

フマル酸ジエチルのラットにおける
急性経口毒性試験報告書

株式会社化合物安全性研究所

目 次

	頁
表題・試験番号	
要 約	3
緒 言	4
材料及び方法	4
成 績	8
考 察	14
Figures and tables	別添

表 題 フマル酸ジエチルのラットにおける急性経口毒性試験

試験番号 SR-9231

要 約

フマル酸ジエチル (CAS No.623916) の 910、1180、1540、2000、2600及び 3380mg/kgを5週齢の Crj:CD (SD) 系雌雄ラットに経口単回投与し、その毒性を試験し、以下の知見が得られた。

1. 死亡例は、雄で 1540mg/kg以上の群に、雌で 1180mg/kg以上の群に認められた。
LD₅₀ 値は、雄で 1540mg/kgと 2000mg/kgとの間、雌で 1367.45mg/kg (95%信頼限界 1100.03~1675.51mg/kg)であった。死亡時期は投与後1~6日の間であり、高用量群ほど早期に死亡する傾向が認められた。
2. フマル酸ジエチル投与による主症状として、自発運動の減少が、死亡例で投与日及び投与後1日以降は断続的に、生存例では 1180mg/kg以上の群で投与日に認められた。その他に流涎、腹臥、体温低下、呼吸緩徐、下痢及び被毛汚染がフマル酸ジエチル投与群で認められた。
3. フマル酸ジエチル投与群の体重は対照群よりも有意に低く推移し、観察期間の早期には投与日体重よりも減少していた。
4. フマル酸ジエチルの直接曝露によると考えられる所見として、前胃において、比較的早く死亡した例に壁の菲薄化がほぼ全例に認められ、病理組織学的には粘膜上皮の壊死及び粘膜下織の水腫などが認められた。比較的遅く死亡した例では、粘膜剥離がほぼ全例に認められ、病理組織学的には潰瘍及び粘膜下織の肉芽増殖などが認められた。生存例では、前胃粘膜の肥厚がほぼ全例に認められ、病理組織学的には粘膜下織の肉芽増殖及び粘膜層の肥厚、過角化及び潰瘍が認められた。
5. 循環障害を示唆する所見として、死亡例で腎臓に皮髄境界部の尿細管上皮の壊死、血栓形成、尿細管の拡張及び尿細管上皮の萎縮、肝臓に小葉中心性の肝細胞の巣状壊死、脾臓に実質の壊死及び萎縮、肺に肺胞内水腫及び肺胞の拡張、胸腺の萎縮、生存例で腎臓に尿細管上皮の再生及び線維化、脾臓に髄外造血の増加が認められた。

緒 言

フマル酸ジエチル (CAS No.623916)をラットに経口単回投与し、死亡状況、一般状態などを観察し、その毒性を試験したので、その成績を報告する。

なお、本試験は「OECD優良試験所指針C (81) 30最終別添2」に従い、試験方法はOECDテストガイドラインに準拠した。

材料及び方法

1. 被験物質

被験物質は、より提供されたフマル酸ジエチル (CAS No.623916、以下、DEFと略す。Lot番号：)である。被験物質は、特有の刺激的な臭いのする無色透明の液体 (比重 1.053) であり、室温、遮光下で保存した (製品分析試験成績表：平成3年8月3日付)。なお、被験物質は原液をそのまま使用した。

2. 試験動物

生後4週齢の Crj:CD (SD) 系の SPF ラット (雄:42匹, 体重範囲 71~84g、雌:42匹, 体重範囲 65~77g) を、1992年8月26日に日本チャールス・リバー株式会社より受け入れ、7日間の馴化飼育を行った。馴化期間中、一般状態観察を1日1回、体重測定を3回実施し、順調な発育を示した動物を試験に用いた。

3. 飼育環境条件

動物の飼育は、温度 $23 \pm 3^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 10\%$ 、換気回数 10~15回/時間及び照明時間 12時間 (午前8時から午後8時まで点灯) に設定されたバリアシステムの飼育室 (135号室) において、ブラケット式金属製金網床ケージ (260W×380D×180H, mm) を用いて行った。ケージ当たりの収容匹数は、群分け前は5匹以内、群分け後は3匹以内とした。ケージの交換は群分け時に1回行った。

飼育室内の清掃は1日2回、床の清拭消毒は1日1回の頻度で行った。なお、消毒には塩素系消毒薬 (ヤクラックス, ヤクハン製薬株式会社) 及びヨウ素系消毒薬 (ダイヤザン, 旭硝子株式会社) を1週間単位で交互に使用した。

飼料は固型飼料（CRF-1、オリエンタル酵母工業株式会社）を金属製給餌器を用いて、飲料水は水道水（札幌市水道水）を自動給水装置を用いて、それぞれ自由に摂取させた。給餌器の交換は群分け時に1回、自動給水装置の水抜きは週1回の頻度で実施した。

飼料の分析及び検査は財団法人日本食品分析センターで実施（分析試験成績書：第 45060421-001及び 45070388-001号）し、各混入物質について当社 SOP の許容範囲内であることを確認した。飲料水の水質検査は株式会社福田水文センターで実施（水質検査結果書：第 04512号）し、当社 SOPの水質基準の範囲内であることを確認した。

4. 試験群の設定、群分け及び個体識別

本試験の投与量設定のために実施した限界試験（Appendix）では、DEFの 2000、1000及び500mg/kgを1群雌雄各5匹のラットに投与し、投与後5日間観察した。その結果、2000mg/kg 群で雌雄各2例が投与後1～4日に死亡したが、1000mg/kg 以下の群では死亡は認められなかった。また、1000及び 2000mg/kg群で自発運動の減少、流涎などの症状、体重増加抑制、前胃及び腎臓に影響が認められたが、500mg/kg群では異常は認められなかった。

以上のことから、本試験では LD₅₀ 値の算出が可能となるように DEFの 3380、2600、2000、1540、1180及び 910mg/kg 群、さらに日本薬局方精製水を投与する対照群の、雌雄各7群を設定した（Table1）。

動物数は、1群当たり雌雄各5匹とした。群分けは、馴化期間の最終日（投与前日）に各群の体重が均一になるように体重別層化無作為抽出法により行った。

動物の識別は、群分け時に油性フェルトペンを用いて尾部に行った。ケージには性別毎に色分けしたカードに試験番号、試験群及び動物番号を明記して標示した。

5. 投与経路及び投与方法

投与経路は、被験物質が人体に経口的に曝露される可能性があることから、経口投与とした。投与は、動物を約17～20時間絶食させた後、胃ゾンデを用いて強制的に胃内に1回行った。投与容量は、被験物質が原液として規定の用量となるように体重1kg当たり0.864、1.121、1.462、1.899、2.469及び 3.210ml として投与日に測定した体重に基づいて算出した。なお、対照物質の投与容量は体重1kg当たり 3.210mlとした。

投与時の週齢は雌雄ともに5週齢で、その平均体重（体重範囲）は雄で 115.5g（110～121g）、雌で 103.3g（96～110g）であった。投与時刻は午前10時から午後1時の間であった。

6. 観察、測定及び検査項目

(1) 一般状態観察

全例について、投与日は投与後6時間までは頻繁に、投与後1日以降は1日1回以上の頻度で投与後14日まで観察した。発現した症状については、その種類及び持続時間を記録した。

