最終報告書

ピグメントグリーン 7のラットを用いる 28 日間の反復投与毒性試験 試験番号:4204 (115-122)

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

| 目グ | Ż | | |
|------|-------|------------------------------|---------|
| 1. | 要約. | | 3 |
| 2. | 表題. | | 4 |
| 3. | 試験 | 目的 | 4 |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| 10. | 被験特 | 勿質 | 6 |
| 11. | 試験相 | オ料および方法 | 8 |
| 12. | 観察, | 測定および検査 | 11 |
| 13. | 試験網 | 吉果 | 16 |
| 14. | 考察 | および結論 | 20 |
| 15. | 参考) | 文献 | 21 |
| | | | |
| Figu | ıres | | F-1~3 |
| Figu | | Survival ratio | F-1 |
| Figu | re 2 | Body weight | F-2 |
| Figu | ire 3 | Food consumption | F-3 |
| | | | |
| Tabl | es | | T-01~62 |
| Tabl | e 1 | Survival and mortality | T-01 |
| Tabl | e 2 | Clinical observation | T-03 |
| Tabl | e 3 | Body weight | T-09 |
| Tabl | e 4 | Food consumption | T-12 |
| Tabl | e 5 | Food efficiency | T-14 |
| Tabl | e 6 | Hematology | T-16 |
| Tabl | e 7 | Coagulation | T-20 |
| Tabl | e 8 | Blood chemistry | T-22 |
| Tabl | e 9 | Urinalysis | T-32 |
| Tabl | e 10 | Organ weight | T-42 |
| Tabl | e 11 | Organ weight per body weight | T-48 |

| Table 12 | Summary of gross findings with statistical analysis | |
|----------|--|------|
| | (4, 6 Weeks experiment) | T-54 |
| Table 13 | Summary of histological findings with statistical analysis | |
| | (4 Weeks experiment) | T-56 |
| Table 14 | Summary of histological findings (4 Weeks experiment) | T-57 |
| Table 15 | Summary of histological findings in dosed and recovery experiments | |
| | (sacrificed) | T-59 |

1. 要約

ピグメントグリーン 7 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させ,0,100,300 および1000 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,投与期間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.

一般状態の観察では、雌雄とも異常は認められず、死亡例もなかった.

体重および摂餌量測定の結果, 雌雄とも被験物質投与の影響は認められなかった.

血液学,血液凝固能,血液生化学および尿検査の結果,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, 雌雄とも被験物質投与の影響は認められなかった.

病理学検査の結果,被験物質投与に起因する剖検所見および組織所見は, ともに観察されなかった.

以上の結果, ピグメントグリーン 7 の毒性は雌雄いずれの投与群にも認められなかったことから無影響量は雌雄とも 1000 mg/kg と判断された.

2. 表題

ピグメントグリーン 7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

ピグメントグリーン 7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 ピグメントグリーン 7
- **10.2. CAS No.** 1328-53-6
- 10.3. ロット番号
- 10.4. 純度

99.1%

(生成重量-85℃で加温した 5N 硫酸および 14%アンモニア水に不溶な物質 (不純物) の重量) /生成重量×100

- **10.5.** 純度 水分 0.1%
- 10.6. 提供元
- 10.7. 保管条件 室温
- 10.8. 保管場所 安評センター被験物質保管庫
- 10.9. 化学名 C. I. Pigment Green 7
- **10.10. 別名** 銅フタロシアニングリーン,塩素化銅フタロシアニン

10.11. 化学構造

- 10.12. 分子式 C₃₂Cl₁₆CuN₈
- 10.13. 分子量 1127.15
- **10.14. 性状** 緑色の粉末
- 10.15. 性状水に不溶, アセトンに不溶, DMSO に不溶
- **10.16. 安定性** 水,熱,光に対して安定
- **10.17. 分配係数** 水, オクタノールと反応するため未測定
- 10.18. 取り扱い上の注意 飛散しやすい粉体であり着色しやすいため,皮膚に触れたり眼に入らない よう適切な保護具を着用した.
- 10.19. 安定性分析 投与期間終了後,提供元に返却した被験物質について,提供元で再分析を 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』.
- 10.20. 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 Crj:CD(SD)IGS[SPF]系は日本チャールス・リバー株式会社 (神奈川県厚木市) から平成 11 年 5 月 12 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9日間馴化後,平成11年5月21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 138~156 g, 雌で 110~120 g であった.

11.2. 動物種および系統選択理由

反復投与試験に汎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(W $4.2\times D$ $8.9\times H$ 2.5 m, 93.5 m³)で飼育し,環境調節の基準値は温度 23 ± 3 \mathbb{C} (実測値: $22.3\sim23.2$ \mathbb{C}),相対湿度 55 ± 20 %(実測値: $53\sim71$ %),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×D $60.0 \times H175.5$ cm)を使用し、アルミ製前面・床ステンレス網目飼育ケージ(W $20.0 \times D$ $28.2 \times H$ 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,3ヵ月に1回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,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3ヵ月に1回株式会社 エコプロ・リサーチ (静岡県清水市)で行い,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 |
|--------|-----|-----|---------------|-------------------------|-------------------------|
| | 1 | 10 | 0* | 1001~1005 | 1006~1010 |
| 雄 | 2 | 5 | 100 | 1101~1105 | - |
| 広王 | 3 | 5 | 300 | 1201~1205 | |
| | 4 | 10 | 1000 | 1301~1305 | 1306~1310 |
| | 1 | 10 | 0* | 2001 ~ 2005 | 2006~2010 |
| 此推 | 2 | 5 | 100 | 2101~2105 | |
|) DCEE | 3 | 5 | 300 | 2201~2205 | |
| | 4 | 10 | 1000 | 2301~2305 | 2306~2310 |

^{*}媒体(コーンオイル)のみを投与する.

「用量設定理由」

用量設定のための 2 週間反復投与毒性試験(予備試験)を 0,100,300 および 1000 mg/kg の 4 用量で実施した結果,1000 mg/kg 群では雌で肥満の傾向を示す動物が認められたが,明らかな毒性徴候ではなかった.したがって,28 日間反復投与毒性試験の高用量も予備試験同様 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, 毎週個体別に測定した体重に基づいて投与量を算出し, 1 日 J 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

各用量別に所定量を秤量し、2.0、6.0 および 20 w/v%となるようコーンオイル(ナカライテスク株式会社、京都市中京区、Lot No. V9A8239)に懸濁させた.被験物質が有機媒体や水に不溶であることから、被験物質はコーンオイル中で安定であると考えられるため、投与液の調製は1週間に1回とし、1日分ずつ小分けして投与時まで室温保管した.

11.7. 投与期間

投与期間は,雌雄ともに 28 日間とし,投与期間終了後 0 および 1000 mg/kg 群については 14 日間の回復期間を設けた.

11.8. 投与液中の被験物質の濃度分析

被験物質の特性上,分析器機を用いての測定が不可能であるため,コーンオイル中の安定性確認および投与液中の被験物質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)で下記の項目を測定した.

| 赤血球数 (1) 平均赤血球容積 (1) 平均赤血球血色素量 (1) 平均赤血球血色素濃度 (1) 血小板数 (1) | RBC) MCV) MCH) MCHC) PLT) | シアンメトヘモグロビン法 暗視野板法 暗視野板法 HGB, RBC より算出 HGB, HCT より算出 暗視野板法 フローサイトメトリー法 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(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 | (L 4) | Quick1 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 |

12.4.3. 血液生化学検査

採血管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 (㈱日立製作所,東京都千代田区) および電解質測定装置 EA06R (㈱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タ゛ーセ゛ |
| | | 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 |
| トランスフェラーゼ | · , | 拠) |
| アラニンアミノトラン | (ALT) | 酵素-UV 法(JSCC 準 |
| スフェラーゼ | . , | 拠) |
| アルカリホスファター | (ALP) | P-ニトロフェニルリン |
| ゼ | , | 酸基質法(JSCC 準拠) |
| γ-グルタミルトラン | (Gamma-GTP) | L-γ-グルタミル-3-カル |
| , スペプチダーゼ | , | ボキシ-4NA 基質法 |
| · | | (JSCC 準拠) |
| カルシウム | (Calcium) | MXB 法 |
| 無機リン | (1.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-マルティスティックス 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 (Ketone body)

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,心臓,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,膵臓,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,精嚢,前立腺,卵巣,子宮,腟,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),骨髄(大腿骨), 大動脈,皮膚,乳腺,その他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.

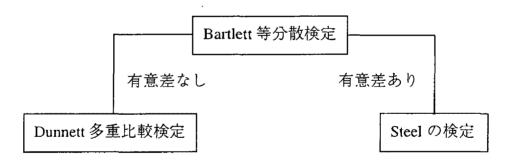
病理組織学的検査は固定した器官・組織のうち,投与期間終了時に解剖した全動物の肺(気管支含む)および肝臓ならびに対照群および高用量群の胸腺,心臓,脾臓,腎臓,副腎,胃,小腸,大腸,精巣,精巣上体,子宮,卵巣および骨髄(大腿骨)について実施した.組織標本の作製は株式会社組織科学研究所(東京都青梅市)に依頼し,常法に従ってパラフィン包埋,薄切後,ヘマトキシリン・エオジン染色を施した.鏡検は安評センターで実施し,病変の種類および程度を含む各所見について記録した.

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%の片側検定で実施した.

なお,投与期間終了時の動物番号 1002 における血液学,血液凝固能,血液生化学,尿および病理学検査の結果から,同個体の腎臓に異常があり統計解析結果に影響を及ぼす可能性が示唆されたため,白血球数,好中球比率,リンパ球比率,フィブリノーゲン量,尿素窒素,クレアチニン,総蛋白,アルブミン,A/G,尿量,尿比重,心臓重量,腎臓重量,脾臓重量,心臓相対重量,腎臓相対重量および脾臓相対重量を統計対象から除外した.



また, 生存率および病理学的検査結果の検定は 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.

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.

投与期間および回復期間を通じ,雌雄いずれの群にも異常を示す動物は観察されなかった.

13.3. 体重

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

雄では、投与期間を通じ、対照群と被験物質投与群で差は認められなかった. 回復期間において 1000 mg/kg 群で回復 2 週間の体重増加量が低値を示したが、回復 1 および 2 週に差が認められない程度の僅かな変化であること、投与期間には認められない変化であることから、偶発的な変化と判断された.

雌では,投与期間および回復期間を通じ,対照群と被験物質投与群で差は 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.

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

雌では、投与期間を通じ、対照群と被験物質投与群で差は認められなかった. 回復期間において 1000 mg/kg 群で回復 1 週の摂餌量および回復 2 週間の総摂餌量が低値を示したが、回復 2 週に差が認められないこと、投与期間には認められない変化であることから、偶発的な変化と判断された.

