

最終報告書

令和5年度 既存添加物の安全性に関する試験

ラットを用いた L-ラムノースの 90 日間反復投与毒性試験



国立医薬品食品衛生研究所

安全性生物試験研究センター



【概要】

既存添加物として指定されている L-ラムノースの安全性評価のため、ラットを用いた 90 日間反復経口投与毒性試験を実施した。

6 週齢の雌雄 CrI:CD(SD)ラットに L-ラムノースを 0%、0.8%、2%、5%の濃度で 91 日間混餌投与し、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、尿検査、血液学的検査、血清生化学検査、器官重量測定および病理学的検査を実施した。

その結果、雌雄ともにすべての被験物質投与群においていずれの検査項目にも被験物質投与による毒性影響は認められなかった。

以上の結果から、本試験条件下における L-ラムノースの無毒性量は、雌雄ともに 5%（雄：2.51 g/kg BW/day、雌：3.11 g/kg BW/day）と判断した。

試験概要

1.1 試験表題

令和5年度 既存添加物の安全性に関する試験 ラットを用いたL-ラムノースの90日間反復経口投与毒性試験

1.2 試験番号



1.3 試験目的

L-ラムノースをラットに90日間混餌投与し、反復投与による毒性を明らかにすることを目的とした。

1.4 ガイドライン

「食品添加物の指定及び使用基準改正に関する指針」（平成8年3月22日 衛化第29号：厚生省生活衛生局通知）に可能な限り準じて実施した。

1.5 動物愛護

本施設は一般社団法人日本医薬情報センターの評価を受け、厚生労働省の通知「厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針」（厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知 平成27年2月20日 科発0220第1号）に適合した施設であると認定されている。本試験は国立医薬品食品衛生研究所が定める「動物実験等の適正な実施に関する規程」に従って計画し、同所の動物実験委員会による審査・承認を経て実施した。

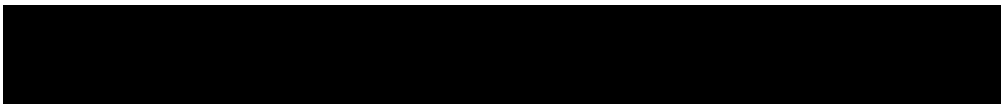
1.6 試験実施施設



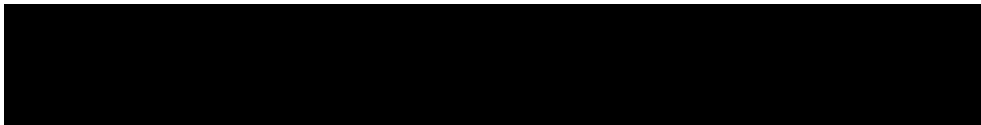
1.7 試験管理責任者



1.8 試験責任者



1.9 試験主担当者



2 被験物質

名称	: L-ラムノース・一水和物
供給源	: XXXXXXXXXX
CAS No.	: 10030-85-0
性状	: 白色の結晶又は結晶性の粉末。
ロット番号	: XXXXXXXXXX
含量	: 100%
保管条件	: 冷暗所に密栓して保管した。
取り扱い上の注意	: 使用時には手袋、マスク及び保護メガネ等の適切な保護具を着用し、肌及び目への接触を避けた。

3 試験系

3.1 動物

動物種	: ラット
系統	: CrI:CD (SD) (SPF 動物)
性	: 雌雄
入荷時週齢	: 5 週齢
投与開始時週齢	: 6 週齢
購入 (使用) 匹数	: 雌雄各 42 匹 (40 匹)
供給源	: ジャクソン・ラボラトリー・ジャパン株式会社
所在地	: 〒243-0214 神奈川県厚木市下古沢 795
検疫・馴化期間	: 1 週間以上
群分け後の余剰動物の処置	: 余剰動物は試験系から除外した。

3.2 試験系選択理由

「食品添加物の指定及び使用基準改正に関する指針」に基づいて齧歯類の1つとしてラットを選択した。本系統は、微生物学的に統御され、遺伝的に安定であることから決定した。

3.3 飼育条件

適切な生物学的防御がなされた環境の部屋で動物を飼育した。

飼育室	: XXXXXXXXXX
温度	: 23±1°C
相対湿度	: 50±5%
照明時間	: 12 時間/日 (7:00~19:00)
換気回数	: 20 回/時間
飼育匹数	: 2 匹/ケージ
ケージ交換頻度	: 2 回以上/週
給水瓶交換頻度	: 2 回以上/週

3.4 収容ケージ及び床敷

ケージ : プラスチック製ケージ (W258×D418×H186 mm)
 ケージ蓋 : ステンレス製
 床敷 : ソフトチップ (三協ラボサービス株式会社)

3.5 飼料及び給餌方法

飼料 : オリエンタル酵母工業株式会社製粉末飼料 (CRF-1)
 給餌方法 : ケージ内に飼料を入れた粉餌給餌器を設置し、自由摂取

3.6 飲料水及び給水方法

飲料水 : 調製水
 給水方法 : 透明な給水瓶を用いて自由摂取

3.7 群分け方法

群分け方法 : 群分け実施日の体重に基づき無作為に実施
 群分け実施日 : 実験開始前日

3.8 個体識別法

ケージラベルに試験番号、性別、群名、ケージ番号、被験物質名及び投与濃度、動物番号、試験開始日、剖検日、試験主担当者名を明記した。動物の個体識別は、上記内容及び油性インクによる尾部へのマーキングを用いて行った。

4 試験方法

4.1 投与期間及び投与方法

被験物質の投与期間は90日以上(雌雄共に91日)とし、被験物質と十分に混和した4.5項に記載の粉末飼料を自由摂取させて投与した。対照群には被験物質を含まない粉末飼料を自由摂取させた。

4.2 投与量及び群構成

被験物質の投与濃度並びに1群当たりの匹数及び動物番号は、下表の通りである。

性別	投与濃度 (%)	匹数	動物番号
雄	0	10	101~110
	0.8	10	111~120
	2	10	121~130
	5	10	131~140
雌	0	10	201~210
	0.8	10	211~220

