メチルエチルケトンオキシム

(CAS No. 96297)

試験番号：SR－9435

試験名　：エチルメチルケトキシムのラットにおける 28 日間反復投与経口毒性試験

株式会社 化合物安全性研究所

目　次

頁

要　　約 ---------- 5
緒　　言 ---------- 6
材料及び方法 ---------- 6
成　　績 ---------- 14
考　　察 ---------- 19
参 考 文 献 ---------- 21

Figures ---------- 添付
1. Body weight changes in male rats dosed orally with EMK-0 for 28 days followed by 14-day recovery period (SR-9435)
2. Body weight changes in female rats dosed orally with EMK-0 for 28 days followed by 14-day recovery period (SR-9435)
3. Food consumption in male rats dosed orally with EMK-0 for 28 days followed by 14-day recovery period (SR-9435)
4. Food consumption in female rats dosed orally with EMK-0 for 28 days followed by 14-day recovery period (SR-9435)

Tables ---------- 添付
1. Experimental design for 28-day repeated dose oral toxicity test of EMK-0 and 14-day recovery test in rats (SR-9435)
2. General appearance in rats of 28-day repeated dose oral toxicity study of EMK-0 (SR-9435)
3. General appearance in rats of 14-day recovery test after 28-day oral administration of EMK-0 (SR-9435)
4. Body weight changes in male rats dosed orally with EMK-0 for 28 days followed by 14-day recovery period (SR-9435)
5. Body weight changes in female rats dosed orally with EMK-0 for 28 days followed by 14-day recovery period (SR-9435)

6. Food consumption in male rats dosed orally with EMK-0 for 28 days followed by 14-day recovery period (SR-9435)
7. Food consumption in female rats dosed orally with EMK-0 for 28 days followed by 14-day recovery period (SR-9435)
8. Urinary findings in male rats in the final week of 28-day repeated dose oral toxicity test of EMK-0 (SR-9435)
9. Urinary findings in female rats in the final week of 28-day repeated dose oral toxicity test of EMK-0 (SR-9435)
10. Urinary findings in male rats in the final week of 14-day recovery test after 28-day oral administrsation of EMK-0 (SR-9435)
11. Urinary findings in female rats in the final week of 14-day recovery test after 28-day oral administrsation of EMK-0 (SR-9435)
12. Hematological findings in male rats at the end of 28-day repeated dose oral toxicity test of EMK-0 (SR-9435)
13. Hematological findings in female rats at the end of 28-day repeated dose oral toxicity test of EMK-0 (SR-9435)
14. Hematological findings in male rats at the end of 14-day recovery test after 28-day oral administrsation of EMK-0 (SR-9435)
15. Hematological findings in female rats at the end of 14-day recovery test after 28-day oral administrsation of EMK-0 (SR-9435)
16. Myelogram in male rats at the end of 28-day repeated dose oral toxicity test of EMK-0 (SR-9435)
17. Myelogram in female rats at the end of 28-day repeated dose oral toxicity test of EMK-0 (SR-9435)
18. Myelogram in male rats at the end of 14-day recovery test after 28-day oral administrsation of EMK-0 (SR-9435)
19. Myelogram in female rats at the end of 14-day recovery test after 28-day oral administrsation of EMK-0 (SR-9435)
20. Biochemical findings in male rats at the end of 28-day repeated dose oral toxicity test of EMK-0 (SR-9435)
21. Biochemical findings in female rats at the end of 28-day repeated dose oral toxicity test of EMK-0 (SR-9435)
22. Biochemical findings in male rats at the end of 14-day recovery test after 28-day oral administrsation of EMK-0 (SR-9435)
23. Biochemical findings in female rats at the end of 14-day recovery test after 28-day oral administrsation of EMK-0 (SR-9435)
24. Absolute and relative organ weights in male rats at the end of 28-day repeated dose oral toxicity test of EMK-0 (SR-9435)
25. Absolute and relative organ weights in female rats at the end of 28-day repeated dose oral toxicity test of EMK-0 (SR-9435)

26. Absolute and relative organ weights in male rats at the end of 14-day recovery test after 28-day oral administrsation of EMK-0 (SR-9435)
27. Absolute and relative organ weights in female rats at the end of 14-day recovery test after 28-day oral administrsation of EMK-0 (SR-9435)
28. Gross findings in rats at the end of 28-day repeated dose oral toxicity test of EMK-0 (SR-9435)
29. Gross findings in rats at the end of 14-day recovery test after 28-day oral admministration of EMK-0 (SR-9435)
30. Histopathological findings in rats at the end of 28-day repeated dose oral toxicity test of EMK-0 (SR-9435)
31. Histopathological findings in rats at the end of 14-day recovery test after 28-day oral admministration of EMK-0 (SR-9435)

要　約

エチルメチルケトキシム（CAS No.96-29-7）の４、20及び 100 mg/kg/day をCrj:CD(SD)系雌雄ラットに 28日間経口反復投与し、その毒性及び投与後 14日間休薬した際の回復性を検討し、以下の知見が得られた。

１．血液学的検査では、雌雄の 20 mg/kg以上の群に網赤血球率の上昇、雌の 20 mg/kg以上の群に血小板数の増加、雌の 20 mg/kg以上の群及び雄の 100 mg/kg 群に赤血球数、ヘマトクリット値及び血色素量の減少、雌雄の 100 mg/kg群に平均赤血球容積、平均赤血球ヘモグロビン量及び白血球数の増加が認められた。

２．血液化学的検査では、雌雄の 100 mg/kg群にカリウムの増加、雄の 100 mg/kg群にA/G比及びアルブミン分画の上昇、α_1-グロブリン分画の低下、総ビリルビン及び総コレステロールの増加が認められた。

３．器官重量では、雌の 20 mg/kg以上の群及び雄の 100 mg/kg 群に脾臓重量の増加及び脾臓の体重重量比の上昇、雄の 100 mg/kg群に肺の体重重量比の上昇、雌の 100 mg/kg群に心臓の体重重量比の上昇が認められた。

４．剖検では、脾臓の腫大が雄の 20 mg/kg以上の群及び雌の 100 mg/kg群に認められた。

５．病理組織学的検査では、肝臓にヘモジデリン貧食を伴うクッパー細胞の肥大が雌の 20 mg/kg以上の群及び雄の 100 mg/kg群、髄外造血が雌雄の 100 mg/kg群、腎臓に近位を主とする尿細管上皮のリポフスチン様物質の沈着が雌雄の 100 mg/kg群、脾臓にうっ血、髄外造血の亢進及びヘモジデリン顆粒の増加が雌雄の 20 mg/kg 以上の群に認められた。

６．一般状態、体重推移、摂餌量及び骨髄検査では EMK-0投与と関連した変化は認められなかった。

７．上述の変化はその多くが14日間の休薬により消失あるいは軽減した。

８．以上のことから、雌雄の 20 mg/kg 以上の群に網赤血球率の上昇及び脾臓に対する影響等が認められたことから、本試験における EMK-0投与による無影響量（NOEL）は、雌雄とも４mg/kg/dayであると考えられた。

緒　　言

エチルメチルケトキシム（CAS No.96-29-7）は、塗料の皮張り防止剤、シリコン樹脂の硬化剤及びウレタンのブロッキング剤として使用される化学物質である。今回、日本における既存化学物質の安全性の点検事業の一環として、エチルメチルケトキシムをラットに28日間経口反復投与し、その毒性及び投与後14日間休薬した際の回復性を検討したので、その成績を報告する。

なお、本試験は「新規化学物質に係る試験及び指定化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める命令第４条に規定する試験施設に関する基準」（昭和59年３月31日環保業第39号環境庁企画調整局長、薬発第 229号厚生省薬務局長、59基局第85号通商産業省基礎産業局長連名通知）並びに「OECD優良試験所指針Ｃ（81）30最終別添２」に従い、試験方法は「新規化学物質に係る試験の方法について」（昭和49年７月13日環保業第５号環境庁企画調整局長、薬発第 615号厚生省薬務局長、49基局第 392号通商産業省基礎産業局長連名通知)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 エチルメチルケトキシム（CAS No. 96-29-7、Methyl ethyl ketone oxime、以下 EMK-Oと略す。Lot番号：　　純度：99.0%以上、製造者：　　）である。被験物質は、水溶性（水溶解度：25℃で 114 g/l）の無色透明液体であり、冷暗所（２～８ ℃設定）に保存した（製品安全データシート、Appendix 1）。また、EMK-Oの製造者により被験物質の品質は納品後３ヵ月間保証されている。

２．試験動物

生後３週齢の Crj:CD (SD) 系の SPF ラットを（雄：48匹、体重範囲 64～72 g，雌：48匹、体重範囲 55～63 g)を1994年11月18日に、日本チャールス・リバー株式会社より受け入れ、雌雄とも11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、眼底検査を１回実施し、異常がなく、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±3℃ 、湿度 RH55±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（301及び 308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1匹とした。ケージの交換は群分け時に1回、その後は2週に1回の頻度で行った。

飼育室内の清掃及び床の清拭消毒は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、その後は2週に1回の頻度で、自動給水装置の水抜きは週1回の頻度で行った。

飼料の分析及び検査は財団法人日本食品分析センター（分析試験成績書：第 47090792-001号、第 47110478-001号、Appendix 2,3）及びオリエンタル酵母工業株式会社［分析結果報告書：No.94G01-009(全3頁の3)、No.94G01-011(全3頁の3)、Appendix 4,5］で実施し、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（水質検査結果書：第 06521号、Appendix 6）及び日本衛生株式会社（水質検査結果表：第 062013号、第 062015号、Appendix 7,8）で実施し、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

試験群は、EMK-0の 1000、300及び 100 mg/kg/day を設定した14日間反復投与経口毒性試験（SR-9435P）の成績を参考に設定した。すなわち、最低用量である 100 mg/kg群において赤血球数の低値、平均赤血球容積及び平均赤血球ヘモグロビン濃度の高値、脾臓の腫大及び脾臓重量の高値などが認められたことから、高用量は確実に赤血球及び脾臓に影響が予想される100 mg/kg/dayとし、以下公比5で 20及び4 mg/kg/dayを設定した。さらに、日本薬局方精製水を投与する対照を加えて計4群とした（Table 1）。

動物数は、対照群で雌雄各14匹、4及び 20 mg/kg群で雌雄各7匹、100 mg/kg群で雌雄各14匹とし、そのうち回復性試験のために対照群及び100 mg/kg群の雌雄各7匹をあてた。群分けは、馴化期間の最終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、受入時に油性フェルトペンを用いて尾部にケージ内個体識別を、群分け時に入墨により群識別を右耳に、群内個体識別を左耳に行った。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．被験物質の調製、投与経路及び投与方法

被験物質の調製は用時に次の通り行った。１％の濃度は、被験物質を精秤し、日本薬局方精製水（Lot No.48C、ヤクハン製薬株式会社）に溶解して調製した。0.2％及び0.04％の濃度は１％調製液を日本薬局方精製水（Lot No.48C、ヤクハン製薬株式会社）で希釈して調製した。なお、EMK-0 の各濃度の調製液が規定の濃度であることが当試験施設で確認されている（分析証明書番号：0314、Appendix 9）。

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、胃ゾンデを用いて強制的に胃内に行い、１日１回連続28回行った。また、回復性試験の日数は14日間とした。投与容量は、体重１kg当たり10mlとして投与日に最も近い日に測定した体重に基づいて算出した。なお、体重測定の当日の投与容量はその日の体重に基づいて算出した。

投与は５週齢から開始し、投与開始時の平均体重（体重範囲）は雄で 164.6 g（152～176 g）、雌で 138.3 g（122～159 g）であった。投与時刻は午前10時から午後１時の間とした。

６．観察、測定及び検査項目

(1)一般状態観察

投与期間及び回復期間中、全例について１日１回以上の頻度で、視診及び触診により行動、外観などを観察した。

(2)体重測定

全例について、投与１日（投与前）、投与２、７、14、21 及び28日（投与終了日）、回復１、２、７、14日及び剖検日に、電子天秤（ザルトリウス 1407 MP8-1、カールツァイス株式会社）を用いて測定した。また、体重増加量［投与28日体重－投与１日体重］及び体重増加率［（体重増加量／投与１日体重）× 100］を算出した。

(3)摂餌量測定

全例について、投与１日（投与前）、投与２、７、14、21及び28日、回復１、２、７及び14日に、電子天秤（ザルトリウス 1407 MP8-1 、カールツァイス株式会社）を用いて測定した。適当量をケージ毎にセットし、翌日に残量を測定し、１匹当たりの１日分の摂餌量を算出した。

(4)尿検査

投与期間の最終週（投与23～24日）及び回復期間の最終週（回復12～13日）に全例について、ラット用代謝ケージ（KN-646 B-1型、夏目製作所）に収容して非絶食下で採尿を行った。約３時間の蓄尿の一部を用いて①～⑨の項目を検査し、21時間蓄尿を用いて⑩～⑯の項目の検査を行った。

①ｐＨ	試験紙法（マルティスティックス：バイエル・三共）
②蛋白（Pro）	試験紙法（マルティスティックス：バイエル・三共）
③糖　（Glu）	試験紙法（マルティスティックス：バイエル・三共）
④ケトン体（Ket）	試験紙法（マルティスティックス：バイエル・三共）
⑤ウロビリノーゲン（Uro）	試験紙法（マルティスティックス：バイエル・三共）
⑥ビリルビン（Bil）	試験紙法（マルティスティックス：バイエル・三共）
⑦潜血反応（Occult blood）	試験紙法（マルティスティックス：バイエル・三共）
⑧色調（Color）	肉眼観察
⑨沈渣（Sediment）	鏡検
⑩尿量（U-Vol）	容量測定
⑪比重（Grav）	屈折計法（アタゴ製ユリコン）
⑫ナトリウム（U-Na）	炎光法（コーニング 480型炎光光度計）
⑬カリウム（U-K）	炎光法（コーニング 480型炎光光度計）
⑭クロール（U-Cl）	電量滴定法（平沼 CL-6M型クロライドカウウンター）
⑮カルシウム（U-Ca）	OCPC法（日立7150形自動分析装置）
⑯無機リン（U-P）	フィスケ・サバロー法（日立7150形自動分析装置）