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、投与期間を通じ、対照群と被験物質投与群で差は認められなかった。回復期間において 1000 mg/kg 群で回復 1 週の飼料効率および回復 2 週間の平均飼料効率が低値を示したが、回復 2 週に差が認められないこと、投与期間には認められない変化であることから、偶発的な変化と判断された。

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

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,100 mg/kg 群で好中球比率が低値を示したが, 用量に対応する変化ではなかった. 雌では,300 mg/kg 群で血小板数が高 値傾向を示したが,用量に対応する変化ではなかった.

回復期間終了時: 雌雄とも対照群と被験物質投与群で差は認められなかった.

13.7. 血液凝固能検查

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:雄では 1000 mg/kg 群でプロトロンビン時間が延長を示した. 雌では 100 mg/kg 群でプロトロンビン時間が短縮を示したが,毒性学的意義のない変化であった. また,300 mg/kg 群でフィブリノーゲン量が高値を示したが、用量に対応する変化ではなかった.

回復期間終了時:雌雄とも対照群と被験物質投与群で差は認められなかった.

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100 mg/kg 群でアルカリホスファターゼが高値を示し、雌では100 mg/kg 群で血糖が高値を示したが、いずれも用量に対応する変化ではなかった。

回復期間終了時:雄では 1000 mg/kg 群でカリウムが低値を示し、ALT が高値を示したが、これらは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から、被験物質投与との関連は示唆されなかった。雌では1000 mg/kg 群で総コレステロール、中性脂肪、総蛋白、アルブミンおよびカルシウムが低値を示したが、これらは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から、被験物質投与との関連は示唆されなかった.

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,対照群と被験物質投与群で差は認められなかった.

回復期間終了時:雌雄とも、対照群と被験物質投与群で差は認められな

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:雄では、対照群と被験物質投与群で差は認められなかった. 雌では、100 mg/kg 群で胸腺重量が高値を示したが、用量に対応する変化ではなかった.

回復期間終了時:雄では,1000 mg/kg 群で脳重量が低値を示し,雌では, 肝臓および腎臓重量が低値を示したが,これらは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から,被験物質投与との関連は示唆 されなかった.

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:雄では,100 mg/kg 群で胸腺相対重量が高値を示し,雌では,100 mg/kg 群で肝臓および胸腺相対重量が高値を示したが,これらはいずれも用量に対応しない変化であった.

回復期間終了時:雄では,1000 mg/kg 群で脾臓相対重量が高値を示し,雌では,1000 mg/kg 群で肝臓相対重量が低値を示したが,これらは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から,被験物質投与との関連は示唆されなかった.

13.12. 病理学検査

剖検所見を Table 12 および Appendix 11 に、組織所見を Table 13~15 および Appendix 12、13 に示した.

投与期間終了時: 剖検で対照群に比較して被験物質投与群に多く発生した 所見は認められなかったが、肺の緑色斑点/区域が 1000 mg/kg 群の雄 1 例に認められた. その他、雄で下垂体の嚢胞、腎臓の瘢痕化、腎臓の肥大 および尿管の内腔拡張が、雌で卵巣の嚢胞が認められた.

組織検査で対照群と比較して被験物質投与群で多く発生した所見は観察されなかった. 雄の対照群では、水腎症が1例観察され、これに伴った尿細管の好塩基化、拡張、壊死および炎症ならびに移行上皮の増生などの変化が観察された. なお、剖検所見で肺の緑色斑点/区域が認められた1000mg/kg 群の動物では肺胞内に緑色の色素を貪食したマクロファージが多数認められた. 肺のマクロファージ集簇はこの1例のほかは、雄の1000mg/kg 群で1例および雌の100mg/kg 群で1例に認められたが、色素の貪食はなく限局性のものであった. また、肝臓の髄外造血が雄の100,300および1000mg/kg 群でそれ

ぞれ1および3例に認められたが、雌では対照群にも1例に観察された. その他、雌雄ともに腎臓の尿細管好塩基化、肝臓の脂肪化、周辺性脂肪化 および小肉芽腫ならびに胃の腺腔拡張が観察された.その他に観察された 所見は僅かか、単発性の発生であった.

回復期間終了時: 剖検で対照群に比較して被験物質投与群に多く発生した病変は認められなかったが、肺の緑色斑点/区域が 1000 mg/kg 群の雌 1 例に認められた. その他、雌雄ともに腎臓の瘢痕化が観察された.

14. 考察および結論

一般状態の観察では、雌雄とも異常は認められず、死亡例もなかった.

体重および摂餌量測定の結果, 雌雄とも被験物質投与の影響は認められなかった.

血液凝固能検査の結果, 雌では被験物質投与の影響は認められなかった. 雄の 1000 mg/kg 群で認められたプロトロンビン時間の延長は, 対照群と比較して僅かな変化であり, 肝細胞の障害を示唆する病変も認められなかったことから毒性学的意義はないと判断された.

血液学,血液生化学および尿検査の結果,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, 雌雄とも, 実重量および相対重量のいずれにも被験物質投与の影響は認められなかった.

病理学検査の結果,投与期間終了時において被験物質投与による影響が示唆される変化は,剖検所見ならびに組織所見ともに観察されなかった.雄の1000 mg/kg 群では1例に肺の緑色斑点/区域が認められたが、組織学的には緑色の色素を貪食したマクロファージが多数認められたことから緑色を呈する被験物質が誤嚥などにより肺胞内に侵入したものと考えられ、毒性学的な意義はないと判断された.他の2例に認められた肺のマクロファージ集簇については、色素の貪食もなく、限局性であったことから、生理的なものと考えられ、毒性学的な意義はないと判断された.なお、複数の動物に認められた肝臓の髄外造血は用量に対応しない変化であり、被験物質投与による影響ではないと判断された.

以上の結果、ピグメントグリーン7の毒性は雌雄いずれの投与群にも認められなかったことから無影響量は雌雄とも 1000 mg/kg 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

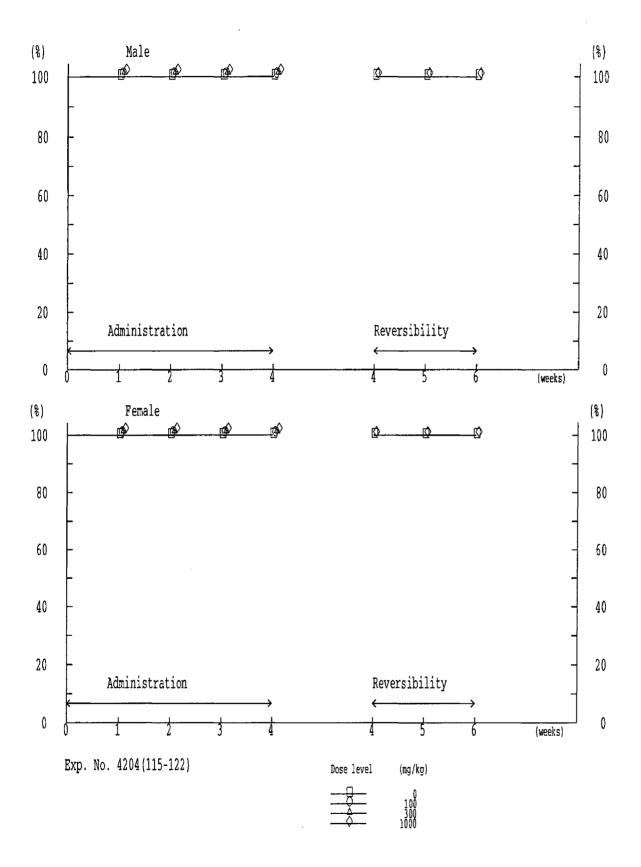


Figure 1. Survival ratio

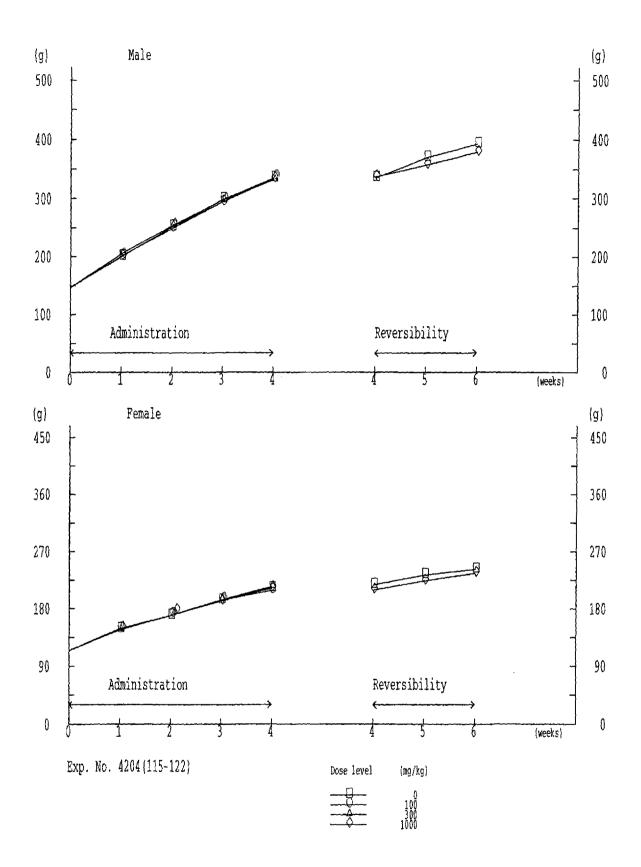


Figure 2. Body weight

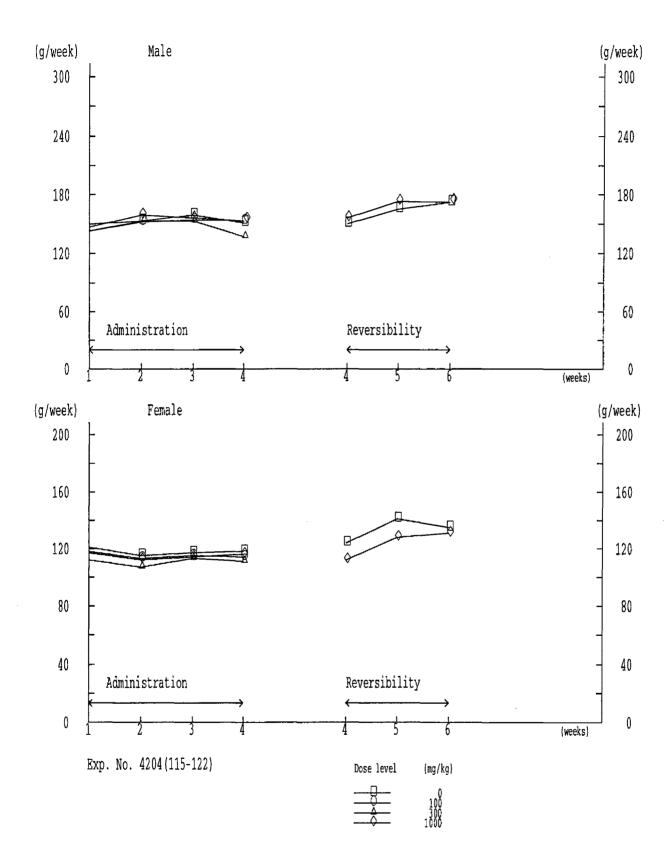


Figure 3. Food consumption

Tables

| Sex | Dose level (mg/kg) | Weeks 1 | of expe 2 | riment 3 | 4 | Mortality (%) |
|--------|-----------------------|------------|--------------|-------------|-------|------------------|
| 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; *: $P \le 0.05$ **: $P \le 0.01$

