

最 終 報 告 書

Hydrazine, monohydrate のラットを用いる経口投与簡易生殖毒性試験

試験番号：5461 (115-151)

平成 14 年 6 月 21 日

試験委託者
厚生労働省 医薬局

財団法人
食品農医薬品安全性評価センター

目 次

1. 要約	4
2. 緒言	6
13. 試験材料および方法	10
14. 試験結果	17
15. 考察および結論	22
16. 参考文献	26

Figures	F-1~4
Figure 1 Body weight change of male rats	F-1
Figure 2 Body weight change of female rats	F-2
Figure 3 Food consumption of male rats	F-3
Figure 4 Food consumption of female rats	F-4
Tables	T-01~49
Table 1-1 Clinical observations in male rats	T-01
Table 1-2 Clinical observations in female rats (Before and during mating period)	T-03
Table 1-3 Clinical observations in female rats (Gestation period)	T-04
Table 1-4 Clinical observations in female rats (Lactation period)	T-10
Table 2-1 Body weight change of male rats	T-11
Table 2-2 Body weight change of female rats	T-12
Table 3-1 Food consumption of male rats	T-13

Table 3-2	Food consumption of female rats	T-14
Table 4-1	Absolute and relative organ weight of male rats	T-15
Table 4-2	Absolute and relative organ weight of female rats	T-16
Table 5-1	Summary of gross findings (dead, male)	T-17
Table 5-2	Summary of gross findings (sacrificed, not copulation and non-pregnancy, male)	T-18
Table 5-3	Summary of gross findings (sacrificed, female)	T-19
Table 5-4	Summary of gross findings (not delivery, female)	T-20
Table 5-5	Summary of gross findings (non-pregnancy, female)	T-21
Table 5-6	Summary of gross findings (all pups died, female)	T-22
Table 6-1-1	Summary of histological findings (dead, male)	T-23
Table 6-1-2	Summary of histological findings (dead, male)	T-24
Table 6-2-1	Summary of histological findings (all pups died, female)	T-25
Table 6-2-2	Summary of histological findings (all pups died, female)	T-26
Table 6-3-1	Summary of histological findings (not delivery, female)	T-27
Table 6-3-2	Summary of histological findings (not delivery, female)	T-28
Table 6-4-1	Summary of histological findings (sacrificed, male)	T-29
Table 6-4-2	Summary of histological findings (sacrificed, male)	T-31
Table 6-5-1	Summary of histological findings (sacrificed, female)	T-33
Table 6-5-2	Summary of histological findings (sacrificed, female)	T-34
Table 6-6-1	Summary of histological findings (not copulation, male)	T-35
Table 6-6-2	Summary of histological findings (not copulation, male)	T-36
Table 6-7-1	Summary of histological findings (not copulation, female)	T-37
Table 6-7-2	Summary of histological findings (not copulation, female)	T-38
Table 6-8-1	Summary of histological findings (non-pregnancy, male)	T-39
Table 6-8-2	Summary of histological findings (non-pregnancy, male)	T-40
Table 6-9-1	Summary of histological findings (non-pregnancy, female)	T-41
Table 6-9-2	Summary of histological findings (non-pregnancy, female)	T-42
Table 6-10	Cell type and number per Sertoli cell in seminiferous tubules of rats at VII – VIII stage of spermatogenesis during dosing period	T-43
Table 7	Copulation and fertility results in rats	T-44
Table 8	Findings of delivery in dams(F0)	T-45
Table 9	External observations on live pups(F1) from rats	T-46
Table 10	Body weight change of pups(F1) from rats	T-47
Table 11-1	Summary of gross findings of pups(F1) from rats (sacrificed, male)	T-48
Table 11-2	Summary of gross findings of pups(F1) from rats (sacrificed, female)	T-49

1. 要約

既存化学物質の毒性学的性質を評価するため、Hydrazine, monohydrate の 0 (溶媒の注射用水のみ投与)、2, 6 および 18 mg/kg/day をラットの交配前 14 日から交配期間、妊娠期間および哺育 3 日まで連続強制経口投与し、生殖・発生に及ぼす影響を検討した。

1) 親動物 (F0) に及ぼす影響

被験物質投与の影響と考えられる死亡動物が雄の 18 mg/kg 群で 2 例に観察された。投与後の一般状態の変化として、雌雄の 6 mg/kg 以上の投与群で流涎および雌の 18 mg/kg 群で流涙が観察された。

体重および摂餌量では、雄の 18 mg/kg 群で投与初期に明らかな体重減少および低値が認められた。さらに、雄の 18 mg/kg 群では被験物質投与による体重増加抑制が認められた。

病理学検査では、雄の 18 mg/kg 群で肝臓および腎臓、雌の 6 mg/kg 群で肝臓、腎臓および脾臓重量が高値を示した。剖検では肝臓の淡色、組織検査では肝臓の脂肪化および脾臓の色素沈着(中等度)が雄の 6 mg/kg 以上、主として 18 mg/kg 群の雌雄で観察された。また、雄に対しては 18 mg/kg 群で心臓に対する影響も示唆された。

2) 生殖発生毒性

交尾能および受胎能に被験物質投与の影響は認められなかった。しかし、雌の 18 mg/kg 群では交尾後、胚・胎児に対する致死作用が認められた。

新生児の外表検査では、被験物質投与の影響と考えられる異常は認められなかった。出生児の体重変化では、6 mg/kg 群で哺育 4 日の体重が雌雄とも低値傾向を示し、同群の生後 4 日生存率も低値傾向を示した。

死亡児および哺育 4 日の剖検では、被験物質投与の影響と考えられる異常所見は認められなかった。

以上のことから、Hydrazine, monohydrate の 6 mg/kg/day 以上の投与により投与後症状として雌雄ともに流涎が観察され、雄の 18 mg/kg/day 投与では体重増加抑制および摂餌量の低下が認められた。病理学検査では肝臓および脾臓に対し雌雄の 6 mg/kg/day 以上で、腎臓に対し雌の 6 mg/kg/day 以上および雄の 18 mg/kg/day で影響が認められた。従って、本試験条件下における Hydrazine, monohydrate の親動物に対する無影響量は雌雄とも 2 mg/kg/day と判断された。

生殖能に及ぼす影響として、雌では Hydrazine, monohydrate の 18 mg/kg/day の投与では妊娠維持が不可能であり無影響量は 6 mg/kg/day と判断された。

一方、雄の生殖能には影響は認められず無影響量は 18 mg/kg/day と判断された。

児動物の発生・発育に及ぼす影響として、Hydrazine, monohydrate の 6 mg/kg/day で哺育 4 日の体重が低値傾向を示し、生後 4 日生存率の低下も認められ、無影響量は 2 mg/kg/day と判断された。

2. 緒言

Hydrazine, monohydrate は強い還元力を持つ反応性に富んだ無色の液体で、プラスチックおよびゴムの発泡剤、医薬、農薬などの製造用原料として用いられている。

本化合物の毒性については、経口投与による LD₅₀ 値がマウスで 83 mg/kg, ラットで 129 mg/kg と報告され、癌原性については「人間に対しておそらく発癌性があると考えられる物質で、その証拠が比較的十分ではない物質」として日本産業衛生学会許容濃度等委員会では分類されている。

しかし、生殖毒性に関する報告はなく、今回、OECD による既存化学物質の安全性点検に係る毒性調査事業の一環として Hydrazine, monohydrate の生殖・発生毒性について検討したのでその結果を報告する。

13. 試験材料および方法

13.1. 被験物質

Hydrazine, monohydrate (CAS No. 7803-57-8, 製造, Lot No. 純度 100.15 wt%, 分子量 50.06) は無色透明の液体であり, 使用時まで被験物質保管庫に密封容器で保存した. Hydrazine, monohydrate を実測した結果は, Reference data 1 に示した. 被験物質は注射用水 (株式会社大塚製薬工場, Lot No. 0L80N, 1A73N および 1D74N) に溶解し, 調製した. 被験物質の注射用水中での安定性は, 0.1 および 30 mg/mL の濃度について調製後, 冷蔵 (約 4°C) 保存下 7 日間安定であることが当センター代謝分析グループにおいて確認されている [試験番号: 5462 (115-152)].

投与液の濃度分析は, 初回調製時および最終調製時に調製した全ての試験群の投与液について行った. その結果, 表示濃度に対し初回調製時で 90.2 ~ 91.7%, 最終調製時で 91.5 ~ 93.9% の範囲であった (Reference data 2). 従って, 投与液にはほぼ所定量のシクロヘキセンが含有されていることを確認した.

投与終了後に製造元に返却した被験物質について, 製造元で再分析した結果, 純度は 99.68 wt% であり, 被験物質は投与期間中安定であったことが確認された (Reference data 3). 投与液は 7 日に 1 回以上調製し, 投与まで冷暗所に保存した.

13.2. 使用動物および飼育条件

試験には, 日本チャールス・リバー株式会社から購入した生後 8 週齢の CD(SD)IGS [SPF] 系雌雄ラットを使用した. 購入した動物は 7 日間検疫・馴化飼育した後, 体重推移および一般状態に異常が認められなかったものを予備飼育に移行した.

動物は, 温度 $24 \pm 3^{\circ}\text{C}$ (実測値: $23.5 \sim 24.5^{\circ}\text{C}$), 湿度 $55 \pm 20\%$ (実測値: $51 \sim 73\%$), 換気回数 15 回/時間, 照度 150 ~ 300 lux, 照明時間 12 時間 (午前 7 時点灯, 午後 7 時消灯) に設定されたバリアシステムの 505 号飼育室 (W 5.7 × D 10.0 × H 2.5 m, 142.5 m^3) で飼育した. 株式会社東京技研サービスの自動水洗式飼育機を使用し, アルミ製前面・床ステンレス網目飼育ケージ (W 15.8 × D 23.8 × H 16.0 cm, 飼育ケージ・スペース 6017 cm^3) に動物を 1 匹ずつ収容し飼育した. 但し, 雄は交配期間中, アルミ製前面・床ステンレス網目飼育ケージ (W 36.8 × D 25.0 × H 16.0 cm, 飼育ケージ・スペース 14720 cm^3) に収容した. 妊娠 18 日以降の母動物は哺育 4 日まで

アルミ製前面・床ステンレス網目飼育ケージ(W 36.8 × D 25.0 × H 16.0 cm)に哺育トレーおよび日本チャールス・リバー株式会社製の巣作り材料(サンフレーク)を入れて飼育した。

飼育ケージは隔週 1 回，給餌器は週 1 回交換した。

飼料は，オリエンタル酵母工業株式会社製造の CRF-1 固型飼料（放射線滅菌飼料；Lot No. 010307, 010501）を使用し，飼育期間中自由に摂取させた。飲水は，水道水を給水ノズルより自由に摂取させた。供給した飼料および水には Reference data 4 および 5 に示した如く試験に支障を来す可能性の考えられる夾雑物の混在はなかった。

従って，飼育期間中，データの信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因の変化はなかった。

13.3. 群分け・個体識別

群分けは雌雄ともに検疫・馴化期間終了後 8 日間の予備飼育期間の後に 10 週齢で行った。但し，雌は群分け前に 8 日間の性周期観察を行い，正常な性周期を有する動物を群分けに用いた。

群分け時の動物の体重は群分け対象外の動物を含めた平均体重の 20% 以内に収まっており，群分け終了時の体重は，雄で 354～409 g，雌で 202～242 g の範囲であった。投与開始日の体重をもとに層別化し，無作為抽出法により 1 群当たり雌雄各 12 匹を振り分けた。群分け後の動物の識別は耳介に群番号および群内番号を入墨すると共にケージに動物標識番号 (Animal ID-No.) をつけた。

但し，群分け前までは仮動物番号により管理した。

余剰動物は炭酸ガスにより安楽死させた。

13.4. 投与量，群構成，投与期間および投与方法

0, 3, 10, 30 および 100 mg/kg/day の用量で実施した Hydrazine, monohydrate の 2 週間投与予備試験を参考に設定した。予備試験の結果，100 mg/kg/day 投与では投与 5 日までに雌雄とも全例が死亡あるいは瀕死状態となり，30 mg/kg/day 投与でも投与期間の後半に雄で 5/6 例，雌で 1/6 例が死亡した。投与後症状としては，30 mg/kg/day 以上の投与群で流涎，流涙，さらに体重減少，摂餌量の減少，剖検では胸腺重量の低下など明らかな毒性影響が確認された。従って，本試験では予備試験に比べ投与期間が延長されることを考慮し，18 mg/kg/day を高用量とし，以下公比 3 で除し 6 および 2 mg/kg/day を設定した。

投与経路は，OECD ガイドライン 421 で指示されている投与経路に準じて強制経口投与とした。

投与容量は、体重 100 g 当たり 1.0 mL とし、交配前および交配期間中の雌雄では、個体別に測定した最新体重に基づいて算出した。また、妊娠期間および哺育期間中の雌は、妊娠 0, 7, 14, 20 および哺育 0 日に測定した個体別体重に基づいて算出した。投与液は、胃ゾンデを用いて毎日 1 回 (7 日/週) 8:35~12:00 に強制経口投与した。対照群には注射用蒸留水のみを投与した。

投与期間は、雄は交配前 14 日間と交配期間 14 日間および交配期間終了後 20 日間の連続 48 日間とした。雌は交配前 14 日間と交配期間中 (最長 14 日間) および交尾成立雌は妊娠期間を通じて分娩後の哺育 3 日まで (40~45 日間) とした。交尾不成立の雌は交配期間終了後 24 日間の連続 52 日間とした。また、交尾成立後分娩しない雌は妊娠 25 日の解剖前日まで (40~46 日間) とした。

13.5. 観察および検査

13.5.1. 一般状態の観察

雌雄とも、全例について試験期間中毎日 2 回以上 (剖検日は 1 回) 行い、異常および死亡の有無を記録した。

13.5.2. 体重

雄は投与 1 (投与開始日), 8, 15, 22, 29, 36, 43 および 49 日 (剖検日) に測定し、投与 1 から 49 日までの体重増加量を算出した。

