
メチルシクロヘキサンのラットを用いる経口投与による反復投与毒性・生殖発生
毒性併合試験

最終報告書改正版

作成日：2013年 1月10日

株式会社日本バイオリサーチセンター
羽島研究所

全714頁

1. 目次

表 紙.....	1
1.目次.....	2
15. 要約.....	25
16. 緒言.....	27
17. 方法.....	27
17.1. 被験物質及び媒体.....	27
17.1.1. 被験物質.....	27
17.1.2. 媒体.....	27
17.2. 投与検体.....	28
17.2.1. 投与検体の調製.....	28
17.2.2. 投与検体の安定性及び調製頻度.....	28
17.2.3. 投与検体中の被験物質の濃度測定.....	29

17.2.4. 残余投与検体の取り扱い.....	29
17.3. 試験動物及び飼育条件	29
17.3.1. 動物種及び系統.....	29
17.3.2. 検疫及び馴化.....	29
17.3.3. 群分け	29
17.3.4. 個体識別.....	30
17.3.5. 環境条件及び飼育管理	30
17.3.6. 飼料	31
17.3.7. 飲料水	31
17.3.8. 床敷	31
17.4. 投与経路、投与方法及び投与期間.....	31
17.4.1. 投与経路及び投与方法.....	31
17.4.2. 投与期間及び回復期間	32
17.5. 群構成及び投与量.....	33
17.5.1. 主試験群.....	33
17.5.2. 交配群	33
17.6. 投与量設定の理由.....	33
17.7. 観察及び検査項目	34
17.7.1. 主試験群雌雄	34
17.7.2. 交配群雌親	41
17.7.3. 親動物の生殖発生検査	43
17.7.4. 児動物	43
17.7.5. 各種データの算出式	44
17.8. 統計学的方法	45
18. 試験結果	46
18.1. 反復投与毒性	46
18.1.1. 一般状態.....	46
18.1.2. 体重	47
18.1.3. 摂餌量	47

18.1.4. 摂水量.....	48
18.1.5. 詳細な観察 (FOB).....	49
18.1.6. 感覚応答.....	49
18.1.7. 握力.....	50
18.1.8. 自発運動量.....	50
18.1.9. 尿検査.....	50
18.1.10. 血液学的検査.....	51
18.1.11. 血液生化学的検査.....	51
18.1.12. 血中ホルモン濃度.....	52
18.1.13. 剖検所見.....	52
18.1.14. 器官重量.....	53
18.1.15. 病理組織学的所見.....	54
18.2. 生殖発生毒性.....	55
18.2.1. 親動物の生殖発生.....	55
18.2.2. 児動物	56
19. 考察.....	58
20. 文献.....	61

Table 1. General clinical signs in male rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	62
---	----

Table 2. General clinical signs in female rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	65
---	----

Table 3. General clinical signs in parental female rats (mating groups) in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	68
--	----

Table 4.	General clinical signs in parental female rats (mating groups) during pregnancy in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	70
Table 5.	General clinical signs in parental female rats (mating groups) during lactation in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	72
Table 6.	Body weights of male rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	73
Table 7.	Body weights of female rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	74
Table 8.	Body weights of parental female rats (mating groups) in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	75
Table 9.	Body weights of parental female rats (mating groups) during pregnancy in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	76
Table 10.	Body weights of parental female rats (mating groups) during lactation in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	77
Table 11.	Food consumption in male rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	78
Table 12.	Food consumption in female rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	79

Table 13.	Food consumption in parental female rats (mating groups) in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	80
Table 14.	Food consumption in parental female rats (mating groups) during pregnancy in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	81
Table 15.	Food consumption in parental female rats (mating groups) during lactation in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	82
Table 16.	Water consumption in male rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	83
Table 17.	Water consumption in female rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	84
Table 18.	Water consumption in parental female rats (mating groups) in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	85
Table 19.	Water consumption in parental female rats (mating groups) during pregnancy in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	86
Table 20.	Water consumption in parental female rats (mating groups) during lactation in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	87
Table 21.	Detailed clinical signs (FOB) in male rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	88

Table 22.	Detailed clinical signs (FOB) in female rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	96
Table 23.	Detailed clinical signs (FOB) in parental female rats (mating groups) in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	104
Table 24.	Sensory reactivity of male rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	118
Table 25.	Sensory reactivity of female rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	119
Table 26.	Grip strength of male rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	120
Table 27.	Grip strength of female rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	121
Table 28.	Spontaneous motor activity of male rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	122
Table 29.	Spontaneous motor activity of female rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	123
Table 30.	Urinary findings in male rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	124

Table 31.	Urinary findings in female rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	126
Table 32.	Urinary findings in male rats on termination of recovery period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	128
Table 33.	Urinary findings in female rats on termination of recovery period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	130
Table 34.	Hematological findings in male rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	132
Table 35.	Hematological findings in female rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	133
Table 36.	Hematological findings in male rats on termination of recovery period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	134
Table 37.	Hematological findings in female rats on termination of recovery period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	135
Table 38.	Clinical biochemistry findings in male rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	136
Table 39.	Clinical biochemistry findings in female rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	137

Table 40.	Clinical biochemistry findings in male rats on termination of recovery period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	138
Table 41.	Clinical biochemistry findings in female rats on termination of recovery period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	139
Table 42.	Hormone concentrations in the serum of male rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	140
Table 43.	Hormone concentrations in the serum of female rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	141
Table 44.	Gross necropsy findings in male rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	142
Table 45.	Gross necropsy findings in female rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	143
Table 46.	Gross necropsy findings in male rats on termination of recovery period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	144
Table 47.	Gross necropsy findings in female rats on termination of recovery period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	145
Table 48.	Gross necropsy findings in parental female rats (mating groups) in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	146

Table 49.	Organ weights of male rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	147
Table 50.	Organ weights of female rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	148
Table 51.	Organ weights of male rats on termination of recovery period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	149
Table 52.	Organ weights of female rats on termination of recovery period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	150
Table 53.	Organ weights of parental female rats (mating groups) on Day 5 of lactation in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	151
Table 54.	Histopathological findings in male rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	152
Table 55.	Histopathological findings in female rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	154
Table 56.	Histopathological findings in male rats on termination of recovery period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	156
Table 57.	Histopathological findings in parental female rats (mating groups) on Day 5 of lactation in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	157

Table 58.	Reproductive performance of parental male and female rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	158
Table 59.	Observation of pups in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	159
Table 60.	Delivery conditions and nursing conditions of dams in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	160
Table 61.	General clinical signs in pups in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	161
Table 62.	Body weights of pups in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	162
Table 63.	Gross necropsy findings in stillbirths and dead pups in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	163
Table 64.	Gross necropsy findings in pups in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	164
Fig. 1.	Chemical structure of methylcyclohexane	165
Fig. 2.	Body weights of male rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	166

Fig. 3.	Body weights of female rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	167
Fig. 4.	Body weights of parental female rats (mating groups) in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	168
Fig. 5.	Food consumption in male rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	169
Fig. 6.	Food consumption in female rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	170
Fig. 7.	Food consumption in parental female rats (mating groups) in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	171
Fig. 8.	Water consumption in male rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	172
Fig. 9.	Water consumption in female rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	173
Fig. 10.	Water consumption in parental female rats (mating groups) in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	174
Fig. 11.	Body weights of pups in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration	175

15. 要約

メチルシクロヘキサンの Crl:CD (SD) 雌雄ラットを用いる経口投与による反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験を行い、雌雄動物に対する一般毒性学的影響を検討するとともに、性腺機能、交尾行動、受胎、受胎産物の発達及び分娩などの雌雄動物の生殖行動に及ぼす影響について検討した。

投与量は、62.5, 250 及び 1000 mg/kg/day とした。主試験群では 28 日間投与し、14 日間の回復期間を設けた。交配群では交配前 14 日間、交配期間中、妊娠期間中及び哺育 4 日まで 42–47 日間投与した。媒体にはトウモロコシ油を用い、対照群には被験物質投与群と同容量のトウモロコシ油を投与した。

使用動物数は、主試験群雄は対照群、62.5, 250 及び 1000 mg/kg 群とも各 12 例とし、各群ともその半数を回復群とした。主試験群雌は、対照群と 1000 mg/kg 群で各 10 例、62.5 及び 250 mg/kg 群で各 5 例とし、対照群と 1000 mg/kg 群の各半数を回復群とした。さらに生殖発生毒性を検討するために主試験群の雄と交配させる雌の交配群を別に設け、使用動物数は対照群、62.5, 250 及び 1000 mg/kg 群とも雌親各 12 例とした。主試験群の雌は交配に使用しなかった。

1. 反復投与毒性

摂水量は、交配群の雌親の 1000 mg/kg 群で妊娠期間中に高値がみられた。

血液学的検査では、投与期間終了時に非交配群の雌の 1000 mg/kg 群で網状赤血球比率及び単球比率の高値がみられた。

血液生化学的検査では、投与期間終了時に雄の各投与群で総コレステロールの高値、1000 mg/kg 群で ALT, γ-GT, 総蛋白及び Ca の高値、1000 及び 250 mg/kg 群で Cl の低値がみられ、回復期間終了時においても 1000 mg/kg 群で ALT 及び総コレステロールの高値が認められた。非交配群の雌では投与期間終了時に 1000 mg/kg 群でブドウ糖の低値が認められた。

器官重量では、投与期間終了時に雄の 1000 mg/kg 群で肝臓及び腎臓の絶対重量及び相対重量の高値、250 mg/kg 群で肝臓の相対重量の高値、非交配群の雌の 1000 mg/kg 群で肝臓の絶対重量の高値傾向、副腎の絶対重量の高値、肝臓、腎臓及び副腎の相対重量の高値がみられた。回復期間終了時には、非交配群の雌の 1000 mg/kg 群で肝臓の絶対重量の高値がみられた。

病理組織学的検査では、投与期間終了時に雄の 1000 及び 250 mg/kg 群で腎臓に尿細管上皮の硝子滴がみられた。

上記以外には被験物質に起因する変化はみられなかった。

2. 生殖発生毒性

児動物では、1000 mg/kg 投与で体重及び生後 4 日の生存率の低値傾向が認められた。

上記以外には被験物質に起因する変化はみられなかった。

以上のように、メチルシクロヘキサンの無影響量は、雄では 62.5 mg/kg 投与で総コレステロールの高値が認められたことから 62.5 mg/kg/day 未満、非交配群の雌では 1000 mg/kg 投与で網状赤血球比率及び単球比率の高値、ブドウ糖の低値、肝臓の絶対重量の高値傾向、副腎の絶対重量の高値、肝臓、腎臓及び副腎の相対重量の高値が認められたことから 250 mg/kg/day、交配群の雌親では 1000 mg/kg 投与で摂水量の高値が認められたことから 250 mg/kg/day と考えられる。生殖発生毒性学的な無影響量は、1000 mg/kg 投与で雄及び交配群の雌親ともいずれの項目にも影響が認められなかつたことから 1000 mg/kg/day と考えられる。児動物への無影響量は、1000 mg/kg 投与で体重及び生後 4 日の生存率の低値傾向が認められたことから 250 mg/kg/day と考えられる。

16. 緒言

メチルシクロヘキサンが継続的に人に摂取された場合の健康への影響を推定するために、メチルシクロヘキサンを雌雄ラットに経口投与し、反復投与による毒性影響を検討するとともに、性腺機能、交尾行動、受胎、受胎産物の発達及び分娩などの雌雄動物の生殖行動に及ぼす影響について検討した。

17. 方法

17.1. 被験物質及び媒体

17.1.1. 被験物質

被験物質メチルシクロヘキサン [別名: シクロヘキシルメタン、英語化学名: methylcyclohexane, CAS No. 108-87-2, 官報公示整理番号 (化審法): 3-2230, Fig. 1] は、化学式: $\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_{11}$, 分子量: 98.19, 物性・性状: 無色透明の液体であり、特異臭を有する。水に微溶 (1.6 g/100 g水, 20.0°C), アルコール、エーテル等各種有機溶剤に易溶。引火点: -6°C, 密度 (20°C): 0.769 g/mLである¹⁾。

含量 (GC): 99.9%]. 入手後は、室温・遮光・気密の条件下で保管した。

被験物質の保管場所の温・湿度を以下に示した。

被験物質	保管場所	温度	湿度
メチルシクロヘキサン (Lot No.: KWH4629) (a)	被験物質保管 室の保管庫	設定: 23°C 許容範囲: 18.0 – 28.0°C 実測値: 22.0 – 25.0°C	設定: 55% 許容範囲: 40.0 – 70.0% 実測値: 40.8 – 67.0%

(a) 2010年6月25日(被験物質入手日)–2010年11月30日(投与期間終了日)

当試験の投与期間終了後に実施した試験施設で保管した被験物質 (Lot No.: KWH4629) の品質試験成績から、使用期間中の安定性が確認された。

投与期間終了後、試験施設で保管する被験物質のサンプル (1.0003 g) を除いた残余被験物質は廃棄した。

17.1.2. 媒体

トウモロコシ油 [以下, Corn oil, Lot No.: V8N8411, V0H3633, 使用期限: 2010年11月4日 (V8N8411), 2012年9月12日 (V0H3633), 製造元: ナカライトスク株式会社, 保管条件: 室温] を用いた。

Corn oil の保管場所の温度・湿度を以下に示した。

物質	保管場所	温度	湿度
Corn oil (Lot No.: V8N8411, V0H3633) (a)	被験物質保管室の保管庫	設定: 23°C 許容範囲: 18.0 – 28.0°C 実測値: 22.0 – 25.0°C	設定: 55% 許容範囲: 40.0 – 70.0% 実測値: 40.8 – 58.5%

(a) 2010年9月21日(試験開始日) – 2010年11月29日(最終調製日)

17.2. 投与検体

17.2.1. 投与検体の調製

最高濃度の投与検体を調製するために、メチルシクロヘキサンの必要量(含量による補正は実施しなかった)を秤取(電子天秤: AT250 又は PB3002-S/FACT, メトラー・トレド株式会社)後、Corn oilで200 mg/mL 濃度となるように溶解し、調製した。50及び12.5 mg/mL 濃度の各投与検体は、200 mg/mL 濃度液を Corn oil で段階希釈して調製した。

17.2.2. 投与検体の安定性及び調製頻度

媒体としてCorn oilを用いた調製検体の安定性については、1及び200 mg/mLの濃度で調製後、冷蔵(設定温度: 4°C, 冷蔵庫: BMS-500F3, 日本フリーザー株式会社)・遮光・気密7日間とその後、室温(設定温度: 23°C)・遮光・気密で6時間まで問題のないことが確認されている²⁾(Attachment 1)。

各投与検体は、週1回以上の頻度で調製し、褐色ガラス容器に1日分ごとに小分け後、冷蔵・遮光・気密の条件下で保管し、調製後7日以内に使用した。

投与検体の保管場所の温度を以下に示した。

投与検体	保管容器	保管場所	温度
0, 12.5, 50 及び 200 mg/mL 濃度液 (a)	褐色ガラス容器	被験物質保管室の冷蔵庫 (BMS-500F3, 日本フリーザー株式会社)	設定: 4°C 許容範囲: 2.0 – 8.0°C 実測値: 2.0 – 6.1°C

(b) 2010年10月13日(初回調製日) – 2010年11月30日(投与期間終了日)

保管した各投与検体は、冷蔵庫から持ち出し後5時間21分以内に使用した。

17.2.3. 投与検体中の被験物質の濃度測定

主試験群雄及び交配群雌親の投与開始日（投与 1 日）に使用した各投与検体中の被験物質濃度をガスクロマトグラフ（GC-2010、株式会社島津製作所）を用いて測定した（各濃度とも中層の 3 サンプル）。その結果、被験物質濃度は表示濃度の 94.2–99.4% であり、設定値の範囲内（ $100.0 \pm 10.0\%$ ）であった（Attachment 2）。

17.2.4. 残余投与検体の取り扱い

残余投与検体は、毎日、投与終了後に廃棄した。

17.3. 試験動物及び飼育条件

17.3.1. 動物種及び系統

試験には、毒性試験に一般的に用いられている動物種で、その系統維持が明らかである Crl:CD (SD) 雌雄ラット（SPF、日本チャールス・リバー株式会社 日野飼育センター）を用いた。

動物は、2010 年 9 月 22 日に主試験群として 7 週齢の雄 62 匹と雌 42 匹、交配群として 7 週齢の雌親 62 匹を入手した。入手後 1 日の体重範囲は、主試験群雄が 197–224 g、主試験群雌が 180–208 g、交配群雌親が 159–202 g であった。

17.3.2. 検疫及び馴化

入手した動物には、検疫期間（2010 年 9 月 22 日–27 日）と馴化期間（主試験群雄：2010 年 9 月 28 日–2010 年 10 月 14 日、主試験群雌：2010 年 9 月 28 日–2010 年 10 月 15 日、交配群雌親：2010 年 9 月 28 日–2010 年 10 月 14 日）を設け、この間に一般状態の観察を 1 日 1 回、体重測定（電子天秤：PG-2002-S、PB3002 又は PB3002-S/FACT、メトラー・トレド株式会社）を入手後 1 日、入手後 5 日（検疫終了日）、馴化 7 日及び馴化終了日、さらに交配群雌親は性周期観察を群分け日までの 14 日間（1 日 1 回）行った。検疫・馴化期間中の一般状態、体重推移及び性周期に異常が認められない動物を群分けした（Attachments 3-1 – 3-3, 4-1, 4-2, 5-1 – 5-3, 6-1 – 6-3, 7-1, 7-2, 8-1 – 8-3, and 9-1 – 9-3）。

17.3.3. 群分け

投与開始前日にコンピュータを用いて体重を層別に分けた後に無作為抽出法により各群の平均体重及び分散がほぼ等しくなるように群分けした。ただし、個々の動物の体重が平均値の $\pm 20\%$ 以内であるものを選んで群分けした。群分け日の体重範囲は、主試験群雄が 301–399 g、主試験群雌が 237–289 g、交配群雌親が 211–274 g であった。

群分け残余雄のうち、検疫・馴化動物番号の若い順に 2 匹を微生物モニタリング検査用動物とし

た。

微生物モニタリング検査に用いなかった群分け残余雄、群分け残余雌及び群分け残余雌親は、群分け日に炭酸ガスにて安楽死させた。

17.3.4. 個体識別

動物の個体識別は、動物入手日に黒色油性インクを用いて尾へ検疫・馴化動物番号（下3桁）を記入して行った。

動物の検疫・馴化期間中の各ケージには試験番号、入手年月日及び検疫・馴化動物番号を記入したラベルを、群分け後の各ケージには試験番号、投与量、交尾確認日（交配群雌親のみ）、分娩日（交配群雌親のみ）、検疫・馴化動物番号及び動物番号を記入し、群ごとに色分けしたラベルをそれぞれ取り付けた。詳細な観察（FOB）、感覚応答検査及び握力測定はBlindで検査したため、これらの検査時には試験番号及び検疫・馴化動物番号を記入したラベルを取り付けた。

児動物の個体識別は、生後4日に黒色油性インクを用いて背に児動物番号（下2桁）を記入して行った。

児動物の各ケージには、試験番号、投与量、動物番号（母動物番号、児動物番号）及び出生日を記入し、群ごとに色分けしたラベルを哺育4日に取り付けた。

17.3.5. 環境条件及び飼育管理

動物は、設定温度23°C、設定湿度55%、明暗各12時間（照明：午前6時－午後6時）、換気回数12回/時（中性能フィルターを通した新鮮空気）に維持された動物飼育室（E棟5号室）で飼育した。

動物飼育室の温・湿度を以下に示した。

動物飼育室	温度	湿度
E棟5号室(a)	設定: 23°C 許容範囲: 20.0 – 26.0°C 実測値: 22.0 – 23.8°C	設定: 55% 許容範囲: 40.0 – 70.0% 実測値: 41.4 – 63.3%

(a) 2010年9月22日（動物入手日）– 2010年12月1日（最終剖検日）

動物は、検疫・馴化期間中はステンレス製懸垂式ケージ（W: 240 × D: 380 × H: 200 mm）を用いて1ケージ当たり2匹の雌雄別群飼育とし、群分け後はステンレス製懸垂式ケージを用いて個別飼育した。交配は、雄のケージ内で行った。交配群雌親は、妊娠18日にオートクレーブ処理した床敷を入れたプラスチック製ケージ（W: 310 × D: 360 × H: 175 mm）に個別に移し、自然分娩、哺育

をさせた。交配群雌親は、哺育 4 日にステンレス製懸垂式ケージを用いて個別飼育した。給水瓶、ステンレス製懸垂式ケージの受皿及びプラスチック製ケージの交換は 1 週間に 2 回以上行い、ステンレス製懸垂式ケージ及び給餌器の交換は 2 週間に 1 回以上行った。動物飼育室の清掃(床の掃き掃除)及び 0.02% 次亜塩素酸ナトリウム水溶液での床のモップ拭きによる消毒は毎日 1 回実施した。交配群雌親の剖検終了日にモニター動物から採血した血液を用いて微生物モニタリング検査(Mycoplasma spp., Clostridium piliforme, HVJ, MHV, Corynebacterium kutscheri 及び SDAV)を実施した。北山ラバース株式会社で実施した微生物モニタリング検査において、感染を示唆するような異常はみられなかった。

17.3.6. 飼料

動物には、製造後 5 箇月以内の固型飼料(CRF-1, オリエンタル酵母工業株式会社)を給餌器に入れ、自由に摂取させた。ただし、主試験群雌雄の剖検前日及び交配群雌親の剖検前日(哺育 4 日)には午後 4 時頃から絶食させた。飼料中の汚染物質濃度は Eurofins Scientific Analytics、細菌数及び栄養成分量はオリエンタル酵母工業株式会社で分析した。分析値は、当試験施設で設定した基準値の範囲内であった。

17.3.7. 飲料水

動物には、水道水を給水瓶に入れ自由に摂取させた。飲料水中の汚染物質濃度及び細菌数は、東西化学産業株式会社あるいは株式会社環境公害センターで約 6 箇月ごとに分析した。分析値は、当試験施設で設定した基準値の範囲内であった。

17.3.8. 床敷

床敷(サンフレーク、日本チャールス・リバー株式会社)の微量金属及び汚染物質濃度は、Eurofins Scientific Analytics で約 6 箇月ごとに分析した。分析値は、当試験施設で設定した基準値の範囲内であった。

17.4. 投与経路、投与方法及び投与期間

17.4.1. 投与経路及び投与方法

メチルシクロヘキサンは、継続して経口的に人に摂取される可能性が考えられるため、投与経路として経口を選択した。

投与は、ディスポーザブルラット用金属製経口胃ゾンデ(有限会社フチガミ器械)を取り付けた

ディスポーザブルポリプロピレン製注射筒(テルモ株式会社)を用いて強制的に行った。投与操作時には、各投与検体を手で搅拌後、注射筒に吸引した。

投与液量は、投与日に最も近い測定日の体重を基準とし、5 mL/kgで算出した。

投与回数は1日1回とした。

主試験群では、詳細な観察(FOB)及び自発運動量測定を実施した場合を除いた投与時刻は午前8時30分-10時17分、詳細な観察(FOB)を実施した場合の投与時刻は午前9時00分-午前11時16分、自発運動量測定を実施した場合の投与時刻は午前9時00分-午後0時31分であった。

交配群では、詳細な観察(FOB)を実施した場合を除いた投与時刻は午前8時30分-午後1時14分、詳細な観察(FOB)を実施した場合の投与時刻は午前9時00分-午後0時41分であった(15.2.試験計画書に従わなかつたこと参照)。

投与開始日の週齢は雄、雌及び雌親とも10週齢であり、体重範囲は主試験群雄が319-378 g、主試験群雌が246-276 g、交配群雌親が221-252 gであった。

17.4.2. 投与期間及び回復期間

投与期間は、OECD Guideline for Testing of Chemicals for Combined Repeated Dose Toxicity Study with the Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test(OECD TG422, March 22, 1996)に従った。

主試験群雄では、交配前14日間とその後14日間の合計28日間とした。28日間の投与後に、各群半数の動物について14日間の回復期間を設けた。

主試験群雌では、28日間とした。28日間の投与後に、対照群及び高用量群の半数の動物について14日間の回復期間を設けた。

交配群雌親では、交配前14日間、交配期間中(1-5日間)、妊娠期間中(22又は23日間)及び哺育4日(5日間)までの毎日とした(42-47日間)。

投与開始日を投与1日と規定し、最終投与の翌日を回復1日とした。また、交配開始日を交配0日とした。

17.5. 群構成及び投与量

17.5.1. 主試験群

群構成は、以下に示したように被験物質投与群として3群を設定し、その他に対照群を設けた。各群の動物数は、対照群及び1000 mg/kg 群を雄12例と雌10例、250及び62.5 mg/kg 群を雄12例と雌5例とした。

群	投与量 (mg/kg/ day)	濃度 (mg/ mL)	ラベル の色	動物数 (動物番号)	
				雄	雌
1群 対照 (Corn oil)	0	0	白色	6 ^{1]} +6 ^{2]} (M01101 – M01112)	5 ^{1]} +5 ^{2]} (F01151 – F01160)
2群 メチルシクロヘキサン	62.5	12.5	茶色	6 ^{1]} +6 ^{2]} (M02201 – M02212)	5 ^{1]} (F02251 – F02255)
3群 メチルシクロヘキサン	250	50	青色	6 ^{1]} +6 ^{2]} (M03301 – M03312)	5 ^{1]} (F03351 – F03355)
4群 メチルシクロヘキサン	1000	200	紫色	6 ^{1]} +6 ^{2]} (M04401 – M04412)	5 ^{1]} +5 ^{2]} (F04451 – F04460)

^{1]}投与期間終了時に剖検

^{2]}回復期間終了時に剖検

17.5.2. 交配群

群構成は、以下に示したように被験物質投与群として3群を設定し、その他に対照群を設けた。各群の動物数は、雌親12例とした。

群	投与量 (mg/kg/ day)	濃度 (mg/ mL)	ラベル の色	動物数 (動物番号)	
				雌親	
1群 対照 (Corn oil)	0	0	白色	12	 (F01161 – F01172)
2群 メチルシクロヘキサン	62.5	12.5	茶色	12	 (F02261 – F02272)
3群 メチルシクロヘキサン	250	50	青色	12	 (F03361 – F03372)
4群 メチルシクロヘキサン	1000	200	紫色	12	 (F04461 – F04472)

17.6. 投与量設定の理由

メチルシクロヘキサンの投与量は、予備試験³⁾（投与段階: 0, 200, 500 及び 1000 mg/kg, 使用動

物数: 各群雌雄各 5 例, 投与期間: 14 日間) の結果から決定した。予備試験において, 1000 mg/kg 群の雌雄で胸腺重量の低値及び肝臓重量の高値, 雄で血小板数の高値, 白血球数の低値, 総蛋白量及び総コレステロール値の高値が認められたのみであった。

そこで, 当試験では, OECD Guideline for Testing of Chemicals for Combined Repeated Dose Toxicity Study with the Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test (OECD TG422, March 22, 1996) で上限量としている 1000 mg/kg を高用量とし, 以下公比 4 で 250 mg/kg を中間用量, 62.5 mg/kg を低用量に設定した。

対照として媒体 (Com oil) のみを被験物質投与群と同容量投与する群を設けた。

17.7. 観察及び検査項目

17.7.1. 主試験群雌雄

17.7.1.1. 一般状態

死亡の有無の確認及び一般状態の観察は, 投与期間中に投与前及び投与後 (投与後 2 – 137 分) の 1 日 2 回, 回復期間中に 1 日 1 回及び剖検日に 1 回行った。

投与期間中に詳細な観察 (FOB) を実施した場合は, 詳細な観察 (FOB) 終了後に投与後の一般状態を観察した。ただし, 詳細な観察 (FOB) を行う前に流涎が確認された場合は, それを一般状態として記録した (15.2. 試験計画書に従わなかつたこと参照)。

自発運動量測定を実施した場合は, 自発運動量測定終了後に投与後の一般状態を観察した。

17.7.1.2. 体重

体重は, 1 週間に 2 回測定した [測定日: 投与 1, 4, 8, 11, 15, 18, 22, 25, 28 及び 29 日 (回復 1 日), 回復 4, 8, 11, 14 及び 15 日 (電子天秤: PB3002, PG2002-S 又は PB3002-S/FACT, メトラー・トレド株式会社)]。

17.7.1.3. 摂餌量

摂餌量は, 1 週間に 2 回 1 日量を測定した [雄の残量測定日: 投与 2, 5, 9 及び 12 日, 回復 2, 5, 9 及び 12 日, 雌の残量測定日: 投与 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23 及び 26 日, 回復 2, 5, 9 及び 12 日 (電子天秤: PB3002, PG2002-S 又は PB3002-S/FACT, メトラー・トレド株式会社)]. 摂餌量の Tables, Figs 及び Appendices の表示は残量の測定日とした。

17.7.1.4. 摂水量

摂水量は, 1 週間に 2 回 1 日量を測定した [雄の残量測定日: 投与 2, 5, 9 及び 12 日, 回復 2, 5,

9 及び 12 日, 雌の残量測定日: 投与 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23 及び 26 日, 回復 2, 5, 9 及び 12 日 (電子天秤: PB3002, PG2002-S 又は PB3002-S/FACT, メトラー・トレド株式会社)]. 摂水量の Tables, Figs 及び Appendices の表示は残量の測定日とした.

