

1,2,3-トリメチルベンゼンのラットを用いる28日間反復投与毒性試験

試験番号：2511（115－045）

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
2. 緒 言	3
10. 被 験 物 質	6
11. 試験材料および方法	8
12. 観察, 測定および検査	11
13. 試 験 結 果	15
14. 考察および結論	20
15. 参 考 文 献	22
Figures, Tables and Reference data	24
Figure 1 Survival ratio	25
Table 1 Survival and mortality	26
Table 2 Clinical observation	28
Figure 2 Body weight	32
Table 3 Body weight	33
Figure 3 Food consumption	36
Table 4 Food consumption	37
Table 5 Food efficiency	39
Table 6 Hematology	41
Table 7 Coagulation	47
Table 8 Blood chemistry	49
Table 9 Urinalys	55
Table 10 Organ weight	65
Table 11 Organ weight per body weight	69
Table 12 Summary of gross findings (sacrificed at 4, 6 week)	73
Table 13 Summary of histological findings (sacrificed at 4, 6 week)	77

1. 要 約：

1, 2, 3-トリメチルベンゼンの SD 系ラットを用いた毒性を明らかにするための、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, 3-トリメチルベンゼンは、コーン油に溶解し、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、雌雄の 1000 mg/kg群で全例に流涎が認められたが、回復期間では発現がなかった。

体重は雌の 1000 mg/kg群で増加が抑制され、雄の同群で増加抑制傾向がみられた。摂餌量は、雌雄とも群間で差が認められず、飼料効率も雄の 300 mg/kg, 雌雄の 1000 mg/kg 群で低値であった。

血液学的検査では、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が、血液凝固能検査では、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) が雌雄の被験物質投与群で延長または延長傾向を示し、さらに、プロトロンビン時間 (PT) が雄のすべての被験物質投与群、雌の 300 mg/kg群で延長または延長傾向を示し、フィブリノーゲン量が雄の 1000 mg/kg群で高値を示した。回復試験では雄の 1000 mg/kg群でAPTTのみ影響が継続して認められたが、その他の変化には回復が認められた。

血液生化学検査の結果、雌雄のすべての被験物質投与群でGOTの低値、雌のこれらの群および雄の 1000 mg/kg群で塩素の低値、さらに雌雄の 1000 mg/kg群で総コレステロールの高値、雌の 1000 mg/kg群で総蛋白の高値が認められた。これらの変化のうち、雌の 1000 mg/kg群で認められた総蛋白の高値は、回復終了時の検査でも僅かに高値であった。

尿検査の結果、雌雄の 300および 1000 mg/kg群で黄褐色尿が認められ、回復終了時の検査でも、雌雄の 1000 mg/kg群で各1例ずつ認められた。

器官重量測定の結果、雄では 300および 1000 mg/kg群で腎臓、さらに 1000 mg/kg群で肝臓の実重量および相対重量の高値が認められた。一方、雌では、300および 1000 mg/kg群で胸腺の実重量の低値、さらに 1000 mg/kg群で肝臓の実重量および相対重量の高値、脳の実重量の低値、相対重量の高値が認められた。回復終了時の測定では、これらの変化のうち、雄の 1000 mg/kg群の腎臓相対重量の高値、雌の同群の胸腺実重量の低値が回復にまで至らなかった。

病理学的検査の結果，被験物質の影響が示唆される病変として肉眼所見では投与終了時に腎臓の肥大および淡色化が雄の 300 および 1000 mg/kg 群に，肝臓の肥大が雌の 1000 mg/kg 群に観察された．このうち腎臓の淡色化は雄の回復試験終了時にも観察された．

組織所見では投与終了時に肝細胞腫脹が雌雄の 1000 mg/kg 群と雄の 300 mg/kg 群に，腎臓の硝子滴変性が雄の 300 および 1000 mg/kg 群に，石灰沈着などの変化が雄の 1000 mg/kg 群に観察された．腎臓の好酸性小体は雄で対照群から観察されたが，1000 mg/kg 群で所見の程度の増強が観察されたほか，脾臓の鬱血が雌の 1000 mg/kg 群で観察された．

回復試験終了時には脾臓の色素沈着および赤血球系造血亢進が雌雄の 1000 mg/kg 群に観察された．

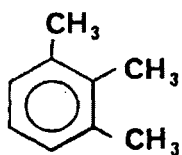
以上のことから，無影響量は雌雄とも 100 mg/kg 以下と判断された．

2. 緒言：

トリメチルベンゼン（TMB）は、工業用に使用される多くの有機溶媒の主要な不純物であり、TMBは dimethyl benzoic acidおよび dimethyl hippuric acidに代謝される¹⁾。トリメチルベンゼンには、今回試験を実施した 1, 2, 3-トリメチルベンゼンの他、異性体として 1, 2, 4- および 1, 3, 5-トリメチルベンゼンがあり、これら3種類の異性体のうち、1, 2, 4-トリメチルベンゼンが最も代謝および排泄が遅く、そのため毒性が強いといわれている²⁾。また、毒性に関しては吸入時の毒性について、中枢神経抑制、粘膜刺激および呼吸器に対する障害等が明らかになっている³⁾。本試験では、反復経口投与による毒性を明らかにするため28日間投与試験を行った。

10. 被 験 物 質 :

- 1) 被験物質名 1, 2, 3-トリメチルベンゼン
- 2) CAS No. 5 2 6 - 7 3 - 8
- 3) ロット番号
- 4) 含 有 量 99.8%
- 5) 製 造 元
- 6) 保 管 条 件 室温
- 7) 保 管 場 所 安評センター被験物質保管庫
- 8) 化 学 名 1, 2, 3-トリメチルベンゼン
- 9) 化 学 構 造



- 10) 分 子 式 $(\text{CH}_3)_3\text{C}_6\text{H}_3$
- 11) 分 子 量 120.19
- 12) 物質の状態 液体
- 13) 色 無色透明
- 14) 融点／沸点 $-25^\circ\text{C}/175\text{-}176^\circ\text{C}$
- 15) 屈 折 率 1.5144

16) 比 重 0.8986

17) 安 定 性 投与終了後，安評センターにて安定性確認分析を行った．

18) 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，残りは処分した．

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体別飼育ケージに動物標識番号 (Animal ID-No.) を付すことにより個体識別した。

投与開始時の体重は雄で 131～146 g，雌で 106～123 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

* コーンオイルのみを投与した。

[用量設定理由]

投与量設定のための2週間投与試験を 0, 100, 300および 1000 mg/kgの4用量で実施した。その結果、雌雄の 1000 mg/kg群では、体重および摂餌量の低値傾向、肝臓の実重量および相対重量の高値が認められ、さらに雌の同群で流涎が認められた。また血液生化学検査では、雄の 1000 mg/kg群、雌の 300 および 1000 mg/kg群で被験物質投与によると考えられる軽微な変化が認められた。

従って、28日間反復投与毒性試験の用量は予備試験と同様の 0, 100, 300 および 1000 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存した。

7) 投与期間

投与期間は28日間とし、投与終了後、反復投与毒性試験の 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 2470) 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。

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

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 6000 (テクニコン社, 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）率算定のため血液を網赤血球染色用ガラス毛細管キャピロット（テルモ株式会社，東京都渋谷区）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 ビ 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、採尿中の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，放血致死させ実施した。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、卵巣および胸腺について測定し，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，骨髓（大腿骨）および臨床観察所見で異常が観察されたため唾液腺を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，唾液腺および骨髓（大腿骨）について検索した。なお，肝臓，腎臓，脾臓については高用量群で変化が認められたため，他の用量群および回復群についても，検索を行った。

常法に従って㈱組織科学研究所（東京都青梅市）で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。

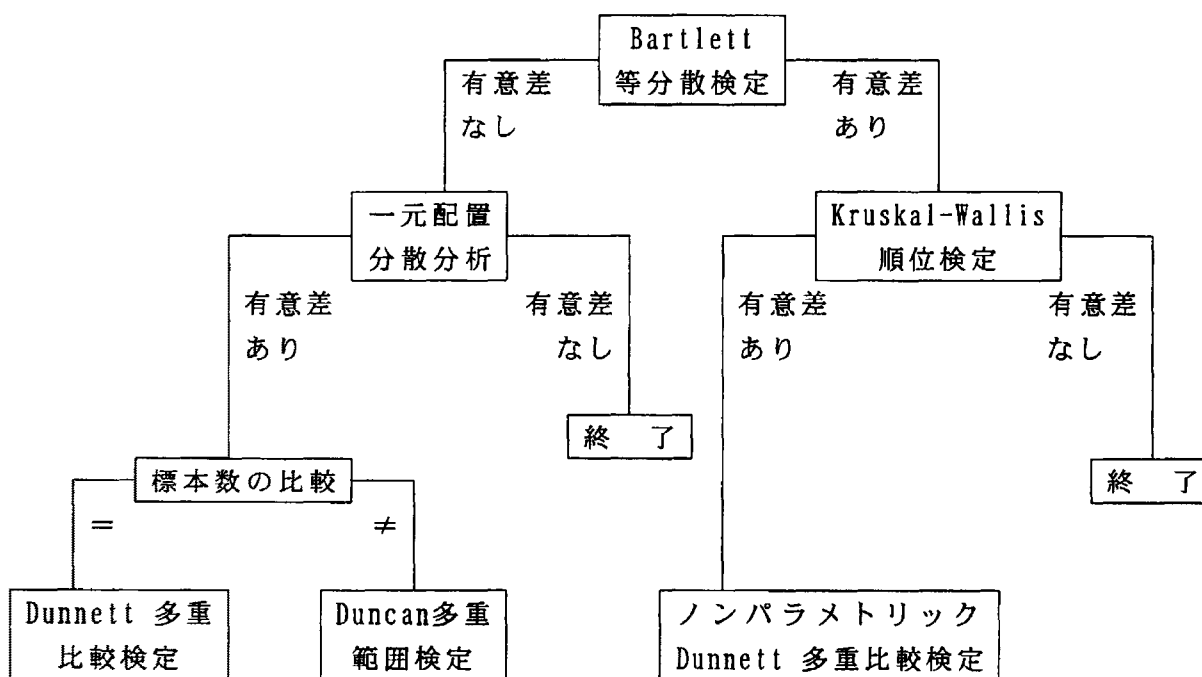
6) データの記録および統計解析

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を Table 1に示した．

投与期間中および回復期間中，雌雄ともいずれの群にも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．

雌雄とも 1000 mg/kg群で，投与2週から流涎を示す動物が認められ，雄では投与2週に1例，投与3週に2例，投与4週には全例に，雌では，投与2週に1例，投与3週に全例に観察された．流涎は下顎が濡れる程度であったが，いずれも投与2時間後には消失し，翌日また発現した．その他，雌雄とも異常は認められなかった．

