



平成 15 年度

既存添加物の安全性に関する試験

(90 日間反復投与毒性試験)

アマシードガムのラットを用いる  
90 日間反復経口投与毒性試験

国立医薬品食品衛生研究所 委託

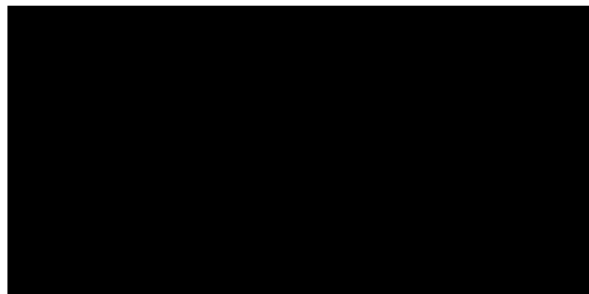




表 題 アマシードガムのラットを用いる 90 日間反復経口投与  
毒性試験

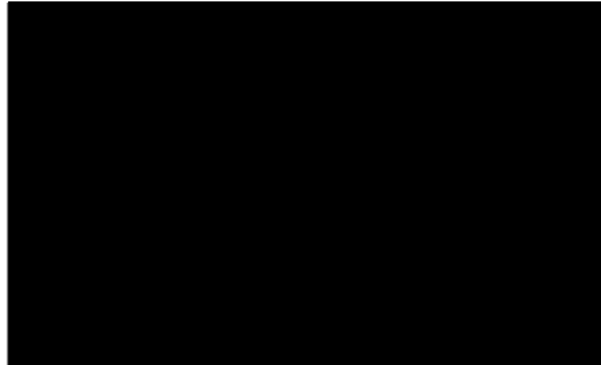
試験委託者 国立医薬品食品衛生研究所  
東京都世田谷区上用賀 1-18-1

被験物質名 アマシードガム

試験項目 ラットを用いる 90 日間反復投与毒性試験

試験実施施設

請負契約者



# アマシードガムのラットにおける 90 日間反復経口投与毒性試験

試験責任者

## 要旨

既存添加物であるアマシードガムの90日間反復経口投与毒性試験を6週齢の雌雄各群10匹のF344/DuCrjラットを用いて行った。投与量は1,000 mg/kg/dayを高用量とし、300及び100 mg/kg/dayの3用量のほか、コーン油を投与する媒体対照群を設けた。今回の試験において死亡はみられず、一般状態、摂餌量、眼科学的検査、血液学的検査、血液化学的検査、尿検査、器官重量、剖検及び病理組織学的検査に、被験物質投与による毒性影響は認められなかった。体重においては、1,000 mg/kg群の雌雄でday 22以降に低値傾向あるいは低値を示し、投与期間の後半にかけて軽度な体重増加抑制がみられた。以上の結果から、今回の試験条件下におけるアマシードガムの90日間反復経口投与毒性試験でのNOAELは、1,000 mg/kg群の雌雄で体重増加抑制が認められたことから、300 mg/kg/dayと推察された。

## A. 目的

既存添加物、アマシードガムのラットを用いる90日間経口投与毒性試験を行い、安全性評価の資料を得ることを目的とした。

淡褐色粉末

分析試験<sup>(注)</sup>

窒素	0.3%
重金属	限度内
鉛	限度内
ヒ素	限度内

## B. 方法

### 1 被験物質

#### 1.1 名称

アマシードガム

灰分	5.2%
一般生菌数	$6.6 \times 10^3/g$
大腸菌群	陰性
乾燥減量	9.77%

#### 1.2 ロット番号

<sup>(注)</sup>食品、添加物等の規格基準(昭和34年厚生省告示第370号)の第2添加物に記載の各試験法に準じた。

#### 1.3 提供者

日本食品添加物協会

#### 1.5 保管条件

#### 1.4 物理化学的性状

室温暗所

で保管した。

### 1.6 取扱上の注意

手袋，マスク，帽子及び白衣を着用した。

### 2 使用動物

日本チャールス・リバー株式会社(厚木飼育センター，〒243-0214 神奈川県厚木市下古沢 795)で生産された F344/DuCrj ラット(SPF)を雌雄各 45 匹購入し，6 日間検疫・馴化した。また，検疫・馴化終了後に眼科学的検査を実施し，眼科学的検査で異常がなく，一般状態が良好で順調に発育した動物を体重層別無作為抽出法で各群の平均体重がほぼ等しくなるように群分けした。なお，投与に供しない動物は試験から除外した。投与開始時の動物の週齢は 6 週齢で，体重範囲は雄が 121.9-135.2 g，雌が 102.0-114.5 g であった。動物は耳鋏を用いて識別した。