雌は投与 1 (投与開始日), 8 および 15 日に測定し、投与 1 から 15 日までの体重増加量を算出した。交尾不成立の雌はそれ以降の投与 22, 29, 36, 43, 50 および 53 日に測定した。また、交尾成立後の雌は、妊娠 0, 7, 14 および 20 日に、分娩した雌は哺育 0 および 4 日 (剖検日) に測定し、それぞれ妊娠 0 から 20 日および哺育 0 から 4 日までの体重増加量を算出した。測定は電子天秤 PG2002-S (メトラー・トレド社) を用いて行い、記録した。死亡動物については発見時にも測定した。

13.5.3. 摂餌量

雄は投与 1 (投与開始日), 8, 15, 22, 29, 36, 43 および 49 日 (剖検日) に餌重量を測定し、測定日から次の測定日までの摂餌量を求め平均 1 日摂餌量を算出するとともに投与 1 から 15 日および投与 22 から 49 日までの累積摂餌量を算出した。雌は投与 1 (投与開始日), 8 および 15 日に餌重量を測定し、測定日から次の測定日までの摂餌量を求め平均 1 日摂餌量を算出するとともに投与 1 から 15 日までの累積摂餌量を算出した。交尾の成立しなかった雌はそれ以降の投与 29, 36, 43, 50 および 52 日に餌重量

を測定し、測定日から次の測定日までの摂餌量を求め平均 1 日摂餌量を算出した。また、交尾が成立した雌は妊娠 0, 7, 14 および 20 日に、分娩した雌は哺育 0 および 4 日に餌重量を測定し、測定日から次の測定日までの摂餌量を求め平均 1 日摂餌量を算出するとともに妊娠 0 から 20 日までの累積摂餌量を算出した。

測定は電子天秤 PG2002-S (メトラー・トレード社) を用いて行い、記録した。なお、交配期間中の同居動物は摂餌量を測定しなかった。

13.5.4. 交配

交配は交配前 14 日間の性周期観察を行った雌と同群内の雄を 1 対 1 で最長 2 週間毎晩同居させ、翌朝、膣栓または膣垢中の精子確認をもって交尾成立とし、その日を妊娠 0 日とした。

性周期観察は交尾成立日まで行い、発情期から次の発情期までの間の日数を性周期日数として平均性周期を算出した。また、性周期観察期間中の異常性周期 (4 または 5 日以外の性周期) 発現率 [(異常性周期を示す雌動物数 / 観察雌動物数) × 100] を算出した。

交配結果から各群について交尾率 [(交尾成立動物数 / 同居動物数) × 100] を算出した。

13.5.5. 自然分娩時および出生児の観察

13.5.5.1. 母体の観察

妊娠動物は全て自然分娩させた。

自然分娩時に分娩状態の観察を行った。分娩の確認を妊娠 20 から 25 日の午前 9～10 時の間に行い、この時間帯に分娩が完了していることを確認した動物および分娩を開始した動物は分娩完了まで待ち、その日を哺育 0 日とした。午前 10 時を過ぎて分娩を開始した場合は翌日を哺育 0 日とした。また、妊娠期間 (哺育 0 日の年月日から妊娠 0 日の年月日を減じた日数)、受胎率 [(受胎動物数 / 交尾成立動物数) × 100]、出産率 [(生児出産雌数 / 妊娠雌数) × 100]、着床率 [(着床痕数 / 妊娠黄体数) × 100]、分娩率 [(総出産児数 / 着床痕数) × 100]、出生率 [(出產生児数 / 総出産児数) × 100] を算出した。妊娠 25 日の午前 9 時までには分娩のみられない動物 (動物番号 2008, 2107, 2108, 2301, 2303, 2304, 2305, 2306, 2308, 2309, 2310, 2311, 2312) は病理解剖し、着床痕の認められない場合 (動物番号 2008, 2107, 2108)、妊娠不成立と判定した。哺育 4 日に母動物は病理解剖し、黄体数および着床痕数を調べ肉眼的に異常の有無を調べた。

13.5.5.2. 出生児 (F1) の観察

出産後、出産児数 (生存児 + 死亡児) を調べ、出生児の性別を判定し、性比 (雄 / 雌) を算出した。また、外表異常の有無を調べた。また、出生児の体重は、哺育 0 および 4 日に雌雄個体別に電子天秤 PG2002-S (メトラー・トレド社) を用いて測定し、1 腹の雌雄別平均体重を算出した。

出生児は哺育 4 日に全例をエーテル麻酔下で放血安楽死させ、器官・組織の肉眼的観察を行った。また、哺育期間中の死亡児はブアン氏液に固定し、器官・組織の肉眼的観察を実施した。また、出生児の 4 日生存率 [(哺育 4 日生存児数 / 出生児数) × 100] を算出した。

13.5.6. 病理学検査

13.5.6.1. 剖検および器官重量

解剖では動物の外観、口腔、鼻孔および頭蓋腔、骨格、脳および脊髄の外観と切断面、胸腔、腹腔および骨盤腔とその内臓、頸部の組織および器官を検査した。生殖器官については、特に注意を払い検査した。

全ての肉眼的異常について、部位、大きさ、硬さなどを記録した。

器官重量は、器官重量測定用自動天秤 PE360 (メトラー・トレド社) を用いて測定し、その数値を記録した。

①死亡動物

死亡動物 (動物番号 1301, 1302) は発見後直ちに解剖した。

胸腺、胃、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精囊および前立腺を 10 vol% 中性緩衝ホルマリン液に、精巣および精巣上体をブアン氏液で前固定した後、10 vol% 中性緩衝ホルマリン液に固定した。

②雄動物

48 日間投与した翌日、エーテル麻酔下で放血安楽死させ、器官・組織の肉眼的観察を行った後、胸腺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣および精巣上体重量を測定し、器官重量・体重比 (相対重量) を得られた体重および器官重量から算出した。また、全動物について胸腺、胃、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精囊、前立腺および肉眼で異常病変が認められた器官・組織を 10 vol% 中性緩衝ホルマリン液に、精巣および精巣上体をブアン氏液で前固定した後、10 vol% 中性緩衝ホルマリン液に固定した。

③自然分娩した雌

哺育 4 日にエーテル麻酔下で放血安楽死させ、器官・組織の肉眼的観察を行った後、胸腺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎および卵巣重量を測定し、相対重量を得られた体重および器官重量から算出した。また、全動物について胸腺、胃、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、卵巣、子宮、膣および肉眼で異常病

変が認められた器官・組織を 10 vol% 中性緩衝ホルマリン液に固定した。
なお、剖検時に黄体数および着床痕数を調べた。

④交尾の成立しなかった雌（動物番号 2101）

52 日間投与の翌日、エーテル麻酔下で放血安楽死させ、器官・組織の肉眼的観察を行った後、③に示した全ての固定器官を同様に固定した。

⑤自然分娩の認められない雌（動物番号 2008, 2107, 2108, 2301, 2303, 2304, 2305, 2306, 2308, 2309, 2310, 2311, 2312）

妊娠 25 日に、エーテル麻酔下で放血安楽死させ、器官・組織の肉眼的観察を行った後、③に示した全ての固定器官を同様に固定した。着床痕が認められない動物（動物番号 2008, 2107, 2108）は妊娠不成立と判定した。

⑥全児死亡の認められた雌（動物番号 2302, 2307）

生存児全ての死亡または喰殺が確認された日にエーテル麻酔下で放血安楽死させ、器官・組織の肉眼的観察を行った後、③に示した全ての固定器官を同様に固定した。なお、剖検時に黄体数および着床痕数を調べた。

13.5.6.2. 病理組織学検査

下記に該当する動物について病理組織学検査を実施した。

組織は常法に従って株式会社バイオ病理研究所でパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色した。鏡検は安評センターで実施し、病変の種類、程度について記録した。

①死亡動物（動物番号 1301, 1302）、全児死亡動物（動物番号 2302, 2307）
および妊娠 25 日剖検の妊娠雌（動物番号 2301, 2303, 2304, 2305, 2306, 2308, 2309, 2310, 2311, 2312）

全固定器官。

②妊娠を成立させた雄

対照群と高用量群の各 5 例（動物番号 1001～1005, 1303～1307）の全固定器官およびそれ以外の異常病変部組織（精巣および精巣上体：動物番号 1010, 肝臓：動物番号 1203, 1206, 1308, 1309, 1312, 心臓：動物番号 1311, 甲状腺：動物番号 1206, 皮膚：動物番号 1112, 1201, 1208）。

③自然分娩した雌

対照群と中用量群（高用量群では 1 例も該当動物がいなかったため）の各 5 例（動物番号 2001～2005, 2201～2205）の全固定器官およびそれ以外の異常病変部組織（肝臓：動物番号 2105, 皮膚および尾：動物番号 2009）。

④交尾の成立しなかった雌雄（動物番号 1101, 2101）

全固定器官。

⑤妊娠を成立させなかった雄（動物番号 1008, 1107, 1108）および妊娠

不成立の雌（動物番号 2008, 2107, 2108）
全固定器官.

また、②および③については脾臓および肝臓に被験物質投与の影響が疑われたため、全群について各 5 例ずつ検査を実施した.

なお、精巣については PAS・ヘマトキシリン染色およびヘマトキシリン・エオジン染色した後、ヘマトキシリン・エオジン染色標本で一般的病変を検査し、死亡動物（動物番号 1301, 1302）を除き PAS・ヘマトキシリン染色標本で精子形成サイクル（ⅦまたはⅧ）を検査した¹⁾.

13.6. 統計解析

体重、体重増加量、摂餌量、累積摂餌量、平均性周期、黄体数、着床痕数、妊娠期間、出産児数、死産児数、性比、着床率、出生率、分娩率、外表異常発現率、出生児の 4 日生存率、器官重量および相対重量については自動判別方式²⁾に従い、最初に Bartlett の等分散検定を実施した. 等分散の場合は Dunnett の多重比較検定³⁾で対照群と各投与群間の有意差を検定した. Bartlett の等分散検定で不等分散の場合は Steel の検定⁴⁾で対照群と各投与群間の有意差を検定した.

出産率、交尾率および受胎率については X^2 検定を用いた.

異常性周期発現率、剖検所見および病理組織所見の発生率については Fisher の直接確率検定法で検定した.

病理組織所見のうち程度の増強が認められた所見は－を「1」、+1 を「2」、+2 を「3」、+3 を「4」に割り当てて Mann-Whitney の U 検定を実施した. 有意水準は Bartlett の等分散検定については 5%，その他の検定は 5% および 1% の両側検定で実施した.

但し、供試動物数が 1 群につき 2 例以下の場合、有意差検定は行わなかった.

なお、哺育期間中の出生児に関する成績は 1 母体当たりの平均を 1 標本として集計した.

14. 試験結果

14.1. 親動物 (F0) に及ぼす影響

14.1.1. 死亡および一般状態 (Table 1-1~1-4, Appendix 1-1~1-4)

死亡動物が雄の 18 mg/kg 群で投与 14 および 39 日に各 1 例 (動物番号 1301, 1302) 認められた。

一般状態の変化として、雄では流涙が 2, 6 および 18 mg/kg 群で各 1 例、流涎が 6 および 18 mg/kg でそれぞれ 1 および 8 例に観察された。さらに、消瘦が 18 mg/kg 群で 1 例に観察された。また、死亡動物の 1 例には顔面から両前肢に渡り腫脹が観察され、死亡する 3 時間前からは瀕死状態に関連したと考えられる不整呼吸も認められていた。

その他、軟便が 2, 6 および 18 mg/kg 群でそれぞれ 2, 3 および 1 例、脱毛が 2, 6 および 18 mg/kg 群でそれぞれ 2, 2 および 1 例、痂皮が 2 mg/kg 群で 2 例に観察されたが、発現頻度から自然発生性の変化と判断した。

雌では投与期間を通じて、流涙が 2, 6 および 18 mg/kg 群でそれぞれ 2, 5 および 6 例、流涎が 6 および 18 mg/kg 群でそれぞれ 2 および 7 例に観察された。特に妊娠期間では腔口出血が 6 および 18 mg/kg 群で 1 および 11 例、貧血、自発運動低下および粘液便が 18 mg/kg 群で 1 例に観察された。

また、18 mg/kg 群では哺育 0 日に全児死亡動物が 2 例に観察された。

被験物質投与群で多く認められた症状の中で、流涙は雌の 18 mg/kg 群では数日あるいは連日観察されたが、他の投与群では投与期間中に 1, 2 回の発現であった。流涎は投与 7 日を過ぎた頃から観察され始め、用量に関連して発現時間が継続していた。雌の妊娠期間に認められた腔口出血は、6 mg/kg 群では妊娠 14 日のみの単発的な発現であり偶発的な変化であったが、18 mg/kg 群では多数例で妊娠 13 日頃から数日に渡って発現が続いていた。

その他、外傷が対照群で 1 例、軟便が 2 mg/kg 群で 1 例、脱毛が対照群および 18 mg/kg 群で 1 および 4 例、痂皮が対照群および 18 mg/kg 群で各 1 例、眼分泌物が 18 mg/kg 群で 1 例に観察されたが、発現頻度から自然発生性の変化と判断された。

14.1.2. 体重 (Figure 1~2, Table 2-1~2-2, Appendix 2-1~2-2)

雄では、対照群に比べ 18 mg/kg 群で投与 8 日以降 36 日まで低値が、投与 43 および 49 日には有意差は認められないものの低値傾向が認められ、投与 1 から 49 日の体重増加量も低値を示した。

雌では、対照群に比べ 18 mg/kg 群で妊娠 20 日に低値が認められ、妊娠 0

から 20 日の体重増加量も低値を示した。

14.1.3. 摂餌量 (Figure 3~4, Table 3-1~3-2, Appendix 3-1~3-2)

雄では、対照群に比べ 18 mg/kg 群で投与 1 から 8 日の平均 1 日摂餌量が低値、投与 8 から 15 日の平均 1 日摂餌量には有意差は認められないものの低値傾向が認められ、投与 1 から 15 日間の累積摂餌量も低値を示した。雌では対照群に比べ 18 mg/kg 群で妊娠 14 から 20 日の平均 1 日摂餌量が低値を示した。

14.1.4. 病理学検査

14.1.4.1. 器官重量 (Table 4-1~4-2, Appendix 4-1~4-2)

