

2-ピニルピリジンのラットを用いる28日間の反復投与毒性試験

試験番号：2778（115-057）

財 団 法 人
食 品 農 医 薬 品 安 全 性 評 価 セ ン タ ー

目 次

1. 要 約	1 頁
2. 緒 言	3
3. 試 験 題 目	4
4. 試 験 目 的	4
5. 試 験 番 号	4
10. 被 験 物 質	6
11. 試験材料および方法	8
12. 観察, 測定および検査	11
13. 試 験 結 果	15
14. 考察および結論	19
15. 参 考 文 献	21
Figures, Tables and Reference data	23
Figure 1 Survival ratio	24
Table 1 Survival and mortality	25
Table 2 Clinical observation	27
Figure 2 Body weight	33
Table 3 Body weight	34
Figure 3 Food consumption	37
Table 4 Food consumption	38
Table 5 Food efficiency	40
Table 6 Hematology	42
Table 7 Coagulation	48
Table 8 Blood chemistry	50
Table 9 Urinalysis	56
Table 10 Organ weight	66
Table 11 Organ weight per body weight	70
Table 12 Summary of gross findings (sacrificed at 4, 6 Week)	74
Table 13 Summary of gross findings with statistical analysis (sacrificed at 4, 6 Week)	77
Table 14 Summary of histological findings (sacrificed at 4, 6 Week)	79
Table 15 Summary of histological findings with statistical analysis (sacrificed at 4, 6 Week)	83

1. 要 約：

2-ビニルピリジンの反復投与毒性試験の毒性を明らかにするため、SD系ラットを用いた強制経口投与による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4試験群、対照群および高用量群には雌雄各5匹の回復群を設け、計60匹を使用した。

2-ビニルピリジンをコーンオイルに溶解し、0、12.5、50および200 mg/kgを毎日1回、4週間連続経口投与し、一般状態の観察、体重測定、摂餌量測定、血液学的検査、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的検査を行った。なお、回復期間は2週間とし、投与終了時と同様の検査を実施した。その結果は次のとおりに要約される。

一般状態の観察では、雌雄の200 mg/kg群で、口の周囲から下顎部を濡らす程度の流涎が認められ、さらに下顎部の被毛の汚れが認められた。また、雌雄の50 mg/kg群においても、口の周囲を濡らす程度の流涎が認められた。これらの症状は、50 mg/kg群では投与5時間以内に、200 mg/kg群では翌日の投与前までに消失する繰り返しであった。投与期間に観察された上述の症状は、回復試験では観察されず、症状の回復が認められた。なお、雌雄いずれの群にも死亡例は観察されなかった。

体重は、雄の200 mg/kg群で投与2、3および4週に増加が抑制され、摂餌量は、同群で投与2週に減少が認められた。また、飼料効率は、雄の200 mg/kg群で投与2および3週に低値が認められた。回復試験では、これらはいずれも回復が認められた。

血液学的検査、血液凝固能検査および血液生化学検査の結果、雌雄とも被験物質投与と関連づけられる変化は認められなかった。

尿検査の結果、雌では200 mg/kg群で尿量の増加および比重の低値が認められ、50 mg/kg群で比重の低値が認められた。回復期間終了時では、これらはいずれも回復が認められた。

器官重量測定の結果、雄では200 mg/kg群で精巣相対重量の高値、雌では200 mg/kg群で脾臓実重量および相対重量の低値ならびに肝臓相対重量の高値が認められた。回復期間終了時では、これらはいずれも回復した。

病理学的検査の結果、投与終了時計画解剖動物で被験物質の影響が示唆される病変として、肉眼所見では胃（前胃）の粘膜肥厚が雌雄ともに200 mg/kg群で全例に観察された。組織所見では前胃の扁平上皮増生が200 mg/kg群の雌雄の全例と50 mg/kg群の雌雄の3例に観察された。さらに前胃では粘膜下の浮腫、びらんや細胞浸潤、腺胃では粘膜下の浮腫やびらんなどの所見も一部の例に観察された。回復終了時計画解剖動物においても、組織所見で200 mg/kg群の雌雄で前胃の扁平上皮増生が軽度ながら観察されたが発生数や程度も軽減しており可逆性の変化と考えられた。

以上のことから，本試験では雌雄の 50 および 200 mg/kg群で認められた一般状態の変化および病理学的検査における胃の異常病変が被験物質投与と関連づけられるものであり，被験物質の標的器官は胃と判断された．また，無影響量は雌雄ともに一般状態の変化および胃の異常病変が認められなかった 12.5 mg/kg/dayと判断された．

2. 緒言：

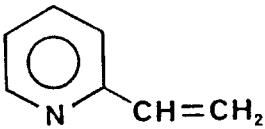
2-ビニルピリジンは、タイヤコード接着剤材料および医薬用原料として使用されている化合物である。本化合物は腐食剤および催涙剤であり、嚥下、吸入あるいは経皮吸収されると有害であることが知られている。また、粘膜、上気道、眼および皮膚の組織に対しきわめて破壊的であることも報告されている。今回、既存化学物質の安全点検に関わる毒性調査事業の一環として、28日間反復投与毒性試験を実施した。

3. 試 験 題 目 : 2-ビニルピリジンのラットを用いる28日間の反復投与毒性試験

4. 試 験 目 的 : 2-ビニルピリジンの安全性を評価する一環として、環保業第700号、葉発第1039号、61基局第1014号（昭和61年12月5日）の「新規化学物質に係る試験の方法について」に従って、ラットを用いる28日間の反復投与毒性試験を行った。
なお、試験の実施は環企研第233号、衛生第38号、63基局第823号（昭和63年11月18日）の「新規化学物質に係る試験及び指定化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める命令第4条に規定する試験施設について」の基準を満たすものとした。

5. 試 験 番 号 : 2778 (115-057)

10. 被 験 物 質 :

- 1) 被験物質名 2-ビニルピリジン
- 2) CAS No. 100-69-6
- 3) ロット番号
- 4) 純 度 98.3 wt% (その他, 不純物として2-ピコリン 0.9%,
2-エチルピリジン 0.4%および2-メチルピ
ニルピリジン 0.4%を含む)
- 5) 製 造 元
- 6) 保 管 条 件 密封容器に入れ, -10℃以下の冷暗所に保管した.
- 7) 保 管 場 所 安評センター被験物質保管庫
- 8) 化 学 名 2-ビニルピリジン
- 9) 構 造 式
- C=CC1=CC=CC=N1
- 10) 分 子 式 C_7H_7N
- 11) 分 子 量 105.14
- 12) 物質の状態 液体
- 13) 色 淡黄色
- 14) 臭 特異臭
- 15) 沸 点 79~82℃/29 mmHg
- 16) 溶 解 性 水にやや溶けにくい.
2.75 g/100 g (20℃)

- 17) 分配係数 1.54
(Octanol/Water)
- 18) 比重 0.976 (20℃)
- 19) 蒸気圧 10 mmHg (44.5℃)
- 20) 安定性 投与終了後、製造元に返却した被験物質について、製造元で再分析を行った結果、安定性には問題のなかったことが確認された (Reference data 1) .
- 21) 取り扱い上の注意 換気の良い場所で行う。火気厳禁とした。
静電気対策としてアース取りを行った。
作業衣、作業靴は導電性のものを着用した。
皮膚、粘膜又は着衣に触れたり、目に入らないように適切な保護具を着用した。
- 22) 被験物質保管および
残余被験物質の処理 投与終了後、約 2 g を安評センターに保管し、残りは製造元に返却した。

11. 試験材料および方法：

1) 供試動物

供試したラット CD (SD) 系は

から平成 7 年 11 月 20 日に 4 週齢で雌雄各 40 匹，計 80 匹を購入した。

動物を検収し試験環境に 8 日間馴化後，平成 7 年 11 月 28 日に 6 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，無作為抽出法により各試験群を構成するように群分けした。余剰動物は炭酸ガスにより安楽死させた。

動物の耳介に群番号および群内番号を入墨すると共に個体別飼育ケージに動物標識番号 (Animal ID-No.) を付すことにより個体識別した。

投与開始時の体重は雄で 123～137 g，雌で 107～116 gであった。

2) 動物種および系統選択理由

感染性疾患に対する抵抗性，遺伝的安定性を考慮して選んだ。

3) 飼育管理

a. 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 m³) で飼育し，環境調節の目標値は温度 23±2℃，相対湿度 55±10%，換気回数 1 時間 20 回，照明 150～300 lux，12 時間 (午前 7 時点灯，午後 7 時消灯) とした。

株式会社 東京技研サービス (東京都府中市) の水洗式飼育機 (W 674.2×D 48.0×H 175.5 cm) 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 cm³) 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，投与および回復期間中，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。

b. 飼 料

動物に与えた飼料はオリエンタル酵母工業株式会社 (東京都中央区) 製造の放射線滅菌改良 NIH 公開ラット，マウス飼料 (Modified NIH Open Formula Rat and Mouse Ration) を使用した。使用した飼料の夾雑物の分析を，オリエンタル酵母工業株式会社が財団法人 日本食品分析センター (東京都渋谷区) に依頼し実施した。その結果を『Reference data 2』に示した。

c. 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。

水道法に基づく水道水の分析を株式会社 エコプロ リサーチ (静岡県清水市) に依頼し実施した。その分析結果を『Reference data 3』に示した。

4) 試験群の構成

試験群の構成を下記に示した。

用量は 0, 12.5, 50 および 200 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、対照群および高用量群に雌雄各5匹、計60匹を使用した。

試験群	1		2		3		4	
用量 (mg/kg)	0*		12.5		50		200	
性	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数	10	10	5	5	5	5	10	10
投与終了時 計画屠殺 動物番号	1001 } 1005	2001 } 2005	1101 } 1105	2101 } 2105	1201 } 1205	2201 } 2205	1301 } 1305	2301 } 2305
回復終了時 計画屠殺 動物番号	1006 } 1010	2006 } 2010	-	-	-	-	1306 } 1310	2306 } 2310

* コーンオイルのみ投与した。

[用量設定理由]

投与量設定のための2週間反復投与試験を 0, 30, 90 および 270 mg/kgの4用量で実施した。その結果、270 mg/kg群では一般状態の変化として、雌雄全例に被毛を汚す程度の流涎が認められ、さらに一部の例に驚愕反射が観察された。また、体重は雄で増加抑制が認められ、血液学的検査では雌雄で好中球比率の増加、血液生化学的検査では雄でGOTの高値および総コレステロールの低値、雌でGPTの高値が認められた。器官重量測定では、雌雄ともに 270 mg/kg群で副腎が高値を示し、胸腺が低値を示した。病理肉眼観察では、270 mg/kgおよび 90 mg/kg群の雌雄で前胃粘膜の肥厚が認められ、さらに 270 mg/kg群の雌雄には胃と周囲組織の癒着および前胃の潰瘍も認められた。

以上の結果、270 mg/kgでは雌雄ともに重篤な影響が認められたことから、28日間反復投与毒性試験の高用量は、これよりやや低い用量が適切と考え 200 mg/kgを設定した。以下公比4で除し、中用量を 50 mg/kg、低用量を 12.5 mg/kgに設定した。

5) 投与方法

投与経路はOECDガイドライン「反復投与毒性」で指示されている強制経口投与とした。投与容量は体重 100 gあたり 0.5 ml とし、個体別に測定した体重に基づいて投与量を算出し、1日1回金属製胃ゾンデを用いて胃内に強制経口投与した。対照群にはコーンオイル (Lot No. V5K3987, ナカライテスク株式会社, 京都府京都市) のみを同様に投与した。

6) 投与液の調製

被験物質は各用量ごとに所定量を電子式上皿天秤で秤量し、コーンオイルに溶解した。調製は週に1回行い、調製液は使用時まで冷暗所に保管した。

7) 投与期間

投与期間は28日間とし、投与終了後、0 および 200 mg/kg群については14日間の回復試験を実施した。

8) 投与液中の被験物質の濃度分析

投与液の濃度確認のため全試験群について、第1および第4週投与用調製液の濃度分析を行った。なお、投与液の安定性については、予備試験（試験番号2709）において調製後冷蔵庫保存で1週間安定であることが確認されている。

