最 終 報 告 書

1,3－ベンゼンジメタンアミンのラットを用いる経口投与簡易生殖毒性試験

試験番号：4212（ 115 － 130 ）

平成 12 年 9 月 26 日

試験委託者
厚生省　生活衛生局

財団法人
食品農医薬品安全性評価センター

目　次

1. 要約	4
2. 諸言	5
3. 表題	6
4. 試験目的	6
10. 試験材料および方法	7
11. 試験結果	13
12. 考察および結論	17
13. 参考文献	19

Figures		F-1~4
Figure 1	Body weight change of male rats	F-1
Figure 2	Body weight change of female rats	F-2
Figure 3	Food consumption of male rats	F-3
Figure 4	Food consumption of female rats	F-4
Tables		T-01~34
Table 1-1	Clinical observations in male rats	T-01
Table 1-2	Clinical observations in female rats (Before and during mating period)	T-03
Table 1-3	Clinical observations in female rats (Gestation period)	T-04
Table 1-4	Clinical observations in female rats (Lactation period)	T-10
Table 2-1	Body weight change of male rats	T-11
Table 2-2	Body weight change of female rats	T-12
Table 3-1	Food consumption of male rats	T-13
Table 3-2	Food consumption of female rats	T-14
Table 4-1	Absolute and relative organ weight of male rats	T-15
Table 4-2	Absolute and relative organ weight of female rats	T-16
Table 5-1	Summary of gross findings (dead, male)	T-17
Table 5-2	Summary of gross findings (dead, female)	T-18
Table 5-3	Summary of gross findings (sacrificed, male)	T-19

Table 5-4	Summary of gross findings (sacrificed, female)	T-20
Table 5-5	Summary of gross findings (not delivery)	T-21
Table 6-1	Summary of histological findings (dead, male)	T-22
Table 6-2	Summary of histological findings (dead, female)	T-23
Table 6-3-1	Summary of histological findings (sacrificed, male)	T-24
Table 6-3-2	Summary of histological findings (sacrificed, male)	T-25
Table 6-4-1	Summary of histological findings (sacrificed, female)	T-26
Table 6-4-2	Summary of histological findings (sacrificed, female)	T-27
Table 6-5	Summary of histological findings (not delivery)	T-28
Table 7	Copulation and fertility results in rats	T-29
Table 8	Findings of delivery in dams (F0)	T-30
Table 9	External observations on live pups (F1) from rats	T-31
Table 10	Body weight change of pups (F1) from rats	T-32
Table 11-1	Summary of gross findings of pups (F1) from rats (sacrificed, male)	T-33
Table 11-2	Summary of gross findings of pups (F1) from rats (sacrificed, female)	T-34

1. 要約

既存化学物質の毒性学的性質を評価するため，1,3 ーベンゼンジメタンアミンの 0（溶媒対照群），50，150 および 450 mg/kg/day をラットの交配前 14 日から交配期間，妊娠期間および哺育 3 日まで連続経口投与し，生殖・発生に及ぼす影響を検討した．

1）親動物（F0）に及ぼす影響

150 mg/kg 群の雄および 450 mg/kg 群の雌雄で死亡例が認められた．

被験物質投与による投与後症状として，150 mg/kg 群の雄および 450 mg/kg 群の雌雄で流涎，鼻音，不整呼吸，腹部膨満および鼻分泌物が認められた．

体重および摂餌量では，450 mg/kg 群の雌雄で体重増加抑制および摂餌量の減少が認められた．

病理学的検査では，被験物質投与の直接作用による影響と考えられる胃の前胃潰瘍，角化亢進を伴った扁平上皮増生等，胃に対する諸変化が 450 mg/kg 群の雌雄に認められた．なお，雌雄とも生殖器系に被験物質投与に起因すると考えられる所見は観察されなかった．

2）生殖能に及ぼす影響

交尾能，受胎能および性周期に被験物質投与の影響は認められなかった．また，分娩状態にも異常は観察されなかった．

3）新生児に及ぼす影響

新生児の外表検査では，異常は認められず，体重変化にも群間差は認められなかった．死亡児および哺育 4 日の剖検では，被験物質投与によると考えられる異常所見は観察されなかった．

以上の結果から，本試験条件下における 1,3 ーベンゼンジメタンアミンの親動物に対する無影響量は雄では 50 mg/kg/day，雌では 150 mg/kg/day と判断された．生殖能および次世代児に対する影響はともに 450 mg/kg/day 投与によっても認められず，無影響量は 450 mg/kg/day と判断された．

2. 緒言

1,3 ーベンゼンジメタンアミン（1,3-benzenedimethanamine）はエポキシ樹脂硬化剤，X 繊維，ポリウレタン，有機合成などに使用される化合物である．本化合物の急性あるいは亜急性毒性に関する情報は若干あるものの[1]，生殖毒性に関する報告はない．今回，OECD による既存化学物質の安全性点検に係わる毒性調査事業の一環として，1,3 ーベンゼンジメタンアミンの親ラットの生殖能力および次世代児の発生・発育に及ぼす影響について検討したのでその結果を報告する．

3. 表題

1,3－ベンゼンジメタンアミンのラットを用いる経口投与簡易生殖毒性試験

4. 試験目的

既存化学物質の毒性学的性質を評価する一環として行う OECD ガイドライン「簡易生殖毒性試験」（1995 年 7 月）に従い，ラットを用いて生殖・発生に及ぼす影響を検討した．

試験の実施は環企研第 233 号，衛生第 38 号，63 基局第 823 号（昭和 63 年 11 月 18 日）の「新規化学物質に係る試験及び指定化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める命令第 4 条に規定する試験施設について」の基準を満たすものとした．

10. 試験材料および方法

10.1 被験物質

1,3－ベンゼンジメタンアミン（1,3-benzenedimethanamine，別名 m-xylylenediamine (MXDA), CAS No. 1477-55-0, 製造，Lot No. 純度 99.8 wt %，分子量 136.11）は無色の液体であり，使用時まで直射日光を避け，被験物質保管庫に密栓して保管した．1,3－ベンゼンジメタンアミンを実測した結果は，Reference data 1 に示した．

被験物質は，局方精製水（Lot. 1051，共栄製薬株式会社製造）に溶解し，5，15 および 45 mg/mL の濃度になるよう各群の投与液を調製した．調製後は，使用時まで遮光・室温条件で保管した．なお，投与液中の被験物質は 1 および 60 mg/mL の濃度について，調製後室温保存で 8 日間まで安定であることが予備試験において確認されている．

投与液の濃度分析は，調製開始時に調製したすべての試験群の投与液について行った．その結果，表示濃度に対し 99.2 ～ 106.9 %の範囲であった（Reference data 2）．したがって，投与液にはほぼ所定量の 1,3－ベンゼンジメタンアミンが含有されていることを確認した．

投与終了後に製造元に返却した被験物質について，製造元で再分析した結果，純度は 99.8 %であり，被験物質は投与期間中安定であったことが確認された（Reference data 3）．

10.2 使用動物および飼育条件

試験には，日本チャールス・リバー株式会社（神奈川県厚木市）から購入した生後 8 週齢の Sprague-Dawley（Crj：CD (SD), SPF）系雌雄ラットを使用した．購入した動物は 7 日間検疫・馴化飼育した後，一般状態に異常が認められなかったものを 10 週齢で群分けして試験に用いた．群分け終了時の体重は，雄で 354 ～ 399 g，雌で 216 ～ 247 g の範囲であった．

動物は，温度 24 ± 3 ℃，湿度 55 ± 20 %，換気回数 15 回／時間，照度 150 ～ 300 lux，照明時間 12 時間（午前 7 時点灯，午後 7 時消灯）に設定されたバリアシステムの飼育室（W 5.7 × D 10.0 × H 2.5 m，142.5 m^3）で飼育した．試験期間中に温度または湿度が設定値に満たない日がそれぞれ 1 日ずつ認められた（温度 19.6 ℃：投与 23 日，湿度 34 %：予備飼育 1 日）．なお，温湿度の逸脱は，1 時間以内には設定値に戻っており短時間であった．その他の試験期間中の飼育室内の温度および湿度の実測値は，それぞれ 23.4 ～ 25.0 ℃および 36 ～ 61 %であった．

株式会社 東京技研サービス（東京都府中市）の自動水洗式飼育機（W 691.0 × D 79.0 × H 195.0 cm）を使用し，アルミ製前面・床ステンレス網目飼育ケージ（W 15.8 × D 23.8 × H 16.0 cm，飼育ケージ・スペース 6017 cm^3）に動物を 1 匹ずつ収容し飼育した．但し，交配期間中は，雄をアルミ製前面，床ステンレス網目飼育ケージ（W 36.8 × D 25.0 × H 16.0 cm，飼育ケージ・スペース 14720 cm^3）に 1 匹ずつ収容し飼育した．妊娠 18 日以降の母動物は哺育 4 日までアルミ製前面・床ステンレス網目飼育ケージ（W 36.8 × D 25.0 × H 16.0 cm）に哺育トレーおよび巣作り材料（Care FRESH™）を入れて飼育した．

飼育ケージは隔週1回，給餌器は週1回交換した．
飼料は，オリエンタル酵母工業株式会社（東京都中央区）製造の NMF 固型飼料（放射線滅菌飼料）を使用し，飼育期間中自由に摂取させた．飲水は，水道水を自動給水ノズルより自由に摂取させた．供給した飼料および水には Reference data 4 および 5 に示した如く試験に支障を来す可能性の考えられる夾雑物の混在はなかった．
なお，動物の馴化期間を含め，飼育期間中，データの信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因の変化はなかった．

10.3 群分け・個体識別

動物はあらかじめ体重によって層別化し，無作為抽出法により各試験群を構成するように群分けし，1 群当たり雌雄各 12 匹を用意した．なお，雌は群分け前に 8 日間の性周期観察を行い，正常な性周期を有する動物を群分けに用いた．
群分け後の動物の識別は，個体別に耳介に入墨するとともにケージごとに動物標識番号（Animal ID-No.）をつけた．余剰動物は別途有効利用した．

10.4 投与量，群構成，投与期間および投与方法

「1,3 －ベンゼンジメタンアミンのラットを用いる 28 日間の反復投与毒性試験」では 600 mg/kg 群で流涎，自発運動量の低下，立毛，腹部膨満などの投与後症状が雌雄に，摂餌量の減少および体重の増加抑制が雄に認められ，12 例中雄で 1 例，雌で 4 例が死亡している．また，同群で胃の前胃部粘膜に潰瘍および角化亢進を伴う上皮の過形成，骨髄に顆粒球形造血細胞の増加，副腎に皮質細胞の肥大・空胞化および盲腸の拡張が雌雄に認められた．これらの結果をもとに，28 日間の反復投与毒性試験と同用量，すなわち 0，10，40，150 および 600 mg/kg で実施した予備試験「1,3 －ベンゼンジメタンアミンのラットを用いる経口投与簡易生殖毒性試験－ 2 週間投与予備試験（試験番号 4211）」では，600 mg/kg 群の雄で 6 例中 2 例，雌で 1 例が死亡し，投与後症状として雌雄に流涎等が認められた．他に同群の雄で体重増加抑制，雌雄で副腎重量の高値が認められた．
従って，本試験においては 600 mg/kg/day では雌雄に死亡動物が認められたこと，加えて投与期間が予備試験の 3 倍以上に延長されることを考慮して高用量を 450 mg/kg/day に設定し，以下公比 3 で除し，150 および 50 mg/kg/day とした．
投与経路は，OECD ガイドライン「簡易生殖毒性試験」[2] で指示されている投与経路に準じて強制経口投与とした．投与容量は，体重 100 g 当り 1 mL とし，交配前および交配期間中の雌雄および妊娠期間中の雌では，個体別に測定した最新体重に基づいて算出を行った．また，哺育期間中の雌は，哺育 0 日に測定した個体別体重に基づいて算出を行った．胃ゾンデを用いて毎日 1 回（7 日／週）8:45 ～ 13:19 に強制経口投与した．対照群には局方精製水のみを同様に投与した．
雄の投与期間は，交配前 14 日間と交配期間 14 日間および交配期間終了後 20 日間の連続 48 日間とした．雌の投与期間は，交配前 14 日間と交配期間中（最長 5 日間）ならびに交尾成立雌の妊娠期間を通じて分娩後の哺育 3 日まで（41 ～ 45 日間）とした．なお，交尾成立後分娩しなかった雌は妊娠 25 日の解剖前日までの 40 日間とした．

