

3. 試験実施概要

3.1 表題

クロロシクロヘキサンのラットを用いた経口投与による急性毒性試験

3.2 試験番号

B041793

3.3 試験目的

クロロシクロヘキサンをラットに経口投与し、その急性毒性を検討する。

3.4 適用ガイドライン

OECD ガイドライン No. 423, December 17, 2001

3.5 適用 GLP

OECD Principles of Good Laboratory Practice (as revised in 1997)

「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」

(厚生労働省医薬食品局長・経済産業省製造産業局長・環境省総合環境政策局長連名基準, 薬食発第 1121003 号, 平成 15・11・17 製局第 3 号, 環企発第 031121004 号, 平成 15 年 11 月 21 日)

3.6 試験委託者

厚生労働省医薬食品局審査管理課化学物質安全対策室
東京都千代田区霞が関一丁目 2 番 2 号

3.7 試験受託者

株式会社三菱化学安全科学研究所
東京都港区芝二丁目 1 番 30 号

3.8 試験施設

株式会社三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所
茨城県神栖市砂山 14 番地

3.9 試験責任者

星野 信人
株式会社三菱化学安全科学研究所
鹿島研究所 安全性第 2 研究部
茨城県神栖市砂山 14 番地

5. 要約

クロロシクロヘキサンを OECD テストガイドライン (TG) 423 に従って 8~9 週齢の SD 系雌ラット (CrI:CD(SD)) に強制経口投与し, その急性経口毒性を検討した. 投与用量は第 1 回および 2 回投与を 300 mg/kg, 第 3 回および 4 回投与を 2000 mg/kg とした. クロロシクロヘキサンをオリブ油で溶解調製し, 投与前日の夕方から絶食したラットに 5 mL/kg の液量で投与した.

第 1 回~4 回投与群の 300 および 2000 mg/kg の用量いずれにも, 死亡例はなく, 一般状態および剖検に異常は認められなかった. 2000 mg/kg では体重増加の抑制や減少がみられたが投与第 8 日には回復した.

本試験条件下におけるクロロシクロヘキサンの概略の半数致死量は, 2000 mg/kg 以上, Globally Harmonized Classification System (GHS) は Category 5 (>2000-5000 mg/kg b.w.) に分類された.

6. 緒言

クロロシクロヘキサンはシクロヘキサンの水素 1 個がクロールに置換された構造を有し脂環式炭化水素に属する化学物質で, 農薬原料, ゴム薬原料等に用いられている[1],[2]. 毒性情報としては, ラット LD₅₀ 値が 3 g/kg との報告がある[3]. 今回, OECD による既存化学物質の安全性点検に係わる毒性調査事業の一環として, OECD TG423 に従いラットの急性毒性試験を行ったので報告する.

その後の投与段階には第2回投与を B041793A, 第3回投与を B041793B, 第4回投与を B041793C とした。

8. 結果および結論

8.1 一般状態 (Table 1, Appendix 1)

第1回~4回投与群の 300 および 2000 mg/kg とも死亡はなく, 一般状態にも変化は認められなかった。

8.2 体重および体重増加量 (Tables 2 and 3, Appendix 2 and 3)

第1回および2回投与群の 300 mg/kg では, 体重は順調に増加した。

第3回および4回投与群の 2000 mg/kg では, 投与第4日に体重増加の抑制あるいは減少が認められたが, 第8日には回復し, 第15日には 300 mg/kg と同等となった。

8.3 剖検 (Table 4, Appendix 4)

第1回~4回投与群の 300 および 2000 mg/kg とも異常は認められなかった。

8.4 結論

クロロシクロヘキサンを 300 および 2000 mg/kg の用量で雌ラットに単回経口投与し, その急性毒性変化を検討した。

第1回~4回投与群の 300 および 2000 mg/kg の用量いずれにも, 死亡例はなく, 一般状態および剖検に異常は認められなかった。2000 mg/kg では体重増加の抑制や減少がみられたが投与第8日には回復した。

本試験条件下におけるクロロシクロヘキサンの概略の半数致死量は, 2000 mg/kg 以上, GHS は Category 5 (>2000-5000 mg/kg b.w.) に分類された。

Table 1 Clinical Sign - Summary

Female

Test Substance	Day																				
	10	20	30	40	50	60	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
Dose	Findings																				
CCH	Number of Animals																				
300 mg/kg (First)	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	No Abnormality																				
CCH	Number of Animals																				
300 mg/kg (Second)	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	No Abnormality																				
CCH	Number of Animals																				
2000 mg/kg (Third)	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	No Abnormality																				
CCH	Number of Animals																				
2000 mg/kg (Fourth)	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	No Abnormality																				

+, Present; 1, Slight; 2, Moderate; 3, Severe;

Time 10, Before dosing;

Time 60, 6 hr. after dosing;

Time 20, 10 min. after dosing; Time 30, 30 min. after dosing; Time 40, 1 hr. after dosing; Time 50, 3 hr. after dosing;

Female

Table 2 Body Weight - Summary

Test Substance	Day				Unit : g
	1	4	8	15	
CCH 300 mg/kg (First)	Mean	188.0	212.3	221.0	248.0
	S.D.	5.6	8.4	7.8	17.4
	n	3	3	3	3
CCH 300 mg/kg (Second)	Mean	194.0	220.7	229.0	241.3
	S.D.	5.3	3.5	1.7	7.6
	n	3	3	3	3
CCH 2000 mg/kg (Third)	Mean	182.7	182.7	211.0	235.0
	S.D.	4.5	4.2	6.0	10.5
	n	3	3	3	3
CCH 2000 mg/kg (Fourth)	Mean	196.0	184.7	221.3	255.0
	S.D.	4.4	5.7	12.3	19.1
	n	3	3	3	3

Table 3 Body Weight Gain - Summary Female

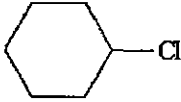
Test Substance	Day			8-15			Unit : g
	1-4	4-8	8-15	1-4	4-8	8-15	
CCH 300 mg/kg (First)	Mean	24.3	8.7	27.0			
	S. D.	4.0	1.2	9.6			
	n	3	3	3			
CCH 300 mg/kg (Second)	Mean	26.7	8.3	12.3			
	S. D.	2.1	2.1	6.7			
	n	3	3	3			
CCH 2000 mg/kg (Third)	Mean	0.0	26.3	24.0			
	S. D.	1.0	9.5	8.7			
	n	3	3	3			
CCH 2000 mg/kg (Fourth)	Mean	-11.3	36.7	33.7			
	S. D.	2.3	8.1	12.6			
	n	3	3	3			

Table 4 Necropsy Findings - Summary

Organ Findings	Scheduled Sacrifice (Day 15)				
	Sex	CCH (First)	CCH (Second)	CCH (Third)	CCH (Fourth)
Test Substance	Female	300	300	2000	2000
Dose (mg/kg)		3	3	3	3
Number of Animals		<3>	<3>	<3>	<3>
Number of Animals Examined		3	3	3	3
No abnormality					

ほ乳類を用いた既存化学物質毒性試験結果報告書

1. 一般的事項

既存化学物質の名称 (IUPAC命名法による)	クロロシクロヘキサン				
別名	シクロヘキシルクロリド	分子量	118.61		
構造式又は示性式 (又はその製法の概要)	 Lot No. 5C1114 (C ₆ H ₁₁ Cl)	物理化学性状	常温に於ける性状	無色～わずかにうすい黄色	
試験に供した化学物質の純度		99.7%	安定性	—	
			融点	-44℃	
不純物の名称および濃度		—	沸点	142℃	
			蒸気圧	6.73 mmHg (25℃)	
CAS番号		542-18-7	分配係数	—	
			対水溶解度	500 mg/L (25℃)	
試験に供した化学物質の純度		99.7%	溶解度	水	50 mg/mLで不溶*1
				DMSO	500 mg/mLで溶解*1
				アセトン	—
	生食			50 mg/mLで不溶*1	
CAS番号	542-18-7	度	その他	—	

1) DMSO: ジメチルスルホキシド, 生食: 生理食塩液, *1: 試験施設で実施した溶媒検討の結果による。

2. 急性毒性試験および投与量設定試験

試験No.	試験の種類及び期間	動物種	1群当りの動物数	投与経路	投与量 (mg/kg/day)	LD ₅₀ 値又はNOEL* (mg/kg)	実験場所
1	急性毒性試験	ラット	雌 3 匹 ^{a)}	経口	300 300 2000 2000	第1回投与：3匹中死亡なし 第2回投与：3匹中死亡なし 第3回投与：3匹中死亡なし 第4回投与：3匹中死亡なし Category 5 (>2000-5000 mg/kg b.w.) に分類された。	㈱三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所
2	投与量設定試験 (14日間反復)	ラット	雄 3 匹/群 雌 3 匹/群	経口	1000 300 100 30 0	第8日までに雌雄全例が死亡 ^{b)} した。 雄では被験物質に起因する明確な変化は認められなかった。雌では流産、副腎重量の高値が認められた。 被験物質に起因する変化は認められなかった。NOEL 被験物質に起因する変化は認められなかった。	㈱三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所

*NOEL: No-Observed-Effect Level

a) 第1回～4回のいずれも雌3匹に投与した。

b) 瀕死期解剖動物を含む。

3. 経口投与反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験

被験物質	クロロシクロヘキサン CAS No. : 542-18-7		
被験物質投与期間	雄：平成 17年7月12日～平成17年8月22日 [計42日間] 雌：平成 17年7月12日～平成17年9月4日		
使用動物種・系統 投与経路	ワット, Cri:CD(SD) 強制経口投与	1群の動物数；雌雄各12匹（雌は対照群および 300 mg/kg群に回復動物として各5匹を追加）	被験物質純度 99.7%