2	10	221~230
5	10	231~240

4.3 被験物質投与量の設定理由

28日間反復投与用量設定予備試験¹において、5%群の雌雄で被験物質投与による毒性影響がみられなかったことから、本試験における被験物質の投与濃度は、最高用量を5%に設定し、以下公比2.5で除した2%及び0.8%に設定した。

4.4 投与経路及び投与方法の選択理由

投与経路は、ヒトが被験物質に曝露される可能性の最も大きい経路である経口投与とした。

4.5 被験物質投与液の調製方法及び調製頻度

被験物質を電子天秤を用いて秤量し、乳鉢で少量の粉末飼料と十分に混合させた。秤量時、電子天秤は水平に保った。厚手ポリエチレン袋に、所定の濃度となるように残りの粉末飼料と共に加えてよく攪拌して混合し、投与飼料とした。投与飼料は1週間に1回調製した。

4.6 観察及び測定項目

投与開始日を投与1日（Day 1）と起算し、投与1~7日を投与1週、剖検日は投与91日の翌日（Day 92）とした。

4.6.1 一般状態

被験物質投与期間中に1日1回以上、全ての動物について一般状態、生死などについて観察し、個体別に記録した。

4.6.2 体重

投与1, 8, 15, 22, 29, 36, 43, 50, 57, 64, 71, 78, 85及び91日の投与前に測定した。また、剖検日に各動物の1晩（約16時間）絶食後の体重（剖検日体重）を測定した。各時点において全ての動物を電子天秤に乗せ、個体別に体重を測定した。測定時、電子天秤は水平に保った。

4.6.3 摂餌量

投与1-2, 8-9, 15-16, 22-23, 29-30, 36-37, 43-44, 50-51, 57-58, 64-65, 71-72, 78-79及び85-86日の各ケージの餌重量を電子天秤にて測定し、1匹当たりの1日平均摂餌量を算出した。測定時、電子天秤は水平に保った。

4.6.4 尿検査

投与第13週に、雌雄各群5匹（動物番号順）について以下の検査を実施した。

動物は検査当日、採尿ラックに移し蓄尿を開始した。蓄尿中は採尿ラック用の給水瓶を用いて3.6項に記載の飲料水を給水するが、粉末飼料及び被験物質の尿への混入を防ぐため給餌は行わなかった。採尿ラックへの移動は群単位で実施した。約4時間の蓄尿後、尿を回収して下記項目の試験紙法による検査を実施した。試験紙の判定には半自動尿分析装置オーションイレブンAE-4021（アークレイ株式会社）を用いた。

検査項目：蛋白、尿糖、潜血、ケトン体、ウロビリノーゲン、ビリルビン、pH

4.6.5 血液学的検査

被験物質投与期間終了時の全生存動物について検査を実施した。検査試料（血液）の採取は、採取前日の夕方から絶食（給水は継続）させた動物を、当日にイソフルラン麻酔下で開腹し、剥離後の腹部大動脈から行った。動物の採血（屠殺）順は、群ごとに絶食時間が偏らないよう留意した。

採取した血液の一部を抗凝固剤（EDTA-2K）入りの試験管（ベノジェクトII真空採血管、テルモ株式会社）に移し、下記の項目について自動血球計算装置 IDEXX プロサイト Dx（アイデック スラボラトリーズ株式会社）を用いて測定した。

検査項目：白血球数（WBC）、赤血球数（RBC）、ヘモグロビン濃度（HGB）、ヘマトクリット値（HCT）、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）、血小板数（PLT）、網状赤血球数（RET）、白血球分画（好中球；Neutrophil、好酸球；Eosinophil、好塩基球；Basophil、リンパ球；Lymphocyte、単球；Monocyte）

4.6.6 血清生化学検査

被験物質投与期間終了時の全生存動物について検査を実施した。前項で採取した血液の残りを血清分離剤（ポリエステルゲル）及び凝固促進用シリカ微粒子入りの試験管（BD バキュティナ採血管、日本ベクトン・ディッキンソン株式会社）に分注し、遠心分離して血清を得た。血清は-20℃以下で保存した。測定は XXXXXXXXXX に委託して実施した。測定項目は以下の通りである。

アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）、アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）、アルカリフォスファターゼ（ALP）、 γ -グルタミルトランスぺプチダーゼ（ γ -GTP）、総ビリルビン（T-BIL）、尿素窒素（BUN）、クレアチニン（CRE）、ブドウ糖（GLU）、総コレステロール（T-CHO）、トリグリセリド（TG）、総蛋白（TP）、アルブミン（ALB）、A/G 比（A/G）、無機リン（IP）、カルシウム（Ca）、ナトリウム（Na）、カリウム（K）、塩素（Cl）

4.6.7 病理学的検査

投与期間終了時に、第 4.6.5 項において採血し、放血致死させた動物について、下記の病理学的検査を行った。

4.6.7.1 肉眼的病理学検査

全生存動物について、全身の諸器官・組織の肉眼的病理学検査を実施し、下記の器官・組織を摘出し、10%中性緩衝ホルマリン液にて保存した。固定液に浸した臓器は振盪器にて一晚以上振盪した後、可能な限り速やかに切り出しを行った。ただし、眼球はダビッドソン固定液にて3~5日間、精巣は改変ダビッドソン固定液にて1~3日間固定した後に切り出しを実施し、それぞれの残臓器を10%中性緩衝ホルマリン液に保存した。鼻腔を含む頭蓋、胸骨、大腿骨及び脊椎（頸部、胸部及び腰部横断）は、10%蟻酸及び10%中性緩衝ホルマリン混合液等で脱灰処理を行った。

心臓、脾臓、リンパ節（頸部、縦隔、腸間膜）、胸腺、下垂体、甲状腺（上皮小体を含む）、副腎、頭蓋（鼻腔を含む）、気管、肺（気管支を含む）、舌、唾液腺（顎下腺、舌下腺）、食道、胃（前胃、腺胃）、小腸（十二指腸、空腸、回腸）、大腸（盲腸、結腸、直腸）、肝臓、膵臓、腎臓、膀胱、精巣、精巣上部、前立腺、精嚢、卵巣、卵管、子宮、乳腺、膣、脳（大脳、小脳）、脊髄（頸部、胸部及び腰部）、三叉神経、坐骨神経、大動脈（胸部）、眼球、ハーダー腺、皮膚、胸骨及び大腿骨（骨髄を含む）、大腿部骨格筋、ジンバル腺、その他肉眼病変部

