トリメチルシラノールのラットを用いる28日間の反復投与毒性試験

試験番号:3220 (115-077)

財 団 法 人 食 品 農 医 薬 品 安 全 性 評 価 セ ン タ ー

1.	要			約	7	頁
2.	緒				8	
3.	試	験	題	∃	9	
4.	試	験	月	的	9	
5.	試	験	番	号	9	
10.	被	験	物	質	11	
11.	試験	材料	およ	てび方法	13	
12.	観察	,測	定お	3よび検査	16	
13.	試	験	結	果	20	
14.	考察	およ	び結	論	24	
15.	参	考	文	献	26	
	Figu	res,	Tab	bles and Reference data		
	F					
	Figu			Survival ratio		
	Tabl			Survival and mortality		
	Tabl			Clinical observation		
	Figu			Body weight		
	Tabl			Body weight		
	Figu:			Food consumption		
	Tabl			Food consumption		
	Tabl.			Food efficiency		
	Table			Hematology		
	Table			Coagulation		
	Table			Blood chemistry		
	Table			Urinalysis		
	Table			Organ weight		
	Table			Organ weight per body weight		
	Table			Summary of gross findings (sacrificed at 4, 6 week)		
	Table	13		Summary of gross findings with statistical analysis		
				(sacrificed at 4, 6 week)		
	Table	14	,	Summary of histological findings (sacrificed at 4, 6 week)		
	Tablo	15	;	Summary of histological findings with statistical analysis		

(sacrificed at 4, 6 week)

1. 要_____約:

トリメチルシラノールの安全性評価の一環として, Crj:CD(SD)系ラットを用いた28日間反復投与毒性試験を実施した.ラットは1群雌雄各5匹で5試験群,対照群および最高用量群には雌雄各5匹の回復群を設け、計70匹を使用した.

トリメチルシラノールをコーンオイルに溶解し、0,10,40,160 および 640 mg/kg を毎日1回,4週間反復経口投与し、一般状態の観察、体重測定、摂餌量測定、血液学的検査、血液疑固能検査、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、投与期間終了時と同様の検査を実施した.

その結果は次のように要約される.

雌雄いずれの群にも死亡例は認められなかった.

一般状態の観察では、雌雄の 640 mg/kg群で自発運動低下およびよろめき歩行が認められ、さらに雄で歩行困難が認められた. 回復期間中には雌雄とも異常は観察されなかった.

体重は雌雄の 640 mg/kg群で低値傾向が認められた. 摂餌量の測定では、雌雄とも変化は認められなかった. 飼料効率は雄の 640 mg/kg群で投与2週以降に低値が認められ、雌の 640 mg/kg群で投与2週のみ低値が認められた. 回復期間中は、雄の体重変化を除き回復が認められた.

血液学的検査では、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.

血液凝固能検査では、雌雄の 640 mg/kg群でフィブリノーゲンの高値が認められたが、 回復期間終了時には雌雄とも対照群と 640 mg/kg群で差は認められなかった.

血液生化学および尿検査では、雌雄とも被験物質投与の影響は認められなかった.

器官重量測定では、雌の 640 mg/kg群で胸腺実重量の低値および肝臓相対重量の高値が認められたが、回復期間終了時には、肝臓の変化を除き回復が認められた。

病理学的検査の結果、被験物質投与の影響が示唆される病変は観察されなかった。

以上の結果、トリメチルシラノールの無影響量(NOEL)は雌雄とも 160 mg/kg/dayと判断された.

2. 緒 言:

トリメチルシラノールは、BSTFA (N,0-ビストリメチルシリルトリフロロアセトアミド)の水中変化物として知られている。また、トリメチルシラノールの一部は脱水縮合して2量化し、ヘキサメチルジシロキサンを生成すると推定されている。

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. <u>試 験 題 目</u>: トリメチルシラノールのラットを用いる28日間の反復投与毒性 試験

4. <u>試験目的</u>: トリメチルシラノールの安全性を評価する一環として,環保業第700号,薬発第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: 3220 (115-077)

10. 被 験 物 質:

1)被験物質名

トリメチルシラノール

2) CAS No.

- 1066-40-6
- 3) ロット番号
- 4) 純 度

99.8 wt%

5) 不 純 物

ヘキサメチルジシロキサン 0.2 wt%

- 6) 提 供 元
- 7) 保管条件

密封容器に入れ,冷暗所に保管した.

8) 保管場所

安評センター被験物質保管庫

9) 化 学 名

トリメチルシラノール

10) 化学構造

CH3 | CH3-Si-OH | CH3

- 11) 分 子 式
- C₃H₁₀OS i
- 12) 分 子 量
- 90.2
- 13) 性 状

無色透明の液体

- 14) 沸 点
- 98~99℃

- 15) 融
- 点
- -9.8℃
- 16) 溶解性

水に約1%可溶, DMSOおよびアセトンともに5%以上可溶.

17) 分配係数

POW > 20

(Octanol/Water)

18) 蒸 気 圧

30 mmHg (25℃)

19) 取り扱い上の注意

換気の良い場所で取り扱った.

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.

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)被験物質保管および残余被験物質の処理

投与終了後、約2gを安評センターに保管し、残りは提供

質の処理 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) 系は日本チャールス・リバー株式会社 (神奈川県摩木市) から平成9年2月10日に4週齢で雌雄各50匹, 計100匹を購入した.

動物を検収し試験環境に9日間馴化後,平成9年2月19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 142~157 g, 雌で 118~135 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、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)に設定されたバリアシステムの 124号飼育室(W 9.8×D 8.9×H 2.5 m, 218.1 m³)で飼育した. 動物の馴化期間も含め、飼育期間中の実測温度および湿度範囲はそれぞれ21.8~23.7℃および51~65%であった. 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 80.0×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, 10, 40, 160 および 640 mg/kgとし,動物数は1群雌雄各5匹,また,回復期間用として,対照群および最高用量群に雌雄各5匹,計70匹を使用した.

試験群		1		2	:	3 .		4	;	5
用量	C	*	1	0	4	0	16	0	64	0
(mg/kg)							<u> </u>			
性	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数	10	10	5	5	5	5	5	5	10	10
投与終了時	1001	2001	1101	2101	1201	2201	1301	2301	1401	2401
計画解剖	≀	₹`	}	}			. ≀	≀	≀	}
動物番号	1005	2005	1105	2105	1205	2205	1305	2305	1405	2405
回復終了時	1006	2006							1406	2406
計画解剖	≀	{	-	_	_	_	_		}	{ }
動物番号	1010	2010							1410	2410

^{*} コーンオイルのみを投与する.

[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, 10, 40, 160 および 640 mg/kgの5用量で実施した結果, 160 mg/kg以上の群で雌雄とも自発運動低下が観察されたが, 他の検査項目では明らかな影響は認められなかった.

したがって、28日間反復投与毒性試験の最高用量は本試験の 640 mg/kgが適当と考えられ、以下公比4で除し、高用量を 160 mg/kg、中用量を 40 mg/kgと設定し、さらに低用量を 10 mg/kgと設定した.

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 m1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. V6P3899, 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

被験物質をコーンオイルに溶解し、必要量を調製した.

調製は毎日1回,投与前3時間以内に実施したが,投与液中の被験物質の安定性が確認されたため,投与11日以降調製を週1回に変更した.なお,調製液は使用時まで冷蔵庫 $(2\sim6\,^{\circ}\mathbb{C})$ に保管した.

7) 投与期間

投与期間は雌雄ともに28日間とし、回復期間は14日間とした.

8) 投与液中の被験物質の安定性および濃度分析

投与液中の被験物質の安定性については、2 mg/ml (10 mg/kg群) の調製液が冷暗条件下で1週間安定であることを確認するため、調製液を株式会社 帝人バイオ・ラボラトリーズに送付し、調製直後および冷蔵庫保存1週間後に分析を行った、安定性分析の方法および結果は『Reference data 4』に示した.

また、すべての試験群の投与液について適切に混合と処方がされていることを確認するため、投与液の一部(5 ml)を分取し、冷蔵下にて株式会社 帝人バイオ・ラボラトリーズに送付し、投与液中の被験物質濃度を測定した. 濃度分析の方法および結果は『Reference data 5』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(投与前,投与後1および5時間)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期間終了まで毎週1回測定した. 測定は自動天秤 PM 3000 (メトラー社, スイス)を用いて測定し、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、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

投与期間および回復期間終了時の計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-2Kおよびクエン酸ソーダを用いた.

a. 血液学的検查

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-2K添加血液).

白 血 球 数	(WBC)	フローサイトケミストリー法
赤 血 珠 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-2K) 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た.なお,血液学的検査で貧血傾向が認められなかったため,鏡検は行わなかった.

b. 血液凝固能検査

血液凝固能検査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. クエン酸添加血液を 3000 r.p.m., 13分間遠心分離して得た血漿を用いた.

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

c. 血液生化学検查

血液生化学検査は多項目生化学自動分析装置 CentrifiChem ENCOREII (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, 室温に30分間静置後 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	(T.protein)	ビューレット法
アルブミン	(Albumin)	B. C. G. 法
A/G	(A/G)	計算値
血糖	(Glucose)	グルコースオキシダーゼ法
中性脂肪	(Triglyceride)	酵素比色法
総コレステロール	(T.cholesterol)	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 *	(Creatinine)	Jaffé法
総ビリルビン	(T.bilirubin)	ジアゾ法
カルシウム	(Calcium)	アルセナゾⅢ法
無機リン	(I. phospate)	モリブデン酸青法
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	1	
トランスアミナーゼ*	(GPT)	IFCC法 (PALP添加なし)
アルカリホスファターゼ*	(ALP)	Bessey-Lowry改良法
γーグルタミルトランス		
ペプチダーゼ*	(Gamma-GTP)	Orlówski法
ナトリウム	(Sodium)	電極法
カリウム	(Potassium)	電極法
塩 素	(Chloride)	電極法

[&]quot;印の項目は ENCORE Ⅱで,他は EKTACHEM 700Nで測定した.

d. 尿 検 查

給餌給水の条件下で代謝ケージを用いて3時間尿(午前10時から午後1時まで)および24時間尿(午前10時から翌日午前10時まで)を採取し、次の項目について行った. 但し、*印の項目については、セット後3時間尿(尿が採取できなかった個体については放尿時の尿)を用いた.

尿 畳 pH" 色. 調 潜 **ф*** ケトン体* 杘 比 重 沈 渣 糖* 白 # 蛋 ビリルビン* ウロビリノーゲン*

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. 尿を 1500 r.p.m.で5分間遠心し沈渣を分離後,ステルンハイマー染色変法による染色を施し、沈渣を鏡検した.

また、pH、潜血など半定量法の項目は、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)によって行った。

5) 病理学的検查

病理解剖は投与期間および回復期間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), 心臟, 肺, 胃, 膀胱, 骨髄(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、投与期間終了時に解剖した対照群と 最高用量群の胸腺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎および骨髄(大腿骨)について検 素した.

なお、投与期間終了時の肉眼所見において、肺に褐色斑/区域および赤色斑/区域が雄の投与群で観察された.また、雌では対照群にも肺の褐色斑/区域が観察された. さらに、病理組織学的検査の結果、雄では腎臓の好酸性小体が、対照群と比べ最高用量群で僅かに多く観察された.従って、雌雄の肺、雄の腎臓についてその他の投与群および回復群の病理組織学的検査を実施した.

