

Table 33- 3 Necropsy - Incidence of macroscopic lesions in female rats  
All animals examined

Site & Lesion	Dose (mg/kg/day)	0	1	8	40
		No. of animals examined			
		10	10	10	10
Systemic/external appearance :	[N=]	10	10	10	10
Emaciation		0	0	1	5 *
Soiled fur in perioral region		0	0	0	2
Soiled fur in nasorostral region		0	0	0	1
Soiled fur in perianal region		0	0	0	5 *
Spleen :	[N=]	10	10	10	10
Atrophy		0	0	1	8 **
Thymus :	[N=]	10	10	10	10
Atrophy		0	0	1	7 **
Lung :	[N=]	10	10	10	10
Spot(s)		0	1	3	0
Stomach :	[N=]	10	10	10	10
Distended with gas		0	0	0	4 *
Distended with liquid		0	0	0	1
Small intestine :	[N=]	10	10	10	10
Distended with gas		0	0	1	8 **
Large intestine :	[N=]	10	10	10	10
Distended with gas		0	0	1	6 **
Distended with liquid		0	0	0	1
Liver :	[N=]	10	10	10	10
Spot(s)		0	0	0	1
Kidney :	[N=]	10	10	10	10
Mass(es)		0	0	1	0
Uterus :	[N=]	10	10	10	10
Amputation		0	0	1	0
Adrenal :	[N=]	10	10	10	10
Enlargement		0	0	0	1

[N=]: Number of animals examined at the site.

Significantly different from control: \*,  $p \leq 0.05$ ; \*\*,  $p \leq 0.01$ .

Table 34 - 1      Histopathology - Incidence of microscopic lesions in male rats  
Terminal kill after 4 weeks of treatment

Site & Lesion	Dose (mg/kg/day)	0	1	8	40
		No. of animals examined	10	10	10
Nasal cavity :	[N=]	10	10	10	4
Rhinitis		0	0	0	1
Lung :	[N=]	10	10	10	4
Accumulation, foamy cell, alveolar		1	1	0	0
Heart :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Myocarditis		1	-	-	0
Esophagus :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Inflammation		0	-	-	1
Forestomach :	[N=]	10	10	10	4
Edema, submucosa		0	0	0	1
Erosion/ulcer		0	0	0	1
Liver :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Microgranuloma		1	-	-	1
Kidney :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Dilatation, pelvis		1	-	-	0
Prostate :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Prostatitis		3	-	-	1
Thyroid :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Hydropic degeneration, follicular cell		1	-	-	0
Skin(lumbo-dorsal) :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Mammary gland :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Bone marrow(sternum) :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Bone marrow(femur) :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Spleen :	[N=]	10	10	10	4
Thymus :	[N=]	10	10	10	4
Lymph node(cervical) :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Lymph node(mesenteric) :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Bone(sternum) :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Bone(femur) :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Joint(knee) :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Muscle(m. triceps surae) :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Larynx :	[N=]	10	10	10	4
Trachea :	[N=]	10	10	10	4
Artery(aorta) :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Tongue :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Sublingual gland :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Submandibular gland :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Pharynx :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Glandular stomach :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Duodenum :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Jejunum :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Ileum :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Cecum :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Colon :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Rectum :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Pancreas :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Urinary bladder :	[N=]	10	0 a	0 a	4

&lt;Continued on next page&gt;

[N=]: Number of animals examined at the site.

a: Examined on the animals that showed macroscopic lesions. Not subjected to statistical analysis.

Table 34 - 2                      Histopathology - Incidence of microscopic lesions in male rats  
Terminal kill after 4 weeks of treatment

Site & Lesion	Dose (mg/kg/day)	0	1	8	40
	No. of animals examined	10	10	10	4
<Continued from previous page>					
Testis :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Epididymis :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Seminal vesicle :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Coagulating gland :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Pituitary :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Parathyroid :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Adrenal :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Cerebrum :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Cerebellum :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Pons :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Medulla oblongata :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Spinal cord(cervical) :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Spinal cord(thoracic) :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Spinal cord(lumbar) :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Nerve(sciatic) :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Eye :	[N=]	10	0 a	0 a	4
Harderian gland :	[N=]	10	0 a	0 a	4

[N=]: Number of animals examined at the site.

a: Examined on the animals that showed macroscopic lesions. Not subjected to statistical analysis.

Table 34 - 3      Histopathology - Incidence of microscopic lesions in male rats  
Killed *in extremis* or found dead

