

厚生省生活衛生局 殿

試 験 報 告 書

2-Hydroxypropanenitrileの経口投与によるラットの

反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験

(試験番号：1 L 4 0 4)

1992年 8 月 5 日

株式会社三菱化成安全科学研究所

表 題 : 2-Hydroxypropanenitrileの経口投与によるラットの反復投与毒性・生殖
発生毒性併合試験 (試験番号: 1 L 4 0 4)

試験目的 : 2-Hydroxypropanenitrileを反復投与した時の動物に及ぼす毒性影響およ
び性腺機能、交尾行動、受胎および分娩等の生殖行動に及ぼす影響を検討
する。

目 次

	頁
1 要約	1
2 材料と方法	
2.1 被験物質	2
2.2 試験動物	2
2.3 動物飼育	2
2.4 投与	3
2.5 投与液の調製	4
2.6 群構成	4
2.7 反復投与毒性に関する観察・検査	4
2.8 生殖・発生毒性に関する観察・検査	6
2.9 統計学的解析	8
3 結果	
3.1 反復投与毒性	9
3.2 生殖・発生毒性	11
4 考察および結論	13
5 文献	16

図 表

付 表

1 要 約

2-HydroxypropanenitrileをSD系ラットに反復投与した時の動物に及ぼす毒性影響および性腺機能、交尾行動、受胎および分娩等の生殖行動に及ぼす影響を検討した。

投与用量を1.2、6および30mg/kgとし、雌雄とも交配前14日間および交配を経て雄は計43日間、雌は妊娠、分娩を経て哺育3日までの計40～45日間、連日経口投与した。1群の動物数は雌雄各10匹とした。対照群には溶媒（精製水）のみを投与した。

反復投与による影響として、30mg/kg群で一過性の自発運動減少、呼吸緩徐および流涎が雌雄ともに認められた。また、雄で肝臓の腫大が観察され、病理組織学的には小葉中心性の肝細胞肥大および肝細胞の脂肪化が認められた。さらに、雄の臨床化学検査でGOTの低下、総蛋白、アルブミンおよびカルシウムの増加が認められた。体重、摂餌量および雄の血液学的検査では被験物質の影響は認められなかった。

生殖・発生に及ぼす影響について、交尾率、受胎率、妊娠期間、分娩および哺育行動に被験物質に起因すると考えられる変化は認められなかった。また、出生児の検査において、出産児数、生存児数、性比、生存率および体重に被験物質の影響は認められなかった。さらに、出生時の外表検査ならびに剖検においても被験物質に起因すると考えられる異常は認められなかった。

以上の結果より、本試験条件下における2-Hydroxypropanenitrileの反復投与毒性に関する無影響量は6mg/kg、生殖・発生毒性に関する無影響量は30mg/kgと考えられる。

2 材料と方法

2.1 被験物質

より提供された 2-Hydroxypropanenitrile（関東化学株式会社、ロット番号： 純度92.3%，略称：HPN）を使用した。被験物質は下記の構造を有する黄褐色の液体である。なお、本ロットについては投与開始前および投与終了後に分析し、安定であることが確認された。

化学名： 2-Hydroxypropanenitrile

化学式： $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{CN}$

構造式：
$$\begin{array}{c} \text{CH}_3 - \text{CH} - \text{CN} \\ | \\ \text{OH} \end{array}$$

分子量： 71.08

2.2 試験動物

日本チャールス・リバー株式会社より1991年8月28日に入手したSD系（Crj:CD）ラット（SPF）を使用した。

動物入荷後6日間馴化し、健康状態が良好なことを確認した後、雌雄とも8週齢で投与を開始した。投与開始前日に動物を体重別層化無作為抽出法により群分けした後、イヤープンチを用いて群および個体を識別した。投与開始時の体重範囲は、雄が299～336g、雌が187～215gであった。

2.3 動物飼育

2.3.1 飼育管理

馴化・検疫期間を含めた全飼育期間中、温度20～25℃、湿度40～70％R.H.、換気約12回／時、照明12時間／日（7:00～19:00）に自動調節された飼育室を使用した。実験動物用床敷（ベータチップ：日本チャールス・リバー株式会社）を敷いたポリカーボネート製ケージ（265W×426D×200Hmm：トキワ科学器械株式会社）に1ケージあたり馴化・検疫期間中は2匹（同性）、交配前投与期間中は1匹、交配期間中は雌雄各1匹、哺育期間は1腹で収容し、スチール製架台（4段）上で飼育した。ステンレス製の固型飼料用給餌器（トキワ科学器械株式会社）およびポリカーボネ

オート製の給水瓶（700 ml：トキワ科学器械株式会社）を用いた。

ケージ（含床敷）、給餌器および給水瓶は、週1回の頻度でオートクレーブ滅菌したものと交換した。

2.3.2 飼料

オートクレーブ滅菌した実験動物用固型飼料（CRF-1：オリエンタル酵母工業株式会社）を自由摂取させた。飼料は週1回の頻度で交換した。なお飼料については、残留農薬等汚染物質の分析値が当社のSOPで定めた濃度以下であることが保証されたものを使用した。

2.3.3 飲水

5 μ mのフィルター濾過後、紫外線照射した水道水を自由摂取させた。飲水は週1回の頻度で交換した。なお水道法に準拠した水質検査を定期的に行い、厚生省令56の別表に定める基準の範囲内であることを確認した。

2.4 投与

2.4.1 投与用量および設定理由

8週齢のSD系ラットを用いて、1週間反復投与予備試験を0、20、30および40 mg/kgの用量で行った結果、40mg/kgで雌雄とも自発運動減少、呼吸緩徐、痙攣および死亡が認められ、30mg/kgでも中毒症状および肝臓の腫大傾向が認められた。この結果を基に、本試験の高用量は30mg/kgとし、以下公比5で中および低用量をそれぞれ6mg/kg、1.2mg/kgと設定した。この他に溶媒（精製水）のみを投与する対照群を設けた。

2.4.2 投与期間

雌雄とも交配前14日間、交配期間中およびその後雄は計画殺前日までの計43日間、雌は交尾成立後分娩を経て哺育3日までの計40～45日間、毎日1回、午前中に投与した。投与後の日数は、投与開始日を投与後0日、交尾確認日を妊娠0日、分娩日の翌日を哺育1日とした。

2.4.3 投与方法

胃ゾンデを装着した注射筒を用いて強制経口投与した。投与液量は5ml/kgとし、至近測定日の体重を基に算出した。

2.5 投与液の調製

被験物質を精製水に溶解させ、所定の濃度の投与液を用時調製した。各投与液の濃度について、当研究所において分析した結果、いずれの用量も設定濃度の±5%以内であった。

2.6 群構成

群 名	用 量 (mg/kg)	動物数 (匹)	
		雄	雌
対 照 群	0	10	10
低用量群	1.2	10	10
中用量群	6	10	10
高用量群	30	10	10
計		40	40

2.7 反復投与毒性に関する観察・検査

2.7.1 一般状態

全例について生死および外観・行動等について毎日観察を行った。

2.7.2 体重

雄は投与開始日およびその後毎週1回測定した。雌については投与開始および交尾成立までは毎週1回、交尾成立後は妊娠0、7、14、20日および哺育1、4日に測定した。測定には電子上皿天秤（ED-3200S：株式会社島津製作所）を使用した。

2.7.3 摂餌量

雄は投与開始日から交配期間中を除き毎週1回測定した。雌は交配前は毎週1回、交尾成立後は妊娠0、7、14、20日および哺育1、4日に風袋込み重量を測定し、各期間の摂餌量から1匹あたりの1日の平均摂餌量を算出した。測定には前記天秤を使用した。

2.7.4 血液学的検査

雄の全生存動物について、43日間の投与終了後に約21時間絶食させ、ペントバルビタールナトリウム（ネンブタール注射液：ダイナボット株式会社）の腹腔内投与による麻酔下で後大静脈より採血し、以下の項目について検査した。凝固阻止剤と

して、EDTA-2Kを用いた。

項 目	測 定 / 算 出 法
(1) 赤血球数	レーザー光散乱法
(2) 白血球数	同 上
(3) 血小板数	同 上
(4) ヘモグロビン濃度	シアンメトヘモグロビン法
(5) ヘマトクリット値	ミクロヘマトクリット法
(6) 白血球百分率	Wright染色塗抹標本について測定
(7) 網状赤血球数	New methylene blue染色後Wright染色した塗抹標本について測定
(8) 平均赤血球容積(MCV)	(1)、(5)より算出
(9) 平均赤血球血色素量(MCH)	(1)、(4)より算出
(10) 平均赤血球血色素濃度(MCHC)	(4)、(5)より算出

測定機器

- (1)～(4)：自動血液分析装置(ELT-8/ds:オルソインスツルメンツ社)
 (5)：ヘマトクリット用遠心機(MC-201:株式会社日立製作所)
 (6)、(7)：血液細胞自動分析装置(MICROX HEG-70A:株式会社立石電機)

2.7.5 臨床化学検査

雄の全生存動物について、血液学的検査に用いた残りの血液を室温で約30分間放置した後、3,000rpm、10分間遠心分離し、得られた絶食下の血清を用いて以下の項目について測定した。

項 目	測 定 / 算 出 法
(1) GOT (AST)	UV-Rate法(SSCC改良法)
(2) GPT (ALT)	UV-Rate法(SSCC改良法)
(3) ALP	P-ニトロフェニル酸基質法(GSCC改良法)
(4) γ-GTP	γ-グルタミル-p-ニトロニリド基質法(SSCC改良法)
(5) 尿素窒素	酵素-UV法(Urease-GLDH法)
(6) グルコース	酵素-UV法(GK-G6PDH法)
(7) 総コレステロール	酵素法(CES-CO-POD法)
(8) トリグリセライド	酵素法(LPL-GK-G3PO-POD法)
(9) クレアチニン	Jaffe法
(10) 総ビリルビン	Jendrassik改良法
(11) 総蛋白	Biuret法
(12) アルブミン	BCG法
(13) A/G比	(11)および(12)より算出
(14) カルシウム	O-CPC法
(15) 無機リン	UV法
(16) ナトリウム	イオン選択電極法
(17) カリウム	イオン選択電極法
(18) クロライド	イオン選択電極法

測定機器：自動分析装置(日立736-10形:株式会社日立製作所)

