

B-6608

最終報告書

試験名：N-メチルアセトアニリ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-6608

試験期間：2010年4月2日-2012年3月23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 12

6. 試験材料及び方法 13

6.1 被験物質及び溶媒 13

6.1.1 被験物質 13

6.1.2 媒体 14

6.2 投与液の調製 14

6.2.1 媒体（対照群投与液）の調製 14

6.2.2 被験液の調製 14

6.2.3 投与液の保存方法 14

6.2.4 媒体中での安定性 14

6.2.5 被験液の濃度・均一性確認 14

6.3 試験動物種及び系統の選択理由 15

6.4 試験動物及び群分け 16

6.5 飼育条件 16

6.6 飼料及び飲料水中の混入物質 16

6.7 動物の識別及びケージへの表示 16

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 17

6.9 投与方法 17

6.10 投与量及びその設定根拠並びに群構成 17

6.11 観察及び検査の方法 18

6.11.1	一般状態の観察	18
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	18
6.11.2.1	詳細な一般状態の観察	18
6.11.2.2	機能検査	19
6.11.2.3	握力測定	19
6.11.2.4	自発運動量の測定	19
6.11.3	体重測定	19
6.11.4	摂餌量測定	19
6.11.5	摂水量測定	19
6.11.6	尿検査	20
6.11.7	血液学検査	21
6.11.8	血液化学検査	22
6.11.9	病理学検査	22
6.11.9.1	剖検	22
6.11.9.2	器官重量測定	22
6.11.9.3	病理組織学検査	23
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	23
6.12	統計解析	23
7.	試験結果	25
7.1	死亡動物	25
7.2	一般状態	25
7.3	詳細な一般状態、機能検査、握力及び自発運動量	25
7.3.1	詳細な一般状態	25
7.3.2	機能検査	27
7.3.3	握力	27
7.3.4	自発運動量	27
7.4	体重	28
7.5	摂餌量	28
7.6	尿検査（摂水量含む）	28
7.7	血液学検査	29
7.8	血液化学検査	31
7.9	器官重量	32
7.10	剖検所見	34
7.11	病理組織学検査	35
8.	考察	41
9.	文献	44

図

Fig. 1~4	自発運動量
Fig. 5	体重
Fig. 6	摂餌量

表

Table 1-1~1-4	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 9-1~9-3	剖検所見
Table 10-1~10-8	病理組織学検査

4. 要約

N-メチルアセトアニリドの 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 (0.5 w/v%メチルセルロース溶液：対照群)、20、75 及び 300 mg/kg/日とし、胃ゾンデを用いて 1 日 1 回強制経口投与した。また、対照群と 300 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、毒性変化の可逆性及び遅発毒性を検討した。

投与期間中に 300 mg/kg 投与群の雄 1 例と雌 5 例が死亡した。

一般状態では、300 mg/kg 投与群の雌雄で生存例及び死亡例ともに投与後に一過性の間代性痙攣又は流涎がみられ、雌では少数例でチアノーゼも観察された。雌の死亡例では、更に赤色尿及び腹臥・横臥がみられた。

詳細な一般状態では、投与期間を通じて間代性痙攣又は流涎が 300 mg/kg 投与群の雌雄にみられた。また、同群の雌では、立ち上がり回数及び自発運動量の低値がみられた。

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。

体重では、300 mg/kg 投与群の雄で投与 4 日以降対照群を下回って推移し、体重増加も低値を示した。摂餌量では、同群の雌雄で投与 7 日に低値がみられた。

尿検査では、摂水量及び尿量の高値と浸透圧の低値が 300 mg/kg 投与群の雄に、浸透圧の低値並びに摂水量及び尿量の高値傾向が同群の雌にみられた。

血液学検査では、赤血球数、ヘモグロビン量及び平均赤血球色素濃度の低値並びに網赤血球率の高値が 75 mg/kg 以上の投与群の雌雄に、ヘマトクリット値の低値が 75 mg/kg 以上の投与群の雌に、平均赤血球容積、平均赤血球色素量及びメトヘモグロビン比率の高値が 75 mg/kg 投与群の雌と 300 mg/kg 投与群の雌雄にみられ、また、血小板数の高値が 75 mg/kg 以上の投与群の雌にみられた。白血球数の高値が 300 mg/kg 投与群の雄に、好中球比率及び実数の高値が 75 mg/kg 投与群の雄に、好中球の実数の高値が 300 mg/kg 投与群の雄に、好酸球比率及び実数の低値が 300 mg/kg 投与群の雌にみられた。

血液化学検査では、総コレステロール、トリグリセライド及びリン脂質の高値が 300 mg/kg 投与群の雌に、カリウムの高値が同群の雌雄にみられた。

器官重量では、肝臓及び脾臓重量の高値が 75 mg/kg 以上の投与群の雌雄に、腎臓の相対重量の高値が 300 mg/kg 投与群の雄にみられた。

剖検では、肝臓の暗調化又は大型化が 300 mg/kg 投与群の雌雄に、脾臓の暗調化及び大型化が 75 mg/kg 以上の投与群の雌雄全例にみられた。死亡動物でも、ほぼ同様の所見が認められた。

病理組織学検査では、肝臓の髓外造血亢進、小葉中心性肝細胞肥大、脾臓の髓外造血亢進あるいは褐色色素の増加が 20 mg/kg 以上の投与群の雌雄に、脾臓のうっ血、被

B-6608

膜の細胞浸潤あるいは骨髄（大腿骨及び胸骨）の造血亢進が 75 mg/kg 以上の投与群の雌雄に、肝臓のクッパー細胞の色素沈着が 300 mg/kg 投与群の雌雄にみられた。これらの変化は死亡例でも同様に認められた。他に、生存例では腎臓の尿細管の好酸性小体の出現例数の増加が 300 mg/kg 投与群の雄にみられた。また、死亡例のみ又は死亡例が主体の変化として、副腎の皮質細胞の肥大、卵巣の萎縮、子宮の内膜上皮の肥大が雌に、腎臓の尿細管の拡張が雌雄にみられた。

回復期間では、尿検査における雄の摂水量、尿量及び浸透圧を除いて、投与期間中にみられた変化は消失又は軽減し、回復性が認められた。

以上の結果、*N*-メチルアセトアニリドの本試験条件下における無影響量は、雌雄ともに 20 mg/kg/日を下回るものと推定された。

B-6608

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*-メチルアセトアニリドをラットに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-6608

6. 試験材料及び方法

6.1 被験物質及び溶媒

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に示した。

名称 (別名) : *N*-メチルアセトアニリド
(*N*-アセチルメチルアニリン)

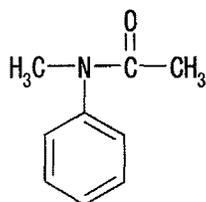
英名 (別名) : *N*-Methylacetanilide
(*N*-Acetylmethylaniline)

CAS 番号 : 579-10-2

官報公示整理番号 : 3-113

分子式 : $\text{CH}_3\text{CON}(\text{CH}_3)\text{C}_6\text{H}_5$

構造式 :



分子量 : 149.19

性状 : 白色ザラメ様結晶

純度 (Nより) : 99.7%

融点 : 100.5°C

入手量 : 200 g (25 g ; 8本)

安定性 : 投与期間終了後に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 : 2~6°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 : 作業場の換気を十分に行い、マスク、保護眼鏡、保護手袋等の適切な保護具を着用し、直接の接触を防いだ。取り扱い後は、手、顔等を良く洗い、うがいをした。

返却 : 被験物質1g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。

B-6608

6.1.2 媒体

名称 : 0.5 w/v%メチルセルロース溶液 (以下、0.5%MC 溶液と略)

なお、媒体については、本試験に先立って実施した *N*-メチルアセトアニリドの被験液中安定性試験 (試験番号: A-2191) において、0.5%MC 溶液中での被験物質の安定性及び均一性に良好な結果が得られていることから、0.5%MC 溶液を選択した。

6.2 投与液の調製

6.2.1 媒体 (対照群投与液) の調製

メチルセルロース 400 (和光純薬工業株式会社、ロット番号; WKP5404) を注射用水 (株式会社大塚製薬工場、ロット番号; 9K88 及び 9L85) に溶解し、0.5%MC 溶液とした。媒体は最大 7 日分を一括調製し、調製後 10 日以内に投与に用いた。調製後は冷蔵庫内 (許容範囲: 1~10°C、実測値: 2~10°C) に保存した。

6.2.2 被験液の調製

濃度ごとに必要量の被験物質を秤取し、乳鉢を用いて媒体に懸濁し、4、15 及び 60 mg/mL 液を調製した。被験液は 7 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。

6.2.3 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°C; 実測値 4~7°C)、遮光下で保存した。

6.2.4 媒体中での安定性

本被験物質の 0.100 及び 200 mg/mL 懸濁液 (媒体: 0.5%MC 溶液) は、褐色ガラス瓶に入れ、冷所 (冷蔵庫内、許容範囲: 1~10°C) 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で確認されている (試験番号: A-2191)。

6.2.5 被験液の濃度・均一性確認

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 96.8~102.0% (許容範囲: 表示値に対する割合; 100.0±10.0%)、均一性は 1.0~6.2% (許容値: CV10.0%以内) 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

: 3 本 (上、中及び下層から採取)、1 本につき 10 mL

測定対象物質 : *N*-メチルアセトアニリド

B-6608

測定対象標準物質

名称 : *N*-メチルアセトアニリド
ロット番号 : FCM02
保存方法 : 冷暗所 (冷蔵庫内、許容値: 1~10°C、実測値: 2~7°C)、
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 : Cosmosil 5C₁₈-MS-II (4.6 mm×150 mm、5 μm、
ナカライテスク株式会社)

カラム恒温槽設定温度

: 30°C

移動相 : 精製水/メタノール (45/55、v/v)

流速 : 1.0 mL/min

検出 : UV (測定波長 254 nm)

注入量 : 20 μL

オートサンプラー設定温度

: 10°C

分析時間 : 8 min

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 (4 mg/mL-上層)
4	1	測定実測試料 (15 mg/mL-上層)
5	1	測定実測試料 (60 mg/mL-上層)
6	1	測定実測試料 (4 mg/mL-中層)
7	1	測定実測試料 (15 mg/mL-中層)
8	1	測定実測試料 (60 mg/mL-中層)
9	1	測定実測試料 (4 mg/mL-下層)
10	1	測定実測試料 (15 mg/mL-下層)
11	1	測定実測試料 (60 mg/mL-下層)

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)} 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。投与開始日の体重範囲は、雄で 193~219 g、雌で 151~190 g であった。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。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) : 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。

6.5 飼育条件

動物は温度 23~25°C (許容範囲: 23±3°C)、相対湿度 39~52%、(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 回以上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 : 091104、091203 及び 100203) 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、性別及び投与量ごと (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(08:30~11:32の間)。対照群には媒体(0.5%MC溶液)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

N-メチルアセトアニリドの0(0.5%MC溶液)、10、30及び100 mg/kg/日を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、100 mg/kg投与群の雌雄で血液学検査に、雌で剖検に被験物質投与の影響と考えられる変化が認められたのみであった(予備試験、株式会社ボゾリサーチセンター試験番号:C-B466²⁾)。更に、*N*-メチルアセトアニリドを0(0.5%MC溶液)、300及び1000 mg/kg/日の用量で1群雌雄各5匹のラットに14日間反復経口投与した予備試験(追加試験、株式会社ボゾリサーチセンター試験番号:C-B473³⁾)では、1000 mg/kg投与群では、一般状態で間代性又は強直性痙攣、自発運動の減少又は腹臥・横臥を呈した後、投与3日までに雌雄全例が死亡した。300 mg/kg投与群では、雌雄で一般状態、体重、摂餌量、血液・血液化学検査、器官重量及び剖検に被験物質投与の影響と考えられる明らかな変化が認められた。以上の結果より、毒性兆候が認められると予想される300 mg/kgを高用量とし、以下公比約4で除し、75 mg/kgを中用量に、20 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	20	4	5	雄	6	2001~2006	-	-
				雌	6	2101~2106	-	-
中用量群	75	15	5	雄	6	3001~3006	-	-
				雌	6	3101~3106	-	-
高用量群	300	60	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、投与直後~30 分後及び投与約 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の 1 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 26 日、雌を投与 27 日) 及び回復 2 週 (回復 13 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しないで行った。

6.11.2.1 詳細な一般状態の観察

1) 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

B-6608

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

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08:50~10:38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（07:55~08:06）。

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09:05~10:52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日及び回復8~9日）に、尿検査対象動物について、前日から1日あたりの摂水量を、給水ビンを用いて測定した。測定は08:40~9:20の間に行った。

6.11.6 尿検査

投与4週（投与22~23日）及び回復2週（回復8~9日）に行った。

投与4週は検査当日の投与後に主群及び回復群の全個体に、回復2週は回復群の全個体にそれぞれ採尿器をセットしたケージに收容し、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。

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（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 1 mL）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 0.9 mL）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（3,000 rpm、1,600×g、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、全例について 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)}	%
メトヘモグロビン比率 (HI)	Van Assendelft 法 ^{b)}	%
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 ^{c)}	s
活性化部分トロンボ プラスチン時間 (APTT)	クロット法 ^{c)}	s
フィブリノーゲン量 (FIB)	トロンボプラスチン法 ^{c)}	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)} : 分光光度計 U-1100 (株式会社 日立製作所)		
^{c)} : 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（3,000 rpm、1,670×g、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（3,000 rpm、1,600×g、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)	OCPC 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

死亡動物については可及的速やかに、また、全ての生存動物については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

全ての生存動物について、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

全ての個体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・エオジン染色標本作製した。主群の対照群及び高用量群の全個体（肉眼的異常部位については主群及び回復群の全例）、更に死亡例については、全検査対象器官・組織を鏡検した。*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肝臓、脾臓、大腿骨（骨髄）、胸骨（骨髄）及び腎臓、雌の副腎、卵巣及び子宮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。また、左側の上皮小体の欠落が主群の 300 mg/kg 投与群の雄 1 例（動物番号：4004）及び対照群の雌 1 例（動物番号：1105）に認められたが、右側の上皮小体を標本作製し、鏡検した。上皮小体には被験物質投与の影響は認められず、試験成績への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）*及び大腿部骨格筋*

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、精嚢、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（3 例、動物番号 1002、4001 及び 4002）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

B-6608

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^{4) ~8)}。

7. 試験結果

7.1 死亡動物

成績を Table 1-1 に示した。

300 mg/kg 投与群において、投与 24 日に雄 1 例（動物番号：4003）、投与 12、21、23、25 及び 27 日にそれぞれ雌 1 例（動物番号：4101、4102、4108、4109 及び 4111）の計雄 1 例と雌 5 例が投与後 20 分~4 時間の間に死亡した。

7.2 一般状態

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

1) 死亡動物

間代性痙攣又は流涎が雄では投与 3 日以降、雌では投与開始日以降の投与直後~30 分後にみられ、投与約 2 時間後にはほぼ消失した。これらの症状は死亡日にもみられ、雌 3 例では更に赤色尿、腹臥・横臥又はチアノーゼも観察された。

2) 生存動物

(1) 投与期間

300 mg/kg 投与群では、雄で投与 1 日以降、雌で投与 6 日以降に間代性痙攣又は流涎が投与直後から投与約 30 分後の間に散見され、投与約 2 時間後にはほぼ消失した。また、300 mg/kg 投与群の雌 1 例で投与 26 日の投与直後から約 30 分後の間にチアノーゼがみられた。

