



BOZO RESEARCH
CENTER INC.

最終報告書

2, 3-ジメチルアニリンのラットを用いた経口投与による
28日間反復投与毒性試験および2週間回復試験

株式会社 **ボゾリサーチセンター**

目 次

	頁
要 約	1
緒 言	3
試験材料および方法	
1. 被験物質および被験液の調製	4
1) 被験物質	4
2) 被験液の調製および保存方法	4
3) 被験液の安定性	5
4) 被験液の濃度確認	5
2. 試験動物	5
3. 飼育条件	5
4. 投与量、群構成および動物数	6
5. 個体識別およびケージへの表示	6
6. 投与方法および投与期間	7
7. 検査方法	7
1) 一般状態の観察	7
2) 体重測定	7
3) 摂餌量測定	7
4) 尿検査	7
5) 血液学的検査	8
6) 血液生化学的検査	10
7) 病理学的検査	11
(1) 剖検および器官重量測定	11
(2) 病理組織学的検査	11
8. 統計処理	12

	頁
試験結果	
1. 死亡動物および一般状態	13
1) 死亡動物	13
2) 生存動物	13
2. 体重	13
1) 投与期間	13
2) 回復期間	13
3. 摂餌量	13
1) 投与期間	13
2) 回復期間	14
4. 尿検査	14
1) 投与第4週検査	14
2) 回復第2週検査	14
5. 血液学的検査	14
1) 投与終了時検査	14
2) 回復終了時検査	15
6. 血液生化学的検査	15
1) 投与終了時検査	15
2) 回復終了時検査	15
7. 剖検所見	15
1) 死亡例	15
2) 投与終了時剖検例	15
3) 回復終了時剖検例	16
8. 器官重量	16
1) 投与終了時剖検例	16
2) 回復終了時剖検例	16
9. 病理組織学的検査	16
1) 死亡例	17
2) 投与終了時剖検例	17
3) 回復終了時剖検例	19

	頁
考 察	2 0
文 献	2 4

Figures and Tables

Fig. 1	Body weight
Fig. 2	Food consumption
Table 1-1~1-3	Clinical signs
Table 2-1、2-2	Body weight
Table 3-1、3-2	Food consumption
Table 4-1~4-8	Urinalysis
Table 5-1~5-4	Hematological findings
Table 6-1~6-4	Blood chemical findings
Table 7-1~7-4	Gross pathological findings
Table 8-1~8-8	Absolute and relative organ weights
Table 9-1~9-8	Histopathological findings

要 約

Crl:CD(SD)系雌雄ラットを用いて、2,3-ジメチルアニリンの反復投与による毒性ならびにその回復性を検討した。投与量は0(オリーブ油:対照群)、12、60、および300mg/kg/dayとし、28日間強制経口投与した。1群の動物数は、対照群、60および300mg/kg投与群で雌雄各12匹、12mg/kg投与群で雌雄各6匹とし、このうち、対照群、60および300mg/kg投与群の雌雄各6匹については、28日間投与後2週間休薬させた。

1. 試験期間を通じて、被験物質投与に起因する死亡および一般状態の変化はみられなかった。
2. 体重では、60mg/kg投与群の雌および300mg/kg投与群の雌雄で軽度の増加抑制が認められた。
3. 摂餌量では、300mg/kg投与群の雄で投与開始初期に一時的な減少がみられたが、その後は対照群と同様に推移した。
4. 尿検査では、300mg/kg投与群の雌雄でpHの低下、ビリルビン、潜血ならび尿沈渣中の赤血球および白血球の増加、摂水量および尿量の増加と尿比重の減少がみられたほか、雄では尿沈渣中の小円形上皮細胞の増加、雌では尿蛋白の増加がみられた。
5. 血液学的検査では、60mg/kg投与群の雌雄でヘモグロビン量の減少が、雌で赤血球数ならびにヘマトクリット値の減少およびメトヘモグロビンの増加がみられ、300mg/kg投与群の雌雄では上記変化に加え、平均赤血球血色素濃度の減少ならびに平均赤血球容積、平均赤血球血色素量、網赤血球率および白血球数の増加がみられた。
6. 血液生化学的検査では、300mg/kg投与群の雌雄で総ビリルビン、カリウムおよび尿素窒素の増加がみられたほか、雄で γ -GTP活性および間接ビリルビンの増加、雌でGPT活性、総コレステロールおよびリン脂質の増加がみられた。

7. 病理学的検査では、脾臓、腎臓、肝臓および骨髓（大腿骨）に変化がみられた。脾臓では 300mg/kg 投与群の雌雄で肉眼的な腫大および器官重量の増加がみられ、組織学的には雄の 60mg/kg 以上および雌の 12mg/kg 以上の投与群で赤脾髄のヘモジリン沈着の増強、300mg/kg の雌雄で髄外造血の亢進および雄でうっ血がみられた。腎臓では、300mg/kg 投与群の雌雄で器官重量の増加がみられ、組織学的には 300mg/kg 投与群の雌雄で腎乳頭壊死および尿細管の拡張および皮質における間質の細胞浸潤がみられた。さらに、雄で尿細管の好塩基性変化および髄質内帯の鉍質沈着がみられ、尿細管上皮の好酸性小体の出現について変化の程度が増強していた。また、雌の 300mg/kg 投与群および雄の 60mg/kg 投与群では、硝子円柱がみられた。肝臓では、60mg/kg 投与群の雄および 300mg/kg 投与群の雌雄で器官重量の増加がみられ、組織学的には 300mg/kg 投与群の雌雄で小葉中心性の肝細胞肥大および胆管の増生、クッパー細胞のヘモジリン沈着および髄外造血の亢進がみられた。骨髓（大腿骨）では、造血の亢進が 60mg/kg 以上の投与群の雌雄でみられた。

8. 休薬期間終了後には、腎臓の変化を除くほとんどの変化は消失または軽減傾向を示し、可逆性の変化と考えられた。

以上の如く、2, 3-ジメチルアニリンをラットに 28 日間反復投与した結果、300mg/kg 投与群でメトヘモグロビン血症に伴う尿、血液および血液生化学的検査項目の変化ならびに脾臓、肝臓および造血器官の反応性変化に加え、腎臓に主な変化がみられ、本被験物質の標的器官は、血液（赤血球）、脾臓、肝臓および腎臓と考えられた。また、12mg/kg 投与群では雄には変化はみられなかったが、雌で脾臓に変化がみられた。これらの結果から、本試験における 2, 3-ジメチルアニリンの無影響量は雄では 12mg/kg/day、雌では 12mg/kg/day を下回ると推定された。

緒 言

2, 3-ジメチルアニリンは消炎鎮痛剤のメフェナム酸あるいはフェノール樹脂の原料として広く使用されている。

今回、厚生省生活衛生局の依頼により、2, 3-ジメチルアニリンをヒトが摂取した場合の影響を推定する目的で、被験物質をラットに28日間反復経口投与し、その影響を明らかにするとともに、2週間休薬し、障害の回復性を調べたのでその成績を報告する。

なお、本試験は「新規化学物質に係る試験及び指定化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める命令第4条に規定する試験施設について」（〔昭和59年3月31日；環保業第39号環境庁企画調整局長、薬発第229号厚生省生活衛生局長、59基局第85号通商産業省基礎産業局長連名基準〕、一部改正〔昭和63年11月18日；環企研第233号、衛生第38号、63基局第823号〕）に定める「新規化学物質に係る試験及び指定化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める命令第4条に規定する試験施設に関する基準」および「新規化合物質に係る試験の方法について」の一部改正等について（昭和61年12月5日；環保業第700号環境庁企画調整局長、薬発第1039号厚生省薬務局長、61基局第1014号通商産業省基礎産業局長連名通知）（以下「化審法ガイドライン」という）に準拠し実施した。

試験材料および方法

1. 被験物質および被験液の調製

1) 被験物質

2, 3-ジメチルアニリンは以下の情報とともに、
より提供された。

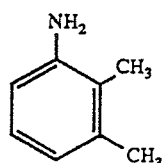
製 造 者 :

名 称 : 2, 3-ジメチルアニリン

(CAS No. : 87-59-2)

構造式または示性式

:



ロット番号 :

純 度 : 99.7%

性 状 : 淡褐色透明の液体

分 子 量 : 121.18

融 点 : 2.5℃

沸 点 : 221~222℃

安 定 性 : 返却後の被験物質の分析結果から、動物試験期間中は安定であったことが確認された。

保 存 方 法 : 室温

保 存 場 所 : 御殿場研究所 被験物質保管室および中央検体調製室

なお、提供された被験物質のうち、約5gを保管試料として御殿場研究所の被験物質保管室に保管し、その他の残余被験物質は全量を製造者に返却した。

2) 被験液の調製および保存方法

投与容量が5ml/kg体重となるよう、オリーブ油（日本薬局方、丸石製薬株式会社、ロット番号：5213、5227）に溶解して高用量群の投与液（6%（%））を調製した。中および低用量群の投与液は、6%液をオリーブ油で段階的に希釈して調製した。被験液の調製は最大1週間分を一括して行い、1日分ずつ褐色ガラス瓶に分注し、冷蔵

庫（約4℃）に保存した。

3) 被験液の安定性

0.1～10%（%）液は、室温で1日間および冷蔵（約4℃）・遮光（褐色ガラス瓶）で8日間まで安定である（添付資料 1、2）。

4) 被験液の濃度確認

投与開始前および投与終了週の2回、投与に使用した各濃度液について、株式会社ボソリサーチセンターで測定した結果、表示値に対する割合は92～104%であり、いずれも適正濃度であることが確認された（添付資料 3、4）。

2. 試験動物

Crl:CD(SD)系SPFラット（日本チャールス・リバー株式会社）の雌雄各60匹^{#1}を5週齢で購入し、当所で約1週間検疫・馴化飼育した後、体重増加が順調で一般状態に異常を認めなかった雌雄各42匹を選び、6週齢で試験に供した。投与開始日の体重範囲は、雄で188～208g（平均値：200.1g）、雌で155～180g（平均値：166.9g）であり、いずれの動物の体重も平均値±20%以内であった。

動物は、検疫・馴化期間中の体重増加量により選別後、群分け当日（雄の投与開始の2日、雌の投与開始3日前）の体重に基づいて層別化し、各群の平均体重がほぼ均等となるよう、コンピュータを用いてブロック配置法および無作為抽出法の組合せ（ブロック配置法で必要な群を構成し、試験群および群内の個体番号を無作為に割り当てた）により各群に割り付けた。群分け後の余剰動物は、雄の投与7日（雌の投与6日）に安楽死させた。

^{#1}：試験計画書に従い、注文匹数は雌雄各60匹であったが、実際には雌雄各62匹が納入された。

3. 飼育条件

動物は、温度 $23 \pm 3^{\circ}\text{C}$ 、相対湿度 $50 \pm 20\%$ 、換気回数1時間当たり10～15回、照明1日12時間（午前7時～午後7時）の飼育室（814号室）で、金属製網ケージ（W 254×D 350×H 170 mm：リードエンジニアリング株式会社）に1匹ずつ収容し、固型飼料（放射線滅菌CRF-1、オリエンタル酵母工業株式会社）および飲料水（御殿場市営水道水：自動給水）を自由に摂取させ飼育した。なお、飼料中の汚染物質等に関しては、使用した全ロットについて財団法人日本食品分析センターで分析したデータを入手し、また、飲料水については、水道法に準拠した水質の検査を財団法人静岡県生活科学検

査センターに定期的（年4回）に依頼し、得られたデータを入手してそれぞれ異常のないことを確認して保管した。

4. 投与量、群構成および動物数

投与量は、2週間投与による予備試験¹⁾の成績を参考にして設定した。すなわち、2, 3-ジメチルアニリンの30、100、300および1000mg/kgを雌雄ラットに2週間反復経口投与した結果、1000mg/kg投与群の雌雄全例が死亡した。300mg/kg投与群では、赤血球数、ヘモグロビン量およびヘマトクリット値の減少、総ビリルビンおよび尿素窒素の増加、脾臓の腫大ならびに脾臓、肝臓および腎臓重量の増加などがみられた。100mg/kg投与群では、雌の投与群で総ビリルビンの増加、脾臓の腫大および脾臓重量の増加がみられた。これらの結果から、本試験では明らかな毒性徴候が予想される300mg/kgを高用量とし、以下公比約5で減じて60および12mg/kgの3用量を設定し、これに对照群を加えた計4群を使用した。28日間投与後に剖検する群（主群）に雌雄各6匹を用い、さらに、对照群、中用量群および高用量群では28日間投与後2週間休薬した後に剖検する群（回復群）に雌雄各6匹を用いた。次に群構成表を示す。

試験群	投与量 (mg/kg)	投与液 濃度 (%)	性	主 群		回 復 群	
				動物数	動物番号	動物数	動物番号
対 照 群	0	0	雄	6	1001~1006	6	1007~1012
			雌	6	1101~1106	6	1107~1112
低 用 量 群	12	0.24	雄	6	2001~2006	-	-
			雌	6	2101~2106	-	-
中 用 量 群	60	1.2	雄	6	3001~3006	6	3007~3012
			雌	6	3101~3106	6	3107~3112
高 用 量 群	300	6	雄	6	4001~4006	6	4007~4012
			雌	6	4101~4106	6	4107~4112

5. 個体識別およびケージへの表示

個体識別は、入荷時に小動物用耳標をつけて行った。また、飼育ケージには、投与量ごとに色分けしたケージラベルに試験番号、投与経路、投与量、性、動物番号、耳標番号および剖検日を明記し、表示した。

6. 投与方法および投与期間

「化審法ガイドライン」に準じて経口投与を選択した。被験液は、 $0.5\text{ml}/100\text{g}$ 体重の投与容量で、1日1回（午前8時～午後3時の間）、週7日、金属製胃ソンドを用いて28日間強制経口投与した。対照群には溶媒（オリーブ油）を同様に投与した。投与液量は最新の体重を基準に算出した。なお、回復期間は2週間とし、この間休薬させた。

7. 検査方法

1) 一般状態の観察

投与期間中は毎日3回、投与前と投与直後および投与2時間後（ただし、土曜、日曜および祭日は投与前と投与直後の2回）、回復期間中は毎日1回（午前中）、症状の有無、行動異常の有無を観察した。死亡動物は、発見後すみやかに剖検した。