2.7.6 病理学的検査

1) 剖検

雄は投与開始後43日、雌は哺育4日（投与開始後40～45日）に、全生存動物について、ペントバルビタールナトリウムの腹腔内投与による麻酔下で腹大動脈切断により放血致死させ剖検した。

2) 器官重量

全生存動物について、剖検後に以下の器官の重量を測定した。測定には電子上皿天秤（ED-H60：株式会社島津製作所）を用いた。さらに、解剖日の体重を基に対体重比についても算出した。なお未交尾の雌のデータについては、解剖日が異なるため集計から除外した。

胸腺、肝臓、腎臓、精巣および精巣上体

3) 病理組織学的検査

全生存動物について以下の器官を採取し、10%リン酸緩衝中性ホルマリン液（精巣および精巣上体はブアン液）にて固定後保存した。雌雄とも対照および高用量群の器官について、常法に従いヘマトキシリン・エオジン染色標本作製し鏡検した。この結果、雄の肝臓で被験物質の影響が認められたため低および中用量群の雄の肝臓についても検査した。この他、剖検時に異常の認められた中用量群の雄1例の肺についても検査した。一部の動物の肝臓については、PAS染色およびOil red O染色を施した。

脳、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣、精巣上体

卵巣（非妊娠動物のみ）

2.8 生殖・発生毒性に関する観察・検査

2.8.1 生殖機能

交配前の14日間の投与期間終了後、各群内で雄1雌1の交配对を設け、7日間昼夜同居させ、毎日午前中に雌の膣垢を採取し、ギムザ染色して鏡検した。膣栓形成あるいは膣垢標本中に精子が認められた場合を交尾成立とし、その日を妊娠0日とした。交尾した対は雌雄を分離し、以後の検査に供した。7日間の交配で対照群および中用量群の各1対を除き他は全例に交尾が認められたため、交尾能に被験物質の影響はないと判断し以後の交配は行わなかった。この間に交尾しなかった雌につ

いては、交配期間終了後14日（投与後35日）に剖検し、卵巣を保存した。交配結果ならびに雌の妊娠状況から次の項目を算出した。

- (1) 交尾所要日数
- (2) 交尾が成立するまでに逸した発情期の回数
- (3) 交尾率(%)： $(\text{交尾動物数} / \text{同居動物数}) \times 100$
- (4) 受胎率(%)： $(\text{妊娠動物数} / \text{交尾動物数}) \times 100$

2.8.2 分娩・哺育状態

交尾が確認された雌については全例を自然分娩させた。朝9:00の時点で分娩が終了している動物を前日に分娩したとみなし、その日を哺育1日とした。分娩状態を観察した後、出生児を生後4日（哺育4日）まで哺育させ、一般状態、授乳、営巣、食児の有無等の哺育状態を毎日観察した。哺育4日の解剖時に卵巣、子宮を摘出して黄体数および着床数を検査した。これらの検査結果から次の項目を算出した。

- (1) 妊娠期間：妊娠0日から出産が確認された朝の前日までの期間
- (2) 出産率(%)： $(\text{生存児出産雌数} / \text{妊娠雌数}) \times 100$
- (3) 黄体数
- (4) 着床数
- (5) 着床率(%)： $(\text{着床数} / \text{黄体数}) \times 100$
- (6) 分娩率(%)： $(\text{総出産児数} / \text{着床数}) \times 100$

2.8.3 出生児の観察・検査

1) 出生児の検査

哺育1日に生存児数、死亡児数、性別および外表異常の有無を検査した後、一般状態、死亡の有無を毎日観察した。哺育1および4日の生存児数から、次の項目を算出した。

- (1) 出生率(%)： $(\text{出産確認時生存児数} / \text{総出産児数}) \times 100$
- (2) 新生児生存率(%)： $(\text{哺育4日生存児数} / \text{出産確認時生存児数}) \times 100$

2) 体重

哺育1日および4日に1腹毎に雌雄単位でまとめて測定し、それぞれの平均値を算出した。

3) 剖検

全ての生存児について哺育4日に口腔を含む外表を検査した後、ペントバルビタールの腹腔内投与による麻酔下で開腹し、腹大動脈切断により放血致死させ剖検した。

2.9 統計学的解析

計量的データについては、Bartlett法による等分散の検定を行い、分散が一様の場合は一元配置分散分析を、一様でない場合はKruskal-Wallisの検定を行った。群間に有意な差が認められた場合で各群の例数が一定ならばDunnettの方法、不定ならばScheffeの方法により平均値あるいは順位の多重比較検定を行った。ただし、一部の項目については、はじめにKruskal-Wallisの検定を行い、有意差が認められた場合に順位の多重比較検定を行った（下記*印）。計数データについてはFisherの直接確率法により検定した。有意水準は5%以下とした（両側検定）。出生児に関するデータについては、各母動物毎に算出した平均値を統計単位とした。以下に検定の対象となる項目を示す。

(1) 多重比較検定

- | | |
|----------------------|-------------|
| 1) 体重 | 10) 黄体数 |
| 2) 体重増加量 | 11) 着床数 |
| 3) 摂餌量 | 12) 着床率* |
| 4) 血液学的検査 | 13) 分娩率* |
| 5) 臨床化学検査 | 14) 出生児数 |
| 6) 器官重量 | 15) 出生率* |
| 7) 交尾所要日数* | 16) 新生児生存率* |
| 8) 交尾成立までに逸した発情期の回数* | 17) 出生児体重 |
| 9) 妊娠期間* | |

(2) Fisherの直接確率法

- 1) 交尾率
- 2) 受胎率
- 3) 出産率
- 4) 性比

3 結果

3.1 反復投与毒性

3.1.1 死亡動物

30mg/kg 群の雌 1 例（動物番号:D07）が哺育 2 日（投与後41日）に死亡した。対照群の雄 1 例(AM01)が投与後23日に死亡したが、剖検の結果、肺に出血および水腫が認められたことから投与過誤によるものと判断した。その他に死亡は認められなかった。

3.1.2 一般状態 (Table 1, 2)

30mg/kg 群で雌雄とも投与後に一過性の自発運動減少、呼吸緩徐および流涎が認められた。即ち、雄は全例、雌はほぼ全例に自発運動減少および呼吸緩徐が投与開始日より雄は25日、雌は7日まで、また流涎が雄は6日以降、雌は20日以降に断続的あるいは継続して認められた。その他、30mg/kg 群の死亡した雌 1 例(D07) は分娩後 1 日に貧血徴候を示し翌日に死亡した。

3.1.3 体重 (Fig. 1, 2, Table 3-10)

雌雄ともに、全試験期間を通して対照群と被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。

3.1.4 摂餌量 (Fig. 3, 4, Table 11-14)

雌雄ともに、全試験期間を通して対照群と被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。

3.1.5 血液学的検査 (Table 15, 16)

いずれの検査項目においても対照群と被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。

3.1.6 臨床化学検査 (Table 17)

30mg/kg 群でGOT の有意な低下、総蛋白、アルブミンおよびカルシウムの有意な上昇が認められた。30mg/kg 群のナトリウムおよび6mg/kg群の総ビリルビンに有意差が認められたが、対照群との差はごく僅かなものであり、用量依存性も明瞭でないことから、被験物質とは関連のない偶発的なものと考えられる。

3.1.7 器官重量 (Table 18, 19)

雄では30mg/kg 群の肝臓で絶対重量および対体重比ともに有意な増加が認められた。雌ではいずれの器官においても対照群と被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。

3.1.8 病理解剖検査 (Table 25)

雄では、肝臓の腫大が30mg/kg 群の9例で認められた。これらの肝臓は全体に大きさを増し、断面では軽度ながら膨隆感が認められた。この他、偶発的な変化として、肺の小黒色斑が1.2mg/kg群で1例、また、30mg/kg 群で片側腎臓の小のう胞が1例(DM08)、片側精巣および精巣上体の萎縮が1例(DM06)に認められた。雌においては、生存動物の剖検ではいずれの動物にも異常は認められなかった。30mg/kg 群の死亡動物(D07)の剖検の結果、両側性の腎臓の腫大・褪色、透明胸水の貯留、胸腺萎縮、脾臓の褪色、肺の各葉辺縁部の貧血、両側副腎の腫大および腔からの出血が認められた。

3.1.9 病理組織学的検査 (Table 26)

雄において、30mg/kg 群の肝臓の小葉中心性の軽度の肝細胞肥大が7例に認められた。中心静脈周囲の領域で肥大した肝細胞は、細胞質の一部が擦りガラス状を呈していた。この変化に加えて、同群の1例では中心静脈周囲で肥大した肝細胞の軽度の脂肪化が認められ、Oil red O染色陽性の大小様々な脂肪滴が肝細胞質内に沈着しているのが観察された。6mg/kg以下の群ではこれらの変化は認められなかった。その他に、限局性の心筋変性、肺の限局性炎症性変化、肝臓の微小肉芽腫、片側腎臓の軽微な腎症と尿細管の限局性好塩基性変化、両側腎臓の尿細管における好酸性小体の形成と皮髄境界部尿細管ののう胞状拡張、片側精巣の精細管の萎縮およびこの変化に伴う片側精巣上体の萎縮が散発的に認められた。これらの変化は、本系統のラットではしばしば自然発生病変として認められものであり、しかも少数例でしかみられなかったことから、被験物質投与とは関連はないものと考えられる。

雌では被験物質に起因すると考えられる変化は認められなかった。即ち、脾臓における造血細胞の軽度の増数と副腎束状帯のびまん性肥大が、未交尾動物(A06)を除くほぼ全例に群差なく認められた。未交尾動物では両側卵巢で排卵黄体とは異なる黄体内で黄体細胞の増生が認められた。このほか肝臓での肝細胞内グリコーゲンの増量が対照群および30mg/kg 群の各1例で認められた。30mg/kg 群の死亡動物(D07)

では、両側腎臓で動・静脈および糸球体毛細管内の多発性の血栓と腎全域に及ぶ壊死が認められ、これが直接の死因と考えられた。本動物にはこの他に肝臓類洞内の繊維素血栓、両側副腎皮質の楔状壊死、肺辺縁部の貧血、心臓の心筋変性によるミネラル沈着巣、脾ろ胞の萎縮および髄外造血、胸腺の急性退縮と子宮および腹腔内の凝血塊が認められた。異常の所見からこの動物では播種性血管内凝固(DIC)が惹起されていたものと考えられた。

3.2 生殖・発生毒性

3.2.1 生殖機能 (Table 20)

