

Exp. No. 9933 (115-212)
FINAL REPORT

最 終 報 告 書

2-ナフチルイソブチルエーテルのラットにおける 28 日間反復投与毒性試験

試験番号 : 9933 (115-212)

試験委託者

厚生労働省 医薬食品局

財団法人 食品農医薬品安全性評価センター

目 次

要 約.....	6
1. 表題.....	8
2. 試験目的.....	8
3. 準拠したガイドラインと遵守したGLPおよび動物実験関連規則.....	8
4. 試験番号.....	8
5. 試験施設.....	8
6. 試験委託者.....	8
7. 試験責任者.....	9
8. 被験物質等管理責任者.....	9
9. 試験担当者.....	9
10. 資料保存施設管理責任者.....	10
11. 試験日程.....	10
12. 試験材料および方法.....	10
13. 観察および検査方法.....	12
14. 試験結果.....	18
15. 考察および結論.....	25
16. 参考文献.....	27
17. 試験関係資料の保存.....	28
18. 予見することができなかつた試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態および試験計画書に従わなかつたこと.....	28

Figures

Figure 1 Body weight change in male rats	30
Figure 2 Body weight change in female rats	31
Figure 3 Food consumption in male rats	32
Figure 4 Food consumption in female rats	33

Tables

Table 1 Clinical observation.....	34
Table 2 Body weight.....	51
Table 3 Food consumption	55
Table 4 Detailed clinical observations and sensory reactivity to stimuli of different types.....	57
Table 5 Summary of number of defecation	71

Exp. No. 9933 (115-212)
FINAL REPORT

Table 6	Summary of number of pools of urine.....	72
Table 7	Summary of grip strength.....	73
Table 8	Summary of motor activity	75
Table 9-1	Hematology --- Administration period ---.....	77
Table 9-2	Hematology --- Recovery period ---	81
Table 10-1	Coagulation --- Administration period ---.....	85
Table 10-2	Coagulation --- Recovery period ---.....	86
Table 11-1	Blood chemistry --- Administration period ---.....	87
Table 11-2	Blood chemistry --- Recovery period ---	91
Table 12-1	Electrophoresis --- Administration period ---.....	95
Table 12-2	Electrophoresis --- Recovery period ---	97
Table 13-1	Urinalysis --- Administration period ---	99
Table 13-2	Urinalysis --- Recovery period ---	105
Table 14-1	Organ weight --- Administration period ---.....	111
Table 14-2	Organ weight --- Recovery period ---	114
Table 15-1	Organ weight per body weight --- Administration period ---.....	117
Table 15-2	Organ weight per body weight --- Recovery period ---.....	120
Table 16-1	Summary of gross findings (sacrificed, administration period).....	123
Table 16-2	Summary of gross findings (dead, administration period).....	124
Table 16-3	Summary of gross findings (sacrificed, recovery period)	125
Table 17-1	Summary of histological findings (sacrificed, administration period).....	126
Table 17-2	Summary of histological findings (dead, administration period).....	130
Table 17-3	Summary of histological findings (sacrificed, recovery period).....	131

要 約

2-ナフチルイソブチルエーテルの毒性学的性質を評価するため、当該物質の 0 (溶媒のコーンオイルのみ投与), 20, 100 および 500 mg/kg/day を Crl:CD(SD)系ラットの雌雄各 5 例に 28 日間反復経口投与した。また、0 mg/kg (対照群) および 500 mg/kg 群には、雌雄各 5 例の回復群を設け、28 日間の反復投与終了後、14 日間の休薬による毒性の回復性についても検討した。

試験期間を通じて、一般状態の観察、機能観察総合検査 (FOB)、体重および摂餌量の測定を行い、投与期間および回復期間終了時に、臨床検査（血液学検査、血液凝固能検査、血液生化学検査、血清蛋白電気泳動検査および尿検査）および病理学検査（器官重量測定、肉眼観察および病理組織学検査）を実施した。

その結果の要約は、次の通りである。

500 mg/kg 群の雌で Day 6 および 7 の投与前に各 1 例が死亡した。

投与後の一般状態の変化として、500 mg/kg 群の雌雄で流涎、軟便、粘液便および水様下痢が観察された。

体重では、500 mg/kg 群の雌雄で体重増加抑制が認められ、雄では回復期間終了時にも低体重が認められたものの、休薬による回復傾向が認められた。

摂餌量では、500 mg/kg 群の雌雄で投与期間中に減少が認められた。

機能観察総合検査 (FOB) では、投与期間中に 500 mg/kg 群の雄で自発運動量の減少および反応性の低下が認められた。

尿検査では、投与期間終了時に 500 mg/kg 群の雌雄で尿量の増加および尿浸透圧の低下、同群の雄でナトリウムおよびカリウム排泄量の減少、尿 pH の中性化が認められた。

血液学検査では、投与期間終了時に 500 mg/kg 群の雌で貧血が認められた。

血液生化学検査では、投与期間終了時に 500 mg/kg 群の雌で総蛋白が低下、中性脂肪および ALP が上昇し、回復期間終了時に 500 mg/kg 群の雄で総蛋白が低下、雌で中性脂肪および総コレステロールが上昇を示し、蛋白・脂質代謝系への影響が示唆された。また、500 mg/kg 群の雄で投与期間終了時および回復期間終了時に血糖が低下した。

病理学検査では、主に脾臓、前胃、盲腸、結腸、肝臓および副腎に対する影響が認められた。500 mg/kg 群の雌雄あるいは雌雄のいずれかで、脾臓の鬱血および色素沈着、前胃の扁平上皮過形成、出血、纖維化、浮腫および潰瘍、盲腸の粘膜上皮細胞の好塩基化および核分裂像増加、結腸の粘膜上皮細胞の好塩基化および核分裂像増加、肝臓の肝細胞好酸性化および小葉中心帶肝細胞肥大、副腎の血管拡張、空胞変性、壊死、マクロファージ集簇および皮質肥大が観察された。なお、結腸の粘膜上皮細胞の核分裂像増加

Exp. No. 9933 (115-212)
FINAL REPORT

は、100 mg/kg 群の雄でも観察された。消化管および肝臓での変化は、休薬による回復性が認められた。脾臓および副腎での変化については、休薬による回復傾向は認められたものの、変化は継続していた。

以上のことから、当該試験条件下において、2-ナフチルイソブチルエーテルの反復投与に起因する変化が、雄では 100 mg/kg/day 以上の投与で、雌では 500 mg/kg/day の投与で認められたことから、無毒性量は、雄では 20 mg/kg/day、雌では 100 mg/kg/day と判断された。また、14 日間の回復期間後、雄の体重および病理学検査における雌雄の脾臓および副腎に投与の影響は残ったものの、概ね回復傾向を示した。

1. 表題

2-ナフチルイソブチルエーテルのラットにおける 28 日間反復投与毒性試験

2. 試験目的

既存化学物質のotoxicological propertiesを評価する一環として、ラットを用いる反復経口投与毒性試験を行い、一般毒性学的影響を検討する。また、2週間の休薬期間を設け、一般毒性学的影響に対する回復性を検討する。

4. 試験番号

9933 (115-212)

5. 試験施設

〒437-1213 静岡県磐田市塩新田 582-2

財団法人 食品農医薬品安全性評価センター（略称 安評センター）

Tel: 0538-58-1266 Fax: 0538-58-1293

6. 試験委託者

〒100-8916 東京都千代田区霞が関一丁目 2 番 2 号

厚生労働省 医薬食品局 審査管理課 化学物質安全対策室

Tel: 03-3253-1111 Fax: 03-3593-8913

12. 試験材料および方法

12.1. 被験物質

被験物質として使用した 2-ナフチルイソブチルエーテル (CAS No. 2173-57-1, Lot No. 純度 99.1%, 分子量 200.28,) は、白色の結晶塊であり、安評センター7号館2階被験物質調製室B内プレハブ低温庫 ch. 72に保存した。被験物質の受領日から最終使用日までの保管庫温度実測値は 3.0~7.9°C であった。受領時の被験物質の品質について、分析結果を Reference data 1 に示した。試験期間中の被験物質の安定性を確認するため、投与期間終了後に被験物質の純度分析を実施した。その結果、純度は 99.6% であり、安定性評価の判定基準（純度 98%以上）を満たしていた。したがって、試験期間中の被験物質が安定であることが確認された (Reference data 2)。

被験物質を約 40°C に温めたコーンオイル (Lot No. V5R8265, V6A8960, V6F9868, ナカライトスク) に溶解し、2, 10 および 50 mg/mL の投与液を調製した。

投与液の濃度および均一性分析は、初回調製時に調製した全ての試験群の投与液について行った。その結果、設定濃度 (2, 10 および 50 mg/mL) に対する割合が、それぞれ 103.4, 102.1 および 103.1%，相対標準偏差がそれぞれ 0.5, 0.4 および 0.4% であり、濃度／均一性評価の判定基準（濃度平均値：設定濃度の 90~110% 以内、相対標準偏差：10%以下）を満たしていた (Reference data 3)。したがって、投与液は適切に調製されていることが確認された。

また、2 および 50 mg/mL 濃度の投与液を遮光条件下で 10 日間室温放置した後、濃度分析を行った。その結果、調製直後の被験物質濃度の平均値に対する割合が、投与液の安定性の判定基準（90%以上）を満たしていたことから、安定であることが確認された（Reference data 3）。したがって、投与液は、投与まで遮光・室温条件下で保存（保存場所：被験物質調製室 A 内室温保管庫 ch. 67）し、調製後 10 日以内に使用した。

被験物質は、投与終了後に 2 g を安評センターに保存し、残りは廃棄された。

12.2. 使用動物および飼育条件

日本チャールス・リバー株式会社 厚木飼育センターから生後 4 週齢の Crl:CD(SD)系 SPF ラット雌雄各 36 匹を購入し、試験に雌雄各 30 匹を使用した。

購入した動物は 7 日間検疫・馴化飼育した。検疫・馴化期間中の体重推移および一般状態に異常は認められなかった。

動物は、温度 $23 \pm 3^{\circ}\text{C}$ （実測値：22.4～23.3°C）、湿度 $55 \pm 20\%$ （実測値：52～70%）、換気回数 10 回以上/h、空気差圧外気+2 mmH₂O 以上、照明時間 12 時間（午前 7 時点灯、午後 7 時消灯）に設定されたバリアシステムの 101 号飼育室（W 8.0 × D 8.0 × H 2.5 m, 160.0 m³）で飼育した。株式会社 東京技研サービスの自動水洗式飼育機を使用し、アルミ製前面・床ステンレス網目飼育ケージ（W 15.8 × D 25.0 × H 16.0 cm, 6,320.0 cm³）に動物を 1 匹ずつ収容し飼育した。飼育ケージは隔週 1 回、給餌器は週 1 回交換した。

飼料は、放射線滅菌固型飼料（CRF-1, Lot No. 051202, オリエンタル酵母工業）を使用し、飼育期間中自由に摂取させた。飲水は、水道水（磐田市上水）を給水ノズルより自由に摂取させた。供給した飼料および水に、試験に支障を来す可能性のある汚染物質の混在はなかった。

したがって、飼育期間中、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。

12.3. 群分け

群分けは、雌雄ともに検疫・馴化期間終了後の投与開始日に行った。

群分け日の動物の体重は、平均体重の 20%以内に収まっており、群分け終了時の体重は、雄で 134～153 g、雌で 110～122 g の範囲にあった。投与開始日の体重を基に、無作為抽出法により対照群および高用量群に各 10 匹（その内の各 5 匹は回復性試験用動物）、低および中用量群に各 5 匹を振り分けた。

余剰動物は、群分け後に炭酸ガス吸入により安楽死させた。

12.4. 個体識別

動物の個体識別は、機能観察総合検査（Functional Observational Battery : FOB）を盲検法で実施するため、動物入荷時に雌雄別に通し番号を割り付け、検疫・馴化期間中に動

物の耳介にその通し番号（仮動物番号）を入れ墨した。群分け時に仮動物番号カードと群分け後の動物識別番号カード（ID カード）を用意し、群分け終了時に動物識別番号カードを表にし、対となる仮動物番号カードと重ね、個体別飼育ケージに付けて動物を識別した。機能観察総合検査以外の観察、測定および検査は動物識別番号に基づき実施した。

12.5. 投与量、群構成、投与期間および投与方法

投与用量は、本被験物質の毒性に関する情報として、Registry of Toxic Effects of Chemical Substances (RTECS)にラットに対する経口投与でのLD₅₀が 5,930 mg/kgと記載（RTECS番号：KO1255000）されていることから、当該試験に先立って 0, 30, 100, 300 および 1,000 mg/kg/day の用量で、2 週間投与予備試験（試験番号 9960）を実施し、その結果を参考に設定した。予備試験では、1,000 mg/kg群の雄で 4/5 例、雌で 5 例（全例）が投与後 4 から 7 日の間に死亡した。投与後の症状として、雄の 100 mg/kg以上および雌の 300 mg/kg以上の投与群で軟便、雌雄の 1,000 mg/kg群で下痢、雌雄の 300 mg/kg以上の投与群で流涎が認められ、雄の 300 mg/kg群で体重増加抑制傾向が認められた。血液生化学検査では、雄の 300 mg/kg群で血糖の低値およびカリウムの高値、雌の 300 mg/kg群で AST の低値およびγ-GTP の高値が認められた。病理学検査では、雌の 300 mg/kg群で肝臓および腎臓の相対重量が高値を示したが、剖検所見としては、被験物質投与に関連する異常所見は認められなかった。以上の結果から、当該試験では、明らかに毒性影響が発現すると考えられる 500 mg/kg/day を最高用量に設定し、以下公比 5 で除し、100 および 20 mg/kg/day を設けた。

投与経路は、OECD ガイドライン 407 で指示されている投与経路に準じて強制経口投与とした。

投与容量は、体重 100 g 当たり 1 mL とし、個体別に測定した最新体重に基づいて算出した。投与液は、胃ゾンデを用いて、1 日 1 回、午前 8 時 30 分～11 時 34 分に強制経口投与した。対照群には媒体（コーンオイル）のみを投与した。

投与期間は、雌雄ともに 28 日間とした。回復性試験用動物の投与期間は、連続 28 日間とし、その後の休薬期間は 14 日間とした。

13. 観察および検査方法

下記の項目について観察および検査を行った。投与開始日を Day 1, Day 1～7 を投与 1 週とした。また、Day 29 以降を回復期間とし、Day 29～36 を回復 1 週とした。

13.1. 一般状態の観察

全動物について、毎日、投与前、投与 30～60 分後および 3～4 時間後を含む 3 回以上（剖検日は動物搬出前に 1 回）観察し、観察所見を記録するとともに生死の確認を行つ

た。

13.2. 機能観察総合検査 (FOB)

機能観察総合検査は、全生存動物について、詳細な症状観察を投与開始前に1回、投与開始後は毎週1回実施した。反応性検査、握力および自発運動量測定は、投与4週目および回復2週目に行った。投与開始後の観察および検査は盲検法で行った。

投与開始前の検査は、仮動物番号の若い順に動物を飼育管理者から FOB の実施者に引き渡して実施した。投与期間中は、まず、動物の投与後に飼育管理者が個体別飼育ケージから ID カードを外し、仮動物番号の若い順に FOB の実施者に飼育ケージごと引き渡した。FOB の実施者は、投与後約 30 分から検査を実施した。飼育管理者は検査には加わらなかった。検査が終了し、FOB の実施者が飼育室から退室した後、飼育管理者が仮動物番号と動物識別番号の対比表に基づき、個体別飼育ケージに ID カードを付けた。

13.2.1. 詳細な症状観察

詳細な症状観察では、ケージから動物を取り出す際の反応として、出し易さおよび異常発声について、手にとっての詳細観察として、筋緊張、体温低下、立毛、毛の汚れ、被毛粗剛、皮膚の色、流涙、眼球突出、瞳孔径および流涎について観察し、記録した。さらに、アリーナ [ポリカーボネイト製エコンケージ (W 31.0 × D 36.0 × H 17.5 cm, 19,530.0 cm³)] 内に動物を移し、姿勢、活動性、呼吸、眼瞼状態、歩行状態、振戦、攣縮、痙攣（強直性、間代性）、常同行動および異常行動について 3 分間観察し、記録した。また、最初の 1 分間の糞・尿のプール数も記録した。

13.2.2. 反応性検査

接近反応、触覚反応、聴覚反応、痛覚反応、瞳孔反射および空中正向反射を検査し、記録した。

13.2.3. 握力（前後肢）

前後肢の握力については、デジタルパッシュプルゲージ（アイコーエンジニアリング）を用いて、それぞれ 2 回測定し、平均値を記録した。

13.2.4. 自発運動量測定

CAS（東洋産業）を用いて個別に測定した。13.2.1.から 13.2.3. 項の検査終了後（投与後約 40 分）に測定を開始した。測定時間は 1 時間とし、測定データを 1 分間隔で収集し、10 分毎に集計した。測定環境の照明は、点灯状態とし、測定中の騒音レベルは、ホワイトノイズ発生装置 (PA-1, 永島医科機械) でおよそ 70 dB とした。普通騒音計 (S-11, 横河北辰電機) を用いて、騒音レベルを測定し、記録した。

13.3. 体重

全動物について、Day 1, 4, 8, 11, 15, 18, 22, 25 および 28 の投与前に測定した。また、Day 1 から Day 28 までの体重増加量を算出した。回復性試験群の動物は、Day 29, 32, 36, 39 および 42 に測定し、Day 29 から Day 42 までの体重増加量を算出した。

死亡動物については発見時に、投与終了時の解剖動物および回復試験群の動物については解剖当日（Day 29 および 43）にも測定した。ただし、解剖日の体重は、相対重量の算出にのみ用いて、体重値の集計には含めなかった。測定は、電子天秤（XS4001S, メトラー・トレド）を用いて行い、記録した。

13.4. 摂餌量

全動物について、Day 1, 8, 15, 22 および 28 の投与前に給餌および残餌の餌重量を測定した。回復性試験群の動物は、Day 29, 36 および 42 に測定した。餌重量は、電子天秤（XS4001S）を用いて測定し、測定日間の平均 1 日摂餌量（g/day）を算出した。

13.5. 臨床検査

計画解剖時（Day 29 および Day 43）の全生存動物について、血液学検査、血液凝固能検査、血液生化学検査および血清蛋白電気泳動検査を実施した。

動物は、採血にあたり、採血前日の午後 5 時頃に給餌器を取り除いて絶食させた。採血は、エーテル麻酔下で開腹し、腹大動脈から実施した。

また、Day 23-24 および Day 37-38（回復群）に、検査時の全生存動物について、尿検査を実施した。

13.5.1. 血液学検査

抗凝固剤（EDTA-2K）入り採血管（インセパック II-D, 積水化学工業）に新鮮血を採取し、総合血液学検査装置（ADVIA 120, バイエル）を用いてヘマトクリット値（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変法）、赤血球数（RBC : 2 角度レーザーフローサイトメトリー法）、平均赤血球容積（MCV : 2 角度レーザーフローサイトメトリー法）、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）、白血球数（WBC : 2 角度レーザーフローサイトメトリー法）、白血球百分率（ペルオキシダーゼ染色によるフローサイトメトリー法および 2 角度レーザーフローサイトメトリー法）および好中球数（NEUT）、リンパ球数（LYMPH）、単球数（MONO）、好酸球数（EOSN）、好塩基球数（BASO）、大型非染色球数（LUC）、血小板数（PLT : 2 角度レーザーフローサイトメトリー法）および網赤血球率（Reticulocyte : RNA 染色によるレーザーフローサイトメトリー法）を測定した。

白血球百分率は、前述の機器で測定したが、別途血液塗抹標本を作製し、マイ・グリュ

ンワルド・ギムザ染色を行い保存した。

13.5.2. 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（ベノジェクトII, テルモ）に血液を採取した後、冷却多本架遠心機（H-700FR, コクサン）を用いて、20°C, 1,700 × gで13分間、遠心分離して得た血漿を検査に用いた。全自動血液凝固線溶測定装置（STA Compact, ロシュ）を用いて、プロトロンビン時間（PT：粘度変化検知方式）および活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT：粘度変化検知方式）を測定した。

13.5.3. 血液生化学検査

高速凝固促進剤・分離剤入り採血管（インセパック II-D）に血液を採取した後、多本架冷却遠心機（EX-126, トミー精工）を用いて、20°C, 1,700 × g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）を用いて総蛋白（T. protein : Biuret 法）、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 HDAOS 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）、総胆汁酸（Total bile acid : 酵素サイクリング法）、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST : 酵素-UV 法）、アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT : 酵素-UV 法）、アルカリホスファターゼ（ALP : p-ニトロフェニルリン酸基質法）、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ（Gamma-GTP : L- γ -グルタミル-3-カルボキシ-4-NA 法）、カルシウム（Calcium : MXB 法）、無機リン（Inorganic phosphorus : PNP-XDH 法）を、全自動電解質分析装置（EA06R, アットウィル）を用いてナトリウム（Sodium : イオン選択電極法）、カリウム（Potassium : イオン選択電極法）および塩素（Chloride : イオン選択電極法）を測定した。

13.5.4. 血清蛋白電気泳動検査

13.5.3で採取した血清を検査に用いた。全自動電気泳動分析装置（エパライザ、ヘレン研究所）を用い、タイタンIII-Tセルロースアセテート膜を支持体として電気泳動を行った。泳動終了後、ポンソーソ-T溶液で染色し、同装置のデンシトメーターを用いて、各分画の比率（Albumin, Alpha₁, Alpha₂, Beta, Gamma）を測定するとともにA/Gを算出した。さらに、各分画の比率および血液生化学検査で求めた総蛋白量を用いて、各分画の濃度（g/dL）を算出した{[分画比率（%）× 総蛋白（g/dL）]/100}。

