

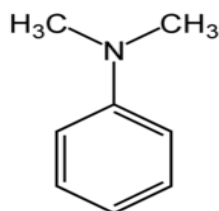
N,N-dimethylaniline

N,N-ジメチルアニリン

[CAS No. 121-69-7]

Molecular formula: C₈H₁₁N

Molecular weight: 121.18



ABSTRACT

1. Material and method

Purity	: 99%
Test species/strain	: Rat/Crl:CD(SD)
Test method	: OECD Test Guideline 422
Route	: Oral (gavage)
Dosages	: 0, 1, 10, 100 mg/kg
Dosages for recovery	: 0, 100 mg/kg
Number of animals/group	: Males, 12 (5 for recovery); females, 12; satellite females, 5
Vehicle	: Olive oil
Administration period	: Males, 42 days Females, from 14 days before mating to day 4 of lactation Females (satellite), 42 days
Recovery period	: Males, 14 days Females (satellite), 14 days
Terminal killing	: Males, day 43 of treatment and 15 of recovery Females, day 5 of lactation Females (satellite), day 15 of recovery Offspring, day 4 after birth
GLP	: Yes

2. Results

Repeated dose toxicity

Neither death nor moribundity occurred in any dosed groups.

Dark red discoloration of the skin in general signs were observed in males and females of the 100 mg/kg group, and in males and females of the 100 mg/kg recovery groups.

Decreased body weights for administration and recovery periods were observed in females of the 100 mg/kg group and 100 mg/kg recovery group. No effects on body weights were observed in males of any group.

No effects on food consumption were observed in any dose group.

No changes in reflex/reaction, grip strength, or locomotor activity were observed in any dosed group.

No effect on urinalysis was observed in any dosed group.

In hematological examination, decreased RBC count was observed in males and females of the 100 mg/kg group and females of the 100 mg/kg recovery group. Decreased hemoglobin concentration and hematocrit value were observed in males and females of the 100 mg/kg group. However, increased hemoglobin concentration and hematocrit value were observed in females of the 100 mg/kg recovery group. Decreased mean corpuscular hemoglobin concentration was observed in males of the 100 mg/kg group and 100 mg/kg recovery group. Increased mean corpuscular volume and mean corpuscular hemoglobin level were observed in males and females of the 100 mg/kg group and in males and females of the 100 mg/kg recovery group. Increased WBC count was observed in males of the 100 mg/kg group.

In blood biochemical examination, decreased total protein concentration was observed in males of the 100 mg/kg group. Decreased α_1 -globulin concentration was observed in males and females of the 100 mg/kg group, and in females of the 10 mg/kg group. Increased total bilirubin concentration was observed in males and females of the 100 mg/kg group. However, decreased total bilirubin concentration was observed in females of the 100 mg/kg recovery group. Increased blood urea nitrogen concentration was observed in females of the 100 mg/kg group. Decreased creatinine concentration was observed in females of the 100 mg/kg group.

In gross pathological examination, dark red discoloration and swelling of spleen were observed in males and females of the 100 mg/kg group. Moreover, swelling of spleen was observed in males of the 100 mg/kg recovery group.

In histopathological examination, extramedullary hematopoiesis and yellowish-brown pigmentation of liver were observed in males and females of the 100 mg/kg group. Moreover, yellowish-brown pigmentation of liver was observed in males and females of the 100 mg/kg recovery group. Congestion of spleen was observed in males of the 10 and 100 mg/kg groups and females of the 1, 10 and 100 mg/kg groups. Moreover, the congestion of spleen was observed in males of the 100 mg/kg recovery group. Atrophy of white pulp and yellowish-brown pigmentation of the spleen were observed in males and females of the 100 mg/kg group. Moreover, the yellowish-brown pigmentation of the spleen was observed in males and females of the 100 mg/kg recovery group. Extramedullary hematopoiesis of the spleen was observed in males of the 100 mg/kg group, and in females of the 10 and 100 mg/kg groups.

Erythroid hyperplasia of bone marrow was observed in males of the 100 mg/kg group and in females of the 1, 10 and 100 mg/kg groups. Increased relative liver weights were observed in males of the 10 and 100 mg/kg groups. Increased absolute and relative spleen weights were observed in males and females of the 100 mg/kg group, and in females of the 100 mg/kg recovery group. Increased relative kidney weights were observed in males of the 100 mg/kg group. Increased relative heart weights were observed in females of the 100 mg/kg group.

Reproductive and developmental toxicity

No adverse effects on the reproductive performances, such as the estrous cycle, copulation index, fertility index, or pairing days until copulation compound, were observed in any group.

No significant changes were observed in gestation length, delivery or lactation. All

pregnant females delivered live pups. No adverse effect of the compound was observed on the developmental performances, such as the number of corpora lutea or implantations, implantation index, number of pups born or live pups, delivery index, birth index, live birth index, sex ratio or body weight on day 0 of lactation, or viability index or body weight on day 4 of lactation. Neither external abnormality nor macroscopic finding was detected in any pups at the necropsy.

3. Evaluation

Increased relative liver weights and congestion of spleen in histopathological examination were observed in males of the 10 mg/kg group. However, no abnormal changes were detected in males of the 1 mg/kg group. It was concluded from the above results that no observed adverse effect level (NOAEL) for the repeated dose toxicity of *N,N*-dimethylaniline was 1 mg/kg/day for males. And, erythroid hyperplasia of bone marrow and congestion of spleen were observed in females of the 1 mg/kg group. It was concluded from the above results that the NOAEL for the repeated dose toxicity of *N,N*-dimethylaniline was less than 1 mg/kg/day for females. For the reproductive and developmental toxicity, no abnormalities were detected in males or females in all groups. The NOAEL for the reproductive/developmental toxicity was 100 mg/kg/day.

Increased relative liver weight and congestion of spleen in histopathological examination were observed in males of the 10 mg/kg group. However, no abnormal changes were detected in males of the 1 mg/kg group. It was concluded from the above results that no observed effect level (NOEL) for the repeated dose toxicity of *N,N*-dimethylaniline was 1 mg/kg/day for males. And, erythroid hyperplasia of bone marrow and congestion of spleen were observed in females of the 1 mg/kg group. It was concluded from the above results that the NOEL for the repeated dose toxicity of *N,N*-dimethylaniline was less than 1 mg/kg/day for females. For the reproductive and developmental toxicity, no abnormalities were detected in males or females in all groups. The NOEL for the reproductive/developmental toxicity was 100 mg/kg/day.

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

Combined Repeat Dose and Reproductive/Developmental Toxicity Screening Test of

***N,N*-dimethylaniline by Oral Administration in Rats**

要約

N,N-ジメチルアニリンを0, 1, 10及び100 mg/kg/dayの用量で1群各12匹の雌雄Crl:CD (SD) ラットを用い、OECD TG422に準じて交配開始2週間前から雄は42日間、雌は哺育4日まで経口投与し、親動物に対する反復投与毒性及び生殖毒性、次世代に対する発生毒性について検討した。なお、媒体対照群及び100 mg/kg/day群において、雄について12匹中5匹、雌については上記の12匹以外に5匹を追加し、回復群とした。これらの回復群の設定により、投与後14日間の休薬期間における影響の可逆性についても検討した。雌の回復群については、ガイドラインに準じて交配を実施しなかった。

1. 反復投与毒性

雄の反復投与毒性

死亡及び瀕死例はいずれの群にも認められなかった。機能検査、体重、摂餌量及び尿検査には、いずれの群にも被験物質投与の影響は認められなかった。

一般状態の観察では、100 mg/kg投与群で、投与2日より回復期間終了時まで皮膚の暗赤色化が全例に認められた。この皮膚の暗赤色化は詳細観察においても認められた。

血液学的検査では、100 mg/kg投与群の投与期間終了時に赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値及び平均赤血球血色素濃度の低値と平均赤血球容積、平均赤血球血色素量及び白血球数の高値が認められ、回復期間終了時には平均赤血球血色素濃度の低値、平均赤血球容積及び平均赤血球血色素量の高値が認められた。

血液生化学的検査では、100 mg/kg投与群の投与期間終了時に総蛋白及び α_1 -グロブリンの低値及び総ビリルビンの高値が認められた。

器官重量では、100 mg/kg投与群の投与期間終了時の肝臓の相対重量、脾臓の絶対重量及び相対重量、腎臓の相対重量に高値が認められた。10 mg/kg投与群でも肝臓の相対重量に高値が認められた。

剖検では、100 mg/kg投与群の投与終了時に全例の脾臓の暗赤色及び腫大が認められ、回復期間終了時の剖検においても脾臓の腫大が認められた。

病理組織学的検査では、100 mg/kg投与群の投与期間終了時の肝臓に髓外造血の亢進及び黄褐色色素沈着が、脾臓にうっ血、白脾髄の萎縮、髓外造血の亢進及び黄褐色色素沈着が、骨髓には赤芽球系細胞の過形成が認められ、回復期間終了時の病理組織学的検査でも肝臓に黄褐色色素沈着が、脾臓にうっ血及び黄褐色色素沈着が認められた。さらに、10 mg/kg

投与群の投与期間終了時に脾臓にうっ血が認められた。

1 mg/kg投与群では、*N,N*-ジメチルアニリン投与の影響は認められなかった。

雌の反復投与毒性

死亡及び瀕死例はいずれの群にも認められなかった。機能検査、摂餌量及び尿検査には、いずれの群にも被験物質投与の影響は認められなかった。

100 mg/kg投与群では、投与2日より回復期間終了時まで皮膚の暗赤色化が全例に認められた。この皮膚の暗赤色化は詳細観察においても認められた。

母動物の体重推移では、100 mg/kg投与群の投与7日、妊娠17及び20日に低値が認められ、交配を実施しなかった回復群の体重推移でも投与8, 22, 29及び36日、回復1, 3, 7及び14日に体重の低値が認められた。

血液学的検査では、100 mg/kg投与群の投与期間終了時に赤血球数、ヘモグロビン量及びヘマトクリット値の低値、平均赤血球容積及び平均赤血球血色素量の高値が認められ、回復期間終了時には赤血球数の低値とヘモグロビン量、ヘマトクリット値、平均赤血球容積及び平均赤血球血色素量の高値が認められた。

血液生化学的検査では、100 mg/kg投与群の投与期間終了時に α_1 -グロブリンの低値、総ビリルビン及び尿素窒素の高値が、回復期間終了時には総ビリルビン及びクレアチニンの低値が認められた。10 mg/kg投与群の投与期間終了時には α_1 -グロブリンの低値が認められた。

器官重量では、100 mg/kg投与群の投与期間終了時に心臓の相対重量及び脾臓の絶対重量及び相対重量に高値が認められ、回復期間終了時には脾臓の絶対重量及び相対重量の高値が認められた。

剖検では、100 mg/kg投与群の投与期間終了時の全例に脾臓の暗赤色及び腫大が認められた。

病理組織学的検査では、100 mg/kg投与群の投与期間終了時の肝臓に髓外造血の亢進及び黄褐色色素沈着が、骨髓に赤芽球系細胞の過形成が、脾臓にうっ血、白脾髄の萎縮、髓外造血の亢進及び黄褐色色素沈着が認められ、回復期間終了時の病理組織学的検査でも肝臓に黄褐色色素沈着、骨髓に赤芽球系細胞の過形成、脾臓には黄褐色色素沈着が認められた。さらに、10 mg/kg投与群の投与期間終了時には、骨髓に赤芽球系細胞の過形成、脾臓にうっ血及び髓外造血の亢進が認められた。1 mg/kg投与群の投与期間終了時には、骨髓に赤芽球系細胞の過形成、脾臓にうっ血が認められた。