1) 反復投与毒性

用量 (mg/kg/day) 検査項目 [性] [動物数] ^{g)}	対照群	10	60	300	対照群	300
	投与終了後				回復終了後	
	♂/♀ [7/12]	♂/♀ [12/12]	♂/♀ [12/12]	♂/♀ [7/12]	♂/♀ [5/5]	♂/♀ [5/5]
(↑↓：傾向, △▽：P<0.05, ▲▼：P<0.01, --：変化なし, *：検査せず)						
一般状態						
流産	0/0	0/0	0/0	12/6	0/0	0/0
下腹部の汚れ ^{d)}	0/0	0/0	0/1	0/0	0/0	0/0
分娩未了 ^{d)}	0/0	0/1	0/0	0/0	0/0	0/0
全出産児死亡 ^{d)}	0/0	0/0	0/1	0/0	0/0	0/0
行動検査						
詳細な症状観察	--/--	--/--	--/--	--/--	--/--	--/--
機能検査	--/--	--/--	--/--	--/--	--/--	--/--
自発運動量	--/--	--/--	--/--	--/--	--/--	--/--
体重	--/--	--/--	--/--	--/--	--/--	--/--
体重 (体重増加量) ^{e)}	--/--	--/▽	--/▼	▽/▽	--/--	--/--
摂餌量	--/--	--/--	--/--	--/--	--/--	--/--
血液学検査						
網赤血球数 ^{f)}	--/--	--/--	--/--	△/--	--/--	▽/--
血液生化学検査						
無機リン	--/--	--/--	--/--	--/▽	--/--	--/--
γGT ^{g)}	--/--	--/--	--/--	--/--	--/--	--/▽
雄の尿検査	--/*	--/*	--/*	--/*	*/*	*/*
器官重量						
腎臓：絶対重量	--/--	--/--	--/--	↑/--	--/--	↑/--
腎臓：相対重量	--/--	--/--	--/--	▲/--	--/--	△/--
肝臓：相対重量	--/--	--/--	--/--	--/--	--/--	▲/△
脾臓：相対重量	--/--	--/--	--/--	--/--	--/--	--/△
心臓：絶対重量	--/--	--/--	--/--	--/▽	--/--	--/--

c) 対照群および300 mg/kg群の雄は投与後解剖動物を7匹、残り5匹は回復動物に供した。

d) 被験物質と関連のない変化と判断した。

e) 10, 60 mg/kg群で哺育4日の体重増加量に抑制がみられたが、300mg/kg群では変化がないことから分娩に伴う一時的な低値と考えられる。

f) 回復終了後の検査では、低値を示し回復したのと考えられる。

g) 投与終了後の検査で変化がなかったことから、偶発的な変化と判断した。

3. 経口投与反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験

被験物質	クロロシクロヘキサン CAS No. : 542-18-7		
被験物質投与期間	雄：平成 17年7月12日～平成17年8月22日 [計42日間] 雌：平成 17年7月12日～平成17年9月4日		
使用動物種・系統 投与経路	マウス, Crl:CD(SD) 強制経口投与	1群の動物数；雌雄各12匹（雌は対照群および 300 mg/kg群に回復動物として各5匹を追加）	被験物質純度 99.7%

1) 反復投与毒性

用量 (mg/kg/day) 検査項目	[性] [動物数] ^{g)}	対照群	10	60	300	対照群	300
		投与終了後				回復終了後	
		♂/♀ [7/12]	♂/♀ [12/12]	♂/♀ [12/12]	♂/♀ [7/12]	♂/♀ [5/5]	♂/♀ [5/5]
(↑↓：傾向, Δ▽：P<0.05, ▲▼：P<0.01, -：変化なし, *：検査せず)							
一般状態							
流涎	+	0/0	0/0	0/0	12/6	0/0	0/0
下腹部の汚れ ^{h)}		0/0	0/0	0/1	0/0	0/0	0/0
分娩未了 ^{h)}		0/0	0/1	0/0	0/0	0/0	0/0
全出産児死亡 ^{h)}		0/0	0/0	0/1	0/0	0/0	0/0
行動検査							
詳細な症状観察		-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
機能検査		-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
自発運動量		-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
体重		-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
体重 (体重増加量) ^{g)}		-/-	-/▽	-/▼	▽/▽	-/-	-/-
摂餌量		-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
血液学検査							
網赤血球数 ^{g)}		-/-	-/-	-/-	Δ/-	-/-	▽/-
血液生化学検査							
無機リン		-/-	-/-	-/-	-/▽	-/-	-/-
γGT ^{g)}		-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/▽
雄の尿検査		-/*	-/*	-/*	-/*	*/*	*/*
器官重量							
腎臓：絶対重量		-/-	-/-	-/-	↑/-	-/-	↑/-
腎臓：相対重量		-/-	-/-	-/-	▲/-	-/-	Δ/-
肝臓：相対重量		-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	▲/Δ
脾臓：相対重量		-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/Δ
心臓：絶対重量		-/-	-/-	-/-	-/▽	-/-	-/-

- c) 対照群および300 mg/kg群の雄は投与後解剖動物を7匹、残り5匹は回復動物に供した。
d) 被験物質と関連のない変化と判断した。
e) 10, 60 mg/kg群で哺育4日の体重増加量に抑制がみられたが、300mg/kg群では変化がないことから分娩に伴う一時的な低値と考えられる。
f) 回復終了後の検査では、低値を示し回復したのと考えられる。
g) 投与終了後の検査で変化がなかったことから、偶発的な変化と判断した。

続き

用量 (mg/kg/day) 検査項目		対照群	10	60	300	対照群	300	60
		投与終了後				回復終了後		全児死亡
		♂/♀	♂/♀	♂/♀	♂/♀	♂/♀	♂/♀	♀
		(↑↓:傾向, △▽: P<0.05, ▲▼: P<0.01, -:変化なし, *検査せず)						
剖検所見	計画解剖動物[数]	[7/12]	[12/12]	[12/11]	[7/12]	[5/5]	[5/5]	[1]
	胸腺:							
	小型化	0/0	0/0	0/1	0/0	0/0	0/0	1
	脾臓:							
	小型化	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1
	肝臓:							
	分葉異常	0/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0
	白色結節	2/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0
	精巣:							
	小型化	0/-	0/-	1/-	0/-	0/-	1/-	-
	軟化	0/-	0/-	1/-	0/-	0/-	0/-	-
	精巣上部:							
	小型化	0/-	0/-	1/-	0/-	0/-	0/-	-
	黄色化	0/-	0/-	1/-	0/-	0/-	0/-	-
卵巣:								
卵巣囊拡張	-/0	-/1	-/0	-/0	-/0	-/0	0	
子宮:								
遺残胎児	-/0	-/1	-/0	-/0	-/0	-/0	0	
病理組織所見	検査動物[数]	[5/5]	[0/0]	[0/0]	[5/5]	[0/0]	[0/0]	[0]
	心臓:							
	炎症性細胞浸潤	3/2	*/*	*/*	2/2	*/*	*/*	*
	胸腺:	[5/5]	[0/0]	[0/1]	[5/5]	[0/0]	[0/0]	[1]
	萎縮	0/3	*/*	*/*	0/3	*/*	*/*	0
		0/0	*/*	*/*	0/0	*/*	*/*	0
		0/0	*/*	*/*	0/0	*/*	*/*	1
	脾臓:	[5/5]	[0/0]	[0/0]	[5/5]	[0/0]	[0/0]	[0]
	骨髓外造血	0/3	*/*	*/*	0/4	*/*	*/*	*
	気管:	[5/5]	[0/0]	[0/0]	[5/5]	[0/0]	[0/0]	[0]
	気管腺の拡張	0/0	*/*	*/*	0/1	*/*	*/*	*
	肺:	[5/5]	[0/0]	[0/0]	[5/5]	[0/0]	[0/0]	[0]
	肺胞内における泡沫細胞の集簇	1/2	*/*	*/*	2/2	*/*	*/*	*
	出血	1/1	*/*	*/*	0/0	*/*	*/*	*
	骨化生	0/1	*/*	*/*	0/0	*/*	*/*	*
	動脈壁における鉍質沈着	0/0	*/*	*/*	0/1	*/*	*/*	*
	胃:	[5/5]	[0/0]	[0/0]	[5/5]	[0/0]	[0/0]	[0]
	異所性の脾臓組織	0/1	*/*	*/*	0/0	*/*	*/*	*
	肝臓:	[5/6]	[0/0]	[0/0]	[5/5]	[0/0]	[0/0]	[0]
	限局性炎症性細胞浸潤	2/2	*/*	*/*	2/1	*/*	*/*	*
	限局性, 肝細胞, 脂肪化	2/0	*/*	*/*	0/0	*/*	*/*	*
小葉辺縁性, 肝細胞, 空胞化	2/0	*/*	*/*	1/0	*/*	*/*	*	

続き

用量 (mg/kg/day) 検査項目		対照群	10	60	300	対照群	300	60
		投与終了後				回復終了後		全死死亡
		♂/♀	♂/♀	♂/♀	♂/♀	♂/♀	♂/♀	♀
		(↑↓:傾向, Δ▽: P<0.05, ▲▼: P<0.01, -:変化なし, *検査せず)						
病理組織所見	腎臓:	[5/5]	[5/0]	[5/0]	[5/5]	[5/0]	[5/0]	[0]
	近位尿細管, 好塩基性尿細管 +	4/3	1/*	2/*	1/1	2/*	2/*	*
	硝子円柱, 尿細管間質におけるリンパ球浸潤 +	1/0	0/*	1/*	0/0	0/*	0/*	*
	近位尿細管における硝子滴沈着 ++	0/0	1/*	1/*	0/0	1/*	1/*	*
	腎盂, 炎症性細胞浸潤 +	0/0	0/*	0/*	▲5/0	0/*	0/*	*
	膀胱:	[5/5]	[5/5]	[5/5]	[5/5]	[5/5]	[5/5]	[0]
	粘膜固有層におけるリンパ球浸潤 +	0/0	0/0	0/0	1/1	0/0	1/1	*
	粘膜上皮の(単純)過形成 +	0/0	0/0	2/0	Δ4/4Δ	0/0	0/3	*
	精巣:	[5/-]	[0/-]	[1/-]	[5/-]	[0/-]	[1/-]	[-]
	精細管の萎縮 +	1/	*/	0/	0/	*/	*/	
	++	0/	*/	1/	0/	*/	1/	
	精巣上体:	[5/-]	[0/-]	[2/-]	[5/-]	[0/-]	[0/-]	[-]
	精巣上体管における細胞残屑 +	0/	*/	1/	0/	*/	*/	
	限局性細胞浸潤 +	0/	*/	0/	1/	*/	*/	
	精巣上体管における精子減少 ++	0/	*/	1/	0/	*/	*/	
	精子肉芽腫 +	0/	*/	1/	0/	*/	*/	
	精囊:	[5/-]	[0/-]	[0/-]	[5/-]	[0/-]	[0/-]	[-]
	間質におけるリンパ球浸潤 +	2/	*/	*/	3/	*/	*/	
	卵巢	[-/0]	[-/1] ^{b)}	[-/0]	[-/0]	[-/0]	[-/0]	[0]
	卵巢嚢, 炎症性細胞浸潤 +	/*	/1	/*	/*	/*	/*	*
	卵巢嚢の拡張 +	/*	/1	/*	/*	/*	/*	*
	黄体細胞の壊死(片側) +++	/*	/1	/*	/*	/*	/*	*
	下垂体:	[5/5]	[0/0]	[0/0]	[5/5]	[0/0]	[0/0]	[0]
	異所性頭蓋咽頭管組織 +	0/0	*/*	*/*	0/1	*/*	*/*	*
	甲状腺:	[5/5]	[0/0]	[0/0]	[5/5]	[0/0]	[0/0]	[0]
異所性胸腺組織 +	1/2	*/*	*/*	0/0	*/*	*/*	*	
鯉後体遺残 +	2/1	*/*	*/*	2/2	*/*	*/*	*	
副腎:	[5/5]	[0/0]	[0/0]	[5/5]	[0/0]	[0/0]	[0]	
副副腎 +	1/0	*/*	*/*	0/1	*/*	*/*	*	
限局性, 束状帯, 脂肪化 +	1/0	*/*	*/*	0/0	*/*	*/*	*	
その他, 異常所見の認められなかった器官・組織 脳, リンパ節(下顎・腸間膜), 十二指腸, 空腸, 回腸, 盲腸, 結腸, 直腸, 上皮小体, 精嚢腺(凝固腺含む), 子宮, 膈, 骨髓(大腿骨), 坐骨神経, 脊髄								

h) 分娩未了の動物.

