

6-tert-ブチル-2,4-キシレノールのラットを用いる急性経口毒性試験

試験番号：2260（115-020）

財 団 法 人
食 品 農 医 薬 品 安 全 性 評 価 セ ン タ ー

目 次

1. 要 約	1	頁
2. 試 験 題 目	2	
3. 試 験 目 的	2	
4. 試 験 番 号	2	
9. 被 験 物 質	3	
10. 試 験 材 料 お よ び 方 法	5	
11. 試 験 結 果	8	
12. 考 察	11	
Figures and Tables		
Figure 1	Dosage-mortality curve in male rats	13
Figure 2	Dosage-mortality curve in female rats	14
Table 1	Mortality	15
Table 2	Clinical sign	16
Table 3	Body weight	26
Table 4	Gross finding	30

1. 要 約 :

1群につき雌雄各5匹のCD(SD)系ラットを用いて、6-tert-ブチル-2,4-キシレノールの急性経口毒性試験を実施した。

6-tert-ブチル-2,4-キシレノールはコーンオイルに溶解し、雄では819、1,024、1,280、1,600 および 2,000 mg/kg、雌では 655、819、1,024、1,280 および 1,600 mg/kg を単回経口投与した。観察期間は14日間とし、生死、中毒症状およびその発現時期について観察した。その結果は次の通り要約される。

1) LD₅₀値

死亡動物は雄では 1,024 mg/kg群、雌では 819 mg/kg群から見られ、雄では 2,000 mg/kg群、雌では 1,280 mg/kg群で全例が死亡した。LD₅₀値は雄で 910 mg/kg (95%信頼限界 570 ~ 1,452 mg/kg)、雌で 972 mg/kg (95%信頼限界 814 ~ 1,162 mg/kg) であった。

2) 一般状態

雌雄ともに自発運動低下が投与後1時間から5日に見られ、さらに腹臥位および円背位が投与後1時間から4日に、歩行異常が投与後6時間から3日に観察された。また、体温低下が6時間以降4日に観察された。死亡例では雌雄ともに側臥位が投与後5時間から、褐色尿が投与後2日から観察された。

3) 体重

生存動物の体重は、雌雄ともに観察期間終了時まで順調に増加した。

4) 病理学的検査

a. 肉眼所見

死亡動物では胸水の貯留、胸腺の黒色斑点、膀胱の黒色斑点、膀胱に褐色尿の貯留、前胃の白色斑点、腺胃の黒色斑点、小腸の白色、褐色あるいは黒色内容物、小腸の白色斑点および大腸の白色内容物が認められた。一方、観察期間終了時の生存動物では肝臓の黄色斑点、肝臓と脾臓、横隔膜あるいは後腹膜の癒着、脾臓の萎縮、脾臓と腎臓の癒着、前胃の肥厚および前胃と肝臓あるいは横隔膜の癒着が認められた。

b. 組織所見

観察期間終了時の雄の生存動物において、前胃に高度の潰瘍および肉芽腫性炎あるいは扁平上皮細胞の増生および肉芽腫性炎がみられ、肝臓に肉芽腫性炎が認められた。

2. 試験題目 : 6-tert-ブチル-2,4-キシレノールのラットを用いる急性経口毒性試験
3. 試験目的 : 6-tert-ブチル-2,4-キシレノールの安全性を評価するため、OECDテストガイドライン401（1987年2月24日）に従って、ラットを用いる急性毒性試験を実施した。
なお、試験の実施は環企研第233号、衛生第38号、63基局第823号（昭和63年11月18日）の「新規化学物質に係る試験及び指定化学物質に係る有害性に調査の項目等を定める命令第4条に規定する試験施設について」の基準を満たすものとした。
4. 試験番号 : 2260（115-020）

9. 被 験 物 質 :

1) 被験物質名	6-tert-ブチル-2,4-キシレノール
2) CAS No.	1879-09-0
3) コード番号	B0903
4) ロット番号	
5) 純 度	98.5%
6) 提 供 先	
7) 保 管 条 件	室温、遮光
8) 化 学 名	6-tert-ブチル-2,4-キシレノール
9) 分 子 式	$(\text{CH}_3)_3\text{CC}_6\text{H}_2(\text{CH}_3)_2\text{OH}$
10) 分 子 量	178.27
11) 物質の状態	液体
12) 色	ごく薄い黄色透明
13) 凝 固 点	21.5°C
14) 溶 解 性	非水溶性
15) 比 重 (d_{20}^{20})	0.9612
16) 屈 折 率 (n_D^{20})	1.5186

17) 取り扱い上の注意

取り扱い中は適切な保護眼鏡、保護手袋、保護マスクを着用し、取り扱い後は手洗いおよびうがいを充分行う。

18) 被験物質保管および
残余被験物質の処理

投与終了後、約 2 g を安評センターに保管し、残りは廃棄した。

1 0. 試験材料および方法 :

1) 供試動物

供試した Crj: CD (SD) 系ラット [SPF] は日本チャールス・リバー株式会社 (神奈川県厚木市) から生後 5 週齢で雌雄各 30 匹購入した。

動物は検収後、試験環境に馴化し、6 週齢で投与した。

動物はあらかじめ体重によって層別化し、無作為抽出法により各試験群を構成するように群分けした。

動物の識別は、ピクリン酸エチルアルコール飽和溶液によるマーキング法を用いるとともに、飼育ケージに動物標識番号 (Animal ID-No.) を明記したラベルを付けて行った。