### 3 飼育環境

動物は，検疫・馴化期間中を含む全飼育期間を通して，温度 21-25℃，相対湿度 40-70%，換気回数 10-15 回/時間，明暗サイクル 12 時間間隔(7 時点灯-19 時消灯)に設定したバリアーシステムの飼育室で飼育した。温度及び相対湿度の実測値はそれぞれ 22.4-23.8℃及び 50.8-59.7%であった。

群分け前は，ステンレス製金網床ケージ(260W×380D×180H mm，トキワ科学器械株式会社)に 5 匹/ケージ，群分け後は，ステンレス製金網床ケージ(165W

×300D×150H mm，トキワ科学器械株式会社)に個別飼育した。トレイは，群分け前は週に 1 回，群分け後は週に 2 回，給餌器，ケージ及びラックは，群分け時に 1 回，以後，4 週に 1 回交換した。また，投与期間終了後解剖日の動物搬出時にトレイ，ケージ及びラックを交換した。なお，ラック及びケージにはラベルをつけて識別した。

飼料は固型飼料(CRF-1，ロット番号 [REDACTED] オリエンタル酵母工業株式会社)を，また，飲料水は [REDACTED] (塩素添加水)を自動給水装置により自由に摂取させた。飼料及び飼育用器材は，オートクレーブ滅菌(121℃，30 分間)したものを使用した。飼料は，財団法人 日本食品分析センターで分析したデータを製造元から入手し，その項目が米国環境保護庁有害物質規制法の基準値内であることを確認できたものを使用した。また，飲料水の混入物については，当機構 [REDACTED] において年に 2 回実施し，その内 1 回は厚生省令第 69 号(平成 5 年 12 月 1 日施行)に記載されている水質基準の全 46 項目，残りの 1 回はその一部の 32 項目を検査し，そのデータが基準値内であることを確認している。

検疫・馴化期間中を含む全飼育期間を通して，これらの飼育環境要因に，試験の結果に影響を及ぼすと考えられる変動は認められなかった。

#### 4 群構成

群構成は次表のように設定した。

試験群	投与量 (mg/kg/day)	投与容量 (mL/kg)	投与濃度 (w/v%)	動物数	
				雄(動物番号)	雌(動物番号)
媒体対照群	0	5	0	10 ( 1 - 10 )	10 ( 41 - 50 )
低用量群	100	5	2.0	10 ( 11 - 20 )	10 ( 51 - 60 )
中用量群	300	5	6.0	10 ( 21 - 30 )	10 ( 61 - 70 )
高用量群	1,000	5	20.0	10 ( 31 - 40 )	10 ( 71 - 80 )

投与用量設定理由:当機構において14日間反復経口投与毒性試験( )を100,300及び1,000 mg/kg/dayの3用量で行った。その結果,1,000 mg/kg群においても被験物質投与によると考えられる影響は認められなかった。したがって,本試験の用量は,高用量を1,000 mg/kg/dayとし,以下,公比約3で減じた300及び100 mg/kg/dayの3用量を設定した。

#### 5 被験物質調製

##### 5.1 媒体

試験委託者からの指示により,コーン油(ロット番号 )株式会社 ナカライテスク)を用いた。

##### 5.2 調製法

用量毎に被験物質を正確に秤量し,コーン油を加えて攪拌懸濁し,2.0,6.0及び20.0 w/v%液を調製した。被験物質の調製は用時に行った。

#### 6 投与

ネラトンカテーテル(テルモ株式会社)を接続した注射筒(テルモ株式会社)を用いて,毎日午前中に,90日間反復して強制経口投与を行った。

なお,投与経路については,「食品添加物の指定及び使用基準改正に関する指針」に拠ったが,飼料(飲水)中の被験物質の分析が困難であるため,強制経口投与とした。

#### 7 観察・検査

日及び週の起算法は,投与開始日をday 1,投与開始前日をday -1,投与開始週をweek 1とした。

##### 7.1 一般状態

全例について,投与期間中(day 1からday 90)は毎日,投与前,投与中-投与後,午後の3回観察した。

なお,発現した症状を用量群ごとの発現例数とした。

##### 7.2 体重測定

投与前はday -2(群分け時),投与期間中はday 1,8,15,22,29,36,43,50,57,64,71,78,85,90に測定した。

なお,器官の相対重量を算出するために投与期間終了時の搬出時(絶食状態)にも測定した。

### 7.3 摂餌量測定

投与前は1回，投与期間中は day 2, 9, 16, 23, 30, 37, 44, 51, 58, 65, 72, 79, 86, 90 に測定した。

### 7.4 眼科学的検査

各群の動物番号順の5匹について，投与期間最終週(week 13)にスリットランプ(SL-5, 興和株式会社)及び眼底カメラ(RC-2, 興和株式会社)を用いて，前眼部，中間透光体，眼底の検査を行った。検査にはトロピカミド 0.5%及び塩酸フェニレフリン 0.5%点眼液(ミドリン®P, 製造番号 ████████, 参天製薬株式会社)を散瞳剤として用いた。また，検査・