2) 生殖発生毒性

用量(mg/kg/day) 検査項目	対照群	10	60	300
	♂/♀	♂/♀	♂/♀	♂/♀
	(↑↓:傾向, △▽: P<0.05, ▲▼: P<0.01, -: 変化なし, *: 検査せず)			
検査母動物[数]	[12]	[12]	[12]	[12]
Pregnancy Data				
平均性周期日数	4.13	4.08	4.25	4.00
異常性周期の発現数	0/12	0/12	0/12	0/12
交配対[12]	[12]	[12]	[12]	[12]
交尾率 Copulation Index (%) [数]	100.0 [12/12]	100.0 [12/12]	100.0 [12/12]	100.0 [12/12]
受胎率 Fertility Index (%) [数]	100.0 [12/12]	100.0 [12/12]	100.0 [12/12]	100.0 [12/12]
検査母動物[数]	[12]	[12]	[12]	[12]
黄体数	16.7	15.9	15.5	15.8
着床数	15.4	13.9	14.4	15.2
着床率 Implantation Index (%)	92.88	86.63	92.75	95.88
受胎雌数	12	12	12	12
生児出産雌数	12	11	12	12
出産率 Gestation Index (%)	100.0	91.7	100.0	100.0
分娩動物[数]	[12]	[11]	[12]	[12]
妊娠期間 Gestation Length (days)	22.8	22.6	22.7	22.6
哺育異常	0	0	0	0
Litter Data				
出産児数 ¹⁾ (総出産児数)	14.1 (169)	14.0 (154)	14.0 (168)	14.3 (171)
分娩率 Delivery Index (%)	91.40	88.97	96.82	94.23
生存児数 (哺育0日)	13.8	14.0	13.5	14.2
出生率 Live Birth Index (%)	98.20	100.00	97.06	99.48
性比 (♂/♀) 分娩日	0.92	1.33	0.81	1.28
生存児数 (哺育4日)	13.6	13.8	12.5	14.1
新生児の4日生存率				
Viability Index (%)	98.33	98.75	91.11	99.44
体重 哺育0日(g)	7.3/7.0	7.1/6.6	7.1/6.7	6.6/6.2
体重 哺育4日(g)	11.9/11.4	11.7/11.0	11.8/11.3	10.4/10.0
体重増加量 哺育0-4日(g)	4.6/4.4	4.6/4.3	4.6/4.4	3.9/3.8
新生児				
外表異常の発現率 (%)				
無尾 (例数)	0.0	0.0	0.6(1)	0.0
鎖肛 (例数)	0.0	0.0	0.6(1)	0.0
剖検所見	-	-	-	-

1) 1腹当たりの平均出産児数

NOEL (mg/kg/day)	<p>[反復投与毒性] 雄： 10 mg/kg/day 雌： 60 mg/kg/day</p> <p>[生殖発生毒性] 親動物：雌雄 300 mg/kg/day 児動物： 300 mg/kg/day</p>
NOEL の推定根拠	<p>[反復投与毒性] 300 mg/kg 群で投与後の流涎および体重増加の抑制が雌雄、腎臓の近位尿細管上皮における硝子滴沈着の増強が 300 mg/kg 群の雄、膀胱粘膜の単純過形成が 60 mg/kg 以上の群の雄および 300 mg/kg 群の雌で認められた。その他、300 mg/kg 群では網赤血球数の高値が雄、無機リンの低値が雌、腎臓重量の高値が雄で認められた。</p> <p>[生殖発生毒性] 生殖発生毒性への影響は親動物および新生児に対しても被験物質に起因する変化は認められなかった。</p>

4. その他

試験実施施設	名称	株式会社三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所
	所在地	茨城県神栖市砂山 14 番地 電話 0479-46-2871 (代表) FAX 0479-46-2874 (代表)
試験責任者	職氏名	安全性第 2 研究部 副主任研究員 [REDACTED]
	経験年数	10 年間
試験番号	B-041794	
試験実施年月日	2005年6月20日 ~ 2007年1月23日	

3. 試験実施概要

3.1 表題

クロロシクロヘキサンのラットを用いた経口投与による反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験

3.2 試験番号

B041794

3.3 試験目的

クロロシクロヘキサンを経口投与した時の反復投与毒性および生殖発生毒性を検討する。

3.4 適用ガイドライン

OECD ガイドライン No.422, March 22, 1996

3.5 適用 GLP

OECD Principles of Good Laboratory Practice (as revised in 1997)

「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」

(厚生労働省医薬食品局長・経済産業省製造産業局長・環境省総合環境政策局長連名基準, 薬食発第 1121003 号, 平成 15・11・17 製局第 3 号, 環企発第 031121004 号, 平成 15 年 11 月 21 日)

3.6 試験委託者

厚生労働省医薬食品局審査管理課化学物質安全対策室
東京都千代田区霞が関一丁目 2 番 2 号

3.7 試験受託者

株式会社三菱化学安全科学研究所
東京都港区芝二丁目 1 番 30 号

3.8 試験施設

株式会社三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所
茨城県神栖市砂山 14 番地

3.9 試験責任者

株式会社三菱化学安全科学研究所

5. 要約

クロロシクロヘキサンを 10, 60 および 300 mg/kg/day の用量で SD 系ラット [CrI:CD(SD)] の雌雄に交配前 14 日から交配を経て雄は計 42 日間、雌は妊娠、分娩を経て哺育 4 日まで投与し、反復投与毒性および生殖発生毒性、ならびにそれらの変化の回復性について検討した。1 群の動物数は雄で各 12 匹（回復動物含む）、雌で各 12 匹（回復動物として対照群および 300 mg/kg 群に各 5 匹を追加）とし、対照群には媒体（局方オリブ油）のみを投与した。

反復投与毒性

投与後の流涎および体重増加の抑制が 300 mg/kg 群の雌雄で認められた。病理組織学検査では、腎臓の近位尿細管上皮における硝子滴沈着の増強が 300 mg/kg 群の雄、膀胱粘膜の単純過形成が 60 mg/kg 以上の群の雄および 300 mg/kg 群の雌で認められた。その他、300 mg/kg 群では網赤血球数の高値が雄、無機リンの低値が雌、腎臓重量の高値が雄で認められた。これらの変化は 2 週間の回復期間により回復傾向を示したが、雄の腎臓重量、雌の膀胱粘膜の単純過形成では明確な回復は認められなかった。

その他、詳細な症状観察、機能検査および自発運動量測定でも被験物質の影響はなく、神経症状を示唆する変化は認められなかった。また、生殖器系に対し被験物質に起因する変化は認められなかった。

生殖発生毒性

親動物に対し性周期、交尾率、受胎率、分娩率、妊娠期間、黄体数、着床数、着床率、出産率、分娩および哺育行動、新生児に対しては出産児数、出生率、性比、新生児の 4 日生存率、外表、一般状態、体重および剖検のいずれにも被験物質に起因する変化は認められなかった。

以上の結果から、クロロシクロヘキサンの本試験条件下における反復投与毒性に関する無影響量は雄で 10 mg/kg/day、雌で 60 mg/kg/day、生殖発生毒性に関する無影響量は雌雄の親動物および児動物とも 300 mg/kg/day と考えられる。

8. 結果

8.1 反復投与毒性

8.1.1 一般状態

結果を Tables 1-6, Appendices 1-6 に示す。

投与後の症状として、流涎が 300 mg/kg 群の第 9 日から剖検までの間に、雄で全例、雌で 6 例に認められた。分娩未了が 10 mg/kg 群の 1 例（動物番号：50205）、全出産児死亡が 60 mg/kg 群の 1 例（動物番号：50304）に認められた。分娩未了の動物は分娩開始から 2 日間（妊娠 23 日～25 日、難産）を要しても分娩が完了しなかったため交尾確認後 26 日に、全出産児が死亡した母動物は哺育 0 日より下腹部の汚れを示し、哺育 2 日に出産児が全例死亡したためそれぞれ剖検した。回復期間中は雌雄ともに異常は認められなかった。

8.1.2 行動検査

8.1.2.1 詳細な症状観察

結果を Table 7, Appendices 7, 8 に示す。

投与期間中、雌雄とも被験物質の影響と考えられる変化は認められなかった。

8.1.2.2 機能検査

結果を Table 8, Appendices 9, 10 に示す。

刺激に対する反応性および握力測定の結果、雌雄とも被験物質の影響と考えられる変化は認められなかった。

8.1.2.3 自発運動量の測定

結果を Figs. 1, 2, Tables 9, 10, Appendices 11, 12 に示す。

雌雄とも各測定点および合計の運動量は、各被験物質投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。

8.1.3 体重

結果を Figs. 3-5, Tables 11-20, Appendices 13-22 に示す。

300 mg/kg 群の雄で体重増加の抑制が第 8 日から 42 日まで認められた。同群の雌では体重増加量が対照群と比べ第 15 日に低値を示しただけであったが、妊娠期間中では体重増加の抑制傾向を示した。

その他、10 および 60 mg/kg 群の雌で哺育 4 日の体重増加量が対照群と比べ低値を示した。しかし、300 mg/kg 群では変化がないことから分娩に伴う一時的な低値と考えられる。

回復期間中は雌雄とも対照群との間に有意差は認められなかった。

8.1.4 摂餌量

結果を Figs. 6-8, Tables 21-25, Appendices 23-27 に示す。

雌雄の投与期間および回復期間のいずれにも、各被験物質投与群と対照群の間に有意差は認められなかった。

8.1.5 血液学検査

結果を Tables 26, 27, Appendices 28, 29 に示す。

投与終了後の検査では、網赤血球数の高値が 300 mg/kg 群の雄に認められた。回復終了後の検査では、同群の前述の項目が低値を示し、回復したものと考えられる。10, 60 mg/kg 群の雄および雌では、対照群との間に有意差は認められなかった。

