

食薬セ研第10-1632号

2000年 8月25日

(メタクリロイルオキシエチル)
トリメチルアンモニウム＝クロリドの
ラットを用いる28日間反復経口投与毒性試験
(回復14日間)

厚生省生活衛生局 委託

財団法人食品薬品安全センター

秦野研究所

【目 次】

	頁
要 約	1
緒 言	2
方 法	3
1. 被験物質	3
2. 使用動物および飼育方法	3
3. 投与検体の調製	4
4. 群および群分け	4
5. 投与方法	5
6. 検査項目	5
7. データ解析法	8
結 果	9
1. 試験の経過	9
2. 死亡例	9
3. 一般状態	9
4. 体重	9
5. 摂餌量	9
6. 尿検査所見	9
7. 血液学検査所見	10
8. 生化学検査所見	10
9. 病理学検査所見	10
考 察	11
Figures 1~2	12
Tables 1~8	15

【要 約】

(メタクリロイルオキシエチル)トリメチルアンモニウム＝クロリドの28日間反復経口投与毒性試験(回復14日間)を雌雄の Sprague-Dawley 系ラットを用いて実施した。雌雄とも4群構成とし、1群には媒体である注射用水を、他の3群には被験物質を、それぞれ50、150 および 500 mg/kg の用量で28日間にわたり強制経口投与した。雌雄とも回復試験に用いる動物を含む対照群および 500 mg/kg 投与群は各10匹、その他の群は各5匹とした。

その結果、500 mg/kg 投与群では、雌雄とも投与第5日の体重が低値を示す傾向にあり、雄では投与第8日の摂餌量が対照群と比較して有意な低値を示したが、この他の体重および摂餌量には、雌雄いずれの被験物質投与群とも対照群と比較して有意な差は認められなかった。

その他、一般状態に変化はみられず、尿検査、血液学検査、生化学検査および器官重量を含む病理学検査では、いずれも被験物質投与に起因したと考えられる変化は認められなかった。

以上のように、(メタクリロイルオキシエチル)トリメチルアンモニウム＝クロリドを500 mg/kg の用量で反復投与することにより、雌雄とも投与初期にごくわずかな体重増加抑制がみられたものの生体の機能および形態の変化は認められなかった。これらのことから、本試験条件下における(メタクリロイルオキシエチル)トリメチルアンモニウム＝クロリドの無影響量は雌雄とも500 mg/kg であると考えられる。

【緒 言】

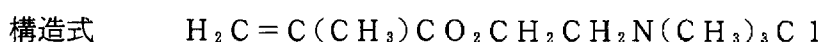
OECD 既存化学物質安全性点検等に係る毒性調査の一環として、(メタクリロイルオキシエチル)トリメチルアンモニウム=クロリドの安全性確認の資料を得るために、ラットにおける28日間反復経口投与毒性試験および14日間回復試験を実施した。

なお、本試験は、「化審法毒性試験法、スクリーニング毒性試験—ほ乳類を用いる28日間の反復投与毒性試験—」(昭和61年12月5日、環保業第700号、薬発第1039号、61基局第1014号)および「化学物質GLP」(昭和59年3月31日、環保業第39号、薬発第229号、59基局第85号、昭和63年11月18日改正、環企研第233号、衛生第38号、63基局第823号)に準拠して実施した。

【方 法】

1. 被験物質

被験物質として、(メタクリロイルオキシエチル)トリメチルアンモニウム＝クロリド(以下 META と略記)を用いた。被験物質は、別名をメタクリル酸ジメチルアミノエチルメチルクロライド塩と称し、英名は [2-(methacryloyloxy)ethyl]trimethylammonium chloride であり、CAS No. 5039-78-1、分子量 207.75、分子式 $C_9H_{13}ClNO_2$ 、融点(凝固点) $-10^{\circ}C$ の無色透明の液体である。META の構造式を以下に示す。



本試験には、より提供された META を 78.1 wt%含有する水溶液(ロット番号:)を用いた。提供された水溶液は、安定剤として4-メトキシフェノールを 1962 ppm 含有していた。受領した物質は、使用時まで被験物質保管室において、密閉、冷蔵、遮光下で保管した。

2. 使用動物および飼育方法

生後4週で購入した雌雄の Sprague-Dawley 系ラット [Crj:CD(SD)IGS、SPF、日本チャールス・リバー株式会社、筑波飼育センター](注1)を検疫と馴化を兼ねて8日間にわたり予備飼育した後、一般状態に異常の認められなかった雌雄各30匹を試験に供した(注2)。動物は、全飼育期間を通じて、基準温度 $24 \pm 1^{\circ}C$ 、基準湿度 50~65%、換気回数約15回/時、照明12時間(7~19時点灯)に設定された飼育室内で、金属製金網床ケージ(220w×270d×190h mm)に1匹ずつ収容し、固型飼料(CE-2、日本クレア株式会社)および水道水(秦野市水道局給水)を自由摂取させて飼育した。なお、飼育期間中、飼育室の温湿度の実測値は、空調機の定期的管理作業あるいは湿式清掃のために最長約1

(注1)

動物購入日:1999年2月10日

入荷匹数:雄34匹 雌34匹

入荷時体重:雄79.5~94.2g(平均86.9g) 雌73.7~88.3g(平均81.4g)

(注2)

投与開始日:1999年2月18日

投与開始時体重:雄152.2~175.8g(平均165.3g) 雌128.6~151.4g(平均140.8g)

時間45分にわたり湿度が基準値を外れた以外いずれも基準値内にあった（注3）。また、供給した飼料および水には、試験に支障を来す可能性のある混入物はなかった。

各動物の耳介には、耳パンチを用いて一連の動物番号を標識し、また、群ごとに色の異なる動物カードに試験計画番号、性別、群（投与量）、動物番号を記入して飼育ケージに掛け、個体識別の補助とした。

3. 投与検体の調製

投与検体は、供給物質を局方注射用水（英名：Water for injection、製造番号：9707SA、光製薬株式会社）で希釈して被験物質濃度として 10 w/v% 溶液を調製し、これを注射用水により各濃度に段階希釈した。

なお、秦野研究所にて、初回に調製した各濃度の投与検体の含量測定を実施した結果、溶液中の被験物質の平均含量は、所定濃度の 97.0~101% であった（Appendix A）。また、動物試験に先立って、安定性試験を実施した結果、被験物質の 1 および 20 w/v% 溶液は、調製後、冷蔵、遮光条件下で 8 日間は安定であることが確認された（Appendix B）ため、投与検体は 1 週に 1 回の割合で調製し、使用時まで冷蔵、遮光条件下で保管した。なお、本投与検体は溶液であることから、均一性試験は実施しなかった。調製検体中の被験物質の濃度は、高速液体クロマトグラフ（HPLC）法により測定した（Appendix C）。

4. 群および群分け

本試験の投与量は、投与量設定のための予備試験（試験計画番号：C-98-014、投与開始：1998年11月24日、投与量：0、250、500 および 1000 mg/kg）の結果に基づき決定した。すなわち、META を 7 日間反復投与することにより、雌では、500 mg/kg 以上の投与群で体重の増加抑制傾向がみられ、さらに 1000 mg/kg 投与群では、剖検時に肺の暗色部が認められた。また、雄の 500 mg/kg 投与群では、投与期間中に一時的な体重減少がみられる例があった。以上のことから、本試験では投与期間を考慮し、高用量を 500 mg/kg とし、以下公比約 3 で除して 150 および 50 mg/kg を中用量および低用量とした。また、雌雄とも媒体である注射用水を投与する対照群を設けた。なお、雌雄とも投与期間終了後 14 日間の回復試験を行う対照群および 500 mg/kg 投与群は各 10 匹、その他の群は

（注3）

動物飼育期間中の温湿度の実測値 温度 23.0~24.5℃ 湿度 44~68%

各5匹とした。

群分けは、検疫終了時の測定体重をもとに体重別層化無作為抽出法により行った。各群の投与量および動物番号等を以下に示した。

群	投与量 (mg/kg)	投与容量 (mL/kg)	動物番号	
			雄	雌
対照群	0	5	1～10	31～40
低用量群	50	5	11～15	41～45
中用量群	150	5	16～20	46～50
高用量群	500	5	21～30	51～60

雌雄とも対照群および 500 mg/kg 投与群では、動物番号の若い方から5匹を回復試験に用いた。

5. 投与方法

投与経路は、化審法ガイドラインに従い経口とした。投与時刻は10時から13時の間とし、1日1回、28日間、ラット用胃管を用いて強制投与した。投与容量は5 mL/kg とし、各投与時の最近時の体重をもとに個体別に算出した。

なお、投与期間中の日数および週の表記法は、投与開始日および投与開始週をそれぞれ投与第1日および投与第1週とし、回復試験期間中の日数および週の表記法もこれに準じて回復第1日および回復第1週とした。

6. 検査項目

1) 一般検査

全例について、毎日（投与期間中は投与前および投与後）一般状態の観察を行った。また、全例の体重および摂餌量を以下のとおり測定した。体重は、投与第1週には投与第1日の投与直前と投与第5日、投与第2週以降の投与期間および回復試験期間中は1週に2回の頻度で測定した。その他、投与期間終了日、回復試験期間終了日および剖検日にも測定した。摂餌量は、投与第1週では、投与第1日から2日にかけて1日あたりの摂餌量を測定し、以後回復試験期間終了週まで毎週1回の頻度で測定した。

