

最 終 報 告 書

2,4-ジニトロフェノールのラットを用いる
28日間反復投与毒性試験

(試験番号 98-092-2)

財団法人 畜産生物科学安全研究所

目次

要約	1
緒言	2
試験目的	2
試験材料および方法	
1. 被験物質	2
2. 供試動物および飼育条件	3
3. 投与量の設定、試験群の構成および投与方法	3
4. 観察および検査	
1) 一般状態観察	4
2) 体重および摂餌量測定	4
3) 尿検査	4
4) 血液学検査	4
5) 血液生化学検査	6
6) 病理学検査	
(1) 剖検および器官重量測定	6
(2) 病理組織学検査	6
5. 統計処理	7
試験結果	
1. 死亡および一般状態	7
2. 体重	8
3. 摂餌量	8
4. 尿所見	8
5. 血液学所見	9
6. 血液生化学所見	9
7. 剖検所見	9
8. 器官重量	9
9. 病理組織学所見	10

考察および結論	10
文献	13
添付資料	
A. 図・群別平均値表	
Figure 1 体重	1
Tables 1, 2 一般状態および死亡率	2
Tables 3, 4 体重	4
Tables 5, 6 摂餌量	6
Tables 7～10 尿所見	8
Tables 11～14 血液学所見	16
Tables 15～18 血液生化学所見	20
Tables 19, 20 剖検所見	24
Tables 21～24 器官重量	26
Tables 25, 26 病理組織学所見	30

要約

黒色硫化染料の中間体，防腐剤，pH指示薬等に用いられている既存化学物質，2,4-ジニトロフェノールの28日間反復投与毒性試験を，SD系[Crj:CD(SD)IGS]ラットを用い，0(対照)，3，10，30および80mg/kg/day用量の経口投与により実施した．動物数は1群雌雄各6匹とし，8群を設け，5群は投与期間終了後屠殺群，3群は対照，30および80mg/kgの14日間回復群とした．

その結果，30および80mg/kg群で雌雄に自発運動の低下および流涎，80mg/kg群ではさらに雌雄に腹臥姿勢，浅速呼吸，眼瞼下垂，歩行時の這いずり姿勢，下腹部被毛の尿による汚れおよび死亡が認められた．死亡動物には，死亡直前に強直性痙攣および死亡直後に硬直が認められた．

体重は，80mg/kg群で雌に投与初期の増加抑制が一過性に認められ，雄には投与の後半に増加の抑制傾向が認められた．摂餌量は30および80mg/kg群で雌雄に増加が認められた．

尿検査では，30および80mg/kg群で雌雄に尿の褐色化傾向，さらに80mg/kg群で雄に比重の低下およびケトン体の減少が認められた．

血液学検査では，80mg/kg群で雄にヘモグロビン量，ヘマトクリット値および平均赤血球血色素量の有意な増加，血液生化学検査では30および80mg/kg群で雄に塩素の有意な減少が認められた．

器官重量では，80mg/kg群で雌雄に肝臓の相対重量の有意な増加，さらに雄に脳，腎臓および精巣の相対重量の有意な増加が認められた．

病理組織学検査では，80mg/kg群で雌雄に腎臓皮髄境界部の鉍質沈着が，雄に脾臓の髄外造血巣の減少による赤脾髄の萎縮傾向が認められた．

回復群では，80mg/kg群で雌雄に腎臓皮髄境界部の鉍質沈着が残存していたものの，その他の変化は回復ないし回復傾向を示した．なお，雄に，赤血球数，ヘモグロビン量およびヘマトクリット値の減少ならびに脾臓の髄外造血巣の増加が認められた．30mg/kg群では，変化は認められなかった．

以上の結果から，2,4-ジニトロフェノールのラットへの28日間反復投与による主な毒性は，一般状態の変化であり，血球増多および腎臓や肝臓に対する影響も認められた．したがって，無影響量は，雌雄とも10mg/kg/dayと推定された．

緒言

2,4-ジニトロフェノール(CAS No.51-28-5)は、黒色硫化染料の中間体、防腐剤、pH指示薬等に用いられており、工業的には2,4-ジニトロクロルベンゼンのケン化により製造される¹⁾。本物質は酸化的リン酸化の脱共役により高エネルギーのリン酸化合物を減少させ、ミトコンドリアにおけるエネルギー代謝を抑制する代表的な物質として知られている²⁾。しかし、本物質の毒性については、ラットおよびマウスに対する急性経口LD₅₀値が報告^{3,4)}されているが、毒性学的性質の詳細は明らかにされていない。この試験は、厚生省の既存化学物質安全性点検事業の一環として実施したものである。

試験目的

2,4-ジニトロフェノールをラットに28日間反復経口投与し、その一般毒性学的性質について検討する。

試験材料および方法

1. 被験物質 (Appendices 1~4)

被験物質2,4-ジニトロフェノールは、分子量184.11、融点112°Cの黄色の結晶性物質である。

試験には、

製造のもの(ロット番号

純度85.2%、水13.9%のほか不純物として2,6-ジニトロフェノール0.6%、不明物0.3%を含む。水を除いた乾燥品の純度は99.0%)を入手し、冷暗(4°C)条件下で密栓保管し、使用した。本物質の詳細は、Appendix 1に示した。用いた被験物質を投与終了後に分析し、使用期間中安定であったことを確認した(Appendix 2)。本物質は油溶性で水に溶けにくい、水の非存在下では自己反応を起こす性質を有する物質であるため、投与液は1%メチルセルロース水溶液(メチルセルロース100cP：和光純薬工業(株)製、ロット番号 ACL4654；局方精製水：共栄製薬(株)製、ロット番号 181178)を溶媒として、所定の投与用量になるような濃度(純度換算)の懸濁液として調製し、使用時まで冷所(4°C)遮光下で密栓保管した。投与液中の被験物質は、均一、かつ、冷暗条件下で少なくとも7日間安定であることが確認されている(Appendix 3)ので、投与液の使用期間は7日以内とし、6回にわたって調製した。1回目と6回目に調製した投与液については分析し、所定濃度で調製されていることを確認した(Appendix 4)。被験物質の分析のうち、原体の分析は

に委託して実施した。

2. 供試動物および飼育条件 (Appendices 5~7)

4週齢のSD系〔Crj:CD(SD)IGS〕SPFラットを日本チャールス・リバー(株) (神奈川県厚木市下古沢795番地) から搬入 (雌雄各57匹) し, 雄は7日, 雌は8日間試験環境に馴化させ, その間に検査を行い, 発育が順調で一般健康状態の良好な雌雄各48匹を, 5週齢で試験に供した. 投与開始時の平均体重 (体重範囲) は, 雄 167(158~175)g, 雌 144(136~153)gであった.

ラットは, 馴化, 投与および回復期間とも, 温度21~23℃, 湿度50~60% (温湿度の測定結果: Appendix 5), 換気回数10回以上/時 (オールフレッシュエアー方式), 照明12時間 (午前6時~午後6時)に制御したバリアーシステム動物室(1室)で, 個体別にステンレス製金網ケージ〔260W×380D×180H (mm)〕に収容し, これをステンレス製5段のラックに配して飼育した. 飼料 (日本農産工業(株), 固型飼料ラボMRストック, ロット番号 98.11.62, 99.02.76, 汚染物質の分析結果: Appendix 6) および水 (1μmカートリッジフィルター濾過後紫外線照射した殺菌水道水, 汚染物質の分析結果: Appendix 7)は, それぞれ給餌器および自動給水装置により自由摂取させた. 動物の個体識別は, ラックおよびケージへの標識札貼付と耳パンチ法により行った.

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

3. 投与量の設定, 試験群の構成および投与方法

投与量設定試験として, 約18時間絶食した1群雌雄各3匹のラットに, 14, 20, 30, 46, 69, 104, 155mg/kgを単回経口投与した. その結果, 死亡が104mg/kg以上の群で認められた. この結果に基づいて, 5週齢のSD系ラットを1群雌雄各4匹とし, 0, 0.6, 2, 6, 20および60mg/kg/day用量の14日間反復経口投与試験を実施した. 得られた結果は, 20mg/kg以下の用量では, 一般状態, 体重, 摂餌量, 尿検査, 血液学検査, 血液生化学検査, 剖検および器官重量において, 被験物質の毒性を示唆する変化は認められなかった. 60mg/kg群においては, 歩行時の這いずり姿勢が雄は初日, 雌は初日から3日間, 各々2および1匹に認められた. また, 器官重量で雌に腎臓の相対重量の増加傾向が認められた.

以上の結果から, 本試験における投与量は, 致死量に近く, 確実に毒性影響が発現すると予測された80mg/kg/dayを最高用量, 毒性影響が発現しないと予測された3mg/kg/dayを最低用量とし, さらにこれらの用量の間に30および10mg/kg/dayの計4用量を設定した.

試験群の構成は, (1) 溶媒投与群(以下, 対照群), (2) 2,4-ジニトロフェノール3mg/kg/day投

与群(3mg/kg群), (3)同 8mg/kg/day投与群(8mg/kg群), (4)同 30mg/kg/day投与群(30mg/kg群), (5)同 80mg/kg/day投与群(80mg/kg群)の5群とし, 1群雌雄各6匹を供した. また, 対照群, 30および80mg/kg群については, 投与期間終了後14日間の回復試験を行うため, 別に1群雌雄各6匹からなる回復群を設けた. 各群への動物の割り付けは, 投与開始日の体重に基づく層化無作為抽出法を用いて行った.

投与方法は, 投与液量を体重1kg当たり3mLとし, テフロン製胃ゾンデを装着した注射筒を用いて被験物質の0.12w/v%液(3mg/kg群), 0.39w/v%液(10mg/kg群), 1.17%(30mg/kg)あるいは3.13w/v%液(80mg/kg群)の濃度(純度換算)を, 1日1回(午前中), 28日間にわたって経口投与した. 各個体の投与液量は, 投与直前に測定した体重に基づいて算出した. 対照群には, 溶媒を同様に投与した.

4. 観察および検査

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

1) 一般状態観察

毎日, 動物の生死, 外観, 行動等を観察した.

2) 体重および摂餌量測定

体重は, 投与期間中は毎日, 回復期間中は3, 7, 10および14日, ならびに屠殺日に測定した. 摂餌量は, 毎週1回(雄は投与4, 11, 18, 25日および投与期間終了後4, 11日, 雌は投与3, 10, 17, 24日および投与期間終了後3, 10日), 1日(24時間)の飼料消費量を測定した. 測定は, 電子上皿天秤(FY3000: エーアンドデー社)を用いて行った.

3) 尿検査

雄は投与22日および投与期間終了後13日, 雌は投与26あるいは27日および投与期間終了後12日に, 動物を個体別に代謝ケージに収容して新鮮尿を採取し, pH, 潜血, タンパク, 糖, ケトン体, ビリルビン, ウロビリノーゲン(以上, 試験紙法: マイルス・三共(株), マルティスティックス®)を検査し, さらに約3時間の蓄尿により外観の観察, 比重の測定(屈折計: エルマ光学(株))および沈渣(ケンブリッジケミカルプロダクト社, URI-CELL®液で染色)を検査した.

4) 血液学検査

供試血液の採取は, 投与期間および回復期間終了翌日における屠殺剖検時に行った. 動物は前日の午後5時より除餌し, 水のみを給与した. 採血は, エーテル麻酔下で開腹して腹大動脈より

行い、以下の項目を検査した。なお、採取した血液は3分割し、その一部は 3.8%クエン酸ナトリウム溶液で凝固阻止処理して血漿を得、プロトロンビン時間および活性化部分トロンボプラスチン時間の測定に、一部は、EDTA-2K処理してその他の血液学検査に供した。

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

5)血液生化学検査

採取した血液の一部から血清を分離し、次の項目を測定した。

項目 (略号)	測定法	測定機器
① 総タンパク (T.P.)	Biuret 法	生化学自動分析 装置〔JCA-BM8: 日本電子(株)〕
② アルブミン (Alb.)	BCG 法	
③ A/G比 (A/G)	計算値	
④ 血糖 (Glu.)	酵素法 (GlcK ¹⁾ -G6PDH ²⁾ 法)	
⑤ 総コレステロール (T-Cho.)	酵素法 (CES ³⁾ -CO ⁴⁾ -POD ⁵⁾ 系)	
⑥ トリグリセライド (T.G.)	酵素法 (LPL ⁶⁾ -GK ⁷⁾ -GPO ⁸⁾ -POD 系)	
⑦ 総ビリルビン (T-Bil.)	ジアゾ法	
⑧ 尿素窒素 (BUN)	Urease-UV 法	
⑨ クレアチニン (Crea.)	Jaffé 法	
⑩ GOT (GOT)	JSCC ⁹⁾ 法	
⑪ GPT (GPT)	JSCC 法	
⑫ γ -GTP (γ -GTP)	JSCC 法	
⑬ LDH	SFBC ¹⁰⁾ 法	
⑭ ALP (ALP)	JSCC 法	
⑮ コリンエステラーゼ (ChE)	BTC ¹¹⁾ -DTNB ¹²⁾ 法	
⑯ カルシウム (Ca)	OCPC 法	
⑰ 無機リン (P)	酵素法 (PNP ¹³⁾ -XOD ¹⁴⁾ -POD 系)	
⑱ ナトリウム (Na)	イオン電極法	電解質自動分析 装置〔NAKL-132: 東亜電波工業(株)〕
⑲ カリウム (K)	イオン電極法	
⑳ 塩素 (Cl)	イオン電極法	

