

最 終 報 告 書

N,N'-(1,2-エタンジイル)ビスオクタデカンアミドのラットを用いる

28 日間の反復投与毒性試験

試験番号：4200（ 115－118 ）

平成 12 年 9 月 28 日

試験委託者

厚生省 生活衛生局

財団法人

食品農医薬品安全性評価センター

目次

1. 要約	3
2. 表題	4
3. 試験目的	4

10. 被験物質	6
11. 試験材料および方法	8
12. 観察, 測定および検査	11
13. 試験結果	16
14. 考察および結論	20
15. 参考文献	21

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

Tables	T-01~59
Table 1 Survival and mortality	T-01
Table 2 Clinical observation	T-03
Table 3 Body weight	T-09
Table 4 Food consumption	T-12
Table 5 Food efficiency	T-14
Table 6 Hematology	T-16
Table 7 Coagulation	T-20
Table 8 Blood chemistry	T-22
Table 9 Urinalysis	T-32
Table 10 Organ weight	T-42
Table 11 Organ weight per body weight	T-46

Table 12	Summary of gross findings with statistical analysis (4, 6 Weeks experiment)	T-50
Table 13	Summary of histological findings with statistical analysis (4 Weeks experiment)	T-52
Table 14	Summary of histological findings (4 Weeks experiment)	T-54
Table 15	Summary of histological findings in dosed and recovery experiment (sacrificed)	T-56

1. 要約

N,N'-(1,2-エタンジイル)ビスオクタデカンアミドの反復投与毒性を明らかにするため、Crj:CD (SD) IGS 系ラットを用いた 28 日間反復投与毒性試験を実施した。

ラットは 1 群雌雄各 5 匹で 4 試験群、対照群および高用量群には雌雄各 5 匹の回復群を設け、計 60 匹を使用した。

被験物質をコーンオイルに懸濁して、0, 100, 300 および 1000 mg/kg に相当する量を毎日 1 回、4 週間反復強制経口投与し、一般状態の観察、体重測定、摂餌量測定、血液学検査、血液凝固能検査、血液生化学検査、尿検査、器官重量測定および病理学検査を行った。なお、回復期間は 2 週間とし、投与終了時と同様な検査を実施した。

その結果は次のとおりに要約される。

一般状態の観察の結果、雌雄いずれの群にも異常動物は認められず死亡例もみられなかった。

体重および摂餌量の測定ならびに飼料効率算出の結果、雌雄いずれの投与群とも被験物質投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。

血液学検査、血液凝固能検査および血液生化学検査の結果、雌雄いずれの投与群とも被験物質投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。

尿検査の結果、被験物質投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。

器官重量測定の結果、雌雄ともすべての器官について対照群と被験物質投与群で差は認められなかった。

病理学検査の結果、剖検所見ならびに組織所見に被験物質投与の影響が示唆される所見は観察されなかった。

以上の結果、雌雄とも 1000 mg/kg 群において被験物質投与に起因する変化が認められなかった。従って、無影響量は雌雄とも 1000 mg/kg/day と判断された。

2. 表題

N,N'-(1,2-エタンジイル)ビスオクタデカンアミドのラットを用いる 28 日間の反復投与毒性試験

3. 試験目的

N,N'-(1,2-エタンジイル)ビスオクタデカンアミドの安全性を評価するために、ラットを用いる 28 日間の反復投与毒性試験を実施した。

10. 被験物質

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

10.1. 被験物質名

N,N'-(1,2-エタンジイル)ビスオクタデカンアミド

10.2. CAS No.

110-30-3

10.3. ロット番号

10.4. 純度

99.7wt%

10.5. 提供元

10.6. 保管条件

室温

10.7. 保管場所

安評センター被験物質保管庫

10.8. 化学名

N,N'-1,2-ethanediylbis-octadecanamide

10.9. 示性式

$\text{C}_{17}\text{H}_{35}\text{CO-NH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH-OCC}_{17}\text{H}_{35}$

10.10. 分子式

$\text{C}_{38}\text{H}_{76}\text{O}_2\text{N}_2$

10.11. 分子量

593.01

10.12. 性状

白色固体

10.13. 融点

149.1℃

10.14.溶解性

水：不溶

アセトン：不溶

10.15.安定性

熱に対して安定

10.16.取り扱い上の注意

曝露防止のために長袖の作業衣，保護手袋，防護マスク，保護眼鏡を着用して作業を行った。

10.17.被験物質保管および残余被験物質の処理

投与終了後，約 2 g を安評センターに保管し，残りは製造元に返却した。

11. 試験材料および方法

11.1. 供試動物

供試したラット CD(SD)IGS[SPF]系は日本チャールス・リバー株式会社(神奈川県横浜市)から平成11年6月9日に4週齢で雌雄各42匹, 計84匹を購入した。

動物を検収し試験環境に7日間馴化後, 平成11年6月16日に5週齢で投与を開始した。動物はあらかじめ体重によって層別化し, 無作為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122~134 g, 雌で102~113 gであった。

11.2. 動物種および系統選択理由

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

11.3. 飼育管理

11.3.1. 飼育環境

動物はバリアシステムの124号飼育室(W9.8×D8.9×H2.5 m, 218.1 m³)で飼育し, 環境調節の基準値は温度23±3℃(実測値:22.3~22.9℃), 相対湿度55±20%(実測値:53~76%), 換気回数1時間20回, 照明150~300 lux, 12時間(午前7時点灯, 午後7時消灯)とした。

株式会社東京技研サービス(東京都府中市)の水洗式飼育機(W674.2×D60.0×H175.5 cm)を使用し, アルミ製前面・床ステンレス網目飼育ケージ(W20.0×D28.2×H18.0 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。

11.3.2. 飼料

動物に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)を飼育期間中, 自由に摂取させた。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）に依頼し実施した結果、EPA の許容基準内であることを確認した。その結果を『Reference data 2』に示した。

11.3.3. 給水

動物には水道水を自動給水ノズルより自由に摂取させた。

水道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）で行い、水道水の許容基準内であることを確認した。その結果を『Reference data 3』に示した。

11.4. 試験群の構成および用量設定理由

試験群の構成を下記に示した。

用量は 0, 100, 300 および 1000 mg/kg とし、動物数は 1 群雌雄各 5 匹、また、回復試験用として、対照群および最高用量群に雌雄各 5 匹、計 60 匹を使用した。

性	試験群	動物数	用量 (mg/kg)	投与期間終了時 計画解剖 動物番号	回復期間終了時 計画解剖 動物番号
雄	1	10	0*	1001～1005	1006～1010
	2	5	100	1101～1105	—
	3	5	300	1201～1205	—
	4	10	1000	1301～1305	1306～1310
雌	1	10	0*	2001～2005	2006～2010
	2	5	100	2101～2105	—
	3	5	300	2201～2205	—
	4	10	1000	2301～2305	2306～2310

*媒体（コーンオイル）のみを投与した。

[用量設定理由]

投与用量設定のための 2 週間反復投与試験を 0, 100, 300 および 1000 mg/kg の 4 用量で実施した結果、最高用量の 1000 mg/kg 群で雌雄とも死亡例および一般状態に変化が観察されなかった。また、他の検査項目においても明らかな影響は認められなかった。従って、28 日間反復投与毒性試験の最高用量を 1000 mg/kg とし、以下公比約 3 で除して中用量を 300 mg/kg、低用量を 100 mg/kg と設定した。

11.5. 投与経路選択理由および投与方法

投与経路は OECD ガイドライン「反復投与毒性」で指示されている強制経口投与とした。投与容量は体重 100 g あたり 0.5 mL とし、個体別に測定した体重に基づいて投与量を算出し、1 日 1 回胃ゾンデを用いて胃内に強制経口投与した。対照群には媒体のみを同様に投与した。

11.6. 投与液の調製

被験物質を濃度が 2.0, 6.0 および 20.0 w/v% となるようにコーンオイル(ナカライテスク株式会社, 京都府京都市: Lot No.V9G1846)に懸濁し、必要量を調製した。

N,N'-(1,2-エタンジイル)ビスオクタデカンアミドの特性上、分析機器を用いての測定が不可能であったため安定性が確認できなかった。従って、投与液の調製は毎日 1 回、投与直前に実施した。

11.7. 投与期間

投与期間は、雌雄ともに 28 日間とし、投与終了後 0 および 1000 mg/kg 群については 14 日間の回復試験を実施した。

11.8. 投与液中の被験物質の濃度分析

N,N'-(1,2-エタンジイル)ビスオクタデカンアミドの特性上、分析機器を用いての測定が不可能であったため投与液の濃度分析は実施しなかった。

12. 観察，測定および検査

12.1. 一般状態の観察

全動物を投与期間は毎日3回（投与前，投与後1および5時間），回復期間は毎日2回（午前および午後）観察し，中毒症状の有無，行動異常を記録した。

12.2. 体重

体重は全動物について，投与開始から回復期間終了まで毎週1回測定した。測定は電子天秤（PM3000；メトラー・トレド社，スイス）を用いて測定し，記録した。

12.3. 摂餌量

摂餌量は全動物について，毎週1回給餌した残量を電子天秤（PM3000）を用いて測定し，記録した。

摂餌量（g/week）および飼料効率（%）はコンピュータで算出した。

12.4. 臨床検査

検査は投与期間終了時および回復期間終了時に計画解剖予定の全生存動物について実施した。採血するに当たり，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。

12.4.1. 血液学検査

抗凝固剤（EDTA-2K）入り採血管インセパック-E（積水化学工業㈱，大阪市北区）に血液を採取し，総合血液学検査装置 THMS H・1E（マイルス社，米国）を用いて下記の項目を測定した。

ヘマトクリット値	(HCT)	RBC, MCV より算出
ヘモグロビン量	(HGB)	シアンメトヘモグロビン法
赤血球数	(RBC)	暗視野板法
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
白血球数	(WBC)	フローサイトメトリー法
白血球百分率		フローサイトメトリー法

白血球百分率は上述の機器で測定したが，測定後の残りの血液を用いて別途血液塗抹標本作製し，メイ・グリュンワルド・ギムザ染色して保管した。

網赤血球 (Reticulocyte) 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。

12.4.2. 血液凝固能検査

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

プロトロンビン時間	(PT)	Quick1 段法
活性化部分トロンボ	(APTT)	クロット法
プラスチン時間		
フィブリノーゲン量	(Fibrinogen)	トロンビン時間法

12.4.3. 血液生化学検査

採血管インセパック SQ (積水化学工業(株), 大阪市北区) に血液を採取した後, 3000 r.p.m. で 7 分間遠心分離して得た血清を検査に用いた。多項目生化学自動分析装置日立 7170 (株日立製作所, 東京都千代田区) および電解質測定装置 EA06R (株エイアンドティー, 東京都日野市) で下記の項目を測定した。

総蛋白	(T.protein)	Biuret 法
アルブミン	(Albumin)	BCG 法
A/G	(A/G)	総蛋白およびアルブミンより算出
血糖	(Glucose)	HK-G-6-PDH 法
中性脂肪	(Triglyceride)	GK-GPO 遊離グリセロール消去法
総コレステロール	(T.cholesterol)	コレステロールオキシダーゼ ESET 法
尿素窒素	(BUN)	ウレアーゼ GLDH 法
クレアチニン	(Creatinine)	酵素法
総ビリルビン	(T.bilirubin)	バナジン酸酸化法
アスパラギン酸アミノ	(AST)	酵素-UV 法 (JSCC 準拠)
トランスフェラーゼ		
アラニンアミノトラン	(ALT)	酵素-UV 法 (JSCC 準拠)
スフェラーゼ		
アルカリホスファター	(ALP)	P-ニトロフェニルリン酸基質法 (JSCC 準拠)
ゼ		