Site & Lesion	Dose (mg/kg/day)	0	1	8	40
	No. of animals examined	0	0	0	6
Mammary gland :	[N=]	0	0	0	5
Not in section		-	-	-	1
Bone marrow(sternum) :	[N=]	0	0	0	6
Hematopoiesis, decreased		-	-	-	1
Bone marrow(femur) :	[N=]	0	0	0	6
Hematopoiesis, decreased		-	-	-	1
Fibrosis		-	-	-	1
Spleen :	[N=]	0	0	0	6
Atrophy		-	-	-	5
Thymus :	[N=]	0	0	0	6
Atrophy		-	-	-	6
Lymph node(mesenteric) :	[N=]	0	0	0	6
Lymphadenitis		-	-	-	1
Nasal cavity :	[N=]	0	0	0	6
Rhinitis		-	-	-	6
Larynx :	[N=]	0	0	0	6
Laryngitis		-	-	-	5
Trachea :	[N=]	0	0	0	6
Inflammation		-	-	-	5
Lung :	[N=]	0	0	0	6
Edema		-	-	-	1
Pneumonia		-	-	-	4
Tongue :	[N=]	0	0	0	6
Inflammation		-	-	-	1
Esophagus :	[N=]	0	0	0	6
Inflammation		-	-	-	1
Forestomach :	[N=]	0	0	0	6
Edema, submucosa		-	-	-	1
Erosion/ulcer		-	-	-	4
Duodenum :	[N=]	0	0	0	6
Hyperplasia, mucosal epithelial cell		-	-	-	1
Liver :	[N=]	0	0	0	6
Necrosis, hepatocyte, focal		-	-	-	2
Pancreas :	[N=]	0	0	0	6
Vacuolation, cytoplasmic, acinar cell		-	-	-	1
Testis :	[N=]	0	0	0	6
Atrophy, seminiferous tubule		-	-	-	1
Epididymis :	[N=]	0	0	0	6
Oligospermia		-	-	-	1
Skin(lumbo-dorsal) :	[N=]	0	0	0	6
Lymph node(cervical) :	[N=]	0	0	0	6
Bone(sternum) :	[N=]	0	0	0	6
Bone(femur) :	[N=]	0	0	0	6
Joint(knee) :	[N=]	0	0	0	6
Muscle(m. triceps surae) :	[N=]	0	0	0	6

&lt;Continued on next page&gt;

[N=]: Number of animals examined at the site.

Table 34 - 4      Histopathology - Incidence of microscopic lesions in male rats  
Killed *in extremis* or found dead

Site & Lesion	Dose (mg/kg/day)	0	1	8	40
	No. of animals examined	0	0	0	6
<Continued from previous page>					
Heart :	[N=]	0	0	0	6
Artery(aorta) :	[N=]	0	0	0	6
Sublingual gland :	[N=]	0	0	0	6
Submandibular gland :	[N=]	0	0	0	6
Pharynx :	[N=]	0	0	0	6
Glandular stomach :	[N=]	0	0	0	6
Jejunum :	[N=]	0	0	0	6
Ileum :	[N=]	0	0	0	6
Cecum :	[N=]	0	0	0	6
Colon :	[N=]	0	0	0	6
Rectum :	[N=]	0	0	0	6
Kidney :	[N=]	0	0	0	6
Urinary bladder :	[N=]	0	0	0	6
Seminal vesicle :	[N=]	0	0	0	6
Coagulating gland :	[N=]	0	0	0	6
Prostate :	[N=]	0	0	0	6
Pituitary :	[N=]	0	0	0	6
Thyroid :	[N=]	0	0	0	6
Parathyroid :	[N=]	0	0	0	6
Adrenal :	[N=]	0	0	0	6
Cerebrum :	[N=]	0	0	0	6
Cerebellum :	[N=]	0	0	0	6
Pons :	[N=]	0	0	0	6
Medulla oblongata :	[N=]	0	0	0	6
Spinal cord(cervical) :	[N=]	0	0	0	6
Spinal cord(thoracic) :	[N=]	0	0	0	6
Spinal cord(lumbar) :	[N=]	0	0	0	6
Nerve(sciatic) :	[N=]	0	0	0	6
Eye :	[N=]	0	0	0	6
Harderian gland :	[N=]	0	0	0	6

[N=]: Number of animals examined at the site.

Table 34 - 5      Histopathology - Incidence of microscopic lesions in male rats  
All animals examined

Site & Lesion	Dose (mg/kg/day)	0	1	8	40
		No. of animals examined	10	10	10
Mammary gland :	[N=]	10	0 a	0 a	9
Not in section		0	-	-	1
Bone marrow(sternum) :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Hematopoiesis, decreased		0	-	-	1
Bone marrow(femur) :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Hematopoiesis, decreased		0	-	-	1
Fibrosis		0	-	-	1
Spleen :	[N=]	10	10	10	10
Atrophy		0	0	0	5 *
Thymus :	[N=]	10	10	10	10
Atrophy		0	0	0	6 **
Lymph node(mesenteric) :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Lymphadenitis		0	-	-	1
Nasal cavity :	[N=]	10	10	10	10
Rhinitis		0	0	0	7 **
Larynx :	[N=]	10	10	10	10
Laryngitis		0	0	0	5 *
Trachea :	[N=]	10	10	10	10
Inflammation		0	0	0	5 *
Lung :	[N=]	10	10	10	10
Edema		0	0	0	1
Pneumonia		0	0	0	4 *
Accumulation, foamy cell, alveolar		1	1	0	0
Heart :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Myocarditis		1	-	-	0
Tongue :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Inflammation		0	-	-	1
Esophagus :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Inflammation		0	-	-	2
Forestomach :	[N=]	10	10	10	10
Edema, submucosa		0	0	0	2
Erosion/ulcer		0	0	0	5 *
Duodenum :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Hyperplasia, mucosal epithelial cell		0	-	-	1
Liver :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Necrosis, hepatocyte, focal		0	-	-	2
Microgranuloma		1	-	-	1
Pancreas :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Vacuolation, cytoplasmic, acinar cell		0	-	-	1
Kidney :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Dilatation, pelvis		1	-	-	0
Testis :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Atrophy, seminiferous tubule		0	-	-	1
Epididymis :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Oligospermia		0	-	-	1

&lt;Continued on next page&gt;

[N=]: Number of animals examined at the site.

a: Examined on the animals that showed macroscopic lesions. Not subjected to statistical analysis.

