

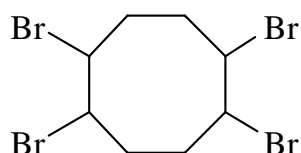
1, 2, 5, 6-Tetrabromocyclooctane

1, 2, 5, 6-テトラブロモシクロオクタン

[CAS No. 3194-57-8]

Molecular formula: C₈H₁₂Br₄

Molecular weight: 427.80



ABSTRACT

1. Material and method

Purity	: >99.8%
Test species/strain	: Rat/CrI:CD(SD)
Test method	: OECD Test Guideline 422
Route	: Oral (gavage)
Dosages	: 0, 40, 200, 1000 mg/kg
Dosages for recovery	: 0, 1000 mg/kg
Number of animals/group	: Males, 12 (5 for recovery); females, 12; satellite females, 5
Vehicle	: 5.0 w/v% gum arabic solution
Administration period	: Males, 42 days Females, from 14 days before mating to day 4 of lactation Females (satellite), 42 days
Recovery period	: Males, 14 days Females (satellite), 14 days
Terminal killing	: Males, day 43 of treatment and 15 of recovery Females, day 5 of lactation Females (satellite), day 15 of recovery Offspring, day 4 after birth
GLP	: Yes

2. Results

Repeated dose toxicity

Effects of the test substance were observed in the liver and kidneys.

As effects on the liver, absolute and relative weights were increased in males at 200 mg/kg and above and in females at 1000 mg/kg. Enlargement of the liver was observed in males and females at 1000 mg/kg on necropsy. In the histopathological examination, hypertrophy of the centrilobular hepatocytes was observed in males at 1000 mg/kg, and hypertrophy of the centrilobular hepatocytes with anisonucleosis was observed in females in the same dose group. In the blood chemistry, total protein was increased in males and females at 200 mg/kg and above, and albumin was increased in females at 200 mg/kg and above and males at 1000 mg/kg. At the end of the recovery period, these changes were not observed.

As effects on the kidney, increased eosinophilic bodies and hyaline droplets at 40 mg/kg and above, and basophilic tubules at 200 mg/kg and above were observed in males. These changes were confirmed to be $\alpha_2\mu$ -globulin nephropathy on immunohistochemical examination. They were not observed at the end of the recovery period, except for basophilic tubules.

Concerning other parameters, there were no changes attributable to the test substance on clinical observation, detailed clinical observation, reflex, grip strength, locomotor activity, body weight, food consumption or hematology.

Reproductive and developmental toxicity

Fertilization and conception indexes were decreased due to increased number of infertile animals at 1000 mg/kg. Female pup weights were decreased at 1000 mg/kg on day 4 of lactation. Male pup weights showed a decreasing trend in the same dose group.

There were no changes attributable to the test substance on the estrous cycle, delivery dam index of the reproductive ability of the parental animals, or the live birth index, viability index, sex ratio, external appearance or body weights of the pups.

3. Evaluation

It was concluded from the above results that the No-Observed-Adverse-Effect Level (NOAEL) for the repeated dose toxicity of 1,2,5,6-tetrabromocyclooctane was 1000 mg/kg/day for males and females.

The No-Observed-Effect Level (NOEL) for the repeated dose toxicity was less than 40 mg/kg/day for males and 40 mg/kg/day for females based on increased eosinophilic bodies and hyaline droplets in the kidney in males at 40 mg/kg and above due to $\alpha_2\mu$ -globulin accumulation, and increased total protein and albumin in females at 200 mg/kg and above.

The NOAEL and NOEL for reproductive/developmental toxicity was 200 mg/kg/day for parental animals and offspring based on increased infertile animals, decreased fertilization and conception indexes, and decreased pup weights on day 4 of lactation at 1000 mg/kg.

1,2,5,6-テトラブロモシクロオクタンのラットを用いる
反復経口投与毒性・生殖発生毒性併合試験
Combined Repeated Dose and Reproductive/Developmental Toxicity Screening Test of
1,2,5,6-Tetrabromocyclooctane by Oral Administration in Rats

要約

1,2,5,6-テトラブロモシクロオクタンの反復投与毒性及び生殖毒性，次世代に対する発生毒性を検討するために，OECD テストガイドライン 422 に準拠し「反復経口投与毒性・生殖発生毒性併合試験」を実施した。

9 週齢の雌雄 CrI:CD(SD)ラットに，被験物質を 14 日間投与後，最長 14 日間の交配期間を設けた。その後，雄は投与 42 日目まで投与して最終投与翌日に解剖した。雌は分娩 4 日後まで投与して分娩 5 日後に解剖した。雌雄とも投与期間中は一般状態観察，詳細一般状態観察，機能検査，体重及び摂餌量測定を行い，最終投与日の翌日に剖検及び血液検査を行った。主要器官は固定・染色後に病理学的検査に供した。また，雌は投与 15 日目まで性周期を調べ，交配期間中は交尾までの日数，分娩後は親の分娩及び哺育状態並びに出産児の一般状態観察及び体重測定などの検査を行った。投与用量は 0 (5.0 w/v% アラビアゴム水溶液)，40，200 及び 1,000 mg/kg/day とし，1 群あたり雌雄各 12 匹を使用した。また，回復群として，雄は 0 及び 1,000 mg/kg 群の 12 匹のうち動物番号の大きい 5 匹を，雌は別に 0 及び 1,000 mg/kg 群の交配させないサテライトの各 5 匹を設けた。回復群は雌雄とも 42 日間の投与後に 14 日間休薬させて，休薬期間終了日の翌日に解剖した。

1. 反復投与毒性

被験物質投与により肝臓及び腎臓に対する影響がみられた。

肝臓に対する影響として，雄の 200 mg/kg 以上の群及び雌の 1,000 mg/kg 群で絶対及び相対重量が増加し，雌雄の 1,000 mg/kg 群で肉眼的に腫大がみられた。病理組織学的検査では，雄の 1,000 mg/kg 群で小葉中心性肝細胞肥大，雌の同群で核の大小不同を伴う小葉中心性肝細胞肥大がみられた。血液生化学的検査では，雌雄の 200 mg/kg 以上の群で総蛋白の高値，雌の 200 mg/kg 以上の群及び雄の 1,000 mg/kg 群でアルブミンの高値がみられた。回復期間終了時にこれらの変化はみられなかった。

腎臓に対する影響として，雄の 40 mg/kg 以上の群で好酸性小体増加及び硝子滴増加，200 mg/kg 以上の群で好塩基性尿細管がみられたが，免疫組織化学的検査により，alpha 2u-グロブリン腎症であることが確認された。これらの変化のうち好塩基性尿細管が回復期間終了時にみられたが，その他の変化はすべて消失した。

2. 生殖発生毒性

1,000 mg/kg 群で不妊動物の増加による授精率及び受胎率の低値がみられた。また、同群の雌児動物の生後 4 日の体重の低値、雄児動物の体重の低値傾向がみられた。

以上のように、本試験条件下における 1,2,5,6-テトラブロモシクロオクタン¹の反復投与毒性に関する無毒性量(NOEL)は、雌雄ともに毒性影響がみられないことから、1,000 mg/kg/day とした。

反復投与毒性に関する無影響量(NOEL)は、雄の 40 mg/kg 以上の群で alpha 2u-グロブリンの沈着による腎臓の好酸性小体増加及び硝子滴増加、雌の 200 mg/kg 以上の群で総蛋白及びアルブミンの高値がみられたことから、雄は 40 mg/kg/day 未満、雌は 40 mg/kg/day とした。

生殖発生毒性に関する NOEL 及び NOEL は、1,000 mg/kg 群で不妊動物の増加、授精率及び受胎率の低値、児動物に体重低値がみられたことから、いずれも 200 mg/kg/day とした。

方法

1. 被験物質

1,2,5,6-テトラブロモシクロオクタン(ロット番号 081014, 純度 99.8%以上)は白色の粉末で、入手後に室温で保管した。被験物質の安定性は、投与開始前と投与期間終了後に赤外吸収スペクトルを測定することにより、投与期間中安定であることを確認した。投与液は、被験物質にアラビアゴム(和光純薬工業)の 5.0 w/v% 水溶液を加え懸濁させて高用量を調製した。低用量及び中用量は高用量から希釈調製した。調製液中の被験物質の均一性及び安定性は、ガスクロマトグラフィーを用いて測定し、均一で調製後 14 日間安定であることを確認した。投与液は、投与まで冷暗所に保管し、14 日以内に使用した。また、投与開始時に投与液中の被験物質濃度を確認した。

2. 使用動物及び飼育環境条件

日本チャールス・リバー(日野飼育センター)で生産された 8 週齢の Crl:CD(SD)ラット(SPF)の雌 65 匹、雄 55 匹を購入し、6 日間の検疫を含む 10 日間の馴化を行った。投与開始 2 日前に、体重層別無作為抽出法により各群の平均体重がほぼ等しくなるように群分けした。投与開始時の動物の週齢は雌雄とも 9 週齢で、体重範囲は雄が 339.6~372.4 g、雌が 208.2~242.2 g であった。

動物は、検疫・馴化期間中を含む全飼育期間を通して、温度 21~25°C、相対湿度 40~70%、換気回数 10~15 回/時間、明暗サイクル 12 時間間隔(7 時点灯、19 時消灯)に設定したバリアシステムの飼育室で、ステンレス製金網床ケージに個別飼育した。交配

期間中は雄のケージに雌雄各 1 匹を同居させ、交尾の成立した雌は、妊娠 14 日から解剖前日まで床敷(サンフレーク, 日本チャールス・リバー)入りポリカーボネイト製平床ケージに収容し、分娩後は児動物と同居させた。トレイは、群分け後は週 2 回、給餌器、ケージ及びラックは投与期間終了時(回復群のみ)に交換した。また交尾が確認された日にもトレイ及びラックを交換した。ポリカーボネイト製平床ケージは妊娠 17 日に交換した。動物には、オートクレーブ滅菌した固型飼料(MF, オリエンタル酵母工業)及び塩素添加した水道水を自由に摂取させた。

実験は、LABORATORY ANIMAL SCIENCE (1987) by the American Association for Laboratory Animal Science を参考に当試験施設で作成した「日田事業所動物実験に関する指針」及び「ヘルシンキ宣言」(2008 年ソウル改訂)の主旨に沿って行った。

3. 投与量の設定及び投与方法

投与用量は、14 日間反復投与毒性試験の結果をもとに決定した。被験物質を 0, 25, 250, 500 及び 1,000 mg/kg/day の用量で、1 群雌雄各 3 匹の Crl:CD(SD)ラットに反復経口投与した結果、雄の 250 mg/kg 以上の群で腎臓の表面点状模様明瞭化がみられた。雌の 25 mg/kg 以上の群及び雄の 1,000 mg/kg 群では被験物質中の臭素の干渉によると思われる血中塩素濃度の高値がみられた。よって最高用量である 1,000 mg/kg 群においても被験物質の明らかな毒性は発現していないと判断した。したがって 1,000 mg/kg/day を高用量とし、以下公比 5 で 200 及び 40 mg/kg/day の 3 用量を設定した。