濃度分析の方法および結果は『Reference data 4』に示した。

12. 観察、測定および検査：

1) 一般状態の観察

全動物を毎日3回観察し、中毒症状の有無、行動異常等を臨床観察所見記録シートに記録した。

2) 体 重

体重は投与開始から回復試験終了まで毎週1回測定した。

測定は自動天秤 PM 3000 (メトラー社, スイス) を用いて行い、フロッピー・ディスクに記録した。

3) 摂 餌 量

摂餌量は毎週1回給餌した残量を自動天秤 PM 3000 (メトラー社, スイス) を用いて測定し、フロッピー・ディスクに記録した。摂餌量 (g/week) および飼料効率 (%) はコンピュータを用いて算出した。

4) 臨床検査

臨床検査は投与終了時および回復試験終了時の計2回実施した。

採血に当り、動物は約16時間絶食させた。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。なお、抗凝固剤は EDTA-3K およびクエン酸ソーダを用いた。

a. 血液学的検査

血液学的検査には初血を用いた。

検査は総合血液学検査装置 THMS H-1E (マイルス社, 米国) を用いて行い、下記の項目を測定した (EDTA-3K 添加血液)。

白 血 球 数	(WBC)	暗視野板法
赤 血 球 数	(RBC)	暗視野板法
ヘモグロビン量	(HGB)	シアンメトヘモグロビン法
ヘマトクリット値	(HCT)	RBC, MCVより算出
平均赤血球容積	(MCV)	暗視野板法
平均赤血球血色素量	(MCH)	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)	暗視野板法
白血球百分率		フローサイトケミストリー法

白血球百分率は上述の機器で測定したが、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。

網赤血球（RC）率算定のため抗凝固剤（EDTA-3K）添加血液をニューメチレンブルーで染色後、血液塗抹標本を作製し鏡検した。

下記の項目は血液凝固測定装置 KC-40（アメルング社，独国）を用いて測定した。血漿を用いた（クエン酸ソーダ添加血液）。

プロトロンビン時間	(PT)	Quick 1 段法
活性化部分トロンボプラスチン時間	(APTT)	クロット法
フィブリノーゲン量	(Fibrinogen)	トロンビン時間法

b. 血液生化学検査

血液生化学検査は多項目生化学自動分析装置 Centrifichem ENCORE II（ベーカー社，米国）および EKTACHEM 700N（コダック社，米国）を用いて下記の項目を測定した。血液をクリーンシール（株式会社ヤトロン，東京都千代田区）に採取し，30分間放置後 3000 r. p. m. で7分間遠心分離して得た血清を用いた。

総蛋白	(TP)	ビュレット法
アルブミン	(Alb)	B. C. G. 法
A/G	(A/G)	計算値
血糖	(Glu)	グルコースオキシダーゼ法
中性脂肪	(TG)	酵素比色法
総コレステロール	(T-Chol)	コレステロールオキシダーゼ法
尿素窒素	(BUN)	ウレアーゼアンモニア指示薬法
クレアチニン*	(Crea)	Jaffé法
総ビリルビン	(T. Bili)	ジアゾ法
カルシウム	(Ca)	アルセナゾⅢ法
無機リン	(IP)	モリブデン酸青法
ナトリウム	(Na)	電極法
カリウム	(K)	電極法
塩素	(Cl)	電極法
グルタミン酸オキザロ酢酸 トランスアミナーゼ*	(GOT)	IFCC法（PALP添加なし）
グルタミン酸ピルビン酸 トランスアミナーゼ*	(GPT)	IFCC法（PALP添加なし）
γ-グルタミルトランス ペプチダーゼ*	(γ-GTP)	Orłowski法
アルカリホスファターゼ*	(ALP)	Bessey-Lowry改良法

*印の項目は ENCORE II で，他は EKTACHEM 700N で測定した。

c. 尿 検 査

代謝ケージを用いて24時間（午前10時から翌日午前10時まで）尿を採取した。なお、採尿中も給餌および給水は行った。下記の項目を検査した。

尿 量
色 調
濁 度
尿 比 重
沈 渣

尿比重は尿比重屈折計 UR-S（株式会社アタゴ，東京都板橋区）を用いて測定した。沈渣は尿を 1500 r. p. m. で5分間遠心分離した後，染色（ステルンハイマー染色変法）し，鏡検した。

下記の項目の測定にはN-マルティスティックスSG（バイエル・三共株式会社，東京都中央区）を用い，判定は尿分析装置 CLINITEK 200（マイルス社，米国）を用いた。検査には排泄3時間以内の新鮮尿を用いた。

pH
潜 血
ケ ト ン 体
糖
蛋 白
ビリルビン
ウロビリノーゲン

5) 病理学的検査

病理解剖は投与終了時および回復試験終了時に動物をエーテル麻酔し，放血安楽死させ実施した。肉眼的異常を病理解剖所見記録シートに記録した。

器官重量は器官重量測定用自動天秤 PE 160（メトラー社，スイス）を用いて，脳，肝臓，腎臓，脾臓，副腎，精巣，卵巣および胸腺について測定し，器官重量・体重比を算出した。

上記重量測定器官と下垂体，眼球，唾液腺，甲状腺（上皮小体を含む），心臓，肺，胃，小腸，大腸，膀胱，骨髓（大腿骨）および肉眼所見で変化が認められた器官・組織は10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。

病理組織学的検査は固定した器官・組織のうち，投与終了時に解剖した対照群と高用量群の胃，十二指腸，胸腺，心臓，肝臓，脾臓，腎臓，副腎および骨髓（大腿骨）について検索した。なお，胃については高用量群で変化が認められたため，中間用量および回復群についても検索した。

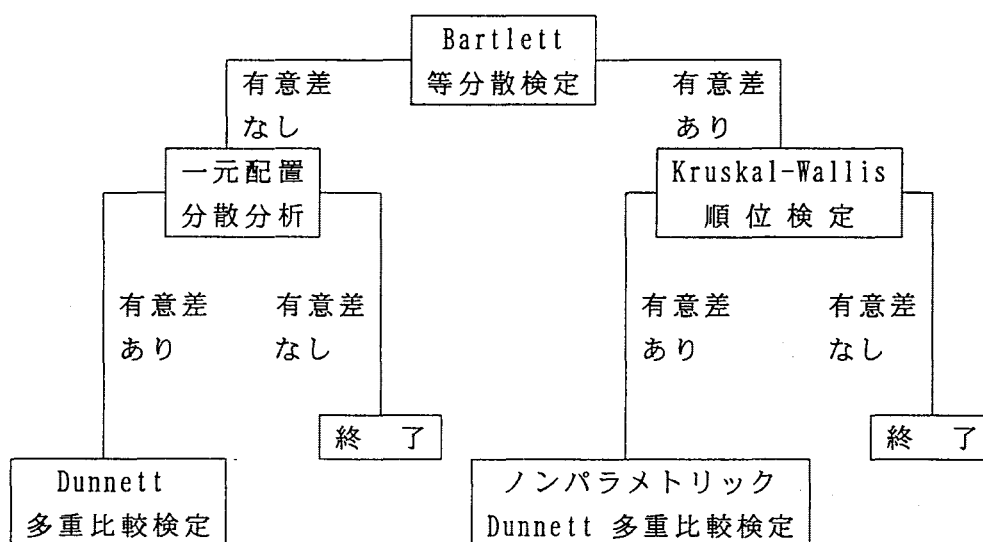
㈱組織科学研究所（東京都青梅市）で常法に従って病理組織標本を作製した。標本の染色はヘマトキシリン・エオジン染色とした。鏡検は安評センターで実施し，病変の種類および程度について記録した。

6) データの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，血液学的検査値，血液生化学検査値，尿検査値（尿量および比重），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。等分散の場合は一元配置の分散分析を行った。分散が有意な場合は Dunnett の多重比較検定（佐野¹⁾，吉田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 Kruskal-Wallis の順位検定を実施し，有意の場合はノンパラメトリックの 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。

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，病理学的検査および生存率の検定は Fisher の確率計算法を用いた。

13. 試 験 結 果：

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．

投与期間を通じ，雌雄とも対照群を含むすべての試験群で死亡例は認められなかった．また，回復期間においても雌雄の対照群および 200 mg/kg群で死亡例は認められなかった．

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．

雄では 200 mg/kg群で，投与 7 日から 10 例中 3 例に口の周囲を濡らす程度 (+) の流涎が認められ，さらに投与 8 日には 1 例に軽度 (+) の自発運動低下が認められた．また，投与 11 日から 1 例に下顎部の被毛の汚れ (+) が認められた．これらの症状のうち，流涎は投与 14 日には 10 例全例に増加し，下顎部 (++) に達した例が同日に 2 例，投与 24 日には 4 例に認められた．また，被毛の汚れは投与 24 日には 4 例に増加した．50 mg/kg群では，投与 21 日から 5 例全例に口の周囲を濡らす程度 (+) の流涎が認められた．

雌では 200 mg/kg群で，投与 10 日から 10 例中 1 例に口の周囲を濡らす程度 (+) の流涎が認められ，投与 15 日から全例に増加した．流涎は，投与 18 日に下顎部 (++) に達した例が 10 例中 4 例認められ，投与 19 日以降には 1 から 3 例に認められた．また，投与 18 日には 4 例に下顎部の被毛の汚れ (+) が認められた．50 mg/kg群では投与 21 日から 5 例全例に口の周囲を濡らす程度 (+) の流涎が認められた．

なお，雌雄で認められた上述の症状は，いずれも投与後 1 時間以内から発現し，50 mg/kg群では投与後 5 時間以内に，200 mg/kg群では投与翌日の投与前までに消失する繰り返しであった．

また，上述のいずれの症状も，回復期間に発現は認められなかった．

その他，雄では対照群で投与 13 日から 10 例中 1 例に，さらに回復 14 日においても 5 例中 1 例に軽度 (+) の頸部または前肢の外傷が，また 50 mg/kg群では投与 28 日に 1 例で軽度 (+) の歯の異常が観察されたが，これらはいずれも用量に対応した症状ではなかった．

3) 体 重

体重を Figure 2, Table 3 および Appendix 2 に示した．

雄では 200 mg/kg群で，投与 2 週以降に体重増加抑制が認められ，投与終了時の平均体重は対照群に比較して，11.9%減少した．回復期間に入ると，回復傾向が明確に認められ，対照群より体重増加量は大きであった．

雌では投与期間に群間で差が認められなかった．回復 1 週に対照群に比較して 200 mg/kg群で低値が認められたが，投与終了時の解剖で，対照群において偶発的に体重の小さな個体が解剖されたための変化であった．

4) 摂餌量

摂餌量を Figure 3, Table 4 および Appendix 3 に示した.

雄では, 対照群に比較して 200 mg/kg群で投与2週に摂餌量の減少が認められたが, 投与4週までの総摂餌量に差は認められなかった. 回復期間に入ると対照群と 200 mg/kg群で明確な差は認められなかった.

雌では, 投与期間および回復期間を通じて, 対照群と被験物質投与群とで差が認められなかった.

5) 飼料効率

飼料効率を Table 5 および Appendix 4 に示した.

雄では, 対照群に比較して 200 mg/kg群で投与2および3週に飼料効率の低値が, また投与4週までの平均飼料効率にも低値が認められた. 回復期間中は対照群と 200 mg/kg群で差は認められなかった.

雌では, 投与期間および回復期間を通じて, 対照群と被験物質投与群とで差が認められなかった.

6) 血液学的検査

血液学的検査結果を Table 6 および Appendix 5 に示した.

投与終了時の結果

雌雄ともに対照群と被験物質投与群とでいずれの検査項目にも差は認められなかった.

回復期間終了時の結果

雄では, 対照群に比較して 200 mg/kg群で網赤血球率の高値が, 雌では 200 mg/kg群でMCHCの低値が認められたが, 網赤血球率の高値は背景値 (背景値 $32 \pm 9\%$, $n=30$) の正常範囲内の値であり, MCHCの低値は, 算出のもととなったMCVおよびMCHに対照群との差は認められず, 意義のある変化ではなかった.

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.

投与および回復期間終了時のいずれにおいても, 雌雄ともに対照群と被験物質投与群とで検査を行った3項目に差は認められなかった.

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.

