎臓についてはPAS染色を行った。組織標本のうち、対照群と1000mg/kg群の全動物および他の群の妊娠の成立しなかった対、哺育期間中に全児が死亡した雌のH・E染色標本は、株式会社組織科学研究所(東京都青梅市黒沢2丁目984-1)に委託して作製した。

2) 新生児に関する項目

(1) 産児数および性比の観察

分娩の終了後各腹の産児数(生児と死亡児の合計)を調べ、分娩率〔(総出産児数/着床数)×100〕を算定した。また、性別を肛門と生殖突起の距離の長短により判定し、群ごとの性比を算出した。

(2) 外表異常および一般状態観察

新生児について口腔内を含む外表の異常を観察した。また、毎日一般状態および生死を確認し、出生率〔(出産確認時生児数/総出産児数)×100〕および新生児生存率〔(哺育4日生児数/出産確認時生児数)×100〕を求めた。

(3) 体重測定

新生児について哺育0日および4日に雌雄別に各腹ごとの総体重を測定し、1 匹当たりの平均体重を算出した。

(4) 病理学検査

死亡例はその都度、生存例は雌親の解剖時(哺育4日) にエーテル・クロロホルムで麻酔死させ、胸腹部における主要器官を肉眼的に観察した。

6. 統計処理

得られた平均値あるいは頻度について、対照群との間の有意差(危険率5%以下)を次の方法で検定した。

体重、摂餌量、血液学および血液生化学データ、器官重量、黄体数、着床数、妊娠期間、産児数などのパラメトリックデータは、Bartlettの分散検定を行った。分散が一様な場合は一元配置の分散分析を行い、その結果有意差を認めた場合、Dunnett 法またはScheffé法(群の大きさが異なる場合)により対照群に対する各群の比較検定を行った。分散が一様でない場合ならびに着床率、出生率、分娩率、新生児生存率、尿検査の定性的データなどのノンパラメトリックデータはKruskal-Wallisの順位検定を行い、その結果有意差を認めた場合、Dunnett法またはScheffé法(群の大きさが異なる場合)により対照群に対する各群の比較検定を行った。カテゴリカルデータについては、交尾率、受胎率、出産率、出産児の性比はχ²検定、一般状態の変化および病理学的異常例の出現率はFisherの直接確率法を用いた。

試験結果

- 1. 反復投与毒性
- 1) 死亡動物 (Tables 1, 2, Appendices 9, 10) 死亡は各群の雌雄とも認められなかった。
- 2) 一般状態 (Tables 3,4, Appendices 11,12)

1000mg/kg群で、雌の1匹に削痩が投与8~9日に認められた。雄には変化は認められなかった。なお、被験物質の投与とは無関係に、脱毛が雌で哺育期間中に、100mg/kg群の1匹(右下腿部)および1000mg/kg群の1匹(腹部)に認められた。

3) 体重 (Figures 1, 2, Tables 5, 6, Appendices 13, 14)

1000mg/kg群で、雄は投与終了前2日間の体重、雌は交配前の投与8日から妊娠期間および哺育期間を通じての体重が、いずれも対照群と比べ有意に低値を示し、雄の投与期間中の体重増加量および雌の交配前期間中の体重増加量は有意に減少した。

4) 摂餌量 (Figures 3, 4, Tables 7, 8, Appendices 15, 16)

1000mg/kg群で、雄は投与8日から、雌は投与1日からいずれも摂餌量が対照群を下回る傾向にあり、雄の投与43日および雌の投与8日の摂餌量には有意差が認められた。

5) 雄の尿所見 (Table 9, Appendix 17)

1000mg/kg群で、ケトン体、潜血の有意な増加および沈渣中リン酸マグネシウム・アンモニウム結晶の有意な減少が認められた。

6) 雄の血液学所見 (Table 10, Appendix 18, 背景データ: Appendix 30)

1000mg/kg群で、プロトロンビン時間の有意な延長が認められた。なお、300mg/kg群のヘマトクリット値は対照群に比べて有意に低値を示したが、用量依存的な変化ではなく、また背景データにおける正常範囲内の変動であった。

7) 雄の血液生化学所見 (Table 11, Appendix 19, 背景データ: Appendix 30)

1000mg/kg群で、尿素窒素の有意な増加が認められた。なお、被験物質投与各群のA/G比は対照群と比べて全般的に大きな値を示し、1000mg/kg群には有意差が認められた。また、100および1000mg/kg群で塩素の有意な増加が認められた。しかし、A/G比および塩素の変化はいずれも用量依存的でなく、また背景データにおける正常範囲内の変動であった。

8) 剖検所見 (Tables 12, 13, Appendices 20, 21)

被験物質の投与と関連性がみられる変化は認められなかった。雄では腎臓の萎縮(片側性、 他側は肥大)、精巣の萎縮、雌では胸腺の赤色点/領域、肺の赤色点などが認められたが、い ずれも散発的な変化で、用量依存性は認められなかった。

9) 器官重量 (Tables 14, 15, Appendices 22~25)

雄では、100、300および1000mg/kg群で、脾臓の絶対および相対重量の有意な減少、1000mg/kg群で心臓の絶対重量の有意な減少および腎臓の相対重量の有意な増加が認められた。雌では、1000mg/kg群で脾臓および心臓の絶対重量の有意な減少、脳および甲状腺の相対重量の有意な増加が認められた。

10) 病理組織学所見 (Tables 16, 17, Appendices 20, 21, Photos 1~12)

被験物質の投与に起因すると考えられる変化が、脾臓に認められた。すなわち、妊娠を成立させた雄において、脾臓の赤脾髄の萎縮が100mg/kg群で9匹中3匹、300mg/kg群で8匹中4匹および1000mg/kg群で10匹中7匹と、用量依存的に増加した。赤碑髄の萎縮は髄外造血の減少によるもので、白脾髄には変化は認められなかった。

分娩し哺育も順調であった雌においても、1000mg/kg群で赤脾髄の萎縮が10匹中6匹に認められた。

被験物質の投与とは無関係に散発的に認められた妊娠不成立の雌雄について、妊娠不成立との関連性が考えられる所見として、対照群の雌1匹に子宮の内膜および筋層の炎症性細胞浸潤および内腔拡張が、また300mg/kg群の雄1匹には精巣の精細管萎縮および間細胞の過形成、精巣上体の精巣上体管内精子の消失が認められた。その他の妊娠不成立の雌雄および分娩後全児が死亡した雌には、下垂体、生殖器系器官、乳腺等に異常は認められなかった。

以上の変化以外にも、検査した各器官に変化が認められたが、散発的なあるいは用量依存性の認められない所見であった。

2. 生殖発生毒性

- 1) 親動物に及ぼす影響 (Table 18, Appendix 26)
- (1) 交尾率および受胎率

交尾は交配開始5日以内に各群の全例に成立し、受胎率にも有意な変化は認められなかった。

(2) 黄体数、着床数および着床率

1000mg/kg群において、黄体数および着床数の有意な減少が認められた。着床率には有意な変化は認められなかった。

(3) 出産率および妊娠期間

出産率は、対照群および被験物質投与各群とも100%であった。妊娠期間にも、有意な変化は 認められなかった。

(4) 分娩および哺育状態

分娩状態について、各群のいずれの親動物にも異常は認められなかった。哺育状態については、哺育0日において、30mg/kg群の1匹は哺育行動を取らず、新生児の全例を食殺した。また、300mg/kg群の1匹も新生児の一部を食殺したが、哺育2日以降は哺育行動を示し、新生児の19匹中4匹は生存した。しかし、これらの哺育状態の異常は、用量依存的な変化ではなかった。

2)新生児に及ぼす影響

(1) 生存性および体重 (Table 19, Appendix 27)

被験物質投与各群の1腹当たりの総出産児数、新生児数、出生率、哺育0日の体重および哺育4日の生存率はいずれも対照群と類似した値を示した。性比は、300mg/kg群で雌の比率が雄に比べてやや多く、1000mg/kg群はその逆であった。また、哺育4日の新生児体重は1000mg/kg群でやや低値を示した。しかし、これらの変化にはいずれも統計学的有意差は認められなかった。新生児の一般状態にも異常は認められなかった。

(2) 形態 (Tables 20, 21, Appendices 28, 29)

被験物質の投与に起因する形態の異常は認められなかった。散発的に認められた変化としては、100mg/kg群で外表および内臓に及ぶ複合異常(全身性浮腫、両側前肢の第2指欠損および第5指低形成、両側後肢の第5指低形成、左肺低形成、右肺欠損)が1匹に認められた。また、外表異常として、対照群で曲尾および全身性浮腫が各1匹に認められた。内臓変異については、胸腺の頸部遺残あるいは左臍動脈遺残が総計対照群で5匹(3.6%)に対し被験物質投与各群で0~2匹(0~2.3%)の範囲で、有意な変化は認められなかった。

考察および結論

1。 反復投与毒性

雌雄の親動物とも、脾臓に対する影響が認められた。また雄親では腎臓に対する影響も認められた。

脾臓に対する影響について、100mg/kg以上の群の雄で脾臓の絶対および相対重量の減少、1000mg/kg群の雌で絶対重量の減少が認められ、病理組織学的には雌雄とも脾臓重量の減少が認められた用量で、主に髄外造血の減少による赤脾髄の萎縮が認められた。

脾臓の髄外造血に関して、マウスでは骨髄と同様に赤血球系の造血が行われていることが知られているが、ラットについては不明な点が多いが。しかしながら、本試験で認められた髄外造血の減少による赤脾髄の萎縮は、骨髄造血細胞や末梢血における血液像に変化が認められなかったことから、造血能に対する影響を示唆する変化ではないと判断される。