なお、以下、投与開始日を投与1日、投与1～7日を投与第1週と起算した。

2) 体重測定

投与開始日の投与前に1回測定し、その後は3日ないし4日間隔で週2回、当日の投与前（午前中）に測定した。回復期間中は回復1日（投与期間終了の翌日）および3日に測定し、その後は3日ないし4日間隔で週2回測定した。また、相対器官重量算出のため、投与終了時および回復終了時の剖検日にも絶食後の体重を測定した。

3) 摂餌量測定

投与開始日の投与前に1回、前日からの1日量を測定した。その後の投与期間中は3日あるいは4日間隔で週2回、3日ないし4日間の累積摂餌量を当日の投与前に測定し、1匹1日量を算出した。回復期間中は、回復1日から3日までの累積摂餌量を測定し、その後は3日あるいは4日間隔で週2回、3日ないし4日間の累積摂餌量を測定して、1匹1日量を算出した。なお、測定は午前中に行った。

4) 尿検査

投与第4週および回復第2週に行った。

投与第4週（投与23日～26日の間）は、検査当日の投与後に主群の全動物について、回復第2週（回復9日～12日の間）は回復群の全動物について、個別に代謝ケージに収容し、絶食・自由摂水下で4時間尿を、次いで自由摂食・自由摂水下でその後の20時間尿を採取した。検査項目は以下の通りである。なお、採取した最初の4時間尿についてpH以下沈渣までの検査と尿量を、その後に得られた20時間尿を用いて尿比重および尿量の測定を行い、尿量は4時間の尿量および20時間の尿量を

合計して算出した。摂水量は、代謝ケージに収容した状態で前日からの1日の摂取量を、給水瓶を用いて測定した。

検査項目	測定方法
pH	URIFLET 7A [㈱京都第一科学] 〃
蛋白質	URIFLET 7A [㈱京都第一科学] 〃
ケトン体	URIFLET 7A [㈱京都第一科学] 〃
ブドウ糖	URIFLET 7A [㈱京都第一科学] 〃
潜血	URIFLET 7A [㈱京都第一科学] 〃
ビリルビン	URIFLET 7A [㈱京都第一科学] 〃
ウロビリノーゲン	URIFLET 7A [㈱京都第一科学] 〃
色調	肉眼観察
沈渣	鏡検法
尿量 (24時間量)	容量測定
比重	屈折法 [〃]
摂水量 (24時間量)	重量法

使用測定機器

- a) : mini AUTION ANALYZER
MA-4210 (株式会社京都第一科学)
- b) : アタゴ屈折計 (株式会社アタゴ)

5) 血液学的検査

投与期間および回復期間終了の翌日の剖検時に、前日から一夜(約16時間)絶食させた全動物を、エーテル麻酔下に開腹し、腹大動脈から抗凝固剤(EDTA-2K)を加えた採血ビン(SB-41:東亜医用電子株式会社)に血液を採取し、以下の項目について測定した。ただし、プロトロンビン時間および活性化部分トロンボプラスチン時間については、3.8%クエン酸ナトリウムを加えた容器に採取した血液を遠心分離(3000rpm、10分間)し、得られた血漿を用いて測定した。

測定項目	測定方法	単位
赤血球数 (RBC)	電気抵抗変化検出法 ^{c)}	$10^4 / \text{mm}^3$
ヘモグロビン量 (Hb)	シアンメトヘモグロビン法 ^{c)}	g / dL
メトヘモグロビン (metHb)	Van Assendelft 法 ^{d)}	%
ヘマトクリット値 (Ht)	$\frac{\text{平均赤血球容積} (\mu^3) \times \text{赤血球数} (10^4 / \text{mm}^3)}{10^3}$ ^{c)}	%
平均赤血球容積 (MCV)	電気抵抗変化検出法 ^{c)}	μ^3
平均赤血球血色素量 (MCH)	$\frac{\text{ヘモグロビン量} (\text{g} / \text{dL}) \times 10^{c1}}{\text{赤血球数} (10^4 / \text{mm}^3)}$	μg
平均赤血球血色素濃度 (MCHC)	$\frac{\text{ヘモグロビン量} (\text{g} / \text{dL}) \times 10^{2 c1}}{\text{ヘマトクリット値} (\%)}$	%
網赤血球率 (Reticulocyte)	Brecher 法	%
血小板数 (Platelet)	電気抵抗変化検出法 ^{c)}	$10^4 / \text{mm}^3$
白血球数 (WBC)	電気抵抗変化検出法 ^{c)}	$10^2 / \text{mm}^3$
白血球百分率	May-Giemsa 鏡検法	%
プロトロンビン時間 (PT)	クロット法 ^{c)}	sec.
活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)	クロット法 ^{c)}	sec.

使用測定機器

- c) : コールター全自動8項目血球アナライザー T890
(株式会社 日科機)
- d) : 分光光度計 UVIDEC-66
(株式会社 日本分光メディカル)
- e) : 血液凝固自動測定装置 ACL 100
(Instrumentation Laboratory)

6) 血液生化学的検査

血液学的検査のための採血と同時に、腹大動脈から採取した血液を30分～1時間室温で放置した後、遠心分離（3000rpm、10分間）し、得られた血清を用いて以下の項目について測定した。ただし、GOT、GPT、LDH、 γ -GTPおよびChEについてはヘパリンを加えた容器に採取後、遠心分離（3000rpm、10分間）し、得られた血漿を用いて測定した。

測定項目	測定方法	単位
GOT	UV-rate法 ¹⁾	IU/ℓ
GPT	UV-rate法 ¹⁾	IU/ℓ
LDH	UV-rate法 ¹⁾	IU/ℓ
γ -GTP	γ -Glu-DBMA-rate法 ¹⁾	IU/ℓ
ChE	DTNB法 ¹⁾	IU/ℓ
ALP	Bessey-Lowry法 ¹⁾	IU/ℓ
総コレステロール (T. cho)	CEH-COD-POD法 ¹⁾	mg/dℓ
トリグリセライド (TG)	GK-GPO-POD法 ¹⁾	mg/dℓ
リン脂質 (PL)	PLD-ChOD-POD法 ¹⁾	mg/dℓ
総ビリルビン (T. bilirubin)	アルカリアゾビリルビン法 ¹⁾	mg/dℓ
直接ビリルビン (D. bilirubin)	アルカリアゾビリルビン法 ¹⁾	mg/dℓ
間接ビリルビン (ID. bilirubin)	総ビリルビンおよび直接ビリルビンにより算出	mg/dℓ
血糖 (Glucose)	Hexokinase-G6PD法 ¹⁾	mg/dℓ
尿素窒素 (BUN)	Urease-GLDH法 ¹⁾	mg/dℓ
クレアチニン (Creatinine)	Jaffe法 ¹⁾	mg/dℓ
ナトリウム (Na)	イオン選択電極法 ¹⁾	mEq/ℓ
カリウム (K)	イオン選択電極法 ¹⁾	mEq/ℓ

測定項目	測定方法	単位
塩素 (Cl)	イオン選択電極法 ¹⁾	mEq / ℓ
カルシウム (Ca)	OCPC法 ¹⁾	mg / dl
無機リン (P)	モリブデン酸法 ¹⁾	mg / dl
総蛋白質 (TP)	Biuret 法 ¹⁾	g / dl
アルブミン (Albumin)	BCG法 ¹⁾	g / dl
A/G比 (A/G)	総蛋白質およびアルブミンから算出	

使用測定機器

- d) : 分光光度計 UVIDE C-66
(株式会社 日本分光メディカル)
- f) : 自動分析装置 Monarch (Instrumentation Laboratory)

7) 病理学的検査

(1) 剖検および器官重量測定

全動物について、採血後放血致死させ、外表異常の有無を観察した後、頭部、胸部および腹部を含む全身の器官・組織について、肉眼的に異常の有無を観察した。続いて、以下に示す器官について摘出後、器官重量（絶対重量）を測定した。また、絶食後の体重および絶対重量から体重100g当たりの相対重量を算出した。なお、両側性の器官は左右別々に測定したが、左右合計の重量も算出し、合計の値で評価した。死亡動物は、発見後すみやかに剖検した。なお、死亡動物についても器官重量を測定したが、参考データにとどめ帳表には記載しなかった。

脳、胸腺、甲状腺（上皮小体を含む）、心臓、肺（気管支を含む）、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣、卵巣

(2) 病理組織学的検査

全動物について以下に示す全器官・組織を採取し、リン酸緩衝液 (1/15M、pH 7.1~7.4) で調製した10%ホルマリン液（但し、眼球およびハーダー腺は3%グルタルアルデヒド・2.5%ホルマリン液）で固定後保存した。また、下線を施した器官・組織についてパラフィン包埋し、このうち、主群では対照群と高用量群のこれらの器官・組織について、中および低用量群は被験物質投与による変化が疑われた肝臓、腎臓、脾臓、膀胱（雄のみ）および骨髓（大腿骨）について切片とし、

ヘマトキシリン・エオジン（H・E）染色を施して鏡検した。なお、H・E染色上、脾臓および肝臓でヘモジデリンの沈着が疑われたため、全例について、ベルリン青染色を実施した。回復群では、主群の検査で被験物質投与による変化が疑われた肝臓、腎臓、脾臓、膀胱（雄のみ）および骨髓（大腿骨）について、まず対照群と高用量群の動物を検査した。その結果、肝臓、腎臓、脾臓および骨髓に被験物質投与によると考えられる変化がみられたため、これらについては中用量群も鏡検した。また、死亡動物および肉眼的異常部位については、用量に関係なく鏡検した。さらに、正常および異常所見の代表例について写真を撮影した。

脳、脊髄、坐骨神経、胸大動脈、心臓、気管、肺（気管支を含む）、舌、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、唾液腺（顎下腺・舌下腺）、肝臓、脾臓、下垂体、甲状腺（上皮小体を含む）、副腎、胸腺、脾臓、腸間膜リンパ節、頸部リンパ節、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、精囊、前立腺、卵巣、子宮、腔、乳腺、皮膚、眼球、ハーダー腺、骨及び骨髓（胸骨・大腿骨）、大腿筋、肉眼的異常部位

8. 統計処理

各検査項目のうち数値化した成績について、まず Bartlett 法により各群の分散の均一性の検定を行った。その結果、分散が均一の場合には一元配置法による分散分析を行い、群間に有意差が認められたならば、Dunnell法を用いて対照群と各投与群との平均値の差の検定を行った。分散が均一でない場合には、Kruskal-Wallis の順位検定を行い、有意であれば Dunnell 型の方法（Steel 法）を用いて対照群と各投与群との平均順位の差の検定を行った。検定はいずれも両側で、有意水準は 5 および 1 % とした²⁾。なお、病理組織学的検査の成績については、Mann-Whitney の U 検定を行った。検定は片側で、有意水準は 5 および 1 % とした。

試験結果

1. 死亡動物および一般状態

成績をTable 1-1~1-3、Appendix 1~11に示した。

1) 死亡動物

投与期間中、300mg/kg投与群の雄の主群および回復群の各1例が死亡した。主群の1例(No. 4001)は投与27日の投与前から自発運動の減少および呼吸深大がみられ、同日の投与6時間後に死亡を確認した。剖検では肺の各葉癒着および肺と心臓の癒着がみられたことから、誤投与による死亡であった。回復群の1例(No. 4011)は投与27日の投与前に死亡を確認した。死亡前の一般状態に異常はみられなかったが、剖検では胸水貯留、肺の暗赤色および各葉の癒着がみられたことから、誤投与による死亡であった。なお、その他に脾臓の腫大がみられた。

2) 生存動物

投与期間、回復期間を通じて雌雄いずれの動物にも異常はみられなかった。

2. 体重

成績をFig. 1、Table 2-1、2-2、Appendix 12~18に示した。

1) 投与期間

雄では、投与22日以降300mg/kg投与群の体重は対照群をやや下回って推移し、投与期間中の体重増加量は対照群と比べて有意に低かった。

雌では、各投与群の体重は対照群とほぼ同様に推移したが、60および300mg/kg投与群では投与期間中の体重増加量が対照群に比べて有意に低かった。

2) 回復期間

雌雄ともに、各投与群の体重は対照群と同様に推移した。

3. 摂餌量

成績をFig. 2、Table 3-1、3-2、Appendix 19~25に示した。

1) 投与期間

雄では、300mg/kg投与群で投与5日に対照群を有意に下回った。しかし、その後は対照群と同様に推移した。

雌では、各投与群の摂餌量は対照群と同様に推移した。

2) 回復期間

雄では、各投与群の摂餌量は対照群と同様に推移した。

雌では、300mg/kg投与群で回復14日に対照群を有意に上回った。

4. 尿検査

成績をTable 4-1~4-8、Appendix 26~46に示した。

1) 投与第4週検査

雄では、定性的項目において300mg/kg投与群でpHの低下傾向、潜血およびビリルビンの増加傾向と尿沈渣中の赤血球ならびに白血球および小円形上皮細胞の増加傾向が、定量的項目において300mg/kg投与群で摂水量および尿量の有意な増加と尿比重の有意な減少がみられた。

雌では、定性的項目において300mg/kg投与群でpHの低下傾向と尿蛋白、潜血およびビリルビンの増加傾向ならびに尿沈渣中の赤血球および白血球の増加傾向が、定量的項目において300mg/kg投与群で摂水量および尿量の有意な増加と尿比重の減少傾向がみられた。

2) 回復第2週検査

雄では、定性的項目において300mg/kg投与群で尿沈渣中の白血球および小円形上皮細胞の増加傾向が、定量的項目において60および300mg/kg投与群で尿比重の有意な減少がみられ、300mg/kg投与群では摂水量および尿量の有意な増加も認められた。また、60mg/kg投与群では尿量の増加傾向がみられた。

雌では、各投与群と対照群との間に明らかな差は認められなかった。

5. 血液学的検査

成績をTable 5-1~5-4、Appendix 47~60に示した。

1) 投与終了時検査

雄では、60mg/kg以上の投与群でヘモグロビン量の有意な減少がみられ、300mg/kg投与群ではこれに加えて赤血球数、ヘマトクリット値および平均赤血球血色素濃度(MCHC)の有意な減少ならびにメトヘモグロビン、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球血色素量(MCH)、網赤血球率および白血球数の有意な増加がみられた。

雌では、60mg/kg以上の投与群で赤血球数、ヘモグロビン量およびヘマトクリット値の有意な減少とメトヘモグロビンの有意な増加がみられ、300mg/kg投与群では、

