

B-6580

最 終 報 告 書

試験名：N-エチル-1-アミノナフタレンのラットを用いた
2週間回復性観察を含む28日間反復経口投与毒性試験

試験番号：B-6580

試験期間：2010年1月8日-2011年6月17日

試験実施施設

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

試験委託者

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

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

2. 目次

2. 目次	3
-------------	---

4. 要約	10
5. 緒言	12
6. 試験材料及び方法	13
6.1 被験物質及び媒体	13
6.1.1 被験物質	13
6.1.2 媒体	14
6.2 投与液の調製	14
6.2.1 投与液の保存方法	14
6.2.2 媒体中での安定性	14
6.2.3 調製物の濃度確認	14
6.3 試験動物種及び系統の選択理由	15
6.4 試験動物及び群分け	15
6.5 飼育条件	16
6.6 飼料及び飲料水中の混入物質	16
6.7 動物の識別及びケージへの表示	16
6.8 投与経路、投与期間、投与回数及び回復期間とそれらの選択理由	16
6.9 投与方法	16
6.10 投与量及びその設定根拠並びに群構成	17
6.11 観察及び検査の方法	17
6.11.1 一般状態の観察	17
6.11.2 詳細な一般状態の観察、機能検査、握力及び自発運動量の測定	17

6.11.2.1	詳細な一般状態の観察	18
6.11.2.2	機能検査	18
6.11.2.3	握力測定	18
6.11.2.4	自発運動量の測定	18
6.11.3	体重測定	18
6.11.4	摂餌量測定	18
6.11.5	尿検査	19
6.11.6	血液学検査	20
6.11.7	血液化学検査	21
6.11.8	病理学検査	22
6.11.8.1	剖検	22
6.11.8.2	器官重量測定	22
6.11.8.3	病理組織学検査	22
6.12	統計解析	23
7.	試験結果	24
7.1	一般状態	24
7.2	詳細な一般状態、機能検査、握力及び自発運動量	24
7.2.1	詳細な一般状態	24
7.2.2	機能検査	24
7.2.3	握力	24
7.2.4	自発運動量	25
7.3	体重	25
7.4	摂餌量	25
7.5	尿検査（摂水量含む）	25
7.6	血液学検査	26
7.7	血液化学検査	26
7.8	器官重量	27
7.9	剖検所見	27
7.10	病理組織学検査	28
8.	考察	31
9.	文献	34

図

Fig. 1~4	自発運動量
Fig. 5	体重
Fig. 6	摂餌量

表

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

4. 要約

N-エチル-1-アミノナフタレンの 28 日間反復経口投与毒性試験を 6 週齢の Sprague-Dawley 系 SPF ラット [CrI:CD(SD)、1 群雌雄各 6 又は 12 匹] を用いて実施した。投与量は 0 (コーン油：対照群)、12、60 及び 300 mg/kg とし、対照群と 300 mg/kg の一部の個体 (1 群雌雄各 6 匹) については投与期間終了後 2 週間の休薬期間を設け、毒性変化の可逆性を検討した。

300 mg/kg 投与群の雌 1 例が、自発運動の減少、軟便及び褐色尿を呈して投与 4 日に死亡した。この動物では、肉眼的に低栄養状態、肺の暗調化と暗赤色巣、前胃の拡張が、組織学的に十二指腸のびらん、腎臓の尿細管上皮細胞の変性と単細胞壊死、腸間膜及び顎下リンパ節の萎縮、肝臓の小葉中心性肝細胞の空胞化、肝細胞の単細胞壊死及び胆管上皮細胞の肥大、脾臓のろ胞萎縮とうっ血並びに胸腺のリンパ球の壊死が認められたものの、死因となるような明らかな変化は観察されなかった。

生存動物の一般状態では、投与期間を通じて褐色尿が 60 mg/kg 以上の投与群の雌雄で認められた。更に、軟便が 300 mg/kg 投与群の雌雄で認められた。

詳細な一般状態、機能検査、握力及び自発運動量では、投与期間中に自発運動量の低値が測定開始後 0~10 分の測定値に 300 mg/kg 投与群の雄で認められた。

体重及び摂餌量では、投与期間中に低値が 300 mg/kg 投与群の雌雄で認められ、300 mg/kg 投与群の雄では体重増加量も低値を示した。

尿検査 (摂水量を含む) では、投与 4 週に摂水量及び尿量の高値と浸透圧の低値が 300 mg/kg 投与群の雌雄で認められた。

血液学検査では、赤血球数及びヘモグロビン量の低値と網赤血球率の高値が 60 mg/kg 以上の投与群の雌と 300 mg/kg 投与群の雄で、ヘマトクリット値の低値が 60 mg/kg 以上の投与群の雌で、平均赤血球血色素濃度の低値が 300 mg/kg 投与群の雌雄で、平均赤血球容積の高値とフィブリノーゲン量の低値が 300 mg/kg 投与群の雄で認められた。

血液化学検査では、総コレステロール及びリン脂質の高値が 60 mg/kg 以上の投与群の雌雄で、クレアチニンの低値が 300 mg/kg 投与群の雌雄で、ALT 及び LDH の高値が 300 mg/kg 投与群の雄で、総たん白質の高値が 300 mg/kg 投与群の雌で認められた。

病理学検査では、主な変化として組織学的に脾臓のベルリン青陽性顆粒の増加が 60 mg/kg 以上の投与群の雌雄で、腎臓の相対重量の高値が 300 mg/kg 投与群の雌雄で、肝臓の小葉中心性肝細胞肥大及び胆管上皮細胞の肥大が 60 mg/kg 以上の雄と 300 mg/kg 投与群の雌で、赤血球造血の亢進が 300 mg/kg 投与群の雌雄の大腿骨 (骨髓を含む) と 300 mg/kg 投与群の雄の胸骨 (骨髓を含む) で認められた。

なお、投与期間中及び投与期間終了時に認められた変化はいずれも休薬により、消失あるいは軽減し、回復性が認められた。

B-6580

以上の結果、*N*-エチル-1-アミノナフタレンの本試験条件下における無影響量は、血液化学検査及び病理組織学検査の脾臓の変化などから雌雄とも 12 mg/kg/day と推定された。

B-6580

5. 緒言

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

B-6580

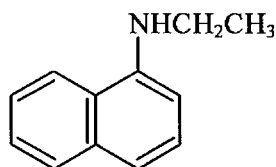
6. 試験材料及び方法

6.1 被験物質及び媒体

6.1.1 被験物質

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

名称	:	<i>N</i> -エチル-1-アミノナフタレン
英名	:	Ethyl(1-naphthyl)amine
別名	:	<i>N</i> -エチル-1-ナフチルアミン
CAS 番号	:	118-44-5
官報公示整理番号	:	4-349
示性式	:	$C_2H_5NHC_{10}H_7$
構造式	:	



分子量	:	171.24
純度	:	98.2%
不純物	:	不明
引火点	:	128°C
入手量	:	475 g (25 g を 19 本)
性状	:	淡黄色透明液体
保存方法	:	冷蔵 (冷蔵庫内、実測値: 2~8°C)、暗所、密栓
安定性	:	投与終了後、試験受託者で安定であったことが確認された (添付資料 2)。
保存場所	:	御殿場研究所 被験物質保存室及び第 1 研究棟被験物質調製室
取扱い上の注意	:	マスク、手袋及び保護眼鏡を着用した。 火気や熱源などの着火源から遠ざけ、酸化剤との接触を避けた。
返却	:	被験物質 1 g を保存試料として保存した。分析用に小分けした被験物質の残量は廃棄した。また、被験物質の残量は安定性を確認後、すべて廃棄した。

B-6580

6.1.2 媒体

名称 : コーン油
ロット番号 : PEG0519
製造者 : 和光純薬工業株式会社
保存方法 : 室温
保存場所 : 御殿場研究所 第1研究棟被験物質調製室

なお、本試験に先立って実施した被験液中の *N*-エチル-1-アミノナフタレンの安定性試験（試験番号：A-2169）において、コーン油中での被験物質の安定性に良好な結果が得られていることから、媒体としてコーン油を選択した。

6.2 投与液の調製

濃度ごとに必要量の被験物質を正確に採取し、コーン油で希釈して 2.4 mg/mL 液（低用量群液）、12 mg/mL 液（中用量群液）及び 60 mg/mL 液（高用量群液）を 8 日に 1 回以上の頻度で調製し、調製後 7 日以内に使用した。

6.2.1 投与液の保存方法

投与液は 1 日必要分ずつ褐色瓶に分注し、使用時まで冷所（冷蔵庫内、実測値：3~5℃）、遮光で保存した。

6.2.2 媒体中での安定性

本被験物質の 0.1 及び 200 mg/mL 溶液（媒体：コーン油）は、冷所（冷蔵庫内、許容範囲、1~10℃）、遮光で 8 日間、その後室温で 24 時間安定であることが株式会社ボゾリサーチセンター御殿場研究所で確認されている（試験番号：A-2169、添付資料 3）。

6.2.3 調製物の濃度確認

投与 1 週と 4 週の投与に用いる各濃度の被験液について、その濃度を株式会社ボゾリサーチセンター御殿場研究所で HPLC 法を用いて確認した。その結果、表示値に対する濃度の割合は 98.3~103.5%（許容範囲：表示値に対する割合；100±10%）であり、いずれも許容範囲内であった（添付資料 4-1 及び 4-2）。分析法の概略を次に示す。

1 濃度当たりの採取本数及び採取量

: 1 本で 10 mL
測定対象物質 : *N*-エチル-1-アミノナフタレン
測定対象標準物質
名称 : *N*-エチル-1-アミノナフタレン
ロット番号 : 2HB4E

HPLC 測定条件

カラム	:	L-column ODS (4.6 mm I.D.×150 mm、5 μm、 財団法人化学物質評価研究機構)
カラム恒温槽設定温度	:	40℃
HPLC 移動相	:	メタノール／精製水、75:25、v/v
流速	:	1.0 mL/min
検出	:	UV (測定波長 340 nm)
オートサンプラー設定温度	:	設定なし
注入量	:	10 μL
注入順序	:	

注入順序	注入回数	注入内容
1	3	標準溶液 (システム適合性用)
2	3	標準溶液 (定量用)
3	1	測定実測試料 (2.4 mg/mL)
4	1	測定実測試料 (12 mg/mL)
5	1	測定実測試料 (60 mg/mL)

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

6.3 試験動物種及び系統の選択理由

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

6.4 試験動物及び群分け

Sprague-Dawley 系 SPF ラット [CrI:CD(SD)、日本チャールス・リバー株式会社、厚木飼育センター] 雌雄各 47 匹^{注)} を 5 週齢で入手し、当所で 9 日間検疫・馴化飼育し、一般状態の観察 (1 回/日)、体重測定 (3 回) 及び詳細な一般状態の観察 (1 回) を行い、体重増加量、一般状態及び詳細な一般状態の観察に異常がみられず健康と思われる雌雄各 36 匹 (主群として雌雄各 24 匹、回復群として雌雄各 12 匹) を選び、6 週齢で試験に供した。投与開始日の体重範囲は、雄で 211~233 g、雌で 144~169 g であった。動物は検疫・馴化期間中の体重増加量により選別後、群分け当日 (投与開始の 2 日前) の体重に基づいて、各群の平均体重ができるだけ均等となるよう各群を構成した。個体の割付けはコンピュータを用いたブロック配置法及び無作為抽出法の組合せ (ブロック配置法で必要な群を構成し、試験群及び群内の個体番号を無作為に割当てた) により行った。また、余剰動物は投与開始日に試験系から除外しエーテル深麻酔

下で安楽死させた。

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

6.5 飼育条件

動物は温度 22~26°C (設定 : 23±3°C)、相対湿度 39~56% (設定 : 50±20%)、換気回数 1 時間 10~15 回、照明 1 日 12 時間 (07:00~19:00) の動物飼育室 (201 号室) で、ブラケット式金属製網ケージ (W 250×D 350×H 200 mm : 日本ケージ株式会社) で個別飼育し、飼育室内の清掃を毎日 1 回実施した。固形飼料 CRF-1 (オリエンタル酵母工業株式会社、ロット番号 : 091005) はステンレス製給餌器を用いて、また、御殿場市営水道水を給水瓶により自由に摂取させた。

6.6 飼料及び飲料水中の混入物質

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

6.7 動物の識別及びケージへの表示

動物は入荷時に小動物耳標を装着して個体識別した。入荷から群分け前までの間は試験番号、性別及び耳標番号を明記したケージラベルをつけた。群分け後は、性別及び用量ごと (対照群、低、中及び高用量群の順) に 4 桁の番号をつけた。この場合、1000 の位は群、100 の位は性 (0 番を雄、1 番を雌)、10 と 1 の位は個体番号とした。各飼育ケージには、群分け前まで使用したケージラベルの裏に用量 (群) ごとに色分けしたラベルをつけ、試験番号、投与経路、投与量、性、動物番号、耳標番号及び剖検予定日を明記した。ただし、詳細な一般状態の観察、機能検査、握力及び自発運動量測定中は、観察者に対して投与の情報を制限するため、ケージラベルを裏返して試験番号、性別及び耳標番号のみを表示した。

6.8 投与経路、投与期間、投与回数及び回復期間とそれらの選択理由

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

6.9 投与方法

投与容量は 5 mL/kg 体重とし、胃ゾンデを用いて強制経口投与した (08:00~11:57 の間)。対照群には媒体 (コーン油) を同様に投与した。個体ごとの投与液量 (表示単位 : 0.1mL) は最新の体重を基準に算出した。

6.10 投与量及びその設定根拠並びに群構成

N-エチル-1-アミノナフタレンの0（コーン油）、100、300及び1000 mg/kg/dayを1群雌雄各5匹のラットに14日間反復経口投与した結果¹⁾、主な変化として、1000 mg/kg投与群の雌雄全例の死亡がみられ、300 mg/kg投与群の雌雄で血液学検査などに変化がみられたことから、本試験における投与量は、300 mg/kg投与群を高用量とし、公比5で除し、60 mg/kgを中用量に、12 mg/kgを低用量に設定した。群構成表を次の表1に示す。

表 1. 群構成表

試験群	投与量 (mg/kg)	濃 度 (mg/mL)	投与容量 (mL/kg)	性	主 群		回 復 群	
					動物数	動物番号	動物数	動物番号
対照群	0	0	5	雄	6	1001~1006	6	1007~1012
				雌	6	1101~1106	6	1107~1112
低用量群	12	2.4	5	雄	6	2001~2006	-	-
				雌	6	2101~2106	-	-
中用量群	60	12	5	雄	6	3001~3006	-	-
				雌	6	3101~3106	-	-
高用量群	300	60	5	雄	6	4001~4006	6	4007~4012
				雌	6	4101~4106	6	4107~4112

6.11 観察及び検査の方法

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

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

6.11.1 一般状態の観察

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

6.11.2 詳細な一般状態の観察、機能検査、握力及び自発運動量の測定

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

し、動物をランダムに配置した状態で行った。

6.11.2.1 詳細な一般状態の観察

1) ホームケージ内観察

姿勢、痙攣、異常行動

2) 手に持つての観察

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

3) オープンフィールド内観察

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

6.11.2.2 機能検査

聴覚反応、接近反応、接触反応、痛覚反応、瞳孔反射、空中正向反射、着地開脚幅

6.11.2.3 握力測定

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

6.11.2.4 自発運動量の測定

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

6.11.3 体重測定

全生存動物について、投与期間中は投与1、4、7、10、14、17、21、24及び28日の投与前に、回復期間中は回復1、3、7、10及び14日に測定した。測定は08:36~10:18の間に行った。剖検日には相対器官重量算出のため、前日から約16時間絶食させた後の体重を測定した（07:58~08:23）。

6.11.4 摂餌量測定

全生存動物について、投与期間中は投与1、7、14、21及び28日の投与前に、回復期間中は回復7及び14日に測定した。測定は08:56~10:19の間に行った。なお、投与期間中は投与開始日の測定は前日からの1日量を、投与7日は6日間の累積摂取量を、その後は7日ごとに7日間の累積摂取量を測定し、1匹1日量を算出した。回復1週は回復1日から7日までの6日間の累積摂取量を、その後は7日間の累積摂取量を測定し、1匹1日量を算出した。

