

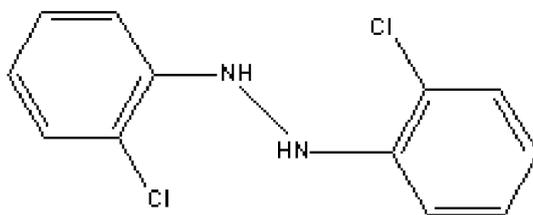
Hydrazine, 1,2-bis(2-chlorophenyl) -

1,2-ビス(2-クロロフェニル)ヒドラジン

[CAS No. 782-74-1]

Molecular formula: C₁₂H₁₀Cl₂N₂

Molecular weight: 253.1



ABSTRACT

1. Material and method

Purity	: 99.98%
Test species/strain	: Rat/CrI:CD(SD)
Test method	: OECD Test Guideline 422
Route	: Oral (gavage)
Doses	: 0, 40, 200, 1000 mg/kg
Doses for recovery	: 0, 1000 mg/kg
Number of animals/group	: Males, 12 (5 for recovery); females, 12; Satellite females, 5
Vehicle	: 0.1 w/v% Tween 80 added 0.5 w/v% CMC-Na 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
Sacrifice	: Males, day 43 of treatment and day 15 of recovery Females, day 5 of lactation Females (satellite), day 15 of recovery Offspring, day 4 after birth
GLP	: Yes

2. Results

In accordance with the OECD guideline on combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test, hydrazine, 1,2-bis(2-chlorophenyl)- was studied for oral toxicity in rats at doses of 0, 40, 200, and 1000 mg/kg/day.

As the main changes attributed to the test substance, anemia was noted in males at 200 mg/kg and both sexes at 1000 mg/kg. There were no abnormalities in reproductive function, parturition, or maternal behavior in parental animals. There were no changes attributed to the test substance in offspring.

Repeated dose toxicity

The following anemic changes were observed; decreased hemoglobin concentration in males at 200 mg/kg and in both sexes at 1000 mg/kg, increased reticulocyte count in both sexes at 1000 mg/kg, increased erythroid extramedullary hematopoiesis and spleen weight in females at 1000 mg/kg. Moreover, an increase in total bilirubin was noted in females at 1000 mg/kg. These changes were considered to be related to hemolysis. None of these changes were noted at the end of the recovery period, showing reversibility.

Body weight tended to decrease in males at 1000 mg/kg on day 42 and the body weight remained low during the recovery period. However, the body weight gain was comparable or just slightly lower than that in the control group, showing reversibility.

In females at 1000 mg/kg, hypertrophy of centrilobular hepatocytes and increases in the liver weight and total cholesterol were noted. At the end of the recovery period, the total cholesterol remained high. Although the increased liver weight in males at 200 and 1000 mg/kg and the increased total cholesterol in males at 1000 mg/kg were noted, there were no related histological changes. The following two factors were suspected as the cause of hypertrophy of centrilobular hepatocytes; adoptive change due to enzyme induction and a cytotoxic change. However, in this study, there were no abnormal increases in the liver enzymatic parameters and the hypertrophied hepatocytes expressed a frosted-glass like feature, indicating an increase in drug metabolizing activity. It also showed a clear reversibility. Therefore, it was considered that hypertrophy of centrilobular hepatocytes was considered to be an adoptive change. In addition, although kidney weights tended to increase in females at 1000 mg/kg, there were no related changes in the other examinations.

There were no changes attributed to the test substance in clinical sign, behavior tests, food consumption, urinalysis in males or necropsy findings.

Reproductive and developmental toxicity

In parental animals, no test substance-related change was observed in the estrous cycle, mating index, fertility index, delivery index, gestation length, numbers of corpora lutea or implantations, implantation index, gestation index, parturition, or maternal behavior.

In neonates, no test substance-related change was observed in the number of offspring or live offspring at birth, sex ratio, live birth index, viability index on day 4, clinical signs, external features, body weights, or necropsy of the offspring.

3. Evaluation

The NOAEL for the repeated dose toxicity of hydrazine, 1,2-bis(2-chlorophenyl)- was judged to be 40 mg/kg/day for males and 200 mg/kg/day for females, since decreased body weight in males at 1000 mg/kg and the following anemic changes were observed; decreased hemoglobin concentration in males at 200 mg/kg and in both sexes at 1000 mg/kg, increased reticulocyte count in both sexes at 1000 mg/kg, and increased erythroid extramedullary hematopoiesis and increased spleen weight in females at 1000 mg/kg.

The NOEL was judged to be 40 mg/kg/day for males and 200 mg/kg/day for females, since the following changes were observed; increased liver weight without histological changes in males at 200 mg/kg and above, hypertrophy of centrilobular hepatocytes considered to be adoptive change, increased liver weight, and increased total cholesterol in females at 1000 mg/kg.

As for the reproductive and developmental toxicity, the NOAEL and NOEL for parental animals and offspring were judged to be 1000 mg/kg/day, since no test substance-related change was observed in any examinations.

Hydrazine, 1,2-bis(2-chlorophenyl)-のラットを用いた 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 Hydrazine, 1,2-bis(2-chlorophenyl)- by Oral Administration in Rats

要約

Hydrazine, 1,2-bis(2-chlorophenyl)- (HBC) は生態影響については報告されているが、LD₅₀ 値等の毒性知見は報告されていない[1, 2].

HBC を 40, 200 および 1000 mg/kg/day の用量で SD 系ラット [CrI:CD(SD)] (雌雄各 12 匹/群, 雌にはサテライト動物として対照群および 1000 mg/kg 群に各 5 匹を追加)に交配前 14 日から交配を経て, 雄は 42 日間, 雌は妊娠, 分娩を経て哺育 4 日まで, 雌サテライト動物は雄と同様に 42 日間それぞれ経口投与し, 反復投与毒性および生殖発生毒性について検討した. 本試験は OECD TG422 に従い実施した.

被験物質に起因する主な変化として, 200 mg/kg 群の雄および 1000 mg/kg 群の雌雄で貧血が認められた. 親動物の生殖能, 分娩状態, 哺育行動に異常はみられず, 児動物にも被験物質に起因する変化は認められなかった.

1. 反復投与毒性

200 mg/kg 群の雄および 1000 mg/kg 群の雌雄でヘモグロビン濃度の低値, 1000 mg/kg 群の雌雄で網赤血球数の高値, 1000 mg/kg 群の雌の脾臓で赤血球系髄外造血の亢進, 脾臓重量の高値など貧血様所見が認められた. さらに 1000 mg/kg 群の雌では総ビリルビンの高値が認められたことから, 溶血に起因した変化である可能性が考えられた. これらの変化は回復期間終了時にはいずれもみられず, 回復性が認められた.

1000 mg/kg 群の雄では, 第 42 日に体重の低値傾向が認められた. 回復期間中にも体重は低値傾向を示したが, 体重増加量は対照群と同程度か若干下回る程度で推移し, 回復性が認められた.

1000 mg/kg 群の雌の肝臓で小葉中心性の肝細胞肥大, 肝臓重量の高値, 総コレステロールの高値が認められた. 回復期間終了時にも総コレステロールは高値を示した. 肝臓重量の高値は 200 および 1000 mg/kg 群の雄, 総コレステロールの高値は 1000 mg/kg 群の雄でもみられたが, 病理組織学検査では変化はなかった. 肝細胞肥大の原因として, 酵素誘導による適応性変化あるいは細胞傷害性変化が考えられるが, 肝障害を示唆する肝酵素の高値がないこと, 肥大した肝細胞ですり硝子状の細胞質が認められ, 薬物代謝活性の亢進が示唆されること, 回復性を示すことなどから, 適応性変化の可能性が高いと考

えられた. 1000 mg/kg 群の雌で腎臓重量の高値傾向が認められたが, 関連する変化はその他の検査において認められなかった.

その他, 一般状態, 行動検査, 摂餌量, 雄の尿検査および剖検所見には被験物質に起因する変化は認められなかった.

2. 生殖発生毒性

親動物では, 性周期, 交尾率, 受胎率, 分娩率, 妊娠期間, 黄体数, 着床数, 着床率, 出産率, 分娩状態および哺育の観察のいずれにも被験物質に起因する変化は認められなかった.

新生児では, 出産児数, 出生生児数, 性比, 出生率および 4 日生存率, さらに一般状態, 外表検査, 体重および剖検のいずれにも被験物質に起因する変化は認められなかった.

3. 無毒性量および無影響量

以上の結果から, 本試験条件下における反復投与毒性および生殖発生毒性に関する無毒性量および無影響量は以下のように考えられた.

(反復投与毒性に関する無毒性量および無影響量)

無毒性量は 1000 mg/kg 群の雄で体重の低値, 200 mg/kg 以上の群の雄および 1000 mg/kg 群の雌でヘモグロビン濃度の低値, 1000 mg/kg 群の雌雄で網赤血球数の高値, 1000 mg/kg 群の雌の脾臓で赤血球系髄外造血の亢進, 脾臓重量の高値など貧血様所見が認められたことから, 雄は 40 mg/kg/day, 雌は 200 mg/kg/day と考えられた.

無影響量は 200 mg/kg 以上の群の雄で組織変化を伴わない肝臓重量の高値が認められたこと, 1000 mg/kg 群の雌で適応性の変化と考えられる小葉中心性の肝細胞肥大, 肝臓重量の高値, 総コレステロールの高値が認められたことから, 雄は 40 mg/kg/day, 雌は 200 mg/kg/day と考えられた.

(生殖発生毒性に関する無毒性量および無影響量)

親動物および児動物とも, いずれの検査においても被験物質に起因する変化は認められなかったことから, 無毒性量および無影響量は 1000 mg/kg/day と考えられた.

方法

1. 被験物質

Hydrazine, 1,2-bis(2-chlorophenyl)- (ロット ES-52066, 純度 99.98%) は水に難溶、エチルアルコール、エーテルに可溶性な黄色粉末である。被験物質は室温、遮光、窒素封入にて保存し、試験期間中安定であることを確認した。

投与液の調製は、被験物質を所定重量秤量し、乳鉢にて粉碎した。その後、100 mg/mL の濃度になるように媒体 (0.1 w/v% Tween 80 添加 0.5 w/v% CMC-Na 水溶液) を加えて懸濁させた。4 および 20 mg/mL 投与液については、100 mg/mL 投与液を媒体で段階希釈し調製した。

投与液中の被験物質の安定性分析を投与開始前に実施し、調製後 8 日間安定であることを確認した。投与液は投与に供するまで冷蔵・遮光・窒素封入条件下で保存し、調製後 8 日以内に使用した。また、投与開始前に投与液中の被験物質濃度が設定濃度 \pm 10%以内、C.V.値が 10%以内 (上層, 中層, 下層) であることを確認した。

2. 試験動物

日本チャールス・リバー(株) (厚木生産所) から入手した雌雄の SD 系ラット (CrI:CD(SD), SPF) を 5 日間検疫・馴化した。その後も馴化を継続し、一般状態に異常のない動物を試験に供した。投与開始前日に体重層別化無作為抽出法により、1 群あたり雌雄各 12 匹に振り分けた。さらに、雌サテライト動物 (回復動物) として対照群および 1000 mg/kg 群に各 5 匹の雌を追加した。

投与開始時の週齢は雌雄とも 9 週齢、体重範囲は雄が 284~341 g, 雌が 207~246 g であった。

検疫・馴化期間を含む全飼育期間を通じて、温度 22 \pm 3 $^{\circ}$ C, 相対湿度 55 \pm 20%, 換気約 6~20 回/時, 照明 12 時間/日 (7:00-19:00) に自動調節した飼育室を使用した。

飼育には、妊娠・哺育期間を除く期間はステンレス製つり下げ式金網製ケージを、妊娠・哺育期間は実験動物用床敷 (ベータチップ: 日本チャールス・リバー(株)) を敷いたポリカーボネート製ケージを使用した。交配期間は雌雄各 1 匹, 哺育期間は 1 腹, 検疫・馴化期間を含むその他の期間は 1 匹ずつ収容した。動物には、放射線滅菌した実験動物用固型飼料 (CRF-1: オリエンタル酵母工業(株)) と、5 μ m のフィルター濾過後、紫外線照射した水道水を自由に摂取させた。