γ-グルタミル トランスペプチターゼ	(Gamma-GTP)	L-γ-グルタミル-3-カル ボキ-4NA 基質法 (JSCC 準拠)
カルシウム	(Calcium)	MXB 法
無機リン	(I.phosphorus)	PNP-XDH 法
ナトリウム [#]	(Sodium)	イオン選択電極法
カリウム [#]	(Potassium)	イオン選択電極法
塩素 [#]	(Chloride)	イオン選択電極法

[#]印の項目は EA06R で、他の項目は日立 7170 で測定した。

12.4.4. 尿検査

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

3 時間尿を用いて次の項目を検査した。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。N-マルティステックス SG（バイエル・三共株式会社、東京都中央区）を用い、尿分析装置 CLINITEK 500（バイエル社、米国）で判定した。

pH	(pH)
潜血	(Occult blood)
ケトン体	(Ketones)
糖	(Glucose)
蛋白	(Protein)
ビリルビン	(Bilirubin)
ウロビリノーゲン	(Urobilinogen)

24 時間尿を用いて次の項目を検査した。尿比重は、尿比重屈折計 UR-S（株式会社アタゴ、東京都板橋区）で測定した。

尿を 1500 r.p.m. で 5 分間遠心し、残渣を用いてステルンハイマー変法による染色を施し、尿沈渣について鏡検した。

尿量	(Volume)
色調	(Color)
尿比重	(Specific gravity)
尿沈渣	

12.5. 病理学検査

病理解剖は投与期間終了時および回復期間終了時の全生存動物をエーテル麻酔し、放血致死させ実施した。解剖では動物の体表、体腔および諸器官について観察した。観察された肉眼的異常（部位、大きさ、硬さなどを）はすべて記録した。

器官重量は電子天秤 PE160（メトラー・トレド社、スイス）を用いて脳、肝臓、腎臓、副腎、胸腺、脾臓、精巣、精巣上体および卵巣について測定した。器官重量／体重比（相対重量）は投与 28 日または回復 14 日の測定体重および器官重量から算出した（絶対重量／体重×100）。また、脳（大脳、小脳、橋を含む）、脊髄、下垂体、眼球、唾液腺（顎下腺、舌下腺）、甲状腺、上皮小体、心臓、胸腺、肺（注入固定、気管支を含む）、気管、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、胃、小腸（パイエル氏板を含む）、大腸、精巣、精巣上体、精囊、前立腺、卵巣、子宮、膣、膀胱、末梢神経（坐骨神経）、リンパ節（下顎リンパ節、腸間膜リンパ節）、骨髓（大腿骨）、大動脈、皮膚および肉眼観察で変化が認められた器官および組織は十分な量の 10% 中性緩衝ホルマリン液で固定した。但し、精巣および精巣上体はブアン液で前固定した後、10% 中性緩衝フォルマリン液で固定した。

病理組織学検査は固定した器官・組織のうち、投与終了時に解剖した対照群および高用量群の胸腺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣、精巣上体、子宮、卵巣、骨髓（大腿骨）について実施した。また、肝臓および腎臓については低用量および中用量群も病理組織学検査を実施した。ならびに皮下の腫瘍について組織学検査を行った。なお、回復期間終了時の病理組織学検査は、投与期間終了時の解剖動物において対照群と被験物質投与群間に有意に増減を示した所見が認められなかったことから、実施しなかった。

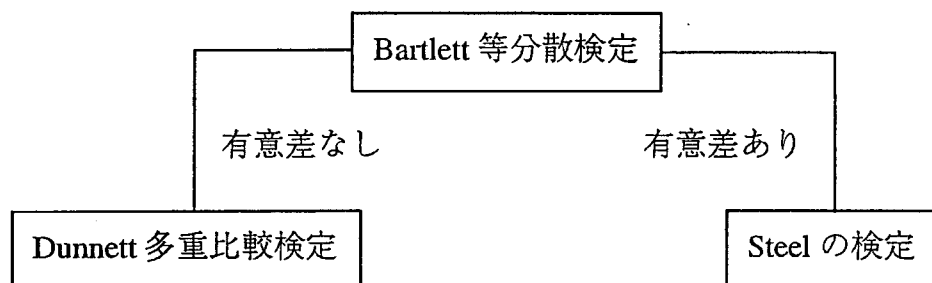
組織標本の作製は株式会社組織科学研究所（東京都青梅市）に依頼し、常法に従ってパラフィン包埋、薄切後、ヘマトキシリン・エオジン染色を施した。鏡検は安評センターで実施し、病変の種類および程度を含む各所見について記録した。

12.6. データ記録および統計解析

本試験の諸データはコンピュータ・システムを用いて記録し、統計解析した。

各試験群の体重、摂餌量、飼料効率、血液学検査値、血液凝固能検査値、血液生化学検査値、尿検査値（尿量および比重）、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 Dunnett の多重比較検定^{1), 2)}で対照群と各投与群間の有意差を検定した。Bartlett の等分散検定で不等分散の場合は Steel の検定³⁾で対照群と各投与群間の有意差を検定した。

上記定量値の有意水準は 5 および 1% の両側検定で実施した。



また、生存率および病理学検査結果の検定は Fisher の確率計算法を用いた。

13. 試験結果

13.1. 死亡率

生存率を Figure 1 に、生存数および死亡率を Table 1 に示した。
投与期間を通して、雌雄いずれの群にも死亡例は認められなかった。
回復期間中には、雌雄とも対照群および 1000 mg/kg 群で死亡例は認められなかった。

13.2. 一般状態の観察

一般状態の観察所見を Table 2 および Appendix 1 に示した。
投与期間中雌の 1000 mg/kg 群の 1 例（動物番号 2303）において外傷および皮下部の腫瘍が耳介基部に観察された。回復期間では雌雄いずれの群にも異常動物は認められなかった。

13.3. 体重

体重を Figure 2, Table 3 および Appendix 2 に示した。
雌雄とも投与期間および回復期間を通して、対照群と被験物質投与群とで平均体重に差は認められなかった。

13.4. 摂餌量

摂餌量を Figure 3, Table 4 および Appendix 3 に示した。
雌では、対照群に比較して 300 および 1000 mg/kg 群で投与 4 週に高値を示したが、継続性のない変化であった。
回復期間においては雌雄とも対照群に比較して 1000 mg/kg 群で差がみられなかった。

13.5. 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 1000 mg/kg 群で投与 4 週に低値を示したが、継続性のない変化であった。
回復期間においては雌雄とも対照群に比較して 1000 mg/kg 群で差がみられなかった。

13.6. 血液学検査

血液学検査結果を Table 6 および Appendix 5 に示した。
投与期間終了時：雄では、対照群に比較して 300 および 1000 mg/kg 群で MCH が高値を示した。また、1000 mg/kg 群では MCV が高値を示した。
いずれも生理的変動の範囲（対照群の平均値 $\pm$ 2SD）内の変化であった。
その他、300 mg/kg 群で赤血球数が僅かに低値を示したが、用量に関連し

ない変化であった。

雌では、対照群に比較して 100 mg/kg 群で好酸球比率が僅かに低値を示したが、用量に関連しない変化であった。

回復期間終了時：雌では、対照群と比較して 1000 mg/kg 群で MCH が僅かな高値を示したが、投与終了時の結果においてはみられなかった変化であった。

13.7. 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：雌雄とも、対照群と比較して各投与群で差が認められなかった。

回復期間終了時：雌雄とも、対照群と 1000 mg/kg 群で差が認められなかった。

13.8. 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：雄では、対照群に比較して 100 mg/kg 群で γ -GTP が僅かに高値を示した。

雌では、対照群に比較して 100 mg/kg 群で中性脂肪が高値および塩素が僅かに低値を示した。また、300 mg/kg 群ではアルカリホスファターゼが低値を示した。しかし、雌雄いずれの変化も用量に関連しない変化であった。

回復期間終了時：雄では、対照群に比較して 1000 mg/kg 群で γ -GTP が僅かに高値を示したが、軽微で毒性学的に意義のある変化ではなかった。

13.9. 尿検査

尿検査結果を Table 9 および Appendix 8 に示した。

投与期間終了時：雌雄とも、対照群に比較して各投与群で差がみられなかった。

回復期間終了時：雌雄とも、対照群に比較して 1000 mg/kg 群では差が認められなかった。

13.10. 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：雌雄とも、対照群に比較して各投与群のすべての器官において差が認められなかった。

回復期間終了時：雄では、対照群に比較して 1000 mg/kg 群で胸腺実重量が低値を示したが、投与終了時の結果ではみられなかった変化であった。

13.11. 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：雌雄とも，対照群に比較して各投与群のすべての器官において差が認められなかった。

回復期間終了時：雌雄とも，対照群に比較して 1000 mg/kg 群すべての器官において差が認められなかった。

13.12. 病理学検査

剖検所見を Table12, 13 および Appendix11 に，組織学的所見を Table13～15 および Appendix12, 13 に示した。

病理学検査の結果，剖検所見ならびに組織所見にて被験物質投与の影響が示唆される所見は観察されなかった。また，統計学的に有意な発生の増減を示す所見も観察されなかった。なお，観察された所見は下記の通りであった。

投与期間終了時：剖検所見では，脾臓の白色斑／区域が雄の対照群で，胸腺の黒色斑／区域が雌の対照群で，小腸の憩室が雄の対照群で，肝臓の肥大が雄の 300 mg/kg 群で，腎臓の嚢胞が雌雄の 100 mg/kg 群で，腎臓の腎盂拡張が雄の対照群で，癒痕が雌の 100 mg/kg 群で，卵巣の嚢胞が対照群で，子宮の内腔拡張が 300 mg/kg で，皮下部の腫瘍が雌の 1000 mg/kg 群で，それぞれ単発的に観察された。

組織学検査では，心臓のリンパ球浸潤が雄の 1000 mg/kg 群に 1 例，線維化が雄の対照群に 1 例，胸腺のケルスタイナー氏嚢胞が雌の対照群および 1000 mg/kg にそれぞれ 1 例認められた。肝臓では群周辺性脂肪化が雄の 300 mg/kg で 1 例，雌の対照群，100 および 1000 mg/kg にそれぞれ 1 例，鉍質沈着が雄の 1000 mg/kg 群に 1 例，壊死が雌の 300 mg/kg 群で 1 例，細胞浸潤が雄の対照群および 1000 mg/kg 群に 1 および 3 例，リンパ球浸潤が雄の対照群および 1000 mg/kg 群にそれぞれ 1 例，雌の対照群および 1000 mg/kg 群に 2 および 1 例，小肉芽腫が雄の対照群，100，300 および 1000 mg/kg 群に 5, 3, 4 および 3 例，雌の対照群，100，300 および 1000 mg/kg 群に 5, 4, 2 および 5 例，髄外造血が雄の対照群に 1 例それぞれ認められた。腎臓では尿細管好塩基化が雄の対照群，100，300 および 1000 mg/kg 群に 3, 3, 4 および 5 例，雌の対照群および 1000 mg/kg 群に 1 および 3 例，嚢胞が雌の 100 mg/kg 群に 1 例，管腔拡張が雄の 100 および 1000 mg/kg でそれぞれ 1 例，雌の 100，300 および 1000 mg/kg 群で 1, 2 および 1 例，硝子滴変性が雄の対照群および 1000 mg/kg 群に 1 および 2 例，雌の 1000 mg/kg 群に 1 例，鉍質沈着が雄の 1000 mg/kg に 1 例，雌の対照群に 2 例，