17.7.1.5. 詳細な観察 (FOB)

全例について、群分け日、投与 7, 14, 21 及び 27 日に下記の 1)–3)の項目を観察した。群分け日の観察は、午後 0 時 43 分 – 午後 2 時 20 分までの間に実施した。投与期間中の観察は、投与後約 1 時間（観察終了時刻：投与後 57–67 分）に実施した。観察者はほぼ固定し、Blind で実施した。

- 1) 姿勢、眼瞼閉鎖状態、常同行動（過度の身づくろい、反復旋回運動、噛み付き行動）、間代性痙攣及び強直性痙攣はケージ内で観察した。
- 2) ケージからの出し易さ、扱い易さ、筋の緊張、被毛の状態、粘膜の状態、流涙、流涎、立毛、瞳孔及び呼吸状態は手に持って観察した。
- 3) 排尿、排便、立ち上がり及び毛づくろい回数はオープンフィールド内で 2 分間観察した。また、同時に歩行状態、眼瞼閉鎖状態、覚醒度、異常行動及び正向反射をオープンフィールド内で観察した。

17.7.1.6. 感覚応答検査

投与期間終了時剖検例について、投与 27 日の詳細な観察 (FOB) 終了後に瞳孔反射、接近反射、触覚反射、聴覚反射及び痛覚反射を作業台の上で検査した。検査者はほぼ固定し、Blind で実施した。

17.7.1.7. 握力測定

投与期間終了時剖検例について、投与 27 日の感覚応答検査終了後に CPU ゲージ (San Diego Instruments Inc.) を用いて、前肢及び後肢の握力を 5 回測定した。最高値と最低値を除いた中央の 3 測定値の平均値をその動物の握力値とした。測定者はほぼ固定し、Blind で実施した。

17.7.1.8. 自発運動量測定

投与期間終了時剖検例について、投与 26 日に Activity Monitor (MED Associates Inc.) を使用し、歩行量及び立ち上がり回数について投与後 1 時間から 2 時間まで 10 分間隔で測定した。

17.7.1.9. 尿検査

投与期間終了前(雄は投与 22 日, 雌は投与 24 日, 投与検体投与前)に投与期間終了時の剖検用動物, 回復期間終了前(回復 12 日)に回復期間終了時の剖検用動物について, 採尿ケージを用いて絶食・給水下で新鮮尿を採取した。その後, 引き続いで給餌・給水下で 24 時間尿を採取した。採取した尿について, 以下の検査を実施した。検査後の尿は廃棄した。

項目	測定方法	使用機器
尿量 (UV) ^{b)}	重量測定及び尿比重より算出	電子天秤 PB3002-S/FACT(メトラー・トレド株式会社)
色調 ^{a)}	外観判定	-
尿比重 (SG) ^{b)}	屈折率	屈折型尿比重計 ユリペット-II D(株式会社ニコン)
pH ^{a)} 蛋白質 ^{a)} ブドウ糖 ^{a)} ケトン体 ^{a)} ビリルビン ^{a)} 潜血 ^{a)} ウロビリノーゲン ^{a)}	尿検査試験紙	尿化学分析装置 クリニテック アドバンタス (シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス株式会社)
沈渣(上皮細胞, 赤血球, 白血球, 円柱, 結晶) ^{a)}	鏡検	顕微鏡(オリンパス株式会社)

a) 新鮮尿

b) 24 時間尿

17.7.1.10. 血液学的検査

最終投与の翌日（投与 29 日）及び回復期間終了後（回復 15 日）にペントバルビタールナトリウムの腹腔内投与（40 mg/kg）による麻酔下で腹大動脈から EDTA-2K コーティングチューブ（ベノジエクト[®]II 真空採血管、VP-DK052K05、テルモ株式会社）に血液を採取し（麻酔時刻：午前 9 時 30 分 – 11 時 03 分、採血時刻：午前 9 時 39 分 – 11 時 14 分），以下の血液学的検査を実施した。動物は、動物飼育室から移動後、1 時間以上経過してから採血した。プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間及びフィブリノーゲン濃度は、血液を 3.2 w/v% クエン酸ナトリウムで処理後、遠心分離 [約 4°C, 3000 rpm（約 1972×g）、15 分間、遠心機：CF 8DL、日立工機株式会社] して得た血漿を用いて測定した。測定後の残余血液は廃棄した。

項目	測定方法	使用機器
赤血球数 (RBC)	シースフローDC 検出法	
ヘモグロビン量	SLS ヘモグロビン法	
ヘマトクリット値	赤血球パレス波高値検出法	
血小板数	シースフローDC 検出法	
平均赤血球容積 (MCV)	RBC 及び HCT より算出	多項目自動血球分析装置 XT-2000iV (シスメックス株式会社)
平均赤血球血色素量 (MCH)	RBC 及び HGB より算出	
平均赤血球血色素濃度 (MCHC)	HCT 及び HGB より算出	
白血球数 (WBC)		
白血球分類	フローサイトメトリー法	
網状赤血球比率		
プロトロンビン時間 (PT)		全自動血液凝固測定装置 CA-530 (シスメックス株式会社)
活性化部分トロンボ プラスチン時間 (APTT)	光散乱検出方式	
フィブリノーゲン濃度		

17.7.1.11. 血液生化学的検査

血液学的検査用の血液と同時期に腹大動脈から採取した血液を遠心分離 [約 4°C, 3000 rpm（約 1972×g）、15 分間、遠心機：CF 8DL、日立工機株式会社] して得た血清は、血液生化学的検査測定用血清（0.6 mL）1 本、血中ホルモン測定用血清（0.3 mL）3 本及び保管用血清（0.3 mL）4 本に分け

て分取した(小分けチューブ: Safe-Lock Tubes, 1.5 mL, エッペンドルフ株式会社)。血中ホルモン測定用血清及び保管用血清は冷凍庫内に保管した。

血液生化学的検査測定用血清について、以下の血液生化学的検査を実施し、測定後の残余血清は廃棄した。

項目	測定方法	使用機器
AST	MDH-UV 法 (JSCC 標準化対応法)	
ALT	LDH-UV 法 (JSCC 標準化対応法)	
ALP	p-ニトロフェニルリン酸基質法 (JSCC 標準化対応法)	
γ-GT	L-γ-グルタミル-3-カルボキシ-4-ニトロアニリド基質法 (JSCC 標準化対応法)	
総コレステロール	COD-HDAOS 法	
トリグリセライド	GPO-HDAOS 法 (グリセリン消去法)	生化学自動分析装置 AU 400
総蛋白	Biuret 法	(ベックマン・コールター・バイオメディカル株式会社)
尿素窒素	ウレアーゼ・GIDH 法	
クレアチニン	クレアチニナーゼ・F-DAOS 法	
総ビリルビン	BOD 法	
ブドウ糖	ヘキソキナーゼ・G-6-PDH 法	
無機リン	PNP-XDH 法	
カルシウム (Ca)	o-CPC 法	
ナトリウム (Na)	イオン選択電極法	
カリウム (K)	イオン選択電極法	
塩素 (Cl)	イオン選択電極法	

項目	測定方法	使用機器
アルブミン	蛋白分画値(電気泳動法)と総蛋白値から算出	—
A/G	蛋白分画値(電気泳動法)からの算出	自動電気泳動装置 AES 320 (ベックマン・コールター・バイオメディカル株式会社)

17.7.1.12. 血中ホルモンの測定

血中ホルモン測定用血清及び保管用血清の保管場所の温度を以下に示した。

サンプル	保管容器	保管場所	温度
血中ホルモン測定用血清及び保管用血清 (a)	Safe-Lock Tubes, 1.5 mL (エッペンドルフ株式会社)	超低温フリーザー: ULT1786-9JD (Kendro Laboratory Products)	設定: -80°C 許容範囲: -90--70°C 実測値: -84--73°C

(a) 2010年11月12日(初回採血日)-2010年12月17日(測定終了日)

投与期間終了時剖検例について、トリヨードサイロニン(T3)、サイロキシン(T4)及び甲状腺刺激ホルモン(TSH)を以下の方法で測定した。二重測定とし、2測定値の平均値をその動物の値とした。測定後の残余血清は廃棄した。

T3、T4及びTSH測定に使用した測定キットは、使用前に事前評価し、支障がないことを確認した。
保管用血清及び回復期間終了時剖検例の血中ホルモン測定用血清は、再測定あるいは他のホルモン測定の必要がないことを確認後、廃棄した。

項目	測定方法	使用機器
トリヨードサイロニン(T3)	Mouse/Rat Triiodothyronine (T3) ELISA Kit (Calbiotech, Inc.)	マイクロプレートリーダー (POWERSCAN HT, DSファーマバイオメディカル株式会社)
サイロキシン(T4)	Mouse/Rat Thyroxine (T4) ELISA Kit (Calbiotech, Inc.)	解析ソフト (KC4,V3.4, DSファーマバイオメディカル株式会社)
甲状腺刺激ホルモン(TSH)	Rodent TSH ELISA Test Kit (Endocrine Technologies, Inc.)	解析ソフト (KC4,V3.4, DSファーマバイオメディカル株式会社)

17.7.1.13. 剖検及び器官重量の測定

上記の18.7.1.10.及び18.7.1.11.の項で採血した動物をさらに放血して安楽死させた後、剖検した。

雌は、剖検日を含む4日間(1日1回)、膣垢検査により性周期を観察し、剖検日の性周期を決定した。

雌の剖検日の性周期は病理組織学的検査のための参考とし、個別表のみ作成した。

脳、下垂体、唾液腺(舌下腺、顎下腺)、甲状腺、胸腺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、精巢、精巢上体、前立腺腹葉、精嚢(凝固腺を含む)、卵巣及び子宮は重量を測定した(電子天秤: AB204、メトラー・トレド株式会社)。なお、下垂体及び甲状腺重量は、10 vol%中性緩衝ホルマリンで1晩固定後、測定した。対器官は一括秤量した。

各器官重量を最終体重で除して相対重量も算出した。

17.7.1.14. 病理組織学的検査

心臓、肺、気管、肝臓、脾臓、舌下腺、顎下腺、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸(パイエル板を含む)、盲腸、結腸、直腸、胸腺、脾臓、下頸リンパ節、腸間膜リンパ節、腎臓、膀胱、精巢、精巢上体、前立腺腹葉、精嚢(凝固腺を含む)、卵巣、子宮、膣、下垂体、副腎、甲状腺[上皮小体を含む、ただし、1000 mg/kg群の雄1例(No.M04405)及び対照群の雌2例(No.F01153, F01155)の上皮小体を除く: 15.2. 試験計画書に従わなかったこと参照]、大脳、小脳、橋、脊髄、坐骨神経、眼球、ハーダー腺、胸骨(骨髓を含む)、大腿骨(骨髓を含む)、大腿直筋及び乳腺は、10 vol%中性緩衝ホルマリンで固定した。ただし、肺及び気管は10 vol%中性緩衝ホルマリンを注入後、10 vol%中性緩衝ホルマリンに浸漬固定し、精巢及び精巢上体はブアン液で2-3時間固定後、10 vol%中性緩衝ホルマリンに再固定し、眼球はグルタルアルデヒド・ホルマリンで1晩固定後、10 vol%中性緩衝ホルマリンに再固定した。

対照群及び1000 mg/kg群の投与期間終了時に剖検した動物について、上記器官・組織のHE染色組織標本を作製し、病理組織学的検査を実施した。また、62.5 mg/kg群の投与期間終了時の剖検で異常の認められた精巢及び精巢上体について、HE染色組織標本により、病理組織学的検査を実施した。

なお、精巢については、PAS-ヘマトキシリン染色組織標本も作製したが、PAS-ヘマトキシリン染色組織標本での検査は必要ないと判断したため、病理組織学的検査はHE染色組織標本にて行った。

雄の1000 mg/kg群で病理組織学的に毒性影響が示唆された腎臓については、雄の250及び62.5 mg/kg群の投与期間終了時の剖検例並びに回復期間終了時の剖検例についても病理組織学的検査を実施した。さらに、雄の投与期間終了時の剖検例で、対照群及び1000 mg/kg群の動物番号の若い3例(M01101, M01102, M01103, M04401, M04402, M04403)はα2uグロブリン抗体を

用いた免疫染色組織標本を作製して α 2uグロブリン抗体に対する反応性を観察した¹¹⁾。陰性対照として、雌の対照群の動物番号の若い3例(F01151, F01152, F01153)を用いた。陽性対照として α 2uグロブリン抗体陽性の成熟雄ラット3例を用いた。

切り出し後の器官・組織は、10 vol%中性緩衝ホルマリンで保管した。

17.7.2. 交配群雌親

17.7.2.1. 一般状態

死亡の有無の確認及び一般状態の観察は、投与期間中に投与前及び投与後(投与後4–124分)の1日2回及び剖検日に1回行った。

投与期間中に詳細な観察(FOB)を実施した場合は、詳細な観察(FOB)終了後に投与後の一般状態を観察した。ただし、詳細な観察(FOB)を行う前に流涎が確認された場合は、それを一般状態として記録した(15.2. 試験計画書に従わなかつたこと参照)。

17.7.2.2. 体重

体重は、交配開始前、交配期間中及び交配期間終了後には1週間に2回[測定日：投与1, 4, 8, 11, 15(交配開始日)及び18日、妊娠期間中には妊娠0, 7, 14及び20日、哺育期間中には哺育0, 4及び5日に測定した(電子天秤: PB3002, PG2002-S又はPB3002-S/FACT, メトラー・トレド株式会社)]。

17.7.2.3. 摂餌量

摂餌量は、交配開始前には1週間に2回1日量(残量測定日：投与2, 5, 9及び12日)、妊娠期間中には妊娠2, 9, 16及び20日に1日量、哺育期間中には哺育2日に1日量を測定した(電子天秤: PB3002, PG2002-S又はPB3002-S/FACT, メトラー・トレド株式会社)。摂餌量のTables, Figs及びAppendicesの表示は残量の測定日とした。

17.7.2.4. 摂水量

摂水量は、交配開始前には1週間に2回1日量(残量測定日：投与2, 5, 9及び12日)、妊娠期間中には妊娠2, 9, 16及び20日に1日量、哺育期間中には哺育2日に1日量を測定した(電子天秤: PB3002, PG2002-S又はPB3002-S/FACT, メトラー・トレド株式会社)。摂水量のTables, Figs及びAppendicesの表示は残量の測定日とした。

17.7.2.5. 詳細な観察(FOB)

全例について、群分け日、投与7及び14日、妊娠1, 8及び15日、哺育4日に下記の1)–3)の項

目を観察した。群分け日の観察時刻は、午後2時19分–午後3時52分までの間とした。投与期間中の観察時刻は、投与後約1時間(観察終了時刻：投与後59–66分)とした。観察者はほぼ固定し、Blindで実施した。

- 1) 姿勢、眼瞼閉鎖状態、常同行動(過度の身づくろい、反復旋回運動、噛み付き行動)、間代性痙攣及び強直性痙攣はケージ内で観察した。
- 2) ケージからの出し易さ、扱い易さ、筋の緊張、被毛の状態、粘膜の状態、流涙、流涎、立毛、瞳孔及び呼吸状態は手に持って観察した。
- 3) 排尿、排便、立ち上がり及び毛づくろい回数はオープンフィールド内で2分間観察した。また、同時に歩行状態、眼瞼閉鎖状態、覚醒度、異常行動及び正向反射をオープンフィールド内で観察した。

17.7.2.6. 性周期観察

性周期観察は、投与開始日から交尾確認前日まで1日1回、膣垢を検査して行った。

17.7.2.7. 分娩状態の観察

母動物は自然分娩させ、分娩状態の異常(衰弱、多量の出血、出産児の食殺など)の有無及び触診による分娩終了の確認を妊娠21日から妊娠25日まで1日1回(午前10時頃)行った。午前10時頃に分娩が終了していた場合、その日を哺育0日とした。

17.7.2.8. 妊娠25日までに分娩しなかった雌親の剖検

妊娠25日の午前10時頃までに分娩しなかった雌親は、体重測定(電子天秤: PB3002又はPG2002-S、メトラー・トレド株式会社)後、ペントバルビタールナトリウム(40 mg/kg)の腹腔内投与による麻酔下で腹大動脈から放血して安樂死させた後に剖検し、妊娠の有無の確認を行った。

着床の認められなかった雌親は不妊動物とした。

脾臓、舌下腺、顎下腺、卵巣、子宮、膣及び乳腺は、10 vol%中性緩衝ホルマリンで固定し、保管した。

雌親の体重は参考値とし、個別表のみ作成した。

17.7.2.9. 哺育状態の観察

哺育状態(乳頭発達、巣作り行動、授乳行動など)の異常の有無は、哺育0から4日まで1日1回観察した。

17.7.2.10. 全児動物が死亡した母動物の剖検

全児動物が死亡した母動物は、体重を測定し(電子天秤: PB3002, メトラー・トレド株式会社), ペントバルビタールナトリウム(40 mg/kg)の腹腔内投与による麻酔下で腹大動脈から放血して安楽死させた後に剖検し、妊娠黄体数及び着床数の算定を行った。

膵臓、舌下腺、顎下腺、卵巣、子宮、臍及び乳腺は、10 vol%中性緩衝ホルマリンで固定し、保管した。

なお、母動物の体重は参考値とし、個別表のみ作成した。

17.7.2.11. 哺育 5 日の母動物の剖検及び器官重量の測定

母動物は、哺育 5 日にペントバルビタールナトリウム(40 mg/kg)の腹腔内投与による麻酔下で腹大動脈から放血して安楽死させた後に剖検し、妊娠黄体数及び着床数の算定を行った。

卵巣及び子宮は重量を測定した(電子天秤: AB204, メトラー・トレド株式会社)。対器官は一括秤量した。

各器官重量を最終体重で除して相対重量も算出した。

17.7.2.12. 哺育 5 日の母動物の病理組織学的検査

膵臓、舌下腺、顎下腺、卵巣、子宮、臍及び乳腺は、10 vol%中性緩衝ホルマリンで固定した。

対照群及び 1000 mg/kg 群の各 6 例(動物番号の若い順)について、卵巣、子宮、臍及び乳腺の HE 染色組織標本を作製し、病理組織学的検査を実施した。

切り出し後の器官・組織は、10 vol%中性緩衝ホルマリンで保管した。

17.7.3. 親動物の生殖発生検査

2 週間投与された主試験群雄と交配群雌親を同用群内で動物番号の若い順に 1 対 1 の組み合わせで同居交配させた。

交配期間は 14 日間を限度とし、交尾確認まで連続同居交配とした。ただし、交配開始後 5 日以内に全例が交尾した。交尾確認は毎朝ほぼ一定時刻に行い、臍栓又は臍垢内に精子を確認した雌親を交尾動物として、その日を妊娠 0 日とした。

17.7.4. 児動物

17.7.4.1. 出産時観察

出産時に総出産児数と性、死産児数、新生児数及び外表異常の有無を観察した。

死産児は、体重を測定し(電子天秤: PG2002-S 又は PB3002, メトラー・トレド株式会社), 剖検後, 10 vol%中性緩衝ホルマリンで固定し, 保管した.

分娩終了の観察時に不明な児動物は、死産児が母動物により喰殺されたものとし、死産児に含めた。

17.7.4.2. 一般状態

死亡の有無の確認及び一般状態の観察は、1日1回行った。

観察時に不明な児動物は、死亡した児動物が母動物により喰殺されたものとし、死亡児に含めた。

17.7.4.3. 死亡児動物

死亡児動物は、体重を測定し(電子天秤: PB3002 又は PG2002-S, メトラー・トレド株式会社), 剖検した。

児動物のその日の体重は参考値とし、個別表のみ作成した。

17.7.4.4. 体重

体重は、哺育0及び4日に測定した(電子天秤: PG2002-S 又は PB3002, メトラー・トレド株式会社)。

17.7.4.5. 哺育4日剖検

児動物は、哺育4日に20%イソフルランによる麻酔下で腹大動脈から放血して安楽死させた後、剖検した。

17.7.5. 各種データの算出式

交尾率(%)=(交尾成立動物数/同居動物数)×100

受胎率(%)=(受胎雌親数/交尾成立動物数)×100

出産率(%)=(新生児出産雌親数/受胎雌親数)×100

妊娠期間(日)=分娩日(哺育0日)-交尾確認日

着床率(%)=(着床数/妊娠黄体数)×100

分娩率(%)=(総出産児数/着床数)×100

児の産出率(%)=(哺育0日の新生児数/着床数)×100

出生率(%)=(哺育0日の新生児数/総出産児数)×100

哺育4日の生存率 (%) = (哺育4日の生存児数/哺育0日の新生児数) × 100

性比 = 雄/雌

外表異常の出現率 (%) = (外表異常新生児数/新生児数) × 100

17.8. 統計学的方法

測定値の統計学的解析は、下記のように行った。

有意水準は、Bartlett検定⁴⁾及びF検定⁴⁾は5%，その他の検定は両側5%及び1%とした。

一般状態、尿検査での色調、pH、蛋白質、ブドウ糖、ケトン体、ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲン及び沈渣並びに剖検所見について統計学的解析は行わなかった。不妊雌親の交尾後の一般状態、体重、摂餌量、摂水量及び詳細な観察(FOB)は集計から除外した。児動物の項目は一腹の平均を1単位とし、児動物の体重は一腹の平均値と腹重量値を算出した。

- a) 体重、摂餌量、摂水量、詳細な観察(FOB)における排尿、排便、立ち上がり及び毛づくろい回数、握力、自発運動量、尿量、尿比重、血液学的検査、血液生化学的検査、血中ホルモン濃度(T3, T4, TSH)、器官重量(相対重量を含む)、発情回数、交尾所要日数、妊娠期間、妊娠黄体数、着床数、総出産児数、哺育0日の新生児数、死産児数及び哺育4日の生存児数については、各群で平均値及び標準偏差を算出した。

次に、Bartlett検定により分散の一様性を検定した。その結果、等分散の場合には対照群と各被験物質投与群との間でDunnett検定⁵⁾を実施した。不等分散の場合には、対照群と各被験物質投与群との間でSteel検定⁶⁾を実施した。

- b) 着床率、分娩率、児の産出率、出生率、哺育4日の生存率、性比及び外表異常の出現率については、各群で平均値及び標準偏差を算出した。

次に、対照群と各被験物質投与群との間でSteel検定を実施した。

- c) 回復期間中の雌の体重、摂餌量、摂水量、尿量、尿比重、血液学的検査、血液生化学的検査及び器官重量(相対重量を含む)については、F検定により対照群と1000 mg/kg群との間で分散の一様性の検定を実施し、等分散の場合にはStudentのt検定⁴⁾、不等分散の場合にはAspin-Welchのt検定⁴⁾を実施した。

- d) 詳細な観察(FOB)(ただし、排尿、排便、立ち上がり及び毛づくろい回数を除く)及び感覚応答検査については、各群で平均値及び範囲を算出した。次に、Steel検定を実施した。

- e) 交尾率、受胎率及び出産率については、対照群と各被験物質投与群との間でFisherの正確検定⁷⁾を実施した。

- f) 病理組織学的検査において、1000 mg/kg群で毒性学的影響が示唆され、250及び62.5 mg/kg群についても検査を実施した腎臓の所見については、対照群と各被験物質投与群との間で

Steel検定を実施した。1000 mg/kg群において対照群との間に有意差が認められた場合は、Cochran・Armitageの傾向検定^{8),9)}を用いて用量反応性の検定を行った。

Dunnett検定及びSteel検定には、統計パッケージSASのPROBMC関数¹⁰⁾を使用した。

18. 試験結果

18.1. 反復投与毒性

18.1.1. 一般状態

18.1.1.1. 投与期間中雄 (Table 1; Appendices 1-1 – 1-4)

死亡例又は瀕死例は、いずれの群にも認められなかった。

1000 mg/kg 群で投与後に一過性の流涎が 11 例にみられた。250 及び 62.5 mg/kg 群並びに対照群では、一般状態の異常はみられなかった。

18.1.1.2. 投与期間中雌 (Table 2; Appendices 2-1 – 2-4)

死亡例又は瀕死例は、いずれの群にも認められなかった。

1000 mg/kg 群で投与後に一過性の流涎が 9 例にみられた。250 及び 62.5 mg/kg 群並びに対照群では、一般状態の異常はみられなかった。

18.1.1.3. 回復期間中雄 (Table 1; Appendices 1-1 – 1-4)

死亡例又は瀕死例は、いずれの群にも認められなかった。

いずれの群とも、一般状態の異常はみられなかった。

18.1.1.4. 回復期間中雌 (Table 2; Appendices 2-1 and 2-4)

死亡例又は瀕死例は、いずれの群にも認められなかった。

1000 mg/kg 群及び対照群では、一般状態の異常はみられなかった。

18.1.1.5. 交配群雌親 (Tables 3, 4, and 5; Appendices 3-1 – 3-4, 4-1 – 4-4, and 5-1 – 5-4)

死亡例、瀕死例、流産例又は早産例は、いずれの群にも認められなかった。

1000 mg/kg 群で一過性の流涎が交配開始前及び交配期間中は 7 例、妊娠期間中は 9 例、哺育期間中には 3 例にみられた。250 及び 62.5 mg/kg 群並びに対照群では、交配開始前、交配期間中、妊娠期間中及び哺育期間中とも一般状態の異常はみられなかった。

18.1.2. 体重

18.1.2.1. 投与期間中雄 (Table 6; Fig. 2; Appendices 6-1 – 6-4)

各投与群とも、対照群と比べて各測定日の体重に有意差はみられなかった。

18.1.2.2. 投与期間中雌 (Table 7; Fig. 3; Appendices 7-1 – 7-4)

各投与群とも、対照群と比べて各測定日の体重に有意差はみられなかった。

18.1.2.3. 回復期間中雄 (Table 6; Fig. 2; Appendices 6-1 – 6-4)

各投与群とも、対照群と比べて各測定日の体重に有意差はみられなかった。

18.1.2.4. 回復期間中雌 (Table 7; Fig. 3; Appendices 7-1 and 7-4)

1000 mg/kg群では、対照群と比べて各測定日の体重に有意差はみられなかった。

18.1.2.5. 交配群雌親 (Tables 8, 9, and 10; Fig. 4; Appendices 8-1 – 8-4, 9-1 – 9-4, and 10-1 – 10-4)

62.5 mg/kg 群では、対照群と比べて投与 11 日及び 15 日の体重に有意な高値がみられたが、投与量に依存した変化ではないことから、毒性学的影響とは考えられない。1000 及び 250 mg/kg 群では、対照群と比べて各測定日の体重に有意差はみられなかった。

18.1.3. 摂餌量

18.1.3.1. 投与期間中雄 (Table 11; Fig. 5; Appendices 11-1 – 11-4)

各投与群とも、対照群と比べて各測定日の摂餌量に有意差はみられなかった。

18.1.3.2. 投与期間中雌 (Table 12; Fig. 6; Appendices 12-1 – 12-4)

各投与群とも、対照群と比べて各測定日の摂餌量に有意差はみられなかった。

18.1.3.3. 回復期間中雄 (Table 11; Fig. 5; Appendices 11-1 – 11-4)

各投与群とも、対照群と比べて各測定日の摂餌量に有意差はみられなかった。

18.1.3.4. 回復期間中雌 (Table 12; Fig. 6; Appendices 12-1 and 12-4)

1000 mg/kg群では、対照群と比べて各測定日の摂餌量に有意差はみられなかった。

18.1.3.5. 交配群雌親 (Tables 13, 14, and 15; Fig. 7; Appendices 13-1 – 13-4, 14-1 – 14-4, and 15-1 – 15-4)

250 mg/kg 群では、対照群と比べて投与 2 日の摂餌量に有意な高値がみられたが、投与量に依存した変化ではないことから、毒性学的影響とは考えられない。1000 mg/kg 群では、対照群と比べて妊娠 9 日に摂餌量に有意な高値がみられたが、その他の測定日に変化は認められないため、毒性学的影響とは考えられない。62.5 mg/kg 群では、対照群と比べて各測定日の摂餌量に有意差はみられなかった。

18.1.4. 摂水量

18.1.4.1. 投与期間中雄 (Table 16; Fig. 8; Appendices 16-1 – 16-4)

62.5 mg/kg 群では、対照群と比べて投与 12 日の摂水量に有意な低値がみられたが、投与量に依存した変化ではないことから、毒性学的影響とは考えられない。1000 及び 250 mg/kg 群では、対照群と比べて各測定日の摂水量に有意差はみられなかった。

18.1.4.2. 投与期間中雌 (Table 17; Fig. 9; Appendices 17-1 – 17-4)

各投与群とも、対照群と比べて各測定日の摂水量に有意差はみられなかった。

18.1.4.3. 回復期間中雄 (Table 16; Fig. 8; Appendices 16-1 – 16-4)

各投与群とも、対照群と比べて各測定日の摂水量に有意差はみられなかった。

18.1.4.4. 回復期間中雌 (Table 17; Fig. 9; Appendices 17-1 and 17-4)

1000 mg/kg群では、対照群と比べて各測定日の摂水量に有意差はみられなかった。

18.1.4.5. 交配群雌親 (Tables 18, 19, and 20; Fig. 10; Appendices 18-1 – 18-4, 19-1 – 19-4, and 20-1 – 20-4)

1000 mg/kg群では、対照群と比べて投与12日に摂水量の有意な低値、妊娠2日及び20日に有意な高値がみられた。主試験群では投与期間中の摂水量に変化はみられないことから、投与12日の変化は毒性学的影響とは考えられない。250及び62.5 mg/kg群では、対照群と比べて各測定日の摂水量に有意差はみられなかった。

18.1.5. 詳細な観察 (FOB)

18.1.5.1. 雄 (Table 21; Appendices 21-1 – 21-4)

動物を手に持って行った観察では、1000 mg/kg群で軽度の流涎を示す例が投与14日に6例、21日に4例、27日に3例にみられ、投与14日のグレードについては対照群と比べて有意差がみられた。オープンフィールド内の観察では、62.5及び1000 mg/kg群で対照群と比べ投与14日に排便回数の有意な高値がみられたが、一過性の変化であることから、毒性学的影響とは考えられない。また、62.5 mg/kg群で対照群と比べて投与21日に排便回数の有意な高値がみられたが、投与量に依存した変化ではないことから、毒性学的影響とは考えられない。

250 mg/kg群では、各測定日のいずれの項目にも異常はみられなかった。

18.1.5.2. 雌 (Table 22; Appendices 22-1 – 22-4)

動物を手に持って行った観察では、1000 mg/kg 群で軽度の流涎を示す例が投与 14 日及び 21 日に各 1 例にみられた。オープンフィールド内の観察では、対照群に比べて 250 mg/kg 群で投与 21 日に排便回数の有意な高値がみられたが、投与量に依存した変化ではないことから、毒性学的影響とは考えられない。.