雄では、対照群に比べ 2 mg/kg 群では肝臓および腎臓の相対重量が低値、18 mg/kg 群では胸腺の実重量が低値、肝臓、腎臓および精巣の相対重量が高値を示した。

雌では、対照群に比べ 2 mg/kg 群で腎臓の相対重量、6 mg/kg 群で脾臓および腎臓の実重量および相対重量がいずれも高値を示した。

なお、雌雄とも、2 mg/kg 群では相対重量のみの変化であり、実重量には明らかな差が認められていないことから、偶発的な変化と考え明らかな被験物質投与による影響とは判断しなかった。雄の 18 mg/kg 群で認められた胸腺重量の低値および精巣相対重量の高値については、体重の低値に起因した変化と考えられた。

14.1.4.2. 剖検所見 (Table 5-1~5-6, Appendix 5-1~5-2)

18 mg/kg 群で雄の 2 例に認められた死亡動物（動物番号 1301, 1302）の剖検では、心臓の結節、脾臓の小型化、胸水、肝臓の肥大および皮下組織の浮腫が 1 例（動物番号 1302）に、肺の赤色化が 2 例に観察された。

計画解剖した雄では、心臓の肥大が 18 mg/kg 群で 1 例（動物番号 1311）、肝臓の淡色化が 6 および 18 mg/kg 群でそれぞれ 1 および 2 例、肝臓の赤色斑／区域が 18 mg/kg 群で 3 例に観察された。その他、肝臓の褐色斑／区域、精巣（右側）および精巣上体（右側）の小型化、甲状腺の肥大および皮膚の脱毛が観察されたが、対照群でも認められた所見あるいは発生数に用量相関性を伴わない自然発生性の所見であった。

対照群および 2 mg/kg 群で 1 および 2 例（動物番号 1008, 1107, 1108）に認められた妊娠を成立させなかった雄では、精巣（両側）の小型化が全例に、肝臓の赤色斑／区域および精巣上体の小型化が 2 mg/kg 群の 1 例に観察された。

対照群、2 および 6 mg/kg 群の哺育 4 日に計画解剖した雌では、肝臓の白

色斑／区域，腎臓の嚢胞，皮膚の脱毛および尾の欠落が用量相関性を伴わず単発性に観察された。

交尾の成立しなかった 2 mg/kg 群の雌雄各 1 例（動物番号 1101, 2101）では，異常所見は観察されなかった。

自然分娩の認められなかった 18 mg/kg 群の 10 例では，胸腺の萎縮が 3 例，肝臓の淡色化が 6 例，子宮の内容物赤色および腔の内容物赤色が各 2 例に観察された。その他，肝臓の赤色斑／区域および白色斑／区域，腎臓の癒痕，子宮の内腔拡張および皮膚の脱毛が単発性に観察された。

対照群で 1 例（動物番号 2008）および 2 mg/kg 群で 2 例（動物番号 2107, 2108）に認められた妊娠不成立の雌では，肝臓の肝横隔膜結節および子宮の内腔拡張が 2 mg/kg 群のそれぞれ 1 例に観察された。

全児死亡の認められた 18 mg/kg 群の 2 例（動物番号 2302, 2307）では，肝臓の白色斑／区域が 2 例に観察された。また，肝臓の淡色化および褐色斑／区域が各 1 例に観察された。

14.1.4.3. 組織所見（Table 6-1-1～6-10, Appendix 6-1～6-3）

18 mg/kg 群の死亡動物（動物番号 1301, 1302）では，心臓の血栓（Photo 1），心筋変性，心内膜肥厚および線維化（Photo 2），脾臓の白脾髄萎縮および色素沈着（中等度），胸腺の萎縮および核崩壊，皮膚の浮腫が 1 例（動物番号 1302），前立腺のリンパ球浸潤が 1 例（動物番号 1301）に観察された。なお，剖検で肝臓の肥大が観察されたが，組織検査では異常所見は観察されなかった。

全児死亡の認められた雌の 2 例（動物番号 2302, 2307）では，脾臓の色素沈着（中等度），肝臓の梗塞（Photo 4），肝臓の中間帯性脂肪化および子宮の分娩後病変が全例，子宮の胎盤遺残および腎臓のリンパ球浸潤が 1 例に観察された。

妊娠 25 日剖検で妊娠の確認された 18 mg/kg 群の 10 例では，脾臓の色素沈着（中等度）（Photo 6）および子宮の妊娠変化が全例，子宮の胎盤遺残が 5 例，胸腺の萎縮が 2 例，肝臓の中間帯性脂肪化（Photo 7），巣状壊死（Photo 8）および小肉芽腫がそれぞれ 9, 2 および 3 例，腎臓の近位尿細管脂肪化（Photo 9）および癒痕，腔の出血および内腔拡張，皮膚の毛嚢萎縮が各 1 例に観察された。

妊娠を成立させた雄では，脾臓の色素沈着（軽度または中等度）が対照群，2, 6 および 18 mg/kg 群でそれぞれ 3, 5, 5 および 5 例に観察された。特に 6 および 18 mg/kg 群では中等度の病変がそれぞれ 1 および 5 例に認められ，対照群に比べ 18 mg/kg 群で有意な発現数であった。さらに，肝臓

の周辺性脂肪化が6および18 mg/kg 群でそれぞれ1および2例、肝臓の小肉芽腫が対照群、2、6および18 mg/kg 群でそれぞれ2、3、1および1例に観察された。その他、脾臓の髓外造血、腎臓の尿細管好塩基化、硝子円柱および近位尿細管硝子滴沈着、精巣の精細管萎縮および間細胞増生、精巣上体の無精子、前立腺のリンパ球浸潤、副腎の空胞変性、甲状腺のリンパ球浸潤および濾胞細胞増生および皮膚の毛嚢萎縮が用量相関性を示すことなく、単発性あるいは散発性に観察された。また、肉眼所見の異常病変（心臓の肥大）に相当して心臓の心筋肥大および細胞浸潤が18 mg/kg 群で1例（動物番号1311）に観察された。

自然分娩した雌では、肝臓の梗塞および中間帯性脂肪化が6 mg/kg 群の1例（動物番号2201）に観察された。その他、脾臓の色素沈着（軽度）および髓外造血、肝臓の小肉芽腫および髓外造血、腎臓の嚢胞、子宮の分娩後病変、皮膚の毛嚢萎縮および尾の壊疽が用量に関係なく、単発性あるいは散発性に観察された。

交尾の成立しなかった雌雄では、脾臓の色素沈着（軽度）が雌雄に、肝臓の小肉芽腫および副腎の空胞変性が雄に観察された。生殖器系には異常所見は認められなかった。

対照群で1組および2 mg/kg 群で2組に認められた妊娠を成立させなかった雄および妊娠不成立の雌では、雌雄全例に脾臓の色素沈着（軽度）が観察された。また、雄では精巣の精細管萎縮が全例、精巣の間細胞増生が2 mg/kg 群で2例、精巣上体の無精子が両群で各1例、精子減少が2 mg/kg 群で1例、前立腺のリンパ球浸潤が両群で各1例に観察された。雌では子宮の内腔拡張が両群で各1例に観察された。他には、肝臓の小肉芽腫が雌雄、肝臓の肝横隔膜結節、腎臓のリンパ球浸潤が雌で単発性あるいは散発性に観察された。

対照群および18 mg/kg 群の妊娠を成立させた雄各5例の精巣についてステージⅦ～Ⅷの精細管の精上皮細胞数を測定した結果、精祖細胞（type A）、プレプトテン期精母細胞、パキテン期精母細胞、円形精子細胞およびセルトリ細胞数はいずれも対照群と同程度であった。なお、2 mg/kg 群で交尾の成立しなかった雄（動物番号1101）における精上皮細胞数は妊娠を成立させた雄の精上皮細胞数と差がみられなかった。妊娠を成立させなかった3例の雄（動物番号1008、1107、1108）は組織学的に精巣の精細管が萎縮しており、精子サイクルの測定は不可能であった。

14.2. 生殖発生毒性

14.2.1. 交尾および受胎能 (Table 7, Appendix 7-1~7-2)

交尾は 2 mg/kg 群の 1 組が不成立で交尾率は 91.7%, 他の群ではいずれも 100%であった。受胎は対照群および 2 mg/kg 群で 1 および 2 例が成立せず, 受胎率はそれぞれ 91.7 および 81.8%, 他の群ではいずれも 100%であった。

性周期観察では, 異常性周期 (4 または 5 日以外の性周期) を示す動物が 2 および 18 mg/kg 群で 1 および 3 例認められたが, 異常性周期発現率に差は認められず, 平均性周期にも対照群と被験物質投与群との間に差は認められなかった。

14.2.2. 分娩および哺育 (Table 8, Appendix 8, 10)

18 mg/kg 群では妊娠 24 および 25 日に各 1 例で分娩が確認されたが, いずれも認められた胎児 3 および 2 例は全て喰殺されており, 平均妊娠期間は 24.5 日, 出産率および出生率はともに 0%となった。また, 18 mg/kg 群の着床率は 69.2%, 分娩率は 27.4%であった。

その他の投与群では分娩状態に異常は認められなかった。しかし, 対照群に比べ 6 mg/kg 群で新生児の生後 4 日生存率が低値を示した。

14.2.3. 新生児の形態, 体重および剖検所見 (Table 9, 10, 11-1~11-2, Appendix 9, 10, 11-1~11-2)

新生児の外表検査では, 屈曲尾が 6 mg/kg 群の雄で 1 例に認められた。

体重変化では, 哺育 0 日には対照群と 2 および 6 mg/kg 群で差は認められなかったが, 哺育 4 日では 6 mg/kg 群で雌雄ともに低値傾向を示した。

哺育期間中の死亡児の剖検では, 腎盂拡張が対照群の雄で 1 例, 肝臓の形態異常および胸腺頸部残留が 6 mg/kg 群の同一個体の雌 1 例で認められた (Table, Appendix には示していない)。

哺育 4 日の剖検では, 足底の赤色斑／区域が 6 mg/kg 群の雄で 2 例, 雌で 8 例に観察され, 雌では有意に発現数が増加した。その他, 腎盂拡張, 尿管拡張, 外傷, 痂皮および屈曲尾が雌の対照群および雌雄の 6 mg/kg 群で単発性あるいは少数例に観察された。

15. 考察および結論

15.1. 親動物 (F0) に及ぼす影響

雄の 18 mg/kg 群で観察された 2 例の死亡動物は、いずれも被験物質投与の影響と考えられた。死亡動物の 1 例には、剖検時に心臓の結節が観察され、それに伴う組織所見として心臓の血栓、心筋変性、心内膜肥厚および線維化が観察された。さらに、死亡する数日前から一般状態の変化として腫脹（組織検査の結果、皮下組織の浮腫）が次第に広範囲に広がり、剖検時に胸水が観察されていることを考慮すると、死因として循環障害が疑われた。

一般状態の変化として観察された症状では、雌の 18 mg/kg 群での流涙および雌雄の 6 および 18 mg/kg 群での流涎が、発現頻度および継続時間から被験物質投与の影響と考えられた。さらに、18 mg/kg 群ではいずれも 1 例ずつではあるが雄で消瘦、雌で貧血、自発運動低下および粘液便が観察され、被験物質投与による動物の衰弱を示唆する変化と考えられた。また、雌の 18 mg/kg 群で 12 例中 11 例に妊娠期間中に観察された膣口出血は、解剖時の子宮の状況から死亡胚等に関連した変化と考えられた。

体重では、雄の 18 mg/kg 群で投与開始以降低値が認められ、投与期間中の体重増加量も低値を示した。特に投与 15 日までは体重減少が認められ、明らかな被験物質投与による体重増加抑制と考えられた。一方、雌の 18 mg/kg 群では妊娠 20 日の体重および妊娠期間中の体重増加量の低値が認められたが、この群では正常に胎児が発育していなかったことから、被験物質投与の影響による体重低値とは判断しなかった。

摂餌量では、雄の 18 mg/kg 群で投与初期の 2 週間に低値が認められ、被験物質投与の影響と考えられた。雌の 18 mg/kg 群では妊娠後期に低値が認められたものの、被験物質投与の影響が判断できなかった。体重および摂餌量の変化から、本被験物質は雄に対して投与直後から 2 週後頃までに強く影響を及ぼすと考えられた。

病理学検査では、肝臓、腎臓および脾臓で被験物質投与の影響が示唆された。すなわち、器官重量の変化として、雄の 18 mg/kg 群で肝臓および腎臓の相対重量が高値、雌の 6 mg/kg 群で脾臓および腎臓重量が高値を示した。なお、肝臓および腎臓重量の高値は、28 日反復投与毒性試験でも 10 mg/kg 以上の投与で雌雄に認められている。肝臓については、剖検時に雄の 6 mg/kg 群および雌雄の 18 mg/kg 群で淡色が観察され、組織所見としては脂肪化（雄；周辺性、雌；中間帯性）が認められた。さらに、雌の 18 mg/kg 群で肝臓の巣状壊死、雌の 6 および 18 mg/kg 群で肝臓の梗塞が

観察され、被験物質の肝臓に対する影響が示唆された。腎臓については、剖検では被験物質投与の影響と考えられる所見は認められなかった。組織検査では、雌の 18 mg/kg 群で腎臓の近位尿細管における脂肪化が 1 例に認められたのみであるが、肝臓の脂肪化同様に被験物質投与の影響と考えられた。脾臓については、剖検で雄の死亡動物に小型化が認められたのみであった。しかし、組織検査では雄の 6 mg/kg 群および雌雄の 18 mg/kg 群で脾臓の色素沈着（中等度）が観察された。対照群に比べ程度の増強が認められ、28 日反復投与試験でも観察されていることから、溶血性貧血を示唆する被験物質投与の影響と考えられた。雌の 6 mg/kg 群では脾臓に対する特異的な所見は認められないものの、脾臓重量の高値は何らかの被験物質投与による影響と判断した。

また、雄の 18 mg/kg 群では剖検時に心臓の肥大が 1 例ではあるが観察され、組織所見として細胞浸潤および心筋肥大が認められた。死亡動物に観察された心臓の変化を考慮すると、被験物質の心臓に対する影響が示唆された。

