

B-6578

最終報告書

試験名：1-クロロメチル-4-ニトロベンゼンのラットを用いた
2週間回復性観察を含む28日間反復経口投与毒性試験

試験番号：B-6578

試験期間：2009年10月1日-2011年6月17日

試験実施施設

株式会社ボゾリサーチセンター 御殿場研究所
〒412-0039 静岡県御殿場市かまど 1284

試験委託者

厚生労働省 医薬食品局 審査管理課 化学物質安全対策室
〒100-8916 東京都千代田区霞が関 1-2-2

株式会社ボゾリサーチセンター
〒151-0065 東京都渋谷区大山町 36-7

2. 目次

2.	目次	3
4.	要約	10
5.	緒言	11
6.	試験材料及び方法	12
6.1	被験物質及び媒体	12
6.1.1	被験物質	12
6.1.2	媒体	13
6.2	投与液の調製	13
6.2.1	媒体の調製	13
6.2.2	被験液の調製	13
6.2.3	投与液の保存方法	13
6.2.4	媒体中での安定性	13
6.2.5	被験液の濃度・均一性確認	13
6.3	試験動物種及び系統の選択理由	15
6.4	試験動物及び群分け	15
6.5	飼育条件	15
6.6	飼料及び飲料水中の混入物質	15
6.7	動物の識別及びケージへの表示	15
6.8	投与経路、投与期間、投与回数及び回復期間とそれらの選択理由	16
6.9	投与方法	16
6.10	投与量及びその設定根拠並びに群構成	16
6.11	観察及び検査の方法	17

6.11.1	一般状態の観察	17
6.11.2	詳細な一般状態の観察、機能検査、握力及び自発運動量の測定	17
6.11.2.1	詳細な一般状態の観察	17
6.11.2.2	機能検査	17
6.11.2.3	握力測定	18
6.11.2.4	自発運動量の測定	18
6.11.3	体重測定	18
6.11.4	摂餌量測定	18
6.11.5	尿検査	19
6.11.6	血液学検査	20
6.11.7	血液化学検査	21
6.11.8	病理学検査	22
6.11.8.1	剖検	22
6.11.8.2	器官重量測定	22
6.11.8.3	病理組織学検査	22
6.12	統計解析	23
7.	試験結果	24
7.1	一般状態	24
7.2	詳細な一般状態、機能検査、握力及び自発運動量	24
7.2.1	詳細な一般状態	24
7.2.2	機能検査	24
7.2.3	握力	25
7.2.4	自発運動量	25
7.3	体重	25
7.4	摂餌量	25
7.5	尿検査（摂水量含む）	26
7.6	血液学検査	26
7.7	血液化学検査	26
7.8	器官重量	26
7.9	剖検所見	27
7.10	病理組織学検査	27
8.	考察	30
9.	文献	32

図

Fig. 1~4	自発運動量
Fig. 5	体重
Fig. 6	摂餌量

表

Table 1-1~1-3	一般状態
Table 2-1~2-18	詳細な一般状態
Table 2-19、2-20	機能検査
Table 2-21、2-22	握力
Table 2-23、2-24	自発運動量
Table 3-1、3-2	体重
Table 4-1、4-2	摂餌量
Table 5-1~5-8	尿検査（摂水量含む）
Table 6-1~6-6	血液学検査
Table 7-1~7-4	血液化学検査
Table 8-1~8-8	器官重量
Table 9-1、9-2	剖検所見
Table 10-1~10-4	病理組織学検査

4. 要約

1-クロロメチル-4-ニトロベンゼンの 28 日間反復経口投与毒性試験を 6 週齢の Sprague-Dawley 系 SPF ラット [CrI:CD(SD)、1 群雌雄各 6 又は 12 匹] を用いて実施した。投与量は 0 (0.5w/v%メチルセルロース水溶液：対照群) 8、40 及び 200 mg/kg とし、また、対照群と 200 mg/kg 投与群の一部の個体 (1 群雌雄各 6 匹) については投与期間終了後 2 週間の休薬期間を設け、毒性変化の可逆性を検討した。

体重、摂餌量、機能検査及び握力に被験物質投与の影響はみられなかった。

一般状態では、流涎が 200 mg/kg 投与群の雌雄で散見された。

詳細な一般状態の観察では、流涎が 200 mg/kg 投与群の雌雄で、オープンフィールド内観察における立ち上がり回数の低値が 200 mg/kg 投与群で認められた。

自発運動量では、低値が 200 mg/kg 投与群の雌で認められた。

尿検査 (摂水量を含む) では、摂水量の高値が 200 mg/kg 投与群の雄で認められた。

血液学検査では、網赤血球率の高値が 200 mg/kg 投与群の雌雄で、白血球数及び好中球数の高値が 200 mg/kg 投与群の雄で、赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値及び平均赤血球血色素濃度の低値が 200 mg/kg 投与群の雌で認められた。

血液化学検査では、A/G 比の高値が 200 mg/kg 投与群の雌雄で、無機リン及びアルブミンの高値が 200 mg/kg 投与群の雄で認められた。

病理学検査では、脾臓においては、組織学的に髄外造血の発現頻度及び程度の増強が 200 mg/kg 投与群の雌雄に認められ、雌は相対重量の高値を伴った。肝臓においては、肉眼的に大型化が 200 mg/kg 投与群の雄でみられ、組織学的にもび慢性肝細胞肥大が 200 mg/kg 投与群の雌雄でみられ、雄は絶対及び相対重量の高値を、雌は相対重量の高値を伴って認められた。胃においては、肉眼的に前胃の白色化が 200 mg/kg 投与群の雌雄でみられ、組織学的には前胃のびらんが 200 mg/kg 投与群の雄で、び慢性扁平上皮過形成が 8 mg/kg 以上の投与群の雌雄で認められた。

上述した変化のうち、オープンフィールド内観察における立ち上がり回数、血液学検査における網赤血球率、病理学検査における胃の変化については休薬後にも認められたものの、いずれも投与期間中あるいは投与期間終了時に比べて軽減し、回復性が示唆された。なお、その他の変化については休薬とともに消失し回復を示した。

以上の結果、1-クロロメチル-4-ニトロベンゼンの本試験条件下における無影響量は雌雄とも病理学検査の胃による変化から 8 mg/kg/day を下回ると推定された。ただし、40 mg/kg 以下の投与群の雌雄に認められた変化は被験物質の刺激に起因する変化のみであった。また、投与によって生じた変化は、いずれも休薬による回復性が認められた。

B-6578

5. 緒言

厚生労働省 医薬食品局 審査管理課 化学物質安全対策室の依頼により、1-クロロメチル-4-ニトロベンゼンをラットに 28 日間反復経口投与し、その影響を明らかにするとともに、2 週間休薬し、障害の可逆性を調べたのでその成績を報告する。なお、本試験は株式会社ボゾリサーチセンター動物実験委員会の承認を受けている。

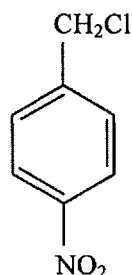
6. 試験材料及び方法

6.1 被験物質及び媒体

6.1.1 被験物質

本試験に使用した被験物質のロット番号、純度等は次の通りである。また、試験成績書を添付資料 1 に示した。

名称	:	1-クロロメチル-4-ニトロベンゼン
英名	:	alpha-chloro-4-nitrotoluene
別名	:	4-ニトロベンジル クロリド
CAS 番号	:	100-14-1
分子式	:	$C_7H_6NO_2Cl$
構造式	:	



分子量	:	171.58
純度	:	99.9%
入手量	:	525 g (250 g を 2 本と 25 g を 1 本)
性状	:	薄い黄色~橙色、結晶~粉末
保存方法	:	冷暗所 (冷蔵庫内、許容範囲 :1~10°C、実測値 :3~8°C)、密栓
安定性	:	投与終了後、被験物質について試験受託者で確認した結果、安定であった (添付資料 2)。
保存場所	:	御殿場研究所 被験物質保存室及び第 1 研究棟被験物質調製室
取扱い上の注意	:	マスク、手袋及び保護眼鏡を着用した。 火気や熱源などの着火源から遠ざけ、酸化剤との接触を避けた。
返却	:	被験物質 1 g を保存試料として保存した。分析用に小分けした被験物質の残量は廃棄した。また、被験物質の残量は安定性を確認後、すべて廃棄した。

B-6578

6.1.2 媒体

名称 : 0.5 w/v%メチルセルロース水溶液

なお、本試験に先立って実施した被験液中の1-クロロメチル-4-ニトロベンゼンの安定性・均一性試験（試験番号：A-2167）において、0.5 w/v%メチルセルロース水溶液中での被験物質の安定性及び均一性に良好な結果が得られていることから、媒体として0.5 w/v%メチルセルロース水溶液を選択した。

6.2 投与液の調製

6.2.1 媒体の調製

調製方法 : メチルセルロース（400cP、和光純薬工業株式会社、ロット番号；EWM1974）を注射用水（株式会社大塚製薬工場、ロット番号；9E70）に溶解し、0.5w/v%メチルセルロース水溶液とした。

保存方法 : 冷所（冷蔵庫内、許容範囲；1~10°C、実測値：5~6°C）に保存し、調製後3日以内に被験物質調製で使用した。

6.2.2 被験液の調製

濃度ごとに必要量の被験物質を正確に採取し、0.5 w/v%メチルセルロース水溶液に懸濁して1.6 mg/mL液（低用量群液）、8 mg/mL液（中用量群液）及び40 mg/mL液（高用量群液）を調製した。被験液は8日に1回以上の頻度で調製し、調製後7日以内に使用した。

6.2.3 投与液の保存方法

投与液は1日必要分ずつ褐色瓶に分注し、使用時まで冷所（冷蔵庫内、許容範囲：1~10°C、実測値：3~6°C）、遮光で保存した。

6.2.4 媒体中での安定性

本被験物質の0.1及び200 mg/mL懸濁液（媒体：0.5 w/v%メチルセルロース水溶液）は、冷所（冷蔵庫内、許容範囲；1~10°C）、遮光で8日間、その後室温で24時間安定かつ均一であることが株式会社ボゾリサーチセンター御殿場研究所で確認されている（試験番号：A-2167、添付資料3）。

6.2.5 被験液の濃度・均一性確認

投与1週と4週の投与に用いる各濃度の被験液について、その濃度・均一性を株式会社ボゾリサーチセンター御殿場研究所でHPLC法を用いて確認した。その結果、表示値に対する濃度の割合は100.8~107.8%（許容範囲：表示値に対する割合；100±10%）、均一性は0.6~3.2%（許容範囲：CV10%以下）であり、いずれも許容範囲内であった（添付資料4-1及び4-2）。分析法の概略を次に示す。

1 濃度当たりの採取本数及び採取量

: 3 本（上、中及び下層から採取）、1 本につき 10 mL

測定対象標準物質

名称 : 1-クロロメチル-4-ニトロベンゼン

ロット番号 : FHN01

保存方法 : 冷暗所（冷蔵庫内、実測値：2~8℃）、密栓

保存場所 : 御殿場研究所 被験物質保存室及び生化学部標準物質
保存場所

HPLC 測定条件

カラム : Cosmosil 5C₁₈-MS-II
(4.6 mm×150 mm、5 µm、ナカライテスク株式会社)

カラム恒温槽設定温度

: 30℃

移動相 : 精製水／メタノール（4/6、v/v）

流量 : 1.0 mL/min

検出 : UV（測定波長 254 nm）

試料注入量 : 10 µL

オートサンプラー設定温度

: 10℃

分析時間 : 9 分

注入順序 :

注入順序	注入回数	注入内容
1	3	標準溶液（システム適合性用）
2	3	標準溶液（定量用）
3	1	測定実測試料（1.6 mg/mL-上層）
4	1	測定実測試料（8 mg/mL-上層）
5	1	測定実測試料（40 mg/mL-上層）
6	1	測定実測試料（1.6 mg/mL-中層）
7	1	測定実測試料（8 mg/mL-中層）
8	1	測定実測試料（40 mg/mL-中層）
9	1	測定実測試料（1.6 mg/mL-下層）
10	1	測定実測試料（8 mg/mL-下層）
11	1	測定実測試料（40 mg/mL-下層）

標準溶液及び測定実測試料の測定は、注入後 24 時間以内に実施した。なお、バリデーション試験で、オートサンプラー内における 24 時間保存後の安定性が確認されている。

6.3 試験動物種及び系統の選択理由

毒性試験法ガイドラインによりラットを用いた試験が必要とされている。この試験に使用された系統のラットは特性がよく知られ、背景資料が豊富であることから選択した。

6.4 試験動物及び群分け

Sprague-Dawley 系 SPF ラット [CrI:CD(SD)、日本チャールス・リバー株式会社、厚木飼育センター] 雌雄各 47 匹^{注)} を 5 週齢で入手し、当所で 9 日間検疫・馴化飼育し、一般状態の観察 (1 回/日)、体重測定 (3 回) 及び詳細な一般状態の観察 (1 回) を行い、体重増加量、一般状態及び詳細な一般状態の観察に異常がみられず健康と思われる雌雄各 36 匹 (主群として雌雄各 24 匹、回復群として雌雄各 12 匹) を選び、6 週齢で試験に供した。投与開始日の体重範囲は、雄で 188~214 g、雌で 154~180 g であった。動物は検疫・馴化期間中の体重増加量により選別後、群分け当日 (投与開始の 2 日前) の体重に基づいて、各群の平均体重ができるだけ均等となるよう各群を構成した。個体の割付けはコンピュータを用いたブロック配置法及び無作為抽出法の組合せ (ブロック配置法で必要な群を構成し、試験群及び群内の個体番号を無作為に割当てた) により行った。また、余剰動物は投与開始日に試験系から除外した。

注) : 試験計画書に従い、注文匹数は雌雄各 45 匹であったが、実際には雌雄各 47 匹が納入された。

6.5 飼育条件

動物は温度 20~25°C (許容範囲: 23±3°C)、相対湿度 37~69% (許容範囲: 50±20%)、換気回数 1 時間 10~15 回、照明 1 日 12 時間 (07:00~19:00) の動物飼育室 (飼育室番号: 301 号室) で、ブラケット式金属製網ケージ (W 250×D 350×H 200 mm: 日本ケージ株式会社) で個別飼育し、毎日 1 回の飼育室内の清掃を実施した。固形飼料 CRF-1 (オリエンタル酵母工業株式会社、ロット番号: 090805、090902) は給餌器を用いて、また、御殿場市営水道水を給水瓶により自由に摂取させた。

6.6 飼料及び飲料水中の混入物質

飼料中の混入物質に関しては使用ロットについて Eurofins Scientific Analytics で分析を行い、また、飲料水については東芝機械環境センター株式会社に水道法に準拠する水質検査を定期的に (年 4 回) 依頼した。これらの分析成績書を入手し、試験成績に影響がないことを確認した後、写しを保存した。

6.7 動物の識別及びケージへの表示

動物は入荷時に小動物耳標を装着して個体識別した。入荷から群分け前までの間は試験番号、性別及び耳標番号を明記したケージラベルをつけた。群分け後は、性別及び用量ごと (対照群、低、中及び高用量群の順) に 4 桁の番号をつけた。この場合、1000 の位は群、100 の位は性 (0 番を雄、1 番を雌)、10 と 1 の位は個体番号とした。

各飼育ケージには、群分け前まで使用したケージラベルの裏に用量（群）ごとに色分けしたラベルをつけ、試験番号、投与経路、投与量、性、動物番号、耳標番号及び剖検予定日を明記した。ただし、詳細な一般状態の観察、機能検査、握力及び自発運動量測定中は、観察者に対して投与の情報を制限するため、ケージラベルを裏返して試験番号、性別及び耳標番号のみを表示した。

6.8 投与経路、投与期間、投与回数及び回復期間とそれらの選択理由

毒性試験法ガイドラインに準じ、投与経路は経口投与を選択し、投与期間は28日間とした。投与回数は反復投与試験で一般的に行われている1日1回（7回/週）とした。回復期間は障害の可逆性を検討するのに適当と考えられる2週間（14日間）とし、この間投与を行わなかった。