Significantly different from control: \*, p &lt;=0.05; \*\*, p &lt;=0.01.

Table 34 - 6 Histopathology - Incidence of microscopic lesions in male rats  
All animals examined

Site & Lesion	Dose (mg/kg/day)	0	1	8	40
	No. of animals examined	10	10	10	10
<Continued from previous page>					
Prostate :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Prostatitis		3	-	-	1
Thyroid :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Hydropic degeneration, follicular cell		1	-	-	0
Skin(lumbo-dorsal) :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Lymph node(cervical) :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Bone(sternum) :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Bone(femur) :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Joint(knee) :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Muscle(m. triceps surae) :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Artery(aorta) :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Sublingual gland :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Submandibular gland :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Pharynx :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Glandular stomach :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Jejunum :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Ileum :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Cecum :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Colon :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Rectum :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Urinary bladder :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Seminal vesicle :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Coagulating gland :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Pituitary :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Parathyroid :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Adrenal :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Cerebrum :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Cerebellum :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Pons :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Medulla oblongata :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Spinal cord(cervical) :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Spinal cord(thoracic) :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Spinal cord(lumbar) :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Nerve(sciatic) :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Eye :	[N=]	10	0 a	0 a	10
Harderian gland :	[N=]	10	0 a	0 a	10

[N=]: Number of animals examined at the site.

a: Examined on the animals that showed macroscopic lesions. Not subjected to statistical analysis.

Table 35 - 1 Histopathology - Incidence of microscopic lesions in female rats  
Terminal kill after 4 weeks of treatment

Site & Lesion	Dose (mg/kg/day) No. of animals examined	0	1	8	40
		10	10	9	5
Thymus :	[N=]	10	10	9	5
Atrophy		0	0	0	3 *
Nasal cavity :	[N=]	10	10	9	5
Rhinitis		0	0	4 *	4 **
Larynx :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Granuloma		1	-	-	0
Lung :	[N=]	10	1 a	3 a	5
Hemorrhage		0	1	1	0
Pneumonia		2	1	3	2
Heart :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Pericarditis		1	-	-	0
Forestomach :	[N=]	10	10	9	5
Edema, submucosa		0	0	1	1
Erosion/ulcer		0	0	0	2
Duodenum :	[N=]	10	10	9	5
Hyperplasia, mucosal epithelial cell		0	0	0	2
Kidney :	[N=]	10	0 a	1 a	5
Tubular basophilic change		0	-	0	1
Nephroblastoma [Ma]		0	-	1	0
Thyroid :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Hydropic degeneration, follicular cell		0	-	-	1
Spinal cord(lumbar) :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Cyst, epidermal		1	-	-	0
Eye :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Atrophy, retina		1	-	-	0
Skin(lumbo-dorsal) :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Mammary gland :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Bone marrow(sternum) :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Bone marrow(femur) :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Spleen :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Lymph node(cervical) :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Lymph node(mesenteric) :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Bone(sternum) :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Bone(femur) :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Joint(knee) :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Muscle(m. triceps surae) :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Trachea :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Artery(aorta) :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Tongue :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Sublingual gland :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Submandibular gland :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Pharynx :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Esophagus :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Glandular stomach :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Jejunum :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Ileum :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Cecum :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Colon :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Rectum :	[N=]	10	0 a	0 a	5

&lt;Continued on next page&gt;

[N=]: Number of animals examined at the site.

[Be]: Benign neoplasm; [Ma]:Malignant neoplasm.

a: Examined on the animals that showed macroscopic lesions. Not subjected to statistical analysis.

Significantly different from control: \*,  $p \leq 0.05$ ; \*\*,  $p \leq 0.01$ .



Table 35 - 2      Histopathology - Incidence of microscopic lesions in female rats  
Terminal kill after 4 weeks of treatment

Site & Lesion	Dose (mg/kg/day)	0	1	8	40
	No. of animals examined	10	10	9	5
<Continued from previous page>					
Liver :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Pancreas :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Urinary bladder :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Ovary :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Vagina :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Uterine horn :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Uterine cervix :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Pituitary :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Parathyroid :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Adrenal :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Cerebrum :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Cerebellum :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Pons :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Medulla oblongata :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Spinal cord(cervical) :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Spinal cord(thoracic) :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Nerve(sciatic) :	[N=]	10	0 a	0 a	5
Harderian gland :	[N=]	10	0 a	0 a	5

[N=]: Number of animals examined at the site.

a: Examined on the animals that showed macroscopic lesions. Not subjected to statistical analysis.

