

最 終 報 告 書

テトラヒドロフルフリルアルコールのラットを用いる簡易生殖毒性試験
(試験番号：01-288)

財団法人 畜産生物科学安全研究所

目 次

要約	1 頁
はじめに	3
目的	3
材料および方法	3
1. 被験物質	3
2. 供試動物および飼育条件	3
3. 投与量の設定, 試験群の構成および投与方法	4
4. 観察および検査	6
1) 親動物に関する項目	6
(1) 一般状態観察	6
(2) 体重および摂餌量測定	6
(3) 性周期検査	6
(4) 交配および分娩状態観察	6
(5) 剖検および器官重量測定	6
(6) 病理組織学検査	7
2) 出産児の観察	8
(1) 産児数, 性比および外表観察	8
(2) 一般状態観察	8
(3) 体重測定	8
(4) 病理学検査	8
5. 統計解析	8
結果	9
1. 反復投与毒性	9
1) 一般状態および死亡	9
2) 体重	9
3) 摂餌量	9
4) 剖検	10
5) 器官重量	10

6) 病理組織学検査	11
(1) 生殖器系以外の器官	11
(2) 生殖器系器官	11
2. 生殖発生毒性	12
1) 親動物に及ぼす影響	12
(1) 性周期検査	12
(2) 交尾率および受胎率	12
(3) 黄体数, 着床数および着床率	12
(4) 出産率および妊娠期間	12
(5) 分娩および哺育状態	13
2) 新生児に及ぼす影響	13
(1) 生存性および体重	13
(2) 形態	13
考察	13
文献	16

添付資料

A 図・群別平均値表

Figure	1, 2	体重	1
Figure	3, 4	摂餌量	3
Table	1	死亡率	5
Table	2, 3	一般状態	6
Table	4, 5	体重	8
Table	6, 7	摂餌量	10
Table	8, 9	剖検	12
Table	10, 11	器官重量	14
Table	12, 13	病理組織学検査所見	16
Table	14	生殖に及ぼす影響	19
Table	15	新生児に及ぼす影響	20
Table	16	新生児の外表所見	21

Table	17	新生児の内臓所見	22
-------	----	----------------	----

要 約

溶剤，可塑剤，防かび剤，リジンの中間体，樹脂改質剤，塗料，ジヒドロピラン原料，合成医薬品中間体原料等に広く用いられているテトラヒドロフルフリルアルコールについて，ラットを用い 0，15，50，150 および 500 mg/kg/day で簡易生殖毒性試験を実施した。動物は 1 群雌雄各 12 匹とし，被験物質は交配開始 14 日前から雄は 47 日間，雌は分娩後哺育 4 日（42～52 日）まで投与した。

1．反復投与毒性

150 および 500 mg/kg 群で，雌雄に自発運動亢進あるいは亢進に続く自発運動低下並びに体重増加の抑制および摂餌量の減少が用量依存的に認められた。器官重量では，150mg/kg 群で雌の腎臓の相対重量の増加，500mg/kg 群で雄の胸腺，精巣および精巣上体に絶対重量および相対重量の減少が認められた。剖検では，500mg/kg 群で雌雄に胸腺並びに雄に精巣および精巣上体の小型化の発現率の増加，また，150 および 500 mg/kg 群で雌雄に脾臓の表面粗造および白色斑／域が認められ，一部の脾臓は周辺の器官・組織との癒着も認められた。病理組織学検査では，500mg/kg 群で雌雄に胸腺の萎縮，雄に精巣の精細管萎縮および間質細胞過形成，精巣上体の精巣上体管内精子減少および細胞崩壊物，また脾臓には 150 および 500 mg/kg 群の雌雄に被膜の炎症，500 mg/kg 群の雌雄に髄外造血低減による赤脾髄の萎縮が認められた。

以上の結果から，テトラヒドロフルフリルアルコールのラットへの反復投与により主に胸腺，脾臓，精巣および精巣上体に対する毒性影響が認められ，無影響量は雌雄ともに 50 mg/kg/day と結論された。

2．生殖発生毒性

親動物の生殖能に対して，雄親では，上述のように精巣および精巣上体に被験物質投与の影響が認められた。

雌親では，150mg/kg 群で性周期の延長傾向，妊娠期間の延長および出産率の低下が認められ，分娩後は哺育行動をとらない例が半数以上認められた。500mg/kg 群では，性周期の延長が認められ，全例で分娩が認められなかった。分娩の認められなかった例の子宮には，初期吸収胚が確認された。

児動物の発生に対しては、150mg/kg 群で総出産児数、分娩率、新生児数および出生率の顕著な減少が認められた。また、出生児は哺育 0 日の時点で半数以上が死亡し、哺育 4 日までの生存児は一腹からの 4 匹のみでいずれも低体重を示した。500 mg/kg 群では、分娩は認められず、すべての母動物において剖検時に胚（胎芽）死亡が認められた。

以上の結果より、雄親動物の生殖能に対する無影響量は、150 mg/kg/day、雌親動物の生殖能および児動物の発生に対する無影響量はいずれも 50 mg/kg/day と結論された。

はじめに

テトラヒドロフルフリルアルコールは、溶剤、可塑剤、防かび剤、リジンの中間体、樹脂改質剤、塗料、ジヒドロピラン原料、合成医薬品中間体原料等に広く用いられている化学物質である。本物質の毒性について、一般毒性に関しては、ラット経口投与における LD₅₀ 値は 1.6～3.2 g/kg で、皮膚や粘膜に対して刺激性を有する¹⁾ことが知られている。また、ラットへの 90 日間混餌投与により精巣に対する毒性影響が認められている²⁾が、生殖発生毒性について詳細に検討した報告はみられない。本試験は、OECD の高生産量既存化学物質安全点検事業の一環として実施したものである。

目 的

テトラヒドロフルフリルアルコールを、ラットに反復経口投与し、本物質の生殖毒性について検討した。

材料および方法

1. 被験物質

被験物質のテトラヒドロフルフリルアルコール (CAS No. 97-99-4) は、分子量 102.13, 融点 -80℃以下, 沸点 178℃, 蒸気圧 230Pa (40℃), 比重 1.054 (20/4℃) の水に可溶な無色透明液体で、試験には

から提供されたロット番号 (純度 99.5%) 冷暗条件下 (4℃) で保管し、使用した。本物質の特性は、Appendix 1 に示す。投与液は、局法精製水 (共栄製薬株式会社, ロット番号 181376) を用いて、所定の投与用量となる濃度の水溶液として調製した。本物質の 20 および 0.2% 水溶液について安定性試験を実施した結果、冷暗条件下 (4℃) で少なくとも 7 日間は安定であることが確認された (Appendix 2)。したがって、投与液の使用期間は調製後 7 日間とし、調製した投与液は 1 日の使用量ごとに小分けし、使用時まで冷所 (4℃) 遮光下で密栓して保管した。また、初回に調製した投与液について分析し、所定の濃度で調製されていることを確認した (Appendix 3)。

2. 供試動物および飼育条件 (Appendix 4～6)

8 週齢の SD 系 [Crj : CD (SD) IGS] の SPF ラットを日本チャールス・リバー

株式会社 厚木生産場（神奈川県厚木市下古沢 795 番地）から搬入（雌雄各 68 匹）し、13 日間試験環境に馴化させ、その間に臨床観察および 3 回の体重測定による検査並びに雌については膣垢法による 10 日間の性周期観察も合わせて行い、発育が順調で、一般状態および雌の性周期に異常の認められなかった雌雄各 60 匹を 10 週齢で試験に用いた。1 群の動物数は雌雄各 12 匹とし、群分けは投与開始前日の体重に基づく層化無作為抽出法を用いて行った。投与開始時の平均体重（体重範囲）は、雄 393（364～431）g、雌 234（208～275）g であった。

ラットは、温度 $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 10\%$ 、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/日（午前 7 時点灯、午後 7 時消灯）に設定されたバリアーシステム動物室（第 2 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 段のラックに設置して飼育した。ただし、交配の成立した雌は、巣作り材料（ホワイトフレーク、日本チャールス・リバー株式会社、ロット番号 14. 9. 20）を入れたポリカーボネート製ケージ [265W × 426D × 180H (mm)] に収容し、分娩後は児動物と同居させた。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 021072、021255）並びに飲料水（孔径 $1\mu\text{m}$ のカートリッジフィルターで濾過後紫外線照射した殺菌水道水）は、それぞれ給餌器および自動給水装置または給水瓶（ポリカーボネートケージの場合）により自由に摂取させた。動物の個体識別は、ラックおよびケージへの標識札貼付並びに耳パンチ法により行った。

なお、動物の飼育期間を通じて、動物室の温度は $21.9 \sim 22.4^{\circ}\text{C}$ 、湿度は $49 \sim 57\%$ の範囲で推移し（温度・湿度の測定結果：Appendix 4）、また飼料中の汚染物質の分析結果（Appendix 5）、飲料水の水質検査の結果（Appendix 6）および巣作り材料中汚染物質の分析結果（Appendix 7）は、いずれも当研究所が設定した許容範囲内の値であった。したがって動物の飼育期間中において試験成績の信頼性に影響を及ぼすと考えられる環境要因の変化は、なかったものと判断された。

3. 投与量の設定、試験群の構成および投与方法

単回経口投与における致死量は、 2000 mg/kg 以上であった。5 週齢のラットを用い、50, 100, 200, 500 および 1000 mg/kg/day で 14 日間反復経口投与した投与量設定試験においては、 50 mg/kg 群で、被験物質の投与による変化は認められな

かった。100 mg/kg 群では、自発運動の亢進が認められたが、雌 1 匹のみの変化であった。200 mg/kg 群では雌に自発運動の亢進並びに胸腺および下垂体の絶対および相対重量のいずれも低値が認められた。500 mg/kg 群では雌雄に自発運動の亢進および低下、摂餌量の低値並びに盲腸の拡張、雄に立毛例および体重増加の抑制傾向、雌に胸腺および下垂体の絶対および相対重量のいずれも低値が認められた。1000 mg/kg 群では、500 mg/kg 群で認められた変化に加えて、雌に立毛例並びに胸腺の絶対および相対重量の低値が認められた。