投与終了時の結果

対照群に比較して, 200 mg/kg群では雌雄ともに中性脂肪の低値傾向および GPTの高値傾向が認められ, さらに雄では γ -GTPの高値傾向が, 雌ではクレアチニンの低値およびアルカリフォスファターゼの高値傾向が認められた. 上述の雄にみられた γ -GTP

の変化は、1例の高値によるものであり、さらにその1例はGPTの高値も伴っていた。また、雌にみられたアルカリフォスファターゼの変化も1例の高値によるものであり、さらにその1例は中性脂肪の低値も伴っていた。

回復期間終了時の結果

雌雄ともに対照群と被験物質投与群とでいずれの検査項目にも差は認められなかった。

9) 尿 検 査

尿検査結果を Table 9 および Appendix 8 に示した。

投与終了時の結果

雌では、対照群に比較して 200 mg/kg群で尿量の増加および比重の低値が認められ、さらに 50 mg/kg群で比重の低値が認められた。雄では、対照群と被験物質投与群とで差は認められなかった。

回復期間終了時の結果

雌雄ともに対照群と被験物質投与群とでいずれの検査項目にも差は認められなかった。

10) 器官重量

器官重量を Table 10 および Appendix 9 に示した。

投与終了時の結果

雌では、対照群に比較して 200 mg/kg群で脾臓重量の低値が認められ、50 mg/kg群で卵巣および腎臓重量の高値が認められた。なお、雄では、対照群と被験物質投与群とで差は認められなかった。

回復期間終了時の結果

雌雄ともに対照群と被験物質投与群とで差は認められなかった。

11) 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。

投与終了時の結果

対照群に比較して、雄では 200 mg/kg群で精巣相対重量の高値が認められ、雌では、すべての被験物質投与群で脾臓相対重量の低値が認められ、さらに 200 mg/kg群で肝臓相対重量の高値が認められた。

回復期間終了時の結果

雌雄ともに対照群と被験物質投与群とで差は認められなかった。

12) 病理学的検査

剖検所見を Table 12, 13 および Appendix 11 に、組織学的所見は Table 14, 15 および Appendix 12 に示した。

投与終了時に計画解剖（4週）された動物は、対照群，12.5，50および 200 mg/kg群のそれぞれ各群雌雄 5 例全例であった。

また，回復終了時に計画解剖（6週）された動物は，対照群および 200 mg/kg群のそれぞれ各群雌雄 5 例全例であった。

a. 剖検所見

投与終了時計画解剖動物

対照群に比較して被験物質投与群で統計学的に有意に多く発生した病変として 200 mg/kg群で胃（前胃）の粘膜肥厚が雌雄の 5 例全例に観察された（写真 1）。また統計学的な有意差はないが同群では前胃の潰瘍が雌雄各 1 例に観察されたほか，胃（腺胃）の黒色斑点／区域が雌の 1 例に観察された。その他，観察された病変は単発性の発生であった。

回復期間終了時計画解剖動物

対照群に比較して被験物質投与群に多くみられた病変は観察されなかった。観察された病変はいずれも単発性の発生であった。

b. 組織所見

投与終了時計画解剖動物

対照群に比較して被験物質投与群で統計学的に有意に多く発生した病変として，前胃の扁平上皮増生が 200 mg/kg群の雌雄の全例（中程度）（写真 3）と 50 mg/kg群の雌雄の 3 例（軽度）（写真 4）に観察された。さらに統計学的な有意差はないが前胃粘膜下の浮腫が 200 mg/kg群の雄の 2 例，雌の 3 例と 50 mg/kg群の雌雄の 1 例に観察されたほか，びらんや細胞浸潤も 200 mg/kg群の雄の 1 例に観察された。腺胃では粘膜下の浮腫が雌の 200 mg/kg群の 3 例（写真 7）と 50 mg/kg群の 1 例に，びらんが 200 mg/kg群の 1 例にそれぞれ観察された。

その他，肝臓の小肉芽腫や腎臓の尿細管好塩基化などの所見が観察されたが対照群と被験物質投与群で発生数に有意な差は認められなかった。

回復期間終了時計画解剖動物

被験物質投与群（200 mg/kg群）では前胃の扁平上皮増生が軽度ながら雄の 3 例（写真 6）と雌の 2 例に観察された。

14. 考察および結論：

一般状態の観察では、雌雄の 50 および 200 mg/kg 群で流涎が投与後 1 時間以内から発現し、50 mg/kg 群では投与後 5 時間以内に、200 mg/kg 群では翌日の投与前までに回復が認められ、被験物質投与による影響と考えられた。また、被験物質は腐食剤および催涙剤としても知られており、観察された流涎は被験物質による消化管粘膜の刺激によるものと考えられた。

体重、摂餌量および飼料効率は、雄の 200 mg/kg 群でのみ低値または減少が認められたが、いずれの変化も回復期間中に回復が認められた。

血液学的検査および血液凝固能検査の結果、被験物質投与によると考えられる変化は、雌雄いずれの群にも認められなかった。

血液生化学検査の結果、200 mg/kg 群では、雌雄ともに中性脂肪の低値傾向および GPT の高値傾向が認められ、さらに雌ではクレアチニンの低値が認められたが、病理学的検査の結果からはこれらの変化を示唆する明らかな異常は認められず、毒性学的意義は乏しいと考えられる。なお、200 mg/kg 群の雄で認められた γ -GTP および雌で認められたアルカリフォスファターゼの変化は、それぞれ 1 例の高値による高値傾向であることから、これらはともに被験物質投与による可能性は低いと考えられる。

尿検査の結果、雌では 200 mg/kg 群で尿量の増加および比重の低値が認められ、さらに 50 mg/kg 群で比重の低値が認められた。被験物質を 2 週間投与した予備試験では、胃の粘膜に潰瘍等の障害が認められていることから、粘膜への直接刺激を緩和するために大量の水を摂取し、尿量が増加したのと考えられた。

器官重量測定の結果、雄の 200 mg/kg 群で認められた精巣相対重量の高値、雌の 200 mg/kg 群で認められた脾臓実重量および相対重量の低値ならびに肝臓相対重量の高値は、いずれも被験物質投与による影響と考えられたが、病理組織学検査の結果からこれらの器官異常は認められなかった。また、雌の 12.5 および 50 mg/kg 群で認められた脾臓相対重量の低値は、投与終了時における雌の対照群の重量が回復期間終了時における重量と等しく、比較した対照群が高値傾向にあったために生じたのと考えられ、さらに両群とも血液学的検査および病理学的検査結果に脾臓の重量変化と関連づけられる変化は認められないことから、被験物質の影響とは判断されなかった。その他、変化のみられた卵巣および腎臓については、用量に対応した変化ではないことから、被験物質投与による変化ではないと考えられた。回復期間終了時では、脾臓、肝臓および精巣に異常は認められず回復がみられた。

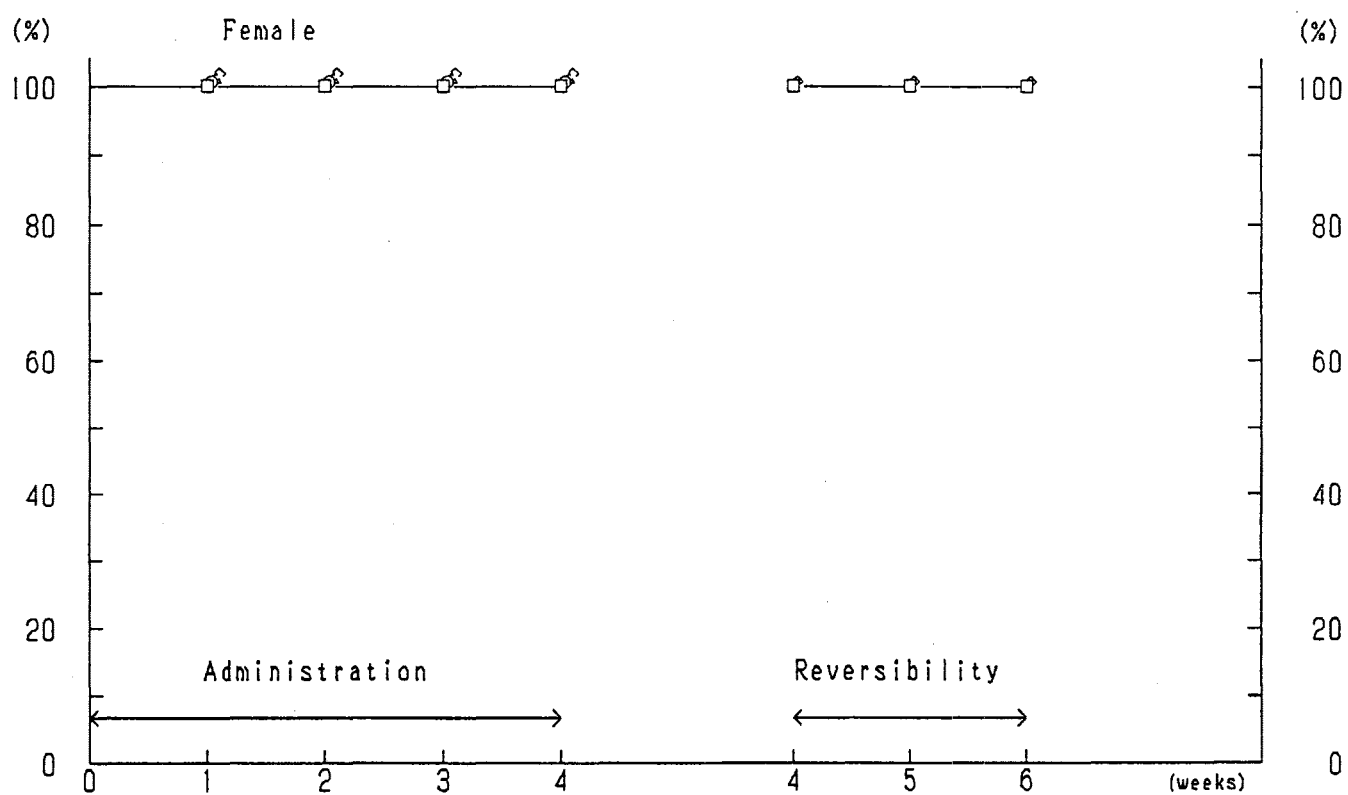
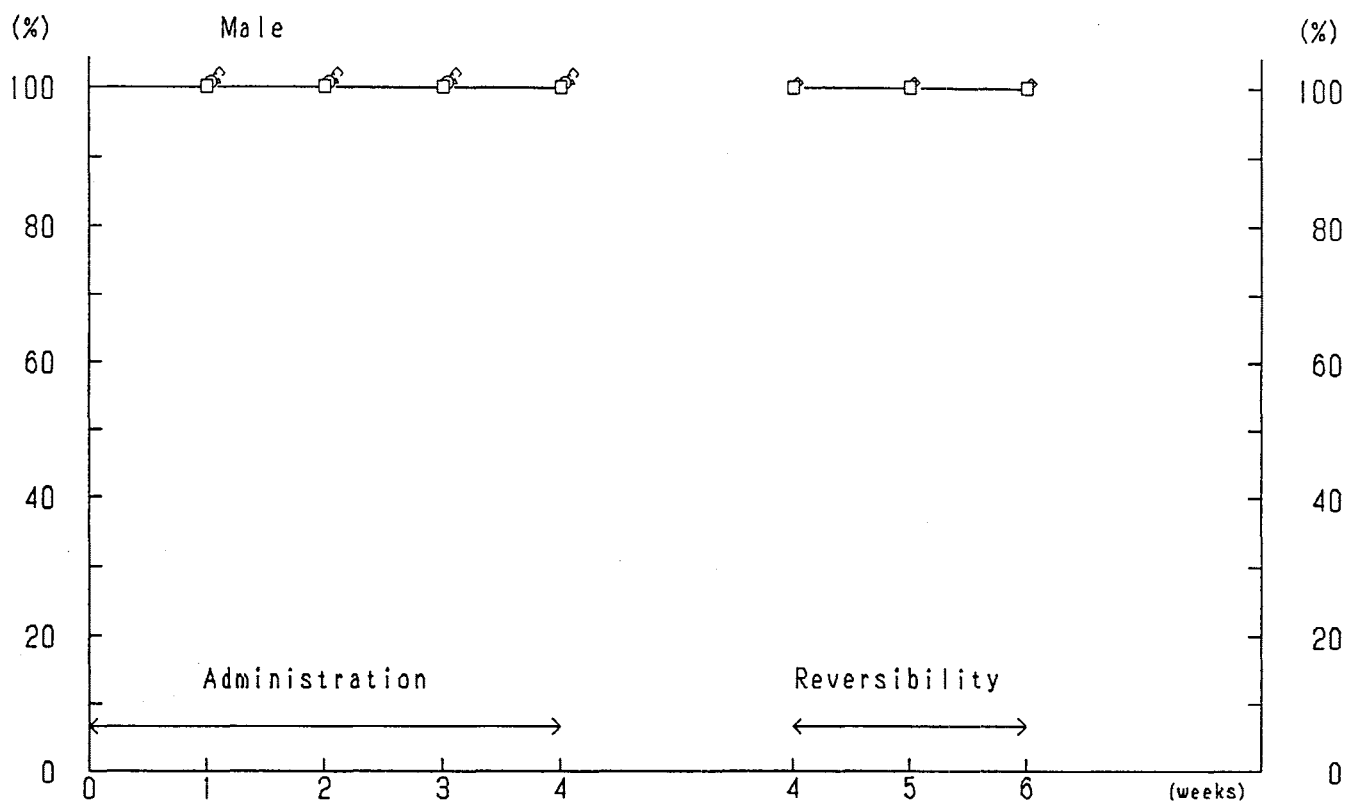
病理学的検査の結果、被験物質の影響が示唆される病変として、肉眼所見では胃（前胃）の粘膜肥厚が雌雄ともに 200 mg/kg群で全例に観察された。この病変に対応する組織所見として前胃の扁平上皮増生が 200 mg/kg群の雌雄の全例（中程度）と 50 mg/kg群の雌雄の 3 例（軽度）に観察された。さらに前胃では粘膜下の浮腫、びらんや細胞浸潤、腺胃では粘膜下の浮腫やびらんなどの所見も一部の例に観察された。これらの変化はいずれも、2-ピニルピリジンの持つ刺激性や腐食性から考え被験物質の胃への直接的な作用と考えられた。これらの変化の内、前胃の扁平上皮増生は回復終了時の動物にも観察された。しかし、発生数や程度も軽減しており可逆性の変化と考えられた。

