

1,3-ジシアノベンゼンのラットに
おける28日間反復投与毒性試験

－最終報告書－

試験実施施設：株式会社パナファーム・ラボラトリーズ 安全性研究所

目 次

頁

要 約	-----	1
緒 言	-----	2
試験材料及び方法	-----	2
試験成績	-----	7
考 察	-----	11
参考文献	-----	13
Fig. 1	Mean body weight changes in male rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days followed by 14-day withdrawal period -----	14
Fig. 2	Mean body weight changes in female rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days followed by 14-day withdrawal period -----	15
Fig. 3	Mean food consumption in male rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days followed by 14-day withdrawal period -----	16
Fig. 4	Mean food consumption in female rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days followed by 14-day withdrawal period -----	17
Table 1	Incidence of clinical signs in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days followed by 14-day withdrawal period -----	18
Table 2	Body weights in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days followed by 14-day withdrawal period -----	21

Table 3	Food consumption in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days followed by 14-day withdrawal period -----	22
Table 4	Urinary findings in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days -----	23
Table 5	Urinary findings in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days followed by 14-day withdrawal period -----	27
Table 6	Hematological findings in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days -----	31
Table 7	Hematological findings in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days followed by 14-day withdrawal period -----	34
Table 8	Biochemical findings in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days -----	37
Table 9	Biochemical findings in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days followed by 14-day withdrawal period -----	40
Table 10	Necropsy findings in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days -----	43
Table 11	Necropsy findings in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days followed by 14-day withdrawal period -----	44
Table 12	Organ weights in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days -----	45
Table 13	Organ weights in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days followed by 14-day withdrawal period -----	48
Table 14	Histopathological findings in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days -----	51
Table 15	Histopathological findings in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days followed by 14-day withdrawal period -----	52

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、1,3-ジシアノベンゼンの0(対照)、8、40及び200mg/kgを1群雌雄各6匹のCrj:CD(SD系)ラットに28日間反復経口投与する毒性試験を実施し、以下の結果を得た。なお、対照群及び200mg/kg群にはそれぞれ雌雄各6匹の14日間回復群も設けた。

死亡はいずれの投与群にもみられなかった。一般状態の観察では、200mg/kg群において雌雄の多数例で流涎、雄又は雌の少数例で活動性の低下、呼吸緩徐、鼻周囲の汚染あるいは流涙、雌の半数例で脱毛が認められた。これらの症状のうち流涎は投与期間を通して認められたが、活動性の低下、呼吸緩徐、鼻周囲の汚染及び流涙は投与期間中に消失する一時的な変化であったほか、脱毛もほとんどの例で投与期間中に回復傾向がみられた。

体重及び摂餌量では、200mg/kg群の雌雄で投与初期に減少が認められた。その後、雌では投与期間中に体重及び摂餌量は回復したが、雄では投与期間を通して摂餌量の軽度な減少が続き、体重の増加抑制が認められた。

尿検査では、40及び200mg/kg群の雌雄で尿量の増加並びに浸透圧及び比重の低下が認められ、200mg/kg群の雌雄ではpHの低下も認められた。

血液学的検査では、被験物質投与の影響は認められなかった。

血液化学的検査では、200mg/kg群の雌雄で総蛋白質、アルブミン、総コレステロール、リン脂質及びカルシウムの増加並びにクロールの減少が認められた。更に、200mg/kg群の雄ではアルカリ性フォスファターゼの減少、同群の雌ではGPT、トリグリセライド及びグルコースの増加並びにナトリウムの減少が認められた。

器官重量では、200mg/kg群の雌雄で肝臓及び腎臓の絶対及び相対重量の増加が認められ、肝臓の相対重量の増加は40mg/kg群の雄でも認められた。また、200mg/kg群の雌で副腎の絶対及び相対重量の増加が認められ、同群の雄の副腎でも相対重量の増加が認められた。

病理組織学的検査では、肝臓において、肝細胞の肥大が40mg/kg群の雄の多数例及び200mg/kg群の雌雄全例に認められた。また、腎臓において、近位尿細管上皮の硝子滴の出現頻度が雄ではすべての被験物質投与群で対照群より高く、200mg/kg群の雄1例では乳頭壊死、腎盂拡張、近位尿細管上皮の好塩基性変化及び遠位尿細管の拡張が認められた。

上述の変化にはすべて回復性が認められた。

以上の結果から、本試験条件下における無影響量は、雌では8 mg/kg、雄では8 mg/kg未満と考えられた。

緒 言

1,3-ジシアノベンゼンのラットにおけるLD₅₀値は経口投与で711mg/kg(5.55±0.78 mM/kg)であることが報告¹⁾されているが、反復投与時の毒性についての報告はみあたらない。

今回、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、1,3-ジシアノベンゼンを雌雄ラットに28日間反復経口投与するとともに、投与期間終了後に14日間の休薬期間を設けて、その毒性及び回復性について検討したので報告する。

試験材料及び方法

1. 被験物質

より提供された1,3-ジシアノベンゼン(純度99.9%, Lot No.)を試験に使用した。本被験物質は水に不溶、アセトン及びDMSOに可溶の白色針状結晶である(添付資料1-1)。試験期間中の被験物質の安定性については、投与期間終了後に残余の被験物質を上記の供給源にて分析することにより確認した(添付資料1-2)。媒体にはメチルセルロース1500cp(和光純薬工業株式会社, Lot No. DSM5434)を注射用水に溶解して0.5%水溶液としたものを使用した。0.5%メチルセルロース溶液は週1回以上の頻度で調製し、使用時まで被験物質室の冷蔵庫にて保管した。なお、被験物質は室温、遮光下で、メチルセルロース1500cpの原末は室温で、それぞれ被験物質室の保管庫に保管した。

2. 使用動物及び飼育条件

5週齢のCrj:CD(SD系)ラット(日本チャールス・リバー株式会社)を雌雄各45匹購入し、9日間の検疫馴化を行った。この間に、全例について一般状態の観察及び体重測定を実施するとともに、雌雄各3匹を抜粋して剖検し、異常がないことを確認したのち、雌雄各36匹を選んで6週齢で試験に使用した。投与開始時の体重は、雄が215.2~241.6g、雌が144.7~171.9gであった。動物は、温度24±2℃(許容範囲18~28℃)、湿度55±10%(許容範囲30~70%)、照明12時間(午前7時~午後7時)及び換気回数13回/時に設定したバリアーシステム飼育室(82番)でステンレススチール製ハンガーケージ(W260×

H200×D380mm)に、検疫馴化期間中は1ケージ当たり3匹ずつ、群分け後は個別に収容して飼育した。なお、試験期間中の温度の実測値は最高25℃、最低21℃、湿度の実測値は最高62%、最低50%であった。飼料は高圧蒸気滅菌処理した固型飼料(MF、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)した井水を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。飼育器材は高圧蒸気滅菌したものを使用し、ケージは2週間に1回以上、受皿は週3回以上、ラックは4週間に1回以上交換するとともに、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)	性別	使用動物数	動物番号
対照群	0	♂	6+6*	501～506, 507*～512*
		♀	6+6*	541～546, 547*～552*
低用量群	8	♂	6	513～518
		♀	6	553～558
中間用量群	40	♂	6	519～524
		♀	6	559～564
高用量群	200	♂	6+6*	525～530, 531*～536*
		♀	6+6*	565～570, 571*～576*

*：回復試験に使用した動物

投与量は、先に当研究所で実施した2週間反復投与毒性予備試験(投与量：0, 30, 100及び300mg/kg)の結果から設定した。すなわち、当該試験において、100mg/kg以上の投与群の雌雄では体重の増加抑制が認められ、血液生化学的検査では総蛋白質、アルブミン、グルコース及びカルシウムの増加が100mg/kg以上の投与群の雌に、脂質の増加が300mg/kg群の雌雄に、ナトリウム及びクロールの減少が300mg/kg群の雌に認められた。

更に、器官重量では肝臓重量の増加が100mg/kg群の雌及び300mg/kg群の雌雄に、脾臓重量の減少が100mg/kg群の雄及び300mg/kg群の雌雄に、胸腺重量の減少並びに腎臓及び副腎重量の増加が300mg/kg群の雌に認められた。したがって、本試験では200mg/kgを高用量とし、以下公比5で除した40及び8mg/kgをそれぞれ中間用量及び低用量に設定した。

試験群は、上記3用量に対照を加え計4群とした。1群当たりの動物数は、投与期間終了時の剖検例として各群とも雌雄各6匹とし、更に、対照群及び200mg/kg群については回復期間終了時の剖検例として雌雄各6匹を設けた。

群分けは、投与開始前日に当日の体重を基に層別連続無作為化法で行い、群分け後の動物には動物番号を刻印した耳標を取り付けて個体識別した。また、各ケージには試験番号、動物番号、投与量及び性別を表示したラベルを付けて識別した。

4. 投与経路、投与方法、投与期間及び回復期間

投与経路は、化審法ガイドラインで指定されており、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。投与には胃管を用い、1日1回投与で28日間反復投与した。投与容量は5ml/kgとし、個体ごとの投与液量は最新の体重を基に算出した。対照群には0.5%メチルセルロース溶液を同様に投与した。

回復試験に供した動物は、投与期間終了後に14日間無処置で飼育した。

5. 被験物質と媒体との混合物調製法

被験物質を各濃度ごとに必要量秤量して磨砕後、0.5%メチルセルロース溶液を加えて懸濁し、0.16, 0.8及び4W/V%懸濁液を調製した。調製は週1回以上の頻度で、1日分ずつ別々に行い、調製した懸濁液は飼育区域内の検体保管室にて室温、遮光下に保管した。また、初回調製時に、各濃度の懸濁液について被験物質の濃度確認を実施し、設定濃度の許容範囲(±10%以内)にあることを確認した(添付資料2)。なお、本調製法による0.1及び10W/V%懸濁液は、室温、遮光下で調製後8日間安定であり、均一性についても問題ないことが確認されている(添付資料3)。

6. 観察，検査，分析及び測定の種類及び方法

1) 一般状態の観察，体重及び摂餌量の測定

投与期間中は毎日投与前，投与直後～投与後約30分及び投与後約3～5時間の計3回，回復期間中は毎日午前及び午後の計2回，一般状態及び死亡の有無を観察した。また，体重及び摂餌量を投与期間及び回復期間を通して週2回の割合で測定し，更に，体重は投与開始日の投与前及び剖検日にも測定した。

