

形態に異常のみられた精子の発現率が増加したが、いずれも極端に影響の認められた1例による影響が集計結果に影響を与えたものと判断された。

## 【考察】

メトキシクロルの *in vivo*での毒性の検討は、非常に多く実施されており、その影響は特に生殖器に著明である。まず、単回投与でのメトキシクロルの一般毒性学的影響はかなり弱く<sup>44,45)</sup>、ラット経口投与時のLD50値は5000~7000 mg/kgであり<sup>44)</sup>、サルでは2500 mg/kg以上であったとする報告がみられる<sup>1)</sup>。

反復投与による生殖器に対する毒性は、雄ではメトキシクロルの1.0%混餌投与によって、精巣、精嚢、前立腺重量の低下ならびに精細管の萎縮、精子細胞、精子の減少、精細胞の多核化、間質細胞の減少が<sup>40)</sup>、45日間の3.0%混餌投与によって、体重増加の抑制ならびに精巣重量の低下ならびに病理組織学的検査の結果、精細管内のセルトリ細胞および精祖細胞を除く精上皮細胞の減少ならびに精細管の萎縮が<sup>44)</sup>、雄ラットへの100あるいは200 mg/kgの70日間の強制経口投与によって、精原細胞、精子細胞の退行変性と多核化、精祖細胞を除く精上皮細胞の減少、セルトリ細胞の脂肪変性による血液精巣関門の障害、精巣上体管上皮の著明な空胞変性、精巣上体尾部付近では剥離した上皮を含む精巣上体液による精巣上体管の拡張、精子形成の障害がそれぞれ確認されている<sup>41,45)</sup>。メトキシクロルの投与によって、精子形成の停止とともにセルトリ細胞の脂肪変性が認められるとする報告もみられる<sup>46)</sup>。精巣の萎縮はウサギにおいても認められている<sup>47)</sup>。

一方、雌では、メトキシクロルの投与によって卵巣におけるステロイドホルモンの合成阻害が起きることが報告され<sup>48)</sup>、ICRマウスにメトキシクロルの50、100および200 mg/kgを強制経口投与したとき、用量相関的に連続発情がみられ、卵巣重量の減少し閉鎖卵胞の増加を認めている<sup>49)</sup>。Balらは、メトキシクロルの100あるいは200 mg/kgを70日間、強制経口投与することによって、卵胞は変性し核濃縮をおこし、顆粒細胞には核崩壊が観察されたと報告している<sup>41,45)</sup>。ただし、病理組織学的変化は100 mg/kg以下では起こらないとされている<sup>37,40,50)</sup>。ラットにおいてはメトキシクロルの投与によって、血中のプロゲステロン濃度が低下し、卵巣中の黄体数が減少し<sup>51)</sup>、卵胞の退行が認められたとする報告がみられる<sup>52)</sup>。

生殖器以外に対する変化では、メトキシクロルを1%の割合で33から55回混餌投与した場合、尿細管（遠位尿細管あるいはヘンレの係蹄）の拡張が報告され<sup>40)</sup>、ミニブタやウサギにおいては慢性腎疾患が報告されている<sup>47)</sup>。7から8週齢のラットで肝臓の充血ならびに炎症性細胞浸潤ならびに近位尿細管の空胞変性を呈した報告も認められる<sup>53)</sup>。一方、メトキシクロルを0.16%の濃度で混合した飼料を2年間、ラットへ混餌投与した慢性毒性試験では、体重増加の抑制が認められているものの、尿ならびに血液検査、病理組織学的検査所見に影響はみられていない<sup>37)</sup>。また、メトキシクロルを雌雄ラットに2000ppmで混餌投与した時、肝細胞癌を引き起こし、C3HマウスやBALB/cマウスへの750ppmの混餌投与で肝臓癌が、BALB/c雄マウスでは精巣の、B6C3F1雌マウスでは骨の、雌ラットでは卵

巢、下垂体、副腎、乳腺における腫瘍化がそれぞれ報告されている<sup>47)</sup>。また、雄ラットでは血管肉腫および脾臓ならびに腹部の肉腫の発現頻度が増加したと報告されている<sup>47)</sup>。しかし、メトキシクロルには発癌作用はないとする多くの論文も認められる<sup>44-46)</sup>。

