

1, 2, 4-ベンゼントリカルボン酸トリス (2-エチルヘキシル) エステルの
ラットを用いる28日間の反復投与毒性試験

試験番号：2510 (115-044)

財 団 法 人
食 品 農 医 薬 品 安 全 性 評 価 セ ン タ ー

目 次

1. 要 約	1 頁
2. 緒 言	2
3. 試 験 題 目	3
4. 試 験 目 的	3
5. 試 験 番 号	3
10. 被 験 物 質	5
11. 試 験 材 料 お よ び 方 法	7
12. 観 察, 測 定 お よ び 検 査	10
13. 試 験 結 果	14
14. 考 察 お よ び 結 論	18
15. 参 考 文 献	20
Figures, Tables and Reference data	22
Figure 1 Survial ratio	23
Table 1 Survial and mortality	24
Table 2 Clinical observation	26
Figure 2 Body weight	30
Table 3 Body weight	31
Figure 3 Food consumption	34
Table 4 Food consumption	35
Table 5 Food efficiency	37
Table 6 Hematology	39
Table 7 Coagulation	45
Table 8 Blood chemistry	47
Table 9 Urinalysis	53
Table 10 Organ weight	63
Table 11 Organ weight per body weight	67
Table 12 Summary of gross findings (sacrificed at 4,6 Week)	71
Table 13 Summary of histological findings (sacrificed at 4,6 Week)	75

1. 要 約 :

1, 2, 4-ベンゼントリカルボン酸トリス (2-エチルヘキシル) エステルの毒性を明らかにするため, SD系ラットを用いた強制経口投与による28日間反復投与毒性試験を実施した.

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

1, 2, 4-ベンゼントリカルボン酸トリス (2-エチルヘキシル) エステルは, コーンオイルに溶解し, 0, 100, 300 および 1000 mg/kg を毎日1回, 4週間連続経口投与し, 一般状態の観察, 体重測定, 摂餌量測定, 血液学的検査, 血液凝固能検査, 血液生化学検査, 尿検査, 器官重量測定および病理学的検査を行った. なお, 回復期間は2週間とし, 投与終了時と同様な検査を実施した.

その結果は, 次の如く要約される.

一般状態の観察では, 雌雄いずれの群にも異常動物は観察されず, 死亡例もなかった.

体重, 摂餌量および飼料効率には, 雌雄とも対照群と被験物質投与群とで差が認められなかった.

血液学的検査の結果, 雌雄とも被験物質投与に起因すると考えられる変化は認められなかった.

血液生化学検査の結果, 被験物質投与の影響を示唆する変化は認められなかった.

尿検査の結果, 雌雄の 1000 mg/kg 群で尿量が増加した動物が認められたが, 平均尿量および尿比重に有意差は認められなかった.

器官重量測定の結果, 雌雄とも被験物質投与に起因すると考えられる変化は認められなかった.

病理学的検査の結果, 肉眼および組織学的検索ともに, 被験物質投与の影響が示唆される病変は観察されなかった. なお, 肉眼所見において肺の有色斑/区域が, 組織所見において腎臓の好酸性小体が, 対照群に比べ雄の投与群に多く観察されたが, いずれも自然発生性病変が偶発的に増加したものと考えられた.

以上の結果, 雌雄とも無影響量は 1000 mg/kg と判断された.

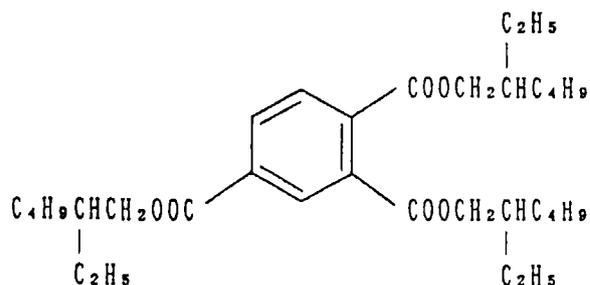
2. 緒 言：

1, 2, 4-ベンゼントリカルボン酸トリス（2-エチルヘキシル）エステルは、塩化ビニル用可塑剤として使用される化合物である。本化合物の毒性については、ほとんど報告がないため、今回、既存化学物質の安全点検に係わる毒性調査事業の一環として、28日間反復投与毒性試験を実施した。

3. 試 験 題 目 : 1, 2, 4-ベンゼントリカルボン酸トリス (2-エチルヘキシル) エステルのラットを用いる28日間の反復投与毒性試験
4. 試 験 目 的 : 1, 2, 4-ベンゼントリカルボン酸トリス (2-エチルヘキシル) エステルの安全性を評価する一環として, 環保業第 700号, 薬発第 1039号, 61基局第1014号 (昭和61年12月5日) の「新規化学物質に係る試験の方法について」に従って, ラットを用いる28日間の反復投与毒性試験を行った。
なお, 試験の実施は環企研第 233号, 衛生第38号, 63基局第 823号 (昭和63年11月18日) の「新規化学物質に係る試験及び指定化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める命令第4条に規定する試験施設について」の基準を満たすものとした。
5. 試 験 番 号 : 2 5 1 0 (115-044)

10. 被 験 物 質 :

- 1) 被験物質名 1, 2, 4-ベンゼントリカルボン酸トリス (2-エチルヘキシル) エステル
- 2) CAS No. 3 3 1 9 - 3 1 - 1
- 3) ロット番号
- 4) 純 度 99.0 wt % 以上
- 5) 提 供 先
- 6) 保 管 条 件 直射日光および高温多湿の場所を避けて密栓して保管した。
- 7) 保 管 場 所 安評センター被験物質保管庫
- 8) 化 学 名 トリ-2-エチルヘキシルトリメリテート
- 9) 化学構造



- 10) 分 子 式 $\text{C}_{33}\text{H}_{54}\text{O}_6$
- 11) 分 子 量 546.87
- 12) 物質の状態 液体
- 13) 色 淡黄色透明
- 14) 凝 固 点 -30°C

- 15) 沸 点 430℃ / 760 mmHg
- 16) 粘 度 210 cP (25℃)
- 17) 溶 解 性 水に不溶，アセトンおよび DMSO に可溶
- 18) 安 定 性 通常の取り扱い条件においては安定。
投与終了後，製造元に返却した被験物質について，製造元で再分析を行い，安定性を確認した。
- 19) 比 重 0.991 (20 / 20℃)
- 20) 蒸 気 圧 0.01 mmHg 以下 (モノグラフによる換算値)
- 21) 取り扱い上の注意 使用状況に応じてゴム手袋，保護眼鏡，有機ガス用マスクを着用した。換気を十分行い火気厳禁とした。
- 22) 被験物質保管および
残余被験物質の処理 投与終了後，約 2 gを安評センターに保管し，残りは製造元に返却した。

なお，実測した結果は『Reference data 1』に示した。

11. 試験材料および方法：

1) 供試動物

供試したラットCD (SD) 系は日本チャールス・リバー株式会社（神奈川県厚木市）から平成7年1月9日に4週齢で雌雄各40匹，計80匹を購入した。

動物を検収し試験環境に9日間馴化後，平成7年1月18日に6週齢で投与を開始した。動物はあらかじめ体重によって層別化し，無作為抽出法により各試験群を構成するように群分けした。余剰動物は炭酸ガスにより安楽死させた。

動物の耳介に群番号および群内番号を入墨すると共に個別別飼育ケージに動物標識番号 (Animal ID-No.) を付すことにより個体識別した。

投与開始時の体重は雄で 130～151 g，雌で 110～121 gであった。

2) 動物種および系統選択理由

感染性疾患に対する抵抗性，遺伝的安定性を考慮して選んだ。

3) 飼育管理

a. 飼育環境

動物はバリアシステムの 122号飼育室 (W 4.2×D 8.2×H 2.5 m, 86.1 m³) で飼育し，環境調節の目標値は温度23±2℃，相対湿度55±10%，換気回数1時間20回，照明150～300 lux 12時間（午前7時点灯，午後7時消灯）とした。

株式会社 東京技研サービス（東京都府中市）の水洗式飼育機 (W 674.2×D 48.0×H 175.5 cm) を使用し，アルミ製前面・床ステンレス網目飼育ケージ (W 20.0×D 28.2×H 18.0 cm, 飼育ケージ・スペース 10152 cm³) に動物を1匹ずつ収容し飼料と水を自由に摂取させた。

飼育ケージは隔週1回，給餌器は週1回取り換えた。

なお，動物の馴化期間を含め，投与および回復期間中，データの信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因の変化はなかった。

b. 飼 料

動物に与えた飼料はオリエンタル酵母工業株式会社（東京都中央区）製造の放射線滅菌改良NIH公開ラット，マウス飼料 (Modified NIH Open Formula Rat and Mouse Ration) を使用した。使用した飼料の夾雑物の分析を，オリエンタル酵母工業株式会社が財団法人 日本食品分析センター（東京都渋谷区）に依頼し実施した。その結果を『Reference data 2』に示した。

c. 給 水

動物には水道水を自動給水ノズルより自由に摂取させた。

水道法に基づく水道水の分析を財団法人 静岡県生活科学検査センター（静岡県浜松市）に依頼し実施した。その分析結果を『Reference data 3』に示した。

4) 試験群の構成

試験群の構成を下記に示した。

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

試験群	1		2		3		4	
用量 (mg/kg)	0*		100		300		1000	
性	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数	10	10	5	5	5	5	10	10
投与終了時	1001	2001	1101	2101	1201	2201	1301	2301
計画屠殺	∧	∧	∧	∧	∧	∧	∧	∧
動物番号	1005	2005	1105	2105	1205	2205	1305	2305
回復終了時	1006	2006					1306	2306
計画屠殺	∧	∧	-	-	-	-	∧	∧
動物番号	1010	2010					1310	2310

* コーンオイルのみ投与した。

[用量設定理由]

投与量設定のための 2 週間投与試験を 0, 200, 600 および 1800 mg/kg の 4 用量で実施した。その結果, 一般状態, 体重, 摂餌量, 血液学的検査, 血液生化学検査, 器官重量および病理学的検査において, 被験物質投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。従って, 28 日間反復投与毒性試験の最高用量は 1000 mg/kg とし, 以下公比 3 で除し, 中用量を 300 mg/kg, 低用量を 100 mg/kg に設定した。

5) 投与方法

投与経路は化審法ガイドライン「反復投与毒性」で指示されている強制経口投与とした。

投与容量は体重 100 g あたり 0.5 ml とし, 個体別に測定した体重に基づいて投与量を算出し, 1 日 1 回金属製胃ゾンデを用いて胃内に強制経口投与した。対照群にはコーンオイルのみを同様に投与した。

6) 投与液の調製

被験物質は各用量ごとに所定量を電子式上皿天秤で秤量しコーンオイル (Lot. No. V4P6454, ナカライテスク株式会社, 京都府京都市) に溶解した。調製は週に 1 回行い, 調製液は使用時まで冷暗所に保管した。

7) 投与期間

投与期間は28日間とし、投与終了後、0 および 1000 mg/kg 群については2週間の回復試験を実施した。

8) 投与液中の被験物質の均一性／濃度分析

投与液の均一性／濃度確認のため全試験群について、第1および第4週投与用調製液の濃度分析を行った。なお、投与液の安定性については、予備試験（試験番号2469）において調製後冷蔵庫保存で1週間安定であることが確認されている。