回復期間では，雌雄の 1000 mg/kg群で，流涎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．

雄では，投与期間および回復期間を通じて，対照群と被験物質投与群とで有意差が認められなかったが，1000 mg/kg群は僅かながら低値傾向にあった．

雌では，対照群に比較して 1000 mg/kg群で投与4週に低値が認められ，0～4週の体重増加量も低値であった．

回復期間では，対照群と 1000 mg/kg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．

雌雄とも，投与期間および回復期間を通じて群間で差が認められなかった．

5) 飼料効率

飼料効率を Table 5および Appendix 4に示した．

雄では，対照群に比較して 1000 mg/kg群で投与1および3週に低値が認められ，0～4週の平均飼料効率が低値であった．

雌では，対照群に比較して 300および 1000 mg/kg群で投与4週に低値が認められ，1000 mg/kg群のみ0～4週の平均飼料効率も低値であった．

回復期間中は，雄では対照群と 1000 mg/kg群で差は認められなかったが，雌では統計学的有意差は認められないものの低値傾向にあった．

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

雄では、対照群に比較して 100および 300 mg/kg群で白血球数の低値が認められたが、対照群が高値傾向にあり、これらの群の値に問題はなかった（背景値 $11.8 \pm 3.5 \times 10^3/\text{mm}^3$, n=80）。

雌では、対照群に比較して 100 mg/kg群で白血球数の高値、300 mg/kg群で低値が認められたが用量相関性のない変化であった。

回復終了時の結果

雌雄とも検査したすべての項目について、対照群と 1000 mg/kg群とで差が認められなかった。

7) 血液凝固能検査

血液凝固能検査結果を Table 7-1および Appendix 6-1に示した。

投与終了時の結果

雄では、対照群に比較して 300および 1000 mg/kg群でプロトロンビン時間 (PT) および活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) が延長を示し、さらに 1000 mg/kg群でフィブリノーゲン量が高値を示した。PTおよびAPTTに関しては、統計学的有意差は認められなかったものの、低用量の 100 mg/kg群でも延長傾向にあった。

雌では、対照群に比較して 300および 1000 mg/kg群でAPTTが延長を示し、300 mg/kg群でPTが延長を示した。

回復終了時の結果

雄の 1000 mg/kg群でAPTTの延長が認められた。雌については、3検査項目とも対照群と 1000 mg/kg群で差が認められなかった。

8) 血液生化学検査

血液生化学検査結果を Table 8-1および Appendix 7-1に示した。

投与終了時の結果

雄では、対照群に比較してすべての被験物質投与群で GOTが低値を示し、さらに 1000 mg/kg群で総コレステロールが高値、塩素が低値を示した。

雌では、対照群に比較してすべての被験物質投与群で GOTおよび塩素が低値を示し、さらに 1000 mg/kg群で総コレステロールおよび総蛋白が高値を示した。

回復終了時の結果

雄では、対照群に比較して 1000 mg/kg群で尿素窒素および GOTが低値を示し、雌では、対照群に比較して 1000 mg/kg群でアルカリ性ホスファターゼが低値、総蛋白、アルブミンおよびカリウムが高値を示した。

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

対照群に比較して、雌雄の 300および 1000 mg/kg群で尿色の変化が認められ、黄褐色尿動物の増加が認められた。

その他の検査項目は、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。

回復終了時の結果

雌雄の 1000 mg/kg群で黄褐色尿動物が各 1 例認められた以外、対照群と 1000 mg/kg群で差は認められなかった。

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

雄では、対照群に比較して 300および 1000 mg/kg群で腎臓重量が高値を示し、さらに 1000 mg/kg群で肝臓重量が高値を示した。

雌では、対照群に比較して 300および 1000 mg/kg群で胸腺重量が低値を示し、さらに 1000 mg/kg群で脳重量が低値、肝臓重量が高値を示した。その他、100 mg/kg群でも脳重量が低値を示したが、用量相関性のない変化であった。

回復終了時の結果

雄では、対照群に比較して 1000 mg/kg群で脳および脾臓重量が低値を示した。

雌では、対照群に比較して 1000 mg/kg群で胸腺重量が低値を示した。

11) 器官重量・体重比（相対重量）

器官重量・体重比を Table 11 および Appendix 10に示した。

投与終了時の結果

雄では、対照群に比較して 300および 1000 mg/kg群で腎臓相対重量が高値を示し、さらに 1000 mg/kg群で肝臓相対重量が高値を示した。

雌では、対照群に比較して 1000 mg/kg群で脳および肝臓相対重量が高値を示した。

回復終了時の結果

雄では、対照群に比較して 1000 mg/kg群で腎臓相対重量が高値を示した。

雌では、対照群と 1000 mg/kg群で差が認められなかった。

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。

投与終了時の時点で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、回復試験終了時の時点では、対照群および 1000 mg/kg群の各群雌雄 5 例であった。

a) 肉眼所見

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観察された所見として、腎臓の肥大が雄の 300、1000 mg/kg群でそれぞれ 1 および 4 例、雌の 1000 mg/kg群で 1 例に、腎臓の淡色化が雄の 300、1000 mg/kg群でそれぞれ 2 および 4 例に観察された。また肝臓の肥大が雌の 1000 mg/kg群で 1 例に観察された。その他観察された所見は、対照群、被験物質投与群で少数例かあるいは単発性の発生であった。

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観察された所見として、腎臓の淡色化が雄の 1000 mg/kg群の 4 例に観察された。その他観察された所見は、対照群、1000 mg/kg群でいずれも単発性の発生であった。

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く観察された所見として、肝細胞腫脹が雌雄の 1000 mg/kg群の全 5 例と、雄の 300 mg/kg群の 2 例に、腎臓の硝子滴変性が雄の 300、1000 mg/kg群でそれぞれ 4 および 5 例に観察された。雄において対照群から観察されたものの、腎臓の好酸性小体が対照群、100、300および 1000 mg/kgの各群でそれぞれ 1、1、2（軽度：1，中度：1）および 3（軽度：1，重度：2）例と、300および 1000 mg/kg群で程度の増強を示した。また腎臓の好酸性小体の程度の増強に伴って、腎臓の石灰沈着、蛋白円柱および管腔拡張が雄の 1000 mg/kg群でそれぞれ 4、3 および 2 例に観察された。また脾臓の鬱血が雌の 1000 mg/kg群で全 5 例に観察された。発生数は 1 例のみであったが、雄の 1000 mg/kg群に脾臓の赤血球系造血亢進および肝臓の糖質蓄積が観察された。その他、被験物質投与群で減少した所見として肝臓の脂肪化が雄の 1000 mg/kg群で、雌の全被験物質投与群で発生がなかった。なお、被験物質投与群において一般状態で流涎が観察されたため唾液腺の組織学的検査を行ったが、異常は認められなかった。

また、発生率上、対照群と被験物質投与群間に差の示されなかった所見として、肝臓の肉芽巢、腎臓の細胞浸潤および好塩基化、副腎の空胞化が観察された。

その他、観察された所見は単発性の発生にとどまった。

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観察された所見として、脾臓の色素沈着が雌雄の 1000 mg/kg群で全 5 例に、赤血球系造血亢進が雌雄の 1000 mg/kg群にそれぞれ雄全 5 例、雌 2 例に観察された。また、腎臓の好酸性小体が雄の 1000 mg/kg群で 3 例に観察されたが、そのうちの 1 例は投与終了時と同様の重度の好酸性小体であり、それに伴って蛋白円柱および管腔拡張も観察された。

また、発生率上、対照群と被験物質投与群間に差の示されなかった所見として、肝臓の肉芽巢および脂肪化、腎臓の好塩基化および細胞浸潤が観察された。

その他、観察された所見は単発性の発生にとどまった。

14. 考察および結論：

一般状態の観察では、雌雄とも 1000 mg/kg群で流涎が認められたが、投与 2 時間後には消失した。回復期間に入ると、雌雄の 1000 mg/kg群で認められた流涎は 1 例も観察されず、この症状が被験物質投与に起因することを裏付けた。

雌雄とも摂餌量の増減は認められなかったが、体重が雌の 1000 mg/kg群で低値、雄の同用量群で低値傾向を示したため、これらの群では飼料効率が低値を示した。

血液学的検査に関しては、病理組織学的検査で脾臓に赤血球系造血亢進が認められたが、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。

血液凝固能検査において、雌雄とも APTT が低用量の 100 mg/kg から延長傾向または延長が認められ、雄では PT も同様な傾向を示した。雄の 1000 mg/kg 群では、フィブリノーゲン量も高値を示しており、抗凝固薬や抗血小板薬で認められるものと同様な変化であったが、これらの薬剤で認められる血小板数の増加は本被験物質では認められていない。

