

B-6585

最 終 報 告 書

試験名：N, N-ジメチルアクリルアミドのラットを用いた
2週間回復性観察を含む28日間反復経口投与毒性試験

試験番号：B-6585

試験期間：2010年1月22日-2011年6月30日

試験実施施設

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

試験委託者

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

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

2. 目次

2. 目次	3
4. 要約	10
5. 緒言	11
6. 試験材料及び方法	12
6.1 被験物質及び媒体	12
6.1.1 被験物質	12
6.1.2 溶媒	13
6.2 投与液の調製	13
6.2.1 被験液の調製	13
6.2.2 投与液の保存方法	13
6.2.3 溶媒中での安定性	13
6.2.4 被験液の濃度確認	13
6.3 試験動物種及び系統の選択理由	14
6.4 試験動物及び群分け	14
6.5 飼育条件	15
6.6 飼料及び飲料水中の混入物質	15
6.7 動物の識別及びケージへの表示	15
6.8 投与経路、投与期間、投与回数及び回復期間とそれらの選択理由	16
6.9 投与方法	16
6.10 投与量及びその設定根拠並びに群構成	16
6.11 観察及び検査の方法	17
6.11.1 一般状態の観察	17

6.11.2	詳細な一般状態の観察、機能検査、握力及び自発運動量の測定	17
6.11.2.1	詳細な一般状態の観察	17
6.11.2.2	機能検査	18
6.11.2.3	握力測定	18
6.11.2.4	自発運動量の測定	18
6.11.3	体重測定	18
6.11.4	摂餌量測定	18
6.11.5	摂水量測定	18
6.11.6	尿検査	19
6.11.7	血液学検査	19
6.11.8	血液化学検査	20
6.11.9	病理学検査	21
6.11.9.1	剖検	21
6.11.9.2	器官重量測定	21
6.11.9.3	病理組織学検査	21
6.11.9.4	抗 $\alpha 2\mu$ グロブリン免疫組織化学染色及び PAS 染色	22
6.12	統計解析	22
7.	試験結果	24
7.1	一般状態	24
7.2	詳細な一般状態、機能検査、握力及び自発運動量	24
7.2.1	詳細な一般状態	24
7.2.2	機能検査	25
7.2.3	握力	25
7.2.4	自発運動量	26
7.3	体重	26
7.4	摂餌量	27
7.5	尿検査（摂水量含む）	27
7.6	血液学検査	28
7.7	血液化学検査	29
7.8	器官重量	31
7.9	剖検所見	32
7.10	病理組織学検査	33
8.	考察	36
9.	文献	38

図

Fig. 1~4	自発運動量
Fig. 5	体重
Fig. 6、7	摂餌量

表

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

4. 要約

N, *N*-ジメチルアクリルアミドの 28 日間反復経口投与毒性試験を 6 週齢の Sprague-Dawley 系 SPF ラット [CrI:CD(SD)、1 群雌雄各 6 又は 12 匹] を用いて実施した。投与量は 0 (注射用水: 対照群)、5、20 及び 80 mg/kg とし、また、対照群と 80 mg/kg 投与群の一部の個体 (1 群雌雄各 6 匹) については投与期間終了後 2 週間の回復期間を設け、毒性変化の可逆性を検討した。

一般状態、機能検査及び握力では被験物質投与の影響は認められなかった。

詳細な一般状態では、投与期間中に被毛のつやの消失、粗毛又は汚れが 80 mg/kg 投与群の雄に、少量又は中等度の量の排尿が 80 mg/kg 投与群の雌雄に、立ち上がり回数の低値が 80 mg/kg 投与群の雌にみられた。

自発運動量では、80 mg/kg 投与群の雌雄で低値がみられた。

体重では、80 mg/kg 投与群の雌雄で投与期間を通じて対照群を下回って推移し、体重増加量も低値を示した。また、摂餌量も 80 mg/kg 投与群の雌雄で投与 7 日に低値がみられ、雄では投与期間を通じて低値を示した。

尿検査では、浸透圧の低値が 80 mg/kg 投与群の雌にみられた。

血液学検査では、赤血球数、ヘモグロビン量及びヘマトクリット値の低値、網赤血球率の高値、好中球数の高値及び活性化部分トロンボプラスチン時間の延長が 80 mg/kg 投与群の雌にみられた。また、赤血球数、ヘモグロビン量及びヘマトクリット値の低値傾向が 80 mg/kg 投与群の雄にみられた。

血液化学検査では、クレアチニンの低値が 80 mg/kg 投与群の雄にみられた。

器官重量では、胸腺重量の低値が 80 mg/kg 投与群の雄にみられた。

剖検では、腺胃の暗赤色巣が 80 mg/kg 投与群の雌 3/6 例にみられた。

病理組織学検査では、胸腺の萎縮及び腎臓の尿細管の好酸性小体の増加が 80 mg/kg 投与群の雄に、脾臓の髄外造血の亢進及び腺胃のびらんが 80 mg/kg 投与群の雌に、脾臓の BB 陽性顆粒の増加が 80 mg/kg 投与群の雌雄にみられた。

回復期間では、投与期間にみられた変化の多くは消失又は軽減した。

以上の結果、*N*, *N*-ジメチルアクリルアミドの本試験条件下における無影響量は雌雄とも 20 mg/kg/day と推定された。

B-6585

5. 緒言

厚生労働省 医薬食品局 審査管理課 化学物質安全対策室の依頼により、*N*, *N*-ジメチルアクリルアミドをラットに 28 日間反復経口投与し、その影響を明らかにするとともに、2 週間休薬し、障害の可逆性を検討する試験を実施したので、その成績を報告する。なお、本試験は株式会社ボゾリサーチセンター動物実験委員会の承認を受けている。

B-6585

6. 試験材料及び方法

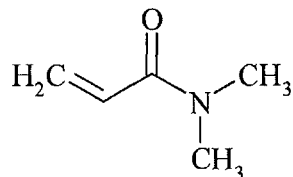
6.1 被験物質及び媒体

6.1.1 被験物質

本試験に使用した被験物質のロット

番号、純度等は次の通りである。また、試験成績書を添付資料 1 に示す。

名称	:	<i>N,N</i> -ジメチルアクリルアミド
英名	:	<i>N,N</i> -Dimethylacrylamide
CAS 番号	:	2680-03-7
官報公示整理番号	:	2-1017
分子式	:	C ₅ H ₉ NO
構造式	:	



分子量	:	99.13
純度 (GC)	:	99.9%
純度 (臭素法)	:	99.5%
常温における性状	:	無色~微黄色透明液体
融点	:	-40°C 以下
比重	:	0.97
引火点	:	77°C
沸点	:	171~172°C
溶解度	:	水、有機溶剤に可溶、 <i>n</i> -ヘキサンに不溶
入手量	:	575g (500 g ; 1 本、25g ; 3 本)
安定性	:	投与期間終了後、被験物質について株式会社ボゾリサーチセンター御殿場研究所で分析を行い、投与期間中の安定性を確認した (添付資料 2)。
保存方法	:	冷暗所 (冷蔵庫内 ; 実測値 : 2~8°C)、密栓
保存場所	:	御殿場研究所 被験物質保存室及び第 2 研究棟 4 階被験物質調製室
取扱い上の注意	:	光に対して過敏、マスク、手袋及び保護眼鏡を着用した。火気や熱源などの着火源から遠ざけ、酸化剤との接触を避けた。
返却	:	被験物質 1 g を保存試料として保存した。分析用に小

分けした被験物質の残量は廃棄した。また、被験物質の残量は安定性を確認後、全て廃棄した。

6.1.2 溶媒

名称	:	注射用水
ロット番号	:	9J93、9K73、9K74
規格	:	日本薬局方
メーカー	:	株式会社 大塚製薬工場
保存方法	:	室温
保存場所	:	御殿場研究所 第2研究棟4階被験物質調製室

なお、溶媒については、本試験に先立って実施した *N*, *N*-ジメチルアクリルアミドの被験液中安定性試験（試験番号：A-2174）において、注射用水中での被験物質の安定性に良好な結果が得られていることから、注射用水を選択した。

6.2 投与液の調製

6.2.1 被験液の調製

濃度ごとに必要量の被験物質を採取し、注射用水に希釈して 1 mg/mL 液（低用量群液）、4 mg/mL 液（中用量群液）及び 16 mg/mL 液（高用量群液）を調製した。被験液は 8 日に 1 回以上の頻度で調製し、調製後 7 日以内に使用した。

6.2.2 投与液の保存方法

投与液は 1 日必要分ずつ褐色ガラス瓶に分注し、使用時まで冷所（冷蔵庫内、許容範囲 1~10℃；実測値 5~9℃）、遮光下で保存した。

6.2.3 溶媒中での安定性

本被験物質の 0.100 及び 200 mg/mL 溶解液（媒体：注射用水）は、褐色ガラス瓶に入れ、冷所（冷蔵庫内、許容範囲：1~10℃）で 8 日間、その後室温で 24 時間安定であることが株式会社ボゾリサーチセンター御殿場研究所で確認されている（試験番号：A-2174、添付資料 3）。

6.2.4 被験液の濃度確認

投与 1 週と 4 週の投与に用いる各濃度の被験液について、その濃度を株式会社ボゾリサーチセンター御殿場研究所で HPLC 法を用いて確認した。その結果、表示値に対する濃度の割合は 98.4~100.3%（許容範囲：表示値に対する割合；100.0±10.0%）であり、いずれも許容範囲内であった（添付資料 3）。分析法の概略を次に示す。

1 濃度当たりの採取本数及び採取量

	:	1 本、1 本につき 10 mL
測定対象物質	:	<i>N</i> , <i>N</i> -ジメチルアクリルアミド

B-6585

測定対象標準物質

名称 : *N*, *N*-ジメチルアクリルアミド
ロット番号 : 23JUC
保存方法 : 冷暗所（冷蔵庫内；実測値：2~8℃）、密栓
保存場所 : 御殿場研究所 被験物質保存室及び生化学部標準物質保存場所

HPLC 測定条件

カラム : CAPCELL PAK C18 MG (2.0 mm I.D. × 150 mm、5 μm、株式会社資生堂)

カラム恒温槽設定温度

: 40℃

HPLC 移動相 : 精製水／アセトニトリル／酢酸 (95/5/0.1、v/v/v)

流速 : 0.2 mL/min

検出 : UV (測定波長 240 nm)

サンプルクーラー設定温度

: 設定無し

注入量 : 10 μL

注入順序 :

注入順序	注入回数	注入内容
1	3	標準溶液（システム適合性用）
2	3	標準溶液（定量用）
3	1	測定実測試料（1 mg/mL）
4	1	測定実測試料（4 mg/mL）
5	1	測定実測試料（16 mg/mL）

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

6.3 試験動物種及び系統の選択理由

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

6.4 試験動物及び群分け

Sprague-Dawley 系 SPF ラット [CrI:CD(SD)、日本チャールス・リバー株式会社、厚木飼育センター] 雌雄各 47 匹^{注 1)} を 5 週齢で入手し、当所で 8 日間検疫・馴化飼育し、一般状態の観察（1 回/日）、体重測定（3 回）及び詳細な一般状態の観察（1 回）を行い、体重増加量、一般状態及び詳細な一般状態の観察^{注 2)} に異常がみられず健康と思

われる雌雄各 36 匹（主群として雌雄各 24 匹、回復群として雌雄各 12 匹）を選び、6 週齢で試験に供した。動物は検疫・馴化期間中の体重増加量により選別後、群分け当日（投与開始の 2 日前）の体重に基づいて、各群の平均体重ができるだけ均等となるよう各群を構成した。個体の割付けはコンピュータを用いたブロック配置法及び無作為抽出法の組合せ（ブロック配置法で必要な群を構成し、試験群及び群内の個体番号を無作為に割当てた）により行った。投与開始日の体重範囲は、雄で 207~243 g、雌で 137~169 g であった。また、余剰動物は投与開始日に試験系から除外し、動物管理責任者に移管した。

注 1) : 試験計画書に従い、注文匹数は雌雄各 45 匹であったが、実際には雌雄各 47 匹が納入された。

注 2) : オープンフィールド内観察において、軟便がみられた雄 1 例は群構成から除外した。

6.5 飼育条件

動物は温度 22~25°C（許容範囲：23±3°C）、相対湿度 40~59%、（許容範囲：50±20%）、換気回数 1 時間 10~15 回、照明 1 日 12 時間（07:00~19:00）の動物飼育室（908 号室）で、ブラケット式金属製網ケージ（W 250×D 350×H 170 mm：リードエンジニアリング株式会社）で個別飼育し、毎日 1 回の飼育室内の清掃を実施した。固形飼料 CRF-1（放射線滅菌、オリエンタル酵母工業株式会社、ロット番号：091005、091104）及び御殿場市営水道水を自動給水装置により自由に摂取させた。

6.6 飼料及び飲料水中の混入物質

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

6.7 動物の識別及びケージへの表示

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

6.8 投与経路、投与期間、投与回数及び回復期間とそれらの選択理由

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

6.9 投与方法

投与容量は 5 mL/kg 体重とし、胃ゾンデを用いて強制経口投与した (08:26~11:59 の間)。対照群には溶媒 (注射用水) を同様に投与した。個体ごとの投与液量 (表示単位: 0.1 mL) は最新の体重を基準に算出した。

6.10 投与量及びその設定根拠並びに群構成

類似化合物アクリルアミドは髄鞘を有する神経線維に軸索萎縮、髄鞘の腫大や変性といった遠位軸索障害を引き起こし、更に、神経節ニューロンや小脳プルキンエ細胞にも変性や壊死を惹起することが知られている。また、アクリルアミドの F344 ラットを用いた反復投与毒性試験では、10 mg/kg/day 以上の投与群では体重減少、体重増加抑制、後肢の伸筋応答の低下が報告されている¹⁾。

N, N-ジメチルアクリルアミドの 0 (注射用水)、30、100 及び 300 mg/kg/day を 1 群雌雄各 5 匹のラットに 14 日間反復経口投与した結果²⁾、300 mg/kg 投与群では、一般状態で自発運動の減少又は振戦を呈した後、投与 4 日までに雌雄全例が死亡した。死亡動物の明らかな死因は不明であるが、一般状態の変化より神経障害による全身状態の悪化の可能性が考えられた。更に、100 mg/kg 投与群の雌雄の体重において明らかな減少がみられた。以上のことから、本試験における投与量は、80 mg/kg を高用量とし、公比 4 で除し、20 mg/kg を中用量に、5 mg/kg を低用量に設定し、対照群を加え 4 群構成とした。1 群当たりの動物を主群では雌雄各 6 匹、回復群では対照群及び高用量群で雌雄各 6 匹とした。群構成を表 1. に示す。

表 1. 群構成

試験群	投与量 (mg/kg)	濃 度 (mg/mL)	投与容量 (mL/kg)	性	主 群		回 復 群	
					動物数	動物番号	動物数	動物番号
対照群	0	0	5	雄	6	1001~1006	6	1007~1012
				雌	6	1101~1106	6	1107~1112
低用量群	5	1	5	雄	6	2001~2006	-	-
				雌	6	2101~2106	-	-
中用量群	20	4	5	雄	6	3001~3006	-	-
				雌	6	3101~3106	-	-
高用量群	80	16	5	雄	6	4001~4006	6	4007~4012
				雌	6	4101~4106	6	4107~4112

6.11 観察及び検査の方法

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

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

6.11.1 一般状態の観察

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

6.11.2 詳細な一般状態の観察、機能検査、握力及び自発運動量の測定

詳細な一般状態の観察は、全個体について、投与開始前に 1 回、投与期間中及び回復期間中は毎週 1 回実施した。また、機能検査、握力及び自発運動量の測定は、投与 4 週(雄を投与 24 日、雌を投与 25 日及び 28 日^{注)})及び回復 2 週(回復 11 日)に行った。詳細な一般状態の観察及び機能検査については実測値あるいはスコア化した評点法を用いた。また、観察、検査及び測定は、動物をランダムに配置し、観察者に対して投与の情報を制限(ブラインド化)した状態で行った。ただし、自発運動量の測定はブラインド化せずに行った。なお、投与開始前(検疫・馴化期間中)の詳細な一般状態の観察(オープンフィールド内観察)において、異常がみられた個体は群構成から除外した。

注) : 雌の投与期間中(投与 25 日)の自発運動量測定時に、対照群の雌 1 例(動物番号: 1103)で自発運動量測定装置(DAS system 64)の設定ミスにより、測定値が得られなかった。動物番号: 1103 については、投与 28 日に自発運動量の測定を実施し、データを採取した。なお、自発運動量測定に対するハンドリングの影響を考慮し、投与 28 日の自発運動量測定の前に詳細な一般状態の観察、機能検査及び握力測定の操作を実施したが、これらのデータは採用しなかった。