(5)血液学的検査

投与期間及び回復期間終了の翌日に全例について、約16時間絶食した後、エーテル麻酔下で大腿静脈より採血し、EDTA･2K で処理した血液を用いて、①～⑧、⑫及び⑬の項目について検査を行った。さらに、⑨の項目は無処理血液を用いて、⑩、⑪の項目については腹部大動脈より採血し、クエン酸ナトリウムで処理した後、3000 rpmで10分間遠心分離して得られた血漿を用いて検査を行った。

①赤血球数（RBC）	電気抵抗法（コールター原理） （コールターカウンター T660型）

②ヘマトクリット値（Ht）	RBC，MCV値より算出 （コールターカウンター T660型）
③血色素量（Hb）	シアンメトヘモグロビン法（国際法） （コールターカウンター T660型）
④平均赤血球容積（MCV）	電気抵抗法（コールター原理） （コールターカウンター T660型）
⑤平均赤血球ヘモグロビン量（MCH）	RBC，Hb値より算出 （コールターカウンター T660型）
⑥平均赤血球ヘモグロビン濃度（MCHC）	Ht，Hb値より算出 （コールターカウンター T660型）
⑦網赤血球率（Ret）	Brecher法
⑧血小板数（Plat）	電気抵抗法（コールター原理） （コールターカウンター T660型）
⑨凝固時間（CT）	流体粘度変化による空気圧測定法 （グライナー社製マイクロコアグロメーター）
⑩プロトロンビン時間（PT）	トロンボプラスチン法 （AMELUNG KC-10A バクスターKK）
⑪活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）	エラジン酸法 （AMELUNG KC-10A バクスターKK）
⑫白血球数（WBC）	電気抵抗法（コールター原理） （コールターカウンター T660型）
⑬白血球型別百分率（Hemogram of WBC）	メイ・ギムザ染色標本鏡検

(6)骨髄検査

剖検時に全例について、左大腿骨から骨髄を採取し、電子天秤（HA-180M 、エー・アンド・デイ株式会社）により秤量後、これを希釈液［培養液（RPMI-1640 リキッド，日水製薬株式会社）とラット血清を１：１で混合し、混合液２mlに対し抗凝固剤（アングロット，日本商事株式会社）１滴を添加］１ml中に入れ、22G 針付シリンジで吸引・射出をゆっくり３回繰り返した後、さらに注射針を 25Gに替えて吸引・射出をゆっくり３回繰り返して細胞を分散させた。分散させた後 200メッシュナイロンガーゼ

でろ過し、ろ液(浮遊液)中の有核細胞数をコールターカウンター T660型(電気抵抗法、コールター原理)により測定して骨髄1mg中の有核細胞数を算出した。

ろ液中の有核細胞数測定後、骨髄細胞分類のために 1000 rpmで5分間遠心し、沈渣から塗抹標本を作製し、メイ・ギムザ染色を施した後、雌雄の対照群と 100 mg/kg群の全例について顕微鏡下で 500個の細胞を赤芽球系、骨髄球系、リンパ球系、単球系、巨核球系及びその他の細胞に分類した。

(7)血液化学的検査

投与期間及び回復期間終了の翌日に全例について、血液学的検査のための採血後、腹部大動脈より採血し、3000 rpm で 10分間の遠心分離して得られた血清を用いて次の検査を行った。

①GOT	IFCC法（日立 7150形自動分析装置）
②GPT	IFCC法（日立 7150形自動分析装置）
③アルカリフォスファターゼ（AlP）	ベッセイ・ローリー法（日立 7150形自動分析装置）
④乳酸脱水素酵素（LDH）	ロブレスキー・ラ・デュー法（日立7150形自動分析装置）
⑤γ－GTP	包接L-γ-グルタミル-p-ニトロアニリド基質法（日立 7150形自動分析装置）
⑥血糖（Glu）	ヘキソキナーゼ法（日立 7150形自動分析装置）
⑦総コレステロール（T-Cho）	酵素法（日立 7150形自動分析装置）
⑧トリグリセリド（TG）	遊離グリセロール消去法（日立 7150形自動分析装置）
⑨総ビリルビン（T-Bil）	アゾビリルビン法（日立7150形自動分析装置）
⑩尿素窒素（BUN）	ウレアーゼ・インドフェノール法（日立 7150形自動分析装置）
⑪クレアチニン（Crea）	ヤッフェ法（日立 7150形自動分析装置）
⑫ナトリウム（Na）	炎光法（コーニング 480型炎光光度計）
⑬カリウム（K）	炎光法（コーニング 480型炎光光度計）

⑭クロール（Cl）	電量滴定法 （平沼 CL-6M型クロライドカウンター）
⑮カルシウム（Ca）	OCPC法（日立 7150形自動分析装置）
⑯無機リン（P）	フィスケ・サバロー法 （日立 7150形自動分析装置）
⑰総蛋白（TP）	ビウレット法（日立 7150形自動分析装置）
⑱アルブミン（Alb）	BCG法（日立 7150形自動分析装置）
⑲A／G比（A/G）	TP，Alb値より算出する。
⑳蛋白分画	セルロースアセテート膜電気泳動法

(8)剖検及び器官重量測定

投与期間及び回復期間終了の翌日に全例について、体外表を観察し、エーテル麻酔下で採血後、放血致死させ、全身の器官及び組織を肉眼的に観察した。摘出器官のうち、脳、下垂体、胸腺、甲状腺＊、肺、心臓、肝臓、腎臓＊、脾臓、副腎＊、精巣＊及び卵巣＊の重量を電子天秤（HA-180M 、エー・アンド・デイ株式会社）を用いて測定した。なお、＊印の器官は左右別に測定した。また、器官体重重量比［（器官重量／動物体重）× 100］を算出した。

(9)病理組織学的検査

剖検時に全例について、肝臓、腎臓、脾臓、心臓、肺、脳（大脳・小脳）、下垂体、副腎、甲状腺、上皮小体、胸腺、腸間膜リンパ節、膵臓、舌、下顎リンパ節、顎下腺、舌下腺、耳下腺、乳腺、皮膚、眼球、ハーダー腺、胸骨及び大腿骨（骨髄を含む）、脊髄（頸部）、骨格筋（外側広筋）、胸部大動脈、喉頭、気管、気管支、食道、胃（前胃・腺胃）、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膀胱、精巣、精巣上体、精嚢（凝固腺を含む）、前立腺、卵巣、子宮、膣及び坐骨神経を10％中性緩衝ホルマリン液で固定し、保存した。なお、眼球及びハーダー腺はデビッドソン液で固定した。全例の摘出器官・組織について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［鉄（ベルリン青）染色及びシュモール反応］標本を作製し、病理組織学的検査を行った。

7．統計処理

体重、体重増加量及び体重増加率、摂餌量、尿検査の定量的項目、血液学的検査及び血液化学的検査の各項目、器官重量及び器官体重重量比については、次の流れで検定を行った。すなわち、Bartlettの検定法により分散を検定し、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り解析し、有意な場合（$p \leqq 0.10$）、Dunnett 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 EMK-0投与群との比較を行った。一方、不等分散（$p \leqq 0.05$）を示した項目及び尿検査の定性的項目については Kruskal-Wallis 法により解析し、有意な場合（$p \leqq 0.10$）、Mann-WhitneyのU-検定法により対照群と EMK-0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

１．一般状態観察

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

(1)投与期間

雌雄のいずれにも異常は認められなかった。

(2)回復期間

雌雄のいずれにも異常は認められなかった。

２．体重推移

体重推移を Figure１、２、Table ４、５、INDIVIDUAL DATA 2-1-1～2-4-2に示した。

(1)投与期間

雌雄のいずれにも対照群と比較して有意差は認められなかった。

(2)回復期間

雌雄のいずれにも対照群と比較して有意差は認められなかった。

３．摂餌量

摂餌量の変化を Figure ３、４、Table ６、７、INDIVIDUAL DATA 3-1-1～3-4-2に示した。

(1)投与期間

雌雄のいずれにも対照群と比較して有意差は認められなかった。

(2)回復期間

雄では、対照群と比較して有意差は認められなかった。

雌では、対照群と比較して 100 mg/kg群で回復１日に摂餌量の減少が認められた。

４．尿検査

尿検査の成績を Table ８～11、INDIVIDUAL DATA 4-1-1～4-4-4に示した。

(1)投与期間最終週検査

雄では、対照群と比較して有意差は認められなかった。

雌では、対照群と比較して４ mg/kg群でナトリウム、カリウム及びクロールの減少、20 mg/kg群でクロールの減少、100 mg/kg群でナトリウム、カリウム及びクロールの減少が認められた。

その他、雌の４ mg/kg群で無機リンの増加が認められた。

(2)回復期間最終週検査

雄では、対照群と比較して有意差は認められなかった。

雌では、対照群と比較して 100 mg/kg群で尿量、ナトリウム、クロール及びカルシウムの減少が認められた。

5．血液学的検査

血液学的検査の成績を Table 12～15、INDIVIDUAL DATA 5-1-1～5-4-4に示した。

(1)投与期間最終週検査

雄では、対照群と比較して 20 mg/kg以上の群で網赤血球率の上昇、100 mg/kg群で赤血球数、ヘマトクリット値及び血色素量の減少、平均赤血球容積、平均赤血球ヘモグロビン量及び白血球数の増加が認められた。

雌では、対照群と比較して 20 mg/kg以上の群で赤血球数、ヘマトクリット値及び血色素量の減少、血小板数の増加、網赤血球率の上昇、100 mg/kg群で平均赤血球容積、平均赤血球ヘモグロビン量及び白血球数の増加が認められた。

その他、雄の 100 mg/kg群でプロトロンビン時間の短縮が認められた。

(2)回復期間終了時検査

雄では、対照群と比較して 100 mg/kg群で赤血球数の減少、平均赤血球容積、平均赤血球ヘモグロビン量及び網赤血球率の上昇が認められた。

雌では、対照群と比較して 100 mg/kg群でヘマトクリット値、血色素量及び白血球数の増加、平均赤血球容積及び平均赤血球ヘモグロビン量の上昇が認められた。

6．骨髄検査

骨髄検査の成績を Table 16～19、INDIVIDUAL DATA 6-1-1～6-4-2に示した。

(1)投与期間終了時検査

雌雄のいずれにも対照群と比較して有意差は認められなかった。

(2)回復期間終了時検査

雌雄のいずれにも対照群と比較して有意差は認められなかった。

7．血液化学的検査

血液化学的検査の成績を Table 20～23、INDIVIDUAL DATA 7-1-1～7-4-4に示した。

(1)投与期間終了時検査

雄では、対照群と比較して 100 mg/kg群で A/G比及びアルブミン分画の上昇、α_1-グロブリン分画の低下、総ビリルビン、総コレステロール及びカリウムの増加が認め

られた。

雌では、対照群と比較して 100 mg/kg群でカリウムの増加が認められた。

その他、雌の 20 mg/kg群で総蛋白の減少、 GOT及び乳酸脱水素酵素の増加が認められた。

(2)回復期間終了時検査

雄では、対照群と比較して 100 mg/kg群で無機リンの増加が認められた。

雌では、対照群と比較して 100 mg/kg群でγ-GTP 及び尿素窒素の増加が認められた。

8．器官重量

器官重量及び器官体重重量比の成績を Table 24～27、INDIVIDUAL DATA 8-1-1～8-4-4 に示した。

(1)投与期間終了時解剖例

雄では、対照群と比較して 100 mg/kg群で脾臓重量の増加、脾臓及び肺の体重重量比の上昇が認められた。

雌では、対照群と比較して 20 mg/kg以上の群で脾臓重量の増加、脾臓の体重重量比の上昇、100 mg/kg群で心臓の体重重量比の上昇が認められた。

その他、雄の 20 mg/kg群で胸線重量の減少、雌の20 mg/kg群で右甲状腺重量の減少が認められた。

(2)回復期間終了時解剖例

雄では、対照群と比較して 100 mg/kg群で脾臓重量及び脾臓の体重重量比に有意差は認められなかったが、左右副腎重量の増加、右副腎の体重重量比の上昇が認められた。

雌では、対照群と比較して 100 mg/kg群で脾臓の体重重量比の上昇が認められた。

その他、雄の 100 mg/kg群で左精巣重量の増加が認められた。

9．剖検

剖検の成績を Table 28、29、INDIVIDUAL DATA 9-1-1～9-4-2 に示した。

(1)投与期間終了時解剖例

脾臓の腫大が4 mg/kg群の雄１例、20 mg/kg群の雄３例、100 mg/kg群の雌雄全例に認められた。

(2)回復期間終了時解剖例

回腸憩室が対照群の雄１例で認められた。

雌では異常は認められなかった。

10．病理組織学的検査

病理組織学的検査の成績を Table 30、31、INDIVIDUAL DATA 10-1-1～10-4-2、Photo.H-1～H-9 に示した。

(1)投与期間終了時解剖例

肝臓：ヘモジデリン貧食を伴うクッパー細胞の軽度の肥大が 20 mg/kg群の雌６例、100 mg/kg群の雌雄全例、軽度の髄外造血が 100 mg/kg群の雄全例及び雌１例に認められた。

腎臓：近位を主とする尿細管上皮のリポフスチン様物質の軽度の沈着が 100 mg/kg群の雌雄全例に認められた。

脾臓：軽度から中等度のうっ血が 20 mg/kg群の雌雄各３例、100 mg/kg群の雌雄全例、髄外造血の軽度から中等度の亢進が 20 mg/kg群の雄３例及び雌全例、100 mg/kg群の雌雄全例、ヘモジデリン顆粒の軽度の増加が 20 mg/kg群の雄１例及び雌２例、100 mg/kg群の雌雄全例に認められた。

その他、出現した例数及び用量から EMK-0投与との関連のない所見は以下の通りであった。

腎臓：近位を主とする尿細管上皮の軽度の硝子滴沈着が対照群及び４ mg/kg以上の群の雄１から５例、近位を主とする尿細管上皮の軽度の好酸体沈着が対照群の雄５例、20 mg/kg群の雄２例、軽度の硝子円柱が 100 mg/kg群の雌１例、単純嚢胞が対照群の雄１例に認められた。

