

最 終 報 告 書

4-クロロ-*o*-クレゾールのラットを用いる

28日間の反復投与毒性試験

(試験番号 94-058)

財団法人 畜産生物科学安全研究所

目次

要約	1
緒言	2
試験目的	2
試験材料および方法	
1. 被験物質	2
2. 供試動物および飼育条件	3
3. 投与量の設定、試験群の構成および投与方法	3
4. 観察および検査	
1) 一般状態観察	4
2) 体重および摂餌量測定	4
3) 尿検査	4
4) 血液学検査	5
5) 血液生化学検査	6
6) 病理学検査	
(1) 剖検および器官重量測定	7
(2) 病理組織学検査	7
5. 統計処理	7
試験結果	
1. 死亡および一般状態	8
2. 体重	8
3. 摂餌量	8
4. 尿所見	8
5. 血液学所見	9
6. 血液生化学所見	9
7. 剖検所見	9
8. 器官重量	9

9. 病理組織学所見	10
考察および結論	10
参考文献	12

添付資料

A. 図・群別平均値表

Figure	1	体重
Tables	1, 2	一般状態および死亡率
Tables	3, 4	体重
Tables	5, 6	摂餌量
Tables	7 ~ 10	尿所見
Tables	11 ~ 14	血液学所見
Tables	15 ~ 18	血液生化学所見
Tables	19 ~ 22	剖検所見
Tables	23 ~ 26	器官重量
Tables	27 ~ 30	病理組織学所見

要約

消毒剤や除草剤の合成原料等に用いられている既存化学物質、4-クロロ-*o*-クレゾール の28日間反復投与毒性試験を、SD系[Crj:CD(SD)] ラットを用い、0（対照）、15、60、250および1000 mg/kg/day用量の経口投与により実施した。動物数は1群雌雄各5匹とし、7群を設け、5群は投与期間終了後屠殺群、2群は対照および1000mg/kgの14日間回復群とした。

15および60mg/kg群では、被験物質の投与に起因する変化は認められなかった。250mg/kg群では、膀胱粘膜に上皮の過形成が雌雄に、前胃部に上皮の角化亢進および過形成による粘膜の肥厚が雄に認められた。また、雄の血清総ビリルビンおよび雌の腎臓相対重量は増加した。1000mg/kg群では、250mg/kg群で認められた変化に加えて、前胃部粘膜の肥厚が雌にも認められた。さらに、自発運動低下、深大呼吸、筋の弛緩、腹臥姿勢、流涎などの一般状態の変化および盲腸の拡張が雌雄に、体重増加抑制、尿タンパクおよびケトン体の減少、血清GPTの増加、副腎皮質細胞の空胞化が雄に、血清コリンエステラーゼの減少、肝細胞の腫大が雌に認められ、雄1匹と雌3匹は死亡した。これらの変化は、回復群においては回復あるいは回復傾向を示し、可逆的であることが確認された。

以上の結果から、4-クロロ-*o*-クレゾールは、ラットへの28日間反復経口投与により、主な毒性影響として、投与経路である消化管特に胃、排泄経路である膀胱、および肝臓に変化が認められ、腎臓および副腎に対する影響も認められた。無影響量は、60mg/kg/dayと推定された。

緒言

4-クロロ-*o*-クレゾール(CAS No. 1570-64-5)は、消毒剤や除草剤の合成原料等に用いられている化学物質である。本物質の毒性については、雄ラットへの単回および反復投与後の組織内残留量と病理組織学的変化の関連性を一部の器官について調べた報告¹⁾があるが、毒性学的性質の詳細は明らかにされていない。この試験は、厚生省の既存化学物質安全性点検事業の一環として実施したものである。

試験目的

4-クロロ-*o*-クレゾールをラットに28日間反復経口投与し、その一般毒性学的性質について検討する。

試験材料および方法

1. 被験物質 (Appendices 1~4)

被験物質4-クロロ-*o*-クレゾールは、分子量142.6、融点43~46℃の水にわずかに溶け、エタノール、エーテルに溶け易い、フェノール様の臭いのする褐色がかった結晶である。試験には、

の試薬[ロット番号 純度93.6

% (不純物として本物質の異性体3.3%、クレゾール1.5% 等を含む)]を入手し、冷暗(4℃)条件下で密栓保管し、使用した。本物質の詳細は、Appendix 1に示した。用いた被験物質を投与終了後に分析し、使用期間中安定であったことを確認した(Appendix 2)。本物質は油溶性であるため、溶媒として局方ゴマ油(宮澤薬品株式会社、ロット番号BB26)を用い、純度換算で所定の投与用量になるような濃度の溶液として調製し、使用時まで冷所(4℃)遮光下で密栓保管した。投与液中の被験物質は、均一、かつ、冷暗条件下で少なくとも7日間は安定であることが確認されている(Appendix 3)ので、投与液の使用期間は7日以内とし、5回にわたって調製した。1回目と5回目に調製した投与液については分析し、所定濃度で調製されていることを確認した(Appendix 4)。被験物質の分析のうち、原体の分析は

に委託して実施した。

2. 供試動物および飼育条件 (Appendices 5～7)

4週齢のSD系〔Crj:CD(SD)〕SPFラットを日本チャールス・リバー株式会社（神奈川県厚木市下古沢795）から搬入（雌雄各47匹）し、雄は6日、雌は7日間試験環境に馴化させ、その間に検疫を行い、発育が順調で一般健康状態の良好な雌雄各35匹を、5週齢で試験に供した。投与開始時の平均体重（体重範囲）は、雄152（145～159）g、雌142（133～147）gであった。

ラットは、馴化、投与および回復期間とも、温度 $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 10\%$ （温湿度の測定結果：Appendix 5）、換気回数10回以上/時（オールフレッシュエアー方式）、照明12時間（午前6時～午後6時）に設定したバリアーシステム動物室で、個体別にステンレス製金網ケージ（276W×426D×200H（mm））に収容し、これをステンレス製5段のラックに配して飼育した。飼料（日本農産工業株式会社、固型飼料ラボMRストック、ロット番号 94.09.72、94.10.77、汚染物質の分析結果：Appendix 6）および水（1 μm カートリッジフィルター濾過後紫外線照射した殺菌水道水、汚染物質の分析結果：Appendix 7）は、それぞれ給餌器および自動給水装置により自由摂取させた。動物の個体識別は、ラックおよびケージへの標識札貼付と耳パンチ法により行った。

動物室の温度・湿度測定結果、飼料・水の汚染物質分析結果などから、動物の飼育期間を通じて、試験成績の信頼性に影響を及ぼすと考えられる環境要因の変化はなかったものと判断された。

3. 投与量の設定(別添資料D)、試験群の構成および投与方法

4-クロロ-*o*-クレゾールのラットにおける急性経口LD₅₀値は、1194 mg/kgと報告¹⁾されている。投与量設定試験は、5週齢のSD系ラットを1群雌雄各4匹とし、0、10、30、100、300あるいは1000mg/kg用量の14日間反復経口投与により実施した。得られた結果は、別添資料Dに示した。1000mg/kgで雌雄とも自発運動低下、流涎、深大呼吸、筋弛緩、腹臥姿勢などの症状、体重増加の抑制傾向および摂餌量の減少傾向が認められた。尿検査、血液学検査および血液生化学検査では明かな変化は認められなかった。病理学検査では、300mg/kg以上で前胃部粘膜の肥厚が、1000mg/kgで肝臓重量の増加が、いずれも雌雄に認められた。

以上の結果から、本試験における投与量は、明かな毒性影響の発現が予想される1000mg/kg/dayを最高用量、毒性影響の認められないことが予想される15mg/kg/dayを低用量とし、これらの用量の間に250および60mg/kg/dayの2用量を設けた。

試験群の構成は、(1) 溶媒投与群(以下、対照群)、(2)4-クロロ-*o*-クレゾール 15mg/kg/day投

与群(15mg/kg群)、(3)同 60mg/kg/day投与群(60mg/kg群)、(4)同 250mg/kg/day投与群(250mg/kg群)、(5)同 1000mg/kg/day投与群(1000mg/kg群)の5群とし、1群雌雄各5匹を供した。ただし、対照群および1000mg/kg群については、投与期間終了後14日間の回復試験を行うため、別に1群雌雄各5匹から成る回復群を設けた。各群への動物の割り付けは、投与開始日の体重に基づく層化無作為抽出法を用いて行った。

投与方法は、投与液量を体重1kg当たり5mlとし、胃ソンドを装着した注射筒を用いて被験物質の0.321w/v%液(15 mg/kg群)、1.28w/v%液(60 mg/kg群)、5.34w/v%液(250 mg/kg群)あるいは21.4w/v%液(1000 mg/kg群)を、1日1回(午前中)、28日間にわたって経口投与した。各個体の投与液量は、至近日の測定体重に基づいて算出した。対照群には、溶媒を同様に投与した。

4. 観察および検査

観察期間は投与期間の28日間および回復群ではさらにそれに続く回復期間の14日間とし、次の観察および検査を実施した。

1) 一般状態観察

毎日、動物の生死、外観、行動等を観察した。

2) 体重および摂餌量測定

体重は、投与1日(投与初日の投与直前)、3日およびその後は週2回、3あるいは4日ごと、ならびに屠殺日あるいは死亡発見日に測定した。摂餌量は、毎週1回(雄は投与3、10、17、24日および投与終了後3、10日、雌は投与2、9、16、23日および投与終了後2、9日)、翌日までの24時間飼料消費量を測定した。測定は、電子上皿天秤(FY 3000:エー・アンド・デイ社、PL 3000:メトラー社)を用いて行った。

3) 尿検査

投与27日および投与終了後10日に、ラットを約3時間代謝ケージに収容して採尿し、外観の観察、比重の測定(屈折計:エルマ光学株式会社)、pH、潜血、タンパク、糖、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲン(以上、試験紙法:マイルス・三共株式会社、マルティスティックス®)および沈渣(ケンブリッジケミカルプロダクト社、URI-CBL®液で染色)を検査した。

4) 血液学検査

供試血液の採取は、投与期間および回復期間終了翌日における屠殺剖検時に行った。動物は前日の午後5時より除餌し、水のみを給与した。採血は、エーテル麻酔下で開腹して腹大動脈より行い、以下の項目を検査した。なお、採取した血液は3分割し、その一部は3.8%クエン酸ナトリウム溶液で凝固阻止処理して血漿を得、プロトロンビン時間および活性化部分トロンボプラスチン時間の測定に、一部は、EDTA-2K処理してその他の血液学検査に供した。

項目 (略号)	測定法	測定機器
①赤血球数 (RBC)	電気抵抗検出方式	多項目自動血球計数 装置 [E-4000: 東亜 医用電子(株)]
②血色素量 (Hb)	ラウリル硫酸ナトリウム- ヘモグロビン法	
③ヘマトクリット値 (Ht)	パルス検出方式	
④平均赤血球容積 (MCV)	計算値	
⑤平均赤血球血色素量 (MCH)	計算値	
⑥平均赤血球血色素濃度 (MCHC)	計算値	
⑦白血球数 (WBC)	電気抵抗検出方式	
⑧血小板数 (Plat.)	電気抵抗検出方式	
⑨網状赤血球数 (Ret.)	Brilliant cresyl blue 染色した塗抹標本の鏡検	
⑩白血球百分率	May-Grünwald-Giemsa	血液凝固自動測定 装置 (KC-10A: 米アメルング社)
好塩基球 (Baso.)	染色した塗抹標本の鏡検	
好酸球 (Eosin.)		
好中球 (Neutro.)		
桿状核 (Stab.)		
分節核 (Seg.)		
リンパ球 (Lymph.)		
単球 (Mono.)		
⑪プロトロンビン時間 (PT)	Quick一段法	
⑫活性化部分トロンボ プラスチン時間 (APTT)	エラジン酸活性化法	