(2) 体重測定

全例について、投与日を0日と起算し、0、1、3、5、7、10及び14日に電子天秤（ザルトリウス 1407MP8-1、カールツァイス株式会社）を用いて測定した。

(3) 剖検

死亡例は発見後直ちに剖検した。生存例は投与後14日に、体外表を観察した後エーテル麻酔下で放血致死させ、全身の器官・組織を肉眼的に観察した。また、次の器官・組織を10%中性緩衝ホルマリン液で固定し、保存した。

肝臓、腎臓、脾臓、心臓、肺、脳（大脳、小脳）、胃（前胃、腺胃）、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸及び異常所見部位

(4) 病理組織学的検査

死亡例は 1180mg/kg群の雌1例、1540、2000、2600及び 3380mg/kg群の雌雄各2例について、生存例は対照群、910及び 1180mg/kg群の雌雄各2例、1540mg/kg群の雄2例、2000mg/kg群の雌1例について、固定・保存した器官・組織をパラフィン包埋後薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色あるいは特殊染色（PTAH・エオジン重染色、oil red O染色）標本を作製し、鏡検した。また、異常所見部位として対照群の雄1例（比較のため）、1540mg/kg群の雄3例、2000mg/kg群の雌1例、2600mg/kg群の雌雄各1例の胸腺について、1540mg/kg群の雄1例の副腎及び脾について同様に鏡検した。

7. 統計処理

死亡率から、プロビット法により LD_{50} 値及びその 95%信頼限界を算出した。

体重値について、Bartlettの検定法によって分散を検定した。その結果、等分散 ($p > 0.05$) を示した項目については一元配置分散分析法によって解析し、有意な場合 ($p < 0.10$)、Dunnnett の検定法（各試料の大きさが違う場合は有効反復数を用いた）により対照群と DEF投与群との比較を行った。一方、不等分散 ($p < 0.05$) を示した項目については Kruskal-Wallis 法により解析し、有意な場合 ($p < 0.10$)、Mann-Whitney のU-検定法により対照群と DEF投与群との比較を行った。なお、対照群との検定につ

いては、危険率5%以下を統計学的に有意とした。

成 績

1. 死亡状況及びLD₅₀値

死亡状況及びLD₅₀値を Table 2 に示した。

雄では、死亡が 1540mg/kg群の 2例、2000、2800及び 3380mg/kg群の全例に認められた。LD₅₀値は 1540mg/kgと 2000mg/kgの間にあると推察された。

雌では、死亡が 1180mg/kg群の 1例、1540mg/kg群の全例、2000mg/kg群の 4例、2600及び 3380mg/kg群の全例に認められた。LD₅₀値は 1367.45mg/kg (95%信頼限界 1100.03~1675.51mg/kg) と算出された。

死亡時期は、投与後 1~6日の間であり、高用量群ほど早期に死亡する傾向が認められた。

2. 一般状態観察

一般状態観察の成績を Table 3、INDIVIDUAL DATA 1-1-1~1-2-7に示した。

死亡例では、雌雄ともに投与後約 1時間以内に自発運動の減少及び流涎が、その後、自発運動の減少が死亡日まで断続して認められた。また、死亡前に腹臥、体温低下及び呼吸緩徐が観察される例も認められた。その他に DEF投与群で下痢、口周囲、鼻周囲、腹部及び後腹部、外尿道口周囲及び肛門周囲の被毛汚染が認められた。

生存例においても、死亡例と同様、投与日に自発運動の減少が 1180mg/kg以上の群で、流涎が 910mg/kg以上の群で認められた。投与後 1日以降は、2000mg/kg群の雌 1例で自発運動の減少が投与後 5日まで断続して認められたが、その他の例では症状の消失が認められた。その他に DEF投与群で下痢及び口周囲の被毛汚染が認められた。

3. 体重推移

体重推移を Figure 1, 2、Table 4, 5、INDIVIDUAL DATA 2-1-1~2-2-7に示した。

雌雄ともに DEF投与群の体重は対照群よりも低く推移し、雄で投与後 1~7日、雌で投与後 1~5日に有意な差が認められた。なお、雄の 1540mg/kg以上の群及び雌の DEF投与群の投与後 1~5日には、投与日体重を下回る体重値も認められた。しかしながら、DEF投与群の生存した例では、投与後 14日には対照群とほぼ同程度にまで回復が認められた。

4. 剖検

剖検の成績を Table 6、INDIVIDUAL DATA 3-1-1~3-2-7、Photo.M-1~M-4に示した。

(1)死亡例

①投与後1~3日死亡例

1180mg/kg群の雌1例、1540mg/kg群の雌4例、2000mg/kg群の雄1例雌3例、2600mg/kg群の雄3例雌4例及び3380mg/kg群の雌雄全例（計雄9例雌17例）の投与後1~3日死亡例の剖検所見は次の通りであった。

胃：胃の膨満が2000mg/kg群の雄1例、2600mg/kg群の雄2例雌3例及び3380mg/kg群の雄全例雌3例（計雄8例雌6例）に認められた。前胃では、壁の菲薄化が1540mg/kg群の雌1例、2000mg/kg群の雄1例雌全例、2600mg/kg群の雄2例雌全例及び3380mg/kg群の雌雄全例（計雄8例雌13例）、粘膜の剥離が1180、1540及び2000mg/kg群の雌各1例、2600mg/kg群の雄1例及び3380mg/kg群の雌雄各1例（計雄2例雌4例）、粘膜に暗赤色斑あるいは赤色斑が1540mg/kg群の雌3例、2000及び2600mg/kg群の雄各1例及び3380mg/kg群の雌1例（計雄2例雌4例）、粘膜一部暗赤色化あるいは赤色化が1540及び2600mg/kg群の雌各1例に認められた。腺胃では、粘膜の暗赤色化あるいは赤色化が2000及び2600mg/kg群の雄各1例及び3380mg/kg群の雄3例雌2例（計雄5例雌2例）、粘膜に暗赤色斑が1540mg/kg群の雌1例、2600mg/kg群の雌雄各1例及び3380mg/kg群の雌1例（計雄1例雌3例）に認められた。

盲腸：粘膜の一部暗赤色化が3380mg/kg群の雄1例に認められた。

肝臓：一部暗赤色化が2600mg/kg群の雄1例、白色斑が1180及び1540mg/kg群の雌各1例に認められた。

脾臓：萎縮が3380mg/kg群の雌1例、変形が1540mg/kg群の雌2例、一部黒色化及び褪色が1540mg/kg群の雌1例、一部白色化及び血餅の付着が1540mg/kg群の雌1例に認められた。

肺：暗赤色化が1180mg/kg群の雌1例及び1540mg/kg群の雌3例、暗赤色斑が2600mg/kg群の雌1例、含気した膨化が2000mg/kg群の雌2例、2600mg/kg群の雄1例雌2例及び3380mg/kg群の雌3例（計雄1例雌7例）に認められた。

外表所見としては鼻周囲被毛汚染が2600mg/kg群の雌2例及び3380mg/kg群の雌雄各2例、外尿道口周囲の被毛汚染が2000mg/kg群の雌1例、肛門周囲被毛汚染が2600

mg/kg群の雄1例に認められた。

②投与後4～6日死亡例

1540mg/kg群の雄2例雌1例、2000mg/kg群の雄4例雌1例及び2600mg/kg群の雄2例雌1例（計雄8例雌3例）の投与後4～6日死亡例の剖検所見は次の通りであった。
胃：胃と脾臓、脾臓、左腎臓及び左副腎との癒着が1540mg/kg群の雄1例に認められた。前胃では、粘膜の剥離が1540mg/kg群の雄全例雌1例、2000mg/kg群の雄3例及び2600mg/kg群の雄全例雌1例（計雄7例雌2例）、粘膜に暗赤色斑あるいは赤色斑が2000mg/kg群の雌雄各1例及び2600mg/kg群の雄全例（計雄3例雌1例）、漿膜の一部黄白色化が2600mg/kg群の雌1例に認められた。