下垂体：線毛上皮嚢胞が４及び20 mg/kg群の雄各１例に認められた。

直腸：粘膜下織における好中球を主とする軽度の細胞浸潤が 20 mg/kg群の雌１例に認められた。

精巣：精細管の軽度の萎縮が対照群の雄１例に認められた。

前立腺：間質におけるリンパ球を主とする軽度の細胞浸潤が４mg/kg群の雄１例に認められた。

卵巣：黄体嚢胞が20 mg/kg群の雌１例で認められた。

(2)回復期間終了時解剖例

肝臓：ヘモジデリン貧食を伴うクッパー細胞の軽度の肥大が 100 mg/kg群の雄６例及び雌全例に認められた。

腎臓：近位を主とする尿細管上皮のリポフスチン様物質の軽度の沈着が 100 mg/kg群の雌雄全例に認められた。

脾臓：軽度のうっ血が 100 mg/kg群の雄６例、100 mg/kg 群の雌雄全例、髄外造血の軽度の亢進が 100 mg/kg群の雄１例、ヘモジデリン顆粒の軽度から中等度の増加が100 mg/kg群の雌雄全例に認められた。

その他、出現した例数から EMK-0投与との関連のない所見は以下の通りであった。

腎臓：近位を主とする尿細管上皮の軽度の硝子滴沈着及び好酸体沈着が100 mg/kg群の雄１例、軽度の硝子円柱が 100 mg/kg群の雌１例、単純嚢胞が同群の他の雌１例に認められた。

下垂体：頭蓋咽頭管の遺残が100 mg/kg群の雌１例に認められた。

膵臓：外分泌腺細胞の軽度の限局性萎縮及びランゲルハンス島の軽度の限局性繊維化が対照群の雄１例に認められた。

回腸（剖検時異常部位）：剖検で回腸憩室が認められた対照群の雄１例について、憩室以外に異常は認められなかった。

直腸：粘膜下織における好中球を主とする軽度の細胞浸潤が対照群の雌１例に認められた。

前立腺：間質におけるリンパ球を主とする軽度の細胞浸潤が対照群の雄１例に認められた。

考　察

EMK-0 の 4、20及び 100 mg/kg/day を Crj:CD(SD)系雌雄ラットに 28日間経口反復投与し、その毒性及び投与後14日間休薬した際の回復性を検討した。

赤血球系に及ぼす影響として、血液学的検査では網赤血球率の上昇が雌雄の 20 mg/kg 以上の群に、赤血球数、ヘマトクリット値及び血色素量の減少が雌の 20 mg/kg以上の群及び雄の 100 mg/kg群に、平均赤血球容積及び平均赤血球ヘモグロビン量の増加が雌雄の 100 mg/kg群に、血液化学的検査では総ビリルビンの増加が雄の 100 mg/kg 群に、カリウムの増加が雌雄の 100 mg/kg群に認められた。また、諸器官の変化として、肝臓では病理組織学的検査でヘモジデリン貪食を伴うクッパー細胞の肥大が雌の 20 mg/kg 以上の群及び雄の 100 mg/kg群に、髄外造血が雌雄の 100 mg/kg群に認められた。腎臓では病理組織学的検査で近位を主とする尿細管上皮のリポフスチン様物質の沈着が雌雄の 100 mg/kg群に認められた。脾臓では重量の増加及び体重重量比の上昇が雌の 20 mg/kg 以上の群及び雄の 100 mg/kg群に、腫大が雄の 20 mg/kg以上の群及び雌の 100 mg/kg 群に認められ、病理組織学的検査でうっ血、髄外造血の亢進及びヘモジデリン顆粒の増加が雌雄の 20 mg/kg以上の群に認められた。

これらの変化はいずれも溶血性貧血の状態を示唆するものであり、EMK-0 投与による影響と考えられた。しかし、その病態として、尿潜血に陽性反応が認められていないことから、EMK-0 投与による溶血は緩慢に生じ、障害を受けた赤血球の大半が溶血していない段階で脾臓や肝臓に取り込まれて処理されているものと推察された。

これに関連して、血小板数の増加が雌の 20 mg/kg以上の群、白血球数の増加が雌雄の 100 mg/kg群に認められたが、溶血性貧血が生じた場合に、白血球数及び血小板数が増加することが知られており[1,2]、EMK-0投与により生じた溶血に伴って反応的に生じたものと考えられた。その他、投与期間終了時に、雄の 100 mg/kg群でプロトロンビン時間の短縮が認められたが、背景データ（Appendix 10）の範囲内の変動であり、EMK-0投与との関連はないと考えられた。

血液化学的検査では A/G比及びアルブミン分画の上昇、α_1-グロブリン分画の低下、総コレステロールの増加が雄の 100 mg/kg群に認められたことから、EMK-0 投与により肝機能に何らかの影響を及ぼしていたものと考えられた。その他、投与終了時に、雌の 20 mg/kg群で総蛋白の減少、 GOT及び乳酸脱水素酵素の増加が認められたが、用量依存性はな

く、EMK-0投与との関連はないと考えられた。回復期間終了時には、雄の 100 mg/kg群で無機リンの増加が認められたが、投与終了時の対照群の測定値と比較するとむしろ減少を示していることから、生理的な変動であり、EMK-0投与との関連はないと考えられた。また、雌の 100 mg/kg群でγ-GTP 及び尿素窒素の増加が認められたが、投与終了時における対照群の測定値と比較すると明らかな差はないことから、生理的な変動であり、EMK-0投与との関連はないと考えられた。

器官重量では、肺の体重重量比の上昇が雄の 100 mg/kg群、心臓の体重重量比の上昇が雌の 100 mg/kg群に認められた。これらの変化はラットの14日間反復投与経口毒性試験[3)]においても認められており、EMK-0 投与による溶血性貧血に伴う低酸素状態に対する代償性変化であると考えられた。その他、投与終了時に、雄の 20 mg/kg群で胸線重量の減少、雌の20 mg/kg群で右甲状腺重量の減少が認められたが、用量依存性はなく、EMK-0投与との関連はないと考えられた。また、回復期間終了時に、雄の 100 mg/kg群で左精巣重量の増加が認められたが、背景データ（Appendix 11）内の変動であり、EMK-0投与との関連はないと考えられた。

尿検査では、クロールの減少が雌の４mg/kg 以上の群、ナトリウム及びカリウムの減少が雌の４及び 100 mg/kg群に認められたが、用量依存性は明らかではなく、血中電解質や腎臓の病理組織学的検査等に関連した変化及び異常が認められていないことから、その毒性学的意義はないものと考えられた。その他、投与期間最終週に雌の４ mg/kg群で無機リンの増加が認められたが、用量依存性はなく、EMK-0投与との関連はないと考えられた。また、回復期間最終週に、雌の 100 mg/kg群で尿量、ナトリウム、クロール及びカルシウムの減少が認められたが、投与期間最終週における対照群の測定値と比較すると明らかな差はなく、EMK-0投与との関連はないと考えられた。

剖検では、脾臓の腫大が４mg/kg群の雄１例に認められたが、この例では赤血球恒数及び脾臓の病理組織学的検査に変化や異常は認められておらず、EMK-0 投与との関連は明らかではなかった。

一般状態、体重推移、摂餌量及び骨髄検査では EMK-0投与と関連した変化は認められなかった。なお、摂餌量の減少が、対照群と比較して雌の 100 mg/kg群で回復１日に認められたが、投与期間中及び回復２日以降の推移に変化は認められておらず、EMK-0投与との関連はないと考えられた。

上述の変化は、14日間の休薬により消失あるいは軽減が認められ、回復するものと考え

られた。病理組織学的検査における腎臓の近位を主とする尿細管上皮のリポフスチン様物質の沈着について出現例数及び程度に軽減は認められなかったが、沈着したリポフスチン様物質は赤血球崩壊に伴う副産物であると考えられることから、14日間の休薬では完全吸収しないものの、回復期間の延長により回復するものと考えられた。また、回復期間終了時に左右副腎重量の増加及び右副腎重量の上昇が雄の 100 mg/kg群に認められたが、病理組織学的検査において異常は認められていないことから、遅延毒性を示唆する変化ではなく、EMK-0 投与により生じた影響の回復過程における反応性変化であると考えられた。

以上のことから、雌雄の 20 mg/kg 以上の群に網赤血球率の上昇及び脾臓に対する影響等が認められたことから、本試験における EMK-0投与による無影響量（NOEL）は、雌雄とも4 mg/kg/dayであると考えられた。

参考文献

1）巽　典之ら：白血球数（含，粒度分布），白血球機器分類とその問題点，Medical Technology，医歯薬出版株式会社，Vol.19，No.7，pp 596，1991･臨時増刊.

2）桑島　実：日常検査と病態，病気の成立ちと臨床検査，Medical Technology別冊，医歯薬出版株式会社，pp 303，1993.

3）エチルメチルケトキシムのラットにおける14日間反復投与経口毒性試験報告書（SR-9435P），厚生省生活衛生局資料，1995

Figures

Figure 1. Body weight changes in male rats dosed orally with EMK-O for 28 days followed by 14-day recovery period (SR-9435)

Figure 2. Body weight changes in female rats dosed orally with EMK-O for 28 days followed by 14-day recovery period (SR-9435)

Figure 3. Food consumption in male rats dosed orally with EMK-O for 28 days followed by 14-day recovery period (SR-9435)

Figure 4. Food consumption in female rats dosed orally with EMK-O for 28 days followed by 14-day recovery period (SR-9435)

Tables

Table 1. Experimental design for 28-day repeated dose oral toxicity test of EMK-O and 14-day recovery test in rats (SR-9435)

Table 2. General appearance in rats of 28-day repeated dose oral toxicity study of EMK-O (SR-9435)

Table 3. General appearance in rats of 14-day recovery test after 28-day oral administration of EMK-O (SR-9435)

Table 4. Body weight changes in male rats dosed orally with EMK-O for 28 days followed by 14-day recovery period (SR-9435)

Table 5. Body weight changes in female rats dosed orally with EMK-O for 28 days followed by 14-day recovery period (SR-9435)

Table 6. Food consumption in male rats dosed orally with EMK-O for 28 days followed by 14-day recovery period (SR-9435)

Table 7. Food consumption in female rats dosed orally with EMK-O for 28 days followed by 14-day recovery period (SR-9435)

Table 8. Urinary findings in male rats in the final week of 28-day repeated dose oral toxicity test of EMK-O (SR-9435)

Table 9. Urinary findings in female rats in the final week of 28-day repeated dose oral toxicity test of EMK-O (SR-9435)

Table 10. Urinary findings in male rats in the final week of 14-day recovery test after 28-day oral administration of EMK-O (SR-9435)

Table 11. Urinary findings in female rats in the final week of 14-day recovery test after 28-day oral administration of EMK-O (SR-9435)

Table 12. Hematological findings in male rats at the end of 28-day repeated dose oral toxicity test of EMK-O (SR-9435)

Table 13. Hematological findings in female rats at the end of 28-day repeated dose oral toxicity test of EMK-O (SR-9435)

Table 14. Hematological findings in male rats at the end of 14-day recovery test after 28-day oral administration of EMK-O (SR-9435)

Table 15. Hematological findings in female rats at the end of 14-day recovery test after 28-day oral administration of EMK-O (SR-9435)

Table 16. Myelogram in male rats at the end of 28-day repeated dose oral toxicity test of EMK-O (SR-9435)

Table 17. Myelogram in female rats at the end of 28-day repeated dose oral toxicity test of EMK-O (SR-9435)

Table 18. Myelogram in male rats at the end of 14-day recovery test after 28-day oral administration of EMK-O (SR-9435)

Table 19. Myelogram in female rats at the end of 14-day recovery test after 28-day oral administration of EMK-O (SR-9435)

Table 20. Biochemical findings in male rats at the end of 28-day repeated dose oral toxicity test of EMK-O (SR-9435)

Table 21. Biochemical findings in female rats at the end of 28-day repeated dose oral toxicity test of EMK-O (SR-9435)

Table 22. Biochemical findings in male rats at the end of 14-day recovery test after 28-day oral administration of EMK-O (SR-9435)

Table 23. Biochemical findings in female rats at the end of 14-day recovery test after 28-day oral administration of EMK-O (SR-9435)

Table 24. Absolute and relative organ weights in male rats at the end of 28-day repeated dose oral toxicity test of EMK-O (SR-9435)

Table 25. Absolute and relative organ weights in female rats at the end of 28-day repeated dose oral toxicity test of EMK-O (SR-9435)

Table 26. Absolute and relative organ weights in male rats at the end of 14-day recovery test after 28-day oral administration of EMK-O (SR-9435)

Table 27. Absolute and relative organ weights in female rats at the end of 14-day recovery test after 28-day oral administration of EMK-O (SR-9435)

Table 28. Gross findings in rats at the end of 28-day repeated dose oral toxicity test of EMK-O (SR-9435)

Table 29. Gross findings in rats at the end of 14-day recovery test after 28-day oral administration of EMK-O (SR-9435)

Table 30. Histopathological findings in rats at the end of 28-day repeated dose oral toxicity test of EMK-O (SR-9435)

Table 31. Histopathological findings in rats at the end of 14-day recovery test after 28-day oral administration of EMK-O (SR-9435)