2) 尿検査

投与4週目及び回復2週目に，すべての動物を代謝ケージに個別収容し，絶食，給水下で午前8時から12時までの時間帯に採取した新鮮尿について，比色試験紙(プレテスト8a，和光純薬工業株式会社)を用いてpH，蛋白質，ブドウ糖，ケトン体，ビリルビン，潜血及びウロビリノーゲンを検査した。更に，各時点の新鮮尿は1500回転/分で5分間遠心分離し，得られた尿沈渣について鏡検した。また，すべての時点で新鮮尿採取後に給餌，給水下で採取した24時間蓄積尿について，尿量，色調，浸透圧(氷点降下法；OSMOMETER OM801，VOGEL社)及び比重(屈折率法；尿屈折計，株式会社アタゴ)を測定した。

3) 血液学的検査

投与期間終了後及び回復期間終了後に，すべての動物を18時間以上絶食させたのち，ペントバルビタール・ナトリウム30mg/kgを腹腔内投与して麻酔し，開腹後，腹部大静脈から採血を行った。採取した血液の一部はEDTA-2K処理(EDTA-2K加血液)して多項目自動血球計数装置(Sysmex CC-780型，東亜医用電子株式会社)を用いて，白血球数(電気抵抗検出方式)，赤血球数(電気抵抗検出方式)，ヘモグロビン量(オキシヘモグロビン法)，ヘマトクリット値(血球パルス波高値検出方式)及び血小板数(電気抵抗検出方式)を測定し，赤血球数，ヘモグロビン量及びヘマトクリット値の測定結果を基にWintrobeの赤血球恒数[平均赤血球容積(MCV)，平均赤血球血色素量(MCH)及び平均赤血球血色素濃度(MCHC)]を算出した。血液の一部は塗抹標本とし，May-Grünwald-Giemsa染色を施して白血球百分比を算出するとともに，網状赤血球率検査用のニューメチレンブルー超生体染色標本を作製して保管した。また，3.8%クエン酸ナトリウム加血液を3000回転/分で15分間遠心分離し，得られた血漿を用いて全自動血液凝固

測定装置(Sysmex CA-5000型, 東亜医用電子株式会社)により, プロトロンビン時間(散乱光検出方式)及び活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT, 散乱光検出方式)を測定した。

4) 血液化学的検査

血液学的検査と同時に採取したすべての動物の血液を室温で約60分間放置後, 3000回転/分で10分間遠心分離し, 得られた血清を用いて自動分析装置(736-10型, 株式会社 日立製作所)により, 総蛋白質(T.protein, ビウレット法), アルブミン(BCG法), A/G比(総蛋白質及びアルブミンより算出), 総ビリルビン(T.bilirubin, アルカリアゾビリルビン法), GOT(Karmen法), GPT(Wróblewski-La Due法), γ -グルタミルトランスアミナーゼ(γ -GTP, L- γ -グルタミル-DBHA基質法), アルカリ性フォスファターゼ(ALP, p-ニトロフェニルリン酸基質法), 総コレステロール(T.cholesterol, COD-DAOS法), トリグリセライド(GPO-DAOS法・グリセリン消去法), リン脂質(酵素法・DAOS発色法), グルコース(グルコキナーゼ・G-6-PDH法), 尿素窒素(BUN, ウレアーゼ-G 6PDH法), クレアチニン(Jaffé法), 無機リン(モリブデン酸直接法)及びカルシウム(Ca, OCPC法)を測定した。また, 電解質分析装置(PVA- α III, 株式会社 アナリティカル・インスツルメンツ)によりナトリウム(Na, 電極法), カリウム(K, 電極法)及びクロール(Cl, 電量滴定法)を測定した。

5) 剖検, 器官重量の測定及び病理組織学的検査

投与期間終了後及び回復期間終了後に, すべての動物について採血を行ったのち, 外側腸骨動脈を切断して放血死させ, 解剖して諸器官及び組織の肉眼的観察を行った。剖検後, 脳, 顎下腺(舌下腺を含む), 心臓, 肺(気管支を含む), 胸腺, 肝臓, 脾臓, 腎臓, 副腎, 精巣及び卵巣を摘出して器官重量(絶対重量)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。重量測定器官に加え, 下垂体, 脊髄, 眼球, 唾液腺(耳下腺), 甲状腺(上皮小体を含む), 膵臓, 胃, 膀胱, 大腿骨(骨髄を含む)及び肉眼的異常部位を採取して10%中性緩衝ホルマリン溶液に固定した。なお, 10%中性緩衝ホルマリン溶液による固定に先だって, 眼球は2.5%グルタールアルデヒド溶液で, また, 精巣はブアン液でそれぞれ前固定した。投与期間終了時の対照群及び高用量群の心臓, 唾液腺, 肝臓, 膵臓, 脾臓, 腎臓及び副腎については,

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)染色を施して光学顕微鏡下で観察した。更に、肝臓及び腎臓については、被験物質投与に関連したと考えられる変化が認められたため、投与期間終了時の中間及び低用量群並びに回復期間終了時の対照群及び高用量群についても同様に観察した。なお、肉眼的異常部位は投与期間終了時及び回復期間終了時ともに病理組織学的検査を実施した。

7. 統計学的処理

体重、摂餌量、尿検査(定性反応は除く)、血液学的検査、血液化学的検査、器官重量及び体重比器官重量について、各群ごとに平均値と標準偏差を求め、Bartlett法により分散の均一性を検定した。分散が均一な場合は一元配置型の分散分析を行い、この解析で群間に有意差が認められ、かつ各群の例数が同じ場合はDunnett法により、異なる場合はScheffé法により対照群に対する各群の一对比較検定を行った。分散が均一でない場合はKruskal-Wallis法によって順位検定を行い、この検定で群間に有意差が認められ、かつ各群の例数が同じ場合はDunnett型の、異なる場合はScheffé型の一对比較検定を行った。上述の分散分析あるいはKruskal-Wallis法による順位検定で群間に有意差が認められなかった場合は、各群間の多重比較は行わなかった。また、病理組織学的検査においてみられた所見については、Fisherの正確確率検定を実施した。なお、いずれの場合も有意水準は5%とした。

試 験 成 績

1. 一般状態

一般状態の観察結果をTable 1並びにAppendix 1及び2に示した。

すべての試験群で死亡例はなく、対照群並びに8及び40mg/kg群では観察期間を通して一般状態の変化も認められなかった。

200mg/kg群では、流涎、鼻周囲の汚染、流涙、活動性低下、呼吸緩徐及び脱毛が認められた。流涎は投与期間を通して雌雄の多数例でみられ、発現時間は早い例では投与直後から、遅い例では投与後約5時間からであり、消失する時間も発現後10分から投与翌日の朝までと幅広かった。活動性の低下及び呼吸緩徐は雌雄の少数例で、鼻周囲の汚染は雌の少数例でいずれも投与1から3週目にみられ、また、流涙は雌の少数例で投与3

週目にみられたが、これらの症状は投与期間中に消失した。脱毛は投与期間中に雌の約半数例で、前肢、胸部、下腹部、腰部あるいは臀部にみられたが、投与期間終了時までにはほとんどの例で回復傾向が認められた。回復期間では、投与期間から引続いた脱毛が雌の少数例にみられたのみで、他の変化は認められなかった。

2. 体重

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

200mg/kg群の雌雄で投与3日目に体重減少が認められた。その後、雄では投与期間を通して体重の増加が抑制されたが、回復期間中の体重増加量は対照群を上回る値を示した。また、雌では投与2週目までに対照群の値まで回復し、回復期間中も対照群とほぼ同様な推移を示した。

3. 摂餌量

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

200mg/kg群の雌雄で投与3日目に明らかな摂餌量の減少が認められた。その後、雄では投与期間を通して対照群より低値を示したが、回復期間には対照群より高値を示した。また、雌では投与2週目までに対照群の値まで回復し、投与3週目には対照群より高値を示すこともあったが、回復期間中は対照群との間に差はみられなかった。

4. 尿検査

投与4週目の検査結果をTable 4 及びAppendix 7 及び 8 に、回復2週目の検査結果をTable 5 及びAppendix 9 及び10に示した。

投与4週目の検査では、40及び200mg/kg群の雌雄で尿量の増加ないし増加傾向並びに浸透圧及び比重の低下が認められた。更に、200mg/kg群の雌雄ではpH及び蛋白質濃度の低下並びに色調の淡黄色化が認められた。

回復2週目の検査では、200mg/kg群の雌雄で明らかな変化は認められなかった。

5. 血液学的検査

投与期間終了時の検査結果をTable 6 並びにAppendix 11及び12に、回復期間終了時の検査結果をTable 7 並びにAppendix 13及び14に示した。

投与期間終了時の検査では、被験物質投与に関連した変化は認められなかった。

回復期間終了時の検査では、200mg/kg群の雄でプロトロンビン時間及び活性化部分トロンボプラスチン時間の短縮が認められ、同群の雌でヘマトクリット値、MCV及び好酸球百分比の増加並びにMCHC及び血小板数の減少が認められた。

6. 血液化学的検査

投与期間終了時の検査結果をTable 8並びにAppendix 15及び16に、回復期間終了時の検査結果をTable 9並びにAppendix 17及び18に示した。

投与期間終了時の検査では、200mg/kg群の雌雄で総蛋白質、アルブミン、総コレステロール、リン脂質及びカルシウムの増加並びにクロールの減少が認められた。更に、200mg/kg群の雄ではアルカリ性フォスファターゼの減少が認められ、同群の雌ではGPT、トリグリセライド及びグルコースの増加並びにナトリウムの減少が認められた。

回復期間終了時の検査では、投与期間終了時と同様に200mg/kg群の雌でトリグリセライドの増加が認められたが、その程度は投与期間終了時より軽減した。そのほか、200mg/kg群の雌雄でGOTの減少、雄でA/G比の減少、また、雌でカリウムの減少が認められた。

7. 剖検

投与期間終了時の検査結果をTable 10並びにAppendix 19及び20に、回復期間終了時の検査結果をTable 11並びにAppendix 21及び22に示した。

投与期間終了時及び回復期間終了時はいずれにおいても、脱毛が200mg/kg群の雌1例に認められたのみであった。

8. 器官重量

投与期間終了時の検査結果をTable 12並びにAppendix 23及び24に、回復期間終了時の検査結果をTable 13並びにAppendix 25及び26に示した。

投与期間終了時の検査では、200mg/kg群の雌雄で肝臓の絶対及び相対重量の増加が認められ、肝臓の相対重量の増加は40mg/kg群の雄でも認められた。また、200mg/kg群の雌雄では、腎臓の相対重量の増加と絶対重量の増加傾向及び副腎の相対重量の増加が認められ、200mg/kg群の雌では副腎の絶対重量にも増加が認められた。そのほか、200mg/

kg群の雄では脳の絶対重量の減少と相対重量の増加，心臓，肺，胸腺及び脾臓の絶対重量の減少並びに顎下腺及び精巣の相対重量の増加が認められ，40mg/kg群の雌で顎下腺の絶対重量の増加が認められた。