6.11.2.1 詳細な一般状態の観察

1) ホームケージ内観察

姿勢、痙攣、異常行動

2) 手に持つての観察

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

B-6585

3) オープンフィールド内観察

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

6.11.2.2 機能検査

聴覚反応、接近反応、接触反応、痛覚反応、瞳孔反射、空中正向反射、着地開脚幅

6.11.2.3 握力測定

CPU ゲージ MODEL- RX-5（アイコーエンジニアリング株式会社）を用いて前肢及び後肢の握力を測定した。

6.11.2.4 自発運動量の測定

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

6.11.3 体重測定

全個体について、投与期間中は投与 1、4、7、10、14、17、21、24 及び 28 日の投与前に、回復期間中は回復 1、4、7、10 及び 14 日に測定した。測定は 08:20~10:16 の間に行った。剖検日には相対器官重量算出のため、前日から約 16 時間絶食させた後の体重を測定した（07:35~08:01）。

6.11.4 摂餌量測定

全個体について、投与期間中は投与 1、7、14、21 及び 28 日の投与前に、回復期間中は回復 7 及び 14 日に測定した。測定は 09:10~10:47 の間に行った。なお、投与開始日の測定は前日からの 1 日量を、投与 7 日は 6 日間の累積摂取量を、その後は 7 日ごとに 7 日間の累積摂取量を測定し、1 匹 1 日量を算出した。回復 1 週は回復 1 日から 7 日までの 6 日間の累積摂取量を、その後は 7 日間の累積摂取量を測定し、1 匹 1 日量を算出した。

6.11.5 摂水量測定

尿検査時（投与 22~23 日^{注)} 及び回復 8~9 日）に、尿検査対象動物について、前日からの 1 日当たりの摂水量を、給水瓶を用いて測定した。測定は 08:48~9:28 の間に行った。

注)：投与期間中の検査時に、高用量群の雄 1 例（動物番号：4007）及び雌 1 例（動物番号：4107）で摂水量の低値がみられた。自動給水装置から飲水した可能性が疑われたため、投与 23~24 日に再検査を実施した。再検査の結果、動物番号：4007 では、摂水量に明らかな差がみられ、再測定値は他の動物と同程度の値であり、再検査値を採用した。動物番号：4107 では、摂水量に明らかな差はみられなかったため、再測定値は参考値とし、初回測定値を採用した。なお、検査は初回及び再測定ともに表 2 に示す尿検査の全ての測定項目について実施してお

り、全ての項目について、動物番号：4007は再測定値を、動物番号：4107は初回の測定値を採用した。

6.11.6 尿検査

投与4週（投与22~23日^{注)}）及び回復2週（回復8~9日）に検査を行った。

投与4週は全個体について、回復2週は回復群の全個体について、検査当日にそれぞれ採尿器をセットしたケージに収容し、絶食・自由摂水下で4時間尿を、次いで自由摂食・自由摂水下でその後の20時間尿を採取し、表2に記載した項目及び方法により検査した。

注)：投与期間中の検査時に、高用量群の雄1例（動物番号：4007）及び雌1例（動物番号：4107）で摂水量の低値がみられた。自動給水装置から飲水した可能性が疑われたため、投与23~24日に再検査を実施した。再検査の結果、動物番号：4007では、摂水量に明らかな差がみられ、再測定値は他の動物と同程度の値であり、再検査値を採用した。動物番号：4107では、摂水量に明らかな差はみられなかったため、再測定値は参考値とし、初回測定値を採用した。なお、検査は初回及び再測定ともに表2に示す尿検査の全ての測定項目について実施しており、全ての項目について、動物番号：4007は再測定値を、動物番号：4107は初回の測定値を採用した。

表2. 尿検査の項目、測定法及び使用機器など

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

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

6.11.7 血液学検査

投与期間及び回復期間終了の翌日の計画剖検時に、前日から一夜（約16~20時間）絶食させた全個体について、エーテル麻酔下で開腹し、腹大動脈からEDTA-2K加採血瓶（SB-41：シスメックス株式会社）に血液（約1mL）を採取した。得られた血液について表3.1)に記載した項目及び方法により検査した。更に、血液（約0.9mL）を3.8%クエン酸ナトリウム溶液加試験管（血液9容に対し1容の割合）に採取し、遠

心分離（設定：3,000 rpm、約 1,600×g、約 10 分間）により得られた血漿について表 3.2）に記載した項目及び方法により検査した。なお、鏡検による確認に備え、全個体について May-Grünwald-Giemsa 染色法による血液塗抹標本を作製したが、鏡検による確認は不要と判断し、鏡検は実施しなかった。

表 3. 血液学検査の項目、測定法及び使用機器など

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

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

6.11.8 血液化学検査

血液学検査用試料と同時に採取した血液（約 4 mL）を凝固促進剤入り試験管（ベノジェクト II-オートセップ：テルモ株式会社）に取り、遠心分離（設定：3,000 rpm、約 1,600×g、約 10 分間）し、得られた血清について、表 4.1）に記載した項目及び方法により検査した。また、ヘパリン加試験管（血液 1 mL 当たり約 20 単位のヘパリン）に採取した血液（約 2 mL）を遠心分離（設定：3,000 rpm、約 1,600×g、約 10 分間）し、得られた血漿について表 4.2）に記載した項目及び方法により検査した。

表 4. 血液化学検査の項目、測定法及び使用機器など

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

6.11.9 病理学検査

6.11.9.1 剖検

全ての動物について、採血後腹大動脈切断により放血致死させ、体外表・頭部・胸部・腹部を含む全身の器官・組織の肉眼による詳細な病理解剖を行い、結果を記録した。

6.11.9.2 器官重量測定

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

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

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

6.11.9.3 病理組織学検査

全ての動物について、次に示す器官・組織を採取し、リン酸緩衝 10vol%ホルマリン液で固定した。ただし、肺はリン酸緩衝 10vol%ホルマリン液を注入後、眼球及び視神経はリン酸緩衝液で調製した 3vol%グルタルアルデヒド・2.5vol%ホルマリン液で固定

後、精巣及び精巣上体はブアン液で固定した後、それぞれ、リン酸緩衝 10vol%ホルマリン液で保存し、パラフィン包埋した。その後、切片としてヘマトキシリン・エオジン（HE）染色標本作製し、主群の対照群及び高用量群（肉眼的異常部位については全例）について鏡検した。*で示した両側性器官については両側を摘出したが、鏡検は左側のみ行った。なお、被験物質投与の影響が疑われた雌雄の脾臓、雄の腎臓及び胸腺、雌の胃、並びに肉眼所見のみられた器官・組織については低及び中用量群並びに回復群の全個体を鏡検した。脾臓については、HE 染色標本で褐色色素（ヘモジデリン）がわずかにみられ、被験物質投与群で増加する傾向がみられたため、主群及び回復群の全ての個体についてベルリン青（BB）染色標本作製し、検査を行った。なお、HE 染色標本でみられた褐色色素は BB 染色で詳細に評価できることから、HE 標本での評価は実施しなかった。また、上皮小体の欠落が 20 mg/kg 投与群の主群の雌 1 例（動物番号：3105）に認められたが、上皮小体には被験物質投与の影響がみられていないこと、また、中間用量群の 1 例のみであることから、試験成績に影響はないと判断した。

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

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

6.11.9.4 抗 $\alpha 2\mu$ グロブリン免疫組織化学染色及び PAS 染色

病理組織学検査において、腎臓の尿細管の好酸性小体が見られた代表例（80 mg/kg 投与群の 3 例、動物番号 4001、4002 及び 4004）の腎臓について、抗 $\alpha 2\mu$ グロブリン抗体を用いた免疫組織化学染色標本及び PAS 染色標本作製し、鏡検した。

6.12 統計解析

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

B-6585

の平均値の差について Student の t 検定（有意水準：両側 5 及び 1%）を、等分散性が認められなかった場合には Aspin-Welch の t 検定（有意水準：両側 5 及び 1%）を行った^{3) ~7)}。

7. 試験結果

7.1 一般状態

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

1) 投与期間

雌雄いずれの動物にも異常はみられなかった。

2) 回復期間

雌雄いずれの動物にも異常はみられなかった。

7.2 詳細な一般状態、機能検査、握力及び自発運動量

7.2.1 詳細な一般状態

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

1) 投与期間

成績の総括を表 5-1 に示す。

表 5-1. 詳細な一般状態の総括（投与期間）

観察項目	検査時期	性	雄				雌			
		投与量 (mg/kg)	0	5	20	80	0	5	20	80
		動物数	12	6	6	12	12	6	6	12
手に持っでの観察										
被毛の状態 ^{a)}										
軽度のつやの消失、 粗毛又は汚れ	投与 3 週		0	0	0	3 (25%)	0	0	0	0
	投与 4 週		0	0	0	3 (25%)	0	0	0	0
オープンフィールド										
内観察										
排尿 ^{a)}										
少量又は 中等度の量	投与 1 週		1 (8%)	0	0	7 (58%)	1 (8%)	0	1 (17%)	6 (50%)
	投与 2 週		2 (17%)	0	0	9 (75%)	0	0	1 (17%)	5 (42%)
	投与 3 週		3 (25%)	0	2 (33%)	6 (50%)	0	0	1 (17%)	3 (25%)
	投与 4 週		2 (17%)	0	1 (17%)	7 (58%)	1 (8%)	0	0	2 (17%)
立ち上がり回数 ^{b)}	投与 4 週		/	N	N	N	/	N	N	-50%**

a): 表中の数値は出現例数を示し、() 内の数値は出現率を示す。

b): 表中の数値は対照群平均に対する増減率 (-: 減少)

N: 著変なし

/: 該当せず

**: p<0.01 (対照群との間に有意差あり)

手に持っでの観察において、投与 3 及び 4 週検査時に軽度のつやの消失、粗毛又は汚れが 80 mg/kg 投与群の雄各 3/12 例にみられた。

オープンフィールド内観察において、少量又は中等度の量の排尿のみられた動物の出現例数の増加が、投与 1 週検査時には 80 mg/kg 投与群の雌雄に、投与 2~4 週検査時には 80 mg/kg 投与群の雄にみられた。また、投与 4 週検査時に立ち上がり回数の有意な低値が 80 mg/kg 投与群の雌にみられた。

2) 回復期間

成績の総括を表 5-2 に示す。

表 5-2. 詳細な一般状態の総括（回復期間）

		性		雄		雌	
		投与量 (mg/kg)	0	80	0	80	
観察項目	検査時期	動物数	6	6	6	6	
オープンフィールド							
内観察							
排尿							
少量又は	回復 1 週		1	4	0	0	
中等度の量		(17%)	(67%)				
	回復 2 週		0	2	0	0	
				(33%)			

表中の数値は出現例数を示し、（ ）内の数値は出現率を示す。

オープンフィールド内観察において、少量又は中等度の量の排尿のみられた動物の出現例数の増加が 80 mg/kg 投与群の雄にみられた。

なお、投与期間中にみられた、被毛の軽度のつやの消失、粗毛又は汚れ及び立ち上がり回数の低値は回復期間中の観察では認められなかった。

7.2.2 機能検査

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

1) 投与 4 週

雌雄ともに、いずれの検査項目においても各被験物質投与群と対照群との間に差はみられなかった。

2) 回復 2 週

雌雄ともに、いずれの検査項目においても 80 mg/kg 投与群と対照群との間に差はみられなかった。

7.2.3 握力

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

1) 投与 4 週

雌雄ともに、各被験物質投与群と対照群との間に有意差はみられなかった。

2) 回復 2 週

雌雄ともに、80 mg/kg 投与群と対照群との間に有意差はみられなかった。

7.2.4 自発運動量

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

1) 投与 4 週

80 mg/kg 投与群の雄では、測定開始後 0~10 分、10~20 分、20~30 分及び 30~40 分の測定値に有意な低値がみられ、更に、測定開始後 0~60 分の測定値にも有意な低値がみられた。また、雌では測定開始後 0~10 分及び 10~20 分の測定値に有意な低値がみられた。

5 及び 20 mg/kg 投与群では、雌雄ともに対照群との間に有意差はみられなかった。

2) 回復 2 週

80 mg/kg 投与群の雄では、測定開始後 50~60 分の測定値に有意な低値がみられた。雌では、測定開始後 20~30 分、40~50 分及び 50~60 分の測定値に有意な高値がみられ、更に、測定開始後 0~60 分の測定値にも有意な高値がみられた。

7.3 体重

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

1) 投与期間

成績の総括を表 6-1 に示す。

表 6-1. 体重の総括（投与期間）

性	投与量 (mg/kg)	動物数	平均体重 (投与 28 日)	体重増加量
雄	5	6	N	N
	20	6	N	N
	80	12	-25%**	-53%**
雌	5	6	N	N
	20	6	N	N
	80	12	-9%*	-28%**

表中の数値は対照群平均に対する増減率（-：減少）

N: 著変なし

*: $p<0.05$, **: $p<0.01$ （対照群との間に有意差あり）

80 mg/kg 投与群では、雌雄ともに投与期間を通じて対照群を有意に下回って推移し、体重増加量でも有意な低値がみられた。

5 及び 20 mg/kg 投与群では、雌雄ともに投与期間を通じて対照群と同様に推移した。

2) 回復期間

成績の総括を表 6-2 に示す。

表 6-2. 体重の総括（回復期間）

性	投与量 (mg/kg)	動物数	平均体重 (回復 14 日)	体重増加量
雄	80	6	-20%**	N
雌	80	6	-11%*	N

表中の数値は対照群平均に対する増減率（-：減少）

N: 著変なし

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$ （対照群との間に有意差あり）

80 mg/kg 投与群の雌雄ともに、回復期間を通じて対照群を下回って推移し、雌の回復 4 日を除いて有意差もみられた。体重増加量では、雌雄ともに対照群との間に明らかな差はみられなかった。

7.4 摂餌量

成績を Fig.6、7、Table 4-1、4-2 及び Appendix 95~100 に示した。

1) 投与期間

80 mg/kg 投与群では、雄では投与期間を通じて対照群と比べて有意な低値がみられた。雌では、投与 7 日に対照群と比べて有意な低値がみられたが、投与 14 日以降、明らかな差はみられなかった。

5 及び 20 mg/kg 投与群では、雌雄ともに投与期間を通じて対照群との間に明らかな差はみられなかった。

2) 回復期間

80 mg/kg 投与群の雌雄ともに、回復期間を通じて対照群との間に明らかな差はみられなかった。

7.5 尿検査（摂水量含む）

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

1) 投与 4 週

成績の総括を表 7-1 に示す。

表 7-1. 尿検査の総括（投与 4 週）

性	雄				雌			
投与量 (mg/kg)	0	5	20	80	0	5	20	80
動物数	12	6	6	12	12	6	6	12
潜血 ^{a)} ($\geq \pm$)	0	0	1	1	0	0	1	2
浸透圧 ^{b)}	/	N	N	N	/	N	N	-21%**

a): 表中の数値は出現例数を示す。

b): 表中の数値は対照群平均に対する増減率（-：減少）

N: 著変なし

/: 該当せず

**: $p < 0.01$ （対照群との間に有意差あり）

定量項目では、浸透圧の有意な低値が 80 mg/kg 投与群の雌にみられた。

他に、潜血陽性例が 20 mg/kg 投与群の雌雄各 1/6 例、80 mg/kg 投与群の雄 1/12 例と雌 2/12 例にみられたが、出現頻度から偶発性の変化と考えられた。

2) 回復 2 週

成績の総括を表 7-2 に示す。

表 7-2. 尿検査の総括（回復 2 週）

性	雄		雌	
投与量 (mg/kg)	0	80	0	80
動物数	6	6	6	6
潜血 ^{a)} (+)	0	1	0	0
摂水量 ^{b)}	/	-19%*	/	N
浸透圧 ^{b)}	/	+39%**	/	N

a): 表中の数値は出現例数を示す。

b): 表中の数値は対照群平均に対する増減率 (+ : 増加、- : 減少)

N: 著変なし

/: 該当せず

*: p<0.05, **: p<0.01 (対照群との間に有意差あり)

被験物質投与に起因すると考えられる変化はみられなかった。

なお、軽度の潜血陽性例が 80 mg/kg 投与群の雄 1/6 例にみられたが、出現頻度から偶発性の変化と考えられた。また、摂水量の有意な低値及び浸透圧の有意な高値が 80 mg/kg 投与群の雄にみられたが、投与 4 週検査時には認められない変化であった。

7.6 血液学検査

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

1) 投与期間終了時

成績の総括を表 8-1 に示す。

表 8-1. 血液学検査の総括（投与期間終了時）

性	雄			雌		
投与量 (mg/kg)	5	20	80	5	20	80
動物数	6	6	6	6	6	6
赤血球数	N	N	-5%	N	N	-9%**
ヘモグロビン量	N	N	-4%	N	N	-8%**
ヘマトクリット値	N	N	-3%	N	N	-7%**
網赤血球率	N	N	N	N	N	+127%**
好酸球 比率	N	N	-38%*	N	N	N
好酸球 実数	N	N	N	N	N	N
好中球 比率	N	N	N	N	N	N
好中球 実数	N	N	N	N	N	+103%**
活性化部分トロンボプラスチン時間	N	N	N	N	N	+22%*