卵巢摘出ラットにおいてメトキシクロルの10 mg/kgの数日間の反復投与は血清コレステロール<sup>47)</sup>、LDL、リポ蛋白、アポリポ蛋白等Bを低下させることが知られている<sup>47)</sup>。これらの低下は生殖器官以外の器官組織におけるメトキシクロルの抗エストロゲン作用の現れで、エストロゲン受容体の肝LDL受容体の増加がアポBやアポEを含む血清リポ蛋白のクリアランスを強化するためと推論されている<sup>48)</sup>。しかし、ラットでのHDLの動きはヒトでの上昇を再現しないなど相違点も残されている<sup>49)</sup>。

本試験の結果、雄では剖検で精巣、精巣上体、精嚢ならびに前立腺の小型化が認められ、精巣および精巣上体重量ならびに精嚢と前立腺を合わせた副生殖腺重量、凝固腺を含む精嚢重量および前立腺腹葉の重量がいずれも低下した。また、病理組織学的検査の結果、精巣では精細管の萎縮、多核巨細胞、精細管に壊死や変性に陥った精母細胞、精子細胞および精子形成の減少、精子細胞の変性、ライディヒ細胞の萎縮が、精巣上体では管腔内の精子数の減少や細胞残屑が、前立腺、凝固腺および精嚢では内容液の減少を伴った萎縮が認められた。一方、血中テストステロン濃度の低下ならびに血中プロラクチン濃度および血中FSH濃度の増加がみられ、精子検査の結果、精巣上体中の精子数の用量依存的な減少、運動精子率の平均値の低下、ならびに形態に異常のみられた精子の発現率が増加した。すでに報告されているメトキシクロルの毒性試験によれば、メトキシクロルの混餌投与によって、体重増加の抑制、精巣、精嚢、前立腺重量の低下ならびに精細管の萎縮、精子細胞、精子の減少、精子細胞の多核化、間質細胞の減少、精上皮細胞の減少が<sup>40, 44)</sup>、反復投与によって精祖細胞、精母細胞、精子細胞の退行変性と多核化、精祖細胞を除く精上皮細胞の減少、セルトリ細胞の脂肪変性による血液精巣関門への障害、精巣上体管上皮の著明な空胞変性、精巣上体尾部付近では剥離した上皮を含む精巣上体液による精巣上体管の拡張、精子形成の障害が<sup>41, 45)</sup>、それぞれ観察されている。

一方、雌においては、既報の毒性試験において卵胞の変性、顆粒膜細胞の核崩壊と核濃縮、黄体数の減少、卵胞の退行がみられたとする報告が認められるのに対し<sup>37, 41, 45, 49-51)</sup>、本試験においては、連続発情あるいは膣垢像の異常がみられ、剖検の結果、卵巢の小型化が認められ、器官重量測定の結果、卵巢重量が低下した。また、病理組織学検査の結果、卵巢で卵胞の閉鎖の亢進、黄体数の低下、変性した卵子の鉍質沈着、子宮で通常発情期に認められる様な腔上皮細胞の肥大と腔上皮細胞および腺上皮細胞における細胞残屑を含む空胞の増加、腔上皮細胞の分裂像の減少、内膜および筋層の好酸球浸潤の減少、膣においては通常発情前期あるいは発情期に認められる様な、上皮の角化あるいは粘液細胞化を伴う上皮層の肥厚がみられた。以上の結果から、本試験においては雌雄とも既報の生殖器に対する影響を再現し得たと考えられる。

血中ホルモン濃度測定の結果、雌の血中プロラクチン濃度は100 mg/kg以上の投与群で、

血中 FSH 濃度は 400 mg/kg 投与群でそれぞれ増加した。このうち、血中 FSH 濃度の増加は、本試験において、卵胞の閉鎖の亢進や黄体数の低下が認められること、メトキシクロルの投与によって卵巣細胞におけるステロイドホルモンの合成阻害が起きることが報告されていることから<sup>43)</sup>、卵巣からのエストロゲンの減少による視床下部へのネガティブ・フィードバックの減少に伴った、下垂体からのゴナドトロピンの分泌の亢進によるものと考えられた。ただし、血中 LH 濃度には変化はみられなかった。

本試験においては生殖系以外の変化として、腎臓相対重量が雌雄とも 400 mg/kg 投与群で増加し、病理組織学的検査の結果、雌雄の皮質に好塩基性尿細管および近位尿細管上皮の空胞変性、遠位尿細管、髄質や乳頭部の集合管の拡張等の所見が認められた。メトキシクロルを混餌投与した場合、尿細管（遠位尿細管あるいはヘンレの係蹄）の拡張が認められたとする報告があり<sup>40)</sup>、近位尿細管の空胞変性を呈したとする報告もみられることから<sup>43)</sup>、これらの変化はメトキシクロルの毒性の発現と考えられる。

