

最終報告書

1、4-ジブロモベンゼンのラットを用いた
経口投与による28日間の反復投与毒性試験
(試験番号 92-047)

財団法人 畜産生物科学安全研究所

目 次

要約	1
試験目的	3
試験材料及び方法	3
1. 被験物質及び対照物質	3
2. 供試動物	3
3. 飼育条件	3
4. 試験群の構成及び投与量の設定	4
5. 被験物質の調製及び投与方法	4
6. 観察及び検査項目	5
1) 一般状態観察	5
2) 体重測定	5
3) 摂餌量測定及び食餌効率算出	5
4) 尿検査	5
5) 血液学的検査	6
6) 血液生化学的検査	7
7) 病理学的検査	8
(1) 剖検	8
(2) 臓器重量測定	8
(3) 病理組織学的検査	8
7. 統計処理	9
1) 3群以上の場合	9
2) 2群の場合	9
試験結果	9
1. 一般状態及び死亡	9
2. 体重	9
3. 摂餌量	10
4. 尿所見	10

5. 血液学的所見	1 0
6. 血液生化学的所見	1 0
7. 病理学的所見	1 1
1) 剖検所見	1 1
2) 臓器重量	1 1
3) 病理組織学的所見	1 2
考察及び結論	1 3
参考文献	1 5

添付資料

A. 図・群別平均値表

Figures	1, 2	体重
Tables	1, 2	一般状態及び死亡
Tables	3, 4	体重
Tables	5, 6	摂餌量
Tables	7, 8	食摂効率
Tables	9 ~ 1 2	尿所見
Tables	1 3 ~ 1 6	血液学的の所見
Tables	1 7 ~ 2 0	血液生化学的の所見
Tables	2 1 ~ 2 4	剖検所見
Tables	2 5 ~ 3 2	臓器重量
Tables	3 3 ~ 3 6	病理組織学的の所見

要約

1、4—ジブロモベンゼン（P D B B）の毒性を明らかにするため、S D系[Crj:CD(SD)]ラットに、P D B Bの0（溶媒投与の対照、雌雄各12匹）、4（各6匹）、20（各6匹）、100（各6匹）及び500 mg/kg/日（各12匹）用量を、28日間にわたって毎日反復経口投与した。また、対照及び500 mg/kg群の雌雄各6匹については、投与終了後14日間の回復期間を設け、変化の可逆性についても検討した。得られた結果は、次のとおりである。

1）4 mg/kg群では、一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定、尿検査並びに血液学的、血液生化学的及び病理学的諸検査において、P D B B投与の影響と考えられる変化は認められなかった。

2）20 mg/kg群では、腎臓において近位尿細管に好酸体や硝子滴の出現及び障害された尿細管の再生像が雄に、血液プロトロンビン時間の短縮が雌に認められ、毒性影響が発現した。

3）100 mg/kg群では、さらに、雄の腎臓重量は増加し、雌の腎臓には雄とは異なる糸球体毛細血管の拡張が認められ、雌雄とも血清塩素量は増加した。また、雌雄の肝臓には肝細胞の腫大が認められ、雄では肝臓重量の増加並びに血清総コレステロール及び総ビリルビン量の増加と血糖値の減少が認められた。

4）これらの変化に加えて、100 mg/kg群の雌雄に副腎皮質、特に束状帯細胞の空胞化例も認められた。

5）500 mg/kg群では100 mg/kg群で認められた変化がより明かとなり、雌雄とも肝臓及び腎臓重量は増加し、雄では副腎重量も増加した。また、雌雄の小腸粘膜には脂質の蓄積による上皮の空胞化が認められ、空回腸は肉眼的にも白色化していた。さらに、胃の腺胃部粘膜にびらんを認める例があった。

6）以上の変化に加えて、500 mg/kg群では、血清総タンパク、総コレステロール及びトリグリセライド量の増加、血糖値の減少及び血液活性化部分トロンボプラスチン時間の延長ないし延長傾向が雌雄に、 γ -G T P活性並びに尿素窒素及び無機リン量の増加が雄に、G P T活性及びカルシウム量の増加が雌に認められた。また、雌雄とも摂餌量は投与初期に減少傾向を、その後は逆に増加傾向を示し、雄には死亡例も認められた。

7) このような投与期間終了後屠殺動物で認められた変化は、500 mg/kg 群の回復期間終了後屠殺動物では概ね回復ないし回復傾向を示し、可逆的な変化と判断された。

8) なお、500 mg/kg群の雄の回復期間終了後屠殺動物で脳重量の増加が認められたが、神経症状や脳に病理組織学的変化は認められなかった。

9) また、これらの変化以外にも、投与期間終了後屠殺動物及び回復期間終了後屠殺動物において、対照群に比べて統計学的には有意な変化が認められたが、いずれも毒性学的には特に問題となるような変化ではないと考えられた。

以上の結果から、PDBBの主な反復投与毒性は、肝臓、腎臓、消化管及び副腎並びに血液凝固系に対する影響であった。また、無影響量については、4 mg/kg/日であると推定された。

試験目的

この試験は、1、4-ジブロモベンゼンをラットに28日間反復経口投与し、現れる生体の機能及び形態の変化を観察し、本物質の毒性を明かにするために実施した。

試験材料及び方法

1. 被験物質（資料1，2）及び対照物質

被験物質1、4-ジブロモベンゼン（以下、PDBBと略す）は、
から提供されたもの（ロット番号 純度99.7%）を用いた。投与終了後、に委託して試験に用いたPDBBを分析し、投与期間中安定であったことを確認した。PDBBの詳細は、資料1に示したとおりである。

対照物質は、被験物質を投与形態に調製するための溶媒として使用した局方ゴマ油（宮澤薬品（株）製、ロット番号 LI01）を用いた。

2. 供試動物

動物は、SD系〔Crj：CD（SD）〕のSPFラットを用いた。ラットは、日本チャールス・リバー株式会社（神奈川県厚木市下古沢795番地）から4週齢で購入（雌雄各52匹）し、12～13日間、試験環境に馴化させ、その間に検疫を行い、発育が順調で一般健康状態の良好な雌雄各42匹を、5週齢で試験に供した。投与開始時の平均体重（体重範囲）は、雄173（164～182）g、雌148（137～159）gであった。

3. 飼育条件

動物の飼育は、馴化、投与及び回復期間とも、温度 $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 10\%$ 、換気回数10回以上/時（オールフレッシュエアー方式）、照明12時間（午前6時点灯、午後6時消灯）に設定したバリアーシステム動物室で、ステンレス製金網ケージ〔276W×426D×200H（mm）〕に個別に収容して行った。飼料（日本農産工業株式会社製、固型飼料ラボMRストック、ロット番号 92.07.67, 92.08.62, 92.10.67, 汚染物質の分析結果；資料2）と水（1 μm カートリッジフィルター濾過後紫外線照射した殺菌水道水、汚染物質の分析結果；資料3）は、それぞれ給餌器及び自動給水装置により自由摂取させた。動物の個体識別は、ラ

ック及びケージへの標識札貼付と耳パンチ法により行った。

なお、動物の飼育期間を通じて、試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因の変化（温度・湿度の測定結果；資料4）は認められなかった。

4. 試験群の構成及び投与量の設定

投与量は、14日間反復投与による投与量設定試験の結果に基づいて、高用量を明らかな毒性影響の発現が予想される500mg/kg/日、低用量を動物に影響がみられないことが予想される4mg/kg/日とし、両用量間に100及び20mg/kg/日の中用量を設けた。

試験群の構成は、(1)溶媒投与群（以下、対照群）、(2)PDBB 4mg/kg/日投与群（4mg/kg群）、(3)同 20mg/kg/日投与群（20mg/kg群）、(4)同 100mg/kg/日投与群（100mg/kg群）、(5)同 500mg/kg/日投与群（500mg/kg群）の5群とした。

各群の動物数は、雌雄それぞれ対照及び500mg/kg群は12匹、4、20及び100mg/kg群は6匹とし、このうち対照及び500mg/kg群の雌雄各6匹は、投与期間終了後14日間の回復試験を行うための回復群に当てた。各群への動物の割り付けは、投与開始日の体重に基づく層化無作為抽出法を用いて行った。

5. 被験物質の調製及び投与方法（資料5、6）

PDBBは、局方ゴマ油を溶媒とし、体重1kg当たりの投与液量が5mlで、所定の投与用量になるような濃度〔4mg/kg群；0.08w/v%、20mg/kg群；0.4w/v%、100mg/kg群；2w/v%、500mg/kg群；10w/v%〕の溶液として調製した。投与は、胃ゾンデを装着した注射筒を用いて、1日1回（午前9：40～12：25）、28日間にわたって強制的に経口投与した。各個体の投与液量は、毎日、投与直前の測定体重に基づいて算出した。投与液中のPDBBは均一に溶解し、また冷所遮光下で少なくとも7日間は安定であることが確認できた（資料5）ので、調製した投与液の使用期間は7日以内とし、使用直前まで各濃度ごとに小分けして冷所遮光（4℃）下に保管した。さらに、調製した投与液については濃度を分析し、所定の濃度に調製されていることを確認した（資料6）。

6. 観察及び検査項目

1) 一般状態観察

全例について、毎日、生死及び外観・行動等を観察した。

2) 体重測定

全例について、投与期間中は毎日投与直前に、また、回復期間中は週1回測定した。測定は、電子上皿天秤（エー・アンド・デイ社製、FY-3000）を用いて行った。

3) 摂餌量測定及び食餌効率算出

全ケージについて、毎週1回、1日（24時間）の飼料消費量を測定（電子上皿天秤：エー・アンド・デイ社製、FY-3000）し、1匹あたりの平均摂餌量を算出した。また、食餌効率は、投与1日から7日、その後は7日ごとに、その間の1日当たりの平均増加体重を摂餌量で除し、100を乗じて算出した。

4) 尿検査

全例について、投与開始後26日並びに投与終了後12日に、腰背部を圧迫刺激して強制排尿させ、次の項目を検査した。

項目	測定／検査法
① 外観	肉眼で判定 試験紙法〔マルティスティックス®： マイルス・三共(株)〕
② pH	
③ 潜血	
④ タンパク	
⑤ 糖	
⑥ ケトン体	
⑦ ビリルビン	
⑧ ウロビリノーゲン	

