

Table 9-6 Relative organ weight in female rats ( Day 28 )

Group	Dose (mg/kg)	Water for injection	AAC		AAC	
			1	6	10	100
	N	6	6	6	6	0
Pituitary	(mg/100gBW)	5.80±0.94	6.22±0.86	6.23±0.33		
Thyroid-R	(mg/100gBW)	3.80±1.41	3.62±0.70	3.73±0.58		
Thyroid-L	(mg/100gBW)	3.27±0.59	3.18±0.82	3.17±0.91		
Thyroid-R&L	(mg/100gBW)	7.07±1.80	6.82±1.23	6.90±1.22		
Adrenal-R	(mg/100gBW)	16.88±1.63	15.70±1.37	18.78±1.34		
Adrenal-L	(mg/100gBW)	17.47±1.65	17.37±1.11	20.03±1.77*		
Adrenal-R&L	(mg/100gBW)	34.35±3.04	33.07±2.46	38.80±3.03*		
Ovary-R	(mg/100gBW)	17.17±2.60	18.52±3.35	21.58±3.25*		
Ovary-L	(mg/100gBW)	19.65±2.93	19.57±2.04	20.93±5.39		
Ovary-R&L	(mg/100gBW)	36.83±4.62	38.08±4.96	42.53±8.27		
Thymus	(mg/100gBW)	192.0±26.1	191.7±35.3	187.7±32.1		
Submand.-R	(mg/100gBW)	97.3±7.0	95.2±6.9	105.0±9.3		
Submand.-L	(mg/100gBW)	93.7±6.3	97.0±8.1	103.7±11.1		
Submand.-R&L	(mg/100gBW)	191.2±12.7	192.2±14.8	208.7±20.0		
Spleen	(mg/100gBW)	234.2±33.8	231.8±38.7	248.5±20.5		
Brain	(mg/100gBW)	889.3±61.6	888.8±53.1	915.7±43.6		
Heart	(mg/100gBW)	396.5±19.4	383.7±19.7	409.3±20.3		
Lung	(mg/100gBW)	477.8±14.9	453.0±23.7	482.8±30.4		
Liver	(g/100gBW)	3.142±0.145	3.098±0.175	3.210±0.171		
Kidney-R	(mg/100gBW)	439.5±41.3	437.3±23.5	456.2±18.9		
Kidney-L	(mg/100gBW)	433.5±35.0	414.8±26.3	456.7±30.9		
Kidney-R&L	(mg/100gBW)	872.8±70.6	852.2±49.1	912.8±47.4		
Uterus	(mg/100gBW)	185.5±43.9	220.3±76.6	241.5±84.6		

Values are expressed as the mean ± S.D.  
 \* P<0.05 : Significantly different from Water for injection.

Table 9-7 Relative organ weight in male rats ( Day 22 )

Group	Dose (mg/kg)	N	Water for injection	AAC	AAC	AAC
Pituitary	(mg/100gBW)					3.77±0.38
Thyroid-R	(mg/100gBW)					3.02±0.50
Thyroid-L	(mg/100gBW)					2.93±0.26
Thyroid-R&L	(mg/100gBW)					5.97±0.54
Adrenal-R	(mg/100gBW)					13.98±2.86
Adrenal-L	(mg/100gBW)					14.82±2.32
Adrenal-R&L	(mg/100gBW)					28.80±5.11
Testis-R	(mg/100gBW)					609.7±57.6
Testis-L	(mg/100gBW)					598.5±62.3
Testis-R&L	(mg/100gBW)					1207.8±119.7
Thymus	(mg/100gBW)					117.0±19.8
Submand.-R	(mg/100gBW)					110.7±10.7
Submand.-L	(mg/100gBW)					112.2±9.9
Submand.-R&L	(mg/100gBW)					222.8±20.0
Spleen	(mg/100gBW)					279.8±32.8
Brain	(mg/100gBW)					802.2±50.2
Heart	(mg/100gBW)					410.3±19.8
Lung	(mg/100gBW)					460.0±25.6
Liver	(g/100gBW)					3.130±0.139
Kidney-R	(mg/100gBW)					516.8±22.2
Kidney-L	(mg/100gBW)					512.0±23.7
Kidney-R&L	(mg/100gBW)					1029.0±42.6
Epidid.-R	(mg/100gBW)					143.8±12.2
Epidid.-L	(mg/100gBW)					136.0±6.2
Epidid.-R&L	(mg/100gBW)					279.8±17.9
Sem. Vesic.	(mg/100gBW)					253.0±47.7
Prostate	(mg/100gBW)					253.8±35.7

Values are expressed as the mean ± S.D.

