最終報告書

100 110 -

四臭化エタンのラットを用いる28日間反復投与毒性試験

(試験番号:00-257)

財団法人 畜産生物科学安全研究所

目 次

要約				1
はじ	めに			2
目的				2
材料	及び方法			
1	. 被験物質			2
2	. 動物及び飼育条件	·		2
3	. 投与量の設定, 試	験群の構成	及び投与方法	3
4	. 観察及び検査			
	1)一般状態観察			4
	2) 体重及び摂餌量	測定		4
	3) 尿検査			5
	4) 血液学検査			5
	5) 血液生化学検査			5
	6) 剖検及び器官重	量測定		6
	7) 病理組織学検査			6
5	. 統計解析			7
結果				
1	. 一般状態			8
2	. 体重			8
3	. 摂餌量			8
4	. 尿検査			8
5	. 血液学検査	,		9
6	. 血液生化学検査			9
7	. 剖検			9
8	. 器官重量			10
9	. 病理組織学検査 .			10
考察				
文献	t ·····			15
添作	計資料			
	A. 図・群別平均値	表		
	Figures	1, 2	体重	1
	Tables	1, 2	一般状態	3
	Tables	3. 4	体重	5
	Tables	5, 6	摂餌量	7
	Tables	7 ~ 10	尿検査	9
	Tables	11~14	血液学検査	13

Tables	15~18	血液生化学検査
Tables	19, 20	剖検
Tables	21~24	器官重量 23
Tables	25, 26	病理組織学検査所見

要約

四臭化エタンの28日間反復経口投与毒性試験を、ラットを用い、0、6、20、60及び200mg/kg/dayで実施した。動物数は各群雌雄それぞれ5匹とし、7群を設け、5群は投与期間終了時に屠殺した。2群は0及び200mg/kg群の14日間回復群とした。

200mg/kg群で雌雄に一過性の軟便が認められた。尿検査においては,200mg/kg群で雄にpHの低下が認められた。血液学検査においては,200mg/kg群で雌に血小板数の減少が認められた。血液生化学検査においては,20及び60mg/kg群で雌にアルブミン及び総タンパクの増加,雄に塩素の減少,60mg/kg群で雄にカリウムの減少,雌にA/G比及びカルシウムの増加が認められた。200mg/kg群ではこれらの変化が雌雄に認められたほか,γ-GTPの増加及び総ビリルビンの減少が雄に認められた。 剖検においては,20mg/kg以上の群で雌雄に肝臓の大型化が認められ、肝臓重量は,20mg/kg群の雄で相対重量,60及び200mg/kg群の雌雄で絶対及び相対重量の増加が認められた。また,200mg/kg群で腎臓の雄では相対重量,雌では絶対及び相対重量の増加が認められた。 病理組織学検査においては,肝臓に小葉中心性肝細胞肥大が20mg/kg以上の群で雌雄に,甲状腺の濾胞上皮肥大が60及び200mg/kg群で雌雄に認められた.腎臓には変化は認められなかった.

回復群においては、肝臓の病理組織学的変化及びこれと関連する血液生化学的変化は 残るものの回復傾向にあり、その他の変化はいずれも回復することが確認された。

以上の結果から、四臭化エタンのラットへの28日間反復経口投与により、肝臓、甲状腺、腎臓及び血液等に対する影響並びに電解質の変化が認められた。無影響量(NOEL)は、6 mg/kg/dayと結論された。

はじめに

四臭化エタンは、難燃剤(発泡スチレン)、油脂やワックス等の溶剤、比重による選鉱、液体ケージ用剤、顕微鏡検査用試薬、触媒等に用いられている化学物質である。本物質の経口毒性について、ラットにおける LD_{50} 値は1200mg/kgとの報告¹⁾ はみられるが、反復投与毒性を含む一般毒性学的プロフィールについては殆ど知られていない。

目的

四臭化エタンをラットに28日間反復経口投与し、本物質の一般毒性学的性質について 検討する.

材料及び方法

1. 被験物質

被験物質の四臭化エタン(CAS No. 79-27-6)は、分子量 345.67、融点 0° C、比重 2.962($20/4^{\circ}$ C)の水に不溶、有機溶媒及び食物油に可溶な無色又は淡黄色の透明液体で、樟脳に似た臭気を有する。試験には 製造のロット番号 純度 99.2%(安定剤として1,2-ブチレンオキサイドを0.2%添加されている)のものを入手し、冷暗条件下(4° C)で保管し使用した。用いた被験物質は投与終了後に分析し、使用期間中安定であったことを確認した。本物質の詳細は、Appendix 1 に示す。投与液は、局方オリブ油(宮澤薬品株式会社、ロット番号:HG19)を用いて、所定の投与用量となる濃度の溶液として調製した。本物質の1 及び0.1 W/V%オリブ油溶液を用いて投与形態での安定性試験を実施した結果、冷(4° C)暗条件下で少なくとも7 日間は安定であることが確認された(Appendix 2)。したがって、投与液の使用期間は調製後7 日間とし、調製した投与液は1 日の使用量ごとに小分けし、使用時まで冷所(4° C)遮光下で、密栓して保管した。また、初回に調製した投与液について分析し、所定の濃度で調製されていることを確認した(Appendix 3)。

2. 動物及び飼育条件 (Appendices 4~6)

4 週齢のSD系[Crj:CD(SD)IGS]SPFラットを、日本チャールス・リバー株式会社 厚木

生産場(神奈川県厚木市下古沢 795)から搬入(雌雄各42匹)し、雄は7日間、雌は8日間試験環境に馴化させ、その間に検疫を行い、発育が順調で一般健康状態の良好な雌雄各35匹を、5週齢で試験に供した、投与開始時の平均体重(体重範囲)は、雄144(134~155)g、雌129(121~137)g であった。

ラットは、温度 22 ± 3 °C、湿度 55 ± 10 %、換気回数10回以上/時(オールフレッシュエア-方式)、照明12時間/日(午前7時~午後7時)に設定したバリア-システム動物室(第7室)で、個体別にステンレス製金網ケ-ジ(260W×380D×180Hmm)に収容し、これをステンレス製5段のラックに配置して飼育した。飼料(日本農産工業株式会社、固型飼料ラボMRストック、ロット番号:010567、010671)及び飲料水(孔径1 μ m のカートリッジフィルターで濾過後紫外線照射した殺菌水道水)は、それぞれ給餌器及び自動給水装置により自由に摂取させた。動物の個体識別は、ラック及びケージへの標識札の貼付並びに耳パンチ法により行った。

なお、動物の飼育期間を通じて、動物室の温度は 22.1~23.8℃、湿度は 56~64%の 範囲で推移し(温度・湿度の測定結果: Appendix 4)、また飼料中の汚染物質の分析結 果(Appendix 5)及び飲料水の水質検査の結果(Appendix 6)は、いずれも当研究所が 設定した許容範囲内の値であった。したがって、動物の飼育期間中において試験成績の 信頼性に影響を及ぼすと考えられる環境要因の変化は、なかったものと判断された。

3. 投与量の設定、試験群の構成及び投与方法

投与量は、投与量設定試験の結果に基づいて設定した。単回投与による投与量設定試験で、雄は819mg/kg以上、雌は1065mg/kg以上の用量で死亡が認められた。したがって、反復投与による投与量設定試験は、1群雌雄各4匹のラットに0,10,20,50,100及び200mg/kg/dayの用量で14日間経口投与し、一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定、尿検査、血液学検査、血液生化学検査、剖検及び器官重量の測定を行った。その結果、50mg/kg以上の群で雌雄に肝臓の絶対及び相対重量の増加が認められた。さらに、100mg/kg群では雄に軟便例並びに赤血球数、血色素量、網状赤血球数及び腎臓相対重量の増加、雌に血清総タンパクの増加が認められた。200mg/kg群では、雌雄に軟便例、赤血球数、血色素量及びヘマトクリット値の減少、網状赤血球数、血清総タンパク、総コレ

ステロール,トリグリセライド及び腎臓相対重量の増加,雄に腹位膨満例が認められた.したがって、本試験における投与量は、28日間の反復投与により確実に毒性影響が発現すると予測される200mg/kg/dayを最高用量、毒性影響が発現しないと予測される6 mg/kg/dayを最低用量とし、これらの間に60及び20mg/kg/dayの計4用量(公比4)を設定した.

試験群の構成は、①溶媒投与群(以下、対照群)、②被験物質の 6 mg/kg/day投与群 (6 mg/kg群)、③同 20mg/kg/day投与群 (20mg/kg群)、④同 60mg/kg/day投与群 (60 mg/kg群)、⑤同 200mg/kg/day投与群 (200mg/kg群) の 5 群とし、 1 群につき雌雄各 5 匹の動物を供した、また、対照群及び200mg/kg群については、投与終了後14日間の回復 試験を行うため、別に 1 群雌雄各 5 匹から成る回復群を設けた。

各群への動物の割り付けは、投与開始直前の体重に基づいて層別化した後、無作為抽 出法を用いて行ない、各群の体重分布が均一化するようにした。

投与方法は、投与液量を体重 1 kg当たり 5 mLとし、テフロン製胃ゾンデを装着した注射筒を用いて、被験物質の0.12w/v % (6 mg/kg群)、0.4w/v% (20mg/kg群)、1.2w/v % (60mg/kg 群) 或いは 4 w/v % (200mg/kg群) 液を、1日1回(A.M. 9:05~10:54) 28日間にわたって経口投与した、各個体の投与液量は、至近日の測定体重に基づいて算出した、対照群には、溶媒として用いた局方オリブ油を同様に投与した。

4. 観察及び検査

観察期間は、投与期間の28日間及び回復群ではさらにそれに続く回復期間の14日間とし、次の観察及び検査を実施した。

1) 一般状態観察

毎日, 1回は動物の外観, 行動等を観察した. また, 朝夕2回, 死亡或いは瀕死動物の有無を確認した.

2) 体重及び摂餌量測定

体重は、投与1 (投与初日の投与直前), 3, 7, 10, 14, 17, 21, 24及び28日, 回復3, 7, 10及び14日並びに屠殺日に測定し、投与期間中及び回復期間中の体重増加量を算出した。摂餌量は、毎週1回(雄は投与3, 10, 17及び24日並びに回復3及び10日,

雌は投与2,9,16及び23日並びに回復2及び9日)に,翌日までの24時間飼料消費量を測定(電子上皿天秤,FY-3000,エー・アンド・ディ社)した.

