

4 - (1 - メチルエチル) - アニリンの
ラットを用いる反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験

試験番号：3654 (115 - 087)

目 的

		1~26
1. 要 約		8
2. 諸 言		10
3. 試 験 題 目		11
4. 試 験 目 的		11
5. 試 験 番 号		11
10. 試験材料および方法		13
11. 試 験 結 果		19
12. 考察および結論		23
13. 参 考 文 献		25
Figures		F-1~4
Figure 1	Body weight change of male rats	F-1
Figure 2	Body weight change of female rats	F-2
Figure 3	Food consumption of male rats	F-3
Figure 4	Food consumption of female rats	F-4
Tables		T-01~37
Table 1-1	Clinical observations in male rats	T-01
Table 1-2	Clinical observations in female rats (Before and during mating period)	T-03
Table 1-3	Clinical observations in female rats (Gestation period)	T-04
Table 1-4	Clinical observations in female rats (Lactation period)	T-10
Table 2-1	Body weight change of male rats	T-11
Table 2-2	Body weight change of female rats	T-12
Table 3-1	Food consumption of male rats	T-13
Table 3-2	Food consumption of female rats	T-14
Table 4-1	Hematology of male rats	T-15
Table 4-2	Coagulation of male rats	T-16
Table 5	Blood chemistry of male rats	T-17
Table 6-1	Absolute and relative organ weight of male rats	T-18
Table 6-2	Absolute and relative organ weight of female rats	T-19

Table 7-1	Summary of gross findings (dead, female)	T-20
Table 7-2	Summary of gross findings (sacrificed, male)	T-21
Table 7-3	Summary of gross findings (sacrificed, female)	T-22
Table 8-1	Summary of histological findings (dead, female)	T-23
Table 8-2-1	Summary of histological findings (sacrificed, male)	T-25
Table 8-2-2	Summary of histological findings (sacrificed, male)	T-27
Table 8-3-1	Summary of histological findings (sacrificed, female)	T-29
Table 8-3-2	Summary of histological findings (sacrificed, female)	T-31
Table 9	Copulation and fertility results in rats	T-33
Table 10	Findings of delivery in dams(F0)	T-34
Table 11	Body weight change of pups(F1) from rats	T-35
Table 12-1	Summary of gross findings of pups(F1) from rats (sacrificed, male)	T-36
Table 12-2	Summary of gross findings of pups(F1) from rats (sacrificed, female)	T-37

1. 要 約:

既存化学物質の毒性学的性質を評価するため、4-(1-メチルエチル)-アニリンの0(溶媒対照群), 6, 20 および 60 mg/kg/dayをラットの交配前14日から交配期間, 妊娠期間および哺育3日まで連続経口投与し, 反復投与毒性に加えて生殖・発生に及ぼす影響を検討した。

1) 反復投与毒性

雌の 60 mg/kg群で妊娠25日に1例が死亡した。一般状態の観察では, 眼貧血および流涎が雌雄とも 20 および 60 mg/kg群で観察され, 皮膚の蒼白が主として 60 mg/kg群の妊娠期間の雌に観察された。

体重では, 20 および 60 mg/kg群の雄と 60 mg/kg群の妊娠期間の雌で軽度な増加抑制が認められ, 摂餌量では 60 mg/kg群の雄で投与期間の初期に低値が認められた。

雄の血液学検査では, 20 および 60 mg/kg群でメトヘモグロビン比率が高値を示し, さらに 60 mg/kg群でヘマトクリット値, ヘモグロビン量, 赤血球数およびMCHCが低値を, MCV, MCH, 血小板数および網赤血球比率が高値を示した。血液凝固能検査では被験物質投与の影響は認められなかった。血液生化学検査では 60 mg/kg群でアルブミン, A/Gおよび総ビリルビンが高値を示した。

病理学検査では, 骨髓, 脾臓および肝臓に被験物質の影響が示唆される変化が認められた。器官重量は, 脾臓重量が雄の 60 mg/kg群, 雌の 20 および 60 mg/kg群で高値を示し, 肝臓重量が雄の 20 および 60 mg/kg群ならびに雌の 60 mg/kg群で高値を示した。剖検所見では脾臓の黒色化および肥大が雌雄の 20 および 60 mg/kg群で認められ, 病理組織学検査では骨髓の造血亢進(赤血球系造血), 脾臓のうっ血, 色素沈着および髄外造血(赤血球系造血)が雌雄の 20 および 60 mg/kg群で, 肝臓の髄外造血が雄の 60 mg/kg群, 雌の 20 および 60 mg/kg群で, 肝臓のクッパー細胞の色素沈着および肝細胞肥大が雌雄の 60 mg/kg群でそれぞれ発生率の増加あるいは程度の増強が認められた。

2) 生殖発生毒性

性周期, 交尾能および受胎能に被験物質投与の影響は認められなかった。

分娩時観察および妊娠期間にも被験物質投与の影響は認められなかった。60 mg/kg群で雌雄の新生児の生後0日の体重が低値を示し, 生後4日の生存率が低値を示したことから, 被験物質投与による出生前後の新生児の発育抑制および生存性に対する影響が示唆された。その他, 出産率, 出生率に被験物質投与の影響は認められず, 新生児の外表, 死亡児および哺育4日の剖検にも被験物質投与の影響は認められなかった。

以上の結果から、本試験条件下では4-(1-メチルエチル)-アニリンの反復投与によりメトヘモグロビン血症および貧血が惹起され、それらに起因すると考えられる一般状態、血液学検査値、血液生化学検査値、骨髄、肝臓および脾臓の変化が雌雄の20 mg/kg以上の投与群で認められ、無影響量は雌雄とも6 mg/kg/dayと判断された。雌雄の生殖に及ぼす影響は60 mg/kg/day投与でも認められず、無影響量は60 mg/kg/dayと判断された。児動物の発生・発育に及ぼす影響は60 mg/kg/day投与で発育抑制が認められ、生後4日生存率が低値を示したことから無影響量は20 mg/kg/dayと判断された。

2. 緒言：

4-（1-メチルエチル）-アニリン [Aniline, 4-(1-methylethyl-)] は、農薬の原料として用いられている化合物である。本化合物の毒性については、経口投与による雄ラットのLD₅₀が 750 mg/kg (Reference data 1) と報告されているが、ヒトや実験動物の生体に及ぼす毒性、特に生殖発生毒性についてはほとんど知られていない。

今回、OECDによる既存化学物質の安全性点検に係わる毒性調査事業の一環として、4-（1-メチルエチル）-アニリンの反復投与毒性および生殖・発生毒性について検討したのでその結果を報告する。

3. 試 験 題 目 : 4 - (1 - メチルエチル) - アニリンのラットを用いる
反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験
4. 試 験 目 的 : 既存化学物質の毒性学的性質を評価する一環として行うOECDガイドライン「反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験」(1990年3月22日)に従い、ラットを用いて一般毒性学的影響に加え生殖・発生に及ぼす影響を検討した。
なお、試験の実施は環企研第233号、衛生第38号、63基局第823号(昭和63年11月18日)の「新規化学物質に係る試験及び指定化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める命令第4条に規定する試験施設について」の基準を満たすものとした。
5. 試 験 番 号 : 3 6 5 4 (115 - 087)

10. 試験材料および方法：

10.1 被験物質

4-（1-メチルエチル）-アニリン [Aniline, 4-(1-methylethyl-), 別名 P I P A, CAS No. 99-88-7, Lot No. 純度 99.27wt%, 分子量 135.20, 沸点 226~227℃ (745 mmHg)] は、無〜黄褐色の液体であり、使用時まで室温で遮光下密栓保管した。4-（1-メチルエチル）-アニリンを実測した結果は、Reference data 1 に示した。

被験物質は、トウモロコシ油 (Lot No. V7P1509, ナカライテスク株式会社製造) に溶解し、1.2, 4 および 12 mg/mL の濃度になるよう各群の投与液を調製した。調製後は、使用時まで冷暗条件下で密閉保管した。投与液中の被験物質は 1 および 60 mg/mL の場合、調製後遮光下冷蔵庫保存で 8 日目まで安定であることが予備試験において確認されているため、調製は 1 週間に 1 回以上の頻度で行い、調製後 7 日以内に使用した。投与液の濃度確認のため全試験群について、調製開始時に調製した各群の投与液から無作為にサンプルを抽出し投与液中の被験物質濃度の分析を実施した。その結果、投与液は設定濃度の 96.5~102.0% の範囲で調製されていた (Reference data 3)。したがって、投与液にはほぼ所定量の 4-（1-メチルエチル）-アニリンが含有されていたことを確認した。

投与終了後に製造元に返却した被験物質について、製造元で再分析した結果、純度は 99.27% であり被験物質は投与期間中安定であったことが確認された (Reference data 4)。

10.2 使用動物および飼育条件

試験には、日本チャールス・リバー株式会社 (神奈川県厚木市) から購入した生後 8 週齢の Sprague-Dawley (Crj:CD(SD), SPF) 系雌雄ラットを使用した。購入した動物は 7 日間検疫・馴化飼育した後、一般状態に異常が認められなかったものを 10 週齢で群分けして試験に用いた。群分け終了時の体重は、雄で 384~420 g, 雌で 213~240 g の範囲であった。

動物は、温度 $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$, 湿度 $55 \pm 10\%$, 換気回数 15 回/時間, 照度 150~300 lux, 照明時間 12 時間 (午前 7 時点灯, 午後 7 時消灯) に設定されたバリアシステムの飼育室 (W 5.7×D 10.0×H 2.5 m, 142.5 m^3) で飼育した。動物の馴化期間を含め、飼育期間中の実測温度および湿度の範囲は、それぞれ $23.3 \sim 24.9^{\circ}\text{C}$ および 45~61% であった。株式会社 東京技研サービス (東京都府中市) の自動水洗式飼育機 (W 691.0×D 79.0×H 195.0 cm) を使用し、アルミ製前面・床ステンレス網目飼育ケージ (W 15.8×D 23.8×H 16.0 cm, 飼育ケージ・スペース 6017 cm^3) に動物を 1 匹ずつ収容し飼育した。但し、交配期間中は、雄をアルミ製前面・床ステンレス網目飼育ケージ (W 36.8×D 25.0×H 16.0 cm, 飼育ケージ・スペース 14720 cm^3) に 1 匹ずつ収容し飼育した。妊娠 18 日以降の母動物は哺育 4 日までアルミ製前面・床ステンレス網目飼育ケージ (W 36.8×D 25.0×H 16.0 cm) に哺育トレイおよび巣作り材料 (Care FRESH™) を入れて飼育した。

飼育ケージは隔週 1 回、給餌器は週 1 回交換した。

飼料は、オリエンタル酵母工業株式会社（東京都中央区）製造のNMF固型飼料（放射線滅菌飼料）を使用し、飼育期間中自由に摂取させた。飲水は、水道水を自動給水ノズルより自由に摂取させた。

供給した飼料および水には試験結果に影響を及ぼすと考えられる量の夾雑物の混在は認められなかった（Reference data 5, 6）。

なお、動物の馴化期間を含め、飼育期間中、データの信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因の変化はなかった。

10.3 群分け・個体識別

動物はあらかじめ体重によって層別化し、無作為抽出法により各試験群を構成するように群分けし、1群当たり各12匹を用意した。

群分け後の動物の識別は個体別に入墨をするとともにケージごとに動物標識番号（Animal ID-No.）をつけた。

余剰動物は炭酸ガスにより安楽死させた。

10.4 投与量、群構成、投与期間および投与方法

本試験の用量は先に実施した予備試験「4-（1-メチルエチル）-アニリンのラットを用いる反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験-2週間投与予備試験（試験番号3653）」の結果を参考にして決定した。すなわち、0, 10, 30, 100 および 300 mg/kgを雄および雌に14日間連続経口投与した結果、300 mg/kg群で雌雄の各1例が死亡した。一般状態の変化として、眼貧血が雌雄ともに30 mg/kg群で少数例に、100 および 300 mg/kg群で全例に観察され、流涎および蒼白が雌雄の100 および 300 mg/kg群でほぼ全例に観察された。その他、散瞳、着色尿、体温低下、歩行異常および立毛等が300 mg/kg群で観察された。また、300 mg/kg群の雌雄に体重増加抑制および摂餌量の低下が認められた。

雄の血液学検査では、30 mg/kg以上の投与群でヘマトクリット値、ヘモグロビン量および赤血球数が低値を示し、100 および 300 mg/kg群でMCVおよびMCHが高値を、MCHCが低値を示した。さらに300 mg/kg群で好中球比率が高値を、リンパ球比率が低値を示した。血液生化学検査では100 および 300 mg/kg群でアルブミンおよびA/Gが高値を示し、300 mg/kg群で総蛋白およびGPTが高値を示した。

剖検では、30 mg/kg以上の投与群で雌雄のほぼ全例に脾臓の黒色化および肥大が観察されたほか、雌雄の300 mg/kg群で肝臓の黒色化および肥大がほぼ全例に、腎臓の黒色化が全例に観察された。

剖検時の器官重量では、雄の100 mg/kg以上、雌の30 mg/kg以上の投与群で脾臓の絶対および相対重量が高値または高値傾向を示し、100 および 300 mg/kg群で肝臓の絶対および相対重量が高値を示した。さらに、雄の100 および 300 mg/kg群で精巣の相対重量の高値、雌雄の300 mg/kg群で胸腺の絶対および相対重量が低値または低値傾向を、腎臓の相対重量が高値を示した。