5) 血液学的検査

供試血液の採取は、生存動物について、投与期間及び回復期間終了翌日における屠殺剖検時に行った。動物は採血前日の午後5時より絶食させ水のみを給与した。採血は、エーテル麻酔下で開腹して腹大動脈より行い、その一部を用いて次の項目を測定した。凝固阻止剤は、プロトロンビン時間及び活性化部分トロンボプラスチン時間測定用には3.8%クエン酸ナトリウム水溶液を、それ以外の項目にはEDTA-2Kを用いた。

項目 (略号)	測定法	測定機器
①赤血球数 (RBC)	電気抵抗検出方式	多項目自動血球計数装置 [E-4000: 東亜医用電子(株)]
②血色素量 (Hb)	ラウリル硫酸ナトリウム-ヘモグロビン法	
③ヘマトクリット値 (Ht)	パルス検出方式	
④平均赤血球容積 (MCV)	計算値	
⑤平均赤血球血色素量 (MCH)	計算値	
⑥平均赤血球血色素濃度 (MCHC)	計算値	
⑦白血球数 (WBC)	電気抵抗検出方式	
⑧血小板数 (Plat.)	電気抵抗検出方式	
⑨網状赤血球数 (Ret.)	Brilliant cresyl blue 染色した塗抹標本の鏡検	
⑩白血球百分率	May-Grünwald-Giemsa	血液凝固自動測定装置 (KC-10A: 米アメルング社)
好塩基球 (Baso.)	染色した塗抹標本の鏡検	
好酸球 (Eosin.)		
好中球 (Neutro.)		
桿状核 (Stab.)		
分節核 (Seg.)		
リンパ球 (Lymph.)		
単球 (Mono.)		
⑪プロトロンビン時間 (PT)	Quick一段法	
⑫活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)	エラジン酸活性化法	

6) 血液生化学的検査

採取した血液の一部から血清を分離し、次の項目を測定した。

項目 (略号)	測定法	測定機器
① 総タンパク (T.P.)	Biuret法	生化学自動分析 装置 [JCA-VX- 1000型クリナ ライザー: 日本 電子(株)]
② アルブミン (Alb.)	BCG法	
③ A/G比 (A/G)	計算値	
④ 血糖 (Glu.)	酵素法 (GK ¹⁾ -G6PDH ²⁾ -UV系)	
⑤ トリグリセライド (T.G.)	酵素法 (LPL ³⁾ -GPO ⁴⁾ -POD ⁵⁾ 系)	
⑥ 総コレステロール (T-Cho.)	酵素法 (CES ⁶⁾ -COD ⁷⁾ -POD系)	
⑦ 総ビリルビン (T-Bil.)	Jendrassik法	
⑧ 尿素窒素 (BUN)	Urease-UV法	
⑨ クレアチニン (Crea.)	Jaffe法	
⑩ GOT (GOT)	SSCC ⁸⁾ 法	
⑪ GPT (GPT)	SSCC法	
⑫ γ -GTP (γ -GTP)	SSCC法	
⑬ ALP (ALP)	GSCC ⁹⁾ 法	
⑭ カルシウム (Ca)	OCPC法	
⑮ 無機リン (P)	酵素法 (PNP ¹⁰⁾ -XOD ¹¹⁾ -POD系)	
⑯ ナトリウム (Na)	イオン電極法	電解質自動分析 装置 [NAKL-1: 東亜電波工業(株)]
⑰ カリウム (K)	イオン電極法	
⑱ 塩素 (Cl)	イオン電極法	

1) グルコキナーゼ、2) グルコース6リン酸脱水素酵素、3) リボプロテインリパーゼ、
4) グリセロリン酸酸化酵素、5) ペルオキシダーゼ、6) コレステロールエステラーゼ、
7) コレステロールオキシダーゼ、8) スカンジナビア臨床化学会、9) ドイツ臨床化学会、
10) プリンヌクレオシドホスホリラーゼ、11) キサンチンオキシダーゼ

7) 病理学的検査

(1) 剖検

死亡動物は発見後速やかに、計画殺動物は所定の投与期間あるいは回復期間終了翌日の採血に続いて放血殺し、体表、開口部及び内部諸臓器を肉眼的に観察した。

(2) 臓器重量測定

全例について、電子上皿天秤（メトラー社製、AT200）を用いて次の臓器を秤量（絶対重量）し、屠殺日の体重をもとに対体重比（相対重量）を算出した。

脳、肝臓、腎臓、副腎、精巣または卵巣

なお、腎臓、副腎、精巣及び卵巣は、左右を一括して秤量した。

(3) 病理組織学的検査

全例について次の臓器を採取し、10%中性リン酸緩衝ホルマリン液にて固定保存した。

脳、下垂体、眼球、ハーダー腺、甲状腺（上皮小体を含む）、唾液腺、胸腺、気管、肺（気管支を含む）、心臓、舌、食道、胃、腸、肝臓、脾臓、膵臓、副腎、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精囊、卵巣、子宮、膈、大動脈（胸部）、脊髄（頸膨大部、腰膨大部）、座骨神経、骨・骨髓（胸骨、大腿骨）、リンパ節（頸部リンパ節、腸間膜リンパ節）、骨格筋（下腿三頭筋）、皮膚（背部）及び乳腺（腹部）

病理組織学的検査は、次の臓器について常法によりパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン（H-E）染色、並びに必要に応じてPAS染色、アルシアンブルー・PAS染色及びズダンⅢ染色を施して鏡検した。病理組織標本の作製は、株式会社組織科学研究所（東京都青梅市黒沢二丁目984-1番地）に委託して実施した。

群	投与期間終了後屠殺動物	回復期間終了後屠殺動物
対 照 群	雄・雌：肝臓・腎臓・脾臓・ 心臓・副腎・胃・小腸	雄・雌：肝臓・腎臓・副腎・ 胃・小腸 雄：脳
4、20及び 100mg/kg 群	雄・雌：肝臓・腎臓・副腎・ 胃・小腸	
500mg/kg 群	対照群と同じ*	対照群と同じ

*：雄の死亡例(No. 041)については、肉眼的変化の認められた肺及び膀胱も検査した。

7. 統計処理

得られた平均値あるいは頻度について、対照群との間の有意差（危険率 5 % 以下）を次の方法で検定した。

1) 3 群以上の場合

定量的所見については Bartlett の分散検定を行い、分散が一樣な場合は一元配置の分散分析を行った。分散が一樣でない場合、白血球百分率及び尿所見は Kruskal-Wallis の順位検定を行った。それらの結果有意差を認めた場合、Dunnett法又は Scheffé法（群の大きさが異なる場合）により対照群に対する各群の比較検定を行った。また、剖検及び病理組織学的所見については、 χ^2 検定を用いた。

2) 2 群の場合

定量的所見については F 検定を行い、その結果分散が一樣な場合は Student の t 検定を、一樣でない場合は Aspin-Welch の t 検定を行った。また、白血球百分率及び尿所見については Mann-Whitney の U 検定を、剖検及び病理組織学的所見については、Fisher の直接確立法を用いた。

試験結果

1. 一般状態及び死亡 (Tables 1, 2, Appendices 1, 2)

一般状態について、死亡例を除いては、P D B B 投与との関連性が考えられる異常は認められなかった。P D B B 投与と関連性のみられない変化としては、頸部や肩甲部における小範囲の脱毛が、20 mg/kg 群の雄 6 匹中 1 匹（投与 14 日以降）及び 500 mg/kg 群の各 12 匹中雄 1 匹（回復 12 日以降）と雌 1 匹（回復 10 日以降）に認められた。

死亡については、500 mg/kg 群の雄 12 匹中 1 匹が死亡（死亡率 8.3 %）した。この例は、投与 27 日において急に体重が減少し、自発運動低下、血液様の赤色尿による下腹部被毛汚染、皮膚蒼白などの症状が発現して、翌日に死後発見された。

2. 体重 (Figures 1, 2, Tables 3, 4, Appendices 3, 4)

P D B B 投与各群の体重は、投与及び回復期間を通じて、対照群に比べ有意な変化は認められなかった。

3. 摂餌量 (Tables 5, 6, Appendices 5, 6) 及び食餌効率 (Tables 7, 8, Appendices 7, 8)

摂餌量は、500 mg/kg群で雌雄とも対照群に比べ投与1週で減少傾向、その後は逆に回復1週まで増加傾向を示した。統計学的には、雄は投与4週と回復1週の増加に、雌は投与1週の減少と回復1週の増加に有意差が認められた。体重に対する明かな影響が認められなかったため、500 mg/kg群の食餌効率は、雄では投与3及び4週で有意な低下を、雌では投与1週で有意な上昇、回復群の投与4週及び回復1週で有意な低下を示した。

4. 尿所見 (Tables 9 ~ 12, Appendices 9 ~ 12)

投与期間終了前及び回復期間終了前の検査において、PDBB投与各群とも、対照群に比べ、有意な変化は認められなかった。

5. 血液学的所見 (Tables 13 ~ 16, Appendices 13 ~ 16, 資料7, 8)

投与期間終了後屠殺動物において、対照群に比べ、プロトロンビン時間の有意な短縮が20 mg/kg以上の用量群の雌で認められた。また、活性化部分トロンボプラスチン時間の有意な延長が500 mg/kg群の雄で認められ、雌においても、同様の傾向がうかがわれた。なお、20 mg/kg群の雄の血色素量は有意に増加したが、用量依存性傾向のみられない変化であった。

500 mg/kg群の回復期間終了後屠殺動物では、雄の活性化部分トロンボプラスチン時間や雌のプロトロンビン時間の変化は認められず、回復していた。ただし、雌では、回復期間終了後屠殺動物においても活性化部分トロンボプラスチン時間の有意な延長が認められた。

6. 血液生化学的所見 (Tables 17 ~ 20, Appendices 17 ~ 20, 資料7, 8)