3. 投与量および投与方法

投与用量は 14 日間反復投与毒性試験の結果を参考に決定した。すなわち被験物質を 0, 40, 200 および 1000 mg/kg の用量で、雌雄各 3 匹/群の SD 系ラットに 14 日間反復経口投与した。

その結果、1000 mg/kg 群の雌雄で肝臓の腫大がみられ、肝臓相対重量の高値あるいは高値傾向が認められた。また、1000 mg/kg 群の雄で副腎の絶対重量の低値がみられ、相対重量においても低値傾向が認められた。その

他、40 mg/kg 以上の群の雄で PT, 1000 mg/kg 群の雄で APTT の延長傾向が認められた。

これらの結果から、本試験では明確な毒性発現が予想される 1000 mg/kg を高用量に設定し、以下公比 5 で中用量は 200 mg/kg, 低用量は 40 mg/kg の 3 用量を設定した。また、媒体のみを投与する対照群を設けた。

投与経路は経口とした。投与期間は雄で交配前 14 日間および交配期間を経て剖検前日までの計 42 日間、雌は交配前 14 日間、交配期間、妊娠期間および分娩を経て哺育 4 日までの計 42~55 日間とした。なお、雌サテライト動物の交配は行わず雄と同様に 42 日間投与した。また、対照群と 1000 mg/kg 群の雄各 5 匹および同群の雌サテライト動物各 5 匹は、投与期間終了後 14 日間の回復期間を設けた。

投与の際はラット用胃ゾンデを用いて 1 日 1 回、8:00-13:00 の間に強制経口投与した。投与液量は 10 mL/kg とし、至近日に測定した体重に基づいて算出した。

4. 反復投与毒性に関する観察・検査項目

下記の項目を検査した。日の表記は、雄および雌サテライト動物は投与開始日を第 1 日, 第 1~7 日を第 1 週, 第 43 日以降を回復期間とした。また、雌試験動物は投与開始日を交配前 0 日, 交尾成立日を妊娠 0 日, 分娩完了日を哺育 0 日とした。

1) 一般状態

全例について、生死、外観、行動等を投与前および投与後に毎日観察した。回復動物は 1 日 1 回午前中に観察した。

2) 行動検査

雌雄全例について、詳細な症状観察 (ホームケージ内、ハンドリング時、オープンフィールド内での観察) を、投与開始前日に 1 回、投与期間中は 1 回/週、いずれも午後に行った。雄は動物番号の小さい順に 5 例、雌は分娩日が早く動物番号の小さい順に 5 例を選抜し、機能検査 (刺激に対する反応性、握力) および自発運動量の測定を投与第 6 週の午後 1 回行った。握力はデジタルフォースゲージ (DPS-5: 株イマダ), 自発運動量は SUPERMEX (室町機械(株)) を用いて測定した。なお、行動検査に関しブラインド検査は行わなかった。

投与期間中の検査において、詳細な症状観察、機能検査および自発運動量の測定に被験物質に起因する変化は認められなかったため、回復期間中の検査は実施しなかった。

3) 体重および摂餌量

体重は雄では第 1, 8, 15, 22, 29, 36, 42 および 43 日、さらに回復動物では第 50 および 56 日に測定した。雌では交配前 0, 7 および 14 日, 交尾した雌は妊娠 0, 7, 14 および 20 日, 分娩した雌は哺育 0 および 4 日に測定した。雌サテライト動物は雄と同様の頻度で測定した。摂餌量は雄では第 1~8, 8~15, 22~29, 29~36,

36～40, 43～50 日および 50～54 日, 雌および雌サテライト動物は体重測定と同じ頻度で測定し, 各測定日間の 1 匹あたりの 1 日平均摂取量を算出した。

4) 血液学検査

雄では第 42 日, 雄回復動物および雌サテライト動物では第 56 日, 雌では哺育 4 日に全生存動物を 16 時間以上絶食させた。測定対象動物(採血動物)は, 雄は動物番号の小さい順に 5 例, 雄回復動物および雌サテライト動物は全例, 雌は分娩日が早く動物番号の小さい順に 5 例とした。これらの動物は, ペントバルビタールナトリウムの腹腔内投与による麻酔下で, 後大静脈より採血した。採取した血液を用いて以下に示す項目を測定した。

EDTA-2K により抗凝固処理し, 赤血球数(シースフローDC 検出法), ヘモグロビン濃度(SLS-ヘモグロビン法), ヘマトクリット値(赤血球パルス波高値検出法), 網赤血球数(半導体レーザーを使用したフローサイトメトリー法), 血小板数(シースフローDC 検出法), 白血球数(半導体レーザーを使用したフローサイトメトリー法), 白血球百分率(半導体レーザーを使用したフローサイトメトリー法)については多項目自動血球分析装置(XT-2000iV: シスメックス株)を用いて測定した。また, 検査結果から平均赤血球容積(MCV), 平均赤血球色素量(MCH), 平均赤血球色素濃度(MCHC)を算出した。血液の一部を 3.2 w/v%クエン酸三ナトリウム水溶液で抗凝固処理し, 遠心分離して得られた血漿から, プロトロンビン時間(PT)および活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)(光散乱検出方式)については血液凝固自動分析装置(CA-510: シスメックス株)を用いて測定した。

5) 血液生化学検査

計画解剖日に採取した血液の一部を室温・遮光下で約 30 分間静置後遠心分離し, 得られた血清を用いて以下の項目を測定した。

ASAT および ALAT(UV-rate 法(JSCC 改良法)), γ GT(L- γ -グルタミル-3-カルボキシ-4-ニトロアニリド基質法(JSCC 改良法)), ALP(p-ニトロフェニルリン酸基質法(JSCC 改良法)), 総ビリルビン(酵素法(BOD 法)), 尿素窒素(酵素-UV 法(Urease-LEDH 法)), クレアチニン(酵素法(Creatininase-POD 法)), グルコース(酵素-UV 法(HK-G6PDH 法)), 総コレステロール(酵素法(CO-HMMPs 法)), トリグリセライド(酵素法(GPO-HMMPs 法, グリセリン消去法)), 総蛋白(Biuret 法), アルブミン(BCG 法), A/G 比(総蛋白およびアルブミンより算出), カルシウム(OCPC 法), 無機リン(酵素法(PNP-XOD-POD 法)), ナトリウム, カリウムおよびクロール(イオン選択電極法)について自動分析装置(TBA-200FR: 株東芝)を用いて測定した。

6) 雄の尿検査

雄について, 第 40 日の投与前に動物番号の小さい順に 5 例の新鮮尿を採取し, pH, 蛋白, グルコース, ケ

トン体, ビリルビン, 潜血およびウロビリノーゲン(試験紙法, マルティスティックス: シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティックス株)を自動尿分析器(クリニテック 500: シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティックス株)により測定した。

その結果, 被験物質に起因する変化が認められなかったため, 尿沈渣, 蓄積尿を用いた検査, 回復動物の検査は行わなかった。

7) 病理学検査

雌雄全例について, 解剖日にペントバルビタールナトリウムの腹腔内投与による麻酔下で, 腹大動脈の切断・放血により安楽死させて解剖した。

計画解剖動物のうち, 血液学検査の対象動物と同じ雌雄 5 匹(回復・サテライト動物は全例)の脳, 心臓, 肝臓, 腎臓, 副腎, 胸腺, 脾臓, 精巣および精巣上体の重量を測定した。精巣および精巣上体については生殖発生毒性の鋭敏な指標と考えられることから全例について測定した。また, 解剖日の体重を基に相対重量(対体重比)を算出した。

さらに雌雄全例については上記の器官に加えて, 下垂体, リンパ節(下顎・腸間膜), 気管, 肺, 胃, 腸管(十二指腸, 空腸, 回腸, 盲腸, 結腸, 直腸), 甲状腺・上皮小体, 膀胱, 精のう, 前立腺腹葉, 卵巣, 子宮, 膣, 骨髄(右側大腿骨), 坐骨神経(右側), 脊髄および肉眼的異常部位を採取し, 10 vol%中性リン酸緩衝ホルマリン液で固定して保存した。ただし, 精巣および精巣上体はブアン液で固定後, 保存した。

病理組織学検査は, 対照群と 1000 mg/kg 群のうち, 雄試験動物は動物番号の小さい順に 5 例, 雌試験動物は分娩日が早く動物番号の小さい順に 5 例の上記器官・組織ならびに交尾は確認されたが非妊娠だった雌 2 例の卵巣および対照群を含む全動物の肉眼的異常部位について常法に従ってヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製し, 鏡検した。

その結果, 投与期間終了後解剖動物において, 被験物質に起因する変化が 1000 mg/kg 群の雌の肝臓および脾臓で認められたため, 40 および 200 mg/kg 群の上記と同様の基準で選択した各 5 例ならびに雌サテライト動物全例の肝臓および脾臓について追加検査を実施した。

5. 生殖発生毒性に関する観察・検査

1) 生殖機能検査

投与開始日から交配開始日まで雌の腔垢を毎日午前中に採取, 性周期を検査し, 平均性周期日数および異常性周期動物の発現率を算出した。

交配前の投与期間終了後, 各群内で雄 1 雌 1 の交配対を設け, 投与開始後 14 日(交配開始日)の 16:00 頃から最長 14 日間昼夜同居させた。交尾確認は毎日午前中に行い, 腔栓形成あるいは腔栓標本中に精子が認められた場合を交尾成立とし, その日を妊娠 0 日とした。交配した対は雌雄を分離し, 以後の検査に供した。

これらの結果から, 交尾所要日数(交配開始後, 交尾

成立までに要した日数)、交尾を逸した発情期の回数、交尾率(%)[(交尾動物数/同居動物数)×100]、受胎率(%)[(受胎動物数/交尾動物数)×100]を算出した。

2) 分娩・哺育状態

交尾が確認された雌は全例を自然分娩させ、分娩状態を観察した。午前9時の時点で分娩が完了している動物を当該日分娩とし、その日を哺育0日とした。なお、午後4時の時点で分娩が完了した動物は翌日に哺育0日の観察を行った。分娩した動物は新生児を生後4日(哺育4日)まで哺育させ、授乳、営巣、食殺の有無等の哺育状態を毎日観察した。母動物は剖検時に卵巣および子宮を摘出し、黄体数および着床数を検査した。

これらの結果から、妊娠期間(妊娠0日から分娩完了日までの期間)、出産率(%)[(生児出産雌数/受胎雌数)×100]、着床率(%)[(着床数/黄体数)×100]、分娩率(%)[(総出産児数/着床数)×100]を算出した。

3) 新生児の観察・検査

(1) 新生児の観察

哺育0日に出産児数(出生児数、死産児数)、性別および外表異常の有無を検査した。その後は、一般状態、死亡の有無を哺育4日まで毎日観察した。

哺育0および4日の生存児数から出生率(%)[(出生児数/総出産児数)×100]、新生児の4日生存率(%)[(哺育4日生存児数/出生児数)×100]を算出した。

(2) 体重

生後0および4日に全生存児を個体ごとに測定した。

(3) 剖検

生後4日に全生存児の口腔を含む外表を検査した後、親動物と同様に安楽死させ、剖検した。死亡児については剖検し、10 vol%中性リン酸緩衝ホルマリン液に浸漬・固定し、保存した。ただし、食殺で検査に耐えられない死亡児を除いた。

6. 統計解析

計量データについて、パラメトリックデータはBartlett法による等分散性の検定を行い、分散が等しい場合は一元配置分散分析を行った。分散が等しくない場合およびノンパラメトリックデータはKruskal-Wallisの検定を行った。群間に有意差が認められた場合はDunnnett法またはDunnnett型の多重比較を行った。計数データのうち尿検査はKruskal-Wallisの検定を行い、有意差が認められた場合はDunnnett型の多重比較を、病理組織所見はWilcoxonの順位和検定で対照群との2群間比較を行った。その他の計数データはFisherの直接確率法により検定した。回復動物の2群間(対照群と1000 mg/kg群)の計量データはF検定により等分散性の検定を行い、分散が等しい場合はStudentのt検定、分散が等しくない場合はAspin-Welchのt検定を行った。計数データはWilcoxonの順位和検定で対照群との2群