上記の変化に加えてMCV、MCH、網赤血球率および白血球数の有意な増加とMCHCの減少傾向がみられた。

2) 回復終了時検査

雄では、300mg/kg投与群でMCVおよびMCHの有意な増加がみられた。

雌では、60mg/kg以上の投与群で赤血球数の有意な減少が、300mg/kg投与群ではこれに加えてヘモグロビン量、ヘマトクリット値、MCVおよびMCHの有意な増加がみられた。なお、網赤血球率の有意な増加が60mg/kg投与群にみられたが、用量に応じた変化ではなかった。

6. 血液生化学的検査

成績をTable 6-1～6-4、Appendix 61～74に示した。

1) 投与終了時検査

雄では、300mg/kg投与群でγ-GTP活性、総ビリルビン、間接ビリルビン、尿素窒素およびカリウムの有意な増加がみられた。なお、ALP活性の有意な増加が60mg/kg投与群に、有意な減少が12mg/kg投与群にみられたが用量に応じた変化ではなかった。

雌では、300mg/kg投与群でGPT活性、総コレステロール、リン脂質、総ビリルビンおよび尿素窒素の有意な増加とカリウムの増加傾向がみられた。

2) 回復終了時検査

雄では、いずれの群も被験物質投与による変化は認められなかった。

雌では、300mg/kg投与群で総ビリルビンの有意な減少がみられた。

7. 剖検所見

成績をTable 7-1～7-4、Appendix 75～88に示した。

1) 死亡例

投与期間中に死亡した300mg/kg投与群の雄2例のうち、主群の雄1例(No. 4001)では、肺の葉間ならびに心臓との癒着がみられ、同用量群の回復群の雄1例(No. 4011)では、胸水貯留、肺の暗赤色ならびに葉間の癒着および脾臓の腫大がみられた。

2) 投与終了時剖検例

雄では、300mg/kg投与群において脾臓の腫大が全例に、腺胃の暗赤色点が1例にみられた。他に、12mg/kg投与群の1例に精巣の小型化(両側性)が、60mg/kg投与

群の1例に肝臓のヘルニア結節がみられたが、いずれも偶発所見と考えられた。

雌では、300mg/kg投与群において脾臓の腫大が全例にみられた。

3) 回復終了時剖検例

雄では、被験物質投与によると考えられる変化はみられなかった。

雌では、腺胃の暗赤色点が対照群および60mg/kg投与群の各1例および300mg/kg投与群の2例にみられた。

8. 器官重量

成績をTable 8-1~8-8、Appendix 89~116に示した。

1) 投与終了時剖検例

甲状腺：絶対および相対重量の有意な増加が60mg/kg以上の投与群の雌に、相対重量の有意な増加が12mg/kg投与群の雌にみられた。

肺：相対重量の有意な増加が300mg/kg投与群の雄にみられた。

肝臓：絶対重量の有意な増加が300mg/kg投与群の雌に、相対重量の有意な増加が60mg/kg投与群の雄と300mg/kg投与群の雌雄にみられた。

脾臓：絶対および相対重量の有意な増加が300mg/kg投与群の雌雄にみられた。

腎臓：絶対および相対重量の有意な増加が300mg/kg投与群の雌雄にみられた。

その他として、脳の絶対および相対重量の有意な増加が60mg/kg投与群の雌に、卵巣の絶対重量の有意な減少が12および300mg/kg投与群にみられたが、いずれも用量に関連した変化ではなかった。

2) 回復終了時剖検例

副腎：絶対重量の有意な減少が300mg/kg投与群の雌にみられた。

その他として、脾臓の相対重量の有意な増加が60mg/kg投与群の雄にみられたが用量に関連した変化ではなかった。

9. 病理組織学的検査

成績をTable 9-1~9-8、Appendix 117~120に、また代表例の写真をPhoto. 1~16に示した。なお、脾臓の赤脾髄および肝臓のクッパー細胞において褐色色素の沈着がみられたが、ベルリン青染色の結果、この色素がヘモジデリンであることを確認し、ヘモジデリンの沈着の所見はベルリン青染色標本で評価した。

1) 死亡例

誤投与により死亡した 300mg/kg投与群の主群の雄1例 (No. 4001) では、軽度の赤脾髄のヘモジデリン沈着、軽度の脾臓の髄外造血亢進、腎臓の軽度の乳頭壊死、好酸性小体の出現および尿細管の拡張と軽微な髄質内帯の鉍質沈着および硝子円柱、骨髓 (大腿骨) の軽度の造血亢進および軽微な肝臓の小葉周辺部の肝細胞の脂肪化が同用量群の投与終了時剖検例と同様にみられたほか、軽度の胸膜および心外膜の癒着性炎および軽度の肺水腫がみられた。また、同用量群の回復群の雄1例 (No. 4011) では、軽度の赤脾髄のヘモジデリン沈着と軽微な脾臓の髄外造血亢進、腎臓の軽度の乳頭壊死と軽微な好酸性小体の出現および骨髓 (大腿骨) の軽度の造血亢進が同用量の投与終了時剖検例と同様にみられたほか、軽度の胸膜の癒着性炎および肺水腫がみられた。

2) 投与終了時剖検例

被験物質投与によると考えられる変化が肝臓、腎臓、脾臓および骨髓 (大腿骨) にみられた。

肝 臓：軽微な小葉中心性の肝細胞の肥大 (Photo. 2) が 300mg/kg投与群の雌雄全例に、軽微な髄外造血亢進が 300mg/kg投与群の雌雄各4例に、軽微または軽度の胆管増生 (Photo. 4) が 300mg/kg投与群の雄1例と雌4例に、軽微なクッパー細胞のヘモジデリン沈着 (Photo. 6) が 300mg/kg投与群の雄1例と雌3例にみられた。他に、軽微な小葉周辺部の肝細胞の脂肪化が、対照群を含む雌雄各群にみられたが生理的变化であり、また、軽度のヘルニア結節が肉眼的にヘルニア結節が認められた60mg/kg投与群の雄1例にみられたが、その出現状況および病理学的性状から、偶発所見と考えられた。

脾 臓：赤脾髄のヘモジデリン沈着が、雄では対照群および12mg/kg投与群において全例が軽微なのに対し、60mg/kg投与群では軽微および軽度 (Photo. 13) が各3例、300mg/kg投与群では全例が軽度、また、雌では対照群において全例が軽度なのに対し、12mg/kg投与群では軽度が1例と中等度 (Photo. 14) が5例、60mg/kg投与群では全例が中等度、300mg/kg投与群では軽度が2例と中等度が4例であり、雄の60mg/kg以上および雌の12mg/kg以上の投与群でヘモジデリン沈着の増強が認められ、雄の300mg/kg投与群および雌の12mg/kg以上の投与群では統計学的有意差も認め

られた。また、髄外造血は、対照群および60mg/kg以下の投与群の雌雄全例では軽微 (Photo. 11) なのに対し、300mg/kg投与群の雌雄全例では軽度 (Photo. 12) であり、300mg/kg投与群の雌雄で髄外造血の亢進がみられた。他に、軽微なうっ血が300mg/kg投与群の雄全例にみられた。

腎 臓：軽微または軽度な乳頭壊死 (Photo. 8) が300mg/kg投与群の雄3例と雌全例に、軽微または軽度な尿細管の拡張が300mg/kg投与群の雄2例と雌3例に、軽微な硝子円柱が60mg/kg投与群の雄1例と300mg/kg投与群の雌3例に、皮質における間質の細胞浸潤 (Photo. 10) が300mg/kg投与群の雌雄各1例に、また、軽微な尿細管の好塩基性化および髄質内帯の鉍質沈着が300mg/kg投与群の雄各1例にみられた。なお、軽微または軽度な尿細管上皮の好酸性小体の出現が対照群、12および60mg/kg投与群の雄の各4例と300mg/kg投与群の雄全例にみられたが、300mg/kg投与群では統計学的有意差がみられ、変化の程度の増強がみられた。

骨髓 (大腿骨)：軽微または軽度な造血亢進 (Photo. 16) が、60mg/kg投与群の雄1例と雌2例、300mg/kg投与群の雌雄全例にみられた。

上記以外の器官・組織では、以下の変化がみられたが、出現状況とその病理学的性状からいずれも偶発所見と判断した。なお、雄の膀胱については当初被験物質投与による変化が疑われたため、中および低用量についても検索したが最終的には偶発所見と判断した。

肺 (気管支を含む)：軽微な限局性の肺炎が対照群の雌1例にみられた。

胃：軽度な腺胃の糜爛が、肉眼的に腺胃の暗赤色点が認められた300mg/kg投与群の雄1例にみられた。

直 腸：軽微な粘膜下の細胞浸潤が対照群の雌1例にみられた。

脾 臓：軽度な小葉の萎縮が対照群の雄1例にみられた。

膀 胱：軽微な粘膜下の細胞浸潤が、300mg/kg投与群の雄2例にみられた。

精 巢：軽度な精細管の萎縮が、肉眼的に精巢の小型化が認められた12mg/kg投与群の雄1例にみられた。

前立腺：軽微な間質の細胞浸潤が300mg/kg投与群の雄1例にみられた。

投与終了時剖検で検索した他の器官・組織、すなわち脳、脊髓、坐骨神経、心臓、気管、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、下垂体、甲状腺 (上皮小体を含む)、副

腎、胸腺、腸間膜リンパ節、頸部リンパ節、精巣上体、卵巣、子宮、陰、眼球、骨（胸骨・大腿骨）および骨髓（胸骨）には異常所見は認められなかった。

3) 回復終了時剖検例

被験物質投与によると考えられる変化が肝臓、腎臓、脾臓および骨髓（大腿骨）にみられた。

肝 臓：軽微な胆管増生が 300mg/kg 投与群の雌 3 例にみられた。他に、軽微または軽度な小葉周辺部の肝細胞の脂肪化が、対照群を含む雌雄各群にみられたが生理的変化であった。

脾 臓：赤脾髄のヘモジデリン沈着が、雄では対照群および 60mg/kg 投与群において全例が軽度なのに対し、300mg/kg 投与群では全例が中等度、また、雌では対照群において軽度および中等度が各 3 例なのに対し、60mg/kg 以上の投与群では全例が中等度であり、雄の 300mg/kg および雌の 60mg/kg 以上の投与群でヘモジデリン沈着の増強が認められ、雄の 300mg/kg 投与群では統計学的有意差もみられた。また、軽微な髄外造血が各群の雌雄全例にみられたが、生理的な変化であった。

腎 臓：軽微または軽度な乳頭壊死が 300mg/kg 投与群の雄 3 例と雌 4 例に、軽微な尿細管の好塩基性化が 300mg/kg 投与群の雄 2 例と雌 1 例に、軽微な髄質内帯の鉍質沈着が 300mg/kg 投与群の雄 2 例に、軽微な皮質における間質の細胞浸潤が 300mg/kg 投与群の雄 3 例にみられた。なお、軽微または軽度な尿細管上皮の好酸性小体の出現が雄の各群の多数にみられたが、対照群と各投与群との間に差はなかった。また、軽微な硝子円柱および硝子滴が対照群の雌各 1 例にみられた。

骨髓（大腿骨）：軽微な造血亢進が、300mg/kg 投与群の雄 1 例と雌 3 例にみられた。

他に、以下の所見がみられたが、出現状況および病理学的性状からいずれも偶発所見と判断した。

胃：軽度な腺胃の糜爛が肉眼的に腺胃の暗赤色点が認められた対照群の雌 1 例、60mg/kg 投与群の雌 1 例および 300mg/kg 投与群の雌 2 例にみられた。

考 察

Crl: CD (SD) 系雌雄ラットに、2, 3-ジメチルアニリンを 0 (オリーブ油: 対照群)、12、60、および 300mg/kg/day の用量で 28 日間反復強制経口投与し、その毒性を検討するとともに、60 および 300mg/kg 投与群についてはその後 2 週間休薬させ、変化の回復性について検討した。

試験期間中、300mg/kg 投与群の雄の主群および回復群の各 1 例が誤投与により死亡したものの、中毒死は認められず、また、一般状態にも被験物質投与による変化は認められなかった。

体重では、60mg/kg 投与群の雌と 300mg/kg 投与群の雌雄で軽度な増加抑制が認められた。一方、摂餌量では、300mg/kg 投与群の雄で投与 5 日にごく軽度の減少がみられたのみであったことから、上記投与群では飼料効率の低下が示唆された。

尿検査では、300mg/kg 投与群の雌雄で pH の低下、ビリルビンおよび潜血の増加、尿沈渣中の赤血球および白血球の増加、摂水量および尿量の増加と尿比重の減少がみられ、これに加えて雄では尿沈渣中の小円形上皮細胞の増加、雌では尿蛋白の増加がみられた。ビリルビンの増加は本被験物質が芳香族アミン化合物であることからメトヘモグロビン血症に伴う溶血作用³⁾による変化、また、尿蛋白の増加、尿沈渣中の赤血球、白血球および小円形上皮細胞の増加ならびに摂水量および尿量の増加と尿比重の低下は、後述の腎臓障害に伴う所見と考えられた。

血液学的検査では、60mg/kg 投与群の雌雄でヘモグロビン量の減少が、雌で赤血球数ならびにヘマトクリット値の減少およびメトヘモグロビンの増加がみられ、300mg/kg 投与群の雌雄ではこれに加えて MCHC の減少ならびに MCV、MCH および網赤血球率の増加がみられた。尿検査の項で述べた如く、本被験物質が属する芳香族アミン化合物はメトヘモグロビン血症を惹起することが知られており、芳香族アミン化合物に属する既存化学物質の毒性試験⁴⁻⁸⁾においてもメトヘモグロビン血症の発生が報告されていることから、本試験でみられた変化もメトヘモグロビン血症によるものと考えられた。また、300mg/kg 投与群の雌雄に白血球数の増加が認められたが、これは後述の腎臓における炎症性変化を反映したものと推察された。

血液生化学的検査では、300mg/kg 投与群の雌雄で総ビリルビンおよびカリウムの増加、雄で間接ビリルビンの増加がみられ、メトヘモグロビン血症に起因した溶血作用の反映と

考えられた。また、同用量群の雌雄でみられた尿素窒素の増加および雄でみられた γ -GTP活性の増加ならびに雌でみられたGPT活性の増加は、それぞれ被験物質の腎臓および肝臓に対する影響を示唆するものと考えられた。また、300mg/kg投与群の雌でみられた総コレステロールおよびリン脂質の増加の原因は明らかでなかったが、肝障害の関連性が疑われた。