リンパ球浸潤が雄の 300 および 1000 mg/kg 群で 1 および 2 例，雌の対照群，300 および 1000 mg/kg 群にそれぞれ 1 例が認められた．精巣の変性と精巣上体の小肉芽腫が 1000 mg/kg 群でそれぞれ 1 例，子宮の内腔拡張が雌の対照群で 1 例に認められた．また，皮下の腫瘤は膿瘍であった．
回復期間終了時：剖検所見では，腎臓の瘢痕が雄の対照群に単発的に観察された．

14. 考察および結論

投与期間および回復期間を通じて、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、雌の 1000 mg/kg 群の 1 例に外傷と皮下部の腫瘍が認められた。外傷は自傷であり、同部位に観察された皮下部の腫瘍は外傷に起因する膿瘍であり、被験物質投与に起因する変化とは考えられなかった。

体重および摂餌量においては、雌雄とも対照群と被験物質投与群とに差が認められなかった。

血液学検査および血液凝固能検査の結果、雌雄とも被験物質投与の影響は認められなかった。

血液生化学検査の結果、雌雄とも被験物質投与の影響は認められなかった。

尿検査の結果、雌雄とも被験物質投与の影響は認められなかった。

器官重量測定の結果、雌雄の各投与群とも対照群と比較して測定したすべての器官において差が認められず、被験物質投与の影響はみられなかった。

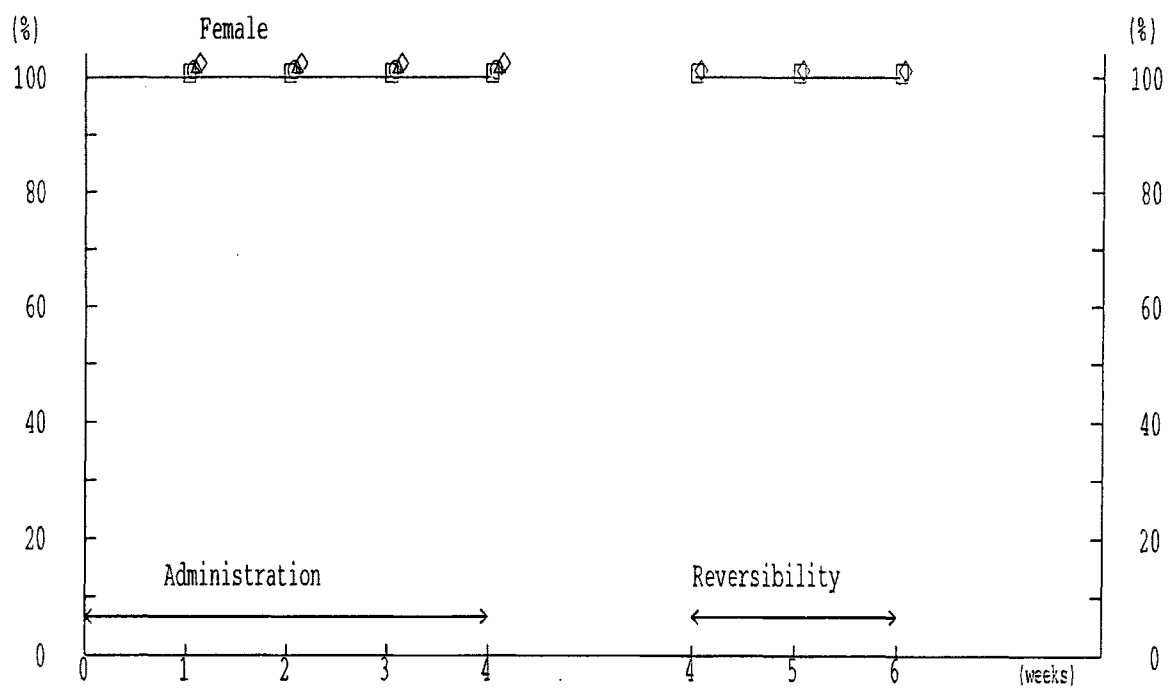
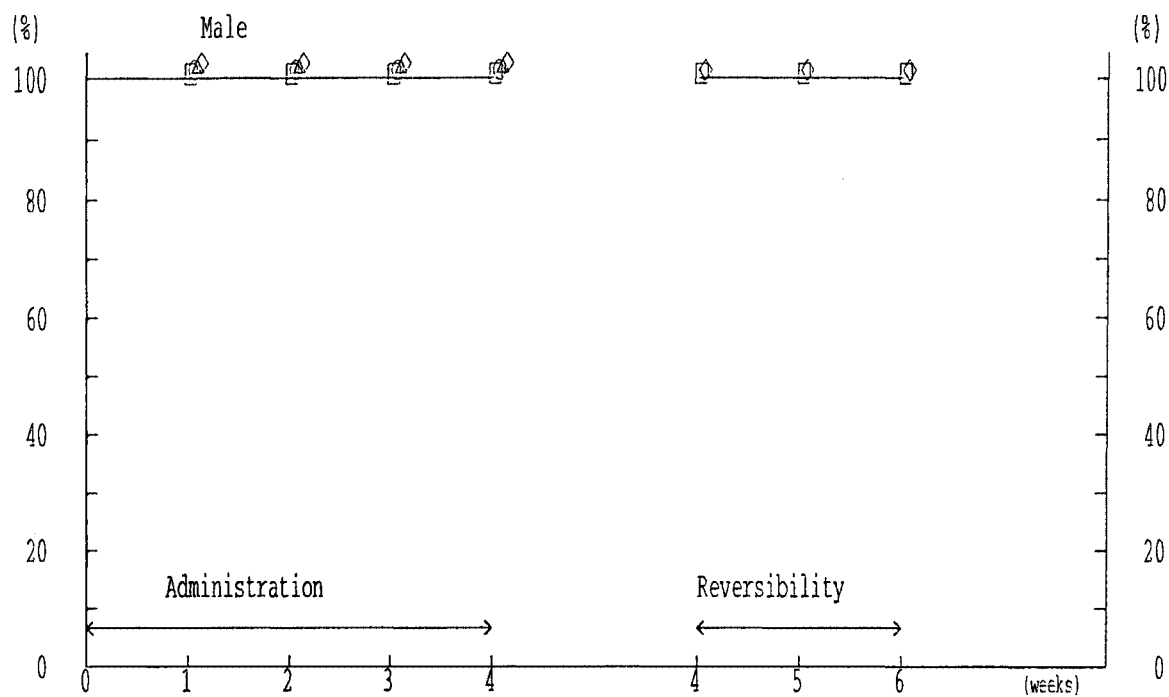
病理学検査の結果、剖検所見には被験物質投与の影響と考えられる変化は認められなかった。組織学検査において腎臓で観察された所見は対照群と比較して有意差がなかったことから自然発生性のものと考えられた。また、肝臓の細胞浸潤は低用量および中用量群では観察されず、高用量群での発生も対照群と比較して有意差が認められないことから自然発生性の変化と考えられた。なお、皮下部の腫瘍は膿瘍であり、被験物質投与の影響とは考えられなかった。

以上の結果、雌雄とも 1000 mg/kg 群において被験物質投与に起因する変化が認められなかった。従って、無影響量は雌雄とも 1000 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 32, 21-44 (1990)
- 2) Yoshida, M. : J. Jap. Soc. Comp. Stat. 1, 111-122 (1988)
- 3) 倍味繁, 稲葉太一 : 医薬安全性研究会会報, 40,33-36(1994)

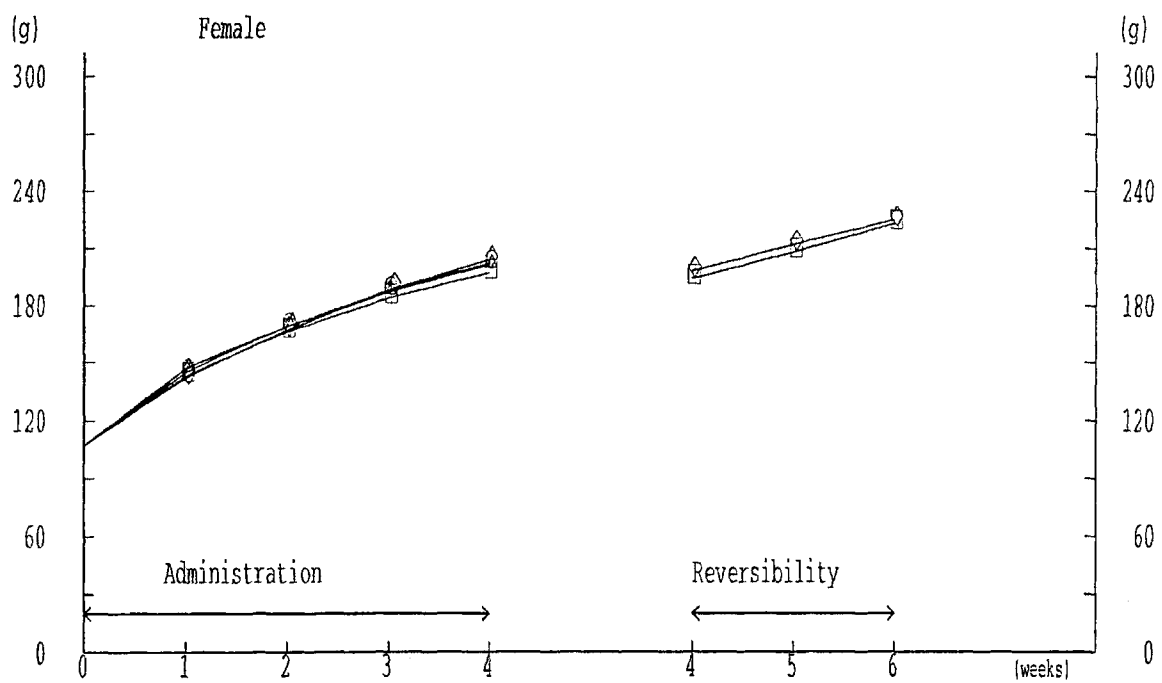
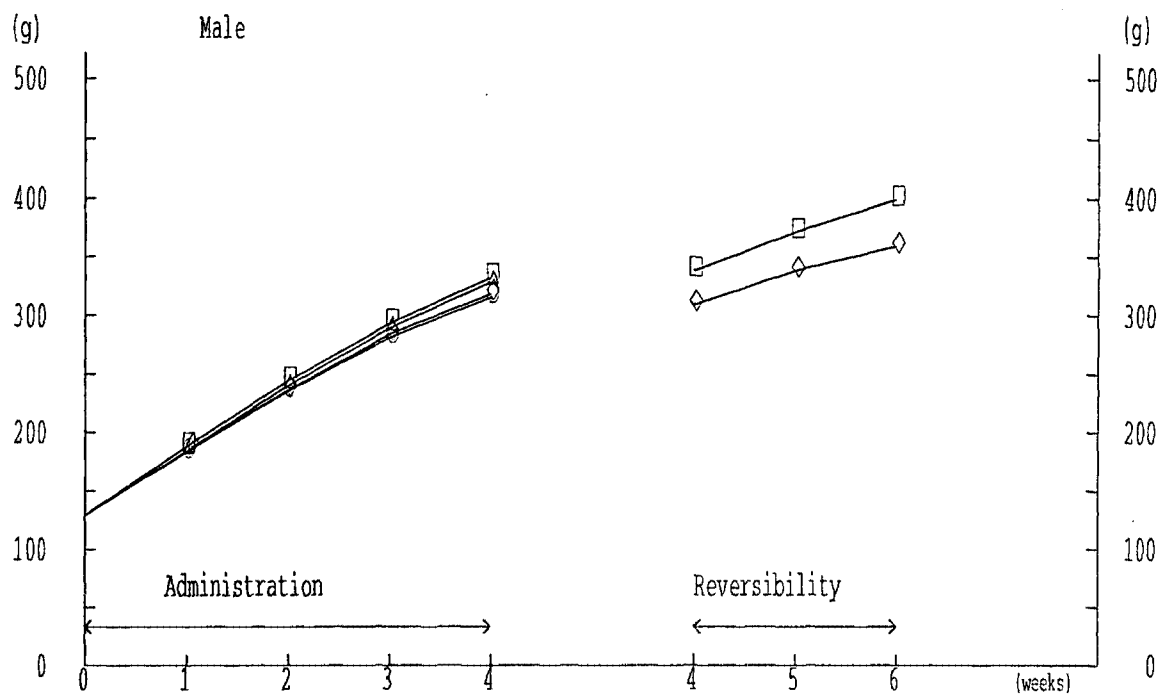
F i g u r e s