20 及び 75 mg/kg 投与群では、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。

なお、300 mg/kg 投与群の雄 1 例で回復 13 日以降に後肢腫脹がみられたが、その出現状況から偶発性の変化と考えられた。

7.3 詳細な一般状態、機能検査、握力及び自発運動量

7.3.1 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 に示した。

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				雌				
		投与量 (mg/kg)	0	20	75	300	0	20	75	300
		動物数	12	6	6	12 ^{a)}	12	6	6	12 ^{b)}
ケージ内観察										
痙攣 ^{c, d)} 軽度	投与1週		0	0	0	1 (8%)	0	0	0	1 (8%)
	投与2週		0	0	0	0	0	0	0	1 (9%)
	投与3週		0	0	0	5 (42%)	0	0	0	4 (36%)
	投与4週		0	0	0	4 (36%)	0	0	0	3 (43%)
手に持った観察										
流涎 ^{c)} 軽度又は中等度	投与1週		0	0	0	2 (17%)	0	0	0	3 (25%)
	投与2週		0	0	0	2 (17%)	0	0	0	2 (18%)
	投与3週		0	0	0	2 (17%)	0	0	0	5 (45%)
	投与4週		0	0	0	4 (36%)	0	0	0	2 (29%)
痙攣 ^{c, d)} 軽度	投与1週		0	0	0	0	0	0	0	0
	投与2週		0	0	0	2 (17%)	0	0	0	2 (18%)
	投与3週		0	0	0	2 (17%)	0	0	0	2 (18%)
	投与4週		0	0	0	5 (45%)	0	0	0	3 (43%)
オープンフィールド										
内観察 痙攣 ^{c, d)} 軽度又は中等度	投与1週		0	0	0	0	0	0	0	1 (8%)
	投与2週		0	0	0	0	0	0	0	2 (18%)
	投与3週		0	0	0	1 (8%)	0	0	0	0
	投与4週		0	0	0	2 (18%)	0	0	0	1 (14%)
立ち上がり回数 ^{e)}	投与1週		-	N	N	N	-	N	N	-50%**
	投与2週		-	N	N	N	-	N	N	-50%**
	投与3週		-	N	N	N	-	N	N	-38%*
	投与4週		-	N	N	N	-	N	N	-30%**

a): 死亡動物がみられたため、投与4週の検査動物数は11例であった。

b): 死亡動物がみられたため、投与2及び3週の検査動物数は11例、投与4週の検査動物数は7例であった。

c): 表中の数値は出現例数を示し、()内の数値は出現率を示す。

d): 間代性痙攣、散発的

e): 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<0.05, **: p<0.01 (対照群との間に有意差あり)

投与 1~4 週のケージ内観察、手に持つての観察又はオープンフィールド内観察において、一般状態観察でみられた変化と同様、軽度の散発的な間代性痙攣あるいは軽度又は中等度の流涎が 300 mg/kg 投与群の雌雄にみられた。

オープンフィールド内観察において、投与 1~4 週に立ち上がり回数の有意な低値が 300 mg/kg 投与群の雌にみられた。

20 及び 75 mg/kg 投与群では、雌雄ともにいずれの観察項目でも異常はみられなかった。

2) 回復期間

投与期間中の観察でみられた変化は、回復期間中の観察では認められなかった。他の検査項目においても対照群との間に差はみられなかった。

7.3.2 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、いずれの検査項目でも異常はみられなかった。

2) 回復 2 週

雌雄ともに、いずれの検査項目でも異常はみられなかった。

7.3.3 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、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、75 mg/kg 投与群の雄で対照群と比べて後肢の握力の有意な高値がみられたが、用量に関連した変化ではなかった。

2) 回復 2 週

雌雄ともに、300 mg/kg 投与群で異常はみられなかった。

7.3.4 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

300 mg/kg 投与群の雌で測定開始後 0~10 分の測定値に有意な低値がみられ、その後も 40~50 分の測定値まで低値傾向がみられたが、0~60 分の合計値では有意差はみられなかった。一方、雄では異常はみられなかった。

20 及び 75 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

300 mg/kg 投与群の雄で、測定開始後 0~10 分の測定値に対照群と比べて有意な高値がみられたが、一過性の変化であり、0~60 分の合計値では有意差はみられなかったことから偶発性の変化と判断した。

7.4 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

300 mg/kg 投与群の雄では、投与 4 日以降対照群を下回って推移し、投与 17 及び 21 日を除いて統計学的な有意差もみられ、体重増加量も有意な低値を示した。一方、雌では投与期間を通じて対照群とほぼ同様に推移した。

20 及び 75 mg/kg 投与群では、投与期間を通じて対照群とほぼ同様に推移した。

2) 回復期間

300 mg/kg 投与群の雌雄ともに、回復期間を通じて対照群とほぼ同様に推移した。体重増加量では有意差はみられなかったものの、対照群をやや上回った。

7.5 摂餌量

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

1) 投与期間

300 mg/kg 投与群では、雌雄ともに投与 7 日に有意な低値がみられたが、投与 14 日以降は対照群との間に明らかな差はみられなかった。

20 及び 75 mg/kg 投与群では、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。

2) 回復期間

300 mg/kg 投与群の雌雄ともに、対照群との間に明らかな差はみられなかった。

7.6 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 6-1 に示す。

表 6-1. 尿検査の総括（投与 4 週）

性	雄				雌			
	0	20	75	300	0	20	75	300
投与量 (mg/kg)								
動物数	12	6	6	12	12	6	6	10 ^{a)}
グルコース ^{b)}								
-	12	6	6	12	12	6	6	9
3+	0	0	0	0	0	0	0	1
摂水量 ^{c)}	-	N	N	+28%*	-	N	N	+19%
尿量 ^{c)}	-	N	N	+71%*	-	N	N	+57%
浸透圧 ^{c)}	-	N	N	-26%*	-	N	N	-22%**

a): 死亡動物がみられたため、検査動物数は 10 例であった。

b): 表中の数値は出現例数を示す。

c): 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)

定性項目では、グルコース強陽性例が 300 mg/kg 投与群の雌 1/10 例にみられた。

定量項目では、摂水量及び尿量の高値と浸透圧の低値が 300 mg/kg 投与群の雌雄にみられ、雌の摂水量と尿量を除いて統計学的に有意な変化であった。

20 及び 75 mg/kg 投与群では、いずれの項目においても対照群との間に差はみられなかった。

2) 回復 2 週

成績の総括を表 6-2 に示す。

表 6-2. 尿検査の総括（回復 2 週）

性	雄	雌
投与量 (mg/kg)	300	300
動物数	6	3 ^{a)}
摂水量	+21%	N
尿量	+84%	N
浸透圧	-25%*	N

a): 死亡動物がみられたため、検査動物数は 3 例であった。

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

*: $p < 0.05$ (対照群との間に有意差あり)

雄では、浸透圧の有意な低値が 300 mg/kg 投与群の雄にみられた。また、統計学的な有意差は認められなかったものの、摂水量及び尿量の高値もみられ、変化の程度は投与 4 週検査時と同程度であった。

雌では、投与 4 週検査時にみられた変化は認められなかった。

7.7 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 7-1 に示す。

表 7-1. 血液学検査の総括（投与期間終了時）

性	雄			雌		
	20	75	300	20	75	300
投与量 (mg/kg)						
動物数	6	6	5 ^{a)}	6	6	4 ^{a)}
赤血球数	N	-7%*	-23%**	N	-14%**	-26%**
ヘモグロビン量	N	-8%**	-12%**	N	-9%**	-18%**
ヘマトクリット値	N	N	N	N	-5%*	-13%**
平均赤血球容積	N	N	+22%**	N	+10%**	+19%**
平均赤血球色素量	N	N	+15%**	N	+5%*	+10%**
平均赤血球色素濃度	N	-4%**	-6%**	N	-4%**	-7%**
網赤血球率	N	+174%*	+496%**	N	+274%**	+463%**
メトヘモグロビン比率	N	N	+578%**	N	+161%**	+344%**
血小板数	N	N	N	N	+10%*	+28%**
白血球数	N	N	+38%*	N	N	N
リンパ球	比率	N	-8%*	N	N	N
	実数	N	N	N	N	N
好中球	比率	N	+45%*	+43%	N	N
	実数	N	+90%**	+105%**	N	N
好酸球	比率	N	N	-50%*	N	N
	実数	N	N	N	N	-54%*
好塩基球	比率	N	N	N	N	-33%**
	実数	N	N	N	N	N
大型非染色球	比率	N	N	N	N	-33%*
	実数	N	N	N	N	N

a): 死亡動物がみられたため、検査動物数は雄 5 例、雌 4 例であった。

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平均赤血球色素濃度の有意な低値並びに網赤血球率の有意な高値が 75 及び 300 mg/kg 投与群の雌雄に、ヘマトクリット値の有意な低値が 75 及び 300 mg/kg 投与群の雌に、平均赤血球容積、平均赤血球色素量及びメトヘモグロビン比率の有意な高値が 75 mg/kg 投与群の雌と 300 mg/kg 投与群の雌雄にみられた。

凝固系項目では、血小板数の有意な高値が 75 及び 300 mg/kg 投与群の雌にみられた。

白血球系項目では、白血球数の有意な高値が 300 mg/kg 投与群の雄に、好中球比率及び実数の有意な高値が 75 mg/kg 投与群の雄に、好中球の実数の有意な増加が 300 mg/kg 投与群の雄に、好酸球比率及び実数の有意な低値が 300 mg/kg 投与群の雌にみられた。好酸球比率の有意な低値は 300 mg/kg 投与群の雄にもみられたが、同群値は対照群の個体別値の範囲内であること、実数には変化がみられないことから、偶発的な変化と判断した。

他に、リンパ球比率の有意な低値が 75 mg/kg 投与群の雄に、好塩基球比率及び大型非染色球比率の有意な低値が 75 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 7-2 に示す。

表 7-2. 血液学検査の総括 (回復期間終了時)

性	雄	雌
投与量 (mg/kg)	300	300
動物数	6	3 ^{a)}
赤血球数	-12%**	N
ヘマトクリット値	N	+6%*
平均赤血球容積	+13%**	+14%*
平均赤血球色素量	+12%**	+10%**
平均赤血球色素濃度	-1%*	-3%**
単球	実数	N
	比率	N
		+58%*
		+81%*

a): 死亡動物がみられたため、検査動物数は 3 例であった。

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)

赤血球数の有意な低値が 300 mg/kg 投与群の雄に、平均赤血球容積及び平均赤血球色素量の有意な高値、平均赤血球色素濃度の有意な低値が 300 mg/kg 投与群の雌雄にみられたが、投与期間終了時に比べて変化の程度は減弱していた。

他に、ヘマトクリット値の有意な高値が 300 mg/kg 投与群の雌に、単球の実数及び比率の有意な高値が 300 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 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 8-1 に示す。

表 8-1. 血液化学検査の総括 (投与期間終了時)

性	雄			雌		
	20	75	300	20	75	300
投与量 (mg/kg)						
動物数	6	6	5 ^{a)}	6	6	4 ^{a)}
AST	N	N	-21%**	N	N	N
総コレステロール	N	N	N	N	N	+34%*
トリグリセライド	N	N	N	N	N	+109%**
リン脂質	+23%*	+21%*	N	N	N	+27%*
総ビリルビン	N	N	↑ * ^{b)}	N	N	N
グルコース	N	N	N	N	+24%*	N
カリウム	N	N	+21%**	N	N	+24%**

a): 死亡動物がみられたため、検査動物数は雄 5 例、雌 4 例であった。

b): 平均値が対照群と同じ値であるため、増減率は算出せず (↑: 増加)

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)

総コレステロール、トリグリセライド及びリン脂質の有意な高値が 300 mg/kg 投与群の雌に、カリウムの有意な高値が 300 mg/kg 投与群の雌雄にみられた。

他に、AST 活性の有意な低値が 300 mg/kg 投与群の雄にみられたが、高値ではないことから毒性学的意義の低い変化と判断した。また、総ビリルビンの有意な高値が 300 mg/kg 投与群の雄にみられたが、極めてわずかな変化であり、偶発性の変化と判断した。更に、リン脂質の有意な高値が 20 及び 75 mg/kg 投与群の雄に、グルコースの有意な高値が 75 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 8-2 に示す。

表 8-2. 血液化学検査の総括（回復期間終了時）

性	雄	雌
	投与量 (mg/kg)	300
動物数	6	3 ^{a)}
無機リン	+8%*	N

a): 死亡動物がみられたため、検査動物数は 3 例であった。

表中の数値は対照群平均に対する増減率 (+: 増加)

N: 著変なし

*: $p < 0.05$ (対照群との間に有意差あり)

投与期間終了時検査でみられた総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質及びカリウムは、回復期間終了時検査では変化は認められなかった。

他に、無機リンの有意な高値が 300 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り、また、当社背景資料の変動の範囲内（添付資料 4）であったことから偶発性の変化と判断した。

7.9 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 9-1 に示す。

表 9-1. 器官重量の総括（投与期間終了時）

性	雄			雌		
	20	75	300	20	75	300
投与量 (mg/kg)						
動物数	6	6	5 ^{a)}	6	6	4 ^{a)}
剖検時体重	-1%	-3%	-10%	-2%	-2%	-4%
心臓						
絶対重量	N	N	N	N	N	+4%
相対重量	N	N	N	N	N	+9%*
肝臓						
絶対重量	N	+6%	+11%	N	+11%	+26%**
相対重量	N	+9%*	+23%**	N	+13%**	+32%**
脾臓						
絶対重量	N	+47%	+167%**	N	+25%	+91%**
相対重量	N	+53%*	+200%**	N	+29%*	+100%**
腎臓						
絶対重量	N	N	+2%	N	N	N
相対重量	N	N	+13%*	N	N	N

a): 死亡動物がみられたため、検査動物数は雄 5 例、雌 4 例であった。

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)

- 肝臓 : 絶対及び相対重量の高値が 75 mg/kg 以上の投与群の雌雄にみられ、相対重量及び 300 mg/kg 投与群の雌の絶対重量では統計学的な有意差もみられた。
- 脾臓 : 絶対及び相対重量の高値が 75 mg/kg 以上の投与群の雌雄にみられ、75 mg/kg 投与群の雌雄の絶対重量を除き、統計学的な有意差がみられた。
- 腎臓 : 相対重量の有意な高値が 300 mg/kg 投与群の雄にみられた。

他に、心臓の相対重量の有意な高値が 300 mg/kg 投与群の雌にみられたが、当社背景資料の変動の範囲内（添付資料 4）の軽微な変化であり、偶発性的な変化と判断した。

2) 回復期間終了時

成績の総括を表 9-2 に示した。

表 9-2. 器官重量の総括（回復期間終了時）

性	雄	雌
投与量 (mg/kg)	300	300
動物数	6	3 ^{a)}
剖検時体重	N	N
肝臓		
絶対重量	N	+11%
相対重量	N	+11%*
脾臓		
絶対重量	+18%	N
相対重量	+17%*	N
精巣上体		
絶対重量	-10%*	/
相対重量	-9%	/

a): 死亡動物がみられたため、検査動物数は3例であった。
 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（対照群との間に有意差あり）

肝臓 : 絶対及び相対重量の高値が 300 mg/kg 投与群の雌にみられ、相対重量では統計学的な有意差もみられた。
 脾臓 : 絶対及び相対重量の有意な高値が 300 mg/kg 投与群の雄にみられ、相対重量では統計学的な有意差もみられた。

他に、精巣上体の重量の低値が 300 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り、当社背景資料の変動の範囲内（添付資料 4）であることから、偶発性の変化と判断した。

7.10 剖検所見

成績を Table 9-1~9-3 及び Appendix 173~244 に示した。

1) 死亡動物

死亡した 300 mg/kg 投与群の雄 1 例、雌 5 例で以下の所見が認められた。

肝臓 : 大型化が雄と雌 1/5 例にみられた。
 脾臓 : 暗調化及び大型化が雌 1/5 例にみられた。

2) 生存動物

(1) 投与期間終了時

肝臓 : 暗調化が 300 mg/kg 投与群の雄 2/5 例と雌 1/4 例に、大型化が 300 mg/kg 投与群の雄 1/5 例にみられた。
 脾臓 : 暗調化が 75 mg/kg 投与群の雌雄各 5/6 例、300 mg/kg 投与群の雌雄全例に、大型化が 75 mg/kg 投与群の雄 4/6 例と雌 1/6 例、300 mg/kg 投与群の雌雄全例にみら

B-6608

れた。

他に、腎臓の嚢胞が 75 mg/kg 投与群の雄 1/6 例、20 mg/kg 投与群の雌 1/6 例に、下垂体の嚢胞が 20 mg/kg 投与群の雄 1/6 例に、腺胃の暗赤色巣が 20 mg/kg 投与群の雌 1/6 例にみられたが、いずれも用量に関連した変化ではなかった。

(2) 回復期間終了時

脾臓 : 大型化が 300 mg/kg 投与群の雄 1/6 例にみられた。

他に、腺胃の暗赤色巣及び後肢腫脹が 300 mg/kg 投与群の雄 1/6 例にみられたが、偶発性の変化と考えられた。

7.11 病理組織学検査

成績を Table 10-1~10-8 及び Appendix 173~244 に示した。

1) 死亡動物

成績の総括を表 10-1 に示す。

表 10-1. 病理組織学検査の総括 (死亡動物)

性	雄	雌
投与量 (mg/kg)	300	300
動物数	1	5
肝臓		
髄外造血亢進	0	2
軽微	0	2
クッパー細胞の色素沈着	0	1
軽微	0	1
小葉中心性肝細胞肥大	1	5
軽微	0	1
軽度	1	4
脾臓		
髄外造血亢進	1	5
軽微	0	2
軽度	1	2
中等度	0	1
うっ血	1	2
軽微	0	2
軽度	1	0
褐色色素の増加	1	5
軽微	1	3
軽度	0	2
被膜の細胞浸潤	1	2
軽微	1	2
大腿骨 (骨髄)		
造血亢進	1	5
軽微	1	5
胸骨 (骨髄)		
造血亢進	1	5
軽微	1	5
副腎		
皮質細胞の肥大	0	2
軽微	0	2
腎臓		
尿細管の拡張	1	2
軽微	1	2
卵巣		
萎縮	/	4
軽微	/	4
子宮		
内膜上皮の肥大	/	4
軽微	/	1
軽度	/	3

