

# 最終報告書

2, 6-ジメチルアニリンのラットを用いる  
反復経口投与毒性・生殖発生毒性併合試験  
(試験番号: 02-237-2)

財団法人 畜産生物科学安全研究所

## 目 次

要約 .....	1 頁
緒言 .....	3
目的 .....	3
材料および方法 .....	3
1. 被験物質 .....	3
2. 動物および飼育条件 .....	4
3. 投与量の設定、試験群の構成および投与方法 .....	5
4. 観察および検査 .....	5
1) 親動物に関する項目 .....	5
(1) 一般状態観察 .....	6
(2) 詳細な臨床観察 .....	6
(3) 感覚反射機能検査 .....	6
(4) 着地開脚幅、握力および自発運動量 .....	7
(5) 体重および摂餌量 .....	7
(6) 雌の性周期検査 .....	7
(7) 交配および分娩状態観察 .....	7
(8) 雄の尿検査 .....	8
(9) 血液学検査 .....	8
(10) 血液生化学検査 .....	8
(11) 剖検および器官重量 .....	9
(12) 病理組織学検査 .....	9
2) 新生児に関する項目 .....	10
(1) 産児数、性比および外表観察 .....	10
(2) 一般状態観察 .....	10
(3) 体重 .....	10
(4) 病理学検査 .....	10
5. 統計解析 .....	11

結果	12
1. 反復投与毒性	12
1) 一般状態および死亡	12
2) 詳細な臨床観察	12
3) 感覚反射機能検査	12
4) 着地開脚幅, 握力および自発運動量	12
5) 体重	13
6) 摂餌量	13
7) 雄の尿検査	13
8) 血液学検査	14
9) 血液生化学検査	14
10) 剖検	14
11) 器官重量	15
12) 病理組織学検査	15
(1) 生存動物	15
A. 生殖器系以外の器官	15
B. 生殖器系器官	17
(2) 切迫屠殺動物	17
2. 生殖発生毒性	18
1) 親動物に及ぼす影響	18
(1) 性周期検査	18
(2) 交尾率および受胎率	18
(3) 黄体数, 着床数および着床率	18
(4) 出産率および妊娠期間	18
(5) 分娩および哺育状態	19
2) 新生児に及ぼす影響	19
(1) 生存性および体重	19
(2) 形態	19
考察	20
文献	24

## 添付資料

### A 図・群別平均値表

Figures 1, 2	体重	1
Figure 3, 4	摂餌量	4
Tables 1, 2	死亡率	7
Tables 3, 4	一般状態	9
Tables 5, 6	詳細な臨床観察	13
Tables 7, 8	感覚反射機能検査	38
Tables 9, 10	着地開脚幅, 握力および自発運動量	42
Tables 11, 12	体重	46
Tables 13, 14	摂餌量	49
Table 15	雄の尿検査	52
Tables 16, 17	血液学検査	56
Tables 18, 19	血液生化学検査	60
Tables 20, 21	剖検	64
Tables 22, 23	器官重量	66
Tables 24~26	病理組織学検査	70
Table 27	生殖に及ぼす影響	77
Table 28	新生児に及ぼす影響	78
Table 29	新生児の外表所見	79
Table 30	新生児の内臓所見	80

## 要 約

2, 6 - ジメチルアニリンの 0, 2, 10, 50 あるいは 250mg/kg/day を、1群 12 匹の SD 系ラットに、交配開始 14 日前から、雄は 42 日間、雌は分娩後哺育 4 日まで経口投与し、本物質の反復投与毒性および生殖発生毒性について検討した。

### 1. 反復投与毒性

250mg/kg 群において、雌雄に投与直後の一過性の流涎、自発運動低下、眼瞼下垂、握力および自発運動量の低値並びに体重増加抑制が認められた。雌の 3 匹は、急激に一般状態が悪化し、瀕死状態となったため切迫屠殺した。雄の尿検査では、尿量の増加およびそれによる尿比重、ナトリウム、カリウム、タンパクおよびケトン体濃度の低値並びに pH の低下が認められた。血液学検査では、雌雄にメトヘモグロビン濃度の増加、雄に赤血球数および血色素濃度の減少並びに網状赤血球数の増加が認められ、雄の平均赤血球容積は高値、平均赤血球血色素濃度は低値を示した。血液生化学検査では、雄に無機リンの増加、雌に GOT、総ビリルビンおよび総コレステロールの増加が認められた。器官重量では、雌雄に腎臓、雄に肝臓、雌に甲状腺のいずれも相対重量の増加並びに雄に脾臓の絶対および相対重量の増加が認められた。病理組織学検査では、肝臓の肝細胞肥大が雌雄に、腎臓の好塩基性尿細管の増加傾向および乳頭壊死が雌雄に、近位尿細管上皮の硝子滴増加および蛋白円柱が雄に、尿細管のびまん性拡張が雌に、脾臓のヘモジデリン沈着増加が雌雄に、髄外造血の増加傾向が雄に認められた。50mg/kg 群では、雌雄に投与初期の自発運動低下および肝臓の肝細胞肥大例が、さらに雌には総コレステロールの増加が認められた。回復群においては、被験物質の投与による変化は回復或いは回復傾向を示し、可逆的であることが確認された。

以上の結果から、2, 6 - ジメチルアニリンのラットへの反復経口投与により、主に血液、肝臓、腎臓および脾臓等に対する毒性影響が認められた。無影響量 (NOEL) は、雌雄とも 10mg/kg/day と結論された。

## 2. 生殖発生毒性

雄親動物の生殖能に対する毒性影響は認められなかった。雌親動物については、  
250mg/kg 群で黄体数の低値傾向が認められ、着床数は有意な低値を示した。児動物  
の発生に対する影響については、250mg/kg 群の総出産児数は低値傾向にあり、生児数  
は有意な低値を示した。

したがって、雄親動物の生殖能に対する無影響量は 250mg/kg/day、雌親動物の生殖  
能および児動物の発生に対する無影響量は、いずれも 50 mg/kg/day と結論された。

## 緒 言

2, 6 - ジメチルアニリンは、染料や顔料中間体として用いられている化学物質である<sup>1)</sup>。本物質の毒性について、ラットやマウスにおける経口 LD<sub>50</sub> 値は 705-840mg/kg<sup>2)</sup>で、ラットにおける反復投与毒性試験で肝臓、腎臓および造血器系に対する影響並びにラットでのがん原性試験で鼻腔上皮の腺腫および腺がんの有意な増加が認められたとの報告<sup>3)</sup>はあるが、それらの結果の詳細については不明で、また、生殖発生毒性についての報告はみられない。本物質の異性体である 2, 3-<sup>4)</sup>、2, 4-<sup>5)</sup> および 3, 4-ジメチルアニリン<sup>6)</sup>については、ラットにおける反復投与毒性に関する詳細な報告がみられ、溶血性貧血および造血器系組織の変化、肝臓および腎臓に対する影響等が発現している。本試験は、OECD における高生産量既存化学物質の安全性点検プログラムの一環として実施したものである。

## 目 的

2, 6 - ジメチルアニリンをラットに反復経口投与し、本物質の反復経口投与毒性および生殖発生毒性を検討する。

## 材料および方法

### 1. 被験物質

被験物質である 2,6 - ジメチルアニリン(CAS No. 87-62-7)は、分子量が 121.18 で、エタノールやジエチルエーテルなどの有機溶媒に可溶な無色の液体である。試験には、  
製造の試薬を購入(

純度 99.7%) して冷暗所 (3~5°C) 密栓下で保管し、使用した。用いた被験物質は投与終了後に分析し、使用期間中安定であったことを確認した。本物質の特性は、Appendix 1 に示す。

2, 6 - ジメチルアニリンは水に不溶であるがオリブ油には溶け易いことから、投与液は局方オリブ油（宮澤薬品株式会社、ロット番号 KH21）を溶媒とし、所定の投与用量となる濃度の溶液に調製した。調製した投与液は、1 日の使用量ごとに小分けして窒素充填し、使用時まで冷所 (3~5°C) 遮光下で密栓して保管した。冷所 (3~5°C) 遮光下で保管した投与液中の被験物質は、少なくとも 7 日間は安定であることが確認された

(Appendix 2) ので、調製後 7 日以内に使用した。初回に調製された投与液について分析し、所定の濃度で調製されていることを確認した (Appendix 3)。被験物質の分析のうち原体の分析は、  
に委託して実施した。

## 2. 動物および飼育条件

動物は、SD 系 [Crj : CD(SD)IGS] ラットを用いた。ラットは、日本チャールス・リバー株式会社 厚木飼育センター(神奈川県厚木市下古沢 795) から 8 週齢のものを搬入(雄 68 匹、雌 80 匹)し、13 日間試験環境に馴化させた。馴化期間中に検疫および雌については 10 日間の性周期観察も併せて行い、発育および一般健康状態が良好で、雌では性周期に異常の認められなかったものについて、投与開始前日に体重を測定し、体重分布の中央値に近い雄は 60 匹、雌は 70 匹を選び、10 週齢で試験に用いた。1 群の動物数は雌雄各 12 匹とし、雌についてはさらに対照群と最高用量群の回復群として各 5 匹からなる 2 群の衛星群を設け、無作為抽出法により群分けを行った。なお、雌の回復群については、交配を実施しなかった。雄の回復群については、投与 42 日に対照群と最高用量群の中から完全無作為抽出法によりそれぞれ 5 匹を選別し、回復群とした。投与開始時の平均体重(体重範囲)は、雄 365 (326~416) g、雌 226 (200~249) g であった。ラットは、温度  $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ 、湿度  $55 \pm 10\%$ 、換気回数 10 回以上/時(オールフレッシュエア方式)、照明 12 時間/日(午前 7 時点灯、午後 7 時消灯)に設定したバリアーシステム動物室(第 1 室)で、個体別にステンレス製金網ケージ〔260W × 380D × 180 H(mm)〕に収容し、これをステンレス製 5 段のラックに配置して飼育した。ただし、交配の成立した雌は、巣作り材料(ホワイトフレーク、日本チャールス・リバー株式会社、ロット番号 15.9.25)を入れたポリカーボネート製ケージ〔265W × 426D × 200H(mm)〕に収容し、分娩後は児動物と同居させた。飼料(固型飼料ラボ MR ストック、日本農産工業株式会社、ロット番号 030879, 030969)および飲料水(孔径  $1 \mu\text{m}$  のカートリッジフィルターで濾過後紫外線照射した殺菌水道水)は、それぞれ給餌器および自動給水装置、または給水瓶(ポリカーボネートケージの場合)により、自由に摂取させた。

動物の個体識別は、ラックおよびケージへの標識札の貼付、並びに耳パンチ法により行った。

飼育期間中、動物室の温度は 20.4~23.0°C、湿度は 48~63% の範囲で推移 (Appendix 4) し、また飼料、飲料水および巣作り材料の汚染物質の分析結果 (Appendices 5, 6, 7) は、いずれも当研究所で設定した許容範囲内にあることが確認された。したがって、動物の飼育期間を通じて、試験成績の信頼性に影響を及ぼすと思われる環境要因の変化は、なかったものと判断された。

### 3. 投与量の設定、試験群の構成および投与方法

投与量は、ラットへの単回および 14 日間反復経口投与による投与量設定試験の結果に基づいて設定した。単回投与では、300mg/kg で死亡は認められず、2000mg/kg で投与した 3 匹全例の死亡が認められた。そこで、反復投与では 0, 2, 6, 20, 60 および 200mg/kg/day で投与した。その結果、200mg/kg 群で雌雄に自発運動低下および眼瞼下垂、赤血球数、血色素濃度およびヘマトクリット値の低値、雄に体重増加の抑制傾向および摂餌量の低値傾向が認められた。また、60mg/kg 群では雌雄に自発運動低下および眼瞼下垂が、20mg/kg 群では雄に自発運動低下が認められた。したがって、本試験における投与量は、確実に反復投与毒性が発現すると予測される 250mg/kg/day を最高用量、毒性影響が発現しないと予測される 2mg/kg/day を最低用量とし、これらの間に 10 および 50mg/kg/day の計 4 用量を設定した。

試験群の構成は、①溶媒投与群（以下、対照群）、②被験物質の 2mg/kg/day 投与群（2mg/kg 群）、③同 10mg/kg/day 投与群（10mg/kg 群）、④同 50mg/kg/day 投与群（50mg/kg 群）、⑤同 250mg/kg/day 投与群（250mg/kg 群）の 5 群とした。

投与方法は、投与液量を体重 1kg 当たり 5mL とし、テフロン製胃ゾンデを装着した注射筒を用いて、投与液を胃内に投与した。対照群には、媒体として用いた局方オリブ油を同様に投与した。各個体の投与液量は、至近日の測定体重を基に算出した。投与期間は、雌雄とも交配開始 14 日前から、雄は 42 日間、雌は交配および妊娠期間を経て分娩後の哺育 4 日まで、最短 42 日～最長 55 日間、1 日 1 回、午前中（9:00～12:00）に投与した。ただし、雌の回復群は、雄と同様に 42 日間投与した。

### 4. 観察および検査

#### 1) 親動物に関する項目

親動物について、次の項目を観察或いは検査した。なお、感覚反射機能検査、着地開脚幅、握力、自発運動量、尿検査、血液学検査、血液生化学検査、器官重量および病理組織学検査については、各群から無作為抽出法により雌雄各 5 匹を選び、検査の対象とした。

#### (1)一般状態観察

投与期間中毎日、動物の生死、外観、行動等について観察した。観察時期について、投与量設定試験で主な症状として自発運動低下が投与後 10 分頃から認められたため、少なくとも投与後 1 時間までは観察を行い、さらに投与後 6.5 時間までの間に 1 回観察を行った。また、朝夕 2 回は、動物の生死や瀕死状態の有無について確認した。特に、妊娠、出産、哺育の状態については、注意深く観察した。

#### (2)詳細な臨床観察

投与開始前日およびその後は週 1 回、動物をケージから取り出す時およびケージ外のアルミ製オープンフィールド (370W×560D×40H mm) で、ケージからの出し易さ、ケージから出す時の扱い易さ、体躯緊張（弛緩～強直）、皮膚（色）、毛並み、立毛、眼分泌物、眼瞼閉鎖状態、眼球突出、流涙、口鼻分泌物（汚れ）、流涎、下腹部被毛の尿による汚れ、肛門周囲の便による汚れ、発声、呼吸、姿勢、痙攣、振戦、探索行動（覚醒度）、警戒性、自発運動（活動性）、歩行（よろめき）、異常行動（自咬、後ろ向き歩行等）、常同（過度の毛繕い、反復旋回運動等）、意識不全（混迷、カタレプシー、昏睡）、四肢筋緊張度、排尿および排糞の 29 項目について観察し、認められた変化を評点（Appendix 8）で記録した。動物には無作為化法で観察番号を付け、観察者以外の者が群や動物番号を表示したケージの標識札を観察番号のみ表示した標識札に替え、観察者は観察番号順に観察を行うことにより、投与内容が不明な状態で観察した。

#### (3)感覚反射機能検査

雄は最終投与日、雌は哺育期間中に 1 回、また回復群の雌雄は最終投与日および回復期間終了日に、聴覚反応（ピンセットで軽くケージを叩く音に対する驚愕反応）、視覚反応（顔面に棒を近づけた場合の接近反応）、触覚反応（腰部に触れた場合の反応）、耳介反射（耳介に触れた場合の耳介の反射）、痛覚反応（尾根部をピンセットで摘んだ場合の逃避、発声等の反応）、瞳孔反射（暗所から急に明るい場所に移した時の瞳孔の反応）、同側屈筋反応（後肢の足趾をピンセットで摘んだ場合の屈筋の反応）、眼瞼反射（眼

瞼に接触した場合の眼瞼の反応) および正向反射(面上で動物を背臥位にした場合の正常姿勢にもどる反射) を調べ、認められた反応を評点 (Appendix 8) で記録した。

#### (4) 睝地開脚幅、握力および自発運動量

雄は投与 41 日、雌は哺育期間中に 1 回、また回復群の雌雄は最終投与日および回復 13 日に、雄は 30 分間および 60 分間、雌は 30 分間の自発運動量 (自発運動量測定装置、SUPERMEX、室町機械株式会社、動物が発する遠赤外線をセンサーが感知し、測定装置内の区画間の間における移動回数を測定)、前肢および後肢の握力 (ラット・マウス用握力測定装置、MK-380R/FR、室町機械株式会社) 並びに着地開脚幅 (足趾に墨を塗り、30 cm の高さから落とした時の足跡の幅) を測定した。回復群の雌の自発運動量は、60 分間も測定した。

#### (5) 体重および摂餌量

体重は、雄については投与 1 (投与開始日、投与直前), 7, 14, 21, 28, 35 および 42 日並びに回復 7 および 14 日、雌は投与 1, 7 および 14 日、妊娠 0, 7, 14 および 20 日並びに哺育 0 および 4 日に、また衛星群として設けた雌の回復群については交配を行わないため、雄と同じ日に測定した。さらに、雌雄とも屠殺日に測定した。摂餌量は、体重測定日に合わせて、ケージごとに翌日までの 24 時間飼料消費量を測定した。ただし、摂餌量の最終測定日は、雄では投与 41 日、雌では哺育 3 日、回復群では回復 13 日とした。交配期間中の投与 21 および 28 日には、交尾の成立していない雌雄の摂餌量は測定しなかった。

#### (6) 雌の性周期検査

雌について、馴化・検疫期間に引き続き、交配前の 2 週間を経て交配期間の交尾が確認されるまで、Giemsa 染色による膣垢塗抹標本を作製し、鏡検により性周期段階の判定を行った。

#### (7) 交配および分娩状態観察

交配前 2 週間の投与を終了 (投与 15 日の午後) した雌雄を同一群内で 1 対 1 の組み合わせを作り、2 週間を限度として交尾が確認されるまで連続同居させた。交配期間中は毎朝一定時刻 (9:30 頃) に交尾の確認を行い、交尾率(%) [(交尾動物数 / 同居動物数) × 100] を算出した。交尾は、膣栓形成あるは膣垢中の精子の有無により確認し、確認された日を妊娠 0 日とした。分娩状態の観察も同じ時刻に行い、分娩の完了が確認さ

れた日を哺育 0 日とした。交配および分娩の観察結果から、各群について、受胎率(%) [(受胎雌数／交尾成立雌数)×100]、妊娠期間（妊娠 0 日から分娩の完了が確認された日までの日数）および出産率(%) [(生児出産雌数／妊娠雌数)×100]を算出した。

#### (8)雄の尿検査

雄について、投与 36 日および回復群については回復 9 日に、動物を約 3 時間代謝ケージに収容し、得られた尿について、外観の観察、試験紙法（マルティスティックス、バイエル・三共株式会社）による pH、潜血、タンパク、糖、ケトン体、ビリルビンおよびウロビリノーゲンの定性的検査並びに沈渣の検査（URI·CELL 液、ケンブリッジケミカルプロダクト社、で染色して鏡検）を行った。さらに、18 時間収容して得られた尿について、尿量、比重（屈折計、エルマ光学株式会社）並びにナトリウムおよびカリウム（電解質自動分析装置、NAKL-132、東亜電波工業株式会社）を測定した。

#### (9)血液学検査

最終投与の翌日あるいは回復期間終了の翌日の解剖直前に、エーテル麻酔下で開腹して腹大動脈より採血した。動物は前日の午後 5 時より除餌し、水のみを給与した。採取した血液は 3 分割し、その一部は EDTA·2K で凝固阻止処理し、多項目自動血球計数装置（E-4000、東亜医用電子株式会社）により、赤血球数（電気抵抗検出方式）、血色素量（ラウリル硫酸ナトリウム・ヘモグロビン法）、ヘマトクリット値（パルス検出方式）、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度（以上、計算値）、白血球数および血小板数（以上、電気抵抗検出方式）を、また塗抹標本を作製して網状赤血球数（Brilliant cresyl blue 染色して鏡検）、ハインツ小体保有赤血球数（Neutral red brilliant green 染色して鏡検）および白血球百分率（May-Giemsa 染色して鏡検）を、さらにメトヘモグロビン濃度（Evelyn-Malloy 変法）を測定した。また、血液の一部を 3.8% クエン酸ナトリウム液で凝固阻止処理して血漿を得、血液凝固自動測定装置（KC-10A、米国アメルング社）により、プロトロンビン時間（Quick 一段法）および活性化部分トロンボプラスチン時間（エラチン酸活性化法）を測定した。

#### (10)血液生化学検査

採取した血液の一部から血清を分離し、生化学自動分析装置（JCA-BM8 型クリナライザー、日本電子株式会社）により、総タンパク（ビューレット法）、アルブミン（BCG 法）、A/G 比（計算値）、血糖（GluK<sup>1)</sup>·G·6·PDH<sup>2)</sup> 法）、総コレステロール（酵素法、

CES<sup>3)</sup>·CO<sup>4)</sup>·POD<sup>5)</sup>系), トリグリセライド(酵素法, LPL<sup>6)</sup>·GK<sup>7)</sup>·GPO<sup>8)</sup>·POD<sup>5)</sup>系), 総ビリルビン(ジアゾ法), 尿素窒素(ウレアーゼ·UV法), クレアチニン(Jaffe法), GOT, GPT,  $\gamma$ -GTP, ALP(以上, JSCC<sup>9)</sup>法), LDH(SFBC法<sup>10)</sup>), ChE(BTC<sup>11)</sup>·DTNB<sup>12)</sup>法), カルシウム(OCPC法)および無機リン(酵素法, PNP<sup>13)</sup>·XOD<sup>14)</sup>·POD<sup>5)</sup>系)を, また電解質自動分析装置(NAKL-132, 東亜電波工業株式会社)により, ナトリウム, カリウムおよび塩素(以上, イオン電極法)を測定した。

1) グルコキナーゼ, 2) グルコース·6·リン酸脱水素酵素, 3) コレステロールエステラーゼ, 4) コレステロールオキシダーゼ, 5) ベルオキシダーゼ, 6) リポプロテインリバーゼ, 7) グリセロールキナーゼ, 8) L- $\alpha$ -グリセロリン酸オキシダーゼ, 9) 日本臨床化学会, 10) フランス臨床生物学会, 11) ブチリルチオコリン, 12) 5, 5'-ジチオビス·2·ニトロ安息香酸, 13) プリンヌクレオシドホスフォリラーゼ, 14) キサンチンオキシダーゼ

#### (11)剖検および器官重量

雄の計画屠殺動物は投与42日の翌日, 雌では分娩し哺育も順調であった例は哺育5日, 交尾の成立しなかった例は交配期間終了後24日(投与52日の翌日), 交尾は成立したが分娩予定の4日後まで分娩が認められなかった例はその翌日, また, 回復群については回復14日の翌日に, それぞれエーテル麻酔下で放血屠殺し, 体表, 開口部粘膜および内部諸器官を肉眼的に観察した。また, 各群雌雄各5匹の肝臓, 腎臓, 副腎, 胸腺, 脾臓, 脳, 心臓, 下垂体, 甲状腺および精嚢並びに全ての雄の精巣および精巣上体を秤量(絶対重量)し, 屠殺日の体重に基づいて対体重比(相対重量)を算出した。なお, 対器官は左右を一括して, 下垂体および甲状腺は固定後に秤量した。雌については, 卵巣の黄体数および子宮の着床数を調べ, 着床率(%)[(着床数/黄体数)×100]を算出した。

#### (12)病理組織学検査

全例について下記器官を採取し, 10%中性リン酸緩衝ホルマリン液(精巣, 精巣上体はブアン液で前固定)で固定し, 保存した。

〔脳, 下垂体, 甲状腺, 胸腺, 気管·肺(固定液を注入後浸漬), 胃, 腸, 心臓, 肝臓, 脾臓, 腎臓, 副腎, 膀胱, 精巣, 精巣上体, 前立腺, 精嚢, 卵巣, 子宮, 脊髄(頸部, 胸部, 腰部), 坐骨神経, 骨髄(大腿骨), リンパ節(頸部リンパ節, 腸間膜リンパ節), 乳腺, その他肉眼的異常部位〕

病理組織学検査は、対照群および 250mg/kg 群の雌雄各 5 匹並びに 250mg/kg 群で認められた死亡（切迫屠殺）例のこれら保存器官について実施した。精巣については、精子形成サイクル検査（ステージ II - III, V, VII および X II）も行った。回復群を含むその他の群については、50mg/kg 群で被験物質の投与による影響が考えられた雌雄の肝臓、腎臓および脾臓について検査した。また、各群の肉眼的異常部位については全例について検査した。交尾不成立の雌雄および交配は成立したが分娩予定の 4 日後まで分娩が認められなかった雌は、雄については精巣、精巣上体、前立腺および精嚢、雌については卵巣、子宮および下垂体を検査した。分娩後全児の死亡した雌は、卵巣、下垂体および乳腺を検査した。検査は、常法に従ってパラフィン切片を作製し、H-E 染色を施して鏡検した。また、沈着物を同定するため、脾臓は全例について鉄（ペルリンブルー）染色、対照群および 250mg/kg 群の雄の各 2 匹の腎臓は PAS 染色も行った。

## 2) 新生児に関する項目

### (1) 産児数、性比および外表観察

分娩完了の確認後、各腹の産児数（生産児と死亡児の合計）を調べ、分娩率(%) [(総出産児数／着床率) × 100]を、また肛門と生殖突起の長短により性別を判定し、群ごとの性比を算出した。また、新生児について、口腔内を含む外表の異常を観察した。

### (2) 一般状態観察

毎日、一般状態および生死を確認し、出生率(%) [(出産確認時生児数／総出産児数) × 100] および哺育 4 日生存率(%) [(哺育 4 日の生児数／出産確認時生児数) × 100] を算出した。