血液生化学検査の結果、雌雄のすべての被験物質投与群で GOT の低値が認められた。GOT は GPT 同様逸脱酵素であり高値の場合のみ意義のある変化といわれている。GPT に関しては、セファロスポリン系抗生物質の投与で直接活性阻害を引き起こすことが知られているが⁴⁾、GOT に関しての報告は見あたらず、本試験における他の諸検査の結果からも GOT 低値の原因は明らかではない。その他雌雄で認められた総コレステロールおよび塩素、雌で認められた総蛋白についても変化の程度は僅かであり、特定器官の障害を明確に示唆するものではないと考えられた。

尿検査の結果、尿色の黄褐色化が認められたが、潜血やビリルビンなどの増加は認められなかった。被験物質の代謝物による色調変化が示唆されるが、回復終了時の検査でも雌雄各 1 例に認められていることから、起因は明らかではない。

器官重量測定の結果、雌雄で肝臓重量の高値、さらに雄で腎臓重量の高値、雌で胸腺重量の低値が認められ、胸腺の変化を除き、病理学的検査で重量増加の要因となる対応所見が認められた。

病理学的検査の結果、被験物質投与の影響と考えられる変化として、肉眼所見では投与終了時の雄に腎臓の淡色化と肥大、雌に肝臓の肥大が観察され、回復試験終了時の雄にも腎臓の淡色化が観察された。その他の所見は自然発生性の所見と考えられた。組織所見では被験物質の影響と考えられる変化として、投与終了時の雌雄に中心性肝細胞腫脹、雄に腎臓の硝子滴変性が観察された。また被験物質投与によって、対照群にも観察された腎臓の好酸性小体の程度が増強し、それに伴って対照群には見られなかった腎臓の石灰沈着、蛋白円柱および管腔拡張が観察された。その他、各 1 例のみ

であったが、1000 mg/kg群の雄に肝臓の糖原蓄積および脾臓の赤血球系造血亢進、雌に脾臓の鬱血が観察された。回復試験終了時の雌雄に脾臓の赤血球系造血亢進および色素沈着が観察された。逆に投与終了時の雌雄に肝臓の脂肪化の発生が減少した。また、投与終了時に雌の腎臓の肉眼的な肥大が観察されたが、組織学的には異常は認められなかった。その他の所見は、自然発生性の変化と考えられた。

投与終了時に観察された雌の肝臓の肉眼的な肥大、雌雄の中心性の肝細胞腫脹は肝機能に関する臨床検査値の明らかな上昇もなく、毒性変化というより生体の適応反応と考えられた。すなわち被験物質投与によって、薬物代謝誘導などにより、肝細胞が肥大したものと考えられた⁵⁾。この変化は回復試験終了時には観察されず、可逆性の変化と考えられた。

投与終了時に観察された雄の腎臓の硝子滴変性および投与終了時と回復試験終了時に観察された雄の腎臓の好酸性小体は、近位尿細管に観察された。これらは雄の無処置ラットにも観察される所見であるが、被験物質投与によって雄の300、1000 mg/kg群で程度が増強されたと考えられる。程度が強くなるに伴って、石灰沈着、蛋白円柱、管腔拡張などの所見がみられた。揮発性炭化水素類の薬物投与により、肝臓で合成された α 2u-グロブリンが揮発性炭化水素と結合し、蛋白代謝の低下した近位尿細管に蓄積するとされ、蓄積が強くなると尿細管上皮細胞の変性、壊死、再生変化、蛋白円柱が観察される⁶⁾。本試験の1,2,3-トリメチルベンゼンもベンゼン環をもつ揮発性炭化水素であり、同様の所見が観察されたと考えられた。

回復試験終了時の雄の1000 mg/kg群の1例にも同様の変化が認められたものの、発生数の減少より回復傾向はあるものと考えられた。

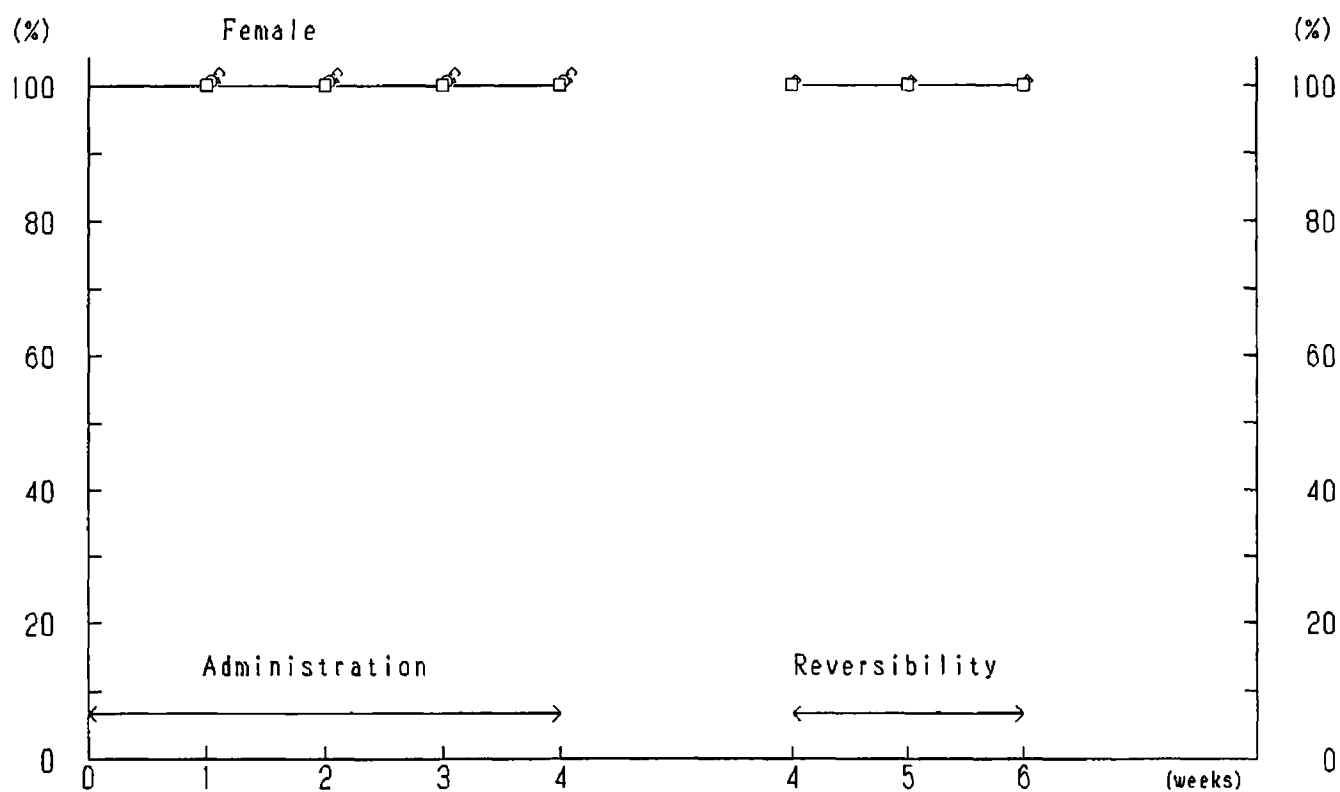
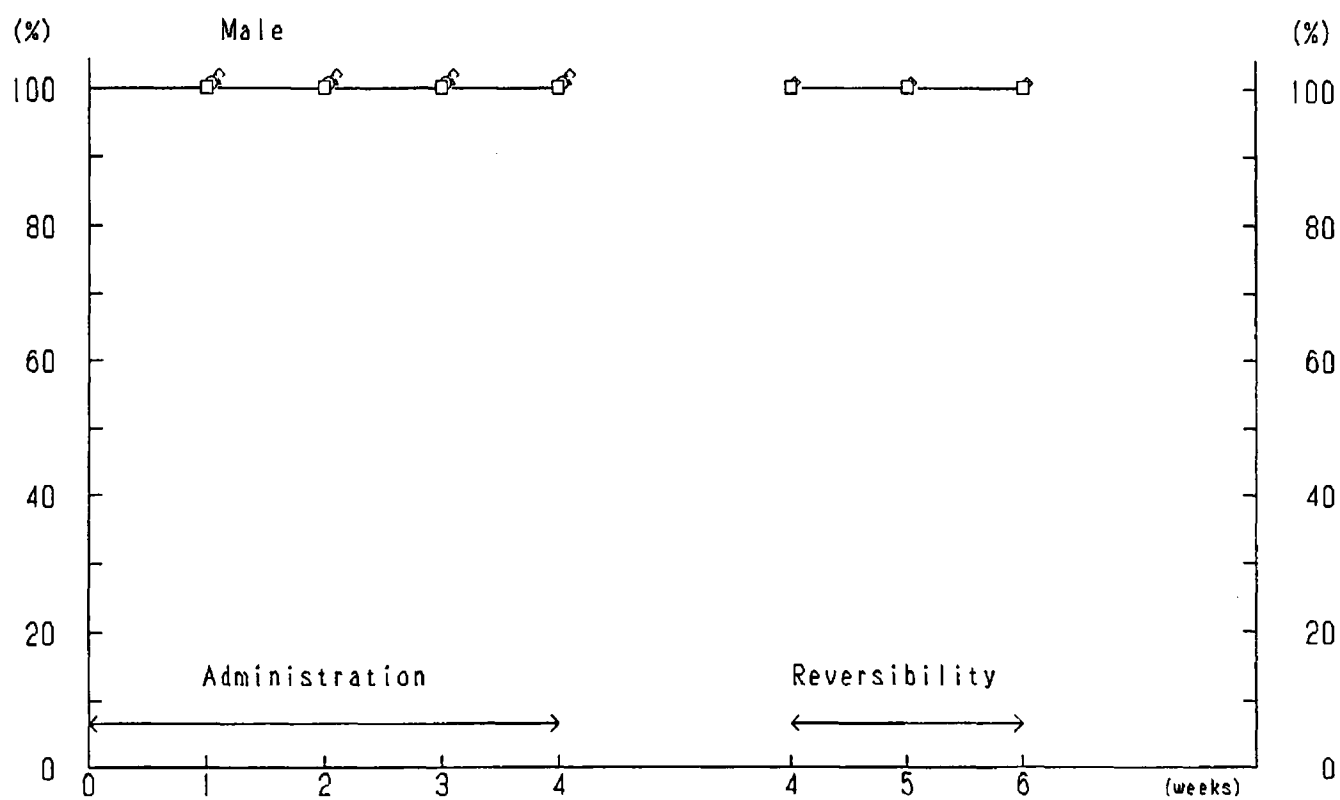
また投与終了時に観察された雌の脾臓の鬱血および雄の脾臓の赤血球系造血亢進、回復試験終了時に観察された雌雄の脾臓の赤血球系造血亢進と色素沈着は、投与期間および回復期間中の赤血球系の臨床検査値の異常はみられず、骨髓の異常も観察されなかったことから原因は不明であった。しかし血液凝固系の延長が起こっており、また造血障害を示唆する文献もあることから³⁾、投与期間中に何らかの赤血球への障害があったことが示唆され、回復期での造血亢進は障害に対する回復反応とも考えられた。