一方、腎臓に対する影響について、1000mg/kg群で雄に腎臓の相対重量の増加ならびにそれとの関連性が考えられる血清尿素窒素の増加が認められた。しかし、病理組織学検査では腎臓に変化は認められなかった。メチルメタクリレートは腎臓に対して毒性影響を示すことが知られている¹⁷が、ブチルメタクリレートの腎臓に対する影響は軽度なものと推察される。なお、1000mg/kg群で雄に潜血尿の増加傾向が認められたが、腎臓の他に膀胱にも病理組織学的変化は認められなかった。

以上の変化に加えて、1000mg/kg群で雌雄に体重増加の抑制および摂餌量の減少が認められ、1000mg/kgは明らかな毒性影響の発現する用量と考えられた。

なお、1000mg/kg群で認められた雌雄の心臓の絶対重量減少および雌の脳および甲状腺の相対 重量増加については、病理組織学所見を含むその他の観察および検査所見で関連する変化が認 められなかったことから、体重増加の抑制に伴う非特異的な変化と判断された。また、尿検査 で認められた沈渣中リン酸マグネシウム・アンモニウム結晶の減少について、本結晶はアルカ リ尿で生理的に認められる結晶で、1000mg/kg群の雄の尿pHが対照群と比べて酸性を呈する例が やや多かったことによるものと考えられ、毒性学的意義はないものと考えられた。また、1000 mg/kg群の雄の尿ケトン体の増加および血液プロトロンビン時間の延長も、正常範囲内(Appendix 30を参照)での軽度な変化であった。

メタクリル酸エステル類の毒性は、生体内で加水分解されて生成されるメタクリル酸¹¹の局所刺激性によるものと考えられており、ブチルメタクリレートについてもラットを用いた28日間の吸入毒性試験で認められた主な毒性は上気道粘膜に対する刺激性であったと報告されている²¹。しかしながら、ブチルメタクリレートを反復経口投与した本試験では、脾臓に変化が認められ、腎臓に対する軽度な影響も認められたが、投与経路である消化管には変化は認められなかった。

また、ブチルメタクリレートの類縁化合物についてのラットを用いた反復経口投与毒性・生殖発生毒性試験で、2-(ジメチルアミノ)エチルメタクリレートは脳(橋)および脊髄に神経線維の変性⁸⁾、2-エチルヘキシルメタクリレートは脳(延髄)に軟化巣⁹⁾が認められているが、ブチルメタクリレートでは神経系組織に病理組織学的変化は認められなかった。

以上の結果から、ブチルメタクリレートのラットへの反復投与における無影響量は、雄で30mg/kg/day、雌で300mg/kg/dayと推定された。

2. 生殖発生毒性

雄親の生殖能に対する被験物質の投与による影響について、観察した各指標とも対照群と比べ有意な変化は認められなかった。

雌親の生殖能に対する影響について、1000mg/kg群で黄体数および着床数の減少が認められた。 着床率には変化は認められず、また病理組織検査で卵巣に卵胞形成の異常を示唆する変化が認 められなかったことから、黄体数あるいは着床数の減少は排卵に対する何らかの影響を示唆し ているものと考えられる。出産率、妊娠期間および哺育状態には変化は認められなかった。

ブチルメタクリレートは、ラットを用いた腹腔内投与による催奇形性試験で、吸収胚および 胎仔の外形異常の増加を認めたとの報告ががあるが、本試験ではこのような変化は認められな かった。

児動物の発生について、総出産児数、新生児数、出生率、性比、新生児の体重、生存率および形態に変化は認められなかった。1000mg/kg群で、新生児の哺育4日体重が対照群に比べてやや小さかったが、有意な変化ではなかった。

以上のように、雌親の排卵に対する影響を示唆する変化が認められたが、それと関連した児

動物の発生に対する変化は認められなかった。無影響量は、雄親の生殖能および児動物の発生に対しては1000mg/kg/day、雌親の生殖能に対しては300mg/kg/dayと推定された。

参考文献

- 1) H. Bratt, D. E. Hathway, Br. J. Cancer, 36, 114-119(1977).
- H. Greim, J. Ahlers, R. Bias, B. Broecker, H. Hollander, H.-P. Gelbke, S. Jacobi,
 H.-J. Klimisch, I. Mangelsdorf, W. Mayr, N. Schöng, G. Stroppg, P. Stahnecker, R. Vogel,
 C. Weber, K. Ziegler-Skylakakis, E. Bayer, *Chemoshere*, 31(2), 2637-2659 (1995).
- 3) T. H. J. M. Waegemaekers, M. P. M. Bensink, Mutat. Res., 137(2-3), 95-102(1984).
- 4) E. Zeiger, B. Anderson, S. Haworth, T. Lawlor, K. Mortelmans, W. Speck, *Environ. Res.*, 21, 117-125(1980).
- 5) A. R. Singh, W. H. Lawrence, J. Autian, J. Det. Res., 51(6), 1632-1638(1972).
- 6) 宇高奎二, 金津赫生, "実験動物の病理組織", 榎本真, 林裕造, 田中寿子編, ソフトサイエンス社, 東京, 1980, pp. 373-374.
- 7) R. A. Miller, J. R. Wynkoop, L. Norton, *J. Dent. Res.* 61, 202 (1982)
- 8) 化学物質毒性試験報告, 6(1998), 掲載予定.
- 9) 化学物質毒性試験報告, 6(1998). 掲載予定.

ブチルメタクリレートのラットを用いる 反復経口投与毒性・生殖発生毒性併合試験 (試験番号 96-064-2)

最終報告書 添付資料A

(図・群別平均値表)

財団法人 畜産生物科学安全研究所

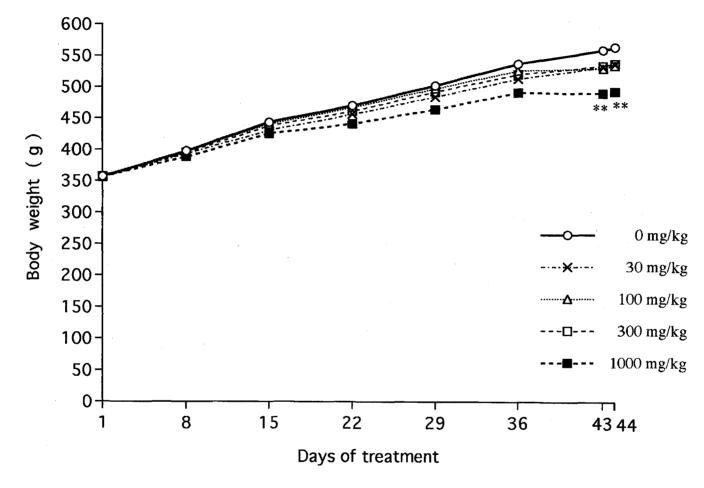


Fig.1 Body weight change in male rats treated orally with butyl methacrylate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Significantly different from control (**: p < 0.01)

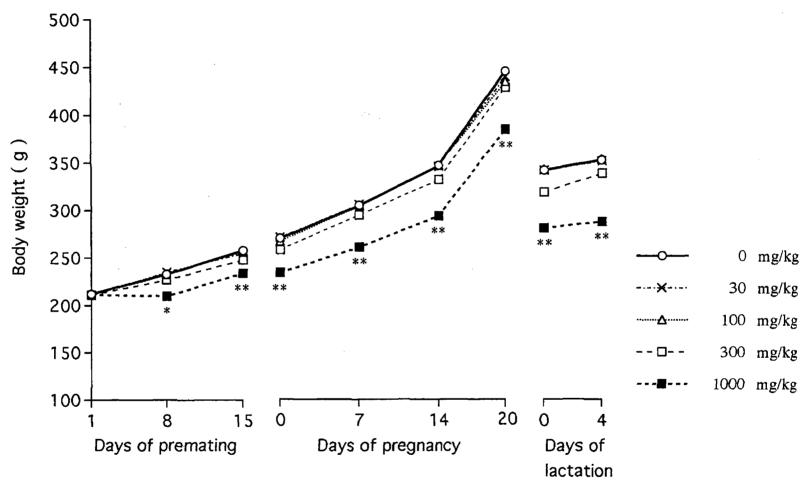


Fig. 2 Body weight change in female rats treated orally with butyl methacrylate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test Significantly different from control (*:p<0.05, **:p<0.01)

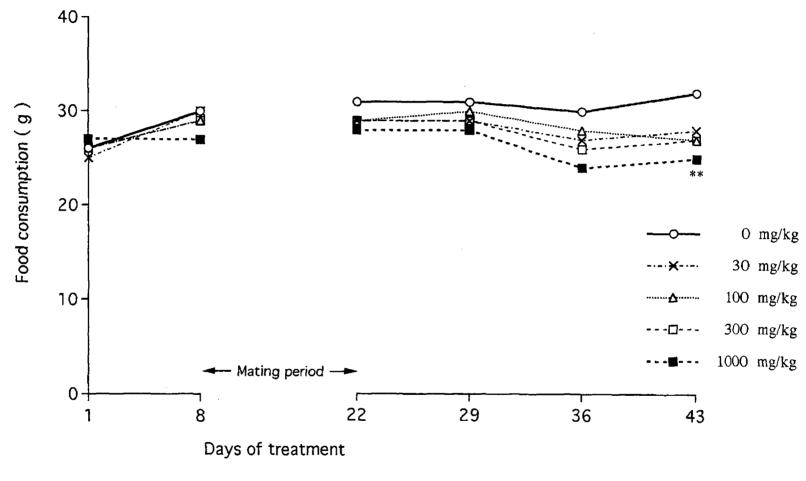


Fig. 3 Food consumption of male rats treated orally with butyl methacrylate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test Significantly different from control (**: p < 0.01)