3) 尿検査

投与4週(雄は投与22,23日,雌は26,27日)及び回復2週(雄は回復12,13日,雌は11,12日)に、ラットを代謝ケージに収容して約3時間の蓄尿を採取し、外観の観察及び試験紙法(マルティスティックス、バイエル・三共株式会社)によるpll、潜血、タンパク、糖、ケトン体、ビリルビン及びウロビリノーゲンの定性的検査を行った。さらに、18時間の蓄尿について尿量及び比重(比重計、エルマ光学株式会社)を測定した。

4) 血液学検査

採血は、投与期間及び回復期間終了の翌日にエーテル麻酔下で開腹して腹大動脈から行った。動物は前日の午後5時より除餌し、水のみを与えた、採取した血液は3分割し、その一部はEDTA-2Kで凝固防止処理し、多項目自動血球計数装置(B-4000、東亜医用電子株式会社)により、赤血球数(RBC、電気抵抗検出方式)、血色素量(Hb、ラウリル硫酸ナトリウム-ヘモグロビン法)、ヘマトクリット値(Ht、パルス検出方式)、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素濃度(MCHC、以上計算値)、白血球数(WBC、電気抵抗検出方式)及び血小板数(Plat.、電気抵抗検出方式)を、また塗抹標本を作製して網状赤血球数(Ret.、Brilliant cresyl blue 染色標本の鏡検)及び白血球百分率 [May-Giemsa染色標本の鏡検、好塩基球(Baso.)、好酸球(Eosin.)、好中球(Neutro.)の桿状核(Stab.)及び分節核(Seg.)、リンパ球(Lymph.)、単球(Mono.)に分類]を測定した、さらに、一部は3.8%クエン酸ナトリウム液で処理して血漿を得、血液凝固自動測定装置(KC-10A、米アメルング社)により、プロトロンビン時間(PT、Quick 一段法)及び活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT、エラジン酸活性化法)を測定した。

5) 血液生化学検査

採取した血液の一部から血清を分離し、生化学自動分析装置(JCA-BM 8 型クリナライザー、日本電子株式会社)により、総タンパク(T.P.、ビューレット法)、アルブミン(Alb.、BCG 法)、A/G 比(A/G 、計算値)、血糖 [Glu.、酵素法(Gluk¹⁾-G-6-PDH²⁾ -UV 系)] 、総コレステロール [T-Cho.、酵素法(CES³⁾-COD⁴⁾-POD⁵⁾系)] 、トリグ

リセライド [T. G., 酵素法 (LPL⁶⁾ -GK⁷⁾ -GPO⁸⁾ -POD⁵⁾ 系)], 総ビリルビン (T-Bil., ジアゾ法), 尿素窒素 (BUN, ウレアーゼ・UV法), クレアチニン (Crea., Jaffe法), GOT, GPT, ALP (以上 JSCC⁹⁾法), γ-GTP (SSCC¹⁰⁾法), LDH (SFBC¹¹⁾ 法), カルシウム (Ca, OCPC法) 及び無機リン [P, 酵素法 (PNP¹²⁾ -XOD¹³⁾ -POD⁵⁾ 系)] を, また電解質自動分析装置 (NAKL-132, 東亜電波工業株式会社) によりナトリウム (Na) 及びカリウム (K, 以上イオン電極法) 並びに電気伝導度検出器を組み合わせた高速液体クロマトグラフシステム (LC-10Aイナーイト, 島津製作所) により塩素 (イオンクロマトグラフ法) を測定した.

- 1):グルコキナーゼ, 2):グルコースー6ーリン酸脱水素酵素, 3):コレステロールエステラーゼ, 4):コレステロールオキシダーゼ,
- ⁵〉:ペルオキンダーゼ、 ⁶〉:リポプロテインリパーゼ、 ⁷〉:グリセロールキナーゼ、 ⁸〉:L-αーグリセロリン**西**愛オキシダーゼ、
- 8):日本臨床化学会, 10):スカンシナヒア臨床化学会, 11):フランス臨床生物学会,
- 12):プリンヌクレオシドホスフォリラーゼ、 13):キサンチンオキシダーゼ

6) 剖検及び器官重量測定

所定の投与期間或いは回復期間終了翌日の採血に続いて放血屠殺し、体表、開口部粘膜及び内部諸器官を肉眼的に観察した。また、脳、胸腺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、さらに雄では精巣、精巣上体、雌では卵巣、子宮を秤量(絶対重量、電子上皿天秤AT200、メトラー社)し、屠殺日の体重をもとに対体重比(相対重量)を算出した。腎臓、副腎、精巣、精巣上体及び卵巣は、左右を一括して秤量した。

7) 病理組織学検査

次の器官を採取し、10%中性リン酸緩衝ホルマリン液(精巣、精巣上体はブアン液で 前固定)で固定し、保存した、気管及び肺は、固定液を注入後浸漬した。

脳(大脳・小脳・橋を含む),甲状腺(上皮小体を含む),脊髄(頸部・胸部・腰部),心臓,気管,肺,胸腺,肝臓,腎臓,脾臓,副腎,胃,小腸[十二指腸・空腸・回腸(パイエル板を含む)],大腸(盲腸,結腸,直腸),膀胱,生殖器(精巣又は卵巣),副生殖器(精巣上体,前立腺又は子宮),坐骨神経,リンパ節(頸部リンパ節,腸間膜リンパ節),骨髄(大腿骨),その他肉眼的異常部位

病理組織学検査は、対照群及び200mg/kg群の上記の器官について、常法に従いパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施して鏡検した。 6、20及び60mg/kg群並びに回復群については、200mg/kg群で被験物質の投与に起因する変化が認められた雌雄の肝臓及び甲状腺について検査した。

5. 統計解析

得られた平均値或いは頻度について、被験物質投与各群と対照群との間の有意差(危険率5%以下)を、次の方法で検定した。すなわち、パラメトリックデータ(体重、体重増加量、摂餌量、尿量、尿比重、血液学及び血液生化学検査データ、器官重量)はBartlettの分散検定を行った。その結果、分散が一様な場合は一元配置の分散分析を行い、有意差を認めた場合はDunnett法或いはScheffe法(各群の標本数が異なる場合)により対照群との比較検定を行った。分散が一様でない場合及びノンパラメトリックデータ(白血球百分率、尿検査の定性的データ)はKruskal-Wallisの順位検定を行い、その結果有意差を認めた場合はDunnett型或いはScheffe型(各群の標本数が異なる場合)の検定を行った。カテゴリカルデータ(一般状態の観察、剖検及び病理組織学検査における異常例の発現率)にはFisherの直接確率法を用いた。ただし、回復群の投与期間終了後のパラメトリックデータはF検定を行い、その結果分散が一様な場合はStudentの t検定を、一様でない場合はAspinn-Welchの t検定を行った。ノンパラメトリックデータにはMann-WhitneyのU検定を用いた。

結 果

1. 一般状態 (Tables 1, 2, Appendices 7, 8)

投与期間において、軽度な軟便が200mg/kg群で雌雄各10匹中雄の3匹及び雌の2匹に認められた、軟便は、投与3~8日の間の1ないし2日間のみの一過性の変化であった。 回復期間においては、各個体に変化は認められなかった。

なお、被験物質の投与とは無関係な偶発所見として、6 mg/kg群の雄の1匹(No. 011) において、投与6日に下顎切歯の不整咬合を確認し、その後切歯が過剰に成長したため 投与16日に過剰部分の切除処置を行った。この例では、投与2週以降の摂餌量及び体重 増加量は少なかった。

2. 体重 (Figures 1, 2, Tables 3, 4, Appendices 9, 10)

投与期間において, 各測定時点における体重及び投与期間中の体重増加量に, 有意な変化は認められなかった.

回復期間においては、回復群の体重増加量は雌雄とも対照群と比べて有意に低値であったが、各測定時点における体重に有意差は認められなかった。

3. 摂餌量 (Tables 5, 6, Appendices 11, 12)

投与期間において、200mg/kg群で雄の投与2週における摂餌量に有意な高値が認められた。

回復期間において、回復群の雌の摂餌量は低値傾向にあったものの、有意な変化ではなかった.

4. 尿検査 (Tables 7~10, Appendices 13~16)

投与期間中の検査において、200mg/kg群で雄にpHの有意な低下が認められ、雌においても同様の傾向が認められた。

回復期間中の検査において、各検査項目に有意な変化は認められなかった。

5. 血液学検査 (Tables 11~14, Appendices 17~20, 背景データ: Appendices 37, 38)

投与期間終了時屠殺動物において、200mg/kg群で雌に血小板数の有意な減少が認められた。なお、同群の雌に平均赤血球血色素濃度の有意な低値が認められたが背景データにおける正常範囲(Appendix 38 参照)内での軽度な変動で、血色素濃度及びヘマトクリット値には有意な変化は認められなかった。また、60mg/kg群の雄の白血球百分率における好酸球比に有意な高値が認められたが、用量相関性の認められない所見であった。

回復期間終了時屠殺動物において、雄にヘマトクリット値の有意な減少、雌に白血球数の有意な減少及びプロトロンビン時間の有意な短縮が認められたが、これらはいずれ も投与期間終了時屠殺動物には認められなっかった変化であった.

6. 血液生化学検査 (Tables 15~18, Appendices 21~24, 背景データ: Appendices 37, 38)

投与期間終了時屠殺動物において、20及び60mg/kg群で雌、200mg/kg群で雌雄に総タンパク及びアルブミンの有意な増加が認められ、60mg/kg群の雌及び200mg/kg群の雌雄のA/G比は有意な高値を示した。また、20及び60mg/kg群で雄、200mg/kg群で雌雄に塩素の有意な減少が認められた。さらに、60mg/kg群で雄、200mg/kg群で雌雄にカリウムの有意な減少、60mg/kg群で雌,200mg/kg群で雌雄にカルシウムの有意な増加が認められた。これらの変化に加えて、200mg/kg群で雌雄に総コレステロールの有意な増加,雄に γ -GTPの有意な増加及び総ビリルビンの有意な減少が認められた。

回復期間終了時屠殺動物において、雌雄の総タンパクの増加、雄の総ビリルビンの減少及び雌の総コレステロールの増加に有意差が残るものの、総タンパク及び総コレテロールの変化は軽減する傾向にあった、雌雄の γ-GTPは有意な減少及び雄のカリウムは有意な増加を示し、投与期間終了時屠殺動物とは逆の変化が認められた。

7. 剖検 (Tables 19, 20, Appendices 25~28)

投与期間終了時屠殺動物において、肝臓の大型化が20mg/kg群で雄1匹、雌1匹、60 mg/kg群で雄1匹、雌2匹及び200mg/kg群で雄4匹、雌5匹に認められ、200mg/kg群の

雌雄の発現率には対照群と比べて有意差が認められた. なお, 精巣及び精巣上体の小型化が200mg/kg群の雄に認められたが, 1匹のみの変化であった.

回復期間終了時屠殺動物においては、肝臓の大型化が雄の2匹に認められた.

8. 器官重量 (Tables 21~24, Appendices 29~36)

投与期間終了時屠殺動物において、20mg/kg群で雄に肝臓の相対重量の有意な増加が認められ、雌雄の肝臓の絶対重量及び雌の相対重量も増加傾向にあった。60及び200mg/kg群では、雌雄に肝臓の絶対及び相対重量の有意な増加が認められた。さらに、200mg/kg群で、腎臓の雄では相対重量、雌では絶対及び相対重量のいずれも有意な増加が認められ、雄の絶対重量も増加傾向にあった。また、雌雄の甲状腺の絶対及び相対重量に増加傾向が認められた。

回復期間終了時屠殺動物において、投与期間終了時屠殺動物で認められた変化のうち、 肝臓は雌雄とも相対重量に有意差が残るものの変化の程度は軽減する傾向にあり、腎臓 には有意な変化は認められなかった。 雌雄の甲状腺の絶対及び相対重量の増加傾向は回 復群においても残存し、雌の相対重量には有意差が認められた.

なお、回復群において、雌では最終体重が低値傾向にあり、脾臓の絶対重量の有意な減少並びに心臓及び副腎の相対重量の有意な増加が認められた.