Table 35 - 3      Histopathology - Incidence of microscopic lesions in female rats  
Killed *in extremis* or found dead

Site & Lesion	Dose (mg/kg/day)	No. of animals examined	0	1	8	40
			0	0	1	5
Skin(lumbo-dorsal) :	[N=]	0	0	1	5	
Atrophy, hair follicle		-	-	0	1	
Spleen :	[N=]	0	0	1	5	
Atrophy		-	-	1	5	
Thymus :	[N=]	0	0	1	5	
Atrophy		-	-	1	5	
Nasal cavity :	[N=]	0	0	1	5	
Rhinitis		-	-	1	5	
Larynx :	[N=]	0	0	1	5	
Laryngitis		-	-	0	1	
Lung :	[N=]	0	0	1	5	
Pneumonia		-	-	0	1	
Forestomach :	[N=]	0	0	1	5	
Edema, submucosa		-	-	0	1	
Erosion/ulcer		-	-	0	4	
Duodenum :	[N=]	0	0	1	5	
Hyperplasia, mucosal epithelial cell		-	-	1	2	
Liver :	[N=]	0	0	1	5	
Necrosis, hepatocyte, focal		-	-	0	2	
Fibrosis		-	-	0	1	
Kidney :	[N=]	0	0	1	5	
Hyperplasia, transitional cell		-	-	0	1	
Adrenal :	[N=]	0	0	1	5	
Hypertrophy, cortical cell		-	-	0	1	
Mammary gland :	[N=]	0	0	1	5	
Bone marrow(sternum) :	[N=]	0	0	1	5	
Bone marrow(femur) :	[N=]	0	0	1	5	
Lymph node(cervical) :	[N=]	0	0	1	5	
Lymph node(mesenteric) :	[N=]	0	0	1	5	
Bone(sternum) :	[N=]	0	0	1	5	
Bone(femur) :	[N=]	0	0	1	5	
Joint(knee) :	[N=]	0	0	1	5	
Muscle(m. triceps surae) :	[N=]	0	0	1	5	
Trachea :	[N=]	0	0	1	5	
Heart :	[N=]	0	0	1	5	
Artery(aorta) :	[N=]	0	0	1	5	
Tongue :	[N=]	0	0	1	5	
Sublingual gland :	[N=]	0	0	1	5	
Submandibular gland :	[N=]	0	0	1	5	
Pharynx :	[N=]	0	0	1	5	
Esophagus :	[N=]	0	0	1	5	
Glandular stomach :	[N=]	0	0	1	5	
Jejunum :	[N=]	0	0	1	5	
Ileum :	[N=]	0	0	1	5	
Cecum :	[N=]	0	0	1	5	
Colon :	[N=]	0	0	1	5	
Rectum :	[N=]	0	0	1	5	

&lt;Continued on next page&gt;

[N=]: Number of animals examined at the site.

Table 35 - 4      Histopathology - Incidence of microscopic lesions in female rats  
Killed *in extremis* or found dead

Site & Lesion	Dose (mg/kg/day)	0	1	8	40
		No. of animals examined			
<Continued from previous page>					
Pancreas :	[N=]	0	0	1	5
Urinary bladder :	[N=]	0	0	1	5
Ovary :	[N=]	0	0	1	5
Vagina :	[N=]	0	0	1	5
Uterine horn :	[N=]	0	0	1	5
Uterine cervix :	[N=]	0	0	1	5
Pituitary :	[N=]	0	0	1	5
Thyroid :	[N=]	0	0	1	5
Parathyroid :	[N=]	0	0	1	5
Cerebrum :	[N=]	0	0	1	5
Cerebellum :	[N=]	0	0	1	5
Pons :	[N=]	0	0	1	5
Medulla oblongata :	[N=]	0	0	1	5
Spinal cord(cervical) :	[N=]	0	0	1	5
Spinal cord(thoracic) :	[N=]	0	0	1	5
Spinal cord(lumbar) :	[N=]	0	0	1	5
Nerve(sciatic) :	[N=]	0	0	1	5
Eye :	[N=]	0	0	1	5
Harderian gland :	[N=]	0	0	1	5

[N=]: Number of animals examined at the site.

Table 35 - 5 Histopathology - Incidence of microscopic lesions in female rats  
All animals examined

Site & Lesion	Dose (mg/kg/day) No. of animals examined	0	1	8	40
		10	10	10	10
Skin(lumbo-dorsal) :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Atrophy, hair follicle		0	-	0	1
Spleen :	[N=]	10	10	10	10
Atrophy		0	0	1	5 *
Thymus :	[N=]	10	10	10	10
Atrophy		0	0	1	8 **
Nasal cavity :	[N=]	10	10	10	10
Rhinitis		0	0	5 *	9 **
Larynx :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Laryngitis		0	-	0	1
Granuloma		1	-	0	0
Lung :	[N=]	10	1 a	4 b	10
Hemorrhage		0	1	1	0
Pneumonia		2	1	3	3
Heart :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Pericarditis		1	-	0	0
Forestomach :	[N=]	10	10	10	10
Edema, submucosa		0	0	1	2
Erosion/ulcer		0	0	0	6 **
Duodenum :	[N=]	10	10	10	10
Hyperplasia, mucosal epithelial cell		0	0	1	4 *
Liver :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Necrosis, hepatocyte, focal		0	-	0	2
Fibrosis		0	-	0	1
Kidney :	[N=]	10	0 a	2 b	10
Tubular basophilic change		0	-	0	1
Hyperplasia, transitional cell		0	-	0	1
Nephroblastoma [Ma]		0	-	1	0
Thyroid :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Hydropic degeneration, follicular cell		0	-	0	1
Adrenal :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Hypertrophy, cortical cell		0	-	0	1
Spinal cord(lumbar) :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Cyst, epidermal		1	-	0	0
Eye :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Atrophy, retina		1	-	0	0
Mammary gland :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Bone marrow(sternum) :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Bone marrow(femur) :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Lymph node(cervical) :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Lymph node(mesenteric) :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Bone(sternum) :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Bone(femur) :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Joint(knee) :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Muscle(m. triceps surae) :	[N=]	10	0 a	1 b	10

&lt;Continued on next page&gt;

[N=]: Number of animals examined at the site.

