

2, 2, 6, 6-テトラメチル-4-ヒドロキシピペリジンの
ラットを用いる反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験

試験番号：3185 (115-073)

目 的

1. 要 約	8
2. 諸 言	10
3. 試 験 題 目	11
4. 試 験 目 的	11
5. 試 験 番 号	11
10. 試験材料および方法	13
11. 試 験 結 果	20
12. 考察および結論	24
13. 参 考 文 献	26

Figures, Tables and Reference data

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
Table 1-1	Clinical observations in male rats
Table 1-2	Clinical observations in female rats (Before and during mating period)
Table 1-3	Clinical observations in female rats (Gestation period)
Table 1-4	Clinical observations in female rats (Lactation period)
Table 2-1	Body weight change of male rats
Table 2-2	Body weight change of female rats
Table 3-1	Food consumption of male rats
Table 3-2	Food consumption of female rats
Table 4-1	Hematolgy of male rats
Table 4-2	Coagulation of male rats
Table 5	Blood chemistry of male rats
Table 6-1	Absolute and relative organ weight of male rats
Table 6-2	Absolute and relative organ weight of female rats
Table 7-1	Summary of gross findings (dead, male)
Table 7-2	Summary of gross findings (dead, female)

Table 7-3	Summary of gross findings (successful pregnancy, male)
Table 7-4	Summary of gross findings (day 4 of lactation)
Table 7-5	Summary of gross findings (all pups died)
Table 8-1	Summary of histological findings (dead, male)
Table 8-2	Summary of histological findings (dead, female)
Table 8-3	Summary of histological findings (all pups died)
Table 8-4-1	Summary of histological findings (successful pregnancy, male)
Table 8-4-2	Summary of histological findings (successful pregnancy, male)
Table 8-5-1	Summary of histological findings (day 4 of lactation)
Table 8-5-2	Summary of histological findings (day 4 of lactation)
Table 8-6	Summary of histological findings (not copulation, male)
Table 8-7	Summary of histological findings (not copulation, female)
Table 9	Copulation and fertility results in rats
Table 10	Findings of delivery in dams(F0)
Table 11	External observations on live pups(F1) from rats
Table 12	Body weight change of pups(F1) from rats
Table 13-1	Summary of gross findings of pups(F1) from rats (sacrificed, male)
Table 13-2	Summary of gross findings of pups(F1) from rats (sacrificed, female)

1. 要 約 :

既存化学物質の毒性学的性質を評価するため、2, 2, 6, 6-テトラメチル-4-ヒドロキシピペリジンの0 (溶媒対照群), 60, 200 および 600 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, 反復投与毒性に加えて生殖・発生に及ぼす影響を検討した。

1) 反復投与毒性

被験物質投与に起因すると考えられる死亡が, 雌の 60 mg/kg群および雌雄の 600 mg/kg群で観察された。一般状態の観察で被験物質投与後に眼瞼下垂および散瞳が雌雄の 60 mg/kg以上の投与群で, 自発運動低下が雌雄の 600 mg/kg群で認められた。また, 雌雄の 200 mg/kg以上の投与群で体重増加抑制が認められ, 摂餌量の高値が雌雄の 600 mg/kg群で認められた。雄の血液学検査, 血液凝固能検査および血液生化学検査には被験物質投与の明らかな影響は認められなかった。器官重量では雌雄の 600 mg/kg群で副腎重量が高値を示し, 雌の 600 mg/kg群で肝臓重量が高値を示した。

病理学検査の結果, 生存例には被験物質投与の影響が示唆される病変は観察されなかった。600 mg/kg群の死亡例では被験物質投与の直接的な刺激に起因すると考えられる消化管の赤色斑点や腺胃の潰瘍に伴う所見が認められた。また, 死亡動物に共通して腎臓の皮質や皮髄境界部に尿細管上皮の空胞変性が観察され, 被験物質投与の影響が示唆された。しかし, 生存例では腎臓の異常は認められなかった。

2) 生殖発生毒性

600 mg/kg群で連続した発情休止期像が観察される性周期の停止が3例認められ, 平均性周期が延長した。交尾能および受胎能に被験物質投与の影響は認められなかった。分娩時観察では妊娠動物の全例が正常に分娩し, 妊娠期間にも被験物質投与の影響は認められなかった。妊娠黄体数, 着床痕数, 出産児数, 出産生児数, 着床率および分娩率に明らかな被験物質投与の影響は認められなかった。600 mg/kg群で雌雄の新生児の生後0日体重および生後4日生存率が低値を示した。新生児の外表に異常は認められず, 死亡児および哺育4日の剖検でも被験物質投与による影響は認められなかった。

以上の結果から, 本試験条件下では2, 2, 6, 6-テトラメチル-4-ヒドロキシピペリジンの反復投与により雌の 60 mg/kg群および雌雄の 600 mg/kg群で死亡例が認められ, 投与後の一般状態の変化では 60 mg/kg以上の投与群で眼瞼下垂および散瞳が, 600 mg/kg群で自発運動低下が観察された。死亡例には腺胃の潰瘍に伴う所見および腎臓で皮質や皮髄境界部に尿細管上皮の空胞変性が観察された。また, 雌雄とも 200 mg/kg以上の投与群で体重の増加抑制が, 600 mg/kg群で摂餌量の高値が認められた。したがって, 雌雄とも無影響量は 60 mg/kg/day未満と判断された。雄の生

殖に及ぼす影響は 600 mg/kg/day投与でも認められず，無影響量は 600 mg/kg/dayと判断された．雌の生殖に及ぼす影響は 600 mg/kg/day投与で平均性周期が延長したことから，無影響量は 200 mg/kg/dayと判断された．児動物の発生・発育に及ぼす影響は 600 mg/kg/day投与で発育抑制が認められ，生後 4 日生存率が低値傾向を示し，無影響量は 200 mg/kg/dayと判断された．

2. 緒 言 :

2, 2, 6, 6-テトラメチル-4-ヒドロキシピペリジン (2,2,6,6-Tetramethyl-4-hydroxypiperidine) は, 化学産業の分野において光安定剤の原料として工業用樹脂に添加して用いられている化合物である. 本化合物の毒性については, 経口投与によるマウスのLD₅₀が 2928 mg/kg (Reference data 2) と報告されているが, ヒトや実験動物の生体に及ぼす毒性, 特に生殖発生毒性についてはほとんど知られていない. 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, 2, 2, 6, 6-テトラメチル-4-ヒドロキシピペリジンの反復投与毒性および生殖・発生毒性について検討したのでその結果を報告する.

3. 試 験 題 目 : 2, 2, 6, 6-テトラメチル-4-ヒドロキシピペリジンの
ラットを用いる反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験
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「反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験」（1990年3月
22日）に従い、ラットを用いて一般毒性学的影響に加え生殖・発
生に及ぼす影響を検討した。
なお、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。
5. 試 験 番 号 : 3 1 8 5 （ 115-073 ）

10. 試験材料および方法：

1) 被験物質

2, 2, 6, 6-テトラメチル-4-ヒドロキシピペリジン [2,2,6,6-Tetramethyl-4-hydroxypiperidine, 別名TAAM, CAS No.2403-88-5,

Lot No. 純度 99.8 wt%, 分子量157.25, 融点129℃] は, 白色の顆粒であり, 使用時まで室温で遮光下密栓保管した. 2, 2, 6, 6-テトラメチル-4-ヒドロキシピペリジンを実測した結果は, Reference data 2 に示した.

被験物質は, 注射用蒸留水 (Lot No.6I88N 株式会社 大塚製薬工場製造) に溶解し, 6, 20 および 60 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, 使用時まで冷暗条件下で密閉保管した. 投与液中の被験物質の安定性試験は, 株式会社 帝人バイオ・ラボラトリーズ (東京都羽村市) で実施した. その結果, 6 mg/ml溶液の場合冷暗条件下で少なくとも1週間安定であることが確認されたため (Reference data 3), 調製は1週間に1回以上の頻度で行い, 調製後7日以内に使用した.

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それぞれ 5 mlを分取し, 冷蔵下にて株式会社 帝人バイオ・ラボラトリーズ (東京都羽村市) に送付し, 実施した. その結果, 誤差範囲が設定濃度の-2.70~0.68%であった (Reference data 4). したがって, 投与液にはほぼ所定量の2, 2, 6, 6-テトラメチル-4-ヒドロキシピペリジ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 wt%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 5).

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 359~400 g, 雌で 227~282 gの範囲であった.

動物は, 温度 $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$, 湿度 $55 \pm 10\%$, 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 m³) で飼育した. 動物の馴化期間も含め, 飼育期間中の実測温度および湿度範囲は, それぞれ $23.6 \sim 24.6^{\circ}\text{C}$ および45~61%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 cm³) 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 cm³) 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_{TM})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（Reference data 6, 7）。

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。

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群当たり各12匹を用意した。

群分け後の動物の識別は個体別に耳パンチを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。

余剰動物は炭酸ガスにより安楽死させた。

4) 投与量、群構成、投与期間および投与方法

本試験の用量は先に実施した予備試験「2, 2, 6, 6-テトラメチルー4-ヒドロキシピペリジンのラットを用いる反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験-2週間毒性試験（試験番号 3184）」の結果を参考にして決定した。すなわち、0, 20, 60, 200 および 600 mg/kgを雄および雌に14日間連続経口投与した結果、雄の 600 mg/kg群で投与11日に1例死亡した。一般状態の変化として、投与後に眼瞼下垂および自発運動低下が 200 および 600 mg/kg群で雌雄ともに全例に観察され、散瞳および流涎が 200 mg/kg群で少数例に、600 mg/kg群でほぼ全例に観察された。その他、縮瞳が 200 および 600 mg/kg群で少数例に観察された。また、600 mg/kg群の雄に体重増加抑制が認められ、同群の雌雄で投与1から3日の平均1日摂餌量が低値を示した。雄の血液学検査では 600 mg/kg群で好中球比率が高値を示し、リンパ球比率が低値を示した。血液生化学検査では 60 mg/kg以上の投与群で総コレステロールが高値を示したが、対照群の値が背景値に比べ低かったため被験物質投与の影響かどうかは明らかではなかった。

剖検では、雌雄のいずれの投与群にも被験物質投与の影響と考えられる所見は認められなかった。剖検時の器官重量では、雄の 600 mg/kg群で肝臓の絶対重量が低値を示した。

以上の結果から、本試験の最高用量を明らかな毒性兆候が現れることが予想される 600 mg/kgに設定し、以下公比3で除し、200 および 60 mg/kgを設定した。

投与経路は、OECDガイドライン「反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験」¹⁾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、妊娠期間および哺育期間中の雌は、妊娠 0, 7, 14, 21および哺

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）強制経口投与した。対照群には注射用蒸留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14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（41～52日間）とした。なお、交尾不成立の雌（動物番号2307）は交配期間終了後20日間の連続48日間とした。

5) 観察および検査

a. 一般状態

雌雄とも、全例について試験期間中毎日観察し、異常および死亡の有無を記録した。

b. 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43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。交尾の成立しなかった雌はそれ以降の投与22、29、36、43および49日に測定した。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。

c. 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。交尾の成立しなかった雌はそれ以降の投与29、36、43および48日に摂餌量を測定し、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。

d. 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14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。

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、60 mg/kg群の雌の1例が死亡したため、同群の雄の1例は交配しなかった。
また、600 mg/kg群では雄の3例および雌の1例が死亡したため、交配の組み合わせができない雌の2例については同群のすでに交配に用いた雄を交配させた。

e. 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についてその日を哺育0日とした。午前10時を過ぎて分娩が完了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〔（出產生児数／総出産児数）×100〕を算出した。

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日に雌雄個体別の重量を測定し、1腹の雌雄別平均体重を算出した。

哺育4日に新生児全例を解剖し、器官・組織の肉眼的観察を行った。哺育期間中の死亡児も同様に器官・組織の肉眼的観察を行った。また、新生児の4日生存率〔（哺育4日生児数／出產生児数）×100〕を算出した。

f. 臨床検査

各群の雄全例について剖検時に実施した。動物を約16時間絶食させた後、エーテルで麻酔後開腹し、腹部大動脈から採血した。

(1) 血液学検査

検査には抗凝固剤（EDTA-3K）を添加した初血について、総合血液学検査装置 THMS H-1E（マイルス社、米国）を用いて白血球数（WBC：暗視野板法）、赤血球数（RBC：暗視野板法）、ヘマトクリット値（HCT：RBC、MCVより算出）、ヘモグロビン量（HGB：シアンメトヘモグロビン法）、平均赤血球容積（MCV：暗視野板法）、平均赤血球血色素量（MCH：HGB、RBCより算出）、平均赤血球血色素濃度（MCHC：HGB、HCTより算出）、血小板数（PLT：暗視野板法）および白血球百分率（フローサイトケミストリー法）を測定した。白血球百分率は前述の機器で測定したが、別途血液塗抹標本を作製し、メイ・グリュンワルド・ギムザ染色して保管した。網赤血球（RC）比率の算定については、抗凝固剤（EDTA-3K）添加血液をニューメチレンブルーで染色後、血液塗抹標本を作製した。各群とも貧血傾向が認められなかったため、標本の観察は行わなかった。