なお、脾臓の白脾髄萎縮、胸腺の核崩壊および萎縮が死亡動物または雌の 18 mg/kg 群に観察された。これらの所見は被験物質投与の負荷による衰弱に起因した 2 次的な変化と考えられた。その他、観察された剖検および組織所見は自然発生性の変化と考えられた。

対照群および 18 mg/kg 群の精巣について実施した精子形成サイクルにおける精細管の精上皮細胞数を測定したところ、被験物質投与の影響は認められなかった。

以上のことから、Hydrazine, monohydrate の 6 mg/kg/day 以上の投与により投与後症状として雌雄ともに流涎が観察され、雄の 18 mg/kg/day 投与では体重増加抑制および摂餌量の低下が認められた。病理学検査では肝臓および脾臓に対しては雌雄の 6 mg/kg/day 以上で、腎臓に対しては雌の 6 mg/kg/day 以上および雄の 18 mg/kg/day で影響が認められた。従って、本試験条件下における Hydrazine, monohydrate の親動物に対する無影響量は雌雄とも 2 mg/kg/day と判断された。

15.2. 生殖発生毒性

平均性周期、交尾能および受胎能に被験物質投与の影響は認められなかった。異常性周期が 2 および 18 mg/kg 群で 1 および 3 例に観察された。2 mg/kg 群の 1 例および 18 mg/kg 群の 1 例については発情休止期が 10 日程度続いており偽妊娠と考えられた。18 mg/kg 群の残りの 2 例については、

6あるいは7日の周期が認められたが、ともに性周期観察期間中に1回のみ認められた異常周期であることから明らかな被験物質投与の影響とは判断できなかった。交尾の成立しなかった2 mg/kg 群の雌雄については、病理学検査で特異的な変化は認められず、その原因は明らかにできなかった。

分娩時観察では、対照群、2 および 6 mg/kg 群では正常に分娩し異常は認められなかった。18 mg/kg 群では妊娠 24 および 25 日にそれぞれ1例で喰殺児が確認されたためその日を分娩日とし、且つこれらの動物は全児死亡動物とした。他の 18 mg/kg 群の母動物では分娩は認められなかったが、妊娠 25 日の剖検で子宮に着床痕あるいは内容物が認められ妊娠していたことが確認された（子宮の組織検査では、胎盤遺残および妊娠変化が観察された）。一般状態の変化として 18 mg/kg 群で観察された膣口出血を考慮すると、被験物質投与による胚致死作用が疑われた。これらの理由から、18 mg/kg 群で分娩確認された2母体ではいずれも生存児として娩出されなかった可能性が高く、そのために喰殺されたものと推察された。

対照群および 2 mg/kg 群で妊娠不成立と判定された雌雄の動物について、病理学検査では雌動物に原因を示唆する所見は認められなかった。一方、雄では、肉眼所見で両側の精巣の小型化が全例、精巣上体の小型化が 2 mg/kg 群の1例に観察され、組織学検査では精巣の精細管萎縮、精巣上体の精子減少あるいは無精子が観察されたことから、これらが妊娠不成立の原因となったと考えられた。しかし、対照群および 2 mg/kg 群での発現であることから妊娠不成立は被験物質投与に関連のない現象と判断した。

新生児の外表検査では、6 mg/kg 群で屈曲尾が観察されたが、1例のみの発現であることから被験物質投与の影響とは考えなかった。また、6 mg/kg 群で哺育4日の雌雄体重が低値傾向を示し、生後4日生存率も低値を示していることから、被験物質投与による発育抑制が疑われた。

死亡児の剖検では、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。哺育4日の剖検では、6 mg/kg 群の雌で足底の赤色斑／区域の発現数が有意に増加したが、原因は不明であり被験物質投与との関連性は判断できなかった。

その他、妊娠黄体数および着床数に被験物質投与の影響は認められず、生存胎児の観察された 6 mg/kg 群までは出産児数、出産生児数、性比および出産率にも影響は認められなかった。

以上のことから、生殖能に及ぼす影響として、雌では Hydrazine, monohydrate の 18 mg/kg/day の投与では妊娠維持が不可能であり無影響量

は 6 mg/kg/day と判断された。一方、雄の生殖能には影響は認められず無影響量は 18 mg/kg/day と判断された。

児動物の発生・発育に及ぼす影響として、Hydrazine, monohydrate の 6 mg/kg/day で体重増加抑制傾向および生存率の低下が認められ、無影響量は 2 mg/kg/day と判断された。

16. 参考文献

- 1) 高橋道人, “精巣毒性評価のための精細管アトラス,” ソフトサイエンス社, 東京, 1994, pp. 15-20.
- 2) K, KOBAYASHI, 産業衛生学雑誌, 42, 125 (2000).
- 3) M, YOSHIDA, J, Japanese Soc. Comp. Stat., 1, 111 (1988).
- 4) R. G. D. Steel, Biometrics, 15, 560 (1959).

Figures

Exp. No. 5461 (115-151)

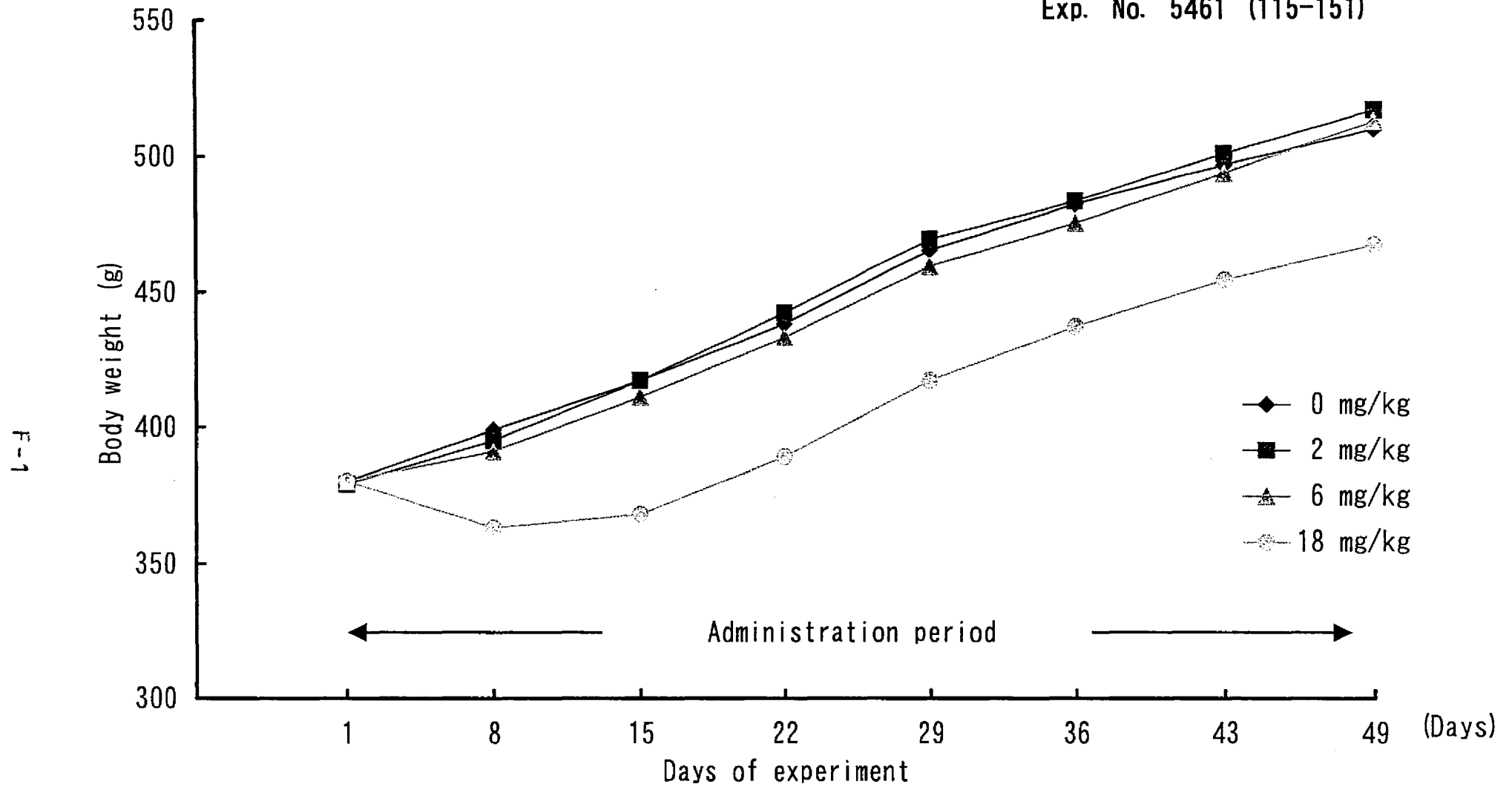


Figure 1 Body weight change of male rats

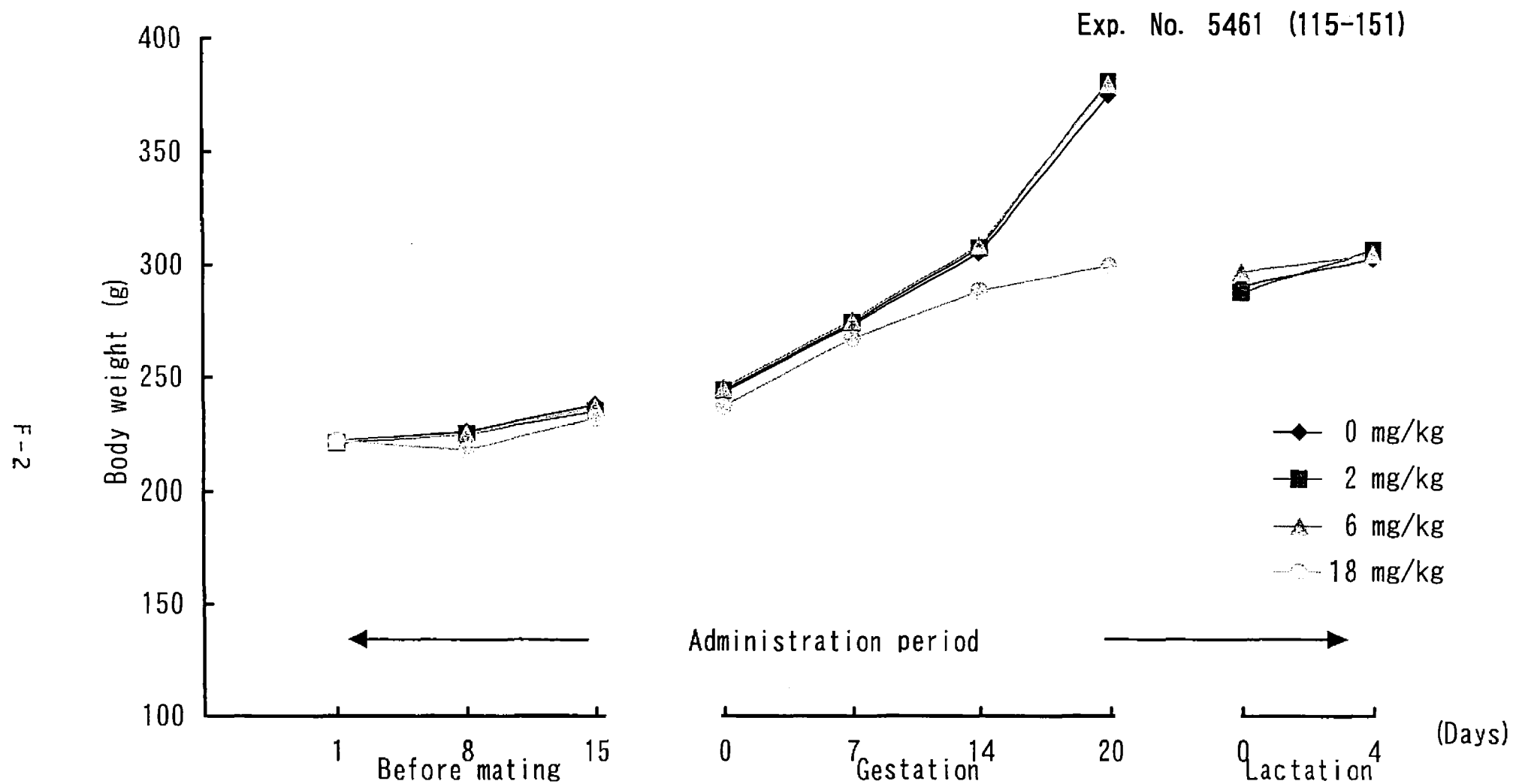


Figure 2 Body weight change of female rats

Exp. No. 5461 (115-151)