13.5.5. 尿検査

給餌・給水の条件下で、採尿ケージを用いて、新鮮尿（放尿後3時間以内の尿）および24時間尿（午前10時頃から翌日午前10時頃まで）を採取した。

pH, 潜血 (Occult blood), ケトン体 (Ketone bodies), 糖 (Glucose), 蛋白 (Protein), ビリルビン (Bilirubin) およびウロビリノーゲン (Urobilinogen) について、新鮮尿を用いて検査した。測定は、エームス尿検査試験紙 (N-マルティスティックス SG, バイエル メディカル) を用い、自動尿分析装置 (CLINITEK500, バイエル) で判定を行った。

24 時間尿について、尿量 (計量) および色調 (目視) の検査後、卓上多本架遠心機 (LC-06SP, トミー精工) を用いて、尿を約 $400 \times g$ で 5 分間遠心し、上清および残渣に分離した。上清を用いて、全自动電解質分析装置 (EA06R) でナトリウム、カリウムおよび塩素濃度を測定 (イオン選択電極法) し、さらに、尿量を用いてナトリウム、カリウムおよび塩素の総排泄量を算出した。尿浸透圧 (Osmotic Pressure) は、自動浸透圧測定装置 (Osmotic Pressure AUTO&STAT OM-6030, アークレイファクトリー) で測定 (冰点降下法) した。また、残渣を用いて、新ステルンハイマー法による染色を施し、尿沈渣標本を作製し、鏡検した。なお、上皮細胞が 1+を示した動物については、扁平上皮細胞・移行上皮細胞・腎尿細管上皮細胞に分類した。

13.6. 病理学検査

13.6.1. 剖検および器官重量

死亡動物 (動物番号 2301, 2305) は、発見後直ちに剖検した。計画解剖動物は、エーテル麻酔下で採血し、放血により安楽死させた後に剖検した。

剖検では、動物の体表、自然開口部、体腔および諸器官について観察し、全ての肉眼所見を記録した。

計画解剖動物について、脳、胸腺、下頸腺 (舌下腺を含む)、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣、精巣上体および卵巣重量を、電子天秤 (PE160, メトラー・トレド) を用いて測定し、剖検日の体重から器官重量／体重比 (相対重量 : 器官重量 / 剖検日体重 × 100) を算出した。

また、解剖した全ての動物について、皮膚、乳腺 (雌)、リンパ節 (腸間膜、下頸)、舌下腺、下頸腺、胸骨、大腿骨、骨髓 (胸骨、大腿骨)、胸腺、気管、肺 (気管支を含む: 左側注入および浸漬固定)、心臓、甲状腺、上皮小体、舌、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、膀胱、精嚢、前立腺、精巣上体、卵巣、卵管、子宮、腔、眼球、視神経、ハーダー腺、脳、下垂体、脊髄 (頸髄、胸髄、腰髄)、骨格筋 (大腿部)、坐骨神経および大動脈を 10 vol% 中性緩衝ホルマリン液で、精巣はホルマリン・酢酸液 (FA 液) で前固定した後、10 vol% 中性緩衝ホルマリン液で固定した。

13.6.2. 病理組織学検査

13.6.1.で固定した器官・組織について、常法に従ってパラフィン包埋し、薄切後、ヘ

マトキシリン・エオジン染色標本を作製した。病理組織学検査は、毒性試験群および回復性試験群の対照群および高用量群ならびに死亡動物の固定した器官・組織、低および中用量の肉眼異常部位について実施した。また、心臓、肝臓、脾臓、副腎、胃、盲腸、結腸、精嚢、前立腺および精巣上体については、高用量群で被験物質投与の影響が疑われたため、低および中用量群についても検査を実施した。鏡検では、病変の種類、程度について記録した。

13.7. 統計解析

体重、体重増加量、摂餌量、FOB計量データ（握力、自発運動量）、血液学検査値、血液凝固能検査値、血液生化学検査値、血清蛋白泳動検査値、尿検査値（尿量、尿浸透圧および尿電解質）、器官重量および相対重量については、最初にBartlettの等分散検定²⁾を実施し、等分散の場合は、Dunnettの多重比較検定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の検定で対照群と各投与群間の有意差を検定した。

FOB 計数データ（排糞数、排尿数）は、Kruskal-Wallis の検定を実施し、有意差が認められた場合は、Steel の検定で対照群と各投与群の有意差を検定した。

剖検所見および病理組織学検査所見の発生率は、Fisher の直接確率検定法で対照群と各投与群の有意差を検定した。病理組織学所見のうち被験物質投与群で程度の増強が認められた所見は、-を「1」、+1（軽度）を「2」、+2（中等度）を「3」、+3（高度）を「4」に割り当て、Mann-Whitney の U 検定を実施した。

一般状態の所見についての統計解析は行わなかった。

有意水準は、Bartlett の等分散検定については 5%，その他の検定は 5% および 1% の両側検定で実施した。

14. 試験結果

14.1. 死亡および一般状態 (Table 1, Appendix 1)

死亡動物が、雌の 500 mg/kg 群で Day 6 および 7 の投与前に各 1 例（動物番号 2301, 2305）に認められた。死亡動物には、一般状態の変化として、軟便、粘液便、鼻周囲の汚れおよび被毛の汚れ（生殖器肛門周囲）が観察されていた。雄では死亡動物は認められなかった。

投与期間中の一般状態の変化として、雌雄の 500 mg/kg 群で、全例に軟便および粘液便の発現が認められ、少數例では水様下痢も認められた。さらに、流涎が 500 mg/kg 群の雄で全例、雌で多数例に認められた。その他、雌の 20 mg/kg 群で搔創（頸部）、500 mg/kg 群で紅涙および被毛の汚れ（生殖器肛門周囲）が認められたが、単発的な発現であることから、被験物質投与と関連のない変化と考えられた。

回復期間中の一般状態の変化として、雌雄とも 500 mg/kg 群で Day 29（回復期間開始日）に軟便あるいは粘液便が認められたが、Day 30 以降に一般状態の変化は認められなかった。

14.2. 体重 (Figure 1, 2, Table 2, Appendix 2)

雄では、500 mg/kg 群で Day 4 以降投与期間終了時まで、統計学的に有意な低値が認められ、Day 1 から 28 の体重増加量も有意な低値を示した。500 mg/kg 群では、回復期間（Day 29 から 42）においても有意な低値を示した。しかし、回復期間中の体重増加量は有意な高値を示した。

雌では、500 mg/kg 群で Day 4 から 11 に有意な低値を示した。回復期間では、対照群と 500 mg/kg 群で差は認められず、回復期間の体重増加量にも対照群と差は認められなかった。

14.3. 摂餌量 (Figure 3, 4, Table 3, Appendix 3)

雄では、500 mg/kg 群で Day 1-8, Day 15-22 および Day 22-28 の平均 1 日摂餌量が有意な低値を示した。回復期間では、500 mg/kg 群で Day 29-36 の平均 1 日摂餌量が有意な高値を示した。また、20 mg/kg 群で Day 8-15 および Day 15-22 の平均 1 日摂餌量が有意な高値を示したが、体重に影響のない軽微な変化であり、被験物質投与に関連した変化ではないと考えた。

雌では、500 mg/kg 群で Day 1-8 の平均 1 日摂餌量が有意な低値を示した。回復期間では、500 mg/kg 群で Day 29-36 の平均 1 日摂餌量が有意な高値を示した。

14.4. 機能観察総合検査 (FOB)

14.4.1. 詳細な症状観察 (Table 4, 5, 6, Appendix 4, 5, 6)

投与期間中の観察において、雄では、ケージから取り出す際の反応に異常は認められなかった。手にとっての詳細な観察では、「軽度」の流涎が、20 mg/kg 群で投与 2 週目に 1 例、500 mg/kg 群で投与 2, 3 および 4 週目に、それぞれ 2, 7 および 6 例に認められた。さらに、500 mg/kg 群では、投与 4 週目に「重度」の流涎も 2 例に認められた。アリーナ内での行動観察では、歩行状態の「無関心による不動」が 100 mg/kg 群で投与 1 週目に 1 例に認められた。排糞数および排尿数では、対照群と被験物質投与群との間に差は認められなかった。なお、詳細な症状観察で 20 および 100 mg/kg 群で認められた症状については、単発的な発現であり、且つ用量に関連しない変化であることから、被験物質投与との関連はない判断した。

雌では、ケージからの出し易さの項目について、「若干困難」が 500 mg/kg 群で投与 1 週目に 1 例に認められたが、他の観察日はいずれも「非常に簡単」あるいは「簡単」であり、被験物質投与との関連性は無いと判断した。手にとっての詳細な観察では、「軽度」の流涎が、500 mg/kg 群で投与 1, 2, 3 および 4 週目に、それぞれ 1, 3, 3 および 2 例に観察された。また、被毛の「非常に汚れている」が 500 mg/kg 群で投与 1 週目に 2 例に観察された。アリーナ内での行動の観察では、活動性の「低い」が 500 mg/kg 群で投与 1 週目に 1 例に観察された。なお、被毛の「非常に汚れている」および活動性の「低い」は、投与 1 週目の FOB 翌日に死亡した動物（動物番号 2305）で観察された。排糞数および排尿数には、対照群と被験物質投与群との間に差は認められなかった。その他、軟便が 500 mg/kg 群で投与 1 週目に 1 例に観察された。

回復期間中の観察においては、雌雄とも、いずれの観察項目にも異常は認められず、排糞数および排尿数にも、対照群との間に差は認められなかった。

14.4.2. 反応性検査 (Table 4, Appendix 4)

投与 4 週目に実施した反応性検査において、雄では、接近反応検査で、「反応なし」が 500 mg/kg 群で 1 例に認められた。触覚反応検査では、「反応なし」および「身を固くする」が 500 mg/kg 群で各 1 例に認められた。痛覚反応検査では、「緩慢に振り返る」が対照群で 1 例に観察された。雌では、いずれの検査項目においても異常反応は認められなかった。

回復 2 週目の反応性検査において、雄では、いずれの検査項目にも異常反応は認められなかった。雌では、痛覚反応検査で、「刺激から逃げようと前に歩く」が対照群で 2 例、「緩慢に振り返る」が 500 mg/kg 群で 1 例に観察された。

14.4.3. 握力（前後肢）(Table 7, Appendix 7)

雌雄とも、投与 4 週目および回復 2 週目のいずれの検査においても、対照群と被験物質投与各群との間で前肢および後肢の握力に差は認められなかった。

14.4.4. 自発運動量 (Table 8, Appendix 8)

雄では、投与 4 週目の検査において、500 mg/kg 群で測定開始後 20 分以降 60 分までの 10 分毎の自発運動量が有意な低値を示し、総運動量も有意な低値を示した。回復 2 週目の検査では、対照群と 500 mg/kg 群で差は認められなかった。

雌では、投与 4 週目および回復 2 週目のいずれの検査においても、対照群と被験物質投与群との間に差は認められなかった。

14.5. 臨床検査

14.5.1. 血液学検査

14.5.1.1. 投与期間終了時 (Table 9-1, Appendix 9-1)

雄では、500 mg/kg 群で網赤血球率が上昇傾向を示した。また、同群で単球比率および単球数が有意な上昇ならびに増加を示したが、軽微な変化であり、被験物質投与の影響とは判断しなかった。

雌では、500 mg/kg 群でヘマトクリット値、ヘモグロビン量、赤血球数および MCHC が有意な低下ならびに減少、網赤血球率が上昇傾向を示した。

14.5.1.2. 回復期間終了時 (Table 9-2, Appendix 9-2)

雄では、500 mg/kg 群で赤血球数および MCHC が有意な減少ならびに低下、MCV および MCH が有意な増加を示した。

雌では、500 mg/kg 群で好塩基球数が有意な増加を示したが、軽微な変化であり被験物質投与の影響とは判断しなかった。

14.5.2. 血液凝固能検査 (Table 10-1, 10-2, Appendix 10-1, 10-2)

雌雄とも、投与期間終了時および回復期間終了時で、いずれの検査項目においても対照群と被験物質投与群との間に差は認められなかった。

14.5.2.1. 血液生化学検査

14.5.2.2. 投与期間終了時 (Table 11-1, Appendix 11-1)

雄では、500 mg/kg 群で血糖が有意な低下、ALT が有意な上昇を示した。その他、500 mg/kg 群で総ビリルビン、総胆汁酸および γ -GTP が高値傾向、20 mg/kg 群で ALT が有意な上昇を示したが、いずれも軽微な変化であり被験物質投与の影響とは判断しなかった。

雌では、500 mg/kg 群で総蛋白が有意な低下、中性脂肪および ALP が有意な上昇を示

した。その他、500 mg/kg 群で総ビリルビンおよびγ-GTP が高値傾向、100 mg/kg 群でカリウムが有意な低下を示したが、用量に対応しない変化であり被験物質投与の影響とは判断しなかった。

14.5.2.3. 回復期間終了時 (Table 11-2, Appendix 11-2)

雄では、500 mg/kg 群で血糖が有意な低下を示した。その他、500 mg/kg 群でALP および無機リンが有意な上昇、総蛋白が有意な低下を示したが、投与終了時には認められない変化であり被験物質投与の影響とは判断しなかった。

雌では、500 mg/kg 群で中性脂肪および総コレステロールが有意な上昇を示した。その他、500 mg/kg 群で塩素が有意な低下を示したが、投与終了時には認められない変化であり被験物質投与の影響とは判断しなかった。

14.5.3. 血清蛋白電気泳動検査

14.5.3.1. 投与期間終了時 (Table 12-1, Appendix 12-1)

雄では、500 mg/kg群で α_2 グロブリン分画比率および濃度が有意な上昇を示した。また、20 mg/kg群で α_1 グロブリン分画比率および濃度が有意な低下を示したが、用量に対応しない変化であり被験物質投与の影響とは判断しなかった。

雌では、いずれの検査項目においても対照群と被験物質投与群との間に差は認められなかった。

14.5.3.2. 回復期間終了時 (Table 12-2, Appendix 12-2)

雄では、500 mg/kg 群でアルブミン分画比率が有意な上昇を示したが、アルブミン濃度に変化は認められなかつたため、被験物質投与の影響とは判断しなかった。

雌では、いずれの検査項目においても対照群との間に差は認められなかつた。

14.5.4. 尿検査

14.5.4.1. 投与期間終了時 (Table 13-1, Appendix 13-1)

雄では、500 mg/kg 群で尿量が増加傾向、尿浸透圧、ナトリウム濃度および総排泄量、カリウム濃度および総排泄量が有意な低下ならびに減少を示した。さらに、500 mg/kg 群では、尿色調が黄褐色または暗褐色、pH が中性、ケトン体が陰性、蛋白が陰性または陽性、ビリルビンが陽性 (1+または 2+) を示す例数が増加した。なお、尿色調については、100 mg/kg 群においても黄褐色を呈した例数が増加した。その他、500 mg/kg 群で塩素濃度が有意な低値を示したが、塩素総排泄量に変化は認められず、被験物質投与の影響とは判断しなかった。尿沈渣の検査で認められた所見は、いずれも軽微な変化であり、被験物質投与の影響は認められなかつた。

雌では、500 mg/kg 群で尿量および塩素総排泄量が有意な増加、尿浸透圧、ナトリウ

ム濃度およびカリウム濃度が有意な低下を示した。さらに、500 mg/kg 群では、尿色調が黄褐色、ビリルビンが陽性(1+)を示す例数が増加した。なお、尿色調については、100 mg/kg 群においても黄褐色を呈した例数が増加した。尿沈渣の検査で認められた所見は、いずれも軽微な変化であり、被験物質投与の影響は認められなかった。

14.5.4.2. 回復期間終了時 (Table 13-2, Appendix 13-2)

雄では、いずれの検査項目においても対照群との間に差は認められなかった。

雌では、500 mg/kg 群でナトリウム総排泄量が有意な増加を示したが、軽微な変化であり被験物質投与の影響とは判断しなかった。

14.6. 病理学検査

14.6.1. 器官重量

14.6.1.1. 投与期間終了時 (Table 14-1, 15-1, Appendix 14-1, 15-1)

雄では、500 mg/kg 群で腎臓の実重量が有意な減少、100 および 500 mg/kg 群で腎臓の相対重量が有意な増加、500 mg/kg 群で肝臓、脾臓および副腎の相対重量が有意な増加を示した。その他、500 mg/kg 群で心臓、胸腺、精巣上体および下頸腺の実重量が有意な減少、脳および下頸腺の相対重量が有意な増加を示したが、いずれも剖検日の低体重に起因する変化であり、被験物質投与の影響とは判断しなかった。

雌では、100 および 500 mg/kg 群で肝臓の相対重量が有意な増加、500 mg/kg 群で脾臓の相対重量が有意な増加、心臓の実重量および相対重量が増加傾向を示した。その他、500 mg/kg 群で脳の相対重量が有意な増加を示したが、剖検日の低体重に起因する変化であり、被験物質投与の影響とは判断しなかった。

14.6.1.2. 回復期間終了時 (Table 14-2, 15-2, Appendix 14-2, 15-2)

雄では、500 mg/kg 群で脾臓の相対重量が有意な増加を示した。その他、心臓および肝臓の絶対重量が有意な減少、脳の相対重量が有意な増加を示したが、いずれも剖検時の低体重に起因した変化と判断した。

雌では、500 mg/kg 群で肝臓の相対重量が有意な増加を示した。

14.6.2. 剖検所見

14.6.2.1. 投与期間終了時 (Table 16-1, Appendix 16)

主な変化として、500 mg/kg 群の雄で前立腺および精嚢の小型が各 4 例に観察され、対照群に比べ有意な発現例数の増加が認められた。さらに、500 mg/kg 群の雄で胃の白色斑が 3 例、精巣の小型および副腎の瘢痕が各 1 例、500 mg/kg 群の雌雄で脾臓の暗色が各 2 例、胃の赤色斑／区域が各 1 例に観察された。また、500 mg/kg 群の雌 1 例（動物番号 2303）で、心臓の肥大、白色結節および瘢痕、脾臓の白色斑／区域および肝臓

の暗色化が観察された。

その他に投与期間終了時剖検で観察された所見は、いずれも単発性の所見であり、自然発生性の変化と考えた。

14.6.2.2. 回復期間終了時 (Table 16-3, Appendix 16)

500 mg/kg 群の雄 1 例 (動物番号 1310) で精巣の小型、前立腺の小型および精嚢の小型が観察された。

その他に回復期間終了時剖検で観察された所見は、いずれも単発性あるいは対照群にも認められる所見であり、自然発生性の変化と考えた。

14.6.2.3. 死亡動物 (Table 16-2, Appendix 16)

500 mg/kg 群の雌で認められた死亡動物では、脾臓の小型化 (2/2 例), 胸腺の萎縮 (1/2 例), 胃の黒色斑 (1/2 例) および副腎の肥大 (2/2 例) が認められた。

14.6.3. 組織所見

被験物質投与の関与が疑われた変化が、脾臓、胃（前胃、腺胃）、盲腸、結腸、肝臓、前立腺、精嚢および副腎に認められた。

14.6.3.1. 投与期間終了時 (Table 17-1, Appendix 17)

脾臓では、500 mg/kg 群の雌雄で鬱血が観察され、雌では、対照群に比べ有意な発生例数の増加が認められた。500 mg/kg 群の雌雄で色素沈着が観察され、発生例数が雌で有意に増加し、雄で増加傾向が認められた。また、白脾髄の萎縮が 500 mg/kg 群の雌で観察された。

前胃では、500 mg/kg 群の雌雄で扁平上皮過形成（一部に過角化を伴う、雌では中等度の所見、Photo. 1）が観察され、雄で発生例数の増加傾向が認められた。500 mg/kg 群の雄で出血および線維化、雌で浮腫（Photo. 1）および潰瘍が観察された。

腺胃では、500 mg/kg 群の雌で浮腫が観察された。

盲腸では、500 mg/kg 群の雄で粘膜上皮細胞の核分裂像増加および好塩基化（中等度の所見を含む）が観察され、有意な発生例数の増加または増加傾向が認められた。

結腸では、500 mg/kg 群の雌雄で粘膜上皮細胞の好塩基化（Photo. 2）が観察され、雄では中等度の所見も含まれており、有意な発生例数の増加および程度の増強が認められた。100 mg/kg 群の雄および 500 mg/kg 群の雌雄で、粘膜上皮細胞の核分裂像増加（Photo. 2）が観察され、500 mg/kg 群の雄では有意な発生例数の増加が認められた。

肝臓では、500 mg/kg 群の雌雄で肝細胞好酸性化が観察され、有意な発生例数の増加が認められた。また、500 mg/kg 群の雌雄で小葉中心帶肝細胞肥大が観察され、雄で有意に発生例数が増加した。

前立腺では、500 mg/kg 群の雄で腺房の萎縮が観察され、発生数が高値傾向を示した。

精囊では、500 mg/kg 群の雄で腺房の萎縮（中等度の所見を含む）が観察され、有意な発生例数の増加および程度の増強が認められた。

副腎では、500 mg/kg 群の雌雄で血管拡張（Photo. 3），空胞変性（Photo. 3），壊死，マクロファージ集簇および皮質肥大が観察され、有意な発生例数の増加または増加傾向が認められ、いくつかの所見では中等度の所見が含まれており、程度の増強も認められた。なお、血管拡張、空胞変性、壊死等の病変は、主に皮質の内側（網状層と束状層の境界付近）から生じていた。

