

1,4-ジメチル-2-(1-フェニルエチル)ベンゼンのラットにおける  
反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験

-最終報告書-

2001年5月24日

試験委託者 : 厚生省生活衛生局  
東京都千代田区霞ヶ関 1-2-2 (〒100-0013)

試験施設 : 株式会社パナファーム・ラボラトリーズ 安全性研究所  
熊本県宇土市栗崎町 1285 番地 (〒869-0425)

## 目 次

頁

要 約	.....	1
緒 言	.....	3
試験材料及び方法	.....	3
試験成績	.....	11
考 察	.....	15
参考文献	.....	17
 Fig. 1	Mean body weight changes of male rats treated orally with Benzen,1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	18
Fig. 2	Mean body weight changes of female rats treated orally with Benzen,1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	19
Fig. 3	Mean food consumption of male rats treated orally with Benzen,1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	20
Fig. 4	Mean food consumption of female rats treated orally with Benzen,1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	21

Table 1	Clinical signs of male rats treated orally with Benzen,1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	22
Table 2	Clinical signs of female rats treated orally with Benzen,1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	25
Table 3	Body weights of male rats treated orally with Benzen,1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	30
Table 4	Body weights of female rats treated orally with Benzen,1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	31
Table 5	Food consumption of male rats treated orally with Benzen,1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	32
Table 6	Food consumption of female rats treated orally with Benzen,1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	33
Table 7	Urinary findings of male rats treated orally with Benzen,1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	34
Table 8	Hematological findings of male rats treated orally with Benzen,1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	38
Table 9	Hematological findings of female rats treated orally with Benzen,1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	39
Table 10	Biochemical findings of male rats treated orally with Benzen,1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	40
Table 11	Biochemical findings of female rats treated orally with Benzen,1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	41
Table 12	Necropsy findings of male rats treated orally with Benzen,1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	42

Table 13	Necropsy findings of female rats treated orally with Benzen,1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	43
Table 14	Absolute and relative organ weights of male rats treated orally with Benzen,1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	44
Table 15	Absolute and relative organ weights of female rats treated orally with Benzen,1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	45
Table 16A	Histopathological findings of male rats treated orally with Benzen,1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	46
Table 16B	Histopathological findings of male rats treated orally with Benzen,1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	47
Table 17A	Histopathological findings of female rats treated orally with Benzen,1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	48
Table 17B	Histopathological findings of female rats treated orally with Benzen,1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	49
Table 18	Reproductive performance of rats treated orally with Benzen,1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	50
Table 19	Terminal delivery of Fo dams treated orally with Benzen,1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) and observations on their offspring in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test	51

## 要 約

OECD 既存化学物質安全性点検に係わる毒性調査の一環として、1,4-ジメチル-2-(1-フェニルエチル)ベンゼンの0(媒体対照), 12.5, 50 及び 200 mg/kg/day を Crj:CD(SD系)IGS ラットの雌雄(各12匹/群)に交配前14日間, 雄ではその後交配期間を含む35日間, 雌では交配期間, 妊娠期間及び哺育3日まで通して経口投与し, 親動物に対する反復投与毒性及び生殖能力並びに次世代児の発生・発育に及ぼす影響について検討し, 以下の結果を得た.

### 1. 反復投与毒性

一般状態では, 雌雄とも被験物質投与の影響は認められなかった.

体重では, 200 mg/kg群の雄で投与後期に, 雌で妊娠及び哺育期間中に体重の増加抑制あるいは増加抑制傾向が認められた.

摂餌量では, 200 mg/kg群の雄で投与後期に低値傾向が認められた.

尿検査では, 200 mg/kg群の雄で尿量の増加, 浸透圧及び比重の低下並びに結晶出現の頻度の増加が認められた.

血液学検査では, 50 及び 200 mg/kg群の雄でプロトロンビン時間の延長が認められた.

血液生化学検査では, 50 mg/kg以上の群の雄で総コレステロールの高値, 200 mg/kg群の雄で $\gamma$ -GTP 及びリン脂質の高値並びにクロールの低値, 200 mg/kg群の雌でグルコースの高値が認められた.

病理学的検査では, 50 mg/kg以上の群の雄及び 200 mg/kg群の雌で肝臓重量の高値が認められ, 組織学的には小葉中心性の肝細胞肥大が認められた. また, 200 mg/kg群の雄で門脈周囲性の肝細胞の脂肪化の発現頻度が減少した. 12.5 mg/kg以上の群の雄で副腎重量の低値がみられ, 組織学的には束状帶細胞の萎縮が認められた. 更に, 200 mg/kg群の雄では球状帶細胞の肥大の発現頻度が増加した.

以上のように, 反復投与毒性では, 12.5 mg/kg以上の群の雄で副腎への影響, 50 mg/kg以上の群の雄及び 200 mg/kg群の雌で肝臓への影響が認められたことから, 本試験条件下における反復投与毒性に対する無影響量は雄で 12.5 mg/kg/day 未満, 雌で 50 mg/kg/day と推察された.

## 2. 生殖発生毒性

親動物の生殖機能に関しては、性周期、黄体数、着床痕数、交尾率、受胎率及び交尾所要日数に被験物質投与の影響は認められなかった。分娩及び哺育期検査では、妊娠期間、出産率、出産児数、出生率、新生児数、死産率、性比、哺育 0 及び 4 日の新生児体重並びに 4 日の生存率に被験物質投与の影響はみられず、新生児の外表検査においても、異常は認められなかった。

以上のように、生殖発生毒性では、親動物の生殖能力及び次世代児の発生・発育に及ぼす影響はいずれの群においても認められなかつたことから、本試験条件下における生殖発生毒性に対する無影響量は親動物及び児動物ともに 200 mg/kg/day と推察された。

## 緒 言

1,4-ジメチル-2-(1-フェニルエチル)ベンゼンの安全性に関する毒性試験の一環として、交配前 14 日間、雄ではその後交配期間を含む 35 日間、雌では交配期間、妊娠期間及び哺育 3 日まで通して経口投与し、親動物に対する反復投与毒性及び生殖能力並びに次世代児の発生・発育に及ぼす影響について検討した。

## 試 験 材 料 及 び 方 法

### 1. 被験物質

より提供された 1,4-ジメチル-2-(1-フェニルエチル)ベンゼン(Lot No. , 純度 : 99.0 mass%)を試験に使用した。本被験物質は水に不溶で、アセトン、DMSO に溶解する無色透明の液体である(添付資料 1)。試験期間中の被験物質の安定性については、本試験の投与期間終了後に上記の提供先にて分析を行った結果、投与期間中安定であったことが確認された(添付資料 2)。媒体にはオリーブ油(Lot No. SER4844 及び SEK5852, 和光純薬工業株式会社)を使用した。なお、被験物質及び媒体は室温で被験物質室の保管庫に保存した。

### 2. 使用動物及び飼育条件

8 週齢の Crj:CD(SD)IGS ラット(日本チャールス・リバー株式会社)を雌雄各 55 匹購入し、12 日間の検疫・馴化を行った。この期間中に一般状態の観察及び体重測定を行い、異常がないことを確認したのち、雌雄各 48 匹を選抜し、10 週齢で試験に使用した。なお、投与開始時の体重は雄で 353.3~413.8 g、雌で 216.0~270.7 g であった。動物は温度  $24\pm2^{\circ}\text{C}$  (許容範囲  $21\sim27^{\circ}\text{C}$ )、湿度  $55\pm10\%$  (許容範囲 35~75%)、照明 12 時間(午前 7 時~午後 7 時)及び換気回数 13~15 回/時に設定したバリアーシステム C 区域(飼育室 87 番)で飼育した。検疫・馴化期間中は 2~3 匹、群分け後は個別(ただし、交配期間中は雌雄各 1 匹)にステンレススチール製ケージ(W260×H200×D380 mm、東洋理工株式会社)に収容した。また、交尾が確認された雌動物については、床敷(ホワイトフレーク、日本チャールス・リバー株式会社)を入れたポリカーボネイト製ケージ(W265 × H185 × D425 mm)に個別に収容した。なお、試験期間中の温度

の実測値は最高 25°C、最低 22°C、湿度の実測値は最高 62%、最低 52%であった。飼料は高圧蒸気滅菌処理した固型飼料 (CRF-1、オリエンタル酵母工業株式会社)を、飲水は次亜塩素酸ナトリウムを添加 (約 2 ppm)した井戸水を給水瓶又は自動給水装置によりそれぞれ自由に摂取させた。飼料については財団法人日本食品分析センターにて、また飲水については株式会社鶴城南九科研センターにて分析を行い、いずれも許容基準に適合していることを確認した。なお、飼育器材は高圧蒸気滅菌したものを使用し、ケージ架台及びポリカーボネイト製ケージ用蓋は 4 週間に 1 回以上、ステンレススチール製ケージ及び給水瓶は 2 週間に 1 回以上、ポリカーボネイト製ケージは週 1 回以上、受皿は週 2 回以上の頻度で交換した。飼育室は毎日清掃し、消毒薬を浸したモップで清拭した。

### 3. 試験群構成、投与量設定の根拠及び群分け

試験群構成を下表に示した。

試験群	投与量 (mg/kg)	濃度 (%)	投与容量 (mL/kg)	性別	使用動物数	動物番号
対照群	0	0	5	♂	12	901~912
				♀	12	951~962
低用量群	12.5	0.25	5	♂	12	913~924
				♀	12	963~974
中間用量群	50	1	5	♂	12	925~936
				♀	12	975~986
高用量群	200	4	5	♂	12	937~948
				♀	12	987~998

投与量は、ラットを用いた 2 週間反復投与予備試験[試験番号 20016(GLP 非適用)、投与量 : 0, 100, 500 及び 1000 mg/kg]の結果から設定した。すなわち、当該試験では 1000 mg/kg 群の雌雄で自発運動の低下、緩徐呼吸などがみられ、全例死亡した。また、500 mg/kg 群の雌で貧血、雌雄で A/G 比の低下、総コレステロール値及びリン脂質の増加、肝臓重量の増加が認められた。更に 100 mg/kg 群の雌雄で肝臓重量の増加が認められた。したがって、本試験では、200 mg/kg を高用量とし、以下公比約 4 をもって 50 及び 12.5 mg/kg を設定した。

群分けは、投与開始前日に、その日の体重を基に層別連続無作為化法で群分けを行い、平

均体重の 20 %以内の動物を使用した。また、雌については性周期が正常に回帰している個体を使用した。なお、群分け後の残余の雌雄各 7 例については、試験から除外した。

#### 4. 投与経路及び投与方法

投与経路は、OECD 試験法ガイドラインに準じ、また予想されるヒトへの曝露経路の一つである経口投与とした。雄は交配前 14 日間及びその後 35 日間の合計 49 日間、雌は交配前 14 日間、交配期間(交尾成立までの最長 14 日間)、妊娠期間及び哺育 3 日までの期間、それぞれ 1 日 1 回連日投与した。なお、投与開始日を投与 1 日とした。投与容量は 5 mL/kg とし、対照群には同容量のオリーブ油を投与した。投与液量は雄並びに交配前及び交配期間中の雌については最新体重を基に、交尾成立後の雌は妊娠 0 日の体重を基にそれぞれ算出した。

#### 5. 被験物質及び対照物質の調製法及び調製頻度

被験物質を所定の濃度となるようにオリーブ油に溶解し、週 1 又は 2 回の頻度で調製した。調製した被験物質は、飼育区域内の検体保存室に設置した冷蔵庫に遮光下で保存した。本被験物質の 0.25 及び 20 w/v% オリーブ油溶液は、褐色バイアル中にて、室温、遮光下で 1 日及び冷蔵、遮光下で 8 日間安定であることが確認されている(株式会社パナファーム・ラボラトリーズ、試験番号 : 900100、添付資料 3)。また、初回に調製した各濃度の投与液について濃度測定を行い、設定濃度の許容範囲 ( $\pm 10\%$  以内) にあることを確認した(添付資料 4)。

#### 6. 観察、検査及び測定の頻度並びに方法

##### 1) 一般状態観察並びに体重及び摂餌量測定

雌雄とも、全例について一般状態の観察及び生死の確認を毎日投与前及び投与後の 2 回行った。

体重については、雄では投与期間を通して週 2 回測定した。雌では、交配前の投与期間及び交配期間中は週 2 回、妊娠期間中は妊娠 0, 4, 7, 10, 14, 17 及び 21 日、哺育期間中は哺育 0(分娩日)及び 4 日に測定した。