投与は、ネラトンカテーテル(テルモ)を接続した注射筒(テルモ)を用い、体重 1 kg あたり 4 mL として、1 日 1 回(週 7 回)一定の時間に行った。投与期間は、雄で交配開始 2 週間前から交配期間を通し解剖前日までの 42 日間、雌で交配開始 2 週間前から交配期間、妊娠期間及び授乳期間を通して解剖前日(分娩 4 日)までの計 42~48 日間とした。回復群は、雌雄ともに 42 日間の投与後に 14 日間休薬させた。

4. 反復投与毒性に関する観察・検査

1) 一般状態

雄については、投与開始日から解剖前日まで毎日 2 回及び解剖日に観察した。雌については、投与開始日から分娩状況、哺育状態も含めて、分娩 4 日まで毎日 2 回及び分娩 5 日(解剖日)に観察した。回復期間は解剖日まで毎日 1 回観察した。

2) 詳細一般状態観察

雌雄の全例について、投与開始前に 1 回、投与開始後は週 1 回盲検で観察し、スコアリングを行った。盲検は、乱数によりすべての動物を並び替え、検査用ラベルを用いて投与群が判別できない状態での検査とした。雌は、分娩 4 日にも検査し、検査日に 1 例のみの場合は盲検とはしなかった。

ケージから取り出す際の反応は、動物を保持するために手を近づけたり、保持するなど動物に外部刺激を与えた場合の動物の出し易さ及び発声を観察した。手にとっての詳細な観察は、筋緊張、体温低下、立毛、被毛の状態(汚れ及び粗剛)、皮膚及び粘膜の色(蒼白、発赤及びチアノーゼ)、眼の異常(流涙、眼球突出及び瞳孔径)、流涎及び分泌物の有無を観察した。アリーナ内での行動の観察は、動物をアリーナ内に 1 分間おいて、姿勢、活動性、呼吸、眼瞼閉鎖、歩行状態、振戦・攣縮・痙攣、常同行動及び異常行動の有無を観察した。また、1 分間の排糞回数(糞の数)及び排尿回数(尿のプール数)を記録した。

3) 機能検査

雄は、各用量の動物番号の小さい 5 匹について投与最終週に検査した。雌は、分娩動物のうち、各用量の分娩日の近い 5 匹について解剖前日(分娩 4 日)の絶食前に検査した。回復群については、雌雄とも投与最終週に検査した。また、投与最終週の検査において雌雄の 1,000 mg/kg 群で自発運動量に被験物質投与の影響を疑う変化がみられたため、回復 2 週目に雌雄の自発運動量を測定した。

反応性検査は、詳細一般状態観察に引き続き盲検で行い、検査対象となる感覚器に適切な外部刺激を与えたときの動物の反応を観察して、スコアリングを行った。視覚(接近・触覚)は、顔面前 3 cm に丸い棒等を近づけ、4 秒間そのまま保持したときの反応を記録した。聴覚は、頭上で指を鳴らしたときの反応を記録した。痛覚は、洗濯バサミで尾の 1/3 尾根部側を挟んだときの反応を記録した。瞳孔反射は、光を遮った状態で、ペンライトの光を当てたときの瞳孔反応を記録した。空中正向反射は、動物の腹部を上に向けた状態で約 30 cm の高さから落としたときの反応を記録した。

握力測定は、握力メータ(FGC-2, メイティス)を用いて盲検で測定した。前肢、後肢とも 2 回測定し、その平均値を個体の前肢及び後肢の握力値とした。

自発運動量測定は、ラット用運動量測定装置(ACTIMO-10, シンテクノ)を用いて、動物の運動量を測定した。赤外線ビームを横切った数を測定値とし、1 時間(10 分間隔での 6 回)測定した。

4) 体重

雌雄とも馴化期間は、週 1 回及び群分け日に測定した。群分け後は、雄については投与 1, 3, 7, 14, 21, 28, 35, 42 及び 43 日目(搬出時)、雌については投与 1, 3, 7 及び 14 日目、妊娠期間は妊娠 0, 7, 14, 17 及び 20 日、分娩後は分娩 0 (分娩日)、4 及び 5 日(搬出時)に測定した。サテライトの雌の回復群は、雄と同じ日に測定した。回復期間中は、雌雄とも回復 1, 3, 7, 14 及び 15 日目(搬出時)に測定した。

5) 摂餌量

雄については、投与 1, 3, 7, 14, 28, 35 及び 42 日目、雌については、妊娠前は投与 1, 3, 7 及び 14 日目、妊娠期間中は妊娠 0, 7, 14, 17 及び 20 日、分娩後は分娩 0 及び 4 日に測定した。サテライトの雌の回復群は雄と同じ日に測定した。回復期間中は、雌雄とも回復 1, 3, 7 及び 14 日目に測定した。各期間について、測定日から次の測定日までの摂餌量を求めて、平均 1 日摂餌量を算出した。

6) 血液学的検査

投与最終日又は回復最終日の午後から解剖まで、自由飲水で 1 晩絶食(16~20 時間)させた後、雄は各用量の生存動物のうち動物番号の小さい 5 匹、雌は各用量とも分娩日の近い 5 匹及び回復群の雌雄全例について、EDTA-2K を抗凝固剤として採血し、全自動総合血液学分析装置(CELL-DYN3500, アボットラボラトリーズ)により、赤血球数(RBC)、白血球数(WBC)、ヘモグロビン濃度(Hb)、ヘマトクリット値(Ht)、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量(MCH)、平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)及び血小板数(Platelet)を測定した。また、総合血液学検査装置(ADVIA 120, シーメンス)により、網状赤血球数比率(Reticulo)及び白血球百分率(Differentiation of leukocyte)を測定した。さらに、くえん酸ナトリウムの 3.2%水溶液を抗凝固剤として採血し、得られた血液より分離した血漿を用いて、血液凝固自動測定装置(KC-10A, アメルング)により、プロトロンビン時間(PT)及び活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)を測定した。

7) 血液生化学的検査

血液学的検査を実施した動物について、採取した血液から分離した血清を用いて、生化学自動分析装置(7180 Automatic Analyzer, 日立製作所)により、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)、総蛋白(T-Protein)、アルブミン(Albumin)、総ビリルビン(T-Bil)、アルカリ性フォスファターゼ(ALP)、コリンエステラーゼ(ChE)、 γ -グルタミルトランスぺプチダーゼ(γ -GTP)、総コレステロール(T-Cho)、トリグリセリド(TG)、血糖(Glucose)、尿素窒素(BUN)、クレアチニン(Creatinine)、カルシウム(Ca)及び無機リン(IP)を測定した。さらに電解質分析装置(PVA-EXII, A & T)により、ナトリウム(Na)、カリウム(K)及び塩素(Cl)を測定した。A/G 比(A/G ratio)は、総蛋白及びアルブミンより算出した。

8) 剖検

全例について、投与最終日及び回復最終日のいずれも翌日に、体表、開孔部、皮下、頭蓋腔、胸腔、腹腔、骨盤腔とその内容の肉眼的観察を行った。卵巣は妊娠黄体数を、子宮は切開後に着床痕数を記録した。

9) 器官重量及び組織採取

全例について、気管及び肺、胃、腸(十二指腸～直腸、パイエル板を含む)、肝臓、心臓、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精嚢、卵巣、子宮、膣、脳(大脳、小脳及び橋を含む)、脊髄、坐骨神経、骨髄(大腿骨)、リンパ節(腋窩及び腸間膜リンパ節)、脾臓、胸腺、下垂体、甲状腺(上皮小体を含む)及び副腎を採取し、肝臓、心臓、腎臓、精巣、精巣上体、脳、脾臓、胸腺及び副腎の重量を測定した。また、搬出時の体重をもとに器官の相対重量を算出した。そのほか肉眼的病変部を採取した。採取したすべての器官・組織は 10% 中性緩衝ホルマリン液で固定した。ただし、精巣及び精巣上体はブアン液で固定した。

10) 病理組織学的検査

対照群及び 1,000 mg/kg 群について、雄は各用量の動物番号の小さい 5 匹、雌は各用量の分娩動物のうち分娩日の近い 5 匹について、気管、肺、胃、腸、肝臓、心臓、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精嚢、卵巣、子宮、膣、脳、脊髄、坐骨神経、骨髄、腋窩リンパ節、腸間膜リンパ節、脾臓、胸腺、下垂体、甲状腺及び副腎を検査した。検査は、パラフィン包埋薄切切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施した後、光学顕微鏡的に行った。そのほか 1,000 mg/kg 群で被験物質投与の影響を疑う変化がみられた器官又は組織について、低及び中用量群並びに回復群を検査した。また、被験物質投与の影響との関連が示唆される器官又は組織を検査した。病理組織学的検査対象動物について肉眼的病変部を検査した。

交尾が成立しなかった 1,000 mg/kg 群の雌雄は、交尾不成立の原因を調べるため、精巣、卵巣、子宮及び膣を検査した。不妊の雌については、不妊の原因を調べるため、卵巣、子宮及び膣を検査した。全腹児が死亡した雌については、母動物の病態を調べるため、前胃、腺胃、肝臓、心臓、腎臓、脾臓、胸腺及び副腎を検査した。

HE 染色標本で、腎臓に好酸性小体増加及び硝子滴増加がみられたため、雄の対照群、40、200 及び 1,000 mg/kg 群について、抗 alpha 2u-グロブリン抗体による免疫組織化学的検査を行った。

5. 生殖発生毒性に関する観察・検査

1) 性周期検査

雌全例について投与 1 日目から 15 日間毎日膣垢を採取し、ギムザ染色後、光学顕微鏡的に検査して、個体別の発情周期、各発情期(連続する複数日の場合は、最初の発情日から次の発情期までの性周期日数を求めて平均性周期日数を算出した。また、異常な発情周期を示す個体(規則正しい性周期を示さない個体)の出現率を算出した。

2) 生殖能力検査

投与 15 日目の午後に、回復群を除く雌を同一用量の雄のケージに移し、1 対 1 の割合で、14 日間を限度として交尾が確認されるまで毎日同居させた。交配期間中は交尾の確認を毎日行い、膣栓又は膣垢中の精子の存在をもって交尾が成立したものとみなし、その日を妊娠 0 日と定めた。得られた交配の結果から、交尾所要日数、交尾率： $(\text{交尾動物数}/\text{同居動物数}) \times 100$ 、授精率： $(\text{雌を妊娠させた雄動物数}/\text{交尾雄動物数}) \times 100$ 、受胎率： $(\text{妊娠動物数}/\text{交尾雌動物数}) \times 100$ 、着床率： $(\text{着床痕数}/\text{妊娠黄体数}) \times 100$ 、着床前胚損失率： $[(\text{妊娠黄体数}-\text{着床痕数})/\text{妊娠黄体数}] \times 100$ 、着床後胚損失率： $[(\text{着床痕数}-\text{出産生児数})/\text{着床痕数}] \times 100$ を算出した。