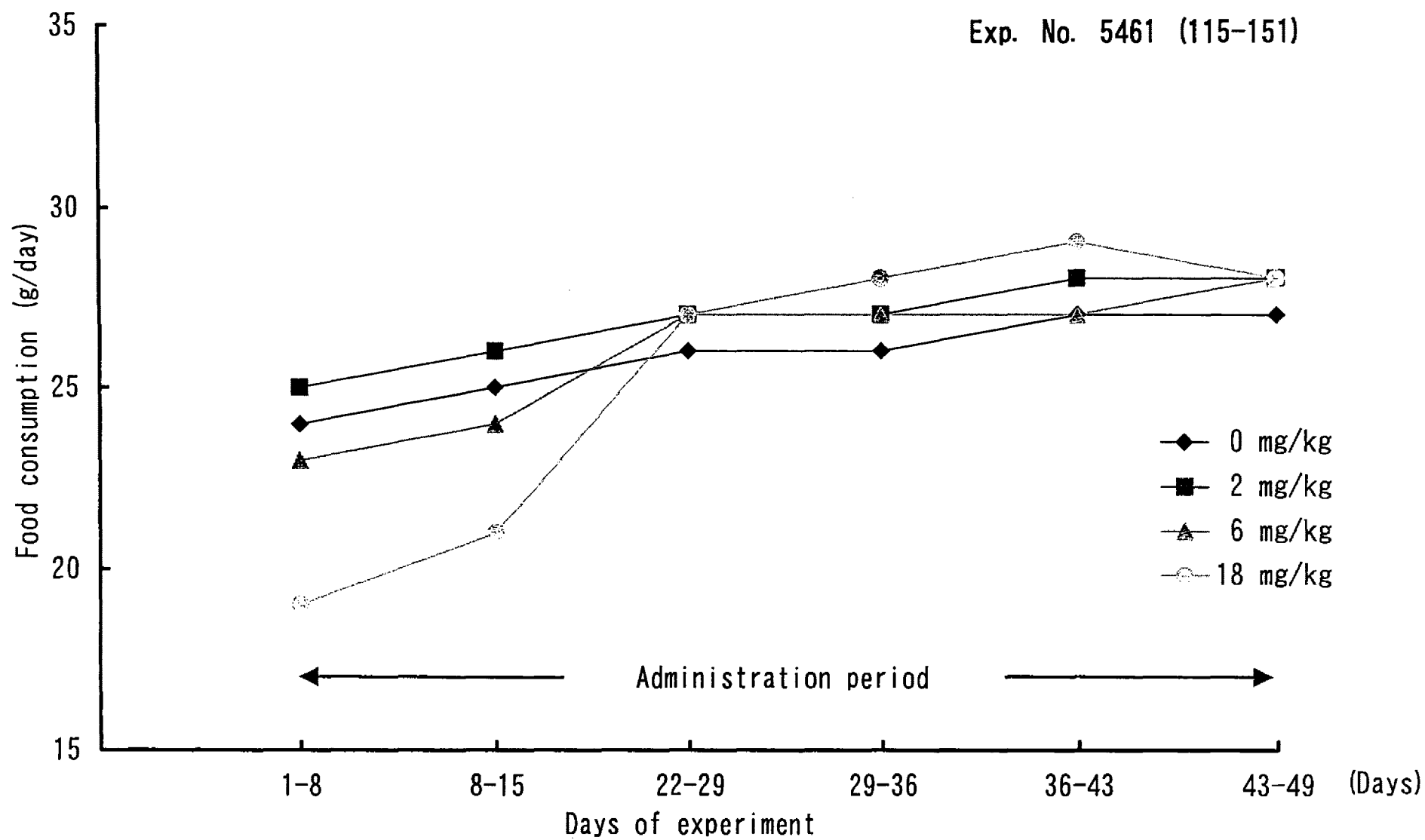


Figure 3 Food consumption of male rats

Exp. No. 5461 (115-151)

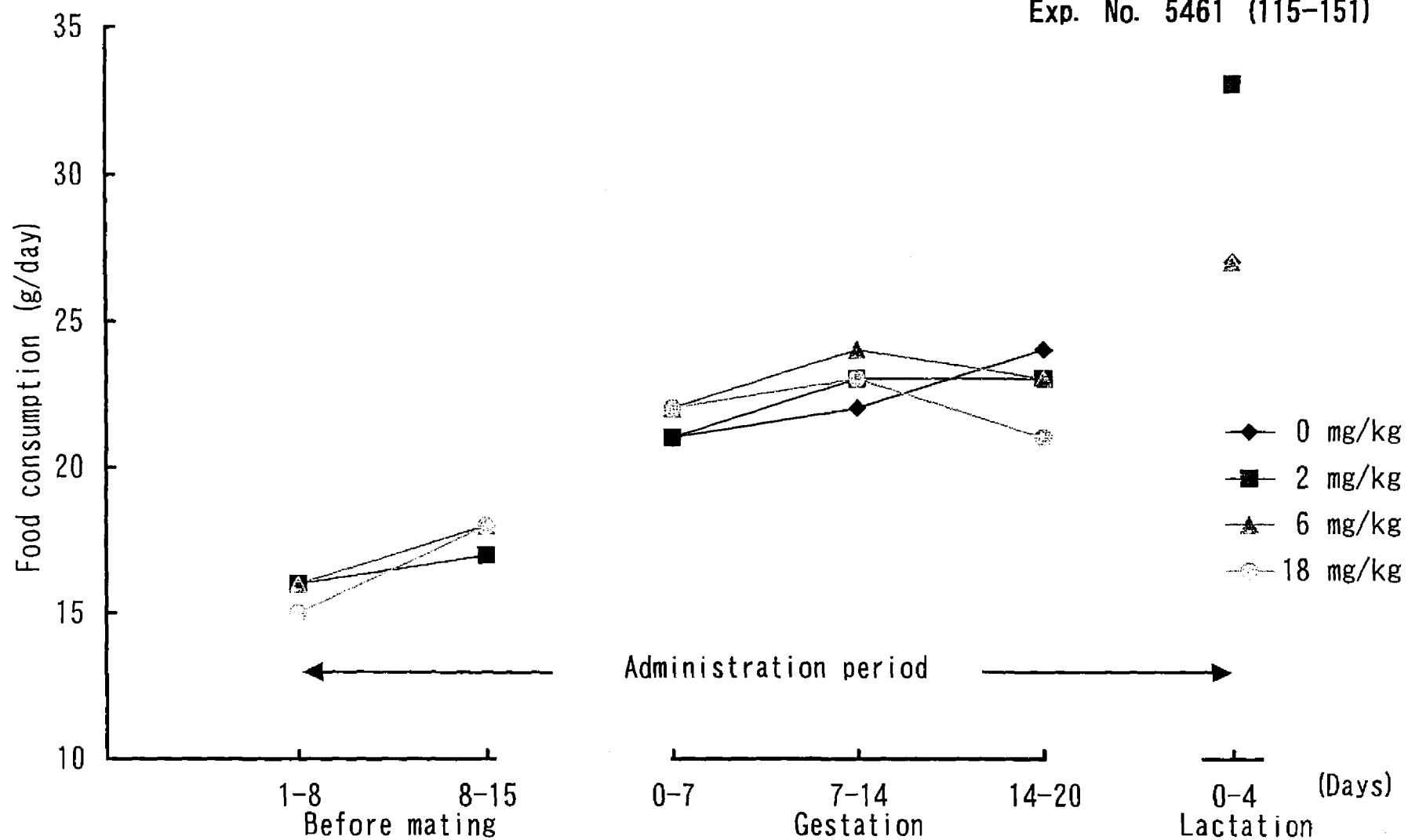


Figure 4 Food consumption of female rats

T a b l e s

Table 1-1

Clinical observations in male rats

Exp. No. 5461 (115-151)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of experiment							Total (1- 49)
		1- 7	8-14	15-21	22-28	29-35	36-42	43-49	
number per group	0	12	12	12	12	12	12	12	
	2	12	12	12	12	12	12	12	
	6	12	12	12	12	12	12	12	
	18	12	12	11	11	11	11	10	
normal	0	12	12	12	12	12	12	12	12
	2	9	10	11	11	12	12	11	7
	6	9	8	11	12	11	10	10	6
	18	10	8	6	6	6	5	4	2
dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0
	18	0	1	0	0	0	1	0	2
wasting	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0
	18	0	0	1 a)	0	0	0	0	1 b)
loss of hair	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	1	1	1	1	0	0	1	2
	6	1	1	1	0	0	2	2	2
	18	0	0	0	0	0	0	1	1
crust	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	2	1	0	0	0	0	0	2
	6	0	0	0	0	0	0	0	0
	18	0	0	0	0	0	0	0	0
lacrimation	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	1	0	0	0	0	0	1
	6	1	1	0	0	0	0	0	1
	18	1	0	0	0	0	0	0	1
salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	1	1	1	1
	18	1	4	5	4	5	5	5	8

a) No. of animals with clinical sign in group

b) Total no. of animals with clinical sign in group

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of experiment							Total (1- 49)
		1- 7	8-14	15-21	22-28	29-35	36-42	43-49	
loose stool	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	2	0	1	0	0	0	0	2
	6	1	2	0	0	0	0	0	3
	18	0	0	0	1	0	0	0	1
swelling	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0
	18	0	0	0	0	1	1	0	1
irregular respiration	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0
	18	0	0	0	0	0	1	0	1

Table 1-2

Clinical observations in female rats
(Before and during mating period)

Exp. No. 5461 (115-151)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of experiment								Total (1- 53)
		1- 7	8-14	15-21	22-28	29-35	36-42	43-49	50-53	
number per group	0	12	12	12	0	0	0	0	0	
	2	12	12	12	1	1	1	1	1	
	6	12	12	12	0	0	0	0	0	
	18	12	12	12	2	0	0	0	0	
normal	0	11	11	11	0	0	0	0	0	11
	2	11	11	12	0	1	1	1	1	9
	6	8	11	11	0	0	0	0	0	7
	18	6	5	5	1	0	0	0	0	3
loss of hair	0	0	1	1 a)	0	0	0	0	0	1 b)
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	18	1	4	4	1	0	0	0	0	4
crust	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	18	0	1	1	0	0	0	0	0	1
lacrimation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	1	1	0	0	0	0	0	0	2
	6	4	1	1	0	0	0	0	0	5
	18	5	3	4	0	0	0	0	0	6
discharge of eye	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	18	0	1	0	0	0	0	0	0	1
salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	18	0	2	3	0	0	0	0	0	4
loose stool	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	1	0	0	0	0	1
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	18	0	0	0	0	0	0	0	0	0

a) No. of animals with clinical sign in group

b) Total no. of animals with clinical sign in group

Table 1-3

Clinical observations in female rats
(Gestation period)

Exp. No. 5461 (115-151)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of gestation												
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
number per group	0	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
	2	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
	6	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	18	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
normal	0	11	11	11	11	11	11	11	11	11	10	10	10	10
	2	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
	6	10	12	11	11	11	11	12	12	11	10	11	11	11
	18	7	5	6	7	7	6	7	8	7	7	6	7	6
loss of hair	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	18	3	3	3	3	3	3	2	1	1	1	1	1	1
trauma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
crust	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
anemia	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	18	0	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
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	18	0	1	0	0	1	3	1	0	1	0	1	1	0
discharge of eye	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	18	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0

Table 1-3 -continued

Clinical observations in female rats
(Gestation period)

Exp. No. 5461 (115-151)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of gestation													
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	6	2	0	1	1	1	1	0	0	1	2	1	1	1	
	18	4	3	3	4	2	4	4	4	4	4	5	5	6	
mucous stool	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
decrease spon. motor act.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
vaginal hemorrhage	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

Table 1-3 -continued

Clinical observations in female rats
(Gestation period)

Exp. No. 5461 (115-151)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of gestation												
		13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
number per group	0	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	4	0	0
	2	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	3	0	0
	6	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	2	0	0
	18	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	11
normal	0	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	3	0	0
	2	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	3	0	0
	6	11	10	11	11	11	11	12	12	12	12	2	0	0
	18	5	3	5	5	5	8	10	8	8	10	10	7	9
loss of hair	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	18	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
trauma	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
crust	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
anemia	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
lacrimation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	18	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
discharge of eye	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Table 1-3 -continued

Clinical observations in female rats
(Gestation period)

Exp. No. 5461 (115-151)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of gestation												
		13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
	18	4	4	4	4	3	2	0	1	1	1	2	2	0
mucous stool	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
decrease spon. motor act.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
vaginal hemorrhage	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	18	4	6	6	3	5	1	1	3	2	0	0	4	1

Signs	Dose level (mg/kg)	Total (0- 25)
number per group	0 2 6 18	
normal	0 2 6 18	10 9 9 0
loss of hair	0 2 6 18	1 0 0 3
trauma	0 2 6 18	1 0 0 0
crust	0 2 6 18	1 0 0 0
anemia	0 2 6 18	0 0 0 1
lacrimation	0 2 6 18	0 0 0 4
discharge of eye	0 2 6 18	0 0 0 1

Table 1-3 -continued

Clinical observations in female rats
(Gestation period)

Exp. No. 5461 (115-151)

Signs	Dose level (mg/kg)	Total (0- 25)
salivation	0	0
	2	0
	6	2
	18	7
mucous stool	0	0
	2	0
	6	0
	18	1
decrease spon. motor act.	0	0
	2	0
	6	0
	18	1
vaginal hemorrhage	0	0
	2	0
	6	1
	18	11

Table 1-4

Clinical observations in female rats
(Lactation period)

Exp. No. 5461 (115-151)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of lactation					Total (0-4)
		0	1	2	3	4	
number per group	0	11	11	11	11	11	
	2	9	9	9	9	9	
	6	12	12	12	12	12	
	18	2	0	0	0	0	
normal	0	10	10	10	10	10	10
	2	9	9	9	9	9	9
	6	12	11	11	12	12	11
	18	0	0	0	0	0	0
all pups died	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0
	18	2	0	0	0	0	2
loss of hair	0	1	1	1	1	1	1
	2	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0
	18	0	0	0	0	0	0
crust	0	1	1	1	1	1	1
	2	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0
	18	0	0	0	0	0	0
salivation	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0
	6	0	1	1	0	0	1
	18	0	0	0	0	0	0

Table 2-1

Body weight change of male rats

Exp. No. 5461 (115-151)

Unit : g

Dose level (mg/kg)		0		2		6		18	
No. of animals		12		12		12		12	
		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)	
Days of experiment	1	380 $\pm$ 18	(12)	379 $\pm$ 17	(12)	380 $\pm$ 17	(12)	380 $\pm$ 17	(12)
	8	399 $\pm$ 21	(12)	395 $\pm$ 23	(12)	391 $\pm$ 21	(12)	363 $\pm$ 28**	(12)
	15	417 $\pm$ 27	(12)	417 $\pm$ 29	(12)	411 $\pm$ 23	(12)	368 $\pm$ 45**	(11)
	22	438 $\pm$ 29	(12)	442 $\pm$ 34	(12)	433 $\pm$ 29	(12)	389 $\pm$ 43**	(11)
	29	465 $\pm$ 32	(12)	469 $\pm$ 40	(12)	459 $\pm$ 35	(12)	417 $\pm$ 42**	(11)
	36	482 $\pm$ 31	(12)	483 $\pm$ 44	(12)	475 $\pm$ 37	(12)	437 $\pm$ 41*	(11)
	43	496 $\pm$ 31	(12)	500 $\pm$ 47	(12)	493 $\pm$ 39	(12)	454 $\pm$ 47	(10)
	49	509 $\pm$ 32	(12)	516 $\pm$ 49	(12)	512 $\pm$ 40	(12)	467 $\pm$ 52	(10)
Gain 1-49		129 $\pm$ 24	(12)	137 $\pm$ 38	(12)	132 $\pm$ 30	(12)	85 $\pm$ 40*	(10)