腎臓：腫大が2600mg/kg群の雌1例に認められた。

脾臓：萎縮が1540mg/kg群の雄1例、2000mg/kg群の雄全例雌1例及び2600mg/kg群の雄全例雌1例（計雄7例雌2例）、変形及び一部白色化が1540mg/kg群の雌1例、一部黒色化が1540mg/kg群の雄1例に認められた。

肺：暗赤色化が1540mg/kg群の雄2例及び2600mg/kg群の雌1例、暗赤色斑が2600mg/kg群の雄1例に認められた。

胸腺：萎縮が1540mg/kg群の雄1例及び2600mg/kg群の雌雄各1例（計雄2例雌1例）、暗赤色化が1540mg/kg群の雄1例に認められた。

外表所見としては腹部及び後腹部、外尿道口周囲及び肛門周囲の被毛汚染が2000mg/kg群の雌1例に認められた。

(2)生存例

910mg/kg群の雌雄各全例、1180mg/kg群の雄5例雌4例、1540mg/kg群の雄3例及び2000mg/kg群の雌1例（計雄13例雌10例）の剖検所見は次の通りであった。

胃：前胃では、粘膜の一部肥厚が910mg/kg群の雌雄全例、1540mg/kg群の雄4例雌3例、1540mg/kg群の雄全例及び2000mg/kg群の雌1例（計雄12例雌9例）、粘膜の一部白色隆起が1180mg/kg群の雄1例に認められた。腺胃では、粘膜に暗赤色物の付着が2000mg/kg群の雌1例に認められた。

腎臓：腫大及び褪色が2000mg/kg群の雌1例に認められた。

脾臓：一部白色化が1540mg/kg群の雄1例に認められた。

5. 病理組織学的検査

病理組織学的検査の成績を Table 7、INDIVIDUAL DATA 4-1~4-2、Photo.H-1~H-5 に示した。

①投与後1~3日死亡例

1180mg/kg群の雌1例、1540mg/kg群の雌2例、2000mg/kg群の雌雄各1例、2600mg/kg群の雌雄各1例及び3380mg/kg群の雌雄各2例(計雄4例雌7例)の病理組織学的所見は次の通りであった。

前胃：粘膜上皮の壊死(重度)が1180及び1540mg/kg群の雌各1例、2000及び2600mg/kg群の雌雄各1例、3380mg/kg群の雌雄全例(計雄4例雌6例)、粘膜下織の水腫が1180、1540及び2600mg/kg群の雌各1例、3380mg/kg群の雄全例雌1例(計雄2例雌4例)、潰瘍(重度)が1540mg/kg群の雌1例、粘膜下織のうっ血が1540mg/kg群の雌全例及び2000mg/kg群の雄1例(計雄1例雌2例)に認められた。
腺胃：粘膜固有層のうっ血が2000mg/kg群の雄1例及び3380mg/kg群の雌雄全例(計雄3例雌2例)に認められた。

盲腸：粘膜固有層のうっ血が3380mg/kg群の雄1例に認められた。

肝臓：小葉中心性の肝細胞の巣状壊死及びうっ血が1180及び2600mg/kg群の雌各1例に認められた。その他に肉芽腫が2000mg/kg群の雄1例に認められた。

腎臓：皮髓境界部の尿細管上皮の壊死が2000及び3380mg/kg群の雌各1例(軽度)、1180mg/kg群の雌1例、1540mg/kg群の雌全例、2600及び3380mg/kg群の雌各1例(中等度)(以上計雌7例)、近位尿細管上皮の脂肪化が1180及び1540mg/kg群の雌各1例、2000mg/kg群の雄1例及び3380mg/kg群の雄全例(計雄3例雌2例)、遠位を主とした尿細管の拡張(軽度)及び尿細管上皮の萎縮(軽度)が2600及び3380mg/kg群の雄各1例に認められた。

脾臓：実質の壊死及び出血が1180mg/kg群の雌1例及び1540mg/kg群の雌全例(中等度)、2600mg/kg群の雌1例、3380mg/kg群の雌雄各1例(重度)(計雄1例雌5例)、萎縮が2000、2600及び3380mg/kg群の雄各1例(軽度)、1540mg/kg群の雌2例及び2000mg/kg群の雌1例(中等度)(計雌雄各3例)に認められた。

肺：うっ血が1180mg/kg群の雌1例、1540mg/kg群の雌全例、2600及び3380mg/kg群の雌各1例(計雌5例)、肺胞内水腫が1180mg/kg群の雌1例、肺胞の拡張が2000mg/kg群の雌1例、3380mg/kg群の雄全例雌1例(計雌雄各2例)に認められた。

②投与後4～6日死亡例

1540mg/kg群の雄2例、2000mg/kg群の雌雄各1例及び2600mg/kg群の雌雄各1例（計雄4例雌2例）の病理組織学的所見は次の通りであった。

前胃：粘膜上皮の壊死（重度）及び粘膜下織の水腫が2000mg/kg群の雄1例、潰瘍が1540及び2600mg/kg群の雄各1例（軽度）、1540mg/kg群の雄1例、2000及び2600mg/kg群の雌各1例（重度）（計雄3例雌2例）、浸出性炎及び胃壁の壊死が1540mg/kg群の雄1例、粘膜下織のうっ血が1540mg/kg群の雄1例、2000mg/kg群の雌1例及び2600mg/kg群の雄1例（計雄2例雌1例）、粘膜下織における肉芽増殖が1540mg/kg群の雄全例及び2600mg/kg群の雌雄各1例（計雄3例雌1例）、粘膜層の肥厚及び過角化が1540mg/kg群の雄1例に認められた。このうち、潰瘍が重度に認められた1540mg/kg群の雄1例は浸出性炎及び胃壁の壊死とともに胃とその周囲の器官との癒着がみられた例であった。

肝臓：うっ血が1540mg/kg群の雄2例、2000mg/kg群の雌雄各1例及び2600mg/kg群の雌1例（計雄3例雌2例）に認められた。

腎臓：血栓形成が2000mg/kg群の雄1例、皮髓境界部における尿細管上皮の壊死が2000mg/kg群の雄1例及び2600mg/kg群の雌1例（軽度）、1540mg/kg群の雄全例、2000mg/kg群の雌1例及び2600mg/kg群の雄1例（中等度）（計雄4例雌2例）、遠位を主とした尿細管の拡張（中等度）及び尿細管上皮の萎縮（中等度）が2000mg/kg群の雄1例及び2600mg/kg群の雌1例、胃との炎症性癒着及び浸出性炎が1540mg/kg群の雄1例、腎盂腎炎が1540及び2000mg/kg群の雄各1例、2600mg/kg群の雌1例（計雄2例雌1例）に認められた。

脾臓：実質の壊死（重度）、胃との炎症性癒着及び浸出性炎が1540mg/kg群の雄1例、萎縮が1540mg/kg群の雄1例、2000mg/kg群の雌雄各1例及び2600mg/kg群の雌1例（中等度）及び2600mg/kg群の雄1例（重度）（計雄3例雌2例）に認められた。