その他、500 mg/kg 群の雌 1 例（動物番号 2303）に、心臓の心筋の肥大、線維化、心外膜炎および肺動脈弁の粘液様変化、脾臓の被膜炎、肝臓の鬱血が肉眼所見に対応して認められた。心臓と脾臓との所見の関連は明らかではないが、肝臓の鬱血は心臓の影響によると考えられた。500 mg/kg 群の他の雌動物では心臓に同様の所見はみられなかつた。20 および 100 mg/kg 群についても心臓の組織学検査を行ったが、動物番号 2303 と類似の所見は認められなかつたため、動物番号 2303 で認められた所見は自然発生の病変で、被験物質投与に関連する変化ではないと考えた。また、心臓の単核細胞浸潤も、対照群および投与群に関わらず多くの例で認められたことから、自然発生病変であると考えられた。

なお、その他に被験物質投与群で認められた所見は、種類あるいは発生例数から、いずれも被験物質投与とは関連のない変化と考えられた。

14.6.3.2. 回復期間終了時 (Table 17-3, Appendix 17)

脾臓では、500 mg/kg 群の雌雄で軽度の色素沈着が観察され、有意な発生例数の増加が認められた。

副腎では、500 mg/kg 群の雌雄で血管拡張が観察され、雌で発生例数の増加および程度の増強が認められた。さらに、500 mg/kg 群では、雄でマクロファージ集簇の有意な発生例数の増加が、雌雄で空胞変性の増加傾向が認められた。また、500 mg/kg 群の雄で中等度の壊死および皮質肥大が観察された。

精巢上体では、500 mg/kg 群の雄で精子減少が観察された。

精囊では、500 mg/kg 群の雄で腺房の萎縮が観察された。

その他に 500 mg/kg 群で認められた所見は、種類あるいは発生例数から、いずれも被験物質投与とは関連のない変化と考えられた。

14.6.3.3. 死亡動物 (Table 17-2, Appendix 17)

死亡動物では、脾臓の萎縮および下頸腺の好酸性顆粒減少が 2 例全例に、胸腺の萎縮、心臓の単核細胞浸潤、肺の泡沫細胞集簇、腺胃の潰瘍、副腎の鬱血、空胞変性、壊死および皮質肥大が各 1 例に認められた。腺胃および副腎の所見は、被験物質の直接的影響が疑われ、その他の所見は全身状態の悪化に伴う二次的変化あるいは自然発生性の病変

と考えられた。

15. 考察および結論

雌の 500 mg/kg 群で 2 例が死亡した。死亡した動物では、一般状態および FOB において、全身状態の悪化に関連した症状および反応性の低下が観察され、体重が著しく減少し、組織学検査では、1 例で腺胃の潰瘍および副腎の壞死等の所見が認められた。死因としては、被験物質投与に起因した全身状態の悪化に伴う衰弱死が考えられた。

本被験物質と類似骨格を有する 2-ナフトールは、刺激性を有し、反復投与において投与後の流涎および自発運動低下、病理学検査における前胃粘膜扁平上皮の過形成が報告され¹⁾、単回投与においては、下痢、前胃の出血、炎症および暗色尿が報告されている²⁾。被験物質は、2-ナフトールと同様に刺激性を有することが考えられ、FOB を含めた一般状態の変化で認められた流涎、病理学検査で前胃に認められた扁平上皮過形成等の所見は、被験物質投与の影響と判断した。また、機能観察総合検査では、自発運動量の測定において、500 mg/kg群の雄で減少が認められた。症状観察では、自発運動の低下等の所見は認められなかつたが、反応性検査において、少數例ではあるが、反応性の低下を示す動物も認められており、2-ナフトールでの反復投与結果と同様に、自発運動量の減少は被験物質投与の影響と考えられた。なお、被験物質の神経系に及ぼす作用を示唆する変化は認められなかつた。さらに、一般状態の変化として、500 mg/kg群で投与期間中に認められた軟便、粘液便および水様下痢は、休薬直後から発現が消失したこと、および 2-ナフトールの単回投与結果から被験物質の直接影響が考えられた。病理学検査においては、500 mg/kg群で盲腸および結腸に粘膜上皮細胞の好塩基化および核分裂像増加が多数例に認められた。特に、核分裂像増加は、結腸において、1 例ではあるが 100 mg/kg群の雄で認められ、用量依存性に発生していることから被験物質投与の影響と考えられ、被験物質が消化管に対して影響を及ぼすことが示唆された。消化管に対する組織変化の機序は不明であるが、回復期間終了時では認められなかつたことから、可逆性の変化と考えられた。また、これらの消化管に対する影響も軟便等の発現の一要因と考えられた。被験物質投与による消化管への影響および継続した軟便等の変化は、特に雄で顕著に認められた摂餌量の低下ならびに体重抑制との関連性も示唆された。500 mg/kg群の雄では、病理学検査において、投与期間終了時に、肉眼所見で精巣、前立腺および精嚢の小型、組織所見で前立腺および精嚢の腺房の萎縮が多数例に認められた。組織学検査において、これらの器官の細胞に変性、脱落等の障害は認められず、生殖関連器官の小型化は被験物質投与に起因した低体重および全身状態の悪化により、成長が阻害されて生じた二次的の影響であると考えた。なお、500 mg/kg群の 1 例(動物番号 1310)では、回復期間終了時でも精巣および副生殖器の小型が認められ、体重も低値であり、成長阻害が継続していると考えられた。しかしながら、回復期間の体重増加量は高値を

示し、病理学検査においても、休薬により生殖関連器官が正常状態に戻った動物が多く、休薬による回復傾向が示唆された。

病理学検査において、被験物質投与の影響が、前述の消化管の他、脾臓、肝臓および副腎に認められた。脾臓では、500 mg/kg 群で投与期間終了時に色素沈着、鬱血および白脾臓の萎縮が認められた。色素沈着は、回復期間終了時においても雌雄の多数例に認められた。500 mg/kg 群の雌では、投与期間終了時の血液学検査で、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、赤血球数および MCHC が減少し、網赤血球率が増加傾向を示したことから、溶血性貧血が示唆された。500 mg/kg 群の雄では、投与期間終了時に網赤血球率が増加傾向、回復期間終了時に赤血球数および MCHC が減少、MCV および MCH が増加を示した。脾臓における鬱血は、被験物質による溶血等の障害に起因した老廃赤血球の処理亢進に伴う変化と考えられた。色素沈着は、鬱血と同様の発生機序が考えられ、投与終了後も蓄積が継続したために回復期間終了時で発生数が増加したものと推測された。また、脾臓重量の増加および肉眼所見での暗色は、色素沈着あるいは鬱血に対応する変化と考えられた。脾臓の萎縮は、投与期間終了時では雌 1 例のみの発現であったが、途中死亡した雌 2 例にも認められ、被験物質投与との関連が疑われた。

肝臓では、投与期間終了時に 500 mg/kg 群の雌雄で相対重量が増加し、組織学的に肝細胞の小葉中心帯肥大および好酸性化が認められ、被験物質投与による薬物代謝亢進に伴う反応と考えられた。また、500 mg/kg 群の雄では、血液生化学検査で ALT の上昇が認められ、肝細胞障害が示唆された。これらの所見は、回復期間終了時には認められなかったことから、可逆性の変化と考えられた。

副腎では、500 mg/kg 群の全動物で影響が認められ、特に投与期間終了時では著しい変化であった。死亡例においても皮質に広範の壞死巣が認められたが、発生機序は不明であった。回復期間終了時では、壞死および皮質肥大の発生数は減少したものの、マクロファージの集簇が増加し、壞死組織の処理機能が亢進したと考えられた。しかし、血管拡張および空胞変性の発生数は、投与期間終了時と回復期間終了時で大差なく、障害反応の継続あるいは遅延、または変化の未修復と考えられた。

血液生化学検査において、投与期間終了時に 500 mg/kg 群の雌で総蛋白が低下、中性脂肪および ALP が上昇し、回復期間終了時に 500 mg/kg 群の雄で総蛋白が低下、雌で中性脂肪および総コレステロールが上昇を示し、肝臓での蛋白・脂質代謝系への影響が示唆された。また、500 mg/kg 群の雄で投与期間終了時に血糖が低下し、回復期間終了時でも同様の変化が認められた。雄での血糖低下は予備試験においても認められ、被験物質投与の影響が疑われた。

尿検査では、投与期間終了時に 500 mg/kg 群の雌雄で尿量の増加および尿浸透圧の低下、500 mg/kg 群の雄でナトリウムおよびカリウム総排泄量の減少、pH の中性化が認め

られ、腎臓への影響が示唆された。しかしながら、病理学検査では、腎臓重量（相対重量）の高値傾向は認められたものの、組織学検査で関連する変化は認められなかった。なお、回復期間終了時の尿検査ではこれらの変化は認められず、回復性が認められた。

その他、雌雄とも 500 mg/kg 群で回復 1 週目の摂餌量が高値を示し、被験物質投与期間の摂餌抑制に対する代償性の変化と考えられた。

血液生化学検査において、毒性試験群には認められない変化であったが、回復性試験群の雄で無機リンが上昇した。しかし、カルシウムに変化は認められず、腎機能に関連するパラメータに異常が認められないことから、毒性学的意義は低いと考えられた。

血清蛋白電気泳動検査において、毒性試験群の雄の 500 mg/kg 群で α_2 -グロブリン分画が増加したが、軽度な変化であり、総蛋白および脂質量に変化は認められないことから、毒性学的意義は低いと考えられた。

尿検査において、投与期間終了時に 500 mg/kg 群の雄でケトン体および蛋白の陰性化が認められたが、尿量の増加により希釈されたと考えられ、被験物質投与に関連しない変化と考えられた。雌の 500 mg/kg 群で塩素総排泄量が増加したが、軽微な変化であり毒性学的意義は低いと考えられた。また、100 および 500 mg/kg 群の雌雄で尿色が褐色調を示し、雌雄の 500 mg/kg 群でビリルビン陽性例が認められたが、色調との対応は明らかではなかった。回復期間終了時では尿色の変化は認められなかったことから、被験物質自身あるいは代謝物による着色が疑われたが、毒性影響とは考えなかった。

以上のことから、当該試験条件下において、2-ナフチルイソブチルエーテルの反復投与に起因する変化が、雄では 100 mg/kg/day 以上の投与で、雌では 500 mg/kg/day の投与で認められたことから、無毒性量は、雄では 20 mg/kg/day、雌では 100 mg/kg/day と判断された。また、14 日間の回復期間後、雄の体重および病理学検査において雌雄の脾臓および副腎に投与の影響は残ったものの、概ね回復傾向を示した。

16. 参考文献

- 1) 代田真理子ら：2-ナフトールのラットを用いる一世代生殖毒性試験. 化学物質毒性試験報告, 8 : 669-684 (2001) .
- 2) IUCLID (International Uniform Chemical Information Database). (2006) .

