

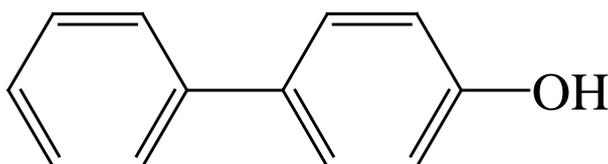
p-Pheny I pheno I

p-フェニルフェノール

[CAS No. 92-69-3]

Molecular formula: C₁₂H₁₀O

Molecular weight: 170.21



ABSTRACT

1. Material and method

Purity	: 99.9%
Test species/strain	: Rat/Crl:CD(SD)
Test method	: OECD Test Guideline 422
Route	: Oral (gavage)
Dosages	: 0, 30, 100, 300 mg/kg
Dosages for recovery	: 0, 300 mg/kg
Number of animals/group	: Males, 12 (5 for recovery) ; Females, 12; Satellite females, 5
Vehicle	: Olive oil
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

One female died on Day 8 of gestation in the 300 mg/kg-dosed group. The cause of death was estimated kidney lesion including necrosis of papillae and renal tubules. No change in clinical observations was recognized in any dosed males, and in grip strength or reflex/reaction and locomotor activity was observed in any dosed group of both sexes. Body weight gain was reduced in the 300 mg/kg-dosed groups of both sexes.

Hematological examination revealed increased WBC count, decreased percentage of segmented neutrophils and increased percentage of lymphocytes in the males given 100 and 300 mg/kg. A plasma level of inorganic phosphorus (IP) was increased in the 300 mg/kg-dosed groups of both sexes. Additionally, increased plasma levels of triglyceride, phospholipid, ALT, ALP and BUN, together with decreases in sodium and chlorine, were observed in the females given 300 mg/kg. Urinalysis showed no abnormal finding in any dosed male group.

In the measurement of organ weight, increased kidney weight was noted in the 300 mg/kg-dosed groups of both sexes, and increased liver weight was noted in the females given 300 mg/kg.

In the histopathological examination, papillary necrosis, dilatation of tubular lumen and regeneration of tubules of kidney, and hyperplasia and ulcer of forestomach were observed in the females given 300 mg/kg. No compound-related lesion was recognized in any dosed male group.

Reproductive and developmental toxicity

No effect of the compound on estrous cycle, copulation or gestation length was recognized in any dosed females. The decreased number of live pup was observed in the 300 mg/kg-dosed group. Because two 300 mg/kg-dosed dams didn't nurse pups, all of their litter pups died. Cyanosis occurred in a few pups of 300 mg/kg-dosed group on PND 0. No compound-related change in sex ratio and body weight of pups was observed in the 300 mg/kg-dosed group.

3. Evaluation

No observed effect level (NOEL)

For the repeated dose toxicity, the endpoint for a NOEL in males was a change of WBC in the groups given 100 mg/kg and above, while the female endpoint for a NOEL was kidney and stomach lesions in the 300 mg/kg-dosed group. For the reproductive/developmental toxicity, there was no reproductive effect of the compound even in the males given 300 mg/kg. However, for the reproductive/developmental effect, the endpoint for a NOEL in females and pups was neglect of nursing and decreased number of live pups in the 300 mg/kg-dosed group.

It was concluded that a NOEL for the repeated dose toxicity of *p*-phenylphenol was 30 mg/kg/day for males and 100 mg/kg for females, and that the NOEL for the reproductive/developmental toxicity was 300 mg/kg/day for males and 100 mg/kg/day for females and offspring.

No observed adverse effect level (NOAEL)

For the repeated dose toxicity, the endpoint for a NOAEL in males was increased kidney weight in the 300 mg/kg-dosed group. The female endpoint for a NOAEL was kidney and stomach lesions in the 300 mg/kg-dosed group. For the reproductive/developmental toxicity, there was no reproductive effect of the compound even in the males given 300 mg/kg. However, for the reproductive/developmental effect, the endpoint for a NOAEL in females and pups was neglect of nursing and decreased number of live pups in the 300 mg/kg-dosed group.

It was concluded that a NOAEL for the repeated dose toxicity of *p*-phenylphenol was 100 mg/kg/day for both sexes, and that the NOAEL for the reproductive/developmental

toxicity was 300 mg/kg/day for males and 100 mg/kg/day for females and offspring.

p-フェニルフェノールの
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 *p*-Phenylphenol
by Oral Administration in Rats

要約

p-フェニルフェノールの反復投与毒性および生殖発生毒性を検討するために、OECD テストガイドライン 422 に基づき、試験を実施した。

本試験では、*p*-フェニルフェノールを、0 (媒体対照、オリブ油)、30、100 および 300 mg/kg の用量で、CrI:CD(SD)ラットの雌雄 (12 匹/群、10 週齢) に、雄では 42 日間、雌では哺育 4 日までの 42~49 日間、毎日、強制経口投与し、雌雄動物に対する反復投与の影響、ならびに親動物の生殖および哺育 4 日までの児動物の発生・発育に及ぼす影響を検討した。対照群と 300 mg/kg 投与群については、雄では交配に供した 12 匹のうち 5 匹を、雌では交配に供した動物とは別にサテライト雌 5 匹を用意し、42 日間の反復投与終了後、2 週間の回復期間を設けた。結果は以下のように要約される。

1. 反復投与毒性

300 mg/kg 群の雌 1 例が妊娠 8 日に死亡した。死因は腎臓障害 (腎乳頭壊死と尿細管壊死) と推定された。雄の一般状態、雌雄の握力・反応性・自発運動量に投与の影響は認められなかった。体重増加の抑制が 300 mg/kg 群の雌雄に認められた。

血液学検査の結果、100 mg/kg 群と 300 mg/kg 群の雄の白血球数に増加がみられ、分葉核好中球比の減少とリンパ球比の増加が認められた。血液生化学検査では雌雄の 300 mg/kg 群に無機リンの増加がみられ、雌の 300 mg/kg 群ではトリグリセリド、リン脂質、ALT、ALP、BUN の増加およびナトリウムとクロールの減少も認められた。雄の尿検査結果に投与の影響は認められなかった。

300 mg/kg 群の雌雄に腎臓重量の増加、雌に肝臓重量の増加が認められた。病理組織学検査の結果、300 mg/kg 群の雌には腎乳頭の壊死、尿細管腔の拡張、および尿細管の再生がみられ、前胃の上皮過形成と潰瘍も認められた。雄では投与に起因した病変は認められなかった。

2. 生殖発生毒性

性周期や交配成績に投与の影響は認められなかった。300 mg/kg 群に生存児数の減少がみられ、2 例の母動物では哺育不全による全児死亡が認められた。300 mg/kg 群の数例の児動物には出生日にチアノーゼが観察された。児の性比や体重に投与の影響は認められなかった。

3. 無作用量 (NOEL: No Observed Effect Level)

反復投与毒性に関して、NOEL 決定のエンドポイントを、雄では 100 mg/kg の用量からみられた白血球の変化、雌では 300 mg/kg の用量でみられた腎臓と胃の組織病変とした。また、生殖発生毒性に関しては、雄親動物に影響はみられなかったが、雌親動物と児動物では NOEL 決定のエンドポイントを 300 mg/kg 群でみられた哺育不全や生存児数の減少等とした。

したがって、本試験における *p*-フェニルフェノールの NOEL は、反復投与毒性に関しては雄では 30 mg/kg/day、雌では 100 mg/kg/day であると結論される。また、生殖発生毒性に関しては雄親動物では 300 mg/kg/day、雌親動物と児動物では 100 mg/kg/day であると結論される。

4. 無毒性量 (NOAEL: No Observed Adverse Effect Level)

反復投与毒性に関して、NOAEL 決定のエンドポイントを雄では 300 mg/kg の用量でみられた腎臓重量の増加、雌では 300 mg/kg の用量でみられた腎臓と胃の組織病変とした。また、生殖発生毒性に関しては、雄親動物に有害影響はみられなかったが、雌親動物と児動物では 300 mg/kg 群に生存児数の減少や哺育不全による全児死亡等がみられ、これらの所見を総合して生殖発生に関する有害影響とし、NOAEL 決定のエンドポイントとした。

したがって、本試験における *p*-フェニルフェノールの NOAEL は、反復投与毒性に関しては雌雄ともに 100 mg/kg/day であると結論される。また、生殖発生毒性に関しては雄親動物では 300 mg/kg/day、雌親動物および児動物では 100 mg/kg/day であると結論される。

方法

1. 被験物質および投与検体の調製法

被験物質の *p*-フェニルフェノールは、XXXXXXXXXX 購入 (ロット番号: LTF7904) したもので、純度 99.9% の白色結晶性粉末である。被験物質は入手後、使用時まで室温で暗所に保管した。被験物質の同一性は、赤外吸収スペクトルを赤外分光光度計 (Shimadzu FTIR-8200PC) を用いて測定し、文献値と比較することにより確認した。また、被験物質の安定性は、使用開始前および使用終了後にクロマトグラムを高速液体クロマトグラフ (Hewlett Packard 1090) を用いて測定し、それぞれのデータを比較することにより確認した。

媒体として選択したオリブ油 (日本薬局方) は丸石製

薬から購入（ロット番号：7517）し、使用時まで室温で暗所に保管した。投与検体（300 mg/kg：懸濁液，100 mg/kg以下：溶液）は、被験物質をオリブ油と混和して、各用量の1回の投与液量が5 mL/kg体重になるように調製した。投与検体は8日間の安定性試験の結果に基づき、1週に1回の頻度で調製し、室温で暗所に保管して調製8日以内に使用した。投与検体中の被験物質の濃度および均一性は、初回調製時に高速液体クロマトグラフ（Hewlett Packard 1090）を用いて測定し、確認した。

2. 使用動物および飼育方法

日本チャールス・リバー（厚木飼育センター）のCrI:CD(SD)ラット（SPF）の雌雄を8週齢で購入した。導入日を含む7日間を検疫と馴化を兼ねて飼育し、投与前の雌の性周期を観察するために、さらに8日間の予備飼育を行った。これらの飼育期間中に状態の変化や異常な性周期がみられなかった動物から、投与開始日の体重の中央値に近い雄48匹と雌58匹（投与開始時体重範囲，雄：346～406g，雌：217～256g）を選定し、試験に用いた。

群分けは、体重の重い動物から順に各群に1匹ずつ割り当て、二巡目からは各群の動物の合計体重を比較して、小さい群より順に体重の重い動物を割り当てることで、群間の体重の偏りを小さくする方法（適正層別方式）により実施した。

動物は、温度；23±2℃，湿度；55±15%，換気回数；15～17回/時，明暗サイクル；12時間点灯（8:00～20:00）/12時間消灯（20:00～8:00）に制御された飼育室でステンレス製網ケージに個別に収容して飼育した。ただし、妊娠18日以降の母動物は、床敷（ALPHA-dri™：Shepherd Specialty Papers）をいれたステンレス製分娩用ケージに収容した。飼料（CRF-1 固型，30KGy-γ線照射滅菌：オリエンタル酵母工業）と飲料水（秦野市水道局供給の水道水をフィルターろ過した後、紫外線照射）は自由摂取としたが、解剖前日の夕方からは絶食させた。