3) 分娩・哺育状態

妊娠動物の全例を自然分娩させた。午後 3 時までに母動物が営巣し、児に授乳を開始した場合に分娩が完了したものとみなし、その日を分娩日(分娩 0 日)とした。午後 3 時以降に分娩が完了した動物は翌日を分娩日とした。交尾を認めた日から分娩完了前日までの日数を妊娠期間とした。得られた結果から、出産率： $(\text{生児出産雌数}/\text{妊娠雌数}) \times 100$ 、分娩率： $(\text{産児数}/\text{着床痕数}) \times 100$ を算出した。

4) 児動物の観察・検査

出生日(生後 0 日と起算)に、産児数(死産児数+出産生児数)、死産児数、出産生児数(出生日の生存児+出生日の死亡児)、出産児性別、0 日生存児数、0 日生存児性別、出産生児外表を観察した。以降、生後 4 日まで一般状態、生存児数、死亡児数及び性別を観察して、出生率： $(\text{出産生児数}/\text{着床痕数}) \times 100$ 、0 日生存率： $(\text{出産生児数}/\text{産児数}) \times 100$ 、出産児性比：雄出産児数/産児数、0 日生存児性比：生後 0 日の雄生存児数/生後 0 日の生存児数、外表異常率： $(\text{外表異常を有する出産生児数}/\text{出産生児数}) \times 100$ 、4 日生存率： $(\text{生後 4 日の生存児数}/\text{出産生児数}) \times 100$ 、4 日生存児性比：生後 4 日の雄生存児数/生後 4 日の生存児数を算出した。また、出生日及び生後 4 日に腹単位で雌雄毎に体重を測定した。

6. 統計学的方法

親動物の体重(搬出時を除く)、摂餌量、握力及び自発運動量、血液学的検査項目、血液生化学的検査項目、器官重量、平均性周期日数、交尾所要日数、妊娠期間、妊娠黄体数及び着床痕数、出生児の産児数、死産児数、出産生児数、出産児性比、0 日生存児数、0 日生存児性比、4 日生児数、4 日生存児性比及び体重は、Bartlett 法による検定を行い、5%有意水準で等分散がみられた場合に一元配置分散分析を行った。分散分析において有意差がみられた場合は、対照群と各用量群の間において Dunnett 法による検定を行った。Bartlett 法において等分散がみられない場合は、Kruskal-Wallis の順位和検定

法で全群の有意性を検定し、有意差がみられた場合はノンパラメトリックの Dunnett の多重比較検定法で対照群との間の有意差検定を行った。

排糞回数及び排尿回数は、Kruskal-Wallis の検定を行った。

親動物の異常性周期出現率、交尾率、授精率、受胎率及び出産率、出生児の出産児性比、0 日生存児性比、4 日生存児性比は、Fisher の直接確率検定で対照群との間で有意差検定を行った。

親動物の着床率、着床前胚損失率、着床後胚損失率及び分娩率、出生児の出生率、0 日生存率、外表異常率及び 4 日生存率は、Kruskal-Wallis の順位和検定法で全群の有意性を検定した。

出生児の体重は、一腹を標本単位として雌雄毎に処理した。

結果

1. 反復投与毒性

1) 一般状態

投与期間中、雄では、すべての動物に異常はみられなかった。雌では、40 mg/kg 群の 1 例で、分娩開始日に自発運動低下がみられ、翌日に分娩が完了した。この動物には外陰部周囲の汚れがみられ、分娩完了の翌日に全腹児が死亡した。しかし、用量との関連が明らかでない変化であった。200 及び 1,000 mg/kg 群に異常はみられなかった。

回復期間中は、雌雄すべての動物に異常はみられなかった。

2) 詳細一般状態観察

投与期間及び回復期間中ともに、雌雄の被験物質投与群に異常はみられなかった。

3) 機能検査

投与期間中、雄では、1,000 mg/kg 群で自発運動量の高値が測定 0～10 分にみられた。40 及び 200 mg/kg 群に異常はみられなかった。雌では、自発運動量の高値が、サテライトの 1,000 mg/kg 群で測定 40～50 分及び 50～60 分、分娩後に 1,000 mg/kg 群で測定 50～60 分にみられた。反応性検査においては、対照群で痛覚刺激に対して反応を示さない動物が 1 例、対照群及び 40 mg/kg 群で接近・触覚検査に対して反応を示さない又は気づかない動物が各 1 例みられたが、用量との関連が明らかでない変化であった。200 mg/kg 群に異常はみられなかった。

回復期間中は、雌雄とも投与期間中に 1,000 mg/kg 群で自発運動量の高値がみられたため、雌雄の対照群及び 1,000 mg/kg 群について自発運動量を測定した結果、雄に有意差はみられなかったが、雌の 1,000 mg/kg 群で測定 50～60 分に高値がみられた。

4) 体重

投与期間及び回復期間中ともに、雌雄の被験物質投与群に有意差はみられなかった。

5) 摂餌量

投与期間中、雄では、被験物質投与群に有意差はみられなかった。雌では、1,000 mg/kg 群で交配前の投与 7 及び 14 日目に高値、哺育 4 日に低値がみられた。また、サテライトの 1,000 mg/kg 群で投与 21 日目に高値がみられた。40 及び 200 mg/kg 群に有意差はみられなかった。

回復期間中、雄では、1,000 mg/kg 群で回復 3 日目に低値がみられた。雌では、1,000 mg/kg 群で回復 14 日目に低値がみられた。

6) 血液学的検査(Table 1)

投与期間終了時、雄では、被験物質投与群に有意差はみられなかった。雌では、40 mg/kg 以上の群で用量に依存した白血球数の低値がみられた。このほか 200 mg/kg 以上の群でヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の高値、1,000 mg/kg 群で単球比率の高値がみられた。

回復期間終了時、雄では、1,000 mg/kg 群に有意差はみられなかった。雌では、投与期間終了時にはみられなかったが、1,000 mg/kg 群で網状赤血球数比率の高値がみられた。

7) 血液生化学的検査(Table 2)

投与期間終了時、雄では、200 mg/kg 以上の群で用量に依存した総蛋白及び塩素の高値、1,000 mg/kg 群でアルブミンの高値がみられた。このほか 200 mg/kg 以上の群で ALT の低値がみられたが、用量との関連が明らかでない変化であった。40 mg/kg 群に有意差はみられなかった。雌では、40 mg/kg 以上の群で用量に依存したカリウムの高値、200 mg/kg 以上の群で用量に依存した総蛋白、アルブミン及び塩素の高値、1,000 mg/kg 群で尿素窒素及びクレアチニンの低値がみられた。

回復期間終了時、雄では、投与期間終了時にみられた総蛋白及びアルブミンの異常は消失した。1,000 mg/kg 群で塩素の高値が投与期間終了時と同様にみられたが、その程度は軽減した。また、同群でカリウムの高値がみられた。雌では、投与期間終了時にみられた総蛋白、アルブミン、尿素窒素、クレアチニン及びカリウムの異常は消失した。1,000 mg/kg 群で塩素の高値が投与期間終了時と同様にみられたが、その程度は軽減した。また、同群で無機リンの低値がみられた。

8) 器官重量(Table 3 及び 4)

投与期間終了時、雄では、200 mg/kg 以上の群で用量に依存した肝臓の絶対及び相対

重量の高値がみられた。このほか 200 mg/kg 群で腎臓の絶対及び相対重量の高値がみられたが、用量との関連が明らかでなかった。40 mg/kg 群に有意差はみられなかった。雌では、1,000 mg/kg 群で肝臓の絶対及び相対重量の高値がみられた。40 及び 200 mg/kg 群に有意差はみられなかった。

回復期間終了時、雌雄とも投与期間終了時にみられた肝臓の重量高値は消失した。雄の 1,000 mg/kg 群で、投与期間終了時にはみられなかったが、精巣上体の絶対重量の低値がみられた。雌の 1,000 mg/kg 群に有意差はみられなかった。

9) 剖検

投与期間終了時、雄では、1,000 mg/kg 群で肝臓の腫大が 7 例全例にみられた。腎臓においては、表面点状模様明瞭化が 200 mg/kg 群の 12 例中 8 例、さらに 1,000 mg/kg 群の 5 例と交尾が成立しなかった 1 例にみられた。このほか 200 mg/kg 群で脾臓の被膜上の白色部が 1 例にみられたが、用量との関連が明らかでない変化であった。1,000 mg/kg 群では肺の暗赤色部が 2 例にみられた。40 mg/kg 群に異常はみられなかった。雌では、不妊の 1,000 mg/kg 群の 4 例のうち 2 例に肝臓の腫大がみられた。このほか対照群で下垂体の嚢胞が 12 例中 1 例、200 mg/kg 群で腺胃の粘膜黒色部が 11 例中 2 例、1,000 mg/kg 群で前胃の粘膜陥凹部及び腺胃の粘膜黒色部が 7 例中各 1 例にみられた。交尾が成立しなかった 1,000 mg/kg 群の 1 例には腺胃の粘膜黒色部がみられた。不妊の 200 mg/kg 群の 1 例に異常はみられなかった。なお、不妊の 1,000 mg/kg 群の 4 例のうち、上記の肝臓の腫大のほかに空腸の憩室が 1 例にみられたが、残り 1 例に異常はみられなかった。哺育 1 日に全腹児が死亡した 40 mg/kg 群の 1 例に腎臓の退色、胸腺の小型化及び副腎の腫大がみられた。

回復期間終了時、雌雄とも投与期間終了時にみられた肝臓の変化は消失した。雄の対照群で腎臓の腎盂拡張が 5 例中 1 例にみられたが、雌に異常はみられなかった。

10) 病理組織学的検査(Table 5)

投与期間終了時、雄では、1,000 mg/kg 群で肝臓の小葉中心性肝細胞肥大が 5 例中 3 例にみられた。腎臓においては、好酸性小体増加が 40, 200 及び 1,000 mg/kg 群でそれぞれ 5 例中 2, 3 及び 5 例にみられた。また、硝子滴増加が 40, 200 及び 1,000 mg/kg 群の各 1, 4 及び 5 例、好塩基性尿細管が 200 及び 1,000 mg/kg 群の各 2 例にみられた。このほか対照群で片側性の副腎の皮質の鉍質沈着が 1 例にみられた。また、肝臓の小肉芽腫が対照群の 5 例中 2 例、40 及び 200 mg/kg 群の各 1 例、心臓の限局性心筋炎が対照群及び 1,000 mg/kg 群の各 1 例にみられたが、いずれも用量との関連が明らかでない変化であった。また、1,000 mg/kg 群で肺の限局性炎症が 1 例にみられた。

腎臓に好酸性小体増加及び硝子滴増加がみられ、抗 alpha 2u-グロブリン抗体による免疫組織化学的検査を行った結果、40 mg/kg 以上の群で抗体陽性物質がみられた。