Table 9-8 Relative organ weight in female rats ( Day 22 )

Group	Water for injection	AAC	AAC	AAC
Dose(mg/kg)	0	1	10	100
N	0	0	0	6
Pituitary (mg/100gBW)				5.62±0.39
Thyroid-R (mg/100gBW)				3.10±0.32
Thyroid-L (mg/100gBW)				3.07±0.67
Thyroid-R&L (mg/100gBW)				6.15±0.81
Adrenal-R (mg/100gBW)				23.47±3.47
Adrenal-L (mg/100gBW)				25.25±4.07
Adrenal-R&L (mg/100gBW)				48.73±7.50
Ovary-R (mg/100gBW)				19.95±2.48
Ovary-L (mg/100gBW)				18.22±2.20
Ovary-R&L (mg/100gBW)				38.20±4.11
Thymus (mg/100gBW)				135.2±50.2
Submand.-R (mg/100gBW)				100.2±11.5
Submand.-L (mg/100gBW)				97.8±11.4
Submand.-R&L (mg/100gBW)				198.0±22.8
Spleen (mg/100gBW)				261.8±97.8
Brain (mg/100gBW)				1018.5±82.4
Heart (mg/100gBW)				445.0±25.6
Lung (mg/100gBW)				504.7±34.9
Liver (g/100gBW)				3.070±0.222
Kidney-R (mg/100gBW)				515.5±39.1
Kidney-L (mg/100gBW)				500.3±43.5
Kidney-R&L (mg/100gBW)				1016.0±81.0
Uterus (mg/100gBW)				286.5±160.8

Values are expressed as the mean ± S.D.

Table 10 - 1 Histopathology - Incidence of microscopic lesions in male rats  
Terminal kill after 4 weeks of treatment

Site & Lesion	Dose (mg/kg/day)	0	1	10	100
	No. of animals examined	6	6	6	0
Application site(dorsal skin) :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Erosion/ulcer		0	-	5 **	-
Hyperplasia, epidermis		0	-	1	-
Heart :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Myocarditis		1	-	0	-
Kidney :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Luminal dilatation, proximal tubule, pars convoluta		1	-	0	-
Tubular basophilic change		0	-	1	-
Testis :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Atrophy, seminiferous tubule		0	-	1	-
Epididymis :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Sperm granuloma		1	-	0	-
Thyroid :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Ultimobranchial remnant		0	-	2	-
Eye :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Dysplasia, retina		0	-	1	-
Skin(abdominal) :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Bone marrow(sternum) :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Bone marrow(femur) :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Spleen :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Thymus :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Lymph node(cervical) :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Lymph node(mesenteric) :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Bone(sternum) :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Bone(femur) :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Muscle(m. quadriceps femoris) :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Trachea :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Lung :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Artery(aorta) :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Tongue :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Sublingual gland :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Submandibular gland :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Esophagus :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Forestomach :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Glandular stomach :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Duodenum :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Jejunum :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Ileum :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Cecum :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Colon :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Rectum :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Liver :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Pancreas :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Urinary bladder :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Seminal vesicle :	[N=]	6	0 a	6	0 a

&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: \*,  $p \leq 0.05$ ; \*\*,  $p \leq 0.01$ .

Table 10 - 2      Histopathology - Incidence of microscopic lesions in male rats  
Terminal kill after 4 weeks of treatment

Site & Lesion	Dose (mg/kg/day)	0	1	10	100
	No. of animals examined	6	6	6	0
<Continued from previous page>					
Prostate :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Pituitary :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Parathyroid :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Adrenal :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Cerebrum :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Cerebellum :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Pons :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Medulla oblongata :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Spinal cord(thoracic) :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Nerve(sciatic) :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Lacrimal gland :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Harderian gland :	[N=]	6	0 a	6	0 a

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

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

Table 10 - 3 Histopathology - Incidence of microscopic lesions in male rats  
Killed *in extremis* at 4 weeks of treatment