附組織科学研究所(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. 株式会社 組織科学研究所

郵便番号 198

東京都青梅市黒沢 2-984-1

電話番号 0428-74-4741 ファックス番号 0428-74-4505

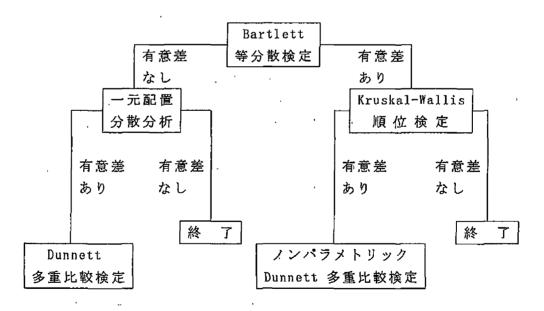
試験責任者:清水 宏之

上述の染色に加え、対照群および 640 mg/kg群の代表例(動物番号: 1002, 1008, 1403, 1404)の腎臓について、 $\alpha 2\mu$ グロブリン抗体(杏林大学医学部、遠藤 仁教授より分与)による免疫組織化学染色を実施した.

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、血液凝固能検査値、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. 投与期間および回復期間を通じ、雌雄いずれの群にも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.

雄の 640 mg/kg群では、投与初日に軽度(±)、投与3日に中等度(+)のよろめき歩行を示す例が認められ、さらに投与2日に軽度(±)、投与3日に中等度(+)の自発運動低下を示す例が認められた。よろめき歩行は、発現のなかった5日間を除き、投与期間中ほぼ毎日観察され、投与28日には10例全例に観察された。自発運動低下は、投与期間中ほぼ毎日観察され、全例に観察された日も多かった。また、重度(++)の歩行困難が投与25日に1例観察された。

雌の 640 mg/kg群では、投与初日に軽度(±)、投与3日に中等度(+)のよろめき歩行を示す例が認められ、さらに、投与2日に軽度(±)、投与3日に中等度(+)の自発運動低下を示す例が認められた、よろめき歩行は、投与期間中ほぼ毎日観察され、投与21および28日には10例全例に観察された、自発運動低下は、投与期間中ほぼ毎日観察され、全例に観察された日も多かった。

なお,回復期間には,雌雄いずれの群にも症状は認められなかった.

3) 体 重

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

雄では、対照群に比較して、640 mg/kg群で投与4週に低値傾向が認められ、投与4週間の体重増加量にも低値傾向が認められた。また、同群では回復1および2週に体重の低値が認められた。

雌では、対照群に比較して、640 mg/kg群で投与4週間の体重増加量に低値傾向が認められたが、回復2週間の体重増加量には高値が認められた。

4) 摂 餌 量

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

雌雄とも投与期間を通じて、対照群と被験物質投与群とで差が認められなかった. 対照群に比較して、640 mg/kg群では、雌で回復1および2週に高値が認められ、2 週間の総摂餌量にも高値が認められたが、雄では群間に差は認められなかった.

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、640 mg/kg群で投与期間を通じて低値が認められ、投与4週までの平均飼料効率にも低値が認められた。その他、40 mg/kg群で投与2週に低値が認められたが、用量に対応しない変化であった。回復期間中、群間に差は認められなかった。

雌では、対照群に比較して、640 mg/kg群で投与2週に低値が認められ、投与4週までの平均飼料効率にも低値が認められた。また、同群では回復1週に高値が認められたが、対照群において偶発的に低値を示したためと判断された。

6) 血液学的検查

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

投与期間終了時の結果

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

回復期間終了時の結果

対照群に比較して、雄の 640 mg/kg群でMCVの低値および白血球数の高値が認められた.

雌では、対照群と 640 mg/kg群とでいずれの検査項目にも差が認められなかった.

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.

投与期間終了時の結果

640 mg/kg群では、雌雄とも対照群に比較してフィブリノーゲンが高値を示した.

回復期間終了時の結果

雌雄とも、対照群と 640 mg/kg群とでいずれの検査項目にも差が認められなかった.

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.

投与期間終了時の結果

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

回復期間終了時の結果

雌雄とも、対照群と 640 mg/kg群とでいずれの検査項目にも差が認められなかった.

9) 尿 檢 查

尿検査結果を Table 9 および Appendix 8 に示した.

投与期間終了時の結果

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

回復期間終了時の結果

雌雄とも、対照群と 640 mg/kg群とでいずれの検査項目にも差が認められなかった.

10) 器官重量

器官重量を Table 10 および Appendix 9 に示した.

投与期間終了時の結果

雄では、対照群と被験物質投与群とでいずれの器官重量にも差が認められなかった. 雌では、対照群に比較して、640 mg/kg群で胸腺重量の低値が認められた.

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いずれの器官重量にも差が認められなかった.

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.

投与期間終了時の結果

雄では、対照群に比較して、10 および 160 mg/kg群で副腎相対重量の高値が認められたが、用量に対応した変化ではなかった。

雌では、対照群に比較して、640 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

雄では対照群に比較して、640 mg/kg群で脳相対重量の高値が認められた. 雌では対照群に比較して、640 mg/kg群で肝臓相対重量の高値が認められた.

12) 病理学的検查

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

a. 剖検所見

投与期間終了時の解剖動物は、対照群、10、40、160 および 640 mg/kg群の各群雌雄 5 例であった。また、回復期間終了時の解剖動物は、対照群および 640 mg/kg群の各群雌雄 5 例であった。

投与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で多くみられた所見はなかった.

ただし、雄の対照群、10, 40, 160 および 640 mg/kg群で、肺の褐色斑/区域が、それぞれ 5 例中 0, 2, 1, 2 および 2 例に、肺の赤色斑/区域が、それぞれ 0, 0, 1, 1 および 1 例に観察された、その他の病変はいずれも少数例あるいは単発性に観察された、

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で多くみられた所見は観察されなかった。

b. 組織所見

投与期間終了時計画解剖動物

腎臓の好酸性小体が雄の対照群で5例中2例に対し 640 mg/kg群で5例全例とわずかに発生数の増加がみられた。

その他,対照群に比較して被験物質投与群で多くみられた所見はなかったが,肺の出血,細胞浸潤,動脈中膜肥厚,腎臓の尿細管好塩基化,リンパ球浸潤,肝臓の巣状壊死,リンパ球浸潤および小肉芽腫などが対照群および投与群に観察された.

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で多くみられた所見はなかったが、肺の出血および 細胞浸潤、腎臓の好塩基化、好酸性小体およびリンパ球浸潤などの投与期間終了時計 画解剖動物に観察された所見とほぼ同様の所見が、対照群および投与群に観察された。

なお,対照群および 640 mg/kg群の代表例(動物番号:1002,1008,1403,1404)の 腎臓について,α2μグロブリン抗体(杏林大学医学部,遠藤 仁教授より分与)によ る免疫組織化学染色を実施した.その結果,腎臓尿細管内に観察された好酸性小体 (エオジン好性小滴)が陽性反応を示した.

14、考察および結論:

一般状態の観察では、雌雄とも 640 mg/kg群で自発運動低下およびよろめき歩行が、 さらに雄で歩行困難が認められ、被験物質投与の影響と考えられた。

体重は、雄の 640 mg/kg群で投与期間後半に低値傾向が認められ、回復期間においてもその差は縮まらず、回復は認められなかったものと判断された。また、雌の 640 mg/kg群においても投与期間に低値傾向が認められたが、回復期間には回復が認められた。

摂餌量測定の結果、雌雄とも投与期間においては、被験物質投与による影響は認められなかった。なお、回復期間の雌の 640 mg/kg群の高値は、体重高値に対応したものであった。

飼料効率は、雌雄ともに 640 mg/kg群で低値が認められ、回復期間中では雌雄とも明確な差はなかった。

血液学的検査の結果,投与期間終了時の検査では雌雄とも被験物質投与による影響は認められなかった。回復期間終了時に雄の 640 mg/kg群でMCVが低値を示し、白血球数が高値を示したが、いずれも投与期間終了時には認められなかった変化であること、変化の程度も僅かであることから、被験物質投与による影響ではないと判断された。

血液凝固能検査の結果, 雌雄の 640 mg/kg群でフィブリノーゲンが高値を示したが, 炎症性疾患やネフローゼなど高値を誘起する病変が認められないことから, 本試験で のフィブリノーゲン高値の原因は明らかではない.

血液生化学および尿検査では、雌雄とも投与期間および回復期間を通じて群間で差は 認められず、被験物質投与の影響はなかった。

器官重量測定では、雌の 640 mg/kg群で被験物質投与に起因する変化と考えられる胸腺実重量の低値が認められたが、回復期間終了時には上述の変化は回復した。また、同群で肝臓相対重量の高値が認められたが、同器官の血液生化学および病理学的検査では重量増加の要因となる変化または対応所見は認められなかった。しかしながら、肝臓相対重量の高値は回復期間終了時においても認められており、毒性学的意義は不明であるが被験物質投与による影響が示唆された。その他、回復期間終了時に雄の640 mg/kg群で脳相対重量の高値が認められたが、投与期間終了時には同群で認められなかった変化であり、被験物質投与による影響ではないと判断された。

病理学的検査の結果,対照群と比較して投与群に明らかに多くみられた所見はなかった. なお,雄では腎臓の好酸性小体が対照群に比べて最高用量群でわずかに多く観察

された.この腎臓の好酸性小体 [外国では hyaline body の1種とされている 31] は, $\alpha 2\mu$ グロブリンの存在が証明されている 41 . 雄のラットにd-リモネンや無鉛ガソリンなどの化学物質を投与すると近位尿細管内に好酸性小体が激増するといわれている 51 . 本試験でも用量に対応して増加するようにもみられるが,統計学的に有意な増加や程度の増強は観察されていない.また, $\alpha 2\mu$ グロブリン抗体による免疫染色でも,被験物質投与群にみられた好酸性小体(エオジン好性小滴)は対照群と同様に陽性反応を示すことから被験物質投与の影響とは考えられなかった.