5) 血液生化学検査

採取した血液の一部から血清を分離し、次の項目を測定した。

項目 (略号)	測定法	測定機器
① 総タンパク (T.P.)	Biuret法	生化学自動分析 装置 [JCA-VX- 1000型クリナ ライザー: 日本 電子(株)]
② アルブミン (Alb.)	BCG法	
③ A/G比 (A/G)	計算値	
④ 血糖 (Glu.)	酵素法 (GK ¹⁾ -G6PDH ²⁾ -UV系)	
⑤ トリグリセライド (T.G.)	酵素法 (LPL ³⁾ -GPO ⁴⁾ -POD ⁵⁾ 系)	
⑥ 総コレステロール (T-Cho.)	酵素法 (CES ⁶⁾ -COD ⁷⁾ -POD系)	
⑦ 総ビリルビン (T-Bil.)	Jendrassik法	
⑧ 尿素窒素 (BUN)	Urease-UV法	
⑨ クレアチニン (Crea.)	Jaffé 法	
⑩ GOT (GOT)	SSCC ⁸⁾ 法	
⑪ GPT (GPT)	SSCC 法	
⑫ γ -GTP (γ -GTP)	SSCC 法	
⑬ LDH (LDH)	SSCC 法	
⑭ ALP (ALP)	GSCC ⁹⁾ 法	
⑮ コリンエステラーゼ (ChE)	BTC ¹⁰⁾ -DTNB ¹¹⁾	
⑯ カルシウム (Ca)	OCPC 法	
⑰ 無機リン (P)	酵素法 (PNP ¹²⁾ -XOD ¹³⁾ -POD系)	
⑱ ナトリウム (Na)	イオン電極法	電解質自動分析 装置 [NAKL-1: 東亜電波工業(株)]
⑲ カリウム (K)	イオン電極法	
⑳ 塩素 (Cl)	イオン電極法	

1) グルコキナーゼ、2) グルコース 6 リン酸脱水素酵素、3) リボプロテインリパーゼ、
 4) グリセロリン酸酸化酵素、5) ペルオキシダーゼ、6) コレステロールエステラーゼ、
 7) コレステロールオキシダーゼ、8) スカンジナビア臨床化学会、9) ドイツ臨床化学会、
 10) プチリルチオコリン、11) 5,5-ジチオビス-2-ニトロ安息香酸、12) プリンヌクレオシドホス
 フォリラーゼ、13) キサンチンオキシダーゼ

6) 病理学検査

(1) 剖検および器官重量測定

死亡動物は発現後速やかに、計画殺動物は所定の投与期間あるいは回復期間終了翌日の採血に続いて放血屠殺し、剖検を行った。また、電子上皿天秤(AT200:メトラ社)を用いて、脳、心臓、胸腺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣/卵巣を秤量(絶対重量)し、また対体重比(相対重量)を算出した。

(2) 病理組織学検査

次の器官を採取し、10%中性リン酸緩衝ホルマリン液で固定し、保存した。

脳、下垂体、眼球、ハート腺、甲状腺(上皮小体を含む)、唾液腺、胸腺、気管、肺(気管支を含む)、心臓、舌、食道、胃、腸、肝臓、脾臓、副腎、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精囊、卵巣、子宮、膈、大動脈(胸部)、脊髓(頸膨大部、腰膨大部)、坐骨神経、骨・骨髓(胸骨、大腿骨)、リンパ節(頸部リンパ節、腸間膜リンパ節)、骨格筋(下腿三頭筋)、皮膚(背部)、乳腺(腹部)および肉眼的異常部位

病理組織学検査は、対照群および1000mg/kg群については、脳、下垂体、眼球、甲状腺(上皮小体を含む)、胸腺、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、胃、小腸(十二指腸・空腸・回腸)、大腸(盲腸・結腸・直腸)、脾臓、精巣/卵巣、膀胱、骨髓について検査した。15、60および250mg/kg群ならびに回復群については、毒性影響がうかがわれた雄では胃、副腎、膀胱、雌では肝臓、胃、膀胱について検査した。検査は、常法によりパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施して鏡検した。組織標本は、株式会社 組織科学研究所(東京都青梅市黒沢二丁目984番1号)に委託して作製した。

5. 統計処理

得られた平均値あるいは頻度について、対照群との間の有意差(危険率5%以下)を次の方法で検定した。3群以上の場合、定量的所見については Bartlett の分散検定を行い、分散が一樣な場合は一元配置の分散分析を行った。分散が一樣でない場合、白血球百分率および尿検査における定性的所見はKruskal-Wallisの順位検定を行った。それらの結果有意差を認めた場合、DunnettあるいはScheffé (群の大きさが異なる場合)の方法により対照群に対する各群の比較検定を行った。また、剖検および病理組織学所見については、 χ^2 検定を用いた。一方、2群の場合、定量的所見については F 検定を行い、その結果分散が一樣な場合はStudentの t 検定を、一樣で

ない場合は Aspin-Welch の t 検定を行った。また、白血球百分率および尿検査における定性的所見については Mann-Whitney の U 検定を、剖検および病理組織学所見については Fisher の直接確率法を用いた。

試験結果

1. 死亡および一般状態 (Tables 1, 2, Appendices 8, 9)

死亡については、1000mg/kgで、回復群の5匹を含む各10匹中雄の1匹（投与11日、回復群）および雌の3匹（投与7、16および22日、2匹は回復群）が死亡した。一般状態については、1000mg/kg群の雌雄で、自発運動低下、筋弛緩およびそれによると思われる無力性の歩行異常、腹臥姿勢、深大呼吸、流涎がほぼ全例に認められた。これらの症状は毎日の投与直後から概ね1～3時間認められ、翌日の投与時には回復していた。さらに、1000mg/kg群で、立毛、腹部膨満、眼瞼下垂、削痕が雌雄に、下腹部被毛の尿による汚染が雌に、いずれも低い頻度で認められた。250mg/kg以下の群では、投与に起因すると考えられる一般状態の変化は認められなかった。投与とは無関係と考えられる変化として、15mg/kg群の雄の1匹の下顎部に痂皮形成および脱毛が認められた。回復期間においては、回復群に異常は認められなかった。

2. 体重 (Figure 1, Tables 3, 4, Appendices 10, 11)

1000mg/kg群の雄で体重増加の抑制が認められ、投与7日以降の体重には対照群との間に有意差が認められた。250mg/kg群の雄および1000mg/kg群の雌にも体重増加の抑制傾向がうかがわれたが、有意な変化ではなかった。1000mg/kgの回復群においては、雄で投与終了後3日までは有意差が残るものの、それ以降は対照群に比べ有意差は認められなくなった。

3. 摂餌量 (Tables 5, 6, Appendices 12, 13)

各群の雌雄とも、有意な変化は認められなかった。1000mg/kg群の雄の摂餌量は投与1および2週において対照群に比べてやや少なかったが、統計学的有意差は認められなかった。

4. 尿所見 (Tables 7～10, Appendices 14～17)

タンパクおよびケトン体の有意な減少が1000mg/kg群の雄に認められた。同様の傾向は同群の雌

にもみられたが、有意な変化ではなかった。また、250mg/kg群の雄で、扁平上皮が有意に増加したが、用量依存的な変化ではなかった。1000mg/kgの回復群においては各検査所見に有意な変化は認められず、回復していた。

5. 血液学所見(Tables 11~14, Appendices 18~21, 背景データ: Appendices 38, 39)

各群の雌雄とも、各検査項目に有意な変化は認められなかった。

6. 血液生化学所見(Tables 15~18, Appendices 22~25, 背景データ: Appendices 38, 39)

有意な総ビリルビンの増加が、250mg/kg以上の群の雄に用量依存的に認められた。また、1000mg/kg群で、有意なGPTの増加が雄に、コリンエステラーゼの減少が雌に認められた。1000mg/kgの回復群においては各検査項目に有意な変化は認められず、回復していた。

7. 剖検所見(Tables 19~22, Appendices 26~29)

投与期間終了時生存動物においては、1000mg/kg群で、前胃部粘膜の軽度~中等度な肥厚が雄5匹、雌4匹の全例に認められ、雌雄各1匹は表面が粗造であった。また、盲腸の軽度な拡張が雄4匹、雌1匹に認められた。投与期間中に死亡した1000mg/kg群の雄1匹および雌3匹では、胃および腸のガス貯留による膨満が共通した所見で、特に雄と雌の2匹では風船様の外観を呈する重度な変化であった。さらに、前胃部粘膜の肥厚、表面粗造あるいは褐色点散在、肝臓および腎臓の暗色綫化、胸腺、脾臓あるいは雄の副生殖腺の萎縮などが認められた。回復群においては、異常は認められなかった。

8. 器官重量(Tables 23~26, Appendices 30~37)

雄においては、剖検直前の体重が対照群に比べて250mg/kg群は12%、1000mg/kg群は19%少なく、それに伴って両群の肝臓、腎臓、心臓および1000mg/kg群の脾臓は絶対重量が減少する傾向にあり、1000mg/kg群の心臓重量は有意に減少した。しかし、これら器官の相対重量には有意な変化は認められなかった。250mg/kgおよび1000mg/kg群の脳および精巣は、絶対重量に変化は認められなかったが相対重量では有意に増加した。また、副腎は、1000mg/kg群で相対重量の有意な増加が認められた。15mg/kg群においても有意な副腎の相対重量増加が認められたが、変化は軽度で、60および

250mg/kg群では有意な変化は認められず、用量依存的でなかった。一方、雌においては、体重に有意な変化は認められなかったが、いずれも有意な肝臓の相対重量増加が1000mg/kg群、腎臓の相対重量増加が250および1000mg/kg群に認められた。1000mg/kgの回復群においては、これらの変化は認められず回復していた。以上の変化とは別に、1000mg/kgの雌の回復群において、脳の絶対重量が対照群の平均値1.84gに対し1.78gとわずかに下回り、有意差が認められたが、これは両群とも測定値のバラツキが極めて小さかったためで、その差は約3%のわずかなものであった。

9. 病理組織学所見 (Tables 19~22, Photos 1~20, Appendices 26~29)

被験物質の投与に起因すると考えられる変化が、胃、膀胱、肝臓および副腎に認められた。投与期間終了後屠殺動物において、胃では、前胃部に重層扁平上皮の過形成および角化亢進による粘膜の肥厚が、250mg/kg群の雄1匹および1000mg/kg群の雌雄全例に認められた。膀胱では、上皮の過形成が、250および1000mg/kg群の雌雄の半数以上ないし全例に認められた。以上の変化に加えて、1000mg/kg群で、小葉中心性の軽度な肝細胞腫大が雌に、副腎皮質細胞の軽度な空胞化が雄に、いずれも約半数の動物で認められた。1000mg/kg群の投与期間中死亡した雄1匹および雌3匹においては、投与期間終了後屠殺動物で認められた変化がみられたほか、雄の例の肝臓には肝細胞の単細胞壊死、雌の全例の前胃部には粘膜上皮の変性および1例に潰瘍が認められた。また、雌雄とも全身諸器官にうっ血および萎縮性の変化が認められた。

回復期間終了後屠殺動物においては、雌雄とも前胃部および膀胱の変化は投与期間終了後屠殺動物に比べて軽減しており、また雄の副腎および雌の肝臓には異常は認められなかった。

以上の所見のほかにも、検査した各器官に異常が認められたが、いずれも散発的あるいは用量相関性のない変化で、自然発生病変と考えられる所見であった。

考察および結論

クロクロレゾールの毒性について、4-クロロ- α -クロレゾールについては、ラットを用いた28日間の反復経口投与毒性試験の結果が報告されており、400mg/kgで体重の有意な増加抑制が認められるが、一般状態、血液学検査、血液生化学検査および病理学検査では異常は認められず、NOELは200mg/kgと推定されている²⁾。