Site & Lesion	Dose (mg/kg/day)	0	1	10	100
	No. of animals examined	0	0	0	6
Application site(dorsal skin) :	[N=]	0	0	0	6
Erosion/ulcer		-	-	-	5
Hyperplasia, epidermis		-	-	-	1
Bone marrow(sternum) :	[N=]	0	0	0	6
Hematopoiesis, increased		-	-	-	6
Bone marrow(femur) :	[N=]	0	0	0	6
Hematopoiesis, increased		-	-	-	6
Spleen :	[N=]	0	0	0	6
Hematopoiesis, extramedullary, increased		-	-	-	2
Thymus :	[N=]	0	0	0	6
Necrosis, lymphocyte, cortical		-	-	-	5
Lung :	[N=]	0	0	0	6
Accumulation, foamy cell, alveolar		-	-	-	1
Kidney :	[N=]	0	0	0	6
Luminal dilatation, proximal tubule, pars convoluta		-	-	-	4
Adrenal :	[N=]	0	0	0	6
Hypertrophy, cortical cell		-	-	-	3
Skin(abdominal) :	[N=]	0	0	0	6
Lymph node(cervical) :	[N=]	0	0	0	6
Lymph node(mesenteric) :	[N=]	0	0	0	6
Bone(sternum) :	[N=]	0	0	0	6
Bone(femur) :	[N=]	0	0	0	6
Muscle(m. quadriceps femoris) :	[N=]	0	0	0	6
Trachea :	[N=]	0	0	0	6
Heart :	[N=]	0	0	0	6
Artery(aorta) :	[N=]	0	0	0	6
Tongue :	[N=]	0	0	0	6
Sublingual gland :	[N=]	0	0	0	6
Submandibular gland :	[N=]	0	0	0	6
Esophagus :	[N=]	0	0	0	6
Forestomach :	[N=]	0	0	0	6
Glandular stomach :	[N=]	0	0	0	6
Duodenum :	[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
Liver :	[N=]	0	0	0	6
Pancreas :	[N=]	0	0	0	6
Urinary bladder :	[N=]	0	0	0	6
Testis :	[N=]	0	0	0	6
Epididymis :	[N=]	0	0	0	6
Seminal vesicle :	[N=]	0	0	0	6
Prostate :	[N=]	0	0	0	6

&lt;Continued on next page&gt;

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

Table 10 - 4      Histopathology - Incidence of microscopic lesions in male rats  
Killed *in extremis* at 4 weeks of treatment

Site & Lesion	Dose (mg/kg/day)	0	1	10	100
	No. of animals examined	0	0	0	6
<Continued from previous page>					
Pituitary :	[N=]	0	0	0	6
Thyroid :	[N=]	0	0	0	6
Parathyroid :	[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(thoracic) :	[N=]	0	0	0	6
Nerve(sciatic) :	[N=]	0	0	0	6
Eye :	[N=]	0	0	0	6
Lacrimal gland :	[N=]	0	0	0	6
Harderian gland :	[N=]	0	0	0	6

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

Table 10 - 5 Histopathology - Incidence of microscopic lesions in male rats  
All animals examined

Site & Lesion	Dose (mg/kg/day)	0	1	10	100
	No. of animals examined	6	6	6	6
Application site(dorsal skin) :	[N=]	6	0 a	6	6
Erosion/ulcer		0	-	5 **	5 **
Hyperplasia, epidermis		0	-	1	1
Bone marrow(sternum) :	[N=]	6	0 a	6	6
Hematopoiesis, increased		0	-	0	6 **
Bone marrow(femur) :	[N=]	6	0 a	6	6
Hematopoiesis, increased		0	-	0	6 **
Spleen :	[N=]	6	0 a	6	6
Hematopoiesis, extramedullary, increased		0	-	0	2
Thymus :	[N=]	6	0 a	6	6
Necrosis, lymphocyte, cortical		0	-	0	5 **
Lung :	[N=]	6	0 a	6	6
Accumulation, foamy cell, alveolar		0	-	0	1
Heart :	[N=]	6	0 a	6	6
Myocarditis		1	-	0	0
Kidney :	[N=]	6	0 a	6	6
Luminal dilatation, proximal tubule, pars convoluta		1	-	0	4
Tubular basophilic change		0	-	1	0
Testis :	[N=]	6	0 a	6	6
Atrophy, seminiferous tubule		0	-	1	0
Epididymis :	[N=]	6	0 a	6	6
Sperm granuloma		1	-	0	0
Thyroid :	[N=]	6	0 a	6	6
Ultimobranchial remnant		0	-	2	0
Adrenal :	[N=]	6	0 a	6	6
Hypertrophy, cortical cell		0	-	0	3
Eye :	[N=]	6	0 a	6	6
Dysplasia, retina		0	-	1	0
Skin(abdominal) :	[N=]	6	0 a	6	6
Lymph node(cervical) :	[N=]	6	0 a	6	6
Lymph node(mesenteric) :	[N=]	6	0 a	6	6
Bone(sternum) :	[N=]	6	0 a	6	6
Bone(femur) :	[N=]	6	0 a	6	6
Muscle(m. quadriceps femoris) :	[N=]	6	0 a	6	6
Trachea :	[N=]	6	0 a	6	6
Artery(aorta) :	[N=]	6	0 a	6	6
Tongue :	[N=]	6	0 a	6	6
Sublingual gland :	[N=]	6	0 a	6	6
Submandibular gland :	[N=]	6	0 a	6	6
Esophagus :	[N=]	6	0 a	6	6
Forestomach :	[N=]	6	0 a	6	6
Glandular stomach :	[N=]	6	0 a	6	6
Duodenum :	[N=]	6	0 a	6	6
Jejunum :	[N=]	6	0 a	6	6
Ileum :	[N=]	6	0 a	6	6