馴化終了後には入荷動物の全例について検査を実施した。

### 7.5 血液学的検査

投与期間終了日(day 90)に1晩絶食(16-20時間)の後，エーテル麻酔下で腹部大動脈から採血して得られた血液あるいは血漿について，次表の項目の測定を行った。

抗凝固剤として，プロトロンビン時間及び活性化部分トロンボプラスチン時間の測定には3.2%クエン酸ナトリウム水溶液を用い，その他の測定にはEDTA-2Kを用いた。

項 目	方 法
1) 赤血球数(RBC)( $\times 10^4/\mu\text{L}$ )	暗視野板法
2) 白血球数(WBC)( $\times 10^2/\mu\text{L}$ )	フローサイトメトリー法
3) ヘモグロビン濃度(Hb)(g/dL)	シアンメトヘモグロビン法
4) ヘマトクリット値(Ht)(%)	$\frac{\text{RBC} \times \text{MCV}}{10^3}$
5) 平均赤血球容積(MCV)(fL)	暗視野板法
6) 平均赤血球ヘモグロビン量(MCH)(pg)	$\frac{\text{Hb}}{\text{RBC}} \times 10^3$
7) 平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)(g/dL)	$\frac{\text{Hb}}{(\text{RBC} \times \text{MCV})} \times 10^5$
8) 血小板数(Platelet)( $\times 10^4/\mu\text{L}$ )	暗視野板法
9) 網状赤血球数比率(Reticulo)(%)	RNA 染色法
10) プロトロンビン時間(PT)(sec)	磁気センサー方式
11) 活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)(sec)	磁気センサー方式
12) 白血球百分率 (Differentiation of leukocyte) (%)	フローサイトメトリー法
好中球(Neutro)	
好酸球(Eosino)	
好塩基球(Baso)	
リンパ球(Lymph)	

単 球(Mono)  
大型非染色球 (LUC)

使用機器 1)-9),12) 総合血液学検査装置(ADVIA 120, Bayer Medical); 10), 11) 血液凝固自動測定装置(KC-10A, AMELUNG)

7.6 血液化学的検査 清を分離し, 得られた血清について次  
7.5 項と同時期に採取した血液から血 表項目の測定を行った。

項 目	方 法
1) GOT(IU/L)	UV 法(JSCC 準拠処方)
2) GPT(IU/L)	UV 法(JSCC 準拠処方)
3) アルカリ性フォスファターゼ(ALP)(IU/L)	p-Nitrophenyl phosphate 法
4) コリンエステラーゼ(ChE)(IU/L)	Butyrylthiocholine iodide 法
5) $\gamma$ -GTP(IU/L)	L- $\gamma$ -glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide 法
6) 総コレステロール(T-Cho)(mg/dL)	COD-ADPS 法
7) トリグリセライド(TG)(mg/dL)	GPO-ADPS グリセロール消去法
8) 血糖(Glucose)(mg/dL)	Hexokinase・G-6-PDH 法
9) 総蛋白(T-Protein)(g/dL)	Biuret 法
10) アルブミン(Albumin)(g/dL)	Bromocresol green 法
11) A/G 比(A/G ratio)	$\frac{\text{Albumin}}{\text{T-Protein} - \text{Albumin}}$ (計算値)
12) 尿素窒素(BUN)(mg/dL)	Urease・GIDH 法
13) クレアチニン(Creatinine)(mg/dL)	Creatininase・F-DAOS 法
14) 総ビリルビン(T-Bil)(mg/dL)	酵素法
15) カルシウム(Ca)(mg/dL)	OCPC 法
16) 無機リン(IP)(mg/dL)	Fiske-Subbarow 法
17) ナトリウム(Na)(mEq/L)	Crown-Ether 膜電極法
18) カリウム(K)(mEq/L)	Crown-Ether 膜電極法
19) 塩素(Cl)(mEq/L)	電量滴定法