以上のことから、本被験物質は腎臓、血液凝固系を主な標的とし、無影響量は雌雄とも100 mg/kg以下と判断された。

15. 参 考 文 献 :

- 1) Kasirzewski P., Weaderna-Brychat A. and Czerski B. Determination of dimethylobenzoic acid isomers in wreie by gas chromatography. Medycyna Pracy, 45 (1) pp 37-44, 1994.
- 2) Mikulski P. I and Wiglusz R, The comparative metofolism of mesitylen ; pseudocumene, and heminellitene in rats. Toxicol. Appl. Pharmacol ; 31 (1), pp 21-31, 1995.
- 3) Information Profiels of Potential Occupational Hazard: Trimethyl-benzens, Govt Reports Announcements & Index (GRA & I), Issue 15, 1987
- 4) Feuer, G. et al. Alanine aminotransferase activity of not tissues following the administration of cefazolin. Toxicol. Appl. Pharmacol. 41, pp 185-186, 1977.
- 5) ラット血中および肝内酵素活性に及ぼす Cefamandoleの影響 :
G P T 活性低下 機作の解析. Chemothorapy 27 pp 740-748, 1979.
- 6) P. GREAVES, 1990, Urinary Tract, Histpathology of Preclinical Toxicity Studies, p. 497-583, ELSEVIER, The Netherlands

Figures, Tables



Exp. No. 2511 (115-045)

Dose level (mg/kg)

—□— 0
 —○— 100
 —△— 300
 —◇— 1,000

Figure 1. Survival ratio

Table 1. Survival and mortality

Exp. No. 2511 (115-045)

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. 2511 (115-045)

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.

Table 2. Clinical observation

Exp. No. 2511 (115-045)

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	9/10	8/10	0/10	0
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
salivation	0	0	0	0	0	0
	100	0	0	0	0	0
	300	0	0	0	0	0
	1,000	0	1	2	10	10

Table 2. -continued Clinical observation

Exp. No. 2511 (115-045)

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

Table 2. -continued Clinical observation

Exp. No. 2511 (115-045)

Sex: Female

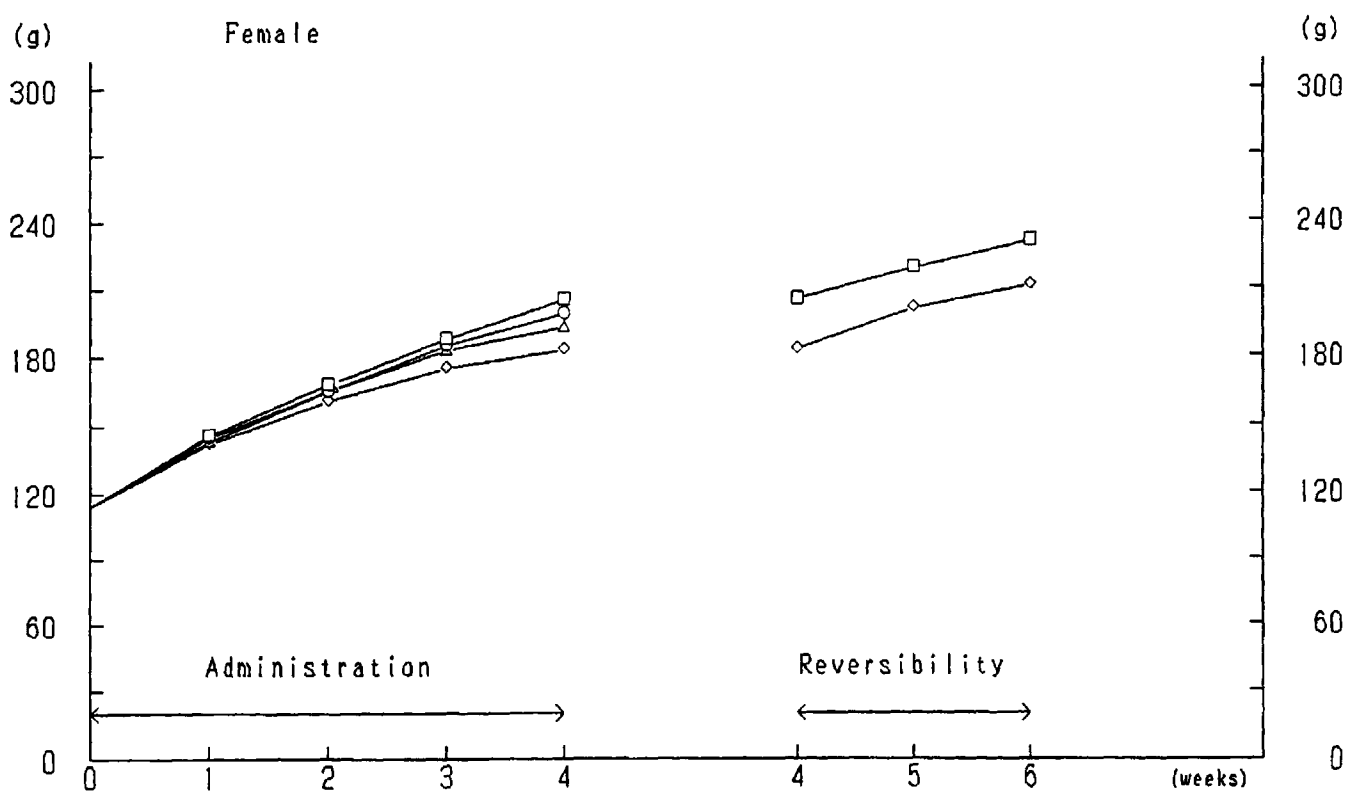
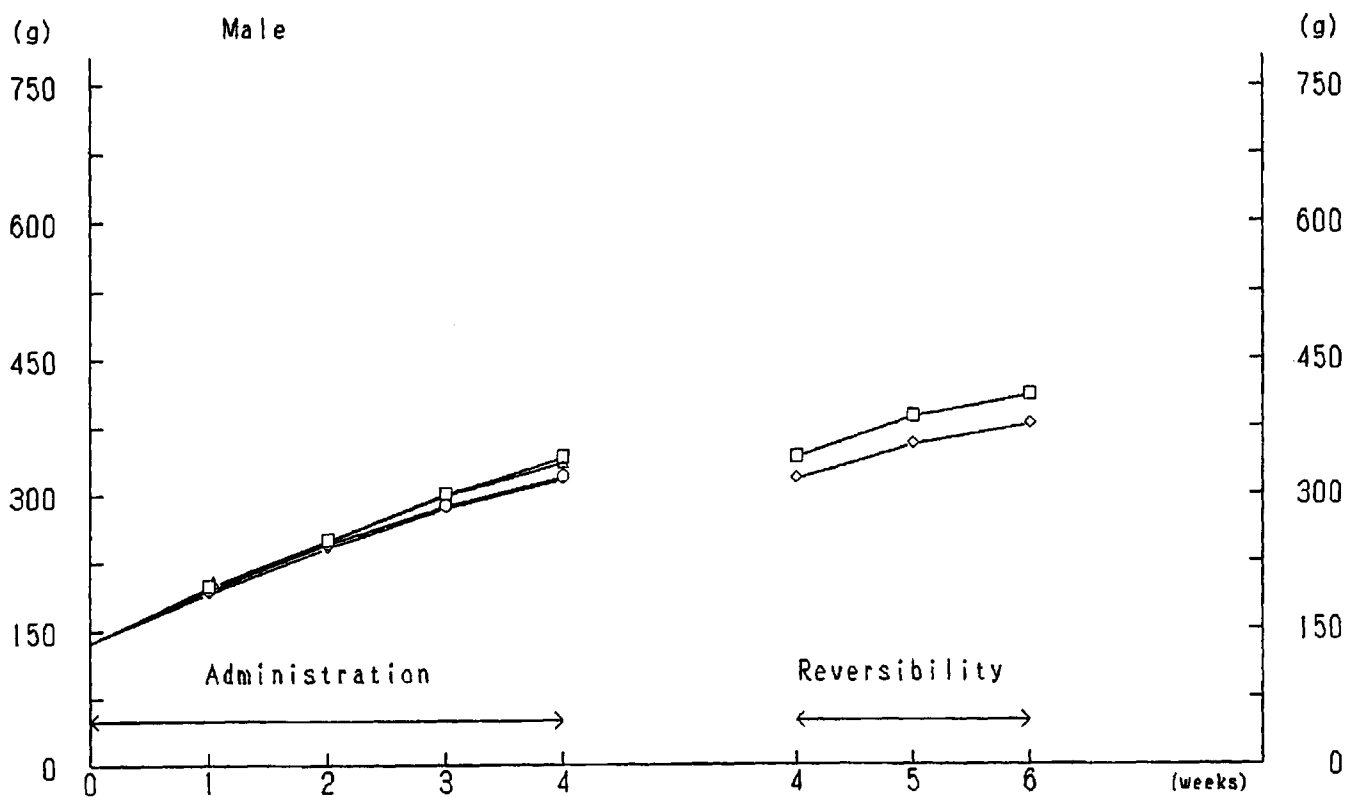
Signs	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment				Total (1 → 4)
		1	2	3	4	
normal/Number per group	0	10/10	10/10	10/10	10/10	10
	100	5/5	5/5	5/5	5/5	5
	300	5/5	5/5	5/5	5/5	5
	1,000	10/10	9/10	0/10	0/10	0
sacrificed	0	0	0	0	5	5
	100	0	0	0	5	5
	300	0	0	0	5	5
	1,000	0	0	0	5	5
salivation	0	0	0	0	0	0
	100	0	0	0	0	0
	300	0	0	0	0	0
	1,000	0	1	10	10	10