&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: \*,  $p \leq 0.05$ ; \*\*,  $p \leq 0.01$ .



Table 10- 6            Histopathology - Incidence of microscopic lesions in male rats  
All animals examined

Site & Lesion	Dose (mg/kg/day)	0	1	10	100
	No. of animals examined	6	6	6	6
<Continued from previous page>					
Cecum :	[N=]	6	0 a	6	6
Colon :	[N=]	6	0 a	6	6
Rectum :	[N=]	6	0 a	6	6
Liver :	[N=]	6	0 a	6	6
Pancreas :	[N=]	6	0 a	6	6
Urinary bladder :	[N=]	6	0 a	6	6
Seminal vesicle :	[N=]	6	0 a	6	6
Prostate :	[N=]	6	0 a	6	6
Pituitary :	[N=]	6	0 a	6	6
Parathyroid :	[N=]	6	0 a	6	6
Cerebrum :	[N=]	6	0 a	6	6
Cerebellum :	[N=]	6	0 a	6	6
Pons :	[N=]	6	0 a	6	6
Medulla oblongata :	[N=]	6	0 a	6	6
Spinal cord(thoracic) :	[N=]	6	0 a	6	6
Nerve(sciatic) :	[N=]	6	0 a	6	6
Lacrimal gland :	[N=]	6	0 a	6	6
Harderian gland :	[N=]	6	0 a	6	6

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

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

Table 11 - 1 Histopathology - Incidence of microscopic lesions in female rats  
Terminal kill after 4 weeks of treatment

Site & Lesion	Dose (mg/kg/day)	0	1	10	100
	No. of animals examined	6	6	6	0
Application site(dorsal skin) :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Erosion/ulcer		0	-	4 *	-
Hyperplasia, epidermis		0	-	2	-
Kidney :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Tubular basophilic change		0	-	1	-
Skin(abdominal) :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Mammary gland :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Bone marrow(sternum) :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Bone marrow(femur) :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Spleen :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Thymus :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Lymph node(cervical) :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Lymph node(mesenteric) :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Bone(sternum) :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Bone(femur) :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Muscle(m. quadriceps femoris) :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Trachea :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Lung :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Heart :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Artery(aorta) :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Tongue :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Sublingual gland :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Submandibular gland :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Esophagus :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Forestomach :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Glandular stomach :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Duodenum :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Jejunum :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Ileum :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Cecum :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Colon :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Rectum :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Liver :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Pancreas :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Urinary bladder :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Ovary :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Uterus :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Vagina :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Pituitary :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Thyroid :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Parathyroid :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Adrenal :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Cerebrum :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Cerebellum :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Pons :	[N=]	6	0 a	6	0 a

&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 11 - 2      Histopathology - Incidence of microscopic lesions in female rats  
Terminal kill after 4 weeks of treatment

Site & Lesion	Dose (mg/kg/day)	0	1	10	100
	No. of animals examined	6	6	6	0
<Continued from previous page>					
Medulla oblongata :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Spinal cord(thoracic) :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Nerve(sciatic) :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Eye :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Lacrimal gland :	[N=]	6	0 a	6	0 a
Harderian gland :	[N=]	6	0 a	6	0 a