表中の数値は出現例数を示す。

/: 該当せず

被験物質投与によると考えられる変化が肝臓、脾臓、大腿骨 (骨髄)、胸骨 (骨髄)、副腎、腎臓、卵巣及び子宮で認められた。

肝臓 : 軽微な髄外造血亢進が雌 2/5 例に、軽微なクッパー細

		胞の色素沈着が雌 1/5 例にみられた。また、スリガラス状を呈する軽微又は軽度な小葉中心性肝細胞肥大が雌雄全例にみられた。
脾臓	:	軽微から中等度の髄外造血亢進及び軽微又は軽度な褐色色素の増加が雌雄全例に、軽微又は軽度なうっ血及び軽微な被膜の細胞浸潤が雄と雌 2/5 例にみられた。
大腿骨 (骨髄を含む)	:	軽微な造血亢進が雌雄全例にみられた。
胸骨 (骨髄を含む)	:	軽微な造血亢進が雌雄全例にみられた。
副腎	:	軽微な皮質細胞の肥大が雌 2/5 例にみられた。
腎臓	:	軽微な尿細管の拡張が雄と雌 2/5 例にみられた。
卵巢	:	軽微な萎縮が雌 4/5 例にみられた。
子宮	:	軽微又は軽度な内膜上皮の肥大が雌 4/5 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) 生存動物

(1) 投与期間終了時

成績の総括を表 10-2 に示す。

表 10-2 病理組織学検査の総括（投与期間終了時）

性	雄				雌			
	0	20	75	300	0	20	75	300
投与量 (mg/kg)								
動物数	6	6	6	5	6	6	6	4
肝臓								
髄外造血亢進	0	1	0	5	0	0	1	3
軽微	0	1	0	5	0	0	1	3
クッパー細胞の色素沈着	0	0	0	2	0	0	0	4
軽微	0	0	0	2	0	0	0	4
小葉中心性肝細胞肥大	0	1	6	5	0	0	3	4
軽微	0	1	4	0	0	0	3	3
軽度	0	0	2	5	0	0	0	1
脾臓								
髄外造血亢進	0	1	6	5	0	0	6	4
軽微	0	1	1	0	0	0	5	1
軽度	0	0	5	5	0	0	1	3
うっ血	0	0	1	5	0	0	0	4
軽微	0	0	1	1	0	0	0	3
軽度	0	0	0	4	0	0	0	1
褐色色素の増加	0	0	4	5	0	1	6	4
軽微	0	0	4	3	0	1	2	0
軽度	0	0	0	2	0	0	4	4
被膜の細胞浸潤	0	0	1	1	0	0	0	2
軽微	0	0	1	1	0	0	0	2
大腿骨（骨髄）								
造血亢進	0	0	3	4	0	0	3	4
軽微	0	0	3	4	0	0	3	4
胸骨（骨髄）								
造血亢進	0	0	2	4	0	0	2	4
軽微	0	0	2	4	0	0	2	4
腎臓								
尿細管の好酸性小体	1	0	0	4	0	0	0	0
軽微	1	0	0	4	0	0	0	0
免疫組織化学染色 ^{a)}								
（抗 $\alpha 2\mu$ -グロブリン抗体）								
陽性	1	-	-	2	-	-	-	-
PAS 染色 ^{a)}								
陰性	1	-	-	2	-	-	-	-
子宮								
内膜上皮の肥大	/	/	/	/	0	0	0	1
軽微	/	/	/	/	0	0	0	1

a)：腎臓の尿細管の好酸性小体が見られた動物のうち代表例（対照群 1 例及び 300 mg/kg 投与群 2 例）について実施

表中の数値は出現例数を示す。

-：検査せず

/：該当せず

被験物質投与によると考えられる変化が肝臓、脾臓、大腿骨（骨髄）、胸骨（骨髄）、腎臓及び子宮で認められた。

肝臓：軽微な髄外造血亢進が 20 mg/kg 投与群の雄 1/6 例、

- 75 mg/kg 投与群の雌 1/6 例及び 300 mg/kg 投与群の雄全例と雌 3/4 例に、軽微なクッパー細胞の色素沈着が 300 mg/kg 投与群の雄 2/5 例と雌全例にみられた。また、スリガラス状を呈する軽微又は軽度な小葉中心性肝細胞肥大が 20 mg/kg 投与群の雄 1/6 例、75 mg/kg 投与群の雄全例と雌 3/6 例及び 300 mg/kg 投与群の雌雄全例にみられた。
- 脾臓 : 軽微又は軽度な髄外造血亢進が 20 mg/kg 投与群の雄 1/6 例及び 75 mg/kg 以上の投与群の雌雄全例に、軽微又は軽度なうっ血が 75 mg/kg 投与群の雄 1/6 例及び 300 mg/kg 投与群の雌雄全例に、軽微又は軽度な褐色色素の増加が 20 mg/kg 投与群の雌 1/6 例、75 mg/kg 投与群の雄 4/6 例と雌全例及び 300 mg/kg 投与群の雌雄全例に、軽微な被膜の細胞浸潤が 75 mg/kg 投与群の雄 1/6 例及び 300 mg/kg 投与群の雄 1/5 例と雌 2/4 例にみられた。
- 大腿骨（骨髄を含む） : 軽微な造血亢進が 75 mg/kg 投与群の雌雄各 3/6 例と 300 mg/kg 投与群の雄 4/5 例と雌全例にみられた。
- 胸骨（骨髄を含む） : 軽微な造血亢進が 75 mg/kg 投与群の雌雄各 2/6 例と 300 mg/kg 投与群の雄 4/5 例と雌全例にみられた。
- 腎臓 : 軽微な尿細管の好酸性小体が対照群の雄 1/6 例と 300 mg/kg 投与群の雄 4/5 例にみられた。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（対照群 1 例及び 300 mg/kg 投与群 2 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。
- 子宮 : 軽微な内膜上皮の肥大が 300 mg/kg 投与群の雌 1/4 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 10-3 に示す。

表 10-3. 病理組織学検査の総括（回復期間終了時）

性	雄		雌	
	0	300	0	300
投与量 (mg/kg)				
動物数	6	6	6	3
肝臓				
クッパー細胞の色素沈着	0	6	0	2
軽微	0	6	0	2
脾臓				
褐色色素の増加	0	6	0	3
軽度	0	6	0	3
腎臓				
尿細管の好酸性小体	0	1	0	0
軽微	0	1	0	0

表中の数値は出現例数を示す。

被験物質投与によると考えられる変化が肝臓、脾臓及び腎臓でみられた。

- 肝臓 : 軽微なクッパー細胞の色素沈着が 300 mg/kg 投与群の雄全例と雌 2/3 例にみられた。
- 脾臓 : 軽度な褐色色素の増加が 300 mg/kg 投与群の雌雄全例にみられた。
- 腎臓 : 軽微な尿細管の好酸性小体が 300 mg/kg 投与群の雄 1/6 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-メチルアセトアニリドの 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 (0.5%MC 溶液：対照群)、20、75 及び 300 mg/kg/日とし、胃ゾンデを用いて 1 日 1 回強制経口投与した。また、対照群と 300 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、毒性変化の可逆性及び遅発毒性を検討した。

300 mg/kg 投与群の雄 1 例と雌 5 例が投与期間中に死亡した。これらの動物では、投与後に一過性の間代性痙攣及び流涎がみられ、雌 3 例では死亡日に赤色尿、腹臥・横臥又はチアノーゼも観察された。剖検では、肝臓又は脾臓の大型化あるいは脾臓の暗調化が雌雄にみられた。病理組織学検査では、肝臓の小葉中心性肝細胞肥大、脾臓の髓外造血亢進、うっ血、褐色色素の増加と被膜への細胞浸潤及び骨髓 (大腿骨及び胸骨) の造血亢進が雌雄に、肝臓の髓外造血亢進及びクッパー細胞の色素沈着が雌にみられた。これらの変化は同群の生存動物でも同様に認められた。死亡例のみ又は死亡例が主体の変化として、副腎の皮質細胞の肥大、卵巣の萎縮、子宮の内膜上皮の肥大が雌にみられた。副腎の変化はストレス性の変化と考えられたが、卵巣及び子宮の変化については、その発生機序は不明であった。また、腎臓の尿細管の拡張が雌雄にみられたが、後述の尿量の増加を反映する変化と考えられた。他に、死因を示唆する器質的变化はみられず、何れの動物も死因は不明であった。

生存動物では、機能検査及び握力に被験物質投与の影響は認められなかったが、以下の項目に被験物質投与の影響がみられた。

詳細な観察を含む一般状態では、投与後に一過性の間代性痙攣、流涎又はチアノーゼが 300 mg/kg 投与群の雌雄にみられた。血液学検査では、75 mg/kg 以上の投与群の雌雄で貧血が示唆された。また、血小板数の高値が 75 mg/kg 以上の投与群の雌にみられた。病理組織学検査では、肝臓の髓外造血亢進、クッパー細胞の色素沈着、脾臓及び骨髓の造血亢進あるいは脾臓の褐色色素の増加が 75 mg/kg 以上の投与群の雌雄にみられた。脾臓重量の高値、肉眼的にみられた肝臓及び脾臓の所見は上記の組織学的変化を反映した変化と考えられた。アニリンやその誘導体であるアセトアニリドは、メトヘモグロビン血症とそれに続く溶血性貧血を引き起こすことが知られている⁹⁾。本被験物質はこれらの化学物質の類縁物質であり、血液学検査においてメトヘモグロビン比率の有意な高値がみられ、一般状態でもチアノーゼを呈した動物がみられたことから、上記と同様の事象が惹起されたものと考えられた。また、アニリン投与により、器質的变化として脾臓及び肝臓の髓外造血亢進及びヘモジデリン沈着、骨髓の造血亢進などがみられることが報告されており⁹⁾、本試験においても病理組織学検査で同様の所見がみられ、これらの変化はメトヘモグロビン血症及び溶血性貧血に付随する反応性変化と考えられた。なお、20 mg/kg 投与群においても網赤血球率の高値、肝

臓及び脾臓の髄外造血亢進、脾臓の褐色色素の増加が認められ、貧血が惹起された可能性があると考えられた。

オープンフィールド内観察では、立ち上がり回数の低値が 300 mg/kg 投与群の雌にみられ、自発運動量も低値であった。本被験物質のラットを用いた 14 日間反復経口投与毒性試験³⁾において、300 mg/kg 投与群で自発運動の減少がみられている。本試験では一般状態で明らかな自発運動の減少はみられなかったが、上記の変化は予備試験でみられた自発運動の減少を反映する変化と推察された。

体重では、300 mg/kg 投与群の雄で投与 4 日以降対照群を下回って推移し、体重増量も低値であった。摂餌量では、同群の雌雄ともに投与 7 日に低値がみられたが、一過性の変化であった。

尿検査では摂水量及び尿量の高値並びに浸透圧の低値が、血液化学検査ではカリウムの高値が 300 mg/kg 投与群の雌雄に、器官重量では腎臓の相対重量の高値が同群の雄にみられた。病理組織学検査では、死亡動物で腎臓の尿細管の拡張がみられたが、生存動物では上記の変化に関連すると考えられる変化はみられなかった。なお、尿中グルコース強陽性例が 300 mg/kg 投与群の雌にみられたが、腎臓の病理組織学検査で関連する変化はみられず、1 例のみの変化であることから偶発性の変化と判断した。

血液学検査では、白血球数の高値が 300 mg/kg 投与群の雄に、好中球比率及び実数の高値が 75 mg/kg 投与群の雄に、実数の高値が 300 mg/kg 投与群の雄に、好酸球比率及び実数の低値が 300 mg/kg 投与群の雌にみられた。本被験物質のラットを用いた 14 日間反復経口投与毒性試験³⁾においても 300 mg/kg 投与群で白血球数の高値がみられており、被験物質投与に起因した変化と考えられた。

血液化学検査では、総コレステロール、トリグリセライド及びリン脂質の高値が 300 mg/kg 投与群の雌にみられたが、ほぼ、当社背景資料の範囲内（添付資料 4）の変化であり、病理組織学検査で肝細胞障害性の変化は認められなかったことから、軽微な毒性であった。

病理学検査では、上記の他に、肝臓、脾臓及び腎臓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。肝臓では、小葉中心性肝細胞肥大が 20 mg/kg 投与群の雌を除く各被験物質投与群の雌雄にみられた。本変化は、細胞質のスリガラス状変化を特徴としており、薬物代謝酵素誘導による変化の可能性が高いと考えられた。肉眼的にみられた肝臓の大型化及び肝臓重量の高値は上記の組織学的変化を反映した変化と考えられた。脾臓ではうっ血及び被膜の細胞浸潤が 75 mg/kg 投与群の雄及び 300 mg/kg 投与群の雌雄にみられた。アニリンをラットに 1~3 ヶ月投与した際の脾臓の変化として、被膜の過形成及び繊維化等の発現が報告されており、そのメカニズムとしてアニリンによる酸化ストレスの関与が示唆されている¹⁰⁾。本試験でみられた被膜の細胞浸潤も上記と同様のメカニズムによって惹起された可能性は考慮されるものの、うっ血等による急激な脾臓組織の大型化に伴う物理的傷害の可能性も否定できなかった。腎臓では、尿細管の好酸性小体の出現例数の増加が 300 mg/kg 投与群の雄にみられた。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

B-6608

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。したがって、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ことから、その毒性学的意義は低いものと判断した¹¹⁾。

回復期間では、尿検査において、摂水量及び尿量の高値傾向並びに浸透圧の低値が雄で投与 4 週検査時と同程度にみられ、回復性は明らかではなかった。また、病理組織学検査では、肝臓のクッパー細胞の色素沈着及び脾臓の褐色色素の増加が雌雄に認められたが、貧血の程度は減弱しており、回復過程における反応性変化と考えられたため、回復性があると判断した。その他の変化は、いずれも程度が減弱又は消失し、回復性が認められた。

以上の結果、*N*-メチルアセトアニリドの本試験条件下における無影響量は、肝臓及び脾臓の病理組織学検査の結果から、雌雄ともに 20 mg/kg/日を下回るものと判断した。

9. 文献

- 1) HPLC を用いたN-メチルアセトアニリドの被験液中濃度測定法バリデーション及び安定性・均一性試験（媒体：0.5 w/v%メチルセルロース溶液）（株式会社ボゾリサーチセンター、試験番号：A-2191、2009年）
- 2) N-メチルアセトアニリドのラットを用いた14日間反復経口投与毒性試験（反復投与予備試験）（株式会社ボゾリサーチセンター、試験番号：C-B466、2009年）
- 3) N-メチルアセトアニリドのラットを用いた14日間反復経口投与毒性試験（投与量設定試験）（株式会社ボゾリサーチセンター、試験番号：C-B473、2009年）
- 4) Snedecor GW, Cochran WG. Statistical methods.8th ed. Ames: Iowa State University Press: 1989.
- 5) Dunnett CW. A multiple comparison procedure for comparing several treatments with a control. J Am Stat Assoc 1955; 50:1096-121.
- 6) Dunnett CW. New tables for multiple comparisons with a control. Biometrics 1964; 20:482-91.
- 7) 佐久間昭（1977）：薬効評価－計画と解析－I 東京大学出版会, 東京.
- 8) 佐久間昭（1981）：薬効評価－計画と解析－II 東京大学出版会, 東京.
- 9) CERI 有害性評価書、アニリン（2006）、化学物質評価研究機構（CERI）
- 10) M. Firoze Khan et al. Oxidative Modification of Lipids and Proteins in Aniline-Induced Splenic Toxicity. Toxicol.Sci. 1999; 48: 134-140.
- 11) M. Hamamura et al. Semi-Quantitative Immunohistochemical Analysis of Male-rat Specific α_{2u} -globulin accumulation for chemical toxicity evaluation. J. Toxicol. Sci. 2006; 31: 35-47.