間比較を行った。各検定の有意水準は5%とした。新生児に関するデータは各母動物ごとに算出した平均値を標本単位とした。

結果

1. 反復投与毒性

1) 一般状態

投与および回復期間を通して、雌雄ともいずれの動物にも異常は認められなかった。

2) 行動検査

被験物質に起因する変化は認められなかった。

自発運動量測定において、1000 mg/kg群の雌で0-40分間および総運動量の減少傾向がみられた。しかし、正常な運動パターンを示していること、一般状態観察および行動検査において異常は認められていないことから、毒性学的意義のない変化と判断した。

詳細な症状観察では、雌雄ともいずれの群においてもホームケージ内、ハンドリング時およびオープンフィールド内での観察に異常は認められなかった。また、機能検査でも刺激に対する反応性は雌雄ともいずれの群においても同等であり異常は認められず、握力測定においても有意な変化は認められなかった。

3) 体重 (Figure 1-3)

1000 mg/kg群の雄で第42日に体重の低値傾向が認められた。投与期間中の体重増加量は第36日までは対照群と同程度であったが、第42日には若干低値を示した。回復期間中にも体重は低値傾向を示したが、体重増加量は対照群と同程度か若干下回る程度で推移した。同群の雌では、投与および回復期間を通して、対照群との間に有意な差は認められなかった。

体重の低値傾向は40 mg/kg群の雄でも第22日以降にみられた。しかし、用量との相関が認められないこと、体重増加量は対照群と同程度の値であったことから偶発的变化と判断した。

4) 摂餌量 (Figure 4-6)

投与および回復期間を通して、雌雄とも有意な変化は認められなかった。

5) 血液学検査 (Table 1)

200 mg/kg群の雄および1000 mg/kg群の雌雄でヘモグロビン濃度の低値あるいは低値傾向、1000 mg/kg群の雌雄で網赤血球数の高値傾向が認められた。

40 mg/kg群の雄2例でも網赤血球数は高値を示したが、200 mg/kg群では同様の変化がなく、その他の検査項目にも変化が認められないことから、偶発的变化と判断した。また、40 mg/kg群の雌1例でも赤血球数の低値ならびに血小板数および網赤血球数の高値がみられた。本例には脾臓に赤血球系髄外造血の軽度の亢進がみられ、脾臓重量は高値を示した。脾臓における髄外造血

の亢進は 1000 mg/kg 群の雌でも認められているが、200 mg/kg 群では同様の変化はなく、用量との相関が認められないことから、偶発的变化と判断した。

その他、40 mg/kg 以上の群の雄で PT の延長傾向、200 および 1000 mg/kg 群の雌で APTT の短縮がみられた。また、200 mg/kg 群の雄でヘマトクリット値の低値がみられた。PT については、試験施設の背景データと比較した結果、40 mg/kg 以上の群で各 1 例が背景データの平均値+2 S.D.近辺の値を示したが、その他の 4 例についてはいずれも背景データの平均値±2 S.D.の範囲内であったことから毒性学的意義のない変化と判断した。APTT については、通常毒性学的に問題となる延長とは反対の変化であること、ヘマトクリット値については用量との相関が認められないことから、いずれも偶発的变化と判断した。

回復期間終了後の検査でも、1000 mg/kg 群の雄で PT の延長がみられた。しかし、試験施設の背景データと比較した結果、全例が背景データの平均値±2 S.D.の範囲内であり、病理学的にも関連する変化が認められないことから偶発的变化と判断した。

6) 血液生化学検査 (Table 2)

1000 mg/kg 群の雌雄で総コレステロールの高値傾向が認められた。また、1000 mg/kg 群の雌で総ビリルビンの高値が認められた。

その他、200 および 1000 mg/kg 群の雄で ASAT および ALAT の低値傾向、40 mg/kg 以上の群の雄でクロールの高値、40 および 200 mg/kg 群の雌でトリグリセライドの低値がみられた。しかし、ASAT および ALAT については通常毒性学的に問題となる高値とは反対の変化であること、クロールについては対照群と比較し軽微な変化であり、その他の関連する検査項目にも変化が認められないことから、毒性学的意義のない変化と判断した。また、トリグリセライドについては、用量との相関が認められないことから、偶発的变化と判断した。

回復期間終了後の検査では、1000 mg/kg 群の雌で総コレステロールの高値が認められた。

その他、偶発的变化として、1000 mg/kg 群の雄で ASAT および ALAT の高値傾向あるいは高値がみられた。これらの変化については、投与期間終了時に同様の変化は認められず、病理学検査においても関連する変化は認められなかった。

7) 雄の尿検査

尿定性検査において、いずれの検査項目にも有意な変化は認められなかった。

8) 器官重量 (Table 3)

肝臓において、200 および 1000 mg/kg 群の雄で相対重量の高値、1000 mg/kg 群の雌で絶対および相対重量の高値が認められた。また、脾臓において、1000 mg/kg 群の雌で絶対および相対重量の高値傾向が認められた。その他、腎臓において、1000 mg/kg 群の雌で相対重量

の高値傾向が認められた。

40 mg/kg 群の雌でも脾臓の絶対および相対重量の高値傾向がみられた。しかし、本変化については、前述した血液学検査で異常値のみられた 1 例が高値を示したためであり、偶発的变化と判断した。その他、腎臓において、1000 mg/kg 群の雌で相対重量の高値傾向が認められた。

回復期間終了後の検査では、相対重量において、1000 mg/kg 群の雄で脳、心臓および腎臓の高値がみられた。しかし、同群の雄では最終体重の低値傾向が認められていることから、これらはいずれも体重の低値に起因した変化と判断した。また、1000 mg/kg 群の雄で精巣上体の高値がみられた。しかし、投与期間終了時には同様の変化が認められないこと、試験施設の背景データと比較した結果、1 例が高値を示したが他の 4 例はいずれも背景データの平均値±2 S.D.の範囲内であったことから、偶発的变化と判断した。

9) 剖検所見

被験物質に起因する変化は認められなかった。

計画解剖動物では、1000 mg/kg 群において、投与期間終了後解剖動物の雌 1 例で左卵巣に卵巣嚢水腫がみられた。しかし、その発現頻度から偶発的变化と判断した。また、回復期間終了後解剖動物の雄 1 例で盲腸粘膜に暗赤色斑がみられたが、後述の通り毒性学的意義のない変化と判断した。

未交尾動物 2 例には、異常所見は認められなかった。

交尾は確認されたが非妊娠だった雌 2 例にも、異常所見は認められなかった。また、それらの交配相手雄 2 例にも異常は認められなかった。

10) 病理組織所見 (Table 4)

被験物質に起因する変化が 1000 mg/kg 群の雌の肝臓および脾臓で認められた。

投与期間終了後解剖動物では、1000 mg/kg 群の雌 4 例で小葉中心性の軽微な肝細胞肥大が認められ、細胞質はすり硝子状であった。また、同群の雌 2 例の脾臓で赤血球系髓外造血の軽微な亢進が認められた。これらの変化は回復期間終了後には認められなかった。

40 mg/kg 群の雌 1 例でも脾臓で赤血球系髓外造血の軽度の亢進がみられたが、妊娠、出産による影響であり [3]、毒性学的意義のない変化と判断した。

交尾は確認されたが非妊娠だった雌 2 例の卵巣には、組織学的変化は認められなかった。

その他、種々の組織変化が投与および回復期間終了後の対照群を含む各群の動物でみられた。しかし、それらはラットでは非特異的に発現する変化であり、被験物質とは関連のない変化と判断した。なお、剖検で肉眼的変化のみられた 1000 mg/kg 群の雄 1 例の盲腸粘膜の暗赤色斑は、出血を伴う粘膜の糜爛であった。本変化は解剖時、麻酔液の腹腔内投与の際に、針先で盲腸を傷つけたためと判断した。また、1000 mg/kg 群の雌 1 例の左卵巣にみられた卵巣嚢水腫は、嚢胞性卵巣嚢であった。

2. 生殖発生毒性

1) 生殖機能 (Table 5)

被験物質に起因する変化は認められなかった。

性周期検査では、全例が4日周期を示し、平均性周期日数に変化はなく、被験物質による性周期の延長あるいは短縮は認められなかった。

交配の結果、交尾率には対照群と被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。なお、1000 mg/kg 群の1例が未交尾であったが、交配相手雄1例には病理学的に関連する異常は認められなかった。また、未交尾動物と判定していた40 mg/kg 群の1例については、交配終了後の解剖において妊娠が確認された。本動物については、交配2日目に腔栓様物がトレー上に確認され、その後は発情休止期が継続していたことから同日に妊娠したと思われる。しかし、妊娠期間中も雄と同居していたこと、妊娠期間中の投与液量の算出が他の母動物の基準と異なることから、妊娠した事実のみ（交尾率および受胎率）を結果に反映させた。

その他、交尾所要日数、交尾を逸した発情期の回数、ならびに受胎率のいずれにも対照群と被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。

2) 分娩・哺育状態 (Table 6)

被験物質に起因する変化は認められなかった。

1000 mg/kg 群で着床率の高値がみられた。しかし、通常毒性学的に問題となる低値とは反対の変化であり、対照群の着床数が1000 mg/kg と比較し若干低値を示したことから有意な差が付いたと考えられ、偶発的变化と判断した。

妊娠期間は全例が22あるいは23日であり、妊娠期間の延長は認められなかった。また、黄体数、着床数、出産率および分娩率のいずれにも対照群と被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。

分娩および哺育行動の異常はいずれの母動物にも認められなかった。

3) 新生児に及ぼす影響

(1) 新生児の観察 (Table 6)

出産児数、出生児数、性比、出生率および新生児の4日生存率のいずれにも対照群と被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。さらに、一般状態および外表検査では各投与群いずれの新生児にも被験物質に起因する異常は認められなかった。

(2) 体重 (Table 6)

出生日および生後4日の体重には対照群と被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。

(3) 剖検

死亡および生存児において、被験物質に起因する変化はいずれの児動物にも認められなかった。

1. 反復投与毒性

200 mg/kg 群の雄および1000 mg/kg 群の雌雄でヘモグロビン濃度の低値、1000 mg/kg 群の雌雄で網赤血球数の高値傾向、1000 mg/kg 群の雌の脾臓で赤血球系髄外造血の亢進、脾臓重量の高値など貧血様所見が認められた。さらに1000 mg/kg 群の雌では総ビリルビンの高値が認められたことから、溶血に起因した変化である可能性が考えられた。これらの変化は回復期間終了時にはいずれもみられず、回復性が認められた。

1000 mg/kg 群の雄では、第42日に体重の低値傾向が認められた。回復期間中にも体重は低値傾向を示したが、体重増加量は対照群と同程度か若干下回る程度で推移し、回復性が認められた。

1000 mg/kg 群の雌の肝臓で小葉中心性の肝細胞肥大、肝臓重量の高値、総コレステロールの高値が認められた。回復期間終了時にも総コレステロールは高値を示した。肝臓重量の高値は200および1000 mg/kg 群の雄、総コレステロールの高値は1000 mg/kg 群の雄でもみられたが、病理組織学検査では変化はなかった。肝細胞肥大の原因として、酵素誘導による適応性変化あるいは細胞傷害性変化が考えられるが、肝障害を示唆する肝酵素の高値がないこと、肥大した肝細胞ですり硝子状の細胞質が認められ、薬物代謝活性の亢進が示唆されること、回復性を示すことなどから、適応性変化の可能性が高いと考えられた。1000 mg/kg 群の雌で腎臓重量の高値傾向が認められたが、関連する変化はその他の検査において認められなかった。

その他、一般状態、行動検査、摂餌量、雄の尿検査および剖検所見には被験物質に起因する変化は認められなかった。

2. 生殖発生毒性

親動物では、性周期、交尾率、受胎率、分娩率、妊娠期間、黄体数、着床数、着床率、出産率、分娩状態および哺育の観察のいずれにも被験物質に起因する変化は認められなかった。