10.5 観察および検査

10.5.1 一般状態

雌雄とも，全例について試験期間中毎日観察した．

10.5.2 体　　重

雄では，投与 1（投与開始日），8，15，22，29，36，43 および 49 日（剖検日）に測定し，投与 1 から 49 日までの体重増加量を算出した．

雌では，投与 1（投与開始日），8 および 15 日に測定し，投与 1 から 15 日までの体重増加量を算出した．また，交尾成立後の雌は，妊娠 0，7，14 および 21 日に，分娩した雌は哺育 0 および 4 日に測定し，それぞれ妊娠 0 から 21 日および哺育 0 から 4 日までの体重増加量を算出した．

10.5.3 摂 餌 量

雄では，投与 1（投与開始日），8，15，22，29，36，43 および 48 日（剖検前日）に餌重量を測定し，測定日から次の測定日までの摂餌量を求め平均 1 日摂餌量を算出するとともに，投与 1 から 15 日および投与 22 から 48 日までの累積摂餌量を算出した．

雌では，投与 1（投与開始日），8 および 15 日に測定し，測定日から次の測定日までの摂餌量を求め平均 1 日摂餌量を算出するとともに投与 1 から 15 日までの累積摂餌量を算出した．また，交尾成立の雌は妊娠 0，7，14 および 21 日に，分娩した雌は哺育 0 および 4 日に餌重量を測定し，測定日から次の測定日までの摂餌量を求め平均 1 日摂餌量を算出するとともに妊娠 0 から 21 日までの累積摂餌量を算出した．

なお，交配期間中の同居動物は摂餌量を測定しなかった．

10.5.4 交　　配

交配前 14 日間の性周期観察を行った雌を同群内の雄のケージに入れ 1 対 1 で最長 5 日間毎晩同居させた．翌朝，膣垢中の精子確認をもって交尾成立とし，その日を妊娠 0 日とした．

性周期観察は交尾成立日まで行い，発情期から次の発情期までの間の日数を性周期日数として平均性周期を算出した．また，性周期観察期間中の異常性周期（4 または 5 日以外の性周期）発現率［（異常性周期を示す雌動物数／観察雌動物数）× 100］を算出した．

交配結果から，各群について交尾率［（交尾成立動物数／同居動物数）× 100］を算出した．

なお，妊娠 2 日に死亡した雌（動物番号 2303）については妊・不妊の判定が不可能であったため，受胎率の集計からは除外した．なお，交配相手の雄（動物番号 1303）は病理組織学検査のみ「妊娠を成立させなかった雄」の項目について実施したが，集計は「妊娠を成立させた雄」に含めた．

10.5.5 自然分娩時および新生児の観察

妊娠動物は全例を自然分娩させた．分娩の確認は午前 9 ～ 10 時に行い，この時間帯に分娩が完了していることを確認した個体および分娩を開始した個体については分娩完了まで待って，その日を哺育 0 日とした．午前 10 時を過ぎて分娩を開始した個体については，翌日を哺育 0 日とした．分娩を確認した全例について妊娠期間（哺育 0 日の年月日から妊娠 0 日の年月日を減じた日数），受胎率［（受胎動物数／交尾成立動物数）× 100］，出産率［（生児出産雌数／妊娠雌数）× 100］，着床率［（着床痕数／妊娠黄体数）× 100］，分娩率［（総出産児数／着床痕数）× 100］，出生率［（出産生児数／総出産児数）× 100］を算出した．

妊娠 25 日の午前 9 時までに分娩のみられない動物（動物番号 2006）は，自然分娩の認められない雌として病理解剖した．母動物は哺育 4 日に病理解剖した．

新生児は哺育 0 日に出産児数（生存児＋死亡児）を調べ，性別を判定するとともに外表異常の有無を調べた．また，哺育 0 および 4 日に雌雄個体別の体重を測定し，1 腹の雌雄別平均体重を算出した．

哺育 4 日に出生児全例をエーテル麻酔下で放血安楽死させ，器官・組織の肉眼的観察を行った．哺育期間中の死亡児はブアン氏液に固定し，器官・組織の肉眼的観察を行った．また，出生児の 4 日生存率［（哺育 4 日生児数／出産生児数）× 100］を算出した．

10.5.6 病理学的検査

10.5.6.1 剖検および器官重量

解剖では動物の外観，口腔，鼻孔および頭蓋腔，骨格，脳および脊髄の外観と切断面，胸腔，腹腔および骨盤腔とその内臓，頸部の組織および器官を検査した．

すべての肉眼的異常について，部位，大きさ，硬さなどを記録した．

①死亡動物

死亡動物は発見後直ちに解剖した．器官・組織の肉眼的観察を行った後，胸腺，胃，副腎，卵巣，子宮および膣を 10 %中性緩衝ホルマリン液に，精巣および精巣上体はブアン氏液に 1 日固定した後，10 %中性緩衝ホルマリン液に固定した．また，一部の動物で変化が認められた器官・組織として鼻腔，肺，肝臓，脾臓，小腸，大腸および精嚢を 10 %中性緩衝ホルマリン液に固定した．

②雄動物

48 日間投与した翌日，エーテル麻酔下で放血安楽死させた．器官・組織の肉眼的観察を行った後，胸腺，副腎，精巣および精巣上体重量を測定し器官重量・体重比（相対重量：（器官重量／解剖日体重）× 100）を算出した．また，全動物の胸腺，胃，副腎，精嚢，前立腺および一部の動物で変化が認められた器官・組織として肺，腎臓および皮膚を 10 %中性緩衝ホルマリン液で固定した．なお，精巣および精巣上体はブアン氏液で 1 日固定した後，10 %中性緩衝ホルマリン液に固定した．

③自然分娩した雌

哺育4日にエーテル麻酔下で放血安楽死させた．器官・組織の肉眼的観察を行った後，胸腺および副腎重量を測定し相対重量を算出した．また，重量測定器官に加え全動物の胃，卵巣，子宮，膣および一部の動物で変化が認められた器官・組織として肺，脾臓，肝臓，腎臓および皮膚を 10 %中性緩衝ホルマリン液で固定した．また，剖検時に黄体数および着床痕数を調べた．

④自然分娩の認められない雌

妊娠 25 日に，エーテル麻酔下で放血安楽死させた．器官・組織の肉眼的観察を行った後，胸腺，胃，副腎，卵巣，子宮および膣を 10 %中性緩衝ホルマリン液で固定した．

10.5.6.2 病理組織学検査

下記に該当する動物の組織について 株式会社 組織科学研究所（東京都青梅市）で常法に従ってパラフィン切片を作製し，ヘマトキシリン・エオジン染色した．鏡検は安評センターで実施し，病変の種類および程度について記録した．

①死亡動物

150 mg/kg 群の雄 1 例（動物番号 1210），450 mg/kg 群の雄 3 例（動物番号 1304，1306，1308）および雌 1 例（動物番号 2303）の胸腺，胃，副腎，卵巣，子宮，膣，精巣および精巣上体について実施した．加えて，異常病変部組織として脾臓（動物番号 1210，2303），鼻腔（動物番号 1210），小腸（動物番号 1210，1306，2303），大腸（動物番号 1210，1304，1306，1308，2303），精嚢（動物番号 1210），肝臓（動物番号 2303）および肺（動物番号 1306）についても実施した．

②妊娠を成立させた雄

対照群および 450 mg/kg 群のそれぞれ 12 および 9 例で胸腺，胃，副腎，精巣および精巣上体について実施した．胸腺，胃および副腎については，被験物質投与の影響が疑われたため 50 および 150 mg/kg 群の全例（12 および 11 例）でも実施した．

加えて，異常病変部組織として腎臓（動物番号 1002，1008），肺（動物番号 1005，1305）および皮膚（動物番号 1310）についても実施した．

③自然分娩した雌

対照群および 450 mg/kg 群の各 11 例で胸腺，胃，副腎および卵巣について実施した．胸腺，胃および副腎については，被験物質投与の影響が疑われたため 50 および 150 mg/kg 群の全例（各 12 例）についても実施した．加えて，異常病変部組織として肝臓（動物番号 2004），肺（動物番号 2301，2311），腎臓（動物番号 2206），皮膚（動物番号 2205，2306）および脾臓（動物番号 2311）についても実施した．

④妊娠を成立させなかった雄

450 mg/kg 群の 1 例（動物番号 1303）で胸腺，胃，副腎，精巣，精巣上体，精嚢および前立腺について実施した．

10.6 統計解析

体重，摂餌量，黄体数，着床痕数，出産児数，死産児数，性比，平均性周期，妊娠期間，着床率，分娩率，出生率，外表異常発現率，出生児の 4 日生存率，器官重量および器官重量・体重比（相対重量）については多重比較検定[3]を行った．まず Bartlett の等分散検定を実施し，等分散の場合は Dunnett の多重比較検定[4),5)]で対照群と各投与群間の有意差を検定した．Bartlett の等分散検定で不等分散の場合は Steel の検定を実施し対照群と各投与群間の有意差を検定した．出産率，交尾率および受胎率については χ^2 検定[6),7)]を用いた．異常性周期発現率および病理学的検査の所見の発生率の検定は，Fisher の直接確率検定法[7)]を用いて検定した．病理組織学所見のうち被験物質投与群で程度の増強が認められた所見は－を「1」，+1 を「2」，+2 を「3」および+3 を「4」に割り当てて Mann-Whitney の U 検定[7)]を実施した．なお，哺育期間中の出生児に関する成績は 1 母体当りの平均を 1 標本とした．有意水準は 5 および 1 %の両側検定で実施した．

11. 試験結果

11.1 反復投与毒性

11.1.1 死亡および一般状態（Table 1-1 ～ 1-4，Appendix 1-1 ～ 1-4）

死亡例が，雄では 150 mg/kg 群で投与 38 日に 1 例（動物番号 1210），450 mg/kg 群で投与 31，38 および 39 日に各 1 例（動物番号 1304，1308 および 1306），雌では 450 mg/kg 群で妊娠 2 日に 1 例（動物番号 2303）認められた．