投与時の体重は、雄で 145~164 g、雌で 116~145 g であった。

2) 試験系の選択理由

感染性疾患に対する抵抗性、遺伝的安定性等を考慮して選んだ。

3) 飼 育

動物は飼育室 (W 3.6 × D 10.0 × H 2.5 m、90 m³) で飼育し、環境調節の目標値は温度 23 ± 2°C、相対湿度 55 ± 10%、換気回数 1 時間 20 回、照明 12 時間 (150~300 lux、午前 7 時点灯、午後 7 時消灯) とした。

株式会社 東京技研サービス (東京都府中市) 製の水洗式飼育機 (W 745.0 × D 50.0 × H 182.0 cm) を使用し、金属製網目飼育ケージ (W 21.5 × D 27.5 × H 19.5 cm、飼育ケージ・スペース 11,529 cm³) に動物を 5 匹ずつ収容した。

飼育ケージおよび給餌器は週 1 回取り換えた。

飼料はオリエンタル酵母工業株式会社 (東京都中央区) 製造の固型飼料 MF を使用し、飼育期間中、自由に摂取させた。

また、動物には水道水を自動給水ノズルから自由に摂取させた。

なお、動物の馴化期間を含め、観察期間中、データの信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因の変化はなかった。

4) 試験群の構成

試験群の構成は次表に示した。

性	試験群	用量 (mg/kg)	動物数	動物番号
雄	1	819	5	1101~1105
	2	1,024	5	1201~1205
	3	1,280	5	1301~1305
	4	1,600	5	1401~1405
	5	2,000	5	1501~1505
雌	6	655	5	2101~2105
	7	819	5	2201~2205
	8	1,024	5	2301~2305
	9	1,280	5	2401~2405
	10	1,600	5	2501~2505

[用量設定理由]

Crj: CD (SD)系ラットを用い、500、1,000 および 2,000 mg/kgの用量を雌雄各3匹に経口投与した予備試験の結果、雌雄ともに 500 mg/kgでは死亡例が認められなかったが、1,000 mg/kg で各1例、2,000 mg/kg で全例が死亡した。

従って、本試験の用量は予備試験の結果を参考にして、公比1.25で雄は 819~2,000 mg/kg、雌は 655~1,600 mg/kg の5用量をそれぞれ設定した。

5) 投与液の調製

被験物質は、所定量を電子上皿天秤で秤量し、コーンオイル（ナカライテスク株式会社、京都府京都市）に溶解した。溶液の濃度は、655、819、1,024、1,280、1,600 および 2,000 mg/kg 群でそれぞれ13.1、16.4、20.5、25.6、32.0および40.0 (w/v) %であった。

6) 投与方法

被験物質の投与経路は経口投与とした。コーンオイルに溶解した被験物質を、投与前16時間絶食させた動物の胃内に金属製胃ゾンデを用いて強制経口投与した。

投与容量は体重 100 g あたり0.5 mlの割合とした。

給餌は被験物質投与後約3時間に行った。

7) 観 察

中毒症状および生死の観察は、投与後6時間までは1時間間隔、その後14日までは1日2回午前と午後（休日は午前のみ）実施した。観察された中毒症状は、観察所見記録用紙に記録した。

8) 体 重

体重は投与直前、投与後7および14日に測定した。

また、死亡動物については死亡発見時に測定した。

9) 50%致死量 (LD₅₀) の計算方法

LD₅₀値は、投与後14日の死亡率から Litchfield-Wilcoxon (1949) の方法で算出した。

10) 病理学的検査

a. 肉眼的観察

観察期間中の死亡例については死亡発見時に、また生存動物については観察終了日にエーテル麻酔後放血安楽死させ解剖した。肉眼的異常については病理解剖所見記録用紙に記録した。

b. 病理組織学検査

異常の認められた器官、組織については、10%中性緩衝ホルマリン液に保存し、その一部を病理組織学検査に供した。

組織標本の作製および鏡検を行い、病変の種類および程度について記録した。

11) 余剰動物の処分

余剰動物は、炭酸ガスにより安楽死させた。

1.1. 試験結果:

試験結果は、Table 1 に観察期間中の経日死亡状況およびLD₅₀値を、Table 2 に投与後の中毒症状および発現時期を示した。また、Table 3 に体重推移を、Table 4 に剖検所見を示した。さらに、Figure 1 および 2 に用量死亡率曲線を示した。

1群につき雌雄各5匹の CD (SD)系ラットを用いて6-tert-ブチル-2, 4-キシレノールの急性経口毒性試験を実施した。その結果は次の通りである。

1) 死亡率およびLD₅₀値 (Table 1)

死亡率は雄の 819、1,024、1,280、1,600、および 2,000 mg/kg投与群で 0、60、60、80 および 100%、雌の 655、819、1,024、1,280 および 1,600 mg/kg投与群で 0、20、60、100 および 100%であった。

したがって、LD₅₀値は雄で 910 mg/kg (95%信頼限界 570~1,452 mg/kg)、雌で 972 mg/kg (95%信頼限界 814~1,162 mg/kg) であった。

2) 一般状態 (Table 2)