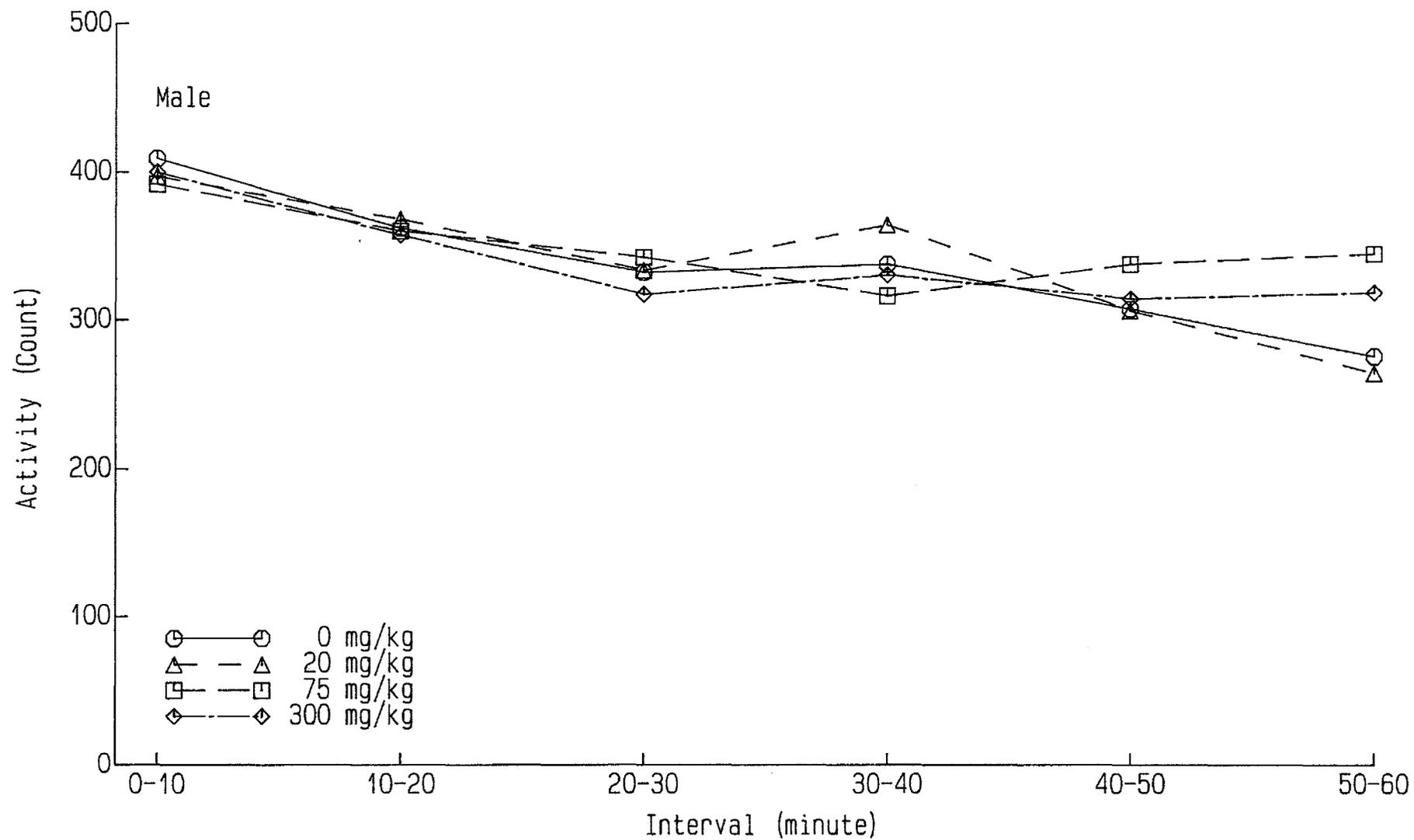


Fig.1 A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide in rats with a recovery period of 2 weeks

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

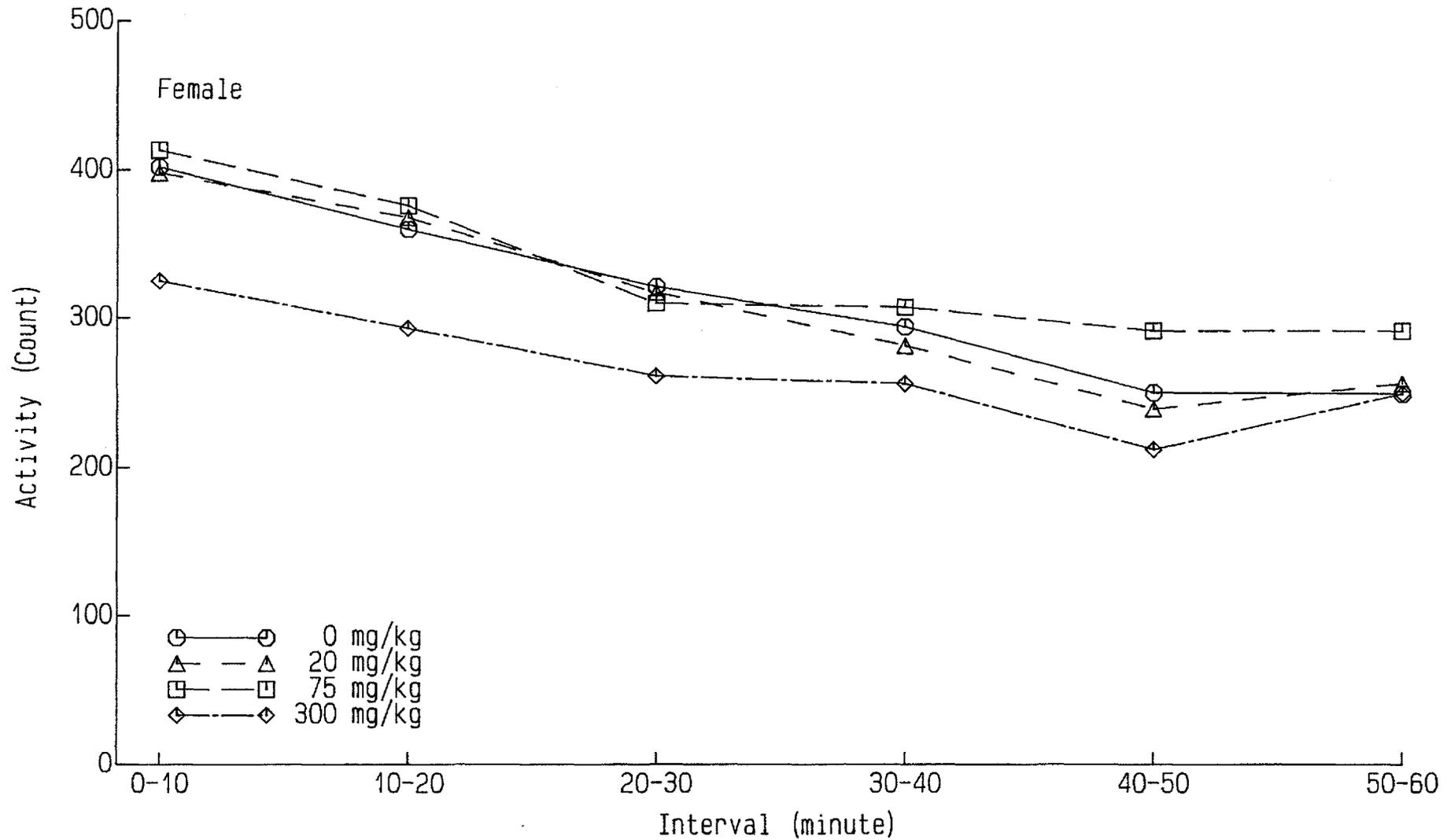


Fig.2 A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide in rats with a recovery period of 2 weeks

— Motor activity (Week 4 of administration period) —

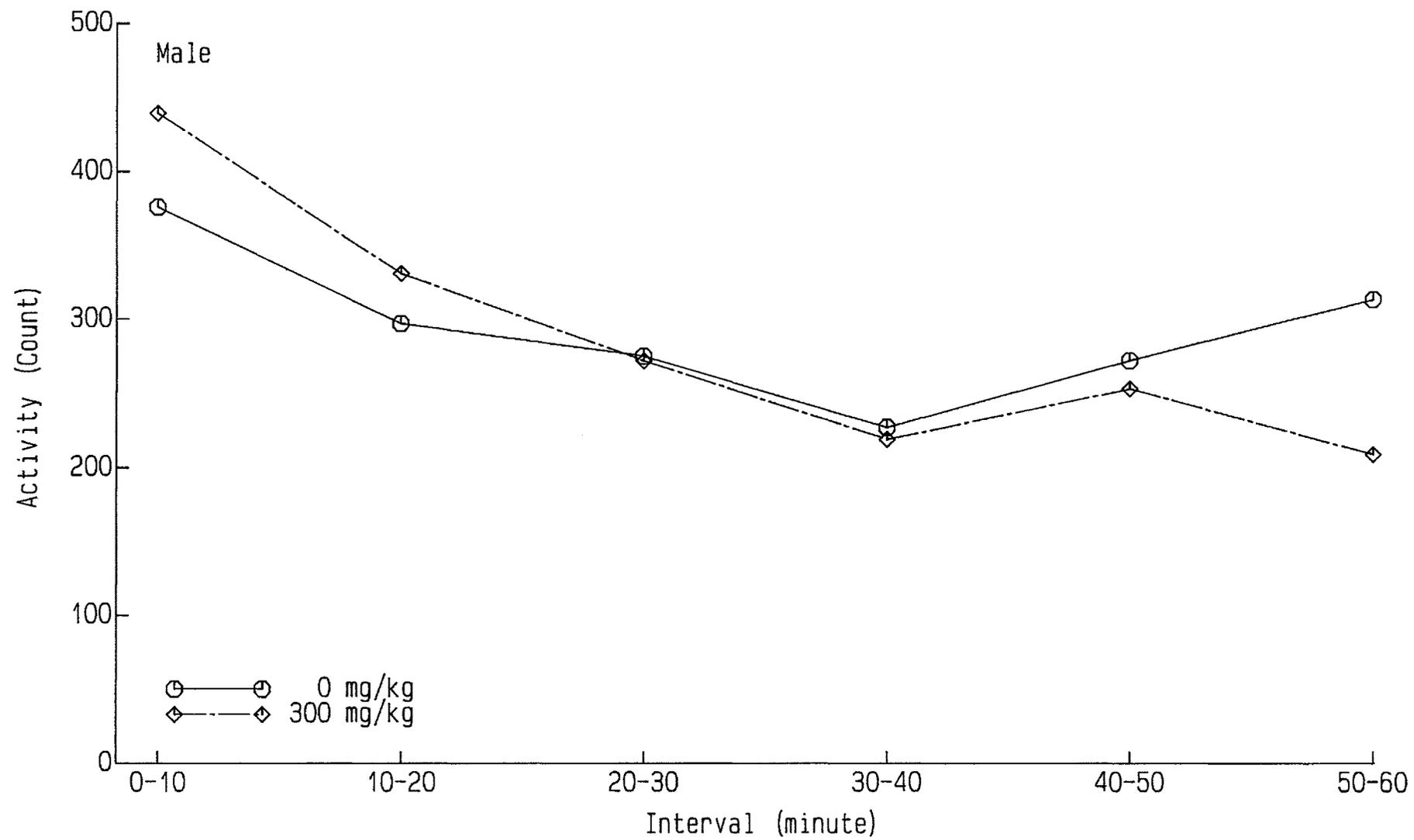


Fig.3 A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide in rats with a recovery period of 2 weeks

— Motor activity (Week 2 of recovery period) —

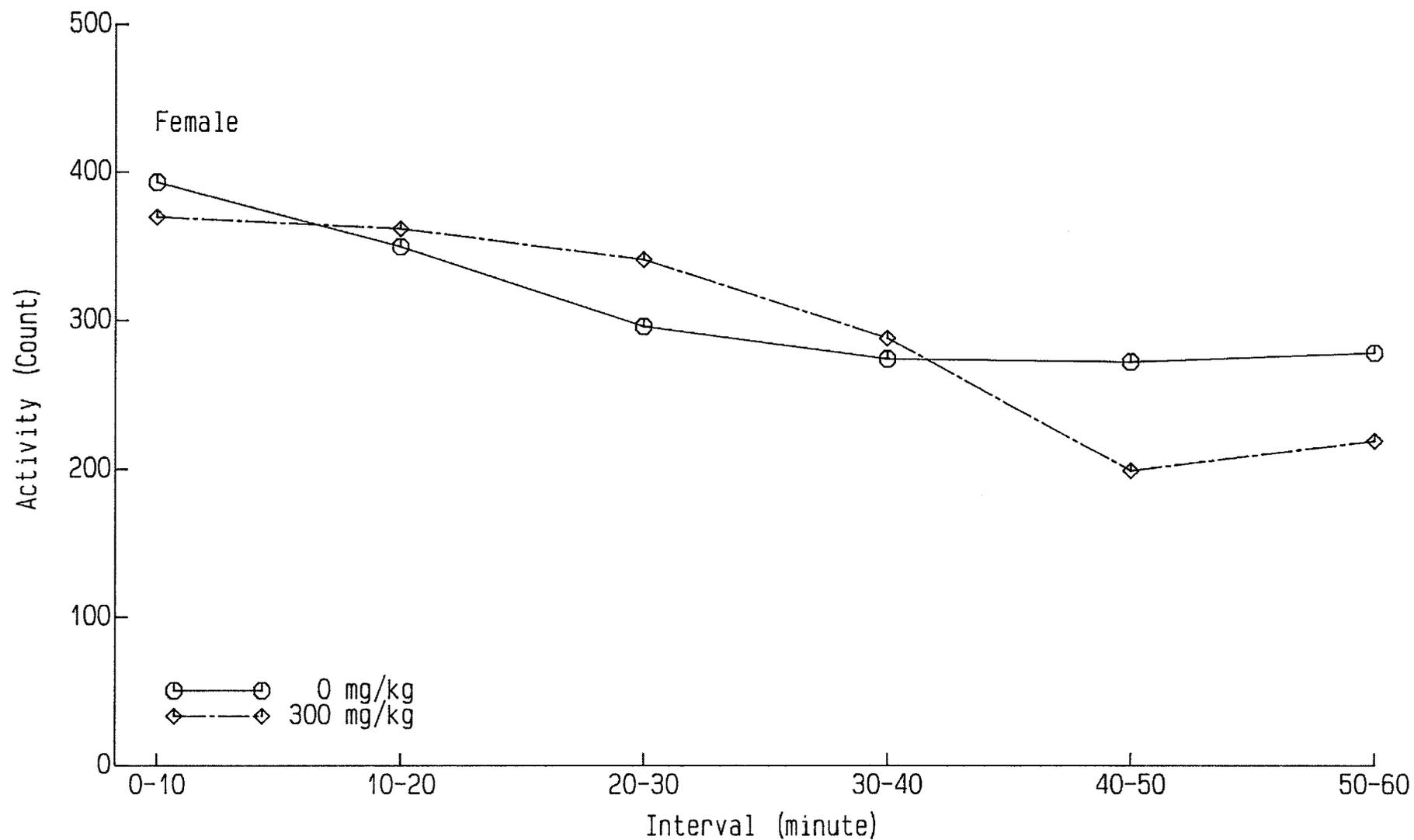


Fig.4 A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide in rats with a recovery period of 2 weeks