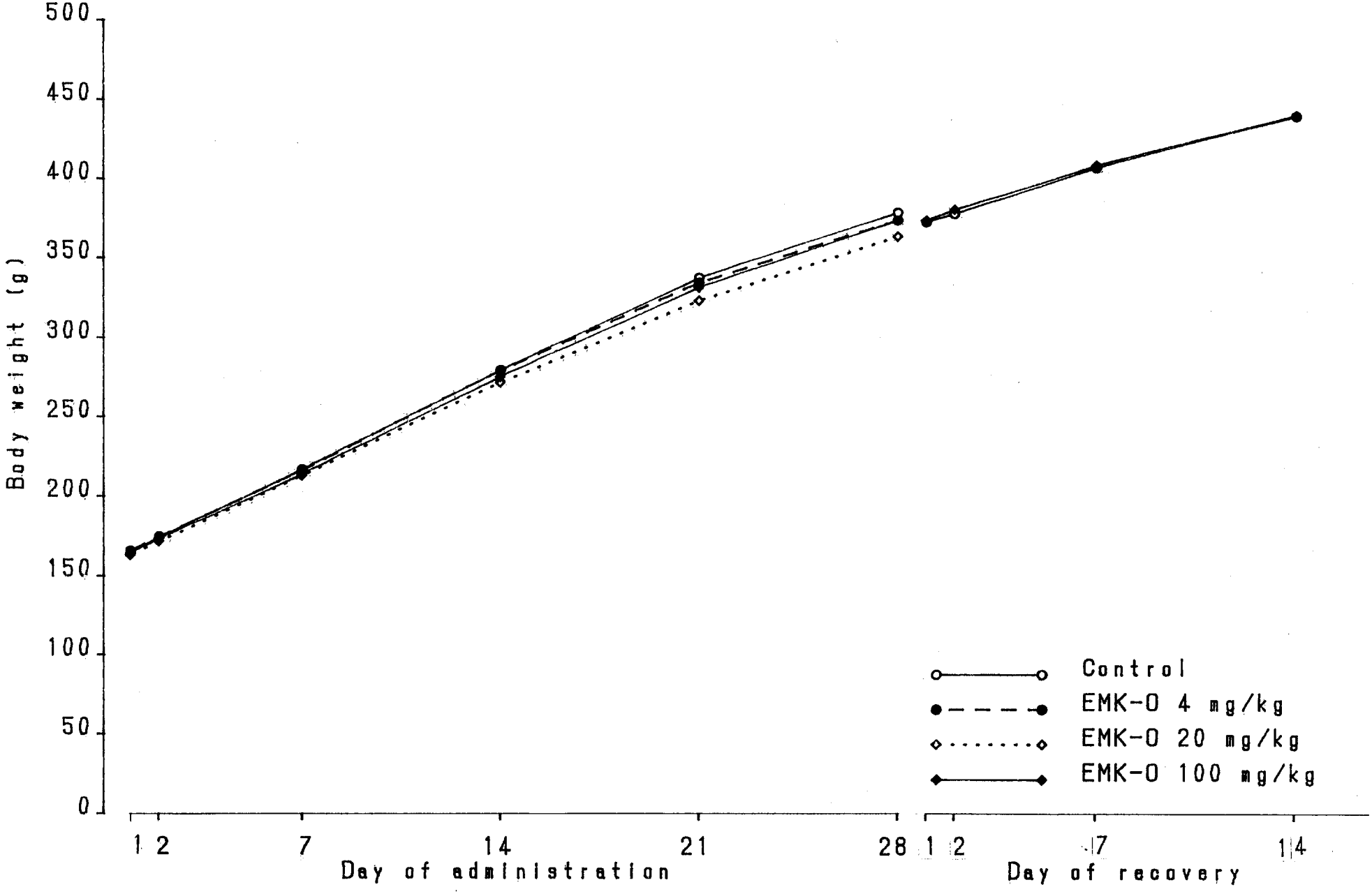

Figure 1. Body weight changes in male rats dosed orally with EMK-O for 28 days followed by 14-day recovery period (SR-9435)

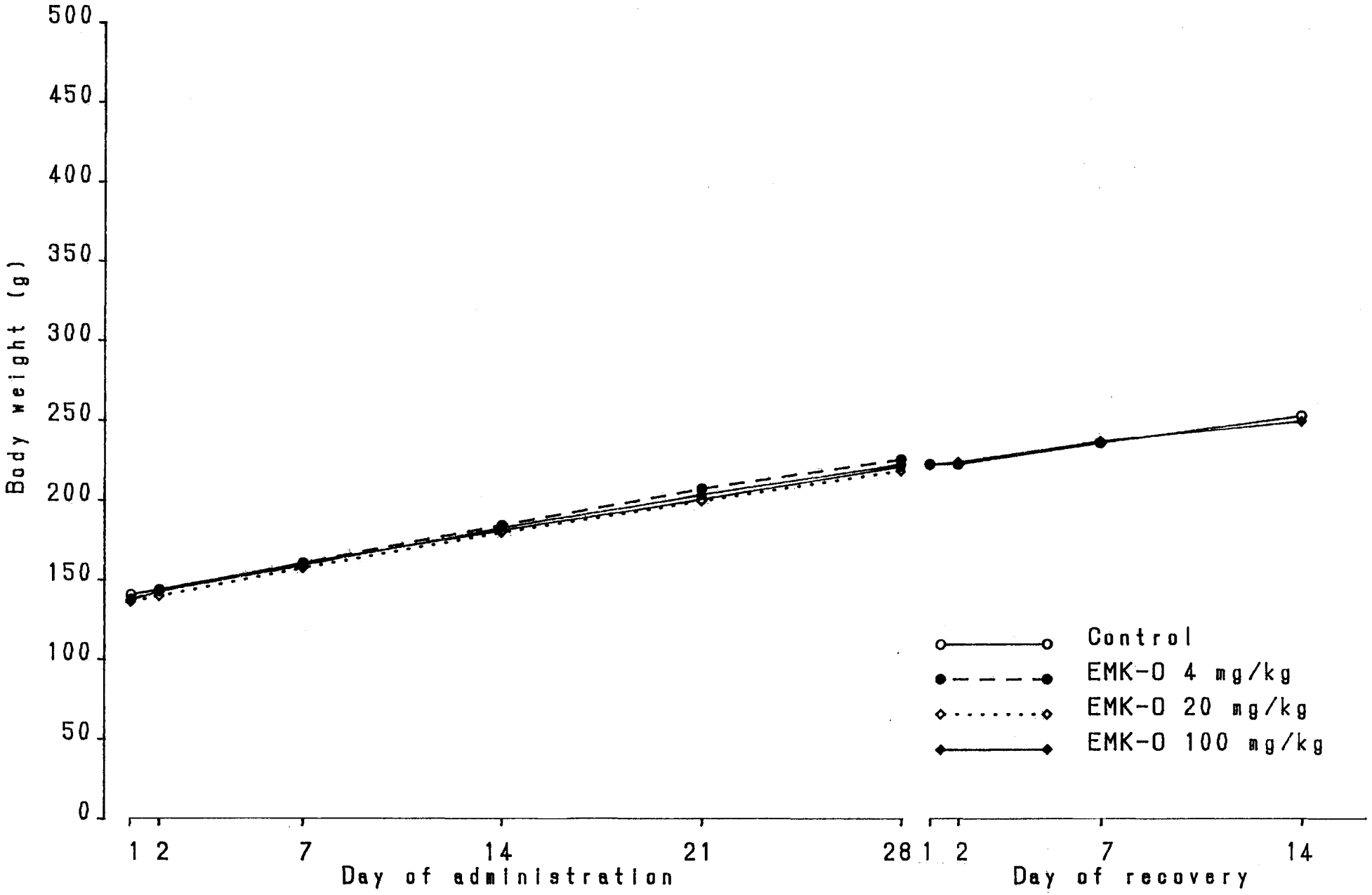

Figure 2. Body weight changes in female rats dosed orally with EMK-0 for 28 days followed by 14-day recovery period (SR-9435)

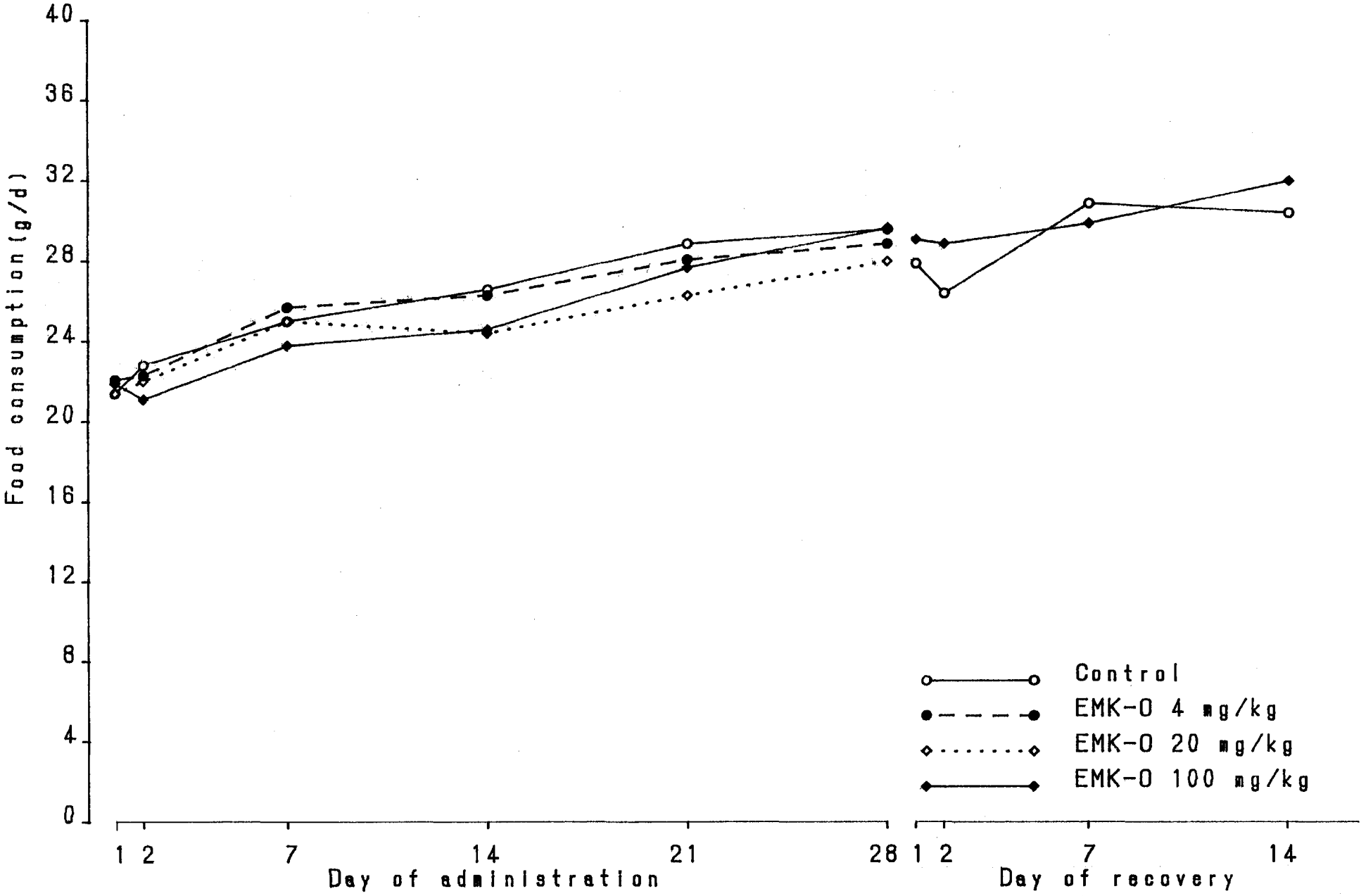

Figure 3. Food consumption in male rats dosed orally with EMK-0 for 28 days followed by 14-day recovery period (SR-9435)

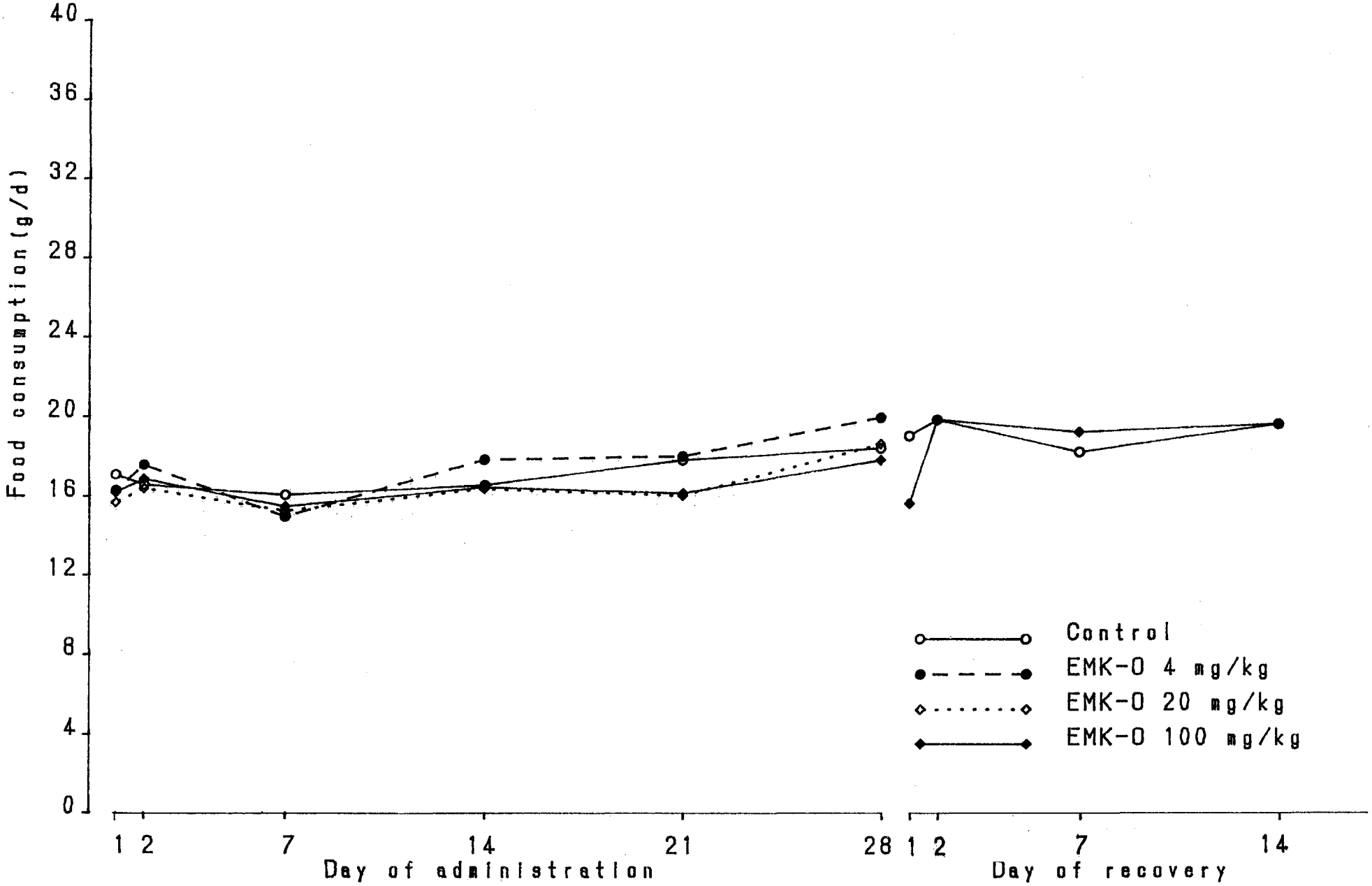

Figure 4. Food consumption in female rats dosed orally with EMK-0 for 28 days followed by 14-day recovery period (SR-9435)

Table 1. Experimental design for 28-day repeated dose oral toxicity test of EMK-O and 14-day recovery test in rats (SR-9435)

Group	Concentration of EMK-O (w/v %)	Volume (ml/kg)	No. of animals[a]					
			Total		Administration[b]		Recovery[c]	
			Male	Female	Male	Female	Male	Female
Control[d]	0	10	14	14	7	7	7	7
EMK-O 4 mg/kg[e]	0.04	10	7	7	7	7	0	0
EMK-O 20 mg/kg	0.2	10	7	7	7	7	0	0
EMK-O 100 mg/kg	1	10	14	14	7	7	7	7

a: Crj:CD(SD) rats were dosed orally for 28 days from the age of 5 weeks.
b: Killed at the end of the 28-day administration period.
c: Killed at the end of the 14-day recovery period.
d: Control was purified water.
e: EMK-O (Methyl ethyl ketone oxime) was suspended in control solution.