病理学的検査では、脾臓、腎臓、肝臓および骨髓（大腿骨）に変化がみられた。脾臓では300mg/kg投与群の雌雄で肉眼的に腫大および器官重量の増加がみられ、組織学的には雄の60mg/kg以上および雌の12mg/kg以上の投与群で赤脾髄のヘモジデリン沈着の増強、300mg/kgの雌雄で髄外造血亢進および雄でうっ血がみられ、いずれもメトヘモグロビン血症に伴って脾臓における貪食作用が亢進し、また、貧血に対して代償性に造血が亢進した結果と考えられ、血液学的検査所見とも一致する変化であった。

腎臓では、300mg/kg投与群の雌雄で器官重量増加がみられ、組織学的には300mg/kg投与群の雌雄で腎乳頭壊死、尿細管の拡張および皮質における間質の細胞浸潤、同用量群の雄で尿細管の好塩基性変化および髄質内帯の鉍質沈着と尿細管上皮の好酸性小体の出現の程度の増強が、60mg/kg投与群の雄と300mg/kg投与群の雌で硝子円柱がみられ、腎臓が標的器官の一つと考えられた。

肝臓では、60mg/kg投与群の雄および300mg/kg投与群の雌雄で器官重量が増加、組織学的には300mg/kg投与群の雌雄で小葉中心性の肝細胞肥大および胆管の増生がみられた。小葉中心性の肝細胞肥大は被験物質による肝障害を反映した変化と考えられたが、類似の既存化学物質の3-ニトロベンゼナミンでも本試験と同様の変化が観察され⁴⁾、その類似物である1,3-ジニトロベンゼンには薬物代謝酵素誘導作用⁹⁾があることから、薬物代謝酵素の誘導との関連性も否定できなかった。また、胆管の増生は、本被験物質が胆管に障害を与えたことを示唆するが、壊死像がみられず血清中のアルカリフォスファターゼ活性にも変化がないことから障害は軽度なものと考えられた。また、300mg/kg投与群の雌雄でクッパー細胞のヘモジデリン沈着および髄外造血亢進がみられたが、これらは、脾臓同様、メトヘモグロビン血症に伴って貪食作用が亢進し、また、貧血に対して代償性に造血が亢進した結果と考えられた。

骨髓（大腿骨）では脾臓および肝臓と同様に、貧血に対する生体反応としての造血亢進が60mg/kg以上の投与群の雌雄でみられた。

また、雌の投与群において甲状腺重量の増加がみられた。アニリン誘導体は、甲状腺ペルオキシターゼを阻害して抗甲状腺物質として作用する¹⁰⁾ことが知られている。また、

本試験でその可能性が示唆された肝臓の薬物代謝酵素の誘導により T_3 または T_4 の代謝が亢進し、これに対するフィードバックとしてTSHの分泌が亢進、その結果、甲状腺が二次的に刺激されること^{11, 12)}が知られている。しかし、本試験における各投与群の甲状腺重量は、背景データと比較して差がなく、組織学的検査においても変化がみられないことから生理的範囲内の変化と考えられた。なお、雄の 300mg/kg 投与群において、肺の相対重量の増加がみられたが絶対重量には差がなく、組織学的検査においても変化がみられないことから偶発的な変化と考えられた。

なお、本被験物質の異性体である2, 6-ジメチルアニリンは、ラットを用いた混餌投与によるがん原性試験において鼻腔粘膜に腫瘍を誘発することが報告されているが¹³⁾、本試験では鼻腔を検索対象としていないため、本被験物質の鼻腔粘膜に対する影響は不明であった。

休薬期間終了後において被験物質投与に関連すると考えられる変化は、 300mg/kg 投与群では赤血球数の減少、平均赤血球容積ならびに平均赤血球血色素量の増加、尿沈渣中の小円形上皮細胞ならびに白血球数の増加、摂水量ならびに尿量の増加および尿比重の減少、赤脾髄のヘモジデリン沈着、肝臓における胆管の増生、骨髓（大腿骨）における造血亢進、 60mg/kg 投与群では尿量の増加および尿比重の減少、赤血球数の減少および赤脾髄のヘモジデリン沈着であったが、変化の度合は投与終了時に比べて軽減しており、いずれも本質的には可逆性の変化と考えられた。一方、腎臓では再生性の変化と考えられる尿細管の好塩基性変化が認められるものの、乳頭壊死、髄質内帯の鉍質沈着および皮質における間質の細胞浸潤については明確な回復が認められなかった。その他の変化についてはいずれも回復した。なお、休薬期間終了後の血液学的検査において 300mg/kg 投与群で投与期間終了時とは逆にヘモグロビン量およびヘマトクリット値の増加がみられたが、貧血の回復期におけるリバウンド現象と考えられた。また、同用量群で総ビリルビンの減少がみられたが、増加ではないので毒性学的意義はなく、副腎の絶対重量の減少がみられたが相対重量に差はなく毒性学的意義は乏しいと思われた。

以上の如く、2, 3-ジメチルアニリンをラットに28日間反復投与した結果、主な変化が、 300mg/kg 投与群の赤血球、脾臓、肝臓および腎臓に、 60mg/kg 投与群の雌雄では赤血球および脾臓に、さらに 12mg/kg 投与群の雌では脾臓にみられ、本被験物質の標的臓器は赤血球、脾臓、肝臓および腎臓と考えられた。一方、 12mg/kg 投与群の雄では変化は認められなかった。これらの結果から、本試験における2, 3-ジメチルアニリンの無影

嚔量は雄では12mg/kg/day、雌では12mg/kg/day を下回ると推定された。

文 献

1)

2,3-ジメチルアニリンのラットを用いた経口投与による14日間反復投与毒性試験
(予備試験) (株式会社ボソリサーチセンター 試験番号 : 0-473, 1996年1月)

2) S. C. Gad and C. S. Weil (1989).

Chapter 15. Statistics for toxicologists. In "Principles and Methods of Toxicology" 2nd Edition, edited by A. Wallace Hayes, Raven Press, Ltd., New York, pp. 435-483.

3) 谷本義文 (1982).

血液学—ヒトと動物の接点—, 清至書院, 東京, pp 708-728.

4)

F344ラットにおける3-ニトロベンゼナミンの28日間反復経口投与毒性試験
化学物質毒性試験報告 1 : 147~155.

5)

F344ラットにおける4-エトキシベンゼナミンの28日間反復経口投与毒性試験
化学物質毒性試験報告 1 : 227~231.

6)

3,4-ジメチルアニリンのラットを用いる28日間反復経口投与毒性試験
化学物質毒性試験報告 3 : 143~156.

7)

N-メチルアニリンのラットを用いる28日間反復経口投与毒性試験
化学物質毒性試験報告 3 : 195~208.

8)

N-エチルアニリンのラットを用いる28日間反復経口投与毒性試験
化学物質毒性試験報告 3 : 225~231.

9) T. E. Cody, S. Witherup, L. Hastings, K. Stemmer and R. T. Christian (1981).

1,3-dinitrobenzene : Toxic effects *in vivo* and *in vitro*.

J. Toxicol. Environ. Health 7 : 829-847.

10) C. C. Capen, R. A. Delellis and J. T. Yarrington (1991).

Chapter 21. Endocrine System. VI. Thyroid Follicular Cell, in "Handbook of Toxicologic Pathology" edited by W. M. Haschek and C. G. Rousseaux, Academic Press, Inc., San Diego. pp. 771-735.

11) R. M. McClain (1989).

The significance of hepatic microsomal enzyme induction and altered thyroid function in rats : implications for thyroid gland neoplasia. Toxicol. Pathol., 17 : 294-306.

12) R. H. Alison, C. C. Capen and D. E. Prentice (1994).

Neoplastic lesions of questionable significance to humans. Toxicol. Pathol., 22 (2) : 179-186.

13) U. S. Department of health and human services, Public health service,

National Institutes of Health.

Toxicology and carcinogenesis studies of 2,6-xylydine
(2,6-dimethylaniline) (CAS No. 87-62-7) in charles river CD rats
(feed studies).

National Toxicology Program Technical Report Series, No. 278. pp. 1-110.

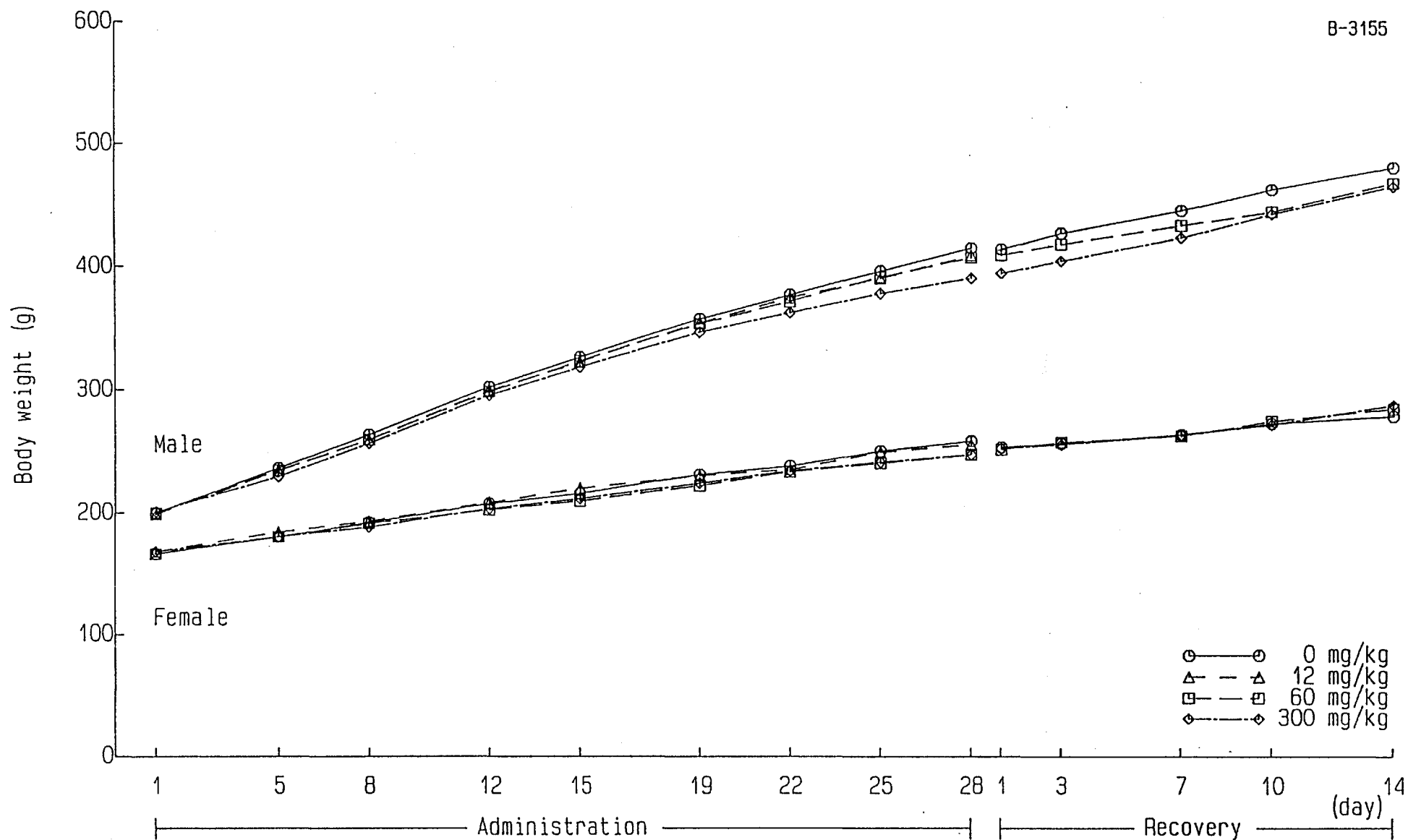


Fig.1 Body weight of rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days

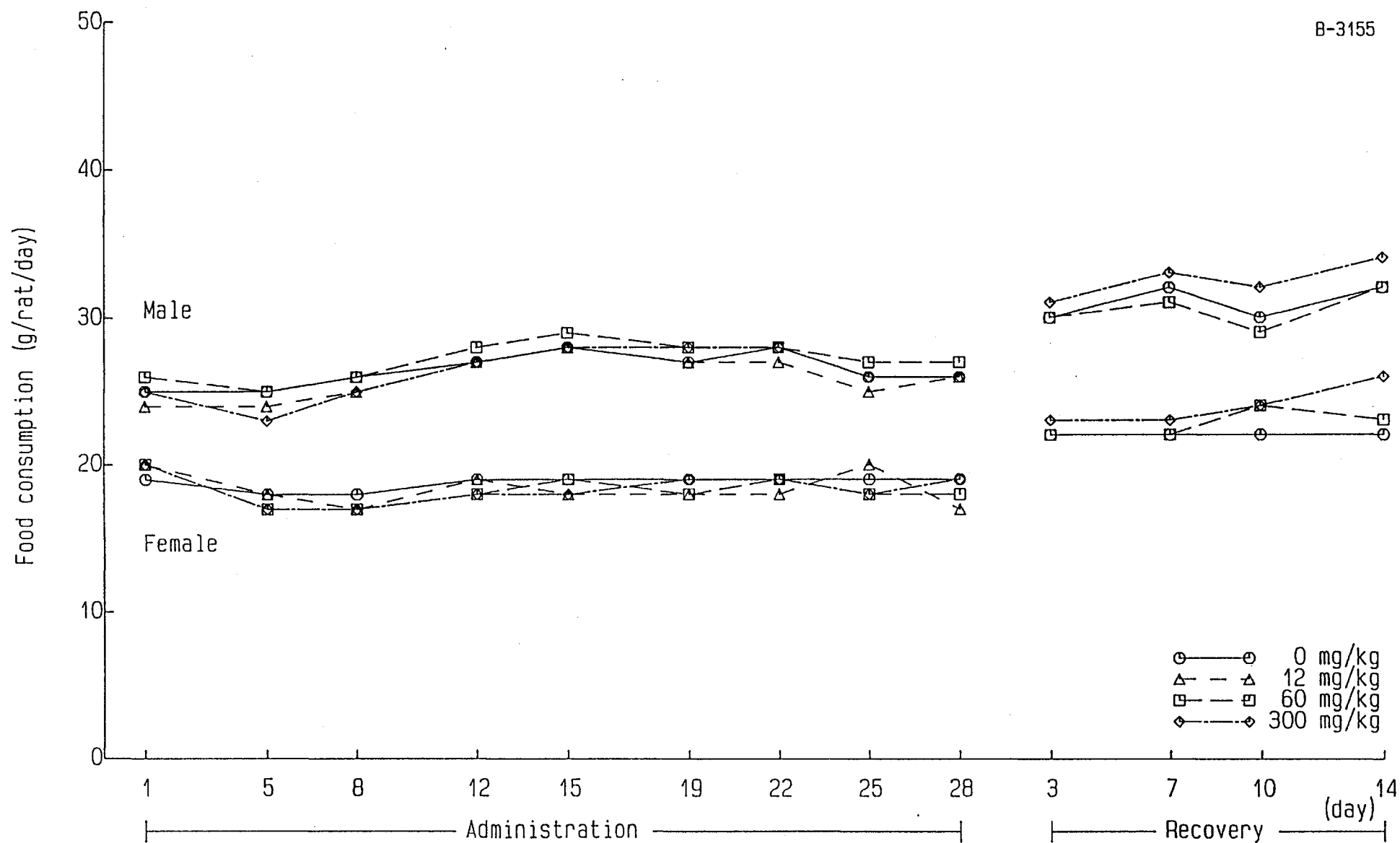


Fig.2 Food consumption of rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days