— Motor activity (Week 2 of recovery period) —

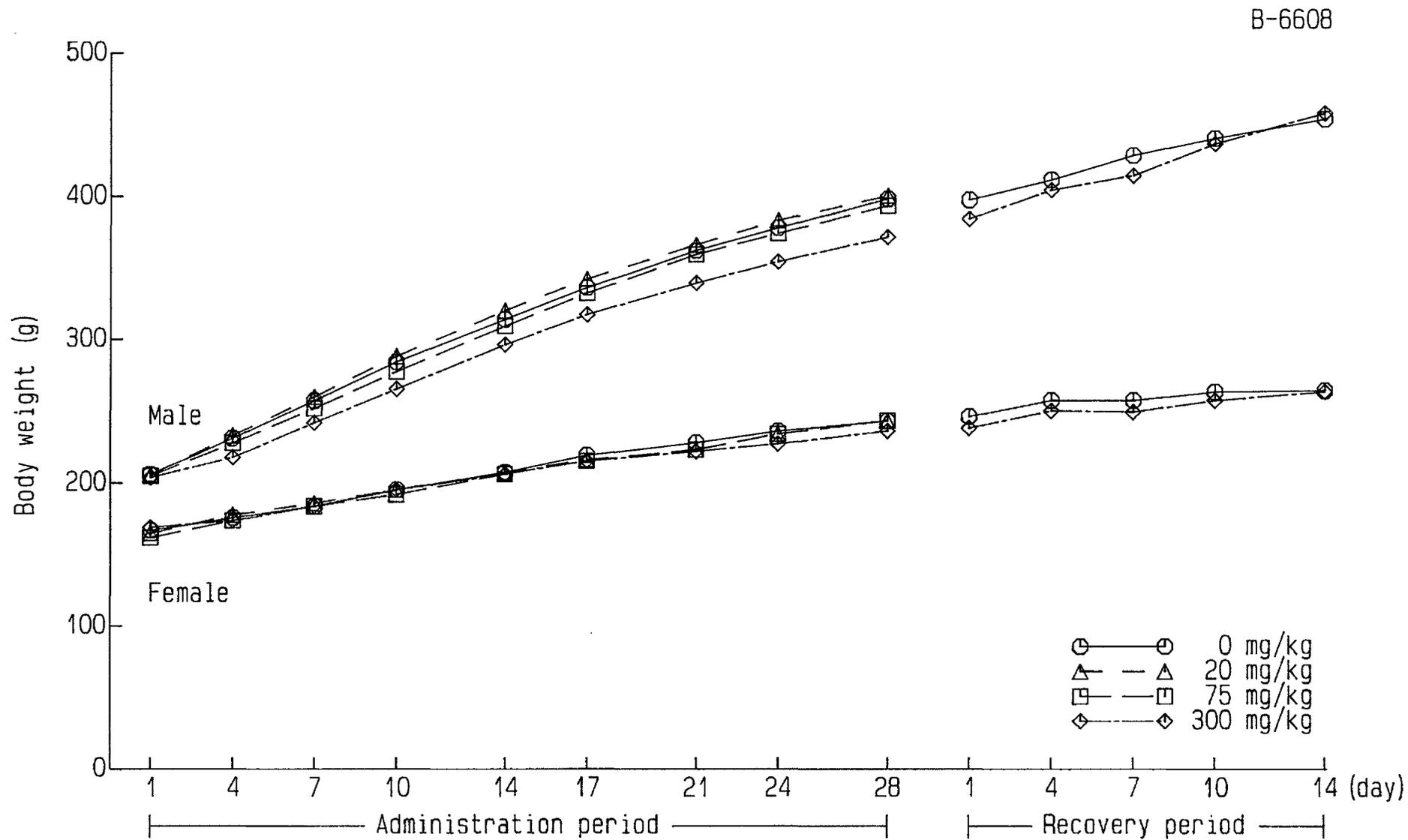


Fig.5 A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide in rats with a recovery period of 2 weeks

— Body weight —

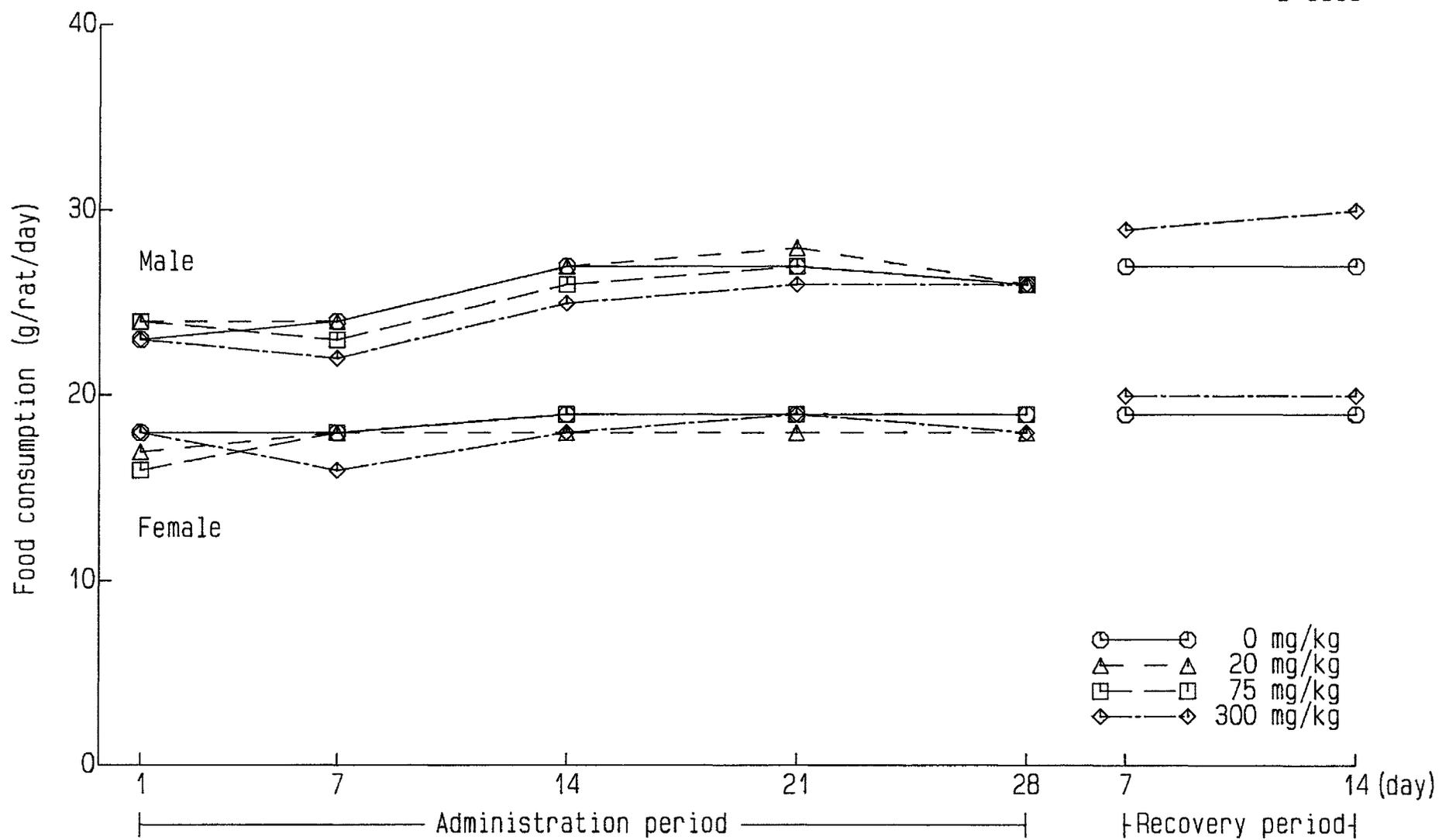


Fig.6 A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide in rats with a recovery period of 2 weeks

— Food consumption —

Table 1-2

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

Clinical signs (Administration period, survivors)

Sex	Dose mg/kg	Findings	Day of administration														
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
Male	0	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	20	No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
	75	No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
	300	No. of animals	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	
		No abnormality	10	11	11	11	11	10	11	11	11	9	10	10	10	8	
		Clonic convulsion	1	0	0	0	0	1	0	0	0	2	1	1	1	3	
		Salivation	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1	
	Female	0	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
			No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
20		No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
75		No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
300		No. of animals	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	
		No abnormality	7	7	7	7	7	5	7	7	6	6	6	6	6	6	
		Clonic convulsion	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	
		Salivation	0	0	0	0	0	2	0	0	1	1	0	0	1	1	

Table 1-3 A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide in rats with a recovery period of 2 weeks
Clinical signs (Administration period, survivors)

Sex	Dose mg/kg	Findings	Day of administration													
			15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
Male	0	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	20	No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	75	No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	300	No. of animals	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
		No abnormality	9	9	9	9	8	7	9	9	8	9	8	6	7	8
		Clonic convulsion	2	2	2	2	3	4	2	2	3	2	3	5	4	3
		Salivation	1	1	1	2	1	2	0	1	2	1	1	4	1	3
	Female	0	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
			No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
20		No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
75		No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
300		No. of animals	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	
		No abnormality	5	6	6	6	6	4	6	5	5	5	5	5	4	5
		Clonic convulsion	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	3	2
		Salivation	2	1	1	1	1	3	1	0	1	1	2	2	2	1
Cyanosis		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	

Table 1-4 A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide in rats with a recovery period of 2 weeks

Clinical signs (Recovery period)

Sex	Dose mg/kg	Findings	Day of recovery														
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15a)
Male	0	No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	300	No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	5	5
		Swelling, hind limb	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
Female	0	No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	300	No. of animals	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
		No abnormality	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3

a) : Day of necropsy

Table 2-1

A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide 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	20	75	300	0	20	75
	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	11	12	6	6	11
	Minor	0	0	0	1a)	0	0	0	1a)
Abnormal behavior	None	12	6	6	12	12	6	6	12

a) : Clonic convulsion, sporadic

Table 2-2

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

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

Sex	Male				Female				
	Dose (mg/kg)	0	20	75	300	0	20	75	300
Parameter	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	11
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	10
Flattened		0	0	0	0	0	0	0	1
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	10
Minor		0	0	0	0	0	0	0	1a)
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	11

a) : Clonic convulsion, sporadic

Table 2-3

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

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

Parameter	Sex Dose (mg/kg) No. of animals	Male				Female			
		0	20	75	300	0	20	75	300
		12	6	6	12	12	6	6	11
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Convulsion									
None		12	6	6	7	12	6	6	7
Minor		0	0	0	5a)	0	0	0	4a)
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	11

a) : Clonic convulsion, sporadic

Table 2-4

A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide 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	20	75	300	0	20	75
	No. of animals	12	6	6	11	12	6	6	7
Posture									
Normal		12	6	6	11	12	6	6	7
Convulsion									
None		12	6	6	7	12	6	6	4
Minor		0	0	0	4a)	0	0	0	3a)
Abnormal behavior									
None		12	6	6	11	12	6	6	7

a) : Clonic convulsion, sporadic

Table 2-5

A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide 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	300	0	300
	No. of animals	6	6	6	3
Posture					
Normal		6	6	6	3
Convulsion					
None		6	6	6	3
Abnormal behavior					
None		6	6	6	3

Table 2-6

A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide 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)		Dose (mg/kg)	
	No. of animals	0	300	0	300
		6	6	6	3
Posture					
Normal		6	6	6	3
Convulsion					
None		6	6	6	3
Abnormal behavior					
None		6	6	6	3

Table 2-7

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

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

Parameter	Sex Dose (mg/kg) No. of animals	Male				Female			
		0	20	75	300	0	20	75	300
		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	10	12	6	6	9
Slight		0	0	0	2	0	0	0	3
Abnormal respiration									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Vocalization									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Reactivity to handling									
Easy		12	6	6	12	12	6	6	12

Table 2-8

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

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

Parameter	Sex Dose (mg/kg) No. of animals	Male				Female			
		0	20	75	300	0	20	75	300
		12	6	6	12a)	12	6	6	11a)
Ease of removal from cage									
Easy		12	6	6	12	12	6	6	11
Fur condition									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Skin									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Secretions-Eye, Nose									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	11
Exophthalmos									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	11
Palpebral closure									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Mucosal membranes									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Lacrimation									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Piloerection									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	11
Pupil size									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Salivation									
None		12	6	6	10	12	6	6	9
Slight		0	0	0	2	0	0	0	1
Moderate		0	0	0	0	0	0	0	1
Abnormal respiration									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	11
Vocalization									
None		12	6	6	12	11	6	6	11
Soft		0	0	0	0	1	0	0	0
Reactivity to handling									
Easy		12	6	6	11	11	6	6	10
Slightly awkward		0	0	0	1	1	0	0	1

a) : Minor clonic convulsion was sporadically observed in 2 males and 2 females at 300 mg/kg.

Table 2-9

A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide 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	20	75	300	0	20	75	300
	No. of animals	12	6	6	12a)	12	6	6	11a)
Ease of removal from cage									
Easy		12	6	6	12	12	6	6	11
Fur condition									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Skin									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Secretions-Eye, Nose									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	11
Exophthalmos									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	11
Palpebral closure									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Mucosal membranes									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Lacrimation									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Piloerection									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	11
Pupil size									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Salivation									
None		12	6	6	10	12	6	6	6
Slight		0	0	0	2	0	0	0	5
Abnormal respiration									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	11
Vocalization									
None		12	6	6	12	12	6	6	11
Reactivity to handling									
Easy		12	6	6	12	12	6	6	11

a) : Minor clonic convulsion was sporadically observed in 2 males and 2 females at 300 mg/kg.

Table 2-10

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

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

Parameter	Sex Dose (mg/kg) No. of animals	Male				Female			
		0	20	75	300	0	20	75	300
		12	6	6	11a)	12	6	6	7a)
Ease of removal from cage									
Easy		12	6	6	11	12	6	6	7
Fur condition									
Normal		12	6	6	10	12	6	6	7
Slight, unkempt fur or soiled fur		0	0	0	1	0	0	0	0
Skin									
Normal		12	6	6	11	12	6	6	7
Secretions-Eye, Nose									
Absent		12	6	6	11	12	6	6	7
Exophthalmos									
Absent		12	6	6	11	12	6	6	7
Palpebral closure									
Normal		12	6	6	11	12	6	6	7
Mucosal membranes									
Normal		12	6	6	11	12	6	6	7
Lacrimation									
Normal		12	6	6	11	12	6	6	7
Piloerection									
Absent		12	6	6	11	12	6	6	7
Pupil size									
Normal		12	6	6	11	12	6	6	7
Salivation									
None		12	6	6	7	12	6	6	5
Slight		0	0	0	4	0	0	0	2
Abnormal respiration									
Absent		12	6	6	11	12	6	6	7
Vocalization									
None		12	6	6	11	12	6	6	6
Soft		0	0	0	0	0	0	0	1
Reactivity to handling									
Easy		12	6	6	11	12	6	6	7

a) : Minor clonic convulsion was sporadically observed in 5 males and 3 females at 300 mg/kg.

Table 2-11

A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide 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	300	0	300
	No. of animals	6	6	6	3
Ease of removal from cage					
Easy		6	6	6	3
Fur condition					
Normal		6	6	6	3
Skin					
Normal		6	6	6	3
Secretions-Eye, Nose					
Absent		6	6	6	3
Exophthalmos					
Absent		6	6	6	3
Palpebral closure					
Normal		6	6	6	3
Mucosal membranes					
Normal		6	6	6	3
Lacrimation					
Normal		6	6	6	3
Piloerection					
Absent		6	6	6	3
Pupil size					
Normal		6	6	6	3
Salivation					
None		6	6	6	3
Abnormal respiration					
Absent		6	6	6	3
Vocalization					
None		6	6	6	3
Reactivity to handling					
Easy		6	6	6	3

Table 2-12

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

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

Parameter	Sex	Male		Female	
	Dose (mg/kg)	0	300	0	300
	No. of animals	6	6a)	6	3
Ease of removal from cage					
Easy		6	6	6	3
Fur condition					
Normal		6	6	6	3
Skin					
Normal		6	6	6	3
Secretions-Eye, Nose					
Absent		6	6	6	3
Exophthalmos					
Absent		6	6	6	3
Palpebral closure					
Normal		6	6	6	3
Mucosal membranes					
Normal		6	6	6	3
Lacrimation					
Normal		6	6	6	3
Piloerection					
Absent		6	6	6	3
Pupil size					
Normal		6	6	6	3
Salivation					
None		6	6	6	3
Abnormal respiration					
Absent		6	6	6	3
Vocalization					
None		6	6	6	3
Reactivity to handling					
Easy		6	6	6	3

a) : Swelling of hind limb was observed in 1 male at 300 mg/kg.