交尾が認められなかった交配对は、対照群で1対認められたのみで、交尾した雌はすべて妊娠し、交尾率および受胎率に被験物質の影響は認められなかった。30mg/kg 群の交尾所要日数が有意に短かったが、各群とも交尾確認ができなかった動物を除き、全ての動物は初回の発情期に交尾が認められた。なお、6mg/kg群の雌1例(C02)は膣垢の検査では交尾が確認されなかったが、後の観察で妊娠が確認されたため、交尾率および受胎率はこの動物も含めて算出した。しかし、妊娠日が不明のためこの動物の交配以後のデータについては集計から除外した。

3.2.2 分娩・哺育機能 (Table 21)

哺育2日に死亡した30mg/kg 群の1例(D07)は、哺育1日の観察時に生存児1例を除き全ての出産児が死亡しており、胎盤摂食、授乳などの哺育行動は認められなかった。また、1.2mg/kg群の1例(B05)は出生児が1例のみで、その後の哺育行動は認められず、出生児は哺育3日に死亡した。その他の母動物については各群いずれも正常な分娩を示し、哺育行動にも異常は認められなかった。妊娠期間、黄体数、着床数、着床率および分娩率に対照群と被験物質投与群との間に有意な差はなかった。

3.2.3 出生児に及ぼす影響

1) 哺育1日の観察 (Table 22)

哺育1日の観察において、30mg/kg 群の出生児1例(母動物番号:D06)に無尾が認められたが、その他にはいずれの群でも外表異常は認められなかった。産児数、生存児数および性比にも対照群と被験物質投与群との間に有意な差は認められな

った。

2) 生存率 (Table 22)

30mg/kg 群の哺育 2 日に死亡した母動物(D07) に全出生児死亡が観察された他は、各群ともに哺育 1 日から 4 日までに少数例の死亡動物が散見されたのみで、出生率および新生児生存率ともに対照群と被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。

3) 一般状態

分娩あるいは哺育行動に異常が認められた1.2 および30mg/kg 群の各 1 例の母動物の出生児が未授乳のため衰弱を示した、その他には各群とも出生児 1～2 例に皮下出血が観察されたのみで、被験物質投与に起因すると考えられる異常は認められなかった。

4) 体重 (Table 23, 24)

雄雌とも哺育 1 日および 4 日の体重ならびにその間の体重増加量に対照群と被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。

5) 剖検

哺育 4 日の全生存動物の剖検の結果、胸腺頸部残留が対照群より順次 3、7、8 および 7 例、6mg/kg群で横隔膜ヘルニアが 1 例、左臍動脈が 2 例に認められた。いずれも用量依存性がないか、または少数例の発現であることから、被験物質投与に起因するものではないと考えられる。

死亡動物の剖検では、30mg/kg 群の哺育 2 日に死亡した母動物(D07) の出産児にのみ胸腺頸部残留が 1 例、腎盂拡張が 7 例に認められた。

4 考察および結論

2-Hydroxypropanenitrileの1.2、6および30mg/kgをSD系ラットの交配前14日間および交配を経て雄は43日間、雌は妊娠、分娩を経て哺育3日まで連日経口投与し、親動物に及ぼす毒性影響および性腺機能、交尾、受胎、分娩、哺育等の生殖行動に及ぼす影響について検討した。

(1) 反復投与毒性について

30mg/kg 群において、雌雄とも自発運動減少および流涎とともに呼吸抑制の徴候が認められた。ある種のaliphatic nitrile および被験物質が属するcyanohydrin は急性的に呼吸困難、あえぎ、痙攣などNaCNと同様な中毒症状を示し¹⁻³⁾、その原因は生体内で生じたfree cyanideによる中枢性の組織呼吸不全によるものと考えられている。また、それらのaliphatic nitrile は生体内でcyanohydrin に変化した後、cyanide を遊離すると考えられており^{1, 4)}、マウスではpropionitrileからcyanide が遊離することが確認されている^{1, 2)}。従って、今回観察された呼吸抑制の徴候は被験物質から遊離した cyanideにより発現した可能性が高いと考えられる。

剖検および器官重量において、雄の30mg/kg 群で肝臓の腫大が認められ、病理組織学的検査の結果、小葉中心性の肝細胞肥大および脂肪化が認められた。肝細胞肥大は種々の薬剤によって引き起こされる変化である⁵⁻⁷⁾。適応性肥大を起こした肝細胞では細胞質内小器官の量的変動がみられ、光顕的に細胞質は擦りガラス状を呈してみえる。今回認められた肝臓の変化はそれと同質の所見であり、生体の適応性変化を示唆するものであった。雄の臨床化学検査で30mg/kg 群で認められた総蛋白およびアルブミンの増加は生体における適応反応としての肝細胞肥大に伴った蛋白合成亢進が反映した結果と考えられ、同様にカルシウムの増加についても、アルブミン増加に伴った変化と推察される。なお、GOT の低下については、通常の肝障害でみられる変化とは逆の方向への変動であり、その毒性学的意義は不明である。一方、肝細胞の脂肪化はラットを用いた毒性試験では非特異的にしばしば認められる変化⁸⁾であるが、今回の場合肥大した肝細胞領域で形成されていたことから、肝細胞肥大と脂肪化は一連の変化であり、脂肪化は退行性の脂肪変性と考えられる。nitrile の主な代謝部位は肝臓と考えられていることから¹⁻⁴⁾、今回認められた肝

細胞の脂肪化は、被験物質の影響が肝臓での適応範囲を越えて、細胞障害が惹起されたものと推察される。しかし、肝細胞の脂肪化は小葉中心性の肝細胞肥大を示した7例中1例で、且つ軽度認められるのみであり、さらに雄の6 mg/kg 以下の群および雌では肝細胞肥大も認められなかった。また、体重、摂餌量および血液学的検査においても異常は認められなかった。これらのことから、被験物質の毒性学的影響は軽度のものと考えられる。雌で多数例に認められた脾臓の増血細胞の増数は分娩時の出血に対する反応であり、副腎束状帯細胞の肥大は泌乳・哺育等に伴う内分泌性⁹⁾あるいはストレス性¹⁰⁾の変化と考えられる。分娩後に貧血を呈し死亡した30mg/kgの母動物には全身にDIC によると思われる変化が認められた。DIC は全身諸臓器の微小循環における線維素血栓の形成と続発する組織障害をみる病態であり、様々な原因による二次性ショックによっても引き起こされる¹¹⁾。臨床経過を考慮すると、この動物では分娩時の何らかのショックにより偶発的に本病態が惹起されたものと推察され、被験物質投与との関連はないと考えられる。

(2) 生殖・発生毒性について

生殖機能検査の結果、雌雄とも交尾率、受胎率に異常はなく、妊娠期間、分娩、哺育行動にも被験物質の影響は認められなかった。30mg/kg 群で交尾所要日数の短縮がみられたが、各群全例が初回の発情期に交尾しており、発情期招来のずれによる偶発的なものと考えられる。また、30mg/kg 群の死亡した母動物の全出産児死亡については、上述のDIC に起因した母動物の衰弱によるもので、被験物質の分娩・哺育機能への影響とは考えられられない。黄体数、着床数、着床率、出産率、分娩率、出産児数、生存児数の検査からも排卵、着床およびその後の胚の発育に対する被験物質の影響を示唆する変化は認められなかった。また、出生児の外表、生存率、出生時体重および生後の体重増加のいずれにも異常は認められなかった。出生児の剖検で、胸腺頸部残留および腎盂拡張が各群で散見されたが、これらの所見は胎生末期の胎児でしばしば自然発生的に認められる所見であり¹²⁾、発現頻度にも用量との相関はなかった。被験物質のparent nitrileであるpropionitrile のラットの器官形成期投与では催奇形性作用がないことが報告されている¹³⁾。本試験の結果、被験物質、即ちpropionitrile の α 位水酸化cyanohydrin においても胚毒性および発生毒性を示唆する変化は認められなかった。

以上のように、本試験では30mg/kg 群で親動物に軽度の毒性兆候が認められたが、交尾、妊娠、分娩、哺育等の生殖機能および出生児には被験物質の影響は認められなかった。したがって、本試験条件下における反復投与毒性に関する無影響量は6 mg/kg 、生殖・発生毒性に関する無影響量は30mg/kg と考えられる。

5 文南犬

- 1) Willhite, C.C., and Smith, R.P., The role of cyanide liberation in the acute toxicity of aliphatic nitriles. *Tox. Appl. Pharmacol.* 59, 589(1981)
- 2) Kaplita, P.V., and Smith, R.P., Pathways for bioactivation of aliphatic nitrile to free cyanide in mice. *Tox. Appl. Pharmacol.* 84, 533(1986)
- 3) Johannsen, F.R., and Levinskas, G.J., Relationships between toxicity and structure of aliphatic nitriles. *Fund. Appl. Toxicol.* 7, 690(1986)
- 4) Tanii, H. and Hashimoto, K., Studies on the mechanism of acute toxicity of nitriles in mice. *Arch. Toxicol.* 55, 47(1984)
- 5) Altmann, H.W., Drug-induced liver action: A morphological approach. II. Adaptative phenomena. *In: Drug-induced pathology* (Grundmann, E. ed.), Springer-Verlag, Berlin. pp.71-76(1980)
- 6) Gopinath, C., Pretice, D.E. and Lewis, D.J., Hypertrophy (The liver), *Atlas of experimental toxicological pathology*. MTP Press Limited, Lancaster pp.53(1987)
- 7) Greaves, P., Hepatocellular hypertrophy and hyperplasia (Liver), *Histopathology of preclinical toxicity studies*, Elsevier, Amsterdam. pp.403-406(1990)
- 8) 榎本 眞, 3.1.2 肝臓, 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 pp.136-165(1991)
- 9) 水野秀夫, 横山 昭, 泌乳とホルモン, 畜産大辞典, 養賢堂, 東京 pp.316-325(1978)
- 10) 笹野公伸, 笹野伸明, 副腎皮質, 6. 変性・壊死・炎症・ストレスに伴う変化 *現代病理学体系 17(B) 副甲状腺・副腎・胃腸膵内分泌系* (飯島宗一ら編) 中山書店, 東京 pp.139-154(1991)
- 11) 菊地浩吉, 循環障害, ショック, 新病理学総論 (相沢 幹, 菊地浩吉編) 南山堂, 東京 pp.162-167(1987)
- 12) Morita, H., Ariyuki, F., Inomata, N., Nishimura, K., Hasegawa, Y., Miyamoto, M. and Watanabe, T., Spontaneous malformations in laboratory animals; Frequency of external, internal and skeletal malformation in