均一性／濃度分析の方法および結果は『Reference data 4』に示した。

12. 観察、測定および検査：

1) 一般状態の観察

全動物を毎日2回観察し、中毒症状の有無、行動異常、死期の迫った動物、死亡動物等を臨床観察所見記録シートに記録した。

2) 体 重

体重は投与開始から回復試験終了まで毎週1回測定した。

測定は自動天秤 PM 3000 (メトラー社, スイス) を用いて行い、フロッピー・ディスクに記録した。

3) 摂 餌 量

摂餌量は毎週1回給餌した残量を自動天秤 PM 3000 (メトラー社, スイス) を用いて測定し、フロッピー・ディスクに記録した。摂餌量 (g/week) および飼料効率 (%) はコンピュータを用いて算出した。

4) 臨床検査

臨床検査は投与終了時および回復試験終了時の計2回実施した。

採血に当り、動物は約16時間絶食させた。動物をエーテルで麻酔後、開腹し腹部大動脈から採血した。

なお、抗凝固剤はEDTA-3Kおよびクエン酸ソーダを用いた。

a. 血液学的検査

血液学的検査には初血を用いた。

検査は総合血液学検査装置 THMS H-1E (マイルス社, 米国) を用いて行い、下記の項目を測定した (EDTA-3K添加血液)。

白 血 球 数	(WBC)	暗視野板法
赤 血 球 数	(RBC)	暗視野板法
ヘモグロビン量	(HGB)	シアンメトヘモグロビン法
ヘマトクリット値	(HCT)	全赤血球の容積より補正
平均赤血球容積	(MCV)	RBC, HCTより算出
平均赤血球血色素量	(MCH)	HGB, RBCより算出
平均赤血球血色素濃度	(MCHC)	HGB, HCTより算出
血 小 板 数	(PLT)	暗視野板法
白血球百分率		フローサイトケミストリー法

白血球百分率は上述の機器で測定したが、別途血液塗抹標本を作製し、メイ・グリュンワルド・ギムザ染色して保管した。

網赤血球 (RC) 率算定のため抗凝固剤 (EDTA-3K) 添加血液をニューメチレンブルーで染色後、血液塗抹標本を作製し鏡検した。

下記の項目は血液凝固測定装置 KC-40 (アメルング社, 独国) を用いて測定した。血漿を用いた (クエン酸ソーダ添加血液)。

プロトロンビン時間	(PT)	guick 1 段法
活性化部分トロンボプラスチン時間	(APTT)	クロット法
フィブリノーゲン量	(Fibrinogen)	トロンビン時間法

b. 血液生化学検査

血液生化学検査は多項目生化学自動分析装置 Centrifichem ENCORE II (ベーカー社, 米国) および EKTACHEM 700N (コダック社, 米国) を用いて下記の項目を測定した。血液をクリーンシール (株式会社ヤトロン, 東京都千代田区) に採取し, 30分間放置後 3000 r. p. m. で7分間遠心分離して得た血清を用いた。

総蛋白	(TP)	ビュレット法
アルブミン	(Alb)	B. C. G. 法
A/G	(A/G)	計算値
血糖	(Glu)	グルコースオキシダーゼ法
中性脂肪	(TG)	酵素法
総コレステロール	(T-Chol)	酵素法
尿素窒素	(BUN)	ウレアーゼ改良法
クレアチニン*	(Crea)	アルカリ性ピクリン酸比色法
総ビリルン	(T. Bili)	ジアゾ色素法
カルシウム	(Ca)	アルセナゾ III 色素法
無機リン	(IP)	モリブデン酸アンモニウム法
ナトリウム	(Na)	電極法
カリウム	(K)	電極法
塩素	(Cl)	電極法
グルタミン酸オキザロ酢酸		
トランスアミナーゼ*	(GOT)	Karmen改良法
グルタミン酸ピルビン酸		
トランスアミナーゼ*	(GPT)	Karmen改良法
γ-グルタミルトランス		
ペプチダーゼ*	(γ-GTP)	Szasz 改法
アルカリホスファターゼ*	(ALP)	Bessey-Lowry-Brock改良法

*印の項目は ENCORE II で, 他は EKTACHEM で測定した。

c. 尿検査

代謝ケージを用いて24時間（午前10時から翌日午前10時まで）尿を採取した。なお、採尿中も給餌および給水は行った。下記の項目を検査した。

尿量
色調
濁度
尿比重
沈渣

尿比重は尿比重屈折計UR-S（株式会社アタゴ，東京都板橋区）を用いて測定した。沈渣は尿を 1500 r. p. m. で5分間遠心分離した後，染色（ステルンハイマー染色変法）し，鏡検した。

下記の項目の測定にはN-マルティスティックスSG（バイエル・三共株式会社，東京都中央区）を用い，判定は尿分析装置 CLINITEK 200（マイルス社，米国）を用いた。検査には排泄3時間以内の新鮮尿を用いた。

pH
潜血
ケトン体
糖
蛋白
ビリルビン
ウロビリノーゲン

5) 病理学的検査

病理解剖は投与終了時および回復試験終了時に動物をエーテル麻酔し，放血安楽死させ実施した。肉眼的異常を病理解剖所見記録シートに記録した。

器官重量は器官重量測定用自動天秤 PE 160（メトラー社，スイス）を用いて，脳，肝臓，腎臓，脾臓，副腎，精巣および卵巣について測定し，器官重量・体重比を算出した。

上記重量測定器官と下垂体，眼球，甲状腺（上皮小体を含む），心臓，肺，胃，膀胱，骨髄（大腿骨）および肉眼所見で変化が認められた器官・組織は10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。

病理組織学的検査は固定した器官・組織のうち，投与終了時に解剖した対照群と高用量群の心臓，肝臓，脾臓，腎臓，副腎および骨髄（大腿骨）について検索した。

なお，投与終了時の肉眼所見において，肺の有色斑／区域が投与群の雄で多く観察されたため，雄の群について組織標本を作製し病理組織学検査を行った。また，病理組織学検査の結果，雄の腎臓に対照群にみられなかった所見が，高用量群で観察された。

ため、その他の投与群および回復群についても病理組織学検査を実施した。

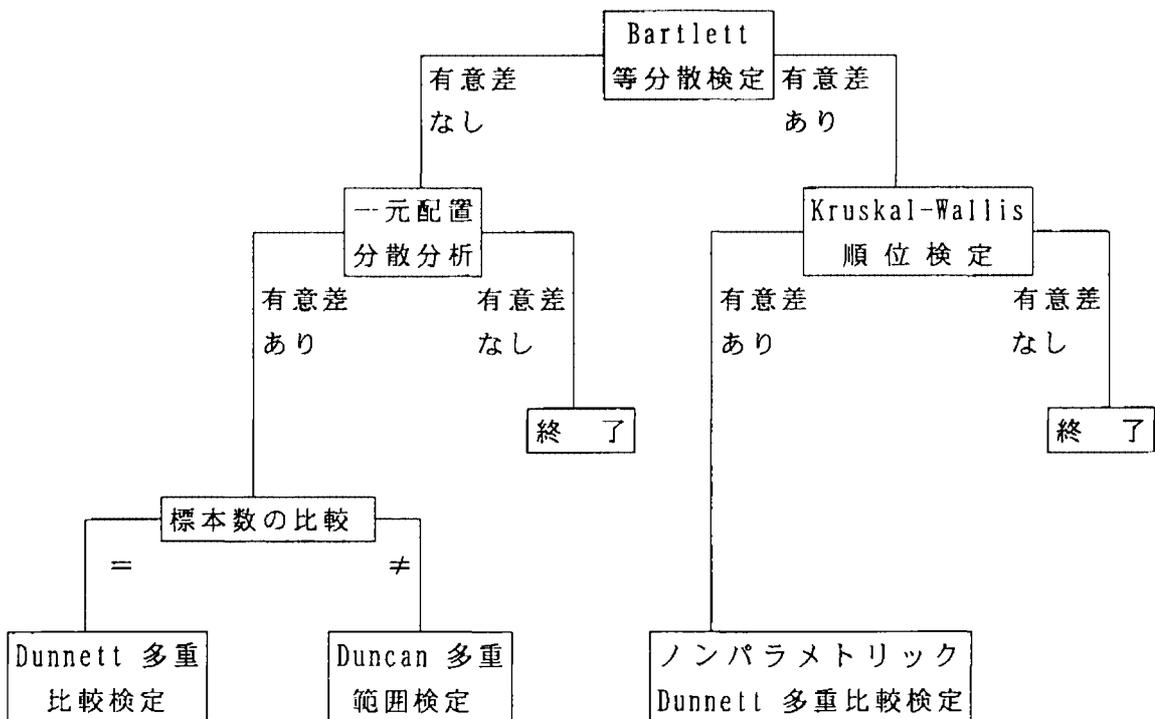
(株)組織科学研究所（東京都青梅市）で常法に従って病理組織標本を作製した。標本の染色はヘマトキシリン・エオジン染色とした。鏡検は安評センターで実施し、病変の種類および程度について記録した。

6) データの記録および統計解析

本試験の諸データはコンピュータ・システムを用いて記録し、統計解析した。

各試験群の体重、摂餌量、飼料効率、血液学的検査値、血液生化学検査値、尿検査値（尿量および尿比重のみ）、器官重量および器官重量・体重比は、下記に示した自動判別方式に従い、最初に Bartlett の等分散検定を実施した。等分散の場合は一元配置の分散分析を行い、分散が有意で各群の標本数が同数の場合は Dunnett の多重比較検定、各群の標本数が異なる場合は Duncan の多重範囲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 Kruskal-Wallis の順位検定を実施し、有意の場合はノンパラメトリックの Dunnett の多重比較検定で対照群と各投与群間の有意差を検定した。また、病理学的検査結果については Fisher の直接確率検定を実施した。

有意水準は 5 および 1 % の片側検定で実施した。



13. 試 験 結 果 :

1) 死 亡 率

生存率を Figure 1 に, 生存数および死亡率は Table 1 に示した.

投与期間中, 雌雄とも対照群を含むすべての試験群で死亡例は認められなかった.

また, 回復期間中, 雌雄とも対照群および 1000 mg/kg 群で死亡例は認められなかった.

2) 一般状態

一般状態の観察所見を Table 2 および Appendix 1 に示した.

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

3) 体 重

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

投与期間および回復期間を通じて, 雌雄とも対照群と被験物質投与群とで差が認められなかった.

4) 摂 餌 量

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

投与期間および回復期間を通じて, 雌雄とも対照群と被験物質投与群とで差が認められず, 0～4 週および 5～6 週の総摂餌量にも差は認められなかった.

5) 飼料効率

飼料効率を Table 5 および Appendix 4 に示した.

投与期間および回復期間を通じて, 雌雄とも対照群と被験物質投与群とで差が認められず, 0～4 週および 5～6 週の平均飼料効率にも差は認められなかった.

6) 血液学的検査

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

投与終了時の結果

雌雄とも検査したすべての項目について, 対照群と被験物質投与群とで差が認められなかった.

回復試験終了時の結果

雌の 1000 mg/kg 群で対照群に比較してヘモグロビン量が僅かに高値を示したが, 生理的変動の範囲内の値であった. その他の項目は雌雄とも対照群と差がなかった.