2. 生殖発生毒性

各投与群の精巣、精巣上体、精囊、前立腺、卵巣、子宮、膣の病理組織学的検査で*N,N*-ジメチルアニリン投与に起因した変化は認められなかった。また、性周期、交尾率、交尾所要日数、受胎率、妊娠黄体数、着床数、着床率、出産率、妊娠期間、分娩状態及び哺育

状態では、*N,N*-ジメチルアニリン投与に起因した変化は認められなかった。

児動物に対しては、総産児数、出産死亡児数、出産生児数、性比、新生児の外表面観察、生後4日の生存児数及び新生児の4日生存率、一般状態、体重及び剖検に*N,N*-ジメチルアニリン投与に起因した変化は認められなかった。

以上のように、雄に関しては10 mg/kg投与群で肝臓の相対重量の高値及び投与期間終了時の病理組織学検査で脾臓のうっ血が認められたものの、1 mg/kg投与群では*N,N*-ジメチルアニリン投与の影響は認められなかったことを考慮して、雄の一般毒性学的無毒性量（NOAEL）は1 mg/kg/dayと推定した。一方、雌に関しては1 mg/kg投与群の投与終了時の病理組織学検査で骨髄に赤芽球系細胞の過形成及び脾臓にうっ血が認められたことを考慮して、雌の一般毒性学的NOAELは1 mg/kg/day未満と推定した。生殖発生学的なNOAELは、いずれの投与群でも*N,N*-ジメチルアニリン投与に起因した変化は認められなかったことから、100 mg/kg/dayであると推定した。

なお、*N,N*-ジメチルアニリンの一般毒性学的無影響量（NOEL）は、雄では10 mg/kg投与群で肝臓の相対重量の高値及び投与期間終了時の病理組織学検査で脾臓のうっ血が認められたものの、1 mg/kg投与群では*N,N*-ジメチルアニリン投与の影響は認められなかったことを考慮して1 mg/kg/dayであり、雌では1 mg/kg投与群の投与終了時の病理組織学検査で骨髄に赤芽球系細胞の過形成及び脾臓にうっ血が認められたことを考慮して1 mg/kg/day未満と推定した。生殖発生学的なNOELは、いずれの投与群でも*N,N*-ジメチルアニリン投与に起因した変化は認められなかったことから、100 mg/kg/dayであると推定した。

方法

1. 被験物質及び媒体

被験物質である *N,N*-ジメチルアニリンは油状液体である（純度 99 %以上，Lot No. PKP5910，XXXXXXXXXX）。入手後、被験物質は室温で保管した。

被験物質をオリーブ油で希釈し、0.5、5.0 及び 50 mg/mL 濃度液を調製した。調製に際して、被験物質の純度換算は実施しなかった。各濃度の投与液は用時調製した。投与開始日及び投与期間中の計 2 回、投与に使用した投与液中の被験物質濃度を測定した。その結果、は適正に調製されていることを確認した（基準値 89~105%，測定結果 0.5 mg/mL：95~106%，5 mg/mL：94~105%，50 mg/mL：96~99%）。

2. 使用動物及び飼育条件

8 週齢の Sprague-Dawley 系雌雄ラット[SPF, Crl:CD (SD)]を日本チャールス・リバー(株)から購入した。入手した動物は 7 日間検疫・馴化飼育した。群分けは、投与開始前日の体重を基に層別無作為化割付法に準じ、各群の平均体重及び分散がほぼ等しくなるように

行った。

動物は、室温 20～26℃、湿度 35～75%、照明時間 12 時間（7～19 時/日）、換気回数 15～25 回/時間で維持されている飼育室で、アルミ製金網底ケージ（サイズ：240 mm W×380 mm D×200 mm H）に個別飼育した。母動物は、妊娠 17 日以降オートクレーブ処理した床敷（パルソフト、オリエンタル酵母工業㈱）を入れたアルミ製平底ケージ（サイズ：340 mm W×460 mm D×180 mm H）に個別飼育し、自然分娩及び哺育させた。ケージ交換頻度は 2 週間に 1 回以上の頻度で行った。飼料は RI 滅菌した固型飼料（F-2、㈱船橋農場）を自由摂取させた。但し、雌雄とも剖検前日の夕方より 1 晩（16-20 時間）絶食した。飲水は水道水を自由に摂取させた。

3. 投与経路、投与方法、投与量及び投与期間

投与経路は、ヒトの暴露形態を考慮して経口投与を選択した。投与に際しては、ポリプロピレン製ディスポーザブル注射筒及びラット用胃ゾンデを用いて強制経口投与した。投与液量は、雌雄とも投与日あるいは投与日に最も近い測定日の体重を基準とし、2 mL/kg で算出した。

投与開始日の週齢は雌雄とも 9 週齢であり、体重範囲は、雄が 336.7～381.4g、雌が 214.9～250.5g であった。

投与量は雌雄ラットを用いた 2 週間経口投与による予備試験の結果により決定した。すなわち、30、100、300 及び 1000 mg/kg 投与群において投与 2 日以降チアノーゼ様症状（皮膚及び眼球の暗赤色・紫色）が認められ、1000 mg/kg 投与群では投与 3～4 日に全例が死亡した。また最低用量の 30 mg/kg においても脾臓の腫大が認められた。そこで、当試験では 100 mg/kg を最高用量とし、以下公比 10 により 10 及び 1 mg/kg とした。なお、対照として媒体（オリーブ油）のみを同容量投与する媒体対照群を設けた。

使用動物数は、雄については各群 12 例とし、42 日間の投与期間を設定した。なお、媒体対照群と 100 mg/kg 群の各 5/12 例については投与期間終了後 14 日間の休薬期間を設けた。雌については各群 12 例とし、交配前 14 日間、交配期間中、妊娠期間中及び哺育 4 日までの投与期間を設定した。さらに、雌の媒体対照群と 100 mg/kg 群については各々 5 例の回復群追加し、42 日間の投与期間と投与期間終了後 14 日間の休薬期間を設けた。雌の回復群についてはガイドラインに準じて交配を実施しなかった。

なお、投与開始日を投与 1 日、投与期間終了日の翌日を回復 1 日、交尾確認日を妊娠 0 日と起算した。

4. 観察及び検査項目

1) 反復投与毒性

(1) 一般状態

雌雄ともに、投与期間中は 1 日 2 回（投与直前及び投与後 1～4 時間）、回復期間中

は 1 日 1 回の頻度で、一般状態の観察及び死亡の有無の確認を行った。

(2) 詳細観察

雌雄各群について投与開始前に 1 回と投与期間中は週 1 回、分娩成立の母動物についてはさらに哺育 4 日に実施した。

ケージから取り出す際の反応として動物を保持するために手を近づけたり、あるいは保持するなど動物に外部刺激を与えた場合の動物の興奮性などの反応を観察した。ハンドリングによる詳細な観察として動物の筋緊張、体温低下、立毛、被毛の状態、皮膚及び粘膜の色、眼の異常、流涎、分泌物を観察した。その後、底面 60 × 90 cm、壁高 6 cm のオープンフィールドの中央に動物を静かに置き、1 分間の観察時間中の立ち上がり回数、間代性の不随意運動、強直性の不随意運動、歩調、移動性、覚醒状態、常同行動、異常行動、脱糞及び排尿を観察し記録した。各観察はブラインドで実施した。

(3) 機能検査

雄は、投与期間の最終週に 1 回、各群とも動物番号の小さい順から 5 匹を選び検査を実施した。雌は、解剖前日（哺育 4 日）の絶食前に 1 回、分娩日の近い 5 匹を選び検査を実施した。

顔面前 3 cm に丸い棒等を近づけたときの視覚反応、頭上で指を鳴らしたときの聴覚反応、洗濯バサミで尾の 1/3 尾根部側を挟んだときの痛覚反応を記録した。さらに、光を遮った状態でペンライトの光を当てたときの瞳孔反射、動物の腹部を上に向けた状態で約 30 cm の高さから落としたときの空中正向反射を記録した。握力測定としては小動物握力測定装置（GPM-100, (有) メルクエスト）を用いて前後肢の握力を測定した。自発運動量は、ラットを個別にプラスチック製平底ケージ（215 mm (W) × 320 mm (D) × 130 mm (H)）に入れ、15 分間の運動量を受動型赤外線センサー方式による自発運動量計測システム（Supermex, 室町機械㈱）で測定した。各検査はブラインドで実施した。

(4) 体重測定

雄の体重は、投与開始日、投与 3, 8, 15, 22, 29 及び 36 日に測定し、回復期間は、1, 3, 7 及び 14 日に測定した。さらに、予定解剖例については、投与期間終了日の翌日あるいは回復期間終了の翌日の搬出時（絶食状態）にも体重測定を実施した。

交配実施雌の体重は、投与開始日、投与 3, 7 及び 14 日に測定し、交尾成立後は妊娠 0, 7, 14, 17 及び 20 日と哺育 0 日（分娩日）及び 4 日、さらに分娩後 5 日（搬出時・絶食状態）に測定した。媒体対照回復群及び高用量回復群の雌については、投与開始日、投与 3, 8, 15, 22, 29 及び 36 日に体重測定し、回復期間中は回復 1, 3, 7, 14 及び 15 日（搬出時・絶食状態）に測定した。

(5) 摂餌量測定

雄の摂餌量は、投与開始日、投与 3, 8, 20, 22, 29 及び 36 日、さらに回復 1, 3, 7, 14 日に測定した。

交配実施雌の摂餌量は、投与開始日、投与 7 及び 14 日、さらに交配成立後は妊娠 7, 14, 17 及び 20 日と哺育 4 日に測定した。媒体対照回復群及び高用量回復群の雌の摂餌量は、投与開始日、投与 3, 8, 15, 22, 29 及び 36 日、さらに回復 1, 3, 7 及び 14 日に測定した。

摂餌量は、測定前日の給餌量から当日の摂取残量を差し引くことで 1 日当たりの摂餌量を算出した。

(6) 尿検査

媒体対照回復群及び高用量回復群を除く雄は、各群から動物番号の小さい順に 5 匹を選び、投与最終日に検査した。媒体対照回復群及び高用量回復群の雄は、回復期間終了日に全例について検査した。

分娩動物では各群とも分娩日の近い 5 匹について投与最終日に検査し、交配を実施しなかった媒体対照回復群及び高用量回復群の雌では回復 14 日に全例について検査した。

給餌、給水下で採取した新鮮尿の pH、蛋白、糖、ケトン体、ビリルビン、潜血及びウロビリノーゲンを尿検査試験紙（マルティスティックス、バイエル メディカル㈱）を用いて検査した。

(7) 血液学的検査

媒体対照回復群及び高用量回復群を除く雄は各群から動物番号の小さい順に 5 匹を選び最終投与の翌日に検査した。媒体対照回復群及び高用量回復群の雄については回復期間終了日の翌日に全例について検査した。なお、いずれの動物も採血前日の夕方より 1 晩（16～20 時間）絶食処置を施した。但し、投与期間終了時の 1 mg/kg 投与群の雄 1 例については、麻酔過誤により死亡したため血液学的検査及び次項の血液生化学的検査結果を集計より除外した。

分娩動物では各群とも分娩日の近い雌 5 匹について分娩後 5 日に実施し、交配を実施しなかった回復群の雌については、回復期間終了日の翌日に全例を検査した。なお、いずれの動物も採血前日の夕方より 1 晩（16～20 時間）絶食処置を施した。

いずれの動物も、エーテル麻酔下で開腹し、後大静脈から採血した血液を用いて以下の血液学的検査を行った。

赤血球数（RBC）、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、白血球数（WBC）及び血小板数（Platelet）は、EDTA-2K 添加により抗凝固処理した血液について Sysmex 自動血球計数装置 F-800（Sysmex㈱）を用いて測定し、平均赤血球容積（MCV）、平均赤血球