また、0, 10, 150 および 600 mg/kg/day で実施中であった本物質の 28 日間反復投与毒性試験においても、150 mg/kg 群で雄に体重増加抑制傾向、600 mg/kg 群で雌雄に自発運動の亢進および低下、雄に有意かつ、明らかな体重増加抑制および摂餌量の減少、雌に投与初期における体重増加抑制傾向および摂餌量の減少傾向が認められた。

以上のことから、本試験における投与量については、確実に毒性影響が発現すると予測される 500 mg/kg/day を最高用量、毒性影響が発現しないと予測される 15 mg/kg/day を最低用量とし、これらの用量の間に 50 および 150 mg/kg/day の計 4 用量を設定した。

試験群の構成は、(1) 溶媒投与群 (以下、対照群)、(2) 被験物質の 15 mg/kg/day 投与群 (15 mg/kg 群)、(3) 同 50 mg/kg/day 投与群 (50 mg/kg 群)、(4) 同 150 mg/kg/day 投与群 (150 mg/kg 群)、(5) 同 500 mg/kg/day 投与群 (500 mg/kg 群) の 5 群とした。

投与方法は、投与液量を体重 1kg 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、投与液を胃内に投与した。対照群には溶媒として用いた局法精製水を同様に投与した。各個体の投与液量は、至近日の測定体重を基に算出した。投与期間は、雌雄とも交配開始 14 日前から、雄は 47 日間、雌は交配および妊娠期間を経て分娩後の哺育 4 日まで、最短 42 日～最長 52 日間、1 日 1 回、概ね午前中 (9:00～12:00) に投与した。

4. 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、朝夕の少なくとも2回は、動物の生死、外観、行動等について観察した。特に、妊娠、出産、哺育の状態については、注意深く観察した。

(2) 体重および摂餌量測定

体重は、雄については投与1(投与開始日)、8、15、22、29、36、43 および47日、雌は投与1、8および15日、妊娠0、7、14 および20日、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、ケージごとに翌日までの24時間飼料消費量を測定した。ただし、摂餌量の最終測定日は、雄では投与46日、雌では哺育3日とした。交配期間中の投与15日には雌雄の全例、投与22日には交尾が成立していない雌雄の摂餌量は測定しなかった。

(3) 性周期検査

雌について、馴化・検疫期間に引き続き、交尾が確認されるまで、Giemsa 染色による膣垢塗抹標本作製し、鏡検により性周期段階の判定を行った。

(4) 交配および分娩状態観察

交配前2週間の投与を終了(投与15日の午後)した雌雄を同一群内で1対1の組み合わせを作り、2週間を限度として交尾が確認されるまで連続同居させた。交配期間中は毎朝一定時刻(9:30頃)に交尾の確認を行い、交尾率(%)[(交尾動物数/同居動物数)×100]を算出した。交尾は膣栓形成あるいは膣垢中の精子の有無により確認し、確認された日を妊娠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、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]を算出した。

(5) 剖検および器官重量測定

雄は投与47日の翌日、雌については、分娩し哺育も順調であった例は哺育5日、15 mg/kg 群で1匹認められた交尾しなかった雌については交配期間終了後24日(投与52日の翌日)、150 mg/kg 群で認められた12匹中8匹の全児死亡例は、全児死亡が確認された後4日以内に、また、分娩予定日を過ぎても分娩が認められなかった150 mg/kg 群の2例および500 mg/kg 群の全例は、分娩予定の4日後まで観察を続け翌日に、それぞれエーテル麻酔下で放血屠殺し、体表、開口部

粘膜および内部諸器官を肉眼的に観察した。また、雌雄の下垂体、胸腺および腎臓、雄の精巣および精巣上体を秤量（絶対重量）し、屠殺日の体重に基づいて対体重比（相対重量）を算出した。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（％） $[(\text{着床痕数}/\text{黄体数}) \times 100]$ を算定した。

(6) 病理組織学検査

下記器官を採取し、10％中性リン酸緩衝ホルマリン液（精巣、精巣上体はブアン液で前固定）で固定し、保存した。

脳、下垂体、甲状腺（上皮小体含む）、胸腺、気管、肺、胃、腸、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精囊、卵巣、子宮、脊髄（頸部、胸部、腰部）、坐骨神経、骨髓（大腿骨）、リンパ節（頸部リンパ節、腸間膜リンパ節）、乳腺、その他肉眼的異常部位

病理組織学検査は、対照群および 500mg/kg 群について、精巣、精巣上体、卵巣、下垂体、胸腺および剖検時に被験物質投与に起因すると思われる肉眼的異常の認められた脾臓を検査した。脾臓については、投与開始時に完全無作為抽出法により選択した 5 匹および 500mg/kg 群では肉眼的異常が認められた個体を含む 12 匹について検査した。その結果、精巣、精巣上体、胸腺および脾臓に投与に起因する変化が認められたので、15、50 および 150mg/kg 群では、これらの器官について検査した。検査対象動物については、投与開始時に完全無作為抽出法により選択した 5 匹とした。さらに、交尾が認められなかった対で交配後死亡した 15mg/kg 群の雄の 1 匹（動物番号：022）については、精巣、精巣上体、下垂体、胸腺、脳、脊髄、胃、腸（パイヤー板を含む）、副腎、脾臓、心臓、肝臓、腎臓、甲状腺（上皮小体を含む）、気管、肺、膀胱、坐骨神経、骨髓およびリンパ節（頸部リンパ節、腸間膜リンパ節）を、その対の雌については卵巣、子宮および下垂体を検査した。15 および 150mg/kg 群で認められた非妊娠のつがいの雄は、精巣、精巣上体、前立腺、精囊および下垂体を、雌は卵巣、子宮および下垂体を検査した。妊娠はしたものの分娩が認められなかった雌は、卵巣、子宮および下垂体を、さらに、分娩は認められたが哺育期間中に全児死亡が認められた雌については乳腺も検査した。検査は常法に従ってパラフィン切片を作製し、H-E 染色を施して鏡検した。

2) 出産児の観察

(1) 産児数，性比および外表観察

分娩完了の確認後，各腹の産児数（生産児と死亡児の合計）を調べ，分娩率（％） $[(\text{総出産児数} / \text{着床数}) \times 100]$ を，また肛門と生殖突起の距離の長短により雌雄を判別し，群ごとの性比を算出した。また，新生児について，口腔内を含む外表の異常を調べた。

(2) 一般状態観察

毎日，一般状態および生死を確認し，出生率（％） $[(\text{出産確認時生児数} / \text{総出産児数}) \times 100]$ および新生児生存率（％） $[(\text{哺育4日の生児数} / \text{出産確認時生児数}) \times 100]$ を算出した。

(3) 体重測定

新生児について，哺育0および4日に，雌雄別に各腹ごとの体重を測定し，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，生存例は哺育4日にエーテル麻酔下で放血死させ，胸部および腹部における主要器官について肉眼的に観察した。

5. 統計解析

得られた平均値あるいは頻度について，被験物質投与各群と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。すなわちパラメトリックデータ（体重，摂餌量，器官重量，黄体数，着床数，妊娠期間，産児数）は，Bartlett の分散検定を行った。その結果，分散が一樣な場合は一元配置の分散分析を行い，有意差を認めた場合は Sheffé 法により対照群との比較検定を行った。分散が一樣でない場合およびノンパラメトリックデータ（着床率，出生率，分娩率，新生児生存率，出産児の外表および内臓検査における発現率）は Kruskal - Wallis の順位検定を行い，その結果有意差を認めた場合は Sheffé 型の検定を行った。カテゴリカルデータには，Fisher の直接確率法（一般状態の観察，剖検および病理組織学検査における異常例の発現率）或いは χ^2 検定（交尾率，受胎率，出産率，児動物の性比）を用いた。なお，出産児に関するデータは，1腹の平均値を1標本とした。

結 果

1. 反復投与毒性

1) 一般状態および死亡 (Tables 1~3, Appendices 8~10)

対照群並びに 15 および 50 mg/kg 群では、一般状態に変化は認められなかった。150 mg/kg 群では、雌雄に投与後 5~15 分頃から軽度の自発運動の亢進が認められた。また、自発運動亢進に続いて、特に雄で、軽度の自発運動低下を呈するものが投与期間の前半に散見された。500 mg/kg 群では、軽度の自発運動亢進およびそれに続く自発運動低下が投与期間を通じて認められるものが多く、雄は雌に比べて自発運動低下を示す頻度が多い傾向にあった。また、雌では妊娠後期において、500 mg/kg 群の 2 匹に軽度の膣出血が認められた。15 mg/kg 群で認められた交尾不成立の対の雄（動物番号 022）は、投与 20 日より中等度の自発運動低下が認められ、投与 22 日に死亡した。

2) 体重 (Figure 1, 2, Table 4, 5, Appendix 12, 13)

15 および 50 mg/kg 群では、雌雄ともに体重および体重増加量に対照群と比べて有意差は認められなかった。150 mg/kg 群では、雄で投与 36 日以降、有意差はないものの体重増加の抑制傾向がみられ、投与期間中の体重増加量の有意な減少を認めた。雌では、妊娠 20 日の体重が対照群と比べ有意な低値を示し、妊娠期間中の体重増加量は有意に減少した。500 mg/kg 群においては、雄で投与 8 日より有意な体重増加の抑制および投与期間中の体重増加量の有意な減少が認められた。雌では妊娠 14 日より有意な体重増加抑制および妊娠期間中の体重増加量の有意な減少が認められた。

3) 摂餌量 (Figure 3, 4, Table 6, 7, Appendix 14, 15)

15 mg/kg 群では、雌雄ともに試験期間中を通して摂餌量に有意な変化は認められなかった。50 mg/kg 群では、雄の投与 22 日の摂餌量にのみ対照群と比べて有意な減少が認められた。150 mg/kg 群では、雄で投与 8 日、雌で妊娠 14 および 20 日の摂餌量に有意な減少が認められた。500 mg/kg 群では、雄で投与 1, 8 および 22 日、雌で投与 1 日、妊娠 0, 14 および 20 日の摂餌量に有意な減少が認められた。

4) 剖検 (Table 8, 9, Appendix 16, 17)