4.6.7.2 器官重量

全生存動物について、下記の器官の重量について電子天秤を用いて測定し、剖検日体重を用いて器官重量体重比を算出した。測定時、電子天秤は水平に保った。腎臓、副腎、精巣及び卵巣は左右別に測定した。

脳、胸腺、心臓、肺（気管支を含む）*、脾臓、肝臓、副腎、腎臓、精巣、卵巣（卵管を含まない）、下垂体**、甲状腺（上皮小体を含む）**、唾液腺（顎下腺及び舌下腺）**、精嚢**、前立腺**。

*：測定後 10%中性緩衝ホルマリン液を注入した。**：固定後測定した。

4.6.7.3 病理組織学的検査

雌雄の対照群及び高用量（5%）群の全生存動物については、採取した器官・組織（4.6.7.1 項参照）について常法に従い、パラフィン包埋、薄切、ヘマトキシリン・エオジン（HE）染色標本作製し、鏡検した。雄の低用量（0.8%）群の 2 例および中用量（2%）群の 2 例について、肉眼病変が認められた器官・組織について同様に HE 染色標本作製し、鏡検した。0.8 群・2%群の残りの個体については、採材した器官・組織について同様にパラフィン包埋まで実施した。

4.7 統計処理

試験期間中の体重、摂餌量、血液学的・血清生化学検査結果及び器官重量については各群の分散を Bartlett の方法で検定し、等分散の場合は Dunnett の方法、不等分散の場合は Steel の方法により対照群と各被験物質投与群との間で多重比較検定を行った。病理所見については、発生頻度を Fisher の正確確率検定、グレーディングを Mann-Whitney の U 検定により有意差検定を行った。 $P < 0.05$ の場合を統計学的に有意と判定した。

5 予見することができなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態および試験書に従わなかったこと

- 1) 第 4.6.1 項の一般状態観察において、祝日及び土日は記録を行わなかったが、XXXXXXXXXX に観察を依頼し、異常は報告されなかったため、試験結果に影響はないと判断した。
- 2) 投与 3 週目に、雌の 2%群の 1 ケージ（No.221, 222 飼育）においてケージ交換後に担当者が新しい給水ビンを差し忘れ、1~2 時間後に実験者が発見するまで一時的に絶水状態となった。ケージ内のラットに特に異常は認められず、絶水時間も短時間のため、試験結果に影響はないと判断した。

- 3) 第 4.6.4 項の尿検査において、雌雄各群動物番号順に 5 匹を用いて実施することとしていたが、雄の 0.8%群の 1 例 (No.114)、5%群の 1 例 (No.134) および雌の 0.8%群の 1 例 (No.212) について採尿量が不十分で検査ができなかったため、各個体と同じ群の別の 1 例ずつ (No.116、137、216) で採尿、検査を行った。当該群の尿検査は計画通り各群 5 例で実施されたため、試験結果には影響しないと判断した。
- 4) 剖検時の採血にて雌の対照群の 1 例 (No.201) について腹部大動脈からの採血に失敗したため、腹部大静脈から採血を行った。しかしながら、血液が凝固し、その影響と考えられる PLT 値の減少が認められたため、当該動物のデータは第 4.6.5 項の血液学的検査および第 4.6.6 項の血清生化学検査の結果から除外した。残りの個体で評価可能であったため、試験結果には影響しないと判断した。
- 5) 切り出し時に雌の 2%群の 1 例 (No.224) の心臓重量の記載が同群の他の個体と比較して 3 倍程度大きいことに気が付いた。ホルマリン固定組織を用いて再測定を行ったところ、他の個体と同程度の重量であった。該当組織は肉眼的にも異常は認められなかったため、再測定前のデータは誤記載であると判断し、再測定後のデータを採用した。重量の再測定は切り出し前に実施したため、試験結果には影響しないと判断した。
- 6) 第 4.6.7.3 項の病理組織学的検査において、雄の 0.8%群の 1 例 (No.114) の全身諸臓器にリンパ腫が認められたため、当該動物のデータは血液学的検査、血清生化学検査および器官重量の結果から除外した。残りの個体で評価可能であったため、試験結果には影響しないと判断した。
- 7) 第 4.6.7.3 項の病理組織学的検査において、雌の 5%群の 1 例の大動脈、雌の対照群の 1 例のジンバル腺が欠損していたが、他の個体で評価できていることから試験結果には影響しないと判断した。

6 試験結果

6.1 生存率及び一般状態

試験期間中、雌雄すべての群において死亡はみられなかった。一般状態観察において、投与 11 から 12 週目に雌の対照群の 1 例の頭部に脱毛が認められた。また、紅涙が投与 3 週目の雄の 0.8%群の 1 例および投与 10 週目の雌の 2%群の 1 例に認められた。

6.2 体重

体重測定の結果を Figure 1 に示す。試験期間中、雌雄ともに被験物質投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。

6.3 摂餌量

試験期間中の各群における 1 匹の 1 日あたりの平均摂餌量及び L-ラムノース摂取量を Table 1 に、13 週間の平均摂餌量の推移の結果を Figure 2 (雄) および 3 (雌) に示す。L-ラムノースの摂取量は雌雄ともに用量相関性を示した。試験期間中、給餌器から餌をこぼす行動が雌雄の対照群

および被験物質投与群において試験期間を通して散見されたが、雌雄ともに摂餌量に被験物質投与群と対照群との間に明らかな差は認められなかった。

6.4 尿検査

尿検査結果を Table 2 に示す。全ての検査項目において、被験物質投与群と対照群との間に明らかな差は認められなかった。

6.5 血液学的検査

血液学的検査結果を Table 3 に示す。雄の 0.8%群において好酸球（百分比）の有意な増加が認められた。また、雌の 5%群で MCV の有意な増加が認められた。