肺：うっ血が1540mg/kg群の雄全例、2000mg/kg群の雌1例、2600mg/kg群の雌雄各1例（計雄3例雌2例）、肺胞内水腫が1540mg/kg群の雄全例及び2000mg/kg群の雌1例（計雄2例雌1例）に認められた。

胸腺：萎縮（重度）が1540mg/kg群の雄1例及び2600mg/kg群の雌1例、石灰化を伴う胸腺嚢胞が2600mg/kg群の雌1例に認められた。

副腎（左）：胃との炎症性癒着及び浸出性炎が1540mg/kg群の雄1例に認められた。

脾臓：胃との炎症性癒着、浸出性炎及び外分泌腺細胞の萎縮が 1540mg/kg群の雄1例に認められた。

(2)生存例

910mg/kg群の雌雄各2例、1180mg/kg群の雌雄各2例、1540mg/kg群の雄2例及び2000mg/kg群の雌1例（計雄6例雌5例）の病理組織学的所見は次の通りであった。

前胃：潰瘍（軽度）が 910mg/kg群の雌1例、1540mg/kg群の雄2例及び 2000mg/kg群の雌1例、粘膜下織における肉芽増殖が検査した雌雄全例（計雄6例雌5例）、粘膜層の肥厚が 910mg/kg群の雌雄全例、1180mg/kg群の雄1例雌全例、1540mg/kg群の雄1例及び2000mg/kg群の雌1例（軽度）、1180及び1540mg/kg群の雄各1例（中等度）（計雄6例雌5例）、過角化が検査した雌雄全例（計雄6例雌5例）に認められた。

腎臓：尿細管上皮の再生及び線維化が 910及び1180mg/kg群の雌各2例、1540mg/kg群の雄1例、2000mg/kg群の雌1例に認められた。その他に貯留嚢胞が 1180mg/kg群の雄1例、腎盂乳頭に石灰沈着が 910mg/kg群の雌2例に認められた。

脾臓：萎縮が 1540mg/kg群の雄1例、髓外造血の増加が 910mg/kg群の雄1例、1180mg/kg群の雄2例及び 1540mg/kg群の雄1例に認められた。

考 察

DEFの 910、1180、1540、2000、2600及び 3380mg/kgを5週齢の Crj:CD (SD) 系雌雄ラットに経口単回投与し、その毒性を試験した。

死亡例は、雄で 1540mg/kg以上の群に、雌で 1180mg/kg以上の群に認められ、LD₅₀値は雄で 1540mg/kgと 2000mg/kgとの間、雌で 1367.45mg/kg (95%信頼限界 1100.03~1675.51mg/kg) であった。死亡時期は投与後1~6日の間であり、高用量群ほど早期に死亡する傾向が認められた。

DEF 投与による主症状として、自発運動の減少が、死亡例で投与日及び投与後1日以降は断続的に、生存例では 1180mg/kg以上の群で投与日に認められた。その他に流涎、腹臥、体温低下、呼吸緩徐、下痢及び被毛汚染が DEF投与群で認められた。また、DEF 投与群の体重は対照群よりも有意に低く推移し、観察期間の早期には投与日体重よりも減少しており、DEF 単回投与による影響が認められた。

刺激性を有する DEFの直接曝露によると考えられる所見が前胃で認められた。すなわち、比較的早く死亡した例では、前胃において壁の菲薄化がほぼ全例に認められ、病理組織学的には粘膜上皮の壊死及び粘膜下織の水腫などが認められた。比較的遅く死亡した例では、前胃に粘膜剥離がほぼ全例に認められ、病理組織学的には潰瘍及び粘膜下織の肉芽増殖などが認められ、このうち、潰瘍が重度にみられた例では胃とその周囲の器官との癒着なども認められた。生存例では、前胃粘膜の肥厚がほぼ全例に認められ、病理組織学的には粘膜下織の肉芽増殖及び粘膜層の肥厚、過角化及び潰瘍が認められた。以上のことと死亡時期が投与量にほぼ相関していることから、概ね高用量では投与容量が多いため粘膜上皮の壊死として DEFの刺激性が強くと現れ、低用量では投与容量が少なく潰瘍及び増殖性変化として高用量よりも局所的かつ軽度にと現れたものと考えられた。なお、腺胃では、粘膜固有層にうっ血がみられる程度で傷害が認められないのは、前胃が重層扁平上皮で構成されているのに対し、腺胃は保護作用を有する粘液層を厚く持つためと考えられた。

循環障害を示唆する所見が DEF投与動物の主要な器官で認められた。すなわち、死亡した一部の例の病理組織学的検査の結果、腎臓に皮髄境界部の尿細管上皮の壊死及び血栓形成、肝臓に小葉中心性の肝細胞の巣状壊死、脾臓に実質の壊死、肺に肺胞内水腫及び肺胞の拡張が認められた。生存例の腎臓においても前述の循環障害の修復像と考えられる尿細管上皮の再生及び線維化が認められた。

その他に DEF投与群では、生存した雄の脾臓では髄外造血の増加が認められ、前胃における傷害に起因した変化と推察された。死亡例では、腎尿細管の拡張及び尿細管上皮の萎縮や脾臓及び胸腺の萎縮が死亡時期の遅い例ほど重く認められる傾向があり、死亡に至る時間経過に伴い全身的な衰弱が強くなったものと考えられた。

Figures

Figure 1. Body weight changes of male rats in the acute oral toxicity study of DEF

Figure 2. Body weight changes of female rats in the acute oral toxicity study of DEF

Tables

Table 1. Experimental design for the acute oral toxicity study of DEF in rats

Table 2. Mortality and LD₅₀ values of rats in the acute oral toxicity study of DEF

Table 3. General appearance of rats in the acute oral toxicity study of DEF

Table 4. Body weight changes of male rats in the acute oral toxicity study of DEF

Table 5. Body weight changes of female rats in the acute oral toxicity study of DEF

Table 6. Gross findings of rats in the acute oral toxicity study of DEF

Table 7. Histopathological findings of rats in the acute oral toxicity study of DEF