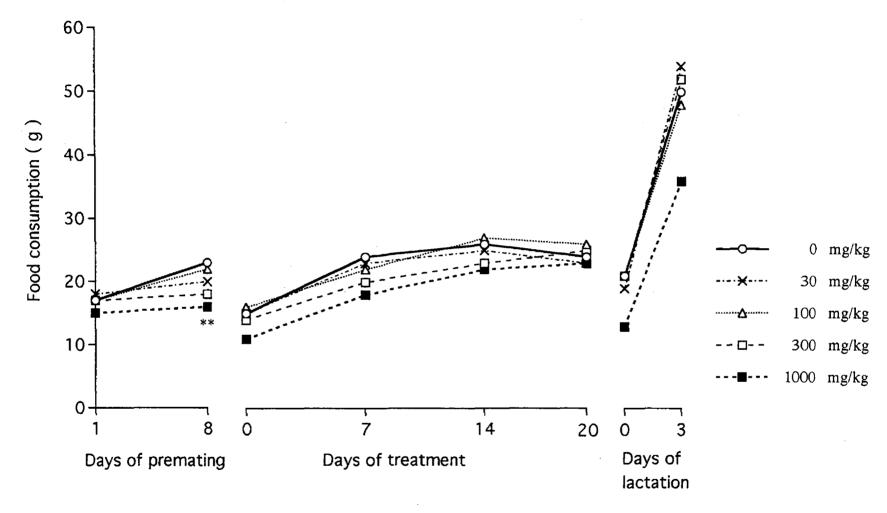


Fig. 4 Food consumption of female rats treated orally with butyl methacrylate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test Significantly different from control (**: p < 0.01)

Table 1 Mortality rate of male rats treated orally with butyl methacrylate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg)	0	30	100	300	1000
No. of animals examined	10	10	10	10	10
No. of animals that died	0	0	0	0	0
Mortality (%)	0	0	0	0	0

Table 2 Mortality rate of female rats treated orally with butyl methacrylate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg)	0	30	100	300	1000
No. of animals examined	10	10	10	10	10
No. of animals that died	0	0	0	0	0
Mortality (%)	O	0	0	0	0

Table 3 Incidence clinical signs of male rats treated orally with butyl methacrylate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Clinical sign	Dose (mg/kg)		()			1	00		3	00	1000		
	Fate	TK	FP	(Total)	TK	(Total)	TK	FP	(Total)	TK	FP	(Total)	TK	(Total)
	No. of animals	9	1	(10)	10	(10)	9	1	(10)	8	2	(10)	10	(10)
Abnormalites		0	0	(0)	0	(0)	0	0	(0)	0	0	(0)	0	(0)

TK: Terminal kill

FP: Failed to cause pregnancy, killed at the termination

Table 4 Incidence clinical signs of female rats treated orally with butyl methacrylate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Clinical	Degree	Dose (mg/kg)				30				10	00		30	00	1000		
sign		Fate	TK	NP	(Total)	TK	KL	(Total)	ΤK	NP	(Total)	ΤK	NP	(Total)	TK	(Total)	
		No. of animals	9	1	(10)	9	1	(10)	9	1	(10)	8	2	(10)	10	(10)	
Emaciation	_		9	1	(10)	9	1	(10)	9	1	(10)	8	2	(10)	9	(9)	
	+		0	0	(0)	0	0	(0)	0	0	(0)	0	0	(0)	1	(1)	
Alopecia	-		9	1	(10)	9	1	(10)	8	1	(9)	8	2	(10)	9	(9)	
	+		0	0	(0)	0	0	(0)	1	0	(1)	0	0	(0)	1	(1)	

TK: Terminal kill on day 4 of lactation

NP: Non-pregnant, killed on 26 days after copulation

KL: Killed because all pups died after delivery

-: Negative; +: Slight

Table 5 Body weights of male rats treated orally with butyl methacrylate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg)	Days of	treatment							
	1	8	15	22	29	36	43	44	Gain 1~44
0	357	398	444	471	503	538	560	565	208
	± 10	± 13	± 18	± 24	± 31	± 36	± 45	± 47	± 42
	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
30	356	394	431	457	485	514	533	538	182
	± 9	± 11	± 18	± 22	± 26	± 27	± 29	± 30	± 26
	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
100	357	399	441	468	498	527	531	536	180
	± 10	± 15	± 22	± 26	± 30	± 34	± 49	± 47	± 44
	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
300	356	396	438	462	493	521	535	539	182
	± 10	± 18	± 29	± 33	± 42	± 50	± 55	± 56	± 47
	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
1000	357	389	426	442	465	492	491**	494**	138**
	± 10	± 17	± 26	± 34	± 35	± 42	± 39	± 38	± 31
	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)

(g)

Each value is expressed as mean ± S.D. and (number of animals available).

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 6 Body weights of female rats treated orally with butyl methacrylate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

(g)

Dose	Days	of prem	ating		Days o	of pregr	nancy			Days o	of lact	ation
(mg/kg)	1	8	15	Gain 1~15	0	7	1 4	20	Gain 0~20	0	<u>-</u>	Gain 0~4
0	212	233	258	46	270	305	347	446	175	342	353	11
	± 7	± 12	± 17	± 12	± 17	± 24	± 26	± 33	± 18	± 29	± 30	± 15
	(10)	(10)	(10)	(10)	(9)	(9)	(9)	(9)	(9)	(9)	(9)	(9)
30	211 ± 7 (10)	235 ± 10 (10)	255 ± 13 (10)	44 ± 9 (10)	$271 \pm 15 $ (10)	306 ± 16 (10)	346 ± 17 (10)	440 ± 20 (10)	169 ± 15 (10)	342 ± 15 (10)	352 ± 17 (9)	± 9 (9)
100	212	233	257	46	267	304	347	435	168	343	354	11
	± 6	± 13	± 21	± 16	± 18	± 29	± 32	± 47	± 35	± 36	± 28	± 16
	(10)	(10)	(10)	(10)	(9)	(9)	(9)	(9)	(9)	(9)	(9)	(9)
300	211	227	248	37	258	295	332	429	171	319	339	20
	± 7	± 4	± 10	± 9	± 11	± 12	± 13	± 20	± 16	± 18	± 22	± 17
	(10)	(10)	(10)	(10)	(8)	(8)	(8)	(8)	(8)	(8)	(8)	(8)
1000	211	210*	234**	24**	234**	261**	294**	385**	151	281**	288**	7
	± 8	± 22	± 16	± 10	± 17	± 17	± 19	± 25	± 19	± 22	± 21	± 26
	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)

Each value is expressed as mean \pm S.D. and (number of animals available).

^{* :} Significantly different from control at 5% level of probability

^{** :} Significantly different from control at 1% level of probability

Table 7 Food consumption of male rats treated orally with butyl methacrylate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

(g/rat/day)

Dose (mg/kg)	Days of t	reatment				
(mg/rg/	1	8	22	29	36	43
0	26	30	31	31	30	32
	± 3	± 4	± 3	± 4	± 5	± 4
	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
30	25	30	29	29	27	28
	± 3	± 3	± 3	± 3	± 3	± 3
	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
100	26	29	29	30	28	27
	± 2	± 4	± 3	± 3	± 4	± 6
	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
300	26	29	29	29	.26	27
	± 2	± 3	± 3	± 4	± 4	± 4
	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
1000	27	27	28	28	24	25**
	± 2	± 4	± 6	± 6	± 5	± 5
	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)

Each value is expressed as mean ± S.D. and (number of animals available).

**: Significantly different from control at 1% level of probability

Table 8 Food consumption of female rats treated orally with butyl methacrylate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

							(¿	g/rat/day)
Dose	Days of	premating	g Days of	pregnanc	y .		Days of	flactation
(mg/kg)	1	8	0	7	14	20	0	3
0	17	23	15	24	26	24	21	50
	± 2	± 4	± 2	± 6	± 4	± 4	± 8	± 6
	(10)	(10)	(9)	(9)	(9)	(9)	(9)	(9)
30	18	20	15	23	25	23	19	54
	± 2	± 4	± 1	± 3	± 3	± 6	± 7	± 3
	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(9)	(9)
100	17	22	16	22	27	26	21	48
	± 4	± 5	± 4	± 6	± 3	± 3	± 6	± 11
	(10)	(10)	(9)	(9)	(9)	(9)	(9)	(9)
300	17	18	14	20	23	25	21	52
	± 3	± 4	± 2	± 2	± 3	± 3	± 10	± 10
	(10)	(10)	(8)	(8)	(8)	(8)	(8)	(8)
1000	15 ± 2 (10)	16** ± 5 (10)	± 5 (10)	18 ± 5 (10)	22 ± 6 (10)	23 ± 7 (10)	13 ± 8 (10)	36 ± 11 (10)

Each value is expressed as mean ± S.D. and (number of animals available).