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

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

Table 11 - 3 Histopathology - Incidence of microscopic lesions in female rats  
Killed *in extremis* at 4 weeks of treatment

Site & Lesion	Dose (mg/kg/day) No. of animals examined	0	1	10	100
		0	0	0	6
Application site(dorsal skin) :	[N=]	0	0	0	6
Erosion/ulcer		-	-	-	6
Bone marrow(sternum) :	[N=]	0	0	0	6
Hematopoiesis, increased		-	-	-	6
Bone marrow(femur) :	[N=]	0	0	0	6
Hematopoiesis, increased		-	-	-	6
Spleen :	[N=]	0	0	0	6
Necrosis, lymphocyte, white pulp		-	-	-	2
Hematopoiesis, extramedullary, increased		-	-	-	2
Thymus :	[N=]	0	0	0	6
Necrosis, lymphocyte, cortical		-	-	-	5
Glandular stomach :	[N=]	0	0	0	6
Erosion/ulcer		-	-	-	1
Duodenum :	[N=]	0	0	0	6
Enteritis		-	-	-	1
Kidney :	[N=]	0	0	0	6
Luminal dilatation, proximal tubule, pars convoluta		-	-	-	4
Tubular basophilic change		-	-	-	1
Adrenal :	[N=]	0	0	0	6
Hypertrophy, cortical cell		-	-	-	5
Skin(abdominal) :	[N=]	0	0	0	6
Mammary gland :	[N=]	0	0	0	6
Lymph node(cervical) :	[N=]	0	0	0	6
Lymph node(mesenteric) :	[N=]	0	0	0	6
Bone(sternum) :	[N=]	0	0	0	6
Bone(femur) :	[N=]	0	0	0	6
Muscle(m. quadriceps femoris) :	[N=]	0	0	0	6
Trachea :	[N=]	0	0	0	6
Lung :	[N=]	0	0	0	6
Heart :	[N=]	0	0	0	6
Artery(aorta) :	[N=]	0	0	0	6
Tongue :	[N=]	0	0	0	6
Sublingual gland :	[N=]	0	0	0	6
Submandibular gland :	[N=]	0	0	0	6
Esophagus :	[N=]	0	0	0	6
Forestomach :	[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
Liver :	[N=]	0	0	0	6
Pancreas :	[N=]	0	0	0	6
Urinary bladder :	[N=]	0	0	0	6
Ovary :	[N=]	0	0	0	6

&lt;Continued on next page&gt;

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

Table 11 - 4      Histopathology - Incidence of microscopic lesions in female rats  
Killed *in extremis* at 4 weeks of treatment

Site & Lesion	Dose (mg/kg/day)	0	1	10	100
	No. of animals examined	0	0	0	6
<Continued from previous page>					
Uterus :	[N=]	0	0	0	6
Vagina :	[N=]	0	0	0	6
Pituitary :	[N=]	0	0	0	6
Thyroid :	[N=]	0	0	0	6
Parathyroid :	[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(thoracic) :	[N=]	0	0	0	6
Nerve(sciatic) :	[N=]	0	0	0	6
Eye :	[N=]	0	0	0	6
Lacrimal gland :	[N=]	0	0	0	6
Harderian gland :	[N=]	0	0	0	6

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

Table 11 - 5 Histopathology - Incidence of microscopic lesions in female rats  
All animals examined