以上のことから、本試験では雌雄の 50および 200 mg/kg群で認められた一般状態の変化および病理学的検査における胃の異常病変が被験物質投与と関連づけられるものであり、被験物質の標的器官は胃と判断された。また、無影響量は雌雄ともに一般状態の変化および胃の異常病変が認められなかった 12.5 mg/kg/dayと判断された。

15. 参 考 文 献 :

- 1) 佐野正樹, 岡山佳弘 : 医薬安全性研究会会報, No. 32, p. 21 (1990)
- 2) YOSHIDA, M. : J. J. Soc. comp. Stat., 1, p. 111 (1988)

Figures, Tables



Exp. No. 2778(115-057)

Dose level (mg/kg)

—□— 0
 —○— 12.5
 —△— 50
 —◇— 200

Figure 1. Survival ratio

Table 1. Survival and mortality

Exp. No. 2778 (115-057)

Sex	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment				Mortality (%)
		1	2	3	4	
Male	0	10/10	10/10	10/10	10/10	0.0
	12.5	5/5	5/5	5/5	5/5	0.0
	50	5/5	5/5	5/5	5/5	0.0
	200	10/10	10/10	10/10	10/10	0.0
Female	0	10/10	10/10	10/10	10/10	0.0
	12.5	5/5	5/5	5/5	5/5	0.0
	50	5/5	5/5	5/5	5/5	0.0
	200	10/10	10/10	10/10	10/10	0.0

Number surviving / Number per group.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 1. -continued Survival and mortality

Exp. No. 2778 (115-057)

Sex	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment		Mortality (%)
		5	6	
Male	0	5/5	5/5	0.0
	200	5/5	5/5	0.0
Female	0	5/5	5/5	0.0
	200	5/5	5/5	0.0

Number surviving / Number per group.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 2.

Clinical observation

Exp. No. 2778 (015-057)

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	9/10	9/10
	12.5	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
	50	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
	200	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	7/10	6/10	7/10	7/10	4/10	4/10	1/10	0/10
trauma/neck	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	12.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
dirty hair	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	12.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	2
salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	12.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	200	0	0	0	0	0	0	3	3	3	3	5	5	7	10
teeth abnormality	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	12.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
decrease spontaneous motor activity	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	12.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	200	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0

Table 2. -continued Clinical observation

Exp. No. 2778 (015-057)

Sex: Male

Findings of clinical observation	Dose level (mg/kg)	Days of experiment														Total (1-28)
		15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	
normal/Number per group	0	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9
	12.5	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
	50	5/ 5	5/ 5	5/ 5	5/ 5	5/ 5	5/ 5	0/ 5	0/ 5	0/ 5	0/ 5	0/ 5	0/ 5	0/ 5	0/ 5	0
	200	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0
trauma/neck	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	12.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
dirty hair	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	12.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	200	2	2	2	2	2	2	2	3	3	4	3	3	3	3	4
salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	12.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	200	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
teeth abnormality	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	12.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
decrease spontaneous motor activity	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	12.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

Table 2. -continued Clinical observation

Exp. No. 2778 (015-057)

Sex: Male

Findings of clinical observation	Dose level (mg/kg)	Days of experiment														Total (29-42)
		29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	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	4/ 5	4
	200	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
trauma/left forelimb	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Table 2. -continued Clinical observation

Exp. No. 2778 (015-057)

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
	12.5	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
	50	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
	200	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	9/10	9/10	9/10	5/10	1/10
dirty hair	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	12.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	12.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	5	9

Table 2. -continued Clinical observation

Exp. No. 2778 (015-057)

Sex: Female

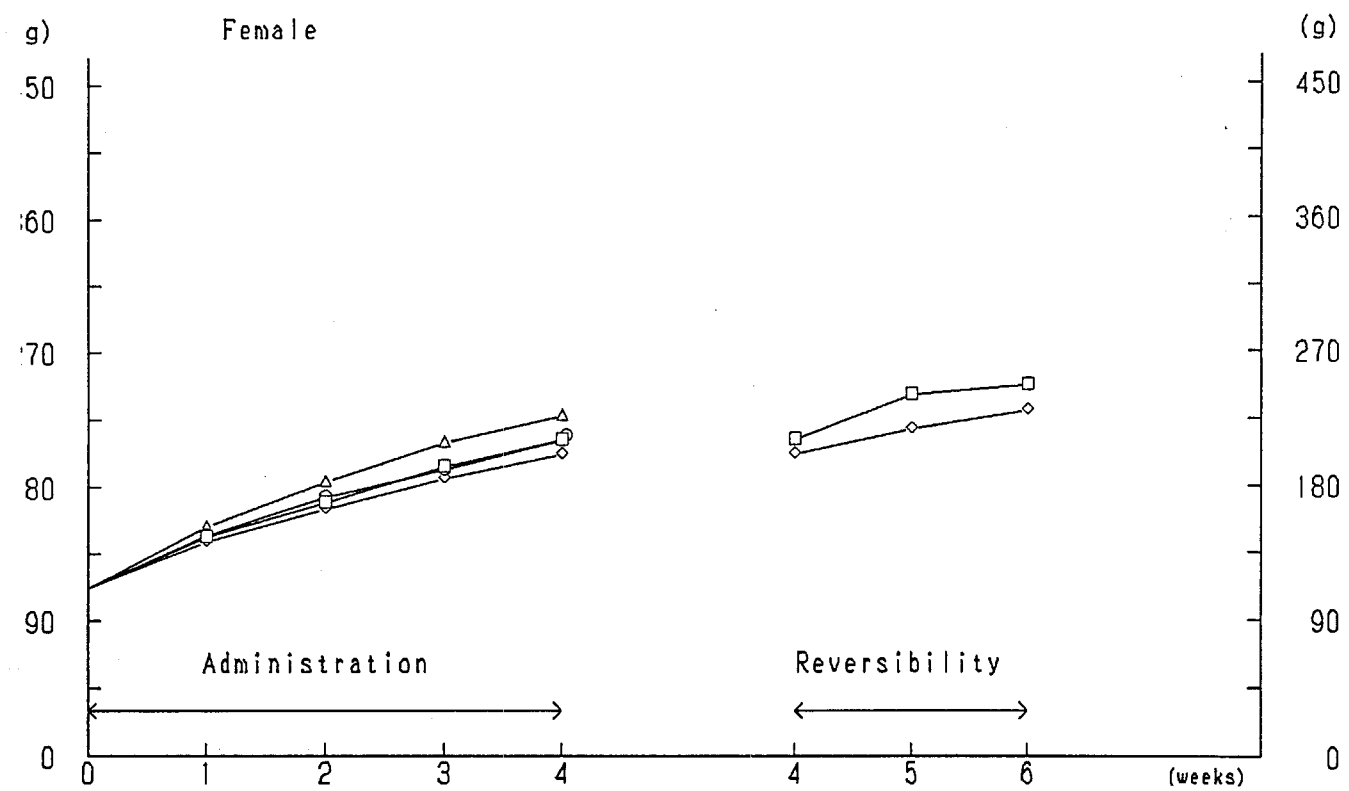
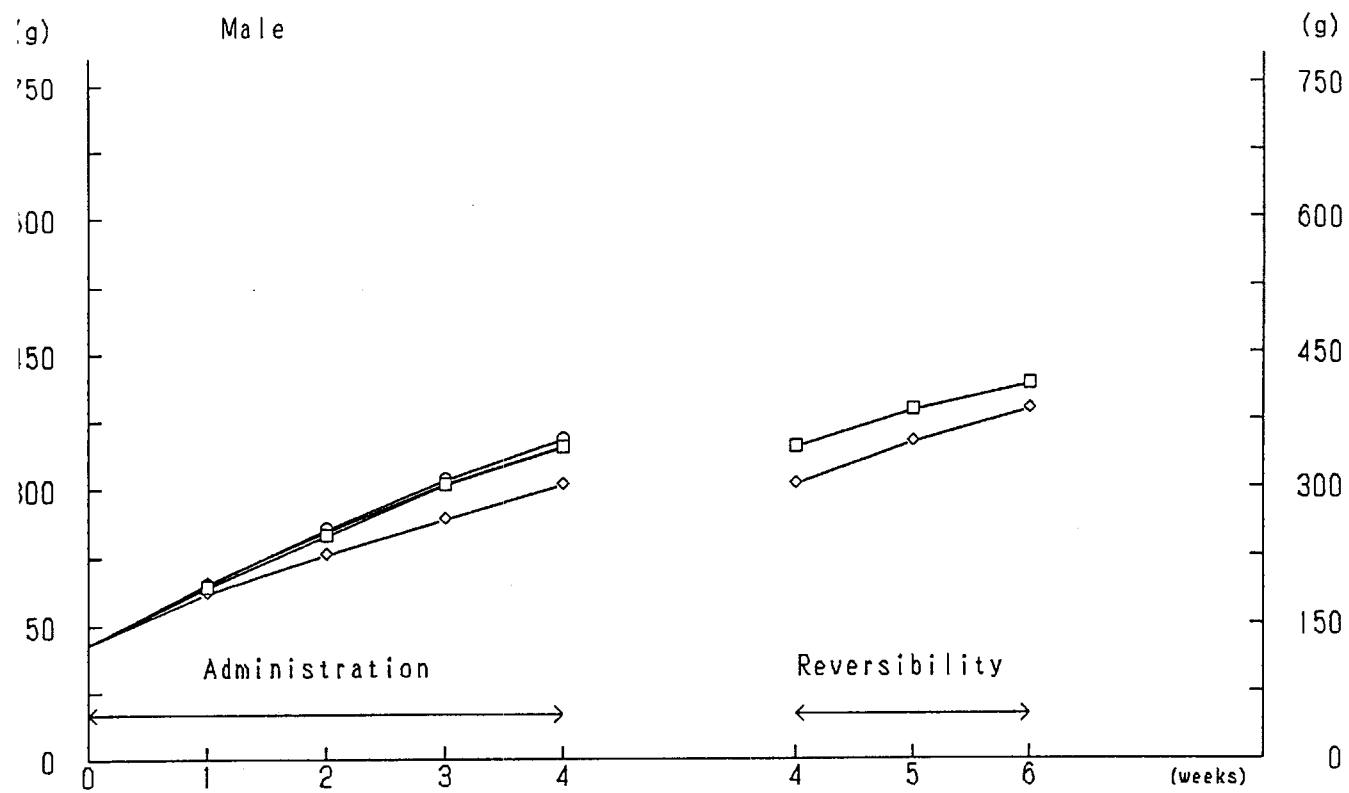
Findings of clinical observation	Dose level (mg/kg)	Days of experiment														Total (1-28)
		15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	
normal/Number per group	0	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10
	12.5	5/ 5	5/ 5	5/ 5	5/ 5	5/ 5	5/ 5	5/ 5	5/ 5	5/ 5	5/ 5	5/ 5	5/ 5	5/ 5	5/ 5	5
	50	5/ 5	5/ 5	5/ 5	5/ 5	5/ 5	5/ 5	0/ 5	0/ 5	0/ 5	0/ 5	0/ 5	0/ 5	0/ 5	0/ 5	0
	200	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0
dirty hair	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	12.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	200	0	0	0	4	1	1	2	3	2	2	2	2	2	2	4
salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	12.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	200	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