7) 血液凝固能検査

血液凝固能検査結果を Table 7 および Appendix 6 に示した。

投与終了時の結果

雄では、1000 mg/kg 群で対照群に比較してプロトロンビン時間が僅かに延長を示したが、生理的変動の範囲内の値であった。

雌では、対照群と被験物質投与群とで3項目とも差が認められなかった。

回復試験終了時の結果

雌雄の 1000 mg/kg 群は、プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間およびフィブリノーゲン量ともに対照群と差がなかった。

8) 血液生化学検査

血液生化学検査結果を Table 8 および Appendix 7 に示した。

投与終了時の結果

雄では、検査を行ったすべての項目について対照群と被験物質投与群とで差が認められなかった。

雌では、対照群に比較して 300 および 1000 mg/kg 群で塩素が低値を示した。

回復試験終了時の結果

雄の 1000 mg/kg 群で対照群に比較してカリウムの僅かな高値が、また、雌の 1000 mg/kg 群で対照群に比較して GOT の僅かな高値が認められたが、軽微な変化であり、投与終了時にはこれらの項目で変化が認められておらず意義のある変化ではなかった。その他の項目は雌雄とも対照群と差がなかった。

9) 尿検査

尿検査結果を Table 9 および Appendix 8 に示した。

投与終了時の結果

雌雄とも 1000 mg/kg 群で尿量の増加した動物が認められたが、平均尿量および雌雄とも 1000 mg/kg 群で尿比重は対照群と差が認められなかった。

回復試験終了時の結果

雌雄とも 1000 mg/kg 群はすべての検査項目で対照群との間に明確な差が認められなかった。

10) 器官重量

器官重量を Table 10 および Appendix 9 に示した。

投与終了時の結果

雌雄とも重量測定を行ったすべての器官について、対照群と被験物質投与群とで差は認められなかった。

回復試験終了時の結果

雌の 1000 mg/kg 群で対照群に比較して副腎重量が高値を示した。その他の器官は雌雄とも 1000 mg/kg 群と対照群とで差が認められなかった。

11) 器官重量・体重比

器官重量・体重比（相対重量）を Table 11 および Appendix 10 に示した。

投与終了時の結果

雌の 100 mg/kg 群で対照群に比較して肝臓相対重量が高値を示したが、用量相関性のない変化であった。

その他の器官は雌雄とも、対照群と被験物質投与群とで差が認められなかった。

回復試験終了時の結果

雄の 1000 mg/kg 群で腎臓相対重量の低値、雌の 1000 mg/kg 群で副腎相対重量の高値が認められた。

12) 病理学的検査

剖検所見を Table 12 および Appendix 11 に、組織学的所見は Table 13 および Appendix 12 に示した。

投与終了時に計画屠殺した動物は、対照群、100、300 および 1000 mg/kg 群のそれぞれ各群雌雄 5 例であった。また、回復試験終了時の屠殺動物は、対照群および 1000 mg/kg 群の各群雌雄 5 例であった。

a) 剖検所見

投与終了時計画屠殺動物

対照群に比較して被験物質投与群で多くみられた所見として、肺の有色斑／区域が雄で、100 mg/kg 群の1例、300 mg/kg 群の2例、1000 mg/kg 群の3例に観察された。その他、胸腺の赤色斑／区域が雌の300 mg/kg 群で、肝臓の白色斑／区域および子宮の内腔拡大が雌の100 mg/kg 群で、腎臓の嚢胞が雄の対照群と100 mg/kg 群で、腎臓の肥大および尿管の内腔拡大が雄の100 mg/kg 群で、上皮小体の肥大が雄の1000 mg/kg 群で、それぞれ1ないし2例に観察された。

回復試験終了時計画屠殺動物

対照群に比較して被験物質投与群で多くみられた所見は観察されなかった。子宮の内腔拡大が対照群で1例、1000 mg/kg 群で2例に観察された他、肺の黒色斑／区域が雄の対照群と1000 mg/kg 群で、有色斑／区域が雌の対照群で、それぞれ単発性に観察された。

b) 組織所見

投与終了時計画屠殺動物

対照群に比較して被験物質投与群に多い発生を示した所見として、腎臓の好酸性小体が雄の対照群、100 mg/kg 群、300 mg/kg 群および1000 mg/kg 群の順に、0、1、1および3例と投与群にやや多く観察された。

その他、発生率上、対照群、投与群間に差の示されなかった所見として、肺の出血および細胞浸潤、肝臓の肉芽巣およびリンパ球浸潤、腎臓の好塩基化、嚢腫、嚢胞、石灰沈着、管腔拡張およびリンパ球浸潤、副腎の空胞化などが観察された。

回復試験終了時計画屠殺動物

対照群に比較して被験物質投与群で多くみられた所見は観察されなかった。

その他、肺の出血および細胞浸潤、腎臓の好塩基化、石灰沈着、好酸性小体およびリンパ球浸潤などの投与終了時計画屠殺動物に観察された所見とほぼ同様の所見が、対照群ならびに投与群に観察された。

14. 考察および結論：

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

体重および摂餌量は、雌雄とも対照群と被験物質投与群で差がなく、被験物質投与の影響は認められなかった。また、体重および摂餌量に変化が認められないことから、飼料効率にも被験物質投与の影響は認められなかった。

血液学的検査の結果、雌雄とも被験物質投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。また、凝固能検査においても被験物質投与の影響を示唆する変化は認められなかった。

血液生化学検査の結果、雄では被験物質投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。雌では、対照群に比較して 300 および 1000 mg/kg 群で塩素の低値が認められたが、ナトリウムおよびカリウムに変化は認められず、塩素の変化自体も軽微であることから、毒性学的意義は乏しいと考えられる。

尿検査の結果、雌雄とも 1000 mg/kg 群で尿量の増加した動物が認められたが、その他の定性項目、沈渣には被験物質投与の影響を示唆する変化は認められなかった。

器官重量測定の結果、投与終了時の測定では雌雄とも被験物質投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。回復期間終了時の測定では、1000 mg/kg 群の雄で腎臓相対重量の低値、雌で副腎の実重量および相対重量の高値が認められたが、いずれも軽微な変化で、被験物質投与とそれに続く投与の終止に関連した変化とは考えられなかった（背景値、雄腎臓相対重量：0.73±0.06%，n=50，雌副腎実重量；66±7 mg，n=50，雌副腎相対重量：0.028±0.004%，n=50）。

病理学的検査の結果、対照群と比較して投与群に多くみられた所見として、肉眼所見では投与終了時計画屠殺動物において肺の有色斑／区域が、また、組織所見では腎臓に好酸性小体が、ともに雄にそれぞれ観察された。

肺の有色斑／区域については、直径 1～2 mm程度の褐色あるいは黒色調の小さな斑点が、単一あるいは少数個観察された。組織学的には限局性の出血、その周囲間質への炎症細胞浸潤などで説明される変化と考えられた。これらの組織変化は、雄の全群を通じて発生率ならびに程度に差はみられなかったことから、被験物質投与による変化ではなく、自然発生的な変化と考えられた。

また、腎臓の[外国では hyalin body の1種とされている¹⁾]好酸性小体については、d-Limoneneや無鉛ガソリンなどの化学物質の影響で雄の近位尿細管に顕著に観察されるといわれている²⁾。しかし、本所見は雄に自然発生性にも観察され、過去に当センターで実施した同系統、同週齢の背景値（8試験、雄45匹）によると22.2%（0～100

%)の発生率で観察されていること、雄の1000 mg/kg群に特に多く観察されたものの全例には観察されず、また全投与群を通じて明らかな用量相関もみられないこと、回復試験群の対照群にも観察されたことから、肺の肉眼所見同様、自然発生性病変が偶発的に投与群に多くみられたものと考えられた。

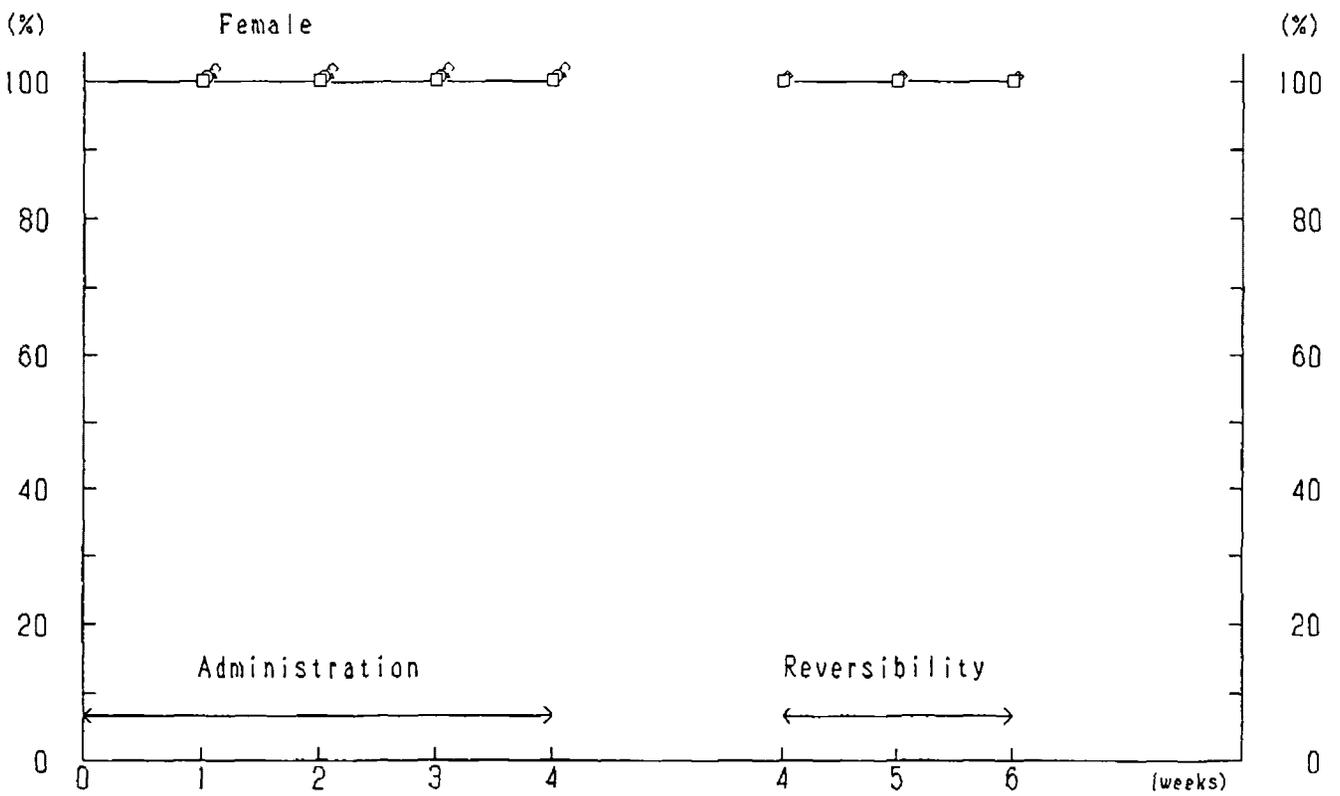
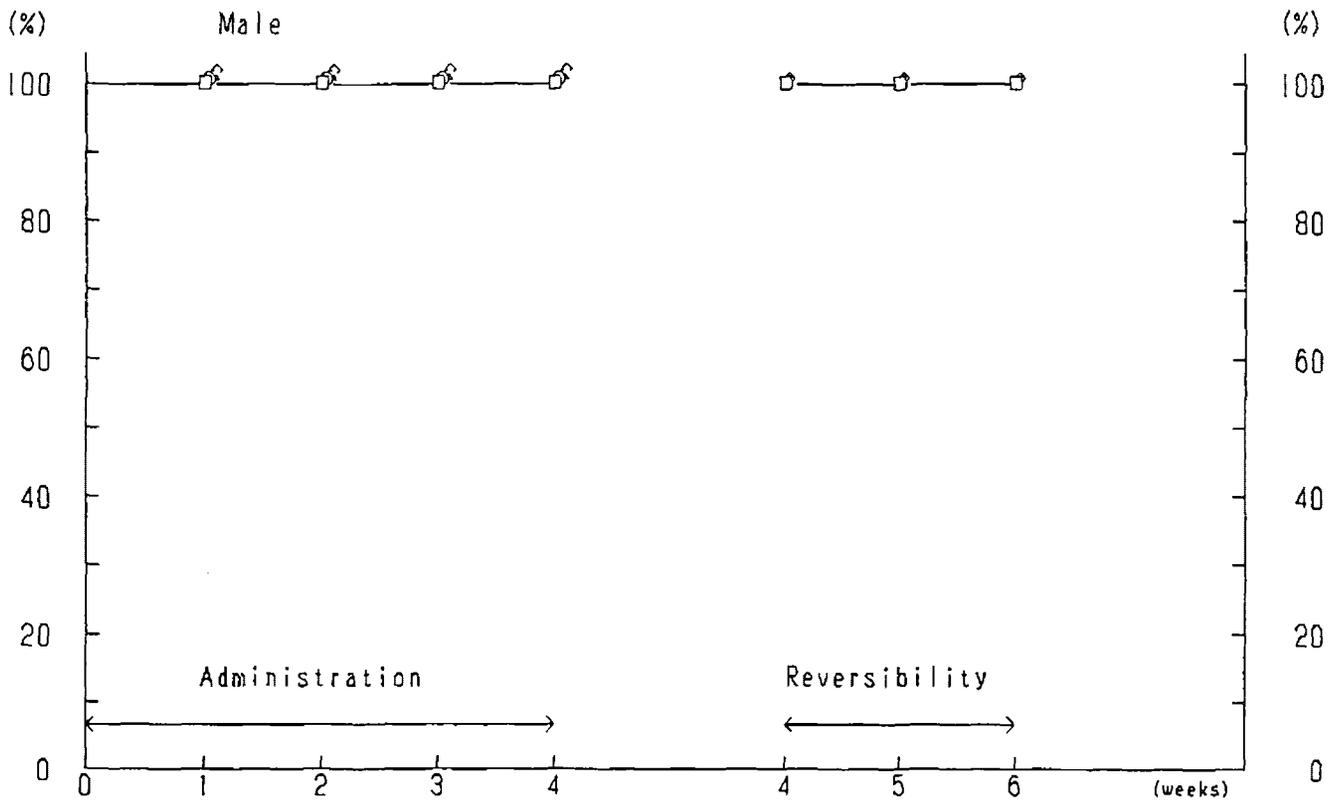
また、その他に観察された所見も発生率および程度に用量相関性は認められずすべて自然発生病変と考えられた。