投与期間終了後屠殺動物において、100及び500 mg/kg群で、いずれも対照群に比べて有意、かつ、用量依存的な塩素量の増加が雌雄に、総ビリルビン及び総コレステロール量の増加、並びに血糖値の減少が雄に認められた。500 mg/kg群では、総コレステロール量の有意な増加及び血糖値の有意な減少が雌にも認められたほか、有意なトリグリセライド量、並びに雄は主にグロブリン、雌はアルブミンの増加による総タンパク量の増加が雌雄に認められた。また、有意な γ -GTP活性の上昇と尿素窒素及び無機リン量の増加が雄に、GPT活性の上昇とカル

シウム量の増加が雌に認められた。さらに、統計学的有意差はみられなかったものの、GPT活性の上昇傾向は雄にも認められた。

500 mg/kg群の回復期間終了後屠殺動物においては、雌で総コレステロール及びトリグリセライド量の有意な増加が認められたが、投与期間終了後屠殺動物に比べて、変化の程度は軽減していた。投与期間終了後屠殺動物で認められたその他の変化は、いずれも回復していた。投与期間終了後屠殺動物では認められなかった変化として、尿素窒素量の有意な減少が雌に認められた。

血液学的及び血液生化学的検査値における基礎データ（正常値）は、資料7及び8に示したとおりである。

7. 病理学的所見

1) 剖検所見 (Tables 2 1 ~ 2 4, Appendices 2 1 ~ 2 4)

投与期間終了後屠殺動物において、肝臓及び腎臓の腫大が100 mg/kg以上の用量群の雄と500 mg/kg群の雌雄に認められた。腫大した腎臓は、やや退色ぎみであった。さらに、500 mg/kg群では、副腎の退色及び小腸（空・回腸）粘膜の白色化が雌雄に認められた。また、500 mg/kg群の雌雄において、胃の腺胃部粘膜に黒色点を認める例があった。

投与期間中に死亡した500 mg/kg群の雄の1匹には、投与期間終了後屠殺動物でみられたのと同様の変化が、肝臓、腎臓、副腎及び小腸に認められたほか、肺はややうっ血性で水腫性に拡張し、また膀胱には出血が認められた。

500 mg/kg群の回復期間終了後屠殺動物においては、肝臓の腫大が雌雄に、腎臓の腫大が雄に認められたが、投与期間終了後屠殺動物に比べて変化の程度は軽く、発現率も低かった。副腎や小腸には、異常は認められなかった。

2) 臓器重量 (Tables 2 5 ~ 3 2, Appendices 2 5 ~ 3 2)

投与期間終了後屠殺動物において、いずれも対照群に比べて有意な肝臓の相対重量増加が100 mg/kg群の雄に、絶対及び相対重量増加が500 mg/kg群の雌雄に、腎臓の絶対及び相対重量増加が100 mg/kg群の雄と500 mg/kg群の雌雄に認められた。さらに、副腎の有意な絶対及び相対重量増加が、500 mg/kg群の雄に認められた。また、脳の有意な相対重量増加が、

500 mg/kg群の雄に認められた。

500 mg/kg群の回復期間終了後屠殺動物においては、いずれも有意な肝臓の相対重量増加が雄に、絶対及び相対重量増加が雌に、腎臓の絶対及び相対重量増加が雄に認められた。さらに、脳の有意な絶対及び相対重量増加が雄に認められた。これらの変化のうち、肝臓及び腎臓重量の増加は、投与期間終了後屠殺動物に比べて軽減していた。

3) 病理組織学的所見 (Tables 33～36, Appendices 21～24, Photos 1～16)

(1) 投与期間終了後屠殺動物

対照群及び500 mg/kg群については、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎並びに剖検で異常の認められた胃及び小腸（回腸）を検査した。4、20及び100 mg/kgについては、500 mg/kg群でPDBB投与の影響と考えられる変化の認められた肝臓、胃、小腸（回腸）、腎臓及び副腎について検査した。得られた結果は、次のとおりである。

a. 肝臓：肝細胞の腫大が、100 mg/kg以上の用量群の雌雄に認められた。この肝細胞の腫大は、小葉中心部で最も強く、腫大した細胞は好塩基性の低下を示した。さらに、投与28日に死亡した500 mg/kg群の雄の1匹には、小葉中心性に肝細胞壊死が認められた。

b. 胃：500 mg/kg群で認められた肉眼的な前胃部粘膜の黒色点は、粘膜のびらんであることが確認された。しかし、これらの発現率は、雌雄とも比較的低かった。

c. 小腸：肉眼的に粘膜が白色化していた500 mg/kg群の雌雄において、腸絨毛表面に存在する円柱上皮の空胞化が認められた。空胞化した上皮の細胞質はH-E染色で泡沫様を呈し、PAS-アルシアンブルー染色陰性、ズダンⅢ染色陽性で、脂質の蓄積によるものであることが確認された。

d. 腎臓：雄においては、20 mg/kg以上の用量群で、近位尿細管にPAS染色陰性の好酸体が、また近位尿細管上皮には好酸体より小さなPAS染色陽性の硝子滴が認められた。硝子滴の出現は用量依存的であったが、好酸体は20 mg/kg群で最も発現率が高く、用量の増加とともに減少する傾向が認められた。また、これらの変化が認められた20 mg/kg以上の用量群では、やや萎縮し、多核で好塩基性の上皮からなり、障害後の再生像と考えられる尿細管の目立つ例が増加する傾向にあった。雌においては、雄で認められた変化は認められなかった。しかし、これらとは別に、糸球体毛細血管の拡張が100 mg/kg以上の用量群で、用量依存的に増加した。

また、500 mg/kg群の雌及び死亡した雄では、尿細管の拡張も認められたが、この変化は軽度なもので、発現率も低かった。

e. 副腎：100 mg/kg以上の用量群の雌雄において、脂質の増加がうかがわれる皮質の特に束状帯細胞における空胞化が、用量依存的に認められた。

f. 心臓・脾臓：心臓には、PDBB投与の影響が考えられる異常は認められなかった。脾臓についても、500 mg/kg群の雄の死亡例の脾臓は萎縮していたが、生存動物には異常は認められなかった。

g. その他：500 mg/kg群の雄の死亡例については、肉眼的に変化の認められた肺及び膀胱についても検査した結果、肺にはうっ血性水腫が、膀胱には粘膜に出血が認められた。

(2) 回復期間終了後屠殺動物

投与期間終了後屠殺動物で、PDBB投与の影響と考えられる変化が認められた、肝臓、胃、小腸（回腸）、腎臓及び副腎を検査した。さらに、雄で脳重量の増加が認められたので、雄の脳についても検査した。

a. 肝臓：肝細胞の腫大は、500 mg/kg群の雌雄で認められたが、変化の程度及び発現率は投与期間終了後屠殺動物に比べて軽減し、回復傾向がうかがわれた。

b. 腎臓：500 mg/kg群の雌では、特に異常は認められなかった。雄においては、好酸体や硝子滴は認められず、回復していたものの、尿細管の再生像は投与期間終了後屠殺動物と同様に、高い発現率で認められた。

c. 胃・小腸・副腎・脳：異常は、認められなかった。

これらの所見以外にも、投与期間終了後屠殺動物及び回復期間終了後屠殺動物において、検査した各臓器に変化は認められたが、いずれも発現率が用量依存的でなく、自然発生病変と考えられる変化であった。

考察及び結論

PDBBのラットへの28日間反復経口投与において、主に肝臓、腎臓、消化管及び副腎、並びに血液凝固系に対する毒性影響が認められた。

肝臓に対する影響については、PDBB投与により肝細胞が小葉中心性に腫大し、肝臓重量は増加した。特に死亡例においては、小葉中心に肝細胞壊死も認められた。血液生化学的検査

で認められた血清GPT及び γ -GTP活性、総ビリルビン、総コレステロール、トリグリセライド及び総タンパク量の上昇あるいは増加、並びに血糖値の減少も、肝機能に対する影響を示唆する変化と解せられる。

腎臓に対する影響については、病像に性差が認められ、雄では近位尿細管に好酸体及び硝子滴が出現し、障害後の再生過程にある尿細管も増加した。一方、雌では、糸球体毛細血管の拡張が認められ、雌雄とも腎臓重量は増加した。

尿細管上皮における好酸体や硝子滴については、加齢に伴って生理的にもラットに認められ、タンパクの再吸収像と考えられている。PDBB投与によって発現したこれらの変化は、タンパクの再吸収過程に対する影響を示唆しており、また、血液生化学的検査で認められた血清タンパクの増加とも関連した変化と推察される。

さらに、雄で認められた血清尿素窒素量の増加及び雌雄で認められた塩素量の増加についても、腎機能の障害を裏付ける所見と解せられる。

PDBBとは類縁化合物であるプロモベンゼンには肝毒性があり、腎臓にも障害を起こすことが知られているが¹⁾、本試験においては、PDBBにも肝臓及び腎臓に対し毒性影響のあることが確認された。

消化管に対する影響については、小腸粘膜の絨毛上皮が空胞化し、空回腸は肉眼的にも白色化していた。この絨毛上皮の空胞はズダンⅢ染色陽性で、脂質の蓄積によることが確認され、上皮の脂肪吸収機能に対する影響がうかがわれた。また、胃の腺胃部粘膜には、びらんを認める例があった。

これらの変化に加えて、副腎には、皮質の特に束状帯細胞に脂質の増加によると思われる空胞化が認められ、雄では副腎重量は増加した。さらに、雄で活性化部分トロンボプラスチン時間の延長が、雌でプロトロンビン時間の短縮が認められ、それぞれ血液凝固系に対して内因系反応に抑制的及び外因系反応に促進的な影響がうかがわれた。雄の死亡例で認められた膀胱出血についても、活性化部分トロンボプラスチン時間の延長との関連性が推察される。

以上の変化を用量との関係でみると、4 mg/kg群ではこのような変化は認められなかった。20 mg/kg群では、雄で腎臓に病理学的変化が、雌で血液プロトロンビン時間の短縮が認められ、雌雄とも軽度の毒性影響が発現した。100 mg/kg群では、雌雄の腎臓と雄の肝臓に病理学的変化及びそれらとの関連性が考えられる血液生化学的变化並びに副腎にも病理学的変化が認めら