8.1.6 血液生化学検査

結果を Tables 28, 29, Appendices 30, 31 に示す。

投与終了後の検査で無機リンの低値が 300 mg/kg 群の雌で認められた。

回復終了後の検査で γ GTの低値が 300 mg/kg 群の雌で認められたが、投与終了後検査では変化がなかったことから、偶発的な変化と考えられる。

雄および 10, 60 mg/kg 群の雌では、対照群との間に有意差は認められなかった。

8.1.7 雄の尿検査

結果を Table 30, Appendix 32 に示す。

各被験物質投与群とも変化は認められなかった。

8.1.8 器官重量

結果を Tables 31-36, Appendices 33-38 に示す。

投与期間終了後の検査で、腎臓の絶対重量の高値傾向、相対重量の高値が 300 mg/kg 群の雄で認められた。

回復期間終了の検査では、腎臓の絶対重量の高値傾向、相対重量の高値、肝臓の相対重量の高値が 300 mg/kg 群の雄、肝臓および脾臓の相対重量の高値が同群の雌で認められた。

なお、心臓の絶対重量の低値が 300 mg/kg 群の雌でみられたが、解剖時の体重が低値傾向を示していること、相対重量に変化がないことから偶発的な変化と考えられる。その他、10, 60 mg/kg 群の雌雄とも対照群との間に有意差は認められなかった。

8.1.9 剖検所見

結果を Table 37, Appendices 39, 40 に示す。

生殖器系への変化として、投与後解剖動物では両側性の精巣の小型および軟化な

らびに両側性の精巣上体の小型が 60 mg/kg 群の 1 例（動物番号：00303）、両側性の精巣上体の黄色化が同群の 1 例（動物番号：00311）、回復後解剖動物では両側性の精巣の小型が 300 mg/kg 群の 1 例（動物番号：00408）に認められた。上記の投与後解剖動物はいずれも雌との交尾が認められ、その相手雌は受胎していることから生殖機能に影響を及ぼすものではないと考えられる。なお、本所見は対照群でもしばしば観察されることから、被験物質に起因する変化ではないと判断した。

分娩未了の 10 mg/kg 群の 1 例（動物番号：50205、非分娩動物）では、左子宮角における胎児遺残および同側卵巣における卵巣嚢の拡張が認められた。また、妊娠 26 日に剖検したことから、遺残した胎児は正常より大型であった。全出産児が死亡した 60 mg/kg 群の 1 例（動物番号：50304）では、胸腺および脾臓の小型化が認められた。

その他、投与後および回復後解剖動物でいくつかの肉眼的変化が認められたが、用量群に関係なく散発的な発現であることから被験物質とは関連のない変化と判断した。

8.1.10 病理組織所見

結果を Table 38, Appendices 39, 40 に示す。

被験物質に起因すると思われる変化が雄の腎臓および雌雄の膀胱に認められた。その発現状況を文中表 1 にまとめた。

文中表 1 被験物質に起因すると思われる病理組織変化とその発現状況

器官名 所見	性別 運命情報 用量 (mg/kg) 検査動物数	雄						雌					
		投与後解剖				回復後解剖		投与後解剖		回復後解剖			
		0	10	60	300	0	300	0	10	60	300	0	300
		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		グレード											
腎臓													
硝子滴の沈着	+	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0
	++	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0
膀胱													
粘膜上皮の単純過形成	+	0	0	2	4	0	0	0	0	0	4	0	3

グレード：+, 軽微；++, 軽度

腎臓では、近位尿細管上皮における硝子滴沈着の増強が投与後解剖動物の 300 mg/kg 群の雄で認められた。すなわち、300 mg/kg 群では軽度の硝子滴が雄全例、10 および 60 mg/kg 群では軽微な変化が雄各 1 例に認められた。なお、回復後の対照群でも軽微な変化が雄 1 例にみられていることから、10 および 60 mg/kg 群の変化は自然発生性の変化と考えられる。一方、回復終了後の 300 mg/kg 群でも軽微な変化が雄 1 例にみられただけで、休薬により回復を示しているものと考えられる。

膀胱では、軽微な膀胱粘膜の単純過形成が 60 mg/kg 群の雄 2 例、300 mg/kg 群の

雌雄各4例に認められた。回復後の解剖動物では軽微な変化が300 mg/kg 群の雌3例に認められ、回復期間を経ることで雄では消失、雌では消失しなかった。なお、粘膜固有層におけるリンパ球浸潤が、300 mg/kg 群の投与後解剖動物および回復後解剖動物のそれぞれ雌雄各1例に認められた。この変化は自然発生的にみられる程度であり発現頻度も低いことから、被験物質とは関連のない変化と判断した。また、これらリンパ球浸潤を示した動物では、粘膜の単純過形成が300 mg/kg 群の回復後解剖動物の雄1例を除き認められた。しかし、他の粘膜の単純過形成を示した動物ではリンパ球浸潤がないことから、リンパ球浸潤と過形成との間に明確な関連性はないものと考えられる。

このほか生殖器を含め、種々の組織変化が投与後および回復後解剖動物の対照群を含む各群で認められた。しかし、それらはラットでは非特異的に発現する変化であり、その発現状況に明らかな群差がみられないことから、被験物質と関連のない変化と判断した。

剖検時、胎児遺残と卵巣囊の拡張がみられた非分娩動物では、卵巣囊および周囲脂肪組織に炎症性細胞浸潤が認められ、卵巣の黄体細胞の壊死が顕著であった。なお、対側卵巣には異常は認められなかった。胸腺および脾臓の小型化が認められた全出産児が死亡した母動物では、胸腺は萎縮していたが、脾臓には組織学的異常は認められなかった。

8.2 生殖発生毒性

8.2.1 生殖機能

結果を Table 39, Appendices 41, 42 に示す。

性周期検査では、4日周期を示した動物が対照群、10, 60 および 300 mg/kg 群でそれぞれ12例中、10, 11, 9 および 12例であり、被験物質による性周期の延長あるいは短縮は認められなかった。また、異常性周期を示す動物は認められなかった。

交尾は各群の全例で成立し、交尾率、受胎率、交尾所要日数、交尾成立までに逸した発情期の回数ともに被験物質投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。

8.2.2 分娩および哺育状態

結果を Table 40, Appendix 43 に示す。

妊娠期間、黄体数、着床数、着床率および分娩率のいずれにも被験物質投与群と対照群との間に有意な差は認められなかった。

分娩状態の観察では、分娩未了が10 mg/kg 群の1例（動物番号：50205）に認められた。妊娠23日の観察では新生児2例の娩出がみられたが、翌日には2例とも食殺され、母動物の子宮内には胎児が触診により確認された。本動物の観察を続けたが分娩が完了しなかったため、妊娠26日に剖検し、子宮内に胎児3例の

遺残を確認した。全出産児の死亡が 60 mg/kg 群の 1 例（動物番号：50304）で哺育 2 日にみられたが、当該母動物は分娩後に授乳、胎盤摂取、新生児回集などの哺育行動を示さなかった。その他の母動物に分娩および哺育行動の異常は認められなかった。

8.2.3 新生児への影響

8.2.3.1 新生児の観察

結果を Tables 41, 42, 45, Appendices 44, 45, 48 に示す。

生後 0 日および 4 日の生存児の性比が 10 mg/kg 群、生後 4 日の生存児の性比が 300 mg/kg 群でそれぞれ対照群と比べ有意差が認められた。その他、出産児数、出生率および新生児の 4 日生存率では被験物質投与群と対照群との間に有意差はなく、一般状態においても被験物質に起因する変化は認められなかった。なお、外表異常として無尾および鎖肛の合併が 60 mg/kg 群の雄 1 例で認められたが、1 例にみられただけで、300 mg/kg 群では観察されていないことから、被験物質と関連のない自然発生性の変化と判断した。

8.2.3.2 体重

結果を Tables 43, 44, Appendices 46, 47, 50 に示す。

雌雄の体重および体重増加量とも被験物質投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。

8.2.3.3 剖検

結果を Table 46, Appendix 49 に示す。

生後 4 日の生存児の剖検および死亡児の剖検では、被験物質に起因する異常所見は認められなかった。

9. 考察および結論

クロロシクロヘキサンを 10, 60 および 300 mg/kg の用量で SD 系ラット〔CrI:CD(SD)〕の雌雄に交配前 14 日から交配を経て雄は計 42 日間、雌は妊娠、分娩を経て哺育 4 日まで投与し、反復投与毒性および生殖発生毒性、ならびにそれらの変化の回復性について検討した。

反復投与毒性

投与後の流涎が 300 mg/kg 群で雄全例、雌 6 例に認められた。製造者の安全データシートによれば接触、経口、吸入の各経路において刺激を有すること[3]、被験物質の類似物質であるシクロヘキサンは皮膚刺激物質であることが知られている[2]ことから、流涎は被験物質が有する刺激作用により誘発された変化と考えられる。その他、投与期間中には被験物質に起因する変化は認められなかった。分娩未了が 10 mg/kg 群、全出産児死亡が 60 mg/kg 群で各 1 例にみられたが、300 mg/kg 群では分娩および哺育行動の異常が認められていないことから、被験物質と関連のない偶発的な変化と考えられる。なお、詳細な症状観察、機能検査および自発運動量測定でも被験物質の影響はなく、神経症状を示唆する変化は認められなかった。

病理学検査の結果、被験物質に起因する変化として腎臓の近位尿細管上皮における硝子滴沈着の増強が 300 mg/kg 群の雄、膀胱粘膜の単純過形成が 60 mg/kg 以上の群の雄および 300 mg/kg 群の雌で認められた。腎臓における硝子滴の沈着は、蛋白質が尿細管上皮に再吸収されることで発現する変化であり、雄ラットでは種々の化学物質投与によって α 2U グロブリンを含む硝子滴の発現が増強するとされている[5]。本試験でも雄においてのみ発現し、300 mg/kg 群ではその程度が増強された。また、器官重量では腎臓重量の高値が 300 mg/kg 群の雄で認められ、組織学的変化に起因するものと考えられる。

膀胱における膀胱粘膜の単純過形成は、種々の原因による移行上皮の損傷部における再生像であり、毒性学的な刺激を除去すれば正常に回復するとされている[6]。本試験では 2 週間の回復期間により雄では消失したが、雌での回復性は認められなかった。剖検および病理組織学検査では、生殖器系に対し被験物質に起因する変化は認められなかった。