3. 投与量の設定および投与方法

投与量は用量設定試験の結果に基づいて設定した。用量設定試験では1000 mg/kgを最高用量とし、以下，300 mg/kg，100 mg/kg，30 mg/kgに設定した。10週齢のCrI:CD(SD)ラット，1群あたり雌雄各5匹に，*p*-フェニルフェノールを14日間，毎日，強制経口投与し，投与終了翌日に剖検した。その結果，1) 1000 mg/kgの用量で雌雄ともに外部生殖器周囲の尿による汚染や体重増加の抑制がみられ，雄全例と雌3例が死亡した。死因は不明であった。2) 300 mg/kgの用量では雌雄ともに摂餌量が減少し，雄には体重増加の抑制が認められた。3) 100 mg/kgおよび30 mg/kgの用量では雌雄ともに投与の影響は認められなかった。以上の結果から，本試験の高用量は雄に体重増加の抑制がみられた300 mg/kgとし，以下，中用量を100 mg/kg，低用量を30 mg/kgに設定した。

本試験では対照群1群と投与群3群の計4群を設け，1群あたり雌雄各12匹の動物を用いた。なお，対照群と300 mg/kg群については，雄では12匹のうち各群5匹を回復動物とし，雌では交配をさせないサテライト動物（回復動物）として，各群5匹の雌を追加した。

各用量の投与検体は，雄には交配前14日間，交配期間14日間および交配期間終了後14日間の42日間，雌には交配前14日間，交配期間（交尾成立まで），妊娠期間および哺育4日までの計42～49日間，サテライト雌には42日間，毎日午後投与した。ただし，分娩中および午前中に分娩が確認された雌にはその日の投与はしなかった。

対照群と300 mg/kg群の雌雄の回復動物については，投与期間終了後14日間の回復期間を設けた。

4. 観察および検査（回復投与毒性）

1) 一般状態の観察

投与期間は毎日2回（投与前・後），回復期間は毎日1回，一般状態を観察した。

2) 行動機能の観察

(1) 詳細観察

投与期間および回復期間に週1回の頻度で行動機能に関する詳細観察を行った。ただし，雌の投与6週の観察は，分娩および哺育時の動物への負荷を考慮してサテライト動物のみ行った。

詳細観察は，ケージから動物を取り出す際，ケージから動物を取り出した後および作業台上で実施した。ケージから動物を取り出す際には，接触反応および取り出し易さを，ケージから動物を取り出した後には，扱い易さ・体温・被毛状態・皮膚の色・眼の状態・流涎・排尿の有無・排糞の有無を，作業台上では，姿勢・活動性・警戒/探索行動・歩行状態・常同行動・呼吸・振戦/縮/痙攣の有無を観察した。

(2) 反応性検査，握力測定および自発運動量測定

雄は全例について，反応性検査と握力測定を投与6週に，自発運動量測定を投与6週と回復2週に行った。雌では反応性検査，握力測定および自発運動量測定ともに分娩日の近い動物から各群5匹を選定し，解剖前日（分娩4日後）に行った。また，回復2週にサテライト雌の自発運動量測定を行った。

反応性検査は，視覚・聴覚・痛覚・瞳孔反射・空中正方向反射について行った。

握力測定は握力測定装置（MK-380CM：室町機械）を用いて行った。測定は前肢・後肢ともに2回行い，平均値をその個体の値とした。

自発運動量測定は自発運動量測定装置（SCANET MV-10：メルクエスト）を用いて行った。測定時間は60分間とした。

3) 体重測定

雄は投与1・8・15・22・29・36・42日および回復1・

8・14日に体重を測定した。

雌は交配前の投与 1・8・15日，妊娠 0・7・14・20日および分娩日（哺育0日）と分娩4日後（哺育4日）に体重を測定した。サテライト雌は投与 1・8・15・22・29・36日および回復 1・8・14日に測定した。

解剖日には絶食後の体重（解剖時体重）を測定した。

4) 摂餌量測定

摂餌量は各測定期間に給餌量と残餌量を測定し，その値から1匹1日あたりの摂餌量を算出した。

雄の摂餌量は投与 1～8・8～15・29～36・36～42日および回復 1～8・8～14日に測定した。

雌の摂餌量は交配前の投与 1～8・8～15日，妊娠 0～7・7～14・14～20日および哺育 0～4日に測定した。サテライト雌は投与 1～8・8～15・29～36・36～43日および回復 1～8・8～14日に測定した。

5) 尿検査

投与6週に雄の新鮮尿を採取し，尿試験紙（マルチスティックス：シーメンス）を用いて，pH・蛋白・グルコース・ケトン体・ビリルビン・潜血・ウロビリノーゲンを検査した。

6) 剖検

雄は最終投与日（投与42日）の翌日と回復14日の翌日に剖検した。分娩した雌は分娩5日後，分娩しなかった雌は妊娠26日相当日に，サテライト雌は回復14日の翌日に剖検した。死亡動物は死亡発見日に剖検した。

7) 血液学検査

解剖時にエーテル麻酔下で腹大動脈より EDTA-2 カリウム入り採血管およびクエン酸ナトリウム入り採血管（凝固検査用）に採血した血液を用いて血液学検査を行った。赤血球数・血小板数・網赤血球比・白血球数・平均赤血球容積(MCV)（以上，光学的散乱法），ヘモグロビン濃度（シアンメトヘモグロビン法），ヘマトクリット値・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)（以上，計算による）は総合血液学検査装置（ADVIA 120：シーメンス）を用いて，白血球分類（ライト染色による）は血液細胞自動分類装置（MICROX HEG-120NA：オムロン）を用いて，プロトロンビン時間(PT)（Quick 一段法）と活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)（エラジン酸活性化法）は全自動血液凝固測定装置（Sysmex CA-5000：シスメックス）を用いて検査した。

8) 血液生化学検査

解剖時にエーテル麻酔下で腹大動脈よりヘパリンリチウム入り採血管に採血した血液を遠心分離し，得られた血漿について，総蛋白（ビウレット法），アルブミン（BCG法），A/G比（計算による），総ビリルビン（アゾビリルビン法），グルコース（GlcK・G-6-PDH法），総コレステロール（CE・COD・POD法），トリグリセリ

ド(MGLP・GK・GPO・POD法)，リン脂質(PLD・ChOD・POD法)，AST・ALT・ γ -GTP・CK（以上，JSCC法），LDH（SFBC法），ALP（GSCC法），尿素窒素（ウレアゼ・GLDH法），クレアチニン（Jaffé法），ナトリウム・カリウム・クロール（以上，イオン選択電極法），カルシウム（OCPC法）および無機リン（PNP・XOD・POD法）を自動分析装置（日立7080：日立製作所）を用いて検査した。

9) 器官重量

胸腺・副腎・心臓・腎臓・脾臓・肝臓・脳・精巣・精巣上体の湿重量（絶対重量）を測定した。また，各器官の絶対重量の解剖時体重に対する百分率（相対重量）を算出した。

10) 病理組織学検査

雄の精巣・精巣上体・精囊・凝固線・前立腺（腹葉）および雌の卵巣は全動物で検査した。また，雌雄の各群5匹（動物番号の小さい順）および回復動物と死亡動物については，気管・肺・骨髄（大腿骨）・リンパ節（腋窩，鼠径等）・胸腺・脾臓・心臓・胃・小腸・大腸・肝臓・腎臓・膀胱・下垂体・甲状腺・上皮小体・副腎・子宮（サテライト雌）・膣・乳腺・脳・脊髄・末梢神経（坐骨神経）・筋肉・骨（大腿骨）を検査した。上記の組織を10%リン酸緩衝ホルマリン溶液またはブアン溶液（精巣・精巣上体のみ）で固定後，パラフィン包埋して薄切し，ヘマトキシリン・エオジン染色した標本について光学顕微鏡で観察した。

5. 観察および検査（生殖発生毒性）

1) 性周期の観察

投与開始日から交配開始日までの毎朝，雌動物（サテライト雌を除く）の膣垢を採取・塗抹し，ギムザ染色した標本について観察した。

性周期は発情前期，発情期および発情休止期に分類し，発情期が4日から6日の間隔で回帰される例を正常とした。また，性周期の観察期間に2回以上の性周期が得られた動物について平均性周期を算出した。

2) 交配

交配は投与15日の夕方から交尾が確認されるまで，14日間を限度として，同一群内の雌雄1匹ずつを同居させる方法で行った。交尾の確認は毎朝，膣内の膣栓または膣垢中の精子の存在を調べることにより行い，これらが確認された日を妊娠0日と規定した。

交配の結果から，交尾所要日数（交配開始から交尾成立までに要した日数）と交尾率〔（交尾成立ペア数／交配ペア数）×100〕を算出した。

3) 分娩

分娩の確認は，妊娠20日から25日を限度に1日2回行い，16時の時点で分娩が終了していた動物についてはその日を分娩日（哺育0日）と規定した。分娩中の動物

については分娩状態を観察した。

これらの結果から、妊娠期間（妊娠日から分娩日までの日数）・受胎率〔（受胎動物数／交尾成立ペア数）×100〕・出産率〔（生児出産動物数／受胎動物数）×100〕を算出した。

4) 妊娠黄体数および着床痕数

剖検時に卵巣を摘出して実体顕微鏡により妊娠黄体を計数した。また、子宮は摘出して10%硫化アンモニウム溶液で染色し、翌日に着床痕を計数した。

これらの結果から、着床率〔（着床痕数／妊娠黄体数）×100〕を算出した。

5) 児動物の観察・検査

(1) 数、性、外表および一般状態の観察

出生時（哺育0日）に、産児（生存児・死亡児）の計数、性別確認および外表観察を行った。その後、哺育4日まで毎日、一般状態観察と児動物数の確認を行った。

これらの結果から、分娩率〔（産児数／着床痕数）×100〕・出生率〔（哺育0日の生存児数／着床痕数）×100〕・哺育0日の生存率〔（哺育0日の生存児数／産児数）×100〕・哺育4日の生存率〔（哺育4日の生存児数／哺育0日の生存児数）×100〕および性比（雄の児数／雌雄の児数）を算出した。

(2) 体重

哺育0日と哺育4日に、母動物（腹）毎に雌雄単位でまとめた体重を測定し、児動物1匹あたりの平均値を算出した。

(3) 剖検

全ての児動物を剖検した。哺育4日まで生存した児動物は、エーテル麻酔下で開腹後、腹大動脈切断により放血死させた。死亡児は死亡発見日に剖検した。

6. 統計解析

交尾率・受胎率・出産率および尿検査と病理組織学検査で得られた数値データは、対照群と各投与群間で χ^2 検定を行った。

その他の検査で得られた数値データは、対照群を基準群として、まずBartlett法により等分散の予備検定を行い、その結果が等分散の場合には一元配置分散分析を行い、群間に有意差が認められた場合はDunnnettの多重比較により平均値の検定を行った。また、分散の等しくない場合には各群を通して測定値を順位化して、Kruskal-Wallisの順位検定を行い、群間に有意差が認められた場合にはDunnnett型の多重比較を行った。回復動物における数値データは、まず、F検定を行い、分布の違いが認められなかった場合はStudentのt検定を、分布の違いが認められた場合はAspin-Welchのt検定を用いて統計処理を行った。