62.5 mg/kg群では、各測定日のいずれの項目にも異常はみられなかった。

18.1.5.3. 交配群雌親 (Table 23; Appendices 23-1 – 23-4)

動物を手に持って行った観察では、1000 mg/kg群で軽度の流涎を示す例が哺育4日に3例にみられた。オープンフィールド内の観察では、対照群に比べて62.5 mg/kg群で妊娠8日に、1000 mg/kg群で妊娠15日に排尿回数の有意な低値がみられたが、一過性の変化であることから、毒性学的影響とは考えられない。

250 mg/kg群では、各測定日のいずれの項目にも異常はみられなかった。

18.1.6. 感覚応答

18.1.6.1. 投与期間終了時雄 (Table 24; Appendices 24-1 – 24-4)

いずれの群とも、各項目に異常はみられなかった。

18.1.6.2. 投与期間終了時雌 (Table 25; Appendices 25-1 – 25-4)

いずれの群とも、各項目に異常はみられなかった。

18.1.7. 握力

18.1.7.1. 投与期間終了時雄 (Table 26; Appendices 26-1 – 26-4)

各投与群とも、対照群と比べて前肢及び後肢の握力に有意差はみられなかった。

18.1.7.2. 投与期間終了時雌 (Table 27; Appendices 27-1 – 27-4)

各投与群とも、対照群と比べて前肢及び後肢の握力に有意差はみられなかった。

18.1.8. 自発運動量

18.1.8.1. 投与期間終了時雄 (Table 28; Appendices 28-1 – 28-4)

各投与群とも、対照群と比べて各測定項目に有意差はみられなかった。

18.1.8.2. 投与期間終了時雌 (Table 29; Appendices 29-1 – 29-4)

各投与群とも、対照群と比べて各測定項目に有意差はみられなかった。

18.1.9. 尿検査

18.1.9.1. 投与期間終了時雄 (Table 30; Appendices 30-1 – 30-4)

1000 mg/kg群では、対照群と比べて尿量の有意な高値がみられたが、回復期間終了時雄の対照群の数値 (13.4 mL) からも明らかのように、投与期間終了時雄の対照群の数値 (8.7 mL) が低値のために生じた変化であり、毒性学的影響とは考えられない。

各投与群とも、色調、pH、蛋白質、ブドウ糖、ケトン体、ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲン及び沈渣は対照群とほぼ同程度であった。

18.1.9.2. 投与期間終了時雌 (Table 31; Appendices 31-1 – 31-4)

各投与群とも、対照群と比べて尿量及び尿比重に有意差はみられなかった。

各投与群とも、色調、pH、蛋白質、ブドウ糖、ケトン体、ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲン及び沈渣は対照群とほぼ同程度であった。

18.1.9.3. 回復期間終了時雄 (Table 32; Appendices 32-1 – 32-4)

各投与群とも、対照群と比べて尿量及び尿比重に有意差はみられなかった。

各投与群とも、色調、pH、蛋白質、ブドウ糖、ケトン体、ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲン及び沈渣は対照群とほぼ同程度であった。

18.1.9.4. 回復期間終了時雌 (Table 33; Appendices 33-1 and 33-2)

1000 mg/kg 群では、対照群と比べて尿量及び尿比重に有意差はみられなかった。

1000 mg/kg 群では、色調、pH、蛋白質、ブドウ糖、ケトン体、ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲン及び沈渣は対照群とほぼ同程度であった。

18.1.10. 血液学的検査

18.1.10.1. 投与期間終了時雄 (Table 34; Appendices 34-1 – 34-4)

各投与群とも、対照群と比べて各測定項目に有意差はみられなかった。

18.1.10.2. 投与期間終了時雌 (Table 35; Appendices 35-1 – 35-4)

1000 mg/kg 群では、対照群と比べて網状赤血球比率及び単球比率の有意な高値がみられた。

250 及び 62.5 mg/kg 群では、対照群と比べて各測定項目に有意差はみられなかった。

18.1.10.3. 回復期間終了時雄 (Table 36; Appendices 36-1 – 36-4)

1000 及び 250 mg/kg 群では、対照群と比べて MCHC の有意な低値がみられたが、投与期間終了時にはみられていない変化であること、試験施設の背景データの範囲 [MCHC: 36.3 ± 0.5 (g/dL); Attachment 10] 内の変化であることから、被験物質による影響とは考えられない。さらに各投与群では対照群と比べて白血球数の低値がみられ、1000 及び 62.5 mg/kg 群では有意差が認められたが、投与期間終了時にはみられていない変化であること、試験施設の背景データの範囲 [WBC: 67.3 ± 21.4 ($10^3/\mu\text{L}$); Attachment 10] 内の変化であることから、被験物質による影響とは考えられない。

なお、各投与群で好塩基球比率の有意な低値がみられたが、試験施設の背景データの範囲 [好塩基球比率: 0.0 ± 0.0 (%); Attachment 10] 内の変化であることから、被験物質による影響とは考えられない。

18.1.10.4. 回復期間終了時雌 (Table 37; Appendices 37-1 and 37-2)

1000 mg/kg 群では、対照群と比べて各測定項目に有意差はみられなかった。

18.1.11. 血液生化学的検査

18.1.11.1. 投与期間終了時雄 (Table 38; Appendices 38-1 – 38-4)

対照群と比べて、各投与群で総コレステロールの有意な高値、さらに 1000 mg/kg 群で ALT, γ -GT,

総蛋白及びCaの有意な高値、1000及び250 mg/kg群でClの有意な低値がみられた。

18.1.11.2. 投与期間終了時雌 (Table 39; Appendices 39-1 – 39-4)

1000 mg/kg群では、対照群と比べてブドウ糖の有意な低値がみられた。

250及び62.5 mg/kg群では、対照群と比べて各測定項目に有意差はみられなかった。

18.1.11.3. 回復期間終了時雄 (Table 40; Appendices 40-1 – 40-4)

1000 mg/kg群では、対照群と比べてALT及び総コレステロールの有意な高値がみられた。

250 mg/kg群では、対照群と比べてブドウ糖の有意な低値がみられたが、投与量に依存した変化ではないことから、毒性学的影響とは考えられない。62.5 mg/kg群では、対照群と比べて各測定項目に有意差はみられなかった。

18.1.11.4. 回復期間終了時雌 (Table 41; Appendices 41-1 and 41-2)

1000 mg/kg群では、対照群と比べて各測定項目に有意差はみられなかった。

18.1.12. 血中ホルモン濃度

18.1.12.1. 投与期間終了時雄 (Table 42; Appendices 42-1 – 42-4)

各投与群とも、対照群と比べてT3、T4及びTSH濃度に有意差はみられなかった。

18.1.12.2. 投与期間終了時雌 (Table 43; Appendices 43-1 – 43-4)

各投与群とも、対照群と比べてT3、T4及びTSH濃度に有意差はみられなかった。

18.1.13. 剖検所見

18.1.13.1. 投与期間終了時雄 (Table 44; Appendices 44-1 – 44-4)

1000 mg/kg群で両側性の精巣及び精巣上体の小型化が1例 (No.M04401)、62.5 mg/kg群で片側性の精巣及び精巣上体の小型化が1例 (No.M02202)、対照群で両側性の精巣の小型化及び軟化が1例 (No.M01105) にみられた。

18.1.13.2. 投与期間終了時雌 (Table 45; Appendices 45-1 – 45-4)

いずれの群とも、異常はみられなかった。

18.1.13.3.回復期間終了時雄 (Table 46; Appendices 46-1 – 46-4)

いずれの群とも、異常はみられなかった。

18.1.13.4.回復期間終了時雌 (Table 47; Appendices 47-1 and 47-2)

1000 mg/kg群及び対照群では、異常はみられなかった。

18.1.13.5.交配群雌親 (Table 48; Appendices 48-1 – 48-4)

いずれの群とも、異常はみられなかった。

18.1.14. 器官重量

18.1.14.1.投与期間終了時雄 (Table 49; Appendices 49-1 – 49-4)

剖検日の体重は、各投与群とも対照群と比べて有意差はみられなかった。

1000 mg/kg群では、対照群と比べて肝臓及び腎臓の絶対重量及び相対重量の有意な高値がみられた。250 mg/kg群では、対照群と比べて肝臓の相対重量の有意な高値がみられた。

62.5 mg/kg群では、対照群と比べて腎臓の相対重量の有意な高値がみられたが、試験施設の背景データの範囲 [腎臓相対重量: 0.68 ± 0.06 (g%); Attachment 14] 内の変化であることから、被験物質による影響とは考えられない。

18.1.14.2.投与期間終了時雌 (Table 50; Appendices 50-1 – 50-4)

剖検日の体重は、各投与群とも対照群と比べて有意差はみられなかった。

1000 mg/kg群では、対照群と比べて副腎の絶対重量及び相対重量の有意な高値、肝臓の相対重量の有意な高値及び肝臓の絶対重量の高値傾向、腎臓及び子宮の相対重量の有意な高値がみられた。このうち、子宮の相対重量については、試験施設の背景データの範囲 [子宮相対重量: 211 ± 55 (mg%); Attachment 15] 内の変化であることから、被験物質による影響とは考えられない。

250及び62.5 mg/kg群では、対照群と比べて各器官の絶対重量及び相対重量に有意差はみられなかった。

18.1.14.3.回復期間終了時雄 (Table 51; Appendices 51-1 – 51-4)

剖検日の体重は、各投与群とも対照群と比べて有意差はみられなかった。

1000 mg/kg群では、対照群と比べて精巣の相対重量の有意な高値がみられたが、投与期間終了時には認められなかった変化であることから、被験物質による影響とは考えられない。

250及び62.5 mg/kg群では、対照群と比べて各器官の絶対重量及び相対重量に有意差はみられなかった。

18.1.14.4. 回復期間終了時雌 (Table 52; Appendices 52-1 and 52-2)

剖検日の体重は、1000 mg/kg群では対照群と比べて有意差はみられなかった。

1000 mg/kg群では、対照群と比べて肝臓の絶対重量の有意な高値がみられた。

18.1.14.5. 交配群雌親 (Table 53; Appendices 53-1 – 53-4)

剖検日の体重は、各投与群とも対照群と比べて有意差はみられなかった。

各投与群とも、対照群と比べて卵巣及び子宮の絶対重量及び相対重量に有意差はみられなかった。

18.1.15. 病理組織学的所見

18.1.15.1. 投与期間終了時雄 (Table 54; Appendices 54-1 – 54-4)

腎臓: 両側性の尿細管上皮の硝子滴が1000 mg/kg群で6例全例、250 mg/kg群で4例にみられ、その程度はいずれもごく軽度であった。尿細管上皮の硝子滴は、1000 mg/kg群で対照群と比べて有意差が認められ、かつ、用量反応性も確認された。

免疫染色の結果、対照群及び1000 mg/kg群の3例全例とも α 2uグロブリン抗体に対する染色性は陽性であった。陽性対照では3例全例とも強陽性であり、陰性対照では3例全例とも陰性であった¹¹⁾。

その他の変化として以下に示した所見が得られた。

心臓: 細胞浸潤が対照群で1例にみられた。

脾臓: 髓外造血が対照群で1例にみられた。

腎臓: 両側性の尿細管上皮の好塩基性変化が250 mg/kg群で1例、片側性の囊胞が対照群で1例にみられた。

精巢: 精細管の萎縮が対照群、1000及び62.5 mg/kg群で各1例にみられたが、いずれも剖検時に精巢に小型化あるいは軟化がみられた例であった。

精巢上体: 萎縮及び管腔内の細胞残渣が1000 mg/kg群、62.5 mg/kg群及び対照群で各1例にみられたが、いずれも剖検時に精巢あるいは精巢上体に小型化あるいは軟化がみられた例であった。

前立腺腹葉: 細胞浸潤が1000 mg/kg群で1例にみられた。

なお、これらの所見は対照群でも通常観察される変化であること、投与群のそれらの出現頻度は対照群と比べて差がないことから、偶発的変化と判断される。

その他には、1000 mg/kg群及び対照群では、肺、気管、肝臓、脾臓、舌下腺、顎下腺、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸（パイエル板を含む）、盲腸、結腸、直腸、胸腺、下頸リンパ節、腸間膜リンパ節、膀胱、精嚢（凝固腺を含む）、下垂体、副腎、甲状腺（上皮小体を含む）、大脳、小脳、橋、脊髄、坐骨神経、眼球、ハーダー腺、胸骨（骨髓を含む）、大腿骨（骨髓を含む）、大腿直筋、乳腺に異常はみられなかった。

18.1.15.2. 投与期間終了時雌 (Table 55; Appendices 55-1 and 55-2)

眼球：片側性の網膜異形成が対照群及び1000 mg/kg群で各1例にみられた。

なお、この変化は対照群でも観察されている変化であること、それらの程度はいずれもごく軽度であること、投与群のそれらの出現頻度は対照群と比べて差がないことから、偶発的変化と判断される。

その他には、1000 mg/kg群及び対照群では、心臓、肺、気管、肝臓、脾臓、舌下腺、顎下腺、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸（パイエル板を含む）、盲腸、結腸、直腸、胸腺、脾臓、下頸リンパ節、腸間膜リンパ節、腎臓、膀胱、卵巣、子宮、膣、下垂体、副腎、甲状腺（上皮小体を含む）、大脳、小脳、橋、脊髄、坐骨神経、ハーダー腺、胸骨（骨髓を含む）、大腿骨（骨髓を含む）、大腿直筋、乳腺に異常はみられなかった。

18.1.15.3. 回復期間終了時雄 (Table 56; Appendices 56-1 – 56-4)

腎臓：両側性あるいは片側性の尿細管上皮の好塩基性変化が1000 mg/kg群で2例、対照群で1例、片側性の囊胞が対照群で1例にみられた。これらの変化は対照群でも観察されている所見であること、それらの程度はいずれもごく軽度であることから、偶発的変化と判断される。

18.1.15.4. 交配群雌親 (Table 57; Appendices 57-1 and 57-2)

1000 mg/kg群及び対照群では、卵巣、子宮、膣及び乳腺に異常はみられなかった。

18.2. 生殖発生毒性

18.2.1. 親動物の生殖発生

18.2.1.1. 発情回数 (Table 58; Appendices 58-1 – 58-4)

各投与群とも、対照群と比べて交配開始前の投与期間（14日間）の発情回数に有意差はみられなかった。

18.2.1.2. 交尾所要日数, 交尾率, 受胎雌数及び受胎率 (Table 58; Appendices 58-1 – 58-4)

いずれの群とも全例が交配開始後5日以内に交尾した。交尾率は、いずれの群とも100.0%であった。交尾所要日数は、各投与群とも対照群との間に有意差はみられなかった。

不受胎雌は、62.5 mg/kg群 (No.F02272), 1000 mg/kg群 (No.F04461) 及び対照群 (No.F01165) で各1例に認められた。受胎率は、各投与群とも対照群との間に有意差はみられなかった。

18.2.1.3. 妊娠期間 (Table 59; Appendices 59-1 – 59-4)

妊娠期間は、各投与群とも対照群と比べて有意差はみられなかった。

18.2.1.4. 妊娠黄体数, 着床数及び着床率 (Table 59; Appendices 59-1 – 59-4)

各投与群とも、対照群と比べて妊娠黄体数、着床数及び着床率に有意差はみられなかった。

18.2.1.5. 出産率, 分娩状態及び哺育状態 (Tables 59 and 60; Appendices 59-1 – 59-4 and 60-1 – 60-4)

出産率は、いずれの群とも100.0%であった。

分娩状態において、いずれの群とも異常はみられなかった。

哺育状態の観察では、250 mg/kg群で巣作りの不良が1例 (No.F03366) がみられ、哺育4日までに全児動物が死亡したが、投与量に依存した変化ではないことから、毒性学的影響とは考えられない。

1000及び62.5 mg/kg群並びに対照群では、哺育状態に異常はみられなかった。

18.2.2. 児動物

18.2.2.1. 総出産児数, 死産児数, 哺育 0 日の新生児数, 哺育 0 日の性比, 分娩率, 児の産出率及び出生率 (Table 59; Appendices 59-1 – 59-4)

各投与群とも、対照群と比べて総出産児数、死産児数、哺育0日の新生児数、哺育0日の性比、分娩率、児の産出率及び出生率に有意差はみられなかった。

18.2.2.2. 児動物の一般状態, 哺育 4 日の生存児数, 哺育 4 日の性比, 哺育 4 日の生存率及び外表異常 (Tables 59 and 61; Appendices 59-1 – 59-4 and 61-1 – 61-4)

各投与群とも、対照群と比べて哺育 4 日の生存児数及び哺育 4 日の性比に有意差はみられなかった。1000 mg/kg 群では、対照群と比べて有意差はみられなかったものの、哺育 4 日の生存率は低値傾向を示した。250 及び 62.5 mg/kg 群では、対照群と比べて哺育 4 日の生存率に差はみられなかった。

新生児の外表異常は、いずれの群にもみられなかつた。

児動物の一般状態において、哺育状態に異常がみられた250 mg/kg群の1例 (No.F03366) の雌親では体温の低下を示す児動物が13例にみられ、上述のようにいずれも哺育4日までに死亡した。この症状は、他の児動物ではみられず、投与量に依存した変化でもないことから、毒性学的影響とは考えられない。1000及び62.5 mg/kg群並びに対照群では、一般状態に異常はみられなかつた。

18.2.2.3. 児動物の体重 (Table 62; Fig. 11; Appendices 62-1 – 62-4)

1000 mg/kg群では、対照群と比べて有意差は認められなかつたものの、哺育0及び4日の雌雄別平均体重、哺育0及び4日の一腹平均体重、哺育0及び4日の一腹合計体重は低値傾向がみられた。

250及び62.5 mg/kg群では、対照群と比べて哺育0及び4日の雌雄別平均体重、哺育0及び4日の一腹平均体重、哺育0及び4日の一腹合計体重に有意差はみられなかつた。

18.2.2.4. 死産児及び死亡児動物の剖検所見 (Table 63; Appendices 63-1 – 63-4)

いずれの群とも、異常はみられなかつた。

18.2.2.5. 児動物の哺育 4 日の剖検所見 (Table 64; Appendices 64-1 – 64-4)

いずれの群とも、異常はみられなかつた。

19. 考察

メチルシクロヘキサンのラットを用いる経口投与による反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験を行い、雌雄動物に対する一般毒性学的影響を検討するとともに、性腺機能、交尾行動、受胎、受胎産物の発達及び分娩などの雌雄動物の生殖行動に及ぼす影響について検討した。投与量は、1000 mg/kg/dayを高用量とし、以下、250 mg/kg/dayを中間用量、62.5 mg/kg/dayを低用量に設定した。

反復投与による毒性については、死亡例又は瀕死例はいずれの群の雄、雌及び雌親にも認められなかった。

一般状態の変化としては、雄、雌及び雌親とも1000 mg/kg群で流涎がみられたが、投与後に一過性に認められたのみであり、痙攣などの神経症状あるいは唾液腺の重量及び病理組織学的变化は認められないことから、被験物質の刺激性に基づく変化と判断され、毒性症状とはみなさなかった。

体重及び摂餌量には、雄、雌及び雌親とも被験物質に起因する変化はみられなかった。摂水量は、雌親の1000 mg/kg群で妊娠期間中に高値がみられた。

詳細な観察(FOB)では、上記と同様に被験物質の刺激性に基づくと考えられる一過性の流涎が雄、雌及び雌親の1000 mg/kg群でみられたが、その他に異常はみられなかった。感覚応答、握力及び自発運動量には、投与期間終了時に雌雄とも被験物質に起因する変化はみられなかった。

尿検査において、投与期間終了時及び回復期間終了時に雌雄とも被験物質に起因する変化はみられなかった。

血液学的検査において、投与期間終了時には雌の1000 mg/kg群で網状赤血球比率及び単球比率の高値がみられたが、他の血液学的検査あるいは病理組織学的検査から貧血を示唆する所見は認められなかった。これらの変化は、回復期間終了時にはみられなくなった。一方、雄では、投与期間終了時及び回復期間終了時とも被験物質に起因する変化はみられなかった。

血液生化学的検査において、投与期間終了時に雄の各投与群で総コレステロールの高値、1000 mg/kg群でALT、γ-GT及び総蛋白の高値がみられ、回復期間終了時においても1000 mg/kg群でALT及び総コレステロールの高値が認められた。各投与群で雄に認められた総コレステロールの変化は、予備試験³⁾においても1000 mg/kg群で同様に認められている。また、投与期間終了時に雌の1000 mg/kg群でブドウ糖の低値が認められた。器官重量では、雄の250 mg/kg群で肝臓の相対重量の高値、雄の1000 mg/kg群で肝臓の絶対重量及び相対重量の高値、雌の1000 mg/kg群で肝臓の絶対重量の高値傾向及び相対重量の高値がみられ、回復期間終了時においても雌の1000 mg/kg群では肝臓の絶対重量の高値が認められた。

このように、血液生化学的検査あるいは器官重量の変化から被験物質の肝臓への影響が示唆され

るが、病理組織学的には肝臓に異常はみられないことから、器質的な影響を及ぼすものではないと判断される。一方、腎臓については雄の 1000 mg/kg群で絶対重量及び相対重量の高値、雌の 1000 mg/kg群で腎臓の相対重量の高値がみられ、雄では 250 mg/kg群から病理組織学的にも両側性に尿細管上皮の硝子滴が認められた。尿細管上皮の硝子滴は、ラット雄において自然発生的にも認められる変化であるが¹²⁾、種々の薬物及び化学物質によっても増強されることが報告されている¹³⁾。したがって、メチルシクロヘキサンあるいはその代謝産物により自然発症病変が増悪したと考えられる。なお、 α 2uグロブリン抗体を用いた免疫染色では、1000 mg/kg群の染色性が対照群と同程度であったことから¹¹⁾、雄ラットでのみ発生することが知られている α 2uグロブリン腎症ではないと判断される。また、雄の 1000 mg/kg群で認められた血中電解質の変化もこの病変に関連したものと推測される。しかし、腎臓にみられた雌雄の器官重量の変化、雄の血中電解質の変化及び病理組織所見は回復期間終了時には消失していることから、可逆性の影響と判断される。

その他、雌の 1000 mg/kg 群で副腎の絶対重量及び相対重量の高値がみられたが、病理組織学的には異常はみられず、回復期間終了時には重量変化は消失していた。雌親では、投与期間終了時の器官重量に被験物質に起因する変化はみられなかった。

血中ホルモン (T3, T4 及び TSH) には、投与期間終了時に雌雄とも被験物質に起因する変化はみられなかった。

剖検において、投与期間終了時に雄、雌及び雌親並びに回復期間終了時に雌雄とも被験物質に起因する変化はみられなかった。

病理組織学的検査においては、上述の如く雄の 1000 及び 250 mg/kg 群で腎臓に認められた所見以外は、雄及び雌とも被験物質に起因する変化はみられなかった。

親動物の生殖発生毒性については、交配開始前の投与期間 (14 日間) の発情回数、交尾率、交尾所要日数、受胎雌数、受胎率、妊娠期間、出産率、妊娠黄体数、着床数、着床率、分娩状態及び哺育状態には、被験物質に起因する変化はみられなかった。

児動物については、1000 mg/kg 群で哺育 0 及び 4 日の体重及び哺育 4 日の生存率の低値傾向が認められたが、総出産児数、死産児数、哺育 0 日の新生児数、分娩率、児の産出率、出生率、性比、哺育 4 日の生存児数、一般状態、外表及び剖検所見には、被験物質に起因する変化はみられなかった。

以上のように、メチルシクロヘキサンの無影響量は、雄では 62.5 mg/kg 投与で総コレステロールの高値が認められたことから 62.5 mg/kg/day 未満、雌では 1000 mg/kg 投与で網状赤血球比率及び単球比率の高値、ブドウ糖の低値、肝臓の絶対重量の高値傾向、副腎の絶対重量の高値、肝臓、腎臓及び副腎の相対重量の高値が認められたことから 250 mg/kg/day、雌親では 1000 mg/kg 投与で摂水量の高値が認められたことから 250 mg/kg/day と考えられる。生殖発生毒性学的な無影響量は、1000 mg/kg 投与で雌雄ともいずれの項目にも影響が認められなかったことから 1000 mg/kg/day と考えられる。児動物への無影響量は、1000 mg/kg 投与で体重及び生後 4 日の生

存率の低値傾向が認められたことから 250 mg/kg/day と考えられる。

20. 文献

- 1) 和光純薬工業株式会社, MSDS.
- 2) メチルシクロヘキサンの媒体中での安定性確認試験 (最終報告書, 試験番号: 092330), 株式会社日本バイオリサーチセンター 羽島研究所; 2010.
- 3) メチルシクロヘキサンのラットを用いる経口投与による反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験の予備試験 (試験番号: 100430P), 株式会社日本バイオリサーチセンター 羽島研究所; 2011.
- 4) Snedecor GW. Cochran WG. Statistical Methods, 7th ed. Io: Iowa State University Press; 1980.
- 5) Dunnett CW. A multiple comparison procedure for comparing several treatments with a control. J Am Stat Assoc 1955; 50: 1096-1121.
- 6) Steel RGD. A multiple comparison rank sum test: Treatments versus control. Biometrics 1959; 15: 560-572.
- 7) Siegel S. Nonparametric Statistics for the Behavioral Sciences. NY: McGraw-Hill; 1956.
- 8) Cochran WG. Some methods for strengthening the common χ^2 tests. Biometrics 1954; 10: 417-451.
- 9) Armitage P. Tests for linear trend in proportions and frequencies. Biometrics 1955; 11: 375-386.
- 10) SAS Institute Inc. SAS/STAT Software: Changes and Enhancements, Release 8.2. NC: SAS Institute Inc.; 2001.
- 11) 古川正敏: 試験番号 100430 の追加検査-腎臓 α 2u グロブリンの免疫染色- (最終報告書, 試験番号: SR12007), 株式会社化合物安全性研究所; 2012.
- 12) 日本毒性病理学会編: 毒性病理組織学; 腎臓, pp. 247-266, アイペック, 名古屋; 2000.
- 13) Greaves P. Histopathology of Preclinical Toxicity Studies, pp. 532-538, Elsevier, Amsterdam. 1990.

Table 1. General clinical signs in male rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group	mg/kg	Number of males and general clinical signs	Days of administration																											
			1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		11		12		13		14	
			Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post				
Control	0	Number of males	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12		
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12		
methylcyclohexane	62.5	Number of males	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12		
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12		
	250	Number of males	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12		
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12		
	1000	Number of males	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12		
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12		
		Salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	1	0	3	0	1	0	0	2	0	5	0	4	0

Pre: Before administration, Post: after administration.

(Continued)

Table 1. (Continued) General clinical signs in male rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group	mg/kg	Number of males and general clinical signs	Days of administration															Total ^{a)}														
			15#		16		17		18		19		20		21		22		23		24		25		26		27		28		29 *	
			Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Total					
Control	0	Number of males	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12					
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	-					
methylcyclohexane	62.5	Number of males	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12					
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	-					
	250	Number of males	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12					
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	-					
	1000	Number of males	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12					
		Normal	12	5	12	6	12	7	12	6	12	9	12	8	12	9	12	9	12	8	12	8	12	8	12	10	-					
		Salivation	0	7	0	6	0	5	0	6	0	3	0	4	0	3	0	3	0	4	0	4	0	2	0	10	0	2	0	11		

Pre: Before administration, Post: after administration.

(Continued)

#: Start of pairing.

*: Day 1 of recovery.

a): Number of males showing abnormal signs at least once between Days 1 and 29 of administration.