6.6 血清生化学検査

血清生化学検査結果を Table 4 に示す。雌雄ともに被験物質投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。

6.7 病理学的検査

6.7.1 器官重量

剖検時の最終体重及び器官重量を Table 5 に示す。雌雄ともに被験物質投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。

6.7.2 病理組織学的検査

剖検時に実施した肉眼的検査において、雄の 0.8%群の 1 例に肝臓、脾臓および脾門リンパ節の大型化ならびに胸部皮下から唾液腺にかけて暗赤色巣が認められた。雄の 0.8%群の別の 1 例において小腸に憩室が認められた。雄の 2%群の 1 例において精囊の小型化が認められた。雌対照群の 1 例において皮下腫瘍が認められた。切り出し時に、雄の 2%群の 1 例において両側の腎臓に腎盂の拡張が認められた。

病理組織学的検索結果を Table 6 に示す。肉眼的検査において雄の 0.8%群にみられた肝臓、脾臓および脾門リンパ節の大型化に一致してリンパ腫の転移が認められ、暗赤色巣に一致して出血が認められた。雄の 0.8%群において肉眼的にみられた小腸の憩室は、病理組織学的検査においても憩室であることが確認された。雄の 2%群に肉眼的に精囊の小型化がみられたが、病理組織学的検査では異常は認められなかった。雌の対照群で肉眼的にみられた皮下腫瘍に一致して乳腺腺癌が認められた。雄の 2%群に肉眼的にみられた腎臓の腎盂拡張に一致して水腎症が認められた。その他、ラットで自然発生性変化として知られる所見が雌雄の対照群および 5%群で散見された。

7 考察及び結論

一般状態観察において脱毛および紅涙がみられたが、これらは対照群、低用量群あるいは中用量群において一過性にみられた変化であるため、被験物質投与の影響ではないと考えられた。

血液学的検査では、雌の 5%群に MCV の増加が認められたが、他の赤血球パラメータの変化を伴わないことから、毒性学的意義は乏しいと判断した。また雄の 0.8%群に好酸球（百分比）の増加が認められたが、低用量群のみの変化であるため被験物質投与の影響ではないと考えられた。

肉眼的検査においてみられた種々の所見およびそれらに伴う病理組織学的変化はいずれも対照群、低用量あるいは中用量群にのみ認められた変化であるため、被験物質投与の影響ではないと考えられた。また病理組織学的検査においてラットの自然発生性変化が散見されたが、対照群と被験物質投与群の間にそれらの変化の発生頻度および程度に明らかな差はなかったため、毒性学的意義は乏しいと判断した。

以上より、雌雄の Crl:CD(SD)ラットに 0.8%、2%および 5%の用量で L-ラムノースを 91 日間混餌投与した結果、全ての検査項目で被験物質投与による毒性影響は認められなかった。したがって、本試験条件下における L-ラムノースの無毒性量は、雌雄ともに 5%（雄：2.51 g/kg BW/day、雌：3.11 g/kg BW/day）と判断した。

8 参考文献

1. 令和 4 年度 既存添加物の安全性に関する試験 ラットを用いた L-ラムノースの 90 日間反復経口投与毒性試験のための 28 日間用量設定試験 (XXXXXXXXXX、試験番号：XXXXXXXXXX)

Table 1. Food consumption and intake of L-rhamnose monohydrate for 13 weeks.

Dose of L-rhamnose monohydrate (%)	No. of animals examined	Food consumption (g/rat/day)	Mean daily intake of L-rhamnose monohydrate (g/kg BW/day)	Total intake of L-rhamnose monohydrate (g/kg BW)
<i>Males</i>				
0	10	22.9(53.2) ^a	0.00	0.0
0.8	10	22.8(52.2)	0.42	38.0
2	10	24.5(56.7)	1.13	103.1
5	10	21.8(50.2)	2.51	228.3
<i>Females</i>				
0	10	15.9(67.0) ^a	0.00	0.0
0.8	10	14.8(62.4)	0.50	45.5
2	10	15.3(65.3)	1.31	118.8
5	10	14.8(62.1)	3.11	282.6

^a: Values in parentheses are for food consumption calculated as g/kg BW/day.

Abbreviations: BW; body weight.

Table 2. Urinalysis data for SD rats treated with L-rhamnose monohydrate at week 13.

Dose		L-rhamnose monohydrate			
		0%	0.8%	2%	5%
No. of animals examined		5	5	5	5
<i>Males</i>					
Protein	-	0	0	0	0
	±	1	0	1	1
	1+	4	1	3	3
	2+	0	4	1	1
Glucose	-	5	5	5	5
	±	0	0	0	0
	1+	0	0	0	0
	2+	0	0	0	0
Occult blood	-	4	5	4	5
	± (Hemolysis)	1	0	1	0
	1+	0	0	0	0
	2+	0	0	0	0
	1+ (Non hemolysis)	0	0	0	0
Ketone body	-	5	0	3	4
	±	0	4	1	0
	1+	0	1	1	1
Urobilinogen	NORMAL	5	5	4	4
	1+	0	0	1	1
	2+	0	0	0	0
Bilirubin	-	5	5	5	5
	1+	0	0	0	0
	2+	0	0	0	0
pH	6.5	1	0	0	1
	7.0	0	1	1	1
	7.5	1	0	1	2
	8.0	3	3	3	1
	8.5	0	1	0	0
<hr/>					
<i>Females</i>					
Protein	-	1	2	2	0
	±	2	1	0	4
	1+	1	2	3	0
	2+	1	0	0	1
Glucose	-	5	5	5	5
	±	0	0	0	0
	1+	0	0	0	0
	2+	0	0	0	0
Occult blood	-	5	5	5	5
	± (Hemolysis)	0	0	0	0
	1+	0	0	0	0
	2+	0	0	0	0
	1+ (Non hemolysis)	0	0	0	0
Ketone body	-	4	5	3	4
	±	0	0	2	0
	1+	1	0	0	1
Urobilinogen	NORMAL	4	5	5	4
	1+	1	0	0	1
	2+	0	0	0	0
Bilirubin	-	5	5	5	5
	1+	0	0	0	0
	2+	0	0	0	0
pH	6.0	2	0	0	0
	6.5	0	1	0	3
	7.0	0	0	2	0
	7.5	2	0	3	2
	8.0	1	3	0	0
	8.5	0	1	0	0

Table 3. Hematology data for SD rats treated with L-rhamnose monohydrate for 13 weeks.