Significant difference from control group; *: $p \leq 0.05$ **: $p \leq 0.01$

Table 2-2

Body weight change of female rats

Exp. No. 5461 (115-151)

Unit : g

Dose level (mg/kg)		0			2			6			18		
Before mating period													
No. of animals		12			12			12			12		
		Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)		
Days of before mating	1	222 $\pm$	11	(12)	221 $\pm$	10	(12)	222 $\pm$	10	(12)	222 $\pm$	12	(12)
	8	226 $\pm$	17	(12)	225 $\pm$	14	(12)	225 $\pm$	13	(12)	218 $\pm$	16	(12)
	15	238 $\pm$	17	(12)	235 $\pm$	17	(12)	237 $\pm$	15	(12)	232 $\pm$	16	(12)
Gain	1-15	17 $\pm$	8	(12)	14 $\pm$	9	(12)	16 $\pm$	7	(12)	10 $\pm$	11	(12)

Gestation period													
No. of dams		11			9			12			12		
		Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)		
Days of gestation	0	243 $\pm$	20	(11)	244 $\pm$	19	(9)	245 $\pm$	18	(12)	237 $\pm$	20	(12)
	7	273 $\pm$	24	(11)	274 $\pm$	21	(9)	275 $\pm$	20	(12)	267 $\pm$	21	(12)
	14	305 $\pm$	26	(11)	307 $\pm$	23	(9)	308 $\pm$	24	(12)	288 $\pm$	23	(12)
	20	374 $\pm$	33	(11)	380 $\pm$	31	(9)	379 $\pm$	32	(12)	299 $\pm$	23**	(12)
Gain	0-20	132 $\pm$	21	(11)	137 $\pm$	16	(9)	134 $\pm$	18	(12)	61 $\pm$	19**	(12)

Lactation period													
No. of dams		11			9			12			0		
		Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)		
Days of lactation	0	290 $\pm$	26	(11)	287 $\pm$	27	(9)	296 $\pm$	28	(12)	-		
	4	302 $\pm$	34	(11)	306 $\pm$	28	(9)	304 $\pm$	23	(12)	-		
Gain	0- 4	12 $\pm$	14	(11)	19 $\pm$	10	(9)	7 $\pm$	12	(12)	-		

Significant difference from control group; *: $p \leq 0.05$ **: $p \leq 0.01$

Table 3-1

Food consumption of male rats

Exp. No. 5461 (115-151)

Unit : g/day

Dose level (mg/kg)		0		2		6		18	
No. of animals		12		12		12		12	
		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)	
Days of experiment	1-8	24 $\pm$ 2	(12)	25 $\pm$ 3	(12)	23 $\pm$ 1	(12)	19 $\pm$ 3**	(12)
	8-15	25 $\pm$ 2	(12)	26 $\pm$ 2	(12)	24 $\pm$ 2	(12)	21 $\pm$ 6	(11)
	22-29	26 $\pm$ 3	(12)	27 $\pm$ 2	(11)	27 $\pm$ 2	(12)	27 $\pm$ 3	(11)
	29-36	26 $\pm$ 2	(12)	27 $\pm$ 3	(12)	27 $\pm$ 2	(12)	28 $\pm$ 4	(11)
	36-43	27 $\pm$ 2	(12)	28 $\pm$ 3	(12)	27 $\pm$ 2	(12)	29 $\pm$ 4	(10)
	43-49	27 $\pm$ 2	(12)	28 $\pm$ 2	(12)	28 $\pm$ 3	(12)	28 $\pm$ 3	(10)
Cumulative consumption (g)	1-15	340 $\pm$ 28	(12)	351 $\pm$ 33	(12)	331 $\pm$ 20	(12)	281 $\pm$ 59*	(11)
	22-49	715 $\pm$ 57	(12)	740 $\pm$ 59	(11)	734 $\pm$ 56	(12)	770 $\pm$ 82	(10)

Significant difference from control group; *: $p \leq 0.05$ **: $p \leq 0.01$

Table 3-2

Food consumption of female rats

Exp. No. 5461 (115-151)

Unit : g/day

Dose level (mg/kg)		0			2			6			18		
Before mating period													
No. of animals		12			12			12			12		
		Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)		
Days of before mating	1- 8	16 $\pm$	2	(12)	16 $\pm$	2	(12)	16 $\pm$	1	(12)	15 $\pm$	3	(12)
	8-15	18 $\pm$	2	(12)	17 $\pm$	2	(12)	18 $\pm$	1	(12)	18 $\pm$	3	(12)
Cumulative consumption (g)	1-15	234 $\pm$	29	(12)	232 $\pm$	24	(12)	243 $\pm$	16	(12)	230 $\pm$	36	(12)
Gestation period													
No. of dams		11			9			12			12		
		Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)		
Days of gestation	0- 7	21 $\pm$	2	(11)	21 $\pm$	3	(9)	22 $\pm$	2	(12)	22 $\pm$	3	(12)
	7-14	22 $\pm$	2	(11)	23 $\pm$	3	(9)	24 $\pm$	2	(12)	23 $\pm$	2	(12)
Cumulative consumption (g)	14-20	24 $\pm$	3	(11)	23 $\pm$	2	(9)	23 $\pm$	3	(12)	21 $\pm$	3*	(12)
	0-20	445 $\pm$	43	(11)	448 $\pm$	49	(9)	455 $\pm$	45	(12)	444 $\pm$	41	(12)
Lactation period													
No. of dams		11			9			11			0		
		Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)			Mean $\pm$ S.D. (N)		
Days of lactation	0- 4	27 $\pm$	8	(11)	33 $\pm$	6	(9)	27 $\pm$	3	(11)	-		
Significant difference from control group; *: p $\leq$ 0.05 **: p $\leq$ 0.01													

Significant difference from control group; *: $p \leq 0.05$ **: $p \leq 0.01$

Table 4-1

Absolute and relative organ weight of male rats

Exp. No. 5461 (115-151)

Dose level (mg/kg)		0		2		6		18	
No. of animal examined		12		12		12		10	
		Mean $\pm$ S.D.		Mean $\pm$ S.D.		Mean $\pm$ S.D.		Mean $\pm$ S.D.	
Body weight (g)		509 $\pm$ 32		516 $\pm$ 49		512 $\pm$ 40		467 $\pm$ 52	
Thymus	(mg)	348 $\pm$ 70		355 $\pm$ 59		328 $\pm$ 85		255 $\pm$ 71*	
	(mg%)	68.253 $\pm$ 12.670		69.621 $\pm$ 14.162		64.807 $\pm$ 19.530		55.368 $\pm$ 17.740	
Liver	(g)	16.63 $\pm$ 1.88		15.59 $\pm$ 1.99		16.25 $\pm$ 1.91		16.64 $\pm$ 2.16	
	(g%)	3.262 $\pm$ 0.233		3.014 $\pm$ 0.127*		3.171 $\pm$ 0.228		3.568 $\pm$ 0.264**	
Spleen	(g)	0.81 $\pm$ 0.10		0.76 $\pm$ 0.10		0.77 $\pm$ 0.08		0.79 $\pm$ 0.10	
	(g%)	0.159 $\pm$ 0.018		0.147 $\pm$ 0.018		0.150 $\pm$ 0.016		0.171 $\pm$ 0.024	
Kidneys	(g)	3.34 $\pm$ 0.31		3.07 $\pm$ 0.35		3.28 $\pm$ 0.36		3.55 $\pm$ 0.39	
	(g%)	0.656 $\pm$ 0.053		0.595 $\pm$ 0.033*		0.641 $\pm$ 0.052		0.762 $\pm$ 0.059**	
Adrenals	(mg)	53 $\pm$ 8		59 $\pm$ 9		56 $\pm$ 10		53 $\pm$ 6	
	(mg%)	10.337 $\pm$ 1.477		11.420 $\pm$ 1.963		10.882 $\pm$ 1.781		11.564 $\pm$ 1.723	
Testes	(g)	3.18 $\pm$ 0.71		3.08 $\pm$ 0.65		3.57 $\pm$ 0.15		3.46 $\pm$ 0.13	
	(g%)	0.624 $\pm$ 0.131		0.598 $\pm$ 0.128		0.701 $\pm$ 0.063		0.749 $\pm$ 0.096*	
Epididymides	(mg)	1216 $\pm$ 195		1154 $\pm$ 221		1308 $\pm$ 134		1245 $\pm$ 84	
	(mg%)	238.433 $\pm$ 32.308		224.420 $\pm$ 44.654		256.804 $\pm$ 32.163		269.592 $\pm$ 33.550	

(%) (Organ weight / body weight) $\times$ 100Significant difference from control group; *: $p \leq 0.05$ **: $p \leq 0.01$

Table 4-2

Absolute and relative organ weight of female rats

Exp. No. 5461 (115-151)

Dose level (mg/kg)		0		2		6		18	
No. of dams examined		11		9		12		0	
		Mean $\pm$ S.D.		Mean $\pm$ S.D.		Mean $\pm$ S.D.		Mean $\pm$ S.D.	
Body weight (g)		302 $\pm$ 34		306 $\pm$ 28		304 $\pm$ 23		-	
Thymus	(mg)	224 $\pm$ 96		213 $\pm$ 104		243 $\pm$ 55		-	
	(mg%)	72.831 $\pm$ 26.652		68.120 $\pm$ 26.784		79.880 $\pm$ 16.865		-	
Liver	(g)	11.92 $\pm$ 2.10		12.91 $\pm$ 1.84		12.35 $\pm$ 1.04		-	
	(g%)	3.928 $\pm$ 0.408		4.212 $\pm$ 0.394		4.071 $\pm$ 0.195		-	
Spleen	(g)	0.56 $\pm$ 0.09		0.64 $\pm$ 0.16		0.71 $\pm$ 0.12*		-	
	(g%)	0.184 $\pm$ 0.020		0.208 $\pm$ 0.035		0.232 $\pm$ 0.030**		-	
Kidneys	(g)	1.81 $\pm$ 0.17		1.98 $\pm$ 0.16		2.09 $\pm$ 0.14**		-	
	(g%)	0.602 $\pm$ 0.033		0.647 $\pm$ 0.036*		0.691 $\pm$ 0.039**		-	
Adrenals	(mg)	73 $\pm$ 14		72 $\pm$ 9		71 $\pm$ 6		-	
	(mg%)	24.199 $\pm$ 3.407		23.841 $\pm$ 3.923		23.395 $\pm$ 2.290		-	
Ovaries	(mg)	108 $\pm$ 25		98 $\pm$ 15		104 $\pm$ 9		-	
	(mg%)	35.646 $\pm$ 6.942		32.420 $\pm$ 5.710		34.505 $\pm$ 3.599		-	

(%) (Organ weight / body weight) $\times$ 100

Significant difference from control group; *: $p \leq 0.05$ **: $p \leq 0.01$

Table 5-1

Summary of gross findings (dead, male)

Exp. No. 5461 (115-151)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)	0	2	6	18
No. of animals necropsied	0	0	0	2
Organ Findings				
CARDIOVASCULAR SYSTEM				
heart nodule	-	-	-	1
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
spleen small	-	-	-	1
RESPIRATORY SYSTEM				
lung reddish	-	-	-	2
thoracic cavity hydrothorax	-	-	-	1
DIGESTIVE SYSTEM				
liver enlarged	-	-	-	1
INTEGUMENTARY SYSTEM				
subcutaneous tissue edema	-	-	-	1

Table 5-2

Summary of gross findings (sacrificed, not copulation and non-pregnancy, male) Exp. No. 5461 (115-151)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)		0	2	6	18
No. of animals necropsied		12	12	12	10
Organ	Findings				
CARDIOVASCULAR SYSTEM					
heart	hypertrophic	0	0	0	1
DIGESTIVE SYSTEM					
liver	brown patch/zone	1	0	1	0
	pale	0	0	1	2
	red patch/zone	0	1	0	3
REPRODUCTIVE SYSTEM					
testis	small	2	2	0	0
epididymis	small	1	1	0	0
ENDOCRINE SYSTEM					
thyroid gland	hypertrophic	0	0	1	0
INTEGUMENTARY SYSTEM					
skin	alopecia	0	1	2	1

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 5-3

Summary of gross findings (sacrificed, female)

Exp. No. 5461 (115-151)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)		0	2	6	18
No. of animals necropsied		11	9	12	0
Organ	Findings				
DIGESTIVE SYSTEM					
liver	white patch/zone	0	1	0	-
URINARY SYSTEM					
kidney	cyst	0	0	1	-
INTEGUMENTARY SYSTEM					
skin	alopecia	1	0	0	-
tail	loss	1	0	0	-

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 5-4

Summary of gross findings (not delivery, female)

Exp. No. 5461 (115-151)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)		0	2	6	18
No. of animals necropsied		0	0	0	10
Organ	Findings				
HEMATOPOIETIC SYSTEM					
thymus	atrophic	-	-	-	3
DIGESTIVE SYSTEM					
liver	pale	-	-	-	6
	red patch/zone	-	-	-	1
	white patch/zone	-	-	-	1
URINARY SYSTEM					
kidney	scarred	-	-	-	1
REPRODUCTIVE SYSTEM					
uterus	dilated lumen	-	-	-	1
	reddish	-	-	-	2
vagina	reddish	-	-	-	2
INTEGUMENTARY SYSTEM					
skin	alopecia	-	-	-	1

Table 5-5

Summary of gross findings (non-pregnancy, female)

Exp. No. 5461 (115-151)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)		0	2	6	18
No. of animals necropsied		1	2	0	0
Organ	Findings				
DIGESTIVE SYSTEM					
liver	hepatodiaphragmatic nodule	0	1	-	-
REPRODUCTIVE SYSTEM					
uterus	dilated lumen	0	1	-	-

Table 5-6

Summary of gross findings (all pups died, female)

Exp. No. 5461 (115-151)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)		0	2	6	18
No. of animals necropsied		0	0	0	2
Organ	Findings				
DIGESTIVE SYSTEM					
liver	brown patch/zone	-	-	-	1
	pale	-	-	-	1
	white patch/zone	-	-	-	2

Table 6-1-1

Summary of histological findings (dead, male)

Exp. No. 5461 (115-151)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)	0	2	6	18
No. of animals necropsied	0	0	0	2
No. of animals examined histologically	0	0	0	2
Organ Findings				
CARDIOVASCULAR SYSTEM				
heart				(1)
thrombus	-	-	-	1
degeneration of myocardium	-	-	-	1
endocardial thickening	-	-	-	1
fibrosis	-	-	-	1
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
spleen				(2)
atrophy, white pulp	-	-	-	1
deposit, pigment	-	-	-	1
thymus				(2)
atrophy	-	-	-	1
karyorrhexis	-	-	-	1
REPRODUCTIVE SYSTEM				
prostate				(2)
cellular infiltration, lymphocyte	-	-	-	1
INTEGUMENTARY SYSTEM				
skin				(1)
edema	-	-	-	1

(): No. of animals examined microscopically at this site.