6.11.5 尿検査

投与4週及び回復2週に行った。

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

表2. 尿検査の項目、測定法及び使用機器など

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

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

6.11.6 血液学検査

投与期間及び回復期間終了の翌日の計画剖検時に、前日から一夜（約 16~20 時間）絶食させた全生存動物について、エーテル麻酔下で開腹し、腹大動脈から EDTA-2K 加採血瓶（SB-41：シスメックス株式会社）に血液（約 1 mL）を採取した。得られた血液について表 3.1）に記載した項目及び方法により検査した。更に、血液（0.9 mL）を 3.8%クエン酸ナトリウム溶液加試験管（血液 9 容に対し 1 容の割合）に採取し、遠心分離（設定：3,000 rpm、1,580×g、10 分間）により得られた血漿について表 3.2）に記載した項目及び方法により検査した。なお、鏡検による確認に備え、全個体について May-Grünwald-Giemsa 染色法による血液塗抹標本を作製したが、鏡検による確認は不要と判断し、鏡検は実施しなかった。

表 3. 血液学検査の項目、測定法及び使用機器など

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

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

6.11.7 血液化学検査

血液学検査用試料と同時に採取した血液（約 4 mL）を凝固促進剤入り試験管（ベノジェクト II-オートセップ：テルモ株式会社）に採取し、遠心分離（設定：3,000 rpm、1,580×g、10 分間）し、得られた血清について、表 4.1）に記載した項目及び方法により検査した。また、ヘパリン加試験管（血液 1 mL 当たり約 20 単位のヘパリン）に採取した血液（約 2 mL）を遠心分離（設定：3,000 rpm、1,580×g、10 分間）し、得られた血漿について表 4.2）に記載した項目及び方法により検査した。

表 4. 血液化学検査の項目、測定法及び使用機器など

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

B-6580

6.11.8 病理学検査

6.11.8.1 剖検

死亡動物は可及的速やかに、全生存動物について、採血後腹大動脈切断により放血致死させ、体外表・頭部・胸部・腹部を含む全身の器官・組織の肉眼による詳細な病理解剖を行い、結果を記録した。

6.11.8.2 器官重量測定

全生存動物の計画剖検動物については、次に示す器官の重量（絶対重量）を測定するとともに、絶対重量と剖検時の体重から体重 100 g 当たりの相対重量を算出した。

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

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

6.11.8.3 病理組織学検査

全ての個体について次に示す器官・組織を採取し、リン酸緩衝 10 v/v%ホルマリン液で固定した。ただし、肺はリン酸緩衝 10 v/v%ホルマリン液を注入後、眼球及び視神経はリン酸緩衝液で調製した 3 v/v%グルタルアルデヒド・2.5 v/v%ホルマリン液で固定後、精巣及び精巣上体はブアン液で固定した後、それぞれ、リン酸緩衝 10 v/v%ホルマリン液で保存し、パラフィン包埋した。その後、切片としてヘマトキシリン・エオジン染色標本作製し、主群の対照群及び高用量群（肉眼的異常部位については全例）について鏡検した。なお、*で示した両側性器官は両側を摘出し、左側を鏡検した。また、左側が不明瞭であった組織については右側で標本作製し鏡検した。更に、被験物質投与の影響が疑われた雌雄の大腿骨（骨髄を含む）、肝臓及び脾臓、雄の胸骨（骨髄を含む）及び腎臓については低及び中用量群並びに回復群の全個体については鏡検した。雌雄の脾臓は対照群、低、中及び高用量群並びに回復群の全個体についてベルリン青（BB 反応）標本作製し鏡検し、腎臓の尿細管上皮の好酸性小体がみられたため、代表例（3 例、動物番号 4001、4002 及び 4003）については抗 $\alpha 2\mu$ グロブリン抗体を用いた免疫組織化学染色標本及び PAS 染色標本作製し鏡検した。

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

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

6.12 統計解析

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

7. 試験結果

7.1 一般状態

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

1) 投与期間

300 mg/kg 投与群の雌 1 例（動物番号：4102）が自発運動の減少、軟便及び褐色尿を呈して投与 4 日に死亡した。また、生存動物では、褐色尿が投与期間を通じて 60 mg/kg 以上の投与群の雌雄で認められ、更に、軟便が投与 3 から 6 日の間に 300 mg/kg 投与群の雌雄で散見された。

2) 回復期間

褐色尿が回復 1 日に 300 mg/kg 投与群の雌雄全例で認められた。

7.2 詳細な一般状態、機能検査、握力及び自発運動量

7.2.1 詳細な一般状態

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

1) 投与期間

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

2) 回復期間

いずれの検査項目においても異常はなく、雌雄とも対照群と 300 mg/kg 投与群との間に有意差は認められなかった。

7.2.2 機能検査

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

1) 投与 4 週

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

2) 回復 2 週

いずれの検査項目においても異常はなく、雌雄とも対照群と 300 mg/kg 投与群との間に有意差は認められなかった。

7.2.3 握力

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

1) 投与 4 週

雌雄とも対照群と各被験物質投与群との間に有意差は認められなかった。

2) 回復 2 週

前肢の有意な低値が 300 mg/kg 投与群の雄で認められた。

7.2.4 自発運動量

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

1) 投与 4 週

有意な低値が測定開始後 0~10 分の測定値に 300 mg/kg 投与群の雄で認められた。

2) 回復 2 週

雌雄とも対照群と 300 mg/kg 投与群の自発運動量はほぼ同様に推移し、有意差は認められなかった。

7.3 体重

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

1) 投与期間

体重の減少が投与 4 日に 300 mg/kg 投与群の雌雄で散見され、有意な低値が投与 4 日以降に 300 mg/kg 投与群の雄で、投与 4 及び 7 日に 300 mg/kg 投与群の雌で認められた。また、投与期間中の体重増加量の有意な高値が 12 mg/kg 投与群の雌で、有意な低値が 300 mg/kg 投与群の雄で認められた。

2) 回復期間

有意な低値が回復期間を通じて 300 mg/kg 投与群の雄で、回復 1 及び 3 日に 300 mg/kg 投与群の雌で認められた。また、回復期間中の体重増加量の有意な高値が 300 mg/kg 投与群の雌雄で認められた。

7.4 摂餌量

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

1) 投与期間

有意な高値が投与 21 日に 60 mg/kg 投与群の雌で、有意な低値が投与 7 日に 300 mg/kg 投与群の雌雄で、投与 14 日に 300 mg/kg 投与群の雄で認められた。

2) 回復期間

有意な高値が回復 14 日に 300 mg/kg 投与群の雄で、回復期間を通じて 300 mg/kg 投与群の雌で認められた。

7.5 尿検査（摂水量含む）

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

1) 投与 4 週

色調において褐色尿が 60 mg/kg 投与群の雄 3/6 例と雌 4/6 例、300 mg/kg 投与群の雌雄全例で認められた。また、ビリルビンの定性において+ (0.5~1.5 mL/dL) が対照群の雄 1/12 例、12 mg/kg 投与群の雄 1/6 例で、2+ (1.6~5.0 mL/dL) が 12 mg/kg 投与群の雄 1/6 例と雌 3/6 例で、3+ (5.1~10.0 mL/dL) が 12 mg/kg 投与群の雌雄各 3/6 例、60 mg/kg 投与群の雌雄各 1/6 例で、4+ (>10.0 mL/dL) が 12 mg/kg 投与群の雄 1/6 例、60 mg/kg 投与群の雌雄各 5/6 例、300 mg/kg 投与群の雌雄全例で認められ、12 mg/kg

以上の投与群の雌雄でビリルビン陽性例の増加傾向が認められた。また、摂水量と尿量の有意な高値と浸透圧の有意な低値が 300 mg/kg 投与群の雌雄で認められた。

2) 回復 2 週

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

7.6 血液学検査

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

1) 投与期間終了時

赤血球数及びヘモグロビン量の有意な低値と網赤血球率の有意な高値が 60 mg/kg 以上の投与群の雌と 300 mg/kg 投与群の雄で、ヘマトクリット値の有意な低値が 60 mg/kg 以上の投与群の雌で、平均赤血球容積の有意な高値とフィブリノーゲン量の有意な低値が 300 mg/kg 投与群の雄で、平均赤血球血色素濃度の有意な低値が 300 mg/kg 投与群の雌雄で、活性化部分トロンボプラスチン時間の短縮が 60 mg/kg 投与群の雌で認められ、その他、白血球百分率におけるリンパ球比率の有意な高値と好中球比率の有意な低値が 12 mg/kg 投与群の雄で、好酸球比率の有意な低値が 300 mg/kg 投与群の雌で、白血球分画における好中球数及び単球数の有意な低値が 60 mg/kg 投与群の雄で認められた。

2) 回復期間終了時

平均赤血球血色素濃度の有意な低値が 300 mg/kg 投与群の雌雄で、網赤血球率の有意な低値が 300 mg/kg 投与群の雌で認められ、その他、白血球百分率における好中球比率及び白血球分画における好中球数の有意な高値が 300 mg/kg 投与群の雄で認められた。

7.7 血液化学検査

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

1) 投与期間終了時

AST の有意な低値が 12 mg/kg 投与群の雌雄で、グルコースの有意な低値が 12 及び 300 mg/kg 投与群の雄で、ALT 及び LDH の有意な高値が 300 mg/kg 投与群の雄で、総コレステロール及びリン脂質の有意な高値が 60 mg/kg 以上の投与群の雌雄で、クレアチニンの有意な低値が 300 mg/kg 投与群の雌雄で、カリウムの有意な低値が 12 mg/kg 投与群の雌で、カルシウムの有意な高値が 12 及び 300 mg/kg 投与群の雌で、総たん白質の有意な高値が 300 mg/kg 投与群の雌で認められた。

2) 回復期間終了時

アルブミンの有意な高値が 300 mg/kg 投与群の雄で、ナトリウム及び総たん白質の有意な低値と無機リンの有意な高値が 300 mg/kg 投与群の雌で認められた。

7.8 器官重量

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

1) 投与期間終了時

最終体重の有意な低値が 300 mg/kg 投与群の雄で認められた。

脳	:	相対重量の有意な高値が 300 mg/kg 投与群の雄で認められた。
心臓	:	絶対重量の有意な低値が 300 mg/kg 投与群の雄で認められた。
肝臓	:	相対重量の有意な高値が 300 mg/kg 投与群の雄で、絶対及び相対重量の有意な高値が 300 mg/kg 投与群の雌で認められた。
脾臓	:	相対重量の有意な高値が 300 mg/kg 投与群の雌雄で認められた。
腎臓	:	相対重量の有意な低値が 12 mg/kg 投与群の雌で、相対重量の有意な高値が 300 mg/kg 投与群の雌雄で認められた。
精巣	:	相対重量の有意な高値が 300 mg/kg 投与群で認められた。
子宮	:	絶対重量の有意な高値が 12 及び 60 mg/kg 投与群で認められた。

2) 回復期間終了時

最終体重の有意な低値が 300 mg/kg 投与群の雄で認められた。

肝臓	:	絶対重量の有意な低値が 300 mg/kg 投与群の雄で認められた。
脾臓	:	相対重量の有意な高値が 300 mg/kg 投与群の雄で認められた。

7.9 剖検所見

成績を Table 9-1~9-3 及び Appendix 173~244 に示した。

1) 死亡動物 (300 mg/kg 投与群の雌 1 例、動物番号 : 4102)

体外表	:	低栄養状態が認められた。
肺	:	暗調化と暗赤色巣が認められた。
胃	:	前胃の拡張が認められた。

2) 投与期間終了時

腎臓	:	白色巣が 60 mg/kg 投与群の雄 1/6 例で認められた。
肺	:	暗赤色巣が 60 mg/kg 投与群の雄 1/6 例で認められた。
脾臓	:	暗調化が 300 mg/kg 投与群の雌 3/5 例で、大型化が 300 mg/kg 投与群の雌 1/5 例で認められた。

3) 回復期間終了時

脾臓 : 隆起巣が 300 mg/kg 投与群の雄 1/6 例で認められた。

7.10 病理組織学検査

成績を Table 10-1~10-8 及び Appendix 173~244 に示した。

1) 死亡動物

十二指腸 : 軽微なびらんが認められた。
 腎臓 : 軽度な尿細管上皮細胞の変性、軽微な尿細管上皮細胞の単細胞壊死が認められた。
 腸間膜リンパ節 : 軽微な萎縮が認められた。
 顎下リンパ節 : 軽微な萎縮が認められた。
 肝臓 : 軽度な小葉中心性肝細胞の空胞化、中等度な肝細胞の単細胞壊死及び軽微な胆管上皮細胞の肥大が認められた。
 脾臓 : 軽度な脾細胞の萎縮とうっ血が認められた。
 胸腺 : 中等度なリンパ球の壊死が認められた。
 肺（気管支を含む） : 剖検において肺の暗調化と暗赤色巣がみられたが、組織学検査では所見は認められなかった。
 胃 : 剖検において前胃の拡張がみられたが、組織学検査では所見は認められなかった。

2) 投与期間終了時

被験物質投与によると考えられる変化が雌雄の大腿骨（骨髄を含む）、肝臓及び脾臓、雄の胸骨（骨髄を含む）及び腎臓に認められた。

大腿骨（骨髄を含む）

: 軽微な赤血球造血の亢進が 300 mg/kg 投与群の雄 3/6 例と雌 1/5 例で認められた。

胸骨（骨髄を含む） :

軽微な赤血球造血の亢進が 300 mg/kg 投与群の雄 1/6 例で認められた。

腎臓 :

軽微あるいは軽度な尿細管上皮の好酸性小体が 60 mg/kg 群の雄 5/6 例、300 mg/kg 投与群の雄全例で認められた。本変化がみられた動物のうち代表例（3 例、動物番号 4001、4002 及び 4003）について抗 $\alpha 2\mu$ グロブリン抗体を用いた免疫組織化学染色標本及び PAS 染色標本を作製し鏡検した結果、 $\alpha 2\mu$ グロブリン陽性、PAS 反応陰性を示したことから、尿細管上皮の好酸性小体は $\alpha 2\mu$ グロブリン由来であると判断した。

肝臓 :

軽度な小葉中間帯肝細胞の空胞化が 300 mg/kg 投与群の雄全例で、軽微あるいは軽度な肝細胞の単細胞壊死

が 300 mg/kg 投与群の雄 5/6 例と雌 3/5 例で、軽微から中等度な小葉中心性肝細胞肥大が 60 mg/kg 投与群の雄 2/6 例、300 mg/kg 投与群の雌雄全例で、軽微な胆管上皮細胞の肥大が 60 mg/kg 投与群の雄 1/6 例、300 mg/kg 投与群の雌雄全例で認められた。

脾臓 : 軽微な髄外造血の亢進が 300 mg/kg 投与群の雄 2/6 例で、軽微あるいは軽度なうっ血と褐色色素の増加が 300 mg/kg 投与群の雌雄全例で認められた。また、ベルリン青標本を鏡検した結果、軽微あるいは軽度なベルリン青陽性顆粒の増加が 60 mg/kg 投与群の雄 4/6 例と雌 3/6 例、300 mg/kg 投与群の雌雄全例で認められた。

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

眼球 : 軽微な限局性の網膜異形成が対照群の雌 1/6 例、300 mg/kg 投与群の雌 1/5 例で認められた。

心臓 : 軽微な限局性細胞浸潤が対照群の雄 1/6 例で認められた。

腎臓 : 軽微な再生尿細管が対照群の雌 1/6 例、12 mg/kg 投与群の雄 1/6 例、60 mg/kg 投与群の雄 2/6 例、300 mg/kg 投与群の雄 1/6 例と雌 1/5 例で認められた。

肝臓 : 軽微な門脈周囲性空胞化が対照群の雄 1/6 例と雌 4/6 例、12 mg/kg 投与群の雌 2/6 例、60 mg/kg 投与群の雄 1/6 例と雌 4/6 例で、軽微あるいは軽度な微小肉芽腫が対照群の雄 4/6 例と雌全例、12 mg/kg 投与群の雌雄全例、60 mg/kg 投与群の雄 5/6 例と雌全例、300 mg/kg 投与群の雌雄全例で認められた。