Table 1. -continued Survival and mortality

Exp. No. 4204 (115-122)

| Sex | Dose level (mg/kg) | Weeks 4 | of expe 5 | ment 6 | Mortality (%) |
|--------|-----------------------|------------|--------------|-----------|------------------|
| 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; *: $P \le 0.05$

**: P≦0.01

Sex : Male

| Findings of clinical | Dose level | Days o | f expe | riment | | | | | | | | | | | | Total |
|---|------------|--------|--------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|
| observation | (mg/kg) | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | (1→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 |

T-0:

-continued Clinical observation

Exp. No. 4204 (115-122)

Sex : Male

| Findings of clinical observation | Dose level (mg/kg) | Days o 15 | f expe 16 | riment 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 | Total (15→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 |

Sex : Female

| Findings of clinical | Dose level | Days o | f expe | riment | | | | | | | | | | | | Total |
|-------------------------|------------|--------|--------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|
| observation | (mg/kg) | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | (1→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 |

T-05

,

/

Table 2. -continued Clinical observation

Exp. No. 4204 (115-122)

Sex : Female

| Findings of clinical observation | Dose level (mg/kg) | Days o 15 | f expe 16 | riment 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 | Tota! (15→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 |

Table 2.

-continued Clinical observation

Exp., No. 4204 (115-122)

Sex : Male

| Findings of clinical observation | Dose level (mg/kg) | Days o | f expe | riment 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 | 37 | 38 | 39 | 40 | 41 | 42 | Total (29→42) |
|----------------------------------|-----------------------|--------|--------|--------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------------------|
| normal/number per group | 0 | 5/5 | 5/5 | 5/5 | 5/5 | 5/5 | 5/5 | 5/5 | 5/5 | 5/5 | 5/5 | 5/5 | 5/5 | 5/5 | 5/5 | 5 |
| | 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 |

Sex : Female

| Findings of clinical observation | Dose level (mg/kg) | Days c 29 | f expe | riment 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 | 37 | 38 | 39 | 40 | 41 | 42 | Total (29→42) |
|----------------------------------|-----------------------|--------------|--------|--------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------------------|
| normal/number per group | 0 | 5/5 | 5/5 | 5/5 | 5/5 | 5/5 | 5/5 | 5/5 | 5/5 | 5/5 | 5/5 | 5/5 | 5/5 | 5/5 | 5/5 | 5 |
| | 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 |

| Sex | Dose level (mg/kg) | Weeks of experiment O | 1 | 2 | 3 | 4 |
|--------|-----------------------|--------------------------|----------|----------|----------|----------|
| Male | 0 | 147 ± 6 | 200 ± 14 | 252 ± 24 | 298 ± 31 | 334 ± 38 |
| | 100 | 147 ± 5 | 201 ± 14 | 249 ± 23 | 294 ± 36 | 334 ± 45 |
| | 300 | 147 ± 5 | 205 ± 14 | 254 ± 22 | 297 ± 26 | 331 ± 36 |
| | 1000 | 147 ± 5 | 200 ± 8 | 252 ± 16 | 294 ± 21 | 333 ± 24 |
| Female | 0 | 114 ± 3 | 148 ± 7 | 169 ± 11 | 193 ± 13 | 212 ± 18 |
| | 100 | 114 ± 2 | 149 ± 4 | 169 ± 7 | 193 ± 9 | 209 ± 15 |
| | 300 | 114 ± 3 | 147 ± 6 | 169 ± 12 | 194 ± 15 | 215 ± 19 |
| | 1000 | 114 ± 3 | 147 ± 5 | 169 ± 7 | 192 ± 11 | 213 ± 12 |

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

Table 3. -continued Body weight

Exp. No. 4204 (115-122)

(unit : g)

| Sex | Dose level (mg/kg) | Gain (0 → 4) | |
|--------|-----------------------|-----------------|--|
| Male | 0 | 187 ± 33 | |
| | 100 | 187 ± 41 | |
| | 300 | 184 ± 32 | |
| | 1000 | 185 ± 23 | |
| Female | 0 | 97 ± 17 | |
| | 100 | 95 ± 17 | |
| | 300 | 101 ± 17 | |
| | 1000 | 98 ± 13 | |

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

| Sex | Dose level (mg/kg) | Weeks of experiment 4 | 5 | 6 | (Gain (4 → 6) | |
|--------|-----------------------|--------------------------|----------|----------|------------------|--|
| Male | 0 | 335 ± 44 | 369 ± 51 | 392 ± 51 | 57 ± 11 | |
| | 1000 | 337 ± 20 | 357 ± 25 | 378 ± 29 | 41 ± 11* | |
| Female | 0 | 218 ± 14 | 233 ± 16 | 242 ± 14 | 25 ± 4 | |
| | 1000 | 210 ± 14 | 224 ± 15 | 236 ± 15 | 26 ± 4 | |

Table 4. Food consumption

Exp. No. 4204 (115-122)

(unit : g/week)

| Sex | Dose level (mg/kg) | Weeks of experiment 1 | 2 | 3 | 4 | Total (0 → 4) |
|--------|-----------------------|--------------------------|----------|----------|----------|------------------|
| Male | 0 | 143 ± 9 | 153 ± 15 | 159 ± 18 | 151 ± 16 | 606 ± 56 |
| | 100 | 143 ± 12 | 152 ± 21 | 154 ± 28 | 153 ± 33 | 602 ± 92 |
| | 300 | 150 ± 10 | 153 ± 19 | 153 ± 20 | 137 ± 21 | 593 ± 64 |
| | 1000 | 147 ± 12 | 159 ± 15 | 156 ± 14 | 153 ± 14 | 615 ± 50 |
| Female | 0 | 121 ± 9 | 115 ± 9 | 117 ± 10 | 118 ± 17 | 470 ± 42 |
| | 100 | 118 ± 6 | 113 ± 8 | 115 ± 10 | 114 ± 17 | 461 ± 35 |
| | 300 | 112 ± 8 | 107 ± 5 | 113 ± 6 | 111 ± 18 | 443 ± 13 |
| | 1000 | 117 ± 6 | 112 ± 8 | 114 ± 11 | 116 ± 11 | 459 ± 26 |

Mean ± \$.D. Significant difference from control group;

(unit : g/week)

| Sex | Dose level (mg/kg) | Weeks of experiment 4 | 5 | 6 | (5 → 6) | |
|--------|-----------------------|--------------------------|-----------|----------|-----------|---|
| Male | 0 | 150 ± 21 | 165 ± 27 | 172 ± 20 | 337 ± 41 | |
| | 1000 | 156 ± 16 | 173 ± 23 | 172 ± 18 | 345 ± 40 | _ |
| Female | 0 | 124 ± 12 | 141 ± 9 | 135 ± 5 | 276 ± 14 | |
| | 1000 | 112 ± 10 | 128 ± 10* | 131 ± 7 | 259 ± 13* | |

Table 5. Food efficiency

Exp. No. 4204 (115-122)

| uni | ŧ | : | % |) |
|-----|---|---|---|---|
|-----|---|---|---|---|

| Sex | Dose level (mg/kg) | Weeks of experiment | 2 | 3 | 4 | Mean (0 → 4) |
|--------|-----------------------|---------------------|----------------|----------------|-------------|-----------------|
| Male | 0 | 36.7 ± 4.1 | 33.6 ± 4.7 | 29.0 ± 3.4 | 23.9 ± 5.4N | 30.7 ± 2.9 |
| | 100 | 37.4 ± 3.4 | 31.8 ± 3.3 | 28.4 ± 5.7 | 26.5 ± 1.9 | 30.9 ± 2.5 |
| | 300 | 37.9 ± 4.9 | 32.3 ± 2.7 | 28.3 ± 2.4 | 24.6 ± 6.8 | 30.8 ± 2.6 |
| | 1000 | 35.9 ± 3.5 | 32.7 ± 4.3 | 26.8 ± 4.7 | 25.0 ± 2.7 | 30.1 ± 2.5 |
| Female | 0 | 27.5 ± 4.2 | 18.9 ± 4.0 | 20.0 ± 3.2N | 16.1 ± 5.5 | 20.7 ± 2.6 |
| | 100 | 29.8 ± 3.4 | 17.7 ± 2.9 | 20.1 ± 1.4 | 14.2 ± 5.3 | 20.6 ± 2.1 |
| | 300 | 29.2 ± 3.1 | 21.1 ± 6.7 | 21.6 ± 4.1 | 20.4 ± 8.1 | 22.9 ± 4.2 |
| | 1000 | 27.4 ± 4.6 | 19.5 ± 4.7 | 20.2 ± 8.6 | 17.7 ± 4.2 | 21.4 ± 2.0 |

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

| Sex | Dose level (mg/kg) | Weeks of experiment 4 | 5 | 6 | Mean (5 → 6) | |
|--------|-----------------------|--------------------------|--------------|------------|-----------------|--|
| Male | 0 | 24.6 ± 8.0 | 20.9 ± 5.3N | 13.5 ± 2.8 | 17.0 ± 2.3 | |
| | 1000 | 25.9 ± 3.2 | 11.4 ± 1.7** | 12.1 ± 2.9 | 11.7 ± 1.7** | |
| Female | 0 | 19.4 ± 3.2 | 10.6 ± 3.2 | 7.3 ± 3.0 | 9.0 ± 1.7 | |
| | 1000 | 18.3 ± 4.3 | 11.3 ± 3.5 | 8.7 ± 1.2 | 10.0 ± 1.4 | |

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

Table 6.

