最 終 報 告 書

Hydrazine, monohydrate のラットを用いる 28 日間反復投与毒性試験

試験番号：5464（ 115－154 ）

平成 14 年 6 月 20 日

試験委託者
厚生労働省　医薬局

財団法人
食品農医薬品安全性評価センター

目　次

1. 要約 3

12. 被験物質 8
13. 試験材料および方法 10
14. 観察，測定および検査 13
15. 試験結果 17
16. 考察および結論 20
17. 参考文献 23

Figures F-1~3
Figure 1 Survival ratio F-1
Figure 2 Body weight F-2
Figure 3 Food consumption F-3

Tables T-01~71
Table 1 Survival and mortality T-01
Table 2 Clinical observation T-06
Table 3 Body weight T-12
Table 4 Food consumption T-15
Table 5 Food efficiency T-17
Table 6 Hematology T-19
Table 7 Coagulation T-25

Table 8	Blood chemistry	T-27
Table 9	Urinalysis	T-35
Table 10	Organ weight	T-45
Table 11	Organ weight per body weight	T-51
Table 12	Summary of gross findings with statistical analysis (28, 42 Days experiment)	T-57
Table 13	Summary of histological findings with statistical analysis (28, 42 Days experiment)	T-59
Table 14	Summary of histological findings (28, 42 Days experiment)	T-62
Table 15	Summary of histological findings in dosed and recovery experiments (sacrificed)	T-70

1. 要約

Hydrazine, monohydrate の反復投与毒性を明らかにするため，Crj:CD(SD)IGS 系ラットを用いた 28 日間反復投与毒性試験を実施した．
ラットは 1 群雌雄各 5 匹で 5 試験群，対照群および最高用量群には雌雄各 5 匹の回復群を設け，計 70 匹を使用した．
被験物質を注射用水に溶解して，0，1，3，10 および 30 mg/kg に相当する量を毎日 1 回，4 週間反復経口投与し，一般状態の観察，体重測定，摂餌量測定，血液学検査，血液凝固能検査，血液生化学検査，尿検査，器官重量測定および病理学検査を行った．なお，回復期間は 2 週間とし，投与終了時と同様な検査を実施した．
その結果は次のとおりに要約される．

投与期間および回復期間を通して対照群および各投与群で死亡例は認められなかった．
一般状態観察の結果，雌雄の 30 mg/kg 群で削痩，立毛および流涎，雌で鼻端の汚れがそれぞれ観察された．回復期間では一般状態に変化は観察されなかった．
体重測定の結果，雌雄の 30 mg/kg 群で低値を示し，体重増加量も減少してこの群での体重増加抑制が認められた．なお，回復期間では，回復が認められた．
摂餌量測定の結果，雌雄の 30 mg/kg 群で投与 7 日に低値を示した．しかし，投与 14 日以降は差がみられなかった．なお，回復期間は回復がみられた．
飼料効率の結果，雄の 30 mg/kg 群で低値，投与期間の平均飼料効率も低値を示し，この群での体重増加抑制に起因するものと考えられた．雌の 30 mg/kg 群では投与 7 日に著しい低値を示したが，その後は回復した．なお，回復期間では回復が認められた．
血液学検査の結果，雌雄の 30 mg/kg 群でヘマトクリット値，ヘモグロビン量，MCH および MCHC が低値および網赤血球比率が高値，雄の 30 mg/kg 群では MCV が低値，雌の 30 mg/kg 群では赤血球数が低値さらに 10 mg/kg 群ではヘマトクリット値，ヘモグロビン量および MCH が低値を示した．雌雄の 30 mg/kg 群および雌の 10 mg/kg 群では，メトヘモグロビン比率が高値および高値傾向を示した．
血液生化学検査の結果，雌雄の 30 mg/kg 群で総ビリルビン，A/G および無機リンが高値，血糖および塩素が低値を示した．雄の 30 mg/kg 群で尿

素窒素およびアルブミンが高値を示した．雌の 30 mg/kg 群でカルシウムが高値を示した．
尿検査の結果，各投与群において変化が認められなかった．
器官重量測定の結果，雌雄の 10 および 30 mg/kg 群で腎臓絶対重量が高値あるいは高値傾向を示した．雌の 10 および 30 mg/kg 群で肝臓絶対重量が高値，30 mg/kg 群で脾臓絶対重量が高値を示した．
器官重量／体重比の結果，雌雄の 10 および 30 mg/kg 群で肝臓および腎臓の相対重量が高値あるいは高値傾向を示した．雌雄の 30 mg/kg 群では脾臓相対重量が高値を示した．
剖検所見では，雌雄の 30 mg/kg 群で肝臓の淡色化が観察された．組織所見では，肝臓の小葉辺縁性の脂肪化が雄の 10 および 30 mg/kg 群，雌では対照群，1，3，10 および 30 mg/kg 群に観察された．なお，回復期間終了時では雌雄とも回復が認められた．脾臓では色素沈着が雌雄の 30 mg/kg 群で，髄外造血が雌雄の 30 mg/kg 群および雄の 10 mg/kg 群に観察され，溶血性貧血に対する反応と考えられた．回復期間終了時では，脾臓の色素沈着が雌雄の 30 mg/kg 群で全例に観察され，溶血による貧血は回復傾向にあるが，それによる二次的変化と考えられた．
10 mg/kg 群でみられた腎臓絶対重量の高値傾向，肝臓および腎臓相対重量の高値あるいは高値傾向が，雌では 10 mg/kg 群でみられたヘマトクリット値，ヘモグロビン量および MCH の低値，肝臓および腎臓の絶対重量の高値と相対重量の高値あるいは高値傾向が認められないことから本試験条件下における Hydrazine, monohydrate のラットに対する無影響量は，雌雄とも 3 mg/kg/day と判断された．

12. 被験物質

被験物質に関する情報を以下に示した．被験物質の品質試験成績書は『Reference data 1』に示した．

12.1. 被験物質名

Hydrazine, monohydrate

12.2. CAS No.

7803-57-8

12.3. ロット番号

12.4. 純度

100.15 wt%

12.5. 提供元

12.6. 保管条件

室温，密封

12.7. 保管場所

安評センター被験物質保管庫

12.8. 化学名

Hydrazine, monohydrate

12.9. 示性式

H_2N-NH_2・H_2O

12.10. 分子式

N_2H_4・H_2O

12.11. 分子量

50.06

12.12. 性状

無色液体

12.13. 沸点

121°C

12.14. 融点

-51.7°C

12.15. 溶解性

水：可溶

12.16. 安定性

通常の取り扱い条件では安定

12.17. 取り扱い上の注意

吸入，皮膚への直接接触を避けるため取り扱い時には，マスクおよびゴム手袋を着用すること.

12.18. 被験物質保管および残余被験物質の処理

投与終了後，2 g を保存し，残りは提供元に返却した.

13. 試験材料および方法

13.1. 供試動物

供試したラット Crj:CD(SD)IGS[SPF]は日本チャールス・リバー株式会社厚木飼育センターから平成 13 年 5 月 16 日に 4 週齢で雌雄各 52 匹, 計 104 匹を購入した.

動物を検収し試験環境に 9 日間馴化後, 平成 13 年 5 月 25 日に 5 週齢で投与を開始した. 動物はあらかじめ体重によって層別化し, 無作為割付法により各試験群を構成するように群分けした. 動物の耳介に群番号および群内番号を入墨するとともに個体別飼育ケージに動物識別カード（ID カード）を付すことにより個体識別を行った.

投与開始時の体重は, 雄で 140～164 g, 雌で 110～131 g であった. なお, 余剰動物は炭酸ガスにより安楽死させた.

13.2. 試験系の選択理由

反復投与試験に繁用されている動物種の一つであるラットを選択した. 系統は背景データの保有量, 既知化学物質に対する感受性, 遺伝的安定性を考慮して選んだ.

13.3. 飼育管理

13.3.1. 飼育環境

動物はバリアシステムの 122 号飼育室（W 4.2 × D 8.9 × H 2.5 m, 93.5 m^3）で飼育し, 環境調節の基準値は温度 23±3°C（実測値：21.4～25.9°C), 湿度 55±20%（実測値：51～75%), 換気回数 1 時間 20 回, 照明 12 時間（午前 7 時点灯, 午後 7 時消灯）とした.

水洗式飼育機（W 674.2 × D 60.0 × H 175.5 cm, 株式会社東京技研サービス）を使用し, アルミ製前面・床ステンレス網目飼育ケージ（W 20.0 × D 28.2 × H 18.0 cm, 飼育ケージ・スペース 10152 cm^3）に動物を 1 匹ずつ収容し, 飼料と水を自由に摂取させた. 飼育ケージは隔週 1 回, 給餌器は週 1 回取り換えた. なお, 動物の馴化期間を含め, 投与期間中, データの信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因の変化はなかった.

13.3.2. 飼料

動物には放射線滅菌したラット・マウス飼料 CRF-1（Lot No. 010406, オリエンタル酵母工業株式会社）を自由に摂取させた. 使用した飼料中の夾雑物の分析はロット毎に財団法人日本食品分析センターで行い, 日本実験動物飼料協会案の許容基準内であることが確認された. なお, 飼料中の夾

雑物の分析結果を『Reference data 2』に示した.

13.3.3. 給水

動物には水道水を自動給水ノズルより自由に摂取させた. 水道水の水質について, 水道法に基づく水道水の分析を 3 ヵ月に 1 回, 株式会社エコプロ・リサーチに依頼し実施した. その結果, 飲水中の有害物質量は水道水基準（平成 4 年 12 月 21 日厚生省令第 69 号）の許容基準内であることが確認された. なお, 結果を『Reference data 3』に示した.

13.4. 試験群の構成および投与量設定理由

投与量は 0, 1, 3, 10 および 30 mg/kg とし, 動物数は 1 群雌雄各 5 匹, また, 回復試験用として対照群および最高用量群に雌雄各 5 匹の計 70 匹を使用した.

試験群	投与量(mg/kg)	性	動物数	投与期間終了時解剖動物番号	回復期間終了時解剖動物番号
1	0	雄	10	1001～1005	1006～1010
		雌	10	2001～2005	2006～2010
2	1	雄	5	1101～1105	－
		雌	5	2101～2105	－
3	3	雄	5	1201～1205	－
		雌	5	2201～2205	－
4	10	雄	5	1301～1305	－
		雌	5	2301～2305	－
5	30	雄	10	1401～1405	1406～1410
		雌	10	2401～2405	2406～2410

［投与量設定理由］

投与量設定のため 2 週間反復投与試験を雌雄とも 0, 1, 3, 10 および 30 mg/kg の 5 用量で実施した結果, 30 mg/kg 群では雌雄とも体重増加抑制が認められ, 摂餌量および飼料効率が低値を示した. また, ヘマトクリット値, ヘモグロビン量, MCV および MCH が低値を示した. 従って, 28 日間毒性試験の最高用量を被験物質の影響が認められる 30 mg/kg とし, 以下高用量を 10 mg/kg, 中用量を 3 mg/kg および低用量を 1 mg/kg と設定した.

13.5. 投与経路選択理由および投与方法

被験物質の投与経路は毒性試験ガイドラインに示されている胃ゾンデを用いての強制経口投与とした. 投与液量は体重 100 g 当たり 1.0 mL とし, 毎日 1 回投与した. なお, 対照群には注射用水のみを投与した.

13.6. 投与液の調製

被験物質の濃度が 0.1，0.3，1.0 および 3.0 mg/mL となるように注射用水（Lot No. 1A73N，株式会社大塚製薬工場）に溶解した．投与液の調製は 1 週間に 1 回とし，1 日分ずつ小分けして冷蔵庫に保管した．なお，投与液の冷蔵（約 4°C）保存下 7 日後における Hydrazine, monohydrate の安定性は急性毒性試験［試験番号 5462（ 115－152 ）］で確認した．

13.7. 投与期間

投与期間は，雌雄ともに 28 日間（4 週間）とし，投与期間終了後に対照群および 30 mg/kg 群について 14 日間の回復試験を実施した．

13.8. 投与液中の被験物質濃度分析

全ての試験群の投与液について適切に調製されていることを確認するため，初回および最終調製時の各投与液の一部を分取し，被験物質濃度分析を行った．初回調製時は設定濃度の 91.8～97.5%および最終調製時は 93.2～100.3%であり，適切に調製されていることが確認された．なお，濃度分析の方法および結果を『Reference data 4』に示した．

14. 観察，測定および検査

14.1. 一般状態の観察

全動物について投与期間は投与前，投与後 1 および 5 時間，回復期間は午前および午後に観察し，所見を記録した．

14.2. 体重

全動物について投与開始日，投与 7，14，21 および 27 日，回復 0，7 および 13 日に電子天秤 PM3000（メトラー・トレド社）を用いて測定し，記録した．

14.3. 摂餌量

全動物について投与 7，14，21 および 27 日，回復 7 および 13 日に残餌量を電子天秤 PM3000 を用いて測定し，摂餌量（g/day）および飼料効率（%）を算出した．

14.4. 臨床検査

血液学検査，血液凝固能検査，血液生化学検査および尿検査は投与期間終了時および回復期間終了時に計画解剖の全動物について実施した．採血するに当たり，絶食のため前日の午後 5 時に給餌器を取り除いた．動物をエーテルで麻酔後開腹し，腹部大動脈から採血した．

14.4.1. 血液学検査

抗凝固剤（EDTA-2K）入り採血管インセパック-E（積水化学工業株式会社）に新鮮血を採取し，総合血液学検査装置 ADVIA120（バイエル社）を用いて下記の項目を測定した．

項目名	英語名	単位	測定法
ヘマトクリット値	HCT	%	RBC，MCV より算出
ヘモグロビン量	HGB	g/dL	シアンメトヘモグロビン法
赤血球数	RBC	$\times 10^6/mm^3$	暗視野板法
平均赤血球容積	MCV	μm^3	暗視野板法
平均赤血球血色素量	MCH	pg	HGB，RBC より算出
平均赤血球血色素濃度	MCHC	%	HGB，HCT より算出
血小板数	PLT	$\times 10^3/mm^3$	暗視野板法
白血球数	WBC	$\times 10^3/mm^3$	フローサイトメトリー法
白血球百分率	－	%	フローサイトメトリー法
網赤血球率	Reticulocyte	%	RNA 染色法