- rats, rabbits and mice. Cong. Anom. 27,147(1987)
- 13) Berteau, P.E., Levinskas, J.G. and Podwell, D.E., Teratogenic evaluation of nitriles in rats. Toxicologist 2,118(1982)

图 表

目 次

	図	頁
Fig. 1	体重 (雄)	1
Fig. 2	体重 (雌)	2
Fig. 3	摂餌量 (雄)	3
Fig. 4	摂餌量 (雌)	4

平均值表

Table 1	一般状態 (雄)	5
Table 2	一般状態 (雌)	6
Table 3	体重 (雄)	7
Table 4	体重 (雌: 交配前)	8
Table 5	体重 (雌: 妊娠期間)	9
Table 6	体重 (雌: 哺育期間)	10
Table 7	体重増加量 (雄)	11
Table 8	体重増加量 (雌: 交配前)	12
Table 9	体重増加量 (雌: 妊娠期間)	13
Table 10	体重増加量 (雌: 哺育期間)	14
Table 11	摂餌量 (雄)	15
Table 12	摂餌量 (雌: 交配前)	16
Table 13	摂餌量 (雌: 妊娠期間)	17
Table 14	摂餌量 (雌: 哺育期間)	18
Table 15	血液学的検査 (雄)	19
Table 16	白血球百分率 (雄)	20
Table 17	臨床化学検査 (雄)	21
Table 18	器官重量	23
Table 19	器官重量対体重比	25

	頁
Table 20 生殖機能検査	27
Table 21 分娩成績	28
Table 22 生存率	29
Table 23 体重 (F ₁ 動物)	30
Table 24 体重増加量 (F ₁ 動物)	32
Table 25 剖検所見	34
Table 26 病理組織学的検査	35

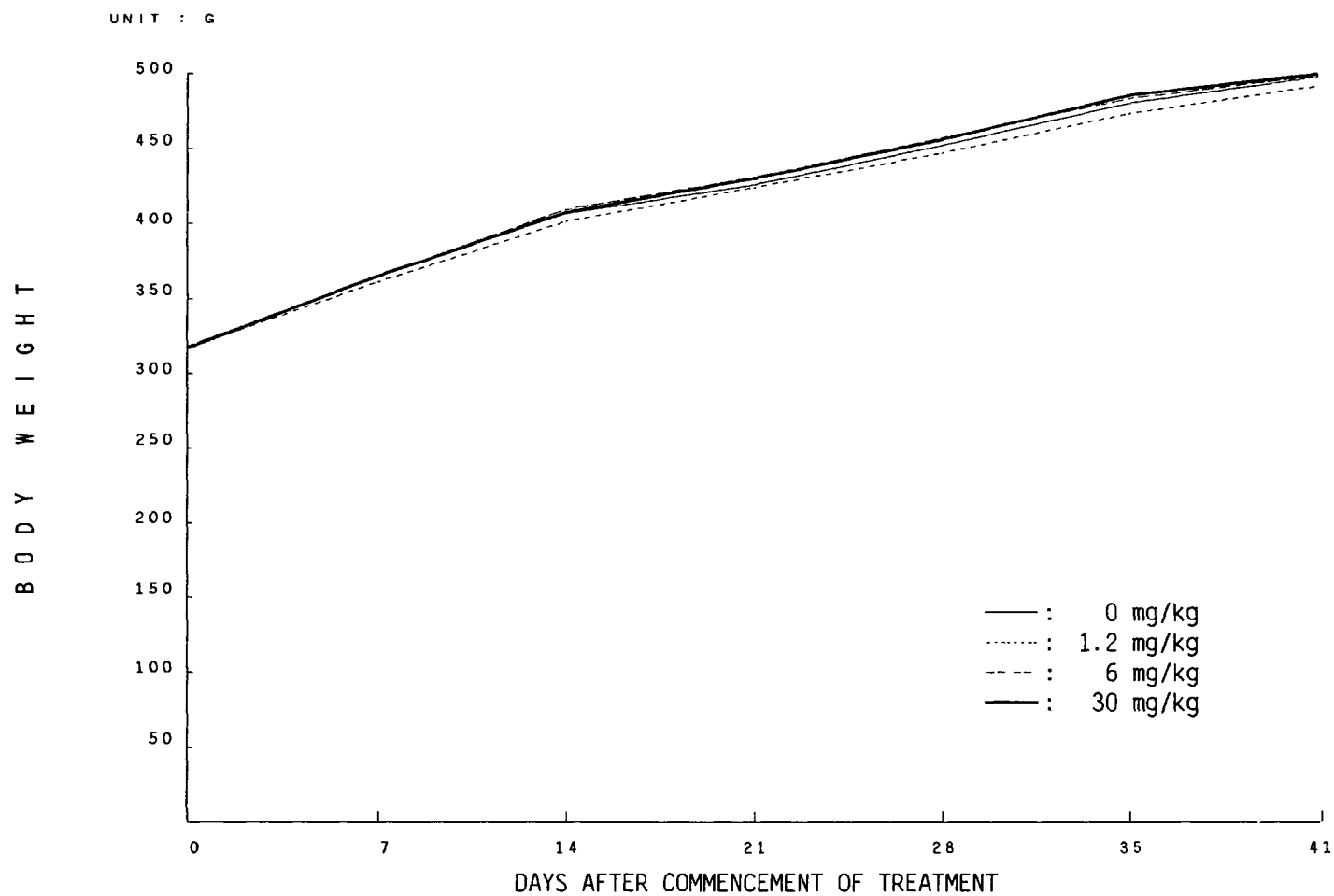


FIG.1 BODY WEIGHT (MALE)

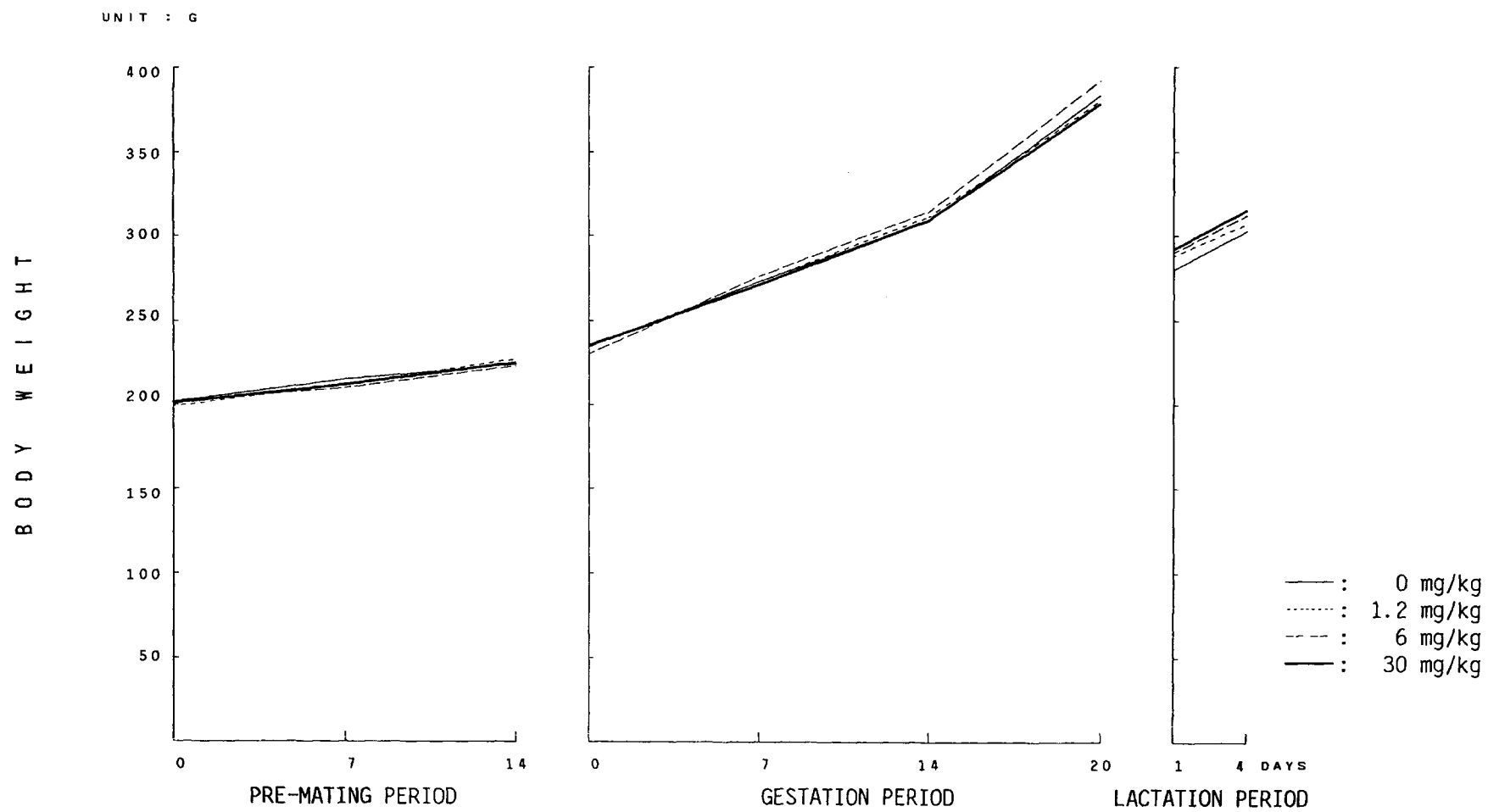


FIG.2 BODY WEIGHT (FEMALE)