Hematology

Exp. No. 4204 (115-122)

| Week | ٠ | |
|------|---|--|
| いしらい | ٠ | |

| Sex | Dose level (mg/kg) | No. of animals | HCT (%) | HGB (g/dL) | RBC (x10 ⁶ /mm³) | MCV (µm³) | MCH (pg) | MCHC (%) |
|--------|-----------------------|-------------------|------------|----------------|--------------------------------|--------------|-------------|-------------|
| Male | 0 | 5 | 45.1 ± 1.8 | 15.1 ± 0.5 | 7.52 ± 0.21 | 60.0 ± 1.3 | 20.1 ± 0.5 | 33.5 ± 0.8 |
| | 100 | 5 | 45.0 ± 0.7 | 15.0 ± 0.4 | 7.56 ± 0.19 | 59.6 ± 1.4 | 19.8 ± 0.7 | 33.3 ± 0.4 |
| | 300 | 5 | 45.7 ± 1.8 | 15.2 ± 0.4 | 7.45 ± 0.42 | 61.4 ± 1.2 | 20.4 ± 0.7 | 33.2 ± 0.6 |
| | 1000 | 5 | 45.2 ± 1.0 | 15.2 ± 0.4 | 7.57 ± 0.35 | 59.9 ± 2.2 | 20.1 ± 0.6 | 33.6 ± 0.3 |
| Female | 0 | 5 | 45.2 ± 1.7 | 15.2 ± 0.7 | 7.73 ± 0.43 | 58.6 ± 1.7 | 19.7 ± 0.3 | 33.7 ± 0.6 |
| | 100 | 5 | 44.5 ± 1.3 | 14.9 ± 0.4 | 7.61 ± 0.26 | 58.5 ± 1.6 | 19.6 ± 0.5 | 33.4 ± 0.6 |
| | 300 | 5 | 43.5 ± 1.2 | 14.6 ± 0.4 | 7.38 ± 0.26 | 58.9 ± 1.0 | 19.8 ± 0.2 | 33.5 ± 0.3 |
| | 1000 | 5 | 44.1 ± 1.1 | 14.9 ± 0.3 | 7.46 ± 0.30 | 59.1 ± 1.6 | 20.0 ± 0.7 | 33.9 ± 0.5 |

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

*: P≦0.05

**: P≦0.01

Table 6. -continued Hematology

| leek | • | 4 |
|------|---|---|
| | | |

| Week: | 4 | | | | | | | | |
|--------|-----------------------|-------------------|-------------------|---|----------------------|------------------------------------|-------|-------|-------|
| Sex | Dose level (mg/kg) | No. of animals | PLT (x10³/mm³) | WBC (x10 ³ /mm ³) | Differential NEUT | leukocyte counts (%) LYMPH MONO | EOSN | BASO | LUC |
| Male | 0 | 5 | 1173 ± 118 | 9.0 ± 4.4 | 12 ± 4 | 85 ± 4 2 ± 1 | 1 ± 0 | 0 ± 0 | 1 ± 1 |
| | 100 | 5 | 1021 ± 63 | 10.5 ± 3.9 | 8 ± 2* | 89 ± 2 1 ± 0 | 1 ± 0 | 0 ± 0 | 1 ± 1 |
| | 300 | 5 | 1140 ± 164 | 10.6 ± 3.0 | 9 ± 2 | 88 ± 3 2 ± 1 | 1 ± 0 | 0 ± 0 | 1 ± 1 |
| | 1000 | 5 | 1115 ± 134 | 12.1 ± 1.2 | 10 ± 3 | 87 ± 3 1 ± 1 | 1 ± 0 | 0 ± 0 | 0 ± 1 |
| Female | 0 | 5 | 1088 ± 83 | 5.0 ± 1.4N | 14 ± 6 | 83 ± 7 1 ± 1 | 1 ± 0 | 0 ± 0 | 0 ± 0 |
| | 100 | 5 | 1116 ± 59 | 6.4 ± 1.9 | 11 ± 3 | 85 ± 4 1 ± 1 | 1 ± 0 | 0 ± 0 | 0 ± 0 |
| | 300 | 5 | 1266 ± 70** | 5.2 ± 2.6 | 11 ± 3 | 87 ± 4 1 ± 0 | 1 ± 1 | 0 ± 0 | 0 ± 0 |
| | 1000 | 5 | 1138 ± 113 | 6.0 ± 0.4 | 10 ± 2 | 86 ± 3 2 ± 1 | 2 ± 1 | 0 ± 0 | 0 ± 0 |

Exp. No. 4204 (115-122)

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

Table 6. -continued Hematology Exp. No. 4204 (115-122)

| Week: | 6 | | | | | | | |
|--------|-----------------------|-------------------|-------------|---------------|--------------------------------|--------------|-------------|----------------|
| Sex | Dose level (mg/kg) | No. of animals | HCT (%) | HGB (g/dL) | RBC (x10 ⁶ /mm³) | MCV (µm³) | MCH (pg) | MCHC (%) |
| Male | 0 | 5 | 48.5 ± 2.1 | 16.1 ± 0.6 | 8.69 ± 0.44 | 55.8 ± 1.2 | 18.6 ± 0.5 | 33.3 ± 0.4 |
| | 1000 | 5 | 48.2 ± 1.3 | 16.2 ± 0.5 | 8.59 ± 0.42 | 56.2 ± 1.7 | 18.9 ± 0.5 | 33.6 ± 0.2 |
| Female | 0 | 5 | 44.2 ± 0.8N | 15.3 ± 0.3 | 7.91 ± 0.18 | 55.8 ± 0.8 | 19.3 ± 0.3 | 34.5 ± 0.2 |
| | 1000 | 5 | 45.0 ± 2.5 | 15.5 ± 0.7 | 8.08 ± 0.48 | 55.7 ± 1.6 | 19.3 ± 0.6 | 34.5 ± 0.4 |

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

6

| Sex | Dose level (mg/kg) | No. of animals | PLT (x10 ³ /mm³) | WBC (x10 ³ /ma ³) | Differential NEUT | leukocyte LYMPH | counts (%) MONO | EOSN | BAS0 | LUC |
|--------|-----------------------|-------------------|--------------------------------|---|----------------------|--------------------|--------------------|-------|-------|-------|
| Male | 0 | 5 | 1206 ± 142 | 12.3 ± 1.2 | 9 ± 2 | 87 ± 3 | 2 ± 1 | 1 ± 0 | 0 ± 0 | 1 ± 0 |
| | 1000 | 5 | 1093 ± 96 | 12.9 ± 1.4 | 9 ± 2 | 86 ± 3 | 3 ± 1 | 1 ± 1 | 0 ± 0 | 1 ± 0 |
| Female | 0 | 5 | 1180 ± 169 | 7.2 ± 2.5 | 9 ± 3 | 86 ± 3 | 2 ± 1 | 2 ± 1 | 0 ± 0 | 1 ± 0 |
| | 1000 | 5 | 1135 ± 114 | 6.2 ± 1.4 | 10 ± 2 | 86 ± 3 | 2 ± 1 | 2 ± 1 | 0 ± 0 | 1 ± 0 |

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

Table 7. Goagulation

Exp. No. 4204 (115-122)

| Wee | f | 4 |
|-----|----|-----|
| WED | K. | - 4 |
| | | |

| Sex | Dose level (mg/kg) | No. of animals | PT (sec.) | APTT (sec.) | Fibrinogen (mg/dL) | |
|--------|-----------------------|-------------------|----------------|----------------|-----------------------|--|
| Male | 0 | 5 | 14.3 ± 0.5 | 26.7 ± 1.7 | 218 ± 17 | |
| | 100 | 5 | 14.5 ± 0.6 | 27.4 ± 0.9 | 217 ± 14 | |
| | 300 | 5 | 14.5 ± 0.3 | 27.6 ± 1.5 | 208 ± 20 | |
| | 1000 | 5 | 15.2 ± 1.1* | 27.6 ± 1.1 | 215 ± 10 | |
| Female | 0 | 5 | 14.5 ± 0.5 | 22.7 ± 1.5 | 165 ± 12 | |
| | 100 | 5 | 13.8 ± 0.2** | 22.8 ± 0.6 | 174 ± 18 | |
| | 300 | 5 | 14.7 ± 0.4 | 23.9 ± 1.4 | 182 ± 5* | |
| | 1000 | 5 | 14.3 ± 0.4 | 23.9 ± 0.9 | 174 ± 6 | |

| Sex | Dose level (mg/kg) | No. of animals | PT (sec.) | APTT (sec.) | Fibrinogen (mg/dL) | ······································ |
|--------|-----------------------|-------------------|--------------|----------------|-----------------------|--|
| Male | 0 | 5 | 15.0 ± 0.6 | 26.9 ± 1.7 | 220 ± 10 | |
| | 1000 | 5 | 15.1 ± 0.6 | 27.7 ± 0.7 | 217 ± 18 | |
| Female | 0 | 5 | 14.8 ± 0.6 | 21.1 ± 1.5 | 179 ± 8 | |
| | 1000 | 5 | 15.1 ± 0.5 | 21.1 ± 1.1 | 180 ± 14 | |

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

Table 8.