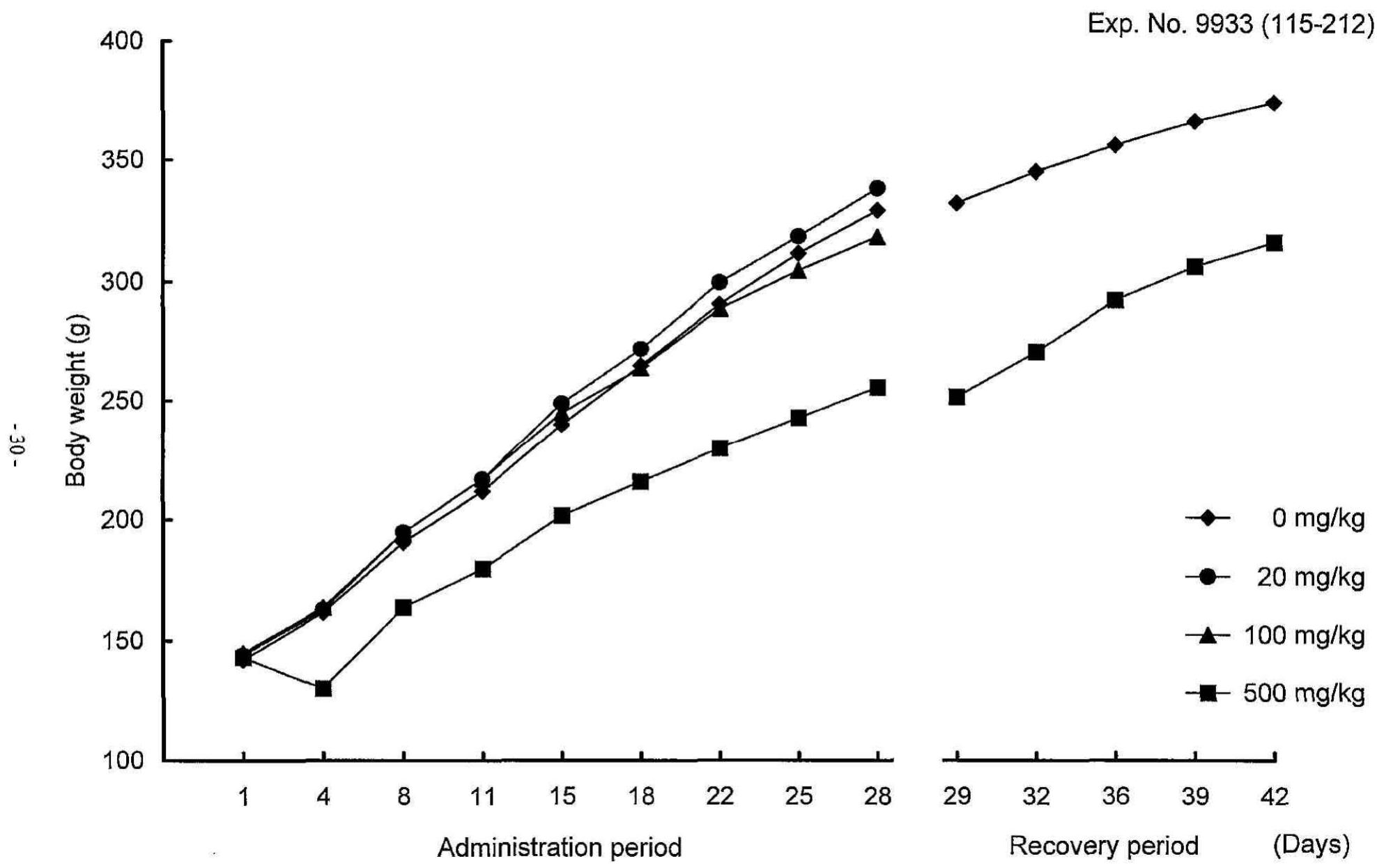


Figure 1. Body weight change in male rats

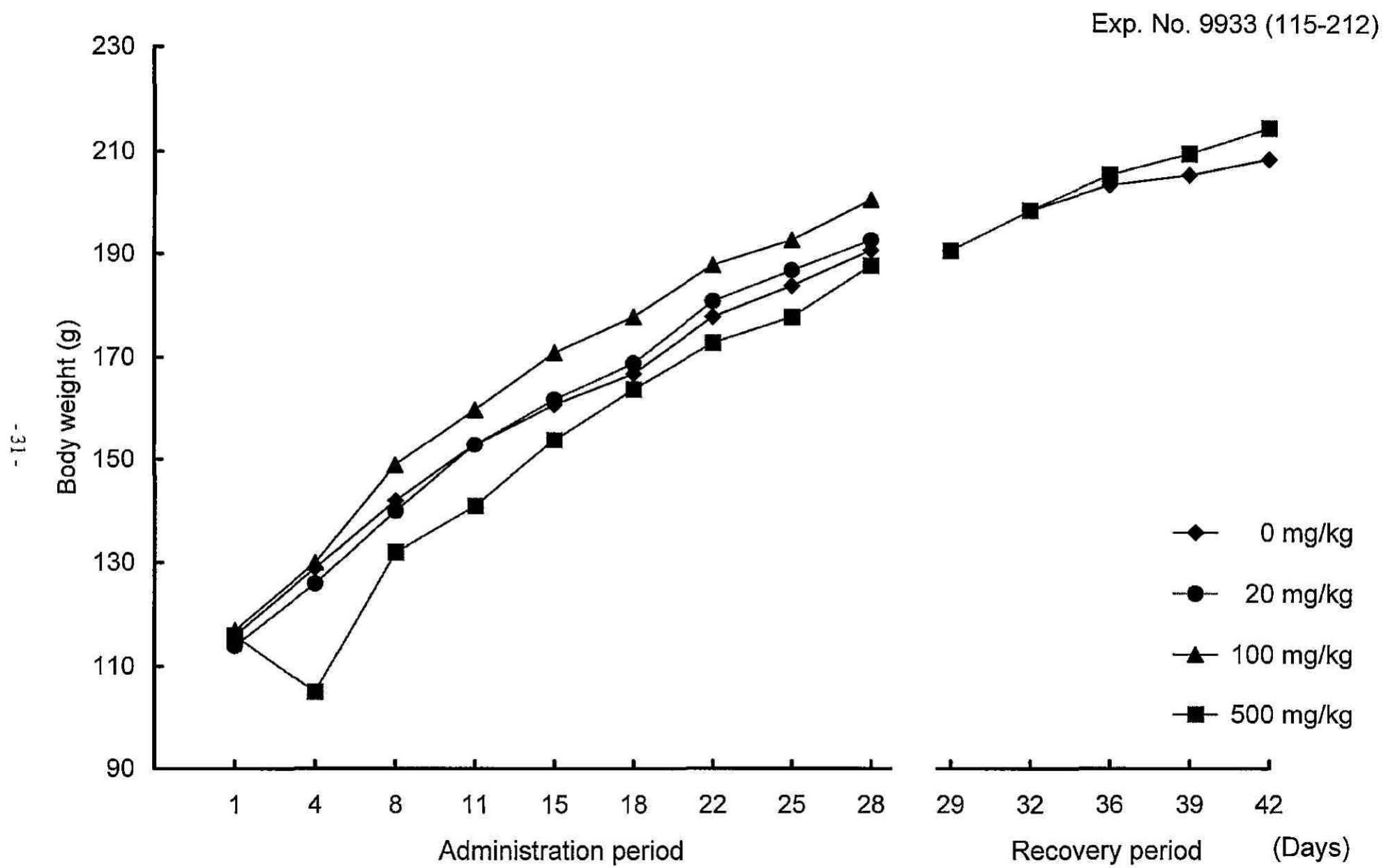


Figure 2. Body weight change in female rats

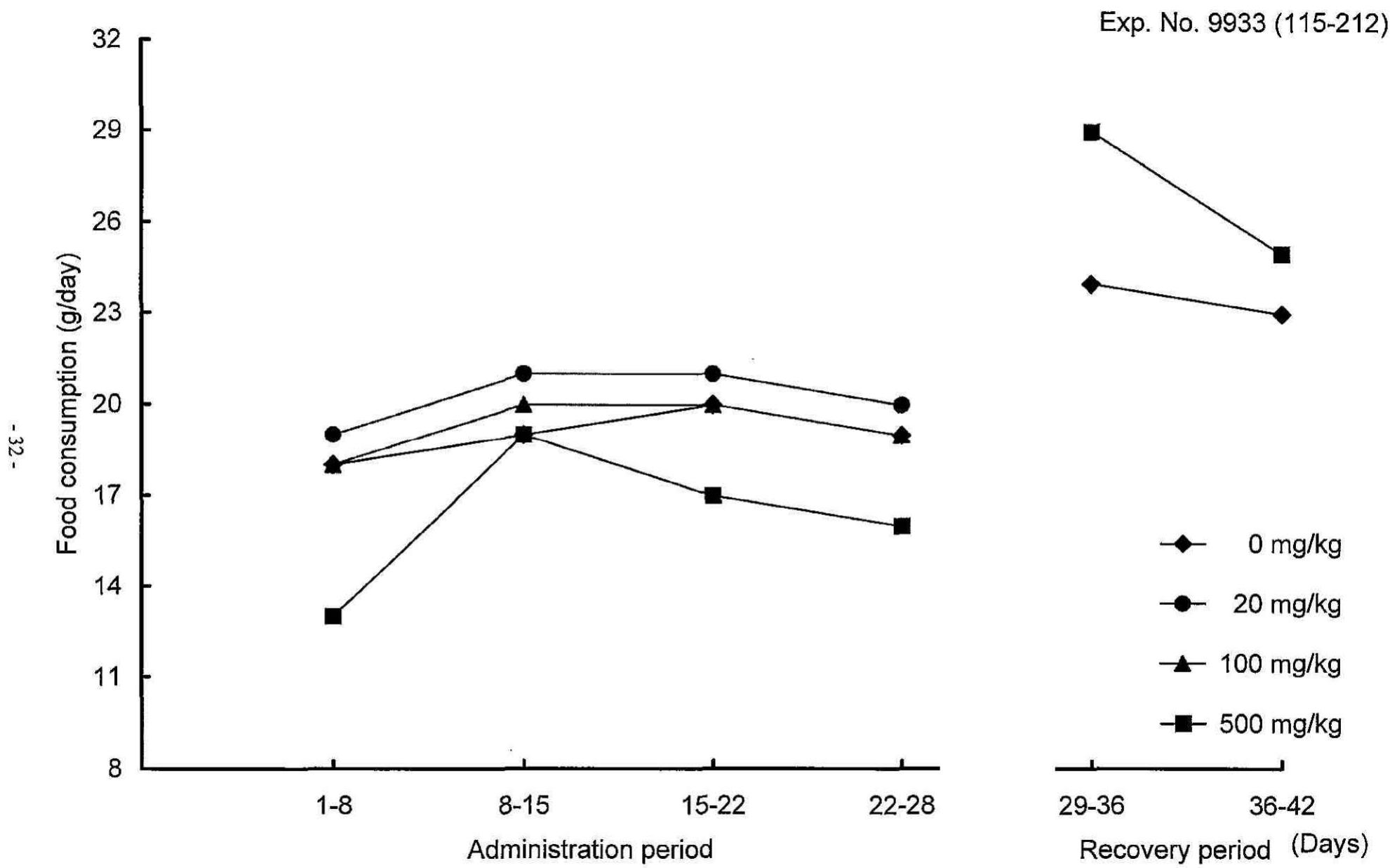


Figure 3. Food consumption in male rats

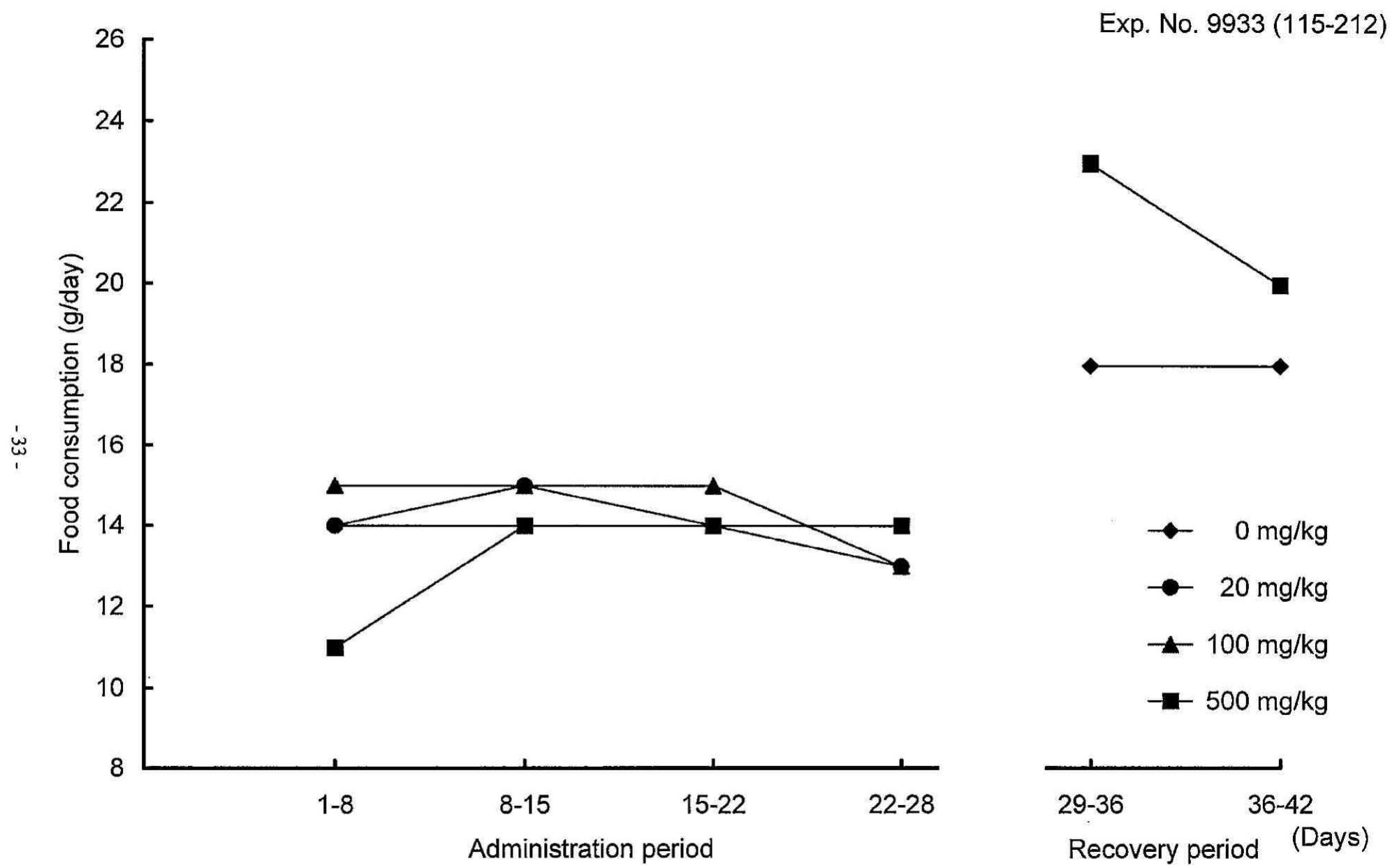


Figure 4. Food consumption in female rats

Table 1.

Clinical observation

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex: Male

Group No.	Dose mg/kg	Finding Part	Day of experiment																	
			1----->			2----->			3----->			4----->			5----->			6----->		
			1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
01	control 0	normal	—	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
			Total	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
02	2-NIBE 20	normal	—	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
			Total	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
03	2-NIBE 100	normal	—	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
			Total	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
04	2-NIBE 500	normal	—	10	10	10	10	9	9	5	7	6	2	8	8	4	9	10	7	10
		Salivation	—	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
			+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			Total	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
		Loose stool	—	10	10	10	10	9	9	5	7	6	4	8	9	5	10	10	7	10
			+	0	0	0	0	1	1	5	3	4	6	2	1	5	0	0	3	0
			Total	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
		Watery diarrhea	—	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
			+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	1	1	0	0	0
			Total	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
		Mucous feces	—	10	10	10	10	10	9	5	7	6	2	8	8	4	9	10	7	10
			+	0	0	0	0	0	1	5	3	4	8	2	2	6	1	0	3	0
			Total	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

1: Before dosing 2: 30 to 60 minutes after dosing 3: 3 to 4 hours after dosing
 2-NIBE: 2-Naphthylisobutyl ether

Table 1.

-continued Clinical observation

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex: Male

Group No. Dose mg/kg	Finding Part	Day of experiment																	
		7----->			8----->			9----->			10----->			11----->			12----->		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
01 control 0	normal	—	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
		Total	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
02 2-NIBE 20	normal	—	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Total	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
03 2-NIBE 100	normal	—	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Total	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
04 2-NIBE 500	normal	—	10	9	10	10	7	10	9	8	10	10	6	10	10	7	9	10	7
		Total	10	9	10	10	7	10	9	8	10	10	6	10	10	7	9	10	7
	Salivation	—	10	9	10	10	7	10	10	8	10	10	6	10	10	7	9	10	7
		+	0	1	0	0	3	0	0	2	0	0	4	0	0	3	1	0	3
		Total	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	Loose stool	—	10	10	10	10	10	10	9	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
		+	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Total	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	Watery diarrhea	—	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
		+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Total	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	Mucous feces	—	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
		+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Total	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

1: Before dosing 2: 30 to 60 minutes after dosing 3: 3 to 4 hours after dosing

2-NIBE: 2-Naphthylisobutyl ether

Table 1.

-continued Clinical observation

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex: Male

Group No. Dose mg/kg	Finding Part	Day of experiment																	
		13----->			14----->			15----->			16----->			17----->			18----->		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
01 control 0	normal	—	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
		Total	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
02 2-NIBE 20	normal	—	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Total	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
03 2-NIBE 100	normal	—	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Total	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
04 2-NIBE 500	normal	—	7	8	9	3	2	7	4	3	7	2	3	9	1	2	8	2	3
		Total	7	8	9	3	2	7	4	3	7	2	3	9	1	2	8	2	3
	Salivation	—	10	8	9	10	2	7	10	3	7	10	3	9	10	2	8	10	3
		+ 0	2	1	0	8	3	0	7	3	0	7	1	0	8	2	0	7	2
		Total	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	Loose stool	—	7	10	10	6	10	10	4	10	10	2	10	10	1	10	10	2	10
		+ 3	0	0	4	0	0	6	0	0	8	0	0	9	0	0	8	0	0
		Total	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	Watery diarrhea	—	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
		+ 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Total	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	Mucous feces	—	7	10	10	4	10	10	6	10	10	4	10	10	3	10	10	3	10
		+ 3	0	0	6	0	0	4	0	0	6	0	0	7	0	0	7	0	0
		Total	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

1: Before dosing 2: 30 to 60 minutes after dosing 3: 3 to 4 hours after dosing

2-NIBE: 2-Naphthylisobutyl ether

Table 1.

-continued Clinical observation

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex: Male

Group No. Dose mg/kg	Finding Part	Day of experiment																	
		19----->			20----->			21----->			22----->			23----->			24----->		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
01 control 0	normal	—	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
		Total	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
02 2-NIBE 20	normal	—	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Total	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
03 2-NIBE 100	normal	—	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Total	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
04 2-NIBE 500	normal	—	1	3	8	4	3	8	4	1	8	4	3	7	5	3	10	1	2
		Total	1	3	8	4	3	8	4	1	8	4	3	7	5	3	10	1	2
	Salivation	—	10	3	8	10	3	8	10	1	8	10	3	7	10	3	10	10	10
		+	0	7	2	0	7	2	0	9	2	0	7	3	0	7	0	0	8
		Total	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	Loose stool	—	1	10	10	4	10	10	4	10	10	4	10	10	5	10	10	1	10
		+	9	0	0	6	0	0	6	0	0	6	0	0	5	0	0	9	0
		Total	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	Watery diarrhea	—	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
		+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Total	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	Mucous feces	—	3	10	10	8	10	10	6	10	10	5	10	10	6	10	10	6	10
		+	7	0	0	2	0	0	4	0	0	5	0	0	4	0	0	4	0
		Total	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

1: Before dosing 2: 30 to 60 minutes after dosing

2-NIBE: 2-Naphthylisobutyl ether

3: 3 to 4 hours after dosing

Table 1. -continued Clinical observation

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex: Male

Group No.	Dose mg/kg	Finding Part	Day of experiment													
			25----->			26----->			27----->			28----->				
1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3		
01	control 0	normal	—	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
			Total	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
02	2-NIBE 20	normal	—	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
			Total	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
03	2-NIBE 100	normal	—	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
			Total	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
04	2-NIBE 500	normal	—	1	2	10	1	5	9	2	6	10	3	2	10	0
		Salivation	—	10	2	10	10	5	9	10	6	10	10	2	10	10
			+	0	8	0	0	5	1	0	4	0	0	8	0	0
			Total	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
		Loose stool	—	1	10	10	1	10	10	2	10	10	3	9	10	0
			+	9	0	0	9	0	0	8	0	0	7	1	0	10
			Total	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
		Watery diarrhea	—	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
			+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			Total	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
		Mucous feces	—	6	10	10	4	10	10	3	10	10	4	10	10	0
			+	4	0	0	6	0	0	7	0	0	6	0	0	10
			Total	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

1: Before dosing 2: 30 to 60 minutes after dosing 3: 3 to 4 hours after dosing

2-NIBE: 2-Naphthylisobutyl ether

Table 1.

-continued Clinical observation

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex: Male

Group No. Dose mg/kg	Finding Part	—	Day of experiment												
			29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41
01 control 0	normal	— Total	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
04 2-NIBE 500	normal	— Total	0 0	5 5											
	Loose stool	— + Total	0 5 5	5 0 5											
	Mucous feces	— + Total	0 5 5	5 0 5											

2-NIBE: 2-Naphthylisobutyl ether

Table 1.

-continued Clinical observation

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex: Female

Group No. Dose mg/kg	Finding Part	Day of experiment																	
		1----->			2----->			3----->			4----->			5----->			6----->		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
01 control 0	normal	—	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
		Total	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
02 2-NIBE 20	normal	—	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Total	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Scratched wound Neck	—	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		+ 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Total	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
03 2-NIBE 100	normal	—	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Total	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

1: Before dosing 2: 30 to 60 minutes after dosing

3: 3 to 4 hours after dosing

2-NIBE: 2-Naphthylisobutyl ether

Table 1.

-continued Clinical observation

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex: Female

Group No. Dose mg/kg	Finding Part	Day of experiment																		
		1----->			2----->			3----->			4----->			5----->			6----->			
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	
04 2-NIBE 500	normal	—	10	10	10	10	10	7	6	8	6	1	8	7	2	6	7	5	7	7
		Total	10	10	10	10	10	7	6	8	6	1	8	7	2	6	7	5	7	7
	Soiled fur Anogenital region	—	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	8	8	8	7	7	7
		+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2
		Total	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9	9	9
	Reddish tear	—	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9	9	9
		+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Total	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9	9	9
	Smudge of perinasal area	—	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	8	8	8	8	8	8
		+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2	1	1	1
		Total	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9	9	9
	Salivation	—	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9	9	9
		+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Total	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9	9	9
	Loose stool	—	10	10	10	10	10	7	6	8	6	3	8	7	3	8	10	5	9	9
		+	0	0	0	0	0	3	4	2	4	7	2	3	7	2	0	4	0	0
		Total	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9	9	9
	Watery diarrhea	—	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9	10	10	9	9	9
		+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		Total	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9	9	9
	Mucous feces	—	10	10	10	10	10	7	6	8	6	3	8	7	2	8	10	5	9	9
		+	0	0	0	0	0	3	4	2	4	7	2	3	8	2	0	4	0	0
		Total	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9	9	9

1: Before dosing 2: 30 to 60 minutes after dosing 3: 3 to 4 hours after dosing

2-NIBE: 2-Naphthylisobutyl ether

Table 1.

-continued Clinical observation

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex: Female

Group No.	Dose mg/kg	Finding Part	Day of experiment														
			7----->			8----->			9----->			10----->			11----->		
			1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
01	control 0	normal	—	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
			Total	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
02	2-NIBE 20	normal	—	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
			Total	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Scratched wound Neck	—	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
			+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			Total	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
03	2-NIBE 100	normal	—	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
			Total	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

1: Before dosing 2: 30 to 60 minutes after dosing 3: 3 to 4 hours after dosing
 2-NIBE: 2-Naphthylisobutyl ether

Table 1.

-continued Clinical observation

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex: Female

-43-

Group No. Dose mg/kg	Finding Part	Day of experiment																		
		7----->			8----->			9----->			10----->			11----->			12----->			
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3				
04 2-NIBE 500	normal	-	6	6	7	7	6	7	6	3	7	4	4	6	6	5	7	7	4	7
		Total	6	6	7	7	6	7	6	3	7	4	4	6	6	5	7	7	4	7
	Soiled fur Anogenital region	-	7	7	7	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
		+	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Total	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Reddish tear	-	8	8	8	8	8	8	8	8	7	8	8	8	8	8	8	8	8	7
		+	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
		Total	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Smudge of perinasal area	-	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
		+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Total	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Salivation	-	8	7	8	8	6	7	8	3	7	8	4	6	8	6	7	8	4	7
		+	0	1	0	0	2	1	0	5	1	0	4	2	0	2	1	0	4	1
		Total	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Loose stool	-	7	8	8	7	8	8	6	8	8	4	8	8	6	7	8	7	8	8
		+	1	0	0	1	0	0	2	0	0	4	0	0	2	1	0	1	0	0
		Total	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Watery diarrhea	-	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
		+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Total	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Mucous feces	-	7	8	8	7	8	8	6	8	8	5	8	8	8	8	8	7	8	8
		+	1	0	0	1	0	0	2	0	0	3	0	0	0	0	0	1	0	0
		Total	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8

1: Before dosing 2: 30 to 60 minutes after dosing 3: 3 to 4 hours after dosing

2-NIBE: 2-Naphthylisobutyl ether

Table 1.

-continued Clinical observation

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex: Female

Group No.	Dose mg/kg	Finding Part	Day of experiment														
			13----->			14----->			15----->			16----->			17----->		
			1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
01	control 0	normal	—	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
			Total	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
02	2-NIBE 20	normal	—	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
			Total	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Scratched wound Neck	—	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
			+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			Total	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
03	2-NIBE 100	normal	—	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
			Total	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

1: Before dosing 2: 30 to 60 minutes after dosing
2-NIBE: 2-Naphthylisobutyl ether

3: 3 to 4 hours after dosing

Table 1.

-continued Clinical observation

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex: Female

Group No. Dose mg/kg	Finding Part	Day of experiment																		
		13----->			14----->			15----->			16----->			17----->						
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3				
04 2-NIBE 500	normal	—	4	5	5	2	5	5	4	4	5	3	4	6	0	5	6	1	5	4
		Total	4	5	5	2	5	5	4	4	5	3	4	6	0	5	6	1	5	4
	Soiled fur Anogenital region	—	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
		+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Total	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Reddish tear	—	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
		+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Total	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Smudge of perinasal area	—	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
		+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Total	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Salivation	—	8	5	5	8	5	5	8	4	5	8	4	6	8	5	6	8	5	4
		+	0	3	3	0	3	3	0	4	3	0	4	2	0	3	2	0	3	4
		Total	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Loose stool	—	4	8	8	4	8	8	4	8	8	4	8	8	1	8	8	1	8	8
		+	4	0	0	4	0	0	4	0	0	4	0	0	7	0	0	7	0	0
		Total	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Watery diarrhea	—	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	7	8	8	7	8	8	8
		+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
		Total	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Mucous feces	—	6	8	8	4	8	8	5	8	8	5	8	8	1	8	8	2	8	8
		+	2	0	0	4	0	0	3	0	0	3	0	0	7	0	0	6	0	0
		Total	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8

1: Before dosing 2: 30 to 60 minutes after dosing 3: 3 to 4 hours after dosing
 2-NIBE: 2-Naphthylisobutyl ether

Table 1.

-continued Clinical observation

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex: Female

Group No.	Dose mg/kg	Finding Part	Day of experiment														
			19----->			20----->			21----->			22----->			23----->		
			1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
01	control 0	normal	—	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
			Total	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
02	2-NIBE 20	normal	—	5	5	5	5	5	5	4	4	4	4	4	4	4	4
			Total	5	5	5	5	5	5	4	4	4	4	4	4	4	4
		Scratched wound Neck	—	5	5	5	5	5	5	4	4	4	4	4	4	4	4
			+	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1
			Total	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
03	2-NIBE 100	normal	—	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
			Total	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

1: Before dosing 2: 30 to 60 minutes after dosing

3: 3 to 4 hours after dosing

2-NIBE: 2-Naphthylisobutyl ether

Table 1.

-continued Clinical observation

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex: Female

Group No. Dose mg/kg	Finding Part	Day of experiment																		
		19----->			20----->			21----->			22----->			23----->			24----->			
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	
04 2-NIBE 500	normal	-	1	5	5	3	5	7	3	3	7	5	4	7	1	4	8	4	5	8
		Total	1	5	5	3	5	7	3	3	7	5	4	7	1	4	8	4	5	8
	Soiled fur Anogenital region	-	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
		+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Total	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Reddish tear	-	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
		+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Total	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Smudge of perinasal area	-	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
		+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Total	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Salivation	--	8	5	5	8	5	7	8	3	7	8	4	7	8	4	8	8	5	8
		+	0	3	3	0	3	1	0	5	1	0	4	1	0	4	0	0	3	0
		Total	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Loose stool	--	1	8	8	3	8	8	3	8	8	5	8	8	1	8	8	4	8	8
		+	7	0	0	5	0	0	5	0	0	3	0	0	7	0	0	4	0	0
		Total	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Watery diarrhea	--	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
		+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Total	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Mucous feces	--	2	8	8	4	8	8	3	8	8	5	8	8	4	8	8	5	8	8
		+	6	0	0	4	0	0	5	0	0	3	0	0	4	0	0	3	0	0
		Total	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8

1: Before dosing 2: 30 to 60 minutes after dosing 3: 3 to 4 hours after dosing

2-NIBE: 2-Naphthylisobutyl ether

Table 1.

-continued Clinical observation

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex: Female

Group No.	Dose mg/kg	Finding Part	Day of experiment												
			25----->			26----->			27----->			28----->			
1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	
01	control 0	normal	—	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
			Total	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
02	2-NIBE 20	normal	—	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	5
			Total	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	5
		Scratched wound Neck	—	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	5
			+	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
			Total	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
03	2-NIBE 100	normal	—	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
			Total	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

1: Before dosing 2: 30 to 60 minutes after dosing

3: 3 to 4 hours after dosing

2-NIBE: 2-Naphthylisobutyl ether

Table 1.

-continued Clinical observation

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex: Female

Group No. Dose mg/kg	Finding Part	Day of experiment													
		25----->			26----->			27----->			28----->				
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3		
04 2-NIBE 500	normal	—	4	5	8	2	4	7	1	6	8	1	4	8	2
		Total	4	5	8	2	4	7	1	6	8	1	4	8	2
	Soiled fur Anogenital region	—	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	
		+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Total	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	
	Reddish tear	—	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	
		+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Total	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	
	Smudge of perinasal area	—	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	
		+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Total	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	
49	Salivation	—	8	5	8	8	4	7	8	6	8	8	4	8	8
		+	0	3	0	0	4	1	0	2	0	0	4	0	0
		Total	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	
	Loose stool	—	4	8	8	2	8	8	1	8	8	1	8	8	2
		+	4	0	0	6	0	0	7	0	0	7	0	0	6
		Total	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	
	Watery diarrhea	—	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	
		+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Total	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	
	Mucous feces	—	5	8	8	3	8	8	1	8	8	4	8	8	3
		+	3	0	0	5	0	0	7	0	0	4	0	0	5
		Total	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	

1: Before dosing 2: 30 to 60 minutes after dosing 3: 3 to 4 hours after dosing
 2-NIBE: 2-Naphthylisobutyl ether

Table 1.