以上の結果から、本試験の最高用量を明らかな毒性兆候が現れることが予想される60 mg/kgに設定し、以下公比約3で除し、20 および 6 mg/kgを設定した。

投与経路は、OECDガイドライン「反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験」¹⁾で指示されている投与経路に準じて強制経口投与とした。投与容量は、体重 100 g 当り 0.5 mL とし、交配前および交配期間中の雌雄では、個体別に測定した最新体重に基づいて算出を行った。また、妊娠期間および哺育期間中の雌は、妊娠 0, 7, 14, 21 および哺育 0 日に測定した個体別体重に基づいて算出を行った。胃ゾンデを用いて毎日 1 回（7 日／週）8:45～16:10 に強制経口投与した。対照群にはトウモロコシ油のみを同様に投与した。

雄の投与期間は、交配前 14 日間と交配期間 14 日間および交配期間終了後 20 日間の連続 48 日間とした。雌の投与期間は、交配前 14 日間と交配期間中（最長 4 日間）ならびに交尾成立雌の妊娠期間を通じて分娩後の哺育 3 日まで（41～45 日間）とした。

10.5 観察および検査

10.5.1 一般状態

雌雄とも、全例について試験期間中毎日観察し、異常および死亡の有無を記録した。

10.5.2 体重

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

雌では、投与 1（投与開始日）、8 および 15 日に測定し、投与 1 から 15 日までの体重増加量を算出した。また、交尾成立後の雌は、妊娠 0, 7, 14 および 21 日に、分娩した雌は哺育 0 および 4 に測定し、それぞれ妊娠 0 から 21 日および哺育 0 から 4 日までの体重増加量を算出した。

10.5.3 摂餌量

雄では、投与 1（投与開始日）、8, 15, 22, 29, 36, 43 および 48 日（剖検前日）に餌重量を測定し、測定日から次の測定日までの摂餌量を求め平均 1 日摂餌量を算出するとともに投与 1 から 15 日および投与 22 から 48 日までの累積摂餌量を算出した。

雌では、投与 1（投与開始日）、8 および 15 日に測定し、測定日から次の測定日までの摂餌量を求め平均 1 日摂餌量を算出するとともに投与 1 から 15 日までの累積摂餌量を算出した。また、交尾成立の雌は妊娠 0, 7, 14 および 21 日に、分娩した雌は哺育 0 および 4 日に餌重量を測定し、測定日から次の測定日までの摂餌量を求め平均 1 日摂餌量を算出するとともに妊娠 0 から 21 日までの累積摂餌量を算出した。

なお、交配期間中の同居動物は摂餌量を測定しなかった。

10.5.4 交配

交配前 14 日間の性周期観察を行った雌を同群内の雄のケージに入れ 1 対 1 で最長 4 日間毎晩同居させた。翌朝、膣垢中の精子確認をもって交尾成立とし、その日を妊娠 0 日とした。

性周期観察は交尾成立日まで行い、発情期から次の発情期までの間の日数を性周期日数として平均性周期を算出した。

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

10.5.5 自然分娩時および新生児の観察

妊娠動物は全例を自然分娩させた。分娩の確認は午前9～10時に行い、この時間帯に分娩が完了していることを確認した個体および分娩を開始した個体については分娩完了まで待ち、その日を哺育0日とした。午前10時を過ぎて分娩が完了した個体については、翌日を哺育0日とした。分娩を確認した全例について妊娠期間（哺育0日の年月日から妊娠0日の年月日を減じた日数）、受胎率〔（受胎動物数／交尾成立動物数）×100〕、出産率〔（生児出産雌数／妊娠雌数）×100〕、着床率〔（着床痕数／妊娠黄体数）×100〕、分娩率〔（総出産児数／着床痕数）×100〕、出生率〔（出産生児数／総出産児数）×100〕を算出した。

母動物は哺育4日に病理解剖した。

新生児は哺育0日に出産児数（生存児＋死亡児）を調べ、性別を判定するとともに外表異常の有無を調べた。また、哺育0および4日に雌雄別の同腹児重量を測定し、1腹の雌雄別1匹当たりの平均体重を算出した。

哺育4日に新生児全例を解剖し、器官・組織の肉眼的観察を行った。哺育期間中の死亡児も同様に器官・組織の肉眼的観察を行った。また、新生児の4日生存率〔（哺育4日生児数／出産生児数）×100〕を算出した。

10.5.6 臨床検査

各群の雄全例について剖検時に実施した。動物を約16時間絶食させた後、エーテルで麻酔後開腹し、腹部大動脈から採血した。

10.5.6.1 血液学検査

検査には抗凝固剤（EDTA-2K）を添加した初血について、総合血液学検査装置 THMS H-1E（マイルス社、米国）を用いて白血球数（WBC：暗視野板法）、赤血球数（RBC：暗視野板法）、ヘマトクリット値（HCT：RBC、MCVより算出）、ヘモグロビン量（HGB：シアンメトヘモグロビン法）、平均赤血球容積（MCV：暗視野板法）、平均赤血球血色素量（MCH：HGB、RBCより算出）、平均赤血球血色素濃度（MCHC：HGB、HCTより算出）、血小板数（PLT：暗視野板法）および白血球百分率（フローサイトケミストリー法）を測定した。白血球百分率は前述の機器で測定したが、別途血液塗抹標本を作製し、メイ・グリュンワルド・ギムザ染色して保管した。メトヘモグロビン比率については松原法による分画測定法を用いて算出した。網赤血球（RC）比率の算定のために抗凝固剤（EDTA-2K）添加血液をニューメチレンブルーで染色後、血液塗抹標本を作製した。高用量群で貧血傾向が認められたため、全群全例の標本の観察を行った。

10.5.6.2 血液凝固能検査

検査にはクエン酸ソーダ添加血液を 3000 r.p.m.、13分間遠心分離して得た血漿について、血液凝固測定装置 KC-40（アメルング社、独国）を用いてプロトロンビン時間（PT：Quick 1 段法）、活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT：クロット法）およびフィブリノーゲン量（Fibrinogen：トロンビン時間法）を測定した。

10.5.6.3 血液生化学検査

検査には採血管に血液を採取し、室温に30分間静置後 3000 r. p. m. 7 分間遠心分離して得た血清を用いた。総蛋白（ビュレット法），アルブミン（B.C.G.法），A/G（計算値），血糖（グルコースオキシダーゼ法），中性脂肪（酵素比色法），総コレステロール（コレステロールオキシダーゼ法），尿素窒素（ウレアーゼアンモニウム指示薬法），クレアチニン（Jaffé法），総ビリルビン（ジアゾ法），グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ（IFCC法），グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ（IFCC法），アルカリホスファターゼ（Bessey-Lowry改良法），γ-グルタミルトランスペプチダーゼ（Orłowski法），カルシウム（アルセナゾⅢ法）および無機リン（モリブデン酸青法）は多項目生化学自動分析装置 日立7170（株式会社日立製作所，東京都千代田区）を用い，ナトリウム（電極法），カリウム（電極法）および塩素（電極法）は EKTACHEM 700N（コダック社，米国）を用いて測定した。

10.5.7 病理学検査

10.5.7.1 剖検および器官重量

① 死亡動物

剖検では器官・組織の肉眼的観察を行い，皮膚，乳腺，リンパ節，唾液腺，胸骨，大腿骨，骨髓（胸骨および大腿骨），胸腺，気管，肺および気管支，心臓，甲状腺および上皮小体，舌，食道，胃，十二指腸，小腸，大腸，肝臓，膵臓，脾臓，腎臓，副腎，膀胱，卵巣，子宮，膣，眼球，ハーダー腺，脳，下垂体および脊髄を10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。

② 雄動物

48日間投与した日の夕方から，約16時間絶食をさせた後エーテル麻酔下で採血し安楽死させた。器官・組織の肉眼的観察を行った後，脳，胸腺，肝臓，腎臓，脾臓，副腎，精巣および精巣上体重量を測定し器官重量・体重比（相対重量）を算出した。また，全動物の重量測定器官に加えて心臓，精囊，前立腺，下垂体，骨髓（胸骨および大腿骨）および肉眼所見として変化が認められた器官・組織として皮膚を10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。なお，精巣および精巣上体はブアン氏液で固定した。

③ 雌動物

哺育4日にエーテル麻酔下で放血安楽死させた。器官・組織の肉眼的観察を行った後，脳，胸腺，肝臓，腎臓，脾臓，副腎および卵巣重量を測定し器官重量・体重比（相対重量）を算出した。また，全動物の重量測定器官に加えて心臓，下垂体，骨髓（胸骨および大腿骨）および肉眼所見として変化が認められた器官・組織として舌，鼻の結節および皮膚を10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。また，剖検時に黄体数および着床痕数を調べた。

10.5.7.2 病理組織学検査

下記に該当する動物の組織について株式会社 組織科学研究所（東京都青梅市）で常法に従ってパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色した。また対照群および 60 mg/kg群の雌雄各2例の肝臓および脾臓についてヘモジテリン同定のために安評センターにおいて特殊染色（ベルリンブルー染色）を行った。鏡検は安評センターで実施した。なお、高用量群の骨髄、脾臓および肝臓に被験物質の影響を示唆する変化が認められたため、雌雄ともに低および中用量群の骨髄、脾臓および肝臓についても検査を実施した。

① 死亡動物

死亡動物（雌の 60 mg/kg群の1例）の皮膚、乳腺、リンパ節、唾液腺、胸骨、大腿骨、骨髄（胸骨および大腿骨）、胸腺、気管、肺および気管支、心臓、甲状腺および上皮小体、舌、食道、胃、十二指腸、小腸、大腸、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、膀胱、卵巣、子宮、陰、眼球、ハーダー腺、脳、下垂体および脊髄について実施した。

② 雄動物

対照群と高用量群では脳、骨髄（胸骨および大腿骨）、胸腺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣および精巣上体について実施し、低および中用量群では骨髄、脾臓および肝臓について実施した。

③ 雌動物

対照群と高用量群では脳、骨髄（胸骨および大腿骨）、胸腺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎および卵巣について実施し、加えて高用量群の1例（動物番号2308）の皮膚および同群の1例（動物番号2312）の鼻の結節について実施した。また、低および中用量群では骨髄、脾臓および肝臓について実施した。

10.5.8 統計解析

体重、摂餌量、黄体数、着床痕数、出産児数、死産児数、性比、平均性周期、妊娠期間、着床率、分娩率、出生率、外表異常発現率、新生児の4日生存率、器官重量、器官重量・体重比（相対重量）、血液学および血液生化学検査値については多重比較検定²⁾を行った。まず Bartlettの等分散検定を実施し、等分散の場合は一元配置分散分析を行った。分散が有意な場合は Dunnettの多重比較検定^{3)・4)}で対照群と各投与群間の有意差を検定した。Bartlettの等分散検定で不等分散の場合は Kruskal-Wallisの順位検定を実施し、有意の場合はノンパラメトリックの Dunnettの多重比較検定^{3)・4)}で対照群と各投与群間の有意差を検定した。出産率、交尾率および受胎率については χ^2 検定^{5)・6)}を用いた。病理学検査の所見の発生率の検定は、Fisherの直接確率検定法⁶⁾を用いて検定し、グレードのある所見は、-を「1」、+1を「2」、+2を「3」および+3を「4」に割り当てた後、順位和検定である Mann-WhitneyのU検定⁶⁾を用いて検定した。なお、哺育期間中の新生児に関する成績は1母体当りの平均を1標本とした。有意水準は * : $P < 0.05$ および ** : $P < 0.01$ の2段階とした。

11. 試 験 結 果：

11.1 反復投与毒性

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

雌の 60 mg/kg群の 1 例 (動物番号2303) が妊娠25日 (投与43日) の分娩途中に死亡した。

主な一般状態の変化として雌雄とも 20 mg/kg以上の投与群で眼貧血および流涎が観察された。眼貧血は雄の 20 mg/kg群では投与3から4週にかけて複数例に観察されたが、その後は少数例の発現であった。雄の 60 mg/kg群では投与1週から複数例に観察され、投与期間終了まではほぼ継続して認められた。雌の 20 mg/kg群では、交配前・交配期間中は少数例に、妊娠期間中は複数例に観察されたが散発的な発現であった。哺育期間中は分娩直後を中心に発現例数の増加が認められた。雌の 60 mg/kg群では、投与期間を通じ 20 mg/kg群に比べ発現例数の増加が認められ、交配前・交配期間中は約半数例に、剖検日を除く妊娠および哺育期間中はほぼ全例に継続して観察された。眼貧血は、雌雄いずれの群でも主として投与後30分から4時間に観察され、翌日には消失したが、60 mg/kg群の雌では翌日まで継続して認められる例もあった。流涎は雌雄の 20 mg/kg群で投与期間を通じ少数例にごく散発的に観察された。雄の 60 mg/kg群では投与2週までは少数例に、投与3週以降は半数例以上に観察された。雌の 60 mg/kg群では交配前・交配期間中は少数例に、妊娠期間中は複数例に観察された。流涎は投与直後から発現が認められ始め、おおむね投与後30分には消失する変化であった。また、耳介および四肢の皮膚の蒼白が雌の 20 および 60 mg/kg群で観察された。この症状は 20 mg/kg群では妊娠期間中に 1 例のみの発現であった。60 mg/kg群では交配前・交配期間中および哺育期間中はそれぞれ 1 例のみの発現であったが、妊娠期間中は複数例に観察された。