Table 1-1

Clinical signs of rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days

[illegible]

Table 1-2

Clinical signs of rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days

[illegible]

Table 1-3

Clinical signs of rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

[illegible]

Table 2-1

Body weight of rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days

Sex	Dose mg/kg		Day of administration								Gain 1-28	
			1	5	8	12	15	19	22	25		28
Male	0	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	200	236	263	302	326	357	376	395	414	214
		S.D.	6	9	13	16	18	20	22	24	26	22
	12	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	199	234	259	299	322	354	374	389	408	209
		S.D.	6	8	11	15	19	18	22	24	28	24
	60	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	200	234	259	298	323	353	371	390	406	206
		S.D.	5	8	8	11	10	12	12	13	13	9
	300	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	10	10
		Mean	201	229	256	295	318	346	362	377	389	189*
		S.D.	5	6	6	9	9	12	15	17	17	14
Female	0	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	166	180	192	207	215	230	237	249	257	91
		S.D.	6	8	7	9	11	12	14	14	15	12
	12	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	168	184	193	208	219	229	234	248	254	86
		S.D.	8	12	13	16	19	19	16	20	20	15
	60	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	166	180	191	202	209	221	232	239	246	80*
		S.D.	7	8	8	6	8	9	10	10	9	9
	300	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	168	180	188	203	211	223	233	240	246	78*
		S.D.	8	8	11	12	14	15	15	14	14	8

Unit : g

Significantly different from control (*:p<0.05)

Table 2-2

Body weight of rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days
and followed by a recovery period for 14 days

Sex	Dose mg/kg		Day of recovery					Gain 1-14
			1	3	7	10	14	
Male	0	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	413	426	444	461	479	65
		S.D.	35	37	38	43	50	18
	60	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	408	417	432	443	466	58
		S.D.	17	16	15	16	13	7
	300	No.	5	5	5	5	5	5
		Mean	393	403	422	441	463	70
		S.D.	16	15	15	19	18	3
Female	0	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	252	255	262	271	277	25
		S.D.	16	11	9	13	15	5
	60	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	250	256	261	273	283	34
		S.D.	9	12	11	12	16	15
	300	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	251	254	262	270	286	35
		S.D.	17	22	22	26	26	11

Unit : g

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 3-1

Food consumption of rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days

Sex	Dose mg/kg		Day of administration								
			1	5	8	12	15	19	22	25	28
Male	0	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	25	25	26	27	28	27	28	26	26
		S.D.	2	1	2	2	2	2	2	2	2
	12	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	24	24	25	27	28	27	27	25	26
		S.D.	2	2	2	3	3	2	3	3	2
	60	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	26	25	26	28	29	28	28	27	27
		S.D.	1	1	1	1	1	2	2	1	1
	300	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	10
		Mean	25	23**	25	27	28	28	28	26	26
		S.D.	3	1	1	2	2	2	3	3	3
Female	0	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	19	18	18	19	19	19	19	19	19
		S.D.	2	1	1	1	2	2	2	2	1
	12	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	20	18	17	19	18	18	18	20	17
		S.D.	2	1	1	1	2	2	2	3	2
	60	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	20	17	17	18	19	18	19	18	18
		S.D.	1	1	1	1	2	2	2	1	2
	300	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	20	17	17	18	18	19	19	18	19
		S.D.	1	1	2	2	2	2	2	2	2

Unit : g/rat/day

Significantly different from control (**:p<0.01)

Table 3-2

Food consumption of rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days
and followed by a recovery period for 14 days

Sex	Dose mg/kg		Day of recovery			
			3	7	10	14
Male	0	No.	6	6	6	6
		Mean	30	32	30	32
		S.D.	3	3	4	4
	60	No.	6	6	6	6
		Mean	30	31	29	32
		S.D.	1	1	2	2
	300	No.	5	5	5	5
		Mean	31	33	32	34
		S.D.	2	2	3	2
Female	0	No.	6	6	6	6
		Mean	22	22	22	22
		S.D.	2	2	3	1
	60	No.	6	6	6	6
		Mean	22	22	24	23
		S.D.	4	2	3	3
	300	No.	6	6	6	6
		Mean	23	23	24	26*
		S.D.	4	2	2	2

Unit : g/rat/day

Significantly different from control (*:p<0.05)

Table 4-1

Urinalysis of rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days

Sex	Dose mg/kg	No.	pH										1) Protein						2) Ketone body						3) Glucose					
			5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0	-	+-	+	++	+++	++++	-	+-	+	++	+++	++++	-	+-	+	++	+++	++++	
Male	0	6	0	0	0	0	0	0	4	0	2	0	1	4	1	0	0	3	2	1	0	0	0	6	0	0	0	0	0	
	12	6	0	1	0	0	1	0	1	3	0	0	2	2	2	0	0	4	0	2	0	0	0	6	0	0	0	0	0	
	60	6	0	0	0	0	0	1	0	3	2	0	1	3	1	1	0	2	3	1	0	0	0	6	0	0	0	0	0	
	300	6	0	0	0	1	3	1	0	1	0	0	0	5	1	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	
Female	0	6	0	0	1	1	1	0	1	2	0	2	3	1	0	0	0	4	1	1	0	0	0	5	1	0	0	0	0	
	12	6	0	0	0	1	1	0	2	1	1	2	1	3	0	0	0	4	1	1	0	0	0	6	0	0	0	0	0	
	60	6	0	1	0	1	2	0	1	1	0	2	1	3	0	0	0	4	2	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	
	300	6	0	0	3	3	0	0	0	0	0	0	0	3	3	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	
1)	- : 0 - 5 mg/dl		+- : 10 - 20 mg/dl					+ : 30 - 70 mg/dl					++ : 100 - 200 mg/dl					+++ : 250 - 400 mg/dl					++++ : >400 mg/dl							
2)	- : 0 mg/dl		+- : 5 mg/dl					+ : 10 - 20 mg/dl					++ : 30 - 45 mg/dl					+++ : 60 - 80 mg/dl					++++ : >80 mg/dl							
3)	- : 0 - 10 mg/dl		+- : 30 - 50 mg/dl					+ : 70 - 100 mg/dl					++ : 150 - 200 mg/dl					+++ : 300 - 500 mg/dl					++++ : ≥1000 mg/dl							

Table 4-2

Urinalysis of rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days

Sex	Dose mg/kg	No.	4) Occult blood					5) Bilirubin						6) Urobilinogen					7) Color		
			-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	++++	+-	+	++	+++	++++	LY	Y	DY
Male	0	6	5	0	1	0	0	6	0	0	0	0	0	4	2	0	0	0	0	6	0
	12	6	5	0	0	1	0	6	0	0	0	0	0	4	1	1	0	0	0	6	0
	60	6	4	2	0	0	0	6	0	0	0	0	0	5	1	0	0	0	0	6	0
	300	6	5	0	0	0	1	4	1	1	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0
Female	0	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	5	1	0	0	0	0	6	0
	12	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	4	2	0	0	0	0	6	0
	60	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	4	2	0	0	0	0	6	0
	300	6	4	0	0	1	1	1	2	3	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0

4) - : 0 mg/dl +- : 0.03 mg/dl + : 0.06 - 0.1 mg/dl ++ : 0.2 - 0.5 mg/dl +++ : ≥1.0 mg/dl
 5) - : 0 mg/dl +- : 0.2 mg/dl + : 0.5 - 1.0 mg/dl ++ : 2.0 - 4.0 mg/dl +++ : 6.0 - 10.0 mg/dl ++++ : >10.0 mg/dl
 6) +- : 0.2 - 1.0 mg/dl + : 2.0 - 3.0 mg/dl ++ : 4.0 - 6.0 mg/dl +++ : 8.0 - 12.0 mg/dl ++++ : >12.0 mg/dl
 7) LY : Light yellow Y : Yellow DY : Dark yellow

Urinalysis of rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days

Sex	Dose mg/kg	No.	URINE SEDIMENT																																	
																		CRYSTALLIZATION																		
			RBC					WBC					SEC					SREC					Cast			PS					CO					
			-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	
Male	0	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	4	2	0	0	0	6	0	0	0	0
	12	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	3	3	0	0	0	6	0	0	0	0
	60	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	4	2	0	0	0	6	0	0	0	0
	300	6	0	1	3	2	0	2	3	1	0	0	0	6	0	0	0	0	3	3	0	0	0	6	0	0	5	1	0	0	0	6	0	0	0	0
Female	0	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0
	12	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	4	2	0	0	0	6	0	0	0	0
	60	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	5	1	0	0	0	6	0	0	0	0
	300	6	3	2	1	0	0	3	3	0	0	0	0	6	0	0	0	0	5	1	0	0	0	6	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0
SEC : Squamous Epithelial Cell			-			: Negative																														
SREC : Small Round Epithelial Cell			+-			: Slight																														
PS : Phosphate Salts			+			: Mild																														
CO : Calcium Oxalate			++			: Moderate																														
			+++			: Severe																														

Table 4-4

Urinalysis of rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days

Sex	Dose mg/kg	No.		Water intake ml/rat/24hrs	Urine volume ml/24hrs	S.G.
Male	0	6	Mean	41	6.0	1.074
			S.D.	8	1.7	0.012
	12	6	Mean	46	8.4	1.069
			S.D.	12	8.2	0.020
	60	6	Mean	48	8.2	1.062
			S.D.	6	3.6	0.014
	300	6	Mean	100**	42.9*	1.020*
			S.D.	10	12.2	0.004
Female	0	6	Mean	37	5.3	1.070
			S.D.	17	2.5	0.036
	12	6	Mean	33	6.0	1.060
			S.D.	10	3.6	0.020
	60	6	Mean	41	7.3	1.049
			S.D.	15	5.3	0.017
	300	6	Mean	66**	23.6*	1.024
			S.D.	13	12.1	0.007

Significantly different from control (*:p<0.05, **:p<0.01)

Table 4-5

Urinalysis of rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days
and followed by a recovery period for 14 days

Sex	Dose mg/kg	No.	pH									1) Protein						2) Ketone body						3) Glucose					
			5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0	-	+-	+	++	+++	++++	-	+-	+	++	+++	++++	-	+-	+	++	+++	++++
Male	0	6	0	0	0	0	0	0	1	5	0	1	1	4	0	0	0	5	1	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0
	60	6	0	0	0	0	1	0	1	4	0	0	2	3	1	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0
	300	5	0	0	0	0	0	0	2	3	0	0	3	2	0	0	0	4	1	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0
Female	0	6	0	0	0	1	0	1	0	2	2	2	3	1	0	0	0	6	0	0	0	0	0	5	1	0	0	0	0
	60	6	0	1	0	0	2	0	2	1	0	4	1	0	1	0	0	5	0	1	0	0	0	6	0	0	0	0	0
	300	6	0	0	0	0	1	0	2	3	0	3	3	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0
1)	- : 0 - 5 mg/dl		+- : 10 - 20 mg/dl				+ : 30 - 70 mg/dl				++ : 100 - 200 mg/dl				+++ : 250 - 400 mg/dl				++++ : >400 mg/dl										
2)	- : 0 mg/dl		+- : 5 mg/dl				+ : 10 - 20 mg/dl				++ : 30 - 45 mg/dl				+++ : 60 - 80 mg/dl				++++ : >80 mg/dl										
3)	- : 0 - 10 mg/dl		+- : 30 - 50 mg/dl				+ : 70 - 100 mg/dl				++ : 150 - 200 mg/dl				+++ : 300 - 500 mg/dl				++++ : ≥1000 mg/dl										

Table 4-6

Urinalysis of rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

Sex	Dose mg/kg	No.	4) Occult blood					5) Bilirubin						6) Urobilinogen					7) Color		
			-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	++++	+-	+	++	+++	++++	LY	Y	DY
Male	0	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0
	60	6	4	1	1	0	0	6	0	0	0	0	0	5	1	0	0	0	0	6	0
	300	5	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	4	1	0	0	0	0	5	0
Female	0	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	5	1	0	0	0	0	6	0
	60	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	4	2	0	0	0	0	6	0
	300	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0

4) - : 0 mg/dl +- : 0.03 mg/dl + : 0.06 - 0.1 mg/dl ++ : 0.2 - 0.5 mg/dl +++ : ≥1.0 mg/dl
 5) - : 0 mg/dl +- : 0.2 mg/dl + : 0.5 - 1.0 mg/dl ++ : 2.0 - 4.0 mg/dl +++ : 6.0 - 10.0 mg/dl ++++ : >10.0 mg/dl
 6) +- : 0.2 - 1.0 mg/dl + : 2.0 - 3.0 mg/dl ++ : 4.0 - 6.0 mg/dl +++ : 8.0 - 12.0 mg/dl ++++ : >12.0 mg/dl
 7) LY : Light yellow Y : Yellow DY : Dark yellow

Sex	Dose mg/kg	No.	URINE SEDIMENT																														
																		CRYSTALLIZATION															
			RBC					WBC					SEC					SREC			Cast			PS					CO				
			-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	-	+-	+	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++
Male	0	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	6	0	0	3	3	0	0	0	6	0	0	0	0
	60	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	6	0	0	4	1	1	0	0	6	0	0	0	0
	300	5	4	1	0	0	0	3	2	0	0	0	0	3	2	0	0	5	0	0	5	0	0	4	1	0	0	5	0	0	0	0	
Female	0	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	6	0	0	5	1	0	0	6	0	0	0	0	
	60	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	6	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	0	
	300	6	6	0	0	0	0	5	1	0	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	6	0	0	2	4	0	0	6	0	0	0	0	