肺（気管支を含む） : 軽微な血管周囲の細胞浸潤が対照群の雌雄各 1/6 例で、軽微な骨化生が 300 mg/kg 投与群の雄 1/6 例で認められた。

下垂体 : 軽微なう胞が対照群の雌 1/6 例で認められた。

前立腺 : 軽微な炎症性細胞浸潤が対照群の 2/6 例で認められた。

大腿部骨格筋 : 軽微な筋肉の変性が対照群の雌 1/6 例で認められた。

気管 : 軽微な粘膜下組織の細胞浸潤が対照群の雌 1/6 例で認められた。

以下に示す所見については、剖検時みられた肉眼所見に相当すると考えられた。

腎臓 : 白色巣がみられた 60 mg/kg 投与群の雄 1/6 例では軽度な限局性の繊維化が認められた。

肺（気管支を含む）

： 暗赤色巣がみられた 60 mg/kg 投与群の雄 1/6 例では軽微な限局性の細胞浸潤が認められた。

3) 回復期間終了時

被験物質投与によると考えられる変化が雌雄の脾臓、雄の肝臓及び腎臓に認められた。

腎臓： 軽微な尿細管上皮の好酸性小体が 300 mg/kg 投与群の雄 2/6 例で認められた。

肝臓： 軽微な小葉中間帯肝細胞の空胞化が 300 mg/kg 投与群の雄 1/6 例で認められた。

脾臓： 軽微なうっ血が 300 mg/kg 投与群の雌 2/6 例で、軽微あるいは軽度な褐色色素の増加が 300 mg/kg 投与群の雌雄全例で認められた。また、ベルリン青標本を鏡検した結果、軽微なベルリン青陽性顆粒の増加が 300 mg/kg 投与群の雄 5/6 例と雌全例で認められた。

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

肝臓： 軽微な門脈周囲性空胞化が対照群の雄 2/6 例、300 mg/kg 投与群の雌 1/6 例で、軽微あるいは軽度な微小肉芽腫が対照群の雌雄全例と 300 mg/kg 投与群の雄全例と雌 5/6 例で認められた。

腎臓： 軽微な再生尿細管が対照群の雄 2/6 例、300 mg/kg 投与群の雄 3/6 例で認められた。

以下に示す所見については、剖検時みられた肉眼所見に相当すると考えられた。

脾臓： 隆起巣がみられた 300 mg/kg 投与群の雄 1/6 例では軽度なリンパ性過形成が認められた。

8. 考察

N-エチル-1-アミノナフタレンの 28 日間反復経口投与毒性試験を 6 週齢の Sprague-Dawley 系 SPF ラット [CrI:CD(SD)、1 群雌雄各 6 又は 12 匹] を用いて実施した。投与量は 0 (コーン油：対照群)、12、60 及び 300 mg/kg とし、また、対照群と 300 mg/kg の一部の個体 (1 群雌雄各 6 匹) については投与期間終了後 2 週間の休薬期間を設け、毒性変化の可逆性を検討した。

300 mg/kg 投与群の雌 1 例が、自発運動の減少、軟便及び褐色尿を呈して投与 4 日に死亡した。この動物では、肉眼的に低栄養状態、肺の暗調化と暗赤色巣、前胃の拡張が、組織学的に十二指腸のびらん、腎臓の尿細管上皮細胞の変性と単細胞壊死、腸間膜及び顎下リンパ節の萎縮、肝臓の小葉中心性肝細胞の空胞化、肝細胞の単細胞壊死及び胆管上皮細胞の肥大、脾臓のろ胞萎縮とうっ血並びに胸腺のリンパ球の壊死が認められたものの、死因となるような明らかな変化は観察されなかった。

生存動物の一般状態では、投与期間を通じて褐色尿が 60 mg/kg 以上の投与群の雌雄で認められた。更に、投与 3 から 6 日の間に軟便が 300 mg/kg 投与群の雌雄で認められた。回復期間中は回復 1 日に褐色尿が 300 mg/kg 投与群の雌雄で認められたが、その後異常は認められなかった。

詳細な一般状態、機能検査、握力及び自発運動量では、投与期間中に自発運動量の低値が測定開始後 0~10 分の測定値に 300 mg/kg 投与群の雄で認められ、中枢及び末梢神経系に組織学的変化は認められていないものの、被験物質投与の影響が疑われた。なお、この変化は休薬により消失し、回復性が認められた。その他、回復期間中に前肢握力の低値が 300 mg/kg 投与群の雄で認められたが、ごく軽度であり、投与期間中には同様な変化は認められていないことから、偶発性と判断した。

体重及び摂餌量では、投与期間中に低値が 300 mg/kg 投与群の雌雄で認められ、300 mg/kg 投与群の雄では体重増加量も低値を示した。回復期間中にも 300 mg/kg 投与群の雌雄で体重の低値が認められたものの、体重増加量と摂餌量は高値を示し、休薬による回復性が認められた。その他、投与期間中に体重増加量の高値が 12 mg/kg 投与群の雌で、摂餌量の一過性の高値が 60 mg/kg 投与群の雌で認められたが、いずれもごく軽度であり、投与量との関連性もないことから、偶発性と判断した。

尿検査 (摂水量を含む) では、投与 4 週に摂水量及び尿量の高値と浸透圧の低値が 300 mg/kg 投与群の雌雄で認められた。また、褐色尿が 60 mg/kg 以上の投与群の雌雄で認められ、ビリルビン陽性例の増加傾向が 12 mg/kg 以上の投与群の雌雄で認められたが、血液化学検査の総ビリルビンなど関連する項目には変化が認められていないことから、色調の変化に伴った偽陽性と判断した。なお、これらの変化は休薬により消失し、回復性が認められた。

血液学検査では、赤血球数及びヘモグロビン量の低値と網赤血球率の高値が 60 mg/kg 以上の投与群の雌と 300 mg/kg 投与群の雄で、ヘマトクリット値の低値が 60

mg/kg 以上の投与群の雌で、平均赤血球血色素濃度の低値が 300 mg/kg 投与群の雌雄で、平均赤血球容積の高値が 300 mg/kg 投与群の雄で認められ貧血が示唆された。また、フィブリノーゲン量の低値が 300 mg/kg 投与群の雄で認められた。回復期間終了時にも平均赤血球血色素濃度の低値が 300 mg/kg 投与群の雌雄で認められたものの、投与期間終了時に比べ変化の程度は軽減し、300 mg/kg 投与群の雌の網赤血球率では投与期間終了時にみられた高値ではなく低値を示していることから、休薬による回復性が認められた。その他、投与期間終了時に白血球百分率における好酸球比率の低値が 300 mg/kg 投与群の雌で、回復期間終了時に白血球百分率における好中球比率と白血球分画における好中球数の高値が 300 mg/kg 投与群の雄で認められたが、いずれもごく軽度であり、白血球数や他の白血球百分率などには変化が認められていないことから、偶発性と判断した。また、投与期間終了時に白血球百分率におけるリンパ球比率の高値と好中球比率の低値が 12 mg/kg 投与群の雄で、白血球分画における好中球数と単球数の低値が 60 mg/kg 投与群の雄で、活性化部分トロンボプラスチン時間の短縮が 60 mg/kg 投与群の雌で認められたが、いずれもごく軽度であり、高用量群には同様な変化が認められていないことから、偶発性と判断した。

血液化学検査では、総コレステロール及びリン脂質の高値が 60 mg/kg 以上の投与群の雌雄で、ALT 及び LDH の高値が 300 mg/kg 投与群の雄で、総たん白質の高値が 300 mg/kg 投与群の雌で認められ被験物質投与による肝臓への影響が疑われた。また、クレアチニンの低値が 300 mg/kg 投与群の雌雄で認められた。なお、これらの変化は休薬により消失し、回復性が認められた。その他、投与期間終了時にグルコースの低値が 12 及び 300 mg/kg 投与群の雄で、カルシウムの高値が 12 及び 300 mg/kg 投与群の雌で、AST の低値が 12 mg/kg 投与群の雌雄で、カリウムの低値が 12 mg/kg 投与群の雌で認められたが、いずれもごく軽度であり、投与量との関連のない変化であることから、偶発性と判断した。また、回復期間終了時に、アルブミンの高値が 300 mg/kg 投与群の雄で、ナトリウム及び総たん白質の低値と無機リンの高値が 300 mg/kg 投与群の雌で認められたが、いずれもごく軽度であり、投与期間終了時には認められていないことから、偶発性と判断した。

病理学検査では、大腿骨（骨髄を含む）、胸骨（骨髄を含む）と脾臓、腎臓及び肝臓で被験物質投与の影響が認められた。

大腿骨（骨髄を含む）、胸骨（骨髄を含む）と脾臓では、組織学的に赤血球造血の亢進が 300 mg/kg 投与群の雌雄の大腿骨（骨髄を含む）と 300 mg/kg 投与群の雄の胸骨（骨髄を含む）で、髄外造血の亢進が 300 mg/kg 投与群の雄の脾臓でみられ、上述した血液学検査での貧血との関連性が疑われた。また、脾臓の相対重量の高値が 300 mg/kg 投与群の雌雄でみられ、組織学的にうっ血及び褐色色素の増加が 300 mg/kg 投与群の雌雄で、ベルリン青陽性顆粒の増加が 60 mg/kg 以上の投与群の雌雄でみられた。これらの変化は構造的に類似している Naphthalene のがん原性試験などで報告⁷⁾されており、ヒトやイヌにメトヘモグロビン血症を誘発し、障害を受けた赤血球は脾臓にうっ滞することが知られていることから、Naphthalene に類似する本被験物質投与によ

って赤血球に障害が惹起され、障害を受けた赤血球が脾臓にうっ滞及び処理された可能性が示唆された。なお、回復期間終了時にも、脾臓の相対重量の高値が 300 mg/kg 投与群の雄で、組織学的に褐色色素の増加及びベルリン青陽性顆粒の増加が 300 mg/kg 投与群の雌雄で、うっ血が 300 mg/kg 投与群の雌で認められたが、変化の程度あるいは発現頻度は軽減していることから、休薬による回復性が認められた。

腎臓では、組織学的に尿細管上皮の好酸性小体が 60 mg/kg 以上の投与群の雄で認められたが、代表例 (300mg/kg 投与群の雄 3 例) について抗 $\alpha_2\mu$ グロブリン抗体を用いた免疫組織化学染色標本及び PAS 染色標本を作製し鏡検した結果、好酸性小体は $\alpha_2\mu$ グロブリンであると判断した。 $\alpha_2\mu$ グロブリンは雄ラットの特異的タンパクであることから、腎臓の変化は無影響量には関連しない変化と判断した⁸⁾。また、相対重量の高値が 300 mg/kg 投与群の雌雄で認められた。なお、回復期間終了時にも、組織学的に尿細管上皮の好酸性小体が 300 mg/kg 投与群の雄でみられたが、投与終了時と同様な変化であることから無影響量には関連しないと判断した。

肝臓では、組織学的に小葉中心性肝細胞肥大が 60 mg/kg 以上の投与群の雄と 300 mg/kg 投与群の雌でみられ、その形態は薬物代謝酵素が誘導されたときに起こる組織像とは異なっていた。また、小葉中間帯肝細胞の空胞化が 300 mg/kg 投与群の雄で、胆管上皮細胞の肥大が 60 mg/kg 以上の投与群の雄と 300 mg/kg 投与群の雌で認められ、肝細胞の単細胞壊死が 300 mg/kg 投与群の雌雄で肝細胞の主として肥大肝細胞と正常肝細胞の境界領域にみられた。この変化は、雄では空胞化に続く壊死への過程と推測されたが、雌では空胞化がみられず、必ずしも空胞化から壊死の過程のみでない可能性も考えられたことから、いずれの変化も明らかな発現機序は不明であった。更に、絶対及び相対重量の高値が 300 mg/kg 投与群の雌で、相対重量の高値が 300 mg/kg 投与群の雄で認められた。なお、回復期間終了時に、絶対重量の低値が 300 mg/kg 投与群の雄でみられたが投与期間終了時に認められた高値でなく低値であり、組織学的にも小葉中間帯肝細胞の空胞化が 300 mg/kg 投与群の雄で認められたが、程度及び発現頻度は軽減していることから、休薬による回復性が認められた。

その他の病理学検査では、投与期間終了時に脳と精巣の相対重量の高値及び心臓の絶対重量の低値が 300 mg/kg 投与群の雄で認められたが、これらは体重低値あるいは全身状態の悪化に伴った変化と判断した。また、腎臓の相対重量の低値が 12 mg/kg 投与群の雌で、子宮の絶対重量の高値が 12 及び 60 mg/kg 投与群で認められたが、いずれもごく軽度であり、投与量との関連性のない変化であることから、偶発性と判断した。更に、剖検所見において投与期間終了時に腎臓の白色巣と肺の暗赤色巣が、回復期間終了時に脾臓の隆起巣がみられたが、いずれも発現状況などから偶発性の変化と判断した。

以上の結果、*N*-エチル-1-アミノナフタレンの本試験条件下における無影響量は血液化学検査及び病理組織学検査の脾臓の変化などから雌雄とも 12 mg/kg/day と推定された。いずれの変化も休薬により消失あるいは軽減し、回復性が認められた。

9. 文献

- 1) *N*-エチル-1-アミノナフタレンのラットを用いた 14 日間反復経口投与毒性試験（予備試験）（株式会社ボゾリサーチセンター、試験番号：C-B448、2009 年）
- 2) Snedecor GW, Cochran WG. Statistical methods.8th ed. Ames: Iowa State University Press;1989.
- 3) Dunnett CW. A multiple comparison procedure for comparing several treatments with a control.J Am Stat Assoc 1955; 50:1096-121.
- 4) Dunnett CW. New tables for multiple comparisons with a control. Biometrics 1964; 20:482-91.
- 5) 佐久間昭（1977）：薬効評価－計画と解析－I 東京大学出版会, 東京.
- 6) 佐久間昭（1981）：薬効評価－計画と解析－II 東京大学出版会, 東京.
- 7) NTP technical report on the toxicology and carcinogenesis studies of naphthalene (CAS No. 91-20-3) in F344/N rats
- 8) C.A. Montgomery, Jr., and J.C. Seely : 10. Kidney. In “Pathology of the Fischer Rat”, edited by G.A. Boorman et al., Academic Press, Inc., San Diego, pp.129, 1990.

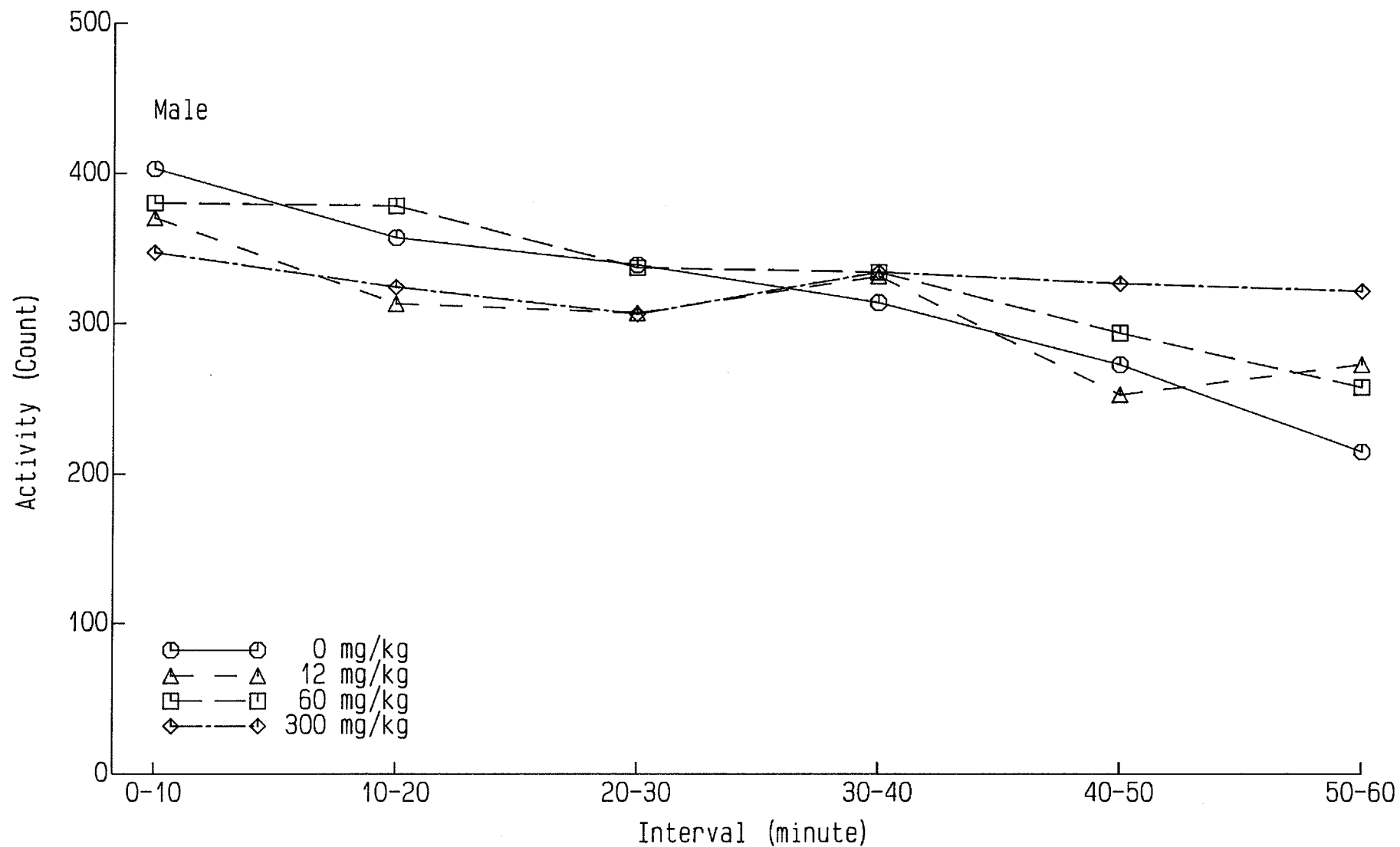


Fig.1 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
—— Motor activity (Week 4 of administration period) ——