1)グルコキナーゼ, 2)グルコース 6 リン酸脱水素酵素, 3)コレステロールエステラーゼ, 4)コレステロールオキシダーゼ, 5)ペルオキシダーゼ, 6)リボプロテインリパーゼ, 7)グリセロールキナーゼ, 8)グルセロリン酸オキシダーゼ, 9)日本臨床化学会, 10) フランス臨床生物学会, 11)ブチルチオコリン, 12)5,5-ジチオビス-2-ニトロ安息香酸, 13)プリンヌクレオシドホスホリラーゼ, 14) キサンチンオキシダーゼ

6)病理学検査

(1) 剖検および器官重量測定

所定の投与期間あるいは回復期間終了翌日の採血に続いて放血屠殺し、剖検を行った。また、電子上皿天秤 (AT200 :メトラー社) を用いて、脳、心臓、胸腺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣、精巣上体および卵巣を秤量(絶対重量)し、また対体重比(相対重量)を算出した。

(2) 病理組織学検査

次の器官を採取し、10%中性リン酸緩衝ホルマリン液で固定し、保存した。

脳,下垂体,眼球,ハーダー腺,甲状腺(上皮小体を含む),唾液腺,胸腺,気管,肺(気管支を含む)
心臓,舌,食道,胃,腸,肝臓,脾臓,膵臓,副腎,腎臓,膀胱,精巣,精巣上体,前立腺,精囊,卵巣,

子宮, 膣, 大動脈(胸部), 脊髄(頸部, 胸部, 腰部), 坐骨神経, 骨, 骨髓(胸骨, 大腿骨), リンパ節(頸部リンパ節, 腸間膜リンパ節), 骨格筋(下腿三頭筋), 皮膚(背部), 乳腺(腹部)

病理組織学検査は, 対照群, 30および80mg/kg群については, 脳, 下垂体, 甲状腺(上皮小体を含む), 胸腺, 心臓, 肺, 肝臓, 腎臓, 脾臓, 副腎, 胃, 膀胱, 脊髄, 坐骨神経, 骨髓, さらに雄では精巣, 精巣上体, 精嚢, 前立腺, 雌では卵巣, 子宮を検査した. また, 80mg/kg群では, 雌雄で腎臓に, 雄で脾臓にいずれも病理組織学変化が認められたので, 雌雄の腎臓および雄の脾臓については3および10mg/kg群ならびに回復群も検査した. 検査は, 常法によりパラフィン切片を作製し, ヘマトキシリン・エオジン染色を施して鏡検した. 組織標本は, 株式会社 組織科学研究所(東京都青梅市黒沢二丁目984-1番地)に委託して作製した.

5. 統計処理

得られた平均値あるいは頻度について, 対照群との間の有意差(危険率5%以下)を次の方法で検定した. すなわち, パラメトリックデータ(体重, 体重増加量, 摂餌量, 尿比重, 血液学および血液生化学データ, 器官重量)については Bartlett の分散検定を行い, 分散が一樣な場合は一元配置の分散分析を行い, その結果有意差を認めた場合, Dunnett 法または Sheffé 法(群間で標本数が異なる場合)により対照群に対する各群の比較検定を行った. 分散が一樣でない場合およびノンパラメトリックデータ(白血球百分率および尿検査における定性的データ)は Kruskal-Wallis の順位検定を行い, その結果有意差を認めた場合, Dunnett 型または Sheffé 型(群間で標本数が異なる場合)により対照群に対する各群の比較検定を行った. カテゴリカルデータ(一般状態の観察および病理学検査における異常例の発現率)には Fisher の直接確率法を用いた.

試験結果

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

投与期間中の観察では, 死亡は, 80mg/kg群において, 雌雄各12匹中雄で投与初日に1匹(投与期間終了時屠殺用)および22日に1匹(投与期間終了時屠殺用)の計2匹, 雌で投与初日に3匹(投与期間終了時屠殺用2匹, 回復期間終了時屠殺用1匹), 2日に3匹(投与期間終了時屠殺用1匹, 回復期間終了時屠殺用2匹)の計6匹認められた. 一般状態の変化としては, 30mg/kg群で自発運動の低下が雄6匹および雌5匹, 流涎が雄2匹および雌1匹に認められた. 80mg/kg群では, 自発運動の低下, 流涎, 腹臥姿勢, 浅速呼吸, 眼瞼下垂および歩行時の這いずり姿勢が雌雄のほぼ全例に認められた. これらの症状は, 30mg/kg群では多くが投与初日にのみ, 80mg/kg群では投与初日から

投与期間中繰り返し認められ、いずれの日も投与後30分頃から発現し、6時間までには回復ないし回復傾向が認められ、翌朝にはすべて消失していた。死亡動物は、上記症状が重度化し、多くは投与後3～6時間に強直性痙攣を呈して死亡し、死亡直後には硬直が認められた。以上の症状の他に、下腹部被毛の尿による汚れが80mg/kg群の雄2匹および雌5匹に認められ、汚れた被毛は乾燥すると数日間黄色を呈した。対照群および10mg/kg以下の群では一般状態に変化は認められなかった。

回復期間中の観察では、80mg/kg群で投与期間中の下腹部被毛の汚れが短期間残存していた例を除いて、雌雄のいずれも変化は認められなかった。

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

投与期間において、80mg/kg群で雌の投与2および3日の体重が対照群と比べて有意な低値を示したが、投与5日には回復し、その後は対照群と同様の体重推移が認められた。80mg/kg群の雄においては、投与18日以降に体重増加の抑制傾向が認められたが、統計学的に有意な変化ではなく、投与期間中の体重増加量にも有意差は認められなかった。

回復期間においては、投与期間中に増加抑制の傾向が認められた80mg/kg群の雄の体重は回復傾向を示した。

3. 摂餌量(Tables 5,6, Appendices 12,13)

投与期間において、30および80mg/kg群の雄は投与2週以降、雌は30mg/kg群で投与4週、80mg/kg群で投与2および4週に摂餌量の有意な増加が認められた。

回復期間において、投与期間中に認められた摂餌量の変化は、30および80mg/kg群の雌雄とも回復した。

4. 尿所見(Tables 7～10, Appendices 14～17)

投与期間中の検査において、30および80mg/kg群で雌雄に尿の褐色化傾向が認められ、30mg/kg群の雄および80mg/kg群の雌雄の変化は統計学的に有意なものであった。また、80mg/kg群で雄に有意な比重の低下およびケトン体の減少が認められた。

回復期間中の検査において、各検査項目に変化は認められなかった。

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

投与期間終了時の検査において、80mg/kg群で雄にヘモグロビン量、ヘマトクリット値および平均赤血球血色素量の有意な増加が認められた。

回復期間終了時の検査において、80mg/kg群で雄に赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値の有意な減少、平均赤血球容積および平均赤血球血色素量の有意な増加が認められた。なお、30mg/kg群の雌の平均赤血球血色素量は有意な高値を示したが、用量依存性の認められない変化であった。

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

投与期間終了時の検査において、10、30および80mg/kg群で雌に総ビリルビンの有意な増加、30および80mg/kg群で雄に塩素の有意な減少が認められた。なお、10mg/kg群の雄のクレアチニンは有意な高値、30mg/kg群の雌雄のグルコースは有意な低値を示したが、クレアチニンおよびグルコースの変化には用量依存性が認められなかった。

回復期間終了時の検査において、投与期間終了時の検査で認められた変化は認められなかった。なお、30mg/kg群の雌のLDHは有意な高値、BUNおよび無機リンは有意な低値を示したが、いずれも用量依存性の認められない変化であった。

7. 剖検所見 (Tables 19~20, Appendices 26~29)

投与期間および回復期間終了時屠殺動物では、雌雄とも被験物質の投与に起因する変化は認められなかった。投与期間中の死亡動物では、肺の赤色化および肝臓の暗色調化が雌雄の全例に、精巣の軟化が80mg/kg群の雄1匹に認められた。

なお、被験物質の投与との関連性が認められない所見として、投与期間終了時屠殺動物では雄に精巣上体の結節が対照群の1匹、肺の赤色点および肝臓の横隔膜結節が3mg/kg群の各々1匹、胸腺の赤色斑が30mg/kg群の1匹に、また回復期間終了時屠殺動物では雌に水腎症が対照群の1匹、子宮腔水腫が30mg/kg群の1匹に認められた。

8. 器官重量 (Tables 21~24, Appendices 30~37)

投与期間終了時屠殺動物において、80mg/kg群で雄に最終体重の有意な減少が認められた。器官重量では、雌雄に肝臓の相対重量の有意な増加、さらに雄に脳、腎臓および精巣の相対重量の有意な増加が認められた。

回復期間終了時屠殺動物では、80mg/kg群で雌雄の肝臓の相対重量に有意差が残るものの、投与期間終了時屠殺動物に比べて変化は軽減する傾向が認められた。また、80mg/kg群で雄に腎臓の絶対重量のみの有意な増加が認められた。なお、30mg/kg群の雄の脳の絶対重量は対照群と比べて有意な高値を示したが、変化に用量依存性は認められなかった。

9. 病理組織学所見 (Tables 25, 26, Appendices 26~29, Photos 1~10)

被験物質の投与に起因する変化が、腎臓および脾臓に認められた。投与期間終了時屠殺動物において、腎臓に皮髄境界部の軽度ないし中等度の鉍質沈着が80mg/kg群で雄の4匹中3匹および雌の3匹中2匹に認められ、雄の発現率には対照群と比べて有意差が認められた。脾臓においては、髄外造血巣は雄で対照群は6匹の全例が中等度に認められたのに対して、80mg/kg群は2匹が軽度および他の2匹が中等度で、80mg/kg群の雄では髄外造血巣の減少による赤脾髄の萎縮傾向が認められた。

投与期間中死亡動物において、腎臓に皮髄境界部の軽度ないし中等度の鉍質沈着が80mg/kg群で雌の6匹中3匹に認められた。また、剖検で認められた赤色化した肺にはうっ血あるいはうっ血水腫、暗色調化した肝臓ではうっ血、軟化した精巣には精細管萎縮が認められた。

回復期間終了時屠殺動物において、腎臓に皮髄境界部の軽度な鉍質沈着が80mg/kg群で雄の4匹中2匹および雌の3匹中2匹に認められた。また、脾臓に髄外造血巣の有意な増加が80mg/kg群で雄に認められた。

なお、剖検で被験物質投与とは無関係に認められた雄の精巣上体の結節には精子肉芽腫、肺の赤色点には出血を伴った炎症性細胞浸潤巣、肝臓の横隔膜結節には胆管増生巣および巣状壊死、胸腺の赤色斑には出血が、雌の水腎症には腎盂拡張、子宮腔水腫には内腔拡張が認められた。

以上の変化以外にも、投与期間終了時屠殺動物、投与期間中死亡動物および回復期間終了時屠殺動物の検査した各器官に変化が認められたが、散発的なあるいは用量依存性の認められない所見であった。

考察および結論

2,4-ジニトロフェノールのラットへの28日間反復経口投与において認められた主な毒性は一般状態の変化であり、多血症および腎臓や肝臓に対する影響も認められた。

一般状態の変化について、30mg/kg群で雌雄に自発運動の低下および流涎、80mg/kg群ではさらに雌雄に歩行時の這いずり姿勢、腹臥姿勢、浅速呼吸、眼瞼下垂、下腹部被毛の尿による汚れ、

死亡動物で強直性痙攣および死亡直後の硬直が認められた。

ジニトロフェノールは酸化的リン酸化の脱共役作用を有し、生体内の高エネルギーリン酸化合物の貯蔵量を減少させることが知られており、急性中毒では酸化代謝機構、次いで熱産生が刺激され、酸素消費量の増加、体温上昇、呼吸数および心拍数の増加を呈し、循環性あるいは呼吸性ショックにより死に至ると考えられている⁵⁾。

2,4-ジニトロフェノールの急性中毒症状として、ラットでは腹臥姿勢、浅速呼吸、強直性痙攣、振戦、死直前直後の四肢硬直など、イヌではさらに心拍数の増加および体温の上昇が報告⁴⁾されている。

2,4-ジニトロフェノールの反復投与による血中濃度の推移について、イヌでは毎日の投与後2～3時間でピークに達した後24時間ではほぼ消失し、投与の反復による血中濃度の蓄積的増加は認められないと報告⁴⁾されている。今回のラットへの反復投与試験においても、毎日の投与後一過性の急性中毒症状が繰り返し認められ、反復投与による症状の増強は認められなかった。また、死亡の多くは投与1ないし2日に認められ、痙攣を伴った急性中毒死と推察されるものであった。