Exp. No. 4200(115-118)

Dose level	(mg/kg)
□	0
■	100
△	300
◇	1000

Figure 1. Survival ratio



Exp. No. 4200(115-118)

Dose level	(mg/kg)
□	0
○	100
△	300
◇	1000

Figure 2. Body weight

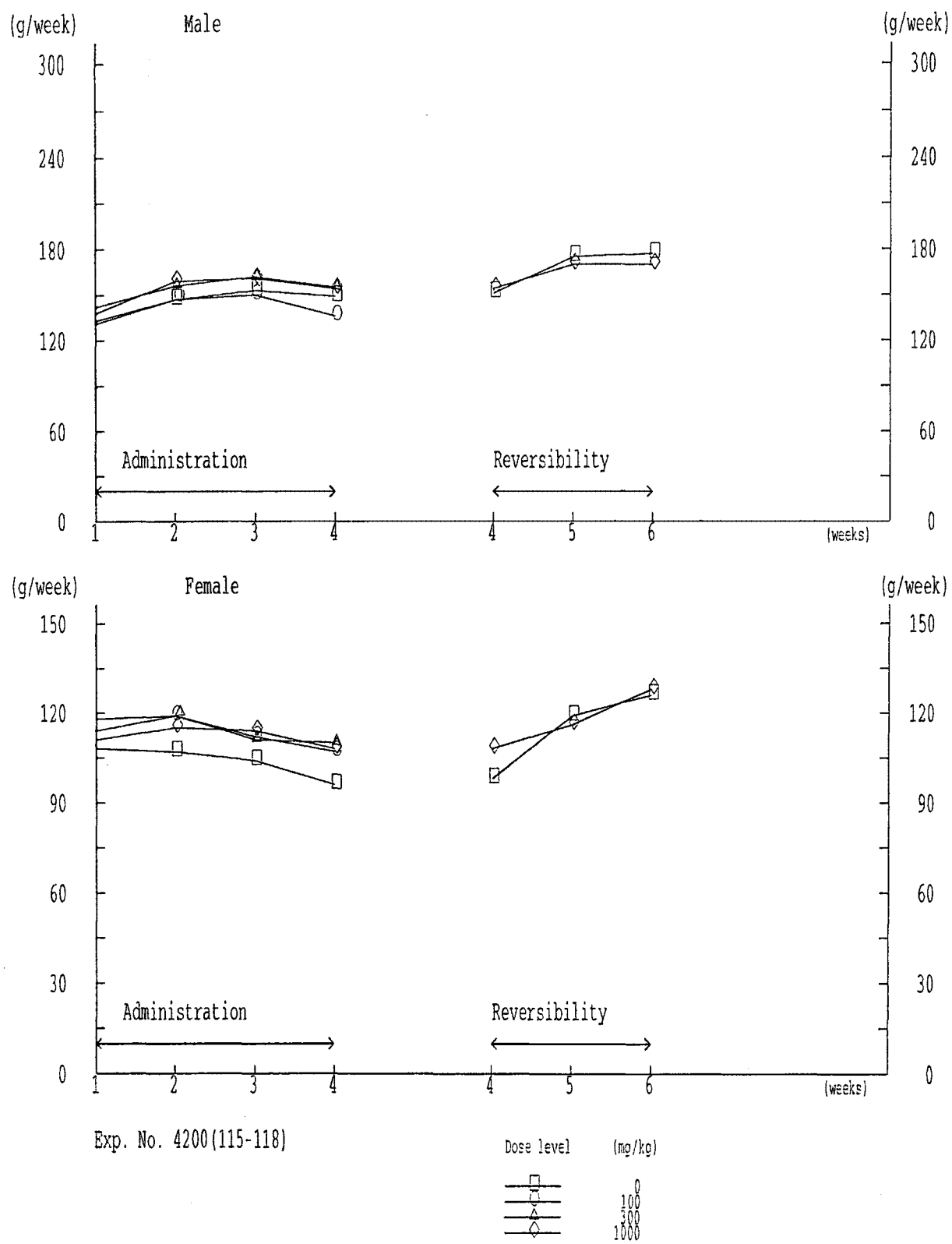


Figure 3. Food consumption

T a b l e s

Table 1. Survival and mortality

Exp. No. 4200 (115-118)

Sex	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment				Mortality (%)
		1	2	3	4	
Male	0	10/10	10/10	10/10	10/10	0.0
	100	5/5	5/5	5/5	5/5	0.0
	300	5/5	5/5	5/5	5/5	0.0
	1000	10/10	10/10	10/10	10/10	0.0
Female	0	10/10	10/10	10/10	10/10	0.0
	100	5/5	5/5	5/5	5/5	0.0
	300	5/5	5/5	5/5	5/5	0.0
	1000	10/10	10/10	10/10	10/10	0.0

Number surviving / Number per group.

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

Table 1. -continued Survival and mortality

Exp. No. 4200 (115-118)

Sex	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment			Mortality (%)
		4	5	6	
Male	0	5/5	5/5	5/5	0.0
	1000	5/5	5/5	5/5	0.0
Female	0	5/5	5/5	5/5	0.0
	1000	5/5	5/5	5/5	0.0

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

Table 2. Clinical observation

Exp. No. 4200 (115-118)

Sex : Male

Findings of clinical observation	Dose level (mg/kg)	Days of experiment														Total (1→14)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
normal/number per group	0	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10
	100	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5
	300	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5
	1000	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10

Table 2. -continued Clinical observation

Exp. No. 4200 (115-118)

Sex : Male

Findings of clinical observation	Dose level (mg/kg)	Days of experiment														Total (1→28)
		15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	
normal/number per group	0	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10
	100	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5
	300	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5
	1000	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10

Table 2. -continued Clinical observation

Exp. No. 4200 (115-118)

Sex : Female

Findings of clinical observation	Dose level (mg/kg)	Days of experiment														Total (1→14)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
normal/number per group	0	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10
	100	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5
	300	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5
	1000	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10
trauma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	300	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
tissue-mass/subcut. site	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	300	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Table 2. -continued Clinical observation

Exp. No. 4200 (115-118)

Sex : Female

Findings of clinical observation	Dose level (mg/kg)	Days of experiment														Total (1→28)
		15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	
normal/number per group	0	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10
	100	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5
	300	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5
	1000	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9
trauma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	300	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
tissue-mass/subcut. site	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	300	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1000	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1

T-06

Table 2. -continued Clinical observation

Exp. No. 4200 (115-118)

Sex : Male

Findings of clinical observation	Dose level (mg/kg)	Days of experiment														Total (29→42)
		29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	
normal/number per group	0	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5
	1000	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5

Table 2. -continued Clinical observation

Exp. No. 4200 (115-118)

Sex : Female

Findings of clinical observation	Dose level (mg/kg)	Days of experiment														Total (29→42)
		29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	
normal/number per group	0	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5
	1000	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5

Table 3. Body weight

Exp. No. 4200 (115-118)

(unit : g)

Sex	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment 0	1	2	3	4
Male	0	129 ± 3	188 ± 8	244 ± 14	293 ± 16	332 ± 18
	100	129 ± 3	183 ± 13	235 ± 21	281 ± 27	315 ± 34
	300	129 ± 3	184 ± 6	240 ± 7	289 ± 13	328 ± 19
	1000	129 ± 4	184 ± 14	236 ± 23	284 ± 32	318 ± 37
Female	0	107 ± 3	143 ± 7	166 ± 7	184 ± 9	197 ± 9
	100	107 ± 4	145 ± 8	169 ± 9	188 ± 10	202 ± 13
	300	107 ± 4	147 ± 6	169 ± 12	187 ± 13	201 ± 19
	1000	107 ± 3	142 ± 8	167 ± 11	188 ± 11	204 ± 15

Mean ± S.D.

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

Table 3. -continued Body weight

Exp. No. 4200 (115-118)

(unit : g)

Sex	Dose level (mg/kg)	Gain (0 → 4)
Male	0	202 ± 18
	100	186 ± 32
	300	199 ± 22
	1000	189 ± 34
Female	0	90 ± 10
	100	95 ± 14
	300	94 ± 17
	1000	98 ± 14

Mean ± S.D.

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

Table 3. -continued Body weight

Exp. No. 4200 (115-118)

(unit : g)

Sex	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment 4	5	6	Gain (4 → 6)
Male	0	338 ± 16	371 ± 16N	399 ± 15N	61 ± 6
	1000	309 ± 47	338 ± 54	359 ± 59	50 ± 13
Female	0	194 ± 11	208 ± 13	223 ± 14	29 ± 6
	1000	198 ± 17	212 ± 18	225 ± 21	27 ± 7

Mean ± S.D.

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

N: Non parametric analysis

Table 4. Food consumption

Exp. No. 4200 (115-118)

(unit : g/week)

Sex	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment 1	2	3	4	Total (0 → 4)
Male	0	131 ± 10	147 ± 16	153 ± 16	149 ± 12	579 ± 51
	100	133 ± 14	147 ± 23	150 ± 23	136 ± 24	566 ± 82
	300	142 ± 5	156 ± 11	162 ± 13	155 ± 19	615 ± 41
	1000	138 ± 13	159 ± 16	161 ± 21	154 ± 21	612 ± 40
Female	0	108 ± 13N	107 ± 10	104 ± 11	96 ± 8	415 ± 38
	100	118 ± 4	119 ± 6	112 ± 11	107 ± 8	456 ± 26
	300	114 ± 5	119 ± 13	111 ± 8	110 ± 11*	453 ± 33
	1000	111 ± 9	115 ± 11	114 ± 11	108 ± 13*	448 ± 27

Mean ± S.D.

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

N: Non parametric analysis

Table 4. -continued Food consumption

Exp. No. 4200 (115-118)

(unit : g/week)

Sex	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment 4	5	6	Total (5 → 6)
Male	0	151 ± 7N	175 ± 14	177 ± 9	352 ± 22
	1000	154 ± 28	170 ± 27	170 ± 26	340 ± 52
Female	0	98 ± 7	119 ± 11	126 ± 14	245 ± 25
	1000	108 ± 15	116 ± 9	128 ± 17	244 ± 23

Mean ± S.D.