その他、雄では被毛の汚れ、眼分泌物、外傷、痂皮、体表面の腫瘍 (顔面) および縮腫が、雌では脱毛、痂皮および体表面の腫瘍 (鼻部) が被験物質投与群に 1 ないし少数例に散見された。死亡動物 (動物番号2303) には、全身状態の悪化に起因すると考えられる変化として、投与41~42日に立毛および眼瞼下垂が観察された。

11.1.2 体 重 (Figure 1~2, Table 2-1~2-2, Appendix 2-1~2-2)

雌雄ともに投与期間を通じて対照群と被験物質投与群との間に統計学的に有意な差は認められなかったが、雄では 20 および 60 mg/kg群で投与1から43日の体重増加量が低値傾向を示し、雌では 60 mg/kg群で妊娠0から21日の体重増加量が低値傾向を示した。

11.1.3 摂 餌 量 (Figure 3~4, Table 3-1~3-2, Appendix 3-1~3-2)

雄では対照群に比べ 60 mg/kg群で投与1から8日の平均1日摂餌量が統計学的に有意な低値を示し、投与1から15日の累積摂餌量も有意な低値を示した。雌では投与期間を通じて対照群と被験物質投与群の間に差は認められなかった。

11.1.4 雄の血液学検査 (Table 4-1~4-2, Appendix 4-1~4-2)

対照群と比べ 20 および 60 mg/kg群でメトヘモグロビン比率が統計学的に有意な高値を示した。さらに 60 mg/kg群でヘマトクリット値、ヘモグロビン量、赤血球数およびMCHCが有意な低値を、MCV, MCH, 血小板数および網赤血球比率が有意な高値を示した。血液凝固能検査では全ての検査項目において、対照群と被験物質投与群との間に差は認められなかった。

11.1.5 雄の血液生化学検査 (Table 5, Appendix 5)

対照群と比べ 60 mg/kg群でアルブミン、A/Gおよび総ビリルビンが統計学的に有意な高値を示した。その他の検査項目では対照群と被験物質投与群との間に差は認められなかった。

11.1.6 器官重量 (Table 6-1~6-2, Appendix 6-1~6-2)

雄では、20 および 60 mg/kg群で対照群に比べ肝臓および腎臓の相対重量が統計学的に有意な高値を示し、さらに、60 mg/kg群では脾臓の絶対および相対重量が有意な高値を、副腎の絶対重量が有意な低値を示した。

雌では、20 および 60 mg/kg群で対照群に比べ脾臓の絶対および相対重量が有意な高値を示し、さらに 60 mg/kg群では肝臓の相対重量が有意な高値を示した。

11.1.7 剖検所見 (Table 7-1~7-3, Appendix 7-1~7-2)

死亡動物は雌の 60 mg/kg群の 1 例 (動物番号2303) であった。剖検所見として脾臓の黒色化および肺の赤色化が観察された。

雄では、脾臓の黒色化および肥大が 20 および 60 mg/kg群で観察され、いずれの所見も 60 mg/kg群で対照群に比べ発生率が統計学的に有意に増加した。その他、腎臓の瘢痕、精巣および精巣上体の小型化、皮膚の痂皮および潰瘍が対照群および 20 mg/kgで単発性に観察された。

雌では、脾臓の黒色化および肥大が 20 および 60 mg/kg群で観察され、いずれの所見も両群ともに対照群に比べ発生率が有意に増加した。その他、胸腺の萎縮、舌の潰瘍、肝臓の横隔膜ヘルニア、卵巣の嚢胞および鼻の結節が対照群を含む各群に単発性に観察され、また、脱毛が全ての被験物質投与群で各 1 例に観察された。

11.1.8 病理組織学検査 (Table 8-1~8-3-2, Appendix 8-1~8-2)

死亡動物では、骨髓、リンパ節、肺、胃、小腸、十二指腸、肝臓、唾液腺、腎臓、甲状腺、副腎および脳の血栓、心臓の壊死、骨髓の造血亢進 (赤血球系造血)、脾臓のうっ血および色素沈着、胸腺の萎縮、肺のうっ血および浮腫、食道の変性 (筋層)、びらん、細胞浸潤、錯角化症および扁平上皮増生、胃の浮腫、錯角化症および扁平上皮増生、膵外分泌部のチモーゲン顆粒減少、十二指腸の潰瘍、肝臓の脂肪化およびクッパー細胞の色素沈着、子宮内膜炎、膣の細胞浸潤、副腎の空胞変性および皮質増生が観察された。

雄では、骨髓の造血亢進 (赤血球系造血) (photo 1, 2), 脾臓のうっ血 (photo 3,

4, 5), 色素沈着 (photo 3, 4, 5) および髄外造血 (赤血球系造血) (photo 3, 4, 5) が 20 および 60 mg/kg群で観察され, このうち脾臓の色素沈着は 20 および 60 mg/kg群で, 脾臓のうっ血, 髄外造血および骨髓の造血亢進 (赤血球系造血) は 60 mg/kg群で対照群に比べそれぞれ発生率が統計学的に有意に増加した. また, 肝臓のクッパー細胞の色素沈着 (photo 7), 髄外造血 (赤血球系造血) (photo 8) および肝細胞肥大 (photo 9, 10) が 60 mg/kg群で認められ, それぞれ発生率が有意に増加した.

心臓の細胞浸潤, 肝臓の脂肪化, 小肉芽腫, 腎臓の尿細管好塩基化および好酸性小体は各群に散見されたが, 群間の発生率に有意な差は認められなかった. その他の所見は少数例あるいは単発性の変化であった.

雌では, 骨髓の造血亢進 (赤血球系造血), 脾臓のうっ血および色素沈着が 20 および 60 mg/kg群で観察され, いずれの所見も両群ともに対照群に比べ発生率が有意に増加した. 脾臓の髄外造血 (赤血球系造血) は対照群, 6, 20 および 60 mg/kg群でそれぞれ 4 (全例軽度), 5 (全例軽度), 9 (軽度 5, 中等度 4), 10 (軽度 3, 中等度 7) 例に認められ, 対照群に比べ 20 および 60 mg/kg群で発生率と程度の増強に有意な差が認められた. また, 肝臓のクッパー細胞の色素沈着および肝細胞肥大が 60 mg/kg群で認められ, このうち色素沈着の発生率が有意に増加した. 肝臓の髄外造血 (赤血球系造血) は対照群, 6, 20 および 60 mg/kg群でそれぞれ 2 (全例軽度), 2 (全例軽度), 3 (軽度 1, 中等度 2) および 9 (軽度 3, 中等度 6) 例に認められ, 対照群に比べ 60 mg/kg群で発生率と程度の増強に有意な差が認められた. 肝臓の小肉芽腫は各群に散見されたが, 群間の発生率に差は認められなかった. その他の所見は少数例あるいは単発性の変化であった. なお, 肉眼所見で 60 mg/kg群の 1 例に認められた鼻の結節は, 組織学的には扁平上皮乳頭腫であった.

雌雄ともに脾臓および肝臓の色素沈着の代表例においてベルリンブルー染色を実施した結果, 陽性を示したため (photo 6) これらの色素はヘモジテリンであると考えられた.

11.2 生殖発生毒性

11.2.1 交尾および受胎能 (Table 9, Appendix 9-1~9-2)

交尾および受胎はすべての群で全例成立し, 交尾率および受胎率ともにいずれの群も 100%であった.

性周期観察では, いずれの群もほぼ 4~5 日の性周期を示し平均性周期に群間差は認められなかった.

11.2.2 分娩および哺育 (Table 10, Appendix 10, 12)

60 mg/kg群で対照群に比べ雄新生児の生後 4 日生存率が統計学的に有意な低値を示し, 雌新生児の生後 4 日生存率も低値傾向を示した. その他, 60 mg/kg群で認められた死亡動物 (動物番号 2303) 以外の動物には分娩状態に異常は観察されず, 各群の妊娠期間, 黄体数, 着床痕数, 出産生児数および死産児数はほぼ同様な値を示し, 出産率, 着床率, 分娩率および出生率に群間差は認められなかった.

11.2.3 新生児の形態、体重および剖検所見 (Table 11~12-2, Appendix 11, 13-1~13-2)

新生児の外表異常はいずれの群にも認められなかった。哺育期間中の体重では、60 mg/kg群で対照群に比べ雌雄ともに哺育0日の体重が統計学的に有意な低値を示した。死亡児の剖検では、胸腺頸部残留が対照群、6 および 60 mg/kg群でそれぞれ3, 1 および 2 例に観察された他、右鎖骨下動脈起始異常が 20 mg/kg群で 1 例に観察された。哺育4日の剖検で、雄では対照群で胸腺頸部残留が 1 例、60 mg/kg群で肝臓の白色斑点および緑色化が各 1 例に観察された。雌では 60 mg/kg群で腎臓の腎盂拡張が 1 例に観察された。

12. 考察および結論：

12.1 反復投与毒性

雌の 60 mg/kg群で 1 例（動物番号 2303）が分娩途中で死亡した。死亡例の病理組織学検査の結果、血栓が骨髓、リンパ節、肺、胃、小腸、十二指腸、肝臓、唾液腺、腎臓、甲状腺、副腎および脳に観察された。さらにこれらの血栓による循環障害を示唆すると考えられる病変として心臓の壊死、肺の浮腫およびうっ血、十二指腸の潰瘍等が観察された。ラットでは胎児の子宮内死亡、妊娠性中毒症等の産褥性疾患による死亡動物において、全身諸臓器の血管に血栓を形成する播種性血管内凝固症候群（DIC）がおこることが知られており⁷⁾、本例も分娩途中で死亡していることから、DICが死因と考えられ、被験物質の直接的な影響によるものではないと判断された。

一般状態の観察では、眼貧血および流涎が雌雄とも 20 mg/kg以上の投与群で観察され、皮膚の蒼白が 60 mg/kg群の妊娠期間の雌に複数例認められた。アニリン系化合物の既存化学物質の毒性試験^{8)~12)}においても、共通した毒性としてメトヘモグロビン血症と貧血の発生が報告されており、本試験でもメトヘモグロビン比率の増加や貧血が認められたことから、眼貧血や皮膚の蒼白はこれらに起因したものと考えられた。流涎については、3,4-ジメチルアニリン⁸⁾や3,5-ジメチルアニリン¹²⁾の投与によっても認められていることから被験物質投与に関連した変化と考えられた。雄の 20 mg/kg群の 1 例および雌の 60 mg/kg群の 2 例に認められた体表面の腫瘍は、剖検所見では雌の 1 例に鼻部の結節が認められたのみで残りの雌雄各 1 例は剖検までに消失した。また、鼻部の結節は組織学的には扁平上皮乳頭腫であり、良性腫瘍であった。これらのことから体表面の腫瘍は被験物質投与との関連はないものと考えられた。

体重では、20 および 60 mg/kg群の雄と 60 mg/kg群の妊娠期間の雌で軽度な増加抑制が認められ、摂餌量では 60 mg/kg群の雄で投与期間の初期に低値を示し、それぞれ被験物質投与の影響が示唆された。

雄の血液学検査では、20 および 60 mg/kg群でメトヘモグロビン比率が高値を示し、60 mg/kg群でヘマトクリット値、ヘモグロビン量、赤血球数およびMCHCが低値を、MCV, MCHおよび網赤血球比率が高値を示した。これらの変化は前述のメトヘモグロビン血症に起因する貧血もしくはそれに対する代償性変化を示すものと考えられた。血液凝固能検査では被験物質投与の影響は認められなかった。血液生化学検査では 60 mg/kg群で総ビリルビンが高値を示し、メトヘモグロビン血症に起因した溶血を反映したものと考えられた。その他、同群でアルブミンおよびA/Gが高値を示したが、その起因は明らかではなかった。

病理学検査では、骨髓、脾臓および肝臓に被験物質の影響が示唆される変化が認められた。器官重量は、脾臓重量が雄の 60 mg/kg群、雌の 20 および 60 mg/kg群で高値を示し、肝臓重量が雄の 20 および 60 mg/kg群ならびに雌の 60 mg/kg群で高値を示した。剖検所見では脾臓の黒色化および肥大が雌雄の 20 および 60 mg/kg群で認められ、病理組織学検査では骨髓の造血亢進（赤血球系造血）、脾臓のうっ血、色素沈着および髓外造血（赤血球系造血）が雌雄の 20 および 60 mg/kg群で、肝臓の髓外造血が雄の 60 mg/kg群、雌の 20 および 60 mg/kg群で、肝臓のクッパー細胞の色素沈着

および肝細胞肥大が雌雄の 60 mg/kg群で、それぞれの発生率の増加あるいは程度の増強が認められた。肝細胞肥大については血液生化学検査や組織学的にも肝障害を示唆する変化がないことから、薬物を投与した際にしばしば観察される肝臓の機能亢進像であると考えられた。脾臓のうっ血は赤血球の処理機能が亢進する場合に認められることが知られており¹³⁾、また、脾臓および肝臓でヘモジテリンの沈着が増加していることや骨髓の造血亢進、脾臓および肝臓の髄外造血は溶血性貧血に対する代償性変化と考えられ、いずれもメトヘモグロビン血症に起因した変化と考えられた^{14), 15)}。なお、血液学検査で 60 mg/kg群の血小板数の増加が見られたが、骨髓、脾臓および肝臓の病理組織学検査において、巨核球数の変化は明確ではなく、血小板数の増加の理由は明らかにできなかった。また、雄の 20 および 60 mg/kg群で認められた腎臓重量の高値および 60 mg/kg群の副腎重量の低値は、病理組織学検査では変化は認められず被験物質投与との関連は不明であった。