Table 1. (Continued) General clinical signs in male rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group	mg/kg	Number of males and general clinical signs	Days of recovery													
			2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Control	0	Number of males	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Normal	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
methylcyclohexane	62.5	Number of males	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Normal	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	250	Number of males	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Normal	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	1000	Number of males	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Normal	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

Table 2. General clinical signs in female rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group	mg/kg	Number of females and general clinical signs	Days of administration																									
			1 Pre	2 Post	3 Pre	3 Post	4 Pre	4 Post	5 Pre	5 Post	6 Pre	6 Post	7 Pre	7 Post	8 Pre	8 Post	9 Pre	9 Post	10 Pre	10 Post	11 Pre	11 Post	12 Pre	12 Post	13 Pre	13 Post	14 Pre	14 Post
Control	0	Number of females	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
		Normal	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
methylcyclohexane	62.5	Number of females	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
	250	Number of females	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
	1000	Number of females	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
		Normal	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	6
		Salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	4

Pre: Before administration, Post: after administration.

(Continued)

Table 2. (Continued) General clinical signs in female rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group	mg/kg	Number of females and general clinical signs	Days of administration																		Total ^{a)}											
			15		16		17		18		19		20		21		22		23		24		25		26		27		28		29 *	
			Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post				
Control	0	Number of females	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10				
		Normal	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	-				
methylcyclohexane	62.5	Number of females	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5				
		Normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	-				
	250	Number of females	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5				
		Normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	-					
	1000	Number of females	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10				
		Normal	10	10	10	10	10	10	8	10	9	10	7	10	6	10	9	10	9	10	8	10	10	10	10	10	10	-				
		Salivation	0	0	0	0	0	2	0	1	0	3	0	4	0	1	0	1	0	2	0	0	0	0	0	0	1	0				

Pre: Before administration, Post: after administration.

(Continued)

*: Day 1 of recovery.

♀ a): Number of females showing abnormal signs at least once between Days 1 and 29 of administration.

Table 2. (Continued) General clinical signs in female rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group	mg/kg	Number of females and general clinical signs	Days of recovery													
			2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Control	0	Number of females Normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
methylcyclohexane	1000	Number of females Normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

Table 3. General clinical signs in parental female rats (mating groups) in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group	mg/kg	Number of females and general clinical signs	Days of administration													
			1 Pre	2 Post	3 Pre	4 Post	5 Pre	6 Post	7 Pre	8 Post	9 Pre	10 Post	11 Pre	12 Post	13 Pre	14 Post
Control	0	Number of females	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
methylcyclohexane	62.5	Number of females	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	250	Number of females	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	1000	Number of females	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	10	12	12	12	12	11
		Salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	1
														0	1	0
														0	1	0
															1	0

Pre: Before administration, Post: after administration.

(Continued)

Table 3. (Continued) General clinical signs in parental female rats (mating groups) in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group	mg/kg	Number of females and general clinical signs	Days of administration					Total ^{a)}				
			15#		16		17		18		19	
			Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post
Control	0	Number of females	12	12	9	9	5	5	4	4	0	0
		Normal	12	12	9	9	5	5	4	4	-	-
methylcyclohexane	62.5	Number of females	12	12	7	7	2	2	1	1	0	0
		Normal	12	12	7	7	2	2	1	1	-	-
	250	Number of females	12	12	7	7	4	4	4	4	1	1
		Normal	12	12	7	7	4	4	4	4	1	1
	1000	Number of females	12	12	11	11	7	7	2	2	0	0
		Normal	12	8	11	9	7	6	2	1	-	-
		Salivation	0	4	0	2	0	1	0	1	-	-
												7

Pre: Before administration, Post: after administration.

#: Start of pairing.

a): Number of females showing abnormal signs at least once between Days 1 and 19 of administration.

Table 4. General clinical signs in parental female rats (mating groups) during pregnancy in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group	mg/kg	Number of females and general clinical signs	Days of pregnancy																									
			0		1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		11		12	
			Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post		
Control	0	Number of females Normal	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	
methylcyclohexane	62.5	Number of females Normal	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	
	250	Number of females Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	1000	Number of females Normal Salivation	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	
			11	10	11	10	11	9	11	7	11	10	11	11	11	9	11	7	11	10	11	11	11	10	11	10	10	
			0	1	0	1	0	2	0	4	0	1	0	0	0	2	0	4	0	1	0	0	0	1	0	1	0	

Pre: Before administration, Post: after administration.

(Continued)

Table 4. (Continued) General clinical signs in parental female rats (mating groups) during pregnancy in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group	mg/kg	Number of females and general clinical signs	Days of pregnancy												Total ^{a)}											
			13		14		15		16		17		18		19		20		21		22		23			
			Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post		
Control	0	Number of females	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	4	4	0	0	0	0	11
		Normal	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	4	4	-	-	-	-	-
methylcyclohexane	62.5	Number of females	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	6	6	0	0	0	0	11
		Normal	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	6	6	-	-	-	-	-
	250	Number of females	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	4	4	0	0	0	0	12
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	4	4	-	-	-	-	-
	1000	Number of females	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	5	5	0	0	0	0	11
		Normal	11	7	11	8	11	8	11	11	11	11	10	11	11	11	10	11	11	5	5	-	-	-	-	-
		Salivation	0	4	0	3	0	3	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	-	-	-	-	9

Pre: Before administration, Post: after administration.

a): Number of females showing abnormal signs at least once between Days 0 and 25 of pregnancy.

Table 5. General clinical signs in parental female rats (mating groups) during lactation in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group	mg/kg	Number of females and general clinical signs	Days of lactation										Total ^{a)}	
			0		1		2		3		4			
			Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post		
Control	0	Number of females	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	
		Normal	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	-	
methylcyclohexane	62.5	Number of females	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	
		Normal	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	-	
	250	Number of females	12	12	12	12	12	12	12	12	11	11	12	
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	11	11	-	
	1000	Number of females	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	
		Normal	11	11	11	11	11	11	11	11	8	11	-	
		Salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	3	

Pre: Before administration, Post: after administration.

a): Number of females showing abnormal signs at least once between Days 0 and 5 of lactation.

Table 6. Body weights of male rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group	Control		methylcyclohexane		
mg/kg	0	62.5	250	1000	
Number of males	12	12	12	12	
Days of administration					
1	350 ± 14	349 ± 14	350 ± 13	349 ± 17	
4	363 ± 13	362 ± 16	362 ± 14	361 ± 18	
8	378 ± 14	371 ± 18	376 ± 15	372 ± 23	
11	393 ± 16	385 ± 20	389 ± 16	385 ± 23	
15	405 ± 14	398 ± 21	400 ± 20	394 ± 25	
18	414 ± 15	408 ± 20	409 ± 20	398 ± 24	
22	430 ± 16	420 ± 22	422 ± 19	411 ± 27	
25	440 ± 15	430 ± 24	433 ± 20	419 ± 29	
28	443 ± 13	435 ± 23	439 ± 21	428 ± 31	
Number of males	6	6	6	6	
Days of recovery					
1	444 ± 13	440 ± 18	442 ± 29	428 ± 35	
4	451 ± 14	448 ± 21	452 ± 30	434 ± 36	
8	463 ± 15	462 ± 19	464 ± 29	448 ± 40	
11	471 ± 16	471 ± 17	473 ± 31	454 ± 43	
14	473 ± 20	467 ± 12	477 ± 32	457 ± 45	

Each value shows mean (g) ± S.D.

Table 7. Body weights of female rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane		
	0	62.5	250	1000	
Number of females	10	5	5	10	
Days of administration					
1	263 ± 8	259 ± 4	258 ± 7	261 ± 7	
4	272 ± 8	266 ± 5	266 ± 4	269 ± 10	
8	278 ± 11	273 ± 6	273 ± 1	272 ± 9	
11	283 ± 9	279 ± 10	281 ± 7	276 ± 7	
15	286 ± 7	282 ± 9	284 ± 7	280 ± 9	
18	295 ± 9	290 ± 7	293 ± 8	283 ± 14	
22	298 ± 9	294 ± 6	296 ± 8	285 ± 16	
25	299 ± 14	298 ± 7	294 ± 13	293 ± 14	
28	304 ± 12	298 ± 10	301 ± 7	296 ± 13	
Number of females	5	0	0	5	
Days of recovery					
1	304 ± 9	-	-	301 ± 20	
4	310 ± 8	-	-	304 ± 19	
8	311 ± 6	-	-	311 ± 21	
11	312 ± 6	-	-	311 ± 23	
14	311 ± 8	-	-	312 ± 26	

Each value shows mean (g) ± S.D.

Table 8. Body weights of parental female rats (mating groups) in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane		
	0	62.5	250	1000	
Number of females	12	12	12	12	
Days of administration					
1	236 ± 8	240 ± 8	240 ± 9	237 ± 8	
4	245 ± 9	248 ± 9	247 ± 10	246 ± 10	
8	248 ± 10	254 ± 9	253 ± 11	251 ± 9	
11	252 ± 11	264 ± 9 *	262 ± 12	258 ± 10	
15	258 ± 9	269 ± 11 *	266 ± 11	263 ± 10	
18	272 ± 12 (4)	272 (1)	277 ± 17 (4)	262 (2)	

Each value shows mean (g) ± S.D.

Significantly different from the control group (*: p<0.05 by Dunnett's test).

Figures in parentheses indicate number of females.

Table 9. Body weights of parental female rats (mating groups) during pregnancy in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane		
	0	62.5	250	1000	
Number of females	11	11	12	11	
Days of pregnancy					
0	265 ± 12	275 ± 10	273 ± 12	268 ± 7	
7	298 ± 15	309 ± 12	308 ± 15	302 ± 9	
14	333 ± 21	342 ± 12	344 ± 18	335 ± 12	
20	404 ± 31	415 ± 19	412 ± 21	403 ± 18	

Each value shows mean (g) ± S.D.

Table 10. Body weights of parental female rats (mating groups) during lactation in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane		
	0	62.5	250	1000	
Number of females	11	11	12	11	
Days of lactation					
0	312 ± 18	334 ± 26	323 ± 27	313 ± 25	
4	334 ± 23	347 ± 21	335 ± 25 (11)	325 ± 39	

Each value shows mean (g) ± S.D.

Figures in parentheses indicate number of females.

Table 11. Food consumption in male rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane		
	0	62.5	250	1000	
Number of males	12	12	12	12	
Days of administration					
2	20 ± 4	21 ± 3	20 ± 3	21 ± 2	
5	22 ± 2	21 ± 2	20 ± 3	20 ± 2	
9	22 ± 2	21 ± 2	21 ± 1	21 ± 2	
12	20 ± 2	21 ± 3	20 ± 2	22 ± 3	
Number of males	6	6	6	6	
Days of recovery					
2	23 ± 3	25 ± 2	24 ± 3	26 ± 3	
5	24 ± 3	27 ± 4	25 ± 3	25 ± 2	
9	25 ± 3	28 ± 3	25 ± 3	24 ± 2	
12	24 ± 5	23 ± 3	24 ± 3	25 ± 3	

Each value shows mean (g/day) ± S.D.

Table 12. Food consumption in female rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane		
	0	62.5	250	1000	
Number of females	10	5	5	10	
Days of administration					
2	16 ± 3	17 ± 1	16 ± 3	13 ± 4	
5	15 ± 3	15 ± 2	16 ± 3	15 ± 3	
9	18 ± 2	20 ± 4	21 ± 2	17 ± 2	
12	17 ± 3	18 ± 2	19 ± 1	18 ± 2	
16	17 ± 2	17 ± 2	17 ± 3	19 ± 2	
19	14 ± 2	12 ± 3	14 ± 2	14 ± 3	
23	16 ± 3	16 ± 3	18 ± 4	16 ± 3	
26	13 ± 1	14 ± 1	15 ± 2	14 ± 4	
Number of females	5	0	0	5	
Days of recovery					
2	17 ± 3	-	-	19 ± 5	
5	18 ± 2	-	-	21 ± 4	
9	19 ± 2	-	-	20 ± 4	
12	19 ± 3	-	-	20 ± 1	

Each value shows mean (g/day) ± S.D.

Table 13. Food consumption in parental female rats (mating groups) in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane		
	0	62.5	250	1000	
Number of females	12	12	12	12	
Days of administration					
2	15 ± 2	17 ± 3	17 ± 2 #	17 ± 6	
5	14 ± 2	15 ± 2	13 ± 3	15 ± 1	
9	14 ± 2	14 ± 2	15 ± 2	14 ± 1	
12	16 ± 2	18 ± 3	16 ± 3	18 ± 3	

Each value shows mean (g/day) ± S.D.

Significantly different from the control group (#: p<0.05 by Steel's test).

Table 14. Food consumption in parental female rats (mating groups) during pregnancy in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control				methylcyclohexane			
	0	62.5	250	1000				
Number of females	11	11	12	11				
Days of pregnancy								
2	17 ± 1	19 ± 2	19 ± 3	19 ± 3				
9	17 ± 2	18 ± 2	18 ± 3	20 ± 2 *				
16	19 ± 4	21 ± 2	21 ± 3	21 ± 3				
20	20 ± 3	21 ± 4	20 ± 3	20 ± 4				

Each value shows mean (g/day) ± S.D.

Significantly different from the control group (*: p<0.05 by Dunnett's test).

Table 15. Food consumption in parental female rats (mating groups) during lactation in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control	methylcyclohexane		
		62.5	250	1000
Number of females	11	11	12	11
Days of lactation	2	23 ± 7	24 ± 7	22 ± 6
				23 ± 7

Each value shows mean (g/day) ± S.D.

Table 16. Water consumption in male rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane		
	0	62.5	250	1000	
Number of males	12	12	12	12	
Days of administration					
2	33 ± 10	33 ± 4	33 ± 14	31 ± 5	
5	34 ± 5	33 ± 5	32 ± 6	37 ± 5	
9	37 ± 9	35 ± 6	32 ± 5	38 ± 5	
12	37 ± 5	30 ± 6 *	36 ± 6	39 ± 5	
Number of males	6	6	6	6	
Days of recovery					
2	35 ± 10	37 ± 5	38 ± 11	43 ± 13	
5	30 ± 9	33 ± 3	32 ± 5	34 ± 8	
9	31 ± 6	36 ± 6	34 ± 6	34 ± 11	
12	31 ± 5	34 ± 6	34 ± 7	35 ± 6	

Each value shows mean (g/day) ± S.D.

Significantly different from the control group (*: p<0.05 by Dunnett's test).

Table 17. Water consumption in female rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane		
	0	62.5	250	1000	
Number of females	10	5	5	10	
Days of administration					
2	25 ± 4	26 ± 5	26 ± 6	19 ± 8	
5	24 ± 4	26 ± 5	25 ± 4	24 ± 4	
9	30 ± 5	28 ± 6	30 ± 6	26 ± 4	
12	28 ± 4	27 ± 2	27 ± 4	30 ± 5	
16	29 ± 3	27 ± 3	27 ± 5	31 ± 7	
19	25 ± 7	23 ± 5	22 ± 4	26 ± 7	
23	25 ± 5	24 ± 5	24 ± 6	27 ± 8	
26	24 ± 6	25 ± 4	26 ± 6	26 ± 8	
Number of females	5	0	0	5	
Days of recovery					
2	28 ± 5	-	-	34 ± 10	
5	27 ± 4	-	-	32 ± 5	
9	28 ± 4	-	-	31 ± 3	
12	32 ± 7	-	-	33 ± 5	

Each value shows mean (g/day) ± S.D.

Table 18. Water consumption in parental female rats (mating groups) in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane		
	0	62.5	250	1000	
Number of females	12	12	12	12	
Days of administration					
2	25 ± 4	28 ± 6	25 ± 4	24 ± 5	
5	23 ± 7	25 ± 4	23 ± 4	26 ± 4	
9	23 ± 5	24 ± 4	24 ± 4	22 ± 4	
12	29 ± 7	25 ± 5	25 ± 4	24 ± 2 #	

Each value shows mean (g/day) ± S.D.

Significantly different from the control group (#: p<0.05 by Steel's test).

Table 19. Water consumption in parental female rats (mating groups) during pregnancy in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane		
	0	62.5	250	1000	
Number of females	11	11	12	11	
Days of pregnancy					
2	25 ± 4	28 ± 5	27 ± 6	33 ± 7 **	
9	26 ± 9	30 ± 5	26 ± 5	32 ± 5	
16	34 ± 6	39 ± 7	37 ± 6	41 ± 8	
20	33 ± 5	39 ± 6	38 ± 6	41 ± 9 *	

Each value shows mean (g/day) ± S.D.

Significantly different from the control group (*: p<0.05, **: p<0.01 by Dunnett's test).

Table 20. Water consumption in parental female rats (mating groups) during lactation in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group	Control	methylcyclohexane		
		62.5	250	1000
mg/kg	0	62.5	250	1000
Number of females	11	11	12	11
Days of lactation	2	40 ± 11	41 ± 9	36 ± 12
				43 ± 9

Each value shows mean (g/day) ± S.D.

Table 21. Detailed clinical signs (FOB) in male rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane		
	0	62.5	250	1000	
Number of males	12	12	12	12	
Observation of animals in cages					
Posture	Pre	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Mean (range)	Day 7	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 14	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 21	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 27	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Palpebral closure	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 21	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 27	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Excessive grooming	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 21	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 27	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Repetitive circling	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 21	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 27	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)

Pre: Day of grouping.

Findings were graded as follows

Posture

1: Prone or recumbent position, 2: resting normally, 3: moving or running about, 4: jumping.

Palpebral closure

1: Eyelids open normally, 2: eyelids half-closed, 3: eyelids closed.

Excessive grooming

1: Not observed, 2: observed.

Repetitive circling

1: Not observed, 2: observed.

(Continued)

Table 21. (Continued) Detailed clinical signs (FOB) in male rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane		
	0	62.5	250	1000	
Number of males	12	12	12	12	
Observation of animals in cages					
Biting behavior	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 21	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 27	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Clonic convulsions	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 21	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 27	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Tonic convulsions	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 21	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 27	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)

Pre: Day of grouping.

Findings were graded as follows

Biting behavior

1: Not observed, 2: observed.

Clonic convulsions

1: Not observed, 2: jaw convulsions, 3: tremor.

Tonic convulsions

1: Not observed, 2: tonic extension, 3: opisthotonus convulsions, 4: saltatory convulsions, 5: asphyxial convulsions.

(Continued)

Table 21. (Continued) Detailed clinical signs (FOB) in male rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane		
	0	62.5	250	1000	
Number of males	12	12	12	12	
Observation of animals on observer's palm					
Ease of removal from cage	Pre	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Mean (range)	Day 7	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 14	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 21	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 27	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Ease of handling	Pre	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Mean (range)	Day 7	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 14	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 21	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 27	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Muscle tone	Pre	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Mean (range)	Day 7	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 14	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 21	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 27	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Fur conditions	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 21	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 27	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)

Pre: Day of grouping.

Findings were graded as follows

Ease of removal from cage 1: Docile and allowing itself to be handled, 2: rearing or cowering, 3: running about; hard to catch.

Ease of handling 1: Docile and allowing itself to be handled, 2: struggling slightly or vocalizing,

3: struggling and trying to bite observer's hand.

Muscle tone 1: Decreased, 2: normal, 3: increased.

Fur conditions 1: Normal, 2: slightly soiled, 3: markedly soiled.

(Continued)

Table 21. (Continued) Detailed clinical signs (FOB) in male rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane		
	0	62.5	250	1000	
Number of males	12	12	12	12	
Observation of animals on observer's palm					
Mucous membranes	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 21	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 27	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Lacrimation	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 21	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 27	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Salivation	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.5 (1-2) #
	Day 21	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.3 (1-2)
	Day 27	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.3 (1-2)
Piloerection	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 21	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 27	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)

Pre: Day of grouping.

(Continued)

Significantly different from the control group (#: p<0.05 by Steel's test).

Findings were graded as follows

- | | |
|------------------|--|
| Mucous membranes | 1: Normal, 2: brown, 3: hemorrhage, 4: swelling. |
| Lacrimation | 1: None, 2: mild, 3: marked. |
| Salivation | 1: None, 2: mild, 3: marked. |
| Piloerection | 1: None, 2: mild, 3: marked. |

Table 21. (Continued) Detailed clinical signs (FOB) in male rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane		
	0	62.5	250	1000	
Number of males	12	12	12	12	
Observation of animals on observer's palm					
Pupil size	Pre	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Mean (range)	Day 7	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 14	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 21	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 27	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Respiration	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 21	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 27	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)

Pre: Day of grouping.

Findings were graded as follows

Pupil size

1: Mydriasis, 2: normal, 3: miosis.

Respiration

1: Normal, 2: bradypnea, 3: dyspnea.

(Continued)

Table 21. (Continued) Detailed clinical signs (FOB) in male rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane		
	0	62.5	250	1000	
Number of males	12	12	12	12	
Open-field test					
Frequency of urination	Pre	0.6 ± 0.8	0.3 ± 0.7	0.6 ± 1.2	0.6 ± 0.5
Mean ± S.D.	Day 7	0.4 ± 0.5	0.5 ± 0.7	0.5 ± 0.7	0.1 ± 0.3
	Day 14	0.3 ± 0.5	0.6 ± 0.8	0.4 ± 0.7	0.5 ± 0.5
	Day 21	0.2 ± 0.4	0.4 ± 0.5	0.3 ± 0.7	0.4 ± 0.5
	Day 27	0.5 ± 0.7	0.8 ± 1.2	0.4 ± 1.0	0.8 ± 0.9
Frequency of defecation	Pre	0.8 ± 1.5	1.4 ± 1.2	2.0 ± 2.0	1.6 ± 2.2
Mean ± S.D.	Day 7	0.8 ± 1.4	2.1 ± 2.1	2.5 ± 2.5	1.1 ± 1.3
	Day 14	0.1 ± 0.3	1.4 ± 1.4 ##	0.7 ± 1.2	1.1 ± 1.2 #
	Day 21	0.0 ± 0.0	1.4 ± 1.6 **	0.8 ± 1.5	0.3 ± 0.7
	Day 27	0.3 ± 0.5	1.4 ± 1.4	0.7 ± 1.2	0.8 ± 1.2
Frequency of rearing	Pre	1.8 ± 1.9	2.0 ± 1.8	1.2 ± 2.2	1.6 ± 1.9
Mean ± S.D.	Day 7	4.1 ± 2.4	2.7 ± 2.4	3.8 ± 3.2	4.5 ± 2.8
	Day 14	3.4 ± 4.9	3.0 ± 3.1	2.5 ± 2.5	2.5 ± 3.0
	Day 21	4.8 ± 3.0	4.0 ± 3.1	4.0 ± 4.0	5.8 ± 3.3
	Day 27	3.3 ± 3.7	4.3 ± 3.7	2.9 ± 3.1	3.0 ± 2.8
Frequency of grooming	Pre	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Mean ± S.D.	Day 7	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	Day 14	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	Day 21	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	Day 27	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0

Pre: Day of grouping.

(Continued)

Significantly different from the control group (#: p<0.05, ##: p<0.01 by Steel's test).

Significantly different from the control group (**: p<0.01 by Dunnett's test).

Frequency of urination (during a 2-minute period).

Frequency of defecation (during a 2-minute period).

Frequency of rearing (during a 2-minute period).

Frequency of grooming (during a 2-minute period).

Table 21. (Continued) Detailed clinical signs (FOB) in male rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control	methylcyclohexane		
		62.5	250	1000
Number of males	12	12	12	12
Open-field test				
Gait	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 21	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 27	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Palpebral closure	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 21	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 27	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Consciousness	Pre	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Mean (range)	Day 7	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 14	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 21	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 27	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Behavioral abnormalities	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 21	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 27	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)

Pre: Day of grouping.

Findings were graded as follows

- Gait 1: Normal, 2: unmoving, 3: staggering, 4: hind-limbs extended and dragged, 5: all fours extended,
 6: forelimbs extended and dragged; unable to support body, 7: standing on tiptoe.
 Palpebral closure 1: Eyelids open normally, 2: eyelids half-closed, 3: eyelids closed.
 Consciousness 1: Comatose; no response, 2: exploring behavior, 3: excited and moving spasmodically.
 Behavioral abnormalities 1: Not observed, 2: straub's reaction, 3: moving backward, 4: writhing, 5: self-biting.

(Continued)

Table 21. (Continued) Detailed clinical signs (FOB) in male rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control	methylcyclohexane		
		62.5	250	1000
Number of males	12	12	12	12
Open-field test				
Righting reflex	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 21	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 27	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)

Pre: Day of grouping.

Findings were graded as follows

Righting reflex

1: Righting itself immediately, 2: requiring 3 seconds or longer to right itself, 3: unable to right itself.

Table 22. Detailed clinical signs (FOB) in female rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane		
	0	62.5	250	1000	
Number of females	10	5	5	10	
Observation of animals in cages					
Posture	Pre	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Mean (range)	Day 7	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 14	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 21	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 27	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Palpebral closure	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 21	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 27	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Excessive grooming	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 21	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 27	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Repetitive circling	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 21	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 27	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)

Pre: Day of grouping.

Findings were graded as follows

Posture

1: Prone or recumbent position, 2: resting normally, 3: moving or running about, 4: jumping.

Palpebral closure

1: Eyelids open normally, 2: eyelids half-closed, 3: eyelids closed.

Excessive grooming

1: Not observed, 2: observed.

Repetitive circling

1: Not observed, 2: observed.

(Continued)

Table 22. (Continued) Detailed clinical signs (FOB) in female rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane		
	0	62.5	250	1000	
Number of females	10	5	5	10	
Observation of animals in cages					
Biting behavior	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 21	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 27	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Clonic convulsions	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 21	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 27	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Tonic convulsions	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 21	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 27	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)

Pre: Day of grouping.

Findings were graded as follows

Biting behavior

1: Not observed, 2: observed.

Clonic convulsions

1: Not observed, 2: jaw convulsions, 3: tremor.

Tonic convulsions

1: Not observed, 2: tonic extension, 3: opisthotonus convulsions, 4: saltatory convulsions, 5: asphyxial convulsions.

(Continued)

Table 22. (Continued) Detailed clinical signs (FOB) in female rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane		
	0	62.5	250	1000	
Number of females	10	5	5	10	
Observation of animals on observer's palm					
Ease of removal from cage	Pre	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Mean (range)	Day 7	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 14	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 21	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 27	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Ease of handling	Pre	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Mean (range)	Day 7	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 14	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 21	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 27	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Muscle tone	Pre	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Mean (range)	Day 7	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 14	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 21	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 27	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Fur conditions	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 21	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 27	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)

Pre: Day of grouping.

Findings were graded as follows

Ease of removal from cage 1: Docile and allowing itself to be handled, 2: rearing or cowering, 3: running about; hard to catch.

Ease of handling 1: Docile and allowing itself to be handled, 2: struggling slightly or vocalizing,

3: struggling and trying to bite observer's hand.

Muscle tone 1: Decreased, 2: normal, 3: increased.

Fur conditions 1: Normal, 2: slightly soiled, 3: markedly soiled.

(Continued)

Table 22. (Continued) Detailed clinical signs (FOB) in female rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane		
	0	62.5	250	1000	
Number of females	10	5	5	10	
Observation of animals on observer's palm					
Mucous membranes	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 21	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 27	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Lacrimation	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 21	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 27	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Salivation	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.1 (1-2)
	Day 21	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.1 (1-2)
	Day 27	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Piloerection	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 21	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 27	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)

Pre: Day of grouping.

Findings were graded as follows

Mucous membranes 1: Normal, 2: brown, 3: hemorrhage, 4: swelling.

Lacrimation 1: None, 2: mild, 3: marked.

Salivation 1: None, 2: mild, 3: marked.

Piloerection 1: None, 2: mild, 3: marked.

(Continued)

Table 22. (Continued) Detailed clinical signs (FOB) in female rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane		
	0	62.5	250	1000	
Number of females	10	5	5	10	
Observation of animals on observer's palm					
Pupil size	Pre	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Mean (range)	Day 7	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 14	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 21	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 27	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Respiration	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 21	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 27	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)

Pre: Day of grouping.

Findings were graded as follows

Pupil size

1: Mydriasis, 2: normal, 3: miosis.

Respiration

1: Normal, 2: bradypnea, 3: dyspnea.

(Continued)

Table 22. (Continued) Detailed clinical signs (FOB) in female rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane		
	0	62.5	250	1000	
Number of females	10	5	5	10	
Open-field test					
Frequency of urination	Pre	0.4 ± 0.5	0.4 ± 0.9	0.8 ± 1.1	0.4 ± 0.5
Mean ± S.D.	Day 7	0.3 ± 0.5	0.0 ± 0.0	0.4 ± 0.9	0.0 ± 0.0
	Day 14	0.3 ± 0.7	0.0 ± 0.0	0.2 ± 0.4	0.0 ± 0.0
	Day 21	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.2 ± 0.4	0.1 ± 0.3
	Day 27	0.1 ± 0.3	0.0 ± 0.0	0.2 ± 0.4	0.0 ± 0.0
Frequency of defecation	Pre	0.8 ± 1.1	0.0 ± 0.0	0.4 ± 0.9	1.0 ± 1.7
Mean ± S.D.	Day 7	0.4 ± 1.3	0.0 ± 0.0	0.2 ± 0.4	0.0 ± 0.0
	Day 14	0.1 ± 0.3	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	Day 21	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.4 ± 0.5 **	0.0 ± 0.0
	Day 27	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.4 ± 0.9	0.0 ± 0.0
Frequency of rearing	Pre	2.5 ± 1.8	2.2 ± 1.9	4.4 ± 1.7	3.6 ± 2.4
Mean ± S.D.	Day 7	6.6 ± 3.4	5.6 ± 4.0	9.2 ± 5.2	5.6 ± 2.8
	Day 14	7.0 ± 4.6	6.2 ± 4.1	7.0 ± 2.9	6.3 ± 2.3
	Day 21	5.6 ± 5.7	6.8 ± 3.3	7.4 ± 6.3	7.5 ± 4.0
	Day 27	6.5 ± 5.9	10.4 ± 2.3	12.0 ± 3.3	8.7 ± 2.8
Frequency of grooming	Pre	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Mean ± S.D.	Day 7	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	Day 14	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	Day 21	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	Day 27	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0

Pre: Day of grouping.