表中の数値は対照群平均に対する増減率 (+ : 増加、- : 減少)

N: 著変なし

*: p<0.05, **: p<0.01 (対照群との間に有意差あり)

赤血球系項目では、赤血球数、ヘモグロビン量及びヘマトクリット値の有意な低値、網赤血球率の有意な高値が 80 mg/kg 投与群の雌にみられた。また、80 mg/kg 投与群の雄でも、統計学的な有意差は認められなかったが、赤血球数、ヘモグロビン量及びヘマトクリット値の低値がみられ、個体によっては対照群の個体別値の幅を下回った。

白血球系項目では、好中球数の有意な増加が 80 mg/kg 投与群の雌にみられた。

凝固系項目では、活性化部分トロンボプラスチン時間の有意な延長が 80 mg/kg 投与群の雌にみられた。

他に、好酸球比率の有意な低値が 80 mg/kg 投与群の雄にみられたが、実数には変化がみられていないことから、特記すべき変化ではなかった。

2) 回復期間終了時

成績の総括を表 8-2 に示す。

表 8-2. 血液学検査の総括（回復期間終了時）

性	雄	雌
投与量 (mg/kg)	80	80
動物数	6	6
赤血球数	-9%**	-8%*
ヘモグロビン量	-4%*	N
平均赤血球容積	+8%**	+8%*
平均赤血球血色素量	+5%*	+5%**
平均赤血球血色素濃度	-2%**	-2%*
網赤血球率	+84%**	N
好中球 比率	N	N
実数	+61%*	N

表中の数値は対照群平均に対する増減率（+：増加、-：減少）

N: 著変なし

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$ （対照群との間に有意差あり）

赤血球数及び平均赤血球血色素濃度の有意な低値、平均赤血球容積及び平均赤血球血色素量の有意な高値が 80 mg/kg 投与群の雌雄に、ヘモグロビン量の有意な低値及び網赤血球率の有意な高値が 80 mg/kg 投与群の雄にみられた。

他に、好中球の実数の有意な高値が 80 mg/kg 投与群の雄にみられたが、投与期間終了時検査では認められない変化であった。

7.7 血液化学検査

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

1) 投与期間終了時

成績の総括を表 9-1 に示す。

表 9-1. 血液化学検査の総括（投与期間終了時）

性	雄			雌		
投与量 (mg/kg)	5	20	80	5	20	80
動物数	6	6	6	6	6	6
ALP	N	N	N	N	N	-30%**
クレアチニン	N	N	-17%*	N	N	N
アルブミン	N	+6%*	+10%**	N	N	N
A/G 比	N	N	+13%**	N	N	N

表中の数値は対照群平均に対する増減率（+：増加、-：減少）

N: 著変なし

*: $p<0.05$, **: $p<0.01$ （対照群との間に有意差あり）

クレアチニンの有意な低値が 80 mg/kg 投与群の雄にみられた。

他に、ALP 活性の有意な低値が 80 mg/kg 投与群の雌にみられたが、高値ではないことから特記すべき変化ではなかった。また、アルブミンの有意な高値が 20 及び 80 mg/kg 投与群の雄に、アルブミンの高値に伴うと考えられる A/G 比の有意な高値が 80 mg/kg 投与群の雄にみられたが、低値ではないことから特記すべき変化ではなかった。更に、リン脂質及び総たん白質の有意な高値が 20 mg/kg 投与群の雄に、尿素窒素の有意な高値が 20 mg/kg 投与群の雌にみられたが、用量に関連した変化ではなかった。

2) 回復期間終了時

成績の総括を表 9-2 に示す。

表 9-2. 血液化学検査の総括（回復期間終了時）

性	雄	雌
投与量 (mg/kg)	80	80
動物数	6	6
AST	+12%**	N
ALT	+23%**	N
グルコース	-21%**	-12%*
尿素窒素	N	+13%*
クレアチニン	-12%*	N
無機リン	+13%**	+22%**
アルブミン	-3%*	N

表中の数値は対照群平均に対する増減率（+：増加、-：減少）

N: 著変なし

*: $p<0.05$, **: $p<0.01$ （対照群との間に有意差あり）

クレアチニンの有意な低値が 80 mg/kg 投与群の雄にみられた。

他に、AST 及び ALT の有意な高値が 80 mg/kg 投与群の雄に、グルコースの有意な低値及び無機リンの有意な高値が 80 mg/kg 投与群の雌雄に、尿素窒素の有意な高値が 80 mg/kg 投与群の雌に、アルブミンの有意な低値が 80 mg/kg 投与群の雄にみられたが、これらの変化は投与期間終了時検査では認められない変化であった。

7.8 器官重量

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

1) 投与期間終了時

成績の総括を表 10-1 に示す。

表 10-1. 器官重量の総括（投与期間終了時）

性	雄			雌		
投与量 (mg/kg)	5	20	80	5	20	80
動物数	6	6	6	6	6	6
剖検時体重	N	-6%	-27%**	N	-5%	-13%*
胸腺						
絶対重量	N	N	-48%**	N	N	N
相対重量	N	N	-27%*	N	N	N
脳						
絶対重量	N	N	-9%**	N	N	-7%**
相対重量	N	N	+24%**	N	N	N
心臓						
絶対重量	N	N	N	N	N	N
相対重量	N	N	+22%**	N	N	N
肝臓						
絶対重量	N	N	N	N	N	N
相対重量	N	N	N	N	N	+12%**
脾臓						
絶対重量	N	N	-28%**	N	N	N
相対重量	N	N	N	N	N	N
腎臓						
絶対重量	N	N	N	N	N	N
相対重量	N	N	+21%**	N	N	+9%*
副腎						
絶対重量	N	N	N	N	N	N
相対重量	N	N	+33%*	N	N	N
精巣						
絶対重量	N	N	N	/	/	/
相対重量	N	N	+33%**	/	/	/
精巣上体						
絶対重量	N	N	-14%**	/	/	/
相対重量	N	N	+18%*	/	/	/

表中の数値は対照群平均に対する増減率（+：増加、-：減少）

N: 著変なし

/: 該当せず

*: $p<0.05$, **: $p<0.01$ （対照群との間に有意差あり）

被験物質投与の影響が疑われる変化が、雄の胸腺にみられた。

胸腺：絶対及び相対重量の有意な低値が 80 mg/kg 投与群の雄にみられた。

表に示すその他の変化は、絶対あるいは相対重量のみの変化、もしくは絶対及び相対重量で相反する変化であり、特記すべき変化ではなかった。

2) 回復期間終了時

成績の総括を表 10-2 に示す。

表 10-2. 器官重量の総括（回復期間終了時）

性		雄	雌
投与量 (mg/kg)		80	80
動物数		6	6
剖検時体重		-22%**	-11%*
脳			
	絶対重量	N	N
	相対重量	+23%**	+12%*
心臓			
	絶対重量	N	N
	相対重量	+13%*	+12%**
肝臓			
	絶対重量	-21%**	N
	相対重量	N	N
脾臓			
	絶対重量	N	N
	相対重量	+43%**	N
腎臓			
	絶対重量	N	N
	相対重量	+18%**	N
精巣			
	絶対重量	N	/
	相対重量	+27%**	/
精巣上部			
	絶対重量	-9%*	/
	相対重量	+16%*	/

表中の数値は対照群平均に対する増減率（+：増加、-：減少）

N: 著変なし

/: 該当せず

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$ （対照群との間に有意差あり）

被験物質投与に起因すると考えられる変化はみられなかった。

なお、80 mg/kg 投与群の雄で、投与期間終了時検査において認められた胸腺の絶対及び相対重量の低値は回復期間終了時検査ではみられなかった。

他に、表に示す変化がみられたが、絶対あるいは相対重量のみの変化、もしくは絶対及び相対重量で相反する変化であり、特記すべき変化ではなかった。

7.9 剖検所見

成績を Table 9-1、9-2 及び Appendix 173~244 に示した。

1) 投与期間終了時

胃 : 腺胃の暗赤色巣が対照群の雌 1/6 例、80 mg/kg 投与群の雄 1/6 例と雌 3/6 例にみられた。

なお、Table 及び Appendix に示したその他の所見は、その出現状況からいずれも偶発性の変化と判断した。

2) 回復期間終了時

雌雄いずれの動物にも被験物質投与に起因すると考えられる変化はみられなかった。

なお、Table 及び Appendix に示した所見は、その出現状況からいずれも偶発性の変化と判断した。

7.10 病理組織学検査

成績を Table 10-1~10-4 及び Appendix 173~244 に示した。

1) 投与期間終了時

成績の総括を表 11-1 に示す。

表 11-1. 病理組織学検査の総括（投与期間終了時）

性	雄				雌			
投与量 (mg/kg)	0	5	20	80	0	5	20	80
動物数	6	6	6	6	6	6	6	6
脾臓								
髄外造血の亢進	0	0	0	0	0	1	0	5
軽微	0	0	0	0	0	1	0	5
BB 陽性顆粒の増加 (BB 染色)	0	0	0	6	0	0	1	6
軽微	0	0	0	6	0	0	1	4
軽度	0	0	0	0	0	0	0	2
胃								
腺胃								
びらん	0	—	—	1	1	0	0	3
軽微	0	—	—	1	1	0	0	0
軽度	0	—	—	0	0	0	0	3
胸腺								
萎縮	0	0	0	5	0	—	—	0
軽微	0	0	0	5	0	—	—	0
腎臓								
尿細管の好酸性小体	0	2	1	6	0	—	—	0
軽微	0	2	1	5	0	—	—	0
軽度	0	0	0	1	0	—	—	0
免疫組織化学染色 ^{a)} (抗 $\alpha 2\mu$ -グロブリン抗体)								
陽性	—	—	—	3	—	—	—	—
PAS 染色 ^{a)}								
陰性	—	—	—	3	—	—	—	—

a)：腎臓の尿細管の好酸性小体がみられた動物のうち代表例（80 mg/kg 投与群 3 例）について実施表中の数値は出現例数を示す。

—：検査せず

被験物質投与によると考えられる変化が脾臓、胃、胸腺及び腎臓で認められた。

脾臓： HE 染色標本において、軽微な髄外造血の亢進が 80 mg/kg 投与群の雌 5 例にみられた。なお、5 mg/kg

投与群の雌 1 例でも髄外造血の亢進がみられたが、1 例のみの変化であり、20 mg/kg 投与群には変化がみられていないことから、偶発性の変化と考えられた。BB 染色標本において、軽微又は軽度な BB 陽性顆粒（ヘモジデリン）の増加が 80 mg/kg 投与群の雌雄全例にみられた。なお、BB 陽性顆粒の増加は 20 mg/kg 投与群の雌 1 例にもみられたが、1 例のみの変化であり、本例は血液学検査において異常値を示していないことから、偶発性の変化と考えられた。

- 胃 : 軽度な腺胃のびらんが 80 mg/kg 投与群の雌 3 例にみられ程度も対照群より強かった。なお、80 mg/kg 投与群の雄 1 例でも軽微な腺胃のびらんがみられたが、1 例のみの変化であり、同様の所見が対照群の雌にもみられていることから、偶発性の変化と考えられた。
- 胸腺 : 軽微な萎縮が 80 mg/kg 投与群の雄 5 例にみられた。
- 腎臓 : 軽微又は軽度な尿細管の好酸性小体が 80 mg/kg 投与群の雄全例にみられた。なお、5 mg/kg 投与群の雄 2 例、20 mg/kg 投与群の雄 1 例でも尿細管の好酸性小体がみられたが、少数例であり、程度も軽微な変化に留まっていることから、被験物質投与との関連性はないと考えられた。尿細管の好酸性小体が見られた動物のうち代表例（80 mg/kg 投与群 3 例）について抗 $\alpha 2\mu$ グロブリン抗体を用いた免疫組織化学染色及び PAS 染色を実施した結果、いずれの個体でも抗 $\alpha 2\mu$ グロブリン抗体に陽性、PAS 染色に陰性を示した。

なお、Table 及び Appendix に示したその他の所見はその出現状況あるいは病理組織学的性状からいずれも偶発性の変化と判断した。

2) 回復期間終了時

成績の総括を表 11-2 に示す。

表 11-2. 病理組織学検査の総括（回復期間終了時）

性	雄		雌	
投与量 (mg/kg)	0	80	0	80
動物数	6	6	6	6
脾臓				
髄外造血の亢進	0	5	0	0
軽微	0	5	0	0
BB 陽性顆粒の増加 (BB 染色)	0	4	0	3
軽微	0	4	0	3

表中の数値は出現例数を示す。

B-6585

被験物質投与によると考えられる変化が脾臓で認められた。

脾臓 : HE 染色標本において、軽微な髄外造血の亢進が 80 mg/kg 投与群の雄 5 例にみられた。BB 染色標本において、BB 陽性顆粒の増加が 80 mg/kg 投与群の雄 4 例と雌 3 例にみられた。

なお、Table 及び Appendix でみられたその他の所見はその出現状況あるいは病理組織学的性状からいずれも偶発性の変化と判断した。

8. 考察

N, *N*-ジメチルアクリルアミドの 28 日間反復経口投与毒性試験を 6 週齢の Sprague-Dawley 系 SPF ラット [CrI:CD(SD)、1 群雌雄各 6 又は 12 匹] を用いて実施した。投与量は 0 (注射用水: 対照群)、5、20 及び 80 mg/kg とし、また、対照群と 80 mg/kg 投与群の一部の個体 (1 群雌雄各 6 匹) については投与期間終了後 2 週間の回復期間を設け、毒性変化の可逆性を検討した。

投与及び回復期間を通じて死亡動物はみられず、一般状態、機能検査及び握力では被験物質投与の影響は認められなかった。

詳細な一般状態の観察では、投与期間中に被毛のつやの消失、粗毛又は汚れが 80 mg/kg 投与群の雄に、少量又は中等度の量の排尿の出現例数の増加が 80 mg/kg 投与群の雌雄に、立ち上がり回数の低値が 80 mg/kg 投与群の雌にみられ、自発運動量では、80 mg/kg 投与群の雌雄で低値がみられた。中枢及び末梢神経の病理学検査に異常はみられず、発現機序は不明であるが、これらの所見は *N*, *N*-ジメチルアクリルアミドの類似化合物であるアクリルアミドのラットを用いた 28 日間経口投与による神経行動毒性試験⁸⁾でもみられていることから被験物質投与による影響と考えられた。上記の変化は回復期間では消失又は軽減し、休薬による回復性が認められた。

体重では、80 mg/kg 投与群の雌雄で投与期間を通じて対照群を下回って推移し、体重増加量も低値を示した。また、摂餌量も 80 mg/kg 投与群の雌雄で投与 7 日に有意な低値がみられ、雄では投与期間を通じて低値を示した。回復期間中も 80 mg/kg 投与群の雌雄で体重の低値がみられたが、体重増加量及び摂餌量には対照群と差がなく、休薬による回復傾向が認められた。

尿検査では、投与 4 週検査時に浸透圧の低値が 80 mg/kg 投与群の雌にみられたが、血液化学検査では電解質に変化はみられず、病理組織学検査でも腎臓に関連する変化みられなかったことから毒性学的意義の低い変化と考えられた。

血液学検査では、赤血球数、ヘモグロビン量及びヘマトクリット値の低値が 80 mg/kg 投与群の雌雄にみられ、貧血が示唆された。BB 染色の結果、雌雄で赤血球の処理亢進像と考えられる BB 陽性顆粒 (ヘモジデリン) の増加が認められ、赤血球障害が惹起されていることが示唆された。また、貧血はアクリルアミドを投与することによっても惹起されることから⁹⁾、被験物質投与による影響と考えられた。なお、80 mg/kg 投与群の雌では血液学検査において網赤血球率の高値が、病理組織学検査において脾臓の髄外造血の亢進がみられ、これらの変化は貧血に対する生理的反応と考えられた。回復期間終了時の血液学検査でも、赤血球数及び平均赤血球血色素濃度の低値、平均赤血球容積及び平均赤血球血色素量の高値が 80 mg/kg 投与群の雌雄に、ヘモグロビン量の低値が 80 mg/kg 投与群の雄にみられたが、雌では程度は減弱し、回復傾向が認められた。一方、雄では貧血性の変化が投与期間終了時よりも強くみられた

ことから、遅発毒性の発現を否定できなかった。

他に、好中球数の高値及び活性化部分トロンボプラスチン時間の延長が 80 mg/kg 投与群の雌にみられたが、その発現機序は明らかではなかった。回復期間終了時では、好中球数及び活性化部分トロンボプラスチン時間に変化はみられず、回復性が認められた。