今回実施した、4-クロロ- α -クロレゾールのラットを用いた28日間の反復経口投与毒性試験では、

消化管、特に胃および膀胱の粘膜、肝臓、腎臓、副腎などに変化が発現した。

消化管に対する影響としては、前胃部粘膜の肥厚が、250mg/kg群の雄および1000mg/kg群の雌雄に認められた。この変化は、角化亢進を伴う重層扁平上皮の過形成によるもので、投与期間中の死亡動物においては、上皮の変性および潰瘍を認める例があった。また、盲腸の拡張が1000mg/kg群の雌雄に認められ、死亡動物では胃および腸がガスで膨満していた。

o-クレゾールには腐食性があり⁸⁾、4-クロロ-o-クレゾールについても、刺激性が強いことが知られている⁹⁾。さらに、4-クロロ-o-クレゾールは殺菌剤として用いられている物質で、これの経口投与により腸内細菌叢に対し影響し、盲腸などの拡張を引き起こすことは十分考えられる。したがって、消化管に対する影響は、主に本被験物質の局所刺激性および殺菌作用が関与して発現したものと考えられる^{6, 9)}。

クロロクレゾールの代謝について、大部分がグルクロン酸および硫酸抱合され、尿中排泄されることが、4-クロロ-o-クレゾールにおいて確認されている¹⁾。

膀胱粘膜にも上皮の過形成が250および1000mg/kg群の雌雄に認められた。この変化は排泄器官である腎臓を経て濃縮された尿中の主に代謝物の、膀胱粘膜への直接的な作用に対する組織の反応性増殖と解せられる。

なお、腎臓については、相対重量の増加が250および1000mg/kg群の雌に認められたが、病理組織学的には著変は認められず、影響としては、軽度なものと考えられる。

肝臓に対する影響については、肝細胞の腫大および肝臓相対重量の増加が1000mg/kg群の雌に認められた。雄の血清GPTおよび総ビリルビンの増加、雌のコリンエステラーゼの減少も、肝機能の異常を示唆する変化と考えられる。

4-クロロ-o-クレゾールは、NAD依存の脱水素酵素を抑制することにより、ラット肝ミトコンドリアの電子伝達系を阻害する¹⁾。これを投与したラットにおける組織内残留量と病理組織学的変化の関連性をみたHattulaら¹⁾の報告では、1200mg/kgの単回経口投与により、肝細胞に核濃縮や単細胞壊死が認められている。本試験で雄の死亡動物の肝臓に認められた単細胞壊死も、被験物質の投与に起因するものと判断される。

副腎では、1000mg/kg群の雄で相対重量が増加し、病理組織学的には皮質細胞の軽度な空胞化が観察された。空胞化は細胞内のリポイドの増加によるもので、被験物質の全般的な毒性によるストレスを反映した二次的な変化と推察される。

臨床観察で、1000mg/kg群の雌雄に一般状態の変化が認められ、自発運動低下、深大呼吸、腹臥姿勢、流涎などに加えて、筋弛緩およびそれによると思われる無力性の歩行異常が特徴的な症状として観察された。しかし、これらの症状の発現時間は毎日の投与後1～3時間と短く、投与の反復につれて蓄積的に症状が増強する傾向は認められなかった。体重は、1000mg/kg群の雄で増加抑制が認められ、同群の各10匹中雄1匹および雌3匹は死亡した。15および60mg/kg群では、各観察および検査を通じて、被験物質の投与に起因と考えられる変化は認められなかった。

以上の被験物質投与期間中あるいは投与終了後屠殺動物の観察および検査で認められた変化は、1000mg/kgの回復群においてはいずれも回復あるいは回復傾向にあり、可逆的な変化であることが確認された。

なお、投与期間終了前の尿検査で、ケトン体およびタンパクの減少が雄に認められたが、各個体の濃度はいずれも正常範囲のものであった。また、投与期間終了後の解剖で、最終体重が対照群に比べて少なかった250あるは1000mg/kg群の雄に、心臓の絶対重量減少や脳および精巣の相対重量増加が認められたが、これらの器官には病理組織学的な異常は認められず、低体重に伴う変化と判断された。

以上の結果から、4-クロロ-*o*-クレゾールは、ラットへの反復経口投与により、主な毒性影響として、投与経路である消化管特に胃、排泄経路である膀胱、および肝臓に変化が認められ、腎臓および副腎に対する影響も認められた。無影響量は、60mg/kg/dayと推定された。

参考文献

- 1) M. L. Hattula, H. Reunanen and A. V. Arstila, *Bull. Environm. Contam. Toxicol.*, 21, 492-497 (1979).
- 2) C. Madsen, P. H. Andersen, O. Meyer and G. Wurtzen, *Bull. Environm. Contam. Toxicol.*, 37, 651-654 (1986).
- 3) W. B. Deichmen and M. L. Keplieger, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 80, 233-240 (1944).
- 4) R. A. Lenga, "Sigma-Aldrich Library of Chemical Safety Data", 2nd ed., 1, Sigma-Aldrich, Milwaukee, 1988, p 807.
- 5) 今井 清、"毒性試験法講座 5-毒性病理学"、前川昭彦、林裕造編、地人書館、東京、1991, pp 127-135.
- 6) 小野寺威、"毒性試験法講座 15-医薬品"、福田英臣、秋元 健、坂口 孝編、地人書館、東京、1991, pp 37-38.
- 7) M. L. Richardson, "The Dictionary of Substances and their Effects", 2-C, Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1993, pp 332-334.

4-クロロ-*o*-クレゾールのラットを用いる

28日間の反復投与毒性試験

(試験番号 94-058)

最終報告書 添付資料 A

(図・群別平均値表)

財団法人 畜産生物科学安全研究所

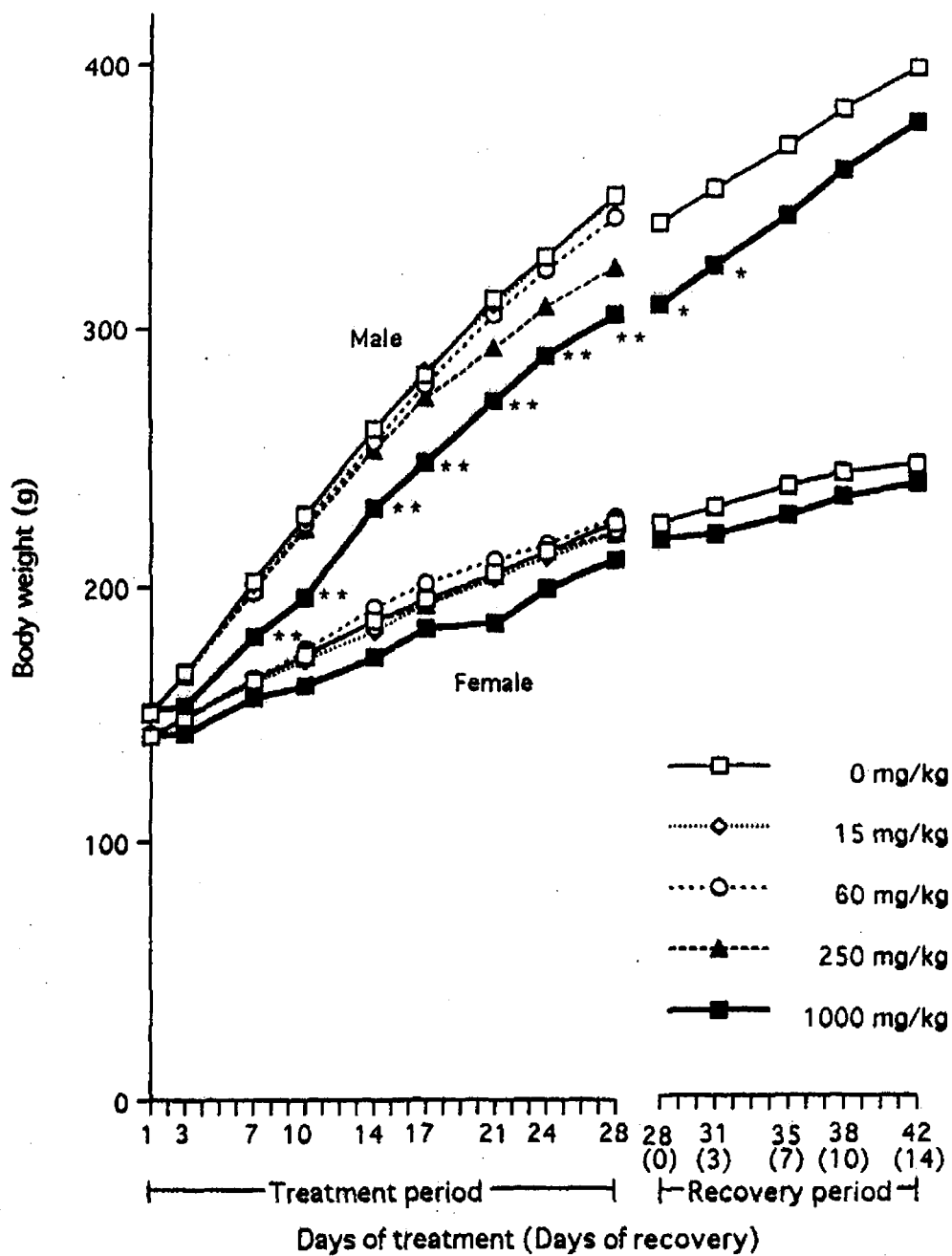


Fig. 1 Body weight changes of rats treated orally with 4-chloro- o -cresol in the 28-day repeat dose toxicity test

Significantly different from control(*:P<0.05; **:P<0.01)

Table 1 Incidence of clinical signs and mortality of male rats treated orally with 4-chloro-*o*-cresol in the 28-day repeat dose toxicity test

Dose(mg/kg)	Treatment period					Recovery period	
	0	15	60	250	1000	0	1000
No. of animals examined	10	5	5	5	9 (1) ^a (10) ^b	5	4
Mortality(%)	0	0	0	0	10	0	0
Clinical signs							
Scab and alopecia	0	1	0	0	0 (0) (0)	0	0
Decrease in locomotor activity	0	0	0	0	9 (1) (10)	0	0
Deep respiration	0	0	0	0	9 (1) (10)	0	0
Prone position	0	0	0	0	8 (1) (9)	0	0
Flaccidity	0	0	0	0	8 (1) (9)	0	0
Salivation	0	0	0	0	4 (1) (5)	0	0
Piloerection	0	0	0	0	1 (1) (2)	0	0
Emaciation	0	0	0	0	1 (1) (2)	0	0
Ptosis	0	0	0	0	0 (1) (1)	0	0
Abdominal distention	0	0	0	0	0 (1) (1)	0	0

a : Animal supposed to be killed after recovery period was found dead at the 11th day of treatment

b : Total

Table 2 Incidence of clinical signs and mortality of female rats treated orally with 4-chloro- o -cresol in the 28-day repeat dose toxicity test

Dose (mg/kg)	Treatment period						Recovery period	
	0	15	60	250	1000		0	1000
No. of animals examined	10	5	5	5	7 (3) ^a (10) ^b		5	3
Mortality (%)	0	0	0	0	30		0	0
Clinical signs								
Decrease in locomotor activity	0	0	0	0	7 (3) (10)		0	0
Deep respiration	0	0	0	0	7 (3) (10)		0	0
Prone position	0	0	0	0	7 (3) (10)		0	0
Flaccidity	0	0	0	0	7 (3) (10)		0	0
Salivation	0	0	0	0	6 (2) (8)		0	0
Piloerection	0	0	0	0	1 (2) (3)		0	0
Ptosis	0	0	0	0	2 (1) (3)		0	0
Abdominal distention	0	0	0	0	0 (2) (2)		0	0
Emaciation	0	0	0	0	2 (1) (3)		0	0
Soiled penineal region	0	0	0	0	2 (1) (3)		0	0

a : One animal supposed to be killed after treatment period and two animals after recovery period were found dead during treatment period

b : Total

Table 3

Body weights of male rats treated orally with 4-chloro-o-cresol
in the 28-day repeat dose toxicity test