(Continued)

Significantly different from the control group (**: p<0.01 by Dunnett's test).

Frequency of urination (during a 2-minute period).

Frequency of defecation (during a 2-minute period).

Frequency of rearing (during a 2-minute period).

Frequency of grooming (during a 2-minute period).

Table 22. (Continued) Detailed clinical signs (FOB) in female rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control	methylcyclohexane		
		62.5	250	1000
Number of females	10	5	5	10
Open-field test				
Gait	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 21	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 27	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Palpebral closure	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 21	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 27	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Consciousness	Pre	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Mean (range)	Day 7	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 14	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 21	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 27	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Behavioral abnormalities	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 21	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 27	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)

Pre: Day of grouping.

(Continued)

Findings were graded as follows

- Gait 1: Normal, 2: unmoving, 3: staggering, 4: hind-limbs extended and dragged, 5: all fours extended,
 6: forelimbs extended and dragged; unable to support body, 7: standing on tiptoe.
 Palpebral closure 1: Eyelids open normally, 2: eyelids half-closed, 3: eyelids closed.
 Consciousness 1: Comatose; no response, 2: exploring behavior, 3: excited and moving spasmodically.
 Behavioral abnormalities 1: Not observed, 2: straub's reaction, 3: moving backward, 4: writhing, 5: self-biting.

Table 22. (Continued) Detailed clinical signs (FOB) in female rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control	methylcyclohexane		
		62.5	250	1000
Number of females	10	5	5	10
Open-field test				
Righting reflex	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 21	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 27	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)

Pre: Day of grouping.

Findings were graded as follows

Righting reflex

1: Righting itself immediately, 2: requiring 3 seconds or longer to right itself, 3: unable to right itself.

Table 23. Detailed clinical signs (FOB) in parental female rats (mating groups) in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane		
	0	62.5	250	1000	
Number of females	12	12	12	12	
Observation of animals in cages					
Posture	Pre	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Mean (range)	Day 7	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 14	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Pregnancy 1	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]	2.0 (2)	2.0 (2) [11]
	Pregnancy 8	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]	2.0 (2)	2.0 (2) [11]
	Pregnancy 15	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]	2.0 (2)	2.0 (2) [11]
	Lactation 4	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]
Palpebral closure	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Pregnancy 1	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1) [11]
	Pregnancy 8	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1) [11]
	Pregnancy 15	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1) [11]
	Lactation 4	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]

Pre: Day of grouping.

Figures in brackets indicate number of females.

Findings were graded as follows

Posture 1: Prone or recumbent position, 2: resting normally, 3: moving or running about, 4: jumping.

Palpebral closure 1: Eyelids open normally, 2: eyelids half-closed, 3: eyelids closed.

(Continued)

Table 23. (Continued) Detailed clinical signs (FOB) in parental female rats (mating groups) in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane		
	0	62.5	250	1000	
Number of females	12	12	12	12	
Observation of animals in cages					
Excessive grooming	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
		Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
		Pregnancy 1	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]
		Pregnancy 8	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]
		Pregnancy 15	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]
		Lactation 4	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]
Repetitive circling	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
		Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
		Pregnancy 1	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]
		Pregnancy 8	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]
		Pregnancy 15	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]
		Lactation 4	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]

Pre: Day of grouping.

Figures in brackets indicate number of females.

Findings were graded as follows

Excessive grooming

1: Not observed, 2: observed.

Repetitive circling

1: Not observed, 2: observed.

(Continued)

Table 23. (Continued) Detailed clinical signs (FOB) in parental female rats (mating groups) in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane		
	0	62.5	250	1000	
Number of females	12	12	12	12	
Observation of animals in cages					
Biting behavior	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Pregnancy 1	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1) [11]
	Pregnancy 8	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1) [11]
	Pregnancy 15	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1) [11]
	Lactation 4	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]
Clonic convulsions	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Pregnancy 1	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1) [11]
	Pregnancy 8	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1) [11]
	Pregnancy 15	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1) [11]
	Lactation 4	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]

Pre: Day of grouping.

Figures in brackets indicate number of females.

Findings were graded as follows

Biting behavior 1: Not observed, 2: observed.

Clonic convulsions 1: Not observed, 2: jaw convulsions, 3: tremor.

(Continued)

Table 23. (Continued) Detailed clinical signs (FOB) in parental female rats (mating groups) in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane		
	0	62.5	250	1000	
Number of females	12	12	12	12	
Observation of animals in cages					
Tonic convulsions	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Pregnancy 1	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1) [11]
	Pregnancy 8	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1) [11]
	Pregnancy 15	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1) [11]
	Lactation 4	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]

Pre: Day of grouping.

Figures in brackets indicate number of females.

Findings were graded as follows

Tonic convulsions

1: Not observed, 2: tonic extension, 3: opisthotonus convulsions, 4: saltatory convulsions, 5: asphyxial convulsions.

(Continued)

Table 23. (Continued) Detailed clinical signs (FOB) in parental female rats (mating groups) in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane		
	0	62.5	250	1000	
Number of females	12	12	12	12	
Observation of animals on observer's palm					
Ease of removal from cage	Pre	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Mean (range)	Day 7	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 14	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Pregnancy 1	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]	2.0 (2)	2.0 (2) [11]
	Pregnancy 8	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]	2.0 (2)	2.0 (2) [11]
	Pregnancy 15	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]	2.0 (2)	2.0 (2) [11]
	Lactation 4	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]
Ease of handling	Pre	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Mean (range)	Day 7	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 14	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Pregnancy 1	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]	2.0 (2)	2.0 (2) [11]
	Pregnancy 8	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]	2.0 (2)	2.0 (2) [11]
	Pregnancy 15	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]	2.0 (2)	2.0 (2) [11]
	Lactation 4	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]

Pre: Day of grouping.

Figures in brackets indicate number of females.

Findings were graded as follows

Ease of removal from cage 1: Docile and allowing itself to be handled, 2: rearing or cowering, 3: running about; hard to catch.

Ease of handling 1: Docile and allowing itself to be handled, 2: struggling slightly or vocalizing,

3: struggling and trying to bite observer's hand.

(Continued)

Table 23. (Continued) Detailed clinical signs (FOB) in parental female rats (mating groups) in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane		
	0	62.5	250	1000	
Number of females	12	12	12	12	
Observation of animals on observer's palm					
Muscle tone	Pre	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Mean (range)	Day 7	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 14	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Pregnancy 1	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]	2.0 (2)	2.0 (2) [11]
	Pregnancy 8	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]	2.0 (2)	2.0 (2) [11]
	Pregnancy 15	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]	2.0 (2)	2.0 (2) [11]
	Lactation 4	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]
Fur conditions	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Pregnancy 1	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1) [11]
	Pregnancy 8	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1) [11]
	Pregnancy 15	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1) [11]
	Lactation 4	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]

Pre: Day of grouping.

Figures in brackets indicate number of females.

Findings were graded as follows

Muscle tone 1: Decreased, 2: normal, 3: increased.

Fur conditions 1: Normal, 2: slightly soiled, 3: markedly soiled.

(Continued)

Table 23. (Continued) Detailed clinical signs (FOB) in parental female rats (mating groups) in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane		
	0	62.5	250	1000	
Number of females	12	12	12	12	
Observation of animals on observer's palm					
Mucous membranes	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Pregnancy 1	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1) [11]
	Pregnancy 8	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1) [11]
	Pregnancy 15	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1) [11]
Lacration	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Pregnancy 1	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1) [11]
	Pregnancy 8	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1) [11]
	Pregnancy 15	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1) [11]
	Lactation 4	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]

Pre: Day of grouping.

Figures in brackets indicate number of females.

Findings were graded as follows

Mucous membranes 1: Normal, 2: brown, 3: hemorrhage, 4: swelling.

Lacration 1: None, 2: mild, 3: marked.

(Continued)

Table 23. (Continued) Detailed clinical signs (FOB) in parental female rats (mating groups) in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane		
	0	62.5	250	1000	
Number of females	12	12	12	12	
Observation of animals on observer's palm					
Salivation	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
		Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
		Pregnancy 1	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]
		Pregnancy 8	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]
		Pregnancy 15	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]
		Lactation 4	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11] 1.3 (1-2) [11]
Piloerection	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
		Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
		Pregnancy 1	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]
		Pregnancy 8	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]
		Pregnancy 15	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]
		Lactation 4	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]

Pre: Day of grouping.

Figures in brackets indicate number of females.

Findings were graded as follows

Salivation 1: None, 2: mild, 3: marked.
 Piloerection 1: None, 2: mild, 3: marked.

(Continued)

Table 23. (Continued) Detailed clinical signs (FOB) in parental female rats (mating groups) in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane		
	0	62.5	250	1000	
Number of females	12	12	12	12	
Observation of animals on observer's palm					
Pupil size	Pre	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Mean (range)	Day 7	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 14	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Pregnancy 1	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]	2.0 (2)	2.0 (2) [11]
	Pregnancy 8	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]	2.0 (2)	2.0 (2) [11]
	Pregnancy 15	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]	2.0 (2)	2.0 (2) [11]
	Lactation 4	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]
Respiration	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Pregnancy 1	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1) [11]
	Pregnancy 8	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1) [11]
	Pregnancy 15	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1) [11]
	Lactation 4	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]

Pre: Day of grouping.

Figures in brackets indicate number of females.

Findings were graded as follows

Pupil size	1: Mydriasis, 2: normal, 3: miosis.
Respiration	1: Normal, 2: bradypnea, 3: dyspnea.

(Continued)

Table 23. (Continued) Detailed clinical signs (FOB) in parental female rats (mating groups) in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane		
	0	62.5	250	1000	
Number of females	12	12	12	12	
Open-field test					
Frequency of urination	Pre	0.0 ± 0.0	0.2 ± 0.6	0.3 ± 0.5	0.3 ± 0.6
Mean ± S.D.	Day 7	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.3	0.1 ± 0.3
	Day 14	0.1 ± 0.3	0.1 ± 0.3	0.1 ± 0.3	0.1 ± 0.3
	Pregnancy 1	0.3 ± 0.6 [11]	0.0 ± 0.0 [11]	0.3 ± 0.5	0.2 ± 0.4 [11]
	Pregnancy 8	0.5 ± 0.7 [11]	0.0 ± 0.0 * [11]	0.2 ± 0.4	0.1 ± 0.3 [11]
	Pregnancy 15	0.4 ± 0.5 [11]	0.1 ± 0.3 [11]	0.1 ± 0.3	0.0 ± 0.0 * [11]
	Lactation 4	0.1 ± 0.3 [11]	0.1 ± 0.3 [11]	0.3 ± 0.6 [11]	0.0 ± 0.0 [11]
Frequency of defecation	Pre	0.3 ± 1.2	0.3 ± 0.9	0.2 ± 0.6	0.0 ± 0.0
Mean ± S.D.	Day 7	0.1 ± 0.3	0.4 ± 1.4	0.4 ± 1.4	0.0 ± 0.0
	Day 14	0.6 ± 1.4	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	Pregnancy 1	0.6 ± 1.6 [11]	0.9 ± 1.7 [11]	0.5 ± 1.0	0.0 ± 0.0 [11]
	Pregnancy 8	0.0 ± 0.0 [11]	0.3 ± 0.9 [11]	0.1 ± 0.3	0.0 ± 0.0 [11]
	Pregnancy 15	0.5 ± 1.2 [11]	0.3 ± 0.9 [11]	0.5 ± 1.2	0.0 ± 0.0 [11]
	Lactation 4	0.5 ± 1.5 [11]	0.0 ± 0.0 [11]	0.3 ± 0.9 [11]	0.0 ± 0.0 [11]

Pre: Day of grouping.

Significantly different from the control group (*: p<0.05 by Dunnett's test).

Figures in brackets indicate number of females.

Frequency of urination (during a 2-minute period).

Frequency of defecation (during a 2-minute period).

(Continued)

Table 23. (Continued) Detailed clinical signs (FOB) in parental female rats (mating groups) in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane		
	0	62.5	250	1000	
Number of females	12	12	12	12	
Open-field test					
Frequency of rearing	Pre	5.1 ± 2.5	5.2 ± 3.0	4.3 ± 2.9	4.8 ± 3.4
Mean ± S.D.	Day 7	5.7 ± 2.9	5.9 ± 2.8	6.4 ± 3.8	8.1 ± 3.7
	Day 14	5.8 ± 4.0	6.1 ± 4.2	9.6 ± 5.1	9.8 ± 6.0
	Pregnancy 1	5.2 ± 4.6 [11]	2.3 ± 3.2 [11]	5.1 ± 4.3	4.7 ± 3.3 [11]
	Pregnancy 8	4.9 ± 3.4 [11]	3.4 ± 3.0 [11]	5.8 ± 4.1	6.5 ± 4.7 [11]
	Pregnancy 15	3.6 ± 3.2 [11]	2.8 ± 3.5 [11]	3.7 ± 3.8	4.5 ± 3.9 [11]
	Lactation 4	4.7 ± 4.9 [11]	6.8 ± 4.9 [11]	5.9 ± 5.2 [11]	4.1 ± 4.1 [11]
Frequency of grooming	Pre	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Mean ± S.D.	Day 7	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	Day 14	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	Pregnancy 1	0.0 ± 0.0 [11]	0.0 ± 0.0 [11]	0.1 ± 0.3	0.0 ± 0.0 [11]
	Pregnancy 8	0.0 ± 0.0 [11]	0.0 ± 0.0 [11]	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0 [11]
	Pregnancy 15	0.0 ± 0.0 [11]	0.0 ± 0.0 [11]	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0 [11]
	Lactation 4	0.0 ± 0.0 [11]	0.0 ± 0.0 [11]	0.1 ± 0.3 [11]	0.0 ± 0.0 [11]

Pre: Day of grouping.

Figures in brackets indicate number of females.

Frequency of rearing (during a 2-minute period).

Frequency of grooming (during a 2-minute period).

(Continued)

Table 23. (Continued) Detailed clinical signs (FOB) in parental female rats (mating groups) in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group		Control	methylcyclohexane		
mg/kg		0	62.5	250	1000
Number of females		12	12	12	12
Open-field test					
Gait	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Pregnancy 1	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1) [11]
	Pregnancy 8	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1) [11]
	Pregnancy 15	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1) [11]
	Lactation 4	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]
Palpebral closure	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Pregnancy 1	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1) [11]
	Pregnancy 8	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1) [11]
	Pregnancy 15	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1) [11]
	Lactation 4	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]

(Continued)

Pre: Day of grouping.

Figures in brackets indicate number of females.

Findings were graded as follows

Gait 1: Normal, 2: unmoving, 3: staggering, 4: hind-limbs extended and dragged, 5: all fours extended, 6: forelimbs extended and dragged; unable to support body, 7: standing on tiptoe.

Palpebral closure 1: Eyelids open normally, 2: eyelids half-closed, 3: eyelids closed.

Table 23. (Continued) Detailed clinical signs (FOB) in parental female rats (mating groups) in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane		
	0	62.5	250	1000	
Number of females	12	12	12	12	
Open-field test					
Consciousness	Pre	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Mean (range)	Day 7	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 14	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Pregnancy 1	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]	2.0 (2)	2.0 (2) [11]
	Pregnancy 8	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]	2.0 (2)	2.0 (2) [11]
	Pregnancy 15	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]	2.0 (2)	2.0 (2) [11]
	Lactation 4	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]
Behavioral abnormalities	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Pregnancy 1	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1) [11]
	Pregnancy 8	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1) [11]
	Pregnancy 15	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1) [11]
	Lactation 4	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]

Pre: Day of grouping.

Figures in brackets indicate number of females.

Findings were graded as follows

Consciousness 1: Comatose; no response, 2: exploring behavior, 3: excited and moving spasmodically.

Behavioral abnormalities 1: Not observed, 2: straub's reaction, 3: moving backward, 4: writhing, 5: self-biting.

(Continued)

Table 23. (Continued) Detailed clinical signs (FOB) in parental female rats (mating groups) in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane		
	0	62.5	250	1000	
Number of females	12	12	12	12	
Open-field test					
Righting reflex	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Pregnancy 1	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1) [11]
	Pregnancy 8	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1) [11]
	Pregnancy 15	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1) [11]
	Lactation 4	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]

Pre: Day of grouping.

Figures in brackets indicate number of females.

Findings were graded as follows

Righting reflex

1: Righting itself immediately, 2: requiring 3 seconds or longer to right itself, 3: unable to right itself.

Table 24. Sensory reactivity of male rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control	methylcyclohexane		
		62.5	250	1000
Number of males	6	6	6	6
Pupillary reflex				
Mean (range)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Approaching behavior				
Mean (range)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Response to touch				
Mean (range)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Auditory reflex				
Mean (range)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Pain reflex				
Mean (range)	3.0 (3)	3.0 (3)	3.0 (3)	3.0 (3)

Findings were graded as follows:

- Pupillary reflex 1: Pupils completely dilated, 2: normal pupillary contraction observed, 3: pupils completely contracted.
- Approaching behavior 1: Not observed, 2: approaching and sniffing stimulus, 3: reacting to stimulus, including vocalizing,
 4: jumping at or biting at stimulus.
- Response to touch 1: No response, 2: looking back and leaving stimulus, 3: reacting to stimulus, including vocalizing,
 4: jumping at or biting at stimulus.
- Auditory reflex 1: Not observed, 2: hesitating at stimulus or moving ears, 3: jumping at and trying to bite at the source of sound.
- Pain reflex 1: Not observed, 2: slowly looking back or slowly moving forward to escape from stimulus,
 3: quickly moving forward to escape from stimulus or biting at it immediately after looking back,
 4: jumping forward to escape from stimulus, 5: loudly vocalizing and biting at stimulus after suddenly looking back.

Table 25. Sensory reactivity of female rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control	methylcyclohexane		
		62.5	250	1000
Number of females	5	5	5	5
Pupillary reflex				
Mean (range)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Approaching behavior				
Mean (range)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Response to touch				
Mean (range)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Auditory reflex				
Mean (range)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Pain reflex				
Mean (range)	3.0 (3)	3.0 (3)	3.0 (3)	3.0 (3)

Findings were graded as follows:

- Pupillary reflex 1: Pupils completely dilated, 2: normal pupillary contraction observed, 3: pupils completely contracted.
- Approaching behavior 1: Not observed, 2: approaching and sniffing stimulus, 3: reacting to stimulus, including vocalizing,
4: jumping at or biting at stimulus.
- Response to touch 1: No response, 2: looking back and leaving stimulus, 3: reacting to stimulus, including vocalizing,
4: jumping at or biting at stimulus.
- Auditory reflex 1: Not observed, 2: hesitating at stimulus or moving ears, 3: jumping at and trying to bite at the source of sound.
- Pain reflex 1: Not observed, 2: slowly looking back or slowly moving forward to escape from stimulus,
3: quickly moving forward to escape from stimulus or biting at it immediately after looking back,
4: jumping forward to escape from stimulus, 5: loudly vocalizing and biting at stimulus after suddenly looking back.

Table 26. Grip strength of male rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group	Control	methylcyclohexane		
		250	1000	
mg/kg	0	62.5		
Number of males	6	6	6	6
Forelimb				
	1380 ± 370	1461 ± 282	1477 ± 214	1351 ± 474
Hindlimb	246 ± 84	256 ± 121	271 ± 89	260 ± 160

Each value shows mean (g) ± S.D.

Table 27. Grip strength of female rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group	Control	methylcyclohexane		
		250	1000	
mg/kg	0	62.5		
Number of females	5	5	5	5
Forelimb				
	959 ± 169	851 ± 70	939 ± 126	1019 ± 120
Hindlimb	348 ± 151	310 ± 40	305 ± 34	361 ± 159

Each value shows mean (g) ± S.D.

Table 28. Spontaneous motor activity of male rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane		
	0	62.5	250	1000	
Number of males	6	6	6	6	
Ambulatory counts					
Minutes after administration					
70	468 ± 206	391 ± 238	340 ± 109	501 ± 287	
80	205 ± 174	326 ± 237	195 ± 164	213 ± 126	
90	75 ± 109	55 ± 67	59 ± 69	220 ± 207	
100	132 ± 169	117 ± 114	41 ± 57	66 ± 64	
110	61 ± 74	116 ± 152	74 ± 88	12 ± 29	
120	86 ± 94	129 ± 196	64 ± 104	55 ± 125	
Total	1027 ± 524	1134 ± 788	772 ± 407	1067 ± 558	
Vertical counts					
Minutes after administration					
70	49 ± 24	37 ± 24	44 ± 11	39 ± 24	
80	23 ± 23	26 ± 24	22 ± 11	22 ± 17	
90	7 ± 10	6 ± 8	7 ± 10	19 ± 20	
100	12 ± 19	11 ± 13	3 ± 5	4 ± 4	
110	8 ± 12	10 ± 15	10 ± 13	1 ± 1	
120	7 ± 11	10 ± 15	4 ± 6	4 ± 10	
Total	105 ± 75	100 ± 81	89 ± 34	89 ± 53	

Each value shows mean ± S.D.

Table 29. Spontaneous motor activity of female rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane		
	0	62.5	250	1000	
Number of females	5	5	5	5	
Ambulatory counts					
Minutes after administration					
70	402 ± 421	530 ± 142	772 ± 748	486 ± 241	
80	294 ± 267	225 ± 169	441 ± 373	378 ± 106	
90	209 ± 302	118 ± 137	270 ± 399	82 ± 92	
100	169 ± 219	133 ± 139	320 ± 248	105 ± 144	
110	56 ± 90	69 ± 142	56 ± 89	43 ± 88	
120	180 ± 121	71 ± 108	183 ± 173	150 ± 201	
Total	1309 ± 1220	1146 ± 513	2042 ± 1386	1243 ± 648	
Vertical counts					
Minutes after administration					
70	32 ± 31	50 ± 18	45 ± 24	46 ± 22	
80	26 ± 22	22 ± 19	33 ± 23	33 ± 12	
90	15 ± 21	14 ± 16	22 ± 28	7 ± 8	
100	12 ± 13	14 ± 15	17 ± 13	9 ± 12	
110	3 ± 4	5 ± 10	3 ± 4	4 ± 8	
120	16 ± 14	7 ± 10	15 ± 16	11 ± 16	
Total	104 ± 86	112 ± 63	134 ± 78	110 ± 58	

Each value shows mean ± S.D.

Table 30. Urinary findings in male rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group	Control		methylcyclohexane		
	mg/kg	0	62.5	250	1000
Number of males		6	6	6	6
Volume (mL): Mean ± S.D.	8.7 ± 2.1		15.5 ± 14.6	16.1 ± 10.3	16.3 ± 4.9 #
Specific gravity: Mean ± S.D.	1.051 ± 0.007		1.050 ± 0.022	1.046 ± 0.023	1.058 ± 0.015
Color					
Light yellow		6	6	6	6
pH					
7.5		0	0	1	1
8.0		0	0	0	2
8.5		6	6	5	3
Protein					
Negative		0	0	0	3
Trace		1	1	1	1
30 mg/dL		4	5	3	2
100 mg/dL		1	0	2	0
Glucose					
Negative		6	6	6	6
Ketone body					
Negative		0	0	0	5
Trace		2	2	1	1
Slight		4	4	5	0
Bilirubin					
Negative		6	6	6	6
Occult blood					
Negative		4	4	6	6
Trace		2	2	0	0
Urobilinogen					
0.1 E.U./dL		6	6	6	6

Significantly different from the control group (#: p<0.05 by Steel's test).

(Continued)

Table 30. (Continued) Urinary findings in male rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group	Control	methylcyclohexane		
		62.5	250	1000
mg/kg	0			
Number of males	6	6	6	6
Urinary sediments				
Epithelial cells				
0-20 cells/100 fields	6	6	6	6
Erythrocytes				
0-20 cells/100 fields	6	6	6	6
Leukocytes				
0-20 cells/100 fields	6	6	6	6
Casts				
Not observed	6	6	6	6
Crystals				
Not observed	6	6	3	6
Observed	0	0	3	0

Table 31. Urinary findings in female rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group	Control		methylcyclohexane		
	mg/kg	0	62.5	250	1000
Number of females		5	5	5	5
Volume (mL): Mean ± S.D.	6.8 ± 1.6		8.5 ± 3.0	7.7 ± 3.5	9.0 ± 4.4
Specific gravity: Mean ± S.D.	1.051 ± 0.011		1.055 ± 0.014	1.054 ± 0.021	1.064 ± 0.022
Color					
Light yellow		5	5	5	5
pH					
6.0		0	1	0	0
7.5		1	0	0	0
8.0		2	1	0	0
8.5		2	1	3	4
≥9.0		0	2	2	1
Protein					
Negative		4	2	1	1
Trace		0	2	0	2
30 mg/dL		1	1	4	2
Glucose					
Negative		5	5	5	5
Ketone body					
Negative		4	4	4	2
Trace		1	0	1	3
Slight		0	1	0	0
Bilirubin					
Negative		5	5	5	5
Occult blood					
Negative		5	4	5	4
Trace		0	1	0	1
Urobilinogen					
0.1 E.U./dL		4	5	5	3
1.0 E.U./dL		1	0	0	2

(Continued)

Table 31. (Continued) Urinary findings in female rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control				methylcyclohexane			
	0	62.5	250	1000				
Number of females	5	5	5	5				
Urinary sediments								
Epithelial cells								
0-20 cells/100 fields	5	5	5	5				
Erythrocytes								
0-20 cells/100 fields	5	5	5	5				
Leukocytes								
0-20 cells/100 fields	5	5	5	5				
Casts								
Not observed	5	5	5	5				
Crystals								
Not observed	3	4	4	5				
Observed	2	1	1	0				

Table 32. Urinary findings in male rats on termination of recovery period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group	Control		methylcyclohexane		
	mg/kg	0	62.5	250	1000
Number of males		6	6	6	6
Volume (mL): Mean ± S.D.	13.4 ± 3.9		17.0 ± 7.0	13.1 ± 6.0	15.4 ± 5.6
Specific gravity: Mean ± S.D.	1.043 ± 0.012		1.042 ± 0.014	1.053 ± 0.018	1.047 ± 0.013
Color					
Light yellow		6	6	6	6
pH					
7.0		0	1	0	0
7.5		1	0	0	1
8.0		0	1	0	0
8.5		5	4	6	5
Protein					
Trace		2	1	3	2
30 mg/dL		2	5	3	4
100 mg/dL		2	0	0	0
Glucose					
Negative		6	6	6	6
Ketone body					
Trace		2	3	1	5
Slight		4	2	5	1
Moderate		0	1	0	0
Bilirubin					
Negative		6	6	6	6
Occult blood					
Negative		4	2	4	1
Trace		2	4	2	5
Urobilinogen					
0.1 E.U./dL		6	6	6	6

(Continued)

Table 32. (Continued) Urinary findings in male rats on termination of recovery period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group	Control	methylcyclohexane		
		62.5	250	1000
mg/kg	0	62.5	250	1000
Number of males	6	6	6	6
Urinary sediments				
Epithelial cells				
0-20 cells/100 fields	6	6	6	6
Erythrocytes				
0-20 cells/100 fields	6	6	6	6
Leukocytes				
0-20 cells/100 fields	6	6	6	6
Casts				
Not observed	6	6	6	6
Crystals				
Not observed	4	3	5	4
Observed	2	3	1	2

Table 33. Urinary findings in female rats on termination of recovery period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group	Control	methylcyclohexane
mg/kg	0	1000
Number of females	5	5
Volume (mL): Mean ± S.D.	15.1 ± 4.5	12.7 ± 4.2
Specific gravity: Mean ± S.D.	1.036 ± 0.009	1.038 ± 0.012
Color		
Light yellow	5	5
pH		
7.0	1	0
7.5	0	1
8.0	3	0
8.5	1	4
Protein		
Negative	2	4
Trace	2	1
30 mg/dL	1	0
Glucose		
Negative	5	5
Ketone body		
Negative	4	5
Trace	1	0
Bilirubin		
Negative	5	5
Occult blood		
Negative	5	5
Urobilinogen		
0.1 E.U./dL	4	5
1.0 E.U./dL	1	0

(Continued)

Table 33. (Continued) Urinary findings in female rats on termination of recovery period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group	Control	methylcyclohexane
mg/kg	0	1000
Number of females	5	5
Urinary sediments		
Epithelial cells		
0-20 cells/100 fields	5	5
Erythrocytes		
0-20 cells/100 fields	5	5
Leukocytes		
0-20 cells/100 fields	5	5
Casts		
Not observed	5	5
Crystals		
Not observed	4	2
Observed	1	3

Table 34. Hematological findings in male rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane			
	0	62.5	250	1000		
Number of males	6	6	6	6		
RBC ($10^4/\mu\text{L}$)	797 ± 23	816 ± 38	816 ± 26	798 ± 24		
Hemoglobin (g/dL)	14.6 ± 0.6	15.1 ± 0.5	15.1 ± 0.3	15.0 ± 0.5		
Hematocrit (%)	40.7 ± 1.6	42.0 ± 1.0	41.9 ± 0.8	41.6 ± 1.4		
MCV (fL)	51.1 ± 1.3	51.6 ± 2.9	51.4 ± 1.5	52.2 ± 1.0		
MCH (pg)	18.3 ± 0.4	18.6 ± 0.8	18.6 ± 0.3	18.8 ± 0.5		
MCHC (g/dL)	35.7 ± 0.3	36.0 ± 0.6	36.1 ± 0.6	36.1 ± 0.6		
Platelet ($10^4/\mu\text{L}$)	115.8 ± 7.7	107.0 ± 17.2	122.9 ± 8.0	132.1 ± 22.5		
Reticulocyte (%)	3.01 ± 0.32	2.85 ± 0.54	3.42 ± 0.23	3.22 ± 0.39		
PT (sec.)	21.5 ± 4.3	22.4 ± 5.8	21.1 ± 3.1	23.9 ± 5.8		
APTT (sec.)	24.7 ± 2.9	24.8 ± 2.7	24.4 ± 2.7	26.6 ± 3.3		
Fibrinogen (mg/dL)	193.8 ± 9.7	217.2 ± 21.1	205.2 ± 21.0	201.4 ± 20.1		
WBC ($10^2/\mu\text{L}$)	68.3 ± 9.8	63.2 ± 13.6	65.2 ± 11.4	65.1 ± 24.3		
Differential leukocyte (%)						
Lymphocyte	78.7 ± 9.4	74.1 ± 6.7	73.2 ± 7.1	73.1 ± 5.6		
Neutrophil	18.2 ± 8.5	22.0 ± 5.8	22.5 ± 6.4	23.4 ± 5.3		
Eosinophil	1.2 ± 0.8	1.5 ± 0.5	1.6 ± 0.6	1.2 ± 0.8		
Basophil	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0		
Monocyte	2.0 ± 0.9	2.4 ± 0.7	2.8 ± 1.0	2.2 ± 0.5		

Each value shows mean ± S.D.