(2) 血液凝固能検査

検査にはクエン酸ソーダ添加血液を 3000 r.p.m., 13分間遠心分離して得た血漿について、血液凝固測定装置 KC-40 (アメルング社, 独国) を用いてプロトロンビン時間 (PT: Quick 1 段法), 活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT: クロット法) およびフィブリノーゲン量 (Fibrinogen: トロンビン時間法) を測定した。

(3) 血液生化学検査

検査にはクリーンシール (株式会社ヤトロン, 東京都千代田区) に血液を採取し, 室温に30分間静置後 3000 r.p.m. 7分間遠心分離して得た血清について多項目生化学自動分析装置 Centrifichem ENCORE II (ベーカー社, 米国) および EKTACHEM 700N (コダック社, 米国) を用いて測定した。検査では総蛋白 (ビュレット法), アルブミン (B.C.G. 法), A/G (計算値), 血糖 (グルコースオキシダーゼ法), 中性脂肪 (酵素比色法), 総コレステロール (コレステロールオキシダーゼ法), 尿素窒素 (ウレアーゼアンモニウム指示薬法), クレアチニン (Jaffé法), 総ビリルビン (ジアゾ法), グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ (IFCC法), グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (IFCC法), アルカリホスファターゼ (Bessey-Lowry改良法), γ-グルタミルトランスぺプチダーゼ (Orłowski法), ナトリウム (電極法), カリウム (電極法), 塩素 (電極法), カルシウム (アルセナゾⅢ法) および無機リン (モリブデン酸青法) を測定した。

g. 病理学検査

(1) 剖検および器官重量

① 死亡動物

剖検では器官・組織の肉眼的観察を行い, 皮膚, 乳腺, リンパ節, 唾液腺, 胸骨, 大腿骨 (骨髓を含む), 胸腺, 気管, 肺および気管支, 心臓, 甲状腺および上皮小体, 舌, 食道, 胃, 十二指腸, 小腸, 大腸, 肝臓, 膵臓, 脾臓, 腎臓, 副腎, 膀胱, 精囊, 前立腺, 卵巣, 子宮, 膣, 眼球, ハーダー腺, 脳, 下垂体および脊髄を10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。精巣および精巣上体はブアン氏液に固定した。

② 雄動物

48日間投与した日の夕方から, 約16時間絶食をさせた後エーテル麻酔下で採血し安楽死させた。器官・組織の肉眼的観察を行った後, 脳, 胸腺, 肝臓, 腎臓, 脾臓, 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) を算出した。また, 全動物の重量測定器官に加えて心臓, 精囊, 前立腺および下垂体を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、脳、胸腺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎および卵巢重量を測定し器官重量・体重比（相対重量）を算出した。また、全動物の重量測定器官に加えて心臓、下垂体および肉眼所見として変化が認められた器官・組織として皮膚を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交尾の成立しなかった雌

48日間投与した翌日、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後、皮膚、乳腺、リンパ節、唾液腺、胸骨、大腿骨（骨髄を含む）、胸腺、気管、肺および気管支、心臓、甲状腺および上皮小体、舌、食道、胃、十二指腸、小腸、大腸、肝臓、膵臓、脾臓、腎臓、副腎、膀胱、卵巢、子宮、膣、眼球、ハーダー腺、脳、下垂体および脊髄を10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。

⑤哺育期間中に全児が死亡した母動物（全児死亡動物）

生存児すべての死亡または喰殺が確認された翌日に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後、皮膚、乳腺、リンパ節、唾液腺、胸骨、大腿骨（骨髄を含む）、胸腺、気管、肺および気管支、心臓、甲状腺および上皮小体、舌、食道、胃、十二指腸、小腸、大腸、肝臓、膵臓、脾臓、腎臓、副腎、膀胱、卵巢、子宮、膣、眼球、ハーダー腺、脳、下垂体および脊髄を10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。なお、剖検時に黄体数および着床痕数を調べた。

(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た。なお、死亡動物の腎臓に被験物質の影響を示唆する変化が認められたため、②および③の低および中用量群の腎臓についても検査を実施した。

①死亡動物および全児死亡動物

死亡動物（雄の 600 mg/kg群の 3 例、雌の 60 および 600 mg/kg群の各 1 例）および全児死亡動物（雌の 600 mg/kg群の 1 例）の皮膚、乳腺、リンパ節、唾液腺、胸骨、大腿骨（骨髄を含む）、胸腺、気管、肺および気管支、心臓、甲状腺および上皮小体、舌、食道、胃、十二指腸、小腸、大腸、肝臓、膵臓、脾臓、腎臓、副腎、膀胱、精囊、前立腺、精巣、精巣上体、卵巢、子宮、膣、眼球、ハーダー腺、脳、下垂体および脊髄について実施した。

②妊娠を成立させた雄

対照群と高用量群では脳、胸腺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎および精巣について実施し、低および中用量群では腎臓について実施した。

③自然分娩した雌

対照群と高用量群では脳、胸腺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎および卵巣について実施し、加えて高用量群の1例（動物番号2304）の皮膚について実施した。また、低および中用量群では腎臓について実施した。

④交尾の成立しなかった雄雌

600 mg/kg群の雌雄各1例の脳、胸腺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、腔、子宮、卵巣、精巣、精巣上体、精囊、前立腺、下垂体について実施した。

h. 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、新生児の4日生存率、器官重量、器官重量・体重比（相対重量）、血液学的および血液生化学検査値については多重比較検定²⁾を行った。まず Bartlettの等分散検定を実施し、等分散の場合は一元配置分散分析を行った。分散が有意な場合は Dunnettの多重比較検定^{3)・4)}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 Kruskal-Wallisの順位検定を実施し、有意の場合はノンパラメトリックの Dunnettの多重比較検定^{3)・4)}で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^{5)・6)}を用いた。病理学検査の所見の発生率の検定は、Fisherの直接確率検定法⁶⁾を用いて検定し、グレードのある所見は、-を「1」、+1を「2」、+2を「3」および+3を「4」に割り当てた後、順位和検定であるMann-WhitneyのU検定⁶⁾を用いて検定した。なお、哺育期間中の新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*：P<0.05および**：P<0.01の2段階とした。

11. 試 験 結 果 :

1) 反復投与毒性

a. 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、600 mg/kg群で投与6および9日に1 (動物番号1301) および2例 (動物番号1302, 1310) 観察された。雌では、60 mg/kg群で投与16日に1例 (動物番号2103) 600 mg/kg群で投与3日に1例 (動物番号2305) 観察された。

雄の一般状態の変化では、投与後の症状として、すべての被験物質投与群で散瞳および眼瞼下垂が認められた。散瞳は60 mg/kg群の1例でごくまれに、200 mg/kg群のほぼ全例で散発的に、600 mg/kg群の全例で毎日観察され、発現の強さは60 mg/kg群で軽度、200 および 600 mg/kg群で軽度から重度であった。眼瞼下垂は60 mg/kg群のほぼ全例で散発的に、200 および 600 mg/kg群の全例で毎日観察され、発現の強さは60 mg/kg群で軽度、200 mg/kg群で軽度から中等度、600 mg/kg群で軽度から重度であった。また、これらの症状の発現はいずれの群も投与後30分から認められ、60 mg/kg群では投与後2時間、200 mg/kg群では投与後4時間以内にほぼ消失したが、600 mg/kg群では投与後2時間でもっとも強く発現し、投与後6時間でもほぼ全例が軽度または中等度の症状を呈していた。また、自発運動低下が600 mg/kg群で交配前・交配期間中ほぼ全例に低頻度に認められた。その他、脱毛が60 mg/kg群で交配前・交配期間中に1例 (両前肢) 600 mg/kg群の死亡例に被毛の汚れ、体温低下、眼分泌物、鼻分泌物、流涎、腹臥位、よろめき歩行および振戦が1から3例に認められた。雌の一般状態の変化では、投与後の症状として、すべての被験物質投与群で散瞳および眼瞼下垂が認められた。散瞳は、60 mg/kg群の1例で投与期間中ごくまれに、200 mg/kg群の少数例で妊娠期間までは散発的、哺育期間では毎日、600 mg/kg群のほぼ全例で投与期間中毎日観察された。眼瞼下垂は60 mg/kg群では交配前・交配期間中はほぼ全例に毎日、妊娠期間はほぼ全例に散発的に、哺育期間は少数例に散発的に、200 および 600 mg/kg群では全例に投与期間中ほぼ毎日観察された。その他交配前・交配期間では、体温低下および自発運動低下が600 mg/kg群で少数例に、同群の交尾不成立の雌で消瘦、軟便および流涎が認められた。妊娠期間では、脱毛 (胸部、両前肢) が600 mg/kg群で1例、自発運動低下が200 mg/kg群で1例、600 mg/kg群で4例、血尿が60 mg/kg群で1例、流涎が600 mg/kg群で1例認められた。哺育期間では、全児死亡が600 mg/kg群で哺育2日に1例 (動物番号2306)、自発運動低下が600 mg/kg群で哺育0日に1例認められた。

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

雄では、対照群に比べて200 mg/kg群で投与29日以降、600 mg/kg群では投与22日以降に統計学的に有意な低値を示し、両群ともに投与1~43日の体重増加量も有意な低値を示した。雌の交配前投与期間では対照群と被験物質投与群との間に差は認められなかった。妊娠期間では、対照群に比べて200 および 600 mg/kg群で妊娠21日に有意な低値を示し、両群ともに妊娠0~21日の体重増加量も有意な低値を示した。哺育期間では、対照群と被験物質投与群との間に差は認められなかった。

c. 摂餌量 (Figure 3~4, Table 3-1~3-2, Appendix 3-1~3-2)

雄では、対照群に比べて 600 mg/kg群で投与 8 日以降統計学的に有意な高値を示し、投与 22~48 日の累積摂餌量も有意な高値を示した。

雌の交配前期間では、対照群に比べ 600 mg/kg群で投与 8 から 15 日の平均 1 日摂餌量が統計学的に有意な高値を示し、投与 1~15 日の累積摂餌量も有意な高値を示した。妊娠期間では、同群で妊娠 7 から 14 日の平均 1 日摂餌量が有意な高値を示した。哺育期間では、対照群と被験物質投与群との間に差は認められなかった。

d. 雄の血液学検査 (Table 4-1~4-2, Appendix 4-1~4-2)

血液学検査および血液凝固能検査では、いずれの検査項目についても対照群と被験物質投与群との間に差は認められなかった。

e. 雄の血液生化学検査 (Table 5, Appendix 5)

200 mg/kg群で対照群に比べカルシウムが統計学的に有意な高値を示した。他の検査項目では対照群と被験物質投与群との間に差は認められなかった。

f. 器官重量 (Table 6-1~6-2, Appendix 6-1~6-2)

雌雄ともに対照群に比べ 600 mg/kg群で副腎の相対重量が統計学的に有意な高値を示し、絶対重量も高値傾向を示した。さらに雌では 600 mg/kg群で肝臓の相対重量が有意な高値を示し、絶対重量も高値傾向を示した。その他、体重の低値に起因すると考えられる変化として雄では 200 および 600 mg/kg群で脳の相対重量が有意な高値を、精巣上体の絶対重量が有意な低値を示し、さらに 600 mg/kg群で肝臓の絶対重量が有意な低値を示した。雌では、対照群に比べ 200 mg/kg群で胸腺の絶対重量が有意な低値を示し、腎臓の相対重量が有意な高値を示した。

g. 剖検所見 (Table 7-1~7-5, Appendix 7-1~7-2)

死亡例は、雄の 600 mg/kg群で 3 例 (動物番号 1301, 1302 および 1310), 雌の 60 および 600 mg/kg群で各 1 例 (動物番号 2103 および 2305) であった。雄の死亡例の剖検では 1 例 (動物番号 1310) に胃の穿孔性潰瘍、内腔拡大および肝臓との癒着、小腸の内腔拡大および赤色斑点、大腸の内腔拡大および内容物の赤色化、腹水貯留、胸腺の萎縮および全身性の消瘦が観察された。その他 2 例の雄では、胸腺の赤色斑点、肺の赤色化、胃の内容物の赤色化、小腸ならびに大腸の内腔拡大および内容物の赤色化、大腸の赤色斑点、胸水貯留、全身性の消瘦がいずれかの 1 例、膀胱の内腔拡大が 2 例に観察された。雌の死亡例の剖検では、60 mg/kg群の 1 例に胸腺および肺の赤色斑点、胃の内腔拡大および内容物の赤色化および小腸の内容物の赤色化が、600 mg/kg群の 1 例に胸腺および肺の赤色斑点、胃および小腸の赤色化、肝臓の黒色斑点が観察された。

雄では、200 mg/kg群で肺の褐色斑点および横隔膜との癒着が各 1 例、腎臓の癒痕および嚢胞が 1 例、600 mg/kg群で精巣上体の黄色結節が 1 例に観察された。

雌では、対照群で腎臓の癒痕および肺の赤色斑点が同一個体の 1 例に、胸腺の赤色斑

点および肺の褐色斑点が各1例, 60 mg/kg群で卵巣の嚢胞が2例, 600 mg/kg群で胸腺の赤色斑点および卵巣の嚢胞が同一個体の1例に, 脱毛が1例に観察された。