体重増加の抑制が投与期間中の 300 mg/kg 群の雌雄で認められた。網赤血球数の高値が 300 mg/kg 群の雄でみられたが、造血器系の重量変化や組織学検査でも異常がなく、その影響の程度としては軽度なものと考えられる。血液生化学検査では無機リンの低値が 300 mg/kg 群の雌で認められた。しかし、無機リンの低下と関連すると考えられる上皮小体機能亢進や腎尿細管の再吸収障害などを示唆する病理組織学変化がみられなかったことから、その要因は不明であった。器官重量

では、回復期間終了後の検査で、肝臓の相対重量の高値が 300 mg/kg 群の雄、肝臓および脾臓の相対重量の高値が同群の雌で認められた。投与期間終了後の検査でも同器官は高値傾向を示し、被験物質の影響が疑われた。しかし、血液検査、血液生化学検査および病理組織学検査などから重量増加を示唆する変化が認められていないことから、毒性学的に重要な変化ではないと考えられる。

被験物質に起因する上述の変化は、回復期間により対照群と同様となるか、あるいは消失し、回復傾向を示しているものと考えられる。しかし、雄の腎臓重量、雌の膀胱粘膜の単純過形成については明確な回復性が認められなかった。

生殖発生毒性

性周期、交尾率、受胎率、分娩率、妊娠期間、黄体数、着床数、着床率、出産率、分娩および哺育行動のいずれにも被験物質に起因する変化は認められず、親動物に対し生殖機能への影響はないと考えられる。

新生児の検査において、生後 0 日および 4 日の生存児の性比が 10 mg/kg 群、生後 4 日の生存児の性比が 300 mg/kg 群でそれぞれ対照群と比べ有意差が認められた。しかし、生後 0 日の時点の全出産児における性比には有意差がないこと、被験物質投与群で雌雄の偏りについて一定の傾向がないこと、対照群における死亡児の偏りが認められたことから、被験物質と関連のない偶発的な変化と考えられる。その他の検査では、出産児数、出生率、生後 4 日の生存率、外表、一般状態、体重および剖検のいずれにも被験物質に起因する変化は認められなかった。したがって、被験物質は次世代の発生および発育へ影響を及ぼすものではないと考えられる。

以上のように、クロロシクロヘキサンを反復経口投与した結果、一般毒性学的な主な変化として、300 mg/kg 群で投与後の流涎および体重増加の抑制が雌雄、腎臓における硝子滴の沈着と重量増加が雄、さらに 60 mg/kg 以上の群の雄および 300 mg/kg 群の雌で膀胱粘膜の単純過形成が認められた。これらの変化は 2 週間の回復期間により回復傾向を示したが、雄の腎臓重量および雌の膀胱粘膜の単純過形成は 2 週間以上の回復期間が必要と考えられた。生殖発生毒性への影響は親動物および新生児に対しても被験物質に起因する変化は認められなかった。

したがって、本試験条件下における反復投与毒性に関する無影響量は雄で 10 mg/kg/day、雌で 60 mg/kg/day、生殖発生毒性に関する無影響量は雌雄の親動物および児動物とも 300 mg/kg/day と考えられる。

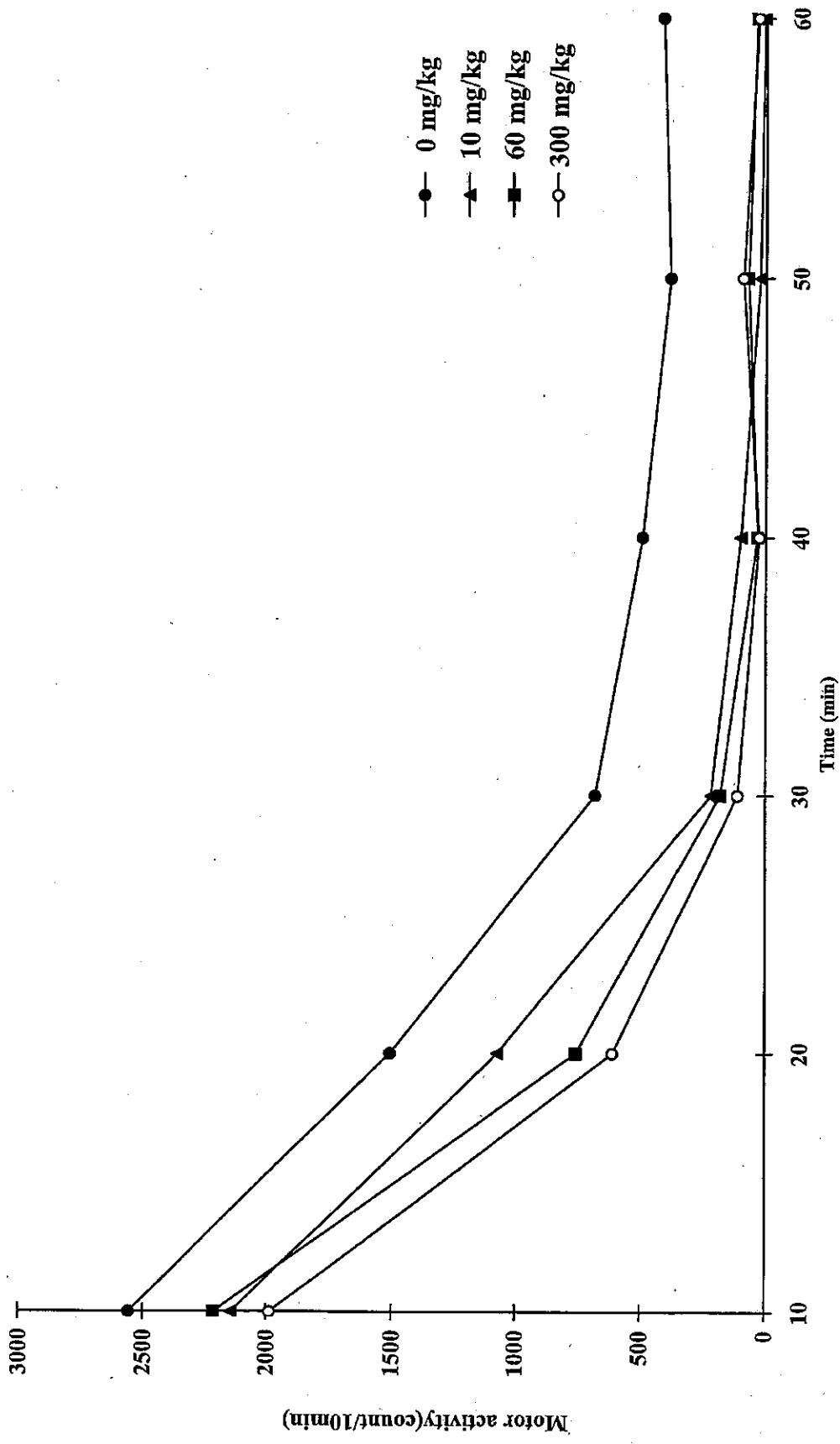


Fig.1 Motor Activity of male rats treated orally with Chlorocyclohexane in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

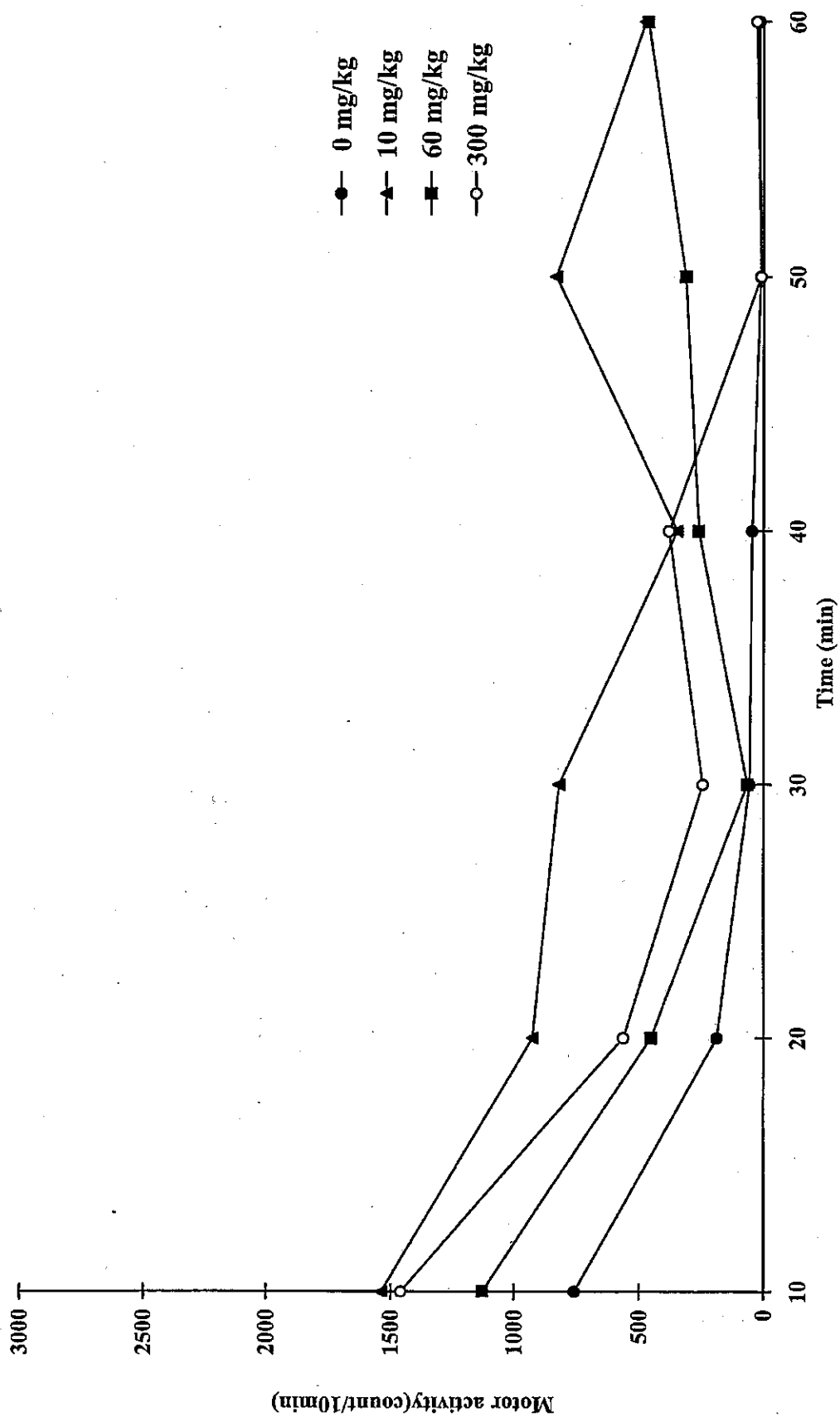


Fig.2 Motor Activity of female rats treated orally with Chlorocyclohexane in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