雌では、1,000 mg/kg 群で肝臓の核の大小不同を伴う小葉中心性肝細胞肥大が 5 例中 4 例にみられた。このほか 200 mg/kg 群で腺胃の胃底腺部粘膜壊死、肝臓の肝細胞の限局性壊死が 5 例中各 1 例にみられたが、用量との関連が明らかでない変化であった。また、1,000 mg/kg 群で前胃の潰瘍、空腸のパイエル板の鉍質沈着が各 1 例にみられたが、自然発生病変としてみられる変化で、発現例数が少ないことから、偶発的变化と判断した。

交尾が成立しなかった雌の 1,000 mg/kg 群の 1 例に膈の上皮の粘液分泌亢進がみられたが、卵巣及び子宮に異常はみられなかった。また、交配相手である雄の 1 例の精巣に異常はみられなかった。

不妊例では、雌の 200 mg/kg 群の 1 例の卵巣、子宮及び膈を検査したが、異常はみられなかった。1,000 mg/kg 群の 1 例で膈炎がみられたが、卵巣及び子宮に異常はみられなかった。また、同群の残り 3 例の卵巣、子宮及び膈に異常はみられなかった。

全腹児が死亡した雌の 40 mg/kg 群の 1 例に肝臓の肝細胞空胞化、心臓の限局性心筋炎、腎臓の尿細管上皮の空胞化、胸腺の萎縮及び副腎の皮質肥大がみられたが、用量との関連が明らかでない変化であった。

回復期間終了時、雌雄とも投与期間終了時にみられた肝臓の変化は消失した。また、雄でみられた腎臓の変化は、好塩基性尿細管を除いてすべて消失した。雄の対照群で片側性の腎臓の腎盂拡張が 5 例中 1 例、1,000 mg/kg 群で両側性の精巣の精上皮変性、両側性の精巣上体の管腔内精子減少及び管腔内精細胞残渣が 5 例中 1 例、別の 1 例に片側性の精巣の精細管の限局性萎縮、片側性の精巣上体の管腔内精子減少及び管腔内精細胞残渣がみられた。雌の対照群及び 1,000 mg/kg 群に異常はみられなかった。

2. 生殖発生毒性

1) 性周期検査

対照群を含むすべての群に性周期の異常を示す動物はみられなかった。また、平均性周期日数においても被験物質投与群に有意差はみられなかった。

2) 生殖能力検査(Table 6 及び 7)

1,000 mg/kg の 1 例で交尾所要日数が 7 日となったが、統計学的に有意な変化ではなかった。同群の別の 1 例で交尾が不成立となったが、対照群、40 及び 200 mg/kg 群ではすべての動物で交尾が成立した。また、対照群、40、200 及び 1,000 mg/kg 群の妊娠動物数は、それぞれ 12、12、11 及び 7 匹となり、1,000 mg/kg 群の妊娠動物数が減少したため、同群の授精率及び受胎率が 63.6%となった。

3) 分娩・哺育状態

哺育 1 日に全腹児が死亡した 40 mg/kg 群の 1 例で難産及び胎盤処理不全、リッキング、リトリービング及びクラウチング行動の欠如がみられたが、用量との関連が明らか

でない変化であった。200 及び 1,000 mg/kg 群の分娩・哺育状態に異常はみられなかった。

4) 児動物の観察・検査(Table 7)

(1) 児動物の出生日及び哺育期の検査

対照群で死亡が 5 例、40 mg/kg 群では全腹児が死亡した 1 腹で体温低下、蒼白及び胃内に母乳が確認できない児がみられ、別の 1 腹の 2 例を含め計 13 例が死亡した。このほか死亡が 200 mg/kg 群で 5 例、1,000 mg/kg 群で 13 例みられた。児動物の死亡は、対照群、40、200 及び 1,000 mg/kg 群で、それぞれ 5、13、5 及び 13 例となり用量との関連は明らかでないが、1,000 mg/kg 群には児動物の生存率低下の程度が強い腹が 2 腹みられた。

(2) 児動物の体重

雄では、1,000 mg/kg 群で生後 4 日の体重が低値傾向を示した。雌では、1,000 mg/kg 群で生後 4 日に低値がみられた。雌雄ともに 40 及び 200 mg/kg 群に有意差はみられなかった。

考察

1. 反復投与毒性

被験物質投与により肝臓及び腎臓に対する影響がみられた。

肝臓に対する影響として、雄の 200 mg/kg 以上の群及び雌の 1,000 mg/kg 群で絶対及び相対重量が増加し、雌雄の 1,000 mg/kg 群で肉眼的に腫大がみられた。病理組織学的検査では、雄の 1,000 mg/kg 群で小葉中心性肝細胞肥大、雌の同群で核の大小不同を伴う小葉中心性肝細胞肥大がみられた。小葉中心性肝細胞肥大は、肝臓に壊死性の変化がみられないことから、薬物代謝酵素の誘導による変化の可能性が高いと考えられる。雌でみられた核の大小不同は、加齢により増加するが、化学物質によっても増加する変化である[1]。本試験では、この変化が 1,000 mg/kg 群の 5 例中 4 例にみられたことから、被験物質投与の影響と考えられる。また、これに関連すると思われる変化として、雌雄の 200 mg/kg 以上の群で総蛋白の高値、雌の 200 mg/kg 以上の群及び雄の 1,000 mg/kg 群でアルブミンの高値がみられた。回復期間終了時には、これらの変化はみられなかったため、回復性があると考えられた。なお、類似物質である 1,2,5,6,9,10-ヘキサブROMシクロドデカン(1,2,5,6,9,10-Hexabromcyclododecane)を雌雄の SD ラットに 1,600、3,200、6,400、12,800 ppm で 13 週間混餌投与した実験では、雌雄の 6,400 ppm 以上で肝臓の相対重量の高値、肝細胞及びクッパー細胞の脂肪沈着がみられ、6 週間の休薬後には肝臓の重量高値は残存したが、脂肪の沈着は軽減したと報告されている[2]。

腎臓に対する影響として、雄の 40 mg/kg 以上の群で好酸性小体増加及び硝子滴増加、200 mg/kg 以上の群で好塩基性尿細管がみられたが、 α 2u-グロブリンの蓄積が確認されたことから、雄ラット特有でヒトに対する影響のない変化であった。回復期間終了時には、好塩基性尿細管を除いて他の変化はみられなかった。

このほか機能検査において、自発運動量の高値が雄の 1,000 mg/kg 群、雌の同群で分娩後に、またサテライトの雌の 1,000 mg/kg 群、さらに回復期間中に雌の 1,000 mg/kg 群でみられた。1,000 mg/kg 群には後述する不妊例数の増加がみられていることから、自発運動量の増加が交尾行動に対して影響した可能性があるが、いずれも単発的な変動で、0～60 分の合計値に異常がないこと、一般状態観察やアリーナ内での行動検査において自発運動量の増加に関連する変化がみられないことから、偶発的变化と判断した。

摂餌量では、雌の 1,000 mg/kg 群で交配前の投与 7 及び 14 日目に高値、哺育 4 日に低値がみられた。回復期間中には雄の 1,000 mg/kg 群で回復 3 日目及び雌の同群で回復 14 日目に低値がみられた。さらにサテライトの雌の 1,000 mg/kg 群で投与 21 日目に高値がみられた。しかし、いずれも体重に影響を及ぼすほどの変化ではないことから、毒性学的に重要な変化ではないと判断した。

血液学的検査では、雌の 40 mg/kg 以上の群で白血球数の低値がみられたが、単球比率の高値が 1,000 mg/kg 群でみられるのみで、造血抑制などを示唆する変化がみられないため、偶発的变化と考えられた。また、雌の 200 mg/kg 以上の群でヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の高値がみられたが、赤血球数に異常がみられないことから、対照群の値が低いことによる偶発的变化と判断した。

血液生化学的検査では、雄の 200 mg/kg 以上の群で ALT の低値がみられたが、関連する変化がみられないことから、毒性学的に重要な変化ではないと判断した。また、雌雄の 200 mg/kg 以上の群及び回復群の 1,000 mg/kg 群で塩素の高値がみられ、本試験に先立って実施した 14 日間の用量設定試験においても塩素が高値であった。本試験では塩素の測定に電量滴定法を用いており、この方法は臭素イオンなどによって影響を受けることが知られている[3]。したがって本試験でみられた塩素の高値は、測定機器が被験物質中の臭素をあたかも塩素であるように誤認することによる測定系への干渉であり、実際に濃度が増加したものではないと考えられた。雌の 40 mg/kg 以上の群及び雄の回復群の 1,000 mg/kg 群でカリウムの高値、雌の 1,000 mg/kg 群で尿素窒素及びクレアチニンの低値がみられたが、関連する変化がみられないことから、偶発的变化と判断した。

病理組織学的検査では、雄の 1,000 mg/kg 群で肺の限局性炎症、心臓の限局性心筋炎、雌の同群で前胃の潰瘍、空腸のパイエル板の鉍質沈着がみられたが、いずれも発現例数が少なく、自然発生病変として対照群にも観察される変化のため、偶発的变化と判断した。

回復期間終了時には、雄の 1,000 mg/kg 群で精巣上体の絶対重量の低値、精巣の精上

皮変性及び精細管の限局性萎縮、精巣上体の管腔内精子減少及び管腔内精細胞残渣、雌の同群で網状赤血球数比率の高値、無機リンの低値がみられたが、同様の変化が投与期間終了時にみられないこと、関連する変化がみられないことから、被験物質投与の影響ではないと判断した。

2. 生殖発生毒性

不妊の雌動物が 1,000 mg/kg 群で 4 例みられたが、卵巣、子宮又は膣に器質的变化はみられなかった。また、これらと交配させた雄動物においては 1,000 mg/kg 群の 1 例で両側性の精巣の精上皮変性、精巣上体の管腔内精子減少及び管腔内精細胞残渣がみられたが、他の雄動物に異常はみられなかった。しかし、1,000 mg/kg 群で不妊例数が増加していること、授精率及び受胎率が低下していることから、被験物質投与による生殖能に対する影響が疑われた。交尾の成立しなかった 1,000 mg/kg 群の 1 組においては、雄の精巣に器質的变化はみられなかったが、雌に膣上皮の粘液分泌亢進がみられた。しかし、卵巣及び子宮に異常はみられなかった。なお、不妊は 200 mg/kg 群においてもみられたが 1 例のみの変化のため、偶発的变化と判断した。

児動物では、雌の 1,000 mg/kg 群で生後 4 日の体重が低値となった。また、雄の同群においても統計学的に有意でないが、対照群に比して低値であることから、雌雄ともに被験物質投与の影響と考えられた。この変化は、母動物の体重や哺育行動に異常がみられないが、哺育 4 日の母動物の摂餌量が低下していることから、児動物への授乳が減少した可能性が考えられる。