交尾の成立しなかった動物は 600 mg/kg群で雌雄各1例であった。剖検で異常は認められなかった。

全児死亡動物は 600 mg/kg群で1例 (動物番号2306) 認められ, 胸腺の萎縮が観察された。

h. 病理組織学検査 (Table 8-1~8-7, Appendix 8-1~8-2)

600 mg/kg群の死亡動物で雌雄に共通して腎臓の皮質ないし皮髄境界部における尿細管上皮の空胞変性が認められ, 被験物質投与の影響が示唆された。その他これら死亡動物の腎臓には, 皮髄境界部の尿細管上皮の壊死および尿細管上皮の好塩基化が雌雄に, 硝子円柱が雄に観察された (photo 1, 2)。また, 600 mg/kg群の死亡動物では空胞変性が腎臓以外の臓器にも認められ, 全例の脾臓および唾液腺, 雌雄各1例の脾臓の外分泌腺および肺, 雌1例および雄2例の毛嚢, 雄1例の舌, 前胃, 肝臓, 胸腺および上皮小体にそれぞれ空胞変性が観察された。これら600 mg/kg群の死亡例に観察された空胞は中性脂肪とは異なり, 大小の球状空胞形成が数個から多数認められ, 内部に弱好酸性の無構造もしくは網状構造物が認められるものも存在しており, リン脂質様であった。さらに, これらの動物には腺胃の潰瘍および胸腺の萎縮が雄の全例に, 骨髄の造血低下ならびに脾臓の萎縮が雌雄とも全例に, 胸腺の核崩壊ならびに肝臓の壊死が雌雄各1例に観察された。

60 mg/kg群の死亡動物の雌1例では 600 mg/kg群の死亡動物と同様な腎臓の皮髄境界部と脾臓の外分泌腺の空胞変性 (photo 3) が観察された他, 胸腺の出血も観察された。その他観察された所見は単発性の発症であった。600 mg/kg群の全児死亡動物では, 腺胃の浮腫, 細胞浸潤, 糜爛ならびに上皮の再生, 肺では巣状の浮腫, 気管支上皮の糜爛や扁平上皮化生ならびに線維化, 胸腺の萎縮が観察された。

雄では, 腎臓の尿細管の好塩基化が対照群, 60, 200 および 600 mg/kg群でそれぞれ 6, 7, 6 および 3 例, 好酸性小体がそれぞれ 5, 3, 2 および 1 例, リンパ球浸潤がそれぞれ 4, 0, 2 および 0 例, 巣状の尿細管上皮の壊死が 200 mg/kg群で1例に観察され, リンパ球浸潤の 60 mg/kg群の発現率が対照群に比べ統計学的に有意な低値を示した。さらに肝臓の小肉芽腫が対照群および 600 mg/kg群でそれぞれ 5 および 2 例, 脾臓の色素沈着が 4 および 3 例, 精巣上体の精子肉芽腫が 600 mg/kg群で1例に観察された。その他観察された所見は単発性の所見であった。なお, 死亡動物の腎臓で認められた空胞変性は生存例の雄では観察されなかった (photo 4)。

雌では, 腎臓の尿細管の好塩基化が対照群, 60, 200 および 600 mg/kg群でそれぞれ 1, 2, 4 および 2 例, 脾臓の色素沈着が対照群および 600 mg/kg群でそれぞれ 5 および 7 例, 脾臓の髄外造血が 7 および 5 例, 肝臓の糖質沈着が 1 および 3 例, 肝臓の髄外造血 (photo 5, 6) が 5 および 3 例, 心臓の小肉芽腫が 1 および 2 例に観察された。生存例の雌にも死亡動物の腎臓で認められた空胞変性は観察されなかった。

交尾の成立しなかった雌雄動物では, 脾臓の色素沈着が雌雄に, 腎臓の尿細管の好塩基化および好酸性小体の出現が雄, 肝臓の小肉芽腫が雌で観察された。

2) 生殖発生毒性

a. 交尾および受胎能 (Table 9, Appendix 9-1~9-2)

交尾は 600 mg/kg群を除き対照群を含むすべての群で全例成立した。600 mg/kg群では1組が交尾不成立であり、交尾率は90.9%であった。受胎は全ての群の交尾成立雌で成立した。

性周期観察では、600 mg/kg群で連続した発情休止期像が観察される性周期の停止が3例に認められ、対照群に比べ統計学的に有意な平均性周期の延長が認められた。

b. 分娩および哺育 (Table 10, Appendix 10, 12)

600 mg/kg群で対照群に比べ雌雄の哺育4日生児数が低値傾向を示し、4日生存率も低値傾向を示した。その他、妊娠期間、妊娠黄体数、着床痕数、出産児数、出産生児数、性比、死産児数、着床率、分娩率および出生率に群間差は認められなかった。

c. 新生児の形態、体重および剖検所見 (Table 11~13-2, Appendix 11, 13-1~13-2)

新生児の外表検査では、600 mg/kg群で皮下出血が1例に認められたのみであった。哺育期間中の体重では、生後0日に対照群に比べ600 mg/kg群で雌雄とも統計学的に有意な低値を、生後4日に雌雄とも低値傾向を示した。死亡児の剖検では、200 mg/kg群の雄の1例に腎盂拡大が観察された。哺育4日の剖検で、雄では対照群で胸腺頸部残留が5例および肝臓の結節が1例、60 mg/kg群で腎臓の腎盂拡大が2例に観察された。雌では対照群で腎臓の腎盂拡大が2例、600 mg/kg群で胸腺の頸部残留が1例に観察された。

12. 考察および結論：

1) 反復投与毒性

死亡例が、600 mg/kg群の雄で3例、雌で60および600 mg/kg群で各1例に認められた。これら死亡例の病理学検査の結果、600 mg/kg群の剖検所見では胃の穿孔性潰瘍、内容物の赤色化、小腸および大腸の内腔拡大、赤色斑点および内容物の赤色化等が認められ、組織所見では腺胃の潰瘍に伴う所見が認められた。600 mg/kg群の全児死亡動物の腺胃に糜爛が認められた。同一被験物質のラットを用いる急性経口毒性試験⁷⁾では、1690 mg/kg以上の用量群の死亡動物における剖検で、腺胃のび慢性出血や十二指腸の赤色斑点、組織学的検査で腺胃の出血、壊死および空胞変性、十二指腸の浮腫、出血および壊死が観察され、強アルカリ性物質である本被験物質の直接的な影響による消化管出血を死因としている。本試験で600 mg/kg群の死亡例の消化管に認められた上記の所見も被験物質投与による直接的な刺激に起因した変化と考えられた。また、死亡例には共通して腎臓で皮質や皮髄境界部に尿細管上皮の空胞変性が観察され、被験物質投与の影響が示唆された。600 mg/kg群の中には肝臓、脾臓、胸腺、肺、舌、前胃、膵臓、唾液腺および毛嚢にまで空胞変性が観察される例もあった。

一般状態の観察では、投与期間を通じ散瞳および眼瞼下垂が、雌雄ともにすべての被験物質投与群で認められた。これらの症状は用量に関連した発現頻度および持続時間の増強が認められ、被験物質投与による影響と考えられた。また、600 mg/kg群で観察された自発運動低下は低頻度ながら雌雄ともに認められ被験物質投与によるものと考えられた。主に600 mg/kg群の死亡例で認められた流涎、体温低下および消瘦は被験物質の影響が強く現れたことによる全身状態の悪化に伴った変化と考えられた。その他、認められた所見はしばしば対照群でも認められるものであり、被験物質投与の影響とは考えなかった。

体重について、雄では200および600 mg/kg群で投与期間の半ばから明らかな低値を示し、被験物質投与による体重増加抑制と考えられた。雌では200および600 mg/kg群で妊娠21日に低値を示し被験物質投与の影響が示唆された。摂餌量について、雄では600 mg/kg群で投与開始以降高値を示した。雌では600 mg/kg群で交配前から妊娠期間にかけて高値を示す期間が認められた。いずれも機序は不明であるが被験物質投与の影響が示唆された。

雄の血液学検査および血液凝固能検査には被験物質投与の影響は認められなかった。血液生化学検査では、200 mg/kg群で対照群に比べカルシウムが高値を示したが、用量に関連した変化ではないことから被験物質投与による影響とは判断しなかった。

器官重量について、雌雄ともに対照群に比べ600 mg/kg群で副腎重量が高値を示し、さらに雌では600 mg/kg群で肝臓重量が高値を示し被験物質投与に起因した変化と考えられた。その他の器官で認められた変化は体重の低値に起因する二次的な変化と考えられた。

病理学検査の結果、妊娠を成立させた雄および自然分娩した雌の剖検所見は、いずれも単発性あるいは少数例の発生であり被験物質投与の影響が示唆される病変は観察されなかった。また、組織所見では腎臓のリンパ球浸潤の発現率が60 mg/kg群で低値

を示したが、用量に関連した変化ではないことから被験物質投与の影響とは考えなかった。その他認められた組織所見は群間の発現率に差はなかった。死亡動物の組織所見から被験物質の腎臓への影響が示唆されたが、生存例では腎臓に対する影響は認められなかった。

以上のことから、2, 2, 6, 6-テトラメチル-4-ヒドロキシピペリジンの反復投与により雌の60 mg/kg群および雌雄の600 mg/kg群で死亡例が認められ、投与後の一般状態の変化では60 mg/kg以上の投与群で眼瞼下垂および散瞳が、600 mg/kg群で自発運動低下が観察された。死亡例には腺胃の潰瘍に伴う所見および腎臓で皮質や皮髄境界部に尿細管上皮の空胞変性が観察された。また、雌雄とも200 mg/kg以上の投与群で体重の増加抑制が、600 mg/kg群で摂餌量の高値が認められた。したがって、雌雄とも無影響量は60 mg/kg/day未満と判断された。

2) 生殖発生毒性

600 mg/kg群で連続した発情休止期像が観察される性周期の停止が3例認められ、平均性周期も延長を示し、被験物質投与の影響が疑われた。交尾率および受胎率に被験物質投与の影響は認められなかった。交尾の成立しなかった動物の病理学検査では特に生殖器系に変化は認められなかった。600 mg/kg群で雌雄の新生児の生後0日体重が低値を示し、生後4日生存率が低値傾向を示したことから、被験物質投与による新生児の発育抑制または周産期の母動物の哺育行動に対する影響が疑われた。

その他、出産率、出生率に被験物質投与の影響は認められず、新生児の外表にも被験物質投与の影響は認められなかった。また、死亡児および哺育4日の剖検でも被験物質投与による影響は認められなかった。

以上のことから、2, 2, 6, 6-テトラメチル-4-ヒドロキシピペリジンの雄の生殖に及ぼす影響は600 mg/kg/day投与でも認められず、無影響量は600 mg/kg/dayと判断された。雌の生殖に及ぼす影響は600 mg/kg/day投与で平均性周期が延長したことから、無影響量は200 mg/kg/dayと判断された。児動物の発生・発育に及ぼす影響は600 mg/kg/day投与で発育抑制が認められ、生後4日生存率が低値傾向を示したことから無影響量は200 mg/kg/dayと判断された。

13. 参 考 文 献 :

- 1) OECD guideline for testing of chemicals: Extended Steering Group Document.
No. 3(1990).
- 2) Shayne, C.G. and Carrol, S.W.: Statics and Experimental Design For
Toxicologists. Telford Press (1986).
- 3) 佐野正樹, 岡山佳弘 : 医薬安全性研究会会報, No.32, p.21 (1990).
- 4) YOSHIDA, M. : J.J. Soc. comp. Stat., 1, p.111 (1988).
- 5) 佐久間昭 : 薬効評価 I - 計画と解析 -, 東京大学出版会 (1977) .
- 6) 石居 進 : 生物統計学入門, 培風館 (1975) .
- 7) 2,2,6,6-テトラメチル-4-ヒドロキシピペリジンのラットを用いる急性
経口毒性試験 (試験番号3230) , (財) 食品農医薬品安全性評価センター (1997) .