白血球百分率は上述の機器で測定したが，測定後の残りの血液を用いて別途血液塗抹標本を作製し，メイ・グリュンワルド・ギムザ染色して保管した．また，上述の血液を用いてメトヘモグロビン比率を測定した．

項目名	英語名	単位	測定法
メトヘモグロビン	Methemoglobin	%	松原法

14.4.2. 血液凝固能検査

抗凝固剤（3.13%クエン酸ナトリウム水溶液）入り採血管に血液を採取した後，3000 r.p.m.で 13 分間遠心分離して得た血漿を検査に用いた．血液凝固測定装置 KC-40（アメルング社）で下記の項目を測定した．

項　目　名	英語名	単位	測　定　法
プロトロンビン時間	PT	sec.	Quick1 段法
活性化部分トロンボプラスチン時間	APTT	sec.	クロット法
フィブリノーゲン量	Fibrinogen	mg/dL	トロンビン時間法

14.4.3. 血液生化学検査

採血管インセパック SQ（積水化学工業株式会社）に血液を採取した後，3000 r.p.m.で 7 分間遠心分離して得た血清を検査に用いた．多項目生化学自動分析装置日立 7170（株式会社日立製作所）および電解質測定装置 EA06R（株式会社エイアンドティー）を用いて下記の項目を測定した．

項目名	英語名	単位	測定法
総蛋白	T. protein	g/dL	Biuret 法
アルブミン	Albumin	g/dL	BCG 法
A/G	A/G	-	総蛋白およびｱﾙﾌﾞﾐﾝより算出
血糖	Glucose	mg/dL	HK-G-6-PDH 法
中性脂肪	Triglyceride	mg/dL	GK-GPO 遊離ｸﾞﾘｾﾛｰﾙ消去法
総コレステロール	T. cholesterol	mg/dL	ｺﾚｽﾃﾛｰﾙｵｷｼﾀﾞｰｾﾞ HDAOS 法
尿素窒素	BUN	mg/dL	ウレアーゼ GLDH 法
クレアチニン	Creatinine	mg/dL	酵素法
総ビリルビン	T. bilirubin	mg/dL	バナジン酸酸化法
アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ	AST	U/L	酵素-UV 法（JSCC 準拠）
アラニンアミノトランスフェラーゼ	ALT	U/L	酵素-UV 法（JSCC 準拠）
アルカリホスファターゼ	ALP	U/L	P-ﾆﾄﾛﾌｪﾆﾙﾘﾝ酸基質法（JSCC 準拠）
γ-グルタミルトランスペプチターゼ	Gamma-GTP	U/L	L-γ-グルタミル-3-カルボキシ-4NA 法（JSCC 準拠）
カルシウム	Calcium	mg/dL	MXB 法
無機リン	I. phosphorus	mg/dL	PNP-XDH 法
ナトリウム#	Sodium	mmol/L	イオン選択電極法
カリウム#	Potassium	mmol/L	イオン選択電極法
塩素#	Chloride	mmol/L	イオン選択電極法

#印の項目は EA06R で，他は日立 7170 で測定した．

14.4.4. 尿検査

給餌給水の条件下で採尿ケージを用いて 3 時間尿（午前 10 時から午後 1 時）および 24 時間尿（午前 10 時から翌日午前 10 時）を採取した.

3 時間尿を用いて次の項目を検査した. N-マルティスティックス SG（バイエル メディカル株式会社）を用い，尿分析装置 CLINITEK 500（バイエル社）で判定した.

項目名	英語名	測定法
PH	pH	試験紙法
潜血	Occult blood	
ケトン体	Ketone bodies	
糖	Glucose	
蛋白	Protein	
ビリルビン	Bilirubin	
ウロビリノーゲン	Urobilinogen	

24 時間尿を用いて次の項目を検査した. 尿浸透圧は，自動浸透圧測定装置 OM-6030（株式会社アークレイファクトリー）を用いて測定した. 尿を卓上多本架遠心機 LC06-SP（株式会社トミー精工）を用いて，室温，1500 r.p.m.で 5 分間遠心し，残渣を分離した. 残渣をステルンハイマー染色変法により染色し，尿沈渣について鏡検した.

項目名	英語名	単位	測定法
尿量	Volume	mL	計量
色調	Color	-	目視
尿沈渣	Sediment	-	鏡検
尿浸透圧	Osmotic Pressure	mOsm/kg	氷点降下法

14.5. 病理学検査

病理学検査は器官重量測定，肉眼観察および病理組織学検査を投与期間終了時および回復期間終了時の計画解剖動物について行った. 動物をエーテル麻酔し，採血した後に解剖した.

14.5.1. 器官重量測定

全動物の脳，心臓，肝臓，腎臓，脾臓，副腎，精巣，卵巣，胸腺および精巣上体の重量を電子天秤 PE160（メトラー・トレド社）を用いて測定した.

器官重量／体重比（相対重量）は投与 27 日に測定した体重および器官重量から算出した（絶対重量／最終体重 × 100）.

14.5.2. 肉眼観察

解剖では動物の体表，体腔および諸器官について観察し，全ての肉眼所見を記録した.

14.5.3. 固定

リンパ節（腸間膜，下顎），骨髄（大腿骨），胸腺，気管，肺（気管支を含む），心臓，甲状腺，上皮小体，胃，十二指腸，空腸，回腸（パイエル板を含む），盲腸，結腸，直腸，肝臓，脾臓，膵臓，腎臓，副腎，膀胱，精嚢，前立腺，精巣，精巣上体，卵巣，子宮，膣，眼球，脳，下垂体，脊髄（頸部，胸部，腰部），骨格筋（大腿部）および坐骨神経を10%中性緩衝ホルマリン液で固定した．なお，精巣および精巣上体はホルマリン酢酸液（FA液）で固定した後，10%中性緩衝ホルマリン液で固定した．

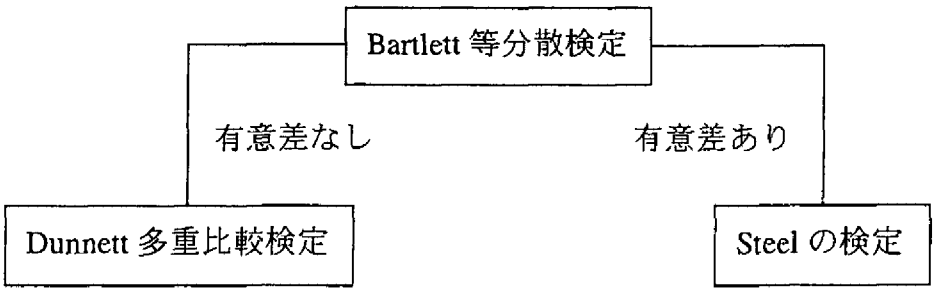
解剖後，保存を要さない屍体残存部は速やかに焼却した．

14.5.4. 病理組織学検査

対照群および最高用量群の上記器官および組織について実施した．また，最高用量群の肝臓および脾臓で被験物質の影響と思われる変化が認められたため，回復群および他の用量群についても実施した．組織標本の作製は，常法に従ってパラフィン包埋，薄切後，ヘマトキシリン・エオジン染色を施した．病変の種類および程度を含む各所見について記録した．

14.6. データ記録および統計解析

本試験の諸データはコンピュータ・システムを用いて記録し，統計解析した．各試験群の体重，摂餌量，飼料効率，血液学検査値，血液凝固能検査値，血液生化学検査値，尿検査値（尿量および尿浸透圧），器官重量および器官重量／体重比は，下記に示した自動判別方式に従い，最初にBartlettの等分散検定を実施した．等分散の場合はDunnettの多重比較検定[1,2]で対照群と各投与群間の有意差を検定した．Bartlettの等分散検定で不等分散の場合はSteelの検定[3]で対照群と各投与群間の有意差を検定した．上記定量値の有意水準は5%および1%の両側検定で実施した．



また，生存率および病理学検査結果の検定はFisherの確率計算法を用いた．

15. 試験結果

15.1. 死亡率

生存率を Figure 1 に，生存数および死亡率を Table 1 に示した．
投与期間を通して，雌雄のいずれの群においても死亡例は認められなかった．
回復期間中には，雌雄とも対照群および 30 mg/kg 群で死亡例は認められなかった．

15.2. 一般状態の観察

一般状態の観察所見を Table 2 および Appendix 1 に示した．
投与期間中に，30 mg/kg 群の雄で流涎が投与 13 日以降観察され 7 例に認められた．また，削痩および立毛が 2 例に観察された．30 mg/kg 群の雌で流涎が投与 19 日以降 1 例に観察された．また，削痩および立毛が 4 例，鼻端の汚れが 3 例にそれぞれ観察された．なお，これらの所見は回復期間では消失した．

15.3. 体重

体重を Figure 2，Table 3 および Appendix 2 に示した．
対照群に比較して雌雄の 30 mg/kg 群で低値を示し，投与期間の体重増加量も低値を示した．なお，回復期間には回復がみられた．

15.4. 摂餌量

摂餌量を Figure 3，Table 4 および Appendix 3 に示した．
対照群に比較して雌雄の 30 mg/kg 群で投与 7 日に低値を示した．しかし，投与 14 日以降は差がみられなかった．なお，回復期間には回復がみられた．

15.5. 飼料効率

飼料効率を Table 5 および Appendix 4 に示した．
対照群に比較して雄の 30 mg/kg 群で投与 7 および 27 日に低値を示し，投与期間の平均飼料効率も低値を示した．雌の 30 mg/kg 群では投与 7 日に有意な低値を示したが投与 14 日では高値を示した．なお，回復期間には回復がみられた．

15.6. 血液学検査

血液学検査結果を Table 6 および Appendix 5 に示した．
投与期間終了時：雄では，対照群に比較して 30 mg/kg 群でヘマトクリット値，ヘモグロビン量，MCV，MCH および MCHC が低値，血小板数，メトヘモグロビン比率および網赤血球比率が高値を示した．雌では 10 および 30 mg/kg 群でヘマトクリット値，ヘモグロビン量，MCH が低値，30

mg/kg 群で赤血球数および MCHC が低値を示した．また，30 mg/kg 群で単球比率，メトヘモグロビン比率および網赤血球比率が高値を示した．
回復期間終了時：対照群と比較して雌雄の 30 mg/kg 群で MCHC が低値を示したが軽微な変化であった．

15.7. 血液凝固能検査

血液凝固能検査結果を Table 7 および Appendix 6 に示した．
投与期間終了時：対照群に比較して雄の 30 mg/kg 群で PT および APTT が短縮を示した．
回復期間終了時：対照群に比較して雌の 30 mg/kg 群で PT が短縮を示した．

15.8. 血液生化学検査

血液生化学検査結果を Table 8 および Appendix 7 に示した．
投与期間終了時：対照群に比較して雌雄の 30 mg/kg 群で総ビリルビン，A/G および無機リンが高値，血糖および塩素が低値を示した．雄の 30 mg/kg 群で尿素窒素およびアルブミンが高値，AST および ALT が低値を示した．雌の 30 mg/kg 群でカルシウムが高値を示した．その他，雄の 1 mg/kg 群で総コレステロールが高値，雌の 10 mg/kg 群で AST および ALT が低値を示したが用量に関連しない変化であった．
回復期間終了時：対照群に比較して雌の 30 mg/kg 群で無機リンおよび総コレステロールが高値を示した．

15.9. 尿検査

尿検査結果を Table 9 および Appendix 8 に示した．
投与期間終了時：対照群に比較して雌雄の各投与群において検査したいずれの項目においても変化が認められなかった．
回復期間終了時：対照群に比較して雌雄の 30 mg/kg 群において検査したいずれの項目においても変化が認められなかった．

15.10. 病理学検査

15.10.1. 器官重量

器官重量を Table 10 および Appendix 9 に示した．
投与期間終了時：対照群に比較して雌雄の 10 および 30 mg/kg 群で腎臓絶対重量が高値あるいは高値傾向を示した．雌の 10 および 30 mg/kg 群では肝臓絶対重量が，30 mg/kg 群では脾臓絶対重量が高値を示した．その他，雄の 30 mg/kg 群で脳および精巣上体の絶対重量が低値を示した．
回復期間終了時：対照群に比較して 30 mg/kg 群の雄で脳および心臓の絶対重量が低値を示した．

15.10.2. 器官重量／体重比

器官重量／体重比（相対重量）を Table 11 および Appendix 10 に示した．

投与期間終了時：対照群に比較して雌雄の 10 および 30 mg/kg 群で肝臓および腎臓の相対重量が高値あるいは高値傾向を示した．雌雄の 30 mg/kg 群で脾臓相対重量が高値を示した．また，30 mg/kg 群の雄で脳相対重量および雌で心臓相対重量が高値を示した．

回復期間終了時：対照群に比較して雄の 30 mg/kg 群で胸腺相対重量，雌の 30 mg/kg 群で肝臓および腎臓の相対重量が高値を示した．

15.10.3. 肉眼観察

剖検所見を Table 12 および Appendix 11 に示した．

投与期間終了時:30 mg/kg 群に認められた所見として肝臓の淡色化(Photo. 1）が雌雄の各 3 例に観察された．その他，肺の褐色斑／区域，肝臓の白色斑／区域，腎臓の嚢胞，子宮の嚢胞および内腔拡張，精巣および精巣上体の小型化がそれぞれ単発性，散発性もしくは用量に対応しない発生を示した．

回復期間終了時：胃の黒色斑／区域，腎臓の腎盂拡張および子宮の内腔拡張がそれぞれ単発性に発生した．

15.10.4. 病理組織学検査

組織所見を Table 13，14，15 および Appendix 12，13 に示した．

投与期間終了時:対照群に比較して投与群において有意に増加した所見として，肝臓の脂肪化（Photo. 2）が雄の 10 および 30 mg/kg 群でそれぞれ 3 および 4 例に認められた．雌では対照群，1，3，10 および 30 mg/kg 群でそれぞれ 4，4，3，4 および 5 例に観察された．なお，30 mg/kg 群の雌の 1 例では中等度であった．これらの脂肪化は主に小葉辺縁性に認められた．脾臓の色素沈着（Photo. 4）が雌雄の 30 mg/kg 群でそれぞれ 5 および 4 例に観察された．さらに，髄外造血（Photo. 4）が雄の 10 および 30 mg/kg 群で 1 および 3 例，雌の 30 mg/kg 群で 4 例に観察された．その他，肺の泡沫細胞集簇，肝臓の小肉芽腫，腎臓の尿細管好塩基化および尿細管拡張，精巣の中等度精細管萎縮および精巣上体の無精子，子宮の内腔拡張および甲状腺の鰓後体遺残が単発性あるいは対照群にも認められた．