血色素量（MCH）及び平均赤血球血色素濃度（MCHC）を算出した．さらに，May-Giemsa 染色の血液塗抹標本を作製し，白血球型別百分率を計測した．

また，血液凝固系の検査として 3.3%クエン酸ナトリウム添加により抗凝固処理を行った後，遠心分離（4℃，3000rpm，10 分間）して得た血漿を用いて，プロトロンビン時間（PT）及び活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）を Sysmex 全自動血液凝固測定装置 CA-1500（Sysmex 株）で測定した．

(8) 血液生化学検査

雌雄ともに，血液学的検査時に採取した血液の一部をヘパリンナトリウムにより抗凝固処理し，遠心分離（4℃，3000 rpm，10 分間）して得た血漿を用いて，以下の血液生化学検査を実施した．

アスパラギン酸アミノ基転移酵素（AST）は UV 酵素法（JSCC 標準化対応），アラニンアミノ基転移酵素（ALT）は UV 酵素法（JSCC 標準化対応），アルカリホスファターゼ（ALP）は p-ニトロフェニルリン酸基質法，総蛋白は Biuret 法，アルブミンは BCG 法，グルコースはヘキソキナーゼ・G-6-PDH 法，総コレステロールは COD・HDAOS 法，トリグリセライドは GPO・HDAOS 法及びグリセリン消去法，総ビリルビンはバナジン酸酸化法，尿素窒素はウレアーゼ・GIDH 法，クレアチニンはクレアチナーゼ・F-DAOS 法，無機リンは PNP・XDH 法，及びカルシウムは MXB 法により日立 7170 形自動分析装置（㈱日立製作所）で測定した．Na は炎光光度法，K は炎光光度法，Cl は電量滴定法により，710 形電解質自動分析装置（㈱日立製作所）で測定した．蛋白分画は Cellulose acetate electrophoresis 法により平沼コンピューティングデンストメータ HAD-501（平沼産業株）で測定した．

(9) 剖検及び器官重量測定

雄に関しては投与期間終了日の翌日及び回復期間終了日の翌日に当該動物の全例について，また，雌に関しては最終投与の翌日（分娩後 5 日）あるいは回復期間終了日の翌日に当該動物の全例について，さらに，不妊例については交尾 26 日後に放血致死させ病理学的手技に従って解剖し，体表，開孔部，皮下，頭蓋腔，胸腔，腹腔，骨盤腔とその内容の観察を含む肉眼的検査を実施した．

全ての動物について，脳（大脳，小脳及び橋を含む），下垂体，甲状腺（上皮小体を含む），気管及び肺，胸腺，心臓，肝臓，腎臓，脾臓，副腎，精巣，精巣上体，前立腺，精囊，卵巣，子宮，膣，胃，小腸（十二指腸，回腸（パイエル板を含む），大腸（結腸），盲腸，膀胱，脊髄，坐骨神経，骨髓（大腿骨）及びリンパ節（腋窩及び腸間膜リンパ節）を摘出した．なお，妊娠雌については，卵巣及び子宮摘出後に妊娠黄体数及び着床数を数えた．

これら摘出臓器のうち，脳，胸腺，心臓，肝臓，腎臓，脾臓，副腎，精巣及び精巣上

体重量を測定した。重量測定後、摘出した器官及び組織は 10%中性緩衝ホルマリン液に固定し保存した。

(10) 病理組織学検査

雄については、投与期間終了時の高用量群と媒体対照群の動物番号の小さい順に各 5 匹から採取した全器官・組織に加え、投与期間終了時の 1 及び 10 mg/kg 投与群の動物番号の小さい順から各 5 匹と回復期間終了時の高用量群及び媒体対照群の全例から採取した肝臓、脾臓及び骨髄について、パラフィン包埋後薄切切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色した後、光学顕微鏡的に検査した。

雌については分娩日の近い雌 5 匹（血液学的検査及び血液生化学的検査を実施した動物）について、各々採取した全ての器官・組織に加え、投与期間終了時の 1、10 mg/kg 投与群の各 5 匹（血液学的検査・血液生化学的検査に用いたものと同一動物）と回復期間終了時の高用量群と媒体対照群の雌雄全例から採取した肝臓、脾臓及び骨髄について、同様の方法で検査した。

2) 親動物の生殖発生に及ぼす影響

(1) 性周期検査

交配予定動物の雌全例について投与開始日から交尾が確認された日まで膣垢検査により性周期を観察した。

(2) 交配，交尾確認

14 日間投与した雌雄を同一群内で 1 対 1 に組み合わせて同居交配した。同居期間は 14 日間を限度として交尾を確認するまで連続同居交配させた。交尾確認は毎朝行い、膣栓又は膣垢中の精子を確認した雌を交尾成立としてこの日を妊娠 0 日と起算した。

(3) 分娩日の検査

妊娠動物の全例は自然分娩させた。分娩完了の確認は、午前中に営巢し、授乳を開始した状態、又は膣周囲の状態を確認し、腹部を触診することで行った。交尾を認めた日から分娩完了までの日数を妊娠期間とした。1 匹以上の生存児を出産したものを正常出産とし、出産児が全て死亡していた場合、及び生存児を出産したものであっても難産などの分娩異常がみられた場合や、分娩完了の確認ができない場合は異常出産とした。

3) 出生児

(1) 出生児の観察

出生日に総産児数、出産死亡児数及び出産生存児数を数え、出産生存児性比を算出し、出産生存児外表を観察した。

(2) 一般状態観察

出生日から屠殺日まで、毎日1回観察し、死亡の有無及び一般状態を観察した。

(3) 体重測定

出生日及び生後4日（屠殺日）に個体別に測定し、1腹の雌雄それぞれの平均値を1単位とした。

(4) 屠殺日の観察及び検査

生児数、生児外表、死亡児数及び死亡児外表を観察した。

5. データの処理

媒体対照群と各投与群との有意差検定は、The SAS System Ver.8.2 (TS2M0) for Windows (SAS Institute Inc.) に連動した生物実験データ統計解析システム (EXSAS Ver.7.10, ㈱アームシステックス) を用いて行った。なお、Williams の多重比較検定及び Fisher の直接確率法は片側検定、その他の検定法では両側検定とした。有意水準は、5%及び1%とした。なお、哺育児の成績は1腹児の値を標本単位とした。

1) 計量値

Bartlett検定で等分散 ($p \geq 0.05$) を示すデータについては、一元配置分散分析を行い、その結果、母平均が等しくない ($p < 0.05$) 場合はDunnnett型の多重比較を行った。また、全てのデータについて、用量相関性の検定としてWilliamsの多重比較を行った。

Bartlett検定で不等分散 ($p < 0.05$) を示すデータについては、Kruskal-Wallisの順位検定を行い、その結果、母平均が等しくない ($p < 0.05$) 場合はSteelの多重比較を行った。但し、2群間の比較の場合には、2群間の等分散性について分散比のF検定を行い、等分散 ($p \geq 0.05$) の場合にはStudentのt検定、不等分散 ($p < 0.05$) の場合にはAspin-Welchのt検定を行った。

2) 整数観測値

Kruskal-Wallisの順位検定を行い、その結果、母平均が等しくない ($p < 0.05$) 場合はSteelの多重比較を行った。

3) 度数

媒体対照群と他の2群間でFisherの直接確率法を行った。

結果

1. 反復投与毒性

1) 雄

(1) 一般状態

いずれの群にも，死亡及び瀕死例は認められなかった。

投与期間中に，皮膚の暗赤色化が 100 mg/kg 投与群の 12/12 例に投与 2 日より投与期間中を通じて認められた。媒体対照群，1 及び 10 mg/kg 投与群に異常は認められなかった。

回復期間中には，皮膚の暗赤色化が 100 mg/kg 回復群の 5/5 例に終始認められた。媒体対照回復群に異常は認められなかった。

(2) 詳細観察

投与 1 週目から 6 週目の観察において，100 mg/kg 投与群で全例に皮膚の暗赤色化が認められた。10 mg/kg 投与群には，投与前の排尿回数に偶発性の高値が認められた。媒体対照群，1 mg/kg 投与群には，異常は認められなかった。

(3) 機能検査

被験物質投与群に有意差は認められなかった。

(4) 体重測定 (Fig. 1)

被験物質投与群に有意差は認められなかった。

(5) 摂餌量測定 (Fig. 2)

100 mg/kg 投与群で投与 36 日の摂餌量に有意な低値が認められた。また，10 mg/kg 投与群で投与 22 日の摂餌量に有意な高値が認められた。しかしながら，いずれの変動も用量に依存しないことから偶発によるものと判断する。1 mg/kg 投与群では，有意差は認められなかった。

(6) 尿検査

投与期間終了時及び回復期間終了時に，被験物質群の各検査項目に有意差は認められなかった。

(7) 血液学的検査 (Table 1)

投与期間終了時に，100 mg/kg 投与群で，赤血球数，ヘモグロビン量，ヘマトクリット値及び平均赤血球血色素濃度に有意な低値と平均赤血球容積，平均赤血球血色素量及び白血球数に有意な高値が認められた。1 及び 10 mg/kg 投与群では，各検査項目に有意

差は認められなかった。

回復期間終了時には、100 mg/kg 回復群で、平均赤血球血色素濃度に有意な低値と平均赤血球容積及び平均赤血球血色素量に有意な高値が認められた。

(8) 血液生化学検査 (Table 2)

投与期間終了時に、100 mg/kg 投与群で、総蛋白及び α_1 -グロブリンに有意な低値と総ビリルビンに有意な高値が認められた。10 及び 1 mg/kg 投与群では、各検査項目に有意差は認められなかった。

回復期間終了時には、100 mg/kg 回復群に有意差は認められなかった。

(9) 器官重量測定 (Table 3)

投与期間終了時に、100 mg/kg 投与群で、肝臓の相対重量に有意な高値、脾臓の絶対重量及び相対重量に有意な高値、さらに腎臓の相対重量に有意な高値が認められた。10 mg/kg 投与群では、胸腺の絶対重量及び相対重量に有意な高値、さらに肝臓の相対重量に有意な高値が認められた。1 mg/kg 投与群では、各器官重量に有意差は認められなかった。

回復期間終了時には、100 mg/kg 回復群で、精巣の相対重量に有意な高値が認められた。

(10) 剖検所見

投与期間終了時に、100 mg/kg 投与群の 7/7 例に脾臓の暗赤色及び腫大が認められた。媒体対照群、1 及び 10 mg/kg 投与群には異常は認められなかった。

回復期間終了時には、媒体対照回復群の 1/5 例の脾臓に小結節を伴う腫大が認められ、100 mg/kg 回復群では 4/5 例に脾臓の腫大が認められた。

(11) 病理組織学検査

① 被験物質投与に起因した所見

投与期間終了時

100 mg/kg 投与群では、肝臓に髄外造血の亢進及び黄褐色色素沈着が各々 5/5 例、脾臓にはうつ血、白脾髄の萎縮、髄外造血の亢進及び黄褐色色素沈着が各々 5/5 例、骨髄には赤芽球系細胞の過形成が 5/5 例認められた。

10 mg/kg 投与群では、脾臓にうつ血が 1/5 例認められた。

回復期間終了時

100 mg/kg 回復群では、肝臓に黄褐色色素沈着が 4/5 例、脾臓にはうつ血が 1/5 例、黄褐色色素沈着が 5/5 例認められた。

② 被験物質投与に起因しない所見

以下の所見はラットに自然発生的に認められる変化であり、いずれの所見も出現頻度が低いことから被験物質投与の影響ではないものと判断する。

投与期間終了時

100 mg/kg 投与群では、肝臓に限局性の出血及び小肉芽腫、精巣に限局性精細管萎縮、前立腺には間質内炎症性細胞浸潤が認められた。1 mg/kg 投与群では肝臓に出血性壊死が認められ、媒体対照群では肺動脈に石灰沈着、肺に異所性骨形成、心臓に炎症性細胞浸潤、肝臓に小肉芽腫、精巣に限局性精細管萎縮及び前立腺に間質内炎症性細胞浸潤が散見された。