Dose	L-rhamnose monohydrate			
	0%	0.8%	2%	5%
Males				
No. of animals examined	10	9 ^a	10	10
WBC ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	5.23 \pm 0.80	4.93 \pm 1.44	4.61 \pm 0.95	4.76 \pm 1.16
RBC ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	8.6 \pm 0.4	8.4 \pm 0.4	8.5 \pm 0.3	8.6 \pm 0.2
HGB (g/dL)	14.9 \pm 0.5	14.8 \pm 0.5	14.8 \pm 0.5	14.8 \pm 0.3
HCT (%)	43.8 \pm 1.8	43.7 \pm 1.5	43.4 \pm 1.5	43.6 \pm 1.4
MCV (fL)	51.0 \pm 1.2	52.3 \pm 1.5	51.2 \pm 1.5	50.9 \pm 1.3
MCH (pg)	17.3 \pm 0.4	17.7 \pm 0.5	17.5 \pm 0.5	17.2 \pm 0.5
MCHC (g/dL)	33.9 \pm 0.4	33.9 \pm 0.3	34.2 \pm 0.4	33.9 \pm 0.6
PLT ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	941.4 \pm 116.7	933.9 \pm 88.0	894.0 \pm 150.0	979.3 \pm 103.2
RET (%)	2.4 \pm 0.3	2.5 \pm 0.3	2.4 \pm 0.1	2.5 \pm 0.3
($\times 10^3/\mu\text{L}$)	205.3 \pm 23.6	206.2 \pm 18.0	200.9 \pm 9.8	217.0 \pm 29.8
Differential leukocyte counts				
Neutrophil (%)	19.2 \pm 7.0	20.0 \pm 5.8	21.6 \pm 6.1	18.6 \pm 4.3
($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0.99 \pm 0.34	0.98 \pm 0.37	1.00 \pm 0.35	0.88 \pm 0.29
Eosinophil (%)	1.5 \pm 0.5	2.3 \pm 0.7*	2.1 \pm 0.6	1.7 \pm 0.4
($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0.08 \pm 0.03	0.12 \pm 0.05	0.10 \pm 0.04	0.08 \pm 0.03
Basophil (%)	0.3 \pm 0.4	0.3 \pm 0.3	0.2 \pm 0.1	0.2 \pm 0.2
($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0.02 \pm 0.02	0.01 \pm 0.01	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.01
Lymphocyte (%)	72.7 \pm 7.9	69.9 \pm 6.6	68.4 \pm 7.4	72.7 \pm 6.1
($\times 10^3/\mu\text{L}$)	3.81 \pm 0.73	3.45 \pm 1.05	3.15 \pm 0.73	3.46 \pm 0.93
Monocyte (%)	6.3 \pm 2.3	7.5 \pm 2.0	7.8 \pm 2.0	6.8 \pm 2.2
($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0.33 \pm 0.14	0.37 \pm 0.16	0.36 \pm 0.10	0.32 \pm 0.12
Females				
No. of animals examined	9 ^b	10	10	10
WBC ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	3.82 \pm 1.17	4.26 \pm 1.15	4.01 \pm 1.01	4.96 \pm 1.80
RBC ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	7.9 \pm 0.4	8.0 \pm 0.5	8.0 \pm 0.4	7.8 \pm 0.2
HGB (g/dL)	14.2 \pm 0.8	14.4 \pm 0.6	14.5 \pm 0.6	14.5 \pm 0.4
HCT (%)	41.2 \pm 2.7	42.2 \pm 2.1	42.3 \pm 2.0	42.5 \pm 1.3
MCV (fL)	51.9 \pm 2.3	53.0 \pm 2.0	53.1 \pm 1.7	54.2 \pm 2.1*
MCH (pg)	17.9 \pm 0.6	18.1 \pm 0.8	18.3 \pm 0.4	18.5 \pm 0.7
MCHC (g/dL)	34.6 \pm 0.6	34.3 \pm 0.4	34.3 \pm 0.4	34.2 \pm 0.5
PLT ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	979.4 \pm 102.6	917.4 \pm 108.9	945.5 \pm 155.5	941.8 \pm 118.2
RET (%)	2.4 \pm 0.4	2.3 \pm 0.7	2.2 \pm 0.4	2.9 \pm 0.5
($\times 10^3/\mu\text{L}$)	189.5 \pm 31.3	185.4 \pm 51.2	173.6 \pm 31.5	229.2 \pm 44.1
Differential leukocyte counts				
Neutrophil (%)	14.7 \pm 5.6	14.1 \pm 4.1	13.3 \pm 5.1	13.2 \pm 3.4
($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0.61 \pm 0.43	0.59 \pm 0.22	0.51 \pm 0.17	0.63 \pm 0.19
Eosinophil (%)	1.8 \pm 0.6	1.7 \pm 0.7	2.1 \pm 1.1	1.4 \pm 0.4
($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0.07 \pm 0.03	0.07 \pm 0.04	0.08 \pm 0.03	0.07 \pm 0.02
Basophil (%)	0.2 \pm 0.2	0.2 \pm 0.2	0.3 \pm 0.3	0.2 \pm 0.2
($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0.01 \pm 0.01	0.01 \pm 0.01	0.01 \pm 0.01	0.01 \pm 0.01
Lymphocyte (%)	77.4 \pm 5.6	78.9 \pm 5.6	78.5 \pm 6.7	80.5 \pm 3.1
($\times 10^3/\mu\text{L}$)	2.91 \pm 0.69	3.37 \pm 0.99	3.19 \pm 0.92	4.02 \pm 1.52
Monocyte (%)	5.9 \pm 2.0	5.1 \pm 2.0	5.9 \pm 1.3	4.7 \pm 1.6
($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0.23 \pm 0.10	0.23 \pm 0.13	0.23 \pm 0.08	0.24 \pm 0.13

Values are means \pm SDs. *; Significantly different from the controls at $P < 0.05$, respectively (Dunnett's test).

a,b: The numbers of effective animals were reduced to nine due to incidental lymphoma (a) or insufficient blood sampling (b).