体重および摂餌量について、80mg/kg群で雌は投与初期に体重増加の抑制、雄は投与の後半に同様の抑制傾向が認められた。一方、摂餌量は30mg/kg以上の群で雌雄に増加傾向が認められた。この飼料効率の低下が伺われる変化については、上述の酸化的リン酸化の脱共役作用による酸化的代謝の亢進と関連しているものと推察される。

多血症について、80mg/kg群で雄にヘモグロビン量、ヘマトクリット値および平均赤血球血色素量の増加が認められたが、この変化についてもジニトロフェノール類の酸素消費量増加作用と関連した変化と考えられる。また、同群の雄に認められた脾臓における髄外造血の低下傾向は、多血症に対する生体の適応反応と判断される。

腎臓に対する影響について、病理組織学検査で80mg/kg群の雌雄に皮髄境界部における鉍質沈着の発現率の増加が認められ、雄では腎臓相対重量の増加も認められた。腎臓皮髄境界部における鉍質沈着はラットに自然発生的にも認められる変化で、雌の発生率が高く、ホルモンの影響^{6,7)}や飼料成分の影響⁸⁾によるものと考えられている。本試験で認められた鉍質沈着の発現機序は不明であるが、投与初期の死亡動物にも認められ、投与開始後短期間で沈着するものと考えられる。また、尿検査で80mg/kg群の雄に認められた比重の低下ならびに血液生化学検査で30および80mg/kg群の雄に認められた塩素の減少も、腎臓に対する影響を示唆する変化と考えられる。

肝臓に対する影響について、80mg/kg群で雌雄に肝臓の相対重量の増加が認められた。病理組織学検査では肝臓に被験物質の投与に起因する変化は認められなかったが、2,4-ジニトロフェノ

ールは肝臓に対し毒性を有するとの報告⁹⁾があり、相対重量の増加は被験物質の投与による影響と判断された。

なお、血液生化学検査で、10mg/kg以上の群の雌に背景データ内あるいはこれを僅かに越える総ビリルビンの増加が認められたが、溶血性変化や胆汁のうっ滞等これと関連する変化は認められなかった。2,4-ジニトロフェノールの代謝物の1つとして、2-アミノ-4-ニトロフェノールが知られている¹⁰⁾。ビリルビンはジアゾ化法で測定しており、アミノ基を有する物質が存在すると試薬（スルファニル酸、亜硝酸ナトリウム）と反応してジアゾ化し、本来のビリルビンに加算されて測定されることがあり、したがって、本試験で認められた総ビリルビンの増加は、ビリルビンの測定に対して代謝物が影響した可能性が高く、毒性とは無関係な変化であると判断された。

また、尿検査で、30mg/kg以上の群の雄および80mg/kg群の雌で認められた尿の褐色化については、尿により汚れた被毛が被験物質の色調と類似した黄色を呈したことから、尿中排泄された被験物質あるいはその代謝物の色調と関連した変化と推察される。80mg/kg群の雄に認められたケトン体の変化については、減少性の変化で毒性学的意義は小さいものと判断される。

さらに、器官重量で80mg/kg群の雄に脳および精巣の相対重量のみの増加が認められたが、当該器官に病理組織学的変化は認められなかったことから、体重増加抑制に伴う変化と判断された。

一方、回復群においては、投与期間中あるいは投与期間終了時の検査で認められた変化のうち、腎臓の病理組織学的変化を除いて、いずれも回復あるいは回復傾向が認められた。

腎臓の鉍質沈着について、雌ラットの自然発生初期に卵巣割去すると発生が抑制されるが、発生後に卵巣割去しても1か月後の発生率は卵巣割去前と殆ど差は認められなかったとの報告¹¹⁾があり、沈着した鉍質が消失するには長期間を要するものと推察される。

なお、血液学検査で、80mg/kgの回復群の雄に、投与期間終了時に認められた多血症とは逆に貧血所見が認められ、病理組織学検査では脾臓に髄外造血巣の増加が認められた。この貧血所見については多血症の回復期におけるリバウンド現象と考えられ、脾臓に髄外造血巣の増加については貧血に対する生体の適応反応と解釈される。

以上の結果から、2,4-ジニトロフェノールのラットへの28日間反復投与による主な毒性影響は、30mg/kg以上の群の雌雄で認められた一般状態の変化ならびに雄の血清中塩素濃度の増加、80mg/kg群の雌雄の死亡発現、雄の多血症、尿比重の低下、腎臓および肝臓重量の増加、脾臓のおよび腎臓の病理組織学変化ならびに雌の肝臓重量の増加であった。したがって、無影響量は、雌雄とも10mg/kg/dayと推定された。

文献

- 1) 「12394の化学商品」, 化学工業日報社, 587(1994)
- 2) 竹内康信, 「毒性試験講座18-産業化学物質, 環境化学物質」, 和田攻編, 地人書館, 142(1991)
- 3) RTECS(1995)
- 4) J.A.Kaiser, Toxicol., Appl., Pharmacol., 6, 232-244(1964)
- 5) R.R.Beard, J.T.Noel, "Patty's Industrial Hygiene and Toxicology", 3rd rev.ed.by G.D. Clayton and F.E.Clayton, vol.2A, Interscience Publishers, New York, 1981, 2426-2427
- 6) C.P.Geary, F.B.Cousins, Nature, 211, 980-981(1966)
- 7) C.P.Geary, F.B.Cousins, Br.J.Exp.Path., 50, 507-515(1969)
- 8) J.C.Woodard, Lab.Invest., 20, 9-16(1969)
- 9) C.Cessi, G.Montaldo, Lo Sperimentale, 116, 27-41(1966)
- 10) M.L.Richardson, S.G.Gangolli, "The Dictionary of Substances and their Effects", vol.4, pub.by the Royal Society of Chemistry, 1994, 29-31, Cambridge.
- 11) 岩田 聖, 廣内康彦, 井上博之, 榎本 真, Exp. Anim., 35(3), 299-305(1986)

2,4-ジニトロフェノールのラットを用いる
28日間反復投与毒性試験

(試験番号 98-092-2)

最終報告書 添付資料 A

(図・群別平均値表)

財団法人 畜産生物科学安全研究所

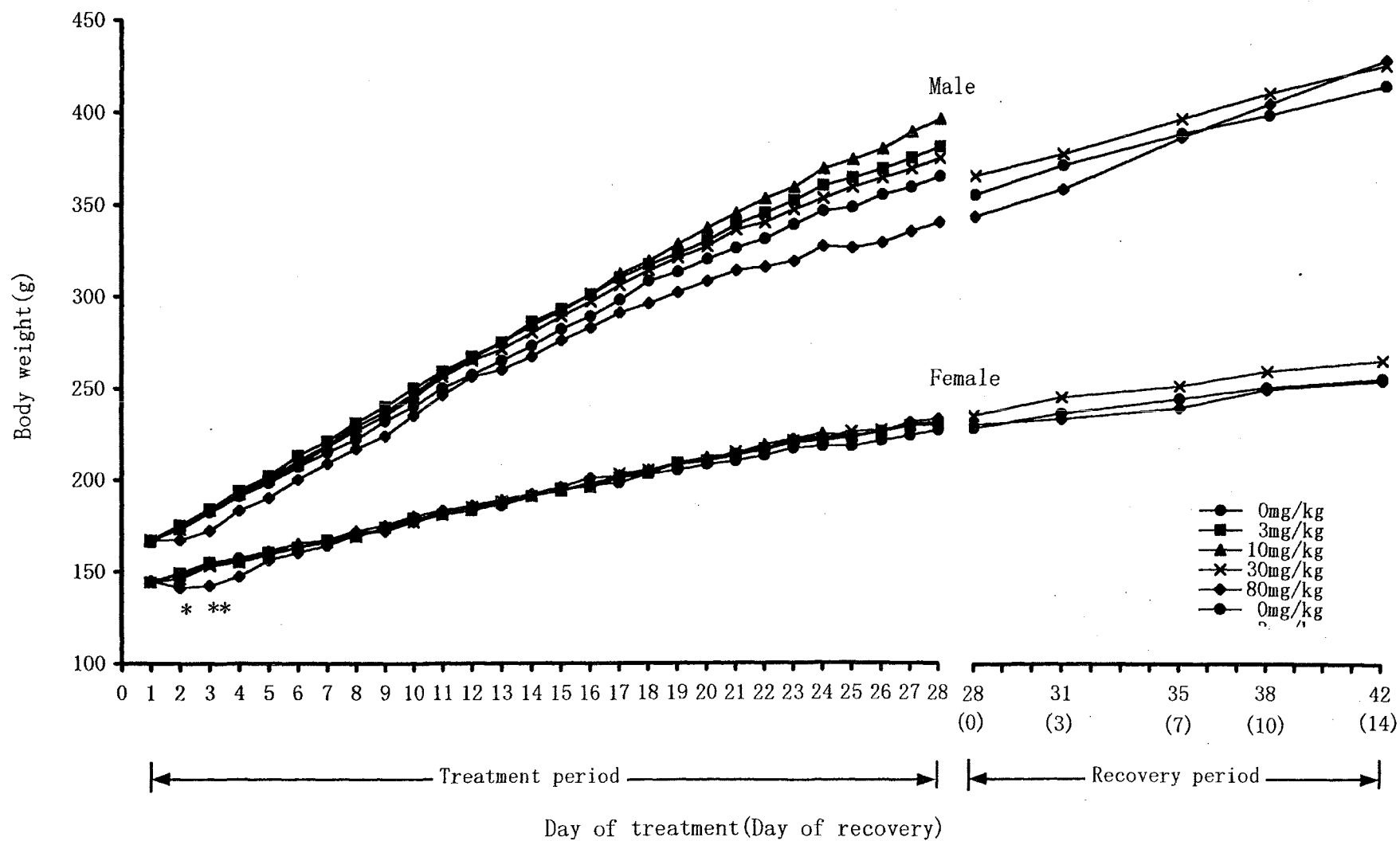


Fig. 1 Body weight changes of rats treated orally with 2,4-dinitrophenol in the 28-day repeat dose toxicity test

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

Table 1 Incidence of clinical signs and death of male rats treated orally with 2,4-dinitrophenol in the 28-day repeat dose toxicity test

Clinical signs	Dose (mg/kg)	Treatment period							Recovery period		
		0	3	10	30	80			0	30	80
	No. of animals examined	TK 12	TK 6	TK 6	TK 12	TK 10	FD (2)	Total [12]	TK 6	TK 6	TK 6
Decrease in locomotor activity		0	0	0	6 **	10	(2)	[12] **	0	0	0
Prone position		0	0	0	0	10	(2)	[12] **	0	0	0
Ptosis		0	0	0	0	10	(2)	[12] **	0	0	0
Panting		0	0	0	0	10	(2)	[12] **	0	0	0
Crawling position		0	0	0	0	10	(2)	[12] **	0	0	0
Salivation		0	0	0	2	8	(2)	[10] **	0	0	0
Soiled perineal region fur (Yellow)		0	0	0	0	1	(1)	[2]	0	0	1
Tonic convulsion		0	0	0	0	0	(2)	[2]	0	0	0
Rigidity		0	0	0	0	0	(2)	[2]	0	0	0
Mortality (%)		0	0	0	0	17			0	0	0

TK : Terminal kill; FD : Found dead

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

Table 2 Incidence of clinical signs and death of female rats treated orally with 2,4-dinitrophenol in the 28-day repeat dose toxicity test

Clinical signs	Dose (mg/kg)	Treatment period							Recovery period		
		0	3	10	30	80			0	30	80
	No. of animals examined	TK 12	TK 6	TK 6	TK 12	TK 6	FD (6)	Total [12]	TK 6	TK 6	TK 3
Decrease in locomotor activity		0	0	0	5 *	6	(6)	[12] **	0	0	0
Prone position		0	0	0	0	6	(6)	[12] **	0	0	0
Ptosis		0	0	0	0	6	(6)	[12] **	0	0	0
Panting		0	0	0	0	6	(6)	[12] **	0	0	0
Crawling position		0	0	0	0	6	(6)	[12] **	0	0	0
Salivation		0	0	0	1	3	(0)	[3]	0	0	0
Soiled perineal region fur (Yellow)		0	0	0	0	5	(0)	[5] *	0	0	2
Tonic convulsion		0	0	0	0	0	(4)	[4] *	0	0	0
Rigidity		0	0	0	0	0	(5)	[5] *	0	0	0
Mortality (%)		0	0	0	0	50			0	0	0

TK : Terminal kill; FD : Found dead

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

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

Table 3 Body weights of male rats treated orally with 2,4-dinitrophenol in the 28-day repeat dose toxicity test

(g)