(g)

Dose (mg/kg)	Day of treatment		7	10	14	17	21	24	28	Gain 1~28
	1	3								
0	151 ± 4 (10)	167 ± 4 (10)	202 ± 5 (10)	227 ± 8 (10)	260 ± 10 (10)	281 ± 12 (10)	311 ± 15 (10)	327 ± 16 (10)	350 ± 19 (10)	199 ± 18 (10)
15	152 ± 3 (5)	167 ± 5 (5)	201 ± 11 (5)	226 ± 13 (5)	260 ± 17 (5)	283 ± 21 (5)	309 ± 23 (5)	327 ± 26 (5)	349 ± 33 (5)	196 ± 31 (5)
60	152 ± 5 (5)	167 ± 6 (5)	198 ± 3 (5)	224 ± 4 (5)	255 ± 3 (5)	277 ± 6 (5)	305 ± 11 (5)	322 ± 9 (5)	342 ± 16 (5)	190 ± 20 (5)
250	151 ± 3 (5)	166 ± 5 (5)	199 ± 6 (5)	222 ± 5 (5)	252 ± 4 (5)	272 ± 4 (5)	292 ± 8 (5)	308 ± 9 (5)	323 ± 11 (5)	172 ± 13 (5)
1000	152 ± 4 (10)	154 ± 14 (10)	181** ± 13 (10)	196** ± 21 (10)	230** ± 8 (9)	247** ± 10 (9)	271** ± 12 (9)	289** ± 13 (9)	305** ± 17 (9)	154** ± 19 (9)

Dose (mg/kg)	Day of treatment (Day of recovery)					Gain 28~42
	28 (0)	31 (3)	35 (7)	38 (10)	42 (14)	
0	338 ± 15 (5)	351 ± 14 (5)	367 ± 14 (5)	381 ± 12 (5)	397 ± 13 (5)	59 ± 6 (5)
15						
60						
250						
1000	307* ± 17 (4)	322* ± 21 (4)	341 ± 22 (4)	358 ± 27 (4)	376 ± 29 (4)	69 ± 13 (4)

Each value is expressed as mean±S. D.

(n): No. of animals

* : Significantly different from control at 5% level of probability

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 4

Body weights of female rats treated orally with 4-chloro-o-cresol
in the 28-day repeat dose toxicity test

(g)										
Dose (mg/kg)	Day of treatment		7	10	14	17	21	24	28	Gain 1~28
	1	3								
0	142 ± 4 (10)	149 ± 8 (10)	164 ± 8 (10)	174 ± 10 (10)	187 ± 11 (10)	195 ± 10 (10)	205 ± 12 (10)	213 ± 14 (10)	224 ± 14 (10)	82 ± 10 (10)
15	142 ± 5 (5)	149 ± 8 (5)	163 ± 8 (5)	172 ± 9 (5)	183 ± 8 (5)	193 ± 8 (5)	203 ± 9 (5)	211 ± 11 (5)	220 ± 14 (5)	78 ± 12 (5)
60	143 ± 4 (5)	149 ± 5 (5)	165 ± 8 (5)	176 ± 12 (5)	192 ± 14 (5)	201 ± 14 (5)	210 ± 13 (5)	216 ± 13 (5)	226 ± 14 (5)	83 ± 12 (5)
250	142 ± 4 (5)	150 ± 4 (5)	165 ± 6 (5)	173 ± 8 (5)	187 ± 9 (5)	193 ± 9 (5)	204 ± 8 (5)	213 ± 11 (5)	220 ± 12 (5)	78 ± 9 (5)
1000	142 ± 4 (10)	143 ± 9 (10)	157 ± 7 (10)	162 ± 11 (9)	173 ± 7 (9)	184 ± 12 (8)	186 ± 19 (8)	199 ± 12 (7)	210 ± 12 (7)	69 ± 11 (7)
Dose (mg/kg)	Day of treatment (Day of recovery)					Gain 28~42				
	28(0)	31(3)	35(7)	38(10)	42(14)					
0	222 ± 12 (5)	228 ± 8 (5)	236 ± 12 (5)	241 ± 13 (5)	244 ± 12 (5)	22 ± 5 (5)				
15										
60										
250										
1000	216 ± 9 (3)	218 ± 7 (3)	225 ± 9 (3)	232 ± 8 (3)	237 ± 7 (3)	21 ± 3 (3)				

Each value is expressed as mean S.D.
(n); No. of animals

Table 5

Food consumption of male rats treated orally with 4-chloro-o-cresol
in the 28-day repeat dose toxicity test

(g/rat/day)

Dose (mg/kg)	No. of cages	Week of treatment				(Week of recovery)		
		1	2	3	4	4(0)	5(1)	6(2)
0	10	23 ± 1 (10)	26 ± 3 (10)	25 ± 2 (10)	25 ± 2 (10)	23 ± 1 (5)	29 ± 2 (5)	30 ± 2 (5)
15	5	23 ± 2 (5)	26 ± 2 (5)	27 ± 2 (5)	27 ± 3 (5)			
60	5	22 ± 2 (5)	25 ± 3 (5)	25 ± 3 (5)	25 ± 2 (5)			
250	5	23 ± 1 (5)	24 ± 2 (5)	25 ± 2 (5)	24 ± 1 (5)			
1000	10	20 ± 5 (10)	21 ± 8 (10)	25 ± 3 (9)	25 ± 3 (9)	26 ± 3 (4)	30 ± 1 (4)	29 ± 2 (4)

Each value is expressed as mean±S. D.
(n): No. of animals

Table 6

Food consumption of female rats treated orally with 4-chloro-o-cresol
in the 28-day repeat dose toxicity test

(g/rat/day)

Dose (mg/kg)	No. of cages	Week of treatment				(Week of recovery)		
		1	2	3	4	4(0)	5(1)	6(2)
0	10	18 ± 3 (10)	18 ± 3 (10)	17 ± 2 (10)	19 ± 3 (10)	19 ± 4 (5)	20 ± 2 (5)	21 ± 2 (5)
15	5	20 ± 2 (5)	19 ± 2 (5)	19 ± 2 (5)	19 ± 3 (5)			
60	5	20 ± 2 (5)	18 ± 3 (5)	19 ± 2 (5)	18 ± 3 (5)			
250	5	20 ± 1 (5)	18 ± 3 (5)	18 ± 1 (5)	19 ± 2 (5)			
1000	10	16 ± 4 (10)	17 ± 1 (9)	17 ± 3 (8)	19 ± 3 (7)	20 ± 1 (3)	22 ± 1 (3)	22 ± 1 (3)

Each value is expressed as mean±S.D.
(n): No. of animals

Table 7 - 1 Urinary findings of male rats treated orally with 4-chloro-*o*-cresol in the 28-day repeat dose toxicity test

< Treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Color					Cloudy		Specific gravity	pH								Protein				
		C	PY	Y	PB	B	-	+		5.0	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	-	±	+	++	+++	++++
0	10		4	5	1		2	8	± 1.061 0.011 ^{a)}			2	2	1	2	3			5	5		
15	5		1	3	1		1	4	± 1.057 0.007					2	1	2			3	2		
60	5	1	3		1		1	4	± 1.056 0.006				1		1	3			3	2		
250	5		1	1	1	2	2	3	± 1.060 0.008						1	4			3	2		
1000	9		2		3	4	1	8	± 1.059 0.009			2	2	3	2			5	4*			

Dose (mg/kg)	No. of animals	Glucose					Ketone body					Occult blood					Urobilinogen				Bilirubin			
		-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	0.1	1	2	4	-	+	++	+++
0	10	10						7	3			10					10				10			
15	5	5					1	3	1			4	1				5				5			
60	5	5					1	4				5					5				5			
250	5	5					1	3	1			4	1				5				5			
1000	9	9					9**					9					9				9			

a) : Mean ± S.D.

Color : C(colorless), PY(pale yellow), Y(yellow), PB(pale brown), B(brown)

Cloudy : - (negligible), + (cloudy)

Protein : - (negligible), ± (15~30mg/dl), + (30mg/dl), ++ (100mg/dl), +++ (300mg/dl), ++++ (1000mg/dl)

Glucose : - (negligible), ± (0.1g/dl), + (0.25g/dl), ++ (0.5g/dl), +++ (1g/dl)

Ketone body : - (negligible), ± (5mg/dl), + (15mg/dl), ++ (40mg/dl), +++ (80mg/dl)

Occult blood : - (negligible), ± (trace), + (slight), ++ (moderate), +++ (marked)

Urobilinogen : Ehrlich unit/dl

Bilirubin : - (negligible), + (slight), ++ (moderate), +++ (marked)

* : Significantly different from control at 5% level of probability

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 7 - 2

Urinary findings of male rats treated orally with 4-chloro-*o*-cresol
in the 28-day repeat dose toxicity test

< Treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Erythrocytes				Leukocytes				Mg				Crystals				Ams			
		-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++
0	10	10				10				2		2	6	10				10			
15	5	5				5				1	1	1	2	5				5			
60	5	5				5				1		1	3	5				5			
250	5	5				4	1				3		2	5				5			
1000	9	9				9					2	3	4	9				9			

Dose (mg/kg)	No. of animals	Epithelial cells						Casts						Fat globules		
		Sq			R			S			G			H		
		-	+	++	-	+	++	-	+	++	-	+	++	-	+	++
0	10	10			10			10			10			10		
15	5	5			5			5			5			5		
60	5	4	1	5	5			5			5			5		
250	5	2	3*	5	5			5			5			5		
1000	9	9			9			9			9			9		

- : Not observed; + : A few in some fields; ++ : A few in all fields; +++ : Many in all fields

Crystals

Mg(ammonium magnesium phosphate)

Ca(calcium phosphate)

Ams(amorphous)

Epithelial cells

Sq(squamous)

R(round)

S(spindle)

Casts

G(granule)

H(hyaline)

W(waxy)

* : Significantly different from control at 5% level of probability

Table 8 - 1 Urinary findings of female rats treated orally with 4-chloro-*o*-cresol in the 28-day repeat dose toxicity test

< Treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Color				Cloudy		Specific gravity	pH								Protein					
		C	PY	Y	PB	B	-		+	5.0	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	-	±	+	++	+++	++++
0	10		6	3	1		4	6	± 1.064 0.020		2	2	3		2	1	1	2	3	4		
15	5		2	3			2	3	± 1.064 0.016		1			1		3			4	1		
60	5		1	4			1	4	± 1.072 0.006		1				4			1	3	1		
250	5		1			4	2	3	± 1.069 0.005				1		1	3			4	1		
1000	7		1	1	3	2	1	6	± 1.065 0.008		1		2	1	3			2	5			

Dose (mg/kg)	No. of animals	Glucose					Ketone body					Occult blood					Urobilinogen				Bilirubin			
		-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	0.1	1	2	4	-	+	++	+++
0	10	10					5	5				10					10				10			
15	5	5					3	2				5					5				5			
60	5	5					4	1				5					5				5			
250	5	5					4	1				5					5				5			
1000	7	7					7					7					7				7			

a) : Mean ± S.D.