9. 病理組織学検査 (Tables 25, 26, Appendices 25~28, Photos 1~5) 肝臓及び甲状腺に被験物質の投与に起因する変化が認められた.

投与期間終了時屠殺動物において、肝臓では小葉中心性の肝細胞肥大が20mg/kg群で雄3匹、雌3匹、60mg/kg群で雄4匹、雌5匹及び200mg/kg群で雄5匹、雌5匹に認められ、60及び200mg/kg群の雌雄の発現率には、対照群と比べて有意差が認められた。なお、雄の肝臓において、巣状壊死が対照群で2匹、6 mg/kg群で1匹、20mg/kg群で3匹及び60mg/kg群で1匹に認められたのに対し、200mg/kg群では5匹に認められ増加傾向にあった。また雌の肝臓では200mg/kg群の1匹にのみ巣状壊死が認められた。しかしながら、雌雄とも200mg/kg群の発現率は対照群と比べて有意差は認められなかった。甲状腺では、濾胞上皮の肥大が60mg/kg群で雄1匹、雌2匹、200mg/kg群で雄4匹、雌5匹

に認められた、濾胞はやや小型化し、コロイドは減少する傾向にあった、200mg/kg群の発現率には、対照群と比べて有意差が認められた。

回復期間終了時屠殺動物においては、200mg/kg群で肝臓の肝細胞肥大が雄の3匹及び雌の2匹に認められたが、投与期間終了時屠殺動物と比べて、発現率及び変化の程度は軽減する傾向にあった。甲状腺には、変化は認められなかった。

なお、上述の変化に加えて、被験物質の投与とは無関係な所見と判断された変化として、対照群及び200mg/kg群で、肺の泡抹細胞集簇、心臓の心筋変性・線維化、肝臓の微小肉芽腫、肝細胞脂肪変性(び慢性或いは小葉周辺性)、腎臓の近位尿細管上皮好酸体、好塩基性尿細管、孤立性嚢胞、皮質のリンパ球浸潤及び線維化、下垂体のラトケ嚢並びに前立腺の間質リンパ球浸潤が散発的に認められた。また、脾臓の髄外造血及び褐色色素沈着が雌雄の全例に、腎臓の近位尿細管上皮硝子滴が雄の概ね全例に認められたが、対照群と比べて変化の程度に差は認められなかった。また、剖検で200mg/kg群の雄の1匹に認められたそれぞれ小型化した精巣には精細管萎縮、精巣上体には精巣上体管内精子減少が認められた。

考察

四臭化エタンの主な毒性影響は肝臓に認められ、甲状腺、腎臓、電解質、血液等に対する影響も認められた.

肝臓に対する影響について、肝臓重量の増加傾向が20 mg/kg以上の群の雌雄に用量相関的に認められ、病理組織学的には小葉中心性の肝細胞肥大が認められた。肝機能と関連する血液生化学的変化として、20 mg/kg以上の群の雌及び200 mg/kg群の雄にアルブミンの増加が認められ、総タンパク及びA/G比は高値を示した。200 mg/kg群では雄に軽度な γ -GTPの増加が認められ、雌雄に認められた総コレステロールの増加についても、肝臓に対する影響と関連した変化である可能性が考えられる。

なお、200mg/kg群で雄に総ビリルビンの変化が認められたが、減少性の変化であり、 毒性学的意義は小さいものと考えられる。また、病理組織学的検査で雄の各群に肝臓の 巣状壊死が認められ、200mg/kg群では発現率の増加傾向にあり、雌では200mg/kg群にの み1例の発現が認められたが、この変化はラットの肝臓に自然発生病変として一般的に 認められる変化で、対照群の発現率との間に統計学的有意差は認められないことから、 被験物質の投与による影響を示す変化ではないと判断された。

したがって、四臭化エタンの肝臓に対する影響は、主にアルブミンの増加を伴った肝細胞の肥大で、酵素誘導を惹起する物質の投与により発現する機能亢進性の変化¹⁾と同質のものと考えられた。

四臭化エタンの毒性について、ラットへの106日間反復吸入投与により、肝臓重量の増加が認められたとの報告²⁾があるが、経口投与による本試験においても、肝臓に対する影響が確認された。

甲状腺に対する影響について、病理組織学検査で濾胞上皮の軽度な肥大が60及び200 mg/kg群の雌雄に認められ、200mg/kg群の雌雄の甲状腺重量は統計学的有意差は認められなかったものの、増加傾向を示した。

化学物質の投与による濾胞上皮の肥大はほとんどが循環血中の甲状腺ホルモンの低下によるnegative-feedback機構が関与した、持続性の濾胞上皮の刺激が原因になり、その作用機序として肝臓での甲状腺ホルモンの代謝・分解の亢進による場合がある^{3.4)}ことが知られている。したがって、本物質による甲状腺の変化は、肝臓に対する影響と関

連した変化である可能性も考えられる.

腎臓に対する影響について、200mg/kg群の雌雄で腎臓相対重量の増加が認められ、雌では絶対重量も高値を示した。しかしながら、腎臓には病理組織学的変化は認められず、また、腎機能と関連した血液生化学的変化も認められなかった。したがって、本物質の腎臓に対する影響は軽度なものと考えられる。

電解質に対する影響について、塩素の減少が20及び60mg/kg群の雄及び200mg/kg群の雌雄、カリウムの減少が60mg/kg群の雄及び200mg/kg群の雌雄並びにカルシウムの増加が60mg/kg群の雌及び200mg/kg群の雌雄に認められ、塩素の変化は顕著なものであった。

臭素化合物を投与した動物の血中塩素について、これを一般的に行われているイオン電極法で測定すると、生体内で解離した臭素イオンが加算されて測定されるため、塩素は高値を示すことが多く^{5,6)}、本物質についても、イオン電極法を用いて測定した14日の投与量設定試験の結果では塩素は用量相関的に高値を示し、被験物質に由来する臭素イオンの存在が示唆された。

一方,本試験では特異性の高いHPLC法で測定した結果,塩素の低値が認められた.腎臓の尿細管における物質の再吸収において塩素イオンと臭素イオンは競合し,血中に臭素イオンが増加すると塩素イオンの排泄が促進され,塩素イオンは減少することが知られている⁷⁾.したがって,塩素の低値は,被験物質の腎臓に対する毒性影響と関連した変化ではないと判断された.

血液に対する影響について、200mg/kg群で雌に血小板数の減少が認められた. しかしながら、骨髄及び脾臓の造血細胞に病理組織学変化は認められなかった.

これらの変化に加えて、200mg/kg群では雌雄に一過性の軟便、雄に尿pHの低下が認められたが、軽度な変化であった。

なお、200mg/kg群で雄に摂餌量の増加が認められたが、投与2週のみの変化であり、体重に関連した変化は認められず、偶発的な所見と判断された。雄の1匹に認められた精巣の精細管萎縮及びそれに伴う精巣上体の精子減少についても、他の例には精子形成過程に異常は認められなかったことから、被験物質の投与とは無関係な変化と判断された。

回復群においては、被験物質の投与と関連した変化のうち、肝臓における重量変化及

び病理組織学的変化並びに肝機能と関連すると思われるアルブミンの変化は雌雄に,総コレステールの変化は雌に残存していたが,変化の程度は軽減し,回復傾向が認められた. 腎臓の重量変化や甲状腺の病理組織学的変化を含むその他の変化は認められず,回復していた. 雌で甲状腺の相対重量の増加が認められたが,関連する病理組織学的変化は認められなかった.

なお、回復群においては、投与期間終了時屠殺動物には認められなかった変化も認められたが、いずれも関連する変化及び投与期間終了時屠殺動物に前駆的変化は認められていないことから、被験物質の投与とは無関係な偶発所見と判断された。

以上の結果から、四臭化エタンのラットへの28日間反復経口投与により、肝臓、甲状腺、腎臓及び血液等に対する影響並びに電解質の変化が認められた、無影響量(NOEL)は、6 mg/kg/dayと結論された。

文 献

- 1) Wakabayashi T., et al (1979). Induction of megamitochondria in the mouse liver by isonicotinic acid derivatives, *Exp.Mol.Pathol.*, 31, 387-399.
- 2) Hollingsworth R.L., et al (1963). Toxicity of acetylene tetrabromide determined on experimental animals, *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*, 24, 28-35.
- 3) Capen C.C. et al (1989). The effects of xenobiotics on the structure and function of thyroid follicular cell and C-cell, *Toxicol.Pathol.*, <u>17</u>, 266-292.
- 4) Smith P.F. et al (1991). Studies on the mechanism of simvastain-induced thyroid hypertrophy and follicular cell ademoma in the rat. *Toxicol*. *Pathol*., 19, 197-205.
- 5) Ito Y. et al (1995). Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity test of 1,4-dibromobenzene in rats. *Tox.Test.Rep.Envilon.Chem.*, 2, 357-362.
- 6) Hiratuka H. et al (1996). Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity test of chloropentabromocyclohexane in rats, *Tox.Test.Rep.Envilon.Chem.*, <u>4</u>, 81-86.
- 7) 上條一也,大森義仁,高木敬次郎,藤原元始,吉利 和監訳,「Goodman Gilman 薬理書(上)薬物治療の基礎と臨床,第 5版」,p151,廣川書店,東京,1980.

四臭化エタンのラットを用いる28日間反復投与毒性試験

(試験番号:00-257)

最終報告書 添付資料A

(図・群別平均値表)

財団法人 畜産生物科学安全研究所

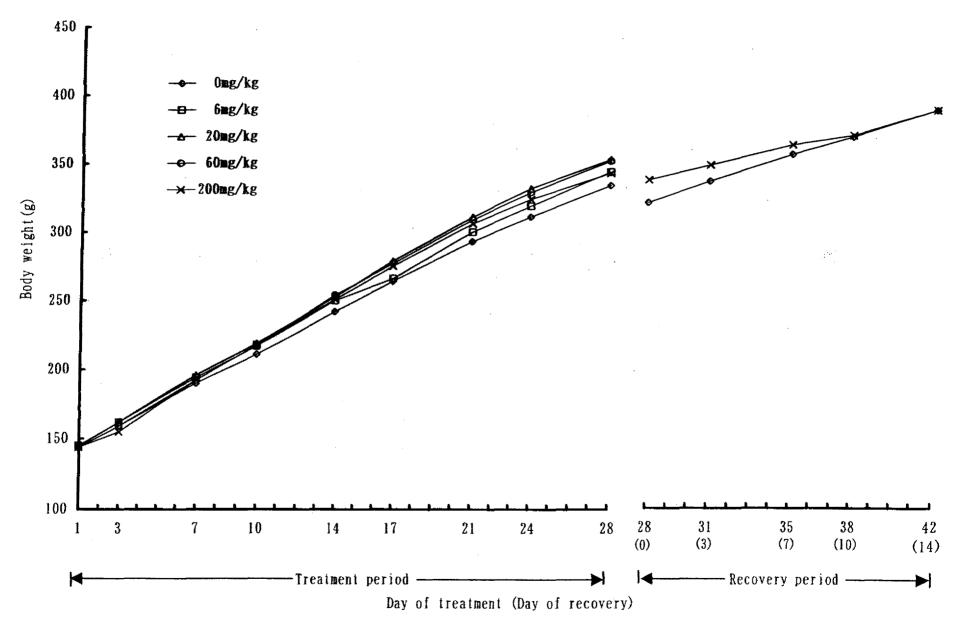


Fig. 1 Body weight changes of male rats treated orally with tetrabromoethane in 28-day repeat dose toxicity test