Dose (mg/kg)	Day 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
0	167 ± 5 (12)	173 ± 5 (12)	182 ± 6 (12)	191 ± 5 (12)	198 ± 6 (12)	207 ± 7 (12)	215 ± 7 (12)	222 ± 8 (12)	232 ± 8 (12)	240 ± 9 (12)	250 ± 9 (12)	257 ± 10 (12)	265 ± 9 (12)	273 ± 10 (12)	282 ± 10 (12)	289 ± 12 (12)	298 ± 11 (12)	308 ± 13 (12)
3	166 ± 5 (6)	175 ± 5 (6)	184 ± 6 (6)	194 ± 6 (6)	202 ± 6 (6)	213 ± 7 (6)	221 ± 6 (6)	231 ± 8 (6)	240 ± 7 (6)	250 ± 8 (6)	259 ± 8 (6)	267 ± 9 (6)	275 ± 9 (6)	286 ± 10 (6)	293 ± 10 (6)	301 ± 11 (6)	310 ± 10 (6)	317 ± 12 (6)
10	167 ± 5 (6)	175 ± 6 (6)	184 ± 7 (6)	194 ± 8 (6)	201 ± 9 (6)	210 ± 10 (6)	219 ± 9 (6)	229 ± 11 (6)	237 ± 8 (6)	247 ± 10 (6)	258 ± 11 (6)	266 ± 11 (6)	275 ± 12 (6)	284 ± 12 (6)	292 ± 13 (6)	301 ± 14 (6)	312 ± 15 (6)	319 ± 14 (6)
30	167 ± 5 (12)	173 ± 6 (12)	183 ± 6 (12)	192 ± 7 (12)	200 ± 8 (12)	208 ± 8 (12)	218 ± 8 (12)	227 ± 9 (12)	235 ± 9 (12)	245 ± 11 (12)	256 ± 12 (12)	265 ± 13 (12)	271 ± 13 (12)	280 ± 14 (12)	289 ± 15 (12)	297 ± 16 (12)	306 ± 15 (12)	314 ± 17 (12)
80	167 ± 4 (12)	167 ± 7 (11)	172 ± 11 (11)	183 ± 8 (11)	190 ± 8 (11)	200 ± 8 (11)	209 ± 8 (11)	217 ± 9 (11)	224 ± 8 (11)	235 ± 9 (11)	246 ± 10 (11)	256 ± 10 (11)	260 ± 10 (11)	267 ± 11 (11)	276 ± 11 (11)	283 ± 13 (11)	291 ± 13 (11)	296 ± 16 (11)
Dose (mg/kg)	Day 19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	Gain 1~28	(Day of recovery) 28(0) 31(3) 35(7) 38(10)				42(14)	Gain 28~42	
0	313 ± 12 (12)	320 ± 13 (12)	326 ± 14 (12)	331 ± 14 (12)	339 ± 17 (12)	346 ± 17 (12)	348 ± 17 (12)	355 ± 18 (12)	359 ± 20 (12)	365 ± 19 (12)	199 ± 17 (12)	355 ± 11 (6)	371 ± 10 (6)	388 ± 11 (6)	398 ± 11 (6)	414 ± 11 (6)	58 ± 5 (6)	
3	323 ± 13 (6)	330 ± 15 (6)	339 ± 16 (6)	345 ± 17 (6)	352 ± 18 (6)	360 ± 19 (6)	364 ± 18 (6)	369 ± 21 (6)	375 ± 21 (6)	381 ± 23 (6)	215 ± 20 (6)							
10	328 ± 16 (6)	337 ± 18 (6)	345 ± 19 (6)	353 ± 19 (6)	359 ± 18 (6)	369 ± 19 (6)	374 ± 19 (6)	380 ± 20 (6)	389 ± 22 (6)	396 ± 22 (6)	229 ± 20 (6)							
30	321 ± 18 (12)	327 ± 17 (12)	336 ± 20 (12)	340 ± 19 (12)	347 ± 21 (12)	353 ± 20 (12)	359 ± 21 (12)	364 ± 23 (12)	369 ± 24 (12)	375 ± 24 (12)	208 ± 22 (12)	365 ± 30 (6)	377 ± 32 (6)	396 ± 39 (6)	410 ± 43 (6)	425 ± 46 (6)	60 ± 17 (6)	
80	302 ± 15 (11)	308 ± 16 (11)	314 ± 18 (11)	316 ± 17 (11)	319 ± 21 (10)	327 ± 17 (10)	326 ± 17 (10)	329 ± 17 (10)	335 ± 19 (10)	340 ± 18 (10)	173 ± 15 (10)	343 ± 19 (6)	358 ± 17 (6)	386 ± 21 (6)	404 ± 25 (6)	428 ± 29 (6)	85 ± 29 (6)	

Each value is expressed as mean±S. D.

(n) : No. of animals

Table 4 Body weights of female rats treated orally with 2,4-dinitrophenol in the 28-day repeat dose toxicity test

(g)

Dose (mg/kg)	Day 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
0	144 ± 5 (12)	149 ± 6 (12)	155 ± 6 (12)	157 ± 7 (12)	159 ± 7 (12)	163 ± 8 (12)	167 ± 9 (12)	171 ± 9 (12)	173 ± 9 (12)	178 ± 10 (12)	182 ± 10 (12)	185 ± 10 (12)	186 ± 11 (12)	191 ± 12 (12)	194 ± 13 (12)	197 ± 13 (12)	198 ± 14 (12)	203 ± 13 (12)
3	144 ± 5 (6)	149 ± 6 (6)	155 ± 7 (6)	155 ± 7 (6)	160 ± 7 (6)	163 ± 9 (6)	167 ± 8 (6)	169 ± 9 (6)	174 ± 8 (6)	179 ± 11 (6)	181 ± 11 (6)	183 ± 14 (6)	187 ± 12 (6)	191 ± 13 (6)	195 ± 12 (6)	196 ± 13 (6)	201 ± 13 (6)	203 ± 15 (6)
10	145 ± 4 (6)	148 ± 4 (6)	154 ± 7 (6)	157 ± 6 (6)	161 ± 7 (6)	165 ± 6 (6)	167 ± 7 (6)	172 ± 9 (6)	175 ± 10 (6)	180 ± 6 (6)	183 ± 10 (6)	186 ± 10 (6)	189 ± 13 (6)	192 ± 11 (6)	194 ± 13 (6)	198 ± 14 (6)	201 ± 13 (6)	205 ± 11 (6)
30	144 ± 4 (12)	146 ± 4 (12)	153 ± 5 (12)	155 ± 5 (12)	159 ± 6 (12)	163 ± 6 (12)	166 ± 6 (12)	169 ± 6 (12)	174 ± 8 (12)	177 ± 8 (12)	181 ± 8 (12)	185 ± 8 (12)	188 ± 10 (12)	191 ± 12 (12)	195 ± 13 (12)	196 ± 10 (12)	203 ± 13 (12)	205 ± 14 (12)
80	145 ± 4 (12)	141* ± 4 (8)	142** ± 7 (6)	147 ± 12 (6)	156 ± 7 (6)	160 ± 6 (6)	164 ± 4 (6)	170 ± 5 (6)	172 ± 6 (6)	177 ± 4 (6)	183 ± 4 (6)	185 ± 5 (6)	186 ± 7 (6)	192 ± 5 (6)	196 ± 5 (6)	201 ± 8 (6)	202 ± 8 (6)	204 ± 7 (6)
Dose (mg/kg)	Day 19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	Gain 1~28	(Day of recovery) 28(0) 31(3) 35(7) 38(10)				Gain 28~42		
0	205 ± 14 (12)	208 ± 15 (12)	210 ± 15 (12)	213 ± 16 (12)	217 ± 16 (12)	218 ± 17 (12)	218 ± 18 (12)	221 ± 17 (12)	224 ± 18 (12)	227 ± 18 (12)	83 ± 14 (12)	228 ± 23 (6)	236 ± 24 (6)	244 ± 25 (6)	250 ± 25 (6)	255 ± 27 (6)	27 ± 6 (6)	
3	209 ± 14 (6)	210 ± 16 (6)	213 ± 15 (6)	216 ± 17 (6)	220 ± 16 (6)	221 ± 16 (6)	223 ± 16 (6)	226 ± 19 (6)	229 ± 20 (6)	230 ± 19 (6)	86 ± 15 (6)							
10	209 ± 13 (6)	212 ± 14 (6)	214 ± 14 (6)	219 ± 14 (6)	222 ± 17 (6)	225 ± 15 (6)	224 ± 25 (6)	226 ± 12 (6)	230 ± 17 (6)	231 ± 16 (6)	86 ± 14 (6)							
30	208 ± 15 (12)	210 ± 14 (12)	215 ± 14 (12)	217 ± 16 (12)	221 ± 17 (12)	222 ± 16 (12)	226 ± 16 (12)	227 ± 15 (12)	229 ± 16 (12)	230 ± 16 (12)	86 ± 15 (12)	235 ± 12 (6)	245 ± 16 (6)	251 ± 18 (6)	259 ± 20 (6)	265 ± 20 (6)	30 ± 10 (6)	
80	209 ± 7 (6)	211 ± 8 (6)	214 ± 10 (6)	216 ± 7 (6)	222 ± 6 (6)	223 ± 8 (6)	223 ± 12 (6)	226 ± 7 (6)	231 ± 5 (6)	233 ± 6 (6)	89 ± 5 (6)	230 ± 6 (3)	233 ± 10 (3)	239 ± 13 (3)	249 ± 9 (3)	254 ± 11 (3)	24 ± 5 (3)	

Each value is expressed as mean±S.D.

(n) : No. of animals

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

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

Table 5 Food consumption of male rats treated orally with 2,4-dinitrophenol in the 28-day repeat dose toxicity test

Dose (mg/kg)	(g/rat/day)						
	Week 1	2	3	4	(Week of recovery)		
					4(0)	5(1)	6(2)
0	27 ± 2 (12)	29 ± 2 (12)	33 ± 3 (12)	33 ± 3 (12)	32 ± 2 (6)	33 ± 2 (6)	33 ± 3 (6)
3	28 ± 2 (6)	32 ± 2 (6)	36 ± 3 (6)	36 ± 3 (6)			
10	27 ± 2 (6)	32 ± 2 (6)	36 ± 2 (6)	37 ± 3 (6)			
30	28 ± 2 (12)	34 ** ± 3 (12)	39 ** ± 5 (12)	37 * ± 3 (12)	37 * ± 4 (6)	35 ± 5 (6)	34 ± 4 (6)
80	28 ± 2 (11)	35 ** ± 1 (11)	41 ** ± 4 (11)	40 ** ± 4 (10)	41 ** ± 3 (6)	38 ± 2 (6)	36 ± 4 (6)

Each value is expressed as mean±S. D.

(n) : No. of animals

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

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

Table 6 Food consumption of female rats treated orally with 2,4-dinitrophenol in the 28-day repeat dose toxicity test
(g/rat/day)

Dose (mg/kg)	Week 1	2	3	4	(Week of recovery)		
					4(0)	5(1)	6(2)
0	21 ± 2 (12)	22 ± 2 (12)	24 ± 3 (12)	21 ± 3 (12)	21 ± 3 (6)	24 ± 4 (6)	24 ± 4 (6)
3	20 ± 2 (6)	21 ± 2 (6)	24 ± 3 (6)	23 ± 2 (6)			
10	21 ± 2 (6)	23 ± 2 (6)	25 ± 3 (6)	23 ± 3 (6)			
30	22 ± 1 (12)	23 ± 2 (12)	26 ± 4 (12)	25 * ± 4 (12)	27 * ± 4 (6)	25 ± 1 (6)	23 ± 4 (6)
80	21 ± 3 (6)	27 ** ± 2 (6)	27 ± 1 (6)	26 * ± 3 (6)	26 ± 4 (3)	29 ± 1 (3)	23 ± 3 (3)

Each value is expressed as mean±S.D.

(n) : No. of animals

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

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

Table 7 - 1 Urinary findings of male rats treated orally with 2,4-dinitrophenol in the 28-day repeat dose toxicity test

< Treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Color				Cloudy		Specific gravity	pH							Protein					
		PY	Y	PB	B	-	+		5.0	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	-	±	+	++	+++	++++
0	12	2	6	4		3	9	1.053 ^{a)} ± 0.014						5	7	1	10	1			
3	6	3	3			1	5	1.043 ± 0.012					1	2	3	1	5				
10	6	1	3	1	1	1	5	1.036 ± 0.015						4	2	1	3	2			
30	12		1	2	9*	3	9	1.040 ± 0.012					1	4	7	5	7				
80	11			3	8*	6	5	1.033* ± 0.013						5	6	5	6				

Dose (mg/kg)	No. of animals	Glucose					Ketone body					Occult blood					Urobilinogen				Bilirubin			
		-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	0.1	1	2	4	-	+	++	+++
0	12	12					1	10	1			10	2				12				12			
3	6	6					4	2				6					6				6			
10	6	6					4	2				5		1			6				6			
30	12	12					8	4				12					12				12			
80	11	11					9	2*				10	1				11				11			

a) : Mean±S.D.