れた。最高用量の500 mg/kg群では、これらの変化がより明らかとなり、雌においても肝臓に病理学的変化が認められ、消化管に対する影響も発現し、雄では活性化部分トロンボプラスチン時間の延長及び死亡も認められた。また、血清無機リン量の増加が雄に、カルシウム量の増加が雌に認められた。さらに、雌雄とも投与初期には摂餌量は減少傾向にあったものの、その後は摂餌効率が低下して、体重には有意な変化は認められなかったが、摂餌量は増加する傾向にあった。

このような投与期間終了後屠殺動物で認められた変化は、回復期間終了後屠殺動物ではいずれも回復ないし回復傾向を示し、可逆的な変化であった。

ただし、投与期間終了後屠殺動物で認められた変化とは別に、500 mg/kg群の回復期間終了後屠殺動物において、脳重量の増加が雄に、活性化部分トロンボプラスチン時間の延長が雌に認められた。

脳重量の増加については、500 mg/kg群の投与期間終了後屠殺動物の雄においても、相対重量のみの増加が認められたが、これは、体重が対照群をやや下回ったための偶発的な変化と判断された。さらに、回復期間終了後屠殺動物の脳重量の増加についても、神経系に対する障害を裏付ける異常は認められなかった。

一方、雌の活性化部分トロンボプラスチン時間の延長については、投与期間終了後屠殺動物においても同様の傾向が認められていることから、投与の影響が持続して現れたものと推察される。

以上の結果から、PDBBのラット28日間反復投与における無影響量は、4 mg/kgであると推定された。

参考文献

1. William M.K., Robert R.M., Arnold G. and Frank H. (1984):
Interactions between bromobenzene dose, glutathione concentrations, and organ toxicities in single- and multiple- treatment studies. Fund. Appl. Toxicol., 4 : 1019-1028

1、4-ジブロモベンゼンのラットを用いた
経口投与による28日間の反復投与毒性試験
(試験番号 92-047)

最終報告書 添付資料 A

(図・群別平均値表)

平成 5 年 6 月 10 日

財団法人 畜産生物科学安全研究所

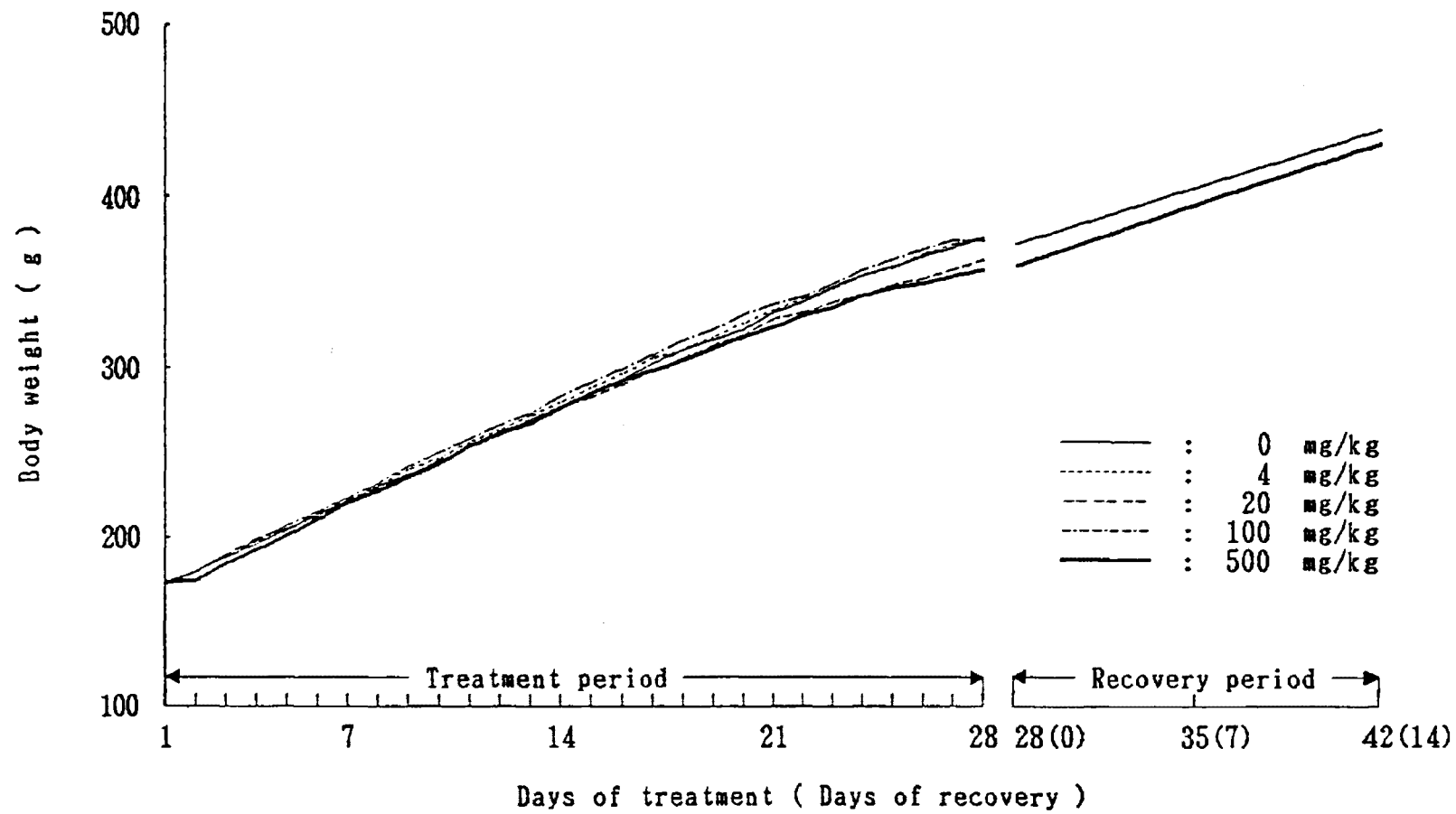


Fig. 1 Body weight change in male rats

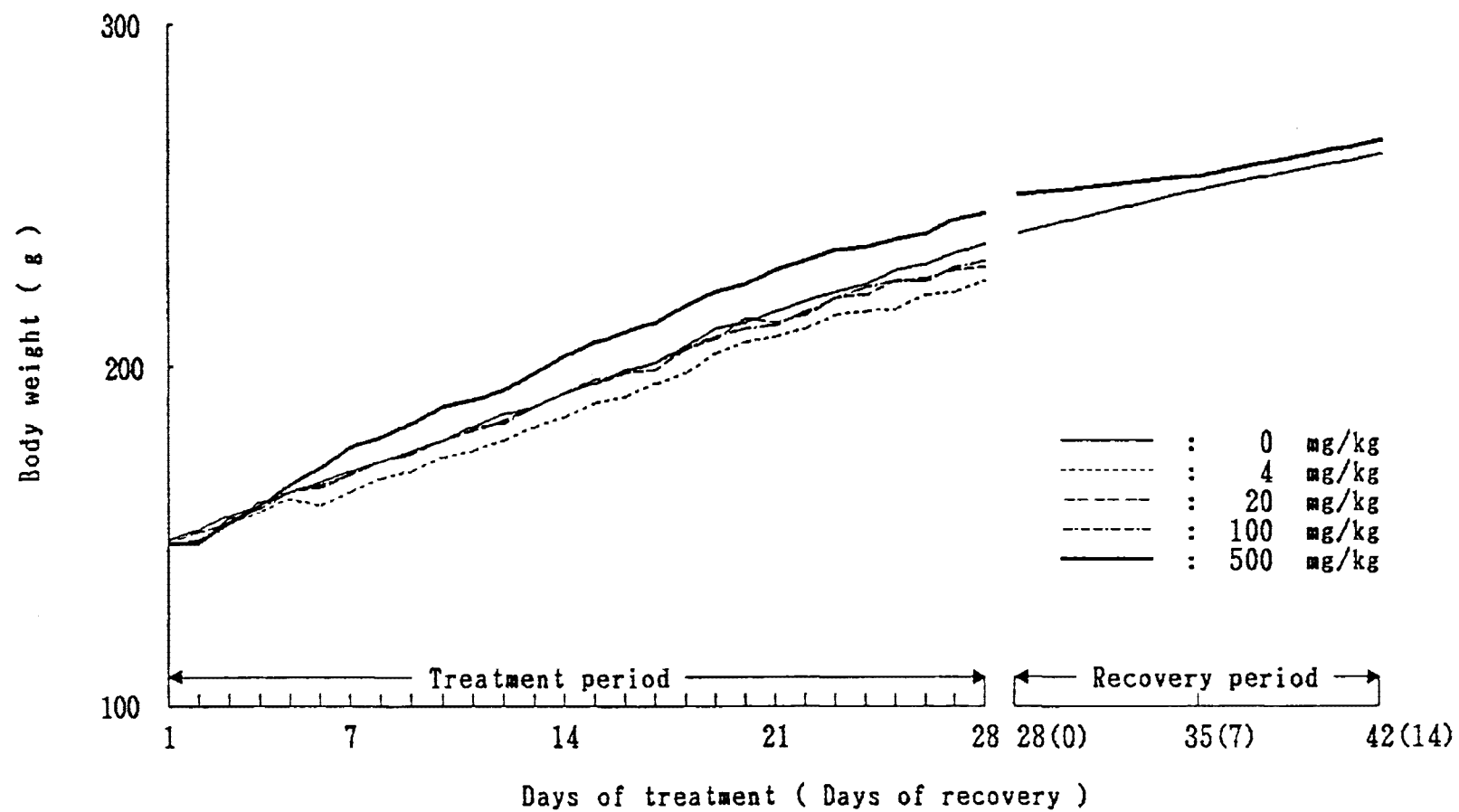


Fig. 2 Body weight change in female rats

Table 1 - 1 Clinical sign and death — Summarized data in male rats
< Treatment period >

Clinical signs	Dose (mg/kg)	0	4	20	100	500
	No. of animals	12	6	6	6	12
No abnormalities detected		12	5	6	6	11
Hair loss region		0	1	0	0	0
Death		0	0	0	0	1 ^a

a : Observed clinical signs such as decreased locomotor activity, pale in color, blotted fur with red urine in lower abdomen and at the 27th day, and found dead at the morning of the 28th day of treatment.