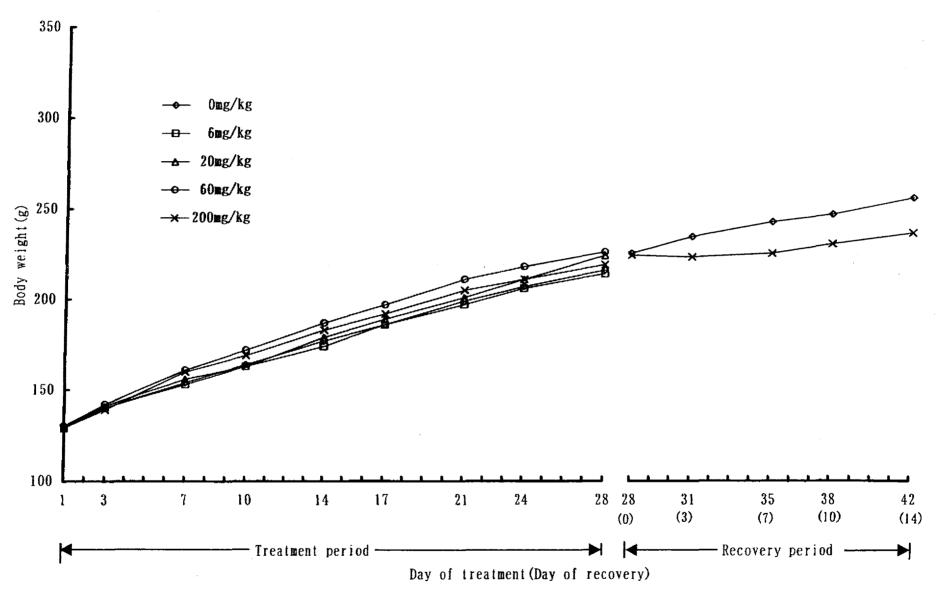


Fig. 2 Body weight changes of female rats treated orally with tetrabromoethane in 28-day repeat dose toxicity test

Incidence of clinical signs of male rats treated orally with tetrabromoethane in 28-day repeat dose toxicity test Table 1

Clinical signs				After	After treatment period	period		After reco	After recovery period
		Dose (mg/kg) Grade No. of animals	0 9	n Q	20	5	200	0	200
Loose stool	1		10	5	5	(L)	7	5	5
	+-		0	0	0	0	က	0	0
Malocclusion	l		10	4	ച	5	10	2	ક
	+		0		0	0	0	0	0

- : Negative; + : Slight

Study No. 00-257

Table 2 Incidence of clinical signs of female rats treated orally with tetrabromoethane in 28-day repeat dose toxicity test

Clinical signs			÷	After	i reaiment	period		After reco	very period
		Dose (mg/kg)	0	6	20	60	200	0	200
	Grade	No. of animals	10	5	5	5	10	5	5
Loose stool	_		10	5	5	5	. 8	5	5
	+		0	0	0	0	2	0	0

-: Negative; +: Slight

Table 3 Body weights of male rats treated orally with tetrabromoethane in 28-day repeat dose toxicity test

Dose (mg/kg)	Day of 1	treatmen 3	t 7	10	14	17	21	24	28	Gain 1∼28	(Day of 28(0)	recover 31(3)	y) 35 (7)	38 (10)	42 (14)	Gain 28∼42
0	± 7 (10)	159 ± 7 (10)	190 ± 10 (10)	± 12 (10)	242 ± 15 (10)	264 ± 18 (10)	293 ± 21 (10)	$\pm \begin{array}{c} 311 \\ \pm 24 \\ (10) \end{array}$	334 ± 26 (10)	190 ± 20 (10)	325 ± 21 (5)	341 ± 22 (5)	361 ± 24 (5)	374 ± 25 (5)	394 ± 27 (5)	68 ± 8 (5)
6	$\begin{array}{c} 145 \\ \pm 6 \\ (5) \end{array}$	162 ± 10 (5)	194 ± 18 (5)	$ \begin{array}{r} 217 \\ \pm 24 \\ (5) \end{array} $	250 ± 29 (5)	$ \begin{array}{r} 266 \\ \pm 48 \\ (5) \end{array} $	$ \begin{array}{r} 300 \\ \pm 46 \\ (5) \end{array} $	319 ± 57 (5)	$ \begin{array}{r} 344 \\ \pm 57 \\ (5) \end{array} $	199 ± 51 (5)						
20	$ \begin{array}{r} 145 \\ \pm 6 \\ (5) \end{array} $	162 ± 6 (5)	196 ± 9 (5)	± 8 (5)	253 ± 11 (5)	279 ± 13 (5)	$\pm \frac{311}{17}$ (5)	$\pm \begin{array}{c} 332 \\ \pm 20 \\ (5) \end{array}$	353 ± 22 (5)	208 ± 20 (5)						
60	$ \begin{array}{r} 144 \\ \pm 6 \\ (5) \end{array} $	159 ± 8 (5)	192 ± 11 (5)	218 ± 13 (5)	254 ± 17 (5)	277 ± 20 (5)	$ \begin{array}{r} 309 \\ \pm 23 \\ (5) \end{array} $	329 ± 25 (5)	352 ± 30 (5)	207 ± 29 (5)						
200	$\pm \begin{array}{c} 144 \\ \pm 6 \\ (10) \end{array}$	155 ± 10 (10)	192 ± 14 (10)	218 ± 16 (10)	251 ± 19 (10)	275 ± 22 (10)	306 ± 27 (10)	324 ± 30 (10)	$\begin{array}{c} 343 \\ \pm 34 \\ (10) \end{array}$	199 ± 29 (10)	342 ± 31 (5)	353 ± 34 (5)	368 ± 38 (5)	375 ± 42 (5)	394 ± 42 (5)	52 * ± 13 (5)

(g)

Each value is expressed as mean ± S.D.

⁽n): No. of animals*: Significantly different from control at 5% level of probability

Table 4 Body weights of female rats treated orally with tetrabromoethane in 28-day repeat dose toxicity test

Dose (mg/kg)	Day of 1	treatmen 3	t 7	10	14	17	21	24	28	Gain 1 ∼28		recover 31(3)	y) 35 (7)	38(10)	42 (14)	Gain 28∼42
0	± 5 (10)	140 ± 7 (10)	154 ± 11 (10)	164 ± 13 (10)	177 ± 15 (10)	186 ± 17 (10)	199 ± 15 (10)	207 ± 17 (10)	216 ± 17 (10)	87 ± 13 (10)	222 ± 17 (5)	231 ± 19 (5)	239 ± 19 (5)	243 ± 16 (5)	252 ± 17 (5)	29 ± 3 (5)
6	$\begin{array}{cc} 129 \\ \pm & 6 \\ (5) \end{array}$	140 ± 4 (5)	153 ± 6 (5)	$ \begin{array}{r} 163 \\ \pm 11 \\ (5) \end{array} $	174 ± 14 (5)	186 ± 15 (5)	197 ± 17 (5)	206 ± 18 (5)	$ \begin{array}{r} 214 \\ \pm 20 \\ (5) \end{array} $	85 ± 18 (5)						
20	129 ± 5 (5)	± 7 (5)	156 ± 12 (5)	163 ± 14 (5)	179 ± 19 (5)	189 ± 17 (5)	201 ± 20 (5)	211 ± 21 (5)	224 ± 23 (5)	96 ± 21 (5)						
60	$ \begin{array}{r} 130 \\ \pm 6 \\ (5) \end{array} $	± 7 (5)	± 7 (5)	$\pm \frac{172}{7}$ (5)	187 ± 9 (5)	197 ± 6 (5)	211 ± 11 (5)	$\pm \frac{218}{7}$ (5)	226 ± 11 (5)	96 ± 10 (5)						
200	129 ± 5 (10)	139 ± 7 (10)	160 ± 8 (10)	169 ± 7 (10)	183 ± 10 (10)	192 ± 12 (10)	205 ± 15 (10)	211 ± 16 (10)	219 ± 18 (10)	90 ± 19 (10)	221 ± 18 (5)	220 ± 18 (5)	222 ± 15 (5)	227 ± 17 (5)	233 ± 15 (5)	12 * ± 12 (5)

Each value is expressed as mean±S.D.
(n): No. of animals
* : Significantly different from control at 5% level of probability

Table 5 Food consumption of male rats treated orally with tetrabromoethane in 28-day repeat dose toxicity test

						(g,	/rat/day)
Dose (mg/kg)	Week of	treatment 2	3	4	(Week of 4 (0)	of recovery) 5(1)	6(2)
0	25 ± 2 (10)	26 ± 2 (10)	28 ± 4 (10)	29 ± 3 (10)	28 ± 2 (5)	32 ± 3 (5)	35 ± 3 (5)
6	$\begin{array}{c} 25 \\ \pm 2 \\ (5) \end{array}$	27 ± 5 (5)	29 ± 6 (5)	± 8 (5)			
20	$\begin{array}{c} 26 \\ \pm 1 \\ (5) \end{array}$	28 ± 3 (5)	29 ± 3 (5)	31 ± 5 (5)			
60	$\begin{array}{c} 26 \\ \pm 2 \\ (5) \end{array}$	$\begin{array}{c} 30 \\ \pm 2 \\ (5) \end{array}$	$\begin{array}{c} 31 \\ \pm 2 \\ (5) \end{array}$	$\begin{array}{c} 31 \\ \pm 3 \\ (5) \end{array}$			
200	$ \begin{array}{r} 25 \\ \pm 2 \\ (10) \end{array} $	31 * ± 4 (10)	$ \begin{array}{r} 30 \\ \pm 4 \\ (10) \end{array} $	$\begin{array}{c} 33 \\ \pm 4 \\ (10) \end{array}$	$ \begin{array}{r} 32 \\ \pm 3 \\ (5) \end{array} $	31 ± 3 (5)	34 ± 3 (5)

Each value is expressed as mean \pm S.D.