新生児では、出産児数、出生児数、性比、出生率および4日生存率、さらに一般状態、外表検査、体重および剖検のいずれにも被験物質に起因する変化は認められなかった。

HBCはヒドラジン誘導体である。ヒドラジンの28日間反復投与毒性試験では、肝臓および腎臓重量の高値、溶血性貧血が認められている[4]。また、ヒドラジンやヒドラジン誘導体のフェニルヒドラジン（ヒドラジノベンゼン）は皮膚、消化管、肺から容易に吸収され、局所刺激性、肝毒性、腎毒性、溶血作用を示すことが報告されている[5, 6]。フェニルヒドラジンはヘモグロビンおよび酸化反応におけるチトクロームP-450と反応するため破壊的フリーラジカルを生成させ、溶血の原因となること

が示唆されている。また、脾臓、肝臓、腎臓に対する毒性はおそらく溶血に伴うと考えられている[6]。本試験でも肝臓および腎臓重量の高値、溶血性貧血の可能性が考えられたが、報告されているヒドラジンやフェニルヒドラジンと投与量を基準に比較すると、その程度は軽度であった。

ヒドラジンの経口投与により、親で死亡のみられる用量では胚致死作用が認められたが奇形はなく、それ以下の用量では児動物に体重抑制、生存率の低下がみられたとされる[7]。腹腔内投与では外脳症、水腎症などが報告されている[8]。また、フェニルヒドラジンの腹腔内投与により、胎児や新生児に溶血がみられることが知られている[9]。しかし、本試験では親動物、児動物ともに生殖発生毒性は認められなかった。

3. 無毒性量および無影響量

以上の結果から、本試験条件下における反復投与毒性および生殖発生毒性に関する無毒性量および無影響量は以下のように考えられた。

(反復投与毒性に関する無毒性量および無影響量)

無毒性量は 1000 mg/kg 群の雄で体重の低値、200 mg/kg 以上の群の雄および 1000 mg/kg 群の雌でヘモグロビン濃度の低値、1000 mg/kg 群の雌雄で網赤血球数の高値、1000 mg/kg 群の雌の脾臓で赤血球系髄外造血の亢進、脾臓重量の高値など貧血様所見が認められたことから、雄は 40 mg/kg/day、雌は 200 mg/kg/day と考えられた。

無影響量は 200 mg/kg 以上の群の雄で組織変化を伴わない肝臓重量の高値が認められたこと、1000 mg/kg 群の雌で適応性の変化と考えられる小葉中心性の肝細胞肥大、肝臓重量の高値、総コレステロールの高値が認められたことから、雄は 40 mg/kg/day、雌は 200 mg/kg/day と考えられた。

(生殖発生毒性に関する無毒性量および無影響量)

親動物および児動物とも、いずれの検査においても被験物質に起因する変化は、認められなかったことから、無毒性量および無影響量は、1000 mg/kg/day と考えられた。

文献

- 1) 2,2'-ジクロロヒドロゾベンゼン。既存化学物質安全性点検データ。独立行政法人 製品評価技術基盤機構。http://www.safe.nite.go.jp/data/hazkizon/pk_kizon_data_result.home_data (アクセス: 2007 年 6 月 13 日)
- 2) 製品安全データシート (DCHoil)。セイカ株式会社。2007 年
- 3) Juan J. Bustamante, Guoli Dai, Michaei J. Soares, Pregnancy and lactation modulate maternal splenic growth and development of the erythroid

lineage in the rat and mouse. *Reproduction, Fertility and Development* 2008; 20: 303-310

- 4) ヒドラジン-水和物のラットを用いる 28 日間反復経口投与毒性試験。既存化学物質毒性データベース http://dra4.nihs.go.jp/mhlw_data/home/paper/paper7803-57-8b.html (アクセス: 2010 年 1 月 8 日)
- 5) 内藤裕史, 横手規子監訳。化学物質毒性ハンドブック V: 丸善株式会社; 1994. p. 66-75
- 6) IPCS UNEP/ILO/WHO 国際簡潔評価文書 (Concise International Chemical Assessment Document) No.19 Phenylhydrazine (2000) 世界保健機関 国際化学物質安全計画 国立医薬品食品衛生研究所安全情報部 2004
- 7) ヒドラジン-水和物のラットを用いる経口投与簡易生殖毒性試験。既存化学物質毒性データベース http://dra4.nihs.go.jp/mhlw_data/home/paper/paper7803-57-8c.html (アクセス: 2008 年 11 月 19 日)
- 8) ヒドラジン。化学物質の初期リスク評価書 Ver. 1.0 No. 73。化学物質排出把握管理促進法政令番号: 1-253, CAS 登録番号: 302-01-2。新エネルギー・産業技術総合開発機構 (委託先: 財団法人 化学物質評価研究機構, 独立行政法人 製品評価技術基盤機構)。2005 年 5 月
- 9) Phenylhydrazine. Concise International Chemical Assessment Document 19 (CICADs)。http://www.inchem.org/documents/cicads/cicads/cicad_19.htm (アクセス: 2008 年 11 月 20 日)

連絡先

三菱化学メディエンス(株) メディケム事業本部
安科研事業部 鹿島事業所
〒314-0255 茨城県神栖市砂山 14
Tel 0479-46-2871 Fax 0479-46-2874

Correspondence

Kashima Laboratory, Toxicological Science
Division, Medi-Chem Business Segment
Mitsubishi Chemical Medience Corporation
14 Sunayama, Kamisu-shi, Ibaraki, 314-0255,
Japan
Tel +81-479-46-2871 Fax+81-479-46-2874

本報告書は、平成 21 年度ハザードデータ評価委員会 (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。

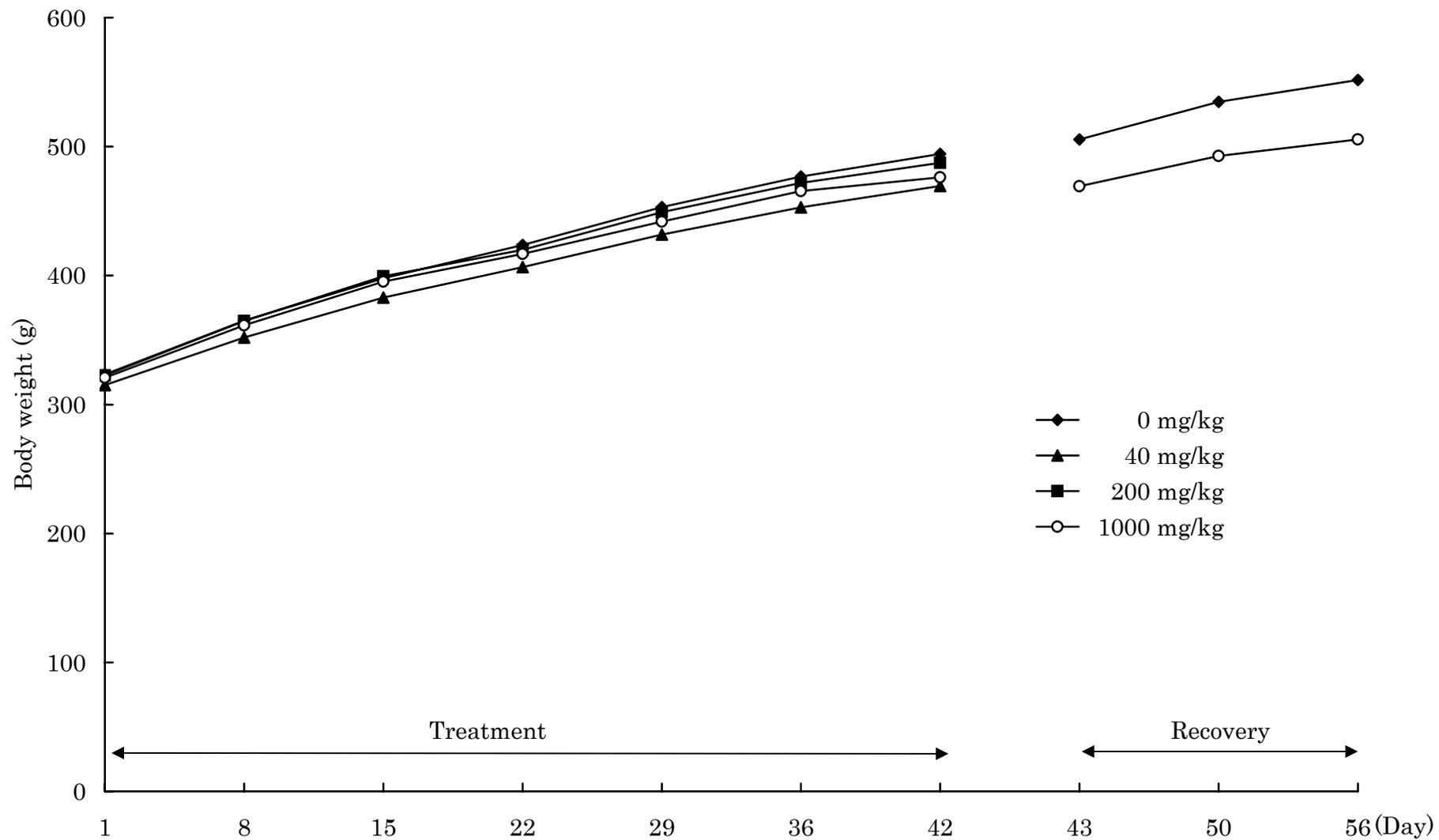


Figure 1 Body weight changes of male rats treated orally with Hydrazine, 1,2-bis(2-chlorophenyl)- in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

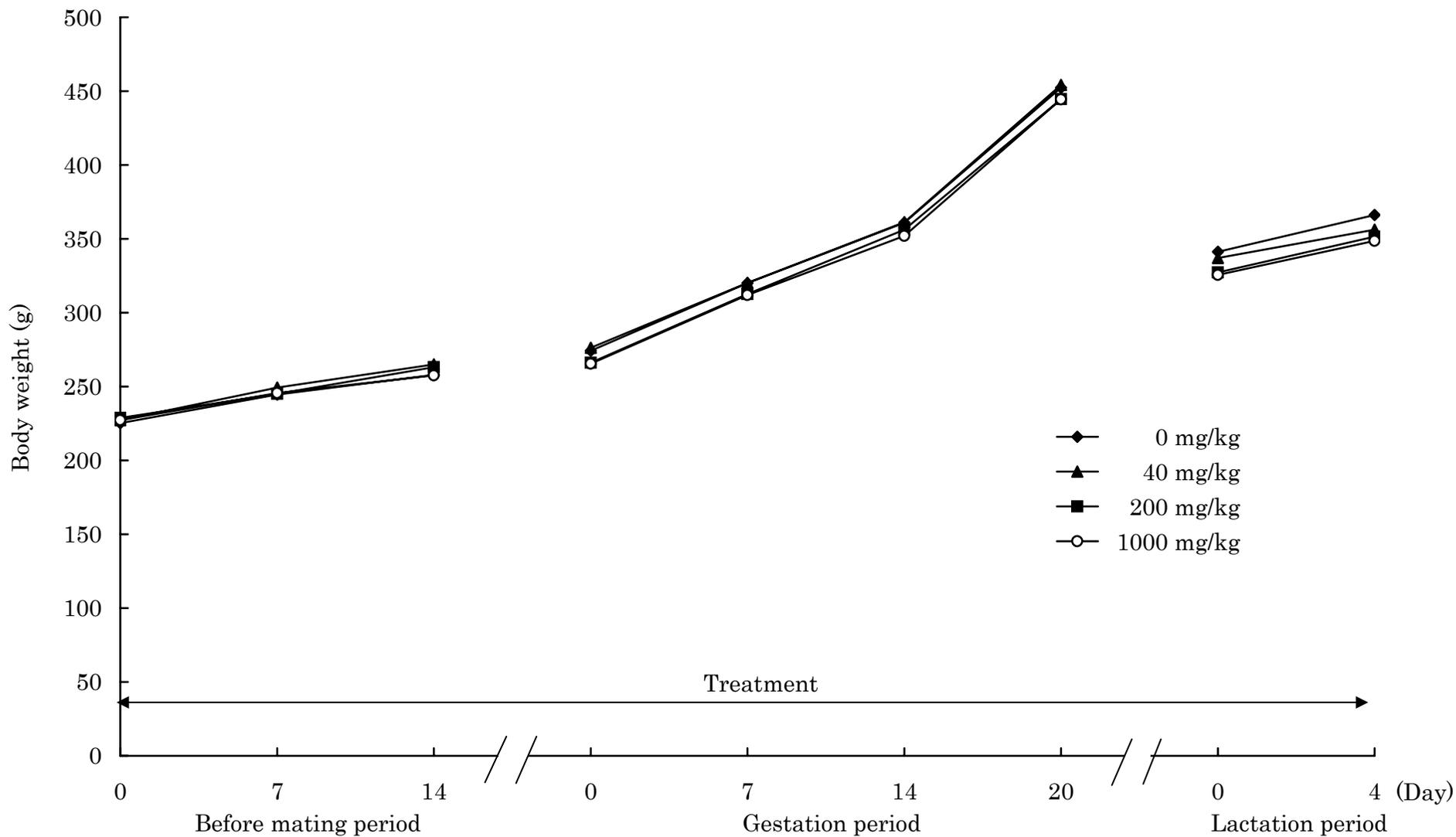


Figure 2 Body weight changes of female rats treated orally with Hydrazine, 1,2-bis(2-chlorophenyl)- in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