2) 尿検査

各群とも生存している全例について、投与第4週および回復試験期間終了週に、動物を代謝ケージに収容し、4時間尿あるいは新鮮尿で次の項目について検査した。

項 目	測 定 法	使 用 機 器
色調・混濁度 pH・潜血・蛋白・糖・ケトン体 ウロビリノーゲン・ビリルビン	視 診 試験紙法 同上	— クリニテック 200+ (パイエル・三共) 同上

3) 血液学検査

投与期間終了時および回復試験期間終了時に解剖を行った動物（以下、定期解剖例と記す）は、全例採血前（屠殺剖検前）に18～24時間絶食させた。その後、ペントバルビタールナトリウム麻酔下で、腹部後大静脈から抗凝固剤として EDTA-2K を用いて採血し、以下の項目について検査した。なお、プロトロンビン時間および活性部分トロンボプラスチン時間の測定に用いる血液については、クエン酸ナトリウムを抗凝固剤として用いて採取した。

項 目	測 定 法	使 用 機 器
赤血球数 (RBC)	自動 (電気抵抗法)	Coulter Counter Model S-PLUS IV (コルター・エレクトロニクス)
白血球数 (WBC)	同上 (同上)	同上
血色素量 (Hb)	同上 (吸光度法)	同上
平均赤血球容積 (MCV)	同上 (電気抵抗法)	同上
血小板数	同上 (同上)	同上
ヘマトクリット値 (Ht)	計算 (RBC×MCV×0.001)	
平均赤血球血色素量 (MCH)	同上 (Hb×1000/RBC)	
平均赤血球血色素濃度 (MCHC)	同上 (Hb×100/Ht)	
白血球分類	視算 (静脈血塗抹標本 Wright-Giemsa 染色)	光学顕微鏡
網状赤血球比率	Brecher 法	同上
プロトロンビン時間 (PT)	光散乱検出法	CA-1000 (東亜医用電子)
活性部分トロンボプラスチン時間 (APTT)	同上	同上

4) 生化学検査

前述の採血に引き続き、同様の麻酔および採血部位の条件下で、全例からヘパリンを抗凝固剤として採取した血液について、以下の項目を検査した。

項 目	測 定 法	使 用 機 器
総蛋白濃度	ビレット法	遠心方式生化学自動分析装置 COBAS-FARA (ロシ)
アルブミン濃度	BCG法	同上
総コレステロール濃度	COD・DAOS法	同上
ブドウ糖濃度	グルコキナーゼ G6PDH法	同上
尿素窒素濃度 (BUN)	ウレアゼ G ϕ .DH法	同上
クレアチニン濃度	Jaffé法 (Rate)	同上
ALP活性	GSCC法	同上
GOT活性	IFCC法	同上
GPT活性	同上	同上
γ -GTP活性	γ -グルタミル-3-カルボキシ-4-ニトロアニリド基質法	同上
トリグリセリド濃度	GPO・DAOS法	同上
無機リン濃度 (Inorg. phos.)	モリブデン酸直接法	同上
カルシウム濃度	OCPC法	同上
A/G比	計算	
ナトリウム濃度	イオン電極法	全自動電解質分析装置 EA05 (A&T)
カリウム濃度	同上	同上
塩素濃度	同上	同上

5) 病理学検査

採血後、必要に応じて腋窩動脈を切断して放血屠殺した後、器官および組織を肉眼的に観察し、各動物の以下に示す器官の重量を測定した。また、各器官重量を剖検日の体重で除してそれぞれの相対重量を算出した。

重 量 測 定 器 官

脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、胸腺、脾臓、副腎、精巣、精巣上体、卵巣

肉眼的観察に引き続き、以下の器官あるいは組織を摘出して保存した。なお、精巣および精巣上体はブアン液に固定し（長期保存は 0.1 M リン酸緩衝10%ホルマリン溶液を使用した）、その他の器官・組織は 0.1 M リン酸緩衝10%ホルマリン溶液に固定した。さらに、投与期間終了時の全群の*印を付した器官・組織をパラフィン包埋し、このうち、対照群および高用量群については常法に従ってヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製し、その後、光学顕微鏡を用いて組織学検査を実施した。

その結果、本試験では、投与期間終了時の対照群と高用量群の組織学検査において、被験物質投与に起因したと考えられる変化がなかったことから、回復試験群を含む他の群の組織学検査は実施しなかった。

固 定 ・ 保 存 器 官 ・ 組 織

脳、下垂体、脊髄、眼球、甲状腺、上皮小体、心臓*、気管*、気管支*、肺*、肝臓*、腎臓*、胸腺、脾臓*、副腎*、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、精巣*、精巣上体*、前立腺、精嚢、卵巣*、子宮、腔、乳腺、膀胱、下顎リンパ節、腸間膜リンパ節、骨格筋（下腿部）、坐骨神経、大腿骨骨髓、膵臓、顎下腺、舌下腺、舌、食道、大動脈、ハーダー腺、皮膚、病変部

7. データ解析法

体重、摂餌量ならびに定期解剖例の血液学検査、生化学検査および器官重量は、群ごとに平均値および標準偏差を求めた。また、試験群の構成が対照群を含めて3群以上あった場合は、Bartlettの方法により分散の一意性について検定（有意水準：5%）を行った。分散が一意である場合には一元配置型の分散分析を行い、群間に有意性（有意水準：5%）が認められた場合は、Dunnett法により多重比較を行った。また、分散が一意でない場合は、Kruskal-Wallisの順位検定を行い、群間に有意性（有意水準：5%）が認められた場合には、Dunnett型の検定法で多重比較を行った。但し、いずれかの群で分散が0となった場合には、Bartlett法による検定は行わずにKruskal-Wallisの順位検定を行い、その結果、群間に有意性が認められた場合には、Dunnett型の検定法により多重比較を行った。一方、試験群が対照群を含め2群となった場合には、対照群と被験物質投与群の各平均値の差の検定は、各群の平均値および標準偏差値を求めた後、F-検定（有意水準：5%）を行い、等分散の場合にはStudentのt検定法、不等分散の場合にはAspin-Welchのt検定法を用いて有意差検定を行った。但し、どちらかの群で分散が0となった場合には、t検定は実施しなかった。さらに、病理組織所見中グレード分けしたデータはMann-WhitneyのU検定（両側検定）法により、また、陽性グレードの合計値はFisherの直接確率片側検定法により、対照群と被験物質投与群との間の有意差検定を行った（有意水準：5%）。

【結 果】

1. 試験の経過

投与第8日と9日に、500 mg/kg 投与群の雌1例（動物番号：54）が飼育ケージの不良によりケージ外へ逃亡する事故が発生した。逃亡動物については、飼育室内で発見後直ちに捕獲し、動物番号を確認したのちに通常の飼育状態に戻した。両日は、体重と摂餌量の測定日にあたっていたことから、この時の当該動物の体重および摂餌量の値はデータから削除し、当該群では、残り9例の値を用いてデータの解析を行った。なお、本件に関しては、当該動物のその後の体重および摂餌量の推移などをみて、試験成績を評価する上で支障をきたすことはないと判断した。その他、試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある予期し得なかった事態の発生および試験計画書からの逸脱はなかった。

2. 死亡例

投与期間および回復試験期間中に死亡例はなかった。

3. 一般状態

いずれの例においても、投与期間および回復試験期間中に一般状態の変化は認められなかった。

4. 体重 (Fig. 1、Table 1、Appendix 1)

500 mg/kg 投与群では、雌雄とも投与第5日の体重が低値を示す傾向にあったが、その後の体重の推移には異常はみられず、他の被験物質投与群においても対照群と比較して有意な差は認められなかった。

5. 摂餌量 (Fig. 2、Table 2、Appendix 2)

500 mg/kg 投与群の雄では、投与第8日の摂餌量が対照群と比較して有意な低値を示したが、この他には、いずれの被験物質投与群においても有意な差は認められなかった。

6. 尿検査所見 (Table 3、Appendix 3)

投与第27日および回復第13日の尿検査では、いずれの検査項目においても、対照群と被

験物質投与群の間に著しい差はみられなかった。

7. 血液学検査所見 (Table 4、Appendix 4)

投与期間終了時の検査では、50 mg/kg 投与群の雌にヘマトクリット値の有意な増加がみられた以外、対照群と被験物質投与群の間に有意な差は認められなかった。また、回復試験終了時の検査では、被験物質投与群の雄に平均赤血球容積の有意な減少と平均赤血球色素濃度の有意な上昇がみられ、雌では赤血球数の有意な減少が認められた。

8. 生化学検査所見 (Table 5、Appendix 5)

投与期間終了時の検査では、150 mg/kg 投与群の雄にアルブミン濃度の有意な低下がみられ、A/G 比が有意な低値を示したほか、500 mg/kg 投与群の雄ではカルシウム濃度の有意な上昇が認められた。一方、投与期間終了時の雌および回復試験期間終了時の雌雄では、いずれの検査項目にも対照群と被験物質投与群の間に有意な差は認められなかった。