Blood chemistry

Exp. No. 4204 (115-122)

| Week | : | 4 |
|------|---|---|
| | | |

| Sex | Dose level (mg/kg) | No. of animals | Glucose (mg/dL) | T.cholesterol (mg/dL) | Triglyceride (mg/dL) | |
|--------|-----------------------|-------------------|--------------------|--------------------------|-------------------------|--|
| Male | 0 | 5 | 133 ± 14 | 49 ± 6 | 34.0 ± 15.3 | |
| | 100 | 5 | 126 ± 15 | 44 ± 6 | 30.5 ± 10.0 | |
| | 300 | 5 | 141 ± 15 | 45 ± 5 | 30.6 ± 4.4 | |
| | 1000 | 5 | 135 ± 10 | 55 ± 11 | 31.7 ± 11.2 | |
| Female | 0 | 5 | 117 ± 14 | 50 ± 9 | 11.3 ± 5.0 | |
| | 100 | 5 | 142 ± 19* | 53 ± 7 | 15.0 ± 6.7 | |
| | 300 | 5 | 119 ± 15 | 42 ± 5 | 9.9 ± 3.3 | |
| | 1000 | 5 | 124 ± 9 | 59 ± 10 | 12.9 ± 2.1 | |

Week:

| 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 | 12.1 ± 3.0 | 0.21 ± 0.03 | 0.03 ± 0.00 | 5.35 ± 0.17 | 3.30 ± 0.06 |
| | 100 | 5 | 11.4 ± 1.3 | 0.20 ± 0.02 | 0.03 ± 0.01 | 5.27 ± 0.11 | 3.29 ± 0.07 |
| | 300 | 5 | 11.3 ± 2.0 | 0.20 ± 0.03 | 0.03 ± 0.00 | 5.20 ± 0.12 | 3.21 ± 0.12 |
| | 1000 | 5 | 9.4 ± 1.1 | 0.19 ± 0.02 | 0.03 ± 0.01 | 5.31 ± 0.11 | 3.30 ± 0.10 |
| emale | 0 | 5 | 16.5 ± 2.4 | 0.24 ± 0.01 | 0.03 ± 0.01 | 5.56 ± 0.12 | 3.53 ± 0.13 |
| | 100 | 5 | 17.2 ± 3.8 | 0.27 ± 0.03 | 0.03 ± 0.01 | 5.63 ± 0.14 | 3.64 ± 0.12 |
| | 300 | 5 | 16.6 ± 2.8 | 0.26 ± 0.01 | 0.03 ± 0.01 | 5.54 ± 0.39 | 3.56 ± 0.22 |
| | 1000 | 5 | 16.2 ± 3.2 | 0.24 ± 0.03 | 0.04 ± 0.01 | 5.60 ± 0.19 | 3.63 ± 0.04 |

Table 8. -continued Blood chemistry

Exp. No. 4204 (115-122)

| Week | - 4 |
|------|-----|
| MCCV | - |

| Sex | Dose level (mg/kg) | No. of animals | A/G |
|--------|-----------------------|-------------------|-------------|
| Male | 0 | 5 | 1.61 ± 0.08 |
| | 100 | 5 | 1.67 ± 0.15 |
| | 300 | 5 | 1.62 ± 0.11 |
| | 1000 | 5 | 1.66 ± 0.16 |
| Female | 0 | 5 | 1.75 ± 0.19 |
| | 100 | 5 | 1.84 ± 0.15 |
| | 300 | 5 | 1.81 ± 0.09 |
| | 1000 | 5 | 1.84 ± 0.14 |

Week:

4

| Sex | Dose level (mg/kg) | No. of animals | Sodium (mmol/L) | Potassium (mmol/L) | Chloride (mmol/L) | Galcium (mg/dL) | l.phosphorus (mg/dL) |
|--------|-----------------------|-------------------|--------------------|-----------------------|----------------------|--------------------|-------------------------|
| Male | 0 | 5 | 143.4 ± 0.9 | 4.58 ± 0.34 | 107.1 ± 2.2 | 9.57 ± 0.36 | 7.91 ± 0.66 |
| | 100 | 5 | 144.2 ± 1.3 | 4.45 ± 0.50 | 106.3 ± 3.3 | 9.60 ± 0.22 | 8.43 ± 1.02 |
| | 300 | 5 | 144.0 ± 1.4 | 4.56 ± 0.25 | 107.7 ± 1.9 | 9.49 ± 0.27 | 8.07 ± 0.39 |
| | 1000 | 5 | 143.4 ± 0.8 | 4.37 ± 0.12 | 107.2 ± 0.6 | 9.59 ± 0.12 | 7.68 ± 0.33 |
| Female | 0 | 5 | 142.7 ± 1.0 | 4.30 ± 0.14 | 109.1 ± 1.5 | 9.74 ± 0.30 | 6.52 ± 0.69 |
| | 100 | 5 | 142.2 ± 1.4 | 4.04 ± 0.30 | 107.8 ± 2.1 | 9.87 ± 0.36 | 6.70 ± 0.80 |
| | 300 | 5 | 142.9 ± 0.7 | 4.17 ± 0.51 | 108.5 ± 1.3 | 9.75 ± 0.37 | 6.97 ± 0.45 |
| | 1000 | 5 | 142.7 ± 1.1 | 4.11 ± 0.27 | 108.5 ± 2.2 | 9.77 ± 0.28 | 6.91 ± 0.81 |

Mean ± \$.D. Significant difference from control group;

*: P≦0.05

**: P≤0.01

Table 8. -continued Blood chemistry

Exp. No. 4204 (115-122)

| Week | • | 4 |
|-------|---|---|
| 11001 | • | |

| Sex | Dose level (mg/kg) | No. of animals | AST (U/L) | ALT (U/L) | ALP (U/L) | Gamma-GTP (U/L) | |
|--------|-----------------------|-------------------|--------------|--------------|--------------|--------------------|--|
| Male | 0 | 5 | 73 ± 12N | 26 ± 6 | 823 ± 171 | 0.5 ± 0.4 | |
| | 100 | 5 | 66 ± 2 | 27 ± 3 | 991 ± 79* | 0.3 ± 0.1 | |
| | 300 | 5 | 65 ± 4 | 23 ± 4 | 805 ± 95 | 0.3 ± 0.2 | |
| | 1000 | 5 | 70 ± 7 | 26 ± 2 | 774 ± 81 | 0.2 ± 0.1 | |
| Female | 0 | 5 | 81 ± 23 | 31 ± 19N | 431 ± 106N | 0.6 ± 0.4 | |
| | 100 | 5 | 68 ± 7 | 22 ± 2 | 479 ± 60 | 0.5 ± 0.2 | |
| | 300 | 5 | 69 ± 9 | 27 ± 6 | 543 ± 187 | 0.5 ± 0.1 | |
| | 1000 | 5 | 70 ± 8 | 22 ± 3 | 407 ± 43 | 0.6 ± 0.2 | |

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

| Week | ٠, | |
|------|----|--|

| IJ | eek | ٠ | 6 |
|----|-----|---|---|
| ı | CGN | • | U |

| Sex | Dose level (mg/kg) | No. of animals | Glucose (mg/dL) | T.cholesterol (mg/dL) | Triglyceride (mg/dL) | |
|--------|-----------------------|-------------------|--------------------|--------------------------|-------------------------|--|
| Male | 0 | 5 | 146 ± 12 | 54 ± 14 | 26.0 ± 4.5 | |
| | 1000 | 5 | 136 ± 9 | 49 ± 14 | 19.1 ± 10.5 | |
| Female | 0 | 5 | 134 ± 14 | 75 ± 5 | 26.0 ± 6.6 | |
| | 1000 | 5 | 126 ± 9 | 57 ± 8** | 18.4 ± 6.3* | |

Table 8. -continued Blood chemistry

Exp. No. 4204 (115-122)

| 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 | 13.2 ± 0.9 | 0.21 ± 0.02 | 0.04 ± 0.01 | 5.61 ± 0.28 | 3.31 ± 0.12 |
| | 1000 | 5 | 13.5 ± 2.3 | 0.20 ± 0.03 | 0.04 ± 0.01 | 5.50 ± 0.13 | 3.32 ± 0.16 |
| Female | 0 | 5 | 14.3 ± 1.8 | 0.26 ± 0.02 | 0.05 ± 0.02 | 6.00 ± 0.29 | 3.74 ± 0.16 |
| | 1000 | 5 | 14.8 ± 2.0 | 0.27 ± 0.02 | 0.05 ± 0.02 | 5.63 ± 0.20* | 3.46 ± 0.18* |

| Sex | Dose level (mg/kg) | No. of animals | A/G | |
|--------|-----------------------|-------------------|-------------|------|
| Male | 0 | 5 | 1.45 ± 0.12 | |
| | 1000 | 5 | 1.53 ± 0.15 | |
| Female | 0 | 5 | 1.66 ± 0.14 | |
| | 1000 | 5 | 1.60 ± 0.14 | |

Table 8.

-continued Blood chemistry

Exp. No. 4204 (115-122)

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 | 141.6 ± 0.6 | 4.92 ± 0.29 | 106.0 ± 1.0 | 9.77 ± 0.31 | 7.47 ± 0.54 |
| | 1000 | 5 | 142.2 ± 0.8 | 4.59 ± 0.16* | 106.9 ± 1.2 | 9.59 ± 0.11 | 7.41 ± 0.26 |
| Female | 0 | 5 | 142.0 ± 1.0 | 4.80 ± 0.47 | 107.8 ± 0.7 | 9.68 ± 0.19 | 5.84 ± 1.11N |
| | 1000 | 5 | 143.0 ± 1.3 | 4.87 ± 0.21 | 108.9 ± 1.3 | 9.38 ± 0.19* | 6.02 ± 0.24 |

Mean ± S.D. Significant difference from control group; N: Non parametric analysis

*: P≦0.05 **: P≦0.01

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 | 71 ± 6 | 24 ± 4 | 561 ± 132 | 0.4 ± 0.1 | |
| | 1000 | 5 | 76 ± 7 | 30 ± 4* | 563 ± 121 | 0.3 ± 0.1 | |
| Female | 0 | 5 | 78 ± 12 | 23 ± 5 | 292 ± 65 | 0.5 ± 0.1 | |
| | 1000 | 5 | 74 ± 6 | 26 ± 6 | 328 ± 37 | 0.7 ± 0.3 | |

Table 9.

Urinalysis

Exp. No. 4204 (115-122)

| LBI | _ | _ | ۱. | _ | |
|-----|---|---|----|---|--|
| | | | | | |
| | | | | | |

| Dose level (mg/kg) | No of | | | | |
|-----------------------|---------------------------------------|-------------------------------------|---|---|---|
| · | No. of animals | Volume (mL) |) | Specific gravity | |
| 0 | 4 | 13 ± | 5 | 1.057 ± 0.013 | |
| 100 | 5 | 14 ± | 5 | 1.052 ± 0.010 | |
| 300 | 5 | 11 ± | 5 | 1.066 ± 0.027 | |
| 1000 | 5 | 13 ± | 4 | 1.064 ± 0.012 | |
| 0 | 5 | 14 ± | 7 | 1.045 ± 0.018 | |
| 100 | 5 | 12 ± | 5 | 1.054 ± 0.016 | |
| 300 | 5 | 12 ± | 6 | 1.048 ± 0.014 | |
| 1000 | 5 | 16 ± | 7 | 1.041 ± 0.013 | |
| _ | 100 300 1000 0 100 300 | 100 5 300 5 1000 5 0 5 100 5 300 5 | 100 5 14 ± 300 5 11 ± 1000 5 13 ± 0 5 14 ± 100 5 12 ± 300 5 12 ± | 100 5 14 ± 5 300 5 11 ± 5 1000 5 13 ± 4 0 5 14 ± 7 100 5 12 ± 5 300 5 12 ± 6 | 100 5 14 ± 5 1.052 ± 0.010 300 5 11 ± 5 1.066 ± 0.027 1000 5 13 ± 4 1.064 ± 0.012 0 5 14 ± 7 1.045 ± 0.018 100 5 12 ± 5 1.054 ± 0.016 300 5 12 ± 6 1.048 ± 0.014 |

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

Week:

4

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

1 - 33

Table 9. -continued Urinalysis Exp. No. 4204 (115-122)

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

eek:

| Sex | Dose level (mg/kg) | No. of animals | Bili | rubi 1+ | n 2+ | 3+ | Urobi 0.1 | obilinogen(E.U./dL) 1 1.0 2.0 4.0 8.0 ≧12 | |
|--------|-----------------------|-------------------|------|------------|---------|----|--------------|--|--|
| Male | 0 | 5 | 1 | 4 | | | 1 | | |
| • | 100 | 5 | | 3 | 2 | | | 5 | |
| | 300 | 5 | 2 | 2 | | 1 | 1 | I 4 | |
| | 1000 | 5 | 2 | 1 | 2 | | 2 | 2 3 | |
| Female | 0 | 5 | 3 | 1 | 1 | | 3 | 3 2 | |
| | 100 | 5 | 1 | 2 | 2 | | 1 | 1 4 | |
| | 300 | 5 | 3 | 2 | | | | 5 | |
| | 1000 | 5 | 3 | 1 | | 1 | 2 | 2 3 | |

Table 9. -continued Urinalysis : Microscopic examination of sediment

Exp. No. 4204 (115-122)

| Week: | 1 |
|-------|---|
| HCCD. | - |

| Sex | Dose level (mg/kg) | No. of animals | Erythrocytes - 1+ 2+ 3+ | Leukoc - 1+ | ytes 2+ 3+ | Epith. Cells - 1+ 2+ 3+ | Casts - + | Fat glob. - + | Ж. th | reads + | oth - | |
|--------|-----------------------|-------------------|----------------------------|----------------|---------------|----------------------------|--------------|------------------|-------|------------|----------|---|
| Male | 0 | 5 | 5 | 4 | 1 | 5 | 5 | 5 | 5 | | 1 | 4 |
| | 100 | 5 | 5 | 5 | | 5 | 5 | 5 | 4 | 1 | | 5 |
| | 300 | 5 | 5 | 5 | | 5 | 5 | 5 | 5 | | 1 | 4 |
| | 1000 | 5 | 5 | 5 | | 5 | 5 | 5 | 5 | | | 5 |
| Female | 0 | 5 | 5 | 5 | | 5 | 5 | 5 | 5 | | 1 | 4 |
| | 100 | 5 | 5 | 5 | | 5 | 5 | 5 | 5 | | | 5 |
| | 300 | 5 | 5 | 5 | | 5 | 5 | 5 | 4 | 1 | 1 | 4 |
| | 1000 | 5 | 5 | 5 | | 5 | 5 | 5 | 5 | | | 5 |

others : Crystals

| 6 | | | | |
|-----------------------|-------------------------------|---------------------------------------|---|--|
| Dose level (mg/kg) | No. of animals | Volume (mL) | Specific gravity | |
| 0 | 5 | 19 ± 5 | 1.050 ± 0.009 | |
| 1000 | 5 | 21 ± 3 | 1.041 ± 0.021 | |
| 0 | 5 | 16 ± 7 | 1.056 ± 0.018 | |
| 1000 | 5 | 20 ± 8 | 1.043 ± 0.015 | |
| | Dose level (mg/kg) 0 1000 | Dose level No. of animals 0 5 1000 5 | Dose level (mg/kg) No. of animals Volume (mL) 0 5 19 ± 5 1000 5 21 ± 3 0 5 16 ± 7 | Dose level (mg/kg) No. of animals Volume (mL) Specific gravity 0 5 19 ± 5 1.050 ± 0.009 1000 5 21 ± 3 1.041 ± 0.021 0 5 16 ± 7 1.056 ± 0.018 |

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

*: P≦0.05

**: P≦0.01

Table 9.

-continued Urinalysis

Exp. No. 4204 (115-122)

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

Week:

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

Table 9. -continued Urinalysis

1000

5

5

Exp. No. 4204 (115-122)

| Week: | 6 | | | |
|--------|-----------------------|-------------------|-------------------------|--|
| Sex | Dose level (mg/kg) | No. of animals | Bilirubin - 1+ 2+ 3+ | Urobilinogen(E.U./dL) 0.1 1.0 2.0 4.0 8.0 ≧12 |
| Male | 0 | 5 | 5 | 5 |
| | 1000 | 5 | 3 2 | 4 1 |
| Female | 0 | 5 | 3 1 1 | 2 3 |

| week. | | | | | | | - | | |
|--------|-----------------------|-------------------|----------------------------|--------------------------|----------------------------|--------------|-----------|-------------------|---------------|
| 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 | 3 2 | 5 |
| | 1000 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Female | 0 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | 1000 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 2 3 |

others : Crystals

7-4

Table 10.

Organ weight

Exp. No. 4204 (115-122)

| л |
|---|
| |

| Sex | Dose level (mg/kg) | No. of animals | Body weight (g) | Brain (g) | Heart (g) | Liver (g) | Kidneys (g) |
|--------|-----------------------|-------------------|--------------------|--------------|-----------------|-----------------|----------------|
| Male | 0 | 5 | 333 ± 36 | 2.06 ± 0.07 | 1.05 ± 0.15 | 9.49 ± 1.51 | 2.52 ± 0.29 |
| | 100 | 5 | 334 ± 45 | 2.04 ± 0.08 | 1.06 ± 0.13 | 9.40 ± 1.48 | 2.53 ± 0.23 |
| | 300 | 5 | 331 ± 36 | 1.98 ± 0.05 | 1.06 ± 0.06 | 9.61 ± 1.08 | 2.58 ± 0.32 |
| | 1000 | 5 | 328 ± 29 | 2.03 ± 0.13 | 0.99 ± 0.10 | 9.35 ± 0.98 | 2.62 ± 0.18 |
| Female | 0 | 5 | 206 ± 21 | 1.93 ± 0.08 | 0.68 ± 0.07 | 5.84 ± 0.81 | 1.61 ± 0.14 |
| | 100 | 5 | 209 ± 15 | 1.91 ± 0.03 | 0.73 ± 0.08 | 6.44 ± 0.63 | 1.72 ± 0.19 |
| | 300 | 5 | 215 ± 19 | 1.93 ± 0.08 | 0.70 ± 0.04 | 6.19 ± 0.72 | 1.69 ± 0.11 |
| | 1000 | 5 | 215 ± 9 | 1.90 ± 0.04 | 0.74 ± 0.03 | 6.36 ± 0.47 | 1.74 ± 0.16 |

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

-continued Organ weight

Week:

| Sex | Dose level (mg/kg) | No. of animals | Spleen (g) | Adrenals (mg) | Testes (g) | Ovaries (mg) | Thymus (mg) |
|--------|-----------------------|-------------------|-----------------|------------------|---------------|-----------------|----------------|
| Male | 0 | 5 | 0.65 ± 0.18 | 59 ± 13N | 2.91 ± 0.24 | | 392 ± 38N |
| | 100 | 5 | 0.55 ± 0.09 | 53 ± 8 | 2.90 ± 0.26 | | 580 ± 192 |
| | 300 | 5 | 0.60 ± 0.14 | 53 ± 5 | 2.94 ± 0.17 | | 472 ± 77 |
| | 1000 | 5 | 0.63 ± 0.09 | 51 ± 2 | 3.15 ± 0.14 | | 520 ± 116 |
| Female | 0 | 5 | 0.38 ± 0.11N | 65 ± 10 | | 75 ± 17 | 378 ± 57 |
| | 100 | 5 | 0.43 ± 0.04 | 69 ± 4 | | 90 ± 19 | 461 ± 54* |
| | 300 | 5 | 0.42 ± 0.04 | 67 ± 6 | | 83 ± 11 | 395 ± 62 |
| | 1000 | 5 | 0.42 ± 0.03 | 64 ± 6 | | 77 ± 9 | 434 ± 41 |

Mean ± S.D. Significant difference from control group; N: Non parametric analysis

| Table 10. | -continued | 0rgan | weight |
|-----------|------------|-------|--------|
|-----------|------------|-------|--------|

Exp. No. 4204 (115-122)

| Week: | 4 | | | |
|--------|-----------------------|-------------------|----------------------|--|
| Sex | Dose level (mg/kg) | No. of animals | Epididymides (mg) | |
| Male | 0 | 5 | 698 ± 65 | |
| | 100 | 5 | 677 ± 85 | |
| | 300 | 5 | 656 ± 59 | |
| | 1000 | 5 | 684 ± 52 | |
| Female | 0 | 5 | | |
| | 100 | 5 | | |
| | 300 | 5 | | |
| | 1000 | 5 | | |

| Sex | Dose level (mg/kg) | No. of animals | Body weight (g) | Brain (g) | Heart (g) | Liver (g) | Kidneys (g) |
|--------|-----------------------|-------------------|--------------------|--------------|-----------------|---------------|----------------|
| Male | 0 | 5 | 392 ± 51 | 2.13 ± 0.03 | 1.19 ± 0.12 | 10.46 ± 1.72 | 2.83 ± 0.32 |
| | 1000 | 5 | 378 ± 29 | 2.08 ± 0.04* | 1.15 ± 0.07 | 10.10 ± 1.00 | 2.82 ± 0.14 |
| Female | 0 | 5 | 242 ± 14 | 1.95 ± 0.07 | 0.80 ± 0.07 | 6.77 ± 0.38 | 1.93 ± 0.16 |
| | 1000 | 5 | 236 ± 15 | 1.99 ± 0.09 | 0.80 ± 0.09 | 5.97 ± 0.28** | 1.76 ± 0.11* |

Table 10. -continued Organ weight

Exp. No. 4204 (115-122)

| Week | : | 6 |
|------|---|---|
| | | |

| Sex | Dose level (mg/kg) | No. of animals | Spleen (g) | Adrenals (mg) | Testes (g) | Ovaries (mg) | Thymus (mg) |
|--------|-----------------------|-------------------|-----------------|------------------|---------------|-----------------|----------------|
| Male | 0 | 5 | 0.64 ± 0.09 | 55 ± 6N | 3.01 ± 0.17 | | 460 ± 102 |
| | 1000 | 5 | 0.68 ± 0.06 | 62 ± 19 | 3.04 ± 0.41 | | 372 ± 40 |
| Female | 0 | 5 | 0.43 ± 0.10 | 66 ± 9 | | 82 ± 9 | 409 ± 79 |
| | 1000 | 5 | 0.44 ± 0.04 | 62 ± 5 | | 78 ± 11 | 362 ± 77 |

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

| Sex | Dose level (mg/kg) | No. of animais | Epididymides (mg) | |
|--------|-----------------------|-------------------|-------------------|--|
| Male | 0 | 5 | 907 ± 42 | |
| | 1000 | 5 | 888 ± 97 | |
| Female | 0 | 5 | | |
| | 1000 | 5 | | |