一方、投与終了時の肉眼所見において特に雄の投与群で多く発生した肺の褐色斑/区域は、直径 1~2 mm程度の褐色あるいは黒色調の小さな斑点が単一あるいは少数個観察されたものであり、組織学的には限局性の出血、その周囲間質への炎症細胞浸潤などで説明される変化と考えられた。これらの組織変化は、雌雄とも発生率および程度に群間の明確な差はみられなかったことから、被験物質投与による変化ではなく、自然発生的な変化と考えた。

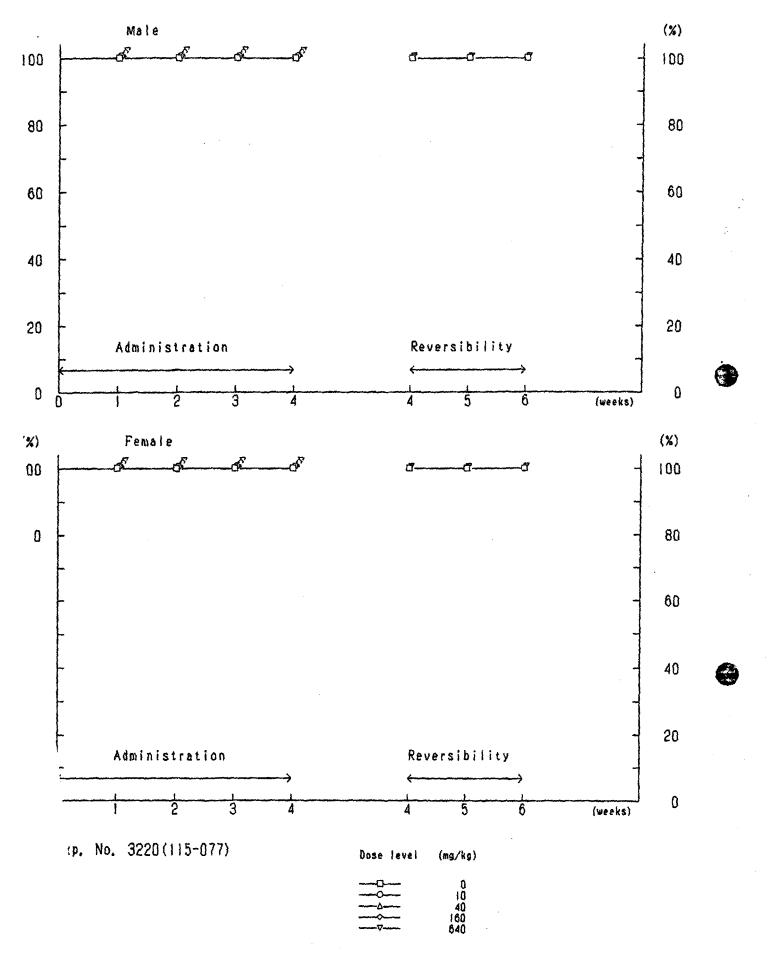
その他に観察された所見も発生率および程度に用量相関性は認められずすべて自然発生性病変と考えられた。

以上の結果、雌雄とも 640 mg/kg群で被験物質投与の影響が明確に認められたことから、トリメチルシラノールの無影響量(NOEL)は 160 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)
- 3) 渡辺満利, 1991, 泌尿器系, 毒性病理学, 前川昭彦, 林裕造編, p. 229, 地人書館, 東京.
- 4) 伊東信行, 1994, 腎臟, 最新 毒性病理学, p. 200, 中山書店, 東京.
- 5) Carl L. Alden and Charles H. Frith, 1991, Urinary System, Handbook of toxicologic pathology, Wanda M. Haschek and Colin G. Rousseauk, pp. 340-342, Academic Press, Inc., San Diego.

Figures, Tables



sure I. Survival ratio

Table 1. Survival and mortality

Exp. No. 3220 (115-077)

Sex 	Dose level (mg/kg)	Weeks 1	of expe	riment 3	4	Mortality (%)
Male	0	10/10	10/10	10/10	10/10	0.0
	10	5/5	5/5	5/5	5/5	0.0
	40	5/5	5/5	5/5	5/5	0.0
	160	5/5	5/5	5/5	5/5	0.0
	640	10/10	10/10	10/10	10/10	0.0
Female	0	10/10	10/10	10/10	10/10	0.0
	10	5/5	5/5	5/5	5/5	0.0
	40	5/5	5/5	5/5	5/5	0.0
	160	5/5	5/5	5/5	5/5	0.0
	640	10/10	10/10	10/10	10/10	0.0

Number surviving / Number per group. Significant difference from control group;

*: P≦0.05 *

**: P≦0.01

Mortality (x)

0.0 0.0

0.0 0.0

Table 1.

Weeks of experiment 5

Dose level

Š

2/2 5/2

2/2 5/2

fale

8

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

5/3 5/3

5/3 5/3

680 0

Female

An-pyo Center

Table 2.

Clinical observation

Exp. No. 3220 (115-077)

Sex : Male

Findings of clinical observation	Dose level (mg/kg)	Days of	experi 2	ment 3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
normai/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	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
	40	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
	160	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
	640	9/10	2/10	2/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	_0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
decrease spon. motor act.	0	o	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	0	0	0	'0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	160	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	640	0	7	1	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
staggering gait	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0,	0	0	0	0
	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	160	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	640	1	1	7	0	0	0	0	0	3	5	3	4	5
gait difficulty	O	0	Ó	0	0	0	0	0	ō	0	0	0	0	0
-	10	0	0	0	0	0	0	0	Ō	0	0	0	0	0
	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0`	0	0	0
	160	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	640	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Sex : Male

Findings of clinical observation	Dose level (mg/kg)	Days of	experi 15	iment 16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
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	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
	40	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
	160	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
	640	3/10	0/10	0/10	3/10	4/10	6/10	10/10	2/10	3/10	7/10	3/10	0/10	2/10
decrease spon. motor act.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	160	0	0	0	0	0 ·	0	0	0	0	0	0	0	0
,	640	6	10	10	6	6	0	0	4	4	2	5	10	8
staggering gait	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	0	0	0	0	0	0	0	0	O.	0	0	0	0
	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	160	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	640	5	1	8	2	5	4	0	8	4	3	6	3	1
gait difficulty	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	. 0	0	0
	160	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	640	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0

Table 2.

-continued Clinical observation

Exp. No. 3220 (115-077)

Page

Sex : Male

Findings of clinical observation	Dose level (mg/kg)	Days of 27	experiment 28							
normal/number per group	0	10/10	10/10	 		7.				
	10	5/5	5/5							
	40	5/5	5/5							
	160	5/5	5/5							
	640	3/10	0/10							
decrease spon. motor act.	0	0	0							
	10	0	0							
	40	0	0							
	160	0	0							
	640	3	3					-	-	
staggering gait	0	0	0							
	- 10	0	0							
	40	O	O						•	
	160	0	0	. •			1			
	640	7	10	1	1					
gait difficulty	0	0	0							
- · · · ·	10	0	0							
	40	0	0							
	160	0	0							
	640	0	0							

Sex : Female

Findings of clinical observation	Dose level (mg/kg)	Days of	experi 2	ment 3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	
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	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	
	40	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	
	160	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	
	640	7/10	3/10	3/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	
decrease spon. motor act.	0	0	0	0	0	O	0	0	0	0	0	0	0	0	
	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	160	0	0	0	Ð	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	640	0	5	3	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
staggering gait	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	160	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	640	3	3	7	0	0	3	0	1	2	3	4	5	2	

Table 2. -continued Clinical observation

Exp. No. 3220 (115-077)

Sex : Female

Findings of clinical observation	Dose level (mg/kg)	Days of 14	experi 15	ment 16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
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
not mary ridinber per group	10	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/ 5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
	40	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
	160	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
	640	2/10	0/10	0/10	5/10	7/10	7/10	7/10	0/10	3/10	6/10	3/10	3/10	0/10
decrease spon.motor act.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	0	0	٥	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	160	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	640	6	10	10	2	3	0	0	5	7	4	4	7	_10
staggering gait	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
- -	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	160	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	640	5	3	5	5	3	3	3	10	4	4	7	1	0
,•		1	•											

Sex : Female

Findings of clinical observation	Dose level (mg/kg)	Days of 27	experiment 28	
normal/number per group	0	10/10	10/10	
, - ,	10	5/5	5/5	
	40	5/5	5/5	
	160	5/5	5/5	
	640	4/10	0/10	
decrease spon. motor act.	0	0	0	
	10	0	0	
	40	0	0	
	160	0	0	
	640	3	2	
staggering gait	0	0	0	
+ -	10	0	0	
	40	0	0	
	160	0	0	
	640	4	10	

11

An-pyo Center (OBWS2)

7

Table 2.

-continued Clinical observation

Exp. No. 3220 (115-077)

Sex : Male

Findings of clinical	Dose level	Days of	experi	ment										
observation	(mg/kg)	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41
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
	640	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	· 5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5

Sex : Male

Dose level Days of experiment (mg/kg) 42	5/5 5/5
Dose level (mg/kg)	0
Findings of clinical observation	normal/number per group

An-pyo Center

Table 2. -continued Clinical observation Exp. No. 3220 (115-077)

Sex : Female

Findings of clinical	Dose level	Days of	f experi	ment										
observation	(mg/kg)	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41
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
	640	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5

observation	
Clinical	
-continued	

Table 2.

	4 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
Sex : Female	

Findings of clinical observation	Dose level (mg/kg)	level Days of experiment g/kg) 42	ment
normal/number per group	0	5/2	
	640	5/5	

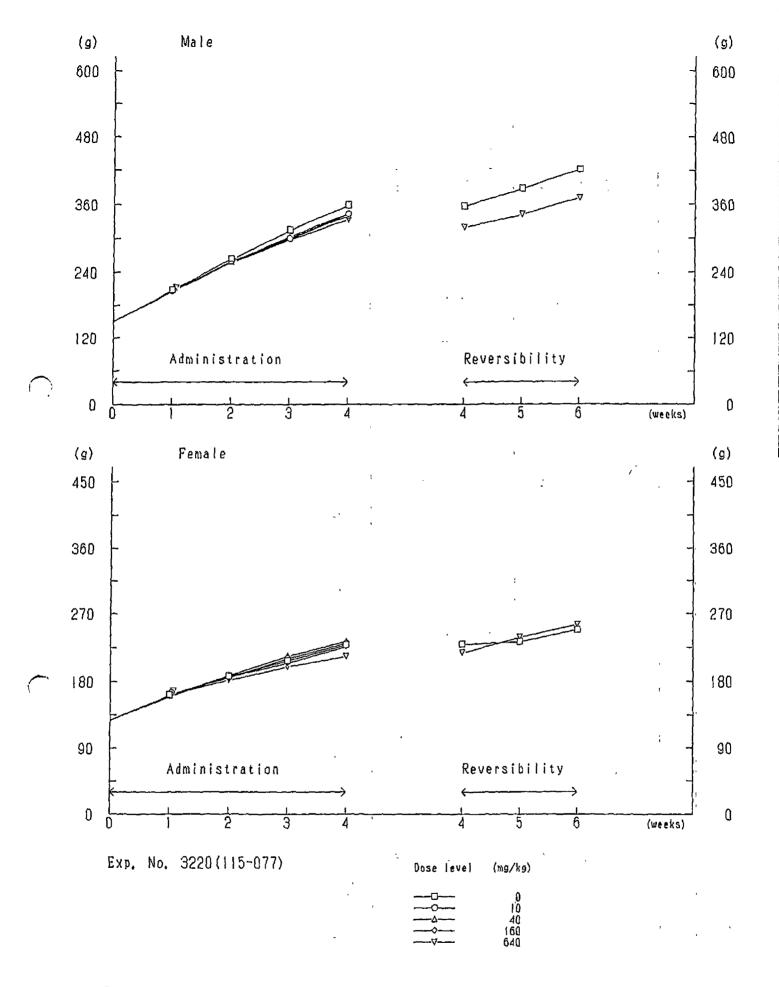


Figure 2. Body weight

Exp. No. 3220 (115-077)

{ unit : g }

Sex	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment	1	2	3	4
Male	0	151 ± 4	207 ± 7	264 ± 13	315 ± 13	359 ± 18
	10	151 ± 6	205 ± 14	259 ± 21	300 ± 20	343 ± 38
	40	151 ± 6	207 ± 13	258 ± 24	302 ± 27	340 ± 36
	160	151 ± 3	205 ± 6	259 ± 8	304 ± 10	344 ± 11
	640	151 ± 5	205 ± 10	258 ± 12	298 ± 12	333 ± 23
Female	0	128 ± 4	162 ± 9	187 ± 15	207 ± 20	228 ± 20
	10	128 ± 4	162 ± 6	185 ± 5	210 ± 6	230 ± 10
	40	128 ± 6	161 ± 14	188 ± 20	213 ± 22	233 ± 26
	160	128 ± 5	160 ± 8	186 ± 10	204 ± 10	226 ± 12
	640	128 ± 5	162 ± 10	182 ± 11	199 ± 14	213 ± 17

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

Table 3. -continued Body weight

Exp. No. 3220 (115-077)

(unit:g)

			(— m » · g /
Sex	Dose level (mg/kg)	Gain (0 → 4)	
Male	0	207 ± 17	
	10	192 ± 36	
	40	189 ± 35	
	160	193 ± 11	
	640	182 ± 25	
Female	0	100 ± 18	
	10	102 ± 7	
	40	105 ± 20	
	160	98 ± 11	
	640	85 ± 15	

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

-continued Body weight

Table 3.