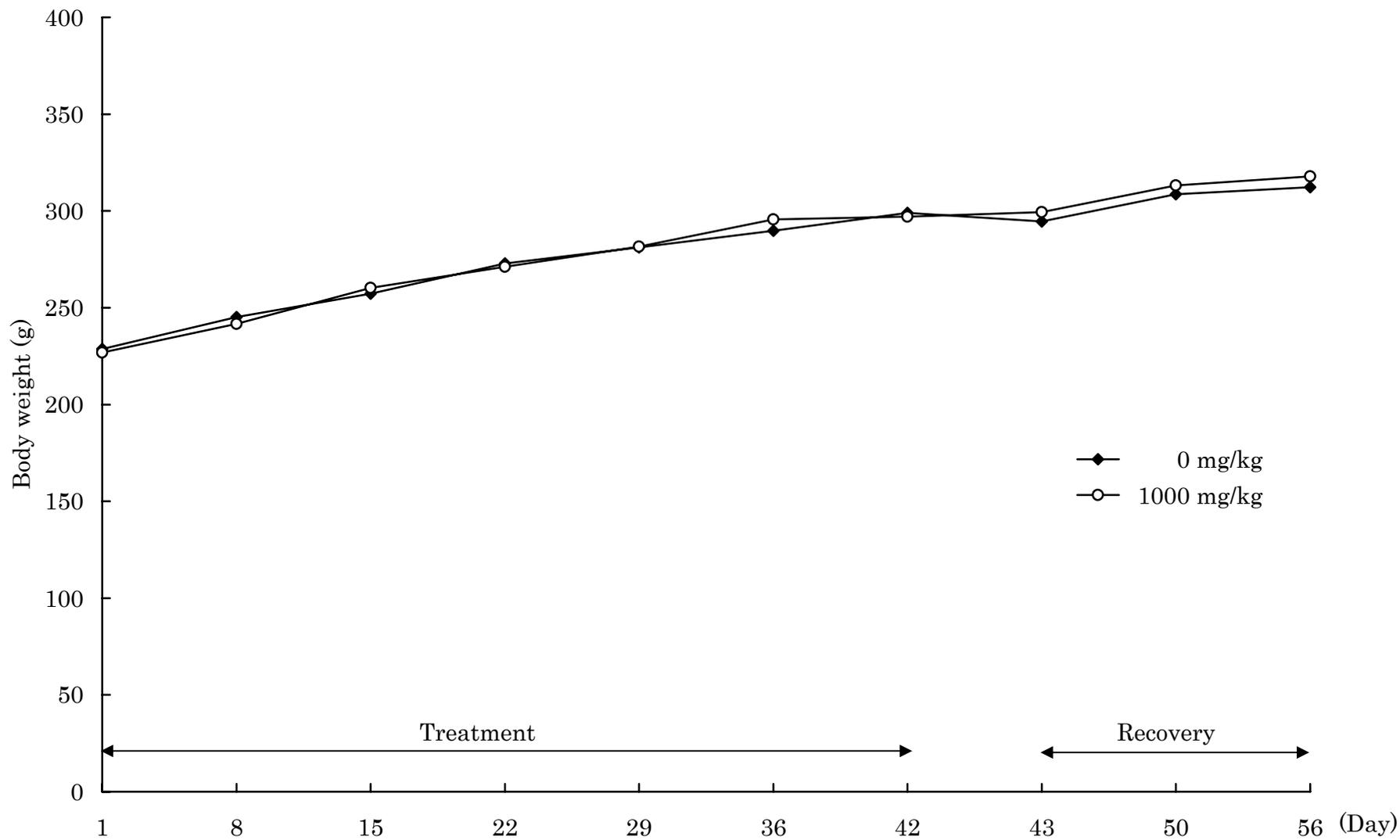


Figure 3 Body weight changes of satellite female rats treated orally with Hydrazine, 1,2-bis(2-chlorophenyl)- in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

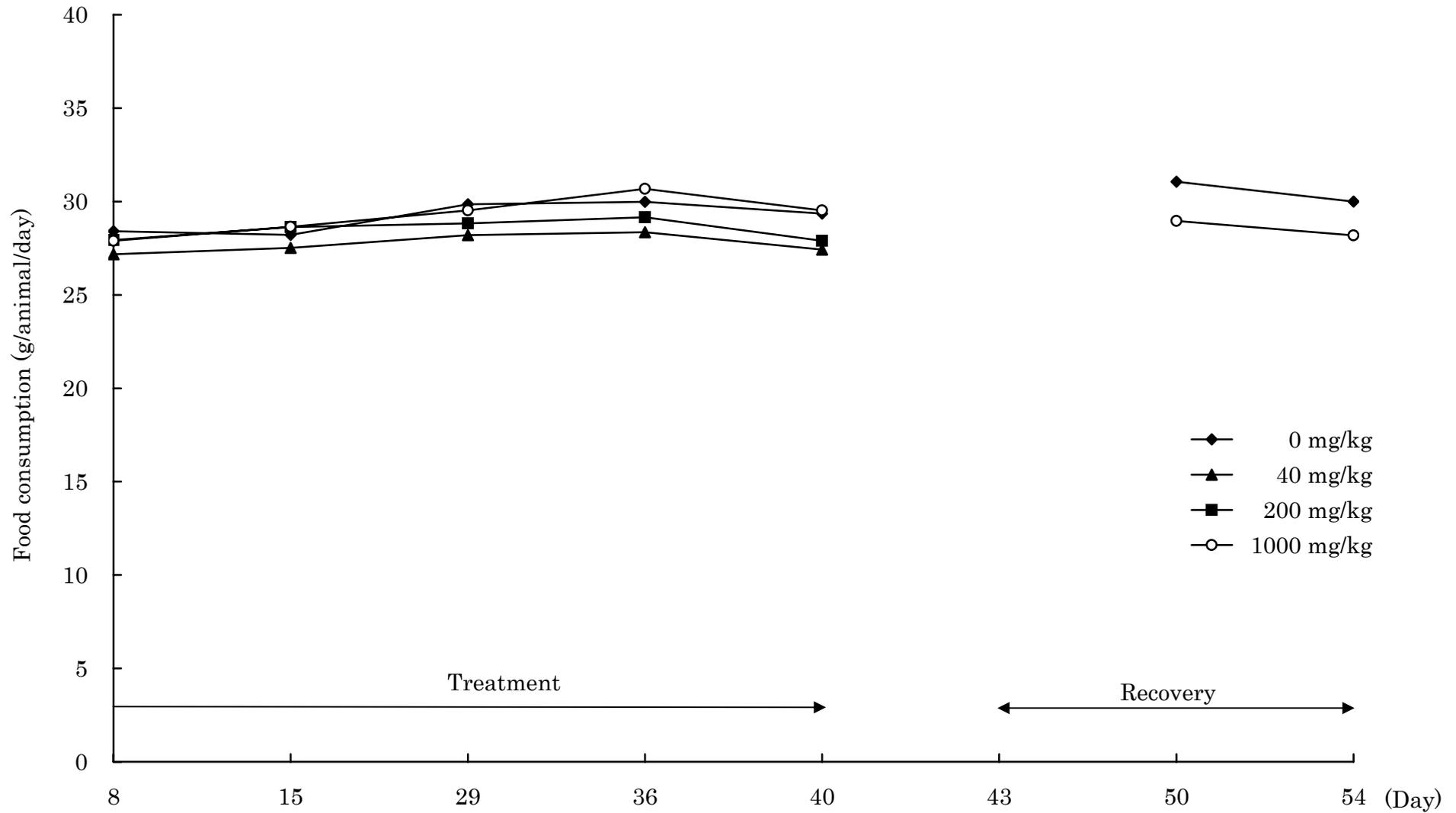


Figure 4 Food consumption of male rats treated orally with Hydrazine, 1,2-bis(2-chlorophenyl)- in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

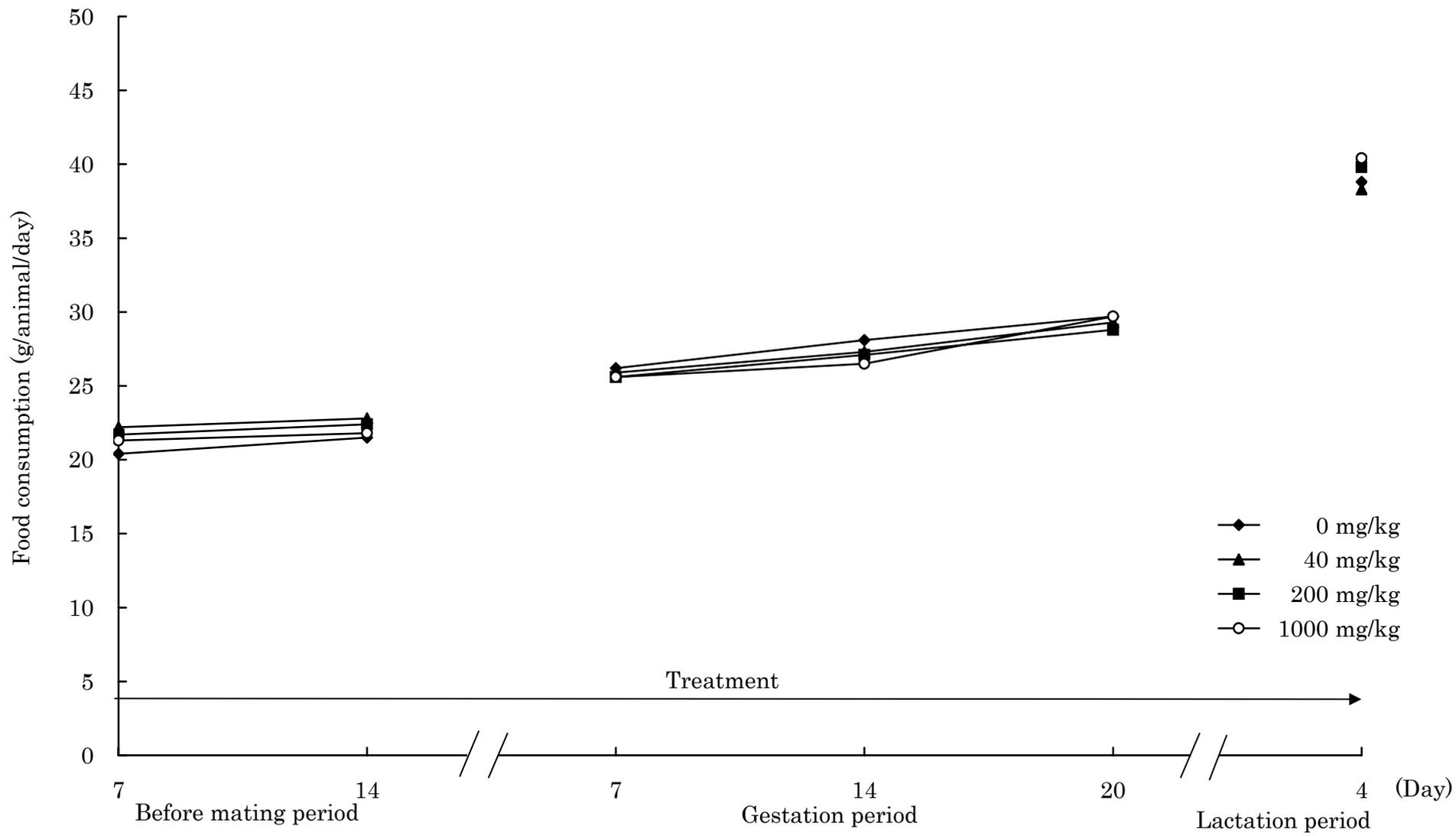


Figure 5 Food consumption of female rats treated orally with Hydrazine, 1,2-bis(2-chlorophenyl)- in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