計画屠殺の雄において、精巣および精巣上体の小型化が対照群で 1 匹、15 mg/kg 群で 1 匹および 150 mg/kg 群で 1 匹に認められたのに対して、500 mg/kg 群では 10 匹と、発現率の有意な増加が認められた。15 および 150 mg/kg 群で精巣および精巣上体の小型化が認められた例は、いずれも妊娠を成立させなかった例であった。また、脾臓の表面粗造および白色斑／域が認められ、発現率は表面粗造が 500 mg/kg 群で 6 匹、白色斑／域が 150 mg/kg 群で 1 匹および 500 mg/kg 群で 4 匹で、500 mg/kg 群の表面粗造および白色斑／域の発現率は有意なものであった。15 mg/kg 群で交尾せず、その後死亡した雄では、肺の暗赤色化、心臓の灰白点、脾臓及び胸腺の小型化が認められた。

計画屠殺の雌において、胸腺の小型化が対照群の 1 匹および 50 mg/kg 群の 1 匹、胸腺の赤色斑が 15 mg/kg 群の 1 匹に認められた以外、変化は認められなかった。15mg/kg 群の 1 匹の交配不成立例、15mg/kg 群の 1 匹および 150mg/kg 群の 1 匹の妊娠不成立例では、変化は認められなかった。150 mg/kg 群の分娩後全児死亡の 8 匹では、胸腺の萎縮が 1 匹、脾臓の表面粗造が 2 匹に認められた。150mg/kg 群の 2 匹および 500mg/kg 群の 12 匹の全胎児死亡例では、150 mg/kg 群の 1 匹の子宮に米粒大あるいはそれより小さな初期吸収胚および胎児のミイラ変性が認められ、500mg/kg 群を含むその他の全例の子宮には初期吸収胚が確認された。また 500mg/kg 群では胸腺の小型化が 5 匹に認められた。また、脾臓の表面粗造が 11 匹および白色斑／域が 5 匹に認められ、うち 2 匹は周辺脂肪組織あるいは脾臓との癒着を伴っていた。脾臓の表面粗造および白色斑／域の発現率には有意差が認められた。

5) 器官重量 (Table 10, 11, Appendix 18~21)

15 および 50 mg/kg 群では、最終体重および秤量器官の重量に有意な変化は認められなかった。150 mg/kg 群では、最終体重は雄で減少傾向、雌で有意な減少が認められ、雌雄の下垂体の絶対重量に有意な減少が認められたが、相対重量には有意な変化は認められなかった。雌の腎臓は絶対重量でやや減少する傾向にあり、相対重量では有意な増加を示した。500mg/kg 群では、雄で最終体重の有意な減少が認められ、雄の胸腺、精巣および精巣上体は、絶対および相対重量に共通して有意な減

少を示した。腎臓および下垂体の絶対重量にも有意な低下が認められたが、相対重量には有意な変化は認められなかった。

6) 病理組織学検査 (Table 12, 13, Appendix 16, 17)

被験物質の投与に起因する変化が、精巣、精巣上体、胸腺および脾臓に認められた。

(1) 生殖器系以外の器官

胸腺の萎縮は対照群においても雌の 1 匹に認められたが、150 mg/kg 群の雌および 500mg/kg 群での雄雌では発現率の増加傾向がみられ、500mg/kg の雄の発現率には有意差が認められた。脾臓において、150 および 500 mg/kg 群の雄雌の赤脾髄の髄外造血の程度は低下傾向にあり、150 および 500 mg/kg 群の雌では有意差が認められ、赤脾髄の萎縮が示唆された。また、脾臓に被膜の細胞浸潤／線維化等の炎症が 150 mg/kg 群の雄の 5 匹中 3 匹および雌の 5 匹中 2 匹、500 mg/kg 群の雄の 12 匹中 11 匹および雌の 12 匹中 12 匹認められた。15mg/kg 群で認められた死亡例（動物番号 022）では、心臓の心筋壊死・鉍質沈着、肺のうっ血性水腫、胸腺および脾臓の萎縮、腎臓の好塩基性尿細管が認められ、心臓の心筋壊死・鉍質沈着および肺のうっ血性水腫が主な死因と推定された。以上の変化に加えて、被験物質の投与とは無関係に下垂体のラトケ囊、胸腺の出血、脾臓の褐色色素沈着が認められた。分娩後全児死亡の雌の乳腺に、変化は認められなかった。

(2) 生殖器系器官

妊娠の成立した雄において、精巣の精細管萎縮が 500mg/kg 群の 12 匹全例に認められ、10 匹では間質細胞の過形成を伴っていた。これらの例では精細管内精子形成の低減が認められ、変化の強い部位ではセルトリ細胞を残して生殖細胞は消失していた。精細管萎縮は対照群の 3 匹（限局性変化の 2 匹を含む）にも認められ、1 匹は間質細胞の過形成を伴っていた。対照群の例を含むこれら精細管萎縮の認められた動物の精巣上体には、精巣上体管内精子の減少および細胞崩壊物が認められた。妊娠の成立しなかった 15 mg/kg 群の 1 匹および 150mg/kg 群の 1 匹にも、精巣の精細管萎縮および間質細胞の過形成並びに精巣上体の精巣上体管腔内精子の減少および細胞崩壊物が認められ、150 mg/kg 群の例では、さらに前立腺の間質細胞浸潤も認められた。

雌において、全胎児死亡の 150mg/kg 群の 2 匹および 500mg/kg 群の 12 匹全例

に、子宮の胎盤遺残が確認された。卵巣には変化が認められなかった。

2. 生殖発生毒性

1) 親動物に及ぼす影響 (Table 14, Appendix 23)

(1) 性周期検査

群分け時から交配前までにおいて、対照群では、概ね 4 日の性周期を示したが、6 日（動物番号 501）および 5 日（動物番号 512）を示す動物が 1 例ずつ認められたため、平均性周期は 4.3 日であった。これに対し、15 および 50 mg/kg 群では、概ね 4 日周期を示し、平均性周期はそれぞれ 4.0 および 4.1 日であった。150 mg/kg 以上の群では、対照群と比べて性周期の延長傾向が認められ、5 日以上の性周期を示す個体が 150 mg/kg 群で 4 例、500mg/kg 群では 7 例認められ、150 mg/kg 群では 4.5 日の平均性周期を示し、500 mg/kg 群では平均性周期は 4.8 日と対照群と比べて有意に長かった。また、150 mg/kg 以上の群では、発情後期 I（Ⅲ）期像が 2 日ないし 3 日連続して認められる個体が散見された。

(2) 交尾率および受胎率

交尾は 15 mg/kg 群の 1 対を除いて全例に成立し、成立に要する期間にも、対照群と被験物質投与各群との間に有意な差は認められなかった。15 mg/kg 群の交尾不成立のつがいの雄（動物番号 022）は、投与 22 日に死亡し、その後、交尾が確認された別の雄（動物番号 023）と交配を続けたが、交尾は認められなかった。受胎率は、15 および 150 mg/kg 群で 1 例ずつの不妊例が認められたが、対照群と被験物質投与各群との間に有意差は認められなかった。

(3) 黄体数、着床数および着床率

被験物質投与各群の黄体数、着床数および着床率は、対照群と比べて有意差は認められなかった。

(4) 出産率および妊娠期間

出産率は、対照群、15 および 50 mg/kg 群では 100%であったが、150 mg/kg 群では、36.4%と有意に低下した。500 mg/kg 群では、分娩は 1 例も認められなかった。妊娠期間については、15 および 50 mg/kg 群では、対照群との間に有意差は認められなかった。150 mg/kg 群では、妊娠期間の有意な延長が認められた。

(5) 分娩および哺育状態

対照群, 15 および 50 mg/kg 群では, 分娩および哺育状態に異常は認められなかった。150 mg/kg 群では, 妊娠 11 例中 9 例に分娩が認められたが, そのうちの 5 例については, 夕方に分娩開始が確認されたものの, 哺育行動はとらず, 翌朝には全ての児が死亡または食殺された。他の 4 例には哺育行動は認められたものの, 児の腹に透けて見えるミルクの量は少なかった。

2) 新生児に及ぼす影響

(1) 生存性および体重 (Table 15, Appendix 24)

15 および 50 mg/kg 群の一腹当たりの総出産児数, 分娩率, 新生児数, 出生率, 性比, 哺育 0 日の体重並びに哺育 4 日の生存率および体重には, いずれも対照群と比べて有意差は認められず, 新生児の一般状態にも異常は認められなかった。150 mg/kg 群では, 出産確認時に生存児を有する母動物は 4 匹で, 一腹当たりの総出産児数, 分娩率, 新生児数および出生率は有意に減少した。出生児は, 哺育 0 日に半数以上が死亡し, 哺育 4 日までの生存児は一腹からの 4 匹のみであり, いずれも低体重を示した。500 mg/kg 群では, 分娩が認められず, 新生児は得られなかった。

(2) 形態 (Table 16, 17, Appendix 25, 26)

150 mg/kg 群で全身性浮腫が 4 腹から得られた出生児の 28 匹中 1 匹に認められた他は, いずれの群においても外表および内臓異常を有する児動物は認められなかった。内臓変異については, 胸腺の頸部残留が各群に認められ, 50 mg/kg 群で, やや高い発現率 (8.4%) を示したものの, 対照群 (3.2%) と比べて有意差は認められなかった。また, 左臍動脈遺残が対照群 (1.2%) と 50 mg/kg 群 (2.2%) でみられたが, その発現に有意差は認められなかった。

考 察

1. 反復投与毒性について

投与後, 自発運動亢進あるいは亢進に続く自発運動低下が 150 mg/kg 以上の群の雌雄に認められ, 自発運動低下は用量の増加に伴い現れやすい傾向にあった。

本被験物質の基本骨格であるテトラヒドロフランには麻酔作用が報告³⁾されているが, これらの症状から, 本被験物質も中枢神経系に対して軽度な影響を有する可

能性が示唆される。

また、150mg/kg 以上の群で、雌雄に体重増加の抑制および摂餌量の減少が用量依存的に認められた。

なお、50mg/kg 群の雄で投与 22 日の摂餌量が対照群と比べて低値を示したが、投与の経過に伴う変化傾向は認められず、体重に対する影響も伴っていないことから、被験物質の投与とは無関係な偶発的所見と判断された。

器官重量では、150mg/kg 群で雌に腎臓の相対重量増加、500mg/kg 群で雄に胸腺、精巣および精巣上体の絶対重量および相対重量の減少が認められた。剖検では、500mg/kg 群で雌雄に胸腺並びに雄に精巣および精巣上体の小型化の発現率の増加、また、150 および 500 mg/kg 群で雌雄に脾臓の表面粗造および白色斑／域が認められ、一部の脾臓は周辺の器官・組織との癒着も認められた。