6.9 投与方法

投与容量は5 mL/kg 体重とし、胃ゾンデを用いて強制経口投与した（08:00~12:14の間）。対照群には媒体（0.5 w/v%メチルセルロース水溶液）を同様に投与した。個体ごとの投与液量は最新の体重を基準に算出した。

6.10 投与量及びその設定根拠並びに群構成

1-クロロメチル-4-ニトロベンゼンの0（0.5 w/v%メチルセルロース水溶液）、100、300及び1000 mg/kg/dayを1群雌雄各5匹のラットに14日間反復経口投与した結果¹⁾、主な変化として、1000 mg/kg 投与群の雌雄で死亡がみられた。また、各被験物質投与群の雌雄で剖検において変化がみられたことから、本試験における投与量は、200 mg/kg 投与群を高用量とし、公比5で除し、40 mg/kg を中用量に、8 mg/kg を低用量とし、対照群を加え4群構成とする。1群当たりの動物を主群では雌雄各6匹、回復群では対照群及び高用量群で雌雄各6匹とする。群構成表を次の表1に示す。

表 1. 群構成表

試験群	投与量 (mg/kg)	濃 度 (mg/mL)	投与容量 (mL/kg)	性	主 群		回 復 群	
					動物数	動物番号	動物数	動物番号
対照群	0	0	5	雄	6	1001~1006	6	1007~1012
				雌	6	1101~1106	6	1107~1112
低用量群	8	1.6	5	雄	6	2001~2006	-	-
				雌	6	2101~2106	-	-
中用量群	40	8	5	雄	6	3001~3006	-	-
				雌	6	3101~3106	-	-
高用量群	200	40	5	雄	6	4001~4006	6	4007~4012
				雌	6	4101~4106	6	4107~4112

6.11 観察及び検査の方法

それぞれ記載された時期に観察及び検査を実施した。試験日の起算に関しては下記の通りとした。

投与 1 日 (day 1 of administration)	: 投与開始日
投与 1 週 (week 1 of administration)	: 投与 1 から投与 7 日
回復 1 日 (day 1 of recovery)	: 回復開始日 (投与期間終了の翌日)
回復 1 週 (week 1 of recovery)	: 回復 1 から回復 7 日

6.11.1 一般状態の観察

全個体について投与期間中は毎日 3 回、投与前と投与直後及び約 2 時間後(ただし、休日と詳細な一般状態の観察、機能検査、握力及び自発運動量測定を実施する時は投与前と投与直後の 2 回)、回復期間中は毎日 1 回(午前中)、体外表、栄養状態、姿勢、行動及び排泄物などの一般状態を観察した。

6.11.2 詳細な一般状態の観察、機能検査、握力及び自発運動量の測定

詳細な一般状態の観察は、全個体について、投与開始前に 1 回、投与期間中及び回復期間中は毎週 1 回実施した。また、機能検査、握力及び自発運動量の測定は、投与 4 週(雄を投与 26 日、雌を投与 27 日)及び回復 2 週(回復 12 日)に行った。詳細な一般状態の観察及び機能検査については実測値あるいはスコア化した評点法を用いた。なお、観察及び検査は投与の情報を制限(ブラインド化)し、動物をランダムに配置した状態で行った。

6.11.2.1 詳細な一般状態の観察

1) ホームケージ内観察

姿勢、痙攣、異常行動

2) 手に持つての観察

ケージからの取り出しやすさ、被毛・皮膚の状態、眼・鼻の分泌物、眼球(眼球突出、眼瞼閉鎖状態)、可視粘膜、自律神経機能(流涙、立毛、瞳孔径、流涎、異常呼吸)、ハンドリングに対する反応

3) オープンフィールド内観察

覚醒状態、痙攣、異常行動、常同行動、歩行、姿勢、身繕い、立ち上がり回数、排泄物(排糞数、排尿)

6.11.2.2 機能検査

聴覚反応、接近反応、接触反応、痛覚反応、瞳孔反射、空中正向反射、着地開脚幅

B-6578

6.11.2.3 握力測定

CPU ゲージ MODEL-9502A（アイコーエンジニアリング株式会社）を用いて前肢及び後肢の握力を測定した。

6.11.2.4 自発運動量の測定

実験動物用自発運動センサーNS-AS01（株式会社ニューロサイエンス）を用いて自発運動量を測定した。測定は1時間とし、10分間隔及び0~60分の測定値を集計した。

6.11.3 体重測定

全個体について、投与期間中は投与1、4、7、10、14、17、21、24及び28日の投与前に、回復期間中は回復1、3、7、10及び14日に測定した。測定は08:15~10:28の間に行った。剖検日には相対器官重量算出のため、前日から約16時間絶食させた後の体重を測定した（07:58~08:16）。

6.11.4 摂餌量測定

全個体について、投与期間中は投与1、7、14、21及び28日の投与前に、回復期間中は回復7及び14日に測定した。測定は08:23~10:12の間に行った。なお、投与期間中は投与開始日の測定は前日からの1日量を、投与7日は6日間の累積摂取量を、その後は7日ごとに7日間の累積摂取量を測定し、1匹1日量を算出した。回復1週は回復1日から7日までの6日間の累積摂取量を、その後は7日間の累積摂取量を測定し、1匹1日量を算出した。

6.11.5 尿検査

投与4週及び回復2週に行った。

投与4週（投与22日の投与後）は全個体について、回復2週（回復8日）は回復群の全個体について、検査当日にそれぞれ採尿器をセットしたケージに収容し、絶食・自由摂水下で4時間尿を、次いで自由摂食・自由摂水下でその後の20時間尿を採取し、表2に記載した項目及び方法により検査した。また、摂水量は、採尿ケージに収容した状態で前日からの1日当たりの摂水量を、給水瓶を用いて測定した。

表2. 尿検査の項目、測定法及び使用機器など

1) 4時間尿についての検査	
検査項目	測定方法
pH	オーションスティックス-7EA 試験紙 ^{a)} (アークレイ株式会社)
たん白質	オーションスティックス-7EA 試験紙 ^{a)} (アークレイ株式会社)
ケトン体	オーションスティックス-7EA 試験紙 ^{a)} (アークレイ株式会社)
グルコース	オーションスティックス-7EA 試験紙 ^{a)} (アークレイ株式会社)
潜血	オーションスティックス-7EA 試験紙 ^{a)} (アークレイ株式会社)
ビリルビン	オーションスティックス-7EA 試験紙 ^{a)} (アークレイ株式会社)
ウロビリノーゲン	オーションスティックス-7EA 試験紙 ^{a)} (アークレイ株式会社)
色調	肉眼観察
沈渣	鏡検法
尿量 (4時間量) 注)	目盛付スピッツ管を用いた容量測定 (単位: mL)
2) 20時間尿についての検査	
検査項目	測定方法
尿量 (20時間量) 注)	メスシリンダーを用いた容量測定 (単位: mL)
浸透圧	氷点降下法 ^{b)} (単位: mOsm/kg)
使用測定機器	
a) : AUTION™ MINI AM-4290 (アークレイ株式会社)	
b) : 自動浸透圧測定装置 オートアンドスタット OM-6030 (アークレイ株式会社)	

注) : 4時間の尿量と20時間の尿量を合計して24時間の尿量 (mL/24 h) を算出した。

6.11.6 血液学検査

投与期間及び回復期間終了の翌日の計画剖検時に、前日から一夜（16~20 時間）絶食させた全個体について、エーテル麻酔下で開腹し、腹大動脈から EDTA-2K 加採血瓶（SB-41：シスメックス株式会社）に血液（約 1 mL）を採取した。得られた血液について表 3.1）に記載した項目及び方法により検査した。更に、血液（0.9 mL）を 3.8% クエン酸ナトリウム溶液加試験管（血液 9 容に対し 1 容の割合）に採取し、遠心分離（3000 rpm、1580×g、10 分間）により得られた血漿について表 3.2）に記載した項目及び方法により検査した。なお、鏡検による確認に備え、全個体について May-Grünwald-Giemsa 染色法による血液塗抹標本を作製したが、鏡検による確認は不要と判断し、鏡検は実施しなかった。

表 3. 血液学検査の項目、測定法及び使用機器など

1) EDTA-2K 加血液についての検査		
検査項目	測定方法	単位
赤血球数 (RBC)	2 角度レーザーフローサイトメトリー法 ^{a)}	10 ⁴ /μL
ヘモグロビン量 (HGB)	シアメントヘモグロビン変法 ^{a)}	g/dL
ヘマトクリット値 (HCT)	赤血球数及び平均赤血球容積から算出 ^{a)}	%
平均赤血球容積 (MCV)	2 角度レーザーフローサイトメトリー法 ^{a)}	fL
平均赤血球血色素量 (MCH)	赤血球数及びヘモグロビン量から算出 ^{a)}	pg
平均赤血球血色素濃度 (MCHC)	ヘモグロビン量及びヘマトクリット値から算出 ^{a)}	g/dL
網赤血球率 (Retic.)	RNA 染色によるレーザーフローサイトメトリー法 ^{a)}	%
血小板数 (PLT)	2 角度レーザーフローサイトメトリー法 ^{a)}	10 ⁴ /μL
白血球数 (WBC)	2 角度レーザーフローサイトメトリー法 ^{a)}	10 ² /μL
白血球百分率 ^{注)}	ペルオキシダーゼ染色によるフローサイトメトリー法 +2 角度レーザーフローサイトメトリー法 ^{a)}	% 10 ² /μL
2) クエン酸ナトリウム加血液から分離した血漿についての検査		
検査項目	測定方法	単位
プロトロンビン時間 (PT)	クロット法 ^{b)}	s
活性化部分トロンボ プラスチン時間 (APTT)	クロット法 ^{b)}	s
フィブリノーゲン量 (FIB)	トロンボプラスチン法 ^{b)}	mg/dL
使用測定機器		
a) : 総合血液学検査装置アドヴィア 120 (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Illinois, USA)		
b) : 血液凝固自動測定装置 ACL Elite Pro (Instrumentation Laboratory, MA, USA)		

注) : リンパ球 (LYMP)、好中球 (NEUT)、好酸球 (EOS)、好塩基球 (BASO)、単球 (MONO) 及び大型非染色球 (LUC)。また、白血球百分率と白血球数から各分画の実数を算出した。

6.11.7 血液化学検査

血液学検査用試料と同時に採取した血液（約 4 mL）を凝固促進剤入り試験管（ベノジェクト II-オートセップ：テルモ株式会社）に採取し、遠心分離（3000 rpm、1580×g、10 分間）し、得られた血清について、表 4.1）に記載した項目及び方法により検査した。また、ヘパリン加試験管（血液 1 mL 当たり約 20 単位のヘパリン）に採取した血液（約 2 mL）を遠心分離（3000 rpm、1580×g、10 分間）し、得られた血漿について表 4.2）に記載した項目及び方法により検査した。

表 4. 血液化学検査の項目、測定法及び使用機器など

1) 分離した血清についての検査		
検査項目	測定方法	単位
ALP	Bessey-Lowry 法 ^{a)}	IU/L
総コレステロール (T-CHO)	CEH-COD-POD 法 ^{a)}	mg/dL
トリグリセライド (TG)	LPL-GK-GPO-POD 法 ^{a)}	mg/dL
リン脂質 (PL)	PLD-ChOD-POD 法 ^{a)}	mg/dL
総ビリルビン (T-BIL)	ビリルビンオキシダーゼ法 ^{a)}	mg/dL
グルコース (GLU)	グルコースデヒドロゲナーゼ法 ^{a)}	mg/dL
尿素窒素 (BUN)	Urease-LEDH 法 ^{a)}	mg/dL
クレアチニン (CRNN)	Creatininase-creatinase-sarcosine oxidase-POD 法 ^{a)}	mg/dL
ナトリウム (Na)	イオン選択電極法 ^{a)}	mmol/L
カリウム (K)	イオン選択電極法 ^{a)}	mmol/L
塩素 (Cl)	イオン選択電極法 ^{a)}	mmol/L
カルシウム (Ca)	OCPC 法 ^{a)}	mg/dL
無機リン (P)	モリブデン酸法 ^{a)}	mg/dL
総たん白質 (TP)	Biuret 法 ^{a)}	g/dL
アルブミン (ALB)	BCG 法 ^{a)}	g/dL
A/G 比 (A/G)	総たん白質及びアルブミンから算出	
2) ヘパリン加血液から分離した血漿についての検査		
検査項目	測定方法	単位
AST	UV-rate 法 ^{a)}	IU/L
ALT	UV-rate 法 ^{a)}	IU/L
LDH	UV-rate 法 ^{a)}	IU/L
γ-GTP	L-γ-グルタミル-3-カルボキシ-4-ニトロアニリド法 ^{a)}	IU/L
使用測定機器		
^{a)} ： 臨床化学自動分析装置 TBA-120FR 形（新社名：東芝メディカルシステムズ株式会社、旧社名：株式会社東芝）		

6.11.8 病理学検査

6.11.8.1 剖検

すべての動物について、採血後腹大動脈切断により放血致死させ、体外表・頭部・胸部・腹部を含む全身の器官・組織の肉眼による詳細な病理解剖を行い、結果を記録した。

6.11.8.2 器官重量測定

すべての動物について、次に示す器官の重量（絶対重量）を測定するとともに、絶対重量と剖検時の体重から体重 100 g 当たりの相対重量を算出した。

なお、*印を付した両側性の器官については左右別々に測定し、その合計値で評価した。

脳、副腎*、胸腺、脾臓、心臓、肝臓、腎臓*、精巣*、精巣上体*、卵巢*、子宮

6.11.8.3 病理組織学検査

すべての個体について次に示す器官・組織を採取し、リン酸緩衝 10 v/v %ホルマリン液で固定した。ただし、肺はリン酸緩衝 10v/v%ホルマリン液を注入後、眼球及び視神経はリン酸緩衝液で調製した 3 v/v %グルタルアルデヒド・2.5 v/v %ホルマリン液で固定後、精巣及び精巣上体はブアン液で固定した後、それぞれ、リン酸緩衝 10 v/v %ホルマリン液で保存し、パラフィン包埋した。その後、切片としてヘマトキシリン・エオジン染色標本作製し、主群の対照群及び高用量群（肉眼的異常部位については全例）について鏡検した。*で示した両側性器官については両側を摘出したが、鏡検は左側のみ行った。なお、被験物質投与の影響が疑われた雌雄の肝臓、胃及び脾臓については低及び中用量群並びに回復群の全個体については鏡検した。

大脳、小脳、脊髄（胸部）、坐骨神経*、眼球*、下垂体、甲状腺*、上皮小体*、副腎*、胸腺、脾臓、顎下リンパ節、腸間膜リンパ節、心臓、気管、肺（気管支を含む）、胃、十二指腸、空腸、回腸（パイエル板を含む）、盲腸、結腸、直腸、肝臓、腎臓*、膀胱、精巣*、精巣上体*、前立腺、卵巢*、子宮、胸骨（骨髄を含む）、大腿骨（骨髄を含む）*及び大腿部骨格筋*

他に、視神経*（視神経は眼球と分離せず、ヘマトキシリン・エオジン染色標本作製まで実施した。）、ハーダー腺*、胸大動脈、舌、食道、顎下腺*、舌下腺*、脾臓、陰、精囊、乳腺（鼠径部）*、皮膚（鼠径部）*、喉頭及び個体識別部位（耳介）を摘出して保存した。

6.12 統計解析

オープンフィールド内観察の定量的項目、機能検査における定量的項目、握力測定、自発運動量の測定、体重（体重増加量を含む）、摂餌量、摂水量、尿検査の定量的項目、血液学検査、血液化学検査及び器官重量データについて、対照群と各被験物質投与群との間で統計解析を行った。まず、主群については Bartlett 検定により分散性の検定を行った（有意水準：両側 1%）。分散が等しい場合は Dunnett 法を用いて、非等分散の場合は Dunnett 型の mean rank test を用いて、対照群と各被験物質投与群との間で検定を行った（有意水準：両側 5 及び 1%）。なお、回復群については、F 検定により各群の分散の均一性の検定（有意水準：片側 5%）を行った。その結果、等分散性が認められた場合には対照群と被験物質投与群との平均値の差について Student の t 検定（有意水準：両側 5 及び 1%）を、等分散性が認められなかった場合には Aspin-Welch の t 検定（有意水準：両側 5 及び 1%）を行った^{2) ~6)}。