回復期間終了時

100 mg/kg 回復群では、肝臓に小肉芽腫、媒体対照回復群では、肝臓に髄外造血の亢進及び肝臓と脾臓に出血性壊死及び組織球性肉腫が散見された。

2) 雌

(1) 一般状態

いずれの群にも、死亡及び瀕死例は認められなかった。

投与期間中に、皮膚の暗赤色化が 100 mg/kg 投与群の 17/17 例に投与 2 日より投与期間中を通じて認められた。媒体対照群、1 及び 10 mg/kg に異常は認められなかった。

回復期間中には、皮膚の暗赤色化が 100 mg/kg 回復群の 5/5 例に、終始認められた。媒体対照回復群に異常は認められなかった。

(2) 詳細観察

投与 1 週目から 6 週目の観察において、100 mg/kg 投与群で全例に皮膚の暗赤色化が認められた。なお、投与 6 週目の 100 mg/kg 回復群で、立ち上がり回数に有意な低値が認められたが、媒体対照群回復群の立ち上がり回数の高値に起因した変動であり、被験物質投与の影響はないものと判断する。媒体対照群、1 及び 10 mg/kg 投与群には、異常は認められなかった。

(3) 機能検査

被験物質投与群に有意差は認められなかった。

(4) 体重測定 (Fig. 3, Fig. 5)

交配を実施した動物では、100 mg/kg 投与群で、投与 7 日、妊娠 17 日及び妊娠 20 日の体重に有意な低値が認められた。1 及び 10 mg/kg 投与群では有意差は認められなかった。

交配を実施しなかった回復群では、100 mg/kg 回復群の投与 8, 22, 29 及び 36 日、回

復 1, 3, 7 及び 14 日の体重に有意な低値が認められた。

(5) 摂餌量測定 (Fig. 4, Fig. 6)

交配を実施した動物では, 100 mg/kg 投与群で, 投与 7 日の摂餌量に有意な低値が認められたが, 媒体対照群で餌の噛みこぼし例が出現したことに起因したものと判断する。1 及び 10 mg/kg 投与群では有意差は認められなかった。

交配を実施しなかった回復群においては, 100 mg/kg 回復群に有意差は認められなかった。

(6) 尿検査

投与期間終了時及び回復期間終了時に, 被験物質投与群の各検査項目に有意差は認められなかった。

(7) 血液学的検査 (Table 4)

投与期間終了時に, 100 mg/kg 投与群で, 赤血球数, ヘモグロビン量及びヘマトクリット値に有意な低値と平均赤血球容積及び平均赤血球血色素量に有意な高値が認められた。1 及び 10 mg/kg 投与群では, 各検査項目に有意差は認められなかった。

回復期間終了時に, 100 mg/kg 回復群で, 赤血球数に有意な低値とヘモグロビン量, ヘマトクリット値, 平均赤血球容積及び平均赤血球血色素量に有意な高値が認められた。

(8) 血液生化学検査 (Table 5)

投与期間終了時に, 100 mg/kg 投与群で, α_1 -グロブリンに有意な低値と総ビリルビン及び尿素窒素に有意な高値が認められた。10 mg/kg 投与群では, α_1 -グロブリンに有意な低値が認められた。1 mg/kg 投与群の各検査項目には有意差は認められなかった。

回復期間終了時に, 100 mg/kg 回復群で, 総ビリルビン及びクレアチニンに有意な低値が認められた。

(9) 器官重量測定 (Table 6)

投与期間終了時に, 100 mg/kg 投与群で, 心臓の相対重量に有意な高値と脾臓の絶対重量及び相対重量に有意な高値が認められた。10 mg/kg 投与群では, 腎臓の相対重量に有意な高値が認められた。1 mg/kg 投与群では各器官重量に有意差は認められなかった。

回復期間終了時には, 100 mg/kg 回復群で, 脾臓の絶対重量及び相対重量に有意な高値が認められた。なお, 100 mg/kg 回復群で脳相対重量及び腎臓の相対重量に有意な高値が認められたが, 病理組織学変化が認められないことから体重低値に起因した変動

であり、毒性学的意義はないものと判断する。

(10) 剖検所見

投与期間終了時に、100 mg/kg 投与群の 12/12 例に脾臓の暗赤色及び腫大が認められた。媒体対照群、1 及び 10 mg/kg 投与群に異常は認められなかった。

回復期間終了時に、媒体対照回復群及び 100 mg/kg 回復群に異常は認められなかった。

(11) 病理組織学検査

① 被験物質投与に起因した所見

投与期間終了時

100 mg/kg 投与群では、肝臓に髓外造血の亢進が及び黄褐色色素沈着が各々 5/5 例、骨髓には赤芽球系細胞の過形成が 5/5 例、脾臓にはうっ血、白脾髄の萎縮、髓外造血の亢進及び黄褐色色素沈着が各々 5/5 例認められた。

10 mg/kg 投与群では、骨髓に赤芽球系細胞の過形成が 3/5 例、脾臓にはうっ血が 2/5 例及び髓外造血の亢進が 1/5 例認められた。

1 mg/kg 投与群では骨髓に赤芽球系細胞の過形成が 1/5 例、脾臓にうっ血が 2/5 例認められた。

回復期間終了時

100 mg/kg 回復群では、肝臓に黄褐色色素沈着が 3/5 例、骨髓には赤芽球系細胞の過形成が 1/5 例、脾臓には黄褐色色素沈着が 5/5 例に認められた。

② 被験物質投与に起因しない所見

以下の所見はラットに自然発生的に認められる変化であり、いずれの所見も出現頻度が低いことから被験物質投与の影響ではないものと判断する。

投与期間終了時

1 mg/kg 投与群で肝臓に小肉芽腫が、媒体対照群で肺に肺動脈に石灰沈着及び異所性骨形成が少数例に認められた。

回復期間終了時

100 mg/kg 回復群では、肝臓に小肉芽腫が 1/5 例、媒体対照群では肝臓に出血壊死が 1/5 例及び小肉芽腫が 1/5 例に認められた。

2. 生殖発生毒性試験

1) 親動物の生殖発生に及ぼす影響

(1) 性周期、交尾率及び受胎率 (Table 7)

被験物質投与群では、交配前 14 日間の平均性周期長、及び交尾所要日数及び受胎率に有意差は認められなかった。交配期間中に性周期の異常を示す動物はいずれの群にも

認められなかった。

(2) 妊娠期間，分娩状態，妊娠黄体数，着床率及び出産率（Table 8）

被験物質投与群では，妊娠期間，妊娠黄体数，着床数及び着床率に有意差は認められなかった。

出産率はいずれの群も 100%であり，分娩状態及び哺育状態に異常例は認められなかった。

2) 出生児

(1) 出生児の観察（Table 8）

被験物質投与群で，出生日における総産児数，出産死亡児数及び出產生児数に有意差は認められなかった。なお，100 mg/kg 投与群で性比に有意な低値が認められたが，妊娠黄体数，着床数，着床率，産児数，死産児数及び出產生児数に有意差が認められなかったことから，偶発によるものと判断する。

出產生児の外表観察では，いずれの群にも異常例は認められなかった。

(2) 一般状態観察（Table 8）

被験物質投与群で，生後 4 日の生存児数及び新生児の 4 日生存率に有意差は認められなかった。児動物の一般状態では，いずれの群にも異常例は認められなかった。

(3) 体重測定（Table 8）

被験物質投与群の出生日及び生後 4 日の雌雄別体重に有意差は認められなかった。

(4) 屠殺日の観察及び検査（Table 8）

いずれの群にも，異常例は認められなかった。

考察

N,N-ジメチルアニリンのラットを用いた反復経口投与毒性・生殖発生毒性併合試験を行い，雌雄動物に対する毒性を検討するとともに雌雄親動物の生殖能力及び児動物の発生・発育に及ぼす影響について検討した。

反復経口投与毒性

100 mg/kg投与群では，雌雄の一般状態の観察において投与2日より回復期間終了時まで皮膚の暗赤色化が全例に認められ，詳細観察においても同様の所見が認められた。*N,N*-ジメチルアニリンの生体に及ぼす影響としては，貧血，メトヘモグロビン血症が知られてお

り¹⁾，皮膚の暗赤色変化はメトヘモグロビン血症に起因したものと推測される．体重推移については，雄では対照群との間に有意差は認められなかったものの，100 mg/kg投与群の母動物では投与7日，妊娠17日及び20日に体重の低値が認められ，交配を実施しなかった雌の回復群でも投与8，22，29，36日，回復1，3，7及び14日に体重の低値が認められた．100 mg/kg投与群の血液学的検査では，投与期間終了時の雌雄に赤血球数，ヘモグロビン量及びヘマトクリット値の低値と平均赤血球容積及び平均赤血球血色素量の高値が認められ，雄では平均赤血球血色素濃度の低値及び白血球数の高値も認められた．また，雄の回復期間終了時にも血液学的検査で平均赤血球血色素濃度の低値と平均赤血球容積及び平均赤血球血色素量の高値が認められた．さらに，血液生化学的検査では，投与期間終了時の雌雄に α_1 -グロブリンの低値及び総ビリルビンの高値が認められ，雄では総蛋白の低値も認められた．これらの変動は，アニリンやニトロベンゼンで認められる変化と類似したものであり²⁻³⁾，*N,N*-ジメチルアニリンはアニリンと同様に血色素のヘムを構成する還元型の2価イオンを酸化して3価イオンとし，メトヘモグロビン形成及び溶血性貧血を惹起したものと推察される⁴⁾．また，雌では，回復期間終了時の血液学的検査及び血液生化学的検査で投与期間終了時とは逆にヘモグロビン，ヘマトクリット値の高値及び総ビリルビンの低値が認められた．これら回復期間終了時の雌に認められた変動は，*N*-エチルアニリン投与メトヘモグロビン血症後の回復期間においても報告されており⁵⁾，この変動の機序は本試験においては明確ではないものの，*N,N*-ジメチルアニリン投与に起因した貧血による大球性の赤血球の残存と赤血球の生成によるものではないかと推測される．なお，雌では，投与期間終了時に尿素窒素の高値が，回復期間終了時にはクレアチニンの低値が認められたが，腎臓の病理組織学的検査では異常は認められなかった．100 mg/kg投与群の剖検では，投与終了時の雌雄全例に脾臓の暗赤色及び腫大が認められ，回復期間終了時の雄にも脾臓の腫大が認められた．また，投与期間終了時の器官重量では，雌雄に脾臓の絶対重量と相対重量の高値が認められ，雄には肝臓の相対重量及び腎臓の相対重量の高値が認められた．さらに，雌の回復期間終了時において脾臓の絶対重量及び相対重量の高値が認められた．病理組織学的検査では，雌雄ともに，投与期間終了時の肝臓には髓外造血の亢進及び黄褐色色素沈着が，脾臓にはうっ血，白脾髄の萎縮，髓外造血の亢進及び黄褐色色素沈着が，骨髓には赤芽球系細胞の過形成が認められた．また，雌雄ともに回復期間終了時の病理組織学的検査で肝臓に及び脾臓に黄褐色色素沈着が認められ，さらに，雄では脾臓にうっ血が，雌では骨髓に赤芽球系細胞の過形成が認められた．これら，脾臓の腫大と脾臓重量の高値及び白脾髄の萎縮は溶血に伴う脾臓のうっ血や髓外造血巣の増加によるものであり，肝臓の相対重量の高値も髓外造血巣の増加によるものと推測される．また，骨髓における赤芽球系の過形成は貧血に対する代償性の反応と推測される．なお，雌の器官重量では，投与期間終了時に心臓の相対重量の高値が認められたが，この変動もメトヘモグロビン形成及び溶血性貧血に起因したもの，あるいは貧血に伴う代償性の反応と判断する．