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

N: Non parametric analysis

Table 5. Food efficiency

Exp. No. 4200 (115-118)

(unit : %)

Sex	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment 1	2	3	4	Mean (0 → 4)
Male	0	44.9 ± 4.3	38.2 ± 2.3N	32.6 ± 3.0	25.7 ± 4.4	35.0 ± 2.1N
	100	40.4 ± 4.3	35.0 ± 3.4	31.2 ± 3.4	24.3 ± 1.9	32.7 ± 1.0
	300	38.7 ± 3.2	35.6 ± 2.2	30.4 ± 4.1	25.3 ± 2.9	32.3 ± 1.6
	1000	40.3 ± 8.6	33.4 ± 7.4	29.7 ± 4.1	22.0 ± 2.4*	30.8 ± 4.8
Female	0	33.7 ± 4.3	21.9 ± 5.5	16.8 ± 2.8	13.2 ± 5.7	21.7 ± 2.2
	100	31.5 ± 5.4	19.9 ± 3.4	17.6 ± 6.2	12.7 ± 3.2	20.7 ± 2.0
	300	34.5 ± 3.5	18.8 ± 4.1	16.0 ± 4.5	13.0 ± 5.7	20.7 ± 2.9
	1000	32.1 ± 5.8	21.5 ± 5.8	18.7 ± 6.0	15.0 ± 6.4	21.8 ± 2.9

Mean ± S.D.

Significant difference from control group;

*: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

N: Non parametric analysis

Table 5. -continued Food efficiency

Exp. No. 4200 (115-118)

(unit : %)

Sex	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment 4	5	6	Mean (5 → 6)
Male	0	27.0 ± 4.7N	19.0 ± 2.7	15.6 ± 3.2	17.3 ± 2.3
	1000	21.6 ± 0.9*	17.0 ± 1.9	11.9 ± 3.3	14.5 ± 2.0
Female	0	11.9 ± 1.7N	11.4 ± 3.4	12.3 ± 2.1	11.9 ± 1.9
	1000	14.0 ± 8.2	11.5 ± 4.7	10.0 ± 1.6	10.8 ± 2.6

Mean ± S.D.

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

N: Non parametric analysis

Table 6. Hematology

Exp. No. 4200 (115-118)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	HCT (%)	HGB (g/dL)	RBC ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	MCV (μm^3)	MCH (pg)	MCHC (%)
Male	0	5	46.1 $\pm$ 1.2	15.2 $\pm$ 0.3	7.97 $\pm$ 0.45	58.0 $\pm$ 2.4	19.2 $\pm$ 1.0	33.1 $\pm$ 0.3
	100	5	46.1 $\pm$ 0.9	15.2 $\pm$ 0.2	7.62 $\pm$ 0.16	60.5 $\pm$ 1.6	19.9 $\pm$ 0.3	32.9 $\pm$ 0.8
	300	5	45.0 $\pm$ 2.0	15.1 $\pm$ 0.7	7.39 $\pm$ 0.38*	60.9 $\pm$ 1.0	20.4 $\pm$ 0.5*	33.5 $\pm$ 0.4
	1000	5	47.3 $\pm$ 1.3	15.8 $\pm$ 0.2	7.62 $\pm$ 0.25	62.2 $\pm$ 2.2**	20.7 $\pm$ 0.8**	33.3 $\pm$ 0.4
Female	0	5	43.8 $\pm$ 1.7	15.1 $\pm$ 0.7	7.62 $\pm$ 0.34	57.5 $\pm$ 1.1	19.8 $\pm$ 0.1	34.4 $\pm$ 0.5
	100	5	43.9 $\pm$ 1.2	15.1 $\pm$ 0.7	7.65 $\pm$ 0.23	57.4 $\pm$ 0.9	19.8 $\pm$ 0.5	34.5 $\pm$ 0.7
	300	5	44.3 $\pm$ 1.7	15.3 $\pm$ 0.5	7.84 $\pm$ 0.31	56.5 $\pm$ 1.3	19.5 $\pm$ 0.5	34.5 $\pm$ 0.8
	1000	5	42.6 $\pm$ 1.9	14.7 $\pm$ 0.6	7.31 $\pm$ 0.40	58.3 $\pm$ 1.7	20.2 $\pm$ 0.4	34.6 $\pm$ 0.6

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

Table 6. -continued Hematology

Exp. No. 4200 (115-118)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	PLT ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	WBC ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	Differential leukocyte counts (%)					
					NEUT	LYMPH	MONO	EOSN	BASO	LUC
Male	0	5	1139 $\pm$ 157	11.6 $\pm$ 2.2	11 $\pm$ 3	85 $\pm$ 4	2 $\pm$ 1	1 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0
	100	5	1184 $\pm$ 133	9.7 $\pm$ 1.9	10 $\pm$ 4	87 $\pm$ 5	2 $\pm$ 1	1 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0
	300	5	1185 $\pm$ 110	11.6 $\pm$ 3.8	12 $\pm$ 3	85 $\pm$ 4	2 $\pm$ 0	1 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0
	1000	5	1182 $\pm$ 121	11.0 $\pm$ 1.3	10 $\pm$ 2	87 $\pm$ 4	1 $\pm$ 1	1 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 1
Female	0	5	1213 $\pm$ 135	7.6 $\pm$ 2.7	11 $\pm$ 4	85 $\pm$ 5	2 $\pm$ 1	2 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0
	100	5	1184 $\pm$ 117	5.7 $\pm$ 1.5	12 $\pm$ 4	86 $\pm$ 5	1 $\pm$ 0	1 $\pm$ 1*	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 1
	300	5	1225 $\pm$ 131	5.9 $\pm$ 1.0	12 $\pm$ 3	84 $\pm$ 4	2 $\pm$ 1	2 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 1
	1000	5	1239 $\pm$ 243	6.7 $\pm$ 2.2	16 $\pm$ 9	81 $\pm$ 10	1 $\pm$ 1	1 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 1

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

Table 6. -continued Hematology

Exp. No. 4200 (115-118)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	HCT (%)	HGB (g/dL)	RBC ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	MCV (μm^3)	MCH (pg)	MCHC (%)
Male	0	5	46.0 $\pm$ 1.0	15.3 $\pm$ 0.3	8.15 $\pm$ 0.31	56.6 $\pm$ 2.5	18.9 $\pm$ 0.7	33.4 $\pm$ 0.4
	1000	5	47.0 $\pm$ 1.5	15.8 $\pm$ 0.4	8.16 $\pm$ 0.43	57.7 $\pm$ 2.1	19.4 $\pm$ 0.8	33.5 $\pm$ 0.6
Female	0	5	43.7 $\pm$ 1.3	15.2 $\pm$ 0.3	7.87 $\pm$ 0.22	55.5 $\pm$ 0.5	19.3 $\pm$ 0.2	34.8 $\pm$ 0.4
	1000	5	43.4 $\pm$ 1.6	15.1 $\pm$ 0.6	7.68 $\pm$ 0.41	56.6 $\pm$ 1.0	19.7 $\pm$ 0.3*	34.9 $\pm$ 0.2

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

Table 6. -continued Hematology

Exp. No. 4200 (115-118)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	PLT ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	WBC ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	Differential leukocyte counts (%)			EOSN	BASO	LUC
					NEUT	LYMPH	MONO			
Male	0	5	1048 $\pm$ 115	11.7 $\pm$ 2.7	12 $\pm$ 5	84 $\pm$ 5	2 $\pm$ 1	1 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0
	1000	5	1074 $\pm$ 111	11.1 $\pm$ 1.7	13 $\pm$ 2	82 $\pm$ 3	3 $\pm$ 1	1 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0
Female	0	5	1106 $\pm$ 170	7.8 $\pm$ 3.2	11 $\pm$ 2	85 $\pm$ 2	2 $\pm$ 1	1 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0
	1000	5	1136 $\pm$ 60	6.7 $\pm$ 2.2	12 $\pm$ 3	83 $\pm$ 4	3 $\pm$ 1	2 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 1

NEUT: Neutrophil LYMPH: Lymphocyte MONO: Monocyte EOSN: Eosinophil BASO: Basophil LUC: Large unstained cells

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

Table 7. Coagulation

Exp. No. 4200 (115-118)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	PT (sec.)	APTT (sec.)	Fibrinogen (mg/dL)
Male	0	5	13.8 ± 0.6	26.2 ± 1.9	222 ± 5N
	100	5	14.2 ± 0.3	26.3 ± 2.7	235 ± 12
	300	5	14.3 ± 1.0	25.7 ± 1.8	231 ± 27
	1000	5	14.9 ± 1.5	25.5 ± 2.7	239 ± 19
Female	0	5	14.6 ± 0.8	22.6 ± 1.8N	190 ± 15
	100	5	14.4 ± 1.0	22.3 ± 1.6	191 ± 15
	300	5	14.3 ± 0.4	22.6 ± 0.4	182 ± 9
	1000	5	14.8 ± 0.7	22.2 ± 0.7	196 ± 31

Mean ± S.D.

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

N: Non parametric analysis

Table 7. -continued Coagulation

Exp. No. 4200 (115-118)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	PT (sec.)	APTT (sec.)	Fibrinogen (mg/dL)
Male	0	5	14.0 ± 0.9	26.4 ± 1.3	228 ± 21
	1000	5	15.0 ± 1.4	25.9 ± 1.9	231 ± 25
Female	0	5	15.4 ± 0.7	22.0 ± 1.5	168 ± 20
	1000	5	15.2 ± 0.5	21.8 ± 0.5	180 ± 13

Mean ± S.D.

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

Table 8. Blood chemistry

Exp. No. 4200 (115-118)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Glucose (mg/dL)	T.cholesterol (mg/dL)	Triglyceride (mg/dL)
Male	0	5	136 ± 9	56 ± 10	33.4 ± 8.4
	100	5	143 ± 22	60 ± 9	30.8 ± 9.9
	300	5	150 ± 34	54 ± 8	32.3 ± 6.8
	1000	5	166 ± 25	44 ± 7	40.5 ± 15.0
Female	0	5	129 ± 8	57 ± 19	8.8 ± 1.7N
	100	5	129 ± 19	51 ± 13	13.6 ± 3.0*
	300	5	124 ± 14	60 ± 11	15.3 ± 9.5
	1000	5	130 ± 10	51 ± 6	11.0 ± 4.5

Mean ± S.D.

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

N: Non parametric analysis

Table 8. -continued Blood chemistry

Exp. No. 4200 (115-118)

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	10.5 ± 1.2N	0.21 ± 0.02	0.03 ± 0.01	5.36 ± 0.05N	3.40 ± 0.05
	100	5	10.8 ± 2.1	0.20 ± 0.02	0.03 ± 0.01	5.56 ± 0.13	3.40 ± 0.16
	300	5	10.6 ± 0.5	0.22 ± 0.03	0.03 ± 0.01	5.45 ± 0.35	3.37 ± 0.18
	1000	5	13.3 ± 2.2	0.23 ± 0.04	0.03 ± 0.01	5.53 ± 0.17	3.42 ± 0.07
Female	0	5	15.6 ± 1.3	0.27 ± 0.03	0.04 ± 0.01	5.60 ± 0.41	3.58 ± 0.39
	100	5	14.9 ± 0.8	0.27 ± 0.01	0.04 ± 0.01	5.64 ± 0.31	3.66 ± 0.22
	300	5	13.5 ± 2.1	0.26 ± 0.03	0.03 ± 0.01	5.59 ± 0.29	3.61 ± 0.15
	1000	5	15.4 ± 3.3	0.27 ± 0.02	0.03 ± 0.01	5.94 ± 0.16	3.66 ± 0.36

Mean ± S.D.