æ l	Dose level	Dose level Weeks of experiment (mg/kg)	9	(ain (4 → 6)	
Male	0	388 ± 21	422 ± 23	65 ± 8	
	640	343 ± 17**	372 ± 19**	54 ± 14	
Female	0	232 ± 20	248 ± 17	19 ± 14	
	040	238 ± 22	255 ± 19	37 ± 7*	

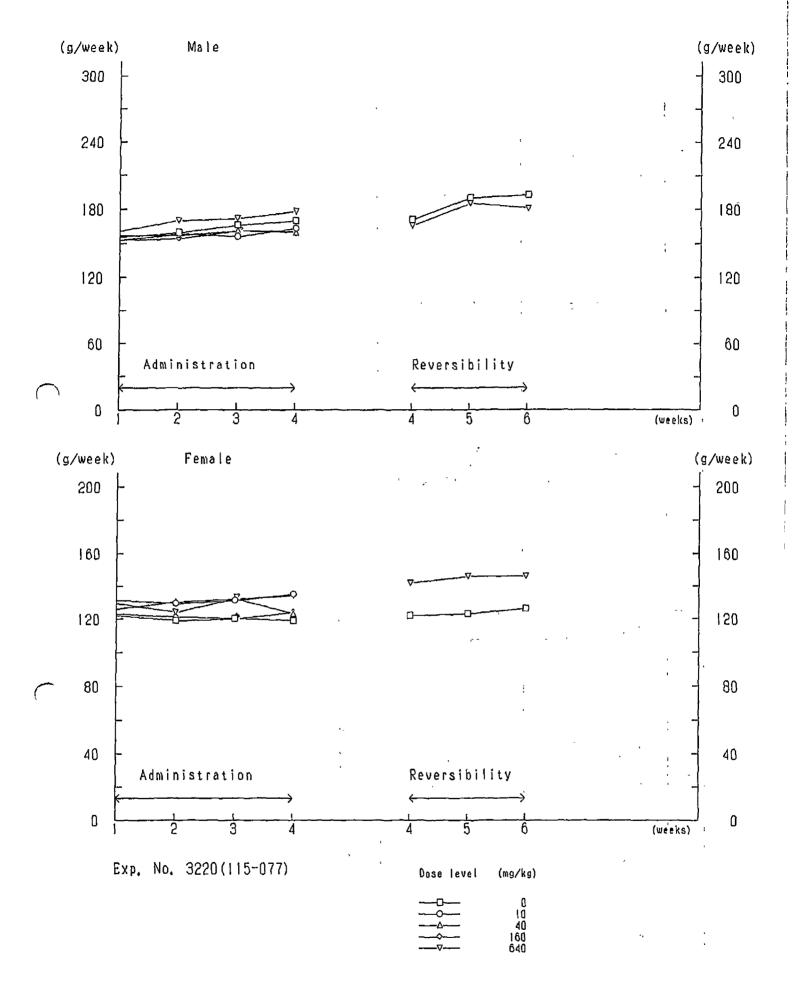


Figure 3. Food consumption

Exp. No. 3220 (115-077)

(unit:g/week)

Sex	Dose level	Weeks of experiment		•		Total
	(mg/kg)	<u> </u>	2	3	4	$(0 \rightarrow 4)$
Male	0	156 ± 12	159 ± 18	166 ± 16	170 ± 19	650 ± 60
	10	153 ± 12	158 ± 17	156 ± 15	163 ± 35	630 ± 73
	40	157 ± 12	157 ± 18	161 ± 14	159 ± 21	634 ± 59
	160	153 ± 8	154 ± 8	161 ± 13	160 ± 11	629 ± 32
,	640	161 ± 9	170 ± 10	172 ± 10	178 ± 21	682 ± 44
Female	0	122 ± 13	119 ± 18	120 ± 17	119 ± 17	479 ± 60
	10	131 ± 11	129 ± 10	131 ± 9	135 ± 5	525 ± 18
	40	126 ± 13	130 ± 16	132 ± 16	123 ± 24	511 ± 68
	160	123 ± 8	121 ± 8	120 ± 6	124 ± 11	488 ± 23
	640	129 ± 8	124 ± 8	132 ± 11	134 ± 15	519 ± 35

Mean ± S.D. Significant difference from control group;

*: P≤0.05

**: P≤0.01

Table 4. -continued Food consumption Exp. No. 3220 (115-077)

(unit:g/week)

Sex	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment 5	6	$ \begin{array}{c} \text{Total} \\ (5 \to 6) \end{array} $	
Male	0	190 ± 20	193 ± 15	382 ± 34	
	640	185 ± 19	181 ± 14	366 ± 32	
Female	0	123 ± 19	126 ± 9	248 ± 25	
	640	146 ± 8*	146 ± 16*	292 ± 24*	

Mean ± S.D. Significant difference from control group;

*: P≦0.05 **: P≤0.01

(unit:%)

Sex	Dose level (mg/kg)	Neeks of experiment	2	3	4	Mean (0 → 4)
Male	0	36.0 ± 2.7	35.8 ± 2.5	31.1 ± 4.2	25.6 ± 3.9	32.0 ± 1.8
	10	35.3 ± 6.0	34.1 ± 2.3	26.6 ± 3.8	25.4 ± 5.8	30.4 ± 2.7
	40	35.8 ± 4.9	31.8 ± 4.2*	27.2 ± 4.3	23.8 ± 4.0	29.7 ± 3.1
	160	35.3 ± 3.2	35.0 ± 1.7	27.9 ± 2.1	25.3 ± 1.7	30.7 ± 0.4
	640	33.7 ± 6.0	30.9 ± 1.8**	23.5 ± 3.4**	19.0 ± 5.8*	26.6 ± 2.4**
esale	0	27.4 ± 3.9	21.4 ± 3.9	16.4 ± 6.9	16.6 ± 8.5N	20.7 ± 1.8
	10	26.3 ± 1.8	17.4 ± 4.1	19.5 ± 2.8	14.5 ± 2.7	19.4 ± 1.9
	40	25.8 ± 4.5	20.9 ± 2.6	19.2 ± 2.0	16.0 ± 1.5	20.5 ± 1.6
	160	25.8 ± 2.9	21.4 ± 3.6	15.4 ± 3.7	17.0 ± 6.6	20.1 ± 1.9
	640	26.2 ± 4.8	16.5 ± 4.7*	12.5 ± 5.3	10.3 ± 6.7	16.4 ± 2.4**

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

Table 5. -continued Food efficiency

Exp. No. 3220 (115-077)

(unit:%)

Sex	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment 5	6	Mean (5 → 6)	
Male	0	16.5 ± 3.1	17.6 ± 2.9	17.1 ± 2.4	
	640	13.1 ± 5.1	16.1 ± 1.2	14.6 ± 2.9	
Female	0	1.9 ± 8.8	12.6 ± 4.4	7.5 ± 5.4	
	640	13.7 ± 5.6*	11.9 ± 4.6	12.8 ± 2.0	

Mean ± S.D. Significant difference from control group;

*: P≤0.05 **: P≤0.01

-

1

*

•

.

Table 6.

Hematology

	_
وملحط	
roon.	- 7

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	HCT (%)	HGB (g/dl)	RBC (x10 ⁸ /mm ²)	MCV (pai ²)	MCH (pg)	MCHC (%)
Male	0	5	45.8 ± 1.2	15.0 ± 0.1	7.23 ± 0.24	63.3 ± 2.5	20.8 ± 0.5	32.8 ± 0.8
	10	5	45.1 ± 0.6	15.0 ± 0.1	7.25 ± 0.21	62.3 ± 2.2	20.7 ± 0.6	33.2 ± 0.5
	40	5	45. 4 ± 0. 4	15.2 ± 0.2	7.42 ± 0.18	61.3 ± 1.3	20.5 ± 0.3	33.5 ± 0.3
	160	5	44.9 ± 1.5	15.1 ± 0.5	7.28 ± 0.29	61.8 ± 3.1	20.8 ± 1.2	33.6 ± 0.5
	640	5	45.8 ± 0.7	15.1 ± 0.2	7.35 ± 0.31	62.4 ± 2.9	20.6 ± 1.0	33.0 ± 0.3
Female	0	5	44.3 ± 0.9	15.4 ± 0.3	7. 43 ± 0. 29	59.6 ± 1.4	20.7 ± 0.8	34.8 ± 0.5
	10	5	43.6 ± 2.6	15.0 ± 0.7	7.41 ± 0.54	58.9 ± 1.4	20.3 ± 0.6	34.5 ± 0.4
	40	5	44.3 ± 0.5	15.4 ± 0.2	7.49 ± 0.21	59.2 ± 1.7	20.6 ± 0.6	34.8 ± 0.5
	160	5	42.4 ± 1.5	15.0 ± 0.6	7.16 ± 0.22	59.3 ± 1.5	21.0 ± 0.3	35.4 ± 0.6
	640	5	45.2 ± 1.6	15.4 ± 0.5	7.52 ± 0.25	60.1 ± 1.2	20.5 ± 0.3	34.1 ± 0.3

Mean ± S.D. Significant difference from control group;

*: P≤0.05 **: P≤0.01

Table 6.

-continued Hematology

Exp. No. 3220 (115-077)

Wastr.