Site & Lesion	Dose (mg/kg/day)	0	1	10	100
	No. of animals examined	6	6	6	6
Application site(dorsal skin) :	[N=]	6	0 a	6	6
Erosion/ulcer		0	-	4 *	6 **
Hyperplasia, epidermis		0	-	2	0
Bone marrow(sternum) :	[N=]	6	0 a	6	6
Hematopoiesis, increased		0	-	0	6 **
Bone marrow(femur) :	[N=]	6	0 a	6	6
Hematopoiesis, increased		0	-	0	6 **
Spleen :	[N=]	6	0 a	6	6
Necrosis, lymphocyte, white pulp		0	-	0	2
Hematopoiesis, extramedullary, increased		0	-	0	2
Thymus :	[N=]	6	0 a	6	6
Necrosis, lymphocyte, cortical		0	-	0	5 **
Glandular stomach :	[N=]	6	0 a	6	6
Erosion/ulcer		0	-	0	1
Duodenum :	[N=]	6	0 a	6	6
Enteritis		0	-	0	1
Kidney :	[N=]	6	0 a	6	6
Luminal dilatation, proximal tubule, pars convoluta		0	-	0	4 *
Tubular basophilic change		0	-	1	1
Adrenal :	[N=]	6	0 a	6	6
Hypertrophy, cortical cell		0	-	0	5 **
Skin(abdominal) :	[N=]	6	0 a	6	6
Mammary gland :	[N=]	6	0 a	6	6
Lymph node(cervical) :	[N=]	6	0 a	6	6
Lymph node(mesenteric) :	[N=]	6	0 a	6	6
Bone(sternum) :	[N=]	6	0 a	6	6
Bone(femur) :	[N=]	6	0 a	6	6
Muscle(m. quadriceps femoris) :	[N=]	6	0 a	6	6
Trachea :	[N=]	6	0 a	6	6
Lung :	[N=]	6	0 a	6	6
Heart :	[N=]	6	0 a	6	6
Artery(aorta) :	[N=]	6	0 a	6	6
Tongue :	[N=]	6	0 a	6	6
Sublingual gland :	[N=]	6	0 a	6	6
Submandibular gland :	[N=]	6	0 a	6	6
Esophagus :	[N=]	6	0 a	6	6
Forestomach :	[N=]	6	0 a	6	6
Jejunum :	[N=]	6	0 a	6	6
Ileum :	[N=]	6	0 a	6	6
Cecum :	[N=]	6	0 a	6	6
Colon :	[N=]	6	0 a	6	6
Rectum :	[N=]	6	0 a	6	6
Liver :	[N=]	6	0 a	6	6
Pancreas :	[N=]	6	0 a	6	6
Urinary bladder :	[N=]	6	0 a	6	6

<Continued on next page>

[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: \*,  $p \leq 0.05$ ; \*\*,  $p \leq 0.01$ .

Table 11 - 6 Histopathology - Incidence of microscopic lesions in female rats  
All animals examined

Site & Lesion	Dose (mg/kg/day)	0	1	10	100
	No. of animals examined	6	6	6	6
<Continued from previous page>					
Ovary :	[N=]	6	0 a	6	6
Uterus :	[N=]	6	0 a	6	6
Vagina :	[N=]	6	0 a	6	6
Pituitary :	[N=]	6	0 a	6	6
Thyroid :	[N=]	6	0 a	6	6
Parathyroid :	[N=]	6	0 a	6	6
Cerebrum :	[N=]	6	0 a	6	6
Cerebellum :	[N=]	6	0 a	6	6
Pons :	[N=]	6	0 a	6	6
Medulla oblongata :	[N=]	6	0 a	6	6
Spinal cord(thoracic) :	[N=]	6	0 a	6	6
Nerve(sciatic) :	[N=]	6	0 a	6	6
Eye :	[N=]	6	0 a	6	6
Lacrimal gland :	[N=]	6	0 a	6	6
Harderian gland :	[N=]	6	0 a	6	6

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

a: Examined on the animals that showed macroscopic lesions. 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

9. 銅・アルキルアンモニウム化合物系木材防腐剤（ACQ）の急性経口毒性試験

分担研究者 小坂忠司 (財)残留農薬研究所 毒性部免疫・急性毒性研究室長  
協力研究者 上田英夫 (財)残留農薬研究所 毒性部免疫・急性毒性研究室主任  
林 宏一 (財)残留農薬研究所 毒性部免疫・急性毒性研究室  
福山朋季 (財)残留農薬研究所 毒性部免疫・急性毒性研究室研究員

研究要旨

Wistar Hannover 系雌雄ラットを用いて銅・アルキルアンモニウム化合物系木材防腐剤（ACQ）の急性経口毒性を検索した。各群 5 匹の動物を使用し、雌雄とも ACQ を 100、300、900 mg/kg の 3 用量設定し、単回強制経口投与した。その結果、Moving Average 法にて算出した LD50 値は、雌雄ともに 520 mg/kg であった。

従って、本実験条件下における ACQ の急性経口毒性 (LD50 値) は OECD の定める GHS カテゴリー4 (300-2000 mg/kg) に位置し、毒物劇物法の分類では普通物に相当すると結論された。