Table 2-13

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

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

Sex	Male				Female				
	Dose (mg/kg)	0	20	75	300	0	20	75	300
Parameter	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	11
	Minor	0	0	0	0	0	0	0	1a)
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.)		5 \pm 3	6 \pm 2	4 \pm 2	3 \pm 2	8 \pm 2	7 \pm 2	6 \pm 3	4 \pm 2**D
Defecation count (Mean+S.D.)		0 \pm 0							
Urination	None	11	6	2	5	12	6	5	8
	Small amount	1	0	3	6	0	0	1	4
	Moderate amount	0	0	1	1	0	0	0	0

a) : Clonic convulsion, sporadic

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

D : Dunnett's test

Table 2-14

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

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

Sex	Male				Female				
	Dose (mg/kg)	0	20	75	300	0	20	75	300
Parameter	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	11
Arousal									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	9
Minor		0	0	0	0	0	0	0	1a)
Moderate		0	0	0	0	0	0	0	1a)
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	11
Stereotypy									
None		12	6	6	12	12	6	6	11
Gait									
No/minimal location		0	0	0	1	0	0	0	1
Normal		12	6	6	11	12	6	6	10
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Grooming									
None		12	6	6	12	12	6	6	11
Rearing count (Mean+S.D.)		3 _± 1	4 _± 2	6 _± 3	3 _± 2	8 _± 3	7 _± 2	7 _± 2	4 _± 2**D
Defecation count (Mean+S.D.)		0 _± 1	0 _± 0	0 _± 1	0 _± 0				
Urination									
None		11	6	4	7	12	6	6	10
Small amount		1	0	2	5	0	0	0	1

a) : Clonic convulsion, sporadic

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

D : Dunnett's test

Table 2-15

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

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

Parameter	Sex Dose (mg/kg) No. of animals	Male				Female			
		0	20	75	300	0	20	75	300
Arousal									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Convulsion									
None		12	6	6	11	12	6	6	11
Minor		0	0	0	1a)	0	0	0	0
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	11
Stereotypy									
None		12	6	6	12	12	6	6	11
Gait									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	11
Grooming									
None		12	6	6	12	12	6	6	11
Rearing count (Mean±S.D.)		5± 2	5± 2	5± 1	3± 2	8± 2	9± 3	7± 2	5± 2*D
Defecation count (Mean±S.D.)		0± 1	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0
Urination									
None		12	5	3	7	12	6	6	10
Small amount		0	1	3	5	0	0	0	1

a) : Clonic convulsion, sporadic

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

D : Dunnett's test

Table 2-16

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

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

Parameter	Sex Dose (mg/kg) No. of animals	Male				Female			
		0	20	75	300	0	20	75	300
		12	6	6	11	12	6	6	7
Arousal									
Normal		12	6	6	11	12	6	6	7
Convulsion									
None		12	6	6	9	12	6	6	6
Minor		0	0	0	2a)	0	0	0	1a)
Abnormal behavior									
None		12	6	6	11	12	6	6	7
Stereotypy									
None		12	6	6	11	12	6	6	7
Gait									
Normal		12	6	6	11	12	6	6	7
Posture									
Normal		12	6	6	11	12	6	6	7
Grooming									
None		12	6	6	11	12	6	6	7
Rearing count (Mean±S.D.)		6± 3	5± 2	6± 1	4± 2	10± 2	8± 2	8± 1	7± 4**D
Defecation count (Mean±S.D.)		0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0
Urination									
None		11	4	5	7	12	6	5	7
Small amount		1	2	1	4	0	0	1	0

a) : Clonic convulsion, sporadic

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

D : Dunnett's test

Table 2-17

A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide 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	300	0	300
	No. of animals	6	6	6	3
Arousal					
Normal		6	6	6	3
Convulsion					
None		6	6	6	3
Abnormal behavior					
None		6	6	6	3
Stereotypy					
None		6	6	6	3
Gait					
Normal		6	6	6	3
Posture					
Normal		6	6	6	3
Grooming					
None		6	6	6	3
Rearing count (Mean±S.D.)		6± 2	4± 2	11± 4	11± 2
Defecation count (Mean±S.D.)		0± 0	0± 0	0± 0	0± 0
Urination					
None		5	6	6	3
Small amount		1	0	0	0

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-18

A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide 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	300	0	300
	No. of animals	6	6	6	3
Arousal					
Normal		6	6	6	3
Convulsion					
None		6	6	6	3
Abnormal behavior					
None		6	6	6	3
Stereotypy					
None		6	6	6	3
Gait					
Normal		6	6	6	3
Posture					
Normal		6	6	6	3
Grooming					
None		6	6	6	3
Rearing count (Mean±S.D.)		5± 2	4± 1	9± 2	8± 2
Defecation count (Mean±S.D.)		0± 0	0± 1	0± 0	0± 0
Urination					
None		5	5	5	3
Small amount		1	1	1	0

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-19

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

Manipulative test (Week 4 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	20	75	300	0	20	75	300
No. of animals		12	6	6	11	12	6	6	7
Auditory response									
Normal		12	6	6	11	12	6	6	7
Approach response									
Normal		12	6	6	11	12	6	6	7
Touch response									
Normal		12	6	6	11	12	6	6	7
Tail pinch response									
Normal		12	6	6	11	12	6	6	7
Pupillary reflex									
Pass, both		12	6	6	11	12	6	6	7
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.)		72±10	70±10	74±22	80±24	51±15	65±19	50±18	56±19

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-20

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

Manipulative test (Week 2 of recovery period)

Parameter	Sex	Male		Female	
		Dose (mg/kg)			
		0	300	0	300
	No. of animals	6	6	6	3
Auditory response					
Normal		6	6	6	3
Approach response					
Normal		6	6	6	3
Touch response					
Normal		6	6	6	3
Tail pinch response					
Normal		6	6	6	3
Pupillary reflex					
Pass, both		6	6	6	3
Aerial righting reflex					
(Total score: Mean+S.D.)		0± 0	0± 0	0± 0	0± 0
Landing foot splay (mm: Mean+S.D.)		82±15	105±25	71±17	69±13

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-21 A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide 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	1166	653
		S.D.	110	132
	20	No.	6	6
		Mean	1146	697
		S.D.	119	86
	75	No.	6	6
		Mean	1094	788*
		S.D.	151	98D
	300	No.	11	11
		Mean	1135	713
		S.D.	111	84
Female	0	No.	12	12
		Mean	1092	660
		S.D.	164	106
	20	No.	6	6
		Mean	1055	649
		S.D.	118	79
	75	No.	6	6
		Mean	1028	608
		S.D.	149	118
	300	No.	7	7
		Mean	1015	631
		S.D.	97	76

* : p<0.05 (Significant difference from control group)
D : Dunnett's test

Table 2-22

A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide 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	1493	605
		S.D.	188	84
	300	No.	6	6
		Mean	1496	696
		S.D.	268	177
Female	0	No.	6	6
		Mean	1112	566
		S.D.	172	109
	300	No.	3	3
		Mean	1202	620
		S.D.	31	54

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-23

A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide 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	409	362	332	337	307	275	2022
		S.D.	58	51	54	58	104	136	372
	20	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	397	368	333	364	306	264	2031
		S.D.	28	25	55	41	140	136	358
	75	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	392	360	342	316	337	344	2090
		S.D.	48	33	80	56	73	60	297
	300	No.	11	11	11	11	11	11	11
		Mean	400	357	317	330	314	318	2036
		S.D.	40	35	61	47	61	47	237
Female	0	No.	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	402	360	321	294	250	249	1876
		S.D.	37	38	69	83	105	100	247
	20	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	398	368	317	281	239	256	1858
		S.D.	38	62	72	135	97	102	445
	75	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	413	376	310	307	291	291	1988
		S.D.	46	57	90	60	80	66	313
	300	No.	7	7	7	7	7	7	7
		Mean	325*	293	261	256	212	249	1596
		S.D.	83D	84	100	90	81	109	494

Unit : Count

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

D : Dunnett's test

Table 2-24 A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide in rats with a recovery period of 2 weeks

Motor activity (Week 2 of recovery 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.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	376	297	275	227	272	313	1760
		S.D.	55	96	89	89	108	66	374
	300	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	439*	331	272	219	253	209	1722
		S.D.	37T	51	73	129	125	145	425
Female	0	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	393	350	296	274	272	278	1863
		S.D.	48	65	50	88	154	42	258
	300	No.	3	3	3	3	3	3	3
		Mean	370	362	341	288	199	219	1779
		S.D.	33	52	61	26	64	56	181

Unit : Count

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

T : Student's t-test

Table 3-1 A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide 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	206	231	257	284	314	336	362	378	398	192
		S.D.	6	8	9	12	13	15	18	17	19	17
	20	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	206	233	260	288	320	342	366	383	400	194
		S.D.	9	13	15	15	14	17	17	18	20	12
	75	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	205	228	252	277	309	332	359	374	393	188
		S.D.	10	11	15	15	17	21	22	19	22	24
	300	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	11	11
		Mean	204	218*	242*	265*	296*	317	339	354*	371*	167*
		S.D.	8	12D	15D	18D	23D	25	30	31D	33D	28D
Female	0	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	167	176	184	195	207	219	228	236	243	76
		S.D.	10	12	15	19	23	23	25	25	27	18
	20	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	165	178	186	195	207	216	223	234	243	78
		S.D.	9	12	10	9	9	13	12	16	15	10
	75	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	162	174	184	192	206	215	223	234	243	81
		S.D.	7	5	7	6	9	12	15	13	15	12
	300	No.	12	12	12	12	11	11	11	9	7	7
		Mean	169	174	184	195	206	215	222	227	236	63
		S.D.	8	9	8	11	13	11	12	9	14	11

Unit : g

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

D : Dunnett's test

Table 3-2 A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide 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	397	411	428	440	453	56
		S.D.	11	10	10	12	17	9
	300	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	384	404	414	436	457	74
		S.D.	32	39	46	53	61	32
Female	0	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	246	257	257	263	264	18
		S.D.	39	43	41	46	45	9
	300	No.	3	3	3	3	3	3
		Mean	238	250	249	257	263	25
		S.D.	16	18	20	25	27	11

Unit : g

No significant difference between treated group and control group.

Table 4-1 A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide 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	23	24	27	27	26
		S.D.	1	1	2	2	2
	20	No.	6	6	6	6	6
		Mean	24	24	27	28	26
		S.D.	2	2	1	1	1
	75	No.	6	6	6	6	6
		Mean	24	23	26	27	26
		S.D.	1	1	1	2	2
	300	No.	12	12	12	12	11
		Mean	23	22**	25	26	26
		S.D.	2	2D	3	3	3
Female	0	No.	12	12	12	12	12
		Mean	18	18	19	19	19
		S.D.	2	2	2	2	2
	20	No.	6	6	6	6	6
		Mean	17	18	18	18	18
		S.D.	2	1	2	2	2
	75	No.	6	6	6	6	6
		Mean	16	18	19	19	19
		S.D.	2	1	1	1	1
	300	No.	12	12	11	11	7
		Mean	18	16*	18	19	18
		S.D.	2	1D	1	1	1

Unit : g/rat/day

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

D : Dunnett's test

Table 4-2 A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide 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	27	27
		S.D.	1	1
	300	No.	6	6
		Mean	29	30
		S.D.	4	5
Female	0	No.	6	6
		Mean	19	19
		S.D.	3	3
	300	No.	3	3
		Mean	20	20
		S.D.	3	3

Unit : g/rat/day

No significant difference between treated group and control group.

Table 5-1

A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide 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	7	4	0	6	6	0	0	0	7	4	1	0	0	0	12	0	0	0	0	0			
	20	6	0	0	0	0	0	0	0	5	1	2	2	2	0	0	0	5	1	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0			
	75	6	0	0	0	0	0	0	0	5	1	1	4	1	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0			
	300	12	0	0	0	0	0	0	2	8	2	2	6	4	0	0	0	10	1	1	0	0	0	12	0	0	0	0	0			
Female	0	12	0	0	1	3	2	1	1	4	0	3	6	3	0	0	0	7	3	2	0	0	0	12	0	0	0	0	0			
	20	6	0	0	0	0	1	0	0	4	1	2	2	2	0	0	0	4	2	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0			
	75	6	0	0	0	1	0	1	0	3	1	2	2	2	0	0	0	5	1	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0			
	300	10	0	0	0	3	2	2	2	1	0	4	2	3	1	0	0	4	5	1	0	0	0	9	0	0	0	1	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 5-2

A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide 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	0	12	0	0	0	0	0	12	0
	20	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	6	0
	75	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	6	0
	300	12	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	0	12	0
Female	0	12	11	1	0	0	0	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	0	12	0
	20	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	5	1	0	0	0	0	0	6	0
	75	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	6	0
	300	10	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	10	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 5-4 A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide 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	40	10.0	2046
			S.D.	8	4.8	490
	20	6	Mean	43	14.6	1759
			S.D.	5	2.4	207
	75	6	Mean	44	12.1	1822
			S.D.	6	2.4	288
	300	12	Mean	51*	17.1*	1513*
			S.D.	12D	8.5DT	506D
Female	0	12	Mean	31	5.4	2276
			S.D.	6	1.6	356
	20	6	Mean	31	6.5	2240
			S.D.	7	2.9	466
	75	6	Mean	36	7.8	1832
			S.D.	2	2.1	155
	300	10	Mean	37	8.5	1769**
			S.D.	6	4.4	409D

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

D : Dunnett's test

DT : Dunnett-type rank test

Table 5-6 A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide 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	4	2	0	0	0	0	6	0	0
	300	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	4	2	0	0	0	0	0	6	0
Female	0	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	5	1	0	0	0	0	6	0	0
	300	3	3	0	0	0	0	3	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	3	0	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 5-8 A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide 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	39	9.8	2169
			S.D.	6	2.4	372
	300	6	Mean	47	18.0	1624*
			S.D.	15	9.6	386T
Female	0	6	Mean	35	8.4	1992
			S.D.	10	3.1	396
	300	3	Mean	31	11.4	1721
			S.D.	3	4.7	406

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

T : Student's t-test

Table 6-1 A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide in rats with a recovery period of 2 weeks

Hematology (After administration period)

Sex	Dose mg/kg	No.		RBC	HGB	HCT	MCV	MCH	MCHC	Reticul.	HI	PLT	PT	APTT	FIB
				$\times 10^4/\mu\text{L}$	g/dL	%	fL	pg	g/dL	%	%	$\times 10^4/\mu\text{L}$	s	s	mg/dL
Male	0	6	Mean	834	15.5	46.1	55.4	18.6	33.6	2.3	0.59	132.5	14.3	20.7	295
			S.D.	52	0.5	1.9	2.1	1.0	0.6	0.1	0.18	23.1	1.8	3.0	11
	20	6	Mean	830	15.2	45.4	54.8	18.4	33.5	3.2	1.16	125.2	13.7	18.6	290
			S.D.	26	0.5	1.6	1.2	0.5	0.5	1.2	0.69	6.2	1.7	1.2	24
	75	6	Mean	776*	14.2**	43.9	56.5	18.3	32.4**	6.3*	1.61	141.8	14.0	19.1	280
			S.D.	34D	0.7D	2.4	2.4	0.9	0.7D	1.0DT	0.99	12.8	1.9	1.9	22
	300	5	Mean	641**	13.7**	43.3	67.7**	21.4**	31.7**	13.7**	4.00**	141.5	12.6	18.9	262
			S.D.	39D	0.5D	1.3	2.1D	0.5D	0.4D	2.4DT	1.11D	5.9	0.6	2.5	33
Female	0	6	Mean	857	15.6	45.0	52.6	18.3	34.7	1.9	0.71	139.4	12.1	17.6	226
			S.D.	38	0.6	1.6	1.1	0.2	0.4	0.7	0.24	10.5	0.8	1.7	24
	20	6	Mean	825	15.3	44.4	53.7	18.6	34.5	2.6	1.13	148.3	11.6	17.0	216
			S.D.	29	0.4	1.5	0.6	0.4	0.6	0.6	0.53	5.8	0.5	1.0	22
	75	6	Mean	737**	14.2**	42.7*	58.0**	19.3*	33.3**	7.1**	1.85**	152.9*	12.0	16.6	219
			S.D.	41D	0.5D	1.6D	2.0DT	0.6DT	0.2D	0.7DT	0.69D	10.0D	0.5	0.7	15
	300	4	Mean	632**	12.8**	39.2**	62.4**	20.2**	32.4**	10.7**	3.15**	178.4**	12.1	16.9	219
			S.D.	41D	0.3D	0.9D	4.5DT	1.3DT	0.4D	4.2DT	0.55D	5.7D	0.6	0.3	24

* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$ (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-Methylacetanilide in rats with a recovery period of 2 weeks

Hematology (After administration period)

Sex	Dose mg/kg	No.		WBC	Differential leukocyte counts (%)					
				$\times 10^3/\mu\text{L}$	LYMP	NEUT	EOS	BASO	MONO	LUC
Male	0	6	Mean	82.4	80.2	16.3	1.0	0.4	1.7	0.5
			S.D.	15.6	4.3	5.3	0.4	0.2	0.9	0.2
	20	6	Mean	80.0	74.9	21.9	0.8	0.4	1.6	0.4
			S.D.	10.8	4.9	5.1	0.4	0.1	0.4	0.2
	75	6	Mean	103.5	73.5*	23.7*	0.7	0.4	1.2	0.5
			S.D.	12.1	4.1D	4.6D	0.1	0.1	0.4	0.2
	300	5	Mean	113.8*	73.6	23.3	0.5*	0.4	1.8	0.4
			S.D.	24.7D	4.1	3.9	0.1DT	0.1	0.8	0.1
Female	0	6	Mean	121.6	79.2	16.3	1.1	0.6	2.0	0.9
			S.D.	51.2	6.4	5.9	0.3	0.1	0.6	0.2
	20	6	Mean	100.1	82.8	13.9	0.9	0.5	1.3	0.7
			S.D.	32.7	6.1	6.3	0.4	0.1	0.4	0.2
	75	6	Mean	104.0	81.8	15.3	0.8	0.4**	1.3	0.6*
			S.D.	19.6	4.1	3.8	0.2	0.1D	0.4	0.2D
	300	4	Mean	154.1	83.7	12.9	0.5**	0.5	1.5	0.9
			S.D.	48.3	3.3	2.8	0.1D	0.1	0.6	0.3