### (3) 体重

新生児について、哺育 0 および 4 日に、雌雄別に各腹ごとの体重を測定し、1 匹当たりの平均体重を算出した。

### (4) 病理学検査

死亡例はその都度、生存例は哺育 4 日にエーテル麻酔下で放血死させ、胸部および腹部における主要器官について、肉眼的に観察した。

## 5. 統計解析

得られた平均値あるいは頻度について、対照群との有意差（危険率 5%以下）を、次 の方法で検定した。なお、出産児に関するデータは、1 腹の平均を 1 標本とした。

体重、体重増加量、摂餌量、着地開脚幅、握力、自発運動量、尿検査における定量的 データ、血液学検査データ、血液生化学検査データ、器官重量、黄体数、着床数、交尾 成立期間、妊娠期間、産児数、生児数、死亡児数等のパラメトリックデータについて、 試験群が 3 群以上の場合は Bartlett の分散検定を行い、分散が一様な場合は一元配置 の分散分析を行った。分散が一様でない場合並びに白血球百分率、尿検査における定性的 データ、着床率、出生率、分娩率、性周期、新生児生存率等のノンパラメトリックデ タは、Kruskal-Wallis の順位検定を行った。それらの結果有意差を認めた場合、 Dunnett ないし Dunnett 型の検定法による多重比較を行った。試験群が 2 群間の場合は、パラメトリックデータについて F 検定を行い、その結果分散が一様な場合は Student の t 検定を、分散が一様でない場合は Aspin-Welch の t 検定を行った。また、 ノンパラメトリックデータは、Mann-Whitney の U 検定を行った。一般状態の観察、 詳細な臨床観察、感覚反射機能検査、剖検および病理組織学検査における異常例の発現 率、交尾率、受胎率、出産率、児動物の性比等のカテゴリカルデータについては、Fisher の直接確率法を用いて検定した。

## 結 果

### 1. 反復投与毒性

#### 1) 一般状態および死亡 (Tables 1~4, Appendices 10~13)

雌雄各 12 匹中, 50mg/kg 群の雄の 2 匹および雌の 3 匹で投与 1 日, 250mg/kg 群の雌雄全例で投与 1~6 日の間に, 軽度な自発運動低下が投与後概ね 10 分から 3~6 時間にかけて認められ, 自発運動低下を示す多くの例ではその間に眼瞼下垂も認められた。また投与 15 日以降に, 250mg/kg 群の雄の 3 匹および雌の 5 匹で, 投与のための保定時或いは投与直後に発現し 1 時間以内に消失する流涎が, 多くは 1~5 日間認められた。250mg/kg 群の雌雄の自発運動低下および眼瞼下垂並びに雌の流涎の発現率には有意差が認められた。投与初期の自発運動低下および眼瞼下垂並びに投与直後の流涎は, 250mg/kg 群の雌の衛星群においても認められた。

なお, 250mg/kg 群の雌で, 1 匹は投与 22~24 日にかけて, 別の 2 匹は投与 40 日に, 急に一般状態が悪化し, 3 匹とも自発運動低下が重度となって腹臥位を呈し, 低体温, 呼吸微弱, チアノーゼ, 紅涙, 下腹部の汚れ, あるいは削瘦が認められ, いずれも瀕死状態となつたため切迫屠殺した。瀕死期に採取した血液の検査では, 3 匹に共通して, メトヘモグロビン, 尿素窒素, 総ビリルビン, クレアチニン, 総コレステロールおよびトリグリセライド, うち 2 匹ではさらに LDH, GOT, GPT,  $\gamma$ -GTP 等のいずれも高値が認められた。

回復期間においては, 一般状態の変化および死亡は認められなかった。

#### 2) 詳細な臨床観察 (Tables 5, 6, Appendices 14, 15)

投与前, 投与期間中および回復期間中の各時点の観察を通じて, 有意な変化は認められなかった。

#### 3) 感覚反射機能検査 (Tables 7, 8, Appendices 16, 17)

投与 6 週および回復 2 週での検査において, 変化は認められなかった。

#### 4) 着地開脚幅, 握力および自発運動量 (Tables 9, 10, Appendices 18, 19)

250mg/kg 群で, 投与期間終了時屠殺では雌雄とも前後肢握力の低値傾向がみられ,

雌の前肢握力には有意差が認められた。さらに雌雄の自発運動量には有意差が認められた。また、回復群の検査においても同様の傾向が認められ、雄の前後肢握力および雌雄の自発運動量に有意差が認められた。

回復期間中の検査では、雌雄とも有意な変化は認められなかった。

#### 5) 体重 (Tables 11, 12, Appendices 20, 21)

250mg/kg 群で雄は、各測定時点の体重に有意差は認められなかつたものの対照群を下回って推移し、投与期間中の体重増加量は有意な低値を示した。雌においても雄と類似した傾向が認められ、交配前 14 日間の体重増加量は有意な低値を示した。妊娠期間中および分娩後哺育 4 日までの間の体重および体重増加量には有意な変化は認められなかつた。また、250mg/kg 群の雌の衛星群の体重も対照群を下回って推移し、投与 35 日を除く投与 14 日以降の体重に有意差が認められ、投与期間中の体重増加量は有意差が認められなかつたものの低値傾向にあつた。

回復期間においては、250mg/kg 群の雄は体重増加量が対照群を有意に上回り、回復傾向が認められた。雌の衛星群も回復期間中の体重に有意差は認められなくなつた。

#### 6) 摂餌量 (Tables 13, 14, Appendices 22, 23)

250mg/kg 群で、雄は投与 1 日の摂餌量が有意な低値を示した。雌では有意な変化は認められなかつた。しかしながら、雌の衛星群では投与 1 日の摂餌量は、有意差は認められなかつたものの低値傾向にあつた。

回復期間においては、雄は回復 7 日の摂餌量が有意な高値を示した。雌の衛星群では有意な変化は認められなかつた。

#### 7) 雄の尿検査 (Table 15, Appendix 24)

投与期間中の検査で、250mg/kg 群に尿量の有意な増加が認められ、尿比重並びにカリウムおよびタンパクの濃度は有意な低値を示し、ナトリウム濃度も低値傾向にあつた。しかしながら、カリウムおよびナトリウムの 18 時間ににおける総排泄量には有意な変化は認められなかつた。タンパクについては 50mg/kg 群でも有意な低値が認められたが、背景データにおける正常範囲は“±～++”で、その 62% は “+” を示し、

正常範囲のものであった。

回復期間中の検査では、投与期間中の検査で認められた変化は認められず、ケトン体濃度の有意な低値のみが認められた。

8) 血液学検査 (Tables 16, 17, Appendices 25, 26, 背景データ: Appendices 42, 43)

250mg/kg 群で雄に赤血球数および血色素濃度の有意な減少、ヘマトクリット値の減少傾向並びに網状赤血球数およびメトヘモグロビン濃度の有意な増加が認められ、平均赤血球容積は有意な高値、平均赤血球血色素濃度は有意な低値を示した。また、同群の雌においても、メトヘモグロビン濃度の有意な増加および網状赤血球数の増加傾向が認められた。なお、雌のヘマトクリット値において、2mg/kg 群で有意な低値、50mg/kg 群で有意な高値が認められたが、変化に用量相関性は認められず、いずれも背景データにおける正常範囲 (Appendix 43 参照) の値であり、被験物質の投与とは無関係な偶発的所見と判断された。

回復群では、各検査項目に有意な変化は認められなかった。

9) 血液生化学検査 (Tables 18, 19, Appendices 27, 28, 背景データ: Appendices 42, 43)

50mg/kg 群で雌に、総コレステロールの有意な増加が認められた。250mg/kg 群では、雌に総コレステロールの有意な増加が認められたほか、雄に無機リンの有意な増加、雌に GOT および総ビリルビンの有意な増加が認められた。なお、被験物質投与各群の雄の A/G 比は対照群と比べて全般的に高値傾向にあり、2, 10 および 50mg/kg 群に有意差が認められたが、変化に用量相関性は認められず、いずれも背景データにおける正常範囲 (Appendix 42 参照) の値であり、被験物質の投与とは無関係な偶発的所見と判断された。

回復群では、各検査項目に有意な変化は認められなかった。

10) 剖検 (Tables 20, 21, Appendices 29~31)

妊娠を成立させた雄において、250mg/kg 群で 6 匹中脾臓の大型化が 2 匹、胸腺の赤色域が 1 匹に認められた。また、精巣の小型化（片側性）が対照群で 7 匹中 1 匹お

および 250mg/kg 群で 1 匹に認められた。受胎し、分娩および哺育も順調であった雌においては変化は認められなかった。一方、10mg/kg 群で認められた交尾不成立の 1 対では、雌雄とも変化は認められなかった。交尾は成立したが受胎しなかった対照群の 1 対および 10mg/kg 群の 1 対では、いずれも雌の子宮に正常範囲を越えた中等度の子宮腔水腫が、また 2mg/kg 群の 1 対では雄に精巣の小型化（両側性）が認められ、50mg/kg 群の 1 対および 250mg/kg 群の 1 対では雌雄とも変化は認められなかった。2, 10 および 250mg/kg 群で各 1 匹に認められた分娩後全児死亡の雌には変化は認められなかった。

投与期間中に瀕死状態となったため切迫屠殺した 250mg/kg 群の雌の 3 匹では、脾臓および胸腺の小型化および副腎の大型化が共通して認められ、さらに腎臓の大型化が 2 匹および肝臓の大型化が 1 匹に認められた。

回復群においては、対照群の 1 対の交尾不成立の雄を含めて、いずれの雌雄にも変化は認められなかった。

#### 11) 器官重量 (Tables 22, 23, Appendices 32~35)

250mg/kg 群で、雌雄に腎臓、雄に肝臓、雌に甲状腺の相対重量並びに雄の脾臓の絶対および相対重量のいずれも有意な増加が認められた。

なお、雌の脾臓で 10mg/kg 群は相対重量、50mg/kg 群は絶対および相対重量の有意な低値が認められたが、250mg/kg 群では変化は認められず、用量相關的な所見ではなかった。

回復群では、各器官の重量に変化は認められなかった。

#### 12) 病理組織学検査 (Tables 24~26, Appendices 29~31, Photos 1~15)

##### (1) 生存動物

###### A. 生殖器系以外の器官

被験物質の投与に起因する変化が、肝臓、脾臓および腎臓に認められた。

###### a. 肝臓

肝細胞肥大が 50mg/kg 群で雄 1 匹、雌 1 匹に、250mg/kg 群では雄 4 匹および雌 3 匹に認められ、250mg/kg 群の雄の発現率には有意差が認められた。肥大した肝細

胞は小葉中心帯に限局する軽度な変化であった。回復群では雄の 1 匹で肝細胞肥大が残存していたがその他の動物には認められず、明らかな回復傾向が認められた。肝細胞肥大以外に、微小肉芽腫および巣状壊死が認められたが散発的な発現で、被験物質の投与との関連性は認められなかった。

#### b. 腎臓

好塩基性尿細管が雄では対照群の軽度例 1 匹に対して 250mg/kg 群では軽度或いは中等度例が 5 匹、雌においても 250mg/kg 群にのみ軽度例が 3 匹認められ、雌雄とも好塩基性尿細管の発現率に増加傾向が認められた。また、同群で乳頭壊死が雄の 3 匹および雌の 4 匹に認められ、雌の 1 匹では鉛質沈着を伴っていた。さらに、対照群の雄の近位尿細管上皮には硝子滴が軽度に認められたが、250mg/kg 群では 5 匹全例が中等度な変化を示し、硝子滴の増加が認められた。また、250mg/kg 群で主に皮髓境界部における蛋白円柱が雄の 3 匹、尿細管のびまん性拡張が雌の 2 匹に認められた。これらの変化のうち、雄の好塩基性尿細管および中等度硝子滴並びに雌の乳頭壊死の発現率には有意差が認められた。回復群では、雌雄とも好塩基性尿細管および乳頭壊死は残存していたが、発現率或いは変化の程度から回復傾向が伺われ、またその他の変化は認められず、回復していた。

以上の変化に加えて、孤立性囊胞が雌雄に、皮質リンパ球浸潤が雄に、皮髓境界部鉛質沈着が雌に認められたが、被験物質の投与との関連性は認められなかった。また、雄で近位尿細管上皮の好酸性小体が 50 および 250mg/kg 群に、雌では硝子円柱が 250mg/kg 群に認められたが、いずれも 1~2 匹の発現で、ラットに自然発生的に認められる所見であることから、被験物質の投与とは無関係な変化と判断された。

#### c. 脾臓

脾臓の赤脾髄におけるヘモジデリン沈着は、対照群では雌雄全例が軽度であったが、50mg/kg 群の雄の 1 匹並びに 250mg/kg 群の雄の 5 匹および雌の 4 匹には中等度の沈着が認められ、250mg/kg 群の雌雄の中等度沈着の発現率には有意差が認められた。また、雄で、赤脾髄の髓外造血は対照群を含む 50mg/kg 以下の群では全例が軽度であったが、250mg/kg 群では 3 匹が中等度で、髓外造血の亢進傾向が認められた。回復群では、雌雄のヘモジデリン沈着および雄の髓外造血亢進とも回復傾向が認められた。

#### d. その他の器官

対照群および 250mg/kg 群の雌雄あるいはそのいずれかに、肺の動脈壁鉱質沈着および泡沫細胞あるいはマクロファージの集簇並びに胸腺の出血が認められたが、軽度、かつ、散発的な変化で、被験物質の投与との関連性は認められなかつた。また、雌の甲状腺に相対重量増加が認められたが、病理組織学的には変化は認められなかつた。

#### B. 生殖器系器官

被験物質の投与に起因する変化は、認められなかつた。妊娠を成立させた雄において、250mg/kg 群で精巣の精細管萎縮が 2 匹（両側性 1 匹、片側性 1 匹）に認められたが対照群にも 1 匹（両側性）に認められ、精子形成サイクル検査でも有意な変化は認められなかつた。また、前立腺および精囊に変化は認められなかつた。なお、対照群の精巣精細管萎縮例では精巣上体の精巣上体管内精子の減少を伴つていた。妊娠し、分娩や哺育も順調であった雌では、卵巣および子宮に変化は認められなかつた。

一方、対照群および 10mg/kg 群で認められた交尾は成立したが妊娠しなかつたそれぞれ 1 対では、いずれも雌で子宮の性周期に伴う変化を越えた子宮腔拡張および内膜上皮の空胞変性が認められ、さらに 10mg/kg 群の例の雄には精巣の精細管萎縮が認められた。2mg/kg 群で認められた不妊の 1 対においても、雄で精巣の精細管萎縮および精巣上体の精巣上体管内精子減少が認められた。10mg/kg 群で認められた交尾不成立の 1 対並びに 50 および 250mg/kg 群で認められた不妊の各 1 対では雌雄の生殖器系器官および雌の下垂体に変化は認められず、10, 50 および 250mg/kg 群で各 1 匹に認められた分娩後全児死亡の雌においても、卵巣、乳腺および下垂体に変化は認められなかつた。

#### (2) 切迫屠殺動物

投与期間中に切迫屠殺した 250mg/kg 群の 3 匹では、肝臓の小葉中心性肝細胞肥大が 2 匹、腎臓のびまん性尿細管拡張が 3 匹、乳頭壞死が 1 匹、脾臓の比較的重度なヘモジデリン沈着が 3 匹に認められたほか、胸腺の皮質萎縮、脾臓およびリンパ節のリンパ系細胞低形成並びに副腎の皮質細胞肥大が 3 匹に共通して認められた。

## 2. 生殖発生毒性

### 1) 親動物に及ぼす影響

#### (1) 性周期検査 (Table 27, Appendices 36, 37)

群分けの翌日から交配前までにおいて、対照群の 1 匹（動物番号 505）を除いて全例が 3.7～5.5 日で発情を回帰し、対照群を含む各投与群の平均性周期は 4.0～4.2 日であり、有意な変化は認められなかった。

なお、対照群の 1 匹は、群分け時までの性周期は順調であったが、その翌日からスメア像が発情休止期となり、13 日目以降に性周期が回復した。

#### (2) 交尾率および受胎率 (Table 27, Appendices 38)

交尾は、10mg/kg 群の 1 対を除いて全例で成立し、交尾成立までに要する日数や受胎率にも有意な変化は認められなかった。10mg/kg 群の交尾不成立の雌は、交配前までの性周期は順調であり、交配開始日（0 日）に発情後期 I (III) 期像を示した。交配中の膣垢検査において交配開始後 2 日から発情休止期が持続し、交配開始後 14 日（交配終了日）に発情回帰兆候が認められた。妊娠不成立は、対照群を含む各投与群でそれぞれ 1 対ずつ認められた。これらの対は、交尾確認された日のスメア像が発情後期 I (III) から II (IV) の中間像を示すもの（動物番号 512, 537）、発情休止期 (V) 像を示すもの（同 560）および発情後期 I (III) 像を示すもの（同 519, 553）で、50mg/kg 群の雌（同 553）は、交配開始後 2 日より発情休止期が持続し、発情前期 (I) 像を認めず、交配終了日に交尾が確認された。

#### (3) 黄体数、着床数および着床率 (Table 27, Appendix 38)

250mg/kg 群で、黄体数の低値傾向が認められ、着床数は有意な低値を示したが、着床率には変化は認められなかった。50mg/kg 群の黄体数および着床数も低値傾向にあったが、有意な変化ではなかった。

#### (4) 出産率および妊娠期間 (Table 27, Appendix 38)

対照群を含む 50mg/kg 以下の群では、受胎した動物の全例に出産が認められた。250mg/kg 群において、受胎した 10 匹中 2 匹は分娩前に瀕死状態で切迫屠殺した。250mg/kg 群の生存した妊娠動物では、8 匹全例に出産が認められた。出産率は、全ての群で 100% であった。また、妊娠期間にも変化は認められなかった。

### (5) 分娩および哺育状態 (Table 27, Appendix 38)

分娩状態の異常は認められなかった。哺育状態については、10mg/kg 群の 1 匹、50mg/kg の 1 匹および 250mg/kg 群の 1 匹でいずれも全児が哺育 1 日までに死亡したが、用量相関的な変化ではなかった。これらの母動物は、いずれも分娩後哺育行動をとらなかった。

## 2) 新生児に及ぼす影響

### (1) 生存性および体重 (Table 28, Appendix 39)

250mg/kg 群の出産児数は低値傾向にあり、哺育 0 日の生児数は有意な低値を示した。同群の出生率もやや低値傾向にあったが、有意差は認められなかった。性比には変化は認められなかった。

### (2) 形態 (Table 29, 30, Appendices 40, 41)

矮小児が 10mg/kg で 1 匹（発現率 0.7%）および 50mg/kg 群で 1 匹（0.6%）認められた他は、いずれの群においても外表および内臓異常を有する児動物は認められなかった。内臓変異については、胸腺の頸部残留が対照群を含む各群（1.3～4.2%）に、左臍動脈遺残が 2 mg/kg 群（0.6%）および 10 mg/kg 群（0.7%）に、蛇行尿管が対照群を含む各群（1.0～2.1%）に、また、尿管拡張が 2 mg/kg 群（0.6%）でのみ認められ、これらの内臓変異を有する児動物は、対照群で 9 匹（5.5%）、2 mg/kg 群で 7 匹（4.4%）、10 mg/kg 群で 6 匹（4.2%）、50 mg/kg 群で 5 匹（3.0%）および 250 mg/kg 群で 3 匹（2.7%）であった。これらの内臓変異の発現率には対照群と被験物質投与群との間に有意差はなく、また、用量に相關した増加傾向も認められなかった。

## 考 察

### 1. 反復投与毒性について

ジメチルアニリンの毒性について、2, 6 - ジメチルアニリンの異性体である 2, 3 - 体<sup>4)</sup>, 2, 4 - 体<sup>5)</sup> および 3, 4 - 体<sup>6)</sup> のラットでの反復投与毒性については知られており、これらに共通してメトヘモグロビン血症に伴う溶血性貧血所見および溶血性貧血と関連する造血器系組織の病理学的变化並びに小葉中心性肝細胞肥大を特徴とする肝臓に対する影響が認められている。また、腎臓においては、2, 3 - 体で乳頭壊死および尿細管拡張等の変化、2, 4 - 体および 3, 4 - 体で雄の近位尿細管上皮の硝子滴增加が認められている。

今回実施した 2, 6 - ジメチルアニリンのラットを用いる 28 日間の反復経口投与毒性試験においても、血液、肝臓、脾臓、腎臓等に対する毒性影響が認められた。

血液に対する影響について、250mg/kg 群で雌雄にメトヘモグロビン濃度の増加が認められ、さらに雄では赤血球数、血色素濃度およびヘマトクリット値の減少傾向並びに平均赤血球容積の高値および平均赤血球血色素濃度の低値が認められた。これらのメトヘモグロビン血症および貧血所見と関連して、脾臓に赤血球の破壊亢進を示唆するヘモジデリン沈着の増加が雌雄に認められた。血液生化学検査で 250mg/kg 群の雌に認められた総ビリルビンの増加も、後述の肝臓に対する影響に加えて、赤血球の破壊亢進と関連した変化である可能性が考えられる。さらに、同群で網状赤血球の増加傾向が雌雄に、脾臓の髄外造血巣の増加傾向が雄に認められたが、これらは貧血に対する代償性の造血亢進を示唆する所見と考えられる。また、250mg/kg 群の雌雄で認められた脾臓重量の増加は、これらの病理組織学的変化によるものと思われる。

芳香族アミン化合物はメトヘモグロビン血症に伴う溶血性貧血を惹起し<sup>7)</sup>、前述の異性体においても溶血性貧血の発現が確認されているが、2, 6 - ジメチルアニリンにおいても血液に対する同様の影響を有するものと考えられる。

なお、50mg/kg 群で脾臓のヘモジデリン沈着が対照群で認められた沈着の程度を上回る雄の 1 匹を認めたが、当該例の血液学検査所見は正常範囲( Appendix 42 参照)のもので、回復群においては同程度のヘモジデリン沈着が対照群の 1 匹にも認められていることから、被験物質の投与による血液に対する影響を示唆するものではないと判断された。

肝臓に対する影響について、250mg/kg 群で雄に肝臓相対重量の増加が認められ、病理組織学検査では肝臓に小葉中心性肝細胞肥大が 50mg/kg 群で雄 1 匹、雌 1 匹に、250mg/kg 群では雄 4 匹および雌 3 匹に認められた。血液生化学検査で 50mg/kg 以上の群で雌に認められた総コレステロールの増加および 250mg/kg 群で雌に認められた GOT および総ビリルビンの増加も、肝臓に対する影響と関連する変化と考えられる。

腎臓に対する影響について、病理組織学検査で 250mg/kg 群の雌雄に乳頭壞死および障害された尿細管の再生像と考えられる好塩基性尿細管の増加が認められ、さらに雄では近位尿細管上皮の硝子滴の増加および蛋白円柱、雌では尿細管のびまん性拡張が認められ、雌雄とも腎臓相対重量は高値を示した。雄の尿検査で同群に認められた尿量の増加や血液生化学検査で雄に認められた無機リンの増加も、腎臓に対する影響と関連する変化と考えられる。

なお、尿の比重並びにナトリウム、カリウム、タンパクおよびケトン体濃度の低値傾向は尿量の増加に伴うもので、ナトリウム、カリウムの 18 時間総排泄量には変化は認められなかった。

ジメチルアニリンの腎臓に対する影響として、前述したように 2, 3 - 体で乳頭壞死および尿細管拡張等の変化、2, 4 - 体および 3, 4 - 体で雄の近位尿細管上皮の硝子滴増加が認められているが、2, 6 - 体ではこれら 2, 3 - 体と 2, 4 - 体および 3, 4 - 体で認められる変化のいずれもが認められた。

以上の変化に加えて、250mg/kg 群で雌雄に投与開始初期の軽度な自発運動低下や眼瞼下垂、握力および自発運動量の低値および体重増加の抑制が認められたほか、雌の 3 匹は急激な一般状態の変化を伴って瀕死状態となったため切迫屠殺した。これらの動物には生存動物で認められた変化と質的に類似した肝臓、腎臓および脾臓における病理学的变化、メトヘモグロビン血症並びに総ビリルビン、総コレステロール、トリグリセライド、LDH、GOT、GPT および  $\gamma$ -GTP の高値等の肝機能の異常を示唆する所見や尿素窒素およびクレアチニンの高値等の腎機能の異常を示唆する所見が認められた。また、副腎の皮質細胞肥大、胸腺の皮質萎縮並びに脾臓およびリンパ節のリンパ系細胞低形成が認められたが、これらの変化は生存動物では認められていないことから、被験物質の毒性が重度に発現したことによるストレスの非特異的影響<sup>8)</sup>

によるものと推察される。

なお、雌に甲状腺の相対重量増加が認められたが病理組織学的には変化は認められず、毒性影響を示唆する所見ではないと判断された。さらに、雌雄に流涎が認められたが投与直後の変化であり、詳細な臨床観察で自立神経系に対する影響を示唆する変化も認められていないことから、被験物質の毒性影響によるものではなく、投与液に対する忌避反応と解せられる。

50mg/kg 群においては、雌雄に自発運動低下および肝臓の肝細胞肥大例、さらに雌には総コレステロールの増加が認められ、被験物質の投与による毒性影響が軽度に発現しているものと判断された。

なお、雄の尿検査でタンパク濃度の低値が認められたが正常範囲の変化で、対照群がやや高値傾向にあったことによると思われ、他に関連する所見も認められなかつたことから、毒性学的意義はないものと判断された。また、回復群において、尿中ケトン体濃度の増加が認められたが、投与期間中の検査では認められなかつた変化であり、偶発的所見と考えられる。

## 2. 生殖発生毒性について

親動物に対して、250mg/kg 群で黄体数の低値傾向および着床数の有意な低値が認められ、同群の児動物においては、総出産児数の低値傾向および生児数の有意な低値が認められた。これらの結果は、卵巣における卵子形成あるいは排卵に対する何らかの影響を示唆しているものと考えられるが、卵巣および下垂体を含む生殖系および内分泌系器官に病理組織学的变化は認められず、発現機序を明らかにすることは出来なかつた。

なお、用量相関性の認められない交尾不成立例、妊娠不成立例および全児死亡の母動物が各投与群に散発的に認められた。

10mg/kg 群の 1 対に認められた交尾不成立は、雌雄ともに病理学的異常は認められず、雌は性周期検査の結果から、スマア採取等の外的刺激によって偽妊娠を起したものと判断され、これが交尾不成立の原因になったものと考えられる。また、対照群の雌において、交配前に発情休止期が約 12 日間持続した 1 匹についても偽妊娠を起したものと判断された。

妊娠不成立が対照群を含む各投与群でそれぞれ1匹ずつ認められたが、雌雄いずれにも病理学的異常は認められなかった。分娩後哺育行動をとらず、分娩の翌日までに全児が死亡した母動物が10, 50および250mg/kg群で1匹ずつみられたが、いずれも一般状態および下垂体を含む生殖系器官に異常は認められなかつたことから、投与とは無関係な偶発的所見と判断された。

児動物においては、被験物質投与群で少数例の外表異常が、また、対照群を含む各投与群で内臓変異がみられたが、いずれも自然発生的に認められるもので、発現率に有意差および用量相関性も認められないことから、催奇形性を示唆する変化ではないと判断された。

以上の結果から、2, 6-ジメチルアニリンのラットへの反復経口投与による毒性影響が、主に血液、肝臓、腎臓および脾臓等に認められ、親動物への反復投与による無影響量（NOEL）は雌雄ともに10mg/kg/dayと結論された。また、雄親動物の生殖能に対する無影響量は250mg/kg/day、雌親動物の生殖能および児動物の発生については、着床数の低値および生児数の低値が認められ、無影響量はいずれも50mg/kg/dayと結論された。

## 文 献

- 1) 「12394 の化学商品」, pp.568, 化学工業日報社, 東京 (1994).
- 2) Richardson, M.L. and Gangolli, S. "The dictionary of substances and their effects, Volume 3(D-Dim)" pp.592-594, The royal society of chemistry, Cambridge (1993).
- 3) IUCLID (International Uniform Chemical Information Data Base) Data Set, EU (2000).
- 4) 榎並倫宣ら, 化学物質毒性試験報告, 5, 133, 1997
- 5) 伊藤義彦ら, 財団法人 畜産生物科学安全研究所 所内資料 (試験番号 01-168, 2002).
- 6) 井上博之ら, 化学物質毒性試験報告, 3, 143, 1996.
- 7) 谷本義文, 「血液学・ヒトと動物の接点」, 清至書院, p708, 1982.
- 8) 日本毒性病理学会編, “毒性病理組織学”, アイペック, 2000, pp. 383-433.