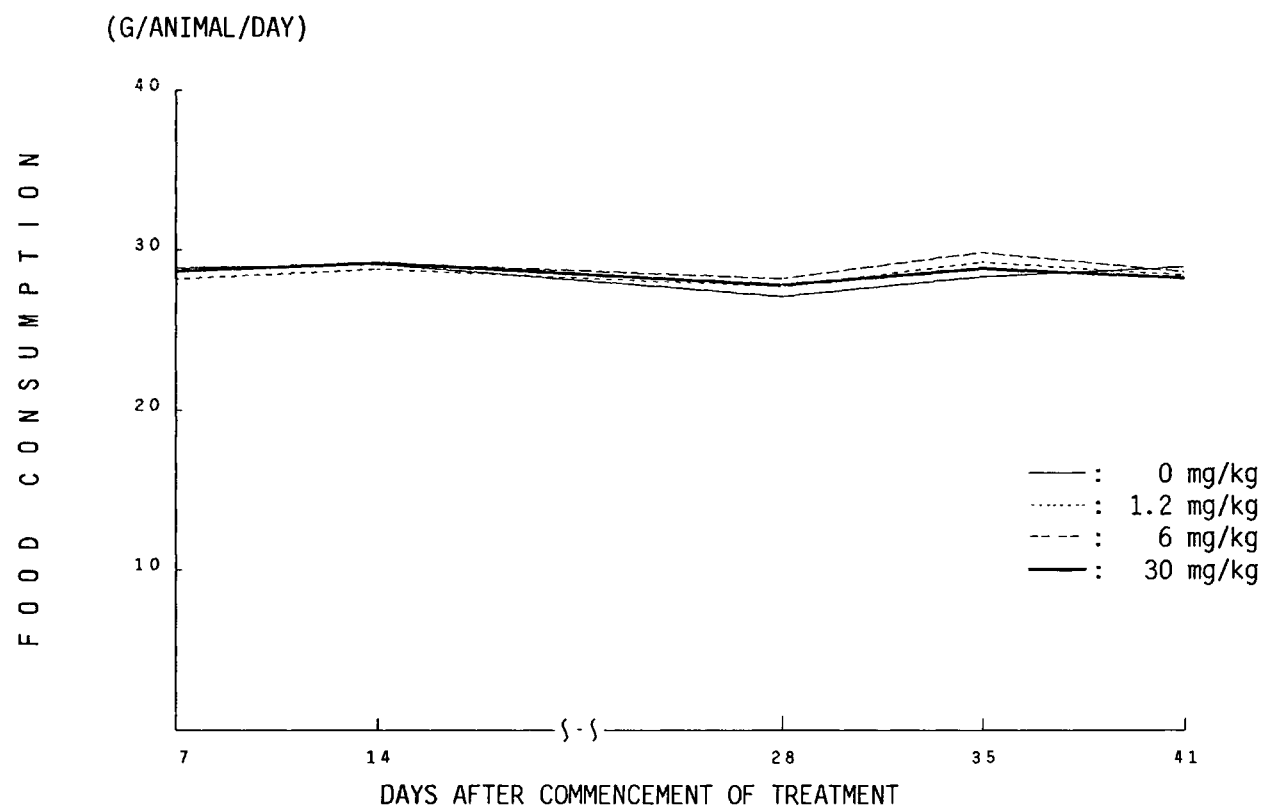


FIG.3 FOOD CONSUMPTION (MALE)

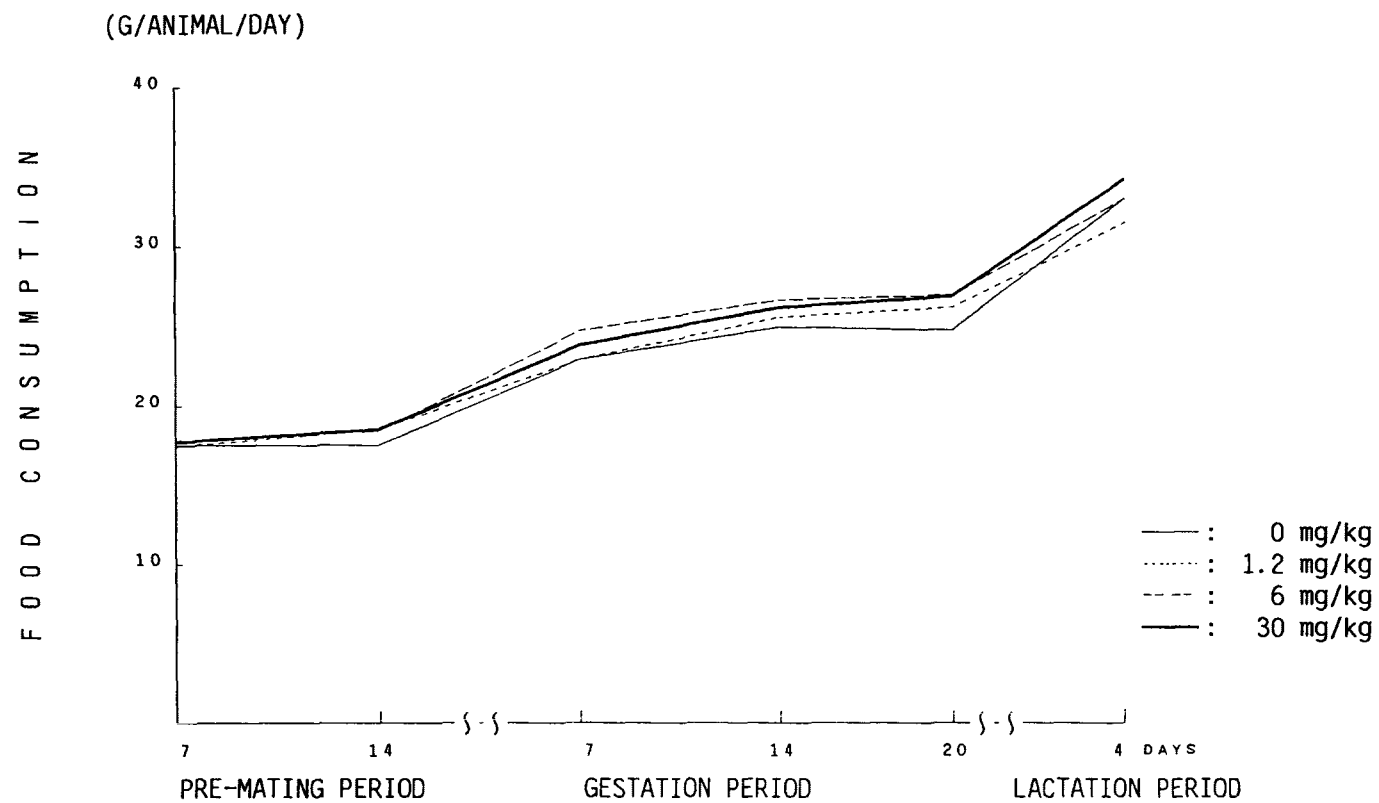


FIG.4 FOOD CONSUMPTION (FEMALE)

TABLE 1

STUDY NO. 1L404KEZ

TOTAL INCIDENCE OF CLINICAL SIGNS
 TEST ARTICLES : HPN
 SEX : MALE

DOSE LEVEL (mg/kg)	NUMBER OF ANIMALS	FINDINGS	DAYS AFTER COMMENCEMENT OF TREATMENT																																					
			0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30	32	34	36	38	40	42																
0	10	RSM (+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-															
		(++)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-															
		HYPOPNOEA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-															
		SALIVATION (+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-															
		DEAD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-																
1.2	10	RSM (+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-																
		(++)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-																
		HYPOPNOEA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-																
		SALIVATION (+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-																
		DEAD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-																	
6	10	RSM (+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-																
		(++)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-																
		HYPOPNOEA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-																
		SALIVATION (+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-																
		DEAD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-																	
30	10	RSM (+)	8	6	7	7	7	6	6	6	5	3	3	6	5	6	4	1	4	4	5	3	1	1	2	1	2	1	-	-	-	-	-							
		(++)	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-								
		HYPOPNOEA	10	6	8	6	5	5	6	5	3	4	4	4	5	4	4	-	4	4	2	2	1	1	2	1	5	2	-	-	-	-	-							
		SALIVATION (+)	-	-	-	-	-	1	-	3	3	4	3	4	6	4	5	5	2	5	7	8	7	7	7	7	8	6	9	6	7	7	7	8	7	9	7	5	9	8
		DEAD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			

RSM: DECREASE LOCOMOTOR ACTIVITY, - : NO SIGNS WERE OBSERVED IN ANY ANIMALS, + : SLIGHT, ++: MODERATE.

TABLE 2

STUDY NO. 1L404KEZ

TOTAL INCIDENCE OF CLINICAL SIGNS

TEST ARTICLES : HPN

SEX : FEMALE

DOSE LEVEL (mg/kg)	NUMBER OF ANIMALS	FINDINGS	DAYS AFTER COMMENCEMENT OF TREATMENT												DAYS OF GESTATION												DAYS OF LACTATION				
			0	2	4	6	8	10	12	14					0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20		0	1	2	3	
0	10	RSM (+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		(++)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
		HYPOPNOEA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		SALIVATION (+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		DEAD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
1.2	10	RSM (+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		(++)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		HYPOPNOEA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		SALIVATION (+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		DEAD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
6	10	RSM (+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		(++)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		HYPOPNOEA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		SALIVATION (+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		DEAD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
30	10	RSM (+)	5	1	3	1	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		(++)	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		HYPOPNOEA	8	1	2	1	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		SALIVATION (+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1	1	-	-	-	1	1	1	2	4	1	5	2	4
		DEAD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	3	5	3
			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	

RSM : DECREASE LOCOMOTOR ACTIVITY, - : NO SIGNS WERE OBSERVED IN ANY ANIMALS, + : SLIGHT, ++ : MODERATE.