LUC : Large unstained cells

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

D : Dunnett's test

DT : Dunnett-type rank test

Table 6-3 A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide in rats with a recovery period of 2 weeks

Hematology (After administration period)

Sex	Dose mg/kg	No.		Differential leukocyte counts (X10 ² /μL)					
				LYMP	NEUT	EOS	BASO	MONO	LUC
Male	0	6	Mean	66.5	12.9	0.8	0.3	1.5	0.4
			S.D.	14.9	3.0	0.4	0.2	1.0	0.2
	20	6	Mean	60.0	17.4	0.6	0.3	1.3	0.4
			S.D.	9.7	4.3	0.3	0.1	0.5	0.1
	75	6	Mean	76.2	24.5**	0.8	0.4	1.3	0.4
			S.D.	10.5	4.9D	0.1	0.1	0.5	0.2
	300	5	Mean	84.0	26.4**	0.5	0.4	2.0	0.5
			S.D.	20.2	6.1D	0.1	0.2	0.8	0.1
Female	0	6	Mean	98.0	18.2	1.3	0.7	2.3	1.1
			S.D.	46.7	5.4	0.5	0.4	0.6	0.7
	20	6	Mean	83.5	13.2	0.9	0.5	1.3	0.7
			S.D.	29.2	5.2	0.4	0.2	0.8	0.4
	75	6	Mean	84.8	16.1	0.8	0.4	1.4	0.6
			S.D.	15.1	5.6	0.3	0.1	0.6	0.1
	300	4	Mean	128.8	20.2	0.6*	0.8	2.1	1.5
			S.D.	39.3	8.6	0.1D	0.4	0.8	0.8

LUC : Large unstained cells

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

D : Dunnett's test

Table 6-4 A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide in rats with a recovery period of 2 weeks

Hematology (After recovery period)

Sex	Dose mg/kg	No.		RBC ×10 ⁴ /μL	HGB g/dL	HCT %	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	Reticul. %	HI %	PLT ×10 ⁴ /μL	PT s	APTT s	FIB mg/dL
Male	0	6	Mean	890	16.0	47.5	53.4	17.9	33.5	2.4	0.62	114.0	12.7	21.0	275
			S.D.	27	0.4	1.2	1.1	0.4	0.3	0.2	0.24	5.3	0.7	1.5	28
	300	6	Mean	784**	15.6	47.3	60.4**	20.0**	33.1*	3.0	0.75	122.3	13.2	21.4	267
			S.D.	32T	0.6	2.1	2.7AT	0.9AT	0.4T	0.6	0.36	13.8	1.3	2.2	62
Female	0	6	Mean	844	15.3	43.9	52.0	18.2	35.0	2.3	0.66	129.9	11.6	19.3	221
			S.D.	14	0.5	1.2	1.0	0.4	0.3	0.3	0.28	12.2	0.4	1.5	18
	300	3	Mean	790	15.8	46.6*	59.1*	20.0**	33.9**	1.8	1.00	123.9	11.5	17.5	220
			S.D.	55	0.5	1.2T	2.7AT	0.7T	0.4T	0.4	0.47	19.1	0.3	1.0	25

* : 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-Methylacetanilide 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	90.1	80.5	15.4	1.2	0.3	1.9	0.6
			S.D.	25.5	5.4	4.9	0.4	0.1	0.5	0.3
	300	6	Mean	94.6	77.1	17.7	1.0	0.3	3.0*	0.8
			S.D.	22.9	6.5	5.4	0.9	0.1	1.0T	0.5
Female	0	6	Mean	70.5	80.3	16.2	1.2	0.3	1.5	0.5
			S.D.	17.8	6.3	5.9	0.7	0.1	0.5	0.2
	300	3	Mean	82.0	77.3	19.4	0.9	0.3	1.7	0.5
			S.D.	20.1	6.3	6.3	0.2	0.1	0.4	0.1

LUC : Large unstained cells

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

T : Student's t-test

Table 6-6

A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide 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	73.2	13.3	1.1	0.3	1.6	0.6
			S.D.	23.2	3.6	0.4	0.1	0.3	0.4
	300	6	Mean	73.6	16.1	1.0	0.3	2.9*	0.7
			S.D.	22.9	4.3	0.8	0.1	1.1AT	0.4
Female	0	6	Mean	57.3	10.8	0.8	0.2	1.1	0.4
			S.D.	18.5	3.2	0.5	0.1	0.4	0.2
	300	3	Mean	62.6	16.7	0.7	0.2	1.4	0.4
			S.D.	11.3	8.7	0.1	0.1	0.4	0.1

LUC : Large unstained cells

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

AT : Aspin-Welch t-test

Table 7-1 A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide in rats with a recovery period of 2 weeks

Blood chemistry (After administration 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	66	26	49	1	669	48	45	84	0.1	136
			S.D.	3	3	4	0	142	9	23	9	0.1	14
	20	6	Mean	61	27	53	1	596	63	50	103*	0.1	126
			S.D.	5	4	8	1	94	15	14	14D	0.1	11
	75	6	Mean	61	27	53	1	602	63	55	102*	0.1	133
			S.D.	4	4	5	0	126	9	23	15D	0.0	18
	300	5	Mean	52**	26	54	0	508	52	46	93	0.1*	124
			S.D.	3D	6	8	0	99	8	17	10	0.1DT	14
Female	0	6	Mean	81	28	56	1	420	65	11	111	0.1	97
			S.D.	36	10	8	0	97	14	1	19	0.0	9
	20	6	Mean	64	22	53	1	350	75	17	126	0.1	107
			S.D.	19	5	19	0	111	10	10	12	0.0	5
	75	6	Mean	88	28	59	1	315	77	16	132	0.1	120*
			S.D.	52	9	27	0	44	11	4	18	0.0	21D
	300	4	Mean	55	26	45	1	288	87*	23**	141*	0.1	115
			S.D.	4	5	11	1	101	11D	8DT	18D	0.0	10

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

D : Dunnett's test

DT : Dunnett-type rank test

Table 7-2 A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide 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	0.23	144	4.3	108	9.6	7.9	5.9	3.3	1.25	
			S.D.	1	0.02	2	0.2	2	0.3	0.7	0.1	0.2	0.13	
	20	6	Mean	12	0.22	144	4.5	107	9.6	8.2	6.0	3.3	1.20	
			S.D.	1	0.02	1	0.4	2	0.2	0.5	0.2	0.1	0.08	
	75	6	Mean	14	0.21	145	4.5	108	9.9	8.0	6.1	3.3	1.20	
			S.D.	1	0.02	1	0.2	1	0.1	0.5	0.2	0.1	0.09	
	300	5	Mean	13	0.20	143	5.2**	107	9.7	8.1	6.0	3.3	1.28	
			S.D.	2	0.02	1	0.4D	1	0.4	0.7	0.5	0.1	0.15	
	Female	0	6	Mean	17	0.29	142	4.1	110	9.6	6.9	6.2	3.4	1.22
				S.D.	3	0.02	1	0.2	1	0.2	0.8	0.3	0.1	0.09
		20	6	Mean	17	0.31	143	4.3	109	9.8	7.0	6.4	3.6	1.28
				S.D.	3	0.06	1	0.2	2	0.3	0.8	0.2	0.2	0.13
75		6	Mean	16	0.27	143	4.4	108	9.8	7.5	6.3	3.6	1.30	
			S.D.	3	0.06	1	0.3	1	0.2	0.5	0.4	0.3	0.08	
300		4	Mean	14	0.23	142	5.1**	108	9.8	7.9	6.1	3.4	1.25	
			S.D.	2	0.02	1	0.3D	1	0.2	0.5	0.1	0.1	0.09	

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

D : Dunnett's test

Table 7-3 A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide 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	63	27	43	1	481	62	78	104	0.1	136
			S.D.	8	5	8	0	114	16	25	20	0.1	13
	300	6	Mean	65	28	43	1	482	51	68	92	0.1	134
			S.D.	4	3	5	0	91	6	39	14	0.1	20
Female	0	6	Mean	65	24	39	1	293	76	14	124	0.1	114
			S.D.	12	9	9	0	56	10	5	7	0.0	14
	300	3	Mean	58	19	43	1	345	72	15	125	0.1	122
			S.D.	7	3	3	0	10	6	4	12	0.1	20

No significant difference between treated group and control group.

Table 7-4

A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide 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	14	0.27	143	4.6	108	9.8	7.2	6.4	3.3	1.04
			S.D.	2	0.02	2	0.2	2	0.2	0.5	0.1	0.1	0.05
	300	6	Mean	13	0.24	143	4.3	107	9.8	7.8*	6.2	3.2	1.03
			S.D.	1	0.02	1	0.4	2	0.3	0.3T	0.2	0.2	0.08
Female	0	6	Mean	19	0.38	141	4.3	111	9.7	6.8	6.6	3.5	1.16
			S.D.	3	0.05	1	0.3	1	0.1	0.6	0.2	0.2	0.12
	300	3	Mean	15	0.32	142	4.2	110	9.9	7.1	6.5	3.6	1.20
			S.D.	2	0.05	1	0.4	0	0.5	0.4	0.4	0.3	0.06

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

T : Student's t-test

Table 8-1 A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide 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	
		Mean	376	1.98	575	1.38	10.75	0.73	2.83	62
		S.D.	25	0.09	139	0.14	0.83	0.15	0.33	5
	20	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	371	2.03	475	1.27	10.80	0.78	2.83	62
		S.D.	23	0.08	88	0.15	0.81	0.05	0.12	8
	75	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	364	2.02	503	1.34	11.38	1.07	2.78	58
		S.D.	22	0.09	87	0.05	0.96	0.14	0.18	7
	300	No.	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	339	1.98	475	1.26	11.97	1.95**	2.88	55
		S.D.	33	0.08	158	0.09	1.71	0.61DT	0.36	5
Relative	0	No.	6	6	6	6	6	6	6	
		Mean	0.53	152	0.36	2.86	0.19	0.75	17	
		S.D.	0.06	32	0.02	0.13	0.03	0.07	2	
	20	No.	6	6	6	6	6	6	6	
		Mean	0.55	128	0.34	2.91	0.21	0.77	17	
		S.D.	0.02	24	0.06	0.17	0.01	0.04	2	
	75	No.	6	6	6	6	6	6	6	
		Mean	0.56	138	0.37	3.13*	0.29*	0.77	16	
		S.D.	0.03	22	0.04	0.14D	0.02DT	0.04	2	
	300	No.	5	5	5	5	5	5	5	
		Mean	0.59	138	0.37	3.52**	0.57**	0.85*	16	
		S.D.	0.04	41	0.03	0.26D	0.15DT	0.06D	2	

Statistical analysis of body weight was not done.

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

D : Dunnett's test

DT : Dunnett-type rank test

Table 8-2

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

Absolute and relative organ weight (After administration period)

Male

Dose mg/kg			Testis	Epididymis
			(R+L) g(g/100g BW)	(R+L) mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	6	6
		Mean	3.05	812
		S.D.	0.22	49
	20	No.	6	6
		Mean	3.29	839
		S.D.	0.23	39
	75	No.	6	6
		Mean	3.34	863
		S.D.	0.25	85
	300	No.	5	5
		Mean	3.12	789
		S.D.	0.20	68
Relative	0	No.	6	6
		Mean	0.81	216
		S.D.	0.07	15
	20	No.	6	6
		Mean	0.89	227
		S.D.	0.09	15
	75	No.	6	6
		Mean	0.92	239
		S.D.	0.09	34
	300	No.	5	5
		Mean	0.93	234
		S.D.	0.09	26

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 8-3

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

Absolute and relative organ weight (After administration period)

Female

Dose mg/kg		Body weight g	Brain	Thymus	Heart	Liver	Spleen	Kidney (R+L)	Adrenal (R+L)	
			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	
		Mean	232	1.89	487	0.80	6.53	0.55	1.80	64
		S.D.	10	0.05	51	0.05	0.48	0.08	0.09	6
	20	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	228	1.90	545	0.81	6.73	0.55	1.77	68
		S.D.	14	0.09	139	0.06	0.69	0.13	0.13	8
	75	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	228	1.90	467	0.80	7.25	0.69	1.76	74
		S.D.	14	0.08	65	0.03	0.64	0.12	0.14	11
	300	No.	4	4	4	4	4	4	4	4
		Mean	222	1.90	410	0.83	8.22**	1.05**	1.85	68
		S.D.	14	0.05	94	0.06	0.77D	0.11D	0.24	8
Relative	0	No.	6	6	6	6	6	6	6	
		Mean	0.82	210	0.35	2.81	0.24	0.77	28	
		S.D.	0.05	20	0.02	0.12	0.03	0.04	2	
	20	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	0.84	237	0.36	2.95	0.24	0.78	30	
		S.D.	0.04	50	0.02	0.13	0.04	0.03	3	
	75	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	0.84	206	0.36	3.18**	0.31*	0.77	33	
		S.D.	0.05	27	0.02	0.23D	0.05D	0.03	4	
	300	No.	4	4	4	4	4	4	4	4
		Mean	0.86	184	0.38*	3.70**	0.48**	0.83	31	
		S.D.	0.05	33	0.01D	0.19D	0.07D	0.08	3	

Statistical analysis of body weight was not done.

* : 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-Methylacetanilide in rats with a recovery period of 2 weeks

Absolute and relative organ weight (After administration period)

Female

Dose mg/kg			Ovary (R+L) mg(mg/100g BW)	Uterus mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	6	6
		Mean	82.0	454
		S.D.	13.5	69
	20	No.	6	6
		Mean	90.6	548
		S.D.	13.7	122
	75	No.	6	6
		Mean	87.9	543
		S.D.	14.3	48
	300	No.	4	4
		Mean	91.6	367
		S.D.	12.3	76
Relative	0	No.	6	6
		Mean	35.3	196
		S.D.	4.8	32
	20	No.	6	6
		Mean	39.8	239
		S.D.	5.8	48
	75	No.	6	6
		Mean	38.6	238
		S.D.	6.0	19
	300	No.	4	4
		Mean	41.1	166
		S.D.	3.3	38

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 8-5

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

Absolute and relative organ weight (After recovery period)

Male

Dose mg/kg	Body weight g	Brain g(g/100g BW)	Thymus mg(mg/100g BW)	Heart g(g/100g BW)	Liver g(g/100g BW)	Spleen g(g/100g BW)	Kidney (R+L) g(g/100g BW)	Adrenal (R+L) mg(mg/100g BW)	
									No.
Absolute	0	No.	6	6	6	6	6	6	
		Mean	427	2.02	385	1.37	12.46	0.76	2.89
		S.D.	15	0.07	66	0.18	0.94	0.10	0.19
	300	No.	6	6	6	6	6	6	
		Mean	427	2.01	435	1.33	12.11	0.90	3.05
		S.D.	58	0.05	75	0.13	2.93	0.14	0.27
Relative	0	No.	6	6	6	6	6	6	
		Mean	0.48	91	0.32	2.92	0.18	0.68	15
		S.D.	0.02	16	0.04	0.19	0.02	0.04	2
	300	No.	6	6	6	6	6	6	
		Mean	0.48	104	0.31	2.81	0.21*	0.72	15
		S.D.	0.06	22	0.02	0.32	0.01T	0.07	1

Statistical analysis of body weight was not done.

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

T : Student's t-test

Table 8-6

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

Absolute and relative organ weight (After recovery period)

Male

Dose mg/kg	Testis (R+L) g(g/100g BW)	Epididymis (R+L) mg(mg/100g BW)		
			No.	
Absolute	0	6	No.	6
			Mean	3.21
			S.D.	0.24
	300	6	No.	6
			Mean	2.93
			S.D.	0.29
Relative	0	6	No.	6
			Mean	0.75
			S.D.	0.06
	300	6	No.	6
			Mean	0.69
			S.D.	0.06

* : p<0.05 (Significant difference from control group)
T : Student's t-test

Table 8-7

A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide 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
Absolute	0	No.	6	6	6	6	6	6	
		Mean	250	1.88	348	0.83	6.70	0.58	1.72
		S.D.	40	0.06	70	0.09	1.03	0.18	0.21
	300	No.	3	3	3	3	3	3	3
		Mean	249	1.92	409	0.88	7.42	0.57	1.79
		S.D.	22	0.08	65	0.09	1.17	0.08	0.20
Relative	0	No.	6	6	6	6	6	6	
		Mean	0.76	139	0.33	2.68	0.23	0.69	29
		S.D.	0.11	15	0.04	0.11	0.04	0.05	3
	300	No.	3	3	3	3	3	3	3
		Mean	0.78	165	0.35	2.97*	0.23	0.72	29
		S.D.	0.06	32	0.01	0.22T	0.04	0.02	2

Statistical analysis of body weight was not done.