以上のことから、本被験物質は、最大投与可能量の1000 mg/kg投与でも明確な被験物質投与の影響は示唆されず無影響量は雌雄とも1000 mg/kgと判断された。

15. 参考文献：

- 1) 渡辺満利, 1991, 泌尿器系, 毒性病理学, 前川昭彦, 林裕造編, p. 229, 地人書館, 東京.
- 2) Carl L. Alden and Charles H. Frith, 1991, Urinary System, Handbook of toxicologic pathology, Wanda M. Haschek and Colin G. Rousseauk, pp. 340-342, Academic Press, Inc., San Diego.

Figures, Tables



Exp. No. 2510(115-044)

Dose level (mg/kg)

- 0
- 100
- △— 300
- ◇— 1,000

Figure 1. Survival ratio

Table 1. Survival and mortality

Exp. No. 2510 (115-044)

Sex	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment				Mortality (%)
		1	2	3	4	
Male	0	10/10	10/10	10/10	10/10	0.0
	100	5/5	5/5	5/5	5/5	0.0
	300	5/5	5/5	5/5	5/5	0.0
	1,000	10/10	10/10	10/10	10/10	0.0
Female	0	10/10	10/10	10/10	10/10	0.0
	100	5/5	5/5	5/5	5/5	0.0
	300	5/5	5/5	5/5	5/5	0.0
	1,000	10/10	10/10	10/10	10/10	0.0

Number surviving / Number per group.

Table 1. -continued Survival and mortality

Exp. No. 2510 (115-044)

Sex	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment		Mortality (%)
		5	6	
Male	0	5/5	5/5	0.0
	1,000	5/5	5/5	0.0
Female	0	5/5	5/5	0.0
	1,000	5/5	5/5	0.0

Number surviving / Number per group.

Sex: Male

Signs	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment				Total (1 → 4)
		1	2	3	4	
normal/Number per group	0	10/10	10/10	10/10	10/10	10
	100	5/5	5/5	5/5	5/5	5
	300	5/5	5/5	5/5	5/5	5
	1,000	10/10	10/10	10/10	10/10	10
sacrificed	0	0	0	0	5	5
	100	0	0	0	5	5
	300	0	0	0	5	5
	1,000	0	0	0	5	5

Table 2. -continued Clinical observation

Exp. No. 2510 (115-044)

Sex: Male

Signs	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment		Total (5 → 6)
		5	6	
normal/Number per group	0	5/5	5/5	5
	1,000	5/5	5/5	5
sacrificed	0	0	5	5
	1,000	0	5	5

Sex: Female

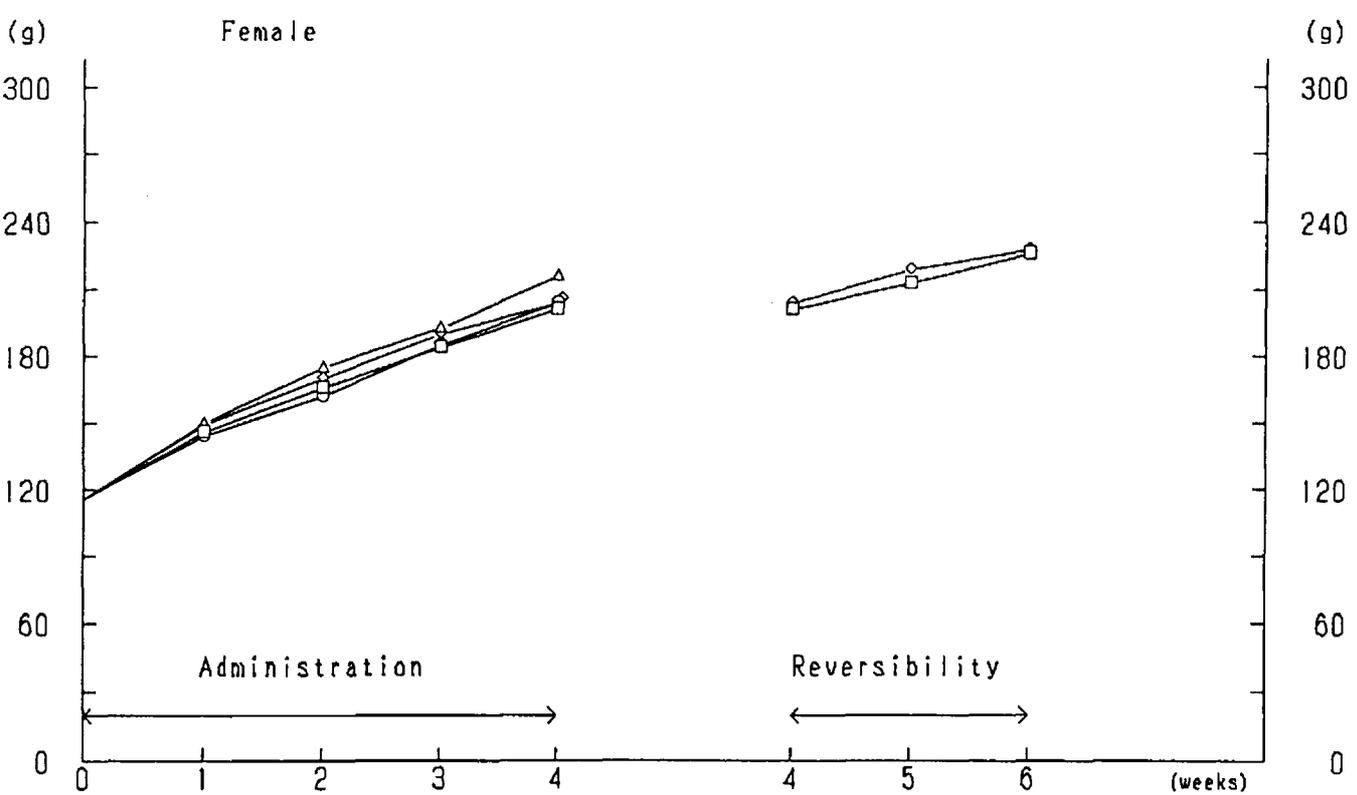
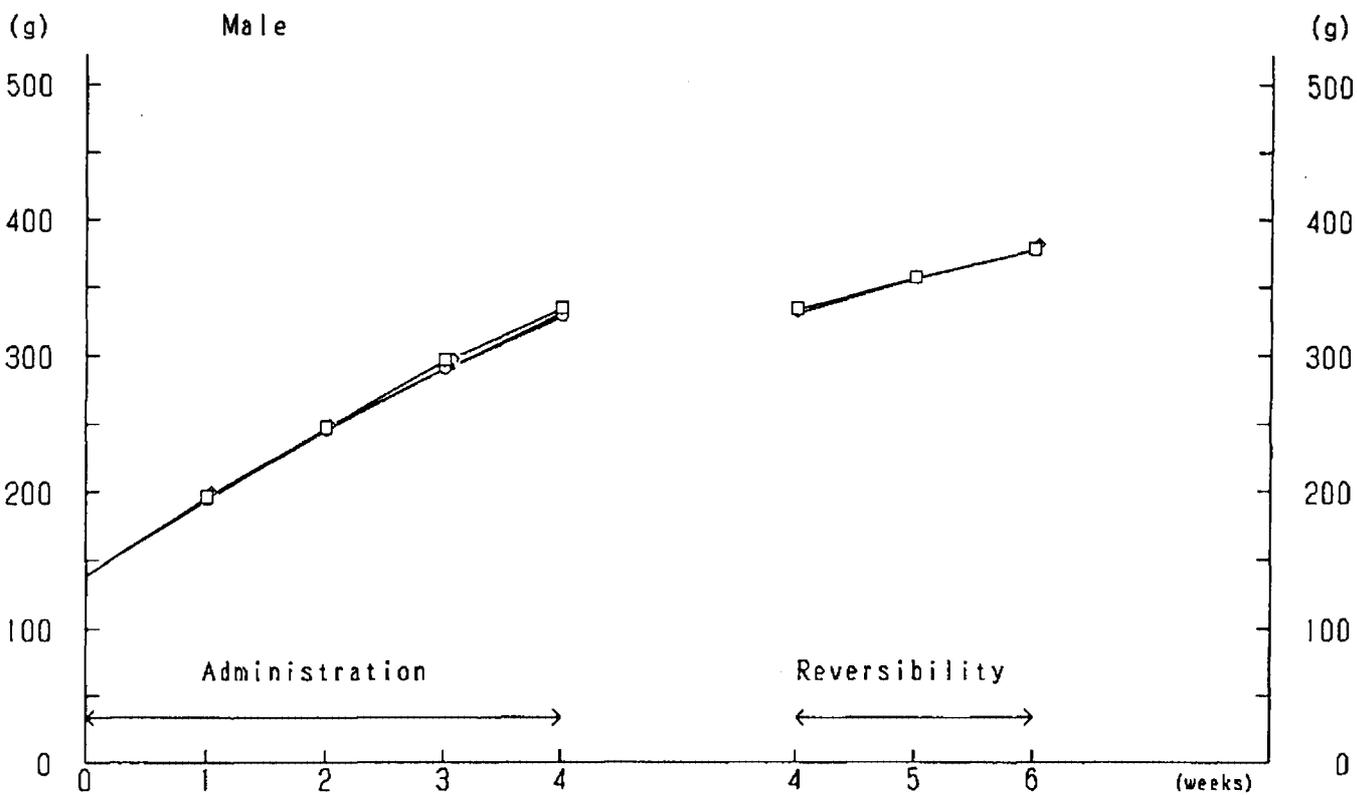
Signs	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment				Total (1 → 4)
		1	2	3	4	
normal/Number per group	0	10/10	10/10	10/10	10/10	10
	100	5/5	5/5	5/5	5/5	5
	300	5/5	5/5	5/5	5/5	5
	1,000	10/10	10/10	10/10	10/10	10
sacrificed	0	0	0	0	5	5
	100	0	0	0	5	5
	300	0	0	0	5	5
	1,000	0	0	0	5	5