-: Not applicable.

Table 6-1-2

Summary of histological findings (dead, male)

Exp. No. 5461 (115-151)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)		0				2				6				18			
No. of animals initially in study		0				0				0				2			
No. of animals necropsied		0				0				0				2			
No. of animals examined histologically		0				0				0				2			
Organ	Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
CARDIOVASCULAR SYSTEM																	
heart														(1)			
	thrombus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	degeneration of myocardium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	endocardial thickening	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	fibrosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
HEMATOPOIETIC SYSTEM																	
spleen														(2)			
	atrophy, white pulp	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	deposit, pigment	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	1	0
thymus														(2)			
	atrophy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	karyorrhexis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
REPRODUCTIVE SYSTEM																	
prostate														(2)			
	cellular infiltration, lymphocyte	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
INTEGUMENTARY SYSTEM																	
skin														(1)			
	edema	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked

=: benign #: malignant

(): No. of animals examined microscopically at this site.

-: Not applicable.

Table 6-2-1

Summary of histological findings (all pups died, female)

Exp. No. 5461 (115-151)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0	2	6	18
No. of animals necropsied	0	0	0	2
No. of animals examined histologically	0	0	0	2
Organ Findings				
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
spleen				(2)
deposit, pigment	-	-	-	2
DIGESTIVE SYSTEM				
liver				(2)
infarct	-	-	-	2
fatty change, intermediate	-	-	-	2
URINARY SYSTEM				
kidney				(2)
cellular infiltration, lymphocyte	-	-	-	1
REPRODUCTIVE SYSTEM				
uterus				(2)
post delivery lesion	-	-	-	2
retained placenta	-	-	-	1

(): No. of animals examined microscopically at this site.

-: Not applicable.

Table 6-2-2

Summary of histological findings (all pups died, female)

Exp. No. 5461 (115-151)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)		0				2				6				18			
No. of animals initially in study		0				0				0				2			
No. of animals necropsied		0				0				0				2			
No. of animals examined histologically		0				0				0				2			
Organ	Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
HEMATOPOIETIC SYSTEM																	
spleen	deposit, pigment	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(2) -	0	2	0
DIGESTIVE SYSTEM																	
liver	infarct	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(2) -	2	0	0
	fatty change, intermediate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	0	0
URINARY SYSTEM																	
kidney	cellular infiltration, lymphocyte	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(2) -	1	0	0
REPRODUCTIVE SYSTEM																	
uterus	post delivery lesion	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(2) -	2	0	0
	retained placenta	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked

=: benign #: malignant

(): No. of animals examined microscopically at this site.

-: Not applicable.

Table 6-3-1

Summary of histological findings (not delivery, female)

Exp. No. 5461 (115-151)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0	2	6	18
No. of animals necropsied	0	0	0	10
No. of animals examined histologically	0	0	0	10
Organ_____ Findings_____				
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
spleen				(10)
deposit, pigment	-	-	-	10
hematopoiesis, extramedullary	-	-	-	1
thymus				
atrophy	-	-	-	2
DIGESTIVE SYSTEM				
liver				(10)
fatty change, intermediate	-	-	-	9
necrosis, focal	-	-	-	2
microgranuloma	-	-	-	3
URINARY SYSTEM				
kidney				(10)
fatty change	-	-	-	1
scar	-	-	-	1
REPRODUCTIVE SYSTEM				
uterus				(10)
gravid change	-	-	-	10
retained placenta	-	-	-	5
vagina				(10)
hemorrhage	-	-	-	1
dilatation, lumen	-	-	-	1
INTEGUMENTARY SYSTEM				
skin				(1)
hair follicle atrophy	-	-	-	1

(): No. of animals examined microscopically at this site.

-: Not applicable.

Table 6-3-2

Summary of histological findings (not delivery, female)

Exp. No. 5461 (115-151)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)		0				2				6				18			
No. of animals initially in study		0				0				0				10			
No. of animals necropsied		0				0				0				10			
No. of animals examined histologically		0				0				0				10			
Organ	Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
HEMATOPOIETIC SYSTEM																	
spleen														(10)			
	deposit, pigment	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	10	0
	hematopoiesis, extramedullary	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
thymus														(10)			
	atrophy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	0	0
DIGESTIVE SYSTEM																	
liver														(10)			
	fatty change, intermediate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9	0	0
	necrosis, focal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	0	0
	microgranuloma	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	0	0
URINARY SYSTEM																	
kidney														(10)			
	fatty change	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	scar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
REPRODUCTIVE SYSTEM																	
uterus														(10)			
	gravid change	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	0	0
	retained placenta	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	0	0
vagina														(10)			
	hemorrhage	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	dilatation, lumen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
INTEGUMENTARY SYSTEM																	
skin														(1)			
	hair follicle atrophy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked

=: benign #: malignant

(): No. of animals examined microscopically at this site.

-: Not applicable.

Table 6-4-1

Summary of histological findings (sacrificed, male)

Exp. No. 5461 (115-151)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)	0	2	6	18
No. of animals necropsied	11	9	12	10
No. of animals examined histologically	6	6	7	9
Organ_____ Findings_____				
CARDIOVASCULAR SYSTEM				
heart				(1)
cellular infiltration	-	-	-	1
hypertrophy, myocardium	-	-	-	1
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
spleen	(5)	(5)	(5)	(5)
deposit, pigment	3	5	5	5
hematopoiesis, extramedullary	0	0	0	1
DIGESTIVE SYSTEM				
liver	(5)	(5)	(6)	(8)
fatty change, peripheral	0	0	1	2
microgranuloma	2	3	1	1
URINARY SYSTEM				
kidney	(5)			(5)
basophilic tubules	1	-	-	1
cast, hyaline	1	-	-	0
hyaline droplet	2	-	-	0
REPRODUCTIVE SYSTEM				
testis	(6)			(5)
atrophy, seminiferous tubule	1	-	-	0
interstitial cell hyperplasia	1	-	-	0
epididymis	(6)			(5)
no sperm	1	-	-	0
prostate	(5)			(5)
cellular infiltration, lymphocyte	1	-	-	1
ENDOCRINE SYSTEM				
thyroid gland			(1)	
cellular infiltration, lymphocyte	-	-	1	-
follicular cell hyperplasia	-	-	1	-
adrenal gland	(5)			(5)
degeneration, vacuolar	4	-	-	3

(): No. of animals examined microscopically at this site.
 Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$

-: Not applicable.
 **: $P \leq 0.01$

Table 6-4-1 -continued Summary of histological findings (sacrificed, male)

Exp. No. 5461 (115-151)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)	0	2	6	18
No. of animals necropsied	11	9	12	10
No. of animals examined histologically	6	6	7	9
Organ_____ Findings_____				

INTEGUMENTARY SYSTEM

skin		(1)	(2)	(1)
hair follicle atrophy	-	1	2	1

(): No. of animals examined microscopically at this site. - : Not applicable.
 Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 6-4-2

Summary of histological findings (sacrificed, male)

Exp. No. 5461 (115-151)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)		0				2				6				18			
No. of animals initially in study		11				9				12				10			
No. of animals necropsied		11				9				12				10			
No. of animals examined histologically		6				6				7				9			
Organ	Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
CARDIOVASCULAR SYSTEM																	
heart		(0)				(0)				(0)				(1)			
	cellular infiltration	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	hypertrophy, myocardium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
HEMATOPOIETIC SYSTEM																	
spleen		(5)				(5)				(5)				(5)			
	deposit, pigment	-	3	0	0	-	5	0	0	-	4	1	0	-	0	5	0**
	hematopoiesis, extramedullary	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	-	1	0	0
DIGESTIVE SYSTEM																	
liver		(5)				(5)				(6)				(8)			
	fatty change, peripheral	-	0	0	0	-	0	0	0	-	1	0	0	-	2	0	0
	microgranuloma	-	2	0	0	-	3	0	0	-	1	0	0	-	1	0	0
URINARY SYSTEM																	
kidney		(5)				(0)				(0)				(5)			
	basophilic tubules	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	cast, hyaline	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
	hyaline droplet	-	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
REPRODUCTIVE SYSTEM																	
testis		(6)				(0)				(0)				(5)			
	atrophy, seminiferous tubule	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
	interstitial cell hyperplasia	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
epididymis		(6)				(0)				(0)				(5)			
	no sperm	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
prostate		(5)				(0)				(0)				(5)			
	cellular infiltration, lymphocyte	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
ENDOCRINE SYSTEM																	
thyroid gland		(0)				(0)				(1)				(0)			
	cellular infiltration, lymphocyte	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0	-	-	-	-
	follicular cell hyperplasia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0	-	-	-	-
adrenal gland		(5)				(0)				(0)				(5)			
	degeneration, vacuolar	-	4	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	0	0

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked

=: benign #: malignant

(): No. of animals examined microscopically at this site.

-: Not applicable.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 6-4-2 -continued Summary of histological findings (sacrificed, male)

Exp. No. 5461 (115-151)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)	0	2	6	18
No. of animals initially in study	11	9	12	10
No. of animals necropsied	11	9	12	10
No. of animals examined histologically	6	6	7	9
Organ_____ Findings_____	T 1 2 3	T 1 2 3	T 1 2 3	T 1 2 3
INTEGUMENTARY SYSTEM				
skin	(0)	(1)	(2)	(1)
hair follicle atrophy	- - - -	- 1 0 0	- 2 0 0	- 1 0 0

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked

=: benign #: malignant

(): No. of animals examined microscopically at this site.

-: Not applicable.

Table 6-5-1

Summary of histological findings (sacrificed, female)

Exp. No. 5461 (115-151)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0	2	6	18
No. of animals necropsied	11	9	12	0
No. of animals examined histologically	6	5	5	0
Organ Findings				
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
spleen	(5)	(5)	(5)	
deposit, pigment	3	3	4	-
hematopoiesis, extramedullary	3	5	5	-
DIGESTIVE SYSTEM				
liver	(5)	(5)	(5)	
infarct	0	0	1	-
fatty change, intermediate	0	0	1	-
microgranuloma	1	0	0	-
hematopoiesis, extramedullary	0	1	1	-
URINARY SYSTEM				
kidney	(5)		(5)	
cyst	0	-	1	-
REPRODUCTIVE SYSTEM				
uterus	(5)		(5)	
post delivery lesion	5	-	5	-
INTEGUMENTARY SYSTEM				
skin	(1)			
hair follicle atrophy	1	-	-	-
tail	(1)			
gangrene	1	-	-	-

(): No. of animals examined microscopically at this site. -: Not applicable.
 Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 6-5-2

Summary of histological findings (sacrificed, female)

Exp. No. 5461 (115-151)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)		0				2				6				18			
No. of animals initially in study		11				9				12				0			
No. of animals necropsied		11				9				12				0			
No. of animals examined histologically		6				5				5				0			
Organ	Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
HEMATOPOIETIC SYSTEM																	
spleen		(5)				(5)				(5)							
	deposit, pigment	-	3	0	0	-	3	0	0	-	4	0	0	-	-	-	-
	hematopoiesis, extramedullary	-	3	0	0	-	5	0	0	-	5	0	0	-	-	-	-
DIGESTIVE SYSTEM																	
liver		(5)				(5)				(5)							
	infarct	-	0	0	0	-	0	0	0	-	1	0	0	-	-	-	-
	fatty change, intermediate	-	0	0	0	-	0	0	0	-	1	0	0	-	-	-	-
	microgranuloma	-	1	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	-	-	-	-
	hematopoiesis, extramedullary	-	0	0	0	-	1	0	0	-	1	0	0	-	-	-	-
URINARY SYSTEM																	
kidney		(5)				(0)				(5)							
	cyst	-	0	0	0	-	-	-	-	-	1	0	0	-	-	-	-
REPRODUCTIVE SYSTEM																	
uterus		(5)				(0)				(5)							
	post delivery lesion	-	5	0	0	-	-	-	-	-	5	0	0	-	-	-	-
INTEGUMENTARY SYSTEM																	
skin		(1)				(0)				(0)							
	hair follicle atrophy	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
tail		(1)				(0)				(0)							
	gangrene	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked

=: benign #: malignant

(): No. of animals examined microscopically at this site.

-: Not applicable.

Table 6-6-1

Summary of histological findings (not copulation, male)

Exp. No. 5461 (115-151)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)	0	2	6	18
No. of animals necropsied	0	1	0	0
No. of animals examined histologically	0	1	0	0
Organ Findings				
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
spleen		(1)		
deposit, pigment	-	1	-	-
DIGESTIVE SYSTEM				
liver		(1)		
microgranuloma	-	1	-	-
ENDOCRINE SYSTEM				
adrenal gland		(1)		
degeneration, vacuolar	-	1	-	-

(): No. of animals examined microscopically at this site.

-: Not applicable.

Table 6-6-2

Summary of histological findings (not copulation, male)

Exp. No. 5461 (115-151)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)	0	2	6	18
No. of animals initially in study	0	1	0	0
No. of animals necropsied	0	1	0	0
No. of animals examined histologically	0	1	0	0
Organ_____ Findings_____	T 1 2 3	T 1 2 3	T 1 2 3	T 1 2 3
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
spleen		(1)		
deposit, pigment	- - - -	- 1 0 0	- - - -	- - - -
DIGESTIVE SYSTEM				
liver		(1)		
microgranuloma	- - - -	- 1 0 0	- - - -	- - - -
ENDOCRINE SYSTEM				
adrenal gland		(1)		
degeneration, vacuolar	- - - -	- 1 0 0	- - - -	- - - -
T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked				
=: benign #: malignant				
(): No. of animals examined microscopically at this site. -: Not applicable.				