各検定は5%および1%の有意水準で両側検定を行った。

結果

1. 反復投与毒性

1) 一般状態

300 mg/kg 群の雌1例が妊娠8日（投与25日）に死亡した。本例は死亡3日前より外部生殖器周囲の尿による汚染がみられ、死亡前日には腹臥位姿勢を呈し、呼吸緩徐が観察された。

300 mg/kg 群の生存雌では外部生殖器周囲の尿による汚染と限局性の脱毛が各4例に認められた。

雄および30 mg/kg 群と100 mg/kg 群の雌の一般状態に投与の影響は認められなかった。

2) 行動機能観察

(1) 詳細観察

300 mg/kg 群の雌に外部生殖器周囲の被毛汚染が認められた。

雄および30 mg/kg 群と100 mg/kg 群の雌の行動機能に関する詳細観察結果に投与の影響は認められなかった。

(2) 反応性検査

雌雄の反応性に投与の影響は認められなかった。

(3) 握力 (Table 1)

雌雄の握力に投与の影響は認められなかった。

(4) 自発運動量 (Table 2)

雌雄の自発運動量に投与の影響は認められなかった。

雄の300 mg/kg 群で、測定途中の10分間の自発運動量が統計学的に有意な減少を示したが、60分間の自発運動量には有意差がみられなかったことから投与の影響と判断しなかった。

3) 体重 (Fig. 1~3)

300 mg/kg 群の雌雄に体重増加の抑制が認められた（サテライト雌の体重に統計学的な有意差はない）。

30 mg/kg 群と100 mg/kg 群の雌雄の体重に投与の影響は認められなかった。

4) 摂餌量 (Fig. 4~6)

300 mg/kg 群の雄に投与1週の摂餌量の減少が認められた。

雌および30 mg/kg 群と100 mg/kg 群の雄の摂餌量に投与の影響は認められなかった。

100 mg/kg 群の雄では投与2週の摂餌量が統計学的に有意な増加を示したが、300 mg/kg 群にはみられないことから投与の影響と判断しなかった。

5) 尿検査 (雄) (Table 3)

尿検査の結果に投与の影響は認められなかった。

6) 血液学検査 (Table 4)

100 mg/kg 群と 300 mg/kg 群の雄に白血球数の増加 (統計学的な有意差はない) が認められ, 分葉核好中球比が減少しリンパ球比が増加した. 本所見は回復期間終了時の検査ではみられなかった.

雌および 30 mg/kg 群の雄の血液学検査結果に投与の影響は認められなかった.

回復期間終了時の検査で 300 mg/kg 群の雄に MCHC の減少と網赤血球比の増加がみられたが, 投与期間終了時の検査ではみられない軽微な変化であることから投与の影響と判断しなかった.

7) 血液生化学検査 (Table 5)

300 mg/kg 群の雄に無機リンの増加が認められた. 本所見は回復期間終了時の検査でも認められた. 雌では, 300 mg/kg 群にトリグリセリド, リン脂質, ALT, ALP, BUN, 無機リンの増加 (BUN と無機リンに統計学的な有意差はない) およびナトリウムとクロールの減少が認められた. これらの所見は回復期間終了時の検査ではみられなかった.

30 mg/kg 群と 100 mg/kg 群の雌雄の血液生化学検査結果に投与の影響は認められなかった.

回復期間終了時の検査で 300 mg/kg 群の雄に AST の増加がみられ, サテライト雌 (300 mg/kg 群) に総蛋白の減少がみられたが, 投与期間終了時の検査ではみられない軽微な変化であることから投与の影響と判断しなかった.

8) 病理学検査

(1) 剖検所見

30 mg/kg 群の雄の 1 例に精巣上体の結節 (片側性) が観察された. また, 全児死亡がみられた 300 mg/kg 群の 2 例の母動物では乳腺の発達が不十分であった.

(2) 器官重量 (Table 6)

300 mg/kg 群の雄に腎臓の絶対重量と相対重量の増加および脳, 精巣, 精巣上体の相対重量の増加が認められた. 回復期間終了時の検査ではこれらの所見はみられず, 300 mg/kg 群に脳の絶対重量の減少がみられた. また, 300 mg/kg 群の雌には腎臓の絶対重量と相対重量の増加, 肝臓と脳の相対重量の増加および胸腺, 副腎, 心臓の絶対重量の減少が認められた. 回復期間終了時の検査ではこれらの所見は認められなかった.

30 mg/kg 群と 100 mg/kg 群の雌雄の器官重量に投与の影響は認められなかった.

回復期間終了時の検査で 300 mg/kg 群の雄に脳の絶対重量の減少がみられたが, 投与期間終了時の検査ではみられない軽微な変化であることから投与の影響と判断しなかった.

(3) 病理組織学検査 (Table 7)

雄の病理組織所見

投与の影響を示唆する病理組織所見は認められな

かった.

剖検時に 30 mg/kg 群の 1 例にみられた精巣上体の結節は, 精子性肉芽腫と診断された. 投与量に対応した発生数ではなく, 偶発的にみられる病変であることから投与との関連はないと判断した.

雌の病理組織所見

死亡例 (300 mg/kg 群の 1 例)

投与の影響が示唆される病変として, 両側の腎臓に重度の腎乳頭の壊死と近位尿細管の壊死が認められた. また, 心臓の血管周囲には石灰沈着がみられた.

生存例

投与の影響は腎臓と胃に認められた.

腎臓 (各群 5 例検査) : 300 mg/kg 群に尿細管腔の拡張が 3 例, 腎乳頭の壊死が 1 例, 尿細管上皮の再生が 2 例に認められた. 尿細管腔の拡張は主に集合管から遠位尿細管にみられ, 1 例では近位尿細管にも観察された. 尿細管上皮の再生は腎皮質から髄質にみられた. 回復期間終了時の検査ではサテライト雌にこれらの腎臓所見は認められなかった.

胃 (各群 5 例検査) : 300 mg/kg 群で前胃上皮の過形成が 5 例, 前胃の潰瘍が 1 例に認められた. 過形成がみられた部位の胃粘膜には, 炎症性細胞の浸潤と浮腫もみられた. 回復期間終了時のサテライト雌の検査ではこれらの所見は観察されなかった.

上記所見の他にみられた病理組織学所見は, 偶発的にみられる所見であり, また, 投与量に対応した発生数ではないことから投与との関連はないと判断した.

2. 生殖発生毒性

1) 性周期 (Table 8)

100 mg/kg 群と 300 mg/kg 群の各 1 例は発情期が回帰せず休止期が持続したため異常性周期とした.

2) 交配成績 (Table 8)

交尾率, 交尾所要日数および受胎率に差はなく, 交配成績に投与の影響は認められなかった.

対照群の 1 例は妊娠 25 日相当日になっても分娩がみられなかったため, その翌日に解剖した結果, 子宮内に 1 例の死亡胎児が認められたことから妊娠していたことが確認された.

3) 妊娠および分娩 (Table 8, 9)

妊娠中および分娩中の母動物の状態, 妊娠期間および出産率に投与の影響は認められなかった.

4) 妊娠黄体数および着床痕数 (Table 9)

妊娠黄体数, 着床痕数および着床率に投与の影響は認められなかった.

5) 児動物および哺育 (Table 9)

(1) 出生日

300 mg/kg 群に生存児数の減少が認められた (統計学的な有意差はない). また, 外表観察で 3 腹の児動物,

計 6 例にチアノーゼが観察された。

産児数、分娩率、出生率、生存率、性比、体重および 30 mg/kg 群と 100 mg/kg 群の生存率と外表に投与の影響は認められなかった。

(2) 哺育期間

300 mg/kg 群の 2 例の母動物には授乳がみられず（哺育不全）、哺育期間中に 2 腹の全児が死亡した。これにより、300 mg/kg 群の哺育 4 日の生存児数および生存率に減少が認められた（統計学的有意差なし）。哺育 4 日まで生存した 300 mg/kg 群の児の性比や体重に投与の影響は認められなかった。

30 mg/kg 群と 100 mg/kg 群の母動物の哺育状況、児の一般状態、哺育 4 日の生存児数、生存率、性比および体重に投与の影響は認められなかった。

(3) 剖検

投与の影響が示唆される肉眼所見は児動物には認められなかった。

考察

1. 反復投与毒性

300 mg/kg 群の雌 1 例が妊娠 8 日に死亡した。病理組織学検査により、左右の腎臓に重度の腎乳頭壊死と尿細管壊死がみられたことから、死因は腎臓障害と推定される。腎臓病変は死亡例のみならず妊娠・出産した 300 mg/kg 群の生存雌にも認められた。所見は尿細管腔の拡張、腎乳頭の壊死、尿細管上皮の再生であった。また、300 mg/kg 群の雌には腎臓重量の増加も認められた。しかしながら回復期間終了時に検査したサテライト雌では腎臓重量の増加や腎臓病変またはその修復像は観察されなかった。これは妊娠・出産雌は血中ホルモンや薬物代謝の変化、血流の増加など生理状態に大きな変動があること¹⁾、また、妊娠中には体重の増加量が多く被験物質の投与量が増加することなどから、妊娠・出産雌は、回復群として用いた交配していない雌に比較して毒性が強くとれた可能性があり、腎臓への影響に回復性がみられたとは判断しなかった。雄では 300 mg/kg 群に腎臓重量の増加はみられたが、組織病変は観察されなかった。回復期間終了時の腎臓重量には回復性が認められた。血液生化学検査で腎臓への影響との関連が考えられる変化としては、雌雄の 300 mg/kg 群に無機リンの増加がみられ、雌の 300 mg/kg 群には BUN の増加、ナトリウムとクロールの減少が認められた。*p*-フェニルフェノールの腎臓に及ぼす影響に関する毒性試験報告は見当たらない²⁾。*p*-フェニルフェノールの類縁物質である *o*-フェニルフェノールは、雄ラットに膀胱結石を発生させることが知られ、雌雄の腎臓に腎盂腎炎または間質性腎炎を発症させることも報告されている³⁾。*p*-フェニルフェノールを主代謝物とするビフェニルをラットに経口投与した試験では、腎臓に尿細管の萎縮や拡張等の病変がみ

れたと報告している^{4, 5)}。また、ビフェニルを雌雄ラットに長期間経口投与することにより、膀胱結石や腎結石が認められ、膀胱には移行上皮癌の発生が増加することも報告されている^{4, 6, 7)}。そして、結石形成には *p*-フェニルフェノールが関与していると報告されている^{8, 9)}。本試験では結石は確認されなかったが、以上の試験情報から、腎臓病変は微小結石が形成されて尿細管等の腔を栓塞することで発生した可能性が考えられた。したがって、腎臓は *p*-フェニルフェノールの標的器官であり、雌雄の 300 mg/kg 群にみられた腎臓重量の増加は腎臓病変の発症に関連した変化と考えると NOAEL 決定の根拠とする有害影響と判断した。