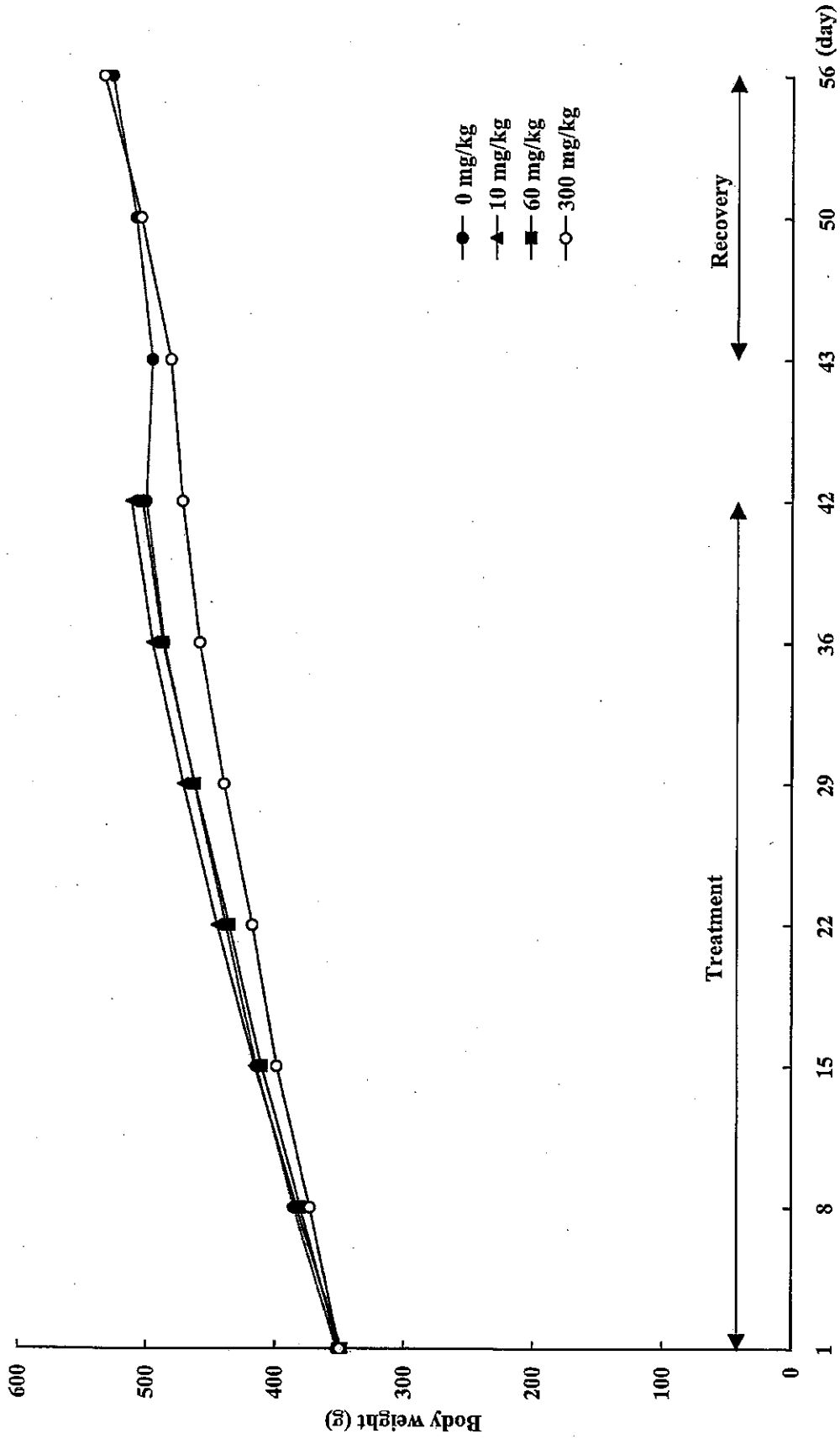


Fig.3 Body weight changes of male rats treated orally with Chlorocyclohexane in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

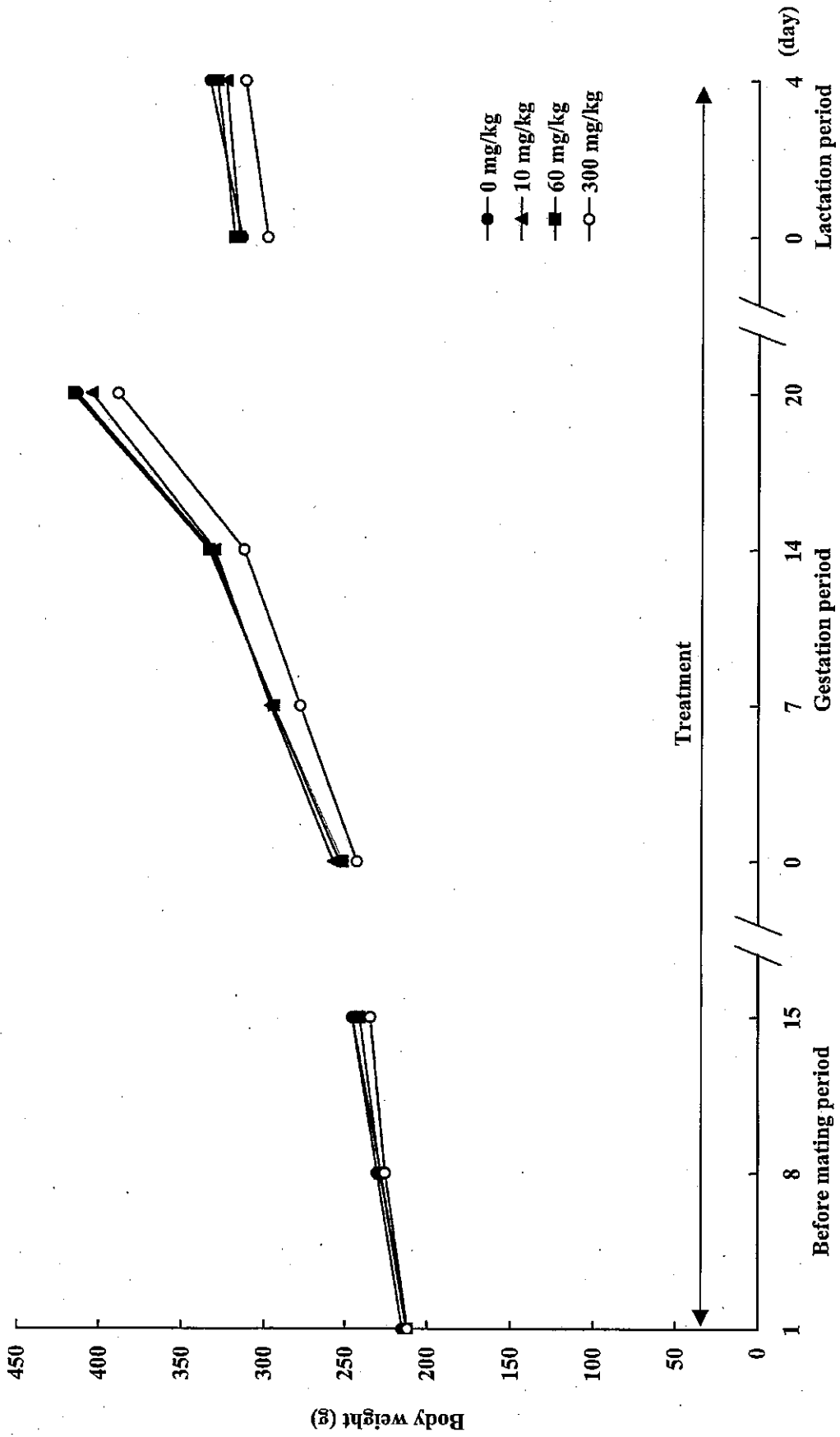


Fig.4 Body weight changes of female rats treated orally with Chlorocyclohexane in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

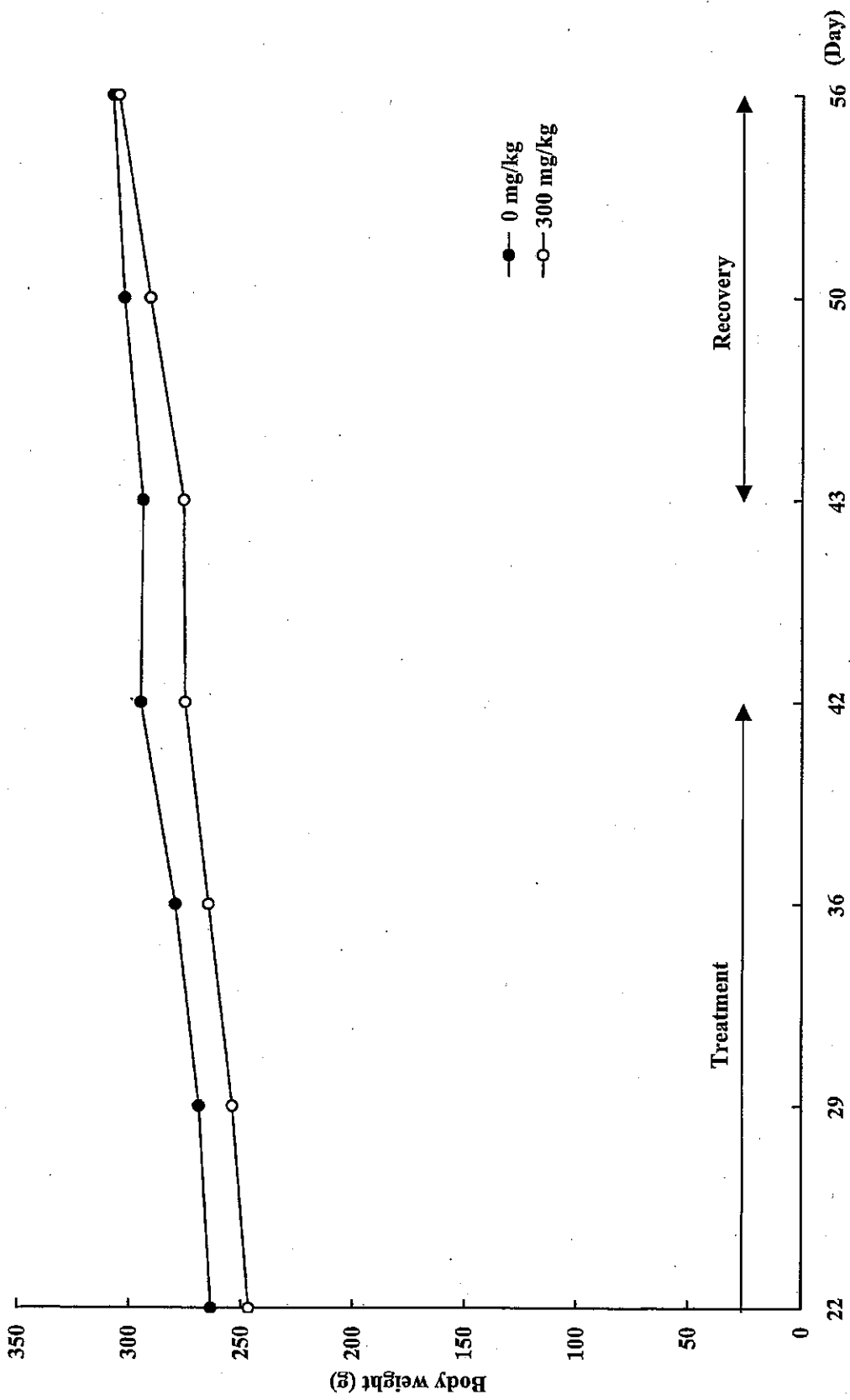


Fig.5 Body weight changes of female rats (satellite animal) treated orally with Chlorocyclohexane in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