Figures, Tables

Exp. No. 3185 (115-073)

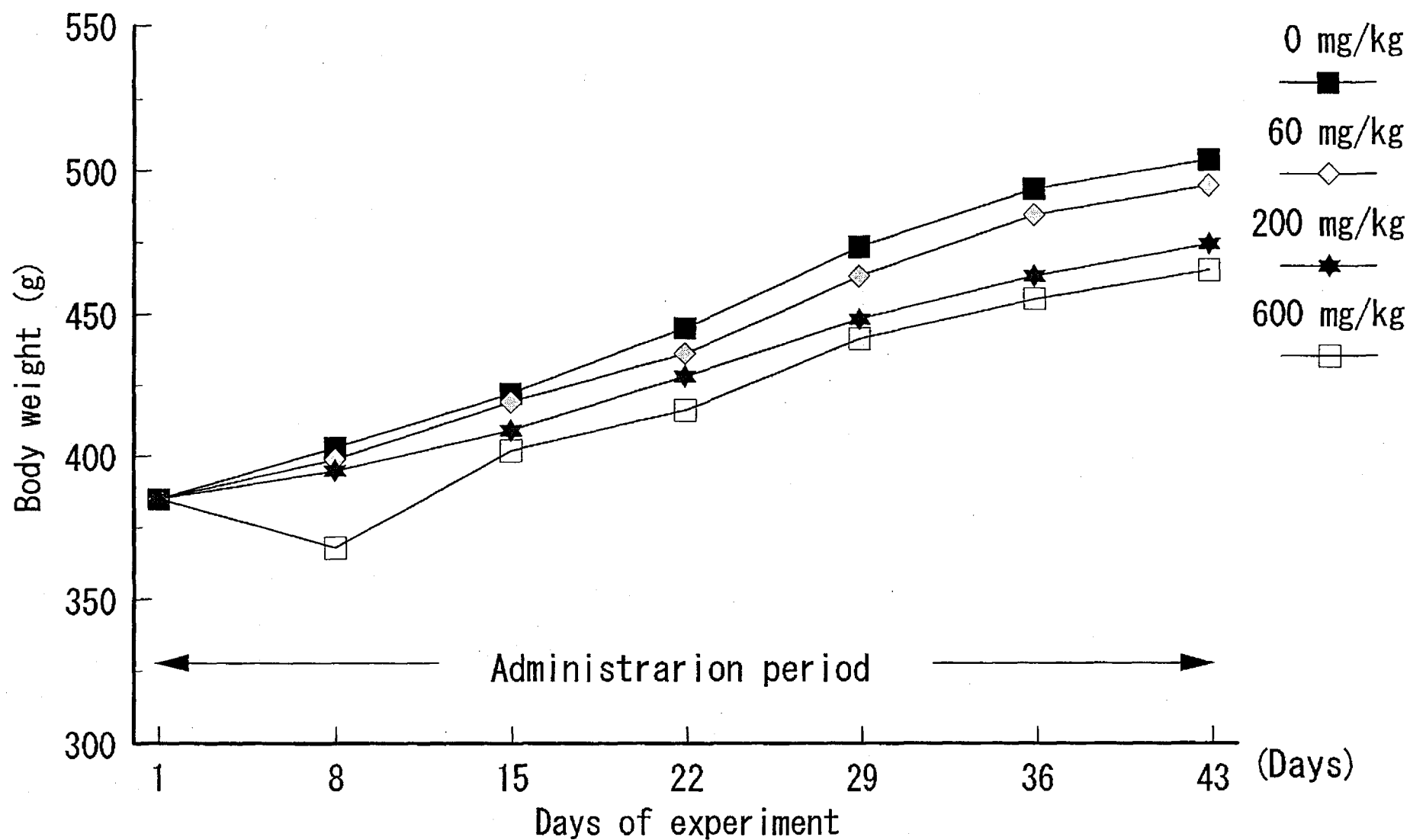


Figure 1 Body weight change of male rats

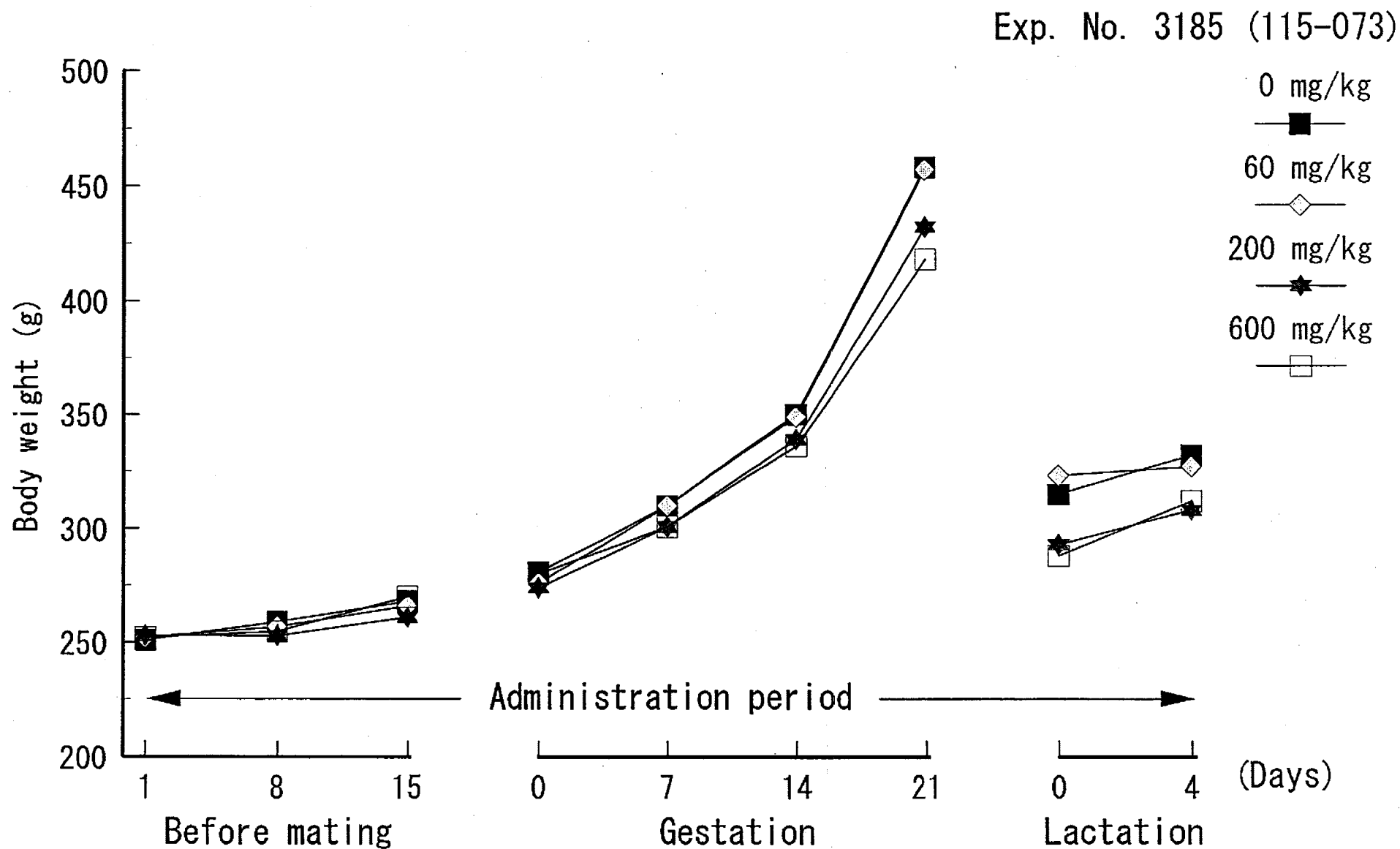


Figure 2 Body weight change of female rats

Exp. No. 3185 (115-073)

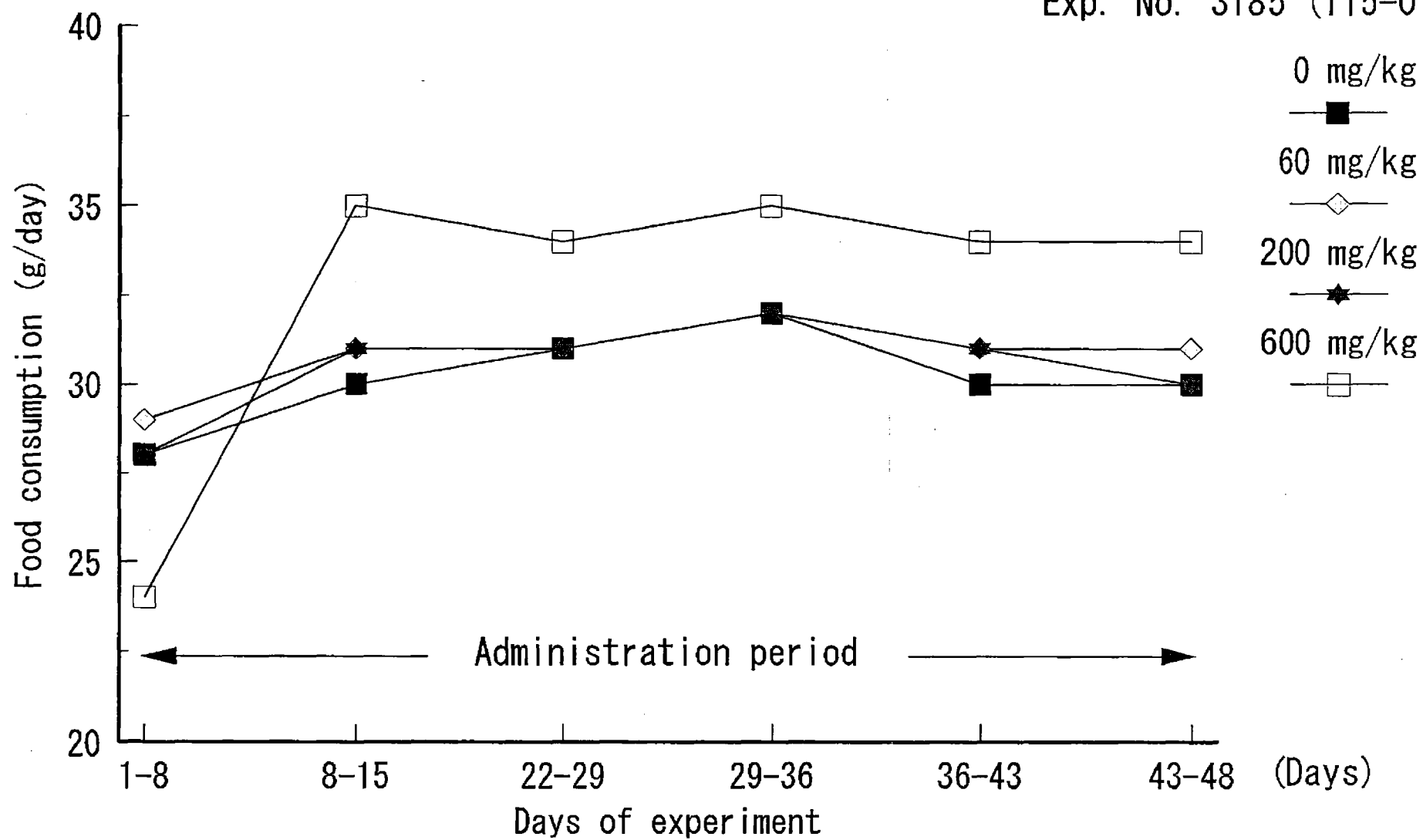


Figure 3 Food consumption of male rats

Exp. No. 3185 (115-073)