被験物質投与後の主な一般状態の変化として，流涎が雌雄の 150 および 450 mg/kg 群で用量に依存して認められた．すなわち，雄の 150 mg/kg 群で観察された流涎は，投与 5 ～ 6 週には少数例，投与 7 週には約半数例で，投与直後から発現し投与後 30 分には消失する一過性の変化であった．雄の 450 mg/kg 群では投与 1 週に約半数例，投与 2 週以降にはほぼ全例で認められ，投与 1 週では投与直後から発現し投与後 30 分には消失したものの，投与回数が増すとともに流涎の消失までの時間は延長し，投与期間後半には投与後 90 ～ 180 分でも継続して認められていた．雌の 150 mg/kg 群では妊娠 2 日に 1 例のみに認められ，同群の雄と同様に一過性の変化であった．雌の 450 mg/kg 群では交配前，交配期間および妊娠前期には複数例，妊娠中期から後期へと移行するにつれて発現匹数は少数例に減少し，分娩後の哺育期間では 1 例のみに認められた．なお，雌の 450 mg/kg 群で観察された流涎は，妊娠期間では投与直後から発現し投与後 60 分でも継続している動物が少数例で認められた．一方，他の期間では，いずれの動物も投与直後から発現し投与後 30 分には消失する一過性の変化であった．さらに，鼻音が 150 mg/kg 群の雄および 450 mg/kg の雌雄でそれぞれ 1，3 および 3 例，不整呼吸が 150 mg/kg 群の雄で 1 例，腹部膨満，削痩，被毛の汚れ，立毛および体温低下が 150 mg/kg 群の雄および 450 mg/kg 群の雌で各 1 例，鼻分泌物が 450 mg/kg 群の雌雄で各 1 例，眼瞼下垂が 150 mg/kg 群の雄および 450 mg/kg 群の雌雄でそれぞれ 1，2 および 1 例，蒼白が 150 mg/kg 群の雄および 450 mg/kg 群の雌でそれぞれ 1 および 2 例，腹臥位が 450 mg/kg 群の雌で 1 例に認められた．

その他，自然発生性と考えられる所見として眼分泌物が対照群の雄で 1 例，脱毛が 150 mg/kg 群の雌および 450 mg/kg 群の雌雄でそれぞれ 1 例に認められた．

11.1.2 体　　重（Figure 1 ～ 2，Table 2-1 ～ 2-2，Appendix 2-1 ～ 2-2）

雄では，450 mg/kg 群で投与 8 日以降すべての測定日が対照群に比べ統計学的に有意な低値を示し，投与期間中の体重増加量も有意な低値を示した．

雌では，450 mg/kg 群で妊娠 14 および 21 日の体重が対照群に比べ統計学的に有意な低値を示し，妊娠期間中の体重増加量も有意な低値を示した．

11.1.3 摂 餌 量（Figure 3 ～ 4，Table 3-1 ～ 3-2，Appendix 3-1 ～ 3-2）

雄では，450 mg/kg 群で投与 1 から 8 日，29 から 36 日および 43 から 48 日の平均 1 日摂餌量が対照群に比べ統計学的に有意な低値を示し，投与 1 から 15 日の累積摂餌量も有意な低値を示した．

雌では，450 mg/kg 群で交配前の投与 1 から 8 日の平均 1 日摂餌量が対照群に比べ統計学的に有意な低値を示し，投与 1 から 15 日の累積摂餌量も有意な低値を示した．

11.1.4 器官重量（Table 4-1 ～ 4-2，Appendix 4-1 ～ 4-2）

雄では，対照群に比べ 450 mg/kg 群で胸腺の実重量が統計学的に有意な低値，副腎の実重量および相対重量，精巣の相対重量が有意な高値を示した．また，同群で統計学的な有意差は認められていないが，胸腺の相対重量が低値傾向を示した．

雌では，対照群に比べ 450 mg/kg 群で胸腺の実重量が統計学的に有意な低値，副腎の相対重量が有意な高値を示した．また，同群で統計学的な有意差は認められていないが，胸腺の相対重量が低値傾向，副腎の実重量が高値傾向を示した．

11.1.5 剖検所見（Table 5-1 ～ 5-5，Appendix 5-1 ～ 5-2）

死亡した 150 mg/kg 群の雄 1 例（動物番号 1210），450 mg/kg 群の雄 3 例（動物番号 1304，1306 および 1308）および雌 1 例（動物番号 2303）では，所見として胃の前胃潰瘍が 450 mg/kg 群の雄で 3 例，胃の前胃粘膜肥厚が 450 mg/kg 群の雌雄で各 1 例，胃の腺胃赤色化が 450 mg/kg 群の雄で 1 例，胃の腺胃赤色斑点が 450 mg/kg 群の雌で 1 例，胃の内腔拡張が 150 mg/kg 群の雄および 450 mg/kg 群の雌雄で各 1 例，小腸の内腔拡張が 150 mg/kg 群の雄および 450 mg/kg 群の雌雄で各 1 例，大腸の内腔拡張が 150 mg/kg 群の雄および 450 mg/kg 群の雌雄でそれぞれ 1，1 および 3 例，胸腺の萎縮が 150 および 450 mg/kg 群の雄で各 1 例，胸腺の赤色化が 450 mg/kg 群の雄で 2 例，鼻腔の粘液性内容物が 150 mg/kg 群の雄で 1 例，全身の削痩が 150 mg/kg 群の雄および 450 mg/kg 群の雌で各 1 例，脾臓の萎縮が 150 mg/kg 群の雄および 450 mg/kg 群の雌で各 1 例，肺の赤色化が 450 mg/kg 群の雄で 1 例，肝臓の白色斑点が 450 mg/kg 群の雌で 1 例，精嚢の萎縮が 150 mg/kg 群の雄で 1 例および子宮の小型化が 450 mg/kg 群の雌で 1 例に観察された．

雄では，死亡動物を除く対照群，50，150 および 450 mg/kg 群の 12，12，11 および 9 例について剖検を行った．その結果，胃の前胃潰瘍が 450 mg/kg 群で 9 例に認められ，対照群に比べ統計学的に有意に発生数が増加した．なお，450 mg/kg 群で認められた前胃潰瘍の 9 例中 6 例では，周囲組織との癒着も認められた．その他，肺の褐色斑点が対照群および 450 mg/kg 群で各 1 例，副腎の褐色斑点が 450 mg/kg 群で 1 例，被毛の菲薄化が 450 mg/kg 群で 1 例および腎臓の嚢胞が対照群で 2 例に認められた．

自然分娩した雌では，対照群，50，150 および 450 mg/kg 群の 11，12，12 および 11 例について剖検を行った．その結果，胃の前胃潰瘍が 450 mg/kg 群で 9 例，胸腺の萎縮が 450 mg/kg 群で 6 例に認められ，いずれの所見も対照群に比べ統計学的に有意に発生数が増加した．なお，450 mg/kg 群で認められた胃の潰瘍は 9 例中 3 例で周囲組織との癒着も認められた．また，胃の前胃粘膜肥厚が 450 mg/kg 群で 3 例，脾臓の肥大が 450 mg/kg 群で 1 例に認められた．その他，肺の褐色斑点が 450 mg/kg 群で 2 例，腎臓の瘢痕が 150 mg/kg 群で 1 例，被毛の菲薄化が 150 および 450 mg/kg 群で各 1 例，肝臓の白色斑点が対照群で 1 例および卵巣の嚢胞が対照群で 2 例に認められた．

妊娠 25 日までに分娩が認められなかった対照群の 1 例（動物番号 2006）では，所見として子宮の黒色斑点および内腔拡張が観察された．なお，この動物の子宮内に死亡胎児が 1 例認められた．

11.1.6 組織所見（Table 6-1 ～ 6-5，Appendix 6-1 ～ 6-2）

途中死亡した 150 mg/kg 群の雄および 450 mg/kg 群の雌雄では，異常病変部組織，胸腺，胃，副腎，精巣，精巣上体，卵巣，子宮および膣について病理組織学検査を行った．その結果，前胃潰瘍および角化亢進を伴った胃の前胃扁平上皮増生がそれぞれ 450 mg/kg 群の雄で 3 例，胃の腺胃潰瘍および腺胃粘膜下織線維化が 450 mg/kg 群の雌で 1 例，胃の腺胃粘膜下織出血および浮腫が 450 mg/kg 群の雄で 1 例，胃の粘膜鬱血が 450 mg/kg 群の雌で 1 例に認められた．また，副腎皮質の瀰漫性増生が 150 および 450 mg/kg 群の雄で 1 および 3 例，副腎皮質の空胞変性が 450 mg/kg 群の雄で 1 例，脾臓の萎縮が 150 mg/kg 群の雄および 450 mg/kg 群の雌で各 1 例，胸腺皮質の萎縮が 150 mg/kg 群の雄および 450 mg/kg 群の雌雄で各 1 例，胸腺の鬱血が 450 mg/kg 群の雄で 2 例，胸腺の出血が 450 mg/kg 群の雄で 1 例，肺の鬱血が 450 mg/kg 群の雄で 1 例および肝臓の巣状壊死が 450 mg/kg 群の雌で 1 例に認められた．

雄では，対照群および 450 mg/kg 群の精巣および精巣上体，被験物質投与の影響が疑われた器官組織である胸腺，胃および副腎，さらに，肉眼所見で認められた異常病変部組織全てについて病理組織学検査を行った．その結果，450 mg/kg 群で胃の前胃潰瘍（Photo 1）および角化亢進を伴った前胃扁平上皮増生（Photo 3）が全例（9 例），副腎皮質の瀰漫性増生（Photo 5）が 7 例に認められ，いずれの所見も対照群に比べて統計学的に有意に発生率が増加した．特に 450 mg/kg 群での胃の前胃潰瘍の程度分けでは，軽度 1 例，中等度 2 例および高度 6 例で対照群に比べ高度の所見が有意に増加した．また，副腎皮質の空胞変性が対照群，50，150 および 450 mg/kg 群でそれぞれ 6，6，2 および 1 例，過剰分泌化を伴った肺の細気管支上皮杯細胞化生が 450 mg/kg 群で 1 例，肺の局所的気管支肺炎が対照群および 450 mg/kg 群で各 1 例および腎臓の嚢胞が対照群で 2 例に認められた．

自然分娩した雌では，対照群および 450 mg/kg 群の卵巣，被験物質投与の影響が疑われた器官組織である胸腺，胃および副腎，さらに，肉眼所見で認められた異常病変部組織全てについて病理組織学検査を行った．その結果，450 mg/kg 群で胃の前胃潰瘍が 9 例，角化亢進を伴った前胃扁平上皮増生が 10 例および副腎皮質の瀰漫性増生が 8 例に認められ，いずれの所見も対照群に比べて統計学的に有意に発生率が増加した．

雄同様，450 mg/kg 群での胃の前胃潰瘍の程度分けでは，中等度 4 例および高度 5 例で対照群に比べ高度の所見が有意に増加した．また，胃の前胃粘膜下織線維化が 450 mg/kg 群で 2 例，胃の前胃粘膜下織浮腫が 450 mg/kg 群で 1 例，脾臓の白脾髄増生が 450 mg/kg 群で 1 例，胸腺皮質の萎縮が対照群，50 および 450 mg/kg 群でそれぞれ 2，1 および 6 例，肺の局所的気管支肺炎および局所的泡沫細胞集簇が 450 mg/kg 群で各 1 例，マクロファージ集簇を伴った肝臓の局所的皮膜肥厚が対照群で 1 例，卵巣の卵巣嚢嚢胞が対照群で 2 例に認められた．