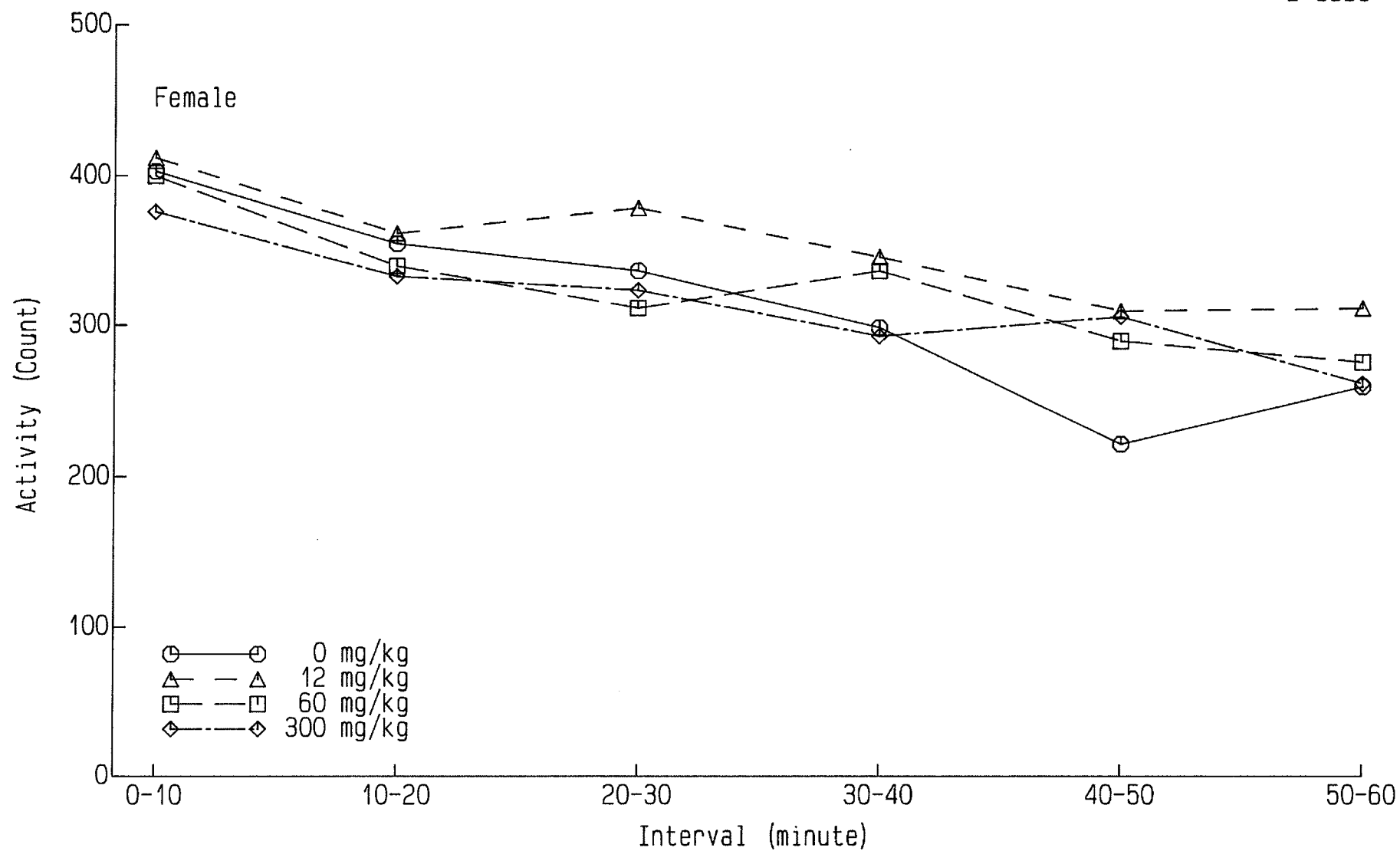


Fig.2 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
—— Motor activity (Week 4 of administration period) ——

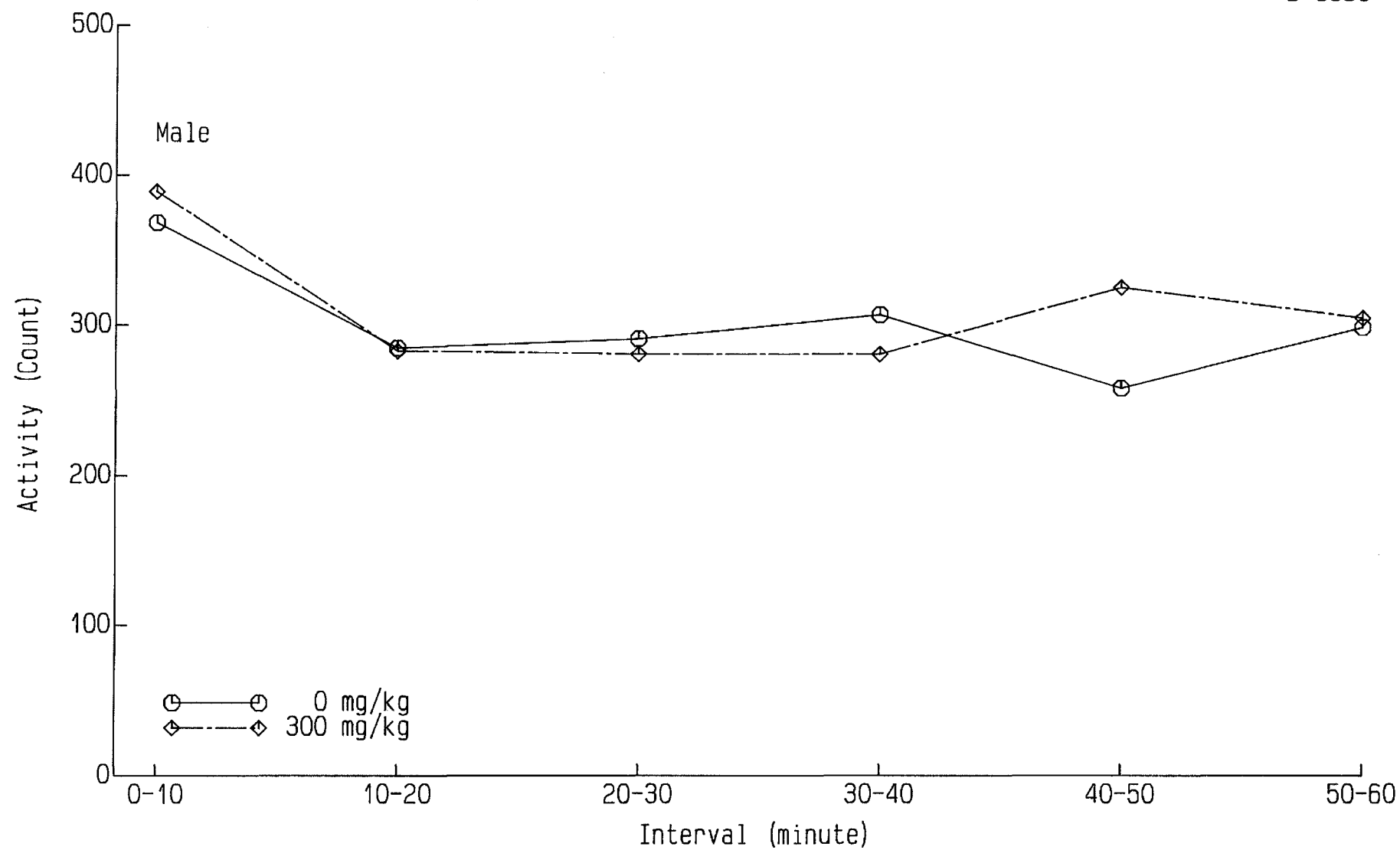


Fig.3 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
—— Motor activity (Week 2 of recovery period) ——

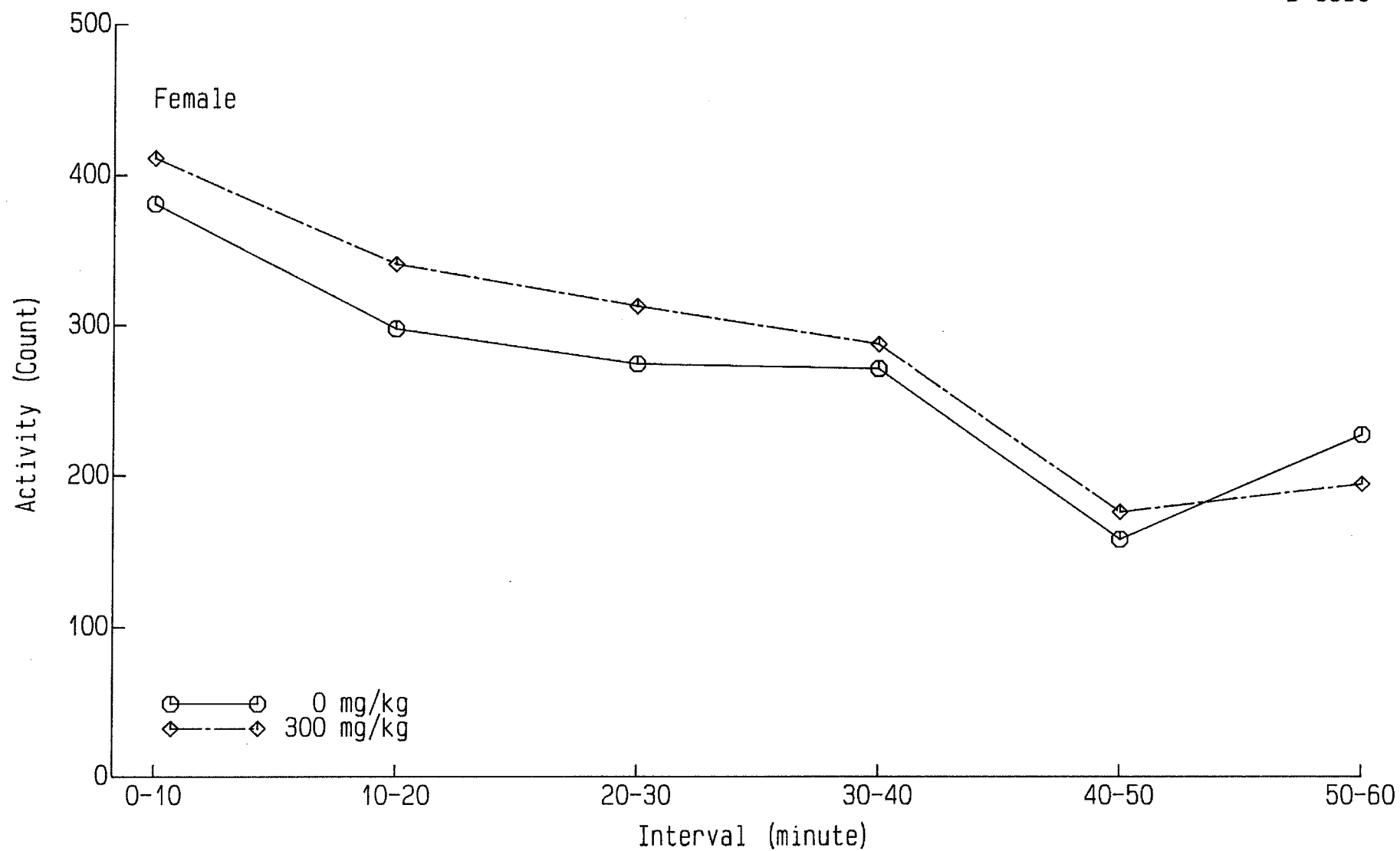


Fig.4 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
—— Motor activity (Week 2 of recovery period) ——