10 mg/kg投与群の雄では，投与期間終了時の病理組織学的検査で脾臓にうっ血が認めら

れ、肝臓の相対重量にも高値が認められた。また、10 mg/kg投与群の雌では、投与期間終了時の血液生化学的検査で α_1 -グロブリンの低値が認められ、投与期間終了時の病理組織学的検査で骨髄には赤芽球系細胞の過形成が、脾臓にはうっ血が認められた。10 mg/kg投与群に認められたこれらの所見も、軽度ではあるものの、100 mg/kg投与群と同様にメトヘモグロビン形成及び溶血性貧血が生じたものと推測される。なお、10 mg/kg投与群の雄で投与22日に摂餌量の高値が、投与期間終了時には胸腺重量の高値が認められたが、いずれも用量に依存しない変化であり、偶発による変動と推測される。

1 mg/kg投与群の雄では、病理組織学的検査で肝臓に出血性壊死及び小肉芽腫が少数例認められたが、これらはラットに自然発生的に認められる変化であることからN,N-ジメチルアニリン投与の影響はないものと判断する。一方、1 mg/kg投与群の雌では、投与終了時の病理組織学的検査で、骨髄に赤芽球系細胞の過形成が、脾臓にはうっ血が認められたことから、軽度ではあるもののメトヘモグロビン形成及び溶血性貧血が推測される。

生殖発生毒性

各投与群の精巣、精巣上体、精囊、前立腺、卵巣、子宮、膣の病理組織学的検査でN,N-ジメチルアニリン投与に起因した変化は認められなかった。また、性周期、交尾率、交尾所要日数、受胎率、妊娠黄体数、着床数、着床率、出産率、妊娠期間、分娩状態及び哺育状態では、N,N-ジメチルアニリン投与に起因した変化は認められなかった。

児動物に対しては、総産児数、出産死亡児数、出産生児数、性比、生後4日の生存児数及び新生児の4日生存率、一般状態及び剖検にN,N-ジメチルアニリン投与に起因した変化は認められなかった。新生児の外表観察において、N,N-ジメチルアニリン投与に起因した異常は認められなかった。児動物の体重では、各投与群と媒体対照群との間に有意差は認められなかった。

以上のように、雄に関しては10 mg/kg投与群で肝臓の相対重量の高値及び投与期間終了時の病理組織学検査で脾臓のうっ血が認められたものの、1 mg/kg投与群ではN,N-ジメチルアニリン投与の影響は認められなかったことを考慮して、雄の一般毒性学的NOAELは1 mg/kg/dayと推定した。一方、雌に関しては1 mg/kg投与群の投与終了時の病理組織学検査で骨髄に赤芽球系細胞の過形成及び脾臓にうっ血が認められたことを考慮して、雌の一般毒性学的NOAELは1 mg/kg/day未満と推定した。生殖発生学的なNOAELは、いずれの投与群でもN,N-ジメチルアニリン投与に起因した変化は認められなかったことから、100 mg/kg/dayであると推定した。

なお、N,N-ジメチルアニリンの一般毒性学的NOELは、雄では10 mg/kg投与群で肝臓の相対重量の高値及び投与期間終了時の病理組織学検査で脾臓のうっ血が認められたものの、1 mg/kg投与群ではN,N-ジメチルアニリン投与の影響は認められなかったことを考慮して1 mg/kg/dayであり、雌では1 mg/kg投与群の投与終了時の病理組織学検査で骨髄に赤芽球系細胞の過形成及び脾臓にうっ血が認められたことを考慮して1 mg/kg/day未満と推定し

た．生殖発生学的なNOELは，いずれの投与群でも*N,N*-ジメチルアニリン投与に起因した変化は認められなかったことから，100 mg/kg/dayであると推定した．

文献

- 1) 労働基準法施行規則別表第一の二第四号の規定に基づき厚生労働大臣が指定する単体たる化学物質及び化合物（合金を含む．）並びに厚生労働大臣が定める疾病を定める告示，1996年3月29日労働省告示第33号
- 2) Harrison JH, Jollow DJ: Contribution of aniline metabolites to aniline-induced methemoglobinemia. *Mol.Pharmacol.* **32**: 423-431 （1987）
- 3) Facchini V, Griffiths LA: The involvement of the gastro-intestinal microflora in nitro-compound-induced methaemoglobinaemia in rats and its relationship to nitrogroup reduction. *Biochem Pharmacol*, **30**, 931-935 （1981）
- 4) 谷本義文，“毒性試験講座 6-毒性生化学，＜下＞，”佐藤哲夫，上野芳夫，遠藤 仁編，地人書館，東京，1988，p 520
- 5) 伊藤義彦ほか，国立医薬品食品衛生研究所，既存化学物質毒性データベース掲載

本報告書は，平成19年度ハザードデータ評価委員会（独立行政法人製品評価技術基盤機構）で評価後，修正・加筆された．

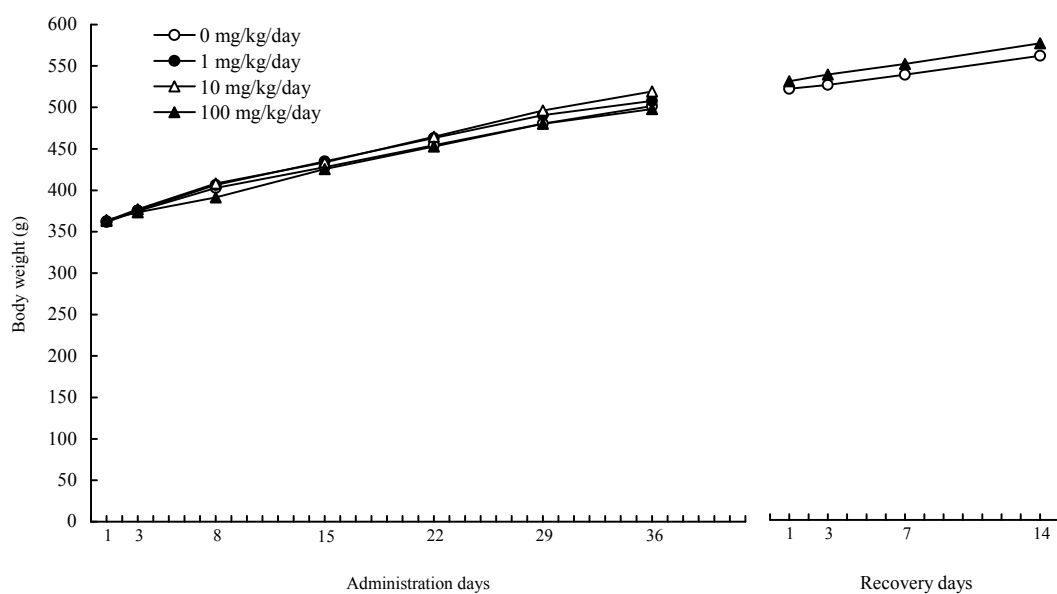


Fig. 1 Body weight changes of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of *N,N*-dimethylaniline by oral administration

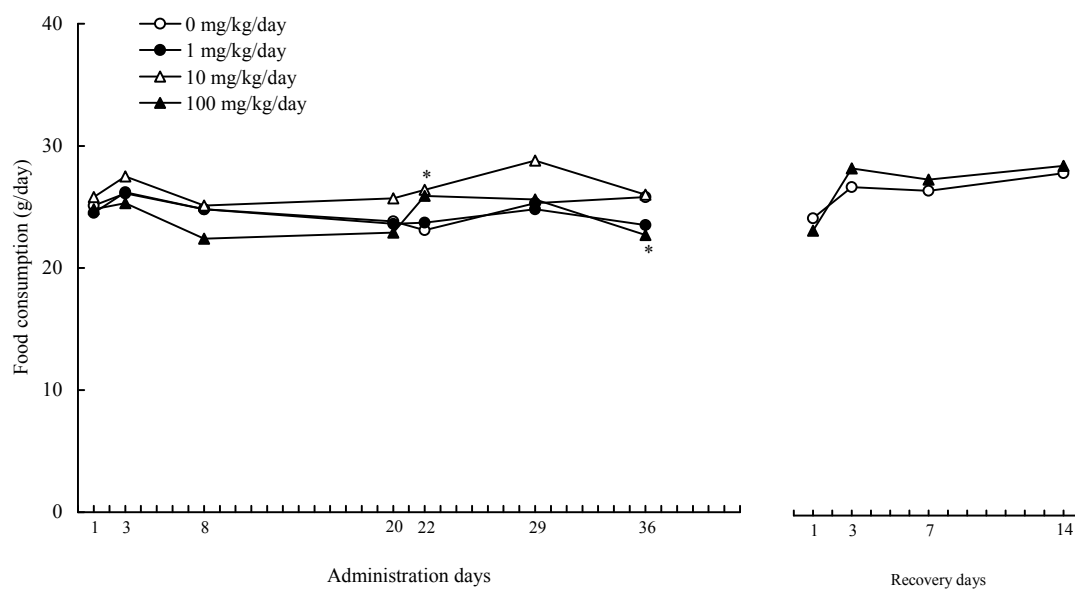


Fig. 2 Food consumption of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of *N,N*-dimethylaniline by oral administration
Significantly different from the control, * : $p < 0.05$ (Dunnett's test).

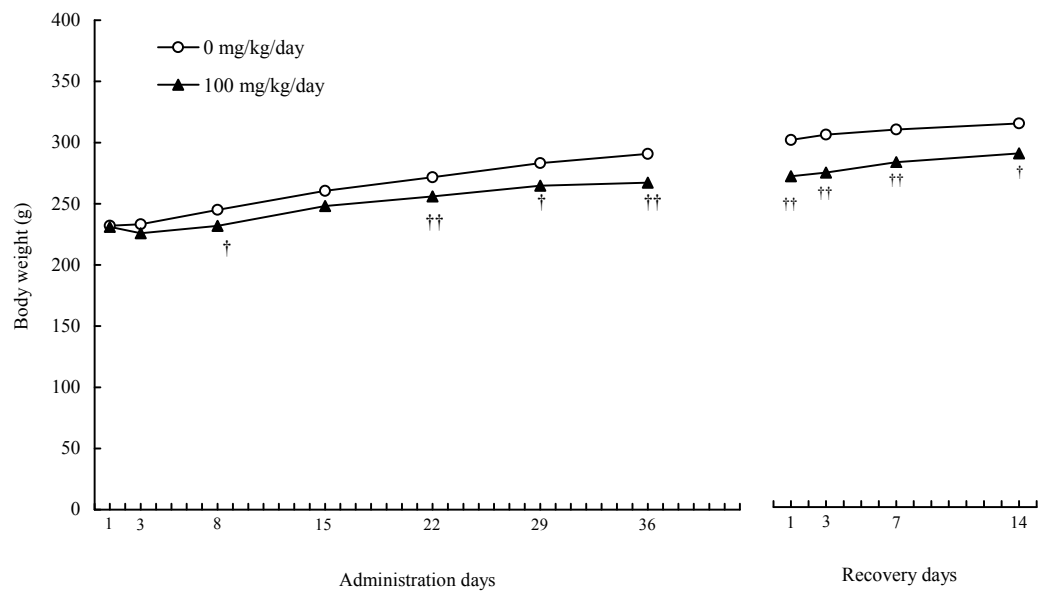


Fig. 3 Body weight changes of female rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of *N,N*-dimethylaniline by oral administration
Significantly different from the control, † : $p < 0.05$, †† : $p < 0.01$ (Student's t-test).