7. 試験結果

7.1 一般状態

成績を Table 1-1~1-3 及び Appendix 1~10 に示した。

1) 投与期間

流涎が 200 mg/kg 投与群の雌雄で投与 17 日以降に散見された。

2) 回復期間

雌雄いずれの動物においても、回復期間を通じて異常は認められなかった。

7.2 詳細な一般状態、機能検査、握力及び自発運動量

7.2.1 詳細な一般状態

成績を Table 2-1~2-18 及び Appendix 11~70 に示した。

1) 投与期間

(1) 投与 1 週

いずれの検査項目においても異常はなく、雌雄とも対照群と各被験物質投与群との間に有意差は認められなかった。

(2) 投与 2 週

いずれの検査項目においても異常はなく、雌雄とも対照群と各被験物質投与群との間に有意差は認められなかった。

(3) 投与 3 週

手に持った観察において、軽度あるいは中等度の流涎が 200 mg/kg 投与群の雄 4/12 例と雌 3/12 例に認められた。また、オープンフィールド内観察において、立ち上がり回数の有意な低値が 200 mg/kg 投与群の雌に認められた。

(4) 投与 4 週

手に持った観察において、軽度あるいは中等度の流涎が 200 mg/kg 投与群の雄 5/12 例と雌 2/12 例に認められた。

2) 回復期間

(1) 回復 1 週

オープンフィールド内観察において、立ち上がり回数の有意な低値が 200 mg/kg 投与群の雌に認められた。

(2) 回復 2 週

いずれの検査項目においても異常はなく、雌雄とも対照群と 200 mg/kg 投与群との間に有意差は認められなかった。

7.2.2 機能検査

成績を Table 2-19、2-20 及び Appendix 71~76 に示した。

1) 投与 4 週

いずれの検査項目においても異常はなく、雌雄とも対照群と各被験物質投与群との間に有意差は認められなかった。

間に有意差は認められなかった。

2) 回復 2 週

いずれの検査項目においても異常はなく、雌雄とも対照群と 200 mg/kg 投与群との間に有意差は認められなかった。

7.2.3 握力

成績を Table 2-21、2-22 及び Appendix 77~82 に示した。

1) 投与 4 週

雌雄とも対照群と各被験物質投与群との間に有意差は認められなかった。

2) 回復 2 週

雌雄とも対照群と 200 mg/kg 投与群との間に有意差は認められなかった。

7.2.4 自発運動量

成績を Fig. 1~4、Table 2-23、2-24 及び Appendix 83~88 に示した。

1) 投与 4 週

測定開始 0~10 分後に有意な低値が 200 mg/kg 投与群の雌に認められた。

2) 回復 2 週

雌雄とも対照群と 200 mg/kg 投与群との間に有意差は認められなかった。

7.3 体重

成績を Fig.5、Table 3-1、3-2 及び Appendix 89~94 に示した。

1) 投与期間

雌雄とも対照群と各被験物質投与群の体重はほぼ同様に推移し、有意差は認められなかった。また、投与期間中の体重増加量も有意差は認められなかった。

2) 回復期間

雌雄とも対照群と 200 mg/kg 投与群の体重はほぼ同様に推移し、有意差は認められなかった。また、回復期間中の体重増加量も有意差は認められなかった。

7.4 摂餌量

成績を Fig.6、Table 4-1、4-2 及び Appendix 95~100 に示した。

1) 投与期間

200 mg/kg 投与群の雄で有意な低値が投与 7 日に、有意な高値が投与 21 及び 28 日に認められた。

2) 回復期間

雌雄とも対照群と 200 mg/kg 投与群の摂餌量はほぼ同様に推移し、有意差は認められなかった。

7.5 尿検査（摂水量含む）

成績を Table 5-1~5-8 及び Appendix 101~118 に示した。

1) 投与 4 週

摂水量の有意な高値が 200 mg/kg 投与群の雄に認められた。

2) 回復 2 週

対照群と 200 mg/kg 投与群の雌雄とも定性的項目に異常は認められず、尿量、摂水量及び浸透圧にも対照群と 200 mg/kg 投与群との間に有意差は認められなかった。

7.6 血液学検査

成績を Table 6-1~6-6 及び Appendix 119~136 に示した。

1) 投与期間終了時

網赤血球率の有意な高値が 200 mg/kg 投与群の雌雄に、白血球数と白血球分画における好中球数の有意な高値が 200 mg/kg 投与群の雄に、赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値及び平均赤血球血色素濃度の有意な低値が 200 mg/kg 投与群の雌に認められた。

2) 回復期間終了時

赤血球数及びヘモグロビン量の有意な低値と網赤血球率の有意な高値が 200 mg/kg 投与群の雄に、白血球分画におけるリンパ球数及び好塩基球数の有意な高値が 200 mg/kg 投与群の雌に認められた。

7.7 血液化学検査

成績を Table 7-1~7-4 及び Appendix 137~148 に示した。

1) 投与期間終了時

総たん白質の有意な低値が 40 mg/kg 投与群の雄に、A/G 比の有意な高値が 200 mg/kg 投与群の雌雄に、無機リンとアルブミンの有意な高値が 200 mg/kg 投与群の雄に、カリウムの有意な高値が 200 mg/kg 投与群の雌に認められた。

2) 回復期間終了時

グルコースの有意な低値が 200 mg/kg 投与群の雌に認められた。

7.8 器官重量

成績を Table 8-1~8-8 及び Appendix 149~172 に示した。

1) 投与期間終了時

肝臓	:	絶対及び相対重量の有意な高値が 200 mg/kg 投与群の雄に、相対重量の有意な高値が 200 mg/kg 投与群の雌に認められた。
脾臓	:	相対重量の有意な高値が 200 mg/kg 投与群の雌に認められた。

2) 回復期間終了時

精巣 : 絶対及び相対重量の有意な高値が 200 mg/kg 投与群に認められた。

7.9 剖検所見

成績を Table 9-1、9-2 及び Appendix 173~244 に示した。

1) 投与期間終了時

胃 : 前胃の白色化が 200 mg/kg 投与群の雌雄全例に認められた。

肝臓 : 大型化が 200 mg/kg 投与群の雄 2/6 例に認められた。

2) 回復期間終了時

胃 : 前胃の白色化が 200 mg/kg 投与群の雌 1/6 例に、前胃の白色巣が 200 mg/kg 投与群の雄 1/6 例に認められた。

7.10 病理組織学検査

成績を Table 10-1~10-4 及び Appendix 173~244 に示した。

1) 投与期間終了時

被験物質投与によると考えられる変化が脾臓、胃及び肝臓に認められた。

脾臓 : 髓外造血が対照群の雌雄各 1/6 例、8 mg/kg 投与群の雄 1/6 例、40 mg/kg 投与群の雄 2/6 例と雌 1/6 例で軽微に、200 mg/kg 投与群の雄全例と雌 5/6 例で軽微から軽度にみられ、200 mg/kg 投与群の雌雄に発現頻度及び程度の増強が認められた。

胃 : 剖検において前胃の白色化がみられた 200 mg/kg 投与群の雌雄各全例を含み以下の所見がみられた。軽微な前胃のびらんが 200 mg/kg 投与群の雄 4/6 例に、軽微から中等度のび慢性扁平上皮過形成が 8 mg/kg 投与群の雄 3/6 例と雌 4/6 例、40 mg/kg 以上の投与群の雌雄各全例に認められた。

肝臓 : 剖検において大型化がみられた 200 mg/kg 投与群の雄 2/6 例を含み以下の所見がみられた。軽微なび慢性肝細胞肥大が 200 mg/kg 投与群の雄 5/6 例と雌 3/6 例に認められた。

投与期間終了時では以下に示す所見が認められたが、その出現状況などからいずれも偶発性の変化と判断した。

下垂体 : 軽微なう胞が対照群の雌 1/6 例に認められた。

- 甲状腺 : 軽微な鰓後体ののう胞が 200 mg/kg 投与群の雄 2/6 例と雌 1/6 例に認められた。
- 脾臓 : 軽微な色素沈着が対照群の雌 1/6 例、200 mg/kg 投与群の雌 2/6 例に認められた。
- 肺（気管支を含む） : 軽微なリンパ球浸潤が対照群の雄 1/6 例に、軽微な泡沫細胞の集簇が対照群の雌 1/6 例、200 mg/kg 投与群の雄 1/6 例に、軽微な限局性の肺炎が対照群の雄 1/6 例に認められた。
- 胃 : 軽微な炎症性細胞浸潤が対照群の雄 1/6 例、8 mg/kg 投与群の雄 1/6 例、200 mg/kg 投与群の雌 1/6 例に、軽微な腺胃ののう胞性拡張が対照群の雄 1/6 例に認められた。
- 肝臓 : 軽微な微小肉芽腫が対照群の雄 2/6 例と雌 4/6 例、8 mg/kg 投与群の雌雄各 1/6 例、40 mg/kg 投与群の雌雄各 1/6 例、200 mg/kg 投与群の雄 4/6 例と雌 5/6 例に認められた。また、軽微な門脈周囲肝細胞の空胞化が対照群の雌 3/6 例、8 mg/kg 投与群の雄 1/6 例と雌 4/6 例、40 mg/kg 投与群の雌 3/6 例、200 mg/kg 投与群の雌 1/6 例に認められた。
- 腎臓 : 軽微な尿細管の拡張が対照群の雄 1/6 例、200 mg/kg 投与群の雄 1/6 例に、軽微な再生尿細管が対照群の雄 1/6 例と雌 2/6 例、200 mg/kg 投与群の雄 3/6 例に、軽微な尿中硝子円柱が 200 mg/kg 投与群の雄 1/6 例に、軽微な腎乳頭の鉍質沈着が対照群の雄 1/6 例と雌 2/6 例、200 mg/kg 投与群の雄 2/6 例に、軽微な限局性線維化が対照群の雄 1/6 例に認められた。
- 前立腺 : 軽微なリンパ球性細胞浸潤が対照群の 1/6 例、200 mg/kg 投与群の 2/6 例に認められた。
- 胸骨（骨髄を含む） : 軽微な軟骨基質粘液変性が対照群の雌雄各 1/6 例、200 mg/kg 投与群の雌 1/6 例に認められた。

2) 回復期間終了時

被験物質投与によると考えられる変化が脾臓及び胃に認められた。

- 脾臓 : 軽微な髄外造血が対照群の雄 2/6 例、200 mg/kg 投与群の雄 5/6 例と雌 3/6 例に認められた。
- 胃 : 剖検において前胃の白色化がみられた 200 mg/kg 投与群の雌 1/6 例と、前胃の白色巣がみられた 200 mg/kg 投与群の雄 1/6 例を含み以下の所見が認められた。軽微なび慢性扁平上皮過形成が 200 mg/kg 投与群の雄

3/6 例と雌 5/6 例に認められた。

回復期間終了時では以下に示す所見が認められたが、その出現状況などからいずれも偶発性の変化と判断した。

- | | | |
|----|---|---|
| 脾臓 | : | 軽微な色素沈着が対照群の雌 3/6 例、200 mg/kg 投与群の雌 4/6 例に認められた。 |
| 胃 | : | 軽微な炎症性細胞浸潤が対照群の雌雄各 1/6 例に認められた。 |
| 肝臓 | : | 軽微な門脈周囲肝細胞の空胞化が対照群の雄 1/6 例、200 mg/kg 投与群の雌雄各 1/6 例に、軽微あるいは軽度な微小肉芽腫が対照群の雄 1/6 例と雌 2/6 例、200 mg/kg 投与群の雄 2/6 例と雌 4/6 例に認められた。 |

8. 考察

1-クロロメチル-4-ニトロベンゼンの 28 日間反復経口投与毒性試験を 6 週齢の Sprague-Dawley 系 SPF ラット [CrI:CD(SD)、1 群雌雄各 6 又は 12 匹] を用いて実施した。投与量は 0 (0.5w/v%メチルセルロース水溶液：対照群) 8、40 及び 200 mg/kg とし、また、対照群と 200 mg/kg 投与群の一部の個体 (1 群雌雄各 6 匹) については投与期間終了後 2 週間の休薬期間を設け、毒性変化の可逆性を検討した。

一般状態では、流涎が 200 mg/kg 投与群の雌雄で投与 17 日以降に散見されたが、投与期間中のみの変化であった。

詳細な一般状態の観察では、軽度から中等度の流涎が 200 mg/kg 投与群の雌雄で投与 3 及び 4 週に散見されたほか、オープンフィールド内観察において立ち上がり回数の低値が 200 mg/kg 投与群の雌で投与 3 週に認められた。立ち上がり回数の低値は 200 mg/kg 投与群の雌で回復 1 週にも認められたが、回復 2 週には消失した。

機能検査及び握力では被験物質投与の影響はみられなかった。一方、自発運動量の低値が 200 mg/kg 投与群の雌で投与 4 週の測定開始 0~10 分後に認められ、中枢及び末梢神経系の病理学検査に異常は観察されていないものの、被験物質投与との関連性が疑われた。

体重及び摂餌量では、200 mg/kg 投与群の雄で摂餌量の低値が投与 7 日に、高値が投与 21 及び 28 日に認められたが、いずれもごく軽度であり、体重に変化がみられていないことから、毒性学的意義はないと判断した。

尿検査 (摂水量を含む) では、尿に異常は認められなかったが、摂水量の高値が 200 mg/kg 投与群の雄で投与 4 週に認められた。

血液学検査では、投与期間終了時の変化として、網赤血球率の高値が 200 mg/kg 投与群の雌雄で、赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値及び平均赤血球血色素濃度の低値が 200 mg/kg 投与群の雌でみられ、貧血が示唆された。また、白血球数及び白血球分画における好中球数の高値が 200 mg/kg 投与群の雄でも認められた。回復期間終了時の変化として、網赤血球率の高値が 200 mg/kg 投与群の雄で認められたが、投与期間終了時に比べて軽減した。その他に赤血球数及びヘモグロビン量の低値が 200 mg/kg 投与群の雄で白血球分画におけるリンパ球数及び好塩基球数の高値が 200 mg/kg 投与群の雌で認められたが、いずれもごく軽度であり、投与期間中には変化がみられていないことから、偶発性と判断した。

血液化学検査では、投与期間終了時の変化として、A/G 比の高値が 200 mg/kg 投与群の雌雄で、無機リン及びアルブミンの高値が 200 mg/kg 投与群の雄で認められた。その他にカリウムの高値が 200 mg/kg 投与群の雌に認められたが、ごく軽度であり、他の電解質には変化がみられていないことから、偶発性と判断した。また、総たん白質の低値が 40 mg/kg 投与群の雄に認められたが、用量に依存した変化ではなかった。回復期間終了時の変化として、グルコースの低値が 200 mg/kg 投与群の雌で認められ

たが、投与期間終了時にはみられていないことから、偶発性と判断した。

病理学検査では、投与期間終了時に脾臓、肝臓及び胃で変化が認められた。脾臓においては、組織学的に髄外造血の発現頻度及び程度の増強が 200 mg/kg 投与群の雌雄に認められ、雌は相対重量の高値を伴った。この変化は上述した血液学検査における貧血への反応性変化と考えられたが、本被験物質であるニトロベンゼン類では溶血性貧血を引き起こす化合物が多いことから溶血性貧血が疑われた。肝臓においては、肉眼的に大型化が 200 mg/kg 投与群の雄でみられ、組織学的にもび慢性肝細胞肥大が 200 mg/kg 投与群の雌雄でみられ、雄は絶対及び相対重量の高値を、雌は相対重量の高値を伴って認められた。しかし、血液化学検査など肝臓機能の障害を示唆するような変化はなく毒性学的意義は明らかではなかった。胃においては、肉眼的に前胃の白色化が 200 mg/kg 投与群の雌雄でみられ、組織学的には前胃のびらんが 200 mg/kg 投与群の雄で、び慢性扁平上皮過形成が 8 mg/kg 以上の投与群の雌雄で認められた。これらの変化は本被験物質が腐食性あるいは刺激性を有することが知られていることから、被験物質投与による直接的な刺激により生じたものと考えられた。回復期間終了時には胃に変化が継続して認められた。すなわち、肉眼的に前胃の白色化が 200 mg/kg 投与群の雌で、前胃の白色巣が 200 mg/kg 投与群の雄で、組織学的にび慢性扁平上皮過形成が 200 mg/kg 投与群の雌雄に認められたが、その発現頻度あるいは程度は投与期間終了時に比べ軽減した。また、脾臓においても髄外造血の発現頻度の増加が認められたが、その程度は投与期間終了時に比べ軽減した。その他に精巣の絶対及び相対重量の高値がみられたが、ごく軽度な変化であり投与期間終了時にはみられていないことから偶発性の変化と判断した。