類似物質である 1,2,5,6,9,10-ヘキサブロモシクロデカン¹⁾を SD ラットに 150, 1500 及び 15000 ppm (F0 での換算値：10.2, 101 及び 1008 mg/kg/day)で混餌投与した 2 世代繁殖試験においては、親世代に不妊の増加はみられないが、原始卵胞数が減少し、児動物の死亡の増加、生存率及び体重の低下がみられると報告されている[4]。本試験では、雄の回復群の 2 例で精巣の精上皮変性及び精細管の限局性萎縮、精巣上体の管腔内精子減少、管腔内精細胞残渣がみられ、1 例は両側性であったが、もう 1 例は片側の変化であった。また、投与期間終了時に同様の変化がみられないため、雄生殖器に対する影響はないと判断した。雌親動物においては卵巣の異常や一般状態の悪化など、不妊につながる変化がみられないことから、不妊の原因を特定するに至らなかった。しかし、不妊例の増加、授精率及び受胎率の低下に加えて、類似物質で報告されているような児動物の体重低下がみられたことから、被験物質投与の毒性影響と判断した。

以上のように、本試験条件下における 1,2,5,6-テトラブロモシクロオクタン²⁾の反復投与毒性に関する無毒性量(NOEL)は、雌雄ともに毒性影響がみられないことから、1,000 mg/kg/day とした。

反復投与毒性に関する無影響量(NOEL)は、雄の 40 mg/kg 以上の群で alpha 2u-グロブ

リンの沈着による腎臓の好酸性小体増加及び硝子滴増加，雌の 200 mg/kg 以上の群で総蛋白及びアルブミンの高値がみられたことから，雄は 40 mg/kg/day 未満，雌は 40 mg/kg/day とした。

生殖発生毒性に関する NOAEL 及び NOEL は，1,000 mg/kg 群で不妊動物の増加，授精率及び受胎率の低値，児動物に体重低値がみられたことから，いずれも 200 mg/kg/day とした。

参考文献

- 1) 伊東信行：毒性病理組織学，日本毒性病理学会編，東京(2000) pp.189-190.
- 2) U.S. EPA：OPTS Public Files, Hexabromocyclododecane, 90-Day feeding trials with rats with attachments and cover letters dated 03-12-90, OTS 0522943 (1990).
- 3) 菅原研之，緒方隆之，後藤剛，梅本雅夫，第 2 回日本臨床化学会関東支部学術例会講演集，日本臨床化学会関東支部，東京 (1992) 10-14.
- 4) Ema M, Fujii S, Hirata-Koizumi M, Matsumoto M：Two-generation reproductive toxicity study of the flame retardant hexabromocyclododecane in rats. *Reprod. Toxicol.* (2008) Apr; **25** (3) : 335-51.

連絡先

一般財団法人化学物質評価研究機構 日田事業所
〒877-0061 大分県日田市石井町 3 丁目 822 番地
Tel 0973-24-7211 Fax 0973-23-9800

Correspondence

Chemicals Evaluation and Research Institute, Japan
CERI Hita
3-822 Ishi-machi, Hita-shi, Oita 877-0061, Japan
Tel +81-973-24-7211 Fax +81-973-23-9800

本報告書は，平成 22 年度ハザード評価委員会(独立行政法人 製品評価技術基盤機構)で評価後，修正・加筆された。

Table 1 Hematological examination of rats treated orally with 1,2,5,6-tetrabromocyclooctane in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg/day)	Administration period				Recovery period	
	0	40	200	1,000	0	1,000
Male						
No. of animals	5	5	5	5	5	4
RBC ($\times 10^4/\mu\text{L}$)	845 ± 31	846 ± 45	803 ± 26	827 ± 20	874 ± 29	837 ± 28
Hb (g/dL)	15.2 ± 0.5	15.3 ± 0.5	15.1 ± 0.5	14.8 ± 0.5	15.4 ± 0.7	15.3 ± 0.4
Ht (%)	45.2 ± 2.2	45.4 ± 1.6	44.8 ± 1.4	43.9 ± 1.3	45.7 ± 2.0	45.3 ± 1.3
MCV (fL)	53.6 ± 1.4	53.7 ± 2.4	55.7 ± 1.3	53.1 ± 1.7	52.3 ± 2.5	54.2 ± 2.3
MCH (pg)	18.1 ± 0.3	18.1 ± 0.8	18.8 ± 0.4	17.9 ± 0.4	17.6 ± 0.8	18.3 ± 0.8
MCHC (g/dL)	33.7 ± 0.6	33.7 ± 0.2	33.7 ± 0.3	33.8 ± 0.5	33.6 ± 0.5	33.8 ± 0.5
Platelet ($\times 10^4/\mu\text{L}$)	99.7 ± 11.4	102.0 ± 9.5	99.5 ± 5.3	93.8 ± 5.8	94.3 ± 9.5	96.4 ± 6.0
Reticulo (%)	1.9 ± 0.3	2.0 ± 0.4	2.3 ± 0.2	2.3 ± 0.2	1.9 ± 0.3	2.3 ± 0.3
WBC ($\times 10^2/\mu\text{L}$)	147 ± 11	130 ± 23	131 ± 11	154 ± 13	124 ± 19	125 ± 7
Differentiation of leukocyte (%)						
Neutro	16.6 ± 2.5	16.0 ± 4.0	16.2 ± 2.4	20.5 ± 3.2	12.8 ± 3.5	16.1 ± 2.8
Lymph	78.7 ± 2.7	79.1 ± 3.7	77.9 ± 3.1	74.5 ± 3.1	82.5 ± 3.8	79.4 ± 2.3
Eosino	0.9 ± 0.5	1.0 ± 0.2	0.8 ± 0.3	0.7 ± 0.2	1.1 ± 0.3	0.9 ± 0.4
Baso	0.4 ± 0.3	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.2	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.3 ± 0.1
Mono	2.2 ± 0.5	2.6 ± 0.3	3.4 ± 1.3	3.0 ± 0.5	2.3 ± 0.5	2.4 ± 0.3
LUC	1.2 ± 0.6	1.0 ± 0.3	1.4 ± 0.7	1.0 ± 0.2	1.2 ± 0.3	1.0 ± 0.2
PT (sec)	17.3 ± 2.9	18.7 ± 0.9	22.1 ± 5.4	20.8 ± 1.7	18.2 ± 2.1	16.7 ± 2.2
APTT (sec)	30.6 ± 3.2	33.4 ± 4.5	31.7 ± 4.8	29.9 ± 1.6	31.2 ± 3.3	31.4 ± 2.2

Values are shown as mean \pm S.D.

Table 1 (Continued)

Dose (mg/kg/day)	Administration period				Recovery period	
	0	40	200	1,000	0	1,000
Female						
No. of animals	5	5	5	5	5	5
RBC ($\times 10^4/\mu\text{L}$)	664 ± 28	693 ± 21	688 ± 44	698 ± 67	811 ± 11	786 ± 31
Hb (g/dL)	12.8 ± 0.6	13.3 ± 0.6	13.7 * ± 0.2	13.8 * ± 0.5	14.9 ± 0.2	14.5 ± 0.3
Ht (%)	37.3 ± 1.8	39.1 ± 1.9	40.5 * ± 0.8	41.1 ** ± 2.0	43.1 ± 0.8	42.2 ± 0.6
MCV (fL)	56.2 ± 1.4	56.5 ± 2.1	59.0 ± 2.7	59.2 ± 3.7	53.2 ± 1.1	53.7 ± 1.4
MCH (pg)	19.3 ± 0.6	19.3 ± 0.7	20.0 ± 1.2	19.9 ± 1.3	18.4 ± 0.2	18.5 ± 0.4
MCHC (g/dL)	34.4 ± 0.2	34.1 ± 0.5	33.9 ± 0.6	33.7 ± 0.3	34.5 ± 0.5	34.5 ± 0.2
Platelet ($\times 10^4/\mu\text{L}$)	106.7 ± 9.9	106.3 ± 12.7	115.4 ± 14.2	105.6 ± 7.8	116.2 ± 11.1	117.0 ± 9.2
Reticulo (%)	5.4 ± 1.1	4.8 ± 1.5	5.5 ± 1.4	6.1 ± 1.9	1.5 ± 0.3	1.9 * ± 0.3
WBC ($\times 10^2/\mu\text{L}$)	183 ± 28	132 * ± 29	130 * ± 16	117 ** ± 35	72 ± 23	69 ± 17
Differentiation of leukocyte (%)						
Neutro	37.8 ± 9.4	37.6 ± 11.5	35.8 ± 3.2	30.6 ± 7.4	16.0 ± 8.5	20.9 ± 3.0
Lymph	59.2 ± 8.8	58.0 ± 10.0	59.1 ± 4.3	62.4 ± 5.1	78.6 ± 9.8	73.9 ± 3.0
Eosino	0.5 ± 0.1	0.4 ± 0.2	0.7 ± 0.4	0.7 ± 0.3	1.9 ± 0.8	1.2 ± 0.5
Baso	0.6 ± 0.2	0.6 ± 0.3	0.7 ± 0.4	1.5 ± 0.9	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.0
Mono	1.4 ± 0.6	2.3 ± 1.0	2.8 ± 1.4	3.7 ** ± 1.4	2.4 ± 0.9	2.9 ± 1.3
LUC	0.7 ± 0.3	1.1 ± 0.6	0.9 ± 0.2	1.0 ± 0.3	0.9 ± 0.2	1.0 ± 0.2
PT (sec)	14.3 ± 0.9	13.5 ± 0.6	13.9 ± 0.4	13.8 ± 0.5	12.6 ± 1.6	12.5 ± 2.0
APTT (sec)	18.2 ± 3.0	17.6 ± 2.6	17.0 ± 1.8	20.2 ± 3.0	20.4 ± 1.9	21.3 ± 1.9

Values are shown as mean \pm S.D.* Significantly different from 0 mg/kg/day at $p < 0.05$ ** Significantly different from 0 mg/kg/day at $p < 0.01$