また、雌雄の肝臓の実あるいは相対重量の増加が認められ、小葉中心性の肝細胞肥大が認められた。これらの所見は、メトキシクロルがチトクローム P-450 の 2C19 や 1A2 によって代謝されることが明らかとなっていることから<sup>43)</sup>、これらの代謝酵素の誘導等の機作で発現した可能性が考えられた。

本試験においては血液生化学的検査の結果、血中総コレステロール値の低下やトリグリセライド濃度の増加が認められたが、卵巣摘出ラットを用いた実験によりメトキシクロルの投与によって血清コレステロールのクリアランスが強化されることが報告されていることから<sup>47)</sup>、これらの変化もメトキシクロルの抗エストロゲン作用の一種であると考えられる<sup>48)</sup>。

一方、雄では副腎重量の増加がみられ、雌雄両性において皮質細胞の肥大が認められたがメトキシクロルによる副腎への影響は、長期投与した場合、雌ラットで腫瘍が発生したとする報告が認められているだけであり<sup>47)</sup>、興味深い。

この他、雌雄で貧血傾向ならびに下垂体重量の低下ならびに $\gamma$ -GTP 活性の増加、雌では無機リン濃度の低下がみられたが、作用機作はあきらかではなかった。

なお、本試験でみられた雌雄の血糖値の低下、アルブミン濃度ならびに A/G 比の低下、雄における白血球数の低下ならびに血小板の増加、クレアチニン濃度ならびに GPT 活性の増加、肝臓および腎臓の実重量の低下、雌の副腎実重量の低下等の有意差は、試験に使用したものと同系統の、同週齢のラットについての、当研究所あるいは他の試験施設の背景値に比較した結果、いずれも正常値の変動範囲内にあると考えられた<sup>60-70)</sup>。

以上のことから本試験においては、既報の毒性試験によって明らかにされたメトキシクロルの作用について、ほぼ再現することが可能であったと判断した。本試験において認められた変化のうち、最も低用量から認められた変化は、血中総コレステロール値の低下、雌の下垂体重量の低下、精巣の病理組織学的変化（精細管の萎縮、多核巨細胞）であった。

【参考文献】

- 1) Some halogenated hydrocarbons. IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, 20: 259-281 (1979)
- 2) Brooks,G.T.: Chlorinated Insecticides. CRC Press, Cleveland 11: PP.197 (1974)
- 3) Eroschenko.V.P., Swartz,W.J., Ford,L.C.: Decreased superovulation in adult mice following neonatal exposures to technical methoxychlor. *Reproductive Toxicology*. 11: 807-814 (1997)
- 4) Skaare,J.V., Berge,G., Odegaard,S., et al.: Excretion of methoxychlor in cow milk following dermal application. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 23: 16-23 (1982)
- 5) Hoffman,R.A.: The effectiveness and limitation of homemade selftreatment rubbing devices for louse control on cattle. *Journal of Economic Entomology*. 47: 1152-1153 (1954)
- 6) Kupfer,D., Bulger,W.H.: A novel *in vitro* method for demonstrating proestrous. Metabolism of methoxychlor and *o,p*-DDT by liver microsomes in the presence of uteri and effects on intracellular distribution of estrogen receptors. *Life Sciences*. 25: 975-984 (1979)
- 7) Toppari,J., Larsen,J.C., Christiansen,P., et al. Male reproductive health and environmental xenoestrogens. *Environmental Health Perspective*. 104: 741-803 (1996)
- 8) Sumpter,J.P.: Feminized responses in fish to environmental estrogens. *Toxicology Letters*. 82-83: 737-742 (1995)
- 9) Fry,D.M.: Reproductive effects in birds exposed to pesticides and industrial chemicals. *Environmental Health Perspective*.103: 165-171 (1995)
- 10) Colborn,T., vom Saal,F.S., Soto,A.M.: Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans. *Environmental Health Perspective*. 101: 378-384

(1993)