Table 1 - 2 Clinical sign and death — Summarized data in female rats
< Treatment period >

Clinical signs	Dose (mg/kg)	0	4	20	100	500
	No. of animals	12	6	6	6	12
No abnormalities detected		12	6	6	6	12
Death		0	0	0	0	0

Table 2 - 1 Clinical sign and death — Summarized data in male rats
< Recovery period >

Clinical signs	Dose (mg/kg)	0	500
	No. of animals	6	5
No abnormalities detected		6	4
Hair loss regions		0	1
Death		0	0

Table 2 - 2 Clinical sign and death — Summarized data in female rats
< Recovery period >

Clinical signs	Dose (mg/kg)	0	500
	No. of animals	6	6
No abnormalities detected		6	5
Hair loss region		0	1
Death		0	0

Table 3

Body weight - Group mean values in male rats

(g)

Dose (mg/kg)	Day of treatment															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
0	173	180	188	196	204	214	221	230	237	245	253	261	269	277	284	293
	5	5	6	6	7	6	6	7	8	8	9	9	9	10	10	12
	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)
4	172	180	189	198	205	213	222	230	240	247	256	263	272	279	288	296
	5	6	5	6	5	7	7	8	9	8	11	12	11	13	13	13
	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)
20	172	179	189	199	205	213	220	228	237	244	253	260	268	276	282	290
	5	4	5	5	5	6	8	10	10	11	11	12	14	16	17	19
	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)
100	173	179	190	198	207	215	223	232	242	250	258	266	273	283	291	299
	6	8	10	11	12	14	15	16	16	16	18	20	20	22	23	22
	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)
500	173	174	184	192	201	210	220	227	235	243	254	261	267	276	285	292
	5	5	5	6	6	7	7	6	6	7	8	9	9	9	9	8
	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)
Dose (mg/kg)	Day of treatment												(Day of recovery)			
	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	28(0)	35(7)	42(14)	
0	302	310	316	322	332	338	347	354	359	365	370	376	372	406	440	
	13	12	13	13	14	13	16	15	15	16	16	17	14	11	16	
	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(6)	(6)	(6)	
4	305	310	318	326	333	340	346	354	358	366	372	376				
	15	15	16	16	17	17	18	19	19	22	21	22				
	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)				
20	298	305	313	319	328	332	338	342	348	352	357	363				
	20	21	22	22	22	23	25	26	26	29	30	33				
	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)				
100	307	316	322	331	337	341	349	357	363	369	374	374				
	27	26	28	30	31	31	33	34	35	37	35	37				
	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)				
500	298	304	311	318	323	330	335	342	346	349	353	357	359	396	432	
	10	9	9	11	10	11	10	13	13	13	14	12	9	12	14	
	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(11)	(5)	(5)	(5)	

Each value is expressed as mean & SD.

(n) : No. of animals

Table 4

Body weight - Group mean values in female rats

(g)

Dose (mg/kg)	Day of treatment															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
0	149 7 (12)	152 7 (12)	156 8 (12)	159 7 (12)	163 8 (12)	166 10 (12)	169 8 (12)	172 9 (12)	175 10 (12)	178 12 (12)	182 10 (12)	186 10 (12)	188 11 (12)	192 12 (12)	195 13 (12)	199 12 (12)
4	148 7 (6)	148 8 (6)	154 8 (6)	157 8 (6)	161 8 (6)	159 9 (6)	163 8 (6)	167 10 (6)	169 9 (6)	173 10 (6)	175 9 (6)	178 10 (6)	182 10 (6)	185 10 (6)	189 9 (6)	191 10 (6)
20	148 8 (6)	151 8 (6)	154 10 (6)	160 10 (6)	163 8 (6)	164 8 (6)	168 7 (6)	172 7 (6)	174 7 (6)	178 8 (6)	181 9 (6)	184 9 (6)	188 8 (6)	192 9 (6)	195 11 (6)	198 9 (6)
100	148 6 (6)	149 6 (6)	155 7 (6)	158 6 (6)	163 6 (6)	165 8 (6)	168 9 (6)	172 8 (6)	174 7 (6)	178 7 (6)	182 10 (6)	183 11 (6)	188 9 (6)	192 9 (6)	196 11 (6)	198 13 (6)
500	148 7 (12)	148 7 (12)	154 8 (12)	159 9 (12)	165 9 (12)	170 10 (12)	176 12 (12)	179 13 (12)	183 12 (12)	188 12 (12)	190 13 (12)	193 14 (12)	198 13 (12)	203 13 (12)	207 14 (12)	210 16 (12)
Dose (mg/kg)	Day of treatment												(Day of recovery)			
	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	28(0)	35(7)	42(14)	
0	201 12 (12)	206 15 (12)	211 14 (12)	213 16 (12)	216 16 (12)	219 18 (12)	222 18 (12)	224 18 (12)	228 18 (12)	230 19 (12)	233 18 (12)	236 16 (12)	239 20 (6)	252 23 (6)	263 24 (6)	
4	195 11 (6)	198 12 (6)	204 13 (6)	207 12 (6)	209 14 (6)	211 16 (6)	215 15 (6)	216 14 (6)	217 15 (6)	221 16 (6)	222 14 (6)	225 13 (6)				
20	199 8 (6)	205 9 (6)	208 10 (6)	214 10 (6)	213 9 (6)	215 9 (6)	220 11 (6)	221 11 (6)	225 11 (6)	226 11 (6)	228 10 (6)	229 12 (6)				
100	201 11 (6)	205 10 (6)	209 9 (6)	211 11 (6)	212 14 (6)	216 14 (6)	220 12 (6)	223 12 (6)	225 13 (6)	225 13 (6)	229 15 (6)	231 15 (6)				
500	213 15 (12)	218 14 (12)	222 15 (12)	224 18 (12)	228 17 (12)	231 17 (12)	234 15 (12)	235 17 (12)	237 17 (12)	239 17 (12)	243 18 (12)	245 17 (12)	250 19 (6)	256 20 (6)	267 14 (6)	

Each value is expressed as mean & SD.

(n) : No. of animals

Table 5

Food consumption - Group mean values in male rats

(g/rat/day)								
Dose (mg/kg)	No. of cages	Week of treatment				(Week of recovery)		
		1	2	3	4	4 (0)	5 (1)	6 (2)
0	12	27	29	31	31	32	36	37
		2 (12)	2 (12)	2 (12)	2 (12)	2 (6)	2 (6)	4 (6)
4	6	29	30	32	31			
		1 (6)	2 (6)	3 (6)	3 (6)			
20	6	29	30	31	30			
		2 (6)	2 (6)	3 (6)	3 (6)			
100	6	29	30	31	32			
		3 (6)	4 (6)	3 (6)	3 (6)			
500	12	25	31	34	36**	37**	40*	41
		1 (12)	2 (12)	3 (12)	3 (12)	2 (6)	4 (5)	3 (5)

Each value is expressed as mean & SD.

(n) : No. of animals

* : Significantly different from control at 5% level of probability

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 6

Food consumption - Group mean values in female rats

(g/rat/day)

Dose (mg/kg)	No. of cages	Week of treatment				(Week of recovery)		
		1	2	3	4	4(0)	5(1)	6(2)
0	12	21	20	21	22	22	25	28
		1 (12)	2 (12)	2 (12)	2 (12)	3 (6)	2 (6)	1 (6)
4	6	23	20	22	20			
		2 (6)	2 (6)	2 (6)	2 (6)			
20	6	21	20	21	22			
		2 (6)	2 (6)	3 (6)	1 (6)			
100	6	20	19	21	21			
		2 (6)	1 (6)	2 (6)	1 (6)			
500	12	18**	23	24	25	26	34**	28
		2 (12)	3 (12)	3 (12)	4 (12)	4 (6)	4 (6)	2 (6)

Each value is expressed as mean & SD.

(n) : No. of animals

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 7 Food efficiency - Group mean values in male rats

(%)

Dose (mg/kg)	No. of animals	Week of treatment				(Week of recovery)		
		1	2	3	4	4(0)	5(1)	6(2)
0	12	30	28	26	20	20	14	13
		2	2	3	2	2	3	3
		(12)	(12)	(12)	(12)	(6)	(6)	(6)
4	6	29	28	24	20			
		2	3	2	2			
		(6)	(6)	(6)	(6)			
20	6	28	27	24	17			
		3	4	2	5			
		(6)	(6)	(6)	(6)			
100	6	29	29	25	17			
		4	1	4	2			
		(6)	(6)	(6)	(6)			
500	12	32	26	20**	13**	13**	13	12
		2	2	2	2	1	2	3
		(12)	(12)	(12)	(11)	(5)	(5)	(5)

Each value is expressed as mean & SD.

(n) : No. of animals

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 8 Food efficiency - Group mean values in female rats

(%)

Dose (mg/kg)	No. of animals	Week of treatment				(Week of recovery)		
		1	2	3	4	4(0)	5(1)	6(2)
0	12	16	17	16	13	13	8	6
		4	5	4	3	4	3	2
		(12)	(12)	(12)	(12)	(6)	(6)	(6)
4	6	12	16	16	12			
		3	2	4	2			
		(6)	(6)	(6)	(6)			
20	6	16	17	15	10			
		4	3	5	3			
		(6)	(6)	(6)	(6)			
100	6	16	18	14	13			
		3	4	5	3			
		(6)	(6)	(6)	(6)			
500	12	25**	17	15	10	10*	2*	5
		5	3	4	3	2	4	4
		(12)	(12)	(12)	(12)	(6)	(6)	(6)

Each value is expressed as mean & SD.