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	PLT (x10 ³ /mm³)	WBC (x10 ³ /nm³)	Differential NEUT	leukocyte o	counts (%)	EOSN	BASO	LUC
Male	0	5	1168 ± 96	9.6 ± 3.9	7 ± 1	91 ± 2	1 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	1 ± 1
	10	5	1081 ± 96	8.9 ± 4.2	7 ± 2	91 ± 1	0 ± 1	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	40	5	1114 ± 109	10.8 ± 3.2	7 ± 2	92 ± 1	1 ± 1	1 ± 1	0 ± 0	0 ± 0
	160	5	1110 ± 119	11.3 ± 4.2	10 ± 4	88 ± 4	1 ± 1	1 ± 1	0 ± 0	1 ± 1
	640	5	1271 ± 151	9.7 ± 3.8	11 ± 4	87 ± 4	1 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Female	0	5	1279 ± 83	6.6 ± 0.7	11 ± 3	87 ± 5	1 ± 1	1 ± 1	0 ± 0	0 ± 1
	10	5	1226 ± 116	6.8 ± 1.2	9 ± 2	88 ± 4	1 ± 1	1 ± 0	0 ± 0	1 ± 1
	40	5	1163 ± 58	6.0 ± 1.2	12 ± 4	85 ± 3	1 ± 0	1 ± 0	0 ± 0	1 ± 0
	160	5	1160 ± 90	5.2 ± 2.7	12 ± 6	85 ± 6	1 ± 0	1 ± 0	0 ± 0	1 ± 0
	640	5	1181 ± 149	4.3 ± 1.4	14 ± 3	85 ± 3	1 ± 1	1 ± 0	0 ± 0	0 ± 1

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

Table 6. -continued Hematology

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	HCT (%)	HGB (g/dl)	RBC (x10 ⁵ /mm²)	MCV (zm³)	MCH (pg)	MCHC (%)
Male	0	5	45.5 ± 1.1	15.7 ± 0.3	7.82 ± 0.13	58.2 ± 1.1	20.1 ± 0.4	34.5 ± 0.7
	640	5	45.7 ± 1.8	15.8 ± 0.5	8. 12 ± 0. 33	56.3 ± 1.2*	19.4 ± 0.6	34.5 ± 0.8
Female	0	5	42.8 ± 1.4	15.1 ± 0.5	7.45 ± 0.23	57.5 ± 1.8	20.3 ± 0.6	35.3 ± 0.2
	640	5	43.5 ± 0.8	15.4 ± 0.4	7.76 ± 0.27	56.2 ± 2.2	19.9 ± 0.9	35.4 ± 0.6

Mean ± S.D. Significant difference from control group;

*: P≤0.05 **: P≤0.01

Table 6.

-continued Hematology

Exp. No. 3220 (115-077)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	PLT (x10 ³ /mm³)	WBC (x10³/mm³)	Differentia NEUT	l leukocyte o LYMPH	counts (%) MONO	EOSN	BASO	LUC
Male	0	5	1134 ± 95N	11.1 ± 2.2	9 ± 3	88 ± 3	1 ± 1	1 ± 1	0 ± 0	1 ± 0
	640	5	1114 ± 11	14.5 ± 2.0*	9 ± 3	88 ± 4	2 ± 1	1 ± 0	0 ± 1	1 ± 0
Female	0	5	1187 ± 86	8.0 ± 3.3	11 ± 9	86 ± 9N	1 ± 1	1 ± 0	0 ± 0	0 ± 1
	640	5	1279 ± 29	9.9 ± 2.3	7 ± 3	91 ± 2	1 ± 0	1 ± 0	0 ± 0	1 ± 0

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

Week: 4

Sex 	Dose level (mg/kg)	No. of animals	PT (sec.)	APTT (sec.)	Fibrinogen (mg/dl)	
ale	0	5	13.7 ± 0.5	23.3 ± 1.7	238 ± 21	
	10	5	13.6 ± 0.5	23.7 ± 1.2	230 ± 15	
	40	5	13.4 ± 1.2	22.5 ± 1.6	218 ± 14	
	160	5	13.9 ± 0.7	23.2 ± 1.1	250 ± 16	
	640	5	13.5 ± 0.3	22.7 ± 0.5	272 ± 13*	
emale	0	5	14.3 ± 0.4	22.2 ± 2.3	191 ± 14	
	10	5	14.1 ± 0.8	22.2 ± 1.2	203 ± 15	
	40	5	14.6 ± 0.6	21.1 ± 1.0	191 ± 15	
	160	5	14.2 ± 0.5	20.9 ± 1.3	204 ± 14	
	640	5	14.3 ± 0.4	20.7 ± 1.0	225 ± 10**	

Mean ± S.D. Significant difference from control group;

*: P≤0.05 **: P≤0.01

Table 7. -continued Coagulation Exp. No. 3220 (115-077)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	PT (sec.)	APTT (sec.)	Fibrinogen (mg/dl)	
Male	0	5	14.2 ± 0.7	24.3 ± 2.0	253 ± 28N	
	640	5	14.1 ± 0.4	24.6 ± 2.6	234 ± 5	
Female	0	5	14. 2 ± 0. 4	21.1 ± 1.1	189 ± 21	
	640	5	14.4 ± 0.2	20.8 ± 1.1	207 ± 10	

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

Table 8. Blood chemistry

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Glucose (mg/dl)	T. cholesterol (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)	
Male	0	5	139 ± 15	49 ± 9	37.4 ± 8.3	
	10	5	148 ± 12	44 ± 8	38.1 ± 13.6	
	40	5	136 ± 13	52 ± 9	50.3 ± 7.0	
	160	5	124 ± 13	53 ± 6	51.4 ± 21.4	
	640	5	122 ± 19	62 ± 10	43.0 ± 11.5	
Female	0	5	105 ± 15	51 ± 12	31.7 ± 5.0N	
	10	5	134 ± 27	55 ± 9	34.5 ± 18.3	
	40	5	125 ± 17	55 ± 13	32.2 ± 8.6	
	160	5	127 ± 14	54 ± 10	29.0 ± 3.3	
	640	5	117 ± 15	61 ± 13	30.8 ± 4.5	

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

Table 8.

-continued Blood chemistry

Exp. No. 3220 (115-077)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	BUN (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)	T.bilirubin (mg/dl)	T. protein (g/dl)	Albumin (g/dl)
Male	0	5	10.7 ± 1.2	0.58 ± 0.08	0.18 ± 0.01	5.57 ± 0.17	3.19 ± 0.10
	10	5	10.0 ± 1.2	0.55 ± 0.04	0.18 ± 0.03	5.27 ± 0.26	3.05 ± 0.16
	40	5	9.5 ± 1.8	0.55 ± 0.10	0.19 ± 0.02	5.47 ± 0.09	3.15 ± 0.09
	160	5	10.6 ± 1.4	0.58 ± 0.08	0.19 ± 0.03	5.48 ± 0.09	3.17 ± 0.04
	640	5	12.3 ± 1.4	0.62 ± 0.08	0.19 ± 0.02	5.60 ± 0.20	3.22 ± 0.13
Female	0.	5 . (14.0 ± 1.4	0.56 ± 0.05	0.23 ± 0.03	5.67 ± 0.20	3.43 ± 0.20
	10	5	13.6 ± 1.5	0.55 ± 0.06	0.23 ± 0.07	5.69 ± 0.31	3.43 ± 0.20
	40	5	12.7 ± 0.9	0.47 ± 0.06	0.23 ± 0.05	5.68 ± 0.31	3.40 ± 0.23
	160	5	14.0 ± 2.5	0.48 ± 0.09	0.21 ± 0.01	5.60 ± 0.36	3.33 ± 0.27
	640	-5	12.9 ± 0.9	0.54 ± 0.10	0.21 ± 0.03	5.80 ± 0.14	3.45 ± 0.10

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

Sex Dos	
ose level (mg/kg)	
No. of animals	
A/G	

					,				
1.34 ± 0.08	1.38 ± 0.08	1.35 ± 0.08	1.38 ± 0.05	1.35 ± 0.06	1.53 ± 0.11	1.53 ± 0.12	1.49 ± 0.07	1.47 ± 0.08	1.48 ± 0.06
ស	ស	ស	រប	νo	ស	ល	ស	ស	ល
0	10	40	160	640	0	10	40	160	070
Male					Fewale				

Wean ± S.D. Significant difference from control group; *: P≤6.05 **: P≤6.01

Table 8.

-continued Blood chemistry

Exp. No. 3220 (115-077)

Week:

Sex ———	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Sodium (mmol/1)	Potassium (mmol/1)	Chloride (mmol/1)	Calcium (mg/dl)	I. phosphate (mg/dl)
Male	0	5	145.4 ± 1.3	4.96 ± 0.85	107.2 ± 1.2	9.73 ± 0.49	9.11 ± 0.94
	10	5	143.7 ± 1.5	4.42 ± 0.31	106.3 ± 1.2	9.34 ± 0.37	8.18 ± 0.59
	40	5	143.9 ± 1.0	4.73 ± 0.29	106.7 ± 1.7	9.59 ± 0.24	8.54 ± 0.67
	160	5	144.1 ± 0.6	4.38 ± 0.25	107.4 ± 0.9	9.52 ± 0.16	7.98 ± 0.38
	640	5	143.3 ± 1.4	4.38 ± 0.46	105.8 ± 1.8	9.44 ± 0.34	8.37 ± 0.46
Female	0	5	143.1 ± 0.4	4.14 ± 0.12	108.6 ± 1.1	9.67 ± 0.22	6.79 ± 0.28N
•	10	5	143.1 ± 1.6	4.32 ± 0.51	108.9 ± 0.6	9.68 ± 0.42	7.17 ± 0.94
	40	5	142.5 ± 0.9	4.37 ± 0.32	108.4 ± 0.6	9.63 ± 0.21	$6.\hat{7}3 \pm 0.62$
	160	5	142.9 ± 0.8	4.42 ± 0.37	110.2 ± 2.0	9.61 ± 0.38	6.87 ± 0.37
	640	5	143.8 ± 1.1	4.40 ± 0.40	109.7 ± 1.9	9.43 ± 0.21	7.87 ± 1.51

Mean \pm S.D. Significant difference from control group; *: $P \le 0.05$ **: $P \le 0.01$ N: Non parametric analysis

Neek: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	GOT (U/1)	GPT (U/1)	ALP (U/1)	Gamma-GTP (U/1)	
Male	0	5	52 ± 12	13 ± 2	136 ± 29	0.1 ± 0.2	
	10	5	52 ± 5	12 ± 1	160 ± 45	0.1 ± 0.1	
	40	5	53 ± 10	13 ± 3	166 ± 28	0.1 ± 0.2	
	160	5	44 ± 5	12 ± 1	157 ± 29	0.3 ± 0.3	
	640	5	53 ± 9	15 ± 3	134 ± 52	0.1 ± 0.2	
esale	0	5	44 ± 8	13 ± 4N	94 ± 17	0.6 ± 0.4	
	10	5	45 ± 10	15 ± 6	94 ± 16	1.2 ± 1.0	
	40	5	47 ± 9	11 ± 2	107 ± 36	0.7 ± 0.3	
	160	5	49 ± 13	10 ± 2	101 ± 35	0.9 ± 0.5	
	640	5	43 ± 8	10 ± 1	89 ± 26	0.6 ± 0.3	

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

 $\frac{1}{2}$

Table 8. -continued Blood chemistry

Exp. No. 3220 (115-077)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Glucose (mg/dl)	T. cholesterol (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)	
Male	0	5	144 ± 11	48 ± 6	41.2 ± 10.8	
	640	5	138 ± 15	44 ± 7	43.5 ± 11.8	
Female	0	5	131 ± 15	62 ± 15	48.5 ± 18.1	
	640	5	138 ± 10	66 ± 9	54.7 ± 11.9	

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

•

-

Week:	6
ENCOR.	n

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	BUN (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)	T. bilirubin (mg/dl)	T. protein (g/dl)	Albumin (g/dl)
Male	0	5	11.1 ± 2.1	0.55 ± 0.13	0.14 ± 0.03	5.60 ± 0.23	3. 14 ± 0. 18
	640	5	10.3 ± 0.9	0.55 ± 0.04	0.15 ± 0.03	5. 59 ± 0. 18	3.08 ± 0.10
Female	0	5	14.6 ± 2.3	0.56 ± 0.10	0.21 ± 0.02	5. 72 ± 0. 39	3.39 ± 0.25
	640	5	13.9 ± 2.4	0.53 ± 0.04	0.18 ± 0.03	5.76 ± 0.30	3.33 ± 0.16

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

-continued Blood chemistry

Exp. No. 3220 (115-077)

6 Week:

Table 8.