- 11) Smeets, J.M.W., van Holsteijn, I., Giesy, J.P. et al.: Estrogenic potencies of several environmental pollutants, as determined by vitellogenin induction in a carp hepatocyte assay. *Toxicological Sciences*. 50: 206-213 (1999)
- 12) Bulger, W.H., Muccitelli, R.M., Kupfer, D.: Studies on the *in vivo* and *in vitro* estrogenic activities of methoxychlor and its metabolites. Role of hepatic monooxygenase in methoxychlor activation. *Biochemical Pharmacology*. 27: 2417-2423 (1978)
- 13) Fisher, A.L., Keasling, H.H., Scheuler, F.W.: Estrogenic action of some DDT analogues. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 81: 439-441 (1952)
- 14) Bitman, J., Cecil, H.C.: Estrogenic activity of DDT analogues and polychlorinated biphenyls. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 18: 1108-1112 (1970)
- 15) Welch, R.M., Levin, W., Conney, A.H.: Estrogenic action of DDT and its analogs. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 14: 358 (1969)
- 16) Kupfer, D.: Effects of pesticides and related compounds on steroid metabolism and function. *Clinical Review of Toxicology*. 4: 83-124 (1975)
- 17) Cummings, A.M., Perreault, S.D.: Methoxychlor accelerates embryo transport through the rat reproductive tract. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 102: 110-116 (1990)
- 18) Bulger, W.H., Feil, V.J., Kupfer, D.: Role of hepatic monooxygenases in generating estrogenic metabolites from methoxychlor and from its identified contaminants. *Molecular Pharmacology*. 27: 115-124 (1985)
- 19) Ousterhout, J.M., Struck, R.F., Nelson, J.A.: Estrogenic activities of methoxychlor metabolites. *Biochemical Pharmacology*. 30: 2869-2871 (1981)
- 20) Ziem, G.: Aplastic anemia after methoxychlor exposure. *Lancet*. 8311: 1349 (1982)

- 21) Kupfer, D.: Effect of pesticides and related compounds on steroid metabolism and function. *CRC Critical Reviews in Toxicology*. 4: 83-124 (1975)
- 22) Cummings, A.M.: Methoxychlor as a model for environmental estrogens. *CRC Critical Reviews in Toxicology*. 27: 367-379 (1997)
- 23) Cummings, A.M., Metcalf, J.L.: Methoxychlor regulates rat uterine estrogen-induced protein. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 130: 154-160 (1994)
- 24) Shelby, M.D., Newbold, R.R., Tully, D.B., et al.: Assessing environmental chemicals for estrogenicity using a combination of *in vitro* and *in vivo* assays. *Environmental Health Perspectives*. 104: 1296-1300 (1996)
- 25) Anderson, H.R., Andersson, A.M., Arnold, S.F., et al.: Comparison of short-term estrogenicity tests for identification of hormone-disrupting chemicals. *Environmental Health Perspectives*. 107: 89-108 (1999)
- 26) Petersen, D.N., Tkalcovic, G.T., Koza-Taylor, P.H., et al.: Identification of estrogen receptor beta 2, a functional variant of estrogen receptor beta expressed in normal rat tissues. *Endocrinology*. 139: 1082-1092 (1998)
- 27) Nelson, J.A.: Effects of dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) analogs and polychlorinated biphenyl (PCB) mixtures on 17beta-[<sup>3</sup>H] estradiol binding to rat uterine receptor. *Biochemical Pharmacology*. 23: 447-451 (1974)
- 28) Bulger, W.H., Muccitelli, R.M., Kupfer, D.: Interactions of methoxychlor, methoxychlor base-soluble contaminant, and 2,2-bis(p-hydroxyphenyl)-1,1,1-trichloroethane with rat uterine estrogen receptor. *Journal of Toxicology and Environmental Health*. 4: 881 (1978)
- 29) Danzo, B.J.: Environmental xenobiotics may disrupt normal endocrine function by interfering with the binding of physiological ligands to steroid receptors and binding proteins. *Environmental Health Perspectives*. 105: 294-301 (1997)
- 30) Nelson, J.A., Struck, R.F., James, R.: Estrogenic activities of chlorinated