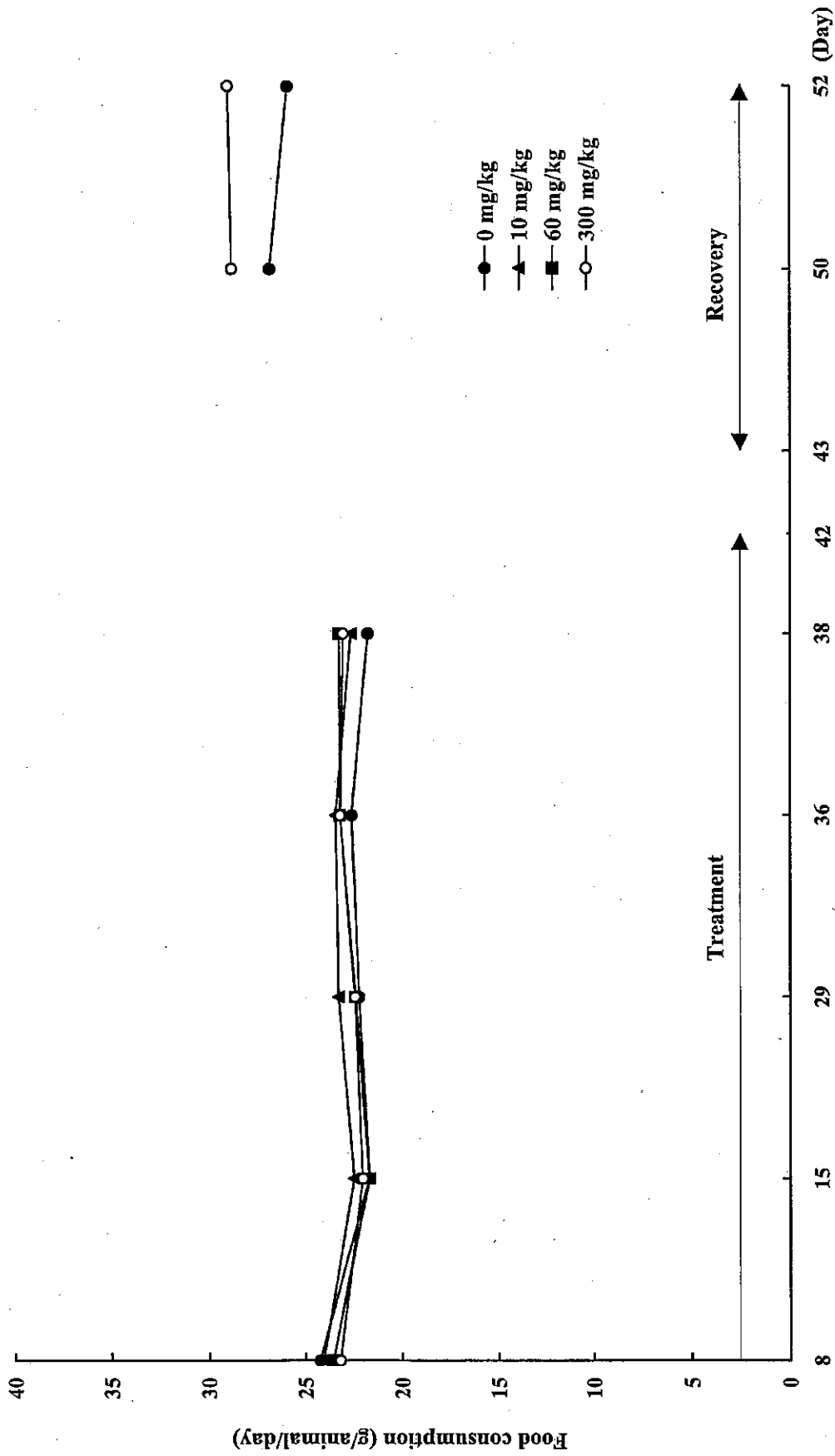


Fig.6 Food consumption of male rats treated orally with Chlorocyclohexane in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

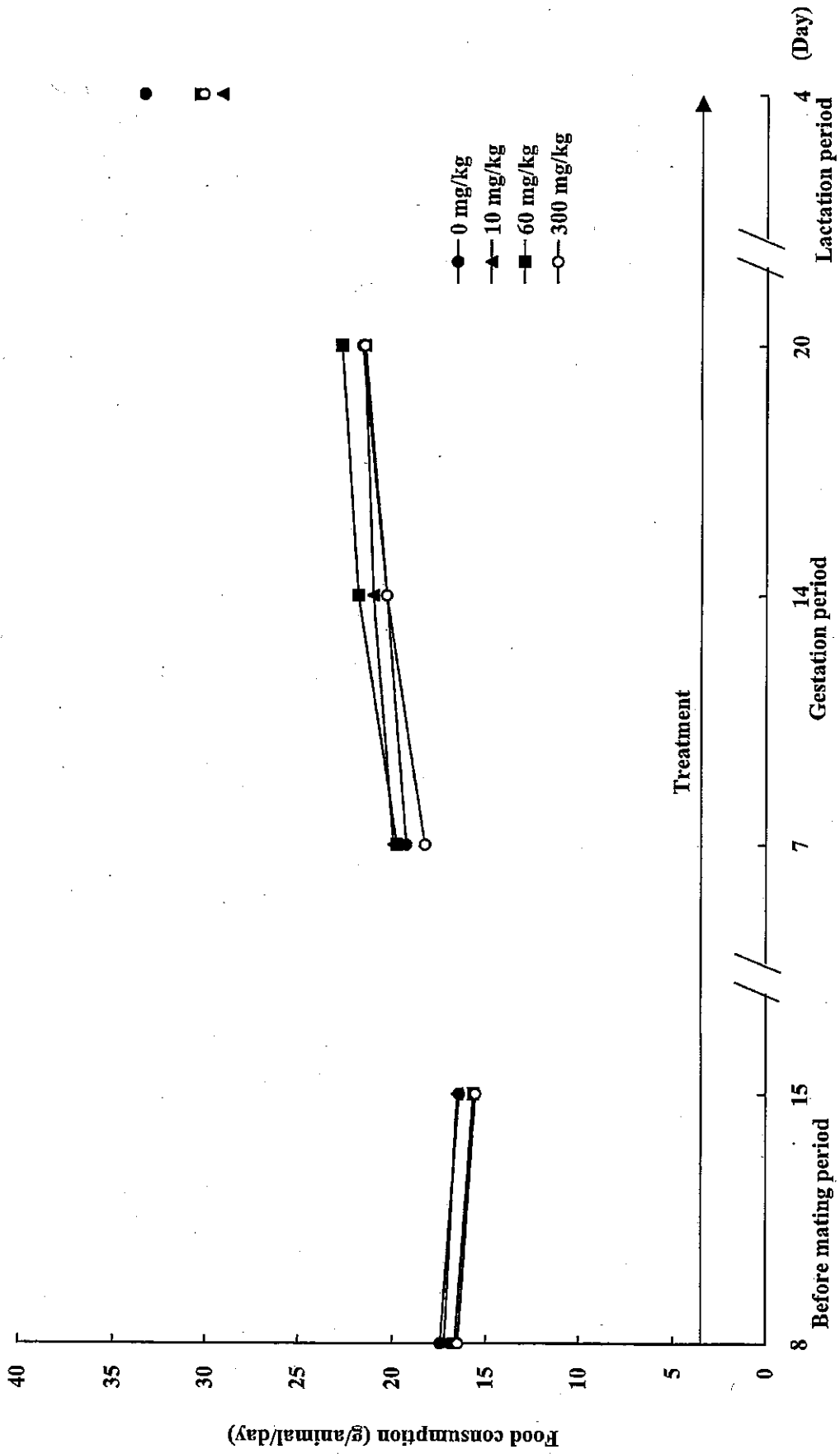


Fig.7 Food consumption of female rats treated orally with Chlorocyclohexane in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