摂餌量については、雄では交配期間を除く投与期間中に週 2 回測定した。雌では、交配前の投与期間中は週 2 回、妊娠期間中は妊娠 1, 4, 7, 10, 14, 17 及び 21 日、哺育期間中は哺育 1 及び 4 日に測定した。すなわち、午前中に飼料を入れた給餌器を秤量してケージにセッ

トし、翌日の午前中に給餌器をケージから取り出し、残量を秤量した。この差し引きを 1 日当たりの摂餌量とした。なお、摂餌量の表示日は、残量の測定日とした。

## 2) 尿検査

雄について最終投与週に実施した。代謝ケージを用いて午前 8~12 時の時間帯(投与前)の新鮮尿を採取し、引き続き 24 時間蓄積尿を採取した。なお、採尿日の給餌は新鮮尿採取後に行い、飲水は通常通り与えた。検査を行った項目及び方法を以下に示した。

項目	方 法	単位又は表示
尿量	メスシリンダー測定	mL
色調	肉眼的観察	
浸透圧	冰点降下法 OSMOMETER OM801, VOGEL 社	Osm/kg
比重	屈折率法 尿屈折計、株式会社アタゴ	
以上の 4 項目は 24 時間蓄積尿を用いて検査した。		
pH	試験紙法	5~9
蛋白質	試験紙法	--~++++
ブドウ糖	試験紙法	--~++++
ケトン体	試験紙法	--~+++
ビリルビン	試験紙法	--~+++
潜血	試験紙法	--~+++
ウロビリノーゲン	試験紙法	<1, 1, 4, 8, 12 mg/dL
以上の 7 項目は新鮮尿を用いてプレテスト 8a(和光純薬工業株式会社)により検査した。		
尿沈渣: 採取した新鮮尿を 1500 回転/分で 5 分間遠心分離し、得られた沈渣を鏡検し、以下の基準で判定した。		

	-	+	++	+++
上皮細胞	1 視野に 3 個未満	1 視野に 3 個以上 10 個未満	1 視野に 10 個以上 20 個未満	1 視野に 20 個以上
赤血球	1 視野に 10 個未満	1 視野に 10 個以上 30 個未満	1 視野に 30 個以上 100 個未満	1 視野に 赤血球が重なり合ったり、過密状態で数の確認が不可能な場合
白血球	1 視野に 3 個未満	1 視野に 3 個以上 20 個未満	1 視野に 20 個以上 40 個未満	1 視野に 40 個以上
円柱	すべての視野に皆無	すべての視野で 1 個以上	-	-
非細胞沈渣*	1 視野に 10 個未満	1 視野に 10 個以上 20 個未満	1 視野に 20 個以上 30 個未満	1 視野に 結晶が重なり合ったり過密状態で数の確認が不可能な場合

倍率:x400

\*:主に磷酸塩、草酸塩結晶

### 3) 血液学検査

雌雄とも最終投与日の翌日に実施し、ペントバルビタール・ナトリウム 30 mg/kg を腹腔内に投与して麻酔した後、後大静脈腹部より血液約 2~3 mL を採取した。血液凝固系検査には、血液 0.9 mL を 3.8 %クエン酸ナトリウム 0.1 mL を入れた試験管に分注し、1,870 × g で 15 分間遠心分離して得られる血漿を用いた。他の検査には、残りの血液を EDTA-2K 2 mg 加採血ピン(SB-41, シスメックス株式会社)に分注したもの用いた。なお、雄については採血前に 18 時間以上絶食させたが、雌については絶食は行わなかった。

検査を行った項目及び方法を以下に示した。

項目	方 法	単 位
白血球数	電気抵抗検出方式	×10 <sup>3</sup> /μL
赤血球数(RBC)	電気抵抗検出方式	×10 <sup>6</sup> /μL
ヘモグロビン量(Hgb)	Oxyhemoglobin 法	g/dL
ヘマトクリット値(Hct)	血球 pulse 波高値検出方式	%
血小板数	電気抵抗検出方式	×10 <sup>3</sup> /μL
以上の 5 項目は多項目自動血球計数装置(Sysmex CC-780, シスメックス株式会社)を用いて測定した。		
平均赤血球容積(MCV)	$\frac{\text{Hct}(\%)}{\text{RBC}(10^6/\mu\text{L})} \times 10^3$	fL
平均赤血球血色素量(MCH)	$\frac{\text{Hgb}(\text{g/dL})}{\text{RBC}(10^6/\mu\text{L})} \times 10^3$	pg
平均赤血球血色素濃度(MCHC)	$\frac{\text{Hgb}(\text{g/dL})}{\text{Hct}(\%)} \times 10^2$	%
以上の Wintrobe の赤血球恒数を RBC, Hgb 及び Hct より算出した。		
白血球形態検査(白血球百分比)	May-Grünwald-Giemsa 染色	%
網状赤血球率	New methylene blue 超生体染色	%
以上の 2 項目は塗抹標本のみを作製した。		
プロトロンビン時間	散乱光検出方式	秒
活性化部分トロンボプラスチン時間	散乱光検出方式	秒
フィブリノーゲン量	散乱光検出方式	mg/dL
以上の 3 項目は全自動血液凝固測定装置(Sysmex CA-5000, シスメックス株式会社)を用いて測定した。		

#### 4) 血液生化学検査

雌雄とも最終投与日の翌日に実施し、血液学的検査用の採血に引き続き、麻酔下に後大静脈腹部より採取した血液約3mLを室温で約60分間放置後、1,870×gで10分間遠心分離して得られる血清を用いた。雄については、採血前に18時間以上絶食させたが、雌については絶食は行わなかった。

検査を行った項目及び方法を以下に示した。

項目	方 法	単 位
総蛋白質	Biuret 法	g/dL
アルブミン	BCG 法	g/dL
A/G 比	総蛋白質質量及びアルブミン量より算出	
総ビリルビン	Vanadate oxidation 法	mg/dL
GOT	UV-rate 法	IU/L
GPT	UV-rate 法	IU/L
γ-グリセリルトランペプチダーゼ	L-γ-Glutamyl-3-hydroxymethyl-4-nitroanilide 基質法	IU/L
アルカリ性フォスファターゼ	p-Nitrophenylphosphate acid 基質法	IU/L
総コレステロール	COD-HDAOS 法	mg/dL
トリグリセライド	GPO-HDAOS 法, glycerol blanking 法	mg/dL
リン脂質	Choline oxidase-DAOS 法	mg/dL
グルコース	Hexokinase-G-6-PDH 法	mg/dL
尿素窒素	Urease-GLDH 法	mg/dL
クレアチニン	Jaffé 法	mg/dL
無機リン	PNP-XOD 法	mg/dL
カルシウム	MXB 法	mg/dL
以上の16項目は自動分析装置(7170, 株式会社日立製作所)を用いて測定した。		
ナトリウム	電極法	mEq/L
カリウム	電極法	mEq/L
クロール	電量滴定法	mEq/L
以上の3項目は電解質分析装置(PVA-αIII, 株式会社アナリティカル・インスツルメンツ)を用いて測定した。		

### 5) 剖検及び器官重量の測定

雌雄とも投与期間終了後の採血を行ったのちに、放血致死させ、解剖して諸器官及び組織の肉眼的観察を行った。更に、雌については、黄体数及び着床痕数を調べ、着床率 [(着床数/黄体数)×100] 算出した。剖検後、下記の器官を測定するとともに、剖検日の体重を基に体重比器官重量(相対重量)を算出した。

脳	肝臓	精巣
心臓	脾臓	精巣上体
肺(気管支を含む)	腎臓	
胸腺	副腎	
肉眼的異常器官・組織(必要に応じて)		

### 6) 病理組織学検査

剖検後、下記の各器官・組織を 10%中性緩衝ホルマリン溶液(ただし、眼球、視神経及びハーダー腺は 2.5%グルタルアルデヒド溶液で、精巣及び精巣上体はブアン液でそれぞれ前固定)で固定した。固定後、対照群及び高用量群の器官・組織並びに肉眼的異常部位については、常法に従ってパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色を施し、光学顕微鏡下で観察した。また、200 mg/kg 群で被験物質投与に関連したと考えられる変化がみられた肝臓及び副腎については 12.5 及び 50 mg/kg 群まで同様に検査を行った。

脳	腎臓(両側)	膀胱
下垂体	副腎(両側)	精囊(凝固腺を含む)
脊髄	胃	前立腺(腹葉及び背側葉)
甲状腺(両側、上皮小体を含む)	十二指腸	精巣上体(両側)
下頸リンパ節	空腸	精巣(両側)
心臓	回腸	大腿骨(骨髓を含む)
肺(気管支を含む)	脾臓	乳腺
気管	盲腸	坐骨神経
胸腺	結腸	大腿二頭筋
肝臓	直腸	その他の病変部位
脾臓	腸間膜リンパ節	

### 7) 性周期検査及び生殖能力検査

雌について、投与開始日(投与 1 日)から 15 日間、毎日午前の一定時間に膣垢を採取し、性周期検査を行った。性周期検査では、発情回数を算出するとともに、発情期から次の発情期までの間の日数を発情周期日数とし、平均発情周期を算出した。

交配は投与 15 日の午後 4 時頃から、雌雄(12 週齢) 1 対 1 で一晩同居させる方法で行い、翌朝膣垢中の精子又は膣栓の存在により交尾を確認し、その日を妊娠 0 日とした。また、交配は同一群内で行い、交配期間は最長 2 週間とした。交配期間終了後、交尾所要日数、交尾率 [(交尾動物数/同居動物数) × 100] 及び受胎率 [(妊娠動物数/交尾動物数) × 100] を算出した。

### 8) 分娩及び哺育期(哺育 4 日まで)検査並びに新生児検査

交尾が確認された雌については全例を自然分娩させ、分娩徵候を含めた分娩状態並びに授乳及び営巣などの哺育状態を観察するとともに、妊娠期間、出産率 [(生児出産雌数/妊娠雌数) × 100] を算出した。なお、分娩の確認は午前中に限定し、12 時を過ぎて分娩した個体は、翌日に分娩をしたものと見なした。出産児については、分娩時に出産児数、新生児数、死産児数、新生児の性別及び外表異常を検査した。新生児については、出生日及び哺育 4 日に体重を個体ごとに測定するとともに出生率 [(新生児数/着床痕数) × 100]、死産率 [(死産児数/出産児数) × 100] 及び新生児の 4 日の生存率 [(哺育 4 日の生児数/新生児数) × 100] を算出した。哺育 4 日に新生児の全例をエーテル麻酔下で放血致死させ、器官・組織の肉眼的観察を行った。また、出産児(死産児及び死亡児を含む)については、剖検後一腹単位で純エタノールに固定保存した。

## 7. 統計解析

体重、摂餌量、尿検査値(定量値)、血液学検査値、血液生化学検査値、交尾所要日数、性周期検査値(発情回数、発情周期)、器官重量、体重比器官重量、妊娠期間、黄体数、着床痕数、総出産児数、新生児数及び新生児体重については、各群ごとに平均値と標準偏差を求め、対照群と被験物質投与群間でまず分散の均一性を Bartlett 法により検定した。分散が均一な場合は、Dunnett の多重比較検定を用いて対照群との比較を行い、分散が均一でない場合は、Steel の多重比較検定を用いて対照群との比較を行った。尿検査の試験紙法による結果、色調及び尿沈渣については、グレードを数値に変換したのち Steel の多重比較検定を行った。いず

れの場合も有意水準を 1 及び 5 % とし、両側検定とした。また、交尾率、受(授)胎率、出産率及び新生児の性比については  $\chi^2$  検定により、着床率、死産率、出生率及び新生児の 4 日の生存率については Wilcoxon の順位和検定により、病理組織学検査については Mann-Whitney の U 検定により対照群と各投与群間の比較を行った。いずれの場合も有意水準を 5 % とした。なお、新生児に関する測定値については一腹単位で処理した。