SEC	: Squamous Epithelial Cell	-	: Negative
SREC	: Small Round Epithelial Cell	+-	: Slight
PS	: Phosphate Salts	+	: Mild
CO	: Calcium Oxalate	++	: Moderate
		+++	: Severe

Table 4-8

Urinalysis of rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days
and followed by a recovery period for 14 days

Sex	Dose mg/kg	No.		Water intake ml/rat/24hrs	Urine volume ml/24hrs	S.G.
Male	0	6	Mean	48	9.1	1.071
			S.D.	11	2.4	0.011
	60	6	Mean	49	14.5	1.052*
			S.D.	12	5.5	0.014
	300	5	Mean	65*	26.0**	1.033**
			S.D.	10	7.9	0.008
Female	0	6	Mean	48	8.7	1.055
			S.D.	12	3.4	0.016
	60	6	Mean	44	7.5	1.060
			S.D.	13	4.3	0.022
	300	6	Mean	50	11.8	1.041
			S.D.	10	3.2	0.005

Significantly different from control (*:p<0.05, **:p<0.01)

Table 5-1

Hematological findings of rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days

Sex	Dose mg/kg	No.		RBC X10 ⁶ /mm ³	Hb g/dl	methHb %	Ht %	MCV μ^3	MCH pg	MCHC %	Reticu- loocyte %	Plate- let X10 ⁴ /mm ³	PT sec.	APTT sec.
Male	0	6	Mean	773	16.2	0.55	48	62.1	20.9	33.7	24	123.6	13.0	15.3
			S.D.	38	0.5	0.07	1	1.8	0.6	0.4	5	6.0	0.8	1.8
	12	6	Mean	791	16.0	0.55	48	60.5	20.3	33.5	24	120.1	13.2	16.8
			S.D.	18	0.4	0.09	1	1.5	0.5	0.2	4	10.0	0.8	2.2
	60	6	Mean	765	15.5*	0.57	46	60.4	20.3	33.6	27	119.0	13.6	16.4
			S.D.	10	0.2	0.21	1	1.6	0.4	0.5	5	9.2	1.0	1.7
	300	5	Mean	607*	13.8**	1.94**	42**	69.7**	22.8**	32.7**	106*	137.0	12.6	13.2
			S.D.	36	0.5	0.13	2	2.1	0.9	0.4	35	11.6	0.7	2.1
Female	0	6	Mean	783	15.6	0.45	47	59.4	19.9	33.6	15	123.5	11.9	11.5
			S.D.	46	0.7	0.12	3	0.7	0.4	0.9	6	12.3	0.5	1.3
	12	6	Mean	775	15.8	0.48	47	60.5	20.3	33.6	18	120.8	11.8	11.6
			S.D.	35	0.6	0.15	2	1.4	0.8	0.6	5	9.2	0.6	1.4
	60	6	Mean	729*	14.5*	0.92**	44*	60.0	19.9	33.3	32	117.2	11.8	11.5
			S.D.	32	0.6	0.19	2	0.9	0.4	0.6	19	12.3	0.3	1.3
	300	6	Mean	592**	12.9**	2.11**	40**	66.7**	21.7**	32.6	116*	137.7	12.3	12.0
			S.D.	29	0.7	0.32	1	1.9	0.5	1.2	29	17.9	0.3	1.5

Significantly different from control (*:p<0.05, **:p<0.01)

Table 5-2

Hematological findings of rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days

Sex	Dose mg/kg	No.		WBC	Differential leukocyte counts (%)						
				$\times 10^3/\text{mm}^3$	Lymph.	Stab	Seg.	Eosino.	Baso.	Mono.	Others
Male	0	6	Mean	107	88.5	0.2	10.8	0.6	0.0	0.0	0.0
			S.D.	29	6.7	0.3	6.5	0.5	0.0	0.0	0.0
	12	6	Mean	129	91.8	0.2	7.3	0.6	0.1	0.1	0.0
			S.D.	34	1.7	0.3	1.9	0.4	0.2	0.2	0.0
	60	6	Mean	115	91.1	0.1	8.5	0.2	0.0	0.2	0.0
			S.D.	17	5.1	0.2	4.8	0.3	0.0	0.3	0.0
	300	5	Mean	192**	88.4	0.2	10.5	0.7	0.0	0.2	0.0
			S.D.	46	3.7	0.3	4.0	0.4	0.0	0.3	0.0
	0	6	Mean	87	91.8	0.3	7.5	0.3	0.0	0.2	0.0
			S.D.	22	3.2	0.3	3.1	0.3	0.0	0.3	0.0
	12	6	Mean	76	89.0	0.3	9.5	1.1	0.1	0.1	0.0
			S.D.	24	4.8	0.4	3.9	1.2	0.2	0.2	0.0
Female	60	6	Mean	67	83.9	0.3	15.1	0.4	0.0	0.3	0.0
			S.D.	19	12.2	0.3	11.9	0.2	0.0	0.3	0.0
	300	6	Mean	132*	85.8	0.3	13.3	0.6	0.0	0.0	0.0
			S.D.	33	4.5	0.3	4.7	0.4	0.0	0.0	0.0

Significantly different from control (*:p<0.05, **:p<0.01)

Table 5-3

Hematological findings of rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days
and followed by a recovery period for 14 days

Sex	Dose mg/kg	No.		RBC $\times 10^6/\text{mm}^3$	Hb g/dl	methHb %	Ht %	MCV μ^3	MCH pg	MCHC %	Reticu- locyte %	Plate- let $\times 10^4/\text{mm}^3$	PT sec.	APTT sec.
Male	0	6	Mean	804	16.1	0.44	47	58.9	20.0	34.0	23	112.5	12.8	16.8
			S.D.	34	0.5	0.08	2	1.1	0.4	0.4	2	9.4	0.7	1.4
	60	6	Mean	795	15.5	0.45	46	57.5	19.5	33.9	28	116.9	13.0	17.1
			S.D.	45	0.5	0.17	2	1.4	0.8	0.8	8	13.1	1.1	1.8
	300	5	Mean	748	15.7	0.51	46	61.7**	20.9*	33.8	31	118.0	12.2	15.4
			S.D.	21	0.4	0.11	1	1.3	0.3	0.5	6	12.2	1.0	1.0
Female	0	6	Mean	802	15.5	0.48	46	57.0	19.4	34.0	21	114.3	11.3	12.6
			S.D.	32	0.4	0.08	1	1.4	0.5	0.5	6	11.5	0.6	0.4
	60	6	Mean	744**	14.9	0.58	44	58.9	19.9	33.9	30*	113.1	11.2	12.4
			S.D.	19	0.4	0.08	2	1.3	0.3	0.5	6	6.2	0.7	1.7
	300	6	Mean	757**	16.4*	0.56	48*	64.1**	21.7**	33.8	25	110.9	11.4	12.8
			S.D.	19	0.8	0.11	2	2.0	0.8	0.5	5	10.9	0.5	1.3

Significantly different from control (*:p<0.05, **:p<0.01)

Table 5-4

Hematological findings of rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

Sex	Dose mg/kg	No.		WBC	Differential leukocyte counts (%)						
				$\times 10^2/\text{mm}^3$	Lymph.	Stab	Seg.	Eosino.	Baso.	Mono.	Others
Male	0	6	Mean	107	86.3	0.3	12.8	0.7	0.0	0.1	0.0
			S.D.	40	13.1	0.3	13.1	0.6	0.0	0.2	0.0
	60	6	Mean	128	89.1	0.2	10.3	0.3	0.0	0.2	0.0
			S.D.	24	3.8	0.3	4.1	0.6	0.0	0.4	0.0
	300	5	Mean	132	88.4	0.1	11.2	0.1	0.0	0.2	0.0
			S.D.	53	6.1	0.2	6.0	0.2	0.0	0.3	0.0
Female	0	6	Mean	76	88.3	0.3	10.8	0.6	0.0	0.1	0.0
			S.D.	19	8.0	0.4	7.5	0.7	0.0	0.2	0.0
	60	6	Mean	67	90.0	0.2	9.1	0.7	0.0	0.1	0.0
			S.D.	16	4.4	0.3	4.3	0.4	0.0	0.2	0.0
	300	6	Mean	76	88.8	0.3	10.4	0.4	0.0	0.0	0.0
			S.D.	30	4.8	0.4	4.5	0.7	0.0	0.0	0.0

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 6-1 Blood chemical findings of rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days

Sex	Dose mg/kg	No.		GOT IU/l	GPT IU/l	LDH IU/l	ALP IU/l	γ -GTP IU/l	ChE IU/l	TP g/dl	Albumin g/dl	A/G	T.cho mg/dl	TG mg/dl	PL mg/dl
Male	0	6	Mean	48	36	29	371	1.6	728	5.9	3.7	1.66	54	72	99
			S.D.	13	4	12	29	0.5	215	0.2	0.2	0.06	5	11	9
	12	6	Mean	45	33	29	301*	1.8	660	5.8	3.6	1.67	60	79	111
			S.D.	8	4	17	31	0.5	96	0.3	0.1	0.12	15	14	15
	60	6	Mean	52	37	40	440*	1.8	683	5.9	3.6	1.63	60	80	114
			S.D.	12	2	17	65	0.3	58	0.2	0.1	0.11	10	21	11
	300	5	Mean	45	39	27	380	2.4*	736	5.8	3.7	1.76	62	79	118
			S.D.	7	6	9	47	0.1	123	0.2	0.1	0.06	13	11	15
Female	0	6	Mean	46	31	33	193	1.4	1732	6.0	3.8	1.65	65	38	139
			S.D.	14	3	13	50	0.7	400	0.3	0.2	0.09	10	17	20
	12	6	Mean	48	30	35	226	1.0	2042	6.2	3.8	1.59	60	31	128
			S.D.	6	3	22	65	0.7	594	0.2	0.1	0.07	8	8	16
	60	6	Mean	54	31	33	253	1.3	1782	6.0	3.8	1.69	57	28	118
			S.D.	7	2	9	91	0.8	160	0.2	0.1	0.14	8	8	14
	300	6	Mean	48	38**	35	265	1.7	1303	6.2	3.8	1.57	92*	46	174*
			S.D.	4	4	21	64	1.3	274	0.1	0.1	0.07	26	11	26

Significantly different from control (*:p<0.05, **:p<0.01)

Table 6-2

Blood chemical findings of rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days

Sex	Dose mg/kg	No.		T.bili- rubin mg/dl	D.bili- rubin mg/dl	ID.bili- rubin mg/dl	Glucose mg/dl	BUN mg/dl	Crea- tinine mg/dl	Na mEq/l	K mEq/l	Cl mEq/l	Ca mg/dl	P mg/dl
Male	0	6	Mean	0.09	0.04	0.06	130	12	0.55	144	4.5	109	9.4	9.1
			S.D.	0.02	0.02	0.01	10	2	0.03	1	0.3	1	0.2	0.7
	12	6	Mean	0.08	0.03	0.05	146	13	0.56	144	4.6	109	9.4	8.9
			S.D.	0.02	0.02	0.01	18	1	0.07	1	0.5	2	0.3	0.4
	60	6	Mean	0.09	0.05	0.04	148	14	0.58	144	4.7	110	9.3	8.2
			S.D.	0.03	0.05	0.03	27	4	0.07	1	0.3	1	0.3	1.3
	300	5	Mean	0.17**	0.05	0.12*	135	20*	0.63	144	5.9**	110	9.6	9.0
			S.D.	0.02	0.02	0.03	6	4	0.06	1	0.2	1	0.2	0.4
Female	0	6	Mean	0.14	0.05	0.09	121	15	0.57	141	5.0	112	9.2	8.0
			S.D.	0.03	0.02	0.04	14	2	0.04	1	0.2	2	0.4	1.0
	12	6	Mean	0.11	0.04	0.07	119	15	0.58	141	5.1	112	9.2	7.5
			S.D.	0.01	0.00	0.01	9	2	0.05	2	0.3	1	0.2	0.9
	60	6	Mean	0.11	0.04	0.07	114	14	0.62	142	5.0	110	9.1	7.5
			S.D.	0.02	0.01	0.02	11	1	0.05	1	0.5	2	0.4	0.7
	300	6	Mean	0.22**	0.09	0.14	117	25*	0.66	141	5.5	110	9.5	7.6
			S.D.	0.03	0.02	0.02	9	8	0.09	2	0.4	3	0.3	0.8

Significantly different from control (*:p<0.05, **:p<0.01)

Table 6-3

Blood chemical findings of rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days
and followed by a recovery period for 14 days

Sex	Dose mg/kg	No.		GOT IU/l	GPT IU/l	LDH IU/l	AlP IU/l	γ -GTP IU/l	ChE IU/l	TP g/dl	Albumin g/dl	A/G	T.cho mg/dl	TG mg/dl	PL mg/dl
Male	0	6	Mean	53	35	32	253	2.2	682	6.2	3.7	1.53	61	78	109
			S.D.	9	4	6	21	0.6	80	0.2	0.1	0.09	9	44	19
	60	6	Mean	51	35	38	247	2.0	588	6.0	3.6	1.51	64	86	116
			S.D.	9	3	9	37	0.6	37	0.2	0.1	0.09	8	22	13
	300	5	Mean	52	34	32	244	2.0	684	5.8	3.6	1.63	61	79	108
			S.D.	11	4	5	46	0.9	83	0.3	0.2	0.24	8	22	11
Female	0	6	Mean	54	34	28	153	1.7	2392	6.3	3.9	1.60	74	36	138
			S.D.	5	4	8	45	0.4	583	0.4	0.3	0.13	13	13	23
	60	6	Mean	54	32	29	165	1.6	2138	6.4	3.8	1.50	79	32	150
			S.D.	6	3	12	47	0.5	515	0.3	0.2	0.09	16	3	26
	300	6	Mean	52	29	23	190	1.7	1902	6.3	3.9	1.61	85	40	156
			S.D.	4	2	6	37	0.4	415	0.2	0.1	0.13	10	7	12

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 6-4

Blood chemical findings of rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days
and followed by a recovery period for 14 days