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	A/G	
Male	0	5	1.28 ± 0.07	
	640	5	1.23 ± 0.04	
female	0	5	1.46 ± 0.12N	
	640	5	1.37 ± 0.03	

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

Table 8. -continued Blood chemistry

libok		6
-	•	v

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Sodium (mmol/1)	Potassium (mmol/1)	Chloride (mmol/l)	Calcium (mg/dl)	I. phosphate (mg/dl)
Male	0	5	143.5 ± 1.4	3.84 ± 0.34	106.8 ± 1.0	9.77 ± 0.23	7.38 ± 0.60
	640	5	143.4 ± 1.2	4.06 ± 0.23	107.2 ± 1.8	9.75 ± 0.19	7.79 ± 0.57
e r ale	0	5	142.9 ± 1.4	3.98 ± 0.22	109.1 ± 2.2	9.70 ± 0.22	6.06 ± 0.49
	640	5	142.4 ± 1.3	4.08 ± 0.29	109.1 ± 0.7	9.63 ± 0.24	5.88 ± 0.70

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

Table 8.

-continued Blood chemistry

Exp. No. 3220 (115-077)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	GOT (U/1)	GPT (U/1)	ALP (U/1)	Gamma-GTP (U/1)	
Male	0	5	35 ± 5	11 ± 3	123 ± 22	0.2 ± 0.2	
	640	5	38 ± 5	13 ± 4	127 ± 19	0.1 ± 0.1	
Female	0	5	28 ± 2	8 ± 3	62 ± 14	0.1 ± 0.1	
	640	5	26 ± 4	9 ± 2	82 ± 22	0.3 ± 0.2	

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

Week:

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Volume (ml)	Specific Gravity	
Male	0	5	15 ± 5	1.051 ± 0.019	
	10	5	13 ± 3	1.052 ± 0.013	
	40	5	14 ± 4	1.056 ± 0.012	
	160	5	15 ± 3	1.054 ± 0.009	
	640	5	17 ± 4	1.062 ± 0.010	
Fesale	0	5	12 ± 4	1.051 ± 0.013	
	10	5	10 ± 4	1.060 ± 0.017	•
	40	5	12 ± 6	1.066 ± 0.019	
	160	5	10 ± 5	1.069 ± 0.026	
	640	5	8 ± 3	1.073 ± 0.016	

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

Table 9.

-continued Urinalysis

Exp. No. 3220 (115-077)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Color 1 2	3	4	5	6	7	8	9	10 1	1	PH 5	5.5 (3 6	.5	7	7.5	8 8	3.5	≥9	0cc1	ult +/-	Bloo - 1+	d 2	+ 3-	F	
Male	0	5	5																1	1	3	4	1					
	10	5	5													1			1	3		5						
	40	5	5															2		1	2	4		1				
	160	5	5												1					1	3	5						
	640	5	5													2	1	1		1		4		1				
Female	0	5	5													1	1			2	1	4	1			-		
	10	5	5											,	1		1	1		1	1	5						
	- 40	5-	5								-				İ		1	-			3	5			-			
	160	5	5													2		1	1		1	5						
	640	5	5											1 :	2	1	1					4				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.

continued Urinalysis

Neek:

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Keto	nes +/-	1+	2+ 3+	4+	Glucose (g/dl) - 0.1 0.25 0.5 ≥1.0	Proteir - +/	(mg/ - 3((d1) 100	≥300		
ale	0	5	1	1	3			5	1	L 1	3	}		
	10	5	1	1	3			5	1	l i	3 1			
	40	5	1	2	2			5		4	1 1			
	160	5		3	2			5		4	. 1			
	640	5		1	4			5		1	4	ļ		
enale	0	5	3	2				5	1		3 1			
	10	5	2	3		s	4	5	1 1	i 2	2 1			
	40	5	2	2	1		•	5	1	. 2	3 1	. 1		
	160	5	2	1	2			5	2	1	2	}	7	
	640	5	1	2	2			5	1		l			

An-Pyo Center (ctql) 9984 Page 3

Table 9. -continued Urinalysis Exp. No. 3220 (115-077)

Week:

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Bilirubin - 1+ 2+ 3+	Urobilinogen (E. U. /dl) 0.1 1.0 2.0 4.0 8.0 ≥12
Male	0	5	4 1	1 4
	10	5	5	1 4
	40	5	5	3 2
	160	5	5	1 4
	640	5	2 3	5
Female	0	5	5	4 1
	10	5	5	2 3
	- 40	5 ·	5	1 4
	160	5	5	2 3
	640	5	5	2 3

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of ani∎als	Erythrocytes - 1+ 2+ 3+	Leukocytes - 1+ 2+ 3+	Epith. Cells - 1+ 2+ 3+	Casts - +	Fat glob.	M. threads	others - +
l ale	0	5	5	5	5	5	5	5	5
	10	5	5	5	5	5	5	5	5
	40	5	5	5	5	5	5	5	5
	160	5	5	5	5	5	5	4 1	5
	640	5	5	5	5	5	5	5	5
emale	0	5	5	5	5	5	5	5	5
	10	5	5	5	5	5	5	5	5
	40	5	5	5	5	5	5	5	5
	160	5	5	5	5	5	5	5	5
	640	5	5	5	5	5	5	5	5

others : Crystals

Table 9. -continued Urinalysis

Exp. No. 3220 (115-077)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Volume (ml)	Specific Gravity	
Male	0	5	24 ± 3	1.044 ± 0.003	
	640	5	21 ± 4	1.051 ± 0.012	
Female	0	5	17 ± 4	1.042 ± 0.011	
	640	5	24 ± 8	1.031 ± 0.015	

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

Exp. No. 3220 (115-077)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Color 1 2 3	4 5 6 7 8 9 10 11	pH 5 5.5 6 6.5 7 7.5 8	8. 5	≥9	Occult Blood	2+ 3+
Male	0	5	5		1	3	1	4	1
	640	5	5			1	4	3 2	
Female	0	5	5		1	2	2	5	
	640	5	5		2 1	1	1	5	

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

Exp. No. 3220 (115-077)

-continued Urinalysis

Table 9.

Week: 6	9				
Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Dose level No. of Ketones (mg/kg) animals - +/- 1+ 2+ 3+ 4+	Glucose $(g/d1)$ - 0.1 0.25 0.5 \ge 1.0	Protein{mg/d1} - +/- 30 100 ≥300
Male	0	വ	1 4	വ	1 4
	640	រេ	8 3	വ	သ
Female	0	വ	ശ	ಬ	4 1
	640	ស	4 1	ស	3 1 I

Table 9. -continued Urinalysis

:Xee	9			
Xex .	Dose level (Mg/kg)	No. of animals	Sex Dose level No. of Bilinibin (mg/kg) animals ~1+2+3+	Urobilinogen (E. U. /dl) 0. 1 1. 0 2. 0 4. 0 8. 0 ≥12
Male	0	വ	ល	4 1
	640	, LO	വ	3 2
Female	0	2	e e	3 2
	640	വ	ഹ	4 1

An-Pyo Center (ctql) Page 1

Table 9.

-continued Urinalysis: Microscopic examination of sediment

Exp. No. 3220 (115-077)

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	5
	640	5	5	5	5	5	5	5	5
Fenale	0	5	5	5	5	5	5	5	5
	640	5	5	5	5	5	5	5	3 2

others : Crystals

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Body weight (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidneys (g)	Spleen (g)
Male	0	5	361 ± 17	2.08 ± 0.07	11.49 ± 1.19	2.98 ± 0.18	0.63 ± 0.09
	10	. 5	343 ± 38	2.05 ± 0.06	10.46 ± 1.12	2.70 ± 0.10	0.54 ± 0.14
	40	5	340 ± 36	2.05 ± 0.03	10.67 ± 1.69	2.66 ± 0.20	0.59 ± 0.15
	160	5	344 ± 11	2.05 ± 0.06	10.19 ± 0.65	2.68 ± 0.24	0.57 ± 0.05
	640	5	347 ± 25	1.98 ± 0.05	11.69 ± 0.98	2.93 ± 0.36	0.60 ± 0.10
emale	0	5	226 ± 18	1.95 ± 0.08	6.88 ± 0.72	1.77 ± 0.17	0.45 ± 0.08
	10	5	230 ± 10	1.91 ± 0.09	7.26 ± 0.77	1.86 ± 0.12	0.45 ± 0.06
	40	5	233 ± 26	1.92 ± 0.03	6.82 ± 0.79	1.96 ± 0.17	0.44 ± 0.07
	160	5	226 ± 12	1.94 ± 0.08	7.16 ± 1.10	1.91 ± 0.22	0.43 ± 0.07
	640	5	209 ± 19	1.87 ± 0.03	7.29 ± 0.58	1.75 ± 0.07	0.39 ± 0.02

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

Table 10. -continued Organ weight

Exp. No. 3220 (115-077)

Week:

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Adrenals (mg)	Testes (g)	Ovaries (mg)	Thymus (mg)	
Male	0	5 ,	49 ± 4	3.06 ± 0.21		696 ± 135	
	10	5	55 ± 6	2.92 ± 0.31		618 ± 113	
	40	5	47 ± 5	2.98 ± 0.20		550 ± 100	
	160	5	55 ± 3	2.94 ± 0.14		545 ± 58	
	640	5	55 ± 9	3.04 ± 0.11		567 ± 100	
Female	0	5	71 ± 7		86 ± 13	478 ± 82N	
	10	5	70 ± 8		86 ± 15	442 ± 16	
	40	5	73 ± 12		88 ± 10	459 ± 87	
	160	5	75 ± 10		90 ± 15	474 ± 28	
	640	5	69 ± 12		100 ± 31	355 ± 26*	

Mean \pm S.D. Significant difference from control group; *: $P \le 0.05$ **: $P \le 0.01$ N: Non parametric analysis

Table 10. -continued Organ weight

	_
Marie.	6
Week:	v

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Body weight (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidneys (g)	Spleen (g)
Male	0	5	422 ± 23	2.16 ± 0.07	12.45 ± 1.35	3.01 ± 0.20	0.74 ± 0.08
	640	5	372 ± 19**	2.06 ± 0.08	11.19 ± 0.91	2.87 ± 0.33	0.68 ± 0.06
Female	0	5	248 ± 17	1.96 ± 0.08	7.07 ± 0.64	1.81 ± 0.04N	0.49 ± 0.11
	640	5	255 ± 19	2.01 ± 0.06	8.02 ± 0.86	2.03 ± 0.25	0.54 ± 0.04

Mean \pm S. D. Significant difference from control group; *: $P \le 0.05$ **: $P \le 0.01$ N: Non parametric analysis