Table 2. -continued Clinical observation

Exp. No. 2510 (115-044)

Sex: Female

Signs	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment		Total (5 → 6)
		5	6	
normal/Number per group	0	5/5	5/5	5
	1,000	5/5	5/5	5
sacrificed	0	0	5	5
	1,000	0	5	5



Exp. No. 2510(115-044)

Dose level (mg/kg)

- 0
- 100
- △— 300
- ◇— 1,000

Figure 2. Body weight

Table 3. Body weight

Exp. No. 2510 (115-044)

(unit : g)

Sex	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment				
		0	1	2	3	4
Male	0	139 ± 5	196 ± 7	247 ± 11	297 ± 18	334 ± 22
	100	139 ± 8	194 ± 11	245 ± 19	291 ± 23	329 ± 28
	300	139 ± 7	195 ± 8	246 ± 12	291 ± 16	328 ± 25
	1,000	139 ± 6	196 ± 11	245 ± 15	291 ± 23	331 ± 24
Female	0	116 ± 4	146 ± 10	166 ± 13	184 ± 16	201 ± 15
	100	116 ± 3	144 ± 9	162 ± 12	185 ± 20	204 ± 26
	300	116 ± 4	150 ± 8	175 ± 14	193 ± 15	216 ± 18
	1,000	116 ± 3	149 ± 10	170 ± 14	190 ± 17	204 ± 17

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

Table 3. -continued Body weight

Exp. No. 2510 (115-044)

(unit : g)

Sex	Dose level (mg/kg)	Gain (0 → 4)
Male	0	195 ± 22
	100	191 ± 23
	300	189 ± 26
	1,000	192 ± 21
Female	0	85 ± 13
	100	89 ± 24
	300	100 ± 15
	1,000	89 ± 16

Mean ± S. D.

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

Table 3. -continued Body weight

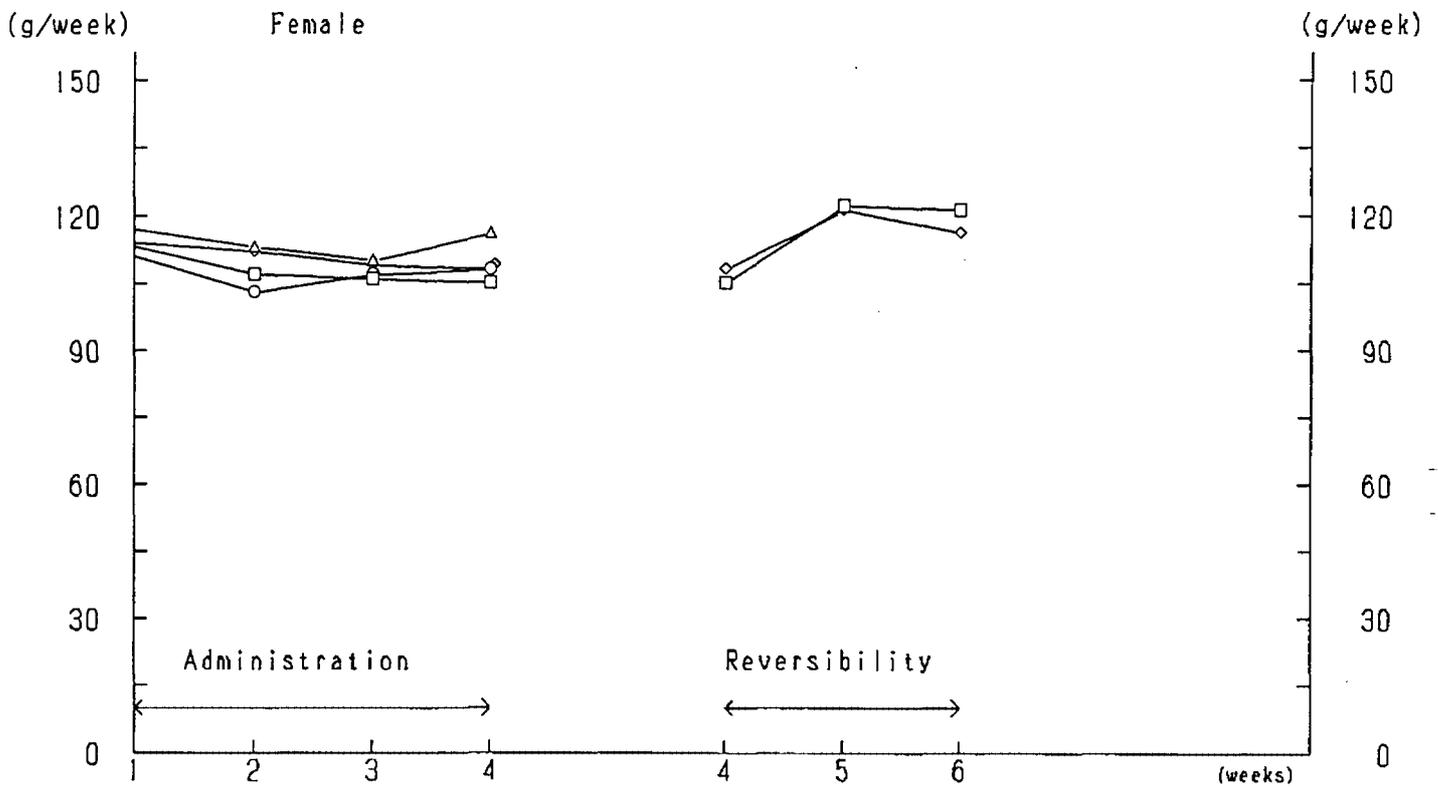
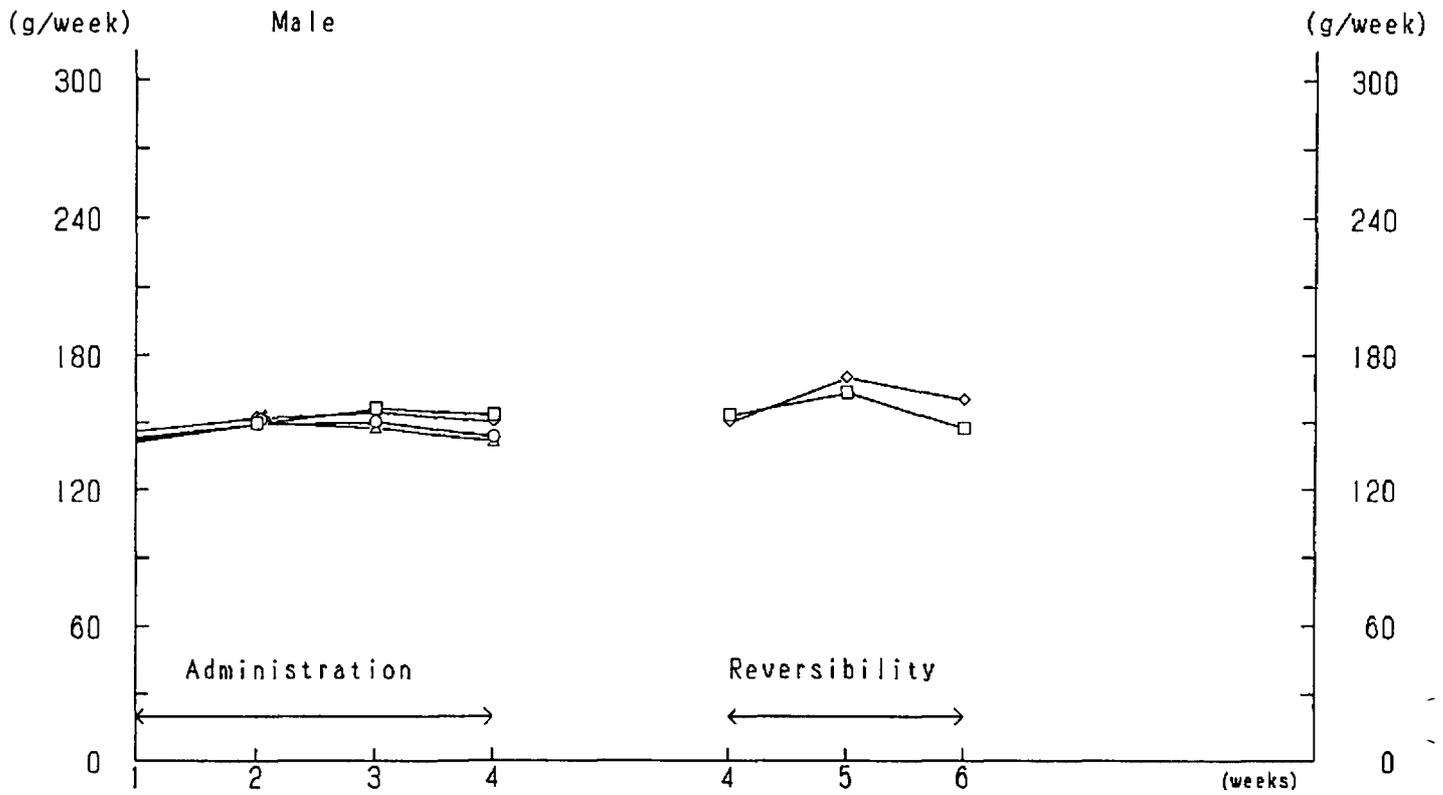
Exp. No. 2510 (115-044)

(unit : g)

Sex	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment		Gain (4 → 6)
		5	6	
Male	0	357 ± 26	378 ± 29	52 ± 9
	1,000	356 ± 38	378 ± 38	51 ± 12
Female	0	213 ± 14	226 ± 14	27 ± 7
	1,000	219 ± 24	228 ± 19	29 ± 9

Mean ± S. D.