以上のことから、4-(1-メチルエチル)-アニリンの反復投与によりメトヘモグロビン血症および貧血が惹起され、それらに起因すると考えられる一般状態、血液学検査値、血液生化学検査値、骨髓、肝臓および脾臓の変化が雌雄の 20 mg/kg以上の投与群で認められ、無影響量は雌雄とも 6 mg/kg/dayと判断された。

12.2 生殖発生毒性

性周期、交尾能および受胎能に被験物質投与の影響は認められなかった。

分娩時観察では 60 mg/kg群の死亡動物 1 例を除く妊娠動物はいずれも正常に分娩し、妊娠期間にも被験物質投与の影響は認められなかった。60 mg/kg群で雌雄の新生児の生後 0 日の体重が低値を示し、生後 4 日の生存率が低値を示したことから、被験物質投与による出生前後の新生児の発育抑制および生存性に対する影響が示唆された。その他、出産率、出生率に被験物質投与の影響は認められず、新生児の外表にも被験物質投与の影響は認められなかった。また、死亡児および哺育 4 日の剖検では被験物質投与によると考えられる異常所見は観察されなかった。

以上のことから、4-(1-メチルエチル)-アニリンの雌雄の生殖に及ぼす影響は 60 mg/kg/day投与でも認められず、無影響量は 60 mg/kg/dayと判断された。

児動物の発生・発育に及ぼす影響は 60 mg/kg/day投与で発育抑制が認められ、生後 4 日生存率が低値を示したことから無影響量は 20 mg/kg/dayと判断された。

13. 参 考 文 献 :

- 1) OECD guideline for testing of chemicals: Extended Steering Group Document. No. 3(1990).
- 2) Shayne, C. G. and Carrol, S. W.: Statics and Experimental Design For Toxicologists. Telford Press (1986).
- 3) 佐野正樹, 岡山佳弘: 医薬安全性研究会会報, No. 32, p. 21 (1990).
- 4) YOSHIDA, M. : J. J. Soc. comp. Stat., 1, p. 111 (1988).
- 5) 佐久間昭: 薬効評価 I - 計画と解析 -, 東京大学出版会 (1977) .
- 6) 石居 進: 生物統計学入門, 培風館 (1975) .
- 7) 前川昭彦, 林裕造: 毒性試験講座 5 毒性病理学, 地人書館 p. 66 (1991) .
- 8) 化学物質毒性試験報告, 3, 143 (1996) .
- 9) 化学物質毒性試験報告, 3, 195 (1996) .
- 10) 化学物質毒性試験報告, 3, 143 (1996) .
- 11) 化学物質毒性試験報告, 5, 133 (1997) .
- 12) 化学物質毒性試験報告, 5, 391 (1997) .
- 13) 伊藤信行: 最新 毒性病理学, 中山書店 p. 276 (1994) .
- 14) 秋元健, 坂口孝, 福田英臣: 毒性試験講座 15 医薬品, 地人書館 p. 99~112 (1990) .
- 15) P. Greaves: Histopathology of preclinical toxicity studies. Elsevier. p. 102~104 (1990) .

F i g u r e s

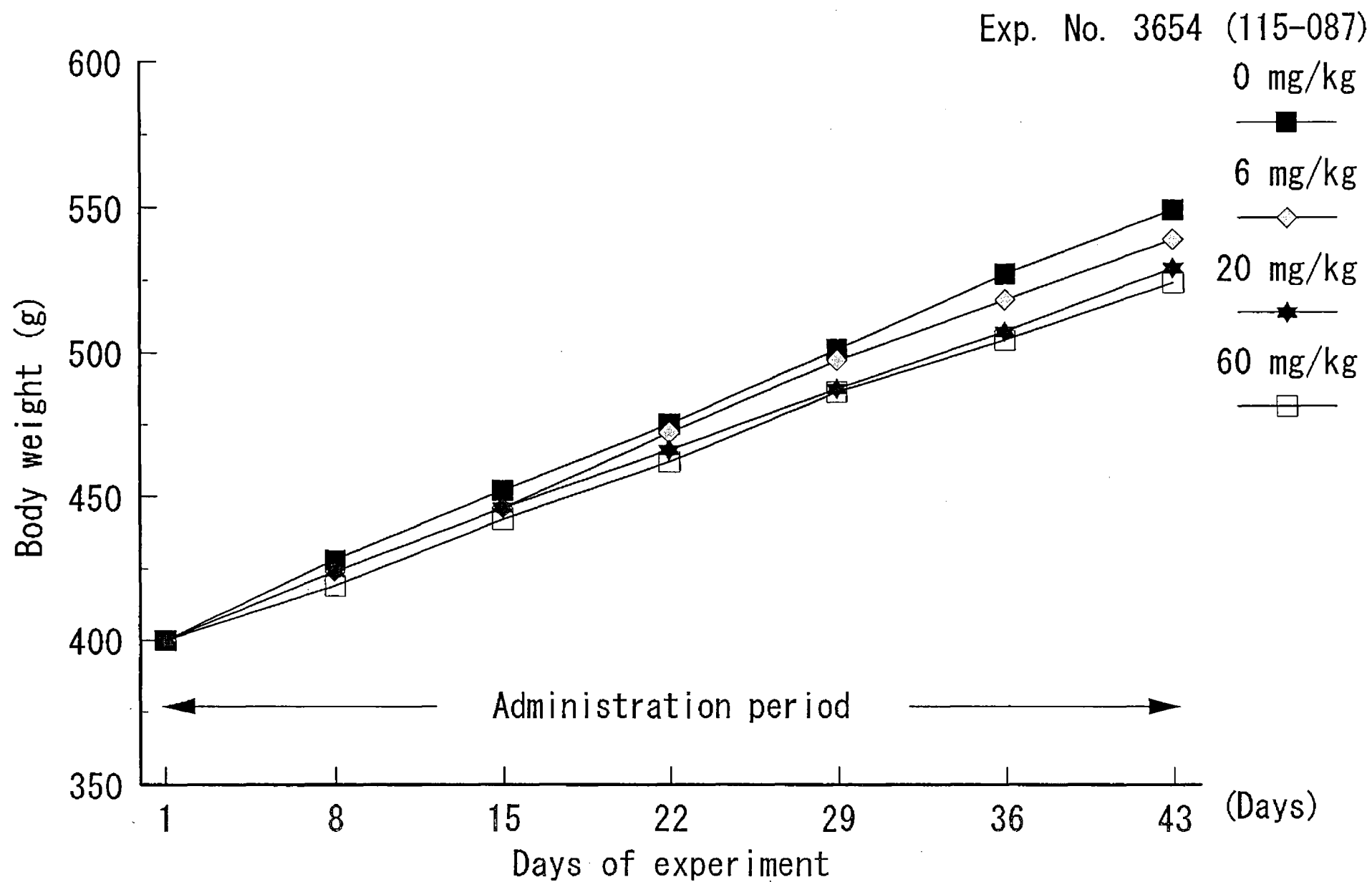


Figure 1 Body weight change of male rats

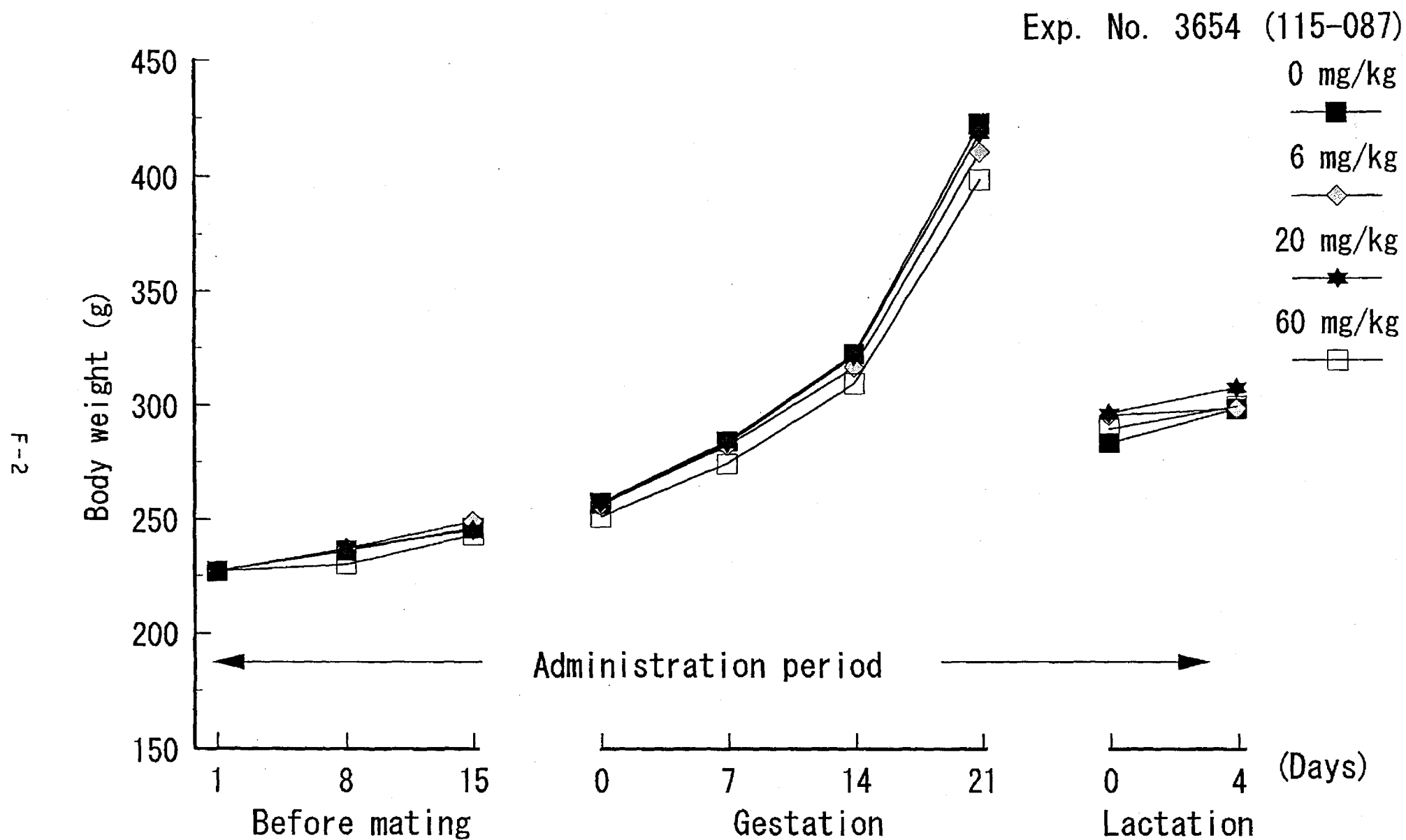


Figure 2 Body weight change of female rats

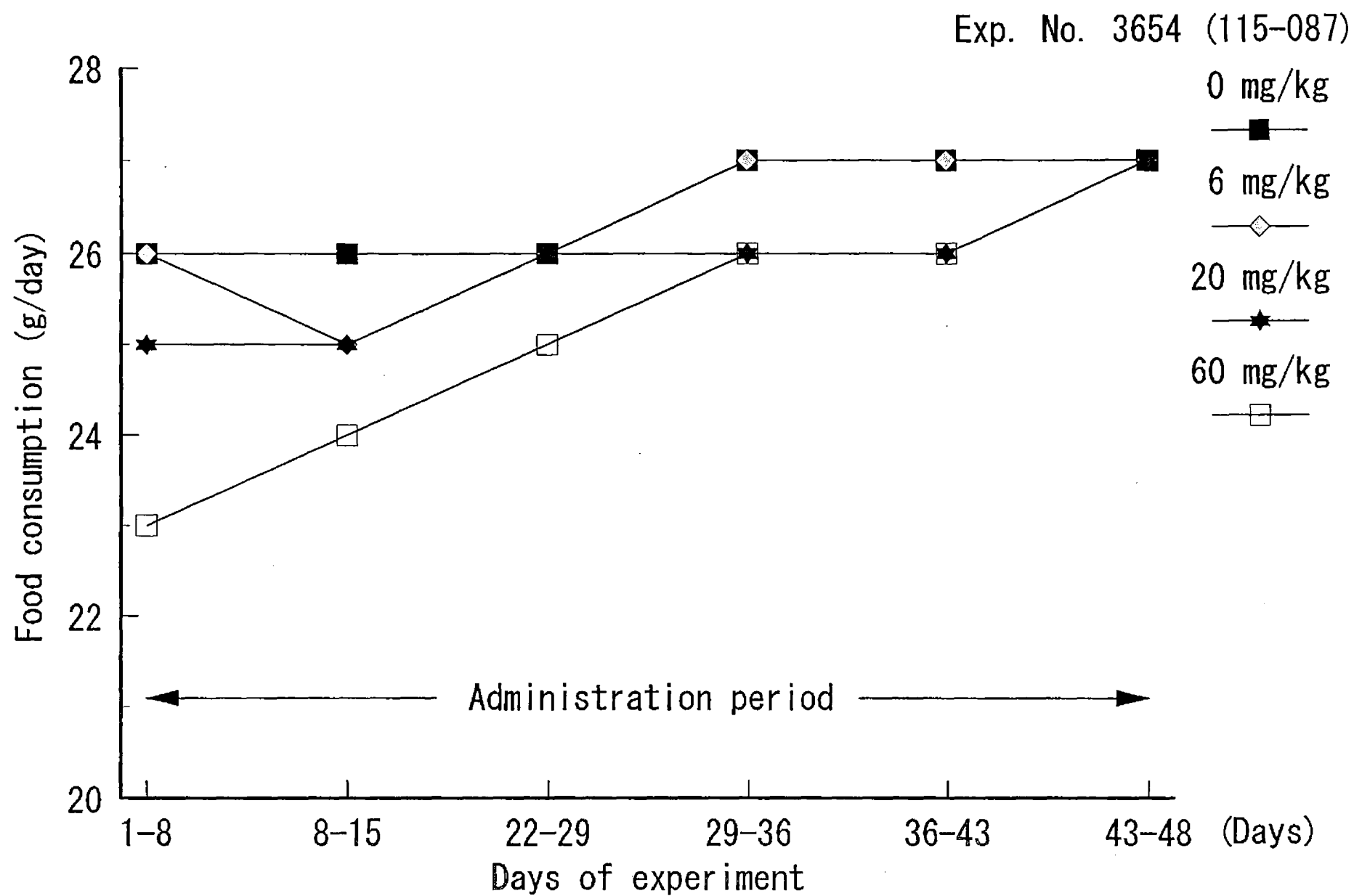


Figure 3 Food consumption of male rats

Exp. No. 3654 (115-087)