雄では 819 mg/kg投与群で、自発運動低下が投与後1時間から5例中2例、2時間~3日には全例に認められた。また、腹臥位が投与後1時間から1例、4時間には3例、円背位が投与後5時間から1例に認められ、これらの症状は投与後6~24時間まで継続した。さらに歩行異常が投与後6時間以降2例に認められ、投与後2日まで継続した。これらの症状は重篤なものではなく、死亡動物は認められなかった。

1,024 mg/kg 投与群では、自発運動低下が投与後1時間から5例全例に認められ、生存動物の症状は投与後3日まで継続した。また、腹臥位が投与後4時間から4例に認められ、投与後3日の死亡時まで継続し、円背位が投与後5時間から2例に認められ、投与後2日まで継続した。さらに、歩行異常が投与後6時間以降2例に認められ、投与後2日まで継続し、側臥位が投与後6時間以降1例に認められ、死亡時まで継続した。そのほか、体温低下が投与後6時間以降1例、3日には4例中2例に観察され、褐色尿が投与後3日に4例中1例で認められた。死亡動物は、投与後6~24時間に1例、3日に2例認められた。

1,280 mg/kg 投与群では、自発運動低下が投与後1時間から5例全例に認められ、生存動物の症状は投与後5日まで継続した。また、腹臥位が投与後2時間から1例、4~6時間には全例に認められ、投与後3日まで継続し、歩行異常が投与後6~24時間に1例に認められた。さらに、側臥位および円背位が投与後6時間以降それぞれ1~2例に認められ、投与後2または3日の死亡時まで継続し、体温低下が投与後6時間以降2例、2日には3例に認められ、投与後3日まで継続した。そのほか、褐色尿が投与後3日に4例中2例に認められた。死亡動物は、投与後2日に1例、3日に2例認められた。

1,600 mg/kg 投与群では、自発運動低下が投与後1時間から5例全例に認められ、生存動物の症状は投与後4日まで継続し、腹臥位が投与後2時間から1例、4時間以降3例に認められ、投与後6時間まで継続した。また、円背位が投与後4時間から1例に認められ、投与後3日まで継続し、側臥位が投与後5時間から1例、6時間以降には4例に認められ、投与後2日の死亡時まで継続した。さらに、歩行異常が投与後6時間以降1例に認められ、投与後3日まで継続し、体温低下が投与後6時間以降4例に認められ、死亡時まで継続した。死亡動物は、投与後2日に4例認められた。

2,000 mg/kg 投与群では、自発運動低下が投与後1時間から5例全例に認められ投与後6～24時間ないし4日の死亡時まで継続し、腹臥位が投与後4時間から4例に認められ、投与後2日まで継続した。また、円背位が投与後5時間から1例に認められ、投与後6～24時間まで継続し、歩行異常が投与後6時間以降2例に認められ、投与後2日まで継続した。さらに、側臥位が投与後6時間以降に1例、投与後3から4日に1例中1例で認められた。そのほか、体温低下が投与後6時間以降2例に認められ、死亡時まで継続した。これらの症状を示した動物は、投与後6時間以降4日の間に全例が死亡した。

雌では655 mg/kg投与群で、自発運動低下が投与後3時間から5例中2例、4時間～3日には3例に認められた。また、腹臥位が投与後5時間から2例に認められ、6～24時間まで継続した。さらに、歩行異常が投与後6時間から1例、投与後2日には3例に認められた。これらの症状は重篤なものではなく、死亡動物は認められなかった。

819 mg/kg 投与群では、自発運動低下が投与後1時間から5例中4例、2時間～2日には5例に認められ、生存動物の症状は投与後3日まで継続した。また、腹臥位が投与後4時間から1例に認められ、投与後6時間まで継続し、歩行異常および円背位が投与後6時間以降2例に認められ、投与後2日まで継続した。さらに、側臥位および体温低下が投与後6時間以降1例に認められ、投与後2日の死亡時まで継続した。死亡動物は投与後2日に1例認められた。

1,024 mg/kg 投与群では、自発運動低下が投与後1時間から5例全例に認められ、生存動物の症状は投与後3日まで継続した。また、腹臥位が投与後2時間から1例、4～6時間には4例に認められた。さらに、歩行異常が投与後6～24時間に1例に認められた。加えて、側臥位および体温低下が投与後6時間以降3例に認められ、投与後2日の死亡時まで継続し、円背位が投与後6時間以降1例に認められ、投与後2日まで継続した。そのほか、褐色尿が投与後2日に1例に認められた。死亡動物は投与後2日に3例認められた。

1,280 mg/kg 投与群では、自発運動低下が投与後1時間から5例全例に認められ、投与後6～24時間または2日の死亡時まで継続した。また、腹臥位が投与後4時間から3例に認められ、死亡時まで継続し、円背位が投与後5時間から1例に観察され、投与後6時間まで継続した。さらに、側臥位が投与後6時間から1例、6時間以降には4例に認められ、体温低下が投与後6時間以降4例に認められ、これらの症状は死亡時まで継続した。そのほか、褐色尿が投与後2日に4例中1例に認められた。これらの症状を示した動物は、投与後6時間以降2日の間に全例が死亡した。