回復期間終了時の検査では，投与期間終了時と同様に200mg/kg群の雌雄で肝臓及び副腎の相対重量に増加が認められたが，絶対重量には有意な増加はみられず，その程度は投与期間終了時と比較して軽減した。そのほか，200mg/kg群の雄で脳及び肺の絶対重量の減少並びに胸腺の相対重量の増加，同群の雌で心臓及び卵巣の相対重量の増加が認められた。

9. 病理組織学的検査

投与期間終了時の検査結果をTable 14並びにAppendix 27及び28に，回復期間終了時の検査結果をTable 15並びにAppendix 29及び30に示した。また，肝臓，腎臓，皮膚，唾液腺，膵臓，脾臓，心臓及び副腎の光学顕微鏡写真をPhoto. 1～18に示した。

投与期間終了時の剖検例において，肝臓では，肝細胞の肥大が40mg/kg群の雄4例及び200mg/kg群の雌雄全例に認められた。腎臓では，近位尿細管上皮の硝子滴の出現が雄の対照群，8 mg/kg群，40mg/kg群及び200mg/kg群においてそれぞれ1，5，6及び6例に認められ，対照群と被験物質投与群の出現頻度には有意な差があり，変化の程度も投与量の増加とともに強くなる傾向がみられた。また，200mg/kg群の雄1例には近位尿細管上皮の好塩基性変化，遠位尿細管の拡張，乳頭壊死及び腎盂の拡張も認められた。このほかに検査を行った唾液腺，膵臓，脾臓，心臓及び副腎では変化は認められず，剖検時に脱毛がみられた200mg/kg群の雌1例の皮膚でも変化はなかった。

回復期間終了時の剖検例においては，投与期間終了時の検査で変化がみられた肝臓及び腎臓について検査を実施したところ，200mg/kg群では雌雄ともに変化は認められず，対照群の雄1例で近位尿細管上皮に硝子滴の出現がみられたにすぎなかった。また，剖検時に脱毛がみられた200mg/kg群の雌1例の皮膚にも変化は認められなかった。

考 察

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、1,3-ジシアノベンゼンの0(対照), 8, 40及び200mg/kgを雌雄ラットに28日間反復経口投与する毒性試験を実施するとともに、対照群及び200mg/kg群については投与期間終了後に14日間の休薬期間を設ける回復試験を実施した。

死亡はいずれの投与群にも認められなかった。一般状態の観察において、200mg/kg群の雌雄の多数例では流涎が、雄又は雌の少数例では活動性の低下、呼吸緩徐、鼻周囲の汚染あるいは流涙が認められ、更に、200mg/kg群の雌の半数例では脱毛もみられた。流涎は投与期間を通して認められ、発現時間は投与直後から投与後約5時間の間、消失時間は発現後10分から翌日の朝までといずれも時間帯は幅広いものであった。流涎の発現機序は明らかではなかったが、唾液腺に器質的な変化は認められなかった。活動性の低下、呼吸緩徐、鼻周囲の汚染及び流涙は一時的なもので、いずれも投与期間中に消失しており、反復投与によって症状が悪化することはなかった。また、脱毛については、投与期間中にほとんどの例で回復傾向がみられ、脱毛が残存した動物の皮膚の病理組織学的検査でも異常はなかったこと、更に、脱毛は動物が身づくろいを行うところにみられていることなどから考えると、動物が被毛を咬むことによって生じた可能性が高いと思われた。

摂餌量の明らかな減少が200mg/kg群の雌雄で投与初期に認められ、同時期には体重も減少した。その後、200mg/kg群の雌では投与期間中に摂餌量と体重が相応して回復したが、同群の雄では摂餌量の軽度な減少が続き、体重増加が抑制された。

尿検査では、40及び200mg/kg群で尿量の増加並びに浸透圧及び比重の低下が認められ、更に200mg/kg群の雌雄ではpHの低下も認められた。また、200mg/kg群の雌雄では尿中蛋白質濃度の低下や色調の淡黄色化も認められたが、尿量の増加に伴った変化と考えられた。

血液化学的検査では、200mg/kg群の雌雄で総蛋白質、アルブミン、総コレステロール及びリン脂質の増加、更に同群の雄でアルカリ性フォスファターゼの減少、雌でGPT、トリグリセライド及びグルコースの増加が認められた。これらの変化は被験物質の肝臓に対する影響を示唆するものと考えられ、後述するように病理組織学的検査でも肝臓では変化が認められた。また、グルコースの増加が認められたことから膵臓の病理組織学的検査も行ったが、変化は認められなかった。更に、200mg/kg群の雌雄ではクロールの減少、同群の雌ではナトリウムの減少が認められた。しかし、電解質の変動と関連が深い腎臓では、後

述のごとく200mg/kg群の雌雄で重量の増加はみられたものの、腎障害性の病変は雄1例に認められたにすぎず、雌には器質的変化は認められなかったことから、本試験においてクロール及びナトリウムの変動原因を特定することはできなかった。更に、200mg/kg群の雌雄ではカルシウムの増加も認められたが、血清中のカルシウムの一部はアルブミンと結合していることから、カルシウムの増加はアルブミンの増加に伴った二次的な変化と考えられた。

器官重量では、肝臓の絶対及び相対重量の増加が200mg/kg群の雌雄に、相対重量の増加が40mg/kg群の雄に認められ、これらの群では肝細胞の肥大が観察された。更に、腎臓の絶対及び相対重量の増加が200mg/kg群の雌雄に認められた。腎臓の病理組織学的検査では、発現例数は少ないものの、200mg/kg群の雄1例で乳頭壊死のほか、腎盂拡張、近位尿細管上皮の好塩基性変化及び遠位尿細管の拡張が認められ、腎臓への影響が窺われた。また、すべての被験物質投与群の雄の腎臓では、近位尿細管上皮の硝子滴の出現頻度が対照群に比べて高く、その程度も投与量の増加とともに強くなる傾向がみられた。近位尿細管上皮の硝子滴は蛋白質の再吸収像と考えられ、自然発生的にもみられる変化²⁾であるが、被験物質投与により尿細管の再吸収能が亢進した可能性が考えられる。このほか、副腎の相対重量の増加が200mg/kg群の雌雄で認められ、200mg/kg群の雌では絶対重量にも増加が認められた。しかし、副腎の病理組織学的検査では変化は認められず、障害的意義は低いものと考えられた。そのほかにも器官重量では、200mg/kg群の雄及び40mg/kg群の雌で統計学的に有意な差のみられるものがあったが、200mg/kg群の雄については絶対重量の減少あるいは相対重量の増加であり、絶対及び相対重量で一定の傾向を示す変動ではなかったことから、体重が低値であったことに起因する変化で、毒性学的意義はないものと考えられた。また、40mg/kg群の雌の顎下腺の変化については絶対重量のみの変化であることに加え、投与量と変化の程度に一定の傾向がないことから、偶発的なものと判断された。

上述の被験物質投与に起因したと考えられる変化は、休薬によりすべて回復ないし回復傾向を示したことから、本被験物質投与によって生じた変化は可逆的であると考えられた。なお、回復試験では血液学的検査、血液化学的検査及び器官重量で統計学的に有意な差のみられた項目もあったが、いずれも投与期間終了時にはみられなかった変化であり、他に関連する変化もなかったことから、被験物質投与との関連性はないものと判断した。

以上のごとく、雌では8 mg/kg群で被験物質投与に起因した変化が認められなかったことから、無影響量は8 mg/kgと考えられた。一方、雄では8 mg/kg群でも尿細管上皮で硝子

滴の出現が増加したことから、無影響量は 8 mg/kg未満と考えられた。

参 考 文 献

- 1) S.L. Cheav and O. Foussard-Blanpin, Ann. Pharm. Fr., 48, 23(1990).
- 2) 渡辺満利, “毒性試験講座 5, 毒性病理学” 前川昭彦, 林 裕造編, 地人書館, 東京, 1991, pp.267-300.

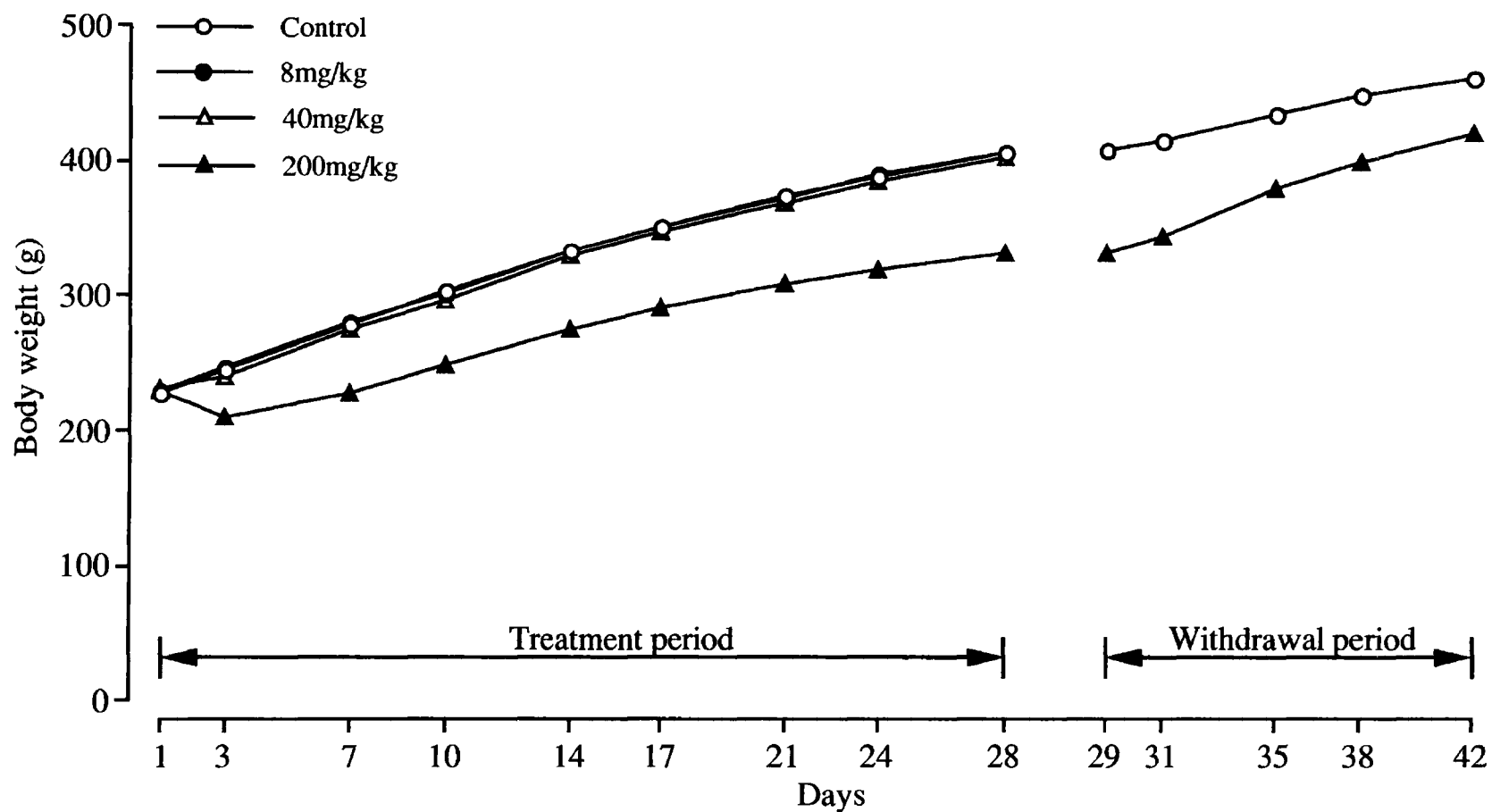


Fig.1 Mean body weight changes in male rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days followed by 14-day withdrawal period.