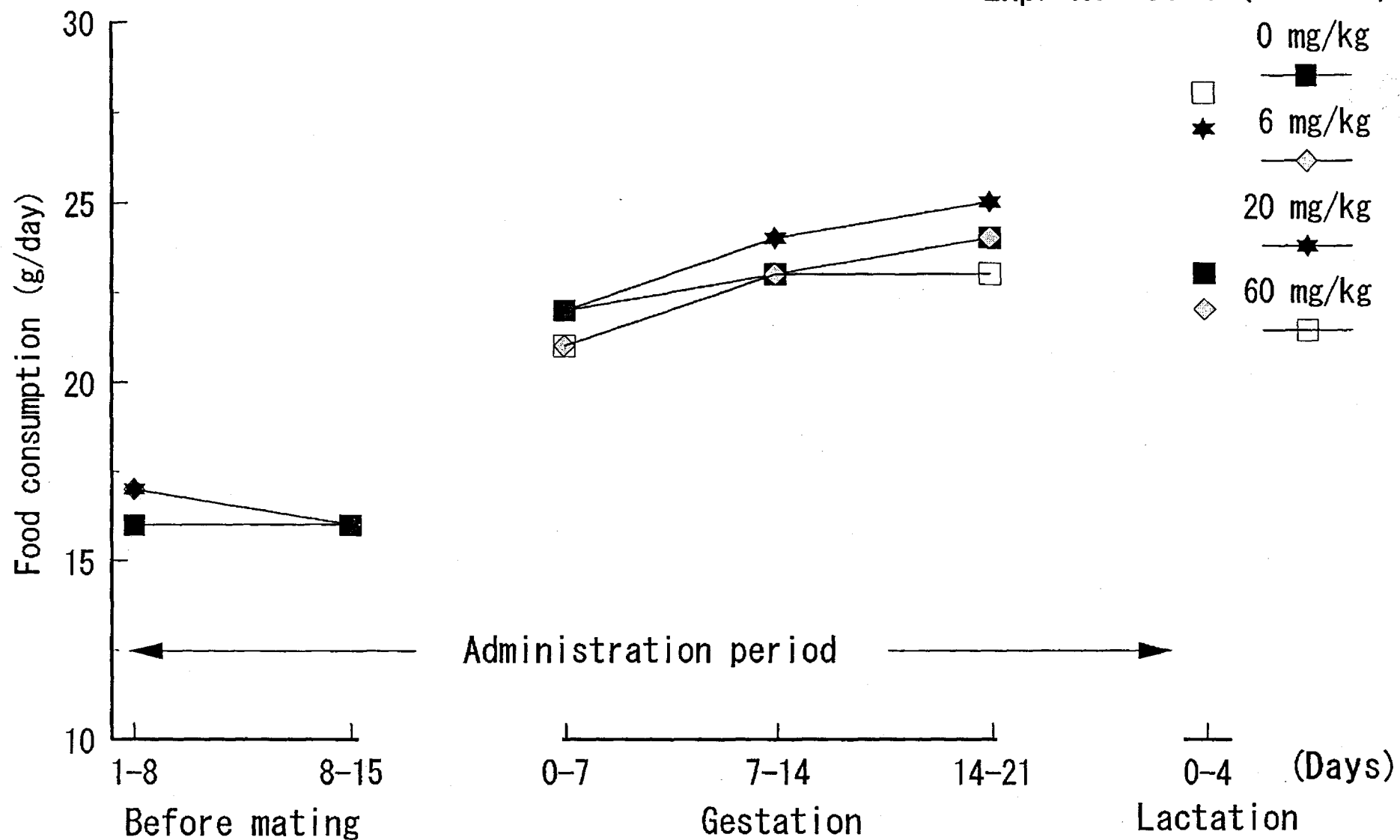


Figure 4 Food consumption of female rats

T a b l e s

Table 1-1

Clinical observations in male rats

Exp. No. 3654 (115-087)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of experiment							Total (1-49)
		1- 7	8-14	15-21	22-28	29-35	36-42	43-49	
number per group	0	12	12	12	12	12	12	12	
	6	12	12	12	12	12	12	12	
	20	12	12	12	12	12	12	12	
	60	12	12	12	12	12	12	12	
normal	0	12	12	12	12	12	12	12	12
	6	12	12	12	12	11	11	11	10
	20	9	10	4	4	9	9	9	2
	60	3	4	0	0	2	1	1	0
trauma	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0
	20	1	1	1	1	1	1	2 a)	2 b)
	60	1	1	0	0	0	0	0	1
dirty hair	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	1	1	0	1
	20	0	0	0	0	0	0	0	0
	60	0	0	0	0	1	1	0	1
crust	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0
	20	0	0	0	0	0	0	1	1
	60	0	1	1	1	1	1	0	1
tissue-mass/surface	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0
	20	0	0	0	0	0	0	1	1
	60	0	0	0	0	0	0	0	0
discharge of eye	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	1	1
	20	1	1	0	0	0	0	0	1
	60	0	0	0	0	0	0	0	0
miosis	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0
	20	0	0	0	0	0	0	0	0
	60	1	0	0	0	0	0	0	1

a) No. of animals with clinical sign in group

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

Table 1-1 -continued

Clinical observations in male rats

Exp. No. 3654 (115-087)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of experiment							Total (1-49)
		1- 7	8-14	15-21	22-28	29-35	36-42	43-49	
anemic eyeball	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0
	20	0	0	8	8	0	2	1	9
	60	8	7	9	8	9	9	8	10
salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0
	20	1	0	2	2	2	0	1	4
	60	4	3	10	9	7	10	7	12

Table 1-2

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

Exp. No. 3654 (115-087)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of experiment			Total (1-21)
		1-7	8-14	15-21	
number per group	0	12	12	12	
	6	12	12	12	
	20	12	12	12	
	60	12	12	12	
normal	0	12	12	12	12
	6	12	12	12	12
	20	11	12	9	8
	60	0	2	4	0
anemic eyeball	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0
	20	1	0	3 a)	4 b)
	60	12	10	6	12
salivation	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0
	20	0	0	0	0
	60	0	2	2	3
pallor	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0
	20	0	0	0	0
	60	0	1	0	1
loss of hair	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0
	20	0	0	0	0
	60	0	0	1	1

a) No. of animals with clinical sign in group

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

Table 1-3

Clinical observations in female rats
(Gestation period)

Exp. No. 3654 (115-087)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of gestation												
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
number per group	0	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	6	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	20	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	60	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
normal	0	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	6	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	20	12	11	12	10	9	9	8	9	9	8	8	8	8
	60	7	6	3	4	4	1	1	1	0	2	3	1	1
dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
piloerection	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
loss of hair	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1
	60	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2
crust	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
pallor	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	60	0	0	1	0	0	2	2	0	0	1	0	0	0
tissue-mass/surface	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	60	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0

Table 1-3 -continued

Clinical observations in female rats
(Gestation period)

Exp. No. 3654 (115-087)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of gestation												
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
anemic eyeball	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20	0	1	0	2	3	3	4	3	3	4	3	4	4
	60	4	5	7	6	6	8	9	10	10	8	7	10	9
salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	60	0	0	3	1	1	4	4	1	3	5	5	4	4
ptosis of eyelid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Table 1-3 -continued

Clinical observations in female rats
(Gestation period)

Exp. No. 3654 (115-087)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of gestation												
		13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
number per group	0	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	8	0	0
	6	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	4	0	0
	20	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	7	0	0
	60	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	3	1	1
normal	0	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	8	0	0
	6	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	4	0	0
	20	7	10	9	8	7	4	6	4	7	6	4	0	0
	60	2	2	2	3	1	1	0	1	1	1	1	0	0
dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
piloerection	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
loss of hair	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	1	0	0
	60	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	0	0
crust	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	60	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0
pallor	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	60	0	0	0	2	2	3	2	1	2	0	0	1	0
tissue-mass/surface	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0

Table 1-3 -continued

Clinical observations in female rats
(Gestation period)

Exp. No. 3654 (115-087)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of gestation												
		13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
anemic eyeball	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20	5	2	2	3	4	7	5	7	4	4	2	0	0
	60	8	8	9	8	11	10	12	10	11	11	2	1	0
salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	60	4	2	2	1	2	3	0	0	0	0	0	0	0
ptosis of eyelid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0

Table 1-3 -continued

Clinical observations in female rats
(Gestation period)

Exp. No. 3654 (115-087)

Signs	Dose level (mg/kg)	Total (0-25)
number per group	0 6 20 60	
normal	0 6 20 60	12 12 1 0
dead	0 6 20 60	0 0 0 1
piloerection	0 6 20 60	0 0 0 1
loss of hair	0 6 20 60	0 0 2 2
crust	0 6 20 60	0 0 0 1
pallor	0 6 20 60	0 0 1 6
tissue-mass/surface	0 6 20 60	0 0 0 2

Table 1-3 -continued

Clinical observations in female rats
(Gestation period)

Exp. No. 3654 (115-087)

Signs	Dose level (mg/kg)	Total (0-25)
anemic eyeball	0	0
	6	0
	20	11
	60	12
salivation	0	0
	6	0
	20	1
	60	9
ptosis of eyelid	0	0
	6	0
	20	0
	60	1

Table 1-4

Clinical observations in female rats
(Lactation period)

Exp. No. 3654 (115-087)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of lactation					Total (0- 4)
		0	1	2	3	4	
number per group	0	12	12	12	12	12	
	6	12	12	12	12	12	
	20	12	12	12	12	12	
	60	11	11	11	11	11	
normal	0	12	12	12	12	12	12
	6	12	11	11	11	11	11
	20	4	2	5	6	10	0
	60	0	0	0	1	7	0
loss of hair	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	1	1	1	1	1
	20	2	2	2	2	2	2
	60	1	1	1	1	1	1
crust	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0
	20	0	0	0	0	0	0
	60	1	1	1	1	0	1
pallor	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0
	20	0	0	0	0	0	0
	60	0	0	1	0	0	1
tissue-mass/surface	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0
	20	0	0	0	0	0	0
	60	1	1	1	1	1	1
anemic eyeball	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0
	20	8	10	5	5	0	12
	60	11	11	11	9	3	11

Table 2-1

Body weight change of male rats

Exp. No. 3654 (115-087)

		Unit : g							
Dose level (mg/kg)		0		6		20		60	
No. of animals		12		12		12		12	
		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)	
Days of experiment	1	400 $\pm$ 9	(12)	400 $\pm$ 11	(12)	400 $\pm$ 11	(12)	400 $\pm$ 10	(12)
	8	428 $\pm$ 14	(12)	424 $\pm$ 17	(12)	424 $\pm$ 14	(12)	419 $\pm$ 16	(12)
	15	452 $\pm$ 14	(12)	446 $\pm$ 18	(12)	446 $\pm$ 15	(12)	442 $\pm$ 18	(12)
	22	475 $\pm$ 14	(12)	472 $\pm$ 20	(12)	466 $\pm$ 15	(12)	462 $\pm$ 23	(12)
	29	501 $\pm$ 20	(12)	497 $\pm$ 25	(12)	487 $\pm$ 19	(12)	486 $\pm$ 25	(12)
	36	527 $\pm$ 26	(12)	518 $\pm$ 26	(12)	507 $\pm$ 21	(12)	504 $\pm$ 26	(12)
	43	549 $\pm$ 30	(12)	539 $\pm$ 29	(12)	529 $\pm$ 24	(12)	524 $\pm$ 27	(12)
	49	536 $\pm$ 27	(12)	525 $\pm$ 28	(12)	513 $\pm$ 21	(12)	508 $\pm$ 27	(12)
Gain 1-43		150 $\pm$ 27	(12)	139 $\pm$ 24	(12)	128 $\pm$ 25	(12)	123 $\pm$ 21	(12)
Significant difference from control group; *: p < 0.05 **: p < 0.01									

Table 2-2

Body weight change of female rats

Exp. No. 3654 (115-087)