1,600 mg/kg 投与群では、自発運動低下が投与後1時間から5例全例に認められ、投与後6～24時間または2日の死亡時まで継続した。また、腹臥位が投与後2時間から2例、4～6時間には4例に認められ、投与後6～24時間まで継続し、円背位が投与後4時間から1例に認められ、死亡時まで継続した。さらに、側臥位および体温低下が投与後6時間以降3例に認められ、死亡時まで継続した。これらの症状を示した動物は、投与後6時間以降2日の間に全例が死亡した。

3) 体重 (Table 3)

死亡動物では雌雄ともに投与直前の測定値と比較して死亡時の減少が認められた。一方、生存動物では雌雄ともに投与後7および14日の測定で順調な増加が認められた。

4) 病理学的検査

a. 肉眼所見 (Table 4)

死亡動物では雌雄ともに胸腺の黒色斑点、膀胱に褐色尿の貯留、小腸の黒色内容物および白色斑点が認められ、さらに雄で胸水の貯留、膀胱の黒色斑点、前胃の白色斑点、腺胃の黒色斑点、小腸および大腸の白色内容物が、雌で小腸の褐色内容物が認められた。

一方、観察期間終了時の生存動物では雌雄ともに前胃と横隔膜の癒着が認められ、さらに雄で肝臓の黄色斑点、前胃と肝臓の癒着、肝臓と横隔膜あるいは後腹膜の癒着、肝臓と脾臓の癒着、脾臓と腎臓の癒着および前胃の肥厚が、雌で脾臓の萎縮が認められた。

b. 組織所見

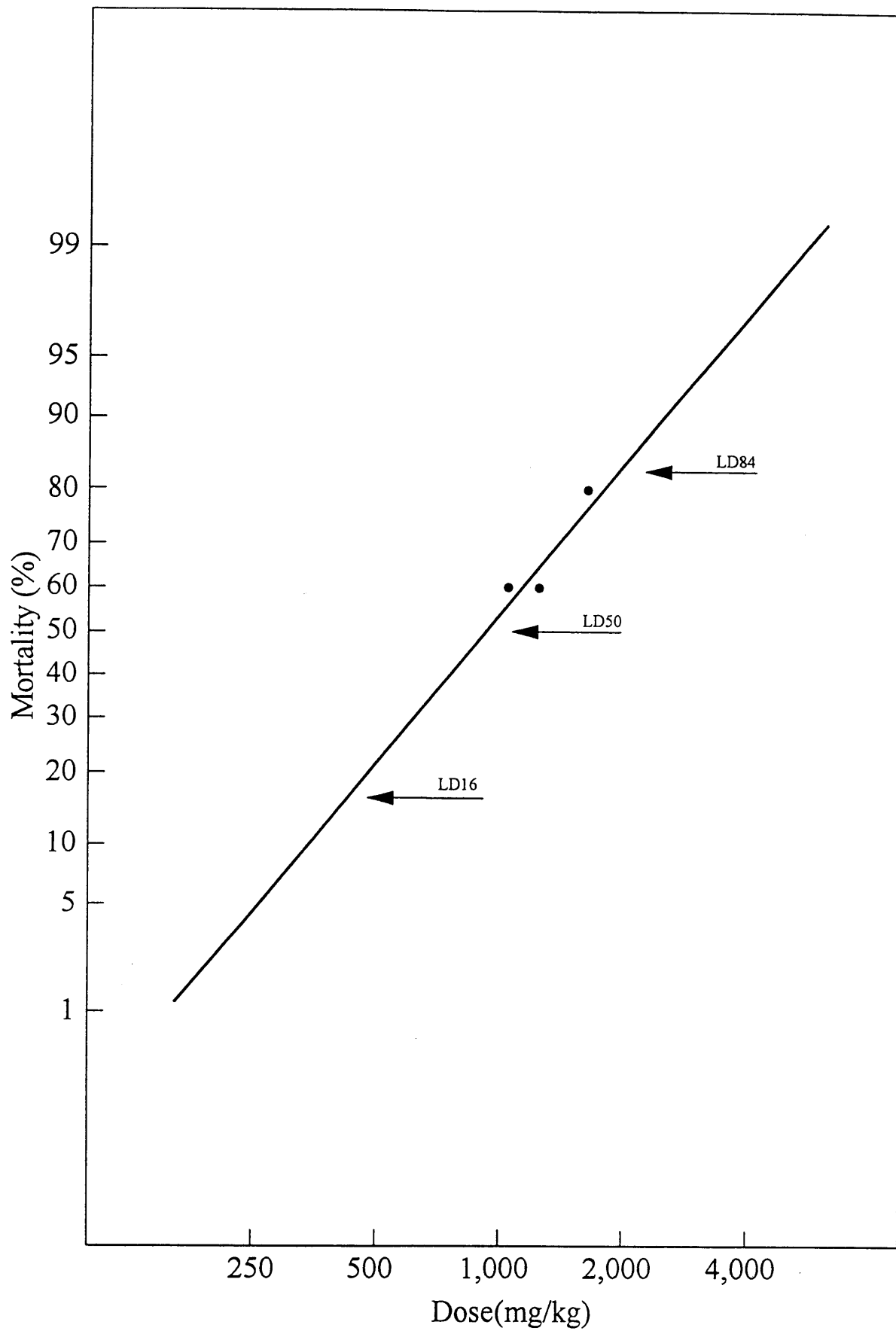
観察期間終了時の雄の生存動物において、前胃に高度の潰瘍および肉芽腫性炎あるいは扁平上皮細胞の増生および肉芽腫性炎がみられ、肝臓に肉芽腫性炎が認められた。