2,6-ジメチルアニリンのラットを用いる  
反復経口投与毒性・生殖発生毒性併合試験

(試験番号：02-237-2)

最終報告書 添付資料A  
(図・群別平均値表)

財団法人 畜産生物科学安全研究所

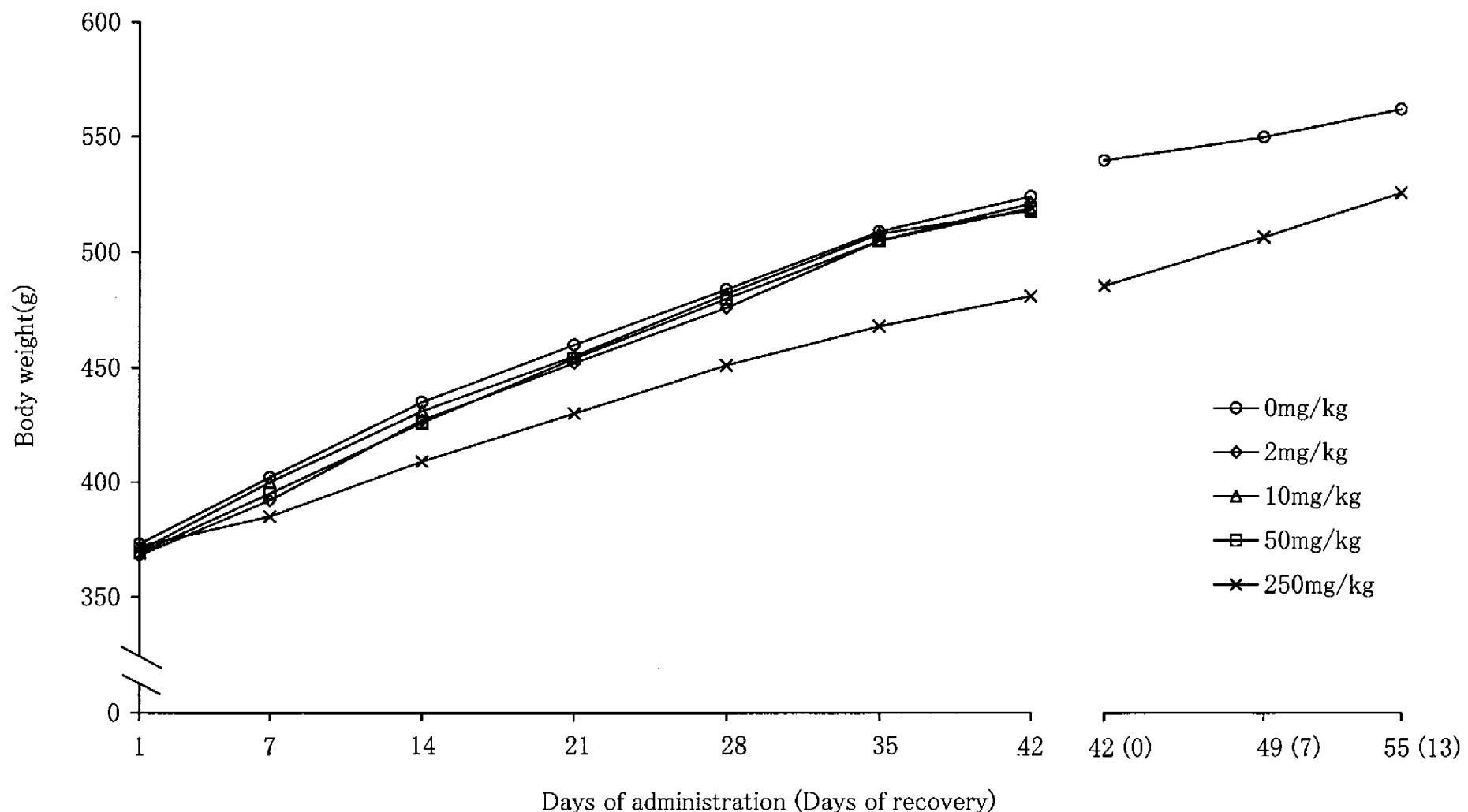


Fig. 1 Body weight changes of male rats treated with aniline, 2,6-dimethyl-, in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

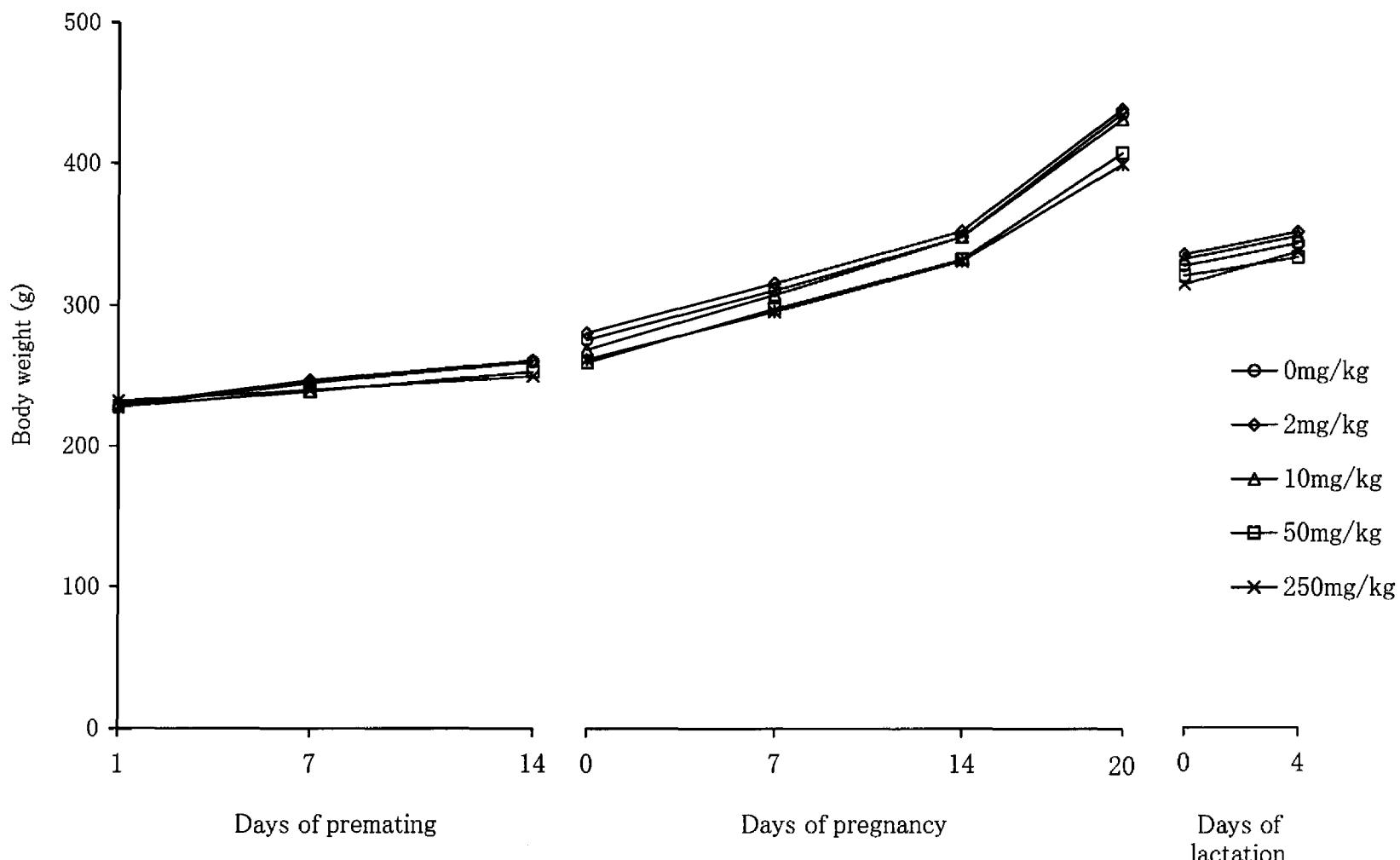


Fig. 2-1 Body weight change in female rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

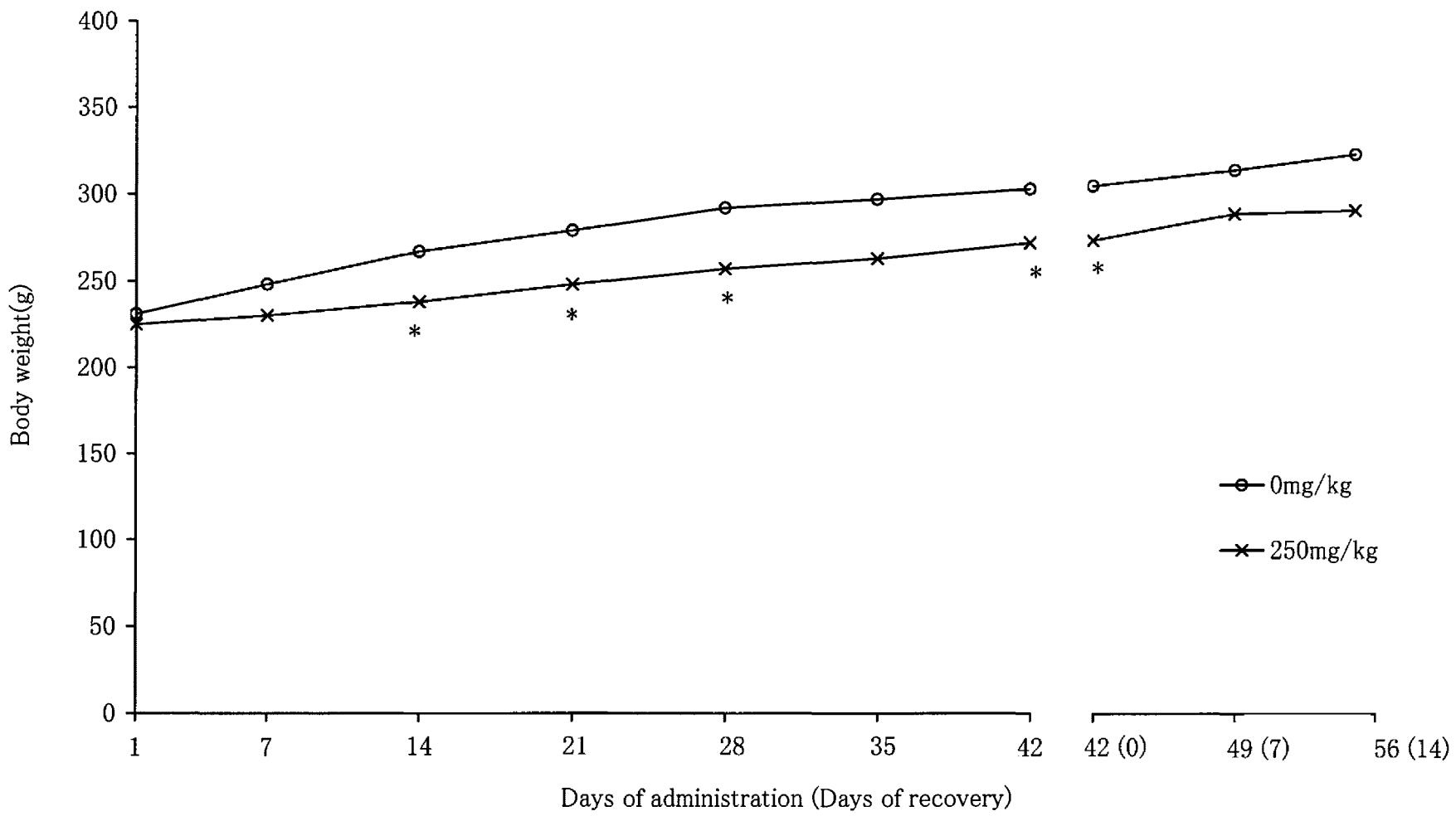


Fig. 2-2 Body weight changes of female rats of the satellite group treated with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

\* : Significantly different from control at 5% level of probability

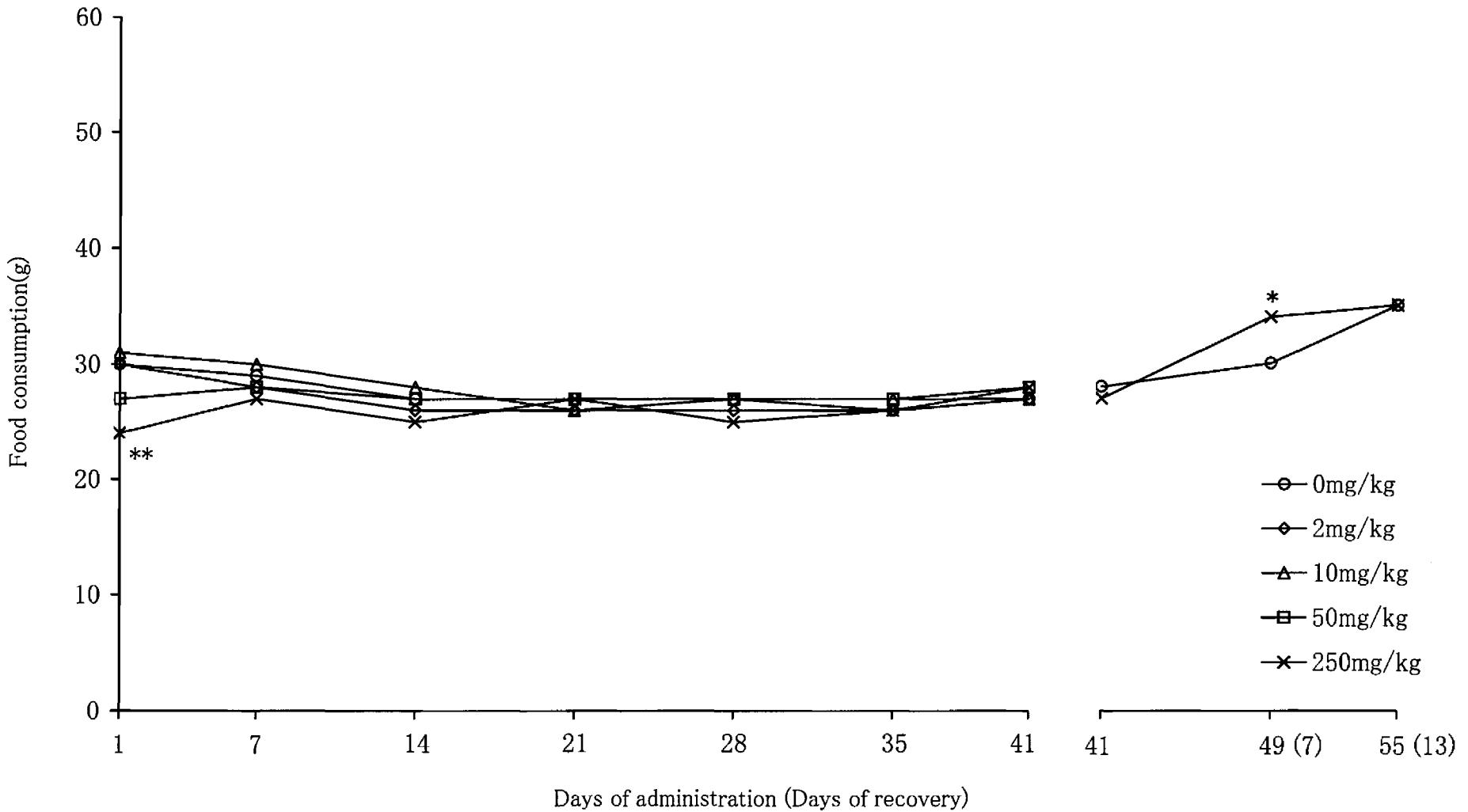


Fig.3 Food consumption changes of male rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

\* : Significantly different from control at 5% level of probability

\*\* : Significantly different from control at 1% level of probability

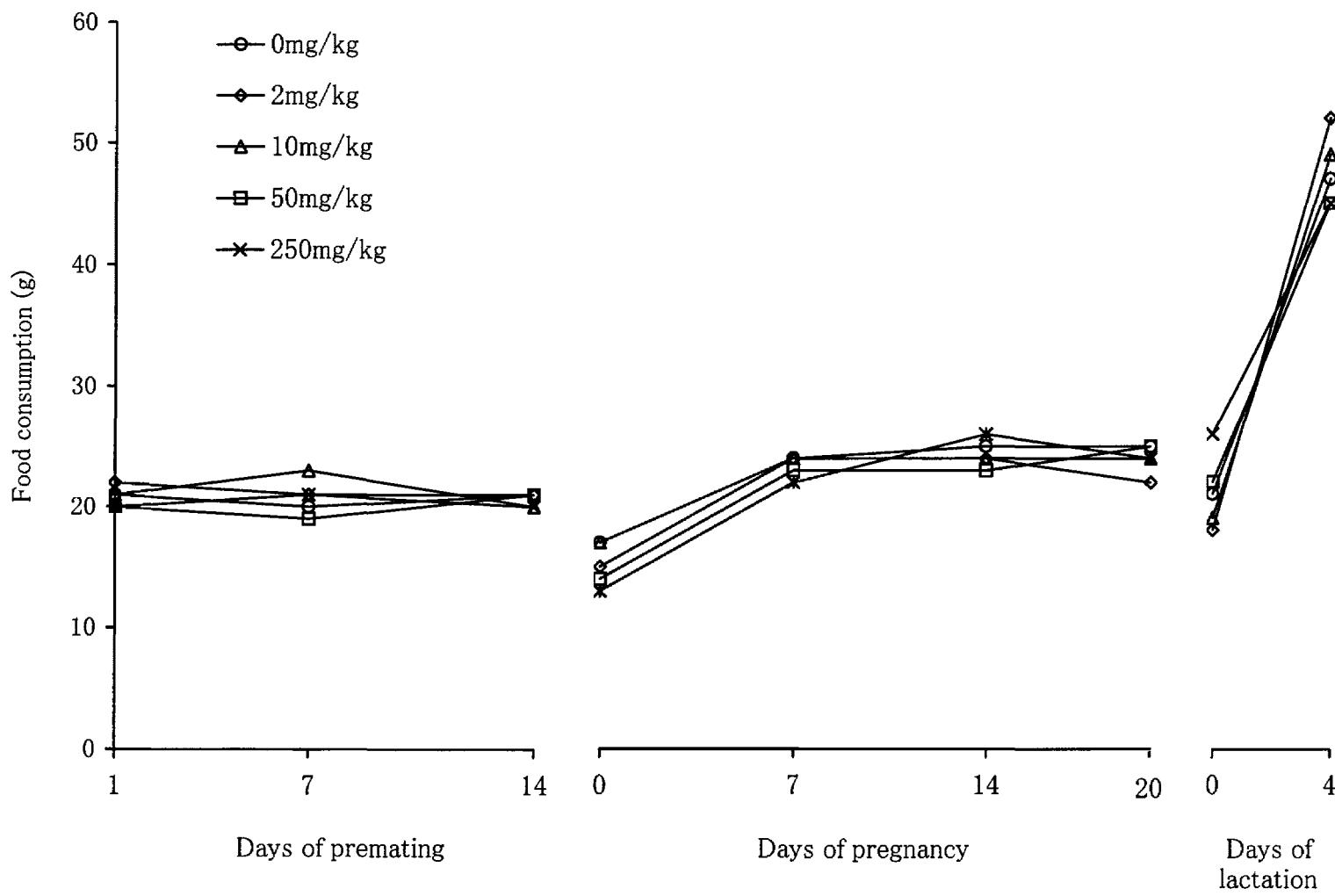


Fig. 4-1 Food consumption change in female rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

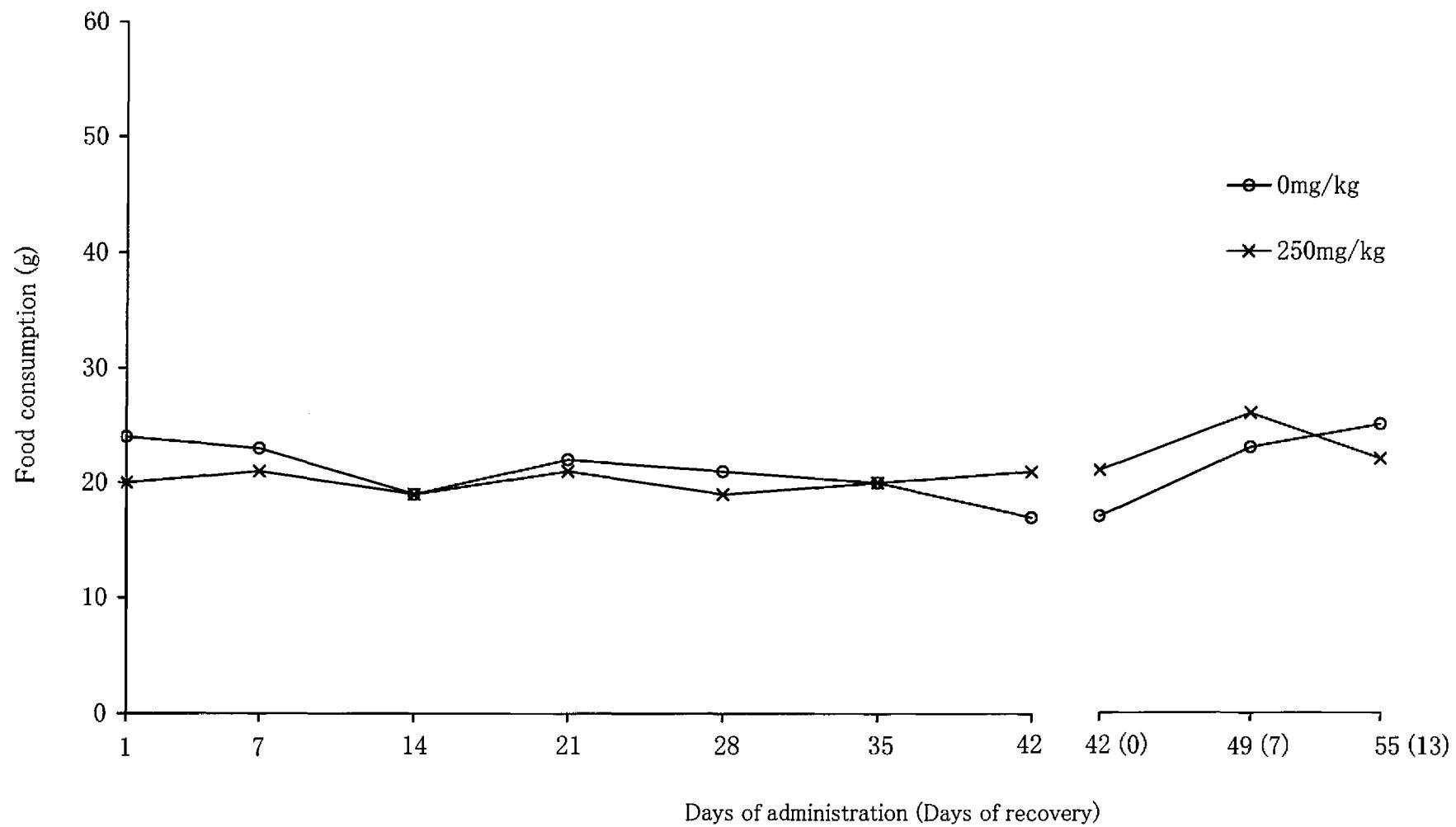


Fig. 4-2 Food consumption change in female rats of the satellite group treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

Table 1 Mortality rate of male rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg)	0	2	10	50	250
No. of animals examined	12	12	12	12	12
No. of animals that died	0	0	0	0	0
Mortality (%)	0	0	0	0	0

Table 2 Mortality rate of female rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg)	0	2	10	50	250
No. of animals examined	17	12	12	12	17
No. of animals that died	0	0	0	0	3
Mortality (%)	0	0	0	0	18

Table 3

Clinical signs of male rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

Clinical signs	Grade	Dose (mg/kg)	Administration period												Recovery period				
			0			2			10			50			250				
			Fate	TK	FP (Total)	TK	FP (Total)	TK	UC	FP (Total)	TK	FP (Total)	TK	FP (Total)	KR	FP (Total)	KR		
			No. of animals	11	1	(12) <sup>a</sup>	11	1	(12)	10	1	1	(12)	11	1	(12)	11	1	(12) <sup>a</sup>
Decrease in locomotor activity	-			11	1	(12)	11	1	(12)	10	1	1	(12)	9	1	(10)	0	0	(0)
	+			0	0	(0)	0	0	(0)	0	0	0	(0)	2	0	(2)	11	1	(12)**
Ptosis	-			11	1	(12)	11	1	(12)	10	1	1	(12)	9	1	(10)	2	1	(3)
	+			0	0	(0)	0	0	(0)	0	0	0	(0)	2	0	(2)	9	0	(9)**
♂ Salivation	-			11	1	(12)	11	1	(12)	10	1	1	(12)	11	1	(12)	8	1	(9)
	+			0	0	(0)	0	0	(0)	0	0	0	(0)	0	0	(0)	3	0	(3)
																4	1	(5)	
																5			

TK : Terminal killing.