Table 2. General appearance in rats of 28-day repeated dose oral toxicity study of EMK-O (SR-9435)

Item	Male				Female			
		EMK-O (mg/kg)				EMK-O (mg/kg)		
	Control	4	20	100	Control	4	20	100
No. of animals examined	14	7	7	14	14	7	7	14
General appearance								
Normal	14[a]	7	7	14	14	7	7	14

a: Values are no. of animals with findings.

Table 3. General appearance in rats of 14-day recovery test after 28-day oral administration of EMK-O (SR-9435)

Item	Male		Female	
	Control	EMK-O 100 mg/kg	Control	EMK-O 100 mg/kg
No. of animals examined	7	7	7	7
General appearance				
Normal	7[a]	7	7	7

a: Values are no. of animals with findings.

Table 4. Body weight changes in male rats dosed orally with EMK-O for 28 days followed by 14-day recovery period (SR-9435)

Group	No. of animals	Day of administration 1	2	7	14	21	28	Body weight gain Day 1-28	% a
		b							
Control	14	164.4	174.6	216.9	279.7	337.7	379.3	214.929	130.706
		6.1	7.1	10.9	17.3	21.3	25.2	21.467	11.377
EMK-O 4 mg/kg	7	165.9	174.9	216.6	279.9	334.7	374.0	208.143	125.513
		6.3	6.7	10.5	15.6	18.9	18.8	15.148	8.207
EMK-O 20 mg/kg	7	163.3	171.7	213.0	272.0	323.4	363.9	200.571	122.823
		6.4	6.2	7.2	10.7	14.6	20.4	16.410	8.701
EMK-O 100 mg/kg	14	164.6	173.4	213.9	275.9	331.8	374.3	209.643	127.484
		5.7	7.3	8.3	10.4	12.4	16.4	15.475	10.596

Group	No. of animals	Day of recovery 1	2	7	14	Body weight gain Day 1-14	%
Control	7	373.1	378.6	407.4	439.9	66.714	17.839
		22.6	22.6	26.0	30.7	10.766	2.317
EMK-O 100 mg/kg	7	374.1	381.3	408.7	440.4	66.286	17.700
		17.4	21.7	21.6	22.6	6.626	1.327

a: (Body weight gain / body weight on day 1) x 100.
b: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram.

Table 5. Body weight changes in female rats dosed orally with EMK-O for 28 days followed by 14-day recovery period (SR-9435)

Group	No. of animals	Day of administration 1	2	7	14	21	28	Body weight gain Day 1-28	% a
		b							
Control	14	141.0	144.1	161.1	181.6	201.2	221.6	80.571	57.053
		7.8	8.2	10.7	13.6	12.1	17.1	11.257	6.733
EMK-O 4 mg/kg	7	138.1	143.1	161.0	184.9	207.7	225.7	87.571	63.217
		6.9	7.6	11.3	15.7	17.8	19.9	14.409	8.518
EMK-O 20 mg/kg	7	136.6	140.3	158.0	180.3	200.3	218.9	82.286	60.047
		8.3	8.7	12.4	15.6	16.7	22.1	15.713	9.283
EMK-O 100 mg/kg	14	137.6	143.1	159.8	183.1	204.0	222.7	85.143	61.784
		7.6	7.5	11.2	12.4	16.4	20.6	15.864	10.524

Group	No. of animals	Day of recovery 1	2	7	14	Body weight gain Day 1-14	%
Control	7	222.7	222.7	236.1	252.9	30.143	13.704
		19.3	17.5	19.4	18.7	8.494	4.324
EMK-O 100 mg/kg	7	222.6	224.0	237.0	249.6	27.000	12.156
		22.0	20.4	24.3	25.6	9.055	3.774

a: (Body weight gain / body weight on day 1) x 100.
b: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram.

Table 6. Food consumption in male rats dosed orally with EMK-0 for 28 days followed by 14-day recovery period (SR-9435)

Group	No. of animals	Day of administration 1	2	7	14	21	28
Control	14	21.4[a]	22.8	25.0	26.6	28.9	29.6
		1.0	1.2	2.2	3.5	3.3	3.2
EMK-0 4 mg/kg	7	22.1	22.3	25.7	26.3	28.1	28.9
		1.3	1.8	1.4	2.4	1.2	3.1
EMK-0 20 mg/kg	7	21.4	22.0	25.0	24.4	26.3	28.0
		1.4	1.8	1.4	2.8	2.4	2.8
EMK-0 100 mg/kg	14	21.9	21.1	23.8	24.6	27.7	29.7
		2.4	2.3	2.5	1.9	2.3	2.5

Group	No. of animals	Day of recovery 1	2	7	14
Control	7	27.9	26.4	30.9	30.4
		2.8	1.4	3.5	4.2
EMK-0 100 mg/kg	7	29.1	28.9	29.9	32.0
		2.1	4.2	4.2	3.9

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

Table 7. Food consumption in female rats dosed orally with EMK-O for 28 days followed by 14-day recovery period (SR-9435)

Group	No. of animals	Day of administration 1	2	7	14	21	28
Control	14	17.1[a]	16.6	16.1	16.6	17.9	18.5
		1.7	2.0	2.1	2.2	2.2	3.4
EMK-O 4 mg/kg	7	16.3	17.6	15.0	17.9	18.1	20.0
		1.8	1.6	2.2	2.8	3.1	2.2
EMK-O 20 mg/kg	7	15.7	16.4	15.3	16.4	16.1	18.7
		1.1	2.3	2.5	2.3	2.3	2.9
EMK-O 100 mg/kg	14	16.2	16.9	15.5	16.5	16.2	17.9
		1.5	1.7	2.4	2.0	2.6	2.4

Group	No. of animals	Day of recovery 1	2	7	14
Control	7	19.1	19.9	18.3	19.7
		2.2	2.4	3.1	2.3
EMK-O 100 mg/kg	7	15.7*	19.9	19.3	19.7
		3.4	3.0	3.0	3.2

a: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram/day.
*: Differs from control, $p<0.05$.

Table 8. Urinary findings in male rats in the final week of 28-day repeated dose oral toxicity test of EMK-0 (SR-9435)

Group	No. of animals	pH				Pro			Glu	Ket	Uro	Bil	Occult blood	Color
		7.0	7.5	8.0	8.5	-	±	+	-	-	0.1 EU/dl	-	-	A
Control	14	0[a]	1	7	6	1	12	1	14	14	14	14	14	14
EMK-0 4 mg/kg	7	0	0	3	4	1	6	0	7	7	7	7	7	7
EMK-0 20 mg/kg	7	0	0	3	4	1	6	0	7	7	7	7	7	7
EMK-0 100 mg/kg	14	1	0	6	7	0	12	2	14	14	14	14	14	14

Group	No. of animals	Urinary sediments							Specific gravity				
		RBC	WBC	Epithelial cell: Squamous		Epithelial cell: Round	Epithelial cell: Small round	Others	1.011-1.020	1.021-1.030	1.031-1.040	1.041-1.050	1.050<
		-	-	-	±	-	-	-					
Control	14	14	14	14	0	14	14	14	1	3	4	5	1
EMK-0 4 mg/kg	7	7	7	7	0	7	7	7	0	3	2	1	1
EMK-0 20 mg/kg	7	7	7	7	0	7	7	7	0	2	1	4	0
EMK-0 100 mg/kg	14	14	14	13	1	14	14	14	0	2	5	6	1

(continued)

Table 8. (continued)

Group	No. of animals	U-Vol ml/21hr	U-Na mEq/21hr	U-K mEq/21hr	U-Cl mEq/21hr	U-Ca mg/21hr	U-P mg/21hr
		b					
Control	14	17.64	1.0902	2.9106	1.5127	1.1908	23.5488
		6.81	0.4571	0.7508	0.6938	0.5845	5.6398
EMK-O 4 mg/kg	7	19.43	1.1144	3.0327	1.5333	1.0874	24.4837
		6.15	0.4192	0.4484	0.5403	0.5116	7.2707
EMK-O 20 mg/kg	7	16.00	0.9623	2.6891	1.3276	1.1197	21.3087
		7.43	0.5527	0.6050	0.8627	0.7493	7.1900
EMK-O 100 mg/kg	14	17.25	1.0824	2.9914	1.6916	1.6801	20.4582
		4.87	0.5134	0.7376	0.7211	0.9080	5.7418

Color: A = Pale yellow or yellow.
a: Values are no. of animals with findings.
b: Values are means and S.D. thereunder.

Table 9. Urinary findings in female rats in the final week of 28-day repeated dose oral toxicity test of EMK-O (SR-9435)

Group	No. of animals	pH						Pro			Glu	Ket	Uro	Bil	Occult blood	Color
		6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	-	±	+	-	-	0.1 EU/dl	-	-	A
Control	14	0[a]	1	3	2	3	5	5	7	2	14	14	14	14	14	14
EMK-O 4 mg/kg	7	0	0	3	1	1	2	4	3	0	7	7	7	7	7	7
EMK-O 20 mg/kg	7	0	0	1	1	0	5	5	2	0	7	7	7	7	7	7
EMK-O 100 mg/kg	14	2	3	1	3	3	2	7	5	2	14	14	14	14	14	14

Group	No. of animals	Urinary sediments							Specific gravity			
		RBC	WBC	Epithelial cell: Squamous		Epithelial cell: Round	Epithelial cell: Small round	Others	1.021-1.030	1.031-1.040	1.041-1.050	1.050<
		-	-	-	±	-	-	-				
Control	14	14	14	14	0	14	14	14	0	4	6	4
EMK-O 4 mg/kg	7	7	7	6	1	7	7	7	2	2	1	2
EMK-O 20 mg/kg	7	7	7	7	0	7	7	7	1	2	4	0
EMK-O 100 mg/kg	14	14	14	13	1	14	14	14	2	4	5	3

(continued)

Table 9. (continued)

Group	No. of animals	U-Vol ml/21hr	U-Na mEq/21hr	U-K mEq/21hr	U-Cl mEq/21hr	U-Ca mg/21hr	U-P mg/21hr
		b					
Control	14	11.00	1.1605	2.4398	1.6595	1.7460	7.5689
		4.54	0.2037	0.4593	0.2545	0.8936	3.5868
EMK-O 4 mg/kg	7	11.57	0.7141**	1.6921*	0.9260*	1.0774	14.5149*
		6.58	0.4467	0.8121	0.6693	0.9958	7.7782
EMK-O 20 mg/kg	7	10.57	0.8541	1.8393	1.1450*	1.5137	10.7321
		4.72	0.4014	0.6785	0.5763	0.9588	5.0789
EMK-O 100 mg/kg	14	9.75	0.6143**	1.7552*	0.9668**	1.1754	12.0284
		3.75	0.2512	0.5462	0.3845	0.7328	4.5132

Color: A = Pale yellow or yellow.
a: Values are no. of animals with findings.
b: Values are means and S.D. thereunder.
*: Differs from control, $p<0.05$.
**: Differs from control, $p<0.01$.

Table 10. Urinary findings in male rats in the final week of 14-day recovery test after 28-day oral administration of EMK-O (SR-9435)

Group	No. of animals	pH			Pro		Glu	Ket	Uro	Bil	Occult blood	Color
		7.5	8.0	8.5	+	++	-	-	0.1 EU/dl	-	-	A
Control	7	1[a]	2	4	6	1	7	7	7	7	7	7
EMK-O 100 mg/kg	7	0	2	5	4	3	7	7	7	7	7	7

Group	No. of animals	Urinary sediments										
		RBC	WBC	Epithelial cell					Specific gravity			
				Squamous		Round	Small round	Others	1.021-1.030	1.031-1.040	1.041-1.050	1.050<
		-	-	-	±	-	-	-				
Control	7	7	7	7	0	7	7	7	1	0	4	2
EMK-O 100 mg/kg	7	7	7	6	1	7	7	7	0	3	3	1

(continued)

Table 10. (continued)

Group	No. of animals	U-Vol ml/21hr	U-Na mEq/21hr	U-K mEq/21hr	U-Cl mEq/21hr	U-Ca mg/21hr	U-P mg/21hr
		b					
Control	7	14.93	1.4413	3.3966	1.9736	1.5757	16.4317
		5.75	0.3997	0.3846	0.5966	0.6493	10.2469
EMK-O 100 mg/kg	7	14.64	1.1554	3.2431	1.8776	2.1609	15.5423
		2.48	0.5248	0.9016	0.8570	1.7269	5.6043

Color: A = Pale yellow or yellow.
a: Values are no. of animals with findings.
b: Values are means and S.D. thereunder.