Unit : g

Dose level (mg/kg)		0		6		20		60	
Before mating period		12		12		12		12	
No. of animals		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)	
Days of before mating	1	227 $\pm$ 8	(12)	227 $\pm$ 8	(12)	227 $\pm$ 7	(12)	227 $\pm$ 8	(12)
	8	236 $\pm$ 12	(12)	237 $\pm$ 12	(12)	237 $\pm$ 11	(12)	230 $\pm$ 9	(12)
	15	246 $\pm$ 12	(12)	249 $\pm$ 15	(12)	245 $\pm$ 12	(12)	243 $\pm$ 10	(12)
	Gain 1-15	18 $\pm$ 7	(12)	21 $\pm$ 8	(12)	18 $\pm$ 8	(12)	16 $\pm$ 7	(12)
Gestation period		12		12		12		12	
No. of dams		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)	
Days of gestation	0	257 $\pm$ 12	(12)	256 $\pm$ 16	(12)	257 $\pm$ 14	(12)	251 $\pm$ 10	(12)
	7	284 $\pm$ 12	(12)	282 $\pm$ 13	(12)	283 $\pm$ 15	(12)	274 $\pm$ 11	(12)
	14	322 $\pm$ 16	(12)	316 $\pm$ 16	(12)	321 $\pm$ 16	(12)	309 $\pm$ 16	(12)
	21	422 $\pm$ 19	(12)	410 $\pm$ 28	(12)	418 $\pm$ 22	(12)	398 $\pm$ 30	(12)
Gain 0-21		165 $\pm$ 14	(12)	154 $\pm$ 21	(12)	161 $\pm$ 18	(12)	147 $\pm$ 26	(12)
Lactation period		12		12		12		11	
No. of dams		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)	
Days of lactation	0	283 $\pm$ 21	(12)	295 $\pm$ 27	(12)	296 $\pm$ 23	(12)	289 $\pm$ 21	(11)
	4	298 $\pm$ 26	(12)	298 $\pm$ 21	(12)	307 $\pm$ 16	(12)	299 $\pm$ 19	(11)
Gain 0-4		15 $\pm$ 32	(12)	4 $\pm$ 19	(12)	11 $\pm$ 13	(12)	10 $\pm$ 14	(11)

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

Table 3-1

Food consumption of male rats

Exp. No. 3654 (115-087)

		Unit : g/day							
Dose level (mg/kg)		0		6		20		60	
No. of animals		12		12		12		12	
		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)	
Days of experiment	1-8	26 $\pm$ 2	(12)	26 $\pm$ 2	(12)	25 $\pm$ 2	(12)	23 $\pm$ 2**	(12)
	8-15	26 $\pm$ 3	(12)	25 $\pm$ 2	(12)	25 $\pm$ 2	(12)	24 $\pm$ 2	(12)
	22-29	26 $\pm$ 3	(12)	26 $\pm$ 3	(12)	26 $\pm$ 2	(12)	25 $\pm$ 2	(12)
	29-36	27 $\pm$ 4	(12)	27 $\pm$ 3	(12)	26 $\pm$ 2	(12)	26 $\pm$ 2	(12)
	36-43	27 $\pm$ 4	(12)	27 $\pm$ 3	(12)	26 $\pm$ 2	(12)	26 $\pm$ 2	(12)
Cumulative consumption (g)	43-48	27 $\pm$ 3	(12)	27 $\pm$ 3	(12)	27 $\pm$ 3	(12)	27 $\pm$ 2	(12)
	1-15	362 $\pm$ 33	(12)	354 $\pm$ 26	(12)	348 $\pm$ 26	(12)	328 $\pm$ 25*	(12)
	22-48	689 $\pm$ 82	(12)	690 $\pm$ 73	(12)	681 $\pm$ 57	(12)	672 $\pm$ 53	(12)

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

Table 3-2

Food consumption of female rats

Exp. No. 3654 (115-087)

Unit : g/day

Dose level (mg/kg)		0		6		20		60	
Before mating period		12		12		12		12	
No. of animals		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)	
Days of before mating	1- 8	16 $\pm$ 1	(12)	17 $\pm$ 1	(12)	17 $\pm$ 1	(12)	16 $\pm$ 1	(12)
	8-15	16 $\pm$ 1	(12)	16 $\pm$ 2	(12)	16 $\pm$ 1	(12)	16 $\pm$ 1	(12)
Cumulative consumption (g)		227 $\pm$ 15		229 $\pm$ 21		228 $\pm$ 13		226 $\pm$ 13	
Gestation period		12		12		12		12	
No. of dams		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)	
Days of gestation	0- 7	22 $\pm$ 2	(12)	21 $\pm$ 2	(12)	22 $\pm$ 2	(12)	21 $\pm$ 2	(12)
	7-14	23 $\pm$ 2	(12)	23 $\pm$ 2	(12)	24 $\pm$ 2	(12)	23 $\pm$ 2	(12)
Cumulative consumption (g)	14-21	24 $\pm$ 2	(12)	24 $\pm$ 2	(12)	25 $\pm$ 2	(12)	23 $\pm$ 4	(12)
	0-21	483 $\pm$ 40	(12)	471 $\pm$ 40	(12)	493 $\pm$ 37	(12)	464 $\pm$ 43	(12)
Lactation period		12		12		12		11	
No. of dams		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)		Mean $\pm$ S.D. (N)	
Days of lactation	0- 4	23 $\pm$ 12	(12)	22 $\pm$ 7	(12)	27 $\pm$ 7	(12)	28 $\pm$ 6	(11)

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

Table 4-1

Hematology of male rats

Exp. No. 3654 (115-087)

Dose level (mg/kg)	0	6	20	60
No. of animals	12	12	12	12
	Mean $\pm$ S.D. (N)	Mean $\pm$ S.D. (N)	Mean $\pm$ S.D. (N)	Mean $\pm$ S.D. (N)
HCT(%)	44.7 $\pm$ 1.9 (12)	44.0 $\pm$ 1.1 (12)	43.7 $\pm$ 1.4 (12)	40.7 $\pm$ 1.2** (12)
HGB(g/dl)	15.4 $\pm$ 0.5 (12)	15.2 $\pm$ 0.5 (12)	15.0 $\pm$ 0.5 (12)	13.4 $\pm$ 0.3** (12)
RBC ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	8.21 $\pm$ 0.39 (12)	8.17 $\pm$ 0.28 (12)	8.01 $\pm$ 0.39 (12)	6.71 $\pm$ 0.36** (12)
MCV (μm^3)	54.5 $\pm$ 2.0 (12)	53.8 $\pm$ 1.4 (12)	54.6 $\pm$ 1.9 (12)	60.8 $\pm$ 2.6** (12)
MCH(pg)	18.7 $\pm$ 0.7 (12)	18.7 $\pm$ 0.5 (12)	18.7 $\pm$ 0.6 (12)	20.0 $\pm$ 0.8** (12)
MCHC(%)	34.4 $\pm$ 0.5 (12)	34.7 $\pm$ 0.3 (12)	34.2 $\pm$ 0.4 (12)	32.9 $\pm$ 0.5** (12)
PLT ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	1092 $\pm$ 86 (12)	1018 $\pm$ 160 (12)	1199 $\pm$ 95 (12)	1281 $\pm$ 151** (12)
WBC ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	9.2 $\pm$ 3.4 (12)	9.5 $\pm$ 2.9 (12)	9.7 $\pm$ 3.4 (12)	10.3 $\pm$ 2.4 (12)
Differential leukocyte counts(%)				
NEUT	15 $\pm$ 5 (12)	16 $\pm$ 6 (12)	17 $\pm$ 6 (12)	15 $\pm$ 3 (12)
LYMPH	80 $\pm$ 6 (12)	79 $\pm$ 7 (12)	78 $\pm$ 6 (12)	80 $\pm$ 3 (12)
MONO	2 $\pm$ 1 (12)	2 $\pm$ 1 (12)	3 $\pm$ 1 (12)	2 $\pm$ 0 (12)
EOSN	1 $\pm$ 1 (12)	1 $\pm$ 0 (12)	1 $\pm$ 0 (12)	1 $\pm$ 0 (12)
BASO	0 $\pm$ 0 (12)	0 $\pm$ 0 (12)	0 $\pm$ 0 (12)	0 $\pm$ 0 (12)
LUC	1 $\pm$ 0 (12)	1 $\pm$ 0 (12)	1 $\pm$ 0 (12)	1 $\pm$ 0 (12)
Methemoglobin(%)	0.7 $\pm$ 0.1 (12)	0.8 $\pm$ 0.1 (12)	1.2 $\pm$ 0.3** (12)	2.5 $\pm$ 0.3** (12)
Reticulocyte(%)	28 $\pm$ 5 (12)	28 $\pm$ 4 (12)	35 $\pm$ 10 (12)	110 $\pm$ 19** (12)
NEUT : Neutrophil LYMPH : Lymphocyte MONO : Monocyte EOSN : Eosinophil BASO : Basophil LUC : Large unstained cells Significant difference from control group; *: p < 0.05 **: p < 0.01				

Table 4-2

Coagulation of male rats

Exp. No. 3654 (115-087)

Dose level (mg/kg)	0	6	20	60
No. of animals	12	12	12	12
	Mean $\pm$ S.D. (N)	Mean $\pm$ S.D. (N)	Mean $\pm$ S.D. (N)	Mean $\pm$ S.D. (N)
PT(sec.)	14.5 $\pm$ 0.4 (12)	14.6 $\pm$ 0.7 (12)	15.1 $\pm$ 0.7 (12)	15.1 $\pm$ 1.5 (12)
APTT(sec.)	25.3 $\pm$ 1.1 (12)	25.8 $\pm$ 1.8 (12)	25.5 $\pm$ 2.0 (12)	26.4 $\pm$ 2.2 (12)
Fibrinogen(mg/dl)	223 $\pm$ 22 (12)	231 $\pm$ 47 (12)	233 $\pm$ 28 (12)	218 $\pm$ 12 (12)

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

Table 5

Blood chemistry of male rats

Exp. No. 3654 (115-087)

Dose level (mg/kg)	0			6			20			60		
No. of animals	12			12			12			12		
	Mean	± S.D.	(N)	Mean	± S.D.	(N)	Mean	± S.D.	(N)	Mean	± S.D.	(N)
T.protein(g/dl)	6.06	± 0.21	(12)	5.92	± 0.23	(12)	5.95	± 0.20	(12)	6.15	± 0.29	(12)
Albumin(g/dl)	3.39	± 0.12	(12)	3.31	± 0.16	(12)	3.33	± 0.11	(12)	3.58	± 0.17**	(12)
A/G	1.28	± 0.09	(12)	1.27	± 0.11	(12)	1.28	± 0.14	(12)	1.40	± 0.11*	(12)
Glucose(mg/dl)	149	± 13	(12)	145	± 10	(12)	143	± 17	(12)	149	± 11	(12)
Triglyceride(mg/dl)	58.8	± 21.9	(12)	57.4	± 29.6	(12)	55.0	± 32.2	(12)	42.6	± 17.3	(12)
T.cholesterol(mg/dl)	64	± 17	(12)	68	± 12	(12)	62	± 9	(12)	64	± 11	(12)
BUN(mg/dl)	13.7	± 2.3	(12)	13.4	± 2.7	(12)	13.0	± 2.2	(12)	13.6	± 1.4	(12)
Creatinine(mg/dl)	0.33	± 0.07	(12)	0.29	± 0.03	(12)	0.27	± 0.03	(12)	0.28	± 0.04	(12)
T.bilirubin(mg/dl)	0.04	± 0.01	(12)	0.04	± 0.01	(12)	0.04	± 0.01	(12)	0.08	± 0.03**	(12)
GOT(U/l)	66	± 7	(12)	73	± 11	(12)	83	± 42	(12)	65	± 8	(12)
GPT(U/l)	29	± 5	(12)	32	± 6	(12)	30	± 8	(12)	27	± 5	(12)
ALP(U/l)	364	± 74	(12)	336	± 56	(12)	352	± 96	(12)	383	± 94	(12)
Gamma-GTP(U/l)	0.4	± 0.1	(12)	0.4	± 0.2	(12)	0.5	± 0.2	(12)	0.5	± 0.1	(12)
Sodium(mmol/l)	142.6	± 2.0	(12)	142.3	± 1.1	(12)	141.7	± 0.7	(12)	142.0	± 1.2	(12)
Potassium(mmol/l)	4.09	± 0.24	(12)	3.98	± 0.24	(12)	4.17	± 0.30	(12)	4.30	± 0.18	(12)
Chloride(mmol/l)	106.8	± 1.7	(12)	107.2	± 1.7	(12)	106.6	± 1.7	(12)	105.7	± 1.0	(12)
Calcium(mg/dl)	9.93	± 0.48	(12)	9.71	± 0.32	(12)	9.64	± 0.36	(12)	10.03	± 0.50	(12)
I.phosphorus(mg/dl)	5.80	± 0.38	(12)	5.48	± 0.46	(12)	5.90	± 0.42	(12)	6.24	± 0.68	(12)

Significant difference from control group; *: p < 0.05 **: p < 0.01

Table 6-1

Absolute and relative organ weight of male rats

Exp. No. 3654 (115-087)