Table 4. Serum biochemistry data for SD rats treated with L-rhamnose monohydrate for 13 weeks.

Dose	L-rhamnose monohydrate			
	0%	0.8%	2%	5%
Males				
No. of animals examined	10	9 ^a	10	10
TP (g/dL)	6.14 ± 0.21	5.98 ± 0.23	5.96 ± 0.21	6.13 ± 0.26
A/G	2.29 ± 0.20	2.31 ± 0.08	2.44 ± 0.42	2.23 ± 0.26
ALB (g/dL)	4.26 ± 0.16	4.17 ± 0.16	4.19 ± 0.21	4.20 ± 0.18
T-BIL (mg/dL)	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.05 ± 0.01
GLU (mg/dL)	115.3 ± 19.9	114.3 ± 15.4	113.4 ± 13.3	119.7 ± 19.2
TG (mg/dL)	60.9 ± 22.4	47.9 ± 11.0	51.2 ± 21.8	44.5 ± 21.6
T-CHO (mg/dL)	60.6 ± 12.5	51.7 ± 10.0	52.1 ± 9.7	54.4 ± 9.9
BUN (mg/dL)	16.0 ± 1.7	16.5 ± 1.8	16.1 ± 1.0	16.3 ± 2.1
CRE (mg/dL)	0.34 ± 0.02	0.34 ± 0.02	0.33 ± 0.02	0.34 ± 0.03
Na (mEQ/L)	141.4 ± 2.2	140.7 ± 1.1	140.4 ± 1.8	139.8 ± 1.0
Cl (mEQ/L)	105.1 ± 2.2	105.9 ± 1.8	105.5 ± 2.0	105.5 ± 1.1
K (mEQ/L)	4.88 ± 0.32	4.66 ± 0.21	4.68 ± 0.21	4.67 ± 0.19
Ca (mg/dL)	9.71 ± 0.32	9.74 ± 0.27	9.85 ± 0.48	9.94 ± 0.38
IP (mg/dL)	5.89 ± 0.75	6.12 ± 0.72	5.98 ± 0.93	6.01 ± 0.76
AST (IU/L)	103.0 ± 21.8	105.6 ± 17.3	114.1 ± 19.3	94.0 ± 17.9
ALT (IU/L)	31.6 ± 4.1	36.2 ± 9.0	38.8 ± 9.1	33.9 ± 7.6
ALP (IU/L)	260.2 ± 46.4	241.2 ± 32.8	256.7 ± 43.9	283.0 ± 70.2
γ-GTP (IU/L)	<3	<3	3 ± 0 ^c	<3
Females				
No. of animals examined	9 ^b	10	10	10
TP (g/dL)	6.47 ± 0.37	6.53 ± 0.21	6.59 ± 0.26	6.50 ± 0.44
A/G	3.07 ± 0.41	3.31 ± 0.34	3.20 ± 0.39	3.18 ± 0.55
ALB (g/dL)	4.86 ± 0.25	5.00 ± 0.23	5.01 ± 0.27	4.93 ± 0.49
T-BIL (mg/dL)	0.07 ± 0.01	0.09 ± 0.03	0.08 ± 0.02	0.09 ± 0.02
GLU (mg/dL)	97.0 ± 15.8	98.1 ± 11.6	103.8 ± 28.6	106.0 ± 19.0
TG (mg/dL)	20.7 ± 7.6	25.3 ± 7.0	27.7 ± 9.6	29.1 ± 11.2
T-CHO (mg/dL)	59.3 ± 15.9	65.9 ± 15.2	68.8 ± 12.6	64.8 ± 10.3
BUN (mg/dL)	15.6 ± 2.6	14.9 ± 2.3	16.9 ± 2.3	15.2 ± 1.7
CRE (mg/dL)	0.40 ± 0.03	0.37 ± 0.03	0.39 ± 0.05	0.39 ± 0.04
Na (mEQ/L)	139.3 ± 1.2	140.0 ± 1.5	139.8 ± 1.9	139.4 ± 0.5
Cl (mEQ/L)	107.6 ± 1.7	107.4 ± 1.8	107.4 ± 1.6	107.1 ± 1.6
K (mEQ/L)	4.62 ± 0.26	4.39 ± 0.18	4.37 ± 0.33	4.41 ± 0.24
Ca (mg/dL)	10.03 ± 0.24	10.01 ± 0.22	10.14 ± 0.32	10.14 ± 0.37
IP (mg/dL)	5.59 ± 0.69	5.69 ± 0.84	5.87 ± 0.32	5.97 ± 0.39
AST (IU/L)	93.1 ± 8.8	89.7 ± 8.7	102.4 ± 32.3	120.4 ± 37.9
ALT (IU/L)	22.1 ± 4.9	27.3 ± 9.5	32.1 ± 15.9	37.1 ± 19.5
ALP (IU/L)	152.4 ± 32.7	138.6 ± 23.2	137.1 ± 22.7	145.7 ± 52.2
γ-GTP (IU/L)	<3	<3	<3	<3

Values are means ± SDs.

a,b:The numbers of effective animals were reduced to nine due to incidental lymphoma (a) or insufficient blood sampling (b).

c:The mean value was calculated by counting the value above detection limit as 3.0. The number of animals which showed the value below detection limit was 9.

Table 5. Final body weight and organ weight data for SD rats treated with L-rhamnose monohydrate for 13 weeks.