300 mg/kg 群の雌雄には腎臓重量の増加以外にも器官重量への影響がみられた。それらの多くは体重増加抑制に関連した重量変化と考えられるが、雌の 300 mg/kg 群にみられた肝臓の相対重量の増加は以下の理由からこれに相当しないと考える。In vitro の実験で、ビフェニル < *o*-フェニルフェノール < *p*-*mr*-フェニルフェノールの順に肝細胞障害が増加すると報告されている²⁾。本試験では、雌の 300 mg/kg 群に血中の ALT, ALP, トリグリセリドおよびリン脂質の増加がみられ、血液生化学的にも肝臓への影響が示唆される。ただし、病理組織検査で肝細胞に病変はみられていない。また、*o*-フェニルフェノールやビフェニルの動物実験では肝臓への影響は報告されていない。

300 mg/kg 群の妊娠・出産雌には、胃（前胃）に上皮の過形成と潰瘍が認められた。*p*-フェニルフェノールの刺激性に関する情報は得られていないが、ビフェニルには眼、呼吸器、粘膜、皮膚などに刺激性が認められると報告されている^{2, 4)}ことから、前胃上皮の過形成と潰瘍は、*p*-フェニルフェノールの経口投与に起因した可能性がある。しかし、雄およびサテライト雌にはなく、妊娠・出産雌に限定した病変であることから、投与による刺激性に加えて妊娠・出産によるストレス等が関与した可能性が考えられる。

血液学検査の結果、100 mg/kg 群と 300 mg/kg 群の雄に白血球数の増加がみられ、分葉核好中球比が減少、リンパ球比が増加を示した。*p*-フェニルフェノールおよび類縁物質の白血球への影響についての情報は得られず、この毒性学的意義については不明であった。

2. 生殖発生毒性

性周期検査で 100 mg/kg 群と 300 mg/kg 群の各 1 例に連続非発情がみられたが、交配の結果、2 例ともに妊娠したことから交配能力に影響を及ぼすような異常ではなかった。また、各群 1 例であることから投与の影響と判断しなかった。

p-フェニルフェノールの生殖発生毒性に関する情報は得られていない。*o*-フェニルフェノールの発生毒性試験では妊娠期間の投与で胎児の死亡が増加したが奇形は認められなかったという報告¹⁰⁾、および胎児の死亡増加はなかったが骨化遅延が認められたという報告がある¹¹⁾。また、ビフェニルのラットを用いた 3 世代試験報告

では、妊娠率の低下、児動物数の減少および児動物の成長抑制がみられたと報告されている⁴⁾。本試験の 300 mg/kg 群では生存児数の減少が認められた。特に 2 例の母動物では哺育不全がみられ全児が死亡した。また、チアノーゼを起こした児動物も観察された。このように *p*-フェニルフェノールの生殖発生毒性について、本試験では明らかな有害影響を示す項目はなかったが、総合的に判断してこれらの生殖発生影響を NOAEL 決定の根拠とした。

3. 無作用量 (NOEL: No Observed Effect Level)

反復投与毒性に関して、NOEL 決定のエンドポイントを、雄では 100 mg/kg の用量からみられた白血球の変化、雌では 300 mg/kg の用量でみられた腎臓と胃の組織病変とした。また、生殖発生毒性に関しては、雄親動物に影響はみられなかったが、雌親動物と児動物では NOEL 決定のエンドポイントを 300 mg/kg 群でみられた哺育不全や生存児数の減少等とした。

したがって、本試験における *p*-フェニルフェノールの NOEL は、反復投与毒性に関しては雄では 30 mg/kg/day、雌では 100 mg/kg/day であると結論される。また、生殖発生毒性に関しては雄親動物では 300 mg/kg/day、雌親動物と児動物では 100 mg/kg/day であると結論される。

4. 無毒性量 (NOAEL: No Observed Adverse Effect Level)

反復投与毒性に関して、NOAEL 決定のエンドポイントを雄では 300 mg/kg の用量でみられた腎臓重量の増加、雌では 300 mg/kg の用量でみられた腎臓と胃の組織病変とした。また、生殖発生毒性に関しては、雄親動物に有害影響はみられなかったが、雌親動物と児動物では 300 mg/kg 群に生存児数の減少や哺育不全による全児死亡等がみられ、これらの所見を総合して生殖発生に関する有害影響とし、NOAEL 決定のエンドポイントとした。

したがって、本試験における *p*-フェニルフェノールの NOAEL は、反復投与毒性に関しては雌雄ともに 100 mg/kg/day であると結論される。また、生殖発生毒性に関しては雄親動物では 300 mg/kg/day、雌親動物および児動物では 100 mg/kg/day であると結論される。

文献

- 1) Ramsay MM (ed.). 2004. 武谷雄二 監訳: 「妊娠時における母体評価と胎児評価」。エルゼビア・ジャパン, 東京。
- 2) Hazardous Substances Databank (HSDB). 2002. HSDB Number 5277. 4-HYDROXYBIPHENYL.
- 3) Hiraga K, Fujii T. 1984. Induction of tumours of the urinary bladder in F344 rats by dietary administration of *o*-phenylphenol. *Fd Chem Toxic* 22: 865-870.
- 4) Hazardous Substances Databank (HSDB). 2005. HSDB Number 530. BIPHENYL.
- 5) Ambrose AM, Booth AN, DeEds F, Cox Jr. AJ. 1960. A toxicological study of biphenyl, a citrus fungistat. *Food Res* 25: 328-336.
- 6) Shiraiwa K, Takita M, Tsutsumi M, Kinugasa T, Denda A, Takahashi S, et al. 1989. Diphenyl induces urolithiasis but dose not possess the ability to promote carcinogenesis by N-ethyl-N-hydroxyethylnitrosamine in kidneys of rats. *J Toxicol Pathol* 2: 41-48.
- 7) Umeda Y, Arito H, Kano H, Ohnishi M, Matsumoto M, Nagano K, et al. 2002. Two-year study of carcinogenicity and chronic toxicity of biphenyl in rats. *J Occup Health* 44: 176-183.
- 8) Ohnishi M, Take M, Sagawa M, Yamamoto S, Matsushima T. 1998. Analysis of the components of biphenyl induced urinary bladder calculus in male rats. *Jpn J Toxicol Environ Health* 44: 256-263.
- 9) Ohnishi M, Yajima H, Takeuchi T, Saito M, Yamazaki K, Kasai T, et al. 2001. Mechanism of urinary tract crystal formation following biphenyl treatment. *Toxicol Appl Pharmacol* 174: 122-129.
- 10) Kaneda M, Teramoto S, Shingu A, Shirasu Y. 1978. Teratogenicity and dominant-lethal studies with *o*-phenylphenol. *J Pest Sci* 3: 365-370.
- 11) John JA, Murray FJ, Rao KS, Schwetz BA. 1981. Teratological evaluation of orthophenylphenol in rats. *Fundam Appl Toxicol* 1: 282-285.

連絡先

中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター
〒257-0015 神奈川県秦野市平沢 2445
Tel 0463-82-3911 Fax 0463-82-3860

Correspondence

Japan Bioassay Research Center, Japan Industrial Safety and Health Association
2445 Hirasawa, Hadano, Kanagawa 257-0015, Japan
Tel +81-463-82-3911 Fax +81-463-82-3860

本報告書は、平成 20 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。

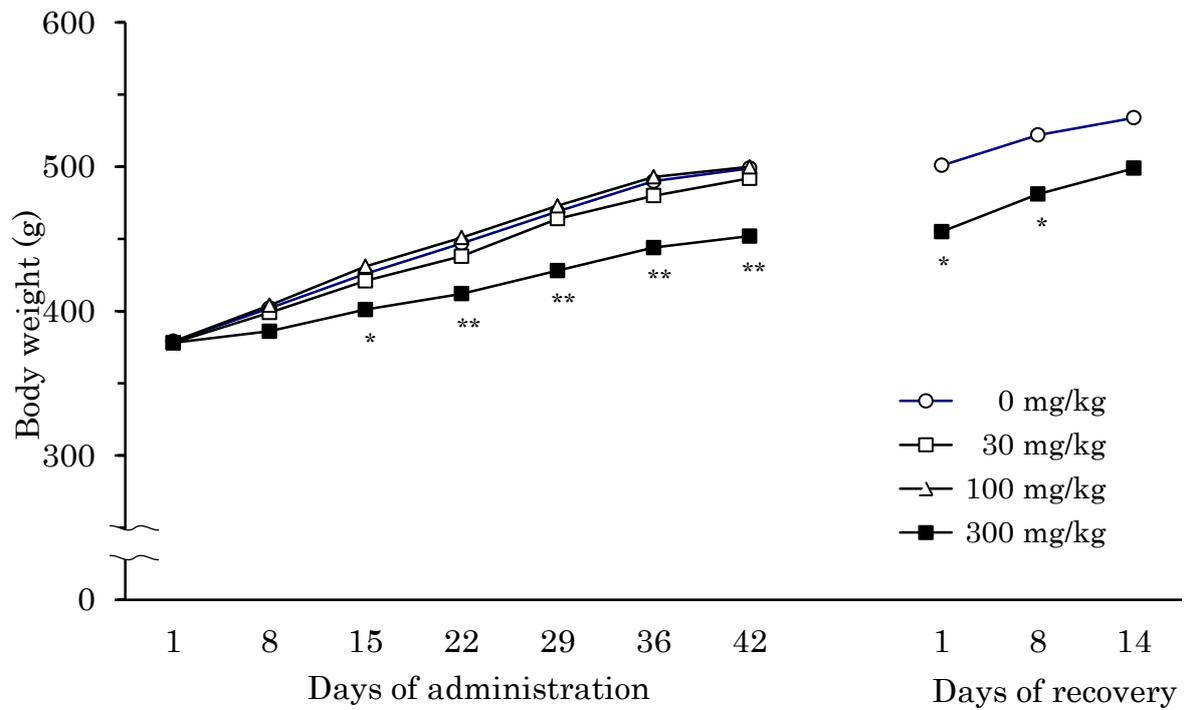


Figure 1 Body weight changes of male rats treated orally with *p*-phenylphenol in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test
Significant difference from the control group, * $p \leq 0.05$ and ** $p \leq 0.01$.