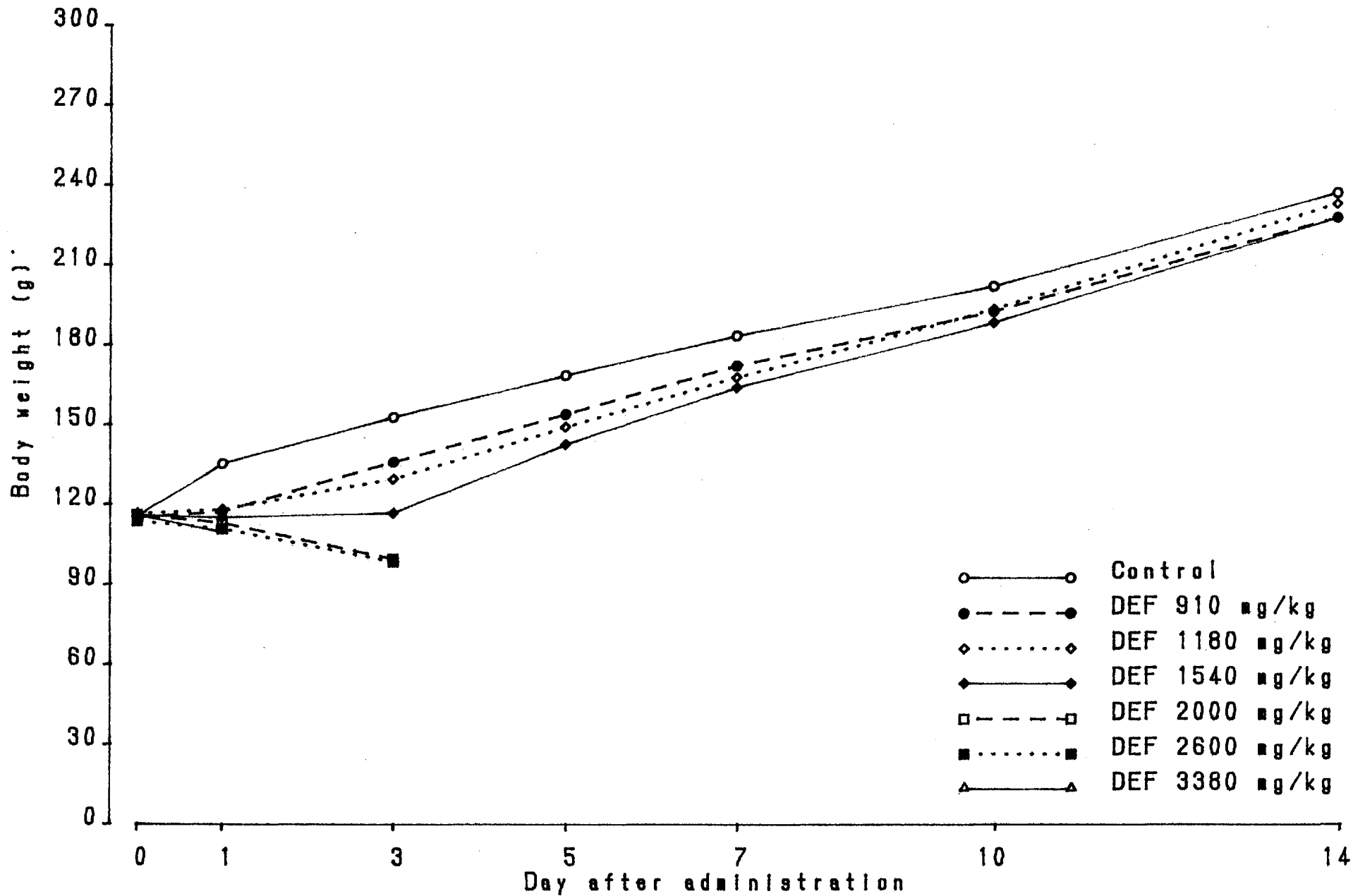


Figure 1. Body weight changes of male rats in the acute oral toxicity study of DEF

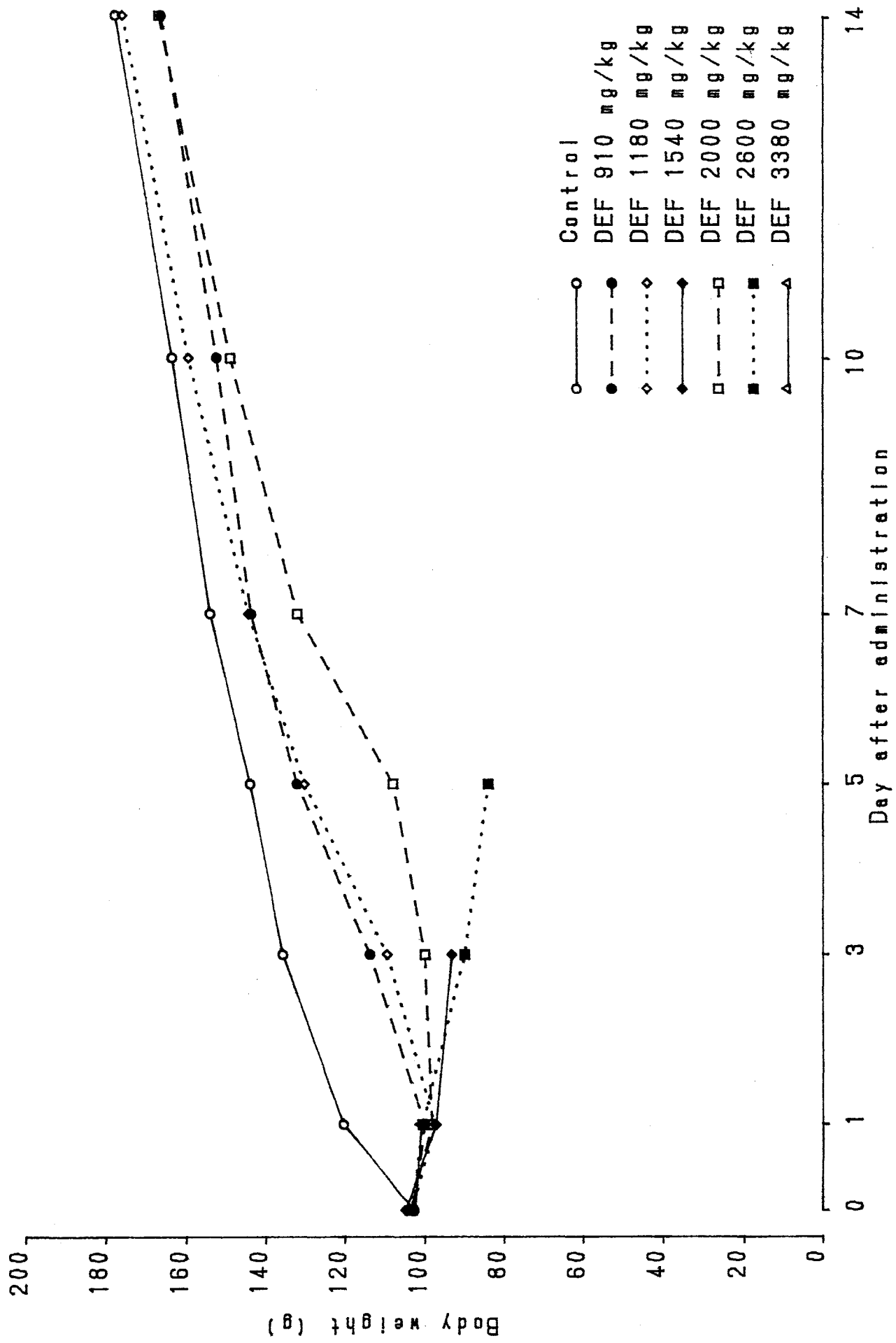


Figure 2. Body weight changes of female rats in the acute oral toxicity study of DEF

Table 1. Experimental design for the acute oral toxicity study of DEF in rats

Sex	Group	Concentration of DEF (w/v %)	Volume (ml/kg)	No. of animals ^a
	^b Control	0	3.210	5
	^c DEF 910 mg/kg	100	0.864	5
	DEF 1180 mg/kg	100	1.121	5
Male	DEF 1540 mg/kg	100	1.462	5
	DEF 2000 mg/kg	100	1.899	5
	DEF 2600 mg/kg	100	2.469	5
	DEF 3380 mg/kg	100	3.210	5
	Control	0	3.210	5
	DEF 910 mg/kg	100	0.864	5
	DEF 1180 mg/kg	100	1.121	5
Female	DEF 1540 mg/kg	100	1.462	5
	DEF 2000 mg/kg	100	1.899	5
	DEF 2600 mg/kg	100	2.469	5
	DEF 3380 mg/kg	100	3.210	5

a: Crj:CD(SD) rats were dosed orally at the age of 5 weeks.

b: Control was purified water.

c: DEF was diethyl fumarate.