Sex	Dose mg/kg	No.		T.bili- rubin mg/dl	D.bili- rubin mg/dl	ID.bili- rubin mg/dl	Glucose mg/dl	BUN mg/dl	Crea- tinine mg/dl	Na mEq/l	K mEq/l	Cl mEq/l	Ca mg/dl	P mg/dl
Male	0	6	Mean	0.09	0.04	0.05	143	14	0.59	144	4.4	111	9.5	7.8
			S.D.	0.02	0.03	0.02	10	1	0.04	1	0.2	2	0.3	0.4
	60	6	Mean	0.10	0.03	0.06	146	14	0.57	144	4.6	110	9.5	7.7
			S.D.	0.03	0.02	0.03	17	2	0.03	1	0.4	1	0.3	1.1
	300	5	Mean	0.09	0.05	0.04	126	14	0.56	144	4.7	110	9.5	8.3
			S.D.	0.00	0.01	0.01	11	1	0.03	1	0.3	1	0.4	0.4
Female	0	6	Mean	0.13	0.06	0.07	125	17	0.62	140	5.1	112	9.2	7.0
			S.D.	0.03	0.03	0.05	16	2	0.06	1	0.3	1	0.3	1.1
	60	6	Mean	0.12	0.04	0.07	125	15	0.61	140	5.0	111	9.3	6.7
			S.D.	0.01	0.01	0.01	8	3	0.02	1	0.3	1	0.3	1.0
	300	6	Mean	0.10*	0.04	0.06	126	16	0.62	140	4.8	111	9.5	7.2
			S.D.	0.01	0.01	0.01	6	2	0.06	1	0.3	2	0.5	1.1

Significantly different from control (*:p<0.05)

Table 7-1

Gross pathological findings of rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days

		Dose (mg/kg)	0	12	60	300	
Organs	Findings	No. of animals	Alive	Alive	Alive	Alive	Dead
			6	6	6	5	1
Male	Heart						
	Adhesion to lung		0	0	0	0	1
	Lung						
	Adhesion to other lobes		0	0	0	0	1
	Adhesion with heart		0	0	0	0	1
	Liver						
	Hernial nodule		0	0	1	0	0
	Spleen						
	Enlargement		0	0	0	5	0
	Stomach						
	Dark red spot in glandular stomach		0	0	0	1	0
Testis							
	Small in size (bilateral)		0	1	0	0	0

Table 7-2

Gross pathological findings of rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days

Organs Findings	Dose (mg/kg)	0	12	60	300
		Alive 6	Alive 6	Alive 6	Alive 6
Female Spleen Enlargement	No. of animals	0	0	0	6

Table 7-3

Gross pathological findings of rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days
and followed by a recovery period for 14 days

		Dose (mg/kg)			
		0	60	300	
Organs	No. of animals	Alive	Alive	Alive	Dead
Findings		6	6	5	1
Male	Intra-thoracic cavity				
	Retention of transparent pleural fluid	0	0	0	1
Lung	Adhesion to other lobes	0	0	0	1
	Dark red	0	0	0	1
Spleen	Enlargement	0	0	0	1

Table 7-4

Gross pathological findings of rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

Organs Findings	Dose (mg/kg)	0	60	300
		Alive 6	Alive 6	Alive 6
Female Stomach				
Dark red spot in glandular stomach		1	1	2

Table 8-1

Absolute and relative organ weights of male rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days

		Dose mg/kg	Body weight g	Brain g/g%	Thyroid (R) mg/mg%	Thyroid (L) mg/mg%	Thyroid (R+L) mg/mg%	Thymus mg/mg%	Heart g/g%	Lung g/g%	Liver g/g%	Spleen g/g%
Absolute	0	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	388	2.04	10.0	10.4	20.4	620	1.28	1.37	12.44	0.68
		S.D.	17	0.12	0.5	1.2	1.5	155	0.08	0.06	1.00	0.06
	12	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	382	2.03	9.6	8.1*	17.7	638	1.29	1.36	13.09	0.74
		S.D.	25	0.05	2.0	1.1	3.0	146	0.07	0.10	1.43	0.10
	60	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	382	2.01	11.2	10.7	21.9	566	1.31	1.35	13.45	0.71
		S.D.	12	0.09	1.0	1.3	1.4	72	0.05	0.09	0.53	0.10
	300	No.	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	360	2.03	10.6	11.0	21.6	582	1.23	1.41	13.80	1.73*
		S.D.	22	0.04	1.7	1.6	2.3	138	0.14	0.10	1.42	0.38
Relative	0	No.		6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.53	2.6	2.7	5.3	159	0.33	0.35	3.20	0.17
		S.D.		0.03	0.1	0.3	0.5	36	0.02	0.01	0.16	0.01
	12	No.		6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.54	2.5	2.1*	4.6	168	0.34	0.36	3.42	0.20
		S.D.		0.04	0.5	0.2	0.6	44	0.02	0.02	0.20	0.03
	60	No.		6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.53	3.0	2.8	5.8	148	0.35	0.35	3.53*	0.19
		S.D.		0.02	0.3	0.4	0.5	20	0.01	0.02	0.14	0.02
	300	No.		5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean		0.57	2.9	3.1	6.0	161	0.34	0.39**	3.82**	0.48*
		S.D.		0.03	0.5	0.4	0.6	33	0.03	0.01	0.18	0.09

Significantly different from control (*:p<0.05, **:p<0.01)

Table 8-2

Absolute and relative organ weights of male rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days

			Kidney (R) g/g%	Kidney (L) g/g%	Kidney (R+L) g/g%	Adrenal (R) mg/mg%	Adrenal (L) mg/mg%	Adrenal (R+L) mg/mg%	Testis (R) g/g%	Testis (L) g/g%	Testis (R+L) g/g%
Absolute	0	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	1.42	1.49	2.91	30	32	62	1.63	1.62	3.25
		S.D.	0.10	0.10	0.19	5	6	11	0.12	0.11	0.22
	12	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	1.43	1.53	2.96	29	32	62	1.40	1.45	2.86
		S.D.	0.08	0.08	0.14	5	6	11	0.44	0.36	0.79
	60	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	1.46	1.51	2.98	28	30	58	1.53	1.48	3.01
		S.D.	0.10	0.09	0.17	2	2	4	0.08	0.08	0.16
	300	No.	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	1.64**	1.72**	3.35**	26	30	56	1.55	1.54	3.09
		S.D.	0.13	0.11	0.23	3	3	6	0.17	0.14	0.30
Relative	0	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	0.37	0.38	0.75	8	8	16	0.42	0.42	0.84
		S.D.	0.02	0.01	0.03	1	1	2	0.02	0.02	0.05
	12	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	0.38	0.40	0.78	8	9	16	0.37	0.38	0.76
		S.D.	0.03	0.02	0.05	1	1	3	0.12	0.11	0.23
	60	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	0.38	0.40	0.78	8	8	15	0.40	0.39	0.79
		S.D.	0.02	0.02	0.04	1	1	2	0.03	0.03	0.05
	300	No.	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	0.46**	0.48*	0.94**	7	8	16	0.43	0.43	0.86
		S.D.	0.05	0.05	0.11	1	1	1	0.07	0.06	0.13

Significantly different from control (*:p<0.05, **:p<0.01)

Table 8-3

Absolute and relative organ weights of female rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days

	Dose mg/kg		Body weight g	Brain g/g%	Thyroid (R) mg/mg%	Thyroid (L) mg/mg%	Thyroid (R+L) mg/mg%	Thymus mg/mg%	Heart g/g%	Lung g/g%	Liver g/g%	Spleen g/g%
Absolute	0	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	247	1.84	6.0	5.9	11.9	501	0.93	1.08	7.08	0.52
		S.D.	14	0.03	1.2	1.1	2.1	62	0.14	0.06	0.37	0.06
	12	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	237	1.88	7.4	7.2	14.7	440	0.89	1.04	6.96	0.44
		S.D.	17	0.04	1.4	0.6	1.8	113	0.07	0.06	0.49	0.03
	60	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	230	1.92*	7.7	7.5*	15.2*	405	0.84	1.06	6.98	0.54
		S.D.	9	0.07	0.5	1.5	1.8	76	0.05	0.08	0.61	0.02
	300	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	223*	1.81	6.9	8.0**	14.9*	455	0.86	1.06	8.53**	1.12*
		S.D.	10	0.04	1.4	1.0	2.1	71	0.05	0.05	0.94	0.13
Relative	0	No.		6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.75	2.5	2.4	4.8	204	0.37	0.44	2.87	0.21
		S.D.		0.04	0.5	0.5	0.9	32	0.04	0.03	0.09	0.03
	12	No.		6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.80	3.1	3.1	6.2*	185	0.38	0.44	2.95	0.19
		S.D.		0.05	0.5	0.2	0.5	36	0.04	0.03	0.20	0.01
	60	No.		6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.84**	3.4*	3.2*	6.6**	177	0.37	0.46	3.04	0.24
		S.D.		0.05	0.2	0.6	0.7	34	0.02	0.05	0.19	0.01
	300	No.		6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.82	3.1	3.6**	6.7**	205	0.39	0.48	3.82**	0.50*
		S.D.		0.05	0.6	0.6	1.0	36	0.01	0.03	0.25	0.05

Significantly different from control (*:p<0.05, **:p<0.01)

Table 8-4

Absolute and relative organ weights of female rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days

		Dose mg/kg	Kidney (R) g/g%	Kidney (L) g/g%	Kidney (R+L) g/g%	Adrenal (R) mg/mg%	Adrenal (L) mg/mg%	Adrenal (R+L) mg/mg%	Ovary (R) mg/mg%	Ovary (L) mg/mg%	Ovary (R+L) mg/mg%
Absolute	0	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	0.92	0.92	1.84	32	35	67	47.9	50.8	98.7
		S.D.	0.06	0.04	0.09	2	3	3	9.0	3.8	9.1
	12	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	0.90	0.92	1.82	33	36	69	42.9	41.9*	84.8*
		S.D.	0.12	0.12	0.24	5	6	11	3.6	1.7	5.2
	60	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	0.87	0.88	1.75	33	36	69	42.9	46.4	89.3
		S.D.	0.05	0.04	0.09	4	5	9	5.5	7.8	11.2
	300	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	1.13**	1.11*	2.25**	28	29	57	42.8	38.5*	81.2**
		S.D.	0.10	0.12	0.21	3	4	6	6.2	1.8	6.1
Relative	0	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	0.37	0.37	0.74	13	14	27	19.4	20.6	40.0
		S.D.	0.02	0.02	0.03	1	2	2	3.9	1.3	3.9
	12	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	0.38	0.39	0.77	14	15	29	18.2	17.8*	36.0
		S.D.	0.02	0.02	0.05	2	2	4	1.7	1.5	3.1
	60	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	0.38	0.39	0.76	14	16	30	18.7	20.3	38.9
		S.D.	0.02	0.02	0.04	2	2	3	2.4	3.4	4.8
	300	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	0.51**	0.50**	1.01**	13	13	26	19.2	17.3*	36.5
		S.D.	0.02	0.03	0.05	1	2	3	2.5	1.1	2.4

Significantly different from control (*:p<0.05, **:p<0.01)

Table 8-5

Absolute and relative organ weights of male rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

	Dose mg/kg		Body weight g	Brain g/g%	Thyroid (R) mg/mg%	Thyroid (L) mg/mg%	Thyroid (R+L) mg/mg%	Thymus mg/mg%	Heart g/g%	Lung g/g%	Liver g/g%	Spleen g/g%
Absolute	0	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	446	2.07	11.3	12.0	23.3	519	1.48	1.53	13.46	0.72
		S.D.	46	0.07	1.5	2.9	4.3	140	0.12	0.14	1.55	0.13
	60	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	433	2.06	10.6	10.4	21.0	558	1.41	1.43	13.48	0.84
		S.D.	14	0.07	1.9	0.7	2.2	157	0.09	0.07	1.07	0.12
	300	No.	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	432	2.11	11.4	10.7	22.1	487	1.43	1.53	12.98	0.81
		S.D.	19	0.09	1.4	1.2	2.3	147	0.08	0.09	0.75	0.08
Relative	0	No.		6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.47	2.5	2.7	5.2	115	0.33	0.35	3.02	0.16
		S.D.		0.04	0.2	0.4	0.5	24	0.02	0.02	0.10	0.01
	60	No.		6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.48	2.5	2.4	4.9	129	0.33	0.33	3.11	0.19*
		S.D.		0.03	0.4	0.2	0.5	36	0.02	0.01	0.19	0.03
	300	No.		5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean		0.49	2.6	2.5	5.1	114	0.33	0.36	3.00	0.19
		S.D.		0.02	0.4	0.4	0.7	37	0.01	0.02	0.13	0.02

Significantly different from control (*:p<0.05)

Table 8-6

Absolute and relative organ weights of male rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

			Kidney (R) g/g%	Kidney (L) g/g%	Kidney (R+L) g/g%	Adrenal (R) mg/mg%	Adrenal (L) mg/mg%	Adrenal (R+L) mg/mg%	Testis (R) g/g%	Testis (L) g/g%	Testis (R+L) g/g%
Absolute	0	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	1.63	1.59	3.22	33	34	67	1.57	1.55	3.12
		S.D.	0.19	0.20	0.39	5	6	11	0.05	0.08	0.13
	60	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	1.54	1.57	3.11	31	33	63	1.60	1.59	3.18
		S.D.	0.15	0.19	0.34	2	2	4	0.11	0.08	0.19
	300	No.	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	1.64	1.68	3.33	30	31	61	1.68	1.64	3.32
		S.D.	0.11	0.09	0.18	2	3	5	0.09	0.16	0.24
Relative	0	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	0.37	0.36	0.73	8	8	15	0.36	0.35	0.71
		S.D.	0.04	0.04	0.07	1	1	2	0.04	0.04	0.08
	60	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	0.36	0.36	0.72	7	7	15	0.37	0.37	0.74
		S.D.	0.04	0.05	0.09	1	1	1	0.03	0.03	0.06
	300	No.	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	0.38	0.39	0.77	7	7	14	0.39	0.38	0.77
		S.D.	0.03	0.02	0.04	1	1	2	0.03	0.05	0.08

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 8-7

Absolute and relative organ weights of female rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