妊娠 25 日剖検の雌（自然分娩の認められなかった雌：動物番号 2006）では，子宮について病理学的検査を行った．その結果，子宮内腔内に局所的出血が認められた．

11.2 生殖発生毒性

11.2.1 交尾および受胎能（Table 7, Appendix 7-1 ～ 7-2）

交尾および受胎は，すべての群で全例成立した．なお，450 mg/kg 群で妊娠 2 日に死亡した動物（動物番号 2303）は受胎の集計に含めなかった．

性周期観察では，平均性周期に群間差は認められなかった．異常性周期を示す動物が対照群，150 および 450 mg/kg 群で 2 例，50 mg/kg 群で 1 例認められたが，異常性周期発現率に群間差は認められなかった．

11.2.2 分娩および哺育（Table 8, Appendix 8, 10）

分娩状態に異常は観察されなかった．各群の妊娠期間，黄体数，着床痕数，出産児数および出産生児数はほぼ同様な値を示し，出産率，着床率，出生率，性比および生後 4 日生存率に群間差は認められなかった．

11.2.3 新生児の形態，体重および剖検所見（Table 9 ～ 11-2, Appendix 9, 11-1 ～ 11-2）

新生児の外表検査では，450 mg/kg 群で矮小児（対照群の平均新生児体重の 60 %以下）が 1 例認められたのみであった．

哺育 0 および 4 日の体重では，雌雄ともに群間差は認められなかった．

哺育期間中の死亡児の剖検では，胸腺頸部残留が対照群の雄 1 例および 450 mg/kg 群の雌 1 例に認められたのみであった（Table, Appendix には示していない）．

哺育 4 日の剖検では，胸腺頸部残留が雄の対照群，50, 450 mg/kg 群および雌の 50 mg/kg 群でそれぞれ 5, 3, 2 および 1 例に認められた．その他，雄では肝臓の白色斑点，黒色斑点，横隔膜との癒着，黄色化および奇形結節，腎臓の腎盂拡大，腎臓位置異常および眼球の赤色化が各群で散発的に認められた．また，150 mg/kg 群の同一腹の雌雄で皮膚の外傷が各 3 例に認められた．

12. 考察および結論

12.1 親動物（F0）に及ぼす影響

被験物質投与による影響と考えられる死亡が，150 mg/kg 群の雄および 450 mg/kg 群の雌雄で認められた．また，死亡動物を含め一般状態の変化として流涎，鼻音，不整呼吸，腹部膨満および鼻分泌物が認められ，被験物質投与の影響が疑われた．鼻音，不整呼吸および鼻分泌物については，対応する明確な剖検あるいは組織所見は観察されていないが，150 mg/kg 群の雄の死亡例に剖検所見で鼻腔の粘液性内容物貯留が，また，450 mg/kg 群の雄の計画解剖例に組織学検査で過剰分泌化を伴った気管支上皮の杯細胞化生が，それぞれ単発性ながら観察されており，被験物質投与による呼吸器系への粘液分泌亢進の誘発が疑われた．腹部膨満については，剖検の結果から消化管の内腔拡張によるものと確認された．この消化管の内腔拡張は，死亡動物の剖検で全例に認められており，被験物質投与に起因する呼吸器系変化（鼻音等）と関連した何らかの呼吸障害のために，開口呼吸による空気の誤嚥を招いたもので，死因にも関与した変化と考えられた．流涎は発現時期，匹数および継続時間から被験物質の用量に関連して増強すると判断した．なお，150 mg/kg 群の雌で認められた流涎は 1 例であり，しかも妊娠 2 日の投与直後にのみ一過性に発現していることから偶発的な変化と判断し，被験物質投与の影響とは考えなかった．また，眼瞼下垂，削痩，腹臥位，被毛の汚れ，立毛および体温低下については，主に死亡動物に観察されている症状であることから，全身状態の悪化に起因した変化と考えられ，被験物質投与による影響とは判断しなかった．

体重では，450 mg/kg 群の雌雄で投与開始以降低値を示し，被験物質投与による体重増加抑制が認められた．また，摂餌量でも，450 mg/kg 群の雄で投与開始以降，雌で投与期間の前半に低値を示し，被験物質投与の影響が認められた．

一般状態，体重および摂餌量の変化から，被験物質の作用には雌雄差があり，雌に比べ雄に強く影響が発現していると考えられた．

病理学的検査では，生殖器系に対して被験物質投与に起因すると考えられる変化は認められなかった．なお，450 mg/kg 群の雄で認められた精巣の相対重量の高値は，実重量，剖検および組織所見で異常は認められないことから，低体重に起因した変化と判断した．450 mg/kg 群の雌雄に認められた前胃の潰瘍，角化亢進を伴った扁平上皮増生，粘膜下織の線維化等の諸所見は，被験物質が強い刺激性の性状を有することから，前胃粘膜への直接的刺激作用による腐食性ならびに反応性変化と考えられ，中でも粘膜の刺激が強く認められた例では，前胃の潰瘍による炎症反応が漿膜にまで拡大した結果，周囲組織との癒着が生じたものと思われた．450 mg/kg 群の雌の 1 例（動物番号 2311）に観察された脾臓白脾髄の増生は，前胃の炎症に対する反応と考えられ，被験物質投与による二次的な影響と判断された．また，同群の雌雄で胸腺重量が低値，副腎重量が高値を示し，これらの重量変化に対応すると考えられる組織所見として，胸腺については皮質の萎縮が主に雌に，副腎については皮質の瀰漫性増生が雌雄に認められたが，被験物質投与の直接作用による影響であるかは明確でなかった．ただし，胸腺あるいは副腎に所見の認められた動物には共通して胃にも病変が認めら

れることから，胃の病変に起因した生体負荷による変化とも考えられた．

以上のことから，本試験条件下における 1,3 －ベンゼンジメタンアミンの親動物に対する無影響量は，雄では 50 mg/kg/day，雌では 150 mg/kg/day と判断された．

12.2 生殖発生毒性

平均性周期，異常性周期発現率，交尾率，受胎率，妊娠期間，妊娠黄体数，着床痕数，出産児数，出産生児数，性比，哺育 4 日生児数，出産率，着床率，出生率および生後 4 日生存率に被験物質投与の影響は認められなかった．新生児の外表検査では 450 mg/kg 群で矮小児が認められたが，1 例のみの発現であり，また，雌雄とも哺育 0 および 4 日の平均体重に群間差が認められないことからも，被験物質投与の影響ではなく偶発的な変化であると考えられた．死亡児および哺育 4 日の剖検では，被験物質投与によると考えられる異常所見は観察されなかった．

以上のことから，1,3 －ベンゼンジメタンアミンの生殖能および次世代児に対する影響はともに 450 mg/kg/day 投与によっても認められず，無影響量は 450 mg/kg/day と判断された．

13. 参考文献

1)　　：1,3-ビス（アミノメチル）ベンゼンのラットを用いる 28 日間反復経口投与毒性試験，Toxicity Testing Reports of Environmental Chemicals Vol.3 化学物質毒性試験報告，387（1996）．

2) OECD guideline for testing of chemicals: Extended Steering Group Document. No. 3（1990）．

3) Shayne, C. G. and Carrol, S. W. : Statics and Experimental Design For Toxicologists. Telford Press（1986）．