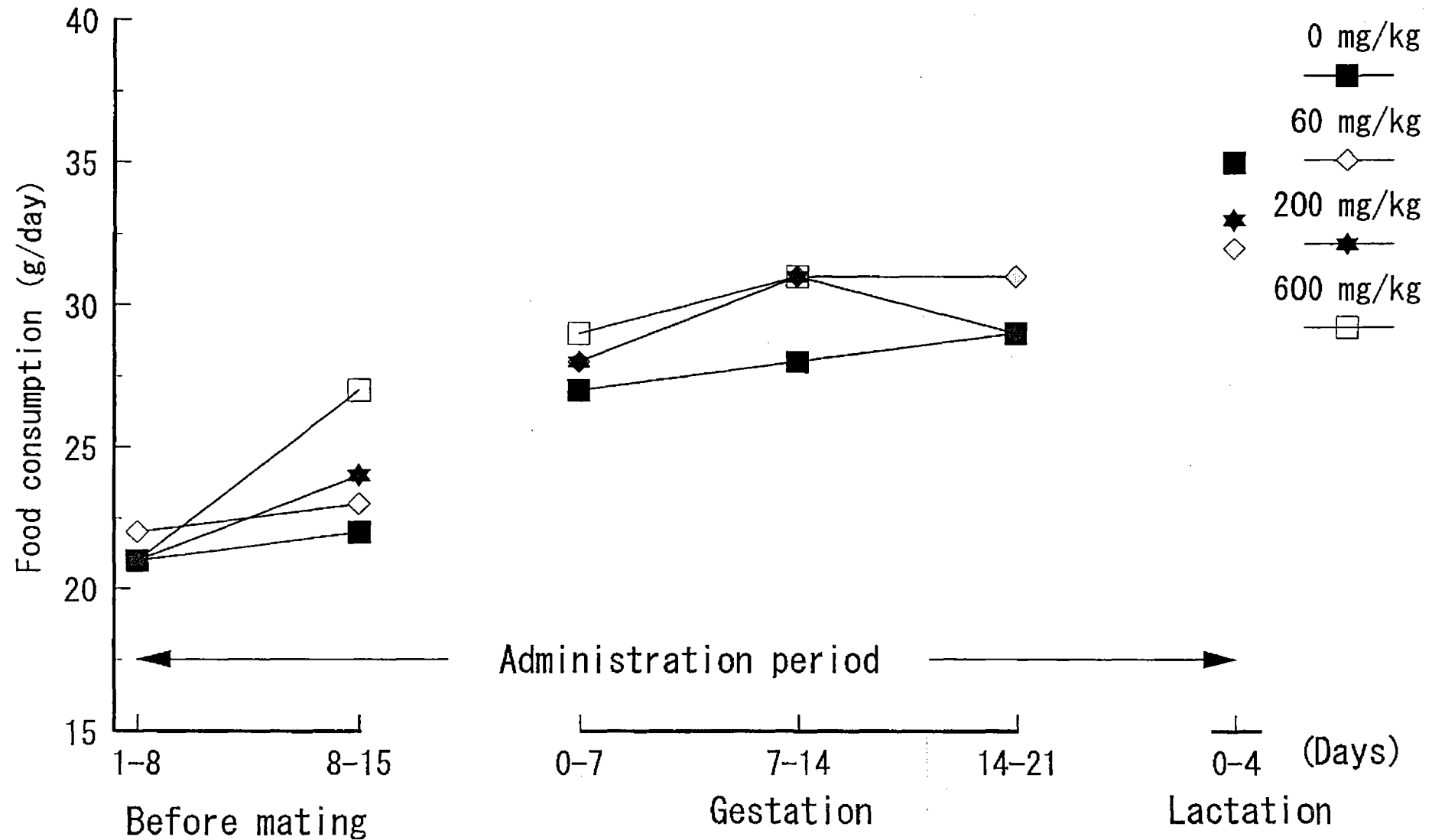


Figure 4 Food consumption of female rats

Table 1-1

Clinical observations in male rats

Exp. No. 3185 (115-073)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of experiment							Total (1-49)
		1- 7	8-14	15-21	22-28	29-35	36-42	43-49	
number per group	0	12	12	12	12	12	12	12	
	60	12	12	12	12	12	12	12	
	200	12	12	12	12	12	12	12	
	600	12	11	9	9	9	9	9	
dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	60	0	0	0	0	0	0	0	0
	200	0	0	0	0	0	0	0	0
	600	1	2	0	0	0	0	0	3
normal	0	12	12	12	12	12	12	12	12
	60	9	10	11	10	11	5	11	4
	200	0	0	0	0	0	0	0	0
	600	0	0	0	0	0	0	0	0
loss of hair	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	60	0	0	0	1	1	1	1 a)	1 b)
	200	0	0	0	0	0	0	0	0
	600	0	0	0	0	0	0	0	0
dirty hair	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	60	0	0	0	0	0	0	0	0
	200	0	0	0	0	0	0	0	0
	600	1	0	0	0	0	0	0	1
subnormal temperature	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	60	0	0	0	0	0	0	0	0
	200	0	0	0	0	0	0	0	0
	600	2	2	0	0	0	0	0	3
discharge of eye	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	60	0	0	0	0	0	0	0	0
	200	0	0	0	0	0	0	0	0
	600	1	0	0	0	0	0	0	1
mydriasis	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	60	0	1	0	0	0	1	0	1
	200	4	4	0	0	0	8	2	9
	600	12	11	7	9	9	9	8	12

a) No. of animals with clinical sign in group

b) Total of animals with clinical sign in group

Table 1-1 -continued

Clinical observations in male rats

Exp. No. 3185 (115-073)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of experiment							Total (1-49)
		1- 7	8-14	15-21	22-28	29-35	36-42	43-49	
nasal discharge	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	60	0	0	0	0	0	0	0	0
	200	0	0	0	0	0	0	0	0
	600	1	0	0	0	0	0	0	1
salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	60	0	0	0	0	0	0	0	0
	200	0	0	0	0	0	0	0	0
	600	3	0	0	0	0	0	0	3
prone position	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	60	0	0	0	0	0	0	0	0
	200	0	0	0	0	0	0	0	0
	600	1	0	0	0	0	0	0	1
staggering gait	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	60	0	0	0	0	0	0	0	0
	200	0	0	0	0	0	0	0	0
	600	0	1	0	0	0	0	0	1
decrease spon. motor act.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	60	0	0	0	0	0	0	0	0
	200	0	0	0	0	0	0	0	0
	600	11	2	0	2	1	5	0	11
tremor	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	60	0	0	0	0	0	0	0	0
	200	0	0	0	0	0	0	0	0
	600	0	1	0	0	0	0	0	1
ptosis of eyelid	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	60	3	2	1	1	0	6	0	8
	200	12	12	12	12	12	12	12	12
	600	12	11	9	9	9	9	9	12

Table 1-2

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

Exp. No. 3185 (115-073)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of experiment							Total (1-49)
		1- 7	8-14	15-21	22-28	29-35	36-42	43-49	
number per group	0	12	12	12	0	0	0	0	
	60	12	12	12	0	0	0	0	
	200	12	12	12	0	0	0	0	
	600	12	11	11	1	1	1	1	
dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	60	0	0	1	0	0	0	0	1
	200	0	0	0	0	0	0	0	0
	600	1	0	0	0	0	0	0	1
normal	0	12	12	12	0	0	0	0	12
	60	1	0	3	0	0	0	0	0
	200	0	0	0	0	0	0	0	0
	600	0	0	0	0	0	0	0	0
wasting	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	60	0	0	0	0	0	0	0	0
	200	0	0	0	0	0	0	0	0
	600	0	0	0	1	1 a)	0	0	1 b)
subnormal temperature	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	60	0	0	0	0	0	0	0	0
	200	0	0	0	0	0	0	0	0
	600	1	0	1	1	1	0	0	2
mydriasis	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	60	0	1	0	0	0	0	0	1
	200	3	1	0	0	0	0	0	4
	600	12	11	10	2	1	1	1	12
salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	60	0	0	0	0	0	0	0	0
	200	0	0	0	0	0	0	0	0
	600	0	0	0	0	1	0	1	1
loose stool	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	60	0	0	0	0	0	0	0	0
	200	0	0	0	0	0	0	0	0
	600	1	0	0	0	0	0	0	1

a) No. of animals with clinical sign in group

b) Total of animals with clinical sign in group

Table 1-2 -continued

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

Exp. No. 3185 (115-073)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of experiment							Total (1-49)
		1- 7	8-14	15-21	22-28	29-35	36-42	43-49	
decrease spon.motor act.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	60	0	0	0	0	0	0	0	0
	200	0	0	0	0	0	0	0	0
	600	3	0	0	1	1	0	0	4
ptosis of eyelid	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	60	11	12	8	0	0	0	0	12
	200	12	12	12	0	0	0	0	12
	600	12	11	11	2	1	1	1	12

Table 1-3

Clinical observations in female rats (Gestation period)

Exp. No. 3185 (115-073)

[illegible]

Table 1-3 -continued

Clinical observations in female rats
(Gestation period)

Exp. No. 3185 (115-073)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of gestation											Total (0- 23)
		13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	
number per group	0	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	8	
	60	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	3	
	200	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	7	
	600	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	4	
normal	0	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	8	12
	60	9	10	7	8	9	5	6	11	6	10	3	1
	200	0	0	1	0	0	0	0	2	1	6	7	0
	600	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	4	0
loss of hair	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	600	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1 a)	0	1 b)
mydriasis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	200	0	0	0	0	1	1	1	2	2	0	0	11
	600	5	5	5	4	7	9	9	9	9	4	0	10
salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	600	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
decreases spon. motor act.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	200	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	600	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
ptosis of eyelid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	60	2	1	4	3	2	6	5	0	5	1	0	10
	200	12	12	11	12	12	12	12	10	11	6	0	12
	600	10	10	10	10	10	10	10	10	10	4	0	10
hematuria	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	600	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

a) No. of animals with clinical sign in group

b) Total of animals with clinical sign in group

Table 1-4

Clinical observations in female rats
(Lactation period)

Exp. No. 3185 (115-073)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of lactation					Total (0- 4)
		0	1	2	3	4	
number per group	0	12	12	12	12	12	
	60	11	11	11	11	11	
	200	12	12	12	12	12	
	600	10	10	10	9	9	
all pups died	0	0	0	0	0	0	0
	60	0	0	0	0	0	0
	200	0	0	0	0	0	0
	600	0	0	1	0	0	1
normal	0	12	12	12	12	12	12
	60	8	10	10	10	11	8
	200	0	0	0	0	12	0
	600	0	0	0	0	8	0
loss of hair	0	0	0	0	0	0	0
	60	0	0	0	0	0	0
	200	0	0	0	0	0	0
	600	1	1	1	1	1 a)	1 b)
mydriasis	0	0	0	0	0	0	0
	60	0	0	0	0	0	0
	200	10	10	8	2	0	12
	600	9	8	9	8	0	10
ptosis of eyelid	0	0	0	0	0	0	0
	60	3	1	1	1	0	3
	200	12	12	12	12	0	12
	600	10	10	9	9	0	10
decrease spon. motor act.	0	0	0	0	0	0	0
	60	0	0	0	0	0	0
	200	0	0	0	0	0	0
	600	1	0	0	0	0	1

a) No. of animals with clinical sign in group

b) Total of animals with clinical sign in group

Table 2-1

Body weight change of male rats

Exp. No. 3185 (115-073)

Unit : g

Dose level (mg/kg)		0			60			200			600		
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	385	±	12 (12)	385	±	11 (12)	385	±	11 (12)	385	±	12 (12)
	8	403	±	17 (12)	399	±	23 (12)	395	±	13 (12)	368	±	41 (11)
	15	422	±	21 (12)	419	±	23 (12)	409	±	20 (12)	402	±	21 (9)
	22	445	±	20 (12)	436	±	28 (12)	428	±	19 (12)	416	±	17* (9)
	29	473	±	20 (12)	463	±	29 (12)	448	±	19* (12)	441	±	20** (9)
	36	493	±	21 (12)	484	±	32 (12)	463	±	23* (12)	455	±	22** (9)
	43	503	±	18 (12)	494	±	29 (12)	474	±	24* (12)	465	±	24** (9)
	49	482	±	19 (12)	475	±	32 (12)	450	±	26** (12)	438	±	19** (9)
Gain 1-43		118	±	14 (12)	109	±	22 (12)	89	±	20** (12)	81	±	19** (9)

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

Table 2-2

Body weight change of female rats

Exp. No. 3185 (115-073)

		Unit : g											
Dose level (mg/kg)		0			60			200			600		
Before mating period		12			12			12			12		
No. of animals		Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)		
Days of before mating	1	251 $\pm$ 14	(12)		252 $\pm$ 13	(12)		253 $\pm$ 15	(12)		252 $\pm$ 14	(12)	
	8	259 $\pm$ 16	(12)		257 $\pm$ 13	(12)		253 $\pm$ 18	(12)		255 $\pm$ 12	(11)	
	15	268 $\pm$ 14	(12)		266 $\pm$ 13	(12)		261 $\pm$ 19	(12)		270 $\pm$ 17	(11)	
	Gain 1-15	17 $\pm$ 8	(12)		14 $\pm$ 9	(12)		8 $\pm$ 8	(12)		17 $\pm$ 14	(11)	
Gestation period		12			11			12			10		
No. of dams		Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)		
Days of gestation	0	281 $\pm$ 15	(12)		276 $\pm$ 22	(11)		274 $\pm$ 18	(12)		280 $\pm$ 19	(10)	
	7	310 $\pm$ 16	(12)		310 $\pm$ 18	(11)		301 $\pm$ 22	(12)		301 $\pm$ 22	(10)	
	14	350 $\pm$ 17	(12)		349 $\pm$ 15	(11)		339 $\pm$ 23	(12)		336 $\pm$ 19	(10)	
	21	458 $\pm$ 20	(12)		457 $\pm$ 22	(11)		432 $\pm$ 30*	(12)		418 $\pm$ 27**	(10)	
Gain	0-21	176 $\pm$ 12	(12)		181 $\pm$ 11	(11)		158 $\pm$ 18**	(12)		138 $\pm$ 15**	(10)	
Lactation period		12			11			12			10		
No. of dams		Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)		
Days of lactation	0	315 $\pm$ 21	(12)		323 $\pm$ 27	(11)		293 $\pm$ 32	(12)		288 $\pm$ 25	(10)	
	4	332 $\pm$ 23	(12)		327 $\pm$ 21	(11)		308 $\pm$ 26	(12)		312 $\pm$ 26	(9)	
Gain	0- 4	18 $\pm$ 24	(12)		4 $\pm$ 21	(11)		15 $\pm$ 24	(12)		20 $\pm$ 24	(9)	

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

Table 3-1

Food consumption of male rats

Exp. No. 3185 (115-073)

Unit : g/day

Dose level (mg/kg)		0			60			200			600		
No. of animals		12			12			12			11		
		Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)		
Days of experiment	1- 8	28 $\pm$	2	(12)	29 $\pm$	4	(12)	28 $\pm$	2	(12)	24 $\pm$	7	(11)
	8-15	30 $\pm$	2	(12)	31 $\pm$	2	(12)	31 $\pm$	2	(12)	35 $\pm$	3**	(9)
	22-29	31 $\pm$	2	(12)	31 $\pm$	2	(11)	31 $\pm$	2	(12)	34 $\pm$	3**	(7)
	29-36	32 $\pm$	2	(12)	32 $\pm$	3	(12)	32 $\pm$	2	(12)	35 $\pm$	2**	(9)
	36-43	30 $\pm$	2	(12)	31 $\pm$	2	(12)	31 $\pm$	2	(12)	34 $\pm$	2**	(9)
	43-48	30 $\pm$	2	(12)	31 $\pm$	2	(12)	30 $\pm$	3	(12)	34 $\pm$	3**	(9)
Cumulative consumption (g)	1-15	410 $\pm$	28	(12)	416 $\pm$	36	(12)	413 $\pm$	30	(12)	428 $\pm$	36	(9)
	22-48	798 $\pm$	38	(12)	810 $\pm$	56	(11)	811 $\pm$	49	(12)	889 $\pm$	51**	(7)