Dose	L-rhamnose monohydrate			
	0%	0.8%	2%	5%
Males				
No. of animals examined	10	9 ^a	10	10
Body weight (g)	542.2 ± 50.6	541.2 ± 40.1	538.0 ± 43.5	535.1 ± 46.0
Brain (g)	2.16 ± 0.11	2.20 ± 0.07	2.18 ± 0.13	2.16 ± 0.09
(g/100gBW)	0.40 ± 0.04	0.41 ± 0.03	0.41 ± 0.03	0.41 ± 0.03
Thymus (g)	0.33 ± 0.10	0.31 ± 0.04	0.28 ± 0.05	0.27 ± 0.08
(g/100gBW)	0.06 ± 0.02	0.06 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.05 ± 0.01
Heart (g)	1.61 ± 0.14	1.54 ± 0.14	1.60 ± 0.12	1.57 ± 0.11
(g/100gBW)	0.30 ± 0.02	0.28 ± 0.02	0.30 ± 0.03	0.30 ± 0.03
Lungs (g)	1.47 ± 0.11	1.59 ± 0.32	1.47 ± 0.12	1.52 ± 0.14
(g/100gBW)	0.27 ± 0.02	0.30 ± 0.07	0.27 ± 0.02	0.28 ± 0.03
Spleen (g)	0.75 ± 0.11	0.77 ± 0.09	0.76 ± 0.06	0.71 ± 0.09
(g/100gBW)	0.14 ± 0.02	0.14 ± 0.02	0.14 ± 0.02	0.13 ± 0.01
Liver (g)	13.07 ± 1.97	12.61 ± 1.01	12.46 ± 1.41	12.73 ± 2.08
(g/100gBW)	2.40 ± 0.18	2.33 ± 0.08	2.31 ± 0.11	2.37 ± 0.20
Adrenals (g)	0.054 ± 0.008	0.052 ± 0.009	0.052 ± 0.013	0.048 ± 0.008
(mg/100gBW)	10.0 ± 1.2	9.7 ± 1.5	9.6 ± 2.0	8.9 ± 1.5
Kidneys (g)	3.24 ± 0.35	3.28 ± 0.25	3.31 ± 0.18	3.24 ± 0.27
(g/100gBW)	0.60 ± 0.05	0.61 ± 0.05	0.62 ± 0.04	0.61 ± 0.03
Testes (g)	3.44 ± 0.16	3.51 ± 0.30	3.37 ± 0.24	3.25 ± 0.19
(g/100gBW)	0.64 ± 0.06	0.65 ± 0.07	0.63 ± 0.09	0.61 ± 0.07
Pituitary (g)	0.015 ± 0.001	0.015 ± 0.002	0.014 ± 0.001	0.014 ± 0.001
(mg/100gBW)	2.69 ± 0.25	2.75 ± 0.46	2.62 ± 0.23	2.66 ± 0.21
Thyroid (g)	0.026 ± 0.003	0.027 ± 0.004	0.027 ± 0.004	0.027 ± 0.002
(mg/100gBW)	4.92 ± 0.79	5.07 ± 0.76	5.01 ± 0.57	5.07 ± 0.68
Salivary gland (g)	0.90 ± 0.07	0.94 ± 0.12	0.92 ± 0.08	0.86 ± 0.07
(g/100gBW)	0.17 ± 0.01	0.17 ± 0.02	0.17 ± 0.02	0.16 ± 0.02
Seminal vesicle (g)	1.93 ± 0.21	1.89 ± 0.33	1.84 ± 0.26	1.90 ± 0.28
(g/100gBW)	0.36 ± 0.04	0.35 ± 0.06	0.34 ± 0.06	0.35 ± 0.03
Prostate (g)	1.37 ± 0.15	1.39 ± 0.21	1.40 ± 0.25	1.32 ± 0.18
(g/100gBW)	0.25 ± 0.02	0.26 ± 0.04	0.26 ± 0.03	0.25 ± 0.03
Females				
No. of animals examined	10	10	10	10
Body weight (g)	276.7 ± 32.8	275.4 ± 34.2	269.6 ± 25.4	273.3 ± 22.9
Brain (g)	1.93 ± 0.14	1.95 ± 0.07	1.93 ± 0.06	1.90 ± 0.07
(g/100gBW)	0.70 ± 0.08	0.71 ± 0.07	0.72 ± 0.07	0.70 ± 0.06
Thymus (g)	0.26 ± 0.05	0.28 ± 0.04	0.26 ± 0.07	0.28 ± 0.06
(g/100gBW)	0.09 ± 0.02	0.10 ± 0.02	0.10 ± 0.02	0.10 ± 0.02
Heart (g)	0.85 ± 0.07	0.87 ± 0.09	0.87 ± 0.09	0.86 ± 0.10
(g/100gBW)	0.31 ± 0.02	0.32 ± 0.03	0.32 ± 0.02	0.32 ± 0.03
Lungs (g)	1.06 ± 0.06	1.09 ± 0.11	1.08 ± 0.09	1.06 ± 0.08
(g/100gBW)	0.39 ± 0.05	0.40 ± 0.04	0.40 ± 0.03	0.39 ± 0.04
Spleen (g)	0.47 ± 0.06	0.51 ± 0.09	0.45 ± 0.02	0.49 ± 0.07
(g/100gBW)	0.17 ± 0.02	0.19 ± 0.03	0.17 ± 0.01	0.18 ± 0.03
Liver (g)	6.30 ± 0.75	6.15 ± 0.69	6.24 ± 0.71	6.51 ± 0.72
(g/100gBW)	2.28 ± 0.16	2.24 ± 0.13	2.31 ± 0.10	2.38 ± 0.18
Adrenals (g)	0.057 ± 0.005	0.059 ± 0.011	0.057 ± 0.008	0.062 ± 0.008
(mg/100gBW)	20.9 ± 2.8	21.3 ± 3.1	21.1 ± 3.1	23.0 ± 3.6
Kidneys (g)	1.76 ± 0.18	1.83 ± 0.20	1.79 ± 0.20	1.73 ± 0.12
(g/100gBW)	0.64 ± 0.06	0.67 ± 0.06	0.67 ± 0.06	0.64 ± 0.05
Ovaries (g)	0.080 ± 0.010	0.082 ± 0.025	0.069 ± 0.012	0.071 ± 0.014
(mg/100gBW)	29.3 ± 5.8	29.6 ± 7.6	25.6 ± 3.7	26.1 ± 4.7
Pituitary (g)	0.018 ± 0.003	0.018 ± 0.002	0.019 ± 0.002	0.018 ± 0.002
(mg/100gBW)	6.65 ± 0.84	6.42 ± 0.81	7.02 ± 0.82	6.59 ± 0.75
Thyroid (g)	0.022 ± 0.003	0.022 ± 0.003	0.021 ± 0.005	0.020 ± 0.003
(mg/100gBW)	7.92 ± 0.80	7.91 ± 1.09	7.84 ± 1.64	7.47 ± 0.91
Salivary gland (g)	0.55 ± 0.04	0.56 ± 0.07	0.55 ± 0.07	0.53 ± 0.04
(g/100gBW)	0.20 ± 0.02	0.20 ± 0.02	0.20 ± 0.02	0.20 ± 0.02