TABLE 3 - M - 1
 BODY WEIGHT - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : HPN
 SEX : MALE

STUDY NO. 1L404KEZ

UNIT : G

DOSE LEVEL MG/KG		DAYS AFTER COMMENCEMENT OF TREATMENT						
		0	7	14	21	28	35	41
0	MEAN	316.	365.	406.	425.	451.	479.	496.
	S.D.	10.6	16.5	18.0	19.5	21.3	29.3	34.8
	N	10	10	10	10	9	9	9
1.2	MEAN	317.	361.	401.	423.	446.	472.	490.
	S.D.	10.2	18.6	22.5	23.5	26.9	30.2	36.2
	N	10	10	10	10	10	10	10
6	MEAN	318.	365.	409.	430.	456.	482.	497.
	S.D.	11.2	17.4	21.0	23.9	27.4	33.0	39.2
	N	10	10	10	10	10	10	10
30	MEAN	317.	365.	407.	429.	455.	484.	498.
	S.D.	8.8	11.3	17.0	16.8	22.2	25.8	29.7
	N	10	10	10	10	10	10	10

TABLE 3 - F - 1
 BODY WEIGHT - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : HPN
 SEX : FEMALE

STUDY NO. 1L404KEZ

UNIT : G

DOSE LEVEL MG/KG		DAYS AFTER COMMENCEMENT OF TREATMENT		
		0	7	14
0	MEAN	202.	215.	224.
	S.D.	7.8	12.0	14.5
	N	10	10	10
1.2	MEAN	199.	212.	227.
	S.D.	9.0	8.8	9.5
	N	10	10	10
6	MEAN	202.	210.	223.
	S.D.	5.5	10.8	16.0
	N	10	10	10
30	MEAN	201.	212.	225.
	S.D.	7.2	9.8	14.2
	N	10	10	10

TABLE 5
BODY WEIGHT - GROUP MEAN VALUES
TEST ARTICLES : HPN

STUDY NO. 1L404KEZ

		GENERATION : FO				UNIT : G
DOSE LEVEL		DAYS (GESTATION)				
MG/KG		0	7	14	20	
0	MEAN	234.	273.	309.	383.	
	S.D.	15.7	15.1	16.1	22.1	
	N	9	9	9	9	
1.2	MEAN	235.	273.	311.	380.	
	S.D.	10.6	11.3	8.8	19.2	
	N	10	10	10	10	
6	MEAN	230.	276.	314.	392.	
	S.D.	15.7	16.3	17.9	18.0	
	N	9	9	9	9	
30	MEAN	235.	271.	309.	378.	
	S.D.	12.9	14.0	13.9	10.6	
	N	10	10	10	10	

TABLE 6
 BODY WEIGHT - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : HPN

STUDY NO. 1L404KEZ

GENERATION : FO

UNIT : G

DOSE LEVEL MG/KG		DAYS (LACTATION)	
		1	4
0	MEAN	280.	303.
	S.D.	18.8	15.6
	N	9	9
1.2	MEAN	288.	307.
	S.D.	14.0	13.4
	N	10	10
6	MEAN	290.	312.
	S.D.	16.4	20.5
	N	9	9
30	MEAN	292.	315.
	S.D.	25.0	16.6
	N	10	9

TABLE 7 - M - 1
 BODY WEIGHT GAIN - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : HPN
 SEX : MALE

STUDY NO. 1L404KEZ

UNIT : G

DOSE LEVEL MG/KG		DAYS AFTER COMMENCEMENT OF TREATMENT					
		7	14	21	28	35	41
0	MEAN	49.	90.	108.	134.	162.	179.
	S.D.	7.5	11.2	12.3	14.1	22.0	27.1
	N	10	10	10	9	9	9
1.2	MEAN	44.	83.	105.	128.	155.	173.
	S.D.	9.2	14.4	16.5	19.6	23.6	30.3
	N	10	10	10	10	10	10
6	MEAN	48.	91.	112.	139.	165.	180.
	S.D.	10.2	14.2	17.4	19.6	25.4	32.7
	N	10	10	10	10	10	10
30	MEAN	48.	90.	112.	138.	167.	181.
	S.D.	8.4	13.0	13.4	18.3	21.8	25.8
	N	10	10	10	10	10	10

TABLE 8 - F - 1
 BODY WEIGHT GAIN - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : HPN
 SEX : FEMALE

STUDY NO. 1L404KEZ

UNIT : G

DOSE LEVEL MG/KG		DAYS AFTER COMMENCEMENT OF TREATMENT	
		7	14
0	MEAN	13.	22.
	S.D.	7.3	9.3
	N	10	10
1.2	MEAN	13.	28.
	S.D.	5.9	6.8
	N	10	10
6	MEAN	8.	21.
	S.D.	7.1	14.2
	N	10	10
30	MEAN	10.	24.
	S.D.	3.6	8.4
	N	10	10

TABLE 9
 BODY WEIGHT GAIN - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : HPN

STUDY NO. 1L404KEZ

		GENERATION : FO			UNIT : G	
		DAYS (GESTATION)				
DOSE LEVEL		7	14	20		
MG/KG						
0	MEAN	39.	75.	148.		
	S.D.	5.9	11.3	19.5		
	N	9	9	9		
1.2	MEAN	38.	76.	145.		
	S.D.	5.9	5.6	18.1		
	N	10	10	10		
6	MEAN	46.	84.	162.		
	S.D.	6.1	10.4	13.4		
	N	9	9	9		
30	MEAN	36.	75.	143.		
	S.D.	5.9	6.0	11.8		
	N	10	10	10		

TABLE 10
 BODY WEIGHT GAIN - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : HPN

STUDY NO. 1L404KEZ

GENERATION : FO

UNIT : G

DOSE LEVEL MG/KG		DAYS (LACTATION)	
4			
0	MEAN	23.	
	S.D.	7.7	
	N	9	
1.2	MEAN	19.	
	S.D.	11.4	
	N	10	
6	MEAN	22.	
	S.D.	10.1	
	N	9	
30	MEAN	24.	
	S.D.	15.9	
	N	9	

TABLE 11 - M - 1
 FOOD CONSUMPTION - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : HPN
 SEX : MALE

STUDY NO. 1L404KEZ

UNIT : G/ANIMAL/DAY

DOSE LEVEL MG/KG		DAYS AFTER COMMENCEMENT OF TREATMENT				
		7	14	28	35	41
0	MEAN	28.9	29.1	27.1	28.3	28.9
	S.D.	2.29	2.43	1.95	3.68	3.32
	N	10	10	9	9	9
1.2	MEAN	28.2	28.8	27.7	29.2	28.4
	S.D.	2.41	2.33	2.32	2.37	3.38
	N	10	10	10	10	10
6	MEAN	28.7	29.2	28.2	29.8	28.6
	S.D.	2.11	2.15	1.58	2.13	3.19
	N	10	10	10	10	10
30	MEAN	28.7	29.2	27.8	28.8	28.2
	S.D.	1.39	1.97	1.91	1.96	2.34
	N	10	10	10	10	10

TABLE 11 - F - 1
 FOOD CONSUMPTION - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : HPN
 SEX : FEMALE

STUDY NO. 1L404KEZ

UNIT : G/ANIMAL/DAY

DOSE LEVEL MG/KG		DAYS AFTER COMMENCEMENT OF TREATMENT	
		7	14
0	MEAN	17.5	17.5
	S.D.	1.50	1.51
	N	10	10
1.2	MEAN	17.4	18.5
	S.D.	2.11	0.89
	N	10	10
6	MEAN	17.8	18.4
	S.D.	0.91	1.16
	N	10	10
30	MEAN	17.7	18.5
	S.D.	0.70	1.26
	N	10	10

TABLE 13
FOOD CONSUMPTION - GROUP MEAN VALUES
TEST ARTICLES : HPN

STUDY NO. 1L404KEZ

GENERATION : FO

UNIT : G/ANIMAL/DAY

DOSE LEVEL		DAYS (GESTATION)		
MG/KG		7	14	20
0	MEAN	22.9	24.9	24.7
	S.D.	1.86	2.39	1.91
	N	9	9	9
1.2	MEAN	22.9	25.5	26.1
	S.D.	1.02	0.78	1.79
	N	10	10	10
6	MEAN	24.7	26.6	26.9
	S.D.	1.42	1.55	1.59
	N	9	9	9
30	MEAN	23.8	26.1	26.8
	S.D.	1.71	1.66	1.48
	N	10	10	10

TABLE 14
 FOOD CONSUMPTION - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : HPN

STUDY NO. 1L404KEZ

GENERATION : FO

UNIT : G/ANIMAL/DAY

DOSE LEVEL		DAYS (LACTATION)	
MG/KG			
	4		
0	MEAN	32.9	
	S.D.	5.74	
	N	9	
1.2	MEAN	31.4	
	S.D.	7.19	
	N	10	
6	MEAN	32.9	
	S.D.	3.71	
	N	9	
30	MEAN	34.1	
	S.D.	6.36	
	N	9	

TABLE 15 - FS - M - 1
 HEMATOLOGY - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : HPN
 SEX : MALE
 ANIMALS KILLED ON SCHEDULE (6 WEEK)

STUDY NO. 1L404KEZ

DOSE LEVEL MG/KG		RBC COUNT ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	HT (%)	HB CONC. (G/DL)	RETICULO- CYTE COUNT (%)	MCV (μM^3)	MCH (PG)	MCHC (%)	PLATELET COUNT ($\times 10^6/\mu\text{L}$)
0	MEAN	981.	47.1	15.3	21.	48.1	15.6	32.4	77.3
	S.D.	29.3	1.36	0.45	6.4	1.55	0.19	0.72	4.61
	N	9	9	9	9	9	9	9	9
1.2	MEAN	954.	45.8	14.6	22.	48.1	15.3	31.8	75.9
	S.D.	49.6	1.92	0.94	8.1	1.39	0.48	1.03	8.56
	N	9	9	9	9	9	9	9	9
6	MEAN	942.	45.8	14.7	22.	48.7	15.6	32.0	74.4
	S.D.	48.7	1.16	0.55	5.6	2.49	0.76	1.20	5.29
	N	10	10	10	10	10	10	10	10
30	MEAN	944.	46.7	14.8	27.	49.5	15.7	31.7	73.9
	S.D.	42.6	1.70	0.60	8.1	2.12	0.53	0.98	8.74
	N	10	10	10	10	10	10	10	10

TABLE 16 - FS - M - 1
 HEMATOLOGY - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : HPN
 SEX : MALE
 ANIMALS KILLED ON SCHEDULE (6 WEEK)

STUDY NO. 1L404KEZ

DOSE LEVEL MG/KG		WBC COUNT ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	DIFFERENTIAL COUNT OF LEUKOCYTES (% OF TOTAL COUNTED CELLS)					
			LYMPHO- CYTES	NEUTROPHILS SEGMENTED	BAND	EOSINO- PHILS	BASO- PHILS	MONO- CYTES
0	MEAN	107.	90.	6.	0.	1.	0.	3.
	S.D.	28.9	2.9	2.1	0.0	0.8	0.0	1.9
	N	9	9	9	9	9	9	9
1.2	MEAN	108.	90.	5.	0.	1.	0.	4.
	S.D.	25.4	2.8	2.6	0.0	1.5	0.0	2.6
	N	9	9	9	9	9	9	9
6	MEAN	113.	90.	6.	0.	1.	0.	3.
	S.D.	30.4	5.5	4.1	0.3	0.8	0.0	1.8
	N	10	10	10	10	10	10	10
30	MEAN	109.	91.	4.	0.	1.	0.	4.
	S.D.	17.6	2.6	1.8	0.0	1.2	0.0	2.0
	N	10	10	10	10	10	10	10