血液化学検査では、クレアチニンの低値が 80 mg/kg 投与群の雄でみられたが、低体重に伴う筋肉量の減少に関連した変化と考えられた。回復期間終了時にも同様の変化がみられたが、程度は減弱し、回復傾向が認められた。

器官重量では、胸腺重量の低値が 80 mg/kg 投与群の雄にみられた。病理組織学検査では胸腺の萎縮がみられたが、体重の低値に起因するストレス性の変化と推定された。回復期間終了時には胸腺重量の変化はみられず、回復性が認められた。

病理組織学検査では、上記の脾臓及び胸腺の変化の他に、雄の腎臓及び雌の腺胃に被験物質投与に起因すると考えられる変化が認められた。腎臓では、80 mg/kg 投与群の雄に尿細管の好酸性小体が高頻度にみられた。代表例について抗 $\alpha 2\mu$ グロブリン免疫組織化学染色標本及び PAS 染色標本を作製して鏡検した結果、全例が抗 $\alpha 2\mu$ グロブリン抗体に陽性、PAS 染色に陰性を示した。以上のことから、本試験でみられた腎臓の好酸性小体は $\alpha 2\mu$ グロブリンに由来するものと考えられ、雄性ラットに発現する種特異的な変化が被験物質投与により増強されたと推察される。腺胃では、肉眼的な暗赤色巣に一致してびらんがみられ、80 mg/kg 投与群では頻度が増加していた。この変化もストレス性の二次的変化と推定された。これらの変化はいずれも回復期間終了時にはみられず、回復性が認められた。

以上の結果、*N*, *N*-ジメチルアクリルアミドの本試験条件下における無影響量は雌雄とも 20 mg/kg/day と推定された。投与期間中にみられた変化の多くは休薬による回復あるいは回復傾向が認められた。

9. 文献

- 1) Tilson HA and Cabe PA The effects of acrylamide given acutely or in repeated doses on fore- and hindlimb function of rats. Toxicol Appl Pharmacol 1979, 47(2): 253-260
- 2) *N, N*-ジメチルアクリルアミドのラットを用いた14日間反復経口投与毒性試験（予備試験）（株式会社ボゾリサーチセンター、試験番号：C-B453、2009年）
- 3) Snedecor GW, Cochran WG. Statistical methods. 8th ed. Ames: Iowa State University Press; 1989.
- 4) Dunnett CW. A multiple comparison procedure for comparing several treatments with a control. J Am Stat Assoc 1955; 50:1096-121.
- 5) Dunnett CW. New tables for multiple comparisons with a control. Biometrics 1964; 20:482-91.
- 6) 佐久間昭（1977）：薬効評価－計画と解析－I 東京大学出版会, 東京.
- 7) 佐久間昭（1981）：薬効評価－計画と解析－II 東京大学出版会, 東京.
- 8) Okazaki S., et al. Neurobehavioral toxicity of acrylamide and IDPN (3,3'-iminodipropionitrile) in rats by 28-day oral administration. -problems encountered in collaborative study and a commentary on conducting neurobehavioral testing.- J Toxicol Sci 2003; 28(Suppl. 1) 1-14.
- 9) 財団法人化学物質評価研究機構. CERi 有害性評価書 アクリルアミド

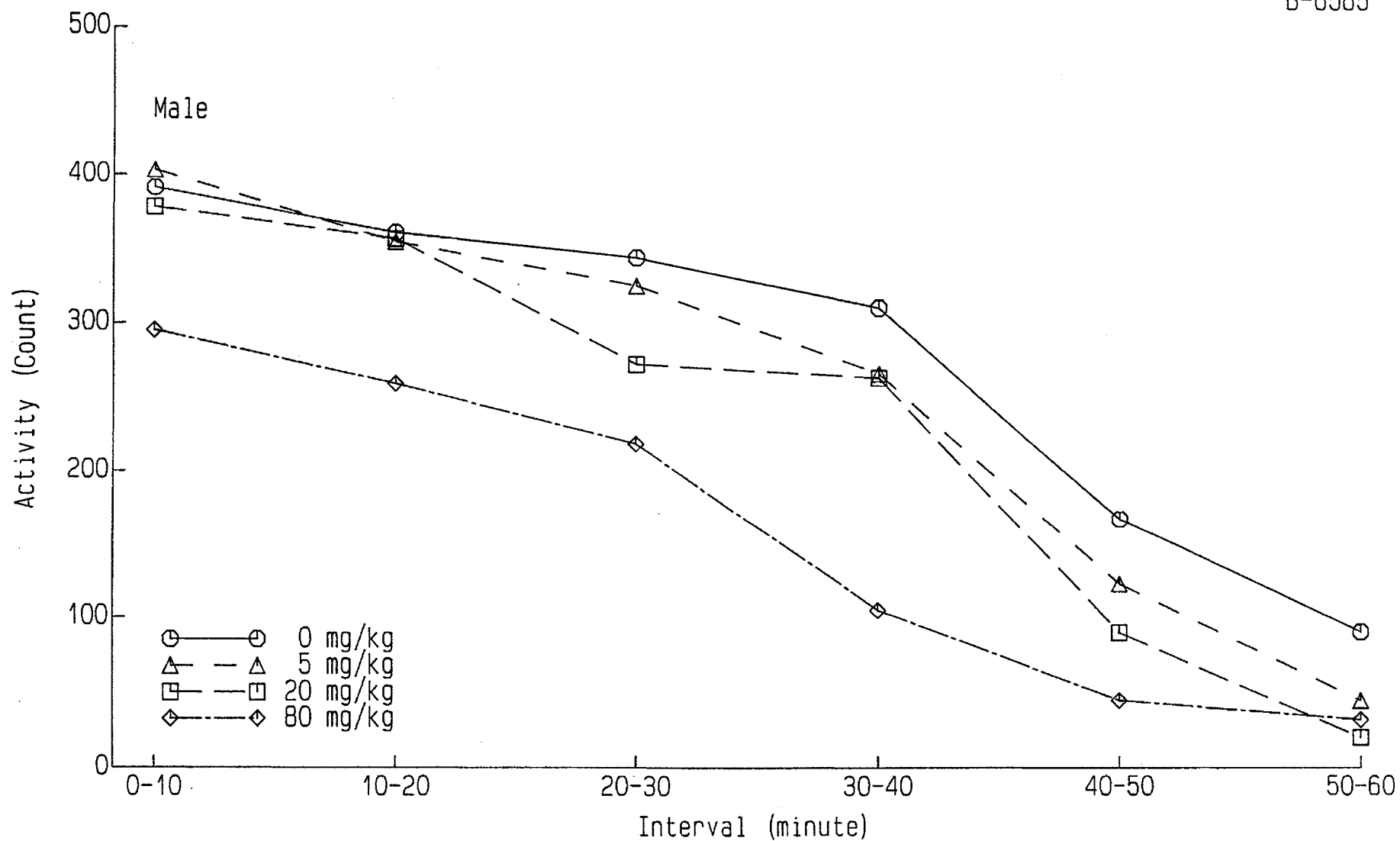


Fig.1 A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats with a recovery period of 2 weeks

—— Motor activity (Week 4 of administration period) ——

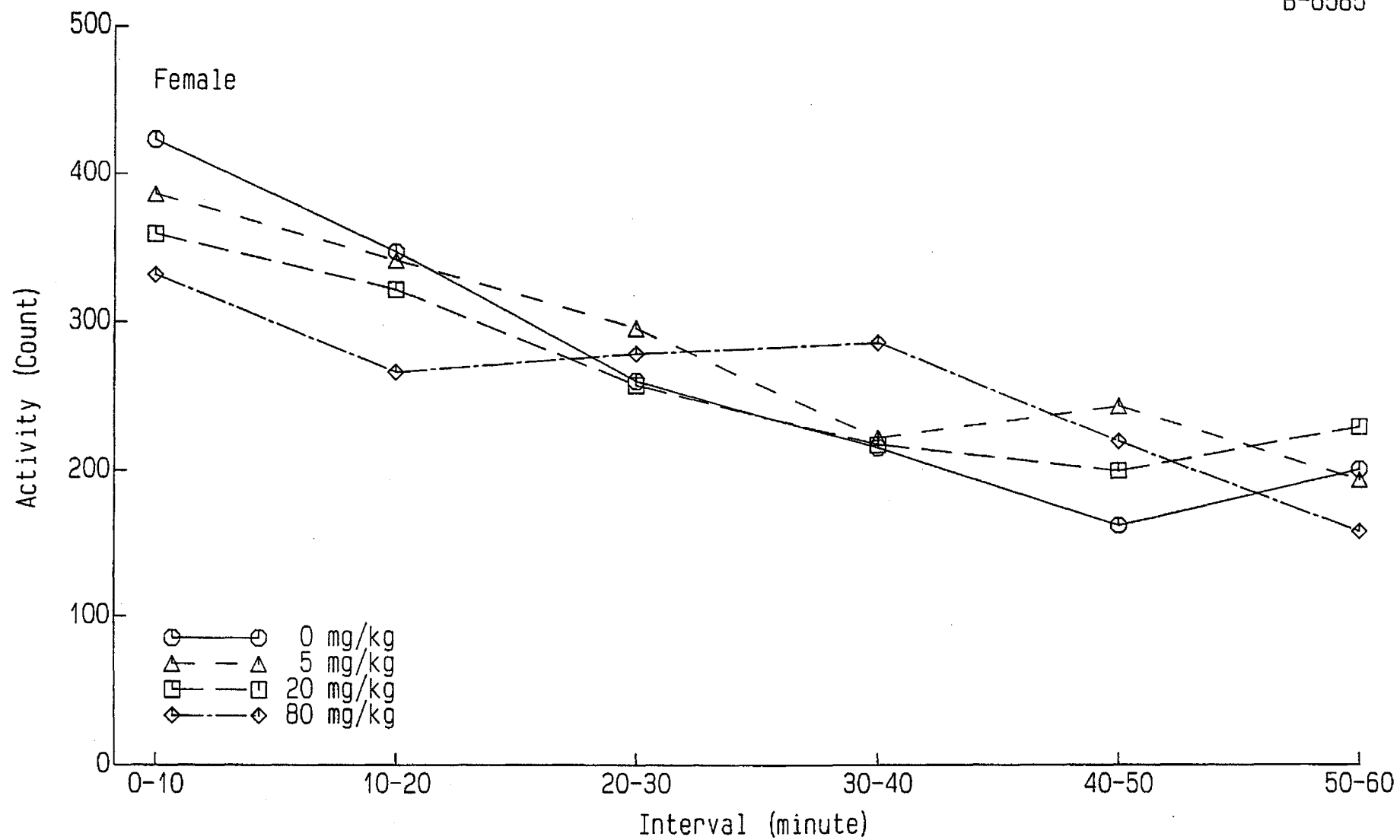


Fig.2 A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats with a recovery period of 2 weeks

— Motor activity (Week 4 of administration period) —

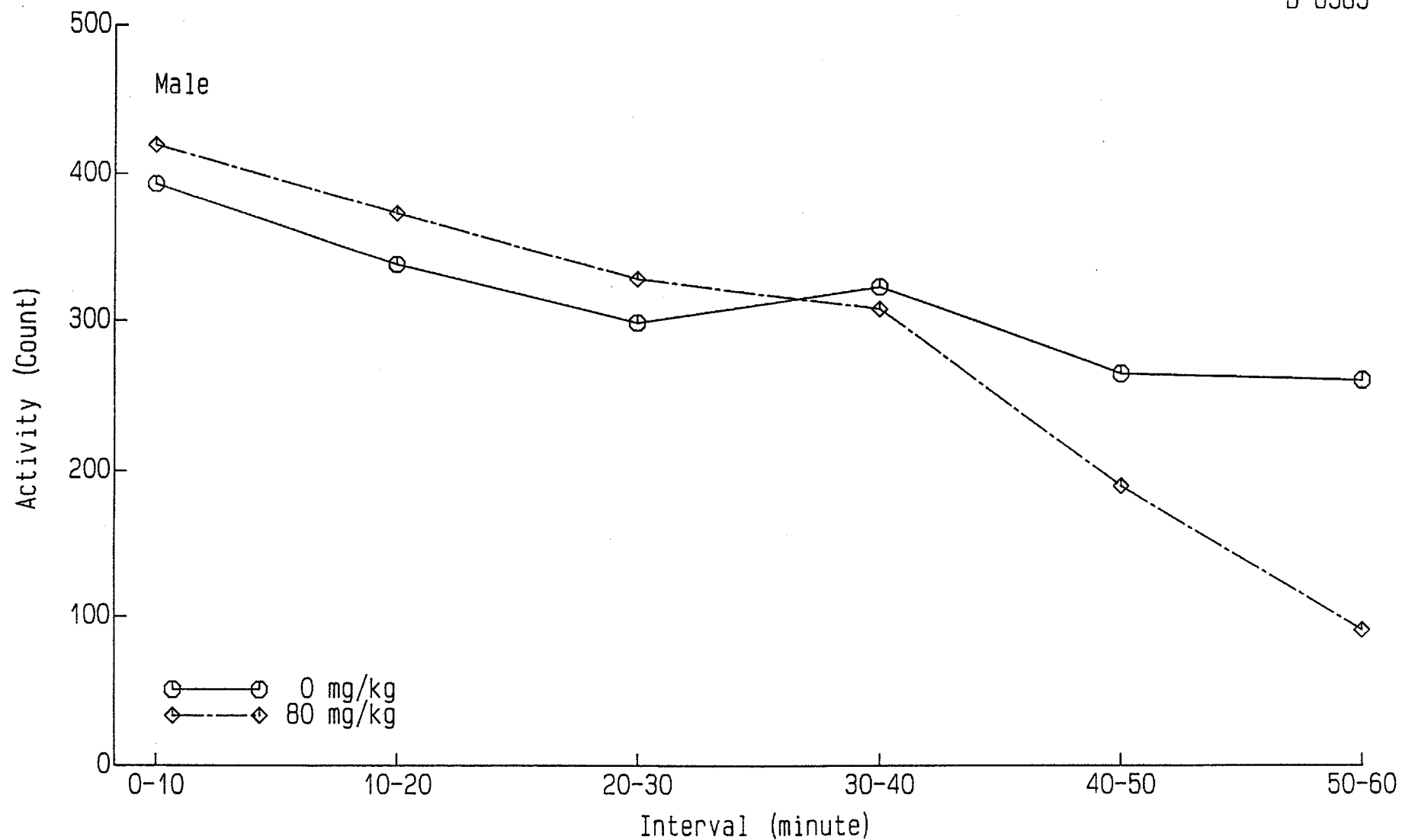


Fig.3 A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats with a recovery period of 2 weeks

— Motor activity (Week 2 of recovery period) —

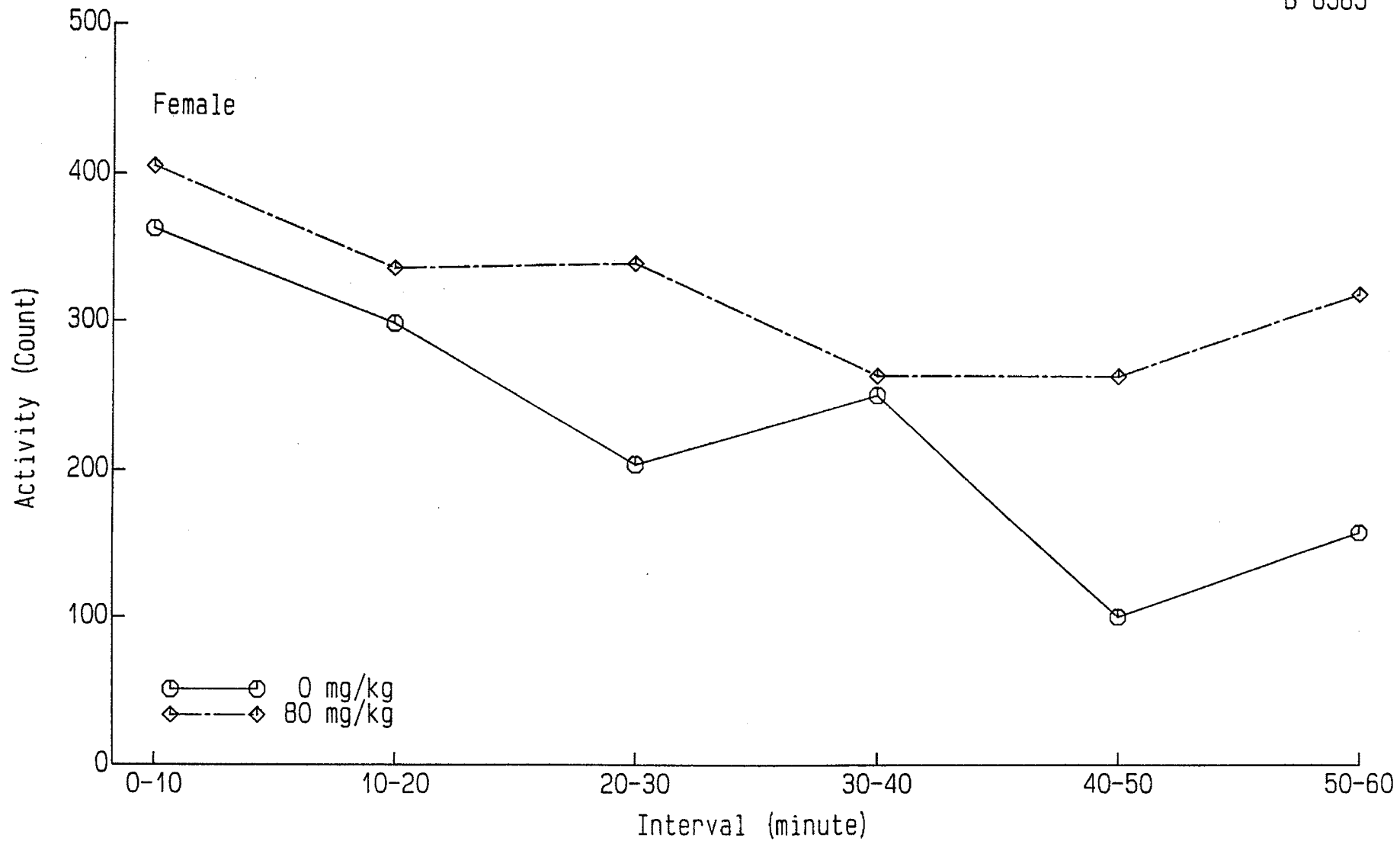


Fig.4 A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats with a recovery period of 2 weeks