Table 2 Blood chemical examination of rats treated orally with 1,2,5,6-tetrabromocyclooctane in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg/day)	Administration period				Recovery period	
	0	40	200	1,000	0	1,000
Male						
No. of animals	5	5	5	5	5	4
AST (IU/L)	83 ± 5	78 ± 6	74 ± 7	77 ± 10	72 ± 12	72 ± 7
ALT (IU/L)	30 ± 5	27 ± 3	21 ** ± 4	22 ** ± 3	28 ± 5	26 ± 4
ALP (IU/L)	210 ± 48	241 ± 64	200 ± 29	168 ± 21	214 ± 42	171 ± 13
ChE (IU/L)	46 ± 9	37 ± 7	47 ± 12	48 ± 8	33 ± 5	45 ± 12
γ-GTP (IU/L)	1.1 ± 0.4	0.9 ± 0.4	1.0 ± 0.3	1.1 ± 0.5	0.9 ± 0.4	1.0 ± 0.5
T-Cho (mg/dL)	48 ± 5	48 ± 10	41 ± 7	55 ± 7	39 ± 8	52 ± 11
TG (mg/dL)	41 ± 8	46 ± 17	44 ± 14	58 ± 12	41 ± 13	47 ± 16
Glucose (mg/dL)	160 ± 12	171 ± 26	150 ± 6	167 ± 12	164 ± 10	151 ± 17
T-Protein (g/dL)	5.8 ± 0.2	5.9 ± 0.3	6.3 * ± 0.1	6.5 ** ± 0.3	6.1 ± 0.2	6.3 ± 0.2
Albumin (g/dL)	2.7 ± 0.1	2.7 ± 0.1	2.8 ± 0.1	2.9 * ± 0.1	2.6 ± 0.2	2.7 ± 0.1
A/G ratio	0.84 ± 0.06	0.83 ± 0.04	0.81 ± 0.07	0.81 ± 0.07	0.76 ± 0.05	0.78 ± 0.04
BUN (mg/dL)	14.6 ± 2.1	14.4 ± 0.6	13.7 ± 1.9	13.4 ± 1.6	16.3 ± 1.1	16.6 ± 2.0
Creatinine (mg/dL)	0.26 ± 0.02	0.26 ± 0.02	0.25 ± 0.03	0.25 ± 0.03	0.24 ± 0.03	0.26 ± 0.02
T-Bil (mg/dL)	0.08 ± 0.02	0.08 ± 0.01	0.08 ± 0.01	0.07 ± 0.02	0.05 ± 0.02	0.06 ± 0.01
Ca (mg/dL)	9.6 ± 0.4	9.7 ± 0.3	10.0 ± 0.1	10.2 ± 0.4	9.8 ± 0.2	9.9 ± 0.3
IP (mg/dL)	6.0 ± 0.3	6.2 ± 0.5	6.1 ± 0.3	5.9 ± 0.3	5.9 ± 0.4	5.9 ± 0.4
Na (mEq/L)	141 ± 1	142 ± 2	142 ± 1	141 ± 2	142 ± 1	142 ± 1
K (mEq/L)	4.1 ± 0.2	4.2 ± 0.3	4.2 ± 0.1	4.1 ± 0.3	4.0 ± 0.1	4.2 * ± 0.1
Cl (mEq/L)	106.3 ± 0.7	110.8 ± 2.7	125.7 * ± 3.7	151.6 ** ± 7.7	105.3 ± 1.2	117.1 ** ± 2.8

Values are shown as mean ± S.D.

* Significantly different from 0 mg/kg/day at $p < 0.05$

** Significantly different from 0 mg/kg/day at $p < 0.01$

Table 2 (Continued)

Dose (mg/kg/day)	Administration period				Recovery period	
	0	40	200	1,000	0	1,000
Female						
No. of animals	5	5	5	5	5	5
AST (IU/L)	109 ± 18	88 ± 24	79 ± 8	100 ± 33	76 ± 19	84 ± 21
ALT (IU/L)	45 ± 4	37 ± 5	37 ± 4	40 ± 18	26 ± 9	29 ± 14
ALP (IU/L)	122 ± 28	94 ± 19	96 ± 26	92 ± 33	99 ± 14	94 ± 30
ChE (IU/L)	216 ± 66	229 ± 74	250 ± 75	322 ± 91	512 ± 134	603 ± 224
γ-GTP (IU/L)	1.2 ± 0.3	0.8 ± 0.3	0.9 ± 0.4	1.0 ± 0.4	1.0 ± 0.4	0.9 ± 0.3
T-Cho (mg/dL)	76 ± 10	71 ± 11	65 ± 10	75 ± 9	70 ± 10	57 ± 9
TG (mg/dL)	52 ± 17	59 ± 15	75 ± 54	34 ± 10	27 ± 12	18 ± 7
Glucose (mg/dL)	140 ± 7	138 ± 12	135 ± 4	132 ± 9	147 ± 18	141 ± 20
T-Protein (g/dL)	6.0 ± 0.4	6.1 ± 0.3	6.5 * ± 0.3	6.8 ** ± 0.2	6.9 ± 0.2	6.6 ± 0.2
Albumin (g/dL)	2.8 ± 0.2	2.8 ± 0.2	3.1 ** ± 0.1	3.2 ** ± 0.1	3.2 ± 0.2	3.1 ± 0.1
A/G ratio	0.87 ± 0.06	0.86 ± 0.06	0.91 ± 0.05	0.87 ± 0.04	0.89 ± 0.06	0.89 ± 0.07
BUN (mg/dL)	19.0 ± 4.6	17.8 ± 2.6	15.8 ± 1.2	12.9 ** ± 1.7	16.8 ± 1.7	15.0 ± 1.0
Creatinine (mg/dL)	0.29 ± 0.03	0.26 ± 0.03	0.25 ± 0.02	0.21 ** ± 0.03	0.30 ± 0.04	0.32 ± 0.03
T-Bil (mg/dL)	0.08 ± 0.02	0.09 ± 0.02	0.09 ± 0.02	0.06 ± 0.01	0.07 ± 0.03	0.07 ± 0.02
Ca (mg/dL)	10.2 ± 0.2	10.3 ± 0.3	10.5 ± 0.2	10.7 ± 0.3	10.2 ± 0.1	9.9 ± 0.3
IP (mg/dL)	8.0 ± 0.6	7.8 ± 0.9	7.3 ± 0.4	7.3 ± 0.3	4.4 ± 0.5	3.7 * ± 0.3
Na (mEq/L)	140 ± 0	141 ± 1	140 ± 1	140 ± 1	140 ± 1	140 ± 1
K (mEq/L)	4.0 ± 0.2	4.4 * ± 0.2	4.6 ** ± 0.2	4.7 ** ± 0.2	4.0 ± 0.4	3.7 ± 0.2
Cl (mEq/L)	103.2 ± 1.3	107.8 ± 1.5	115.6 * ± 2.7	141.1 ** ± 13.2	106.6 ± 0.9	116.3 ** ± 0.8

Values are shown as mean ± S.D.

* Significantly different from 0 mg/kg/day at $p < 0.05$ ** Significantly different from 0 mg/kg/day at $p < 0.01$

Table 3 Absolute organ weights of rats treated orally with 1,2,5,6-tetrabromocyclooctane in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg/day)	Administration period				Recovery period	
	0	40	200	1,000	0	1,000
Male						
No. of animals	7	12	12	7	5	4
Liver (g)	11.04 ± 1.06	11.83 ± 1.10	12.57 * ± 1.13	14.67 ** ± 1.74	12.36 ± 1.17	12.37 ± 1.05
Heart (g)	1.37 ± 0.11	1.39 ± 0.11	1.39 ± 0.08	1.29 ± 0.10	1.46 ± 0.07	1.40 ± 0.10
Kidney (g)	2.90 ± 0.36	3.20 ± 0.26	3.43 ** ± 0.31	3.22 ± 0.35	3.10 ± 0.23	3.07 ± 0.44
Testis (g)	3.23 ± 0.30	3.26 ± 0.22	3.19 ± 0.32	3.11 ± 0.30	3.26 ± 0.32	3.23 ± 0.45
Epididymis (g)	1.26 ± 0.12	1.20 ± 0.08	1.20 ± 0.16	1.23 ± 0.15	1.39 ± 0.15	1.12 * ± 0.18
Brain (g)	2.07 ± 0.09	2.12 ± 0.08	2.10 ± 0.10	2.05 ± 0.13	2.12 ± 0.10	2.11 ± 0.10
Spleen (g)	0.70 ± 0.09	0.72 ± 0.08	0.72 ± 0.13	0.79 ± 0.08	0.74 ± 0.06	0.74 ± 0.09
Thymus (mg)	288.4 ± 82.3	327.9 ± 102.2	351.9 ± 66.0	354.9 ± 57.4	376.9 ± 59.3	307.3 ± 12.3
Adrenal (mg)	61.2 ± 7.2	58.0 ± 5.0	59.0 ± 8.8	52.9 ± 9.2	59.6 ± 8.1	53.7 ± 4.9
Body weight (g)	464.9 ± 25.2	474.2 ± 24.0	462.3 ± 24.7	461.1 ± 16.1	491.9 ± 10.2	490.9 ± 48.6
Female						
No. of animals	12	11	11	7	5	5
Liver (g)	9.32 ± 0.40	9.51 ± 0.78	9.96 ± 0.68	10.17 * ± 0.84	6.44 ± 0.66	6.35 ± 0.45
Heart (g)	0.92 ± 0.06	0.94 ± 0.06	0.93 ± 0.06	0.91 ± 0.08	0.93 ± 0.07	0.89 ± 0.05
Kidney (g)	1.84 ± 0.09	1.90 ± 0.13	1.85 ± 0.11	1.84 ± 0.14	1.69 ± 0.08	1.72 ± 0.08
Brain (g)	1.92 ± 0.05	1.98 ± 0.08	1.93 ± 0.03	1.91 ± 0.06	1.97 ± 0.07	1.91 ± 0.04
Spleen (g)	0.63 ± 0.10	0.58 ± 0.09	0.62 ± 0.09	0.57 ± 0.06	0.45 ± 0.07	0.43 ± 0.06
Thymus (mg)	181.1 ± 48.4	195.4 ± 53.9	213.3 ± 57.6	197.1 ± 42.0	283.8 ± 61.1	251.9 ± 17.1
Adrenal (mg)	75.0 ± 6.6	73.1 ± 7.7	75.0 ± 9.6	70.1 ± 9.6	64.8 ± 12.1	66.6 ± 11.8
Body weight (g)	289.2 ± 16.3	286.6 ± 8.3	290.0 ± 12.6	276.9 ± 15.2	269.4 ± 14.8	258.1 ± 12.9

Values are shown as mean ± S.D.