12. 考 察：

1群につき雌雄各5匹のCD (SD) 系ラットを用いて、6-tert-ブチル-2,4-キシレノールの急性経口毒性試験を実施した。投与用量は、雄では819、1,024、1,280、1,600 および2,000 mg/kgとし、雌では655、819、1,024、1,280 および1,600 mg/kgとした。

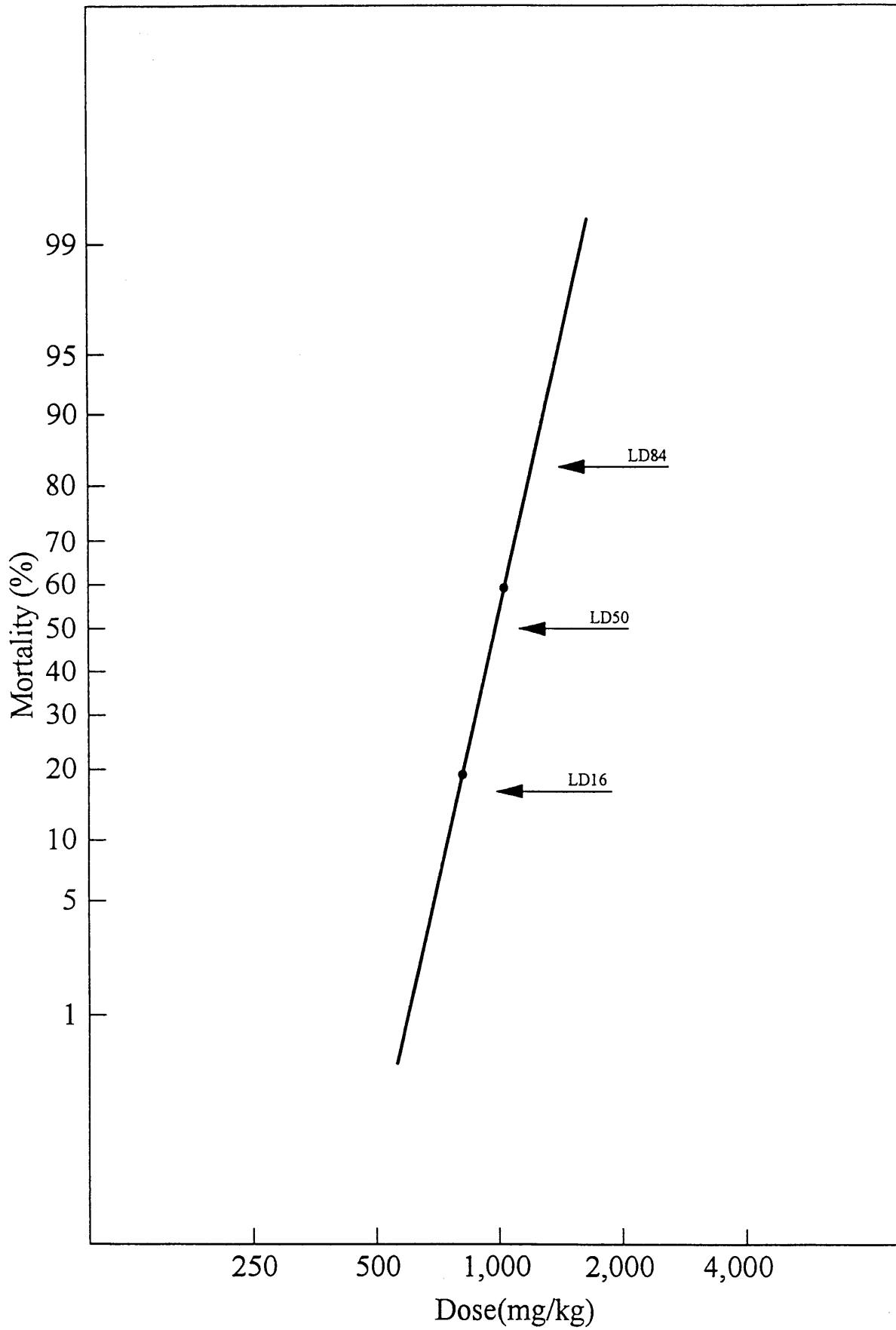
その結果、一般状態の観察で、重篤な中毒症状を示した動物では側臥位、体温低下あるいは褐色尿が見られた。また、病理解剖所見では、前胃および小腸の白色斑点、腺胃の黒色斑点などが認められたことから、6-tert-ブチル-2,4-キシレノールはラットに単回経口投与することによって主に消化器系に障害を与えたと考えられた。

病理肉眼所見では、観察期間終了時の雌雄の生存動物で前胃が関与した腹腔内器官の癒着が認められた。代表例の組織所見では、前胃に高度の潰瘍および肉芽腫性炎が認められたことから、これらの器官間の癒着は被験物質投与により前胃の漿膜面が炎症性変化を起こし、次いで、壁側、腑側の向かい合う器官面と接着し、起きたものと考えられた。