4) 佐野正樹，岡山佳弘：医薬安全性研究会会報，No. 32, p. 21（1990）．

5) YOSHIDA, M. : J. J. Soc. comp. Stat., 1, p. 111（1988）．

6) 佐久間昭：薬効評価Ｉ－計画と解析－，東京大学出版会（1977）．

7) 石居　進：生物統計学入門，培風館（1975）．

Figures

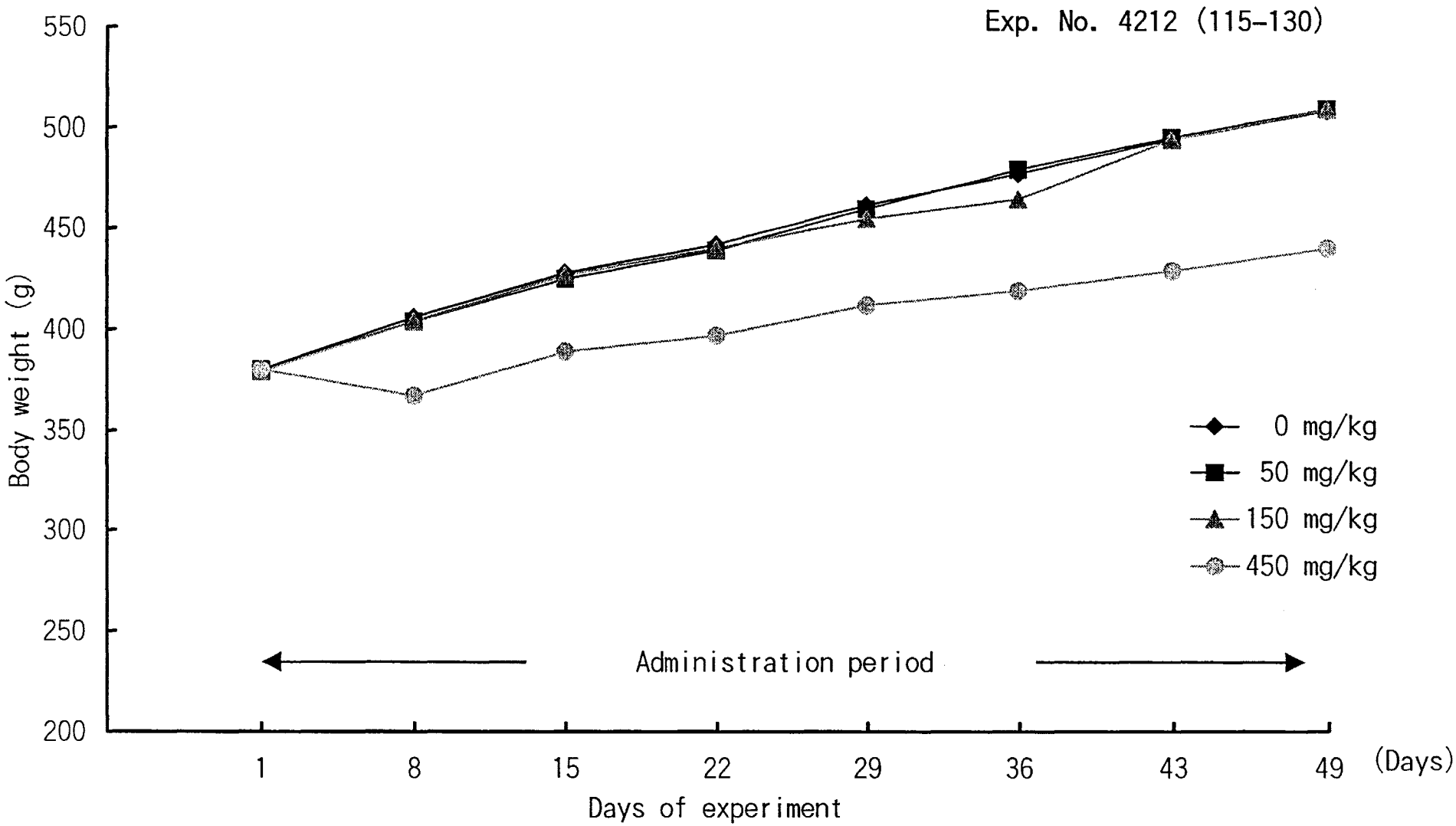

Figure 1 Body weight change of male rats

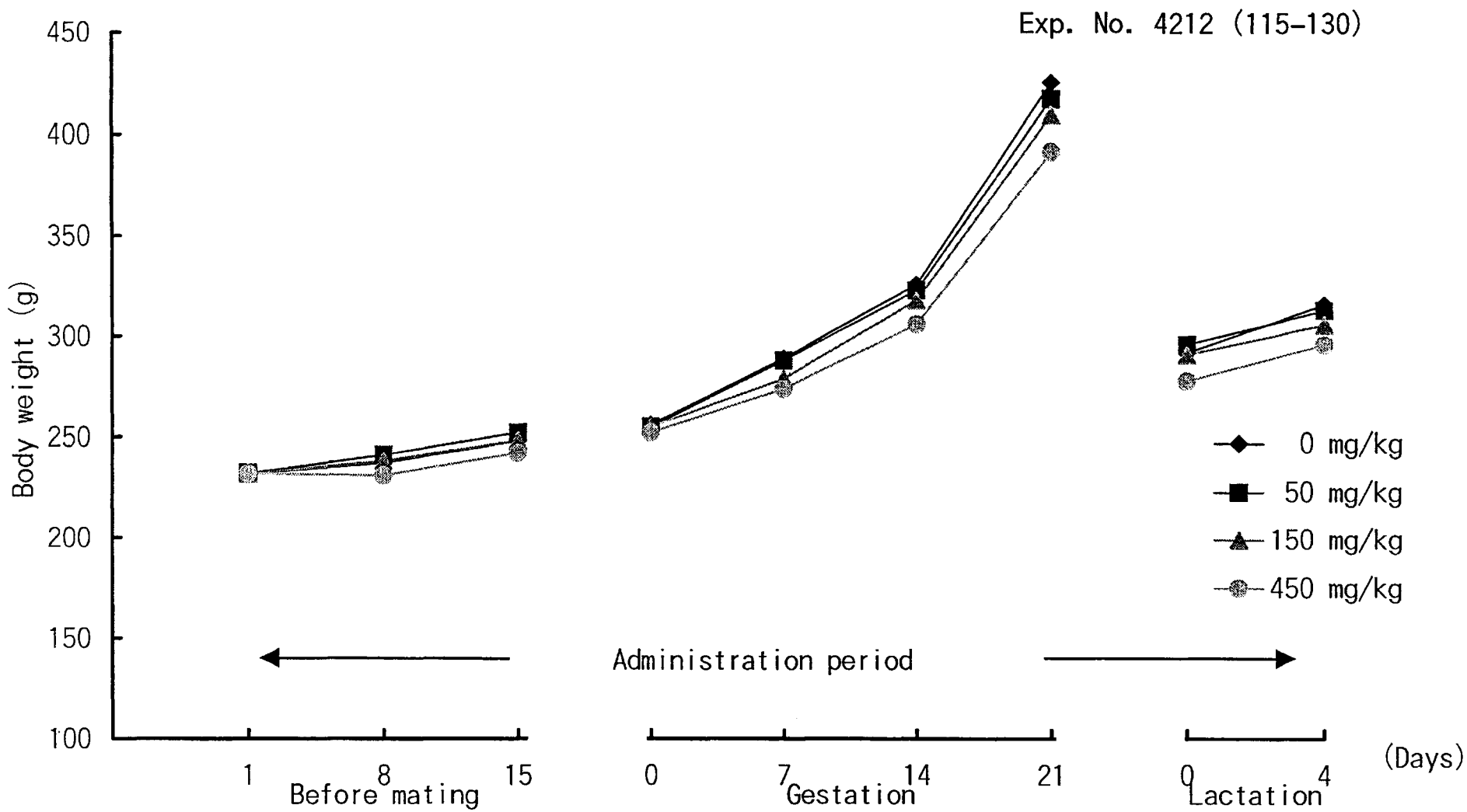

Figure 2 Body weight change of female rats

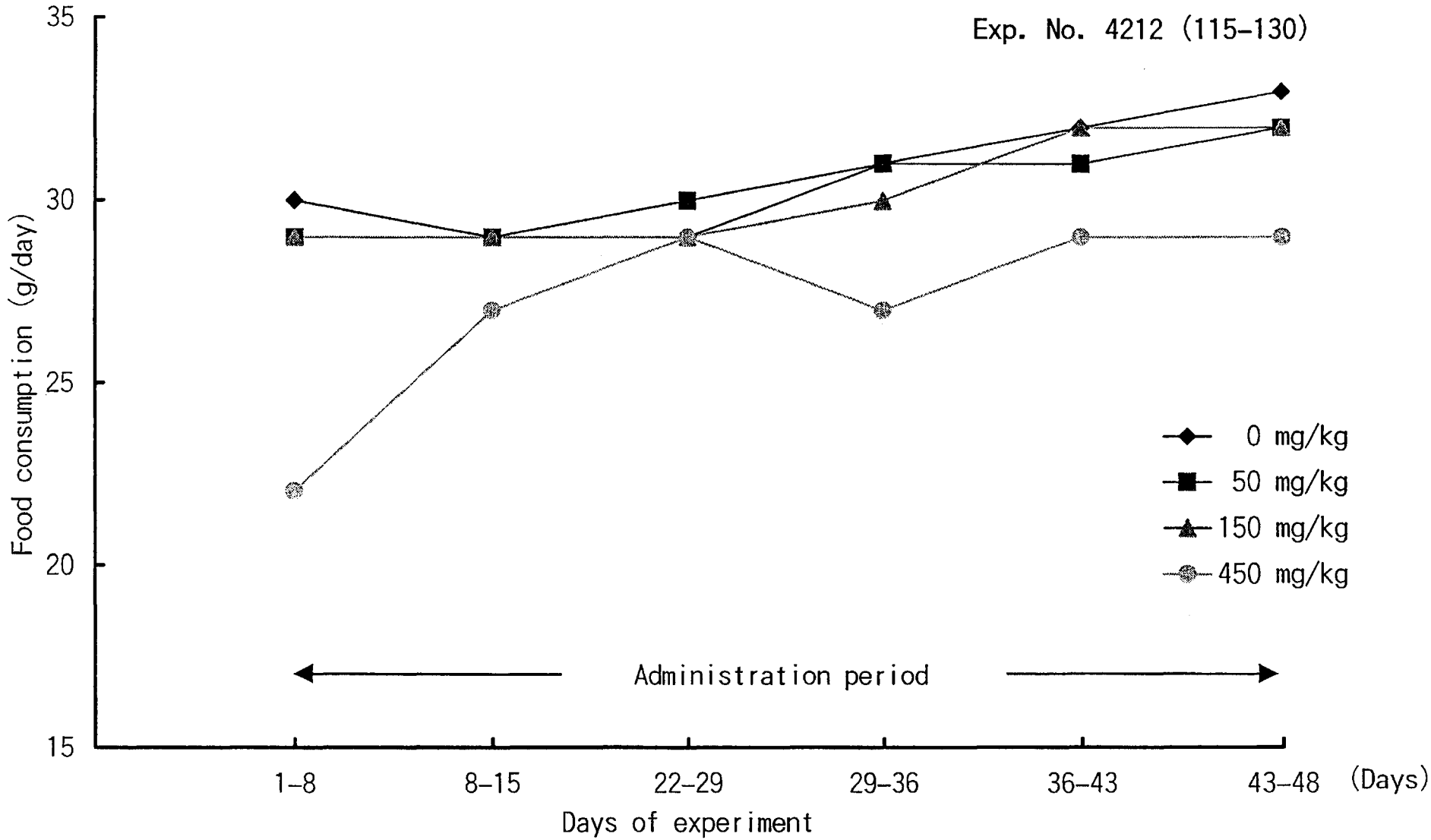

Figure 3 Food consumption of male rats

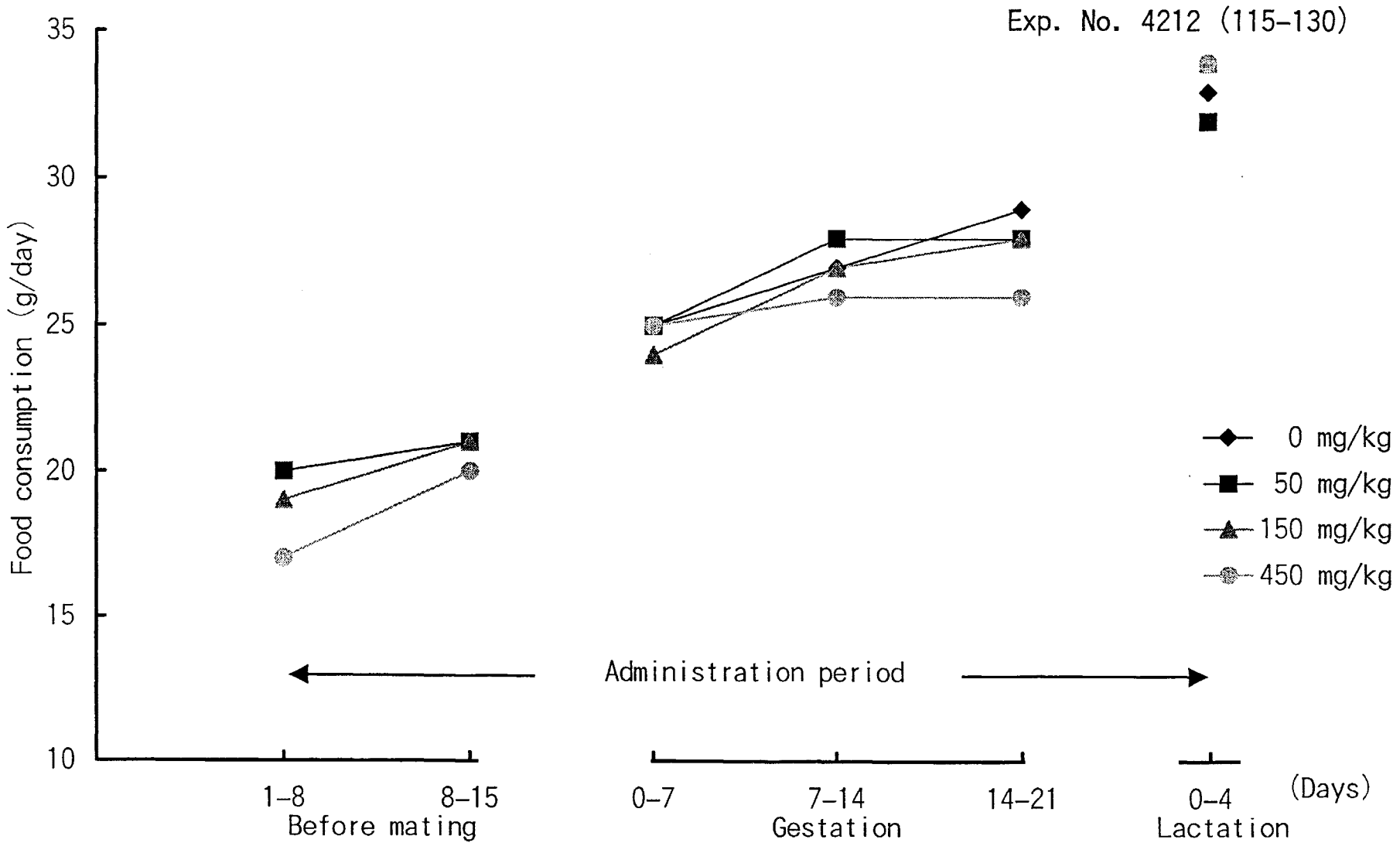

Figure 4 Food consumption of female rats

Tables

Table 1-1 Clinical observations in male rats Exp. No. 4212 (115-130)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of experiment 1- 7	8-14	15-21	22-28	29-35	36-42	43-49	Total (1-49)
number per group	0	12	12	12	12	12	12	12	
	50	12	12	12	12	12	12	12	
	150	12	12	12	12	12	12	11	
	450	12	12	12	12	12	11	9	
normal	0	11	12	12	12	12	12	12	11
	50	12	12	12	12	12	12	12	12
	150	12	12	12	12	10	9	5	5
	450	6	3	1	1	0	0	0	0
dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	1	0	1
	450	0	0	0	0	1	2	0	3
wasting	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	1	1 a)	0	1 b)
	450	0	0	0	0	0	0	0	0
piloerection	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	1	0	1
	450	0	0	0	0	0	0	0	0
loss of hair	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	0
	450	0	0	0	0	0	0	1	1
dirty hair	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	1	1	0	1
	450	0	0	0	0	0	0	0	0
pallor	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	1	0	1
	450	0	0	0	0	0	0	0	0
subnormal temperature	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	1	0	1
	450	0	0	0	0	0	0	0	0

a) No. of animals with clinical sign in group
b) Total no. of animals with clinical sign in group