Color : C(colorless), PY(pale yellow), Y(yellow), PB(pale brown), B(brown)

Cloudy : -(negligible), +(cloudy)

Protein : -(negligible), ±(15~30mg/dl), +(30mg/dl), ++(100mg/dl), +++(300mg/dl), ++++(1000mg/dl)

Glucose : -(negligible), ±(0.1g/dl), +(0.25g/dl), ++(0.5g/dl), +++(1g/dl)

Ketone body : -(negligible), ±(5mg/dl), +(15mg/dl), ++(40mg/dl), +++(80mg/dl)

Occult blood : -(negligible), ±(trace), +(slight), ++(moderate), +++(marked)

Urobilinogen : Ehrlich unit/dl

Bilirubin : -(negligible), +(slight), ++(moderate), +++(marked)

Table 8 - 2

Urinary findings of female rats treated orally with 4-chloro-*o*-cresol
in the 28-day repeat dose toxicity test

< Treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Erythrocytes				Leukocytes				Crystals				AMS			
		-	+	++	+++	-	+	++	+++	Mg				Ca			
0	10	10				10				2	4	3	1	10			10
15	5	5				5				1	1	2	1	5			5
60	5	5				5				1		1	3	5			5
250	5	5				5						1	4	5			5
1000	7	7				7				1	1	5		7			7

Dose (mg/kg)	No. of animals	Epithelial cells						Casts						Fat globules		
		Sq			R			S			G			H		
0	10	10			10			10			10			10		
15	5	5			5			5			5			5		
60	5	5			5			5			5			5		
250	5	4	1	5			5			5	5		5			5
1000	7	5	2	7			7			7	7		7			7

- : Not observed; + : A few in some fields; ++ : A few in all fields; +++ : Many in all fields

Crystals

Mg(ammonium magnesium phosphate)

Ca(calcium phosphate)

Ams(amorphous)

Epithelial cells

Sq(squamous)

R(round)

S(spindle)

Casts

G(granule)

H(hyaline)

W(waxy)

Table 9 - 1 Urinary findings of male rats treated orally with 4-chloro-*o*-cresol in the 28-day repeat dose toxicity test

< Recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Color					Cloudy		Specific gravity	pH							Protein					
		C	PY	Y	PB	B	-	+		5.0	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	-	±	+	++	+++	++++
0	5		3	1	1			5	1.050 _{a)} ± 0.010				1	2	1	1		1		4		
1000	4		1	3				4	1.055 ± 0.009				1	1		2		2		1	1	

Dose (mg/kg)	No. of animals	Glucose					Ketone body					Occult blood					Urobilinogen				Bilirubin			
		-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	0.1	1	2	4	-	+	++	+++
0	5	5						1	4			5					5				5			
1000	4	4						3	1			4					4				4			

a) : Mean ± S.D.

Color : C(colorless), PY(pale yellow), Y(yellow), PB(pale brown), B(brown)

Cloudy : - (negligible), + (cloudy)

Protein : - (negligible), ± (15~30mg/dl), + (30mg/dl), ++ (100mg/dl), +++ (300mg/dl), ++++ (1000mg/dl)

Glucose : - (negligible), ± (0.1g/dl), + (0.25g/dl), ++ (0.5g/dl), +++ (1g/dl)

Ketone body : - (negligible), ± (5mg/dl), + (15mg/dl), ++ (40mg/dl), +++ (80mg/dl)

Occult blood : - (negligible), ± (trace), + (slight), ++ (moderate), +++ (marked)

Urobilinogen : Ehrlich unit/dl

Bilirubin : - (negligible), + (slight), ++ (moderate), +++ (marked)

Table 9 - 2

Urinary findings of male rats treated orally with 4-chloro-o-cresol
in the 28-day repeat dose toxicity test

< Recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Erythrocytes				Leukocytes				Crystals				Ams			
		-	+	++	+++	-	+	++	+++	Mg				Ca			
0	5	5				4	1			3	2			5			5
1000	4	4				4				1	1	2		4			4

Dose (mg/kg)	No. of animals	Epithelial cells						Casts						Fat globules		
		Sq			R			S			G			H		
0	5	5			5			5			5			5		
1000	4	4			4			4			4			4		

- : Not observed; + : A few in some fields; ++ : A few in all fields; +++ : Many in all fields

Crystals Epithelial cells Casts

Mg(ammonium magnesium phosphate) Sq(squamous) G(granule)

Ca(calcium phosphate) R(round) H(hyaline)

Ams(amorphous) S(spindle) W(waxy)

Table 10 - 1 Urinary findings of female rats treated orally with 4-chloro-*o*-cresol in the 28-day repeat dose toxicity test

< Recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Color					Cloudy		Specific gravity	pH							Protein					
		C	PY	Y	PB	B	-	+		5.0	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	-	±	+	++	+++	++++
0	5		3		2		1	4	1.060 ^{a)} ± 0.021		2	1				2	1	1	3			
1000	3			3			2	1	1.041 ± 0.017							3	1	2				

Dose (mg/kg)	No. of animals	Glucose					Ketone body					Occult blood					Urobilinogen				Bilirubin			
		-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	0.1	1	2	4	-	+	++	+++
0	5	5					2	3				4	1				5				5			
1000	3	3					3					3					3				3			

a) : Mean ± S.D.

Color : C(colorless), PY(pale yellow), Y(yellow), PB(pale brown), B(brown)

Cloudy : - (negligible), + (cloudy)

Protein : - (negligible), ± (15~30mg/dl), + (30mg/dl), ++ (100mg/dl), +++ (300mg/dl), ++++ (1000mg/dl)

Glucose : - (negligible), ± (0.1g/dl), + (0.25g/dl), ++ (0.5g/dl), +++ (1g/dl)

Ketone body : - (negligible), ± (5mg/dl), + (15mg/dl), ++ (40mg/dl), +++ (80mg/dl)

Occult blood : - (negligible), ± (trace), + (slight), ++ (moderate), +++ (marked)

Urobilinogen : Ehrlich unit/dl

Bilirubin : - (negligible), + (slight), ++ (moderate), +++ (marked)

Table 10 - 2

Urinary findings of female rats treated orally with 4-chloro-*o*-cresol
in the 28-day repeat dose toxicity test

< Recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Erythrocytes				Leukocytes				Crystals											
										Mg				Ca				Ams			
		-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++
0	5	5				4	1			1	1	1	2	5				5			
1000	3	3				3					1	2		3				3			

Dose (mg/kg)	No. of animals	Epithelial cells						Casts						Fat globules		
		Sq		R		S		G		H		W				
		-	+	++	-	+	++	-	+	-	+	-	+	-	+	++
0	5	1	4		5			5		5		5		5		
1000	3		3		3			3		3		3		3		

- : Not observed; + : A few in some fields; ++ : A few in all fields; +++ : Many in all fields

Crystals Epithelial cells Casts

Mg(ammonium magnesium phosphate) Sq(squamous) G(granule)

Ca(calcium phosphate) R(round) H(hyaline)

Ams(amorphous) S(spindle) W(waxy)

Table 11

Hematological findings of male rats treated orally with 4-chloro-o-cresol
in the 28-day repeat dose toxicity test

< After treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	RBC ($10^6/\mu\text{l}$)	Hb (g/dl)	Ht (%)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (%)	Ret. (%)	PT (sec)	APTT (sec)
0	5	740 $\pm$ 38	15.5 $\pm$ 0.5	43.9 $\pm$ 1.5	60 $\pm$ 2	21.0 $\pm$ 0.5	35.4 $\pm$ 0.2	29 $\pm$ 9	12.8 $\pm$ 0.2	16.8 $\pm$ 0.8
15	5	758 $\pm$ 34	15.4 $\pm$ 1.1	44.2 $\pm$ 2.4	59 $\pm$ 1	20.3 $\pm$ 0.7	34.8 $\pm$ 0.8	31 $\pm$ 8	12.9 $\pm$ 0.3	16.3 $\pm$ 0.4
60	5	773 $\pm$ 26	15.3 $\pm$ 0.3	44.0 $\pm$ 0.8	57 $\pm$ 2	19.8 $\pm$ 0.7	34.8 $\pm$ 0.5	27 $\pm$ 6	12.7 $\pm$ 0.3	16.8 $\pm$ 0.7
250	5	779 $\pm$ 35	15.7 $\pm$ 0.4	45.1 $\pm$ 1.2	58 $\pm$ 2	20.3 $\pm$ 1.1	34.9 $\pm$ 0.8	27 $\pm$ 3	13.0 $\pm$ 0.3	17.1 $\pm$ 0.5
1000	5	790 $\pm$ 38	16.3 $\pm$ 0.5	45.6 $\pm$ 1.4	58 $\pm$ 1	20.7 $\pm$ 0.8	35.8 $\pm$ 0.9	32 $\pm$ 8	13.1 $\pm$ 0.5	17.3 $\pm$ 1.0

Dose (mg/kg)	No. of animals	WBC ($10^2/\mu\text{l}$)	Differential leukocyte counts (%)							Plat. ($10^4/\mu\text{l}$)
			Baso.	Eosin.	Neutro.		Lymph.	Mono.	Other	
					Stab.	Seg.				
0	5	70 $\pm$ 16	0 $\pm$ 0	2 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	15 $\pm$ 5	82 $\pm$ 7	1 $\pm$ 2	0 $\pm$ 0	160 $\pm$ 12
15	5	80 $\pm$ 23	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	20 $\pm$ 13	79 $\pm$ 12	1 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	159 $\pm$ 17
60	5	82 $\pm$ 37	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 1	1 $\pm$ 1	16 $\pm$ 8	81 $\pm$ 9	2 $\pm$ 2	0 $\pm$ 0	152 $\pm$ 17
250	5	77 $\pm$ 21	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	13 $\pm$ 4	86 $\pm$ 4	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	140 $\pm$ 19
1000	5	90 $\pm$ 14	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	12 $\pm$ 5	86 $\pm$ 5	1 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	147 $\pm$ 12

Each value is expressed as mean $\pm$ S. D.

Table 12

Hematological findings of female rats treated orally with 4-chloro-o-cresol
in the 28-day repeat dose toxicity test

< After treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	RBC (10 ⁶ /μl)	Hb (g/dl)	Ht (%)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (%)	Ret. (%)	PT (sec)	APTT (sec)
0	5	771 ± 25	15.7 ± 0.6	43.4 ± 1.8	56 ± 1	20.4 ± 0.4	36.2 ± 0.7	20 ± 6	13.2 ± 0.4	16.9 ± 1.7
15	5	767 ± 26	15.7 ± 0.6	43.8 ± 1.6	57 ± 1	20.5 ± 0.4	35.9 ± 0.4	20 ± 7	13.0 ± 0.1	16.0 ± 0.9
60	5	756 ± 38	15.3 ± 0.5	43.0 ± 1.4	57 ± 2	20.3 ± 0.8	35.6 ± 0.2	21 ± 5	13.2 ± 0.2	17.1 ± 0.4
250	5	763 ± 37	15.2 ± 0.6	42.7 ± 1.4	56 ± 1	20.0 ± 0.4	35.7 ± 0.6	23 ± 5	13.3 ± 0.1	16.4 ± 0.8
1000	4	783 ± 31	15.5 ± 0.1	43.5 ± 0.5	56 ± 2	19.8 ± 0.6	35.7 ± 0.1	22 ± 11	13.2 ± 0.4	17.7 ± 0.4

Dose (mg/kg)	No. of animals	WBC (10 ² /μl)	Differential leukocyte counts (%)							Plat. (10 ⁴ /μl)
			Baso.	Eosin.	Neutro.		Lymph.	Mono.	Other	
					Stab.	Seg.				
0	5	42 ± 14	0 ± 0	2 ± 1	0 ± 0	14 ± 6	82 ± 5	1 ± 1	0 ± 0	135 ± 17
15	5	45 ± 13	0 ± 0	2 ± 2	0 ± 0	15 ± 7	82 ± 8	1 ± 0	0 ± 0	126 ± 8
60	5	38 ± 7	0 ± 0	2 ± 1	0 ± 0	12 ± 3	86 ± 4	1 ± 1	0 ± 0	152 ± 15
250	5	43 ± 15	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 0	16 ± 4	83 ± 4	1 ± 1	0 ± 0	138 ± 11
1000	4	37 ± 8	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	14 ± 11	86 ± 11	1 ± 1	0 ± 0	145 ± 6

Each value is expressed as me. ± S.D.