上述した変化のうち、オープンフィールド内観察における立ち上がり回数、血液学検査における網赤血球率、病理学検査における胃の変化については休薬後にも認められたものの、いずれも投与期間中あるいは投与期間終了時に比べて軽減し、回復性が示唆された。なお、その他の変化については休薬とともに消失し、回復を示した。

以上の結果、1-クロロメチル-4-ニトロベンゼンの本試験条件下における無影響量は雌雄とも病理学検査の胃による変化から 8 mg/kg/day を下回ると推定された。ただし、40 mg/kg 以下の投与群の雌雄に認められた変化は被験物質の刺激に起因する変化のみであった。また、投与によって生じた変化は、いずれも休薬による回復性が認められた。

9. 文献

- 1) 1-クロロメチル-4-ニトロベンゼンのラットを用いた 14 日間反復経口投与毒性試験（予備試験）（株式会社ボゾリサーチセンター、試験番号：C-B446、2009 年）
- 2) Snedecor GW, Cochran WG. Statistical methods. 8th ed. Ames: Iowa State University Press; 1989.
- 3) Dunnett CW. A multiple comparison procedure for comparing several treatments with a control. J Am Stat Assoc 1955; 50:1096-121.
- 4) Dunnett CW. New tables for multiple comparisons with a control. Biometrics 1964; 20:482-91.
- 5) 佐久間昭（1977）：薬効評価－計画と解析－I 東京大学出版会, 東京.
- 6) 佐久間昭（1981）：薬効評価－計画と解析－II 東京大学出版会, 東京.

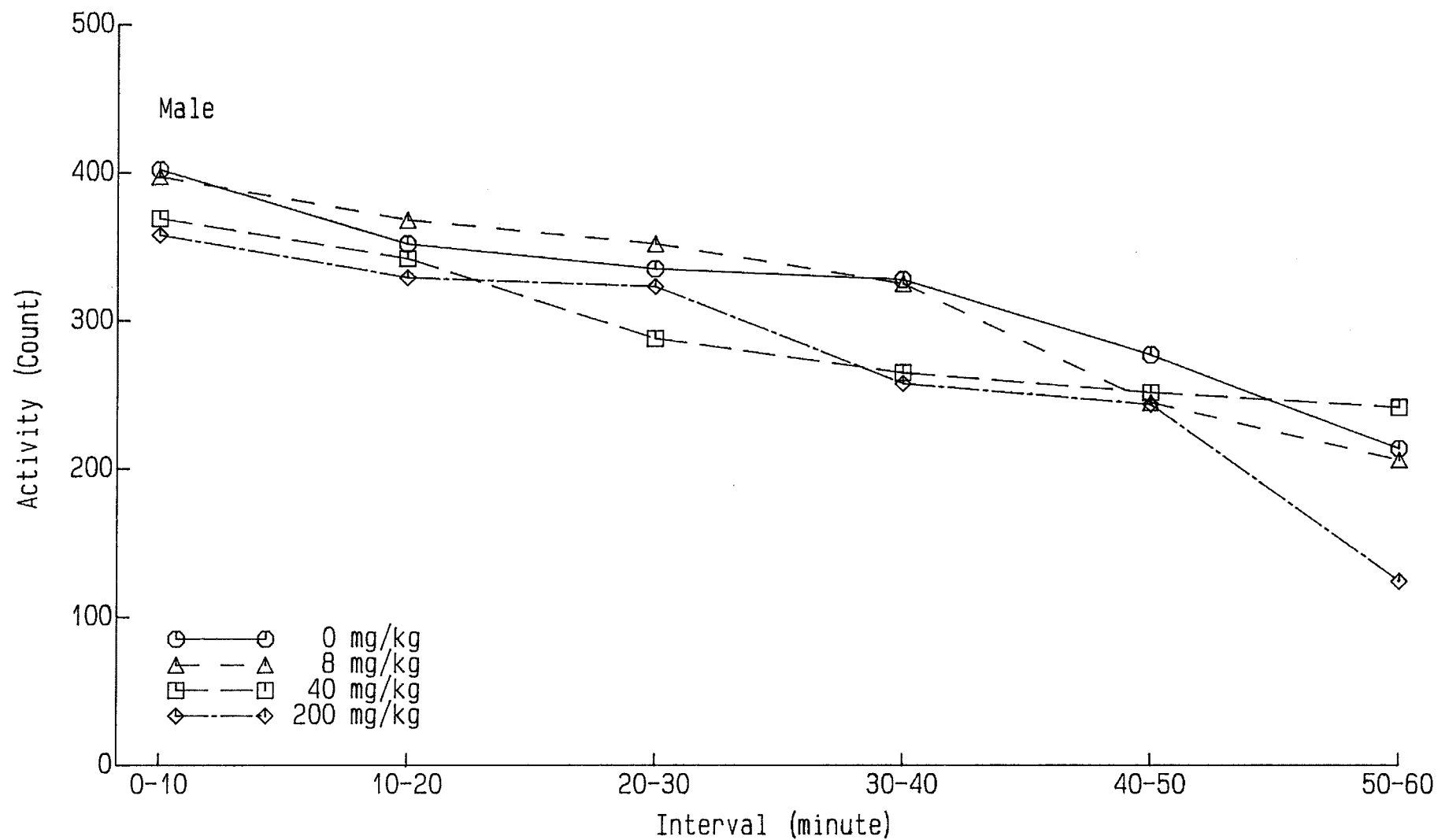


Fig.1 A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats with a recovery period of 2 weeks

—— Motor activity (Week 4 of administration period) ——

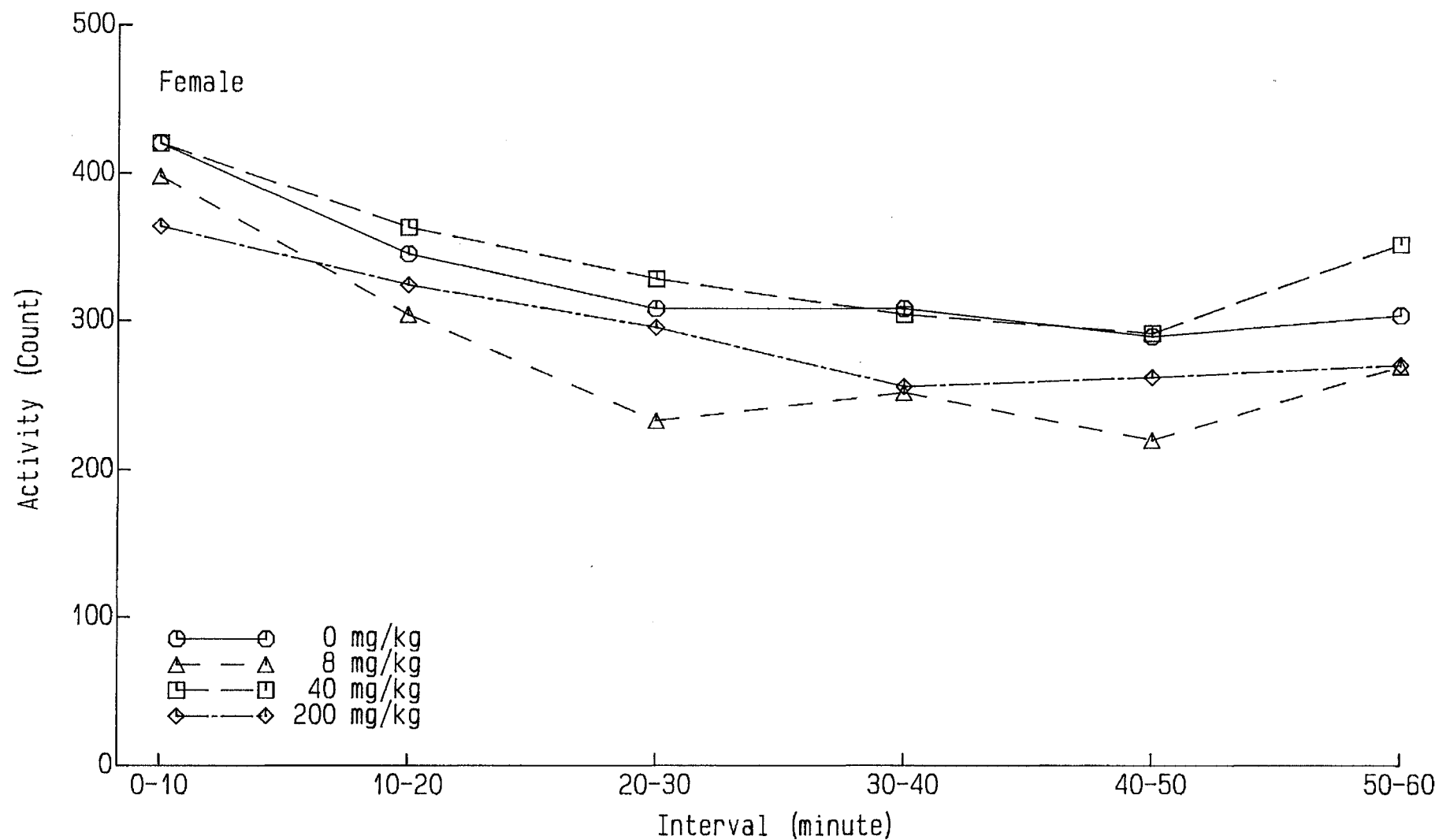


Fig.2 A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats with a recovery period of 2 weeks

—— Motor activity (Week 4 of administration period) ——

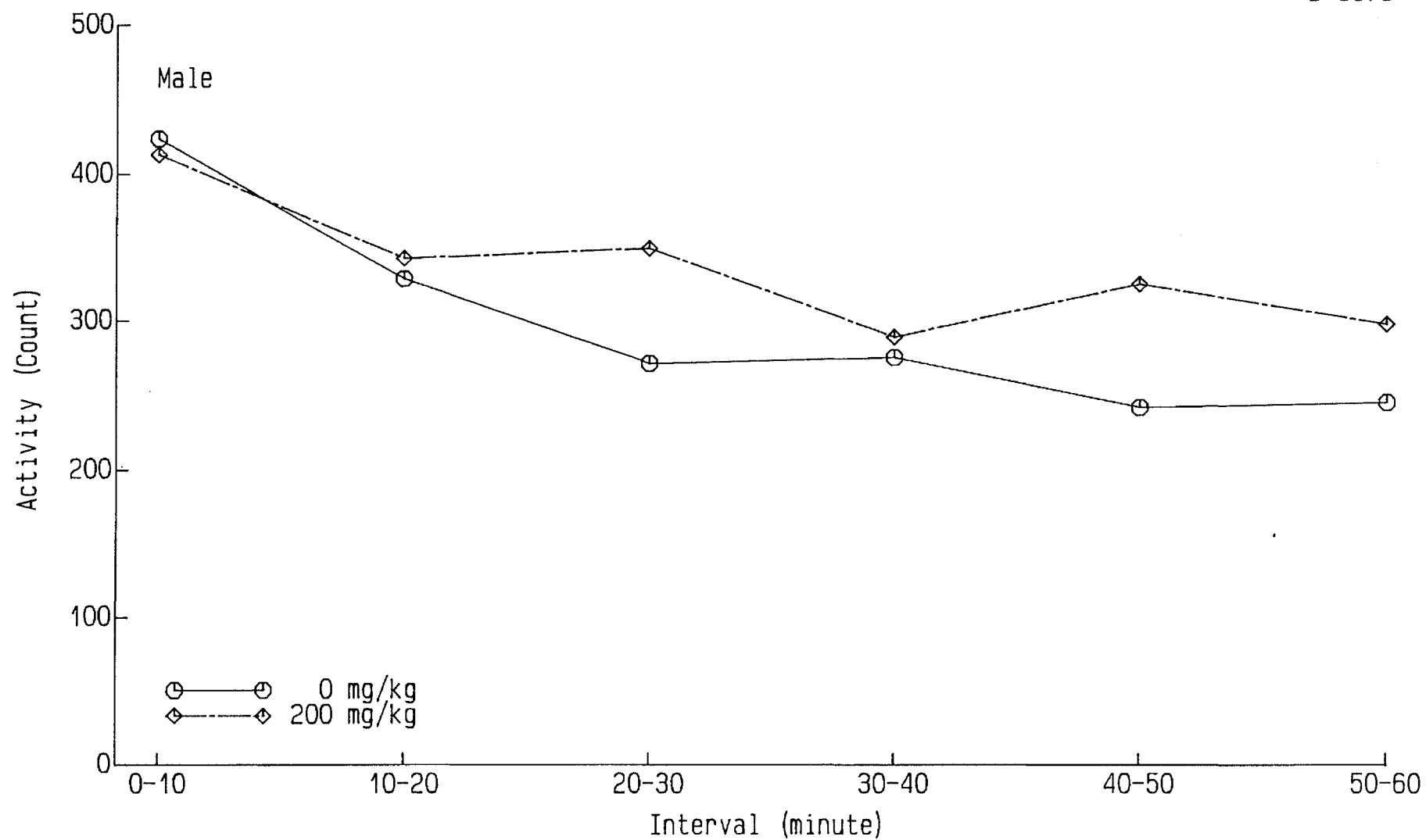


Fig.3 A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats with a recovery period of 2 weeks

—— Motor activity (Week 2 of recovery period) ——

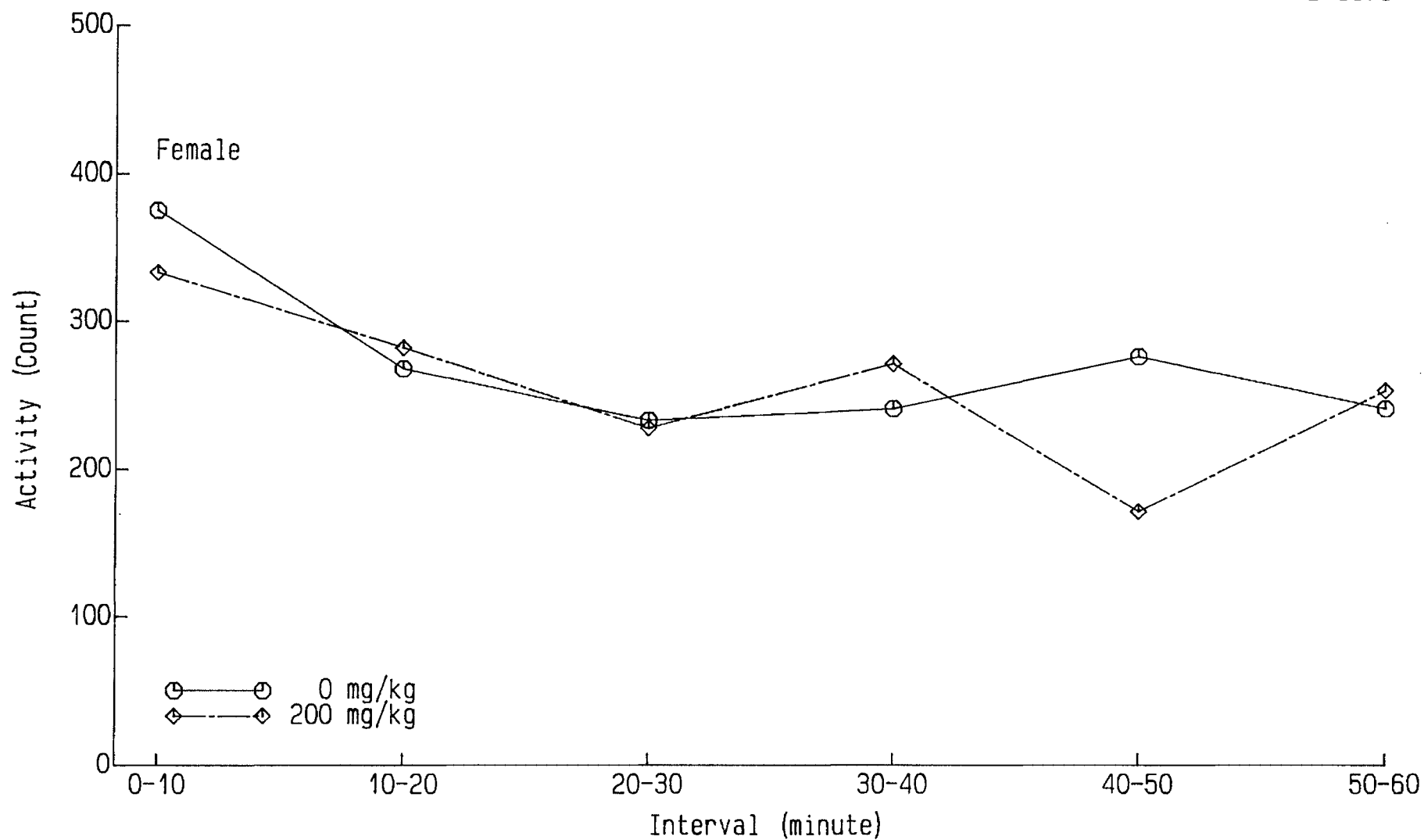


Fig.4 A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats with a recovery period of 2 weeks