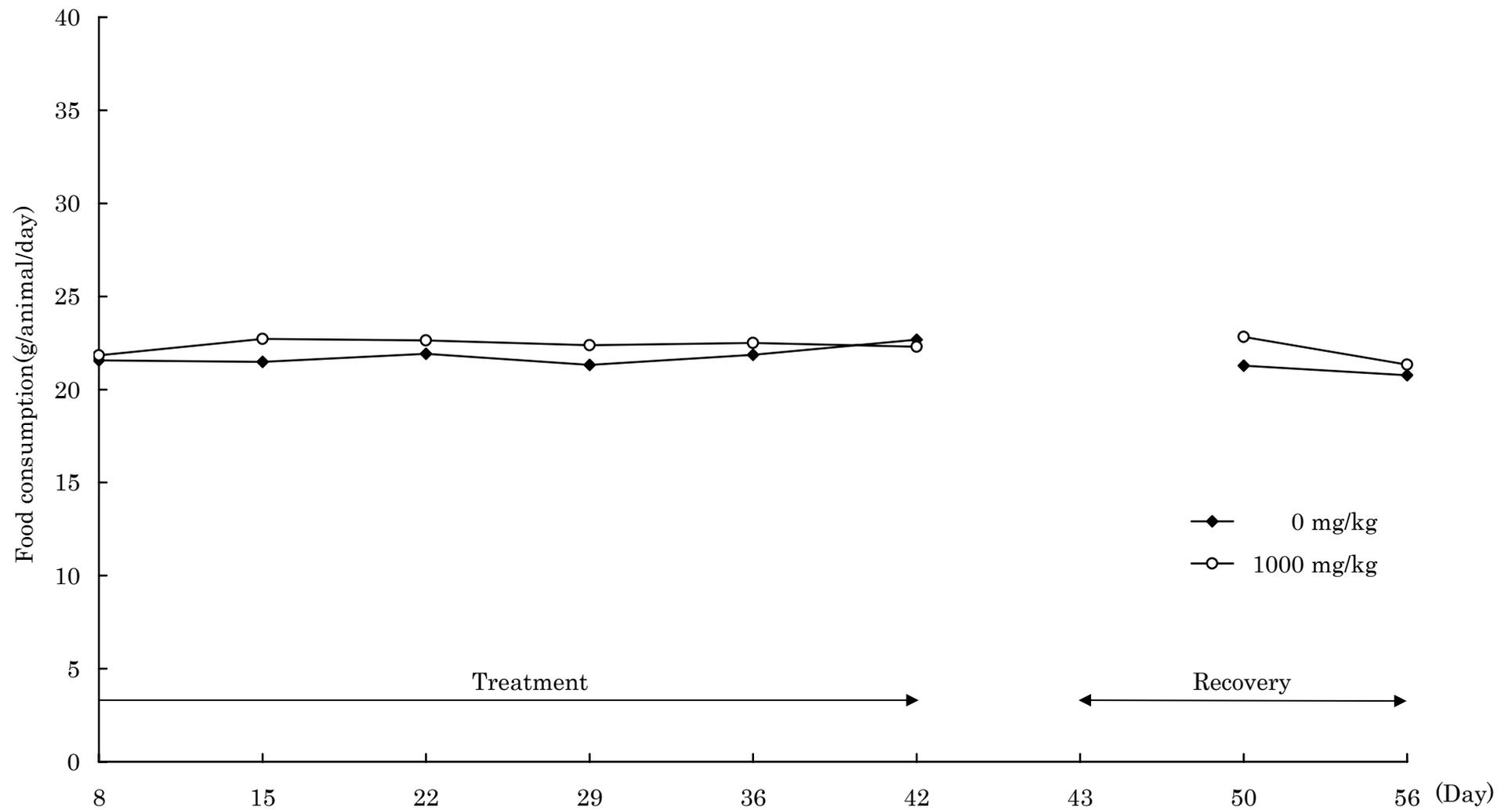


Figure 6 Food consumption of satellite female rats treated orally with Hydrazine, 1,2-bis(2-chlorophenyl)- in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Table 1 Hematological examination in rats treated orally with Hydrazine, 1,2-bis(2-chlorophenyl)- in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Sex	Dose level(mg/kg)	Administration period				Recovery period	
		0	40	200	1000	0	1000
Male							
	Number of animals	5	5	5	5	5	5
	RBC($\times 10^6/\mu\text{L}$)	9.004 \pm 0.514	8.506 \pm 0.173	8.520 \pm 0.245	8.774 \pm 0.381	8.924 \pm 0.128	9.282 \pm 0.590
	Hemoglobin(g/dL)	16.70 \pm 0.71	16.00 \pm 0.45	15.46 \pm 0.21**	15.86 \pm 0.49*	15.74 \pm 0.23	16.26 \pm 0.60
	Hematocrit(%)	47.04 \pm 1.87	44.94 \pm 1.83	43.54 \pm 0.55**	45.42 \pm 1.25	44.76 \pm 0.59	45.86 \pm 1.28
	Reticulocyte(%)	3.042 \pm 0.387	3.272 \pm 0.784	3.340 \pm 0.419	3.548 \pm 0.457	3.662 \pm 0.230	3.210 \pm 0.485
	MCV(fL)	52.34 \pm 2.72	52.84 \pm 1.86	51.14 \pm 1.55	51.84 \pm 2.74	50.16 \pm 1.05	49.52 \pm 2.33
	MCH(pg)	18.56 \pm 0.66	18.80 \pm 0.37	18.14 \pm 0.43	18.08 \pm 0.75	17.64 \pm 0.32	17.54 \pm 0.68
	MCHC(g/dL)	35.52 \pm 0.72	35.62 \pm 0.53	35.50 \pm 0.37	34.92 \pm 0.60	35.18 \pm 0.38	35.46 \pm 0.48
	Platelet($\times 10^3/\mu\text{L}$)	1082.0 \pm 97.3	968.6 \pm 115.6	1087.8 \pm 79.8	1100.0 \pm 86.1	1038.2 \pm 73.7	1105.2 \pm 75.3
	PT(sec)	18.52 \pm 1.75	22.22 \pm 4.45	22.86 \pm 4.73	23.78 \pm 5.78	20.78 \pm 2.20	25.16 \pm 3.57*
	APTT(sec)	19.94 \pm 2.54	21.42 \pm 1.13	21.04 \pm 2.35	21.84 \pm 2.98	20.46 \pm 0.99	21.74 \pm 1.81
	WBC($\times 10^3/\mu\text{L}$)	9.170 \pm 2.601	9.862 \pm 3.726	8.352 \pm 0.839	9.928 \pm 1.684	8.786 \pm 0.850	9.820 \pm 1.060
	Differential leukocyte counts (%)						
	Lymphocyte	79.48 \pm 4.42	78.36 \pm 6.73	77.32 \pm 3.30	79.56 \pm 2.85	70.70 \pm 10.83	73.04 \pm 4.94
	Neutrophil	16.28 \pm 4.51	17.60 \pm 5.44	18.88 \pm 2.45	16.78 \pm 2.86	24.44 \pm 9.97	22.30 \pm 4.64
	Eosinophil	1.42 \pm 0.44	1.28 \pm 0.45	1.20 \pm 0.33	0.98 \pm 0.11	1.34 \pm 0.18	1.38 \pm 0.49
	Basophil	0.04 \pm 0.05	0.04 \pm 0.05	0.00 \pm 0.00	0.06 \pm 0.05	0.02 \pm 0.04	0.00 \pm 0.00
	Monocyte	2.78 \pm 0.45	2.72 \pm 1.03	2.60 \pm 0.71	2.62 \pm 0.68	3.50 \pm 1.21	3.28 \pm 1.00
Female							
	Number of animals	5	5	5	5	5	5
	RBC($\times 10^6/\mu\text{L}$)	7.160 \pm 0.480	6.706 \pm 0.821	6.868 \pm 0.386	6.650 \pm 0.622	8.354 \pm 0.409	8.048 \pm 0.319
	Hemoglobin(g/dL)	14.12 \pm 0.81	13.64 \pm 0.78	13.62 \pm 0.41	13.34 \pm 0.77	15.84 \pm 0.63	15.12 \pm 0.51
	Hematocrit(%)	40.84 \pm 2.44	40.12 \pm 1.44	39.72 \pm 1.31	39.94 \pm 1.71	44.42 \pm 1.33	42.26 \pm 1.34*
	Reticulocyte(%)	7.122 \pm 1.541	10.322 \pm 7.933	8.094 \pm 1.735	10.246 \pm 2.588	2.712 \pm 0.698	3.136 \pm 1.004
	MCV(fL)	57.12 \pm 2.60	60.58 \pm 8.12	57.92 \pm 2.44	60.42 \pm 5.02	53.20 \pm 1.38	52.54 \pm 1.50
	MCH(pg)	19.74 \pm 0.72	20.50 \pm 1.80	19.86 \pm 0.79	20.14 \pm 1.19	18.96 \pm 0.45	18.80 \pm 0.50
	MCHC(g/dL)	34.56 \pm 0.36	33.98 \pm 1.43	34.30 \pm 0.35	33.38 \pm 0.91	35.66 \pm 0.57	35.78 \pm 0.49
	Platelet($\times 10^3/\mu\text{L}$)	1126.4 \pm 127.9	1349.2 \pm 227.9	1119.6 \pm 130.8	1137.4 \pm 115.6	1046.4 \pm 134.5	1156.4 \pm 167.8
	PT(sec)	17.92 \pm 1.03	18.04 \pm 0.87	18.04 \pm 0.48	17.64 \pm 0.74	15.66 \pm 0.71	15.42 \pm 0.59
	APTT(sec)	15.66 \pm 0.36	14.26 \pm 0.98	13.68 \pm 1.41*	13.24 \pm 1.13**	15.00 \pm 1.44	14.68 \pm 0.74
	WBC($\times 10^3/\mu\text{L}$)	9.642 \pm 1.084	10.674 \pm 1.094	10.244 \pm 2.610	10.672 \pm 1.632	7.762 \pm 1.642	7.604 \pm 1.627
	Differential leukocyte counts (%)						
	Lymphocyte	64.74 \pm 9.26	71.24 \pm 9.94	66.68 \pm 7.98	69.90 \pm 6.90	82.40 \pm 8.66	83.38 \pm 3.45
	Neutrophil	29.70 \pm 8.80	24.22 \pm 8.86	29.02 \pm 7.78	25.06 \pm 6.57	14.00 \pm 7.33	13.30 \pm 3.77
	Eosinophil	0.96 \pm 0.33	0.96 \pm 0.42	0.80 \pm 0.28	0.62 \pm 0.37	0.92 \pm 0.22	1.06 \pm 0.15
	Basophil	0.06 \pm 0.05	0.08 \pm 0.04	0.06 \pm 0.05	0.00 \pm 0.00	0.02 \pm 0.04	0.02 \pm 0.04
	Monocyte	4.54 \pm 0.72	3.50 \pm 0.86	3.44 \pm 0.71	4.42 \pm 1.11	2.66 \pm 1.42	2.24 \pm 1.03

Values are expressed as Mean \pm S.D.