Table 2. -continued Clinical observation

Exp. No. 2778 (015-057)

Sex: Female

Findings of clinical observation	Dose level (mg/kg)	Days of experiment														Total (29-42)
		29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	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
	200	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



Exp. No. 2778(115-057)

Dose level (mg/kg)

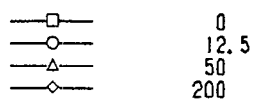


Figure 2. Body weight

Table 3. Body weight

Exp. No. 2778 (115-057)

(unit : g)

Sex	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment 0	1	2	3	4
Male	0	130 ± 4	192 ± 10	248 ± 17	303 ± 21	344 ± 30
	12.5	130 ± 4	195 ± 15	255 ± 21	309 ± 27	353 ± 34
	50	130 ± 5	196 ± 9	253 ± 12	304 ± 17	345 ± 24
	200	130 ± 5	186 ± 11	228 ± 14*	266 ± 18**	303 ± 18**
Female	0	112 ± 3	146 ± 10	169 ± 14	193 ± 18	211 ± 16
	12.5	112 ± 2	147 ± 7	173 ± 12	191 ± 17	211 ± 20
	50	112 ± 3	153 ± 9	183 ± 13	209 ± 13	227 ± 22
	200	112 ± 3	143 ± 7	165 ± 9	185 ± 12	201 ± 16

Mean ± S.D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 3. -continued Body weight

Exp. No. 2778 (115-057)

(unit : g)

Sex	Dose level (mg/kg)	Gain (0 → 4)
Male	0	215 ± 27
	12.5	224 ± 32
	50	216 ± 22
	200	173 ± 17**
Female	0	98 ± 14
	12.5	100 ± 18
	50	115 ± 21
	200	89 ± 15

Mean ± S.D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 3. -continued Body weight

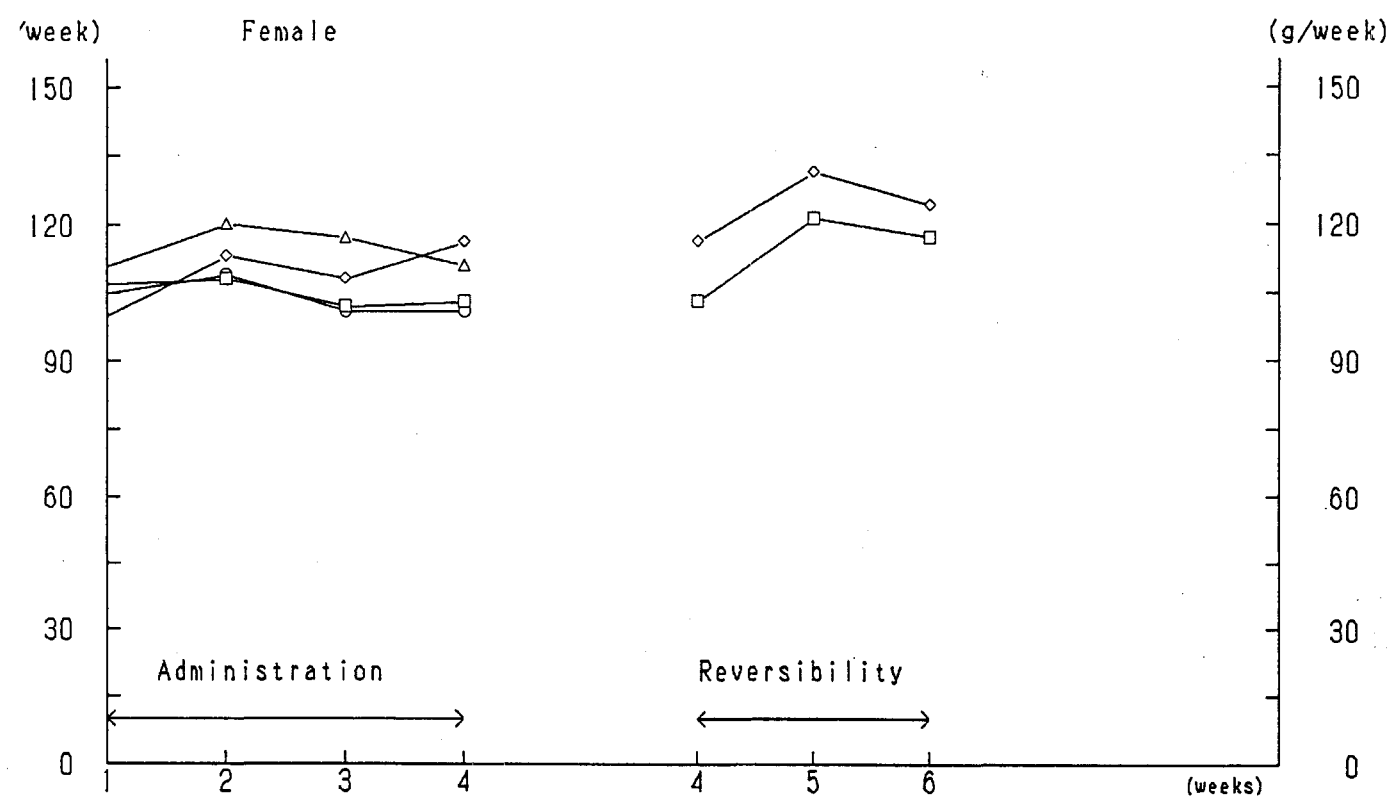
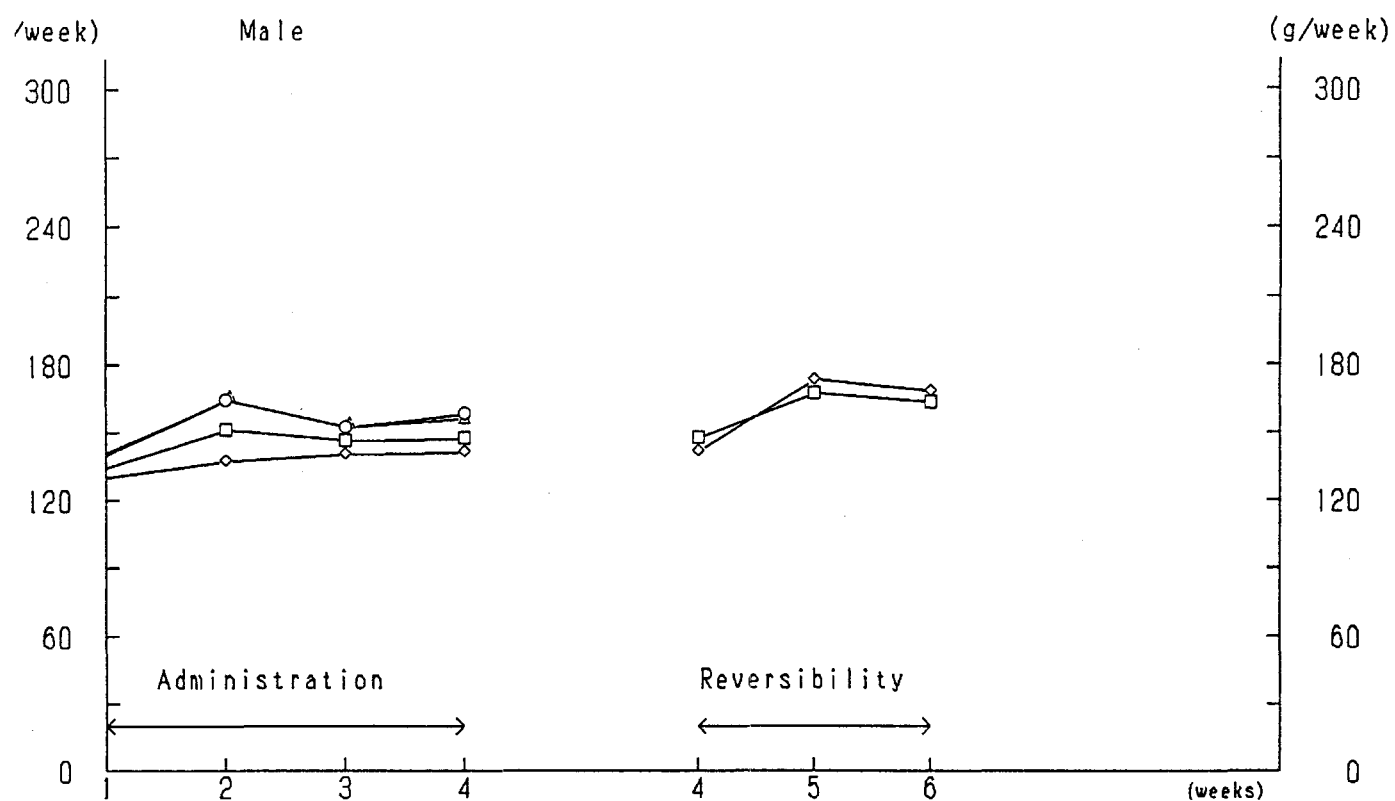
Exp. No. 2778 (115-057)

(unit : g)

Sex	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment		Gain (4 → 6)
		5	6	
Male	0	385 ± 32	415 ± 42	64 ± 16
	200	350 ± 15	386 ± 24	71 ± 16
Female	0	241 ± 9	247 ± 8	30 ± 8
	200	218 ± 19*	230 ± 19	28 ± 8

Mean ± S.D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$



Exp. No. 2778(115-057)

Dose level (mg/kg)

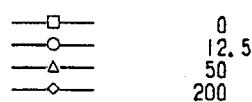


Figure 3. Food consumption

Table 4. Food consumption

Exp. No. 2778 (115-057)

(unit : g/week)

Sex	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment 1	2	3	4	Total (0 → 4)
Male	0	134 ± 5	151 ± 8	146 ± 9	147 ± 16	579 ± 31
	12.5	141 ± 12	164 ± 15	152 ± 7	158 ± 20	616 ± 51
	50	140 ± 14	164 ± 15	152 ± 7	156 ± 15	612 ± 39
	200	130 ± 11	137 ± 14*	140 ± 13	141 ± 16	548 ± 46
Female	0	107 ± 11	108 ± 10	102 ± 10	103 ± 10	419 ± 38
	12.5	105 ± 10	109 ± 14	101 ± 17	101 ± 12	416 ± 48
	50	111 ± 13	120 ± 16	117 ± 12	111 ± 19	458 ± 55
	200	100 ± 6	113 ± 13	108 ± 11	116 ± 12	437 ± 37

Mean ± S.D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 4. -continued Food consumption

Exp. No. 2778 (115-057)

(unit : g/week)

Sex	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment 5	6	Total (5 → 6)
Male	0	167 ± 16	163 ± 17	330 ± 32
	200	173 ± 12	168 ± 19	341 ± 31
Female	0	121 ± 9	117 ± 10	238 ± 18
	200	131 ± 21	124 ± 13	255 ± 34

Mean ± S.D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 5. Food efficiency

Exp. No. 2778 (115-057)

(unit : %)

Sex	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment 1	2	3	4	Mean (0 → 4)
Male	0	46.5 ± 4.0	37.3 ± 4.3	37.2 ± 5.8	28.0 ± 4.0	37.0 ± 3.3
	12.5	46.4 ± 7.3	36.7 ± 3.7	35.2 ± 4.4	27.8 ± 2.4	36.3 ± 3.3
	50	47.6 ± 5.8	35.3 ± 2.9	33.2 ± 3.4	26.4 ± 4.1	35.3 ± 3.4
	200	43.1 ± 4.8	30.6 ± 5.1**	26.9 ± 5.2**	25.9 ± 6.0	31.5 ± 2.0**
Female	0	31.3 ± 6.7	21.5 ± 6.8	24.3 ± 7.5	17.1 ± 8.0	23.6 ± 3.5
	12.5	33.5 ± 1.4	23.2 ± 4.5	17.5 ± 6.3	20.2 ± 3.2	23.8 ± 1.8
	50	36.5 ± 5.8	25.0 ± 7.0	22.2 ± 5.8	15.4 ± 10.1	25.0 ± 2.4
	200	31.5 ± 5.5	18.9 ± 2.9	18.4 ± 3.7	14.2 ± 5.4	20.5 ± 3.0