Exp.No. 2260 (115-020)

Figure 1. Dosage-mortality curve in male rats



Exp.No. 2260 (115-020)

Figure 2. Dosage-mortality curve in female rats

Table 1. Mortality

Exp. No. 2260 (115-020)

Sex	Group	Dose level (mg/kg)	Number of animals	Number of deaths on the day														Mortality (%)
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
Male	1	819	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	1,024	5	1	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	60
	3	1,280	5	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	60
	4	1,600	5	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	80
	5	2,000	5	2	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
Female	6	655	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	7	819	5	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20
	8	1,024	5	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	60
	9	1,280	5	1	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
	10	1,600	5	2	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
	LD50 (mg/kg)			95% Confidence limit														
Male	910			(570 - 1,452)														
Female	972			(814 - 1,162)														

Table 2. Clinical sign

Exp. No. 2260 (115-020)

Sex : Male	Dose level : 819 (mg/kg)	Number of animals : 5																			
		Hours						Days													
Signs		1	2	3	4	5	6	6→24	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Normal		3	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Movement																					
abnormal gait							2		2												
hypoactivity		2	5	5	5	5	5	5	5	5											
Posture																					
lateral position																					
prone position		1	1	1	3	1	1	1	1												
hunchback position						1	1	1	1												
General condition																					
subnormal temperature																					
brownish urine																					
Death																					
Number of affected animals : 5		Number of recovered animals : 5														Mortality : 0/5					

Table 2. -continued Clinical sign

Exp. No. 2260 (115-020)

Sex : Male	Dose level : 1.024 (mg/kg)	Number of animals : 5																						
		Hours						Days																
Signs		1	2	3	4	5	6	6→24	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14			
Normal		0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2		
Movement																								
abnormal gait																								
hypoactivity								2	2															
Posture																								
lateral position																1								
prone position					4	3	3	2																
hunchback position								2	2	1														
General condition																								
subnormal temperature																1	1							
brownish urine																								
Death																	1							2
Number of affected animals : 5																	Number of recovered animals : 2				Mortality : 3/5			

Table 2. -continued Clinical sign

Exp. No. 2260 (115-020)

Sex : Male	Dose level : 1,280 (mg/kg)	Number of animals : 5	Days																			
			Hours						Days													
			1	2	3	4	5	6	6→24	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Signs			0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Normal																						
Movement																						
abnormal gait								1														
hypoactivity			5	5	5	5	5	5	5	5	4	1	1									
Posture																						
lateral position								2	2	2	2											
prone position			1	1	5	5	5	2	2	1	1											
hunchback position								1	1	1												
General condition																						
subnormal temperature								2	3	3												
brownish urine									2	2												
Death										1	2											
Number of affected animals : 5			Number of recovered animals : 2														Mortality : 3/5					

Table 2. -continued Clinical sign

Exp. No. 2260 (115-020)

Sex : Male Dose level : 1.600 (mg/kg) Number of animals : 5

Signs	Hours						Days												
	1	2	3	4	5	6 6→24	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Normal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Movement																			
abnormal gait						1					1								1
hypoactivity	5	5	5	5	5	5	5	1	1										1
Posture																			
lateral position					1	1					4								4
prone position		1	1	3	3	3													
hunchback position				1	1	1				1	1	1							1
General condition																			
subnormal temperature						4					4								4
brownish urine																			
Death																			4
Number of affected animals : 5																			Mortality : 4/5

|
1
0
|

Table 2. -continued Clinical sign

Exp. No. 2260 (115-020)

Sex : Male	Dose level : 2,000 (mg/kg)	Number of animals : 5																					
		Hours						Days															
Signs		1	2	3	4	5	6	6→24	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		
Normal		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Movement																							
abnormal gait							2		2														
hypoactivity		5	5	5	5	5	5	5	3	1	1												
Posture																							
lateral position							1		1		1												
prone position					4	4	4	3				3											
hunchback position					1	1	1																
General condition																							
subnormal temperature							2		1	1	1												
brownish urine																							
Death							2		2														
Number of affected animals : 5		Number of recovered animals : 0																				Mortality : 5/5	

Table 2. -continued Clinical sign

Exp. No. 2260 (115-020)

Sex : Female	Dose level : 655 (mg/kg)	Number of animals : 5																			
		Hours						Days													
		1	2	3	4	5	6	6→24	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Signs																					
Normal																					
Movement																					
abnormal gait																					
Posture																					
lateral position																					
General condition																					
subnormal temperature																					
Death																					
Number of affected animals : 3 Number of recovered animals : 5 Mortality : 0/5.																					