A. 研究目的

平成 17 年度では、銅・アルキルアンモニウム化合物系木材防腐剤（ACQ）の急性経口毒性試験を雌性ラットを用いて実施した。平成 18 年度では、ACQ の急性毒性作用の性差を確認するため雌雄動物を用いて実施した。

B. 研究方法

試験方法は平成 12 年 11 月 24 日付け 12 農産第 8147 号農林水産省農産園芸局長通知「農薬の登録申請に係わる試験成績について」の「毒性に関する試験成績を作成するに当たっての指針」<sup>1)</sup>に従い、以下の条件で実施した。

1. 被験物質

本試験の被験物質は、銅・アルキルアンモニウム化合物系木材防腐剤（ACQ）であり、銅およびアルキルアンモニウムの各構成成分の配合比は、酸化銅（Ⅱ価、純度 99.3%、関東化学（株））55.6%およびアルキルアンモニウム（塩化ベンザルコニウム、純度 50%、和光純薬工業（株）/Avocado Research Chemicals Ltd）44.4%であった。受領した被験物質は湿度 40%以下の状態にて室温（許容範囲：15～30℃）で保管した。

2. 試験動物

日本クレア株式会社富士生育場で生産された Wistar Hannover 系 SPF ラット (Br/Han:WIST@Jcl[GALAS]) の雌雄動物



を用いた。供試動物は7週齢にて購入し、7日間試験環境に馴化した後、8週齢にて試験に供した。馴化期間中毎日一般状態を観察した。動物は温度  $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ 、湿度  $50 \pm 20\%$ 、換気回数 10 回以上/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 7 時点灯、午後 7 時消灯）に設定された動物飼育室で飼育した。馴化終了後、各用量群に 5 匹ずつ配分し使用した。飼料には保証飼料である固型飼料 MF（オリエンタル酵母工業株式会社）を用い、ステンレス鋼製給餌器に入れて動物に自由に摂取させた。飲料水は、市上水（常総市）をプラスチック製給水びんに入れて動物に自由に摂取させた。なお、動物の取り扱いに関しては残留農薬研究所に定める倫理規定に従い実施した。

### 3. 試験群

試験群には雌雄とも 100、300 および 900 mg/kg の 3 用量を設定した。1 用量につき 5 匹の動物を使用した。

### 4. 被験物質投与液の調製

各用量（100、300 および 900 mg/kg）の被験物質投与液を投与前に調製した。投与液の調製に際し、成分ごとに純度による調製濃度の換算を実施した。投与容量は 4 mL/kg とした。所定量の銅および塩化ベンザルコニウムを秤量し、注射用水（大塚製薬株式会社）を加え定容し、スターラーにて攪拌して懸濁させた。

### 5. 投与方法

動物を投与前日の夕方より投与約 3 時間後まで絶食させた。投与液をスターラーで

攪拌して均質な状態に保ち、注射筒内に吸い上げ胃ゾンデを用いて 1 回経口投与した。

### 6. 臨床症状の観察

投与当日は投与後 30 分および 4 時間後に、翌日から観察期間終了時までには 1 日 1 回、死亡の有無および動物の外貌、外皮、姿勢、行動、呼吸、意識、神経症徴候、体温、排泄等について詳細に観察した。観察期間は雄で投与後 14 日間、雌では投与後 21 日間とした。なお、観察期間は投与後 14 日間を予定していたが、雌では 14 日の体重測定で体重減少を示す個体が認められたため、観察期間を 7 日間（投与後 21 日）延長した。

### 7. 体重

体重は、被験物質投与直前、投与後 7（雌雄）、14 日（雌雄）、21 日（雌）および死亡発見時（雌雄）に個体別に測定した。

### 8. 剖検

死亡動物は発見時に、観察期間終了時（投与後 14 日あるいは 21 日）の生存動物は、エーテル麻酔により安楽死させ、解剖して肉眼的異常の有無を検索した。また、14 日目の体重測定で体重減少を示した個体は、状態が著しく悪化したため、切迫殺し、同様の検査を実施した。

### 9. 半数致死量（LD50 値）の算出

観察終了時までの累積死亡率に基づき、雌雄それぞれの LD50 値を Moving Average 法<sup>2,3)</sup>により算出した。

## C. 研究結果

### 1. 死亡率および LD50 値

死亡率を表 1 に示す。

死亡率は、100、300 および 900 mg/kg 用量群の順にそれぞれ、雄では 0/5、0/5 および 5/5 で、雌では 1/5、0/5 および 5/5 であった。