Table 35. Hematological findings in female rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group	Control		methylcyclohexane			
	mg/kg	0	62.5	250	1000	
Number of females	5	5	5	5	5	
RBC ($10^4/\mu\text{L}$)	746 ± 54		771 ± 37	734 ± 21	730 ± 52	
Hemoglobin (g/dL)	14.3 ± 0.8		14.5 ± 0.6	14.1 ± 0.5	14.1 ± 0.8	
Hematocrit (%)	39.8 ± 2.0		40.3 ± 1.6	39.4 ± 0.9	39.5 ± 2.1	
MCV (fL)	53.5 ± 2.1		52.4 ± 3.1	53.6 ± 0.6	54.1 ± 1.5	
MCH (pg)	19.1 ± 0.8		18.8 ± 1.2	19.2 ± 0.2	19.3 ± 0.4	
MCHC (g/dL)	35.8 ± 0.2		35.9 ± 0.3	35.9 ± 0.5	35.7 ± 0.3	
Platelet ($10^4/\mu\text{L}$)	118.9 ± 10.0		103.7 ± 14.3	103.3 ± 10.8	111.8 ± 6.2	
Reticulocyte (%)	2.76 ± 0.19		2.81 ± 0.28	2.71 ± 0.47	3.48 ± 0.48 *	
PT (sec.)	14.6 ± 0.5		14.6 ± 0.6	14.7 ± 0.5	15.0 ± 0.7	
APTT (sec.)	17.6 ± 0.6		17.6 ± 0.4	17.5 ± 1.4	17.6 ± 1.5	
Fibrinogen (mg/dL)	172.3 ± 14.0		168.3 ± 4.2	166.8 ± 13.5	171.8 ± 18.7	
WBC ($10^2/\mu\text{L}$)	49.7 ± 10.9		32.6 ± 7.3	42.8 ± 14.3	31.8 ± 11.4	
Differential leukocyte (%)						
Lymphocyte	76.5 ± 8.3		74.1 ± 6.0	78.6 ± 8.3	73.0 ± 5.8	
Neutrophil	20.3 ± 8.0		21.5 ± 6.3	17.0 ± 7.3	22.8 ± 5.5	
Eosinophil	1.5 ± 0.5		2.3 ± 1.6	1.9 ± 0.8	1.5 ± 0.8	
Basophil	0.0 ± 0.0		0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	
Monocyte	1.7 ± 0.3		2.1 ± 0.7	2.5 ± 0.9	2.7 ± 0.4 *	

Each value shows mean ± S.D.

Significantly different from the control group (*: p<0.05 by Dunnett's test).

Table 36. Hematological findings in male rats on termination of recovery period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane		
	0	62.5	250	1000	
Number of males	6	6	6	6	
RBC ($10^4/\mu\text{L}$)	846 ± 59	822 ± 38	795 ± 26	819 ± 6	
Hemoglobin (g/dL)	14.9 ± 0.6	15.1 ± 0.5	14.5 ± 0.3	14.6 ± 0.4	
Hematocrit (%)	40.9 ± 1.5	41.7 ± 1.6	40.5 ± 1.1	40.8 ± 1.1	
MCV (fL)	48.5 ± 1.9	50.8 ± 1.9	50.9 ± 1.8	49.8 ± 1.5	
MCH (pg)	17.7 ± 0.6	18.3 ± 0.6	18.2 ± 0.7	17.8 ± 0.5	
MCHC (g/dL)	36.4 ± 0.2	36.1 ± 0.4	35.9 ± 0.3 *	35.8 ± 0.3 **	
Platelet ($10^4/\mu\text{L}$)	112.6 ± 16.4	108.6 ± 8.6	109.2 ± 9.5	120.9 ± 18.5	
Reticulocyte (%)	3.03 ± 0.87	3.19 ± 0.64	3.25 ± 0.28	2.89 ± 0.29	
PT (sec.)	21.1 ± 2.5	22.2 ± 4.0	23.8 ± 2.1	23.4 ± 3.7	
APTT (sec.)	22.1 ± 1.7	23.4 ± 2.4	23.1 ± 1.8	23.0 ± 1.0	
Fibrinogen (mg/dL)	185.8 ± 11.3	190.8 ± 14.8	194.5 ± 5.7	200.8 ± 9.0	
WBC ($10^2/\mu\text{L}$)	79.0 ± 22.2	52.1 ± 14.3 *	56.7 ± 18.3	50.2 ± 6.4 *	
Differential leukocyte (%)					
Lymphocyte	77.0 ± 9.7	73.4 ± 3.9	72.1 ± 5.5	72.0 ± 6.5	
Neutrophil	18.2 ± 8.8	21.7 ± 3.8	23.4 ± 5.4	23.0 ± 5.7	
Eosinophil	1.5 ± 0.4	1.6 ± 0.7	1.6 ± 0.2	1.8 ± 0.9	
Basophil	0.1 ± 0.1	0.0 ± 0.0 *	0.0 ± 0.0 *	0.0 ± 0.0 *	
Monocyte	3.2 ± 0.8	3.4 ± 0.9	2.9 ± 0.3	3.3 ± 0.7	

Each value shows mean ± S.D.

Significantly different from the control group (*: p<0.05, **: p<0.01 by Dunnett's test).

Table 37. Hematological findings in female rats on termination of recovery period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane	
	0	1000	5	5
RBC ($10^4/\mu\text{L}$)	783 ± 19		788 ± 39	
Hemoglobin (g/dL)	14.8 ± 0.5		14.7 ± 0.5	
Hematocrit (%)	40.4 ± 1.1		40.7 ± 1.3	
MCV (fL)	51.6 ± 1.2		51.7 ± 1.3	
MCH (pg)	18.9 ± 0.4		18.7 ± 0.5	
MCHC (g/dL)	36.5 ± 0.2		36.2 ± 0.5	
Platelet ($10^4/\mu\text{L}$)	106.4 ± 5.1		119.8 ± 17.7	
Reticulocyte (%)	2.50 ± 0.67		2.23 ± 0.49	
PT (sec.)	15.2 ± 1.0		14.7 ± 1.1	
APTT (sec.)	16.5 ± 0.8		17.3 ± 0.5	
Fibrinogen (mg/dL)	162.9 ± 6.9		177.7 ± 17.0	
WBC ($10^2/\mu\text{L}$)	33.6 ± 9.9		31.4 ± 12.7	
Differential leukocyte (%)				
Lymphocyte	68.0 ± 3.8		70.1 ± 10.0	
Neutrophil	26.3 ± 3.6		24.4 ± 9.1	
Eosinophil	1.9 ± 0.8		2.4 ± 1.3	
Basophil	0.0 ± 0.0		0.0 ± 0.0	
Monocyte	3.8 ± 1.2		3.1 ± 1.0	

Each value shows mean ± S.D.

Table 38. Clinical biochemistry findings in male rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane			
	0	62.5	250	1000		
Number of males	6	6	6	6		
AST (IU/L)	85.4 ± 11.4	80.0 ± 8.4	94.7 ± 37.8	90.8 ± 25.1		
ALT (IU/L)	25.5 ± 1.1	28.4 ± 3.9	35.6 ± 16.2	44.3 ± 17.6 #		
ALP (IU/L)	426.4 ± 113.3	369.5 ± 92.3	359.7 ± 43.8	364.2 ± 137.7		
γ-GT (IU/L)	0.61 ± 0.08	0.51 ± 0.11	0.65 ± 0.17	1.18 ± 0.33 #		
Total protein (g/dL)	5.59 ± 0.22	5.48 ± 0.18	5.55 ± 0.15	6.25 ± 0.28 **		
Albumin (g/dL)	2.80 ± 0.36	2.88 ± 0.20	2.93 ± 0.08	3.00 ± 0.15		
A/G	1.01 ± 0.17	1.11 ± 0.13	1.12 ± 0.03	0.92 ± 0.04		
Total bilirubin (mg/dL)	0.10 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.11 ± 0.01		
Urea nitrogen (mg/dL)	15.5 ± 2.0	13.5 ± 1.1	15.0 ± 2.2	13.8 ± 1.8		
Creatinine (mg/dL)	0.28 ± 0.03	0.24 ± 0.03	0.25 ± 0.02	0.25 ± 0.02		
Glucose (mg/dL)	107.9 ± 7.5	112.1 ± 9.2	103.2 ± 6.7	97.9 ± 10.1		
Total cholesterol (mg/dL)	45.1 ± 5.9	60.8 ± 8.4 *	60.5 ± 9.3 *	81.2 ± 12.6 **		
Triglyceride (mg/dL)	39.0 ± 11.0	31.1 ± 8.3	30.8 ± 8.8	28.9 ± 11.4		
Na (mEq/L)	146.5 ± 0.5	146.7 ± 0.8	145.6 ± 0.8	146.9 ± 1.2		
K (mEq/L)	4.25 ± 0.25	4.14 ± 0.17	4.51 ± 0.27	4.47 ± 0.34		
Cl (mEq/L)	108.6 ± 1.0	108.2 ± 1.0	107.2 ± 1.1 *	105.7 ± 0.5 **		
Ca (mg/dL)	9.6 ± 0.2	9.5 ± 0.2	9.5 ± 0.2	10.0 ± 0.2 **		
Inorganic phosphorus (mg/dL)	7.2 ± 0.7	7.1 ± 0.6	7.4 ± 0.7	7.5 ± 0.8		

Each value shows mean ± S.D.

Significantly different from the control group (*: p<0.05, **: p<0.01 by Dunnett's test).

Significantly different from the control group (#: p<0.05 by Steel's test).

Table 39. Clinical biochemistry findings in female rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane			
	0 5	62.5 5	250 5	1000 5		
Number of females						
AST (IU/L)	71.9 ± 12.0	76.5 ± 6.5	76.2 ± 12.0	73.0 ± 11.0		
ALT (IU/L)	21.8 ± 2.0	27.0 ± 7.5	25.0 ± 1.8	25.0 ± 6.6		
ALP (IU/L)	198.3 ± 23.5	164.0 ± 31.2	191.8 ± 45.5	178.1 ± 42.0		
γ-GT (IU/L)	0.70 ± 0.18	0.75 ± 0.12	0.74 ± 0.17	0.72 ± 0.18		
Total protein (g/dL)	6.04 ± 0.40	5.94 ± 0.37	6.04 ± 0.07	6.35 ± 0.48		
Albumin (g/dL)	3.51 ± 0.34	3.42 ± 0.33	3.47 ± 0.14	3.59 ± 0.39		
A/G	1.40 ± 0.14	1.36 ± 0.11	1.36 ± 0.13	1.30 ± 0.11		
Total bilirubin (mg/dL)	0.10 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.11 ± 0.02		
Urea nitrogen (mg/dL)	14.9 ± 2.5	14.0 ± 3.0	16.0 ± 3.3	12.9 ± 0.9		
Creatinine (mg/dL)	0.35 ± 0.02	0.33 ± 0.04	0.35 ± 0.06	0.30 ± 0.05		
Glucose (mg/dL)	119.2 ± 10.6	110.1 ± 2.7	110.2 ± 9.0	105.9 ± 7.2 *		
Total cholesterol (mg/dL)	63.5 ± 11.8	57.0 ± 11.2	63.6 ± 13.8	76.7 ± 18.2		
Triglyceride (mg/dL)	25.4 ± 14.3	23.9 ± 12.1	18.7 ± 4.8	27.4 ± 16.9		
Na (mEq/L)	143.0 ± 1.1	142.5 ± 0.9	142.5 ± 1.2	142.9 ± 1.2		
K (mEq/L)	4.06 ± 0.28	3.92 ± 0.12	4.03 ± 0.18	3.98 ± 0.26		
Cl (mEq/L)	108.4 ± 0.9	107.1 ± 1.8	108.3 ± 1.2	108.0 ± 2.4		
Ca (mg/dL)	9.7 ± 0.3	9.8 ± 0.3	9.6 ± 0.1	9.9 ± 0.5		
Inorganic phosphorus (mg/dL)	5.8 ± 1.1	5.9 ± 0.7	5.8 ± 1.3	6.6 ± 0.6		

Each value shows mean ± S.D.

Significantly different from the control group (*: p<0.05 by Dunnett's test).

Table 40. Clinical biochemistry findings in male rats on termination of recovery period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane		
	0	62.5	250	1000	
Number of males	6	6	6	6	
AST (IU/L)	85.3 ± 16.4	85.5 ± 13.0	74.8 ± 8.8	90.8 ± 25.0	
ALT (IU/L)	29.5 ± 6.2	27.6 ± 2.9	30.7 ± 6.4	39.6 ± 8.8 *	
ALP (IU/L)	301.2 ± 46.7	267.0 ± 17.1	308.3 ± 39.3	326.4 ± 40.0	
γ-GT (IU/L)	0.44 ± 0.11	0.41 ± 0.06	0.43 ± 0.06	0.47 ± 0.12	
Total protein (g/dL)	5.64 ± 0.13	5.65 ± 0.33	5.62 ± 0.19	5.87 ± 0.47	
Albumin (g/dL)	2.74 ± 0.10	2.76 ± 0.14	2.71 ± 0.10	2.85 ± 0.17	
A/G	0.94 ± 0.06	0.96 ± 0.12	0.93 ± 0.09	0.94 ± 0.07	
Total bilirubin (mg/dL)	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.11 ± 0.01	
Urea nitrogen (mg/dL)	14.8 ± 1.3	13.5 ± 1.3	14.6 ± 1.6	15.1 ± 1.1	
Creatinine (mg/dL)	0.25 ± 0.02	0.24 ± 0.02	0.27 ± 0.04	0.24 ± 0.03	
Glucose (mg/dL)	116.1 ± 7.6	109.9 ± 8.2	103.3 ± 8.8 *	109.5 ± 9.4	
Total cholesterol (mg/dL)	45.3 ± 6.3	51.6 ± 15.4	52.8 ± 10.4	73.1 ± 13.5 **	
Triglyceride (mg/dL)	25.6 ± 11.4	31.6 ± 7.1	37.4 ± 22.1	33.7 ± 12.6	
Na (mEq/L)	144.6 ± 1.1	145.2 ± 0.9	145.7 ± 1.2	145.2 ± 0.8	
K (mEq/L)	4.02 ± 0.15	4.16 ± 0.22	4.19 ± 0.24	4.26 ± 0.32	
Cl (mEq/L)	107.5 ± 1.1	108.0 ± 1.4	108.7 ± 1.3	106.8 ± 1.1	
Ca (mg/dL)	9.5 ± 0.4	9.4 ± 0.2	9.6 ± 0.2	9.7 ± 0.2	
Inorganic phosphorus (mg/dL)	6.9 ± 0.5	7.1 ± 0.5	7.1 ± 0.6	7.2 ± 0.7	

Each value shows mean ± S.D.

Significantly different from the control group (*: p<0.05, **: p<0.01 by Dunnett's test).

Table 41. Clinical biochemistry findings in female rats on termination of recovery period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg		Control 0	methylcyclohexane 1000
Number of females		5	5
AST	(IU/L)	64.5 ± 4.1	92.7 ± 69.1
ALT	(IU/L)	25.2 ± 3.8	39.0 ± 37.2
ALP	(IU/L)	134.3 ± 30.4	137.2 ± 34.0
γ-GT	(IU/L)	0.53 ± 0.16	0.48 ± 0.07
Total protein	(g/dL)	6.65 ± 0.14	6.53 ± 0.25
Albumin	(g/dL)	3.66 ± 0.16	3.53 ± 0.30
A/G		1.22 ± 0.08	1.18 ± 0.13
Total bilirubin	(mg/dL)	0.13 ± 0.01	0.13 ± 0.00
Urea nitrogen	(mg/dL)	16.5 ± 3.4	16.3 ± 4.2
Creatinine	(mg/dL)	0.35 ± 0.04	0.35 ± 0.05
Glucose	(mg/dL)	118.3 ± 9.2	120.5 ± 8.3
Total cholesterol	(mg/dL)	78.8 ± 12.3	71.1 ± 16.7
Triglyceride	(mg/dL)	25.0 ± 3.4	24.0 ± 1.4
Na	(mEq/L)	141.7 ± 1.6	142.6 ± 1.0
K	(mEq/L)	3.57 ± 0.17	3.59 ± 0.12
Cl	(mEq/L)	105.7 ± 0.8	106.8 ± 1.3
Ca	(mg/dL)	10.1 ± 0.2	10.2 ± 0.3
Inorganic phosphorus	(mg/dL)	5.0 ± 0.6	4.9 ± 0.5

Each value shows mean ± S.D.

Table 42. Hormone concentrations in the serum of male rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group	Control	methylcyclohexane		
		62.5	250	1000
mg/kg	0	62.5	250	1000
Number of males	6	6	6	6
T3 (ng/mL)	1.287 ± 0.186	1.331 ± 0.064	1.335 ± 0.174	1.369 ± 0.140
T4 (ng/mL)	43.6 ± 6.7	42.7 ± 9.9	44.1 ± 4.1	41.5 ± 6.5
TSH (ng/mL)	0.811 ± 0.349	0.870 ± 0.358	0.949 ± 0.434	0.901 ± 0.619

Each value shows mean ± S.D.

Table 43. Hormone concentrations in the serum of female rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control	methylcyclohexane		
		62.5	250	1000
Number of females	5	5	5	5
T3 (ng/mL)	1.241 ± 0.203	1.235 ± 0.136	1.239 ± 0.099	1.229 ± 0.241
T4 (ng/mL)	32.9 ± 6.0	35.5 ± 1.1	34.4 ± 3.2	31.1 ± 6.6
TSH (ng/mL)	0.607 ± 0.357	0.513 ± 0.414	0.711 ± 0.520	0.530 ± 0.432

Each value shows mean ± S.D.

Table 44. Gross necropsy findings in male rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group	Control				methylcyclohexane			
	mg/kg	0	62.5	250	1000			
Number of males	6	6	6	6	6			
Findings								
Normal		5	5	6	5			
Testis								
Small in size, bilateral		1	0	0	1			
Small in size, lateral		0	1	0	0			
Softness, bilateral		1	0	0	0			
Epididymis								
Small in size, bilateral		0	0	0	1			
Small in size, lateral		0	1	0	0			

Table 45. Gross necropsy findings in female rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group	Control	methylcyclohexane		
		62.5	250	1000
mg/kg	0	62.5	250	1000
Number of females	5	5	5	5
Findings				
Normal	5	5	5	5

Table 46. Gross necropsy findings in male rats on termination of recovery period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group	Control	methylcyclohexane		
		62.5	250	1000
mg/kg	0	62.5	250	1000
Number of males	6	6	6	6
Findings				
Normal	6	6	6	6

Table 47. Gross necropsy findings in female rats on termination of recovery period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group	Control	methylcyclohexane
mg/kg	0	1000
Number of females	5	5
Findings		
Normal	5	5

Table 48. Gross necropsy findings in parental female rats (mating groups) in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control	methylcyclohexane		
		62.5	250	1000
Number of females on Day 5 of lactation	11	11	11	11
Normal	11	11	11	11
Number of females that all pups died	0	0	1	0
Normal	-	-	1	-
Number of non-pregnant females	1	1	0	1
Normal	1	1	-	1

Table 49. Organ weights of male rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group	Control		methylcyclohexane		
	mg/kg	0	62.5	250	1000
Number of males	6	6	6	6	6
Body weight (g)	425 ± 12	415 ± 29	416 ± 9	398 ± 29	
Brain (g)	2.09 ± 0.08	2.05 ± 0.08	2.08 ± 0.09	2.03 ± 0.04	
(g%)	0.49 ± 0.02	0.49 ± 0.04	0.50 ± 0.02	0.51 ± 0.03	
Pituitary (mg)	13.9 ± 1.7	15.2 ± 1.2	13.7 ± 2.6	14.0 ± 2.2	
(mg%)	3.3 ± 0.4	3.7 ± 0.3	3.3 ± 0.7	3.5 ± 0.4	
Salivary glands (mg)	635 ± 126	633 ± 97	649 ± 50	662 ± 58	
(mg%)	150 ± 30	152 ± 14	157 ± 14	167 ± 14	
Thyroids (mg)	20.0 ± 3.6	17.1 ± 3.4	21.9 ± 4.1	21.0 ± 3.1	
(mg%)	4.7 ± 0.8	4.1 ± 0.7	5.3 ± 1.1	5.3 ± 0.9	
Thymus (mg)	355 ± 59	358 ± 80	334 ± 111	373 ± 12	
(mg%)	84 ± 13	86 ± 16	81 ± 28	94 ± 7	
Heart (g)	1.31 ± 0.06	1.30 ± 0.14	1.29 ± 0.07	1.30 ± 0.14	
(g%)	0.31 ± 0.01	0.31 ± 0.03	0.31 ± 0.02	0.33 ± 0.03	
Liver (g)	11.00 ± 0.32	10.95 ± 0.98	11.65 ± 0.57	15.18 ± 0.94 **	
(g%)	2.59 ± 0.08	2.64 ± 0.18	2.81 ± 0.13 *	3.82 ± 0.13 **	
Spleen (mg)	808 ± 252	693 ± 91	674 ± 60	676 ± 76	
(mg%)	190 ± 56	167 ± 19	163 ± 17	170 ± 16	
Kidneys (g)	2.75 ± 0.16	2.99 ± 0.31	2.92 ± 0.14	3.14 ± 0.20 *	
(g%)	0.65 ± 0.03	0.72 ± 0.07 *	0.70 ± 0.03	0.79 ± 0.04 **	
Adrenals (mg)	61.7 ± 8.8	66.1 ± 6.0	55.9 ± 6.8	68.9 ± 11.9	
(mg%)	14.6 ± 2.2	16.0 ± 2.0	13.4 ± 1.5	17.3 ± 2.8	
Testes (g)	2.85 ± 0.81	3.06 ± 0.47	3.16 ± 0.35	2.79 ± 0.98	
(g%)	0.67 ± 0.19	0.75 ± 0.16	0.76 ± 0.08	0.70 ± 0.25	
Epididymides (mg)	1120 ± 309	1095 ± 174	1171 ± 111	1037 ± 273	
(mg%)	263 ± 70	267 ± 56	282 ± 28	259 ± 63	
Ventral prostate (mg)	642 ± 116	760 ± 124	683 ± 110	584 ± 136	
(mg%)	152 ± 28	184 ± 33	165 ± 28	147 ± 37	
Seminal vesicles (g)	1.83 ± 0.22	2.11 ± 0.29	1.80 ± 0.14	1.90 ± 0.19	
(g%)	0.43 ± 0.05	0.51 ± 0.08	0.44 ± 0.04	0.48 ± 0.07	

Each value shows mean ± S.D.

Significantly different from the control group (*: p<0.05, **: p<0.01 by Dunnett's test).

Table 50. Organ weights of female rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane		
	0 5	62.5 5	250 5	1000 5	
Number of females					
Body weight (g)	289 ± 16	285 ± 9	286 ± 7	274 ± 7	
Brain (g)	1.94 ± 0.07	1.90 ± 0.06	1.98 ± 0.06	1.92 ± 0.03	
(g%)	0.67 ± 0.04	0.67 ± 0.02	0.69 ± 0.03	0.70 ± 0.03	
Pituitary (mg)	20.3 ± 1.9	18.5 ± 3.4	20.3 ± 4.0	19.4 ± 2.0	
(mg%)	7.1 ± 0.9	6.5 ± 1.0	7.1 ± 1.3	7.1 ± 0.7	
Salivary glands (mg)	444 ± 46	438 ± 21	473 ± 37	449 ± 44	
(mg%)	154 ± 12	153 ± 6	165 ± 13	164 ± 17	
Thyroids (mg)	19.3 ± 1.0	17.2 ± 4.8	22.2 ± 4.7	20.4 ± 2.9	
(mg%)	6.7 ± 0.6	6.0 ± 1.5	7.7 ± 1.5	7.4 ± 1.0	
Thymus (mg)	391 ± 105	337 ± 115	373 ± 77	307 ± 38	
(mg%)	136 ± 37	118 ± 37	130 ± 27	112 ± 14	
Heart (g)	0.93 ± 0.02	0.93 ± 0.04	0.95 ± 0.05	0.90 ± 0.06	
(g%)	0.33 ± 0.02	0.33 ± 0.02	0.33 ± 0.01	0.33 ± 0.01	
Liver (g)	7.58 ± 0.60	7.84 ± 0.47	7.77 ± 0.48	8.29 ± 0.88	
(g%)	2.63 ± 0.19	2.75 ± 0.14	2.71 ± 0.12	3.02 ± 0.28 *	
Spleen (mg)	558 ± 69	543 ± 45	616 ± 138	564 ± 80	
(mg%)	194 ± 28	190 ± 13	216 ± 50	205 ± 25	
Kidneys (g)	1.83 ± 0.11	1.87 ± 0.09	1.95 ± 0.08	2.04 ± 0.25	
(g%)	0.64 ± 0.04	0.66 ± 0.03	0.68 ± 0.03	0.74 ± 0.09 *	
Adrenals (mg)	65.3 ± 5.6	75.3 ± 8.7	74.7 ± 6.5	84.1 ± 8.5 **	
(mg%)	22.7 ± 2.6	26.5 ± 3.5	26.1 ± 2.7	30.6 ± 2.4 **	
Ovaries (mg)	93.0 ± 8.9	87.8 ± 11.0	85.5 ± 16.8	93.2 ± 17.4	
(mg%)	32.3 ± 3.5	30.7 ± 3.2	30.0 ± 6.4	34.0 ± 6.4	
Uterus (mg)	499 ± 69	542 ± 87	568 ± 148	665 ± 108	
(mg%)	173 ± 23	190 ± 33	199 ± 54	243 ± 38 *	

Each value shows mean ± S.D.

Significantly different from the control group (*: p<0.05, **: p<0.01 by Dunnett's test).