Table 11. Urinary findings in female rats in the final week of 14-day recovery test after 28-day oral administration of EMK-O (SR-9435)

Group	No. of animals	pH			Pro			Glu	Ket	Uro	Bil	Occult blood	Color
		6.5	8.0	8.5	-	±	+	-	-	0.1 EU/dl	-	-	A
Control	7	[a] 1	1	5	1	3	3	7	7	7	7	7	7
EMK-O 100 mg/kg	7	0	2	5	0	5	2	7	7	7	7	7	7

Group	No. of animals	Urinary sediments						Specific gravity			
		RBC	WBC	Epithelial cell: Squamous	Epithelial cell: Round	Epithelial cell: Small round	Others	1.021-1.030	1.031-1.040	1.041-1.050	1.050<
		-	-	-	-	-	-				
Control	7	7	7	7	7	7	7	0	3	3	1
EMK-O 100 mg/kg	7	7	7	7	7	7	7	1	1	3	2

(continued)

Table 11. (continued)

Group	No. of animals	U-Vol ml/21hr	U-Na mEq/21hr	U-K mEq/21hr	U-Cl mEq/21hr	U-Ca mg/21hr	U-P mg/21hr
		b					
Control	7	15.57	1.5493	2.9813	2.1709	4.5219	4.6871
		2.86	0.3443	0.4897	0.4087	1.5498	5.0982
EMK-O 100 mg/kg	7	11.07*	1.0790*	2.2646	1.4866*	1.9271**	6.8844
		2.98	0.4210	0.7403	0.5870	0.5878	6.9740

Color: A = Pale yellow or yellow.
a: Values are no. of animals with findings.
b: Values are means and S.D. thereunder.
*: Differs from control, $p<0.05$.
**: Differs from control, $p<0.01$.

Table 12. Hematological findings in male rats at the end of 28-day repeated dose oral toxicity test of EMK-0 (SR-9435)

Group	No. of animals	RBC $10^6/\mu l$	Ht. %	Hb. g/dl	MCV fl	MCH pg	MCHC %	WBC $10^3/\mu l$	Plat $10^3/\mu l$
		a							
Control	7	7.723	47.99	15.67	62.16	20.24	32.61	15.79	1090.3
		0.200	1.59	0.46	1.55	0.54	0.33	3.92	82.3
EMK-0 4 mg/kg	7	7.820	47.67	15.43	60.99	19.70	32.30	16.49	1128.7
		0.215	1.16	0.62	1.12	0.72	0.73	3.75	152.3
EMK-0 20 mg/kg	7	7.679	46.81	15.16	60.99	19.70	32.31	18.20	1182.6
		0.353	1.75	0.70	1.47	0.57	0.47	4.76	93.0
EMK-0 100 mg/kg	7	6.031**	43.66**	14.46**	72.66**	23.99**	33.07	29.04**	1236.4
		0.502	1.79	0.66	4.17	1.33	0.67	9.96	141.9

						Hemogram of WBC						
						Neutro.						
Group	No. of animals	Ret. ‰	CT sec.	PT sec.	APTT sec.	Stab. %	Seg. %	Eos. %	Bas. %	Mono. %	Lymp. %	Others %
Control	7	23.4	219.1	13.43	27.01	0.0	10.1	0.7	0.0	0.0	89.1	0.0
		2.2	40.7	0.55	1.80	0.0	3.0	0.8	0.0	0.0	3.4	0.0
EMK-0 4 mg/kg	7	25.6	216.7	13.83	27.47	0.1	11.3	0.6	0.0	0.0	88.0	0.0
		2.4	68.8	1.05	2.71	0.4	4.1	0.8	0.0	0.0	3.5	0.0
EMK-0 20 mg/kg	7	32.0**	205.9	13.97	29.26	0.3	9.7	0.4	0.0	0.0	89.6	0.0
		6.2	56.3	1.98	2.26	0.5	2.8	0.5	0.0	0.0	3.1	0.0
EMK-0 100 mg/kg	7	123.4**	191.6	12.87*	25.27	0.3	12.1	0.9	0.0	0.0	86.7	0.0
		22.5	45.6	0.95	3.12	0.5	4.5	0.7	0.0	0.0	4.5	0.0

a: Values are means and S.D. thereunder.
*: Differs from control, $p<0.05$.
**: Differs from control, $p<0.01$.

Table 13. Hematological findings in female rats at the end of 28-day repeated dose oral toxicity test of EMK-O (SR-9435)

Group	No. of animals	RBC $10^6/\mu l$	Ht. %	Hb. g/dl	MCV fl	MCH pg	MCHC %	WBC $10^3/\mu l$	Plat $10^3/\mu l$
		a							
Control	7	7.677	46.30	15.44	60.34	20.09	33.33	11.10	1074.1
		0.231	0.93	0.46	0.69	0.72	1.03	3.66	46.7
EMK-O 4 mg/kg	7	7.801	47.04	15.76	60.27	20.16	33.44	11.74	1086.4
		0.348	2.49	0.94	1.20	0.78	1.07	4.36	96.8
EMK-O 20 mg/kg	7	6.881**	42.37**	13.97**	61.60	20.26	32.93	16.03	1194.3*
		0.188	1.32	0.25	2.17	0.65	0.88	6.24	64.2
EMK-O 100 mg/kg	7	5.756**	39.63**	13.34**	68.96**	23.17**	33.61	19.30*	1216.0**
		0.269	1.10	0.53	3.06	1.45	0.99	5.66	74.0

						Hemogram of WBC						
						Neutro.						
Group	No. of animals	Ret. ‰	CT sec.	PT sec.	APTT sec.	Stab. %	Seg. %	Eos. %	Bas. %	Mono. %	Lymp. %	Others %
Control	7	18.9	189.9	13.24	21.76	0.3	7.7	0.7	0.0	0.0	91.3	0.0
		1.5	48.9	0.50	0.96	0.5	2.6	0.8	0.0	0.0	3.4	0.0
EMK-O 4 mg/kg	7	19.9	190.6	13.07	20.44	0.1	8.1	0.9	0.0	0.0	90.9	0.0
		1.2	69.1	0.43	1.46	0.4	3.2	0.7	0.0	0.0	3.1	0.0
			(6)b									
EMK-O 20 mg/kg	7	56.9**	241.5	13.16	20.66	0.0	10.3	1.0	0.0	0.0	88.7	0.0
		13.9	52.1	0.58	1.74	0.0	5.7	1.3	0.0	0.0	5.8	0.0
EMK-O 100 mg/kg	7	128.6**	232.9	13.46	21.21	0.0	10.7	0.9	0.0	0.0	88.4	0.0
		21.6	70.4	0.50	1.43	0.0	4.2	0.7	0.0	0.0	4.4	0.0

a: Values are means and S.D. thereunder.
b: Values in parentheses are no. of animals examined.
*: Differs from control, $p<0.05$.
**: Differs from control, $p<0.01$.

Table 14. Hematological findings in male rats at the end of 14-day recovery test after 28-day oral administration of EMK-0 (SR-9435)

Group	No. of animals	RBC $10^6/\mu l$	Ht. %	Hb. g/dl	MCV fl	MCH pg	MCHC %	WBC $10^3/\mu l$	Plat $10^3/\mu l$
Control	7	8.106[a]	47.60	15.41	58.79	18.97	32.33	15.11	1098.7
		0.330	0.77	0.38	1.82	0.65	0.66	2.87	96.1
EMK-0 100 mg/kg	7	7.594*	49.30	15.84	64.87**	20.80**	32.13	17.14	1119.0
		0.319	2.83	0.83	1.37	0.55	1.10	3.32	131.8

						Hemogram of WBC						
						Neutro.						
Group	No. of animals	Ret. %	CT sec.	PT sec.	APTT sec.	Stab. %	Seg. %	Eos. %	Bas. %	Mono. %	Lymp. %	Others %
Control	7	24.9	286.6	13.77	25.80	0.3	13.7	1.3	0.0	0.0	84.7	0.0
		3.9	67.0	1.61	3.17	0.5	6.6	1.4	0.0	0.0	6.7	0.0
EMK-0 100 mg/kg	7	33.4**	269.7	13.36	26.04	0.0	11.7	0.7	0.0	0.0	87.6	0.0
		3.6	70.6	0.55	0.95	0.0	3.5	1.0	0.0	0.0	3.8	0.0

a: Values are means and S.D. thereunder.
*: Differs from control, $p<0.05$.
**: Differs from control, $p<0.01$.

Table 15. Hematological findings in female rats at the end of 14-day recovery test after 28-day oral administration of EMK-O (SR-9435)

Group	No. of animals	RBC $10^6/\mu l$	Ht. %	Hb. g/dl	MCV fl	MCH pg	MCHC %	WBC $10^3/\mu l$	Plat $10^3/\mu l$
Control	7	7.661[a]	45.00	15.00	58.71	19.51	33.29	10.23	1029.7
		0.213	1.50	0.53	1.70	0.70	1.11	2.27	84.9
EMK-O 100 mg/kg	7	7.533	48.73**	16.04**	64.74**	21.29**	32.90	13.80**	1014.6
		0.436	2.18	0.38	2.23	0.85	0.88	1.99	90.7

						Hemogram of WBC						
						Neutro.						
Group	No. of animals	Ret. %	CT sec.	PT sec.	APTT sec.	Stab. %	Seg. %	Eos. %	Bas. %	Mono. %	Lymp. %	Others %
Control	7	23.3	297.1	12.44	20.37	0.6	11.6	1.1	0.0	0.0	86.7	0.0
		1.4	58.6	0.46	1.61	0.5	3.9	0.4	0.0	0.0	3.9	0.0
EMK-O 100 mg/kg	7	22.6	285.6	12.89	20.73	0.3	9.6	1.3	0.0	0.0	88.9	0.0
		2.6	28.4	0.41	1.26	0.5	2.8	1.0	0.0	0.0	3.2	0.0

a: Values are means and S.D. thereunder.
**: Differs from control, $p<0.01$.

Table 16. Myelogram in male rats at the end of 28-day repeated dose oral toxicity test of EMK-0 (SR-9435)

Group		Nucleated cell 10^6/mg	Erythroblast %			Myeloid cell %						M/E	Lympho-cyte %	Mono-cyte %	Mega-karyocyte %	Others %
			Erythro-blast	Mitosis	Total	Immature		Mature			Total					
						Myelocyte	Mitosis	Neutro.	Eos.	Bas.						
		(6)ba														
Control	7	2.48	47.99	0.00	47.99	24.10	0.04	18.59	0.90	0.00	43.61	0.94	7.84	0.00	0.26	0.27
		0.15	6.83	0.00	6.83	3.02	0.11	4.63	0.56	0.00	6.14	0.27	1.63	0.00	0.05	0.08
EMK-0 4 mg/kg	7	2.51	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		0.25														
EMK-0 20 mg/kg	7	2.63	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		0.19														
EMK-0 100 mg/kg	7	2.56	49.87	0.00	49.87	21.44	0.07	19.04	0.73	0.00	41.27	0.87	8.24	0.00	0.24	0.37
		0.10	7.31	0.00	7.31	5.28	0.13	4.07	0.22	0.00	7.48	0.26	2.32	0.00	0.05	0.16

a: Values are means and S.D. thereunder.
b: Values in parentheses are no. of animals examined.
-: Not examined.

Table 17. Myelogram in female rats at the end of 28-day repeated dose oral toxicity test of EMK-0 (SR-9435)

Group		Nucleated cell 10^6/mg	Erythroblast %			Myeloid cell %						M/E	Lympho-cyte %	Mono-cyte %	Mega-karyocyte %	Others %
			Erythro-blast	Mitosis	Total	Immature		Mature			Total					
						Myelocyte	Mitosis	Neutro.	Eos.	Bas.						
Control	7	2.47[a]	45.67	0.00	45.67	23.04	0.00	18.63	1.24	0.00	42.91	0.97	10.86	0.00	0.24	0.33
		0.31	4.70	0.00	4.70	2.75	0.00	1.68	0.58	0.00	4.62	0.21	2.21	0.00	0.05	0.17
EMK-0 4 mg/kg	7	2.31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		0.38														
EMK-0 20 mg/kg	7	2.44	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		0.24														
EMK-0 100 mg/kg	7	2.46	42.83	0.00	42.83	22.84	0.11	20.39	1.40	0.00	44.76	1.16	11.94	0.00	0.21	0.24
		0.08	8.71	0.00	8.71	4.32	0.23	4.13	0.94	0.00	7.09	0.60	2.98	0.00	0.07	0.05

a: Values are means and S.D. thereunder.
-: Not examined.

Table 18. Myelogram in male rats at the end of 14-day recovery test after 28-day oral administration of EMK-0 (SR-9435)

Group		Nucleated cell 10^6/mg	Erythroblast %			Myeloid cell %						M/E	Lympho-cyte %	Mono-cyte %	Mega-karyocyte %	Others %
						Immature		Mature								
			Erythro-blast	Mitosis	Total	Myelocyte	Mitosis	Neutro.	Eos.	Bas.	Total					
Control	7	2.37[a]	42.17	0.00	42.17	22.94	0.00	21.00	1.24	0.00	45.21	1.11	12.09	0.00	0.21	0.30
		0.16	7.06	0.00	7.06	3.73	0.00	4.47	0.44	0.00	5.42	0.30	4.55	0.00	0.04	0.10
EMK-0 100 mg/kg	7	2.43	45.14	0.00	45.14	22.21	0.10	20.29	0.86	0.06	43.53	0.99	10.74	0.00	0.24	0.34
		0.23	4.32	0.00	4.32	2.92	0.17	5.31	0.32	0.10	5.33	0.22	3.15	0.00	0.05	0.10

a: Values are means and S.D. thereunder.