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

Table 3-2

Food consumption of female rats

Exp. No. 3185 (115-073)

Unit : g/day													
Dose level (mg/kg)		0			60			200			600		
Before mating period		12			12			12			11		
No. of animals													
		Mean ± S.D. (N)			Mean ± S.D. (N)			Mean ± S.D. (N)			Mean ± S.D. (N)		
Days of before mating	1- 8	21 ±	1	(12)	22 ±	1	(12)	21 ±	2	(12)	21 ±	1	(11)
	8-15	22 ±	2	(12)	23 ±	1	(12)	24 ±	2	(12)	27 ±	2**	(11)
Cumulative consumption (g)	1-15	305 ±	21	(12)	310 ±	19	(12)	314 ±	24	(12)	341 ±	25**	(11)
Gestation period		12			11			12			10		
No. of dams													
		Mean ± S.D. (N)			Mean ± S.D. (N)			Mean ± S.D. (N)			Mean ± S.D. (N)		
Days of gestation	0- 7	27 ±	2	(12)	28 ±	1	(11)	28 ±	2	(12)	29 ±	4	(10)
	7-14	28 ±	2	(12)	31 ±	1	(11)	31 ±	3	(12)	31 ±	3*	(10)
Cumulative consumption (g)	14-21	29 ±	2	(12)	31 ±	2	(11)	29 ±	2	(12)	29 ±	4	(10)
	0-21	593 ±	39	(12)	626 ±	23	(11)	614 ±	41	(12)	627 ±	57	(10)
Lactation period		12			11			12			9		
No. of dams													
		Mean ± S.D. (N)			Mean ± S.D. (N)			Mean ± S.D. (N)			Mean ± S.D. (N)		
Days of lactation	0- 4	35 ±	10	(12)	32 ±	8	(11)	33 ±	8	(12)	35 ±	10	(9)

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

Exp. No. 3185 (115-073)

Dose level (mg/kg)	0	60	200	600
No. of animals	12	12	12	9
	Mean $\pm$ S.D. (N)	Mean $\pm$ S.D. (N)	Mean $\pm$ S.D. (N)	Mean $\pm$ S.D. (N)
HCT(%)	44.5 $\pm$ 1.4 (12)	44.6 $\pm$ 1.4 (12)	45.6 $\pm$ 1.4 (12)	45.1 $\pm$ 1.9 (9)
HGB(g/dl)	15.4 $\pm$ 0.4 (12)	15.3 $\pm$ 0.4 (12)	15.7 $\pm$ 0.5 (12)	15.5 $\pm$ 0.6 (9)
RBC ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	8.24 $\pm$ 0.26 (12)	8.25 $\pm$ 0.39 (12)	8.48 $\pm$ 0.34 (12)	8.22 $\pm$ 0.33 (9)
MCV (μm^3)	54.0 $\pm$ 1.1 (12)	54.2 $\pm$ 1.8 (12)	53.8 $\pm$ 2.0 (12)	54.8 $\pm$ 1.4 (9)
MCH(pg)	18.7 $\pm$ 0.4 (12)	18.6 $\pm$ 0.6 (12)	18.5 $\pm$ 0.7 (12)	18.8 $\pm$ 0.3 (9)
MCHC(%)	34.7 $\pm$ 0.5 (12)	34.4 $\pm$ 0.5 (12)	34.4 $\pm$ 0.7 (12)	34.3 $\pm$ 0.4 (9)
PLT ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	1177 $\pm$ 124 (12)	1137 $\pm$ 81 (12)	1195 $\pm$ 64 (12)	1215 $\pm$ 133 (9)
WBC ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	10.8 $\pm$ 3.8 (12)	10.2 $\pm$ 3.0 (12)	10.1 $\pm$ 3.6 (12)	11.1 $\pm$ 3.3 (9)
Differential leukocyte counts(%)				
NEUT	13 $\pm$ 5 (12)	11 $\pm$ 4 (12)	14 $\pm$ 5 (12)	14 $\pm$ 5 (9)
LYMPH	83 $\pm$ 6 (12)	85 $\pm$ 5 (12)	82 $\pm$ 5 (12)	82 $\pm$ 6 (9)
MONO	2 $\pm$ 1 (12)	1 $\pm$ 0 (12)	1 $\pm$ 0 (12)	1 $\pm$ 1 (9)
EOSN	1 $\pm$ 0 (12)	1 $\pm$ 0 (12)	1 $\pm$ 0 (12)	1 $\pm$ 0 (9)
BASO	0 $\pm$ 0 (12)	0 $\pm$ 0 (12)	0 $\pm$ 0 (12)	0 $\pm$ 0 (9)
LUC	1 $\pm$ 0 (12)	1 $\pm$ 1 (12)	1 $\pm$ 1 (12)	1 $\pm$ 0 (9)

NEUT : Neutrophil LYMPH : Lymphocyte MONO : Monocyte EOSN : Eosinophil BASO : Basophil LUC : Large unstained cells

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

Table 4-2

Coagulation of male rats

Exp. No. 3185 (115-073)

Dose level (mg/kg)	0	60	200	600
No. of animals	12	12	12	9
	Mean $\pm$ S.D. (N)	Mean $\pm$ S.D. (N)	Mean $\pm$ S.D. (N)	Mean $\pm$ S.D. (N)
PT(sec.)	14.6 $\pm$ 0.9 (12)	14.5 $\pm$ 1.1 (12)	14.4 $\pm$ 0.8 (12)	14.0 $\pm$ 0.8 (9)
APTT(sec.)	25.4 $\pm$ 1.7 (12)	25.3 $\pm$ 2.0 (12)	24.8 $\pm$ 2.7 (12)	24.1 $\pm$ 1.5 (9)
Fibrinogen(mg/dl)	245 $\pm$ 26N (12)	240 $\pm$ 17 (12)	254 $\pm$ 28 (12)	249 $\pm$ 52 (9)

N : Non parametric analysis

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

Table 5

Blood chemistry of male rats

Exp. No. 3185 (115-073)

Dose level (mg/kg)	0			60			200			600		
No. of animals	12			12			12			9		
	Mean	± S.D.	(N)	Mean	± S.D.	(N)	Mean	± S.D.	(N)	Mean	± S.D.	(N)
T.protein(g/dl)	6.20	± 0.23	(12)	6.32	± 0.23	(12)	6.29	± 0.31	(12)	5.96	± 0.25	(9)
Albumin(g/dl)	3.19	± 0.09	(12)	3.22	± 0.16	(12)	3.27	± 0.16	(12)	3.05	± 0.13	(9)
A/G	1.06	± 0.05	(12)	1.04	± 0.05	(12)	1.08	± 0.04	(12)	1.05	± 0.03	(9)
Glucose(mg/dl)	148	± 20	(12)	151	± 17	(12)	135	± 20	(12)	142	± 10	(9)
Triglyceride(mg/dl)	59.3	± 23.2	(12)	54.1	± 14.5	(12)	50.8	± 16.8	(12)	46.2	± 10.0	(9)
T.cholesterol(mg/dl)	53	± 7	(12)	50	± 10	(12)	58	± 9	(12)	62	± 10	(9)
BUN(mg/dl)	14.2	± 1.6	(12)	13.2	± 2.5	(12)	13.6	± 1.1	(12)	14.0	± 2.1	(9)
Creatinine(mg/dl)	0.58	± 0.08	(12)	0.57	± 0.10	(12)	0.57	± 0.10	(12)	0.57	± 0.09	(9)
T.bilirubin(mg/dl)	0.21	± 0.03	(12)	0.19	± 0.02	(12)	0.21	± 0.03	(12)	0.19	± 0.03	(9)
GOT(U/l)	41	± 11	(12)	41	± 9	(12)	45	± 11	(12)	44	± 14	(9)
GPT(U/l)	17	± 2	(12)	19	± 4	(12)	20	± 4	(12)	17	± 4	(9)
ALP(U/l)	85	± 18	(12)	101	± 25	(12)	106	± 25	(12)	91	± 21	(9)
Gamma-GTP(U/l)	0.2	± 0.3	(12)	0.2	± 0.3	(12)	0.1	± 0.2	(12)	0.2	± 0.2	(9)
Sodium(mmol/l)	144.8	± 1.4	(12)	145.1	± 1.6	(12)	145.6	± 1.2	(12)	144.4	± 0.7	(9)
Potassium(mmol/l)	4.51	± 0.31N	(12)	4.65	± 0.25	(12)	4.92	± 0.81	(12)	4.52	± 0.28	(9)
Chloride(mmol/l)	109.5	± 2.1	(12)	109.5	± 1.0	(12)	109.3	± 2.1	(12)	108.8	± 1.6	(9)
Calcium(mg/dl)	9.34	± 0.25	(12)	9.59	± 0.23	(12)	9.68	± 0.34**	(12)	9.49	± 0.14	(9)
I.phosphate(mg/dl)	6.26	± 0.69	(12)	6.64	± 0.52	(12)	6.89	± 0.83	(12)	6.79	± 0.54	(9)

N : Non parametric analysis

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

Table 6-1

Absolute and relative organ weight of male rats

Exp. No. 3185 (115-073)

Dose level (mg/kg)		0	60	200	600
No. of animal examined		12	12	12	9
		Mean $\pm$ S.D.	Mean $\pm$ S.D.	Mean $\pm$ S.D.	Mean $\pm$ S.D.
Body weight (g)		482 $\pm$ 19	475 $\pm$ 32	450 $\pm$ 26	438 $\pm$ 19
Brain	(g)	2.19 $\pm$ 0.09	2.20 $\pm$ 0.06	2.18 $\pm$ 0.07	2.12 $\pm$ 0.08
	(g%)	0.455 $\pm$ 0.027	0.465 $\pm$ 0.034	0.486 $\pm$ 0.025*	0.485 $\pm$ 0.016*
Thymus	(mg)	309 $\pm$ 70	293 $\pm$ 60	260 $\pm$ 71	247 $\pm$ 47
	(mg%)	64.107 $\pm$ 13.590	61.342 $\pm$ 10.685	57.534 $\pm$ 13.952	56.234 $\pm$ 10.322
Liver	(g)	13.56 $\pm$ 0.68	12.95 $\pm$ 1.37	12.94 $\pm$ 1.92	11.76 $\pm$ 1.07**
	(g%)	2.815 $\pm$ 0.086	2.724 $\pm$ 0.150	2.867 $\pm$ 0.315	2.682 $\pm$ 0.206
Spleen	(g)	0.74 $\pm$ 0.09	0.71 $\pm$ 0.16	0.74 $\pm$ 0.11	0.71 $\pm$ 0.09
	(g%)	0.154 $\pm$ 0.017	0.149 $\pm$ 0.028	0.163 $\pm$ 0.019	0.161 $\pm$ 0.017
Kidneys	(g)	3.39 $\pm$ 0.19	3.28 $\pm$ 0.22	3.24 $\pm$ 0.28	3.12 $\pm$ 0.22
	(g%)	0.704 $\pm$ 0.051	0.695 $\pm$ 0.073	0.720 $\pm$ 0.052	0.713 $\pm$ 0.046
Adrenal	(mg)	66 $\pm$ 9	63 $\pm$ 7	67 $\pm$ 12	71 $\pm$ 8
	(mg%)	13.688 $\pm$ 1.934	13.367 $\pm$ 1.403	14.865 $\pm$ 2.922	16.250 $\pm$ 1.836*
Testes	(g)	3.45 $\pm$ 0.22	3.27 $\pm$ 0.26	3.29 $\pm$ 0.19	3.32 $\pm$ 0.20
	(g%)	0.717 $\pm$ 0.060	0.692 $\pm$ 0.072	0.732 $\pm$ 0.034	0.757 $\pm$ 0.033
Epididymides	(mg)	1262 $\pm$ 71	1219 $\pm$ 82	1161 $\pm$ 70**	1153 $\pm$ 69**
	(mg%)	262.543 $\pm$ 21.364	258.047 $\pm$ 26.833	258.166 $\pm$ 12.805	263.432 $\pm$ 16.636

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

Table 6-2

Absolute and relative organ weight of female rats

Exp. No. 3185 (115-073)