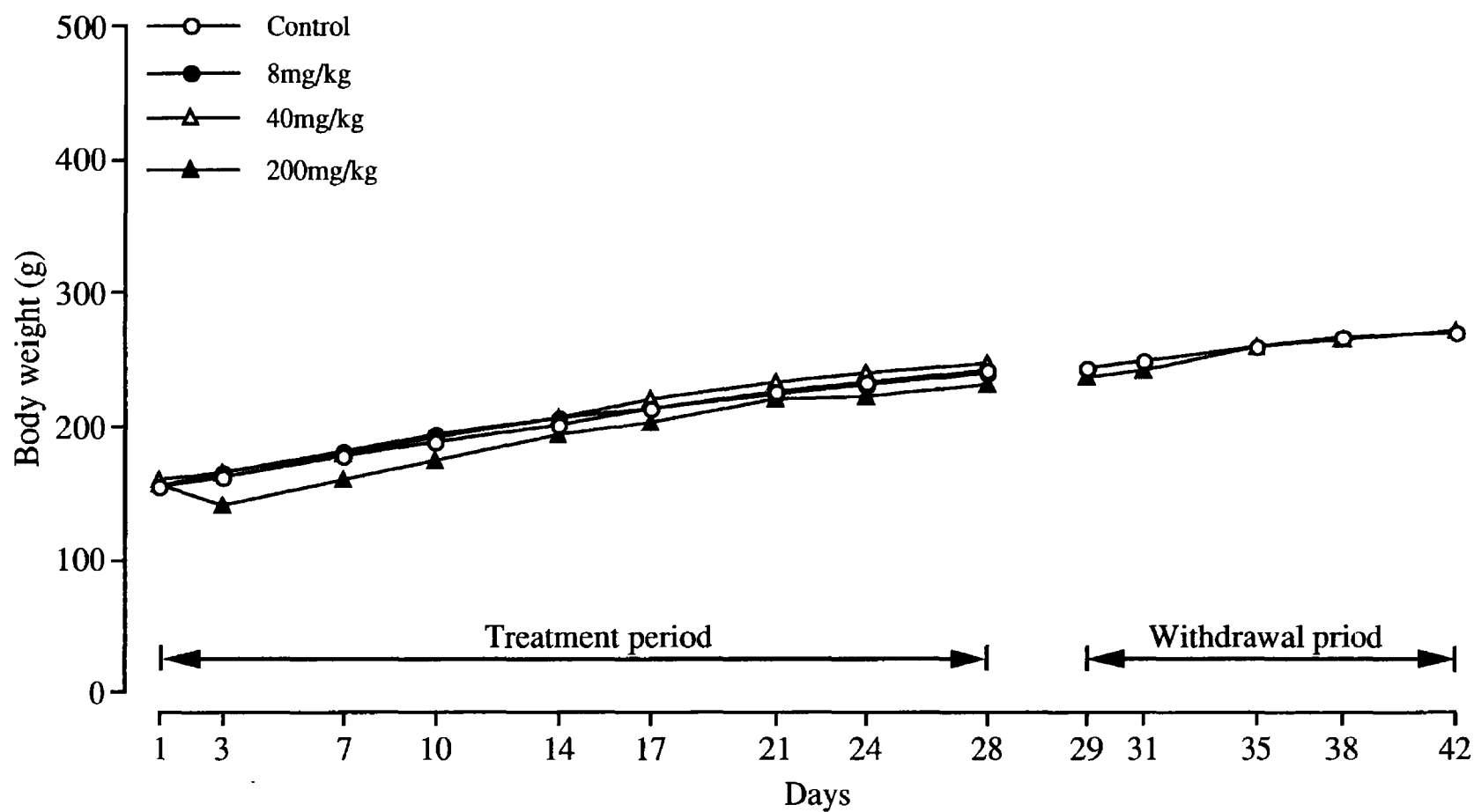


Fig. 2 Mean body weight changes in female rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days followed by 14-day withdrawal period.

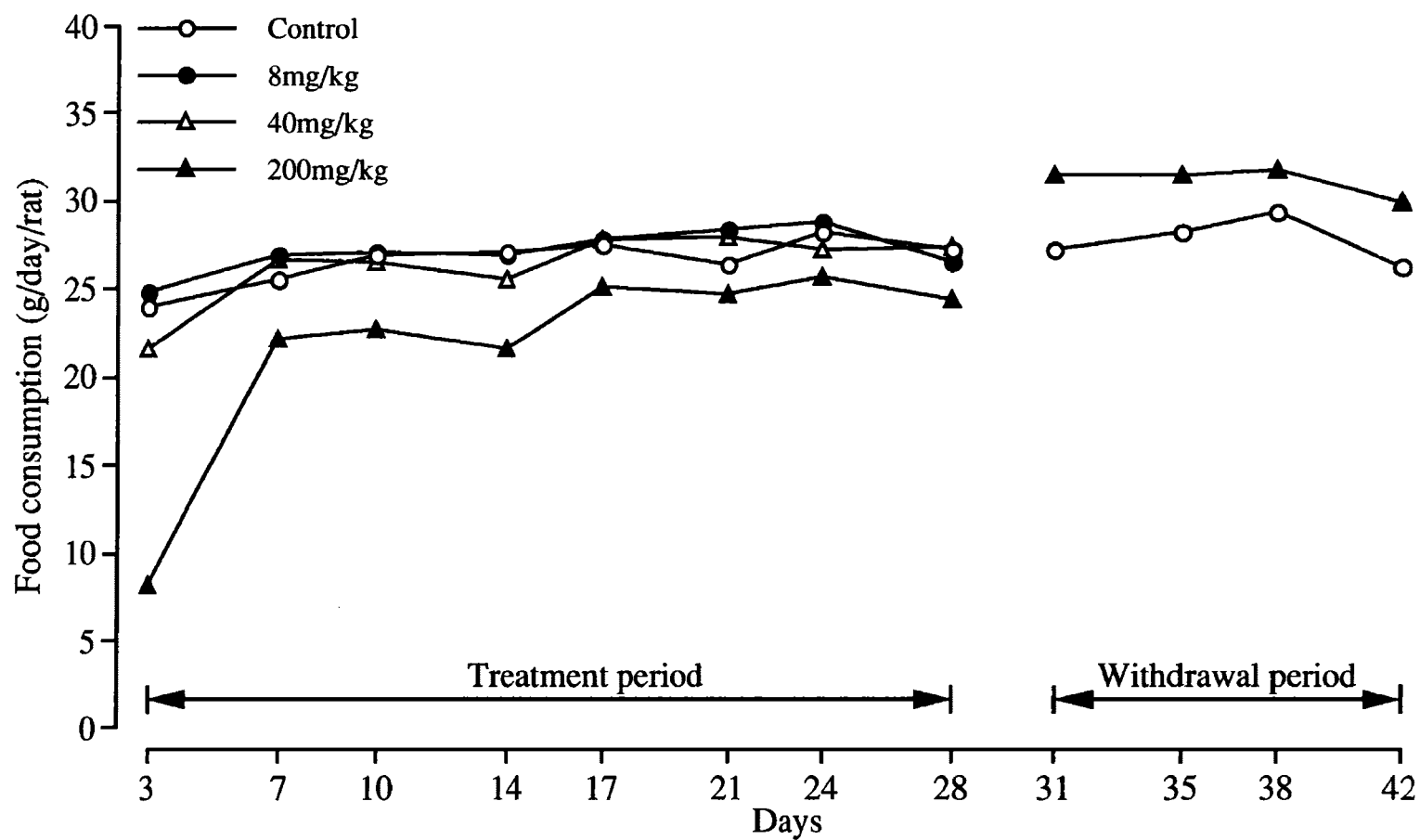


Fig. 3 Mean food consumption in male rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days followed by 14-day withdrawal period.