 ⁽n): No. of animals
 *: Significantly different from control at 5% level of probability

Table 6 Food consumption of female rats treated orally with tetrabromoethane in 28-day repeat dose toxicity test

						(g,	/rat/day)
Dose (mg/kg)	Week of 1	treatment 2	3	4	(Week (4(0)	of recovery) 5(1)	6 (2)
0	± 2 (10)	± 3 (10)	21 ± 3 (10)	21 ± 4 (10)	21 ± 4 (5)	26 ± 4 (5)	25 ± 3 (5)
6	$\begin{array}{c}21\\\pm 2\\(5)\end{array}$	$ \begin{array}{c} 20 \\ \pm 3 \\ (5) \end{array} $	20 ± 2 (5)	$ \begin{array}{c} 21 \\ \pm 2 \\ (5) \end{array} $			
20	$\begin{array}{c} 22 \\ \pm 3 \\ (5) \end{array}$	21 ± 5 (5)	± 3 (5)	21 ± 1 (5)			
60	$\pm \begin{array}{c} 22 \\ 2 \\ (5) \end{array}$	$ \begin{array}{c} 22 \\ \pm 2 \\ (5) \end{array} $	$ \begin{array}{c} 23 \\ \pm 2 \\ (5) \end{array} $	21 ± 1 (5)			
200	$\pm \begin{array}{c} 22 \\ 2 \\ (10) \end{array}$	$\pm \begin{array}{c} 23 \\ 2 \\ (10) \end{array}$	$\pm \begin{array}{c} 22 \\ 2 \\ (10) \end{array}$	$\pm \frac{24}{2}$ (10)	$\begin{array}{c} 24 \\ \pm 3 \\ (5) \end{array}$	$ \begin{array}{c} 23 \\ \pm 2 \\ (5) \end{array} $	23 ± 4 (5)

Each value is expressed as mean \pm S.D. (n) : No. of animals

Table 7 Urinary findings of male rats treated orally with tetrabromoethane in the 28-day repeat dose toxicity test

< Treatment period >

Dose	No. of	Color	Cloudy	Volume ^{a)}	Specific*)			рH					Prot	ein	
(mg/kg)	animals_	PY	- +	(mL/18hr)	gravity	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	_=_	<u>±</u>	+	++	+++
0	10	10	10	$\begin{array}{cc} 9.3 \\ \pm & 3.3 \end{array}$	$^{1.058}_{\pm 0.010}$			1	6	3		4	5	1	
6	5	5	5	\pm $\begin{array}{c} 9.2 \\ 1.4 \end{array}$	$\begin{array}{c} \textbf{1.058} \\ \pm \textbf{0.010} \end{array}$	1		2	2				4	1	•
20	5	5	5	8.8 ± 3.3	$\begin{array}{c} \textbf{1.058} \\ \pm \textbf{0.014} \end{array}$				2	3		2	3		
60	5	5	5	\pm $\overset{11.4}{3.3}$	$^{1.054}_{\pm 0.010}$		1	3		1		2	2	1	
200	10	10	10	$\begin{array}{ccc} 9.9 \\ \pm & 2.3 \end{array}$	$^{1.059}_{\pm 0.007}$	2	2	5	1*			4	6		

Dose (mg/kg)	No. of animals	Glucose - ± + ++		Ketone body ± + ++ +++	Occult blood - ± + ++	Urobilinogen 0.1 1 2 4	Bilirubin - + ++
0	10	10	7	3	10	10	10
6	5	5	2	3	5	5	5
20	5	5	2	3	5	5	5
60	5	5	1	3 1	5	5	5
200	10	10	5	5	10	10	10

a): Mean ± S.D.

Color : PY(pale yellow)

Cloudy: - (negligible), + (cloudy)

Protein: -(negligible), $\pm (15 \sim 30 \text{mg/dL})$, +(30 mg/dL), ++(300 mg/dL), +++(300 mg/dL)

Glucose: $-(\text{negligible}), \pm (0.1\text{g/dL}), + (0.25\text{g/dL}), + (0.5\text{g/dL})$

Ketone body: - (negligible), \pm (5mg/dL), +(15mg/dL), ++(40mg/dL), +++(80mg/dL)

Occult blood: - (negligible), \pm (trace), + (slight), ++ (moderate)

Urobilinogen: Ehrlich unit/dL

^{* :} Significantly different from contract 5% level of probability

Table 8 Urinary findings of female rats treated orally with tetrabromoethane in the 28-day repeat dose toxicity test

< Treatment period >

Dose	No. of	Color	Cloudy	Volume ^{a)}	Specific ^a)		рH					Prot	ein	
(mg/kg)	animals	PY	- +	(mL/18hr)	gravity	6.5 7.0	7.5	8.0	8.5		土	+	++	+++
0	10	10	10	$\begin{array}{ccc} & 8.0 \\ \pm & 2.6 \end{array}$	$^{1.058}_{\pm\ 0.015}$	1	3	4	2			8	2	
6	5	5	5	$\begin{array}{ccc} & \textbf{7.6} \\ \pm & \textbf{2.7} \end{array}$	$^{1.064}_{\pm 0.017}$			2	3		1	4		
20	5	5	5	$\begin{array}{c} 10.6 \\ \pm 5.3 \end{array}$	1.052 ± 0.014		l	1	3			4	1	
60	5	5	5	10.1 ± 5.1	$^{1.057}_{\pm\ 0.031}$		2	1	2		1	3	1	
200	10	10	10	$\begin{array}{c} 13.1 \\ \pm 7.2 \end{array}$	$^{1.047}_{\pm~0.014}$	4	3	2	l	1	3	5	1	

Dose (mg/kg)	No. of animals	Gluco - ±	se + ++		Ketone body ± + ++ +++	0ccult blood - ± + ++	Urobilinogen 0.1 1 2 4	Bilirubin — + ++
0	10	10		9	1	10	10	10
6	5	5		5		5	5	5
20	5	5		3	2	5	5	5
60	5	5		3	2	5	5	5
200	10	10		4	6	10	10	10

a): Mean \pm S.D.

Color: PY(pale yellow)

Cloudy: - (negligible), + (cloudy)

Protein : - (negligible), \pm (15~30mg/dL), +(30mg/dL), ++(100mg/dL), +++(300mg/dL)

Glucose: - (negligible), \pm (0.1g/dL), \pm (0.25g/dL), \pm (0.5g/dL)

Ketone body: - (negligible), \pm (5mg/dL), + (15mg/dL), ++ (40mg/dL), ++ (80mg/dL)

Occult blood: - (negligible), \pm (trace), + (slight), ++ (moderate)

Urobilinogen : Ehrlich unit/dL

Table 9 Urinary findings of male rats treated orally with tetrabromoethane in the 28-day repeat dose toxicity test

< Recovery period >

Dose	No. of	C	olor Cloud	јy	Volume ^{a)}	Specific ^a)	рĦ			Protein	
(mg/kg)	<u>animals</u>	PY			(mL/18hr)	gravity	6.5 7.0 7.5	8.0 8.5	, <u> </u>	+ ++ +++	
0	5	5	5		13.4 ± 3.0	$\begin{array}{c} 1.050 \\ \pm 0.005 \end{array}$		2 3	3	2	
200	5	5	5		15.9 ± 6.1	1.046 ± 0.008	1	3 1	4	1	
Dose (mg/kg)	No. of animals		Glucose ± + ++		Ketone body ± + ++	+++ -	ccult blood ± + ++	Urob 0.1	ilinogen l 2 4	Bilirub - +) i n ++
0	5	5		2	3	5	·	5		5	
200	5	5		I.	4	5		5		5	

a): Mean \pm S.D.

Color: PY(pale yellow)

Cloudy: - (negligible). + (cloudy)

Protein: - (negligible), $\pm (15 \sim 30 \text{mg/dL})$, + (30 mg/dL), + + (100 mg/dL), + + + (300 mg/dL)

Glucose: -(negligible), $\pm(0.1\text{g/dL})$, +(0.25g/dL), ++(0.5g/dL)Ketone body: -(negligible), $\pm(5\text{mg/dL})$, +(15mg/dL), ++(40mg/dL), +++(80mg/dL)

Occult blood: - (negligible), \pm (trace), + (slight), ++ (moderate)

Urobilinogen: Ehrlich unit/dL

Study No. 00-257

Table 10 Urinary findings of female rats treated orally with tetrabromoethane in the 28-day repeat dose toxicity test

< Recovery period >

Dose	No. of	Color	Cloudy	Volume ^{a)}	Specific ^{a)}	рН					Prot	ein	
(mg/kg)	animals	PY	- +	(mL/18hr)	gravity	6.5 7.0 7.5 8	3.08	1. 5		<u>±</u>	+	++ +++	
0	5	5	5	10.7 ± 3.5	$^{1.052}_{\pm\ 0.010}$		1	4		3	2		
200	5	5	5	9.2 ± 2.5	1.054 ± 0.007		2	3	2	3			
Dose (mg/kg)	No. of animals	Glucos - ± +	e	Ketone body ± + ++	-++ <u>-</u>	cult blood ± + ++	0	Urobil .l l	noge 2	n 4	_	Bilirub - +	i n ++

5

a): Mean ± S.D.

200

Color: PY(pale yellow)

5

5

Cloudy: - (negligible), + (cloudy)

5

5

Protein: -(negligible), $\pm (15 \sim 30 \text{mg/dL})$, +(30 mg/dL), ++(100 mg/dL), +++(300 mg/dL)

5

4 1

Glucose: -(negligible), $\pm(0.1\text{g/dL})$, +(0.25g/dL), ++(0.5g/dL)

Ketone body: - (negligible), \pm (5mg/dL), + (15mg/dL), ++ (40mg/dL), ++ (80mg/dL)

Occult blood: - (negligible), \pm (trace), + (slight), ++ (moderate)

Urobilinogen: Ehrlich unit/dL

Hematological findings of male rats treated orally with tetrabromoethane in the 28-day repeat dose toxicity test Table 11

< After treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	(10	RBC		Hb (g/dL)	Ht (%)		MCV (fl)		MCH (pg)		MCHC (%)		Ret. (%)		PT (sec)		APTT (sec)
0	5	±	748 33	±	14.8 0.4	44.3 ± 0.8	±	59 2	±	19.8 0.6	±	33.4 0.3	±	32 7	±	13.2 0.6	±	19.6 1.0
6	5	±	749 31	<u>+</u>	14.7 0.4	43.3 ± 1.0	±	58 1	±	19.6 0.3	<u>+</u>	33.9 0.3	±	32 5	±	13.4 0.6	±	18.7 1.3
20	5	<u>+</u>	734 7	±	14.6 0.4	43.4 ± 0.8	<u>+</u>	59 2	<u>+</u>	19.8 0.7	<u>+</u>	33.5 0.5	±	28 7	±	13.3 0.6	土	19.1 1.7
60	5	<u>+</u>	723 71	<u>+</u>	14.2 0.9	43.0 ± 2.5	±	60 3	土	19.7 0.9	<u>+</u>	33:0 0.4	<u>+</u>	39 13	±	13.1	<u>+</u>	18.5 1.7
200	5	<u>+</u>	733 28	<u>+</u>	14.2 0.2	42.8 ± 0.9	<u>+</u>	59 3	±	19.4 0.9	<u>+</u>	33.3 0.3	<u>+</u>	30 9	±	13.8 1.1	<u>±</u>	20.1

									Differe	ntial l	eukocy	te co	unts (%)						
Dose (mg/kg)	No. of animals	(10	WBC ² /μL)		Baso.		osin.		Stab.	Neutro.	Seg.		Lymph.		Mono.		0ther	(10	Plat.) ⁴ /μL)
0	5	±	64 27	±	0	±	0	±	0	±	12 5	±	86 4	±	2 2	±	0 0	±	143 11
6	5	±	67 17	<u>+</u>	0 0	±	0 1	±	0 0	±	13 3	<u>+</u>	85 3	±	2	<u>+</u>	0	±	148 7
20	5	±	54 9	<u>+</u>	0	±	0	±	0 0	±	9 6	<u>+</u>	89 6	±	2 2	<u>±</u>	0	±	147 24
60	5	<u>+</u>	51 26	<u>+</u>	0	±	1 * 0	±	0	<u>±</u>	10 2	<u>+</u>	88 3	±	1	<u>+</u>	0	土	106 50
200	5	±	57 12	<u>+</u>	0	土	0	<u>+</u>	0	±	15 5	±	81 5	<u>+</u>	4 1	<u>±</u>	0	±	128 9

Each value is expressed as mean ± S.D.