KR : Killed by design after 14-day recovery period.

UC : Animal with unsuccessful copulation. FP : Failed to cause pregnancy.

+ : Slight. - : Negative.

a : Include 5 rats of recovery group.

\*\* : Significantly different from control at 1% level of probability.

Table 4-1 Clinical signs of female rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

Clinical signs	Grade	No. of animals	Dose (mg/kg)	0			2			10				50			250			
			Fate	TK	NP (Total)		TK	NP (Total)		TK	NP	UC	KL (Total)	TK	NP	KL	KE (Total)			
				11	1 (12)		11	1 (12)		9	1	1	1 (12)	10	1	1 (12)	7	1	1	3 (12)
Decrease in locomotor activity	-			11	1 (12)		11	1 (12)		9	1	1	1 (12)	8	1	0 (9)	0	0	0	0 (0)
	+			0	0 [ (0)		0	0 [ (0)		0	0	0	0 [ (0)	2	0	1 [ (3)	7	1	1	0 [ (12)**
	+++			0	0 [ (0)		0	0 [ (0)		0	0	0	0 [ (0)	0	0	0 [ (0)	0	0	0	3 [ (12)
Ptosis	-			11	1 (12)		11	1 (12)		9	1	1	1 (12)	8	1	0 (9)	4	1	1	1 (7)
	+			0	0 (0)		0	0 (0)		0	0	0	0 (0)	2	0	1 (3)	3	0	0	2 (5)*
Salivation	-			11	1 (12)		11	1 (12)		9	1	1	1 (12)	10	1	1 (12)	6	0	1	0 (7)
	+			0	0 (0)		0	0 (0)		0	0	0	0 (0)	0	0	0 (0)	1	1	0	3 (5)*
Cyanosis	-			11	1 (12)		11	1 (12)		9	1	1	1 (12)	10	1	1 (12)	7	1	1	2 (11)
	+			0	0 (0)		0	0 (0)		0	0	0	0 (0)	0	0	0 (0)	0	0	0	1 (1)
Prone position	-			11	1 (12)		11	1 (12)		9	1	1	1 (12)	10	1	1 (12)	7	1	1	0 (9)
	++			0	0 [ (0)		0	0 [ (0)		0	0	0	0 [ (0)	0	0	0 [ (0)	0	0	0	1 [ (3)
	+++			0	0 [ (0)		0	0 [ (0)		0	0	0	0 [ (0)	0	0	0 [ (0)	0	0	0	2 [ (3)
Hypothermia	-			11	1 (12)		11	1 (12)		9	1	1	1 (12)	10	1	1 (12)	7	1	1	0 (9)
	++			0	0 (0)		0	0 (0)		0	0	0	0 (0)	0	0	0 (0)	0	0	0	3 (3)
Reddish tear	-			11	1 (12)		11	1 (12)		9	1	1	1 (12)	10	1	1 (12)	7	1	1	1 (10)
	++			0	0 (0)		0	0 (0)		0	0	0	0 (0)	0	0	0 (0)	0	0	0	2 (2)
Weak respiration	-			11	1 (12)		11	1 (12)		9	1	1	1 (12)	10	1	1 (12)	7	1	1	1 (10)
	++			0	0 [ (0)		0	0 [ (0)		0	0	0	0 [ (0)	0	0	0 [ (0)	0	0	0	1 [ (2)
	+++			0	0 [ (0)		0	0 [ (0)		0	0	0	0 [ (0)	0	0	0 [ (0)	0	0	0	1 [ (2)
Soiled perineal region	-			11	1 (12)		11	1 (12)		9	1	1	1 (12)	10	1	1 (12)	7	1	1	2 (11)
	+			0	0 (0)		0	0 (0)		0	0	0	0 (0)	0	0	0 (0)	0	0	0	1 (1)

TK : Terminal kill on day 5 after parturition.

NP : Non-pregnant, killed on 27 days after copulation.

KE : Killed in extremis.

KL : Killed because all pups died after delivery.

UC : Animal with unsuccessful copulation.

\* : Significantly different from control at 5% level of probability.

\*\* : Significantly different from control at 1% level of probability.

- : Negative. + : Slight. ++ : Moderate. +++ : Severe.

Table 4-2 Clinical signs of female rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

Clinical signs	Grade	No. of animals	Dose (mg/kg)	0			2			10					50			250					
			Fate	TK	NP	(Total)	TK	NP	(Total)	TK	NP	UC	KL	(Total)	TK	NP	KL	(Total)	TK	NP	KL	KE	(Total)
				11	1	(12)	11	1	(12)	9	1	1	1	(12)	10	1	1	(12)	7	1	1	3	(12)
Deep respiration	-			11	1	(12)	11	1	(12)	9	1	1	1	(12)	10	1	1	(12)	7	1	1	2	(11)
	+++			0	0	(0)	0	0	(0)	0	0	0	0	(0)	0	0	0	(0)	0	0	0	1	(1)
Soiled fur	-			11	1	(12)	11	1	(12)	9	1	1	1	(12)	10	1	1	(12)	7	1	1	2	(11)
	++			0	0	(0)	0	0	(0)	0	0	0	0	(0)	0	0	0	(0)	0	0	0	1	(1)
Staggering gait	-			11	1	(12)	11	1	(12)	9	1	1	1	(12)	10	1	1	(12)	7	1	1	2	(11)
	+			0	0	(0)	0	0	(0)	0	0	0	0	(0)	0	0	0	(0)	0	0	0	1	(1)
Emaciation	-			11	1	(12)	11	1	(12)	9	1	1	1	(12)	10	1	1	(12)	7	1	1	2	(11)
	+++			0	0	(0)	0	0	(0)	0	0	0	0	(0)	0	0	0	(0)	0	0	0	1	(1)

TK : Terminal kill on day 5 after parturition.

NP : Non-pregnant, killed on 27 days after copulation.

KE : Killed in extremis.

KL : Killed because all pups died after delivery.

UC : Animal with unsuccessful copulation.

- : Negative. + : Slight. ++ : Moderate. +++ : Severe.

Table 4-3 Clinical signs of female rats of the satellite group treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

Clinical signs	Grade	No. of animals	Administration period		Recovery period	
			Dose (mg/kg)	0 KR	250 KR	0 KR
			Fate	5	5	5
Decrease in locomotor activity	-			5	0	5
	+			0	5 **	0
Ptosis	-			5	2	5
	+			0	3	0
Salivation	-			5	3	5
	+			0	2	0

KR : Killed by design after 14-day recovery period.

\*\* : Significantly different from control at 1% level of probability.

- : Negative. + : Slight.

Table 5-1 Incidence of detailed clinical signs in the FOB(Functional Observation Batteries) of male rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

< Before administration period >

Items	Dose(mg/kg) No. of animals	0	2	10	50	250
		12	12	12	12	12
Reactivity on removal from the cage	Normal	12	12	12	12	12
Reactivity on handling	Normal	12	12	12	12	12
Muscle tone	Normal	12	12	12	12	12
Skin	Normal	12	12	12	12	12
Fur	Normal	12	12	12	12	12
Piloerection	Not detected	12	12	12	12	12
Eye discharge	Not detected	12	12	12	12	12
Palpebral closure	Not detected	12	12	12	12	12
Exophthalmos	Not detected	12	12	12	12	12
Lacrimation	Not detected	12	12	12	12	12
Smudge around mouth-nose	Not detected	12	12	12	12	12
Salivation	Not detected	12	12	12	12	12
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected	12	12	12	12	12
Blotted fur around anus with feces	Not detected	12	12	12	12	12
Vocalization	Not detected Temporally in handling	11 1	12 0	12 0	12 0	12 0
Breathing	Normal	12	12	12	12	12
Body position	Normal	12	12	12	12	12
Convulsion	Not detected	12	12	12	12	12
Tremor	Not detected	12	12	12	12	12
Exploration	Normal	12	12	12	12	12
Alertness	Normal	12	12	12	12	12
Locomotor activity	Normal	12	12	12	12	12
Walk	Normal	12	12	12	12	12
Abnormal behavior	Normal	12	12	12	12	12
Stereotypy	Not detected	12	12	12	12	12
Failure of consciousness	Not detected	12	12	12	12	12
Limb tone	Normal	12	12	12	12	12
Urination	Not detected or 1 2 or more	12 0	12 0	12 0	12 0	12 0
	Color:Pale yellow	1/1	-	-	2/2	2/2
Defecation	Not detected or 1 2 or more	12 0	12 0	12 0	12 0	12 0
	Appearance:Normal	-	-	-	1/1	2/2

Table 5-2 Incidence of detailed clinical signs in the FOB(Functional Observation Batteries) of male rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

< On week 1 of administration period >

Items	Dose(mg/kg) No. of animals	0	2	10	50	250
		12	12	12	12	12
Reactivity on removal from the cage	Normal	12	12	12	12	12
Reactivity on handling	Normal	12	12	12	12	12
Muscle tone	Normal	12	12	12	12	12
Skin	Normal	12	12	12	12	12
Fur	Normal	12	12	12	12	12
Piloerection	Not detected	12	12	12	12	12
Eye discharge	Not detected	12	12	12	12	12
Palpebral closure	Not detected	12	12	12	12	12
Exophthalmos	Not detected	12	12	12	12	12
Lacrimation	Not detected	12	12	12	12	12
Smudge around mouth-nose	Not detected	12	12	12	12	12
Salivation	Not detected	12	12	12	12	12
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected	12	12	12	12	12
Blotted fur around anus with feces	Not detected	12	12	12	12	12
Vocalization	Not detected	11	12	9	10	12
	Temporally in handling	1	0	3	2	0
Breathing	Normal	12	12	12	12	12
Body position	Normal	12	12	12	12	12
Convulsion	Not detected	12	12	12	12	12
Tremor	Not detected	12	12	12	12	12
Exploration	Normal	12	12	12	12	12
Alertness	Normal	12	12	12	12	12
Locomotor activity	Normal	12	12	12	12	12
Walk	Normal	12	12	12	12	12
Abnormal behavior	Normal	12	12	12	12	12
Stereotypy	Not detected	12	12	12	12	12
Failure of consciousness	Not detected	12	12	12	12	12
Limb tone	Normal	12	12	12	12	12
Urination	Not detected or 1	12	11	12	12	12
	2 or more	0	1	0	0	0
	Color:Pale yellow	3/3	3/3	4/4	3/3	-
Defecation	Not detected or 1	12	12	12	12	12
	2 or more	0	0	0	0	0
	Appearance:Normal	-	2/2	3/3	-	1/1

Table 5-3 Incidence of detailed clinical signs in the FOB(Functional Observation Batteries) of male rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

< On week 2 of administration period >

Items	Dose(mg/kg) No. of animals	0	2	10	50	250
		12	12	12	12	12
Reactivity on removal from the cage	Normal	12	12	12	12	12
Reactivity on handling	Normal	12	12	12	12	12
Muscle tone	Normal	12	12	12	12	12
Skin	Normal	12	12	12	12	12
Fur	Normal	12	12	12	12	12
Piloerection	Not detected	12	12	12	12	12
Eye discharge	Not detected	12	12	12	12	12
Palpebral closure	Not detected	12	12	12	12	12
Exophthalmos	Not detected	12	12	12	12	12
Lacration	Not detected	12	12	12	12	12
Smudge around mouth-nose	Not detected	12	12	12	12	12
Salivation	Not detected	12	12	12	12	12
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected	12	12	12	12	12
Blotted fur around anus with feces	Not detected	12	12	12	12	12
Vocalization	Not detected Temporally in handling	11 1	12 0	11 1	11 1	12 0
Breathing	Normal	12	12	12	12	12
Body position	Normal	12	12	12	12	12
Convulsion	Not detected	12	12	12	12	12
Tremor	Not detected	12	12	12	12	12
Exploration	Normal	12	12	12	12	12
Alertness	Normal	12	12	12	12	12
Locomotor activity	Normal	12	12	12	12	12
Walk	Normal	12	12	12	12	12
Abnormal behavior	Normal	12	12	12	12	12
Stereotypy	Not detected	12	12	12	12	12
Failure of consciousness	Not detected	12	12	12	12	12
Limb tone	Normal	12	12	12	12	12
Urination	Not detected or 1 2 or more Color:Pale yellow	12 0 4/4	12 0 -	12 0 1/1	12 0 3/3	12 0 -
Defecation	Not detected or 1 2 or more Appearance:Normal	12 0 -	12 0 -	12 0 1/1	12 0 -	12 0 -

Table 5-4 Incidence of detailed clinical signs in the FOB(Functional Observation Batteries) of male rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

< On week 3 of administration period >

Items		Dose(mg/kg)	0	2	10	50	250
		No. of animals	12	12	12	12	12
Reactivity on removal from the cage	Normal		12	12	12	12	12
Reactivity on handling	Normal		12	12	12	12	12
Muscle tone	Normal		12	12	12	12	12
Skin	Normal		12	12	12	12	12
Fur	Normal		12	12	12	12	12
Piloerection	Not detected		12	12	12	12	12
Eye discharge	Not detected		12	12	12	12	12
Palpebral closure	Not detected		12	12	12	12	12
Exophthalmos	Not detected		12	12	12	12	12
Lacrimation	Not detected		12	12	12	12	12
Smudge around mouth-nose	Not detected		12	12	12	12	12
Salivation	Not detected		12	12	12	12	12
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		12	12	12	12	12
Blotted fur around anus with feces	Not detected		12	12	12	12	12
Vocalization	Not detected		12	12	10	12	12
	Temporally in handling		0	0	2	0	0
Breathing	Normal		12	12	12	12	12
Body position	Normal		12	12	12	12	12
Convulsion	Not detected		12	12	12	12	12
Tremor	Not detected		12	12	12	12	12
Exploration	Normal		12	12	12	12	12
Alertness	Normal		12	12	12	12	12
Locomotor activity	Normal		12	12	12	12	12
Walk	Normal		12	12	12	12	12
Abnormal behavior	Normal		12	12	12	12	12
Stereotypy	Not detected		12	12	12	12	12
Failure of consciousness	Not detected		12	12	12	12	12
Limb tone	Normal		12	12	12	12	12
Urination	Not detected or 1		12	11	12	12	12
	2 or more		0	1	0	0	0
	Color:Pale yellow		3/3	4/4	1/1	2/2	1/1
Defecation	Not detected or 1		12	12	12	12	12
	2 or more		0	0	0	0	0
	Appearance:Normal		-	-	-	-	-

Table 5-5 Incidence of detailed clinical signs in the FOB(Functional Observation Batteries) of male rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

< On week 4 of administration period >

Items		Dose(mg/kg)	0	2	10	50	250
		No. of animals	12	12	12	12	12
Reactivity on removal from the cage	Normal		12	12	12	12	12
Reactivity on handling	Normal		12	12	12	12	12
Muscle tone	Normal		12	12	12	12	12
Skin	Normal		12	12	12	12	12
Fur	Normal		12	12	12	12	12
Piloerection	Not detected		12	12	12	12	12
Eye discharge	Not detected		12	12	12	12	12
Palpebral closure	Not detected		12	12	12	12	12
Exophthalmos	Not detected		12	12	12	12	12
Lacration	Not detected		12	12	12	12	12
Smudge around mouth-nose	Not detected		12	12	12	12	12
Salivation	Not detected		12	12	12	12	12
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		12	12	12	12	12
Blotted fur around anus with feces	Not detected		12	12	12	12	12
Vocalization	Not detected		12	12	10	11	12
	Temporally in handling		0	0	2	1	0
Breathing	Normal		12	12	12	12	12
Body position	Normal		12	12	12	12	12
Convulsion	Not detected		12	12	12	12	12
Tremor	Not detected		12	12	12	12	12
Exploration	Normal		12	12	12	12	12
Alertness	Normal		12	12	12	12	12
Locomotor activity	Normal		12	12	12	12	12
Walk	Normal		12	12	12	12	12
Abnormal behavior	Normal		12	12	12	12	12
Stereotypy	Not detected		12	12	12	12	12
Failure of consciousness	Not detected		12	12	12	12	12
Limb tone	Normal		12	12	12	12	12
Urination	Not detected or 1		12	10	11	10	12
	2 or more		0	2	1	2	0
	Color:Pale yellow	3/3	5/5	3/3	4/4	1/1	
Defecation	Not detected or 1		12	12	12	12	12
	2 or more	0	0	0	0	0	
	Appearance:Normal	-	-	-	-	-	

Table 5-6 Incidence of detailed clinical signs in the FOB(Functional Observation Batteries) of male rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

< On week 5 of administration period >

Items	Dose(mg/kg) No. of animals	0	2	10	50	250
		12	12	12	12	12
Reactivity on removal from the cage	Normal	12	12	12	12	12
Reactivity on handling	Normal	12	12	12	12	12
Muscle tone	Normal	12	12	12	12	12
Skin	Normal	12	12	12	12	12
Fur	Normal	12	12	12	12	12
Piloerection	Not detected	12	12	12	12	12
Eye discharge	Not detected	12	12	12	12	12
Palpebral closure	Not detected	12	12	12	12	12
Exophthalmos	Not detected	12	12	12	12	12
Lacration	Not detected	12	12	12	12	12
Smudge around mouth-nose	Not detected	12	12	12	12	12
Salivation	Not detected	12	12	12	12	12
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected	12	12	12	12	12
Blotted fur around anus with feces	Not detected	12	12	12	12	12
Vocalization	Not detected Temporally in handling	11 1	12 0	8 4	10 2	10 2
Breathing	Normal	12	12	12	12	12
Body position	Normal	12	12	12	12	12
Convulsion	Not detected	12	12	12	12	12
Tremor	Not detected	12	12	12	12	12
Exploration	Normal	12	12	12	12	12
Alertness	Normal	12	12	12	12	12
Locomotor activity	Normal	12	12	12	12	12
Walk	Normal	12	12	12	12	12
Abnormal behavior	Normal	12	12	12	12	12
Stereotypy	Not detected	12	12	12	12	12
Failure of consciousness	Not detected	12	12	12	12	12
Limb tone	Normal	12	12	12	12	12
Urination	Not detected or 1 2 or more	12 0	12 0	12 0	12 0	12 0
	Color: Pale yellow	1/1	2/2	1/1	2/2	2/2
Defecation	Not detected or 1 2 or more	12 0	12 0	12 0	12 0	12 0
	Appearance:Normal	-	-	-	-	-

Table 5-7 Incidence of detailed clinical signs in the FOB(Functional Observation Batteries) of male rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

< On week 6 of administration period >

Items		Dose(mg/kg)	0	2	10	50	250
		No. of animals	12	12	12	12	12
Reactivity on removal from the cage	Normal		12	12	12	12	12
Reactivity on handling	Normal		12	12	12	12	11
	Slight		0	0	0	0	1
Muscle tone	Normal		12	12	12	12	12
Skin	Normal		12	12	12	12	12
Fur	Normal		12	12	12	12	12
Piloerection	Not detected		12	12	12	12	12
Eye discharge	Not detected		12	12	12	12	12
Palpebral closure	Not detected		12	12	12	12	12
Exophthalmos	Not detected		12	12	12	12	12
Lacrimation	Not detected		12	12	12	12	12
Smudge around mouth-nose	Not detected		12	12	12	12	12
Salivation	Not detected		12	12	12	12	12
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		12	12	12	12	12
Blotted fur around anus with feces	Not detected		12	12	12	12	12
Vocalization	Not detected		10	11	10	11	9
	Temporally in handling		2	1	2	1	3
Breathing	Normal		12	12	12	12	12
Body position	Normal		12	12	12	12	12
Convulsion	Not detected		12	12	12	12	12
Tremor	Not detected		12	12	12	12	12
Exploration	Normal		12	12	12	12	12
Alertness	Normal		12	12	12	12	12
Locomotor activity	Normal		12	12	12	12	12
Walk	Normal		12	12	12	12	12
Abnormal behavior	Normal		12	12	12	12	12
Stereotypy	Not detected		12	12	12	12	12
Failure of consciousness	Not detected		12	12	12	12	12
Limb tone	Normal		12	12	12	12	12
Urination	Not detected or 1		12	11	12	12	12
	2 or more		0	1	0	0	0
Defecation	Color:Pale yellow		3/3	4/4	3/3	2/2	1/1
	Not detected or 1		12	12	12	12	12
	2 or more		0	0	0	0	0
	Appearance:Normal		-	-	1/1	-	-

Table 5-8 Incidence of detailed clinical signs in the FOB(Functional Observation Batteries) of male rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dosotoxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

< On week 1 of recovery period >

Items		Dose(mg/kg)	0	250
		No. of animals	5	5
Reactivity on removal from the cage	Normal		5	5
Reactivity on handling	Normal		5	5
Muscle tone	Normal		5	5
Skin	Normal		5	5
Fur	Normal		5	5
Piloerection	Not detected		5	5
Eye discharge	Not detected		5	5
Palpebral closure	Not detected		5	5
Exophthalmos	Not detected		5	5
Lacration	Not detected		5	5
Smudge around mouth-nose	Not detected		5	5
Salivation	Not detected		5	5
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		5	5
Blotted fur around anus with feces	Not detected		5	5
Vocalization	Not detected		5	5
Breathing	Normal		5	5
Body position	Normal		5	5
Convulsion	Not detected		5	5
Tremor	Not detected		5	5
Exploration	Normal		5	5
Alertness	Normal		5	5
Locomotor activity	Normal		5	5
Walk	Normal		5	5
Abnormal behavior	Normal		5	5
Stereotypy	Not detected		5	5
Failure of consciousness	Not detected		5	5
Limb tone	Normal		5	5
Urination	Not detected or 1		5	5
	2 or more		0	0
Defecation	Color:Pale yellow	1/1		-
	Not detected or 1		5	5
	2 or more		0	0
	Appearance:Normal	-		-

Table 5-9 Incidence of detailed clinical signs in the FOB(Functional Observation Batteries) of male rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dosotoxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

< On week 2 of recovery period >

Items		Dose(mg/kg)	0	250
		No. of animals	5	5
Reactivity on removal from the cage	Normal		5	5
Reactivity on handling	Normal		5	5
Muscle tone	Normal		5	5
Skin	Normal		5	5
Fur	Normal		5	5
Piloerection	Not detected		5	5
Eye discharge	Not detected		5	5
Palpebral closure	Not detected		5	5
Exophthalmos	Not detected		5	5
Lacration	Not detected		5	5
Smudge around mouth-nose	Not detected		5	5
Salivation	Not detected		5	5
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		5	5
Blotted fur around anus with feces	Not detected		5	5
Vocalization	Not detected Temporally in handling	4 1	4 1	
Breathing	Normal	5	5	
Body position	Normal	5	5	
Convulsion	Not detected	5	5	
Tremor	Not detected	5	5	
Exploration	Normal	5	5	
Alertness	Normal	5	5	
Locomotor activity	Normal	5	5	
Walk	Normal	5	5	
Abnormal behavior	Normal	5	5	
Stereotypy	Not detected	5	5	
Failure of consciousness	Not detected	5	5	
Limb tone	Normal	5	5	
Urination	Not detected or 1 2 or more Color:Pale yellow	5 0 -	5 0 -	
Defecation	Not detected or 1 2 or more Appearance:Normal	5 0 -	5 0 -	

Table 6-1 Incidence of detailed clinical signs in the FOB(Functional Observation Batteries) of female rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

< Before administration period >

Items		Dose(mg/kg)	0	2	10	50	250
		No. of animals	12	12	12	12	12
Reactivity on removal from the cage	Normal		12	12	12	12	12
Reactivity on handling	Normal		12	12	12	12	12
Muscle tone	Normal		12	12	12	12	12
Skin	Normal		12	12	12	12	12
Fur	Normal		12	12	12	12	12
Piloerection	Not detected		12	12	12	12	12
Eye discharge	Not detected		12	12	12	12	12
Palpebral closure	Not detected		12	12	12	12	12
Exophthalmos	Not detected		12	12	12	12	12
Lacration	Not detected		12	12	12	12	12
Smudge around mouth-nose	Not detected		12	12	12	12	12
Salivation	Not detected		12	12	12	12	12
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		12	12	12	12	12
Blotted fur around anus with feces	Not detected		12	12	12	12	12
Vocalization	Not detected	11	8	10	12	11	
	Temporally in handling	1	4	2	0	1	
Breathing	Normal	12	12	12	12	12	
Body position	Normal	12	12	12	12	12	
Convulsion	Not detected	12	12	12	12	12	
Tremor	Not detected	12	12	12	12	12	
Exploration	Normal	12	12	12	12	12	
Alertness	Normal	12	12	12	12	12	
Locomotor activity	Normal	12	12	12	12	12	
Walk	Normal	12	12	12	12	12	
Abnormal behavior	Normal	12	12	12	12	12	
Stereotypy	Not detected	12	12	12	12	12	
Failure of consciousness	Not detected	12	12	12	12	12	
Limb tone	Normal	12	12	12	12	12	
Urination	Not detected or 1	12	11	12	12	12	
	2 or more	0	1	0	0	0	
	Color:Pale yellow	1/1	2/2	1/1	-	1/1	
Defecation	Not detected or 1	12	12	12	12	12	
	2 or more	0	0	0	0	0	
	Appearance:Normal	-	-	-	-	-	