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



Exp. No. 2510(115-044)

Dose level (mg/kg)

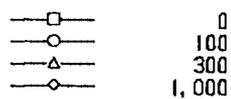


Figure 3. Food consumption

Table 4. Food consumption

Exp. No. 2510 (115-044)

(unit : g/week)

Sex	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment	1	2	3	4	Total (0 → 4)
Male	0	141 ± 11	149 ± 13	156 ± 14	153 ± 16	599 ± 48	
	100	143 ± 16	149 ± 15	150 ± 11	143 ± 12	585 ± 49	
	300	142 ± 12	149 ± 15	147 ± 12	141 ± 19	580 ± 51	
	1,000	146 ± 16	152 ± 14	154 ± 22	150 ± 17	601 ± 66	
Female	0	113 ± 13	107 ± 14N	106 ± 15	105 ± 13	430 ± 52	
	100	111 ± 4	103 ± 2	107 ± 9	108 ± 14	430 ± 27	
	300	117 ± 13	113 ± 15	110 ± 15	116 ± 16	456 ± 58	
	1,000	114 ± 13	112 ± 14	109 ± 11	108 ± 10	443 ± 46	

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

35

Table 4. -continued Food consumption

Exp. No. 2510 (115-044)

(unit : g/week)

Sex	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment 5	6	Total (5 → 6)
Male	0	163 ± 13	147 ± 13	310 ± 26
	1,000	170 ± 27	160 ± 19	331 ± 44
Female	0	122 ± 9	121 ± 6	243 ± 15
	1,000	121 ± 12	116 ± 7	237 ± 17

Mean ± S.D.

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

Table 5. Food efficiency

Exp. No. 2510 (115-044)

(unit : %)

Sex	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment 1	2	3	4	Mean (0 → 4)
Male	0	40.4 ± 2.4	34.2 ± 3.5	31.7 ± 3.4	24.4 ± 2.6	32.5 ± 2.2
	100	38.6 ± 2.4	34.4 ± 3.9	30.5 ± 4.1	26.9 ± 2.1	32.6 ± 2.0
	300	39.5 ± 2.3	34.4 ± 4.0	30.1 ± 4.2	26.0 ± 4.6	32.5 ± 3.2
	1,000	39.8 ± 3.8	31.8 ± 3.4	30.3 ± 3.8	26.5 ± 3.0	32.0 ± 2.0
Female	0	27.0 ± 4.9	18.4 ± 6.0	17.4 ± 4.0	16.1 ± 3.7	19.9 ± 2.2
	100	25.8 ± 5.4	16.8 ± 3.5	21.3 ± 9.3	17.4 ± 5.3	20.4 ± 4.4
	300	29.6 ± 3.9	21.4 ± 3.3	16.7 ± 5.6	20.1 ± 2.6	22.1 ± 2.1
	1,000	28.8 ± 6.5	18.9 ± 4.1	18.0 ± 3.3	13.3 ± 4.6	19.9 ± 2.4

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

37

Table 5. -continued Food efficiency

Exp. No. 2510 (115-044)

(unit : %)

Sex	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment		Mean (5 → 6)
		5	6	
Male	0	19.2 ± 2.7	14.2 ± 2.3	16.8 ± 2.1
	1,000	16.4 ± 3.0	13.9 ± 5.5	15.2 ± 2.8
Female	0	11.3 ± 5.5	11.3 ± 2.8	11.3 ± 3.6
	1,000	16.5 ± 6.0	8.1 ± 6.2	12.4 ± 3.7

Mean ± S. D.

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

Table 6. Hematology

Exp. No. 2510 (115-044)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	HCT (%)	HGB (g/dl)	RBC ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	MCV (μm^3)	MCH (pg)	MCHC (%)
Male	0	5	42.2 \pm 1.5	14.3 \pm 0.3	7.12 \pm 0.15	59.3 \pm 1.7	20.1 \pm 0.2	34.0 \pm 0.9
	100	5	41.5 \pm 1.6	14.0 \pm 0.3	7.06 \pm 0.12	58.8 \pm 1.6	19.9 \pm 0.3	33.8 \pm 0.6
	300	5	41.1 \pm 1.4	14.1 \pm 0.4	6.99 \pm 0.39	58.9 \pm 1.9	20.2 \pm 0.7	34.3 \pm 0.3
	1,000	5	42.3 \pm 1.5	14.4 \pm 0.4	7.24 \pm 0.29	58.5 \pm 1.0	19.9 \pm 0.4	34.1 \pm 0.6
Female	0	5	41.1 \pm 0.5	14.5 \pm 0.2	7.20 \pm 0.20	57.1 \pm 1.3N	20.1 \pm 0.6	35.3 \pm 0.3
	100	5	40.4 \pm 0.9	14.0 \pm 0.4	7.10 \pm 0.19	56.9 \pm 1.1	19.7 \pm 0.7	34.7 \pm 0.6
	300	5	40.6 \pm 1.2	14.3 \pm 0.5	7.11 \pm 0.33	57.2 \pm 1.0	20.1 \pm 0.4	35.2 \pm 0.4
	1,000	5	41.0 \pm 0.8	14.4 \pm 0.3	7.16 \pm 0.12	57.3 \pm 0.2	20.2 \pm 0.2	35.2 \pm 0.4

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

N: Non parametric analysis

Table 6. -continued Hematology

Exp. No. 2510 (115-044)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	PLT ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	WBC ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	Differential leukocyte counts (%)					
					NEUT	LYMPH	MONO	EOSN	BASO	LUC
Male	0	5	1082 \pm 122N	13.0 \pm 2.7	10 \pm 2N	86 \pm 2N	2 \pm 0	1 \pm 0	0 \pm 0	1 \pm 0
	100	5	1281 \pm 295	13.1 \pm 3.4	13 \pm 7	83 \pm 7	2 \pm 1	1 \pm 0	0 \pm 0	1 \pm 0
	300	5	1051 \pm 68	11.4 \pm 2.4	10 \pm 2	86 \pm 3	2 \pm 1	1 \pm 1	0 \pm 0	1 \pm 0
	1,000	5	1155 \pm 72	12.9 \pm 2.6	9 \pm 1	88 \pm 1	2 \pm 1	1 \pm 0	0 \pm 0	1 \pm 0
Female	0	5	1086 \pm 58	5.7 \pm 1.3	11 \pm 3	85 \pm 3	1 \pm 1	2 \pm 1	0 \pm 0	1 \pm 1
	100	5	1115 \pm 115	5.4 \pm 1.4	15 \pm 4	81 \pm 4	2 \pm 0	1 \pm 0	0 \pm 0	1 \pm 0
	300	5	1142 \pm 127	5.6 \pm 1.7	13 \pm 2	82 \pm 3	2 \pm 1	2 \pm 0	0 \pm 0	1 \pm 0
	1,000	5	1233 \pm 177	5.5 \pm 1.6	13 \pm 4	83 \pm 4	2 \pm 1	2 \pm 1	0 \pm 0	1 \pm 0

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

Table 6. -continued Hematology

Exp. No. 2510 (115-044)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Reticulocyte (%)
Male	0	5	23 ± 4
	100	5	25 ± 8
	300	5	27 ± 3
	1,000	5	26 ± 8
Female	0	5	13 ± 3
	100	5	20 ± 7
	300	5	20 ± 6
	1,000	5	20 ± 10

Mean ± S.D.

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

Table 6. -continued Hematology

Exp. No. 2510 (115-044)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	HCT (%)	HGB (g/dl)	RBC ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	MCV (μm^3)	MCH (pg)	MCHC (%)
Male	0	5	44.4 \pm 1.5	15.2 \pm 0.5	7.89 \pm 0.15N	56.4 \pm 1.5	19.3 \pm 0.6	34.2 \pm 0.7
	1,000	5	45.6 \pm 3.5	15.7 \pm 1.0	8.25 \pm 0.75	55.4 \pm 2.2	19.0 \pm 0.6	34.4 \pm 0.7
Female	0	5	40.6 \pm 1.0	14.5 \pm 0.2	7.39 \pm 0.21	55.0 \pm 0.4	19.7 \pm 0.7	35.7 \pm 1.2N
	1,000	5	42.0 \pm 1.4	15.1 \pm 0.4**	7.67 \pm 0.29	54.7 \pm 1.2	19.7 \pm 0.4	36.0 \pm 0.3

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

N: Non parametric analysis

Table 6. -continued Hematology

Exp. No. 2510 (115-044)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	PLT ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	WBC ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	Differential leukocyte counts (%)			EOSN	BASO	LUC
					NEUT	LYMPH	MONO			
Male	0	5	1011 ± 47N	13.4 ± 3.9	9 ± 2	87 ± 3	1 ± 1	1 ± 0	0 ± 0	1 ± 0
	1,000	5	981 ± 201	11.9 ± 2.1	11 ± 3	85 ± 3	2 ± 1	1 ± 0	0 ± 0	1 ± 0
Female	0	5	1046 ± 127	8.4 ± 2.3	11 ± 3	84 ± 3	2 ± 0	1 ± 0	0 ± 0	1 ± 0
	1,000	5	1105 ± 84	6.9 ± 1.1	14 ± 5	83 ± 6	2 ± 1	1 ± 0	0 ± 0	1 ± 0

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

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Reticulocyte (%)
Male	0	5	22 ± 6
	1,000	5	22 ± 4
Female	0	5	23 ± 5
	1,000	5	31 ± 9

Mean ± S. D.

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

Table 7. Coagulation

Exp. No. 2510 (115-044)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	PT (sec.)	APTT (sec.)	Fibrinogen (mg/dl)
Male	0	5	13.1 ± 0.2N	25.8 ± 1.2N	275 ± 9
	100	5	13.0 ± 0.3	25.7 ± 0.5	268 ± 15
	300	5	13.4 ± 0.3	26.5 ± 1.2	266 ± 14
	1,000	5	14.1 ± 1.2*	28.2 ± 3.2	255 ± 32
Female	0	5	14.3 ± 0.5	23.0 ± 1.2	189 ± 20
	100	5	13.6 ± 0.2	23.0 ± 1.2	202 ± 10
	300	5	13.9 ± 0.5	22.5 ± 0.5	196 ± 14
	1,000	5	13.9 ± 0.4	22.3 ± 1.4	191 ± 13

Mean ± S.D.

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

N: Non parametric analysis

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	PT (sec.)	APTT (sec.)	Fibrinogen (mg/dl)
Male	0	5	14.4 ± 0.7	26.8 ± 2.6	269 ± 21
	1,000	5	14.3 ± 1.5	26.1 ± 3.2	272 ± 13
Female	0	5	14.1 ± 0.1N	20.5 ± 1.9	223 ± 15
	1,000	5	14.0 ± 0.3	19.5 ± 2.1	226 ± 22

Mean ± S.D.

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

N: Non parametric analysis

Table 8. Blood chemistry

Exp. No. 2510 (115-044)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	BUN (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)	T.cholesterol (mg/dl)	T.protein (g/dl)	Albumin (g/dl)	A/G
Male	0	5	10.0 ± 1.6N	0.61 ± 0.05	50 ± 8N	5.43 ± 0.16	3.12 ± 0.05	1.35 ± 0.06
	100	5	12.7 ± 9.0	0.75 ± 0.08	63 ± 30	5.41 ± 0.17	3.07 ± 0.21	1.32 ± 0.14
	300	5	8.8 ± 1.0	0.66 ± 0.08	44 ± 3	5.44 ± 0.19	3.13 ± 0.10	1.36 ± 0.06
	1,000	5	10.3 ± 2.1	0.74 ± 0.10	40 ± 13	5.39 ± 0.26	3.13 ± 0.11	1.40 ± 0.13
Female	0	5	12.8 ± 2.3	0.55 ± 0.14	30 ± 16	5.44 ± 0.11	3.29 ± 0.07	1.54 ± 0.08
	100	5	11.3 ± 1.0	0.61 ± 0.05	40 ± 10	5.61 ± 0.22	3.45 ± 0.20	1.60 ± 0.09
	300	5	12.1 ± 1.0	0.58 ± 0.08	48 ± 12	5.54 ± 0.22	3.36 ± 0.14	1.55 ± 0.07
	1,000	5	15.4 ± 3.3	0.61 ± 0.10	39 ± 12	5.80 ± 0.29	3.59 ± 0.22	1.62 ± 0.12

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

47

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Glucose (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)	GOT (U/l)	GPT (U/l)	ALP (U/l)	Gamma-GTP (U/l)
Male	0	5	138 ± 15	65.0 ± 20.3	41 ± 9	12 ± 3	158 ± 27	1.0 ± 0.4
	100	5	151 ± 15	89.6 ± 30.9	53 ± 9	14 ± 2	146 ± 25	1.1 ± 0.8
	300	5	145 ± 7	63.2 ± 15.2	45 ± 3	11 ± 2	169 ± 34	0.6 ± 0.3
	1,000	5	137 ± 13	64.9 ± 47.8	47 ± 4	13 ± 2	184 ± 49	0.6 ± 0.5
Female	0	5	108 ± 8	33.8 ± 6.6	50 ± 10	11 ± 2	100 ± 22	0.7 ± 0.5
	100	5	121 ± 9	34.3 ± 3.7	55 ± 7	10 ± 2	90 ± 20	0.5 ± 0.3
	300	5	117 ± 10	39.1 ± 7.3	51 ± 8	11 ± 2	102 ± 49	0.7 ± 0.2
	1,000	5	108 ± 8	29.9 ± 3.2	61 ± 12	11 ± 1	102 ± 40	0.4 ± 0.2

Mean ± S. D.