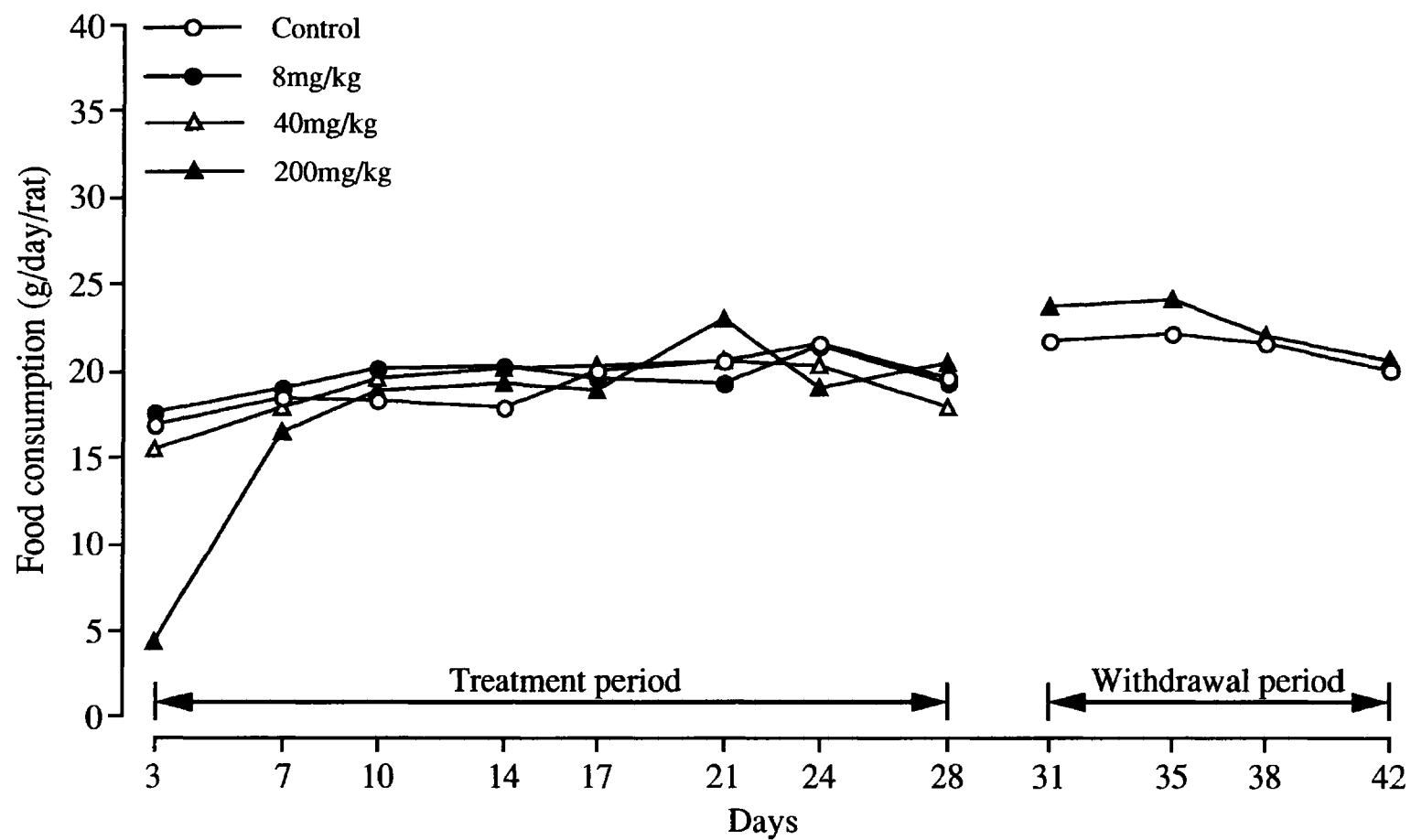


Fig. 4 Mean food consumption in female rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days followed by 14-day withdrawal period.

Table 1 Incidence of clinical signs in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose	Clinical sign	Days																			
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Male	Control	Number of examined No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
			12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	8mg/kg	Number of examined No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
			6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	40mg/kg	Number of examined No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
			6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	200mg/kg	Number of examined No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
			12	12	12	9	10	10	9	7	8	9	8	7	5	7	8	10	7	5	3	6
		Hypoactivity	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
		Bradypnea	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
		Salivation	0	0	0	3	2	2	3	5	4	3	4	4	6	5	4	2	5	7	9	6
Female	Control	Number of examined No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
			12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	8mg/kg	Number of examined No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
			6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	40mg/kg	Number of examined No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
			6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	200mg/kg	Number of examined No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
			12	11	9	8	9	7	6	5	6	7	6	3	6	4	4	2	2	3	3	3
		Hypoactivity	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
		Bradypnea	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
		Loss of fur	0	1	1	2	2	3	4	4	4	4	5	5	5	6	6	6	6	6	6	6
		Salivation	0	0	1	2	0	3	2	4	2	2	2	8	5	3	5	10	7	6	6	3
		Lacrimation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		Soiled perinaria	0	0	1	2	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Table 1 - continued Incidence of clinical signs in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose	Clinical sign	Days																			
			21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
Male	Control	Number of examined	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	8mg/kg	Number of examined	6	6	6	6	6	6	6	6												
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6												
	40mg/kg	Number of examined	6	6	6	6	6	6	6	6												
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6												
	200mg/kg	Number of examined	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No abnormality	6	7	6	6	8	4	6	7	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Hypoactivity	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Bradypnea	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Salivation	6	5	6	6	4	8	6	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Female	Control	Number of examined	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	8mg/kg	Number of examined	6	6	6	6	6	6	6	6												
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6												
	40mg/kg	Number of examined	6	6	6	6	6	6	6	6												
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6												
	200mg/kg	Number of examined	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No abnormality	3	4	4	3	3	4	3	2	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
		Hypoactivity	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Bradypnea	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Loss of fur	6	6	6	6	6	6	4	4	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
		Salivation	4	7	7	7	4	4	5	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Lacrimation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Soiled perianis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Table 1 - continued Incidence of clinical signs in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose	Clinical sign	Days	
			41	42
Male	Control	Number of examined	6	6
		No abnormality	6	6
	8mg/kg	Number of examined		
		No abnormality		
	40mg/kg	Number of examined		
		No abnormality		
	200mg/kg	Number of examined	6	6
		No abnormality	6	6
		Hypoactivity	0	0
		Bradypnea	0	0
		Salivation	0	0
Female	Control	Number of examined	6	6
		No abnormality	6	6
	8mg/kg	Number of examined		
		No abnormality		
	40mg/kg	Number of examined		
		No abnormality		
	200mg/kg	Number of examined	6	6
		No abnormality	4	5
		Hypoactivity	0	0
		Bradypnea	0	0
		Loss of fur	2	1
		Salivation	0	0
		Lacrimation	0	0
		Soiled perinaris	0	0

Table 2 Body weights in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose		Body weight (g) on day													
			1	3	7	10	14	17	21	24	28	29	31	35	38	42
Male	Control	N	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6	6	6
		Mean	226.8	244.2	278.4	301.8	332.1	350.1	372.5	387.4	405.3	408.5	415.0	433.9	449.3	461.0
		S.D.	±8.0	±8.5	±11.2	±15.2	±15.9	±17.1	±17.6	±20.4	±21.6	±30.8	±29.0	±33.8	±32.3	±32.2
	8mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6					
		Mean	228.0	245.7	279.9	300.5	331.7	350.2	371.6	388.1	405.6					
		S.D.	±6.3	±8.7	±12.9	±13.9	±19.1	±20.7	±23.8	±26.5	±30.9					
	40mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6					
		Mean	229.3	239.8	274.8	296.0	329.0	346.9	368.1	384.1	401.0					
		S.D.	±4.1	±6.3	±11.3	±14.4	±17.8	±16.7	±19.0	±20.5	±18.4					
	200mg/kg	N	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6	6	6
		Mean	227.8	209.1**	227.0**	247.4**	273.9**	289.5**	307.2**	317.9**	330.0**	332.1**	344.4**	380.0*	399.0*	420.2
		S.D.	±7.9	±12.0	±10.6	±15.8	±17.1	±20.5	±19.2	±23.1	±24.7	±31.9	±33.3	±33.4	±31.7	±34.7
Female	Control	N	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6	6	6
		Mean	154.2	161.9	177.5	188.5	199.4	212.2	225.5	232.2	240.0	241.7	246.3	257.8	263.8	267.9
		S.D.	±7.2	±7.8	±9.4	±8.0	±8.5	±9.2	±6.7	±8.7	±9.9	±10.4	±14.6	±14.2	±14.3	±18.9
	8mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6					
		Mean	154.9	164.3	180.1	192.6	205.6	212.7	222.6	230.7	239.8					
		S.D.	±9.6	±10.1	±11.2	±10.8	±10.7	±10.3	±11.5	±11.9	±12.1					
	40mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6					
		Mean	158.7	164.0	179.7	192.1	206.1	219.0	232.0	239.5	246.3					
		S.D.	±6.0	±6.7	±6.7	±10.6	±12.6	±11.4	±14.4	±16.1	±20.8					
	200mg/kg	N	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6	6	6
		Mean	156.7	140.1**	160.4**	173.6*	192.8	202.7	220.1	222.1	230.8	233.8	238.6	256.4	262.1	268.6
		S.D.	±8.0	±9.2	±9.7	±12.6	±15.8	±18.3	±17.8	±18.8	±19.8	±23.9	±23.1	±24.2	±18.6	±21.7

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

Table 3 Food consumption in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose		Food consumption (g) on day											
			3	7	10	14	17	21	24	28	31	35	38	42
Male	Control	N	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6	6
		Mean	23.9	25.5	26.9	27.0	27.5	26.3	28.1	27.2	27.1	28.0	29.2	26.0
		S.D.	±1.3	±2.0	±2.1	±1.4	±2.2	±1.4	±1.9	±2.5	±1.8	±2.9	±2.2	±1.7
	8mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6				
		Mean	24.7	26.9	27.0	26.9	27.7	28.3	28.7	26.4				
		S.D.	±1.8	±2.7	±2.5	±3.0	±1.7	±2.5	±1.6	±2.6				
	40mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6				
		Mean	21.5	26.6	26.5	25.4	27.7	27.9	27.2	27.3				
		S.D.	±1.6	±0.9	±0.7	±1.0	±0.8	±1.0	±2.4	±1.9				
	200mg/kg	N	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6	6
		Mean	8.1**	22.1	22.7	21.5**	25.0	24.6	25.6	24.4	31.3*	31.3	31.5	29.8*
		S.D.	±4.3	±4.4	±6.1	±2.8	±3.3	±3.4	±3.6	±3.5	±3.5	±3.1	±3.6	±3.4
Female	Control	N	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6	6
		Mean	16.9	18.4	18.2	17.8	20.0	20.5	21.5	19.5	21.7	22.2	21.6	20.0
		S.D.	±1.8	±2.2	±2.1	±2.2	±1.9	±1.5	±2.9	±2.7	±4.5	±3.4	±2.5	±4.3
	8mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6				
		Mean	17.5	19.0	20.1	20.2	19.6	19.2	21.4	19.2				
		S.D.	±2.5	±2.1	±2.2	±1.2	±3.6	±3.1	±2.1	±3.0				
	40mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6				
		Mean	15.4	17.9	19.5	20.1	20.2	20.5	20.2	17.8				
		S.D.	±1.6	±0.4	±2.5	±2.9	±1.6	±0.9	±2.5	±3.9				
	200mg/kg	N	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6	6
		Mean	4.3**	16.4	18.8	19.3	18.9	22.9*	19.0	20.4	23.8	24.1	22.1	20.7
		S.D.	±3.1	±4.8	±3.1	±3.8	±4.2	±1.6	±2.7	±3.6	±1.3	±3.4	±4.3	±2.5

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

Table 4 Urinary findings in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days

Sex	Group and dose	Number of animals	Urine volume (ml/24hr)	Osmotic pressure (Osm/kg)	Specific gravity	pH
Male	Control	12	14.6 ±5.9	1.561 ±0.489	1.051 ±0.016	8.0 ±0.3
	8mg/kg	6	21.3 ±9.3	1.171 ±0.411	1.038 ±0.014	7.7 ±0.4
	40mg/kg	6	27.0 ±7.0	0.824* ±0.190	1.028* ±0.007	7.8 ±0.4
	200mg/kg	12	34.0** ±12.3	0.711** ±0.389	1.025** ±0.014	7.4* ±0.6
Female	Control	12	6.4 ±2.8	1.891 ±0.527	1.061 ±0.018	8.0 ±0.5
	8mg/kg	6	7.3 ±2.4	1.577 ±0.333	1.052 ±0.011	8.1 ±0.2
	40mg/kg	6	14.5 ±4.6	1.078* ±0.263	1.036* ±0.010	7.8 ±0.4
	200mg/kg	12	24.4** ±12.6	0.762** ±0.588	1.026** ±0.020	7.0** ±0.4

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$ (significantly different from control).
Values are mean±S.D.