Table 51. Organ weights of male rats on termination of recovery period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group	Control		methylcyclohexane		
	mg/kg	0	62.5	250	1000
Number of males	6	6	6	6	6
Body weight (g)	446 ± 20	442 ± 13	448 ± 30	433 ± 41	
Brain (g)	2.07 ± 0.06	2.04 ± 0.02	2.10 ± 0.04	2.06 ± 0.06	
(g%)	0.46 ± 0.02	0.46 ± 0.01	0.47 ± 0.03	0.48 ± 0.04	
Pituitary (mg)	15.8 ± 1.3	15.2 ± 1.9	15.2 ± 2.3	16.0 ± 1.6	
(mg%)	3.5 ± 0.3	3.4 ± 0.4	3.4 ± 0.4	3.7 ± 0.5	
Salivary glands (mg)	690 ± 69	702 ± 71	714 ± 64	692 ± 78	
(mg%)	155 ± 11	159 ± 14	160 ± 11	160 ± 11	
Thyroids (mg)	23.0 ± 3.4	23.1 ± 6.4	25.3 ± 2.2	25.9 ± 5.6	
(mg%)	5.2 ± 0.8	5.2 ± 1.4	5.7 ± 0.6	6.0 ± 0.9	
Thymus (mg)	351 ± 90	321 ± 70	334 ± 44	309 ± 49	
(mg%)	79 ± 19	73 ± 17	74 ± 7	72 ± 13	
Heart (g)	1.32 ± 0.11	1.36 ± 0.06	1.40 ± 0.10	1.33 ± 0.18	
(g%)	0.30 ± 0.02	0.31 ± 0.01	0.31 ± 0.03	0.31 ± 0.01	
Liver (g)	11.16 ± 1.42	10.97 ± 0.38	11.55 ± 0.97	12.25 ± 1.52	
(g%)	2.50 ± 0.26	2.49 ± 0.07	2.57 ± 0.10	2.83 ± 0.17	
Spleen (mg)	750 ± 109	713 ± 73	746 ± 104	733 ± 83	
(mg%)	168 ± 21	162 ± 18	166 ± 17	170 ± 13	
Kidneys (g)	3.04 ± 0.18	3.02 ± 0.25	2.96 ± 0.38	3.15 ± 0.22	
(g%)	0.68 ± 0.01	0.69 ± 0.05	0.66 ± 0.08	0.73 ± 0.05	
Adrenals (mg)	64.5 ± 8.6	59.5 ± 14.6	58.8 ± 11.0	56.4 ± 5.2	
(mg%)	14.5 ± 1.7	13.4 ± 3.0	13.1 ± 2.1	13.1 ± 0.8	
Testes (g)	3.05 ± 0.15	3.06 ± 0.18	3.23 ± 0.25	3.40 ± 0.46	
(g%)	0.68 ± 0.04	0.69 ± 0.04	0.72 ± 0.08	0.79 ± 0.09 *	
Epididymides (mg)	1251 ± 121	1148 ± 70	1238 ± 128	1223 ± 113	
(mg%)	280 ± 21	260 ± 20	277 ± 28	283 ± 27	
Ventral prostate (mg)	735 ± 61	724 ± 135	727 ± 148	755 ± 106	
(mg%)	165 ± 14	164 ± 27	162 ± 28	177 ± 35	
Seminal vesicles (g)	2.24 ± 0.37	2.23 ± 0.36	2.20 ± 0.17	2.38 ± 0.25	
(g%)	0.51 ± 0.10	0.50 ± 0.07	0.49 ± 0.04	0.56 ± 0.08	

Each value shows mean ± S.D.

Significantly different from the control group (*: p<0.05 by Dunnett's test).

Table 52. Organ weights of female rats on termination of recovery period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group	Control		methylcyclohexane	
	mg/kg	0		1000
Number of females	5		5	
Body weight (g)	295	± 5	293	± 18
Brain (g)	2.02	± 0.03	1.99	± 0.09
(g%)	0.68	± 0.02	0.68	± 0.02
Pituitary (mg)	22.5	± 3.7	22.4	± 4.4
(mg%)	7.6	± 1.2	7.6	± 1.4
Salivary glands (mg)	468	± 22	448	± 48
(mg%)	159	± 8	154	± 23
Thyroids (mg)	22.0	± 4.3	23.7	± 3.6
(mg%)	7.5	± 1.4	8.1	± 1.4
Thymus (mg)	326	± 82	286	± 55
(mg%)	110	± 28	98	± 21
Heart (g)	0.97	± 0.03	0.94	± 0.05
(g%)	0.33	± 0.01	0.32	± 0.02
Liver (g)	7.41	± 0.18	7.86	± 0.37 \$
(g%)	2.51	± 0.07	2.69	± 0.23
Spleen (mg)	617	± 54	595	± 26
(mg%)	209	± 17	204	± 20
Kidneys (g)	1.94	± 0.12	1.92	± 0.18
(g%)	0.66	± 0.04	0.66	± 0.06
Adrenals (mg)	78.2	± 6.5	80.5	± 10.0
(mg%)	26.5	± 2.3	27.7	± 4.5
Ovaries (mg)	83.1	± 13.0	99.0	± 10.7
(mg%)	28.2	± 4.5	34.0	± 5.0
Uterus (mg)	581	± 165	595	± 109
(mg%)	196	± 56	203	± 36

Each value shows mean ± S.D.

Significantly different from the control group (\$: p<0.05 by Student's t-test).

Table 53. Organ weights of parental female rats (mating groups) on Day 5 of lactation in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane		
	0	62.5	250	1000	
Number of females	11	11	11	11	
Body weight (g)	309 ± 19	320 ± 21	314 ± 18	297 ± 35	
Ovaries (mg)	107.7 ± 9.8	116.1 ± 11.5	104.8 ± 38.2	111.1 ± 13.8	
	(mg%)	34.9 ± 3.0	36.4 ± 4.2	33.2 ± 11.7	37.6 ± 4.2
Uterus (mg)	625 ± 92	647 ± 88	634 ± 95	657 ± 146	
	(mg%)	202 ± 30	203 ± 29	202 ± 33	221 ± 39

Each value shows mean ± S.D.

Table 54. Histopathological findings in male rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control						methylcyclohexane												
	0			62.5			250			1000									
Grade	N ^{a)}	A ^{b)}	±	+	2+	3+	N ^{a)}	A ^{b)}	±	+	2+	3+	N ^{a)}	A ^{b)}	±	+	2+	3+	
Findings																			
Heart	[6] ^{c)}						[0]						[6]						
Cellular infiltration	5	1	1	0	0	0							6		0	0	0	0	0
Lung	[6]						[0]						[6]						
Trachea	[6]						[0]						[6]						
Liver	[6]						[0]						[6]						
Pancreas	[6]						[0]						[6]						
Sublingual gland	[6]						[0]						[6]						
Submandibular gland	[6]						[0]						[6]						
Esophagus	[6]						[0]						[6]						
Stomach	[6]						[0]						[6]						
Duodenum	[6]						[0]						[6]						
Jejunum	[6]						[0]						[6]						
Ileum	[6]						[0]						[6]						
Peyer's patch	[6]						[0]						[6]						
Cecum	[6]						[0]						[6]						
Colon	[6]						[0]						[6]						
Rectum	[6]						[0]						[6]						
Thymus	[6]						[0]						[6]						
Spleen	[6]						[0]						[6]						
Hematopoiesis, extramedullary	5	1	1	0	0	0							6		0	0	0	0	0
Mandibular lymph node	[6]						[0]						[6]						
Mesenteric lymph node	[6]						[0]						[6]						
Kidney	[6]						[6]						[6]						
Hyaline droplet, renal tubule, bilateral	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	6	6	6	0	0	** ##
Basophilic change, renale tubule, bilateral	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	5	1	1	0	0	0	0
Cyst, lateral	5	1	1	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0
Urinary bladder	[6]						[0]						[0]						

a): No abnormality detected. b): Abnormality detected. c): Number in brackets is number of males examined.

(Continued)

Grade of histopathological findings: ±: slight, +: mild, 2+: moderate, 3+: marked.

Significantly different from the control group (**: p<0.01 by Steel's test).

Significantly different by dose response test (##: p<0.01 by Cochran-Armitage exact test).

Table 54. (Continued) Histopathological findings in male rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg Grade	Control						methylcyclohexane																				
	0						62.5						250						1000								
	N ^{a)}	A ^{b)}	±	+	2+	3+	N ^{a)}	A ^{b)}	±	+	2+	3+	N ^{a)}	A ^{b)}	±	+	2+	3+	N ^{a)}	A ^{b)}	±	+	2+	3+			
Findings																											
Testis	[6] ^{c)}						[1]						[0]						[6]								
Atrophy, seminiferous tubule, bilateral/lateral	5	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1							5	1	0	0	0	1			
Epididymis	[6]						[1]						[0]						[6]								
Atrophy, bilateral/lateral	5	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0							5	1	1	0	0	0			
Cell debris, lumen, bilateral/lateral	5	1	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0							5	1	0	0	0	1			
Ventral prostate	[6]						[0]						[0]						[6]								
Cellular infiltration	6	0	0	0	0	0													5	1	1	0	0	0			
Seminal vesicle	[6]						[0]						[0]						[6]								
Coagulating gland	[6]						[0]						[0]						[6]								
Pituitary	[6]						[0]						[0]						[6]								
Adrenal	[6]						[0]						[0]						[6]								
Thyroid	[6]						[0]						[0]						[6]								
Parathyroid	[6]						[0]						[0]						[5]								
Cerebrum	[6]						[0]						[0]						[6]								
Cerebellum	[6]						[0]						[0]						[6]								
Pons	[6]						[0]						[0]						[6]								
Spinal cord	[6]						[0]						[0]						[6]								
Sciatic nerve	[6]						[0]						[0]						[6]								
Eyeball	[6]						[0]						[0]						[6]								
Harderian gland	[6]						[0]						[0]						[6]								
Sternal bone	[6]						[0]						[0]						[6]								
Femoral bone	[6]						[0]						[0]						[6]								
Sternal bone marrow	[6]						[0]						[0]						[6]								
Femoral bone marrow	[6]						[0]						[0]						[6]								
Muscle (rectus femoris)	[6]						[0]						[0]						[6]								
Mammary gland	[6]						[0]						[0]						[6]								

a): No abnormality detected.

b): Abnormality detected.

c): Number in brackets is number of males examined.

Grade of histopathological findings: ±: slight, +: mild, 2+: moderate, 3+: marked.

Table 55. Histopathological findings in female rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control					methylcyclohexane 1000					
	N ^{a)}	A ^{b)}	±	+	2+	3+	N ^{a)}	A ^{b)}	±	+	2+
Findings											
Heart	[5] ^{c)}						[5]				
Lung	[5]						[5]				
Trachea	[5]						[5]				
Liver	[5]						[5]				
Pancreas	[5]						[5]				
Sublingual gland	[5]						[5]				
Submandibular gland	[5]						[5]				
Esophagus	[5]						[5]				
Stomach	[5]						[5]				
Duodenum	[5]						[5]				
Jejunum	[5]						[5]				
Ileum	[5]						[5]				
Peyer's patch	[5]						[5]				
Cecum	[5]						[5]				
Colon	[5]						[5]				
Rectum	[5]						[5]				
Thymus	[5]						[5]				
Spleen	[5]						[5]				
Mandibular lymph node	[5]						[5]				
Mesenteric lymph node	[5]						[5]				
Kidney	[5]						[5]				
Urinary bladder	[5]						[5]				

a): No abnormality detected.

(Continued)

b): Abnormality detected.

c): Number in brackets is number of females examined.

Grade of histopathological findings: ±: slight, +: mild, 2+: moderate, 3+: marked.

Table 55. (Continued) Histopathological findings in female rats on termination of administration period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control						methylcyclohexane					
	0						1000					
Grade	N ^{a)}	A ^{b)}	±	+	2+	3+	N ^{a)}	A ^{b)}	±	+	2+	3+
Findings												
Ovary	[5] ^{c)}						[5]					
Uterus	[5]						[5]					
Vagina	[5]						[5]					
Pituitary	[5]						[5]					
Adrenal	[5]						[5]					
Thyroid	[5]						[5]					
Parathyroid	[3]						[5]					
Cerebrum	[5]						[5]					
Cerebellum	[5]						[5]					
Pons	[5]						[5]					
Spinal cord	[5]						[5]					
Sciatic nerve	[5]						[5]					
Eyeball	[5]						[5]					
Retinal dysplasia, lateral	4	1	1	0	0	0	4	1	1	0	0	0
Harderian gland	[5]						[5]					
Sternal bone	[5]						[5]					
Femoral bone	[5]						[5]					
Sternal bone marrow	[5]						[5]					
Femoral bone marrow	[5]						[5]					
Muscle (rectus femoris)	[5]						[5]					
Mammary gland	[5]						[5]					

a): No abnormality detected.

b): Abnormality detected.

c): Number in brackets is number of females examined.

Grade of histopathological findings: ±: slight, +: mild, 2+: moderate, 3+: marked.

Table 56. Histopathological findings in male rats on termination of recovery period in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control						methylcyclohexane													
	0			62.5			250			1000										
Grade	N ^{a)}	A ^{b)}	±	+	2+	3+	N ^{a)}	A ^{b)}	±	+	2+	3+	N ^{a)}	A ^{b)}	±	+	2+	3+		
Findings																				
Kidney	[6] ^{c)}						[6]						[6]					[6]		
Basophilic change, renale tubule, bilateral/lateral	5	1	1	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	4	2	2
Cyst, lateral	5	1	1	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0

a): No abnormality detected.

b): Abnormality detected.

c): Number in brackets is number of males examined.

Grade of histopathological findings: ±: slight, +: mild, 2+: moderate, 3+: marked.

Table 57. Histopathological findings in parental female rats (mating groups) on Day 5 of lactation in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control					methylcyclohexane						
						1000						
Grade	N ^{a)}	A ^{b)}	±	+	2+	3+	N ^{a)}	A ^{b)}	±	+	2+	3+
Findings												
Ovary	[6] ^{c)}						[6]					
Uterus	[6]						[6]					
Vagina	[6]						[6]					
Mammary gland	[6]						[6]					

a): No abnormality detected.

b): Abnormality detected.

c): Number in brackets is number of females examined.

Grade of histopathological findings: ±: slight, +: mild, 2+: moderate, 3+: marked.

Table 58. Reproductive performance of parental male and female rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group	Control				methylcyclohexane			
	mg/kg	0	62.5	250	1000			
Number of females		12	12	12	12			
Number of estrous cases before pairing (14 days) (Mean ± S.D.)		3.4 ± 0.5	3.5 ± 0.5	3.2 ± 0.4	3.6 ± 0.5			
Number of pairs		12	12	12	12			
Number of pairs with successful copulation		12	12	12	12			
Copulation index (%) ^{a)}		100.0	100.0	100.0	100.0			
Number of conceiving days								
Mean ± S.D.		2.5 ± 1.2	1.8 ± 0.9	2.3 ± 1.5	2.7 ± 0.9			
Conceiving days 1-5		12	12	12	12			
Conceiving days ≥6		0	0	0	0			
Number of pregnant females		11	11	12	11			
Fertility index (%) ^{b)}		91.7	91.7	100.0	91.7			

a): (Number of pairs with successful copulation/number of pairs)×100.

b): (Number of pregnant females/number of pairs with successful copulation)×100.

Table 59. Observation of pups in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane			
	0	62.5	250	1000		
Number of dams	11	11	12	11		
Length of gestation (days)	22.4 ± 0.5	22.5 ± 0.5	22.3 ± 0.5	22.5 ± 0.5		
Pregnancy days = 21	0	0	0	0		
Pregnancy days = 22	7	5	8	6		
Pregnancy days ≥ 23	4	6	4	5		
Corpora lutea	15.5 ± 1.8	15.3 ± 1.1	14.3 ± 2.1	15.3 ± 2.3		
Implantation scars	13.8 ± 1.9	13.4 ± 1.4	13.1 ± 1.4	13.5 ± 2.5		
Implantation index (%) ^{a)}	89.3 ± 11.1	87.5 ± 6.2	92.3 ± 5.5	87.9 ± 10.4		
Gestation index (%) ^{b)}	100.0	100.0	100.0	100.0		
Pups born	12.5 ± 2.4	11.8 ± 2.6	12.1 ± 1.4	12.8 ± 2.6		
Stillbirths	0.4 ± 0.7	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.4 ± 0.5		
Live pups born	12.2 ± 2.6	11.8 ± 2.6	12.1 ± 1.4	12.5 ± 2.6		
Sex ratio at birth ^{c)} (Total male/total female)	1.01 ± 0.35 65/69	1.47 ± 0.90 72/58	0.83 ± 0.41 63/82	0.94 ± 0.34 66/71		
Delivery index (%) ^{d)}	90.6 ± 9.6	88.1 ± 14.9	92.4 ± 5.5	94.8 ± 4.6		
Birth index (%) ^{e)}	87.8 ± 12.3	88.1 ± 14.9	92.4 ± 5.5	92.2 ± 4.9		
Live birth index (%) ^{f)}	96.7 ± 6.9	100.0 ± 0.0	100.0 ± 0.0	97.3 ± 3.8		
Live pups on Day 4 of lactation	11.9 ± 2.7	11.7 ± 2.5	10.8 ± 3.7	11.1 ± 4.2		
Sex ratio on Day 4 of lactation ^{c)} (Total male/total female)	1.04 ± 0.51 63/68	1.46 ± 0.92 71/58	0.80 ± 0.41 55/75	0.83 ± 0.42 57/65		
Viability index (%) ^{g)}	97.7 ± 4.0	99.3 ± 2.3	90.9 ± 28.7	89.7 ± 27.9		
External abnormalities (%) ^{h)}	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0		

Each value shows mean ± S.D. per dam.

Figures in parentheses indicate number of dams.

a): (Number of implantation scars/number of corpora lutea)×100.

c): Number of male pups/number of female pups.

e): (Number of live pups born/number of implantation scars)×100.

g): (Number of live pups on Day 4 of lactation/number of live pups born)×100.

b): (Number of dams having live pups/number of pregnant dams)×100.

d): (Number of pups born/number of implantation scars)×100.

f): (Number of live pups born/number of pups born)×100.

h): (Number of pups with external abnormalities/number of live pups)×100.

Table 60. Delivery conditions and nursing conditions of dams in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group	mg/kg	Number of dams and delivery conditions/nursing conditions	Delivery conditions	Nursing conditions				
				Days of lactation				
				0	1	2	3	4
Control	0	Number of dams Normal	11	11	11	11	11	11
			11	11	11	11	11	11
methylcyclohexane	62.5	Number of dams Normal	11	11	11	11	11	11
			11	11	11	11	11	11
	250	Number of dams Normal Faulty nest-building	12	12	12	12	12	11
			12	12	12	12	11	11
	1000	Number of dams Normal	-	0	0	0	1	0
			11	11	11	11	11	11
			11	11	11	11	11	11

Table 61. General clinical signs in pups in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group	mg/kg	Number of pups and general clinical signs	Days of lactation				
			0	1	2	3	4
Control	0	Number of pups	138	134	134	131	131
		Normal	134	134	131	131	131
		Death	4	0	3	0	0
methylcyclohexane	62.5	Number of pups	130	130	130	129	129
		Normal	130	130	129	129	129
		Death	0	0	1	0	0
	250	Number of pups	145	145	145	145	143
		Normal	145	145	145	130	130
		Hypothermia	0	0	0	13	0
		Death	0	0	0	2	13
	1000	Number of pups	141	137	137	135	126
		Normal	137	137	135	126	122
		Death	4	0	2	9	4

Table 62. Body weights of pups in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane			
	0	62.5	250	1000		
Number of dams	11	11	12	11		
Male weight						
Days of lactation						
0	7.2 ± 0.5	7.3 ± 0.7	7.3 ± 0.5	7.0 ± 0.9		
4	11.6 ± 1.4	12.5 ± 2.0	11.5 ± 1.1 (11)	11.0 ± 2.3 (10)		
Female weight						
Days of lactation						
0	6.9 ± 0.5	7.2 ± 0.7	6.9 ± 0.5	6.6 ± 0.8		
4	11.0 ± 1.2	12.2 ± 1.8	10.7 ± 0.8 (11)	9.9 ± 2.6		
Mean pup weight						
Days of lactation						
0	7.1 ± 0.4	7.3 ± 0.7	7.0 ± 0.4	6.8 ± 0.8		
4	11.3 ± 1.3	12.3 ± 1.8	11.0 ± 0.8 (11)	10.2 ± 2.7		
Litter weight						
Days of lactation						
0	85.5 ± 16.4	84.9 ± 15.9	84.8 ± 9.8	83.4 ± 15.6		
4	132.5 ± 22.0	141.8 ± 22.0	129.7 ± 16.7 (11)	113.6 ± 39.6		

Each value shows mean (g) ± S.D. per dam.

Figures in parentheses indicate number of dams.

Table 63. Gross necropsy findings in stillbirths and dead pups in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group	Control	methylcyclohexane		
		62.5	250	1000
mg/kg	0	62.5	250	1000
Number of stillbirths	4	0	0	3
Normal	4	-	-	3
Number of dead pups	0	1	10	13
Normal	-	1	10	13

Table 64. Gross necropsy findings in pups in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration

Group mg/kg	Control		methylcyclohexane	
	0	62.5	250	1000
Number of dams	11	11	11	10
Number of male pups	63	71	55	57
Normal	63	71	55	57
Number of dams	11	11	11	11
Number of female pups	68	58	75	65
Normal	68	58	75	65

Study No. 100430

165

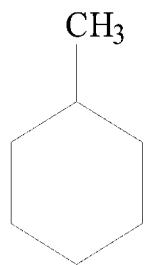


Fig. 1. Chemical structure of methylcyclohexane.

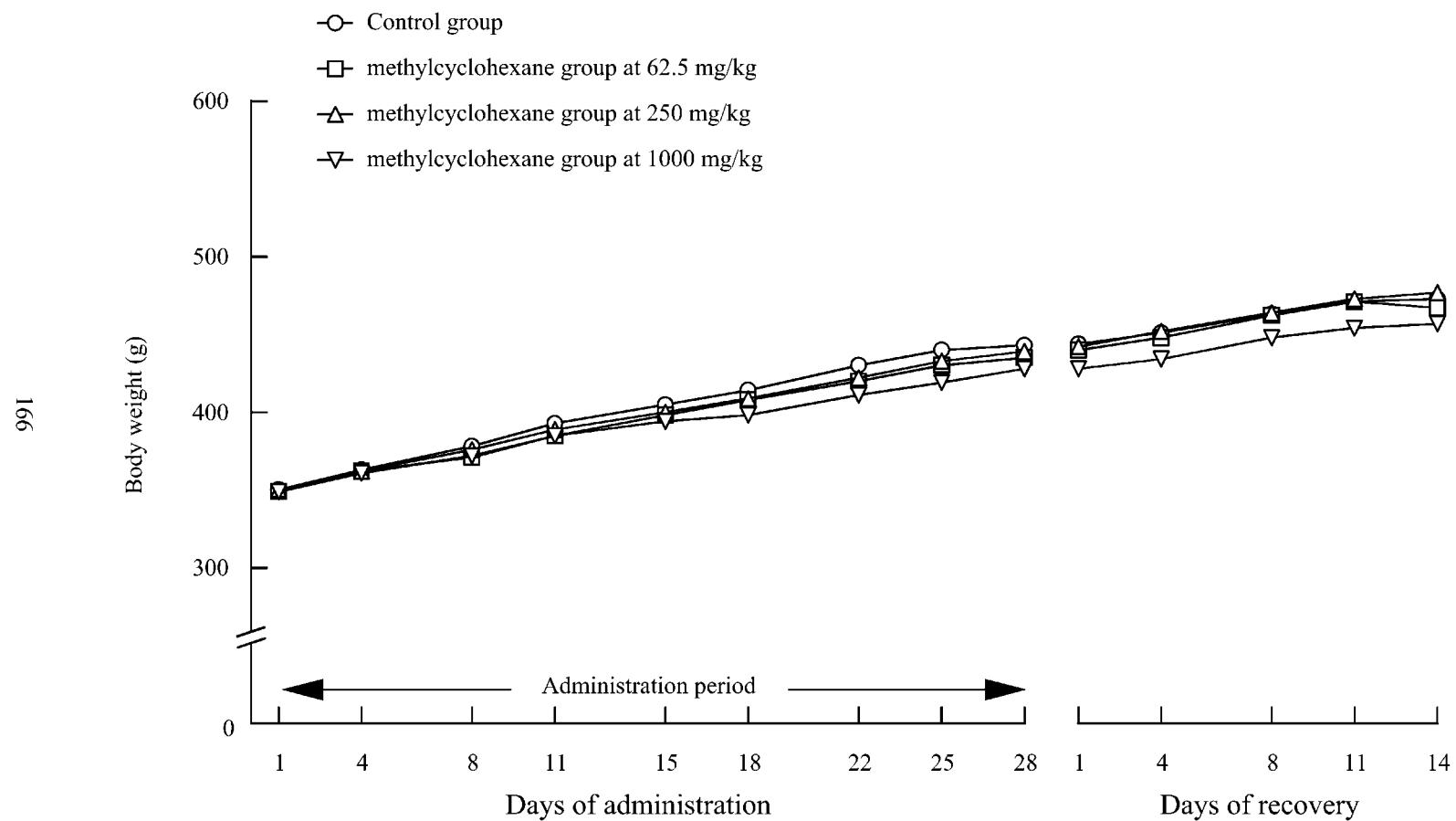


Fig. 2. Body weights of male rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration.

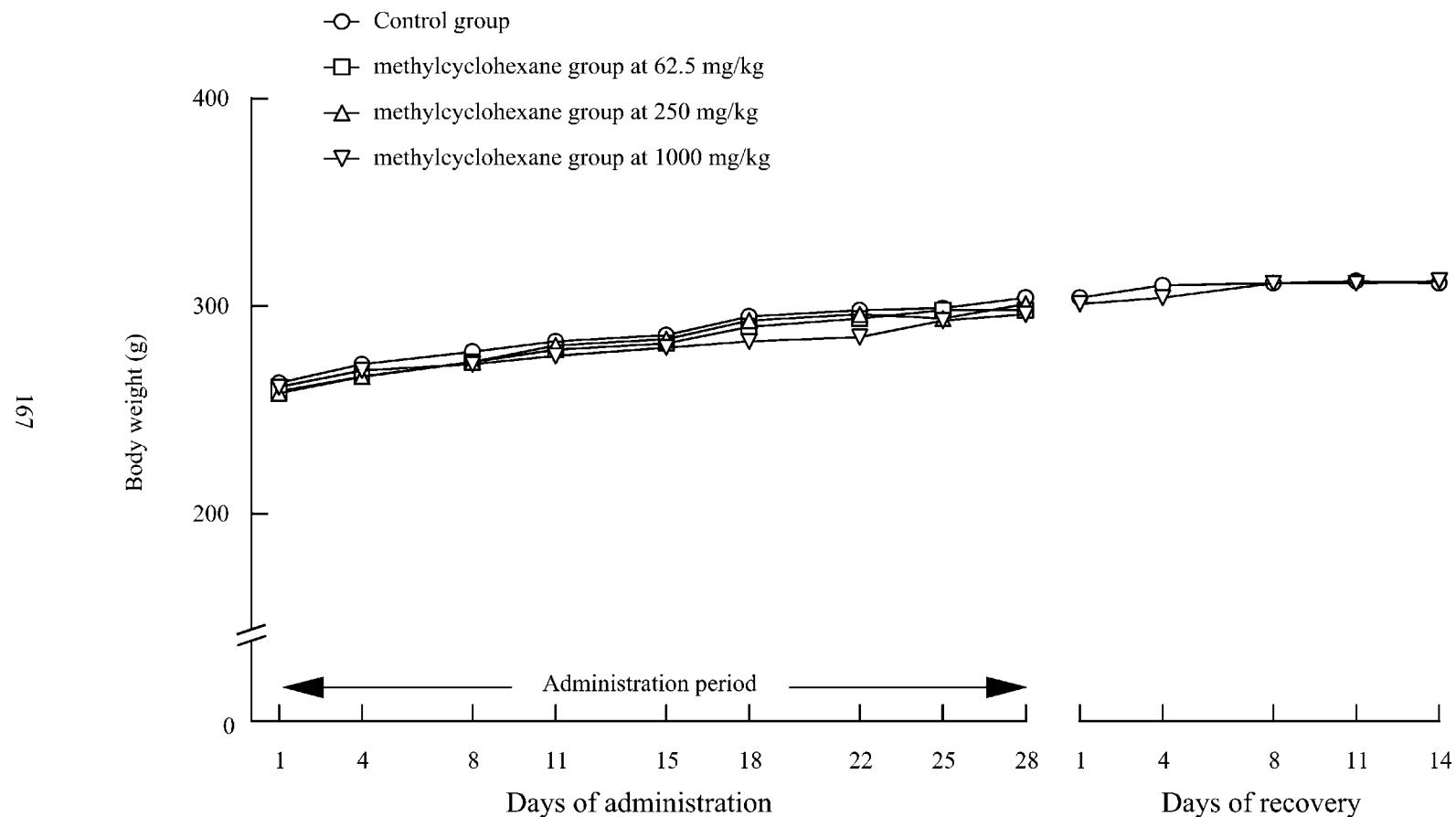


Fig. 3. Body weights of female rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration.