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Urinary findings of male rats treated orally with butyl methacrylate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test Table 9 - 1

Dose	No. of			olor				oudy	Sc and .	ific				на			71101				rote		
(mg/kg)		<u>C</u>	PY	Y	PB	В		+	grav		5.0	6.0	6.5		7.5	8.0	8.5		±		++	+++	++++
0	10		4	6			4	6	1.0 ± 0.0)50 a))16				1	. 1	6	2			7	3		
30	10		4	5	1		4	6	1.0 ± 0.0					1	1	6	2			6	4		
100	10		1	7	2		4	6	1.0 ± 0.0			1		1	1	4	3			8	2		
300	10		4	6			7	3	1.0 ± 0.0				1	2		6	1		1	5	4		
1000	10	1	1	. 7	•	1	9	1	1.0 ± 0.0			2	2	2		3	1			4	6		
Dose (mg/kg)	No. of animals			cose) - - - -	++			ne body + ++	+++	_	Occu ±	ilt i +	1000	<u>+++</u>		Urobi .1 1	linog 2	en 4		Bili +	rubin ++	+++
0	10	10						10			10					1	0			10			
30	10	10						6	1 3		7	3				1	0			10			
100	10	10						7	2 1		9	1				1	0			10			

¹⁰ 300 10 3 5 10 10 1000 10 10 1* 10 10 4**

 $[\]overline{a}$): Mean \pm S.D.

a): Mean ± S.D.

Color: C(colorless), PY(pale yellow), Y(yellow), PB(pale brown), B(brown)

Cloudy: -(negligible), +(cloudy)

Protein: -(negligible), ±(15~30mg/dl), +(30mg/dl), ++(100mg/dl), +++(300mg/dl), ++++(1000mg/dl)

Glucose: -(negligible), ±(0.1g/dl), +(0.25g/dl), ++(0.5g/dl), +++(1g/dl)

Ketone body: -(negligible), ±(5mg/dl), +(15mg/dl), ++(40mg/dl), +++(80mg/dl)

Occult blood: -(negligible), ±(trace), +(slight), ++(moderate), +++(marked)

Urobilinogen: Ehrlich unit/dl

Bilirubin: -(negligible), +(slight), ++(moderate), +++(marked)

*: Significantly different from cortrol at 5% level of probability

**: Significantly different from cortrol at 5% level of probability

Urinary findings of male rats treated orally with butyl methacrylate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test Table 9 - 2

							_ .	,			_						Cr;	ystal	S				
Dose (mg/kg)	No. of animals	E1	ryth: +	rocy ++	<u>tes</u>	=			ytes H	S +++	_		+	Mg ++	+++	_	+	Ca ++	+++	_	<u>+</u>	11S	+++
0	10	10				1()					1	3	5	1	10				10			
30	10	10				10	O					1	3	2	4	10				10			
100	10	10				10	0					1	4	2	3	10				10			
300	10	10				10	0				Ę	5	1	2	2	10				10			
1000	10	10				10	0				!	9		1*		10				10			
					Epit	nelia	l ce	lls							Cast	s			Fat				, _
Dose (mg/kg)	No. of animals	=	+ 5	q ++	+++	_	<u>R</u> +	++	=	<u>S</u> +	++		<u>G</u>	+	<u>H</u>	- -	<u> </u>	+	glo	bules + +			
0	10		9	1		10			10				10		10		10		10	·	-		•
30	10		8	2		10			10				10		10		10		10				
100	10		9	1		10			10				10		10		10		10				
300	10		10			10			10				10		10		10		10				
1000	10		10			10			10				10		10		10		10				

^{- :} Not observed; + : A few in some fields; ++ : A few in all fields; +++ : Many in all fields Crystals Epithelial cells Casts

Crystals Sq(squamous)

Mg(ammonium magnesium phosphate) Ca(calcium phosphate) G(granule) R(round) H(hyaline) W(waxy)

Ams(amorphous) S(spindle) W

* : Significantly different from control at 5% level of probability

Table 10 Hematological findings of male rats treated orally with butyl methacrylate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg)	No. of animals	RBC (10 ⁴ /μ1)	Hb (g/dl)	Ht (%)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (%)	Ret. (%.)	WBC (10 ² /μ1)	Plat. (10 ⁴ /μ1)	PT (sec)	APTT (sec)
0	10	782 ± 36		44.5 ± 1.3	57 ± 2	19.1 ± 0.8	33.5 ± 0.6	24 ± 6	82 ± 19	131 ± 14 ±	12.6 ± 0.2	18.5 ± 1.2
30	10		14.9 ± 0.3 ±	43.9 ± 1.1	55 ± 2	18.8 ± 0.5	33.9 ± 0.3	25 ± 5	80 ± 19		12.6 ± 0.3	18.6 ± 0.9
100	10		14.8 ± 0.4 ±	43.7 ± 1.0	56 ± 2	18.8 ± 0.6	33.8 ± 0.6	21 ± 8	67 ± 15		12.7 ± 0.4	18.7 ± 1.0
300	10			42.6** ± 1.0	55 ± 2	18.8 ± 0.5	34.1 ± 0.5	23 ± 8	70 ± 17		12.6 ± 0.3	
1000	10	779 ± 43		43.2 ± 1.5	56 ± 2	19.0 ± 0.5	34.2 ± 0.7	23 ± 6	65 ± 23	135 ± 17	13.4** ± 0.6	

Each value is expressed as mean±S.D.

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Blood biochemical findings of male rats treated orally with butyl methacrylate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test Table 11

Dose (mg/kg)	No. of animals	DH U/l)		GOT IU/1)	(GPT		ALP	.)	γ-GT (IU/		Ch (IU		T.P.)	Alb (g/d		A/G		C-Cho.
0	10	23 34	±	54 9	±	32 4	±	281 64	±	0.55 0.24		6 ± 1		6.47 ± 0.16		2.99		0.86	±	88 12
30	10	27 39	±	52 5	±	33 3	±	277 60	±	0.35 0.32		5 ± 2		6.30 ± 0.22		3.03	±	0.93	±	86 14
100	10	20 43	±	49 5	±	30 5	±	252 57	<u>+</u>	0.25 0.18		5 ± 2		6.38 ± 0.20		3.01	<u>+</u>	0.89	±	84 12
300	10	28 33	±	53 7	±	27 5	±	248 50	±	0.46 0.21		5 ± 2		6.47 ± 0.21		3.11	±	0.93	±	85 14
1000	10	41 49		59 13	±	33 6	±	253 91	<u>+</u>	0.34		-6 ± 3		6.36 ± 0.25		3.10	<u>+</u>	0.95*	±	78 10
Dose (mg/kg)	No. of animals	.G. /dl)		Glu. g/dl)		r-Bil. ng/dl)	((BUN ng/d]	L)	Crea (mg/d		C (mg/		P (mg/dl) (Na mEq/		K (mEq/1)) (n	Cl nEq/l)
. 0	10	86 38	±	144		0.32	±	13.9	<u>+</u>	0.55	<u>+</u>	10.		7.4 ± 0.6	<u>+</u>	144		4.35	±	100
30	10	84 29	±	136 9		0.32		13.4	±	0.52 0.04	<u>+</u>	10.		7.7 ± 0.6	±	143 ± 1	<u>+</u>	4.38 0.15		100 1
100	10	8 <i>7</i> 53		147 16		0.33	±	13.9	±	0.55	±	10	_	7.1 ± 0.6	1	143 ± 1		4.24	±	102* 2
300	10	94 59		145 13		0.33 0.04		14.6	<u>+</u>	0.59	<u>+</u>	10.		7.7 ± 0.4	<u>+</u>	143 = 1		4.23	±	100
1000	10	75 30	±	145 9		0.32 0.05		19.0 ^x 2.8		0.58	<u>±</u>	9. : 0.		8.0 ± 1.0	±	143 ± 1		4.48	±	102**

Each value is expressed as mean±S.D.

^{* :} Significantly different from control at 5% level of probability
** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 12 Incidence of necropsy findings of male rats treated orally with buthyl methacrylate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

		Dose(mg/k	(g)	0_		3	30	1	00			300		100	00
		Fate	TK	FP	(T)	TK	(T)	TK	FP	(T)	TK	FP	(T)	TK	(T)
Organ : Findings	Grade	No. of animals	9	1	(10)	10	(10)	9	1	(10)	8	2	(10)	10	(10)
Kidney: Atrophy, right/	_		9	1	(10)	10	(10)	8	1	(9)	8	2	(10)	10	(10)
hypertrophy,	left +		0	0	(0)	0	(0)	1	0	(1)	0	0	(0)	0	(0)
Testis : Atrophy	-		9	1	(10)	10	(10)	9	1	(10)	8	1	(9)	10	(10)
	++		0	0	(0)	0	(0)	0	0	(0)	0	1	(1)	0	(0)

-: Negative; +: Slight; ++: Moderate; TK: Terminal kill; FP: Failed to cause pregnancy, killed at the termination; T: Total

Table 13 Incidence of necropsy findings of female rats treated orally with buthyl methacrylate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

		Dose(mg/)	(g)	0			30			100		;	300		10	00
		Fate	TK	NP	(T)	TK	KL	(T)	TK	NP	(T)	TK	NP	(T)	TK	(T)
Organ : Findings	Grade	No. of animals	9	1	(10)	9	1	(10)	9	1	(10)	8	2	(10)	10	(10)
Lung : Red spot	-	•	9	1	(10)	9	1	(10)	8	1	(9)	7	2	(9)	10	(10)
	+		0	0	(0)	0	0	(0)	1	0	(1)	1	0	(1)	0	(0)
Thymus : Red spots/area	_		8	1	(9)	8	1	(9)	9	1	(10)	8	2	(10)	10	(10)
	+		1	0	(1)	1	0	(1)	0	0	(0)	0	0	(0)	0	(0)

^{-:} Negative; +: Slight; TK: Terminal kill; NP: Non-pregnant, killed at 26 days after copulation; KL: Killed because all pups died after delivery; T: Total