## 試験成績

### 1. 反復投与毒性

#### 1) 一般状態

一般状態所見を Table 1,2 及び Appendix 1,2 に示した。

各群の雌雄とも死亡の発生はなかった。一般状態では、200 mg/kg 群の雌 1 例で分娩後 1 日より剖検日まで陰部周辺に皮下の腫瘍が認められた。このほか、12.5 mg/kg 群の雄 1 例で投与 40 日から剖検日まで脱毛がみられたが、50 mg/kg 以上の群では同様の所見はみられていないことから、被験物質投与と関連のない偶発的変化と考えられた。

#### 2) 体重

体重推移を Fig.1,2, Table 3, 4 及び Appendix 3,4 に示した。

雄では、対照群と比較して有意な差はみられなかったものの、200 mg/kg 群で投与 36 ~ 46 日に体重の増加抑制傾向が認められた。

雌では、被験物質投与各群とも交配前の投与期間中に対照群と比較して有意な差は認められなかった。一方、妊娠及び哺育期間中では、200 mg/kg 群で体重の増加抑制傾向がみられ、このうち妊娠 21 日には対照群と比較して有意な低値が認められた。

#### 3) 摂餌量

摂餌量を Fig.3, 4, Table 5, 6 及び Appendix 5, 6 に示した。

雄では、対照群と比較して有意な差はみられなかったものの、200 mg/kg 群で投与 30 ~ 39 日に摂餌量の低値傾向が認められた。

雌では、50 mg/kg 群で妊娠 1 及び 4 日に対照群と比較して有意な低値がみられたが、200 mg/kg 群では同様の変化は認められていないことから、被験物質投与と関連のない偶発的変化と考えられた。

#### 4) 尿検査

雄について実施した尿検査の結果を Table 7 及び Appendix 7 に示した。

200 mg/kg 群で尿量の増加並びに尿比重及び浸透圧の低下が対照群と比較して有意にみられたほか、結晶出現の頻度の増加が対照群と比較して有意に認められた。

#### 5) 血液学検査

血液学検査の結果を Table 8, 9 及び Appendix 8, 9 に示した。

雄では、50 及び 200 mg/kg 群でプロトロンビン時間の延長が認められた。

雌では、12.5 mg/kg 群で MCV 及び MCH の高値、50 mg/kg 群で赤血球数及びヘモグロビン量の低値がみられたが、200 mg/kg 群では同様の変化は認められていないことから、被験物質投与と関連のない偶発的変化と考えられた。

#### 6) 血液生化学検査

血液生化学検査の結果を Table 10, 11 及び Appendix 10, 11 に示した。

雄では 50 mg/kg 以上の群で総コレステロールの高値、200 mg/kg 群で  $\gamma$ -GPT 及びリン脂質並びにクロールの低値が認められた。このほか、200 mg/kg 群でクレアチニンの高値がみられたが、生理的変動範囲内の変化であり、被験物質投与との関連はないと考えられた。

雌では 200 mg/kg 群でグルコースの高値が認められた。

#### 7) 剖検

剖検の結果を Table 12, 13 及び Appendix 12, 13 に示した。

雄では、12.5 mg/kg 群の 1 例で精巣上体の黄白色小結節、12.5 mg/kg 群の 1 例で頸部、胸部及び下腹部の皮膚の軽度脱毛が認められた。

雌では、200 mg/kg 群の 2 例で肝臓の軽度の肥大が認められた。このほか、対照群の 1 例で胸腺の軽度の小型化、200 mg/kg 群の 1 例で左副腎の軽度の小型化、200 mg/kg 群の 1 例

で下腹部皮下の灰白色腫瘤(一般状態でみられた皮下の腫瘤)が認められた。

### 8) 器官重量

器官重量の結果を Table 14, 15 及び Appendix 14, 15 に示した。

雄では、肝臓において 50 mg/kg 以上の群で相対重量の高値、200 mg/kg 群で絶対重量の高値が対照群と比較して有意に認められた。また、副腎において 12.5 mg/kg 以上の群で絶対重量の低値、12.5 及び 50 mg/kg 群で相対重量の低値が対照群と比較して有意に認められた。

雌では、肝臓において 200 mg/kg 群で絶対及び相対重量の高値が対照群と比較して有意に認められた。

### 9) 病理組織学的検査

病理組織学的検査の雄の検査結果を Table 16A(グレード別出現例数)及び 16B(総出現例数)並びに Appendix 16、雌の検査結果を Table 17A(グレード別出現例数)及び 17B(総出現例数) 並びに Appendix 17 に示した。

肝臓において 50 mg/kg 群の雄 2 例、200 mg/kg 群の雄 9 例及び雌 6 例で小葉中心性の肝細胞の軽度肥大(Photo.1~2)が認められた。このほか、対照群の雄 4 例及び雌 1 例、12.5 mg/kg 群の雄 2 例及び 50 mg/kg 群の雄 1 例で門脈周囲性の肝細胞の軽度脂肪化がみられたが、200 mg/kg 群の雄では肝細胞の脂肪化は認められず、発現頻度が減少した。

副腎において 12.5 及び 50 mg/kg 群の雄各 2 例、200 mg/kg 群の雄 3 例で束状帯細胞の軽度萎縮(Photo.3~4)が認められた。また、対照群の雄 1 例及び雌 3 例、12.5 mg/kg 群の雄 1 例及び雌 4 例、50 mg/kg 群の雄 2 例及び雌 4 例並びに 200 mg/kg 群の雄 8 例及び雌 3 例で球状帯細胞の軽度肥大(Photo.3~4)がみられ、200 mg/kg 群の雄では対照群と比較して発現頻度が有意に增加了。これらのほか、肉眼的に左副腎の軽度の小型化がみられた 200 mg/kg 群の雌 1 例では、髓質に相当する部位に鉱質沈着が認められたが、同例の右副腎には異常はなく、同群の他の雌にも異常はみられなかったことから、被験物質投与と関連のない偶発性変化と考えられた。

肉眼的に下腹部皮下の灰白色腫瘤がみられた 200 mg/kg 群の雌 1 例では、乳腺の腺癌が認められた。肉眼的に精巣上体の黄白色結節がみられた 12.5 mg/kg 群の雄 1 例では、精巣上体の精子肉芽腫がみられたが、同様の変化は 50 mg/kg 以上の群では認められていないこ

とから、被験物質投与と関連のない偶発的変化と考えられた。肉眼的に脱毛がみられた 12.5 mg/kg 群の雄 1 例の皮膚については、異常は認められなかった。なお、肉眼的に胸腺の小型化がみられた対照群の雌 1 例では、胸腺の皮質の軽度萎縮のほか、脾臓の軽度萎縮及び腎臓の近位尿細管上皮細胞の軽度空胞変性も認められた。

このほか、対照群の雄 4 例及び雌 2 例、並びに 200 mg/kg 群の雄 2 例及び雌 1 例で肺の軽度の泡状細胞集簇、対照群の雌 9 例及び 200 mg/kg 群の雌 5 例で脾臓の軽度の髓外造血、対照群の雄 1 例及び 200 mg/kg 群の雄 3 例で腎臓の軽度ないし中等度の好塩基性尿細管、対照群の雄 1 例及び 200 mg/kg 群の雄 2 例で軽度のタンパク円柱、対照群の雄 1 例で軽度のリンパ球浸潤、対照群の雄 3 例で前立腺の軽度リンパ球浸潤がみられたが、いずれも対照群と比較して発現頻度に差はないことから、被験物質投与と関連のない偶発的変化と考えられた。

## 2. 生殖発生毒性

### 1) 性周期検査及び生殖能力検査

性周期検査及び生殖能力検査の成績を Table 18 及び Appendix 18, 19 に示した。

性周期検査では、被験物質投与各群とも対照群と比較して発情回数及び発情周期に有意な差は認められなかった。

生殖能力検査では、各群ともすべての例で交尾がみられ、全例妊娠した。したがって、交尾率及び受胎率は各群とも 100 % であった。また、交尾所要日数においても、対照群と被験物質投与各群との間に有意な差は認められなかった。

### 2) 分娩及び哺育期(哺育 4 日まで)検査並びに新生児検査

分娩及び哺育期検査の成績を Table 19 及び Appendix 20 に示した。

分娩時の検査では、各群とも妊娠期間、黄体数、着床痕数、着床率、出産児数、出生率、新生児数、雌雄新生児体重、死産率、出産率及び新生児の性比に対照群と比較して有意な差は認められなかった。新生児の外表検査においても、各群とも異常は認められなかった。

哺育期の検査では、各群とも新生児の哺育 4 日の生存率及び体重に対照群と比較して有意な差は認められなかった。

## 考 察

1,4-ジメチル-2-(1-フェニルエチル)ベンゼンの安全性に関する毒性試験の一環として、交配前14日間、雄ではその後交配期間を含む35日間、雌では交配期間、妊娠期間及び哺育3日まで通して経口投与し、親動物に対する反復投与毒性及び生殖能力並びに次世代児の発生・発育に及ぼす影響について検討した。

### 1. 反復投与毒性試験

各群の雌雄とも死亡の発生はなく、一般状態にも被験物質投与の影響は認められなかった。

体重では、200 mg/kg 群の雄で投与後期に、雌で妊娠及び哺育期間中に体重の増加抑制あるいは増加抑制傾向が認められた。摂餌量では、200 mg/kg 群の雄で投与後期に低値傾向が認められた。

雄について実施した尿検査では、200 mg/kg 群で尿量の増加とそれに伴うと考えられる浸透圧及び比重の低下並びに結晶出現の頻度の増加が認められた。しかし、病理組織学的検査では腎障害を示唆する所見は認められなかった。

血液学検査では、50 及び 200 mg/kg 群の雄でプロトロンビン時間の延長が認められた。しかし、その他の血液凝固系に関連する項目の異常及び肝臓の傷害性変化は認められなかった。

血液生化学検査では、50 mg/kg 以上の群の雄で総コレステロールの高値、200 mg/kg 群の雄でγ-GPT 及びリリン脂質の高値、200 mg/kg 群の雌でグルコースの高値がみられ、被験物質の肝臓における糖代謝及び脂質代謝機能などへの影響が示唆された。また、200 mg/kg 群の雄ではクレアチニンの高値並びにクロールの低値がみられたが、尿素窒素及び他の電解質に変動は認められなかった。

病理学的検査では、50 mg/kg 以上の群の雄及び 200 mg/kg 群の雌で肝臓重量の増加が認められ、組織学的には小葉中心性の肝細胞肥大が認められた。このような小葉中心性の肝細胞肥大は薬物代謝酵素の誘導に関連して生じる<sup>1)</sup>ことが知られており、本試験でも同様の機序により生じたものと考えられた。また、門脈周囲性の肝細胞の脂肪化の発現頻度が、200 mg/kg 群の雄で減少した。このほか、12.5 mg/kg 以上の群の雄で副腎重量の低値がみられ、組織学的には束状帶細胞の軽度萎縮が認められた。この変化についての発生機序は明らかではなかった。また、200 mg/kg 群の雄では球状帶細胞の肥大の発現頻度が増加した。球状帶細胞の肥大は、利尿剤の投与により

発現することが報告されており、電解質バランスの不均衡により生じるとかんがえられている<sup>2)</sup>。前述のように、200 mg/kg 群の雄では、尿量の増加が認められており、本変化との関連が疑われた。そのほか、200 mg/kg 群の雌 1 例で乳腺の腺癌が認められた。乳腺の腺癌については、稀ではあるが同系統同週齢の雌動物で発生が報告されており<sup>3~6)</sup>、本試験でも 1 例のみに認められた変化であることから、被験物質投与と関連のない偶発的変化と考えられた。

以上のように、反復投与毒性では、12.5 mg/kg 以上の群の雄で副腎への影響、50 mg/kg 以上の群の雄及び 200 mg/kg 群の雌で肝臓への影響が認められたことから、本試験条件下における反復投与毒性に対する無影響量は雄で 12.5 mg/kg/day 未満、雌で 50 mg/kg/day と推察された。

## 2. 生殖発生毒性

親動物の生殖機能に関しては、発情回数、発情周期、交尾所要日数、黄体数、交尾率、着床痕数及び受胎率に被験物質投与の影響は認められなかった。

分娩時の観察では、妊娠期間、出産率、出産児数、出生率、新生児数、雌雄出生児体重、死産率、及び新生児の性比に被験物質投与の影響はみられず、外表異常の発現も認められなかった。哺育期の観察では、出生児の生後 4 日の生存率及び体重に被験物質投与の影響は認められなかつた。

以上のように、生殖発生毒性では、親動物の生殖能力及び次世代児の発生・発育に及ぼす影響はいずれの群においても認められなかつたことから、本試験条件下における生殖発生毒性に対する無影響量は親動物及び児動物ともに 200 mg/kg/day と推察された。

## 参考文献

- 1) J.R. Glaister, "Principles of toxicological pathology" Taylor & Francis, London and Philadelphia, 1986, pp83-85.
- 2) Gopinath C, Prentice D.E., Lewis D.J., "Atlas of Experimental Toxicological Pathology" MTP press, Lancaster, 1987, pp104-108.
- 3) 監修 厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室, 化学物質毒性試験報告, 化学物質点検推進連絡協議会, Vol.2, pp157-162, 1995.
- 4) 監修 厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室, 化学物質毒性試験報告, 化学物質点検推進連絡協議会, Vol.5, pp643-659, 1997.
- 5) 監修 厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室, 化学物質毒性試験報告, 化学物質点検推進連絡協議会, Vol.5, pp735-745, 1997.
- 6) 監修 厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室, 化学物質毒性試験報告, 化学物質点検推進連絡協議会, Vol.7, pp247-257, 1999.