Table 2. Mortality and LD₅₀ values of rats in the acute oral toxicity study of DEF

Sex	Group	Distribution of dead animals								Mortality ^b	LD ₅₀ value ^c (mg/kg)	
		0	1	2	3	4	5	6	7-14 ^a			
Male	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	between 1540 and 2000 ^d
	DEF 910 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	
	DEF 1180 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	
	DEF 1540 mg/kg	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2/5	
	DEF 2000 mg/kg	0	1	0	0	4	0	0	0	0	5/5	
	DEF 2600 mg/kg	0	2	0	1	1	1	0	0	0	5/5	
	DEF 3380 mg/kg	0	3	2	0	0	0	0	0	0	5/5	
Female	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	1367.45 (1100.03-1675.51)
	DEF 910 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	
	DEF 1180 mg/kg	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1/5	
	DEF 1540 mg/kg	0	1	0	3	1	0	0	0	0	5/5	
	DEF 2000 mg/kg	0	1	2	0	1	0	0	0	0	4/5	
	DEF 2600 mg/kg	0	3	1	0	0	0	1	0	0	5/5	
	DEF 3380 mg/kg	0	3	1	1	0	0	0	0	0	5/5	

a: Day after administration.

b: No. of dead animals / no. of animals dosed.

c: LD₅₀ value was estimated by probit analysis and values in parentheses are 95% confidence limits.

d: Approximate LD₅₀ value.

Table 3. General appearance of rats in the acute oral toxicity study of DEF

Item	Male							Female						
	Control	DEF (mg/kg)						Control	DEF (mg/kg)					
		910	1180	1540	2000	2600	3380		910	1180	1540	2000	2600	3380
Total no. of animals examined	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Findings of dead animals														
No. of dead animals	0 ^a	0	0	2 ^b	5	5	5	0	0	1	5	4	5	5
Decrease in spontaneous activity	-	-	-	2	5	5	5	-	-	1	5	4	5	5
Prone position	-	-	-	0	0	1	2	-	-	0	1	0	2	0
Salivation	-	-	-	2	2	2	2	-	-	1	3	2	1	2
Subnormal temperature	-	-	-	0	1	1	2	-	-	0	1	0	2	0
Bradypnea	-	-	-	0	0	1	2	-	-	0	1	0	2	0
Diarrhea	-	-	-	1	0	1	0	-	-	0	0	0	0	0
Soiling of perioral hair	-	-	-	0	0	1	0	-	-	0	2	1	0	1
Soiling of perinasal hair	-	-	-	0	0	0	2	-	-	0	0	0	2	2
Soiling of abdominal and posterior abdominal hair	-	-	-	0	0	0	0	-	-	0	0	1	0	0
Soiling of perigenital hair	-	-	-	0	0	0	0	-	-	0	0	2	0	0
Soiling of perianal hair	-	-	-	0	0	1	0	-	-	0	0	1	0	0
Findings of surviving animals														
No. of surviving animals	5	5	5	3	0	0	0	5	5	4	0	1	0	0
Decrease in spontaneous activity	0	0	5	3	-	-	-	0	0	4	-	1	-	-
Salivation	0	1	2	1	-	-	-	0	2	3	-	0	-	-
Diarrhea	0	1	0	0	-	-	-	0	0	0	-	0	-	-
Soiling of perioral hair	0	0	0	0	-	-	-	0	0	3	-	0	-	-

a: - = blank value.

b: Values are no. of animals with findings.

Table 4. Body weight changes of male rats in the acute oral toxicity study of DEF

Group	No. of animals	Day after administration						
		0	1	3	5	7	10	14
Control	5	a						
		115.4 2.6	135.2 4.1	152.8 4.5	168.6 4.8	183.4 5.5	201.8 7.9	237.0 7.7
DEF 910 mg/kg	5	115.0 4.7	117.2** 4.9	135.8* 5.5	154.0* 6.3	172.2 7.6	192.4 9.7	227.6 15.2
		116.4 2.7	118.0** 3.3	129.4** 8.4	149.2** 9.2	167.8* 8.5	193.2 8.7	232.8 10.8
DEF 1540 mg/kg	5	115.8 3.3	115.0** 2.9	116.6** 11.3	(3)b 142.7** 11.0	(3) 164.0* 8.5	(3) 188.3 8.6	(3) 227.7 8.5
		116.0 4.2	113.0** 6.8	99.5** 6.5	-	-	-	-
DEF 2600 mg/kg	5	113.6 2.3	(4) 110.8** 5.2	(2) 98.5** 4.9	-	-	-	-
		116.0 3.1	(2) 109.5** 2.1	-	-	-	-	-

a: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram.

b: Values in parentheses are no. of animals examined.

*: Differs from control, $p < 0.05$.

** : Differs from control, $p < 0.01$.

Table 5. Body weight changes of female rats in the acute oral toxicity study of DEF

Group	No. of animals	Day after administration						
		0	1	3	5	7	10	14
Control	5	102.8 ^a	120.4	135.8	144.0	154.0	163.6	177.8
		2.4	2.8	4.4	5.4	7.1	7.7	7.5
DEF 910 mg/kg	5	103.0	100.2**	113.8**	132.2*	143.8	152.4	166.4
		3.1	4.7	5.0	4.1	5.0	10.8	13.6
DEF 1180 mg/kg	5	103.2	97.6**	(4)b 109.5**	(4) 130.3**	(4) 144.5	(4) 159.5	(4) 176.0
		3.0	4.1	8.3	5.4	5.4	8.3	8.0
DEF 1540 mg/kg	5	105.0	97.2**	(4) 93.3**	-	-	-	-
		3.0	1.6	4.3				
DEF 2000 mg/kg	5	103.6	(4) 98.3**	(2) 100.0**	(1) 108.0	(1) 132.0	(1) 149.0	(1) 167.0
		4.8	9.8	7.1				
DEF 2600 mg/kg	5	103.2	(3) 100.7**	(1) 90.0	(1) 84.0	-	-	-
		1.6	4.0					
DEF 3380 mg/kg	5	102.6	(2) 101.0**	-	-	-	-	-
		2.6	2.8					

a: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram.

b: Values in parentheses are no. of animals examined.

*: Differs from control, p<0.05.