Mean ± S. D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 5. -continued Food efficiency

Exp. No. 2778 (115-057)

(unit : %)

Sex	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment		Mean (5 → 6)
		5	6	
Male	0	20.6 ± 2.4	17.5 ± 5.8	19.1 ± 3.0
	200	20.4 ± 1.3	21.0 ± 6.2	20.7 ± 2.8
Female	0	19.2 ± 5.9	5.0 ± 4.2	12.3 ± 2.7
	200	11.8 ± 7.2	10.0 ± 4.8	11.0 ± 2.8

Mean ± S. D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 6. Hematology

Exp. No. 2778 (115-057)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	HCT (%)	HGB (g/dl)	RBC ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	MCV (μm^3)	MCH (pg)	MCHC (%)
Male	0	5	42.3 $\pm$ 1.3	14.6 $\pm$ 0.5	7.02 $\pm$ 0.26	60.3 $\pm$ 0.7	20.8 $\pm$ 0.3	34.4 $\pm$ 0.1
	12.5	5	42.2 $\pm$ 0.9	14.6 $\pm$ 0.5	7.08 $\pm$ 0.21	59.6 $\pm$ 1.2	20.6 $\pm$ 0.4	34.5 $\pm$ 0.4
	50	5	42.0 $\pm$ 1.0	14.5 $\pm$ 0.4	7.00 $\pm$ 0.13	60.0 $\pm$ 2.2	20.7 $\pm$ 0.9	34.5 $\pm$ 0.4
	200	5	42.3 $\pm$ 1.3	14.4 $\pm$ 0.4	7.12 $\pm$ 0.31	59.4 $\pm$ 1.5	20.3 $\pm$ 0.7	34.1 $\pm$ 0.2
Female	0	5	41.2 $\pm$ 1.0	14.6 $\pm$ 0.4	7.06 $\pm$ 0.20	58.4 $\pm$ 1.4	20.7 $\pm$ 0.4	35.4 $\pm$ 0.5
	12.5	5	42.1 $\pm$ 0.5	15.0 $\pm$ 0.2	7.13 $\pm$ 0.18	59.1 $\pm$ 1.1	21.0 $\pm$ 0.5	35.6 $\pm$ 0.4
	50	5	40.6 $\pm$ 1.3	14.5 $\pm$ 0.5	6.74 $\pm$ 0.40	60.4 $\pm$ 1.8	21.5 $\pm$ 0.5	35.6 $\pm$ 0.2
	200	5	41.0 $\pm$ 1.1	14.5 $\pm$ 0.4	7.03 $\pm$ 0.37	58.4 $\pm$ 2.6	20.6 $\pm$ 0.8	35.4 $\pm$ 0.3

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

Table 6. -continued Hematology

Exp. No. 2778 (115-057)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	PLT ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	WBC ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	Differential leukocyte counts (%)			EOSN	BASO	LUC
					NEUT	LYMPH	MONO			
Male	0	5	1046 $\pm$ 143	10.6 $\pm$ 0.9	11 $\pm$ 4	86 $\pm$ 3	1 $\pm$ 1	1 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0
	12.5	5	1026 $\pm$ 120	11.2 $\pm$ 4.2	11 $\pm$ 3	86 $\pm$ 4	2 $\pm$ 1	1 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0
	50	5	1141 $\pm$ 69	12.8 $\pm$ 1.7	11 $\pm$ 4	85 $\pm$ 5	1 $\pm$ 1	1 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0
	200	5	1048 $\pm$ 54	12.3 $\pm$ 3.6	10 $\pm$ 3	87 $\pm$ 4	1 $\pm$ 1	1 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0
Female	0	5	991 $\pm$ 89	6.8 $\pm$ 1.8	13 $\pm$ 4	84 $\pm$ 5	1 $\pm$ 1	1 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0
	12.5	5	1006 $\pm$ 107	5.5 $\pm$ 1.3	11 $\pm$ 4	85 $\pm$ 5	1 $\pm$ 1	2 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0
	50	5	1076 $\pm$ 61	5.8 $\pm$ 0.8	16 $\pm$ 4	80 $\pm$ 4	2 $\pm$ 0	1 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 1
	200	5	1075 $\pm$ 117	5.5 $\pm$ 1.6	22 $\pm$ 11	74 $\pm$ 11	2 $\pm$ 1	1 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0

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

Table 6. -continued Hematology

Exp. No. 2778 (115-057)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Reticulocyte (%)
Male	0	5	34 ± 4
	12.5	5	28 ± 7
	50	5	29 ± 8
	200	5	32 ± 5
Female	0	5	20 ± 2
	12.5	5	23 ± 5
	50	5	20 ± 5
	200	5	22 ± 6

Mean ± S.D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 6. -continued Hematology

Exp. No. 2778 (115-057)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	HCT (%)	HGB (g/dl)	RBC ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	MCV (μm^3)	MCH (pg)	MCHC (%)
Male	0	5	43.1 $\pm$ 0.9	15.2 $\pm$ 0.2	7.74 $\pm$ 0.24	55.7 $\pm$ 1.4	19.6 $\pm$ 0.5	35.2 $\pm$ 0.6
	200	5	42.2 $\pm$ 1.2	14.9 $\pm$ 0.4	7.55 $\pm$ 0.32	55.9 $\pm$ 1.2	19.8 $\pm$ 0.3	35.4 $\pm$ 0.3
Female	0	5	39.6 $\pm$ 1.3	14.4 $\pm$ 0.4	7.29 $\pm$ 0.25	54.3 $\pm$ 1.7	19.7 $\pm$ 0.6	36.3 $\pm$ 0.2
	200	5	39.7 $\pm$ 1.4	14.2 $\pm$ 0.4	7.27 $\pm$ 0.24	54.7 $\pm$ 1.1	19.6 $\pm$ 0.4	35.8 $\pm$ 0.3*

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

Table 6. -continued Hematology

Exp. No. 2778 (115-057)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	PLT ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	WBC ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	Differential leukocyte counts (%)					
					NEUT	LYMPH	MONO	EOSN	BASO	LUC
Male	0	5	1079 $\pm$ 123	12.7 $\pm$ 4.0	19 $\pm$ 12	76 $\pm$ 12	3 $\pm$ 1	1 $\pm$ 0	1 $\pm$ 1	1 $\pm$ 0
	200	5	1015 $\pm$ 76	14.0 $\pm$ 3.4	11 $\pm$ 4	85 $\pm$ 4	2 $\pm$ 1	1 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0
Female	0	5	1112 $\pm$ 118	7.7 $\pm$ 2.2	12 $\pm$ 6	84 $\pm$ 6	2 $\pm$ 1	1 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0
	200	5	1027 $\pm$ 54	7.7 $\pm$ 2.3	13 $\pm$ 3	84 $\pm$ 3	2 $\pm$ 1	1 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0

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

Table 6. -continued Hematology

Exp. No. 2778 (115-057)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Reticulocyte (%)
Male	0	5	24 ± 1N
	200	5	33 ± 7*
Female	0	5	32 ± 3
	200	5	27 ± 8

Mean ± S.D.

Significant difference from control group: *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

N: Non parametric analysis

Table 7. Coagulation

Exp. No. 2778 (115-057)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	PT (sec.)	APTT (sec.)	Fibrinogen (mg/dl)
Male	0	5	12.7 ± 0.3	22.7 ± 1.0	285 ± 14
	12.5	5	12.7 ± 0.3	23.4 ± 0.8	284 ± 25
	50	5	12.8 ± 0.6	22.9 ± 0.9	309 ± 45
	200	5	12.7 ± 0.3	22.7 ± 0.6	274 ± 17
Female	0	5	13.4 ± 0.6	21.0 ± 2.1	238 ± 32
	12.5	5	13.6 ± 0.3	21.3 ± 1.1	228 ± 17
	50	5	13.2 ± 0.2	21.1 ± 1.4	243 ± 19
	200	5	13.1 ± 0.2	20.0 ± 0.6	219 ± 26

Mean ± S.D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 7. -continued Coagulation

Exp. No. 2778 (115-057)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	PT (sec.)	APTT (sec.)	Fibrinogen (mg/dl)
Male	0	5	13.0 ± 0.4	24.9 ± 0.8	320 ± 79N
	200	5	13.1 ± 0.6	24.1 ± 1.6	283 ± 14
Female	0	5	13.6 ± 0.3	21.0 ± 1.0	234 ± 18
	200	5	13.4 ± 0.3	20.3 ± 1.2	234 ± 14

Mean ± S.D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

N: Non parametric analysis

Table 8. Blood chemistry

Exp. No. 2778 (115-057)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	BUN (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)	Glucose (mg/dl)	T. protein (g/dl)	Albumin (g/dl)	A/G
Male	0	5	9.5 ± 1.2	0.62 ± 0.06	141 ± 8	5.59 ± 0.16	3.09 ± 0.07N	1.24 ± 0.04
	12.5	5	9.0 ± 1.0	0.59 ± 0.06	131 ± 19	5.56 ± 0.21	3.10 ± 0.15	1.26 ± 0.05
	50	5	10.0 ± 1.6	0.65 ± 0.04	137 ± 21	5.62 ± 0.31	3.10 ± 0.21	1.23 ± 0.04
	200	5	9.5 ± 1.6	0.63 ± 0.07	116 ± 17	5.67 ± 0.09	3.19 ± 0.04	1.29 ± 0.03
Female	0	5	14.3 ± 2.5	0.67 ± 0.11	115 ± 21	5.69 ± 0.28	3.25 ± 0.21	1.34 ± 0.08
	12.5	5	14.9 ± 4.6	0.65 ± 0.05	115 ± 25	5.82 ± 0.13	3.38 ± 0.11	1.38 ± 0.07
	50	5	11.8 ± 1.5	0.56 ± 0.05	121 ± 23	5.96 ± 0.35	3.41 ± 0.22	1.34 ± 0.05
	200	5	10.8 ± 2.1	0.53 ± 0.08*	127 ± 17	5.71 ± 0.16	3.33 ± 0.14	1.41 ± 0.07

Mean ± S.D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

N: Non parametric analysis

Table 8. -continued Blood chemistry

Exp. No. 2778 (115-057)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	T.cholesterol (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)	GOT (U/l)	GPT (U/l)	ALP (U/l)	Gamma-GTP (U/l)
Male	0	5	60 ± 10	71.0 ± 28.5	43 ± 3	14 ± 2N	247 ± 64	0.2 ± 0.2N
	12.5	5	56 ± 7	68.9 ± 16.6	46 ± 4	14 ± 2	195 ± 27	0.2 ± 0.3
	50	5	55 ± 5	70.0 ± 18.8	44 ± 4	14 ± 1	173 ± 40	0.2 ± 0.2
	200	5	49 ± 7	39.4 ± 5.5	50 ± 7	18 ± 6	196 ± 83	0.9 ± 1.8
Female	0	5	48 ± 5	44.7 ± 14.8	54 ± 9	12 ± 2	126 ± 32N	1.0 ± 0.7
	12.5	5	53 ± 9	36.0 ± 10.0	53 ± 4	12 ± 2	111 ± 16	0.7 ± 0.5
	50	5	55 ± 15	39.1 ± 13.1	51 ± 7	12 ± 2	140 ± 48	0.7 ± 0.5
	200	5	50 ± 7	30.8 ± 8.9	56 ± 3	14 ± 3	420 ± 626	1.1 ± 0.3