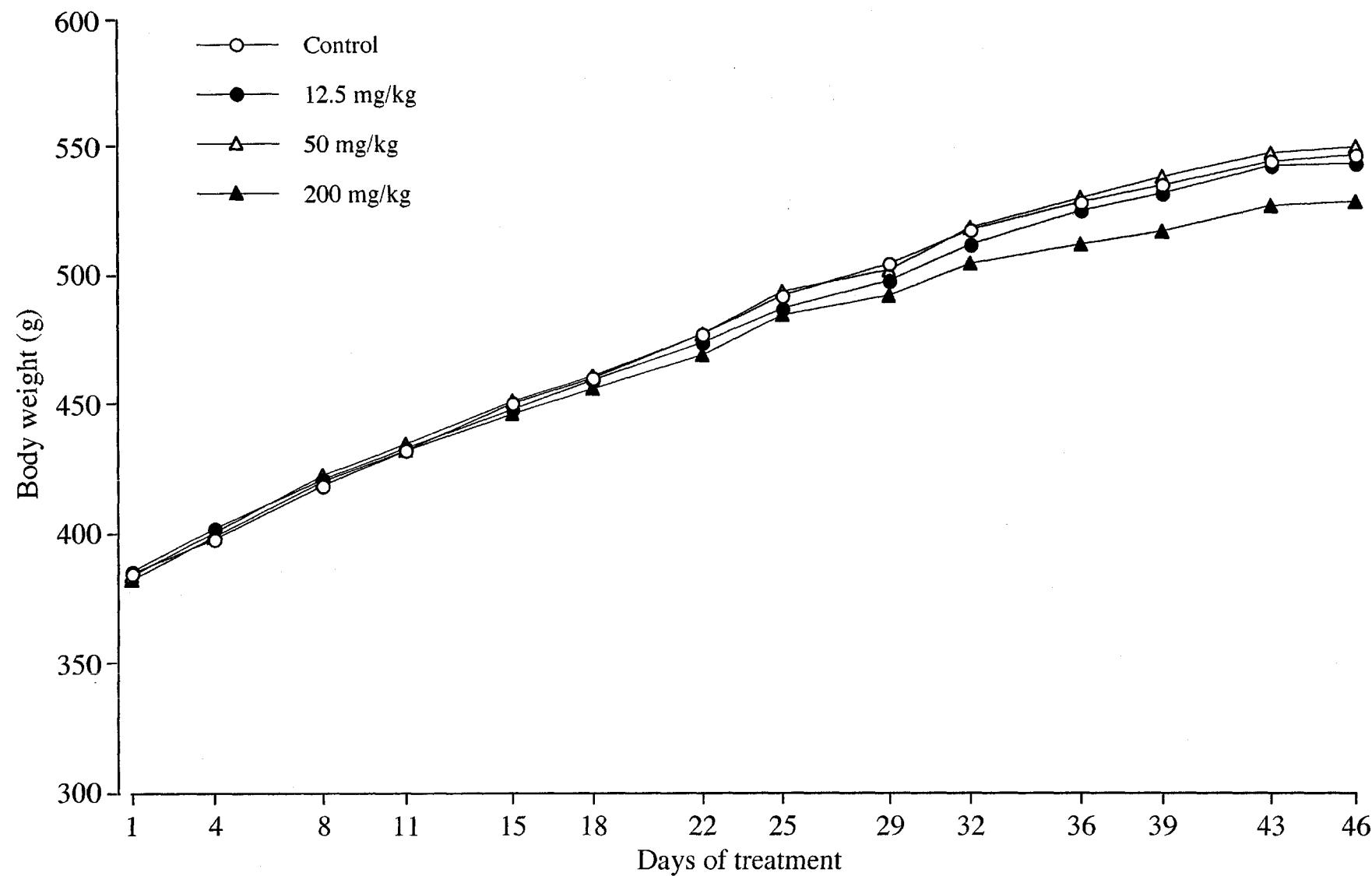


Fig. 1 Mean body weight changes of male rats treated orally with Benzene, 1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test.

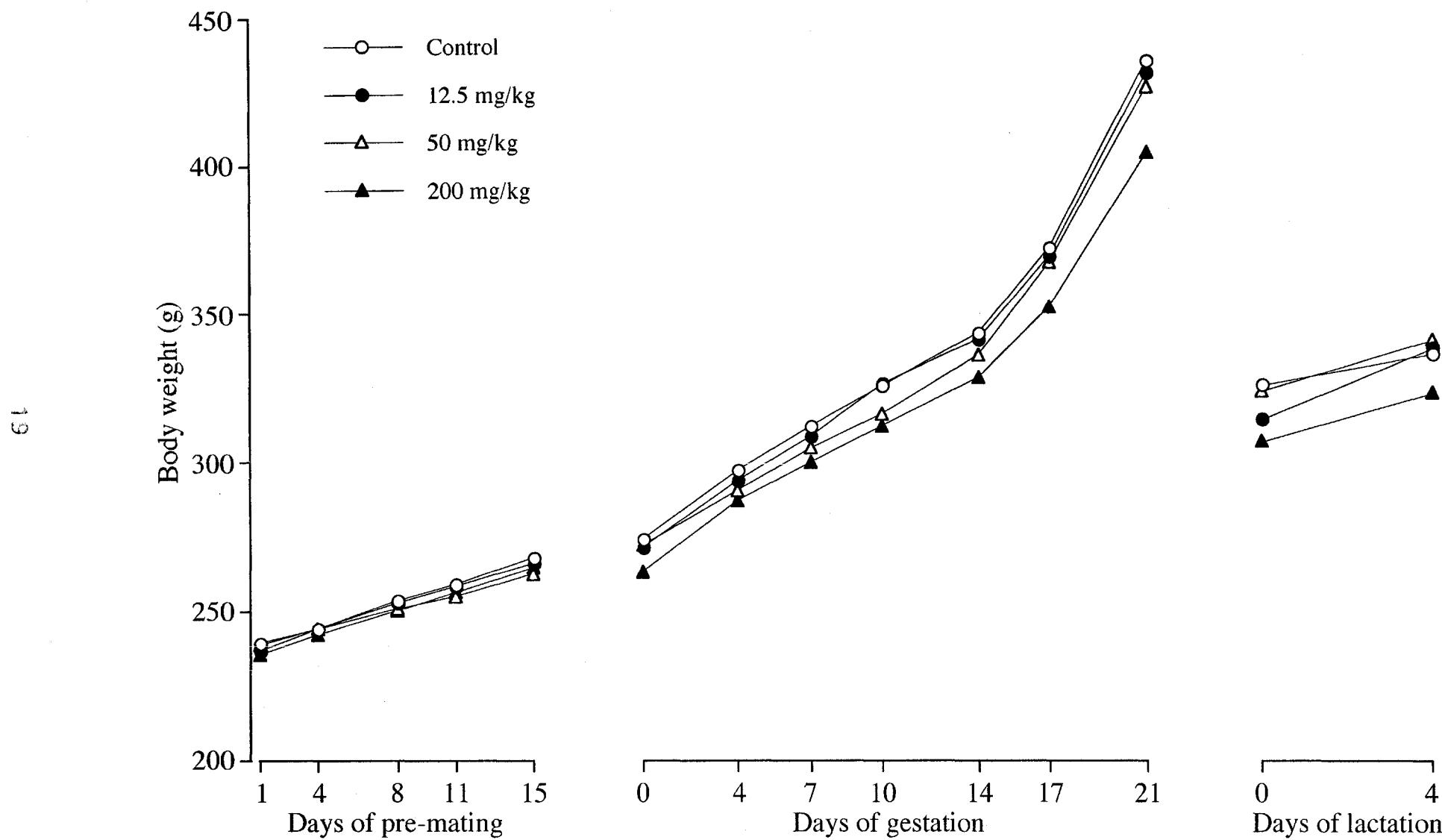


Fig. 2 Mean body weight changes of female rats treated orally with Benzene,1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test.

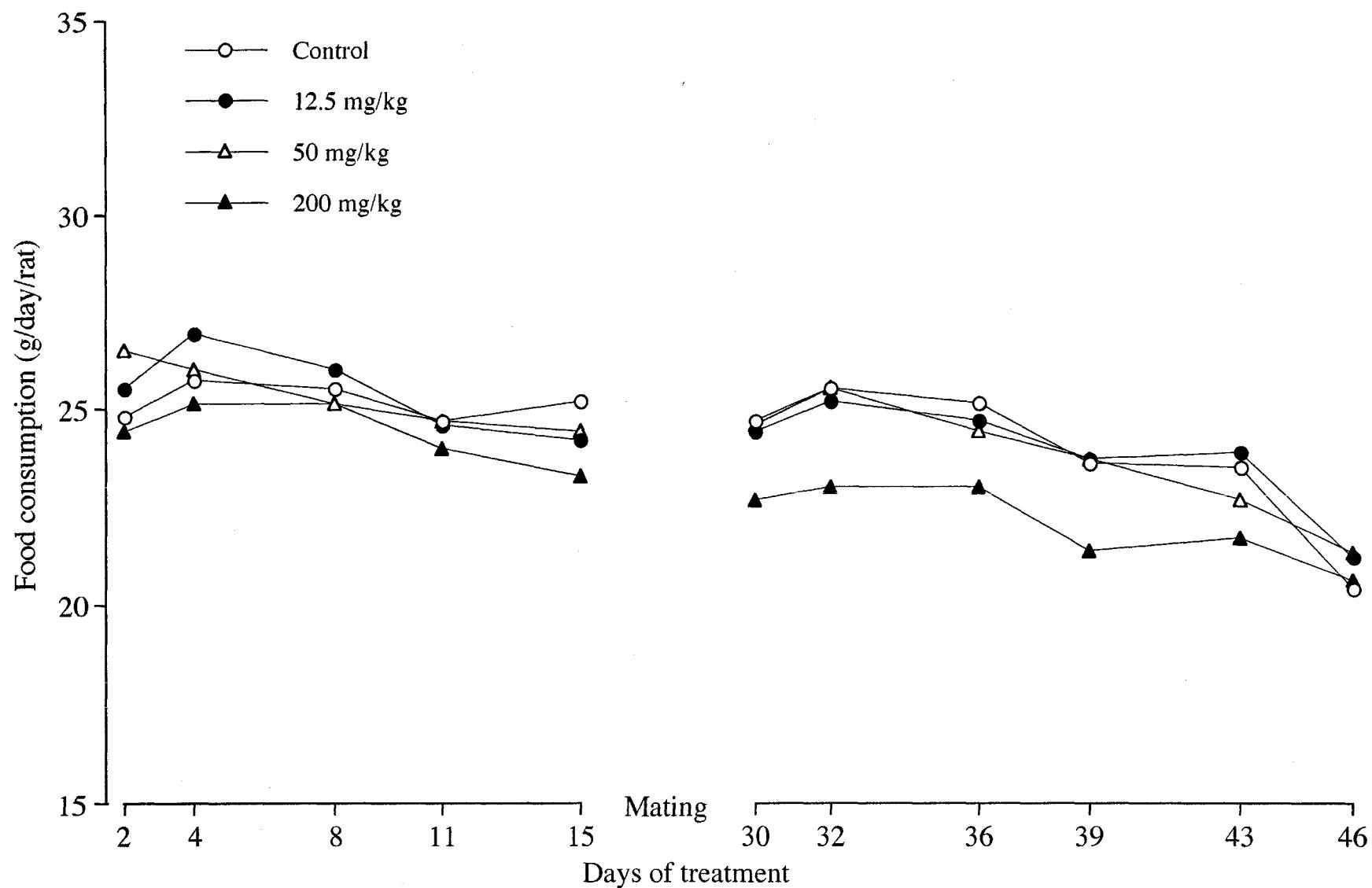


Fig. 3 Mean food consumption of male rats treated orally with Benzene,1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test.