- hydrocarbons. *Journal of Toxicology and Environmental Health*. 4: 325-339 (1978)
- 31) Kapoor, I.P., Metcalf, R.J., Nystrom, R.F., et al.: Comparative metabolism of methoxychlor, and DDT in mouse, insects, and in a model ecosystem. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 18: 1145-1152 (1970)
- 32) Ousterhout, J.M., Struck, R.F., Nelson, J.A.: Estrogenic properties of methoxychlor metabolites. *FASEB Journal*. 38: 537 (1979)
- 33) Stresser, D.M., Kupfer, D.: Human cytochrome p-450-catalyzed conversion of the proestrogenic pesticide methoxychlor into an estrogen role of CYP2C19 and Cyp1A2 in o-demethylation. *Drug metabolism and disposition*. 26: 868-874 (1998)
- 34) Gaido, K.W., Leonard, L.S., Maness, S.C., et al.: Differential interaction of the methoxychlor metabolite 2,2-bis-(p-hydroxyphenyl)-1,1,1-trichlor with estrogen receptors alpha and beta. *Endocrinology*. 140: 5746-5753 (1999)
- 35) Maness, S.C., McDonnell, D.P., Gaido, K.G.: Inhibition of androgen receptor-dependent transcriptional activity by DDT isomers and methoxychlor in HepG2 human hepatoma cells. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 151: 135-142 (1998)
- 36) U.S.E.P.A., Office of drinking water: Methoxychlor. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. 104: 161 (1988)
- 37) Hodge, H.C., Maynard, E.A., Blanchet, H.J.Jr.: Chronic oral toxicity tests of methoxychlor (2,2-di(p-methoxyphenyl)-1,1,1-trichloroethane) in rats and dogs. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 104: 60-66 (1952)
- 38) Field, B., Selub, M., Hughes, C.L.: Reproductive effects of environmental agents. *Seminars in Reproductive Endocrinology*. 8: 44-54 (1990)
- 39) Arnold, S.F., Klotz, D.M., Collins, B.M., et al.: Synergistic activation of estrogen receptor with combinations of environmental chemicals. *Science*. 272: 1489-1492 (1996)
- 40) Tullner, W.W., Edgcomb, J.H.: Cystic tubular nephropathy and decrease in



- testicular weight in rats following oral methoxychlor treatment. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 138: 126-130 (1962)
- 41) Reports of the world association of veterinary anatomists and other pertinent organisations : Meeting of the American association of veterinary anatomists, Pullman, Washington, July 21, 1979. *Zentralblatt fur Veterinarmedizin Reihe C. Anatomia Histologia Embryologia*. 9: 89-96 (1980)
- 42) Harris,S.,J., Cecil,H.,C., Bitman,J.: Effect of several dietary levels of technical methoxychlor on reproduction in rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 22: 969-973 (1974)
- 43) Chapin,R.,E., Harris,M.,W., Davis,B.,J., et al.: The effect of perinatal/juvenile methoxychlor exposure on adult rat nervous, immune, and reproductive system function. *Fundamental and Applied Toxicology*. 40: 138-157 (1997)
- 44) Hodge,H.C., Maynard,E.A., Thomas,J.F., et al.: Short-term oral toxicity tests of methoxychlor (2,2-di(p-methoxyphenyl)-1,1,1-trichloroethane) in rats and dogs. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 99: 140-148 (1950)
- 45) Bal,H.S., Mungkornkarn,P.: Chronic toxicity effects of methoxychlor on the reproductive system of the rat. *Proceedings. International Congress of Toxicology*. 1: 446-447 (1978)
- 46) Bal,H.S.: Effect of methoxychlor on reproductive systems of the rat. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 176: 187-196 (1984)
- 47) Reuber,M.D.: Carcinogenicity and toxicity of methoxychlor. *Environmental Health Perspective*. 36: 205-219 (1980)
- 48) Martinez,E.M., Swartz,W.J.: Effects of methoxychlor on the reproductive system of the adult female mouse. 2. Ultrastructural observations. *Reproductive Toxicology*. 6: 93-98 (1992)
- 49) Martinez,E.M., Swartz,W.J.: Effects of methoxychlor on the reproductive system of the adult female mouse. 1. Gross and histological observations. *Reproductive*

*Toxicology*. 5: 139-147 (1991)