(n) : No. of animals

* : Significantly different from control at 5% level of probability

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 9 - 1 Urinary finding - Summarized data in male rats

< After treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Color			Cloudy		pH								Protein					
		C	PY	Y	-	+	5.0	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	-	±	+	++	+++	++++	
0	12		12		12			1	7	4						3	9			
4	6		6		6				6							3	3			
20	6		6		6				3	3							6			
100	6		6		6			5	1							3	3			
500	12		12		12		2	3	4	2	1						12			

Color : C(colorless), PY(pale yellow), Y(yellow)

Cloudy : - (negligible), + (cloudy)

Protein : - (negligible), ± (15~30mg/dl), + (30mg/dl), ++ (100mg/dl), +++ (300mg/dl), ++++ (1000mg/dl)

Table 9 - 2 Urinary finding - Summarized data in male rats

< After treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Glucose					Ketone body					Occult blood					Urobilinogen					Bilirubin			
		-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	0.1	1	2	4	8	-	+	++	+++
0	12	12					1	8	3			8	4				12					12			
4	6	6					2	3	1			5	1				6					6			
20	6	6						4	2			6					6					6			
100	6	6						6				6					6					6			
500	12	12					1	7	4			12					12					12			

Glucose : - (negligible), ± (0.1g/dl), + (0.25g/dl), ++ (0.5g/dl), +++ (1g/dl)
Ketone body : - (negligible), ± (5mg/dl), + (15mg/dl), ++ (40mg/dl), +++ (80mg/dl)
Occult blood : - (negligible), ± (trace), + (slight), ++ (moderate), +++ (marked)
Urobilinogen : Ehrlich unit/dl
Bilirubin : - (negligible), + (slight), ++ (moderate), +++ (marked)

Table 10 - 1 Urinary finding - Summarized data in female rats

< After treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Color			Cloudy		pH								Protein					
		C	PY	Y	—	+	5.0	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	—	±	+	++	+++	++++	
0	12		12		12			7	2	1	2			1	6	5				
4	6		6		6			3	2	1					5	1				
20	6		6		6			3	3						6					
100	6		6		6			1	2	3					2	4				
500	12		12		12			10	1	1					2	8	2			

Color : C(colorless), PY(pale yellow), Y(yellow)

Cloudy : - (negligible), + (cloudy)

Protein : - (negligible), ± (15~30mg/dl), + (30mg/dl), ++ (100mg/dl), +++ (300mg/dl), ++++ (1000mg/dl)

Table 10 - 2 Urinary finding - Summarized data in female rats

< After treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Glucose					Ketone body					Occult blood					Urobilinogen					Bilirubin			
		-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	0.1	1	2	4	8	-	+	++	+++
0	12	12					12					12					12					12			
4	6	6					6					4	2				6					6			
20	6	6					6					4	2				6					6			
100	6	6					3	3				4	2				6					6			
500	12	12					10	2				9	3				12					12			

Glucose : - (negligible), ± (0.1g/dl), + (0.25g/dl), ++ (0.5g/dl), +++ (1g/dl)
Ketone body : - (negligible), ± (5mg/dl), + (15mg/dl), ++ (40mg/dl), +++ (80mg/dl)
Occult blood : - (negligible), ± (trace), + (slight), ++ (moderate), +++ (marked)
Urobilinogen : Ehrlich unit/dl
Bilirubin : - (negligible), + (slight), ++ (moderate), +++ (marked)

Table 11 - 1 Urinary finding - Summarized data in male rats

< After recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Color			Cloudy		pH							Protein					
		C	PY	Y	-	+	5.0	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	-	±	+	++	+++	++++
0	6		6		6				2	4						1	5		
500	5		5		5				2	2	1						5		

Color : C(colorless), PY(pale yellow), Y(yellow)

Cloudy : - (negligible), + (cloudy)

Protein : - (negligible), ± (15~30mg/dl), + (30mg/dl), ++ (100mg/dl), +++ (300mg/dl), ++++ (1000mg/dl)

Table 11 - 2 Urinary finding - Summarized data in male rats

< After recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Glucose					Ketone body					Occult blood					Urobilinogen					Bilirubin			
		-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	0.1	1	2	4	8	-	+	++	+++
0	6	6					4	2				6					6					6			
500	5	5					4	1				5					5					5			

Glucose : - (negligible), ± (0.1g/dl), + (0.25g/dl), ++ (0.5g/dl), +++ (1g/dl)

Ketone body : - (negligible), ± (5mg/dl), + (15mg/dl), ++ (40mg/dl), +++ (80mg/dl)

Occult blood : - (negligible), ± (trace), + (slight), ++ (moderate), +++ (marked)

Urobilinogen : Ehrlich unit/dl

Bilirubin : - (negligible), + (slight), ++ (moderate), +++ (marked)

Table 12 - 1 Urinary finding - Summarized data in female rats

< After recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Color			Cloudy		pH								Protein					
		C	PY	Y	-	+	5.0	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	-	±	+	++	+++	++++	
0	6		6		6			1	1	4						4	2			
500	6		6		6			1	2	2	1					3	3			

Color : C(colorless), PY(pale yellow), Y(yellow)

Cloudy : - (negligible), + (cloudy)

Protein : - (negligible), ± (15~30mg/dl), + (30mg/dl), ++ (100mg/dl), +++ (300mg/dl), ++++ (1000mg/dl)

Table 13 - 1 Hematological finding - Group mean values in male rats
 < After treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	RBC (10 ⁴ /μl)	Hb (g/dl)	Ht (%)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (%)	Ret. (%)	PT (sec)	APTT (sec)
0	6	745	15.1	44.1	59	20.3	34.3	35	12.2	20.1
		22	0.4	0.9	1	0.2	0.3	4	0.4	1.0
4	6	748	15.2	44.2	60	20.3	34.3	35	12.0	19.6
		27	0.3	0.9	1	0.6	0.5	2	0.3	1.5
20	6	780	15.8*	45.5	59	20.3	34.7	30	11.9	20.3
		45	0.3	1.4	2	1.0	0.8	6	0.3	1.3
100	6	756	15.1	44.3	59	20.0	34.1	30	12.1	23.0
		27	0.4	1.2	2	0.9	0.4	4	0.5	1.9
500	6	736	15.0	43.3	59	20.4	34.8	33	14.9	36.2**
		14	0.5	1.1	1	0.5	0.8	5	1.8	5.6

Each value is expressed as mean & SD.

* : Significantly different from control at 5% level of probability

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 13 - 2

Hematological finding - Group mean values in male rats

< After treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	WBC (10 ² /μl)	Differential leukocyte counts (%)							Plat. (10 ⁴ /μl)
			Baso.	Eosin.	Neutro.		Lymph.	Mono.	Other	
					Stab.	Seg.				
0	6	76	0	0	0	8	89	2	0	166
		16	0	0	0	3	3	1	0	18
4	6	71	0	1	0	9	90	1	0	156
		19	0	1	0	4	4	1	0	4
20	6	81	0	0	0	9	90	1	0	154
		29	0	0	0	2	3	1	0	13
100	6	65	0	1	0	9	90	1	0	169
		22	0	1	0	4	3	1	0	25
500	6	48	0	1	0	10	89	1	0	161
		15	0	1	0	5	5	1	0	16

Each value is expressed as mean & SD.

Table 14 - 1 Hematological finding - Group mean values in female rats
 < After treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	RBC (10 ⁴ /μl)	Hb (g/dl)	Ht (%)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (%)	Ret. (%)	PT (sec)	APTT (sec)
0	6	773	15.6	44.5	58	20.2	35.1	22	13.0	18.7
		45	0.8	2.1	1	0.5	0.3	2	0.4	1.4
4	6	776	15.6	44.1	57	20.1	35.5	22	12.5	17.6
		35	0.5	1.4	1	0.3	0.3	4	0.2	0.9
20	6	772	15.4	43.6	57	20.0	35.4	22	12.0**	18.2
		21	0.4	1.1	1	0.4	0.3	4	0.2	0.9
100	6	777	15.6	44.4	57	20.1	35.1	24	12.2**	18.6
		43	0.6	1.6	1	0.4	0.5	4	0.3	0.9
500	6	733	14.9	42.1	58	20.3	35.3	24	11.2**	20.2
		19	0.5	1.2	2	0.7	0.4	3	0.3	0.9

Each value is expressed as mean & SD.

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 14 - 2 Hematological finding - Group mean values in female rats
 < After treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	WBC (10 ² /μl)	Differential leukocyte counts (%)							Plat. (10 ⁴ /μl)
			Baso.	Eosin.	Neutro.		Lymph.	Mono.	Other	
					Stab.	Seg.				
0	6	51	0	1	0	8	90	1	0	145
		7	0	1	0	5	5	1	0	16
4	6	52	0	1	0	6	93	1	0	150
		14	0	1	0	2	2	1	0	12
20	6	48	0	1	0	8	90	2	0	162
		13	0	1	0	2	4	1	0	27
100	6	42	0	1	0	8	90	1	0	159
		12	0	2	0	3	4	1	0	17
500	6	46	0	0	0	12	87	1	0	155
		6	0	0	1	4	4	1	0	24

Each value is expressed as mean & SD.

Table 15 - 2

Hematological finding - Group mean values in male rats

< After recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	WBC (10 ² /μl)	Differential leukocyte counts (%)							Plat. (10 ⁴ /μl)
			Baso.	Eosin.	Neutro.		Lymph.	Mono.	Other	
					Stab.	Seg.				
0	6	77	0	0	0	8	90	2	0	158
		28	0	1	0	4	3	1	0	29
500	5	97	0	0	0	11	86	2	0	143
		20	0	1	0	5	6	2	0	16

Each value is expressed as mean & SD.

Table 16 - 1 Hematological finding - Group mean values in female rats
 < After recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	RBC (10 ⁴ /μl)	Hb (g/dl)	Ht (%)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (%)	Ret. (%)	PT (sec)	APTT (sec)
0	6	769	15.3	43.2	56	19.8	35.3	22	12.7	17.0
		44	0.8	2.4	1	0.5	0.4	6	0.3	0.7
500	6	778	15.1	43.1	56	19.4	35.0	18	12.7	18.2*
		18	0.6	1.3	1	0.6	0.5	2	0.5	0.9

Each value is expressed as mean & SD.