-continued Clinical observation

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex: Female

Group No. Dose mg/kg	Finding Part	Day of experiment													
		29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	
01 control 0	normal	—	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Total	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
04 2-NIBE 500	normal	—	1	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Total	1	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Loose stool	—	1	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		+	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Total	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Mucous feces	—	1	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		+	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Total	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

2-NIBE: 2-Naphthylisobutyl ether

Table 2.

Body weight

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex: Male

Group No. Dose mg/kg	N	Day of experiment									Gain 1-28 Unit:g
		1	4	8	11	15	18	22	25	28	
01 control 0	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	Mean	142	162	191	212	240	265	291	312	330	188
	S.D.	5	6	14	13	17	16	19	21	22	21
02 2-NIBE 20	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Mean	144	163	195	217	249	272	300	319	339	195
	S.D.	6	7	6	7	7	10	9	11	14	9
03 2-NIBE 100	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Mean	145	164	195	217	245	264	289	305	319	174
	S.D.	6	6	7	9	12	16	21	25	27	31
04 2-NIBE 500	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	Mean	143	130##	164**	180**	202**	216**	230**	243**	256**	113**
	S.D.	6	15	14	17	22	24	31	30	34	30

Significantly different from 01 group ## P ≤ 0.01 (Steel)

Significantly different from 01 group ** P ≤ 0.01 (Dunnett)

2-NIBE: 2-Naphthylisobutyl ether

Table 2.

-continued Body weight

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex: Male

Group No. Dose mg/kg		Day of experiment					Unit:g Gain 29-42
		29	32	36	39	42	
01 control 0	N	5	5	5	5	5	5
	Mean	333	346	357	367	375	41
	S.D.	19	20	20	22	19	7
04 2-NIBE 500	N	5	5	5	5	5	5
	Mean	252**	271**	293*	307*	317*	65**
	S.D.	43	44	47	46	43	9

Significantly different from 01 group * $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$ (Dunnett)
 2-NIBE: 2-Naphthylisobutyl ether

Table 2.

-continued Body weight

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex: Female

Group No. Dose mg/kg		Day of experiment								Gain 1-28 Unit:g
		1	4	8	11	15	18	22	25	
01 control 0	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	Mean	116	129	142	153	161	167	178	184	191
	S.D.	4	4	6	6	10	10	11	12	11
02 2-NIBE 20	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Mean	114	126	140	153	162	169	181	187	193
	S.D.	4	6	9	10	12	11	12	15	13
03 2-NIBE 100	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Mean	117	130	149	160	171	178	188	193	201
	S.D.	4	6	8	10	11	13	15	14	15
04 2-NIBE 500	N	10	10	8	8	8	8	8	8	8
	Mean	116	105**	132*	141*	154	164	173	178	188
	S.D.	4	8	7	11	10	10	14	15	19

Significantly different from 01 group * $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$ (Dunnett)
 2-NIBE: 2-Naphthylisobutyl ether

Table 2. -continued Body weight

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex: Female

Group No.	Dose mg/kg	Day of experiment					Unit: g Gain 29-42
		29	32	36	39	42	
01 control 0	N	5	5	5	5	5	5
	Mean	191	199	204	206	209	19
	S.D.	16	16	13	12	15	4
04 2-NIBE 500	N	5	5	5	5	5	5
	Mean	191	199	206	210	215	25
	S.D.	20	22	21	22	22	5

2-NIBE: 2-Naphthylisobutyl ether

Table 3.

Food consumption

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex: Male

Group No. Dose mg/kg		Day of experiment						Unit:g/animal/day
		=> 8	=> 15	=> 22	=> 28	=> 36	=> 42	
01 control 0	N	10	10	10	10	5	5	
	Mean	18	19	20	19	24	23	
	S.D.	1	1	1	1	1	1	
02 2-NIBE 20	N	5	5	5	5			
	Mean	19	21#	21#	20			
	S.D.	1	1	1	1			
03 2-NIBE 100	N	5	5	5	5			
	Mean	18	20	20	19			
	S.D.	1	2	2	2			
04 2-NIBE 500	N	10	10	10	10	5	5	
	Mean	13##	19	17#	16*	29**	25	
	S.D.	3	3	4	3	3	2	

Significantly different from 01 group # P ≤ 0.05 , ## P ≤ 0.01 (Steel)

Significantly different from 01 group * P ≤ 0.05 , ** P ≤ 0.01 (Dunnett)

2-NIBE: 2-Naphthylisobutyl ether

Table 3. -continued Food consumption

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex: Female

Group No.	Dose mg/kg	Day of experiment						Unit:g/animal/day
		=> 8	=> 15	=> 22	=> 28	=> 36	=> 42	
		N	10	10	10	10	5	5
01 control 0	Mean	14	14	14	13	18	18	
	S.D.	1	1	1	1	1	1	
02 2-NIBE 20	N	5	5	5	5			
	Mean	14	15	14	13			
	S.D.	3	1	2	1			
03 2-NIBE 100	N	5	5	5	5			
	Mean	15	15	15	13			
	S.D.	1	1	2	1			
04 2-NIBE 500	N	8	8	8	8	5	5	
	Mean	11##	14	14	14	23##	20	
	S.D.	2	2	2	2	3	4	

Significantly different from 01 group ## $P \leq 0.01$ (Steel)
 2-NIBE: 2-Naphthylisobutyl ether

Table 4. Detailed clinical observations and sensory reactivity to stimuli of different types

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex : Male

Signs	Dose level (mg/kg)	B. G.	Administration period (Week)				Recovery period (Week)		
			1	2	3	4	1	2	
No. of animals	0	10	10	10	10	10	5	5	
	20	5	5	5	5	5	-	-	
	100	5	5	5	5	5	-	-	
	500	10	10	10	10	10	5	5	
REMOVAL FROM CAGE									
Ease of removal	Very easy	0	8	8	10	8	8	5	5
		20	4	4	5	5	3	-	-
		100	5	3	5	4	4	-	-
		500	5	6	9	10	9	5	5
	Easy	0	2	2	0	2	2	0	0
		20	1	1	0	0	2	-	-
		100	0	2	0	1	1	-	-
		500	5	4	1	0	1	0	0
Vocalization	None	0	10	10	10	10	10	5	5
		20	5	5	5	5	5	-	-
		100	5	5	5	5	5	-	-
		500	10	10	10	10	10	5	5

B. G. : Before grouping

Table 4. -continued Detailed clinical observations and sensory reactivity to stimuli of different types

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex : Male

Signs		Dose level (mg/kg)	Administration period (Week)				Recovery period (Week)		
			B. G.	1	2	3	4	1	2
HANDLING OBSERVATIONS									
Muscle tone	Normal	0		10	10	10	10	10	5
		20		5	5	5	5	5	-
		100		5	5	5	5	5	-
		500		10	10	10	10	10	5
Subnormal temperature	Absent	0		10	10	10	10	10	5
		20		5	5	5	5	5	-
		100		5	5	5	5	5	-
		500		10	10	10	10	10	5
Piloerection	Absent	0		10	10	10	10	10	5
		20		5	5	5	5	5	-
		100		5	5	5	5	5	-
		500		10	10	10	10	10	5
-58-	Staining hair	Absent	0		10	10	10	10	10
		20		5	5	5	5	5	-
		100		5	5	5	5	5	-
		500		10	10	10	10	10	5
	Unkempt hair	Absent	0		10	10	10	10	10
		20		5	5	5	5	5	-
		100		5	5	5	5	5	-
		500		10	10	10	10	10	5
Skin color	Normal	0		10	10	10	10	10	5
		20		5	5	5	5	5	-
		100		5	5	5	5	5	-
		500		10	10	10	10	10	5
Lacrimation	Absent	0		10	10	10	10	10	5
		20		5	5	5	5	5	-
		100		5	5	5	5	5	-
		500		10	10	10	10	10	5

B. G. : Before grouping

Table 4. -continued Detailed clinical observations and sensory reactivity to stimuli of different types

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex : Male

Signs		Dose level (mg/kg)	B. G.	Administration period (Week)				Recovery period (Week)	
				1	2	3	4	1	2
Exophthalmos	Absent	0	10	10	10	10	10	5	5
		20	5	5	5	5	5	-	-
		100	5	5	5	5	5	-	-
		500	10	10	10	10	10	5	5
Pupillary size	Normal	0	10	10	10	10	10	5	5
		20	5	5	5	5	5	-	-
		100	5	5	5	5	5	-	-
		500	10	10	10	10	10	5	5
Salivation	Absent	0	10	10	10	10	10	5	5
		20	5	5	4	5	5	-	-
		100	5	5	5	5	5	-	-
		500	10	10	8	3	2	5	5
	Slight	0	0	0	0	0	0	0	0
		20	0	0	1	0	0	-	-
		100	0	0	0	0	0	-	-
		500	0	0	2	7	6	0	0
	Marked	0	0	0	0	0	0	0	0
		20	0	0	0	0	0	-	-
		100	0	0	0	0	0	-	-
		500	0	0	0	0	2	0	0

B. G. : Before grouping

Table 4. -continued Detailed clinical observations and sensory reactivity to stimuli of different types

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex : Male

Signs		Dose level (mg/kg)	B. G.	Administration period (Week)				Recovery period (Week)		
				1	2	3	4	1	2	
OBSERVATIONS IN ARENA										
Posture	Normal	0		10	10	10	10	10	5	5
		20		5	5	5	5	5	-	-
		100		5	5	5	5	5	-	-
		500		10	10	10	10	10	5	5
Motor activity	Normal	0		10	10	10	10	10	5	5
		20		5	5	5	5	5	-	-
		100		5	5	5	5	5	-	-
		500		10	10	10	10	10	5	5
Respiration	Normal	0		10	10	10	10	10	5	5
		20		5	5	5	5	5	-	-
		100		5	5	5	5	5	-	-
		500		10	10	10	10	10	5	5
Lid closure	Wide open	0		10	10	10	10	10	5	5
		20		5	5	5	5	5	-	-
		100		5	5	5	5	5	-	-
		500		10	10	10	10	10	5	5
Gait	Normal	0		10	10	10	10	10	5	5
		20		5	5	5	5	5	-	-
		100		5	4	5	5	5	-	-
		500		10	10	10	10	10	5	5
	Indifference immobile	0		0	0	0	0	0	0	0
		20		0	0	0	0	0	-	-
		100		0	1	0	0	0	-	-
		500		0	0	0	0	0	0	0
Tremor	None	0		10	10	10	10	10	5	5
		20		5	5	5	5	5	-	-
		100		5	5	5	5	5	-	-
		500		10	10	10	10	10	5	5

B. G. : Before grouping

Table 4. -continued Detailed clinical observations and sensory reactivity to stimuli of different types

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex : Male

Signs		Dose level (mg/kg)	Administration period (Week)					Recovery period (Week)	
			B. G.	1	2	3	4	1	2
Twitch	None	0		10	10	10	10	5	5
		20		5	5	5	5	-	-
		100		5	5	5	5	-	-
		500		10	10	10	10	5	5
Convulsion	None	0		10	10	10	10	5	5
		20		5	5	5	5	-	-
		100		5	5	5	5	-	-
		500		10	10	10	10	5	5
Stereotypic behavior	None	0		10	10	10	10	5	5
		20		5	5	5	5	-	-
		100		5	5	5	5	-	-
		500		10	10	10	10	5	5
Abnormal behavior	None	0		10	10	10	10	5	5
		20		5	5	5	5	-	-
		100		5	5	5	5	-	-
		500		10	10	10	10	5	5

B. G. : Before grouping

Table 4. -continued Detailed clinical observations and sensory reactivity to stimuli of different types

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex : Male

Signs		Dose level (mg/kg)	Administration period (Week)				Recovery period (Week)		
			B. G.	1	2	3	4	1	2
SENSORIMOTOR FUNCTION									
Approach contact	No reaction	0					0	0	0
		20					0	-	-
		100					0	-	-
		500					1	0	0
	Normal a)	0					10	5	5
		20					5	-	-
		100					5	-	-
		500					9	5	5
Touch response	No reaction	0					0	0	0
		20					0	-	-
		100					0	-	-
		500					1	0	0
	Moderate reaction	0					10	5	5
		20					5	-	-
		100					5	-	-
		500					8	5	5
	Freezing	0					0	0	0
		20					0	-	-
		100					0	-	-
		500					1	0	0
Pinna response	Normal	0					10	5	5
		20					5	-	-
		100					5	-	-
		500					10	5	5

B. G. : Before grouping

a) Rat slowly approaches and sniffs at object or turns away

Table 4. -continued Detailed clinical observations and sensory reactivity to stimuli of different types

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex : Male

Signs		Dose level (mg/kg)	B. G.	Administration period (Week)				Recovery period (Week)	
				1	2	3	4	1	2
Pain response(Tail pinch)	Slowly turns	0					1		0
		20					0		-
		100					0		-
		500					0		0
	Normal	0					9		5
		20					5		-
		100					5		-
		500					10		5
Pupillary reflex	Normal	0					10		5
		20					5		-
		100					5		-
		500					10		5
	Air righting reflex	0					10		5
		20					5		-
		100					5		-
		500					10		5

B. G. : Before grouping

Table 4. -continued Detailed clinical observations and sensory reactivity to stimuli of different types

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex : Female

Signs	Dose level (mg/kg)	B. G.	Administration period (Week)				Recovery period (Week)		
			1	2	3	4	1	2	
No. of animals	0	10	10	10	10	10	5	5	
	20	5	5	5	5	5	-	-	
	100	5	5	5	5	5	-	-	
	500	10	9	8	8	8	5	5	
REMOVAL FROM CAGE									
Ease of removal	Very easy	0	8	10	7	10	10	5	5
		20	3	5	3	5	5	-	-
		100	4	5	4	5	5	-	-
		500	9	7	6	7	8	5	5
	Easy	0	2	0	3	0	0	0	0
		20	2	0	2	0	0	-	-
		100	1	0	1	0	0	-	-
		500	1	1	2	1	0	0	0
	Moderately difficult	0	0	0	0	0	0	0	0
		20	0	0	0	0	0	-	-
		100	0	0	0	0	0	-	-
		500	0	1	0	0	0	0	0
Vocalization	None	0	10	10	10	10	10	5	5
		20	5	5	5	5	5	-	-
		100	5	5	5	5	5	-	-
		500	10	9	8	8	8	5	5

B. G. : Before grouping

Table 4. -continued Detailed clinical observations and sensory reactivity to stimuli of different types

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex : Female

Signs		Dose level (mg/kg)	B. G.	Administration period (Week)				Recovery period (Week)		
				1	2	3	4	1	2	
HANDLING OBSERVATIONS										
Muscle tone	Normal	0		10	10	10	10	10	5	5
		20		5	5	5	5	5	-	-
		100		5	5	5	5	5	-	-
		500		10	9	8	8	8	5	5
Subnormal temperature	Absent	0		10	10	10	10	10	5	5
		20		5	5	5	5	5	-	-
		100		5	5	5	5	5	-	-
		500		10	9	8	8	8	5	5
Piloerection	Absent	0		10	10	10	10	10	5	5
		20		5	5	5	5	5	-	-
		100		5	5	5	5	5	-	-
		500		10	9	8	8	8	5	5
- 55 -	Staining hair	Absent	0	10	10	10	10	10	5	5
			20	5	5	5	5	5	-	-
			100	5	5	5	5	5	-	-
			500	10	7	8	8	8	5	5
	Very soiled	0		0	0	0	0	0	0	0
		20		0	0	0	0	0	-	-
		100		0	0	0	0	0	-	-
		500		0	2	0	0	0	0	0
Unkempt hair	Absent	0		10	10	10	10	10	5	5
		20		5	5	5	5	5	-	-
		100		5	5	5	5	5	-	-
		500		10	9	8	8	8	5	5
Skin color	Normal	0		10	10	10	10	10	5	5
		20		5	5	5	5	5	-	-
		100		5	5	5	5	5	-	-
		500		10	9	8	8	8	5	5

B. G. : Before grouping

Table 4. -continued Detailed clinical observations and sensory reactivity to stimuli of different types

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex : Female

Signs		Dose level (mg/kg)	B. G.	Administration period (Week)				Recovery period (Week)	
				1	2	3	4	1	2
Lacrimation	Absent	0	10	10	10	10	10	5	5
		20	5	5	5	5	5	-	-
		100	5	5	5	5	5	-	-
		500	10	9	8	8	8	5	5
Exophthalmos	Absent	0	10	10	10	10	10	5	5
		20	5	5	5	5	5	-	-
		100	5	5	5	5	5	-	-
		500	10	9	8	8	8	5	5
Pupillary size	Normal	0	10	10	10	10	10	5	5
		20	5	5	5	5	5	-	-
		100	5	5	5	5	5	-	-
		500	10	9	8	8	8	5	5
Salivation	Absent	0	10	10	10	10	10	5	5
		20	5	5	5	5	5	-	-
		100	5	5	5	5	5	-	-
		500	10	8	5	5	6	5	5
	Slight	0	0	0	0	0	0	0	0
		20	0	0	0	0	0	-	-
		100	0	0	0	0	0	-	-
		500	0	1	3	3	2	0	0

B. G. : Before grouping

Table 4. -continued Detailed clinical observations and sensory reactivity to stimuli of different types

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex : Female

Signs		Dose level (mg/kg)	Administration period (Week)					Recovery period (Week)	
			B. G.	1	2	3	4	1	2
OBSERVATIONS IN ARENA									
Posture	Normal	0		10	10	10	10	10	5
		20		5	5	5	5	5	-
		100		5	5	5	5	5	-
		500		10	9	8	8	8	5
Motor activity	Normal	0		10	10	10	10	10	5
		20		5	5	5	5	5	-
		100		5	5	5	5	5	-
		500		10	8	8	8	8	5
	Low	0		0	0	0	0	0	0
		20		0	0	0	0	0	-
		100		0	0	0	0	0	-
		500		0	1	0	0	0	0
Respiration	Normal	0		10	10	10	10	10	5
		20		5	5	5	5	5	-
		100		5	5	5	5	5	-
		500		10	9	8	8	8	5
Lid closure	Wide open	0		10	10	10	10	10	5
		20		5	5	5	5	5	-
		100		5	5	5	5	5	-
		500		10	9	8	8	8	5
Gait	Normal	0		10	10	10	10	10	5
		20		5	5	5	5	5	-
		100		5	5	5	5	5	-
		500		10	9	8	8	8	5
Tremor	None	0		10	10	10	10	10	5
		20		5	5	5	5	5	-
		100		5	5	5	5	5	-
		500		10	9	8	8	8	5

B. G. : Before grouping

Table 4. -continued Detailed clinical observations and sensory reactivity to stimuli of different types

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex : Female

Signs		Dose level (mg/kg)	B. G.	Administration period (Week)				Recovery period (Week)	
				1	2	3	4	1	2
Twitch	None	0	10	10	10	10	10	5	5
		20	5	5	5	5	5	-	-
		100	5	5	5	5	5	-	-
		500	10	9	8	8	8	5	5
Convulsion	None	0	10	10	10	10	10	5	5
		20	5	5	5	5	5	-	-
		100	5	5	5	5	5	-	-
		500	10	9	8	8	8	5	5
Stereotypic behavior	None	0	10	10	10	10	10	5	5
		20	5	5	5	5	5	-	-
		100	5	5	5	5	5	-	-
		500	10	9	8	8	8	5	5
Abnormal behavior	None	0	10	10	10	10	10	5	5
		20	5	5	5	5	5	-	-
		100	5	5	5	5	5	-	-
		500	10	9	8	8	8	5	5
Other	Loose stool	0	0	0	0	0	0	0	0
		20	0	0	0	0	0	-	-
		100	0	0	0	0	0	-	-
		500	0	1	0	0	0	0	0

B. G. : Before grouping

Table 4. -continued Detailed clinical observations and sensory reactivity to stimuli of different types

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex : Female

Signs	Dose level (mg/kg)	B. G.	Administration period (Week)				Recovery period (Week)		
			1	2	3	4	1	2	
SENSORIMOTOR FUNCTION									
Approach contact	Normal a)		0				10		5
			20				5		-
			100				5		-
			500				8		5
Touch response	Moderate reaction		0				10		5
			20				5		-
			100				5		-
			500				8		5
Pinna response	Normal		0				10		5
			20				5		-
			100				5		-
			500				8		5
69	Pain response(Tail pinch)	Slowly turns	0				0		0
			20				0		-
			100				0		-
			500				0		1
		Walk away from stimulus	0				0		2
			20				0		-
			100				0		-
			500				0		0
		Normal	0				10		3
			20				5		-
			100				5		-
			500				8		4
Pupillary reflex	Normal		0				10		5
			20				5		-
			100				5		-
			500				8		5

B. G. : Before grouping

a) Rat slowly approaches and sniffs at object or turns away

Table 4. -continued Detailed clinical observations and sensory reactivity to stimuli of different types

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex : Female

Signs	Dose level (mg/kg)	B. G.	Administration period (Week)				Recovery period (Week)	
			1	2	3	4	1	2
Air righting reflex	Normal	0				10		5
		20				5		-
		100				5		-
		500				8		5

B. G. : Before grouping

Table 5. Summary of number of defecation

Exp. No. 9933(115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	B. G.	Administration period (week)				Recovery period (week)	
				1	2	3	4	1	2
	0	10	0.3 ± 0.7 a)	0.4 ± 0.8	0.1 ± 0.3	0.2 ± 0.6	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	(5) 0.0 ± 0.0
Male	20	5	0.6 ± 0.9	0.6 ± 0.5	0.0 ± 0.0	0.4 ± 0.9	0.2 ± 0.4		
	100	5	0.6 ± 0.9	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.2 ± 0.4	0.0 ± 0.0		
	500	10	1.0 ± 1.1	0.9 ± 1.5	0.4 ± 1.3	0.5 ± 1.6	0.0 ± 0.0	1.4 ± 1.9 (5)	0.0 ± 0.0 (5)
Female	0	10	0.1 ± 0.3	0.1 ± 0.3	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	(5) 0.6 ± 0.9 (5)
	20	5	1.0 ± 1.4	0.2 ± 0.4	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0		
	100	5	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.2 ± 0.4		
	500	10	0.3 ± 0.7	0.6 ± 0.9 (9)	0.5 ± 1.1 (8)	0.0 ± 0.0 (8)	0.0 ± 0.0 (8)	0.6 ± 1.3 (5)	0.0 ± 0.0 (5)

B. G. : Before grouping

a) Mean ± S.D.