病理組織学検査では、500mg/kg 群で雌雄に胸腺の萎縮、雄に精巣の精細管萎縮および間質細胞過形成、精巣上体の精巣上体管内精子減少および細胞崩壊物、また脾臓には 150 および 500 mg/kg 群の雌雄に被膜の炎症、500 mg/kg 群の雌雄に髄外造血低減による赤脾髄の萎縮が認められた。

これらの雌雄の胸腺および脾臓並びに雄の精巣の病理組織学的変化、雌の病理組織学的変化を伴わない腎臓重量の変化は、本被験物質のラットを用いた 28 日間反復投与毒性においても認められており⁴⁾、本試験においてもこれら器官に対する毒性影響が確認された。

投与後 22 日に死亡した 15mg/kg の雄については、心臓の心筋壊死・鉍質沈殿および肺のうっ血性水腫が主な死因と推定されたが、高用量群を含む他の動物にこのような死亡例はなく、被験物質投与とは関連のない偶発的なものと考えられる。また、計画屠殺の雌において、胸腺の小型化が対照群の 1 匹および 50mg/kg 群の 1 匹、赤色斑が 15mg/kg の 1 匹に認められたが、これらはいずれも自然発生的な変化と判断される。

2. 生殖発生毒性について

親動物に対して、雄親では 500mg/kg 群で精巣および精巣上体の小型化および重量減少が認められた。病理組織学検査では、精巣の間質細胞の過形成を伴う精細管萎縮および精巣上体の精巣上体管腔内の精子減少および細胞崩壊物が認められた。

本被験物質をラットへ 90 日間混餌投与した試験において、精巣に対する毒性影響が報告されており³⁾、本試験においても明らかな精巣毒性が確認された。このような精巣毒性が認められたにもかかわらず、受胎に対する影響が認められなかったのは、投与開始が交配前 2 週間からであり、交配時点では精子が残存していたものと推察され、卵子と受精することができたものと判断された。

雌では、150mg/kg 以上の群で性周期の延長傾向および発情後期 I (III) 期像の延長傾向が認められ、被験物質による性周期への影響が疑われた。交尾、排卵、受精および着床の過程においては、毒性影響を示唆する変化は認められなかった。しかしながら、その後の妊娠継続に対しては、150mg/kg 群で、妊娠期間の延長および出産率の低下が認められ、500mg/kg 群では、分娩は 1 例も認められなかった。また、150mg/kg 群で分娩した動物においても哺育行動をとらない例が半数以上認められた。下垂体、卵巣、子宮および乳腺の組織学検査においては、特に被験物質による影響は認められなかったことから、母動物への一般毒性学的影響による二次的影響の可能性が考えられる。

妊娠の不成立が 15 および 500mg/kg 群に各 1 対認められ、これらの対の雄では、精巣の精細管萎縮および精巣上体の精巣上体管内精子の減少が認められ、これが妊娠不成立の原因であると推察された。しかしながら、妊娠不成立例の発現率には用量依存性は認められず、被験物質の投与とは無関係な所見と判断された。

また、15mg/kg 群で認められた交尾不成立例について、雌は順調な性周期を示し、剖検および組織学所見にも異常は認められなかった。交配ペアの雄の 1 匹は死亡例であり、心臓および肺に病理学的変化を伴って死亡していることから、これらの異常が交尾不成立と関連するものと思われた。その後に交配を継続した別の雄は、前述の精巣および精巣上体に変化が認められたものであったが、交尾経験を有する個体であり、交尾不成立の原因は不明であった。

児動物に対しては、150mg/kg 以上の群で着床後の胚（胎芽）発育および生存性に顕著な毒性影響が認められ、150mg/kg 群では、出産確認時に生存児を有する母動物は 4 匹のみで、総出産児数、分娩率、新生児数および出生率は顕著に減少した。また、出生児は哺育 0 日の時点で半数以上が死亡し、哺育 4 日までの生存児は一腹からの 4 匹のみでいずれも低体重を示した。500 mg/kg 群では、分娩は認められず、すべての母動物において剖検時に胚（胎芽）死亡が認められ、いずれも妊娠初期吸

収胚と判断された。150 mg/kg 群における未分娩例においても初期吸収胚または後期吸収胚が認められた。

150 mg/kg 以上の群の母動物は、妊娠中期から後期に体重および摂餌量の減少が認められており、母動物に毒性影響が認められた用量で本被験物質は発生毒性を有するものと判断され、妊娠初期から中期に胚致死作用を及ぼすものと考えられた。

出生児の形態への影響については、150mg/kg 群では、発生毒性が顕著であったため、検査例数が少なく、評価は困難であった。15 および 50mg/kg 群では対照群と同様、少数例の内臓変異がみられたが、いずれも自然発生的に認められる⁵⁾もので、発現率に有意差は認められず、催奇形性を示唆する変化ではないと判断された。

以上の結果から、テトラヒドロフルフリルアルコールのラットの反復投与において認められた主な毒性は、精巣、精巣上体、脾臓および胸腺に対する影響であった。また、親動物への反復投与における無影響量は雄雌ともに 50mg/kg/day、雄親動物の生殖能に対する無影響量は 150mg/kg/day、雌親動物の生殖能および児動物の発生に対する無影響量は 50mg/kg/day と判断された。

文 献

- 1) Richardson, M. L. and Gangolliet, S. "The Dictionary of Substances and their Effects" , Volume 7, pp. 353-354, the royal society of chemistry, England, 1994.
- 2) TSCA Section 8, (e)Data, 8EHQ-1091-1381A, -0692-1381B, and 0992-1381C.
- 3) IUCLID(International Uniform Chemical Information Data Base)Data Sheet, EU (1995).
- 4) 伊藤義彦ら, テトラヒドロフルフリルアルコールのラットを用いる 28 日間反復投与毒性試験(2003), 財団法人 畜産生物科学安全研究所 所内資料.
- 5) Morita, H., et al, (1987). Spontaneous malformations in laboratory animals, Frequency of external, internal and skeletal malformations in rats, rabbits and mice, *Cong. Anom.*, 27, 147-206.

テトラヒドロフルフリルアルコールのラットを用いる簡易生殖毒性試験
(試験番号：01-288)

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

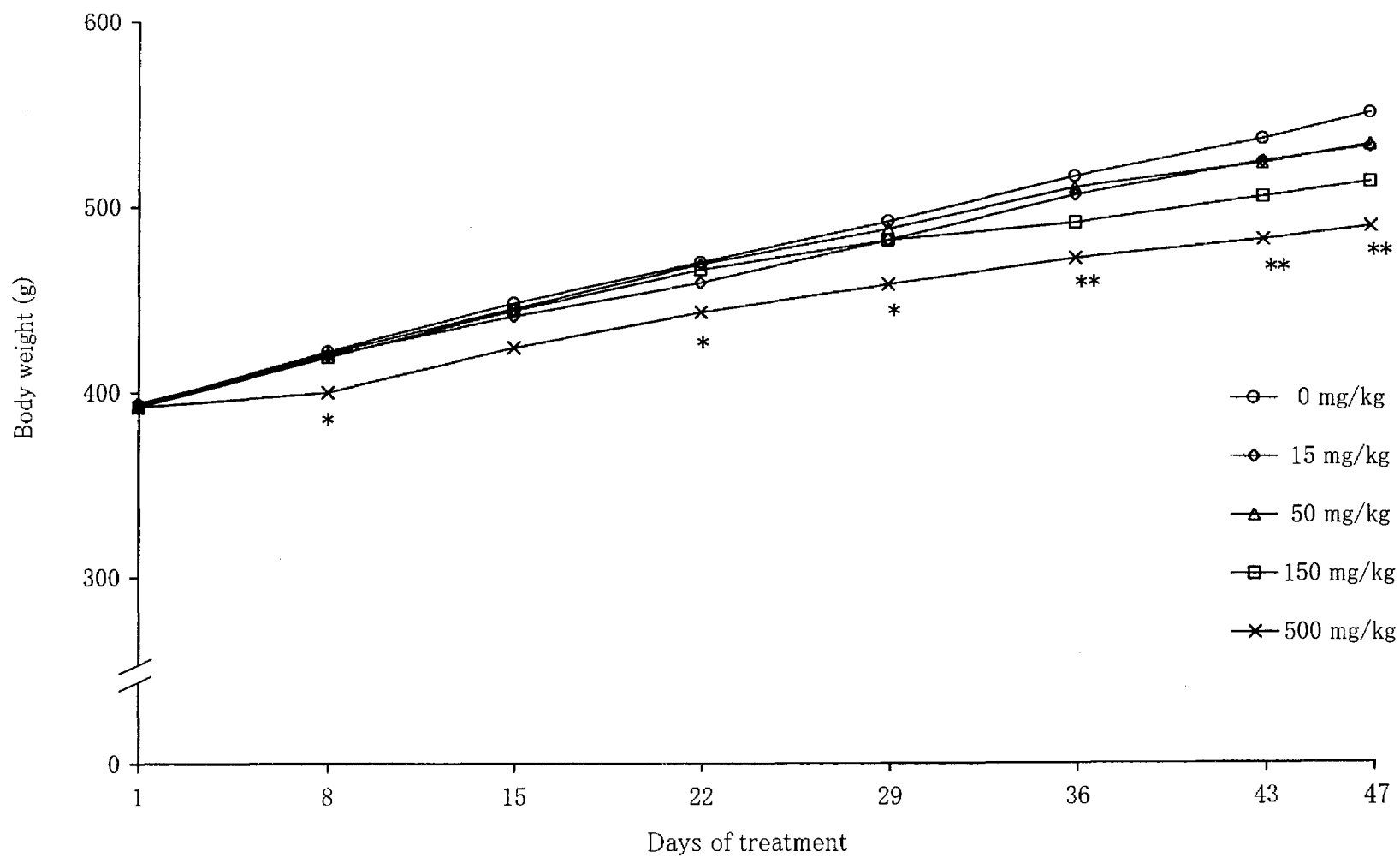


Fig. 1 Body weight change in male rats treated orally with 2-furanmethanol, tetrahydro- in the preliminary reproduction toxicity screening test