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

Cloudy : -(negligible), +(cloudy)

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

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

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

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

Urobilinogen : Ehrlich unit/dL

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

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

Table 7 - 2 Urinary findings of male rats treated orally with 2,4-dinitrophenol
in the 28-day repeat dose toxicity test

< Treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Erythrocytes				Leukocytes				Crystals											
										Mg				Ca				Ams			
		-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++
0	12	10	2			12				2	7	3		12				12			
3	6	6				6					3	3		6				6			
10	6	5		1		5	1			1	1	3	1	6				6			
30	12	12				12				1	6	3	2	12				12			
80	11	11				11				2	5	4		11				10		1	

Dose (mg/kg)	No. of animals	Epithelial cells									Casts						Fat globules			
		Sq				R			S		G		H		W					
		-	+	++	+++	-	+	++	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	++	+++
0	12		11	1		12			12		12		12		12		12			
3	6		6			6			6		6		6		6		6			
10	6	2	4			6			6		6		6		6		6			
30	12	1	10	1		12			12		12		12		12		12			
80	11	1	9	1		11			11		11		11		11		11			

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

Crystals Epithelial cells Casts

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

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

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

Table 8 - 1 Urinary findings of female rats treated orally with 2,4-dinitrophenol in the 28-day repeat dose toxicity test

< Treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Color				Cloudy		Specific gravity	pH							Protein					
		PY	Y	PB	B	-	+		5.0	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	-	±	+	++	+++	++++
0	12	8		4		5	7	1.042 ^{a)} ± 0.018					2	3	7	2	5	5			
3	6	2	3	1			6	1.060 ± 0.012						1	5		3	2	1		
10	6	2	3	1		4	2	1.040 ± 0.022				1		1	4	2	1	3			
30	12	1	4	1	6	5	7	1.049 ± 0.015						1	11	1	6	4	1		
80	6		1	1	4*	4	2	1.028 ± 0.008		1		1		2	2	3	2	1			

Dose (mg/kg)	No. of animals	Glucose					Ketone body					Occult blood					Urobilinogen				Bilirubin			
		-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	0.1	1	2	4	-	+	++	+++
0	12	12					9	3				12					12				12			
3	6	6					4	2				6					6				6			
10	6	6					5	1				6					6				6			
30	12	12					12					11	1				12				12			
80	6	6					5	1				6					6				6			

a) : Mean±S.D.

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

Cloudy : -(negligible), +(cloudy)

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

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

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

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

Urobilinogen : Ehrlich unit/dL

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

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

Table 8 - 2 Urinary findings of female rats treated orally with 2,4-dinitrophenol in the 28-day repeat dose toxicity test

< Treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Erythrocytes				Leukocytes				Crystals											
		-				-				Mg				Ca				Ams			
		-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++
0	12	12				12				2	5	4	1	12				12			
3	6	6				6						4	2	6				6			
10	6	6				6					4	2		6				6			
30	12	12				11			1	1	8	1	2	12				12			
80	6	6				5	1			2	3	1		6				6			

Dose (mg/kg)	No. of animals	Epithelial cells										Casts						Fat globules			
		Sq				R			S			G		H		W		-			
		-	+	++	+++	-	+	++	-	+	++	-	+	-	+	-	+	-	+	++	+++
0	12	3	7	2		12			12			12		12		12		12			
3	6		6			6			6			6		6		6		6			
10	6		6			6			6			6		6		6		6			
30	12	5	4	1	2	12			12			12		12		12		12			
80	6	1	4	1		6			6			6		6		6		6			

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

Crystals

Mg(ammonium magnesium phosphate)

Ca(calcium phosphate)

Ams(amorphous)

Epithelial cells

Sq(squamous)

R(round)

S(spindle)

Casts

G(granule)

H(hyaline)

W(waxy)

Table 9 - 1 Urinary findings of male rats treated orally with 2,4-dinitrophenol in the 28-day repeat dose toxicity test

< Recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Color			Cloudy		Specific gravity	pH							Protein					
		PY	Y	PB	-	+		5.0	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	-	±	+	++	+++	++++
0	6	4		2	2	4	1.055 ^{a)} ± 0.015				1	1	2	2			4	2		
30	6	5		1	1	5	1.041 ± 0.013						2	4			5	1		
80	6	1	3	2	2	4	1.049 ± 0.015					2	2	2		1	4	1		

Dose (mg/kg)	No. of animals	Glucose					Ketone body					Occult blood					Urobilinogen				Bilirubin			
		-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	0.1	1	2	4	-	+	++	+++
0	6	6						3	3			6										6		
30	6	6					3	2	1			5	1									6		
80	6	6					1	3	2			5	1									6		

a) : Mean ± S.D.

Color : PY(pale yellow), Y(yellow), PB(pale brown)

Cloudy : - (negligible), + (cloudy)

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

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

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

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

Urobilinogen : Ehrlich unit/dL

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

Table 9 - 2 Urinary findings of male rats treated orally with 2,4-dinitrophenol
in the 28-day repeat dose toxicity test

< Recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Erythrocytes				Leukocytes				Crystals											
										Mg				Ca				Ams			
		-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++
0	6	6				6				1	1	2	2	6				6			
30	6	6				4	2				3	1	2	6				6			
80	6	5		1		6				1	4	1		6				6			

Dose (mg/kg)	No. of animals	Epithelial cells										Casts						Fat globules			
		Sq				R			S			G		H		W					
		-	+	++	+++	-	+	++	-	+	++	-	+	-	+	-	+	-	+	++	+++
0	6		4	1	1	6				6		6		6		6		6			
30	6		3	2	1	6				6		6		6		6		6			
80	6		5	1		6				6		6		6		6		6			

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

Crystals Epithelial cells Casts

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

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

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

Table 10 - 1

Urinary findings of female rats treated orally with 2,4-dinitrophenol
in the 28-day repeat dose toxicity test

< Recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Color			Cloudy		Specific gravity	pH							Protein					
		PY	Y	PB	-	+		5.0	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	-	±	+	++	+++	++++
0	6	3		3	1	5	1.057 ^{a)} ± 0.010							2	4		1	5		
30	6	3		3	4	2	1.065 ± 0.015		1					1	4		2	4		
80	3	3			3		1.040 ± 0.018			1				1	1	1	1	1		

Dose (mg/kg)	No. of animals	Glucose					Ketone body					Occult blood					Urobilinogen				Bilirubin			
		-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	0.1	1	2	4	-	+	++	+++
0	6	6					5	1				6					6				6			
30	6	6					5	1				6					6				6			
80	3	3					2	1				2	1				3				3			

a) : Mean ± S.D.

Color : PY(pale yellow), Y(yellow), PB(pale brown)

Cloudy : -(negligible), +(cloudy)

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

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

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

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

Urobilinogen : Ehrlich unit/dL

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

Table 10 - 2 Urinary findings of female rats treated orally with 2,4-dinitrophenol
in the 28-day repeat dose toxicity test

< Recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Erythrocytes				Leukocytes				Crystals											
										Mg				Ca				Ams			
		-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++
0	6	6				6				4	2			6				6			
30	6	6				6				2	1	2	1	6				6			
80	3	3				3				2	1			3				2	1		

Dose (mg/kg)	No. of animals	Epithelial cells								Casts						Fat globules					
		Sq				R				S		G		H		W					
		-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	++	+++
0	6		5	1		6				6		6		6		6		6			
30	6	1	4	1		6				6		6		6		6		6			
80	3	1	2			3				3		3		3		3		3			

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

Crystals	Epithelial cells	Casts
Mg(ammonium magnesium phosphate)	Sq(squamous)	G(granule)
Ca(calcium phosphate)	R(round)	H(hyaline)
Ams(amorphous)	S(spindle)	W(waxy)

Table 11

Hematological findings of male rats treated orally with 2,4-dinitrophenol
in the 28-day repeat dose toxicity test

< After treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	RBC (10 ⁴ /μL)	Hb (g/dL)	Ht (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (%)	Ret. (%)	PT (sec)	APTT (sec)
0	6	791 ± 14	15.3 ± 0.4	44.6 ± 0.9	57 ± 1	19.4 ± 0.6	34.3 ± 0.4	33 ± 6	12.9 ± 0.5	18.1 ± 0.8
3	6	777 ± 22	15.5 ± 0.6	44.9 ± 1.6	58 ± 3	19.9 ± 0.8	34.5 ± 0.4	24 ± 5	12.9 ± 0.3	18.0 ± 1.0
10	6	778 ± 17	15.6 ± 0.3	45.4 ± 0.7	58 ± 1	20.1 ± 0.7	34.4 ± 0.6	36 ± 5	12.9 ± 0.1	19.1 ± 0.7
30	6	791 ± 23	16.2 ± 0.3	46.2 ± 1.3	58 ± 1	20.5 ± 0.3	35.1 ± 0.5	38 ± 9	13.1 ± 0.3	18.5 ± 0.6
80	4	808 ± 23	17.0** ± 0.5	48.3** ± 1.2	60 ± 2	21.1* ± 0.9	35.2 ± 0.6	42 ± 8	13.3 ± 0.4	19.4 ± 0.4

Dose (mg/kg)	No. of animals	WBC (10 ² /μL)	Differential leukocyte counts (%)								Plat. (10 ⁴ /μL)
			Baso.	Eosin.	Neutro.		Lymph.	Mono.	Other		
					Stab.	Seg.					
0	6	54 ± 12	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 0	16 ± 6	83 ± 6	1 ± 1	0 ± 0	129 ± 9	
3	6	55 ± 13	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 0	15 ± 6	84 ± 7	1 ± 1	0 ± 0	140 ± 24	
10	6	62 ± 16	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	14 ± 5	85 ± 5	1 ± 1	0 ± 0	146 ± 15	
30	6	50 ± 8	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 0	15 ± 4	84 ± 5	1 ± 1	0 ± 0	130 ± 18	
80	4	58 ± 13	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 0	11 ± 6	88 ± 6	2 ± 1	0 ± 0	120 ± 10	

Each value is expressed as mean±S.D.

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

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

Table 12

Hematological findings of female rats treated orally with 2,4-dinitrophenol
in the 28-day repeat dose toxicity test

< After treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	RBC (10 ⁴ /μL)	Hb (g/dL)	Ht (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (%)	Ret. (%)	PT (sec)	APTT (sec)
0	6	764 ± 26	15.1 ± 0.3	42.8 ± 0.7	56 ± 2	19.8 ± 0.8	35.3 ± 0.3	27 ± 10	13.2 ± 0.5	17.7 ± 0.3
3	6	775 ± 23	14.9 ± 0.8	42.5 ± 1.7	55 ± 1	19.3 ± 0.6	35.1 ± 0.7	26 ± 7	13.4 ± 0.2	18.0 ± 0.5
10	6	754 ± 47	15.0 ± 0.7	42.9 ± 2.4	57 ± 2	20.0 ± 0.8	35.0 ± 0.4	22 ± 7	14.0 ± 0.5	18.1 ± 0.7
30	6	780 ± 34	15.9 ± 0.6	44.3 ± 1.1	57 ± 1	20.4 ± 0.4	35.8 ± 0.5	23 ± 7	13.6 ± 0.3	18.5 ± 0.6
80	3	755 ± 14	15.4 ± 0.8	42.9 ± 1.5	57 ± 2	20.4 ± 1.0	35.9 ± 0.7	33 ± 8	13.5 ± 0.4	16.7 ± 0.8

Dose (mg/kg)	No. of animals	WBC (10 ² /μL)	Differential leukocyte counts (%)							Plat. (10 ⁴ /μL)
			Baso.	Eosin.	Neutro.		Lymph.	Mono.	Other	
					Stab.	Seg.				
0	6	48 ± 11	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 1	11 ± 5	88 ± 4	1 ± 1	0 ± 0	151 ± 18
3	6	40 ± 8	0 ± 0	1 ± 2	0 ± 0	12 ± 5	86 ± 6	1 ± 1	0 ± 0	142 ± 11
10	6	45 ± 23	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	12 ± 4	87 ± 5	0 ± 0	0 ± 0	141 ± 11
30	6	33 ± 7	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 0	12 ± 4	86 ± 4	1 ± 1	0 ± 0	135 ± 18
80	3	43 ± 8	0 ± 0	0 ± 1	0 ± 0	13 ± 9	84 ± 11	2 ± 1	0 ± 0	120 ± 17

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

Table 13 Hematological findings of male rats treated orally with 2,4-dinitrophenol in the 28-day repeat dose toxicity test

< After recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	RBC (10 ⁴ /μL)	Hb (g/dL)	Ht (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (%)	Ret. (%)	PT (sec)	APTT (sec)
0	6	838 ± 32	15.6 ± 0.4	44.7 ± 0.9	53 ± 2	18.6 ± 0.9	34.8 ± 0.4	27 ± 6	12.9 ± 0.7	17.7 ± 1.3
30	6	833 ± 12	15.9 ± 0.5	45.7 ± 1.0	55 ± 1	19.1 ± 0.4	34.8 ± 0.5	22 ± 8	13.1 ± 0.4	18.2 ± 1.1
80	6	752** ± 24	14.8* ± 0.5	42.5** ± 1.3	57** ± 1	19.7* ± 0.7	35.0 ± 1.0	31 ± 11	13.1 ± 0.2	17.8 ± 1.1

Dose (mg/kg)	No. of animals	WBC (10 ² /μL)	Differential leukocyte counts (%)										Plat. (10 ⁴ /μL)
			Baso.	Eosin.	Neutro.		Lymph.	Mono.	Other				
					Stab.	Seg.							
0	6	55	0	0	0	16	83	1	0	148			
		± 13	± 0	± 1	± 0	± 4	± 4	± 1	± 0	± 21			
30	6	69	0	1	0	14	84	1	0	127			
		± 15	± 0	± 1	± 0	± 7	± 8	± 1	± 0	± 11			
80	6	86	0	1	0	15	84	1	0	130			
		± 28	± 0	± 1	± 0	± 5	± 5	± 1	± 0	± 17			

Each value is expressed as mean±S.D.