Mean \pm S.D. Significant difference from control group; *: P≤0.05 **: P≦0.01 Table 11. Organ weight per body weight

Exp. No. 4204 (115-122)

| Week: | 4 |
|-------|---|
| | |

| 4 |
|---|

| Sex | Dose level (mg/kg) | No. of animals | Body weight (g) | Brain (%) | Heart (%) | Liver (%) | Kidneys (%) |
|--------|-----------------------|-------------------|--------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Male | 0 | 5 | 333 ± 36 | 0.622 ± 0.068 | 0.312 ± 0.015 | 2.835 ± 0.158 | 0.751 ± 0.045 |
| | 100 | 5 | 334 ± 45 | 0.619 ± 0.069 | 0.318 ± 0.007 | 2.805 ± 0.127 | 0.764 ± 0.069 |
| | 300 | 5 | 331 ± 36 | 0.604 ± 0.060 | 0.323 ± 0.023 | 2.899 ± 0.139 | 0.780 ± 0.064 |
| | 1000 | 5 | 328 ± 29 | 0.623 ± 0.052 | 0.300 ± 0.009 | 2.845 ± 0.079 | 0.801 ± 0.047 |
| Female | 0 | 5 | 206 ± 21 | 0.943 ± 0.074 | 0.331 ± 0.015 | 2.837 ± 0.208 | 0.785 ± 0.031 |
| | 100 | 5 | 209 ± 15 | 0.918 ± 0.065 | 0.350 ± 0.025 | 3.073 ± 0.082* | 0.822 ± 0.065 |
| | 300 | 5 | 215 ± 19 | 0.901 ± 0.095 | 0.325 ± 0.013 | 2.868 ± 0.131 | 0.785 ± 0.025 |
| | 1000 | 5 | 215 ± 9 | 0.886 ± 0.044 | 0.345 ± 0.013 | 2.952 ± 0.105 | 0.808 ± 0.059 |

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

Week:

| Sex | Dose level (mg/kg) | No. of animals | Spleen (%) | Adrenals (%) | Testes (%) | 0varies (%) | Thymus (%) |
|--------|-----------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|----------------|
| Male | 0 | 5 | 0.190 ± 0.030N | 0.018 ± 0.002 | 0.874 ± 0.040 | | 0.119 ± 0.018 |
| | 100 | 5 | 0.164 ± 0.010 | 0.016 ± 0.001 | 0.879 ± 0.128 | | 0.171 ± 0.042* |
| | 300 | 5 | 0.182 ± 0.036 | 0.016 ± 0.001 | 0.893 ± 0.089 | | 0.143 ± 0.018 |
| | 1000 | 5 | 0.190 ± 0.011 | 0.016 ± 0.002 | 0.965 ± 0.096 | | 0.158 ± 0.030 |
| Female | 0 | 5 | 0.185 ± 0.037 | 0.032 ± 0.005 | | 0.036 ± 0.006 | 0.185 ± 0.031 |
| | 100 | 5 | 0.206 ± 0.029 | 0.033 ± 0.002 | | 0.043 ± 0.007 | 0.220 ± 0.018* |
| | 300 | 5 | 0.195 ± 0.020 | 0.031 ± 0.004 | | 0.039 ± 0.006 | 0.183 ± 0.020 |
| | 1000 | 5 | 0.196 ± 0.018 | 0.030 ± 0.004 | | 0.036 ± 0.005 | 0.202 ± 0.017 |

Mean \pm 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. 4204 (115-122)

| Week: | 4 | | |
|-------------|-----------------------|-------------------|---------------------|
| Sex | Dose level (mg/kg) | No. of animals | Epididymides (%) |
| Male | 0 | 5 | 0.210 ± 0.006N |
| | 100 | 5 | 0.207 ± 0.044 |
| | 300 | 5 | 0.199 ± 0.016 |
| | 1000 | 5 | 0.210 ± 0.030 |
| | | | |
| Female | 0 | 5 | |

100

300

1000

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

5

5

5

-continued Organ weight per body weight

Week:

6

| Sex | Dose level (mg/kg) | No. of animals | Body weight (g) | Brain (%) | Heart (%) | Liver (%) | Kidneys (%) |
|--------|-----------------------|-------------------|-----------------|-------------------|-------------------|-----------------|----------------|
| Male | 0 | 5 | 392 ± 51 | 0.550 ± 0.069 | 0.304 ± 0.009 | 2.659 ± 0.106 | 0.723 ± 0.049 |
| | 1000 | 5 | 378 ± 29 | 0.553 ± 0.046 | 0.304 ± 0.010 | 2.671 ± 0.132 | 0.749 ± 0.059 |
| Female | 0 | 5 | 242 ± 14 | 0.805 ± 0.047 | 0.331 ± 0.028 | 2.796 ± 0.105 | 0.797 ± 0.082 |
| | 1000 | 5 | 236 ± 15 | 0.844 ± 0.026 | 0.337 ± 0.025 | 2.535 ± 0.144** | 0.748 ± 0.071 |

Mean \pm 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. 4204 (115-122)

| Week: | 6 |
|-------|---|
| | |
| noon. | |

| Sex | Dose level (mg/kg) | No. of animals | Spleen (%) | Adrenals (%) | Testes (%) | 0varies (%) | Thymus (%) |
|--------|-----------------------|-------------------|----------------|-----------------|---------------|-------------------|---------------|
| Male | 0 | 5 | 0.163 ± 0.011 | 0.014 ± 0.002 | 0.780 ± 0.132 | | 0.118 ± 0.024 |
| | 1000 | 5 | 0.180 ± 0.017* | 0.016 ± 0.005 | 0.808 ± 0.110 | | 0.099 ± 0.013 |
| Female | 0 | 5 | 0.179 ± 0.035 | 0.027 ± 0.004 | | 0.034 ± 0.005 | 0.169 ± 0.032 |
| | 1000 | 5 | 0.188 ± 0.013 | 0.026 ± 0.002 | | 0.034 ± 0.006 | 0.152 ± 0.026 |

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

Week:

| Sex | Dose level (mg/kg) | No. of animals | Epididymides (%) | |
|--------|-----------------------|-------------------|---------------------|------|
| Male | 0 | 5 | 0.234 ± 0.034 | |
| | 1000 | 5 | 0.235 ± 0.020 | |
| Female | 0 | 5 | | |
| | 1000 | 5 | | |

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

| Dose level No. of animal Organ | (mg/kg) Is necropsied _ Findings | Male Am 5 | animals Bm 5 | Cm 5 | Dm 5 | Femal Af 5 | e anima Bf 5 | Cf 5 | Df 5 | |
|--------------------------------------|--|-----------------|--------------------|-------------|-------------|----------------------|--------------------|-------------|-------------|--|
| RESPIRATORY S | SYSTEM green patch/zone | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| URINARY SYSTE kidney ureter | EM enlarged scarred dilated lumen | 1 1 1 | 0 1 0 | 0 0 0 | 0 0 0 | 0 0 0 | 0 0 0 | 0 0 0 | 0 0 0 | |
| REPRODUCTIVE ovary | SYSTEM cyst | - | - | _ | _ | 0 | 1 | 0 | 0 | |
| ENDOCRINE SYS pituitary gl | STEM land cyst | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |

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

| No. of anima | Findings | | | | |
|--------------|------------------------|----------|-----|-----|---------|
| RESPIRATORY | | | | | |
| lung | green patch/zone | | | | |
| URINARY SYST | ren | | | | |
| kidney | scarred | | | | |
| Am: O | Bm: 100 | Cm: | 300 | | <u></u> |
| Af: 0 | Bf: 100 | | 300 | | |
| Significant | difference from contro | l group; | * : | Ρ ≦ | 0.05 |

Dose level (mg/kg)

| Male | animals | 3 | - | Female | anima | ais | | |
|---------|---------|------------|---------|---------|---------|---------|---------|--|
| Am 5 | Bm O | Cm O | Dm 5 | Af 5 | Bf O | Cf O | Df 5 | |
| | | | | | | | <u></u> | |
| 0 | - | - | 0 | 0 | - | - | 1 | |
| 1 | - | <u>-</u> _ | 0 | 1 | | _ | 0 | |
| Dm | : 1000 | | | | | | | |

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

Exp. No. 4204 (115-122)

| | | Male | animals | | | Female | anima | als | |
|---------------------------------------|--|---------------------------------|---|-----------------------|---------------------------------|----------------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------------|
| Dose level No. of animals Organ | (mg/kg) necropsied Findings | Am 5 | 8m 5 | Cm 5 | Dm 5 | Af 5 | Bf 5 | Cf 5 | Df 5 |
| RESPIRATORY SY lung | STEM | | | | | | | | |
| Tung | accumulation of foamy cells accumulation of macrophage cellular infiltration osseous metaplasia | 0 0 0 | 0 0 0 0 | 1 0 0 0 | 0 2 0 0 | 0 0 0 | 0 1 1 0 | 0 0 0 1 | 0 0 0 1 |
| IGESTIVE SYST | EM | | | | | | | | |
| | edema dilated gland | 1 1 | <u>-</u> | - | 0 2 | 1 2 | - | - | 0 2 |
| large intesti | ne hyperplasia, lymphoid tissue | 0 | - | - | 0 | 0 | - | - | 1 |
| liver | fatty change fatty change, peripheral cellular infiltration,lymphocyte microgranuloma hematopoiesis, extramedullary | 2 1 2 1 0 | 3 1 0 2 1 | 0 3 0 2 1 | 2 1 0 2 1 | 1 4 0 2 1 | 0 3 0 3 0 | 3 1 0 4 1 | 2 3 0 3 3 |
| RINARY SYSTEM | I | | | | | | | | |
| kidney | basophilic tubules cast, hyaline dilatation, tubules hydronephrosis necrosis, tubular epithelium cellular infiltration,lymphocyte inflammation transitional cell hyperplasia | 4 0 2 1 1 0 1 | 1 | - | 3 1 0 0 0 2 0 | 3 0 0 0 0 0 | - | | 3 0 1 0 0 0 |
| REPRODUCTIVE S | SYSTEM | | | | | | | | |
| 2.01.40 | =epidermal cyst | - | - | _ | - | 0 | _ | | 1 |