[Be]: Benign neoplasm; [Ma]:Malignant neoplasm.

a: Examined on the animals that showed macroscopic lesions. Not subjected to statistical analysis.

b: Examined on the animals that showed macroscopic lesions at terminal kill and on all the animals killed *in extremis* or found dead during the study. Not subjected to statistical analysis.Significantly different from control: \*,  $p \leq 0.05$ ; \*\*,  $p \leq 0.01$ .

Table 35 - 6 Histopathology - Incidence of microscopic lesions in female rats  
All animals examined

Site & Lesion	Dose (mg/kg/day)	0	1	8	40
	No. of animals examined	10	10	10	10
<Continued from previous page>					
Trachea :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Artery(aorta) :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Tongue :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Sublingual gland :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Submandibular gland :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Pharynx :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Esophagus :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Glandular stomach :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Jejunum :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Ileum :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Cecum :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Colon :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Rectum :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Pancreas :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Urinary bladder :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Ovary :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Vagina :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Uterine horn :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Uterine cervix :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Pituitary :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Parathyroid :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Cerebrum :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Cerebellum :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Pons :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Medulla oblongata :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Spinal cord(cervical) :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Spinal cord(thoracic) :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Nerve(sciatic) :	[N=]	10	0 a	1 b	10
Harderian gland :	[N=]	10	0 a	1 b	10

[N=]: Number of animals examined at the site.

a: Examined on the animals that showed macroscopic lesions. Not subjected to statistical analysis.

b: Examined on the animals that showed macroscopic lesions at terminal kill and on all the animals killed *in extremis* or found dead during the study. Not subjected to statistical analysis.



厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）  
木材防腐剤として使用される化学物質のリスク評価に関する研究

平成 18 年度分担研究報告書

8. アルキルアンモニウム化合物系木材防腐剤（AAC）のラットにおける  
4 週間反復経皮投与毒性試験

分担研究者 原田 孝則 （財）残留農薬研究所 毒性部長  
協力研究者 高橋 尚史 （財）残留農薬研究所 毒性部病理研究室研究員  
高橋 義博 （株）新日本科学 安全性研究所

研究要旨

アルキルアンモニウム化合物系木材防腐剤（AAC）の反復経皮投与毒性を検索するため、雌雄の SD 系ラットを用い、各群 6 匹の背部皮膚に ACC を 0、1、10 及び 100 mg/kg の用量で毎日 6 時間適用し、4 週間に亘り反復経皮投与した。その結果、高用量群では雌雄とも投与 3 日以降に適用部位の皮膚状態が悪化し、投与 2 週時には出血、重度のびらん・潰瘍が観察されたため、倫理上の観点から 4 週時（投与 22 日）に同群の動物全例を途中切迫殺した。その他の投与群の動物については、投与 28 日後に屠殺し、諸検査を実施した。体重変化では、高用量群の雄において摂餌量の減少を伴う体重増加抑制が認められた。血液学的検査では、高用量群の雌雄において貧血、血小板、網赤血球、好中球及び単球の増加が認められ、中用量群では雌において網赤血球と単球の増加がみられた。血液生化学的検査では、高用量群の雌雄においてアルブミンの減少を伴う低蛋白血症及び低コレステロール・トリグリセライド血症がみられ、グロブリン及び尿素窒素値が上昇した。中用量群では、雄にアルブミンと総コレステロールの減少が、雌ではグロブリンの上昇がみられた。剖検所見では、雌雄とも中・高用量の適用部位の皮膚に落屑、糜爛あるいは出血が認められた。臓器重量では、雌雄とも高用量群では腎臓、脾臓及び副腎の重量が、中用量群では脾臓と副腎の重量がそれぞれ増加した。病理組織学的検査では、雌雄とも高用量群のほぼ全例に適用部位皮膚の糜爛・潰瘍、骨髄の造血亢進及び胸腺の皮質リンパ球壊死（アポトーシス）が観察された。加えて、腎臓の近位尿細管拡張及び副腎の皮質細胞肥大が高頻度に認められ、脾臓の髓外造血亢進、適用部位皮膚の表皮細胞過形成、腺胃の糜爛・潰瘍、十二指腸炎が散見された。中用量群では、適用部位皮膚の糜爛・潰瘍が高頻度に観察され、同部位表皮細胞過形成が雌雄の少数例に認められた。1 mg/kg 投与群では、AAC 投与に関連づけられる異常は認められなかった。これらの結果から、本実験条件下では 10 mg/kg が最大耐量（MTD）であり、無毒性量（NOEL）は雌雄とも 1 mg/kg であると判定された。