Table 2. -continued Clinical observation

Exp. No. 2511 (115-045)

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. 2511(115-045)

Dose level (mg/kg)

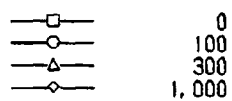


Figure 2. Body weight

Table 3. Body weight

Exp. No. 2511 (115-045)

(unit : g)

Sex	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment 0	1	2	3	4
Male	0	138 ± 5	198 ± 9	249 ± 15	301 ± 24	341 ± 30
	100	138 ± 6	195 ± 7	245 ± 9	287 ± 15	319 ± 20
	300	138 ± 4	198 ± 9	248 ± 17	299 ± 24	335 ± 30
	1,000	138 ± 3	191 ± 9	241 ± 11	285 ± 16	317 ± 17
Female	0	114 ± 4	146 ± 6	168 ± 9	188 ± 11	205 ± 13
	100	114 ± 5	145 ± 9	165 ± 9	185 ± 11	199 ± 16
	300	114 ± 6	143 ± 13	165 ± 18	183 ± 21	193 ± 20
	1,000	114 ± 5	142 ± 7	161 ± 8	175 ± 9	183 ± 9**

Mean ± S.D.

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

Table 3. -continued Body weight

Exp. No. 2511 (115-045)

(unit : g)

Sex	Dose level (mg/kg)	Gain (0 → 4)
Male	0	203 ± 27
	100	181 ± 19
	300	197 ± 28
	1,000	179 ± 16
Female	0	90 ± 14
	100	86 ± 12
	300	79 ± 17
	1,000	69 ± 9**

Mean ± S. D.

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

Table 3. -continued Body weight

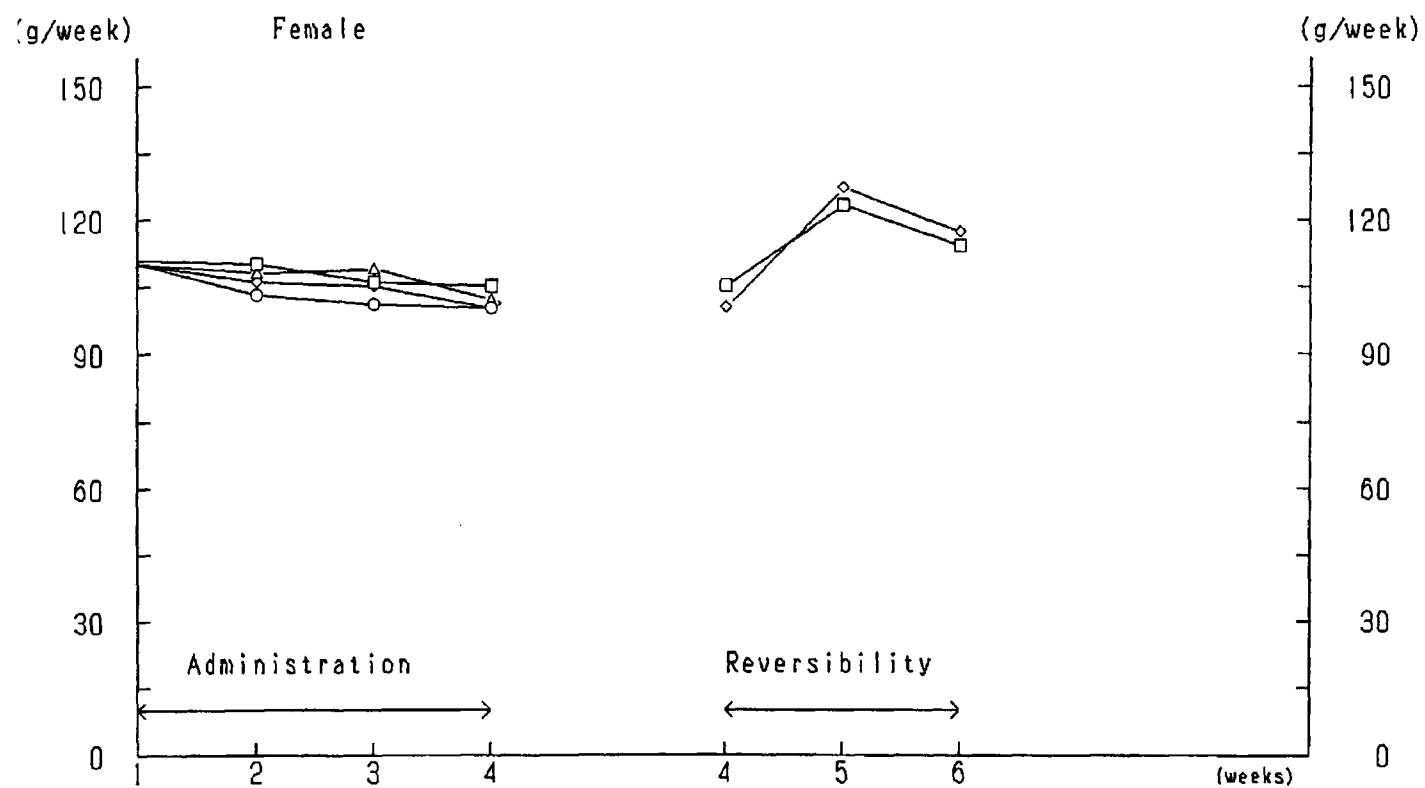
Exp. No. 2511 (115-045)

(unit : g)

Sex	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment 5	6	Gain (4 → 6)
Male	0	386 ± 28	410 ± 30	59 ± 7
	1,000	355 ± 19	377 ± 18	53 ± 7
Female	0	219 ± 23	231 ± 25	31 ± 10
	1,000	201 ± 14	211 ± 14	23 ± 9

Mean ± S. D.

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



Exp. No. 2511(115-045)

Dose level (mg/kg)

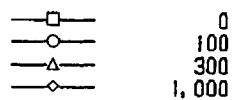


Figure 3. Food consumption

Table 4. Food consumption

Exp. No. 2511 (115-045)

(unit : g/week)

Sex	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment 1	2	3	4	Total (0 → 4)
Male	0	143 ± 9	162 ± 11	159 ± 14	154 ± 16	618 ± 46
	100	137 ± 8	146 ± 13	142 ± 14	134 ± 17	559 ± 47
	300	145 ± 8	150 ± 12	154 ± 12	146 ± 16	595 ± 41
	1,000	142 ± 13	157 ± 15	159 ± 15	152 ± 16	611 ± 51
Female	0	111 ± 9	110 ± 10	106 ± 11N	105 ± 11	432 ± 39
	100	110 ± 15	103 ± 13	101 ± 15	100 ± 11	414 ± 53
	300	110 ± 11	108 ± 13	109 ± 9	102 ± 12	429 ± 38
	1,000	110 ± 8	106 ± 10	105 ± 4	100 ± 9	421 ± 22

Mean ± S.D.

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

N: Non parametric analysis

Table 4. -continued Food consumption

Exp. No. 2511 (115-045)

(unit : g/week)

Sex	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment 5	6	Total (5 → 6)
Male	0	179 ± 18	171 ± 15	350 ± 32
	1,000	172 ± 10	156 ± 14	328 ± 23
Female	0	123 ± 16	114 ± 9	237 ± 24
	1,000	127 ± 11	117 ± 8	244 ± 12

Mean ± S.D.

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

Table 5. Food efficiency

Exp. No. 2511 (115-045)

(unit : %)

Sex	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment 1	2	3	4	Mean (0 → 4)
Male	0	41.6 ± 4.1	31.5 ± 3.2	32.8 ± 4.8	25.8 ± 4.1	32.8 ± 2.7
	100	41.4 ± 2.4	34.4 ± 2.4	29.4 ± 4.9	24.1 ± 1.6	32.4 ± 1.9
	300	41.5 ± 3.2	32.6 ± 3.0	33.0 ± 5.1	25.0 ± 7.3	33.1 ± 3.1
	1,000	37.3 ± 2.9*	31.8 ± 4.0	27.5 ± 2.5*	21.2 ± 3.6	29.3 ± 1.6**
Female	0	28.7 ± 6.1	19.9 ± 3.8	18.9 ± 5.5	15.8 ± 3.9	21.0 ± 3.2
	100	28.7 ± 2.2	19.7 ± 4.4	19.3 ± 5.0	14.2 ± 5.0	20.7 ± 1.3
	300	26.7 ± 8.6	19.7 ± 5.3	16.5 ± 3.2	10.2 ± 3.8*	18.3 ± 2.6
	1,000	25.4 ± 5.5	17.5 ± 2.8	13.8 ± 5.1	7.8 ± 4.8**	16.4 ± 1.8**

Mean ± S. D.