Table 13

Hematological findings of male rats treated orally with 4-chloro-o-cresol
in the 28-day repeat dose toxicity test

< After recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	RBC (10 ⁴ /μl)	Hb (g/dl)	Ht (%)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (%)	Ret. (‰)	PT (sec)	APTT (sec)
0	5	812 ± 53	15.6 ± 0.6	45.2 ± 1.6	56 ± 2	19.2 ± 0.7	34.4 ± 0.4	26 ± 8	13.2 ± 0.6	16.9 ± 1.2
1000	4	763 ± 22	14.7 ± 0.4	43.1 ± 0.8	57 ± 1	19.3 ± 0.6	34.2 ± 0.6	30 ± 7	13.1 ± 0.4	17.3 ± 0.7

Dose (mg/kg)	No. of animals	WBC (10 ² /μl)	Differential leukocyte counts (%)							Plat. (10 ⁴ /μl)
			Baso.	Eosin.	Neutro.		Lymph.	Mono.	Other	
					Stab.	Seg.				
0	5	74 ± 20	0 ± 0	0 ± 1	0 ± 0	17 ± 6	82 ± 6	1 ± 1	0 ± 0	141 ± 13
1000	4	77 ± 27	0 ± 0	0 ± 1	0 ± 0	13 ± 5	86 ± 5	1 ± 1	0 ± 0	140 ± 14

Each value is expressed as mean $\pm$ S. D.

Table 14

Hematological findings of female rats treated orally with 4-chloro-o-cresol
in the 28-day repeat dose toxicity test

< After recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	RBC (10 ⁴ /μl)	Hb (g/dl)	Ht (%)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (%)	Ret. (%)	PT (sec)	APTT (sec)
0	5	793 ± 28	15.4 ± 0.3	44.1 ± 0.8	56 ± 1	19.4 ± 0.4	34.9 ± 0.2	25 ± 6	13.2 ± 0.2	15.7 ± 0.3
1000	3	762 ± 66	15.0 ± 1.0	42.6 ± 2.8	56 ± 1	19.7 ± 0.6	35.2 ± 0.2	26 ± 2	13.2 ± 0.4	16.7 ± 1.0

Dose (mg/kg)	No. of animals	WBC (10 ² /μl)	Differential leukocyte counts (%)							Plat. (10 ⁴ /μl)
			Baso.	Eosin.	Neutro.		Lymph.	Mono.	Other	
					Stab.	Seg.				
0	5	49 ± 8	0 ± 0	1 ± 2	0 ± 0	10 ± 2	87 ± 3	2 ± 1	0 ± 0	138 ± 8
1000	3	47 ± 9	0 ± 0	2 ± 3	0 ± 0	10 ± 3	87 ± 6	1 ± 1	0 ± 0	134 ± 26

Each value is expressed as mean $\pm$ S.D.

Table 15

Biochemical findings of male rats treated orally with 4-chloro-o-cresol
in the 28-day repeat dose toxicity test

< After treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	LDH (IU/l)	GOT (IU/l)	GPT (IU/l)	ALP (IU/l)	γ -GTP (IU/l)	ChE (IU/l)	T.P. (g/dl)	Alb. (g/dl)	A/G	T-Chol. (mg/dl)
0	5	295 $\pm$ 105	61 $\pm$ 7	29 $\pm$ 3	431 $\pm$ 103	0.26 $\pm$ 0.19	54 $\pm$ 28	6.01 $\pm$ 0.18	3.05 $\pm$ 0.11	1.03 $\pm$ 0.07	92 $\pm$ 14
15	5	278 $\pm$ 112	61 $\pm$ 10	29 $\pm$ 7	406 $\pm$ 86	0.39 $\pm$ 0.34	32 $\pm$ 8	5.98 $\pm$ 0.29	2.87 $\pm$ 0.35	0.94 $\pm$ 0.20	82 $\pm$ 16
60	5	386 $\pm$ 287	59 $\pm$ 6	31 $\pm$ 2	558 $\pm$ 185	0.19 $\pm$ 0.08	33 $\pm$ 15	6.05 $\pm$ 0.24	2.95 $\pm$ 0.10	0.95 $\pm$ 0.07	83 $\pm$ 11
250	5	268 $\pm$ 24	64 $\pm$ 5	35 $\pm$ 6	451 $\pm$ 117	0.36 $\pm$ 0.25	36 $\pm$ 18	6.03 $\pm$ 0.13	3.03 $\pm$ 0.14	1.02 $\pm$ 0.13	90 $\pm$ 24
1000	5	258 $\pm$ 57	62 $\pm$ 9	41** $\pm$ 6	552 $\pm$ 91	0.38 $\pm$ 0.25	40 $\pm$ 18	5.98 $\pm$ 0.23	3.03 $\pm$ 0.20	1.04 $\pm$ 0.12	90 $\pm$ 20
Dose (mg/kg)	No. of animals	T.G. (mg/dl)	Glu. (mg/dl)	T-Bil. (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Crea. (mg/dl)	Ca (mg/dl)	P (mg/dl)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Cl (mEq/l)
0	5	94 $\pm$ 19	142 $\pm$ 15	0.33 $\pm$ 0.02	14.6 $\pm$ 1.7	0.54 $\pm$ 0.02	10.0 $\pm$ 0.1	8.5 $\pm$ 0.3	140 $\pm$ 1	4.59 $\pm$ 0.18	104 $\pm$ 1
15	5	56 $\pm$ 8	160 $\pm$ 26	0.30 $\pm$ 0.03	14.3 $\pm$ 1.3	0.52 $\pm$ 0.07	9.9 $\pm$ 0.4	8.8 $\pm$ 0.5	141 $\pm$ 1	4.80 $\pm$ 0.37	104 $\pm$ 1
60	5	103 $\pm$ 39	141 $\pm$ 11	0.35 $\pm$ 0.02	13.8 $\pm$ 2.0	0.50 $\pm$ 0.02	10.0 $\pm$ 0.3	8.9 $\pm$ 0.3	141 $\pm$ 1	4.72 $\pm$ 0.09	105 $\pm$ 1
250	5	125 $\pm$ 54	139 $\pm$ 7	0.38* $\pm$ 0.01	13.3 $\pm$ 1.7	0.49 $\pm$ 0.03	10.1 $\pm$ 0.3	8.4 $\pm$ 1.0	140 $\pm$ 1	4.68 $\pm$ 0.11	105 $\pm$ 2
1000	5	85 $\pm$ 57	144 $\pm$ 13	0.41** $\pm$ 0.04	15.4 $\pm$ 1.4	0.52 $\pm$ 0.03	10.4 $\pm$ 0.3	8.9 $\pm$ 0.3	141 $\pm$ 1	4.48 $\pm$ 0.39	103 $\pm$ 1

Each value is expressed as mean $\pm$ S.D.

* : Significantly different from control at 5% level of probability

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 16

Biochemical findings of female rats treated orally with 4-chloro-o-cresol
in the 28-day repeat dose toxicity test

< After treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	LDH (IU/l)	GOT (IU/l)	GPT (IU/l)	ALP (IU/l)	γ -GTP (IU/l)	ChE (IU/l)	T.P. (g/dl)	Alb. (g/dl)	A/G	T-Chol. (mg/dl)
0	5	501 $\pm$ 267	63 $\pm$ 6	22 $\pm$ 4	269 $\pm$ 44	0.54 $\pm$ 0.37	263 $\pm$ 34	6.45 $\pm$ 0.14	3.32 $\pm$ 0.12	1.06 $\pm$ 0.07	85 $\pm$ 28
15	5	343 $\pm$ 197	63 $\pm$ 9	25 $\pm$ 6	270 $\pm$ 78	0.40 $\pm$ 0.15	230 $\pm$ 69	6.45 $\pm$ 0.15	3.26 $\pm$ 0.17	1.03 $\pm$ 0.13	108 $\pm$ 14
60	5	399 $\pm$ 210	62 $\pm$ 8	27 $\pm$ 3	366 $\pm$ 90	0.44 $\pm$ 0.38	267 $\pm$ 51	6.37 $\pm$ 0.27	3.20 $\pm$ 0.30	1.02 $\pm$ 0.12	93 $\pm$ 19
250	5	332 $\pm$ 99	68 $\pm$ 10	26 $\pm$ 5	339 $\pm$ 52	0.42 $\pm$ 0.20	219 $\pm$ 33	6.23 $\pm$ 0.22	3.10 $\pm$ 0.10	0.99 $\pm$ 0.06	91 $\pm$ 28
1000	4	274 $\pm$ 98	61 $\pm$ 6	28 $\pm$ 3	333 $\pm$ 67	0.33 $\pm$ 0.18	131* $\pm$ 42	6.25 $\pm$ 0.14	3.14 $\pm$ 0.22	1.02 $\pm$ 0.13	103 $\pm$ 14
Dose (mg/kg)	No. of animals	T.G. (mg/dl)	Glu. (mg/dl)	T-Bil. (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Crea. (mg/dl)	Ca (mg/dl)	P (mg/dl)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Cl (mEq/l)
0	5	27 $\pm$ 5	129 $\pm$ 12	0.25 $\pm$ 0.02	18.7 $\pm$ 2.0	0.59 $\pm$ 0.07	10.0 $\pm$ 0.4	6.7 $\pm$ 0.9	142 $\pm$ 1	4.32 $\pm$ 0.18	107 $\pm$ 1
15	5	55 $\pm$ 16	139 $\pm$ 29	0.22 $\pm$ 0.03	16.5 $\pm$ 2.0	0.50 $\pm$ 0.04	10.1 $\pm$ 0.1	6.7 $\pm$ 0.4	142 $\pm$ 1	4.41 $\pm$ 0.18	106 $\pm$ 2
60	5	42 $\pm$ 24	124 $\pm$ 12	0.24 $\pm$ 0.03	18.7 $\pm$ 2.9	0.53 $\pm$ 0.07	9.9 $\pm$ 0.2	6.3 $\pm$ 0.6	141 $\pm$ 1	4.51 $\pm$ 0.21	106 $\pm$ 1
250	5	38 $\pm$ 16	130 $\pm$ 12	0.21 $\pm$ 0.02	15.6 $\pm$ 2.2	0.51 $\pm$ 0.04	9.6 $\pm$ 0.2	6.4 $\pm$ 1.0	141 $\pm$ 1	4.39 $\pm$ 0.20	106 $\pm$ 1
1000	4	39 $\pm$ 19	129 $\pm$ 7	0.26 $\pm$ 0.02	18.2 $\pm$ 2.3	0.50 $\pm$ 0.07	10.0 $\pm$ 0.3	7.0 $\pm$ 1.4	140 $\pm$ 2	4.30 $\pm$ 0.15	104 $\pm$ 2

Each value is expressed as mean $\pm$ S.D.

* : Significantly different from control at 5% level of probability.