9. 病理学検査所見

1) 器官重量 (Table 6, 7、Appendix 6, 7)

投与期間終了時および回復試験期間終了時解剖例の器官重量には、雌雄いずれも有意な差は認められなかった。

2) 肉眼所見

投与期間終了時および回復試験期間終了時解剖例の肉眼所見には、異常は認められなかった。

3) 組織学検査所見 (Table 8、Appendix 8)

投与期間終了時解剖例の対照群および 500 mg/kg 投与群では、肝臓、腎臓、脾臓および肺に Table 8-1-1 および 8-1-2 に示す所見が観察されたが、いずれの所見も群間でその発生頻度および程度に差は認められなかった。

【考 察】

META を、50、150 および 500 mg/kg の用量で雌雄の Sprague-Dawley 系ラットに28日間にわたって強制経口投与し、その後14日間の回復期間を設けた。

その結果、500 mg/kg 投与群では、投与初期にわずかな体重増加抑制がみられ、雄では投与第8日の摂餌量が有意な低値を示した。体重の増加抑制は、先に実施した投与量設定試験においても認められたことから、これらの変化は被験物質投与に起因したものと考えられるが、変化の程度は軽微なものであった。

その他、一般状態に変化はみられず、また、血液学検査、生化学検査で、対照群と被験物質投与群との間に有意差が認められた項目があったが、他の関連所見がなかったこと、用量依存性のある変化でなかったことなどから、いずれも被験物質投与に起因した変化ではないと考えられた。また、尿検査および病理学検査には、被験物質投与に起因した変化は認められなかった。

以上のように、META を 500 mg/kg の用量で反復投与することにより、投与初期にごくわずかな体重増加抑制がみられたものの生体の機能および形態の変化は認められなかった。これらのことから、本試験条件下における META の無影響量は雌雄とも 500 mg/kg であると考えられる。

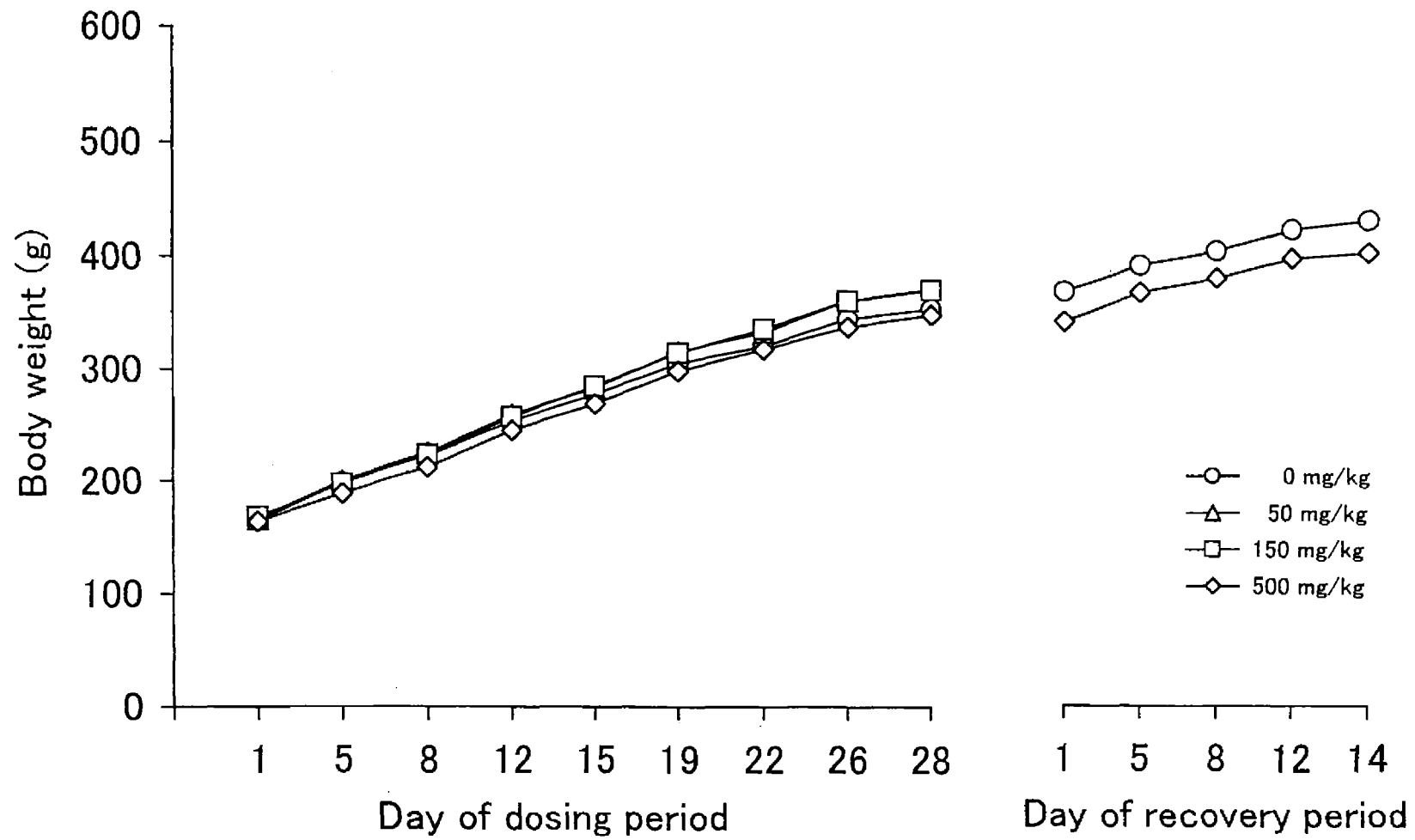


Fig. 1-1
Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of META in rats
Body weight changes in males