An-Pyo Center (orgn) 9984 Page 2

=

 $\widehat{\Box}$

Table 10. -continued Organ weight

Exp. No. 3220 (115-077)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Adrenals (mg)	Testes (g)	Ovaries (mg)	Thymus (mg)	
Male	0	5	61 ± 6	3.10 ± 0.21		508 ± 32	
	640	5	55 ± 4	3.05 ± 0.24		490 ± 98	
Female	0	5	75 ± 18		88 ± 17	448 ± 110	
	640	5	80 ± 13		106 ± 20	415 ± 61	

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

-

_

Week: 4

Sex 	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Body weight (g)	Brain (%)	Liver (%)	Kidneys (%)	Spleen (%)
Male	0	5	361 ± 17	0.578 ± 0.040	3.187 ± 0.294	0.826 ± 0.034	0.173 ± 0.019
	10	5	343 ± 38	0.604 ± 0.064	3.054 ± 0.103	0.793 ± 0.073	0.156 ± 0.025
	40	5	340 ± 36	0.609 ± 0.066	3.123 ± 0.205	0.786 ± 0.048	0.171 ± 0.028
	160	5	344 ± 11	0.597 ± 0.014	2.966 ± 0.233	0.778 ± 0.057	0.166 ± 0.012
	640	5	347 ± 25	0.574 ± 0.041	3.367 ± 0.141	0.842 ± 0.076	0.174 ± 0.023
Fe r ale	0	5	226 ± 18	0.865 ± 0.074	3.036 ± 0.083	0.784 ± 0.048	0.197 ± 0.029
•	10	5	230 ± 10	0.829 ± 0.031	3. 151 ± 0. 246	0.806 ± 0.021	0.197 ± 0.027
	40	5	233 ± 26	0.831 ± 0.097	2.931 ± 0.190	0.845 ± 0.061	0.189 ± 0.025
	160	5	226 ± 12	0.858 ± 0.021	3. 158 ± 0. 322	0.842 ± 0.055	0.192 ± 0.022
	640	5	209 ± 19	0.900 ± 0.076	3.497 ± 0.197*	0.840 ± 0.069	0.188 ± 0.017

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

**: P≤0.01

Table 11. -continued Organ weight per body weight

Exp. No. 3220 (115-077)

Week:

Sex 	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Adrenals (%)	Testes (%)	Ovaries (%)	Thymus (%)	
Male	0	5	0.014 ± 0.001	0.848 ± 0.051		0.193 ± 0.033	
	10	5	$0.016 \pm 0.001*$	0.854 ± 0.078		0.181 ± 0.031	
	40	5	0.014 ± 0.002	0.881 ± 0.081		0.165 ± 0.045	
	160	5	0.016 ± 0.000*	0.854 ± 0.042		0.158 ± 0.013	
	640	5	0.016 ± 0.002	0.879 ± 0.062		0.163 ± 0.024	
Female	0	5	0.031 ± 0.001		0.038 ± 0.004N	0.211 ± 0.029	
	10	5	0.030 ± 0.003		0.038 ± 0.006	0.193 ± 0.013	
	40	5	0.031 ± 0.005		0.038 ± 0.003	0.198 ± 0.036	
	160	5	0.033 ± 0.004		0.040 ± 0.005	0.210 ± 0.015	
	640	5	0.033 ± 0.007		0.048 ± 0.014	0.170 ± 0.014	

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

Neek	:	6	
TOCK	•	•	

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Body weight (g)	Brain (%)	Liver	Kidneys	Spleen
Male	0	5	422 ± 23	0.513 ± 0.021	2.945 ± 0.161	0.713 ± 0.021N	0.175 ± 0.014
	640	5	372 ± 19**	0.555 ± 0.030*	3.001 ± 0.129	0.771 ± 0.090	0.184 ± 0.026
Female	0	5	248 ± 17	0.793 ± 0.049	2.855 ± 0.220	0.734 ± 0.049	0.196 ± 0.035
	640	5	255 ± 19	0.794 ± 0.059	3.142 ± 0.148*	0.795 ± 0.061	0.212 ± 0.017

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

Page 2

Table 11. -continued Organ weight per body weight

Exp. No. 3220 (115-077)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Adrenals (%)	Testes	Ovaries (%)	Thymus (%)	
Male	0	5	0.014 ± 0.002	0.737 ± 0.063		0.121 ± 0.011	
	640	5	0.015 ± 0.002	0.822 ± 0.083		0.132 ± 0.024	
Female	0	5	0.031 ± 0.007		0. 035 ± 0. 005	0.181 ± 0.043	
	640	5	0.031 ± 0.004		0.041 ± 0.005	0.165 ± 0.036	

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

*: P≤0.05 **: P≤0.01

Table 12.

Dose level (mg/kg) No. of animals necropsied Organ Findings	ಾ ಬ	<u>ವ</u> ್	5 ro	10c
RESPIRATORY SYSTEM brown patch/zone lung red patch/zone	0 0	NO	****	8∺
DIGESTIVE SYSTEM	c	c	c	c

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

Exp. No. 3220 (115-077)

Sex: Male

Dose level (mg/kg) 640
No. of animals necropsied 5
Organ_____ Findings_

RESPIRATORY SYSTEM
lung brown patch/zone 2
red patch/zone 1

DIGESTIVE SYSTEM
liver malformative nodule 1

Table 12continued Summary of gross findings (sacrificed at	lat 4 week)		Exp. No. 3220 (115-077)
Sex: Female			
Dose level (mg/kg) No. of animals necropsied Organ Findings	വഠ	10 40 5 5	160 5
HEMATOPOIETIC SYSTEM Lymph node enlarged	o	1 0	0
RESPIRATORY SYSTEM lung brown patch/zone	1	2	0
unoracic cavity Rass Rediastinum Rass	00	00	00
URINARY SYSTEM scarred	O	0	0
REPRODUCTIVE SYSTEM uterus dilated lumen	0	1 0	0
MISCHLOSKELETAL SYSTEM diaphrague nodule	0	1 0	0

Table 12cont	inued Summary of gross findings	(sacrificed at	4 week)	Exp.	No.	3220	(115-077)
Sex: Female							
No. of animals nec	/kg) ropsied ndings	640 5					
HEMATOPOIETIC SYST lymph node en	EM larged	0					
thoracic cavity	l own patch/zone uss	0					
mediastinum ma		Ŏ					
URINARY SYSTEM kidney sc	arred	0					
REPRODUCTIVE SYSTE uterus di	M lated lumen	1					
MUSCULOSKELETAL SY diaphragma no	STEM dule	0					

Table 12.	-continued Summary of gross findings	(sacrificed at	6 week)		Exp. No. 3220 (115-077)
Sex: Male		,			
Dose level No. of anim Organ	Dose level (mg/kg) No. of animals necronsied Organ Findings	വഠ	10	0 4 0	160
RESPIRATORY lung	RESPIRATORY SYSTEM Lung brown patch/zone		1 1	1 1	4 1

 \bigcirc

Table 12.	-continued Summary of gross findings (sacrificed at 6 week)	EXp. N	Exp. No. 3220 111
Sex: Male		i	
Dose level No. of animals Organ	Oose level (mg/kg) No. of animals necropsied Organ Findings		
RESPIRATORY Lung	RESPIRATORY SYSTEM Lung brown patch/zone red patch/zone 0		

Table 12continued Summary of gross findings (sacrificed at 6 week	ificed at 6	week)		Exp. No. 3220 (115-077)
Sex: Female				
Dose level (mg/kg) No. of animals necropsied Organ Findings	ဝဟ	10 0	40	160 0
REPRODUCTIVE SYSTEM uterus dilated lumen	-1	ı	1	ì
ENDOCRINE SYSTEM adrenal gland hypertrophic	,	1	,	1

 \Rightarrow

Table 12continued Summary of gross findings (sacrificed at	6 week)	Exp. No. 3220 (115-077)
Sex: Female		
Dose level (mg/kg) 640 No. of animals necropsied 5 Organ Findings_		
REPRODUCTIVE SYSTEM uterus dilated lumen 0		
ENDOCRINE SYSTEM adrenal gland hypertrophic 1		

	Male	animals			Femal	e anima	als	
ose level (mg/kg) o. of animals necropsied Organ Findings	Am 5	Ban 5	Cas 5	Dag 5	Af 5	e anima Bf 5	C <u>f</u> 5	Df 5
EMATOPOIETIC SYSTEM lymph node enlarged	0	0	0	0	0	1	0	0
ESPIRATORY SYSTEM lung brown patch/zone red patch/zone	0	2	1 1	2 1	1 0	2	2 0	0
thoracic cavity mass mediastinum mass	0	0	0	0	0	1	0	0
RINARY SYSTEM kidney scarred	0	0	0	0	0	1	0	0
EPRODUCTIVE SYSTEM uterus dilated lumen	-	-	-	-	0	1	0	0
iusculoskeletal system diaphragua nodule	0	0	0	0	0	1	0	0

Am: 0 Bm: 10 Cm: 40 Dm: 160 Af: 0 Bf: 10 Cf: 40 Df: 160 Significant difference from control group; $*: P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

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

Exp. No. 3220 (115-077)

No. of animals ne	g/kg) cropsied 'indings		Male Am 5	animals Bm O	Cm O	Dm O		Femal Af 5	e anima Bf O	cf Cf	D f 0	
RESPIRATORY SYSTE	M brown patch/zone red patch/zone		<u>i</u> 1	0	0	0		0	0	0	0	
REPRODUCTIVE SYST	EM lilated lumen	1	_	_	_	-		1	0	0	0	
ENDOCRINE SYSTEM adrenal gland h	ypertrophic		0	0	0	0	~	1	0	0	0	

Am: 0 Bm: 10 Cm: 40 Af: 0 Bf: 10 Cf: 40 Significant difference from control group; $*: P \leq 0.05$

Sex:	Male
------	------

Dose level (No. of animals No. of animals Organ	mg/kg) sacrificed at 4 week necropsied examined histologically Findings	T	1	05552	3	10 5 5 5 7 1 2 3	40 5 5 5 7 1 2 3	160 5 5 5 7 1 2 3
CARDIOVASCULAR (SYSTEM fibrosis	(5)_	2	0	0	(0)	(0)	(0)
RESPIRATORY SYS	TEM hemorrhage cellular infiltration cellular infiltration, lymphocyte hypertrophy, media, artery	(5)	1 0 1 3	0 0 0	0 0 0	(5) - 2 0 0 - 2 0 0 - 0 0 0 - 1 0 0	(5) - 2 0 0 - 1 0 0 - 0 0 0 - 2 0 0	(5) - 3 0 0 - 2 0 0 - 1 0 0 - 1 0 0
DIGESTIVE SYSTE	mecrosis, focal cellular infiltration cellular infiltration, lymphocyte microgramuloma hepatodiaphragmatic nodule	(5) - - - -	1 1 2 0	00000	00000	(0)	(0)	(0)
URINARY SYSTEM kidney	basophilic tubules cast, hyaline eosinophilic body mineralization cellular infiltration, lymphocyte	(5)	3 0 2 1 3	0000	0 0 0 0 0	(5) - 4 0 0 - 0 0 0 - 0 2 0 - 0 0 0 - 2 0 0	(5) - 5 0 0 - 1 0 0 - 4 0 0 - 0 0 0 - 3 0 0	(5) - 3 0 0 - 0 0 0 - 3 2 0 - 0 0 0 - 2 0 0
ENDOCRINE SYSTE adrenal gland	M degeneration, vacuolar	(5)	3	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. 3220 (115-077)