Table 19. Myelogram in female rats at the end of 14-day recovery test after 28-day oral administration of EMK-O (SR-9435)

Group		Nucleated cell 10^6/mg	Erythroblast %			Myeloid cell %						M/E	Lympho-cyte %	Mono-cyte %	Mega-karyocyte %	Others %
			Erythro-blast	Mitosis	Total	Immature		Mature			Total					
						Myelocyte	Mitosis	Neutro.	Eos.	Bas.						
Control	7	2.23[a]	46.69	0.00	46.69	22.71	0.17	19.84	1.29	0.00	44.03	0.96	8.60	0.00	0.24	0.43
		0.17	6.10	0.00	6.10	2.92	0.17	3.43	1.18	0.00	5.63	0.28	1.82	0.00	0.05	0.20
EMK-O 100 mg/kg	7	2.29	45.79	0.30	46.09	22.11	0.07	19.59	1.03	0.10	42.89	0.96	10.49	0.00	0.21	0.30
		0.21	5.90	0.79	6.20	2.16	0.13	3.36	0.34	0.17	4.93	0.19	4.04	0.00	0.04	0.08

a: Values are means and S.D. thereunder.

Table 20. Biochemical findings in male rats at the end of 28-day repeated dose oral toxicity test of EMK-0 (SR-9435)

Group	No. of animals	TP g/dl	Alb g/dl	A/G	Protein fractions (%) Alb	Globulin α_1	Globulin α_2	Globulin β	Globulin γ	GOT IU/l	GPT IU/l	ALP IU/l	LDH IU/l	γ-GTP IU/l	T-Bil mg/dl
Control	7	[a] 5.73	2.30	0.664	49.43	22.81	6.81	16.00	4.94	141.1	23.7	411.1	3565.0	1.00	0.10
		0.19	0.13	0.051	1.63	1.68	0.48	0.51	0.82	25.1	4.2	52.3	1019.8	0.20	0.00
EMK-0 4 mg/kg	7	5.73	2.31	0.673	48.64	21.86	7.26	16.93	5.31	122.0	22.9	411.4	2843.4	1.01	0.10
		0.18	0.11	0.043	2.25	1.60	0.51	1.65	0.96	35.6	3.9	111.3	1210.3	0.23	0.00
EMK-0 20 mg/kg	7	5.61	2.24	0.660	49.40	22.31	7.46	16.01	4.81	127.6	23.7	399.3	3115.7	0.76	0.10
		0.18	0.05	0.037	1.18	1.49	0.89	1.37	0.76	28.8	4.2	116.4	1136.5	0.30	0.00
EMK-0 100 mg/kg	7	5.59	2.37	0.733*	51.90*	19.16**	7.31	16.50	5.13	143.0	21.3	391.9	3895.9	1.26	0.17*
		0.15	0.10	0.051	1.56	1.42	0.47	0.63	1.49	27.8	3.3	51.8	865.0	0.42	0.05

Group	No. of animals	Glu mg/dl	T-Cho mg/dl	TG mg/dl	BUN mg/dl	Crea mg/dl	Na mEq/l	K mEq/l	Cl mEq/l	Ca mg/dl	P mg/dl
Control	7	135.3	58.1	78.1	15.16	0.46	143.64	4.793	104.4	10.11	9.41
		22.3	9.9	32.5	1.82	0.05	0.69	0.315	2.1	0.15	0.41
EMK-0 4 mg/kg	7	148.3	66.6	94.4	14.60	0.44	143.14	5.017	104.4	10.00	9.29
		27.4	8.0	28.8	1.16	0.08	0.90	0.193	1.0	0.31	0.39
EMK-0 20 mg/kg	7	147.9	56.7	83.0	15.49	0.49	143.21	5.140	103.7	9.91	9.47
		19.6	8.5	58.8	2.87	0.09	0.70	0.246	2.1	0.33	0.35
EMK-0 100 mg/kg	7	144.6	73.6*	76.1	16.46	0.47	143.21	5.579**	103.7	10.11	9.93
		19.4	16.6	23.1	1.63	0.08	0.64	0.541	2.4	0.26	0.39

a: Values are means and S.D. thereunder. *: Differs from control, $p<0.05$. **: Differs from control, $p<0.01$.

Table 21. Biochemical findings in female rats at the end of 28-day repeated dose oral toxicity test of EMK-0 (SR-9435)

Group	No. of animals	TP g/dl	Alb g/dl	A/G	Protein fractions (%) Alb	Globulin α_1	Globulin α_2	Globulin β	Globulin γ	GOT IU/l	GPT IU/l	ALP IU/l	LDH IU/l	γ -GTP IU/l	T-Bil mg/dl
Control	7	6.00[a]	2.57	0.750	54.39	19.60	6.54	14.94	4.53	134.4	23.4	269.7	3091.7	2.07	0.10
		0.16	0.21	0.095	2.03	0.95	0.56	0.98	0.58	19.4	4.4	44.8	637.4	0.48	0.00
EMK-0 4 mg/kg	7	5.84	2.41	0.699	52.91	19.51	6.87	15.81	4.89	138.7	20.9	233.9	3339.0	2.33	0.10
		0.20	0.13	0.047	2.21	1.80	0.42	0.60	0.99	17.0	3.2	57.4	383.2	0.57	0.00
EMK-0 20 mg/kg	7	5.66*	2.44	0.756	55.14	18.13	6.34	15.10	5.29	162.9*	21.3	227.6	4161.1*	2.33	0.10
		0.21	0.10	0.055	1.20	1.44	0.58	0.43	0.58	27.6	4.9	27.6	839.1	0.29	0.00
EMK-0 100 mg/kg	7	5.77	2.46	0.736	54.70	18.41	6.89	15.09	4.91	138.0	21.3	208.7	3686.1	2.43	0.16
		0.35	0.20	0.067	1.65	1.81	0.62	0.56	0.71	16.4	3.6	54.4	581.1	0.19	0.05

Group	No. of animals	Glu mg/dl	T-Cho mg/dl	TG mg/dl	BUN mg/dl	Crea mg/dl	Na mEq/l	K mEq/l	Cl mEq/l	Ca mg/dl	P mg/dl
Control	7	111.7	65.1	19.3	18.31	0.49	142.57	4.543	107.9	9.80	8.19
		15.4	14.8	6.2	1.68	0.07	1.21	0.350	1.3	0.35	0.74
EMK-0 4 mg/kg	7	116.4	68.0	35.7	16.59	0.49	142.36	4.654	106.6	9.86	8.53
		14.0	10.1	32.1	1.64	0.04	1.68	0.359	2.8	0.40	0.74
EMK-0 20 mg/kg	7	111.7	63.0	19.9	17.07	0.44	142.00	4.881	107.1	9.89	8.63
		11.2	12.0	8.8	2.32	0.05	1.04	0.294	1.8	0.31	1.04
EMK-0 100 mg/kg	7	114.3	67.7	33.6	17.07	0.50	142.07	5.140*	106.4	9.86	8.77
		22.7	20.5	22.5	2.01	0.00	1.10	0.486	1.8	0.30	0.51

a: Values are means and S.D. thereunder. *: Differs from control, $p<0.05$.

Table 22. Biochemical findings in male rats at the end of 14-day recovery test after 28-day oral administration of EMK-0 (SR-9435)

Group	No. of animals	TP g/dl	Alb g/dl	A/G	Protein fractions (%) Alb	Globulin α_1	Globulin α_2	Globulin β	Globulin γ	GOT IU/l	GPT IU/l	ALP IU/l	LDH IU/l	γ -GTP IU/l	T-Bil mg/dl
Control	7	[a] 5.97	2.33	0.637	48.20	21.76	7.27	17.31	5.46	119.3	25.3	306.1	2891.1	1.09	0.10
		0.26	0.11	0.064	2.92	3.01	0.78	1.57	1.58	20.7	2.5	70.5	822.5	0.47	0.00
EMK-0 100 mg/kg	7	5.86	2.34	0.664	48.84	21.90	7.13	16.71	5.41	134.7	26.3	260.1	3443.3	1.36	0.10
		0.21	0.15	0.078	2.09	1.88	0.65	1.46	1.12	29.5	2.6	31.3	1401.9	0.21	0.00

Group	No. of animals	Glu mg/dl	T-Cho mg/dl	TG mg/dl	BUN mg/dl	Crea mg/dl	Na mEq/l	K mEq/l	Cl mEq/l	Ca mg/dl	P mg/dl
Control	7	150.4	65.3	90.3	16.61	0.50	143.29	4.780	106.6	9.51	8.33
		13.3	12.7	39.5	2.23	0.00	0.86	0.118	1.5	0.29	0.39
EMK-0 100 mg/kg	7	150.9	60.0	84.1	15.10	0.50	143.29	4.769	105.0	9.57	8.91*
		16.7	6.2	32.4	1.82	0.06	0.76	0.237	1.7	0.11	0.55

a: Values are means and S.D. thereunder.
*: Differs from control, $p<0.05$.

Table 23. Biochemical findings in female rats at the end of 14-day recovery test after 28-day oral administration of EMK-O (SR-9435)

Group	No. of animals	TP g/dl	Alb g/dl	A/G	Protein fractions (%) Alb	Globulin α_1	Globulin α_2	Globulin β	Globulin γ	GOT IU/l	GPT IU/l	ALP IU/l	LDH IU/l	γ -GTP IU/l	T-Bil mg/dl
Control	7	[a] 6.14	2.71	0.790	53.57	18.33	6.47	15.53	6.10	146.1	28.0	186.1	3583.6	1.66	0.10
		0.24	0.11	0.070	1.62	1.06	0.46	0.80	0.82	31.5	15.6	41.3	1218.3	0.25	0.00
EMK-O 100 mg/kg	7	6.27	2.81	0.811	54.87	18.03	6.29	14.90	5.91	130.0	21.3	193.6	3423.9	2.14*	0.10
		0.19	0.09	0.044	1.31	1.48	0.42	0.47	0.97	27.6	4.3	52.5	1019.0	0.35	0.00

Group	No. of animals	Glu mg/dl	T-Cho mg/dl	TG mg/dl	BUN mg/dl	Crea mg/dl	Na mEq/l	K mEq/l	Cl mEq/l	Ca mg/dl	P mg/dl
Control	7	133.7	73.9	28.9	17.33	0.59	142.36	4.354	107.6	9.41	7.19
		17.5	20.2	14.9	1.81	0.07	1.14	0.316	1.7	0.23	0.68
EMK-O 100 mg/kg	7	133.3	73.9	32.1	19.17*	0.57	141.36	4.326	108.3	9.59	7.59
		25.5	11.8	19.0	1.18	0.08	1.03	0.382	1.8	0.39	0.95

a: Values are means and S.D. thereunder.
*: Differs from control, $p<0.05$.

Table 24. Absolute and relative organ weights in male rats at the end of 28-day repeated dose oral toxicity test of EMK-0 (SR-9435)

Group	No. of animals	Body weight g	Brain g	Brain %	Pituitary gland mg	Pituitary gland 10^{-3}%	Thymus mg	Thymus 10^{-3}%	Thyroid Right mg	Thyroid Right 10^{-3}%	Thyroid Left mg	Thyroid Left 10^{-3}%	Lung g	Lung %	Heart g	Heart %
Control	7	358.1[a]	2.049	0.574	11.61	3.250	797.6	222.027	9.00	2.514	9.13	2.546	1.239	0.346	1.277	0.357
		24.2	0.059	0.024	1.13	0.322	115.8	20.475	2.47	0.695	2.31	0.631	0.090	0.015	0.119	0.016
EMK-0 4 mg/kg	7	343.4	2.039	0.594	11.46	3.329	700.4	204.701	9.89	2.887	8.70	2.521	1.256	0.366	1.294	0.376
		17.7	0.060	0.025	1.34	0.276	114.8	36.744	1.76	0.545	1.91	0.480	0.090	0.014	0.150	0.036
EMK-0 20 mg/kg	7	336.7	2.041	0.607	11.47	3.419	595.9**	177.754	9.94	2.949	8.19	2.436	1.207	0.359	1.233	0.370
		18.3	0.073	0.041	0.75	0.325	101.9	34.359	1.56	0.412	1.06	0.337	0.066	0.023	0.048	0.023
EMK-0 100 mg/kg	7	347.0	2.066	0.594	11.54	3.321	688.9	199.416	9.83	2.843	9.23	2.674	1.300	0.374*	1.230	0.354
		10.2	0.056	0.022	1.45	0.351	118.9	39.659	1.77	0.567	2.20	0.710	0.097	0.024	0.109	0.034

Group	No. of animals	Liver g	Liver %	Kidney Right g	Kidney Right %	Kidney Left g	Kidney Left %	Spleen g	Spleen %	Adrenal Right mg	Adrenal Right 10^{-3}%	Adrenal Left mg	Adrenal Left 10^{-3}%	Testis Right g	Testis Right %	Testis Left g	Testis Left %
Control	7	11.073	3.096	1.337	0.376	1.294	0.361	0.664	0.186	25.9	7.241	27.9	7.794	1.490	0.416	1.443	0.404
		0.815	0.186	0.105	0.022	0.126	0.030	0.118	0.026	2.1	0.680	2.4	0.700	0.136	0.035	0.113	0.029
EMK-0 4 mg/kg	7	10.920	3.176	1.306	0.380	1.291	0.377	0.706	0.204	24.4	7.119	26.6	7.741	1.404	0.409	1.384	0.401
		1.065	0.202	0.156	0.033	0.155	0.031	0.108	0.027	4.7	1.335	4.6	1.318	0.138	0.043	0.111	0.040
EMK-0 20 mg/kg	7	10.984	3.259	1.270	0.379	1.263	0.376	0.806	0.240	23.9	7.083	26.1	7.784	1.406	0.416	1.399	0.417
		0.987	0.182	0.078	0.020	0.085	0.017	0.180	0.059	4.9	1.362	5.0	1.534	0.112	0.041	0.086	0.038
EMK-0 100 mg/kg	7	11.439	3.296	1.280	0.371	1.276	0.369	1.750**	0.504**	24.4	7.021	27.1	7.803	1.499	0.433	1.451	0.419
		0.758	0.168	0.050	0.019	0.073	0.030	0.258	0.078	5.0	1.300	4.8	1.230	0.089	0.024	0.072	0.021

a: Values are means and S.D. thereunder. *: Differs from control, $p<0.05$. **: Differs from control, $p<0.01$.