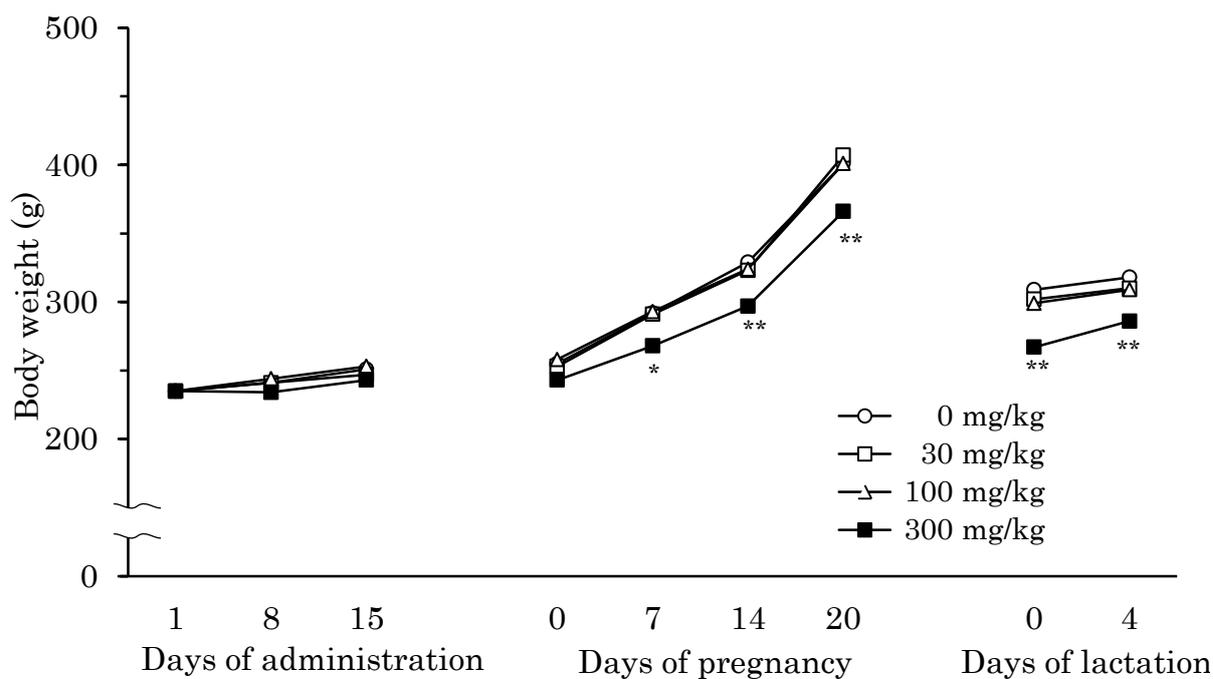


Figure 2 Body weight changes of female rats treated orally with *p*-phenylphenol in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test
Significant difference from the control group, * $p \leq 0.05$ and ** $p \leq 0.01$.

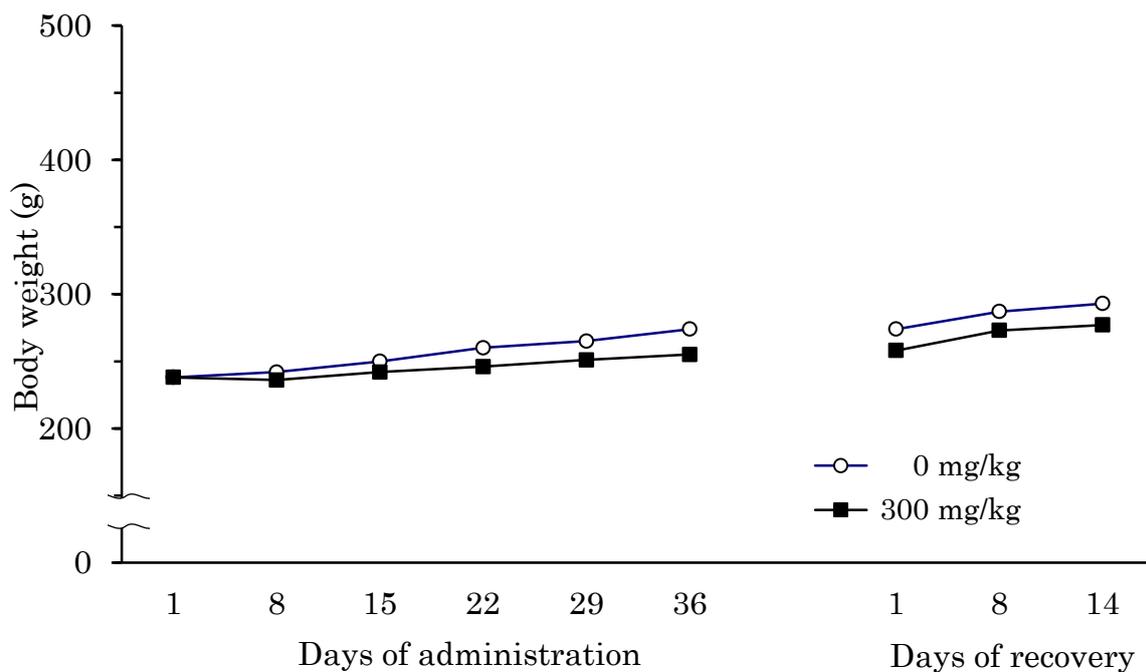


Figure 3 Body weight changes of satellite female rats treated orally with *p*-phenylphenol in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

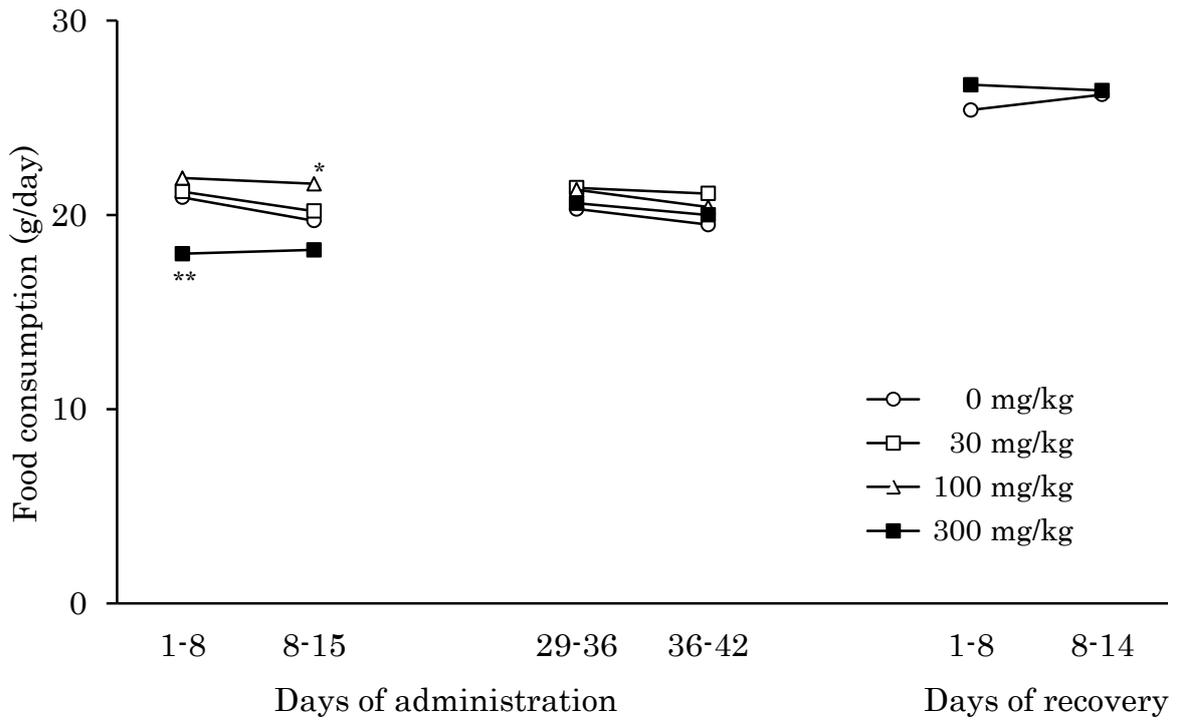


Figure 4 Food consumption changes of male rats treated orally with *p*-phenylphenol in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test
Significant difference from the control group, * $p \leq 0.05$ and ** $p \leq 0.01$.

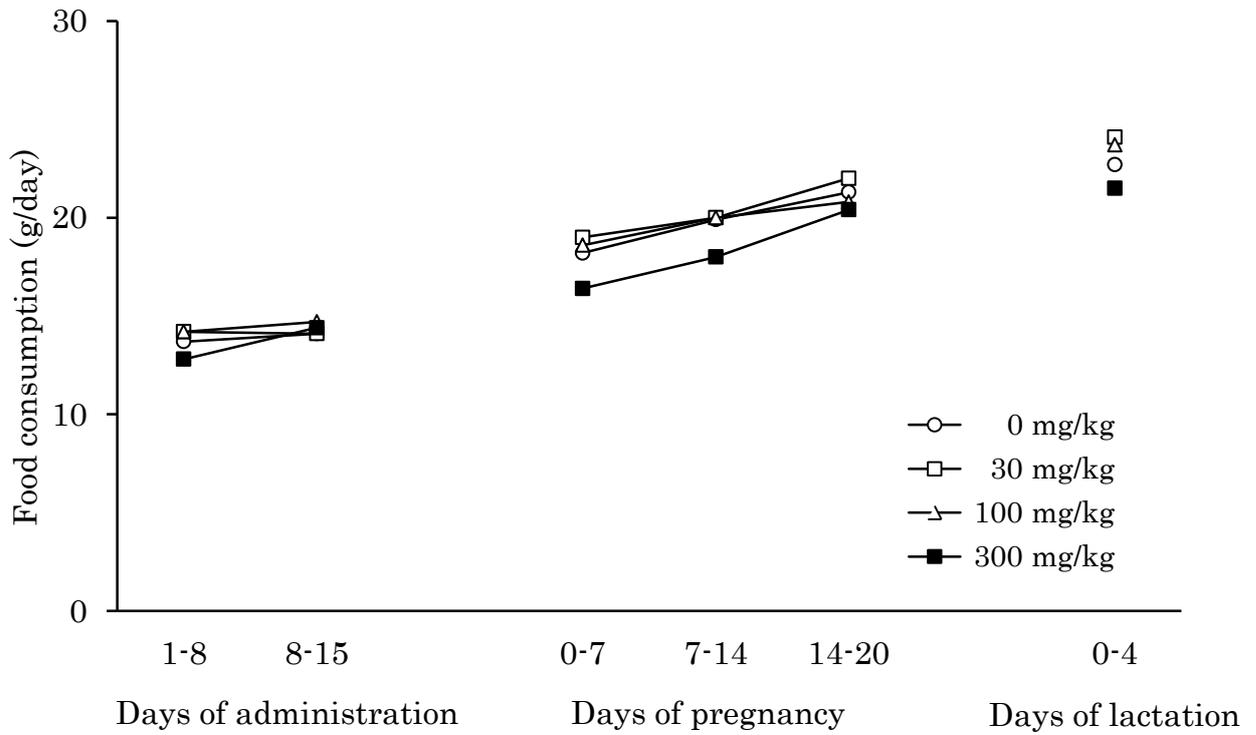


Figure 5 Food consumption changes of female rats treated orally with *p*-phenylphenol in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