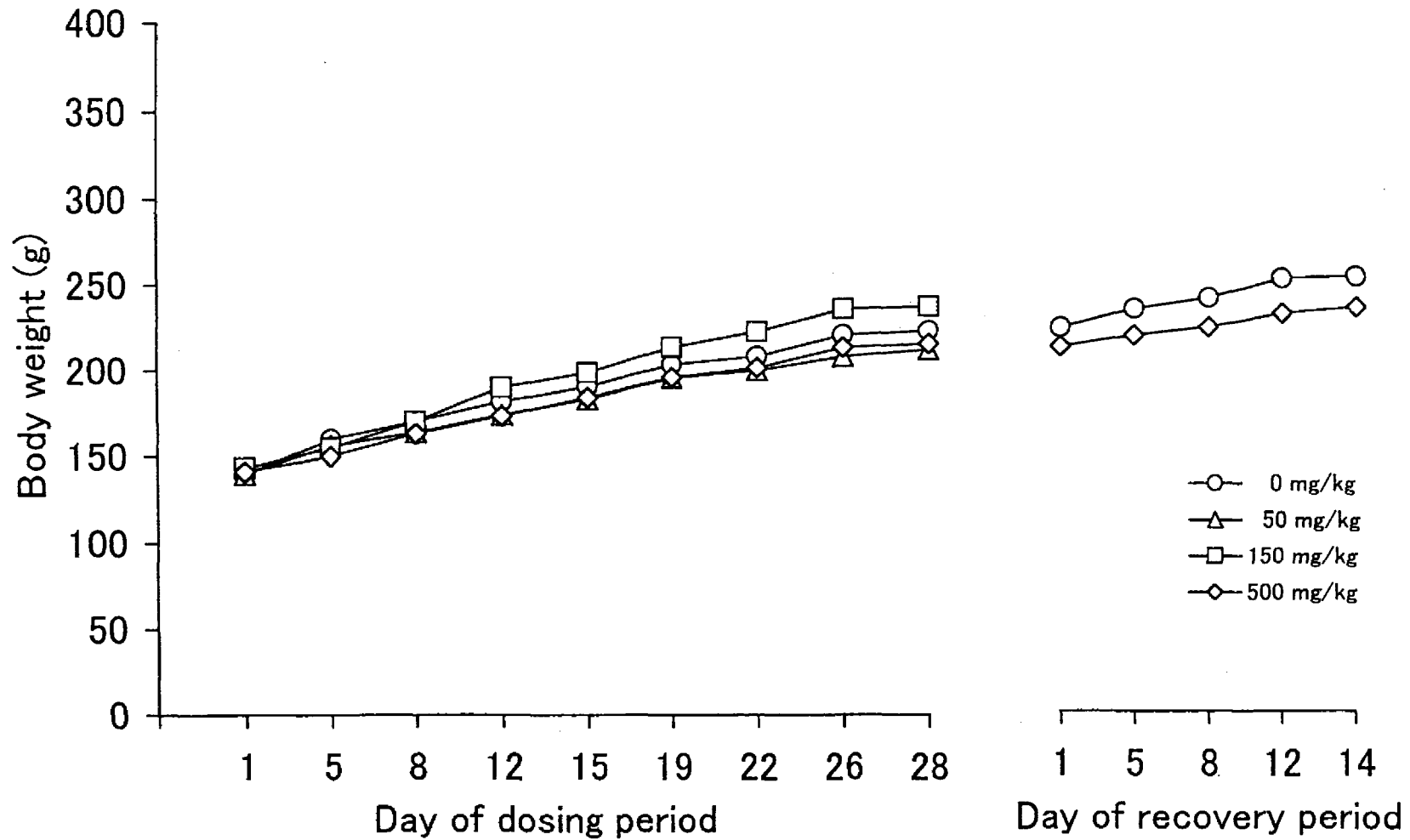


Fig. 1-2
Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of META in rats

Body weight changes in females

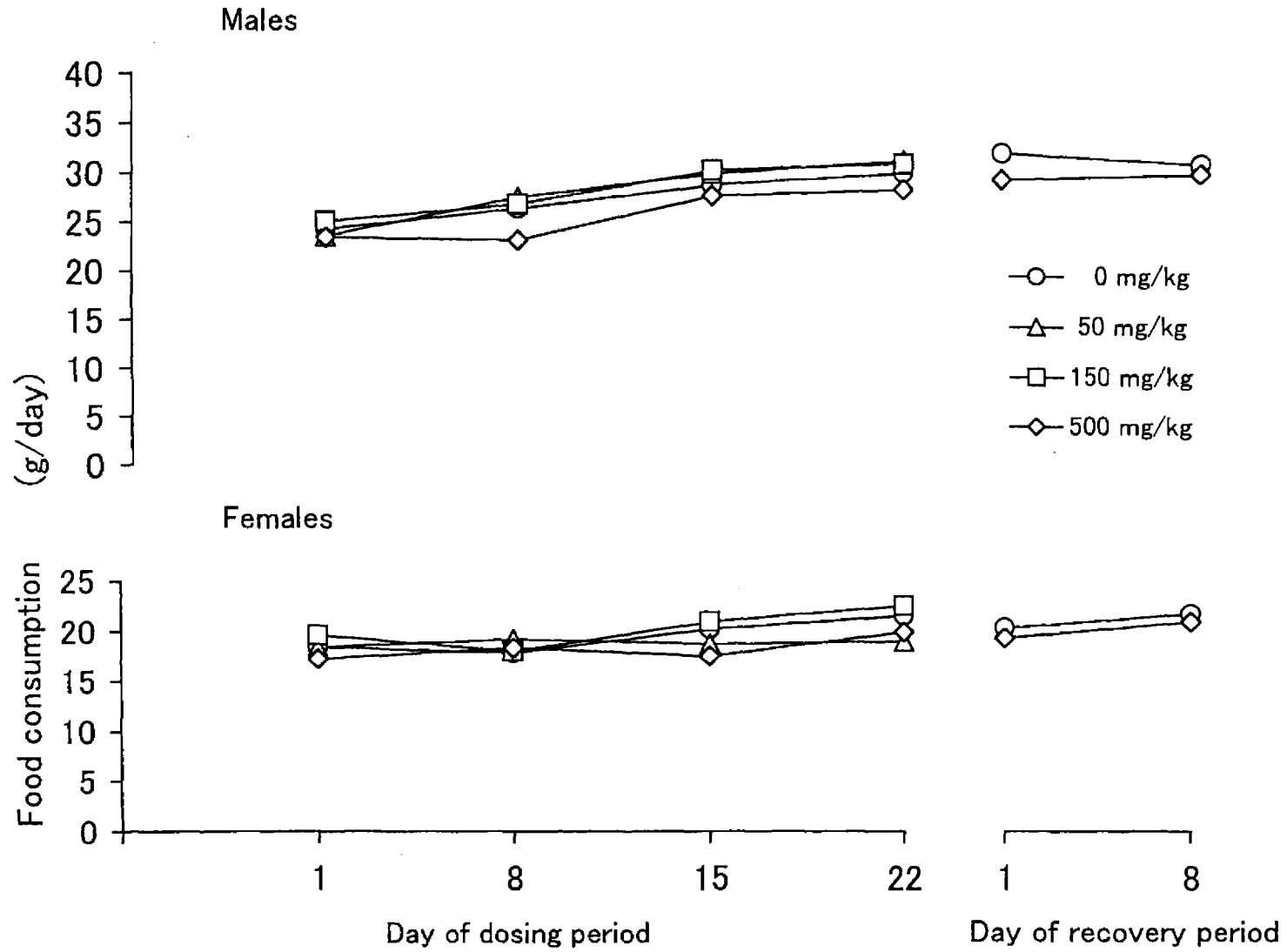


Fig. 2
Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of META in rats
Food consumption in males and females

Table 1-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of META in rats

Body weight changes in males

Dose (mg/kg)	Day of dosing period								Day of recovery period					
	1	5	8	12	15	19	22	26	28	1	5	8	12	14
0	(10) 165.0 ±6.5	(10) 198.8 ±10.2	(10) 222.8 ±11.4	(10) 253.6 ±15.7	(10) 277.4 ±17.5	(10) 305.6 ±22.4	(10) 320.6 ±24.8	(10) 344.8 ±30.0	(10) 353.8 ±32.7	(5) 369.1 ±31.4	(5) 392.8 ±37.6	(5) 405.2 ±36.2	(5) 424.6 ±41.2	(5) 432.7 ±41.7
50	(5) 165.8 ±6.9	(5) 200.0 ±12.3	(5) 224.9 ±13.0	(5) 259.6 ±19.1	(5) 283.5 ±21.4	(5) 315.7 ±27.5	(5) 332.9 ±32.1	(5) 361.0 ±37.2	(5) 371.0 ±39.8					
150	(5) 168.2 ±6.8	(5) 197.7 ±16.7	(5) 223.7 ±18.9	(5) 257.6 ±24.1	(5) 284.9 ±27.2	(5) 314.8 ±30.4	(5) 335.8 ±33.2	(5) 360.5 ±38.1	(5) 370.4 ±41.2					
500	(10) 164.0 ±7.6	(10) 189.1 ±16.2	(10) 212.4 ±16.8	(10) 245.3 ±20.4	(10) 269.0 ±23.8	(10) 298.4 ±28.9	(10) 317.4 ±31.9	(10) 337.5 ±35.5	(10) 348.6 ±37.8	(5) 342.7 ±34.7	(5) 368.7 ±33.6	(5) 381.2 ±35.0	(5) 399.2 ±38.7	(5) 404.3 ±38.5

Parameter, mean(g)±S.D.
(), number of animals

Table 1-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of META in rats

Body weight changes in females

Dose (mg/kg)	Day of dosing period									Day of recovery period				
	1	5	8	12	15	19	22	26	28	1	5	8	12	14
0	(10) 139.6 ±7.2	(10) 160.0 ±9.4	(10) 170.2 ±11.8	(10) 181.5 ±13.2	(10) 190.4 ±15.1	(10) 203.2 ±17.8	(10) 208.2 ±20.0	(10) 220.7 ±23.1	(10) 223.3 ±22.9	(5) 223.9 ±15.8	(5) 235.1 ±17.2	(5) 241.4 ±22.0	(5) 252.9 ±23.3	(5) 254.2 ±20.6
50	(5) 140.0 ±2.7	(5) 156.2 ±6.0	(5) 163.7 ±10.9	(5) 173.8 ±11.3	(5) 182.9 ±11.2	(5) 195.5 ±14.8	(5) 200.0 ±14.9	(5) 208.2 ±14.6	(5) 212.1 ±18.1					
150	(5) 143.5 ±5.7	(5) 154.9 ±13.1	(5) 170.1 ±14.5	(5) 189.6 ±11.2	(5) 198.5 ±13.2	(5) 213.5 ±11.4	(5) 222.5 ±16.6	(5) 236.1 ±19.2	(5) 237.5 ±16.2					
500	(10) 141.1 ±6.4	(10) 150.1 ±11.9	(9) 163.2 ±11.7	(10) 173.3 ±9.4	(10) 183.9 ±12.8	(10) 195.8 ±13.3	(10) 201.4 ±14.3	(10) 213.6 ±15.6	(10) 215.6 ±16.1	(5) 212.6 ±13.4	(5) 219.5 ±14.6	(5) 224.3 ±17.1	(5) 232.1 ±15.5	(5) 235.8 ±16.2

Parameter, mean(g)±S.D.
(), number of animals

Table 2-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of META in rats

Food consumption in males

Dose (mg/kg)	Day of dosing period				Day of recovery period	
	1	8	15	22	1	8
0	(10) 24.2 ±1.5	(10) 26.3 ±1.8	(10) 28.7 ±2.5	(10) 29.9 ±3.2	(5) 31.8 ±3.6	(5) 30.7 ±3.2
50	(5) 23.5 ±1.6	(5) 27.5 ±1.4	(5) 29.8 ±2.0	(5) 31.1 ±3.1		
150	(5) 25.0 ±1.2	(5) 26.8 ±3.0	(5) 30.2 ±2.7	(5) 30.8 ±1.6		
500	(10) 23.4 ±2.2	(10) 23.1* ±3.2	(10) 27.6 ±3.4	(10) 28.2 ±2.9	(5) 29.2 ±3.3	(5) 29.7 ±4.8