TABLE 17 - FS - M - 1
 CLINICAL CHEMISTRY - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : HPN
 SEX : MALE
 ANIMALS KILLED ON SCHEDULE (6 WEEK)

STUDY NO. 1L404KEZ

DOSE LEVEL MG/KG		GOT (IU/L)	GPT (IU/L)	γ -GTP (IU/L)	ALP (IU/L)	TOTAL BILIRUBIN (MG/DL)	UREA NITROGEN (MG/DL)	CREATININ (MG/DL)	GLUCOSE (MG/DL)	TOTAL CHOL. (MG/DL)	TRI- GLYCERIDE (MG/DL)	TOTAL PROTEIN (G/DL)	ALBUMIN (G/DL)
0	MEAN	81.	27.	0.	251.	0.04	19.3	0.5	137.	66.	61.	6.43	3.85
	S.D.	12.6	6.4	0.0	65.8	0.05	1.92	0.04	15.9	14.7	25.2	0.276	0.122
	N	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
1.2	MEAN	77.	27.	0.	236.	0.07	19.7	0.5	135.	62.	67.	6.42	3.79
	S.D.	10.8	7.3	0.0	37.3	0.05	1.42	0.05	13.9	11.5	19.7	0.167	0.094
	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
6	MEAN	77.	25.	0.	219.	0.12*	19.2	0.6	134.	69.	53.	6.53	3.88
	S.D.	10.5	4.0	0.0	38.7	0.04	1.56	0.05	18.8	16.0	20.6	0.233	0.134
	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
30	MEAN	67.*	24.	0.	225.	0.10	20.6	0.5	148.	63.	83.	6.93**	4.20**
	S.D.	5.9	6.4	0.0	47.7	0.07	2.27	0.05	15.8	7.3	43.2	0.276	0.169
	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

* SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM CONTROL VALUE , * , P<0.05 ; ** , P<0.01.

TABLE 17 - FS - M - 2
 CLINICAL CHEMISTRY - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : HPN
 SEX : MALE
 ANIMALS KILLED ON SCHEDULE (6 WEEK)

STUDY NO. 1L404KEZ

DOSE LEVEL MG/KG		A/G RATIO	CALCIUM (MG/DL)	INORGANIC PHOS. (MG/DL)	NA (MEQ/L)	K (MEQ/L)	CL (MEQ/L)
0	MEAN	1.50	9.1	7.8	144.	4.4	104.
	S.D.	0.091	0.25	0.49	1.0	0.25	0.9
	N	9	9	9	9	9	9
1.2	MEAN	1.44	9.1	7.5	143.	4.4	104.
	S.D.	0.068	0.19	0.47	0.5	0.29	1.1
	N	10	10	10	10	10	10
6	MEAN	1.46	9.2	7.6	143.	4.4	103.
	S.D.	0.081	0.30	0.51	0.6	0.20	1.5
	N	10	10	10	10	10	10
30	MEAN	1.54	9.5*	7.4	143.**	4.3	103.
	S.D.	0.115	0.20	0.47	0.5	0.19	0.8
	N	10	10	10	10	10	10

* SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM CONTROL VALUE , * , P<0.05 ; ** , P<0.01.

TABLE 18 - FS - M - 1
 ORGAN WEIGHT (ABSOLUTE) - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : HPN
 SEX : MALE
 ANIMALS KILLED ON SCHEDULE (6 WEEK)

STUDY NO. 1L404KEZ

DOSE LEVEL MG/KG		FINAL BODY WEIGHT (G)	THYMUS (MG)	LIVER (G)	KIDNEYS (G)	TESTES (G)	EPIDIDYIMIDES (G)
0	MEAN	474.	340.	12.94	3.04	3.17	1.26
	S.D.	31.0	62.7	1.675	0.271	0.168	0.068
	N	9	9	9	9	9	9
1.2	MEAN	472.	382.	12.92	2.97	3.17	1.25
	S.D.	33.7	67.4	1.712	0.204	0.272	0.089
	N	10	10	10	10	10	10
6	MEAN	479.	360.	13.23	3.10	3.33	1.27
	S.D.	36.7	95.2	1.798	0.278	0.187	0.109
	N	10	10	10	10	10	10
30	MEAN	480.	381.	15.87	3.12	3.22	1.30
	S.D.	28.7	87.1	1.661	0.334	0.389	0.144
	N	10	10	10	10	10	10

* SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM CONTROL VALUE , ** , P<0.01.

TABLE 18 - FS - F - 1
 ORGAN WEIGHT (ABSOLUTE) - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : HPN
 SEX : FEMALE
 ANIMALS KILLED ON SCHEDULE (6 WEEK)

STUDY NO. 1L404KEZ

DOSE LEVEL MG/KG		FINAL BODY WEIGHT (G)	THYMUS (MG)	LIVER (G)	KIDNEYS (G)
0	MEAN	303.	239.	12.61	1.96
	S.D.	15.6	53.6	0.946	0.174
	N	9	9	9	9
1.2	MEAN	307.	253.	12.59	1.98
	S.D.	13.4	54.6	1.135	0.188
	N	10	10	10	10
6	MEAN	312.	224.	13.62	2.00
	S.D.	20.5	51.7	0.941	0.105
	N	9	9	9	9
30	MEAN	315.	231.	13.90	1.98
	S.D.	16.6	73.6	1.330	0.174
	N	9	9	9	9

TABLE 19 - FS - M - 1
 ORGAN WEIGHT (RELATIVE : PERCENTAGE OF BODY WEIGHT) - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : HPN
 SEX : MALE
 ANIMALS KILLED ON SCHEDULE (6 WEEK)

STUDY NO. 1L404KEZ

DOSE LEVEL MG/KG		FINAL BODY WEIGHT (G)	THYMUS ($\times 10^{-3}$)	LIVER	KIDNEYS	TESTES	EPIDIDYIMIDES
0	MEAN	474.	72.	2.72	0.64	0.67	0.27
	S.D.	31.0	15.9	0.201	0.041	0.070	0.025
	N	9	9	9	9	9	9
1.2	MEAN	472.	81.	2.73	0.63	0.67	0.26
	S.D.	33.7	15.7	0.203	0.016	0.062	0.027
	N	10	10	10	10	10	10
6	MEAN	479.	75.	2.75	0.65	0.70	0.27
	S.D.	36.7	16.7	0.176	0.020	0.062	0.026
	N	10	10	10	10	10	10
30	MEAN	480.	79.	3.30 ^{**}	0.65	0.67	0.27
	S.D.	28.7	15.9	0.261	0.062	0.086	0.034
	N	10	10	10	10	10	10

* SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM CONTROL VALUE , ** , P<0.01.

TABLE 19 - FS - F - 1
 ORGAN WEIGHT (RELATIVE : PERCENTAGE OF BODY WEIGHT) - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : HPN
 SEX : FEMALE
 ANIMALS KILLED ON SCHEDULE (6 WEEK)

STUDY NO. 1L404KEZ

DOSE LEVEL MG/KG		FINAL BODY WEIGHT (G)	THYMUS ($\times 10^{-3}$)	LIVER	KIDNEYS
0	MEAN	303.	79.	4.17	0.65
	S.D.	15.6	18.7	0.347	0.067
	N	9	9	9	9
1.2	MEAN	307.	82.	4.10	0.65
	S.D.	13.4	15.4	0.252	0.056
	N	10	10	10	10
6	MEAN	312.	71.	4.37	0.64
	S.D.	20.5	15.1	0.206	0.031
	N	9	9	9	9
30	MEAN	315.	73.	4.41	0.63
	S.D.	16.6	20.4	0.353	0.051
	N	9	9	9	9

TABLE 20
REPRODUCTIVE PERFORMANCE - GROUP MEAN VALUES

STUDY NO. 1L404KEZ

TEST ARTICLES : HPN

GENERATION : FO

DOSE LEVEL MG/KG		NUMBER OF PAIRS	PRE-COITAL		COPULATION INDEX (%)	FERTILITY INDEX (%)
			DAYS	E.S.		
0	MEAN S.D. N	10	3.6 1.13 9	0.0 0.00 9	90.0(9/10)	100.0(9/ 9)
1.2	MEAN S.D. N	10	2.4 1.17 10	0.0 0.00 10	100.0(10/10)	100.0(10/10)
6	MEAN S.D. N	10	2.8 1.39 9	0.0 0.00 9	100.0(10/10)	100.0(10/10)
30	MEAN S.D. N	10	* 1.9 1.10 10	0.0 0.00 10	100.0(10/10)	100.0(10/10)

1) DAYS , TIME(DAYS) BETWEEN INITIAL PAIRING AND DETECTION OF COITUS.

E.S. , NUMBER OF ESTROUS STAGES(E.S.) BETWEEN INITIAL PAIRING AND DETECTION OF COITUS.

* SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM CONTROL VALUE , * , P<0.05.

TABLE 21
GESTATION LENGTH AND INDEX - GROUP MEAN VALUES

STUDY NO. 1L404KEZ

TEST ARTICLES : HPN

GENERATION : F0

DOSE LEVEL MG/KG		GESTATION LENGTH (DAYS)	CORPORA LUTEA	IMPLANTATION SITES	TOTAL NUMBER OF OFFSPRING ON DAY 1	IMPLANTATION INDEX (%)	DELIVERY INDEX (%)	GESTATION INDEX (%)
0	MEAN	21.4	17.3	15.7	15.3	90.5	97.7	100.0 (9/ 9)
	S. D.	0.53	1.80	1.80	2.12	7.03	3.52	
	N	9	9	9	9	9	9	
1.2	MEAN	21.6	18.0	14.2	13.9	80.5	98.2	100.0 (10/10)
	S. D.	0.52	3.68	4.94	4.82	30.52	4.02	
	N	10	10	10	10	10	10	
6	MEAN	21.2	17.9	16.7	15.7	94.6	94.1	100.0 (9/ 9)
	S. D.	0.44	2.98	1.23	1.00	10.70	2.67	
	N	9	9	9	9	9	9	
30	MEAN	21.6	17.6	14.6	13.5	83.5	91.8	100.0 (10/10)
	S. D.	0.52	2.12	2.91	3.21	17.77	12.02	
	N	10	10	10	10	10	10	