A. 研究目的

平成 18 年度では、CCA に代わって現在使用量が多い代表的な木材防腐剤であるア

ルキルアンモニウム化合物系木材防腐剤（AAC）を対象に、ラットを用い 4 週間反復経皮投与し、その際に生じる一般毒性、

神経毒性及び免疫毒性を検索し、リスク評価に必要な基礎的毒性情報を得る事を目的とした。

## B. 研究方法

試験方法は平成元年9月11日付け薬審1第24号厚生省薬務局通知「医薬品毒性試験ガイドライン」および平成5年8月10日付け薬新薬第88号厚生省薬務局通知「単回及び反復投与毒性試験ガイドラインの改正について」及び農薬の毒性試験ガイドライン「12農産第8147号、平成12年11月24日付け」に従い、以下の条件で実施した。

### 1. 被験物質

本試験の被験物質として、アルキルアンモニウム化合物系木材防腐剤のジデシルジメチルアンモニウムクロリド (Didecyl dimethylammonium chloride、和光純薬工業株式会社) である。含量は、マクロケルダール法による窒素量から算出した場合82.2%、硝酸銀滴定法による塩素イオン量から算出した場合87.2%であり、水分量は1.3%であった。

受領した被験物質は、被験物質保管所内冷蔵庫(許容温度: 2~8℃)で保管した。

### 2. 試験動物

日本チャールス・リバー株式会社(滋賀県)で生産されたSprague-Dawley系SPFラット(Crj: CD (SD) IGS)の雌雄動物を用いた。供試動物は雌雄ともに5週齢で購入し、1週間試験環境に馴化した後、6週齢にて試験に供試した。馴化期間中毎日一般状態を観察し、この期間中眼科学的検査および摂餌量測定を実施した。動物は温度

19~25℃、湿度30~70%、換気回数15回/時間(オールフレッシュエアー方式)、照明時間12時間/日(午前6時点灯、午後6時消灯)に設定された動物飼育室で飼育した。馴化終了後、雌雄別々に体重値に基づいた層別無作為抽出法で各用量群に雌雄6匹ずつ配分し、群分けを実施した。群分け後、各群の動物を1匹ずつステンレス鋼製個別ケージ(D 32.5 cm x W 19.5 cm x H 18 cm)に収容した。動物の個体識別は耳パンチ法で行なった。基礎飼料には固形飼料CE-2(日本クレア株式会社)を用い、動物に自由に摂取させた。ただし、剖検前日の午後5時前後より絶食とした。飲料水は、水道法水質基準に適合した水を自動給水装置(Edstrom Industries, Inc.)を用いて自由に摂取させた。

### 3. 試験群

本試験に先立ち、用量設定のための予備試験を実施した。予備試験1では雄性ラットを用い、0、30、300及び1000mg/kgの4用量で、各群1ないし2匹の動物の背部皮膚に1日24時間閉鎖貼付し、10日間に亘り反復経皮投与した。その結果、1000mg/kg群では投与3日に一般状態悪化のため切迫殺した。300mg/kg群では体重増加抑制ならびに適用部位の皮膚肥厚とびらんが認められ、剖検では脾臓の腫大(脾臓重量増加)がみられた。予備試験2では0、30及び60mg/kgの3用量で、各群2匹の動物16日間に亘り反復経皮投与した。その結果、30及び60mg/kg群では体重変化、臨床症状、剖検所見、血液学的検査及び臓器重量の各検査に変化はみられなかった。

上記の予備試験結果を考慮し、本試験の



最高用量を 100 mg/kg として設定し、公比 10 倍で中間用量を 10 mg/kg、そして 1 mg/kg を最低用量として設定した。これらの設定用量群（0、1、10 及び 100 mg/kg の 4 用量）の各用量群につき雌雄とも 6 匹の動物を使用した。

#### 4. 被験物質投与液の調製

各用量（0、1、10、100 mg/kg）の被験物質投与液を週に 1 回調製した。投与液調製時の含量換算は行わなかった。投与容量は 3 mL/kg とした。所定量の被験物質を秤量し、注射用水（大塚薬品株式会社）を加え、スターラーで懸濁させた。溶解させた。懸濁後、0.33、3.33 及び 33.3 mg/mL の濃度になるよう注射用水にて定容した。調製は局所排気装置内にて実施した。各濃度の投与液は被験物質保管所内冷蔵庫（許容範囲；2～8℃）にて保存した。投与液は投与直前に室温に戻して使用した。

#### 5. 投与方法および投与期間

投与開始前日に各動物の背部（5 cm x 5 cm）を電気バリカンで剃毛し、適用部位を確保した。投与日には、剃毛部皮膚に各用量群の投与液（対照群は注射用水）を均一に塗布し、塗布部位をパラフィルム及びリント布で覆い、非刺激性テープ（株式会社ジェイ・エム・エス）と粘着性伸縮包帯（ニチバンメディカル株式会社）にて固定し、約 6 時間閉塞適用した。投与は 1 日 1 回、週 7 日間行った。なお、剃毛は原則として週 2 回行い、その際には塗布部位の皮膚を刺激しないように配慮した。投与期間は 28 日間とした。ただし、高用量群（100 mg/kg 投与群）については適用部位の皮膚の状態

が悪化したため、倫理上の観点より投与 22 日の時点で投与を終了し、安楽死せしめた。その他の投与群については予定通り 28 日間投与終了後に屠殺した。

#### 6. 動物の観察

全動物について、投与期間中 1 日 2 回（投与前に 1 回、投与後約 1 時間に 1 回）以上と剖検日に 1 回、瀕死状態ないし死亡の有無及び一般状態を観察した。