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

39

Table 5. -continued Food efficiency

Exp. No. 2511 (115-045)

(unit : %)

Sex	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment 5	6	Mean (5 → 6)
Male	0	19.5 ± 0.9	14.1 ± 3.3	16.8 ± 1.4
	1,000	18.4 ± 2.5	14.0 ± 4.4	16.3 ± 2.4
Female	0	14.6 ± 4.0	10.8 ± 1.7N	12.8 ± 2.9
	1,000	9.7 ± 5.0	9.2 ± 6.1	9.6 ± 4.2

Mean ± S.D.

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

N: Non parametric analysis

Table 6. Hematology

Exp. No. 2511 (115-045)

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	43.6 $\pm$ 0.9	14.6 $\pm$ 0.3	7.39 $\pm$ 0.35	59.0 $\pm$ 1.8N	19.8 $\pm$ 0.6	33.6 $\pm$ 0.5
	100	5	43.4 $\pm$ 1.1	14.4 $\pm$ 0.3	7.32 $\pm$ 0.17	59.4 $\pm$ 1.7	19.6 $\pm$ 0.3	33.1 $\pm$ 0.6
	300	5	43.3 $\pm$ 1.8	14.6 $\pm$ 0.5	7.30 $\pm$ 0.31	59.3 $\pm$ 0.2	20.1 $\pm$ 0.6	33.9 $\pm$ 0.8
	1,000	5	42.2 $\pm$ 2.4	14.1 $\pm$ 0.8	7.22 $\pm$ 0.48	58.5 $\pm$ 1.4	19.5 $\pm$ 0.4	33.3 $\pm$ 0.5
Female	0	5	42.0 $\pm$ 1.4	14.3 $\pm$ 0.4	7.23 $\pm$ 0.12	58.0 $\pm$ 1.0	19.8 $\pm$ 0.3	34.1 $\pm$ 0.3
	100	5	43.4 $\pm$ 1.3	14.7 $\pm$ 0.6	7.45 $\pm$ 0.22	58.2 $\pm$ 1.0	19.8 $\pm$ 0.4	34.0 $\pm$ 0.5
	300	5	42.7 $\pm$ 1.6	14.8 $\pm$ 0.7	7.53 $\pm$ 0.25	56.7 $\pm$ 1.2	19.6 $\pm$ 0.4	34.7 $\pm$ 0.6
	1,000	5	42.2 $\pm$ 1.2	14.4 $\pm$ 0.5	7.50 $\pm$ 0.24	56.3 $\pm$ 0.6*	19.3 $\pm$ 0.4	34.3 $\pm$ 0.6

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. 2511 (115-045)

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	1156 $\pm$ 87	17.2 $\pm$ 3.5	9 $\pm$ 4	88 $\pm$ 5	2 $\pm$ 1	1 $\pm$ 0	1 $\pm$ 1	1 $\pm$ 1
	100	5	1106 $\pm$ 124	10.9 $\pm$ 2.8*	11 $\pm$ 4	86 $\pm$ 4	1 $\pm$ 1	1 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 1
	300	5	1067 $\pm$ 99	11.0 $\pm$ 2.6*	11 $\pm$ 3	87 $\pm$ 3	1 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0
	1,000	5	1191 $\pm$ 155	14.0 $\pm$ 4.5	14 $\pm$ 4	83 $\pm$ 4	1 $\pm$ 1	1 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0
Female	0	5	1102 $\pm$ 89	8.4 $\pm$ 1.9	8 $\pm$ 2N	89 $\pm$ 3	2 $\pm$ 1	1 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 1
	100	5	1065 $\pm$ 122	10.8 $\pm$ 1.2*	8 $\pm$ 2	88 $\pm$ 3	2 $\pm$ 1	1 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0
	300	5	1145 $\pm$ 91	5.9 $\pm$ 1.7*	12 $\pm$ 6	84 $\pm$ 7	2 $\pm$ 1	1 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0
	1,000	5	1247 $\pm$ 94	8.7 $\pm$ 1.3	9 $\pm$ 1	88 $\pm$ 2	1 $\pm$ 1	1 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 1

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

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$
N: Non parametric analysis

Table 6. -continued Hematology

Exp. No. 2511 (115-045)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Reticulocyte (%)
Male	0	5	25 ± 5
	100	5	19 ± 5
	300	5	24 ± 8
	1,000	5	24 ± 4
Female	0	5	14 ± 7
	100	5	18 ± 7
	300	5	15 ± 2
	1,000	5	19 ± 4

Mean ± S.D.

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

Table 6. -continued Hematology

Exp. No. 2511 (115-045)

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	42.3 $\pm$ 0.9	14.8 $\pm$ 0.5	7.79 $\pm$ 0.25	54.4 $\pm$ 0.8	19.0 $\pm$ 0.4	34.9 $\pm$ 0.5
	1,000	5	43.4 $\pm$ 1.5	14.9 $\pm$ 0.5	7.82 $\pm$ 0.44	55.6 $\pm$ 2.0	19.1 $\pm$ 0.8	34.3 $\pm$ 0.3
Female	0	5	41.8 $\pm$ 1.0	14.7 $\pm$ 0.3	7.51 $\pm$ 0.11N	55.6 $\pm$ 0.6	19.5 $\pm$ 0.2N	35.2 $\pm$ 0.4N
	1,000	5	41.3 $\pm$ 2.1	14.7 $\pm$ 0.5	7.24 $\pm$ 0.50	57.2 $\pm$ 1.8	20.3 $\pm$ 0.9	35.6 $\pm$ 1.3

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. 2511 (115-045)

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 (%)					
					NEUT	LYMPH	MONO	EOSN	BASO	LUC
Male	0	5	1075 $\pm$ 74	10.0 $\pm$ 1.9	17 $\pm$ 4	78 $\pm$ 5	2 $\pm$ 1	2 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0
	1,000	5	1067 $\pm$ 102	9.5 $\pm$ 3.3	18 $\pm$ 3	77 $\pm$ 4	2 $\pm$ 0	1 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0
Female	0	5	1068 $\pm$ 52	6.3 $\pm$ 3.3	17 $\pm$ 6	79 $\pm$ 6	2 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0
	1,000	5	1215 $\pm$ 145	5.4 $\pm$ 1.1	17 $\pm$ 5	80 $\pm$ 6	2 $\pm$ 1	1 $\pm$ 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; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 6. -continued Hematology

Exp. No. 2511 (115-045)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Reticulocyte (%)
Male	0	5	20 ± 3
	1,000	5	25 ± 4
Female	0	5	22 ± 8
	1,000	5	24 ± 5

Mean ± S.D.

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

Table 7. Coagulation

Exp. No. 2511 (115-045)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	PT (sec.)	APTT (sec.)	Fibrinogen (mg/dl)
Male	0	5	13.7 ± 1.0N	29.2 ± 2.0N	250 ± 23
	100	5	19.4 ± 3.9	36.9 ± 4.4	243 ± 17
	300	5	25.7 ± 5.3**	43.1 ± 4.3**	255 ± 16
	1,000	5	38.8 ± 17.9**	57.3 ± 15.5**	282 ± 25*
Female	0	5	13.9 ± 0.3	23.0 ± 1.1	198 ± 27N
	100	5	13.4 ± 0.6	27.5 ± 3.0	190 ± 6
	300	5	16.6 ± 1.4**	33.7 ± 2.6**	171 ± 2
	1,000	5	14.1 ± 1.1	34.0 ± 5.1**	187 ± 14

Mean ± S.D.

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

N: Non parametric analysis

Table 7. -continued Coagulation

Exp. No. 2511 (115-045)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	PT (sec.)	APTT (sec.)	Fibrinogen (mg/dl)
Male	0	5	13.9 ± 0.6N	26.2 ± 1.5	263 ± 21
	1,000	5	17.2 ± 3.0	29.9 ± 2.4**	265 ± 17
Female	0	5	13.7 ± 0.4	21.2 ± 2.3	210 ± 17
	1,000	5	14.1 ± 0.4	20.8 ± 1.8	213 ± 25

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. 2511 (115-045)

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	12.1 ± 2.5	0.62 ± 0.08	47 ± 15	5.39 ± 0.21	3.11 ± 0.13	1.37 ± 0.10
	100	5	9.9 ± 1.5	0.64 ± 0.05	33 ± 10	5.43 ± 0.14	3.12 ± 0.08	1.35 ± 0.11
	300	5	9.9 ± 2.0	0.60 ± 0.08	49 ± 12	5.39 ± 0.10	3.13 ± 0.09	1.39 ± 0.07
	1,000	5	12.7 ± 4.1	0.61 ± 0.12	69 ± 17*	5.48 ± 0.18	3.19 ± 0.12	1.40 ± 0.08
Female	0	5	14.5 ± 4.7N	0.65 ± 0.10	43 ± 14	5.34 ± 0.11	3.21 ± 0.04N	1.51 ± 0.04N
	100	5	13.1 ± 1.4	0.58 ± 0.05	52 ± 18	5.59 ± 0.19	3.41 ± 0.13	1.56 ± 0.02
	300	5	14.2 ± 0.8	0.63 ± 0.04	46 ± 11	5.67 ± 0.28	3.45 ± 0.22	1.55 ± 0.10
	1,000	5	11.7 ± 1.4	0.58 ± 0.09	74 ± 12**	5.99 ± 0.35**	3.62 ± 0.28	1.53 ± 0.11

Mean ± S.D.