* Significantly different from 0 mg/kg/day at $p < 0.05$

** Significantly different from 0 mg/kg/day at $p < 0.01$

Table 4 Relative organ weights of rats treated orally with 1,2,5,6-tetrabromocyclooctane
in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg/day)	Administration period				Recovery period	
	0	40	200	1,000	0	1,000
Male						
No. of animals	7	12	12	7	5	4
Liver (g/100g)	2.37 ± 0.14	2.49 ± 0.14	2.72 ** ± 0.17	3.18 ** ± 0.34	2.51 ± 0.20	2.52 ± 0.07
Heart (g/100g)	0.29 ± 0.02	0.29 ± 0.03	0.30 ± 0.02	0.28 ± 0.01	0.30 ± 0.01	0.29 ± 0.02
Kidney (g/100g)	0.62 ± 0.06	0.68 ± 0.06	0.74 ** ± 0.07	0.70 ± 0.08	0.63 ± 0.04	0.63 ± 0.07
Testis (g/100g)	0.70 ± 0.05	0.69 ± 0.06	0.69 ± 0.06	0.67 ± 0.07	0.66 ± 0.07	0.67 ± 0.12
Epididymis (g/100g)	0.27 ± 0.02	0.25 ± 0.02	0.26 ± 0.03	0.27 ± 0.03	0.28 ± 0.03	0.23 ± 0.05
Brain (g/100g)	0.45 ± 0.03	0.45 ± 0.03	0.46 ± 0.03	0.45 ± 0.02	0.43 ± 0.02	0.43 ± 0.05
Spleen (g/100g)	0.15 ± 0.03	0.15 ± 0.02	0.16 ± 0.03	0.17 ± 0.01	0.15 ± 0.01	0.15 ± 0.02
Thymus (mg/100g)	62.3 ± 18.0	68.7 ± 19.5	76.3 ± 15.0	76.9 ± 12.0	76.5 ± 10.7	63.1 ± 7.0
Adrenal (mg/100g)	13.2 ± 1.6	12.3 ± 1.1	12.8 ± 2.0	11.5 ± 2.1	12.1 ± 1.6	11.0 ± 1.8
Body weight (g)	464.9 ± 25.2	474.2 ± 24.0	462.3 ± 24.7	461.1 ± 16.1	491.9 ± 10.2	490.9 ± 48.6
Female						
No. of animals	12	11	11	7	5	5
Liver (g/100g)	3.23 ± 0.18	3.32 ± 0.25	3.44 ± 0.20	3.67 ** ± 0.21	2.39 ± 0.18	2.46 ± 0.11
Heart (g/100g)	0.32 ± 0.01	0.33 ± 0.02	0.32 ± 0.01	0.33 ± 0.02	0.35 ± 0.02	0.34 ± 0.03
Kidney (g/100g)	0.64 ± 0.03	0.66 ± 0.06	0.64 ± 0.04	0.66 ± 0.05	0.63 ± 0.03	0.66 ± 0.04
Brain (g/100g)	0.66 ± 0.04	0.69 ± 0.03	0.67 ± 0.03	0.69 ± 0.04	0.73 ± 0.06	0.75 ± 0.05
Spleen (g/100g)	0.22 ± 0.03	0.20 ± 0.03	0.22 ± 0.03	0.21 ± 0.03	0.17 ± 0.02	0.17 ± 0.02
Thymus (mg/100g)	62.6 ± 16.9	68.3 ± 19.3	73.6 ± 20.4	71.6 ± 17.3	105.0 ± 21.1	97.6 ± 5.2
Adrenal (mg/100g)	26.0 ± 2.0	25.5 ± 3.0	25.8 ± 3.1	25.3 ± 2.8	23.9 ± 3.7	25.8 ± 4.2
Body weight (g)	289.2 ± 16.3	286.6 ± 8.3	290.0 ± 12.6	276.9 ± 15.2	269.4 ± 14.8	258.1 ± 12.9

Values are shown as mean ± S.D.

** Significantly different from 0 mg/kg/day at $p < 0.01$

Table 5 Histopathological examinations of rats treated orally with 1,2,5,6-tetrabromocyclooctane in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

In the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test																		
Dose (mg/kg/day)		Male							Female									
		0	0	40	200	1,000	1,000	0	0	40	200	1,000	1,000					
		R							R									
		ta	ta	ta	ta	ta	ia-nc	ta	ta	ta	ia-pd	ta	ia-np	ta	ia-nc	ia-np	ta	
Grade	7 ^{a)}	5	12	12	7	1	4	12	5	11	1	11	1	7	1	4	5	
Trachea																		
No abnormalities detected	5/5 ^{b)}	—	—	—	5/5	—	—	5/5	—	—	—	—	—	5/5	—	—	—	
Lung																		
No abnormalities detected	5/5	5/5	5/5	5/5	4/5	—	4/4	5/5	—	—	—	—	—	5/5	—	—	—	
Focal inflammation	++	0/5	0/5	0/5	0/5	1/5	—	0/4	0/5	—	—	—	—	0/5	—	—	—	
Forestomach																		
No abnormalities detected	5/5	—	—	—	5/5	—	—	5/5	5/5	5/5	1/1	5/5	—	4/5	—	—	5/5	
Ulcer	++	0/5	—	—	—	0/5	—	—	0/5	0/5	0/5	0/1	0/5	—	1/5	—	0/5	
Glandular stomach																		
No abnormalities detected	5/5	—	—	—	5/5	—	—	5/5	—	—	1/1	0/1	—	5/5	—	—	—	
Necrosis of fundic mucosa	++	0/5	—	—	—	0/5	—	—	0/5	—	—	0/1	1/1	—	0/5	—	—	
Duodenum																		
No abnormalities detected	5/5	—	—	—	5/5	—	—	5/5	—	—	—	—	—	5/5	—	—	—	
Jejunum																		
No abnormalities detected	5/5	—	—	—	5/5	—	—	5/5	—	—	—	—	—	4/5	—	—	—	
Mineralization in Peyer's patches	+	0/5	—	—	—	0/5	—	—	0/5	—	—	—	—	1/5	—	—	—	
Ileum																		
No abnormalities detected	5/5	—	—	—	5/5	—	—	5/5	—	—	—	—	—	5/5	—	—	—	
Cecum																		
No abnormalities detected	5/5	—	—	—	5/5	—	—	5/5	—	—	—	—	—	5/5	—	—	—	
Colon																		
No abnormalities detected	5/5	—	—	—	5/5	—	—	5/5	—	—	—	—	—	5/5	—	—	—	
Rectum																		
No abnormalities detected	5/5	—	—	—	5/5	—	—	5/5	—	—	—	—	—	5/5	—	—	—	

R, recovery

ta, terminal autopsy; ia-nc, male animal whose partner was not copulated or female animal not copulated; ia-np, non-pregnant female
ia-pd, dam all her pups were dead after birth

a) Number of animals autopsied

b) Number of animals affected / Number of animals examined

—, Not examined

+, slight; ++, moderate

Table 5 (Continued)

Dose (mg/kg/day)		Male							Female									
		0	0	40	200	1,000	1,000	0	0	40	200	1,000	1,000					
		R				R			R				R					
		ta	ta	ta	ta	ta	ia-nc	ta	ta	ta	ia-pd	ta	ia-np	ta	ia-nc	ia-np	ta	
Grade	7 ^{a)}	5	12	12	7	1	4	12	5	11	1	11	1	7	1	4	5	
Liver																		
No abnormalities detected		3/5 ^{b)}	5/5	4/5	4/5	2/5	—	4/4	5/5	5/5	5/5	0/1	4/5	—	1/5	—	—	5/5
Focal necrosis of hepatocytes	+	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	—	0/4	0/5	0/5	0/5	0/1	1/5	—	0/5	—	—	0/5
Hypertrophy of centrilobular hepatocytes	+	0/5	0/5	0/5	0/5	3/5	—	0/4	0/5	0/5	0/5	0/1	0/5	—	0/5	—	—	0/5
Hypertrophy of centrilobular hepatocytes with anisonucleosis	+	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	—	0/4	0/5	0/5	0/5	0/1	0/5	—	4/5	—	—	0/5
Microgranuloma	+	2/5	0/5	1/5	1/5	0/5	—	0/4	0/5	0/5	0/5	0/1	0/5	—	0/5	—	—	0/5
Vacuolization of hepatocytes	++	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	—	0/4	0/5	0/5	0/5	1/1	0/5	—	0/5	—	—	0/5
Heart																		
No abnormalities detected		4/5	—	—	—	4/5	—	—	5/5	—	—	0/1	—	—	5/5	—	—	—
Focal myocarditis	+	1/5	—	—	—	1/5	—	—	0/5	—	—	0/1	—	—	0/5	—	—	—
	++	0/5	—	—	—	0/5	—	—	0/5	—	—	1/1	—	—	0/5	—	—	—
Kidney																		
No abnormalities detected		5/5	4/5	2/5	1/5	0/5	—	1/4	5/5	—	—	0/1	—	—	5/5	—	—	—
Basophilic tubules	+	0/5	0/5	0/5	2/5	2/5	—	3/4	0/5	—	—	0/1	—	—	0/5	—	—	—
Increased eosinophilic bodies	+	0/5	0/5	2/5	2/5	2/5	—	0/4	0/5	—	—	0/1	—	—	0/5	—	—	—
	++	0/5	0/5	0/5	1/5	3/5	—	0/4	0/5	—	—	0/1	—	—	0/5	—	—	—
Increased hyaline droplets	+	0/5	0/5	1/5	4/5	0/5	—	0/4	0/5	—	—	0/1	—	—	0/5	—	—	—
	++	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	—	0/4	0/5	—	—	0/1	—	—	0/5	—	—	—
Pelvic dilatation, unilateral	+	0/5	1/5	0/5	0/5	0/5	—	0/4	0/5	—	—	0/1	—	—	0/5	—	—	—
Vacuolization of tubular epithelium	++	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	—	0/4	0/5	—	—	1/1	—	—	0/5	—	—	—

R, recovery

ta, terminal autopsy; ia-nc, male animal whose partner was not copulated or female animal not copulated; ia-np, non-pregnant female

ia-pd, dam all her pups were dead after birth

a) Number of animals autopsied

b) Number of animals affected / Number of animals examined

—, Not examined

+, slight; ++, moderate

Table 5 (Continued)

Dose (mg/kg/day)		Male							Female									
		0	0	40	200	1,000	1,000	0	0	40	200	1,000	1,000					
		R				R			R				R					
		ta	ta	ta	ta	ta	ia-nc	ta	ta	ta	ia-pd	ta	ia-np	ta	ia-nc	ia-np	ta	
Grade	7 ^{a)}	5	12	12	7	1	4	12	5	11	1	11	1	7	1	4	5	
Urinary bladder																		
No abnormalities detected		5/5 ^{b)}	—	—	—	5/5	—	—	5/5	—	—	—	—	—	5/5	—	—	—
Testis																		
No abnormalities detected		5/5	5/5	—	—	5/5	1/1	2/4										
Degeneration of seminiferous tubules, bilateral	++	0/5	0/5	—	—	0/5	0/1	1/4										
Focal atrophy of seminiferous tubules, unilateral	++	0/5	0/5	—	—	0/5	0/1	1/4										
Epididymis																		
No abnormalities detected		5/5	5/5	—	—	5/5	—	2/4										
Decreased spermatozoa in lumen, bilateral	++	0/5	0/5	—	—	0/5	—	1/4										
Decreased spermatozoa in lumen, unilateral	+	0/5	0/5	—	—	0/5	—	1/4										
Germ cell debris in lumen, bilateral	++	0/5	0/5	—	—	0/5	—	1/4										
Germ cell debris in lumen, unilateral	+	0/5	0/5	—	—	0/5	—	1/4										
Prostate																		
No abnormalities detected		5/5	—	—	—	5/5	—	—										
Seminal vesicle																		
No abnormalities detected		5/5	—	—	—	5/5	—	—										
Ovary																		
No abnormalities detected									5/5	—	—	—	—	1/1	5/5	1/1	4/4	—
Uterus																		
No abnormalities detected									5/5	—	—	—	—	1/1	5/5	1/1	4/4	—

R, recovery

ta, terminal autopsy; ia-nc, male animal whose partner was not copulated or female animal not copulated; ia-np, non-pregnant female
 ia-pd, dam all her pups were dead after birth

a) Number of animals autopsied

b) Number of animals affected / Number of animals examined

—, Not examined

+, slight; ++, moderate

Table 5 (Continued)