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

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

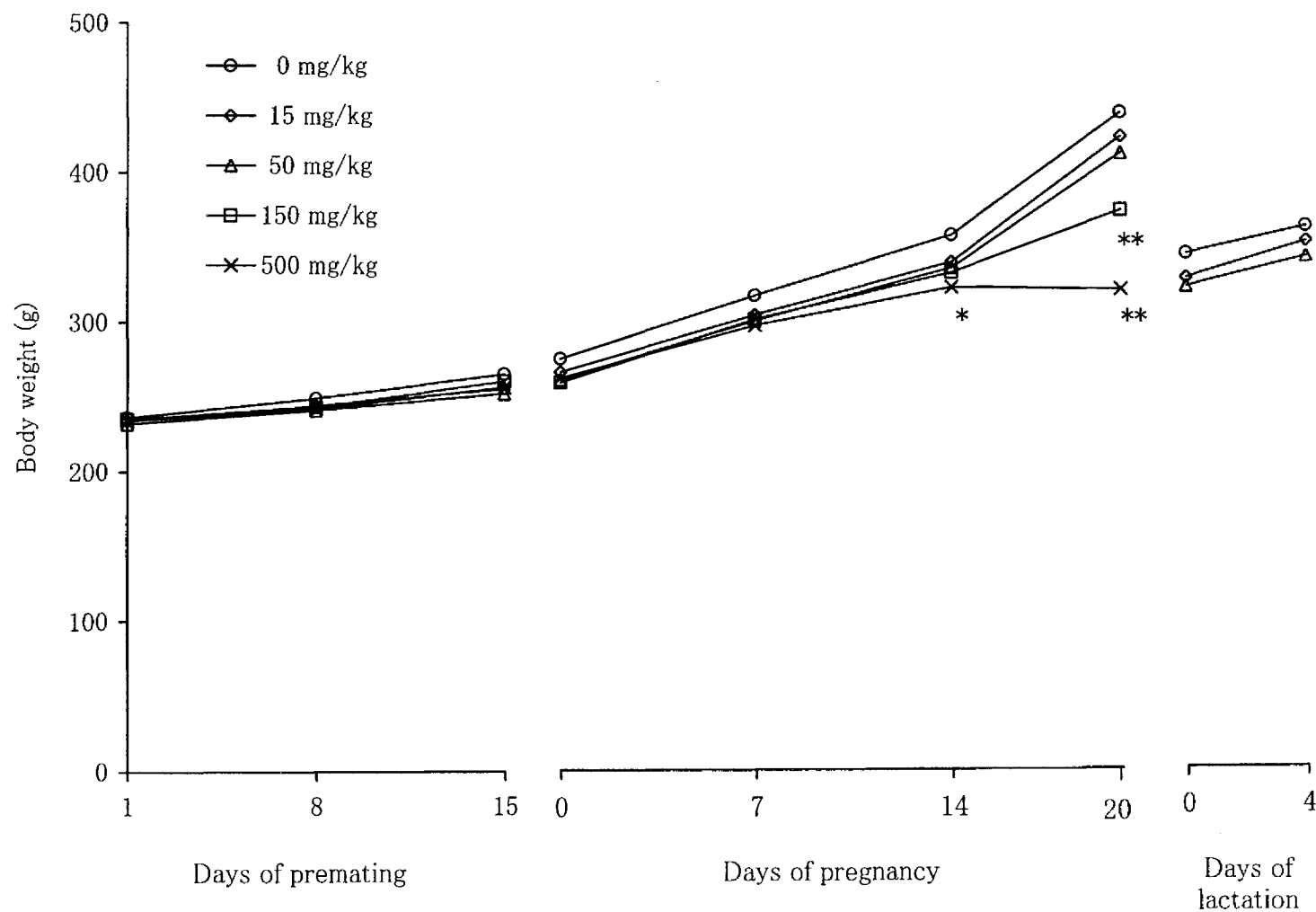


Fig. 2 Body weight change in female rats treated orally with 2-furanmethanol, tetrahydro- in the preliminary reproduction toxicity screening test

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

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

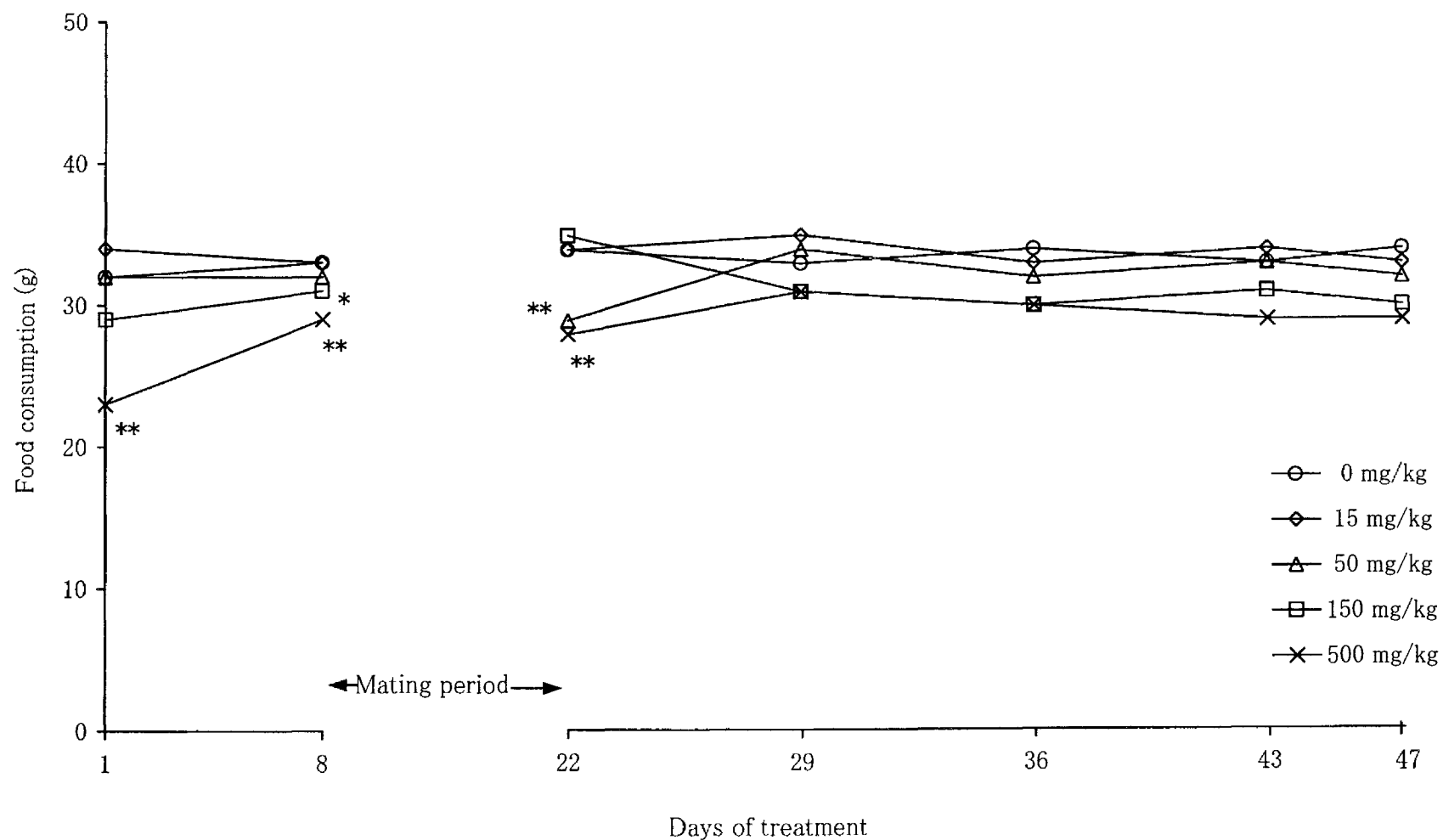


Fig. 3 Food consumption of male rats treated orally with 2-furanmethanol, tetrahydro- in the preliminary reproduction toxicity screening test