#### 7. 体重

全生存動物について、投与開始時及びその後毎週 1 回体重を測定した。また、全動物について殺処分前に最終体重を測定した。

#### 8. 摂餌量

全動物について、毎週 1 日個体別に摂餌量を測定して、一日あたりの摂餌量を算出した。

#### 9. 眼科学的検査

馴化期間中に 1 回雌雄の全馴化動物、投与 4 週時（投与 25 日）に対照群と中用量群（10 mg/kg 投与群）の全生存動物について、眼科学的検査を行った。なお、4 週時の検査は当初は高用量群（100 mg/kg 投与群）の動物を対象に行う予定であったが、同群の動物は適用部位の皮膚の悪化に伴い倫理上の観点から 4 週時（投与 25 日）の検査前に全例屠殺されたため、対象を変更し中用量群の動物について検査を行った。検査には、肉眼（ペンライト使用）およびスリットランプ（コーワ SL-14、有限会社幸田電子）により前眼部および中間透光体を観察し、眼底検査については額带式双眼倒像検

眼鏡 (ID-10、株式会社トプコン) を用いて行った。

#### 10. 尿検査

投与 4 週時 (投与 26 日) に各群の全生存動物について尿検査を実施した。検査動物を強制採取法により採尿した後、尿の色調を肉眼的に検査し、pH、蛋白質、糖、ケトン体、ビリルビン、尿潜血及びウロビリノーゲンの項目について自動尿分析器 (Clinitek 200+, Miles Labs., Inc.) にて測定した。ただし、高用量群の動物については前項で述べた理由により尿検査を行わなかった。

#### 11. 血液学的検査

投与終了時 (投与 28 日) に各群の生存動物全例について血液学的検査を実施した。ただし、高用量群の動物については前項で述べた理由により投与期間を短縮したため投与 22 日に血液検査を実施した。検査動物は採血前に一晩絶食させた。動物をペントバルビタールナトリウム (東京化成工業株式会社) 水溶液の腹腔内投与による麻酔下で開腹し、凝固検査用に 3.8 w/v%クエン酸ナトリウム水溶液添加の注射筒を、その他の検査用に無処理の注射筒を用いて後大静脈より採血した。

血液学的検査は、EDTA 処理した血液試料を用いて、以下の項目について総合血液学検査装置アドヴィア 120 (Bayer Corporation) で測定した。

測定項目 (略号): ヘマトクリット値 (Ht)、血色素量 (Hb)、赤血球数 (RBC)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、

血小板数 (Plat.)、網赤血球数 (Ret.)、白血球数 (WBC) および白血球のディファレンシャルカウント; 好中球 (Neutro.)、リンパ球 (Lymph.)、単球 (Mono.)、好酸球 (Eosino.)、好塩基球 (Baso.)、大型非染色球 (LUC)

血液凝固能については、全自動血液凝固測定装置 (CA-5000、シスメックス株式会社) を用いプロトロンビン時間 (PT) および活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) を測定した。

#### 12. 血液生化学的検査

血液学的検査のための採血後、腹大動脈から採血し、遠心分離して得られた血清を用い、以下の項目を JCA-BM8 自動分析装置 (日本電子株式会社) にて測定した。

測定項目 (略号): アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (ASAT)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALAT)、アルカリホスファターゼ (ALP)、乳酸脱水素酵素 (LDH)、クレアチンキナーゼ (CPK.)、総ビリルビン (T.Bil.)、総蛋白 (T.Prot.)、アルブミン (Albumin)、総コレステロール (T.Chol.)、トリグリセライド (TGL)、糖 (Glucose)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Creat.) 無機リン (IP)、カルシウム (Ca)、ナトリウム (Na)、カリウム (K) 及び塩素 (Cl)

また、蛋白分画 (アルブミン比率、 $\alpha$ 1-、 $\alpha$ 2-、 $\beta$ -、 $\gamma$ -グロブリン比率) については自動電気泳動分析装置 (AES320、オリンパス光学株式会社) にて測定した。

#### 13. 剖検および組織採取

全動物について剖検を実施した。ペント

バルビタールナトリウム水溶液の腹腔内投与による深麻酔下で腹大動脈・後大静脈を切断して放血により安楽死させた後に剖検した。

剖検時に全動物から以下の臓器および組織を採取し、10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。ただし、眼球及び視神経はホルムアルデヒド・グルタルアルデヒド混合液で、精巣はブアン液で固定した。

採取した臓器及び組織：脳（大脳、小脳、橋および延髄）、脊髄（胸部）、坐骨神経（両側）、下垂体、胸腺、甲状腺および上皮小体（両側）、副腎（両側）、脾臓、骨および骨髓（胸骨、両側大腿骨）、顎下リンパ節（両側）、腸間膜リンパ節、心臓、大動脈（胸部）、唾液腺（顎下腺および舌下腺）、食道、胃（前胃および腺胃）、肝臓、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、舌、気管、肺（気管支を含む）、腎臓（両側）、膀胱、精巣（両側）、精巣上体（両側）、前立腺、精囊（両側）、卵巣（両側）、子宮、膣、涙腺（両側）、眼球（視神経を含む、両側）、ハーダー腺（両側）、大腿四頭筋（両側）、乳腺および皮膚（乳頭を含む）、投与部位（背部皮膚）および肉眼的異常部位