Table 6-2 Incidence of detailed clinical signs in the FOB(Functional Observation Batteries) of female rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

< On week 1 of administration period >

Items		Dose(mg/kg)	0	2	10	50	250
		No. of animals	12	12	12	12	12
Reactivity on removal from the cage	Normal		12	12	12	12	12
Reactivity on handling	Normal		12	12	12	12	12
Muscle tone	Normal		12	12	12	12	12
Skin	Normal		12	12	12	12	12
Fur	Normal		12	12	12	12	12
Piloerection	Not detected		12	12	12	12	12
Eye discharge	Not detected		12	12	12	12	12
Palpebral closure	Not detected		12	12	12	12	12
Exophthalmos	Not detected		12	12	12	12	12
Lacration	Not detected		12	12	12	12	12
Smudge around mouth-nose	Not detected		12	12	12	12	12
Salivation	Not detected		12	12	12	12	12
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		12	12	12	12	12
Blotted fur around anus with feces	Not detected		12	12	12	12	12
Vocalization	Not detected		12	10	11	12	12
	Temporally in handling		0	2	1	0	0
Breathing	Normal		12	12	12	12	12
Body position	Normal		12	12	12	12	12
Convulsion	Not detected		12	12	12	12	12
Tremor	Not detected		12	12	12	12	12
Exploration	Normal		12	12	12	12	12
Alertness	Normal		12	12	12	12	12
Locomotor activity	Normal		12	12	12	12	12
Walk	Normal		12	12	12	12	12
Abnormal behavior	Normal		12	12	12	12	12
Stereotypy	Not detected		12	12	12	12	12
Failure of consciousness	Not detected		12	12	12	12	12
Limb tone	Normal		12	12	12	12	12
Urination	Not detected or 1		12	12	12	12	12
	2 or more		0	0	0	0	0
	Color:Pale yellow		-	-	1/1	-	-
Defecation	Not detected or 1		12	12	12	12	12
	2 or more		0	0	0	0	0
	Appearance:Normal		-	-	-	-	-

Table 6-3 Incidence of detailed clinical signs in the FOB(Functional Observation Batteries) of female rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

< On week 2 of administration period >

Items		Dose(mg/kg)	0	2	10	50	250
		No. of animals	12	12	12	12	12
Reactivity on removal from the cage	Normal		12	12	12	12	12
Reactivity on handling	Normal		12	12	12	12	12
Muscle tone	Normal		12	12	12	12	12
Skin	Normal		12	12	12	12	12
Fur	Normal		12	12	12	12	12
Piloerection	Not detected		12	12	12	12	12
Eye discharge	Not detected		12	12	12	12	12
Palpebral closure	Not detected		12	12	12	12	12
Exophthalmos	Not detected		12	12	12	12	12
Lacration	Not detected		12	12	12	12	12
Smudge around mouth-nose	Not detected		12	12	12	12	12
Salivation	Not detected		12	12	12	12	12
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		12	12	12	12	12
Blotted fur around anus with feces	Not detected		12	12	12	12	12
Vocalization	Not detected		12	10	11	11	12
	Temporally in handling		0	2	1	1	0
Breathing	Normal		12	12	12	12	12
Body position	Normal		12	12	12	12	12
Convulsion	Not detected		12	12	12	12	12
Tremor	Not detected		12	12	12	12	12
Exploration	Normal		12	12	12	12	12
Alertness	Normal		12	12	12	12	12
Locomotor activity	Normal		12	12	12	12	12
Walk	Normal		12	12	12	12	12
Abnormal behavior	Normal		12	12	12	12	12
Stereotypy	Not detected		12	12	12	12	12
Failure of consciousness	Not detected		12	12	12	12	12
Limb tone	Normal		12	12	12	12	12
Urination	Not detected or 1		12	12	12	12	12
	2 or more		0	0	0	0	0
	Color:Pale yellow		1/1	-	-	-	-
Defecation	Not detected or 1		12	12	12	12	12
	2 or more		0	0	0	0	0
	Appearance:Normal		-	-	-	-	-

Table 6-4 Incidence of detailed clinical signs in the FOB(Functional Observation Batteries) of female rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

< On week 3 of administration period >

Items		Dose(mg/kg)	0	2	10	50	250
		No. of animals	12	12	12	12	12
Reactivity on removal from the cage	Normal		12	12	12	12	12
Reactivity on handling	Normal		12	12	12	12	12
Muscle tone	Normal		12	12	12	12	12
Skin	Normal		12	12	12	12	12
Fur	Normal		12	12	12	12	12
Piloerection	Not detected		12	12	12	12	12
Eye discharge	Not detected		12	12	12	12	12
Palpebral closure	Not detected		12	12	12	12	12
Exophthalmos	Not detected		12	12	12	12	12
Lacration	Not detected		12	12	12	12	12
Smudge around mouth-nose	Not detected		12	12	12	12	12
Salivation	Not detected		12	12	12	12	12
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		12	12	12	12	12
Blotted fur around anus with feces	Not detected		12	12	12	12	12
Vocalization	Not detected	11	11	12	10	12	
	Temporally in handling	1	1	0	2	0	
Breathing	Normal	12	12	12	12	12	
Body position	Normal	12	12	12	12	12	
Convulsion	Not detected	12	12	12	12	12	
Tremor	Not detected	12	12	12	12	12	
Exploration	Normal	12	12	12	12	12	
Alertness	Normal	12	12	12	12	12	
Locomotor activity	Normal	12	12	12	12	12	
Walk	Normal	12	12	12	12	12	
Abnormal behavior	Normal	12	12	12	12	12	
Stereotypy	Not detected	12	12	12	12	12	
Failure of consciousness	Not detected	12	12	12	12	12	
Limb tone	Normal	12	12	12	12	12	
Urination	Not detected or 1	12	12	12	12	12	
	2 or more	0	0	0	0	0	
	Color:Pale yellow	3/3	1/1	-	2/2	1/1	
Defecation	Not detected or 1	12	12	12	12	12	
	2 or more	0	0	0	0	0	
	Appearance:Normal	-	-	-	-	-	

Table 6-5 Incidence of detailed clinical signs in the FOB(Functional Observation Batteries) of female rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

< On week 4 of administration period >

Items		Dose(mg/kg)	0	2	10	50	250
		No. of animals	12	12	12	12	11
Reactivity on removal from the cage	Normal		12	12	12	12	11
Reactivity on handling	Normal		12	12	12	12	11
Muscle tone	Normal		12	12	12	12	11
Skin	Normal		12	12	12	12	11
Fur	Normal		12	12	12	12	11
Piloerection	Not detected		12	12	12	12	11
Eye discharge	Not detected		12	12	12	12	11
Palpebral closure	Not detected		12	12	12	12	11
Exophthalmos	Not detected		12	12	12	12	11
Lacrimation	Not detected		12	12	12	12	11
Smudge around mouth-nose	Not detected		12	12	12	12	11
Salivation	Not detected		12	12	12	12	11
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		12	12	12	12	11
Blotted fur around anus with feces	Not detected		12	12	12	12	11
Vocalization	Not detected	10	9	12	9	10	
	Temporally in handling	2	3	0	3	1	
Breathing	Normal	12	12	12	12	11	
Body position	Normal	12	12	12	12	11	
Convulsion	Not detected	12	12	12	12	11	
Tremor	Not detected	12	12	12	12	11	
Exploration	Normal	12	12	12	12	11	
Alertness	Normal	12	12	12	12	11	
Locomotor activity	Normal	12	12	12	12	11	
Walk	Normal	12	12	12	12	11	
Abnormal behavior	Normal	12	12	12	12	11	
Stereotypy	Not detected	12	12	12	12	11	
Failure of consciousness	Not detected	12	12	12	12	11	
Limb tone	Normal	12	12	12	12	11	
Urination	Not detected or 1	12	12	12	12	11	
	2 or more	0	0	0	0	0	
	Color:Pale yellow	2/2	2/2	-	1/1	1/1	
Defecation	Not detected or 1	12	12	12	12	11	
	2 or more	0	0	0	0	0	
	Appearance:Normal	-	-	-	-	-	

Table 6-6 Incidence of detailed clinical signs in the FOB(Functional Observation Batteries) of female rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

< On week 5 of administration period >

Items		Dose(mg/kg)	0	2	10	50	250
		No. of animals	12	12	12	12	11
Reactivity on removal from the cage	Normal		12	12	12	12	11
Reactivity on handling	Normal		12	12	12	12	11
Muscle tone	Normal		12	12	12	12	11
Skin	Normal		12	12	12	12	11
Fur	Normal		12	12	12	12	11
Piloerection	Not detected		12	12	12	12	11
Eye discharge	Not detected		12	12	12	12	11
Palpebral closure	Not detected		12	12	12	12	11
Exophthalmos	Not detected		12	12	12	12	11
Lacrimation	Not detected		12	12	12	12	11
Smudge around mouth-nose	Not detected		12	12	12	12	11
Salivation	Not detected		12	12	12	12	11
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		12	12	12	12	10
	Moderate		0	0	0	0	1
Blotted fur around anus with feces	Not detected		12	12	12	12	11
Vocalization	Not detected		9	10	12	10	11
	Temporally in handling		3	2	0	2	0
Breathing	Normal		12	12	12	12	11
Body position	Normal		12	12	12	12	11
Convulsion	Not detected		12	12	12	12	11
Tremor	Not detected		12	12	12	12	11
Exploration	Normal		12	12	12	12	11
Alertness	Normal		12	12	12	12	11
Locomotor activity	Normal		12	12	12	12	11
Walk	Normal		12	12	12	12	11
Abnormal behavior	Normal		12	12	12	12	11
Stereotypy	Not detected		12	12	12	12	11
Failure of consciousness	Not detected		12	12	12	12	11
Limb tone	Normal		12	12	12	12	11
Urination	Not detected or 1		12	12	12	12	11
	2 or more		0	0	0	0	0
	Color:Pale yellow		1/1	1/1	2/2	1/1	1/1
Defecation	Not detected or 1		12	12	12	12	11
	2 or more		0	0	0	0	0
	Appearance:Normal		-	-	-	-	-

Table 6-7 Incidence of detailed clinical signs in the FOB(Functional Observation Batteries) of female rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

< On week 6 of administration period >

Items		Dose(mg/kg)	0	2	10	50	250
		No. of animals	12	12	12	12	9
Reactivity on removal from the cage	Normal		12	12	12	12	9
Reactivity on handling	Normal		12	12	12	12	9
Muscle tone	Normal		12	12	12	12	9
Skin	Normal		12	12	12	12	9
Fur	Normal		12	12	12	12	9
Piloerection	Not detected		12	12	12	12	9
Eye discharge	Not detected		12	12	12	12	9
Palpebral closure	Not detected		12	12	12	12	9
Exophthalmos	Not detected		12	12	12	12	9
Lacration	Not detected		12	12	12	12	9
Smudge around mouth-nose	Not detected		12	12	12	12	9
Salivation	Not detected		12	12	12	12	9
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		12	12	12	12	9
Blotted fur around anus with feces	Not detected		12	12	12	12	9
Vocalization	Not detected	9	10	12	11	9	
	Temporally in handling	3	2	0	1	0	
Breathing	Normal	12	12	12	12	9	
Body position	Normal	12	12	12	12	9	
Convulsion	Not detected	12	12	12	12	9	
Tremor	Not detected	12	12	12	12	9	
Exploration	Normal	12	12	12	12	9	
Alertness	Normal	12	12	12	12	9	
Locomotor activity	Normal	12	12	12	12	9	
Walk	Normal	12	12	12	12	9	
Abnormal behavior	Normal	12	12	12	12	9	
Stereotypy	Not detected	12	12	12	12	9	
Failure of consciousness	Not detected	12	12	12	12	9	
Limb tone	Normal	12	12	12	12	9	
Urination	Not detected or 1	12	12	12	12	9	
	2 or more	0	0	0	0	0	
	Color:Pale yellow	4/4	—	—	—	—	
Defecation	Not detected or 1	12	12	12	12	9	
	2 or more	0	0	0	0	0	
	Appearance:Normal	—	—	—	—	—	

Table 6-8 Incidence of detailed clinical signs in the FOB(Functional Observation Batteries) of female rats of the satellite group treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dosetoxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

< Before administration period >

Items		Dose(mg/kg)	0	250
		No. of animals	5	5
Reactivity on removal from the cage	Normal		5	5
Reactivity on handling	Normal		5	5
Muscle tone	Normal		5	5
Skin	Normal		5	5
Fur	Normal		5	5
Piloerection	Not detected		5	5
Eye discharge	Not detected		5	5
Palpebral closure	Not detected		5	5
Exophthalmos	Not detected		5	5
Lacration	Not detected		5	5
Smudge around mouth-nose	Not detected		5	5
Salivation	Not detected		5	5
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		5	5
Blotted fur around anus with feces	Not detected		5	5
Vocalization	Not detected Temporally in handling	4 1	5 0	
Breathing	Normal		5	5
Body position	Normal		5	5
Convulsion	Not detected		5	5
Tremor	Not detected		5	5
Exploration	Normal		5	5
Alertness	Normal		5	5
Locomotor activity	Normal		5	5
Walk	Normal		5	5
Abnormal behavior	Normal		5	5
Stereotypy	Not detected		5	5
Failure of consciousness	Not detected		5	5
Limb tone	Normal		5	5
Urination	Not detected or 1 2 or more Color:Pale yellow	5 0 -	5 0 -	
Defecation	Not detected or 1 2 or more Appearance:Normal	5 0 -	5 0 -	

Table 6-9 Incidence of detailed clinical signs in the FOB(Functional Observation Batteries) of female rats of the satellite group treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dosetoxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

< On week 1 of administration period >

Items		Dose(mg/kg)	0	250
		No. of animals	5	5
Reactivity on removal from the cage	Normal		5	5
Reactivity on handling	Normal		5	5
Muscle tone	Normal		5	5
Skin	Normal		5	5
Fur	Normal		5	5
Piloerection	Not detected		5	5
Eye discharge	Not detected		5	5
Palpebral closure	Not detected		5	5
Exophthalmos	Not detected		5	5
Lacration	Not detected		5	5
Smudge around mouth-nose	Not detected		5	5
Salivation	Not detected		5	5
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		5	5
Blotted fur around anus with feces	Not detected		5	5
Vocalization	Not detected	4		4
	Temporally in handling	1		1
Breathing	Normal	5		5
Body position	Normal	5		5
Convulsion	Not detected	5		5
Tremor	Not detected	5		5
Exploration	Normal	5		5
Alertness	Normal	5		5
Locomotor activity	Normal	5		5
Walk	Normal	5		5
Abnormal behavior	Normal	5		5
Stereotypy	Not detected	5		5
Failure of consciousness	Not detected	5		5
Limb tone	Normal	5		5
Urination	Not detected or 1 2 or more Color:Pale yellow	5 0 -	0 0 -	0 0 -
Defecation	Not detected or 1 2 or more Appearance:Normal	5 0 -	5 0 -	5 0 -

Table 6-10 Incidence of detailed clinical signs in the FOB(Functional Observation Batteries) of female rats of the satellite group treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dosotoxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

< On week 2 of administration period >

Items		Dose(mg/kg)	0	250
		No. of animals	5	5
Reactivity on removal from the cage	Normal		5	5
Reactivity on handling	Normal		5	5
Muscle tone	Normal		5	5
Skin	Normal		5	5
Fur	Normal		5	5
Piloerection	Not detected		5	5
Eye discharge	Not detected		5	5
Palpebral closure	Not detected		5	5
Exophthalmos	Not detected		5	5
Lacrimation	Not detected		5	5
Smudge around mouth-nose	Not detected		5	5
Salivation	Not detected		5	5
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		5	5
Blotted fur around anus with feces	Not detected		5	5
Vocalization	Not detected	3	5	
	Temporally in handling	2	0	
Breathing	Normal	5	5	
Body position	Normal	5	5	
Convulsion	Not detected	5	5	
Tremor	Not detected	5	5	
Exploration	Normal	5	5	
Alertness	Normal	5	5	
Locomotor activity	Normal	5	5	
Walk	Normal	5	5	
Abnormal behavior	Normal	5	5	
Stereotypy	Not detected	5	5	
Failure of consciousness	Not detected	5	5	
Limb tone	Normal	5	5	
Urination	Not detected or 1	5	5	
	2 or more	0	0	
	Color:Pale yellow	-	-	
Defecation	Not detected or 1	5	5	
	2 or more	0	0	
	Appearance:Normal	-	-	

Table 6-11 Incidence of detailed clinical signs in the FOB(Functional Observation Batteries) of female rats of the satellite group treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dosetoxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

< On week 3 of administration period >

Items		Dose(mg/kg)	0	250
		No. of animals	5	5
Reactivity on removal from the cage	Normal		5	5
Reactivity on handling	Normal		5	5
Muscle tone	Normal		5	5
Skin	Normal		5	5
Fur	Normal		5	5
Piloerection	Not detected		5	5
Eye discharge	Not detected		5	5
Palpebral closure	Not detected		5	5
Exophthalmos	Not detected		5	5
Lacration	Not detected		5	5
Smudge around mouth-nose	Not detected		5	5
Salivation	Not detected		5	5
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		5	5
Blotted fur around anus with feces	Not detected		5	5
Vocalization	Not detected Temporally in handling	3 2	5 0	
Breathing	Normal		5	5
Body position	Normal		5	5
Convulsion	Not detected		5	5
Tremor	Not detected		5	5
Exploration	Normal		5	5
Alertness	Normal		5	5
Locomotor activity	Normal		5	5
Walk	Normal		5	5
Abnormal behavior	Normal		5	5
Stereotypy	Not detected		5	5
Failure of consciousness	Not detected		5	5
Limb tone	Normal		5	5
Urination	Not detected or 1 2 or more Color:Pale yellow	5 0 -	5 0 -	
Defecation	Not detected or 1 2 or more Appearance:Normal	5 0 -	5 0 -	

Table 6-12 Incidence of detailed clinical signs in the FOB(Functional Observation Batteries) of female rats of the satellite group treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dosetoxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

< On week 4 of administration period >

Items		Dose(mg/kg)	0	250
		No. of animals	5	5
Reactivity on removal from the cage	Normal		5	5
Reactivity on handling	Normal		5	5
Muscle tone	Normal		5	5
Skin	Normal		5	5
Fur	Normal		5	5
Piloerection	Not detected		5	5
Eye discharge	Not detected		5	5
Palpebral closure	Not detected		5	5
Exophthalmos	Not detected		5	5
Lacration	Not detected		5	5
Smudge around mouth-nose	Not detected		5	5
Salivation	Not detected		5	5
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		5	5
Blotted fur around anus with feces	Not detected		5	5
Vocalization	Not detected Temporally in handling	4 1	5 0	
Breathing	Normal		5	5
Body position	Normal		5	5
Convulsion	Not detected		5	5
Tremor	Not detected		5	5
Exploration	Normal		5	5
Alertness	Normal		5	5
Locomotor activity	Normal		5	5
Walk	Normal		5	5
Abnormal behavior	Normal		5	5
Stereotypy	Not detected		5	5
Failure of consciousness	Not detected		5	5
Limb tone	Normal		5	5
Urination	Not detected or 1 2 or more Color: Pale yellow	5 0 -	5 0 -	
Defecation	Not detected or 1 2 or more Appearance:Normal	5 0 -	5 0 -	

Table 6-13 Incidence of detailed clinical signs in the FOB(Functional Observation Batteries) of female rats of the satellite group treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dosetoxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

< On week 5 of administration period >

Items		Dose(mg/kg)	0	250
		No. of animals	5	5
Reactivity on removal from the cage	Normal		5	5
Reactivity on handling	Normal		5	5
Muscle tone	Normal		5	5
Skin	Normal		5	5
Fur	Normal		5	5
Piloerection	Not detected		5	5
Eye discharge	Not detected		5	5
Palpebral closure	Not detected		5	5
Exophthalmos	Not detected		5	5
Lacration	Not detected		5	5
Smudge around mouth-nose	Not detected		5	5
Salivation	Not detected		5	5
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		5	5
Blotted fur around anus with feces	Not detected		5	5
Vocalization	Not detected Temporally in handling	4 1		4 1
Breathing	Normal	5		5
Body position	Normal	5		5
Convulsion	Not detected	5		5
Tremor	Not detected	5		5
Exploration	Normal	5		5
Alertness	Normal	5		5
Locomotor activity	Normal	5		5
Walk	Normal	5		5
Abnormal behavior	Normal	5		5
Stereotypy	Not detected	5		5
Failure of consciousness	Not detected	5		5
Limb tone	Normal	5		5
Urination	Not detected or 1 2 or more Color:Pale yellow	5 0 -	0	0 -
Defecation	Not detected or 1 2 or more Appearance:Normal	5 0 -	5 0 -	

Table 6-14 Incidence of detailed clinical signs in the FOB(Functional Observation Batteries) of female rats of the satellite group treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dosetoxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

< On week 6 of administration period >

Items		Dose(mg/kg)	0	250
		No. of animals	5	5
Reactivity on removal from the cage	Normal		5	5
Reactivity on handling	Normal		5	5
Muscle tone	Normal		5	5
Skin	Normal		5	5
Fur	Normal		5	5
Piloerection	Not detected		5	5
Eye discharge	Not detected		5	5
Palpebral closure	Not detected		5	5
Exophthalmos	Not detected		5	5
Lacration	Not detected		5	5
Smudge around mouth-nose	Not detected		5	5
Salivation	Not detected		5	5
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		5	5
Blotted fur around anus with feces	Not detected		5	5
Vocalization	Not detected Temporally in handling		5 0	5 0
Breathing	Normal		5	5
Body position	Normal		5	5
Convulsion	Not detected		5	5
Tremor	Not detected		5	5
Exploration	Normal		5	5
Alertness	Normal		5	5
Locomotor activity	Normal		5	5
Walk	Normal		5	5
Abnormal behavior	Normal		5	5
Stereotypy	Not detected		5	5
Failure of consciousness	Not detected		5	5
Limb tone	Normal		5	5
Urination	Not detected or 1 2 or more Color:Pale yellow		5 0 -	5 0 1/1
Defecation	Not detected or 1 2 or more Appearance:Normal		5 0 -	5 0 -

Table 6-15 Incidence of detailed clinical signs in the FOB(Functional Observation Batteries) of female rats of the satellite group treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dosetoxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

< On week 1 of recovery period >

Items		Dose(mg/kg)	0	250
		No. of animals	5	5
Reactivity on removal from the cage	Normal		5	5
Reactivity on handling	Normal		5	5
Muscle tone	Normal		5	5
Skin	Normal		5	5
Fur	Normal		5	5
Piloerection	Not detected		5	5
Eye discharge	Not detected		5	5
Palpebral closure	Not detected		5	5
Exophthalmos	Not detected		5	5
Lacrimation	Not detected		5	5
Smudge around mouth-nose	Not detected		5	5
Salivation	Not detected		5	5
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		5	5
Blotted fur around anus with feces	Not detected		5	5
Vocalization	Not detected Temporally in handling	4 1	5 0	
Breathing	Normal	5	5	
Body position	Normal	5	5	
Convulsion	Not detected	5	5	
Tremor	Not detected	5	5	
Exploration	Normal	5	5	
Alertness	Normal	5	5	
Locomotor activity	Normal	5	5	
Walk	Normal	5	5	
Abnormal behavior	Normal	5	5	
Stereotypy	Not detected	5	5	
Failure of consciousness	Not detected	5	5	
Limb tone	Normal	5	5	
Urination	Not detected or 1 2 or more Color: Pale yellow	5 0 -	5 0 -	
Defecation	Not detected or 1 2 or more Appearance:Normal	5 0 -	5 0 -	

Table 6-16 Incidence of detailed clinical signs in the FOB(Functional Observation Batteries) of female rats of the satellite group treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dosetoxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

< On week 2 of recovery period >

Items		Dose(mg/kg)	0	250
		No. of animals	5	5
Reactivity on removal from the cage	Normal		5	5
Reactivity on handling	Normal		5	5
Muscle tone	Normal		5	5
Skin	Normal		5	5
Fur	Normal		5	5
Piloerection	Not detected		5	5
Eye discharge	Not detected		5	5
Palpebral closure	Not detected		5	5
Exophthalmos	Not detected		5	5
Lacration	Not detected		5	5
Smudge around mouth-nose	Not detected		5	5
Salivation	Not detected		5	5
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		5	5
Blotted fur around anus with feces	Not detected		5	5
Vocalization	Not detected Temporally in handling	3 2	4 1	
Breathing	Normal	5	5	
Body position	Normal	5	5	
Convulsion	Not detected	5	5	
Tremor	Not detected	5	5	
Exploration	Normal	5	5	
Alertness	Normal	5	5	
Locomotor activity	Normal	5	5	
Walk	Normal	5	5	
Abnormal behavior	Normal	5	5	
Stereotypy	Not detected	5	5	
Failure of consciousness	Not detected	5	5	
Limb tone	Normal	5	5	
Urination	Not detected or 1 2 or more Color: Pale yellow	5 0 2/2	5 0 1/1	
Defecation	Not detected or 1 2 or more Appearance:Normal	5 0 -	5 0 -	

Table 7-1 Incidence of responses in the sensory/reflex function test of male rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

<On week 6 of administration period>

Items	Dose(mg/kg)	0	2	10	50	250
	No. of animals examined	5	5	5	5	5
Hearing reaction	Normal	5	5	5	5	5
Eye sight reaction	Normal	5	5	5	5	5
Sense of touch reaction	Normal	5	5	5	5	5
Pain reaction	Normal	5	5	5	5	5
Pupil reflex	Normal	5	5	5	5	5
Pinna reflex	Normal	5	5	5	5	5
Ipsilateral flexor reflex	Normal	5	5	5	5	5
Eyelid reflex	Normal	5	5	5	5	5
Righting reflex	Normal	5	5	5	5	5

Table 7-2 Incidence of responses in the sensory/reflex function test of male rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

Items	Dose(mg/kg)	On week 6 of administration period		On week 2 of recovery period	
		0	250	0	250
	No. of animals examined				
Hearing reaction	Normal	5	5	5	5
Eye sight reaction	Normal	5	5	5	5
Sense of touch reaction	Normal	5	5	5	5
Pain reaction	Normal	5	5	5	5
Pupil reflex	Normal	5	5	5	5
Pinna reflex	Normal	5	5	5	5
Ipsilateral flexor reflex	Normal	5	5	5	5
Eyelid reflex	Normal	5	5	5	5
Righting reflex	Normal	5	5	5	5

Table 8-1 Incidence of responses in the sensory/reflex function test of female rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

<On week 6 of administration period>

Items	Dose(mg/kg)	0	2	10	50	250
	No. of animals examined	5	5	5	5	5
Hearing reaction	Normal	5	5	5	5	5
Eye sight reaction	Normal	5	5	5	5	5
Sense of touch reaction	Normal	5	5	5	5	5
Pain reaction	Normal	5	5	5	5	5
Pupil reflex	Normal	5	5	5	5	5
Pinna reflex	Normal	5	5	5	5	5
Ipsilateral flexor reflex	Normal	5	5	5	5	5
Eyelid reflex	Normal	5	5	5	5	5
Righting reflex	Normal	5	5	5	5	5

Table 8-2 Incidence of responses in the sensory/reflex function test of female rats of the satellite group treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

Items	Dose(mg/kg)	On week 6 of administration period		On week 2 of recovery period	
		0	250	0	250
	No. of animals examined	5	5	5	5
Hearing reaction	Normal	5	5	5	5
Eye sight reaction	Normal	5	5	5	5
Sense of touch reaction	Normal	5	5	5	5
Pain reaction	Normal	5	5	5	5
Pupil reflex	Normal	5	5	5	5
Pinna reflex	Normal	5	5	5	5
Ipsilateral flexor reflex	Normal	5	5	5	5
Eyelid reflex	Normal	5	5	5	5
Righting reflex	Normal	5	5	5	5

Table 9-1 Mean value of landing foot splay, grip strength and motor activity of male rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

〈On week 6 of administration period〉

Dose (mg/kg)	No. of animals	Landing foot splay (cm)	Grip strength(g)		Motor activity (counts)	
			Forelimb	Hindlimb	0~30min.	0~60min.
0	5	7.1 ± 2.8	799 ± 61	410 ± 83	5877 ± 1259	8031 ± 2595
2	5	7.4 ± 2.2	657 ± 127	350 ± 25	7752 ± 972	10159 ± 2369
10	5	9.2 ± 2.6	584 ± 122	384 ± 77	7147 ± 1896	10217 ± 3614
50	5	8.2 ± 2.7	665 ± 197	407 ± 64	7220 ± 1212	9153 ± 3892
250	5	7.0 ± 2.0	584 ± 129	292 ± 71	3447 *	3495 ± 992 ± 1005

Each value is expressed as mean ± S.D.