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of experiment 1- 7	8-14	15-21	22-28	29-35	36-42	43-49	Total (1-49)
discharge of eye	0	1	0	0	0	0	0	0	1
	50	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	0
	450	0	0	0	0	0	0	0	0
ptosis of eyelid	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	1	0	1
	450	0	0	0	0	1	0	0	1
nasal discharge	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	0
	450	0	0	0	0	1	0	0	1
salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	1	2	6	6
	450	6	9	11	11	11	10	9	12
abdominal distention	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	1	0	1
	450	0	0	0	0	0	0	0	0
nasal noise	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	1	0	0	1
	450	0	0	1	2	2	2	1	3
irregular respiration	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	1	1	0	1
	450	0	0	0	0	0	0	0	0

Table 1-2

Clinical observations in female rats
(Before and during mating period)

Exp. No. 4212 (115-130)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of experiment 1- 7	8-14	15-20	Total (1-20)
number per group	0	12	12	12	
	50	12	12	12	
	150	12	12	12	
	450	12	12	12	
normal	0	12	12	12	12
	50	12	12	12	12
	150	12	12	12	12
	450	5	3	5	2
wasting	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0
	150	0	0	0	0
	450	0	1	1 a)	1 b)
piloerection	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0
	150	0	0	0	0
	450	0	1	1	1
loss of hair	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0
	150	0	0	0	0
	450	0	1	1	1
salivation	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0
	150	0	0	0	0
	450	5	7	5	9
nasal noise	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0
	150	0	0	0	0
	450	2	1	2	2

a) No. of animals with clinical sign in group
b) Total no. of animals with clinical sign in group

Table 1-3 Clinical observations in female rats (Gestation period) Exp. No. 4212 (115-130)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of gestation												
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
number per group	0	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	50	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	150	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	450	12	12	12	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
normal	0	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	50	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	150	12	12	11	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	450	6	6	6	6	5	4	6	5	7	5	7	7	9
dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	450	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
wasting	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	450	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
piloerection	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	450	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
loss of hair	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	450	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
dirty hair	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	450	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
pallor	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	450	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0
subnormal temperature	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	450	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Table 1-3 -continued

Clinical observations in female rats
(Gestation period)

Exp. No. 4212 (115-130)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of gestation												
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
ptosis of eyelid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	450	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
nasal discharge	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	450	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	450	5	4	4	3	5	5	3	4	1	3	1	2	0
abdominal distention	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	450	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
prone position	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	450	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
nasal noise	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	450	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Table 1-3 -continued

Clinical observations in female rats
(Gestation period)

Exp. No. 4212 (115-130)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of gestation												
		13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
number per group	0	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	8	1	1
	50	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	7	1	0
	150	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	7	0	0
	450	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	6	0	0
normal	0	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	8	1	1
	50	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	7	1	0
	150	12	12	12	12	12	11	11	11	11	11	7	0	0
	450	5	8	6	9	8	8	7	9	8	9	5	0	0
dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	450	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
wasting	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	450	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
piloerection	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	450	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
loss of hair	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0
	450	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0
dirty hair	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	450	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
pallor	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	450	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
subnormal temperature	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	450	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Table 1-3 -continued

Clinical observations in female rats
(Gestation period)

Exp. No. 4212 (115-130)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of gestation												
		13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
ptosis of eyelid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	450	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
nasal discharge	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	450	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	450	4	1	3	0	1	1	2	0	0	0	0	0	0
abdominal distention	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	450	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
prone position	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	450	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
nasal noise	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	450	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	0	0

Table 1-3 -continued

Clinical observations in female rats
(Gestation period)

Exp. No. 4212 (115-130)

Signs	Dose level (mg/kg)	Total (0- 25)
number per group	0	
	50	
	150	
	450	
normal	0	12
	50	12
	150	10
	450	1
dead	0	0
	50	0
	150	0
	450	1
wasting	0	0
	50	0
	150	0
	450	1
piloerection	0	0
	50	0
	150	0
	450	1
loss of hair	0	0
	50	0
	150	1
	450	1
dirty hair	0	0
	50	0
	150	0
	450	1
pallor	0	0
	50	0
	150	0
	450	2
subnormal temperature	0	0
	50	0
	150	0
	450	1

Table 1-3 -continued

Clinical observations in female rats
(Gestation period)

Exp. No. 4212 (115-130)

Signs	Dose level (mg/kg)	Total (0- 25)
ptosis of eyelid	0	0
	50	0
	150	0
	450	2
nasal discharge	0	0
	50	0
	150	0
	450	1
salivation	0	0
	50	0
	150	1
	450	10
abdominal distention	0	0
	50	0
	150	0
	450	1
prone position	0	0
	50	0
	150	0
	450	1
nasal noise	0	0
	50	0
	150	0
	450	3

Table 1-4 Clinical observations in female rats (Lactation period) Exp. No. 4212 (115-130)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of lactation 0	1	2	3	4	Total (0- 4)
number per group	0	11	11	11	11	11	
	50	12	12	12	12	12	
	150	12	12	12	12	12	
	450	11	11	11	11	11	
normal	0	11	11	11	11	11	11
	50	12	12	12	12	12	12
	150	11	11	11	11	11	11
	450	9	9	8	8	9	8
loss of hair	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0
	150	1	1	1	1	1	1
	450	1	1	1	1	1	1
nasal noise	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0
	450	1	1	1	1	1	1
salivation	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0
	450	0	0	1	1	0	1

Table 2-1 Body weight change of male rats Exp. No. 4212 (115-130)

Unit : g

Dose level (mg/kg)		0			50			150			450		
No. of animals		12			12			12			12		
		Mean	± S.D.	(N)	Mean	± S.D.	(N)	Mean	± S.D.	(N)	Mean	± S.D.	(N)
Days of experiment	1	380	± 12	(12)	380	± 11	(12)	379	± 13	(12)	380	± 12	(12)
	8	406	± 15	(12)	404	± 16	(12)	404	± 19	(12)	367	± 21**	(12)
	15	428	± 17	(12)	425	± 19	(12)	427	± 25	(12)	389	± 24**	(12)
	22	442	± 19	(12)	439	± 21	(12)	440	± 27	(12)	397	± 23**	(12)
	29	462	± 22	(12)	460	± 22	(12)	455	± 42	(12)	412	± 29**	(12)
	36	478	± 23	(12)	480	± 26	(12)	465	± 69	(12)	419	± 26**	(11)
	43	495	± 27	(12)	496	± 27	(12)	495	± 41	(11)	429	± 19**	(9)
	49	509	± 31	(12)	510	± 28	(12)	510	± 45	(11)	440	± 19**	(9)
Gain	1-49	129	± 26	(12)	131	± 23	(12)	129	± 36	(11)	62	± 20**	(9)

Significant difference from control group; *: $p \leqq 0.05$ **: $p \leqq 0.01$

Table 2-2 Body weight change of female rats Exp. No. 4212 (115-130)

Unit : g

Dose level (mg/kg)		0			50			150			450		
Before mating period													
No. of animals		12			12			12			12		
		Mean ±	S.D.	(N)	Mean ±	S.D.	(N)	Mean ±	S.D.	(N)	Mean ±	S.D.	(N)
Days of before mating	1	232 ±	9	(12)	232 ±	9	(12)	232 ±	9	(12)	232 ±	9	(12)
	8	237 ±	11	(12)	241 ±	10	(12)	238 ±	11	(12)	231 ±	16	(12)
	15	248 ±	14	(12)	252 ±	13	(12)	248 ±	13	(12)	242 ±	16	(12)
Gain	1-15	16 ±	10	(12)	20 ±	10	(12)	16 ±	8	(12)	10 ±	15	(12)
Gestation period													
No. of dams		12			12			12			11		
		Mean ±	S.D.	(N)	Mean ±	S.D.	(N)	Mean ±	S.D.	(N)	Mean ±	S.D.	(N)
Days of gestation	0	256 ±	11	(12)	255 ±	16	(12)	255 ±	13	(12)	252 ±	15	(11)
	7	289 ±	14	(12)	288 ±	15	(12)	279 ±	16	(12)	274 ±	16	(11)
	14	326 ±	18	(12)	323 ±	17	(12)	318 ±	19	(12)	306 ±	23*	(11)
	21	426 ±	35	(12)	418 ±	22	(12)	410 ±	23	(12)	392 ±	25**	(11)
Gain	0-21	170 ±	31	(12)	164 ±	20	(12)	155 ±	16	(12)	140 ±	19**	(11)
Lactation period													
No. of dams		11			12			12			11		
		Mean ±	S.D.	(N)	Mean ±	S.D.	(N)	Mean ±	S.D.	(N)	Mean ±	S.D.	(N)
Days of lactation	0	292 ±	34	(11)	296 ±	23	(12)	291 ±	19	(12)	278 ±	14	(11)
	4	316 ±	28	(11)	313 ±	18	(12)	306 ±	25	(12)	296 ±	17	(11)
Gain	0- 4	24 ±	19	(11)	17 ±	15	(12)	15 ±	20	(12)	17 ±	15	(11)

Significant difference from control group; *: $p \leq 0.05$ **: $p \leq 0.01$

Table 3-1 Food consumption of male rats Exp. No. 4212 (115-130)

Unit : g/day

Dose level (mg/kg)		0			50			150			450		
No. of animals		12			12			12			12		
		Mean ±	S.D.	(N)	Mean ±	S.D.	(N)	Mean ±	S.D.	(N)	Mean ±	S.D.	(N)
Days of experiment	1-8	30 ±	3	(12)	29 ±	1	(12)	29 ±	2	(12)	22 ±	3**	(12)
	8-15	29 ±	2	(12)	29 ±	2	(12)	29 ±	3	(12)	27 ±	3	(12)
	22-29	29 ±	2	(12)	30 ±	2	(12)	29 ±	4	(12)	29 ±	2	(12)
	29-36	31 ±	3	(12)	31 ±	2	(12)	30 ±	8	(12)	27 ±	3*	(11)
	36-43	32 ±	3	(12)	31 ±	2	(12)	32 ±	3	(11)	29 ±	3	(9)
	43-48	33 ±	4	(12)	32 ±	3	(12)	32 ±	4	(11)	29 ±	3*	(9)
Cumulative consumption (g)	1-15	415 ±	30	(12)	407 ±	18	(12)	409 ±	34	(12)	340 ±	42**	(12)
	22-48	808 ±	72	(12)	806 ±	59	(12)	823 ±	75	(11)	741 ±	49	(9)