- 50) Gellert, R.J., Heinrichs, W.L., Swerdloff, R.: Effects of neonatally-administered DDT homologs on reproductive function in male and female rats. *Neuroendocrinology* 16: 84-94 (1974)
- 51) Gray, L.E. Jr., Ostby, J.S., Ferrell, J.M., et al.: A dose-response analysis of methoxychlor-induced alterations of reproductive development and function in the rat. *Fundamental and Applied Toxicology*. 12: 92-108 (1989)
- 52) Cummings, A.M., Laskey, J.: Effect of methoxychlor on ovarian steroidogenesis: role in early pregnancy loss. *Reproductive Toxicology*. 7: 17-23 (1993)
- 53) Zeleska-Freljan, K.I., Kosicka, B., Zbiegieni, B.: The histological changes in some organs of the laboratory mice after intragastrically given bromfenvinphos and mixture of bromfenvinphos with methoxychlor. *Polish Journal of Pharmacology and Pharmacy*. 35: 185-193 (1983)
- 54) Radomski, J.L., Deichmann, W.B., MacDonald, W.E., et al.: Synergism among oral carcinogens. I. Results of the simultaneous feeding of four tumorigens to rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 7: 652- (1965)
- 55) Deichmann, W.B., Keplinger, M., Sala, F., et al.: Synergism among oral carcinogens. IV. The simultaneous feeding of four tumorigens to rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 11: 88- (1967)
- 56) National Cancer Institute, Bioassay of methoxychlor for possible carcinogenicity. NCI-CG-TR-35 *Carcinogenesis Program*, 91, (1978)
- 57) Dodge, J., A., Glasebrook, A., L., Magee, D., E., et al.: Environmental estrogens: Effects on cholesterol lowering and bone in the ovariectomized rat. *Journal of Steroid Biochemical Molecular Biology*. 59: 155-161 (1996)
- 58) Brown, M.S., Goldstein, J.L.: The estradiol-stimulated lipoprotein receptor of rat liver. *Journal of Biological Chemistry*. 254: 11360-11366 (1980)

- 59) Walsh, B.W., Schiff, I., Rosner, B., et al.: Effects of post-menopausal estrogen replacement therapy on the concentrations and metabolism of plasma lipoproteins. *New England Journal of Medicine*. 325: 1196-1204 (1991)
- 60) Kojima, K., Tanaka, A., Watanabe, C., et al.: A comparison of general toxicological parameters between the Crj:CD(SD) rats and Crj:CD(SD)IGS rats, at the 4- and 26-week time points. "Biological Reference Data on CD(SD)IGS rats-1999." CD(SD)IGS study group. Yokohama. (1999) pp.125-137
- 61) Yamamoto, T., Kakamu, S., Suzuki, K., et al.: Mortality, body weight, food consumption, clinical laboratory test and pathological examination in Crj:CD(SD)IGS rats in subchronic and chronic toxicity study. "Biological Reference Data on CD(SD)IGS rats-1998." CD(SD)IGS study group. Yokohama. (1998) pp.39-42
- 62) Furukawa, S., Nishide, M., Takeuchi, R.: Changes in body weight, food intake and blood biochemical parameters in Crj:CD(SD)IGS rats. "Biological Reference Data on CD(SD)IGS rats-1998." CD(SD)IGS study group. Yokohama. (1998) pp.43-49
- 63) Suwa, T., Murakami, N., Kitagaki, M., et al.: Characteristics of Crj:CD(SD)IGS rats compared with Crj:CD(SD) rats based on repeated dose toxicity study. "Biological Reference Data on CD(SD)IGS rats-1998." CD(SD)IGS study group. Yokohama. (1998) pp.82-89
- 64) Yamaguchi, M., Sakurada, K., Yoshihara, K., et al.: Changes in body weight and organ weight with growth in Crj:CD(SD) IGS rats. "Biological Reference Data on CD(SD)IGS rats-1998." CD(SD)IGS study group. Yokohama. (1998) pp.90-94
- 65) Naeshiro, I., Fukuda, R., Miyamoto, S., et al.: Crj:CD(SD)IGS rats and the effects of a commercial low protein diet on the biological parameters used in repeated-dose toxicity studies. "Biological Reference Data on CD(SD)IGS rats-1998." CD(SD)IGS study group. Yokohama. (1998) pp.108-120
- 66) Inoue, E., Motomura, I., Takagi, S., et al.: Background data for clinical and pathological parameters in Crj:CD(SD)IGS rats bred for long time. "Biological Reference Data on CD(SD)IGS rats-1998." CD(SD)IGS study group. Yokohama.