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

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

Table 14 Hematological findings of female rats treated orally with 2,4-dinitrophenol in the 28-day repeat dose toxicity test

< After recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	RBC (10 ⁴ /μL)	Hb (g/dL)	Ht (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (%)	Ret. (%)	PT (sec)	APTT (sec)
0	6	796 ± 34	15.3 ± 0.7	43.2 ± 1.4	54 ± 1	19.3 ± 0.3	35.4 ± 0.8	23 ± 5	13.9 ± 0.2	17.5 ± 1.1
30	6	765 ± 31	15.3 ± 0.5	42.7 ± 1.0	56 ± 1	20.0* ± 0.3	35.8 ± 0.5	23 ± 7	13.4 ± 0.3	17.2 ± 1.0
80	3	770 ± 31	14.6 ± 0.9	41.2 ± 1.8	54 ± 1	19.0 ± 0.5	35.5 ± 0.7	24 ± 12	13.3 ± 0.5	16.6 ± 0.3

Dose (mg/kg)	No. of animals	WBC (10 ² /μL)	Differential leukocyte counts (%)										Plat. (10 ⁴ /μL)
			Baso.	Eosin.	Neutro.		Lymph.	Mono.	Other				
					Stab.	Seg.							
0	6	50	0	1	0	15	83	1	0	136			
		± 15	± 0	± 0	± 5	± 5	± 1	± 0	± 15				
30	6	42	0	1	0	10	88	2	0	146			
		± 9	± 0	± 1	± 0	± 5	± 5	± 1	± 0	± 18			
80	3	47	0	1	0	12	87	1	0	128			
		± 1	± 0	± 1	± 0	± 2	± 2	± 1	± 0	± 14			

Each value is expressed as mean±S.D.

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

Table 15

Blood biochemical findings of male rats treated orally with 2,4-dinitrophenol
in the 28-day repeat dose toxicity test

< After treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	LDH (IU/L)	GOT (IU/L)	GPT (IU/L)	ALP (IU/L)	γ -GTP (IU/L)	ChE (IU/L)	T.P. (g/dL)	Alb. (g/dL)	A/G	T-Cho. (mg/dL)
0	6	216	78	41	799	0.66	52	5.86	3.11	1.14	59
		$\pm$ 29	$\pm$ 6	$\pm$ 3	$\pm$ 121	$\pm$ 0.22	$\pm$ 18	$\pm$ 0.24	$\pm$ 0.08	$\pm$ 0.07	$\pm$ 11
3	6	232	77	44	746	0.57	63	5.97	3.12	1.10	61
		$\pm$ 48	$\pm$ 10	$\pm$ 4	$\pm$ 122	$\pm$ 0.38	$\pm$ 25	$\pm$ 0.14	$\pm$ 0.05	$\pm$ 0.07	$\pm$ 4
10	6	264	77	41	797	1.00	60	5.92	3.16	1.15	60
		$\pm$ 176	$\pm$ 9	$\pm$ 5	$\pm$ 100	$\pm$ 1.38	$\pm$ 17	$\pm$ 0.18	$\pm$ 0.13	$\pm$ 0.10	$\pm$ 14
30	6	377	83	41	699	0.53	61	5.90	3.29	1.28	57
		$\pm$ 285	$\pm$ 14	$\pm$ 4	$\pm$ 115	$\pm$ 0.12	$\pm$ 19	$\pm$ 0.25	$\pm$ 0.14	$\pm$ 0.21	$\pm$ 8
80	4	265	89	46	725	0.72	51	5.99	3.30	1.23	57
		$\pm$ 124	$\pm$ 7	$\pm$ 8	$\pm$ 184	$\pm$ 0.18	$\pm$ 11	$\pm$ 0.09	$\pm$ 0.06	$\pm$ 0.03	$\pm$ 4
Dose (mg/kg)	No. of animals	T.G. (mg/dL)	Glu. (mg/dL)	T-Bil. (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Crea. (mg/dL)	Ca (mg/dL)	P (mg/dL)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)
0	6	34	146	0.33	16.7	0.54	9.8	8.5	146	5.00	105
		$\pm$ 10	$\pm$ 14	$\pm$ 0.04	$\pm$ 1.9	$\pm$ 0.04	$\pm$ 0.3	$\pm$ 0.4	$\pm$ 1	$\pm$ 0.32	$\pm$ 1
3	6	49	136	0.34	15.8	0.57	10.1	8.0	146	4.90	104
		$\pm$ 6	$\pm$ 12	$\pm$ 0.03	$\pm$ 1.6	$\pm$ 0.05	$\pm$ 0.3	$\pm$ 0.3	$\pm$ 1	$\pm$ 0.17	$\pm$ 1
10	6	45	144	0.36	14.2	0.62*	10.1	8.1	146	5.07	104
		$\pm$ 16	$\pm$ 11	$\pm$ 0.01	$\pm$ 1.2	$\pm$ 0.04	$\pm$ 0.3	$\pm$ 0.8	$\pm$ 1	$\pm$ 0.39	$\pm$ 1
30	6	44	124*	0.42	16.0	0.56	10.0	7.7	145	4.98	102**
		$\pm$ 15	$\pm$ 5	$\pm$ 0.04	$\pm$ 2.1	$\pm$ 0.03	$\pm$ 0.2	$\pm$ 0.6	$\pm$ 1	$\pm$ 0.22	$\pm$ 1
80	4	31	128	0.43	16.5	0.56	10.0	8.0	146	4.77	100**
		$\pm$ 11	$\pm$ 5	$\pm$ 0.02	$\pm$ 1.9	$\pm$ 0.03	$\pm$ 0.1	$\pm$ 0.2	$\pm$ 1	$\pm$ 0.19	$\pm$ 2

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

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

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

Table 16 Blood biochemical findings of female rats treated orally with 2,4-dinitrophenol in the 28-day repeat dose toxicity test

< After treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	LDH (IU/L)	GOT (IU/L)	GPT (IU/L)	ALP (IU/L)	γ -GTP (IU/L)	ChE (IU/L)	T.P. (g/dL)	Alb. (g/dL)	A/G	T-Chol. (mg/dL)
0	6	364 $\pm$ 72	79 $\pm$ 8	34 $\pm$ 4	519 $\pm$ 133	1.07 $\pm$ 0.33	355 $\pm$ 137	6.32 $\pm$ 0.19	3.61 $\pm$ 0.25	1.34 $\pm$ 0.18	78 $\pm$ 17
3	6	309 $\pm$ 69	77 $\pm$ 10	36 $\pm$ 5	488 $\pm$ 149	1.34 $\pm$ 0.49	360 $\pm$ 84	6.19 $\pm$ 0.19	3.50 $\pm$ 0.14	1.31 $\pm$ 0.10	78 $\pm$ 16
10	6	394 $\pm$ 101	80 $\pm$ 9	37 $\pm$ 4	416 $\pm$ 95	1.09 $\pm$ 0.32	397 $\pm$ 68	6.22 $\pm$ 0.13	3.51 $\pm$ 0.21	1.30 $\pm$ 0.14	69 $\pm$ 18
30	6	431 $\pm$ 205	78 $\pm$ 6	33 $\pm$ 4	423 $\pm$ 56	1.25 $\pm$ 0.46	365 $\pm$ 99	6.35 $\pm$ 0.13	3.59 $\pm$ 0.11	1.30 $\pm$ 0.10	82 $\pm$ 14
80	3	264 $\pm$ 36	78 $\pm$ 3	38 $\pm$ 5	424 $\pm$ 110	2.13 $\pm$ 2.01	289 $\pm$ 53	6.18 $\pm$ 0.25	3.56 $\pm$ 0.12	1.36 $\pm$ 0.09	105 $\pm$ 19
Dose (mg/kg)	No. of animals	T.G. (mg/dL)	Glu. (mg/dL)	T-Bil. (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Crea. (mg/dL)	Ca (mg/dL)	P (mg/dL)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)
0	6	19 $\pm$ 7	138 $\pm$ 13	0.25 $\pm$ 0.02	16.6 $\pm$ 2.8	0.64 $\pm$ 0.05	9.9 $\pm$ 0.2	7.0 $\pm$ 0.6	146 $\pm$ 1	4.71 $\pm$ 0.42	106 $\pm$ 1
3	6	23 $\pm$ 7	127 $\pm$ 14	0.26 $\pm$ 0.02	15.3 $\pm$ 1.7	0.63 $\pm$ 0.04	9.7 $\pm$ 0.2	6.9 $\pm$ 0.2	144 $\pm$ 1	4.89 $\pm$ 0.09	105 $\pm$ 2
10	6	17 $\pm$ 10	121 $\pm$ 10	0.29** $\pm$ 0.01	15.0 $\pm$ 1.9	0.62 $\pm$ 0.04	9.9 $\pm$ 0.3	6.5 $\pm$ 0.8	145 $\pm$ 1	4.94 $\pm$ 0.30	105 $\pm$ 1
30	6	20 $\pm$ 7	110** $\pm$ 10	0.33** $\pm$ 0.02	16.4 $\pm$ 1.5	0.65 $\pm$ 0.02	9.8 $\pm$ 0.2	6.7 $\pm$ 0.5	145 $\pm$ 1	4.83 $\pm$ 0.20	105 $\pm$ 2
80	3	35 $\pm$ 7	131 $\pm$ 13	0.41** $\pm$ 0.02	15.9 $\pm$ 1.8	0.61 $\pm$ 0.02	9.8 $\pm$ 0.2	6.6 $\pm$ 0.4	146 $\pm$ 1	4.62 $\pm$ 0.22	105 $\pm$ 3

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

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

Table 17 Blood biochemical findings of male rats treated orally with 2,4-dinitrophenol in the 28-day repeat dose toxicity test

< After recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	LDH (IU/L)	GOT (IU/L)	GPT (IU/L)	ALP (IU/L)	γ -GTP (IU/L)	ChE (IU/L)	T.P. (g/dL)	Alb. (g/dL)	A/G	T-Chol. (mg/dL)
0	6	231 $\pm$ 64	73 $\pm$ 5	40 $\pm$ 6	587 $\pm$ 82	0.59 $\pm$ 0.21	44 $\pm$ 14	5.77 $\pm$ 0.16	3.06 $\pm$ 0.14	1.13 $\pm$ 0.08	60 $\pm$ 18
30	6	221 $\pm$ 38	75 $\pm$ 7	38 $\pm$ 5	594 $\pm$ 72	0.70 $\pm$ 0.27	54 $\pm$ 16	5.90 $\pm$ 0.13	3.06 $\pm$ 0.05	1.08 $\pm$ 0.06	61 $\pm$ 9
80	6	270 $\pm$ 78	79 $\pm$ 5	39 $\pm$ 4	588 $\pm$ 79	0.66 $\pm$ 0.32	42 $\pm$ 12	5.85 $\pm$ 0.15	3.11 $\pm$ 0.12	1.14 $\pm$ 0.04	57 $\pm$ 16
Dose (mg/kg)	No. of animals	T.G. (mg/dL)	Glu. (mg/dL)	T-Bil. (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Crea. (mg/dL)	Ca (mg/dL)	P (mg/dL)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)
0	6	52 $\pm$ 14	142 $\pm$ 11	0.33 $\pm$ 0.02	14.8 $\pm$ 1.4	0.60 $\pm$ 0.06	9.6 $\pm$ 0.2	7.1 $\pm$ 0.6	144 $\pm$ 1	4.83 $\pm$ 0.27	105 $\pm$ 2
30	6	53 $\pm$ 15	142 $\pm$ 16	0.32 $\pm$ 0.03	15.0 $\pm$ 2.1	0.58 $\pm$ 0.04	9.7 $\pm$ 0.1	6.9 $\pm$ 0.4	144 $\pm$ 1	4.90 $\pm$ 0.29	105 $\pm$ 1
80	6	63 $\pm$ 8	140 $\pm$ 7	0.35 $\pm$ 0.01	14.9 $\pm$ 2.0	0.55 $\pm$ 0.02	9.7 $\pm$ 0.2	7.6 $\pm$ 0.3	144 $\pm$ 1	5.14 $\pm$ 0.25	105 $\pm$ 1

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

Table 18 Blood biochemical findings of female rats treated orally with 2,4-dinitrophenol in the 28-day repeat dose toxicity test