TABLE 22
VIABILITY INDICES AND LITTER SIZES - GROUP MEAN VALUES

STUDY NO. 1L404KEZ

TEST ARTICLES : HPN

GENERATION : F1

UNIT : NUMBER OF OFFSPRING

DOSE LEVEL MG/KG		VIABILITY (%) ON DAY AFTER BIRTH		TOTAL NUMBER OF OFFSPRING ON DAY 1			NUMBER OF LIVE OFFSPRING ON DAY 1			NUMBER OF LIVE OFFSPRING ON DAY 4		
		1	4	M	F	TOTAL	M	F	TOTAL	M	F	TOTAL
				(M/F)			(M/F)			(M/F)		
0	MEAN	98.5	99.1	7.1	8.2	15.3	7.0	8.1	15.1	7.0	8.0	15.0
	S.D.	3.09	2.77	1.69	1.48	2.12	1.58	1.54	2.26	1.58	1.66	2.45
	N	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
	SEX RATIO			(64/ 74)			(63/ 73)			(63/ 72)		
1.2	MEAN	97.4	88.5	6.3	7.4	13.9	6.1	7.4	13.5	6.1	7.1	13.2
	S.D.	4.57	31.25	3.47	3.44	4.82	3.45	3.44	4.72	3.45	3.57	5.03
	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	SEX RATIO			(63/ 74)			(61/ 74)			(61/ 71)		
6	MEAN	99.3	99.3	7.4	8.2	15.7	7.3	8.2	15.6	7.3	8.1	15.4
	S.D.	2.07	2.07	1.42	1.64	1.00	1.41	1.64	1.01	1.41	1.54	1.01
	N	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
	SEX RATIO			(67/ 74)			(66/ 74)			(66/ 73)		
30	MEAN	90.6	90.0	7.8	5.7	13.5	6.9	5.1	12.0	6.8	5.1	11.9
	S.D.	29.63	31.62	2.39	2.11	3.21	3.07	2.77	4.94	3.29	2.77	5.20
	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	SEX RATIO			(78/ 57)			(69/ 51)			(68/ 51)		

TABLE 23
BODY WEIGHT - GROUP MEAN VALUES

STUDY NO. 1L404KEZ

TEST ARTICLES : HPN

GENERATION AND SEX : F1 MALE

UNIT : G

DOSE LEVEL MG/KG		DAYS AFTER BIRTH	
		1	4
0	MEAN	6.5	9.1
	S.D.	0.91	1.21
	N	8	9
1.2	MEAN	6.5	9.2
	S.D.	0.49	0.73
	N	9	9
6	MEAN	6.4	8.9
	S.D.	0.45	0.67
	N	9	9
30	MEAN	6.6	9.4
	S.D.	0.74	1.23
	N	10	9

TABLE 23
BODY WEIGHT - GROUP MEAN VALUES

STUDY NO. 1L404KEZ

TEST ARTICLES : HPN

GENERATION AND SEX : F1 FEMALE

UNIT : G

DOSE LEVEL MG/KG		DAYS AFTER BIRTH	
		1	4
0	MEAN	6.2	8.8
	S.D.	0.70	1.08
	N	8	9
1.2	MEAN	6.3	8.8
	S.D.	0.50	0.89
	N	10	9
6	MEAN	6.1	8.4
	S.D.	0.41	0.64
	N	9	9
30	MEAN	6.4	9.0
	S.D.	0.68	1.17
	N	9	9

TABLE 24
BODY WEIGHT GAIN - GROUP MEAN VALUES

STUDY NO. 1L404KEZ

TEST ARTICLES : HPN

GENERATION AND SEX : F1 MALE

UNIT : G

DOSE LEVEL MG/KG		DAYS AFTER BIRTH	
		4	
0	MEAN	2.5	
	S.D.	0.44	
	N	8	
1.2	MEAN	2.7	
	S.D.	0.29	
	N	9	
6	MEAN	2.5	
	S.D.	0.32	
	N	9	
30	MEAN	2.7	
	S.D.	0.67	
	N	9	
GAINS OBTAINED BY SUBTRACTING BODY WEIGHT AFTER LITTER SIZE ADJUSTMENT ON DAY 4.			

TABLE 24
BODY WEIGHT GAIN - GROUP MEAN VALUES

STUDY NO. 1L404KEZ

TEST ARTICLES : HPN

GENERATION AND SEX : F1 FEMALE

UNIT : G

DOSE LEVEL MG/KG		DAYS AFTER BIRTH
		4
0	MEAN	2.5
	S.D.	0.55
	N	8
1.2	MEAN	2.6
	S.D.	0.49
	N	9
6	MEAN	2.3
	S.D.	0.34
	N	9
30	MEAN	2.6
	S.D.	0.52
	N	9
GAINS OBTAINED BY SUBTRACTING BODY WEIGHT AFTER LITTER SIZE ADJUSTMENT ON DAY 4.		

TABLE 25
TOTAL INCIDENCE OF MACROSCOPIC FINDINGS
TEST ARTICLES : HPN

STUDY NO.1L404KEZ

ORGAN FINDINGS	SEX	:	MALE				FEMALE			
	DOSE LEVEL(MG/KG)	:	0	1.2	6.0	30.0	0	1.2	6.0	30.0
	NO. ANIMALS	:	9*	10	10	10	10	10	10	9*
LIVER ENLARGEMENT		P	0	0	0	9	0	0	0	0
LUNGS SMALL BLACKISH PATCH		P	0	1	0	0	0	0	0	0
KIDNEYS SMALL CYST, UNILATERAL		P	0	0	0	1	0	0	0	0
TESTES ATROPHY, UNILATERAL		P	0	0	0	1				
EPIDIDYIMIDES ATROPHY, UNILATERAL		P	0	0	0	1				

; ONE ANIMAL DIED DUE TO MANIPULATION ERROR ON THE 23RD DAY.

& ; ONE ANIMAL DIED DUE TO DISSEMINATED INTRAVASCULAR COAGULATION ON THE 41ST DAY (2 DAYS AFTER PARTUS).

AT NECROPSY, ENLARGEMENT AND DISCOLORATION OF BOTH KIDNEYS, CLEAR HYDROTHORAX, ATROPHY OF THYMUS, DISCOLORATION OF SPLEEN, MARGINAL ANEMIA OF LUNGS, ENLARGEMENT OF BOTH ADRENALS AND HEMORRHAGE FROM VAGINA WERE OBSERVED.

P ; FINDING PRESENT.

TABLE 26
TOTAL INCIDENCE OF MICROSCOPIC FINDINGS
TEST ARTICLES : HPN

STUDY NO.1L404KEZ

ORGAN FINDINGS	SEX	:	MALE				FEMALE			
	DOSE LEVEL(MG/KG)	:	0	1.2	6.0	30.0	0	1.2	6.0	30.0
	NO. ANIMALS	:	9*	10	10	10	10	10	10	9*
LIVER								NE	NE	
CENTRIOBULAR HYPERTROPHY OF HEPATO- CYTE	+		0	0	0	7	0			0
CENTRIOBULAR FATTY CHANGE	+		0	0	0	1	0			0
GLYCOGEN ACCUMULATION IN HEPATOCYTE	P		0	0	0	0	1			1
MICROGRANULOMA	P		4	4	6	2	0			0
HEART				NE	NE			NE	NE	
FOCAL MYOCARDIAL DEGENERATION	P		1			2	(0/9)			0
SPLEEN				NE	NE			NE	NE	
SLIGHT INCREASE OF HEMATOPOIETIC CELL	P		0			0	8			9
KIDNEYS				NE	NE			NE	NE	
MINIMAL NEPHROPATHY, UNILATERAL	P		1			1	0			0
FOCAL BASOPHILIC CHANGE IN RENAL TUBULE, UNILATERAL	P		1			2	0			0
EOSINOPHILIC BODY ON TUBULAR EPI- THELIUM, BILATERAL	P		1			2	0			0
CYSTIC DILATATION OF URINARY TUBULE IN CORTICO-MEDULLARY JUNCTION, BI- LATERAL	P		0			1	0			0

(0/9) ; THE HEART OF AN ANIMAL WAS MISSING AFTER DISSECTION.

TABLE 26 (CONTINUED)

STUDY NO.1L404KEZ

ORGAN FINDINGS	SEX	:	MALE				FEMALE			
	DOSE LEVEL (MG/KG)	:	0	1.2	6.0	30.0	0	1.2	6.0	30.0
	NO. ANIMALS	:	9*	10	10	10	10	10	10	9*
ADRENALS				NE	NE			NE	NE	
DIFFUSE HYPERTROPHY OF FASCICULAR CELL, BILATERAL	P		0			0	9			9
TESTES				NE	NE					
DIFFUSE ATROPHY OF SEMINIFEROUS TUBULE, UNILATERAL	P		0			1				
FOCAL ATROPHY OF SEMINIFEROUS TUBULE, UNILATERAL	P		1			0				
EPIDIDYIMIDES				NE	NE					
ATROPHY, UNILATERAL	P		0			1				

; ONE ANIMAL DIED DUE TO MANIPULATION ERROR ON THE 23RD DAY.

& ; ONE ANIMAL DIED DUE TO DISSEMINATED INTRAVASCULAR COAGULATION ON THE 41ST DAY (2 DAYS AFTER PARTUS). IN MICROSCOPY, THE CHANGES OBSERVED WERE AS FOLLOWS : MARKED RENAL NECROSIS OF BOTH KIDNEYS, DISSEMINATED THROMBUS IN HEPATIC SINUSOID, FOCAL WEDGE-SHAPED NECROSIS OF BOTH ADRENAL CORTICES, SLIGHT ANEMIA OF THE MARGINAL REGION IN THE LUNGS, FOCAL MINERALIZATION OF MYOCARDIUM, DIFFUSE FOLLICULAR ATROPHY AND EXTRA-MEDULLARY HEMATOPOIESIS IN THE SPLEEN, ACUTE INVOLUTION IN THE THYMUS, AND CLOTS WITHIN THE LUMENS OF THE UTERUS AND THE VAGINA.

NE ; NOT EXAMINED. + ; SLIGHT CHANGE, P ; FINDING PRESENT.

NO ABNORMAL FINDING WAS OBSERVED IN BRAIN, AND THE LESION OF THE LUNGS (ANIMAL NO. BM08), SHOWING SMALL BLACKISH PATCH AT NECROPSY, WAS FOUND TO BE A FOCAL INFLAMMATORY CHANGE, AND IN THE BOTH OVARIES OF THE UNMATED FEMALE (ANIMAL NO. A06), HYPERPLASIA OF LUTEINIZED CELL IN SOME CORPORA LUTEA WAS OBSERVED.