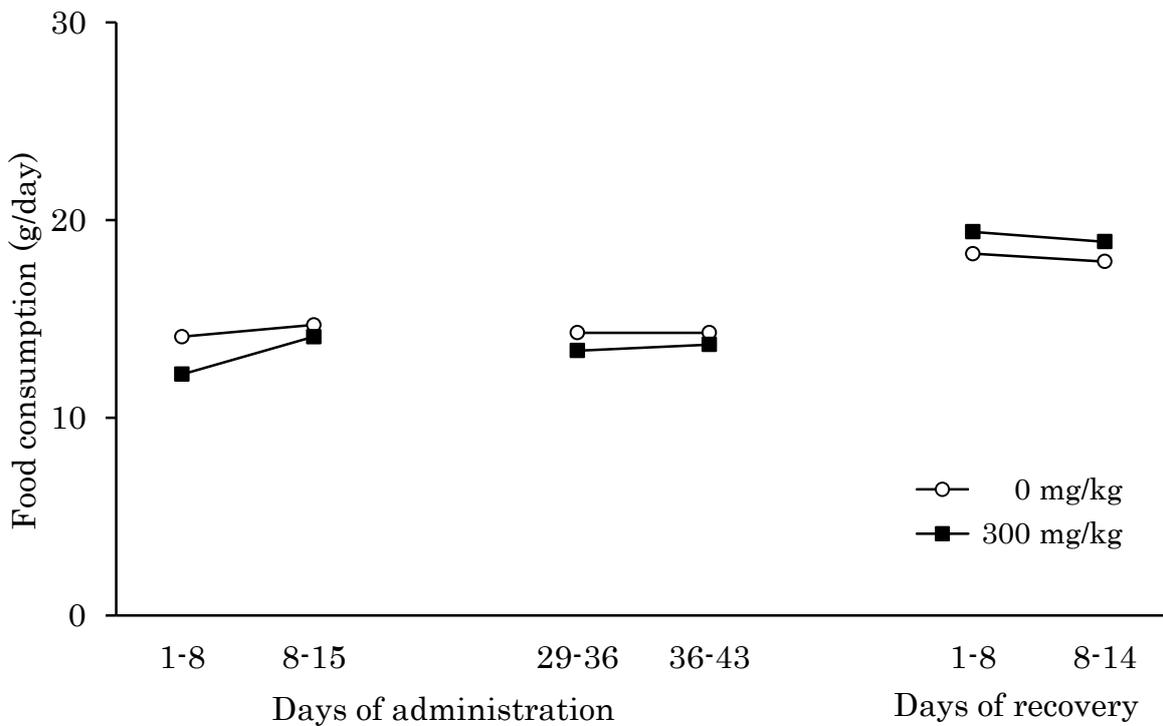


Figure 6 Food consumption changes of satellite female rats treated orally with *p*-phenylphenol in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Table 1 Grip strength of rats treated orally with *p*-phenylphenol in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg)	0	30	100	300
Male				
No. of animals examined	12	12	12	12
Forelimb grip strength (g)	377 ± 75	362 ± 93	400 ± 85	347 ± 67
Hindlimb grip strength (g)	236 ± 49	230 ± 63	260 ± 66	201 ± 44
Female (dam)				
No. of animals examined	5	5	5	5
Forelimb grip strength (g)	286 ± 72	296 ± 133	249 ± 82	261 ± 44
Hindlimb grip strength (g)	175 ± 26	183 ± 61	214 ± 49	169 ± 26

Data represent mean ± S.D.

Table 2 Locomotor activity of rats treated orally with *p*-phenylphenol in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg)	Administration period				Recovery period	
	0	30	100	300	0	300
Male						
No. of animals examined	12	12	12	12	5	5
Interval count						
0 – 10 (min)	2594 ± 728	2540 ± 1144	1989 ± 818	2381 ± 642	2223 ± 1012	1968 ± 877
10 – 20 (min)	1647 ± 724	1542 ± 917	1439 ± 1058	998 ± 670	1914 ± 283	1369 ± 789
20 – 30 (min)	1148 ± 676	1117 ± 924	1489 ± 1060	573 ± 672	1286 ± 873	757 ± 791
30 – 40 (min)	861 ± 743	1278 ± 1051	760 ± 636	332 ± 387	314 ± 250	312 ± 383
40 – 50 (min)	1305 ± 678	755 ± 798	712 ± 619	356 ± 470 **	844 ± 1055	252 ± 367
50 – 60 (min)	649 ± 593	626 ± 817	605 ± 624	328 ± 660	1310 ± 1372	667 ± 727
Total count						
0 – 60 (min)	8203 ± 2460	7858 ± 4352	6994 ± 3452	4968 ± 2087	7890 ± 2695	5324 ± 2567
Female (dam)					Satellite female	
No. of animals examined	5	5	5	5	4	5
Interval count						
0 – 10 (min)	2635 ± 682	2537 ± 1536	1434 ± 1107	1530 ± 985	3282 ± 690	2888 ± 618
10 – 20 (min)	1295 ± 456	1252 ± 1470	580 ± 592	949 ± 1015	3070 ± 1051	2708 ± 715
20 – 30 (min)	454 ± 740	94 ± 57	368 ± 361	289 ± 460	3072 ± 623	2429 ± 871
30 – 40 (min)	548 ± 704	683 ± 1170	289 ± 598	128 ± 260	2209 ± 1791	1586 ± 832
40 – 50 (min)	314 ± 614	300 ± 642	479 ± 732	349 ± 715	1747 ± 760	1238 ± 1072
50 – 60 (min)	405 ± 773	319 ± 435	210 ± 372	38 ± 77	1402 ± 913	1845 ± 634
Total count						
0 – 60 (min)	5650 ± 2559	5184 ± 4362	3360 ± 2701	3283 ± 2766	14782 ± 4887	12694 ± 3210

Data represent mean ± S.D.

Significant difference from the control group, ** $p \leq 0.01$.

Table 3 Urinalysis of male rats treated orally with *p*-phenylphenol in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg)		0	30	100	300
No. of animals examined		12	12	12	12
pH	6.0	0	0	0	1
	6.5	0	0	0	0
	7.0	0	0	0	0
	7.5	1	0	0	0
	8.0	1	0	4	1
	8.5	10	12	8	10
Protein	—	0	0	0	0
	±	1	3	3	4
	+	7	6	7	7
	2+	4	3	2	1
Glucose		12	12	12	12
Ketone body	—	0	3	1	3
	±	11	8	9	9
	+	1	1	2	0
Bilirubin		12	12	12	12
Occult blood		12	12	12	12
Urobilinogen		12	12	12	12

Grade: —: negative, ±: trace, +: slight, 2+: moderate, 3+: marked
Data represent the number of animals.

Table 4 Hematology of rats treated orally with *p*-phenylphenol in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg)	At the end of administration period				At the end of recovery period	
	0	30	100	300	0	300
Male						
No. of animals examined	7	12	12	7	5	5
RBC ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	8.55 \pm 0.53	8.39 \pm 0.37	8.33 \pm 0.36	8.36 \pm 0.38	8.43 \pm 0.30	8.18 \pm 0.13
Hemoglobin (g/dL)	16.3 \pm 0.6	16.7 \pm 0.6	16.5 \pm 0.7	16.2 \pm 0.5	16.1 \pm 0.3	15.8 \pm 0.6
Hematocrit (%)	42.5 \pm 1.5	42.9 \pm 1.8	42.4 \pm 1.7	42.2 \pm 1.8	41.6 \pm 0.6	41.8 \pm 1.4
MCV (fL)	49.8 \pm 1.6	51.2 \pm 2.3	50.9 \pm 1.6	50.5 \pm 1.3	49.5 \pm 1.5	51.1 \pm 2.3
MCH (pg)	19.1 \pm 0.9	19.9 \pm 0.8	19.8 \pm 0.7	19.4 \pm 0.6	19.2 \pm 0.4	19.3 \pm 0.9
MCHC (g/dL)	38.4 \pm 0.6	38.9 \pm 0.7	38.9 \pm 0.6	38.4 \pm 0.8	38.7 \pm 0.4	37.8 \pm 0.6 *
Platelet ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	1011 \pm 105	965 \pm 76	1092 \pm 118	1038 \pm 37	1119 \pm 223	1049 \pm 91
Reticulocyte (%)	1.7 \pm 0.4	1.7 \pm 0.4	1.8 \pm 0.2	1.7 \pm 0.4	1.8 \pm 0.1	2.3 \pm 0.4 *
PT (sec)	14.9 \pm 1.9	15.9 \pm 2.9	15.6 \pm 1.7	17.0 \pm 3.1	15.6 \pm 2.4	15.7 \pm 2.2
APTT (sec)	23.4 \pm 2.5	23.3 \pm 1.7	22.1 \pm 1.8	22.7 \pm 3.0	23.8 \pm 3.5	24.1 \pm 2.3
WBC ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	12.49 \pm 3.25	13.51 \pm 4.11	15.57 \pm 2.63	15.28 \pm 4.61	9.03 \pm 1.76	11.16 \pm 2.14
Differential WBC (%)						
Neutrophil, band	0 \pm 1	0 \pm 1	0 \pm 1	0 \pm 0	0 \pm 1	1 \pm 1
Neutrophil, segment	22 \pm 10	17 \pm 6	14 \pm 4 *	13 \pm 3 *	19 \pm 6	20 \pm 5
Eosinophil	1 \pm 1	1 \pm 1	1 \pm 1	1 \pm 1	2 \pm 0	1 \pm 0
Basophil	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
Monocyte	3 \pm 1	3 \pm 1	2 \pm 1	3 \pm 2	4 \pm 1	5 \pm 0
Lymphocyte	73 \pm 11	79 \pm 7	82 \pm 5 *	83 \pm 4 *	75 \pm 7	73 \pm 5
Others	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 1	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
Female (dam)					Satellite female	
No. of animals examined	11	12	12	11	5	5
RBC ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	6.69 \pm 0.48	6.51 \pm 0.40	6.43 \pm 0.55	6.38 \pm 0.42	7.97 \pm 0.28	7.96 \pm 0.27
Hemoglobin (g/dL)	13.9 \pm 0.7	13.5 \pm 0.7	13.3 \pm 0.8	13.2 \pm 0.6	15.9 \pm 0.4	15.9 \pm 0.5
Hematocrit (%)	36.4 \pm 1.7	35.7 \pm 1.8	35.2 \pm 2.0	34.6 \pm 1.4	40.8 \pm 1.4	40.1 \pm 1.3
MCV (fL)	54.5 \pm 2.2	54.9 \pm 2.3	54.8 \pm 2.3	54.5 \pm 2.5	51.2 \pm 1.1	50.4 \pm 1.0
MCH (pg)	20.9 \pm 0.9	20.7 \pm 0.7	20.8 \pm 0.8	20.7 \pm 0.8	20.0 \pm 0.4	20.0 \pm 0.4
MCHC (g/dL)	38.2 \pm 0.4	37.7 \pm 0.6	37.9 \pm 0.7	38.1 \pm 0.8	39.0 \pm 0.8	39.7 \pm 0.5
Platelet ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	1303 \pm 132	1250 \pm 147	1281 \pm 186	1431 \pm 118	1121 \pm 220	1134 \pm 72
Reticulocyte (%)	5.4 \pm 1.5	6.5 \pm 1.8	6.3 \pm 2.5	6.8 \pm 1.8	1.5 \pm 0.2	1.7 \pm 0.2
PT (sec)	11.7 \pm 0.4	12.1 \pm 0.4	12.1 \pm 0.4	12.0 \pm 0.5	11.0 \pm 0.3	11.4 \pm 0.7
APTT (sec)	16.6 \pm 1.6	17.3 \pm 1.8	17.4 \pm 2.0	16.2 \pm 1.7	17.5 \pm 2.0	18.3 \pm 2.1
WBC ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	13.05 \pm 2.54	13.48 \pm 3.92	12.47 \pm 3.03	14.43 \pm 5.04	5.87 \pm 1.09	5.81 \pm 1.95
Differential WBC (%)						
Neutrophil, band	1 \pm 1	1 \pm 1	1 \pm 1	1 \pm 1	0 \pm 0	1 \pm 1
Neutrophil, segment	31 \pm 9	34 \pm 11	31 \pm 7	31 \pm 6	20 \pm 4	15 \pm 4
Eosinophil	1 \pm 1	0 \pm 0	1 \pm 1	1 \pm 1	2 \pm 1	2 \pm 1
Basophil	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
Monocyte	4 \pm 1	4 \pm 1	4 \pm 1	5 \pm 2	4 \pm 1	3 \pm 1
Lymphocyte	63 \pm 9	60 \pm 11	62 \pm 7	62 \pm 7	74 \pm 5	78 \pm 4
Others	0 \pm 0	0 \pm 1	1 \pm 1	1 \pm 1	1 \pm 1	1 \pm 1

Data represent mean \pm S.D.