Table 4 - continued Urinary findings in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days

Sex	Group and dose	Number of animals	Color		Protein			Glucose	Ketone body	Bilirubin	Occult blood		
			PY	Y	-	±	+	-	-	-	-	+	≡
Male	Control	12	3	9	5	3	4	12	12	12	12	0	0
	8mg/kg	6	5	1	5	0	1	6	6	6	6	0	0
	40mg/kg	6	6	0	6	0	0	6	6	6	6	0	0
	200mg/kg	12	11	1	11	1	0	12	12	12	12	0	0
Female	Control	12	1	11	6	2	4	12	12	12	11	1	0
	8mg/kg	6	0	6	3	1	2	6	6	6	6	0	0
	40mg/kg	6	5	1	6	0	0	6	6	6	5	0	1
	200mg/kg	12	11	1	12	0	0	12	12	12	12	0	0

Abbreviation: PY, pale yellow; Y, yellow.

Grade sign: -, none; ±, trace; +, slight; ≡, moderate; ≡, severe; ≡, very severe.

Table 4 - continued Urinary findings in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days

Sex	Group and dose	Number of animals	Urobilinogen (mg/dl)	
			<1	1
Male	Control	12	12	0
	8mg/kg	6	6	0
	40mg/kg	6	6	0
	200mg/kg	12	12	0
Female	Control	12	9	3
	8mg/kg	6	4	2
	40mg/kg	6	6	0
	200mg/kg	12	12	0

Table 4 - continued Urinary findings in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days

Sex	Group and dose	Number of animals	Urinary sediment								
			Epithelial cells		Erythrocytes	Leucocytes		Casts	Crystals		
			-	+		-	+		-	+	#
Male	Control	12	10	2	12	12	0	12	6	4	2
	8mg/kg	6	6	0	6	6	0	6	2	3	1
	40mg/kg	6	4	2	6	6	0	6	4	1	1
	200mg/kg	12	8	4	12	12	0	12	11	1	0
Female	Control	12	12	0	12	11	1	12	8	3	1
	8mg/kg	6	6	0	6	6	0	6	6	0	0
	40mg/kg	6	6	0	6	6	0	6	6	0	0
	200mg/kg	12	11	1	12	12	0	12	9	3	0

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.
 Leucocytes : -, < 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 5 Urinary findings in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose	Number of animals	Urine volume (ml/24hr)	Osmotic pressure (Osm/kg)	Specific gravity	pH
Male	Control	6	19.6 ±9.3	1.482 ±0.589	1.048 ±0.019	7.8 ±0.3
	200mg/kg	6	23.5 ±8.0	1.254 ±0.313	1.041 ±0.011	7.8 ±0.3
Female	Control	6	10.4 ±4.5	1.660 ±0.461	1.052 ±0.014	8.1 ±0.2
	200mg/kg	6	11.6 ±5.1	1.468 ±0.429	1.046 ±0.013	8.0 ±0.4

Values are mean±S.D.

Table 5 - continued Urinary findings in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose	Number of animals	Color		Protein			Glucose	Ketone body	Bilirubin	Occult blood
			PY	Y	-	±	+	-	-	-	-
Male	Control	6	4	2	2	2	2	6	6	6	6
	200mg/kg	6	2	4	3	3	0	6	6	6	6
Female	Control	6	0	6	3	2	1	6	6	6	6
	200mg/kg	6	0	6	4	2	0	6	6	6	6

Abbreviation: PY, pale yellow; Y, yellow.

Grade sign: -, none; ±, trace; +, slight; *, moderate; **, severe; ***, very severe.

Table 5 - continued Urinary findings in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose	Number of animals	Urobilinogen (mg/dl)	
			<1	1
Male	Control	6	5	1
	200mg/kg	6	6	0
Female	Control	6	4	2
	200mg/kg	6	5	1

Table 5 - continued Urinary findings in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose	Number of animals	Urinary sediment							
			Epithelial cells	Erythrocytes	Leucocytes		Casts	Crystals		
			-	-	-	+	-	-	+	#
Male	Control	6	6	6	6	0	6	3	1	2
	200mg/kg	6	6	6	6	0	6	2	4	0
Female	Control	6	6	6	6	0	6	6	0	0
	200mg/kg	6	6	6	5	1	6	4	2	0

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.
 Leucocytes : -, < 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 6 Hematological findings in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days

Sex	Group and dose	Number of animals	Leucocyte ($10^2/\mu\text{l}$)	Erythrocyte ($10^4/\mu\text{l}$)	Hemoglobin (g/dl)	Hematocrit (%)	Platelet ($10^4/\mu\text{l}$)	MCV (fl)	MCH (pg)
Male	Control	6	83 ± 22	793 ± 44	14.8 ± 0.6	46.8 ± 2.0	104.2 ± 10.6	59 ± 2	18.6 ± 0.6
	8mg/kg	6	59 ± 17	803 ± 25	15.2 ± 0.5	48.0 ± 2.1	97.9 ± 9.4	60 ± 2	18.9 ± 0.6
	40mg/kg	6	73 ± 7	783 ± 20	15.0 ± 0.3	47.7 ± 1.1	97.0 ± 8.2	61 ± 2	19.2 ± 0.3
	200mg/kg	6	83 ± 18	801 ± 25	15.3 ± 0.7	47.9 ± 2.1	109.3 ± 8.4	60 ± 1	19.1 ± 0.3
Female	Control	6	57 ± 13	786 ± 38	14.6 ± 0.6	46.3 ± 2.5	105.8 ± 9.9	59 ± 2	18.6 ± 0.6
	8mg/kg	6	51 ± 14	771 ± 22	14.5 ± 0.4	45.7 ± 1.2	105.5 ± 6.8	60 ± 3	18.9 ± 0.6
	40mg/kg	6	74 ± 19	772 ± 35	14.7 ± 0.5	46.4 ± 1.2	103.4 ± 9.2	60 ± 2	19.1 ± 0.4
	200mg/kg	6	69 ± 27	746 ± 44	14.3 ± 0.4	45.4 ± 1.2	93.7 ± 43.2	61 ± 3	19.2 ± 0.8

Values are mean $\pm$ S.D.

Table 6 - continued Hematological findings in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days

Sex	Group and dose	Number of animals	MCHC (%)	Prothrombin time (sec)	APTT (sec)
Male	Control	6	31.6 ±0.3	14.8 ±2.6	20.0 ±1.2
	8mg/kg	6	31.6 ±0.6	17.0 ±3.3	21.1 ±1.5
	40mg/kg	6	31.5 ±0.4	14.8 ±1.3	20.6 ±1.1
	200mg/kg	6	32.0 ±0.3	14.2 ±5.6	20.7 ±4.1
Female	Control	6	31.7 ±0.5	11.1 ±0.6	17.0 ±1.7
	8mg/kg	6	31.8 ±0.7	11.0 ±0.5	16.3 ±1.0
	40mg/kg	6	31.8 ±0.5	11.2 ±0.6	16.1 ±1.4
	200mg/kg	6	31.5 ±0.7	10.4 ±0.2	15.1 ±1.7

Values are mean±S.D.

Table 6 - continued Hematological findings in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days

Sex	Group and dose	Number of animals	Differential leucocyte count					
			Eosinophil	Neutro-Stab.	Neutro-Seg.	Lymphocyte	Basophil	Monocyte
			(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
Male	Control	6	0.5 ±1.2	0.2 ±0.4	11.8 ±5.2	85.7 ±4.9	0.0 ±0.0	1.8 ±1.5
	8mg/kg	6	0.7 ±1.0	0.0 ±0.0	17.5 ±6.2	80.7 ±6.7	0.0 ±0.0	1.2 ±0.8
	40mg/kg	6	0.3 ±0.8	0.0 ±0.0	20.5 ±3.9	78.0 ±4.9	0.0 ±0.0	1.2 ±0.8
	200mg/kg	6	0.7 ±0.5	0.0 ±0.0	22.2 ±11.0	74.2 ±10.6	0.0 ±0.0	3.0 ±1.1
Female	Control	6	0.3 ±0.5	0.0 ±0.0	9.3 ±4.1	88.7 ±4.3	0.0 ±0.0	1.7 ±0.8
	8mg/kg	6	0.8 ±0.8	0.0 ±0.0	10.8 ±4.8	87.2 ±5.1	0.0 ±0.0	1.2 ±1.0
	40mg/kg	6	0.2 ±0.4	0.0 ±0.0	11.7 ±4.7	87.5 ±5.3	0.0 ±0.0	0.7 ±0.5
	200mg/kg	6	0.2 ±0.4	0.0 ±0.0	10.2 ±2.0	88.3 ±2.3	0.0 ±0.0	1.3 ±0.8

Values are mean±S.D.

Table 7 Hematological findings in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose	Number of animals	Leucocyte ($10^2/\mu\text{l}$)	Erythrocyte ($10^4/\mu\text{l}$)	Hemoglobin (g/dl)	Hematocrit (%)	Platelet ($10^4/\mu\text{l}$)	MCV (fl)	MCH (pg)
Male	Control	6	70 ± 16	826 ± 41	14.9 ± 0.4	46.7 ± 1.6	102.2 ± 14.0	57 ± 1	18.0 ± 0.6
	200mg/kg	6	64 ± 14	785 ± 30	14.4 ± 0.5	45.9 ± 2.1	95.8 ± 7.1	59 ± 2	18.4 ± 0.6
Female	Control	6	63 ± 15	763 ± 24	14.0 ± 0.3	43.7 ± 0.7	107.2 ± 8.2	57 ± 1	18.3 ± 0.5
	200mg/kg	6	53 ± 16	775 ± 22	14.3 ± 0.5	46.0* ± 1.8	91.8** ± 3.7	59* ± 1	18.4 ± 0.4

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$ (significantly different from control).
Values are mean $\pm$ S.D.