Table 17

Biochemical findings of male rats treated orally with 4-chloro-o-cresol
in the 28-day repeat dose toxicity test

< After recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	LDH (IU/l)	GOT (IU/l)	GPT (IU/l)	ALP (IU/l)	γ -GTP (IU/l)	ChE (IU/l)	T.P. (g/dl)	Alb. (g/dl)	A/G	T-Chol. (mg/dl)
0	5	284 $\pm$ 117	61 $\pm$ 9	30 $\pm$ 2	354 $\pm$ 18	0.58 $\pm$ 0.22	24 $\pm$ 9	6.29 $\pm$ 0.12	2.98 $\pm$ 0.25	0.91 $\pm$ 0.12	96 $\pm$ 19
1000	4	218 $\pm$ 15	61 $\pm$ 2	30 $\pm$ 4	325 $\pm$ 49	0.34 $\pm$ 0.37	38 $\pm$ 11	6.13 $\pm$ 0.16	2.99 $\pm$ 0.16	0.95 $\pm$ 0.06	89 $\pm$ 10
Dose (mg/kg)	No. of animals	T.G. (mg/dl)	Glu. (mg/dl)	T-Bil. (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Crea. (mg/dl)	Ca (mg/dl)	P (mg/dl)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Cl (mEq/l)
0	5	100 $\pm$ 35	162 $\pm$ 26	0.29 $\pm$ 0.02	16.8 $\pm$ 3.6	0.54 $\pm$ 0.04	10.1 $\pm$ 0.2	7.5 $\pm$ 0.6	141 $\pm$ 1	4.74 $\pm$ 0.27	105 $\pm$ 1
1000	4	73 $\pm$ 33	145 $\pm$ 4	0.30 $\pm$ 0.04	16.5 $\pm$ 0.1	0.53 $\pm$ 0.04	10.2 $\pm$ 0.1	7.7 $\pm$ 0.2	140 $\pm$ 1	4.79 $\pm$ 0.32	104 $\pm$ 1

Each value is expressed as mean $\pm$ S.D.

Table 18

Biochemical findings of female rats treated orally with 4-chloro-o-cresol
in the 28-day repeat dose toxicity test

< After recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	LDH (IU/l)	GOT (IU/l)	GPT (IU/l)	ALP (IU/l)	γ -GTP (IU/l)	ChE (IU/l)	T.P. (g/dl)	Alb. (g/dl)	A/G	T-Chol. (mg/dl)
0	5	279 $\pm$ 132	57 $\pm$ 5	24 $\pm$ 2	192 $\pm$ 38	0.43 $\pm$ 0.31	337 $\pm$ 149	6.77 $\pm$ 0.24	3.49 $\pm$ 0.29	1.07 $\pm$ 0.11	101 $\pm$ 11
1000	3	198 $\pm$ 42	58 $\pm$ 5	25 $\pm$ 3	202 $\pm$ 45	0.25 $\pm$ 0.22	325 $\pm$ 85	6.69 $\pm$ 0.07	3.40 $\pm$ 0.09	1.03 $\pm$ 0.06	102 $\pm$ 7
Dose (mg/kg)	No. of animals	T.G. (mg/dl)	Glu. (mg/dl)	T-Bil. (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Crea. (mg/dl)	Ca (mg/dl)	P (mg/dl)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Cl (mEq/l)
0	5	45 $\pm$ 14	143 $\pm$ 12	0.25 $\pm$ 0.01	19.5 $\pm$ 0.6	0.61 $\pm$ 0.03	10.1 $\pm$ 0.3	6.0 $\pm$ 0.6	142 $\pm$ 1	4.73 $\pm$ 0.24	105 $\pm$ 2
1000	3	61 $\pm$ 19	134 $\pm$ 6	0.24 $\pm$ 0.01	21.3 $\pm$ 3.5	0.63 $\pm$ 0.05	10.2 $\pm$ 0.1	6.0 $\pm$ 0.2	142 $\pm$ 0	4.56 $\pm$ 0.22	105 $\pm$ 1

Each value is expressed as mean $\pm$ S.D.

Table 19 Incidence of necropsy findings of male rats treated orally with 4-chloro-*o*-cresol in the 28-day repeat dose toxicity test
< After treatment period >

			Dose (mg/kg)		0	15	60	250	1000	
Organ	: Findings	Grade	Fate No. of animals	KT 5	KT 5	KT 5	KT 5	KT 5	FD 5 (1)*	T [6]
Animal body	: Emaciation	++		0	0	0	0	0	0 (1)	[1]
Forestomach	: Thickening of mucosa	+		0	0	0	0	0	4 (1)	[5]
		++		0	0	0	0	0	1 (0)	[1]
		Total		0	0	0	0	0	5 (1)	[6]**
	Rough surface	+		0	0	0	0	0	1 (0)	[1]
Intestine	: Cecal distention	+		0	0	0	0	0	4 (0)	[4]*
	Distention with gas	+++		0	0	0	0	0	0 (1)	[1]
Seminal vesicle	: Atrophy	++		0	0	0	0	0	0 (1)	[1]
Prostate	: Atrophy	++		0	0	0	0	0	0 (1)	[1]
Thymus	: Atrophy	+		0	0	0	0	0	0 (1)	[1]
Spleen	: Atrophy	+		0	0	0	0	0	0 (1)	[1]
Skin	: Scab and alopecia	+		0	1	0	0	0	0 (0)	[0]

KT : Killed by design after treatment period; FD : Found dead; T : Total

: Animal supposed to be killed after recovery period

+ : Slight; ++ : Moderate; +++ : Severe

* : Significantly different from control at 5% level of probability

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 20 Incidence of necropsy findings of female rats treated orally with 4-chloro-*o*-cresol in the 28-day repeat dose toxicity test
< After treatment period >

Organ : Findings	Grade	Dose (mg/kg)	0	15	60	250	1000	T
		Fate No. of animals	KT 5	KT 5	KT 5	KT 5	KT FD 4 (3)*	
Animal body : Emaciation	+		0	0	0	0	0 (1)	[1]
Liver : Dark in color	+		0	0	0	0	0 (3)	[3]
Stomach and intestine : Distention with gas	+		0	0	0	0	0 (1)	[1]
	+++		0	0	0	0	0 (2)	[2]
	Total		0	0	0	0	0 (3)	[3]
Forestomach: Thickening of mucosa	+		0	0	0	0	3 (0)	[3]
	++		0	0	0	0	1 (0)	[1]
	Total		0	0	0	0	4 (0)	[4]
Rough surface	+		0	0	0	0	1 (3)	[4]
Brown spots	+		0	0	0	0	0 (1)	[1]
Cecum : Distention	+		0	0	0	0	1 (0)	[1]
Kidney : Dark in color	+		0	0	0	0	0 (2)	[2]
Thymus : Atrophy	+		0	0	0	0	0 (1)	[1]
Spleen : Atrophy	+		0	0	0	0	0 (1)	[1]

KT : Killed by design after treatment period; FD : Found dead; T : Total

: One animal supposed to be killed after treatment period and two animals after recovery period were found dead during treatment period

+ : Slight; ++ : Moderate; +++ : Severe

Table 21 Incidence of necropsy findings of male rats treated orally with 4-chloro-*o*-cresol in the 28-day repeat dose toxicity test
< After recovery period >

Organ : Findings	Dose (mg/kg)	0	1000
	Fate No. of animals	KR 5	KR 4 [#]
No abnormalities detected		5	4

KR : Killed by design after recovery period

: One animal supposed to be killed after recovery period was found dead during treatment period

Table 22 Incidence of necropsy findings of female rats treated orally with 4-chloro-*o*-cresol in the 28-day repeat dose toxicity test
< After recovery period >

Organ : Findings	Dose (mg/kg)	0	1000
	Fate No. of animals	KR 5	KR 3 [#]
No abnormalities detected		5	3

KR : Killed by design after recovery period

: Two animals supposed to be killed after recovery period were found dead during treatment period

Table 23

Absolute and relative organ weights of male rats treated orally with 4-chloro-o-cresol in the 28-day repeat dose toxicity test

< After treatment period >

	Dose (mg/kg)	No. of animals	B.W. (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Spleen (g)	Heart (g)	Thymus (g)	Adrenal (mg)	Testis (g)
Absolute	0	5	339 ± 13	1.96 ± 0.05	10.24 ± 0.66	2.39 ± 0.16	0.62 ± 0.04	1.10 ± 0.06	0.63 ± 0.09	46.8 ± 5.8	2.91 ± 0.25
	15	5	321 ± 30	1.91 ± 0.10	10.67 ± 1.70	2.54 ± 0.35	0.64 ± 0.09	1.17 ± 0.14	0.54 ± 0.04	54.8 ± 3.9	2.97 ± 0.36
	60	5	319 ± 15	1.96 ± 0.08	10.36 ± 0.80	2.44 ± 0.12	0.59 ± 0.12	1.15 ± 0.10	0.58 ± 0.09	50.1 ± 4.7	3.02 ± 0.06
	250	5	300** ± 11	1.94 ± 0.06	9.72 ± 0.84	2.29 ± 0.23	0.62 ± 0.15	1.03 ± 0.06	0.51 ± 0.09	45.9 ± 6.2	2.98 ± 0.15
	1000	5	274** ± 13	1.91 ± 0.05	9.32 ± 1.00	2.17 ± 0.17	0.53 ± 0.05	0.93* ± 0.10	0.57 ± 0.09	51.9 ± 5.3	2.88 ± 0.05
Relative@	0	5	339 ± 13	0.58 ± 0.04	3.02 ± 0.25	0.70 ± 0.03	0.18 ± 0.02	0.32 ± 0.03	0.18 ± 0.03	13.77 ± 1.31	0.86 ± 0.07
	15	5	321 ± 30	0.60 ± 0.04	3.30 ± 0.26	0.79 ± 0.08	0.20 ± 0.03	0.37 ± 0.02	0.17 ± 0.02	17.11* ± 1.13	0.93 ± 0.11
	60	5	319 ± 15	0.62 ± 0.01	3.25 ± 0.20	0.76 ± 0.05	0.18 ± 0.03	0.36 ± 0.02	0.18 ± 0.03	15.77 ± 2.18	0.95 ± 0.03
	250	5	300** ± 11	0.65** ± 0.02	3.24 ± 0.20	0.76 ± 0.06	0.21 ± 0.04	0.34 ± 0.03	0.17 ± 0.02	15.29 ± 1.92	0.99* ± 0.05
	1000	5	274** ± 13	0.70** ± 0.02	3.40 ± 0.28	0.79 ± 0.05	0.19 ± 0.01	0.34 ± 0.04	0.20 ± 0.03	18.99** ± 2.26	1.05** ± 0.04

Each value is expressed as mean ± S.D.

@ : Relative organ weight per 100g body weight

* : Significantly different from control at 5% level of probability

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 24

Absolute and relative organ weights of male rats treated orally with 4-chloro-o-cresol in the 28-day repeat dose toxicity test

< After recovery period >

	Dose (mg/kg)	No. of animals	B.W. (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Spleen (g)	Heart (g)	Thymus (g)	Adrenal (mg)	Testis (g)
Absolute	0	5	366	1.99	10.55	2.55	0.66	1.19	0.45	53.8	3.26
			± 11	± 0.06	± 0.73	± 0.16	± 0.08	± 0.11	± 0.16	± 5.5	± 0.29
	1000	4	348	1.90	10.16	2.58	0.64	1.24	0.47	55.6	3.19
			± 28	± 0.06	± 0.85	± 0.23	± 0.07	± 0.17	± 0.03	± 7.8	± 0.20
Relative®	0	5	366	0.55	2.88	0.70	0.18	0.33	0.12	14.71	0.89
			± 11	± 0.03	± 0.16	± 0.03	± 0.02	± 0.03	± 0.05	± 1.47	± 0.06
	1000	4	348	0.55	2.92	0.75	0.18	0.36	0.14	16.13	0.93
			± 28	± 0.03	± 0.06	± 0.05	± 0.01	± 0.02	± 0.01	± 2.81	± 0.13

Each value is expressed as mean ± S.D.