Table 14 Absolute and relative organ weights of male rats treated orally with butyl methacrylate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

	Dose (mg/kg)	No. of animals	B. W.	Brain (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Spleen (g)	Heart (g)	Thymus (g)	Thyr.	Pitui. (mg)	Adrenal (mg)	Testis (g)	Epidid. (g)
Absolute	0	10	535 ± 44	2. 13 ± 0. 06	16. 19 ± 2. 12	3. 16 ± 0. 17	0.94 ± 0.09	1.61 ±0.16	0.43 ±0.10	32.8 ± 5.1	13.2 ± 1.6	68.2 ± 6.4	3.74 ±0.28	1.48 ± 0.12
	30	10	513 ± 29	2. 16 ± 0. 09	14.65 ± 1.63	3.31 ±0.28	0.88 ±0.12	1.59 ±0.08	0.41 ±0.13	30.9 ± 4.8	12.3 ± 0.9	64.3 ±11.3	3.54 ±0.25	1.44 ±0.14
	100	. 10	514 ± 42	2. 09 ± 0. 06	14.89 ± 2.02	3. 21 ± 0. 35	0.78** ± 0.13	* 1.54 ± 0.14	0.36 ±0.12	29.0 ± 3.5	12. 4 ± 1. 2	59.7 ± 9.7	3.58 ± 0.31	1.48 ±0.17
	300	10	513 ± 54	2. 14 ± 0. 06	15.06 ± 2.77	3. 19 ± 0. 21	0.74* ± 0.08	* 1.50 ±0.09	0.37 ±0.13	29.5 ± 3.1	14.5 ± 1.8	62. 1 ± 8. 2	3.41 ±0.50	1.37 ± 0.20
	1000	10	479 ± 42	2. 14 ± 0. 05	13.90 ± 1.38	3. 27 ± 0. 35	0.69* ± 0.10	* 1.37* ±0.15		31.6 ± 4.4	12.8 ± 2.9	57.8 ± 5.5	3.61 ±0.25	1.43 ± 0.19
Relative®	0	10	535 ± 44	0.40 ±0.04	3. 02 ± 0. 27	0.59 ±0.04	0.17 ±0.02	0.30 ±0.02	0.08 ±0.02	6.12 ± 0.60	2.46 ± 0.26	12.79 ± 1.24	0.70 ±0.06	0.28 ± 0.03
	30	10	513 ± 29	0.42 ±0.03	2.85 ± 0.19	0.64 ±0.04	0.17 ± 0.02	0.31 ±0.01	0.08 ±0.02	6.01 ± 0.78	2.41 ± 0.21	12.50 ± 1.71	0.69 ±0.05	0.28 ± 0.02
	100	10	514 ± 42	0.41 ±0.04	2.90 ± 0.24	0.63 ±0.05	0.15* ± 0.02	0.30 ±0.01	0.07 ±0.02	5.66 ± 0.59	2.42 ± 0.22	11.65 ± 1.67	0.70 ±0.05	0.29 ± 0.03
	300	10	513 ± 54	0.42 ±0.05	2. 92 ± 0. 26	0.63 ±0.05	0.14* ±0.01	* 0.29 ±0.03	0.07 ±0.02	5.78 ± 0.73	2.84 ± 0.36	12.15 ± 1.65	0.68 ±0.13	0.27 ±0.05
	1000	10	479 ± 42	0.45 ±0.04	2. 92 ± 0. 29	0.69* ±0.07	* 0.14* ±0.02	* 0.29 ±0.02	0.07 ±0.01	6.62 ± 0.96	2.66 ± 0.54	12.15 ± 1.55	0.76 ±0.08	0.30 ± 0.05

Each value is expressed as mean \pm S. D.

@ : Relative organ weight per 100g body weight

* : Significantly different from control at 5% level of probability ** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 15 Absolute and relative organ weights of female rats treated orally with butyl methacrylate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

		No. of animals	B. W.	Brain (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Spleen (g)	Heart (g)	Thymus (g)	Thyr. (mg)	Pitui. (mg)	Adrenal (mg)
Absolute	0	9	353 ± 30	1. 92 ± 0. 08	14.09 ± 1.43	2. 08 ± 0. 20	0.68 ±0.14	1.06 ± 0.13	0. 25 ± 0. 08	19.7 ± 4.4	16.6 ± 3.0	71.0 ± 6.8
	30	10	352 ± 16	1.95 ±0.07	15.09 ± 0.88	1.97 ± 0.22	0.68 ±0.06	1.06 ± 0.07	0. 27 ± 0. 08	23.2 ± 4.4	22.2 ± 8.5	73.7 ± 7.1
	100	9	354 ± 28	1.94 ±0.07	14.39 ± 1.38	2.06 ± 0.13	0.66 ±0.08	1.04 2 ± 0.09	0. 25 ± 0. 08	26.2 ± 3.9	20.7 ± 2.2	72. 4 ± 10. 8
	300	8	339 ± 22	1.94 ± 0.04	14.28 ± 1.35	1.99 ±0.11	0.64 ±0.11	1.00 ±0.05	0. 22 ± 0. 07	21.7 ± 5.5	17.5 ± 2.7	72.6 ± 5.1
	1000	10	288** ± 21	1.90 ±0.08	12.13 ± 1.61	1.88 ± 0.18	0.51* ±0.03	0.87** ± 0.06	0.18 ± 0.06	22.2 ± 4.4	15.3 ± 1.9	62. 7 ± 5. 2
Relative@	0	9	353 ± 30	0. 55 ± 0. 05	3. 99 ± 0. 12	0.59 ±0.05	0. 19 ± 0. 03	0.30 ± 0.01	0.07 ±0.02	5. 64 ± 1. 43	4.71 ± 0.65	20.29 ± 2.93
	30	10	352 ± 16	0. 56 ± 0. 03	4.29 ±0.16	0.56 ±0.05	0.19 ±0.01	0.30 ± 0.01	0.08 ±0.02	6.61 ± 1.26	6.26 ± 2.08	20.94 ± 1.49
	100	9	354 ± 28	0.55 ±0.04	4.07 ± 0.25	0.58 ± 0.03	0.19 ±0.02	0.29 ± 0.02	0.07 ±0.02	7.39 ± 0.94	5.87 ± 0.78	20.41 ± 2.34
	300	8	339 ± 22	0. 58 ± 0. 04	4.21 ± 0.27	0.59 ±0.03	0.19 ±0.04	0.30 ± 0.01	0.06 ±0.02	6.42 ± 1.78	5.16 ± 0.72	21.45 ± 1.40
	1000	10	288** ± 21	0.66** ± 0.02	4.21 ± 0.37	0.66 ± 0.05	0.18 ±0.01	0.30 ± 0.02	0.06 ±0.02	7. 73* ± 1. 52	5.33 ± 0.57	21.86 ± 2.04

Each value is expressed as mean \pm S.D.

@ : Relative organ weight per 100g body weight

* : Significantly different from control at 5% level of probability

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 16 - 1 Incidence of histopathological findings of male rats treated orally with buthyl methacrylate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