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

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

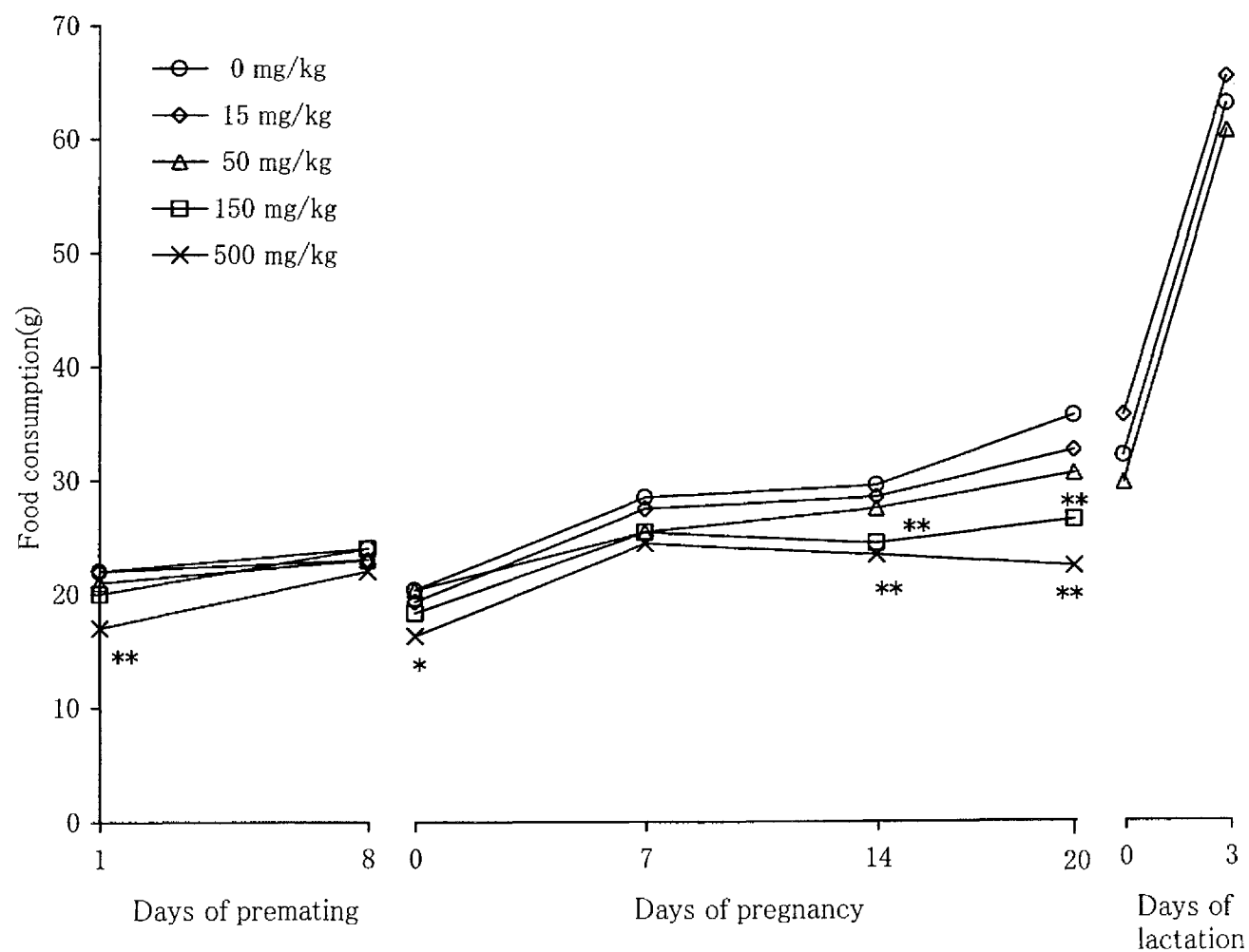


Fig. 4 Food consumption of female rats treated orally with 2-furanmethanol, tetrahydro- in the preliminary reproduction toxicity screening test

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

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

Table 1 Mortality rate of rats treated orally with 2-furanmethanol, tetrahydro- in the preliminary reproduction toxicity screening test

Sex Dose(mg/kg)	Male					Female				
	0	15	50	150	500	0	15	50	150	500
No. of animals examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
No. of animals that died	0	1 ^{FD}	0	0	0	0	0	0	0	0
Mortality (%)	0	8.3	0	0	0	0	0	0	0	0

FD : Found dead on 22 days after treatment.

Table 2 Clinical signs of male rats treated orally with 2-furanmethanol, tetrahydro- in the preliminary reproduction toxicity screening test

Clinical signs	Grade	Dose (mg/kg) Fate No. of animals	0	15				50	150			500
			TK	TK	FP	FD	(Total)	TK	TK	FP	(Total)	TK
			12	10	1	1	(12)	12	11	1	(12)	12
Increase in locomotor activity	-		12	10	1	1	(12)	12	5	1	(6)	0
	+		0	0	0	0	(0)	0	6	0	(6) **	12 **
Decrease in locomotor activity	-		12	10	1	0	(11)	12	5	0	(5)	0
	+		0	0	0	0	(0)	0	6	1	(7) **	12 **
	++		0	0	0	1	(1)	0	0	0	(0)	0

TK : Terminal kill.

FD : Found dead on 22 days after treatment.

FP : Failed to cause pregnancy, killed at the termination.

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

- : Negative. + : Slight. ++ : Moderate.

Table 3 Clinical signs of female rats treated orally with 2-furanmethanol, tetrahydro- in the preliminary reproduction toxicity screening test

Clinical signs	Grade	Dose (mg/kg) Fate No. of animals	0	15				50	150					500
			TK	TK	NP	UC	(Total)	TK	TK	NP	PD	ED	(Total)	ED
			12	10	1	1	(12)	12	1	1	8	2	(12)	12
Increase in locomotor activity	-		12	10	1	1	(12)	12	0	0	1	0	(1)	0
	+		0	0	0	0	(0)	0	1	1	7	2	(11)**	12**
Decrease in locomotor activity	-		12	10	1	1	(12)	12	0	1	8	2	(11)	0
	+		0	0	0	0	(0)	0	1	0	0	0	(1)	12**
Vaginal hemorrhage	-		12	10	1	1	(12)	12	1	1	7	2	(11)	10
	+		0	0	0	0	(0)	0	0	0	1	0	(1)	2

TK : Terminal kill on 5 days after perturbation. NP : Non-pregnant, killed on 27 days after copulation.

UC : Animal with unsuccessful copulation, killed at the termination.

PD : Killed because all pups died after delivery. ED : Animal with embryonic death, killed at the termination.

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

- : Negative. + : Slight.

Table 4 Body weights of male rats treated orally with 2-furanmethanol, tetrahydro- in the preliminary reproduction toxicity screening test
(g/rat/day)

Dose (mg/kg)	Days of treatment								Gain 1~47
	1	8	15	22	29	36	43	47	
0	393	422	448	470	492	516	536	550	157
	± 17	± 23	± 28	± 28	± 31	± 34	± 38	± 40	± 29
	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)
15	394	420	441	459	482	506	524	532	136
	± 17	± 18	± 21	± 29	± 22	± 24	± 29	± 29	± 19
	(12)	(12)	(12)	(12)	(11)	(11)	(11)	(11)	(11)
50	393	421	445	469	488	510	523	533	140
	± 14	± 16	± 18	± 19	± 21	± 25	± 28	± 27	± 25
	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)
150	392	419	444	466	482	491	505	513	122 *
	± 17	± 22	± 24	± 24	± 21	± 22	± 21	± 21	± 16
	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)
500	392	400 *	424	443 *	458 *	472 **	482 **	489 **	98 **
	± 16	± 18	± 21	± 19	± 22	± 28	± 31	± 32	± 23
	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)

Each value is expressed as mean ± S.D.

(n); No. of animals.

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

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

Table 5 Body weights of female rats treated orally with 2-furanmethanol, tetrahydro- in the preliminary reproduction toxicity screening test

(g/rat/day)

Dose (mg/kg)	Days of pre mating			Gain 1~15	Days of pregnancy				Gain 0~20	Days of lactation		Gain 0~4
	1	8	15		0	7	14	20		0	4	
0	236	249	265	29	275	317	357	438	164	343	361	18
	± 15	± 14	± 18	± 10	± 23	± 24	± 23	± 23	± 9	± 19	± 22	± 12
	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)
15	234	244	255	21	266	304	339	422	156	327	351	24
	± 13	± 13	± 15	± 7	± 19	± 25	± 26	± 31	± 15	± 28	± 34	± 13
	(12)	(12)	(12)	(12)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
50	232	241	252	20	261	300	335	411	150	321	341	20
	± 14	± 14	± 18	± 10	± 18	± 23	± 27	± 34	± 18	± 26	± 28	± 9
	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)
150	235	243	260	25	259	301	332	373 **	114 *	308	306	3
	± 16	± 20	± 21	± 9	± 20	± 21	± 21	± 27	± 20	± 17	--	--
	(12)	(12)	(12)	(12)	(11)	(11)	(11)	(11)	(11)	(3)	(1)	(1)
500	234	242	256	22	262	297	322 *	320 **	58 **			
	± 14	± 15	± 16	± 10	± 20	± 18	± 20	± 20	± 8	--	--	--
	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)			

Each value is expressed as mean±S.D.

(n): No. of animals.

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

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

Table 6 Food consumption of male rats treated orally with 2-furanmethanol, tetrahydro- in the preliminary reproduction toxicity screening test

(g/rat/day)

Dose (mg/kg)	Days of treatment						
	1	8	22	29	36	43	46
0	32	33	34	33	34	33	34
	± 5	± 2	± 2	± 3	± 4	± 2	± 3
	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)
15	34	33	34	35	33	34	33
	± 4	± 3	± 3	± 2	± 2	± 4	± 4
	(12)	(12)	(11)	(11)	(11)	(11)	(11)
50	32	32	29 **	34	32	33	32
	± 3	± 2	± 4	± 3	± 3	± 3	± 4
	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)
150	29	31 *	35	31	30	31	30
	± 2	± 2	± 3	± 2	± 2	± 2	± 3
	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)
500	23 **	29 **	28 **	31	30	29	29
	± 3	± 2	± 2	± 4	± 5	± 4	± 4
	(12)	(12)	(11)	(12)	(12)	(12)	(12)

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

(n) : No. of animals.

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

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

Table 7 Food consumption of female rats treated orally with 2-furanmethanol, tetrahydro- in the preliminary reproduction toxicity screening test

(g/rat/day)

Dose (mg/kg)	Days of pre mating		Days of pregnancy				Days of lactation	
	1	8	0	7	14	20	0	3
0	22 ± 4 (12)	24 ± 3 (12)	20 ± 3 (12)	28 ± 3 (12)	29 ± 3 (12)	35 ± 5 (12)	27 ± 5 (12)	53 ± 8 (12)
15	22 ± 3 (12)	23 ± 3 (12)	19 ± 2 (10)	27 ± 3 (10)	28 ± 3 (10)	32 ± 4 (10)	30 ± 6 (10)	55 ± 7 (10)
50	21 ± 4 (12)	23 ± 3 (12)	20 ± 3 (12)	25 ± 5 (12)	27 ± 4 (12)	30 ± 4 (12)	25 ± 6 (12)	51 ± 7 (12)
150	20 ± 5 (12)	24 ± 3 (12)	18 ± 4 (11)	25 ± 3 (11)	24 ** ± 4 (11)	26 ** ± 5 (11)	13 -- (1)	26 -- (1)
500	17 ** ± 2 (12)	22 ± 3 (12)	16 * ± 3 (12)	24 ± 3 (12)	23 ** ± 2 (12)	22 ** ± 4 (12)	-- -- --	-- -- --

Each value is expressed as mean ± S.D.

(n) : No. of animals.