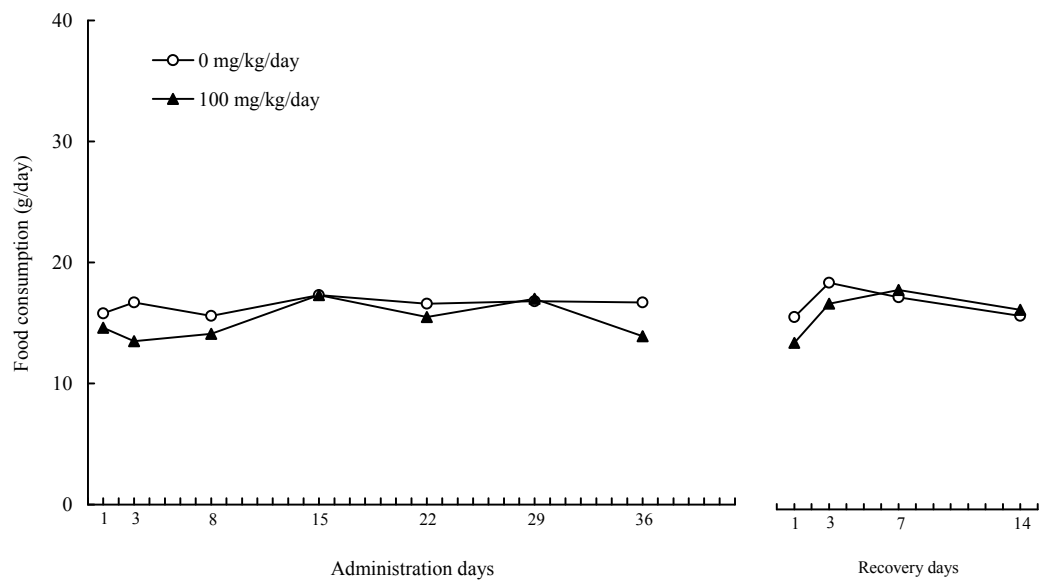


Fig. 4 Food consumption of female rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of *N,N*-dimethylaniline by oral administration

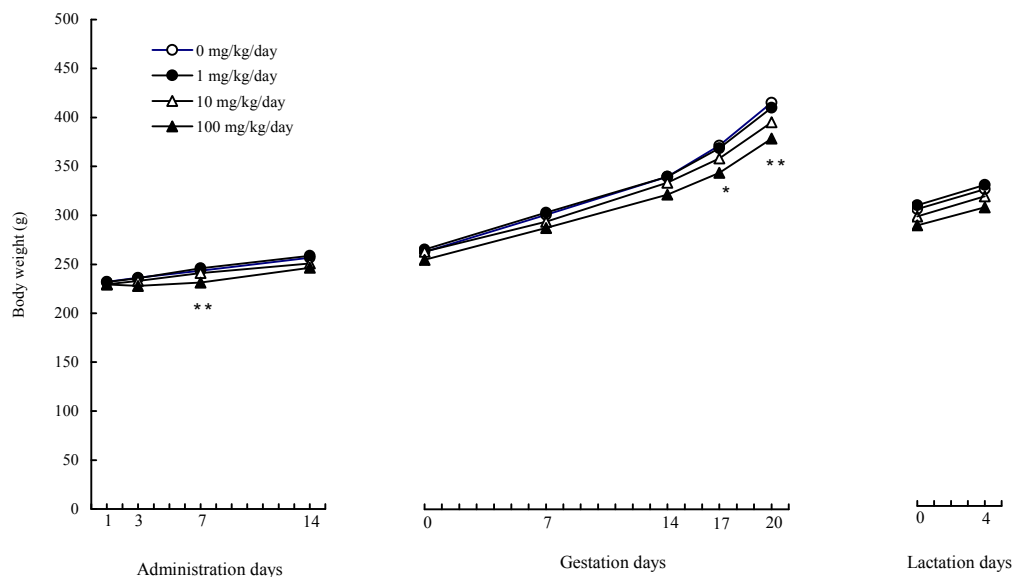


Fig. 5 Body weight changes of female rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of *N,N*-dimethylaniline by oral administration
Significantly different from the control, * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$ (Dunnett's test).

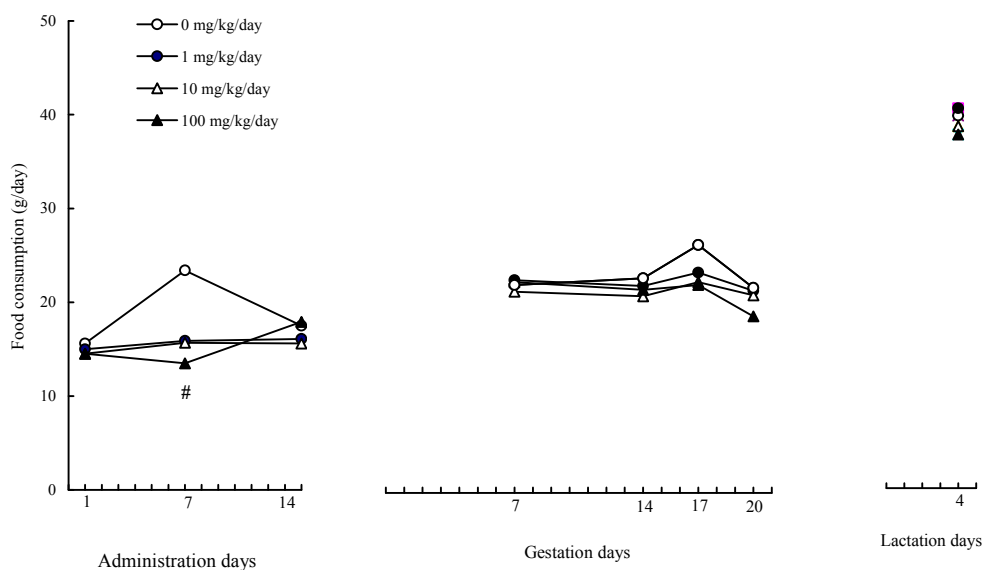


Fig. 6 Food consumption of female rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of *N,N*-dimethylaniline by oral administration
Significantly different from the control, # : $p < 0.05$ (Steel test).

Table 1 Hematological findings of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of *N,N*-dimethylaniline by oral administration

		Termination of administration period				Termination of recovery period	
Dose (mg/kg/day)		0	1	10	100	0	100
Number of animals		5	4 ^{a)}	5	5	5	5
RBC	($\times 10^4/\mu\text{L}$)	911 \pm 45	876 \pm 23	875 \pm 60	623 \pm 51**	873 \pm 63	816 \pm 20
Hemoglobin	(g/dL)	16.9 \pm 0.6	16.3 \pm 0.2	16.2 \pm 0.7	13.5 \pm 0.7**	16.2 \pm 1.0	16.9 \pm 0.2
Hematocrit	(%)	48.1 \pm 2.2	46.9 \pm 0.4	46.9 \pm 2.6	40.7 \pm 2.3**	45.9 \pm 3.4	49.7 \pm 1.5
MCV	(fL)	52.8 \pm 2.8	53.6 \pm 1.2	53.7 \pm 1.4	65.5 \pm 1.7**	52.6 \pm 1.2	60.9 \pm 1.6 ^{††}
MCH	(pg)	18.6 \pm 0.7	18.6 \pm 0.5	18.6 \pm 0.7	21.7 \pm 0.7**	18.6 \pm 0.4	20.7 \pm 0.5 ^{††}
MCHC	(g/dL)	35.2 \pm 0.5	34.7 \pm 0.3	34.6 \pm 0.9	33.1 \pm 0.6**	35.4 \pm 0.9	34.0 \pm 1.0 [†]
WBC	($\times 10^2/\mu\text{L}$)	100 \pm 23	111 \pm 21	99 \pm 18	147 \pm 14**	109 \pm 16	113 \pm 22
Differential WBC count (%)							
Basophil		0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
Eosinophil		1.2 \pm 0.8	1.0 \pm 0.8	1.0 \pm 1.4	1.8 \pm 1.5	0.4 \pm 0.5	1.4 \pm 1.1
Stab neutrophil		0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
Segmented neutrophil		16.2 \pm 5.6	13.3 \pm 5.0	12.4 \pm 4.9	14.8 \pm 5.9	15.6 \pm 10.7	13.4 \pm 7.2
Lymphocyte		82.6 \pm 5.6	85.8 \pm 4.9	86.6 \pm 4.6	83.4 \pm 5.2	84.0 \pm 10.6	85.2 \pm 7.7
Monocyte		0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
Other		0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
Platelet	($\times 10^4/\mu\text{L}$)	95.4 \pm 12.7	101.5 \pm 16.4	111.0 \pm 18.9	113.7 \pm 14.6	111.8 \pm 19.7	109.0 \pm 5.6
PT	(second)	14.9 \pm 0.2	15.4 \pm 0.5	15.0 \pm 0.3	15.5 \pm 0.5	14.8 \pm 0.8	14.9 \pm 0.5
APTT	(second)	14.9 \pm 2.0	17.3 \pm 1.2	15.9 \pm 1.1	15.2 \pm 1.5	16.2 \pm 1.6	15.7 \pm 1.0

a) : Excluded a rat from calculation of mean value, because of the death of anesthetizing.

Each value shows mean \pm S.D.

Significantly different from the control, ** : $p < 0.01$ (Dunnett's test).

Significantly different from the control, \dagger : $p < 0.05$, $\dagger\dagger$: $p < 0.01$ (Student's t-test).

RBC : Red blood cell .

MCV : Mean corpuscular volume.

MCH : Mean corpuscular hemoglobin level.

MCHC : Mean corpuscular hemoglobin concentration.

WBC : White blood cell .

PT : Prothrombin time.

APTT : Activated partial thromboplastin time.

Table 2 Blood biochemical findings of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of *N,N*-dimethylaniline by oral administration

Dose (mg/kg/day)		Termination of administration period				Termination of recovery period	
		0	1	10	100	0	100
Number of animals		5	4 ^{a)}	5	5	5	5
AST	(IU/L)	92 ± 21	67 ± 6	69 ± 5	84 ± 17	100 ± 38	67 ± 6
ALT	(IU/L)	39 ± 17	30 ± 11	29 ± 4	36 ± 13	46 ± 24	29 ± 7
ALP	(IU/L)	268 ± 59	263 ± 40	228 ± 41	195 ± 33	235 ± 24	242 ± 52
Total protein	(g/dL)	6.4 ± 0.1	6.4 ± 0.2	6.6 ± 0.3	6.2 ± 0.0#	6.3 ± 0.2	6.5 ± 0.1
Albumin	(g/dL)	3.7 ± 0.0	3.5 ± 0.2	3.6 ± 0.2	3.5 ± 0.2	3.3 ± 0.5	3.7 ± 0.1
Plasma protein pattern (%)							
Albumin		56.3 ± 1.7	54.8 ± 1.3	55.0 ± 1.7	56.4 ± 2.0	50.3 ± 10.7	54.0 ± 1.5
α_1 -globulin		22.5 ± 0.5	23.4 ± 1.7	22.6 ± 1.6	20.2 ± 0.9*	23.2 ± 4.1	21.1 ± 2.6
α_2 -globulin		5.1 ± 1.2	5.0 ± 0.7	4.3 ± 0.7	5.0 ± 0.4	5.1 ± 1.0	4.9 ± 0.6
β -globulin		13.9 ± 1.5	14.4 ± 0.8	15.4 ± 1.1	15.6 ± 1.9	18.5 ± 6.2	16.2 ± 1.0
γ -globulin		2.2 ± 0.7	2.4 ± 0.2	2.7 ± 0.4	2.8 ± 0.7	2.8 ± 1.1	3.7 ± 0.8
Albumin/Globulin ratio		1.29 ± 0.09	1.21 ± 0.07	1.22 ± 0.08	1.30 ± 0.11	1.07 ± 0.35	1.17 ± 0.07
Glucose	(mg/dL)	153 ± 18	146 ± 6	157 ± 27	155 ± 14	143 ± 23	146 ± 8
Total cholesterol	(mg/dL)	74 ± 23	69 ± 12	69 ± 17	46 ± 6	64 ± 17	70 ± 8
Triglyceride	(mg/dL)	60 ± 19	67 ± 24	67 ± 32	37 ± 10	65 ± 45	72 ± 28
Total bilirubin	(mg/dL)	0.03 ± 0.02	0.04 ± 0.02	0.02 ± 0.02	0.16 ± 0.05**	0.03 ± 0.03	0.01 ± 0.01
Blood urea nitrogen	(mg/dL)	17.8 ± 2.9	15.9 ± 1.6	18.3 ± 3.5	19.5 ± 2.5	19.0 ± 1.1	20.7 ± 2.2
Creatinine	(mg/dL)	0.31 ± 0.02	0.30 ± 0.03	0.32 ± 0.06	0.30 ± 0.04	0.35 ± 0.06	0.32 ± 0.02
Inorganic phosphate	(mg/dL)	6.5 ± 0.7	6.4 ± 0.5	6.6 ± 0.9	6.9 ± 0.7	5.9 ± 0.2	6.4 ± 0.5
Calcium	(mg/dL)	10.2 ± 0.2	10.5 ± 0.2	10.4 ± 0.2	10.3 ± 0.2	10.1 ± 0.3	10.1 ± 0.1
Na	(mEq/L)	148.5 ± 0.6	148.0 ± 0.8	148.2 ± 1.2	147.3 ± 0.4	146.5 ± 1.0	146.3 ± 0.7
K	(mEq/L)	4.53 ± 0.33	4.36 ± 0.24	4.80 ± 0.66	4.63 ± 0.19	4.34 ± 0.18	4.41 ± 0.34
Cl	(mEq/L)	104.6 ± 1.0	104.8 ± 1.3	103.8 ± 1.7	104.4 ± 1.0	103.9 ± 1.0	102.6 ± 1.1