Significantly different from 0 mg/kg group; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

Table 2 Blood chemical examination in rats treated orally with Hydrazine, 1,2-bis(2-chlorophenyl)- in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Sex	Dose level(mg/kg)	Administration period				Recovery period	
		0	40	200	1000	0	1000
Male							
	Number of animals	5	5	5	5	5	5
	ASAT(U/L)	116.0 ± 29.3	105.4 ± 19.0	96.6 ± 11.1	82.8 ± 11.9	106.4 ± 15.8	133.4 ± 25.0
	ALAT(U/L)	31.0 ± 11.4	28.6 ± 4.4	25.4 ± 2.1	23.2 ± 1.6	23.0 ± 2.5	32.6 ± 4.2**
	γ GT(U/L)	0.8 ± 0.4	0.8 ± 0.4	1.0 ± 0.0	1.2 ± 0.4	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0
	ALP(U/L)	376.4 ± 29.7	427.2 ± 69.8	363.4 ± 63.2	383.6 ± 45.6	310.8 ± 34.2	340.4 ± 59.2
	Total bilirubin(mg/dL)	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	Urea nitrogen(mg/dL)	12.10 ± 1.04	13.42 ± 0.88	12.80 ± 0.73	12.88 ± 0.52	13.34 ± 1.42	13.40 ± 1.57
	Creatinine(mg/dL)	0.30 ± 0.00	0.28 ± 0.04	0.30 ± 0.00	0.30 ± 0.00	0.30 ± 0.00	0.30 ± 0.00
	Glucose(mg/dL)	119.8 ± 4.0	125.8 ± 6.0	131.0 ± 12.7	125.4 ± 4.8	125.4 ± 14.0	122.2 ± 15.8
	Total chol.(mg/dL)	60.0 ± 4.5	68.8 ± 5.1	69.0 ± 5.3	82.0 ± 21.7	51.4 ± 8.7	51.6 ± 7.9
	Triglyceride(mg/dL)	23.2 ± 7.7	24.4 ± 10.6	23.0 ± 13.7	21.6 ± 10.3	33.6 ± 10.0	33.8 ± 6.6
	Total protein(g/dL)	6.88 ± 0.35	6.74 ± 0.33	6.88 ± 0.28	7.08 ± 0.38	6.62 ± 0.04	6.58 ± 0.24
	Albumin(g/dL)	2.96 ± 0.13	2.96 ± 0.05	2.98 ± 0.04	3.04 ± 0.11	2.96 ± 0.09	2.96 ± 0.15
	A/G ratio	0.748 ± 0.039	0.786 ± 0.057	0.770 ± 0.057	0.750 ± 0.044	0.796 ± 0.035	0.830 ± 0.024
	Calcium(mg/dL)	10.12 ± 0.37	9.78 ± 0.40	9.96 ± 0.13	10.30 ± 0.22	9.92 ± 0.22	9.56 ± 0.32
	Inorganic phos.(mg/dL)	8.08 ± 0.59	7.82 ± 0.39	7.56 ± 0.48	8.08 ± 0.23	7.18 ± 0.44	7.30 ± 0.80
	Na(mmol/L)	149.4 ± 1.5	149.2 ± 1.5	150.2 ± 1.3	150.6 ± 0.5	147.6 ± 0.5	148.4 ± 1.1
	K(mmol/L)	4.60 ± 0.07	4.44 ± 0.24	4.48 ± 0.13	4.40 ± 0.33	4.44 ± 0.21	4.52 ± 0.19
	Cl(mmol/L)	103.0 ± 0.7	105.0 ± 1.6*	105.4 ± 1.1**	105.2 ± 0.8*	103.8 ± 1.5	104.4 ± 1.3
Female							
	Number of animals	5	5	5	5	5	5
	ASAT(U/L)	110.2 ± 23.1	128.6 ± 13.0	144.4 ± 18.0	128.0 ± 16.8	139.6 ± 24.9	136.0 ± 15.2
	ALAT(U/L)	43.6 ± 7.4	41.8 ± 12.9	39.2 ± 7.5	44.2 ± 6.5	30.8 ± 18.4	31.0 ± 15.5
	γ GT(U/L)	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0
	ALP(U/L)	238.0 ± 45.7	181.2 ± 37.3	220.0 ± 67.9	207.4 ± 58.3	129.8 ± 19.2	145.6 ± 20.4
	Total bilirubin(mg/dL)	0.00 ± 0.00	0.02 ± 0.04	0.00 ± 0.00	0.08 ± 0.04*	0.06 ± 0.05	0.02 ± 0.04
	Urea nitrogen(mg/dL)	22.30 ± 5.49	20.12 ± 2.80	20.64 ± 2.46	19.08 ± 2.30	16.14 ± 4.02	15.88 ± 0.76
	Creatinine(mg/dL)	0.34 ± 0.05	0.32 ± 0.04	0.36 ± 0.05	0.30 ± 0.00	0.36 ± 0.09	0.30 ± 0.00
	Glucose(mg/dL)	124.0 ± 3.8	114.0 ± 7.5	118.0 ± 7.1	119.8 ± 9.6	128.0 ± 8.4	137.2 ± 11.6
	Total chol.(mg/dL)	72.6 ± 15.2	71.6 ± 15.0	69.8 ± 12.4	92.2 ± 14.7	67.2 ± 10.1	91.0 ± 19.6*
	Triglyceride(mg/dL)	74.4 ± 39.2	44.0 ± 29.5	35.6 ± 15.0	62.8 ± 30.0	16.0 ± 4.3	21.2 ± 9.3
	Total protein(g/dL)	6.92 ± 0.36	7.18 ± 0.31	7.18 ± 0.24	7.40 ± 0.19	7.02 ± 0.50	7.34 ± 0.62
	Albumin(g/dL)	3.08 ± 0.22	3.14 ± 0.11	3.14 ± 0.09	3.30 ± 0.14	3.34 ± 0.34	3.34 ± 0.32
	A/G ratio	0.800 ± 0.041	0.774 ± 0.060	0.776 ± 0.018	0.794 ± 0.036	0.922 ± 0.061	0.842 ± 0.056
	Calcium(mg/dL)	11.14 ± 0.49	10.64 ± 0.21	11.18 ± 0.39	11.40 ± 0.42	10.32 ± 0.34	10.32 ± 0.34
	Inorganic phos.(mg/dL)	9.34 ± 1.20	9.90 ± 0.43	10.04 ± 0.53	9.54 ± 0.51	7.64 ± 0.51	7.16 ± 0.78
	Na(mmol/L)	146.8 ± 1.8	147.0 ± 2.5	148.0 ± 1.6	146.2 ± 1.6	147.6 ± 1.9	147.8 ± 0.8
	K(mmol/L)	4.12 ± 0.36	4.62 ± 0.19	4.50 ± 0.34	4.54 ± 0.29	4.12 ± 0.08	4.14 ± 0.36
	Cl(mmol/L)	103.2 ± 2.2	102.8 ± 2.9	103.2 ± 1.6	102.6 ± 2.1	106.8 ± 1.3	107.0 ± 1.4

Values are expressed as Mean ± S.D.

Significantly different from 0 mg/kg group; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

Table 3 Absolute and relative organ weights in rats treated orally with Hydrazine, 1,2-bis(2-chlorophenyl)- in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Sex	Dose level(mg/kg)	Administration period				Recovery period	
		0	40	200	1000	0	1000
Male							
Number of animals	5	5	5	5	5	5	
Final body weight(g)	459.6 ± 31.7(7) ^{a)}	441.4 ± 28.3(12)	458.4 ± 29.5(12)	453.3 ± 26.7(7)	517.4 ± 46.0	470.8 ± 21.5	
Absolute organ weight							
Brain(g)	2.098 ± 0.108	2.114 ± 0.054	2.062 ± 0.074	2.160 ± 0.081	2.108 ± 0.124	2.166 ± 0.055	
Thymus(mg)	291.4 ± 36.7	304.8 ± 104.8	350.6 ± 19.6	330.0 ± 79.1	362.4 ± 96.5	341.8 ± 128.3	
Heart(g)	1.462 ± 0.107	1.548 ± 0.345	1.386 ± 0.136	1.456 ± 0.200	1.540 ± 0.165	1.642 ± 0.174	
Liver(g)	11.150 ± 1.323	11.188 ± 0.857	12.324 ± 1.701	12.876 ± 1.117	13.142 ± 1.751	11.634 ± 0.676	
Spleen(g)	0.806 ± 0.092	0.764 ± 0.132	0.732 ± 0.073	0.810 ± 0.142	0.808 ± 0.105	0.810 ± 0.097	
Kidneys(g)	3.150 ± 0.240	3.068 ± 0.216	3.038 ± 0.141	3.256 ± 0.187	3.334 ± 0.230	3.326 ± 0.138	
Adrenals(mg)	69.70 ± 13.40	64.82 ± 5.47	69.42 ± 7.07	77.04 ± 14.62	67.58 ± 10.93	59.32 ± 9.67	
Testes(g)	3.354 ± 0.178(7)	3.410 ± 0.414(12)	3.358 ± 0.348(12)	3.506 ± 0.576(7)	3.478 ± 0.104	3.390 ± 0.119	
Epididymides(g)	1.356 ± 0.106(7)	1.283 ± 0.190(12)	1.289 ± 0.110(12)	1.324 ± 0.173(7)	1.354 ± 0.099	1.508 ± 0.147	
Relative organ weight							
Brain(g%)	0.464 ± 0.040	0.476 ± 0.041	0.458 ± 0.046	0.482 ± 0.018	0.410 ± 0.037	0.462 ± 0.027*	
Thymus(mg%)	64.70 ± 9.53	68.04 ± 21.82	77.46 ± 5.38	73.98 ± 20.69	69.40 ± 13.80	72.62 ± 26.86	
Heart(g%)	0.326 ± 0.032	0.344 ± 0.050	0.306 ± 0.033	0.322 ± 0.031	0.296 ± 0.032	0.346 ± 0.029*	
Liver(g%)	2.456 ± 0.101	2.520 ± 0.196	2.706 ± 0.164*	2.858 ± 0.129**	2.536 ± 0.182	2.470 ± 0.104	
Spleen(g%)	0.180 ± 0.019	0.172 ± 0.033	0.162 ± 0.022	0.178 ± 0.022	0.158 ± 0.016	0.170 ± 0.014	
Kidneys(g%)	0.698 ± 0.032	0.690 ± 0.029	0.670 ± 0.059	0.724 ± 0.021	0.646 ± 0.039	0.704 ± 0.029*	
Adrenals(mg%)	15.32 ± 1.90	14.60 ± 1.19	15.44 ± 2.36	17.06 ± 2.65	13.02 ± 1.55	12.58 ± 1.79	
Testes(g%)	0.730 ± 0.040(7)	0.773 ± 0.092(12)	0.733 ± 0.061(12)	0.774 ± 0.121(7)	0.676 ± 0.062	0.722 ± 0.039	
Epididymides(g%)	0.296 ± 0.014(7)	0.291 ± 0.039(12)	0.283 ± 0.017(12)	0.293 ± 0.034(7)	0.264 ± 0.025	0.320 ± 0.027**	
Female							
Number of animals	5	5	5	5	5	5	
Final body weight(g)	333.0 ± 10.9	328.0 ± 15.4	317.2 ± 12.5	324.8 ± 19.7	292.2 ± 21.7	297.6 ± 26.4	
Absolute organ weight							
Brain(g)	2.000 ± 0.103	2.004 ± 0.095	1.958 ± 0.051	2.024 ± 0.062	1.934 ± 0.106	2.016 ± 0.047	
Thymus(mg)	310.6 ± 79.2	400.8 ± 136.7	320.2 ± 72.1	309.8 ± 55.4	332.6 ± 40.7	339.0 ± 90.2	
Heart(g)	1.108 ± 0.075	1.124 ± 0.105	1.058 ± 0.083	1.116 ± 0.081	1.036 ± 0.128	0.998 ± 0.110	
Liver(g)	11.350 ± 1.185	11.284 ± 0.714	10.962 ± 0.683	13.122 ± 1.248*	7.610 ± 0.820	8.236 ± 0.981	
Spleen(g)	0.742 ± 0.075	0.948 ± 0.241	0.772 ± 0.034	0.938 ± 0.251	0.576 ± 0.109	0.620 ± 0.103	
Kidneys(g)	2.272 ± 0.132	2.250 ± 0.250	2.152 ± 0.164	2.498 ± 0.416	1.884 ± 0.217	2.020 ± 0.253	
Adrenals(mg)	84.14 ± 10.85	85.50 ± 10.32	80.14 ± 4.21	84.44 ± 13.15	79.50 ± 14.55	75.80 ± 9.02	
Relative organ weight							
Brain(g%)	0.600 ± 0.019	0.612 ± 0.040	0.618 ± 0.020	0.626 ± 0.050	0.662 ± 0.033	0.684 ± 0.067	
Thymus(mg%)	92.88 ± 20.80	120.96 ± 35.76	100.84 ± 21.34	95.92 ± 20.26	114.52 ± 17.24	113.98 ± 29.95	
Heart(g%)	0.332 ± 0.015	0.344 ± 0.038	0.332 ± 0.020	0.342 ± 0.018	0.354 ± 0.032	0.338 ± 0.040	
Liver(g%)	3.404 ± 0.260	3.444 ± 0.244	3.458 ± 0.218	4.036 ± 0.200**	2.600 ± 0.148	2.768 ± 0.220	
Spleen(g%)	0.222 ± 0.024	0.294 ± 0.085	0.244 ± 0.011	0.288 ± 0.061	0.198 ± 0.043	0.208 ± 0.037	
Kidneys(g%)	0.682 ± 0.036	0.688 ± 0.079	0.678 ± 0.028	0.766 ± 0.100	0.642 ± 0.036	0.676 ± 0.062	
Adrenals(mg%)	25.34 ± 3.49	26.20 ± 3.92	25.32 ± 1.86	25.92 ± 2.88	25.86 ± 3.61	25.62 ± 3.59	

a) Number of animals examined.