® : Relative organ weight per 100g body weight

Table 25

Absolute and relative organ weights of female rats treated orally with 4-chloro-o-cresol in the 28-day repeat dose toxicity test

< After treatment period >

	Dose (mg/kg)	No. of animals	B.W. (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Spleen (g)	Heart (g)	Thymus (g)	Adrenal (mg)	Ovary (mg)
Absolute	0	5	206 ± 15	1.87 ± 0.11	6.42 ± 0.90	1.54 ± 0.13	0.45 ± 0.08	0.74 ± 0.08	0.48 ± 0.10	58.2 ± 9.4	92.5 ± 19.5
	15	5	205 ± 12	1.80 ± 0.05	6.36 ± 0.68	1.62 ± 0.05	0.44 ± 0.02	0.76 ± 0.04	0.45 ± 0.04	59.8 ± 7.8	83.5 ± 11.6
	60	5	209 ± 14	1.89 ± 0.07	6.29 ± 0.58	1.61 ± 0.07	0.44 ± 0.05	0.80 ± 0.07	0.46 ± 0.04	60.5 ± 8.9	82.6 ± 22.3
	250	5	202 ± 10	1.91 ± 0.08	6.45 ± 0.44	1.68 ± 0.13	0.43 ± 0.05	0.76 ± 0.03	0.47 ± 0.09	65.2 ± 10.4	83.8 ± 7.5
	1000	4	191 ± 15	1.78 ± 0.05	6.76 ± 0.79	1.63 ± 0.11	0.42 ± 0.05	0.70 ± 0.04	0.37 ± 0.04	52.0 ± 4.9	75.6 ± 6.9
Relative®	0	5	206 ± 15	0.91 ± 0.03	3.10 ± 0.27	0.75 ± 0.02	0.22 ± 0.03	0.36 ± 0.02	0.23 ± 0.05	28.16 ± 3.86	44.5 ± 7.1
	15	5	205 ± 12	0.88 ± 0.07	3.10 ± 0.21	0.79 ± 0.04	0.22 ± 0.02	0.37 ± 0.03	0.22 ± 0.01	29.30 ± 4.24	40.9 ± 6.2
	60	5	209 ± 14	0.91 ± 0.05	3.01 ± 0.18	0.77 ± 0.04	0.21 ± 0.02	0.38 ± 0.03	0.22 ± 0.01	28.97 ± 3.73	39.1 ± 9.0
	250	5	202 ± 10	0.94 ± 0.05	3.18 ± 0.11	0.83** ± 0.04	0.21 ± 0.02	0.38 ± 0.02	0.23 ± 0.04	32.09 ± 3.54	41.4 ± 2.5
	1000	4	191 ± 15	0.94 ± 0.09	3.55* ± 0.19	0.86** ± 0.03	0.22 ± 0.02	0.37 ± 0.02	0.19 ± 0.03	27.26 ± 0.95	39.9 ± 5.1

Each value is expressed as mean ± S.D.

® : Relative organ weight per 100g body weight

* : Significantly different from control at 5% level of probability

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 26

Absolute and relative organ weights of female rats treated orally with 4-chloro-o-cresol in the 28-day repeat dose toxicity test

< After recovery period >

	Dose (mg/kg)	No. of animals	B.W. (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Spleen (g)	Heart (g)	Thymus (g)	Adrenal (mg)	Ovary (mg)
Absolute	0	5	224 ± 10	1.84 ± 0.03	6.25 ± 0.51	1.67 ± 0.09	0.47 ± 0.04	0.82 ± 0.05	0.42 ± 0.07	62.4 ± 9.0	82.3 ± 11.5
	1000	3	217 ± 6	1.78* ± 0.04	6.40 ± 0.30	1.63 ± 0.15	0.44 ± 0.04	0.77 ± 0.05	0.38 ± 0.01	56.0 ± 2.6	81.9 ± 11.4
Relative®	0	5	224 ± 10	0.82 ± 0.04	2.78 ± 0.14	0.74 ± 0.03	0.21 ± 0.02	0.37 ± 0.03	0.19 ± 0.03	27.77 ± 3.07	36.7 ± 4.8
	1000	3	217 ± 6	0.82 ± 0.01	2.95 ± 0.12	0.75 ± 0.05	0.20 ± 0.02	0.35 ± 0.02	0.17 ± 0.01	25.88 ± 1.53	37.9 ± 6.1

Each value is expressed as mean ± S.D.

® : Relative organ weight per 100g body weight

* : Significantly different from control at 5% level of probability

Table 27-1 Incidence of histological findings of male rats treated orally with 4-chloro-*o*-cresol in the 28-day repeat dose toxicity test
< After treatment period >

			Dose (mg/kg)		0	15	60	250	1000	
Organ	Findings	Grade	Fate No. of animals	KT		KT	KT	KT	KT	FD T
				5		5	5	5	5	(1)* [6]
Heart	Myocardial fibrosis	+		1	—	—	—	—	0	(0) [0]
Lung	Arterial wall mineralization	+		2	—	—	—	—	3	(0) [3]
	Foam cell accumulation	+		1	—	—	—	—	0	(0) [0]
Liver	Congestion	+		0	—	—	—	—	0	(1) [1]
	Single cell necrosis	+		0	—	—	—	—	0	(1) [1]
Forestomach		+		0	0	0	1	1	1	(1) [2]
	Acanthosis with	++		0	0	0	0	3	3	(0) [3]
	hyperkeratosis	+++		0	0	0	0	1	1	(0) [1]
Total				0	0	0	1	5	5	(1) [6]**

KT : Killed by design after treatment period; FD : Found dead; T : Total

: Animal supposed to be killed after recovery period

+ : Slight; ++ : Moderate; +++ : Severe; — : Not examined

* * : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 27-2 Incidence of histological findings of male rats treated orally with 4-chloro-*o*-cresol in the 28-day repeat dose toxicity test
< After treatment period >

Organ : Findings	Grade	Dose (mg/kg)	0	15	60	250	1000	T [6]
		Fate No. of animals	KT 5	KT 5	KT 5	KT 5	KT 5 FD (1)*	
Kidney : Tubular basophilic change	+		3	—	—	—	3 (0)	[3]
	++		0	—	—	—	1 (0)	[1]
	Total		3	—	—	—	4 (0)	[4]
	Hyaline casts	+	2	—	—	—	0 (0)	[0]
	Interstitial cell infiltration	+	1	—	—	—	0 (0)	[0]
Urinary bladder : Epithelial hyperplasia	Congestion	+	0	—	—	—	0 (1)	[1]
	+		0	0	0	4	3 (1)	[4]
	++		0	0	0	0	2 (0)	[2]
	Total		0	0	0	4	5 (1)	[6]**
	Adrenal: Cortical cell vacuolization	+	0	0	0	0	2 (0)	[2]
Thymus : Atrophy	+		0	—	—	—	0 (1)	[1]
Spleen : Atrophy	+		0	—	—	—	0 (1)	[1]
Seminal vesicle : Atrophy	++		0	—	—	—	0 (1)	[1]
Prostate : Atrophy	++		0	—	—	—	0 (1)	[1]
Skin : Ulcer	+		—	1/1**	—	—	0 (0)	[0]

KT : Killed by design after treatment period; FD : Found dead; T : Total

: Animal supposed to be killed after recovery period

: Animal with skin lesion

+ : Slight; ++ : Moderate; — : Not examined

* * : Significantly different from control at 1% level of probability

No abnormalities detected in the pancreas, glandular stomach, testis, pituitary, thyroid, parathyroid, bone marrow, brain and eye ball from animals of control and 1000 mg/kg groups.

Table 28-1 Incidence of histological findings of female rats treated orally with 4-chloro-*o*-cresol
in the 28-day repeat dose toxicity test
< After treatment period >

Organ : Findings	Grade	Dose (mg/kg)	0	15	60	250	1000	T
		Fate No. of animals	KT 5	KT 5	KT 5	KT 5	KT 4 FD (3)*	
Heart : Myocardial fibrosis	+		1	—	—	—	0 (0)	[0]
Lung : Arterial wall mineralization	+		3	—	—	—	1 (0)	[1]
Foamy cell accumulation	+		0	—	—	—	1 (0)	[1]
Congestion	+		0	—	—	—	0 (3)	[3]
Liver : Hepatocellular swelling	+		0	0	0	0	2 (1)	[3]
Congestion	++		0	0	0	0	0 (3)	[3]
Forestomach: Epithelial degeneration	+		0	0	0	0	0 (3)	[3]
Acanthosis with hyperkeratosis	+		0	0	0	0	1 (0)	[1]
	++		0	0	0	0	3 (0)	[3]
Total			0	0	0	0	4 (0)	[4]
Ulcers	++		0	0	0	0	0 (1)	[1]

KT : Killed by design after treatment period; FD : Found dead; T : Total

: One animal supposed to be killed after treatment period and two animals after recovery period were found dead during treatment period

+ : Slight; ++ : Moderate; — : Not examined

Table 28-2 Incidence of histological findings of female rats treated orally with 4-chloro-*o*-cresol in the 28-day repeat dose toxicity test
< After treatment period >

Organ : Findings	Grade	Dose (mg/kg)					1000	
		Fate No. of animals	KT 5	KT 5	KT 5	KT 5	KT 4	FD (3)* T [7]
Kidney : Tubular basophilic change	+		3	—	—	—	1	(2) [3]
Distal tubular dilatation	+		0	—	—	—	1	(0) [1]
Hyaline casts	+		0	—	—	—	1	(0) [1]
Congestion	+		0	—	—	—	0	(1) [1]
	++		0	—	—	—	0	(2) [2]
Total			0	—	—	—	0	(3) [3]
Urinary bladder : Epithelial hyperplasia	+		0	0	0	3	2	(3) [5]
	++		0	0	0	0	1	(0) [1]
Total			0	0	0	3	3	(3) [6]**
Adrenal: Congestion	+		0	—	—	—	0	(2) [2]
Thymus : Atrophy	+		0	—	—	—	0	(1) [1]
Spleen : Atrophy	+		0	—	—	—	0	(1) [1]
Pituitary: Congestion	+		0	—	—	—	0	(2) [2]

KT : Killed by design after treatment period; FD : Found dead; T : Total

: One animal supposed to be killed after recovery period and two animals after treatment period were found dead during treatment period

+ : Slight; ++ : Moderate; — : Not examined

** : Significantly different from control at 1% level of probability

No abnormalities detected in the pancreas, glandular stomach, ovary, thyroid, parathyroid, bone marrow, brain and eye ball from animals of control and 1000 mg/kg groups

Table 29 Incidence of histological findings of male rats treated orally with 4-chloro-*o*-cresol in the 28-day repeat dose toxicity test
< After recovery period >

Organ : Findings	Grade	Dose (mg/kg)	
		0	1000
	Fate	KR	KR
	No. of animals	5	4*
Forestomach : Acanthosis with hyperkeratosis	+	0	3*
Urinary bladder : Epithelial hyperplasia	+	0	3*

KR : Killed by design after recovery period

: One animals supposed to be killed after recovery period was found dead during treatment period

+ : Slight

* : Significantly different from control at 5% level of probability

No abnormalities detected in the adrenal from animals of control and 1000 mg/kg groups

Table 30 Incidence of histological findings of female rats treated orally with 4-chloro-*o*-cresol in the 28-day repeat dose toxicity
< After recovery period >

		Dose (mg/kg)		0	1000
Organ : Findings	Grade	Fate No. of animals	KR 5	KR 3*	
Forestomach : Acanthosis with hyperkeratosis	+		0	1	
Urinary bladder : Epithelial hyperplasia	+		0	2	

KR : Killed by design after recovery period

: Two animals supposed to be killed after recovery period were found dead during treatment period

+ : Slight

No abnormalities detected in the liver from animals of control and 1000 mg/kg groups