— Motor activity (Week 2 of recovery period) —

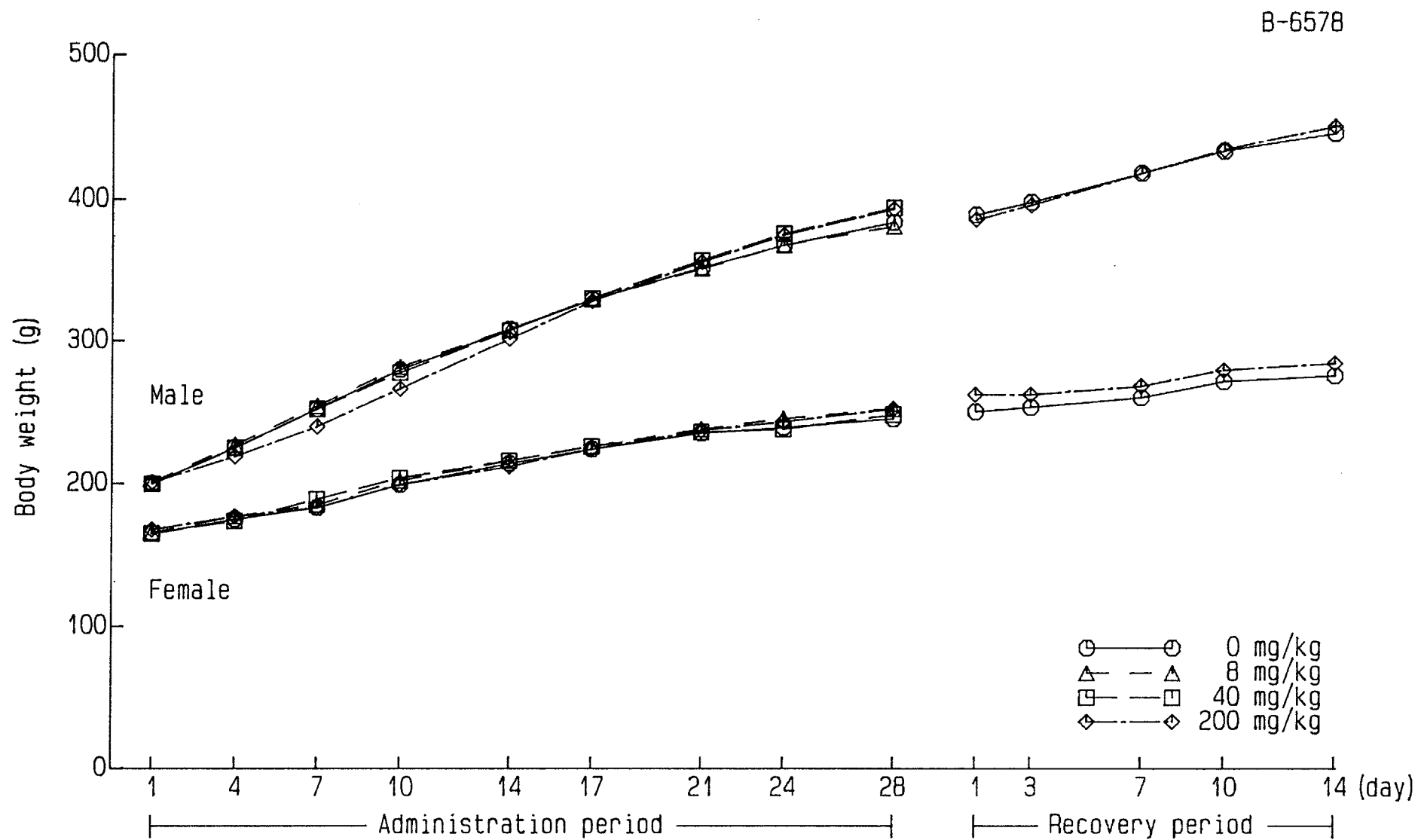


Fig.5 A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats with a recovery period of 2 weeks

— Body weight —

B-6578

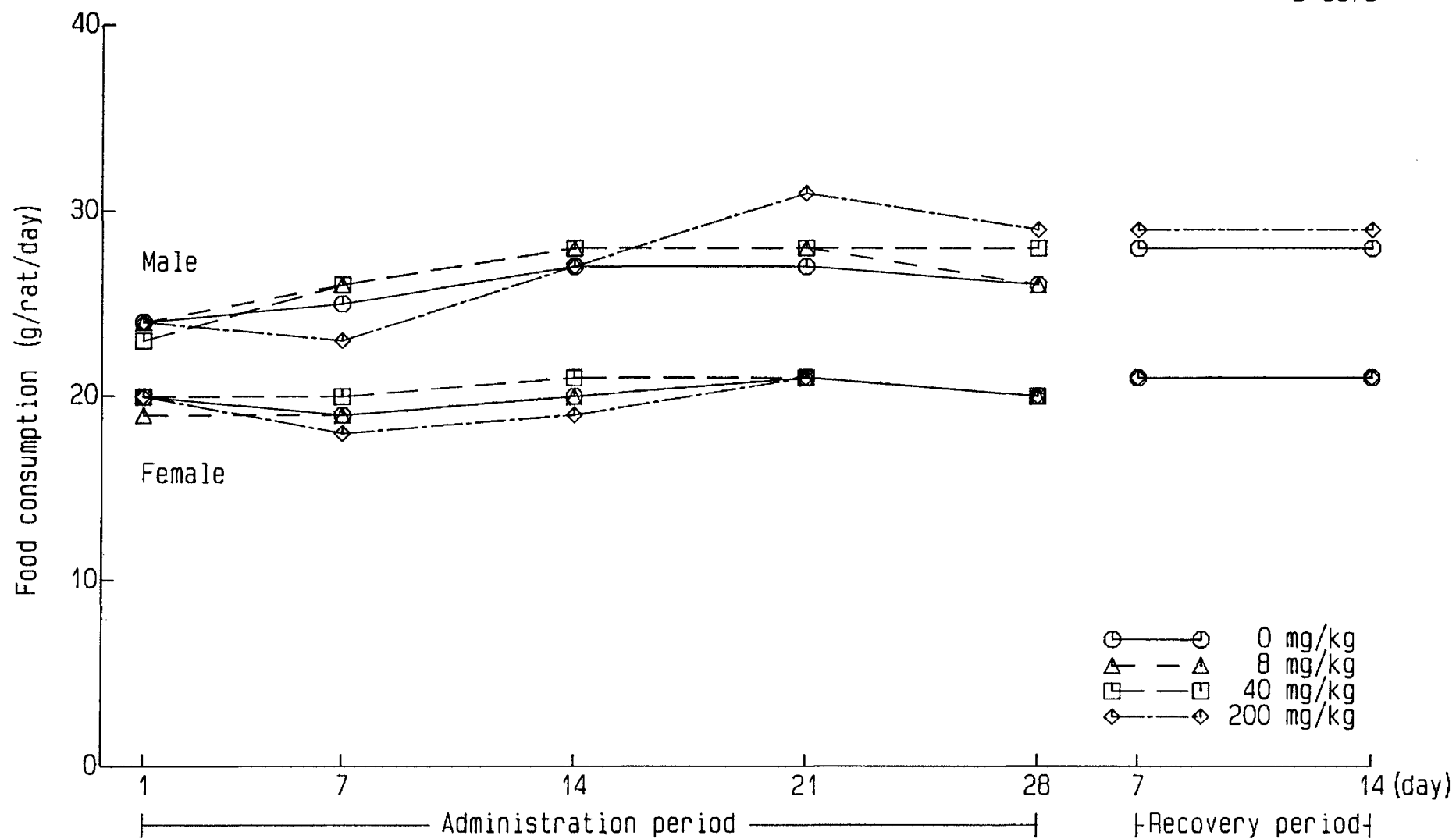


Fig.6 A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats with a recovery period of 2 weeks

— Food consumption —

Table 1-1 A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Clinical signs (Administration period)

[illegible]

Table 1-2

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats with a recovery period of 2 weeks

Clinical signs (Administration period)

[illegible]

Table 1-3

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats with a recovery period of 2 weeks

Clinical signs (Recovery period)

[illegible]

Table 2-1

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : home cage observations (Week 1 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	8	40	200	0	8	40	200
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	12

Table 2-2

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : home cage observations (Week 2 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	8	40	200	0	8	40	200
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	12

Table 2-3

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : home cage observations (Week 3 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	8	40	200	0	8	40	200
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	12

Table 2-4

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : home cage observations (Week 4 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	8	40	200	0	8	40	200
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	12

Table 2-5

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : home cage observations (Week 1 of recovery period)

Parameter	Sex	Male		Female	
	Dose (mg/kg)	0	200	0	200
	No. of animals	6	6	6	6
Posture					
Normal		6	6	6	6
Convulsion					
None		6	6	6	6
Abnormal behavior					
None		6	6	6	6

Table 2-6 A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks
Detailed clinical signs : home cage observations (Week 2 of recovery period)

Parameter	Sex	Male		Female	
	Dose (mg/kg)	0	200	0	200
	No. of animals	6	6	6	6
Posture					
Normal		6	6	6	6
Convulsion					
None		6	6	6	6
Abnormal behavior					
None		6	6	6	6

Table 2-7

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : in-the-hand observations (Week 1 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	8	40	200	0	8	40	200
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Ease of removal from cage									
Easy		12	6	6	12	12	6	6	12
Fur condition									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Skin									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Secretions-Eye, Nose									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Exophthalmos									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Palpebral closure									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Mucosal membranes									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Lacrimation									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Piloerection									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Pupil size									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Salivation									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal respiration									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Reactivity to handling									
Easy		12	6	6	12	12	6	6	12

Table 2-8

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : in-the-hand observations (Week 2 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	8	40	200	0	8	40	200
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Ease of removal from cage									
Easy		12	6	6	12	12	6	6	12
Fur condition									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Skin									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Secretions-Eye, Nose									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Exophthalmos									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Palpebral closure									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Mucosal membranes									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Lacrimation									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Piloerection									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Pupil size									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Salivation									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal respiration									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Reactivity to handling									
Easy		11	6	6	12	12	6	6	12
Slightly awkward		1	0	0	0	0	0	0	0

Table 2-9

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : in-the-hand observations (Week 3 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	8	40	200	0	8	40	200
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Ease of removal from cage									
Easy		12	6	6	12	12	6	6	12
Fur condition									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Skin									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Secretions-Eye, Nose									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Exophthalmos									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Palpebral closure									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Mucosal membranes									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Lacrimation									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Piloerection									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Pupil size									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Salivation									
None		12	6	6	8	12	6	6	9
Slight		0	0	0	3	0	0	0	3
Moderate		0	0	0	1	0	0	0	0
Abnormal respiration									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Reactivity to handling									
Easy		12	6	6	12	12	6	6	12

Table 2-10

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : in-the-hand observations (Week 4 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	8	40	200	0	8	40	200
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Ease of removal from cage									
Easy		12	6	6	12	12	6	6	12
Fur condition									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Skin									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Secretions-Eye, Nose									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Exophthalmos									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Palpebral closure									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Mucosal membranes									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Lacrimation									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Piloerection									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Pupil size									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Salivation									
None		12	6	6	7	12	6	6	10
Slight		0	0	0	3	0	0	0	2
Moderate		0	0	0	2	0	0	0	0
Abnormal respiration									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Reactivity to handling									
Easy		12	6	6	12	12	6	6	12

Table 2-11

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : in-the-hand observations (Week 1 of recovery period)

Parameter	Sex	Male		Female	
	Dose (mg/kg)	0	200	0	200
	No. of animals	6	6	6	6
Ease of removal from cage					
Easy		4	6	6	6
Some resistance/avoidance		2	0	0	0
Fur condition					
Normal		6	6	6	6
Skin					
Normal		6	6	6	6
Secretions-Eye, Nose					
Absent		6	6	6	6
Exophthalmos					
Absent		6	6	6	6
Palpebral closure					
Normal		6	6	6	6
Mucosal membranes					
Normal		6	6	6	6
Lacrimation					
Normal		6	6	6	6
Piloerection					
Absent		6	6	6	6
Pupil size					
Normal		6	6	6	6
Salivation					
None		6	6	6	6
Abnormal respiration					
Absent		6	6	6	6
Reactivity to handling					
Easy		6	6	5	6
Slightly awkward		0	0	1	0

Table 2-12

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : in-the-hand observations (Week 2 of recovery period)

Parameter	Sex	Male		Female	
	Dose (mg/kg)	0	200	0	200
	No. of animals	6	6	6	6
Ease of removal from cage					
Easy		6	6	6	6
Fur condition					
Normal		6	6	6	6
Skin					
Normal		6	6	6	6
Secretions-Eye, Nose					
Absent		6	6	6	6
Exophthalmos					
Absent		6	6	6	6
Palpebral closure					
Normal		6	6	6	6
Mucosal membranes					
Normal		6	6	6	6
Lacrimation					
Normal		6	6	6	6
Piloerection					
Absent		6	6	6	6
Pupil size					
Normal		6	6	6	6
Salivation					
None		6	6	6	6
Abnormal respiration					
Absent		6	6	6	6
Reactivity to handling					
Easy		6	6	6	6

Table 2-13

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : open field observation (Week 1 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	8	40	200	0	8	40	200
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Arousal									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Stereotypy									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Gait									
No/minimal location		0	1	0	1	0	0	0	0
Normal		12	5	6	11	12	6	6	12
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Grooming									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Rearing count (Mean±S.D.)		3± 2	3± 4	3± 2	3± 2	6± 2	7± 3	8± 3	4± 1
Defecation count (Mean±S.D.)		0± 1	1± 1	0± 0	0± 1	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0
Urination									
None		8	4	3	10	12	6	5	12
Small amount		4	2	3	2	0	0	1	0

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-14

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : open field observation (Week 2 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	8	40	200	0	8	40	200
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Arousal									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Stereotypy									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Gait									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Grooming									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Rearing count (Mean±S.D.)		4± 3	3± 3	3± 2	3± 2	9± 3	7± 3	9± 2	7± 2
Defecation count (Mean±S.D.)		0± 1	1± 1	0± 0	1± 1	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0
Urination									
None		8	3	2	8	12	6	5	10
Small amount		4	3	2	4	0	0	1	2
Moderate amount		0	0	2	0	0	0	0	0