これらの死亡率に基づいて Moving Average 法により算出した LD50 値は、雌雄ともに 520 mg/kg (95%信頼限界は算出不能) であった。

## 2. 臨床症状

臨床症状の結果を表 2 に示す。

死亡した動物において、円背位、起立不能、沈静、自発運動低下、異常呼吸音、体温低下、腹部膨満、流涎、流涙、軟便および肛門周囲部の被毛の汚れが認められた。

投与後 14 日の観察以降に切迫殺された雌では、異常呼吸音および重度の削瘦が観察された。

観察終了時まで生存した動物では、300mg/kg 投与群の雌に異常呼吸音が認められた。

## 3. 体重測定

体重測定結果を表 3 に示す。

雄の生存動物は、試験期間を通じて、投与前の体重値と比べて順調に増加した。

雌では、投与 14 日の体重値に 1 例において投与前の体重値と比べ減少が認められた。よって、試験期間を 7 日間 (投与 21 日) 延長した。投与後 14 日目に体重が減少した個体は、状態が著しく悪化したため、切迫殺した。その他の生存例では、試験期間と通じ、投与前の体重と比較して順調に増加した。

## 4. 剖検所見

剖検所見を表 4 に示す。

死亡例の肉眼的所見として、胸水貯留、前胃部の白色化、胃の液状貯留物、腸管の液状貯留物および水腫、鼻吻部および外陰部の被毛の汚れが認められた。

切迫殺した動物では、胃および腸管のガス貯留が認められた。

観察終了時に行った生存動物の剖検では、肉眼的異常は認められなかった。

## D. 考察

ACQ の急性経口毒性について、Wistar Hannover 系ラットの雌雄動物を用い検索した。臨床症状として、死亡した動物では、一般状態の悪化を示す、円背位、起立不能、沈静、自発運動低下、異常呼吸音、体温低下、腹部膨満、流涎、流涙、軟便および肛門周囲部の被毛の汚れ等が認められた。剖検所見では、急性毒性試験でしばしば観察される消化管の変化が認められた。さらに、雌の途中切迫殺動物では、消化管へのガス貯留が顕著であり、上部気道障害が示唆された。以上のように、呼吸器および消化管へ影響は認められたが、ACQ に特徴的な所見は認められなかった。

死亡率は、100、300 および 900 mg/kg 群の順にそれぞれ、雄では 0/5、0/5 および 5/5 で、雌では 1/5、0/5 および 5/5 であった。これらの死亡率に基づいて Moving Average 法により算出した LD50 値は、雌雄ともに 520 mg/kg (95%信頼限界は算出不能) であり、性差は認められなかった。

この結果から、OECD (経済協力開発機構) の定める GHS (Globally Harmonised System) カテゴリー 4 (LD50 値は

300-2000 mg/kg) と判定され、毒物劇物法の分類では普通物に相当するLD50値の範囲であった。

#### E. 結論

本実験条件下において、ACQの急性経口毒性は雌雄ともOECDの定めるGHSカテゴリ-4に位置し、毒物劇物法の分類の普通物に相当するLD50値の範囲であると結論された。

#### F. 引用文献

- 1) 農薬の登録申請に係わる試験成績について、(監修)農林水産省, 12 農産第8147号(平成12年11月24日)
- 2) Thompson WR, Use of moving averages and interpolation to estimate median-effective dose. I. Fundamental formulas, estimation of error, and relation to other methods. *Bacterial Rev* 11: 115-145 (1947).
- 3) Weil CS, Tables for convenient calculation of median-effective dose (LD50 or ED50) and instructions in their use. *Biometrics* 8: 249-263 (1952).
- 4) OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Guideline 423: Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method. Adapted: December 17, 2001.

#### G. 研究発表

1. 論文発表  
なし

2. 学会発表  
なし

#### H. 知的財産権の出願・取得状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

Table 1 - 1 Mortality - Male rats

Dose (mg/kg)	Time after administration							Final mortality						
	30 min	4 hrs	1	2	3	4	5		6	7	8-14 days			
100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5 <sup>a</sup>	
300	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5
900	0	0	3	2									5	5

<sup>a</sup>: Cumulative number of animals found dead during the observation period per number of animals treated.