Dose level (mg/kg)		0		6		20		60	
No. of animal examined		12		12		12		12	
		Mean $\pm$ S.D.		Mean $\pm$ S.D.		Mean $\pm$ S.D.		Mean $\pm$ S.D.	
Body weight (g)		536 $\pm$ 27		525 $\pm$ 28		513 $\pm$ 21		508 $\pm$ 27	
Brain	(g)	2.28 $\pm$ 0.10		2.26 $\pm$ 0.08		2.29 $\pm$ 0.06		2.25 $\pm$ 0.09	
	(g%)	0.427 $\pm$ 0.034		0.431 $\pm$ 0.025		0.447 $\pm$ 0.019		0.445 $\pm$ 0.028	
Thymus	(mg)	290 $\pm$ 62		322 $\pm$ 85		298 $\pm$ 46		311 $\pm$ 46	
	(mg%)	53.938 $\pm$ 10.626		61.461 $\pm$ 16.356		58.287 $\pm$ 9.984		61.301 $\pm$ 8.748	
Liver	(g)	15.12 $\pm$ 1.80		15.07 $\pm$ 1.05		15.82 $\pm$ 1.58		16.39 $\pm$ 1.61	
	(g%)	2.815 $\pm$ 0.218		2.871 $\pm$ 0.135		3.083 $\pm$ 0.249**		3.223 $\pm$ 0.220**	
Spleen	(g)	0.76 $\pm$ 0.11		0.79 $\pm$ 0.11		0.82 $\pm$ 0.09		1.22 $\pm$ 0.17**	
	(g%)	0.142 $\pm$ 0.021		0.150 $\pm$ 0.021		0.160 $\pm$ 0.018		0.241 $\pm$ 0.034**	
Kidneys	(g)	3.33 $\pm$ 0.26		3.38 $\pm$ 0.25		3.61 $\pm$ 0.31		3.47 $\pm$ 0.34	
	(g%)	0.622 $\pm$ 0.043		0.645 $\pm$ 0.063		0.705 $\pm$ 0.069**		0.683 $\pm$ 0.042*	
Adrenals	(mg)	66 $\pm$ 8		66 $\pm$ 6		63 $\pm$ 8		56 $\pm$ 9**	
	(mg%)	12.375 $\pm$ 1.524		12.500 $\pm$ 1.007		12.229 $\pm$ 1.817		11.094 $\pm$ 1.819	
Testes	(g)	3.46 $\pm$ 0.39		3.44 $\pm$ 0.19		3.56 $\pm$ 0.20		3.51 $\pm$ 0.21	
	(g%)	0.647 $\pm$ 0.079		0.657 $\pm$ 0.049		0.695 $\pm$ 0.052		0.693 $\pm$ 0.061	
Epididymides	(mg)	1305 $\pm$ 144		1322 $\pm$ 105		1392 $\pm$ 115		1370 $\pm$ 117	
	(mg%)	244.010 $\pm$ 29.272		253.114 $\pm$ 31.094		271.751 $\pm$ 24.468		270.372 $\pm$ 27.772	

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

Table 6-2

Absolute and relative organ weight of female rats

Exp. No. 3654 (115-087)

Dose level (mg/kg)		0		6		20		60	
No. of dams examined		12		12		12		11	
		Mean $\pm$ S.D.		Mean $\pm$ S.D.		Mean $\pm$ S.D.		Mean $\pm$ S.D.	
Body weight (g)		298 $\pm$ 26		298 $\pm$ 21		307 $\pm$ 16		299 $\pm$ 19	
Brain	(g)	2.02 $\pm$ 0.07		2.02 $\pm$ 0.08		2.04 $\pm$ 0.09		2.03 $\pm$ 0.09	
	(g%)	0.681 $\pm$ 0.070		0.681 $\pm$ 0.044		0.664 $\pm$ 0.031		0.680 $\pm$ 0.039	
Thymus	(mg)	121 $\pm$ 46		153 $\pm$ 78		124 $\pm$ 50		114 $\pm$ 31	
	(mg%)	40.345 $\pm$ 14.873		50.505 $\pm$ 22.981		40.254 $\pm$ 15.243		37.857 $\pm$ 9.829	
Liver	(g)	12.85 $\pm$ 2.11		12.51 $\pm$ 1.23		13.52 $\pm$ 0.90		14.43 $\pm$ 1.09	
	(g%)	4.285 $\pm$ 0.423		4.198 $\pm$ 0.342		4.413 $\pm$ 0.328		4.823 $\pm$ 0.212**	
Spleen	(g)	0.51 $\pm$ 0.09		0.54 $\pm$ 0.09		0.71 $\pm$ 0.12**		1.05 $\pm$ 0.16**	
	(g%)	0.169 $\pm$ 0.020		0.181 $\pm$ 0.023		0.231 $\pm$ 0.032**		0.351 $\pm$ 0.053**	
Kidneys	(g)	2.04 $\pm$ 0.20		2.01 $\pm$ 0.20		2.09 $\pm$ 0.12		2.13 $\pm$ 0.16	
	(g%)	0.689 $\pm$ 0.113		0.675 $\pm$ 0.037		0.682 $\pm$ 0.051		0.713 $\pm$ 0.048	
Adrenals	(mg)	76 $\pm$ 12		73 $\pm$ 10		77 $\pm$ 10		71 $\pm$ 8	
	(mg%)	25.715 $\pm$ 5.021		24.374 $\pm$ 3.315		25.119 $\pm$ 3.643		23.898 $\pm$ 3.283	
Ovaries	(mg)	102 $\pm$ 13		98 $\pm$ 19		102 $\pm$ 14		104 $\pm$ 12	
	(mg%)	34.485 $\pm$ 6.284		32.687 $\pm$ 6.058		33.187 $\pm$ 4.560		34.765 $\pm$ 4.058	

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

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

Table 7-1

Summary of gross findings (dead)

Exp. No. 3654 (115-087)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)		0	6	20	60
No. of animals necropsied		0	0	0	1
Organ	Findings				
HEMATOPOIETIC SYSTEM					
spleen	black	-	-	-	1
RESPIRATORY SYSTEM					
lung	reddish	-	-	-	1

Table 7-2

Summary of gross findings (sacrificed)

Exp. No. 3654 (115-087)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)		0	6	20	60
No. of animals necropsied		12	12	12	12
Organ	Findings				
HEMATOPOIETIC SYSTEM					
spleen	black	0	0	2	12**
	enlarged	0	0	1	12**
URINARY SYSTEM					
kidney	scarred	1	0	0	0
REPRODUCTIVE SYSTEM					
testis	small	1	0	0	0
epididymis	small	1	0	0	0
INTEGUMENTARY SYSTEM					
skin	scab	0	0	1	0
	ulcer	0	0	1	0

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

Table 7-3

Summary of gross findings (sacrificed)

Exp. No. 3654 (115-087)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)		0	6	20	60
No. of animals necropsied		12	12	12	11
Organ	Findings				
HEMATOPOIETIC SYSTEM					
spleen	black	0	0	11**	11**
	enlarged	0	0	5*	11**
thymus	atrophic	1	0	0	0
DIGESTIVE SYSTEM					
tongue	ulcer	0	1	0	0
liver	diaphragmatic hernia	0	1	0	0
REPRODUCTIVE SYSTEM					
ovary	cyst	0	0	1	0
SPECIAL SENSE SYSTEM					
nose	nodule	0	0	0	1
INTEGUMENTARY SYSTEM					
hair	thin	0	1	1	1

Significant difference from control group; * : P < 0.05 ** : P < 0.01

Table 8-1

Summary of histological findings (dead)

Exp. No. 3654 (115-087)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)		0				6				20				60			
No. of animals initially in study		0				0				0				1			
No. of animals necropsied		0				0				0				1			
No. of animals examined histologically		0				0				0				1			
Organ	Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
CARDIOVASCULAR SYSTEM																	
heart														(1)			
	necrosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
HEMATOPOIETIC SYSTEM																	
bone marrow														(1)			
	thrombus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	hematopoiesis, increased	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
spleen														(1)			
	congestion	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	deposit, pigment	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
lymph node														(1)			
	thrombus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
thymus														(1)			
	atrophy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
RESPIRATORY SYSTEM																	
lung														(1)			
	congestion	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	edema	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	thrombus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
DIGESTIVE SYSTEM																	
esophagus														(1)			
	degeneration	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	erosion	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	cellular infiltration	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	parakeratosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	squamous hyperplasia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
stomach														(1)			
	edema	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	thrombus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	parakeratosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	squamous hyperplasia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
exocrine pancreas														(1)			
	decrease, zymogen granules	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0

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

=: benign #: malignant

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

-: Not applicable.

Table 8-1 -continued

Summary of histological findings (dead)

Exp. No. 3654 (115-087)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)		0				6				20				60			
No. of animals initially in study		0				0				0				1			
No. of animals necropsied		0				0				0				1			
No. of animals examined histologically		0				0				0				1			
Organ	Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
DIGESTIVE SYSTEM																	
small intestine														(1)			
	thrombus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
duodenum														(1)			
	thrombus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	ulcer	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
liver														(1)			
	thrombus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	deposit, pigment	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	fatty change	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
salivary gland														(1)			
	thrombus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
URINARY SYSTEM																	
kidney														(1)			
	thrombus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
REPRODUCTIVE SYSTEM																	
uterus														(1)			
	endometritis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
vagina														(1)			
	cellular infiltration	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
ENDOCRINE SYSTEM																	
thyroid gland														(1)			
	thrombus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
adrenal gland														(1)			
	thrombus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	degeneration, vacuolar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	hyperplasia, cortex	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
NERVOUS SYSTEM																	
brain														(1)			
	thrombus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0

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

=: benign #: malignant

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

-: Not applicable.

Table 8-2-1

Summary of histological findings (sacrificed)

Exp. No. 3654 (115-087)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)	0	6	20	60
No. of animals initially in study	12	12	12	12
No. of animals necropsied	12	12	12	12
No. of animals examined histologically	12	12	12	12
Organ_____ Findings_____				
CARDIOVASCULAR SYSTEM				
heart				
cellular infiltration	5	-	-	5
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
bone marrow				
hematopoiesis, increased	0	0	2	12**
spleen				
congestion	0	0	3	12**
deposit, pigment	0	0	9**	12**
hematopoiesis, extramedullary	0	0	3	12**
thymus				
squamous metaplasia	1	-	-	3
DIGESTIVE SYSTEM				
liver				
deposit, pigment	0	0	0	12**
fatty change	9	8	9	6
hypertrophy, hepatocyte	0	0	0	6**
necrosis	0	1	0	0
single cell necrosis	1	0	0	0
accumulation of macrophage	0	0	1	0
cellular infiltration, lymphocyte	1	2	2	0
microgranuloma	12	11	10	9
hematopoiesis, extramedullary	0	0	0	7**
URINARY SYSTEM				
kidney				
basophilic tubules	11	-	-	11
cast, hyaline	1	-	-	1
dilatation, tubules	2	-	-	1
eosinophilic body	5	-	-	9
cellular infiltration	0	-	-	1
cellular infiltration, lymphocyte	2	-	-	2
microgranuloma	1	-	-	0
fibrosis	1	-	-	0

=: benign #: malignant

-: Not applicable.

Significant difference from control group; * : P < 0.05 ** : P < 0.01

Table 8-2-1 -continued

Summary of histological findings (sacrificed)

Exp. No. 3654 (115-087)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)	0	6	20	60
No. of animals initially in study	12	12	12	12
No. of animals necropsied	12	12	12	12
No. of animals examined histologically	12	12	12	12
Organ Findings				
REPRODUCTIVE SYSTEM				
testis				
atrophy, seminiferous tubule	1	-	-	0
epididymis				
decrease, sperm	1	-	-	0
cellular infiltration, lymphocyte	2	-	-	3
ENDOCRINE SYSTEM				
adrenal gland				
degeneration, vacuolar	3	-	-	5

=: benign #: malignant

-: Not applicable.

Significant difference from control group; * : P < 0.05 ** : P < 0.01

Table 8-2-2

Summary of histological findings (sacrificed)

Exp. No. 3654 (115-087)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)	0	6	20	60
No. of animals initially in study	12	12	12	12
No. of animals necropsied	12	12	12	12
No. of animals examined histologically	12	12	12	12
Organ Findings	T 1 2 3	T 1 2 3	T 1 2 3	T 1 2 3
CARDIOVASCULAR SYSTEM				
heart	(12)	(0)	(0)	(12)
cellular infiltration	- 5 0 0	- - - -	- - - -	- 5 0 0
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
bone marrow	(12)	(12)	(12)	(12)
hematopoiesis, increased	- 0 0 0	- 0 0 0	- 2 0 0	- 12 0 0
spleen	(12)	(12)	(12)	(12)
congestion	- 0 0 0	- 0 0 0	- 3 0 0	- 12 0 0
deposit, pigment	- 0 0 0	- 0 0 0	- 9 0 0	- 12 0 0
hematopoiesis, extramedullary	- 0 0 0	- 0 0 0	- 3 0 0	- 12 0 0
thymus	(12)	(0)	(0)	(12)
squamous metaplasia	- 1 0 0	- - - -	- - - -	- 3 0 0
DIGESTIVE SYSTEM				
liver	(12)	(12)	(12)	(12)
deposit, pigment	- 0 0 0	- 0 0 0	- 0 0 0	- 12 0 0
fatty change	- 9 0 0	- 8 0 0	- 9 0 0	- 6 0 0
hypertrophy, hepatocyte	- 0 0 0	- 0 0 0	- 0 0 0	- 6 0 0
necrosis	- 0 0 0	- 1 0 0	- 0 0 0	- 0 0 0
single cell necrosis	- 1 0 0	- 0 0 0	- 0 0 0	- 0 0 0
accumulation of macrophage	- 0 0 0	- 0 0 0	- 1 0 0	- 0 0 0
cellular infiltration, lymphocyte	- 1 0 0	- 2 0 0	- 2 0 0	- 0 0 0
microgranuloma	- 12 0 0	- 11 0 0	- 10 0 0	- 9 0 0
hematopoiesis, extramedullary	- 0 0 0	- 0 0 0	- 0 0 0	- 7 0 0
URINARY SYSTEM				
kidney	(12)	(0)	(0)	(12)
basophilic tubules	- 11 0 0	- - - -	- - - -	- 11 0 0
cast, hyaline	- 1 0 0	- - - -	- - - -	- 1 0 0
dilatation, tubules	- 2 0 0	- - - -	- - - -	- 1 0 0
eosinophilic body	- 5 0 0	- - - -	- - - -	- 9 0 0
cellular infiltration	- 0 0 0	- - - -	- - - -	- 1 0 0
cellular infiltration, lymphocyte	- 2 0 0	- - - -	- - - -	- 2 0 0
microgranuloma	- 1 0 0	- - - -	- - - -	- 0 0 0
fibrosis	- 1 0 0	- - - -	- - - -	- 0 0 0

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

=: benign #: malignant

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

-: Not applicable.