Dose (mg/kg/day)		Male							Female								
		0	0	40	200	1,000	1,000	0	0	40	200	1,000	1,000				
		R				R			R				R				
		ta	ta	ta	ta	ta	ia-nc	ta	ta	ta	ia-pd	ta	ia-np	ta	ia-nc	ia-np	ta
Grade	7 ^{a)}	5	12	12	7	1	4	12	5	11	1	11	1	7	1	4	5
Vagina																	
No abnormalities detected								5/5 ^{b)}	—	—	—	—	1/1	5/5	0/1	3/4	—
Mucification of epithelium	++							0/5	—	—	—	—	0/1	0/5	1/1	0/4	—
Vaginitis	+							0/5	—	—	—	—	0/1	0/5	0/1	1/4	—
Cerebrum																	
No abnormalities detected		5/5	—	—	—	5/5	—	—	5/5	—	—	—	—	5/5	—	—	—
Cerebellum																	
No abnormalities detected		5/5	—	—	—	5/5	—	—	5/5	—	—	—	—	5/5	—	—	—
Pons																	
No abnormalities detected		5/5	—	—	—	5/5	—	—	5/5	—	—	—	—	5/5	—	—	—
Spinal cord																	
No abnormalities detected		5/5	—	—	—	5/5	—	—	5/5	—	—	—	—	5/5	—	—	—
Sciatic nerve																	
No abnormalities detected		5/5	—	—	—	5/5	—	—	5/5	—	—	—	—	5/5	—	—	—
Bone marrow																	
No abnormalities detected		5/5	—	—	—	5/5	—	—	5/5	—	—	—	—	5/5	—	—	—
Axillar lymph node																	
No abnormalities detected		5/5	—	—	—	5/5	—	—	5/5	—	—	—	—	5/5	—	—	—
Mesenteric lymph node																	
No abnormalities detected		5/5	—	—	—	5/5	—	—	5/5	—	—	—	—	5/5	—	—	—
Spleen																	
No abnormalities detected		5/5	—	—	—	5/5	—	—	5/5	—	—	1/1	—	—	5/5	—	—
Thymus																	
No abnormalities detected		5/5	—	—	—	5/5	—	—	5/5	—	—	0/1	—	—	5/5	—	—
Atrophy	++	0/5	—	—	—	0/5	—	—	0/5	—	—	1/1	—	—	0/5	—	—

R, recovery

ta, terminal autopsy; ia-nc, male animal whose partner was not copulated or female animal not copulated; ia-np, non-pregnant female
ia-pd, dam all her pups were dead after birth

a) Number of animals autopsied

b) Number of animals affected / Number of animals examined

—, Not examined

+, slight; ++, moderate

Table 5 (Continued)

Dose (mg/kg/day)		Male								Female								
		0	0	40	200	1,000	1,000	0	0	40	200	1,000	1,000					
		R				R				R				R				
		ta	ta	ta	ta	ta	ia-nc	ta	ta	ta	ia-pd	ta	ia-np	ta	ia-nc	ia-np	ta	
Grade	7 ^{a)}	5	12	12	7	1	4	12	5	11	1	11	1	7	1	4	5	
Pituitary gland																		
No abnormalities detected		5/5 ^{b)}	—	—	—	5/5	—	—	5/5	—	—	—	—	—	5/5	—	—	—
Thyroid																		
No abnormalities detected		5/5	—	—	—	5/5	—	—	5/5	—	—	—	—	—	5/5	—	—	—
Parathyroid																		
No abnormalities detected		5/5	—	—	—	5/5	—	—	5/5	—	—	—	—	—	5/5	—	—	—
Adrenal																		
No abnormalities detected		4/5	—	—	—	5/5	—	—	4/5	—	—	0/1	—	—	5/5	—	—	—
Focal necrosis of cortex, unilateral	++	0/5	—	—	—	0/5	—	—	1/5	—	—	0/1	—	—	0/5	—	—	—
Hypertrophy of cortex	+	0/5	—	—	—	0/5	—	—	0/5	—	—	1/1	—	—	0/5	—	—	—
Mineralization in cortex, unilateral	+	1/5	—	—	—	0/5	—	—	0/5	—	—	0/1	—	—	0/5	—	—	—

R, recovery

ta, terminal autopsy; ia-nc, male animal whose partner was not copulated or female animal not copulated; ia-np, non-pregnant female

ia-pd, dam all her pups were dead after birth

a) Number of animals autopsied

b) Number of animals affected / Number of animals examined

—, Not examined

+, slight; ++, moderate

Table 6 Reproductive parameters in parental rats treated orally with 1,2,5,6-tetrabromocyclooctane in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

	Dose (mg/kg/day)			
	0	40	200	1,000
Number of mated pairs	12	12	12	12
Number of copulated pairs	12	12	12	11
Number of pregnant females	12	12	11	7
Copulation index ^{a)} (%)	100.0	100.0	100.0	91.7
Fertilization index ^{b)} (%)	100.0	100.0	91.7	63.6*
Conception index ^{c)} (%)	100.0	100.0	91.7	63.6*
Pairing days until copulation (Mean \pm S.D.)	2.3 \pm 1.2	2.8 \pm 1.1	2.8 \pm 0.8	3.5 \pm 1.6

a) (Number of copulated pairs /Number of mated pairs) \times 100

b) (Number of impregnated males /Number of males in copulated pairs) \times 100

c) (Number of pregnant females /Number of females in copulated pairs) \times 100

* Significantly different from vehicle control at $p < 0.05$

Table 7 Postnatal course of rat litters whose parents treated orally with 1,2,5,6-tetrabromocyclooctane in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

	Dose (mg/kg/day)			
	0	40	200	1,000
Number of pregnant	12	12	11	7
Gestation length (Mean \pm S.D., day)	22.0 \pm 0.0	21.9 \pm 0.5	22.1 \pm 0.3	22.1 \pm 0.4
Number of corpora lutea (Mean \pm S.D.)	15.5 \pm 1.6	15.3 \pm 1.8	16.5 \pm 2.4	15.9 \pm 2.0
Number of implantation sites (Mean \pm S.D.)	14.8 \pm 1.7	14.7 \pm 2.0	15.3 \pm 2.0	15.6 \pm 2.0
Implantation index ^{a)} (Mean \pm S.D., %)	95.4 \pm 7.8	96.1 \pm 5.3	92.6 \pm 4.8	98.2 \pm 3.1
Preimplantation loss ^{b)} (Mean \pm S.D., %)	4.6 \pm 7.8	3.9 \pm 5.3	7.4 \pm 4.8	1.8 \pm 3.1
Postimplantation loss ^{c)} (Mean \pm S.D., %)	8.1 \pm 6.3	8.3 \pm 8.4	15.7 \pm 9.9	15.3 \pm 8.7
Delivery dam index ^{d)} (%)	100.0 (12/12)	100.0 (12/12)	100.0 (11/11)	100.0 (7/7)
Delivery index ^{e)} (Mean \pm S.D., %)	92.5 \pm 6.7	94.4 \pm 4.6	86.3 \pm 8.0	86.7 \pm 10.5
Number of dams with live newborns				
on postpartum day 0	12	12	11	7
on postpartum day 4	12	11	11	7
Postnatal day 0				
Number of pups born (Mean \pm S.D.)	13.7 \pm 2.0	13.8 \pm 1.9	13.2 \pm 2.1	13.6 \pm 2.8
Number of stillborns (Mean \pm S.D.)	0.1 \pm 0.3	0.4 \pm 1.4	0.4 \pm 0.9	0.3 \pm 0.8
Number of live pups at birth (Mean \pm S.D.)	13.6 \pm 2.0	13.4 \pm 1.9	12.8 \pm 1.9	13.3 \pm 2.8
Number of live pups at the end of observation (Mean \pm S.D.)	13.5 \pm 2.0	13.3 \pm 2.0	12.6 \pm 2.0	13.3 \pm 2.8
Birth index ^{f)} (Mean \pm S.D., %)	91.9 \pm 6.3	91.8 \pm 8.4	84.3 \pm 9.9	84.7 \pm 8.7
Live birth index ^{g)} (Mean \pm S.D., %)	99.4 \pm 2.0	97.4 \pm 9.0	97.6 \pm 6.1	98.0 \pm 5.4
Sex ratio of pups born ^{h)}	83 / 164	87 / 166	83 / 145	41 / 95
(Mean \pm S.D.)	0.51 \pm 0.09	0.52 \pm 0.11	0.57 \pm 0.13	0.44 \pm 0.10
Sex ratio of live pups ⁱ⁾	81 / 162	84 / 160	81 / 139	39 / 93
(Mean \pm S.D.)	0.51 \pm 0.08	0.52 \pm 0.11	0.58 \pm 0.15	0.42 \pm 0.12
Number of live pups at birth with external anomalies	0 / 163	0 / 161	0 / 141	0 / 93
External anomaly index ^{j)} (Mean \pm S.D., %)	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
Pups weight (Mean \pm S.D., g)				
Male	6.29 \pm 0.36	6.30 \pm 0.44	6.22 \pm 0.57	6.02 \pm 0.89
Female	5.93 \pm 0.37	5.82 \pm 0.40	6.00 \pm 0.55	5.58 \pm 0.77
Postnatal day 4				
Number of live pups (Mean \pm S.D.)	13.2 \pm 1.6	12.3 \pm 4.3	12.4 \pm 2.0	11.4 \pm 4.0
Viability index ^{k)} (Mean \pm S.D., %)	97.3 \pm 4.2	90.4 \pm 28.8	96.4 \pm 5.1	85.5 \pm 20.8
Sex ratio of live pups ^{l)}	79 / 158	79 / 148	79 / 136	33 / 80
(Mean \pm S.D.)	0.50 \pm 0.08	0.53 \pm 0.11	0.58 \pm 0.15	0.40 \pm 0.14
Pups weight (Mean \pm S.D., g)				
Male	10.23 \pm 0.90	10.04 \pm 1.09	10.53 \pm 1.08	8.84 \pm 1.82
Female	9.69 \pm 0.68	9.52 \pm 1.04	10.19 \pm 1.00	8.23 \pm 1.61*

a) (Number of implantation sites / Number of corpora lutea) \times 100

b) [(Number of corpora lutea - Number of implantation sites) / Number of corpora lutea] \times 100

c) [(Number of implantation sites - Number of live pups at birth) / Number of implantation sites] \times 100

d) (Number of pregnant females with live pups at birth / Number of pregnant females) \times 100

e) (Number of pups born / Number of implantation sites) \times 100

f) (Number of live pups at birth / Number of implantation sites) \times 100

g) (Number of live pups at birth / Number of pups born) \times 100

h) Number of males born / Number of pups born

i) Number of live males at the end of observation on postnatal day 0 / Number of live pups at the end of observation on postnatal day 0

j) (Number of live pups at birth with external anomalies / Number of live pups at birth) \times 100

k) (Number of live pups on postnatal day 4 / Number of live pups at birth) \times 100

l) Number of live males on postnatal day 4 / Number of live pups on postnatal day 4

* Significantly different from vehicle control at $p < 0.05$