Dose level (mg/kg)		0		60		200		600	
No. of dams examined		12		11		12		9	
		Mean $\pm$ S.D.		Mean $\pm$ S.D.		Mean $\pm$ S.D.		Mean $\pm$ S.D.	
Body weight (g)		332 $\pm$ 23		327 $\pm$ 21		308 $\pm$ 26		312 $\pm$ 26	
Brain	(g)	2.05 $\pm$ 0.07		2.07 $\pm$ 0.06		2.03 $\pm$ 0.07		2.05 $\pm$ 0.09	
	(g%)	0.619 $\pm$ 0.048		0.635 $\pm$ 0.040		0.663 $\pm$ 0.052		0.661 $\pm$ 0.056	
Thymus	(mg)	180 $\pm$ 66		153 $\pm$ 65		118 $\pm$ 35*		130 $\pm$ 35	
	(mg%)	53.869 $\pm$ 18.435		46.169 $\pm$ 18.173		38.455 $\pm$ 10.913		41.643 $\pm$ 10.913	
Liver	(g)	14.45 $\pm$ 1.82		15.10 $\pm$ 1.52		14.56 $\pm$ 1.07		15.43 $\pm$ 2.43	
	(g%)	4.341 $\pm$ 0.396		4.618 $\pm$ 0.403		4.741 $\pm$ 0.270		4.927 $\pm$ 0.535**	
Spleen	(g)	0.61 $\pm$ 0.12		0.69 $\pm$ 0.11		0.60 $\pm$ 0.08		0.65 $\pm$ 0.13	
	(g%)	0.184 $\pm$ 0.032		0.211 $\pm$ 0.026		0.195 $\pm$ 0.037		0.209 $\pm$ 0.034	
Kidneys	(g)	2.30 $\pm$ 0.20		2.38 $\pm$ 0.25		2.33 $\pm$ 0.16		2.35 $\pm$ 0.22	
	(g%)	0.694 $\pm$ 0.051		0.727 $\pm$ 0.065		0.760 $\pm$ 0.065*		0.754 $\pm$ 0.048	
Adrenal	(mg)	80 $\pm$ 10		86 $\pm$ 9		82 $\pm$ 8		87 $\pm$ 10	
	(mg%)	24.142 $\pm$ 2.978		26.456 $\pm$ 2.873		26.647 $\pm$ 2.910		27.825 $\pm$ 2.976*	
Ovaries	(mg)	107 $\pm$ 11		110 $\pm$ 13		100 $\pm$ 7		102 $\pm$ 11	
	(mg%)	32.306 $\pm$ 4.592		33.735 $\pm$ 4.443		32.679 $\pm$ 3.317		32.751 $\pm$ 2.276	

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

Table 7-1

Summary of gross findings (dead)

Exp. No. 3185 (115-073)

Sex: Male

Generation: F0

Dose level (mg/kg)		0	60	200	600
No. of animals necropsied		0	0	0	3
Organ	Findings				
HEMATOPOIETIC SYSTEM					
thymus	atrophic	-	-	-	1
	red patch/zone	-	-	-	1
RESPIRATORY SYSTEM					
lung	reddish	-	-	-	1
thoracic cavity	hydrothorax	-	-	-	1
DIGESTIVE SYSTEM					
stomach	adhesion	-	-	-	1
	autolysis	-	-	-	1
	dilated lumen	-	-	-	2
	reddish	-	-	-	1
	ulcer	-	-	-	1
small intestine	autolysis	-	-	-	1
	dilated lumen	-	-	-	2
	red patch/zone	-	-	-	1
	reddish	-	-	-	1
large intestine	autolysis	-	-	-	1
	dilated lumen	-	-	-	2
	red patch/zone	-	-	-	1
	reddish	-	-	-	2
abdominal cavity	ascites	-	-	-	1
URINARY SYSTEM					
urinary bladder	dilated lumen	-	-	-	2
OTHERS					
whole body	wasting	-	-	-	2

Table 7-2

Summary of gross findings (dead)

Exp. No. 3185 (115-073)

Sex: Female

Generation: F0

Dose level (mg/kg)		0	60	200	600
No. of animals necropsied		0	1	0	1
Organ	Findings				
HEMATOPOIETIC SYSTEM					
thymus	red patch/zone	-	1	-	1
RESPIRATORY SYSTEM					
lung	red patch/zone	-	1	-	1
DIGESTIVE SYSTEM					
stomach	dilated lumen	-	1	-	0
	reddish	-	1	-	1
small intestine	reddish	-	1	-	1
liver	black patch/zone	-	0	-	1

Table 7-3

Summary of gross findings (successful pregnancy)

Exp. No. 3185 (115-073)

Sex: Male

Generation: F0

Dose level (mg/kg)		0	60	200	600
No. of animals necropsied		12	12	12	8
Organ	Findings				
RESPIRATORY SYSTEM					
lung	adhesion	0	0	1	0
	brown patch/zone	0	0	1	0
URINARY SYSTEM					
kidney	cyst	0	0	1	0
	scarred	0	0	1	0
REPRODUCTIVE SYSTEM					
epididymis	nodule	0	0	0	1

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

Table 7-4

Summary of gross findings (day 4 of lactation)

Exp. No. 3185 (115-073)

Sex: Female

Generation: F0

Dose level (mg/kg)		0	60	200	600
No. of animals necropsied		12	11	12	9
Organ	Findings				
HEMATOPOIETIC SYSTEM					
thymus	red patch/zone	1	0	0	1
RESPIRATORY SYSTEM					
lung	brown patch/zone	1	0	0	0
	red patch/zone	1	0	0	0
URINARY SYSTEM					
kidney	scarred	1	0	0	0
REPRODUCTIVE SYSTEM					
ovary	cyst	0	2	0	1
INTEGUMENTARY SYSTEM					
hair	thin	0	0	0	1

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

Table 7-5

Summary of gross findings (all pups died)

Exp. No. 3185 (115-073)

Sex: Female

Generation: F0

Dose level (mg/kg)

No. of animals necropsied

Organ Findings

0

60

200

600

0

0

0

1

HEMATOPOIETIC SYSTEM

thymus atrophic

-

-

-

1

Table 8-1

Summary of histological findings (dead)

Exp. No. 3185 (115-073)

Sex: Male

Generation: F0

Dose level (mg/kg)		0				60				200				600			
No. of animals dead		0				0				0				3			
No. of animals necropsied		0				0				0				3			
No. of animals examined histologically		0				0				0				3			
Organ	Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
HEMATOPOIETIC SYSTEM																	
bone marrow														(3)			
	hematopoiesis, decreased	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	0	0
spleen														(3)			
	atrophy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1
	degeneration, vacuolar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	0	1
lymph node														(3)			
	sinus-histiocytosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	0	0
thymus														(3)			
	hemorrhage	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	atrophy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	2
	degeneration, vacuolar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	karyorrhexis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	1
RESPIRATORY SYSTEM																	
lung														(3)			
	congestion	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	degeneration, vacuolar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
DIGESTIVE SYSTEM																	
tongue														(3)			
	degeneration, vacuolar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
stomach														(3)			
	degeneration, vacuolar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	ulcer	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	0	0
exocrine pancreas														(3)			
	degeneration, vacuolar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	fibrin deposit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
duodenum														(2)			
	ulcer	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
liver														(3)			
	degeneration	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	degeneration, vacuolar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	necrosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
salivary gland														(3)			
	degeneration, vacuolar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	0	0
URINARY SYSTEM																	
kidney														(3)			
	basophilic tubules	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	2	1

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked

=: benign #: malignant

(): No. of animals examined microscopically at this site.

-: Not applicable.

Table 8-1 -continued

Summary of histological findings (dead)

Exp. No. 3185 (115-073)

Sex: Male

Generation: F0

Dose level (mg/kg)		0				60				200				600			
No. of animals dead		0				0				0				3			
No. of animals necropsied		0				0				0				3			
No. of animals examined histologically		0				0				0				3			
Organ	Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
URINARY SYSTEM																	
kidney	cast, hyaline	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1	0
	degeneration, vacuolar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1
	dilatation, tubules	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	0	0
	necrosis, tubular epithelium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	3	0
urinary bladder	dilatation, lumen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(3)	2	0	0
REPRODUCTIVE SYSTEM																	
testis	atrophy, seminiferous tubule	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(3)	1	0	0
epididymis	cell debris, lumen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(3)	1	0	0
	decrease, sperm	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
ENDOCRINE SYSTEM																	
pituitary gland	degeneration, vacuolar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(3)	1	0	0
thyroid gland	ultimobranchial remnant	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(3)	2	0	0
parathyroid gland	degeneration, vacuolar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(3)	1	0	0
adrenal gland	hypertrophy, zona fasciculata	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(3)	3	0	0
SPECIAL SENSE SYSTEM																	
eye	dysplasia, retina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(3)	1	0	0
INTEGUMENTARY SYSTEM																	
skin	degeneration, vacuolar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(3)	2	0	0

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked

=: benign #: malignant

(): No. of animals examined microscopically at this site.

-: Not applicable.

Table 8-2

Summary of histological findings (dead)

Exp. No. 3185 (115-073)

Sex: Female

Generation: F0

Dose level (mg/kg)		0				60				200				600			
No. of animals dead		0				1				0				1			
No. of animals necropsied		0				1				0				1			
No. of animals examined histologically		0				1				0				1			
Organ	Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
HEMATOPOIETIC SYSTEM																	
bone marrow						(1)								(1)			
	hematopoiesis, decreased	-	-	-	-	-	0	0	0	-	-	-	-	-	1	0	0
spleen						(1)								(1)			
	atrophy	-	-	-	-	-	0	0	0	-	-	-	-	-	1	0	0
	degeneration, vacuolar	-	-	-	-	-	0	0	0	-	-	-	-	-	1	0	0
lymph node						(1)								(1)			
	sinus-histiocytosis	-	-	-	-	-	0	0	0	-	-	-	-	-	1	0	0
thymus						(1)								(1)			
	hemorrhage	-	-	-	-	-	1	0	0	-	-	-	-	-	1	0	0
	karyorrhexis	-	-	-	-	-	0	0	0	-	-	-	-	-	0	0	1
RESPIRATORY SYSTEM																	
lung						(1)								(1)			
	congestion	-	-	-	-	-	1	0	0	-	-	-	-	-	1	0	0
	degeneration, vacuolar	-	-	-	-	-	0	0	0	-	-	-	-	-	1	0	0
DIGESTIVE SYSTEM																	
exocrine pancreas						(1)								(1)			
	degeneration, vacuolar	-	-	-	-	-	1	0	0	-	-	-	-	-	1	0	0
liver						(1)								(1)			
	necrosis	-	-	-	-	-	0	0	0	-	-	-	-	-	1	0	0
salivary gland						(1)								(1)			
	degeneration, vacuolar	-	-	-	-	-	0	0	0	-	-	-	-	-	1	0	0
URINARY SYSTEM																	
kidney						(1)								(1)			
	basophilic tubules	-	-	-	-	-	0	0	0	-	-	-	-	-	1	0	0
	degeneration, vacuolar	-	-	-	-	-	1	0	0	-	-	-	-	-	0	1	0
	necrosis, tubular epithelium	-	-	-	-	-	0	0	0	-	-	-	-	-	1	0	0
INTEGUMENTARY SYSTEM																	
skin						(1)								(1)			
	degeneration, vacuolar	-	-	-	-	-	0	0	0	-	-	-	-	-	1	0	0

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked

=: benign #: malignant

(): No. of animals examined microscopically at this site.

-: Not applicable.

Table 8-3

Summary of histological findings (all pups died)

Exp. No. 3185 (115-073)

Sex: Female

Generation: F0

Dose level (mg/kg)		0				60				200				600			
No. of animals all pups died		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																	
bone marrow														(1)			
	granulopoiesis, increased	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
spleen														(1)			
	deposit, pigment	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
thymus														(1)			
	atrophy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	1
RESPIRATORY SYSTEM																	
lung														(1)			
	edema	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	erosion	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	fibrosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	squamous metaplasia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
DIGESTIVE SYSTEM																	
stomach														(1)			
	edema	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	erosion	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	cellular infiltration	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	regeneration	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
cecum														(1)			
	cellular infiltration	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
colon														(1)			
	cellular infiltration	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
URINARY SYSTEM																	
kidney														(1)			
	basophilic tubules	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
ENDOCRINE SYSTEM																	
pituitary gland														(1)			
	cyst	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked

=: benign #: malignant

(): No. of animals examined microscopically at this site.

-: Not applicable.

Table 8-4-1

Summary of histological findings (successful pregnancy)

Exp. No. 3185 (115-073)

Sex: Male

Generation: F0

Dose level (mg/kg)	0	60	200	600
No. of animals sacrificed	12	12	12	8
No. of animals necropsied	12	12	12	8
No. of animals examined histologically	12	12	12	8
Organ Findings				
CARDIOVASCULAR SYSTEM				
heart				
cellular infiltration	1	-	-	0
microgranuloma	1	-	-	1
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
spleen				
deposit, pigment	4	-	-	3
DIGESTIVE SYSTEM				
liver				
fatty change	1	-	-	0
microgranuloma	5	-	-	2
URINARY SYSTEM				
kidney				
basophilic tubules	6	7	6	3
cyst	0	0	1	0
dilatation, tubules	0	0	0	1
eosinophilic body	5	3	2	1
necrosis, tubular epithelium	0	0	1	0
cellular infiltration, lymphocyte	4	0*	2	0
REPRODUCTIVE SYSTEM				
epididymis				
spermatic granuloma	-	-	-	1

-: Not applicable.