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

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

Table 8 Incidence of necropsy findings of male rats treated orally with 2-furanmethanol, tetrahydro-
in the preliminary reproduction toxicity screening test

Organ : Findings	Grade	No. of animals	Dose (mg/kg)				TK	15				TK	150				TK
			0	TK	UC ^{FD}	FP		Total	TK	TK	FP		Total				
			TK											TK	FP	Total	
			12	10	1	1	12	12	11	1	12	12	11	1	12	12	
Testis : Small	-		11	10	1	0	11	12	11	0	11	2					
	+		1] (1)	0	0	0	0] (1)	0] (0)	0	1	1] (1)	7] (10)**					
	++		0] (1)	0	0	1	1] (1)	0] (0)	0	0	0] (1)	3] (10)**					
Epididymis : Small	-		11	10	1	0	11	12	11	0	11	2					
	+		1] (1)	0	0	0	0] (1)	0] (0)	0	1	1] (1)	7] (10)**					
	++		0] (1)	0	0	1	1] (1)	0] (0)	0	0	0] (1)	3] (10)**					
Thymus : Small	-		12	10	0	1	11	12	11	1	12	7					
	+		0	0	1	0	1	0	0	0	0	5 *					
Spleen : Small	-		12	10	0	1	11	12	11	1	12	12					
	+		0	0	1	0	1	0	0	0	0	0					
: White spot(s)	-		12	10	1	1	12	12	10	1	11	8					
	+		0] (0)	0	0	0	0] (0)	0] (0)	1	0	1] (1)	2] (4) *					
	++		0] (0)	0	0	0	0] (0)	0] (0)	0	0	0] (1)	2] (4) *					
: Rough surface	-		12	10	1	1	12	12	11	1	12	6					
	+		0	0	0	0	0	0	0	0	0	6 **					
Lung : Dark red	-		12	10	0	1	11	12	11	1	12	12					
	+		0	0	1	0	1	0	0	0	0	0					
Heart : Grayish white spots	-		12	10	0	1	11	12	11	1	12	12					
	+		0	0	1	0	1	0	0	0	0	0					

- : Negative. + : Slight. ++ : Moderate.

TK : Terminal kill. FP : Failed to cause pregnancy, killed at the termination.

UC^{FD} : Unsuccessful copulation, found dead at day 22 of administration.

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

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

Table 9 Incidence of necropsy findings of female rats treated orally with 2-furanmethanol, tetrahydro- in the preliminary reproduction toxicity screening test

Organ	Findings	Grade	Dose (mg/kg)	No. of animals	0	15				50	150					500
					TK	TK	UC	NP	Total	TK	TK	NP	PD	ED	Total	ED
					12	10	1	1	12	12	1	1	8	2	12	12
Thymus	Small	-			11	10	1	1	12	11	1	1	7	2	11	7
		+			1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	5
	Red spots	-			12	9	1	1	11	12	1	1	8	2	12	12
		+			0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Spleen	White spot(s)/area	-			12	10	1	1	12	12	1	1	8	2	12	7
		+			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
		++			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
	Rough surface	-			12	10	1	1	12	12	1	1	6	2	10	1
		+			0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	11 **
	Adhesion with adipose tissue /pancreas	-			12	10	1	1	12	12	1	1	8	2	12	10
		+			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Uterus	Early resorption				0	0	0	0		0	0	0	0	1		12
	Early and late resorption				0	0	0	0		0	0	0	0	1		0

- : Negative. + : Slight. ++ : Moderate. +++ : Severe.

TK : Terminal kill. NP : Non-pregnant. UC : Unsuccessful copulation.

PD : Killed because all pups died after delivery. ED : Animal with embryonic death, killed at the termination.

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

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

Table 10 Absolute and relative organ weights of male rats treated orally with 2-furanmethanol, tetrahydro- in the preliminary reproduction toxicity screening test

	Dose (mg/kg)	No.of animals available	B.W. (g)	Kidney (g)	Thymus (g)	Pituitary (mg)	Testis (g)	Epididymis (g)
Absolute	0	12	550 ±40	3.10 ±0.18	0.36 ±0.07	15.6 ±1.5	3.41 ±0.50	1.40 ±0.20
	15	11	535 ±30	3.15 ±0.32	0.32 ±0.06	15.6 ±2.0	3.18 ±0.83	1.30 ±0.30
	50	12	538 ±28	3.09 ±0.20	0.35 ±0.06	14.2 ±1.3	3.52 ±0.29	1.38 ±0.15
	150	12	517 ±22	2.90 ±0.20	0.31 ±0.07	13.4 * ±1.5	3.40 ±0.45	1.26 ±0.17
	500	12	489 ** ±33	2.71 ** ±0.20	0.19 ** ±0.05	12.2 ** ±1.2	1.77 ** ±0.44	0.87 ** ±0.15
Relative @	0	12	550 ±40	0.57 ±0.04	0.07 ±0.01	2.8 ±0.3	0.63 ±0.11	0.26 ±0.04
	15	11	535 ±30	0.59 ±0.07	0.06 ±0.01	2.9 ±0.4	0.60 ±0.15	0.24 ±0.05
	50	12	538 ±28	0.58 ±0.05	0.07 ±0.01	2.7 ±0.3	0.66 ±0.07	0.26 ±0.03
	150	12	517 ±22	0.56 ±0.03	0.06 ±0.01	2.6 ±0.3	0.66 ±0.10	0.24 ±0.04
	500	12	489 ** ±33	0.55 ±0.03	0.04 ** ±0.01	2.5 ±0.2	0.36 ** ±0.09	0.18 ** ±0.03

Each value is expressed as mean ± 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 11 Absolute and relative organ weights of female rats treated orally with 2-furanmethanol, tetrahydro- in the preliminary reproduction toxicity screening test

	Dose (mg/kg)	No. of animals available	B.W. (g)	Kidney (g)	Thymus (g)	Pituitary (mg)
Absolute	0	12	363 ±25	2.06 ±0.19	0.30 ±0.08	20.1 ±3.8
	15	10	350 ±35	2.00 ±0.22	0.28 ±0.09	18.3 ±1.7
	50	12	339 ±24	2.06 ±0.23	0.26 ±0.07	17.6 ±1.8
	150	9	313 ** ±27	1.98 ±0.25	0.22 ±0.05	16.0 * ±1.9
	500	0				
Relative @	0	12	363 ±25	0.57 ±0.04	0.08 ±0.02	5.5 ±0.8
	15	10	350 ±35	0.57 ±0.06	0.08 ±0.03	5.3 ±0.3
	50	12	339 ±24	0.61 ±0.05	0.08 ±0.02	5.2 ±0.5
	150	9	313 ** ±27	0.63 * ±0.05	0.07 ±0.01	5.1 ±0.2
	500	0				

Each value is expressed as mean ± 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 12-1 Incidence of histopathological findings of male rats treated orally with 2-furanmethanol, tetrahydro- in the preliminary reproduction toxicity screening test

Organs	Findings	Grade	Dose (mg/kg) Fate	0	15				50	150			500
				TK	TK	UC ^{FD}	FP	Total	TK	TK	FP	Total	TK
Pituitary				[12]		[1]	[1]	[2]			[1]	[1]	[12]
	Cyst, Rathke's pouch	-		11	--	1	1	2	--	--	1	1	11
		+		1	--	0	0	0	--	--	0	0	1
Thymus				[12]	[5]	[1]		[6]	[5]	[4]	[1]	[5]	[12]
	Atrophy	-		12	5	0	--	5	5	3	1	4	3
		+		0	0	0	--	0	0	1	0	1	8
		++		0 (0)	0	0	--	0 (1)	0 (0)	0	0	0 (1)	1 (9) **
		+++		0	0	1	--	1	0	0	0	0	0
	Hemorrhage	-		12	4	1	--	5	5	4	1	5	12
		+		0	1	0	--	1	0	0	0	0	0
Testis				[12]	[5]	[1]	[1]	[7]	[5]	[4]	[1]	[5]	[12]
	Atrophy, seminiferous tubule	-		11	5	1	0	6	5	4	0	4	0
		+		0	0	0	0	0	0	0	1	1	4
		++		1 (1)	0	0	0	0 (1)	0 (0)	0	0	0 (1)	7 (12) **
		+++		0	0	0	1	1	0	0	0	0	1
	Atrophy, seminiferous tubule, focal	-		10	5	1	1	7	5	4	1	5	12
		+		2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Hyperplasia, interstitial cell	-		11	5	1	0	6	5	4	1	5	2
		+		1	0	0	0	0	0	0	0	0	9
		++		0 (1)	0	0	1	1 (1)	0 (0)	0	0	0 (0)	1 (10) **
Epididymis				[12]	[5]	[1]	[1]	[7]	[5]	[4]	[1]	[5]	[12]
	Decrease, sperm	-		11	5	1	0	6	5	4	0	4	0
		+		0	0	0	0	0	0	0	1	1	3
		++		1 (1)	0	0	0	0 (1)	0 (0)	0	0	0 (1)	8 (12) **
		+++		0	0	0	1	1	0	0	0	0	1
	Cell debris, lumen	-		11	5	1	0	6	5	4	0	4	0
		+		1	0	0	1	1	0	0	1	1	3
		++		0 (1)	0	0	0	0 (1)	0 (0)	0	0	0 (1)	9 (12) **

[] : No. of animals examined. - : Negative. + : Slight. ++ : Moderate. +++ : Severe. -- : Not examined.

TK : Terminal kill. FP : Failed to cause pregnancy, killed at the termination.

UC^{FD} : Unsuccessful copulation, found dead at day 22 of administration no abnormalities were detected in the brain, spinal cord, pituitary, stomach, intestine, adrenal, liver, thyroid, parathyroid, trachea, urinary bladder, testis, epididymis, prostate, seminal vesicle, sciatic nerve, bone marrow and lymph node.

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

Table 12-2 Incidence of histopathological findings of male rats treated orally with 2-furanmethanol, tetrahydro- in the preliminary reproduction toxicity screening test

Organs	Findings	Grade	Dose (mg/kg) Fate	0	15				50	150			500
				TK	TK	UC ^{FD}	FP	Total	TK	TK	FP	Total	TK
Spleen				[5]	[5]	[1]		[6]	[5]	[4]	[1]	[5]	[12]
	Hematopoiesis,	-		0	0	0	--	0	0	0	0	0	0
	extramedullary	+		2	3	1	--	4	3	4	0	4	10
		++		3	2	0	--	2	2	0	1	1	2
	Deposit, pigment, brown	-		0	0	0	--	0	0	0	0	0	0
		++		5	5	1	--	6	5	4	1	5	12
	Inflammation, capsule	-		5	5	1	--	6	5	1	1	2	1
		+		0	0	0	--	0	0	3	0	3	5
		++		0	0	0	--	0	0	0	0	0	4
		+++		0	0	0	--	0	0	0	0	0	2
Atrophy		-		5	5	0		5	5	4	1	5	12
		++		0	0	1	--	1	0	0	0	0	0
Kidney						[1]							
	Basophilic tubules	-		--	--	0	--	--	--	--	--	--	--
		+		--	--	1	--	--	--	--	--	--	--
Prostate							[1]				[1]		
	Cellular infiltration,	-		--	--	--	0	--	--	--	1	--	--
	lymphocyte, interstitium	+		--	--	--	1	--	--	--	0	--	--
Lung						[1]							
	Congestive edema	-		--	--	0	--	--	--	--	--	--	--
		++		--	--	1	--	--	--	--	--	--	--
Heart						[1]							
	Necrosis/mineralization,	-		--	--	0	--	--	--	--	--	--	--
	myocardial	++		--	--	1	--	--	--	--	--	--	--
Seminal vesicle						[1]					[1]		
	No abnormalities			--	--	--	1	--	--	--	1	--	--

[] : No. of animals examined. - : Negative. + : Slight. ++ : Moderate. +++ : Severe. -- : Not examined.