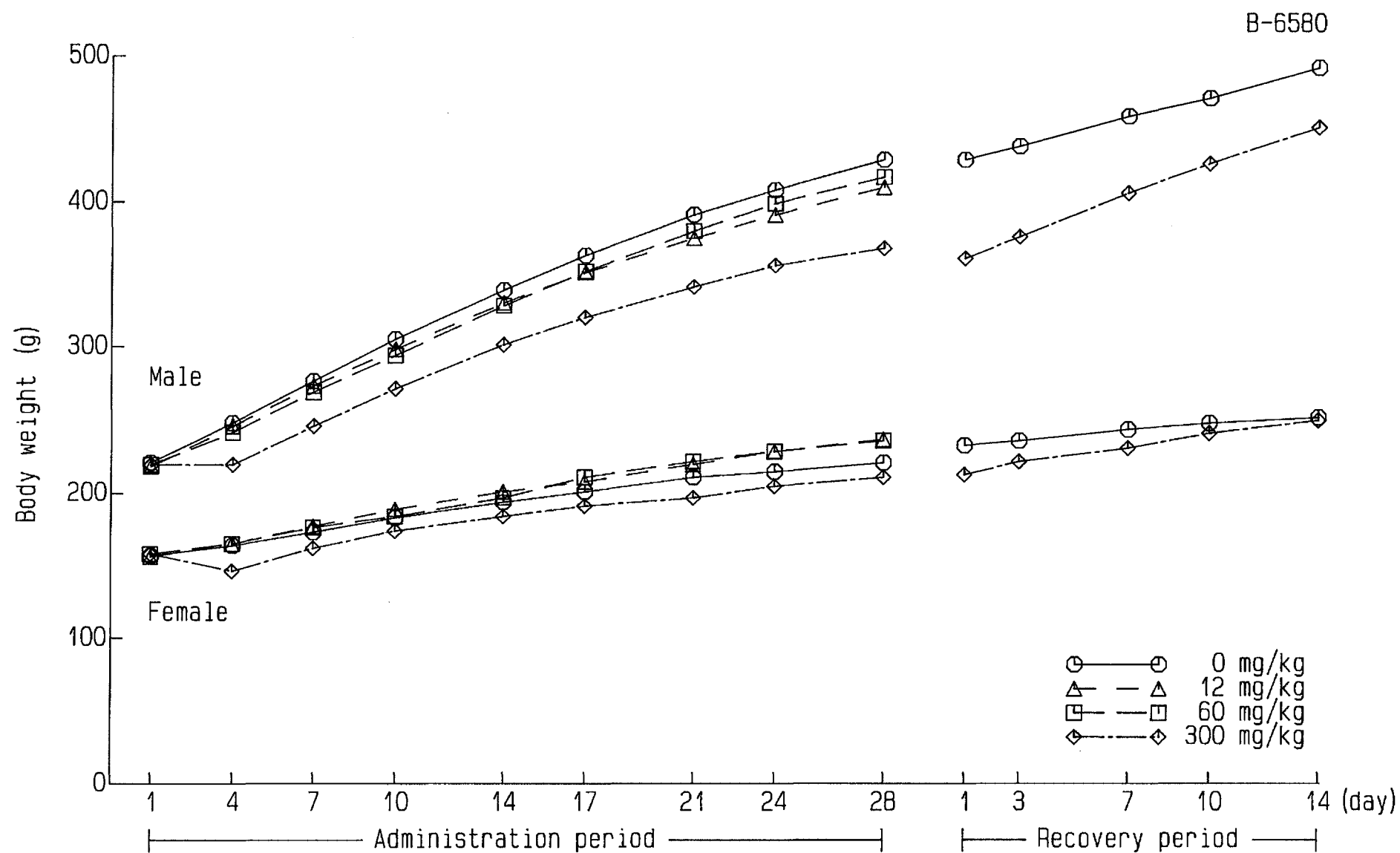


Fig.5 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks

— Body weight —

B-6580

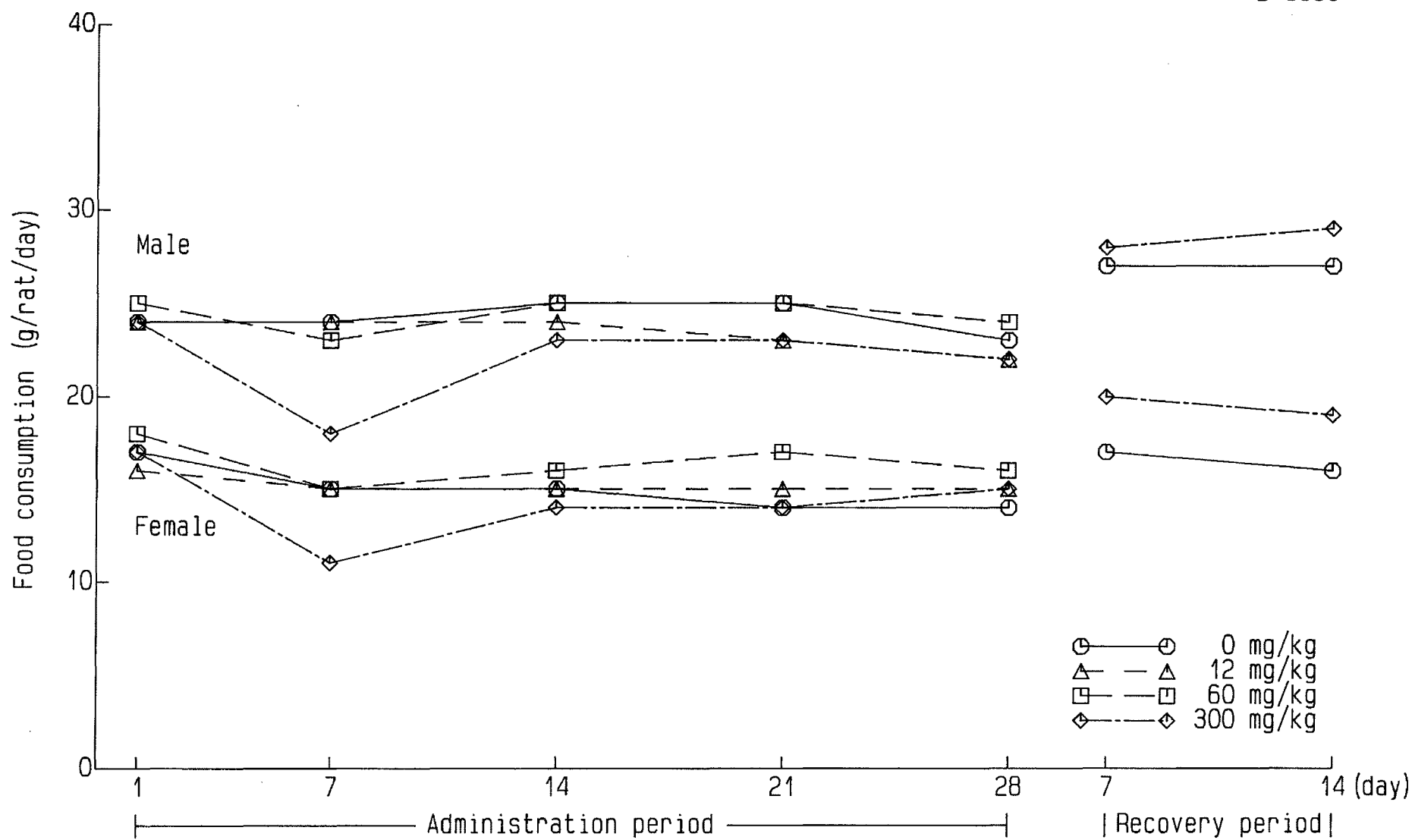


Fig.6 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks

— Food consumption —

Table 1-1 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
Clinical signs (Administration period)

Sex	Dose mg/kg	Findings	Day of administration													
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Male	0	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	12	No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	60	No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No abnormality	4	0	0	2	4	3	5	3	4	5	6	5	5	6
		Brown urine	2	6	6	4	2	3	1	3	2	1	0	1	1	0
	300	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Brown urine	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Soft feces	0	0	3	4	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Female	0	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	12	No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	60	No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No abnormality	1	0	0	2	4	2	2	4	3	4	4	5	4	5
		Brown urine	5	6	6	4	2	4	4	2	3	2	2	1	2	1
	300	No. of animals	12	12	12	12	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
		No abnormality	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Brown urine	12(1)	12(1)	12(1)	12(1)	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
		Soft feces	0	0	6(1)	6(1)	4	2	0	0	0	0	0	0	0	0
		Decrease in spontaneous movement	0	0	1(1)	1(1)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Dead	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Number in parenthesis indicated the number of dead animals that showed the respective clinical signs.

[illegible]

Table 1-3

A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks

Clinical signs (Recovery period)

[illegible]

Table 2-1 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
Detailed clinical signs : home cage observation (Week 1 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	12	60	300	0	12	60	300
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	11
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	11
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	11

Table 2-2 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
Detailed clinical signs : home cage observation (Week 2 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	12	60	300	0	12	60	300
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	11
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	11
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	11

Table 2-3 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
Detailed clinical signs : home cage observation (Week 3 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	12	60	300	0	12	60	300
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	11
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	11
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	11

Table 2-4 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
Detailed clinical signs : home cage observation (Week 4 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	12	60	300	0	12	60	300
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	11
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	11
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	11

Table 2-5 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
Detailed clinical signs : home cage observation (Week 1 of recovery period)

Parameter	Sex	Male		Female	
	Dose (mg/kg)	0	300	0	300
	No. of animals	6	6	6	6
Posture					
Normal		6	6	6	6
Convulsion					
None		6	6	6	6
Abnormal behavior					
None		6	6	6	6

Table 2-6 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
Detailed clinical signs : home cage observation (Week 2 of recovery period)

Parameter	Sex	Male		Female	
	Dose (mg/kg)	0	300	0	300
	No. of animals	6	6	6	6
Posture					
Normal		6	6	6	6
Convulsion					
None		6	6	6	6
Abnormal behavior					
None		6	6	6	6

Table 2-7 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
Detailed clinical signs : in-the-hand observation (Week 1 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	12	60	300	0	12	60	300
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	11
Ease of removal from cage									
Easy		12	6	6	12	12	6	6	11
Fur condition									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Skin									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Secretions-Eye, Nose									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	11
Exophthalmos									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	11
Palpebral closure									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Mucosal membranes									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Lacrimation									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Piloerection									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	11
Pupil size									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Salivation									
None		12	6	6	12	12	6	6	11
Abnormal respiration									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	11
Reactivity to handling									
Easy		12	6	6	12	12	6	6	11

Table 2-8 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
Detailed clinical signs : in-the-hand observation (Week 2 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	12	60	300	0	12	60	300
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	11
Ease of removal from cage									
Easy		12	6	6	12	12	6	6	11
Fur condition									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Skin									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Secretions-Eye, Nose									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	11
Exophthalmos									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	11
Palpebral closure									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Mucosal membranes									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Lacrimation									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Piloerection									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	11
Pupil size									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Salivation									
None		12	6	6	12	12	6	6	11
Abnormal respiration									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	11
Reactivity to handling									
Easy		12	6	6	12	12	6	6	11

Table 2-9

A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks

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

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	12	60	300	0	12	60	300
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	11
Ease of removal from cage									
Easy		12	6	6	12	12	6	6	11
Fur condition									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Skin									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Secretions-Eye, Nose									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	11
Exophthalmos									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	11
Palpebral closure									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Mucosal membranes									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Lacrimation									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Piloerection									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	11
Pupil size									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Salivation									
None		12	6	6	12	12	6	6	11
Abnormal respiration									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	11
Reactivity to handling									
Easy		12	6	6	12	12	6	6	11

Table 2-10 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
Detailed clinical signs : in-the-hand observation (Week 4 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	12	60	300	0	12	60	300
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	11
Ease of removal from cage									
Easy		12	6	6	12	12	6	6	11
Fur condition									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Skin									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Secretions-Eye, Nose									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	11
Exophthalmos									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	11
Palpebral closure									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Mucosal membranes									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Lacrimation									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Piloerection									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	11
Pupil size									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Salivation									
None		12	6	6	12	12	6	6	11
Abnormal respiration									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	11
Reactivity to handling									
Easy		12	6	6	12	12	6	6	11

Table 2-11

A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks

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

Parameter	Sex	Male		Female	
	Dose (mg/kg)	0	300	0	300
	No. of animals	6	6	6	6
Ease of removal from cage					
Easy		6	6	6	6
Fur condition					
Normal		6	6	6	6
Skin					
Normal		6	6	6	6
Secretions-Eye, Nose					
Absent		6	6	6	6
Exophthalmos					
Absent		6	6	6	6
Palpebral closure					
Normal		6	6	6	6
Mucosal membranes					
Normal		6	6	6	6
Lacrimation					
Normal		6	6	6	6
Piloerection					
Absent		6	6	6	6
Pupil size					
Normal		6	6	6	6
Salivation					
None		6	6	6	6
Abnormal respiration					
Absent		6	6	6	6
Reactivity to handling					
Easy		6	6	6	6

Table 2-12

A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks

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

Parameter	Sex	Male		Female	
	Dose (mg/kg)	0	300	0	300
	No. of animals	6	6	6	6
Ease of removal from cage					
Easy		6	6	6	6
Fur condition					
Normal		6	6	6	6
Skin					
Normal		6	6	6	6
Secretions-Eye, Nose					
Absent		6	6	6	6
Exophthalmos					
Absent		6	6	6	6
Palpebral closure					
Normal		6	6	6	6
Mucosal membranes					
Normal		6	6	6	6
Lacrimation					
Normal		6	6	6	6
Piloerection					
Absent		6	6	6	6
Pupil size					
Normal		6	6	6	6
Salivation					
None		6	6	6	6
Abnormal respiration					
Absent		6	6	6	6
Reactivity to handling					
Easy		6	6	6	6

Table 2-13

A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks

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

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	12	60	300	0	12	60	300
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	11
Arousal									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	11
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	11
Stereotypy									
None		12	6	6	12	12	6	6	11
Gait									
No/minimal location		2	1	0	0	0	0	0	0
Normal		10	5	6	12	12	6	6	11
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Grooming									
None		12	6	6	12	12	6	6	11
Rearing count (Mean±S.D.)		1± 2	2± 2	2± 2	2± 2	6± 2	6± 2	6± 2	4± 3
Defecation count (Mean±S.D.)		1± 1	2± 2	1± 2	1± 1	0± 0	0± 0	0± 0	0± 1
Urination									
None		7	4	3	4	12	6	6	10
Small amount		4	2	2	8	0	0	0	1
Moderate amount		1	0	1	0	0	0	0	0

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-14 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
Detailed clinical signs : open field observation (Week 2 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	12	60	300	0	12	60	300
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	11
Arousal									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	11
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	11
Stereotypy									
None		12	6	6	12	12	6	6	11
Gait									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Grooming									
None		12	6	6	12	12	6	6	11
Rearing count (Mean±S.D.)		3± 3	3± 3	3± 3	2± 2	7± 3	7± 2	6± 1	6± 2
Defecation count (Mean±S.D.)		1± 1	1± 1	1± 1	1± 1	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0
Urination									
None		7	5	4	7	11	6	6	11
Small amount		4	1	2	4	1	0	0	0
Moderate amount		1	0	0	1	0	0	0	0

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-15

A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks

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

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	12	60	300	0	12	60	300
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	11
Arousal									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	11
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	11
Stereotypy									
None		12	6	6	12	12	6	6	11
Gait									
No/minimal location		1	0	0	0	0	0	0	0
Normal		11	6	6	12	12	6	6	11
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Grooming									
None		12	6	6	12	12	6	6	11
Rearing count (Mean±S.D.)		3± 3	2± 2	4± 3	3± 3	6± 2	7± 3	7± 2	6± 2
Defecation count (Mean±S.D.)		1± 1	1± 1	1± 1	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0
Urination									
None		6	5	3	9	12	6	6	11
Small amount		6	1	3	3	0	0	0	0

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-16

A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks

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

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	12	60	300	0	12	60	300
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	11
Arousal									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	11
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	11
Stereotypy									
None		12	6	6	12	12	6	6	11
Gait									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Grooming									
None		12	6	6	12	12	6	6	11
Rearing count (Mean±S.D.)		3± 3	4± 3	3± 3	4± 3	8± 2	8± 3	7± 2	7± 3
Defecation count (Mean±S.D.)		0± 1	0± 0	1± 2	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0
Urination									
None		7	5	5	12	12	6	6	11
Small amount		5	1	1	0	0	0	0	0

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-17

A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks

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

Parameter	Sex	Male		Female	
	Dose (mg/kg)	0	300	0	300
	No. of animals	6	6	6	6
Arousal					
Normal		6	6	6	6
Convulsion					
None		6	6	6	6
Abnormal behavior					
None		6	6	6	6
Stereotypy					
None		6	6	6	6
Gait					
Normal		6	6	6	6
Posture					
Normal		6	6	6	6
Grooming					
None		6	6	6	6
Rearing count (Mean±S.D.)		3± 2	4± 2	8± 1	7± 4
Defecation count (Mean±S.D.)		0± 0	1± 1	0± 0	0± 0
Urination					
None		6	5	6	6
Small amount		0	1	0	0

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-18 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
Detailed clinical signs : open field observation (Week 2 of recovery period)

Parameter	Sex	Male		Female	
	Dose (mg/kg)	0	300	0	300
	No. of animals	6	6	6	6
Arousal					
Normal		6	6	6	6
Convulsion					
None		6	6	6	6
Abnormal behavior					
None		6	6	6	6
Stereotypy					
None		6	6	6	6
Gait					
No/minimal location		1	0	0	0
Normal		5	6	6	6
Posture					
Normal		6	6	6	6
Grooming					
None		6	6	6	6
Rearing count (Mean±S.D.)		3± 2	4± 2	9± 4	8± 2
Defecation count (Mean±S.D.)		0± 0	0± 1	0± 0	0± 0
Urination					
None		3	4	6	6
Small amount		3	2	0	0

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-19 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
 Manipulative test (Week 4 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	12	60	300	0	12	60	300
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	11
Auditory response									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Approach response									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Touch response									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Tail pinch response									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Pupillary reflex									
Pass, both		12	6	6	12	12	6	6	11
Aerial righting reflex									
(Total score: Mean±S.D.)		0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0
Landing foot splay (mm: Mean±S.D.)		72±15	66±18	72±18	62±17	53±19	65±20	50±14	54±13

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-20 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
 Manipulative test (Week 2 of recovery period)

Parameter	Sex	Male		Female	
	Dose (mg/kg)	0	300	0	300
	No. of animals	6	6	6	6
Auditory response					
Normal		6	6	6	6
Approach response					
Normal		6	6	6	6
Touch response					
Normal		6	6	6	6
Tail pinch response					
Normal		6	6	6	6
Pupillary reflex					
Pass, both		6	6	6	6
Aerial righting reflex					
(Total score: Mean±S.D.)		0± 0	0± 0	0± 0	0± 0
Landing foot splay (mm: Mean±S.D.)		75±17	73±22	61±14	56±16

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-21 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
 Grip strength (Week 4 of administration period)

Sex	Dose mg/kg		Fore limb g	Hind limb g
Male	0	No.	12	12
		Mean	1136	480
		S.D.	72	54
	12	No.	6	6
		Mean	1076	499
		S.D.	145	147
	60	No.	6	6
		Mean	1226	489
		S.D.	119	75
	300	No.	12	12
		Mean	1152	488
		S.D.	79	103
Female	0	No.	12	12
		Mean	970	423
		S.D.	72	71
	12	No.	6	6
		Mean	938	445
		S.D.	85	84
	60	No.	6	6
		Mean	924	424
		S.D.	99	40
	300	No.	11	11
		Mean	973	413
		S.D.	32	65

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-22

A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
Grip strength (Week 2 of recovery period)

Sex	Dose mg/kg		Fore limb g	Hind limb g
Male	0	No.	6	6
		Mean	1423	455
		S.D.	65	84
	300	No.	6	6
		Mean	1288*	426
		S.D.	123T	39
Female	0	No.	6	6
		Mean	1039	433
		S.D.	70	25
	300	No.	6	6
		Mean	1047	375
		S.D.	85	61

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

T : Student's t-test

Table 2-23 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
 Motor activity (Week 4 of administration period)

Sex	Dose mg/kg		Interval (minutes)						
			0-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60	Total(0-60)
Male	0	No.	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	403	357	339	314	273	215	1901
		S.D.	24	39	43	80	127	155	308
	12	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	370	313	307	331	253	273	1847
		S.D.	70	78	23	39	78	66	185
	60	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	380	378	337	334	294	258	1981
		S.D.	64	52	54	66	93	104	353
	300	No.	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	347*	324	306	334	326	321	1958
		S.D.	40D	34	40	41	49	72	189
Female	0	No.	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	403	355	337	299	222	260	1876
		S.D.	36	41	32	65	101	55	153
	12	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	412	362	379	346	310	312	2121
		S.D.	41	56	44	51	115	72	210
	60	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	400	340	312	337	290	276	1955
		S.D.	61	40	76	60	107	49	294
	300	No.	11	11	11	11	11	11	11
		Mean	376	333	324	293	306	262	1894
		S.D.	14	57	47	50	35	63	177

Unit : Count

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

D : Dunnett's test

Table 2-24

A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
 Motor activity (Week 2 of recovery period)

Sex	Dose mg/kg		Interval (minutes)						
			0-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60	Total (0-60)
Male	0	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	368	285	291	307	259	299	1809
		S.D.	57	88	75	71	110	40	186
	300	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	389	283	281	281	325	305	1863
		S.D.	25	75	107	103	78	58	171
Female	0	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	381	298	275	272	158	228	1611
		S.D.	19	24	88	38	139	41	231
	300	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	411	341	313	288	176	195	1724
		S.D.	42	65	55	105	140	34	292

Unit : Count

No significant difference between treated group and control group.