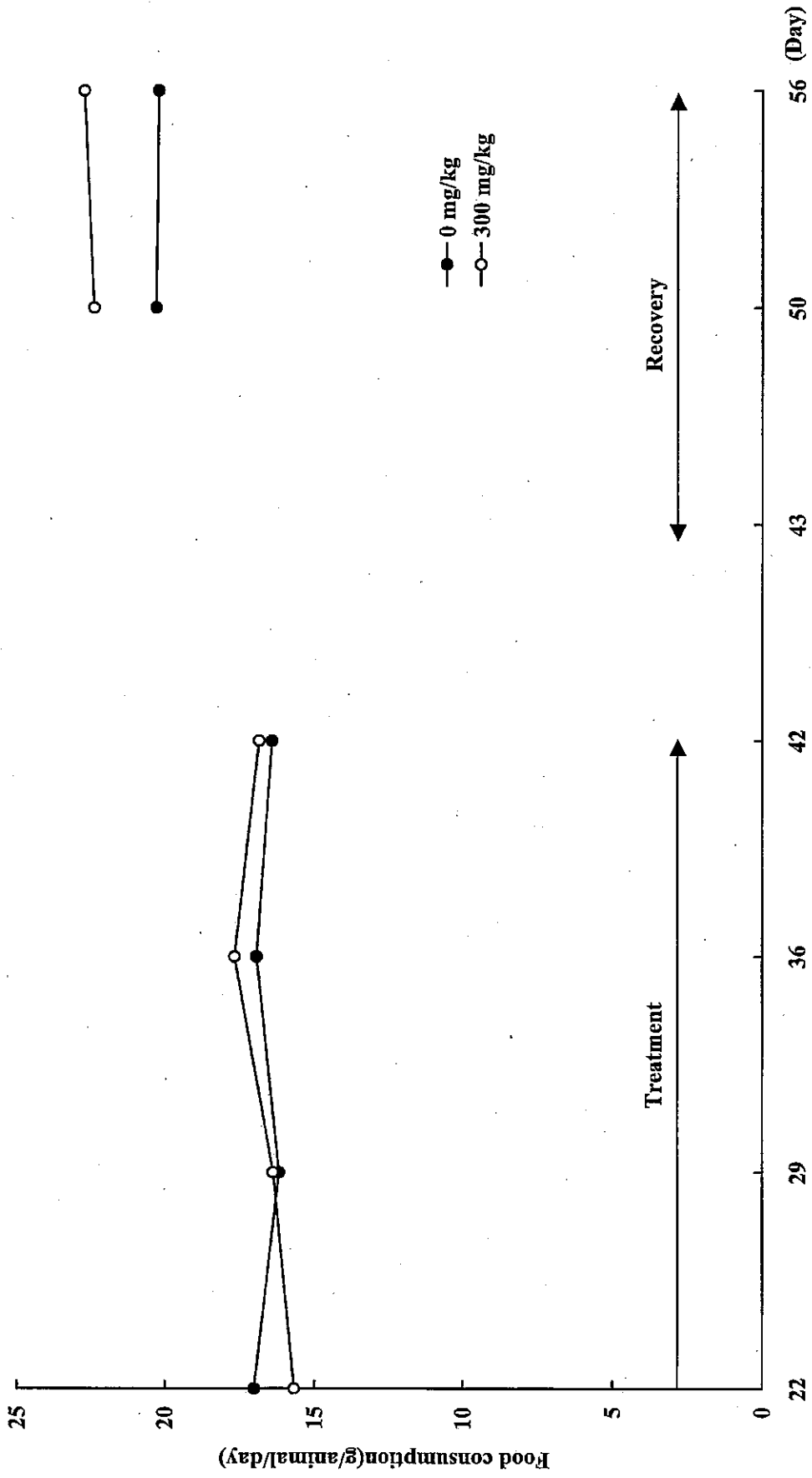


Fig.8 Food consumption of female rats (satellite animal) treated orally with Chlorocyclohexane in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Table 1 Clinical Sign - Summary

Male

Test Substance Dose (ug/kg)	Findings	Day																			
		1 Time 10	2 Time 20	3 Time 10	4 Time 20	5 Time 10	6 Time 20	7 Time 10	8 Time 20	9 Time 10	10 Time 20	11 Time 10	12 Time 20	13 Time 10	14 Time 20	15 Time 10	16 Time 20	17 Time 10	20 Time 20		
CCH 0	Number of Animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	No Abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
CCH 10	Number of Animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	No Abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
CCH 60	Number of Animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	No Abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
CCH 300	Number of Animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	No Abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	Salivation	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

+, Present; 1, Slight; 2, Moderate; 3, Severe;
Time 10, Before dosing; Time 20, After dosing.

Table 1 Clinical Sign - Summary

Male

Test Substance Dose (mg/kg)	Findings	Day 18		Day 19		Day 20		Day 21		Day 22		Day 23		Day 24		Day 25		Day 26		Day 27		Day 28		Day 29		Day 30		Day 31		Day 32		Day 33		Day 34			
		10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20		
CCH 0	Number of Animals No Abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
CCH 10	Number of Animals No Abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
CCH 60	Number of Animals No Abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
CCH 300	Number of Animals No Abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		12	7	12	6	12	7	12	5	12	6	12	5	12	6	12	5	12	4	12	5	12	5	12	5	12	5	12	6	12	5	12	6	12	5	12	6
	Salivation	1	0	5	0	6	0	5	0	7	0	6	0	7	0	6	0	7	0	8	0	7	0	7	0	7	0	7	0	7	0	7	0	6	0	6	0

+, Present; 1, Slight; 2, Moderate; 3, Severe;
Time 10, Before dosing; Time 20, After dosing;

Table I Clinical Sign - Summary

Male

Test Substance Dose (mg/kg)	Day 35		36		37		38		39		40		41		42		43		44		45		46		47		48		49		50		51		52		53		54		55		56		57		
	Findings	Time	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20			
CCH 0	Number of Animals		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12		
	No Abnormality		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
CCH 10	Number of Animals		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No Abnormality		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
CCH 60	Number of Animals		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No Abnormality		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
CCH 300	Number of Animals		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No Abnormality		12	5	12	5	12	6	12	8	12	7	12	6	12	5	12	8	12	5	12	8	12	5	12	5	12	5	12	5	12	5	12	5	12	5	12	5	12	5	12	5	12	5	12	5	12
	Salivation		1	0	7	0	5	0	5	0	4	0	5	0	6	0	7	0	4	0	6	0	7	0	4	0	4	0	4	0	4	0	4	0	4	0	4	0	4	0	4	0	4	0	4	0	

+, Present; 1, Slight; 2, Moderate; 3, Severe;
Time 10, Before dosing; Time 20, After dosing;

Table 2 Clinical Sign - Summary

Female

Test Substance Dose (mg/kg)	Findings	Day																			
		10	20	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	20	
CCH 0	Number of Animals	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	
	No Abnormality	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	
CCH 10	Number of Animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	No Abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
CCH 60	Number of Animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	No Abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
CCH 300	Number of Animals	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	
	No Abnormality	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	
	Salivation	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	0	2	0	3	

+, Present; 1, Slight; 2, Moderate; 3, Severe;
Time 10, Before dosing; Time 20, After dosing;

Table 3 Clinical Sign - Summary Female (Mating period)

Test Substance Dose (mg/kg)	Findings	Day 16		Day 17		Day 18		Day 19		Day 20		Day 21		Day 22		Day 23		Day 24		Day 25		Day 26		Day 27	
		10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20
CCH 0	Number of Animals	8	8	5	5	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	No Abnormality	8	8	5	5	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
CCH 10	Number of Animals	7	7	4	4	3	3	3	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1
	No Abnormality	7	7	4	4	3	3	3	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1
CCH 60	Number of Animals	6	6	5	5	3	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	No Abnormality	6	6	5	5	3	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
CCH - 300	Number of Animals	9	9	7	7	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	No Abnormality	9	9	7	7	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

+, Present; 1, Slight; 2, Moderate; 3, Severe;
Time 10, Before dosing; Time 20, After dosing;

Table 4

Study No. B041794

Clinical Sign (P0 Gestation) - Summary
 Sex : Female
 Time 10 : Before dosing

Test Substance Dose (mg/kg)	Findings	/Day																								
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
CCH 0	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
CCH 10	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No abnormality incomplete delivery	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
CCH 60	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
CCH 300	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12

Table 4
Table Continued

Clinical Sign (FO Gestation) - Summary
Sex : Female Time 10 : Before dosing

Test Substance Dose (mg/kg)	Findings	/Day	
		25	26
CCH 10	Number of animals No abnormality Incomplete delivery	1 0 1	1 0 1

Table 4
Table Continued
Clinical Sign (FO Gestation) - Summary
Sex : Female
Time 20 : After dosing

Test Substance Dose (mg/kg)	Findings	/Day	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	
CCH 0	Number of animals		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	10	
	No abnormality		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	10
CCH 10	Number of animals		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	8	1
	No abnormality incomplete delivery		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	8	1
CCH 60	Number of animals		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	8	8
	No abnormality		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	8	8
CCH 300	Number of animals		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	7	7
	No abnormality Salivation		11	12	12	10	12	8	8	9	10	9	9	9	9	9	9	9	10	9	9	11	9	10	9	9	5	2

Table 4
 Table Continued
 Clinical Sign (P0 Gestation) - Summary
 Sex : Female
 Time 20 : After dosing

Test Substance Dose (mg/kg)	Findings	/Day 25
CCH 10	Number of animals No abnormality incomplete delivery	1 0 1

Table 5

Clinical Sign (F0 Lactation) - Summary
 Sex : Female
 Time 10 : Before dosing

Test Substance Dose (mg/kg)	Findings	/Day					
		0	1	2	3	4	5
CCH 0	Number of animals	12	12	12	12	12	12
	No abnormality	12	12	12	12	12	12
CCH 10	Number of animals	11	11	11	11	11	11
	No abnormality	11	11	11	11	11	11
CCH 60	Number of animals	12	12	12	11	11	11
	No abnormality	11	11	11	11	11	11
	Total litter loss			1			
	Soiled perineal region	1	1	1			
CCH 300	Number of animals	12	12	12	12	12	12
	No abnormality	12	12	12	12	12	12

Table 5
Table Continued
Clinical Sign (F0 Lactation) - Summary
Sex : Female
Time 20 : After dosing

Test Substance Dose (mg/kg)	Findings	/Day			
		0	1	2	3 4
CCH 0	Number of animals No abnormality	12	12	12	12
		12	12	12	12
CCH 10	Number of animals No abnormality	11	11	11	11
		11	11	11	11
CCH 60	Number of animals No abnormality Soiled perineal region	12	12	11	11
		11	11	11	11
		1	1		
CCH 300	Number of animals No abnormality Salivation	12	12	12	12
		10	9	11	9
		2	3	1	3

Female 1

Table 6 Clinical Sign - Summary

Test Substance Dose (mg/kg)	Findings	Day 16		Day 17		Day 18		Day 19		Day 20		Day 21		Day 22		Day 23		Day 24		Day 25		Day 26		Day 27		Day 28		Day 29		Day 30		Day 31		Day 32			
		10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20		
CCH 0	Number of Animals	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5		
	No Abnormality	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
CCH 300	Number of Animals	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
	No Abnormality	5	4	5	4	5	4	5	4	5	4	5	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Salivation	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

+, Present; 1, Slight; 2, Moderate; 3, Severe;
 Time 10, Before dosing; Time 20, After dosing;
 #:Satellite animal

Table 6 Clinical Sign - Summary

Female #

Test Substance Dose (mg/kg)	Day 33		34		35		36		37		38		39		40		41		42		43		44		45		46		47		48		49		50		51		52		53		54		55		56					
	Findings	Time	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20						
CCH 0	Number of Animals		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5					
	No Abnormality		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5			
CCH 300	Number of Animals		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5			
	No Abnormality		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Salivation	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

+, Present; 1, Slight; 2, Moderate; 3, Severe;
 Time 10, Before dosing;
 Time 20, After dosing;
 #: Satellite animal

Table 6 Clinical Sign - Summary

Test Substance Dose (mg/kg)	Findings	Day	57
CGH	0	Number of Animals No Abnormality	5 5
CGH	300	Number of Animals No Abnormality Salivation	5 5 1 0

+, Present; 1, Slight; 2, Moderate; 3, Severe;

#:Satellite animal