Significant difference from control group; *: $p \leqq 0.05$ **: $p \leqq 0.01$

Table 3-2 Food consumption of female rats Exp. No. 4212 (115-130)

Unit : g/day

Dose level (mg/kg)		0			50			150			450		
Before mating period													
No. of animals		12			12			12			12		
		Mean	± S.D.	(N)	Mean	± S.D.	(N)	Mean	± S.D.	(N)	Mean	± S.D.	(N)
Days of before mating	1- 8	20	± 1	(12)	20	± 1	(12)	19	± 2	(12)	17	± 3**	(12)
	8-15	21	± 2	(12)	21	± 1	(12)	21	± 2	(12)	20	± 2	(12)
Cumulative consumption (g)	1-15	285	± 22	(12)	288	± 18	(12)	284	± 25	(12)	255	± 30**	(12)
Gestation period													
No. of dams		12			12			12			11		
		Mean	± S.D.	(N)	Mean	± S.D.	(N)	Mean	± S.D.	(N)	Mean	± S.D.	(N)
Days of gestation	0- 7	25	± 2	(12)	25	± 1	(12)	24	± 3	(12)	25	± 2	(11)
	7-14	27	± 3	(12)	28	± 2	(12)	27	± 3	(12)	26	± 5	(11)
	14-21	29	± 4	(12)	28	± 2	(12)	28	± 3	(12)	26	± 3	(11)
Cumulative consumption (g)	0-21	571	± 61	(12)	568	± 33	(12)	555	± 56	(12)	541	± 60	(11)
Lactation period													
No. of dams		10			12			12			11		
		Mean	± S.D.	(N)	Mean	± S.D.	(N)	Mean	± S.D.	(N)	Mean	± S.D.	(N)
Days of lactation	0- 4	33	± 10	(10)	32	± 8	(12)	34	± 10	(12)	34	± 5	(11)

Significant difference from control group; *: $p \leq 0.05$ **: $p \leq 0.01$

Table 4-1 Absolute and relative organ weight of male rats Exp. No. 4212 (115-130)

Dose level (mg/kg)		0		50		150		450	
No. of animal examined		12		12		11		9	
		Mean ±	S.D.	Mean ±	S.D.	Mean ±	S.D.	Mean ±	S.D.
Body weight (g)		509 ±	31	510 ±	28	510 ±	45	440 ±	19**
Thymus	(mg)	277 ±	73	325 ±	71	300 ±	72	199 ±	60*
	(mg%)	54.228 ±	13.221	63.880 ±	14.151	58.738 ±	12.928	45.090 ±	13.432
Adrenals	(mg)	63 ±	9	64 ±	9	63 ±	11	90 ±	14**
	(mg%)	12.382 ±	1.925	12.441 ±	1.638	12.315 ±	1.738	20.526 ±	3.256**
Testes	(g)	3.39 ±	0.22	3.53 ±	0.38	3.48 ±	0.20	3.26 ±	0.14
	(g%)	0.667 ±	0.047	0.693 ±	0.086	0.687 ±	0.079	0.741 ±	0.029**
Epididymides	(mg)	1262 ±	84	1350 ±	104	1245 ±	110	1197 ±	112
	(mg%)	248.400 ±	20.659	265.017 ±	22.615	245.942 ±	30.642	271.652 ±	22.200

(%) (Organ weight / body weight) x 100
Significant difference from control group; *: $p \leq 0.05$ **: $p \leq 0.01$

Table 4-2 Absolute and relative organ weight of female rats Exp. No. 4212 (115-130)

Dose level (mg/kg)		0		50		150		450	
No. of dams examined		11		12		12		11	
		Mean	± S.D.	Mean	± S.D.	Mean	± S.D.	Mean	± S.D.
Body weight (g)		316	± 28	313	± 18	306	± 25	296	± 17
Thymus	(mg)	130	± 56	144	± 55	116	± 44	81	± 23*
	(mg%)	40.246	± 14.427	45.523	± 16.258	37.516	± 13.506	27.557	± 8.156
Adrenals	(mg)	83	± 8	80	± 12	79	± 10	93	± 10
	(mg%)	26.367	± 3.618	25.701	± 3.847	25.988	± 3.873	31.452	± 3.516**

(%) (Organ weight / body weight) x 100
Significant difference from control group; *: $p \leqq 0.05$ **: $p \leqq 0.01$

Table 5-1 Summary of gross findings (dead) Exp. No. 4212 (115-130)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)		0	50	150	450
No. of animals necropsied		0	0	1	3
Organ	Findings				
HEMATOPOIETIC SYSTEM					
spleen	atrophic	-	-	1	0
thymus	atrophic	-	-	1	1
	reddish	-	-	0	2
RESPIRATORY SYSTEM					
lung	reddish	-	-	0	1
nasal cavity	mucinous contents	-	-	1	0
DIGESTIVE SYSTEM					
stomach	dilated lumen	-	-	1	1
	reddish	-	-	0	1
	thick	-	-	0	1
	ulcer	-	-	0	3
small intestine					
	dilated lumen	-	-	1	1
large intestine					
	dilated lumen	-	-	1	3
REPRODUCTIVE SYSTEM					
seminal vesicle					
	atrophic	-	-	1	0
OTHERS					
whole body	wasting	-	-	1	0

Table 5-2 Summary of gross findings (dead) Exp. No. 4212 (115-130)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)		0	50	150	450
No. of animals necropsied		0	0	0	1
Organ	Findings				
HEMATOPOIETIC SYSTEM					
spleen	atrophic	-	-	-	1
DIGESTIVE SYSTEM					
stomach	dilated lumen	-	-	-	1
	red patch/zone	-	-	-	1
	thick	-	-	-	1
small intestine					
	dilated lumen	-	-	-	1
large intestine					
	dilated lumen	-	-	-	1
liver	white patch/zone	-	-	-	1
REPRODUCTIVE SYSTEM					
uterus	small	-	-	-	1
OTHERS					
whole body	wasting	-	-	-	1

Table 5-3 Summary of gross findings (sacrificed) Exp. No. 4212 (115-130)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)		0	50	150	450
No. of animals necropsied		12	12	11	9
Organ	Findings				
RESPIRATORY SYSTEM					
lung	brown patch/zone	1	0	0	1
DIGESTIVE SYSTEM					
stomach	ulcer	0	0	0	9**
URINARY SYSTEM					
kidney	cyst	2	0	0	0
ENDOCRINE SYSTEM					
adrenal gland	brown patch/zone	0	0	0	1
INTEGUMENTARY SYSTEM					
hair	thin	0	0	0	1

Significant difference from control group; * : P ≦ 0.05 ** : P ≦ 0.01

Table 5-4 Summary of gross findings (sacrificed) Exp. No. 4212 (115-130)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)		0	50	150	450
No. of animals necropsied		11	12	12	11
Organ	Findings				
HEMATOPOIETIC SYSTEM					
spleen	enlarged	0	0	0	1
thymus	atrophic	0	0	0	6**
RESPIRATORY SYSTEM					
lung	brown patch/zone	0	0	0	2
DIGESTIVE SYSTEM					
stomach	thick	0	0	0	3
	ulcer	0	0	0	9**
liver	white patch/zone	1	0	0	0
URINARY SYSTEM					
kidney	scarred	0	0	1	0
REPRODUCTIVE SYSTEM					
ovary	cyst	2	0	0	0
INTEGUMENTARY SYSTEM					
hair	thin	0	0	1	1

Significant difference from control group; * : P ≦ 0.05 ** : P ≦ 0.01

Table 5-5 Summary of gross findings (not delivery) Exp. No. 4212 (115-130)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)		0	50	150	450
No. of animals necropsied		1	0	0	0
Organ	Findings				
REPRODUCTIVE SYSTEM					
uterus	black patch/zone	1	-	-	-
	dilated lumen	1	-	-	-

Sex: Male

Dose level (mg/kg)	0				50				150				450			
No. of animals initially in study	0				0				1				3			
No. of animals necropsied	0				0				1				3			
No. of animals examined histologically	0				0				1				3			
Organ / Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
HEMATOPOIETIC SYSTEM																
spleen									(1)				(0)			
atrophy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0	-	-	-	-
thymus									(1)				(3)			
congestion	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0	-	2	0	0
hemorrhage	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0	-	1	0	0
atrophy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0	-	1	0	0
RESPIRATORY SYSTEM																
lung									(0)				(1)			
congestion	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
DIGESTIVE SYSTEM																
stomach									(1)				(3)			
edema	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0	-	1	0	0
hemorrhage	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0	-	1	0	0
ulcer, forestomach	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0	-	0	1	2
squamous hyperplasia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0	-	3	0	0
ENDOCRINE SYSTEM																
adrenal gland									(1)				(3)			
degeneration, vacuolar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0	-	1	0	0
hyperplasia, cortex	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0	-	3	0	0

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked
=: benign #: malignant
(): No. of animals examined microscopically at this site. -: Not applicable.

Table 6-2 Summary of histological findings (dead) Exp. No. 4212 (115-130)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0				50				150				450			
No. of animals initially in study	0				0				0				1			
No. of animals necropsied	0				0				0				1			
No. of animals examined histologically	0				0				0				1			
Organ / Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
HEMATOPOIETIC SYSTEM																
spleen													(1)			
atrophy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
thymus													(1)			
atrophy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
DIGESTIVE SYSTEM																
stomach													(1)			
congestion	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
ulcer, glandular stomach	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
fibrosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
liver													(1)			
necrosis, focal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked
=: benign #: malignant
(): No. of animals examined microscopically at this site. -: Not applicable.