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-15

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : open field observation (Week 3 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	8	40	200	0	8	40	200
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Arousal									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Stereotypy									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Gait									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Grooming									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Rearing count (Mean±S.D.)		6± 3	4± 3	5± 1	4± 2	11± 3	9± 4	8± 1	7± 2**D
Defecation count (Mean±S.D.)		0± 1	1± 2	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0
Urination									
None		11	4	6	11	12	6	6	12
Small amount		1	1	0	1	0	0	0	0
Moderate amount		0	1	0	0	0	0	0	0

** : p<0.01 (Significant difference from control group)

D : Dunnett's test

Table 2-16

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : open field observation (Week 4 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	8	40	200	0	8	40	200
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Arousal									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Stereotypy									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Gait									
No/minimal location		0	0	0	1	0	0	0	0
Normal		12	6	6	11	12	6	6	12
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Grooming									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Rearing count (Mean±S.D.)		6± 3	5± 3	5± 2	4± 3	9± 3	9± 4	9± 2	9± 3
Defecation count (Mean±S.D.)		0± 1	1± 1	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0
Urination									
None		11	6	6	11	11	6	6	12
Small amount		1	0	0	1	1	0	0	0

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-17

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : open field observation (Week 1 of recovery period)

Parameter	Sex	Male		Female	
	Dose (mg/kg)	0	200	0	200
	No. of animals	6	6	6	6
Arousal					
Normal		6	6	6	6
Convulsion					
None		6	6	6	6
Abnormal behavior					
None		6	6	6	6
Stereotypy					
None		6	6	6	6
Gait					
Normal		6	6	6	6
Posture					
Normal		6	6	6	6
Grooming					
None		6	6	6	6
Rearing count (Mean±S.D.)		6± 2	5± 2	11± 2	6± 2**T
Defecation count (Mean±S.D.)		0± 0	0± 0	0± 0	0± 0
Urination					
None		6	6	6	6

** : p<0.01 (Significant difference from control group)

T : Student's t-test

Table 2-18

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : open field observation (Week 2 of recovery period)

Parameter	Sex	Male		Female	
	Dose (mg/kg)	0	200	0	200
	No. of animals	6	6	6	6
Arousal					
Normal		6	6	6	6
Convulsion					
None		6	6	6	6
Abnormal behavior					
None		6	6	6	6
Stereotypy					
None		6	6	6	6
Gait					
Normal		6	6	6	6
Posture					
Normal		6	6	6	6
Grooming					
None		6	6	6	6
Rearing count (Mean±S.D.)		5± 2	5± 4	10± 2	9± 2
Defecation count (Mean±S.D.)		0± 0	0± 0	0± 0	0± 0
Urination					
None		5	4	6	6
Small amount		1	2	0	0

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-19

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Manipulative test (Week 4 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	8	40	200	0	8	40	200
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Auditory response									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Approach response									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Touch response									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Tail pinch response									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Pupillary reflex									
Pass, both		12	6	6	12	12	6	6	12
Aerial righting reflex									
(Total score: Mean±S.D.)		0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0
Landing foot splay (mm: Mean±S.D.)		57±13	61±20	66±12	53±18	46± 8	45± 8	50±13	50±10

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-20

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Manipulative test (Week 2 of recovery period)

Parameter	Sex	Male		Female	
	Dose (mg/kg)	0	200	0	200
	No. of animals	6	6	6	6
Auditory response					
Normal		6	6	6	6
Approach response					
Normal		6	6	6	6
Touch response					
Normal		6	6	6	6
Tail pinch response					
Normal		6	6	6	6
Pupillary reflex					
Pass, both		6	6	6	6
Aerial righting reflex					
(Total score: Mean±S.D.)		0± 0	0± 0	0± 0	0± 0
Landing foot splay (mm: Mean±S.D.)		73±18	64±10	54±16	53± 7

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-21

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Grip strength (Week 4 of administration period)

Sex	Dose mg/kg		Fore limb g	Hind limb g
Male	0	No.	12	12
		Mean	1048	498
		S.D.	119	106
	8	No.	6	6
		Mean	1059	494
		S.D.	180	133
	40	No.	6	6
		Mean	1000	471
		S.D.	45	74
	200	No.	12	12
		Mean	960	473
		S.D.	75	65
Female	0	No.	12	12
		Mean	919	378
		S.D.	95	70
	8	No.	6	6
		Mean	930	385
		S.D.	209	79
	40	No.	6	6
		Mean	973	395
		S.D.	118	68
	200	No.	12	12
		Mean	906	367
		S.D.	102	46

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-22 A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks
Grip strength (Week 2 of recovery period)

Sex	Dose mg/kg		Fore limb g	Hind limb g
Male	0	No.	6	6
		Mean	1368	489
		S.D.	69	148
	200	No.	6	6
		Mean	1272	519
		S.D.	140	118
Female	0	No.	6	6
		Mean	977	410
		S.D.	87	85
	200	No.	6	6
		Mean	1044	442
		S.D.	110	64

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-23

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Motor activity (Week 4 of administration period)

Sex	Dose mg/kg		Interval (minutes)						
			0-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60	Total(0-60)
Male	0	No.	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	402	352	335	328	277	214	1908
		S.D.	64	58	68	81	128	145	424
	8	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	397	368	352	325	245	206	1892
		S.D.	16	42	47	120	152	157	370
	40	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	369	342	288	265	252	242	1757
		S.D.	45	55	101	130	117	138	522
	200	No.	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	358	329	323	258	244	124	1636
		S.D.	58	60	50	80	63	135	225
Female	0	No.	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	420	345	308	308	289	303	1973
		S.D.	45	58	88	86	104	132	401
	8	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	398	304	233	252	220	269	1677
		S.D.	55	56	107	118	82	53	290
	40	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	420	363	328	304	291	351	2055
		S.D.	52	84	37	106	57	65	298
	200	No.	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	364*	324	295	256	262	270	1771
		S.D.	63D	73	81	80	91	112	383

Unit : Count

* : p<0.05 (Significant difference from control group)

D : Dunnett's test

Table 2-24

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Motor activity (Week 2 of recovery period)

Sex	Dose mg/kg		Interval (minutes)						
			0-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60	Total(0-60)
Male	0	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	424	329	271	275	242	245	1786
		S.D.	37	87	99	76	126	134	281
	200	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	413	343	350	289	325	298	2018
		S.D.	22	45	45	36	33	76	135
Female	0	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	375	268	233	241	276	241	1633
		S.D.	91	114	119	58	107	133	503
	200	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	333	282	228	271	171	253	1538
		S.D.	49	51	148	117	92	173	459

Unit : Count

No significant difference between treated group and control group.

Table 3-1

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Body weight (Administration period)

Sex	Dose mg/kg		Day of administration									Gain 1-28
			1	4	7	10	14	17	21	24	28	
Male	0	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	200	225	252	279	308	329	352	368	384	185
		S.D.	7	8	9	9	10	12	12	14	15	13
	8	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	201	227	254	281	308	329	351	368	381	180
		S.D.	9	11	14	17	20	23	27	29	32	26
	40	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	200	225	252	277	307	330	357	376	394	194
		S.D.	9	13	19	24	35	39	47	51	56	47
	200	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	201	219	240	266	301	328	356	375	393	192
		S.D.	7	10	17	18	20	21	25	25	27	23
Female	0	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	165	175	183	199	214	224	235	239	245	81
		S.D.	7	7	11	9	11	11	14	14	13	13
	8	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	166	177	185	202	216	226	238	245	252	87
		S.D.	8	5	11	11	9	8	8	10	14	16
	40	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	165	174	189	204	216	226	236	238	248	84
		S.D.	5	8	11	11	14	10	11	14	12	11
	200	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	168	177	183	199	212	224	237	243	252	85
		S.D.	8	9	11	12	13	13	14	16	17	13

Unit : g

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 3-2 A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Body weight (Recovery period)

Sex	Dose mg/kg		Day of recovery					Gain 1-14
			1	3	7	10	14	
Male	0	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	389	398	418	433	445	56
		S.D.	20	22	26	31	35	16
	200	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	386	396	418	434	450	64
		S.D.	26	27	30	31	30	8
Female	0	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	250	253	260	271	275	25
		S.D.	11	12	10	11	12	9
	200	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	262	262	268	279	284	21
		S.D.	15	19	18	18	21	10

Unit : g

No significant difference between treated group and control group.

Table 4-1 A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Food consumption (Administration period)

Sex	Dose mg/kg		Day of administration				
			1	7	14	21	28
Male	0	No.	12	12	12	12	12
		Mean	24	25	27	27	26
		S.D.	2	2	2	2	2
	8	No.	6	6	6	6	6
		Mean	24	26	28	28	26
		S.D.	2	2	2	3	3
	40	No.	6	6	6	6	6
		Mean	23	26	28	28	28
		S.D.	2	2	4	5	5
	200	No.	12	12	12	12	12
		Mean	24	23*	27	31*	29*
		S.D.	2	3D	3	3D	2D
Female	0	No.	12	12	12	12	12
		Mean	20	19	20	21	20
		S.D.	2	1	1	2	1
	8	No.	6	6	6	6	6
		Mean	19	19	20	21	20
		S.D.	2	2	1	1	2
	40	No.	6	6	6	6	6
		Mean	20	20	21	21	20
		S.D.	2	2	2	2	2
	200	No.	12	12	12	12	12
		Mean	20	18	19	21	20
		S.D.	2	1	2	1	2

Unit : g/rat/day

* : p<0.05 (Significant difference from control group)

D : Dunnett's test

Table 4-2

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Food consumption (Recovery period)

Sex	Dose mg/kg		Day of recovery	
			7	14
Male	0	No.	6	6
		Mean	28	28
		S.D.	3	4
	200	No.	6	6
		Mean	29	29
		S.D.	3	3
Female	0	No.	6	6
		Mean	21	21
		S.D.	2	2
	200	No.	6	6
		Mean	21	21
		S.D.	2	2

Unit : g/rat/day

No significant difference between treated group and control group.

Table 5-1

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Urinalysis (Week 4 of administration period)

Sex	Dose mg/kg	No.	pH									1) Protein						2) Ketone body						3) Glucose					
			5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0	-	+-	+	++	+++	++++	-	+-	+	++	+++	++++	-	+-	+	++	+++	++++
Male	0	12	1	0	0	0	0	0	1	7	3	5	4	3	0	0	0	1	6	5	0	0	0	12	0	0	0	0	0
	8	6	2	0	0	0	0	0	0	3	1	5	1	0	0	0	0	1	3	2	0	0	0	6	0	0	0	0	0
	40	6	0	0	0	0	0	1	0	3	2	0	2	4	0	0	0	0	2	4	0	0	0	6	0	0	0	0	0
	200	12	1	0	0	0	1	0	1	8	1	6	2	4	0	0	0	3	3	6	0	0	0	12	0	0	0	0	0
Female	0	12	0	0	0	0	3	2	4	1	2	12	0	0	0	0	0	10	2	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0
	8	6	2	0	0	0	1	0	1	2	0	5	0	1	0	0	0	2	2	2	0	0	0	6	0	0	0	0	0
	40	6	0	0	1	0	0	1	1	3	0	3	2	1	0	0	0	3	2	1	0	0	0	6	0	0	0	0	0
	200	12	1	0	0	1	0	1	2	7	0	4	6	1	1	0	0	6	5	1	0	0	0	12	0	0	0	0	0
1)	-	<10 mg/dL	+- : 10 - 25 mg/dL			+ : 26 - 85 mg/dL			++ : 86 - 250 mg/dL			+++ : 251 - 600 mg/dL			++++ : >600 mg/dL														
2)	-	<5 mg/dL	+- : 5 - 7.5 mg/dL			+ : 7.6 - 30 mg/dL			++ : 31 - 70 mg/dL			+++ : 71 - 125 mg/dL			++++ : >125 mg/dL														
3)	-	<30 mg/dL	+- : 30 - 60 mg/dL			+ : 61 - 125 mg/dL			++ : 126 - 250 mg/dL			+++ : 251 - 750 mg/dL			++++ : >750 mg/dL														

Table 5-2

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats with a recovery period of 2 weeks

Urinalysis (Week 4 of administration period)

Sex	Dose mg/kg	No.	4) Occult blood						5) Bilirubin					6) Urobilinogen					7) Color				
			-	+	++	+++	++++	-	+	++	+++	++++	+-	+	++	+++	++++	LY	Y	DY			
Male	0	12	12	0	0	0	0		12	0	0	0	0		11	1	0	0	0		0	12	0
	8	6	6	0	0	0	0		6	0	0	0	0		6	0	0	0	0		0	6	0
	40	6	6	0	0	0	0		6	0	0	0	0		5	1	0	0	0		0	6	0
	200	12	12	0	0	0	0		12	0	0	0	0		11	1	0	0	0		0	12	0
Female	0	12	12	0	0	0	0		12	0	0	0	0		12	0	0	0	0		0	12	0
	8	6	4	0	0	2	0		3	3	0	0	0		6	0	0	0	0		0	6	0
	40	6	6	0	0	0	0		6	0	0	0	0		6	0	0	0	0		0	6	0
	200	12	11	0	0	1	0		10	2	0	0	0		10	2	0	0	0		0	12	0
4) - : <0.03 mg/dL +- : 0.03 - 0.05 mg/dL + : 0.06 - 0.15 mg/dL ++ : 0.16 - 0.75 mg/dL +++ : >0.75 mg/dL																							
5) - : <0.5 mg/dL + : 0.5 - 1.5 mg/dL ++ : 1.6 - 5.0 mg/dL +++ : 5.1 - 10.0 mg/dL ++++ : >10.0 mg/dL																							
6) +- : <2.0 mg/dL + : 2.0 - 3.5 mg/dL ++ : 3.6 - 7.0 mg/dL +++ : 7.1 - 12.0 mg/dL ++++ : >12.0 mg/dL																							
7) LY : Light yellow Y : Yellow DY : Dark yellow																							

Table 5-3

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats with a recovery period of 2 weeks

Urinalysis (Week 4 of administration period)

			URINE SEDIMENT																												
Sex	Dose mg/kg	No.																	CRYSTALLIZATION												
			RBC				WBC				SEC				SREC				Cast		PS				CO						
			-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++				
Male	0	12	12	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	12	0	0	12	0	0	0	0	0	0
	8	6	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	6	0	0	0	0	0	0
	40	6	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	4	2	0	0	0	0	0
	200	12	12	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	12	0	0	12	0	0	0	0	0	0
Female	0	12	12	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	12	0	0	10	2	0	0	0	0	0
	8	6	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	4	2	0	0	0	0	0
	40	6	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	4	2	0	0	0	0	0
	200	12	12	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	12	0	0	6	6	0	0	0	0	0
SEC : Squamous Epithelial Cell			- : Negative																												
SREC : Small Round Epithelial Cell			+- : Slight																												
PS : Phosphate Salts			+ : Mild																												
CO : Calcium Oxalate			++ : Moderate																												
			+++ : Severe																												

Table 5-4 A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Water intake and urinalysis (Week 4 of administration period)

Sex	Dose mg/kg	No.		Water intake mL/24h	Urine volume mL/24h	Osmolality mOsm/kg
Male	0	12	Mean	31	9.8	1943
			S.D.	4	3.1	309
	8	6	Mean	37	14.3	1851
			S.D.	9	7.9	624
	40	6	Mean	38	8.9	2234
			S.D.	10	4.6	327
	200	12	Mean	41**	11.3	1847
			S.D.	6D	2.6	251
Female	0	12	Mean	31	8.3	1789
			S.D.	6	3.8	383
	8	6	Mean	28	6.3	2031
			S.D.	6	1.1	345
	40	6	Mean	33	8.8	1620
			S.D.	6	3.2	321
	200	12	Mean	31	7.4	1792
			S.D.	8	2.6	408

** : $p < 0.01$ (Significant difference from control group)
D : Dunnett's test

Table 5-5 A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Urinalysis (Week 2 of recovery period)