#### 14. 臓器重量

全動物について、剖検後、以下の臓器の固定前の重量（絶対重量）を測定し、最終体重から比体重値（相対重量）を算出した。

測定臓器：脳、下垂体、胸腺、甲状腺（上皮小体を含む、両側）、心臓、肺、肝臓、腎臓（両側）、脾臓、副腎（両側）、唾液腺（両側の顎下腺・舌下腺を合わせたもの）、精巣（両側）、精巣上体（両側）、前立腺、精囊（両側）、卵巣（両側）、子宮

#### 15. 病理組織学的検査

供試動物全例から採取した以下に示す臓器・組織を対象にして病理組織標本を作製した。標本は常法に従ってパラフィン包埋し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施し鏡検した。ただし、低用量群（1 mg/kg 投与群）については、肉眼的に被験物質投与に関連付けられる異常が認められなかったため、組織学的検査は実施しなかった。

組織標本対象臓器・組織：脳（大脳、小脳、橋および延髄）、脊髄（胸部）、坐骨神経（左側）、下垂体、胸腺、甲状腺（両側）、上皮小体（両側）、副腎（両側）、脾臓、骨および骨髓（胸骨、左側大腿骨）、顎下リンパ節（左側）、腸間膜リンパ節、心臓、大動脈（胸部）、唾液腺（顎下腺および舌下腺）、食道、胃（前胃および腺胃）、肝臓、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、舌、気管、肺（気管支を含む）、腎臓（両側）、膀胱、精巣（両側）、精巣上体（両側）、前立腺、精囊（左側）、卵巣（両側）、子宮、膣、涙腺（両側）、眼球（視神経を含む、両側）、ハーダー腺（両側）、大腿四頭筋（左側）、皮膚（左胸部）、乳腺（雌のみ）、投与部位（背部皮膚）および肉眼的異常部位

#### 16. 肝機能検査のための組織採取

供試動物全例から肝臓の左葉を採取し、超低温フリーザー（-70℃以下）で保管し、将来の検索に備えた。

#### 19. 有意差検定

各検査項目について、対照群と各被験物質投与群間の統計学的有意差の有無を危険率5%および1%レベルで解析した。

体重、摂餌量、血液学的検査項目、血液生

化学的検査項目および臓器重量のデータについては、先ず Bartlett の等分散検定を行ったその後、等分散の場合には、Dunnett の多重比較法により対照群と各投与群間における有意差の有無を判定した。一方、等分散ではない場合には、Dunnett 型の多重比較法 (Miller 法) を用いて有意差の有無を判定した。尿検査の評価段階付きのデータについては Wilcoxon 順位和検定、尿の色については Fisher 直接確率検定を対照群と被験物質各群との間で実施した。これらの検定および計算には MUSCOT 統計解析ソフトウェア (ユックムス株式会社) を使用して行った。一般状態 (臨床症状)、眼検査および剖検所見については統計検定を実施しなかった。

## C. 研究結果

### 1. 臨床症状および死亡率 (表 1)

100 mg/kg 投与群では、雌雄とも投与 3 日以降に適用部の皮膚が肥厚し、その状態は日々悪化し、投与 2 週時には重度のびらん・潰瘍あるいは出血がみられたため、投与の継続が不能と判断し、加えて、倫理的観点 (動物愛護) から投与を中止し、投与 4 週時 (投与 22 日) に全例を安楽死せしめ試験を終了した。ただし、その他の投与群 (中・低用量群) については予定通り 28 日間の投与満了後に試験を終了した。

10 mg/kg 投与群では、雌雄とも投与 6 日以降から適用部の皮膚肥厚が、加えて、投与 18 日以降から適用部位に痂皮形成が認められたが、途中死亡・切迫殺例はなかった。

1 mg/kg 投与群では、被験物質投与に関連付けられる異常は認められず、途中死亡・切迫殺動物もみられなかった。

### 2. 体重変化 (図 1、表 2)

100 mg/kg 投与群では、雄において体重増加抑制が認められ、投与 4 週時では対照群に比べ 20%前後の低値を示した。一方、雌では特に異常はなかった。

10 及び 1 mg/kg 投与群では、雌雄とも対照群と比べ投与期間中の体重変化に差はなかった。

### 3. 摂餌量 (図 2、表 3)

100 及び 10 mg/kg 投与群では、雄において投与 1 ないし 2 週に摂餌量が有意に減少したが、その後は回復し有意差はみられなかった。一方、雌では対照群と比べ摂餌量に差はなかった。

1 mg/kg 投与群では、雌雄とも対照群と同等の摂餌量であった。

### 4. 眼科学的検査成績 (表 4)

100 mg/kg 投与群では、適用部位の皮膚の状態が悪化し検査前に全例殺処分されたため検査は行わなかった。

10 及び 1 mg/kg 投与群では、雌雄とも被験物質投与に関連付けられる異常は認められなかった。

### 5. 尿検査成績 (表 5)

100 mg/kg 投与群では、適用部位の皮膚の状態が悪化し検査前に全例殺処分されたため検査は行わなかった。

10 及び 1 mg/kg 投与群では、雌雄とも有意な変化はなかった。

### 6. 血液学的検査成績 (表 6)

100 mg/kg 投与群では、雌雄とも赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン (Hb)、ヘマトクリ