Mean ± S.D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

N: Non parametric analysis

Table 8. -continued Blood chemistry

Exp. No. 2778 (115-057)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	T. bilirubin (mg/dl)	Sodium (mmol/l)	Potassium (mmol/l)	Chloride (mmol/l)	Calcium (mg/dl)	I. phosphate (mg/dl)
Male	0	5	0.39 ± 0.01	144.2 ± 0.9	4.67 ± 0.33	108.3 ± 1.0	10.27 ± 0.20	7.81 ± 0.23
	12.5	5	0.38 ± 0.03	143.9 ± 0.7	4.89 ± 0.32	108.1 ± 1.4	10.34 ± 0.18	8.20 ± 0.65
	50	5	0.39 ± 0.01	143.8 ± 0.4	4.73 ± 0.28	108.2 ± 0.9	10.40 ± 0.44	8.07 ± 0.49
	200	5	0.41 ± 0.03	143.9 ± 0.9	4.83 ± 0.28	108.6 ± 1.3	10.43 ± 0.23	8.25 ± 0.31
Female	0	5	0.40 ± 0.02	144.3 ± 1.5	4.26 ± 0.25	111.4 ± 1.1	10.17 ± 0.34	6.84 ± 0.26
	12.5	5	0.41 ± 0.01	144.2 ± 1.5	4.35 ± 0.22	111.5 ± 0.7	10.27 ± 0.12	6.59 ± 0.33
	50	5	0.42 ± 0.01	143.5 ± 1.9	4.41 ± 0.09	110.6 ± 0.9	10.28 ± 0.41	6.53 ± 0.42
	200	5	0.41 ± 0.02	141.9 ± 1.3	4.60 ± 0.30	111.3 ± 2.2	9.99 ± 0.31	6.75 ± 0.72

Mean ± S.D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 8. -continued Blood chemistry

Exp. No. 2778 (115-057)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	BUN (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)	Glucose (mg/dl)	T. protein (g/dl)	Albumin (g/dl)	A/G
Male	0	5	10.4 ± 1.9	0.57 ± 0.03	130 ± 10	5.83 ± 0.24	3.10 ± 0.19	1.14 ± 0.09
	200	5	11.2 ± 1.7	0.52 ± 0.07	131 ± 16	5.59 ± 0.21	3.00 ± 0.09	1.16 ± 0.02
Female	0	5	14.7 ± 1.7	0.62 ± 0.06	124 ± 15	5.95 ± 0.35	3.35 ± 0.23	1.29 ± 0.06
	200	5	16.2 ± 2.1	0.59 ± 0.05	133 ± 15	5.92 ± 0.13	3.26 ± 0.11	1.22 ± 0.04

Mean ± S.D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 8. -continued Blood chemistry

Exp. No. 2778 (115-057)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	T.cholesterol (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)	GOT (U/l)	GPT (U/l)	ALP (U/l)	Gamma-GTP (U/l)
Male	0	5	57 ± 9	76.4 ± 22.9N	49 ± 7	12 ± 3	155 ± 23	0.5 ± 0.4
	200	5	52 ± 11	52.1 ± 5.8	46 ± 5	12 ± 2	160 ± 31	0.2 ± 0.3
Female	0	5	51 ± 10	46.5 ± 8.2	49 ± 7	11 ± 1	73 ± 26	0.4 ± 0.2
	200	5	62 ± 14	65.2 ± 20.2	46 ± 7	13 ± 3	86 ± 13	0.7 ± 0.4

Mean ± S.D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

N: Non parametric analysis

Table 8. -continued Blood chemistry

Exp. No. 2778 (115-057)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	T.bilirubin (mg/dl)	Sodium (mmol/l)	Potassium (mmol/l)	Chloride (mmol/l)	Calcium (mg/dl)	I.phosphate (mg/dl)
Male	0	5	0.41 ± 0.02	145.3 ± 2.2	4.86 ± 0.28	107.3 ± 1.4	10.45 ± 0.35	7.36 ± 0.55
	200	5	0.40 ± 0.03	144.3 ± 0.7	4.58 ± 0.35	108.0 ± 1.7	10.22 ± 0.15	7.47 ± 0.38
Female	0	5	0.44 ± 0.02	144.2 ± 0.7	4.52 ± 0.21	110.2 ± 1.1	10.03 ± 0.31	5.83 ± 0.34
	200	5	0.43 ± 0.02	143.5 ± 0.4	4.61 ± 0.22	109.1 ± 1.9	10.05 ± 0.20	6.07 ± 0.59

Mean ± S.D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 9. Urinalysis

Exp. No. 2778 (115-057)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Volume (ml)	Specific Gravity
Male	0	5	20 ± 6N	1.036 ± 0.012
	12.5	5	26 ± 14	1.039 ± 0.025
	50	5	23 ± 2	1.036 ± 0.005
	200	5	26 ± 14	1.033 ± 0.020
Female	0	5	6 ± 2N	1.074 ± 0.020
	12.5	5	11 ± 6	1.055 ± 0.024
	50	5	15 ± 3	1.039 ± 0.016*
	200	5	29 ± 15**	1.027 ± 0.009**

Mean ± S. D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

N: Non parametric analysis

Table 9. -continued Urinalysis

Exp. No. 2778 (115-057)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Color											Turbidity		pH										
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Clear	Muddy	5	5.5	6	6.5	7	7.5	8	8.5	≥9		
Male	0	5	5											5						2	1			2		
	12.5	5	5											5					2				3			
	50	5	5											5					1			1	1	2		
	200	5	5											5						2	1		1	1		
Female	0	5	5											5							1	1	1	2		
	12.5	5	5											5							2			3		
	50	5	5											5					2		1	1		1		
	200	5	5											5							2	3				

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. 2778 (115-057)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Occult Blood					Ketones						Glucose (g/dl)				
			-	+/-	1+	2+	3+	-	+/-	1+	2+	3+	4+	-	0.1	0.25	0.5	≥1.0
Male	0	5	5					1	2	2				5				
	12.5	5	5					1	2	2				5				
	50	5	4	1				1	3	1				5				
	200	5	5					1	3	1				5				
Female	0	5	4	1				1	3	1				5				
	12.5	5	4		1				4	1				5				
	50	5	5						2	3				5				
	200	5	5					3	2					5				

Table 9. -continued Urinalysis

Exp. No. 2778 (115-057)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Protein(mg/dl)					Bilirubin				Urobilinogen (E. U. /dl)						
			-	+/-	30	100	≥300	-	1+	2+	3+	0.1	1.0	2.0	4.0	8.0	≥12	
Male	0	5		2	2	1		5				2	3					
	12.5	5		1	3	1		4	1			3	2					
	50	5		2	2	1		4	1			2	3					
	200	5				3	2	5				3	2					
Female	0	5		1	1	3		3	2			1	4					
	12.5	5		1		3	1	4	1			1	4					
	50	5		1	1		3	5					5					
	200	5		1	1	2	1	5				3	2					

Table 9. -continued Urinalysis : Microscopic examination of sediment

Exp. No. 2778 (115-057)

Week: 4

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	1 4
	12.5	5	5	5	5	5	5	5	2 3
	50	5	5	5	5	5	5	5	1 4
	200	5	5	5	5	5	5	5	3 2
Female	0	5	5	5	5	5	5	5	1 4
	12.5	5	5	5	5	5	5	5	4 1
	50	5	5	5	5	5	5	5	3 2
	200	5	5	5	5	5	5	5	3 2

others : Crystals

Table 9. -continued Urinalysis

Exp. No. 2778 (115-057)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Volume (ml)	Specific Gravity
Male	0	5	22 ± 8	1.033 ± 0.017
	200	5	31 ± 15	1.024 ± 0.010
Female	0	5	13 ± 4	1.051 ± 0.021
	200	5	15 ± 5	1.054 ± 0.015

Mean ± S.D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 9. -continued Urinalysis

Exp. No. 2778 (115-057)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Color											Turbidity		pH													
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Clear	Muddy	5	5.5	6	6.5	7	7.5	8	8.5	≥9					
Male	0	5	5											5													1		4
	200	5	5											5													1		1
Female	0	5	5											5		1											1		3
	200	5	5											5													1		1

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. 2778 (115-057)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Occult Blood					Ketones						Glucose (g/dl)				
			-	+/-	1+	2+	3+	-	+/-	1+	2+	3+	4+	-	0.1	0.25	0.5	≥1.0
Male	0	5	5					2	1	2				5				
	200	5	4	1				1	2	1	1			5				
Female	0	5	5					3	1	1				5				
	200	5	5					4	1					5				

Table 9. -continued Urinalysis

Exp. No. 2778 (115-057)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Protein (mg/dl)					Bilirubin				Urobilinogen (E. U. /dl)						
			-	+/-	30	100	≥300	-	1+	2+	3+	0.1	1.0	2.0	4.0	8.0	≥12	
Male	0	5		2	2	1		5					4	1				
	200	5		2	2	1		5					4	1				
Female	0	5		1	2	2		5					1	4				
	200	5	3	1	1		5						2	3				

Table 9. -continued Urinalysis : Microscopic examination of sediment

Exp. No. 2778 (115-057)

Week: 6

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	1 4
	200	5	5	5	5	5	5	5	3 2
Female	0	5	5	5	5	5	5	5	1 4
	200	5	5	5	5	5	5	4 1	1 4

others : Crystals

Table 10. Organ weight

Exp. No. 2778 (115-057)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Body weight (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidneys (g)	Spleen (g)
Male	0	5	338 ± 33	2.06 ± 0.06	10.68 ± 1.00	2.54 ± 0.07	0.52 ± 0.10
	12.5	5	353 ± 34	2.09 ± 0.07	11.15 ± 1.56	2.73 ± 0.28	0.53 ± 0.03
	50	5	345 ± 24	2.04 ± 0.06	11.08 ± 1.09	2.61 ± 0.31	0.55 ± 0.06
	200	5	291 ± 12*	1.95 ± 0.07	9.21 ± 1.45	2.19 ± 0.18	0.45 ± 0.06
Female	0	5	204 ± 22	1.87 ± 0.07	6.12 ± 1.12	1.58 ± 0.14	0.43 ± 0.05
	12.5	5	211 ± 20	1.93 ± 0.05	6.05 ± 0.76	1.54 ± 0.13	0.37 ± 0.05
	50	5	227 ± 22	1.87 ± 0.06	7.44 ± 0.91	1.82 ± 0.19*	0.40 ± 0.02
	200	5	200 ± 19	1.85 ± 0.10	7.09 ± 0.40	1.63 ± 0.11	0.31 ± 0.05**

Mean ± S.D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 10. -continued Organ weight

Exp. No. 2778 (115-057)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Adrenals (mg)	Testes (g)	Ovaries (mg)	Thymus (mg)
Male	0	5	48 ± 4	2.89 ± 0.05		568 ± 107
	12.5	5	48 ± 6	2.82 ± 0.23		621 ± 128
	50	5	47 ± 4	2.88 ± 0.31		626 ± 52
	200	5	44 ± 7	2.93 ± 0.21		463 ± 25
Female	0	5	60 ± 10		76 ± 9	423 ± 97
	12.5	5	60 ± 4		77 ± 9	416 ± 82
	50	5	60 ± 7		103 ± 9**	492 ± 105
	200	5	60 ± 4		83 ± 18	426 ± 111

Mean ± S.D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 10. -continued Organ weight

Exp. No. 2778 (115-057)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Body weight (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidneys (g)	Spleen (g)
Male	0	5	415 ± 42	2.12 ± 0.07	12.00 ± 1.88	3.03 ± 0.19	0.61 ± 0.12
	200	5	386 ± 24	2.08 ± 0.11	10.83 ± 0.66	2.82 ± 0.36	0.56 ± 0.08
Female	0	5	247 ± 8	1.97 ± 0.08	6.75 ± 0.66	1.77 ± 0.10	0.43 ± 0.06
	200	5	230 ± 19	1.90 ± 0.08	6.60 ± 0.39	1.67 ± 0.12	0.37 ± 0.07

Mean ± S. D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 10. -continued Organ weight

Exp. No. 2778 (115-057)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Adrenals (mg)	Testes (g)	Ovaries (mg)	Thymus (mg)
Male	0	5	51 ± 10	3.12 ± 0.05N		520 ± 150
	200	5	50 ± 9	3.18 ± 0.20		580 ± 147
Female	0	5	64 ± 9		91 ± 10	417 ± 42
	200	5	65 ± 13		79 ± 21	417 ± 88

Mean ± S.D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

N: Non parametric analysis

Table 11. Organ weight per body weight

Exp. No. 2778 (115-057)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Body weight (g)	Brain (%)	Liver (%)	Kidneys (%)	Spleen (%)
Male	0	5	338 ± 33	0.613 ± 0.053	3.164 ± 0.049N	0.757 ± 0.059	0.152 ± 0.017
	12.5	5	353 ± 34	0.595 ± 0.047	3.149 ± 0.173	0.773 ± 0.058	0.152 ± 0.014
	50	5	345 ± 24	0.591 ± 0.033	3.215 ± 0.316	0.756 ± 0.075	0.160 ± 0.012
	200	5	291 ± 12*	0.670 ± 0.021	3.153 ± 0.393	0.753 ± 0.081	0.156 ± 0.022
Female	0	5	204 ± 22	0.921 ± 0.072	2.997 ± 0.451N	0.780 ± 0.099N	0.212 ± 0.017
	12.5	5	211 ± 20	0.917 ± 0.077	2.858 ± 0.144	0.728 ± 0.026	0.174 ± 0.023**
	50	5	227 ± 22	0.829 ± 0.065	3.269 ± 0.131	0.801 ± 0.019	0.177 ± 0.012**
	200	5	200 ± 19	0.933 ± 0.077	3.560 ± 0.134*	0.820 ± 0.076	0.156 ± 0.009**