回復期間終了時：脾臓の色素沈着が雌の対照群の 1 例および雌雄の 30 mg/kg 群の全例に観察され，雌雄とも有意な発生数の増加が認められた．また，肝臓の脂肪化が雌の対照群および 30 mg/kg 群でそれぞれ 3 および 2 例に観察された．その他，肝臓の小肉芽腫が雌雄とも対照群と同様に認められた．

16. 考察および結論

Hydrazine, monohydrate を 1, 3, 10 および 30 mg/kg の用量で Crj:CD(SD)IGS 系ラットの雌雄に 28 日間にわたって強制経口投与し，その後，14 日間の回復期間を設けた．

投与期間および回復期間を通して対照群および各投与群で死亡例は認められなかった．

一般状態の観察では，30 mg/kg 群の雌雄で削痩，立毛および流涎，雌で鼻端の汚れがそれぞれ認められた．なお，これらの所見は回復期間で消失した．

体重では雌雄の 30 mg/kg 群で低値を示し，体重増加量も減少し，この群での体重増加抑制が認められた．なお，回復期間では回復が認められた．

摂餌量は雌雄の 30 mg/kg 群で投与 7 日に低値を示したが投与 14 日以降は差がみられなかった．飼料効率は雄の 30 mg/kg 群で低値を示し，投与期間の平均飼料効率も低値を示した．なお，雌の 30 mg/kg 群では投与 7 日に著しい低値を示した．いずれもこの群での体重増加抑制に起因するものと考えられた．なお，回復期間では雌雄の 30 mg/kg 群で回復が認められた．

血液学検査では，雌雄の 30 mg/kg 群でヘマトクリット値，ヘモグロビン量，MCH および MCHC が低値，網赤血球比率が高値を示し，雄の 30 mg/kg 群では MCV が低値，雌の 30 mg/kg 群では赤血球数が低値を示した．さらに，雌の 10 mg/kg 群ではヘマトクリット値，ヘモグロビン量および MCH が低値を示した．これは，総ビリルビンの高値，脾臓の髄外造血亢進および脾臓の色素沈着を考慮すると，溶血性貧血であると判断された．なお，回復期間終了時に貧血は回復傾向を示した．雌雄の 30 mg/kg 群および雌の 10 mg/kg 群では，メトヘモグロビン比率が高値および高値傾向を示した．Hydrazine を投与したラットにおいてメトヘモグロビン血症の発現することが報告されている[4]．

血液凝固能検査では，雄の 30 mg/kg 群で PT および APTT が短縮を示し，回復期間終了時では雌の 30 mg/kg 群で PT が短縮を示した．いずれも短縮方向への変化であり毒性学的意義のない変化と考えられた．

血液生化学検査では，雌雄の 30 mg/kg 群で総ビリルビン，A/G および無機リンが高値，血糖および塩素が低値，雄の 30 mg/kg 群で尿素窒素およびアルブミンが高値を示し，いずれも被験物質の影響と考えられた．また，雌の 30 mg/kg 群でカルシウムが高値を示した．その他，雄の 30 mg/kg 群で AST および ALT が低値を示したがいずれも減少方向の変化であり毒性

学的意義のない変化と考えられた．回復期間終了時では雌の 30 mg/kg 群で無機リンが高値を示したが，軽微な変化であった．また，総コレステロールが高値を示したが，投与終了時においては認められなかった変化であった．

尿検査では各投与群において変化が認められなかった．

器官重量測定では，雌雄の 10 および 30 mg/kg 群で腎臓の絶対重量および相対重量が高値および高値傾向を示した．また，雌の 10 および 30 mg/kg 群で肝臓絶対重量が高値，雌雄の 10 および 30 mg/kg 群で肝臓相対重量が高値を示した．組織所見における小葉辺縁性の脂肪化の発生数とも相関しており被験物質の影響と考えられた．雌の 30 mg/kg 群で脾臓絶対重量が高値，雌雄の 30 mg/kg 群では脾臓相対重量が高値を示し，組織所見における脾臓の髄外造血の発生数と相関しており被験物質の影響と考えられた．その他，雄の 30 mg/kg 群で脳および精巣上体の絶対重量が低値を示し，雌雄の 30 mg/kg 群で脳および心臓の相対重量が高値あるいは高値傾向を示したが，いずれもこの群の体重増加抑制に伴う二次的変化と考えられた．回復期間終了時，雌の 30 mg/kg 群で肝臓および腎臓の相対重量が高値を示した．脳重量比を算出して比較した結果，肝臓（対照群：327.54%，30 mg/kg 群：362.86%）および腎臓（対照群：90.29%，30 mg/kg 群：96.90%）とも大差は認められなかった．雄の 30 mg/kg 群で脳および心臓の絶対重量が低値，胸腺相対重量が高値を示したが，いずれもこの群の体重の低値に起因すると考えられた．

剖検所見の肝臓の淡色化に相当する組織所見の肝臓の脂肪化は雄の 10 および 30 mg/kg 群で増加し，被験物質投与との関連が示唆された．しかし，回復期間終了時では認められず回復性を有すると考えられた．雌では投与終了時および回復期間終了時のいずれにおいても対照群を含む各群にほぼ同様に認められた．なお，30 mg/kg 群の 1 例では程度の増強が認められたことから，雌においては自然発生性の変化が被験物質投与により増強されたと考えられた．また，回復期間終了時では発生数および程度に対照群と差が認められなかったことから，回復性を有すると考えられた．

雌雄の脾臓に観察された髄外造血は，血液学検査で認められた溶血性貧血に対する反応性変化と考えられた．髄外造血の発生数は回復期間終了時では 1 例のみであり血液学検査の結果からも貧血が回復したと考えられた．なお，脾臓の色素沈着は回復期間終了時においても雌雄の全例に観察され，溶血性貧血による二次的変化と考えられた．

その他，観察された所見は単発性あるいは散発性もしくは用量に対応せずに認められていることから，いずれも自然発生性病変と考えられた．

以上の結果のうち，雄では 10 mg/kg 群でみられた腎臓絶対重量の高値傾向，肝臓および腎臓相対重量の高値あるいは高値傾向が，雌では 10 mg/kg 群でみられたヘマトクリット値，ヘモグロビン量および MCH の低値，肝臓および腎臓の絶対重量の高値と相対重量の高値あるいは高値傾向が認められないことから，本試験条件下における Hydrazine, monohydrate のラットに対する無影響量は，雌雄とも 3 mg/kg/day と判断された.

17. 参考文献

1) 佐野正樹，岡山佳弘：医薬安全性研究会会報 32 : 21-44, (1990).
2) Yoshida, M. : J. Jap. Soc. Comp. Stat. 1 : 111-122, (1988).
3) 倍味繁，稲葉太一：医薬安全性研究会会報，40 : 33-36, (1994).
4) STEPHEN J. MOLONEY and RUSSELL A. PROUGH: Reviews in Biochemical Toxicology, Vol. 5 : 313-348, (1983).
5) M.D.C. Scales, J. A. Timbrell: Journal of Toxicology and Environmental Health, 10 : 941-953, (1982).
6) J. A. Timbrell, M.D.C. Scales, A. J. Streeter: Journal of Toxicology and Environmental Health, 10 : 955-968, (1982).