\* : Significantly different from control at 5% level of probability.

Table 9-2 Mean value of landing foot splay, grip strength and motor activity of male rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

<A : On week 6 of administration period, B : On week 2 of recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Landing foot splay (cm)	Grip strength (g)		Motor activity (counts)		
			Forelimb	Hindlimb	0~30min.	0~60min.	
A	0	5	7.8 ± 3.9	841 ± 141	440 ± 74	6611 ± 708	7590 ± 1265
	250	5	6.0 ± 1.8	371 ** ± 147	189 ** ± 36	3509 ** ± 1034	3617 ** ± 1059
B	0	5	8.0 ± 2.8	823 ± 254	606 ± 112	7278 ± 989	11642 ± 3019
	250	5	5.2 ± 0.4	609 ± 138	429 ± 140	7830 ± 654	12946 ± 1874

Each value is expressed as mean ± S.D.

\*\* : Significantly different from control at 1% level of probability.

Table 10-1 Mean value of landing foot splay, grip strength and motor activity of female rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

<On week 6 of administration period>

Dose (mg/kg)	No. of animals	Landing foot splay (cm)	Grip strength (g)		Motor activity (counts) 0~30min.
			Forelimb	Hindlimb	
0	5	8.4 ± 1.8	686 ± 126	391 ± 123	6439 ± 1288
2	5	5.6 ± 1.4	557 ± 79	333 ± 148	6605 ± 787
10	5	7.3 ± 3.7	569 ± 98	326 ± 107	6534 ± 901
50	5	4.7 ± 1.4	560 ± 101	323 ± 113	5097 ± 1454
250	5	5.5 ± 1.7	450 ** ± 77	238 ± 35	3827 * ± 1960

Each value is expressed as mean ± S.D.

\* : Significantly different from control at 5% level of probability.

\*\* : Significantly different from control at 1% level of probability.

Table 10-2 Mean value of landing foot splay, grip strength and motor activity of female rats of the satellite group treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

<A : On week 6 of administration period, B : On week 2 of recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Landing foot splay (cm)	Grip strength(g)		Motor activity (counts)	
			Forelimb	Hindlimb	0~30min.	0~60min.
A	0	5	5.9 ± 2.1	456 ± 248	295 ± 136	9137 ± 166
	250	5	5.0 ± 1.1	287 ± 43	229 ± 55	6613 * ± 1542
B	0	5	6.0 ± 1.7	532 ± 243	308 ± 68	8159 ± 452
	250	5	4.2 ± 0.9	363 ± 102	267 ± 27	7316 ± 714

Each value is expressed as mean±S.D.

\* : Significantly different from control at 5% level of probability.

\*\* : Significantly different from control at 1% level of probability.

Table 11

Body weights of male rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

(g)

Dose (mg/kg)	Days of administration							Gain 1~42	( Days of recovery )			Gain 42~56
	1	7	14	21	28	35	42		42 (0)	49 (7)	56 (14)	
0	373 ± 15 (12)	402 ± 23 (12)	435 ± 29 (12)	460 ± 36 (12)	484 ± 37 (12)	509 ± 39 (12)	524 ± 40 (12)	151 ± 29 (12)	539 ± 45 (5)	549 ± 49 (5)	561 ± 47 (5)	23 ± 3 (5)
2	368 ± 19 (12)	392 ± 22 (12)	427 ± 29 (12)	452 ± 31 (12)	476 ± 34 (12)	505 ± 39 (12)	521 ± 39 (12)	153 ± 27 (12)				
10	370 ± 26 (12)	400 ± 35 (12)	431 ± 42 (12)	455 ± 48 (12)	482 ± 51 (12)	508 ± 55 (12)	518 ± 57 (12)	148 ± 34 (12)				
50	369 ± 21 (12)	395 ± 23 (12)	426 ± 29 (12)	454 ± 34 (12)	480 ± 38 (12)	505 ± 43 (12)	519 ± 46 (12)	151 ± 29 (12)				
250	372 ± 17 (12)	385 ± 20 (12)	409 ± 24 (12)	430 ± 30 (12)	451 ± 34 (12)	468 ± 39 (12)	481 ± 41 (12)	109 ** ± 28 (12)	485 ± 57 (5)	506 ± 58 (5)	525 ± 59 (5)	41 ** ± 3 (5)

Each value is expressed as mean ± S.D.

(n): No. of animals.

\*\* : Significantly different from control at 1% level of probability.

Table 12-1 Body weights of female rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

(g)

Dose (mg/kg)	Days of premating			Gain 1~14	Days of pregnancy				Gain 0~20	Days of lactation		Gain 0~4
	1	7	14		0	7	14	20		0	4	
0	228 ± 15 (12)	245 ± 20 (12)	260 ± 19 (12)	31 ± 9 (12)	276 ± 23 (11)	311 ± 28 (11)	349 ± 30 (11)	436 ± 37 (11)	160 ± 17 (11)	327 ± 42 (11)	343 ± 33 (11)	16 ± 17 (11)
2	229 ± 11 (12)	247 ± 8 (12)	261 ± 11 (12)	32 ± 8 (12)	281 ± 21 (11)	316 ± 18 (11)	353 ± 20 (11)	439 ± 25 (11)	159 ± 16 (11)	335 ± 32 (11)	351 ± 24 (11)	16 ± 12 (11)
10	230 ± 11 (12)	245 ± 9 (12)	261 ± 16 (12)	31 ± 8 (12)	269 ± 13 (10)	308 ± 14 (10)	349 ± 17 (10)	432 ± 26 (10)	163 ± 19 (10)	332 ± 30 (10)	348 ± 20 (9)	10 ± 16 (9)
50	228 ± 16 (12)	239 ± 15 (12)	253 ± 20 (12)	25 ± 7 (12)	260 ± 20 (11)	298 ± 22 (11)	333 ± 29 (11)	408 ± 49 (11)	148 ± 34 (11)	320 ± 32 (11)	333 ± 26 (10)	12 ± 17 (10)
250	232 ± 17 (12)	240 ± 17 (12)	250 ± 19 (12)	19 ** ± 9 (12)	262 ± 21 (11)	296 ± 19 (10)	332 ± 23 (10)	400 ± 33 (10)	142 ± 18 (10)	314 ± 27 (8)	337 ± 22 (7)	16 ± 11 (7)

Each value is expressed as mean ± S.D.

(n): No. of animals.

\*\* : Significantly different from control at 1% level of probability.

Table 12-2 Body weights of female rats of the satellite group treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated study dose toxicity with the reproduction/developmental toxicity screening test

(g)

Dose (mg/kg)	Days of administration							Gain 1~42	( Days of recovery )			Gain 42~56
	1	7	14	21	28	35	42		42 (0)	49 (7)	56 (14)	
0	231	248	267	279	292	297	303	72	303	312	321	18
	± 16	± 15	± 21	± 26	± 25	± 29	± 24	± 22	± 24	± 28	± 31	± 11
	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)
250	225	230	238 *	248 *	257 *	263	272 *	47	272 *	287	289	17
	± 3	± 9	± 9	± 11	± 6	± 11	± 8	± 5	± 8	± 8	± 7	± 9
	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)

Each value is expressed as mean±S.D.

(n): No. of animals.

\* : Significantly different from control at 5% level of probability.

Table 13

Food consumption of male rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

( g/rat/day )

Dose (mg/kg)	Days of administration								( Days of recovery )		
	1	7	14	21	28	35	41	41	49 (7)	55 (13)	
0	30 ± 3 (12)	29 ± 3 (12)	27 ± 3 (12)	27 ± 2 (12)	27 ± 2 (12)	26 ± 2 (12)	27 ± 2 (12)	28 ± 2 (5)	30 ± 2 (5)	35 ± 3 (5)	
2	30 ± 4 (12)	28 ± 4 (12)	26 ± 2 (12)	26 ± 3 (11)	26 ± 3 (11)	26 ± 3 (12)	27 ± 3 (12)				
10	31 ± 3 (12)	30 ± 4 (12)	28 ± 3 (12)	26 ± 4 (11)	27 ± 4 (11)	27 ± 3 (12)	27 ± 4 (12)				
50	27 ± 4 (12)	28 ± 3 (12)	27 ± 4 (12)	27 ± 4 (11)	27 ± 3 (11)	27 ± 2 (12)	28 ± 4 (12)				
250	24 ** ± 4 (12)	27 ± 2 (12)	25 ± 3 (12)	27 ± 2 (12)	25 ± 3 (12)	26 ± 2 (12)	28 ± 3 (12)	27 ± 3 (5)	34 * ± 3 (5)	35 ± 1 (5)	

Each value is expressed as mean ± S.D.

(n) : No. of animals.

\* : Significantly different from control at 5% level of probability.

\*\* : Significantly different from control at 1% level of probability.

Table 14-1 Food consumption of female rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

( g/rat/day )

Dose (mg/kg)	Days of premating			Days of pregnancy				Days of lactation	
	1	7	14	0	7	14	20	0	3
0	21 ± 3 (12)	20 ± 5 (12)	21 ± 4 (12)	17 ± 3 (11)	24 ± 4 (11)	25 ± 4 (11)	25 ± 6 (11)	21 ± 10 (11)	47 ± 9 (11)
2	22 ± 3 (12)	21 ± 4 (12)	21 ± 3 (12)	15 ± 4 (11)	24 ± 2 (11)	24 ± 5 (11)	22 ± 8 (11)	18 ± 7 (11)	52 ± 7 (11)
10	21 ± 3 (12)	23 ± 3 (12)	20 ± 3 (12)	17 ± 3 (10)	24 ± 3 (10)	24 ± 3 (10)	24 ± 7 (10)	19 ± 7 (9)	49 ± 7 (9)
50	20 ± 2 (12)	19 ± 3 (12)	21 ± 2 (12)	14 ± 4 (11)	23 ± 2 (11)	23 ± 3 (11)	25 ± 5 (11)	22 ± 6 (11)	45 ± 7 (10)
250	20 ± 3 (12)	21 ± 3 (12)	20 ± 3 (12)	13 ± 6 (10)	22 ± 3 (9)	26 ± 3 (9)	24 ± 8 (9)	26 ± 6 (7)	45 ± 10 (7)

Each value is expressed as mean ± S.D.

(n) : No. of animals.

Table 14-2 Food consumption of female rats of the satellite group treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg)							( g/rat/day )		
	Days of administration						( Days of recovery )		
	1	7	14	21	28	35	42 (0)	49 (7)	55 (13)
0	24 ± 5 (5)	23 ± 3 (5)	19 ± 2 (5)	22 ± 4 (5)	21 ± 2 (5)	20 ± 3 (5)	17 ± 4 (5)	23 ± 4 (5)	25 ± 5 (5)
250	20 ± 4 (5)	21 ± 2 (5)	19 ± 3 (5)	21 ± 2 (5)	19 ± 4 (5)	20 ± 4 (5)	21 ± 3 (5)	26 ± 5 (5)	22 ± 2 (5)

Each value is expressed as mean ± S.D.

(n) : No. of animals.

Table 15 - 1

Urinary findings of male rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl-  
in the combined repeated dose toxicity with the reproduction/developmental toxicity screening test

< On day 36 of administration period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Color			Cloudy		Volume <sup>a)</sup> (mL/18hr)	Specific <sup>a)</sup> gravity	Na <sup>a)</sup> (mEq/L)	Na <sup>a)</sup> (mEq/18hr)	K <sup>a)</sup> (mEq/L)	K <sup>a)</sup> (mEq/18hr)	pH												
		PY	Y	PB	-	+							6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5							
0	5	1	3	1	3	2	11.5 ± 2.3	1.053 ± 0.007	102 ± 32	1.15 ± 0.39	258 ± 47	2.90 ± 0.31						5							
2	5	4	1		2	3	11.0 ± 1.9	1.056 ± 0.008	124 ± 14	1.35 ± 0.18	302 ± 75	3.22 ± 0.37				1	1	3							
10	5	4	1		4	1	11.7 ± 4.7	1.056 ± 0.015	108 ± 34	1.19 ± 0.38	283 ± 101	2.99 ± 0.60				2		3							
50	5	1	2	2	4	1	12.5 ± 3.1	1.052 ± 0.005	119 ± 26	1.43 ± 0.10	257 ± 32	3.16 ± 0.40						5							
250	5	4	1		5		30.0 * ± 8.3	1.031 ** ± 0.007	57 ± 5	1.67 ± 0.34	116 ** ± 27	3.34 ± 0.67	1	1		1	2								
Dose (mg/kg)	No. of animals	Protein					Glucose				Ketone body				Occult blood			Urobilinogen		Bilirubin					
		-	±	+	++	+++	-	±	+	++	-	±	+	++	-	±	+	++	+++	0.1	1	2	-	+	++
0	5						5		5		1	1	3	4					1	5			5		
2	5				1	4		5			4	1	4	1					5			5			
10	5				2	3		5			2	3	5						5			5			
50	5			2	2	1 *		5			2	2	1	5					5			5			
250	5			1	4 *		5			4	1		5					5			5				

a): Mean ± S.D.

Color : PY(pale yellow). Y(yellow). PB(pale brown).

Cloudy : -(negligible). +(cloudy).

Protein : -(negligible). ±(15~30mg/dL). +(30mg/dL). ++(100mg/dL). +++(300mg/dL).

Glucose : -(negligible). ±(0.1g/dL). +(0.25g/dL). ++(0.5g/dL).

Ketone body : -(negligible). ±(5mg/dL). +(15mg/dL). ++(40mg/dL).

Occult blood : -(negligible). ±(trace). +(slight). ++(moderate). +++(marked).

Urobilinogen : Ehrlich unit/dL.

Bilirubin : -(negligible). +(slight). ++(moderate).

\* : Significantly different from control at 5% level of probability.

\*\* : Significantly different from control at 1% level of probability.

Table 15 - 2

Urinary findings of male rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl-  
in the combined repeated dose toxicity with the reproduction/developmental toxicity screening test

< On day 36 of administration period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Erythrocytes				Leukocytes				M g				Crystals				Ams			
		-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++
0	5	4		1		4		1		2	1	1	1	5				5			
2	5	5				5				5				5				5			
10	5	5				5				4		1		5				5			
50	5	5				5				3	1	1		5				5			
250	5	5				5				3	2			5				5			

Dose (mg/kg)	No. of animals	Epithelial cells								Casts						Fat globules							
		-	Sq	+	++	+++	-	R	+	++	-	S	+	++	-	G	+	++	-	H	+	-	W
0	5	1	4				5			5				5				5		5		5	
2	5	3	2				5			5				5				5		5		5	
10	5	4	1				5			5				5				5		5		5	
50	5	2	3				5			5				5				5		5		5	
250	5	4	1				5			5				4	1			5		5		5	

- : Not observed. + : A few in some fields. ++ : A few in all fields. +++ : Many in all fields.

#### Crystals

Mg(ammonium magnesium phosphate)  
Ca(calcium carbonate)  
Ams(amorphous)

#### Epithelial cells

Sq(squamous)  
R(round)  
S(spindle)

#### Casts

G(granule)  
H(hyaline)  
W(waxy)

Table 15 - 3

Urinary findings of male rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl-  
in the combined repeated dose toxicity with the reproduction/developmental toxicity screening test

< On week 2 of recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Color			Cloudy		Volume <sup>a)</sup> (mL/18hr)	Specific <sup>a)</sup> gravity	Na <sup>a)</sup> (mEq/L)	Na <sup>a)</sup> (mEq/18hr)	K <sup>a)</sup> (mEq/L)	K <sup>a)</sup> (mEq/18hr)	pH					
		C	PY	Y	-	+							6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5
0	5	1	2	2	5		16.7 ± 9.7	1.055 ± 0.018	139 ± 76	1.86 ± 0.29	292 ± 137	3.90 ± 0.34						5
250	5		5		5		14.9 ± 2.3	1.053 ± 0.005	108 ± 17	1.63 ± 0.43	268 ± 16	3.99 ± 0.57						3 2

Dose (mg/kg)	No. of animals	Protein					Glucose				Ketone body				Occult blood				Urobilinogen			Bilirubin			
		-	±	+	++	+++	-	±	+	++	-	±	+	++	-	±	+	++	+++	0.1	1	2	-	+	++
0	5			3	2		5					2	3	5						5			5		
250	5			5			5				3	2 *	4	1						5			5		

a) : Mean ± S.D.

Color : C(colorless).PY(pale yellow).Y(yellow).

Cloudy : -(negligible). +(cloudy).

Protein : -(negligible). ±(15~30mg/dL). +(30mg/dL). ++(100mg/dL). +++(300mg/dL).

Glucose : -(negligible). ±(0.1g/dL). +(0.25g/dL). ++(0.5g/dL).

Ketone body : -(negligible). ±(5mg/dL). +(15mg/dL). ++(40mg/dL).

Occult blood : -(negligible). ±(trace). +(slight). ++(moderate). +++(marked).

Urobilinogen : Ehrlich unit/dL.

Bilirubin : -(negligible). +(slight). ++(moderate).

\* : Significantly different from control at 5% level of probability.

Table 15 - 4

Urinary findings of male rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl-  
in the combined repeated dose toxicity with the reproduction/developmental toxicity screening test

< On week 2 of recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Erythrocytes				Leukocytes				M g				Crystals				Ams							
		-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++				
0	5	5				5				4	1			5				5							
250	5	4	1			5				1	2	2		5				5							
Epithelial cells																									
Dose (mg/kg)	No. of animals	Sq				R				S				G				Casts				Fat globules			
		-	+	++	+++	-	+	++	-	+	++	-	+	-	+	++	-	H	+	-	+	-	+	-	+
0	5	2	3			5				5				5				5		5		5			
250	5	2	3			5				5				5				5		5		5			

- : Not observed. + : A few in some fields. ++ : A few in all fields. +++ : Many in all fields.

Crystals

Mg(ammonium magnesium phosphate)

Ca(calcium carbonate)

Ams(amorphous)

Epithelial cells

Sq(squamous)

R(round)

S(spindle)

Casts

G(granule)

H(hyaline)

W(waxy)

Table 16-1

Hematological findings of male rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl-  
in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

< After administration period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	RBC (10 <sup>6</sup> /μL)	Hb (g/dL)	Ht (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (%)	Ret. (%)	Met-Hb (%)	Hein-B (%)	Plat. (10 <sup>6</sup> /μL)
0	5	863 ± 29	15.7 ± 0.1	45.1 ± 0.5	53 ± 1	18.2 ± 0.7	34.7 ± 0.6	24 ± 2	0.9 ± 0.1	0 ± 0	132 ± 16
2	5	865 ± 51	15.8 ± 0.8	45.5 ± 2.5	53 ± 1	18.3 ± 0.6	34.7 ± 0.6	25 ± 3	1.0 ± 0.2	0 ± 0	138 ± 15
10	5	869 ± 38	15.6 ± 0.7	45.3 ± 1.2	52 ± 1	17.9 ± 0.7	34.4 ± 1.2	26 ± 4	0.9 ± 0.3	0 ± 0	116 ± 12
50	5	842 ± 58	15.6 ± 0.6	45.1 ± 1.2	54 ± 2	18.6 ± 0.8	34.7 ± 0.7	34 ± 21	0.9 ± 0.2	0 ± 0	145 ± 17
250	5	764 ** ± 38	14.1 ** ± 0.7	42.6 ± 2.0	56 * ± 2	18.4 ± 0.3	33.0 ** ± 0.6	51 ** ± 12	2.1 * ± 0.5	0 ± 0	133 ± 24
Differential leukocyte counts (%)											
Dose (mg/kg)	No. of animals	PT (sec)	APTT (sec)	WBC (10 <sup>3</sup> /μL)	Baso.	Eosin.	Neutro. Stab. Seg.	Lymph.	Mono.	Other	
0	5	13.7 ± 0.4	23.0 ± 1.7	77 ± 18	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 0	14 ± 4	83 ± 4	2 ± 1	0 ± 0
2	5	13.8 ± 0.8	22.3 ± 1.5	76 ± 13	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 0	14 ± 2	83 ± 3	2 ± 2	0 ± 0
10	5	13.9 ± 0.3	21.1 ± 1.4	57 ± 16	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 0	12 ± 3	85 ± 3	2 ± 1	0 ± 0
50	5	13.6 ± 0.2	21.9 ± 1.2	76 ± 17	0 ± 0	0 ± 1	0 ± 0	17 ± 6	81 ± 7	2 ± 1	0 ± 0
250	5	14.0 ± 0.3	22.5 ± 2.3	86 ± 8	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	16 ± 5	82 ± 5	2 ± 1	0 ± 0

Each value is expressed as mean ± S.D.

\* : Significantly different from control at 5% level of probability.

\*\* : Significantly different from control at 1% level of probability.

Table 16-2

Hematological findings of male rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl-  
in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

< After recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	RBC (10 <sup>4</sup> /μL)	Hb (g/dL)	Ht (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (%)	Ret. (%)	Met-Hb (%)	Hein-B (%)	Plat. (10 <sup>4</sup> /μL)	
0	5	847 ± 44	15.3 ± 0.5	44.5 ± 1.0	53 ± 3	18.1 ± 0.8	34.4 ± 0.7	32 ± 6	0.7 ± 0.4	0 ± 0	131 ± 13	
250	5	808 ± 34	14.8 ± 0.6	44.0 ± 1.5	55 ± 2	18.4 ± 0.8	33.7 ± 0.3	27 ± 3	0.7 ± 0.2	0 ± 0	135 ± 14	
Differential leukocyte counts (%)												
Dose (mg/kg)	No. of animals	PT (sec)	APTT (sec)	WBC (10 <sup>2</sup> /μL)	Baso.	Eosin.	Neutro.	Stab.	Seg.	Lymph.	Mono.	Other
0	5	13.7 ± 0.3	22.5 ± 1.1	87 ± 26	0 ± 0	2 ± 1	0 ± 0	18 ± 5	78 ± 5	3 ± 1	0 ± 0	
250	5	13.9 ± 0.8	22.6 ± 2.0	88 ± 22	0 ± 0	2 ± 1	0 ± 0	18 ± 3	78 ± 4	2 ± 2	0 ± 0	

Each value is expressed as mean ± S.D.