* : Significantly different from control at level of probability

Hematological findings of female rats treated orally with tetrabromoethane in the 28-day repeat dose toxicity test Table 12

< After treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	(10	RBC 1⁴/µL)		Hb (g/dL)	Ht (%)		MCV (fL)		MCH (pg)		MCHC (%)		Ret. (%)		PT (sec)		APTT (sec)
0	5	±	756 14	±	14.5 0.5	42.0 ± 1.0	±	56 1	±	19.2 0.3	±	34.6 0.5	<u>+</u>	21 5	±	13.6 0.2	<u>+</u>	18.7 1.4
6	5	<u>+</u>	760 41	土	14.6 0.7	42.8 ± 2.0	<u>+</u>	56 0	<u>±</u>	19.3 0.3	±	34.2 0.4	<u>+</u>	21 6	±	13.3 0.4	±	17.0 0.6
20	5	±	719 16	<u>+</u>	14.0 0.1	41.2 ± 0.5	<u>+</u>	57 1	±	19.5 0.5	<u>+</u>	34.0 0.2	±	24 4	±	13.6 0.3	±	18.3 2.1
60	5	<u>+</u>	740 24	<u>±</u>	14.4 0.5	42.4 ± 1.5	±	57 1	<u>±</u>	19.5 0.4	±	34.0 0.4	<u>±</u>	20 3	<u>±</u>	13.5 0.4	<u>+</u>	17.4 0.7
200	5	±	733 35	±	14.1 0.2	42.2 ± 0.8	±	58 2	±	19.3 0.7	±	33.5** 0.2	<u>+</u>	21 2	<u>+</u>	13.1 0.4	<u>+</u>	17.5 1.2

												te co	unts (%)					-	D1_+
Dose (mg/kg)	No. of animals	(10	WBC ² /µL)		Baso.		Eosin.		Stab.	Neutro.	Seg.		Lymph.		Mono.		Other	(1	Plat. O'/μL)
0	5	<u>+</u>	43 13	<u>±</u>	0	土	1	±	0	<u>+</u>	14 6	±	8 5 6	±	1	±	0	<u>+</u>	173 50
6	5	±	30 9	<u>+</u>	0	<u>+</u>	0	<u>+</u>	0	<u>+</u>	14 4	<u>±</u>	84 4	<u>+</u>	2 1	±	0	±	133 20
20	5	<u>+</u>	27 4	<u>+</u>	0	土	1	±	0	<u>+</u>	16 6	±	82 6	±	1 1	±	0	±	126 12
60	5	<u>±</u>	33 15	±	0	±	1 2	±	0 0	±	15 3	<u>+</u>	81 4	<u>+</u>	3 2	<u>+</u>	0 0	<u>+</u>	136 7
200	5	±	36 11	±	0	<u>±</u>	1	<u>+</u>	0	<u>+</u>	16 1	<u>+</u>	82 3	<u>+</u>	2	<u>+</u>	0	±	113** 8

Each value is expressed as mean ± S.D.

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Hematological findings of male rats treated orally with tetrabromoethane in the 28-day repeat dose toxicity test Table 13

< After recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	(RBC [10 ⁴ /μL]		Hb (g/dL)	Ht (%)		MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (%)		Ret. (%)	PT (sec)	APTT (sec)
0	5	±	856 19	±	16.0 0.4	46.7 ± 1.1	±	55 1	18.7 ± 0.2	34.3 ± 0.6	±	24 6	12.9 ± 0.5	19.4 ± 2.0
200	5	±	824 36	±	15.4 0.8	44.3* ± 1.9	<u>+</u>	54 2	18.7 ± 0.6	34.6 ± 0.6	±	24 8	12.6 ± 0.4	$\begin{array}{c} 20.2 \\ \pm 0.8 \end{array}$

									Differe	ntial l	eukocyl	te cou	mts (%)					_	
Dose	No. of		WBC							Neutro.									Plat.
(mg/kg)	animals		$(10^2/\mu L)$		Baso.		Eosin.		Stab.		Seg.		Lymph.		Mono.		<u>Other</u>	($10^4/\mu$ L)
0	5	<u>±</u>	51 21	<u>±</u>	0	<u>+</u>	0	<u>±</u>	0	<u>+</u>	14 5	<u>+</u>	84 6	<u>+</u>	1	±	0	±	135 6
200	5	<u>+</u>	60 16	±	0	±	1 1	<u>±</u>	0	±	14 5	<u>+</u>	83 5	<u>±</u> .	1 2	±	0	<u>+</u>	140 25

Each value is expressed as mean ± S.D.

* : Significantly different from control at 5% level of probability

Table 14 Hematological findings of female rats treated orally with tetrabromoethane in the 28-day repeat dose toxicity test

< After recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	RBC (10 ⁴ /μL)	Hb (g/dL)	Ht (%)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (%)	Ret. (%)	PT (sec)	APTT (sec)
0	5	775 ± 24	14.9 ± 0.7	42.6 ± 1.9	55 ± 1	19.3 ± 0.4	$\begin{array}{c} 35.0 \\ \pm 0.4 \end{array}$	± 19 ± 3	13.9 ± 0.5	16.1 ± 1.2
200	5	800 ± 19	14.9 ± 0.7	42.9 ± 1.6	53 ± 2	18.6 ± 0.8	34.7 ± 0.4	17 ± 2	13.1* ± 0.3	$\pm 17.0 \\ \pm 1.2$

									Differe	ntial l	eukocyte	CO	unts (%)						
Dose	No. of		WBC							Neutro.								_	Plat.
(mg/kg)	animals		$(10^2/\mu L)$		Baso.		Eosin.		Stab.		Seg.		Lymph.		Mono.		0ther	(104/µL)
0	5	<u>+</u>	45 11	<u>+</u>	0	±	1 2	±	0 0	±	13 7	<u>+</u>	84 6	±	2 1	<u>+</u>	0	±	140 10
200	5	<u>+</u>	31 * 5	±	0	±	0	±	0	±	13 4	<u>+</u>	86 5	土	1 1	±	0	±	143 19

Each value is expressed as mean ± S.D.

* : Significantly different from control at 5% level of probability

Blood biochemical findings of male rats treated orally with tetrabromoethane in the 28-day repeat dose toxicity test Table 15

< After treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	S	LDH (IU/L)		GOT (IU/L)		GPT (IU/L)		ALP (IU/L)		γ-GTP (IU/L)		T.P. (g/dL)	,	Alb. (g/dL)		A/G		T-Cho. (mg/dL)	(1	T.G. mg/dL)	_
0	5	<u>+</u>	405 191	±	75 9	<u>+</u>	38 4	±	975 208	±	0.54 0.24	<u>+</u>	5.61 0.19	土	2.78 0.15	<u>±</u>	0.99 0.06	土	65 13	±	48 12	
6	5	<u>+</u>	322 132	±	73 2	±	38 5	<u>+</u>	885 147	±	0.75 0.16	<u>+</u>	5.79 0.28	±	2.88 0.11	<u>+</u>	0.99 0.04	±	51 8	土	53 26	
20	5	±	391 180	±	66 8	±	32 4	±	785 136	±	0.71 0.40	±	5.75 0.17	<u>±</u>	2.99 0.24	±	1.09 0.12	土	68 7	±	49 10	
60	5	±	341 175	±	114 92	<u>+</u>	62 56	<u>+</u>	843 227	<u>+</u>	0. 9 9 0.59	<u>+</u>	5.84 0.11	±	3.03 0.12	<u>+</u>	1.08 0.07	<u>±</u>	79 9	<u>.</u>	36 14	
200	5	±	187 50	±	74 6	<u>±</u>	51 2	<u>+</u>	928 293	±	1.75* 0.86	±	6.22** 0.12	<u>+</u>	3.29** 0.10	±	1.12* 0.07	±	117** 14	±	63 13	
Dose	No. of		Glu.		BUN		Crea.		T-Bil.		Ca		P		Na		K		Cl			
(mg/kg)	animals	1	(mg/dL)	(mg/dL)	((mg/dL)	((mg/dL)		(mg/dL)	(mg/dL)		(mEq/L)		(mEq/L)	(mEq/L)			
(mg/kg) 0	animals 5	<u>+</u>	(mg/dL) 123 16	+	14.1 2.5		0.44 0.07		0.39 0.05	<u>+</u>	9.8 0.3	(mg/dL) 8.8 0.7	<u>+</u>	(mEq/L) 145 2		5.20 0.59	<u> </u>	mEq/L) 122 5			
			123		14.1	±	0.44	<u>+</u>	0.39		9.8		8.8	·	145	<u>+</u>	5.20		122			
0	5	<u>±</u>	123 16 137	<u>+</u>	14.1 2.5 13.2	±	0.44 0.07 0.48	<u>+</u>	0.39 0.05 0.40	<u>±</u>	9.8 0.3 9.6	±	8.8 0.7 9.2	<u>+</u>	145 2 146	<u>+</u>	5.20 0.59 4.85	<u>+</u>	122 5 122			
6	5 5	±	123 16 137 13	± ±	14.1 2.5 13.2 1.1	± ±	0.44 0.07 0.48 0.03 0.39	<u>+</u> +	0.39 0.05 0.40 0.06	<u>+</u>	9.8 0.3 9.6 0.2 9.9	±	8.8 0.7 9.2 0.7 9.1	<u>+</u>	145 2 146 1	± ±	5.20 0.59 4.85 0.24 5.01	<u>+</u>	122 5 122 4 110**			
0 6 20	5 5 5	± ±	123 16 137 13 122 17	± ± ± ±	14.1 2.5 13.2 1.1 13.2 2.8	± ± ±	0.44 0.07 0.48 0.03 0.39 0.02	± ± ±	0.39 0.05 0.40 0.06 0.42 0.04	± ± ±	9.8 0.3 9.6 0.2 9.9 0.2	± ± ±	8.8 0.7 9.2 0.7 9.1 0.6	± ±	145 2 146 1 146 1	± ± ± ±	5.20 0.59 4.85 0.24 5.01 0.18 4.62*	± ±	122 5 122 4 110** 4			

Each value is expressed as mean±S.D.