— Motor activity (Week 2 of recovery period) —

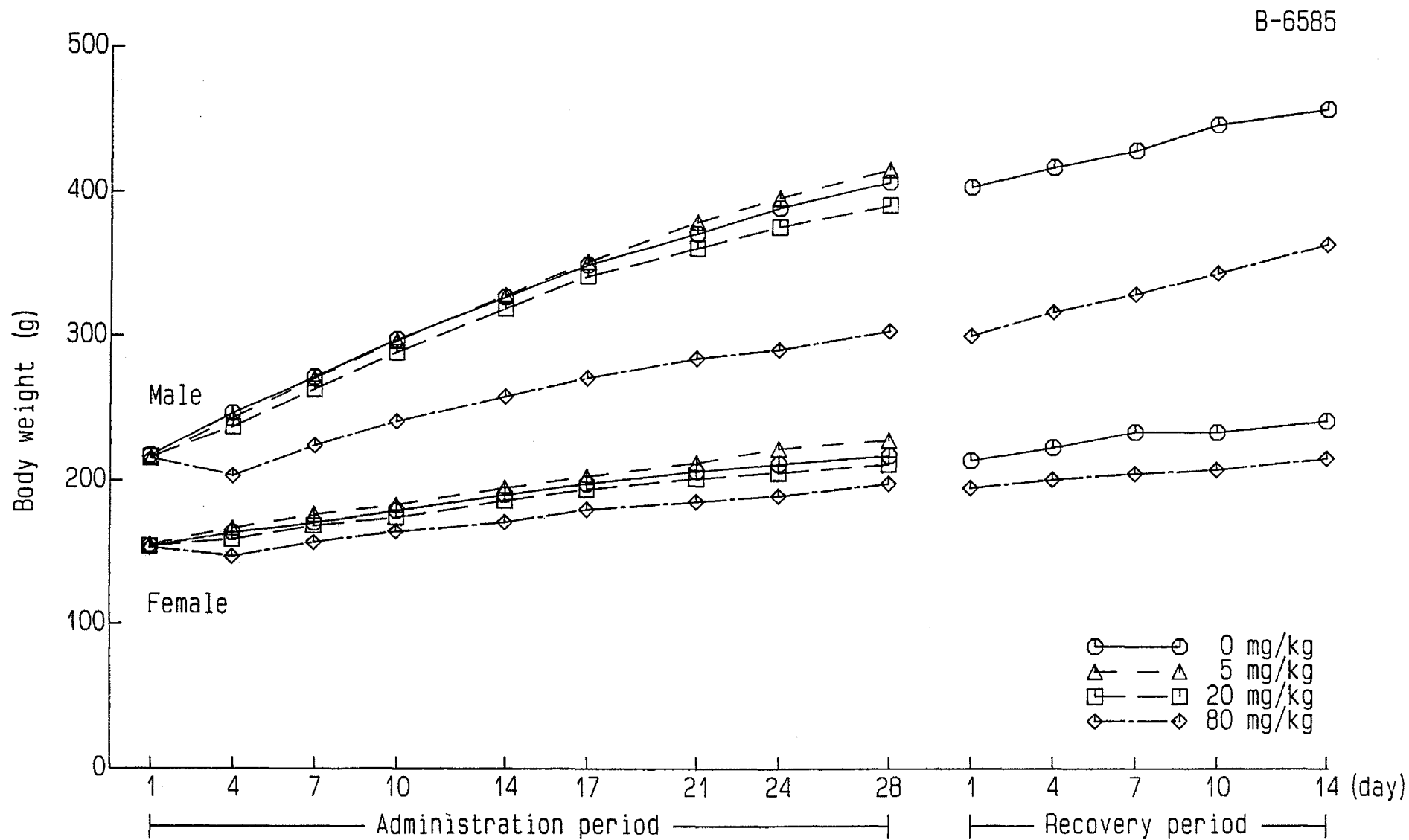


Fig.5 A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats with a recovery period of 2 weeks

— Body weight —

B-6585

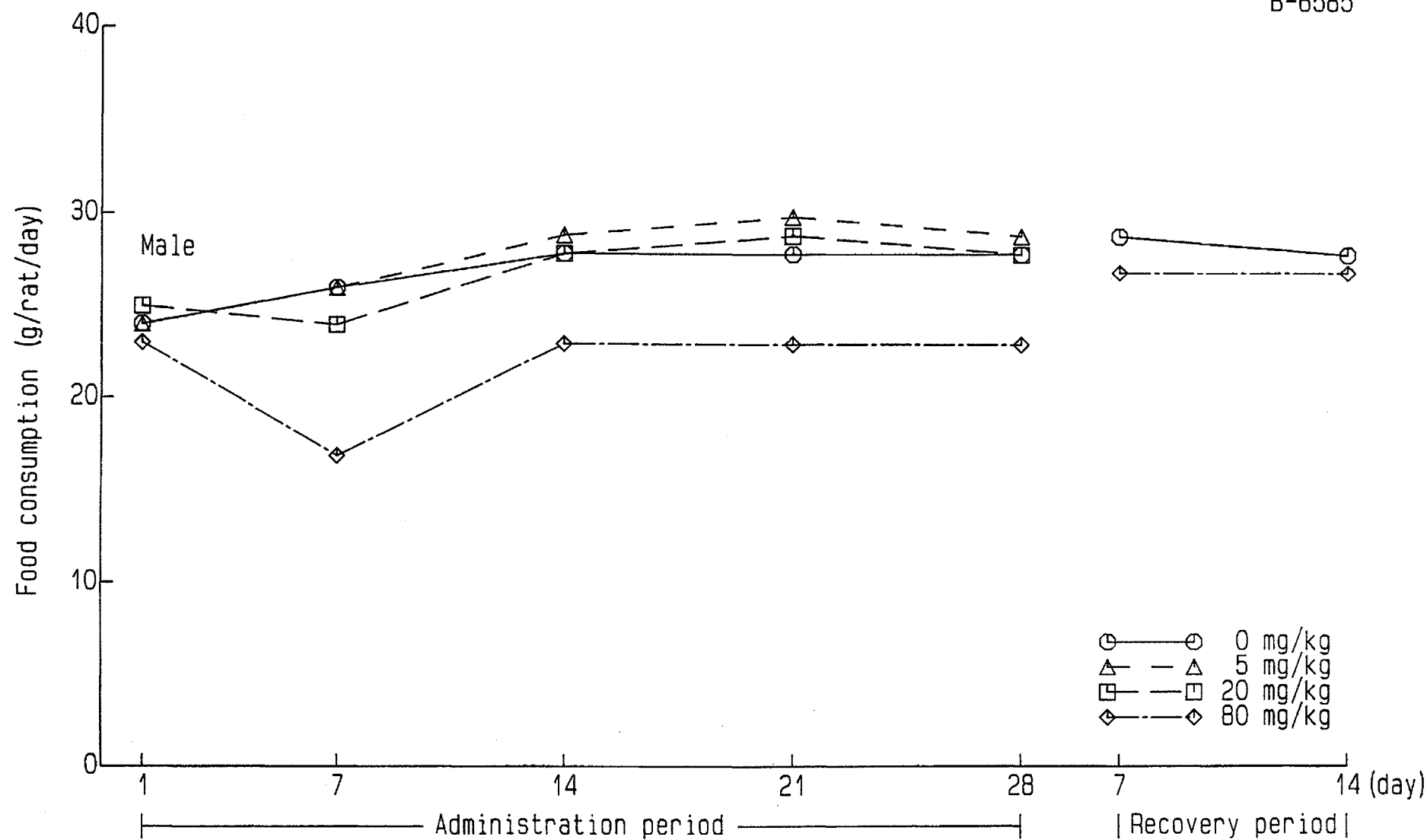


Fig.6 A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats with a recovery period of 2 weeks

— Food consumption —

B-6585

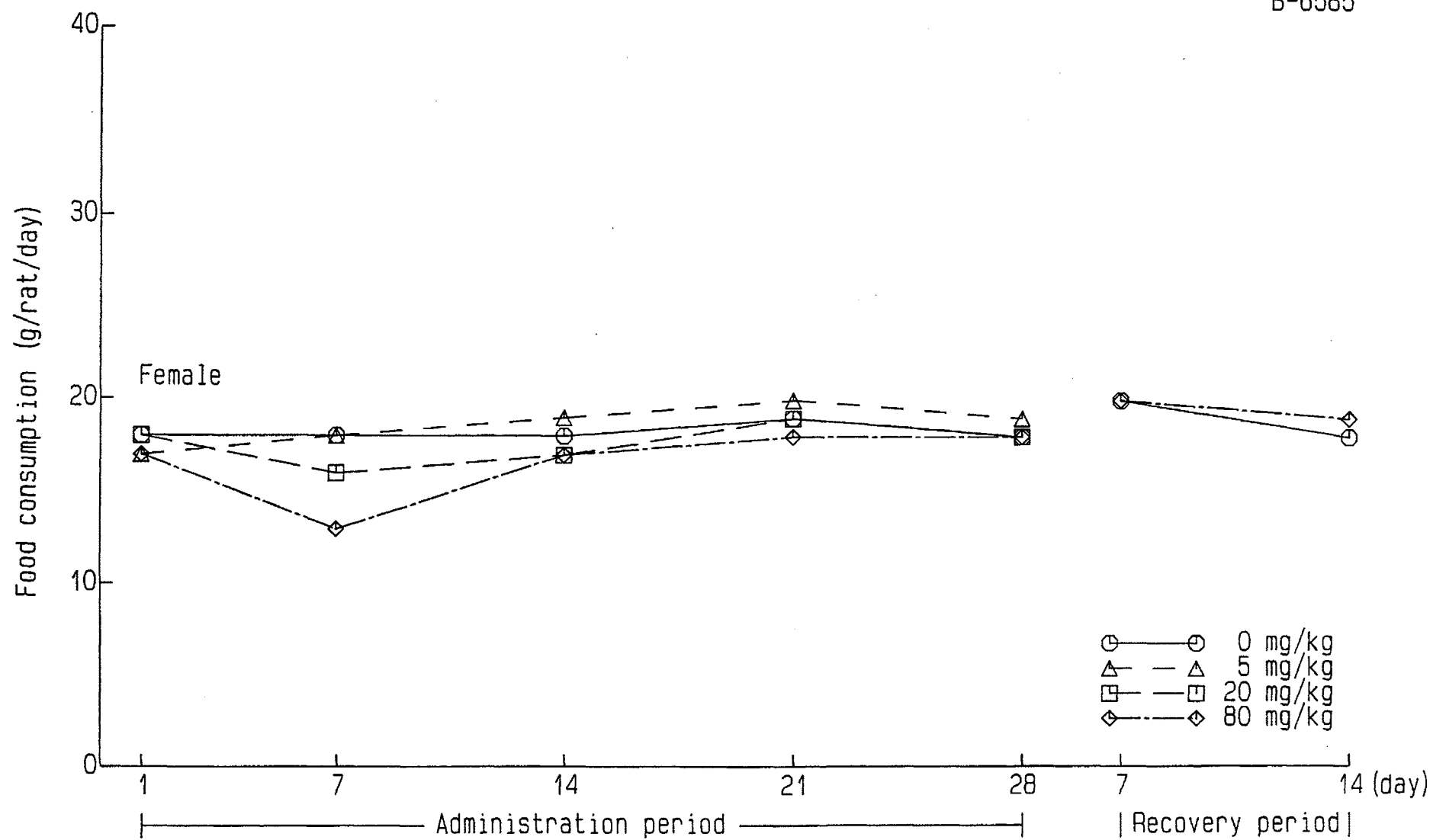


Fig.7 A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats with a recovery period of 2 weeks

— Food consumption —

Table 1-1

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats with a recovery period of 2 weeks

Clinical signs (Administration period)

[illegible]

Table 1-2

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats with a recovery period of 2 weeks

Clinical signs (Administration period)

[illegible]

Table 1-3

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats with a recovery period of 2 weeks

Clinical signs (Recovery period)

[illegible]

Table 2-1

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : home cage observation (Week 1 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	5	20	80	0	5	20	80
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	12

Table 2-2

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : home cage observation (Week 2 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	5	20	80	0	5	20	80
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	12

Table 2-3

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : home cage observation (Week 3 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	5	20	80	0	5	20	80
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	12

Table 2-4

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : home cage observation (Week 4 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	5	20	80	0	5	20	80
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	12

Table 2-5

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : home cage observation (Week 1 of recovery period)

Parameter	Sex	Male		Female	
	Dose (mg/kg)	0	80	0	80
	No. of animals	6	6	6	6
Posture					
Normal		6	6	6	6
Convulsion					
None		6	6	6	6
Abnormal behavior					
None		6	6	6	6

Table 2-6

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : home cage observation (Week 2 of recovery period)

Parameter	Sex	Male		Female	
	Dose (mg/kg)	0	80	0	80
	No. of animals	6	6	6	6
Posture					
Normal		6	6	6	6
Convulsion					
None		6	6	6	6
Abnormal behavior					
None		6	6	6	6

Table 2-7

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

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

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	5	20	80	0	5	20	80
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Ease of removal from cage									
Easy		12	6	6	12	12	6	6	12
Fur condition									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Skin									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Secretions-Eye, Nose									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Exophthalmos									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Palpebral closure									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Mucosal membranes									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Lacrimation									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Piloerection									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Pupil size									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Salivation									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal respiration									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Vocalization									
None		12	6	6	12	12	5	6	10
Soft		0	0	0	0	0	1	0	2
Reactivity to handling									
Easy		12	6	6	12	12	6	6	12

Table 2-8

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

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

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	5	20	80	0	5	20	80
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Ease of removal from cage									
Easy		12	6	6	12	12	6	6	12
Fur condition									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Skin									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Secretions-Eye, Nose									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Exophthalmos									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Palpebral closure									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Mucosal membranes									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Lacrimation									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Piloerection									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Pupil size									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Salivation									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal respiration									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Vocalization									
None		12	6	6	11	12	6	6	12
Soft		0	0	0	1	0	0	0	0
Reactivity to handling									
Easy		12	6	6	12	12	6	6	12

Table 2-9

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

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

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	5	20	80	0	5	20	80
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Ease of removal from cage									
Easy		12	6	6	12	12	6	6	12
Fur condition									
Normal		12	6	6	9	12	6	6	12
Slight, unkempt fur		0	0	0	3	0	0	0	0
Skin									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Secretions-Eye, Nose									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Exophthalmos									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Palpebral closure									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Mucosal membranes									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Lacrimation									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Piloerection									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Pupil size									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Salivation									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal respiration									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Vocalization									
None		12	6	6	11	12	6	6	11
Soft		0	0	0	1	0	0	0	1
Reactivity to handling									
Easy		12	6	6	9	12	6	6	12
Slightly awkward		0	0	0	3	0	0	0	0

Table 2-10

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : in-the-hand observation (Week 4 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	5	20	80	0	5	20	80
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Ease of removal from cage									
Easy		12	6	6	12	12	6	6	12
Fur condition									
Normal		12	6	6	9	12	6	6	12
Slight, unkempt fur		0	0	0	3	0	0	0	0
Skin									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Secretions-Eye, Nose									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Exophthalmos									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Palpebral closure									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Mucosal membranes									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Lacrimation									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Piloerection									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Pupil size									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Salivation									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal respiration									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Vocalization									
None		11	6	6	9	12	6	6	12
Soft		1	0	0	3	0	0	0	0
Reactivity to handling									
Easy		12	6	6	9	12	6	6	10
Slightly awkward		0	0	0	3	0	0	0	2