Parameter, mean(g)±S.D.
(), number of animals

*, significantly different from control, p<0.05

Table 2-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of META in rats

Food consumption in females

Dose (mg/kg)	Day of dosing period				Day of recovery period	
	1	8	15	22	1	8
0	(10)	(10)	(10)	(10)	(5)	(5)
	18.4 ±2.3	17.8 ±1.9	20.2 ±3.4	21.5 ±3.2	20.3 ±1.9	21.7 ±2.7
50	(5)	(5)	(5)	(5)		
	18.4 ±2.1	19.2 ±2.8	18.7 ±3.0	19.0 ±2.0		
150	(5)	(5)	(5)	(5)		
	19.6 ±2.5	18.0 ±1.8	20.9 ±2.5	22.5 ±2.6		
500	(10)	(9)	(10)	(10)	(5)	(5)
	17.2 ±4.2	18.3 ±1.8	17.5 ±2.3	19.9 ±1.6	19.3 ±3.0	20.9 ±2.3

Parameter, mean(g)±S.D.
(), number of animals

Table 3-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of META in rats

Urinalysis in males and females on day 27 of dosing period

Sex	Dose (mg/kg)	Number of animals	Color ^{a)}		pH								Protein ^{c)}				Glucose ^{d)}				Ketone ^{b)}				Bilirubin ^{b)}		Occult blood ^{b)}		Urobilinogen ^{e)}	
			ly	-	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	≥9.0	-	±	+	++	-	-	±	+	++	-	-	±	±	+					
Male	0	10	10	10	0	0	1	4	3	1	1	0	0	10	0	10	1	7	2	0	10	9	1	10	0					
	50	5	5	5	0	0	0	3	0	1	1	0	0	4	1	5	0	3	2	0	5	5	0	5	0					
	150	5	5	5	0	0	2	2	0	0	1	0	1	3	1	5	1	3	1	0	5	5	0	5	0					
	500	10	10	10	0	0	3	5	1	0	1	0	0	9	1	10	0	5	4	1	10	10	0	9	1					
Female	0	10	10	10	0	1	5	2	1	1	0	7	1	2	0	10	10	0	0	0	10	10	0	9	1					
	50	5	5	5	0	2	0	2	0	0	1	2	1	2	0	5	3	2	0	0	5	5	0	5	0					
	150	5	5	5	1	0	2	1	0	1	0	3	1	1	0	5	3	2	0	0	5	5	0	4	1					
	500	10	10	10	0	2	4	3	0	0	1	4	4	2	0	10	7	3	0	0	10	10	0	8	2					

a) ly, light yellow

b) -, negative; ± trace; +, slight; ++, moderate

c) -, negative; ± trace; +, 30 mg/dL; ++, 100 mg/dL

d) -, negative

e) ± 0.1 E.U./dL; +, 1.0 E.U./dL

Table 3-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of META in rats

Urinalysis in males and females on day 13 of recovery period

Sex	Dose (mg/kg)	Number of animals	Color ^{a)}		Turbidity ^{b)}					pH				Protein ^{c)}				Glucose ^{d)}				Ketone ^{b)}				Bilirubin ^{b)}				Occult blood ^{b)}				Urobilinogen ^{e)}			
			ly	-	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	≥9.0	-	±	+	++	-	-	±	+	-	-	±	+	-	-	±	+	-	-	±	+	±	+					
Male	0	5	5	5	0	0	3	2	0	0	2	1	1	1	5	2	1	2	5	5	0	0	4	1													
	500	5	5	5	0	2	1	0	2	0	0	0	3	2	5	0	1	4	5	5	0	0	4	1													
Female	0	5	5	5	1	2	0	0	0	2	3	2	0	0	5	3	2	0	5	4	0	1	5	0													
	500	5	5	5	0	2	1	0	1	1	2	2	1	0	5	4	1	0	5	5	0	0	4	1													

a) ly, light yellow

b) -, negative; ± trace; +, slight

c) -, negative; ± trace; +, 30 mg/dL; ++, 100 mg/dL

d) -, negative

e) ± 0.1 E. U. /dL; +, 1.0 E. U. /dL

Table 4-1-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of META in rats

Hematological findings in males at the end of dosing period

Dose (mg/kg)	R B C ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	Hemoglobin (g/dL)	Hematocrit (%)	M C V (μm^3)	M C H (pg)	M C H C (%)	Reticulocyte (%)	Platelet ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	P T (sec)	A P T T (sec)
0	(5) 768 ± 42	(5) 15.7 ± 0.7	(5) 46.1 ± 2.5	(5) 60.0 ± 2.0	(5) 20.4 ± 0.7	(5) 34.0 ± 0.5	(5) 3.1 ± 0.9	(5) 98.3 ± 4.9	(5) 23.3 ± 3.7	(5) 21.5 ± 1.2
50	(5) 712 ± 52	(5) 15.2 ± 1.0	(5) 44.0 ± 3.2	(5) 61.8 ± 1.1	(5) 21.4 ± 0.4	(5) 34.6 ± 0.4	(5) 4.0 ± 0.9	(5) 100.8 ± 3.7	(5) 19.0 ± 3.3	(5) 21.0 ± 1.4
150	(5) 728 ± 67	(5) 15.1 ± 0.9	(5) 43.9 ± 2.9	(5) 60.4 ± 2.3	(5) 20.8 ± 0.8	(5) 34.4 ± 0.9	(5) 4.1 ± 1.1	(5) 93.9 ± 13.6	(5) 18.4 ± 3.3	(5) 19.5 ± 1.8
500	(5) 703 ± 46	(5) 14.9 ± 0.8	(5) 42.7 ± 2.2	(5) 60.8 ± 2.0	(5) 21.2 ± 0.8	(5) 34.9 ± 0.5	(5) 3.9 ± 2.2	(5) 94.8 ± 5.1	(5) 17.6 ± 3.2	(5) 20.7 ± 2.8

Dose (mg/kg)	W B C ($\times 100/\text{mm}^3$)	Band neutrophil (%)	Segmented neutrophil (%)	Eosinophil (%)	Basophil (%)	Monocyte (%)	Lymphocyte (%)
0	(5) 84 ± 25	(5) 0 ± 0	(5) 6 ± 3	(5) 0 ± 0	(5) 0 ± 0	(5) 2 ± 3	(5) 91 ± 6
50	(5) 81 ± 14	(5) 0 ± 0	(5) 9 ± 3	(5) 1 ± 1	(5) 0 ± 0	(5) 2 ± 2	(5) 88 ± 4
150	(5) 74 ± 11	(5) 0 ± 0	(5) 10 ± 4	(5) 0 ± 1	(5) 0 ± 0	(5) 2 ± 2	(5) 87 ± 4
500	(5) 83 ± 26	(5) 0 ± 0	(5) 7 ± 2	(5) 1 ± 1	(5) 0 ± 0	(5) 1 ± 1	(5) 91 ± 2

Parameter, mean \pm S.D.
(). number of animals

Table 4-1-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of META in rats

Hematological findings in females at the end of dosing period

Dose (mg/kg)	R B C ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	Hemoglobin (g/dL)	Hematocrit (%)	M C V (μm^3)	M C H (pg)	M C H C (%)	Reticulocyte (%)	Platelet ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	P T (sec)	A P T T (sec)
0	(5) 699 ± 42	(5) 14.4 ± 0.7	(5) 41.5 ± 2.1	(5) 59.5 ± 1.6	(5) 20.6 ± 0.8	(5) 34.6 ± 0.5	(5) 2.5 ± 1.2	(5) 91.8 ± 9.8	(5) 12.3 ± 0.8	(5) 16.4 ± 1.2
50	(5) 753 ± 36	(5) 15.1 ± 0.6	(5) 44.5* ± 1.6	(5) 59.1 ± 1.6	(5) 20.1 ± 0.6	(5) 33.9 ± 0.4	(5) 1.9 ± 0.6	(5) 96.1 ± 11.1	(5) 12.3 ± 0.9	(5) 15.5 ± 1.4
150	(5) 707 ± 30	(5) 14.5 ± 0.5	(5) 42.0 ± 1.5	(5) 59.4 ± 1.6	(5) 20.5 ± 0.4	(5) 34.5 ± 0.6	(5) 2.8 ± 0.3	(5) 105.1 ± 11.2	(5) 12.5 ± 0.8	(5) 17.1 ± 0.7
500	(5) 712 ± 16	(5) 14.5 ± 0.7	(5) 42.0 ± 0.9	(5) 59.0 ± 1.0	(5) 20.4 ± 0.7	(5) 34.5 ± 1.2	(5) 2.2 ± 0.6	(5) 94.5 ± 3.8	(5) 12.6 ± 0.7	(5) 16.9 ± 2.6

Dose (mg/kg)	W B C ($\times 100/\text{mm}^3$)	Band neutrophil (%)	Segmented neutrophil (%)	Eosinophil (%)	Basophil (%)	Monocyte (%)	Lymphocyte (%)
0	(5) 39 ± 11	(5) 0 ± 0	(5) 9 ± 6	(5) 1 ± 1	(5) 0 ± 0	(5) 2 ± 1	(5) 89 ± 6
50	(5) 36 ± 7	(5) 0 ± 0	(5) 7 ± 4	(5) 1 ± 1	(5) 0 ± 0	(5) 2 ± 1	(5) 91 ± 5
150	(5) 47 ± 16	(5) 0 ± 0	(5) 11 ± 9	(5) 0 ± 1	(5) 0 ± 0	(5) 2 ± 1	(5) 87 ± 10
500	(5) 40 ± 9	(5) 0 ± 0	(5) 12 ± 7	(5) 1 ± 1	(5) 0 ± 0	(5) 3 ± 2	(5) 85 ± 8