a) : Excluded a rat from calculation of mean value, because of the death of anesthetizing.

Each value shows mean ±S.D.

Significantly different from the control, * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$ (Dunnett's test).

Significantly different from the control, # : $p < 0.05$ (Steel test).

AST : Aspartate aminotransferase.

ALT : Alanine aminotransferase.

ALP : Alkaline phosphatase.

Na : Sodium.

K : Potassium.

Cl : Chlorine.

Table 3 Organ weights of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of *N,N*-dimethylaniline by oral administration

		Termination of administration period				Termination of recovery period	
Dose (mg/kg/day)		0	1	10	100	0	100
Number of animals		7	12	12	7	5	5
Final body weight (g)		496.0 ± 31.4	496.7 ± 35.1	505.6 ± 32.2	470.6 ± 37.4	524.9 ± 45.2	539.2 ± 60.6
Brain	(g)	2.213 ± 0.072	2.210 ± 0.131	2.164 ± 0.091	2.210 ± 0.132	2.235 ± 0.139	2.209 ± 0.086
	(g%)	0.448 ± 0.033	0.447 ± 0.041	0.430 ± 0.033	0.473 ± 0.055	0.428 ± 0.036	0.414 ± 0.046
Thymus	(g)	0.348 ± 0.031	0.375 ± 0.104	0.488 ± 0.130#	0.405 ± 0.086	0.441 ± 0.108	0.440 ± 0.081
	(g%)	0.070 ± 0.007	0.075 ± 0.019	0.096 ± 0.022*	0.087 ± 0.021	0.084 ± 0.020	0.082 ± 0.017
Heart	(g)	1.562 ± 0.113	1.519 ± 0.109	1.476 ± 0.106	1.653 ± 0.295	1.563 ± 0.060	1.615 ± 0.169
	(g%)	0.315 ± 0.026	0.306 ± 0.017	0.292 ± 0.019	0.351 ± 0.056	0.300 ± 0.031	0.300 ± 0.011
Liver	(g)	12.602 ± 1.292	13.339 ± 1.100	14.194 ± 1.830	13.915 ± 2.132	14.786 ± 2.421	14.043 ± 2.333
	(g%)	2.538 ± 0.155	2.690 ± 0.197	2.800 ± 0.232*	2.944 ± 0.240**	2.817 ± 0.392	2.595 ± 0.154
Spleen	(g)	0.738 ± 0.106	0.768 ± 0.112	0.839 ± 0.095	2.259 ± 0.312##	1.023 ± 0.469	1.050 ± 0.158
	(g%)	0.150 ± 0.025	0.155 ± 0.022	0.166 ± 0.016	0.486 ± 0.097##	0.194 ± 0.088	0.195 ± 0.025
Kidneys	(g)	2.687 ± 0.214	2.957 ± 0.244	2.829 ± 0.281	3.038 ± 0.431	3.109 ± 0.197	2.999 ± 0.419
	(g%)	0.542 ± 0.031	0.596 ± 0.041	0.560 ± 0.048	0.645 ± 0.069**	0.594 ± 0.031	0.555 ± 0.024
Adrenals	(mg)	56.0 ± 9.6	62.6 ± 9.0	59.1 ± 8.6	64.4 ± 5.7	64.9 ± 8.8	61.5 ± 7.0
	(mg%)	11.3 ± 1.6	12.7 ± 2.4	11.7 ± 1.8	13.7 ± 1.4	12.3 ± 0.7	11.6 ± 2.1
Testes	(g)	3.382 ± 0.156	3.503 ± 0.281	3.327 ± 0.236	3.451 ± 0.287	3.257 ± 0.201	3.609 ± 0.327
	(g%)	0.684 ± 0.057	0.708 ± 0.073	0.660 ± 0.049	0.739 ± 0.100	0.622 ± 0.021	0.671 ± 0.037†
Epididymides	(g)	1.325 ± 0.114	1.316 ± 0.122	1.323 ± 0.190	1.384 ± 0.131	1.359 ± 0.135	1.413 ± 0.109
	(g%)	0.268 ± 0.027	0.266 ± 0.032	0.263 ± 0.041	0.296 ± 0.040	0.259 ± 0.015	0.264 ± 0.025

Each value shows mean±S.D.

Significantly different from the control, * : p<0.05, ** : p<0.01 (Dunnett's test).

Significantly different from the control, # : p<0.05, ## : p<0.01 (Steel test).

Significantly different from the control, † : p<0.05 (Student's t-test).

Table 4 Hematological findings of female rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of *N,N*-dimethylaniline by oral administration

		Termination of administration period				Termination of recovery period	
Dose (mg/kg/day)		0	1	10	100	0	100
Number of animals		5	5	5	5	4 ^{a)}	5
RBC	($\times 10^4/\mu\text{L}$)	717 \pm 20	706 \pm 22	678 \pm 56	490 \pm 32**	820 \pm 23	768 \pm 25 [†]
Hemoglobin	(g/dL)	14.5 \pm 0.2	14.6 \pm 0.7	14.1 \pm 0.9	12.4 \pm 0.4**	16.0 \pm 0.1	16.8 \pm 0.4 ^{††}
Hematocrit	(%)	41.3 \pm 1.9	41.5 \pm 2.3	40.1 \pm 1.8	37.6 \pm 1.4*	44.6 \pm 0.7	47.9 \pm 1.7 ^{††}
MCV	(fL)	57.6 \pm 2.2	58.8 \pm 3.1	59.3 \pm 2.7	77.0 \pm 4.5**	54.5 \pm 2.1	62.4 \pm 1.6 ^{††}
MCH	(pg)	20.2 \pm 0.6	20.6 \pm 0.8	20.8 \pm 1.1	25.5 \pm 1.4**	19.5 \pm 0.6	21.9 \pm 0.6 ^{††}
MCHC	(g/dL)	35.2 \pm 1.4	35.1 \pm 0.5	35.2 \pm 0.9	33.1 \pm 0.3	35.7 \pm 0.6	35.2 \pm 0.6
WBC	($\times 10^2/\mu\text{L}$)	150 \pm 43	117 \pm 38	112 \pm 30	121 \pm 29	58 \pm 12	62 \pm 12
Differential WBC count (%)							
Basophil		0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
Eosinophil		0.8 \pm 1.3	0.2 \pm 0.4	0.2 \pm 0.4	0.2 \pm 0.4	1.8 \pm 1.5	0.2 \pm 0.4
Stab neutrophil		0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
Segmented neutrophil		28.6 \pm 5.9	23.8 \pm 7.6	26.0 \pm 4.7	23.2 \pm 9.7	11.5 \pm 4.5	11.0 \pm 6.9
Lymphocyte		70.6 \pm 6.5	76.0 \pm 7.5	73.8 \pm 4.9	76.6 \pm 9.9	86.8 \pm 5.7	88.8 \pm 6.9
Monocyte		0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
Other		0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
Platelet	($\times 10^4/\mu\text{L}$)	113.2 \pm 2.5	115.2 \pm 8.9	111.1 \pm 7.5	109.3 \pm 14.9	105.5 \pm 13.3	106.0 \pm 11.3
PT	(second)	16.5 \pm 0.3	16.5 \pm 0.3	17.1 \pm 0.5	16.6 \pm 0.6	16.0 \pm 0.8	16.3 \pm 0.8
APTT	(second)	12.7 \pm 1.7	11.8 \pm 1.2	12.1 \pm 0.4	11.3 \pm 0.9	12.9 \pm 1.0	12.1 \pm 1.2

a) : Excluded a rat from calculation of mean value, because of the death of anesthetizing.

Each value shows mean \pm S.D.

Significantly different from the control, * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$ (Dunnett's test).

Significantly different from the control, [†] : $p < 0.05$, ^{††} : $p < 0.01$ (Student's t-test).

RBC : Red blood cell .

MCV : Mean corpuscular volume.

MCH : Mean corpuscular hemoglobin level.

MCHC : Mean corpuscular hemoglobin concentration.

WBC : White blood cell .

PT : Prothrombin time.

APTT : Activated partial thromboplastin time.

Table 5 Blood biochemical findings of female rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of *N,N*-dimethylaniline by oral administration