Values in parentheses are expressed no. of animals examined

Table 6. Summary of number of pools of urine

Exp. No. 9933(115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	B. G. a)	Administration period (week)				Recovery period (week)		
				1	2	3	4	1	2	
	0	10	0.3 ± 0.5	0.6 ± 0.8	0.2 ± 0.6	0.1 ± 0.3	0.4 ± 0.7	0.0 ± 0.0	(5)	0.0 ± 0.0
Male	20	5	0.4 ± 0.5	0.0 ± 0.0	0.4 ± 0.9	0.2 ± 0.4	0.2 ± 0.4			
	100	5	0.2 ± 0.4	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.6 ± 0.5			
	500	10	0.2 ± 0.4	0.4 ± 0.8	0.2 ± 0.4	0.2 ± 0.4	0.2 ± 0.4	0.0 ± 0.0	(5)	0.0 ± 0.0
Female	0	10	0.5 ± 0.8	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.2 ± 0.4	0.2 ± 0.4	(5)	0.2 ± 0.4
	20	5	0.2 ± 0.4	0.2 ± 0.4	0.2 ± 0.4	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0			
	100	5	0.8 ± 0.8	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0			
	500	10	0.2 ± 0.6	0.4 ± 0.5	(9)	0.4 ± 0.5	(8)	0.1 ± 0.4	(8)	0.1 ± 0.4
								0.0 ± 0.0	(5)	0.0 ± 0.0

B. G. : Before grouping

a) Mean ± S.D.

Values in parentheses are expressed no. of animals examined

Table 7. Summary of grip strength

Exp. No. 9933(115-212)

4 week of administration				Unit : g
Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Forelimb	Hindlimb
Male	0	10	944 ± 197 a)	389 ± 81
	20	5	968 ± 220	450 ± 34
	100	5	877 ± 277	527 ± 180
	500	10	813 ± 185	417 ± 91
	0	10	802 ± 69	465 ± 61
	20	5	868 ± 145	549 ± 83
Female	100	5	743 ± 95	492 ± 91
	500	8	692 ± 168	473 ± 78

a) Mean ± S.D.

Table 7. -continued Summary of grip strength

Exp. No. 9933(115-212)

2 week of recovery		No. of animals			Unit : g
Sex	Dose level (mg/kg)		Forelimb	Hindlimb	
Male	0	5	1125 ± 118 a)	652 ± 96	
	500	5	1210 ± 373	672 ± 113	
Female	0	5	768 ± 209	422 ± 141	
	500	5	655 ± 119	417 ± 106	

a) Mean ± S.D.

Table 8. Summary of motor activity

Exp. No. 9933 (115-212)

4 week of administration

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Motor activity (counts)						Total (0-60)
			0-10 a)	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60	
Male	0	10	176 ± 54 b)	147 ± 33	138 ± 42	105 ± 36	105 ± 42	91 ± 41	760 ± 202
	20	5	173 ± 45	134 ± 20	127 ± 35	117 ± 21	94 ± 37	66 ± 41	710 ± 111
	100	5	164 ± 43	99 ± 57	111 ± 44	87 ± 48	66 ± 39	42 ± 50	571 ± 203
	500	10	155 ± 50	99 ± 52	66 ± 43**	41 ± 28**	17 ± 24**	20 ± 18**	397 ± 165**
Female	0	10	128 ± 28	93 ± 41	85 ± 37	69 ± 31	71 ± 28	75 ± 27	520 ± 141
	20	5	126 ± 25	90 ± 29	80 ± 40	80 ± 30	80 ± 47	58 ± 19	513 ± 124
	100	5	132 ± 14	84 ± 27	93 ± 30	92 ± 12	82 ± 40	86 ± 21	570 ± 83
	500	8	140 ± 31	90 ± 33	75 ± 27	67 ± 38	48 ± 33	58 ± 45	478 ± 163

a) interval time (minutes)

b) Mean ± S.D.

Significantly different from control group **: p ≤ 0.01 (Dunnett)

Table 8. -continued Summary of motor activity

Exp. No. 9933 (115-212)

2 week of recovery

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Motor activity (counts)						Total (0-60)
			0-10 a)	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60	
Male	0	5	170 ± 59 b)	128 ± 46	96 ± 47	84 ± 34	77 ± 30	41 ± 34	595 ± 176
	500	5	194 ± 32	137 ± 43	112 ± 36	101 ± 37	90 ± 33	55 ± 31	689 ± 141
Female	0	5	118 ± 22	79 ± 21	66 ± 33	101 ± 22	84 ± 24	72 ± 23	520 ± 119
	500	5	127 ± 44	105 ± 44	82 ± 28	79 ± 25	73 ± 24	64 ± 25	529 ± 160

a) interval time (minutes)

b) Mean ± S.D.

Table 9-1. Hematology
---Administration period---

Exp. No. 9933 (115-212)

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	41.8 ± 1.5	15.2 ± 0.4	7.53 ± 0.22	55.6 ± 2.2	20.2 ± 0.5	36.3 ± 0.6
	20	5	41.8 ± 0.5	15.2 ± 0.2	7.47 ± 0.18	56.0 ± 1.2	20.3 ± 0.4	36.3 ± 0.4
	100	5	42.0 ± 0.5	15.3 ± 0.3	7.63 ± 0.23	55.0 ± 1.2	20.1 ± 0.4	36.5 ± 0.3
	500	5	41.8 ± 3.2	14.9 ± 1.3	7.39 ± 0.55	56.7 ± 3.3	20.2 ± 1.1	35.7 ± 0.5
Female	0	5	40.5 ± 1.5	15.1 ± 0.5	7.77 ± 0.37	52.2 ± 1.7	19.5 ± 0.6	37.4 ± 0.3
	20	5	39.5 ± 1.3	14.8 ± 0.4	7.48 ± 0.23	52.8 ± 0.9	19.7 ± 0.4	37.3 ± 0.5
	100	5	40.1 ± 1.1	15.0 ± 0.3	7.39 ± 0.27	54.2 ± 1.1	20.3 ± 0.5	37.5 ± 0.3
	500	3	36.0 ± 0.9**	13.1 ± 0.4**	6.81 ± 0.27**	52.8 ± 1.3	19.2 ± 0.4	36.4 ± 0.4**

Mean ± S.D.

Significantly different from control group; **: P ≤ 0.01 (Dunnett)

Table 9-1. -continued Hematology
---Administration period---

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	WBC ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	Differential leukocyte counts (%)					EOSN	BASO	LUC
				NEUT	LYMPH	MONO					
Male	0	5	12.23 ± 2.20	14.9 ± 5.2	81.8 ± 5.6	2.0 ± 0.4	0.7 ± 0.2	0.2 ± 0.1	0.5 ± 0.1		
	20	5	12.55 ± 2.07	15.3 ± 6.2	81.4 ± 6.4	2.1 ± 0.4	0.4 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.7 ± 0.3		
	100	5	12.22 ± 2.88	13.4 ± 1.7	83.6 ± 2.4	1.8 ± 0.7	0.6 ± 0.2	0.2 ± 0.1	0.5 ± 0.1		
	500	5	13.66 ± 1.33	20.3 ± 7.5	75.5 ± 8.0	3.1 ± 0.4**	0.5 ± 0.2	0.1 ± 0.0	0.5 ± 0.1		
Female	0	5	7.13 ± 2.09	17.0 ± 3.8	78.7 ± 3.2	2.3 ± 0.5	1.4 ± 0.6	0.1 ± 0.0	0.5 ± 0.2		
	20	5	6.32 ± 2.01	15.3 ± 6.8	81.6 ± 6.3	1.6 ± 0.7	0.9 ± 0.4	0.1 ± 0.0	0.5 ± 0.1		
	100	5	7.39 ± 3.66	13.3 ± 3.1	83.7 ± 2.7	1.4 ± 0.3	0.9 ± 0.5	0.1 ± 0.1	0.6 ± 0.2		
	500	3	9.01 ± 1.43	17.3 ± 4.8	79.3 ± 5.6	2.0 ± 0.7	0.9 ± 0.2	0.1 ± 0.1	0.5 ± 0.0		

NEUT: Neutrophil LYMPH: Lymphocyte MONO: Monocyte EOSN: Eosinophil BASO: Basophil LUC: Large unstained cells
Mean ± S.D.

Significantly different from control group; **: P ≤ 0.01 (Dunnett)

Table 9-1. -continued Hematology
---Administration period---

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	NEUT ($\times 10^3/\text{mm}^3$)		LYMPH ($\times 10^3/\text{mm}^3$)		MONO ($\times 10^3/\text{mm}^3$)		EOSN ($\times 10^3/\text{mm}^3$)		BASO ($\times 10^3/\text{mm}^3$)		LUC ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	
Male	0	5	1.86 ±	0.89	9.96 ±	1.57	0.25 ±	0.08	0.08 ±	0.03	0.02 ±	0.01	0.06 ±	0.02
	20	5	1.90 ±	0.71	10.25 ±	2.11	0.26 ±	0.02	0.05 ±	0.02	0.02 ±	0.00	0.08 ±	0.02
	100	5	1.63 ±	0.37	10.23 ±	2.56	0.21 ±	0.06	0.07 ±	0.04	0.02 ±	0.00	0.06 ±	0.02
	500	5	2.75 ±	1.01	10.32 ±	1.70	0.42 ±	0.06**	0.08 ±	0.03	0.02 ±	0.01	0.07 ±	0.02
Female	0	5	1.19 ±	0.37	5.64 ±	1.75	0.17 ±	0.07	0.09 ±	0.03	0.00 ±	0.01	0.03 ±	0.02
	20	5	0.87 ±	0.25	5.25 ±	1.94	0.11 ±	0.07	0.06 ±	0.04	0.00 ±	0.01	0.03 ±	0.01
	100	5	0.97 ±	0.46	6.21 ±	3.16	0.10 ±	0.04	0.06 ±	0.02	0.01 ±	0.01	0.05 ±	0.04
	500	3	1.57 ±	0.53	7.12 ±	1.13	0.18 ±	0.08	0.08 ±	0.03	0.01 ±	0.01	0.05 ±	0.01

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

Mean ± S.D.

Significantly different from control group; **: P ≤ 0.01 (Dunnett)

Table 9-1. -continued Hematology
---Administration period---

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	PLT ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	Reticulocyte (%)
Male	0	5	1252 ± 166	3.1 ± 0.4
	20	5	1194 ± 74	3.3 ± 0.2
	100	5	1337 ± 156	2.9 ± 0.7
	500	5	1235 ± 133	6.5 ± 2.3
Female	0	5	1248 ± 63	1.9 ± 0.3
	20	5	1156 ± 123	2.1 ± 0.3
	100	5	1305 ± 95	2.4 ± 0.4
	500	3	1289 ± 199	4.9 ± 2.8

Mean ± S.D.

Table 9-2. Hematology
---Recovery period---

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	HCT (%)	HGB (g/dL)	RBC ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	MCV (μm^3)	MCH (pg)	MCHC (%)
Male	0	5	42.8 ± 1.8	16.3 ± 0.6	8.20 ± 0.32	52.2 ± 1.8	19.9 ± 0.5	38.1 ± 0.3
	500	5	42.9 ± 1.0	16.2 ± 0.4	7.67 ± 0.33*	56.0 ± 2.6*	21.1 ± 0.9*	37.6 ± 0.2*
Female	0	5	40.0 ± 1.3	15.7 ± 0.5	7.73 ± 0.13	51.7 ± 1.0	20.2 ± 0.4	39.1 ± 0.4
	500	5	41.9 ± 1.7	16.1 ± 0.6	7.82 ± 0.25	53.6 ± 2.0	20.6 ± 0.9	38.4 ± 0.7

Mean ± S.D.

Significantly different from control group; *: P ≤ 0.05 (Dunnett)

Table 9-2. -continued Hematology
---Recovery period---

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	WBC ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	Differential leukocyte counts (%)					EOSN	BASO	LUC
				NEUT	LYMPH	MONO					
Male	0	5	11.37 ± 2.07	13.6 ± 4.0	82.4 ± 4.9	2.3 ± 0.8	0.9 ± 0.3	0.1 ± 0.0	0.7 ± 0.6		
	500	5	9.82 ± 2.46	13.4 ± 2.8	82.1 ± 3.4	2.7 ± 0.9	1.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.5 ± 0.2		
Female	0	5	6.27 ± 1.05	14.2 ± 4.6	81.6 ± 4.4	2.4 ± 0.8	1.2 ± 0.2	0.1 ± 0.1	0.5 ± 0.3		
	500	5	7.94 ± 2.32	14.1 ± 5.2	81.2 ± 5.6	2.3 ± 0.7	1.5 ± 0.6	0.2 ± 0.1	0.7 ± 0.1		

NEUT: Neutrophil LYMPH: Lymphocyte MONO: Monocyte EOSN: Eosinophil BASO: Basophil LUC: Large unstained cells
Mean ± S.D.

Table 9-2. -continued Hematology
---Recovery period---

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	NEUT ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	LYMPH ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	MONO ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	EOSN ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	BASO ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	LUC ($\times 10^3/\text{mm}^3$)
Male	0	5	1.60 ± 0.66	9.29 ± 1.23	0.27 ± 0.13	0.10 ± 0.05	0.01 ± 0.01	0.09 ± 0.09
	500	5	1.33 ± 0.50	8.05 ± 1.90	0.27 ± 0.12	0.10 ± 0.03	0.02 ± 0.01	0.06 ± 0.04
Female	0	5	0.87 ± 0.20	5.13 ± 1.03	0.15 ± 0.06	0.08 ± 0.02	0.00 ± 0.00	0.03 ± 0.02
	500	5	1.07 ± 0.42	6.50 ± 2.23	0.18 ± 0.05	0.12 ± 0.07	0.01 ± 0.01*	0.05 ± 0.00

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

Mean ± S.D.

Significantly different from control group; *: P ≤ 0.05 (Dunnett)

Table 9-2. -continued Hematology
---Recovery period---

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	PLT ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	Reticulocyte (%)
Male	0	5	1117 \pm 125	2.1 \pm 0.4
	500	5	1065 \pm 134	2.4 \pm 0.5
Female	0	5	1229 \pm 48	1.9 \pm 0.4
	500	5	1208 \pm 83	1.4 \pm 0.5

Mean \pm S.D.

Table 10-1. Coagulation
---Administration period---

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	PT (sec.)	APTT (sec.)
Male	0	5	17.7 ± 0.9	26.0 ± 2.0
	20	5	18.0 ± 1.5	25.1 ± 0.8
	100	5	17.9 ± 1.6	26.4 ± 2.9
	500	5	17.3 ± 1.1	25.2 ± 5.3
Female	0	5	16.0 ± 0.3	17.4 ± 1.5
	20	5	16.2 ± 0.6	16.9 ± 1.2
	100	5	16.0 ± 0.6	18.2 ± 2.5
	500	3	16.2 ± 0.5	15.9 ± 1.8

Mean ± S.D.

Table 10-2. Coagulation
---Recovery period---

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	PT (sec.)	APTT (sec.)
Male	0	5	18.9 ± 2.2	25.4 ± 1.3
	500	5	17.2 ± 0.9	23.6 ± 1.6
Female	0	5	17.4 ± 0.6	18.0 ± 2.0
	500	5	17.0 ± 0.6	19.4 ± 1.1

Mean ± S.D.

Table 11-1. Blood chemistry
---Administration period---

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	T.protein (g/dL)	Glucose (mg/dL)	Triglyceride (mg/dL)	T.cholesterol (mg/dL)
Male	0	5	5.65 ± 0.21	154 ± 16	55.8 ± 27.6	61 ± 5
	20	5	5.52 ± 0.19	152 ± 5	64.7 ± 13.1	61 ± 10
	100	5	5.52 ± 0.13	145 ± 10	33.1 ± 16.0	58 ± 8
	500	5	5.75 ± 0.15	135 ± 11*	45.2 ± 22.1	56 ± 12
Female	0	5	5.78 ± 0.22	117 ± 26	13.4 ± 7.2	62 ± 13
	20	5	5.54 ± 0.07	113 ± 14	14.3 ± 6.4	52 ± 7
	100	5	5.64 ± 0.09	108 ± 12	19.8 ± 11.4	69 ± 7
	500	3	5.33 ± 0.30**	97 ± 10	38.1 ± 11.1**	62 ± 14

Mean ± S.D.

Significantly different from control group; *: P ≤ 0.05 **: P ≤ 0.01 (Dunnett)

Table 11-1. -continued Blood chemistry
---Administration period---

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	BUN (mg/dL)	Creatinine (mg/dL)	T.bilirubin (mg/dL)	Total bile acid (μ mol/L)
Male	0	5	9.0 ± 1.0	0.21 ± 0.02	0.02 ± 0.01	19.2 ± 14.4
	20	5	8.4 ± 0.9	0.20 ± 0.02	0.03 ± 0.01	18.9 ± 15.4
	100	5	9.5 ± 1.5	0.20 ± 0.04	0.03 ± 0.00	24.9 ± 10.5
	500	5	10.5 ± 1.5	0.24 ± 0.02	0.06 ± 0.04	46.1 ± 45.6
Female	0	5	11.6 ± 1.7	0.23 ± 0.03	0.03 ± 0.01	12.3 ± 5.8
	20	5	12.5 ± 1.8	0.25 ± 0.05	0.03 ± 0.01	25.1 ± 12.5
	100	5	12.2 ± 3.0	0.25 ± 0.11	0.02 ± 0.01	16.1 ± 9.9
	500	3	11.2 ± 3.0	0.19 ± 0.04	0.06 ± 0.03	16.7 ± 4.1

Mean ± S.D.

Table 11-1. -continued Blood chemistry
---Administration period---

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	AST (U/L)	ALT (U/L)	ALP (U/L)	Gamma-GTP (U/L)
Male	0	5	78 ± 5	25 ± 2	762 ± 156	0.6 ± 0.1
	20	5	81 ± 9	30 ± 4#	828 ± 183	0.7 ± 0.1
	100	5	74 ± 5	34 ± 8	908 ± 295	0.6 ± 0.2
	500	5	73 ± 4	45 ± 12#	724 ± 156	1.3 ± 0.4
Female	0	5	84 ± 11	23 ± 2	505 ± 70	0.8 ± 0.1
	20	5	86 ± 13	22 ± 3	468 ± 105	0.9 ± 0.1
	100	5	76 ± 6	23 ± 5	455 ± 157	0.9 ± 0.1
	500	3	88 ± 5	40 ± 24	804 ± 265*	2.0 ± 0.7

Mean ± S.D.

Significantly different from control group; *: P ≤ 0.05 (Dunnett)
Significantly different from control group; #: P ≤ 0.05 (Steel)

Table 11-1. -continued Blood chemistry
---Administration period---

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Calcium (mg/dL)	I. phosphorus (mg/dL)	Sodium (mmol/L)	Potassium (mmol/L)	Chloride (mmol/L)
Male	0	5	9.79 ± 0.16	8.61 ± 1.06	141.4 ± 1.3	4.64 ± 0.29	106.6 ± 1.7
	20	5	9.70 ± 0.26	8.81 ± 0.67	142.3 ± 0.7	4.67 ± 0.29	106.9 ± 1.7
	100	5	9.83 ± 0.29	8.58 ± 0.62	141.9 ± 1.1	4.60 ± 0.23	106.4 ± 0.6
	500	5	10.04 ± 0.37	9.69 ± 0.94	140.2 ± 0.9	5.06 ± 0.25	106.8 ± 2.1
Female	0	5	9.80 ± 0.43	8.06 ± 1.28	141.3 ± 0.9	4.59 ± 0.25	108.9 ± 1.4
	20	5	9.51 ± 0.25	7.98 ± 0.69	142.3 ± 1.1	4.28 ± 0.11	110.4 ± 0.9
	100	5	9.53 ± 0.24	7.27 ± 0.38	142.1 ± 1.7	4.26 ± 0.17*	108.6 ± 1.3
	500	3	9.61 ± 0.33	8.41 ± 0.73	141.1 ± 2.3	4.82 ± 0.23	107.4 ± 1.4

Mean ± S.D.

Significantly different from control group; *: P ≤ 0.05 (Dunnett)

Table 11-2. Blood chemistry
---Recovery period---

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	T.protein (g/dL)	Glucose (mg/dL)	Triglyceride (mg/dL)	T.cholesterol (mg/dL)
Male	0	5	5.98 ± 0.22	161 ± 8	55.5 ± 12.0	72 ± 16
	500	5	5.65 ± 0.22*	142 ± 10*	48.8 ± 10.6	60 ± 12
Female	0	5	5.82 ± 0.18	116 ± 20	11.2 ± 4.4	69 ± 10
	500	5	5.78 ± 0.17	127 ± 11	30.7 ± 14.5#	89 ± 8**

Mean ± S.D.