(1998) pp.121-130

- 67)Saitoh,T., Shibuya,K., Kizaki,H., et al.: Comparison of hematological parameters between Crj:CD(SD)IGS and Crj:CD(SD) rats. "Biological Reference Data on CD(SD)IGS rats-1998." CD(SD)IGS study group. Yokohama. (1998) pp.139-142
- 68)Takahashi,H., Kondou,K., Ashino,K. et al.: Backgroud data of general toxicological parameters in Crj:CD(SD) rats. "Biological Reference Data on CD(SD)IGS rats-1999." CD(SD)IGS study group. Yokohama. (1999) pp.46-51
- 69)Nagayabu,T., Kitazaki,T., Kandori,H., et al.: Crj:CD(SD)IGS rats and the effects of a commercial low protein diet on the biological parameters used in repeated-dose toxicity studies at the Hikari branch, drug safety research laboratories in Takeda chemical industries, Ltd. "Biological Reference Data on CD(SD)IGS rats-1999." CD(SD)IGS study group. Yokohama. (1998) pp.89-104
- 70)Maeda,H., Omori,M., Miyajima,H.: Comparison of historical data between Crj:CD(SD)IGS and Crj:CD(SD) rats. "Biological Reference Data on CD(SD)IGS rats-1999." CD(SD)IGS study group. Yokohama. (1998) pp.105-118

Table 1-1

## Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study of methoxychlor in rats

## Clinical signs in males

Clinical signs	Group	Number of Animals	Number of animals with clinical signs																												Total	
			Day of dosing period																													
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28		
Transient salivation immediately after administration	Control	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
	25 mg/kg	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1	-	2	2	4	2	4	-	3	3	5
	100 mg/kg	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1	2	-	2	2	1	2	1	1	1	2	4
Loss of fur on the abdomen /femurs	400 mg/kg	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2	1	6	4	6	7	3	7	7	7	7	8	5	9	8	3	8	7	10	
	Control	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
	25 mg/kg	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
Emaciation	100 mg/kg	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
	400 mg/kg	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
	Control	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
Decreased fecal volume	25 mg/kg	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
	100 mg/kg	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
	400 mg/kg	10	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	

-, no animal showed the signs

Table 1-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study of methoxychlor in rats

## Clinical signs in females

Clinical signs	Group	Number of Animals	Number of animals with clinical signs																												
			Day of dosing period																												
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	Total
Transient salivation immediately after administration	Control	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
	25 mg/kg	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	
	100 mg/kg	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-	3	1	1	2	2	3	2	-	2	2	6
Loss of fur on the abdomen /femurs	400 mg/kg	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	2	2	5	1	2	3	4	2	2	4	4	4	4	5	5	5	6	8
	Control	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
	25 mg/kg	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1	1	1
	100 mg/kg	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	400 mg/kg	10	-	-	-	-	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	

-, no animal showed the signs

Table 2-1

## Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study of methoxychlor in rats

## Body weight changes in males

Group	Body weight(g)												
	Day of dosing period												
	1	4	8	11	15	18	22	25	28				
Control	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	250.2	277.5	305.6	327.4	348.9	365.4	387.1	400.2	414.9				
	6.5	8.9	10.8	10.3	11.5	11.5	14.5	15.7	16.4				
25 mg/kg	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	250.0	272.5	299.4	320.3	340.4	353.2	373.0	385.6	396.0				
	5.4	7.3	10.9	14.1	18.1	19.0	21.8	23.7	21.8				
100 mg/kg	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	249.8	259.0 **	265.0 **	271.3 **	277.3 **	283.5 **	294.8 **	301.6 **	306.2 **				
	5.7	7.6	14.7	21.8	24.2	25.7	24.8	26.7	29.4				
400 mg/kg	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	249.4	252.3 **	260.1 **	264.0 **	278.2 **	283.4 **	293.3 **	297.6 **	302.2 **				
	4.4	7.4	21.9	28.6	24.6	25.9	23.6	22.2	21.2				

Parameter, number of animals

mean

S.D.

\*\*, significantly different from control,  $p < 0.01$

Table 2-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study of methoxychlor in rats

Body weight changes in females

Group	Body weight(g)										
	Day of dosing period										
	1	4	8	11	15	18	22	25	28		
Control	188.5	200.3	214.6	224.6	232.1	241.4	250.3	253.7	256.9	10	10
	6.5	6.7	8.4	12.4	16.1	15.1	17.5	18.5	21.2		
25 mg/kg	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	187.3	197.5	207.8	217.5	226.1	230.8	237.5	240.0	245.9		
	5.3	5.8	6.5	7.2	9.9	11.5	12.8	11.9	13.9		
100 mg/kg	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	188.9	192.4	199.8 **	206.7 **	212.5 **	216.4 **	219.6 **	220.7 **	222.4 **		
	5.2	8.3	6.5	9.4	10.6	9.4	11.9	13.9	14.9		
400 mg/kg	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	188.9	189.6 **	198.2 **	206.5 **	210.2 **	214.2 **	220.0 **	223.5 **	226.8 **		
	4.7	7.8	10.9	12.8	11.8	12.2	11.6	12.0	13.6		

Parameter, number of animals

mean

S.D.