***************************************	_	Dos	e(mg/kg)	0		3		100		00	1000
0rgan	:Findings Grade No	o. of	Fate TK animals 9	FP 1	(T) (10)	T K 10	(T) (10)	TK FP (T) 9 1 (10)	TK 8	FP (T) 2 (10)	TK (T) 10 (10)
Heart	:Myocardial degeneration/ fibrosis	- +	8 1	1	(9) (1)		_	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	_	$\begin{array}{ccc} 2 & \left\{ & 2 \\ 0 & \left\{ & 0 \right\} \end{array} \right\}$	10 (10)
Lung	:Hemorrhage/inflammatory cell infiltration	+	8 1	1 0	(9) (1)		_	$\begin{array}{cccc} - & 1 & \left\{ \begin{array}{c} 1 \\ 0 \end{array} \right\} \end{array}$	_	$\begin{array}{ccc} 2 & \left\{ & 2 \\ 0 & \left\{ & 0 \right\} \end{array} \right\}$	$\begin{array}{cc} 10 & \left\langle 10 \right\rangle \\ 0 & \left\langle 0 \right\rangle \end{array}$
	Mineralization, artery	- +	6 3	1 0	$\begin{pmatrix} 7 \\ 3 \end{pmatrix}$	_	_	$\begin{array}{cccc} - & 1 & \left\{ \begin{array}{cc} 1 \\ 0 \end{array} \right\} \end{array}$	_	$\begin{array}{ccc} 2 & \left\{ & 2 \\ 0 & \left\{ & 0 \right\} \end{array} \right\}$	$\begin{array}{ccc} 6 & \left(& 6 \right) \\ 4 & \left(& 4 \right) \end{array}$
	Metaplasia, osseous	+	8 1	1 0	<pre>{ 9} { 1}</pre>	_	_	$\begin{array}{cccc} - & 1 & \left\{ \begin{array}{cc} 1 \\ 0 \end{array} \right\} \end{array}$	_	$\begin{array}{ccc} 2 & \left(& 2 \\ 0 & \left(& 0 \right) \end{array} \right)$	9 (9) 1 (1)
Liver	:Degeneration, fatty, hepatocyte, midzonal	+	9	0 1	(9)		_	$\begin{array}{cccc} - & 1 & \left\{ \begin{array}{c} 1 \\ 0 \end{array} \right\} \end{array}$	-	$\begin{array}{ccc} 2 & \left\{ & 2 \\ 0 & \left\{ & 0 \right\} \end{array} \right\}$	9 (9)
	Necrosis, focal	+	9 0	1 0	${10} {0}$	_	_	$\begin{array}{cccc} - & 1 & \left\{ \begin{array}{cc} 1 \\ 0 \end{array} \right\} \end{array}$	_	$\begin{array}{ccc} 2 & \left\{ & 2 \\ 0 & \left\{ & 0 \right\} \end{array} \right\}$	9 (9)
	Microgranuloma	- .	8 1	1	(9)	_	_	$\begin{array}{cccc} - & 1 & \left\{ \begin{array}{cc} 1 \\ 0 \end{array} \right\} \end{array}$	-	$\begin{bmatrix} 2 & \left\{ \begin{array}{c} 2 \\ 0 \end{array} \right\}$	8 (8) 2
Pancre	as :Inflammatory cell infiltration	+	9	1 0	${10} \\ {0}$	_	_	$\begin{array}{cccc} - & 1 & \left\{ \begin{array}{cc} 1 \\ 0 \end{array} \right\} \end{array}$	_	$\begin{array}{ccc} 2 & \left\{ & 2 \\ 0 & \left\{ & 0 \right\} \end{array} \right\}$	$\begin{array}{cc} 9 & \left(\begin{array}{c} 9 \\ 1 \end{array} \right)$
	Atrophy, acinar cell	+	8 1	1 0	$\left\{\begin{array}{c} 9\\1 \end{array}\right\}$	· <u> </u>	_	$\begin{array}{cccc} - & 1 & \left\{ \begin{array}{cc} 1 \\ 0 \end{array} \right\} \end{array}$	-	$\begin{array}{ccc} 2 & \left\{ & 2 \\ 0 & \left\{ & 0 \\ \end{array} \right\} \end{array}$	$\begin{array}{cc} 10 & \{10\} \\ 0 & \{0\} \end{array}$
Stomac	h :Dilatation, fundic glandular lumen	+	7 2	1 0	$\left\{\begin{array}{c} 8\\2 \end{array}\right\}$	_	_	$\begin{array}{cccc} - & 1 & \left\{ \begin{array}{c} 1 \\ 0 \end{array} \right\} \end{array}$	_	$\begin{array}{ccc} 2 & \left\{ \begin{array}{c} 2 \\ 0 \end{array} \right\} \end{array}$	9 (9) 1 (1)
Kidney	:Cellular infiltration, lymphocyte, cortex	+	8 1	10	{ 9} { 1}	_	_	$0/1 \cdot 1 \cdot$	_	$\begin{array}{ccc} 2 & \left\{ & 2 \\ 0 & \left\{ & 0 \right\} \end{array} \right\}$	$\begin{array}{cc} 10 & \{10\} \\ 0 & \{0\} \end{array}$
	Basophilic tubules	- +	5 4	0 1	$\left\{\begin{array}{c}5\\5\end{array}\right\}$	_	_	$\begin{array}{cccc} 1/1 & 0 & (& 1) \\ 0/1 & 1 & (& 1) \end{array}$	_	$\begin{array}{cc} 1 & \left\{ \begin{array}{c} 1 \\ 1 \end{array} \right\} \end{array}$	5 { 5 } 5 \$
	Hyaline droplet, proximal tubular epithelium	+	0 9	0 1	$\begin{pmatrix} 0 \\ 10 \end{pmatrix}$	_	_	$0/1 \cdot 0 \ 1/1 \cdot 1 \ 2$	_	$\begin{pmatrix} 0 & \langle & 0 \\ 2 & \langle & 2 \end{pmatrix}$	$\begin{array}{cc} 0 & \left\{ \begin{array}{c} 0 \\ 10 \end{array} \right\} \end{array}$
	Eosinophilic body, proximatubular epithelium	a1 - +	6 3	1 0	$\left\{\begin{array}{c} 7\\3 \end{array}\right\}$	_	_	$\frac{1}{0}$, $\frac{1}{1}$, $\frac{1}{0}$, $\frac{2}{0}$	_	$\begin{array}{cc} 1 & \left\langle \begin{array}{c} 1 \\ 1 \end{array} \right\rangle$	9 (9) 1 (1)
	Cyst, solitary/multiple	+	9	0 1	```	_	_	0/1* 1 (1)	 -	2 (2)	7 (7)
	Mineralization ++/fibrosis +/ deposit, brown pigmen +, cortex, unilateral		0 9 0	0 1 0	(10) (10) (0)	_ _ _	_ _ _	$1/1 \cdot 0 /(1)$ $0/1 \cdot 1 \{1\}$ $1/1 \cdot 0 \{1\}$	- - -	0 ³ (0) 2 (2) 0 (0)	$ \begin{array}{ccc} 0 & J(3) \\ 10 & \{10\} \\ 0 & 0\} \end{array} $

-: Negative; +: Slight; ++: Moderate; -: Not examined; TK: Terminal kill; FP: Failed to cause pregnancy, killed at the termination; T: Total; a: Examined the animal with macroscopical abnormalities in the kidney

Table 16 - 2 Incidence of histopathological findings of male rats treated orally with buthyl methacrylate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

	Dose(mg		30	100	300	1000
Organ :Findings Grad	Fat le No. of ani		TK (T) 10 (10)	TK FP (T) 9 1 (10)	TK FP (T) 8 2 (10)	TK (T) 10 (10)
Testis :Atrophy, seminiferous tubule ++/ hyperpla interstitial cell +	s asia, – + +,++	9 1 {10 0 0 {10	}	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	<pre>- 1 { 1}</pre>	10 {10}
Epidydimis :Decrease, sperm dell debris, lumen	+++/ - + +,+++	$ \begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	} = =	$\begin{array}{cccc} - & 1 & \left\{ \begin{array}{cc} 1 \\ 0 \end{array} \right\} \end{array}$	$\begin{array}{cccc} - & 1 & \left\{ \begin{array}{c} 1 \\ 1 \end{array} \right\} \end{array}$	10 (10)
Prostate : Cellular infiltrati lymphocyte, inters		$\begin{array}{ccc} 7 & 1 & \left\{ \begin{array}{cc} 8 \\ 2 & 0 \end{array} \right. \left. \left\{ \begin{array}{ccc} 2 \end{array} \right. \right.$	} = =	$\begin{array}{cccc} - & 1 & \left\{ \begin{array}{cc} 1 \\ 0 \end{array} \right\} \end{array}$	$\begin{array}{cccc} - & 1 & \{ & 1 \\ - & 1 & \{ & 1 \} \end{array}$	$\begin{array}{ccc} 8 & \left\{ & 8 \\ 2 & \left\{ & 2 \right\} \end{array} \right\}$
Pituitary :Cyst, Rathke's pou anterior lobe	ıch, - +	9 1 (10 0 0 0	} = =	$\begin{array}{cccc} - & 1 & \left\{ \begin{array}{cc} 1 \\ 0 \end{array} \right\} \end{array}$	$\begin{array}{cccc} & 1 & \{ & 1 \} \\ - & 1 & \{ & 1 \} \end{array}$	${}^{10}_{0} \ {}^{10}_{0}$
Adrenal :Vacuolization, corte unilateral	ex, - +	$\begin{array}{ccc} 9 & 1 & 10 \\ 0 & 0 & 0 \end{array}$	} = =	$\begin{array}{cccc} - & 1 & \left\{ \begin{array}{cc} 1 \\ 0 \end{array} \right\} \end{array}$	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	$\begin{array}{cc} 9 & \left\{ & 9 \\ 1 & \left\{ & 1 \right\} \end{array} \right\}$
Thymus : Hemorrhage	- +	$\begin{array}{ccc} 8 & 1 & \left\langle \begin{array}{cc} 9 \\ 1 & 0 \end{array} \right\rangle \end{array}$	} = =	$\begin{array}{cccc} - & 1 & \left\{ \begin{array}{c} 1 \\ 0 \end{array} \right\} \end{array}$	$\begin{array}{cccc} - & 2 & \left\{ \begin{array}{cc} 2 \\ 0 \end{array} \right\} \end{array}$	$\begin{array}{cc} 10 & \left\{ \begin{array}{c} 10 \\ 0 \end{array} \right\} \end{array}$
Spleen :Deposit, hemosiderin	- +	0 0 (0 9 1 (10	$\begin{cases} 0 & \{0\} \\ 10 & \{10\} \end{cases}$	$\begin{array}{ccc} 0 & 0 & \left\{ \begin{array}{c} 0 \\ 9 & 1 \end{array} \right\} \end{array}$	$\begin{array}{ccc} 0 & 0 & \left(\begin{array}{c} 0 \\ 8 & 2 \end{array} \right) \end{array}$	$ \begin{array}{ccc} 0 & \{ & 0 \\ 10 & \{ & 10 \\ \end{array} $
Atrophy, red pulp	- +	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	$ \begin{array}{ccc} 10 & \{10\} \\ 0 & \{0\} \end{array} $	$\begin{array}{cccc} 6 & 1 & \langle & 7 \rangle \\ 3 & 0 & \langle & 3 \rangle \end{array}$	4 2 6 6 4 4 ×	3 { 3} 7 { 7}*

^{-:} Negative; +: Slight; ++: Moderate; +++: Severe; -: Not examined; TK: Terminal kill; FP: Failed to cause pregnancy, killed at the termination; T: Total

No abnormalities detected in the brain, spinal cord, sciatic nerve, trachea, small intestine, large intestine, urinary bladder, seminal vesicle, thyroid, parathyroid, lymph node and bone marrow from animals of control and 1000 mg/kg groups, and FP animals.