Table 2-11

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

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

Parameter	Sex	Male		Female	
	Dose (mg/kg)	0	80	0	80
	No. of animals	6	6	6	6
Ease of removal from cage					
Easy		6	6	6	6
Fur condition					
Normal		6	6	6	6
Skin					
Normal		6	6	6	6
Secretions-Eye, Nose					
Absent		6	6	6	6
Exophthalmos					
Absent		6	6	6	6
Palpebral closure					
Normal		6	6	6	6
Mucosal membranes					
Normal		6	6	6	6
Lacrimation					
Normal		6	6	6	6
Piloerection					
Absent		6	6	6	6
Pupil size					
Normal		6	6	6	6
Salivation					
None		6	6	6	6
Abnormal respiration					
Absent		6	6	6	6
Vocalization					
None		6	2	6	4
Soft		0	4	0	2
Reactivity to handling					
Easy		6	4	6	5
Slightly awkward		0	2	0	1

Table 2-12

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

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

Parameter	Sex Dose (mg/kg) No. of animals	Male		Female	
		0	80	0	80
Ease of removal from cage					
Easy		6	5	6	6
Some resistance/avoidance		0	1	0	0
Fur condition					
Normal		6	6	6	6
Skin					
Normal		6	6	6	6
Secretions-Eye, Nose					
Absent		6	6	6	6
Exophthalmos					
Absent		6	6	6	6
Palpebral closure					
Normal		6	6	6	6
Mucosal membranes					
Normal		6	6	6	6
Lacrimation					
Normal		6	6	6	6
Piloerection					
Absent		6	6	6	6
Pupil size					
Normal		6	6	6	6
Salivation					
None		6	6	6	6
Abnormal respiration					
Absent		6	6	6	6
Vocalization					
None		6	4	6	6
Soft		0	2	0	0
Reactivity to handling					
Easy		6	5	6	6
Slightly awkward		0	1	0	0

Table 2-13

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

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

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	5	20	80	0	5	20	80
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Arousal									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Stereotypy									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Gait									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Grooming									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Rearing count (Mean±S.D.)		3± 3	4± 2	4± 2	2± 1	6± 2	7± 3	7± 2	4± 2
Defecation count (Mean±S.D.)		0± 1	0± 1	0± 1	1± 1	0± 0	0± 0	0± 0	0± 1
Urination									
None		11	6	6	5	11	6	5	6
Small amount		1	0	0	6	1	0	1	6
Moderate amount		0	0	0	1	0	0	0	0

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-14

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : open field observation (Week 2 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	5	20	80	0	5	20	80
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Arousal									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Stereotypy									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Gait									
No/minimal location		3	0	0	0	0	0	0	0
Normal		9	6	6	12	12	6	6	12
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Grooming									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Rearing count (Mean±S.D.)		3± 3	3± 2	2± 2	3± 2	5± 3	6± 2	6± 2	5± 2
Defecation count (Mean±S.D.)		0± 1	0± 0	0± 1	0± 1	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0
Urination									
None		10	6	6	3	12	6	5	7
Small amount		2	0	0	6	0	0	1	5
Moderate amount		0	0	0	3	0	0	0	0

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-15

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

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

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	5	20	80	0	5	20	80
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Arousal									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Stereotypy									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Gait									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Grooming									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Rearing count (Mean±S.D.)		3± 3	3± 3	2± 1	4± 2	7± 2	8± 3	7± 3	5± 2
Defecation count (Mean±S.D.)		0± 1	0± 0	0± 0	1± 1	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0
Urination									
None		9	6	4	6	12	6	5	9
Small amount		3	0	2	6	0	0	1	3

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-16

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

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

Parameter	Sex	Male				Female			
		Dose (mg/kg)				Dose (mg/kg)			
	No. of animals	0	5	20	80	0	5	20	80
Arousal									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Stereotypy									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Gait									
No/minimal location		2	0	0	0	0	0	0	0
Normal		10	6	6	12	12	6	6	12
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Grooming									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Rearing count (Mean±S.D.)		3± 2	4± 2	3± 1	4± 1	8± 2	9± 2	9± 2	4± 2**D
Defecation count (Mean±S.D.)		0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0
Urination									
None		10	6	5	5	11	6	6	10
Small amount		2	0	1	7	1	0	0	2

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

D : Dunnett's test

Table 2-17

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

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

Parameter	Sex	Male		Female	
	Dose (mg/kg)	0	80	0	80
	No. of animals	6	6	6	6
Arousal					
Normal		6	6	6	6
Convulsion					
None		6	6	6	6
Abnormal behavior					
None		6	6	6	6
Stereotypy					
None		6	6	6	6
Gait					
No/minimal location		1	0	0	0
Normal		5	6	6	6
Posture					
Normal		6	6	6	6
Grooming					
None		6	6	6	6
Rearing count (Mean±S.D.)		3± 3	7± 3	8± 2	6± 1
Defecation count (Mean±S.D.)		0± 0	1± 1	0± 0	0± 0
Urination					
None		5	2	6	6
Small amount		1	4	0	0

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-18

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : open field observation (Week 2 of recovery period)

Parameter	Sex	Male		Female	
	Dose (mg/kg)	0	80	0	80
	No. of animals	6	6	6	6
Arousal					
Normal		6	6	6	6
Convulsion					
None		6	6	6	6
Abnormal behavior					
None		6	6	6	6
Stereotypy					
None		6	6	6	6
Gait					
Normal		6	6	6	6
Posture					
Normal		6	6	6	6
Grooming					
None		6	6	6	6
Rearing count (Mean±S.D.)		4± 2	5± 4	8± 2	8± 2
Defecation count (Mean±S.D.)		0± 0	0± 1	0± 0	0± 0
Urination					
None		6	4	6	6
Small amount		0	1	0	0
Moderate amount		0	1	0	0

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-19

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Manipulative test (Week 4 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	5	20	80	0	5	20	80
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Auditory response									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Approach response									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Touch response									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Tail pinch response									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Pupillary reflex									
Pass, both		12	6	6	12	12	6	6	12
Aerial righting reflex (Total score: Mean±S.D.)		0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0
Landing foot splay (mm: Mean±S.D.)		70±22	60±12	69±14	81±19	54± 9	49± 9	54±14	63±18

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-20

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Manipulative test (Week 2 of recovery period)

Parameter	Sex	Male		Female	
	Dose (mg/kg)	0	80	0	80
	No. of animals	6	6	6	6
Auditory response					
Normal		6	6	6	6
Approach response					
Normal		6	6	6	6
Touch response					
Normal		6	6	6	6
Tail pinch response					
Normal		6	6	6	6
Pupillary reflex					
Pass, both		6	6	6	6
Aerial righting reflex (Total score: Mean±S.D.)		0± 0	0± 0	0± 0	0± 0
Landing foot splay (mm: Mean±S.D.)		76±22	66±18	66± 9	58±18

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-21

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Grip strength (Week 4 of administration period)

Sex	Dose mg/kg		Fore limb g	Hind limb g
Male	0	No.	12	12
		Mean	1154	729
		S.D.	130	134
	5	No.	6	6
		Mean	1097	683
		S.D.	30	75
	20	No.	6	6
		Mean	1188	858
		S.D.	115	191
	80	No.	12	12
		Mean	1092	713
		S.D.	94	64
Female	0	No.	12	12
		Mean	977	584
		S.D.	118	104
	5	No.	6	6
		Mean	1021	508
		S.D.	87	104
	20	No.	6	6
		Mean	990	572
		S.D.	100	54
	80	No.	12	12
		Mean	949	557
		S.D.	116	74

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-22

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Grip strength (Week 2 of recovery period)

Sex	Dose mg/kg		Fore limb g	Hind limb g
Male	0	No.	6	6
		Mean	1338	647
		S.D.	250	88
	80	No.	6	6
		Mean	1215	628
		S.D.	122	102
Female	0	No.	6	6
		Mean	1005	567
		S.D.	140	118
	80	No.	6	6
		Mean	897	552
		S.D.	134	100

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-23

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Motor activity (Week 4 of administration period)

Sex	Dose mg/kg		Interval (minutes)						Total(0-60)
			0-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60	
Male	0	No.	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	391	361	345	312	169	92	1670
		S.D.	71	33	46	74	127	121	304
	5	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	403	355	326	268	124	46	1521
		S.D.	48	56	31	109	152	70	378
	20	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	378	357	274	265	91	21	1386
		S.D.	35	76	115	128	125	13	407
	80	No.	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	295**	260**	220**	106**	46	33	958**
		S.D.	74D	81D	120DT	134D	34	40	349D
Female	0	No.	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	423	348	262	217	164	203	1617
		S.D.	48	59	104	135	116	131	436
	5	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	386	342	297	224	246	196	1692
		S.D.	40	20	114	84	139	78	234
	20	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	359	322	259	219	202	232	1593
		S.D.	56	76	54	119	102	62	257
	80	No.	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	331**	267*	280	288	222	160	1547
		S.D.	79D	75D	64	88	89	118	347

Unit : Count

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

D : Dunnett's test

DT : Dunnett-type rank test

Table 2-24

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Motor activity (Week 2 of recovery period)

Sex	Dose mg/kg		Interval (minutes)						
			0-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60	Total(0-60)
Male	0	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	393	339	300	325	267	263	1885
		S.D.	36	55	84	57	85	71	306
	80	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	420	374	330	310	192	92*	1717
		S.D.	39	83	67	119	146	121T	464
Female	0	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	363	299	205	252	101	160	1380
		S.D.	60	82	95	89	108	100	370
	80	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	405	337	341*	265	265*	321**	1933**
		S.D.	68	85	47T	88	99T	61T	187T

Unit : Count

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

T : Student's t-test

Table 3-1

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Body weight (Administration period)

Sex	Dose mg/kg		Day of administration								Gain 1-28	
			1	4	7	10	14	17	21	24		28
Male	0	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	218	247	272	298	328	351	373	391	409	191
		S.D.	10	12	16	19	24	28	33	35	40	36
	5	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	216	244	271	297	329	353	381	398	418	202
		S.D.	8	12	18	25	31	37	43	47	52	46
	20	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	217	238	264	289	320	343	363	378	393	176
		S.D.	8	10	11	14	19	22	25	27	31	24
	80	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	216	204**	225**	242**	259**	272**	286**	292**	305**	89**
		S.D.	8	10D	12D	13D	15D	19D	21D	23D	26D	28D
Female	0	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	154	164	171	180	191	199	208	213	219	65
		S.D.	10	10	11	13	15	16	17	15	16	11
	5	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	155	167	177	184	196	204	214	224	230	75
		S.D.	9	10	13	16	17	15	15	17	19	13
	20	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	154	159	169	175	187	195	203	207	213	60
		S.D.	9	6	8	10	9	13	12	10	9	7
	80	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	153	147**	157**	165*	172**	181**	187**	191**	200*	47**
		S.D.	8	8D	9D	11D	11D	12D	15D	20D	17D	13D

Unit : g

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

D : Dunnett's test

Table 3-2

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Body weight (Recovery period)

Sex	Dose mg/kg		Day of recovery					Gain 1-14
			1	4	7	10	14	
Male	0	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	406	420	432	450	461	55
		S.D.	22	24	26	28	30	9
	80	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	302**	319**	332**	347**	367**	66
		S.D.	23T	28T	30T	30T	31T	11
Female	0	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	216	225	236	236	244	28
		S.D.	17	16	16	17	20	5
	80	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	197*	203	207*	210*	218*	22
		S.D.	12T	19	18T	17T	17T	8

Unit : g

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

T : Student's t-test

Table 4-1

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Food consumption (Administration period)

Sex	Dose mg/kg		Day of administration				
			1	7	14	21	28
Male	0	No.	12	12	12	12	12
		Mean	24	26	28	28	28
		S.D.	2	2	3	4	4
	5	No.	6	6	6	6	6
		Mean	24	26	29	30	29
		S.D.	2	3	4	4	4
	20	No.	6	6	6	6	6
		Mean	25	24	28	29	28
		S.D.	1	1	2	2	2
	80	No.	12	12	12	12	12
		Mean	23	17**	23**	23**	23**
		S.D.	2	3D	2D	2D	2D
Female	0	No.	12	12	12	12	12
		Mean	18	18	18	19	18
		S.D.	2	1	2	2	2
	5	No.	6	6	6	6	6
		Mean	17	18	19	20	19
		S.D.	2	1	1	2	2
	20	No.	6	6	6	6	6
		Mean	18	16	17	19	18
		S.D.	2	1	2	1	1
	80	No.	12	12	12	12	12
		Mean	17	13**	17	18	18
		S.D.	2	1D	2	1	2

Unit : g/rat/day

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

D : Dunnett's test

Table 4-2 A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Food consumption (Recovery period)

Sex	Dose mg/kg		Day of recovery	
			7	14
Male	0	No.	6	6
		Mean	29	28
		S.D.	3	2
	80	No.	6	6
		Mean	27	27
		S.D.	3	2
Female	0	No.	6	6
		Mean	20	18
		S.D.	1	1
	80	No.	6	6
		Mean	20	19
		S.D.	2	2

Unit : g/rat/day

No significant difference between treated group and control group.

Table 5-1

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Urinalysis (Week 4 of administration period)

Sex	Dose mg/kg	No.	pH									1) Protein						2) Ketone body						3) Glucose					
			5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0	-	+	++	+++	++++		-	+	++	+++	++++		-	+	++	+++	++++	
Male	0	12	0	0	0	0	0	0	1	10	1	1	8	3	0	0	0	7	3	2	0	0	0	12	0	0	0	0	0
	5	6	0	0	0	0	0	0	0	6	0	1	2	3	0	0	0	3	3	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0
	20	6	0	0	0	0	0	0	0	6	0	1	4	1	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0
	80	12	0	1	0	0	0	0	1	10	0	0	10	2	0	0	0	11	1	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0
Female	0	12	0	0	0	2	1	1	1	7	0	6	2	4	0	0	0	7	3	2	0	0	0	12	0	0	0	0	0
	5	6	0	0	0	3	0	0	0	2	1	4	1	1	0	0	0	5	1	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0
	20	6	0	0	0	0	1	1	2	2	0	4	1	1	0	0	0	5	1	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0
	80	12	0	0	0	2	2	2	1	5	0	4	5	3	0	0	0	6	5	1	0	0	0	12	0	0	0	0	0
1)	-	:	<10 mg/dL									+- : 10 - 25 mg/dL						+ : 26 - 85 mg/dL						++ : 86 - 250 mg/dL					
2)	-	:	<5 mg/dL									+- : 5 - 7.5 mg/dL						+ : 7.6 - 30 mg/dL						++ : 31 - 70 mg/dL					
3)	-	:	<30 mg/dL									+- : 30 - 60 mg/dL						+ : 61 - 125 mg/dL						++ : 126 - 250 mg/dL					
																		+++ : 251 - 600 mg/dL						+++ : 71 - 125 mg/dL					
																		+++ : 251 - 750 mg/dL						++++ : >600 mg/dL					
																								++++ : >125 mg/dL					
																								++++ : >750 mg/dL					

Table 5-2

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Urinalysis (Week 4 of administration period)

Sex	Dose mg/kg	No.	4) Occult blood					5) Bilirubin					6) Urobilinogen					7) Color		
			-	+-	+	++	+++	-	+	++	+++	++++	+-	+	++	+++	++++	LY	Y	DY
Male	0	12	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	12	0
	5	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0
	20	6	5	1	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0
	80	12	11	1	0	0	0	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	12	0
Female	0	12	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	11	1	0	0	0	0	12	0
	5	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0
	20	6	5	1	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0
	80	12	10	1	0	1	0	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	12	0
4) - : <0.03 mg/dL +- : 0.03 - 0.05 mg/dL + : 0.06 - 0.15 mg/dL ++ : 0.16 - 0.75 mg/dL +++ : >0.75 mg/dL																				
5) - : <0.5 mg/dL + : 0.5 - 1.5 mg/dL ++ : 1.6 - 5.0 mg/dL +++ : 5.1 - 10.0 mg/dL ++++ : >10.0 mg/dL																				
6) +- : <2.0 mg/dL + : 2.0 - 3.5 mg/dL ++ : 3.6 - 7.0 mg/dL +++ : 7.1 - 12.0 mg/dL ++++ : >12.0 mg/dL																				
7) LY : Light yellow Y : Yellow DY : Dark yellow																				

Table 5-3.