Table 6-7-1

Summary of histological findings (not copulation, female)

Exp. No. 5461 (115-151)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0	2	6	18
No. of animals necropsied	0	1	0	0
No. of animals examined histologically	0	1	0	0
Organ Findings				

HEMATOPOIETIC SYSTEM

spleen		(1)		
deposit, pigment	-	1	-	-

(): No. of animals examined microscopically at this site.

-: Not applicable.

Table 6-7-2

Summary of histological findings (not copulation, female)

Exp. No. 5461 (115-151)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0	2	6	18
No. of animals initially in study	0	1	0	0
No. of animals necropsied	0	1	0	0
No. of animals examined histologically	0	1	0	0
Organ_____ Findings_____	T 1 2 3	T 1 2 3	T 1 2 3	T 1 2 3

HEMATOPOIETIC SYSTEM

spleen		(1)		
deposit, pigment	- - - -	- 1 0 0	- - - -	- - - -

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked

=: benign #: malignant

(): No. of animals examined microscopically at this site.

-: Not applicable.

Table 6-8-1

Summary of histological findings (non-pregnancy, male)

Exp. No. 5461 (115-151)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)	0	2	6	18
No. of animals necropsied	1	2	0	0
No. of animals examined histologically	1	2	0	0
Organ_____ Findings_____				
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
spleen	(1)	(2)		
deposit, pigment	1	2	-	-
DIGESTIVE SYSTEM				
liver	(1)	(2)		
microgranuloma	1	0	-	-
REPRODUCTIVE SYSTEM				
testis	(1)	(2)		
atrophy, seminiferous tubule	1	2	-	-
interstitial cell hyperplasia	0	2	-	-
epididymis	(1)	(2)		
no sperm	1	1	-	-
decrease, sperm	0	1	-	-
prostate	(1)	(2)		
cellular infiltration, lymphocyte	1	1	-	-

(): No. of animals examined microscopically at this site.

-: Not applicable.

Table 6-8-2

Summary of histological findings (non-pregnancy, male)

Exp. No. 5461 (115-151)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)		0				2				6				18			
No. of animals initially in study		1				2				0				0			
No. of animals necropsied		1				2				0				0			
No. of animals examined histologically		1				2				0				0			
Organ	Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
HEMATOPOIETIC SYSTEM																	
spleen		(1)				(2)											
	deposit, pigment	-	1	0	0	-	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
DIGESTIVE SYSTEM																	
liver		(1)				(2)											
	microgranuloma	-	1	0	0	-	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
REPRODUCTIVE SYSTEM																	
testis		(1)				(2)											
	atrophy, seminiferous tubule	-	1	0	0	-	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	interstitial cell hyperplasia	-	0	0	0	-	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
epididymis		(1)				(2)											
	no sperm	-	1	0	0	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	decrease, sperm	-	0	0	0	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
prostate		(1)				(2)											
	cellular infiltration, lymphocyte	-	1	0	0	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked

=: benign #: malignant

(): No. of animals examined microscopically at this site.

-: Not applicable.

Table 6-9-1

Summary of histological findings (non-pregnancy, female)

Exp. No. 5461 (115-151)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0	2	6	18
No. of animals necropsied	1	2	0	0
No. of animals examined histologically	1	2	0	0
Organ Findings				
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
spleen				
deposit, pigment	(1) 1	(2) 2	-	-
DIGESTIVE SYSTEM				
liver				
microgranuloma	(1) 1	(2) 1	-	-
hepatodiaphragmatic nodule	0	1	-	-
URINARY SYSTEM				
kidney				
cellular infiltration, lymphocyte	(1) 1	(2) 0	-	-
REPRODUCTIVE SYSTEM				
uterus				
dilatation, lumen	(1) 1	(2) 1	-	-

(): No. of animals examined microscopically at this site.

-: Not applicable.

Table 6-9-2

Summary of histological findings (non-pregnancy, female)

Exp. No. 5461 (115-151)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0	2	6	18
No. of animals initially in study	1	2	0	0
No. of animals necropsied	1	2	0	0
No. of animals examined histologically	1	2	0	0
Organ Findings	T 1 2 3	T 1 2 3	T 1 2 3	T 1 2 3
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
spleen	(1)	(2)		
deposit, pigment	- 1 0 0	- 2 0 0	- - - -	- - - -
DIGESTIVE SYSTEM				
liver	(1)	(2)		
microgranuloma	- 1 0 0	- 1 0 0	- - - -	- - - -
hepatodiaphragmatic nodule	- 0 0 0	- 1 0 0	- - - -	- - - -
URINARY SYSTEM				
kidney	(1)	(2)		
cellular infiltration, lymphocyte	- 1 0 0	- 0 0 0	- - - -	- - - -
REPRODUCTIVE SYSTEM				
uterus	(1)	(2)		
dilatation, lumen	- 1 0 0	- 1 0 0	- - - -	- - - -

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked

=: benign #: malignant

(): No. of animals examined microscopically at this site.

-: Not applicable.

Table 6-10

Cell type and number per Sertoli cell in seminiferous tubules of rats at VII - VIII
stage of spermatogenesis during dosing period

Exp. No. 5461 (115-151)

Dose level (mg/kg)	0			18		
No. of animals examined histologically	5			5		
	Mean	±	S. D.	Mean	±	S. D.
Spermatogonia type A	0.14	±	0.03	0.15	±	0.02
Preleptotene spermatocyte	2.23	±	0.41	2.02	±	0.21
Pachytene spermatocyte	3.47	±	0.60	3.47	±	0.29
Round spermatid	8.84	±	1.52	8.54	±	0.57

Table 7

Copulation and fertility results in rats

Exp. No. 5461 (115-151)

Dose level (mg/kg)	0	2	6	18
No. of pairs mated	12	12	12	12
No. of pairs copulated	12	11	12	12
No. of pregnant females	11	9	12	12
Copulation index (%) 1)	100.0	91.7	100.0	100.0
Fertility index (%) 2)	91.7	81.8	100.0	100.0
Estrous cycle				
No. of animals examined	12	12	12	12
	Mean±S.D. (N)	Mean±S.D. (N)	Mean±S.D. (N)	Mean±S.D. (N)
Mean estrous cycle	4.2± 0.3 (12)	4.2± 0.4 (12)	4.1± 0.3 (12)	4.4± 0.5 (11)
Irregular cycle a) (%) 3)	0 (0.0)	1 (8.3)	0 (0.0)	3 (25.0)

1) (No. of animals with successful copulation / no. of animals mated) x 100

2) (No. of pregnant animals / no. of animals with successful copulation) x 100

3) (No. of animals having irregular estrous cycle / no. of animals examined) x 100

a) No. of animals having irregular estrous cycle

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 8

Findings of delivery in dams(F0)

Exp. No. 5461 (115-151)

Dose level (mg/kg)	0	2	6	18
No. of dams observed	11	9	12	11
No. of dams delivered live pups	11	9	12	0
Duration of gestation (Mean $\pm$ S.D.)	22.4 $\pm$ 0.5	22.3 $\pm$ 0.5	22.2 $\pm$ 0.4	24.5 $\pm$ 0.7
No. of total corpora lutea (Mean $\pm$ S.D.)	191(17.4 $\pm$ 4.2)	157(17.4 $\pm$ 2.9)	186(15.5 $\pm$ 2.8)	180(16.4 $\pm$ 3.6)
No. of total implants (Mean $\pm$ S.D.)	148(13.5 $\pm$ 2.4)	132(14.7 $\pm$ 1.4)	165(13.8 $\pm$ 1.5)	129(11.7 $\pm$ 5.3)
No. of total pups born (Mean $\pm$ S.D.)	128(11.6 $\pm$ 3.5)	124(13.8 $\pm$ 1.6)	151(12.6 $\pm$ 1.5)	5(2.5 $\pm$ 0.7)
No. of total live pups born (Mean $\pm$ S.D.)	125(11.4 $\pm$ 3.5)	123(13.7 $\pm$ 1.7)	147(12.3 $\pm$ 1.7)	0(0.0 $\pm$ 0.0)
Male	63(5.7 $\pm$ 3.1)	53(5.9 $\pm$ 1.8)	76(6.3 $\pm$ 2.2)	0(0.0 $\pm$ 0.0)
Female	62(5.6 $\pm$ 2.4)	70(7.8 $\pm$ 2.6)	71(5.9 $\pm$ 2.5)	0(0.0 $\pm$ 0.0)
Sex ratio (Mean $\pm$ S.D.)	1.17 $\pm$ 0.75	0.90 $\pm$ 0.50	1.44 $\pm$ 1.15	0.00 $\pm$ 0.00
No. of total live pups on day 4 (Mean $\pm$ S.D.)	123(11.2 $\pm$ 3.5)	122(13.6 $\pm$ 1.5)	130(10.8 $\pm$ 2.2)	-
Male	63(5.7 $\pm$ 3.1)	53(5.9 $\pm$ 1.8)	67(5.6 $\pm$ 2.0)	-
Female	60(5.5 $\pm$ 2.3)	69(7.7 $\pm$ 2.6)	63(5.3 $\pm$ 2.1)	-
No. of total dead pups (Mean $\pm$ S.D.)	3(0.3 $\pm$ 0.9) a)	0(0.0 $\pm$ 0.0) a)	4(0.3 $\pm$ 0.7) a)	0(0.0 $\pm$ 0.0) a)
No. of total cannibalism (Mean $\pm$ S.D.)	0(0.0 $\pm$ 0.0) a)	1(0.1 $\pm$ 0.3) a)	0(0.0 $\pm$ 0.0) a)	5(2.5 $\pm$ 0.7) a)
Gestation index (%) 1)	100.0	100.0	100.0	0.0**
Implantation index (% Mean $\pm$ S.D.) 2)	79.8 $\pm$ 17.0	85.1 $\pm$ 8.9	90.1 $\pm$ 11.0	69.2 $\pm$ 24.2
Delivery index (% Mean $\pm$ S.D.) 3)	87.7 $\pm$ 23.0	93.9 $\pm$ 5.5	91.5 $\pm$ 5.8	27.4 $\pm$ 8.4
Live birth index (% Mean $\pm$ S.D.) 4)	97.9 $\pm$ 7.0	99.2 $\pm$ 2.4	97.2 $\pm$ 5.2	0.0 $\pm$ 0.0
Viability index of total live pups on day 4 (% Mean $\pm$ S.D.) 5)	98.6 $\pm$ 3.1	99.3 $\pm$ 2.1	88.6 $\pm$ 12.9*	-
Male	100.0 $\pm$ 0.0 a)	100.0 $\pm$ 0.0 a)	88.6 $\pm$ 13.4 a)	-
Female	97.2 $\pm$ 6.3	98.8 $\pm$ 3.7	90.7 $\pm$ 16.1	-

1) (No. of females with live pups / no. of pregnant females) x 100

2) (No. of implants / no. of corpora lutea) x 100

3) (No. of pups born / no. of implants) x 100

4) (No. of live pups born / no. of pups born) x 100

5) (No. of live pups on day 4 after birth / no. of live pups born) x 100

a) It could not be analyzed by Bartlett's test

Significant difference from control group; *: P $\leq$ 0.05 **: P $\leq$ 0.01

Table 9

External observations on live pups(F1) from rats

Exp. No. 5461 (115-151)

Dose level (mg/kg)	0	2	6
No. of litters	11	9	12
No. of live newborns examined	125	123	147
No. of live newborns with external anomalies (% Mean $\pm$ S.D.)	0 -	0 -	1 0.6 $\pm$ 2.2
Type and incidence of external anomalies (%) 1)			
bent tail	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.7)

1) (No. of live newborns with external anomalies / no. of live newborns examined) x 100
 Significant difference from control group; *: $p \leq 0.05$ **: $p \leq 0.01$

Table 10

Body weight change of pups(F1) from rats

Exp. No. 5461 (115-151)

Unit : g										
Dose level (mg/kg)		0		2		6		18		
No. of litters		11		9		12		0		
		Mean $\pm$ S.D.		(N)	Mean $\pm$ S.D.		(N)	Mean $\pm$ S.D.		(N)
Male										
Days after birth	0	6.8 $\pm$ 0.8	(11)	7.0 $\pm$ 0.7	(9)	6.8 $\pm$ 0.5	(12)	-		
	4	10.2 $\pm$ 1.6	(11)	10.5 $\pm$ 1.2	(9)	8.9 $\pm$ 1.7	(12)	-		
Female										
Days after birth	0	6.4 $\pm$ 0.6	(11)	6.5 $\pm$ 0.7	(9)	6.5 $\pm$ 0.6	(12)	-		
	4	9.6 $\pm$ 1.1	(11)	10.0 $\pm$ 1.1	(9)	8.9 $\pm$ 1.4	(12)	-		

Significant difference from control group; *: $p \leq 0.05$ **: $p \leq 0.01$

Table 11-1

Summary of gross findings of pups(F1) from rats (sacrificed, male)

Exp. No. 5461 (115-151)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)	0	2	6	18
No. of pups necropsied	63	53	67	0
Organ Findings				
URINARY SYSTEM				
ureter dilated lumen	0	0	3	-
INTEGUMENTARY SYSTEM				
skin trauma	0	0	1	-
planta red patch/zone	0	0	2	-
tail bent tail	0	0	1	-

Significant difference from control group; *: $p \leq 0.05$ **: $p \leq 0.01$

Table 11-2

Summary of gross findings of pups(F1) from rats (sacrificed, female)

Exp. No. 5461 (115-151)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0	2	6	18
No. of pups necropsied	60	69	63	0
Organ Findings				
URINARY SYSTEM				
kidney dilated pelvis	1	0	0	-
ureter dilated lumen	1	0	0	-
INTEGUMENTARY SYSTEM				
skin scab	1	0	0	-
planta red patch/zone	0	0	8**	-

Significant difference from control group; *: $p \leq 0.05$ **: $p \leq 0.01$