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

Table 8-4-2

Summary of histological findings (successful pregnancy)

Exp. No. 3185 (115-073)

Sex: Male

Generation: F0

Dose level (mg/kg)		0				60				200				600			
No. of animals sacrificed		12				12				12				8			
No. of animals necropsied		12				12				12				8			
No. of animals examined histologically		12				12				12				8			
Organ	Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
CARDIOVASCULAR SYSTEM																	
heart		(12)				(0)				(0)				(8)			
	cellular infiltration	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
	microgranuloma	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
HEMATOPOIETIC SYSTEM																	
spleen		(12)				(0)				(0)				(8)			
	deposit, pigment	-	4	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	0	0
DIGESTIVE SYSTEM																	
liver		(12)				(0)				(0)				(8)			
	fatty change	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
	microgranuloma	-	5	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	0	0
URINARY SYSTEM																	
kidney		(12)				(12)				(12)				(8)			
	basophilic tubules	-	6	0	0	-	7	0	0	-	6	0	0	-	3	0	0
	cyst	-	0	0	0	-	0	0	0	-	1	0	0	-	0	0	0
	dilatation, tubules	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	-	1	0	0
	eosinophilic body	-	4	1	0	-	2	1	0	-	1	1	0	-	1	0	0
	necrosis, tubular epithelium	-	0	0	0	-	0	0	0	-	1	0	0	-	0	0	0
	cellular infiltration, lymphocyte	-	4	0	0	-	0	0	0	-	2	0	0	-	0	0	0
REPRODUCTIVE SYSTEM																	
epididymis		(0)				(0)				(0)				(1)			
	spermatic granuloma	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	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; *: $p \leq 0.05$ **: $p \leq 0.01$

Table 8-5-1

Summary of histological findings (day 4 of lactation)

Exp. No. 3185 (115-073)

Sex: Female

Generation: F0

Dose level (mg/kg)		0	60	200	600
No. of animals sacrificed		12	11	12	9
No. of animals necropsied		12	11	12	9
No. of animals examined histologically		12	11	12	9
Organ	Findings				
CARDIOVASCULAR SYSTEM					
heart					
	microgranuloma	1	-	-	2
HEMATOPOIETIC SYSTEM					
spleen					
	deposit, pigment	5	-	-	7
	hematopoiesis, extramedullary	7	-	-	5
thymus					
	hemorrhage	1	-	-	1
	cortical atrophy	1	-	-	1
RESPIRATORY SYSTEM					
lung					
	hemorrhage	2	-	-	-
DIGESTIVE SYSTEM					
liver					
	deposit, glycogen	1	-	-	3
	necrosis	0	-	-	1
	microgranuloma	0	-	-	1
	hematopoiesis, extramedullary	5	-	-	3
URINARY SYSTEM					
kidney					
	basophilic tubules	1	2	4	2
	fibrosis, scar	1	0	0	1
REPRODUCTIVE SYSTEM					
ovary					
	cyst, brusa	0	-	-	1

-: Not applicable.

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

Table 8-5-2

Summary of histological findings (day 4 of lactation)

Exp. No. 3185 (115-073)

Sex: Female

Generation: F0

Dose level (mg/kg)		0				60				200				600			
No. of animals sacrificed		12				11				12				9			
No. of animals necropsied		12				11				12				9			
No. of animals examined histologically		12				11				12				9			
Organ	Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
CARDIOVASCULAR SYSTEM																	
heart		(12)				(0)				(0)				(9)			
	microgranuloma	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	0	0
HEMATOPOIETIC SYSTEM																	
spleen		(12)				(0)				(0)				(9)			
	deposit, pigment	-	5	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7	0	0
	hematopoiesis, extramedullary	-	6	1	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	1	0
thymus		(12)				(0)				(0)				(9)			
	hemorrhage	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	cortical atrophy	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
RESPIRATORY SYSTEM																	
lung		(2)				(0)				(0)				(0)			
	hemorrhage	-	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DIGESTIVE SYSTEM																	
liver		(12)				(0)				(0)				(9)			
	deposit, glycogen	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	0	0
	necrosis	-	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	microgranuloma	-	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	hematopoiesis, extramedullary	-	5	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	0	0
URINARY SYSTEM																	
kidney		(12)				(11)				(12)				(9)			
	basophilic tubules	-	1	0	0	-	2	0	0	-	4	0	0	-	2	0	0
	fibrosis, scar	-	1	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	-	1	0	0
REPRODUCTIVE SYSTEM																	
ovary		(12)				(0)				(0)				(9)			
	cyst, brusa	-	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	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; *: $p \leq 0.05$ **: $p \leq 0.01$

Table 8-6

Summary of histological findings (not copulation)

Exp. No. 3185 (115-073)

Sex: Male

Generation: F0

Dose level (mg/kg)	0	60	200	600
No. of animals not copulation	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)
deposit, pigment	- - - -	- - - -	- - - -	- 1 0 0
URINARY SYSTEM				
kidney				(1)
basophilic tubules	- - - -	- - - -	- - - -	- 1 0 0
eosinophilic body	- - - -	- - - -	- - - -	- 0 1 0

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked

=: benign #: malignant

(): No. of animals examined microscopically at this site.

-: Not applicable.

Table 8-7

Summary of histological findings (not copulation)

Exp. No. 3185 (115-073)

Sex: Female

Generation: F0

Dose level (mg/kg)	0	60	200	600
No. of animals not copulation	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)
deposit, pigment	- - - -	- - - -	- - - -	- 1 0 0
DIGESTIVE SYSTEM				
liver				(1)
microgranuloma	- - - -	- - - -	- - - -	- 1 0 0

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked

=: benign #: malignant

(): No. of animals examined microscopically at this site.

-: Not applicable.

Table 9

Copulation and fertility results in rats

Exp. No. 3185 (115-073)

Dose level (mg/kg)	0	60	200	600
No. of pairs mated	12	11	12	11
No. of pairs copulated	12	11	12	10
No. of pregnant females	12	11	12	10
Copulation index (%) 1)	100.0	100.0	100.0	90.9
Fertility index (%) 2)	100.0	100.0	100.0	100.0
Estrus cycle (days) (Mean $\pm$ S.D.)	4.1 $\pm$ 0.3 (12)	4.1 $\pm$ 0.3 (12)	4.3 $\pm$ 0.5 (12)	4.5 $\pm$ 0.4* (11)

1) (No. of animals with successful copulation / no. of animals mated) $\times$ 100
 2) (No. of pregnant animals / no. of animals with successful copulation) $\times$ 100
 Values in parentheses are expressed no. of animals observed
 Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 10

Findings of delivery in dams (F0)

Exp. No. 3185 (115-073)

Dose level (mg/kg)	0	60	200	600
No. of dams observed	12	11	12	10
No. of dams delivered live pups	12	11	12	10
Duration of gestation (Mean $\pm$ S.D.)	22.7 $\pm$ 0.5	22.3 $\pm$ 0.5	22.6 $\pm$ 0.5	22.4 $\pm$ 0.5
No. of total corpora lutea (Mean $\pm$ S.D.)	226(18.8 $\pm$ 1.5)	227(20.6 $\pm$ 2.9)	235(19.6 $\pm$ 2.5)	186(18.6 $\pm$ 1.7)
No. of total implants (Mean $\pm$ S.D.)	211(17.6 $\pm$ 1.6)	189(17.2 $\pm$ 3.3)	218(18.2 $\pm$ 1.9)	170(17.0 $\pm$ 2.3)
No. of total pups born (Mean $\pm$ S.D.)	196(16.3 $\pm$ 2.0)	168(15.3 $\pm$ 3.3)	185(15.4 $\pm$ 1.5)	157(15.7 $\pm$ 2.7)
No. of total live pups born (Mean $\pm$ S.D.)	196(16.3 $\pm$ 2.0)	167(15.2 $\pm$ 3.3)	184(15.3 $\pm$ 1.4)	157(15.7 $\pm$ 2.7)
Male	98(8.2 $\pm$ 2.2) a)	85(7.7 $\pm$ 2.3)	95(7.9 $\pm$ 1.8) a)	70(7.0 $\pm$ 3.0) a)
Female	98(8.2 $\pm$ 1.5) a)	82(7.5 $\pm$ 2.6) a)	89(7.4 $\pm$ 2.2) a)	87(8.7 $\pm$ 2.3) a)
Sex ratio (Mean $\pm$ S.D.)	1.05 $\pm$ 0.37	1.15 $\pm$ 0.46	1.22 $\pm$ 0.60	0.90 $\pm$ 0.57
No. of total live pups on day 4 (Mean $\pm$ S.D.)				
Male	94(7.8 $\pm$ 2.0)	82(7.5 $\pm$ 2.2)	78(6.5 $\pm$ 2.7)	43(4.3 $\pm$ 2.9)
Female	89(7.4 $\pm$ 1.1)	71(6.5 $\pm$ 2.5)	76(6.3 $\pm$ 2.5)	64(6.4 $\pm$ 3.7)
No. of total dead pups born (Mean $\pm$ S.D.)	0(0.0 $\pm$ 0.0)	1(0.1 $\pm$ 0.3)	1(0.1 $\pm$ 0.3)	0(0.0 $\pm$ 0.0)
stillbirth	0(0.0 $\pm$ 0.0)	0(0.0 $\pm$ 0.0)	0(0.0 $\pm$ 0.0)	0(0.0 $\pm$ 0.0)
cannibalism	0(0.0 $\pm$ 0.0)	1(0.1 $\pm$ 0.3)	1(0.1 $\pm$ 0.3)	0(0.0 $\pm$ 0.0)
Gestation index (%) 1)	100.0	100.0	100.0	100.0
Implantation index (% Mean $\pm$ S.D.) 2)	93.4 $\pm$ 5.4	83.5 $\pm$ 14.3	93.2 $\pm$ 7.5	91.3 $\pm$ 8.0
Delivery index (% Mean $\pm$ S.D.) 3)	92.9 $\pm$ 7.0	90.3 $\pm$ 16.2	85.2 $\pm$ 6.9	92.1 $\pm$ 6.0
Live birth index (% Mean $\pm$ S.D.) 4)	100.0 $\pm$ 0.0	99.5 $\pm$ 1.8	99.5 $\pm$ 1.7	100.0 $\pm$ 0.0
Viability index on day 4 (% Mean $\pm$ S.D.) 5)				
Male	96.1 $\pm$ 7.5	96.8 $\pm$ 5.4	82.7 $\pm$ 28.4	67.2 $\pm$ 39.2
Female	91.9 $\pm$ 9.9	86.2 $\pm$ 10.4	85.8 $\pm$ 20.3	70.7 $\pm$ 35.0

1) (No. of females with live pups / no. of pregnant females) $\times$ 1002) (No. of implants / no. of corpora lutea) $\times$ 1003) (No. of pups born / no. of implants) $\times$ 1004) (No. of live pups born / no. of pups born) $\times$ 1005) (No. of live pups on day 4 after birth / no. of live pups born) $\times$ 100

a) Includes live pups died before observations

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

Table 11

External observations on live pups(F1) from rats

Exp. No. 3185 (115-073)

Dose level (mg/kg)	0	60	200	600
No. of litters	12	11	12	10
No. of live pups examined a)	192	163	173	142
No. of live pups with external anomalies (% Mean $\pm$ S.D.)	0 -	0 -	0 -	1.3 $\pm$ 4.0 ¹
Type and incidence of external anomalies (%) 1)				
hypodermic hemorrhage	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.7)

1) (No. of live pups with external anomalies / no. of live pups examined) x 100

a) Excludes live pups died before observations

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

Table 12

Body weight change of pups(F1) from rats

Exp. No. 3185 (115-073)

Unit : g																	
Dose level (mg/kg)	0				60		200		600								
No. of litters	12				11		12		10								
	Mean	±	S.D.	(N)	Mean	±	S.D.	(N)	Mean	±	S.D.	(N)					
Male																	
Days after birth	0	6.7	±	0.5 a)	(12)	6.7	±	0.4	(11)	6.6	±	0.6 a)	(12)	6.1	±	0.7* a)	(10)
	4	9.2	±	1.3	(12)	9.0	±	1.5	(11)	9.3	±	1.7	(12)	8.7	±	1.8	(8)
Female																	
Days after birth	0	6.3	±	0.5 a)	(12)	6.2	±	0.5 a)	(11)	6.2	±	0.7 a)	(12)	5.6	±	0.6* a)	(10)
	4	8.7	±	1.2	(12)	8.4	±	1.4	(11)	8.7	±	1.7	(12)	7.7	±	1.9	(9)

a) Excludes live pups died before observations

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

Table 13-1

Summary of gross findings of pups(F1) from rats(sacrificed)

Exp. No. 3185 (115-073)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)		0	60	200	600
No. of pups necropsied		94	82	78	43
Organ	Findings				
HEMATOPOIETIC SYSTEM					
thymus	thymic remnant in the neck	5	0	0	0
DIGESTIVE SYSTEM					
liver	nodule	1	0	0	0
URINARY SYSTEM					
kidney	dilated pelvis	0	2	0	0

Table 13-2

Summary of gross findings of pups(F1) from rats(sacrificed)

Exp. No. 3185 (115-073)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0	60	200	600
No. of pups necropsied	89	71	76	64
Organ Findings				
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
thymus	thymic remnant in the neck	0	0	1
URINARY SYSTEM				
kidney	dilated pelvis	2	0	0