** : Differs from control, p<0.01.

Table 6. Gross findings of rats in the acute oral toxicity study of DEF

Item	Male								Female									
	Control	DEF (mg/kg)							Total	Control	DEF (mg/kg)							Total
		910	1180	1540	2000	2600	3380	910			1180	1540	2000	2600	3380			
Total no. of animals examined	5	5	5	5	5	5	5		5	5	5	5	5	5	5			
Findings of dead animals																		
No. of dead animals	0	0	0	2[0/2] ^a	5[1/4]	5[3/2]	5[5/0]	[9/8] ^d	0	0	1[1/0]	5[4/1]	4[3/1]	5[4/1]	5[5/0]	[17/3]		
Stomach : Distention	- ^b	-	-	0 ^c	1	2	5	[8/0]	-	-	0	0	0	3	3	[6/0]		
Adhesion to pancreas, spleen, left kidney and left adrenal	-	-	-	1	0	0	0	[0/1]	-	-	0	0	0	0	0			
Forestomach : Thinning of wall	-	-	-	0	1	2	5	[8/0]	-	-	0	1	3	4	5	[13/0]		
Detachment of mucosa	-	-	-	2[0/2]	3[0/3]	3[1/2]	1[1/0]	[2/7]	-	-	1[1/0]	2[1/1]	1[1/0]	1[0/1]	1[1/0]	[4/2]		
Dark red or red patch/patches on mucosa	-	-	-	0	2[1/1]	3[1/2]	0	[2/3]	-	-	0	3[3/0]	1[0/1]	0	1[1/0]	[4/1]		
Partial dark red or red discoloration of mucosa	-	-	-	0	0	0	0		-	-	0	1	0	1	0	[2/0]		
Partial yellowish white discoloration of serosa	-	-	-	0	0	0	0		-	-	0	0	0	1	0	[0/1]		
Glandular stomach : Dark red or red discoloration of mucosa	-	-	-	0	1	1 ^e	3 ^f	[5/0]	-	-	0	0	0	0	2 ^f	[2/0]		
Dark red patches on mucosa	-	-	-	0	0	1	0	[1/0]	-	-	0	1	0	1	1	[3/0]		
Cecum : Partial dark red discoloration of mucosa	-	-	-	0	0	0	1	[1/0]	-	-	0	0	0	0	0			
Liver : Partial dark red discoloration	-	-	-	0	0	1	0	[1/0]	-	-	0	0	0	0	0			
White patches	-	-	-	0	0	0	0		-	-	1	1	0	0	0	[2/0]		
Kidneys : Swelling	-	-	-	0	0	0	0		-	-	0	0	0	1	0	[0/1]		
Spleen : Atrophy	-	-	-	1	4	2	0	[0/7]	-	-	0	0	1[0/1]	1[0/1]	1[1/0]	[1/2]		
Deformation	-	-	-	0	0	0	0		-	-	0	3[2/1]	0	0	0	[2/1]		
Partial black or pale discoloration	-	-	-	1	0	0	0	[0/1]	-	-	0	1	0	0	0	[1/0]		
Partial white discoloration	-	-	-	0	0	0	0		-	-	0	2[1/1]	0	0	0	[1/1]		
Attachment to blood clot	-	-	-	0	0	0	0		-	-	0	1	0	0	0	[1/0]		
Lung : Dark red discoloration	-	-	-	2 ^e	0	0	0	[0/2]	-	-	1[1/0]	3[3/0]	0	1[0/1]	0	[4/1]		
Dark red patches	-	-	-	0	0	1	0	[0/1]	-	-	0	0	0	1	0	[1/0]		
Pneumatized swelling	-	-	-	0	0	1	0	[1/0]	-	-	0	0	2	2	3	[7/0]		
Thymus : Atrophy	-	-	-	1	0	1	0	[0/2]	-	-	0	0	0	1	0	[0/1]		
Dark red discoloration	-	-	-	1	0	0	0	[0/1]	-	-	0	0	0	0	0			
External : Soiling of perinasal hair	-	-	-	0	0	0	2	[2/0]	-	-	0	0	0	2	2	[4/0]		
Soiling of abdominal and posterior abdominal hair	-	-	-	0	0	0	0		-	-	0	0	1	0	0	[0/1]		
Soiling of perigenital hair	-	-	-	0	0	0	0		-	-	0	0	2[1/1]	0	0	[1/1]		
Soiling of perianal hair	-	-	-	0	0	1	0	[1/0]	-	-	0	0	1	0	0	[0/1]		

(continued)

Table 6. (continued)

Item	Male								Female									
	Control	DEF (mg/kg)							Total	Control	DEF (mg/kg)							Total
		910	1180	1540	2000	2600	3380	910			1180	1540	2000	2600	3380			
Total no. of animals examined	5	5	5	5	5	5	5		5	5	5	5	5	5	5			
Findings of surviving animals																		
No. of surviving animals	5	5	5	3	0	0	0	[13] ^g	5	5	4	0	1	0	0	[10]		
Forestomach : Partial thickening of mucosa	0	5	4	3	-	-	-	[12] ^h	0	5	3	-	1	-	-	[9]		
Partial white elevation of mucosa	0	0	1	0	-	-	-	[1]	0	0	0	-	0	-	-			
Glandular stomach : Attachment to dark red substance on mucosa	0	0	0	0	-	-	-		0	0	0	-	1	-	-	[1]		
Kidneys : Swelling	0	0	0	0	-	-	-		0	0	0	-	1	-	-	[1]		
Pale discoloration	0	0	0	0	-	-	-		0	0	0	-	1	-	-	[1]		
Spleen : Partial white discoloration	0	0	0	1	-	-	-	[1]	0	0	0	-	0	-	-			

a: Values in brackets are total no. of dead animals on days 1-3 after adm. / on days 4-6 after adm.

b: - = blank value.

c: Values are no. of animals with findings.

d: Values in brackets are total no. of animals with findings which died on day 1-3 after adm. / on days 4-6 after adm.

e: Partial.

f: Partial in one animal.

g: Values in brackets are total no. of surviving animals.

h: Values in brackets are total no. of surviving animals with findings.

Table 7. Histopathological findings of rats in the acute oral toxicity study of DEF

Item	Grade	Male							Female								
		DEF (mg/kg)							DEF (mg/kg)								
		Control	910	1180	1540	2000	2600	3380	Total	Control	910	1180	1540	2000	2600	3380	Total
Total no. of animals examined		2	2	2	4	2	2	2		2	2	3	2	3	2	2	
Findings of dead animals																	
No. of dead animals		0	0	0	2[0/2] ^b	2[1/1]	2[1/1]	2[2/0]	[4/4]	0	0	1[1/0]	2[2/0]	2[1/1]	2[1/1]	2[2/0]	[7/2]
Fore stomach : Necrosis of mucosal epithelium	+++	-	-	-	0	2[1/1]	1[1/0]	2[2/0]	[4/1] ^e	-	-	1	1	1	1	2	[6/0]
Edema in submucosal tissue	+	-	-	-	0	1[0/1]	0	2[2/0]	[2/1]	-	-	1	1	0	1	1	[4/0]
Ulcer	+	-	-	-	1	0	1	0	[0/2]	-	-	0	0	0	0	0	
Exudative inflammation	+++	-	-	-	1	0	0	0	[0/1]	-	-	0	1[1/0]	1[0/1]	1[0/1]	0	[1/2]
Necrosis of wall	+	-	-	-	1	0	0	0	[0/1]	-	-	0	0	0	0	0	
Congestion in submucosal tissue	+	-	-	-	1[0/1]	1[1/0]	1[0/1]	0	[1/2]	-	-	0	2[2/0]	1[0/1]	0	0	[2/1]
Granulation growth in submucosal tissue	+	-	-	-	2	0	1	0	[0/3]	-	-	0	0	0	1	0	[0/1]
Thickening of mucosal layer	+	-	-	-	1	0	0	0	[0/1]	-	-	0	0	0	0	0	
Hyperkeratosis	+	-	-	-	1	0	0	0	[0/1]	-	-	0	0	0	0	0	
Glandular stomach : Congestion in lamina propria mucosa	+	-	-	-	0	1	0	2	[3/0]	-	-	0	0	0	0	2	[2/0]
Cecum : Congestion in lamina propria mucosa	+	-	-	-	# f	0	0(1)g	1	[1/0]	-	-	#	0	#	0(1)	0(1)	
Liver : Focal centrilobular necrosis of hepatocytes	+	-	-	-	0	0	0	0		-	-	1	0	0	1	0	[2/0]
Congestion	+	-	-	-	2	1	0	0	[0/3]	-	-	1[1/0]	0	1[0/1]	2[1/1]	0	[2/2]
Granuloma	+	-	-	-	0	1	0	0	[1/0]	-	-	0	0	0	0	0	
Kidney (right/left) :																	
Thrombus formation	+	-	-	-	0	1	0	0	[0/1]	-	-	0	0	0	0	0	
Necrosis of tubular epithelium in corticomedullary junction	+	-	-	-	0	1	0	0	[0/1]	-	-	0	0	1[1/0]	1[0/1]	1[1/0]	[2/1]
Fatty change of proximal tubular epithelium	++	-	-	-	2	0	1	0	[0/3]	-	-	1[1/0]	2[2/0]	1[0/1]	1[1/0]	1[1/0]	[5/1]
Dilation of tubules, mainly distal tubules	+	-	-	-	0	1	0	2	[3/0]	-	-	1	1	0	0	0	[2/0]
Atrophy of tubular epithelium, mainly distal tubules	++	-	-	-	0	1	0	0	[0/1]	-	-	0	0	0	1	0	[0/1]
Inflammatory adhesion to stomach	+	-	-	-	1	0	0	0	[0/1]	-	-	0	0	0	0	0	
Exudative inflammation	+	-	-	-	1	0	0	0	[0/1]	-	-	0	0	0	0	0	
Pyelonephritis	+	-	-	-	1	1	0	0	[0/2]	-	-	0	0	0	1	0	[0/1]