Dose (mg/kg/day)		Termination of administration period				Termination of recovery period	
		0	1	10	100	0	100
Number of animals		5	5	5	5	4 ^{a)}	5
AST	(IU/L)	74 ± 9	74 ± 7	78 ± 7	82 ± 3	76 ± 23	71 ± 31
ALT	(IU/L)	47 ± 5	41 ± 8	41 ± 5	50 ± 9	35 ± 14	25 ± 8
ALP	(IU/L)	147 ± 64	166 ± 56	154 ± 67	155 ± 52	90 ± 17	116 ± 26
Total protein	(g/dL)	6.0 ± 0.4	5.9 ± 0.3	6.0 ± 0.2	6.1 ± 0.3	7.1 ± 0.4	7.0 ± 0.5
Albumin	(g/dL)	3.5 ± 0.2	3.4 ± 0.2	3.5 ± 0.1	3.6 ± 0.3	4.6 ± 0.3	4.5 ± 0.4
Plasma protein pattern (%)							
Albumin		56.2 ± 2.4	54.8 ± 0.7	57.0 ± 2.6	58.8 ± 2.3	64.8 ± 3.2	65.3 ± 3.1
α ₁ -globulin		20.5 ± 0.3	20.7 ± 1.6	17.4 ± 1.8#	17.3 ± 1.5#	15.6 ± 1.7	15.0 ± 1.6
α ₂ -globulin		4.1 ± 0.5	4.3 ± 0.2	4.1 ± 0.1	4.1 ± 0.7	4.2 ± 0.5	4.2 ± 0.5
β-globulin		14.9 ± 1.7	16.6 ± 1.5	16.7 ± 1.0	15.6 ± 2.3	12.3 ± 1.7	12.2 ± 1.1
γ-globulin		4.2 ± 1.3	3.6 ± 0.9	4.7 ± 1.1	4.2 ± 0.8	3.2 ± 1.1	3.3 ± 0.8
Albumin/Globulin ratio		1.28 ± 0.13	1.21 ± 0.03	1.33 ± 0.14	1.43 ± 0.14	1.86 ± 0.26	1.90 ± 0.24
Glucose	(mg/dL)	130 ± 27	122 ± 17	123 ± 12	116 ± 7	137 ± 13	135 ± 9
Total cholesterol	(mg/dL)	62 ± 15	69 ± 12	62 ± 5	69 ± 13	81 ± 18	66 ± 15
Triglyceride	(mg/dL)	48 ± 17	44 ± 34	36 ± 8	34 ± 11	48 ± 29	31 ± 22
Total bilirubin	(mg/dL)	0.06 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.06 ± 0.02	0.22 ± 0.06#	0.08 ± 0.01	0.03 ± 0.01 ^{††}
Blood urea nitrogen	(mg/dL)	12.7 ± 2.7	16.9 ± 2.3	15.6 ± 2.7	19.5 ± 3.5**	17.5 ± 0.9	16.1 ± 1.5
Creatinine	(mg/dL)	0.31 ± 0.02	0.31 ± 0.03	0.30 ± 0.03	0.30 ± 0.05	0.36 ± 0.02	0.30 ± 0.03 [†]
Inorganic phosphate	(mg/dL)	7.9 ± 1.0	8.3 ± 1.2	7.7 ± 1.8	8.6 ± 0.8	5.4 ± 1.0	5.3 ± 0.4
Calcium	(mg/dL)	10.7 ± 0.8	10.6 ± 0.5	10.4 ± 0.5	10.4 ± 0.3	10.3 ± 0.4	10.4 ± 0.5
Na	(mEq/L)	145.5 ± 0.9	144.9 ± 1.4	144.6 ± 0.8	144.5 ± 0.6	145.5 ± 0.8	145.8 ± 1.0
K	(mEq/L)	4.59 ± 0.25	4.79 ± 0.55	4.73 ± 1.07	4.95 ± 0.34	3.65 ± 0.22	3.56 ± 0.30
Cl	(mEq/L)	102.5 ± 2.1	104.0 ± 2.2	104.3 ± 1.3	103.5 ± 0.9	104.8 ± 1.5	105.4 ± 1.9

a) : Excluded a rat from calculation of mean value, because of the death of anesthetizing.

Each value shows mean ±S.D.

Significantly different from the control, ** : p<0.01 (Dunnett's test).

Significantly different from the control, # : p<0.05 (Steel test).

Significantly different from the control, † : p<0.05, ††: p<0.01 (Student's t-test).

AST : Aspartate aminotransferase.

ALT : Alanine aminotransferase.

ALP : Alkaline phosphatase.

Na : Sodium.

K : Potassium.

Cl : Chlorine.

Table 6 Organ weights of female rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of *N,N*-dimethylaniline by oral administration

		Termination of administration period				Termination of recovery period	
Dose (mg/kg/day)		0	1	10	100	0	100
Number of animals		12	12	12	12	5	5
Final body weight (g)		299.4 ± 24.5	305.5 ± 22.1	290.6 ± 17.4	282.2 ± 15.6	295.5 ± 12.1	269.9 ± 9.1 ^{††}
Brain	(g)	2.029 ± 0.083	2.075 ± 0.085	2.108 ± 0.064	2.053 ± 0.073	2.028 ± 0.043	2.044 ± 0.044
	(g%)	0.681 ± 0.059	0.682 ± 0.055	0.727 ± 0.039	0.729 ± 0.046	0.688 ± 0.041	0.758 ± 0.028 [†]
Thymus	(g)	0.244 ± 0.097	0.290 ± 0.086	0.244 ± 0.045	0.260 ± 0.065	0.408 ± 0.086	0.298 ± 0.099
	(g%)	0.080 ± 0.028	0.095 ± 0.026	0.084 ± 0.017	0.092 ± 0.021	0.138 ± 0.030	0.112 ± 0.040
Heart	(g)	1.033 ± 0.105	1.062 ± 0.092	1.079 ± 0.138	1.062 ± 0.104	0.914 ± 0.086	0.927 ± 0.067
	(g%)	0.345 ± 0.016	0.348 ± 0.024	0.371 ± 0.041	0.376 ± 0.026#	0.310 ± 0.038	0.343 ± 0.025
Liver	(g)	9.280 ± 0.905	9.811 ± 1.065	9.761 ± 1.731	9.501 ± 0.897	7.097 ± 0.397	6.821 ± 0.505
	(g%)	3.105 ± 0.254	3.212 ± 0.286	3.350 ± 0.494	3.364 ± 0.224	2.404 ± 0.145	2.527 ± 0.169
Spleen	(g)	0.621 ± 0.139	0.664 ± 0.106	0.774 ± 0.179	1.901 ± 0.281##	0.499 ± 0.035	0.588 ± 0.075 [†]
	(g%)	0.208 ± 0.044	0.219 ± 0.041	0.266 ± 0.059	0.675 ± 0.104##	0.169 ± 0.015	0.218 ± 0.028 ^{††}
Kidneys	(g)	1.855 ± 0.129	1.859 ± 0.182	1.974 ± 0.179	1.896 ± 0.155	1.594 ± 0.102	1.688 ± 0.090
	(g%)	0.622 ± 0.050	0.609 ± 0.053	0.680 ± 0.052*	0.673 ± 0.052	0.540 ± 0.048	0.626 ± 0.039 [†]
Adrenals	(mg)	77.0 ± 9.5	77.0 ± 11.3	77.6 ± 11.5	78.2 ± 11.2	69.4 ± 8.2	71.9 ± 16.7
	(mg%)	25.8 ± 3.1	25.2 ± 3.7	26.8 ± 4.2	27.7 ± 3.8	23.5 ± 2.7	26.7 ± 6.4

Each value shows mean±S.D.

Significantly different from the control, * : p<0.05 (Dunnett's test).

Significantly different from the control, # : p<0.05, ## : p<0.01 (Steel test).

Significantly different from the control, † : p<0.05, †† : p<0.01 (Student's t-test).

Table 7 Estrous cycle of female rats and reproductive performance of male and female rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of *N,N*-dimethylaniline by oral administration

Dose (mg/kg/day)	0	1	10	100
Number of females	12	12	12	12
Length of estrous cycle before mating (14 days)				
Mean \pm S.D.	4.1 \pm 0.1	4.2 \pm 0.3	4.1 \pm 0.1	4.1 \pm 0.1
Number of females with abnormal estrous cycle before mating (14days) ^{a)}	0 / 12	0 / 12	0 / 12	0 / 12
Number of pairs in 1st mating	12	12	12	12
Number of pairs with successful copulation	12	12	12	12
Copulation index (%) ^{b)}	100	100	100	100
Number of conceiving days				
Mean \pm S.D.	2.6 \pm 1.0	2.8 \pm 1.2	3.3 \pm 1.1	2.9 \pm 1.1
Conceiving days 1-5	12	12	12	12
Conceiving days \geq 6	0	0	0	0
Number of impregnant males	12	12	12	12
Fertility index of males (%) ^{c)}	100	100	100	100
Number of pregnant females	12	12	12	12
Fertility index of females (%) ^{d)}	100	100	100	100
Number of pregnant females with live pups	12	12	12	12

a) No. of females with abnormal estrous cycle / No. of females examined.

b) (No. of pairs with successful copulation / No. of pairs) \times 100.

c) (No. of impregnant males / No. of pairs with successful copulation) \times 100.

d) (No. of pregnant females / No. of pairs with successful copulation) \times 100.

Table 8 Observations of pups in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of *N,N*-dimethylaniline by oral administration

Dose (mg/kg/day)	0	1	10	100
Number of dams	12	12	12	11
Length of gestation (days)	22.5 ± 0.5	22.3 ± 0.5	22.8 ± 0.5	22.3 ± 0.5
Corpora lutea	19.1 ± 3.4	19.8 ± 4.7	19.3 ± 4.6	19.0 ± 4.1
Implantation scars	15.2 ± 1.3	14.1 ± 1.8	13.0 ± 3.3	13.8 ± 1.3
Implantation index (%) ^{a)}	81.3 ± 13.0	74.4 ± 19.1	70.7 ± 22.0	75.0 ± 12.9
Gestation index (%) ^{b)}	100	100	100	100
Pups born	14.1 ± 1.7	12.8 ± 3.1	11.5 ± 3.2	12.3 ± 1.2
Stillbirths	0.1 ± 0.3	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Live pups born	14.0 ± 1.8	12.8 ± 3.1	11.5 ± 3.2	12.3 ± 1.2
Delivery index (%) ^{c)}	93.1 ± 10.0	89.3 ± 13.6	88.1 ± 10.6	89.6 ± 9.9
Birth index (%) ^{d)}	92.6 ± 11.0	89.3 ± 13.6	88.1 ± 10.6	89.6 ± 9.9
Live birth index (%) ^{e)}	99.3 ± 2.4	100.0 ± 0.0	100.0 ± 0.0	100.0 ± 0.0
Live pups on day 4 of lactation	13.8 ± 1.9	12.5 ± 3.0	11.5 ± 3.2	11.4 ± 1.7
Viability index (%) ^{f)}	98.2 ± 4.6	98.3 ± 4.1	100.0 ± 0.0	92.6 ± 10.6
External anomalies (%) ^{g)}	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Sex ratio at birth (stillbirths included) ^{h)}	87 / 169	81 / 153	81 / 138	55 / 148
Mean ± S.D.	0.52 ± 0.12	0.50 ± 0.15	0.57 ± 0.16	0.37 ± 0.09#
Sex ratio at birth (stillbirths declined) ⁱ⁾	86 / 168	81 / 153	81 / 138	55 / 148
Mean ± S.D.	0.51 ± 0.12	0.50 ± 0.15	0.57 ± 0.16	0.37 ± 0.09#
Sex ratio on day 4 of lactation ^{j)}	84 / 165	80 / 150	81 / 138	53 / 137
Mean ± S.D.	0.51 ± 0.12	0.51 ± 0.15	0.57 ± 0.16	0.37 ± 0.09#
Body weight of pups (g)				
Male Day 0	6.75 ± 0.70	6.87 ± 0.75	7.30 ± 0.86	6.56 ± 0.52
4	9.92 ± 1.85	10.58 ± 1.68	11.54 ± 1.87	10.26 ± 1.16
Female Day 0	6.36 ± 0.56	6.43 ± 0.61	6.79 ± 0.90	6.20 ± 0.45
4	9.37 ± 1.63	9.99 ± 1.47	10.87 ± 1.91	9.82 ± 1.10

Each values shows mean±S.D.

Significantly different from the control, # : p<0.05 (Steel test).

b) (No. of dams with live pups / No. of pregnant dams)×100.

d) (No. of live pups born / No. of implantation scars)×100.

f) (No. of live pups on day 4 of lactation / No. of live pups born)×100.

h) Total number of male pups born / Total number of male and female pups born. i) Total number of live males / Total number of live males and females.

j) Total number of live males on day 4 of lactation / Total number of live males and females on day 4 of lactation.

a) (No. of implantation scars / No. of corpora lutea)×100.

c) (No. of pups born / No. of implantation scars)×100.

e) (No. of live pups born / No. of pups born)×100.

g) (No. of pups with external anomalies / No. of live pups)×100.

《連絡先》

日精バイリス株式会社 滋賀研究所

〒528-0052 滋賀県甲賀市水口町宇川555

Tel 0748-63-5251 Fax 0748-62-9062

《Correspondence》

NISSEI BILIS Co., Ltd., Shiga Laboratory

555, Ukawa, Minakuchi, Koka, Shiga 528-0052, Japan

Tel: +81-748-62-2316, Fax +81-748-62-9062