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

N: Non parametric analysis

49

Table 8. -continued Blood chemistry

Exp. No. 2511 (115-045)

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	134 ± 12	50.5 ± 18.0	57 ± 19	11 ± 2	161 ± 25N	0.7 ± 0.5
	100	5	124 ± 17	45.2 ± 16.1	40 ± 8*	12 ± 2	150 ± 7	0.7 ± 0.4
	300	5	124 ± 9	60.9 ± 22.6	34 ± 7**	12 ± 3	167 ± 52	0.6 ± 0.4
	1,000	5	138 ± 19	48.4 ± 15.7	36 ± 7*	14 ± 3	195 ± 34	0.9 ± 0.2
Female	0	5	103 ± 9	28.6 ± 6.8N	62 ± 15	12 ± 1	95 ± 22	0.6 ± 0.4
	100	5	107 ± 10	40.5 ± 12.2	44 ± 4**	11 ± 2	75 ± 28	0.6 ± 0.5
	300	5	102 ± 12	28.9 ± 1.3	44 ± 7**	12 ± 3	85 ± 12	0.6 ± 0.4
	1,000	5	115 ± 15	34.2 ± 2.2	42 ± 8**	14 ± 2	79 ± 30	0.6 ± 0.4

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. 2511 (115-045)

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	0.13 ± 0.05	142.8 ± 1.6	4.87 ± 0.42	109.3 ± 1.8	9.86 ± 0.14	8.37 ± 0.58
	100	5	0.12 ± 0.03	143.9 ± 1.5	4.38 ± 0.13	108.3 ± 1.0	9.81 ± 0.19	7.67 ± 0.81
	300	5	0.12 ± 0.04	143.2 ± 1.2	4.38 ± 0.27	107.7 ± 1.4	10.02 ± 0.44	7.67 ± 0.76
	1,000	5	0.10 ± 0.01	141.7 ± 1.5	4.66 ± 0.42	106.1 ± 1.5**	10.08 ± 0.41	7.78 ± 0.52
Female	0	5	0.12 ± 0.02	142.8 ± 0.5	4.60 ± 0.30	113.3 ± 1.2	9.74 ± 0.13	6.83 ± 0.51N
	100	5	0.15 ± 0.05	142.5 ± 0.6	4.59 ± 0.31	110.9 ± 1.3*	9.99 ± 0.12	7.08 ± 0.17
	300	5	0.13 ± 0.03	142.6 ± 0.8	4.61 ± 0.33	110.9 ± 1.8*	9.84 ± 0.29	6.99 ± 0.56
	1,000	5	0.16 ± 0.05	141.9 ± 0.6	4.25 ± 0.14	108.8 ± 1.1**	9.96 ± 0.08	7.23 ± 0.14

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. 2511 (115-045)

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	13.2 ± 2.0	0.56 ± 0.04	52 ± 29	5.63 ± 0.42	3.17 ± 0.30	1.30 ± 0.08
	1,000	5	10.8 ± 0.7*	0.58 ± 0.05	38 ± 10	5.77 ± 0.15	3.32 ± 0.10	1.35 ± 0.06
Female	0	5	13.1 ± 1.1	0.56 ± 0.06	50 ± 19	5.79 ± 0.20	3.41 ± 0.17	1.44 ± 0.07
	1,000	5	14.9 ± 2.5	0.58 ± 0.10	61 ± 12	6.07 ± 0.10*	3.60 ± 0.06*	1.46 ± 0.05

Mean ± S.D.

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

Table 8. -continued Blood chemistry

Exp. No. 2511 (115-045)

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	132 ± 26	55.2 ± 33.1	53 ± 6	12 ± 2	143 ± 43	0.8 ± 0.4
	1,000	5	139 ± 15	56.9 ± 10.7	41 ± 5**	14 ± 3	116 ± 19	0.5 ± 0.3
Female	0	5	116 ± 14	49.1 ± 25.8	54 ± 7	12 ± 1	90 ± 22	0.8 ± 0.2
	1,000	5	112 ± 7	36.9 ± 10.3	56 ± 3	13 ± 2	61 ± 12*	1.3 ± 0.5

Mean ± S. D.

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

Table 8. -continued Blood chemistry

Exp. No. 2511 (115-045)

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	0.12 ± 0.05N	142.9 ± 1.0	4.49 ± 0.26	107.9 ± 1.4	9.76 ± 0.39	6.90 ± 0.60
	1,000	5	0.11 ± 0.02	143.6 ± 0.8	4.70 ± 0.31	109.3 ± 1.0	9.88 ± 0.23	6.99 ± 0.26
Female	0	5	0.16 ± 0.01N	142.8 ± 1.5	4.18 ± 0.12	110.8 ± 1.7	9.62 ± 0.12	6.34 ± 0.62
	1,000	5	0.18 ± 0.02	143.0 ± 0.9	4.50 ± 0.22*	109.6 ± 0.7	9.78 ± 0.17	6.95 ± 1.37

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. 2511 (115-045)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Volume (ml)	Specific Gravity
Male	0	5	22 ± 15	1.039 ± 0.021
	100	5	11 ± 4	1.052 ± 0.016
	300	5	15 ± 6	1.052 ± 0.015
	1,000	5	23 ± 7	1.044 ± 0.018
Female	0	5	13 ± 2N	1.046 ± 0.006
	100	5	12 ± 4	1.050 ± 0.025
	300	5	11 ± 5	1.057 ± 0.031
	1,000	5	20 ± 10	1.040 ± 0.019

Mean ± S.D.

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

N: Non parametric analysis

55

Table 9. -continued Urinalysis

Exp. No. 2511 (115-045)

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													1		2		2							
	100	5	5													5															1		1		1					
	300	5	2		3													5		1		1		1		1		1												
	1,000	5	1		4													5															2		2		1			
Female	0	5	5													5															1		1		1		1		1	
	100	5	5													5															1				1		2		1	
	300	5	3		2													5		2				1		1				1										
	1,000	5	2		3													5													1		1		1		2			

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

Table 9. -continued Urinalysis

Exp. No. 2511 (115-045)

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	4	1				3	2					5				
	100	5	5					1	2	2				5				
	300	5	5					1	4					5				
	1,000	5	5					2	2	1				5				
Female	0	5	5					1		4				5				
	100	5	5					1	3	1				5				
	300	5	5					1	1	3				5				
	1,000	5	5					2	2	1				5				

Table 9. -continued Urinalysis

Exp. No. 2511 (115-045)

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		3	1		5				2	3					
	100	5	1			3	1	4	1			1	4					
	300	5			1	1	3	3	2			1	4					
	1,000	5			2	2	1	4	1			4	1					
Female	0	5		1		2	2	3	2			1	4					
	100	5	1	2	1		1	5				1	4					
	300	5	1		1	1	2	4	1			2	3					
	1,000	5	2	1	1	1		5				3	2					

Table 9. -continued Urinalysis : Microscopic examination of sediment

Exp. No. 2511 (115-045)

Week: 4

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

others : Crystals

Table 9. -continued Urinalysis

Exp. No. 2511 (115-045)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Volume (ml)	Specific Gravity
Male	0	5	21 ± 5	1.032 ± 0.015
	1,000	5	20 ± 10	1.033 ± 0.016
Female	0	5	10 ± 3	1.054 ± 0.015
	1,000	5	11 ± 4	1.057 ± 0.027

Mean ± S.D.

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

Table 9. -continued Urinalysis

Exp. No. 2511 (115-045)

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								3	2			
	1,000	5	4	1										5									1	4		
Female	0	5	5											5				1	1	1	1	1				
	1,000	5	4	1										5					1	1	1	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= Fluoresent green, 11= Blue.

Table 9. -continued Urinalysis

Exp. No. 2511 (115-045)

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					1	3	1				5				
	1,000	5	5					1	2	2				5				
Female	0	5	5						4	1				5				
	1,000	5	5						3	2				5				

Table 9. -continued Urinalysis

Exp. No. 2511 (115-045)

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			2	3		5					3	2				
	1,000	5			2	2	1	4	1				2	3				
Female	0	5			2	2	1	3	2					5				
	1,000	5			2	1	2	2	3					5				

Table 9. -continued Urinalysis : Microscopic examination of sediment

Exp. No. 2511 (115-045)

Week: 6

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

others : Crystals

Table 10. Organ weight

Exp. No. 2511 (115-045)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Body weight (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidneys (g)	Spleen (g)
Male	0	5	332 ± 34	2.05 ± 0.03	9.97 ± 1.50	2.50 ± 0.23	0.64 ± 0.07
	100	5	319 ± 20	2.01 ± 0.10	9.78 ± 1.01	2.58 ± 0.17	0.55 ± 0.07
	300	5	335 ± 30	2.03 ± 0.11	10.78 ± 1.56	2.95 ± 0.33*	0.58 ± 0.07
	1,000	5	311 ± 16	1.99 ± 0.07	12.35 ± 1.64*	3.19 ± 0.38**	0.55 ± 0.03
Female	0	5	209 ± 7	1.97 ± 0.05	6.03 ± 0.42	1.66 ± 0.26	0.41 ± 0.06
	100	5	199 ± 16	1.83 ± 0.06**	5.91 ± 0.59	1.62 ± 0.23	0.35 ± 0.05
	300	5	193 ± 20	1.89 ± 0.05	5.86 ± 0.73	1.65 ± 0.15	0.33 ± 0.06
	1,000	5	178 ± 6**	1.85 ± 0.09**	7.03 ± 0.52*	1.68 ± 0.22	0.37 ± 0.03

Mean ± S. D.

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

Table 10. -continued Organ weight

Exp. No. 2511 (115-045)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Adrenals (mg)	Testes (g)	Ovaries (mg)	Thymus (mg)
Male	0	5	47 ± 4	2.86 ± 0.15		717 ± 133
	100	5	46 ± 5	2.85 ± 0.10		639 ± 118
	300	5	51 ± 3	2.93 ± 0.12		593 ± 56
	1,000	5	49 ± 6	2.62 ± 0.27		592 ± 104
Female	0	5	64 ± 5		86 ± 11	485 ± 46
	100	5	59 ± 8		87 ± 17	411 ± 24
	300	5	59 ± 7		82 ± 18	365 ± 57**
	1,000	5	55 ± 10		78 ± 10	401 ± 87*

Mean ± S.D.