Table 7 - continued Hematological findings in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose	Number of animals	MCHC (%)	Prothrombin time (sec)	APTT (sec)
Male	Control	6	31.8 ±0.4	17.4 ±3.0	24.6 ±1.3
	200mg/kg	6	31.3 ±0.7	13.2* ±0.8	21.4** ±1.4
Female	Control	6	32.0 ±0.5	10.6 ±0.6	18.3 ±0.8
	200mg/kg	6	31.0** ±0.5	10.7 ±0.4	18.3 ±1.7

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$ (significantly different from control).
Values are mean±S.D.

Table 7 - continued Hematological findings in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days
followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose	Number of animals	Differential leucocyte count					
			Eosinophil	Neutro-Stab.	Neutro-Seg.	Lymphocyte	Basophil	Monocyte
			(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
Male	Control	6	0.7 ±0.8	0.0 ±0.0	12.8 ±2.3	84.8 ±3.1	0.0 ±0.0	1.7 ±1.0
	200mg/kg	6	0.3 ±0.5	0.0 ±0.0	13.0 ±4.7	84.8 ±4.6	0.0 ±0.0	1.8 ±0.8
Female	Control	6	0.2 ±0.4	0.0 ±0.0	11.8 ±6.3	87.3 ±6.6	0.0 ±0.0	0.7 ±0.8
	200mg/kg	6	1.2* ±0.8	0.0 ±0.0	17.5 ±5.8	80.3 ±5.3	0.0 ±0.0	1.0 ±0.6

*: P<0.05 (significantly different from control).
Values are mean±S.D.

Table 8 Biochemical findings in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days

Sex	Group and dose	Number of animals	T.protein (g/dl)	Albumin (g/dl)	A/G ratio	T.bilirubin (mg/dl)	GOT (IU/l)	GPT (IU/l)	γ -GTP (IU/l)	ALP (IU/l)
Male	Control	6	4.8 ± 0.2	3.5 ± 0.2	2.72 ± 0.36	0.0 ± 0.0	89 ± 19	25 ± 7	0.1 ± 0.1	325 ± 45
	8mg/kg	6	4.9 ± 0.2	3.6 ± 0.2	2.78 ± 0.43	0.0 ± 0.0	89 ± 14	21 ± 2	0.1 ± 0.1	322 ± 43
	40mg/kg	6	5.0 ± 0.3	3.6 ± 0.2	2.50 ± 0.23	0.0 ± 0.0	92 ± 11	25 ± 3	0.0 ± 0.1	304 ± 43
	200mg/kg	6	5.6** ± 0.4	3.9* ± 0.3	2.41 ± 0.40	0.0 ± 0.0	99 ± 14	37 ± 9	0.3 ± 0.3	244* ± 39
Female	Control	6	4.8 ± 0.2	3.7 ± 0.2	3.54 ± 0.46	0.0 ± 0.0	96 ± 19	16 ± 3	0.1 ± 0.2	207 ± 37
	8mg/kg	6	5.0 ± 0.3	3.9 ± 0.2	3.33 ± 0.27	0.0 ± 0.0	93 ± 7	17 ± 3	0.2 ± 0.2	201 ± 43
	40mg/kg	6	5.0 ± 0.3	3.7 ± 0.2	3.06 ± 0.47	0.0 ± 0.0	102 ± 18	23 ± 5	0.2 ± 0.2	188 ± 24
	200mg/kg	6	5.7** ± 0.6	4.3** ± 0.4	3.05 ± 0.43	0.0 ± 0.0	96 ± 18	37** ± 13	0.4 ± 0.3	173 ± 35

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$ (significantly different from control).
Values are mean $\pm$ S.D.

Table 8 - continued Biochemical findings in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days

Sex	Group and dose	Number of animals	T.cholesterol (mg/dl)	Triglycerides (mg/dl)	Phospholipids (mg/dl)	Glucose (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)	IP (mg/dl)	Ca (mg/dl)
Male	Control	6	37 ±8	23 ±7	65 ±9	118 ±16	15.9 ±1.8	0.4 ±0.1	7.2 ±0.5	9.4 ±0.3
	8mg/kg	6	46 ±6	36 ±14	76 ±10	110 ±13	16.5 ±1.5	0.4 ±0.1	7.6 ±0.6	9.5 ±0.2
	40mg/kg	6	51 ±11	25 ±4	81 ±15	113 ±9	15.4 ±1.0	0.4 ±0.1	7.2 ±0.7	9.5 ±0.2
	200mg/kg	6	84** ±12	28 ±7	123** ±12	109 ±10	17.9 ±3.0	0.4 ±0.1	7.2 ±0.3	9.7* ±0.2
Female	Control	6	39 ±9	12 ±3	70 ±18	108 ±11	22.2 ±2.2	0.4 ±0.1	8.2 ±0.8	9.6 ±0.3
	8mg/kg	6	45 ±11	12 ±3	79 ±16	110 ±6	24.0 ±5.0	0.4 ±0.1	8.1 ±0.7	9.5 ±0.1
	40mg/kg	6	49 ±11	14 ±4	80 ±15	112 ±14	23.5 ±3.6	0.5 ±0.1	8.4 ±0.8	9.7 ±0.3
	200mg/kg	6	99** ±9	21** ±5	152** ±14	128** ±6	21.7 ±2.5	0.4 ±0.1	7.6 ±0.5	10.2** ±0.3

*: P<0.05, **: P<0.01 (significantly different from control).
Values are mean±S.D.

Table 8 - continued Biochemical findings in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days

Sex	Group and dose	Number of animals	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Cl (mEq/l)
Male	Control	6	147.2 ±0.9	4.22 ±0.16	108.0 ±1.0
	8mg/kg	6	147.7 ±0.5	4.14 ±0.08	108.3 ±1.4
	40mg/kg	6	146.9 ±0.3	4.08 ±0.16	107.0 ±0.8
	200mg/kg	6	146.0 ±1.4	4.28 ±0.16	105.4** ±1.5
Female	Control	6	146.1 ±0.8	4.09 ±0.20	109.0 ±0.7
	8mg/kg	6	146.3 ±0.9	4.05 ±0.29	109.2 ±0.9
	40mg/kg	6	145.9 ±1.0	4.06 ±0.18	108.3 ±0.6
	200mg/kg	6	144.3* ±1.2	4.06 ±0.24	106.5** ±1.4

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$ (significantly different from control).
Values are mean±S.D.

Table 9 Biochemical findings in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose	Number of animals	T.protein (g/dl)	Albumin (g/dl)	A/G ratio	T.bilirubin (mg/dl)	GOT (IU/l)	GPT (IU/l)	γ -GTP (IU/l)	ALP (IU/l)
Male	Control	6	5.2 ± 0.3	3.7 ± 0.2	2.61 ± 0.11	0.0 ± 0.0	97 ± 8	21 ± 2	0.5 ± 0.2	288 ± 40
	200mg/kg	6	5.1 ± 0.2	3.6 ± 0.2	2.32** ± 0.19	0.0 ± 0.0	79** ± 7	23 ± 5	0.5 ± 0.3	274 ± 49
Female	Control	6	5.3 ± 0.3	4.0 ± 0.3	3.19 ± 0.56	0.0 ± 0.0	90 ± 15	16 ± 1	0.4 ± 0.1	149 ± 30
	200mg/kg	6	5.1 ± 0.2	3.8 ± 0.2	2.80 ± 0.43	0.0 ± 0.0	74* ± 7	17 ± 2	0.4 ± 0.2	144 ± 25

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$ (significantly different from control).
Values are mean $\pm$ S.D.

Table 9 - continued Biochemical findings in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose	Number of animals	T.cholesterol (mg/dl)	Triglycerides (mg/dl)	Phospholipids (mg/dl)	Glucose (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)	IP (mg/dl)	Ca (mg/dl)
Male	Control	6	47 ±7	31 ±11	73 ±8	130 ±13	14.8 ±1.3	0.4 ±0.1	6.6 ±0.4	9.5 ±0.3
	200mg/kg	6	48 ±4	39 ±8	82 ±8	123 ±16	15.6 ±1.7	0.4 ±0.1	7.0 ±0.3	9.5 ±0.3
Female	Control	6	47 ±8	13 ±3	89 ±12	131 ±13	20.1 ±1.8	0.5 ±0.0	6.9 ±0.4	9.7 ±0.2
	200mg/kg	6	54 ±5	18* ±4	95 ±10	131 ±14	19.2 ±1.4	0.4 ±0.1	7.5 ±0.6	9.6 ±0.2

*: P<0.05 (significantly different from control).
Values are mean±S.D.

Table 9 - continued Biochemical findings in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose	Number of animals	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Cl (mEq/l)
Male	Control	6	145.1 ±0.3	4.27 ±0.16	105.0 ±0.9
	200mg/kg	6	145.8 ±0.7	4.10 ±0.16	105.4 ±1.4
Female	Control	6	145.4 ±1.3	4.21 ±0.15	107.0 ±2.1
	200mg/kg	6	145.7 ±0.9	4.00* ±0.16	106.7 ±1.2

*: $P < 0.05$ (significantly different from control).
Values are mean ± S.D.

Table 10 Necropsy findings in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days

Organs and findings	Sex	Male				Female			
	Group and dose	Control	8mg/kg	40mg/kg	200mg/kg	Control	8mg/kg	40mg/kg	200mg/kg
	Number of animals	6	6	6	6	6	6	6	6
Integumentary system									
Integument									
Loss of fur, local		0	0	0	0	0	0	0	1

No appreciable changes in all other organs and tissues.

Table 11 Necropsy findings in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Organs and findings	Sex	Male		Female	
	Group and dose	Control	200mg/kg	Control	200mg/kg
	Number of animals	6	6	6	6
Integumentary system					
Integument					
Loss of fur, local					
		0	0	0	1
No appreciable changes in all other organs and tissues.					