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

| Table 14. | Summary of histolo | nical findings (| 4 Weeks | s experiment } | |
|-----------|--------------------|------------------|---------|----------------|--|

| Exp. | No. | 4204 | (115-122) |
|------|------|------|-----------|
| -~p. | 1.0. | 7507 | (110 122/ |

| NO. OT ANIMALS | (mg/kg) s initially in study s necropsied s examined histologically | | 1 | 05552 | 3 | | 1 | 00 5 5 5 2 | 3 | | 3 | 00 5 5 5 5 | 3 | | 10 | 00 5 5 5 5 | 3 |
|-----------------------|---|--------------|---------------------------------|---------------------------------|-----------------|--------------|-------|------------------------|-------------|------|----------------------------|------------------------|-----------------------|--------------|---------------------------------|------------------------|-------------------|
| Organ | Findings | | <u>'</u> | | | | | | | | | | <u> </u> | | | | ٠ |
| RESPIRATORY S' | YSTEM accumulation of foamy cells accumulation of macrophage | (5) | 0 | 0 | 0 | (5) | 0 | 0 | 0 | (5) | 1 0 | 0 | 0 | (5) | 0 | 0 | 0 |
| DIGESTIVE SYS stomach | TEM edema dilated gland fatty change fatty change, peripheral cellular inflitration,lymphocyte microgranuloma hematopolesis, extramedullary | (5) (5) | 1 1 2 0 2 1 | 0 0 0 1 0 0 | 00000 | (0) (5) | 31021 | 00000 | 00000 | (0) | - 0 3 0 2 1 | | - - 0 0 0 | (5) (5) | 0 2 1 0 2 1 | 00 00000 | 0 0 0 0 0 0 0 0 0 |
| URINARY SYSTE | M basophilic tubules cast, hyaline dilatation, tubules hydronephrosis necrosis, tubular epithelium cellular infiltration,lymphocyte inflammation transitional cell hyperplasia | (5) | 3 0 1 0 0 0 1 | 1 0 1 1 0 1 0 | 0 0 0 0 0 0 0 0 | (0) | | | - | (0) | | | | (5) | 3 1 0 0 0 2 0 | 00000000 | 0000000 |

^{1:} slight 2: moderate 3: marked (): No. of animals examined microscopically at this site.

^{-:} Not applicable.

| Sex: Female | | | | | | | | | | | | | | | | _ | |
|---|--|-------------------|---------------------------------|-----------|-----------------|----------------------|-----------------------|-------------------|---------|----------------------|-------|------------------|-----------------------|-------------------|----------------------------|-------------------------|-------------|
| Dose level No. of animals No. of animals No. of animals Organ | (mg/kg) s initially in study s necropsied s examined histologically Findings | | 1 | 05552 | 3 | | 1 | 00 5 5 2 | 3 | | 1 | 5 5 5 2 | 3 | | 10 | 000 5 5 5 2 | 3 |
| RESPIRATORY S' lung | YSTEM accumulation of macrophage cellular infiltration osseous metaplasia | (5) | 0 0 | 0 0 | 0 0 | (5) | 1 1 0 | 0 | 0 0 | (5) | 0 0 1 | 0 | 0 0 | (5) | 0 0 1 | 000 | 0 |
| IGESTIVE SYS stomach large intest liver | edema dilated gland | (5) (5) (5) | 1 2 0 1 4 2 1 | 00 0 0000 | 0 0 0 0 0 0 0 0 | (0) (0) (5) | - - 0 3 0 | - 0000 | - 00000 | (0) (0) (5) | 3141 | 0000 | - - 0 0 0 | (5) (5) (5) | 0 2 1 2 3 3 | 0 0 0 0 0 0 | 0 0 0 0 0 0 |
| URINARY SYSTE kidney | M basophilic tubules dilatation, tubules | (5) | 3 | 0 | 0 | (0) | <u>-</u> | - | - | (0) | | - | - - | (5) | 3 | 0 | 0 |

^{1:} slight 2: moderate 3: marked (): No. of animals examined microscopically at this site.

^{-:} Not applicable.

| Dose level Week | (mg/kg) | | 4 | wee | ek | 0 | 6 | wee | ek | | 4 | wee | ek | 100 | 6 | wee | ek |
|----------------------------|--|-------------|-------------|-------------|-------------|--------|---|------------------|----|---------------|-------------|------------------|-------------|-------------------|----------|---------|----------|
| No. of animals | initially in study necropsied examined histologically Findings | T | 1 | 5 5 5 2 | | Т | | 5 5 0 2 | | Т | | 5 5 5 2 | | T | 1 | 0 0 0 2 | 3 |
| RESPIRATORY SYS | | (5) | 0 | 0 | 0 | (0) | | | _ | (5) | 0 | . 0 | 0 | _ | | | |
| | accumulation of foamy cells accumulation of macrophage | _ | ŏ | ŏ | | - | - | _ | _ | - | ŏ | ŏ | | - | - | - | - |
| DIGESTIVE SYSTE stomach | | (5) | | • | • | (0) | | | | (0) | | | | | | | |
| liver | edema dilated gland | (5) | 1 | 0 | | (0) | - | - | - | (5) | - | _ | - | - | - | - | - |
| | fatty change fatty change, peripheral cellular infiltration,lymphocyte | - | 2 | 0 | 0 | - | - | - | - | - | 3 | 0 | 0 | - - | <u>-</u> | - | - |
| | microgranuloma hematopoiesis, extramedullary | - - - | 2 1 0 | 0 0 0 | 0 0 0 | - - | - | - - | = | <u>-</u> - | 0 2 1 | 00000 | 0 0 0 | - - - | <u>-</u> | _ | - - |
| URINARY SYSTEM kidney | T | (5) | | | | (0) | | | | (0) | | | | | | | |
| n. unoy | basophilic tubules cast, hyaline | (3) | 3 | 1 | 0 | (0) | _ | - | - | (0) | - | - | - | - | - | ~ | - |
| | dilatation, tubules hydronephrosis | - | 100 | Ī | Ŏ | · - | _ | - | = | - | - | - | _ | - | - | _ | - |
| | necrosis, tubular epithelium cellular infiltration,lymphocyte | _ | 000 | i | Ŏ | = | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | inflammation transitional cell hyperplasia | - | Õ | 1 | ŏ | _ | _ | - | - | - | - | - | <u>-</u> | - | - | _ | <u>-</u> |

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. 4204 (115-122)

| Sex: Male | | | | | | | | |
|---|--|----------------|---------------|-------------------------|---------|--------------------------|--|--|
| Dose level Week No. of animals No. of animals No. of animals Organ | (mg/kg) s initially in study s necropsied s examined histologically Findings | T | 4 | wee 5 5 5 2 | ek 3 | 300 6 week 0 0 0 T 1 2 3 | 4 week 5 5 5 7 1 2 3 | 1000 6 week 5 5 0 T 1 2 3 |
| RESPIRATORY SY | YSTEM accumulation of foamy cells accumulation of macrophage | (5) - - | 1 0 | 0 | 0 | : : : : | (5) - 0 0 0 - 1 1 0 | (0) |
| DIGESTIVE SYST stomach | TEM edema dilated gland fatty change fatty change, peripheral cellular infiltration,lymphocyte microgranuloma hematopoiesis, extramedullary | (0) | 03021 | | | | (5) - 0 0 0 (5) - 2 0 0 - 1 0 0 - 0 0 0 - 2 0 0 - 1 0 0 | (0) |
| URINARY SYSTEM | M basophilic tubules cast, hyaline dilatation, tubules hydronephrosis necrosis, tubular epithelium cellular infiltration,lymphocyte inflammation transitional cell hyperplasia | (0) | 1 1 1 1 1 1 1 | - | | | (5) - 3 0 0 - 1 0 0 - 0 0 0 - 0 0 0 - 0 0 0 - 2 0 0 - 0 0 0 - 0 0 0 | (0) |

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

^{-:} Not applicable.

Table 15. -continued Summary of histological findings in dosed and recovery experiments (sacrificed) Exp. No. 4204 (115-122)

| Sex: | Femai | е |
|------|-------|---|
| | | |

| JCA. I GINGIT | | | | | | | | | | | | | | <u> </u> | | | |
|--|---|----------------------|---------------------------------|--------------------|-----------------|----------------------|-------------|-------------------------|----------|----------------------|----------------|-------------------------|------------------|----------|---|------------------------------|----------|
| Dose level Week No. of animals No. of animals No. of animals Organ_ | (mg/kg) initially in study necropsied examined histologically Findings | Ţ | 4 | wee 5 5 5 | k 3 | 0 T | 6 | wee 5 5 0 2 | k 3 | т | 4 | wee 5 5 5 2 | ek 3 | 100 T | 6 | wee 0 0 0 0 2 | 3 |
| RESPIRATORY SY lung | STEM accumulation of macrophage cellular infiltration osseous metaplasia | (5) - - - | 0 | 0 | 0 0 0 | (0) | - - - | - | - | (5) - - - | 1 1 0 | 0 | 0 0 0 | - | - | - - | <u>.</u> |
| DIGESTIVE SYST stomach large intesti liver | edema dilated gland | (5) (5) (5) | 1 2 0 1 4 2 1 | 0 0 0 0 0 0 0 | 0 0 0 0 0 0 0 0 | (0) (0) (0) | | - | - | (0) (0) (5) | - - 0330 | - 0000 | - - 0 0 | - | | - | - |
| URINARY SYSTEM kidney | basophilic tubules dilatation, tubules | (5) _ | 3 | 0 | 0 | (o) _ | - | - | <u>-</u> | (o) | <u>-</u> | - | <u>-</u> | <u>-</u> | - | - | <u>-</u> |
| REPRODUCTIVE S uterus | YSTEM =epidermal cyst | (5) 0 | _ | _ | - | (0) | _ | _ | - | (0) | _ | _ | - | _ | - | - | _ |

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

^{-:} Not applicable.

Sex: Female (mq/kq)300 1000 Dose level 6 week 4 week 6 week 4 week Week 5 5 5 555 No. of animals initially in study No. of animals necropsied No. of animals examined histologically ž 3 2 3 T 1 2 3 T 1 T 1 2 3 Organ Findings T 1 RESPIRATORY SYSTEM (5) lung 0 0 0 0 0 0 accumulation of macrophage Ŏ Ŏ cellular infiltration 0 Ō 0 Ó osseous metaplasia 0 DIGESTIVE SYSTEM stomach 0 0 edema dilated gland 0 0 (5) 0) (0) large intestine hyperplasia, lymphoid tissue 0 0 5) (5) liver 0 2 fatty change fatty change, peripheral microgranuloma 0 Ŏ Ō Ō 0 0 Ó 0 ŏŏ hematopoiesis, extramedullary URINARY SYSTEM (5) (0)kidney 0 0 1 0 basophilic tubules dilatation, tubules REPRODUCTIVE SYSTEM (5) 1 (0) uterus (0)=epidermal cyst

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

^{-:} Not applicable.