Significantly different from control group; *: P ≤ 0.05 **: P ≤ 0.01 (Dunnett)

Significantly different from control group; #: P ≤ 0.05 (Steel)

Table 11-2. -continued Blood chemistry
---Recovery period---

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	BUN (mg/dL)	Creatinine (mg/dL)	T.bilirubin (mg/dL)	Total bile acid (μ mol/L)
Male	0	5	12.5 ± 2.0	0.22 ± 0.03	0.04 ± 0.01	20.4 ± 13.5
	500	5	12.9 ± 1.4	0.23 ± 0.01	0.03 ± 0.01	35.7 ± 19.3
Female	0	5	16.5 ± 2.4	0.25 ± 0.03	0.04 ± 0.02	14.5 ± 8.2
	500	5	16.0 ± 0.8	0.26 ± 0.04	0.03 ± 0.01	20.3 ± 21.1

Mean ± S.D.

Table 11-2. -continued Blood chemistry
---Recovery period---

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	AST (U/L)	ALT (U/L)	ALP (U/L)	Gamma-GTP (U/L)
Male	0	5	78 ± 13	31 ± 4	487 ± 94	0.6 ± 0.1
	500	5	75 ± 6	30 ± 6	631 ± 71*	0.8 ± 0.3
Female	0	5	88 ± 7	26 ± 3	354 ± 91	1.1 ± 0.4
	500	5	87 ± 17	27 ± 3	307 ± 80	1.1 ± 0.3

Mean ± S.D.

Significantly different from control group; *: P ≤ 0.05 (Dunnett)

Table 11-2. -continued Blood chemistry
---Recovery period---

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Calcium (mg/dL)	I. phosphorus (mg/dL)	Sodium (mmol/L)	Potassium (mmol/L)	Chloride (mmol/L)
Male	0	5	10.05 ± 0.22	7.57 ± 0.35	142.0 ± 0.6	4.64 ± 0.48	106.2 ± 0.8
	500	5	9.99 ± 0.19	8.35 ± 0.17**	143.3 ± 1.5	4.63 ± 0.16	106.7 ± 1.9
Female	0	5	9.55 ± 0.16	6.60 ± 0.93	141.7 ± 1.1	4.73 ± 0.21	111.0 ± 1.2
	500	5	9.71 ± 0.13	6.97 ± 0.77	141.4 ± 1.2	4.44 ± 0.31	109.1 ± 1.0*

Mean ± S.D.

Significantly different from control group; *: P ≤ 0.05 **: P ≤ 0.01 (Dunnett)

Table 12-1. Electrophoresis
---Administration period---

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Albumin (%)	Alpha-1 (%)	Alpha-2 (%)	Beta (%)	Gamma (%)	A/G
Male	0	5	52.9 ± 1.1	19.9 ± 0.9	8.1 ± 0.3	15.4 ± 0.7	3.8 ± 1.2	1.12 ± 0.05
	20	5	54.2 ± 0.7	17.9 ± 0.8*	8.2 ± 0.6	15.6 ± 0.4	4.2 ± 0.7	1.18 ± 0.03
	100	5	53.9 ± 0.7	19.1 ± 0.7	8.5 ± 1.2	14.7 ± 0.9	3.7 ± 0.8	1.17 ± 0.03
	500	5	51.4 ± 1.1	19.1 ± 1.8	10.5 ± 1.2**	15.7 ± 0.9	3.3 ± 0.7	1.06 ± 0.05
Female	0	5	53.8 ± 1.1	18.2 ± 0.9	7.7 ± 0.2	15.2 ± 1.1	5.0 ± 1.2	1.17 ± 0.05
	20	5	54.1 ± 0.9	18.5 ± 1.2	7.6 ± 0.5	15.3 ± 0.2	4.4 ± 0.7	1.18 ± 0.04
	100	5	55.9 ± 1.9	17.2 ± 2.5	8.2 ± 0.9	14.7 ± 0.6	3.9 ± 1.4	1.27 ± 0.10
	500	3	53.2 ± 4.0	19.3 ± 2.4	9.3 ± 1.6	15.1 ± 0.8	3.1 ± 0.3	1.15 ± 0.17

Mean ± S.D.

Significantly different from control group; *: P ≤ 0.05 **: P ≤ 0.01 (Dunnett)

Table 12-1. -continued Electrophoresis
---Administration period---

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Albumin (g/dL)	Alpha-1 (g/dL)	Alpha-2 (g/dL)	Beta (g/dL)	Gamma (g/dL)
Male	0	5	2.99 ± 0.08	1.12 ± 0.06	0.46 ± 0.03	0.87 ± 0.05	0.21 ± 0.08
	20	5	2.99 ± 0.08	0.99 ± 0.07*	0.45 ± 0.03	0.86 ± 0.02	0.23 ± 0.04
	100	5	2.98 ± 0.10	1.06 ± 0.05	0.47 ± 0.07	0.81 ± 0.03	0.21 ± 0.04
	500	5	2.96 ± 0.07	1.10 ± 0.13	0.60 ± 0.06**	0.90 ± 0.05	0.19 ± 0.04
Female	0	5	3.11 ± 0.11	1.05 ± 0.02	0.45 ± 0.02	0.88 ± 0.07	0.29 ± 0.08
	20	5	3.00 ± 0.05	1.03 ± 0.07	0.42 ± 0.03	0.85 ± 0.01	0.24 ± 0.04
	100	5	3.16 ± 0.08	0.97 ± 0.14	0.46 ± 0.05	0.83 ± 0.04	0.22 ± 0.08
	500	3	2.85 ± 0.35	1.02 ± 0.07	0.49 ± 0.08	0.81 ± 0.05	0.17 ± 0.01

Mean ± S.D.

Significantly different from control group; *: P ≤ 0.05 **: P ≤ 0.01 (Dunnett)

Table 12-2. Electrophoresis
---Recovery period---

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Albumin (%)	Alpha-1 (%)	Alpha-2 (%)	Beta (%)	Gamma (%)	A/G
Male	0	5	47.6 ± 3.1	22.3 ± 3.8	9.2 ± 1.3	16.1 ± 0.9	4.9 ± 1.1	0.91 ± 0.12
	500	5	51.6 ± 2.1*	19.3 ± 2.2	8.8 ± 1.1	15.6 ± 0.9	4.7 ± 0.6	1.07 ± 0.09
Female	0	5	51.0 ± 4.2	19.1 ± 3.6	6.9 ± 0.6	17.1 ± 1.2	6.0 ± 1.3	1.05 ± 0.18
	500	5	50.8 ± 3.0	20.0 ± 1.6	8.2 ± 1.3	15.7 ± 1.0	5.3 ± 1.0	1.04 ± 0.13

Mean ± S.D.

Significantly different from control group; *: P ≤ 0.05 (Dunnett)

Table 12-2. -continued Electrophoresis
---Recovery period---

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Albumin (g/dL)	Alpha-1 (g/dL)	Alpha-2 (g/dL)	Beta (g/dL)	Gamma (g/dL.)
Male	0	5	2.85 ± 0.17	1.33 ± 0.24	0.55 ± 0.08	0.96 ± 0.04	0.29 ± 0.08
	500	5	2.91 ± 0.06	1.09 ± 0.16	0.49 ± 0.06	0.88 ± 0.07	0.27 ± 0.04
Female	0	5	2.96 ± 0.22	1.11 ± 0.23	0.40 ± 0.03	1.00 ± 0.09	0.35 ± 0.08
	500	5	2.94 ± 0.25	1.16 ± 0.10	0.47 ± 0.06	0.90 ± 0.05	0.30 ± 0.05

Mean ± S.D.

Table 13-1. Urinalysis
---Administration period---

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Volume (mL)	Osmotic pressure (mOsm/kg)	Sodium (mmol/L)	Potassium (mmol/L)	Chloride (mmol/L)
Male	0	10	7.6 ± 3.2	1761 ± 545	166 ± 59	303.6 ± 92.9	222.0 ± 71.1
	20	5	6.8 ± 2.4	2044 ± 364	183 ± 43	343.4 ± 72.5	249.1 ± 49.0
	100	5	7.0 ± 2.5	1915 ± 351	168 ± 39	231.9 ± 31.1	235.1 ± 59.1
	500	10	16.7 ± 10.6	874 ± 367**	29 ± 16##	88.3 ± 35.6##	100.8 ± 41.5**
Female	0	10	5.7 ± 2.2	1692 ± 471	125 ± 40	246.2 ± 64.3	181.7 ± 52.8
	20	5	6.2 ± 0.9	1625 ± 346	134 ± 26	223.4 ± 53.6	178.6 ± 49.0
	100	5	8.2 ± 6.0	1778 ± 928	122 ± 74	197.4 ± 90.5	193.1 ± 97.8
	500	8	13.1 ± 4.6##	925 ± 283##	41 ± 27**	93.8 ± 29.3**	122.1 ± 36.7

Mean ± S.D.

Significantly different from control group; **: P ≤ 0.01 (Dunnett)
 Significantly different from control group; ##: P ≤ 0.01 (Steel)

Table 13-1. -continued Urinalysis
---Administration period---

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Sodium (mmol/day)	Potassium (mmol/day)	Chloride (mmol/day)
Male	0	10	1.11 ± 0.21	2.08 ± 0.39	1.51 ± 0.26
	20	5	1.17 ± 0.16	2.20 ± 0.25	1.60 ± 0.22
	100	5	1.13 ± 0.29	1.59 ± 0.45	1.58 ± 0.42
	500	10	0.44 ± 0.29**	1.27 ± 0.57**	1.36 ± 0.53
Female	0	10	0.69 ± 0.29	1.31 ± 0.38	0.98 ± 0.33
	20	5	0.81 ± 0.11	1.34 ± 0.19	1.07 ± 0.14
	100	5	0.68 ± 0.15	1.19 ± 0.25	1.14 ± 0.18
	500	8	0.53 ± 0.40	1.18 ± 0.45	1.49 ± 0.40**

Mean ± S.D.

Significantly different from control group; **: P ≤ 0.01 (Dunnett)

Table 13-1. -continued Urinalysis
---Administration period---

Exp. No. 9933 (115-212)

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	10	10												1	1	6	2						10				
	20	5	5												1		4							4	1			
	100	5	2 3												1				3	1				5				
	500	10	6 2			2									1	2	2	3	2					10				
Female	0	10	10												1	1	1	6	1					9	1			
	20	5	5													3	1	1						5				
	100	5	3 2												1		1	1	1					4	1			
	500	8	1 7													2	2	1	3					8				

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

Occult blood : - (negative), +/-(trace), 1+(slight), 2+(moderate), 3+(marked)

Table 13-1. -continued Urinalysis
---Administration period---

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Ketone bodies				Glucose (g/dL)					Protein (mg/dL)					
			-	+/-	1+	2+	3+	-	0.1	0.25	0.5	≥ 1.0	-	+/-	30	100	≥ 300
Male	0	10			3	6	1			7	3				4	6	
	20	5			1	2	2			5					1	3	1
	100	5			1	3	1			4	1				1	4	
	500	10			4	3	3			9	1				1	6	3
Female	0	10			6	2	2			10					3	4	3
	20	5			4		1			5					2	2	1
	100	5			2	1	2			5					1	2	2
	500	8			3	5				8					4	4	

Ketone bodies : - (negative), +/-(5 mg/dL), 1+(15 mg/dL), 2+(40 mg/dL), 3+(≥ 80 mg/dL)

Table 13-1. -continued Urinalysis
---Administration period---

Exp. No. 9933 (115-212)

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
Male	0	10	8	1	1		3	5	2		
	20	5	1	4			1	3	1		
	100	5	1	3	1		1	3	1		
	500	10	2	4	4		6	4			
Female	0	10	9	1			6	3	1		
	20	5	4	1			4	1			
	100	5	4	1			2	3			
	500	8	3	5			5	3			

Bilirubin : - (negative), 1+ (slight), 2+ (moderate), 3+ (marked)

Table 13-1. -continued Urinalysis : Microscopic examination of sediment
---Administration period---

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Erythrocytes - 1+ 2+ 3+	Leukocytes - 1+ 2+ 3+	Epithelial cells - 1+ 2+ 3+	Casts - +	Fat globules - +	Mucous threads - +	Crystals - +
Male	0	10	10	10	10	10	10	10	10
	20	5	5	5	4 1	5	5	5	5
	100	5	5	5	5	5	5	5	5
	500	10	10	10	9 1	10	10	10	10
Female	0	10	10	7 3	10	10	10	9 1	1 9
	20	5	5	5	5	5	5	5	5
	100	5	5	5	4 1	5	5	5	2 3
	500	8	8	8	5 3	8	8	8	3 5

Erythrocytes, Leukocytes and Epithelial cells (cells/ μ L) : -(0-4), 1+(5-14), 2+(15-29), 3+(30 or more)
 Casts, Fat globules, Mucous threads and Crystals : -(not observed), +(observed)

Table 13-2. Urinalysis
---Recovery period---

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Volume (mL)	Osmotic pressure (mOsm/kg)	Sodium (mmol/L)	Potassium (mmol/L)	Chloride (mmol/L)
Male	0	5	13.4 ± 3.6	1535 ± 227	107 ± 10	228.5 ± 33.9	145.9 ± 17.5
	500	5	13.9 ± 4.4	1680 ± 489	120 ± 33	242.9 ± 73.5	156.1 ± 47.7
Female	0	5	15.8 ± 8.9	1216 ± 575	90 ± 45	165.6 ± 73.1	114.2 ± 55.3
	500	5	14.9 ± 7.1	1549 ± 542	118 ± 40	212.0 ± 66.9	146.8 ± 48.9

Mean ± S.D.

Table 13-2. -continued Urinalysis
---Recovery period---

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Sodium (mmol/day)	Potassium (mmol/day)	Chloride (mmol/day)
Male	0	5	1.41 ± 0.25	2.98 ± 0.45	1.92 ± 0.37
	500	5	1.57 ± 0.32	3.15 ± 0.64	2.03 ± 0.47
Female	0	5	1.15 ± 0.12	2.18 ± 0.39	1.49 ± 0.32
	500	5	1.53 ± 0.33*	2.78 ± 0.64	1.91 ± 0.46

Mean ± S.D.

Significantly different from control group; *: P ≤ 0.05 (Dunnett)

Table 13-2. -continued Urinalysis
---Recovery period---

Exp. No. 9933 (115-212)

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				
	500	5	5												3		2							5				
Female	0	5	5												3		1	1						5				
	500	5	5														1	4						5				

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

Occult blood : - (negative), +/- (trace), 1+ (slight), 2+ (moderate), 3+ (marked)

Table 13-2. -continued Urinalysis
---Recovery period---

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Ketone bodies				Glucose(g/dL)				Protein(mg/dL)						
			-	+/-	1+	2+	3+	-	0.1	0.25	0.5	≥1.0	-	+/-	30	100	≥300
Male	0	5			1	3	1		4	1				3	2		
	500	5			3	2			5				1	2	2		
Female	0	5			3	2			4	1			3	1	1		
	500	5			2	3			5				1	2	2		

Ketone bodies : -(negative), +/-(5 mg/dL), 1+(15 mg/dL), 2+(40 mg/dL), 3+(≥ 80 mg/dL)

Table 13-2. -continued Urinalysis
---Recovery period---

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Bilirubin			Urobilinogen (E.U./dL)				
			-	1+	2+	3+	0.1	1.0	2.0	4.0
Male	0	5	4	1			2	3		
	500	5	2	3			2	3		
Female	0	5	5				3	2		
	500	5	5				2	3		

Bilirubin : - (negative), 1+ (slight), 2+ (moderate), 3+ (marked)

Table 13-2. -continued Urinalysis : Microscopic examination of sediment
---Recovery period---

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Erythrocytes - 1+ 2+ 3+	Leukocytes - 1+ 2+ 3+	Epithelial cells - 1+ 2+ 3+	Casts - +	Fat globules - +	Mucous threads - +	Crystals - +
Male	0	5	5	5	5	5	5	5	5
	500	5	5	5	5	5	5	5	5
Female	0	5	5	5	4 1	5	5	4 1	5
	500	5	5	5	5	5	5	5	5

Erythrocytes, Leukocytes and Epithelial cells (cells/ μ L) : -(0-4), 1+(5-14), 2+(15-29), 3+(30 or more)
Casts, Fat globules, Mucous threads and Crystals : -(not observed), +(observed)

Table 14-1. Organ weight
---Administration period---

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Body weight (g)	Brain (g)	Heart (g)	Liver (g)	Kidneys (g)
Male	0	5	307 ± 25	2.00 ± 0.07	1.14 ± 0.10	10.36 ± 0.95	2.33 ± 0.12
	20	5	316 ± 12	2.07 ± 0.05	1.15 ± 0.06	10.44 ± 0.29	2.47 ± 0.23
	100	5	295 ± 24	2.05 ± 0.06	1.07 ± 0.06	10.21 ± 1.10	2.50 ± 0.28
	500	5	225 ± 16**	1.96 ± 0.08	0.88 ± 0.11**	9.70 ± 0.75	2.00 ± 0.12*
Female	0	5	183 ± 11	1.90 ± 0.07	0.72 ± 0.04	5.88 ± 0.29	1.47 ± 0.12
	20	5	184 ± 11	1.90 ± 0.07	0.72 ± 0.08	5.87 ± 0.44	1.50 ± 0.13
	100	5	187 ± 15	1.90 ± 0.04	0.77 ± 0.06	6.68 ± 0.80	1.60 ± 0.13
	500	3	158 ± 4*	1.87 ± 0.06	0.81 ± 0.39	6.45 ± 0.43	1.49 ± 0.14

Mean ± S.D.

Significantly different from control group; *: P ≤ 0.05 **: P ≤ 0.01 (Dunnett)

Table 14-1. -continued Organ weight
---Administration period---

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Spleen (g)	Adrenals (mg)	Testes (g)	Ovaries (mg)	Thymus (mg)
Male	0	5	0.59 ± 0.09	50 ± 9	3.02 ± 0.24		559 ± 95
	20	5	0.59 ± 0.07	44 ± 6	2.92 ± 0.28		492 ± 61
	100	5	0.55 ± 0.02	44 ± 3	2.84 ± 0.22		515 ± 136
	500	5	0.65 ± 0.20	51 ± 8	2.49 ± 0.50		389 ± 102*
Female	0	5	0.39 ± 0.02	55 ± 5		76 ± 5	427 ± 77
	20	5	0.36 ± 0.04	52 ± 10		77 ± 4	430 ± 90
	100	5	0.42 ± 0.08	58 ± 5		86 ± 19	415 ± 106
	500	3	0.47 ± 0.06	55 ± 15		63 ± 12	338 ± 46

Mean ± S.D.

Significantly different from control group; *: P ≤ 0.05 (Dunnett)

Table 14-1. -continued Organ weight
---Administration period---

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Epididymides (mg)	Mandibular gland (mg)
Male	0	5	631 ± 42	490 ± 27
	20	5	673 ± 68	500 ± 39
	100	5	628 ± 63	511 ± 17
	500	5	473 ± 97**	420 ± 43*
Female	0	5		357 ± 27
	20	5		362 ± 27
	100	5		365 ± 23
	500	3		319 ± 22

Mean ± S.D.

Significantly different from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$ (Dunnett)

Table 14-2. Organ weight
---Recovery period---

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Body weight (g)	Brain (g)	Heart (g)	Liver (g)	Kidneys (g)
Male	0	5	354 ± 23	2.12 ± 0.08	1.22 ± 0.04	10.69 ± 0.80	2.56 ± 0.09
	500	5	295 ± 44*	2.14 ± 0.07	1.06 ± 0.13*	8.86 ± 1.42*	2.23 ± 0.36
Female	0	5	198 ± 12	1.94 ± 0.06	0.73 ± 0.02	5.64 ± 0.30	1.59 ± 0.11
	500	5	200 ± 21	1.90 ± 0.06	0.79 ± 0.07	6.45 ± 1.02	1.60 ± 0.08

Mean ± S.D.

Significantly different from control group; *: P ≤ 0.05 (Dunnet)

Table 14-2. -continued Organ weight
---Recovery period---

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Spleen (g)	Adrenals (mg)	Testes (g)	Ovaries (mg)	Thymus (mg)
Male	0	5	0.63 ± 0.09	48 ± 6	3.23 ± 0.16		452 ± 127
	500	5	0.66 ± 0.10	47 ± 6	2.71 ± 0.82		499 ± 56
Female	0	5	0.45 ± 0.06	59 ± 5		76 ± 12	352 ± 66
	500	5	0.48 ± 0.10	65 ± 5		79 ± 22	393 ± 92

Mean ± S.D.

Table 14-2. -continued Organ weight
---Recovery period---

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Epididymides (mg)	Mandibular gland (mg)
Male	0	5	903 ± 86	581 ± 71
	500	5	704 ± 236	506 ± 84
Female	0	5		362 ± 17
	500	5		388 ± 69

Mean ± S.D.