Figures

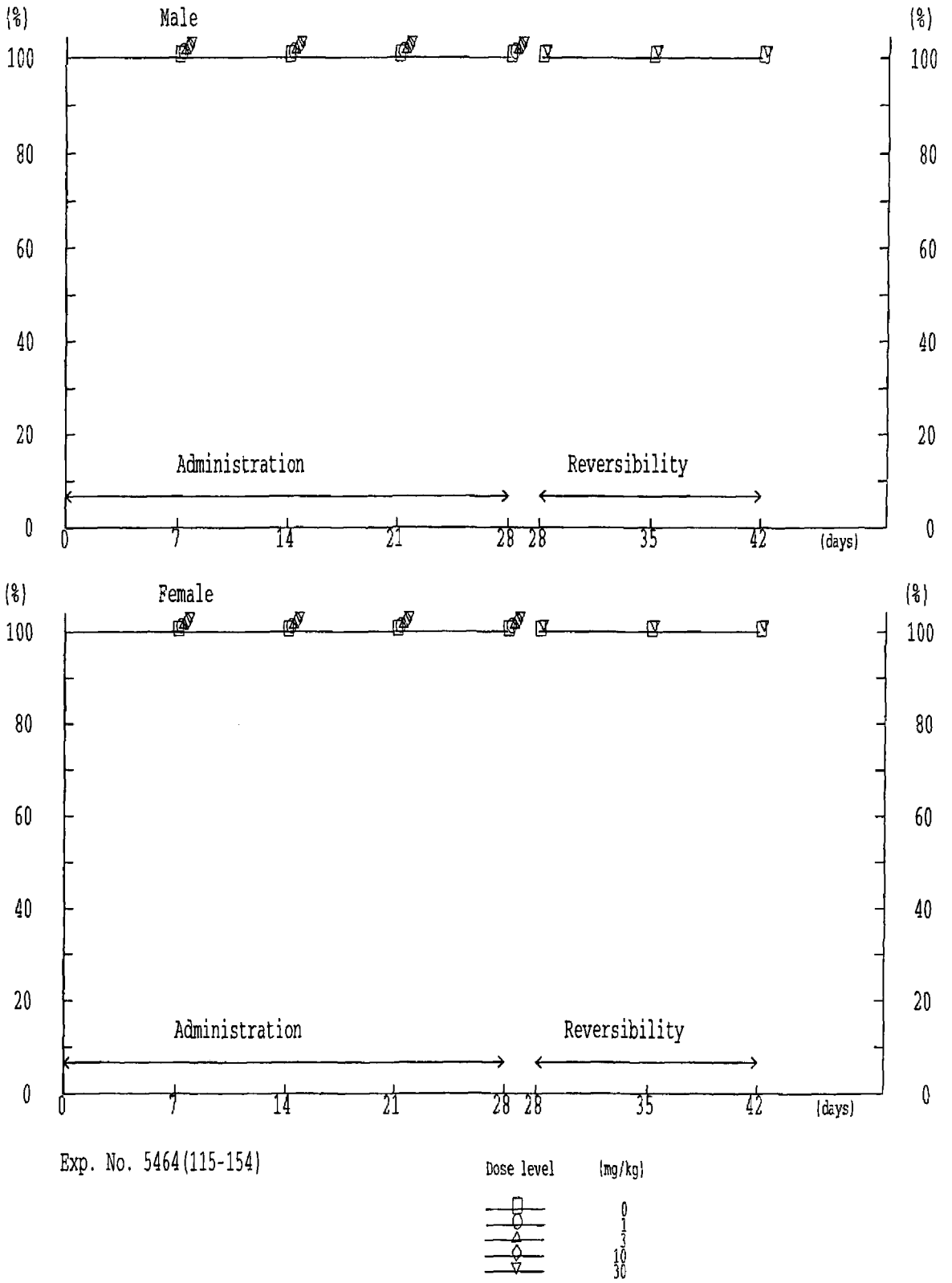


Figure 1. Survival ratio

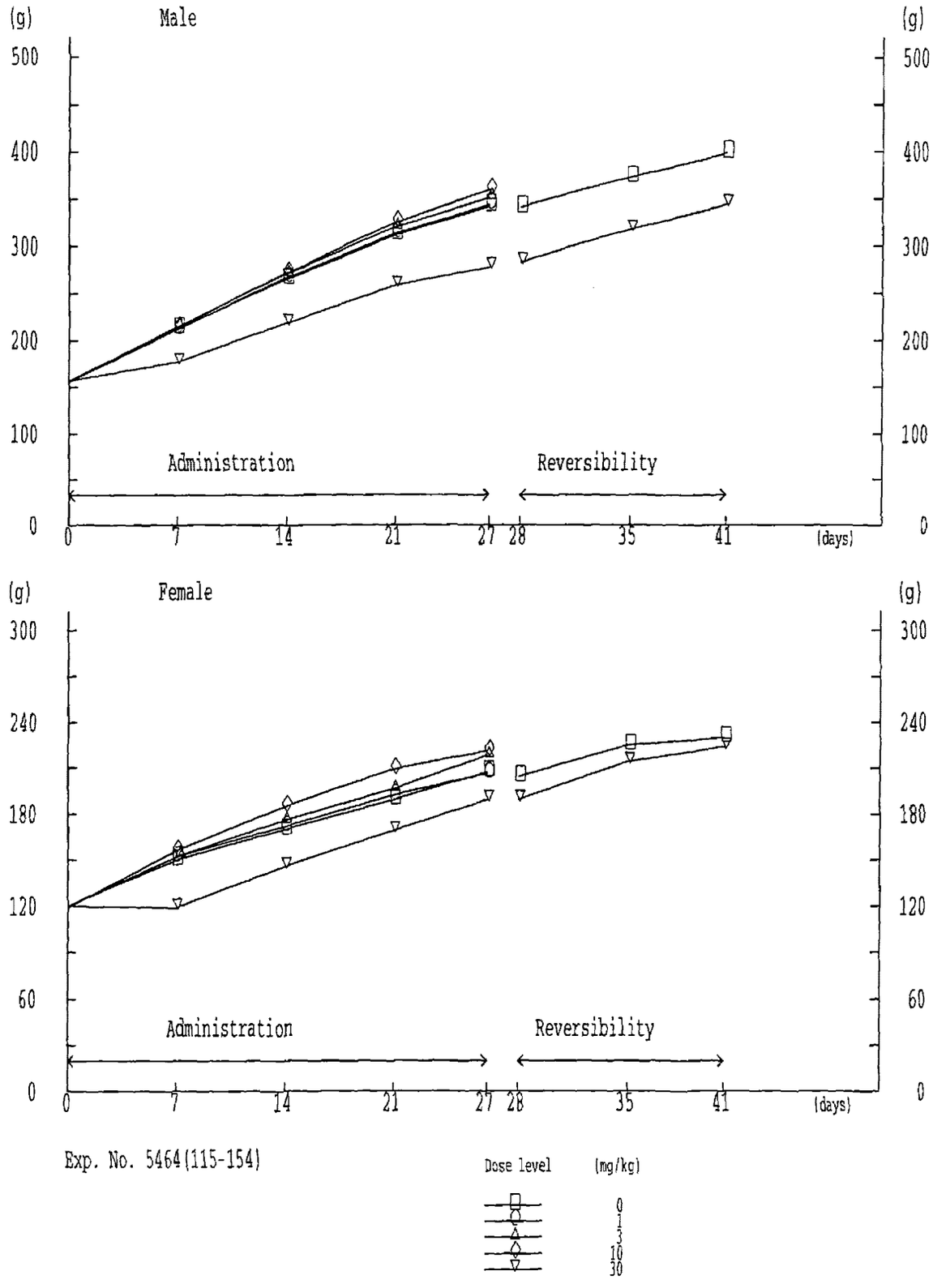
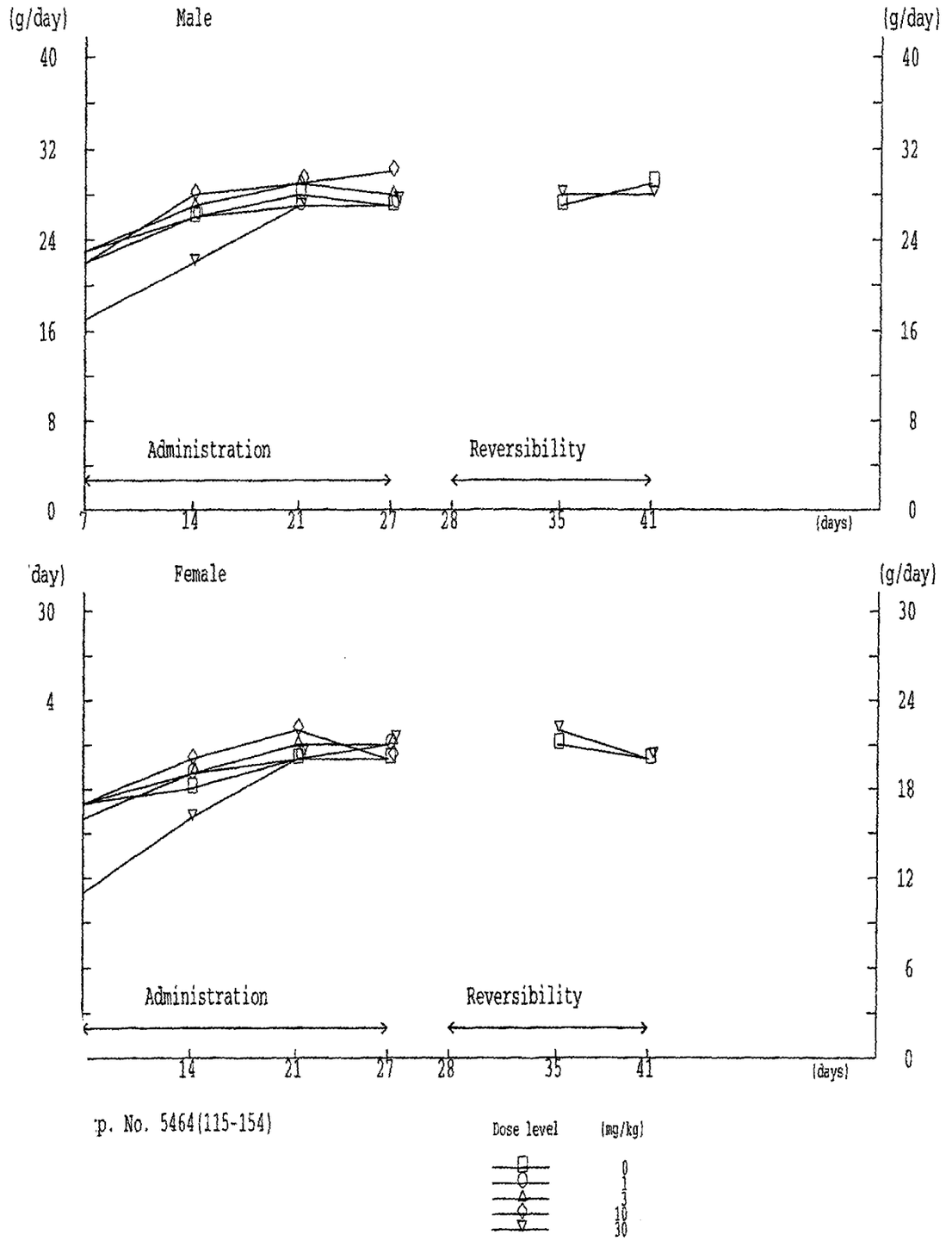


Figure 2. Body weight



ure 3. Food consumption

Tables

Table 1. Survival and mortality

Exp. No. 5464 (115-154)

Sex	Dose level (mg/kg)	Days of experiment 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Male	0	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
	1	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
	3	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
	10	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
	30	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
Female	0	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
	1	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
	3	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
	10	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
	30	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10

Number surviving / Number per group.
Significant difference from control group; *: $P \leqq 0.05$ **: $P \leqq 0.01$

Table 1. -continued Survival and mortality

Exp. No. 5464 (115-154)

Sex	Dose level (mg/kg)	Days of experiment 14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
Male	0	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
	1	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
	3	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
	10	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
	30	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
Female	0	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
	1	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
	3	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
	10	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
	30	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10

Number surviving / Number per group.
Significant difference from control group; *: $P \leqq 0.05$ **: $P \leqq 0.01$

Table 1. -continued Survival and mortality

Exp. No. 5464 (115-154)

Sex	Dose level (mg/kg)	Days of experiment 27	28	Mortality (%)
Male	0	10/10	10/10	0.0
	1	5/5	5/5	0.0
	3	5/5	5/5	0.0
	10	5/5	5/5	0.0
	30	10/10	10/10	0.0
Female	0	10/10	10/10	0.0
	1	5/5	5/5	0.0
	3	5/5	5/5	0.0
	10	5/5	5/5	0.0
	30	10/10	10/10	0.0

Number surviving / Number per group.
Significant difference from control group; *: $P \leqq 0.05$ **: $P \leqq 0.01$

Table 1. -continued Survival and mortality

Exp. No. 5464 (115-154)

Sex	Dose level (mg/kg)	Days of experiment 28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
Male	0	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
	30	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
Female	0	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
	30	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

Number surviving / Number per group.
Significant difference from control group; *: $P \leqq 0.05$ **: $P \leqq 0.01$

Table 1. -continued Survival and mortality

Exp. No. 5464 (115-154)

Sex	Dose level (mg/kg)	Days of experiment 41	42	Mortality (%)
Male	0	5/5	5/5	0.0
	30	5/5	5/5	0.0
Female	0	5/5	5/5	0.0
	30	5/5	5/5	0.0

Number surviving / Number per group.
Significant difference from control group; *: P≦0.05 **: P≦0.01

Table 2. Clinical observation

Exp. No. 5464 (115-154)

Sex : Male

Findings of clinical observation	Dose level (mg/kg)	Days of experiment 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
normal/number per group	0	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
	1	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
	3	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
	10	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
	30	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	8/10	8/10	8/10	8/10	8/10	8/10	8/10	7/10	7/10
wasting	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	30	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2
piloerection	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	30	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2
salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1

Table 2. -continued Clinical observation

Exp. No. 5464 (115-154)

Sex : Male

Findings of clinical observation	Dose level (mg/kg)	Days of experiment 15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	Total (1→28)
normal/number per group	0	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10
	1	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
	3	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
	10	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
	30	7/10	7/10	7/10	7/10	6/10	8/10	9/10	5/10	9/10	5/10	6/10	4/10	6/10	6/10	2
wasting	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	30	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
piloerection	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	30	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	30	1	1	1	1	4	2	1	5	1	5	4	6	4	4	7

Table 2. -continued Clinical observation Exp. No. 5464 (115-154)

Sex : Female

Findings of clinical observation	Dose level (mg/kg)	Days of experiment 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
normal/number per group	0	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
	1	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
	3	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
	10	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
	30	10/10	10/10	10/10	9/10	7/10	6/10	6/10	6/10	6/10	6/10	6/10	6/10	6/10	6/10
wasting	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	30	0	0	0	1	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4
piloerection	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	30	0	0	0	1	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4
salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
dirty nose	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	30	0	0	0	1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3

Table 2. -continued Clinical observation

Exp. No. 5464 (115-154)

Sex : Female

Findings of clinical observation	Dose level (mg/kg)	Days of experiment 15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	Total (1→28)
normal/number per group	0	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10
	1	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
	3	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
	10	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
	30	6/10	6/10	6/10	6/10	8/10	8/10	8/10	8/10	9/10	8/10	8/10	9/10	10/10	10/10	5
wasting	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	30	4	4	4	4	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	4
piloerection	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	30	4	4	4	4	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	4
salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	30	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	1
dirty nose	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3

Table 2. -continued Clinical observation Exp. No. 5464 (115-154)

Sex : Male

Findings of clinical observation	Dose level (mg/kg)	Days of experiment 29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	Total (29→42)
normal/number per group	0	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
	30	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

Table 2. -continued Clinical observation Exp. No. 5464 (115-154)

Sex : Female

Findings of clinical observation	Dose level (mg/kg)	Days of experiment 29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	Total (29→42)
normal/number per group	0	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
	30	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

Table 3. Body weight

Exp. No. 5464 (115-154)

(unit : g)

Sex	Dose level (mg/kg)	Days of experiment 0	7	14	21	27
Male	0	155 ± 7	213 ± 16N	265 ± 26	311 ± 36	342 ± 41
	1	155 ± 8	212 ± 9	267 ± 15	313 ± 19	344 ± 23
	3	156 ± 8	215 ± 11	271 ± 14	320 ± 16	351 ± 20
	10	155 ± 9	214 ± 16	272 ± 16	325 ± 13	359 ± 14
	30	156 ± 7	177 ± 37*	219 ± 38**	258 ± 28**	278 ± 25**
Female	0	120 ± 5	150 ± 9N	170 ± 12N	189 ± 18	207 ± 18N
	1	120 ± 8	152 ± 7	172 ± 7	192 ± 6	206 ± 4
	3	120 ± 7	152 ± 15	176 ± 19	196 ± 21	218 ± 22
	10	119 ± 3	156 ± 4	185 ± 12	209 ± 11	221 ± 9
	30	120 ± 5	119 ± 28*	146 ± 26	169 ± 19*	189 ± 18

Mean ± S.D.
Significant difference from control group; *: P≦0.05 **: P≦0.01
N: Non parametric analysis

Table 3. -continued Body weight

Exp. No. 5464 (115-154)

(unit : g)

Sex	Dose level (mg/kg)	Gain (0 → 27)
Male	0	187 ± 35
	1	189 ± 22
	3	194 ± 22
	10	204 ± 8
	30	122 ± 19**
Female	0	87 ± 14
	1	85 ± 6
	3	98 ± 17
	10	102 ± 9
	30	69 ± 14*

Mean ± S.D.
Significant difference from control group; *: P≦0.05 **: P≦0.01

Table 3. -continued Body weight

Exp. No. 5464 (115-154)

(unit : g)

Sex	Dose level (mg/kg)	Days of experiment 28	35	41	Gain (28 → 41)
Male	0	341 ± 48	373 ± 53	398 ± 53	57 ± 10
	30	283 ± 24*	318 ± 19	344 ± 18	61 ± 9
Female	0	204 ± 8N	225 ± 11	230 ± 11	26 ± 6
	30	189 ± 25	214 ± 26	224 ± 29	35 ± 8

Mean ± S.D.
Significant difference from control group; *: P≦0.05 **: P≦0.01
N: Non parametric analysis

Table 4. Food consumption

Exp. No. 5464 (115-154)

(unit : g/day)

Sex	Dose level (mg/kg)	Days of experiment 7	14	21	27	Total (0 → 27)
Male	0	23 ± 2N	26 ± 3N	28 ± 4	27 ± 4	696 ± 80
	1	22 ± 1	26 ± 1	27 ± 2	27 ± 2	685 ± 28
	3	23 ± 1	27 ± 2	29 ± 2	28 ± 3	728 ± 44
	10	22 ± 2	28 ± 2	29 ± 2	30 ± 2	730 ± 50
	30	17 ± 5*	22 ± 6	27 ± 4	27 ± 4	618 ± 102
Female	0	17 ± 2	18 ± 2	20 ± 2	20 ± 2	500 ± 48
	1	17 ± 2	19 ± 2	20 ± 2	21 ± 3	518 ± 49
	3	16 ± 2	19 ± 2	21 ± 2	21 ± 2	516 ± 54
	10	17 ± 2	20 ± 3	22 ± 3	20 ± 1	534 ± 50
	30	11 ± 4**	16 ± 4	20 ± 2	21 ± 3	448 ± 51

Mean ± S.D.
Significant difference from control group; *: P≦0.05 **: P≦0.01
N: Non parametric analysis

Table 4. -continued Food consumption

Exp. No. 5464 (115-154)

(unit : g/day)

Sex	Dose level (mg/kg)	Days of experiment 35	41	Total (29 → 41)
Male	0	27 ± 5N	29 ± 4N	364 ± 55N
	30	28 ± 1	28 ± 0	366 ± 7
Female	0	21 ± 2	20 ± 2	265 ± 23
	30	22 ± 2	20 ± 2	277 ± 20

Mean ± S.D.
Significant difference from control group; *: P≦0.05 **: P≦0.01
N: Non parametric analysis

Table 5. Food efficiency

Exp. No. 5464 (115-154)

(unit : %)