* : Significantly different from control at 5% level of probability

Table 16 - 2

Hematological finding - Group mean values in female rats

< After recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	WBC (10 ² /μl)	Differential leukocyte counts (%)							Plat. (10 ⁴ /μl)
			Baso.	Eosin.	Neutro.		Lymph.	Mono.	Other	
					Stab.	Seg.				
0	6	50	0	0	0	8	91	1	0	155
		13	0	0	0	3	3	1	0	26
500	6	45	0	0	0	10	88	2	0	167
		15	0	0	0	4	4	2	0	12

Each value is expressed as mean & SD.

Table 17 - 1 Biochemical finding - Group mean values in male rats
 < After treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	GOT (IU/l)	GPT (IU/l)	ALP (IU/l)	γ -GTP (IU/l)	T. P. (g/dl)	Alb. (g/dl)	A/G	T-Cho. (mg/dl)	T. G. (mg/dl)
0	6	63	34	396	0.12	6.06	3.05	1.02	86	79
		17	9	54	0.13	0.29	0.10	0.08	17	35
4	6	59	30	409	0.28	5.89	2.98	1.03	83	97
		8	4	25	0.12	0.14	0.15	0.10	15	32
20	6	61	33	409	0.18	6.13	3.10	1.03	86	88
		10	8	59	0.19	0.15	0.23	0.13	19	46
100	6	53	32	413	0.28	6.26	3.06	0.96	138**	130
		6	2	71	0.18	0.26	0.10	0.12	25	49
500	6	60	50	331	2.03**	6.44*	2.95	0.85*	212**	352**
		8	10	61	2.21	0.21	0.14	0.10	15	115

Each value is expressed as mean & SD.

* : Significantly different from control at 5% level of probability

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 17 - 2 Biochemical finding - Group mean values in male rats
 < After treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Glu. (mg/dl)	T-Bil. (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Crea. (mg/dl)	Ca (mg/dl)	P (mg/dl)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Cl (mEq/l)
0	6	150	0.37	12.6	0.52	10.1	7.8	141	4.43	102
		13	0.04	1.0	0.04	0.4	0.5	1	0.24	1
4	6	142	0.38	13.1	0.49	10.1	7.7	141	4.41	102
		10	0.03	1.3	0.05	0.2	0.4	1	0.55	1
20	6	150	0.42	15.0	0.53	10.1	7.8	142	4.25	103
		10	0.03	2.0	0.02	0.3	0.3	2	0.39	0
100	6	119**	0.48**	12.9	0.48	10.4	8.1	141	4.28	104*
		21	0.04	1.3	0.04	0.2	0.4	1	0.17	1
500	6	81**	0.59**	15.6*	0.47	10.3	9.0**	141	4.33	104**
		9	0.08	2.2	0.04	0.3	0.5	1	0.20	1

Each value is expressed as mean & SD.

* : Significantly different from control at 5% level of probability

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 18 - 1

Biochemical finding - Group mean values in female rats

< After treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	GOT (IU/l)	GPT (IU/l)	ALP (IU/l)	γ -GTP (IU/l)	T.P. (g/dl)	Alb. (g/dl)	A/G	T-Chol. (mg/dl)	T.G. (mg/dl)
0	6	58	24	283	0.37	6.14	3.34	1.20	81	35
		3	2	57	0.26	0.18	0.11	0.07	18	14
4	6	56	28	289	0.40	6.19	3.28	1.14	89	40
		8	5	82	0.47	0.20	0.09	0.12	13	18
20	6	57	26	242	0.38	6.27	3.38	1.18	96	51
		5	4	41	0.36	0.23	0.22	0.13	14	24
100	6	57	26	241	0.35	6.42	3.32	1.08	111	46
		5	6	58	0.34	0.31	0.18	0.06	28	15
500	6	53	46**	222	0.80	7.34**	3.81**	1.09	203**	312**
		13	5	79	0.75	0.21	0.12	0.10	28	175

Each value is expressed as mean & SD.

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 18 - 2 Biochemical finding - Group mean values in female rats
 < After treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Glu. (mg/dl)	T-Bil. (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Crea. (mg/dl)	Ca (mg/dl)	P (mg/dl)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Cl (mEq/l)
0	6	137	0.28	18.0	0.58	9.9	6.9	141	3.85	103
		18	0.04	3.7	0.04	0.3	1.0	2	0.12	1
4	6	136	0.26	16.3	0.54	9.8	6.8	143	4.03	103
		12	0.01	3.0	0.04	0.2	0.5	1	0.15	1
20	6	131	0.24	16.1	0.55	10.0	6.8	142	4.00	103
		15	0.04	2.4	0.06	0.3	0.7	1	0.19	0
100	6	120	0.26	16.6	0.53	10.0	6.9	142	3.99	104**
		12	0.02	2.9	0.02	0.2	0.5	1	0.25	1
500	6	96**	0.38	17.9	0.51	10.5**	7.7	142	4.11	105**
		14	0.12	2.5	0.02	0.1	0.6	2	0.37	0

Each value is expressed as mean & SD.

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 19 - 1 Biochemical finding - Group mean values in male rats

< After recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	GOT (IU/l)	GPT (IU/l)	ALP (IU/l)	γ -GTP (IU/l)	T. P. (g/dl)	Alb. (g/dl)	A/G	T-Chol. (mg/dl)	T. G. (mg/dl)
0	6	62	34	277	0.28	6.14	3.05	0.99	96	99
		4	6	35	0.24	0.31	0.20	0.09	17	31
500	5	66	34	316	0.44	6.22	3.16	1.04	82	63
		6	6	103	0.31	0.29	0.22	0.11	20	28

Each value is expressed as mean & SD.

Table 19 - 2

Biochemical finding - Group mean values in male rats

< After recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Glu. (mg/dl)	T-Bil. (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Crea. (mg/dl)	Ca (mg/dl)	P (mg/dl)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Cl (mEq/l)
0	6	146	0.31	15.8	0.59	9.9	7.5	143	4.25	103
		15	0.05	1.4	0.04	0.2	0.7	1	0.17	1
500	5	149	0.31	17.0	0.59	9.8	7.5	142	4.18	102
		16	0.01	1.5	0.05	0.1	0.4	1	0.19	1

Each value is expressed as mean & SD.

Table 20 - 1 Biochemical finding - Group mean values in female rats
 < After recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	GOT (IU/l)	GPT (IU/l)	ALP (IU/l)	γ -GTP (IU/l)	T. P. (g/dl)	Alb. (g/dl)	A/G	T-Cho. (mg/dl)	T. G. (mg/dl)
0	6	59	26	186	0.37	6.46	3.25	1.02	92	46
		4	5	50	0.27	0.25	0.16	0.12	12	12
500	6	54	25	143	0.31	6.71	3.38	1.02	123**	100*
		7	8	30	0.33	0.50	0.29	0.07	14	50

Each value is expressed as mean & SD.

* : Significantly different from control at 5% level of probability

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 20 - 2 Biochemical finding - Group mean values in female rats
 < After recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Glu. (mg/dl)	T-Bil. (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Crea. (mg/dl)	Ca (mg/dl)	P (mg/dl)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Cl (mEq/l)
0	6	132	0.25	18.4	0.64	10.0	6.3	143	4.11	103
		16	0.04	1.4	0.07	0.2	0.5	2	0.28	1
500	6	163	0.20	16.0**	0.66	10.1	6.1	144	3.83	103
		32	0.03	0.8	0.03	0.3	0.8	1	0.15	1

Each value is expressed as mean & SD.

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 21 Incidence of necropsy findings in male rats
< After treatment period >

		Dose (mg/kg)		0	4	20	100	500
Organ	: Findings	No. of animals		6	6	6	6	6 (1*)
Lung	: Edematous swelling	+	0	—	—	—	—	0 (1)
Liver	: Enlargement	+	0	0	0	5	0	
		++	0	0	0	0	6	
		+++	0	0	0	0	0 (1)	
		Total	0	0	0	5**	6**(1)	
Stomach	: Blackish spot in glandular portion	+	0	0	0	0	1	(0)
Small intestine	: Whitish color	+	0	0	0	0	6**	(1)
Kidney	: Enlargement	+	0	0	0	4	4	
		++	0	0	0	0	2	
		+++	0	0	0	0	0 (1)	
		Total	0	0	0	4*	6**(1)	
Urinary bladder	: Hemorrhage	+++	0	—	—	—	0	(1)
Adrenal	: Decoloration	+	0	0	0	0	5**	(1)

— : Not examined, +: Slight, ++: Moderate, +++: Severe

: Animal supposed to be killed after recovery period was found dead on day 28 of dosing.

* : Significantly different from control at 5% level of probability

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 22 Incidence of necropsy findings in female rats
< After treatment period >

			Dose (mg/kg)				
			0	4	20	100	500
Organ	: Findings	No. of animals	6	6	6	6	6
Liver	: Enlargement	++	0	0	0	0	4
		+++	0	0	0	0	2
		Total	0	0	0	0	6**
Stomach	: Black spots in glandular portion	+	0	0	0	0	1
		++	0	0	0	0	1
		Total	0	0	0	0	2
Small intestine:	Whitish color	+	0	0	0	0	6**
Kidney	: Enlargement	+	0	0	0	0	4*
Adrenal	: Decoloration	+	0	0	0	0	3*

+: Slight, ++: Moderate, +++: Severe

* : Significantly different from control at 5% level of probability

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 23 Incidence of necropsy findings in male rats
< After recovery period >

Organ : Findings	Dose (mg/kg)	0	500
	No. of animals	6	5
Liver : Enlargement	+	0	1
Kidney: Enlargement	+	0	1

+: Slight

Table 24 Incidence of necropsy findings in female rats
< After recovery period >

	Dose (mg/kg)	0	500
Organ : Findings	No. of animals	6	6
Liver : Enlargement	+	0	2

+: Slight

Table 25 Absolute organ weights - Group mean values in male rats
 < After treatment period >

Dose (mg/kg)	Animals examined	B.W. (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Adrenal (mg)	Testis (g)
0	6	353	2.00	11.61	2.66	54.1	3.17
		19	0.11	0.80	0.21	6.0	0.20
4	6	348	1.99	11.34	2.66	57.7	3.14
		21	0.09	0.71	0.31	9.7	0.10
20	6	336	1.99	11.92	2.71	55.3	3.08
		29	0.08	1.35	0.19	5.7	0.28
100	6	347	2.01	14.77	3.41**	63.3	3.30
		37	0.08	1.97	0.37	3.5	0.14
500	6	327	2.01	18.41**	3.79**	67.5**	3.04
		12	0.10	0.59	0.54	6.9	0.16

Each value is expressed as mean and SD.