Table 6-3-1 Summary of histological findings (sacrificed) Exp. No. 4212 (115-130)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)		0	50	150	450
No. of animals initialy in study		12	12	11	9
No. of animals necropsied		12	12	11	9
No. of animals examined histologically		12	12	11	9
Organ	Findings				
RESPIRATORY SYSTEM					
lung					
	bronchopneumonia	1	-	-	1
	goblet cell metaplasia	0	-	-	1
DIGESTIVE SYSTEM					
stomach					
	ulcer, forestomach	0	0	0	9**
	squamous hyperplasia	0	0	0	9**
URINARY SYSTEM					
kidney					
	cyst	2	-	-	-
ENDOCRINE SYSTEM					
adrenal gland					
	degeneration, vacuolar	6	6	2	1
	hyperplasia, cortex	0	0	0	7**

=: benign #: malignant
-: Not applicable
Significant difference from control group; * : P ≦ 0.05 ** : P ≦ 0.01

Table 6-3-2 Summary of histological findings (sacrificed) Exp. No. 4212 (115-130)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)		0				50				150				450			
No. of animals initially in study		12				12				11				9			
No. of animals necropsied		12				12				11				9			
No. of animals examined histologically		12				12				11				9			
Organ	Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
RESPIRATORY SYSTEM																	
lung		(1)				(0)				(0)				(1)			
	bronchopneumonia	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	goblet cell metaplasia	-	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
DIGESTIVE SYSTEM																	
stomach		(12)				(12)				(11)				(9)			
	ulcer, forestomach	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	-	1	2	6**
	squamous hyperplasia	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	-	9	0	0
URINARY SYSTEM																	
kidney		(2)				(0)				(0)				(0)			
	cyst	-	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ENDOCRINE SYSTEM																	
adrenal gland		(12)				(12)				(11)				(9)			
	degeneration, vacuolar	-	6	0	0	-	6	0	0	-	2	0	0	-	1	0	0
	hyperplasia, cortex	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	-	7	0	0

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked
=: benign #: malignant
(): No. of animals examined microscopically at this site. -: Not applicable.
Significant difference from control group; * : P ≦ 0.05 ** : P ≦ 0.01

Table 6-4-1 Summary of histological findings (sacrificed) Exp. No. 4212 (115-130)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0	50	150	450
No. of.animals initialy in study	12	12	12	11
No. of animals necropsied	12	12	12	11
No. of animals examined histlogically	12	12	12	11
Organ Findings				
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
spleen				
hyperplasia	-	-	-	1
thymus				
atrophy	2	1	0	6
RESPIRATORY SYSTEM				
lung				
accumulation of foamy cells	-	-	-	1
bronchopneumonia	-	-	-	1
DIGESTIVE SYSTEM				
stomach				
edema	0	0	0	1
ulcer, forestomach	0	0	0	9**
fibrosis	0	0	0	2
squamous hyperplasia	0	0	0	10**
liver				
capsular thickening	1	-	-	-
REPRODUCTIVE SYSTEM				
ovary				
cyst, brusa	2	-	-	0
ENDOCRINE SYSTEM				
adrenal gland				
hyperplasia, cortex	0	0	0	8**

=: benign #: malignant
-: Not applicable
Significant difference from control group; * : P ≦ 0.05 ** : P ≦ 0.01

Table 6-4-2 Summary of histological findings (sacrificed) Exp. No. 4212 (115-130)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0				50				150				450			
No. of animals initially in study	11				12				12				11			
No. of animals necropsied	11				12				12				11			
No. of animals examined histologically	11				12				12				11			
Organ / Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
HEMATOPOIETIC SYSTEM																
spleen	(0)				(0)				(0)				(1)			
hyperplasia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
thymus	(11)				(12)				(12)				(11)			
atrophy	-	2	0	0	-	1	0	0	-	0	0	0	-	6	0	0
RESPIRATORY SYSTEM																
lung	(0)				(0)				(0)				(2)			
accumulation of foamy cells	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
bronchopneumonia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
DIGESTIVE SYSTEM																
stomach	(11)				(12)				(12)				(11)			
edema	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	-	1	0	0
ulcer, forestomach	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0	4	5**
fibrosis	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	-	2	0	0
squamous hyperplasia	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	-	10	0	0
liver	(1)				(0)				(0)				(0)			
capsular thickening	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
REPRODUCTIVE SYSTEM																
ovary	(11)				(0)				(0)				(11)			
cyst, brusa	-	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
ENDOCRINE SYSTEM																
adrenal gland	(11)				(12)				(12)				(11)			
hyperplasia, cortex	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	-	8	0	0

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked
=: benign #: malignant
(): No. of animals examined microscopically at this site. -: Not applicable.
Significant difference from control group; * : P ≦ 0.05 ** : P ≦ 0.01

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0				50				150				450			
No. of animals initially in study	1				0				0				0			
No. of animals necropsied	1				0				0				0			
No. of animals examined histologically	1				0				0				0			
Organ Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
REPRODUCTIVE SYSTEM																
uterus	(1)															
hemorrhage	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked
=: benign #: malignant
(): No. of animals examined microscopically at this site. -: Not applicable.

Table 7 Copulation and fertility results in rats Exp. No. 4212 (115-130)

Dose level (mg/kg)	0	50	150	450
No. of pairs mated	12	12	12	12
No. of pairs copulated	12	12	12	12
No. of pregnant females	12	12	12	11 b)
Copulation index (%) 1)	100.0	100.0	100.0	100.0
Fertility index (%) 2)	100.0	100.0	100.0	100.0 (11/11) b)
Estrus cycle				
No. of animals examined	12	12	12	12
Mean estrus cycle (days, Mean±S.D.)	4.5± 0.5	4.4± 0.4	4.4± 0.6 (11)	4.2± 0.3 (11)
Irregular cycle a) (%) 3)	2 (16.7)	1 (8.3)	2 (16.7)	2 (16.7)

1) (No. of animals with successful copulation / no. of animals mated) x 100
2) (No. of pregnant animals / no. of animals with successful copulation) x 100
3) (No. of animals having irregular estrus cycles / no. of animals examined) x 100
a) No. of animals having irregular estrus cycles
b) Excludes the dead female from the calculation , because the pregnancy or non-pregnancy status could not be determined at Day 2 of gestation
Values in parentheses are expressed no. of animals observed
Significant difference from control group; *: P ≦ 0.05 **: P ≦ 0.01

Dose level (mg/kg)	0	50	150	450
No. of dams observed	12	12	12	11
No. of dams delivered live pups	11	12	12	11
Duration of gestation (Mean ±S.D.)	22.6 ± 0.5	22.7 ± 0.7	22.6 ± 0.5	22.5 ± 0.5
No. of total corpora lutea (Mean ±S.D.)	225(18.8± 1.9)	236(19.7± 2.9)	237(19.8± 4.1)	199(18.1± 4.4)
No. of total implants (Mean ±S.D.)	192(16.0± 5.2)	190(15.8± 2.5)	199(16.6± 1.4)	175(15.9± 1.8)
No. of total pups born (Mean ±S.D.)	176(16.0± 2.1)	170(14.2± 3.0)	179(14.9± 2.1)	163(14.8± 2.1)
No. of total live pups born (Mean ±S.D.)	173(15.7± 2.3)	170(14.2± 3.0)	179(14.9± 2.1)	161(14.6± 1.9)
Male	89(8.1± 2.3)	97(8.1± 2.9)	89(7.4± 2.2)	80(7.3± 1.6) a)
Female	84(7.6± 2.5) a)	73(6.1± 1.6)	90(7.5± 1.7)	81(7.3± 2.1) a)
Sex ratio (Mean ±S.D.)	1.29± 0.97	1.45± 0.73	1.06± 0.46	1.08± 0.45
No. of total live pups on day 4 (Mean ±S.D.)				
Male	86(7.8± 2.6)	92(7.7± 2.5)	83(6.9± 2.4)	78(7.1± 1.4)
Female	83(7.5± 2.6)	69(5.8± 1.7)	84(7.0± 2.0)	72(6.5± 1.4)
No. of total dead pups (Mean ±S.D.)	3(0.3±0.5)	0(0.0±0.0)	0(0.0±0.0)	2(0.2±0.6)
No. of total cannibalism (Mean ±S.D.)	0(0.0±0.0)	0(0.0±0.0)	0(0.0±0.0)	0(0.0±0.0)
Gestation index (%) 1)	91.7	100.0	100.0	100.0
Implantation index (%,Mean±S.D.) 2)	84.3± 25.8	81.4± 14.1	86.4± 13.9	90.8± 14.3
Delivery index (%,Mean±S.D.) 3)	92.8± 10.9	89.3± 10.1	90.0± 10.4	92.9± 4.7
Live birth index (%,Mean±S.D.) 4)	98.1± 3.2	100.0± 0.0	100.0± 0.0	99.0± 3.4
Viability index on day 4 (%,Mean±S.D.) 5)				
Male	95.6± 10.0	96.5± 9.2	92.2± 11.7	97.9± 4.8
Female	98.2± 6.0	94.4± 12.0	92.9± 15.4	90.6± 11.7

1) (No. of females with live pups / no. of pregnant females) x 100
2) (No. of implants / no. of corpora lutea) x 100
3) (No. of pups born / no. of implants) x 100
4) (No. of live pups born / no. of pups born) x 100
5) (No. of live pups on day 4 after birth / no. of live pups born) x 100
a) Includes pups found after the day of delivery
Significant difference from control group; *: $p \leq 0.05$ **: $p \leq 0.01$

Table 9 External observations on live pups(F1) from rats Exp. No. 4212 (115-130)

Dose level (mg/kg)	0	50	150	450
No. of litters	11	12	12	11
No. of live pups examined a)	171	170	179	159
No. of live pups with external anomalies	0	0	0	1
(%,Mean±S.D.)	-	-	-	0.6 ± 1.9
Type and incidence of external anomalies (%) 1)				
Nanooffspring	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.6)

1) (No. of live pups with external anomalies / no. of live pups examined) x 100
a) Excludes pups found after the day of delivery
Significant difference from control group; *: $p \leqq 0.05$ **: $p \leqq 0.01$

Table 10 Body weight change of pups(F1) from rats Exp. No. 4212 (115-130)

Unit : g

Dose level (mg/kg)		0		50		150		450	
No. of litters		11		12		12		11	
		Mean ± S.D.	(N)	Mean ± S.D.	(N)	Mean ± S.D.	(N)	Mean ± S.D.	(N)
Male									
Days after birth	0	6.4 ± 0.7	(11)	6.8 ± 0.7	(12)	6.7 ± 0.7	(12)	6.2 ± 0.5 a)	(11)
	4	8.6 ± 1.6	(11)	9.5 ± 1.3	(12)	9.3 ± 1.8	(12)	8.8 ± 1.0	(11)
Female									
Days after birth	0	6.1 ± 0.8 a)	(11)	6.4 ± 0.6	(12)	6.3 ± 0.6	(12)	5.8 ± 0.5 a)	(11)
	4	8.3 ± 1.6	(11)	9.1 ± 1.4	(12)	9.0 ± 1.6	(12)	8.1 ± 0.9	(11)

a) Excludes pups found after the day of delivery
Significant difference from control group; *: $p \leqq 0.05$ **: $p \leqq 0.01$

Table 11-1 Summary of gross findings of pups(F1) from rats(sacrificed) Exp. No. 4212 (115-130)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)		0	50	150	450
No. of pups necropsied		86	92	83	78
Organ	Findings				
HEMATOPOIETIC SYSTEM					
thymus	thymic remnant in the neck	5	3	0	2
DIGESTIVE SYSTEM					
liver	white patch/zone	0	0	1	0
	black patch/zone	0	0	0	1
	adhesion with diaphragma	0	1	0	0
	yellowish	0	0	1	0
	malformative nodule	0	0	0	1
URINARY SYSTEM					
kidney	dilated pelvis	1	0	1	0
	ectopic kidney	0	0	0	1
SPECIAL SENSE SYSTEM					
eye	reddish	0	0	0	1
INTEGUMENTARY SYSTEM					
skin	wound	0	0	3	0

Significant difference from control group; *: $p \leqq 0.05$ **: $p \leqq 0.01$

Table 11-2 Summary of gross findings of pups(F1) from rats(sacrificed) Exp. No. 4212 (115-130)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)		0	50	150	450
No. of pups necropsied		83	69	84	72
Organ	Findings				
HEMATOPOIETIC SYSTEM					
thymus	thymic remnant in the neck	0	1	0	0
INTEGUMENTARY SYSTEM					
skin	wound	0	0	3	0

Significant difference from control group; *: $p \leqq 0.05$ **: $p \leqq 0.01$