Table 2. -continued Clinical sign

Exp. No. 2260 (115-020)

	Sex : Female	Dose level : 819 (mg/kg)	Number of animals : 5	Hours						Days														
				1	2	3	4	5	6	6→24	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
Signs				1	0	2	3	4	5	6	6→24	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Normal				1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Movement																								
abnormal gait										2														
hypoactivity				4	5	5	5	5	5	5	5	5	4											
Posture																								
lateral position										1														
prone position							1	1	1															
hunchback position										2														
General condition																								
subnormal temperature										1														
brownish urine																								
Death																								
Number of affected animals : 5				Number of recovered animals : 4				Mortality : 1/5																

Table 2. -continued Clinical sign

Exp. No. 2260 (115-020)

Sex : Female	Dose level : 1.024 (mg/kg)	Number of animals : 5	Hours						Days													
			1	2	3	4	5	6	6→24	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Signs			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Normal																						
Movement																						
	abnormal gait											1										
	hypoactivity		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	2									
Posture																						
	lateral position											3										
	prone position		1	1	4	4	4	4														
	hunchback position										1											
General condition																						
	subnormal temperature										3											
	brownish urine																					
Death																						
																						3
Number of affected animals : 5															Number of recovered animals : 2						Mortality : 3/5	

Table 2. -continued Clinical sign

Exp. No. 2260 (115-020)

Sex : Female	Dose level : 1.280 (mg/kg)	Number of animals : 5	Hours						Days														
			1	2	3	4	5	6	6→24	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
Signs			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Normal																							
Movement																							
abnormal gait																							
hypoactivity			5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Posture																							
lateral position										1	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
prone position									3	3	3	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
hunchback position									1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
General condition																							
subnormal temperature														4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
brownish urine																							1
Death														1	1	1	1	1	1	1	1	1	4
Number of affected animals : 5			Number of recovered animals : 0												Mortality : 5/5								

Table 2. -continued Clinical sign

Exp. No. 2260 (115-020)

Sex : Female	Dose level : 1,600 (mg/kg)	Number of animals : 5																				
		Hours						Days														
Signs		1	2	3	4	5	6	6→24	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
Normal		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0							
Movement																						
abnormal gait																						
hypoactivity		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	3							
Posture																						
lateral position								3							3							
prone position		2	3	4	4	4	4	1														
hunchback position				1	1	1	1	1														
General condition																						
subnormal temperature								3							3							
brownish urine																						
Death								2							3							
Number of affected animals : 5		Number of recovered animals : 0																			Mortality : 5/5	

Table 3. Body weight

Exp. No. 2260 (115-020)
(unit:g)

Sex : Male

Group	Dose level (mg/kg)	Animal ID-No.	Days after administration			
			0	7	14	
1	819	1101	150	233	302	
		1102	164	228	305	
		1103	150	190	249	
		1104	145	206	264	
		1105	160	219	281	
		Mean \pm S. D.	154 \pm 8	215 \pm 17	280 \pm 24	
2	1,024	1201	162	(142)	-	
		1202	145	(130)	-	
		1203	152	208	271	
		1204	157	205	279	
		1205	154	(154)	-	
		Mean \pm S. D.	154 \pm 6	207 \pm 2	275 \pm 6	
3	1,280	1301	150	(132)	-	
		1302	161	192	256	
		1303	153	196	270	
		1304	148	(142)	-	
		1305	162	(154)	-	
		Mean \pm S. D.	155 \pm 6	194 \pm 3	263 \pm 10	

(): Body weight at death; not included in calculation of mean body weight

Table 3. -continued Body weight

Exp. No. 2260 (115-020)
(unit:g)

Sex : Male

Group	Dose level (mg/kg)	Animal ID-No.	Days after administration			
			0	7	14	
4	1,600	1401	160	195	266	
		1402	157	(156)	-	
		1403	155	(146)	-	
		1404	156	(149)	-	
		1405	152	(147)	-	
Mean \pm S. D.			156 \pm 3	195	266	
5	2,000	1501	154	(155)	-	
		1502	145	(139)	-	
		1503	152	(129)	-	
		1504	161	(154)	-	
		1505	161	(149)	-	
Mean \pm S. D.			155 \pm 7	-	-	

(): Body weight at death; not included in calculation of mean body weight

Table 3. -continued Body weight

Exp. No. 2260 (115-020)
(unit:g)

Sex : Female

Group	Dose level (mg/kg)	Animal ID-No.	Days after administration			
			0	7	14	14
6	655	2101	125	152	179	
		2102	135	168	206	
		2103	145	183	228	
		2104	139	179	208	
		2105	134	180	202	
Mean \pm S. D.			136 \pm 7	172 \pm 13	205 \pm 17	
7	819	2201	120	160	186	
		2202	117	(103)	-	
		2203	128	164	202	
		2204	126	163	181	
		2205	136	179	199	
Mean \pm S. D.			125 \pm 7	167 \pm 9	192 \pm 10	
8	1,024	2301	130	(120)	-	
		2302	132	177	203	
		2303	121	159	178	
		2304	126	(121)	-	
		2305	120	(113)	-	
Mean \pm S. D.			126 \pm 5	168 \pm 13	191 \pm 18	

(): Body weight at death; not included in calculation of mean body weight

Table 3. -continued Body weight

Exp. No. 2260 (115-020)
(unit:g)

Sex : Female

Group	Dose level (mg/kg)	Animal ID-No.	Days after administration			
			0	7	14	
9	1,280	2401	120	(118)	-	
		2402	116	(125)	-	
		2403	131	(124)	-	
		2404	123	(115)	-	
		2405	131	(126)	-	
		Mean \pm S. D.	124 \pm 7	-	-	
10	1,600	2501	119	(121)	-	
		2502	124	(119)	-	
		2503	127	(122)	-	
		2504	133	(127)	-	
		2505	124	(119)	-	
		Mean \pm S. D.	125 \pm 5	-	-	

(): Body weight at death; not included in calculation of mean body weight

Table 4. Gross finding

Exp. No. 2260 (115-020)