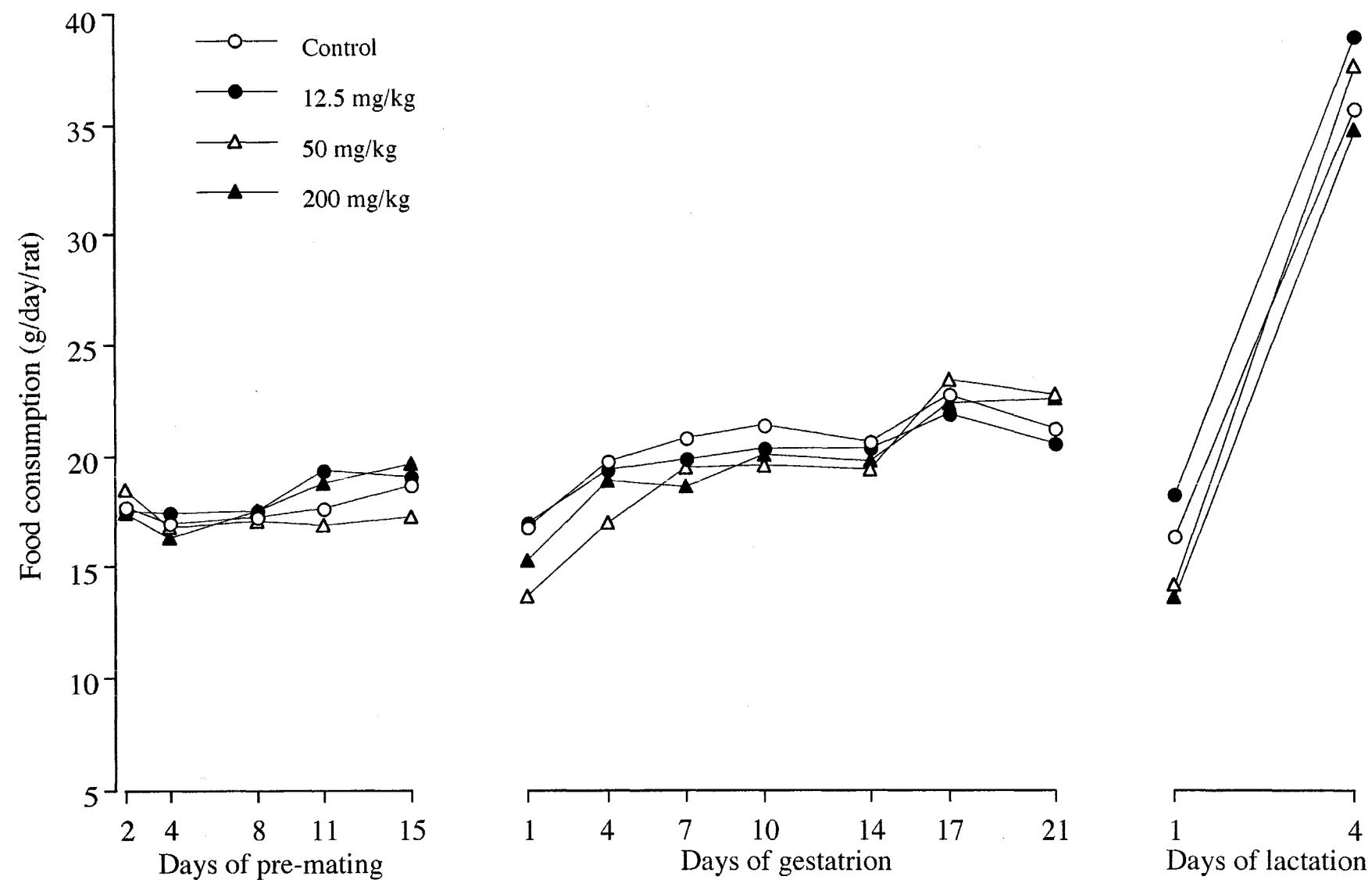


Fig. 4 Mean food consumption of female rats treated orally with Benzene,1,4-dimethyl -2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test.

Table 1 Clinical signs of male rats treated orally with Benzene, 1, 4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group and dose	Clinical sign	Days of treatment																	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Control	Number of examined	12	12	12	12	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	12	12	12	12
12.5 mg/kg	Number of examined	12	12	12	12	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	12	12	12	12
	Loss of hair	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
50 mg/kg	Number of examined	12	12	12	12	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	12	12	12	12
200 mg/kg	Number of examined	12	12	12	12	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	12	12	12	12

Table 1 - continued Clinical signs of male rats treated orally with Benzene, 1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group and dose	Clinical sign	Days of treatment																	
		19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36
Control	Number of examined	12	12	12	12	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	12	12	12	12
12.5 mg/kg	Number of examined	12	12	12	12	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	12	12	12	12
	Loss of hair	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
50 mg/kg	Number of examined	12	12	12	12	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	12	12	12	12
200 mg/kg	Number of examined	12	12	12	12	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	12	12	12	12

NO  
CO

Table 1 - continued      Clinical signs of male rats treated orally with Benzene, 1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group and dose	Sex	Clinical sign	Days of treatment										
			38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	
Control	Male	Number of examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
12.5 mg/kg	Male	Number of examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	11	11	11	11	11	11	11	11	11
		Loss of hair	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
50 mg/kg	Male	Number of examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
200 mg/kg	Male	Number of examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12

2  
4

Table 2 Clinical signs of female rats treated orally with Benzene, 1, 4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group and dose	Clinical sign	Days of pre-mating													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Control	Number of examined	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
12.5 mg/kg	Number of examined	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
50 mg/kg	Number of examined	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
200 mg/kg	Number of examined	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

Table 2 - continued      Clinical signs of female rats treated orally with Benzene, 1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group and dose	Clinical sign	Days of mating			
		16	17	18	19
Control	Number of examined	12	6	5	3
	No abnormality	12	6	5	3
12.5 mg/kg	Number of examined	12	8	5	1
	No abnormality	12	8	5	1
50 mg/kg	Number of examined	12	9	6	5
	No abnormality	12	9	6	5
200 mg/kg	Number of examined	12	7	3	0
	No abnormality	12	7	3	0

**Table 2 - continued** Clinical signs of female rats treated orally with Benzene, 1, 4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Study No. 40006

**Table 2 – continued** Clinical signs of female rats treated orally with Benzene, 1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Table 2 - continued      Clinical signs of female rats treated orally with Benzene, 1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group and dose	Clinical sign	Days of lactation				
		0	1	2	3	4
Control	Number of examined	12	12	12	12	12
	No abnormality	12	12	12	12	12
12.5 mg/kg	Number of examined	12	12	12	12	12
	No abnormality	12	12	12	12	12
50 mg/kg	Number of examined	12	12	12	12	12
	No abnormality	12	12	12	12	12
200 mg/kg	Number of examined	12	12	12	12	12
	No abnormality	12	11	11	11	11
	Integumentary mass	0	1	1	1	1

Table 3 Body weights of male rats treated orally with Benzene, 1, 4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group and dose	Control	12.5 mg/kg	50 mg/kg	200 mg/kg
Body weight (g)				
Days of treatment	1	384.3 ± 15.7 ( 12)	385.2 ± 15.5 ( 12)	383.6 ± 16.5 ( 12)
	4	397.1 ± 18.2 ( 12)	401.7 ± 18.3 ( 12)	400.0 ± 17.5 ( 12)
	8	417.9 ± 19.8 ( 12)	420.1 ± 19.7 ( 12)	421.6 ± 20.5 ( 12)
	11	431.7 ± 23.5 ( 12)	432.2 ± 21.1 ( 12)	434.1 ± 22.9 ( 12)
	15	449.7 ± 25.7 ( 12)	447.2 ± 22.0 ( 12)	450.2 ± 26.0 ( 12)
	18	459.5 ± 26.3 ( 12)	458.1 ± 21.6 ( 12)	459.6 ± 28.0 ( 12)
	22	476.0 ± 26.3 ( 12)	473.3 ± 22.8 ( 12)	476.4 ± 29.0 ( 12)
	25	491.0 ± 28.4 ( 12)	486.1 ± 22.4 ( 12)	492.7 ± 29.1 ( 12)
	29	503.1 ± 31.8 ( 12)	496.6 ± 23.7 ( 12)	500.5 ± 30.5 ( 12)
	32	516.3 ± 33.5 ( 12)	510.3 ± 23.5 ( 12)	516.6 ± 31.6 ( 12)
	36	526.5 ± 37.7 ( 12)	523.3 ± 26.0 ( 12)	528.0 ± 33.9 ( 12)
	39	533.6 ± 38.3 ( 12)	530.3 ± 27.1 ( 12)	536.5 ± 35.0 ( 12)
	43	542.6 ± 40.7 ( 12)	540.2 ± 28.8 ( 12)	545.5 ± 35.1 ( 12)
	46	544.5 ± 40.5 ( 12)	541.3 ± 28.5 ( 12)	548.3 ± 33.6 ( 12)

Not significantly different from control.

Values are mean ± S.D. and the values in parentheses represent the number of animals.

Table 4 Body weights of female rats treated orally with Benzene, 1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group and dose		Control			12.5 mg/kg			50 mg/kg			200 mg/kg		
		Body weight (g)											
Days of pre-mating	1	239.2 ±	13.8 ( 12)	236.5 ±	15.8 ( 12)	238.3 ±	12.5 ( 12)	235.1 ±	11.8 ( 12)				
	4	243.9 ±	18.8 ( 12)	243.7 ±	16.4 ( 12)	243.7 ±	15.6 ( 12)	241.5 ±	13.1 ( 12)				
	8	253.5 ±	20.4 ( 12)	252.3 ±	18.3 ( 12)	250.6 ±	17.1 ( 12)	249.8 ±	13.5 ( 12)				
	11	258.5 ±	20.2 ( 12)	258.0 ±	17.7 ( 12)	254.9 ±	15.7 ( 12)	255.8 ±	13.4 ( 12)				
	15	267.5 ±	20.8 ( 12)	265.8 ±	20.1 ( 12)	262.2 ±	19.3 ( 12)	264.1 ±	14.2 ( 12)				
Days of gestation	0	273.9 ±	20.6 ( 12)	271.0 ±	22.1 ( 12)	271.4 ±	21.7 ( 12)	262.6 ±	13.7 ( 12)				
	4	296.6 ±	21.2 ( 12)	293.4 ±	22.9 ( 12)	289.9 ±	21.4 ( 12)	286.6 ±	12.6 ( 12)				
	7	311.8 ±	22.1 ( 12)	308.0 ±	24.8 ( 12)	304.0 ±	19.6 ( 12)	299.3 ±	16.1 ( 12)				
	10	325.5 ±	22.4 ( 12)	325.6 ±	23.8 ( 12)	315.9 ±	17.8 ( 12)	311.8 ±	15.8 ( 12)				
	14	343.1 ±	24.6 ( 12)	340.9 ±	23.7 ( 12)	335.3 ±	19.5 ( 12)	327.6 ±	16.2 ( 12)				
	17	371.3 ±	22.2 ( 12)	368.7 ±	24.1 ( 12)	366.7 ±	22.5 ( 12)	351.4 ±	20.7 ( 12)				
	21	434.1 ±	23.6 ( 12)	430.0 ±	26.8 ( 12)	425.3 ±	27.1 ( 12)	403.1 ±	33.5* ( 12)				
Days of lactation	0	325.5 ±	33.3 ( 12)	313.8 ±	25.6 ( 12)	322.8 ±	23.7 ( 12)	306.3 ±	22.6 ( 12)				
	4	335.2 ±	41.4 ( 12)	337.6 ±	21.7 ( 12)	340.2 ±	21.6 ( 12)	322.3 ±	19.1 ( 12)				

\*: P<0.05 (significantly different from control).