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

N: Non parametric analysis

Table 8. -continued Blood chemistry

Exp. No. 4200 (115-118)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	A/G
Male	0	5	1.73 ± 0.11
	100	5	1.58 ± 0.21
	300	5	1.62 ± 0.08
	1000	5	1.63 ± 0.09
Female	0	5	1.78 ± 0.22
	100	5	1.85 ± 0.08
	300	5	1.83 ± 0.10
	1000	5	1.63 ± 0.31

Mean ± S.D.

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

Table 8. -continued Blood chemistry

Exp. No. 4200 (115-118)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Sodium (mmol/L)	Potassium (mmol/L)	Chloride (mmol/L)	Calcium (mg/dL)	I. phosphorus (mg/dL)
Male	0	5	142.7 ± 1.5	4.56 ± 0.35	106.3 ± 2.2	9.81 ± 0.33	8.22 ± 0.30
	100	5	143.6 ± 0.5	4.49 ± 0.18	106.2 ± 1.3	9.87 ± 0.37	8.27 ± 0.27
	300	5	142.8 ± 0.9	4.71 ± 0.29	106.3 ± 2.2	9.82 ± 0.45	8.67 ± 0.55
	1000	5	142.5 ± 0.7	4.59 ± 0.25	107.2 ± 0.8	9.86 ± 0.24	8.24 ± 0.41
Female	0	5	143.1 ± 1.0	4.49 ± 0.41	110.4 ± 0.5	9.66 ± 0.23	6.68 ± 0.53
	100	5	143.1 ± 1.2	4.14 ± 0.29	108.5 ± 1.2*	9.57 ± 0.29	6.62 ± 0.89
	300	5	142.3 ± 1.2	4.70 ± 0.20	108.9 ± 1.4	9.55 ± 0.35	6.43 ± 0.36
	1000	5	142.5 ± 1.4	4.47 ± 0.37	109.3 ± 1.3	9.85 ± 0.33	6.79 ± 0.50

Mean ± S.D.

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

Table 8. -continued Blood chemistry

Exp. No. 4200 (115-118)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	AST (U/L)	ALT (U/L)	ALP (U/L)	Gamma-GTP (U/L)
Male	0	5	67 ± 8	22 ± 2	754 ± 226	0.4 ± 0.1
	100	5	67 ± 6	23 ± 3	816 ± 141	0.6 ± 0.1*
	300	5	74 ± 17	25 ± 2	833 ± 244	0.5 ± 0.1
	1000	5	68 ± 9	25 ± 3	822 ± 163	0.4 ± 0.1
Female	0	5	72 ± 4N	23 ± 3	526 ± 47	0.5 ± 0.4
	100	5	66 ± 12	20 ± 4	482 ± 108	0.5 ± 0.2
	300	5	72 ± 19	19 ± 2	348 ± 58*	0.3 ± 0.1
	1000	5	69 ± 3	23 ± 6	540 ± 168	0.4 ± 0.2

Mean ± S.D.

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

N: Non parametric analysis

Table 8. -continued Blood chemistry

Exp. No. 4200 (115-118)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Glucose (mg/dL)	T.cholesterol (mg/dL)	Triglyceride (mg/dL)
Male	0	5	161 ± 13	67 ± 15	36.9 ± 19.2
	1000	5	149 ± 8	60 ± 23	25.8 ± 10.2
Female	0	5	153 ± 18	66 ± 18	18.8 ± 12.0
	1000	5	142 ± 15	66 ± 16	26.6 ± 19.7

Mean ± S.D.

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

Table 8. -continued Blood chemistry

Exp. No. 4200 (115-118)

Week: 6

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	12.6 ± 1.7	0.22 ± 0.03	0.03 ± 0.01	5.84 ± 0.16	3.35 ± 0.12
	1000	5	12.9 ± 1.8	0.20 ± 0.02	0.03 ± 0.01	5.74 ± 0.21	3.40 ± 0.15
Female	0	5	15.0 ± 1.4	0.24 ± 0.02	0.06 ± 0.02	5.97 ± 0.21	3.54 ± 0.11
	1000	5	16.6 ± 2.9	0.26 ± 0.01	0.06 ± 0.02	6.05 ± 0.32	3.61 ± 0.19

Mean ± S.D.

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

Table 8. -continued Blood chemistry

Exp. No. 4200 (115-118)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	A/G
Male	0	5	1.34 ± 0.08
	1000	5	1.46 ± 0.15
Female	0	5	1.46 ± 0.08
	1000	5	1.49 ± 0.12

Mean ± S.D.

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

Table 8. -continued Blood chemistry

Exp. No. 4200 (115-118)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Sodium (mmol/L)	Potassium (mmol/L)	Chloride (mmol/L)	Calcium (mg/dL)	I. phosphorus (mg/dL)
Male	0	5	142.2 ± 0.7	4.40 ± 0.35	104.7 ± 1.0	10.05 ± 0.24	7.83 ± 0.16
	1000	5	142.8 ± 0.6	4.29 ± 0.31	105.5 ± 2.4	9.80 ± 0.31	7.75 ± 0.26
Female	0	5	141.7 ± 1.5	4.56 ± 0.35	108.3 ± 1.6	9.74 ± 0.20	5.49 ± 0.65
	1000	5	142.4 ± 0.9	4.37 ± 0.42	108.7 ± 1.7	9.84 ± 0.52	5.80 ± 1.09

Mean ± S.D.

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

Table 8. -continued Blood chemistry

Exp. No. 4200 (115-118)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	AST (U/L)	ALT (U/L)	ALP (U/L)	Gamma-GTP (U/L)
Male	0	5	69 ± 6	26 ± 1	490 ± 44N	0.2 ± 0.1
	1000	5	72 ± 6	25 ± 3	511 ± 139	0.3 ± 0.0*
Female	0	5	71 ± 6	24 ± 7	334 ± 94	0.6 ± 0.1
	1000	5	64 ± 14	24 ± 5	329 ± 81	0.7 ± 0.1

Mean ± S.D.

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

N: Non parametric analysis

Table 9. Urinalysis

Exp. No. 4200 (115-118)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Volume (mL)	Specific gravity
Male	0	5	15 ± 5	1.051 ± 0.010
	100	5	10 ± 2	1.063 ± 0.006
	300	5	15 ± 7	1.061 ± 0.018
	1000	5	13 ± 5	1.060 ± 0.013
Female	0	5	8 ± 3	1.062 ± 0.025
	100	5	11 ± 4	1.059 ± 0.017
	300	5	12 ± 5	1.053 ± 0.020
	1000	5	15 ± 5	1.036 ± 0.015

Mean ± S.D.

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

Table 9. -continued Urinalysis

Exp. No. 4200 (115-118)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Color											pH											Occult Blood				
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	5	5.5	6	6.5	7	7.5	8	8.5	≥9	-	+/-	1+	2+	3+		
Male	0	5	5															1		3	1		5						
	100	5	5																1	4			3	2					
	300	5	5																1	4			4	1					
	1000	5	5																	5			4	1					
Female	0	5	5															1	1	1	2		5						
	100	5	5															1		2	2		3	2					
	300	5	5															1	1	2	1		4	1					
	1000	5	5															1		2	2		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.

Table 9. -continued Urinalysis

Exp. No. 4200 (115-118)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Ketones					Glucose(g/dL)					Protein(mg/dL)					
			-	+/-	1+	2+	3+	4+	-	0.1	0.25	0.5	≥1.0	-	+/-	30	100	≥300
Male	0	5		3	2			5						3	2			
	100	5			4	1		5						1	3	1		
	300	5		2	3			4	1					2		3		
	1000	5		1	4			4	1						4	1		
Female	0	5	1	3	1			4	1				1	1	1	1	1	
	100	5	1	2	2			5						1	1	2	1	
	300	5	3	2				4	1					2	1	1	1	
	1000	5	2		3			4	1				1	1		3		

Table 9. -continued Urinalysis

Exp. No. 4200 (115-118)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Bilirubin				Urobilinogen(E.U./dL)					
			-	1+	2+	3+	0.1	1.0	2.0	4.0	8.0	≥12
Male	0	5	3	2			4	1				
	100	5	2	3			4	1				
	300	5	2	2	1		3	2				
	1000	5	2	3			2	3				
Female	0	5	3	1	1		2	3				
	100	5	2	2	1		3	2				
	300	5	4	1			4	1				
	1000	5	2	3			2	3				

Table 9. -continued Urinalysis : Microscopic examination of sediment

Exp. No. 4200 (115-118)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Erythrocytes - 1+ 2+ 3+	Leukocytes - 1+ 2+ 3+	Epith. Cells - 1+ 2+ 3+	Casts - +	Fat glob. - +	M. threads - +	others - +
Male	0	5	5	5	5	5	5	4 1	5
	100	5	4 1	5	5	5	5	2 3	5
	300	5	5	5	5	5	5	4 1	5
	1000	5	5	5	5	5	5		5
Female	0	5	5	5	5	5	5	5	5
	100	5	5	5	5	5	5	4 1	5
	300	5	5	5	5	5	5	5	5
	1000	5	4 1	5	5	5	5	5	1 4

others : Crystals

Table 9. -continued Urinalysis

Exp. No. 4200 (115-118)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Volume (mL)	Specific gravity
Male	0	5	21 ± 4	1.046 ± 0.010
	1000	5	16 ± 4	1.054 ± 0.004
Female	0	5	18 ± 7	1.043 ± 0.014
	1000	5	13 ± 5	1.053 ± 0.009

Mean ± S.D.