TK : Terminal kill. FP : Failed to cause pregnancy, killed at the termination.

UC^{FD} : Unsuccessful copulation, found dead at day 22 of administration no abnormalities were detected in the brain, spinal cord, pituitary, stomach, intestine, adrenal, liver, thyroid, parathyroid, trachea, urinary bladder, testis, epididymis, prostate, seminal vesicle, sciatic nerve, bone marrow and lymph node.

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

Table 13 Incidence of histopathological findings of female rats treated orally with 2-furanmethanol, tetrahydro- in the preliminary reproduction toxicity screening test

Organs	Findings	Grade	Dose (mg/kg)	0	15				50	150					500
			Fate	TK	TK	UC	NP	Total	TK	TK	NP	PD	ED	Total	ED
Thymus				[12]	[5]			[5]	[5]	[1]	[4]		[5]	[12]	
	Atrophy	-		11	5	--	--	5	4	1	--	2	--	3	8
		+		1	0	--	--	0	1	0	--	2	--	2	4
	Hemorrhage	-		12	4	--	--	4	5	1	--	3	--	4	12
		+		0	1	--	--	1	0	0	--	1	--	1	0
Spleen				[5]	[5]			[5]	[5]	[1]	[4]		[5]	[12]	
	Hematopoiesis,	-		0	0	--	--	0	0	0	--	0	--	0	0
	extramedullary	+		0 (0)	0	--	--	0 (0)	1 (1)	1	--	4	--	5 (5)	11 (11)
		++		4 (5)	4	--	--	4 (5)	4 (4)	0	--	0	--	0 (0)	1 (1)
		+++		1	1	--	--	1	0	0	--	0	--	0 (0) **	0 (1) **
	Deposit, pigment, brown	-		0 (1)	0	--	--	0 (2)	0 (0)	0	--	0	--	0 (0)	0 (0)
		+		1	2	--	--	2	0	0	--	0	--	0	0
		++		4	3	--	--	3	5	1	--	4	--	5	12
	Inflammation, capsule	-		5	5	--	--	5	5	1	--	2	--	3	0
		+		0	0	--	--	0	0	0	--	1	--	1	5
		++		0 (0)	0	--	--	0 (0)	0 (0)	0	--	1	--	1 (2)	4 (12) **
		+++		0	0	--	--	0	0	0	--	0	--	0	3
Pituitary				[12]		[1]	[1]				[1]	[8]	[2]		[12]
	No abnormalities			12	--	1	1	--	--	--	1	8	2	--	12
Ovary				[12]		[1]	[1]				[1]	[8]	[2]		[12]
	No abnormalities			12	--	1	1	--	--	--	1	8	2	--	12
Uterus						[1]	[1]				[1]	[8]	[2]		[12]
	No abnormalities			--	--	1	1	--	--	--	1	8	0	--	0
	Placental remnant			--	--	0	0	--	--	--	0	0	2	--	12
Mammary gland												[8]			
	No abnormalities			--	--	--	--	--	--	--	--	8	--	--	--

[] : No. of animals examined.

- : Negative. + : Slight. ++ : Moderate. +++ : Severe. -- : Not examined.

TK : Terminal kill. NP : Non-pregnant. UC : Unsuccessful copulation.

PD : Killed because all pups died after delivery. ED : Animal with embryonic death, killed at the termination.

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

Table 14 Reproduction results of rats treated orally with 2-furanmethanol, tetrahydro- in the preliminary reproduction toxicity screening test

	Dose (mg/kg)	0	15	50	150	500
Estrous cycle (days, Mean $\pm$ S.D.)		4.3 $\pm$ 0.6	4.0 $\pm$ 0.1	4.1 $\pm$ 0.3	4.5 $\pm$ 0.6	4.8 $\pm$ 0.5 *
No. of pairs mated		12	12	12	12	12
No. of pairs with successful copulation		12	11	12	12	12
Copulation index (%)		100	91.7	100	100	100
Pairing days until copulation (days, Mean $\pm$ S.D.)		2.7 $\pm$ 1.2	2.5 $\pm$ 1.4	2.9 $\pm$ 1.2	2.3 $\pm$ 1.4	3.7 $\pm$ 2.7
No. of pregnant females		12	10	12	11	12
Fertility index (%)		100	90.9	100	91.7	100
No. of corpora lutea (Mean $\pm$ S.D.)		17.7 $\pm$ 2.1	16.5 $\pm$ 2.7	17.8 $\pm$ 1.5	16.4 $\pm$ 2.0	17.0 $\pm$ 2.8
No. of implantation sites (Mean $\pm$ S.D.)		15.6 $\pm$ 1.3	15.3 $\pm$ 1.9	16.1 $\pm$ 1.8	13.7 $\pm$ 2.1	14.5 $\pm$ 3.7
Implantation index (% , Mean $\pm$ S.D.)		88.8 $\pm$ 7.4	93.5 $\pm$ 7.4	90.7 $\pm$ 8.0	84.5 $\pm$ 13.1	87.9 $\pm$ 23.7
No. of pregnant females with parturition		12	10	12	9	0
Gestation length (days, Mean $\pm$ S.D.)		22.6 $\pm$ 0.5	22.7 $\pm$ 0.5	22.9 $\pm$ 0.3	24.0 $\pm$ 0.0 **	--
No. of pregnant females with live pups		12	10	12	4	--
Gestation index (%)		100	100	100	36.4 **	--
No. of pregnant females with live pups on day 4		12	10	12	1	--

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 pregnant females) $\times$ 100.

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

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

Table 15 Litter results of rats treated orally with 2-furanmethanol, tetrahydro- in the preliminary reproduction toxicity screening test

Dose(mg/kg)	0	15	50	150	500
No. of pups born	14.8 ± 1.6	14.5 ± 2.1	14.8 ± 1.7	7.0 ± 1.4 **	--
Delivery Index	95.3 ± 7.1	94.7 ± 6.2	91.9 ± 5.9	46.4 ± 14.0 *	--
No. of pups alive on day 0 of lactation					
Total	14.8 ± 1.6	14.5 ± 2.1	14.6 ± 1.8	3.0 ± 2.2 **	--
Male	7.2 ± 2.1	7.2 ± 1.9	6.8 ± 2.5	1.5 ± 1.7 **	--
Female	7.7 ± 1.8	7.3 ± 1.6	7.8 ± 3.0	1.5 ± 1.9 **	--
Live birth Index(%)	100 ± 0	100 ± 0	98.8 ± 2.8	43.1 ± 29.3 *	--
Sex ratio(Male/Female)	0.93	0.99	0.90	1.15	--
No. of pups alive on day 4 of lactation					
Total	14.7 ± 1.6	14.4 ± 2.1	14.3 ± 2.0	1.3 ± 2.3 **	--
Male	7.0 ± 2.3	7.2 ± 1.9	6.7 ± 2.7	0.7 ± 1.2 **	--
Female	7.7 ± 1.8	7.2 ± 1.7	7.6 ± 3.1	0.7 ± 1.2 **	--
Viability Index(%)	98.9 ± 2.6	99.3 ± 2.1	97.7 ± 3.5	26.7 ± 46.2	--
Body weight of live pups(g) on day 0					
Male	7.3 ± 0.7	7.4 ± 0.5	7.1 ± 0.6	5.9 ± 0.6	--
Female	7.0 ± 0.6	7.0 ± 0.5	6.9 ± 0.6	6.3 ± 0.1	--
on day 4					
Male	11.8 ± 1.0	11.5 ± 0.7	11.0 ± 1.1	9.1	--
Female	11.2 ± 1.0	10.9 ± 0.7	10.7 ± 0.9	8.4	--

Delivery index = (No. of pups born/No. of implantation sites) × 100.

Live birth index = (No. of live pups on day 0/No. of pups born) × 100.

Viability index = (No. of live pups on day 4/No. of live pups on day 0) × 100.

Sex ratio = Total No. of male pups/Total No. of female pups.

Each value is expressed as Mean ± S.D., except sex ratio.

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

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

Table 16 External findings of pups from female rats treated orally with 2-furanmethanol, tetrahydro- in the preliminary reproduction toxicity screening test

Dose(mg/kg)	0	15	50	150	500
No. of pups examined (No. of litters)	178 (12)	145 (10)	176 (12)	28 (4)	0 (0)
No. of pups with external malformations [#]	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (3.6±7.2)	-- --
External malformations [#] General edema	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (3.6±7.2)	-- --

[#] :No. of pups (Mean±S.D. of individual litter percentages).

Table 17 Visceral findings of pups from female rats treated orally with 2-furanmethanol, tetrahydro- in the preliminary reproduction toxicity screening test

Dose(mg/kg)	0	15	50	150	500
No. of pups examined (No. of litters)	178 (12)	144 (10)	175 (12)	27 (4)	0 (0)
No. of pups with visceral malformations [#]	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	-- --
No. of pups with visceral variations [#]	8 (4.4±5.7)	3 (2.1±4.7)	18 (10.6±16.4)	1 (3.6±7.2)	-- --

Visceral variations [#]					
Thymic remnant in neck	6 (3.2±5.7)	3 (2.1±4.7)	14 (8.4±16.4)	1 (3.6±7.2)	-- --
Persistent left umbilical artery	2 (1.2±2.8)	0 (0)	4 (2.2±3.3)	0 (0)	-- --

:No. of pups (Mean±S.D. of individual litter percentages).