< After recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	LDH (IU/L)	GOT (IU/L)	GPT (IU/L)	ALP (IU/L)	γ -GTP (IU/L)	ChE (IU/L)	T.P. (g/dL)	Alb. (g/dL)	A/G	T-Cho. (mg/dL)
0	6	293 $\pm$ 77	72 $\pm$ 4	33 $\pm$ 4	396 $\pm$ 54	1.34 $\pm$ 0.57	347 $\pm$ 93	6.32 $\pm$ 0.17	3.52 $\pm$ 0.10	1.26 $\pm$ 0.06	67 $\pm$ 10
30	6	469* $\pm$ 123	74 $\pm$ 8	33 $\pm$ 4	311 $\pm$ 81	1.27 $\pm$ 0.49	409 $\pm$ 79	6.39 $\pm$ 0.16	3.64 $\pm$ 0.19	1.33 $\pm$ 0.12	83 $\pm$ 17
80	3	275 $\pm$ 97	70 $\pm$ 7	30 $\pm$ 3	372 $\pm$ 30	0.65 $\pm$ 0.32	317 $\pm$ 115	6.17 $\pm$ 0.29	3.53 $\pm$ 0.15	1.34 $\pm$ 0.11	83 $\pm$ 8
Dose (mg/kg)	No. of animals	T.G. (mg/dL)	Glu. (mg/dL)	T-Bil. (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Crea. (mg/dL)	Ca (mg/dL)	P (mg/dL)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)
0	6	21 $\pm$ 10	133 $\pm$ 14	0.31 $\pm$ 0.04	17.2 $\pm$ 1.7	0.59 $\pm$ 0.04	9.9 $\pm$ 0.2	6.1 $\pm$ 0.3	143 $\pm$ 1	4.80 $\pm$ 0.06	104 $\pm$ 2
30	6	37 $\pm$ 26	138 $\pm$ 9	0.26 $\pm$ 0.01	14.4* $\pm$ 1.6	0.63 $\pm$ 0.04	9.8 $\pm$ 0.4	5.3* $\pm$ 0.5	143 $\pm$ 1	4.87 $\pm$ 0.19	106 $\pm$ 1
80	3	34 $\pm$ 9	135 $\pm$ 9	0.30 $\pm$ 0.05	15.8 $\pm$ 1.1	0.59 $\pm$ 0.07	10.1 $\pm$ 0.2	6.1 $\pm$ 0.3	143 $\pm$ 3	4.75 $\pm$ 0.22	104 $\pm$ 1

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

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

Table 19

Incidence of necropsy findings of male rats treated orally with 2,4-dinitrophenol in the 28-day repeat dose toxicity test

Organs	: Findings	Fate	Scheduled sacrifice								Dead during treatment period
			After treatment period					After recovery period			
			Dose(mg/kg)	0	3	10	30	80	0	30	80
Number of animals			6	6	6	6	4	6	6	6	2
Lung	: Red spot	-	6	5	6	6	4	6	6	6	2
		+	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	Dark red	-	6	6	6	6	4	6	6	6	0
		+	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Liver	: Diaphragmatic nodule	-	6	5	6	6	4	6	6	6	2
		+	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	Dark	-	6	6	6	6	4	6	6	6	0
		+	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Thymus	: Red area	-	6	6	6	5	4	6	6	6	2
		+	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Testis	: Soft	-	6	6	6	6	4	6	6	6	1
		+	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Epididymis	: Nodule, unilateral	-	5	6	6	6	4	6	6	6	2
		+	1	0	0	0	0	0	0	0	0

- : Negative; + : Slight

Table 20

Incidence of necropsy findings of female rats treated orally with 2,4-dinitrophenol
in the 28-day repeat dose toxicity test

Organs	: Findings	Fate	Scheduled sacrifice								Dead during treatment period	
			After treatment period					After recovery period				
			Dose(mg/kg)	0	3	10	30	80	0	30		80
Number of animals			6	6	6	6	3	6	6	3	80	6
Lung	: Dark red	-	6	6	6	6	3	6	6	3	0	
		+	0	0	0	0	0	0	0	0	6	
Liver	: Dark	-	6	6	6	6	3	6	6	3	0	
		+	0	0	0	0	0	0	0	0	6	
Kidney	: Hydronephrosis	-	6	6	6	6	3	5	6	3	6	
		++	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
Uterus	: Hydrometra	-	6	6	6	6	3	6	5	3	6	
		+	0	0	0	0	0	0	1	0	0	

- : Negative; + : Slight; ++ : Moderate

Table 21

Absolute and relative organ weights of male rats treated orally with 2,4-dinitrophenol in the 28-day repeat dose toxicity test

<After treatment period>

	Dose (mg/kg)	No. of animals	B.W. (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Spleen (g)	Heart (g)	Thymus (g)	Thyr. (mg)	Pitui. (mg)	Adrenal (mg)	Testis (g)	Epidid. (g)
Absolute	0	6	339 ±18	1.98 ±0.04	9.87 ±0.79	2.61 ±0.05	0.76 ±0.13	1.21 ±0.04	0.49 ±0.06	27.5 ±5.3	11.9 ±0.5	59.4 ±9.7	2.92 ±0.28	0.80 ±0.08
	3	6	346 ±19	1.94 ±0.09	9.82 ±0.91	2.54 ±0.18	0.72 ±0.11	1.20 ±0.09	0.54 ±0.13	29.5 ±1.1	12.0 ±1.4	57.4 ±3.6	3.07 ±0.16	0.80 ±0.03
	10	6	358 ±17	1.99 ±0.04	10.81 ±0.71	2.67 ±0.17	0.77 ±0.06	1.27 ±0.12	0.56 ±0.10	28.4 ±4.1	11.9 ±1.3	54.0 ±7.4	3.15 ±0.22	0.83 ±0.09
	30	6	343 ±15	1.98 ±0.07	10.48 ±0.52	2.82 ±0.12	0.78 ±0.15	1.22 ±0.10	0.57 ±0.04	27.6 ±2.7	12.2 ±0.9	64.4 ±8.8	3.19 ±0.21	0.81 ±0.05
	80	4	292 * ±22	1.85 ±0.08	9.97 ±1.12	2.98 ±0.39	0.75 ±0.08	1.18 ±0.09	0.49 ±0.10	23.2 ±3.1	11.2 ±1.7	57.5 ±7.6	3.15 ±0.29	0.76 ±0.02
Relative@	0	6	339 ±18	0.59 ±0.02	2.91 ±0.10	0.77 ±0.03	0.22 ±0.03	0.36 ±0.02	0.15 ±0.02	8.1 ±1.4	3.5 ±0.1	17.6 ±2.7	0.86 ±0.08	0.24 ±0.02
	3	6	346 ±19	0.56 ±0.01	2.84 ±0.12	0.74 ±0.02	0.21 ±0.03	0.35 ±0.02	0.16 ±0.04	8.6 ±0.4	3.5 ±0.2	16.6 ±0.8	0.89 ±0.03	0.23 ±0.02
	10	6	358 ±17	0.56 ±0.02	3.02 ±0.09	0.74 ±0.02	0.22 ±0.02	0.36 ±0.02	0.16 ±0.03	8.0 ±1.3	3.3 ±0.3	15.1 ±1.6	0.88 ±0.05	0.23 ±0.03
	30	6	343 ±15	0.58 ±0.02	3.06 ±0.14	0.82 ±0.04	0.23 ±0.05	0.36 ±0.03	0.17 ±0.01	8.1 ±0.7	3.6 ±0.3	18.8 ±2.7	0.93 ±0.04	0.24 ±0.02
	80	4	292 * ±22	0.64 * ±0.04	3.41 ** ±0.13	1.02 ** ±0.06	0.26 ±0.01	0.41 ±0.02	0.17 ±0.02	7.9 ±0.6	3.8 ±0.4	19.7 ±1.9	1.08 ** ±0.09	0.26 ±0.01

Each value is expressed as mean ± S.D.

@ : Relative organ weight per 100g body weight

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

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

Table 22

Absolute and relative organ weights of female rats treated orally with 2,4-dinitrophenol in the 28-day repeat dose toxicity test

<After treatment period>

	Dose (mg/kg)	No. of animals	B.W. (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Spleen (g)	Heart (g)	Thymus (g)	Thyr. (mg)	Pitui. (mg)	Adrenal (mg)	Ovary (mg)
Absolute	0	6	204 ±13	1.84 ±0.07	6.01 ±0.64	1.64 ±0.13	0.48 ±0.12	0.82 ±0.09	0.44 ±0.08	25.1 ±3.5	13.5 ±1.4	62.9 ±3.5	74.5 ±10.6
	3	6	212 ±20	1.82 ±0.08	6.11 ±0.77	1.72 ±0.14	0.46 ±0.06	0.79 ±0.05	0.44 ±0.11	22.8 ±2.4	13.3 ±1.2	65.0 ±7.2	85.6 ±19.7
	10	6	209 ±13	1.82 ±0.05	5.96 ±0.59	1.74 ±0.22	0.54 ±0.19	0.85 ±0.08	0.48 ±0.06	21.7 ±1.8	14.5 ±2.1	62.3 ±4.3	81.2 ±11.2
	30	6	205 ±17	1.85 ±0.04	6.16 ±0.62	1.76 ±0.17	0.53 ±0.09	0.81 ±0.07	0.39 ±0.09	24.4 ±3.3	13.4 ±2.3	64.7 ±2.4	83.2 ±9.5
	80	3	209 ±10	1.85 ±0.02	7.17 ±0.43	1.91 ±0.16	0.48 ±0.02	0.81 ±0.03	0.45 ±0.09	22.6 ±3.0	12.8 ±0.6	61.9 ±7.5	71.7 ±9.7
Relative@	0	6	204 ±13	0.91 ±0.06	2.95 ±0.19	0.81 ±0.05	0.23 ±0.05	0.41 ±0.03	0.21 ±0.04	12.4 ±2.4	6.6 ±0.7	31.0 ±2.9	36.5 ±3.2
	3	6	212 ±20	0.86 ±0.06	2.88 ±0.12	0.81 ±0.04	0.22 ±0.02	0.37 ±0.01	0.21 ±0.04	10.8 ±1.5	6.3 ±0.6	30.8 ±3.3	40.2 ±6.9
	10	6	209 ±13	0.87 ±0.06	2.85 ±0.12	0.83 ±0.06	0.26 ±0.07	0.41 ±0.02	0.23 ±0.02	10.5 ±1.4	7.0 ±0.8	29.9 ±2.5	38.9 ±5.0
	30	6	205 ±17	0.91 ±0.10	3.00 ±0.11	0.86 ±0.06	0.26 ±0.04	0.40 ±0.03	0.19 ±0.03	11.9 ±1.5	6.6 ±0.9	31.7 ±2.7	40.7 ±5.2
	80	3	209 ±10	0.88 ±0.04	3.43 ** ±0.17	0.91 ±0.08	0.23 ±0.02	0.39 ±0.02	0.22 ±0.05	10.8 ±1.5	6.2 ±0.3	29.5 ±2.2	34.3 ±3.8

Each value is expressed as mean ± S.D.

@ : Relative organ weight per 100g body weight

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

Table 23

Absolute and relative organ weights of male rats treated orally with 2,4-dinitrophenol in the 28-day repeat dose toxicity test

<After recovery period>

	Dose (mg/kg)	No. of animals	B.W. (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Spleen (g)	Heart (g)	Thymus (g)	Thyr. (mg)	Pitui. (mg)	Adrenal (mg)	Testis (g)	Epidid. (g)
Absolute	0	6	383	1.98	10.48	2.65	0.71	1.26	0.48	27.7	12.3	57.0	3.12	1.04
			±11	±0.06	±0.57	±0.17	±0.11	±0.09	±0.07	±5.6	±0.9	±3.7	±0.14	±0.08
	30	6	393	2.10 *	11.01	2.73	0.78	1.31	0.53	29.1	12.9	59.3	3.22	1.10
			±45	±0.06	±1.63	±0.13	±0.09	±0.10	±0.11	±3.7	±2.0	±6.6	±0.20	±0.07
	80	6	391	1.97	11.49	3.07 *	0.83	1.33	0.48	28.6	12.9	62.5	3.37	1.04
			±24	±0.07	±1.10	±0.36	±0.12	±0.18	±0.11	±1.9	±1.4	±5.7	±0.20	±0.11
Relative@	0	6	383	0.52	2.74	0.69	0.19	0.33	0.12	7.2	3.2	14.9	0.82	0.27
			±11	±0.02	±0.09	±0.04	±0.03	±0.02	±0.02	±1.5	±0.2	±1.1	±0.04	±0.02
	30	6	393	0.54	2.80	0.70	0.20	0.33	0.14	7.5	3.3	15.2	0.83	0.28
			±45	±0.06	±0.13	±0.09	±0.01	±0.03	±0.03	±1.1	±0.5	±1.8	±0.15	±0.03
	80	6	391	0.51	2.94 *	0.78	0.21	0.34	0.12	7.3	3.3	16.0	0.87	0.27
			±24	±0.04	±0.12	±0.06	±0.03	±0.04	±0.02	±0.7	±0.3	±0.9	±0.05	±0.03

Each value is expressed as mean ± S.D.