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

Table 9. -continued Urinalysis

Exp. No. 4200 (115-118)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Color											pH											Occult Blood				
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	5	5.5	6	6.5	7	7.5	8	8.5	≥9	-	+/-	1+	2+	3+		
Male	0	5	5																1	2	2		5						
	1000	5	5																1	1	3		3	1			1		
Female	0	5	5																	1	4		4	1					
	1000	5	5															1		1	3		3	2					

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

Table 9. -continued Urinalysis

Exp. No. 4200 (115-118)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Ketones					Glucose(g/dL)					Protein(mg/dL)				
			-	+/-	1+	2+	3+	4+	-	0.1	0.25	0.5	≥1.0	-	+/-	30	100
Male	0	5	1	2	2			4	1				1	3	1		
	1000	5		2	3			4	1					3	2		
Female	0	5	3	2				4	1				1		2	2	
	1000	5	3	1	1			4	1					1	2	1	1

Table 9. -continued Urinalysis

Exp. No. 4200 (115-118)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Bilirubin				Urobilinogen (E.U./dL)					
			-	1+	2+	3+	0.1	1.0	2.0	4.0	8.0	≥12
Male	0	5	4	1			5					
	1000	5	5				5					
Female	0	5	3	2			3	2				
	1000	5	4		1		3	2				

Table 9. -continued Urinalysis : Microscopic examination of sediment

Exp. No. 4200 (115-118)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Erythrocytes			Leukocytes			Epith. Cells			Casts		Fat glob.		M. threads		others	
			-	1+	2+ 3+	-	1+	2+ 3+	-	1+	2+ 3+	-	+	-	+	-	+	-	+
Male	0	5	5			5			5			5		5		3	2	5	
	1000	5	4		1	5			5			5		5		3	2	5	
Female	0	5	5			5			5			5		5		5		5	
	1000	5	5			5			5			5		5		5		5	

others : Crystals

Table 10. Organ weight

Exp. No. 4200 (115-118)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Body weight (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidneys (g)	Spleen (g)
Male	0	5	325 ± 20	2.06 ± 0.06	9.43 ± 0.97	2.50 ± 0.19	0.60 ± 0.08
	100	5	315 ± 34	2.00 ± 0.07	9.60 ± 1.60	2.48 ± 0.29	0.53 ± 0.08
	300	5	328 ± 19	1.98 ± 0.06	10.21 ± 1.60	2.52 ± 0.20	0.57 ± 0.06
	1000	5	327 ± 25	2.00 ± 0.14	10.11 ± 0.79	2.61 ± 0.17	0.57 ± 0.09
Female	0	5	199 ± 8	1.90 ± 0.06	5.89 ± 0.43	1.60 ± 0.15	0.46 ± 0.05
	100	5	202 ± 13	1.92 ± 0.06	6.08 ± 0.64	1.67 ± 0.14	0.41 ± 0.05
	300	5	201 ± 19	1.91 ± 0.05	6.05 ± 0.51	1.68 ± 0.09	0.42 ± 0.03
	1000	5	210 ± 12	1.93 ± 0.08	6.04 ± 0.36	1.71 ± 0.10	0.45 ± 0.10

Mean ± S.D.

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

Table 10. -continued Organ weight

Exp. No. 4200 (115-118)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Adrenals (mg)	Testes (g)	Ovaries (mg)	Thymus (mg)	Epididymides (mg)
Male	0	5	52 ± 6N	2.83 ± 0.26		556 ± 147	700 ± 64
	100	5	46 ± 10	2.97 ± 0.20		536 ± 121	684 ± 67
	300	5	51 ± 12	2.92 ± 0.07		477 ± 100	723 ± 56
	1000	5	57 ± 1	2.88 ± 0.11		519 ± 115	679 ± 58
Female	0	5	64 ± 12		76 ± 16	466 ± 75	
	100	5	64 ± 16		83 ± 12	468 ± 98	
	300	5	62 ± 7		73 ± 8	444 ± 43	
	1000	5	61 ± 6		71 ± 5	499 ± 27	

Mean ± S.D.

Significant difference from control group;

*: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

N: Non parametric analysis

Table 10. -continued Organ weight

Exp. No. 4200 (115-118)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Body weight (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidneys (g)	Spleen (g)
Male	0	5	399 ± 15N	2.09 ± 0.04	11.10 ± 1.18	2.95 ± 0.31	0.67 ± 0.06
	1000	5	359 ± 59	2.07 ± 0.07	10.09 ± 2.27	2.76 ± 0.56	0.59 ± 0.15
Female	0	5	223 ± 14	1.98 ± 0.05	6.01 ± 0.64	1.71 ± 0.14	0.46 ± 0.02N
	1000	5	225 ± 21	1.97 ± 0.11	6.29 ± 1.06	1.78 ± 0.23	0.43 ± 0.10

Mean ± S.D.

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

N: Non parametric analysis

Table 10. -continued Organ weight

Exp. No. 4200 (115-118)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Adrenals (mg)	Testes (g)	Ovaries (mg)	Thymus (mg)	Epididymides (mg)
Male	0	5	56 ± 5N	3.28 ± 0.26		462 ± 64	927 ± 81
	1000	5	58 ± 16	3.08 ± 0.12		370 ± 62*	875 ± 53
Female	0	5	66 ± 6		72 ± 13	393 ± 78	
	1000	5	63 ± 11		82 ± 12	405 ± 106	

Mean ± S.D.

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

N: Non parametric analysis

Table 11. Organ weight per body weight

Exp. No. 4200 (115-118)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Body weight (g)	Brain (%)	Liver (%)	Kidneys (%)	Spleen (%)
Male	0	5	325 ± 20	0.635 ± 0.047	2.899 ± 0.175	0.769 ± 0.022	0.185 ± 0.018
	100	5	315 ± 34	0.641 ± 0.056	3.039 ± 0.266	0.791 ± 0.054	0.169 ± 0.014
	300	5	328 ± 19	0.604 ± 0.041	3.097 ± 0.314	0.769 ± 0.048	0.175 ± 0.019
	1000	5	327 ± 25	0.613 ± 0.056	3.090 ± 0.090	0.801 ± 0.058	0.173 ± 0.020
Female	0	5	199 ± 8	0.956 ± 0.039	2.957 ± 0.192	0.803 ± 0.097	0.231 ± 0.028
	100	5	202 ± 13	0.954 ± 0.072	3.004 ± 0.161	0.827 ± 0.020	0.203 ± 0.014
	300	5	201 ± 19	0.953 ± 0.075	3.010 ± 0.168	0.838 ± 0.069	0.211 ± 0.035
	1000	5	210 ± 12	0.919 ± 0.037	2.870 ± 0.080	0.812 ± 0.046	0.213 ± 0.038

Mean ± S.D.

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

Table 11. -continued Organ weight per body weight

Exp. No. 4200 (115-118)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Adrenals (%)	Testes (%)	Ovaries (%)	Thymus (%)	Epididymides (%)
Male	0	5	0.016 ± 0.001	0.876 ± 0.113		0.170 ± 0.039	0.216 ± 0.026
	100	5	0.015 ± 0.002	0.952 ± 0.092		0.169 ± 0.024	0.219 ± 0.023
	300	5	0.016 ± 0.003	0.894 ± 0.069		0.144 ± 0.023	0.221 ± 0.024
	1000	5	0.017 ± 0.001	0.884 ± 0.081		0.158 ± 0.028	0.209 ± 0.033
Female	0	5	0.033 ± 0.008		0.038 ± 0.009N	0.234 ± 0.037	
	100	5	0.032 ± 0.007		0.041 ± 0.004	0.232 ± 0.049	
	300	5	0.031 ± 0.006		0.036 ± 0.001	0.221 ± 0.022	
	1000	5	0.029 ± 0.003		0.034 ± 0.002	0.238 ± 0.016	

Mean ± S.D.

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

N: Non parametric analysis

Table 11. -continued Organ weight per body weight

Exp. No. 4200 (115-118)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Body weight (g)	Brain (%)	Liver (%)	Kidneys (%)	Spleen (%)
Male	0	5	399 ± 15N	0.524 ± 0.010N	2.779 ± 0.219	0.741 ± 0.066	0.169 ± 0.015
	1000	5	359 ± 59	0.592 ± 0.110	2.787 ± 0.241	0.765 ± 0.046	0.163 ± 0.019
Female	0	5	223 ± 14	0.887 ± 0.037	2.691 ± 0.186	0.768 ± 0.035	0.208 ± 0.017
	1000	5	225 ± 21	0.880 ± 0.062	2.785 ± 0.242	0.791 ± 0.070	0.191 ± 0.029

Mean ± S.D.

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

N: Non parametric analysis

Table 11. -continued Organ weight per body weight

Exp. No. 4200 (115-118)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Adrenals (%)	Testes (%)	Ovaries (%)	Thymus (%)	Epididymides (%)
Male	0	5	0.014 ± 0.001	0.823 ± 0.069		0.116 ± 0.015	0.233 ± 0.019
	1000	5	0.016 ± 0.003	0.879 ± 0.154		0.106 ± 0.024	0.249 ± 0.043
Female	0	5	0.030 ± 0.002N		0.032 ± 0.004	0.176 ± 0.031	
	1000	5	0.029 ± 0.006		0.036 ± 0.003	0.178 ± 0.031	

Mean ± S.D.

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

N: Non parametric analysis

Table 12.

Summary of gross findings with statistical analysis (4 Weeks experiment)

Exp. No. 4200 (115-118)

Dose level (mg/kg) No. of animals necropsied Organ_____ Findings_____	Male animals				Female animals			
	Am 5	Bm 5	Cm 5	Dm 5	Af 5	Bf 5	Cf 5	Df 5
HEMATOPOIETIC SYSTEM								
spleen white patch/zone	1	0	0	0	0	0	0	0
thymus black patch/zone	0	0	0	0	1	0	0	0
DIGESTIVE SYSTEM								
small intestine	1	0	0	0	0	0	0	0
liver diverticulum	0	0	1	0	0	0	0	0
liver enlarged	0	0	1	0	0	0	0	0
URINARY SYSTEM								
kidney cyst	0	1	0	0	0	1	0	0
dilated pelvis	1	0	0	0	0	0	0	0
scarred	0	0	0	0	0	1	0	0
REPRODUCTIVE SYSTEM								
ovary cyst	-	-	-	-	1	0	0	0
uterus dilated lumen	-	-	-	-	0	0	1	0
INTEGUMENTARY SYSTEM								
subcutaneous tissue	0	0	0	0	0	0	0	1
mass	0	0	0	0	0	0	0	1

Am: 0

Bm: 100

Cm: 300

Dm: 1000

Af: 0

Bf: 100

Cf: 300

Df: 1000

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

Table 12. -continued Summary of gross findings with statistical analysis (6 Weeks experiment)

Exp. No. 4200 (115-118)

Dose level (mg/kg) No. of animals necropsied Organ_____ Findings_____	Male animals				Female animals			
	Am 5	Bm 0	Cm 0	Dm 5	Af 5	Bf 0	Cf 0	Df 5
URINARY SYSTEM Kidney scarred	1	-	-	0	0	-	-	0
Am: 0		Bm: 100	Cm: 300	Dm: 1000				
Af: 0		Bf: 100	Cf: 300	Df: 1000				
Significant difference from control group; * : $P \leq 0.05$ ** : $P \leq 0.01$								

Table 13. Summary of histological findings with statistical analysis
(4 Weeks experiment)

Exp. No. 4200 (115-118)

Dose level (mg/kg) No. of animals necropsied Organ Findings	Male animals				Female animals			
	Am 5	Bm 5	Cm 5	Dm 5	Af 5	Bf 5	Cf 5	Df 5
CARDIOVASCULAR SYSTEM								
heart								
cellular infiltration, lymphocyte	0	-	-	1	0	-	-	0
fibrosis	1	-	-	0	0	-	-	0
HEMATOPOIETIC SYSTEM								
thymus								
Kuersteiner's duct/cyst	0	-	-	0	1	-	-	1
DIGESTIVE SYSTEM								
liver								
fatty change, peripheral	0	0	1	0	1	1	0	1
mineralization	0	0	0	1	0	0	0	0
necrosis	0	0	0	0	0	0	1	0
cellular infiltration	1	0	0	3	0	0	0	0
cellular infiltration, lymphocyte	1	0	0	1	2	0	0	1
microgranuloma	5	3	4	3	5	4	2	5
hematopoiesis, extramedullary	1	0	0	0	0	0	0	0
URINARY SYSTEM								
kidney								
basophilic tubules	3	3	4	5	1	0	0	3
cyst	0	0	0	0	0	1	0	0
dilatation, tubules	0	1	0	1	0	1	2	1
hyaline droplet	1	0	0	2	0	0	0	1
mineralization	0	0	0	1	2	0	0	0
cellular infiltration, lymphocyte	0	0	1	2	1	0	1	1
fibrosis, scar	0	0	0	0	0	1	1	0
REPRODUCTIVE SYSTEM								
testis								
degeneration	0	-	-	1	-	-	-	-
epididymis								
microgranuloma	0	-	-	1	-	-	-	-
uterus								
dilatation, lumen	-	-	-	-	1	-	-	0