Values are mean ± S.D. and the values in parentheses represent the number of animals.

Table 5 Food consumption of male rats treated orally with Benzene, 1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group and dose	Control			12.5 mg/kg			50 mg/kg			200 mg/kg			
				Food consumption (g/day/rat)									
Days of treatment	2	24.8 ±	2.0	( 12)	25.5 ±	2.8	( 12)	26.5 ±	3.2	( 12)	24.4 ±	2.4	( 12)
	4	25.7 ±	3.1	( 12)	26.9 ±	3.2	( 12)	26.0 ±	2.4	( 12)	25.1 ±	3.3	( 12)
	8	25.5 ±	2.3	( 12)	26.0 ±	3.4	( 12)	25.1 ±	2.0	( 12)	25.1 ±	2.6	( 12)
	11	24.7 ±	2.7	( 12)	24.6 ±	2.4	( 12)	24.7 ±	1.8	( 12)	24.0 ±	3.0	( 12)
	15	25.2 ±	3.2	( 12)	24.2 ±	2.1	( 12)	24.4 ±	2.6	( 12)	23.3 ±	2.2	( 12)
	30	24.7 ±	3.3	( 12)	24.4 ±	2.6	( 12)	24.6 ±	1.9	( 12)	22.7 ±	2.3	( 12)
	32	25.5 ±	3.9	( 12)	25.2 ±	2.7	( 12)	25.5 ±	2.7	( 12)	23.0 ±	3.5	( 12)
	36	25.1 ±	4.1	( 12)	24.7 ±	3.8	( 12)	24.4 ±	2.0	( 12)	23.0 ±	1.8	( 12)
	39	23.6 ±	3.6	( 12)	23.7 ±	3.5	( 12)	23.7 ±	2.5	( 12)	21.4 ±	2.7	( 12)
	43	23.5 ±	4.1	( 12)	23.9 ±	3.5	( 12)	22.7 ±	2.0	( 12)	21.7 ±	2.4	( 12)
	46	20.4 ±	2.7	( 12)	21.2 ±	2.8	( 12)	21.3 ±	2.8	( 12)	20.6 ±	2.8	( 12)

Not significantly different from control.

Values are mean ± S.D. and the values in parentheses represent the number of animals.

Table 6 Food consumption of female rats treated orally with Benzene, 1, 4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group and dose		Control			12.5 mg/kg			50 mg/kg			200 mg/kg		
Food consumption (g/day/rat)													
Days of pre-mating	2	17.7±	2.5	( 12)	17.5±	3.0	( 12)	18.4±	2.0	( 12)	17.4±	2.7	( 12)
	4	16.9±	3.7	( 12)	17.4±	3.6	( 12)	16.7±	2.7	( 12)	16.3±	3.6	( 12)
	8	17.2±	3.8	( 12)	17.5±	4.2	( 12)	17.0±	2.8	( 12)	17.5±	3.6	( 12)
	11	17.6±	2.6	( 12)	19.3±	2.3	( 12)	16.8±	3.1	( 12)	18.7±	2.1	( 12)
	15	18.6±	3.0	( 12)	19.0±	2.2	( 12)	17.2±	3.5	( 12)	19.6±	2.4	( 12)
Days of gestation	1	16.7±	2.5	( 12)	16.9±	3.6	( 12)	13.6±	2.9*	( 12)	15.2±	2.2	( 12)
	4	19.7±	3.2	( 12)	19.3±	2.2	( 12)	16.9±	2.6*	( 12)	18.8±	3.0	( 12)
	7	20.7±	3.7	( 12)	19.8±	3.2	( 12)	19.4±	3.4	( 12)	18.5±	2.6	( 12)
	10	21.3±	2.9	( 12)	20.2±	2.3	( 12)	19.5±	2.8	( 12)	20.0±	3.2	( 12)
	14	20.5±	2.2	( 12)	20.2±	2.6	( 12)	19.3±	2.6	( 12)	19.7±	2.5	( 12)
	17	22.6±	2.7	( 12)	21.8±	1.9	( 12)	23.3±	3.1	( 12)	22.2±	1.8	( 12)
	21	21.1±	4.2	( 12)	20.4±	3.0	( 12)	22.6±	3.2	( 12)	22.4±	4.1	( 12)
Days of lactation	1	16.3±	9.0	( 12)	18.2±	4.0	( 12)	14.1±	6.8	( 12)	13.5±	5.1	( 12)
	4	35.4±	12.0	( 12)	38.7±	5.5	( 12)	37.3±	6.9	( 12)	34.5±	6.7	( 12)

\*: P<0.05 (significantly different from control).

Values are mean±S.D. and the values in parentheses represent the number of animals.

Table 7 Urinary findings of male rats treated orally with Benzen, 1, 4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reoroductive/developmental toxicity screening test

Sex	Group and dose	Urine volume		Osmotic pressure	Specific gravity
		(mL/24hr)		(Osm/kg)	
Male	Control	N	12	12	12
		Mean	11.5	1.672	1.056
		S. D.	±4.7	±0.548	±0.017
	12.5 mg/kg	N	12	12	12
		Mean	13.3	1.515	1.050
		S. D.	±5.1	±0.527	±0.015
	50 mg/kg	N	12	12	12
		Mean	11.5	1.638	1.056
		S. D.	±4.0	±0.520	±0.017
	200 mg/kg	N	12	12	12
		Mean	20.0**	0.992**	1.036**
		S. D.	±5.0	±0.252	±0.008

\*\*: P<0.01 (significantly different from control).

Table 7 - continued

Urinary findings of male rats treated orally with Benzen, 1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Sex	Group and dose	Number of animals	pH			Protein				Glucose		Ketone body		Bilirubin	
			7.0	7.5	8.0	-	±	+	++	-	-	-	-	-	-
Male	Control	12	0	2	10	1	3	8	0	12	12	12	12	12	12
	12.5 mg/kg	12	0	3	9	0	4	5	3	12	12	12	12	12	12
	50 mg/kg	12	1	0	11	0	5	4	3	12	12	12	12	12	12
	200 mg/kg	12	2	4	6	1	3	7	1	12	12	12	12	12	12

Not significantly different from control.

Grade sign: -, none; ±, trace; +, mild; ++, moderate; +++, marked; +++, very marked.

Table 7 - continued

Urinary findings of male rats treated orally with Benzen, 1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Sex	Group and dose	Number of animals	Occult blood -	Urobilinogen (mg/dL)			Color	
				<1	PY	Y		
Male	Control	12	12	12	3	9		
	12.5 mg/kg	12	12	12	2	10		
	50 mg/kg	12	12	12	0	12		
	200 mg/kg	12	12	12	1	11		

Not significantly different from control.

Abbreviation: PY, pale yellow; Y, yellow.

Table 7 - continued

Urinary findings of male rats treated orally with Benzen, 1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Sex	Group and dose	Number of animals	Urinary sediment						
			-	-	-	-	-	-	+
Male	Control	12	12	12	12	12	12	0	0
	12.5 mg/kg	12	12	12	12	12	12	0	0
	50 mg/kg	12	12	12	12	12	12	0	0
	200 mg/kg	12	12	12	12	12	5	3	4**

\*\*: P<0.01 (significantly different from control).

Grade signs are as follows.

Epithelial cells: -, < 3/field; +, 3/field  $\leq$  and < 10/field; ++, 10/field  $\leq$  and < 20/field; +++,  $\geq$  20/field.

Erythrocytes : -, < 10/field; +, 10/field  $\leq$  and < 30/field; ++, 30/field  $\leq$  and < 100/field; +++, countless.

Leukocytes : -, < 3/field; +, 3/field  $\leq$  and < 20/field; ++, 20/field  $\leq$  and < 40/field; +++,  $\geq$  40/field.

Casts : -, none; +,  $\geq$  1/all field.

Crystals : -, < 10/field; +, 10/field  $\leq$  and < 20/field; ++, 20/field  $\leq$  and < 30/field; +++, countless.

Table 8 Hematological findings of male rats treated orally with Benzen, 1, 4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group and dose	Control	12.5 mg/kg	50 mg/kg	200 mg/kg
No. of animals	12	12	12	12
Leukocytes ( $10^3/\mu\text{L}$ )	75.0 ±19	81.0 ±28	87.0 ±23	82.0 ±28
Erythrocytes ( $10^6/\mu\text{L}$ )	877 ±43	888 ±43	859 ±47	850 ±40
Hemoglobin (g/dL)	14.8 ±0.6	14.9 ±0.5	14.7 ±0.5	14.5 ±0.6
Hematocrit (%)	47.2 ±2.0	47.6 ±1.9	46.8 ±1.7	46.1 ±1.9
MCV (fL)	54.0 ±2.0	54.0 ±2.0	55.0 ±2.0	54.0 ±2.0
MCH (pg)	16.9 ±0.5	16.8 ±0.5	17.1 ±0.7	17.1 ±0.6
MCHC (%)	31.4 ±0.6	31.3 ±0.6	31.4 ±0.6	31.4 ±0.5
Platelets ( $10^3/\mu\text{L}$ )	93.3 ±7.9	88.7 ±8.8	92.0 ±8.4	95.2 ±11.1
PT (sec)	14.5 ±1.4	15.9 ±1.9	17.4 ±2.6**	18.9 ±2.2**
APTT (sec)	19.7 ±3.7	21.6 ±3.9	21.8 ±3.5	23.0 ±3.8
Fibrinogen (mg/dL)	225.8 ±15.6	227.9 ±22.2	218.6 ±15.9	231.5 ±16.1

\*\*: P<0.01 (significantly different from control).

Values are mean ± S. D.

Table 9 Hematological findings of female rats treated orally with Benzen, 1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

	Control	12.5 mg/kg	50 mg/kg	200 mg/kg
No. of animals	12	12	12	12
Leukocytes ( $10^3/\mu\text{L}$ )	70.0 ± 19	93.0 ± 25	75.0 ± 30	69.0 ± 24
Erythrocytes ( $10^6/\mu\text{L}$ )	656 ± 54	617 ± 36	601 ± 23*	650 ± 58
Hemoglobin (g/dL)	11.7 ± 0.7	11.4 ± 0.5	11.0 ± 0.4*	11.7 ± 1.0
Hematocrit (%)	39.0 ± 1.9	39.0 ± 1.7	37.5 ± 1.7	39.5 ± 2.9
MCV (fL)	60.0 ± 5.0	63.0 ± 3.0*	63.0 ± 3.0	61.0 ± 2.0
MCH (pg)	17.9 ± 0.8	18.5 ± 0.5*	18.3 ± 0.5	18.1 ± 0.5
MCHC (%)	30.0 ± 2.2	29.2 ± 0.8	29.3 ± 0.7	29.7 ± 0.7
Platelets ( $10^3/\mu\text{L}$ )	113.8 ± 21.2	104.2 ± 13.7	106 ± 20.5	104.5 ± 9.3
PT (sec)	13.1 ± 1.0	12.2 ± 1.6	12.8 ± 1.2	12.7 ± 1.1
APTT (sec)	17.9 ± 2.6	18.5 ± 2.3	18.5 ± 2.7	16.3 ± 2.6
Fibrinogen (mg/dL)	238.4 ± 18.4	236.8 ± 14.2	247.7 ± 59.9	221.5 ± 19.5

\*: P<0.05 (significantly different from control).

Values are mean ± S. D.