Sex	Dose level (mg/kg)	Days of experiment 7	14	21	27	Mean (0 → 27)
Male	0	36.4 ± 3.3N	27.8 ± 3.6N	23.5 ± 3.3N	19.2 ± 2.3N	26.6 ± 2.2
	1	37.9 ± 2.2	30.0 ± 3.9	24.0 ± 2.5	19.2 ± 2.1	27.6 ± 2.3
	3	36.6 ± 1.9	29.0 ± 2.3	23.5 ± 1.9	18.0 ± 3.9	26.7 ± 1.8
	10	38.0 ± 2.7	30.0 ± 2.5	26.1 ± 3.6	19.0 ± 1.9	28.0 ± 1.3
	30	6.8 ± 41.8**	29.4 ± 10.8	21.3 ± 8.6	12.7 ± 5.7*	19.9 ± 1.6**
Female	0	25.5 ± 3.1N	15.1 ± 3.5N	14.1 ± 3.8N	15.3 ± 3.5	17.4 ± 1.6
	1	26.1 ± 2.1	15.5 ± 2.8	14.3 ± 4.3	11.0 ± 3.2	16.5 ± 1.7
	3	27.7 ± 5.4	18.5 ± 2.9	14.2 ± 1.7	16.7 ± 2.6	18.9 ± 1.7
	10	31.5 ± 3.7	19.7 ± 6.0	15.7 ± 3.4	10.4 ± 7.0	19.2 ± 1.5
	30	-18.0 ± 53.7**	24.1 ± 11.7*	16.8 ± 10.7	15.7 ± 5.4	15.4 ± 2.3

Mean ± S.D.
Significant difference from control group; *: P≦0.05 **: P≦0.01
N: Non parametric analysis

Table 5. -continued Food efficiency

Exp. No. 5464 (115-154)

(unit : %)

Sex	Dose level (mg/kg)	Days of experiment 35	41	Mean (29 → 41)
Male	0	16.1 ± 8.8	14.3 ± 4.8	15.6 ± 1.9
	30	17.9 ± 3.6	15.3 ± 1.6	16.7 ± 2.5
Female	0	14.3 ± 2.9	3.9 ± 2.0N	9.5 ± 1.5
	30	15.6 ± 3.3	8.5 ± 8.3	12.7 ± 3.1

Mean ± S.D.
Significant difference from control group; *: P≦0.05 **: P≦0.01
N: Non parametric analysis

Table 6. Hematology

Exp. No. 5464 (115-154)

Day: 28

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	HCT (%)	HGB (g/dL)	RBC ($\times 10^6$/mm^3)	MCV (μm^3)	MCH (pg)	MCHC (%)
Male	0	5	44.3 ± 1.7	15.1 ± 0.6	7.73 ± 0.34	57.3 ± 1.0	19.6 ± 0.2	34.2 ± 0.4N
	1	5	44.8 ± 0.9	15.2 ± 0.3	8.01 ± 0.28	55.9 ± 1.8	19.0 ± 0.7	33.9 ± 0.3
	3	5	43.8 ± 1.3	14.9 ± 0.4	7.89 ± 0.34	55.6 ± 2.0	18.9 ± 0.7	34.0 ± 0.3
	10	5	43.1 ± 1.9	14.5 ± 0.5	7.74 ± 0.25	55.7 ± 1.6	18.7 ± 0.5	33.7 ± 0.4
	30	5	38.0 ± 1.4**	11.9 ± 0.4**	7.33 ± 0.25	51.8 ± 1.3**	16.2 ± 0.8**	31.3 ± 1.1*
Female	0	5	43.6 ± 1.0	15.3 ± 0.5	7.77 ± 0.36	56.2 ± 1.5	19.7 ± 0.4N	35.1 ± 0.6
	1	5	42.8 ± 1.0	15.1 ± 0.4	7.66 ± 0.18	55.9 ± 1.3	19.6 ± 0.3	35.2 ± 0.5
	3	5	41.6 ± 1.2	14.7 ± 0.4	7.61 ± 0.38	54.7 ± 1.8	19.3 ± 0.6	35.3 ± 0.4
	10	5	40.5 ± 1.2**	14.0 ± 0.6**	7.50 ± 0.37	54.0 ± 1.3	18.7 ± 0.2*	34.6 ± 0.6
	30	5	34.7 ± 2.2**	10.6 ± 0.7**	6.43 ± 0.31**	53.9 ± 3.1	16.6 ± 1.1*	30.7 ± 0.7**

Mean ± S.D.
Significant difference from control group; *: P≦0.05 **: P≦0.01
N: Non parametric analysis

Table 6. -continued Hematology Exp. No. 5464 (115-154)

Day: 28

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	PLT ($x10^3/mm^3$)	WBC ($x10^3/mm^3$)	Differential leukocyte counts (%) NEUT	LYMPH	MONO	EOSN	BASO	LUC
Male	0	5	1304 ± 113	8.5 ± 2.7	13 ± 4	84 ± 4	2 ± 0	1 ± 0	0 ± 0	1 ± 0
	1	5	1349 ± 144	8.4 ± 2.1	11 ± 3	86 ± 3	2 ± 0	1 ± 0	0 ± 0	1 ± 0
	3	5	1281 ± 122	9.3 ± 2.2	15 ± 4	81 ± 4	2 ± 1	1 ± 0	0 ± 0	1 ± 0
	10	5	1326 ± 78	9.0 ± 1.7	15 ± 4	81 ± 5	2 ± 1	1 ± 1	0 ± 0	1 ± 0
	30	5	1786 ± 216**	7.9 ± 1.8	17 ± 9	80 ± 10	2 ± 1	1 ± 0	0 ± 0	1 ± 0
Female	0	5	1229 ± 124N	6.8 ± 2.7	13 ± 4N	84 ± 3	2 ± 1	1 ± 1	0 ± 0	1 ± 0
	1	5	1341 ± 165	6.9 ± 1.6	11 ± 4	85 ± 5	1 ± 1	1 ± 1	0 ± 0	1 ± 0
	3	5	1340 ± 41	5.8 ± 2.1	14 ± 3	83 ± 2	2 ± 1	1 ± 0	0 ± 0	1 ± 0
	10	5	1322 ± 196	7.8 ± 1.9	12 ± 1	84 ± 1	2 ± 1	1 ± 0	0 ± 0	1 ± 0
	30	5	1814 ± 353	6.0 ± 2.0	15 ± 4	80 ± 4	3 ± 1**	1 ± 0	0 ± 0	1 ± 0

NEUT: Neutrophil LYMPH: Lymphocyte MONO: Monocyte EOSN: Eosinophil BASO: Basophil LUC: Large unstained cells
Mean ± S.D.
Significant difference from control group; *: P≦0.05 **: P≦0.01
N: Non parametric analysis

Table 6. -continued Hematology

Exp. No. 5464 (115-154)

Day: 28

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Methemoglobin (%)	Reticulocyte (%)
Male	0	5	0.75 ± 0.11	2.8 ± 0.6
	1	5	0.74 ± 0.03	2.8 ± 0.4
	3	5	0.76 ± 0.13	3.1 ± 0.6
	10	5	0.85 ± 0.08	3.7 ± 0.4
	30	5	0.99 ± 0.11**	6.2 ± 1.3**
Female	0	5	0.52 ± 0.09N	2.2 ± 0.5N
	1	5	0.49 ± 0.33	2.3 ± 0.4
	3	5	0.62 ± 0.10	2.9 ± 0.4
	10	5	1.28 ± 1.37	3.0 ± 1.0
	30	5	1.00 ± 0.23*	9.2 ± 1.6*

Mean ± S.D.
Significant difference from control group; *: P≦0.05 **: P≦0.01
N: Non parametric analysis

Table 6. -continued Hematology

Exp. No. 5464 (115-154)

Day: 42

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	HCT (%)	HGB (g/dL)	RBC ($\times 10^6$/mm^3)	MCV (μm^3)	MCH (pg)	MCHC (%)
Male	0	5	44.2 ± 1.2	15.3 ± 0.5	8.30 ± 0.23	53.3 ± 0.5N	18.5 ± 0.2N	34.7 ± 0.5
	30	5	44.0 ± 1.9	14.9 ± 0.7	7.87 ± 0.50	56.0 ± 2.1	18.9 ± 0.8	33.8 ± 0.5*
Female	0	5	43.6 ± 1.4	15.6 ± 0.6	8.13 ± 0.31	53.7 ± 0.7N	19.1 ± 0.3	35.7 ± 0.4
	30	5	43.4 ± 1.3	14.8 ± 0.4	7.75 ± 0.25	56.0 ± 2.5	19.1 ± 0.9	34.2 ± 0.2**

Mean ± S.D.
Significant difference from control group; *: P≦0.05 **: P≦0.01
N: Non parametric analysis

Table 6. -continued Hematology

Exp. No. 5464 (115-154)

Day: 42

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	PLT ($\times 10^3/mm^3$)	WBC ($\times 10^3/mm^3$)	Differential leukocyte counts (%) NEUT	LYMPH	MONO	EOSN	BASO	LUC
Male	0	5	1144 ± 170	9.8 ± 1.9	11 ± 3	86 ± 3	2 ± 1	1 ± 0	0 ± 0	1 ± 0
	30	5	1253 ± 170	11.1 ± 1.8	12 ± 1	84 ± 2	2 ± 1	1 ± 0	0 ± 0	1 ± 0
Female	0	5	1289 ± 172	7.0 ± 0.5	11 ± 3	85 ± 3	2 ± 1	1 ± 1	0 ± 0	1 ± 0
	30	5	1232 ± 63	7.0 ± 1.0	10 ± 3	86 ± 3	2 ± 1	1 ± 0	0 ± 0	1 ± 0

NEUT: Neutrophil LYMPH: Lymphocyte MONO: Monocyte EOSN: Eosinophil BASO: Basophil LUC: Large unstained cells
Mean ± S.D.
Significant difference from control group; *: $P \leqq 0.05$ **: $P \leqq 0.01$

Table 6. -continued Hematology

Exp. No. 5464 (115-154)

Day: 42

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Methemoglobin (%)	Reticulocyte (%)
Male	0	5	0.80 ± 0.31	2.6 ± 0.4N
	30	5	0.60 ± 0.14	3.4 ± 1.7
Female	0	5	0.60 ± 0.08N	2.3 ± 0.4
	30	5	0.68 ± 0.47	2.0 ± 0.3

Mean ± S.D.
Significant difference from control group; *: P≦0.05 **: P≦0.01
N: Non parametric analysis

Table 7. Coagulation

Exp. No. 5464 (115-154)

Day: 28

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	PT (sec.)	APTT (sec.)	Fibrinogen (mg/dL)
Male	0	5	17.5 ± 1.2	24.2 ± 2.3	231 ± 20
	1	5	16.7 ± 0.6	23.0 ± 1.2	252 ± 15
	3	5	17.2 ± 1.7	24.6 ± 1.4	235 ± 18
	10	5	16.5 ± 1.4	24.7 ± 3.1	246 ± 15
	30	5	14.4 ± 0.8**	19.6 ± 2.8*	200 ± 38
Female	0	5	16.1 ± 1.0	19.2 ± 1.6	199 ± 11
	1	5	16.2 ± 0.8	19.7 ± 1.0	197 ± 17
	3	5	16.4 ± 0.7	18.8 ± 1.2	199 ± 17
	10	5	15.5 ± 1.0	17.8 ± 2.2	194 ± 16
	30	5	14.8 ± 0.7	18.0 ± 0.4	173 ± 20

Mean ± S.D.
Significant difference from control group; *: $P \leqq 0.05$ **: $P \leqq 0.01$

Table 7. -continued Coagulation

Exp. No. 5464 (115-154)

Day: 42

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	PT (sec.)	APTT (sec.)	Fibrinogen (mg/dL)
Male	0	5	17.7 ± 1.0	23.4 ± 1.1	240 ± 19
	30	5	17.3 ± 1.0	21.8 ± 1.0	239 ± 11
Female	0	5	16.1 ± 0.3	18.2 ± 0.6	182 ± 8N
	30	5	15.6 ± 0.3*	19.1 ± 0.7	187 ± 25

Mean ± S.D.
Significant difference from control group; *: P≦0.05 **: P≦0.01
N: Non parametric analysis

Table 8. Blood chemistry

Exp. No. 5464 (115-154)

Day: 28

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Glucose (mg/dL)	T.cholesterol (mg/dL)	Triglyceride (mg/dL)
Male	0	5	140 ± 13	51 ± 5	29.8 ± 7.5N
	1	5	143 ± 21	63 ± 9*	51.3 ± 17.7
	3	5	149 ± 25	56 ± 8	41.7 ± 26.3
	10	5	129 ± 22	52 ± 4	24.7 ± 8.1
	30	5	100 ± 7*	55 ± 7	24.7 ± 4.8
Female	0	5	114 ± 8N	56 ± 8	11.9 ± 7.5
	1	5	120 ± 22	63 ± 7	13.5 ± 9.2
	3	5	118 ± 16	55 ± 10	11.6 ± 4.4
	10	5	115 ± 8	64 ± 13	25.5 ± 19.4
	30	5	83 ± 3*	65 ± 11	23.1 ± 9.3

Mean ± S.D.
Significant difference from control group; *: P≦0.05 **: P≦0.01
N: Non parametric analysis

Table 8. -continued Blood chemistry

Exp. No. 5464 (115-154)