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

Table 10. -continued Organ weight

Exp. No. 2511 (115-045)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Body weight (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidneys (g)	Spleen (g)
Male	0	5	410 ± 30	2.15 ± 0.04	11.99 ± 2.02	2.87 ± 0.21	0.70 ± 0.02
	1,000	5	377 ± 18	2.03 ± 0.10*	11.57 ± 1.27	3.08 ± 0.34	0.63 ± 0.05**
Female	0	5	231 ± 25	1.88 ± 0.05	6.28 ± 0.82	1.74 ± 0.16	0.40 ± 0.02
	1,000	5	211 ± 14	1.89 ± 0.09	6.11 ± 0.72	1.66 ± 0.14	0.42 ± 0.04

Mean ± S. D.

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

Table 10. -continued Organ weight

Exp. No. 2511 (115-045)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Adrenals (mg)	Testes (g)	Ovaries (mg)	Thymus (mg)
Male	0	5	52 ± 4	3.23 ± 0.20		471 ± 79
	1,000	5	54 ± 8	3.06 ± 0.16		508 ± 40
Female	0	5	60 ± 8		84 ± 7	468 ± 99
	1,000	5	64 ± 14		86 ± 9	336 ± 78*

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. 2511 (115-045)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Body weight (g)	Brain (%)	Liver (%)	Kidneys (%)	Spleen (%)
Male	0	5	332 ± 34	0.622 ± 0.055	2.992 ± 0.162N	0.754 ± 0.053	0.195 ± 0.036
	100	5	319 ± 20	0.629 ± 0.028	3.057 ± 0.157	0.810 ± 0.063	0.173 ± 0.029
	300	5	335 ± 30	0.608 ± 0.025	3.199 ± 0.190	0.879 ± 0.045**	0.174 ± 0.027
	1,000	5	311 ± 16	0.644 ± 0.058	4.010 ± 0.788**	1.025 ± 0.080**	0.177 ± 0.020
Female	0	5	209 ± 7	0.945 ± 0.035N	2.885 ± 0.146	0.796 ± 0.112	0.197 ± 0.024
	100	5	199 ± 16	0.925 ± 0.066	2.961 ± 0.059	0.810 ± 0.080	0.177 ± 0.017
	300	5	193 ± 20	0.987 ± 0.108	3.032 ± 0.093	0.860 ± 0.063	0.174 ± 0.034
	1,000	5	178 ± 6**	1.034 ± 0.015*	3.941 ± 0.233**	0.942 ± 0.093	0.207 ± 0.015

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. 2511 (115-045)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Adrenals (%)	Testes (%)	Ovaries (%)	Thymus (%)
Male	0	5	0.014 ± 0.001	0.864 ± 0.043		0.221 ± 0.060
	100	5	0.015 ± 0.002	0.897 ± 0.058		0.199 ± 0.028
	300	5	0.015 ± 0.001	0.877 ± 0.065		0.179 ± 0.033
	1,000	5	0.016 ± 0.002	0.843 ± 0.057		0.192 ± 0.039
Female	0	5	0.030 ± 0.001		0.041 ± 0.005	0.232 ± 0.019
	100	5	0.030 ± 0.004		0.043 ± 0.007	0.207 ± 0.020
	300	5	0.031 ± 0.003		0.042 ± 0.005	0.190 ± 0.031
	1,000	5	0.031 ± 0.005		0.044 ± 0.004	0.224 ± 0.045

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. 2511 (115-045)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Body weight (g)	Brain (%)	Liver (%)	Kidneys (%)	Spleen (%)
Male	0	5	410 ± 30	0.527 ± 0.036	2.911 ± 0.310	0.701 ± 0.061	0.171 ± 0.012
	1,000	5	377 ± 18	0.539 ± 0.027	3.065 ± 0.232	0.814 ± 0.059**	0.166 ± 0.016
Female	0	5	231 ± 25	0.819 ± 0.082	2.716 ± 0.190	0.760 ± 0.090	0.173 ± 0.021
	1,000	5	211 ± 14	0.894 ± 0.042	2.885 ± 0.227	0.787 ± 0.046	0.201 ± 0.018

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. 2511 (115-045)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Adrenals (%)	Testes (%)	Ovaries (%)	Thymus (%)
Male	0	5	0.013 ± 0.001	0.789 ± 0.035		0.115 ± 0.021
	1,000	5	0.014 ± 0.002	0.813 ± 0.068		0.135 ± 0.014
Female	0	5	0.026 ± 0.005		0.036 ± 0.002	0.201 ± 0.024
	1,000	5	0.030 ± 0.007		0.041 ± 0.005	0.159 ± 0.035

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. 2511 (115-045)

Sex: Male

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	1	0	1	0
URINARY SYSTEM					
kidney	enlarged	0	0	1	4*
	pale	0	0	2	4*

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

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

Exp. No. 2511 (115-045)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0	100	300	1,000
No. of animals necropsied	5	5	5	5
Organ Findings				
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
lymph node enlarged	0	0	0	1
RESPIRATORY SYSTEM				
lung colored patch/zone	0	1	0	0
DIGESTIVE SYSTEM				
small intestine				
deformed	0	0	1	0
liver enlarged	0	0	0	1
URINARY SYSTEM				
kidney enlarged	0	0	0	1
REPRODUCTIVE SYSTEM				
uterus dilated lumen	1	0	1	0
broad ligament of uterus				
cyst	0	0	0	1

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

Exp. No. 2511 (115-045)

Sex: Male

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	0	-	-	1
	red patch/zone	0	-	-	1
URINARY SYSTEM					
kidney	pale	0	-	-	4*

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

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

Exp. No. 2511 (115-045)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0	100	300	1,000
No. of animals necropsied	5	0	0	5
Organ_____ Findings_____				
REPRODUCTIVE SYSTEM				
ovary cyst	1	-	-	0

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

Exp. No. 2511 (115-045)

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	1 2 3
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
spleen	(5)	(5)	(5)	(5)
erythropoiesis, increased	0 0 0	0 0 0	0 0 0	1 0 0
DIGESTIVE SYSTEM				
liver	(5)	(5)	(5)	(5)
fatty change	3 0 0	3 0 0	1 0 0	0 0 0
glycogen storage	0 0 0	0 0 0	0 0 0	1 0 0
swelling of liver cells	0 0 0	0 0 0	2 0 0	5 0 0**
granulation	3 0 0	0 0 0	2 0 0	0 0 0
URINARY SYSTEM				
kidney	(5)	(5)	(5)	(5)
basophilic change	3 0 0	3 0 0	2 0 0	4 1 0
deposit of calcium	0 0 0	0 0 0	0 0 0	3 1 0*
eosinophilic body	1 0 0	0 1 0	1 1 0	1 0 2
hyaline droplet	0 0 0	0 0 0	4 0 0*	5 0 0**
protein cast	0 0 0	0 0 0	0 0 0	3 0 0
tubular dilatation	0 0 0	0 0 0	0 0 0	2 0 0
infiltration/cellular	1 0 0	1 0 0	1 0 0	2 0 0
lymphocytic infiltration	1 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
ENDOCRINE SYSTEM				
adrenal gland	(5)	(0)	(0)	(5)
vacuolic change	5 0 0	- - -	- - -	4 0 0

1: slight 2: moderate 3: marked

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

-: Not applicable.

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

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

Exp. No. 2511 (115-045)

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	5	5	5
Organ Findings	1 2 3	1 2 3	1 2 3	1 2 3
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
spleen	(5)	(5)	(5)	(5)
congestion	0 0 0	0 0 0	0 0 0	5 0 0**
DIGESTIVE SYSTEM				
liver	(5)	(5)	(5)	(5)
fatty change	4 0 0	0 0 0*	0 0 0*	0 0 0*
swelling of liver cells	0 0 0	0 0 0	0 0 0	5 0 0**
granulation	3 0 0	4 0 0	3 0 0	1 0 0
URINARY SYSTEM				
kidney	(5)	(5)	(5)	(5)
basophilic change	2 0 0	1 0 0	1 0 0	0 0 0
deposit of calcium	1 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0

1: slight 2: moderate 3: marked

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

-: Not applicable.

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

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

Exp. No. 2511 (115-045)

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	Findings	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
HEMATOPOIETIC SYSTEM													
spleen		(5)									(5)		
	deposit of pigment	0	0	0	-	-	-	-	-	-	5	0	0**
	erythropoiesis, increased	0	0	0	-	-	-	-	-	-	5	0	0**
DIGESTIVE SYSTEM													
liver		(5)									(5)		
	fatty change	3	0	0	-	-	-	-	-	-	0	0	0
	granulation	0	0	0	-	-	-	-	-	-	1	0	0
URINARY SYSTEM													
kidney		(5)									(5)		
	basophilic change	5	0	0	-	-	-	-	-	-	3	1	0
	deposit of calcium	1	0	0	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	eosinophilic body	0	0	0	-	-	-	-	-	-	2	0	1
	protein cast	0	0	0	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	tubular dilatation	0	0	0	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	infiltration/cellular	0	0	0	-	-	-	-	-	-	3	0	0

1: slight 2: moderate 3: marked

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

--: Not applicable.

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

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

Exp. No. 2511 (115-045)

Sex: Female

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	Findings	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
HEMATOPOIETIC SYSTEM													
spleen		(5)									(5)		
	deposit of pigment	0	0	0	-	-	-	-	-	-	5	0	0**
	erythropoiesis, increased	0	0	0	-	-	-	-	-	-	2	0	0
DIGESTIVE SYSTEM													
liver		(5)									(5)		
	granulation	2	0	0	-	-	-	-	-	-	1	0	0
URINARY SYSTEM													
kidney		(5)									(5)		
	basophilic change	2	0	0	-	-	-	-	-	-	3	0	0
	lymphocytic infiltration	0	0	0	-	-	-	-	-	-	1	0	0

1: slight 2: moderate 3: marked

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

-: Not applicable.

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