Table 3-1 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
Body weight (Administration period)

Sex	Dose mg/kg		Day of administration								Gain 1-28	
			1	4	7	10	14	17	21	24		28
Male	0	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	221	248	276	305	339	363	391	408	429	208
		S.D.	6	7	8	9	11	14	17	19	20	23
	12	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	219	246	273	298	330	351	375	391	410	190
		S.D.	6	8	10	13	16	18	23	24	26	21
	60	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	220	242	269	294	328	352	380	399	417	197
		S.D.	9	12	16	20	23	29	31	36	40	31
	300	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	220	220**	246**	271**	301**	320**	341**	356**	368**	148**
		S.D.	5	13D	17D	15D	16D	18D	20D	24D	28D	26D
Female	0	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	157	164	173	183	194	201	211	215	221	64
		S.D.	6	9	10	11	12	14	15	16	17	15
	12	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	156	165	177	189	201	208	220	229	237	82*
		S.D.	9	9	7	9	9	9	10	11	8	5D
	60	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	158	165	176	184	197	211	222	229	236	78
		S.D.	7	10	9	11	12	17	18	18	17	13
	300	No.	12	12	11	11	11	11	11	11	11	11
		Mean	158	146**	162*	174	184	191	197	205	211	53
		S.D.	6	18D	13D	14	16	20	22	20	21	17

Unit : g

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

D : Dunnett's test

Table 3-2 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
 Body weight (Recovery period)

Sex	Dose mg/kg		Day of recovery					Gain 1-14
			1	3	7	10	14	
Male	0	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	429	438	459	471	492	63
		S.D.	15	17	16	13	16	10
	300	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	361**	376**	406**	426*	451*	90**
		S.D.	30T	32T	31T	32AT	28T	10T
Female	0	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	233	236	244	248	252	19
		S.D.	12	11	13	13	15	3
	300	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	213*	222*	231	241	250	36**
		S.D.	13T	8T	10	14	14	8AT

Unit : g

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

T : Student's t-test

AT : Aspin-Welch t-test

Table 4-1 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
Food consumption (Administration period)

Sex	Dose mg/kg		Day of administration				
			1	7	14	21	28
Male	0	No.	12	12	12	12	12
		Mean	24	24	25	25	23
		S.D.	1	1	1	2	2
	12	No.	6	6	6	6	6
		Mean	24	24	24	23	22
		S.D.	2	2	2	2	2
	60	No.	6	6	6	6	6
		Mean	25	23	25	25	24
		S.D.	3	2	2	3	3
	300	No.	12	12	12	12	12
		Mean	24	18**	23*	23	22
		S.D.	1	3D	1D	2	2
Female	0	No.	12	12	12	12	12
		Mean	17	15	15	14	14
		S.D.	2	2	1	1	1
	12	No.	6	6	6	6	6
		Mean	16	15	15	15	15
		S.D.	2	1	1	1	1
	60	No.	6	6	6	6	6
		Mean	18	15	16	17*	16
		S.D.	1	1	1	2D	1
	300	No.	12	11	11	11	11
		Mean	17	11**	14	14	15
		S.D.	1	2D	2	2	2

Unit : g/rat/day

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

D : Dunnett's test

Table 4-2 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
Food consumption (Recovery period)

Sex	Dose mg/kg		Day of recovery	
			7	14
Male	0	No.	6	6
		Mean	27	27
		S.D.	2	2
	300	No.	6	6
		Mean	28	29*
		S.D.	1	1AT
Female	0	No.	6	6
		Mean	17	16
		S.D.	1	2
	300	No.	6	6
		Mean	20**	19*
		S.D.	1T	2T

Unit : g/rat/day

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

T : Student's t-test

AT : Aspin-Welch t-test

Table 5-1 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
Urinalysis (Week 4 of administration period)

Sex	Dose mg/kg	No.	pH									1) Protein						2) Ketone body						3) Glucose					
			5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0	-	+-	+	++	+++	++++	-	+-	+	++	+++	++++	-	+-	+	++	+++	++++
Male	0	12	0	0	1	0	2	1	1	6	1	1	2	6	2	1	0	2	3	6	1	0	0	12	0	0	0	0	0
	12	6	0	0	0	0	0	0	2	3	1	2	0	4	0	0	0	2	3	1	0	0	0	6	0	0	0	0	0
	60	6	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	2	4	0	0	0	1	2	3	0	0	0	4	2	0	0	0	0
	300	12	0	0	0	0	4	3	5	0	0	1	6	5	0	0	0	12	0	0	0	0	0	11	1	0	0	0	0
Female	0	12	0	0	1	6	1	0	3	1	0	5	6	1	0	0	0	6	5	1	0	0	0	12	0	0	0	0	0
	12	6	0	0	1	2	0	1	0	2	0	3	1	2	0	0	0	4	2	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0
	60	6	0	0	1	1	3	0	0	1	0	3	2	1	0	0	0	4	2	0	0	0	0	4	2	0	0	0	0
	300	11	0	0	6	2	1	1	1	0	0	3	6	2	0	0	0	11	0	0	0	0	0	9	2	0	0	0	0
1)	- : <10 mg/dL		+- : 10 - 25 mg/dL			+ : 26 - 85 mg/dL			++ : 86 - 250 mg/dL			+++ : 251 - 600 mg/dL			++++ : >600 mg/dL														
2)	- : <5 mg/dL		+- : 5 - 7.5 mg/dL			+ : 7.6 - 30 mg/dL			++ : 31 - 70 mg/dL			+++ : 71 - 125 mg/dL			++++ : >125 mg/dL														
3)	- : <30 mg/dL		+- : 30 - 60 mg/dL			+ : 61 - 125 mg/dL			++ : 126 - 250 mg/dL			+++ : 251 - 750 mg/dL			++++ : >750 mg/dL														

Table 5-2 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
Urinalysis (Week 4 of administration period)

Sex	Dose mg/kg	No.	4) Occult blood					5) Bilirubin					6) Urobilinogen					7) Color			
			-	+-	+	++	+++	-	+	++	+++	++++	+-	+	++	+++	++++	LY	Y	DY	B
Male	0	12	9	3	0	0	0	11	1	0	0	0	8	4	0	0	0	0	12	0	0
	12	6	6	0	0	0	0	0	1	1	3	1	6	0	0	0	0	0	6	0	0
	60	6	6	0	0	0	0	0	0	0	1	5	4	2	0	0	0	0	3	0	3
	300	12	12	0	0	0	0	0	0	0	0	12	8	3	1	0	0	0	0	0	12
Female	0	12	10	1	1	0	0	12	0	0	0	0	11	1	0	0	0	0	12	0	0
	12	6	5	1	0	0	0	0	0	3	3	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0
	60	6	6	0	0	0	0	0	0	0	1	5	5	1	0	0	0	0	2	0	4
	300	11	11	0	0	0	0	0	0	0	0	11	8	2	1	0	0	0	0	0	11
4) - : <0.03 mg/dL			+- : 0.03 - 0.05 mg/dL					+ : 0.06 - 0.15 mg/dL					++ : 0.16 - 0.75 mg/dL					+++ : >0.75 mg/dL			
5) - : <0.5 mg/dL			+ : 0.5 - 1.5 mg/dL					++ : 1.6 - 5.0 mg/dL					+++ : 5.1 - 10.0 mg/dL					++++ : >10.0 mg/dL			
6) +- : <2.0 mg/dL			+ : 2.0 - 3.5 mg/dL					++ : 3.6 - 7.0 mg/dL					+++ : 7.1 - 12.0 mg/dL					++++ : >12.0 mg/dL			
7) LY : Light yellow			Y : Yellow					DY : Dark yellow					B : Brown								

Table 5-3

A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
 Urinalysis (Week 4 of administration period)

			URINE SEDIMENT																				CRYSTALLIZATION											
Sex	Dose mg/kg	No.	RBC				WBC				SEC				SREC				Cast			PS					CO							
			-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++				
Male	0	12	10	2	0	0	0	12	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0	12	0	0	12	0	0	11	1	0	0	0	10	2	0	0	0
	12	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	6	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0
	60	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	5	1	0	6	0	0	6	0	0	0	0	3	3	0	0	0
	300	12	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	11	1	0	0	0	12	0	0	12	0	0	12	0	0	0	0	8	4	0	0	0
Female	0	12	11	1	0	0	0	12	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0	12	0	0	12	0	0	12	0	0	0	0	11	1	0	0	0
	12	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	6	0	0	5	1	0	0	0	5	1	0	0	0
	60	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	6	0	0	6	0	0	0	0	5	1	0	0	0
	300	11	11	0	0	0	0	10	1	0	0	0	0	11	0	0	0	0	11	0	0	11	0	0	10	1	0	0	0	8	2	1	0	0
SEC : Squamous Epithelial Cell			-				:				Negative																							
SREC : Small Round Epithelial Cell			+-				:				Slight																							
PS : Phosphate Salts			+				:				Mild																							
CO : Calcium Oxalate			++				:				Moderate																							
			+++				:				Severe																							

Table 5-4 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
 Water intake and urinalysis (Week 4 of administration period)

Sex	Dose mg/kg	No.		Water intake mL/24h	Urine volume mL/24h	Osmolality mOsm/kg
Male	0	12	Mean	36	8.5	1725
			S.D.	5	2.4	247
	12	6	Mean	37	7.4	1886
			S.D.	6	3.1	194
	60	6	Mean	44	11.1	1586
			S.D.	11	2.7	327
	300	12	Mean	53**	21.9**	962**
			S.D.	13D	8.4DT	272D
Female	0	12	Mean	27	4.4	1989
			S.D.	4	2.8	684
	12	6	Mean	32	6.9	1590
			S.D.	6	3.1	340
	60	6	Mean	33	5.8	1845
			S.D.	8	2.1	454
	300	11	Mean	41**	10.5**	1052**
			S.D.	10D	3.8D	322D

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

D : Dunnett's test

DT : Dunnett-type rank test

Table 5-5 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
Urinalysis (Week 2 of recovery period)

Sex	Dose mg/kg	No.	pH									1) Protein						2) Ketone body						3) Glucose					
			5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0	-	+-	+	++	+++	++++	-	+-	+	++	+++	++++	-	+-	+	++	+++	++++
Male	0	6	0	0	0	0	0	0	0	4	2	0	4	2	0	0	0	3	2	1	0	0	0	6	0	0	0	0	0
	300	6	0	0	0	0	0	0	1	5	0	2	4	0	0	0	0	4	1	1	0	0	0	6	0	0	0	0	0
Female	0	6	0	0	1	0	0	1	2	2	0	4	2	0	0	0	0	3	3	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0
	300	6	0	0	0	1	0	0	0	5	0	3	3	0	0	0	0	5	1	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0
1)	- : <10 mg/dL		+- : 10 - 25 mg/dL			+ : 26 - 85 mg/dL			++ : 86 - 250 mg/dL			+++ : 251 - 600 mg/dL			++++ : >600 mg/dL														
2)	- : <5 mg/dL		+- : 5 - 7.5 mg/dL			+ : 7.6 - 30 mg/dL			++ : 31 - 70 mg/dL			+++ : 71 - 125 mg/dL			++++ : >125 mg/dL														
3)	- : <30 mg/dL		+- : 30 - 60 mg/dL			+ : 61 - 125 mg/dL			++ : 126 - 250 mg/dL			+++ : 251 - 750 mg/dL			++++ : >750 mg/dL														

Table 5-6 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks

Urinalysis (Week 2 of recovery period)

Sex	Dose mg/kg	No.	4) Occult blood					5) Bilirubin					6) Urobilinogen					7) Color		
			-	+	+	++	+++	-	+	++	+++	++++	+-	+	++	+++	++++	LY	Y	DY
Male	0	6	5	1	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0
	300	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0
Female	0	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0
	300	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0

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

Table 5-7

A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
 Urinalysis (Week 2 of recovery period)

			URINE SEDIMENT															CRYSTALLIZATION																		
Sex	Dose mg/kg	No.	RBC					WBC					SEC					SREC					Cast			PS					CO					
			-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++				
Male	0	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0
	300	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	3	3	0	0	0	6	0	0	0	0
Female	0	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	4	2	0	0	0	6	0	0	0	0
	300	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	5	1	0	0	0	6	0	0	0	0
SEC : Squamous Epithelial Cell			-					:					Negative																							
SREC : Small Round Epithelial Cell			+-					:					Slight																							
PS : Phosphate Salts			+					:					Mild																							
CO : Calcium Oxalate			++					:					Moderate																							
			+++					:					Severe																							

Table 5-8 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
Water intake and urinalysis (Week 2 of recovery period)

Sex	Dose mg/kg	No.		Water intake mL/24h	Urine volume mL/24h	Osmolality mOsm/kg
Male	0	6	Mean	39	13.2	1834
			S.D.	5	3.7	319
	300	6	Mean	46	19.2	1383
			S.D.	11	7.0	398
Female	0	6	Mean	30	7.9	1850
			S.D.	6	4.5	567
	300	6	Mean	30	8.3	1808
			S.D.	9	3.8	435

No significant difference between treated group and control group.