Parameter, mean \pm S.D.
(), number of animals*, significantly different from control, $p < 0.05$

Table 4-2-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of META in rats

Hematological findings in males at the end of recovery period

Dose (mg/kg)	R B C ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	Hemoglobin (g/dL)	Hematocrit (%)	M C V (μm^3)	M C H (pg)	M C H C (%)	Reticulocyte (%)	Platelet ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	P T (sec)	A P T T (sec)
0	(5) 772 ± 27	(5) 15.5 ± 0.4	(5) 45.3 ± 1.1	(5) 58.7 ± 1.7	(5) 20.1 ± 0.5	(5) 34.2 ± 0.3	(5) 2.1 ± 0.9	(5) 89.9 ± 11.4	(5) 18.3 ± 2.4	(5) 21.2 ± 1.6
500	(5) 803 ± 19	(5) 15.7 ± 0.7	(5) 45.2 ± 2.0	(5) 56.3* ± 1.5	(5) 19.6 ± 0.5	(5) 34.7* ± 0.4	(5) 2.8 ± 0.6	(5) 99.7 ± 15.3	(5) 16.8 ± 2.1	(5) 21.9 ± 1.3

Dose (mg/kg)	W B C ($\times 100/\text{mm}^3$)	Band neutrophil (%)	Segmented neutrophil (%)	Eosinophil (%)	Basophil (%)	Monocyte (%)	Lymphocyte (%)
0	(5) 97 ± 16	(5) 0 ± 0	(5) 7 ± 7	(5) 0 ± 1	(5) 0 ± 0	(5) 3 ± 4	(5) 89 ± 7
500	(5) 89 ± 21	(5) 0 ± 0	(5) 12 ± 10	(5) 0 ± 1	(5) 0 ± 0	(5) 1 ± 1	(5) 86 ± 10

Parameter, mean \pm S.D.
(), number of animals

*, significantly different from control, $p < 0.05$

Table 4-2-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of META in rats

Hematological findings in females at the end of recovery period

Dose (mg/kg)	R B C ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	Hemoglobin (g/dL)	Hematocrit (%)	M C V (μm^3)	M C H (pg)	M C H C (%)	Reticulocyte (%)	Platelet ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	P T (sec)	A P T T (sec)
0	(5) 790 ± 9	(5) 15.4 ± 0.5	(5) 45.1 ± 0.8	(5) 57.1 ± 1.1	(5) 19.5 ± 0.5	(5) 34.2 ± 0.8	(5) 1.8 ± 0.5	(5) 90.8 ± 8.3	(5) 12.4 ± 0.3	(5) 16.8 ± 0.8
500	(5) 759** ± 17	(5) 15.2 ± 0.3	(5) 44.2 ± 1.6	(5) 58.2 ± 1.4	(5) 20.0 ± 0.4	(5) 34.5 ± 0.8	(5) 1.8 ± 0.4	(5) 92.1 ± 3.0	(5) 12.4 ± 0.5	(5) 16.5 ± 1.1

Dose (mg/kg)	W B C ($\times 100/\text{mm}^3$)	Band neutrophil (%)	Segmented neutrophil (%)	Eosinophil (%)	Basophil (%)	Monocyte (%)	Lymphocyte (%)
0	(5) 34 ± 5	(5) 0 ± 0	(5) 11 ± 3	(5) 1 ± 1	(5) 0 ± 1	(5) 3 ± 2	(5) 84 ± 3
500	(5) 40 ± 8	(5) 0 ± 0	(5) 13 ± 9	(5) 1 ± 1	(5) 0 ± 0	(5) 2 ± 1	(5) 85 ± 9

Parameter, mean \pm S.D.
(), number of animals

**, significantly different from control. $p < 0.01$

Table 5-1-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of META in rats

Biochemical findings in males at the end of dosing period

Dose (mg/kg)	Total protein (g/dL)	Albumin (g/dL)	A/G	Glucose (mg/dL)	Total cholesterol (mg/dL)	Tri- glyceride (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Creatinine (mg/dL)	Inorg. Phos. (mg/dL)	Ca (mg/dL)
0	(5) 5.6 ±0.2	(5) 3.3 ±0.1	(5) 1.43 ±0.11	(5) 148 ±18	(5) 39 ±1	(5) 41 ±10	(5) 17 ±3	(5) 0.6 ±0.1	(5) 7.8 ±0.7	(5) 8.7 ±0.2
50	(5) 5.3 ±0.3	(5) 3.2 ±0.2	(5) 1.51 ±0.14	(5) 135 ±16	(5) 38 ±5	(5) 42 ±16	(5) 12 ±3	(5) 0.5 ±0.0	(5) 7.4 ±0.5	(5) 8.5 ±0.3
150	(5) 5.4 ±0.2	(5) 2.9** ±0.2	(5) 1.17* ±0.19	(5) 128 ±12	(5) 42 ±7	(5) 45 ±9	(5) 14 ±1	(5) 0.5 ±0.1	(5) 7.3 ±0.3	(5) 8.9 ±0.3
500	(5) 5.5 ±0.2	(5) 3.2 ±0.1	(5) 1.39 ±0.15	(5) 130 ±5	(5) 46 ±12	(5) 50 ±8	(5) 16 ±4	(5) 0.6 ±0.0	(5) 7.5 ±0.4	(5) 9.1* ±0.2

Dose (mg/kg)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)	ALP (U/L)	GPT (U/L)	GOT (U/L)	γ-GTP (U/L)
0	(5) 145.1 ±0.8	(5) 3.70 ±0.25	(5) 106.8 ±2.1	(5) 474 ±84	(5) 27 ±3	(5) 66 ±6	(5) 0 ±0
50	(5) 145.4 ±1.1	(5) 3.57 ±0.18	(5) 107.7 ±1.0	(5) 387 ±53	(5) 27 ±3	(5) 63 ±4	(5) 0 ±1
150	(5) 144.9 ±1.1	(5) 3.61 ±0.34	(5) 108.4 ±1.2	(5) 440 ±62	(5) 28 ±2	(5) 66 ±5	(5) 0 ±0
500	(5) 144.6 ±0.8	(5) 3.50 ±0.17	(5) 108.3 ±0.9	(5) 431 ±51	(5) 25 ±2	(5) 60 ±6	(5) 0 ±1

Parameter, mean±S.D.
(), number of animals

*, significantly different from control, p<0.05
**, significantly different from control, p<0.01

Table 5-1-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of META in rats

Biochemical findings in females at the end of dosing period

Dose (mg/kg)	Total protein (g/dL)	Albumin (g/dL)	A/G	Glucose (mg/dL)	Total cholesterol (mg/dL)	Tri- glyceride (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Creatinine (mg/dL)	InOrg. Phos. (mg/dL)	Ca (mg/dL)
0	(5) 5.1 ±0.2	(5) 3.2 ±0.2	(5) 1.64 ±0.25	(5) 117 ±16	(5) 46 ±13	(5) 30 ±12	(5) 19 ±5	(5) 0.6 ±0.0	(5) 6.4 ±0.6	(5) 8.4 ±0.2
50	(5) 5.1 ±0.1	(5) 3.2 ±0.2	(5) 1.74 ±0.23	(5) 116 ±12	(5) 47 ±4	(5) 24 ±4	(5) 17 ±3	(5) 0.5 ±0.0	(5) 6.5 ±0.5	(5) 8.4 ±0.1
150	(5) 5.2 ±0.3	(5) 3.1 ±0.2	(5) 1.57 ±0.16	(5) 121 ±12	(5) 38 ±4	(5) 28 ±7	(5) 19 ±4	(5) 0.6 ±0.1	(5) 6.8 ±0.5	(5) 8.5 ±0.1
500	(5) 4.8 ±0.2	(5) 3.0 ±0.1	(5) 1.67 ±0.18	(5) 121 ±12	(5) 41 ±13	(5) 24 ±6	(5) 21 ±2	(5) 0.6 ±0.0	(5) 7.2 ±0.6	(5) 8.4 ±0.1

Dose (mg/kg)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)	ALP (U/L)	GPT (U/L)	GOT (U/L)	γ-GTP (U/L)
0	(5) 144.1 ±0.3	(5) 3.51 ±0.49	(5) 109.4 ±0.9	(5) 245 ±34	(5) 21 ±2	(5) 58 ±8	(5) 0 ±1
50	(5) 144.5 ±0.6	(5) 3.43 ±0.25	(5) 110.4 ±0.3	(5) 190 ±60	(5) 21 ±4	(5) 57 ±5	(5) 0 ±1
150	(5) 144.3 ±0.9	(5) 3.43 ±0.24	(5) 110.4 ±0.9	(5) 259 ±28	(5) 20 ±3	(5) 59 ±9	(5) 1 ±1
500	(5) 144.5 ±0.5	(5) 3.30 ±0.35	(5) 110.6 ±0.7	(5) 289 ±34	(5) 22 ±5	(5) 63 ±6	(5) 1 ±0