Day: 28

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	BUN (mg/dL)	Creatinine (mg/dL)	T.bilirubin (mg/dL)	T.protein (g/dL)	Albumin (g/dL)	A/G
Male	0	5	13.7 ± 2.8	0.23 ± 0.03	0.04 ± 0.01	5.60 ± 0.27	3.60 ± 0.20	1.80 ± 0.14
	1	5	13.5 ± 2.6	0.25 ± 0.05	0.04 ± 0.02	5.48 ± 0.07	3.62 ± 0.10	1.95 ± 0.11
	3	5	13.5 ± 1.5	0.23 ± 0.02	0.05 ± 0.01	5.52 ± 0.19	3.59 ± 0.10	1.88 ± 0.21
	10	5	13.7 ± 2.4	0.23 ± 0.03	0.04 ± 0.01	5.52 ± 0.16	3.55 ± 0.12	1.80 ± 0.07
	30	5	22.9 ± 4.5**	0.23 ± 0.02	0.12 ± 0.03**	5.51 ± 0.11	3.86 ± 0.12*	2.37 ± 0.23**
Female	0	5	17.5 ± 5.0N	0.27 ± 0.02	0.03 ± 0.01	5.47 ± 0.20	3.49 ± 0.11	1.77 ± 0.16
	1	5	15.6 ± 2.9	0.25 ± 0.02	0.04 ± 0.01	5.73 ± 0.21	3.73 ± 0.21	1.88 ± 0.16
	3	5	14.8 ± 0.8	0.26 ± 0.03	0.04 ± 0.02	5.68 ± 0.15	3.77 ± 0.18	1.98 ± 0.14
	10	5	16.3 ± 2.4	0.27 ± 0.04	0.06 ± 0.01	5.75 ± 0.13	3.82 ± 0.12	1.99 ± 0.18
	30	5	20.2 ± 4.0	0.23 ± 0.05	0.11 ± 0.04**	5.42 ± 0.39	3.83 ± 0.33	2.42 ± 0.25**

Mean ± S.D.
Significant difference from control group; *: P≦0.05 **: P≦0.01
N: Non parametric analysis

Table 8. -continued Blood chemistry

Exp. No. 5464 (115-154)

Day: 28

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Sodium (mmol/L)	Potassium (mmol/L)	Chloride (mmol/L)	Calcium (mg/dL)	I.phosphorus (mg/dL)
Male	0	5	143.9 ± 0.9	4.50 ± 0.27	108.0 ± 1.2	10.04 ± 0.42N	8.05 ± 0.53
	1	5	143.6 ± 1.0	4.61 ± 0.25	107.8 ± 1.3	9.91 ± 0.04	8.19 ± 0.27
	3	5	142.9 ± 1.5	4.39 ± 0.41	106.6 ± 2.9	9.94 ± 0.24	8.44 ± 0.62
	10	5	144.3 ± 1.4	4.31 ± 0.40	106.8 ± 1.0	9.81 ± 0.31	8.75 ± 0.43
	30	5	142.8 ± 1.4	4.94 ± 0.49	104.6 ± 1.0*	10.30 ± 0.11	9.54 ± 0.84**
Female	0	5	142.6 ± 1.7	4.49 ± 0.36	108.5 ± 1.4	9.74 ± 0.24	7.55 ± 0.71
	1	5	143.2 ± 0.9	4.37 ± 0.42	110.0 ± 1.8	9.79 ± 0.25	6.81 ± 0.68
	3	5	143.5 ± 0.7	4.24 ± 0.39	107.9 ± 1.3	9.91 ± 0.16	7.37 ± 1.06
	10	5	142.4 ± 1.2	4.28 ± 0.59	106.8 ± 1.7	10.03 ± 0.32	7.89 ± 0.52
	30	5	141.1 ± 1.4	4.68 ± 0.18	102.3 ± 1.5**	10.49 ± 0.24**	9.81 ± 0.82**

Mean ± S.D.
Significant difference from control group; *: P≦0.05 **: P≦0.01
N: Non parametric analysis

Table 8. -continued Blood chemistry

Exp. No. 5464 (115-154)

Day: 28

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	AST (U/L)	ALT (U/L)	ALP (U/L)	Gamma-GTP (U/L)
Male	0	5	77 ± 6	32 ± 3	765 ± 54	0.4 ± 0.2
	1	5	67 ± 8	27 ± 3	776 ± 153	0.4 ± 0.3
	3	5	66 ± 10	28 ± 6	746 ± 194	0.4 ± 0.0
	10	5	66 ± 4	26 ± 4	737 ± 174	0.5 ± 0.2
	30	5	51 ± 9**	17 ± 2**	732 ± 147	0.5 ± 0.2
Female	0	5	73 ± 6N	25 ± 5N	482 ± 141	0.9 ± 0.3N
	1	5	63 ± 6	22 ± 3	419 ± 79	0.6 ± 0.2
	3	5	72 ± 6	23 ± 3	442 ± 135	0.9 ± 0.3
	10	5	62 ± 6*	17 ± 2*	412 ± 112	0.8 ± 0.5
	30	5	73 ± 19	22 ± 11	513 ± 151	1.5 ± 1.0

Mean ± S.D.
Significant difference from control group; *: P≦0.05 **: P≦0.01
N: Non parametric analysis

Table 8. -continued Blood chemistry

Exp. No. 5464 (115-154)

Day: 42

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Glucose (mg/dL)	T.cholesterol (mg/dL)	Triglyceride (mg/dL)
Male	0	5	155 ± 20	53 ± 11	44.8 ± 28.3
	30	5	148 ± 24	63 ± 15	46.6 ± 11.6
Female	0	5	124 ± 5N	62 ± 6	15.8 ± 8.6
	30	5	131 ± 18	75 ± 6**	23.7 ± 4.8

Mean ± S.D.
Significant difference from control group; *: P≦0.05 **: P≦0.01
N: Non parametric analysis

Table 8. -continued Blood chemistry

Exp. No. 5464 (115-154)

Day: 42

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	BUN (mg/dL)	Creatinine (mg/dL)	T.bilirubin (mg/dL)	T.protein (g/dL)	Albumin (g/dL)	A/G
Male	0	5	14.3 ± 2.2	0.27 ± 0.03	0.05 ± 0.01	5.87 ± 0.18	3.62 ± 0.23	1.61 ± 0.16
	30	5	14.1 ± 1.8	0.26 ± 0.03	0.05 ± 0.01	5.66 ± 0.26	3.64 ± 0.23	1.81 ± 0.14
Female	0	5	15.9 ± 1.6	0.32 ± 0.02	0.05 ± 0.01	5.97 ± 0.28	3.91 ± 0.17	1.91 ± 0.06
	30	5	14.9 ± 0.6	0.30 ± 0.03	0.04 ± 0.01	5.68 ± 0.11	3.70 ± 0.12	1.88 ± 0.14

Mean ± S.D.
Significant difference from control group; *: $P \leqq 0.05$ **: $P \leqq 0.01$

Table 8. -continued Blood chemistry

Exp. No. 5464 (115-154)

Day: 42

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Sodium (mmol/L)	Potassium (mmol/L)	Chloride (mmol/L)	Calcium (mg/dL)	I.phosphorus (mg/dL)
Male	0	5	143.3 ± 0.9	4.33 ± 0.39	106.1 ± 1.4	9.93 ± 0.42	7.75 ± 0.45
	30	5	142.9 ± 1.1	4.63 ± 0.31	106.8 ± 1.1	9.83 ± 0.38	8.10 ± 0.60
Female	0	5	142.4 ± 0.5N	4.43 ± 0.14	110.5 ± 1.8	9.75 ± 0.13	5.56 ± 0.81
	30	5	142.8 ± 1.7	4.17 ± 0.27	109.6 ± 1.7	9.68 ± 0.23	6.48 ± 0.31*

Mean ± S.D.
Significant difference from control group; *: P≦0.05 **: P≦0.01
N: Non parametric analysis

Table 8. -continued Blood chemistry

Exp. No. 5464 (115-154)

Day: 42

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	AST (U/L)	ALT (U/L)	ALP (U/L)	Gamma-GTP (U/L)
Male	0	5	74 ± 6	33 ± 5	696 ± 91	0.8 ± 0.2
	30	5	76 ± 6	32 ± 5	656 ± 153	0.7 ± 0.2
Female	0	5	71 ± 6	25 ± 3	315 ± 79	1.0 ± 0.2
	30	5	72 ± 16	24 ± 5	364 ± 99	0.9 ± 0.2

Mean ± S.D.
Significant difference from control group; *: P≦0.05 **: P≦0.01

Table 9. Urinalysis

Exp. No. 5464 (115-154)

Day: 28

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Volume (mL)	Osmotic pressure (mOsm/kg)
Male	0	5	14.6 ± 3.6	1504 ± 270
	1	5	15.7 ± 5.4	1504 ± 407
	3	5	18.4 ± 8.5	1298 ± 635
	10	5	18.8 ± 7.8	1503 ± 547
	30	5	14.7 ± 4.2	1484 ± 557
Female	0	5	17.7 ± 6.9	1085 ± 311
	1	5	12.5 ± 7.2	1434 ± 531
	3	5	9.9 ± 3.7	1774 ± 501
	10	5	10.1 ± 6.0	1733 ± 565
	30	5	18.2 ± 9.1	1088 ± 411

Mean ± S.D.
Significant difference from control group; *: P≦0.05 **: P≦0.01

Table 9. -continued Urinalysis

Exp. No. 5464 (115-154)

Day: 28

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Color 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	pH 5	5.5	6	6.5	7	7.5	8	8.5	≧9	Occult blood -	+/-	1+	2+	3+
Male	0	5	5																		5		5				
	1	5	5																	1	4		5				
	3	5	5																		5		5				
	10	5	4	1															1	1	3		4	1			
	30	5	3	2																1	4		4		1		
Female	0	5	5																		5		3	2			
	1	5	4	1															1	1	3		3	1	1		
	3	5	4	1																	5		5				
	10	5	5															2	1		1	1	4	1			
	30	5	5															2	1	1	1		5				

Color : 1= Colorless, 2= Slight yellow, 3= Yellow-brown, 4= Red, 5= Red-brown, 6= Dark red, 7= Dark brown, 8= Brown-black 9= Milky white, 10= Fluorescent green, 11= Blue.

Table 9. -continued Urinalysis

Exp. No. 5464 (115-154)

Day: 28

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Ketone bodies -	+/-	1+	2+	3+	4+	Glucose(g/dL) -	0.1	0.25	0.5	≧1.0	Protein(mg/dL) -	+/-	30	100	≧300
Male	0	5		2	3				5							4	1	
	1	5	1	2	1	1			5							3	2	
	3	5		3	2				5						1	3		1
	10	5	2	1	1	1			5					1	2	1		1
	30	5		2	3				4	1					1	1	1	2
Female	0	5	5						5					2	2	1		
	1	5	5						5					1	2	1	1	
	3	5	2	2	1				5					1		2	2	
	10	5	1	3	1				5						1	1	2	1
	30	5	3	2					5					3		2		

Table 9. -continued Urinalysis

Exp. No. 5464 (115-154)

Day: 28

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Bilirubin -	1+	2+	3+	Urobilinogen(E.U./dL) 0.1	1.0	2.0	4.0	8.0	≧12
Male	0	5	4	1			5					
	1	5	3	2			4	1				
	3	5	4		1		4	1				
	10	5	4	1			3	2				
	30	5	2	2	1		2	3				
Female	0	5	5				5					
	1	5	4	1			5					
	3	5	3	2			2	3				
	10	5	2	3			2	3				
	30	5	3	2			4	1				

Table 9. -continued Urinalysis : Microscopic examination of sediment Exp. No. 5464 (115-154)

Day: 28

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Erythrocytes - 1+ 2+ 3+	Leukocytes - 1+ 2+ 3+	Epith. Cells - 1+ 2+ 3+	Casts - +	Fat glob. - +	M. threads - +	others - +
Male	0	5	5	5	5	5	5	5	5
	1	5	5	5	5	5	5	5	5
	3	5	5	5	5	5	5	5	1 4
	10	5	5	5	5	5	5	5	5
	30	5	5	5	5	5	5	5	5
Female	0	5	5	5	5	5	5	5	5
	1	5	5	5	5	5	5	5	5
	3	5	5	5	5	5	5	5	5
	10	5	5	5	5	5	5	5	1 4
	30	5	5	5	5	5	5	5	5

others : Crystals

Table 9. -continued Urinalysis

Exp. No. 5464 (115-154)

Day: 42

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Volume (mL)	Osmotic pressure (mOsm/kg)
Male	0	5	16.0 ± 4.7	1527 ± 320
	30	5	13.6 ± 5.7	1706 ± 471
Female	0	5	12.9 ± 3.2	1599 ± 284
	30	5	14.8 ± 3.6	1425 ± 280

Mean ± S.D.
Significant difference from control group; *: P≦0.05 **: P≦0.01

Table 9. -continued Urinalysis

Exp. No. 5464 (115-154)

Day: 42

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Color 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	pH 5	5.5	6	6.5	7	7.5	8	8.5	≧9	Occult blood -	+/-	1+	2+	3+
Male	0	5		4	1																4	1	3		2		
	30	5		4	1															1	4		3	1	1		
Female	0	5		5																	5		5				
	30	5		5																1	4		5				

Color : 1= Colorless, 2= Slight yellow, 3= Yellow-brown, 4= Red, 5= Red-brown, 6= Dark red, 7= Dark brown, 8= Brown-black 9= Milky white, 10= Fluorescent green, 11= Blue.