Table 6-1 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
Hematology (After administration period)

Sex	Dose mg/kg	No.		RBC ×10 ⁴ /μL	HGB g/dL	HCT %	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	Retic %	PLT ×10 ⁴ /μL	PT s	APTT s	FIB mg/dL
Male	0	6	Mean	833	15.4	46.1	55.4	18.5	33.3	2.2	117.2	14.3	19.8	331
			S.D.	31	0.5	1.7	1.1	0.4	0.4	0.4	8.9	2.0	3.2	28
	12	6	Mean	853	15.5	46.1	54.1	18.2	33.6	2.1	116.9	13.4	21.5	321
			S.D.	29	0.5	1.4	1.2	0.4	0.2	0.2	10.7	1.3	3.3	24
	60	6	Mean	815	14.8	44.5	54.6	18.2	33.2	2.7	123.7	13.1	21.5	312
			S.D.	49	0.9	2.5	1.0	0.4	0.4	0.6	14.3	1.8	6.2	30
	300	6	Mean	759**	14.3*	43.8	57.9*	18.9	32.6**	5.2**	125.6	13.1	22.1	279**
			S.D.	37D	0.4D	1.3	2.4D	0.7	0.3D	0.7D	4.9	0.4	3.3	23D
Female	0	6	Mean	833	15.5	44.8	53.8	18.6	34.6	1.2	130.7	11.8	17.6	224
			S.D.	59	0.7	2.4	1.5	0.7	0.5	0.3	14.4	0.3	1.0	23
	12	6	Mean	812	15.0	43.6	53.7	18.5	34.5	1.8	132.4	11.5	16.3	243
			S.D.	48	0.8	2.3	1.7	0.6	0.1	0.4	8.3	0.5	1.2	24
	60	6	Mean	756*	14.0**	40.8**	54.0	18.5	34.3	3.1**	129.0	11.8	15.6*	236
			S.D.	42D	0.8D	2.0D	0.9	0.4	0.3	0.6D	24.1	0.5	0.7D	18
	300	5	Mean	749*	13.9**	41.2*	55.1	18.5	33.6**	3.2**	126.1	11.8	17.3	254
			S.D.	28D	0.4D	1.3D	1.3	0.6	0.6D	1.0D	22.3	0.1	1.7	18

* : p<0.05 ; ** : p<0.01 (Significant difference from control group)
D : Dunnett's test

Table 6-2 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
Hematology (After administration period)

Sex	Dose mg/kg	No.		WBC	Differential leukocyte counts (%)					
				$\times 10^3/\mu\text{L}$	LYMP	NEUT	EOS	BASO	MONO	LUC
Male	0	6	Mean	105.2	74.7	20.8	0.9	0.4	2.7	0.6
			S.D.	16.6	4.0	4.3	0.2	0.1	0.9	0.2
	12	6	Mean	111.5	82.0*	14.3*	1.0	0.5	1.7	0.6
			S.D.	21.6	3.2D	2.7D	0.4	0.1	0.7	0.1
	60	6	Mean	91.4	78.5	17.9	1.2	0.3	1.8	0.4
			S.D.	23.1	5.0	4.6	0.4	0.1	0.7	0.2
	300	6	Mean	120.9	80.2	16.3	0.7	0.5	1.8	0.5
			S.D.	9.0	3.1	3.2	0.2	0.1	0.3	0.2
	0	6	Mean	79.0	80.6	15.2	1.7	0.4	1.6	0.6
			S.D.	15.8	6.2	5.9	0.4	0.1	0.9	0.2
	12	6	Mean	74.1	80.0	16.4	1.2	0.3	1.6	0.5
			S.D.	14.7	2.3	2.1	0.5	0.1	0.4	0.3
Female	60	6	Mean	80.1	73.5	23.0	1.2	0.3	1.5	0.5
			S.D.	13.9	6.7	7.2	0.4	0.1	0.5	0.1
	300	5	Mean	103.8	82.7	13.7	0.8**	0.5	1.6	0.6
			S.D.	52.4	6.1	6.1	0.2D	0.2	0.5	0.2

LUC : Large unstained cells

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

D : Dunnett's test

Table 6-3 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
Hematology (After administration period)

Sex	Dose mg/kg	No.	Differential leukocyte counts ($\times 10^2/\mu\text{L}$)						
				LYMP	NEUT	EOS	BASO	MONO	LUC
Male	0	6	Mean	78.5	22.1	0.9	0.5	2.7	0.6
			S.D.	13.0	5.7	0.3	0.2	0.5	0.2
	12	6	Mean	91.2	16.1	1.1	0.6	1.9	0.7
			S.D.	17.2	5.1	0.4	0.1	0.9	0.3
	60	6	Mean	72.5	15.6*	1.0	0.3	1.6*	0.4
			S.D.	22.7	2.3D	0.4	0.2	0.7D	0.3
	300	6	Mean	97.2	19.5	0.8	0.6	2.2	0.6
			S.D.	10.4	3.0	0.2	0.1	0.4	0.2
Female	0	6	Mean	63.2	12.5	1.4	0.3	1.3	0.4
			S.D.	10.3	6.7	0.3	0.1	1.0	0.2
	12	6	Mean	59.3	12.0	0.9	0.2	1.2	0.4
			S.D.	12.5	2.1	0.5	0.1	0.2	0.3
	60	6	Mean	58.6	18.8	0.9	0.3	1.2	0.4
			S.D.	9.2	8.5	0.3	0.1	0.4	0.1
	300	5	Mean	88.2	11.8	0.8	0.6	1.7	0.7
			S.D.	49.9	1.4	0.3	0.5	1.0	0.4

LUC : Large unstained cells

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

D : Dunnett's test

Table 6-4 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
Hematology (After recovery period)

Sex	Dose mg/kg	No.		RBC ×10 ⁴ /μL	HGB g/dL	HCT %	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	Retic %	PLT ×10 ⁴ /μL	PT s	APTT s	FIB mg/dL
Male	0	6	Mean	878	15.8	46.7	53.2	17.9	33.7	2.4	114.3	13.7	22.2	286
			S.D.	19	0.3	0.7	1.6	0.4	0.5	0.4	13.2	0.9	2.8	32
	300	6	Mean	893	15.5	47.0	52.7	17.4	33.0*	2.6	111.4	13.1	19.3	259
			S.D.	49	0.4	1.2	2.2	0.7	0.4T	0.3	11.1	0.5	2.0	21
Female	0	6	Mean	851	15.1	44.0	51.9	17.8	34.4	2.4	128.2	11.3	17.8	216
			S.D.	37	0.5	1.5	2.1	0.6	0.6	0.6	9.6	1.1	2.9	25
	300	6	Mean	842	15.4	45.5	54.1	18.3	33.7*	1.8*	139.8	11.6	17.2	226
			S.D.	40	0.6	2.1	2.1	0.6	0.3T	0.3T	24.1	0.4	1.6	30

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

T : Student's t-test

Table 6-5 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
Hematology (After recovery period)

Sex	Dose mg/kg	No.		WBC	Differential leukocyte counts (%)					
				X10 ² /μL	LYMP	NEUT	EOS	BASO	MONO	LUC
Male	0	6	Mean	132.8	80.6	15.3	1.3	0.6	1.8	0.5
			S.D.	46.2	6.0	5.3	0.5	0.1	0.7	0.2
	300	6	Mean	110.9	74.2	22.3*	1.1	0.4	1.6	0.4
			S.D.	13.9	5.4	4.9T	0.3	0.1	0.7	0.1
Female	0	6	Mean	66.3	83.4	13.1	1.2	0.4	1.4	0.5
			S.D.	19.5	5.3	5.0	0.5	0.1	0.4	0.1
	300	6	Mean	72.5	79.7	16.4	1.3	0.4	1.8	0.5
			S.D.	25.5	4.5	4.3	0.6	0.1	0.4	0.1

LUC : Large unstained cells

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

T : Student's t-test

Table 6-6 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
Hematology (After recovery period)

Sex	Dose mg/kg	No.	Differential leukocyte counts ($\times 10^2/\mu\text{L}$)						
				LYMP	NEUT	EOS	BASO	MONO	LUC
Male	0	6	Mean	109.1	18.5	1.5	0.7	2.1	0.8
			S.D.	44.4	3.5	0.4	0.4	0.6	0.5
	300	6	Mean	82.7	24.3*	1.2	0.5	1.8	0.5
			S.D.	14.6	3.2T	0.2	0.1	0.9	0.2
Female	0	6	Mean	54.6	9.3	0.8	0.3	1.0	0.4
			S.D.	12.6	6.9	0.4	0.1	0.5	0.1
	300	6	Mean	57.6	12.0	1.0	0.3	1.2	0.3
			S.D.	19.8	5.9	0.7	0.1	0.3	0.1

LUC : Large unstained cells

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

T : Student's t-test

Table 7-1 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
Blood chemistry (After administration period)

Sex	Dose mg/kg	No.		AST IU/L	ALT IU/L	LDH IU/L	γ -GTP IU/L	ALP IU/L	T-CHO mg/dL	TG mg/dL	PL mg/dL	T-BIL mg/dL	GLU mg/dL
Male	0	6	Mean	62	26	38	1	670	50	64	89	0.1	140
			S.D.	4	3	6	1	152	10	16	13	0.0	11
	12	6	Mean	55*	24	43	1	661	61	68	104	0.1	123*
			S.D.	2D	3	4	1	121	6	27	10	0.1	9D
	60	6	Mean	59	25	40	1	630	65*	82	115**	0.1	132
			S.D.	6	4	5	1	104	10D	25	12D	0.1	9
	300	6	Mean	68	36**	48*	1	846	67*	61	117**	0.1	122*
			S.D.	5	6D	6D	1	220	11D	27	14D	0.1	12D
Female	0	6	Mean	70	24	50	1	362	48	18	85	0.1	97
			S.D.	7	9	15	1	99	9	7	13	0.1	8
	12	6	Mean	60*	22	44	1	404	59	17	102	0.1	106
			S.D.	6D	3	12	0	127	9	6	15	0.1	7
	60	6	Mean	64	21	35	1	355	63*	21	110*	0.1	110
			S.D.	6	1	5	1	103	7D	6	6D	0.0	11
	300	5	Mean	63	33	36	1	389	106**	32	167**	0.1	101
			S.D.	5	9	8	0	93	9D	17	18D	0.0	8

* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$ (Significant difference from control group)
D : Dunnett's test

Table 7-2 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
Blood chemistry (After administration period)

Sex	Dose mg/kg	No.		BUN mg/dL	CRNN mg/dL	Na mmol/L	K mmol/L	Cl mmol/L	Ca mg/dL	P mg/dL	TP g/dL	ALB g/dL	A/G
Male	0	6	Mean	9	0.24	144	4.8	105	10.1	8.1	6.1	3.2	1.08
			S.D.	1	0.02	1	0.2	2	0.2	0.5	0.3	0.2	0.04
	12	6	Mean	10	0.25	145	4.8	106	9.9	7.9	6.1	3.2	1.10
			S.D.	1	0.03	1	0.2	1	0.2	0.4	0.3	0.1	0.08
	60	6	Mean	9	0.23	144	4.9	107	9.9	7.6	6.1	3.2	1.12
			S.D.	1	0.02	1	0.3	1	0.3	0.5	0.2	0.1	0.07
	300	6	Mean	11	0.20*	144	5.2	107	9.9	7.7	6.2	3.3	1.16
			S.D.	1	0.04D	1	0.5	2	0.2	0.5	0.3	0.2	0.08
Female	0	6	Mean	16	0.34	143	4.8	109	9.5	7.3	6.0	3.2	1.16
			S.D.	4	0.06	1	0.3	1	0.3	0.4	0.2	0.2	0.09
	12	6	Mean	16	0.37	142	4.5**	109	9.9*	7.4	6.2	3.4	1.20
			S.D.	3	0.10	1	0.2D	1	0.3D	0.9	0.1	0.1	0.11
	60	6	Mean	15	0.29	143	4.7	109	9.7	7.3	6.0	3.3	1.19
			S.D.	4	0.04	1	0.2	1	0.1	0.6	0.2	0.1	0.05
	300	5	Mean	17	0.22*	143	5.0	110	10.0**	7.6	6.4*	3.4	1.17
			S.D.	5	0.04D	1	0.1	2	0.2D	0.9	0.3D	0.1	0.07

* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$ (Significant difference from control group)
D : Dunnett's test

Table 7-3 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
 Blood chemistry (After recovery period)

Sex	Dose mg/kg	No.		AST	ALT	LDH	γ -GTP	ALP	T-CHO	TG	PL	T-BIL	GLU
				IU/L	IU/L	IU/L	IU/L	IU/L	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL
Male	0	6	Mean	60	30	43	1	546	60	67	97	0.1	142
			S.D.	5	9	7	0	92	13	20	17	0.0	7
	300	6	Mean	58	27	38	1	599	62	75	106	0.1	133
			S.D.	3	3	3	0	68	9	40	16	0.0	19
Female	0	6	Mean	58	20	35	1	261	65	29	120	0.1	114
			S.D.	9	2	3	0	77	12	13	23	0.0	20
	300	6	Mean	59	22	37	1	293	67	23	117	0.1	107
			S.D.	6	5	10	0	80	20	7	25	0.1	15

No significant difference between treated group and control group.

Table 7-4 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
 Blood chemistry (After recovery period)

Sex	Dose mg/kg	No.		BUN mg/dL	CRNN mg/dL	Na mmol/L	K mmol/L	Cl mmol/L	Ca mg/dL	P mg/dL	TP g/dL	ALB g/dL	A/G
Male	0	6	Mean	13	0.26	144	4.6	105	9.9	7.0	6.1	3.1	1.00
			S.D.	3	0.03	2	0.3	2	0.2	0.5	0.2	0.1	0.05
	300	6	Mean	13	0.25	145	4.7	106	9.8	7.3	6.1	3.2*	1.08
			S.D.	2	0.02	2	0.5	1	0.3	0.4	0.2	0.1T	0.08
Female	0	6	Mean	17	0.34	143	4.3	109	10.0	6.5	6.5	3.5	1.16
			S.D.	2	0.04	1	0.5	2	0.3	0.7	0.3	0.3	0.12
	300	6	Mean	18	0.35	142*	4.4	109	9.8	7.4*	6.2*	3.3	1.15
			S.D.	2	0.06	1T	0.4	2	0.1	0.6T	0.1AT	0.1	0.11

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

T : Student's t-test

AT : Aspin-Welch t-test

Table 8-1

A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks

Absolute and relative organ weight (After administration period)

Male

	Dose mg/kg		Body weight	Brain	Thymus	Heart	Liver	Spleen	Kidney (R+L)	Adrenal (R+L)
			g	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	410	1.98	545	1.32	13.17	0.76	2.95	58
		S.D.	27	0.06	125	0.10	1.32	0.08	0.17	7
	12	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	384	2.03	549	1.26	11.55	0.70	2.77	61
		S.D.	25	0.07	112	0.08	1.48	0.10	0.32	9
	60	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	393	2.05	524	1.28	12.30	0.74	3.00	59
		S.D.	37	0.11	104	0.17	1.22	0.09	0.33	14
	300	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	351**	1.99	449	1.14*	14.07	0.89	2.96	56
		S.D.	22D	0.11	38	0.09D	1.55	0.13	0.27	6
Relative	0	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.48	132	0.32	3.21	0.18	0.72	14
		S.D.		0.03	24	0.02	0.18	0.02	0.04	2
	12	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.53	143	0.33	3.01	0.18	0.72	16
		S.D.		0.03	24	0.02	0.35	0.02	0.04	3
	60	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.53	134	0.32	3.13	0.19	0.76	15
		S.D.		0.06	25	0.02	0.10	0.02	0.05	2
	300	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.57*	128	0.33	4.01**	0.25**	0.84**	16
		S.D.		0.05D	10	0.02	0.27D	0.03D	0.08D	2

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

D : Dunnett's test

Table 8-2 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
 Absolute and relative organ weight (After administration period)
 Male

		Dose		Testis	Epididymis
		mg/kg		(R+L) g(g/100g BW)	(R+L) mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	6	6	6
		Mean	3.14	863	
		S.D.	0.20	60	
	12	No.	6	6	6
		Mean	3.37	884	
		S.D.	0.29	59	
	60	No.	6	6	6
		Mean	3.29	894	
		S.D.	0.35	55	
	300	No.	6	6	6
		Mean	3.24	834	
		S.D.	0.28	74	
Relative	0	No.	6	6	6
		Mean	0.77	211	
		S.D.	0.10	19	
	12	No.	6	6	6
		Mean	0.88	231	
		S.D.	0.08	16	
	60	No.	6	6	6
		Mean	0.84	229	
		S.D.	0.06	20	
	300	No.	6	6	6
		Mean	0.93*	238	
		S.D.	0.11D	22	

* : $p < 0.05$ (Significant difference from control group)
 D : Dunnett's test

Table 8-3 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
 Absolute and relative organ weight (After administration period)
 Female

	Dose mg/kg		Body weight	Brain	Thymus	Heart	Liver	Spleen	Kidney (R+L)	Adrenal (R+L)
			g	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	206	1.85	407	0.76	5.65	0.43	1.58	61
		S.D.	21	0.06	105	0.09	0.92	0.08	0.09	6
	12	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	226	1.81	474	0.78	6.39	0.51	1.57	62
		S.D.	8	0.10	91	0.04	0.55	0.08	0.12	9
	60	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	220	1.89	455	0.79	6.64	0.52	1.73	65
		S.D.	14	0.08	75	0.08	0.62	0.06	0.15	8
	300	No.	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	198	1.86	354	0.72	8.11**	0.62	1.72	55
		S.D.	29	0.06	94	0.08	1.47D	0.25	0.28	11
Relative	0	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.91	195	0.37	2.74	0.21	0.77	30
		S.D.		0.10	33	0.02	0.18	0.03	0.05	2
	12	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.80	211	0.35	2.83	0.23	0.70*	27
		S.D.		0.04	46	0.02	0.21	0.03	0.04D	3
	60	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.86	208	0.36	3.02	0.24	0.79	30
		S.D.		0.08	40	0.03	0.15	0.03	0.06	4
	300	No.		5	5	5	5	5	5	5
		Mean		0.95	177	0.37	4.09**	0.31**	0.86*	28
		S.D.		0.14	25	0.01	0.28D	0.08D	0.05D	5

* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$ (Significant difference from control group)
 D : Dunnett's test

Table 8-4 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
 Absolute and relative organ weight (After administration period)
 Female

		Ovary (R+L)		Uterus
Dose mg/kg		mg(mg/100g BW)		mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	6	6
		Mean	79.3	336
		S.D.	12.0	25
	12	No.	6	6
		Mean	87.0	468*
		S.D.	11.6	94D
	60	No.	6	6
		Mean	77.0	475*
		S.D.	6.7	67D
	300	No.	5	5
		Mean	73.9	378
		S.D.	18.3	112
Relative	0	No.	6	6
		Mean	38.8	165
		S.D.	6.9	22
	12	No.	6	6
		Mean	38.5	207
		S.D.	4.6	39
	60	No.	6	6
		Mean	35.2	216
		S.D.	3.5	23
	300	No.	5	5
		Mean	37.0	197
		S.D.	5.0	80

* : $p < 0.05$ (Significant difference from control group)
 D : Dunnett's test

Table 8-5 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
 Absolute and relative organ weight (After recovery period)
 Male

	Dose mg/kg		Body weight	Brain	Thymus	Heart	Liver	Spleen	Kidney (R+L)	Adrenal (R+L)
			g	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	461	2.05	528	1.42	13.19	0.83	3.12	61
		S.D.	13	0.06	87	0.11	0.71	0.09	0.14	7
	300	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	420**	1.98	449	1.33	11.90*	0.87	2.92	54
		S.D.	26T	0.06	75	0.13	1.07T	0.07	0.21	5
Relative	0	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.44	115	0.31	2.86	0.18	0.68	13
		S.D.		0.02	20	0.03	0.13	0.02	0.03	2
	300	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.47	107	0.32	2.83	0.21*	0.70	13
		S.D.		0.04	15	0.02	0.18	0.01AT	0.04	2

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

T : Student's t-test

AT : Aspin-Welch t-test

Table 8-6 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
 Absolute and relative organ weight (After recovery period)
 Male

		Dose		Testis	Epididymis
		mg/kg		(R+L) g(g/100g BW)	(R+L) mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	6	6	
		Mean	3.20	1111	
		S.D.	0.15	57	
	300	No.	6	6	
		Mean	3.16	1089	
		S.D.	0.32	116	
Relative	0	No.	6	6	
		Mean	0.70	241	
		S.D.	0.04	14	
	300	No.	6	6	
		Mean	0.76	260	
		S.D.	0.09	28	

No significant difference between treated group and control group.