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 26 Absolute organ weights - Group mean values in female rats
 < After treatment period >

Dose (mg/kg)	Animals examined	B.W. (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Adrenal (mg)	Ovary (mg)
0	6	212	1.83	6.80	1.70	68.4	86.7
		14	0.06	0.77	0.18	12.4	15.3
4	6	206	1.79	6.55	1.60	62.5	72.8
		13	0.09	0.62	0.11	7.5	13.5
20	6	214	1.86	6.92	1.72	60.7	89.4
		8	0.05	0.67	0.13	10.6	13.5
100	6	215	1.85	7.49	1.79	65.3	86.6
		13	0.09	0.39	0.14	8.8	16.0
500	6	218	1.84	13.48**	2.14**	81.8	81.9
		12	0.09	1.43	0.21	11.4	19.8

Each value is expressed as mean and SD.

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 27 Absolute organ weights - Group mean values in male rats

< After recovery period >

Dose (mg/kg)	Animals examined	Animals available	B.W. (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Adrenal (mg)	Testis (g)
0	6	6	405	1.94	12.11	2.87	58.0	3.29
			12	0.05	1.16	0.18	8.6	0.20
500	6	5	393	2.09**	13.48	3.19*	54.4	3.30
			11	0.06	1.35	0.19	9.4	0.38

Each value is expressed as mean and SD.

* : Significantly different from control at 5% level of probability

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 28 Absolute organ weights - Group mean values in female rats
 < After recovery period >

Dose (mg/kg)	Animals examined	B.W. (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Adrenal (mg)	Ovary (mg)
0	6	242	1.85	6.91	1.78	66.9	88.5
		24	0.06	0.86	0.17	5.8	8.0
500	6	243	1.84	8.75**	1.87	71.8	87.7
		14	0.06	0.84	0.11	10.0	15.2

Each value is expressed as mean and SD.

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 29 Relative organ weights - Group mean values in male rats

< After treatment period >

Dose (mg/kg)	Animals examined	B.W. (g)	Brain (%)	Liver (%)	Kidney (%)	Adrenal (mg%)	Testis (%)
0	6	353	0.57	3.29	0.75	15.40	0.90
		19	0.03	0.17	0.05	2.43	0.09
4	6	348	0.57	3.26	0.77	16.60	0.91
		21	0.03	0.13	0.08	2.51	0.08
20	6	336	0.60	3.55	0.81	16.47	0.92
		29	0.05	0.13	0.05	1.18	0.13
100	6	347	0.58	4.25**	0.99**	18.45	0.96
		37	0.06	0.24	0.07	2.74	0.10
500	6	327	0.62*	5.65**	1.16**	20.70**	0.93
		12	0.01	0.19	0.14	2.18	0.03

Each value is expressed as mean and SD.

* : Significantly different from control at 5% level of probability

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 30 Relative organ weights - Group mean values in female rats

< After treatment period >

Dose (mg/kg)	Animals examined	B. W. (g)	Brain (%)	Liver (%)	Kidney (%)	Adrenal (mg%)	Ovary (mg%)
0	6	212	0.87	3.21	0.81	32.39	40.8
		14	0.05	0.20	0.08	6.17	4.7
4	6	206	0.87	3.18	0.78	30.33	35.3
		13	0.03	0.18	0.04	2.57	5.4
20	6	214	0.87	3.24	0.81	28.42	41.9
		8	0.04	0.26	0.06	4.84	6.6
100	6	215	0.86	3.49	0.83	30.47	40.3
		13	0.08	0.16	0.05	4.56	7.3
500	6	218	0.85	6.19**	0.98**	37.51	37.4
		12	0.03	0.49	0.07	3.78	7.8

Each value is expressed as mean and SD.

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 31 Relative organ weights - Group mean values in male rats

< After recovery period >

Dose (mg/kg)	Animals examined	Animals available	B.W. (g)	Brain (%)	Liver (%)	Kidney (%)	Adrenal (mg%)	Testis (%)
0	6	6	405	0.48	2.99	0.71	14.34	0.82
			12	0.02	0.23	0.06	2.10	0.05
500	6	5	393	0.53**	3.43*	0.81*	13.85	0.84
			11	0.02	0.30	0.05	2.26	0.09

Each value is expressed as mean and SD.

* : Significantly different from control at 5% level of probability

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 32 Relative organ weights - Group mean values in female rats

< After recovery period >

Dose (mg/kg)	Animals examined	B.W. (g)	Brain (%)	Liver (%)	Kidney (%)	Adrenal (mg%)	Ovary (mg%)
0	6	242	0.77	2.86	0.74	27.82	36.8
		24	0.08	0.19	0.07	2.87	4.5
500	6	243	0.76	3.60**	0.77	29.68	36.2
		14	0.05	0.24	0.04	4.69	6.5

Each value is expressed as mean and SD.

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 33 - 1 Incidence of histological findings in male rats
< After treatment period >

		Dose (mg/kg)	0	4	20	100	500
Organ	: Findings	No. of animals	6	6	6	6	6 (1*)
Heart	: Myocardial fibrosis	+	1	—	—	—	0 (0)
Lung	: Congestive edema	+	—	—	—	—	— (1)
Liver	: Hepatocellular swelling	+	0	0	0	6	0
		++	0	0	0	0	6 (1)
		Total	0	0	0	6**	6**(1)
	Centrilobular hepatocellular necrosis	++	0	0	0	0	0 (1)
Stomach	: Erosion in glandular portion	+	0	0	0	0	1 (0)
Small intestine:	Vacuolization of mucosal epithelium	+	0	0	0	0	3 (1)
		++	0	0	0	0	3
		Total	0	0	0	0	6**(1)
Kidney	: Interstitial cell infiltration	+	1	0	0	0	0 (0)
	Tubular regeneration	+	1	1	3	3	2 (0)
		++	0	0	0	0	2 (0)
		Total	1	1	3	3	4 (0)
	Tubular casts	+	1	1	2	2	0 (0)
	Fibrotic focus	+	0	1	0	0	0 (0)

— : Not examined, +: Slight, ++: Moderate

: Animal supposed to be killed after recovery period was found dead on day 28 of dosing.

* *: Significantly different from control at 1% level of probability.

Table 33 - 2 Incidence of histological findings in male rats
 < After treatment period >

		Dose (mg/kg)	0	4	20	100	500
Organ	: Findings	No. of animals	6	6	6	6	6 (1*)
Kidney	: Eosinophilic bodies in proximal tubule	+	0	0	2	3	1 (0)
		++	0	0	2	0	0 (0)
		Total	0	0	4*	3*	1 (0)
	: Hyaline droplets in proximal tubular epithelium	+	0	0	3	0	0
		++	0	0	0	5	2
		+++	0	0	0	1	4 (1)
		Total	0	0	3	6**	6**(1)
	: Tubular dilatation	+	0	0	0	0	0 (1)
	Urinary bladder : Hemorrhage	+++	—	—	—	—	— (1)
Adrenal	: Vacuolization of cortical cell	+	0	0	0	1	6**(0)
Spleen	: Atrophy	+	0	—	—	—	0 (1)

— : Not examined, +: Slight, ++: Moderate, +++: Severe

: Animal supposed to be killed after recovery period was found dead on day 28 of dosing.

* : Significantly different from control at 5% level of probability.

** : Significantly different from control at 1% level of probability.

Table 34 Incidence of histological findings in female rats
< After treatment period >

		Dose (mg/kg)	0	4	20	100	500
Organ	: Findings	No. of animals	6	6	6	6	6
Liver	: Hepatocellular swelling	+	0	0	0	4	0
		++	0	0	0	0	4
		+++	0	0	0	0	2
		Total	0	0	0	4*	6**
Stomach	: Erosion in glandular protion	+	0	0	0	0	1
		++	0	0	0	0	1
		Total	0	0	0	0	2
Small intestine:	Vacuolization of mucosal epithelium	+	0	0	0	0	1
		++	0	0	0	0	5
		Total	0	0	0	0	6**
Kidney	: Fibrotic foci	+	0	1	0	0	0
	Interstitial cell infiltration	+	0	1	0	0	0
	Tubular regeneration	+	0	0	1	0	0
	Dilatation of glomerular capillary	+	0	0	0	3*	5**
	Tubular dilatation	+	0	0	0	0	2
Adrenal	: Vacuolization of cortical cell	+	0	0	0	1	6**

+: Slight, ++: Moderate, +++: Severe

* : Significantly different from control at 5% level of probability.

** : Significantly different from control at 1% level of probability.

No abnormalities detected in heart and spleen from animals of control and 500 mg/kg groups.

Table 35

Incidence of histological findings in male rats
< After recovery period >

Organ : Findings	Dose (mg/kg)		
		0	500
Organ : Findings	No. of animals	6	5
Liver : Hepatocellular swelling	+	0	1
Hepatocellular fatty change	+	1	0
Kidney : Tubular regeneration	+	1	5*
Tubular casts	+	2	0
Eosinophilic bodies in proximal tubule	+	2	0
Tubular dilatation	+	0	1

+: Slight

*: Significantly different from control at 5% level of probability.

No abnormalities detected in the stomach, small intestine, adrenal and brain from animals of control and 500 mg/kg groups.

Table 36

Incidence of histological findings in female rats
< After recovery period >

Organ : Findings	Dose (mg/kg)	0	500
	No. of animals	6	6
Liver : Hepatocellular swelling	+	0	4*
Kidney : Cysts	+	1	0

+: Slight

*: Significantly different from control at 5% level of probability.

No abnormalities detected in stomach, small intestine and adrenal from animals of control and 500 mg/kg groups.