^{*:} Significantly different from control at 5% level of probability

^{**:} Significantly different from control at 1% level of probability

Table 17 - 1 Incidence of histopathological findings of female rats treated orally with buthyl methacrylate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

		Dose(m	g/kg) 0	30	100	300	1000
0rgan	:Findings Gr	Fa ade No. of an	te TK NP (T) imals 9 1 (10)	TK KL (T) 9 1 (10)	TK NP (T) 9 1 (10)	TK NP (T) 8 2 (10)	TK (T) 10 (10)
Lung	:Hemorrhage	-	$\begin{array}{ccc} 9 & 1 & \left\{10\right\} \\ 0 & 0 & \left\{0\right\} \end{array}$	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	0/1 = 1 (1) $1/1 = 0$ (1)	$0/1 \cdot 2 \ 1/1 \cdot 0 \ 1$	$\begin{array}{ccc} 9 & \left\{ & 9 \\ 1 & \left\{ & 1 \right\} \end{array} \right\}$
	Inflammatory cell infiltration	- +	$\begin{array}{ccc} 8 & 1 & \langle & 9 \rangle \\ 1 & 0 & \langle & 1 \rangle \end{array}$	$\begin{array}{cccc} - & 1 & \left\{ \begin{array}{c} 1 \\ 0 \end{array} \right\} \end{array}$	$\frac{1}{0}/\frac{1}{1} = \frac{1}{0} \left\{ \begin{array}{c} 2\\ 0 \end{array} \right\}$	$0/1 = 2 \ (2)$ $1/1 = 0 \ (1)$	8 (8) 2
•	Accumulation, foam	cell - +	$\begin{array}{ccc} 7 & 1 & \left(\begin{array}{c} 8 \\ 2 \end{array} \right) \end{array}$	$\begin{array}{cccc} - & 1 & \left\{ \begin{array}{cc} 1 \\ 0 \end{array} \right\} \end{array}$	$\frac{1}{0}/\frac{1}{1} = \frac{1}{0} \left(\begin{array}{c} 2\\ 0 \end{array} \right)$	$\frac{1}{1}$ $\frac{1}{1}$ $\frac{2}{0}$ $\left\{\begin{array}{cc} 3\\ 0 \end{array}\right\}$	8 { 8 } 2
	Mineralization, art	ery - +	$\begin{array}{ccc} 6 & 1 & \left(& 7 \right) \\ 3 & 0 & \left(& 3 \right) \end{array}$	$\begin{array}{cccc} - & 1 & \left\{ \begin{array}{c} 1 \\ 0 \end{array} \right\} \end{array}$	$\frac{1}{0}/\frac{1}{1} = 0 \left(\frac{1}{1} \right)$	$\frac{1}{0}$ $\frac{1}{1}$ $\frac{1}{0}$ $\frac{2}{0}$ $\frac{3}{0}$	$\begin{array}{cc} 10 & \{10\} \\ 0 & 0\end{array}$
	Metaplasia, osseous	- +	$\begin{array}{ccc} 7 & 1 & \left(\begin{array}{c} 8 \\ 2 \end{array} \right) \end{array}$	$\begin{array}{cccc} - & 1 & \left\{ \begin{array}{cc} 1 \\ 0 \end{array} \right\} \end{array}$	$\frac{1}{0}/\frac{1}{1} = \frac{1}{0} \left\{ \begin{array}{c} 2\\ 0 \end{array} \right\}$	$ \begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	$\begin{array}{cc} 9 & \left\{ \begin{array}{c} 9 \\ 1 \end{array} \right\} \end{array}$
Liver	:Degeneration, fatty hepatocyte, peripo	, – rtal +	$\begin{array}{ccc} 8 & 1 & \left(& 9 \right) \\ 1 & 0 & \left(& 1 \right) \end{array}$	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	$\begin{array}{cccc} - & 1 & \left\{ \begin{array}{cc} 1 \\ 0 \end{array} \right\} \end{array}$	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	$\begin{smallmatrix}10&\{10\\0&0\end{smallmatrix}$
Pancre	as :Inflammatory cell infiltration	-	$\begin{array}{ccc} 9 & 1 & \begin{pmatrix} 10 \\ 0 & 0 \end{pmatrix}$	$\begin{array}{ccccc} - & 1 & \left\{ \begin{array}{c} 1 \\ 0 \end{array} \right\} \end{array}$	$\begin{array}{cccc} - & 1 & \left\{ \begin{array}{cc} 1 \\ 0 \end{array} \right\} \end{array}$	$\begin{array}{cccc} - & 1 & \left\{ \begin{array}{c} 1 \\ 1 \end{array} \right\} \end{array}$	$\begin{array}{cc} 10 & \left\{ 10 \right\} \\ 0 & \left\{ 0 \right\} \end{array}$
	Proliferation, duct	ule -	$\begin{array}{ccc} 8 & 1 & \left\langle & 9 \right\rangle \\ 1 & 0 & \left\langle & 1 \right\rangle \end{array}$	$\begin{array}{cccc} - & 1 & \left\langle \begin{array}{c} 1 \\ 0 \end{array} \right\rangle \end{array}$	$\begin{array}{cccc} - & 1 & \langle & 1 \\ - & 0 & \langle & 0 \rangle \end{array}$	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	$\begin{array}{cc} 10 & \{10\} \\ 0 & 0\end{array}$
Stomac	h :Dilatation, fundic glandular lumen	- + , ,	$\begin{array}{ccc} 7 & 1 & \left\langle \begin{array}{c} 8 \\ 2 \end{array} \right\rangle \end{array}$	$\begin{array}{cccc} - & 1 & \left\langle & 1 \\ - & 0 & \left\langle & 0 \right\rangle \end{array} $	$\begin{array}{cccc} - & 1 & \left\langle \begin{array}{cc} 1 \\ 0 \end{array} \right\rangle \end{array}$	- 1 (1) - 1 (1)	$\begin{array}{ccc} 9 & \left\{ & 9 \right\} \\ 1 & \left\{ & 1 \right\} \end{array}$

^{-:} Negative ; +: Slight ; -: Not examined ; TK: Terminal kill ; NP: Non-pregnant, killed at 26 days after

copulation; KL:Killed because all pups died after delivery; T:Total

a:Examined the animals with macroscopical abnormalities in the lung

Table 17 - 2 Incidence of histopathological findings of female rats treated orally with buthyl methacrylate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

	·		Dose(mg	/kg)	0			30	1	00	3	00	1000
Organ	:Findings G	irade N	o. of anim	TK mals 9	NP 1	(T) (10)	T K 9	KL (T) 1 (10)	T K 9	NP (T) 1 (10)	TK 8	NP (T) 2 (10)	TK (T) 10 (10)
Kidney	:Cellular infiltrat lymphocyte, cor		- +	8 1	1 0	$\left\{\begin{array}{c} 9 \\ 1 \end{array}\right\}$	_ _	$\begin{array}{ccc} 1 & \left\{ \begin{array}{c} 1 \\ 0 \end{array} \right\} \end{array}$	_	$\begin{array}{ccc} 1 & \left\{ \begin{array}{c} 1 \\ 0 \end{array} \right\} \end{array}$	_	$\begin{array}{ccc} 2 & \left\{ \begin{array}{c} 2 \\ 0 \end{array} \right\} \end{array}$	$\begin{pmatrix} 9 & \left\langle \begin{array}{c} 9 \\ 1 \end{array} \right\rangle$
	Basophilic tubules	5	-	6 3	0 1	$\left\{ \begin{array}{c} 6\\4 \end{array} \right\}$	_	$\begin{array}{ccc} 1 & \left\{ \begin{array}{c} 1 \\ 0 \end{array} \right\} \end{array}$	_	$\begin{bmatrix} 1 \\ 0 \end{bmatrix} \left\{ \begin{bmatrix} 1 \\ 0 \end{bmatrix} \right\}$	_	$\begin{array}{cc} 1 & \left\{ \begin{array}{c} 1 \\ 1 \end{array} \right\} \end{array}$	$ \begin{array}{ccc} 8 & \left(& 8 \\ 2 & \left(& 2 \\ 2 & \end{array} \right) $
	Cyst, solitary		-	9	1	${10 \choose 0}$	_	$\begin{array}{cc} 0 & \left\{ \begin{array}{c} 0 \\ 1 \end{array} \right\} \end{array}$	_	$\begin{array}{cc} 1 & \left\{ \begin{array}{c} 1 \\ 0 \end{array} \right\} \end{array}$	_	$\begin{array}{ccc} 2 & \left\{ \begin{array}{c} 2 \\ 0 \end{array} \right\} \end{array}$	10 (10) 0 (0)
Uterus	:Inflammatory cell endmetrium/myome dilatation, lume	etrium +	ration.	9	0 1	{ 9} { 1}	_ _	$\begin{array}{ccc} 1 & \left\{ \begin{array}{c} 1 \\ 0 \end{array} \right\} \end{array}$	_	1 (1) 0 (0)	_	2 (2) 0	10 (10)
Adrenal	:Necrosis, cortex, unilateral		- ++	9	10	${10 \choose 0}$	_	$\begin{array}{cc} 1 & \left\{ \begin{array}{c} 1 \\ 0 \end{array} \right\} \end{array}$	_	$\begin{array}{cc} 1 & \left\{ \begin{array}{c} 1 \\ 0 \end{array} \right\} \end{array}$	=	$\begin{array}{ccc} 2 & \left\{ \begin{array}{c} 2 \\ 0 \end{array} \right\} \end{array}$	9 (9) 1 (1)
Thymus	:Hemorrhage		- +	8 1	1	<pre>{ 9} 1}</pre>	$\frac{0}{1}$	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	_	$\begin{array}{ccc} 1 & \left\{ \begin{array}{c} 1 \\ 0 \end{array} \right\} \end{array}$	_	$\begin{array}{ccc} 2 & \left\{ \begin{array}{c} 2 \\ 0 \end{array} \right\} \end{array}$	9 (9) 1 (1)
Spleen	:Deposit, hemosider	rin	- +	0 9	0 1	$\begin{Bmatrix} 0 \\ 10 \end{Bmatrix}$	0 9	$\begin{array}{cc} 0 & \left\{ \begin{array}{c} 0 \\ 1 \end{array} \right\} \end{array}$	0 9	$\begin{array}{cc} 0 & \left\{ \begin{array}{c} 0 \\ 1 \end{array} \right\} \end{array}$	0 8	$\begin{array}{cc} 0 & \left\{ \begin{array}{c} 0 \\ 1 \end{array} \right\} \end{array}$	0 (0) 10 (10)
	Atrophy, red pulp		- +	9 0	1 0	{10} {0}	9 0	$\begin{array}{cc} 1 & \left\{ \begin{array}{c} 1 \\ 0 \end{array} \right\} \end{array}$	9 0	$\begin{array}{cc} 1 & \left\{ 10 \right\} \\ 0 & \left\{ 0 \right\} \end{array}$	8 0	2 (10)	4 (4)
	Fibrosis, capsule		- +	8 1	1	<pre>{ 9 } { 1}</pre>	9	$\begin{array}{cc} 1 & \left\{ \begin{array}{c} 1 & 0 \\ 0 \end{array} \right\} \end{array}$	9 0	$\begin{array}{cc} 1 & \{10\} \\ 0 & \{0\} \end{array}$	8 0	$\begin{array}{cc} 2 & \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ 0 & \end{pmatrix} \end{array}$	$ \begin{array}{ccc} 10 & (10) \\ 0 & (0) \end{array} $