Table 25. Absolute and relative organ weights in female rats at the end of 28-day repeated dose oral toxicity test of EMK-0 (SR-9435)

Group	No. of animals	Body weight g	Brain		Pituitary gland		Thymus		Thyroid				Lung		Heart	
									Right		Left					
			g	%	mg	10^{-3}%	mg	10^{-3}%	mg	10^{-3}%	mg	10^{-3}%	g	%	g	%
Control	7	207.6[a]	1.943	0.940	10.99	5.293	529.0	255.876	7.41	3.596	6.21	2.991	1.003	0.481	0.813	0.393
		14.2	0.088	0.075	1.86	0.840	98.8	50.964	1.10	0.657	1.74	0.817	0.094	0.025	0.087	0.023
EMK-0 4 mg/kg	7	208.1	1.950	0.943	11.47	5.516	460.4	220.594	6.67	3.233	6.09	2.927	0.977	0.471	0.817	0.393
		19.5	0.070	0.075	1.42	0.511	72.8	21.410	1.19	0.698	1.43	0.640	0.086	0.040	0.107	0.029
EMK-0 20 mg/kg	7	200.9	1.921	0.961	11.34	5.639	529.4	262.850	5.94*	2.969	5.36	2.669	0.963	0.479	0.834	0.416
		16.8	0.045	0.071	1.58	0.557	75.6	21.944	1.25	0.639	1.37	0.685	0.101	0.030	0.071	0.018
EMK-0 100 mg/kg	7	206.4	1.933	0.944	10.39	5.054	524.6	253.811	6.21	3.019	5.34	2.566	0.970	0.471	0.881	0.431*
		18.4	0.074	0.078	1.81	0.905	114.5	51.129	0.72	0.334	1.84	0.803	0.088	0.034	0.066	0.039

Group	No. of animals	Liver		Kidney				Spleen		Adrenal				Ovary			
				Right		Left				Right		Left		Right		Left	
		g	%	g	%	g	%	g	%	mg	10^{-3}%	mg	10^{-3}%	mg	10^{-3}%	mg	10^{-3}%
Control	7	6.069	2.927	0.814	0.394	0.789	0.380	0.430	0.210	29.3	14.049	31.0	14.907	56.4	27.223	50.3	24.261
		0.454	0.173	0.069	0.023	0.081	0.032	0.017	0.019	4.7	1.501	5.0	2.002	10.3	4.954	11.4	5.582
EMK-0 4 mg/kg	7	6.390	3.064	0.840	0.404	0.821	0.396	0.456	0.220	28.9	13.873	31.3	15.053	49.1	23.674	50.4	24.306
		0.734	0.104	0.093	0.043	0.074	0.036	0.062	0.016	4.1	1.513	4.0	1.605	8.6	3.850	7.6	3.287
EMK-0 20 mg/kg	7	6.050	3.003	0.820	0.406	0.810	0.399	0.604**	0.300**	30.0	14.816	32.4	16.029	50.1	24.926	46.0	22.756
		0.842	0.203	0.136	0.040	0.137	0.042	0.080	0.026	7.0	2.564	7.3	2.706	9.2	3.892	10.4	3.832
EMK-0 100 mg/kg	7	6.516	3.147	0.889	0.429	0.861	0.417	1.136**	0.546**	33.0	16.014	35.9	17.344	46.1	22.239	49.0	23.681
		0.895	0.213	0.143	0.037	0.130	0.033	0.274	0.095	4.5	1.774	5.8	1.920	9.1	3.318	7.5	2.455

a: Values are means and S.D. thereunder. *: Differs from control, $p<0.05$. **: Differs from control, $p<0.01$.

Table 26. Absolute and relative organ weights in male rats at the end of 14-day recovery test after 28-day oral administration of EMK-0 (SR-9435)

Group	No. of animals	Body weight g	Brain g	Brain %	Pituitary gland mg	Pituitary gland 10^{-3}%	Thymus mg	Thymus 10^{-3}%	Thyroid Right mg	Thyroid Right 10^{-3}%	Thyroid Left mg	Thyroid Left 10^{-3}%	Lung g	Lung %	Heart g	Heart %
Control	7	[a] 411.0	2.113	0.516	12.41	3.023	567.0	137.879	11.46	2.809	10.06	2.453	1.329	0.324	1.319	0.321
		27.3	0.034	0.036	1.36	0.301	139.4	33.274	1.68	0.521	0.67	0.229	0.106	0.016	0.080	0.023
EMK-0 100 mg/kg	7	407.9	2.094	0.513	12.24	3.003	554.3	135.780	9.61	2.344	9.59	2.356	1.337	0.327	1.364	0.334
		23.1	0.060	0.029	1.45	0.317	107.1	24.482	3.04	0.675	2.04	0.532	0.086	0.013	0.127	0.023

Group	No. of animals	Liver g	Liver %	Kidney Right g	Kidney Right %	Kidney Left g	Kidney Left %	Spleen g	Spleen %	Adrenal Right mg	Adrenal Right 10^{-3}%	Adrenal Left mg	Adrenal Left 10^{-3}%	Testis Right g	Testis Right %	Testis Left g	Testis Left %
Control	7	12.276	2.980	1.386	0.337	1.354	0.330	0.733	0.179	27.7	6.764	28.7	7.020	1.469	0.357	1.451	0.356
		1.314	0.148	0.057	0.020	0.053	0.022	0.038	0.012	1.8	0.599	2.4	0.847	0.103	0.035	0.060	0.031
EMK-0 100 mg/kg	7	11.977	2.937	1.420	0.349	1.389	0.340	0.811	0.199	31.7*	7.776*	33.0*	8.110	1.556	0.381	1.536*	0.379
		0.756	0.092	0.096	0.025	0.123	0.031	0.120	0.027	4.0	0.838	4.3	1.093	0.061	0.020	0.050	0.020

a: Values are means and S.D. thereunder.
*: Differs from control, $p<0.05$.

Table 27. Absolute and relative organ weights in female rats at the end of 14-day recovery test after 28-day oral administration of EMK-O (SR-9435)

Group	No. of animals	Body weight g	Brain g	Brain %	Pituitary gland mg	Pituitary gland 10^{-3}%	Thymus mg	Thymus 10^{-3}%	Thyroid Right mg	Thyroid Right 10^{-3}%	Thyroid Left mg	Thyroid Left 10^{-3}%	Lung g	Lung %	Heart g	Heart %
Control	7	235.1[a]	1.953	0.837	13.37	5.703	414.9	177.343	7.36	3.159	7.40	3.157	1.010	0.430	0.871	0.371
		19.0	0.068	0.078	1.05	0.454	46.2	23.021	1.32	0.682	1.86	0.789	0.074	0.022	0.066	0.009
EMK-O 100 mg/kg	7	231.7	1.940	0.843	13.06	5.641	474.7	204.704	7.56	3.300	7.29	3.157	0.970	0.420	0.874	0.379
		23.5	0.072	0.072	1.62	0.466	102.3	37.573	1.55	0.799	0.97	0.387	0.089	0.024	0.084	0.025

Group	No. of animals	Liver g	Liver %	Kidney Right g	Kidney Right %	Kidney Left g	Kidney Left %	Spleen g	Spleen %	Adrenal Right mg	Adrenal Right 10^{-3}%	Adrenal Left mg	Adrenal Left 10^{-3}%	Ovary Right mg	Ovary Right 10^{-3}%	Ovary Left mg	Ovary Left 10^{-3}%
Control	7	6.743	2.864	0.883	0.377	0.849	0.361	0.467	0.200	30.0	12.757	32.4	13.763	46.9	20.060	45.1	19.381
		0.680	0.141	0.067	0.021	0.078	0.023	0.048	0.015	6.5	2.549	4.6	1.325	10.1	4.699	7.8	3.906
EMK-O 100 mg/kg	7	6.746	2.906	0.857	0.371	0.870	0.376	0.547	0.234**	28.4	12.286	31.6	13.596	45.0	19.373	47.6	20.244
		0.925	0.166	0.095	0.025	0.110	0.035	0.104	0.025	3.6	1.169	4.4	1.049	9.7	2.981	13.7	4.030

a: Values are means and S.D. thereunder.
**: Differs from control, $p<0.05$.

Table 28. Gross findings in rats at the end of 28-day repeated dose oral toxicity test of EMK-0 (SR-9435)

	Male				Female			
		EMK-0 (mg/kg)				EMK-0 (mg/kg)		
Group	Control	4	20	100	Control	4	20	100
No. of animals examined	7	7	7	7	7	7	7	7
Organ : Findings								
Spleen : Swelling	0[a]	1	3	7	0	0	0	7

a: Values are no. of animals with findings.

Table 29. Gross findings in rats at the end of 14-day recovery test after 28-day oral administration of EMK-O (SR-9435)

Item	Male		Female	
	Control	EMK-O 100 mg/kg	Control	EMK-O 100 mg/kg
No. of animals examined	7	7	7	7
Organ : Findings				
Ileum : Diverticulum	1[a]	0	0	0

a: Values are no. of animals with findings.

Table 30. Histopathological findings in rats at the end of 28-day repeated dose oral toxicity test of EMK-O (SR-9435)

Item		Male				Female			
			EMK-O (mg/kg)				EMK-O (mg/kg)		
		Control	4	20	100	Control	4	20	100
No. of animals examined		7	7	7	7	7	7	7	7
Organ : Findings[a]	Grade[b]	[c]							
Liver : Hypertrophy of Kupffer's cells with phagocytosed hemosiderin granules	+	0	0	0	7	0	0	6	7
Extramedullary hematopoiesis	+	0	0	0	7	0	0	0	1
Kidney : Deposition of lipofuscin-like substance in tubular epithelium, mainly proximal tubules	+	0	0	0	7	0	0	0	7
Hyaline droplets deposition in tubular epithelium, mainly proximal tubules	+	5	2	2	1	0	0	0	0
Eosinophilic body deposition in tubular epithelium, mainly proximal tubules	+	5	0	2	0	0	0	0	0
Hyaline cast	+	0	0	0	0	0	0	0	1
Simple cyst	(+)	1	0	0	0	0	0	0	0
Spleen : Congestion	+	0	0	3	2	0	0	3	2
	++	0	0	0	5	0	0	0	5
Increased extramedullary hematopoiesis	+	0	0	3	1	0	0	6	1
	++	0	0	0	6	0	0	1	6
Increase in hemosiderin granules	+	0	0	1	7	0	0	2	7
Pituitary gland : Ciliated epithelial cyst	(+)	0	1	1	0	0	0	0	0
Rectum : Infiltration of cells, mainly neutrophils in submucosal tissue	+	0	0	0	0	0	0	1	0
						[d]			
Testis : Atrophy of tubules	+	1	0	0	0	-	-	-	-
Prostate : Interstitial infiltration of cells, mainly lymphocytes	+	0	1	0	0	-	-	-	-
Ovary : Lutein cyst	(+)	-	-	-	-	0	0	1	0

a: There were no abnormal findings in the heart, lung (bronchus), cerebrum, cerebellum, spinal cord, sciatic nerve, eyeball, Harder's gland, thyroid, parathyroid, thymus, submandibular lymph node, mesenteric lymph node, pancreas, adrenal, submandibular gland, sublingual gland, parotid gland, larynx, trachea, aorta, tongue, esophagus, forestomach, glandular stomach, duodenum, jejunum, ileum, cecum, colon, sternum, femur, mammary gland, skin, skeletal muscle, urinary bladder, epididymis, seminal vesicle, uterus or vagina.

b: + = slight, ++ = moderate change and (+) = detected.

c: Values are no. of animals with findings.

d: - = blank value.

Table 31. Histopathological findings in rats at the end of 14-day recovery test after 28-day oral administration of EMK-O (SR-9435)

Item		Male		Female	
		Control	EMK-O 100 mg/kg	Control	EMK-O 100 mg/kg
No. of animals examined		7	7	7	7
Organ : Findings[a]	Grade[b]				
Liver : Hypertrophy of Kupffer's cells with phagocytosed hemosiderin granules	+	0	6	0	7
Kidney : Deposition of lipofuscin-like substance in tubular epithelium, mainly proximal tubules	+	0	7	0	7
Hyaline droplets deposition in tubular epithelium, mainly proximal tubules	+	0	1	0	0
Eosinophilic body deposition in tubular epithelium, mainly proximal tubules	+	0	1	0	0
Hyaline cast	+	0	0	0	1
Simple cyst	(+)	0	0	0	1
Spleen : Congestion	+	0	6	0	0
Increased extramedullary hematopoiesis	+	0	1	0	0
Increase in hemosiderin granules	+	0	5	0	3
	++	0	2	0	4
Pituitary gland : Persistent craniopharyngeal canal	(+)	0	0	0	1
Pancreas : Focal atrophy of exocrine glandular cells	+	1	0	0	0
Focal fibrosis in islets of Langerhans	+	1	0	0	0
Ileum : Diverticulum	(+)	1	0	0	0
Rectum : Infiltration of cells, mainly neutrophils in submucosal tissue	+	0	0	1	0
Prostate : Interstitial infiltration of cells, mainly lymphocytes	+	1	0	-[d]	-

a: There were no abnormal findings in the heart, lung (bronchus), cerebrum, cerebellum, spinal cord, sciatic nerve, eyeball, Harder's gland, thyroid, parathyroid, thymus, submandibular lymph node, mesenteric lymph node, adrenal, submandibular gland, sublingual gland, parotid gland, larynx, trachea, aorta, tongue, esophagus, forestomach, glandular stomach, duodenum, jejunum, cecum, colon, sternum, femur, mammary gland, skin, skeletal muscle, urinary bladder, testis, epididymis, seminal vesicle, ovary, uterus or vagina.

b: + = slight, ++ = moderate change and (+) = detected.

c: Values are no. of animals with findings.

d: - = blank value.