Table 8-7 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
 Absolute and relative organ weight (After recovery period)
 Female

	Dose mg/kg		Body weight	Brain	Thymus	Heart	Liver	Spleen	Kidney (R+L)	Adrenal (R+L)
			g	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	239	1.90	423	0.81	6.45	0.50	1.57	67
		S.D.	13	0.11	110	0.07	0.60	0.06	0.06	9
	300	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	232	1.83	408	0.83	6.57	0.58	1.59	70
		S.D.	13	0.08	70	0.11	0.64	0.15	0.16	12
Relative	0	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.80	178	0.34	2.70	0.21	0.66	28
		S.D.		0.07	46	0.02	0.15	0.02	0.03	3
	300	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.79	177	0.36	2.83	0.25	0.69	30
		S.D.		0.07	34	0.03	0.17	0.05	0.05	5

No significant difference between treated group and control group.

Table 8-8 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
 Absolute and relative organ weight (After recovery period)
 Female

		Ovary (R+L) mg(mg/100g BW)		Uterus mg(mg/100g BW)
Dose mg/kg				
Absolute	0	No.	6	6
		Mean	83.1	473
		S.D.	8.0	86
	300	No.	6	6
		Mean	90.2	514
		S.D.	7.4	97
Relative	0	No.	6	6
		Mean	34.9	200
		S.D.	3.0	42
	300	No.	6	6
		Mean	39.0	221
		S.D.	3.7	30

No significant difference between treated group and control group.

Table 9-1 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
Gross pathological findings (Dead animal)

Organs	Sex:	F
Findings	Dose(mg/kg): Number:	300 1
General descriptions		
Undernourishment		1
Lung(bronchus)		
Discoloration,dark		1
Focus,dark red		1
Stomach		
Distention,forestomach		1

F : Female

Table 9-2

A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks

Gross pathological findings (After administration period)

Organs	Sex:	M	M	M	M	F	F	F	F
Findings	Dose(mg/kg): Number:	0 6	12 6	60 6	300 6	0 6	12 6	60 6	300 5
Kidney									
Focus,white		0	0	1	0	0	0	0	0
Lung(bronchus)									
Focus,dark red		0	0	1	0	0	0	0	0
Spleen									
Discoloration,dark		0	0	0	0	0	0	0	3
Large		0	0	0	0	0	0	0	1

M : Male, F : Female

Table 9-3

A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks

Gross pathological findings (After recovery period)

Organs	Sex: Dose(mg/kg): Number:	M 0 6	M 300 6	F 0 6	F 300 6
Findings					
Spleen Focus, raised		0	1	0	0

M : Male, F : Female

Table 10-1 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
 Histopathological findings (Dead animal)

Organs	Sex: Dose(mg/kg): Number:	F 300 1
Findings		
Adrenal		
Number examined		1
Not remarkable		1
Bone+Bone marrow,femoral		
Number examined		1
Not remarkable		1
Bone+Bone marrow,sternal		
Number examined		1
Not remarkable		1
Cerebrum		
Number examined		1
Not remarkable		1
Cerebellum		
Number examined		1
Not remarkable		1
Eye		
Number examined		1
Not remarkable		1
Heart		
Number examined		1
Not remarkable		1
Intestine,duodenum		
Number examined		1
Erosion		1
minimal		1
Intestine,jejunum		
Number examined		1
Not remarkable		1
Intestine,ileum(Peyer's patch)		
Number examined		1
Not remarkable		1
Intestine,cecum		
Number examined		1
Not remarkable		1
Intestine,colon		
Number examined		1
Not remarkable		1
Intestine,rectum		
Number examined		1
Not remarkable		1
Kidney		
Number examined		1
Degeneration,tubular cell		1
mild		1
Necrosis,single cell,tubular		1
minimal		1

F : Female

Table 10-2

A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks

Histopathological findings (Dead animal)

Organs	Sex: Dose(mg/kg): Number:	F 300 1
Findings		
Liver		
Number examined		1
Vacuolation,hepatocytic,central		1
mild		1
Necrosis,single cell,hepatocytic		1
moderate		1
Hypertrophy,bile duct epithelial		1
minimal		1
Lung(bronchus)		
Number examined		1
Unremarkable		1
Lymph node,mesenteric		
Number examined		1
Atrophy		1
minimal		1
Lymph node,submandibular		
Number examined		1
Atrophy		1
minimal		1
Ovary		
Number examined		1
Not remarkable		1
Parathyroid		
Number examined		1
Not remarkable		1
Pituitary		
Number examined		1
Not remarkable		1
Sciatic nerve		
Number examined		1
Not remarkable		1
Skeletal muscle,femoral		
Number examined		1
Not remarkable		1
Spinal cord,thoracic		
Number examined		1
Not remarkable		1
Spleen		
Number examined		1
Atrophy,follicular		1
mild		1
Congestion		1
mild		1
Spleen(Berlin blue reaction)		
Number examined		1
Not remarkable		1
Stomach		
Number examined		1
Unremarkable		1

F : Female

Table 10-3 A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks
 Histopathological findings (Dead animal)

Organs	Sex:	F
Findings	Dose(mg/kg): Number:	300 1
Thyroid		
Number examined		1
Not remarkable		1
Thymus		
Number examined		1
Necrosis, lymphocytic		1
moderate		1
Trachea		
Number examined		1
Not remarkable		1
Urinary bladder		
Number examined		1
Not remarkable		1
Uterus		
Number examined		1
Not remarkable		1

F : Female

Table 10-4

A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats
with a recovery period of 2 weeks

Histopathological findings (After administration period)

Organs	Sex:	M	M	M	M	F	F	F	F
Dose(mg/kg):	Number:	0	12	60	300	0	12	60	300
Findings		6	6	6	6	6	6	6	5
Adrenal									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	5
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	5
Bone+Bone marrow, femoral									
Number examined		6	6	6	6	6	6	6	5
Not remarkable		6	6	6	3	6	6	6	4
Erythropoiesis, increased		0	0	0	3	0	0	0	1
minimal		0	0	0	3	0	0	0	1
Bone+Bone marrow, sternal									
Number examined		6	6	6	6	6	0	0	5
Not remarkable		6	6	6	5	6	0	0	5
Erythropoiesis, increased		0	0	0	1	0	0	0	0
minimal		0	0	0	1	0	0	0	0
Cerebrum									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	5
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	5
Cerebellum									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	5
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	5
Epididymis									
Number examined		6	0	0	6	-	-	-	-
Not remarkable		6	0	0	6	-	-	-	-
Eye									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	5
Not remarkable		6	0	0	6	5	0	0	4
Dysplasia, retinal, focal		0	0	0	0	1	0	0	1
minimal		0	0	0	0	1	0	0	1
Heart									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	5
Not remarkable		5	0	0	6	6	0	0	5
Cell infiltration, focal		1	0	0	0	0	0	0	0
minimal		1	0	0	0	0	0	0	0
Intestine, duodenum									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	5
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	5
Intestine, jejunum									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	5
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	5
Intestine, ileum(Peyer's patch)									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	5
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	5
Intestine, cecum									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	5
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	5
Intestine, colon									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	5
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	5

M : Male, F : Female
- : Not applicable

Table 10-5

A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats
with a recovery period of 2 weeks

Histopathological findings (After administration period)

Organs	Sex:	M	M	M	M	F	F	F	F
Dose(mg/kg):	Number:	0	12	60	300	0	12	60	300
Findings		6	6	6	6	6	6	6	5
Intestine, rectum									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	5
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	5
Kidney									
Number examined		6	6	6	6	6	0	0	5
Not remarkable		6	5	1	0	5	0	0	4
Regeneration, tubular		0	1	2	1	1	0	0	1
minimal		0	1	2	1	1	0	0	1
Eosinophilic body, tubular cell		0	0	5	6	0	0	0	0
minimal		0	0	5	1	0	0	0	0
mild		0	0	0	5	0	0	0	0
Fibrosis, focal		0	0	1	0	0	0	0	0
mild		0	0	1	0	0	0	0	0
Kidney(alpha2u globulin)									
Number examined		0	0	0	3	0	0	0	0
Alpha2u globulin, immunohistochemistry		0	0	0	3	0	0	0	0
positive		0	0	0	3	0	0	0	0
Kidney(PAS stain)									
Number examined		0	0	0	3	0	0	0	0
PAS reaction		0	0	0	3	0	0	0	0
negative		0	0	0	3	0	0	0	0
Liver									
Number examined		6	6	6	6	6	6	6	5
Not remarkable		1	0	1	0	0	0	0	0
Vacuolation, hepatocytic, periportal		1	0	1	0	4	2	4	0
minimal		1	0	1	0	4	2	4	0
Vacuolation, hepatocytic, midlobular		0	0	0	6	0	0	0	0
mild		0	0	0	6	0	0	0	0
Necrosis, single cell, hepatocytic		0	0	0	5	0	0	0	3
minimal		0	0	0	5	0	0	0	1
mild		0	0	0	0	0	0	0	2
Microgranuloma		4	6	5	6	6	6	6	5
minimal		4	6	5	6	5	5	5	4
mild		0	0	0	0	1	1	1	1
Hypertrophy, hepatocytic, central		0	0	2	6	0	0	0	5
minimal		0	0	1	0	0	0	0	0
mild		0	0	1	0	0	0	0	3
moderate		0	0	0	6	0	0	0	2
Hypertrophy, bile duct epithelial		0	0	1	6	0	0	0	5
minimal		0	0	1	6	0	0	0	5
Lung(bronchus)									
Number examined		6	0	1	6	6	0	0	5
Not remarkable		5	0	0	5	5	0	0	5
Cell infiltration, focal		0	0	1	0	0	0	0	0
minimal		0	0	1	0	0	0	0	0
Cell infiltration, perivascular		1	0	0	0	1	0	0	0
minimal		1	0	0	0	1	0	0	0
Metaplasia, osseous		0	0	0	1	0	0	0	0
minimal		0	0	0	1	0	0	0	0
Lymph node, mesenteric									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	5
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	5

M : Male, F : Female

Table 10-6

A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats
with a recovery period of 2 weeks

Histopathological findings (After administration period)

Organs	Sex:	M	M	M	M	F	F	F	F
Findings	Dose(mg/kg): Number:	0 6	12 6	60 6	300 6	0 6	12 6	60 6	300 5
Lymph node, submandibular									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	5
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	5
Ovary									
Number examined		-	-	-	-	6	0	0	5
Not remarkable		-	-	-	-	6	0	0	5
Parathyroid									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	5
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	5
Pituitary									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	5
Not remarkable		6	0	0	6	5	0	0	5
Cyst		0	0	0	0	1	0	0	0
minimal		0	0	0	0	1	0	0	0
Prostate									
Number examined		6	0	0	6	-	-	-	-
Not remarkable		4	0	0	6	-	-	-	-
Cell infiltration, inflammatory		2	0	0	0	-	-	-	-
minimal		2	0	0	0	-	-	-	-
Sciatic nerve									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	5
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	5
Skeletal muscle, femoral									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	5
Not remarkable		6	0	0	6	5	0	0	5
Degeneration, muscular		0	0	0	0	1	0	0	0
minimal		0	0	0	0	1	0	0	0
Spinal cord, thoracic									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	5
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	5
Spleen									
Number examined		6	6	6	6	6	6	6	5
Not remarkable		6	6	6	6	6	6	6	0
Hematopoiesis, increased		0	0	0	2	0	0	0	0
minimal		0	0	0	2	0	0	0	0
Congestion		0	0	0	6	0	0	0	5
minimal		0	0	0	6	0	0	0	1
mild		0	0	0	0	0	0	0	4
Brown pigment, increased		0	0	0	6	0	0	0	5
minimal		0	0	0	0	0	0	0	1
mild		0	0	0	6	0	0	0	4
Spleen(Berlin blue reaction)									
Number examined		6	6	6	6	6	6	6	5
Not remarkable		6	6	2	0	6	6	3	0
Berlin blue positive granule, increased		0	0	4	6	0	0	3	5
minimal		0	0	4	0	0	0	3	3
mild		0	0	0	6	0	0	0	2
Stomach									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	5
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	5

M : Male, F : Female

- : Not applicable

Table 10-7

A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats
with a recovery period of 2 weeks

Histopathological findings (After administration period)

Organs	Sex:	M	M	M	M	F	F	F	F
Findings	Dose(mg/kg): Number:	0 6	12 6	60 6	300 6	0 6	12 6	60 6	300 5
Testis									
Number examined		6	0	0	6	-	-	-	-
Not remarkable		6	0	0	6	-	-	-	-
Thyroid									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	5
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	5
Thymus									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	5
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	5
Trachea									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	5
Not remarkable		6	0	0	6	5	0	0	5
Cell infiltration, submucosal		0	0	0	0	1	0	0	0
minimal		0	0	0	0	1	0	0	0
Urinary bladder									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	5
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	5
Uterus									
Number examined		-	-	-	-	6	0	0	5
Not remarkable		-	-	-	-	6	0	0	5

M : Male, F : Female
- : Not applicable

Table 10-8

A 28-day oral toxicity study of Ethyl(1-naphthyl)amine in rats with a recovery period of 2 weeks

Histopathological findings (After recovery period)

Organs Findings	Sex: Dose(mg/kg): Number:	M		F	
		0	300	0	300
		6	6	6	6
Bone+Bone marrow,femoral					
Number examined		6	6	6	6
Not remarkable		6	6	6	6
Bone+Bone marrow, sternal					
Number examined		6	6	0	0
Not remarkable		6	6	0	0
Kidney					
Number examined		6	6	0	0
Not remarkable		4	3	0	0
Regeneration,tubular		2	3	0	0
minimal		2	3	0	0
Eosinophilic body,tubular cell		0	2	0	0
minimal		0	2	0	0
Liver					
Number examined		6	6	6	6
Not remarkable		0	0	0	1
Vacuolation,hepatocytic,periportal		2	0	0	1
minimal		2	0	0	1
Vacuolation,hepatocytic,midlobular		0	1	0	0
minimal		0	1	0	0
Microgranuloma		6	6	6	5
minimal		4	6	6	5
mild		2	0	0	0
Spleen					
Number examined		6	6	6	6
Not remarkable		6	0	6	0
Congestion		0	0	0	2
minimal		0	0	0	2
Brown pigment,increased		0	6	0	6
minimal		0	5	0	6
mild		0	1	0	0
Hyperplasia,lymphoid,focal		0	1	0	0
mild		0	1	0	0
Spleen(Berlin blue reaction)					
Number examined		6	6	6	6
Not remarkable		6	1	6	0
Berlin blue positive granule,increased		0	5	0	6
minimal		0	5	0	6

M : Male, F : Female