^{-:} Negative; +: Slight; ++: Moderate; -: Not examined; TK: Terminal kill; NP: Non-pregnant, killed at 26 days after copulation; KL: Killed because all pups died after delivery; T: Total

b: Examined the animals with macroscopical abnormalities in the thymus

^{**:} Significantly different from control at 1% level of probability

No abnormalities detected in the brain, spinal cord, sciatic nerve, heart, trachea, small intestine, large intestine, urinary bladder, ovary, vagina, pituitary, thyroid, parathyroid, lymph node, bone marrow and mammary gland from animals of control and 1000 mg/kg groups, and NP and KL animals.

Table 18 Reprodoction results of rats treated orally with butyl methacrylate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg)	0	30	100	300	1000
No. of pairs mated	10	10	10	10	10
No. of pairs with successful copulation	10	10	10	10	10
Copulation index (%)	100	100	100	100	100
Pairing days until copulation(Days, Mean ± S.D.)	2.8 ± 0.9	2.9 ± 1.3	2.4 ± 1.3	2.2 ± 1.1	2.5 ± 1.2
No. of pregnant females	9	10	9	8	10
Fertility index (%)	90	100	90	80	100
No. of corpora lutea (Mean±S.D.)	19.6 ± 1.3	19.3 ± 1.8	17.8 ± 2.0	18.1 ± 2.0	16.0 ± 1.8 **
No. of implantation sites (Mean±S.D.)	18.8 ± 1.4	18.3 ± 1.1	17.6 ± 1.9	17.8 ± 1.8	15.9 ± 1.7 **
Implantation index (%, Mean±S.D.)	96.2 ± 6.9	95.3 ± 7.6	98.8 ± 2.4	98.0 ± 3.7	99.4 ± 1.8
No. of pregnant females with parturition	9	10	9	8	10
Gestation length (Days, Mean±S.D.)	22.7 ± 0.5	22.3 ± 0.5	22.8 ± 0.7	22.6 ± 0.5	22.6 ± 0.5
No. of pregnant females with live pups	9	10	9	8	10
Gestation index (%)	100	100	100	100	100
No. of pregnant killed ^a	0	1	0	0	0
No. of pregnant females with live pups on day 4	9	9	9	8	10

Copulation index = (No. of pairs with successful copulation/No. of pairs mated) $\times 100$

Fertility index = (No. of pregnant females/No. of pairs with successful copulation) \times 100

Gestation index = (No. of females with live pups/No. of living pregnant females) \times 100

a: Abnormal pregnant, all pups died after delivery, killed during the study for pathological examination.

**: Significantly different from control at 1% level of probability

Table 19 Litter results of female rats treated orally with butyl methacrylate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose(mg/kg)	0	30	100	300	1000
No. of pups born	16.8± 2.5	17.1± 2.0	14.8± 5.0	17.1± 1.6	14.8± 1.9
Delivery index (%)	89.8±14.6	93.2± 7.0	82.6±26.6	96.6± 4.1	93.0± 7.1
No. of pups alive on day	y 0 of lactatio	n			
	16.0± 2.4		14.3 ± 4.8	16.6± 1.8	14.6 ± 1.8
Male	7.8 ± 2.8	7.9 ± 2.3	7.3 ± 2.5	7.0 ± 3.0	
Female	8.2 ± 1.9	8.3 ± 2.1	7.0 ± 3.5	9.6 ± 2.5	6.7 ± 2.6
Live birth index (%)	95.7± 6.9	94.0±14.0	97.4± 4.1	97.1± 4.5	98.8± 2.6
Sex ratio (Male/Female)	0.91	0.94	0.99	0.76	1.21
No. of pups alive on da	y 4 of lactatio	n		•	
	15.8± 2.3		14.2 ± 4.8	14.8 ± 4.6	14.5 ± 1.8
Male	7.8 ± 2.8				7.8 ± 2.7
Female			7.0 ± 3.5		6.7 ± 2.6
Viability index (%)	98.7± 2.7	87.0±30.8	99.4± 1.9	90.1±27.9	99.3± 2.1
Body weight of live pup	s (g)				
on day O					
Male			7.4 ± 0.8		6.7 ± 0.9
Female	6.3 ± 0.6	6.4 ± 0.5	7.0 ± 0.7	6.8 ± 0.5	6.0 ± 1.5
on day 4					
Male	11.6 ± 1.6	11.1± 1.4	11.7 ± 1.4	11.5 ± 0.9	9.9 ± 1.5
Female	11.0 ± 1.6	10.4 ± 1.6	11.4 ± 1.3	11.1± 0.9	9.5 ± 1.3

Delivery index = (No. of pups born / No. of implantation sites) $\times 100$ Live birth index = (No. of live pups on day 0 / No. of pups born) $\times 100$ Viability index = (No. of live pups on day 4 / No. of live pups on day 0) $\times 100$ Sex ratio = Total No. of male pups / Total No. of female pups Each value is expressed as Mean \pm SD., except sex ratio.

Table 20 Incidence of external findings of rats treated orally with butyl methacrylate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Findings	Dose(mg/kg)	0	30	100	300	1000			
External	No. of pups examined	151	167	133	137	148			
	No. of pups with external anomalies								
		2	0	1	0	. 0			
	(1.4 ± 2.8	(0)	(0.6 ± 1.9)	(0)	(0)			
	External anomalies Generalized edema			_					
		1	0	1	0	0			
		$0.7 \pm 2.0)$	(0)	(0.6 ± 1.9)	(0)	(0)			
	Kinked tail								
		1	0	0	0	0			
	(0.7 ± 2.2	(0)	(0)	(0)	(0)			
	Multiple anomaly@	*							
	-	0	0	1	0	. 0			
		(0)	(0)	(0.6 ± 1.9)	(0)	(0)			

^{():} No. of pups (Mean \pm S.D. of individual litter percentages)

^{@ :} Absence of the second finger and hypoplasia of the fifth finger in the bilateral forelimbs and hypoplasia of the fifth finger in the bilateral hindlimbs

Table 21 - 1 Incidence of visceral findings of rats treated orally with butyl methacrylate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Findings	Dose(mg/kg)	0	30	100	300	1000
Visceral	No. of pups examined	151	159	133	127	148
	No. of pups with visc	eral anoma	lies			
		(0)	0 (0)	1 (0.6±1.9)	0 (0)	0
	Visceral anomalies					
	Abnomalities of l	ung@				
		0	0	1	0	0
		(0)	(0)	(0.6 ± 1.9)	(0)	(0)

^{():} No. of pups (Mean \pm S.D. of individual litter percentages)

^{@ :} Hypoplasia of the left lung and absence of the right lung

Table 21 - 2 Incidence of visceral findings of rats treated orally with butyl methacrylate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Findings	Dose(mg/kg)	0	30	100	300	1000			
Visceral	No. of pups examined	151	159	133	127	148			
	No. of pups with visceral variations								
		5	2	2	3	0			
		(3.6 ± 5.4)	(1.1 ± 2.4)	(1.4 ± 2.8)	(2.3 ± 3.1)	(0)			
	Visceral variations	5							
	Thymic remnant in	n neck							
	•	5	. 1	1	2	0			
		(3.6 ± 5.4)	(0.6 ± 1.9)	(0.7 ± 2.1)	(1.5 ± 2.8)	(0)			
	Presistent left umbilical artery								
		0	1	1	1	0			
		(0)	(0.5 ± 1.7)	(0.7 ± 2.1)	(0.7 ± 2.1)	(0)			

^{():} No. of pups (Mean \pm S.D. of individual litter percentages)