* : Significantly different from control at 5% level of probability

** : Significantly different from control a % level of probability

Table 16 Blood biochemical findings of female rats treated orally with tetrabromoethane in the 28-day repeat dose toxicity test

< After treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animal		LDH (IU/L)		GOT (IU/L)		GPT (IU/L)		ALP (IU/L)		γ-GTP (IU/L)		T.P. (g/dL)		Alb. (g/dL)		A/G		T-Cho. (mg/dL)	(T.G. (mg/dL)
0	5	<u>±</u>	387 116	<u>+</u>	73 10	<u>+</u>	31	<u>+</u>	572 156	<u>+</u>	0.57 0.22	±	5.52 0.40	±	2.87 0.36	<u>+</u>	1.08 0.14	±	60 16	±	20 9
6	5	<u>+</u>	562 167	<u>+</u>	80 10	±	33 5	<u>+</u>	602 177	<u>+</u>	1.07 0.24	±	5. 9 3 0.12	±	3.18 0.16	<u>+</u>	1.16 0.07	<u>±</u>	65 5	<u>+</u>	17 6
20	5	<u>+</u>	297 55	<u>+</u>	80 12	±	34 7	±	435 130	±	1.37 0.68		6.20** 0.27	<u>±</u>	3.38* 0.31	±	1.20 0.14	±	65 8	<u>+</u>	13 5
60	5	±	402 117	<u>+</u>	7 0 5	±	29 4	±	530 139		1.04 0.45		6.50** 0.11	<u>+</u>	3.73*** 0.16		1.35** 0.10	<u>+</u>	72 8	<u>+</u>	15 5
200	5	<u>+</u>	328 115	±	70 9	<u>+</u>	30 9	±	368 63		0.81 0.62		6.54** 0.27		3.98 ** 0.26	±	1.55** 0.10	±	104** 20	<u>+</u>	28 9
Dose (mg/kg)	No. of animals	(Glu. mg/dL)		BUN (mg/dL)		Crea. (mg/dL)		T-Bil. (mg/dL)		Ca (mg/dL)	(P mg/dL)	(Na (mEq/L)		K (mEq/L)	(Cl mEq/L)		
0	5	±	103 12	±	14.9 1.6	±	0.47 0.07	±	0.27 0.04	<u>+</u>	9.0 0.7	<u>±</u>	7.1 0.6	<u>+</u>	147 2	±	4.48 0.21		116 7		
6	5	±	112 10	<u>+</u>	14.8 2.3	<u>+</u>	0.47 0.07	<u>+</u>	0.26 0.02	<u>+</u>	9.3 0.2	±	7.6 0.9	±	146 1	<u>±</u>	4.58 0.21		119 2		
20	5	<u>+</u>	107 17	<u>±</u>	14.3 1.8	±	0.51 0.06	<u>+</u>	0.26 0.02	<u>±</u>	9.5 0.2	<u>+</u>	7.3 0.7	<u>+</u>	147 1	±	4.25 0.16	<u>+</u>	117 2		
60	5	±	104 7	<u>+</u>	13.2 2.6		0.45 0.05	<u>+</u>	0.28 0.01	<u>+</u>	9.8* 0.3	±	8.0 0.7	<u>+</u>	146 2	土	4.43 0.22	<u>+</u>	112 2		
200	5	±	102 8		11.4 1.9		0.45 0.02		0.27 0.03	±	9.8* 0.2	±	7.6 0.6	<u>+</u>	146 1		4.07* 0.23	±	92* 3		

Each value is expressed as mean±S.D.

* : Significantly different from control at 5% level of probability

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Blood biochemical findings of male rats treated orally with tetrabromoethane in the 28-day repeat dose toxicity test Table 17

< After recovery period >

Dose (mg/kg	No. of animals	LDH (IU/L)		T ALP /L) (IU/L)	γ-GTP (IU/L)	T.P. (g/dL)	Alb. (g/dL)	A/G	T-Cho. (mg/dL)	T.G. (mg/dL)
0	5	311 ± 62	78 ± 5 ±	692 3 ± 115	0.72 ± 0.30	5.93 ± 0.15	± 0.07	1.05 ± 0.04	64 ± 15	50 ± 29
200	5	296 ± 29	83 ± 9 ±	3 632 7 ± 106	0.37* ± 0.17	6.20** ± 0.08	3.13 ± 0.16	1.02 ± 0.10	74 ± 12	50 ± 27
Dose (mg/kg)	No. of animals	Glu. (mg/dL)	BUN Cre (mg/dL) (mg		Ca (mg/dL)	P (mg/dL)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)	
0	5	130 ± 10	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$		9.7 ± 0.1	7.7 ± 0.4	145 ± 1	4.58 ± 0.15	± 119	
200	5	121 ± 5	14.4 0. ± 2.6 ± 0.		9.6 ± 0.3	7.7 ± 0.6	145 ± 1	4.89* ± 0.24	117 ± 4	

Each value is expressed as mean ± S.D.

* : Significantly different from control at 5% level of probability

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Blood biochemical findings of female rats treated orally with tetrabromoethane in the 28-day repeat dose toxicity test Table 18

< After recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	LDH (IU/L)	GOT (IU/L)	GPT (IU/L)	ALP (IU/L)	γ-GTP (IU/L)	T.P. (g/dL)	Alb. (g/dL)	A/G	T-Cho. (mg/dL)	T.G. (mg/dL)
0	5	430 ± 128	82 ± 11	30 ± 5	359 ± 53	1.22 ± 0.32	5.95 ± 0.16	$\begin{array}{c} 3.11 \\ \pm \ 0.13 \end{array}$	$\begin{array}{c} 1.10 \\ \pm 0.07 \end{array}$	65 ± 12	17 ± 5
200	5	430 ± 36	78 ± 8	30 ± 2	372 ± 83	0.55* ± 0.33	6.32* ± 0.28	$\begin{array}{c} 3.33 \\ \pm 0.23 \end{array}$	$\begin{array}{c} 1.12 \\ \pm 0.10 \end{array}$	91 ** ± 9	22 ± 6
Dose (mg/kg)	No. of animals	Glu. (mg/dL)	BUN	Crea.	T-Bil.	Ca	P	Na	K	Cl	
	··-	(mg/mr)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mEq/L)	(mEq/L)	(mEq/L)	
0	5	111 ± 17	17.9 ± 3.2	0.59 ± 0.06	(mg/dL) 0.27 ± 0.03	(mg/dL) 9.3 ± 0.1	(mg/dL) 6.8 ± 0.5	(mEq/L) 143 ± 2	(mEq/L) 4.81 ± 0.25	(mEq/L) 121 ± 3	

Each value is expressed as mean ± S.D.

* : Significantly different from control at 5% level of probability

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Incidence of necropsy findings of male rats treated with tetrabromoethane in the repeated dose 28-day oral toxicity study

Organ	: Finding	S		After	treatme	ent perio	d	After r	ecovery riod
_		Dose (mg/kg) No. of animals	0 5	6 5	20 5	60 5	200 5	0 5	200 5
Liver	: Large	- †	5 0	5 0	4	4	1 4‡	5 0	3 2
Testis/ epididymis	: Small		5	5 0	5 0	5	4 1	5 0	5 0

- : Negative; + : Slight
 * : Significantly different from control at 5% level of probability

Incidence of necropsy findings of female rats treated with tetrabromoethane in the repeated dose 28-day oral toxicity study Table 20

Organ	: Findings			After t	treatment	period		After reco	
		Dose (mg/kg) No. of animals	0 5	6 5	20 5	60 5	200 5	0 5	200 5
Liver	: Large - + ++		5 0 0) (0)	5 0 0) (0)	⁴ ¹ ⁰ ¹ ¹	$\binom{3}{2}$ (2)	0 4 1) (5)**	5 0 0) (0)	5 0 0) (0)

- : Negative; + : Slight; ++ : Moderate ++ : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 21 Absolute and relative organ weights of male rats treated orally with tetrabromoethane in 28-day repeat dose toxicity test After treatment period>

	Dose (mg/kg)	No.of Animals	B.W. (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Spleen (g)	Heart (g)	Thymus (g)	Thyroid (mg)	Pitui. (mg)	Adrenal (mg)	Testis (g)	Epidid. (g)
Absolute	0	5	314 ±26	1.86 ±0.07	9.44 ±1.22	2.56 ±0.16	0.68 ±0.10	1.08 ±0.07	0.56 ±0.12	23.4 ±3.3	11.2 ±1.3	52.2 ±5.2	2.88 ±0.07	0.71 ±0.05
	6	5	315 ±5 3	1.90 ±0.05	10.09 ±2.45	2.43 ±0.52	0.68 ±0.09	1.09 ±0.18	0.53 ± 0.0 6	25.7 ±5.8	10.9 ±2.2	59.2 ±13.6	2.73 ±0.29	0.70 ±0.09
	20	5	326 ±19	1.88 ±0.14	11.53 ±1.37	2.74 ±0.30	0. 6 5 ±0.07	1.14 ±0.05	0.60 ±0.13	27.2 ±2.2	10.8 ±0.9	60.2 ±10.5	2.85 ±0.20	0.77 ±0.07
	60	5	322 ±29	1.96 ±0.13	12.75 ≯ ±1.26	2.88 ±0.35	0.68 ±0.15	1.11 ±0.13	0.61 ±0.20	27.0 ±2.7	11.0 ±0.9	61.2 ±8.6	2.98 ±0.21	0.75 ±0.07
	200	5	307 ±33	1.89 ±0.04	15.05 * ±2.42	* 2.98 ±0.24	0.62 ±0.07	1.08 ±0.05	0.53 ±0.13	28.4 ±4.9	10.9 ±1.6	54.1 ±14.2	2.50 ±0.84	0.67 ±0.16
Relative @	0	5	314 ±26	0.59 ±0.04	3.00 ±0.18	0.81 ±0.04	0.22 ±0.03	0.34 ±0.01	0.18 ±0.03	7.4 ±0.8	3.6 ±0.3	16.7 ±2.5	0.92 ±0.08	0.23 ±0.03
	6	5	315 ±53	0.62 ±0.11	3.17 ±0.26	0.76 ±0.05	0.22 ±0.01	0.35 ±0.01	0.17 ±0.02	8.1 ±0.9	3.5 ±0.4	18.7 ±1.9	0.89 ±0.16	0.22 ±0.03
	20	5	326 ±19	0.58 ±0.02	3.53 * ±0.25	0.84 ±0.07	0.20 ±0.02	0.35 ±0.02	0.18 ±0.03	8.3 ±0.5	3.3 ±0.1	18.5 ±2.9	0.88 ±0.05	0.24 ±0.03
	60	5	322 ±29	0.61 ±0.02	3.97 * ±0.35	* 0.89 ±0.07	0.21 ±0.03	0.34 ±0.02	0.19 ±0.05	8.5 ±1.6	3.4 ±0.1	19.0 ±1.6	0.93 ±0.10	0.23 ±0.01
	200	5	307 ±33	0.62 ±0.05	4.88 ★ ±0.33	* 0.97 * ±0.06	* 0.20 ±0.01	0.35 ±0.03	0.17 ±0.03	9.3 ±1.9	3.5 ±0.3	17.4 ±2.8	0.84 ±0.31	0.22 ±0.07

@: Relative organ weight per 100g body weight

*: Significantly different from control at 5% level of probability

**: Significantly different from control at 1% level of probability

Table 22 Absolute and relative organ weights of female rats treated orally with tetrabromoethane in 28-day repeat dose toxicity test After treatment period>