Significant difference from the control group, * $p \leq 0.05$.

Table 5 Biochemistry of rats treated orally with *p*-phenylphenol in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg)	At the end of administration period				At the end of recovery period	
	0	30	100	300	0	300
Male						
No. of animals examined	7	12	12	7	5	5
Total protein (g/dL)	6.3 ± 0.3	6.1 ± 0.2	6.2 ± 0.2	6.0 ± 0.3	6.2 ± 0.1	6.1 ± 0.4
Albumin (g/dL)	3.4 ± 0.1	3.4 ± 0.1	3.4 ± 0.1	3.4 ± 0.2	3.3 ± 0.1	3.3 ± 0.2
A/G ratio	1.2 ± 0.1	1.3 ± 0.1	1.3 ± 0.1	1.3 ± 0.1	1.2 ± 0.1	1.2 ± 0.1
Total bilirubin (mg/dL)	0.12 ± 0.01	0.13 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.13 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.12 ± 0.01
Glucose (mg/dL)	175 ± 15	183 ± 13	193 ± 20	166 ± 14	176 ± 13	176 ± 22
Total cholesterol (mg/dL)	52 ± 11	62 ± 15	53 ± 7	55 ± 13	57 ± 8	59 ± 5
Triglyceride (mg/dL)	48 ± 34	48 ± 16	63 ± 32	43 ± 19	41 ± 9	32 ± 11
Phospholipid (mg/dL)	93 ± 19	102 ± 15	92 ± 8	91 ± 11	91 ± 12	94 ± 7
AST (IU/L)	62 ± 9	76 ± 47	62 ± 7	59 ± 7	62 ± 3	69 ± 4 *
ALT (IU/L)	30 ± 5	38 ± 26	29 ± 6	34 ± 2	25 ± 3	28 ± 3
LDH (IU/L)	134 ± 40	172 ± 100	162 ± 63	138 ± 61	145 ± 46	154 ± 45
ALP (IU/L)	261 ± 37	285 ± 59	257 ± 60	258 ± 96	185 ± 41	198 ± 39
γ-GTP (IU/L)	1 ± 0	1 ± 1	1 ± 0	1 ± 0	1 ± 1	1 ± 0
CK (IU/L)	84 ± 14	87 ± 16	97 ± 18	95 ± 16	106 ± 10	112 ± 18
BUN (mg/dL)	12.5 ± 1.3	13.0 ± 1.4	12.8 ± 2.0	13.8 ± 1.4	13.3 ± 1.3	13.8 ± 2.2
Creatinine (mg/dL)	0.5 ± 0.1	0.5 ± 0.0	0.5 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.5 ± 0.1
Na (mEq/L)	142 ± 2	142 ± 1	143 ± 1	142 ± 1	143 ± 1	142 ± 1
K (mEq/L)	3.8 ± 0.2	3.7 ± 0.3	3.8 ± 0.4	3.8 ± 0.3	3.7 ± 0.1	3.6 ± 0.3
Cl (mEq/L)	106 ± 1	106 ± 1	106 ± 1	105 ± 1	107 ± 1	106 ± 1
Ca (mg/dL)	10.1 ± 0.2	10.2 ± 0.2	10.2 ± 0.2	10.2 ± 0.1	9.9 ± 0.2	10.0 ± 0.3
IP (mg/dL)	6.0 ± 0.6	6.5 ± 0.8	6.6 ± 0.6	7.0 ± 0.6 *	5.9 ± 0.3	6.3 ± 0.2 *
Female (dam)					Satellite female	
No. of animals examined	11	12	12	11	5	5
Total protein (g/dL)	6.1 ± 0.4	6.2 ± 0.3	6.2 ± 0.3	6.1 ± 0.3	7.0 ± 0.3	6.6 ± 0.3 *
Albumin (g/dL)	3.5 ± 0.2	3.4 ± 0.2	3.6 ± 0.2	3.5 ± 0.2	4.3 ± 0.2	4.0 ± 0.2
A/G ratio	1.3 ± 0.1	1.3 ± 0.1	1.4 ± 0.2	1.4 ± 0.2	1.6 ± 0.1	1.6 ± 0.2
Total bilirubin (mg/dL)	0.13 ± 0.02	0.13 ± 0.02	0.13 ± 0.02	0.13 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.14 ± 0.02
Glucose (mg/dL)	151 ± 15	149 ± 10	146 ± 10	146 ± 11	174 ± 18	155 ± 17
Total cholesterol (mg/dL)	61 ± 11	59 ± 9	60 ± 14	72 ± 12	68 ± 18	73 ± 6
Triglyceride (mg/dL)	42 ± 13	44 ± 18	65 ± 31	71 ± 32 *	22 ± 10	18 ± 4
Phospholipid (mg/dL)	121 ± 17	118 ± 16	127 ± 22	145 ± 19 **	140 ± 28	139 ± 10
AST (IU/L)	87 ± 13	87 ± 16	91 ± 32	84 ± 16	88 ± 36	63 ± 8
ALT (IU/L)	46 ± 11	48 ± 10	55 ± 17	66 ± 13 **	50 ± 35	24 ± 3
LDH (IU/L)	174 ± 58	145 ± 34	161 ± 33	178 ± 58	168 ± 68	157 ± 64
ALP (IU/L)	144 ± 42	164 ± 30	161 ± 69	255 ± 108 **	79 ± 14	91 ± 12
γ-GTP (IU/L)	1 ± 0	1 ± 0	1 ± 0	1 ± 0	1 ± 0	1 ± 0
CK (IU/L)	97 ± 14	88 ± 13	104 ± 24	95 ± 16	92 ± 27	86 ± 21
BUN (mg/dL)	15.9 ± 4.0	17.0 ± 4.3	18.9 ± 4.3	27.1 ± 13.6	15.8 ± 1.5	15.6 ± 2.3
Creatinine (mg/dL)	0.6 ± 0.0	0.6 ± 0.1	0.6 ± 0.1	0.7 ± 0.2	0.6 ± 0.1	0.6 ± 0.0
Na (mEq/L)	142 ± 1	142 ± 1	142 ± 1	141 ± 2 *	143 ± 1	142 ± 2
K (mEq/L)	3.4 ± 0.4	3.2 ± 0.3	3.3 ± 0.4	3.1 ± 0.3	3.1 ± 0.3	3.2 ± 0.2
Cl (mEq/L)	106 ± 1	106 ± 1	106 ± 1	104 ± 2 **	107 ± 2	107 ± 0
Ca (mg/dL)	10.7 ± 0.3	10.6 ± 0.3	10.7 ± 0.4	11.0 ± 0.7	10.2 ± 0.3	10.1 ± 0.2
IP (mg/dL)	7.9 ± 1.0	8.1 ± 1.1	8.1 ± 0.9	8.7 ± 1.9	3.7 ± 0.7	4.1 ± 0.8

Data represent mean ± S.D.

Significant difference from the control group, * $p \leq 0.05$ and ** $p \leq 0.01$.

Table 6 Organ weights of rats treated orally with *p*-phenylphenol in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg)	At the end of administration period				At the end of recovery period	
	0	30	100	300	0	300
Male						
No. of animals examined	7	12	12	7	5	5
Body weight (g)	475 ± 28	469 ± 33	475 ± 26	426 ± 22 **	505 ± 20	467 ± 23 *
Thymus (g)	0.356 ± 0.070	0.387 ± 0.057	0.412 ± 0.072	0.382 ± 0.069	0.381 ± 0.049	0.377 ± 0.020
	(%) 0.075 ± 0.017	0.083 ± 0.017	0.087 ± 0.012	0.090 ± 0.014	0.076 ± 0.010	0.081 ± 0.007
Adrenals (g)	0.068 ± 0.008	0.071 ± 0.012	0.066 ± 0.007	0.063 ± 0.006	0.074 ± 0.010	0.067 ± 0.007
	(%) 0.014 ± 0.002	0.015 ± 0.003	0.014 ± 0.002	0.015 ± 0.002	0.015 ± 0.002	0.014 ± 0.002
Heart (g)	1.388 ± 0.074	1.482 ± 0.147	1.368 ± 0.114	1.282 ± 0.087	1.522 ± 0.058	1.492 ± 0.121
	(%) 0.293 ± 0.020	0.317 ± 0.034	0.288 ± 0.022	0.302 ± 0.020	0.302 ± 0.015	0.319 ± 0.011
Kidneys (g)	2.773 ± 0.193	2.850 ± 0.261	2.862 ± 0.184	3.091 ± 0.172 *	3.188 ± 0.288	2.987 ± 0.188
	(%) 0.585 ± 0.053	0.608 ± 0.035	0.603 ± 0.036	0.727 ± 0.029 **	0.630 ± 0.036	0.640 ± 0.042
Spleen (g)	0.643 ± 0.104	0.694 ± 0.093	0.715 ± 0.111	0.694 ± 0.099	0.748 ± 0.054	0.768 ± 0.102
	(%) 0.135 ± 0.018	0.148 ± 0.020	0.150 ± 0.019	0.163 ± 0.018	0.149 ± 0.015	0.164 ± 0.017
Liver (g)	12.732 ± 1.079	12.738 ± 1.197	13.345 ± 1.309	12.393 ± 1.164	13.063 ± 1.248	11.834 ± 1.401
	(%) 2.678 ± 0.152	2.715 ± 0.155	2.809 ± 0.204	2.910 ± 0.192	2.581 ± 0.146	2.530 ± 0.248
Brain (g)	2.058 ± 0.089	2.119 ± 0.098	2.118 ± 0.092	2.076 ± 0.080	2.186 ± 0.052	2.105 ± 0.035 *
	(%) 0.434 ± 0.020	0.453 ± 0.031	0.447 ± 0.028	0.489 ± 0.028 **	0.433 ± 0.016	0.451 ± 0.025
Testes (g)	3.180 ± 0.490	3.416 ± 0.432	3.260 ± 0.210	3.364 ± 0.277	3.539 ± 0.192	3.282 ± 0.235
	(%) 0.667 ± 0.087	0.732 ± 0.100	0.688 ± 0.056	0.791 ± 0.060 *	0.702 ± 0.052	0.704 ± 0.058
Epididymides (g)	1.166 ± 0.147	1.268 ± 0.124	1.222 ± 0.088	1.222 ± 0.101	1.439 ± 0.138	1.284 ± 0.129
	(%) 0.245 ± 0.026	0.271 ± 0.028	0.258 ± 0.020	0.287 ± 0.014 **	0.285 ± 0.028	0.275 ± 0.030
Female (dam)						
No. of animals examined	11	12	12	11	5	5
Body weight (g)	294 ± 17	286 ± 13	285 ± 14	256 ± 11 **	273 ± 30	257 ± 20
Thymus (g)	0.239 ± 0.093	0.208 ± 0.045	0.194 ± 0.040	0.152 ± 0.047 **	0.291 ± 0.126	0.329 ± 0.079
	(%) 0.080 ± 0.030	0.073 ± 0.017	0.068 ± 0.014	0.059 ± 0.016	0.104 ± 0.033	0.128 ± 0.033
Adrenals (g)	0.082 ± 0.005	0.088 ± 0.008	0.083 ± 0.011	0.073 ± 0.008 *	0.079 ± 0.013	0.078 ± 0.010
	(%) 0.028 ± 0.002	0.031 ± 0.004	0.029 ± 0.004	0.028 ± 0.003	0.029 ± 0.006	0.030 ± 0.002
Heart (g)	0.997 ± 0.113	1.025 ± 0.068	0.983 ± 0.082	0.862 ± 0.086 **	0.969 ± 0.077	0.931 ± 0.125
	(%) 0.339 ± 0.026	0.359 ± 0.026	0.346 ± 0.027	0.336 ± 0.025	0.358 ± 0.043	0.363 ± 0.050
Kidneys (g)	1.795 ± 0.137	1.815 ± 0.097	1.808 ± 0.127	2.217 ± 0.414 *	1.814 ± 0.201	1.668 ± 0.156
	(%) 0.611 ± 0.041	0.636 ± 0.043	0.636 ± 0.049	0.864 ± 0.150 **	0.667 ± 0.068	0.649 ± 0.023
Spleen (g)	0.583 ± 0.106	0.624 ± 0.089	0.634 ± 0.134	0.557 ± 0.126	0.521 ± 0.068	0.465 ± 0.110
	(%) 0.198 ± 0.030	0.218 ± 0.032	0.222 ± 0.040	0.216 ± 0.038	0.191 ± 0.020	0.180 ± 0.029
Liver (g)	9.954 ± 0.832	9.882 ± 0.523	9.886 ± 0.876	9.969 ± 0.771	7.165 ± 0.743	6.793 ± 0.778
	(%) 3.390 ± 0.265	3.457 ± 0.186	3.474 ± 0.261	3.890 ± 0.267 **	2.628 ± 0.140	2.638 ± 0.115
Brain (g)	1.976 ± 0.078	1.961 ± 0.066	1.965 ± 0.080	1.939 ± 0.078	1.984 ± 0.042	1.984 ± 0.076
	(%) 0.675 ± 0.056	0.687 ± 0.034	0.692 ± 0.039	0.757 ± 0.032 **	0.733 ± 0.072	0.774 ± 0.046