Table 9. -continued Urinalysis

Exp. No. 5464 (115-154)

Day: 42

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Ketone bodies					Glucose(g/dL)				Protein(mg/dL)				
			-	+/-	1+	2+	3+	4+	-	0.1	0.25	0.5	≧1.0	-	+/-	30	100	≧300
Male	0	5	1		4				5					1	1	1	1	1
	30	5			2	3			5						1	2	2	
Female	0	5	3		2				5						2	2	1	
	30	5	2		2	1			5					1	2		2	

Table 9. -continued Urinalysis

Exp. No. 5464 (115-154)

Day: 42

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Bilirubin -	1+	2+	3+	Urobilinogen(E.U./dL) 0.1	1.0	2.0	4.0	8.0	≧12
Male	0	5	5				5					
	30	5	3	2			4	1				
Female	0	5	4	1			3	2				
	30	5	2	3			3	2				

Table 9. -continued Urinalysis : Microscopic examination of sediment Exp. No. 5464 (115-154)

Day: 42

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Erythrocytes - 1+ 2+ 3+	Leukocytes - 1+ 2+ 3+	Epith. Cells - 1+ 2+ 3+	Casts - +	Fat glob. - +	M. threads - +	others - +
Male	0	5	5	5	5	5	5	4 1	5
	30	5	5	5	5	5	5	2 3	5
Female	0	5	5	5	5	5	5	5	5
	30	5	5	5	5	5	5	4 1	5

others : Crystals

Table 10. Organ weight

Exp. No. 5464 (115-154)

Day: 28

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Body weight (g)	Brain (g)	Heart (g)	Liver (g)	Kidneys (g)
Male	0	5	344 ± 40	2.10 ± 0.09	1.16 ± 0.24	9.38 ± 1.27	2.61 ± 0.41
	1	5	344 ± 23	2.03 ± 0.10	1.15 ± 0.15	9.63 ± 0.96	2.48 ± 0.10
	3	5	351 ± 20	2.04 ± 0.08	1.18 ± 0.07	10.19 ± 1.12	2.74 ± 0.17
	10	5	359 ± 14	2.06 ± 0.09	1.22 ± 0.10	10.80 ± 0.71	3.03 ± 0.31
	30	5	276 ± 26**	1.93 ± 0.05*	1.11 ± 0.22	9.70 ± 1.00	2.89 ± 0.33
Female	0	5	209 ± 24N	1.86 ± 0.11	0.72 ± 0.08	5.75 ± 0.88	1.63 ± 0.10
	1	5	206 ± 4	1.85 ± 0.09	0.78 ± 0.07	6.10 ± 0.47	1.71 ± 0.12
	3	5	218 ± 22	1.94 ± 0.05	0.79 ± 0.06	6.26 ± 1.03	1.69 ± 0.16
	10	5	221 ± 9	1.95 ± 0.06	0.80 ± 0.07	7.05 ± 0.70*	1.92 ± 0.16*
	30	5	188 ± 11	1.82 ± 0.08	0.86 ± 0.14	7.52 ± 0.50**	1.84 ± 0.17

Mean ± S.D.
Significant difference from control group; *: P≦0.05 **: P≦0.01
N: Non parametric analysis

Table 10. -continued Organ weight

Exp. No. 5464 (115-154)

Day: 28

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Spleen (g)	Adrenals (mg)	Testes (g)	Ovaries (mg)	Thymus (mg)
Male	0	5	0.63 ± 0.14	51 ± 5	2.89 ± 0.20		565 ± 163
	1	5	0.61 ± 0.11	47 ± 9	2.99 ± 0.28		510 ± 69
	3	5	0.61 ± 0.09	51 ± 5	2.90 ± 0.18		499 ± 78
	10	5	0.77 ± 0.07	60 ± 7	3.10 ± 0.17		599 ± 87
	30	5	0.70 ± 0.08	46 ± 9	2.55 ± 0.49		412 ± 85
Female	0	5	0.43 ± 0.04	61 ± 11		85 ± 17	430 ± 212
	1	5	0.43 ± 0.04	66 ± 4		80 ± 4	521 ± 105
	3	5	0.42 ± 0.06	64 ± 8		73 ± 18	523 ± 105
	10	5	0.47 ± 0.07	63 ± 9		83 ± 17	477 ± 89
	30	5	0.57 ± 0.08**	54 ± 10		72 ± 13	424 ± 51

Mean ± S.D.
Significant difference from control group; *: $P \leqq 0.05$ **: $P \leqq 0.01$

Table 10. -continued Organ weight

Exp. No. 5464 (115-154)

Day: 28

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Epididymides (mg)
Male	0	5	686 ± 49
	1	5	664 ± 27
	3	5	674 ± 60
	10	5	684 ± 37
	30	5	569 ± 49**
Female	0	5	
	1	5	
	3	5	
	10	5	
	30	5	

Mean ± S.D.
Significant difference from control group; *: P≦0.05 **: P≦0.01

Table 10. -continued Organ weight

Exp. No. 5464 (115-154)

Day: 42

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Body weight (g)	Brain (g)	Heart (g)	Liver (g)	Kidneys (g)
Male	0	5	398 ± 53	2.21 ± 0.12	1.31 ± 0.09	10.99 ± 2.15N	2.88 ± 0.25
	30	5	344 ± 18	2.01 ± 0.05*	1.17 ± 0.09*	10.00 ± 0.48	2.64 ± 0.25
Female	0	5	230 ± 11	1.91 ± 0.10	0.80 ± 0.06	6.25 ± 0.22N	1.72 ± 0.07
	30	5	224 ± 29	1.95 ± 0.13	0.86 ± 0.06	7.08 ± 0.97	1.89 ± 0.20

Mean ± S.D.
Significant difference from control group; *: P≦0.05 **: P≦0.01
N: Non parametric analysis

Table 10. -continued Organ weight

Exp. No. 5464 (115-154)

Day: 42

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Spleen (g)	Adrenals (mg)	Testes (g)	Ovaries (mg)	Thymus (mg)
Male	0	5	0.73 ± 0.04	58 ± 8	3.09 ± 0.27		451 ± 17
	30	5	0.67 ± 0.05	50 ± 5	2.77 ± 0.17		490 ± 40
Female	0	5	0.51 ± 0.02N	63 ± 7		87 ± 14	479 ± 138
	30	5	0.49 ± 0.09	64 ± 7		83 ± 9	442 ± 49

Mean ± S.D.
Significant difference from control group; *: P≦0.05 **: P≦0.01
N: Non parametric analysis

Table 10. -continued Organ weight

Exp. No. 5464 (115-154)

Day: 42

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Epididymides (mg)
Male	0	5	942 ± 98
	30	5	778 ± 161
Female	0	5	
	30	5	

Mean ± S.D.
Significant difference from control group; *: P≦0.05 **: P≦0.01

Table 11. Organ weight per body weight

Exp. No. 5464 (115-154)

Day: 28

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Body weight (g)	Brain (%)	Heart (%)	Liver (%)	Kidneys (%)
Male	0	5	344 ± 40	0.617 ± 0.059	0.336 ± 0.048N	2.723 ± 0.128	0.757 ± 0.076
	1	5	344 ± 23	0.591 ± 0.044	0.333 ± 0.028	2.797 ± 0.153	0.722 ± 0.044
	3	5	351 ± 20	0.584 ± 0.038	0.338 ± 0.019	2.907 ± 0.277	0.783 ± 0.051
	10	5	359 ± 14	0.576 ± 0.033	0.339 ± 0.019	3.013 ± 0.182	0.844 ± 0.084
	30	5	276 ± 26**	0.705 ± 0.068*	0.401 ± 0.075	3.509 ± 0.126**	1.045 ± 0.065**
Female	0	5	209 ± 24N	0.901 ± 0.119N	0.348 ± 0.013	2.749 ± 0.116	0.786 ± 0.081
	1	5	206 ± 4	0.902 ± 0.034	0.377 ± 0.031	2.966 ± 0.214	0.829 ± 0.043
	3	5	218 ± 22	0.897 ± 0.101	0.362 ± 0.015	2.861 ± 0.237	0.781 ± 0.066
	10	5	221 ± 9	0.882 ± 0.031	0.360 ± 0.023	3.184 ± 0.210**	0.868 ± 0.062
	30	5	188 ± 11	0.966 ± 0.020	0.455 ± 0.051**	3.993 ± 0.182**	0.975 ± 0.061**

Mean ± S.D.
Significant difference from control group; *: P≦0.05 **: P≦0.01
N: Non parametric analysis

Table 11. -continued Organ weight per body weight Exp. No. 5464 (115-154)

Day: 28

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Spleen (%)	Adrenals (%)	Testes (%)	Ovaries (%)	Thymus (%)
Male	0	5	0.181 ± 0.028	0.015 ± 0.001	0.847 ± 0.108N		0.163 ± 0.037
	1	5	0.177 ± 0.035	0.014 ± 0.002	0.875 ± 0.119		0.148 ± 0.017
	3	5	0.174 ± 0.030	0.015 ± 0.001	0.829 ± 0.076		0.143 ± 0.024
	10	5	0.214 ± 0.018	0.017 ± 0.001	0.865 ± 0.017		0.167 ± 0.024
	30	5	0.253 ± 0.030**	0.017 ± 0.002	0.937 ± 0.235		0.149 ± 0.026
Female	0	5	0.207 ± 0.019	0.029 ± 0.003		0.040 ± 0.004	0.201 ± 0.074
	1	5	0.211 ± 0.016	0.032 ± 0.002		0.039 ± 0.003	0.253 ± 0.047
	3	5	0.194 ± 0.026	0.030 ± 0.004		0.033 ± 0.006	0.243 ± 0.058
	10	5	0.214 ± 0.023	0.028 ± 0.004		0.037 ± 0.008	0.215 ± 0.036
	30	5	0.302 ± 0.048**	0.029 ± 0.004		0.038 ± 0.007	0.225 ± 0.027

Mean ± S.D.
Significant difference from control group; *: P≦0.05 **: P≦0.01
N: Non parametric analysis

Table 11. -continued Organ weight per body weight

Day: 28

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Epididymides (%)
Male	0	5	0.202 ± 0.033
	1	5	0.194 ± 0.017
	3	5	0.193 ± 0.023
	10	5	0.191 ± 0.010
	30	5	0.208 ± 0.030
Female	0	5	
	1	5	
	3	5	
	10	5	
	30	5	

Mean ± S.D.
Significant difference from control group; *: P≦0.05 **: P≦0.01

Table 11. -continued Organ weight per body weight

Exp. No. 5464 (115-154)

Day: 42

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Body weight (g)	Brain (%)	Heart (%)	Liver (%)	Kidneys (%)
Male	0	5	398 ± 53	0.561 ± 0.070	0.331 ± 0.027	2.746 ± 0.163	0.728 ± 0.047
	30	5	344 ± 18	0.587 ± 0.040	0.339 ± 0.017	2.914 ± 0.127	0.767 ± 0.050
Female	0	5	230 ± 11	0.833 ± 0.051	0.347 ± 0.021	2.721 ± 0.090	0.750 ± 0.031
	30	5	224 ± 29	0.874 ± 0.063	0.387 ± 0.037	3.156 ± 0.134**	0.846 ± 0.060*

Mean ± S.D.
Significant difference from control group; *: P≦0.05 **: P≦0.01

Table 11. -continued Organ weight per body weight

Exp. No. 5464 (115-154)

Day: 42

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Spleen (%)	Adrenals (%)	Testes (%)	Ovaries (%)	Thymus (%)
Male	0	5	0.187 ± 0.025	0.015 ± 0.003N	0.791 ± 0.145		0.115 ± 0.013
	30	5	0.194 ± 0.015	0.015 ± 0.001	0.808 ± 0.053		0.143 ± 0.010**
Female	0	5	0.221 ± 0.011	0.027 ± 0.002		0.038 ± 0.006	0.208 ± 0.055N
	30	5	0.219 ± 0.024	0.029 ± 0.003		0.037 ± 0.003	0.198 ± 0.014

Mean ± S.D.
Significant difference from control group; *: P≦0.05 **: P≦0.01
N: Non parametric analysis

Table 11. -continued Organ weight per body weight Exp. No. 5464 (115-154)

Day: 42

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Epididymides (%)
Male	0	5	0.241 ± 0.045
	30	5	0.225 ± 0.040
Female	0	5	
	30	5	

Mean ± S.D.
Significant difference from control group; *: P≦0.05 **: P≦0.01

Table 12. Summary of gross findings with statistical analysis (28 Days experiment) Exp. No. 5464 (115-154)

Dose level (mg/kg)		Male animals					Female animals				
No. of animals necropsied		Am 5	Bm 5	Cm 5	Dm 5	Em 5	Af 5	Bf 5	Cf 5	Df 5	Ef 5
Organ	Findings										
RESPIRATORY SYSTEM											
lung	brown patch/zone	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
DIGESTIVE SYSTEM											
liver	pale	0	0	0	0	3	0	0	0	0	3
	white patch/zone	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
URINARY SYSTEM											
kidney	cyst	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0
	dilated pelvis	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
REPRODUCTIVE SYSTEM											
testis	small	0	0	0	0	1	-	-	-	-	-
epididymis	small	0	0	0	0	1	-	-	-	-	-
uterus	cyst	-	-	-	-	-	0	1	0	0	0
	dilated lumen	-	-	-	-	-	0	1	2	0	1
NERVOUS SYSTEM											
brain	perforation	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0

Am: 0 Bm: 1 Cm: 3 Dm: 10 Em: 30
Af: 0 Bf: 1 Cf: 3 Df: 10 Ef: 30
Significant difference from control group; * : P ≦ 0.05 ** : P ≦ 0.01

Table 12. -continued Summary of gross findings with statistical analysis (42 Days experiment) Exp. No. 5464 (115-154)

Dose level (mg/kg)		Male animals		Female animals	
No. of animals necropsied		Am 5	Bm 5	Af 5	Bf 5
Organ	Findings				
DIGESTIVE SYSTEM					
stomach	black patch/zone	0	1	0	0
liver	cyst	1	0	0	0
URINARY SYSTEM					
kidney	dilated pelvis	0	0	0	1
REPRODUCTIVE SYSTEM					
uterus	dilated lumen	-	-	0	1

Am: 0 Bm: 30
Af: 0 Bf: 30
Significant difference from control group; * : P ≦ 0.05 ** : P ≦ 0.01

Table 13. Summary of histological findings with statistical analysis (28 Days experiment) Exp. No. 5464 (115-154)

Dose level (mg/kg)		Male animals					Female animals				
No. of animals necropsied		Am	Bm	Cm	Dm	Em	Af	Bf	Cf	Df	Ef
Organ	Findings	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
HEMATOPOIETIC SYSTEM											
spleen											
	deposit, pigment	0	0	0	0	5**	0	0	0	0	4*
	hematopoiesis, extramedullary	0	0	0	1	3	0	0	0	0	4*
RESPIRATORY SYSTEM											
lung											
	accumulation of foamy cells	0	-	-	-	1	0	-	-	-	0
DIGESTIVE SYSTEM											
liver											
	fatty change	0	0	0	3	4*	4	4	3	4	5
	cellular infiltration, lymphocyte	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	microgranuloma	2	5	1	2	2	3	4	2	1	1
URINARY SYSTEM											
kidney											
	basophilic tubules	3	-	-	-	3	0	-	-	-	1
	cast, hyaline	1	-	-	-	0	0	-	-	-	0
	dilatation, tubules	1	-	-	-	3	0	-	-	-	0
	mineralization	0	-	-	-	0	1	-	-	-	0
	cellular infiltration, lymphocyte	1	-	-	-	0	0	-	-	-	0
	dilatation, renal pelvis	1	-	-	-	0	0	-	-	-	0
REPRODUCTIVE SYSTEM											
testis											
	atrophy, seminiferous tubule	0	-	-	-	1	-	-	-	-	-
epididymis											
	no sperm	0	-	-	-	1	-	-	-	-	-
prostate											
	cellular infiltration, lymphocyte	1	-	-	-	0	-	-	-	-	-
uterus											
	dilatation, lumen	-	-	-	-	-	0	-	-	-	1
ENDOCRINE SYSTEM											
thyroid gland											
	ultimobranchial remnant	0	-	-	-	0	0	-	-	-	1