	Dose (mg/kg)	No.of Animals	B.W. (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Spleen (g)	Heart (g)	Thymus (g)	Thyroid (mg)	Pitui. (mg)	Adrenal (mg)	Ovary (mg)	Uterus (g)
Absolute	0	5	195 ±15	1.84 ±0.04	5.94 ±0.42	1.61 ±0.12	0.51 ±0.09	0.78 ±0.07	0.45 ±0.05	21.1 ±3.5	13.6 ±2.1	61.4 ±6.7	75.7 ±9.5	0.43 ±0.07
	6	5	193 ±16	1.84 ±0.05	6.16 ±0.56	1.54 ±0.01	0.42 ±0.08	0.75 ±0.06	0.39 ±0.12	21.4 ±2.2	12.4 ±0.5	63.4 ±8.0	73.5 ±10.6	0.63 ±0.15
	20	5	206 ±24	1.80 ±0.04	7.02 ±1.14	1.72 ±0.12	0.45 ±0.06	0.76 ±0.06	0.44 ±0.11	22.5 ±4.6	14.4 ±2.1	71.9 ±9.3	70.6 ±11.6	0.71 ± 0.22
	60	5	207 ±9	1.81 ±0.07	7.90 ≯ ±0.53	* 1.88 ±0.15	0.47 ±0.05	0.80 ±0.07	0.44 ±0.10	23.5 ±1.8	13.6 ±1.1	74.6 ±8.6	90.4 ±11.5	0.51 ±0.23
2 25 7	200	5	193 ±11	1.78 ±0.05	9.18 * ±0.81	* 1.95 * ±0.12	* 0.42 ±0.05	0.79 ±0.06	0.46 ±0.07	24.1 ±3.1	12.8 ±1.0	60.0 ±8.4	67.3 ±13.8	0.49 ±0.15
Relative @	0	5	195 ±15	0.95 ±0.08	3.05 ±0.04	0.83 ±0.06	0.26 ±0.03	0.41 ±0.01	0.23 ±0.03	10.8 ±1.2	7.0 ±1.2	31.5 ±2.1	39.4 ±8.4	0.22 ±0.05
	6	5	193 ±16	0.96 ±0.09	3.18 ±0.15	0.80 ±0.06	0.22 ±0.03	0.39 ±0.02	0.20 ±0.04	11.1 ±1.1	6.5 ±0.6	33.0 ±5.4	38.3 ±6.4	0.33 ±0.07
	20	5	206 ±24	0.88 ±0.09	3.40 ±0.22	0.84 ±0.05	0.22 ±0.02	0.37 ±0.02	0.21 ±0.06	11.0 ±2.0	7.0 ±0.9	34.9 ±2.4	34.3 ±4.4	0.35 ±0.13
	60	5	207 ±9	0.88 ±0.06	3.82 * ±0.19	0.91 ±0.08	0.23 ±0.02	0.39 ±0.03	0.21 ±0.04	11.3 ±0.7	6.6 ±0.5	36.0 ±3.7	43.7 ±5.1	0.25 ±0.11
	200	5	193 ±11	0.92 ± 0.04	4.75 * ±0.28	* 1.01 * ±0.04	* 0.22 ±0.03	0.41 ±0.04	0.23 ±0.03	12.5 ±1.6	6.7 ±0.8	31.2 ±5.1	35.0 ±7.9	0.25 ±0.06

^{@:} Relative organ weight per 100g body weight

^{*:} Significantly different from control at 5% level of probability

^{** :} Significantly different from control at 1% level of probability

-25

Table 23 Absolute and relative organ weights of male rats treated orally with tetrabromoethane in 28-day repeat dose toxicity test (After recovery period)

	_	No.of Animals	B.W. (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Spleen (g)	Heart (g)	Thymus (g)	Thyroid (mg)	Pitui. (mg)	Adrenal (mg)	Testis (g)	Epidid.
Absolute	0	5	353 ±24	1.99 ±0.10	9.26 ±0.92	2.57 ±0.09	0.72 ±0.10	1.14 ±0.08	0.47 ±0.10	27.0 ±5.6	10.6 ±1.2	57.6 ±13.0	3.35 ±0.22	1.06 ±0.07
	200	5	357 ±42	2.00 ±0.11	11.19 ±1.83	2.72 ±0.35	0.65 ±0.05	1.22 ±0.08	0.48 ±0.13	32.5 ±4.9	10.7 ±1.4	55.2 ±7.9	3.09 ±0.22	1.08 ±0.06
Relative @	0	5	353 ±24	0.56 ±0.04	2.62 ±0.18	0.73 ±0.05	0.21 ±0.04	0.32 ±0.02	0.14 ±0.03	7.6 ±1.5	3.0 ±0.2	16.4 ±4.0	0.95 ±0.06	0.30 ±0.01
	200	5	357 ±42	0.56 ±0.06	3.12 * ±0.22	* 0.76 ±0.04	0.19 ±0.02	0.34 ±0.03	0.14 ±0.03	9.1 ±0.9	3.0 ±0.3	15.6 ±2.8	0.88 ±0.14	0.31 ±0.04

@: Relative organ weight per 100g body weight

**: Significantly different from control at 1% level of probability

-26

Study No. 00-257

Table 24 Absolute and relative organ weights of female rats treated orally with tetrabromoethane in 28-day repeat dose toxicity teststudy After recovery period>

	Dose (mg/kg)	No.of Animals	B.W. (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Spleen (g)	Heart (g)	Thymus (g)	Thyroid (mg)	Pitui. (mg)	Adrenal (mg)	Ovary (mg)	Uterus (g)
Absolute	0	5	230 ±17	1.87 ±0.09	6.27 ±0.40	1.67 ±0.11	0.52 ±0.05	0.83 ±0.06	0.41 ±0.04	20.9 ±1.5	14.9 ±0.8	66.7 ±6.3	97.4 ±11.1	0.45 ±0.09
	200	5	214 ±16	1.87 ±0.10	6.85 ±0.69	1.68 ±0.12	0.42 * ±0.09	0.87 ±0.07	0.35 ±0.08	23.7 ± 2.7	14.7 ±0.5	73.8 ±7.7	91.7 ±14.4	0.48 ± 0.18
Relative @	0	5	230 ±17	0.82 ±0.05	2.73 ±0.20	0.73 ±0.03	0.23 ±0.01	0.36 ±0.03	0.18 ±0.01	9.2 ±1.1	6.5 ±0.5	29.1 ±2.4	42.3 ±2.8	0.20 ±0.05
	200	5	214 ±16	0.88 ±0.08	3.20 * ±0.24	0.79 ±0.05	0.20 ±0.04	0.41 ÷ ±0.01	* 0.17 ±0.02	11.0 ** ±0.6	6.9 ±0.5	34.6 * ±4.2	43.2 ±7.9	0.22 ±0.07

@: Relative organ weight per 100g body weight

*: Significantly different from control at 5% level of probability

**: Significantly different from control at 1% level of probability

Table 25-1 Incidence of histopathological findings of male rats treated with tetrabromoethane in the repeated dose 28-day oral toxicity study

Organ	: Findings	Grade			After tr	eatment	period		After re peri	
•			Dose (mg/kg) No. of animals	0 5	6 5	20 5	60 5	200 5	0 5	200 5
Lung	: Accumulation, foam cell	- +		5 0	_	-	_	4 1	_	-
Heart	: Myocardial degeneration/ fibrosis	- +		5 0	-			4 1	_	_
Liver	: Microgranuloma	- †		3 2	5 0	4 1	4 1	2 3	3 2	4 1
	Necrosis, focal	- +		3 2	4 1	2 3	4 1	0 5	4	5 0
	Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular	- + ++	.*	5 0 0) (0)	5 0 0) (0)	$\begin{pmatrix} 2 \\ 3 \\ 0 \end{pmatrix}$ (3)	1 4 0) *	0 0 5) (5) **	5 0 0) (0)	$\begin{pmatrix} 2 \\ 3 \\ 0 \end{pmatrix}$ (3)
Kidney	: Hyaline droplet, proximal tubular epithelium	- †		1 4			_	0 5	_	
	Eosinophilic body, proximal tubular epithelium	- †		4 1				5 0	_ _	
	Basophilic tubules	- +		2 3	_	_		2 3		
	Cyst, solitary	- +		4 1	_ _			5 0	_	-
	Cellular infiltration, lymphocyte, cortex	- †		5 0	 -	_ 	-	4 1		-

Table 25-2 Incidence of histopathological findings of male rats treated with tetrabromoethane in the repeated dose 28-day oral toxicity study

Organ : Findings	Grade			After	treatmen	ıt period			ecovery iod
		Dose (mg/kg) No. of animals	0 5	6 5	20 5	60 5	200 5	0 5	200 5
Thyroid : Hypertrophy, follicular cell	- t		5 0	5 0	5 0	4	1 4 *	5 0	5 0
Pituitary : Cyst, Rathke's pouch	- †		5 0	_ 	· —		4 1	_ _	
Spleen : Hematopoiesis, extramedullary	- + ++		0 5 0	5) – -	- - -	<u>-</u> -	0 4 1	_	<u>-</u> -
Deposit, pigment, brown	- +		0 5	<u>-</u>		<u> </u>	0 5	<u>-</u>	
Testis : Atrophy, seminiferous tubule	- 		5 0				4 1	-	
Epididymis : Decrease, sperm	- †		5 0	_	_		4 1	_ _	_
Prostate : Cellular infiltration, lymphocyte, interstitium	- + ++		4 0) (1	_ 	- - -	_ _ _	⁴ 0 1) ⁽¹⁾	<u></u> 	_

^{-:} Negative; +: Slight; ++: Moderate; -: Not examined

^{* :} Significantly different from control at 5% level of probability

^{** :} Significantly different from control at 1% level of probability

No abnormalities were detected in the brain, parathyroid, spinal cord, trachea, thymus, adrenal, stomach, small intestine, large intestine, urinary bladder, sciatic nerve, lymph node and bone marrow from animals of control and 200mg/kg groups.

Table 26-1 Incidence of histopathological findings of female rats treated with tetrabromoethane in the repeated dose 28-day oral toxicity study

Organ	: Findings	Grade			After tr	eatment	period		After red	
			Dose (mg/kg) No. of animals	0 5	6 5	20 5	60 5	200 5	0 5	200 5
Lung	: Accumulation, foam cell	+		5 0	_		_	4	_	
Liver	: Microgranuloma	 +		3 2	3 2	4 1	4 1	2 3	3 2	4 1
	Necrosis, focal	- +		5 0	5 0	5 0	5 0	4 1	5 0	5 0
	Degeneration, fatty, hepatocyte diffuse	- +		4	5 0	5 0	5 0	5 0	4 1	5 0
	Degeneration, fatty, hepatocyte periportal	- +		5 0	5 0	5 0	4 1	5 0	5 0	5 0
	Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular	- + ++		5 0 0) (0)	5 0 0) (0)	$\binom{2}{3}$ (3)	0 5 0) (5) **	0 1 4) (5)	5 0 0) (0)	3 2 0) (2)
Kidney	: Basophilic tubules	- 		4 1	 	_		5 0	- -	
	Cyst, solitary	- 		5 0			<u></u>	4 1	<u> </u>	_ _
	Fibrosis, cortex	- +	•	5 0				4 1		-
Thyroid	: Hypertrophy, follicular cell	- +		5 0	5 0	5 0	3 2	0 5 **	5 0	5 0

30

Study No. 00-257

Table 26-2 Incidence of histopathological findings of female rats treated with tetrabromoethane in the repeated dose 28-day oral toxicity study

Organ	: Findings			After treatment period					After recovery period	
			Dose (mg/kg) No. of animals	0 5	6 5	20 5	60 5	200 5	0 5	200 5
Spleen	: Hematopoiesis, extramedullary	- +		0 5	-	-		0 5	_	_
	Deposit, pigment, brown	- ·		0 5	<u>-</u>		- -	0 5	_	_ _

^{-:} Negative; +: Slight; ++: Moderate; -: Not examined

No abnormalities were detected in the brain, pituitary, parathyroid, spinal cord, heart, trachea, thymus, adrenal, stomach, small intestine, large intestine, ovary, uterus, urinary bladder, sciatic nerve, lymph node and bone marrow from animals of control and 200mg/kg groups.

^{** :} Significantly different from control at 1% level of probability