Table 17-1

Hematological findings of female rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl-  
in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

< After administration period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	RBC (10 <sup>6</sup> /μL)	Hb (g/dL)	Ht (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (%)	Ret. (%)	Met-Hb (%)	Hein-B (%)	Plat. (10 <sup>3</sup> /μL)
0	5	669 ± 20	12.8 ± 0.4	38.0 ± 0.6	57 ± 1	19.2 ± 0.5	33.7 ± 0.5	76 ± 7	0.9 ± 0.1	0 ± 0	178 ± 47
2	5	634 ± 49	12.4 ± 0.7	35.9 * ± 1.5	57 ± 3	19.5 ± 0.8	34.4 ± 0.7	81 ± 30	0.8 ± 0.3	0 ± 0	168 ± 19
10	5	690 ± 31	12.9 ± 0.2	38.4 ± 0.7	56 ± 2	18.7 ± 0.8	33.6 ± 0.5	67 ± 11	1.1 ± 0.2	0 ± 0	173 ± 9
50	5	713 ± 38	13.4 ± 0.5	40.2 ** ± 1.3	57 ± 3	18.8 ± 1.0	33.3 ± 0.7	79 ± 21	1.1 ± 0.1	0 ± 0	172 ± 25
250	5	628 ± 46	12.2 ± 0.4	37.0 ± 0.3	59 ± 4	19.6 ± 1.5	33.0 ± 0.7	121 ± 46	1.9 * ± 0.5	0 ± 0	202 ± 59
Differential leukocyte counts (%)											
Dose (mg/kg)	No. of animals	PT (sec)	APTT (sec)	WBC (10 <sup>3</sup> /μL)	Baso.	Eosin.	Neutro. Stab. Seg.	Lymph.	Mono.	Other	
0	5	13.8 ± 0.1	17.0 ± 0.6	71 ± 10	0 ± 0	0 ± 1	0 ± 0	26 ± 4	71 ± 3	2 ± 2	0 ± 0
2	5	13.9 ± 0.3	17.7 ± 3.3	79 ± 30	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	33 ± 7	65 ± 7	1 ± 1	0 ± 0
10	5	13.8 ± 0.2	19.1 ± 1.1	53 ± 21	0 ± 0	2 ± 2	0 ± 0	37 ± 8	59 ± 9	2 ± 1	0 ± 0
50	5	14.0 ± 0.4	18.0 ± 2.2	59 ± 14	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 0	19 ± 9	78 ± 10	2 ± 2	0 ± 0
250	5	13.9 ± 0.4	16.6 ± 2.0	55 ± 7	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	21 ± 10	76 ± 10	3 ± 1	0 ± 0

Each value is expressed as mean ± S.D.

\* : Significantly different from control at 5% level of probability.

\*\* : Significantly different from control at 1% level of probability.

Table 17-2

Hematological findings of female rats of the satellite group treated orally with aniline, 2,6-dimethyl-  
in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

< After recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	RBC ( $10^4/\mu\text{L}$ )	Hb (g/dL)	Ht (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (%)	Ret. (%)	Met-Hb (%)	Heinz-B (%)	Plat. ( $10^4/\mu\text{L}$ )	
0	5	806 $\pm$ 37	14.6 $\pm$ 0.8	42.7 $\pm$ 2.3	53 $\pm$ 2	18.1 $\pm$ 0.7	34.1 $\pm$ 0.4	23 $\pm$ 5	0.5 $\pm$ 0.1	0 $\pm$ 0	133 $\pm$ 30	
250	5	787 $\pm$ 22	14.6 $\pm$ 0.5	43.0 $\pm$ 1.5	55 $\pm$ 1	18.6 $\pm$ 0.5	34.0 $\pm$ 0.6	23 $\pm$ 5	0.5 $\pm$ 0.4	0 $\pm$ 0	144 $\pm$ 16	
Differential leukocyte counts (%)												
Dose (mg/kg)	No. of animals	PT (sec)	APTT (sec)	WBC ( $10^2/\mu\text{L}$ )	Baso.	Eosin.	Neutro.	Stab.	Seg.	Lymph.	Mono.	Other
0	5	12.9 $\pm$ 0.5	17.6 $\pm$ 0.4	42 $\pm$ 11	0 $\pm$ 0	2 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	20 $\pm$ 5	78 $\pm$ 5	1 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	
250	5	13.3 $\pm$ 0.2	18.5 $\pm$ 1.7	36 $\pm$ 8	0 $\pm$ 0	2 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	15 $\pm$ 5	81 $\pm$ 6	1 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	

Each value is expressed as mean  $\pm$  S.D.

Table 18-1

Blood biochemical findings of male rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl-  
in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

< After administration period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	LDH (IU/L)	GOT (IU/L)	GPT (IU/L)	ALP (IU/L)	$\gamma$ -GTP (IU/L)	ChE (IU/L)	T.P. (g/dL)	Alb. (g/dL)	A/G	T-Chol. (mg/dL)
0	5	± 292 ± 111	± 69 ± 6	± 35 ± 4	± 409 ± 92	± 0.77 ± 0.21	± 52 ± 17	± 6.19 ± 0.32	± 3.03 ± 0.21	± 0.96 ± 0.06	± 66 ± 7
2	5	± 298 ± 109	± 65 ± 7	± 36 ± 3	± 545 ± 147	± 0.93 ± 0.17	± 58 ± 14	± 6.42 ± 0.27	± 3.32 ± 0.20	± 1.07 * ± 0.09	± 71 ± 11
10	5	± 285 ± 139	± 65 ± 9	± 33 ± 5	± 440 ± 66	± 0.85 ± 0.20	± 76 ± 42	± 6.20 ± 0.24	± 3.20 ± 0.21	± 1.07 * ± 0.08	± 60 ± 9
50	5	± 411 ± 279	± 104 ± 100	± 60 ± 58	± 453 ± 66	± 1.11 ± 0.73	± 45 ± 19	± 6.28 ± 0.10	± 3.29 ± 0.05	± 1.10 ** ± 0.03	± 66 ± 10
250	5	± 300 ± 87	± 70 ± 7	± 45 ± 11	± 462 ± 87	± 0.84 ± 0.07	± 70 ± 31	± 6.02 ± 0.22	± 3.11 ± 0.14	± 1.06 ± 0.04	± 76 ± 13
Dose (mg/kg)	No. of animals	T.G. (mg/dL)	Glu. (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Crea. (mg/dL)	T-Bil. (mg/dL)	Ca (mg/dL)	P (mg/dL)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)
0	5	± 60 ± 14	± 157 ± 6	± 14.1 ± 1.2	± 0.46 ± 0.06	± 0.28 ± 0.03	± 9.8 ± 0.2	± 6.3 ± 0.3	± 145 ± 1	± 4.78 ± 0.18	± 106 ± 1
2	5	± 58 ± 29	± 151 ± 11	± 14.4 ± 2.1	± 0.41 ± 0.03	± 0.32 ± 0.04	± 9.8 ± 0.3	± 6.3 ± 0.4	± 147 ± 1	± 4.74 ± 0.36	± 106 ± 0
10	5	± 46 ± 16	± 166 ± 19	± 12.5 ± 1.6	± 0.45 ± 0.05	± 0.28 ± 0.05	± 9.7 ± 0.2	± 6.6 ± 0.5	± 146 ± 1	± 4.82 ± 0.38	± 106 ± 1
50	5	± 54 ± 24	± 166 ± 12	± 13.9 ± 1.6	± 0.54 ± 0.07	± 0.30 ± 0.06	± 9.7 ± 0.1	± 6.0 ± 0.4	± 146 ± 1	± 5.10 ± 0.65	± 107 ± 1
250	5	± 82 ± 28	± 153 ± 12	± 14.7 ± 1.0	± 0.52 ± 0.03	± 0.35 ± 0.04	± 9.7 ± 0.1	± 7.3 ** ± 0.4	± 147 ± 1	± 5.02 ± 0.49	± 107 ± 2

Each value is expressed as mean ± S.D.

\* : Significantly different from control at 5% level of probability.

\*\* : Significantly different from control at 1% level of probability.

Table 18-2

Blood biochemical findings of male rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl-  
in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

< After recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	LDH (IU/L)	GOT (IU/L)	GPT (IU/L)	ALP (IU/L)	$\gamma$ -GTP (IU/L)	ChE (IU/L)	T.P. (g/dL)	Alb. (g/dL)	A/G	T-Ch. (mg/dL)
0	5	273 $\pm$ 158	78 $\pm$ 13	44 $\pm$ 19	358 $\pm$ 98	0.55 $\pm$ 0.16	42 $\pm$ 14	6.21 $\pm$ 0.21	2.98 $\pm$ 0.21	0.92 $\pm$ 0.08	65 $\pm$ 21
250	5	347 $\pm$ 181	78 $\pm$ 8	38 $\pm$ 4	300 $\pm$ 75	0.51 $\pm$ 0.18	44 $\pm$ 21	6.08 $\pm$ 0.17	2.94 $\pm$ 0.09	0.93 $\pm$ 0.06	62 $\pm$ 16
Dose (mg/kg)	No. of animals	T.G. (mg/dL)	Glu. (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Crea. (mg/dL)	T-Bil. (mg/dL)	Ca (mg/dL)	P (mg/dL)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)
0	5	74 $\pm$ 22	160 $\pm$ 4	14.5 $\pm$ 1.5	0.48 $\pm$ 0.02	0.26 $\pm$ 0.03	9.6 $\pm$ 0.2	6.4 $\pm$ 0.8	145 $\pm$ 2	4.88 $\pm$ 0.27	105 $\pm$ 0
250	5	56 $\pm$ 24	150 $\pm$ 11	15.6 $\pm$ 1.8	0.48 $\pm$ 0.03	0.26 $\pm$ 0.02	9.4 $\pm$ 0.1	6.5 $\pm$ 0.4	145 $\pm$ 1	5.16 $\pm$ 0.30	106 $\pm$ 1

Each value is expressed as mean  $\pm$  S.D.

Table 19-1

Blood biochemical findings of female rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl-  
in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

< After administration period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	LDH (IU/L)	GOT (IU/L)	GPT (IU/L)	ALP (IU/L)	$\gamma$ -GTP (IU/L)	ChE (IU/L)	T.P. (g/dL)	Alb. (g/dL)	A/G	T-Ch. (mg/dL)
0	5	307 $\pm$ 64	80 $\pm$ 12	68 $\pm$ 11	414 $\pm$ 133	0.88 $\pm$ 0.55	241 $\pm$ 35	6.13 $\pm$ 0.37	3.31 $\pm$ 0.23	1.18 $\pm$ 0.07	71 $\pm$ 10
2	5	258 $\pm$ 52	79 $\pm$ 8	65 $\pm$ 5	329 $\pm$ 67	0.70 $\pm$ 0.26	258 $\pm$ 100	5.88 $\pm$ 0.19	3.10 $\pm$ 0.02	1.12 $\pm$ 0.09	74 $\pm$ 7
10	5	353 $\pm$ 188	79 $\pm$ 7	61 $\pm$ 8	405 $\pm$ 105	0.51 $\pm$ 0.22	245 $\pm$ 55	6.33 $\pm$ 0.37	3.50 $\pm$ 0.26	1.23 $\pm$ 0.06	78 $\pm$ 9
50	5	337 $\pm$ 221	75 $\pm$ 11	61 $\pm$ 6	508 $\pm$ 201	0.90 $\pm$ 0.31	220 $\pm$ 65	6.17 $\pm$ 0.47	3.41 $\pm$ 0.37	1.23 $\pm$ 0.12	91 * $\pm$ 11
250	5	557 $\pm$ 230	98 * $\pm$ 13	75 $\pm$ 19	510 $\pm$ 201	1.20 $\pm$ 0.23	159 $\pm$ 20	5.94 $\pm$ 0.33	3.07 $\pm$ 0.29	1.07 $\pm$ 0.09	95 * $\pm$ 17
Dose (mg/kg)	No. of animals	T.G. (mg/dL)	Glu. (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Crea. (mg/dL)	T-Bil. (mg/dL)	Ca (mg/dL)	P (mg/dL)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)
0	5	122 $\pm$ 22	148 $\pm$ 10	22.9 $\pm$ 3.8	0.52 $\pm$ 0.04	0.26 $\pm$ 0.02	10.7 $\pm$ 0.3	8.7 $\pm$ 1.1	145 $\pm$ 1	4.49 $\pm$ 0.33	101 $\pm$ 1
2	5	140 $\pm$ 45	139 $\pm$ 3	21.7 $\pm$ 1.6	0.54 $\pm$ 0.05	0.24 $\pm$ 0.03	10.2 $\pm$ 0.4	8.2 $\pm$ 0.8	144 $\pm$ 1	4.65 $\pm$ 0.22	103 $\pm$ 2
10	5	163 $\pm$ 81	138 $\pm$ 14	19.8 $\pm$ 4.9	0.48 $\pm$ 0.07	0.25 $\pm$ 0.02	10.4 $\pm$ 0.5	7.8 $\pm$ 0.8	146 $\pm$ 2	4.78 $\pm$ 0.41	104 $\pm$ 3
50	5	142 $\pm$ 46	141 $\pm$ 12	24.1 $\pm$ 3.9	0.48 $\pm$ 0.02	0.27 $\pm$ 0.01	10.6 $\pm$ 0.2	7.9 $\pm$ 0.8	145 $\pm$ 1	4.83 $\pm$ 0.09	103 $\pm$ 2
250	5	92 $\pm$ 49	127 $\pm$ 9	29.1 $\pm$ 9.4	0.53 $\pm$ 0.06	0.32 ** $\pm$ 0.02	10.3 $\pm$ 0.5	8.5 $\pm$ 0.7	144 $\pm$ 2	5.17 $\pm$ 0.63	102 $\pm$ 2

Each value is expressed as mean  $\pm$  S.D.

\* : Significantly different from control at 5% level of probability.

\*\* : Significantly different from control at 1% level of probability.

Table 19-2

Blood biochemical findings of female rats of the satellite group treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

< After recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	LDH (IU/L)	GOT (IU/L)	GPT (IU/L)	ALP (IU/L)	$\gamma$ -GTP (IU/L)	ChE (IU/L)	T.P. (g/dL)	Alb. (g/dL)	A/G	T-Cho. (mg/dL)
0	5	306 $\pm$ 169	104 $\pm$ 58	45 $\pm$ 22	187 $\pm$ 52	0.79 $\pm$ 0.21	661 $\pm$ 195	7.13 $\pm$ 0.58	4.14 $\pm$ 0.54	1.39 $\pm$ 0.20	95 $\pm$ 16
250	5	274 $\pm$ 85	76 $\pm$ 14	37 $\pm$ 9	190 $\pm$ 21	0.86 $\pm$ 0.19	490 $\pm$ 63	6.75 $\pm$ 0.38	3.74 $\pm$ 0.25	1.24 $\pm$ 0.05	78 $\pm$ 10
Dose (mg/kg)	No. of animals	T.G. (mg/dL)	Glu. (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Crea. (mg/dL)	T-Bil. (mg/dL)	Ca (mg/dL)	P (mg/dL)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)
0	5	37 $\pm$ 25	146 $\pm$ 18	16.8 $\pm$ 1.8	0.55 $\pm$ 0.05	0.23 $\pm$ 0.02	9.8 $\pm$ 0.3	4.3 $\pm$ 0.4	147 $\pm$ 2	4.60 $\pm$ 0.25	108 $\pm$ 1
250	5	20 $\pm$ 6	129 $\pm$ 12	16.8 $\pm$ 1.4	0.54 $\pm$ 0.07	0.22 $\pm$ 0.03	9.7 $\pm$ 0.3	4.7 $\pm$ 0.7	147 $\pm$ 2	4.33 $\pm$ 0.24	108 $\pm$ 1

Each value is expressed as mean  $\pm$  S.D.

Table 20 Incidence of necropsy findings of male rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

Organs : Findings	Dose (mg/kg)	After administration period										After recovery period			
		0			2			10			50			250	
	Fate	TK	TK	FP (T)	TK	UC	FP (T)	TK	FP (T)	TK	FP (T)	TK	TK	FP (T)	TK
No. of animals		7	11	1 (12)	10	1	1 (12)	11	1 (12)	6	1 (7)	4	1 (5)	5	
	-	7	11	1 (12)	10	1	1 (12)	11	1 (12)	4	1 (5)	4	1 (5)	5	
	+	0	0	0 (0)	0	0	0 (0)	0	0 (0)	2	0 (2)	0	0 (0)	0	
	-	7	11	1 (12)	10	1	1 (12)	11	1 (12)	5	1 (6)	4	1 (5)	5	
	+	0	0	0 (0)	0	0	0 (0)	0	0 (0)	1	0 (1)	0	0 (0)	0	
	-	7	11	0 (11)	10	1	1 (12)	11	1 (12)	6	1 (7)	4	1 (5)	5	
	+	0	0	1 (1)	0	0	0 (0)	0	0 (0)	0	0 (0)	0	0 (0)	0	
	-	6	11	1 (12)	10	1	1 (12)	11	1 (12)	5	1 (6)	4	1 (5)	5	
	+	1	0	0 (0)	0	0	0 (0)	0	0 (0)	1	0 (1)	0	0 (0)	0	

TK : Terminal killing. UC : Animal with unsuccessful copulation FP : Failed to cause pregnancy. (T) : (Total)  
- : negative. + : slight.

Table 21 Incidence of necropsy findings of female rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

Organs : Findings	Dose (mg/kg)	After administration period										After recovery period <sup>a</sup>									
		0		2		10			50			250			0 250						
		Fate	TK	NP (T)	TK	NP (T)	TK	UC	NP	KL (T)	TK	NP	KL (T)	TK	NP	KL	KE (T)	TK	TK		
No. of animals		11	1	(12)	11	1	(12)	9	1	1	(12)	10	1	1	(12)	7	1	1	3 (12)	5	5
	-	11	1	(12)	11	1	(12)	9	1	1	(12)	10	1	1	(12)	7	1	1	2 (11)	5	5
Liver : Large	+	0	0	(0)	0	0	(0)	0	0	0	(0)	0	0	0	(0)	0	0	0	1 (1)	0	0
Kidney : Large	-	11	1	(12)	11	1	(12)	9	1	1	(12)	10	1	1	(12)	7	1	1	1 (10)	5	5
	+	0	0	(0)	0	0	(0)	0	0	0	(0)	0	0	0	(0)	0	0	0	2 (2)	0	0
Spleen : Small	-	11	1	(12)	11	1	(12)	9	1	1	(12)	10	1	1	(12)	7	1	1	0 (9)	5	5
	+	0	0	(0)	0	0	(0)	0	0	0	(0)	0	0	0	(0)	0	0	0	3 (3)	0	0
Thymus : Small	-	11	1	(12)	11	1	(12)	9	1	1	(12)	10	1	1	(12)	7	1	1	0 (9)	5	5
	++	0	0	(0)	0	0	(0)	0	0	0	(0)	0	0	0	(0)	0	0	0	3 (3)	0	0
Adrenal: Large	-	11	1	(12)	11	1	(12)	9	1	1	(12)	10	1	1	(12)	7	1	1	0 (9)	5	5
	+	0	0	(0)	0	0	(0)	0	0	0	(0)	0	0	0	(0)	0	0	0	3 (3)	0	0
Uterus : Hydrometra	-	11	0	(11)	11	1	(12)	9	1	0	(11)	10	1	1	(12)	7	1	1	3 (12)	5	5
	++	0	1	(1)	0	0	(0)	0	0	1	(1)	0	0	0	(0)	0	0	0	0 (0)	0	0

TK : Terminal killing. UC : Animal with unsuccessful copulation. NP : Non-pregnant. KL : Killed because all pups died after delivery. KE : Killed in extremis. (T) : (Total)  
 a : Satellite group without copulation. -: negative. +: slight. ++: moderate.

Table 22-1

Absolute and relative organ weights of individual male rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl-  
in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test  
< After administration period >

	Dose (mg/kg)	B.W. (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Spleen (g)	Heart (g)	Thymus (g)	Thyroid (mg)	Pituitary (mg)	Adrenal (mg)	Testis (g)	Seminal vesicle (g)	Epididymis (g)
Absolute	0	487 ±36 (7)	1.99 ±0.10 (5)	13.10 ±1.29 (5)	3.04 ±0.22 (5)	0.74 ±0.05 (5)	1.47 ±0.17 (5)	0.35 ±0.04 (5)	29.4 ±3.9 (5)	13.1 ±0.9 (5)	66.6 ±6.0 (5)	3.21 ±0.47 (7)	2.30 ±0.21 (5)	1.27 ±0.16 (7)
	2	492 ±37 (12)	1.99 ±0.10 (5)	12.80 ±1.32 (5)	3.23 ±0.36 (5)	0.76 ±0.09 (5)	1.39 ±0.14 (5)	0.35 ±0.05 (5)	29.4 ±4.3 (5)	13.5 ±1.5 (5)	63.3 ±3.8 (5)	3.21 ±0.66 (12)	2.16 ±0.27 (5)	1.31 ±0.14 (12)
	10	493 ±55 (12)	1.99 ±0.07 (5)	13.39 ±2.63 (5)	3.24 ±0.44 (5)	0.76 ±0.08 (5)	1.38 ±0.20 (5)	0.37 ±0.07 (5)	32.9 ±3.3 (5)	13.4 ±2.2 (5)	58.8 ±8.2 (5)	3.42 ±0.42 (12)	2.26 ±0.30 (5)	1.40 ±0.18 (12)
	50	488 ±44 (12)	1.99 ±0.04 (5)	12.62 ±1.78 (5)	2.96 ±0.46 (5)	0.70 ±0.13 (5)	1.32 ±0.13 (5)	0.40 ±0.09 (5)	29.8 ±3.5 (5)	13.1 ±1.6 (5)	62.0 ±9.3 (5)	3.43 ±0.32 (12)	2.15 ±0.47 (5)	1.38 ±0.11 (12)
	250	446 ±25 (7)	2.01 ±0.10 (5)	14.12 ±1.39 (5)	3.43 ±0.38 (5)	0.92 * ±0.14 (5)	1.38 ±0.09 (5)	0.35 ±0.11 (5)	32.4 ±4.9 (5)	13.8 ±1.1 (5)	54.0 ±11.3 (5)	3.11 ±0.55 (7)	2.02 ±0.10 (5)	1.22 ±0.16 (7)
	0	487 ±36 (7)	0.40 ±0.04 (5)	2.64 ±0.18 (5)	0.61 ±0.03 (5)	0.15 ±0.02 (5)	0.30 ±0.03 (5)	0.07 ±0.01 (5)	5.9 ±0.7 (5)	2.6 ±0.1 (5)	13.5 ±1.5 (5)	0.66 ±0.11 (7)	0.47 ±0.07 (5)	0.26 ±0.04 (7)
Relative @	2	492 ±37 (12)	0.42 ±0.04 (5)	2.68 ±0.14 (5)	0.68 ±0.06 (5)	0.16 ±0.02 (5)	0.29 ±0.02 (5)	0.07 ±0.01 (5)	6.2 ±1.1 (5)	2.8 ±0.2 (5)	13.3 ±1.1 (5)	0.66 ±0.15 (12)	0.45 ±0.15 (5)	0.27 ±0.05 (12)
	10	493 ±55 (12)	0.41 ±0.04 (5)	2.70 ±0.30 (5)	0.66 ±0.05 (5)	0.15 ±0.01 (5)	0.28 ±0.02 (5)	0.07 ±0.01 (5)	6.7 ±0.4 (5)	2.7 ±0.2 (5)	12.0 ±1.9 (5)	0.69 ±0.06 (12)	0.46 ±0.06 (5)	0.29 ±0.03 (12)
	50	488 ±44 (12)	0.42 ±0.02 (5)	2.68 ±0.27 (5)	0.63 ±0.08 (5)	0.15 ±0.03 (5)	0.28 ±0.03 (5)	0.08 ±0.02 (5)	6.3 ±0.6 (5)	2.8 ±0.3 (5)	13.2 ±2.5 (5)	0.70 ±0.06 (12)	0.46 ±0.06 (5)	0.28 ±0.02 (12)
	250	446 ±25 (7)	0.44 ±0.01 (5)	3.10 * ±0.26 (5)	0.76 ** ±0.08 (5)	0.20 ** ±0.03 (5)	0.30 ±0.01 (5)	0.08 ±0.03 (5)	7.1 ±0.9 (5)	3.0 ±0.2 (5)	11.9 ±2.3 (5)	0.70 ±0.13 (7)	0.44 ±0.04 (5)	0.27 ±0.04 (7)
	0	487 ±36 (7)	0.40 ±0.04 (5)	2.64 ±0.18 (5)	0.61 ±0.03 (5)	0.15 ±0.02 (5)	0.30 ±0.03 (5)	0.07 ±0.01 (5)	5.9 ±0.7 (5)	2.6 ±0.1 (5)	13.5 ±1.5 (5)	0.66 ±0.11 (7)	0.47 ±0.07 (5)	0.26 ±0.04 (7)
	2	492 ±37 (12)	0.42 ±0.04 (5)	2.68 ±0.14 (5)	0.68 ±0.06 (5)	0.16 ±0.02 (5)	0.29 ±0.02 (5)	0.07 ±0.01 (5)	6.2 ±1.1 (5)	2.8 ±0.2 (5)	13.3 ±1.1 (5)	0.66 ±0.15 (12)	0.45 ±0.15 (5)	0.27 ±0.05 (12)
	10	493 ±55 (12)	0.41 ±0.04 (5)	2.70 ±0.30 (5)	0.66 ±0.05 (5)	0.15 ±0.01 (5)	0.28 ±0.02 (5)	0.07 ±0.01 (5)	6.7 ±0.4 (5)	2.7 ±0.2 (5)	12.0 ±1.9 (5)	0.69 ±0.06 (12)	0.46 ±0.06 (5)	0.29 ±0.03 (12)
	50	488 ±44 (12)	0.42 ±0.02 (5)	2.68 ±0.27 (5)	0.63 ±0.08 (5)	0.15 ±0.03 (5)	0.28 ±0.03 (5)	0.08 ±0.02 (5)	6.3 ±0.6 (5)	2.8 ±0.3 (5)	13.2 ±2.5 (5)	0.70 ±0.06 (12)	0.46 ±0.06 (5)	0.28 ±0.02 (12)
	250	446 ±25 (7)	0.44 ±0.01 (5)	3.10 * ±0.26 (5)	0.76 ** ±0.08 (5)	0.20 ** ±0.03 (5)	0.30 ±0.01 (5)	0.08 ±0.03 (5)	7.1 ±0.9 (5)	3.0 ±0.2 (5)	11.9 ±2.3 (5)	0.70 ±0.13 (7)	0.44 ±0.04 (5)	0.27 ±0.04 (7)

Each value is expressed as mean ± S.D.