Sex	Dose mg/kg	No.	pH									1) Protein						2) Ketone body						3) Glucose					
			5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0	-	+-	+	++	+++	++++	-	+-	+	++	+++	++++	-	+-	+	++	+++	++++
Male	0	6	0	0	0	0	0	1	0	3	2	0	3	3	0	0	0	1	2	3	0	0	0	6	0	0	0	0	0
	200	6	0	0	0	0	0	0	0	5	1	0	1	5	0	0	0	1	1	4	0	0	0	6	0	0	0	0	0
Female	0	6	0	0	0	1	0	0	2	3	0	3	3	0	0	0	0	4	1	1	0	0	0	6	0	0	0	0	0
	200	6	0	0	0	0	0	0	1	3	2	2	4	0	0	0	0	4	2	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0
1)	-	<10 mg/dL	+- : 10 - 25 mg/dL			+ : 26 - 85 mg/dL			++ : 86 - 250 mg/dL			+++ : 251 - 600 mg/dL			++++ : >600 mg/dL														
2)	-	<5 mg/dL	+- : 5 - 7.5 mg/dL			+ : 7.6 - 30 mg/dL			++ : 31 - 70 mg/dL			+++ : 71 - 125 mg/dL			++++ : >125 mg/dL														
3)	-	<30 mg/dL	+- : 30 - 60 mg/dL			+ : 61 - 125 mg/dL			++ : 126 - 250 mg/dL			+++ : 251 - 750 mg/dL			++++ : >750 mg/dL														

Urinalysis (Week 2 of recovery period)

Sex	Dose mg/kg	No.	4) Occult blood					5) Bilirubin					6) Urobilinogen					7) Color		
			-	+	++	+++	++++	-	+	++	+++	++++	+-	+	++	+++	++++	LY	Y	DY
Male	0	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	5	1	0	0	0	0	6	0
	200	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	5	1	0	0	0	0	6	0
Female	0	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0
	200	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0

4) - : <0.03 mg/dL +- : 0.03 - 0.05 mg/dL + : 0.06 - 0.15 mg/dL ++ : 0.16 - 0.75 mg/dL +++ : >0.75 mg/dL
 5) - : <0.5 mg/dL + : 0.5 - 1.5 mg/dL ++ : 1.6 - 5.0 mg/dL +++ : 5.1 - 10.0 mg/dL ++++ : >10.0 mg/dL
 6) +- : <2.0 mg/dL + : 2.0 - 3.5 mg/dL ++ : 3.6 - 7.0 mg/dL +++ : 7.1 - 12.0 mg/dL ++++ : >12.0 mg/dL
 7) LY : Light yellow Y : Yellow DY : Dark yellow

Table 5-8 A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Water intake and urinalysis (Week 2 of recovery period)

Sex	Dose mg/kg	No.		Water intake mL/24h	Urine volume mL/24h	Osmolality mOsm/kg
Male	0	6	Mean	34	11.9	2010
			S.D.	4	4.7	432
	200	6	Mean	33	11.5	2016
			S.D.	5	3.3	362
Female	0	6	Mean	39	10.2	1699
			S.D.	8	4.4	411
	200	6	Mean	33	9.5	1792
			S.D.	5	2.3	352

No significant difference between treated group and control group.

Table 6-1

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Hematology (After administration period)

Sex	Dose mg/kg	No.		RBC X10 ⁴ /μL	HGB g/dL	HCT %	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	Retic %	PLT X10 ⁴ /μL	PT s	APTT s	FIB mg/dL
Male	0	6	Mean	825	16.2	46.2	55.9	19.6	35.0	2.2	119.8	14.5	20.9	280
			S.D.	36	0.8	2.6	1.4	0.3	0.5	0.4	6.7	2.3	3.9	11
	8	6	Mean	828	15.9	45.2	54.7	19.1	35.0	2.1	121.9	14.4	20.0	269
			S.D.	26	0.7	1.7	0.7	0.4	0.3	0.5	13.2	2.9	2.5	11
	40	6	Mean	805	15.4	44.1	54.8	19.1	34.9	2.7	118.5	13.7	19.3	285
			S.D.	22	0.3	1.1	0.5	0.2	0.2	0.4	8.4	1.8	3.8	43
	200	6	Mean	791	15.6	44.8	56.7	19.7	34.7	3.8**	131.9	13.4	22.0	285
			S.D.	21	0.4	0.9	1.7	0.6	0.4	0.5D	17.2	2.0	6.4	32
Female	0	6	Mean	791	15.4	43.2	54.7	19.4	35.6	1.8	137.0	11.6	19.2	217
			S.D.	28	0.8	1.9	2.5	1.0	0.4	0.3	7.3	0.4	3.0	21
	8	6	Mean	817	15.4	43.3	53.0	18.9	35.7	1.8	125.5	11.3	17.0	210
			S.D.	32	0.5	1.1	1.0	0.3	0.4	0.3	10.7	0.6	2.3	18
	40	6	Mean	803	15.4	43.3	53.9	19.1	35.5	2.0	127.5	11.5	17.7	214
			S.D.	30	0.6	1.7	1.1	0.6	0.3	0.5	12.5	0.8	3.1	20
	200	6	Mean	725**	14.0**	40.1**	55.4	19.3	34.9*	4.0**	145.5	11.7	16.5	220
			S.D.	32D	0.4D	0.7D	2.5	0.7	0.7D	1.1D	23.3	0.8	2.5	18

* : p<0.05 ; ** : p<0.01 (Significant difference from control group)

D : Dunnett's test

Table 6-2 A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Hematology (After administration period)

Sex	Dose mg/kg	No.		WBC	Differential leukocyte counts (%)					
				$\times 10^2/\mu\text{L}$	LYMP	NEUT	EOS	BASO	MONO	LUC
Male	0	6	Mean	84.9	77.3	19.0	0.9	0.3	1.6	0.9
			S.D.	19.9	5.6	5.7	0.3	0.1	0.4	0.4
	8	6	Mean	81.4	76.5	20.0	0.7	0.4	1.6	0.9
			S.D.	24.9	7.2	6.5	0.3	0.1	0.7	0.4
	40	6	Mean	103.4	74.8	22.1	0.6	0.3	1.3	0.9
			S.D.	24.3	5.7	6.1	0.1	0.1	0.2	0.5
	200	6	Mean	126.7*	74.5	21.1	0.6	0.4	2.2	1.3
			S.D.	36.2D	2.9	2.6	0.2	0.1	0.8	0.4
Female	0	6	Mean	63.1	78.4	17.8	1.4	0.3	1.2	1.0
			S.D.	23.5	6.5	6.5	0.7	0.1	0.3	0.2
	8	6	Mean	67.9	72.5	23.7	1.3	0.2	1.5	0.9
			S.D.	25.2	6.5	6.4	0.6	0.1	0.8	0.4
	40	6	Mean	73.4	79.1	17.1	1.2	0.3	1.5	1.0
			S.D.	18.9	8.8	8.6	0.4	0.1	0.5	0.2
	200	6	Mean	81.9	77.9	18.5	1.4	0.2	1.2	0.9
			S.D.	7.8	8.0	7.3	0.8	0.0	0.4	0.2

LUC : Large unstained cells

* : $p < 0.05$ (Significant difference from control group)

D : Dunnett's test

Table 6-3 A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Hematology (After administration period)

Sex	Dose mg/kg	No.		Differential leukocyte counts ($\times 10^2/\mu\text{L}$)					
				LYMP	NEUT	EOS	BASO	MONO	LUC
Male	0	6	Mean	66.3	15.5	0.8	0.3	1.4	0.8
			S.D.	18.9	3.3	0.2	0.1	0.4	0.5
	8	6	Mean	61.7	16.6	0.6	0.3	1.4	0.7
			S.D.	18.6	8.8	0.2	0.2	0.9	0.5
	40	6	Mean	78.1	22.2	0.6	0.3	1.3	1.0
			S.D.	22.0	4.5	0.2	0.2	0.3	0.4
	200	6	Mean	94.9	26.1*	0.7	0.5	2.7	1.7
			S.D.	28.4	6.0D	0.3	0.3	1.4	1.0
Female	0	6	Mean	49.9	10.8	0.9	0.2	0.8	0.6
			S.D.	19.9	4.6	0.6	0.1	0.3	0.3
	8	6	Mean	48.7	16.5	0.9	0.1	1.2	0.7
			S.D.	15.8	9.1	0.4	0.1	1.2	0.6
	40	6	Mean	57.7	12.9	0.8	0.2	1.1	0.7
			S.D.	14.6	9.0	0.3	0.1	0.5	0.2
	200	6	Mean	63.9	15.0	1.1	0.2	1.0	0.7
			S.D.	9.4	5.8	0.6	0.0	0.3	0.2

LUC : Large unstained cells

* : $p < 0.05$ (Significant difference from control group)

D : Dunnett's test

Table 6-4 A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Hematology (After recovery period)

Sex	Dose mg/kg	No.		RBC ×10 ⁴ /μL	HGB g/dL	HCT %	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	Retic %	PLT ×10 ⁴ /μL	PT s	APTT s	FIB mg/dL
Male	0	6	Mean	863	16.0	45.3	52.5	18.6	35.3	1.8	103.0	14.5	19.6	286
			S.D.	26	0.5	1.0	1.6	0.8	0.6	0.5	8.8	1.8	2.7	48
	200	6	Mean	821*	15.2*	43.7	53.3	18.6	34.9	2.6*	107.4	13.7	20.2	278
			S.D.	30T	0.3T	1.5	2.6	0.7	0.6	0.3T	7.6	1.2	2.2	30
Female	0	6	Mean	799	15.1	41.8	52.4	18.9	36.1	2.2	130.3	11.0	17.4	216
			S.D.	38	0.4	1.5	1.9	0.8	0.5	0.4	11.8	0.7	0.8	12
	200	6	Mean	803	15.2	42.8	53.3	19.0	35.6	1.9	124.0	11.1	17.4	216
			S.D.	12	0.4	1.5	1.5	0.4	0.3	0.7	17.5	0.3	2.2	36

* : p<0.05 (Significant difference from control group)

T : Student's t-test

Table 6-5

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Hematology (After recovery period)

Sex	Dose mg/kg	No.		WBC	Differential leukocyte counts (%)					
				$\times 10^2/\mu\text{L}$	LYMP	NEUT	EOS	BASO	MONO	LUC
Male	0	6	Mean	119.1	81.8	14.8	0.6	0.5	1.6	0.8
			S.D.	23.4	5.1	4.6	0.2	0.1	0.5	0.1
	200	6	Mean	105.2	78.5	18.2	0.7	0.4	1.5	0.8
			S.D.	26.6	4.8	4.8	0.2	0.1	0.4	0.1
Female	0	6	Mean	56.5	68.0	28.8	0.8	0.2	1.5	0.6
			S.D.	5.1	3.3	3.8	0.3	0.1	0.6	0.3
	200	6	Mean	83.2	73.6	22.6	0.9	0.3	1.6	1.0
			S.D.	32.7	8.9	9.5	0.2	0.1	0.5	0.6

LUC : Large unstained cells

No significant difference between treated group and control group.

Table 6-6

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Hematology (After recovery period)

Sex	Dose mg/kg	No.		Differential leukocyte counts (X10 ³ /μL)					
				LYMP	NEUT	EOS	BASO	MONO	LUC
Male	0	6	Mean	96.9	18.1	0.7	0.6	1.9	0.9
			S.D.	16.9	8.2	0.3	0.2	0.9	0.2
	200	6	Mean	83.1	18.6	0.7	0.4	1.6	0.8
			S.D.	24.2	4.3	0.2	0.1	0.5	0.3
Female	0	6	Mean	38.3	16.4	0.5	0.1	0.9	0.3
			S.D.	2.6	3.1	0.2	0.0	0.4	0.2
	200	6	Mean	60.5*	19.7	0.8	0.3*	1.2	0.9
			S.D.	21.2AT	13.5	0.3	0.1AT	0.2	0.6

LUC : Large unstained cells

* : p<0.05 (Significant difference from control group)

AT : Aspin-Welch t-test

Table 7-1

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Blood chemistry (After administration period)

Sex	Dose mg/kg	No.		AST IU/L	ALT IU/L	LDH IU/L	γ -GTP IU/L	ALP IU/L	T-CHO mg/dL	TG mg/dL	PL mg/dL	T-BIL mg/dL	GLU mg/dL
Male	0	6	Mean	63	27	56	1	663	62	57	102	0.1	136
			S.D.	5	3	5	0	71	12	23	15	0.0	7
	8	6	Mean	68	30	60	1	684	56	45	93	0.1	137
			S.D.	5	1	17	1	97	15	23	15	0.1	14
	40	6	Mean	65	27	52	1	641	55	58	94	0.1	132
			S.D.	5	4	7	0	119	8	20	14	0.1	9
	200	6	Mean	60	27	59	1	660	65	59	113	0.1	140
			S.D.	8	4	9	1	178	9	19	13	0.0	12
Female	0	6	Mean	61	22	52	1	370	62	11	107	0.1	105
			S.D.	7	3	12	0	92	17	3	21	0.0	3
	8	6	Mean	69	24	52	1	429	63	11	110	0.1	106
			S.D.	10	7	12	0	115	7	4	11	0.0	10
	40	6	Mean	61	20	58	1	369	64	14	111	0.1	107
			S.D.	4	4	11	0	88	19	6	28	0.0	11
	200	6	Mean	61	21	58	1	296	72	15	117	0.1	95
			S.D.	8	2	15	0	51	12	4	12	0.0	9

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 7-2 A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Blood chemistry (After administration period)

Sex	Dose mg/kg	No.		BUN mg/dL	CRNN mg/dL	Na mmol/L	K mmol/L	Cl mmol/L	Ca mg/dL	P mg/dL	TP g/dL	ALB g/dL	A/G
Male	0	6	Mean	13	0.23	144	4.6	107	9.7	8.1	6.2	3.1	1.01
			S.D.	1	0.01	1	0.2	2	0.2	0.5	0.2	0.1	0.04
	8	6	Mean	13	0.23	143	4.8	106	9.7	8.1	5.9	3.1	1.07
			S.D.	2	0.02	0	0.2	2	0.2	0.4	0.2	0.1	0.07
	40	6	Mean	13	0.24	145	4.8	107	9.8	8.1	5.8*	3.0	1.09
			S.D.	1	0.04	1	0.4	1	0.1	0.5	0.1D	0.1	0.11
	200	6	Mean	13	0.23	144	4.9	106	10.0	8.8*	6.1	3.3**	1.22**
			S.D.	1	0.02	1	0.3	1	0.3	0.5D	0.3	0.1D	0.09D
Female	0	6	Mean	16	0.28	142	4.6	109	9.8	7.7	6.2	3.3	1.10
			S.D.	3	0.04	1	0.2	2	0.2	0.3	0.1	0.1	0.08
	8	6	Mean	15	0.27	142	4.6	109	9.8	7.3	6.2	3.3	1.12
			S.D.	1	0.03	1	0.1	2	0.2	0.6	0.2	0.1	0.07
	40	6	Mean	18	0.31	143	4.5	109	9.8	7.9	6.2	3.3	1.12
			S.D.	2	0.05	1	0.3	1	0.1	0.7	0.3	0.1	0.08
	200	6	Mean	16	0.28	143	5.0*	109	9.8	7.6	6.1	3.4	1.22*
			S.D.	2	0.02	1	0.3D	1	0.3	1.0	0.2	0.2	0.06D

* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$ (Significant difference from control group)

D : Dunnett's test

Table 7-3

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Blood chemistry (After recovery period)

Sex	Dose mg/kg	No.		AST	ALT	LDH	γ -GTP	ALP	T-CHO	TG	PL	T-BIL	GLU
				IU/L	IU/L	IU/L	IU/L	IU/L	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL
Male	0	6	Mean	63	26	46	1	564	56	69	94	0.1	146
			S.D.	5	2	6	0	115	9	38	15	0.0	15
	200	6	Mean	63	28	50	1	497	63	81	105	0.1	139
			S.D.	6	6	11	0	54	11	32	8	0.0	14
Female	0	6	Mean	58	20	42	1	278	70	24	123	0.1	136
			S.D.	3	3	7	1	50	15	12	23	0.0	12
	200	6	Mean	56	20	41	1	253	76	25	126	0.1	114*
			S.D.	5	5	2	0	30	8	16	17	0.1	16T

* : $p < 0.05$ (Significant difference from control group)

T : Student's t-test

Table 7-4

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Blood chemistry (After recovery period)

Sex	Dose mg/kg	No.		BUN mg/dL	CRNN mg/dL	Na mmol/L	K mmol/L	Cl mmol/L	Ca mg/dL	P mg/dL	TP g/dL	ALB g/dL	A/G
Male	0	6	Mean	14	0.26	144	4.5	106	9.5	7.5	6.2	3.1	1.02
			S.D.	3	0.02	1	0.1	2	0.2	0.3	0.3	0.2	0.07
	200	6	Mean	14	0.26	144	4.6	106	9.7	7.8	6.1	3.1	1.05
			S.D.	2	0.03	1	0.2	2	0.2	0.5	0.3	0.1	0.06
Female	0	6	Mean	15	0.29	143	4.2	110	9.8	6.9	6.6	3.5	1.11
			S.D.	2	0.03	1	0.4	1	0.2	0.5	0.4	0.2	0.07
	200	6	Mean	16	0.29	143	4.3	110	9.6	7.0	6.4	3.4	1.15
			S.D.	3	0.03	1	0.3	1	0.2	0.6	0.3	0.3	0.10

No significant difference between treated group and control group.