Sex : Male Dose level : 819 (mg/kg)

Animal ID-No.	Classification	Days after administration	Organ	Findings and comments
1101	Sacrificed	14		Normal
1102	Sacrificed	14		Normal
1103	Sacrificed	14		Normal
1104	Sacrificed	14		Normal
1105	Sacrificed	14		Normal

Table 4. -continued Gross finding

Exp. No. 2260 (115-020)

Sex : Male Dose level : 1.024 (mg/kg)

Animal ID-No.	Classification	Days after administration	Organ	Findings and comments
1201	Dead	3	Thoracic cavity	Autolysis Hydrothorax, transparent
1202	Dead	3	Glandular stomach Urinary bladder	Black patch/zone, multiple Brownish urine
1203	Sacrificed	14		Normal
1204	Sacrificed	14	Forestomach	Adhesion with liver Adhesion with diaphragma
1205	Dead	1		Autolysis

Table 4. -continued Gross finding

Sex : Male Dose level : 1,280 (mg/kg)

Animal ID-No.	Classification	Days after administration	Organ	Findings and comments
1301	Dead	3	Glandular stomach Small intestine Large intestine Urinary bladder	Black patch/zone, multiple White contents White contents Brownish urine
1302	Sacrificed	14	Forestomach Liver	Adhesion with liver Adhesion with diaphragma Adhesion with spleen Yellow patch/zone, focal
1303	Sacrificed	14	Forestomach Liver	Adhesion with liver Adhesion with diaphragma Adhesion with diaphragma
1304	Dead	2	Thymus	Autolysis Black patch/zone, multiple
1305	Dead	3	Thymus Forestomach Small intestine Urinary bladder	Black patch/zone, multiple White patch/zone, multiple Black contents Brownish urine Black patch/zone, multiple

Table 4. -continued Gross finding

Exp. No. 2260 (115-020)

Sex : Male Dose level : 1,600 (mg/kg)

Animal ID-No.	Classification	Days after administration	Organ	Findings and comments
1401	Sacrificed	14	Forestomach	Adhesion with liver Adhesion with diaphragma Thickness, focal
1402	Dead	2	Liver Spleen	Adhesion with retroperitoneum Adhesion with left kidney
1403	Dead	2	Small intestine	Black contents
1404	Dead	2		Autolysis
1405	Dead	2		Autolysis

Table 4. -continued Gross finding

Exp.No. 2260 (115-020)

Sex : Male Dose level : 2,000 (mg/kg)

Animal ID-No.	Classification	Days after administration	Organ	Findings and comments
1501	Dead	1		Autolysis
1502	Dead	1	Small intestine	Autolysis White patch/zone, multiple
1503	Dead	4	Small intestine	Autolysis Black contents
1504	Dead	2	Small intestine	White patch/zone, multiple
1505	Dead	2		Autolysis

Table 4. -continued Gross finding

Exp. No. 2260 (115-020)

Sex : Female Dose level : 655 (mg/kg)

Animal ID-No.	Classification	Days after administration	Organ	Findings and comments
2101	Sacrificed	14		Normal
2102	Sacrificed	14		Normal
2103	Sacrificed	14		Normal
2104	Sacrificed	14		Normal
2105	Sacrificed	14		Normal

Table 4. -continued Gross finding

Exp. No. 2260 (115-020)

Sex : Female Dose level : 819 (mg/kg)

Animal ID-No.	Classification	Days after administration	Organ	Findings and comments
2201	Sacrificed	14		Normal
2202	Dead	2		Autolysis
2203	Sacrificed	14	Spleen	Atrophy
2204	Sacrificed	14		Normal
2205	Sacrificed	14		Normal

Table 4. -continued Gross finding

Exp. No. 2260 (115-020)

Sex : Female Dose level : 1.024 (mg/kg)

Animal ID-No.	Classification	Days after administration	Organ	Findings and comments
2301	Dead	2	Thymus Small intestine	Black patch/zone, multiple White patch/zone, multiple Black contents
2302	Sacrificed	14	Forestomach	Adhesion with diaphragma
2303	Sacrificed	14		Normal
2304	Dead	2	Small intestine Urinary bladder	White patch/zone, multiple Brown contents Brownish urine
2305	Dead	2	Small intestine	White patch/zone, multiple

Table 4. -continued Gross finding

Exp. No. 2260 (115-020)

Sex : Female Dose level : 1,280 (mg/kg)

Animal ID-No.	Classification	Days after administration	Organ	Findings and comments
2401	Dead	1		Normal
2402	Dead	2	Small intestine	White patch/zone, multiple Black contents
2403	Dead	2	Urinary bladder	Autolysis Brownish urine
2404	Dead	2	Small intestine	White patch/zone, multiple Black contents
2405	Dead	2	Thymus	Autolysis Black patch/zone, multiple

Table 4. -continued Gross finding

Exp. No. 2260 (115-020)

Sex : Female Dose level : 1,600 (mg/kg)

Animal ID-No.	Classification	Days after administration	Organ	Findings and comments
2501	Dead	1		Autolysis
2502	Dead	1	Small intestine	White patch/zone, multiple
2503	Dead	2		Autolysis
2504	Dead	2		Autolysis
2505	Dead	2		Autolysis