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

T : Student's t-test

Table 8-8

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

Absolute and relative organ weight (After recovery period)

Female

Dose mg/kg			Ovary (R+L)	Uterus
			mg(mg/100g BW)	mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	6	6
		Mean	90.9	472
		S.D.	25.5	96
	300	No.	3	3
		Mean	103.5	496
		S.D.	8.1	119
Relative	0	No.	6	6
		Mean	35.9	190
		S.D.	5.2	32
	300	No.	3	3
		Mean	41.8	199
		S.D.	5.1	36

No significant difference between treated group and control group.

Table 9-1

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

Gross pathological findings (Dead animals)

Organs	Sex: Dose(mg/kg): Number:	M 300 1	F 300 5
Findings			
Liver			
Large		1	1
Spleen			
Discoloration, dark		0	1
Large		0	1

M : Male, F : Female

Table 9-2

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

Gross pathological findings (After administration period)

Organs	Dose(mg/kg):	Sex: Number:	M 0 6	M 20 6	M 75 6	M 300 5	F 0 6	F 20 6	F 75 6	F 300 4
Kidney										
Cyst			0	0	1	0	0	1	0	0
Liver										
Discoloration, dark			0	0	0	2	0	0	0	1
Large			0	0	0	1	0	0	0	0
Pituitary										
Cyst			0	1	0	0	0	0	0	0
Spleen										
Discoloration, dark			0	0	5	5	0	0	5	4
Large			0	0	4	5	0	0	1	4
Stomach										
Focus, dark red, glandular stomach			0	0	0	0	0	1	0	0

M : Male, F : Female

Table 9-3

A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide 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	300 6	0 6	300 3
Hindlimb Swelling		0	1	0	0
Spleen Large		0	1	0	0
Stomach Focus, dark red, glandular stomach		0	1	0	0

M : Male, F : Female

Table 10-1

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

Histopathological findings (Dead animals)

Organs	Dose(mg/kg):	Sex: Number:	M 300 1	F 300 5
Findings				
Adrenal				
Number examined			1	5
Not remarkable			1	3
Hypertrophy, cortical cell			0	2
minimal			0	2
Bone+Bone marrow, femoral				
Number examined			1	5
Hematopoiesis, increased			1	5
minimal			1	5
Bone+Bone marrow, sternal				
Number examined			1	5
Hematopoiesis, increased			1	5
minimal			1	5
Cerebellum				
Number examined			1	5
Not remarkable			1	5
Cerebrum				
Number examined			1	5
Not remarkable			1	5
Epididymis				
Number examined			1	-
Cell infiltration, interstitial			1	-
minimal			1	-
Eye				
Number examined			1	5
Not remarkable			1	5
Heart				
Number examined			1	5
Not remarkable			1	5
Intestine, duodenum				
Number examined			1	5
Not remarkable			1	5
Intestine, jejunum				
Number examined			1	5
Not remarkable			1	5
Intestine, ileum(Peyer's patch)				
Number examined			1	5
Not remarkable			1	5
Intestine, cecum				
Number examined			1	5
Not remarkable			1	5
Intestine, colon				
Number examined			1	5
Not remarkable			1	5
Intestine, rectum				
Number examined			1	5
Not remarkable			1	5

M : Male, F : Female

- : Not applicable

Table 10-2

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

Histopathological findings (Dead animals)

Organs	Sex: Dose(mg/kg): Number:	M 300 1	F 300 5
Kidney			
Number examined		1	5
Not remarkable		0	2
Dilatation, tubular		1	2
minimal		1	2
Regeneration, tubular		0	2
minimal		0	2
Liver			
Number examined		1	5
Hematopoiesis, increased		0	2
minimal		0	2
Microgranuloma		0	3
minimal		0	3
Pigmentation, Kupffer cell		0	1
minimal		0	1
Hypertrophy, hepatocytic, central		1	5
minimal		0	1
mild		1	4
Lung(bronchus)			
Number examined		1	5
Not remarkable		0	4
Appearance, alveolar macrophage		1	1
minimal		1	1
Lymph node, mesenteric			
Number examined		1	5
Not remarkable		1	5
Lymph node, submandibular			
Number examined		1	5
Not remarkable		1	5
Ovary			
Number examined		-	5
Not remarkable		-	1
Atrophy		-	4
minimal		-	4
Parathyroid			
Number examined		1	5
Not remarkable		1	5
Pituitary			
Number examined		1	5
Not remarkable		1	5
Prostate			
Number examined		1	-
Not remarkable		1	-
Sciatic nerve			
Number examined		1	5
Not remarkable		1	5
Skeletal muscle, femoral			
Number examined		1	5
Not remarkable		1	3
Degeneration, muscular		0	2
minimal		0	2

M : Male, F : Female

- : Not applicable

Table 10-3

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

Histopathological findings (Dead animals)

Organs	Sex: Dose(mg/kg): Number:	M 300 1	F 300 5
Spinal cord, thoracic			
Number examined		1	5
Not remarkable		1	5
Spleen			
Number examined		1	5
Hematopoiesis, increased		1	5
minimal		0	2
mild		1	2
moderate		0	1
Congestion		1	2
minimal		0	2
mild		1	0
Brown pigment, increased		1	5
minimal		1	3
mild		0	2
Cell infiltration, capsular		1	2
minimal		1	2
Stomach			
Number examined		1	5
Not remarkable		1	5
Testis			
Number examined		1	-
Not remarkable		1	-
Thymus			
Number examined		1	5
Not remarkable		1	5
Thyroid			
Number examined		1	5
Not remarkable		1	4
Remnant, ultimobranchial body		0	1
minimal		0	1
Trachea			
Number examined		1	5
Not remarkable		1	5
Urinary bladder			
Number examined		1	5
Not remarkable		1	5
Uterus			
Number examined		-	5
Not remarkable		-	1
Hypertrophy, endometrial epithelial		-	4
minimal		-	1
mild		-	3

M : Male, F : Female
- : Not applicable

Table 10-4

A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide 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):	0	20	75	300	0	20	75	300
	Number:	6	6	6	5	6	6	6	4
Adrenal									
Number examined		6	0	0	5	6	6	6	4
Not remarkable		6	0	0	5	6	6	6	4
Bone+Bone marrow, femoral									
Number examined		6	6	6	5	6	6	6	4
Not remarkable		6	6	3	1	6	6	3	0
Hematopoiesis, increased		0	0	3	4	0	0	3	4
minimal		0	0	3	4	0	0	3	4
Bone+Bone marrow, sternal									
Number examined		6	6	6	5	6	6	6	4
Not remarkable		6	6	4	1	6	6	4	0
Hematopoiesis, increased		0	0	2	4	0	0	2	4
minimal		0	0	2	4	0	0	2	4
Cerebellum									
Number examined		6	0	0	5	6	0	0	4
Not remarkable		6	0	0	5	6	0	0	4
Cerebrum									
Number examined		6	0	0	5	6	0	0	4
Not remarkable		6	0	0	5	6	0	0	4
Epididymis									
Number examined		6	0	0	5	-	-	-	-
Not remarkable		4	0	0	4	-	-	-	-
Cell infiltration, interstitial		2	0	0	1	-	-	-	-
minimal		2	0	0	1	-	-	-	-
Eye									
Number examined		6	0	0	5	6	0	0	4
Not remarkable		6	0	0	5	5	0	0	4
Mineralization, corneal		0	0	0	0	1	0	0	0
minimal		0	0	0	0	1	0	0	0
Heart									
Number examined		6	0	0	5	6	0	0	4
Not remarkable		5	0	0	5	6	0	0	4
Cell infiltration		1	0	0	0	0	0	0	0
minimal		1	0	0	0	0	0	0	0
Intestine, duodenum									
Number examined		6	0	0	5	6	0	0	4
Not remarkable		6	0	0	5	6	0	0	4
Intestine, jejunum									
Number examined		6	0	0	5	6	0	0	4
Not remarkable		6	0	0	5	6	0	0	4
Intestine, ileum(Peyer's patch)									
Number examined		6	0	0	5	6	0	0	4
Not remarkable		6	0	0	5	6	0	0	4
Intestine, cecum									
Number examined		6	0	0	5	6	0	0	4
Not remarkable		6	0	0	5	6	0	0	4
Intestine, colon									
Number examined		6	0	0	5	6	0	0	4
Not remarkable		6	0	0	5	6	0	0	4

M : Male, F : Female

- : Not applicable

Table 10-5

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

Histopathological findings (After administration period)

Organs Findings	Sex: Dose(mg/kg): Number:	M	M	M	M	F	F	F	F
		0 6	20 6	75 6	300 5	0 6	20 6	75 6	300 4
Intestine, rectum									
Number examined		6	0	0	5	6	0	0	4
Not remarkable		6	0	0	5	6	0	0	4
Kidney									
Number examined		6	6	6	5	6	6	6	4
Not remarkable		1	5	5	0	3	4	5	4
Cyst		1	0	1	0	0	1	0	0
minimal		1	0	0	0	0	0	0	0
mild		0	0	1	0	0	1	0	0
Regeneration, tubular		3	1	1	3	3	1	1	0
minimal		3	1	1	2	3	1	1	0
mild		0	0	0	1	0	0	0	0
Eosinophilic body, tubular cell		1	0	0	4	0	0	0	0
minimal		1	0	0	4	0	0	0	0
Mineralization, corticomedullary		1	0	0	0	0	0	0	0
minimal		1	0	0	0	0	0	0	0
Fibrosis, focal		1	0	0	1	0	0	0	0
minimal		1	0	0	1	0	0	0	0
Kidney(alpha2u globulin)									
Number examined		1	0	0	2	0	0	0	0
Alpha2u globulin, immunohistochemistry		1	0	0	2	0	0	0	0
positive		1	0	0	2	0	0	0	0
Kidney(PAS stain)									
Number examined		1	0	0	2	0	0	0	0
PAS reaction		1	0	0	2	0	0	0	0
negative		1	0	0	2	0	0	0	0
Liver									
Number examined		6	6	6	5	6	6	6	4
Not remarkable		1	0	0	0	0	0	0	0
Vacuolation, hepatocyte, periportal		0	0	0	0	2	0	1	0
minimal		0	0	0	0	2	0	1	0
Hematopoiesis, increased		0	1	0	5	0	0	1	3
minimal		0	1	0	5	0	0	1	3
Microgranuloma		5	5	5	4	5	6	4	2
minimal		5	5	5	4	5	6	4	2
Pigmentation, Kupffer cell		0	0	0	2	0	0	0	4
minimal		0	0	0	2	0	0	0	4
Hypertrophy, hepatocytic, central		0	1	6	5	0	0	3	4
minimal		0	1	4	0	0	0	3	3
mild		0	0	2	5	0	0	0	1
Lung(bronchus)									
Number examined		6	0	0	5	6	0	0	4
Not remarkable		5	0	0	5	5	0	0	3
Mineralization, arterial wall		0	0	0	0	0	0	0	1
minimal		0	0	0	0	0	0	0	1
Appearance, alveolar macrophage		1	0	0	0	1	0	0	1
minimal		1	0	0	0	1	0	0	1
Lymph node, mesenteric									
Number examined		6	0	0	5	6	0	0	4
Not remarkable		6	0	0	5	6	0	0	4
Lymph node, submandibular									
Number examined		6	0	0	5	6	0	0	4
Not remarkable		6	0	0	5	6	0	0	4

M : Male, F : Female

Table 10-6 A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide 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	20 6	75 6	300 5	0 6	20 6	75 6	300 4
Ovary									
Number examined		-	-	-	-	6	6	6	4
Not remarkable		-	-	-	-	6	6	6	4
Parathyroid									
Number examined		6	0	0	5	6	0	0	4
Not remarkable		6	0	0	5	6	0	0	4
Pituitary									
Number examined		6	1	0	5	6	0	0	4
Not remarkable		6	0	0	4	6	0	0	4
Cyst		0	1	0	1	0	0	0	0
minimal		0	0	0	1	0	0	0	0
mild		0	1	0	0	0	0	0	0
Prostate									
Number examined		6	0	0	5	-	-	-	-
Not remarkable		3	0	0	4	-	-	-	-
Cell infiltration, inflammatory		3	0	0	1	-	-	-	-
minimal		3	0	0	1	-	-	-	-
Sciatic nerve									
Number examined		6	0	0	5	6	0	0	4
Not remarkable		6	0	0	5	6	0	0	4
Skeletal muscle, femoral									
Number examined		6	0	0	5	6	0	0	4
Not remarkable		6	0	0	4	5	0	0	4
Degeneration, muscular		0	0	0	1	1	0	0	0
minimal		0	0	0	1	1	0	0	0
Spinal cord, thoracic									
Number examined		6	0	0	5	6	0	0	4
Not remarkable		6	0	0	5	6	0	0	4
Spleen									
Number examined		6	6	6	5	6	6	6	4
Not remarkable		6	5	0	0	6	5	0	0
Hematopoiesis, increased		0	1	6	5	0	0	6	4
minimal		0	1	1	0	0	0	5	1
mild		0	0	5	5	0	0	1	3
Congestion		0	0	1	5	0	0	0	4
minimal		0	0	1	1	0	0	0	3
mild		0	0	0	4	0	0	0	1
Brown pigment, increased		0	0	4	5	0	1	6	4
minimal		0	0	4	3	0	1	2	0
mild		0	0	0	2	0	0	4	4
Cell infiltration, capsular		0	0	1	1	0	0	0	2
minimal		0	0	1	1	0	0	0	2
Stomach									
Number examined		6	0	0	5	6	1	0	4
Not remarkable		6	0	0	5	6	0	0	4
Erosion, glandular stomach		0	0	0	0	0	1	0	0
minimal		0	0	0	0	0	1	0	0
Testis									
Number examined		6	0	0	5	-	-	-	-
Not remarkable		6	0	0	5	-	-	-	-
Thymus									
Number examined		6	0	0	5	6	0	0	4
Not remarkable		6	0	0	5	6	0	0	4

M : Male, F : Female
- : Not applicable

Table 10-7

A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide 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	20 6	75 6	300 5	0 6	20 6	75 6	300 4
Thyroid									
Number examined		6	0	0	5	6	0	0	4
Not remarkable		3	0	0	4	3	0	0	3
Remnant, ultimobranchial body		3	0	0	1	3	0	0	1
minimal		3	0	0	1	3	0	0	1
Trachea									
Number examined		6	0	0	5	6	0	0	4
Not remarkable		6	0	0	5	6	0	0	4
Urinary bladder									
Number examined		6	0	0	5	6	0	0	4
Not remarkable		6	0	0	5	6	0	0	4
Uterus									
Number examined		-	-	-	-	6	6	6	4
Not remarkable		-	-	-	-	6	6	6	3
Hypertrophy, endometrial epithelial		-	-	-	-	0	0	0	1
minimal		-	-	-	-	0	0	0	1

M : Male, F : Female
- : Not applicable

Table 10-8

A 28-day oral toxicity study of N-Methylacetanilide 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	300 6	0 6	300 3
Adrenal					
Number examined		0	0	6	3
Not remarkable		0	0	6	3
Bone+Bone marrow, femoral					
Number examined		6	6	6	3
Not remarkable		6	6	6	3
Bone+Bone marrow, sternal					
Number examined		6	6	6	3
Not remarkable		6	6	6	3
Kidney					
Number examined		6	6	6	3
Not remarkable		2	4	5	3
Regeneration, tubular		4	1	1	0
minimal		4	1	1	0
Eosinophilic body, tubular cell		0	1	0	0
minimal		0	1	0	0
Liver					
Number examined		6	6	6	3
Not remarkable		0	0	2	0
Vacuolation, hepatocyte, periportal		0	1	0	0
minimal		0	1	0	0
Microgranuloma		6	6	4	3
minimal		6	6	4	3
Pigmentation, Kupffer cell		0	6	0	2
minimal		0	6	0	2
Ovary					
Number examined		-	-	6	3
Not remarkable		-	-	6	3
Spleen					
Number examined		6	6	6	3
Not remarkable		6	0	6	0
Brown pigment, increased		0	6	0	3
mild		0	6	0	3
Stomach					
Number examined		0	1	0	0
Erosion, glandular stomach		0	1	0	0
minimal		0	1	0	0
Uterus					
Number examined		-	-	6	3
Not remarkable		-	-	6	3
Hindlimb					
Number examined		0	1	0	0
Arthritis		0	1	0	0
mild		0	1	0	0

M : Male, F : Female

- : Not applicable