Parameter, mean±S.D.
(), number of animals

Table 5-2-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of META in rats

Biochemical findings in males at the end of recovery period

Dose (mg/kg)	Total protein (g/dL)	Albumin (g/dL)	A/G	Glucose (mg/dL)	Total cholesterol (mg/dL)	Tri- glyceride (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Creatinine (mg/dL)	Inorg. phos. (mg/dL)	Ca (mg/dL)
0	(5) 5.4 ±0.2	(5) 3.1 ±0.2	(5) 1.32 ±0.06	(5) 147 ±13	(5) 42 ±5	(5) 54 ±15	(5) 17 ±1	(5) 0.6 ±0.1	(5) 7.0 ±0.3	(5) 8.5 ±0.3
500	(5) 5.5 ±0.2	(5) 3.1 ±0.1	(5) 1.31 ±0.04	(5) 142 ±15	(5) 38 ±5	(5) 47 ±7	(5) 16 ±3	(5) 0.6 ±0.0	(5) 6.9 ±0.7	(5) 8.7 ±0.3

Dose (mg/kg)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)	ALP (U/L)	GPT (U/L)	GOT (U/L)	γ-GTP (U/L)
0	(5) 144.7 ±0.8	(5) 3.82 ±0.16	(5) 107.1 ±1.1	(5) 306 ±71	(5) 29 ±4	(5) 69 ±9	(5) 0 ±0
500	(5) 144.9 ±0.5	(5) 3.71 ±0.13	(5) 107.5 ±0.9	(5) 338 ±77	(5) 35 ±7	(5) 76 ±14	(5) 0 ±0

Parameter, mean±S.D.
(), number of animals

Table 5-2-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of META in rats

Biochemical findings in females at the end of recovery period

Dose (mg/kg)	Total protein (g/dL)	Albumin (g/dL)	A/G	Glucose (mg/dL)	Total cholesterol (mg/dL)	Tri- glyceride (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Creatinine (mg/dL)	Inorg. phos. (mg/dL)	Ca (mg/dL)
0	(5) 5.5 ±0.2	(5) 3.5 ±0.2	(5) 1.72 ±0.12	(5) 126 ±13	(5) 49 ±13	(5) 28 ±10	(5) 20 ±3	(5) 0.7 ±0.1	(5) 5.6 ±0.7	(5) 8.7 ±0.2
500	(5) 5.7 ±0.2	(5) 3.5 ±0.3	(5) 1.62 ±0.26	(5) 137 ±12	(5) 47 ±7	(5) 30 ±6	(5) 21 ±2	(5) 0.7 ±0.1	(5) 5.2 ±0.9	(5) 8.8 ±0.3

Dose (mg/kg)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)	ALP (U/L)	GPT (U/L)	GOT (U/L)	γ-GTP (U/L)
0	(5) 143.9 ±0.4	(5) 3.78 ±0.23	(5) 109.1 ±2.2	(5) 175 ±39	(5) 23 ±6	(5) 61 ±4	(5) 0 ±0
500	(5) 144.3 ±0.5	(5) 3.74 ±0.16	(5) 111.2 ±0.9	(5) 209 ±60	(5) 24 ±5	(5) 62 ±7	(5) 1 ±0

Parameter, mean±S.D.
(), number of animals

Table 6-1-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of META in rats

Absolute organ weights in males at the end of dosing period

Dose (mg/kg)	Body weight (g)	Brain (mg)	Thymus (mg)	Heart (mg)	Lungs (mg)	Liver (mg)	Kidneys (mg)	Spleen (mg)	Adrenal glands (mg)	Testes (mg)	Epididymides (mg)
0	(5) 309.7 ±28.9	(5) 1918.5 ±70.0	(5) 502.5 ±67.5	(5) 1063.2 ±67.9	(5) 1262.5 ±400.9	(5) 9475.9 ±747.2	(5) 2445.4 ±64.4	(5) 642.4 ±141.5	(5) 52.2 ±6.8	(5) 2979.5 ±149.5	(5) 695.4 ±42.0
50	(5) 335.7 ±39.3	(5) 1925.9 ±116.2	(5) 615.5 ±136.9	(5) 1107.8 ±97.2	(5) 1170.0 ±123.8	(5) 10337.5 ±1247.5	(5) 2502.9 ±183.6	(5) 773.0 ±103.0	(5) 51.8 ±2.3	(5) 3169.2 ±144.9	(5) 734.8 ±33.1
150	(5) 337.9 ±40.5	(5) 1872.8 ±64.0	(5) 610.3 ±176.4	(5) 1135.0 ±121.4	(5) 1155.4 ±147.3	(5) 10617.9 ±1777.6	(5) 2530.4 ±294.2	(5) 765.9 ±148.8	(5) 49.8 ±8.4	(5) 2913.3 ±105.0	(5) 701.7 ±28.5
500	(5) 323.3 ±36.7	(5) 1883.6 ±81.1	(5) 595.6 ±102.8	(5) 1078.2 ±137.4	(5) 1170.3 ±98.6	(5) 10134.4 ±1646.7	(5) 2470.3 ±246.5	(5) 773.9 ±102.6	(5) 51.3 ±9.7	(5) 2944.0 ±99.4	(5) 709.0 ±37.1

Parameter, mean±S.D.
(), number of animals

Table 6-1-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of META in rats

Absolute organ weights in females at the end of dosing period

Dose (mg/kg)	Body weight (g)	Brain (mg)	Thymus (mg)	Heart (mg)	Lungs (mg)	Liver (mg)	Kidneys (mg)	Spleen (mg)	Adrenal glands (mg)	Ovaries (mg)
0	208.1 ±28.0 (5)	1771.3 ±73.1 (5)	411.5 ±51.5 (5)	693.1 ±73.2 (5)	883.2 ±110.9 (5)	6047.5 ±1117.1 (5)	1564.2 ±173.4 (5)	484.8 ±133.6 (5)	54.8 ±5.2 (5)	85.4 ±13.9 (5)
50	194.4 ±14.8 (5)	1786.0 ±64.8 (5)	420.1 ±66.2 (5)	681.0 ±83.3 (5)	879.1 ±71.1 (5)	5481.2 ±399.0 (5)	1523.0 ±133.2 (5)	439.5 ±59.1 (5)	54.9 ±7.3 (5)	71.8 ±8.1 (5)
150	217.3 ±17.8 (5)	1774.2 ±60.1 (5)	523.6 ±142.1 (5)	716.6 ±80.0 (5)	925.6 ±108.6 (5)	6250.0 ±737.9 (5)	1732.7 ±72.6 (5)	481.8 ±60.9 (5)	62.0 ±8.6 (5)	86.6 ±11.5 (5)
500	203.1 ±16.5 (5)	1752.9 ±78.2 (5)	439.5 ±57.2 (5)	674.0 ±77.3 (5)	911.8 ±149.1 (5)	5685.8 ±279.2 (5)	1618.6 ±102.7 (5)	516.8 ±80.3 (5)	59.7 ±11.1 (5)	74.3 ±16.0 (5)

Parameter, mean±S.D.
(), number of animals

Table 6-2-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of META in rats

Absolute organ weights in males at the end of recovery period

Dose (mg/kg)	Body weight (g)	Brain (mg)	Thymus (mg)	Heart (mg)	Lungs (mg)	Liver (mg)	Kidneys (mg)	Spleen (mg)	Adrenal glands (mg)	Testes (mg)	Epididymides (mg)
0	(5) 395.7 ±39.5	(5) 1929.6 ±99.0	(5) 473.2 ±57.2	(5) 1203.2 ±93.2	(5) 1243.1 ±95.6	(5) 11892.7 ±2078.9	(5) 2889.6 ±363.7	(5) 833.7 ±149.8	(5) 55.1 ±6.5	(5) 3152.0 ±184.7	(5) 992.1 ±46.2
500	(5) 370.6 ±34.2	(5) 1890.0 ±47.2	(5) 445.3 ±68.6	(5) 1153.9 ±87.0	(5) 1181.4 ±108.4	(5) 10120.2 ±1226.6	(5) 2651.0 ±303.8	(5) 741.8 ±120.2	(5) 54.6 ±5.8	(5) 3002.1 ±186.4	(5) 941.0 ±24.0

Parameter, mean±S.D.
(), number of animals

Table 6-2-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of META in rats

Absolute organ weights in females at the end of recovery period

Dose (mg/kg)	Body weight (g)	Brain (mg)	Thymus (mg)	Heart (mg)	Lungs (mg)	Liver (mg)	Kidneys (mg)	Spleen (mg)	Adrenal glands (mg)	Ovaries (mg)
0	(5) 231.2 ±21.7	(5) 1812.8 ±67.7	(5) 358.8 ±54.6	(5) 754.7 ±80.1	(5) 969.0 ±39.2	(5) 6296.1 ±753.5	(5) 1588.5 ±112.3	(5) 501.6 ±67.5	(5) 60.7 ±4.6	(5) 89.7 ±12.1
500	(5) 214.7 ±13.7	(5) 1759.3 ±54.3	(5) 342.9 ±55.2	(5) 708.5 ±52.6	(5) 920.3 ±78.3	(5) 5576.1 ±373.3	(5) 1484.2 ±121.7	(5) 487.3 ±17.1	(5) 57.8 ±10.4	(5) 72.8 ±14.1