/-	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •		-11p- 110- 0100 (220-011)
Sex: Male	,		•
Dose level No. of animals No. of animals No. of animals Organ	(mg/kg) s sacrificed at 4 week necropsied s examined histologically Findings	640 5 5 5 T 1 2 3	
CARDIOVASCULAI heart	R SYSTEM fibrosis	(5) 1 0 0	
RESPIRATORY SY lung	hemorrhage cellular infiltration cellular infiltration, lymphocyte hypertrophy, media, artery	(5) - 3 0 0 - 3 0 0 - 1 0 0 - 2 0 0	
DIGESTIVE SYST		(5) - 1 0 0 - 0 0 0 - 1 0 0 - 2 0 0 - 1 0 0)
URINARY SYSTEM kidney	basophilic tubules cast, hyaline eosinophilic body mineralization cellular infiltration, lymphocyte	(5) - 5 0 0 - 0 0 0 - 3 2 0 - 0 0 0 - 1 0 0	•
ENDOCRINE SYS	TEM d degeneration, vacuolar	(5) - 2 0 0	,

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

Dose level No. of animals No. of animals No. of animals Organ	mg/kg) sacrificed at 4 week necropsied examined histologically Findings	T	1	05552	3	T	1	10 5 5 5 5 2	3	T	1	40 55 55 2	3	T	16	5 5 5	3
CARDIOVASCULAR heart	SYSTEM fibrosis	(5)	0	0	0	(0)		_	-	(0)	-	_	_	(0)	_	_	-
HEMATOPOIETIC S spleen lymph node	SYSTEM deposit, pigment follicular hyperplasia	(5)	0	0	0 -	(0)	- 1	- 0	- 0	(0)		-	- -	(0)	-	- -	-
RESPIRATORY SYS lung pleura	hemorrhage cellular infiltration cellular infiltration, lymphocyte inflammatory infiltration hypertrophy, media, artery fat granuloma	(5)	3 2 1 0 0	00000	0000	(5)	2 1 0 1 1	00000	0 0 0 0 0	(5)	1 2 0 0 1	00000	0 0 0 0	(5)	0 0 0 0 2	00000	0 0 0 0 0
DIGESTIVE SYSTE esophagus liver	diverticula fatty change, peripheral microgramuloma	(0)	- 0 4	- 0 0	- 0 0	(1)	1	0	0	(0)				(0)	-		-
URINARY SYSTEM kidney	basophilic tubules cellular infiltration, lymphocyte fibrosis, scar	(5)	2 1 0	0	0 0	(1)	0 0 1	0	0 0 0	(0)		-	- -	(0)	<u>-</u>		- - -
REPRODUCTIVE SY uterus	YSTEM dilatation, lumen	(0)	_	_	~	(1)	1	0	0	(0)_	-	_	_	(0)	_	_	_
MUSCULOSKELETAI diaphragma	L SYSTEM microgranuloma	(0)	-	~	_	(1)	1	0	0	(0)	-	_	-	(0)	_	_	-

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked =: benign #: malignant (): No. of animals examined microscopically at this site.

^{-:} Not applicable.

	ontinued Summary of histological f	indings	(sa	cr:	ific	ed at	4 we	ek)				Exp.	No.	3220	(115-	077)
Dose level (No. of animals of No. of animals of No. of animals of Organ	mg/kg) sacrificed at 4 week necropsied examined histologically Findings	Т	64	0 5 5 5 2	3				 							
CARDIOVASCULAR S heart	SYSTEM fibrosis	(5)_	2	0	0											
HEMATOPOIETIC SY spleen lymph node	YSTEM deposit, pigment follicular hyperplasia	(5)	1 -	0 -	0 -											
RESPIRATORY SYSTEM	hemorrhage cellular infiltration cellular infiltration, lymphocyte inflammatory infiltration hypertrophy, media, artery fat granuloma	(5)	0	00000	0 0 0 0 0						_				-	
DIGESTIVE SYSTE esophagus liver	_ ,	(0) (5) -	- 1 2	- 0 0	- 0 0				-	-			_			
URINARY SYSTEM kidney	basophilic tubules cellular infiltration, lymphocyte fibrosis, scar	(5 <u>)</u> - -	2 0 0	0000	0 0			-			-					
REPRODUCTIVE SYLUTERUS	STEM dilatation, lumen	(1)	1	0	0	•				•						
MUSCULOSKELETAL diaphragma	SYSTEM microgranuloma	(0)	_	_	_			·		, 						-

-: Not applicable.

^{2:} moderate 3: marked

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked =: benign #: malignant (): No. of animals examined microscopically at this site.

Table 14.	continued Summary of histological f	indings	(s	acr	ifiœ	ed at 6 week)		Exp. No. 3220 (115-077)
Sex: Male								•
No. of animals	(mg/kg) sacrificed at 6 week necropsied examined histologically Findings	T	1	055552	3	10 0 0 0 0 T 1 2 3	40 0 0 0 0 0 T 1 2 3	160 0 0 0 T 1 2 3
RESPIRATORY SY:	hemorrhage cellular infiltration cellular infiltration, lymphocyte hypertrophy, media, artery	(5) - - -	2 2 0 0	0000	0 0 0			
URINARY SYSTEM kidney	basophilic tubules dilatation, tubules eosinophilic body cellular infiltration,lymphocyte	(5)	2 0 1 0	0 0 2 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 14conti	inued Summary of histological findings (sacr	rificed at 6 week)
Sex: Male			
No. of animals necr	Vkg) rificed at 6 week ropsied nined histologically ndings T 1	640 5 5 5 2	3
cel cel	(5) morrhage - 1 llular infiltration - 1 llular infiltration, lymphocyte - 2 pertrophy, media, artery - 2	0 0 0	0 0 0 0
dí.)	sophilic tubules - 4 latation, tubules - 1 sinophilic body - 4 llular infiltration, lymphocyte - 1	0 0	0 0

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked =: benign #: malignant (): No. of animals examined microscopically at this site.

^{-:} Not applicable.

IODIC 14.	continued possess or introduced or	11/11/11/20	` ~	~~,	~	~ uo o	7100	. ,		114. NO. ODGO (110 0)1)
Sex: Female										
No. of animals	(mg/kg) sacrificed at 6 week necropsied examined histologically Findings	T	1	05552	3	T 1	10 0 0 0 1 2	3	40 0 0 0 T 1 2 3	160 0 0 0 T 1 2 3
RESPIRATORY SY	STEM	(5)								
lung	cellular infiltration cellular infiltration, lymphocyte	-	0 1	0	0		 	-		
REPRODUCTIVE S	YSTEM									
uterus	dilatation, lumen	(1)	1	0	0		- -	-		
ENDOCRINE SYST	EM .	/ 41								·
adrenal gland	hypertorophy, zona fasciculata	(1)	1	0	0			<u>-</u>		

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked
=: benign #: malignant
(): No. of animals examined microscopically at this site.

^{-:} Not applicable.

Table 14continue	Summary of	f histological	findings	(sacrificed at	6 week)
		•			

Exp. No. 3220 (115-077)

Dose level (mg/kg) No. of animals sacrificed at 6 week No. of animals necropsied No. of animals examined histologically Organ Findings	640 5 5 5 T 1 2 3	

RESPIRATORY SYSTEM (5) lung cellular infiltration cellular infiltration, lymphocyte

REPRODUCTIVE SYSTEM uterus (0) dilatation, lumen

ENDOCRINE SYSTEM adrenal gland (<u>1)</u> - 1 0 <u>0</u> hypertorophy, zona fasciculata

Sex: Female

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

		Male	Male animals			Femal	e anima	als		
Dose level No. of animals Organ	(mg/kg) s necropsied Findings	Am 5	Bu 5	Ca 5	D _m 5	Af 5	Bf 5	Cf 5	Df 5	
CARDIOVASCULAI	R SYSTEM									
heart	fibrosis	2	-	-	-	0	-	-	_	
HEMATOPOIETIC	SYSTEM									
lymph node	follicular hyperplasia	-	-	-	-	-	1	-	-	
RESPIRATORY ST										
<u>-</u>	hemorrhage cellular infiltration cellular infiltration, lymphocyte inflammatory infiltration hypertrophy, media, artery	1 0 1 0 3	2 0 0 1	2 1 0 0 2	3 2 1 0 1	3 2 1 0 0	2 1 0 1 1	1 2 0 0	0 0 0 2	
pleura	fat granuloma	-	_	-	-	٠ 🕳	1	-		
DIGESTIVE SYS	TEM :									
esophagus	diverticula	-	-	-	-	-	1	_	· _	
liver	necrosis, focal cellular infiltration cellular infiltration, lymphocyte microgramuloma	1 1 2	-	-	- - -	0 0 0 4	-	- - -	- - -	
URINARY SYSTE	Ж									
kidney	basophilic tubules cast, hyaline eosinophilic body mineralization cellular infiltration, lymphocyte fibrosis, scar	3 0 2 1 3 0	4 0 2 0 2 0	5 1 4 0 3 0	3 0 5 0 2	2 0 0 0 1	0 0 0 0 0	- - - -	-	
REPRODUCTIVE :	SYSTEM									
ancei az	dilatation, lumen		_	_	-		1		-	
Am: 0	Bm: 10 Cm: 40	Da	: 160							

Am: 0 Bm: 10 Cm: 40 Dm: 160 Af: 0 Bf: 10 Cf: 40 Df: 160 Significant difference from control group; $*: P \le 0.05$ **: $P \le 0.01$

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

Exp. No. 3220 (115-077)

Dose level No. of animals Organ	(mg/kg) necropsied Findings		Male a Am 5	animals Bm 5	Cm 5	Dm 5	Fema Af 5	le anima Bf 5	Als Cf 5	D f 5	
ENDOCRINE SYSTI adrenal gland	IM degeneration, vacuolar		3	_		_	0	-	_	_	
MUSCULOSKELETAI	-						-				
diaphragma	microgranuloma		-	-	-	_	-	1	-	_	
Am: 0	Bm: 10 Rf: 10	Cm: 40 Cf: 40	Dm:	160 160							

Af: 0 Bf: 10 Cf: 40 Df: 160 Significant difference from control group; $*: P \le 0.05$ **: $P \le 0.01$

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

Dose level (No. of animals	mg/kg) necropsied Findings		Male Am 5	animals Bm O	Cm O	Dm O	Femal Af 5	le anima Bf 0	Cf 0	D f 0	
RESPIRATORY SYS	TIEM										
lung	hemorrhage cellular infiltration cellular infiltration,	L ym phocyte	2 2 0	=	-	- -	0 0 1	- - -	- - -	- -	
URINARY SYSTEM											
kidney	basophilic tubules eosinophilic body		2 3	-	-	<u>-</u>	-	-	- -	-	
REPRODUCTIVE SY	STEM										
uterus	dilatation, lumen		-	-	-	-	1	-	-	-	
ENDOCRINE SYSTE	DM .										
adrenal gland	hypertorophy, zona fas	ciculata	-	-	-	-	1	-	-	-	
Am · O	Rm · 10	Cm · 40	<u> </u>	. 160			 				

Am: 0 Bm: 10 Cm: 40 Dm: 160 Af: 0 Bf: 10 Cf: 40 Df: 160 Significant difference from control group; $*: P \le 0.05$ **: $P \le 0.01$