(n) : No. of animals.

@ : Relative organ weight per 100g body weight.

\* : Significantly different from control at 5% level of probability.

\*\* : Significantly different from control at 1% level of probability.

Table 22-2

Absolute and relative organ weights of individual male rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl-  
in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test  
< After recovery period >

	Dose	B.W.	Brain	Liver	Kidney	Spleen	Heart	Thymus	Thyroid	Pituitary	Adrenal	Testis	Seminal vesicle	Epididymis
	(mg/kg)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(mg)	(mg)	(mg)	(g)	(g)	(g)
Absolute	0	524	2.08	13.42	3.24	0.76	1.48	0.39	30.0	14.8	60.6	3.45	2.59	1.49
		±46 (5)	±0.06 (5)	±1.61 (5)	±0.42 (5)	±0.10 (5)	±0.18 (5)	±0.07 (5)	±1.8 (5)	±1.9 (5)	±11.2 (5)	±0.38 (5)	±0.22 (5)	±0.15 (5)
	250	490	2.06	13.50	3.32	0.82	1.40	0.30	30.5	14.9	57.9	3.45	2.36	1.42
		±56 (5)	±0.08 (5)	±2.53 (5)	±0.47 (5)	±0.19 (5)	±0.15 (5)	±0.06 (5)	±5.4 (5)	±1.4 (5)	±7.0 (5)	±0.21 (5)	±0.25 (5)	±0.10 (5)
Relative @	0	524	0.40	2.56	0.62	0.14	0.28	0.07	5.7	2.8	11.5	0.66	0.50	0.28
		±46 (5)	±0.04 (5)	±0.10 (5)	±0.05 (5)	±0.02 (5)	±0.02 (5)	±0.01 (5)	±0.3 (5)	±0.2 (5)	±1.6 (5)	±0.07 (5)	±0.02 (5)	±0.02 (5)
	250	490	0.42	2.74	0.68	0.16	0.29	0.06	6.3	3.1	11.8	0.71	0.48	0.29
		±56 (5)	±0.04 (5)	±0.27 (5)	±0.05 (5)	±0.02 (5)	±0.02 (5)	±0.01 (5)	±1.2 (5)	±0.3 (5)	±1.2 (5)	±0.05 (5)	±0.06 (5)	±0.02 (5)

Each value is expressed as mean ± S.D.

(n) : No. of animals.

@ : Relative organ weight per 100g body weight.

Table 23-1

Absolute and relative organ weights of female rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl-  
in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test  
< After administration period >

	Dose (mg/kg)	B.W. (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Spleen (g)	Heart (g)	Thymus (g)	Thyroid (mg)	Pituitary (mg)	Adrenal (mg)
Absolute	0	330 $\pm 24$ (5)	1.93 $\pm 0.10$ (5)	11.63 $\pm 0.5$ (5)	2.03 $\pm 0.23$ (5)	0.76 $\pm 0.14$ (5)	1.06 $\pm 0.12$ (5)	0.30 $\pm 0.13$ (5)	25.2 $\pm 4.8$ (5)	19.5 $\pm 1.1$ (5)	77.3 $\pm 7.9$ (5)
	2	329 $\pm 17$ (5)	1.88 $\pm 0.03$ (5)	11.11 $\pm 0.99$ (5)	1.97 $\pm 0.20$ (5)	0.66 $\pm 0.11$ (5)	1.01 $\pm 0.13$ (5)	0.26 $\pm 0.08$ (5)	27.1 $\pm 0.9$ (5)	19.0 $\pm 3.3$ (5)	67.8 $\pm 9.5$ (5)
	10	327 $\pm 23$ (5)	1.95 $\pm 0.04$ (5)	11.77 $\pm 1.30$ (5)	2.06 $\pm 0.16$ (5)	0.62 $\pm 0.06$ (5)	0.99 $\pm 0.08$ (5)	0.29 $\pm 0.10$ (5)	26.8 $\pm 0.9$ (5)	19.3 $\pm 1.4$ (5)	78.7 $\pm 5.9$ (5)
	50	310 $\pm 22$ (5)	1.82 $\pm 0.04$ (5)	11.02 $\pm 0.86$ (5)	1.94 $\pm 0.19$ (5)	0.57 ** $\pm 0.03$ (5)	1.05 $\pm 0.15$ (5)	0.27 $\pm 0.08$ (5)	23.7 $\pm 3.2$ (5)	16.5 $\pm 1.4$ (5)	70.4 $\pm 10.0$ (5)
	250	304 $\pm 18$ (5)	1.89 $\pm 0.16$ (5)	12.00 $\pm 1.26$ (5)	2.22 $\pm 0.33$ (5)	0.68 $\pm 0.07$ (5)	1.00 $\pm 0.08$ (5)	0.20 $\pm 0.04$ (5)	28.4 $\pm 2.7$ (5)	17.6 $\pm 2.9$ (5)	72.0 $\pm 8.4$ (5)
	0	330 $\pm 24$ (5)	0.59 $\pm 0.05$ (5)	3.53 $\pm 0.22$ (5)	0.62 $\pm 0.06$ (5)	0.23 $\pm 0.03$ (5)	0.32 $\pm 0.04$ (5)	0.09 $\pm 0.03$ (5)	7.7 $\pm 1.5$ (5)	5.9 $\pm 0.3$ (5)	23.4 $\pm 1.7$ (5)
Relative @	2	329 $\pm 17$ (5)	0.57 $\pm 0.03$ (5)	3.37 $\pm 0.19$ (5)	0.60 $\pm 0.03$ (5)	0.20 $\pm 0.03$ (5)	0.31 $\pm 0.03$ (5)	0.08 $\pm 0.02$ (5)	8.3 $\pm 0.3$ (5)	5.8 $\pm 0.8$ (5)	20.6 $\pm 2.5$ (5)
	10	327 $\pm 23$ (5)	0.60 $\pm 0.04$ (5)	3.59 $\pm 0.23$ (5)	0.63 $\pm 0.03$ (5)	0.19 * $\pm 0.02$ (5)	0.30 $\pm 0.02$ (5)	0.09 $\pm 0.03$ (5)	8.2 $\pm 0.4$ (5)	5.9 $\pm 0.7$ (5)	24.2 $\pm 2.4$ (5)
	50	310 $\pm 22$ (5)	0.59 $\pm 0.03$ (5)	3.57 $\pm 0.43$ (5)	0.63 $\pm 0.05$ (5)	0.19 * $\pm 0.01$ (5)	0.34 $\pm 0.04$ (5)	0.09 $\pm 0.02$ (5)	7.7 $\pm 1.0$ (5)	5.4 $\pm 0.8$ (5)	22.8 $\pm 3.4$ (5)
	250	304 $\pm 18$ (5)	0.62 $\pm 0.04$ (5)	3.94 $\pm 0.27$ (5)	0.73 ** $\pm 0.07$ (5)	0.22 $\pm 0.01$ (5)	0.33 $\pm 0.02$ (5)	0.07 $\pm 0.01$ (5)	9.3 * $\pm 0.7$ (5)	5.8 $\pm 0.8$ (5)	23.6 $\pm 1.9$ (5)

Each value is expressed as mean  $\pm$  S.D.

(n) : No. of animals.

@ : Relative organ weight per 100g body weight.

\* : Significantly different from control at 5% level of probability.

\*\* : Significantly different from control at 1% level of probability.

Table 23-2

Absolute and relative organ weights of female rats of satellite group treated orally with aniline, 2,6-dimethyl-  
in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test  
< After recovery period >

	Dose (mg/kg)	B.W. (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Spleen (g)	Heart (g)	Thymus (g)	Thyroid (mg)	Pituitary (mg)	Adrenal (mg)
Absolute	0	298	1.90	7.82	1.87	0.52	0.99	0.39	25.7	19.1	67.6
		±33 (5)	±0.10 (5)	±1.19 (5)	±0.16 (5)	±0.07 (5)	±0.04 (5)	±0.13 (5)	±2.6 (5)	±2.0 (5)	±3.8 (5)
	250	273	1.91	7.09	1.72	0.52	0.95	0.33	23.9	19.5	68.6
Relative @		±7 (5)	±0.06 (5)	±0.33 (5)	±0.10 (5)	±0.03 (5)	±0.07 (5)	±0.08 (5)	±1.8 (5)	±3.8 (5)	±9.9 (5)
	0	298	0.64	2.61	0.63	0.17	0.33	0.13	8.7	6.4	22.9
		±33 (5)	±0.09 (5)	±0.14 (5)	±0.04 (5)	±0.02 (5)	±0.03 (5)	±0.04 (5)	±1.3 (5)	±0.6 (5)	±3.3 (5)
	250	273	0.70	2.60	0.63	0.19	0.35	0.12	8.7	7.2	25.2
		±7 (5)	±0.03 (5)	±0.16 (5)	±0.05 (5)	±0.01 (5)	±0.02 (5)	±0.03 (5)	±0.7 (5)	±1.5 (5)	±4.0 (5)

Each value is expressed as mean ± S.D.

(n) : No. of animals.

@ : Relative organ weight per 100g body weight.

Table 24-1 Incidence of histopathological findings of male rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

Organs : Findings	Dose (mg/kg)	After administration period					After recovery period		
		0	2	10	50	250	0	250	
	Fate	TK	TK	TK	FP (T)	TK	TK	TK	
	No. of animals	5	5	4	1 (5)	5	5	4	1 (5)
									5
Lung : Mineralization, artery	-	5	#	# #	#	4	# #	#	#
	+	0	#	# #	#	1	# #	#	#
Accumulation, macrophage	-	4	#	# #	#	5	# #	#	#
	+	1	#	# #	#	0	# #	#	#
Liver : Microgranuloma	-	4	4	4 1 (5)	5	4	4 0 (4)	4	
	+	1	1	0 0 (0)	0	1	0 1 (1)	1	
Necrosis, focal	-	5	5	3 1 (4)	4	5	4 1 (5)	5	
	+/-	0	0	1 0 (1)	1	0	0 0 (0)	0	
Hypertrophy, hepatocellular, centrilobular	-	5	5	4 1 (5)	4	1	4 1 (5)	4	
	+	0	0	0 0 (0)	1	4*	0 0 (0)	1	
Kidney : Hyaline droplet, proximal tubular epithelium	-	0	0	2 0	0	0	0 0	0	
	+	5 (5)	5 (5)	2 1 (5)	5 (5)	0 (0)	4 1 (5)	5 (5)	
	++	0	0	0 0	0	5**	0 0	0	
Eosinophilic body, proximal tubular epithelium	-	5	5	4 1 (5)	3	3	4 1 (5)	4	
	+/-	0	0	0 0 (0)	2	2	0 0 (0)	1	

TK : Terminal killing. FP : Failed to cause pregnancy. (T) : (Total) - : negative. +: slight. ++: moderate.

\*\* : Significantly different from control at 1% level of probability.

\* : Significantly different from control at 5% level of probability.

# : Not examined.

Table 24-2 Incidence of histopathological findings of male rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

Organs : Findings	Dose (mg/kg)	After administration period					After recovery period		
		0	2	10	50	250	0	250	
	Fate	TK	TK	TK	FP (T)	TK	TK	TK	
	No. of animals	5	5	4	1 (5)	5	5	4	1 (5)
									5
Kidney : Basophilic tubules	-	4	5	4	0 (0)	3	0 (0)	3	1 (4)
(Continued)	+	1 (1)	0 (0)	0	1 (1)	2 (2)	2 (5)*	1 0 (1)	3 (5) *
	++	0	0	0	0 (0)	0	3	0 0 (0)	2 (2)
Necrosis, papilla	--	5	5	4	1 (5)	5	2	4	1 (5)
	+	0	0	0	0 (0)	0	3	0 0 (0)	3
Cast, proteinous	-	5	5	4	1 (5)	5	2	4	1 (5)
	+	0	0	0	0 (0)	0	3	0 0 (0)	0
Cyst, solitary	-	5	5	4	0 (4)	4	5	4	1 (5)
	+	0	0	0	1 (1)	1	0	0 0 (0)	0
Cellular infiltration, lymphocyte, cortex	-	5	5	3	1 (4)	4	5	4	0 (4)
	+	0	0	1	0 (1)	1	0	0 1 (1)	0
Thymus : Hemorrhage	-	5	#	# #	#	4	# #	# #	#
	+	0	#	# #	#	1	# #	# #	#
Spleen : Hematopoiesis, extramedullary	+	5	5	4	1 (5)	5	2	4	1 (5)
	++	0	0	0	0 (0)	0	3	0 0 (0)	0
Deposit, hemosiderin	+	5	5	4	1 (5)	4	0	3	1 (4)
	++	0	0	0	0 (0)	1	5**	1 0 (1)	2

TK : Terminal killing. FP : Failed to cause pregnancy. (T) : (Total). -: negative. +: slight. ++: moderate.

\*\* : Significantly different from control at 1% level of probability.

\* : Significantly different from control at 5% level of probability.

# : Not examined.

Table 24-3 Incidence of histopathological findings of male rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

Organs : Findings	Dose(mg/kg)	After administration period						After recovery period	
		0	2	10	50	250	0	250	FP
	Fate	TK	FP	UC	FP (T)	FP	TK	FP (T)	1
	No. of animals	5	1	1	1 (2)	1	5	1 (6)	
Testis : Atrophy, seminiferous tubule bilateral	-	4	0	1	0	1	4	1	1 #
	+/++	1	1	0	1	0	1	0	0 #
Atrophy, seminiferous tubule, unilateral	-	5	1	1	1	1	4	1	1 #
	+	0	0	0	0	0	1	0	0 #
Epididymis : Decrease, sperm, unilateral	-	4	0	1	1	1	4	1	1 #
	+	1	1	0	0	0	1	0	0 #
Prostate : No abnormalities		5	1	1	1	1	5	1	1 #
Seminal vesicle: No abnormalities		5	1	1	1	1	5	1	1 #

TK : Terminal killing. UC : Animal with unsuccessful copulation. FP : Failed to cause pregnancy. (T) : (Total). -: negative. +: slight. ++: moderate.

# : Not examined.

No abnormalities were detected in the brain, pituitary, thyroid, parathyroid, trachea, heart, stomach, intestine, adrenal, urinary bladder, spinal cord, sciatic nerve, bone marrow, lymph node and mammary gland from animals of control and 250mg/kg groups.

Table 25-1 Incidence of histopathological findings of female rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

Organs : Findings	Dose(mg/kg)	After administration period					After recovery period <sup>a</sup>	
		0	2	10	50	250	0	250
	Fate	TK	TK	TK	TK	TK	TK	TK
	No. of animals	5	5	5	5	5	5	5
Lung : Mineralization, artery	-	4	#	#	#	5	#	#
	+	1	#	#	#	0	#	#
Accumulation, foam cell	-	5	#	#	#	4	#	#
	+	0	#	#	#	1	#	#
Liver : Microgranuloma	-	4	5	4	4	4	5	5
	+	1	0	1	1	1	0	0
Necrosis, focal	-	4	5	5	5	5	5	5
	+	1	0	0	0	0	0	0
Hypertrophy, hepatocellular, centrilobular	-	5	5	5	4	2	5	5
	+	0	0	0	1	3	0	0
Kidney : Cyst, solitary	-	4	5	5	4	5	5	5
	+	1	0	0	1	0	0	0
Mineralization, cortico-medullary junction	-	4	5	5	4	5	5	5
	+	1	0	0	1	0	0	0
Basophilic tubules	-	5	5	5	5	2	5	3
	+	0	0	0	0	3	0	2

TK : Terminal killing. a : Satellite group without copulation. -: negative. +: slight.

# : Not examined

Table 25-2 Incidence of histopathological findings of female rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

Organs : Findings	Dose (mg/kg)	After administration period					After recovery period*	
		0	2	10	50	250	0	250
		TK	TK	TK	TK	TK	TK	TK
No. of animals		5	5	5	5	5	5	5
Kidney : Necrosis, papilla	-	5	5	5	5	1	5	3
(Continued)	+/-	0	0	0	0	4*	0	2
Mineralization, papilla	-	5	5	5	5	4	5	5
	+	0	0	0	0	1	0	0
Dilatation, distal tubule, diffuse	-	5	5	5	5	3	5	5
	+	0	0	0	0	2	0	0
Cast, hyaline	-	5	5	5	5	4	5	5
	+	0	0	0	0	1	0	0
Spleen : Hematopoiesis, extramedullary	+	4	4	5	5	3	5	5
	++	1	1	0	0	2	0	0
Deposit, hemosiderin	+	5	5	5	5	1	2	0
	++	0	0	0	0	4*	3	5

TK : Terminal killing. a : Satellite group without copulation. -: negative. +: slight. ++: moderate.

# : Not examined

\* : Significantly different from control at 5% level of probability.

Table 25-3 Incidence of histopathological findings of female rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

Organs : Findings	Dose (mg/kg)	After administration period										After recovery period*				
		0			2			10			50			250		
		Fate	TK	NP (T)	NP (T)	UC	NP	KL (T)	NP	KL (T)	TK	NP	KL (T)	0	250	
No. of animals			5	1	(6)	1	(1)	1	1	1 (3)	1	1	(2)	5	1	1 (7)
	Pituitary: No abnormalities		5	1		1		1	1	1	1	1		5	1	1
	Uterus : Dilatation, lumen	-	5	0		1		1	0	#	1	#		5	1	#
		++	0	1		0		0	1	#	0	#		0	0	#
	Degeneration, vacuolar,	-	5	0		1		1	0	#	1	#		5	1	#
	endometrial epithelium	++	0	1		0		0	1	#	0	#		0	0	#
	Ovary : No abnormalities		5	1		1		1	1	1	1	1		5	1	1
	Mammary gland: No abnormalities		5	1		#		#	#	1	#	1		5	#	1
														#		#

TK : Terminal killing. UC : Animal with unsuccessful copulation. NP : Non-pregnant. (T) : (Total)

KL : Killed because all pups died after delivery.

a : Satellite group without copulation. -: negative. ++: moderate.

# : Not examined

No abnormalities were detected in the brain, thyroid, parathyroid, thymus, trachea, heart, stomach, intestine, adrenal, urinary bladder, spinal cord, sciatic nerve, bone marrow and lymph node from animals of control and 250mg/kg groups.

Table 26

The number of cells in seminiferous epithelia assessed by the individual examination in male rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg)	No. of animals	Stage II - III			Stage V			Stage VII			Stage XII		
		G	P	T	G	P	T	G	R/P	T	G	Z/P	
0	5	Mean	0.72	2.21	7.51	1.21	2.70	7.87	0.08	4.33	7.60	0.10	5.11
		S.D.	0.12	0.46	1.17	0.17	0.19	0.33	0.03	0.49	0.65	0.04	0.15
250	5	Mean	0.82	2.39	7.17	1.22	2.59	7.12	0.10	4.41	7.48	0.13	5.39
		S.D.	0.24	0.15	0.82	0.04	0.11	0.84	0.01	0.43	0.96	0.03	0.30

G : spermatogonia.

P : pachytene spermatocyte.

R : preleptotene spermocyte.

Z : zygotene spermocyte.

T : round spermatid.

Table 27 Reproduction results of rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

	Dose (mg/kg)	0	2	10	50	250
Estrous cycle (days, Mean ± S.D.)		4.1 ± 0.3	4.1 ± 0.2	4.0 ± 0.1	4.1 ± 0.3	4.2 ± 0.5
No. of pairs mated		12	12	12	12	12
No. of pairs with successful copulation		12	12	11	12	12 <sup>a</sup>
Copulation index (%)		100	100	91.7	100	100
Pairing days until copulation (days, Mean ± S.D.)	2.3 ± 1.3	3.5 ± 3.5	2.5 ± 1.2	3.2 ± 3.6	2.3 ± 1.1	
No. of pregnant females		11	11	10	11	10 <sup>b</sup>
Fertility index (%)		91.7	91.7	90.9	91.7	90.9
No. of corpora lutea (Mean ± S.D.)	17.5 ± 2.0	17.0 ± 2.0	17.0 ± 3.0	15.5 ± 4.2	14.5 ± 3.0	
No. of implantation sites (Mean ± S.D.)	16.9 ± 1.6	15.5 ± 1.6	15.6 ± 3.5	13.7 ± 5.0	13.7 ± 3.6*	
Implantation index (%), Mean ± S.D.)	96.6 ± 4.5	91.4 ± 7.9	91.2 ± 13.4	86.3 ± 19.3	94.0 ± 13.2	
No. of pregnant females with parturition		11	11	10	11	8
Gestation length (days, Mean ± S.D.)	22.4 ± 0.5	22.2 ± 0.4	22.3 ± 0.5	22.5 ± 0.7	22.9 ± 0.4	
No. of pregnant females with live pups		11	11	10	11	8
Gestation index (%)		100	100	100	100	100
No. of pregnant females with live pups on day 4		11	11	9	10	7

Copulation index = (No. of pairs with successful copulation/No. of pairs mated) × 100.

Fertility index = (No. of pregnant females/No. of pairs with successful copulation) × 100.

Gestation index = (No. of females with live pups/No. of pregnant females) × 100.

\* : Significantly different from control at 5% level of probability.

a : One female was emergent slaughtered on day 5 after copulation.

b : Two females was emergent slaughtered before parturition.

Table 28 Litter results of rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

Dose(mg/kg)	0	2	10	50	250
No. of pups born	15.1 ± 1.2	14.8 ± 1.7	14.9 ± 3.7	13.1 ± 4.9	12.1 ± 3.6
Delivery Index (%)	89.6 ± 6.7	95.9 ± 4.3	95.3 ± 6.0	94.7 ± 5.8	91.8 ± 6.7
No. of pups alive on day 0 of lactation					
Total	14.8 ± 1.5	14.8 ± 1.7	14.9 ± 3.7	13.0 ± 5.1	11.0 ± 3.9 *
Male	7.1 ± 2.7	7.6 ± 1.8	7.8 ± 3.2	7.0 ± 3.1	5.4 ± 2.3
Female	7.7 ± 1.6	7.2 ± 2.1	7.1 ± 1.8	6.0 ± 2.9	5.6 ± 3.0
Live birth Index (%)	98.1 ± 4.4	100 ± 0	100 ± 0	97.0 ± 10.0	88.6 ± 17.0
Sex ratio(Male/Female)	0.93	1.06	1.10	1.18	1.02
No. of pups alive on day 4 of lactation					
Total	14.5 ± 1.6	14.8 ± 1.7	14.3 ± 3.6	13.8 ± 3.7	11.6 ± 2.9
Male	7.0 ± 2.7	7.6 ± 1.8	7.2 ± 3.1	7.4 ± 2.8	5.4 ± 1.9
Female	7.5 ± 1.5	7.2 ± 2.1	7.1 ± 1.9	6.4 ± 2.4	6.1 ± 2.5
Viability Index (%)	98.1 ± 3.2	100 ± 0	99.2 ± 2.4	98.1 ± 4.4	93.8 ± 10.5
Body weight of live pups (g) on day 0					
Male	7.0 ± 0.6	7.0 ± 0.7	6.9 ± 0.7	7.1 ± 0.7	6.7 ± 0.5
Female	6.6 ± 0.6	6.8 ± 0.8	6.7 ± 0.7	6.8 ± 0.7	6.4 ± 0.5
on day 4					
Male	11.1 ± 1.4	11.3 ± 1.4	11.4 ± 1.8	11.3 ± 2.0	10.9 ± 0.5
Female	10.6 ± 1.0	10.9 ± 1.4	11.0 ± 1.9	10.8 ± 1.7	10.4 ± 0.7

Delivery index = (No. of pups born/No. of implantation sites) × 100.

Live birth index = (No. of live pups on day 0/No. of pups born) × 100.

Viability index = (No. of live pups on day 4/No. of live pups on day 0) × 100.

Sex ratio = Total No. of male pups/Total No. of female pups.

Each value is expressed as Mean ± S.D., except sex ratio.

\* : Significantly different from control at 5% level of probability.

Table 29 External findings of pups from pregnant rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

Dose(mg/kg)	0	2	10	50	250
No. of pups examined	166	163	149	144	97
No. of pups with external malformations <sup>#</sup>	0 (0)	0 (0)	1 (0.7±2.2)	1 (0.6±1.9)	0 (0)
<b>External malformations<sup>#</sup></b>					
Dwarf	0 (0)	0 (0)	1 (0.7±2.2)	1 (0.6±1.9)	0 (0)

# : No. of pups (Mean±S.D. of individual litter percentages).

Table 30 Visceral findings of pups from pregnant rats treated orally with aniline, 2,6-dimethyl- in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

Dose(mg/kg)	0	2	10	50	250
No. of pups examined	165	163	147	143	94
No. of pups with visceral malformations <sup>#</sup>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
No. of pups with visceral variations <sup>#</sup>	9 (5.6±6.7)	7 (4.4±5.5)	6 (4.2±11.2)	5 (3.0±8.1)	3 (2.7±3.8)
Visceral variations <sup>#</sup>					
Thymic remnant in neck	7 (4.3±6.2)	3 (1.9±4.6)	2 (1.3±2.8)	3 (1.8±4.3)	2 (1.8±3.3)
Persistent left umbilical artery	0 (0)	1 (0.6±2.0)	1 (0.7±2.2)	0 (0)	0 (0)
Bending ureter	2 (1.3±4.3)	2 (1.3±2.8)	3 (2.1±6.8)	2 (1.2±4.0)	1 (1.0±2.7)
Dilatation of ureter	0 (0)	1 (0.6±2.0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

# : No. of pups (Mean±S.D. of individual litter percentages).