Table 10 Biochemical findings of male rats treated orally with Benzen, 1, 4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

	Control	12.5 mg/kg	50 mg/kg	200 mg/kg
No. of animals	12	12	12	12
T. Protein (g/dL)	5.6 ± 0.2	5.6 ± 0.3	5.5 ± 0.2	5.7 ± 0.2
Albumin (g/dL)	3.8 ± 0.2	3.9 ± 0.2	3.9 ± 0.2	3.9 ± 0.1
A/G ratio	2.15 ± 0.23	2.26 ± 0.38	2.32 ± 0.31	2.27 ± 0.22
T. Bilirubin (mg/dL)	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
GOT (IU/L)	80.0 ± 15	86.0 ± 13	82.0 ± 10	75.0 ± 13
GPT (IU/L)	22.0 ± 4.0	27.0 ± 7.0	23.0 ± 3.0	20.0 ± 4.0
γ-GTP (IU/L)	0.5 ± 0.3	0.6 ± 0.2	0.7 ± 0.2	1.0 ± 0.5*
ALP (IU/L)	211 ± 63	194 ± 36	179 ± 39	191 ± 53
T. Cholesterol (mg/dL)	53.0 ± 12	61.0 ± 11	69.0 ± 12*	90.0 ± 17**
Triglycerides (mg/dL)	59.0 ± 35	47.0 ± 20	44.0 ± 14	41.0 ± 11
Phospholipids (mg/dL)	99.0 ± 20	109 ± 18	114 ± 14	150 ± 26**
Glucose (mg/dL)	120 ± 10	116 ± 11	117 ± 6.0	113 ± 10
BUN (mg/dL)	15.4 ± 1.7	15.3 ± 1.3	15.7 ± 1.0	17.1 ± 2.5
Creatinine (mg/dL)	0.4 ± 0.1	0.4 ± 0.0	0.4 ± 0.1	0.5 ± 0.1**
IP (mg/dL)	6.9 ± 0.8	6.5 ± 0.9	6.6 ± 0.7	6.1 ± 0.7
Ca (mg/dL)	10.1 ± 0.3	10.0 ± 0.3	10.1 ± 0.4	10.2 ± 0.2
Na (mEq/L)	144.6 ± 0.7	144.5 ± 0.6	144.4 ± 1.1	144.2 ± 1.1
K (mEq/L)	4.21 ± 0.13	4.28 ± 0.18	4.24 ± 0.20	4.04 ± 0.26
Cl (mEq/L)	106.6 ± 1.2	105.8 ± 1.5	106.3 ± 1.3	103.7 ± 1.6**

\*: P<0.05, \*\*: P<0.01 (significantly different from control).

Values are mean ± S. D.

Table 11 Biochemical findings of female rats treated orally with Benzen, 1, 4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

	Control	12.5 mg/kg	50 mg/kg	200 mg/kg
No. of animals	12	12	12	12
T. Protein (g/dL)	5.4 ± 0.3	5.5 ± 0.3	5.3 ± 0.3	5.2 ± 0.2
Albumin (g/dL)	4.0 ± 0.2	4.0 ± 0.2	3.9 ± 0.2	3.9 ± 0.1
A/G ratio	2.81 ± 0.18	2.64 ± 0.36	2.77 ± 0.39	2.85 ± 0.26
T. Bilirubin (mg/dL)	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
GOT (IU/L)	78.0 ± 8.0	80.0 ± 12	81.0 ± 11	76.0 ± 14
GPT (IU/L)	55.0 ± 16	51.0 ± 9.0	50.0 ± 9.0	48.0 ± 13
γ-GTP (IU/L)	0.3 ± 0.1	0.4 ± 0.3	0.3 ± 0.2	0.4 ± 0.6
ALP (IU/L)	388 ± 185	404 ± 140	374 ± 125	491 ± 232
T. Cholesterol (mg/dL)	80.0 ± 12	80.0 ± 8.0	86.0 ± 18	94.0 ± 20
Triglycerides (mg/dL)	37.0 ± 17	33.0 ± 13	33.0 ± 10	33.0 ± 13
Phospholipids (mg/dL)	174 ± 22	172 ± 12	182 ± 33	197 ± 39
Glucose (mg/dL)	103 ± 19	103 ± 15	107 ± 16	126 ± 18**
BUN (mg/dL)	21.3 ± 3.2	23.0 ± 3.8	23.1 ± 2.9	22.0 ± 3.5
Creatinine (mg/dL)	0.5 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.6 ± 0.1
IP (mg/dL)	3.1 ± 0.8	3.3 ± 0.6	2.8 ± 0.6	2.5 ± 0.8
Ca (mg/dL)	9.9 ± 0.4	9.9 ± 0.4	10.0 ± 0.4	9.9 ± 0.6
Na (mEq/L)	144.9 ± 3.6	146.2 ± 1.4	145.4 ± 1.3	144.9 ± 1.6
K (mEq/L)	4.25 ± 0.55	4.3 ± 0.31	4.4 ± 0.30	4.28 ± 0.27
Cl (mEq/L)	106.2 ± 2.8	106.7 ± 1.7	106.2 ± 2.0	107.2 ± 2.2

\*\*: P<0.01 (significantly different from control).

Values are mean ± S. D.

Table 12 Necropsy findings of male rats treated orally with Benzene, 1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Organ and findings	Number of animals	Group and dose	Control	12.5 mg/kg	50 mg/kg	200 mg/kg
			Terminal sacrifice	Terminal sacrifice	Terminal sacrifice	Terminal sacrifice
Genital system						
Epididymis						
Nodule, light yellow		0		1		0
Integumentary system						
Integument						
Loss, hair		0		1		0

No appreciable changes in all other organs and tissues.

Table 13 Necropsy findings of female rats treated orally with Benzene, 1, 4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Organ and findings	Number of animals	Control	12.5 mg/kg	50 mg/kg	200 mg/kg
		Terminal sacrifice	Terminal sacrifice	Terminal sacrifice	Terminal sacrifice
Digestive system					
Liver					
Enlargement		0	0	0	2
Hematopoietic system					
Thymus					
Small		1	0	0	0
Endocrine system					
Adrenal					
Small, unilateral		0	0	0	1
Integumentary system					
Subcutis					
Mass, light gray		0	0	0	1

No appreciable changes in all other organs and tissues.

Table 14 Absolute and relative organ weights of male rats treated orally with Benzene, 1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

	Control	12.5 mg/kg	50 mg/kg	200 mg/kg
No. of animals	12	12	12	12
Final body weight (g)	523.3 ± 40.8	521.9 ± 26.4	524.9 ± 34.8	499.1 ± 37.7
Brain (g)	2.28 ± 0.09	2.24 ± 0.08	2.25 ± 0.06	2.32 ± 0.11
Heart (g)	1.58 ± 0.12	1.51 ± 0.11	1.57 ± 0.10	1.52 ± 0.20
Lungs (g)	1.61 ± 0.13	1.53 ± 0.13	1.56 ± 0.12	1.50 ± 0.06
Thymus (g)	0.30 ± 0.05	0.30 ± 0.07	0.30 ± 0.06	0.32 ± 0.08
Liver (g)	14.67 ± 2.17	14.26 ± 1.32	15.97 ± 1.42	17.89 ± 1.16**
Spleen (g)	0.80 ± 0.09	0.78 ± 0.10	0.77 ± 0.10	0.81 ± 0.13
Kidneys (g)	3.22 ± 0.22	3.21 ± 0.24	3.24 ± 0.38	3.03 ± 0.24
Adrenals (mg)	64.6 ± 7.5	57.9 ± 4.7*	57.1 ± 6.1**	56.3 ± 5.1**
Epididymides (g)	1.42 ± 0.10	1.44 ± 0.11	1.34 ± 0.10	1.36 ± 0.11
Testes (g)	3.40 ± 0.17	3.33 ± 0.25	3.41 ± 0.20	3.35 ± 0.35
Relative organ weights				
Brain (g/100gB. W.)	0.44 ± 0.03	0.43 ± 0.02	0.43 ± 0.03	0.47 ± 0.03
Heart (g/100gB. W.)	0.30 ± 0.02	0.29 ± 0.02	0.30 ± 0.03	0.30 ± 0.03
Lungs (g/100gB. W.)	0.31 ± 0.02	0.29 ± 0.02	0.30 ± 0.02	0.30 ± 0.02
Thymus (g/100gB. W.)	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0.02
Liver (g/100gB. W.)	2.79 ± 0.23	2.73 ± 0.20	3.04 ± 0.16**	3.59 ± 0.13**
Spleen (g/100gB. W.)	0.15 ± 0.01	0.15 ± 0.02	0.15 ± 0.03	0.16 ± 0.02
Kidneys (g/100gB. W.)	0.62 ± 0.04	0.62 ± 0.04	0.62 ± 0.07	0.61 ± 0.04
Adrenals (mg/100gB. W.)	12.4 ± 1.6	11.1 ± 1.0*	10.9 ± 0.8**	11.3 ± 1.2
Epididymides (g/100gB. W.)	0.27 ± 0.03	0.28 ± 0.03	0.26 ± 0.02	0.27 ± 0.03
Testes (g/100gB. W.)	0.65 ± 0.05	0.64 ± 0.06	0.65 ± 0.05	0.67 ± 0.08

\*: P&lt;0.05, \*\*: P&lt;0.01 (significantly different from control).

Values are mean ± S. D.

Table 15 Absolute and relative organ weights of female rats treated orally with Benzene, 1, 4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group and dose	Control	12.5 mg/kg	50 mg/kg	200 mg/kg
No. of animals	12	12	12	12
Absolute organ weights				
Final body weight (g)	335.2 ± 41.4	337.6 ± 21.7	340.2 ± 21.6	322.3 ± 19.1
Brain (g)	2.13 ± 0.10	2.08 ± 0.07	2.11 ± 0.09	2.08 ± 0.08
Heart (g)	1.10 ± 0.14	1.13 ± 0.12	1.10 ± 0.17	1.04 ± 0.12
Lungs (g)	1.17 ± 0.11	1.19 ± 0.10	1.16 ± 0.09	1.16 ± 0.08
Thymus (g)	0.22 ± 0.10	0.20 ± 0.06	0.22 ± 0.05	0.24 ± 0.06
Liver (g)	13.65 ± 2.28	14.44 ± 1.32	14.98 ± 1.43	15.85 ± 1.54**
Spleen (g)	0.64 ± 0.12	0.69 ± 0.11	0.68 ± 0.07	0.63 ± 0.09
Kidneys (g)	2.02 ± 0.17	1.93 ± 0.18	1.92 ± 0.12	1.89 ± 0.14
Adrenals (mg)	69.8 ± 9.1	69.8 ± 7.3	70.0 ± 6.7	65.2 ± 8.8
Ovaries (mg)	96.3 ± 9.9	103.0 ± 10.3	96.9 ± 9.8	94.9 ± 10.1
Relative organ weights				
Brain (g/100gB. W.)	0.64 ± 0.06	0.62 ± 0.04	0.62 ± 0.05	0.65 ± 0.05
Heart (g/100gB. W.)	0.33 ± 0.02	0.33 ± 0.04	0.32 ± 0.04	0.32 ± 0.03
Lungs (g/100gB. W.)	0.35 ± 0.03	0.35 ± 0.03	0.34 ± 0.03	0.36 ± 0.02
Thymus (g/100gB. W.)	0.06 ± 0.02	0.06 ± 0.02	0.06 ± 0.02	0.08 ± 0.02
Liver (g/100gB. W.)	4.06 ± 0.40	4.28 ± 0.30	4.41 ± 0.38	4.93 ± 0.49**
Spleen (g/100gB. W.)	0.19 ± 0.03	0.20 ± 0.03	0.20 ± 0.02	0.20 ± 0.03
Kidneys (g/100gB. W.)	0.61 ± 0.08	0.57 ± 0.04	0.57 ± 0.04	0.59 ± 0.03
Adrenals (mg/100gB. W.)	21.1 ± 3.7	20.7 ± 2.3	20.6 ± 1.8	20.2 ± 2.4
Ovaries (mg/100gB. W.)	29.0 ± 3.6	30.5 ± 2.2	28.5 ± 3.0	29.5 ± 3.2

\*\*: P&lt;0.01 (significantly different from control).

Values are mean ± S. D.