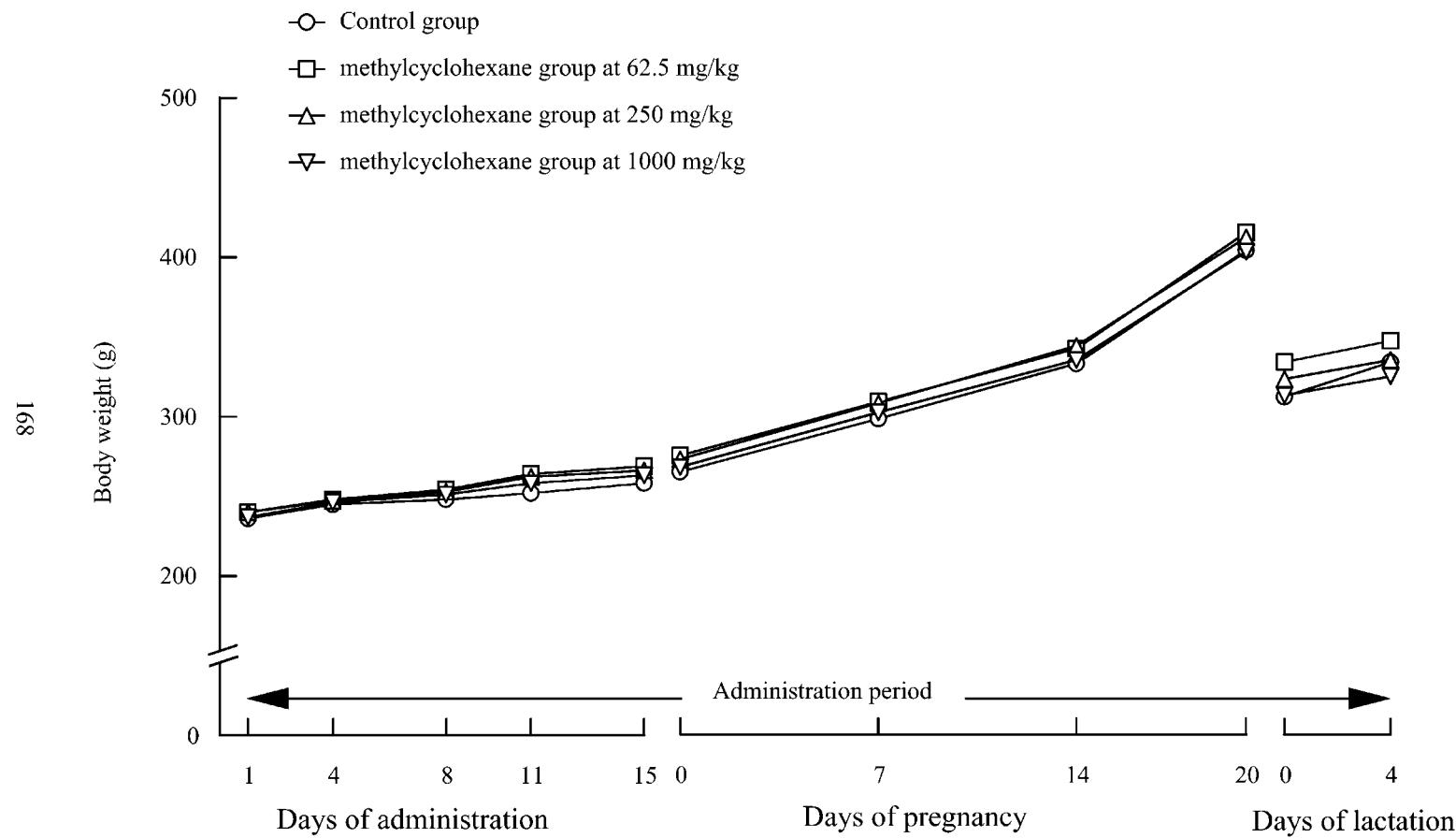


Fig. 4. Body weights of parental female rats (mating groups) in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration.

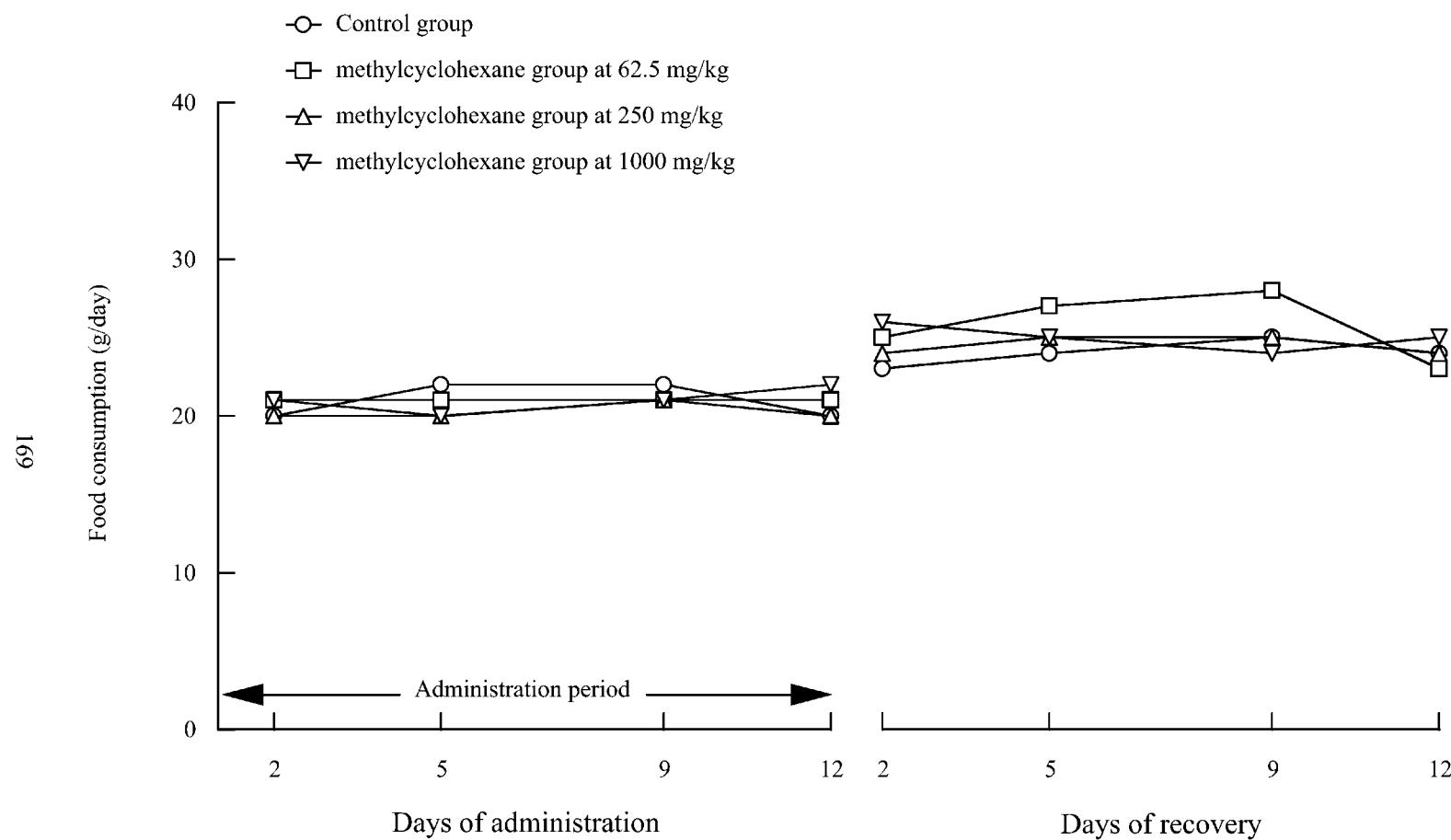


Fig. 5. Food consumption in male rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration.

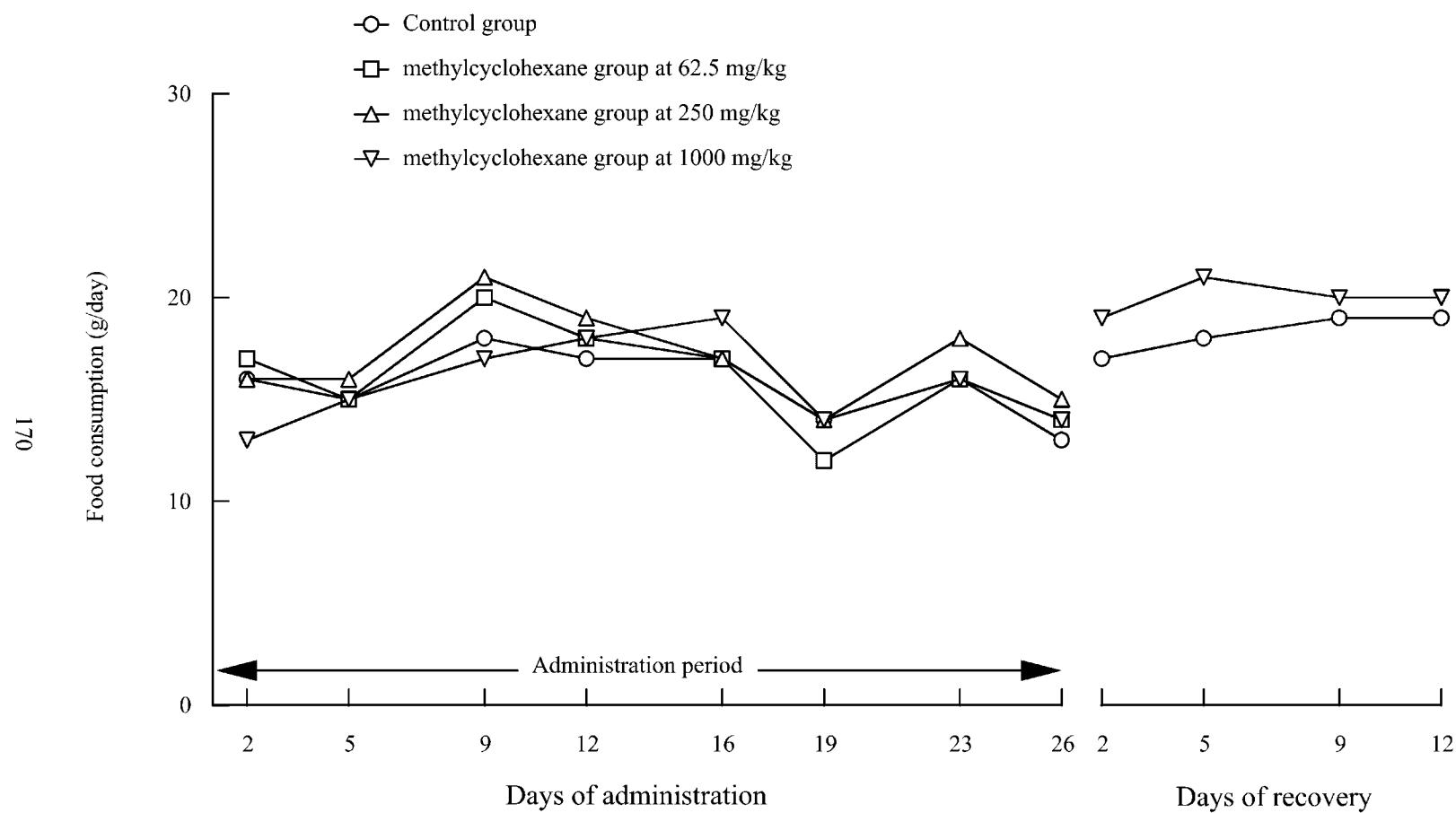


Fig. 6. Food consumption in female rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration.

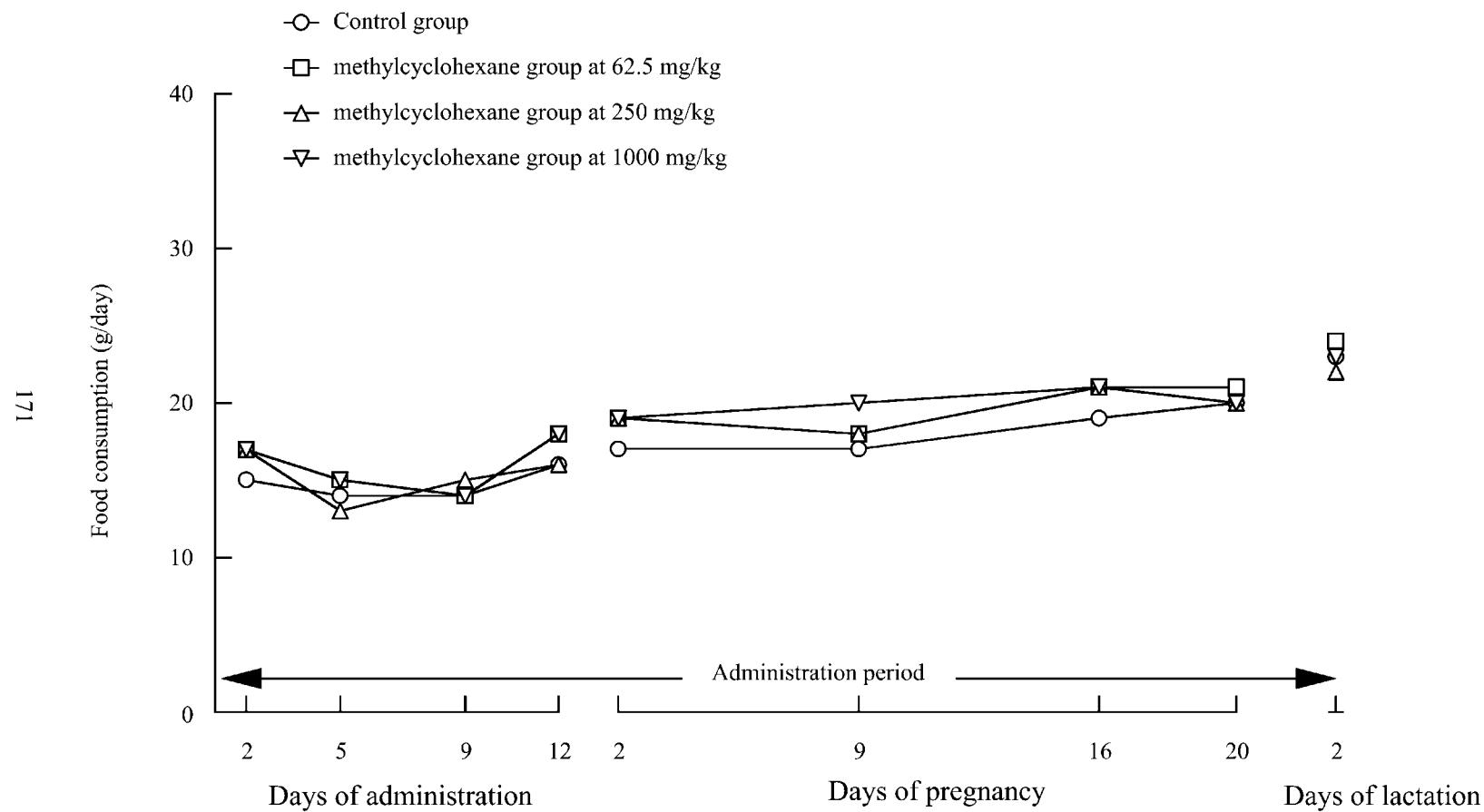


Fig. 7. Food consumption in parental female rats (mating groups) in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration.

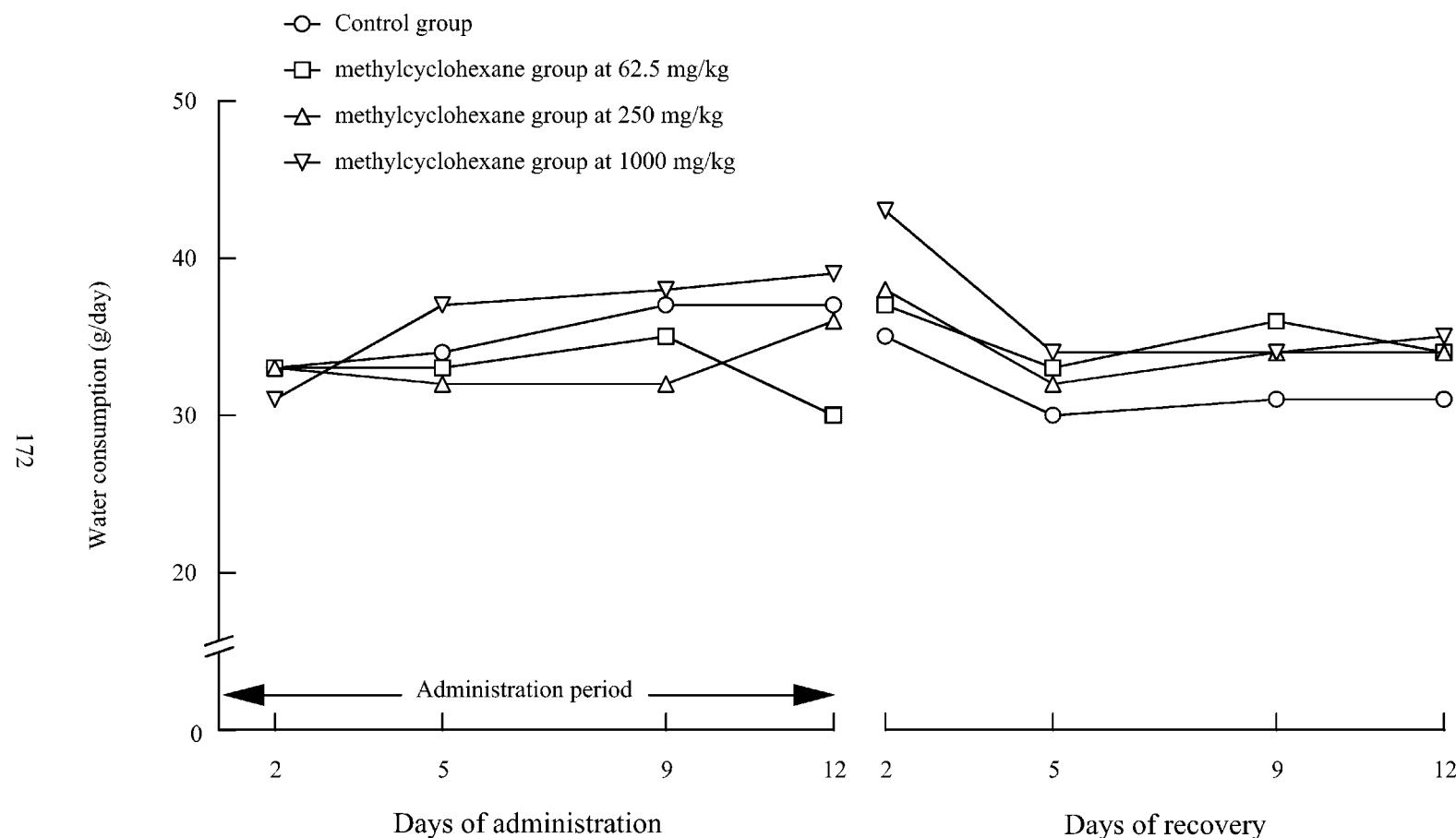


Fig. 8. Water consumption in male rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration.

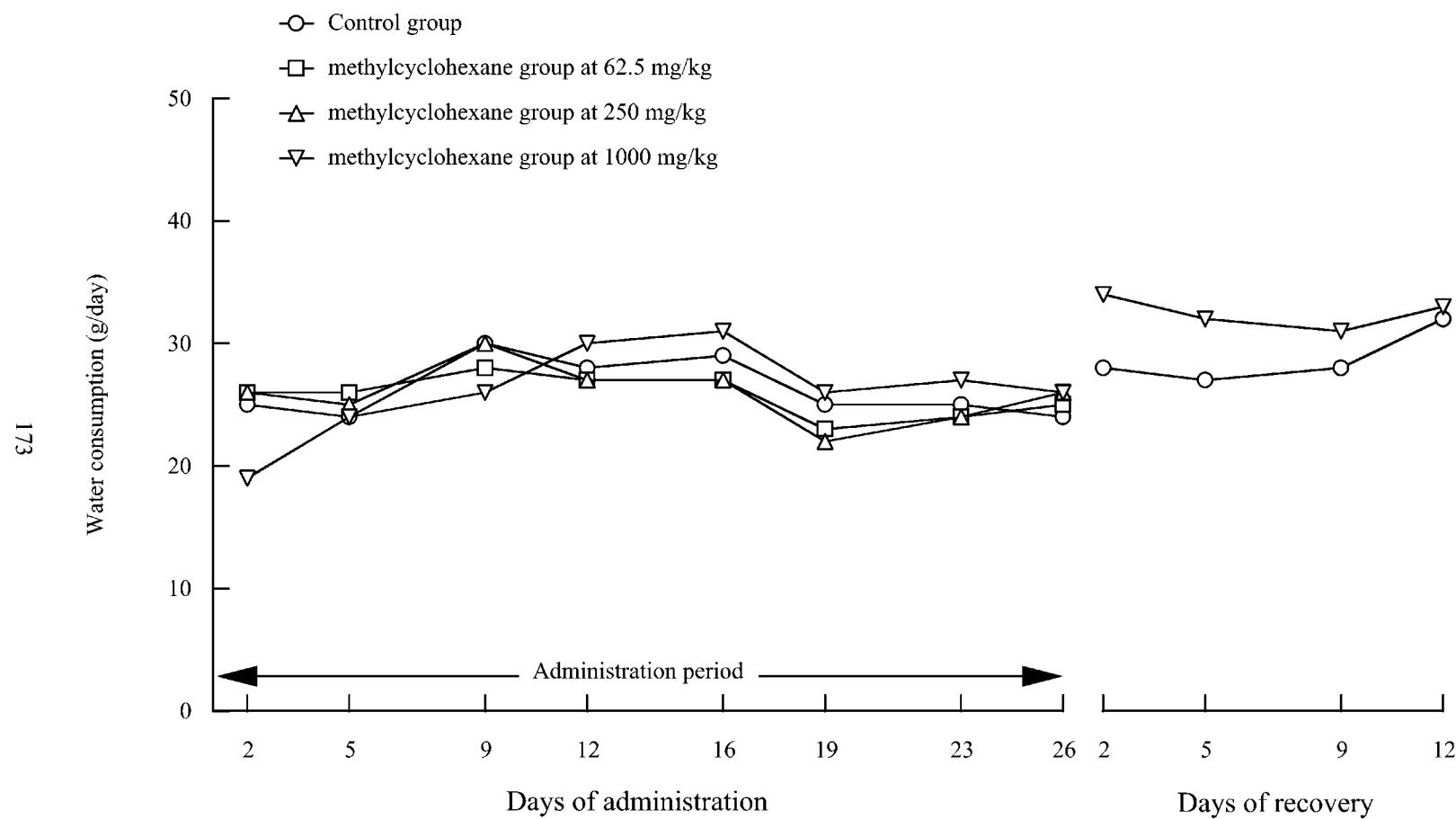


Fig. 9. Water consumption in female rats in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration.

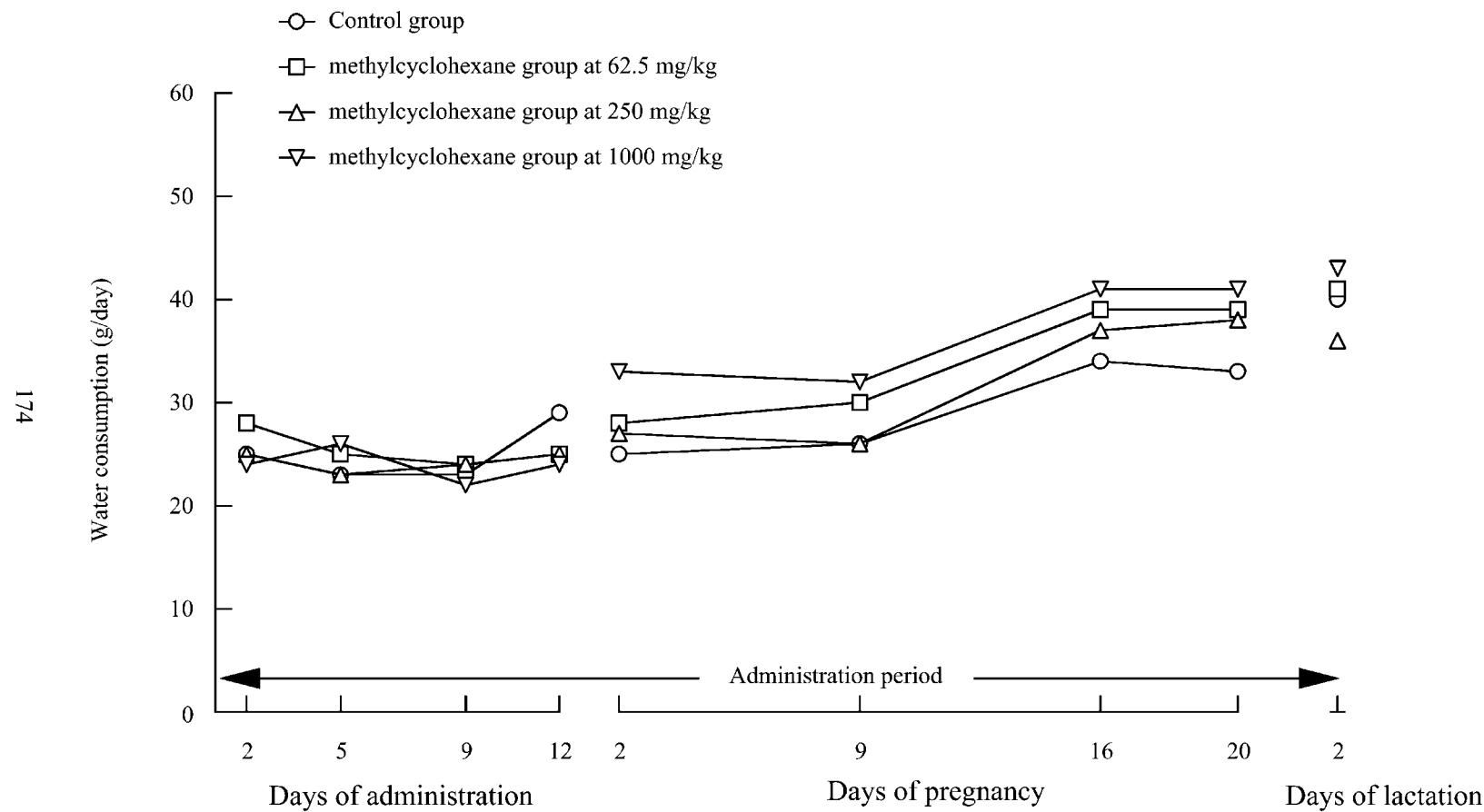


Fig. 10. Water consumption in parental female rats (mating groups) in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration.

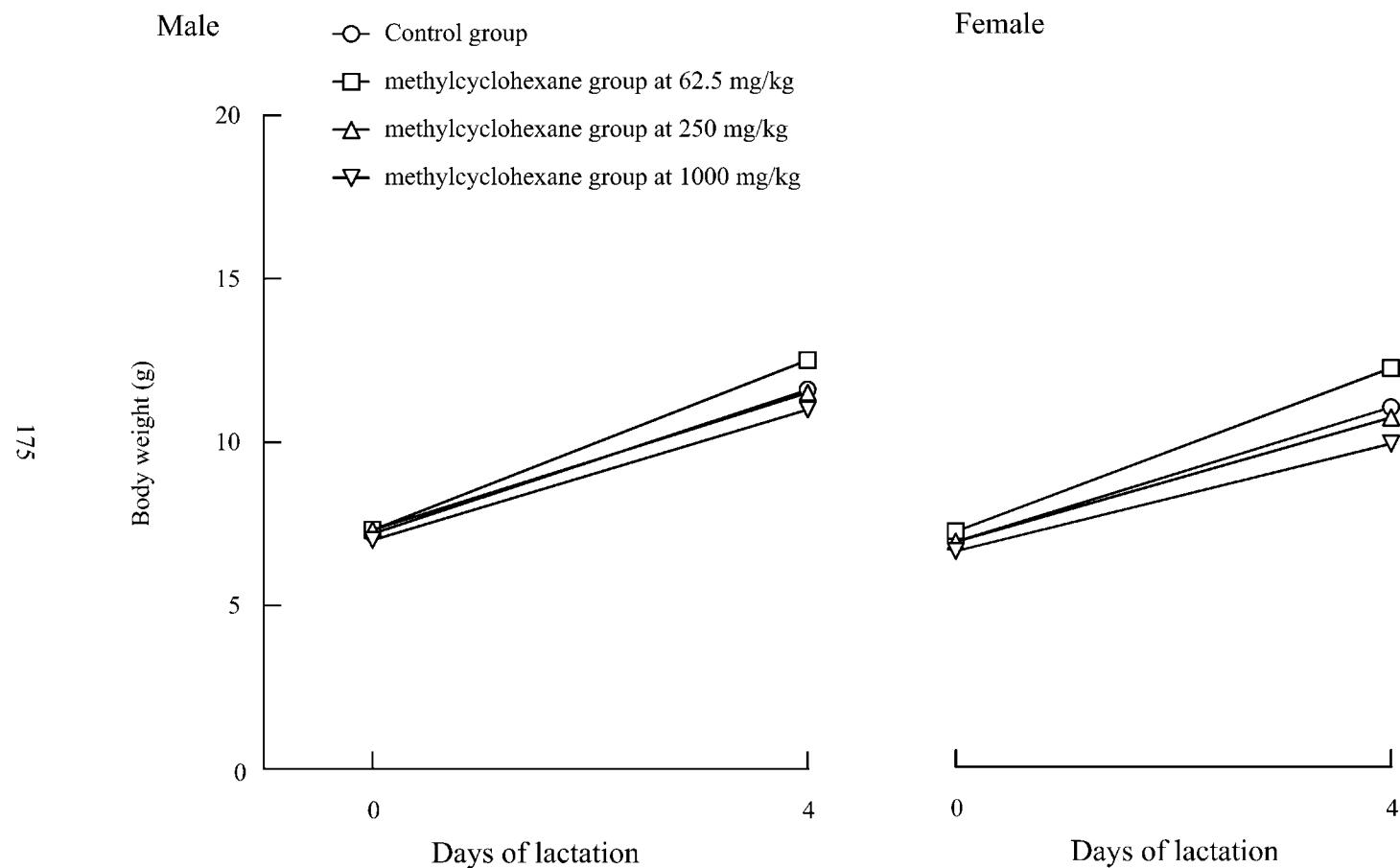


Fig. 11. Body weights of pups in combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test of methylcyclohexane by oral administration.