\*\*, significantly different from control, p&lt;0.01



Table 3-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study of methoxychlor in rats

Estrous cycle in females; corn oil(vehicle control)

Animal no.	Stage														Type	Mean length (days)
	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33				
41	D	D	D	E	D	D	D	E	D	D	DS				regular	4.0
42	D	E	D	D	P	E	D	DS							regular	4.0
43	D	D	E	D	D	D	D	D	P	E	D	DS			irregular	6.0
44	D	D	P	E	D	D	D	D	E	D	DS				regular	5.0
45	P	E	D	D	P	E	D	DS							regular	4.0
46	P	E	D	D	P	E	E	D	DS						regular	5.0
47	P	E	D	D	P	E	D	D	D	D	E	DS			regular	4.5
48	D	E	D	D	P	E	D	DS							regular	4.0
49	D	D	E	D	D	D	D	E	D	DS					regular	5.0
50	D	D	E	D	D	D	D	E	D	DS					regular	5.0
Mean																4.7
±S.D.																0.7

D, diestrus; P, proestrus; E, estrus  
S, sacrifice

Table 3-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study of methoxychlor in rats

Estrous cycle in females; methoxychlor, 25 mg/kg

Animal no.	Stage														Type	Mean length (days)
	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33				
51	D	E	D	D	D	D	E	D	DS						regular	5.0
52	D	D	D	E	D	D	D	E	D	DS					regular	4.0
53	D	E	D	D	P	E	D	DS							regular	4.0
54	P	E	D	D	D	D	D	D	DS						uncycle	
55	D	D	D	E	D	D	D	E	D	DS					regular	4.0
56	E	D	D	D	E	D	D	D	E	D	DS				regular	4.0
57	D	D	P	E	D	D	D	E	D	DS					regular	4.0
58	D	D	D	P	E	D	D	D	D	E	D	DS			regular	5.0
59	D	D	P	E	D	D	D	E	D	DS					regular	4.0
60	D	D	P	E	D	D	P	E	D	DS					regular	4.0
Mean																4.2
±S.D.																0.4

D, diestrus; P, proestrus; E, estrus  
S, sacrifice

Table 3-3

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study of methoxychlor in rats

Estrous cycle in females; methoxychlor, 100 mg/kg

Animal no.	Stage														Type	Mean length (days)
	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33				
61	D	D	D	D	D	D	D	D	DS						anestrus	
62	P	E	D	D	D	D	D	D	DS						uncycle	
63	P	E	D	D	*	D	D	D	D	DS						
64	D	D	D	*	D	D	D	D	D	DS						
65	D	D	D	D	D	D	D	DS							anestrus	
66	D	E	D	P	D	D	D	E	D	DS					irregular	6.0
67	D	E	D	D	D	D	E	D	DS						regular	5.0
68	D	D	D	D	P	D	D	D	DS						anestrus	
69	D	D	D	D	D	D	D	DS							anestrus	
70	*	D	D	D	D	D	D	D	DS							
Mean																5.5
±S.D.																0.7

D, diestrus; P, proestrus; E, estrus; \*, unidentified S, sacrifice

Table 3-4

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study of methoxychlor in rats

Estrous cycle in females; methoxychlor, 400 mg/kg

Animal no.	Stage														Type	Mean length (days)
	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33				
71	D	D	D	D	*	D	D	D	D	D	D	DS	DS			
72	D	*	D	D	*	D	D	D	D	D	DS					
73	D	*	P	D	P	D	P	D	D	D	D	DS	DS			
74	D	*	E	D	*	D	P	D	D	D	D	DS	DS			
75	D	*	E	D	*	D	P	P	D	D	D	DS	DS			
76	P	E	D	D	E	E	E	E	E	E	D	DS	DS	irregular	8.0	
77	P	E	E	D	P	E	E	E	E	E	E	ES	ES	irregular		
78	D	*	D	D	P	E	D	P	E	E	E	DS	DS			
79	D	*	D	D	D	D	D	D	DS							
80	P	E	E	D	*	P	E	E	E	E	E	DS	DS			
Mean																
±S.D.																

D, diestrus; P, proestrus; E, estrus; \*, unidentified  
S, sacrifice