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats with a recovery period of 2 weeks

Urinalysis (Week 4 of administration period)

			URINE SEDIMENT																				CRYSTALLIZATION													
Sex	Dose mg/kg	No.	RBC					WBC					SEC					SREC					Cast			PS					CO					
			-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	
Male	0	12	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	12	0	0	11	1	0	0	0	12	0	0	0	0
	5	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	5	1	0	0	0	6	0	0	0	0
	20	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0
	80	12	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0	12	0	0	0	12	0	0	12	0	0	0	0	11	1	0	0	0
Female	0	12	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0	12	0	0	12	0	0	8	4	0	0	0	12	0	0	0	0	
	5	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	6	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	
	20	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	6	0	0	4	2	0	0	0	6	0	0	0	0	
	80	12	12	0	0	0	0	11	1	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0	12	0	0	12	0	0	9	2	1	0	0	11	1	0	0	0	

SEC	: Squamous Epithelial Cell	-	: Negative
SREC	: Small Round Epithelial Cell	+-	: Slight
PS	: Phosphate Salts	+	: Mild
CO	: Calcium Oxalate	++	: Moderate
		+++	: Severe

Table 5-4

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Water intake and urinalysis (Week 4 of administration period)

Sex	Dose mg/kg	No.		Water intake mL/24h	Urine volume mL/24h	Osmolality mOsm/kg
Male	0	12	Mean	48	13.8	1729
			S.D.	15	5.8	480
	5	6	Mean	43	13.7	1716
			S.D.	6	2.1	260
	20	6	Mean	43	14.5	1606
			S.D.	4	1.6	309
	80	12	Mean	40	10.0	1904
			S.D.	7	3.0	213
Female	0	12	Mean	32	5.4	2287
			S.D.	14	2.3	276
	5	6	Mean	38	10.0	1898
			S.D.	8	6.5	695
	20	6	Mean	29	6.6	2257
			S.D.	4	3.0	812
	80	12	Mean	31	6.9	1798**
			S.D.	9	1.8	288DT

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

DT : Dunnett-type rank test

Table 5-5

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Urinalysis (Week 2 of recovery period)

Sex	Dose mg/kg	No.	pH									1) Protein						2) Ketone body						3) Glucose					
			5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0	-	+-	+	++	+++	++++	-	+-	+	++	+++	++++	-	+-	+	++	+++	++++
Male	0	6	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	3	2	1	0	0	0	5	1	0	0	0	6	0	0	0	0	0
	80	6	0	0	0	0	0	0	2	4	0	0	1	4	1	0	0	1	1	4	0	0	0	6	0	0	0	0	0
Female	0	6	0	0	0	2	0	1	0	3	0	4	2	0	0	0	0	5	1	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0
	80	6	0	0	0	1	0	0	1	4	0	2	2	2	0	0	0	4	1	1	0	0	0	6	0	0	0	0	0
1)	-	:	<10 mg/dL			+- : 10 - 25 mg/dL			+ : 26 - 85 mg/dL			++ : 86 - 250 mg/dL			+++ : 251 - 600 mg/dL			++++ : >600 mg/dL											
2)	-	:	<5 mg/dL			+- : 5 - 7.5 mg/dL			+ : 7.6 - 30 mg/dL			++ : 31 - 70 mg/dL			+++ : 71 - 125 mg/dL			++++ : >125 mg/dL											
3)	-	:	<30 mg/dL			+- : 30 - 60 mg/dL			+ : 61 - 125 mg/dL			++ : 126 - 250 mg/dL			+++ : 251 - 750 mg/dL			++++ : >750 mg/dL											

Table 5-6

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats with a recovery period of 2 weeks

Urinalysis (Week 2 of recovery period)

Sex	Dose mg/kg	No.	4) Occult blood					5) Bilirubin					6) Urobilinogen					7) Color		
			-	+	++	+++	++++	-	+	++	+++	++++	+-	+	++	+++	++++	LY	Y	DY
Male	0	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0
	80	6	5	0	1	0	0	6	0	0	0	0	4	2	0	0	0	0	6	0
Female	0	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0
	80	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0

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

Table 5-7

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Urinalysis (Week 2 of recovery period)

Sex	Dose mg/kg	No.	URINE SEDIMENT															CRYSTALLIZATION																	
			RBC					WBC					SEC					SREC					Cast			PS					CO				
			-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	-	+-	+	++	+++					
Male	0	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	6	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	
	80	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	6	0	0	5	1	0	0	0	6	0	0	0	0	
Female	0	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	6	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	
	80	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	6	0	0	4	2	0	0	0	5	1	0	0	0	
SEC : Squamous Epithelial Cell			-					: Negative																											
SREC : Small Round Epithelial Cell			+-					: Slight																											
PS : Phosphate Salts			+					: Mild																											
CO : Calcium Oxalate			++					: Moderate																											
			+++					: Severe																											

Table 5-8

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Water intake and urinalysis (Week 2 of recovery period)

Sex	Dose mg/kg	No.		Water intake mL/24h	Urine volume mL/24h	Osmolality mOsm/kg
Male	0	6	Mean	42	15.3	1777
			S.D.	7	5.4	452
	80	6	Mean	34*	9.7	2474**
			S.D.	2AT	1.9	239T
Female	0	6	Mean	32	6.5	2182
			S.D.	6	1.3	556
	80	6	Mean	31	8.1	2208
			S.D.	4	4.1	751

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

T : Student's t-test

AT : Aspin-Welch t-test

Table 6-1

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Hematology (After administration period)

Sex	Dose mg/kg	No.		RBC X10 ⁴ /μL	HGB g/dL	HCT %	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	Reticul. %	PLT X10 ⁴ /μL	PT s	APTT s	FIB mg/dL
Male	0	6	Mean	873	16.0	47.1	54.0	18.3	33.9	2.2	119.3	14.7	22.7	320
			S.D.	14	0.2	0.6	1.2	0.5	0.3	0.4	6.7	1.5	4.2	36
	5	6	Mean	895	15.9	47.4	53.1	17.9	33.6	1.9	110.8	15.5	23.6	321
			S.D.	55	0.4	1.6	2.4	0.9	0.4	0.4	6.0	2.3	3.2	50
	20	6	Mean	858	16.0	47.2	55.0	18.6	33.9	1.8	129.4	14.2	23.5	328
			S.D.	16	0.2	0.7	1.2	0.4	0.2	0.2	16.3	0.9	4.5	33
	80	6	Mean	829	15.4	45.9	55.5	18.6	33.6	2.6	124.1	16.2	23.7	303
			S.D.	41	0.7	2.3	3.1	1.0	0.2	0.7	9.5	2.2	2.5	41
Female	0	6	Mean	856	15.7	45.2	52.9	18.4	34.7	1.5	129.3	11.7	15.8	232
			S.D.	50	0.7	1.8	1.2	0.5	0.5	0.4	10.7	0.5	2.1	16
	5	6	Mean	839	15.5	45.2	53.9	18.5	34.4	2.0	129.3	11.4	18.0	234
			S.D.	31	0.6	1.8	1.4	0.5	0.5	0.2	15.6	0.4	2.2	16
	20	6	Mean	833	15.7	45.5	54.6	18.8	34.5	1.4	134.0	12.0	17.4	220
			S.D.	12	0.3	1.2	1.3	0.4	0.4	0.3	25.2	0.4	1.6	21
	80	6	Mean	777**	14.4**	42.0**	54.2	18.6	34.3	3.4**	128.9	11.5	19.3*	215
			S.D.	37D	0.7D	1.7D	1.7	0.7	0.3	1.2DT	15.5	0.5	2.6D	22

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

D : Dunnett's test

DT : Dunnett-type rank test

Table 6-2

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Hematology (After administration period)

Sex	Dose mg/kg	No.		WBC	Differential leukocyte counts (%)					
				$\times 10^2/\mu\text{L}$	LYMP	NEUT	EOS	BASO	MONO	LUC
Male	0	6	Mean	88.2	77.2	18.9	1.3	0.4	1.9	0.4
			S.D.	22.4	5.6	5.5	0.4	0.1	0.6	0.1
	5	6	Mean	88.5	78.6	17.6	0.9	0.5	2.0	0.4
			S.D.	10.6	6.1	5.7	0.3	0.1	0.6	0.1
	20	6	Mean	94.5	77.4	19.0	0.9	0.4	1.8	0.5
			S.D.	24.9	7.3	7.3	0.4	0.1	0.5	0.3
	80	6	Mean	90.6	72.0	25.0	0.8*	0.3	1.7	0.3
			S.D.	18.4	8.1	8.2	0.3D	0.1	0.4	0.1
Female	0	6	Mean	80.3	80.9	15.0	1.3	0.4	1.8	0.5
			S.D.	21.5	7.2	7.0	0.6	0.1	0.8	0.3
	5	6	Mean	95.2	78.0	17.8	1.2	0.5	2.0	0.5
			S.D.	40.7	1.9	2.6	0.7	0.2	0.7	0.2
	20	6	Mean	92.8	84.5	12.6	0.9	0.5	1.1	0.5
			S.D.	40.8	4.8	4.7	0.4	0.2	0.4	0.2
	80	6	Mean	118.9	76.8	19.2	0.8	0.5	2.1	0.7
			S.D.	34.5	3.7	3.9	0.2	0.1	0.5	0.4

LUC : Large unstained cells

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

D : Dunnett's test

Table 6-3

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Hematology (After administration period)

Sex	Dose mg/kg	No.		Differential leukocyte counts ($\times 10^2/\mu\text{L}$)					
				LYMP	NEUT	EOS	BASO	MONO	LUC
Male	0	6	Mean	67.6	17.0	1.2	0.4	1.7	0.4
			S.D.	16.2	7.6	0.3	0.2	0.8	0.1
	5	6	Mean	69.8	15.4	0.8	0.4	1.7	0.4
			S.D.	11.4	4.8	0.2	0.1	0.3	0.1
	20	6	Mean	73.1	17.9	0.9	0.4	1.7	0.5
			S.D.	20.5	7.6	0.5	0.2	0.7	0.3
	80	6	Mean	64.5	23.4	0.7	0.3	1.5	0.3
			S.D.	10.2	11.8	0.3	0.1	0.3	0.1
Female	0	6	Mean	66.2	10.9	1.0	0.4	1.4	0.5
			S.D.	23.1	2.9	0.5	0.2	0.7	0.4
	5	6	Mean	74.4	16.7	1.1	0.5	1.9	0.5
			S.D.	32.6	6.0	0.6	0.5	1.4	0.5
	20	6	Mean	79.3	10.7	0.7	0.6	1.0	0.5
			S.D.	37.9	4.0	0.3	0.4	0.6	0.5
	80	6	Mean	92.1	22.1**	0.9	0.6	2.4	0.8
			S.D.	30.7	4.3D	0.2	0.3	0.8	0.5

LUC : Large unstained cells

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

D : Dunnett's test

Table 6-4

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Hematology (After recovery period)

Sex	Dose mg/kg	No.		RBC X10 ⁴ /μL	HGB g/dL	HCT %	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	Reticul. %	PLT X10 ⁴ /μL	PT s	APTT s	FIB mg/dL
Male	0	6	Mean	928	15.7	46.5	50.2	17.0	33.7	1.9	117.9	14.4	22.5	263
			S.D.	19	0.1	0.4	0.9	0.3	0.2	0.2	7.6	1.2	0.9	52
	80	6	Mean	848**	15.1*	46.1	54.3**	17.9*	32.9**	3.5**	130.8	14.3	22.4	264
			S.D.	23T	0.4AT	1.2	2.1AT	0.7T	0.3T	0.8AT	13.4	1.6	2.8	28
Female	0	6	Mean	834	14.8	42.9	51.4	17.8	34.6	2.3	130.4	11.6	16.0	207
			S.D.	34	0.7	1.9	1.4	0.5	0.2	0.5	14.9	0.2	1.2	15
	80	6	Mean	768*	14.4	42.5	55.4**	18.7**	33.8*	2.8	137.5	11.5	16.0	196
			S.D.	41T	0.8	2.3	0.2AT	0.3T	0.6AT	0.5	16.6	0.4	1.6	12

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

T : Student's t-test

AT : Aspin-Welch t-test

Table 6-5

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Hematology (After recovery period)

Sex	Dose mg/kg	No.		WBC	Differential leukocyte counts (%)					
				$\times 10^2/\mu\text{L}$	LYMP	NEUT	EOS	BASO	MONO	LUC
Male	0	6	Mean	91.6	73.7	22.6	1.0	0.4	2.1	0.3
			S.D.	21.2	4.7	4.1	0.4	0.1	0.7	0.2
	80	6	Mean	110.2	66.0	30.8	0.9	0.4	1.7	0.3
			S.D.	26.0	8.8	8.4	0.2	0.1	0.7	0.1
Female	0	6	Mean	68.5	76.4	20.0	1.3	0.3	1.6	0.4
			S.D.	20.1	7.6	7.5	0.4	0.1	0.5	0.1
	80	6	Mean	71.4	81.2	15.2	1.1	0.3	1.7	0.5
			S.D.	8.0	4.3	3.6	0.5	0.1	0.5	0.1

LUC : Large unstained cells

No significant difference between treated group and control group.

Table 6-6

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Hematology (After recovery period)

Sex	Dose mg/kg	No.	Differential leukocyte counts ($\times 10^2/\mu\text{L}$)						
				LYMP	NEUT	EOS	BASO	MONO	LUC
Male	0	6	Mean	67.5	20.5	0.9	0.4	2.0	0.3
			S.D.	16.4	5.8	0.5	0.2	0.9	0.3
	80	6	Mean	73.6	33.1*	1.0	0.4	1.9	0.3
			S.D.	22.6	8.9T	0.3	0.2	0.8	0.2
Female	0	6	Mean	53.1	12.9	0.9	0.2	1.1	0.3
			S.D.	19.2	4.3	0.5	0.1	0.3	0.1
	80	6	Mean	57.8	11.0	0.8	0.3	1.3	0.3
			S.D.	5.6	3.3	0.5	0.1	0.5	0.1

LUC : Large unstained cells

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

T : Student's t-test

Table 7-1

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Blood chemistry (After administration period)

Sex	Dose mg/kg	No.		AST IU/L	ALT IU/L	LDH IU/L	γ -GTP IU/L	ALP IU/L	T-CHO mg/dL	TG mg/dL	PL mg/dL	T-BIL mg/dL	GLU mg/dL
Male	0	6	Mean	65	28	56	1	662	49	48	86	0.1	131
			S.D.	4	6	16	0	86	9	15	9	0.1	12
	5	6	Mean	58	26	48	1	603	57	54	97	0.1	135
			S.D.	5	2	8	0	91	13	25	16	0.1	21
	20	6	Mean	65	24	60	1	590	66	44	109*	0.1	120
			S.D.	5	5	13	0	108	16	24	23D	0.1	6
	80	6	Mean	88	34	64	1	611	56	24	104	0.1	114
			S.D.	23	8	9	0	131	10	7	13	0.1	11
Female	0	6	Mean	64	23	44	1	436	57	20	102	0.1	111
			S.D.	7	3	7	0	63	13	10	14	0.0	12
	5	6	Mean	60	20	43	1	366	60	19	111	0.1	108
			S.D.	6	2	5	0	63	12	8	19	0.0	12
	20	6	Mean	57	19	43	1	365	72	17	121	0.1	107
			S.D.	3	2	6	0	48	9	5	15	0.0	13
	80	6	Mean	72	25	51	1	307**	63	17	117	0.1	106
			S.D.	7	4	3	0	60D	15	9	25	0.0	10

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

D : Dunnett's test

Table 7-2

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Blood chemistry (After administration period)

Sex	Dose mg/kg	No.		BUN mg/dL	CRNN mg/dL	Na mmol/L	K mmol/L	Cl mmol/L	Ca mg/dL	P mg/dL	TP g/dL	ALB g/dL	A/G
Male	0	6	Mean	13	0.24	143	4.5	107	9.8	7.9	5.9	3.1	1.09
			S.D.	1	0.01	1	0.3	1	0.3	0.7	0.2	0.1	0.09
	5	6	Mean	13	0.24	143	4.5	106	10.1	7.8	6.2	3.2	1.06
			S.D.	2	0.02	1	0.3	1	0.1	0.5	0.1	0.1	0.06
	20	6	Mean	14	0.24	144	4.4	106	10.0	8.2	6.4**	3.3*	1.03
			S.D.	1	0.02	1	0.2	1	0.3	0.4	0.3D	0.1D	0.06
	80	6	Mean	14	0.20*	143	4.7	107	9.8	8.2	6.1	3.4**	1.23**
			S.D.	1	0.02D	1	0.1	2	0.3	0.2	0.2	0.1D	0.05D
Female	0	6	Mean	15	0.25	142	4.7	109	9.8	7.9	5.8	3.1	1.17
			S.D.	2	0.03	2	0.4	2	0.3	0.5	0.3	0.2	0.09
	5	6	Mean	16	0.27	142	4.5	109	9.9	8.0	6.0	3.2	1.13
			S.D.	2	0.02	1	0.3	1	0.3	0.3	0.2	0.1	0.05
	20	6	Mean	21*	0.29	141	4.7	108	9.9	7.8	6.0	3.3	1.21
			S.D.	9DT	0.09	1	0.4	2	0.2	0.4	0.2	0.2	0.06
	80	6	Mean	17	0.23	141	4.6	108	9.9	7.7	6.0	3.3	1.25
			S.D.	5	0.05	2	0.3	2	0.3	0.6	0.2	0.1	0.07