Values are expressed as Mean ± S.D.

Significantly different from 0 mg/kg group; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

Table 4 Histopathological findings in rats treated orally with Hydrazine, 1,2-bis(2-chlorophenyl)- in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Sex	Organ	Dose level (mg/kg)	Administration period				Recovery period	
			0	40	200	1000	0	1000
	Finding	Number of animals	7	12	12	7	5	5
Male		(Grade)						
	Heart		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Degeneration, myocardium, focal	1+	1			1		
	Lymph node, mandibular		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Lymph node, mesenteric		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Thymus		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Spleen		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Bone marrow, femur		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Trachea		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Lung (and bronchus)		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Stomach		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Cyst, glandular stomach	1+	1			0		
	Epidermal cyst, forestomach	1+	1			0		
	Small intestine, duodenum		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Small intestine, jejunum		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Small intestine, ileum		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Large intestine, cecum		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<1>
	Erosion, mucosa	2+	0			0		1
	Large intestine, colon		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Large intestine, rectum		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Liver		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Fatty change, hepatocyte, focal	1+	0			1		
	Microgranuloma	1+	2			1		
	Kidney		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Basophilic tubule	1+	3			1		
	Cell infiltration, lymphocyte, interstitium	1+	1			0		
	Cyst, cortex	1+	1			0		
	Mineralization, medulla	1+	1			2		

<> : Number of animals examined.

Grade; 1+ : Minimal, 2+ : Mild, 3+ : Moderate, 4+ : Severe,

Significantly different from 0 mg/kg group; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

Table 4 (Continued)

Sex	Organ	Dose level (mg/kg)	Administration period				Recovery period	
			0	40	200	1000	0	1000
	Finding	Number of animals	7	12	12	7	5	5
Male		(Grade)						
	Urinary bladder		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Testis		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Epididymis		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Seminal vesicle		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Prostate		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Cell infiltration, lymphocyte, interstitium	1+	4			2		
	Coagulating gland		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Pituitary		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Thyroid		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Ectopic thymic tissue	1+	0			1		
	Ultimobrancheal remnant	1+	2			4		
	Parathyroid		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Adrenal		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Brain		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Spinal cord		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Sciatic nerve		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>

<> : Number of animals examined.

Grade; 1+ : Minimal, 2+ : Mild, 3+ : Moderate, 4+ : Severe,

Table 4 (Continued)

Sex	Organ	Dose level (mg/kg)	Administration period				Recovery period		Non-pregnant	
			0	40	200	1000	0	1000	0	200
	Finding	Number of animals	11	11	11	11	5	5	1	1
Female		(Grade)								
	Heart		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>	<0>	<0>
	Lymph node, mandibular		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>	<0>	<0>
	Lymph node, mesenteric		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>	<0>	<0>
	Thymus		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>	<0>	<0>
	Spleen		<5>	<5>	<5>	<5>	<5>	<5>	<0>	<0>
	Increase, extramedullary hematopoiesis, erythrocytic	1+	0	0	0	2	0	0		
		2+	0	1	0	0	0	0		
	Bone marrow, femur		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>	<0>	<0>
	Trachea		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>	<0>	<0>
	Lung (and bronchus)		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>	<0>	<0>
	Stomach		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>	<0>	<0>
	Small intestine, duodenum		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>	<0>	<0>
	Small intestine, jejunum		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>	<0>	<0>
	Small intestine, ileum		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>	<0>	<0>
	Large intestine, cecum		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>	<0>	<0>
	Large intestine, colon		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>	<0>	<0>
	Large intestine, rectum		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>	<0>	<0>
	Liver		<5>	<5>	<5>	<5>	<5>	<5>	<0>	<0>
	Extramedullary hematopoiesis, erythrocytic	1+	0	1	0	1	0	0		
	Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular	1+	0	0	0	4 *	0	0		
	Microgranuloma	1+	0	2	1	1	1	1		
	Necrosis, hepatocyte, focal	1+	0	0	0	2	0	0		
	Kidney		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>	<0>	<0>
	Basophilic tubule	1+	0			3				
	Cyst, medulla	1+	0			1				
	Degeneration/necrosis, tubular epithelium	1+	1			2				
	Mineralization, medulla	1+	2			0				
	Urinary bladder		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>	<0>	<0>
	Ovary		<5>	<0>	<0>	<6>	<0>	<0>	<1>	<1>
	Cyst, bursa	1+	0			1			0	0
	Uterus		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>	<0>	<0>
	Pigment deposition, endometrium	1+	0			1				
	Vagina		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>	<0>	<0>
	Pituitary		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>	<0>	<0>
	Thyroid		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>	<0>	<0>
	Ectopic thymic tissue	1+	1			0				
	Ultimobranchial remnant	1+	1			3				

<> : Number of animals examined.

Grade; 1+ : Minimal, 2+ : Mild, 3+ : Moderate, 4+ : Severe,

Significantly different from 0 mg/kg group; * p <0.05, ** p <0.01

Table 4 (Continued)

Sex	Organ	Dose level (mg/kg)	Administration period				Recovery period		Non-pregnant	
			0	40	200	1000	0	1000	0	200
	Finding	Number of animals	11	11	11	11	5	5	1	1
Female		(Grade)								
	Parathyroid		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>	<0>	<0>
	Adrenal		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>	<0>	<0>
	Brain		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>	<0>	<0>
	Spinal cord		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>	<0>	<0>
	Sciatic nerve		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>	<0>	<0>

<> : Number of animals examined.

Grade; 1+ : Minimal, 2+ : Mild, 3+ : Moderate, 4+ : Severe,

Significantly different from 0 mg/kg group; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

Table 5 Fertility and pregnancy data in rats treated orally with Hydrazine, 1,2-bis(2-chlorophenyl)- in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose level(mg/kg)	Administration period			
	0	40	200	1000
Number of pairs examined	12	12	12	12
Estrous cycle	4.00 ± 0.00	4.00 ± 0.00	4.00 ± 0.00	4.00 ± 0.00
Irregular estrous cycle	0/12	0/12	0/12	0/12
Number of pairs with successful mating	12	12	12	11
Mating index (%) ^{a)}	100.0	100.0	100.0	91.7
Number of pregnant females	11	12	11	11
Fertility index (%) ^{b)}	91.7	100.0	91.7	100.0
Pairing days until mating	4.0 ± 2.9	3.4 ± 3.6	2.3 ± 1.0	2.9 ± 0.9
Number of estrous stages without mating	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.3	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0

a) Mating index (%) = (Number of pairs with successful mating/number of pairs examined)×100

b) Fertility index (%) = (Number of pregnant animals/number of pairs with successful mating)×100

Values are expressed as Mean ± S.D.

Table 6 Delivery and litter data in rats treated orally with Hydrazine, 1,2-bis(2-chlorophenyl)- in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose level(mg/kg)	Administration period			
	0	40	200	1000
Number of females examined	11	11	11	11
Number of females with live pups	11	11	11	11
Gestation index (%) ^{a)}	100.0	100.0	100.0	100.0
Gestation length (days)	22.5 ± 0.5	22.2 ± 0.4	22.3 ± 0.5	22.4 ± 0.5
Number of corpora lutea	18.0 ± 2.3	18.2 ± 2.2	18.1 ± 1.8	18.0 ± 1.9
Number of implantation sites	16.4 ± 2.0	17.4 ± 2.1	16.6 ± 2.6	17.4 ± 1.5
Implantation index (%) ^{b)}	91.12 ± 5.39	95.55 ± 3.28	91.49 ± 9.85	96.68 ± 3.54*
Delivery index (%) ^{c)}	93.95 ± 4.56	95.75 ± 6.23	96.31 ± 3.84	93.73 ± 4.88
Number of pups delivered	15.4 ± 2.0	16.6 ± 2.4	16.0 ± 2.5	16.3 ± 1.6
Number of live pups on day 0	15.2 ± 2.1	16.5 ± 2.3	15.8 ± 2.4	16.1 ± 1.3
Number of live pups on day 4	14.6 ± 1.7	15.9 ± 2.2	15.8 ± 2.4	15.9 ± 1.4
Live birth index (%) ^{d)}	98.75 ± 2.79	99.05 ± 3.17	98.98 ± 2.27	99.01 ± 2.21
Viability index on day 4 (%) ^{e)}	96.76 ± 4.98	96.87 ± 6.05	100.00 ± 0.00	98.82 ± 2.64
Sex ratio of total number of offspring at birth (M/Total)	0.47(79/169)	0.52(96/183)	0.53(93/176)	0.53(95/179)
Sex ratio of total number of live offspring at birth (M/Total)	0.47(78/167)	0.52(95/181)	0.53(93/174)	0.53(93/177)
Sex ratio of total number of live offspring on day 4 (M/Total)	0.47(75/161)	0.53(92/175)	0.53(93/174)	0.53(92/175)
Sex ratio of total number of offspring at birth (M/Total, litter)	0.470 ± 0.136	0.524 ± 0.161	0.529 ± 0.121	0.522 ± 0.171
Sex ratio of total number of live offspring at birth (M/Total, litter)	0.469 ± 0.132	0.525 ± 0.162	0.535 ± 0.120	0.519 ± 0.166
Sex ratio of total number of live offspring on day 4 (M/Total, litter)	0.471 ± 0.137	0.523 ± 0.157	0.535 ± 0.120	0.516 ± 0.175
Body weight of pups (g)				
on day 0 male	7.0 ± 0.7	6.5 ± 0.7	6.9 ± 0.7	6.8 ± 0.3
female	6.6 ± 0.7	6.1 ± 0.7	6.5 ± 0.8	6.5 ± 0.3
on day 4 male	11.1 ± 1.4	10.3 ± 1.4	10.9 ± 1.7	10.1 ± 0.9
female	10.6 ± 1.3	9.7 ± 1.4	10.2 ± 1.6	9.0 ± 1.0

a) Gestation index (%) = (Number of females with live pups/number of pregnant females)×100

b) Implantation index (%) = (Number of implantation sites/number of corpora lutea)×100

c) Delivery index (%) = (Number of pups delivered/number of implantation sites)×100

d) Live birth index (%) = (Number of live pups on day 0/number of pups delivered)×100

e) Viability index (%) = (Number of live pups on day 4/number of live pups on day 0)×100

Values are expressed as Mean±S.D.

Significantly different from 0 mg/kg group; **p*<0.05, ***p*<0.01