Table 15-1. Organ weight per body weight
---Administration period---

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Body weight (g)	Brain (%)	Heart (%)	Liver (%)	Kidneys (%)
Male	0	5	307 ± 25	0.658 ± 0.073	0.374 ± 0.033	3.378 ± 0.124	0.763 ± 0.042
	20	5	316 ± 12	0.656 ± 0.035	0.366 ± 0.017	3.309 ± 0.106	0.782 ± 0.075
	100	5	295 ± 24	0.699 ± 0.068	0.365 ± 0.038	3.455 ± 0.187	0.846 ± 0.049*
	500	5	225 ± 16**	0.874 ± 0.056**	0.392 ± 0.039	4.314 ± 0.097**	0.889 ± 0.022**
Female	0	5	183 ± 11	1.042 ± 0.039	0.397 ± 0.027	3.225 ± 0.117	0.809 ± 0.070
	20	5	184 ± 11	1.037 ± 0.049	0.389 ± 0.025	3.198 ± 0.122	0.818 ± 0.057
	100	5	187 ± 15	1.018 ± 0.071	0.414 ± 0.032	3.557 ± 0.161*	0.854 ± 0.065
	500	3	158 ± 4*	1.187 ± 0.066**	0.511 ± 0.229	4.089 ± 0.382**	0.943 ± 0.115

Mean ± S.D.

Significantly different from control group; *: P ≤ 0.05 **: P ≤ 0.01 (Dunnett)

Table 15-1. -continued Organ weight per body weight
---Administration period---

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Spleen (%)	Adrenals (%)	Testes (%)	Ovaries (%)	Thymus (%)
Male	0	5	0.192 ± 0.028	0.016 ± 0.003	0.987 ± 0.072		0.184 ± 0.040
	20	5	0.186 ± 0.028	0.014 ± 0.002	0.926 ± 0.117		0.156 ± 0.018
	100	5	0.188 ± 0.014	0.015 ± 0.000	0.969 ± 0.133		0.176 ± 0.052
	500	5	0.286 ± 0.073#	0.023 ± 0.003#	1.102 ± 0.144		0.173 ± 0.041
Female	0	5	0.213 ± 0.017	0.030 ± 0.002		0.042 ± 0.004	0.234 ± 0.040
	20	5	0.196 ± 0.024	0.028 ± 0.005		0.042 ± 0.003	0.233 ± 0.036
	100	5	0.225 ± 0.027	0.031 ± 0.002		0.046 ± 0.009	0.221 ± 0.056
	500	3	0.296 ± 0.044**	0.035 ± 0.010		0.040 ± 0.008	0.214 ± 0.029

Mean ± S.D.

Significantly different from control group; **: P ≤ 0.01 (Dunnett)
Significantly different from control group; #: P ≤ 0.05 (Steel)

Table 15-1. -continued Organ weight per body weight
---Administration period---

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Epididymides (%)	Mandibular gland (%)
Male	0	5	0.206 ± 0.007	0.160 ± 0.011
	20	5	0.213 ± 0.017	0.158 ± 0.011
	100	5	0.214 ± 0.029	0.174 ± 0.018
	500	5	0.209 ± 0.033	0.187 ± 0.015*
Female	0	5		0.196 ± 0.007
	20	5		0.198 ± 0.017
	100	5		0.195 ± 0.010
	500	3		0.202 ± 0.009

Mean ± S.D.

Significantly different from control group; *: $P \leq 0.05$ (Dunnett)

Table 15-2. Organ weight per body weight
---Recovery period---

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Body weight (g)	Brain (%)	Heart (%)	Liver (%)	Kidneys (%)
Male	0	5	354 ± 23	0.603 ± 0.052	0.345 ± 0.023	3.024 ± 0.129	0.728 ± 0.060
	500	5	295 ± 44*	0.736 ± 0.110*	0.362 ± 0.018	2.996 ± 0.108	0.755 ± 0.019
Female	0	5	198 ± 12	0.983 ± 0.060	0.372 ± 0.019	2.855 ± 0.091	0.803 ± 0.032
	500	5	200 ± 21	0.958 ± 0.083	0.395 ± 0.014	3.215 ± 0.256*	0.804 ± 0.054

Mean ± S.D.

Significantly different from control group; *: P ≤ 0.05 (Dunnett)

Table 15-2. -continued Organ weight per body weight
---Recovery period---

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Spleen (%)	Adrenals (%)	Testes (%)	Ovaries (%)	Thymus (%)
Male	0	5	0.177 ± 0.018	0.014 ± 0.001	0.918 ± 0.094		0.128 ± 0.035
	500	5	0.225 ± 0.025**	0.016 ± 0.002	0.902 ± 0.202		0.171 ± 0.027
Female	0	5	0.227 ± 0.025	0.030 ± 0.003		0.039 ± 0.005	0.178 ± 0.030
	500	5	0.239 ± 0.026	0.033 ± 0.005		0.039 ± 0.009	0.196 ± 0.037

Mean ± S.D.

Significantly different from control group; **: P ≤ 0.01 (Dunnett)

Table 15-2. -continued Organ weight per body weight
---Recovery period---

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Epididymides (%)	Mandibular gland (%)
Male	0	5	0.257 ± 0.034	0.164 ± 0.018
	500	5	0.234 ± 0.064	0.172 ± 0.017
Female	0	5		0.184 ± 0.010
	500	5		0.193 ± 0.019

Mean ± S.D.

Table 16-1.

Summary of gross findings
(sacrificed, administration period)

Exp. No. 9933 (115-212)

Dose level No. of animals necropsied	Organ	Male animals					Female animals				
		0 5	20 5	100 5	500 5	0 5	20 5	100 5	500 3		
CARDIOVASCULAR SYSTEM											
heart	hypertrophic	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	nodule	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	scarred	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
HEMATOPOIETIC SYSTEM											
spleen	dark	0	0	0	2	0	0	0	0	2	
	white patch/zone	0	0	0	0	0	0	1	1		
RESPIRATORY SYSTEM											
lung	brown patch/zone	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
DIGESTIVE SYSTEM											
stomach	black patch/zone	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
	red patch/zone	0	0	0	1	0	0	0	0	1	
	white patch/zone	0	0	0	3	0	0	0	0	0	
liver	dark	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	white patch/zone	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
URINARY SYSTEM											
kidney	cyst	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
	dark	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
	scarred	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
REPRODUCTIVE SYSTEM											
testis	small	0	0	0	1	-	-	-	-	-	
prostate	small	0	0	0	4*	-	-	-	-	-	
seminal vesicle	small	0	0	0	4*	-	-	-	-	-	
uterus	dilated lumen	-	-	-	-	0	1	1	0		
ENDOCRINE SYSTEM											
adrenal gland	scarred	0	0	0	1	0	0	0	0		

Significantly different from control group; * : P ≤ 0.05 (Fisher)

Table 16-2.

Summary of gross findings
(dead, administration period)

Exp. No. 9933 (115-212)

Dose level (mg/kg)	No. of animals necropsied	Female animals			
		0	20	100	500
Organ	Findings	0	0	0	2
HEMATOPOIETIC SYSTEM					
spleen	small	-	-	-	2
thymus	atrophic	-	-	-	1
DIGESTIVE SYSTEM					
stomach	autolysis	-	-	-	1
	black patch/zone	-	-	-	1
small intestine	autolysis	-	-	-	2
large intestine	autolysis	-	-	-	2
liver	autolysis	-	-	-	2
ENDOCRINE SYSTEM					
adrenal gland	hypertrophic	-	-	-	2
NERVOUS SYSTEM					
brain	autolysis	-	-	-	2

Table 16-3.

Summary of gross findings
(sacrificed, recovery period)

Exp. No. 9933 (115-212)

Dose level (mg/kg)	No. of animals necropsied	Male animals		Female animals	
		0	500	0	500
Organ	Findings	5	5	5	5
RESPIRATORY SYSTEM					
lung	black patch/zone	0	1	0	0
DIGESTIVE SYSTEM					
stomach	nodule	1	0	0	0
	white patch/zone	1	1	0	0
liver	hepatodiaphragmatic nodule	0	0	1	0
URINARY SYSTEM					
kidney	scarred	1	0	0	0
	white patch/zone	0	0	1	0
REPRODUCTIVE SYSTEM					
testis	small	0	1	-	-
prostate	small	0	1	-	-
seminal vesicle	small	0	1	-	-

Table 17-1.

Summary of histological findings
(sacrificed, administration period)

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex: Male

Organ	Findings	0				20				100				500				
		1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	
CARDIOVASCULAR SYSTEM																		
heart	cellular infiltration, mononuclear	(5)	0	0	0	0		(5)	3	0	0	3		(5)	1	1	0	2
spleen	congestion	(5)	0	0	0	0		(5)	0	0	0	0		(5)	0	0	0	1
	deposit, pigment		0	0	0	0			0	0	0	0			0	0	0	3
	increase, extramedullary hematopoiesis		0	0	0	0			1	0	0	1			0	0	0	1
RESPIRATORY SYSTEM																		
lung	accumulation of foamy cells	(5)	1	0	0	1		(0)	-	-	-	-		(5)	1	0	0	1
	cellular infiltration, mixed		0	0	0	0			-	-	-	-			1	0	0	1
	osseous metaplasia		0	0	0	0			-	-	-	-			1	0	0	1
DIGESTIVE SYSTEM																		
forestomach	edema, intraepithelial	(5)	0	0	0	0		(5)	0	0	0	0		(5)	1	0	0	1
	hemorrhage		0	0	0	0			0	0	0	0			0	0	0	0
	fibrosis		0	0	0	0			0	0	0	0			0	0	0	1
	squamous hyperplasia		0	0	0	0			0	0	0	0			0	0	0	3
cecum	basophilic change	(5)	0	0	0	0		(5)	0	0	0	0		(5)	0	0	0	0
	cellular infiltration, eosinophile		0	0	0	0			0	0	0	0			1	2	0	3
	cellular infiltration, mixed		0	0	0	0			0	0	0	0			1	0	0	1
	increase in mitosis		0	0	0	0			0	0	0	0			0	0	0	1
colon	hemorrhage	(5)	0	0	0	0		(5)	0	0	0	0		(5)	0	0	0	0
	basophilic change		0	0	0	0			0	0	0	0			1	0	0	1
	cellular infiltration, eosinophile		0	0	0	0			0	0	0	0			3	1	0	4*#
	increase in mitosis		0	0	0	0			0	0	0	0			0	0	0	0
rectum	cellular infiltration, mixed	(5)	0	0	0	0		(0)	-	-	-	-		(0)	1	0	0	1
liver	cellular infiltration, mixed	(5)	0	0	0	0		(5)	0	0	0	0		(5)	1	0	0	1
	eosinophilic change, hepatocyte		0	0	0	0			0	0	0	0			0	0	0	4*#
	microgranuloma		3	0	0	3			3	0	0	3			3	0	0	2
	hypertrophy, hepatocyte, centrilobular		0	0	0	0			0	0	0	0			0	0	0	4*#

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

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

Significantly different from control group; *: P≤0.05

Significantly different from control group; #: P≤0.05

-: Not applicable.

**: P≤0.01 (Fisher)

##: P≤0.01 (Mann-Whitney)

Table 17-1. -continued Summary of histological findings
(sacrificed, administration period)

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex: Male

Dose level No. of animals necropsied	0				20				100				500				
	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	
URINARY SYSTEM																	
kidney	(5)				(1)				(1)				(5)				
basophilic tubule	1	0	0	1		0	0	0		1	0	0	1		0	0	0
degeneration, vacuolar, tubule	0	0	0	0		0	0	0		0	0	0	0		1	0	0
dilatation, tubule	0	0	0	0		1	0	0	1	1	0	0	1		0	0	0
cellular infiltration, lymphocyte	1	0	0	1		0	0	0	0	0	0	0	0		0	0	0
REPRODUCTIVE SYSTEM																	
prostate	(5)				(5)				(5)				(5)				
atrophy	0	0	0	0		0	0	0		0	0	0	0		3	0	0
cellular infiltration, lymphocyte	0	0	0	0		1	0	0	1	1	0	0	1		1	0	0
seminal vesicle	(5)				(5)				(5)				(5)				
atrophy	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0	0		3	1	0
ENDOCRINE SYSTEM																	
adrenal gland	(5)				(5)				(5)				(5)				
angiectasis	0	0	0	0		0	0	0		0	0	0	0		1	1	0
degeneration, vacuolar	0	0	0	0		0	0	0		0	0	0	0		3	0	0
necrosis	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0	0		2	1	0
accumulation of macrophage	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0	0		3	0	0
hypertrophy, cortex	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0	0		3	0	0

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

(): No. of animals examined microscopically at this site. -: Not applicable.

Significantly different from control group; *: P≤0.05 (Fisher)

Significantly different from control group; #: P≤0.05 (Mann-Whitney)

Table 17-1. -continued Summary of histological findings
(sacrificed, administration period)

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0				20				100				500				
No. of animals necropsied	5				5				5				3				
No. of animals examined histologically	5				5				5				3				
Organ	Findings	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T
CARDIOVASCULAR SYSTEM																	
heart		(5)				(5)				(5)				(3)			
myxoid change	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0		1	0	0	1
cellular infiltration, mononuclear	2	0	0	2		0	0	0	0	0	0	0		1	0	0	1
pericarditis	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0		1	0	0	1
fibrosis	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0		0	1	0	1
hypertrophy, myocardium	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0		0	1	0	1
HEMATOPOIETIC SYSTEM																	
spleen		(5)				(5)				(5)				(3)			
congestion	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0		3	0	0	3*
atrophy	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0		1	0	0	1
deposit, pigment	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0		3	0	0	3*
capsulitis	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0		1	0	0	1
increase, extramedullary hematopoiesis	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0		1	0	0	1
RESPIRATORY SYSTEM																	
lung		(5)				(0)				(0)				(3)			
accumulation of foamy cells	0	0	0	0		-	-	-	-	-	-	-		1	0	0	1
accumulation of macrophage	1	0	0	1		-	-	-	-	-	-	-		0	0	0	0
DIGESTIVE SYSTEM																	
forestomach		(5)				(5)				(5)				(3)			
edema	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0		1	0	0	1
ulcer	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0		1	0	0	1
squamous hyperplasia	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0		0	1	0	1
glandular stomach		(5)				(5)				(5)				(3)			
edema	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0		1	0	0	1
colon		(5)				(5)				(5)				(3)			
basophilic change	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0		1	0	0	1
hyperplasia, lymphoid tissue	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0		1	0	0	1
increase in mitosis	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0		2	0	0	2
liver		(5)				(5)				(5)				(3)			
congestion	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0		1	0	0	1
eosinophilic change, hepatocyte	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0		3	0	0	3*
vacuolation in hepatocyte	4	0	0	4		1	0	0	1	0	0	0		1	0	0	1
microgranuloma	5	0	0	5		5	0	0	5	3	0	0		2	0	0	2
hypertrophy, hepatocyte, centrilobular	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0		1	0	0	1

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

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

..: Not applicable.

Significantly different from control group; *: P≤0.05

(Fisher)

Significantly different from control group; #: P≤0.05

(Mann-Whitney)

Table 17-1. -continued Summary of histological findings
(sacrificed, administration period)

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0				20				100				500					
No. of animals necropsied	5	5	5	T	5	5	5	T	5	5	5	T	3	3	T			
No. of animals examined histologically	5	5	5		5	5	5		5	5	5		3	3				
Organ	Findings	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	
URINARY SYSTEM																		
kidney		(5)				(0)				(0)				(3)				
	basophilic tubule	2	0	0	2		-	-	-		-	-	-	0	0	0	0	
	dilatation, tubule	2	0	0	2		-	-	-		-	-	-	0	0	0	0	
	mineralization	1	0	0	1		-	-	-		-	-	-	2	0	0	2	
REPRODUCTIVE SYSTEM																		
uterus		(5)				(1)				(1)				(3)				
	dilatation, lumen	0	0	0	0		1	0	0	1		1	0	0	1	0	0	0
ENDOCRINE SYSTEM																		
adrenal gland		(5)				(5)				(5)				(3)				
	angiectasis	0	0	0	0		0	0	0	0		0	0	0	1	1	0	2
	degeneration, vacuolar	0	0	0	0		0	0	0	0		0	0	0	3	0	0	3*#
	necrosis	0	0	0	0		0	0	0	0		0	0	0	3	0	0	3*#
	accumulation of macrophage	0	0	0	0		0	0	0	0		0	0	0	2	0	0	2
	hypertrophy, cortex	0	0	0	0		0	0	0	0		0	0	0	2	0	0	2

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

(): No. of animals examined microscopically at this site. -: Not applicable.

Significantly different from control group; *: P≤0.05 (Fisher)

Significantly different from control group; #: P≤0.05 (Mann-Whitney)

Table 17-2.

Summary of histological findings
(dead, administration period)

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0				20				100				500				
No. of animals necropsied	0				0				0				2				
No. of animals examined histologically	0				0				0				2				
Organ	Findings	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T
CARDIOVASCULAR SYSTEM																	
heart	cellular infiltration, mononuclear	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(2)	1	0	0	1
HEMATOPOIETIC SYSTEM																	
spleen	atrophy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(2)	2	0	0	2
thymus	atrophy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(2)	1	0	0	1
RESPIRATORY SYSTEM																	
lung	accumulation of foamy cells	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(2)	1	0	0	1
DIGESTIVE SYSTEM																	
glandular stomach	ulcer	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(2)	1	0	0	1
mandibular gland	decrease, eosinophilic granule	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(2)	2	0	0	2
ENDOCRINE SYSTEM																	
adrenal gland	congestion	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(2)	1	0	0	1
	degeneration, vacuolar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0	1
	necrosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	1	0	1
	hypertrophy, cortex	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0	1

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

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

-: Not applicable.

Table 17-3.

Summary of histological findings
(sacrificed, recovery period)

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)		0	500		
No. of animals necropsied		5	5		
No. of animals examined histologically		5	5		
Organ	Findings	1	2	3	T
CARDIOVASCULAR SYSTEM					
heart		(5)		(5)	
necrosis		1	0	0	1
cellular infiltration, mononuclear		2	0	0	2
fibrosis		1	0	0	1
HEMATOPOIETIC SYSTEM					
spleen		(5)		(5)	
deposit, pigment		0	0	0	0
				5	0
				0	5**##
RESPIRATORY SYSTEM					
lung		(5)		(5)	
accumulation of foamy cells		2	0	0	2
cellular infiltration, mixed		0	0	0	0
DIGESTIVE SYSTEM					
glandular stomach		(5)		(5)	
ectopic tissue		1	0	0	1
epidermal cyst		1	0	0	1
jejunum		(5)		(5)	
mineralization		1	0	0	1
colon		(5)		(5)	
hyperplasia, lymphoid tissue		0	0	0	0
liver		(5)		(5)	
microgranuloma		4	0	0	4
				5	0
				0	5
URINARY SYSTEM					
kidney		(5)		(5)	
dilatation, tubule		1	0	0	1
mineralization		3	0	0	3
cellular infiltration, lymphocyte		1	0	0	1
REPRODUCTIVE SYSTEM					
epididymis		(5)		(5)	
decrease, sperm		0	0	0	0
prostate		(5)		(5)	
cellular infiltration, lymphocyte		1	1	0	2
				1	0
				0	1

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

(): No. of animals examined microscopically at this site. -: Not applicable.

Significantly different from control group; **: P≤0.01 (Fisher)

Significantly different from control group; #: P≤0.01 (Mann-Whitney)

Table 17-3. -continued Summary of histological findings
(sacrificed, recovery period)

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)		0		500							
No. of animals necropsied		5		5							
No. of animals examined histologically		5		5							
Organ	Findings	1	2	3	T	1	2	3	T		
REPRODUCTIVE SYSTEM											
seminal vesicle		(5)	0	0	0	0	(5)	1	0	0	1
atrophy											
ENDOCRINE SYSTEM											
adrenal gland		(5)	0	0	0	0	(5)	1	0	0	1
angiectasis											
degeneration, vacuolar			0	0	0	0		3	0	0	3
necrosis			0	0	0	0		0	1	0	1
accumulation of macrophage			0	0	0	0		5	0	0	5***##
hypertrophy, cortex			0	0	0	0		1	0	0	1

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

(): No. of animals examined microscopically at this site. -: Not applicable.

Significantly different from control group; **: P≤0.01 (Fisher)
Significantly different from control group; #: P≤0.01 (Mann-Whitney)

Table 17-3. -continued Summary of histological findings
(sacrificed, recovery period)

Exp. No. 9933 (115-212)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)		0	500		
No. of animals necropsied		5	5		
No. of animals examined histologically		5	5		
Organ	Findings	1	2	3	T
HEMATOPOIETIC SYSTEM					
spleen		(5)		(5)	
	deposit, pigment	0	0	0	0
				4	0
					4*#
RESPIRATORY SYSTEM					
lung		(5)		(5)	
	accumulation of foamy cells	2	0	0	2
	osseous metaplasia	2	0	0	2
DIGESTIVE SYSTEM					
liver		(5)		(5)	
	vacuolation in hepatocyte	1	0	0	1
	microgranuloma	5	0	0	5
	hepatodiaphragmatic nodule	1	0	0	1
URINARY SYSTEM					
kidney		(5)		(5)	
	mineralization	2	0	0	2
	fibrosis	1	0	0	1
ENDOCRINE SYSTEM					
thyroid gland		(5)		(5)	
	ultimobranchial remnant	0	0	0	0
adrenal gland		(5)		(5)	
	angiectasis	0	0	0	0
	degeneration, vacuolar	0	0	0	0
	accumulation of macrophage	0	0	0	0
				3	2
				3	0
				2	0
					2

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

(): No. of animals examined microscopically at this site. -: Not applicable.

Significantly different from control group; *: P≤0.05 **: P≤0.01 (Fisher)

Significantly different from control group; #: P≤0.05 ##: P≤0.01 (Mann-Whitney)