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

Table 8. -continued Blood chemistry

Exp. No. 2510 (115-044)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	T. bilirubin (mg/dl)	Sodium (mmol/l)	Potassium (mmol/l)	Chloride (mmol/l)	Calcium (mg/dl)	I. phosphate (mg/dl)
Male	0	5	0.14 ± 0.03N	141.7 ± 0.9	4.75 ± 0.10	107.0 ± 1.4	10.13 ± 0.32	8.19 ± 0.48
	100	5	0.21 ± 0.22	142.6 ± 1.6	4.81 ± 0.21	107.1 ± 0.8	10.00 ± 0.28	8.43 ± 0.42
	300	5	0.12 ± 0.03	142.4 ± 1.1	4.66 ± 0.25	107.3 ± 1.7	9.84 ± 0.36	7.88 ± 0.65
	1,000	5	0.15 ± 0.02	142.7 ± 1.3	4.68 ± 0.12	107.5 ± 0.6	9.81 ± 0.35	8.48 ± 0.76
Female	0	5	0.16 ± 0.03	142.8 ± 0.7	4.45 ± 0.12	111.3 ± 1.5	9.61 ± 0.17	6.01 ± 0.76
	100	5	0.16 ± 0.03	142.3 ± 0.6	4.55 ± 0.17	110.3 ± 0.9	9.67 ± 0.09	6.23 ± 0.54
	300	5	0.17 ± 0.04	141.9 ± 1.0	4.55 ± 0.24	109.2 ± 1.8*	9.65 ± 0.07	6.29 ± 0.57
	1,000	5	0.19 ± 0.02	142.7 ± 1.4	4.66 ± 0.30	108.1 ± 0.5**	9.75 ± 0.24	6.41 ± 0.63

Mean ± S.D.

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

N: Non parametric analysis

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	BUN (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)	T. cholesterol (mg/dl)	T. protein (g/dl)	Albumin (g/dl)	A/G
Male	0	5	10.8 ± 1.1	0.69 ± 0.03	39 ± 9	5.59 ± 0.19	3.16 ± 0.10	1.30 ± 0.04
	1,000	5	12.2 ± 2.7	0.68 ± 0.07	51 ± 22	5.76 ± 0.26	3.25 ± 0.19	1.29 ± 0.07
Female	0	5	13.7 ± 0.6N	0.68 ± 0.11	49 ± 13	5.69 ± 0.17	3.38 ± 0.15	1.46 ± 0.07
	1,000	5	14.2 ± 2.2	0.80 ± 0.07	54 ± 12	5.88 ± 0.20	3.49 ± 0.14	1.46 ± 0.06

Mean ± S. D.

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

N: Non parametric analysis

Table 8. -continued Blood chemistry

Exp. No. 2510 (115-044)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Glucose (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)	GOT (U/l)	GPT (U/l)	ALP (U/l)	Gamma-GTP (U/l)
Male	0	5	145 ± 23	69.6 ± 28.7	42 ± 5	12 ± 2	118 ± 31	0.5 ± 0.1
	1,000	5	148 ± 10	75.6 ± 15.0	42 ± 4	13 ± 4	133 ± 22	0.7 ± 0.2
Female	0	5	125 ± 17	43.6 ± 6.2	52 ± 8	10 ± 1N	79 ± 15	0.8 ± 0.2
	1,000	5	126 ± 9	45.5 ± 9.6	62 ± 12	13 ± 4*	86 ± 34	0.7 ± 0.4

Mean ± S. D.

Significant difference from control group; *: P ≤ 0.05 ** : P ≤ 0.01

N: Non parametric analysis

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	T. bilirubin (mg/dl)	Sodium (mmol/l)	Potassium (mmol/l)	Chloride (mmol/l)	Calcium (mg/dl)	I. phosphate (mg/dl)
Male	0	5	0.10 ± 0.03	143.8 ± 0.5N	4.61 ± 0.18	108.3 ± 1.9	9.71 ± 0.25	7.46 ± 0.69
	1,000	5	0.13 ± 0.03	144.2 ± 2.1	4.91 ± 0.20*	105.6 ± 2.5	9.77 ± 0.34	7.37 ± 0.69
Female	0	5	0.19 ± 0.04	142.9 ± 0.8	4.58 ± 0.37	111.3 ± 1.4	9.58 ± 0.15	5.91 ± 0.63
	1,000	5	0.19 ± 0.04	143.0 ± 1.4	4.68 ± 0.20	110.8 ± 1.0	9.77 ± 0.22	6.30 ± 0.39

Mean ± S. D.

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

N: Non parametric analysis

Table 9. Urinalysis

Exp. No. 2510 (115-044)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Volume (ml)	Specific Gravity
Male	0	5	13 ± 3	1.059 ± 0.011
	100	5	20 ± 10	1.044 ± 0.018
	300	5	16 ± 5	1.038 ± 0.023
	1,000	5	23 ± 14	1.040 ± 0.025
Female	0	5	12 ± 3N	1.043 ± 0.008
	100	5	11 ± 5	1.042 ± 0.020
	300	5	11 ± 4	1.053 ± 0.017
	1,000	5	17 ± 13	1.049 ± 0.028

Mean ± S. D.

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

N: Non parametric analysis

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Color											Turbidity		pH										
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Clear	Muddy	5	5.5	6	6.5	7	7.5	8	8.5	≥9		
Male	0	5	5													5										
	100	5	5													5		1 1 1 3								
	300	5	5													5		1 1 3								
	1,000	5	1 4													5		2 1 2								
Female	0	5	5													5		1 1 1 2								
	100	5	5													5		1 1 1 1 1								
	300	5	5													5		2 1 2								
	1,000	5	1 4													5		2 2 1								

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

Table 9. -continued Urinalysis

Exp. No. 2510 (115-044)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Occult Blood					Ketones					Glucose (g/dl)					
			-	+/-	1+	2+	3+	-	+/-	1+	2+	3+	4+	-	0.1	0.25	0.5	≥1.0
Male	0	5	5					2	2	1								5
	100	5	4			1			3	2								5
	300	5	5					1	3	1								5
	1,000	5	4	1				1	2	2								5
Female	0	5	5					1	4									5
	100	5	5					2	2	1								5
	300	5	5					1	2	2								5
	1,000	5	5					2	1	2								5

Table 9. -continued Urinalysis

Exp. No. 2510 (115-044)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Protein (mg/dl)				Bilirubin				Urobilinogen (E. U. /dl)						
			-	+/-	30	100	≥300	-	1+	2+	3+	0.1	1.0	2.0	4.0	8.0	≥12
Male	0	5			1	1	3	3	2				1	4			
	100	5				3	2	5						5			
	300	5			4		1	4	1				3	2			
	1,000	5			1	2		2	4	1			3	2			
Female	0	5			1	3	1		5								5
	100	5			2			3		5			2	3			
	300	5			1	1		1	2	2	3		1	4			
	1,000	5			2		1	1	1	4	1		2	3			

Table 9. -continued Urinalysis : Microscopic examination of sediment

Exp. No. 2510 (115-044)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Erythrocytes			Leukocytes			Epith. Cells			Casts		Fat glob.		M. threads		others	
			-	1+	2+ 3+	-	1+	2+ 3+	-	1+	2+ 3+	-	+	-	+	-	+	-	+
Male	0	5	5			5			5			5			5			5	
	100	5	5			5			5			5			4	1		2	3
	300	5	5			5			5			5			3	2		2	3
	1,000	5	5			5			5			5			4	1		2	3
Female	0	5	4	1		5			5			5			5			5	
	100	5	4	1		5			5			5			5			2	3
	300	5	5			5			5			5			5			3	2
	1,000	5	5			5			5			5			5			3	2

others : Crystals

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Volume (ml)	Specific Gravity
Male	0	5	16 ± 4	1.033 ± 0.010
	1,000	5	20 ± 10	1.033 ± 0.021
Female	0	5	9 ± 4	1.068 ± 0.024N
	1,000	5	12 ± 4	1.037 ± 0.006

Mean ± S.D.

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

N: Non parametric analysis

Table 9. -continued Urinalysis

Exp. No. 2510 (115-044)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Color											Turbidity		pH								
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Clear	Muddy	5	5.5	6	6.5	7	7.5	8	8.5	≥9
Male	0	5	5											5										
	1,000	5	5											5		2 1 2 1 1 3								
Female	0	5	4 1											5		2 1 1 1								
	1,000	5	5											5		1 2 1 1								

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

Table 9. -continued Urinalysis

Exp. No. 2510 (115-044)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Occult Blood					Ketones					Glucose (g/dl)					
			-	+/-	1+	2+	3+	-	+/-	1+	2+	3+	4+	-	0.1	0.25	0.5	≥1.0
Male	0	5	5					2	3									5
	1,000	5	5					3	2									5
Female	0	5	5					1	1	3								5
	1,000	5	3	2				2	3									5

Table 9. -continued Urinalysis

Exp. No. 2510 (115-044)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Protein (mg/dl)				Bilirubin				Urobilinogen (E. U. /dl)						
			-	+/-	30	100	≥300	-	1+	2+	3+	0.1	1.0	2.0	4.0	8.0	≥12
Male	0	5			5				5				3	2			
	1,000	5			3	1	1		4	1			2	3			
Female	0	5		1	1	3			1	4				5			
	1,000	5	1	2	2				4	1			2	3			

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Erythrocytes			Leukocytes			Epith. Cells			Casts		Fat glob.		M. threads		others	
			-	1+	2+	3+	-	1+	2+	3+	-	1+	2+	3+	-	+	-	+	-
Male	0	5	5			5			5			5			5			4	1
	1,000	5	5			5			5			5			5			1	4
Female	0	5	4	1		5			5			5			5			1	4
	1,000	5	5			5			5			5			5			2	3

others : Crystals

Table 10. Organ weight

Exp. No. 2510 (115-044)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Body weight (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidneys (g)	Spleen (g)
Male	0	5	343 ± 22	2.00 ± 0.04	11.03 ± 0.48	3.02 ± 0.72N	0.60 ± 0.06
	100	5	329 ± 28	2.06 ± 0.06	11.37 ± 0.96	4.24 ± 4.02	0.59 ± 0.09
	300	5	328 ± 25	2.08 ± 0.06	10.62 ± 0.75	2.45 ± 0.15	0.55 ± 0.06
	1,000	5	334 ± 18	2.07 ± 0.09	11.24 ± 1.66	2.52 ± 0.17	0.59 ± 0.06
Female	0	5	202 ± 14	1.87 ± 0.06	5.65 ± 0.78	1.62 ± 0.13	0.39 ± 0.08
	100	5	204 ± 26	1.87 ± 0.06	6.51 ± 0.74	1.65 ± 0.09	0.37 ± 0.09
	300	5	216 ± 18	1.91 ± 0.10	6.51 ± 0.66	1.66 ± 0.14	0.40 ± 0.08
	1,000	5	209 ± 15	1.94 ± 0.10	6.27 ± 0.52	1.65 ± 0.22	0.37 ± 0.06

Mean ± S.D.