Table 12 Organ weights in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days

Sex	Group and dose		Final Body Weight	Brain		Submaxillary glands		Heart	
			(g)	(g)	(g/100gB.W.)	(g)	(g/100gB.W.)	(g)	(g/100gB.W.)
Male	Control	N	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	371.2	2.12	0.57	0.61	0.17	1.42	0.38
		S.D.	±12.8	±0.01	±0.02	±0.04	±0.01	±0.11	±0.04
	8mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	372.4	2.08	0.56	0.62	0.17	1.34	0.36
		S.D.	±27.9	±0.03	±0.04	±0.06	±0.01	±0.11	±0.02
	40mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	364.5	2.13	0.59	0.64	0.18	1.27	0.35
		S.D.	±16.7	±0.04	±0.02	±0.04	±0.01	±0.09	±0.03
	200mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	298.7**	2.03**	0.68**	0.61	0.20*	1.11**	0.37
		S.D.	±15.1	±0.03	±0.04	±0.07	±0.02	±0.09	±0.03
Female	Control	N	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	218.9	1.96	0.89	0.37	0.17	0.85	0.39
		S.D.	±7.5	±0.04	±0.04	±0.01	±0.01	±0.06	±0.03
	8mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	220.6	1.90	0.87	0.41	0.19	0.85	0.39
		S.D.	±13.1	±0.05	±0.05	±0.06	±0.02	±0.06	±0.03
	40mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	225.1	1.94	0.87	0.43*	0.19	0.88	0.39
		S.D.	±16.3	±0.05	±0.06	±0.04	±0.02	±0.09	±0.03
	200mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	206.5	1.89	0.92	0.42	0.20	0.83	0.40
		S.D.	±13.1	±0.05	±0.06	±0.03	±0.02	±0.11	±0.04

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

Table 12 - continued Organ weights in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days

Sex	Group and dose		Lungs		Thymus		Liver		Spleen	
			(g)	(g/100gB.W.)	(g)	(g/100gB.W.)	(g)	(g/100gB.W.)	(g)	(g/100gB.W.)
Male	Control	N	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	1.29	0.35	0.55	0.15	10.54	2.84	0.71	0.19
		S.D.	±0.05	±0.02	±0.13	±0.03	±0.26	±0.06	±0.07	±0.02
	8mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	1.32	0.36	0.50	0.13	10.67	2.87	0.68	0.18
		S.D.	±0.08	±0.02	±0.09	±0.02	±1.06	±0.18	±0.05	±0.02
	40mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	1.29	0.36	0.55	0.15	11.52	3.16**	0.65	0.18
		S.D.	±0.06	±0.02	±0.12	±0.03	±0.76	±0.15	±0.11	±0.03
	200mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	1.16*	0.39	0.33**	0.11	12.60**	4.22**	0.54**	0.18
		S.D.	±0.11	±0.04	±0.05	±0.01	±0.61	±0.14	±0.08	±0.02
Female	Control	N	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	1.03	0.47	0.51	0.23	6.67	3.05	0.50	0.23
		S.D.	±0.08	±0.03	±0.10	±0.04	±0.34	±0.13	±0.04	±0.02
	8mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	1.00	0.45	0.54	0.25	6.83	3.10	0.47	0.21
		S.D.	±0.08	±0.01	±0.08	±0.03	±0.55	±0.22	±0.06	±0.02
	40mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	1.06	0.47	0.56	0.25	7.39	3.28	0.53	0.24
		S.D.	±0.07	±0.02	±0.11	±0.03	±0.77	±0.19	±0.07	±0.03
	200mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	0.97	0.47	0.40	0.20	9.91**	4.79**	0.40	0.19
		S.D.	±0.11	±0.03	±0.06	±0.02	±1.19	±0.31	±0.10	±0.04

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

Table 12 - continued Organ weights in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days

Sex	Group and dose		Kidneys		Adrenals		Testes		Ovaries	
			(g)	(g/100gB.W.)	(mg)	(mg/100gB.W.)	(g)	(g/100gB.W.)	(mg)	(mg/100gB.W.)
Male	Control	N	6	6	6	6	6	6		
		Mean	2.76	0.74	71.3	19.2	3.24	0.87		
		S.D.	±0.19	±0.05	±6.7	±2.0	±0.22	±0.08		
	8mg/kg	N	6	6	6	6	6	6		
		Mean	2.61	0.70	66.1	17.8	3.21	0.86		
		S.D.	±0.17	±0.04	±10.2	±3.0	±0.26	±0.04		
	40mg/kg	N	6	6	6	6	6	6		
		Mean	2.78	0.76	69.0	18.9	3.06	0.84		
		S.D.	±0.21	±0.05	±7.5	±1.7	±0.15	±0.07		
	200mg/kg	N	6	6	6	6	6	6		
		Mean	2.97	1.00**	71.7	24.0**	3.13	1.05**		
		S.D.	±0.24	±0.12	±8.3	±2.0	±0.29	±0.07		
Female	Control	N	6	6	6	6			6	6
		Mean	1.75	0.80	66.0	30.2			96.4	44.0
		S.D.	±0.10	±0.04	±6.8	±3.6			±22.4	±9.6
	8mg/kg	N	6	6	6	6			6	6
		Mean	1.72	0.78	68.2	31.0			88.6	40.3
		S.D.	±0.17	±0.07	±4.9	±1.9			±11.6	±5.9
	40mg/kg	N	6	6	6	6			6	6
		Mean	1.69	0.75	71.5	31.8			95.1	42.3
		S.D.	±0.12	±0.03	±4.6	±1.5			±12.6	±5.4
	200mg/kg	N	6	6	6	6			6	6
		Mean	1.84	0.89**	82.2**	39.9**			88.2	42.6
		S.D.	±0.18	±0.03	±6.2	±3.3			±17.6	±7.3

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

Table 13 Organ weights in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose		Final Body Weight	Brain		Submaxillary glands		Heart	
			(g)	(g)	(g/100gB.W.)	(g)	(g/100gB.W.)	(g)	(g/100gB.W.)
Male	Control	N	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	424.2	2.17	0.52	0.64	0.15	1.42	0.33
		S.D.	±29.6	±0.06	±0.04	±0.07	±0.01	±0.14	±0.02
	200mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	380.1*	2.04*	0.54	0.59	0.16	1.31	0.34
		S.D.	±30.6	±0.10	±0.04	±0.07	±0.01	±0.15	±0.02
Female	Control	N	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	247.8	1.99	0.81	0.43	0.17	0.90	0.36
		S.D.	±15.4	±0.08	±0.05	±0.05	±0.02	±0.06	±0.01
	200mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	242.6	1.97	0.82	0.40	0.17	0.94	0.39**
		S.D.	±21.3	±0.07	±0.06	±0.03	±0.01	±0.09	±0.01

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

Table 13 - continued Organ weights in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose		Lungs		Thymus		Liver		Spleen	
			(g)	(g/100gB.W.)	(g)	(g/100gB.W.)	(g)	(g/100gB.W.)	(g)	(g/100gB.W.)
Male	Control	N	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	1.40	0.33	0.41	0.10	11.43	2.69	0.73	0.17
		S.D.	±0.04	±0.01	±0.11	±0.02	±1.33	±0.21	±0.10	±0.02
	200mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	1.25**	0.33	0.50	0.13*	11.36	2.98*	0.63	0.17
		S.D.	±0.05	±0.02	±0.09	±0.02	±1.49	±0.19	±0.08	±0.02
Female	Control	N	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	1.05	0.42	0.48	0.19	7.23	2.91	0.53	0.21
		S.D.	±0.10	±0.02	±0.07	±0.03	±0.83	±0.20	±0.09	±0.02
	200mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	1.06	0.44	0.55	0.22	7.96	3.28**	0.50	0.21
		S.D.	±0.13	±0.03	±0.13	±0.04	±0.64	±0.12	±0.06	±0.02

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

Table 13 - continued Organ weights in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose		Kidneys		Adrenals		Testes		Ovaries	
			(g)	(g/100gB.W.)	(mg)	(mg/100gB.W.)	(g)	(g/100gB.W.)	(mg)	(mg/100gB.W.)
Male	Control	N	6	6	6	6	6	6		
		Mean	2.85	0.67	65.9	15.5	3.26	0.77		
		S.D.	±0.25	±0.05	±10.9	±2.4	±0.21	±0.08		
	200mg/kg	N	6	6	6	6	6	6		
		Mean	2.71	0.71	72.5	19.2*	3.01	0.79		
		S.D.	±0.30	±0.04	±6.5	±2.2	±0.26	±0.07		
Female	Control	N	6	6	6	6			6	6
		Mean	1.83	0.74	69.9	28.3			92.5	37.2
		S.D.	±0.19	±0.04	±3.1	±2.2			±13.6	±3.6
	200mg/kg	N	6	6	6	6			6	6
		Mean	1.84	0.76	81.0	33.5*			108.0	44.5**
		S.D.	±0.15	±0.04	±8.9	±3.5			±14.0	±3.3

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

Table 14 Histopathological findings in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days

Organs and findings	Sex Group and dose	Male								Female							
		Control	8mg/kg	40mg/kg	200mg/kg	Control	8mg/kg	40mg/kg	200mg/kg	Control	8mg/kg	40mg/kg	200mg/kg	Control	8mg/kg	40mg/kg	200mg/kg
		Number of animals				Number of animals				Number of animals				Number of animals			
		-	+	*	#	-	+	*	#	-	+	*	#	-	+	*	#
Digestive system																	
Liver		(6)				(6)				(6)				(6)			
Hypertrophy, centrilobular		6	0	0	0	6	0	0	0	2	4	0	0*	0	0	6	0**
Urinary system																	
Kidney		(6)				(6)				(6)				(6)			
Hyaline droplets, proximal tubules		5	1	0	0	1	5	0	0*	0	1	5	0**	0	0	6	0**
Change, basophilic, proximal tubules		6	0	0	0	6	0	0	0	5	1	0	0	6	0	0	0
Dilatation, distal tubules		6	0	0	0	6	0	0	0	5	1	0	0	6	0	0	0
Necrosis, papilla		6	0	0	0	6	0	0	0	5	1	0	0	6	0	0	0
Dilatation, pelvic cavity		6	0	0	0	6	0	0	0	5	1	0	0	6	0	0	0

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

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

Figure in parentheses represents the number of animals with tissues examined histopathologically.

No remarkable changes were observed in the salivary gland, pancreas, spleen, heart and adrenal in all males and females of the control and 200mg/kg groups, and in the integument, showing loss of fur at the necropsy, in one female of the 200mg/kg group.

Table 15 Histopathological findings in rats treated orally with 1,3-dicyanobenzene for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Organs and findings	Sex	Male				Female			
	Group and dose	Control		200mg/kg		Control		200mg/kg	
	Number of animals	6				6			
		-	+	#	##	-	+	#	##
Digestive system									
Liver		(6)				(6)			
Hypertrophy, centrilobular		6	0	0	0	6	0	0	0
Urinary system									
Kidney		(6)				(6)			
Hyaline droplets, proximal tubules		5	1	0	0	6	0	0	0
Change, basophilic, proximal tubules		6	0	0	0	6	0	0	0
Dilatation, distal tubules		6	0	0	0	6	0	0	0
Necrosis, papilla		6	0	0	0	6	0	0	0
Dilatation, pelvic cavity		6	0	0	0	6	0	0	0

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

Figure in parentheses represents the number of animals with tissues examined histopathologically.

No remarkable change was observed in the integument, showing loss of fur at the necropsy, in one female of the 200mg/kg group.