(cont inued)

Table 7. (continued-1)

Item	Grade ^a	Male							Female								
		DEF (mg/kg)							DEF (mg/kg)								
		Control	910	1180	1540	2000	2600	3380	Total	Control	910	1180	1540	2000	2600	3380	Total
Total no. of animals examined		2	2	2	4	2	2	2		2	2	3	2	3	2	2	
Findings of dead animals																	
No. of dead animals		0	0	0	2[0/2]	2[1/1]	2[1/1]	2[2/0]	[4/4]	0	0	1[1/0]	2[2/0]	2[1/1]	2[1/1]	2[2/0]	[7/2]
Spleen : Necrosis of parenchyma	++	-	-	-	0	0	0	0		-	-	1	2	0	0	0	[3/0]
	+++	-	-	-	1[0/1]	0	0	1[1/0]	[1/1]	-	-	0	0	0	1	1	[2/0]
Hemorrhage	++	-	-	-	0	0	0	0		-	-	1	2	0	0	0	[3/0]
	+++	-	-	-	0	0	0	1	[1/0]	-	-	0	0	0	1	1	[2/0]
Atrophy	+	-	-	-	0	1	1	1	[3/0]	-	-	0	0	0	0	0(1)	
	++	-	-	-	1	1	0	0	[0/2]	-	-	0	2[2/0]	2[1/1]	1[0/1]	0(1)	[3/2]
	+++	-	-	-	0	0	1	0	[0/1]	-	-	0	0	0	0	0(1)	
Inflammatory adhesion to stomach	+	-	-	-	1	0	0	0	[0/1]	-	-	0	0	0	0	0(1)	
Exudative Inflammation	+	-	-	-	1	0	0	0	[0/1]	-	-	0	0	0	0	0(1)	
Lung : Congestion	+	-	-	-	2	0	1	0	[0/3]	-	-	1[1/0]	2[2/0]	1[0/1]	2[1/1]	1[1/0]	[5/2]
Edema in alveoli	+	-	-	-	2	0	0	0	[0/2]	-	-	1[1/0]	0	1[0/1]	0	0	[1/1]
Dilation of alveoli	+	-	-	-	0	0	0	2	[2/0]	-	-	0	0	1	0	1	[2/0]
Thymus : Atrophy	+++	-	-	-	1(1)	#	0(1)	#	[0/1]	-	-	#	#	#	1(1)	#	[0/1]
Thymic cyst with calcification	+	-	-	-	0(1)	#	0(1)	#		-	-	#	#	#	1(1)	#	[0/1]
Adrenal (Left) : Inflammatory adhesion to stomach	+	-	-	-	1(1)	#	#	#	[0/1]	-	-	#	#	#	#	#	
Exudative inflammation	+	-	-	-	1(1)	#	#	#	[0/1]	-	-	#	#	#	#	#	
Pancreas : Inflammatory adhesion to stomach	+	-	-	-	1(1)	#	#	#	[0/1]	-	-	#	#	#	#	#	
Exudative inflammation	+	-	-	-	1(1)	#	#	#	[0/1]	-	-	#	#	#	#	#	
Atrophy of acinar cells	+	-	-	-	1(1)	#	#	#	[0/1]	-	-	#	#	#	#	#	

(cont inued)

Table 7. (continued-2)

Item	Grade ^a	Male							Female								
		DEF (mg/kg)							DEF (mg/kg)								
		Control	910	1180	1540	2000	2600	3380	Total	Control	910	1180	1540	2000	2600	3380	Total
Total no. of animals examined		2	2	2	4	2	2	2		2	2	3	2	3	2	2	
Findings of surviving animals									h								
No. of surviving animals		2	2	2	2	0	0	0	[6]	2	2	2	0	1	0	0	[5]
Forestomach : Ulcer	+	0	0	0	2	-	-	-	[2]	0	1	0	-	1	-	-	[2]
Granulation growth in submucosal tissue	+	0	2	2	2	-	-	-	[6]	0	2	2	-	1	-	-	[5]
Thickening of mucosal layer	+	0	2	1	1	-	-	-	[4]	0	2	2	-	1	-	-	[5]
Hyperkeratosis	++	0	0	1	1	-	-	-	[2]	0	0	0	-	0	-	-	
Hyperkeratosis	+	0	2	2	2	-	-	-	[6]	0	2	2	-	1	-	-	[5]
Kidney (right/left) : Regeneration of tubular epithelium	+	0	0	0	1	-	-	-	[1]	0	2	2	-	1	-	-	[5]
Fibrosis	+	0	0	0	1	-	-	-	[1]	0	2	2	-	1	-	-	[5]
Retention cyst	+	0	0	1	0	-	-	-	[1]	0	0	0	-	0	-	-	
Calcium deposition in renal papilla	+	0	0	0	0	-	-	-		0	2	0	-	0	-	-	[2]
Spleen : Atrophy	+	0	0	0	1	-	-	-	[1]	0	0	0	-	0	-	-	
Increase in extramedullary hematopoiesis	+	0	1	2	1	-	-	-	[4]	0	0	0	-	0	-	-	
Thymus : Abnormal findings		0(1)	#	#	0(1)	-	-	-		#	#	#	-	0	-	-	

There were no abnormal findings in the heart, cerebrum, cerebellum, duodenum, jejunum, ileum, colon and rectum.

a: + = slight, ++ = moderate and +++ = severe changes.

b: Values in brackets are total no. of dead animals on days 1-3 after adm. / on days 4-6 after adm.

c: - = blank value.

d: Values are no. of animals with findings.

e: Values in brackets are total no. of animals with findings which died on day 1-3 after adm. / on days 4-6 after adm.

f: # = not examined.

g: Values in parentheses are no. of animals examined.

h: Values in brackets are total no. of surviving animals.

i: Values in brackets are total no. of surviving animals with findings.