Table 16A Histopathological findings of male rats treated orally with Benzene, 1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Organ and findings	Number of animals	Control				12.5 mg/kg				50 mg/kg				200 mg/kg			
		Terminal sacrifice				Terminal sacrifice				Terminal sacrifice				Terminal sacrifice			
		-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++
<b>Digestive system</b>																	
Liver		(12)				(12)				(12)				(12)			
Fatty change, hepatocyte, periportal	8	4	0	0	0	10	2	0	0	11	1	0	0	12	0	0	0*
Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular	12	0	0	0	0	12	0	0	0	10	2	0	0	3	9	0	0**
<b>Respiratory system</b>																	
Lung		(12)				(0)				(0)				(12)			
Accumulation, foam cell	8	4	0	0	0									10	2	0	0
<b>Urinary system</b>																	
Kidney		(12)				(0)				(0)				(12)			
Basophilic tubule	11	1	0	0	0									9	2	1	0
Cast, proteinaceous	11	1	0	0	0									10	2	0	0
Cellular infiltration, lymphocyte	11	1	0	0	0									12	0	0	0
<b>Genital system</b>																	
Epididymis		(12)				(1)				(0)				(12)			
Granuloma, spermatic	12	0	0	0	0	1	0	0	0**					12	0	0	0
Prostate		(12)				(0)				(0)				(12)			
Cellular infiltration, lymphocyte	9	3	0	0	0									12	0	0	0
<b>Endocrine system</b>																	
Adrenal		(12)				(12)				(12)				(12)			
Atrophy, zona fasciculata	12	0	0	0	0	10	2	0	0	10	2	0	0	9	3	0	0
Hypertrophy, zona glomerulosa	11	1	0	0	0	11	1	0	0	10	2	0	0	4	8	0	0**

\*: P<0.05, \*\*: P<0.01 (significantly different from control).

Grade sign: -, none; +, mild; ++, moderate; +++, marked.

There are no remarkable changes in the stomach, duodenum, jejunum, ileum, cecum, colon, rectum, pancreas, trachea, thymus, submaxillary lymph node, mesenteric lymph node, spleen, bone marrow, heart, urinary bladder, testis, seminal vesicle, mammary gland, pituitary, thyroid, parathyroid, cerebrum, cerebellum, spinal cord, sciatic nerve, biceps femoris muscle and femur of all animals in control and 200 mg/kg groups, and in the integument of one animal in 12.5 mg/kg group. Figures in parentheses are number of animals with tissues examined histopathologically.

Table 16B Histopathological findings of male rats treated orally with Benzene, 1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group and dose Organs and findings	Number of animals	Control	12.5 mg/kg	50 mg/kg	200 mg/kg
		Terminal sacrifice	Terminal sacrifice	Terminal sacrifice	Terminal sacrifice
Digestive system					
Liver		(12)	(12)	(12)	(12)
Fatty change, hepatocyte, periportal	4	2	1	0*	0*
Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular	0	0	2	9**	9**
Respiratory system					
Lung		(12)	(0)	(0)	(12)
Accumulation, foam cell	4				2
Urinary system					
Kidney		(12)	(0)	(0)	(12)
Basophilic tubule	1				3
Cast, proteinaceous	1				2
Cellular infiltration, lymphocyte	1				0
Genital system					
Epididymis		(12)	(1)	(0)	(12)
Granuloma, spermatic	0	1**			0
Prstate		(12)	(0)	(0)	(12)
Cellular infiltration, lymphocyte	3				0
Endocrine system					
Adrenal		(12)	(12)	(12)	(12)
Atrophy, zona fasciculata	0	2	2	3	
Hypertrophy, zona glomerulosa	1	1	2	8**	

\*: P<0.05, \*\*: P<0.01 (significantly different from control).

Grade sign: -, none; +, mild; ++, moderate; +++, marked.

There are no remarkable changes in the stomach, duodenum, jejunum, ileum, cecum, colon, rectum, pancreas, trachea, thymus, submaxillary lymph node, mesenteric lymph node, spleen, bone marrow, heart, urinary bladder, testis, seminal vesicle, mammary gland, pituitary, thyroid, parathyroid, cerebrum, cerebellum, spinal cord, sciatic nerve, biceps femoris muscle and femur of all animals in control and 200 mg/kg groups, and in the integument of one animal in 12.5 mg/kg group. Figures in parentheses are number of animals with tissues examined histopathologically.

Table 17A Histopathological findings of female rats treated orally with Benzene, 1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Organs and findings	Number of animals	Control				12.5 mg/kg				50 mg/kg				200 mg/kg			
		Terminal sacrifice				Terminal sacrifice				Terminal sacrifice				Terminal sacrifice			
		-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++
<b>Digestive system</b>																	
Liver		(12)				(12)				(12)				(12)			
Fatty change, hepatocyte, periportal	11	1	0	0	0	12	0	0	0	12	0	0	0	12	0	0	0
Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular	12	0	0	0	0	12	0	0	0	12	0	0	0	6	6	0	0**
<b>Respiratory system</b>																	
Lung		(12)				(0)				(0)				(12)			
Accumulation, foam cell	10	2	0	0	0									11	1	0	0
<b>Hematopoietic system</b>																	
Thymus		(12)				(0)				(0)				(12)			
Atrophy, cortical	11	1	0	0	0									12	0	0	0
Spleen		(12)				(0)				(0)				(12)			
Atrophy	11	1	0	0	0									12	0	0	0
Hematopoiesis, extramedullary	3	9	0	0	0									7	5	0	0
<b>Urinary system</b>																	
Kidney		(12)				(0)				(0)				(12)			
Degeneration, vacuolar, proximal tubular epithelium	11	1	0	0	0									12	0	0	0
<b>Genital system</b>																	
Mammary gland		(12)				(0)				(0)				(12)			
Adenocarcinoma	12	0	0	0	0									11	1	0	0
<b>Endocrine system</b>																	
Adrenal		(12)				(12)				(12)				(12)			
Hypertrophy, zona glomerulosa	9	3	0	0	0	8	4	0	0	8	4	0	0	9	3	0	0
Mineralization, medulla	12	0	0	0	0	12	0	0	0	12	0	0	0	11	1	0	0

\*\*: P<0.01 (significantly different from control).

Grade sign: -, none; +, mild; ++, moderate; +++, marked.

There are no remarkable changes in the stomach, duodenum, jejunum, ileum, cecum, colon, rectum, pancreas, trachea, submaxillary lymph node, mesenteric lymph node, bone marrow, heart, urinary bladder, ovary, uterus, cervix, vagina, pituitary, thyroid, parathyroid, cerebrum, cerebellum, spinal cord, sciatic nerve, biceps femoris muscle and femur of all animals in control and 200 mg/kg groups.

Figures in parentheses are number of animals with tissues examined histopathologically.

Table 17B Histopathological findings of female rats treated orally with Benzene, 1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group and dose Organs and findings	Number of animals	Control	12.5 mg/kg	50 mg/kg	200 mg/kg
		Terminal sacrifice	Terminal sacrifice	Terminal sacrifice	Terminal sacrifice
Digestive system					
Liver		(12)	(12)	(12)	(12)
Fatty change, hepatocyte, periportal	1	0	0	0	0
Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular	0	0	0	0	6**
Respiratory system					
Lung		(12)	(0)	(0)	(12)
Accumulation, foam cell	2				1
Hematopoietic system					
Thymus		(12)	(0)	(0)	(12)
Atrophy, cortical	1				0
Spleen		(12)	(0)	(0)	(12)
Atrophy	1				0
Hematopoiesis, extramedullary	9				5
Urinary system					
Kidney		(12)	(0)	(0)	(12)
Degeneration, vacuolar, proximal tubular epithelium	1				0
Genital system					
Mammary gland		(12)	(0)	(0)	(12)
Adenocarcinoma	0				1
Endocrine system					
Adrenal		(12)	(12)	(12)	(12)
Hypertrophy, zona glomerulosa	3	4	4	3	
Mineralization, medulla	0	0	0	1	

\*\*: P<0.01 (significantly different from control).

Grade sign: -, none; +, mild; ++, moderate; +++, marked.

There are no remarkable changes in the stomach, duodenum, jejunum, ileum, cecum, colon, rectum, pancreas, trachea, submaxillary lymph node, mesenteric lymph node, bone marrow, heart, urinary bladder, ovary, uterus, cervix, vagina, pituitary, thyroid, parathyroid, cerebrum, cerebellum, spinal cord, sciatic nerve, biceps femoris muscle and femur of all animals in control and 200 mg/kg groups.

Figures in parentheses are number of animals with tissues examined histopathologically.

Table 18 Reproductive performance of rats treated orally with Benzene, 1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group and dose	Control	12.5 mg/kg	50 mg/kg	200 mg/kg
No. of female examined	12	12	12	12
Count of estrus <sup>a)</sup>	3.58 ± 0.67	3.33 ± 0.65	3.75 ± 0.45	3.58 ± 0.51
Estrous cycle <sup>b)</sup>	4.00 ± 0.00	4.13 ± 0.43	4.00 ± 0.00	4.13 ± 0.31
No. of mated				
Male	12	12	12	12
Female	12	12	12	12
No. of copulated <sup>c)</sup>				
Male	12( 100 )	12( 100 )	12( 100 )	12( 100 )
Female	12( 100 )	12( 100 )	12( 100 )	12( 100 )
No. of impregnated <sup>d)</sup>	12( 100 )	12( 100 )	12( 100 )	12( 100 )
No. of pregnant <sup>b)</sup>	12( 100 )	12( 100 )	12( 100 )	12( 100 )
Duration of mating <sup>b)</sup>	2.17 ± 1.34	2.17 ± 1.03	2.67 ± 1.30	1.83 ± 0.83

Not significantly different from control.

a) Values are mean ± S.D.

b) Values are mean ± S.D. (day)

c) Values in parentheses represent percentages to the number of mated.

d) Values in parentheses represent percentages to the number of copulated.

Table 19 Terminal delivery of F<sub>0</sub> dams treated orally with Benzene, 1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl) and observations on their offspring in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group and dose	Control	12.5 mg/kg	50 mg/kg	200 mg/kg
No. of dams	12	12	12	12
Gestational days <sup>a)</sup>	22.17 ± 0.39	22.42 ± 0.51	22.17 ± 0.39	22.42 ± 0.51
No. of corpora lutea <sup>b)</sup>	16.50 ± 1.38	16.83 ± 2.55	15.58 ± 1.00	15.67 ± 1.56
No. of implantations <sup>b)</sup>	15.42 ± 1.56	15.83 ± 1.80	14.67 ± 1.50	12.42 ± 4.06
Implantation index <sup>c)</sup>	93.43	94.06	94.12	79.26
No. of newborns <sup>b)</sup>	14.42 ± 2.15	15.00 ± 2.22	13.75 ± 2.01	11.00 ± 4.41
Gestation index <sup>d)</sup>	100	100	100	100
No. of stillborns <sup>e)</sup>				
Male	0	0	0	1
Female	1	1	0	0
Total	1 ( 0.58 )	1 ( 0.56 )	0	1 ( 0.76 )
No. of live newborns <sup>b)</sup>	14.33 ± 2.19	14.92 ± 2.27	13.75 ± 2.01	10.92 ± 4.29
Birth index <sup>f)</sup>	92.97	94.21	93.75	87.92
Sex ratio of live newborns <sup>g)</sup>	1.21 ( 94/ 78 )	0.85 ( 82/ 97 )	1.14 ( 88/ 77 )	1.11 ( 69/ 62 )
Body weight of live newborns (g) <sup>b)</sup>				
Male on day 0	6.8 ± 0.8	6.8 ± 0.6	6.9 ± 0.5	7.2 ± 0.9
on day 4	10.7 ± 2.2	10.7 ± 1.1	10.7 ± 1.1	11.9 ± 2.5
Female on day 0	6.4 ± 0.7	6.3 ± 0.6	6.4 ± 0.6	6.9 ± 0.9
on day 4	10.0 ± 1.9	9.9 ± 1.4	10.1 ± 1.0	11.4 ± 2.4
Viability index <sup>h)</sup>	98.84	100	99.39	99.24
No. of external anomalies	0	0	0	0

Not significantly different from control.

a) Values are mean ± S. D. (day).

b) Values are mean ± S. D.

c) Implantation index = (Number of implantations/Number of corpora lutea) × 100.

d) Gestation index = (Number of dams with live newborns/Number of pregnant females) × 100.

e) Values in parentheses represent percentages to the number of litter.

f) Birth index = (Number of live newborns/Number of implantations) × 100.

g) Values in parentheses represent the number of male/female live newborns.

h) Viability index = (Number of live newborns on day 4 after birth/Number of live newborns) × 100.