Parameter, mean±S.D.
(), number of animals

Table 7-1-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of META in rats

Relative organ weights in males at the end of dosing period

Dose (mg/kg)	Body weight (g)	Brain (mg/g)	Thymus (mg/g)	Heart (mg/g)	Lungs (mg/g)	Liver (mg/g)	Kidneys (mg/g)	Spleen (mg/g)	Adrenal glands (mg/g)	Testes (mg/g)	Epididymides (mg/g)
0	(5) 309.7 ±28.9	(5) 6.239 ±0.634	(5) 1.630 ±0.223	(5) 3.444 ±0.195	(5) 4.197 ±1.833	(5) 30.674 ±1.860	(5) 7.956 ±0.843	(5) 2.059 ±0.308	(5) 0.168 ±0.015	(5) 9.674 ±0.831	(5) 2.255 ±0.157
50	(5) 335.7 ±39.3	(5) 5.775 ±0.441	(5) 1.848 ±0.414	(5) 3.311 ±0.125	(5) 3.506 ±0.369	(5) 30.807 ±1.308	(5) 7.499 ±0.558	(5) 2.309 ±0.232	(5) 0.156 ±0.019	(5) 9.568 ±1.412	(5) 2.219 ±0.335
150	(5) 337.9 ±40.5	(5) 5.604 ±0.651	(5) 1.799 ±0.457	(5) 3.367 ±0.155	(5) 3.419 ±0.124	(5) 31.343 ±2.367	(5) 7.495 ±0.259	(5) 2.253 ±0.278	(5) 0.147 ±0.013	(5) 8.735 ±1.193	(5) 2.104 ±0.298
500	(5) 323.3 ±36.7	(5) 5.874 ±0.587	(5) 1.848 ±0.293	(5) 3.333 ±0.126	(5) 3.640 ±0.335	(5) 31.239 ±1.972	(5) 7.653 ±0.302	(5) 2.396 ±0.188	(5) 0.159 ±0.030	(5) 9.210 ±1.204	(5) 2.218 ±0.301

Parameter, mean±S.D.
(), number of animals

Table 7-1-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of META in rats

Relative organ weights in females at the end of dosing period

Dose (mg/kg)	Body weight (g)	Brain (mg/g)	Thymus (mg/g)	Heart (mg/g)	Lungs (mg/g)	Liver (mg/g)	Kidneys (mg/g)	Spleen (mg/g)	Adrenal glands (mg/g)	Ovaries (mg/g)
0	(5) 208.1 ±28.0	(5) 8.620 ±1.064	(5) 1.986 ±0.176	(5) 3.341 ±0.113	(5) 4.250 ±0.135	(5) 28.966 ±2.183	(5) 7.536 ±0.195	(5) 2.298 ±0.311	(5) 0.266 ±0.037	(5) 0.411 ±0.037
50	(5) 194.4 ±14.8	(5) 9.231 ±0.783	(5) 2.169 ±0.364	(5) 3.517 ±0.498	(5) 4.524 ±0.182	(5) 28.249 ±1.848	(5) 7.834 ±0.266	(5) 2.257 ±0.185	(5) 0.283 ±0.027	(5) 0.372 ±0.058
150	(5) 217.3 ±17.8	(5) 8.211 ±0.774	(5) 2.410 ±0.648	(5) 3.296 ±0.238	(5) 4.269 ±0.514	(5) 28.700 ±1.212	(5) 8.009 ±0.666	(5) 2.214 ±0.172	(5) 0.285 ±0.028	(5) 0.398 ±0.032
500	(5) 203.1 ±16.5	(5) 8.660 ±0.499	(5) 2.164 ±0.215	(5) 3.312 ±0.122	(5) 4.478 ±0.497	(5) 28.068 ±1.190	(5) 7.984 ±0.330	(5) 2.546 ±0.343	(5) 0.297 ±0.068	(5) 0.365 ±0.067

Parameter, mean±S.D.
(), number of animals

Table 7-2-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of META in rats

Relative organ weights in males at the end of recovery period

Dose (mg/kg)	Body weight (g)	Brain (mg/g)	Thymus (mg/g)	Heart (mg/g)	Lungs (mg/g)	Liver (mg/g)	Kidneys (mg/g)	Spleen (mg/g)	Adrenal glands (mg/g)	Testes (mg/g)	Epididymides (mg/g)
0	(5) 395.7 ±39.5	(5) 4.904 ±0.413	(5) 1.203 ±0.163	(5) 3.049 ±0.181	(5) 3.149 ±0.152	(5) 29.900 ±2.660	(5) 7.303 ±0.584	(5) 2.094 ±0.211	(5) 0.140 ±0.020	(5) 8.024 ±0.854	(5) 2.533 ±0.328
500	(5) 370.6 ±34.2	(5) 5.134 ±0.465	(5) 1.218 ±0.275	(5) 3.121 ±0.178	(5) 3.193 ±0.182	(5) 27.296 ±1.849	(5) 7.153 ±0.417	(5) 2.000 ±0.275	(5) 0.148 ±0.014	(5) 8.133 ±0.575	(5) 2.554 ±0.200

Parameter, mean±S.D.
(), number of animals

Table 7-2-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of META in rats

Relative organ weights in females at the end of recovery period

Dose (mg/kg)	Body weight (g)	Brain (mg/g)	Thymus (mg/g)	Heart (mg/g)	Lungs (mg/g)	Liver (mg/g)	Kidneys (mg/g)	Spleen (mg/g)	Adrenal glands (mg/g)	Ovaries (mg/g)
0	(5) 231.2 ±21.7	(5) 7.879 ±0.564	(5) 1.560 ±0.251	(5) 3.264 ±0.175	(5) 4.210 ±0.280	(5) 27.208 ±1.668	(5) 6.883 ±0.230	(5) 2.188 ±0.412	(5) 0.264 ±0.025	(5) 0.392 ±0.077
500	(5) 214.7 ±13.7	(5) 8.222 ±0.603	(5) 1.601 ±0.273	(5) 3.311 ±0.334	(5) 4.295 ±0.396	(5) 26.003 ±1.533	(5) 6.920 ±0.508	(5) 2.280 ±0.212	(5) 0.268 ±0.031	(5) 0.338 ±0.052

Parameter, mean±S.D.
(), number of animals

Table 8-1-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of META in rats

Histological findings in males at the end of dosing period

Dose Grade	0 mg/kg						500 mg/kg					
	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.
(Liver)	[5]						[5]					
Necrosis, focal	4	1	0	0	0	1	4	1	0	0	0	1
Fatty change, periportal	0	5	0	0	0	5	0	5	0	0	0	5
(Kidney)	[5]						[5]					
Cellular infiltration, lymphocyte	3	2	0	0	0	2	3	2	0	0	0	2
Basophilic tubule	2	3	0	0	0	3	1	4	0	0	0	4
Inclusion body, intracytoplasmic, eosinophilic, proximal tubule	3	2	0	0	0	2	5	0	0	0	0	0
(Spleen)	[5]						[5]					
Hematopoiesis, extramedullary	0	3	2	0	0	5	0	3	2	0	0	5
(Lung)	[5]						[5]					
Cellular infiltration, neutrophil	4	1	0	0	0	1	4	1	0	0	0	1
Accumulation, foam cell	5	0	0	0	0	0	4	1	0	0	0	1
(Heart)	[5]						[5]					
No abnormalities												
(Adrenal gland)	[5]						[5]					
No abnormalities												
(Testis)	[5]						[5]					
No abnormalities												
(Epididymis)	[5]						[5]					
No abnormalities												
(Trachea)	[5]						[5]					
No abnormalities												
(Bronchus)	[5]						[5]					
No abnormalities												

-, negative; ±, very slight; +, slight; ++, moderate; +++, severe; Pos., total of positive grade.

[], number of animals examined.

Table 8-1-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of META in rats

Histological findings in females at the end of dosing period

Dose Grade	0 mg/kg					Pos.	500 mg/kg					Pos.
	-	±	+	++	+++		-	±	+	++	+++	
(Liver)	[5]						[5]					
Fatty change, periportal	0	5	0	0	0	5	0	5	0	0	0	5
(Kidney)	[5]						[5]					
Cellular infiltration, lymphocyte	1	4	0	0	0	4	2	3	0	0	0	3
Basophilic tubule	1	4	0	0	0	4	2	3	0	0	0	3
Mineralization, medulla	1	4	0	0	0	4	4	1	0	0	0	1
(Spleen)	[5]						[5]					
Hematopoiesis, extramedullary	1	4	0	0	0	4	1	4	0	0	0	4
Deposit, pigment, brown	1	4	0	0	0	4	1	4	0	0	0	4
(Lung)	[5]						[5]					
Cellular infiltration, neutrophil	5	0	0	0	0	0	4	1	0	0	0	1
Cellular infiltration, macrophage	5	0	0	0	0	0	4	1	0	0	0	1
Cellular infiltration, lymphocyte	5	0	0	0	0	0	4	0	1	0	0	1
(Heart)	[5]						[5]					
No abnormalities												
(Adrenal gland)	[5]						[5]					
No abnormalities												
(Ovary)	[5]						[5]					
No abnormalities												
(Trachea)	[5]						[5]					
No abnormalities												
(Bronchus)	[5]						[5]					
No abnormalities												

-, negative; ±, very slight; +, slight; ++, moderate; +++, severe; Pos., total of positive grade.

[], number of animals examined.