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

D : Dunnett's test

DT : Dunnett-type rank test

Table 7-3

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Blood chemistry (After recovery period)

Sex	Dose mg/kg	No.		AST	ALT	LDH	γ -GTP	ALP	T-CHO	TG	PL	T-BIL	GLU
				IU/L	IU/L	IU/L	IU/L	IU/L	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL
Male	0	6	Mean	59	26	39	0	515	58	67	99	0.1	154
			S.D.	3	2	7	0	112	9	16	10	0.0	19
	80	6	Mean	66**	32**	49	0	600	58	50	97	0.1	122**
			S.D.	3T	4T	18	0	84	10	19	11	0.0	12T
Female	0	6	Mean	60	26	43	0	284	61	16	111	0.1	126
			S.D.	3	5	5	0	78	9	6	13	0.0	9
	80	6	Mean	66	29	42	0	270	67	17	119	0.1	111*
			S.D.	13	13	5	0	45	15	9	18	0.1	9T

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

T : Student's t-test

Table 7-4

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Blood chemistry (After recovery period)

Sex	Dose mg/kg	No.		BUN mg/dL	CRNN mg/dL	Na mmol/L	K mmol/L	Cl mmol/L	Ca mg/dL	P mg/dL	TP g/dL	ALB g/dL	A/G
Male	0	6	Mean	13	0.25	143	4.5	106	9.7	6.8	6.3	3.2	1.06
			S.D.	1	0.02	1	0.3	2	0.1	0.5	0.3	0.0	0.14
	80	6	Mean	14	0.22*	143	4.9	106	9.6	7.7**	6.0	3.1*	1.07
			S.D.	1	0.03T	1	0.4	2	0.3	0.4T	0.3	0.1T	0.08
Female	0	6	Mean	16	0.30	141	4.4	108	9.6	4.9	6.3	3.4	1.17
			S.D.	2	0.02	1	0.3	1	0.2	0.6	0.3	0.1	0.08
	80	6	Mean	18*	0.28	141	4.6	109	9.7	6.0**	6.1	3.3	1.18
			S.D.	1T	0.04	1	0.4	2	0.2	0.2AT	0.3	0.1	0.07

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

T : Student's t-test

AT : Aspin-Welch t-test

Table 8-1

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Absolute and relative organ weight (After administration period)

Male

	Dose mg/kg		Body weight	Brain	Thymus	Heart	Liver	Spleen	Kidney (R+L)	Adrenal (R+L)
			g	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	384	2.09	572	1.23	10.73	0.68	2.80	58
		S.D.	47	0.07	188	0.12	1.48	0.08	0.29	11
	5	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	386	2.00	530	1.29	12.07	0.70	2.78	63
		S.D.	48	0.07	139	0.12	2.68	0.09	0.24	9
	20	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	361	2.05	484	1.26	10.99	0.62	2.75	65
		S.D.	29	0.05	133	0.12	1.31	0.12	0.29	9
	80	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	280**	1.90**	299**	1.09	8.58	0.49**	2.45	55
		S.D.	24D	0.07D	83D	0.11	1.16	0.09D	0.15	9
Relative	0	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.55	146	0.32	2.79	0.18	0.73	15
		S.D.		0.05	32	0.02	0.14	0.02	0.06	1
	5	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.52	136	0.34	3.10	0.18	0.73	16
		S.D.		0.04	26	0.02	0.30	0.02	0.04	2
	20	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.57	133	0.35	3.04	0.17	0.76	18
		S.D.		0.04	27	0.02	0.21	0.02	0.04	4
	80	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.68**	106*	0.39**	3.06	0.17	0.88**	20*
		S.D.		0.08D	22D	0.02D	0.18	0.02	0.05D	3D

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

D : Dunnett's test

Table 8-2

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Absolute and relative organ weight (After administration period)

Male

		Testis (R+L) g(g/100g BW)		Epididymis (R+L) mg(mg/100g BW)	
Dose mg/kg					
Absolute	0	No.	6	6	
		Mean	3.13	887	
		S.D.	0.06	55	
	5	No.	6	6	
		Mean	3.03	925	
		S.D.	0.29	63	
	20	No.	6	6	
		Mean	3.08	843	
		S.D.	0.15	51	
	80	No.	6	6	
		Mean	3.04	764**	
		S.D.	0.19	58D	
Relative	0	No.	6	6	
		Mean	0.82	233	
		S.D.	0.09	28	
	5	No.	6	6	
		Mean	0.79	242	
		S.D.	0.09	26	
	20	No.	6	6	
		Mean	0.86	235	
		S.D.	0.06	19	
	80	No.	6	6	
		Mean	1.09**	274*	
		S.D.	0.11D	24D	

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

D : Dunnett's test

Table 8-3

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Absolute and relative organ weight (After administration period)

Female

	Dose mg/kg		Body weight	Brain	Thymus	Heart	Liver	Spleen	Kidney (R+L)	Adrenal (R+L)
			g	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	212	1.87	456	0.79	6.09	0.49	1.67	70
		S.D.	15	0.08	113	0.07	0.53	0.06	0.13	12
	5	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	212	1.81	439	0.82	6.08	0.51	1.60	62
		S.D.	18	0.08	173	0.06	0.42	0.10	0.11	7
	20	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	201	1.84	488	0.76	6.18	0.44	1.61	62
		S.D.	10	0.05	94	0.05	0.45	0.06	0.10	8
	80	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	184*	1.73**	336	0.74	5.94	0.43	1.58	63
		S.D.	16D	0.04D	91	0.07	0.78	0.10	0.13	8
Relative	0	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.89	214	0.37	2.88	0.23	0.79	33
		S.D.		0.05	44	0.02	0.12	0.02	0.07	6
	5	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.86	205	0.39	2.87	0.24	0.76	30
		S.D.		0.08	72	0.03	0.07	0.04	0.03	3
	20	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.92	245	0.38	3.08	0.22	0.81	31
		S.D.		0.04	53	0.03	0.15	0.03	0.03	3
	80	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.94	181	0.40	3.22**	0.23	0.86*	34
		S.D.		0.06	36	0.02	0.20D	0.04	0.03D	4

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

D : Dunnett's test

Table 8-4

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Absolute and relative organ weight (After administration period)

Female

		Ovary (R+L)		Uterus
Dose mg/kg		mg(mg/100g BW)	mg(mg/100g BW)	
Absolute	0	No.	6	6
		Mean	77.6	425
		S.D.	11.1	130
	5	No.	6	6
		Mean	90.4	518
		S.D.	24.7	96
	20	No.	6	6
		Mean	76.8	370
		S.D.	11.4	71
	80	No.	6	6
		Mean	76.1	385
		S.D.	9.7	102
Relative	0	No.	6	6
		Mean	36.9	206
		S.D.	5.7	82
	5	No.	6	6
		Mean	42.3	246
		S.D.	9.6	52
	20	No.	6	6
		Mean	38.2	185
		S.D.	4.6	38
	80	No.	6	6
		Mean	41.5	212
		S.D.	6.3	62

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 8-5

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Absolute and relative organ weight (After recovery period)

Male

	Dose mg/kg		Body weight	Brain	Thymus	Heart	Liver	Spleen	Kidney (R+L)	Adrenal (R+L)
			g	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	430	2.04	475	1.34	12.28	0.62	2.88	67
		S.D.	28	0.10	121	0.09	1.53	0.09	0.40	11
	80	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	336**	1.94	421	1.19	9.68**	0.67	2.65	57
		S.D.	27T	0.09	108	0.15	1.05T	0.06	0.23	4
Relative	0	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.47	111	0.31	2.85	0.14	0.67	16
		S.D.		0.01	28	0.03	0.19	0.02	0.05	2
	80	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.58**	125	0.35*	2.88	0.20**	0.79**	17
		S.D.		0.05AT	31	0.03T	0.15	0.01T	0.04T	1

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

T : Student's t-test

AT : Aspin-Welch t-test

Table 8-6

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Absolute and relative organ weight (After recovery period)

Male

		Testis (R+L) g(g/100g BW)		Epididymis (R+L) mg(mg/100g BW)	
Dose mg/kg					
Absolute	0	No.	6	6	
		Mean	3.11	1067	
		S.D.	0.23	53	
	80	No.	6	6	
		Mean	3.11	968*	
		S.D.	0.12	55T	
Relative	0	No.	6	6	
		Mean	0.73	250	
		S.D.	0.09	28	
	80	No.	6	6	
		Mean	0.93**	289*	
		S.D.	0.10T	19T	

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

T : Student's t-test

Table 8-7

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Absolute and relative organ weight (After recovery period)

Female

	Dose mg/kg		Body weight	Brain	Thymus	Heart	Liver	Spleen	Kidney (R+L)	Adrenal (R+L)
			g	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	228	1.85	408	0.77	6.10	0.47	1.64	63
		S.D.	18	0.07	92	0.07	0.69	0.07	0.11	9
	80	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	203*	1.85	447	0.77	5.67	0.46	1.53	61
		S.D.	14T	0.06	85	0.07	0.64	0.08	0.17	9
Relative	0	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.82	178	0.34	2.67	0.21	0.72	28
		S.D.		0.07	30	0.01	0.11	0.02	0.04	3
	80	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.92*	221	0.38**	2.79	0.23	0.75	30
		S.D.		0.05T	42	0.01T	0.19	0.02	0.05	4

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

T : Student's t-test

Table 8-8

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Absolute and relative organ weight (After recovery period)

Female

		Ovary (R+L)		Uterus
Dose mg/kg		mg(mg/100g BW)		mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	6	6
		Mean	84.1	468
		S.D.	20.6	70
	80	No.	6	6
		Mean	69.1	397
		S.D.	8.4	42
Relative	0	No.	6	6
		Mean	36.8	206
		S.D.	7.6	24
	80	No.	6	6
		Mean	34.2	197
		S.D.	4.9	30

No significant difference between treated group and control group.

Table 9-1

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Gross pathological findings (After administration period)

Organs	Sex:	M	M	M	M	F	F	F	F
Findings	Dose(mg/kg): Number:	0 6	5 6	20 6	80 6	0 6	5 6	20 6	80 6
Intestine, ileum(Peyer's patch)									
Diverticulum		0	0	1	0	0	0	0	0
Stomach									
Focus, dark red, glandular stomach		0	0	0	1	1	0	0	3
Uterus									
Cyst		-	-	-	-	0	0	0	1

M : Male, F : Female

- : Not applicable

Table 9-2

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Gross pathological findings (After recovery period)

Organs	Sex:	M	M	F	F
Findings	Dose(mg/kg): Number:	0 6	80 6	0 6	80 6
Intestine, ileum(Peyer's patch)					
Diverticulum		0	1	0	0
Kidney					
Focus, dark red		1	0	0	0
Cyst		0	0	0	1

M : Male, F : Female

Table 10-1

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Histopathological findings (After administration period)

Organs	Sex:	M	M	M	M	F	F	F	F
Findings	Dose(mg/kg): Number:	0 6	5 6	20 6	80 6	0 6	5 6	20 6	80 6
Adrenal									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Bone+Bone marrow, femoral									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Bone+Bone marrow, sternal									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Cerebrum									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Cerebellum									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Epididymis									
Number examined		6	0	0	6	-	-	-	-
Not remarkable		6	0	0	6	-	-	-	-
Eye									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Heart									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Intestine, duodenum									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Intestine, jejunum									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Intestine, ileum(Peyer's patch)									
Number examined		6	0	1	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Diverticulum, Meckel's		0	0	1	0	0	0	0	0
mild		0	0	1	0	0	0	0	0
Intestine, cecum									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Intestine, colon									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Intestine, rectum									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Kidney									
Number examined		6	6	6	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	3	5	0	6	0	0	6

M : Male, F : Female

- : Not applicable

Table 10-2

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Histopathological findings (After administration period)

Organs	Sex:	M	M	M	M	F	F	F	F
Findings	Dose(mg/kg): Number:	0 6	5 6	20 6	80 6	0 6	5 6	20 6	80 6
Kidney (continued)									
Regeneration, tubular		0	1	0	0	0	0	0	0
minimal		0	1	0	0	0	0	0	0
Eosinophilic body, tubular cell		0	2	1	6	0	0	0	0
minimal		0	2	1	5	0	0	0	0
mild		0	0	0	1	0	0	0	0
Kidney(alpha2u globulin)									
Number examined		0	0	0	3	0	0	0	0
Alpha2u globulin, immunohistochemistry		0	0	0	3	0	0	0	0
positive		0	0	0	3	0	0	0	0
Kidney(PAS reaction)									
Number examined		0	0	0	3	0	0	0	0
PAS reaction		0	0	0	3	0	0	0	0
negative		0	0	0	3	0	0	0	0
Liver									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		3	0	0	4	1	0	0	5
Microgranuloma		3	0	0	2	5	0	0	1
minimal		3	0	0	2	5	0	0	1
Lung(bronchus)									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		5	0	0	6	6	0	0	6
Metaplasia, osseous		1	0	0	0	0	0	0	0
minimal		1	0	0	0	0	0	0	0
Lymph node, mesenteric									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Lymph node, submandibular									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Ovary									
Number examined		-	-	-	-	6	0	0	6
Not remarkable		-	-	-	-	6	0	0	6
Parathyroid									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Pituitary									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		5	0	0	5	5	0	0	6
Cyst		1	0	0	1	1	0	0	0
minimal		1	0	0	1	1	0	0	0
Prostate									
Number examined		6	0	0	6	-	-	-	-
Not remarkable		5	0	0	6	-	-	-	-
Cell infiltration, inflammatory		1	0	0	0	-	-	-	-
minimal		1	0	0	0	-	-	-	-
Sciatic nerve									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6

M : Male, F : Female

- : Not applicable

Table 10-3

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Histopathological findings (After administration period)

Organs	Sex:	M	M	M	M	F	F	F	F
Findings	Dose(mg/kg): Number:	0 6	5 6	20 6	80 6	0 6	5 6	20 6	80 6
Skeletal muscle, femoral									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Spinal cord, thoracic									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Spleen									
Number examined		6	6	6	6	6	6	6	6
Not remarkable		6	6	6	6	6	5	6	1
Hematopoiesis, increased		0	0	0	0	0	1	0	5
minimal		0	0	0	0	0	1	0	5
Spleen(Berlin blue)									
Number examined		6	6	6	6	6	6	6	6
Not remarkable		6	6	6	0	6	6	5	0
Berlin blue positive granule, increased		0	0	0	6	0	0	1	6
minimal		0	0	0	6	0	0	1	4
mild		0	0	0	0	0	0	0	2
Stomach									
Number examined		6	0	0	6	6	6	6	6
Not remarkable		6	0	0	5	5	6	6	3
Erosion, glandular stomach		0	0	0	1	1	0	0	3
minimal		0	0	0	1	1	0	0	0
mild		0	0	0	0	0	0	0	3
Testis									
Number examined		6	0	0	6	-	-	-	-
Not remarkable		6	0	0	6	-	-	-	-
Thyroid									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Thymus									
Number examined		6	6	6	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	6	6	1	6	0	0	6
Atrophy		0	0	0	5	0	0	0	0
minimal		0	0	0	5	0	0	0	0
Trachea									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Urinary bladder									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Uterus									
Number examined		-	-	-	-	6	0	0	6
Not remarkable		-	-	-	-	6	0	0	5
Cyst		-	-	-	-	0	0	0	1
mild		-	-	-	-	0	0	0	1

M : Male, F : Female
- : Not applicable

Table 10-4

A 28-day oral toxicity study of N,N-dimethylacrylamide in rats
with a recovery period of 2 weeks

Histopathological findings (After recovery period)

Organs	Sex:	M	M	F	F
Findings	Dose(mg/kg): Number:	0 6	80 6	0 6	80 6
Intestine, ileum(Peyer's patch)					
Number examined		0	1	0	0
Diverticulum, Meckel's		0	1	0	0
mild		0	1	0	0
Kidney					
Number examined		6	6	0	1
Not remarkable		5	6	0	0
Cyst		1	0	0	1
minimal		1	0	0	1
Spleen					
Number examined		6	6	6	6
Not remarkable		6	1	6	6
Hematopoiesis, increased		0	5	0	0
minimal		0	5	0	0
Spleen(Berlin blue)					
Number examined		6	6	6	6
Not remarkable		6	2	6	3
Berlin blue positive granule, increased		0	4	0	3
minimal		0	4	0	3
Stomach					
Number examined		0	0	6	6
Not remarkable		0	0	6	6
Thymus					
Number examined		6	6	0	0
Not remarkable		6	6	0	0

M : Male, F : Female