Mean ± S. D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

N: Non parametric analysis

Table 11. -continued Organ weight per body weight

Exp. No. 2778 (115-057)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Adrenals (%)	Testes (%)	Ovaries (%)	Thymus (%)
Male	0	5	0.014 ± 0.001	0.862 ± 0.095		0.168 ± 0.024
	12.5	5	0.014 ± 0.002	0.803 ± 0.092		0.177 ± 0.037
	50	5	0.014 ± 0.001	0.832 ± 0.055		0.182 ± 0.017
	200	5	0.015 ± 0.003	1.005 ± 0.078*		0.159 ± 0.006
Female	0	5	0.030 ± 0.004		0.037 ± 0.006	0.206 ± 0.036
	12.5	5	0.029 ± 0.003		0.037 ± 0.004	0.199 ± 0.047
	50	5	0.027 ± 0.001		0.046 ± 0.004	0.218 ± 0.052
	200	5	0.030 ± 0.004		0.041 ± 0.007	0.212 ± 0.048

Mean ± S.D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 11. -continued Organ weight per body weight

Exp. No. 2778 (115-057)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Body weight (g)	Brain (%)	Liver (%)	Kidneys (%)	Spleen (%)
Male	0	5	415 ± 42	0.515 ± 0.041	2.882 ± 0.210	0.733 ± 0.047	0.147 ± 0.029
	200	5	386 ± 24	0.541 ± 0.054	2.813 ± 0.166	0.734 ± 0.105	0.146 ± 0.029
Female	0	5	247 ± 8	0.800 ± 0.053	2.732 ± 0.218	0.716 ± 0.043	0.174 ± 0.024
	200	5	230 ± 19	0.828 ± 0.064	2.877 ± 0.273	0.727 ± 0.050	0.159 ± 0.021

Mean ± S.D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 11. -continued Organ weight per body weight

Exp. No. 2778 (115-057)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Adrenals (%)	Testes (%)	Ovaries (%)	Thymus (%)
Male	0	5	0.012 ± 0.001	0.758 ± 0.074		0.124 ± 0.028
	200	5	0.013 ± 0.002	0.825 ± 0.054		0.150 ± 0.039
Female	0	5	0.026 ± 0.004		0.037 ± 0.005	0.169 ± 0.015
	200	5	0.029 ± 0.006		0.034 ± 0.008	0.179 ± 0.027

Mean ± S.D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 12. Summary of gross findings (sacrificed at 4 week)

Exp. No. 2778 (115-057)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)		0	12.5	50	200
No. of animals necropsied		5	5	5	5
Organ	Findings				
RESPIRATORY SYSTEM					
lung	red patch/zone	0	1	0	0
DIGESTIVE SYSTEM					
stomach	thick	0	0	0	5**
	ulcer	0	0	0	1
URINARY SYSTEM					
kidney	dilated pelvis	0	1	0	0
	scarred	1	0	0	0
INTEGUMENTARY SYSTEM					
skin	ulcer	1	0	0	0

Significant difference from control group; * : $P \leq 0.05$ ** : $P \leq 0.01$

Table 12. -continued Summary of gross findings (sacrificed at 4 week)

Exp. No. 2778 (115-057)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0	12.5	50	200
No. of animals necropsied	5	5	5	5
Organ Findings				
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
thymus red patch/zone	1	1	0	0
DIGESTIVE SYSTEM				
stomach black patch/zone	0	0	0	1
thick	0	0	0	5**
ulcer	0	0	0	1
REPRODUCTIVE SYSTEM				
uterus dilated lumen	1	0	0	1

Significant difference from control group; * : $P \leq 0.05$ ** : $P \leq 0.01$

Table 12. -continued Summary of gross findings (sacrificed at 6 week)

Exp. No. 2778 (115-057)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)	0	12.5	50	200
No. of animals necropsied	5	0	0	5
Organ Findings				
RESPIRATORY SYSTEM				
lung red patch/zone	1	-	-	0
DIGESTIVE SYSTEM				
liver white patch/zone	0	-	-	1
INTEGUMENTARY SYSTEM				
skin ulcer	1	-	-	0

Significant difference from control group; * : $P \leq 0.05$ ** : $P \leq 0.01$

Table 13. Summary of gross findings with statistical analysis (sacrificed at 4 week)

Exp. No. 2778 (115-057)

Dose level (mg/kg) No. of animals necropsied Organ Findings	Male animals				Female animals			
	Am 5	Bm 5	Cm 5	Dm 5	Af 5	Bf 5	Cf 5	Df 5
HEMATOPOIETIC SYSTEM thymus red patch/zone	0	0	0	0	1	1	0	0
RESPIRATORY SYSTEM lung red patch/zone	0	1	0	0	0	0	0	0
DIGESTIVE SYSTEM stomach black patch/zone	0	0	0	0	0	0	0	1
thick	0	0	0	5**	0	0	0	5**
ulcer	0	0	0	1	0	0	0	1
URINARY SYSTEM kidney dilated pelvis	0	1	0	0	0	0	0	0
scarred	1	0	0	0	0	0	0	0
REPRODUCTIVE SYSTEM uterus dilated lumen	-	-	-	-	1	0	0	1
INTEGUMENTARY SYSTEM skin ulcer	1	0	0	0	0	0	0	0

Am: 0

Bm: 12.5

Cm: 50

Dm: 200

Af: 0

Bf: 12.5

Cf: 50

Df: 200

Significant difference from control group; * : $P \leq 0.05$ ** : $P \leq 0.01$

Table 13. -continued Summary of gross findings with statistical analysis (sacrificed at 6 week)

Exp. No. 2778 (115-057)

Dose level (mg/kg) No. of animals necropsied Organ Findings	Male animals				Female animals			
	Am 5	Bm 0	Cm 0	Dm 5	Af 5	Bf 0	Cf 0	Df 5
RESPIRATORY SYSTEM lung red patch/zone	1	0	0	0	0	0	0	0
DIGESTIVE SYSTEM liver white patch/zone	0	0	0	1	0	0	0	0
INTEGUMENTARY SYSTEM skin ulcer	1	0	0	0	0	0	0	0

Am: 0 Bm: 12.5 Cm: 50 Dm: 200
 Af: 0 Bf: 12.5 Cf: 50 Df: 200
 Significant difference from control group; * : $P \leq 0.05$ ** : $P \leq 0.01$

Table 14. Summary of histological findings (sacrificed at 4 week)

Exp. No. 2778 (115-057)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)		0				12.5				50				200			
No. of animals sacrificed at 4 week		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
DIGESTIVE SYSTEM																	
forestomach		(5)				(5)				(5)				(5)			
	edema	-	0	0	0	-	0	0	0	-	1	0	0	-	2	0	0
	erosion	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	-	1	0	0
	cellular infiltration	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	-	1	0	0
liver	squamous hyperplasia	-	0	0	0	-	0	0	0	-	3	0	0	-	0	5	0
	microgranuloma	(5)	-	1	0	(0)	-	-	-	(0)	-	-	-	(5)	-	1	0
URINARY SYSTEM																	
kidney		(5)				(0)				(0)				(5)			
	basophilic change	-	3	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	0	0
ENDOCRINE SYSTEM																	
adrenal gland		(5)				(0)				(0)				(5)			
	degeneration, vacuolar	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked

=: benign #: malignant

(): No. of animals examined microscopically at this site.

-: Not applicable.

Table 14. -continued Summary of histological findings (sacrificed at 4 week)

Exp. No. 2778 (115-057)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)		0				12.5				50				200			
No. of animals sacrificed at 4 week		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																	
thymus		(5)				(0)				(0)				(5)			
	hemorrhage	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
DIGESTIVE SYSTEM																	
forestomach		(5)				(5)				(5)				(5)			
	edema	-	0	0	0	-	0	0	0	-	1	0	0	-	3	0	0
	squamous hyperplasia	-	0	0	0	-	0	0	0	-	3	0	0	-	0	5	0
glandular stomach		(5)				(5)				(5)				(5)			
	edema	-	0	0	0	-	0	0	0	-	1	0	0	-	3	0	0
	erosion	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	-	1	0	0
liver		(5)				(0)				(0)				(5)			
	microgranuloma	-	4	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	0	0
URINARY SYSTEM																	
kidney		(5)				(0)				(0)				(5)			
	basophilic change	-	3	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	fibrosis	-	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked

=: benign #: malignant

(): No. of animals examined microscopically at this site.

-: Not applicable.

Table 14. -continued Summary of histological findings (sacrificed at 6 week)

Exp. No. 2778 (115-057)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)	0	12.5	50	200
No. of animals sacrificed at 6 week	5	0	0	5
No. of animals necropsied	5	0	0	5
No. of animals examined histologically	5	0	0	5
Organ Findings	T 1 2 3	T 1 2 3	T 1 2 3	T 1 2 3

DIGESTIVE SYSTEM

forestomach	(5)						(5)			
squamous hyperplasia	-	0	0	0	-	-	-	-	-	-

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked

=: benign #: malignant

(): No. of animals examined microscopically at this site.

-: Not applicable.

Table 14. -continued Summary of histological findings (sacrificed at 6 week)

Exp. No. 2778 (115-057)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0	12.5	50	200
No. of animals sacrificed at 6 week	5	0	0	5
No. of animals necropsied	5	0	0	5
No. of animals examined histologically	5	0	0	5
Organ_____ Findings_____	T 1 2 3	T 1 2 3	T 1 2 3	T 1 2 3

DIGESTIVE SYSTEM

forestomach	(5)						(5)
squamous hyperplasia	- 0 0 0	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- 2 0 0	

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked

=: benign #: malignant

(): No. of animals examined microscopically at this site.

-: Not applicable.

Table 15. Summary of histological findings with statistical analysis
(sacrificed at 4 Week)

Exp. No. 2778 (115-057)

Dose level (mg/kg) No. of animals necropsied Organ Findings	Male animals				Female animals			
	Am 5	Bm 5	Cm 5	Dm 5	Af 5	Bf 5	Cf 5	Df 5
HEMATOPOIETIC SYSTEM								
thymus								
hemorrhage	0	-	-	0	1	-	-	0
DIGESTIVE SYSTEM								
forestomach								
edema	0	0	1	2	0	0	1	3
erosion	0	0	0	1	0	0	0	0
cellular infiltration	0	0	0	1	0	0	0	0
squamous hyperplasia	0	0	3	5**	0	0	3	5**
glandular stomach								
edema	0	0	0	0	0	0	1	3
erosion	0	0	0	0	0	0	0	1
liver								
microgranuloma	1	-	-	1	4	-	-	2
URINARY SYSTEM								
kidney								
basophilic change	3	-	-	2	3	-	-	1
fibrosis	0	-	-	0	0	-	-	1
ENDOCRINE SYSTEM								
adrenal gland								
degeneration, vacuolar	1	-	-	0	0	-	-	0

Am: 0 Bm: 12.5 Cm: 50 Dm: 200
Af: 0 Bf: 12.5 Cf: 50 Df: 200
Significant difference from control group; * : $P \leq 0.05$ ** : $P \leq 0.01$

Table 15. -continued Summary of histological findings with statistical analysis
(sacrificed at 6 Week)

Exp. No. 2778 (115-057)

Dose level (mg/kg) No. of animals necropsied Organ Findings		Male animals				Female animals			
		Am 5	Bm 0	Cm 0	Dm 5	Af 5	Bf 0	Cf 0	Df 5
DIGESTIVE SYSTEM									
forestomach									
squamous hyperplasia		0	-	-	3	0	-	-	2
Am: 0	Bm: 12.5	Cm: 50	Dm: 200						
Af: 0	Bf: 12.5	Cf: 50	Df: 200						
Significant difference from control group;		* : $P \leq 0.05$		** : $P \leq 0.01$					