Table 8-2-2 -continued

Summary of histological findings (sacrificed)

Exp. No. 3654 (115-087)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)		0				6				20				60			
No. of animals initially in study		12				12				12				12			
No. of animals necropsied		12				12				12				12			
No. of animals examined histologically		12				12				12				12			
Organ	Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
REPRODUCTIVE SYSTEM																	
testis		(12)				(0)				(0)				(12)			
	atrophy, seminiferous tubule	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
epididymis		(12)				(0)				(0)				(12)			
	decrease, sperm	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
	cellular infiltration, lymphocyte	-	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	0	0
ENDOCRINE SYSTEM																	
adrenal gland		(12)				(0)				(0)				(12)			
	degeneration, vacuolar	-	3	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	0	0

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

=: benign #: malignant

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

-: Not applicable.

Table 8-3-1

Summary of histological findings (sacrificed)

Exp. No. 3654 (115-087)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0	6	20	60
No. of animals initially in study	12	12	12	11
No. of animals necropsied	12	12	12	11
No. of animals examined histologically	12	12	12	11
Organ_____ Findings_____				
CARDIOVASCULAR SYSTEM				
heart				
cellular infiltration	1	-	-	0
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
bone marrow				
hematopoiesis, increased	0	0	4*	10**
spleen				
congestion	0	0	6**	11**
deposit, pigment	0	0	10**	11**
hematopoiesis, extramedullary	4	5	9*	10**
thymus				
atrophy	6	-	-	3
squamous metaplasia	2	-	-	2
DIGESTIVE SYSTEM				
liver				
deposit, pigment	0	0	0	11**
fatty change	1	0	0	1
hypertrophy, hepatocyte	0	0	0	3
necrosis	3	1	3	2
single cell necrosis	0	0	2	1
accumulation of macrophage	1	0	0	0
microgranuloma	4	5	5	5
hematopoiesis, extramedullary	2	2	3	9**
herniation	0	1	0	0
proliferation, bile duct	0	0	0	1
URINARY SYSTEM				
kidney				
basophilic tubules	2	-	-	2
cast, hyaline	0	-	-	1
degeneration, vacuolar	2	-	-	0
dilatation, tubules	2	-	-	0
microgranuloma	1	-	-	0

=: benign #: malignant

-: Not applicable.

Significant difference from control group; * : P < 0.05 ** : P < 0.01

Table 8-3-1 -continued

Summary of histological findings (sacrificed)

Exp. No. 3654 (115-087)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0	6	20	60
No. of animals initially in study	12	12	12	11
No. of animals necropsied	12	12	12	11
No. of animals examined histologically	12	12	12	11
Organ_____ Findings_____				

INTEGUMENTARY SYSTEM

skin				
=squamous cell papilloma	-	-	-	1 (2)

=: benign #: malignant

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

-: Not applicable.

Significant difference from control group; * : P < 0.05

** : P < 0.01

Table 8-3-2

Summary of histological findings (sacrificed)

Exp. No. 3654 (115-087)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)		0				6				20				60			
No. of animals initially in study		12				12				12				11			
No. of animals necropsied		12				12				12				11			
No. of animals examined histologically		12				12				12				11			
Organ	Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
CARDIOVASCULAR SYSTEM																	
heart		(12)				(0)				(0)				(11)			
	cellular infiltration	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
HEMATOPOIETIC SYSTEM																	
bone marrow		(12)				(12)				(12)				(11)			
	hematopoiesis, increased	-	0	0	0	-	0	0	0	-	4	0	0	-	10	0	0
spleen		(12)				(12)				(12)				(11)			
	congestion	-	0	0	0	-	0	0	0	-	6	0	0	-	11	0	0
	deposit, pigment	-	0	0	0	-	0	0	0	-	10	0	0	-	11	0	0
	hematopoiesis, extramedullary	-	4	0	0	-	5	0	0	-	5	4	0**	-	3	7	0**
thymus		(12)				(0)				(0)				(11)			
	atrophy	-	6	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	0	0
	squamous metaplasia	-	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	0	0
DIGESTIVE SYSTEM																	
liver		(12)				(12)				(12)				(11)			
	deposit, pigment	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	-	11	0	0
	fatty change	-	1	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	-	1	0	0
	hypertrophy, hepatocyte	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	-	3	0	0
	necrosis	-	3	0	0	-	1	0	0	-	3	0	0	-	2	0	0
	single cell necrosis	-	0	0	0	-	0	0	0	-	2	0	0	-	1	0	0
	accumulation of macrophage	-	1	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0
	microgranuloma	-	4	0	0	-	5	0	0	-	5	0	0	-	5	0	0
	hematopoiesis, extramedullary	-	2	0	0	-	2	0	0	-	1	2	0	-	3	6	0**
	herniation	-	0	0	0	-	1	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0
	proliferation, bile duct	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	-	1	0	0
URINARY SYSTEM																	
kidney		(12)				(0)				(0)				(11)			
	basophilic tubules	-	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	0	0
	cast, hyaline	-	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	degeneration, vacuolar	-	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
	dilatation, tubules	-	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
	microgranuloma	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0

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

=: benign #: malignant

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

Significant difference from control group; * : P < 0.05

-: Not applicable.

** : P < 0.01

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0				6				20				60			
No. of animals initially in study	12				12				12				11			
No. of animals necropsied	12				12				12				11			
No. of animals examined histologically	12				12				12				11			
Organ_____ Findings_____	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
INTEGUMENTARY SYSTEM																
skin	(0)				(0)				(0)				(2)			
=squamous cell papilloma	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-

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

=: benign #: malignant

(): No. of animals examined microscopically at this site. -: Not applicable.

Table 9

Copulation and fertility results in rats

Exp. No. 3654 (115-087)

Dose level (mg/kg)	0	6	20	60
No. of pairs mated	12	12	12	12
No. of pairs copulated	12	12	12	12
No. of pregnant females	12	12	12	12
Copulation Index (%) 1)	100.0	100.0	100.0	100.0
Fertility index (%) 2)	100.0	100.0	100.0	100.0
Estrus cycle (days) (Mean±S.D.)	4.2± 0.4 (12)	4.5± 0.5 (11)	4.7± 0.6 (12)	4.7± 0.6 (12)

1) (No. of animals with successful copulation / no. of animals mated) x 100
 2) (No. of pregnant animals / no. of animals with successful copulation) x 100
 Values in parentheses are expressed no. of animals observed
 Significant difference from control group; *: P < 0.05 **: P < 0.01

Table 10

Findings of delivery in dams(F0)

Exp. No. 3654 (115-087)

Dose level (mg/kg)	0	6	20	60
No. of dams observed	12	12	12	11
No. of dams delivered live pups	12	12	12	11
Duration of gestation (Mean $\pm$ S.D.)	22.7 $\pm$ 0.5	22.3 $\pm$ 0.5	22.6 $\pm$ 0.5	22.2 $\pm$ 0.4
No. of total corpora lutea (Mean $\pm$ S.D.)	213(17.8 $\pm$ 2.6)	202(16.8 $\pm$ 2.8)	208(17.3 $\pm$ 1.9)	212(19.3 $\pm$ 3.5)
No. of total implants (Mean $\pm$ S.D.)	201(16.8 $\pm$ 2.3)	183(15.3 $\pm$ 3.3)	191(15.9 $\pm$ 1.5)	183(16.6 $\pm$ 2.3)
No. of total pups born (Mean $\pm$ S.D.)	191(15.9 $\pm$ 1.8)	172(14.3 $\pm$ 3.2)	177(14.8 $\pm$ 3.2)	172(15.6 $\pm$ 2.5)
No. of total live pups born (Mean $\pm$ S.D.)	191(15.9 $\pm$ 1.8)	169(14.1 $\pm$ 3.1)	176(14.7 $\pm$ 3.1)	172(15.6 $\pm$ 2.5)
Male	88(7.3 $\pm$ 1.7) a)	82(6.8 $\pm$ 2.7) a)	88(6.6 $\pm$ 2.8) a)	80(7.3 $\pm$ 2.1) a)
Female	103(8.6 $\pm$ 2.5) a)	87(7.3 $\pm$ 3.0) a)	97(8.1 $\pm$ 3.3) a)	92(8.4 $\pm$ 3.0) a)
Sex ratio (Mean $\pm$ S.D.)	1.06 $\pm$ 0.87	1.27 $\pm$ 0.99	0.95 $\pm$ 0.48	1.01 $\pm$ 0.56
No. of total live pups on day 4 (Mean $\pm$ S.D.)				
Male	85(7.1 $\pm$ 1.9)	78(6.5 $\pm$ 2.8)	77(6.4 $\pm$ 2.6)	68(6.2 $\pm$ 1.8)
Female	97(8.1 $\pm$ 2.2)	82(6.8 $\pm$ 3.0)	94(7.8 $\pm$ 3.2)	81(7.4 $\pm$ 3.2)
No. of total dead pups born (Mean $\pm$ S.D.)	0(0.0 $\pm$ 0.0)	3(0.3 $\pm$ 0.6)	1(0.1 $\pm$ 0.3)	0(0.0 $\pm$ 0.0)
stillbirth	0(0.0 $\pm$ 0.0)	0(0.0 $\pm$ 0.0)	1(0.1 $\pm$ 0.3)	0(0.0 $\pm$ 0.0)
cannibalism	0(0.0 $\pm$ 0.0)	3(0.3 $\pm$ 0.6)	0(0.0 $\pm$ 0.0)	0(0.0 $\pm$ 0.0)
Gestation index (%) 1)	100.0	100.0	100.0	100.0
Implantation index (% Mean $\pm$ S.D.) 2)	94.7 $\pm$ 5.9	90.1 $\pm$ 11.3	92.5 $\pm$ 10.3	87.5 $\pm$ 11.3
Delivery index (% Mean $\pm$ S.D.) 3)	95.4 $\pm$ 4.5	94.0 $\pm$ 5.6	91.8 $\pm$ 15.2	94.0 $\pm$ 6.7
Live birth index (% Mean $\pm$ S.D.) 4)	100.0 $\pm$ 0.0	98.4 $\pm$ 3.9	99.5 $\pm$ 1.8	100.0 $\pm$ 0.0
Viability index on day 4 (% Mean $\pm$ S.D.) 5)				
Male	96.4 $\pm$ 8.9	94.3 $\pm$ 10.7	98.5 $\pm$ 5.2	85.7 $\pm$ 14.1*
Female	95.1 $\pm$ 5.2	94.6 $\pm$ 10.8	97.2 $\pm$ 5.3	86.4 $\pm$ 24.3

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

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

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

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

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

a) Includes live pups died before observations

Significant difference from control group; *: P < 0.05 **: P < 0.01

Table 11

Body weight change of pups(F1) from rats

Exp. No. 3654 (115-087)

Unit : g										
Dose level (mg/kg)		0		6		20		60		
No. of litters		12		12		12		11		
		Mean $\pm$ S.D.		(N)	Mean $\pm$ S.D.		(N)	Mean $\pm$ S.D.		(N)
Male										
Days after birth	0	6.3 $\pm$ 0.5 a)		(12)	6.6 $\pm$ 0.6 a)		(12)	6.7 $\pm$ 0.9 a)		(12)
	4	8.6 $\pm$ 1.6		(12)	9.1 $\pm$ 1.4		(12)	10.4 $\pm$ 2.4		(12)
Female										
Days after birth	0	6.0 $\pm$ 0.5 a)		(12)	6.2 $\pm$ 0.4 a)		(12)	6.4 $\pm$ 0.8 a)		(12)
	4	8.3 $\pm$ 1.6		(12)	8.6 $\pm$ 1.3		(12)	9.7 $\pm$ 2.2		(12)

a) Excludes live pups died before observations

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

Table 12-1

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

Exp. No. 3654 (115-087)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)	0	6	20	60
No. of pups necropsied	85	78	77	68
Organ Findings				
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
thymus	thymic remnant in the neck	1	0	0
DIGESTIVE SYSTEM				
liver	white patch/zone	0	0	0
	green	0	0	1

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

Table 12-2

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

Exp. No. 3654 (115-087)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0	6	20	60
No. of pups necropsied	97	82	94	81
Organ Findings				
URINARY SYSTEM				
Kidney dilated pelvis	0	0	0	1

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