Data represent mean ± S.D.

Significant difference from the control group, * $p \leq 0.05$ and ** $p \leq 0.01$.

Table 7 Histopathological findings of rats treated orally with *p*-phenylphenol in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg)		Male						Female						
		At the end of administration period				At the end of recovery period		At the end of administration period				At the end of recovery period		
		0	30	100	300	0	300	0	30	100	300	0	300	
No. of animals examined		<5>	<5>	<5>	<5>	<5>	<5>	<5>	<5>	<5>	<5>	<5>	<5>	
(Liver)	(Grade)													
	inflammatory cell nest	+	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1
(Kidney)	hyaline cast	+	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	infarct	+	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	dilatation: tubular lumen	2+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3 [*]	0	0
	papillary necrosis	2+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	regeneration: renal tubule	2+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
		3+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
(Stomach)	hyperplasia: forestomach	2+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5 ^{**}	0	0
	ulcer: forestomach	2+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
(Heart)	inflammatory cell nest	+	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
(Lung)	accumulation of foamy cells	+	1	3	0	2	0	2	3	2	3	2	1	2
	hemorrhage	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
(Spleen)	extramedullary hematopoiesis	2+	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	deposit of hemosiderin	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5
(Thymus)	atrophy	2+	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
(Adrenal)	necrosis: focal	2+	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
(Thyroid)	ultimobranchial body remanet	+	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	1	1
(brain)	dilatation: cerebral ventricle	2+	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
(Pituitary)	Rathke pouch	+	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
(Mammary gland)	poorly development	+	—	—	—	—	—	—	0	0	0	2 ^{a)}	0	0
No. of animals examined		<7>	<12>	<12>	<7>	<5>	<5>	<—>	<—>	<—>	<—>	<—>	<—>	<—>
(Testis)	tubular atrophy	+	0	1	3	0	1	0	—	—	—	—	—	—
		2+	1	1	1	0	0	0	—	—	—	—	—	—
	inflammation	+	0	0	0	0	1	0	—	—	—	—	—	—
(Epididymis)	spermatogenic granuloma	+	0	0	1	0	0	0	—	—	—	—	—	—
		2+	0	1	0	0	0	0	—	—	—	—	—	—
	inflammation	+	0	0	0	0	1	0	—	—	—	—	—	—
(Prostate)	inflammation	+	1	3	0	0	1	1	—	—	—	—	—	—
		2+	2	1	3	0	0	0	—	—	—	—	—	—

Grade: +: slight, 2+: moderate, 3+: marked

Data represent the number of animals.

^{a)} The number of examined animals is 6.

Significant difference from the control group, * $p \leq 0.05$ and ** $p \leq 0.01$.

Table 8 Estrous cycle and reproductive performance of rats treated orally with *p*-phenylphenol in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg)	0	30	100	300
Estrous cycle				
No. of animals examined	12	12	12	12
Normal ^{1), 3)}	12	12	11	11
Abnormal ¹⁾	0	0	1	1
Cycles (days) ²⁾	4.2 ± 0.2	4.0 ± 0.1	4.0 ± 0.0 ⁴⁾	4.0 ± 0.0 ⁴⁾
Reproductive performance				
No. of mated pairs	12	12	12	12
No. of copulated pairs	12	12	12	12
Copulation index (%)	100	100	100	100
No. of pregnant females	12	12	12	12
Fertility index (%)	100	100	100	100
Pairing days until copulation ²⁾	2.8 ± 1.9	2.6 ± 1.2	2.7 ± 0.9	2.3 ± 1.2
Parturition and nursing ¹⁾				
No abnormalities detected	11	12	12	9
Maternal death before parturition	0	0	0	1
Neglect of nursing care	0	0	0	2

¹⁾ Data represent the number of animals.

²⁾ Data represent mean ± S.D.

³⁾ 4 to 6 days cycle.

⁴⁾ The number of animals calculated cycle is 11.

Copulation index = (No. of copulated pairs / No. of mated pairs) × 100.

Fertility index = (No. of pregnant females / No. of copulated pairs) × 100.

Table 9 Summary of development of pups from dams treated orally with *p*-phenylphenol in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg)	0		30		100		300	
No. of pregnant females	12		12		12		12	
No. of pregnant females with live pups	11		12		12		11	
Gestation index (%)	91.7		100		100		91.7	
Gestation length (days)	22.3 ± 0.5	(11)	22.0 ± 0.0	(12)	22.1 ± 0.3	(12)	22.4 ± 0.5	(11)
No. of corpora lutea	14.8 ± 1.9	(12)	15.7 ± 2.1	(12)	14.8 ± 1.9	(12)	14.8 ± 1.0	(12)
No. of implantations	13.7 ± 4.2	(12)	15.3 ± 1.9	(12)	14.1 ± 2.8	(12)	12.8 ± 3.2	(12)
Implantation index (%)	90.9 ± 25.9	(12)	98.0 ± 3.0	(12)	94.5 ± 13.1	(12)	87.4 ± 21.3	(12)
No. of pups born	12.5 ± 4.1	(12)	14.7 ± 2.5	(12)	13.5 ± 2.6	(12)	12.1 ± 3.2	(11)
Delivery index (%)	84.7 ± 27.7	(12)	95.2 ± 7.5	(12)	96.2 ± 4.2	(12)	93.7 ± 4.9	(11)
Day 0 of lactation								
No. of live pups	13.6 ± 1.0	(11)	14.6 ± 2.4	(12)	13.3 ± 2.6	(12)	10.9 ± 2.9	(11)
Birth index (%)	92.4 ± 7.6	(11)	94.7 ± 7.3	(12)	94.4 ± 3.7	(12)	85.8 ± 12.8	(11)
Live birth index (%)	100.0 ± 0.0	(11)	99.5 ± 1.6	(12)	98.2 ± 3.4	(12)	91.7 ± 13.8	(11)
Pups weight (g)								
Male	6.7 ± 0.5	(11)	6.4 ± 0.5	(12)	6.4 ± 0.3	(12)	6.7 ± 0.9	(11)
Female	6.3 ± 0.4	(11)	6.1 ± 0.5	(12)	6.3 ± 0.5	(12)	6.2 ± 0.9	(11)
Day 4 of lactation								
No. of live pups	13.3 ± 1.2	(11)	14.3 ± 2.3	(12)	13.1 ± 2.4	(12)	8.5 ± 5.3	(11)
Viability index (%)	97.3 ± 4.8	(11)	98.4 ± 2.9	(12)	99.1 ± 3.2	(12)	78.1 ± 39.9	(11)
Pups weight (g)								
Male	10.0 ± 1.3	(11)	10.2 ± 1.3	(12)	10.5 ± 0.9	(12)	11.2 ± 1.9	(9)
Female	9.5 ± 1.1	(11)	9.7 ± 1.2	(12)	10.4 ± 1.3	(12)	10.6 ± 1.4	(9)
Sex ratio on day 0								
Total no. of pups born ¹⁾	150	(11)	176	(12)	162	(12)	133	(11)
Total no. of male pups born ¹⁾	74	(11)	94	(12)	71	(12)	73	(11)
Sex ratio of pups ¹⁾	0.49 ± 0.11	(11)	0.54 ± 0.14	(12)	0.44 ± 0.09	(12)	0.56 ± 0.13	(11)
Total no. of live pups	150	(11)	175	(12)	159	(12)	120	(11)
Total no. of male live pups	74	(11)	94	(12)	70	(12)	65	(11)
Sex ratio of live pups	0.49 ± 0.11	(11)	0.54 ± 0.14	(12)	0.44 ± 0.11	(12)	0.56 ± 0.15	(11)
Sex ratio on day 4								
Total no. of live pups	146	(11)	172	(12)	157	(12)	94	(9)
Total no. of male live pups	73	(11)	93	(12)	68	(12)	52	(9)
Sex ratio of live pups	0.50 ± 0.11	(11)	0.54 ± 0.13	(12)	0.43 ± 0.11	(12)	0.58 ± 0.17	(9)

Data represent mean ± S.D.

Parentheses represent the number of litters examined.

Gestation index = (No. of pregnant females with live pups / No. of pregnant females) × 100.

Implantation index = (No. of implantations / No. of corpora lutea) × 100.

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

Birth index = (No. of live pups on day 0 / No. of implantations) × 100.

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

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

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

¹⁾ Excepting pups of undetermined sex.