Am: 0 Bm: 100 Cm: 300 Dm: 1000
 Af: 0 Bf: 100 Cf: 300 Df: 1000
 Significant difference from control group; * : $P \leq 0.05$ ** : $P \leq 0.01$

Table 13. -continued Summary of histological findings with statistical analysis
(4 Weeks experiment)

Exp. No. 4200 (115-118)

Dose level (mg/kg) No. of animals necropsied Organ_____ Findings_____	Male animals				Female animals			
	Am 5	Bm 5	Cm 5	Dm 5	Af 5	Bf 5	Cf 5	Df 5
INTEGUMENTARY SYSTEM subcutaneous tissue abscess	-	-	-	-	-	-	-	1
Am: 0	Bm: 100	Cm: 300	Dm: 1000					
Af: 0	Bf: 100	Cf: 300	Df: 1000					
Significant difference from control group; * : P ≤ 0.05 ** : P ≤ 0.01								

Table 14. Summary of histological findings (4 Weeks experiment)

Exp. No. 4200 (115-118)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)	0	100	300	1000
No. of animals initially in study	5	5	5	5
No. of animals necropsied	5	5	5	5
No. of animals examined histologically	5	5	5	5
Organ Findings	1 2 3	1 2 3	1 2 3	1 2 3
CARDIOVASCULAR SYSTEM				
heart	(5)	(0)	(0)	(5)
cellular infiltration, lymphocyte	0 0 0	- - -	- - -	1 0 0
fibrosis	1 0 0	- - -	- - -	0 0 0
DIGESTIVE SYSTEM				
liver	(5)	(5)	(5)	(5)
fatty change, peripheral	0 0 0	0 0 0	1 0 0	0 0 0
mineralization	0 0 0	0 0 0	0 0 0	1 0 0
cellular infiltration	1 0 0	0 0 0	0 0 0	3 0 0
cellular infiltration, lymphocyte	1 0 0	0 0 0	0 0 0	1 0 0
microgranuloma	5 0 0	3 0 0	4 0 0	3 0 0
hematopoiesis, extramedullary	1 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
URINARY SYSTEM				
kidney	(5)	(5)	(5)	(5)
basophilic tubules	3 0 0	3 0 0	4 0 0	5 0 0
dilatation, tubules	0 0 0	1 0 0	0 0 0	1 0 0
hyaline droplet	1 0 0	0 0 0	0 0 0	2 0 0
mineralization	0 0 0	0 0 0	0 0 0	1 0 0
cellular infiltration, lymphocyte	0 0 0	0 0 0	1 0 0	2 0 0
REPRODUCTIVE SYSTEM				
testis	(5)	(0)	(0)	(5)
degeneration	0 0 0	- - -	- - -	1 0 0
epididymis	(5)	(0)	(0)	(5)
microgranuloma	0 0 0	- - -	- - -	1 0 0

1: slight 2: moderate 3: marked

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

-: Not applicable.

Table 14. -continued Summary of histological findings (4 Weeks experiment)

Exp. No. 4200 (115-118)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)		0			100			300			1000		
No. of animals initially in study		5			5			5			5		
No. of animals necropsied		5			5			5			5		
No. of animals examined histologically		5			5			5			5		
Organ	Findings	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
HEMATOPOIETIC SYSTEM													
thymus		(5)			(0)			(0)			(5)		
	Kuersteiner's duct/cyst		1	0		0	-		-	-		1	0
DIGESTIVE SYSTEM													
liver		(5)			(5)			(5)			(5)		
	fatty change, peripheral		1	0		0	1		0	0		1	0
	necrosis		0	0		0	0		0	0		0	0
	cellular infiltration, lymphocyte		2	0		0	0		0	0		1	0
	microgranuloma		5	0		0	4		2	0		4	1
URINARY SYSTEM													
kidney		(5)			(5)			(5)			(5)		
	basophilic tubules		1	0		0	0		0	0		3	0
	cyst		0	0		1	0		0	0		0	0
	dilatation, tubules		0	0		1	0		2	0		1	0
	hyaline droplet		0	0		0	0		0	0		1	0
	mineralization		2	0		0	0		0	0		0	0
	cellular infiltration, lymphocyte		1	0		0	0		1	0		1	0
	fibrosis, scar		0	0		1	0		1	0		0	0
REPRODUCTIVE SYSTEM													
uterus		(5)			(0)			(0)			(5)		
	dilatation, lumen		1	0		0	-		-	-		0	0
INTEGUMENTARY SYSTEM													
subcutaneous tissue		(0)			(0)			(0)			(1)		
	abscess		-	-		-	-		-	-		1	0

1: slight 2: moderate 3: marked

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

-: Not applicable.

Table 15. Summary of histological findings in dosed and recovery experiments (sacrificed) Exp. No. 4200 (115-118)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)		0				100			
Week		4 week				6 week			
No. of animals initially in study		5				5			
No. of animals necropsied		5				5			
No. of animals examined histologically		5				5			
Organ	Findings	T	1	2	3	T	1	2	3
CARDIOVASCULAR SYSTEM									
heart		(5)				(0)			
	cellular infiltration, lymphocyte	-	0	0	0	-	-	-	-
	fibrosis	-	1	0	0	-	-	-	-
DIGESTIVE SYSTEM									
liver		(5)				(0)			
	fatty change, peripheral	-	0	0	0	-	-	-	-
	mineralization	-	0	0	0	-	-	-	-
	cellular infiltration	-	1	0	0	-	-	-	-
	cellular infiltration, lymphocyte	-	1	0	0	-	-	-	-
	microgranuloma	-	5	0	0	-	-	-	-
	hematopoiesis, extramedullary	-	1	0	0	-	-	-	-
URINARY SYSTEM									
kidney		(5)				(0)			
	basophilic tubules	-	3	0	0	-	-	-	-
	dilatation, tubules	-	0	0	0	-	-	-	-
	hyaline droplet	-	1	0	0	-	-	-	-
	mineralization	-	0	0	0	-	-	-	-
	cellular infiltration, lymphocyte	-	0	0	0	-	-	-	-
REPRODUCTIVE SYSTEM									
testis		(5)				(0)			
	degeneration	-	0	0	0	-	-	-	-
epididymis		(5)				(0)			
	microgranuloma	-	0	0	0	-	-	-	-

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

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

-: Not applicable.

Table 15. -continued Summary of histological findings in dosed and recovery experiments (sacrificed) Exp. No. 4200 (115-118)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)		300				1000			
Week		4 week				6 week			
No. of animals initially in study		5				0			
No. of animals necropsied		5				0			
No. of animals examined histologically		5				0			
Organ	Findings	T	1	2	3	T	1	2	3
CARDIOVASCULAR SYSTEM									
heart		(0)							
	cellular infiltration, lymphocyte	-	-	-	-	-	-	-	-
	fibrosis	-	-	-	-	-	-	-	-
DIGESTIVE SYSTEM									
liver		(5)							
	fatty change, peripheral	-	1	0	0	-	0	0	0
	mineralization	-	0	0	0	-	1	0	0
	cellular infiltration	-	0	0	0	-	3	0	0
	cellular infiltration, lymphocyte	-	0	0	0	-	1	0	0
	microgranuloma	-	4	0	0	-	3	0	0
	hematopoiesis, extramedullary	-	0	0	0	-	0	0	0
URINARY SYSTEM									
kidney		(5)							
	basophilic tubules	-	4	0	0	-	5	0	0
	dilatation, tubules	-	0	0	0	-	1	0	0
	hyaline droplet	-	0	0	0	-	2	0	0
	mineralization	-	0	0	0	-	1	0	0
	cellular infiltration, lymphocyte	-	1	0	0	-	2	0	0
REPRODUCTIVE SYSTEM									
testis		(0)							
	degeneration	-	-	-	-	-	1	0	0
epididymis		(0)							
	microgranuloma	-	-	-	-	-	1	0	0

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

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

-: Not applicable.

Table 15. -continued Summary of histological findings in dosed and recovery experiments (sacrificed) Exp. No. 4200 (115-118)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)		0				100			
Week		4 week				6 week			
No. of animals initially in study		5				5			
No. of animals necropsied		5				5			
No. of animals examined histologically		5				5			
Organ	Findings	T	1	2	3	T	1	2	3
HEMATOPOIETIC SYSTEM									
thymus		(5)				(0)			
	Kuersteiner's duct/cyst	-	1	0	0	-	-	-	-
DIGESTIVE SYSTEM									
liver		(5)				(0)			
	fatty change, peripheral	-	1	0	0	-	-	-	-
	necrosis	-	0	0	0	-	-	-	-
	cellular infiltration, lymphocyte	-	2	0	0	-	-	-	-
	microgranuloma	-	5	0	0	-	-	-	-
URINARY SYSTEM									
kidney		(5)				(0)			
	basophilic tubules	-	1	0	0	-	-	-	-
	cyst	-	0	0	0	-	-	-	-
	dilatation, tubules	-	0	0	0	-	-	-	-
	hyaline droplet	-	0	0	0	-	-	-	-
	mineralization	-	2	0	0	-	-	-	-
	cellular infiltration, lymphocyte	-	1	0	0	-	-	-	-
	fibrosis, scar	-	0	0	0	-	-	-	-
REPRODUCTIVE SYSTEM									
uterus		(5)				(0)			
	dilatation, lumen	-	1	0	0	-	-	-	-
INTEGUMENTARY SYSTEM									
subcutaneous tissue		(0)				(0)			
	abscess	-	-	-	-	-	-	-	-

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

-: Not applicable.

Table 15. -continued Summary of histological findings in dosed and recovery experiments (sacrificed) Exp. No. 4200 (115-118)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)		300				1000			
Week		4 week				6 week			
No. of animals initially in study		5				0			
No. of animals necropsied		5				0			
No. of animals examined histologically		5				0			
Organ	Findings	T	1	2	3	T	1	2	3
HEMATOPOIETIC SYSTEM									
thymus		(0)							
	Kuersteiner's duct/cyst	-	-	-	-	-	-	-	-
		(5)				(5)			
		-	1	0	0	-	1	0	0
DIGESTIVE SYSTEM									
liver		(5)				(5)			
	fatty change, peripheral	-	0	0	0	-	1	0	0
	necrosis	-	1	0	0	-	0	0	0
	cellular infiltration, lymphocyte	-	0	0	0	-	1	0	0
	microgranuloma	-	2	0	0	-	4	1	0
URINARY SYSTEM									
kidney		(5)				(5)			
	basophilic tubules	-	0	0	0	-	3	0	0
	cyst	-	0	0	0	-	0	0	0
	dilatation, tubules	-	2	0	0	-	1	0	0
	hyaline droplet	-	0	0	0	-	1	0	0
	mineralization	-	0	0	0	-	0	0	0
	cellular infiltration, lymphocyte	-	1	0	0	-	1	0	0
	fibrosis, scar	-	1	0	0	-	0	0	0
REPRODUCTIVE SYSTEM									
uterus		(0)				(5)			
	dilatation, lumen	-	-	-	-	-	0	0	0
INTEGUMENTARY SYSTEM									
subcutaneous tissue		(0)				(1)			
	abscess	-	-	-	-	-	1	0	0

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

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

-: Not applicable.