Am: 0 Bm: 1 Cm: 3 Dm: 10 Em: 30
Af: 0 Bf: 1 Cf: 3 Df: 10 Ef: 30
Significant difference from control group; * : P ≦ 0.05 ** : P ≦ 0.01

Table 13. -continued Summary of histological findings with statistical analysis Exp. No. 5464 (115-154)
(28 Days experiment)

Dose level (mg/kg)	Male animals					Female animals				
No. of animals necropsied	Am 5	Bm 5	Cm 5	Dm 5	Em 5	Af 5	Bf 5	Cf 5	Df 5	Ef 5
Organ / Findings										
ENDOCRINE SYSTEM										
adrenal gland										
degeneration, vacuolar	1	-	-	-	0	0	-	-	-	0
NERVOUS SYSTEM										
brain										
malformation	0	-	-	-	0	1	-	-	-	0

Am: 0 Bm: 1 Cm: 3 Dm: 10 Em: 30
Af: 0 Bf: 1 Cf: 3 Df: 10 Ef: 30
Significant difference from control group; * : P ≦ 0.05 ** : P ≦ 0.01

Table 13. -continued Summary of histological findings with statistical analysis (42 Days experiment) Exp. No. 5464 (115-154)

Dose level (mg/kg)	Male animals		Female animals	
No. of animals necropsied	Am 5	Bm 5	Af 5	Bf 5
Organ / Findings				
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
spleen				
deposit, pigment	0	5**	1	5*
hematopoiesis, extramedullary	0	1	0	0
DIGESTIVE SYSTEM				
liver				
fatty change	0	0	3	2
microgranuloma	4	5	3	3

Am: 0 Bm: 30
Af: 0 Bf: 30
Significant difference from control group; * : P ≦ 0.05 ** : P ≦ 0.01

Table 14. Summary of histological findings (28 Days experiment) Exp. No. 5464 (115-154)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)		0			1			3			10		
No. of animals initially in study		5			5			5			5		
No. of animals necropsied		5			5			5			5		
No. of animals examined histologically		5			5			5			5		
Organ	Findings	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
HEMATOPOIETIC SYSTEM													
spleen		(5)			(5)			(5)			(5)		
	deposit, pigment	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	hematopoiesis, extramedullary	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
RESPIRATORY SYSTEM													
lung		(5)			(0)			(0)			(0)		
	accumulation of foamy cells	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DIGESTIVE SYSTEM													
liver		(5)			(5)			(5)			(5)		
	fatty change	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0
	cellular infiltration, lymphocyte	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	microgranuloma	2	0	0	5	0	0	1	0	0	2	0	0
URINARY SYSTEM													
kidney		(5)			(0)			(0)			(0)		
	basophilic tubules	3	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	cast, hyaline	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	dilatation, tubules	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	cellular infiltration, lymphocyte	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	dilatation, renal pelvis	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
REPRODUCTIVE SYSTEM													
testis		(5)			(0)			(0)			(0)		
	atrophy, seminiferous tubule	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
epididymis		(5)			(0)			(0)			(0)		
	no sperm	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
prostate		(5)			(0)			(0)			(0)		
	cellular infiltration, lymphocyte	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ENDOCRINE SYSTEM													
adrenal gland		(5)			(0)			(0)			(0)		
	degeneration, vacuolar	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-

1: slight 2: moderate 3: marked
(): No. of animals examined microscopically at this site. -: Not applicable.

Table 14. -continued Summary of histological findings (28 Days experiment) Exp. No. 5464 (115-154)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)			30		
No. of animals initially in study			5		
No. of animals necropsied			5		
No. of animals examined histologically			5		
Organ	Findings		1	2	3
HEMATOPOIETIC SYSTEM					
spleen		(5)			
	deposit, pigment		5	0	0
	hematopoiesis, extramedullary		3	0	0
RESPIRATORY SYSTEM					
lung		(5)			
	accumulation of foamy cells		1	0	0
DIGESTIVE SYSTEM					
liver		(5)			
	fatty change		4	0	0
	cellular infiltration, lymphocyte		0	0	0
	microgranuloma		1	1	0
URINARY SYSTEM					
kidney		(5)			
	basophilic tubules		3	0	0
	cast, hyaline		0	0	0
	dilatation, tubules		3	0	0
	cellular infiltration, lymphocyte		0	0	0
	dilatation, renal pelvis		0	0	0
REPRODUCTIVE SYSTEM					
testis		(5)			
	atrophy, seminiferous tubule		0	1	0
epididymis		(5)			
	no sperm		1	0	0
prostate		(5)			
	cellular infiltration, lymphocyte		0	0	0
ENDOCRINE SYSTEM					
adrenal gland		(5)			
	degeneration, vacuolar		0	0	0

1: slight 2: moderate 3: marked
(): No. of animals examined microscopically at this site. -: Not applicable.

Table 14. -continued Summary of histological findings (28 Days experiment) Exp. No. 5464 (115-154)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)		0			1			3			10		
No. of animals initially in study		5			5			5			5		
No. of animals necropsied		5			5			5			5		
No. of animals examined histologically		5			5			5			5		
Organ	Findings	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
HEMATOPOIETIC SYSTEM													
spleen		(5)			(5)			(5)			(5)		
	deposit, pigment	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	hematopoiesis, extramedullary	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
DIGESTIVE SYSTEM													
liver		(5)			(5)			(5)			(5)		
	fatty change	4	0	0	4	0	0	3	0	0	4	0	0
	microgranuloma	3	0	0	3	1	0	2	0	0	1	0	0
URINARY SYSTEM													
kidney		(5)			(0)			(0)			(0)		
	basophilic tubules	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	mineralization	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
REPRODUCTIVE SYSTEM													
uterus		(5)			(0)			(0)			(0)		
	dilatation, lumen	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ENDOCRINE SYSTEM													
thyroid gland		(5)			(0)			(0)			(0)		
	ultimobranchial remnant	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NERVOUS SYSTEM													
brain		(5)			(0)			(0)			(0)		
	malformation	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-

1: slight 2: moderate 3: marked
(): No. of animals examined microscopically at this site. -: Not applicable.

Table 14. -continued Summary of histological findings (28 Days experiment) Exp. No. 5464 (115-154)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)			30		
No. of animals initially in study			5		
No. of animals necropsied			5		
No. of animals examined histologically			5		
Organ	Findings		1	2	3
HEMATOPOIETIC SYSTEM					
spleen		(5)			
	deposit, pigment		4	0	0
	hematopoiesis, extramedullary		4	0	0
DIGESTIVE SYSTEM					
liver		(5)			
	fatty change		4	1	0
	microgranuloma		1	0	0
URINARY SYSTEM					
kidney		(5)			
	basophilic tubules		1	0	0
	mineralization		0	0	0
REPRODUCTIVE SYSTEM					
uterus		(5)			
	dilatation, lumen		1	0	0
ENDOCRINE SYSTEM					
thyroid gland		(5)			
	ultimobranchial remnant		1	0	0
NERVOUS SYSTEM					
brain		(5)			
	malformation		0	0	0

1: slight 2: moderate 3: marked
(): No. of animals examined microscopically at this site. -: Not applicable.

Table 14. -continued Summary of histological findings (42 Days experiment) Exp. No. 5464 (115-154)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)		0			1			3			10		
No. of animals initially in study		5			0			0			0		
No. of animals necropsied		5			0			0			0		
No. of animals examined histologically		5			0			0			0		
Organ	Findings	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
HEMATOPOIETIC SYSTEM													
spleen	(5)												
	deposit, pigment	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	hematopoiesis, extramedullary	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DIGESTIVE SYSTEM													
liver	(5)												
	microgranuloma	4	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-

1: slight 2: moderate 3: marked
(): No. of animals examined microscopically at this site. -: Not applicable.

Table 14. -continued Summary of histological findings (42 Days experiment) Exp. No. 5464 (115-154)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)		30		
No. of animals initially in study		5		
No. of animals necropsied		5		
No. of animals examined histologically		5		
Organ	Findings	1	2	3
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
spleen	(5)			
	deposit, pigment	5	0	0
	hematopoiesis, extramedullary	1	0	0
DIGESTIVE SYSTEM				
liver	(5)			
	microgranuloma	5	0	0

1: slight 2: moderate 3: marked
(): No. of animals examined microscopically at this site. -: Not applicable.

Table 14. -continued Summary of histological findings (42 Days experiment) Exp. No. 5464 (115-154)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)		0			1			3			10		
No. of animals initially in study		5			0			0			0		
No. of animals necropsied		5			0			0			0		
No. of animals examined histologically		5			0			0			0		
Organ	Findings	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
HEMATOPOIETIC SYSTEM													
spleen	(5)												
	deposit, pigment	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DIGESTIVE SYSTEM													
liver	(5)												
	fatty change	3	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	microgranuloma	3	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-

1: slight 2: moderate 3: marked
(): No. of animals examined microscopically at this site. -: Not applicable.

Table 14. -continued Summary of histological findings (42 Days experiment) Exp. No. 5464 (115-154)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)		30		
No. of animals initially in study		5		
No. of animals necropsied		5		
No. of animals examined histologically		5		
Organ	Findings	1	2	3
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
spleen	(5)			
	deposit, pigment	5	0	0
DIGESTIVE SYSTEM				
liver	(5)			
	fatty change	2	0	0
	microgranuloma	3	0	0

1: slight 2: moderate 3: marked
(): No. of animals examined microscopically at this site. -: Not applicable.

Table 15. Summary of histological findings in dosed and recovery experiments (sacrificed) Exp. No. 5464 (115-154)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)	0								30							
Day	28 day				42 day				28 day				42 day			
No. of animals initially in study	5				5				5				5			
No. of animals necropsied	5				5				5				5			
No. of animals examined histologically	5				5				5				5			
Organ / Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
HEMATOPOIETIC SYSTEM																
spleen	(5)				(5)				(5)				(5)			
deposit, pigment	-	0	0	0	-	0	0	0	-	5	0	0	-	5	0	0
hematopoiesis, extramedullary	-	0	0	0	-	0	0	0	-	3	0	0	-	1	0	0
RESPIRATORY SYSTEM																
lung	(5)				(0)				(5)				(0)			
accumulation of foamy cells	-	0	0	0	-	-	-	-	-	1	0	0	-	-	-	-
DIGESTIVE SYSTEM																
liver	(5)				(5)				(5)				(5)			
fatty change	-	0	0	0	-	0	0	0	-	4	0	0	-	0	0	0
cellular infiltration,lymphocyte	-	1	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0
microgranuloma	-	2	0	0	-	4	0	0	-	1	1	0	-	5	0	0
URINARY SYSTEM																
kidney	(5)				(0)				(5)				(0)			
basophilic tubules	-	3	0	0	-	-	-	-	-	3	0	0	-	-	-	-
cast, hyaline	-	1	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0	-	-	-	-
dilatation, tubules	-	1	0	0	-	-	-	-	-	3	0	0	-	-	-	-
cellular infiltration,lymphocyte	-	1	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0	-	-	-	-
dilatation, renal pelvis	-	1	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0	-	-	-	-
REPRODUCTIVE SYSTEM																
testis	(5)				(0)				(5)				(0)			
atrophy, seminiferous tubule	-	0	0	0	-	-	-	-	-	0	1	0	-	-	-	-
epididymis	(5)				(0)				(5)				(0)			
no sperm	-	0	0	0	-	-	-	-	-	1	0	0	-	-	-	-
prostate	(5)				(0)				(5)				(0)			
cellular infiltration,lymphocyte	-	1	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0	-	-	-	-
ENDOCRINE SYSTEM																
adrenal gland	(5)				(0)				(5)				(0)			
degeneration, vacuolar	-	1	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0	-	-	-	-

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked
(): No. of animals examined microscopically at this site. -: Not applicable.

Table 15. -continued Summary of histological findings in dosed and recovery experiments (sacrificed) Exp. No. 5464 (115-154)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0								30							
Day	28 day				42 day				28 day				42 day			
No. of animals initially in study	5				5				5				5			
No. of animals necropsied	5				5				5				5			
No. of animals examined histologically	5				5				5				5			
Organ / Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
HEMATOPOIETIC SYSTEM																
spleen	(5)				(5)				(5)				(5)			
deposit, pigment	-	0	0	0	-	1	0	0	-	4	0	0	-	5	0	0
hematopoiesis, extramedullary	-	0	0	0	-	0	0	0	-	4	0	0	-	0	0	0
DIGESTIVE SYSTEM																
liver	(5)				(5)				(5)				(5)			
fatty change	-	4	0	0	-	3	0	0	-	4	1	0	-	2	0	0
microgranuloma	-	3	0	0	-	3	0	0	-	1	0	0	-	3	0	0
URINARY SYSTEM																
kidney	(5)				(0)				(5)				(0)			
basophilic tubules	-	0	0	0	-	-	-	-	-	1	0	0	-	-	-	-
mineralization	-	1	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0	-	-	-	-
REPRODUCTIVE SYSTEM																
uterus	(5)				(0)				(5)				(0)			
dilatation, lumen	-	0	0	0	-	-	-	-	-	1	0	0	-	-	-	-
ENDOCRINE SYSTEM																
thyroid gland	(5)				(0)				(5)				(0)			
ultimobranchial remnant	-	0	0	0	-	-	-	-	-	1	0	0	-	-	-	-
NERVOUS SYSTEM																
brain	(5)				(0)				(5)				(0)			
malformation	-	1	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0	-	-	-	-

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked
(): No. of animals examined microscopically at this site. -: Not applicable.