Values are means ± SDs.

Pituitary,Thyroid,Salivary gland,Seminal vesicle,Prostate : to measure organ weight after formalin fixed.

a.The numbers of effective animals was reduced to nine due to incidental lymphoma.

Table 6. Histopathological findings for SD rats treated with L-rhamnose monohydrate for 13 weeks.

		Male				Female	
L-Rhamnose (%)		0	0.8	2	5	0	5
No. of animals examined		10	-	-	10	10	10
Organs	Findings						
Liver	Metastasis, lymphoma	P	-	1 (1)	N	-	-
Spleen	Metastasis, lymphoma	P	-	1 (1)	N	-	-
Pancreas	Metastasis, lymphoma, lymph node	P	-	1 (1)	N	-	-
	Atrophy, acinar cell	±	-	- (1)	N	-	1
Lung	Metastasis, lymphoma	P	-	1 (1)	N	-	-
	Aggregation, macrophage, alveoli	±	3	- (1)	N	-	2
Submaxillary gland	Hemorrhage	+++	-	1 (1)	N	-	-
Sublingual gland	Hemorrhage	+++	-	1 (1)	N	-	-
Kidney	Hydronephrosis	P	-	N	1 (1)	-	-
	Basophilia, tubule	±	2	N	- (1)	3	-
	Cyst	P	-	N	- (1)	-	1
Small intestine	Diverticulum	P	-	1 (1)	N	-	-
Mammary gland	Adenocarcinoma, mammary gland	P	-	N	N	-	1
Prostate	Infiltrate, inflammatory cell, lymphocytic	±	1	N	N	2	N
Pituitary	Aberrant craniopharyngeal structures	±	-	N	N	-	1
Thyroid	Ultimobranchial cyst	P	2	N	N	1	4
	Ectopic tissue, thymus	P	-	N	N	1	-
Eye	Atrophy, retina, focal, bilateral	±	-	N	N	1	4
		+	-	N	N	-	1

-: No abnormalities detected, ±: Minimal, +: Mild, ++: Moderate, +++: Marked, ++++: Severe, P: Present, N: Not examined
 Numbers in parenthesis are for animals examined.

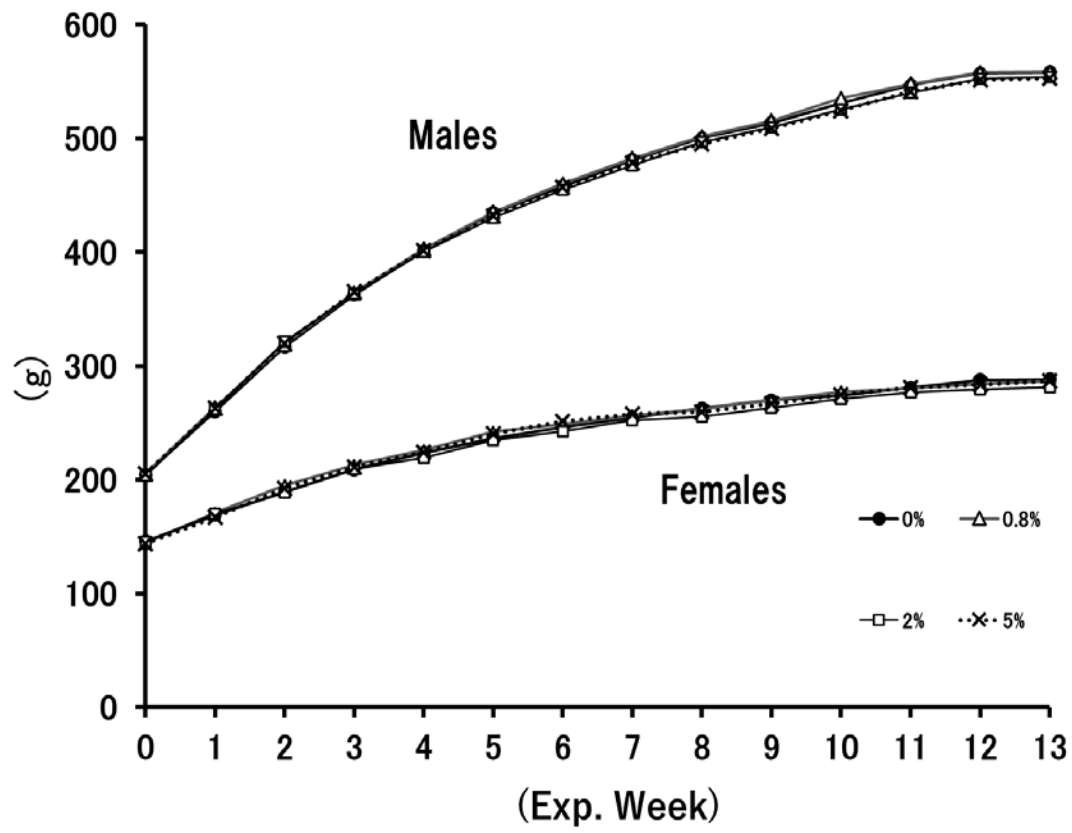


Fig. 1. Body weight curves for male and female SD rats treated with L-rhamnose monohydrate for 13 weeks.