Table 8-1

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Absolute and relative organ weight (After administration period)

Male

	Dose mg/kg		Body weight	Brain	Thymus	Heart	Liver	Spleen	Kidney (R+L)	Adrenal (R+L)
			g	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	351	2.03	400	1.21	10.08	0.67	2.47	58
		S.D.	10	0.04	72	0.10	0.56	0.05	0.14	11
	8	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	353	1.97	521	1.21	9.64	0.65	2.51	63
		S.D.	33	0.09	188	0.16	0.95	0.13	0.33	7
	40	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	366	2.00	598	1.24	10.87	0.70	2.51	59
		S.D.	55	0.08	229	0.20	1.95	0.16	0.46	10
	200	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	364	1.98	442	1.34	13.28**	0.78	2.62	59
		S.D.	26	0.04	33	0.17	2.17D	0.09	0.16	4
Relative	0	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.58	114	0.35	2.87	0.19	0.70	17
		S.D.		0.02	20	0.03	0.14	0.01	0.03	3
	8	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.56	147	0.34	2.74	0.18	0.71	18
		S.D.		0.04	46	0.04	0.13	0.03	0.07	2
	40	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.56	160	0.34	2.96	0.19	0.69	16
		S.D.		0.08	40	0.02	0.21	0.02	0.04	2
	200	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.55	122	0.37	3.63**	0.21	0.72	16
		S.D.		0.03	13	0.04	0.35D	0.01	0.04	1

** : p<0.01 (Significant difference from control group)

D : Dunnett's test

Table 8-2

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Absolute and relative organ weight (After administration period)

Male

		Testis (R+L)		Epididymis (R+L)	
Dose mg/kg		g(g/100g BW)		mg(mg/100g BW)	
Absolute	0	No.	6	6	
		Mean	3.06	821	
		S.D.	0.14	45	
	8	No.	6	6	
		Mean	3.08	855	
		S.D.	0.38	107	
	40	No.	6	6	
		Mean	3.06	808	
		S.D.	0.31	80	
	200	No.	6	6	
		Mean	3.13	818	
		S.D.	0.23	100	
Relative	0	No.	6	6	
		Mean	0.87	234	
		S.D.	0.05	18	
	8	No.	6	6	
		Mean	0.88	243	
		S.D.	0.14	28	
	40	No.	6	6	
		Mean	0.85	223	
		S.D.	0.07	14	
	200	No.	6	6	
		Mean	0.86	226	
		S.D.	0.04	29	

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 8-3

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Absolute and relative organ weight (After administration period)

Female

	Dose mg/kg		Body weight	Brain	Thymus	Heart	Liver	Spleen	Kidney (R+L)	Adrenal (R+L)
			g	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	235	1.86	437	0.86	6.52	0.49	1.74	69
		S.D.	20	0.07	138	0.07	0.71	0.08	0.21	6
	8	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	237	1.92	482	0.88	6.70	0.51	1.72	78
		S.D.	14	0.09	99	0.05	0.24	0.08	0.10	11
	40	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	232	1.93	503	0.87	6.78	0.51	1.68	80
		S.D.	11	0.03	160	0.05	0.39	0.11	0.19	8
	200	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	228	1.89	505	0.80	7.01	0.60	1.68	67
		S.D.	15	0.03	92	0.08	0.50	0.05	0.17	7
Relative	0	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.80	184	0.37	2.77	0.21	0.74	30
		S.D.		0.08	47	0.03	0.15	0.02	0.08	3
	8	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.81	204	0.37	2.84	0.22	0.73	33
		S.D.		0.05	40	0.01	0.09	0.04	0.03	4
	40	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.83	216	0.38	2.93	0.22	0.73	35
		S.D.		0.03	62	0.03	0.17	0.04	0.06	3
	200	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.83	221	0.35	3.08**	0.26*	0.74	29
		S.D.		0.06	31	0.02	0.14D	0.01D	0.04	4

* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$ (Significant difference from control group)

D : Dunnett's test

Table 8-4 A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats with a recovery period of 2 weeks

Absolute and relative organ weight (After administration period)

Female

		Ovary (R+L)		Uterus
Dose mg/kg		mg(mg/100g BW)		mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	6	6
		Mean	98.8	423
		S.D.	13.1	50
	8	No.	6	6
		Mean	92.3	481
		S.D.	20.0	99
	40	No.	6	6
		Mean	105.4	473
		S.D.	20.2	85
	200	No.	6	6
		Mean	93.6	434
		S.D.	16.8	75
Relative	0	No.	6	6
		Mean	42.0	181
		S.D.	5.2	31
	8	No.	6	6
		Mean	39.0	203
		S.D.	8.5	38
	40	No.	6	6
		Mean	45.5	204
		S.D.	8.2	35
	200	No.	6	6
		Mean	41.1	191
		S.D.	7.3	35

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 8-5

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Absolute and relative organ weight (After recovery period)

Male

	Dose mg/kg		Body weight	Brain	Thymus	Heart	Liver	Spleen	Kidney (R+L)	Adrenal (R+L)
			g	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	412	2.05	398	1.35	11.33	0.69	2.79	65
		S.D.	28	0.10	120	0.16	1.76	0.11	0.16	6
	200	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	420	2.03	455	1.39	12.74	0.78	2.88	60
		S.D.	30	0.03	106	0.17	1.82	0.09	0.26	10
Relative	0	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.50	97	0.33	2.74	0.17	0.68	16
		S.D.		0.03	27	0.02	0.25	0.02	0.02	2
	200	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.49	108	0.33	3.03	0.19	0.69	14
		S.D.		0.04	23	0.03	0.29	0.01	0.04	2

No significant difference between treated group and control group.

Table 8-6

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Absolute and relative organ weight (After recovery period)

Male

		Testis (R+L) g(g/100g BW)		Epididymis (R+L) mg(mg/100g BW)	
Dose mg/kg					
Absolute	0	No.	6	6	
		Mean	2.89	1007	
		S.D.	0.26	82	
	200	No.	6	6	
		Mean	3.22*	1080	
		S.D.	0.24T	66	
Relative	0	No.	6	6	
		Mean	0.70	245	
		S.D.	0.03	11	
	200	No.	6	6	
		Mean	0.77**	258	
		S.D.	0.02T	14	

* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$ (Significant difference from control group)

T : Student's t-test

Table 8-7

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Absolute and relative organ weight (After recovery period)

Female

	Dose mg/kg		Body weight	Brain	Thymus	Heart	Liver	Spleen	Kidney (R+L)	Adrenal (R+L)
			g	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	256	1.89	388	0.85	6.97	0.50	1.73	74
		S.D.	11	0.08	102	0.05	0.38	0.10	0.12	7
	200	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	264	1.90	467	0.87	7.20	0.55	1.81	76
		S.D.	19	0.06	62	0.05	0.53	0.04	0.11	12
Relative	0	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.74	151	0.33	2.72	0.20	0.68	29
		S.D.		0.06	37	0.02	0.12	0.04	0.07	4
	200	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.72	177	0.33	2.73	0.21	0.69	29
		S.D.		0.03	25	0.02	0.09	0.01	0.04	4

No significant difference between treated group and control group.

Table 8-8

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Absolute and relative organ weight (After recovery period)

Female

		Ovary (R+L)		Uterus
Dose mg/kg		mg(mg/100g BW)		mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	6	6
		Mean	92.1	539
		S.D.	16.4	130
	200	No.	6	6
		Mean	87.6	534
		S.D.	7.4	118
Relative	0	No.	6	6
		Mean	35.9	210
		S.D.	5.6	48
	200	No.	6	6
		Mean	33.2	203
		S.D.	1.8	45

No significant difference between treated group and control group.

Table 9-1

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Gross pathological findings (After administration period)

Organs	Sex:	M	M	M	M	F	F	F	F
Findings	Dose(mg/kg): Number:	0 6	8 6	40 6	200 6	0 6	8 6	40 6	200 6
Stomach									
Discoloration,white,forestomach		0	0	0	6	0	0	0	6
Liver									
Large		0	0	0	2	0	0	0	0

M : Male, F : Female

Table 9-2

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Gross pathological findings (After recovery period)

Organs	Sex: Dose(mg/kg): Number:	M 0 6	M 200 6	F 0 6	F 200 6
Findings					
Stomach					
Discoloration,white,forestomach		0	0	0	1
Focus,white,forestomach		0	1	0	0

M : Male, F : Female

Table 10-1

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Histopathological findings (After administration period)

Organs	Sex:	M	M	M	M	F	F	F	F
Findings	Dose(mg/kg): Number:	0 6	8 6	40 6	200 6	0 6	8 6	40 6	200 6
Cerebrum									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Cerebellum									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Sciatic nerve									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Spinal cord, thoracic									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Eye									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Pituitary									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	5	0	0	6
Cyst		0	0	0	0	1	0	0	0
minimal		0	0	0	0	1	0	0	0
Thyroid									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	4	6	0	0	5
Cyst, ultimobranchial		0	0	0	2	0	0	0	1
minimal		0	0	0	2	0	0	0	1
Parathyroid									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Adrenal									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Thymus									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Spleen									
Number examined		6	6	6	6	6	6	6	6
Not remarkable		5	5	4	0	4	6	5	0
Pigmentation		0	0	0	0	1	0	0	2
minimal		0	0	0	0	1	0	0	2
Hematopoiesis, extramedullary		1	1	2	6	1	0	1	5
minimal		1	1	2	5	1	0	1	2
mild		0	0	0	1	0	0	0	3
Lymph node, submandibular									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Lymph node, mesenteric									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6

M : Male, F : Female

Table 10-2

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Histopathological findings (After administration period)

Organs	Sex:	M	M	M	M	F	F	F	F
Findings	Dose(mg/kg): Number:	0 6	8 6	40 6	200 6	0 6	8 6	40 6	200 6
Heart									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Trachea									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Lung(bronchus)									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		4	0	0	5	5	0	0	6
Cell infiltration,lymphocytic		1	0	0	0	0	0	0	0
minimal		1	0	0	0	0	0	0	0
Accumulation,foamy cell		0	0	0	1	1	0	0	0
minimal		0	0	0	1	1	0	0	0
Inflammation,focal		1	0	0	0	0	0	0	0
minimal		1	0	0	0	0	0	0	0
Stomach									
Number examined		6	6	6	6	6	6	6	6
Not remarkable		5	3	0	0	6	2	0	0
Dilatation,glandular,cystic		1	0	0	0	0	0	0	0
minimal		1	0	0	0	0	0	0	0
Cell infiltration,inflammatory		1	1	0	0	0	0	0	1
minimal		1	1	0	0	0	0	0	1
Erosion,forestomach		0	0	0	4	0	0	0	0
minimal		0	0	0	4	0	0	0	0
Hyperplasia,squamous,diffuse		0	3	6	6	0	4	6	6
minimal		0	2	2	0	0	4	4	0
mild		0	1	4	3	0	0	2	6
moderate		0	0	0	3	0	0	0	0
Intestine,duodenum									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Intestine,jejunum									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Intestine,ileum(Peyer's patch)									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Intestine,cecum									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Intestine,colon									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Intestine,rectum									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Liver									
Number examined		6	6	6	6	6	6	6	6
Not remarkable		4	4	5	0	1	2	2	1
Vacuolation,hepatocyte,periportal		0	1	0	0	3	4	3	1
minimal		0	1	0	0	3	4	3	1
Microgranuloma		2	1	1	4	4	1	1	5
minimal		2	1	1	4	4	1	1	5

M : Male, F : Female

Table 10-3

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Histopathological findings (After administration period)

Organs	Sex:	M	M	M	M	F	F	F	F
Findings	Dose(mg/kg): Number:	0 6	8 6	40 6	200 6	0 6	8 6	40 6	200 6
Liver (continued)									
Hypertrophy, hepatocyte, diffuse		0	0	0	5	0	0	0	3
minimal		0	0	0	5	0	0	0	3
Kidney									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		4	0	0	1	4	0	0	6
Dilatation, tubular		1	0	0	1	0	0	0	0
minimal		1	0	0	1	0	0	0	0
Regeneration, tubular		1	0	0	3	2	0	0	0
minimal		1	0	0	3	2	0	0	0
Urinary cast, hyaline		0	0	0	1	0	0	0	0
minimal		0	0	0	1	0	0	0	0
Mineralization, papillary		1	0	0	2	2	0	0	0
minimal		1	0	0	2	2	0	0	0
Fibrosis, focal		1	0	0	0	0	0	0	0
minimal		1	0	0	0	0	0	0	0
Urinary bladder									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Testis									
Number examined		6	0	0	6	-	-	-	-
Not remarkable		6	0	0	6	-	-	-	-
Ovary									
Number examined		-	-	-	-	6	0	0	6
Not remarkable		-	-	-	-	6	0	0	6
Epididymis									
Number examined		6	0	0	6	-	-	-	-
Not remarkable		6	0	0	6	-	-	-	-
Uterus									
Number examined		-	-	-	-	6	0	0	6
Not remarkable		-	-	-	-	6	0	0	6
Prostate									
Number examined		6	0	0	6	-	-	-	-
Not remarkable		5	0	0	4	-	-	-	-
Cell infiltration, lymphocytic		1	0	0	2	-	-	-	-
minimal		1	0	0	2	-	-	-	-
Bone+Bone marrow, sternal									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		5	0	0	6	5	0	0	5
Degeneration, chondromucinous		1	0	0	0	1	0	0	1
minimal		1	0	0	0	1	0	0	1
Bone+Bone marrow, femoral									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Skeletal muscle, femoral									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6

M : Male, F : Female
- : Not applicable

Table 10-4

A 28-day oral toxicity study of alpha-chloro-4-nitrotoluene in rats
with a recovery period of 2 weeks

Histopathological findings (After recovery period)

Organs	Sex: Dose(mg/kg): Number:	M 0 6	M 200 6	F 0 6	F 200 6
Findings					
Spleen					
Number examined		6	6	6	6
Not remarkable		4	1	3	0
Pigmentation		0	0	3	4
minimal		0	0	3	4
Hematopoiesis,extramedullary		2	5	0	3
minimal		2	5	0	3
Stomach					
Number examined		6	6	6	6
Not remarkable		5	3	5	1
Cell infiltration,inflammatory		1	0	1	0
minimal		1	0	1	0
Hyperplasia,squamous,diffuse		0	3	0	5
minimal		0	3	0	5
Liver					
Number examined		6	6	6	6
Not remarkable		4	3	4	2
Vacuolation,hepatocyte,periportal		1	1	0	1
minimal		1	1	0	1
Microgranuloma		1	2	2	4
minimal		1	2	2	3
mild		0	0	0	1

M : Male, F : Female