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

N: Non parametric analysis

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Adrenals (mg)	Testes (g)	Ovaries (mg)
Male	0	5	47 ± 7	2.79 ± 0.12	
	100	5	45 ± 5	2.82 ± 0.28	
	300	5	45 ± 9	2.90 ± 0.25	
	1,000	5	47 ± 9	2.75 ± 0.11	
Female	0	5	59 ± 13		85 ± 20
	100	5	58 ± 5		95 ± 16
	300	5	63 ± 4		87 ± 14
	1,000	5	60 ± 12		77 ± 16

Mean ± S. D.

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

Table 10. -continued Organ weight

Exp. No. 2510 (115-044)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Body weight (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidneys (g)	Spleen (g)
Male	0	5	378 ± 29	2.16 ± 0.11	10.62 ± 0.95	2.84 ± 0.43	0.63 ± 0.06
	1,000	5	378 ± 38	2.10 ± 0.07	11.17 ± 1.67	2.54 ± 0.29	0.63 ± 0.07
Female	0	5	226 ± 14	1.95 ± 0.07	6.03 ± 0.35	1.65 ± 0.16	0.42 ± 0.06
	1,000	5	228 ± 19	1.96 ± 0.11	6.20 ± 0.72	1.71 ± 0.25	0.43 ± 0.07

Mean ± S.D.

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

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Adrenals (mg)	Testes (g)	Ovaries (mg)
Male	0	5	48 ± 6	3.00 ± 0.17	
	1,000	5	46 ± 9	3.10 ± 0.25	
Female	0	5	58 ± 5		75 ± 7
	1,000	5	70 ± 8*		91 ± 23

Mean ± S. D.

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

Table 11. Organ weight per body weight

Exp. No. 2510 (115-044)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Body weight (g)	Brain (%)	Liver (%)	Kidneys (%)	Spleen (%)
Male	0	5	343 ± 22	0.585 ± 0.030	3.224 ± 0.136	0.891 ± 0.260N	0.176 ± 0.019
	100	5	329 ± 28	0.628 ± 0.047	3.471 ± 0.447	1.358 ± 1.426	0.183 ± 0.044
	300	5	328 ± 25	0.637 ± 0.043	3.247 ± 0.153	0.752 ± 0.084	0.170 ± 0.025
	1,000	5	334 ± 18	0.620 ± 0.037	3.356 ± 0.349	0.757 ± 0.093	0.175 ± 0.014
Female	0	5	202 ± 14	0.926 ± 0.077	2.781 ± 0.194	0.802 ± 0.031	0.192 ± 0.031
	100	5	204 ± 26	0.924 ± 0.096	3.191 ± 0.072**	0.812 ± 0.067	0.178 ± 0.019
	300	5	216 ± 18	0.886 ± 0.067	3.013 ± 0.193	0.770 ± 0.052	0.184 ± 0.028
	1,000	5	209 ± 15	0.931 ± 0.094	2.995 ± 0.175	0.789 ± 0.080	0.178 ± 0.024

Mean ± S. D.

Significant difference from control group;

N: Non parametric analysis

*: P ≤ 0.05

**: P ≤ 0.01

Table 11. -continued Organ weight per body weight

Exp. No. 2510 (115-044)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Adrenals (%)	Testes (%)	Ovaries (%)
Male	0	5	0.014 ± 0.002	0.816 ± 0.069N	
	100	5	0.014 ± 0.001	0.862 ± 0.112	
	300	5	0.014 ± 0.003	0.885 ± 0.028	
	1,000	5	0.014 ± 0.002	0.825 ± 0.031	
Female	0	5	0.029 ± 0.005		0.042 ± 0.007
	100	5	0.029 ± 0.003		0.046 ± 0.005
	300	5	0.029 ± 0.003		0.040 ± 0.005
	1,000	5	0.029 ± 0.004		0.037 ± 0.007

Mean ± S. D.

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

N: Non parametric analysis

Table 11. -continued Organ weight per body weight

Exp. No. 2510 (115-044)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Body weight (g)	Brain (%)	Liver (%)	Kidneys (%)	Spleen (%)
Male	0	5	378 ± 29	0.574 ± 0.037	2.812 ± 0.177	0.749 ± 0.063	0.166 ± 0.016
	1,000	5	378 ± 38	0.560 ± 0.053	2.943 ± 0.207	0.671 ± 0.032*	0.168 ± 0.023
Female	0	5	226 ± 14	0.862 ± 0.062	2.663 ± 0.066	0.728 ± 0.060	0.187 ± 0.026
	1,000	5	228 ± 19	0.861 ± 0.046	2.711 ± 0.128	0.747 ± 0.059	0.188 ± 0.016

Mean ± S. D.

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

Table 11. -continued Organ weight per body weight

Exp. No. 2510 (115-044)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Adrenals (%)	Testes (%)	Ovaries (%)
Male	0	5	0.013 ± 0.001	0.796 ± 0.068	
	1,000	5	0.012 ± 0.002	0.823 ± 0.071	
Female	0	5	0.026 ± 0.003		0.033 ± 0.003
	1,000	5	0.031 ± 0.002**		0.039 ± 0.007

Mean ± S.D.

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

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

Exp. No. 2510 (115-044)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)	0	100	300	1,000
No. of animals necropsied	5	5	5	5
Organ Findings				
RESPIRATORY SYSTEM				
lung colored patch/zone	0	1	2	3
URINARY SYSTEM				
kidney cyst	1	1	0	0
kidney enlarged	0	1	0	0
ureter dilated lumen	0	1	0	0
ENDOCRINE SYSTEM				
parathyroid gland hypertrophic	0	0	0	1

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

Exp. No. 2510 (115-044)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0	100	300	1,000
No. of animals necropsied	5	5	5	5
Organ_____ Findings_____				
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
thymus red patch/zone	0	0	1	0
DIGESTIVE SYSTEM				
liver white patch/zone	0	1	0	0
REPRODUCTIVE SYSTEM				
uterus dilated lumen	0	1	0	0

Table 12. -continued Summary of gross findings (sacrificed at 6 week)

Exp. No. 2510 (115-044)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)	0	100	300	1,000
No. of animals necropsied	5	0	0	5
Organ _____ Findings _____				
RESPIRATORY SYSTEM				
lung black patch/zone	1	-	-	1

Table 12. -continued Summary of gross findings (sacrificed at 6 week)

Exp. No. 2510 (115-044)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0	100	300	1,000
No. of animals necropsied	5	0	0	5
Organ_____ Findings_____				
RESPIRATORY SYSTEM				
lung colored patch/zone	1	-	-	0
REPRODUCTIVE SYSTEM				
uterus dilated lumen	1	-	-	2

Table 13. Summary of histological findings (sacrificed at 4 week)

Exp. No. 2510 (115-044)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)	0			100			300			1,000		
No. of animals sacrificed at 4 week	5			5			5			5		
No. of animals necropsied	5			5			5			5		
No. of animals examined histologically	5			5			5			5		
Organ	Findings			1 2 3			1 2 3			1 2 3		
RESPIRATORY SYSTEM												
lung	(5)			(5)			(5)			(5)		
hemorrhage	3	0	0	3	0	0	3	0	0	4	0	0
accumulation of foamy cells	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
infiltration/cellular	3	0	0	1	0	0	4	0	0	4	0	0
fibrosis	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
DIGESTIVE SYSTEM												
liver	(5)			(0)			(0)			(5)		
bile duct dilatation	0	1	0	-	-	-	-	-	-	0	0	0
necrosis, focal	1	0	0	-	-	-	-	-	-	0	0	0
granulation	3	0	0	-	-	-	-	-	-	4	0	0
infiltration/cellular	1	0	0	-	-	-	-	-	-	0	0	0
lymphocytic infiltration	2	0	0	-	-	-	-	-	-	2	0	0
bile duct hyperplasia	0	1	0	-	-	-	-	-	-	0	0	0
extramedullary hematopoiesis	1	0	0	-	-	-	-	-	-	0	0	0
URINARY SYSTEM												
kidney	(5)			(5)			(5)			(5)		
basophilic change	3	1	0	4	0	0	4	0	0	3	0	0
cyst	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
deposit of calcium	1	0	0	1	0	0	0	0	0	2	0	0
eosinophilic body	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	3	0
protein cast	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
tubular dilatation	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
lymphocytic infiltration	5	0	0	4	0	0	2	0	0	2	0	0
scarring	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
ENDOCRINE SYSTEM												
adrenal gland	(5)			(0)			(0)			(5)		
vacuolic change	3	0	0	-	-	-	-	-	-	4	0	0

1: slight 2: moderate 3: marked

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

-: Not applicable.

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0			100			300			1,000		
No. of animals sacrificed at 4 week	5			5			5			5		
No. of animals necropsied	5			5			5			5		
No. of animals examined histologically	5			0			0			5		
Organ Findings	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
DIGESTIVE SYSTEM												
liver	(5)			(0)			(0)			(5)		
granulation	4	0	0	-	-	-	-	-	-	5	0	0
lymphocytic infiltration	2	0	0	-	-	-	-	-	-	0	0	0
URINARY SYSTEM												
kidney	(5)			(0)			(0)			(5)		
basophilic change	4	0	0	-	-	-	-	-	-	2	0	0
deposit of calcium	1	0	0	-	-	-	-	-	-	1	0	0
deposit of pigment	1	0	0	-	-	-	-	-	-	0	0	0
lymphocytic infiltration	2	0	0	-	-	-	-	-	-	0	0	0

1: slight 2: moderate 3: marked

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

-: Not applicable.

Table 13. -continued Summary of histological findings (sacrificed at 6 week)

Exp. No. 2510 (115-044)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)	0			100			300			1,000		
No. of animals sacrificed at 6 week	5			0			0			5		
No. of animals necropsied	5			0			0			5		
No. of animals examined histologically	5			0			0			5		
Organ	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
RESPIRATORY SYSTEM												
lung	(5)									(5)		
hemorrhage	2	0	0	-	-	-	-	-	-	1	0	0
infiltration/cellular	1	0	0	-	-	-	-	-	-	1	0	0
interstitial pneumonia	1	0	0	-	-	-	-	-	-	0	0	0
URINARY SYSTEM												
kidney	(5)									(5)		
basophilic change	5	0	0	-	-	-	-	-	-	3	0	0
deposit of calcium	2	0	0	-	-	-	-	-	-	0	0	0
eosinophilic body	1	0	0	-	-	-	-	-	-	1	1	0
lymphocytic infiltration	2	0	0	-	-	-	-	-	-	2	0	0
scarring	1	0	0	-	-	-	-	-	-	0	0	0

1: slight 2: moderate 3: marked

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

-: Not applicable.