@ : Relative organ weight per 100g body weight

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

Table 24 Absolute and relative organ weights of female rats treated orally with 2,4-dinitrophenol in the 28-day repeat dose toxicity test

<After recovery period>

	Dose (mg/kg)	No. of animals	B.W. (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Spleen (g)	Heart (g)	Thymus (g)	Thyr. (mg)	Pitui. (mg)	Adrenal (mg)	Ovary (mg)
Absolute	0	6	233	1.90	6.23	1.84	0.49	0.83	0.44	22.2	13.9	60.9	84.6
			±24	±0.06	±0.68	±0.20	±0.08	±0.05	±0.10	±5.8	±3.2	±10.8	±8.1
	30	6	241	1.87	6.71	1.77	0.55	0.87	0.38	22.3	13.9	65.0	89.2
			±17	±0.11	±0.63	±0.22	±0.08	±0.07	±0.10	±1.2	±1.3	±8.9	±10.5
	80	3	231	1.90	6.71	1.89	0.53	0.84	0.41	23.9	14.6	62.9	73.2
			±6	±0.06	±0.15	±0.21	±0.07	±0.06	±0.07	±5.1	±1.6	±1.5	±7.3
Relative@	0	6	233	0.82	2.67	0.79	0.21	0.36	0.19	9.4	5.9	26.2	36.4
			±24	±0.06	±0.12	±0.03	±0.02	±0.03	±0.04	±1.7	±1.1	±4.4	±2.1
	30	6	241	0.78	2.78	0.73	0.23	0.36	0.16	9.3	5.8	27.1	37.2
			±17	±0.07	±0.10	±0.07	±0.02	±0.01	±0.03	±0.8	±0.8	±4.2	±5.0
	80	3	231	0.82	2.90 *	0.82	0.23	0.36	0.18	10.4	6.3	27.2	31.8
			±6	±0.02	±0.02	±0.08	±0.03	±0.02	±0.03	±2.4	±0.6	±1.4	±4.0

Each value is expressed as mean ± S.D.

@ : Relative organ weight per 100g body weight

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

Table 25-1 Incidence of histopathological findings of male rats treated orally with 2,4-dinitrophenol in the 28-day repeat dose toxicity test

Organs : Findings	Fate	Scheduled sacrifice									Dead during treatment period
		After treatment period					After recovery period				
		Dose(mg/kg) Number of animals	0 6	3 6	10 6	30 6	80 4	0 6	30 6	80 6	
Kidney	Cellular infiltration, lymphocyte, cortex	-	5	5	6	6	4	6	6	6	2
		+	1	1	0	0	0	0	0	0	0
	Cyst, solitary	-	5	5	5	4	3	6	6	6	2
		+	1	1	1	2	1	0	0	0	0
	Cast, hyaline/proteinous	-	5	3	6	5	3	5	6	4	2
		+	1	3	0	1	1	1	0	2	0
	Basophilic tubules	-	3	4	2	3	0	1	3	2	0
		+	3) (6)	2) (6)	4) (6)	3) (6)	3) (3)	5) (6)	3) (6)	4) (6)	2) (2)
		++	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	Dilatation, distal tubule, diffuse, unilateral	-	6	5	5	6	4	6	6	6	2
		+	0	1	1	0	0	0	0	0	0
	Dilatation, renal pelvis	-	6	6	6	6	3	6	6	6	2
		+	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	Hyaline droplet, proximal tubular epithelium	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		+	6	6	6	6	4	6	6	6	2
	Eosinophilic body, proximal tubular epithelium	-	5	6	6	6	4	6	5	4	2
		+	1	0	0	0	0	0	1	2	0

- : Negative; + : Slight; ++ : Moderate

Table 25-2 Incidence of histopathological findings of male rats treated orally with 2,4-dinitrophenol in the 28-day repeat dose toxicity test

Organs	: Findings	Fate	Scheduled sacrifice								Dead during treatment period
			After treatment period					After recovery period			
			Dose(mg/kg)	0	3	10	30	80	0	30	80
		Number of animals	6	6	6	6	4	6	6	6	2
Kidney (Continued)	: Mineralization, cortico-medullary junction	-	6	6	6	6	1	6	6	4	2
		+	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0
		++	0	0	0	0	2	0	0	0	0
	Congestion	-	6	6	6	6	4	6	6	6	0
		+	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Heart	: Myocardial degeneration/fibrosis	-	5	#	#	6	4	#	#	#	2
		+	1	#	#	0	0	#	#	#	0
Lung	: Mineralization, artery	-	5	1/1 ^a	#	4	1	#	#	#	2
		+	1	0/1 ^a	#	2	3	#	#	#	0
	Accumulation, foam cell	-	5	1/1 ^a	#	6	3	#	#	#	2
		+	1	0/1 ^a	#	0	1	#	#	#	0
	Hemorrhage/inflammatory cell infiltration	-	6	0/1 ^a	#	6	4	#	#	#	2
		+	0	1/1 ^a	#	0	0	#	#	#	0
	Congestion	-	6	1/1 ^a	#	6	4	#	#	#	0
		+	0	0/1 ^a	#	0	0	#	#	#	2
	Edema, alveolus	-	6	1/1 ^a	#	6	4	#	#	#	0
		+	0	0/1 ^a	#	0	0	#	#	#	2
	Metaplasia, osseous	-	6	1/1 ^a	#	5	4	#	#	#	2
		+	0	0/1 ^a	#	1	0	#	#	#	0

- : Negative; + : Slight; ++ : Moderate; # : Not examined; ^a : Examined only the organ with a macroscopical abnormality;
* : Significantly different from control (p<0.05)

Table 25-3 Incidence of histopathological findings of male rats treated orally with 2,4-dinitrophenol in the 28-day repeat dose toxicity test

Organs	Findings	Fate	Scheduled sacrifice								Dead during treatment period	
			After treatment period					After recovery period				
			Dose(mg/kg) Number of animals	0 6	3 6	10 6	30 6	80 4	0 6	30 6	80 6	80 2
Liver	Necrosis, focal	-	5	0/1 ^a	#	6	4	#	#	#	2	
		+	1	1/1 ^a	#	0	0	#	#	#	0	
	Microgranuloma	-	5	1/1 ^a	#	6	4	#	#	#	2	
		+	1	0/1 ^a	#	0	0	#	#	#	0	
	Proliferation, bile duct, focal	-	6	0/1 ^a	#	6	4	#	#	#	2	
		+	0	1/1 ^a	#	0	0	#	#	#	0	
	Congestion	-	6	1/1 ^a	#	6	4	#	#	#	0	
		+	0	0/1 ^a	#	0	0	#	#	#	2	
	Testis	Atrophy, seminiferous tubule	-	6	#	#	6	4	#	#	#	1
			++	0	#	#	0	0	#	#	#	1
Epididymis: Decrease, sperm		-	6	#	#	6	4	#	#	#	1	
		+++	0	#	#	0	0	#	#	#	1	
	Granuloma, spermatic	-	5	#	#	6	4	#	#	#	2	
		+	1	#	#	0	0	#	#	#	0	
Prostate	Cellular infiltration, lymphocyte, interstitium	-	5	#	#	5	3	#	#	#	2	
		+	1	#	#	1	1	#	#	#	0	
Pituitary: Cyst, Rathke's pouch		-	6	#	#	6	3	#	#	#	2	
		+	0	#	#	0	1	#	#	#	0	

- : Negative; + : Slight; ++ : Moderate; +++ : Severe; # : Not examined; ^a : Examined only the organ with a macroscopical abnormality

Table 25-4 Incidence of histopathological findings of male rats treated orally with 2,4-dinitrophenol in the 28-day repeat dose toxicity test

Organs : Findings	Fate	Scheduled sacrifice									Dead during treatment period
		After treatment period					After recovery period				
		Dose(mg/kg)	0	3	10	30	80	0	30	80	80
	Number of animals	6	6	6	6	4	6	6	6	2	
Spleen : Hematopoiesis, extramedullary	-	0)	0)	0)	0)	0)	0)	0)	0)	0)	
	+	0) (0)	1) (1)	0) (0)	2) (2)	2) (2)	5) (5)	4) (4)	1) (1)	1) (1)	
	++	6	5	6	4	2	1	2	5 *	1	
	Deposit, brown pigment	-	2	2	3	3	1	0	0	0	1
		+	4) (4)	4) (4)	3) (3)	2) (3)	3) (3)	1) (6)	1) (6)	0) (6)	1) (1)
	++	0)	0)	0)	1)	0)	5)	5)	6)	0)	
Thymus : Hemorrhage	-	6	#	#	5	4	#	#	#	0	
	+	0	#	#	1	0	#	#	#	2	

- : Negative; + : Slight; ++ : Moderate; # : Not examined

No abnormalities were detected in the brain, thyroid, stomach, adrenal, urinary bladder, bone marrow, spinal cord, sciatic nerve, and seminal vesicle from animals of control group, and 30 and 80mg/kg groups.

Table 26-1 Incidence of histopathological findings of female rats treated orally with 2,4-dinitrophenol in the 28-day repeat dose toxicity test

Organs : Findings	Fate	Scheduled sacrifice								Dead during treatment period	
		After treatment period					After recovery period				
		Dose(mg/kg) Number of animals	0 6	3 6	10 6	30 6	80 3	0 6	30 6	80 3	80 6
Kidney	Cellular infiltration, lymphocyte, cortex	-	5	5	5	5	3	6	6	3	6
		+	1	1	1	1	0	0	0	0	0
	Fibrosis, cortex/cortico-medullary junction	-	4	6	6	5	2	6	5	3	5
		+	2	0	0	1	1	0	1	0	1
	Cyst, solitary	-	4	6	4	6	3	6	6	3	6
		+	2	0	2	0	0	0	0	0	0
	Cast, hyaline	-	6	6	6	5	3	5	6	2	6
		+	0	0	0	1	0	1	0	1	0
	Basophilic tubules	-	3	4	3	4	2	4	5	1	3
		+	3	2	3	2	1	2	1	2	3
	Dilatation, renal pelvis	-	6	6	6	6	3	5	6	3	6
		++	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	Mineralization, cortico-medullary junction	-	6	6	6	6	1	6	6	1	3
		+	0) (0	0) (0	0) (0	0) (0	2) (2	0) (0	0) (0	2) (2	2) (3
		++	0)	0)	0)	0)	0)	0)	0)	0)	1)
	Congestion	-	6	6	6	6	3	6	6	3	4
		+	0	0	0	0	0	0	0	0	2

- : Negative; + : Slight; ++ : Moderate

Table 26-2 Incidence of histopathological findings of female rats treated orally with 2,4-dinitrophenol in the 28-day repeat dose toxicity test

Organs	Findings	Fate	Scheduled sacrifice								Dead during treatment period
			After treatment period					After recovery period			
			Dose(mg/kg) Number of animals	0 6	3 6	10 6	30 6	80 3	0 6	30 6	
Heart	: Myocardial degeneration/ fibrosis	-	5	#	#	6	3	#	#	#	6
		+	1	#	#	0	0	#	#	#	0
Lung	: Mineralization, artery	-	6	#	#	3	3	#	#	#	6
		+	0	#	#	3	0	#	#	#	0
	Metaplasia, osseous	-	6	#	#	6	3	#	#	#	5
		+	0	#	#	0	0	#	#	#	1
	Congestion	-	6	#	#	6	3	#	#	#	0
		+	0	#	#	0	0	#	#	#	6
	Edema, alveolus	-	6	#	#	6	3	#	#	#	2
		+	0	#	#	0	0	#	#	#	4
Liver	: Microgranuloma	-	5	#	#	5	3	#	#	#	6
		+	1	#	#	1	0	#	#	#	0
	Congestion	-	6	#	#	6	3	#	#	#	0
		+	0	#	#	0	0	#	#	#	6
Uterus	: Dilatation, lumen	-	6	#	#	6	3	#	0/1 ^a	#	6
		+	0	#	#	0	0	#	1/1 ^a	#	0
Pituitary:	Cyst, Rathke's pouch/ intermediate lobe	-	4	#	#	5	3	#	#	#	6
		+	2	#	#	1	0	#	#	#	0

- : Negative; + : Slight; # : Not examined; ^a : Examined only the organ with a macroscopical abnormality

Table 26-3

Incidence of histopathological findings of female rats treated orally with 2,4-dinitrophenol in the 28-day repeat dose toxicity test

Organs	Findings	Fate	Scheduled sacrifice								Dead during treatment period
			After treatment period					After recovery period			
			Dose(mg/kg)	0	3	10	30	80	0	30	80
		Number of animals	6	6	6	6	3	6	6	3	6
Spleen	Hematopoiesis, extramedullary	-	0	#	#	0	0	#	#	#	0
		+	6	#	#	6	3	#	#	#	6
	Deposit, brown pigment	-	0	#	#	0	0	#	#	#	0
		+	6	#	#	6	3	#	#	#	6
Thymus	Hemorrhage	-	5	#	#	4	3	#	#	#	0
		+	1	#	#	2	0	#	#	#	6

- : Negative; + : Slight; # : Not examined;

No abnormalities were detected in the brain, thyroid, stomach, adrenal, urinary bladder, bone marrow, spinal cord, sciatic nerve, and ovary from animals of control group, and 30 and 80mg/kg groups.