	Dose mg/kg		Body weight g	Brain g/g%	Thyroid (R) mg/mg%	Thyroid (L) mg/mg%	Thyroid (R+L) mg/mg%	Thymus mg/mg%	Heart g/g%	Lung g/g%	Liver g/g%	Spleen g/g%
Absolute	0	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	255	1.96	6.9	6.4	13.2	391	0.92	1.05	6.98	0.49
		S.D.	12	0.04	1.1	1.3	2.3	57	0.09	0.08	0.78	0.07
	60	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	259	1.90	6.7	6.4	13.0	372	0.94	1.07	7.39	0.53
		S.D.	15	0.07	1.6	0.7	1.6	59	0.05	0.06	0.45	0.03
	300	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	259	1.95	7.3	7.3	14.6	382	0.97	1.14	7.59	0.56
		S.D.	24	0.07	0.6	0.6	1.1	88	0.10	0.03	0.70	0.05
Relative	0	No.		6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.77	2.7	2.5	5.2	152	0.36	0.41	2.73	0.19
		S.D.		0.03	0.4	0.5	0.8	16	0.04	0.02	0.26	0.02
	60	No.		6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.73	2.6	2.5	5.0	144	0.36	0.42	2.85	0.21
		S.D.		0.03	0.7	0.4	0.8	23	0.01	0.01	0.12	0.01
	300	No.		6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.76	2.8	2.9	5.7	148	0.38	0.44	2.94	0.22
		S.D.		0.06	0.3	0.2	0.5	36	0.03	0.04	0.24	0.02

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 8-8

Absolute and relative organ weights of female rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

			Kidney (R) g/g%	Kidney (L) g/g%	Kidney (R+L) g/g%	Adrenal (R) mg/mg%	Adrenal (L) mg/mg%	Adrenal (R+L) mg/mg%	Ovary (R) mg/mg%	Ovary (L) mg/mg%	Ovary (R+L) mg/mg%
Absolute	0	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	0.97	0.96	1.93	37	39	76	45.8	44.8	90.5
		S.D.	0.08	0.05	0.12	4	5	9	6.3	6.9	12.5
	60	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	0.98	1.00	1.98	36	38	74	52.6	49.2	101.8
		S.D.	0.06	0.07	0.12	5	3	7	9.0	3.3	12.0
	300	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	1.01	1.01	2.02	31*	33*	64*	48.0	46.2	94.1
		S.D.	0.10	0.12	0.21	2	2	3	8.6	15.6	23.8
Relative	0	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	0.38	0.37	0.76	14	15	30	17.9	17.5	35.5
		S.D.	0.03	0.03	0.06	2	2	4	2.2	2.3	4.2
	60	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	0.38	0.39	0.77	14	15	29	20.5	19.1	39.5
		S.D.	0.01	0.03	0.04	2	1	4	4.2	2.1	6.2
	300	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	0.39	0.39	0.78	12	13*	25	18.5	17.8	36.3
		S.D.	0.04	0.02	0.05	2	2	3	2.8	5.8	8.5

Significantly different from control (*:p<0.05)

Table 9-1

Histopathological findings of male rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days

Organs -findings	Dose (mg/kg) No. of animals Grade	0								12								60							
		0	1	2	3	4	P	Obs	TE	0	1	2	3	4	P	Obs	TE	0	1	2	3	4	P	Obs	TE
Stomach																									
-erosion, glandular stomach		6							6																
Liver																									
-fatty change, hepatocyte, periportal		1	5					5	6		6					6	6			6				6	6
-hepatodiaphragmatic nodule		6							6	6							6	5		1				1	6
-deposit, hemosiderin, Kupffer cell		6							6	6							6	6							6
-proliferation, bile duct		6							6	6							6	6							6
-hematopoiesis, extramedullary		6							6	6							6	6							6
-hypertrophy, hepatocyte, centrilobular		6							6	6							6	6							6
Pancreas																									
-atrophy, lobular		5		1				1	6																
Spleen																									
-deposit, hemosiderin, red pulp			6					6	6		6					6	6			3	3			6	6
-hematopoiesis, extramedullary			6					6	6		6					6	6			6				6	6
-congestion		6							6	6							6	6							6
Kidney																									
-necrosis, papillary		6							6	6							6	6							6
-eosinophilic body		2	3	1				4	6	2	4					4	6	2	3	1				4	6
-basophilia, renal tubule		6							6	6							6	6							6
-dilatation, renal tubule		6							6	6							6	6							6
-mineralization, inner medulla		6							6	6							6	6							6
-hyaline cast		6							6	6							6	5	1					1	6
-cellular infiltration, interstitium, cortex		6							6	6							6	6							6
Urinary bladder																									
-cellular infiltration, submucosa		5							5	6							6	6							6
Testis																									
-atrophy, seminiferous tubule		6							6		1					1	1								
Prostate																									
-cellular infiltration, interstitium		6							6																
Femur (Bone marrow)																									
-hematopoiesis, increased		6							6	6							6	5	1					1	6

0 : No remarkable changes 1 : Slight 2 : Mild 3 : Moderate 4 : Severe

P : Present (used when grading of severity was not done, such as case in the neoplastic lesion)

Obs : Observed number

TE : Total Examined

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 9-2

Histopathological findings of male rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days

Organs -findings	Dose (mg/kg) No. of animals Grade	300					P	Obs	TE
		0	1	2	3	4			
Stomach									
-erosion, glandular stomach		4		1				1	5
Liver									
-fatty change, hepatocyte, periportal		3	2					2	5
-hepatodiaphragmatic nodule		5							5
-deposit, hemosiderin, Kupffer cell		4	1					1	5
-proliferation, bile duct		4		1				1	5
-hematopoiesis, extramedullary		1	4					4*	5
-hypertrophy, hepatocyte, centrilobular			5					5**	5
Pancreas									
-atrophy, lobular		5							5
Spleen									
-deposit, hemosiderin, red pulp					5			5**	5
-hematopoiesis, extramedullary					5			5**	5
-congestion			5					5**	5
Kidney									
-necrosis, papillary		2	1	2				3	5
-eosinophilic body			1	4				5*	5
-basophilia, renal tubule		4	1					1	5
-dilatation, renal tubule		3	1	1				2	5
-mineralization, inner medulla		4	1					1	5
-hyaline cast		5							5
-cellular infiltration, interstitium, cortex		4	1					1	5
Urinary bladder									
-cellular infiltration, submucosa		3	2					2	5
Testis									
-atrophy, seminiferous tubule		5							5
Prostate									
-cellular infiltration, interstitium		4	1					1	5
Femur (Bone marrow)									
-hematopoiesis, increased			1	4				5**	5

0 : No remarkable changes 1 : Slight 2 : Mild 3 : Moderate 4 : Severe
P : Present (used when grading of severity was not done, such as case in the neoplastic lesion)
Obs : Observed number
TE : Total Examined
* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$ (Significant difference from control group)

Table 9-3 Histopathological findings of female rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days

Organs -findings	Dose (mg/kg) No. of animals Grade	0								12								60							
		0	1	2	3	4	P	Obs	TE	0	1	2	3	4	P	Obs	TE	0	1	2	3	4	P	Obs	TE
Lung (Bronchus)																									
-inflammation, focal		5	1					1	6																
Rectum																									
-cellular infiltration, submucosa		5	1					1	6																
Liver																									
-fatty change, hepatocyte, periportal		2	4					4	6	1	5					5	6			6				6	6
-deposit, hemosiderin, Kupffer cell		6							6	6							6			6					6
-proliferation, bile duct		6							6	6							6			6					6
-hematopoiesis, extramedullary		6							6	6							6			6					6
-hypertrophy, hepatocyte, centrilobular		6							6	6							6			6					6
Spleen																									
-deposit, hemosiderin, red pulp				6				6	6			1	5			6**	6				6			6**	6
-hematopoiesis, extramedullary			6					6	6		6					6	6			6				6	6
Kidney																									
-necrosis, papillary		6							6	6							6			6					6
-dilatation, renal tubule		6							6	6							6			6					6
-hyaline cast		6							6	6							6			6					6
-cellular infiltration, interstitium, cortex		6							6	6							6			6					6
Femur (Bone marrow)																									
-hematopoiesis, increased		6							6	6							6		4	2				2	6

0 : No remarkable changes 1 : Slight 2 : Mild 3 : Moderate 4 : Severe

P : Present (used when grading of severity was not done, such as case in the neoplastic lesion)

Obs : Observed number

TE : Total Examined

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

Table 9-4

Histopathological findings of female rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days

Organs	Dose (mg/kg)	300						Obs	TE
	No. of animals	6							
-findings	Grade	0	1	2	3	4	P		
Lung (Bronchus)									
-inflammation, focal		6							6
Rectum									
-cellular infiltration, submucosa		6							6
Liver									
-fatty change, hepatocyte, periportal		3	3					3	6
-deposit, hemosiderin, Kupffer cell		3	3					3	6
-proliferation, bile duct		2	1	3				4*	6
-hematopoiesis, extramedullary		2	4					4*	6
-hypertrophy, hepatocyte, centrilobular			6					6**	6
Spleen									
-deposit, hemosiderin, red pulp				2	4			6*	6
-hematopoiesis, extramedullary				6				6**	6
Kidney									
-necrosis, papillary			3	3				6**	6
-dilatation, renal tubule		3	2	1				3	6
-hyaline cast		3	3					3	6
-cellular infiltration, interstitium, cortex		5	1					1	6
Femur (Bone marrow)									
-hematopoiesis, increased				6				6**	6

0 : No remarkable changes 1 : Slight 2 : Mild 3 : Moderate 4 : Severe
P : Present (used when grading of severity was not done, such as case in the neoplastic lesion)
Obs : Observed number
TE : Total Examined
* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$ (Significant difference from control group)

Table 9-5 Histopathological findings of male rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days
and followed by a recovery period for 14 days

Organs	Dose (mg/kg)	0					60					300														
	No. of animals	6					6					5														
-findings	Grade	0	1	2	3	4	P	Obs	TE	0	1	2	3	4	P	Obs	TE	0	1	2	3	4	P	Obs	TE	
Liver																										
-fatty change, hepatocyte, periportal			4	2				6	6										2	3					3	5
Spleen																										
-deposit, hemosiderin, red pulp					6			6	6			6				6	6				5			5**	5	
-hematopoiesis, extramedullary			6					6	6		6					6	6		5					5	5	
Kidney																										
-necrosis, papillary		6							6	6							6	6	2	1	2				3	5
-eosinophilic body		1	2	3				5	6	1	3	2				5	6	6	1	3	1				4	5
-basophilia, renal tubule		6							6	6							6	6	3	2					2	5
-mineralization, inner medulla		6							6	6							6	6	3	2					2	5
-cellular infiltration, interstitium, cortex		6							6	6							6	6	2	3					3	5
Femur (Bone marrow)																										
-hematopoiesis, increased		6							6	6							6	6	4	1					1	5

0 : No remarkable changes 1 : Slight 2 : Mild 3 : Moderate 4 : Severe

P : Present (used when grading of severity was not done, such as case in the neoplastic lesion)

Obs : Observed number

TE : Total Examined

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

Table 9-6

Histopathological findings of female rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

Organs	Dose (mg/kg) No. of animals	0								60								300							
		6								6								6							
-findings	Grade	0	1	2	3	4	P	Obs	TE	0	1	2	3	4	P	Obs	TE	0	1	2	3	4	P	Obs	TE
Liver																									
-fatty change, hepatocyte, periportal		1	5					5	6	1	5					5	6	1	5					5	6
-proliferation, bile duct		6							6	6							6	3	3					3	6
Spleen																									
-deposit, hemosiderin, red pulp				3	3			6	6				6			6	6				6			6	6
-hematopoiesis, extramedullary			6					6	6		6					6	6		6					6	6
Kidney																									
-necrosis, papillary		6							6	6							6	2	2	2				4*	6
-basophilia, renal tubule		6							6	6							6	5	1					1	6
-hyaline cast		5	1					1	6	6							6	6							6
-hyaline droplet		5	1					1	6	6							6	6							6
Femur (Bone marrow)																									
-hematopoiesis, increased		6							6	6							6	3	3					3	6

0 : No remarkable changes 1 : Slight 2 : Mild 3 : Moderate 4 : Severe

P : Present (used when grading of severity was not done, such as case in the neoplastic lesion)

Obs : Observed number

TE : Total Examined

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

Table 9-7

Histopathological findings of rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days and followed by a recovery period for 14 days (Gross lesions)

Sex	Dose mg/kg	Animal number	Organs	Gross pathological findings	Histopathological findings (grade)*
Female	0	1108	Stomach	-Dark red spot in glandular stomach	-Erosion, glandular stomach (+)
	60	3109	Stomach	-Dark red spot in glandular stomach	-Erosion, glandular stomach (+)
	300	4108	Stomach	-Dark red spot in glandular stomach	-Erosion, glandular stomach (+)
		4109	Stomach	-Dark red spot in glandular stomach	-Erosion, glandular stomach (+)

* ; + : Mild

Table 9-8

Histopathological findings of male rats administered orally with 2,3-Dimethylaniline for 28 days

Organs	Dose (mg/kg)	300	300
		4	4
	Animal number	0	0
-findings		1	1
		D	D
Cerebrum		0	0
Cerebellum		0	0
Spinal cord		0	0
Sciatic nerve		0	0
Heart			
-adhesive inflammation, pericardium		2	0
Trachea		0	0
Lung (Bronchus)			
-adhesive inflammation, pleura		2	2
-pulmonary edema		2	2
Stomach		0	0
Duodenum		0	0
Jejunum		0	0
Ileum		0	0
Cecum		0	0
Colon		0	0
Rectum		0	0
Liver			
-fatty change, hepatocyte, periportal		1	0
Pancreas		0	0
Pituitary		0	0
Thyroid (Parathyroid)		0	0
Adrenal		0	0
Thymus		0	0
Spleen			
-deposit, hemosiderin, red pulp		2	2
-hematopoiesis, extramedullary		2	1
Mesenteric lymph node		0	0
Cervical lymph node		0	0
Kidney			
-necrosis, papillary		2	2
-eosinophilic body		2	1
-dilatation, renal tubule		2	0
-mineralization, inner medulla		1	0
-hyaline cast		1	0
Urinary bladder		0	0
Testis		0	0
Epididymis		0	0
Prostate		0	0
Eye		0	0
Sternum (Bone marrow)		0	0
Femur (Bone marrow)			
-hematopoiesis, increased		2	2

0 : No remarkable changes 1 : Slight 2 : Mild 3 : Moderate 4 : Severe P : Present a) L : Lost specimens

a): "Present" is used when grading of severity was not done, such as case in the neoplastic lesion.

D : Dead