使用機器 1)-3), 6)-8), 12), 13), 15), 16) 生化学自動分析装置(7170 Automatic Analyzer, 日立); 4), 5), 9), 10), 14) 生化学自動分析装置(7150 Automatic Analyzer, 日立); 17)-19) 電解質分析装置 (PVA- $\alpha$ III, A & T)

7.7 尿検査

投与期間終了日(day 90)に各群の動物番号順の 5 匹について個体別代謝ケージ(150 W×200 D×263 H mm)内に収納し, 自由飲水にて 15-17 時間蓄積尿を採取した。採取した尿を用いて, 尿量, 色調, 浸透圧, 電解質(ナトリウム, カリ

ウム, 塩素), 尿沈渣のほか, N-マルティスティックス® (バイエル・メディカル(株)) で pH, 蛋白, ケトン体, ビリルビン, 潜血, 糖及びウロビリノーゲンの測定を行った。尿浸透圧は自動浸透圧測定装置 OM-6020(アークレイ株式会社)を用いて氷点降下法で測定し, 電

解質は血液化学的検査と同機器及び同方法にて測定した。また、尿沈渣については Sternheimer 法による染色を施し、顕微鏡を用いて検査を行った。なお、各電解質については尿量を乗じて、総排泄量を算出した。

## 7.8 病理学的検査

### 1) 剖検

全例を詳細に観察した。

### 2) 器官重量測定

全例について、以下の器官の重量を測定した。また、搬出時の体重をもとに相対重量を算出した。なお、下垂体、

甲状腺及び上皮小体については 10% 中性緩衝ホルマリン液で固定後、翌日に測定を行った。

肺及び気管支、唾液腺(顎下腺及び舌下腺)、肝臓、心臓、腎臓、精巣、精巣上体、前立腺、精嚢(凝固腺を含む)、卵巣、子宮、脳(大脳及び小脳)、脾臓、胸腺、下垂体、甲状腺及び上皮小体、副腎

### 3) 病理組織学的検査

(1) 全例について次表の器官・組織を採取した。

分類	器官・組織
呼吸器系	鼻腔(鼻甲介), 気管, 肺及び気管支
消化器系	舌, 食道, 唾液腺(顎下腺及び舌下腺), 胃, 腸(十二指腸-直腸, パイエル板を含む), 肝臓, 脾臓
心・血管系	心臓, 大動脈
泌尿器系	腎臓, 膀胱
生殖器系	精巣, 精巣上体, 前立腺, 精嚢(凝固腺を含む), 卵巣, 卵管, 子宮, 膣
神経系	脳(大脳及び小脳), 脊髄, 坐骨神経
造血器系	骨髄(大腿骨, 胸骨), リンパ節(頸部リンパ節, 腸間膜リンパ節), 脾臓, 胸腺
内分泌系	下垂体, 甲状腺及び上皮小体, 副腎
感覚器	眼球, 視神経, ハーダー腺, ジンバル腺
筋肉・骨格系	骨格筋(下腿部), 骨(大腿骨, 胸骨)
皮膚・皮下	皮膚(下腹部), 乳腺

採取した器官・組織は 10% 中性緩衝ホルマリン液で固定した。なお、精巣及び精巣上体はブアン液に固定した。

(2) 次表の群の器官・組織についてパラフィン包埋薄切切片作製後、ヘマトキ

シリン・エオジン染色を施し、光学顕微鏡的に検査した。

試験群	器官・組織
媒体対照群 及び 1,000 mg/kg 群	気管, 肺及び気管支, 舌, 食道, 唾液腺(顎下腺, 舌下腺), 胃(前胃, 腺胃), 腸(十二指腸, 空腸, 回腸, 盲腸, 結腸, 直腸, パイエル板を含む), 肝臓, 膵臓, 心臓, 大動脈, 腎臓, 膀胱, 精巣, 精巣上体, 前立腺, 精嚢(凝固腺を含む), 卵巣, 卵管, 子宮, 膣, 脳(大脳, 小脳), 脊髄, 坐骨神経, 骨髄(大腿骨, 胸骨), リンパ節(頸部リンパ節, 腸間膜リンパ節), 脾臓, 胸腺, 下垂体, 甲状腺及び上皮小体, 副腎, 眼球, 視神経, ハーダー腺, 骨格筋, 骨(大腿骨, 胸骨), 皮膚, 乳腺
100 mg/kg 群	精巣
300 mg/kg 群	精巣

## 8 統計学的方法

体重(搬出時を除く), 摂餌量, 血液学的検査, 血液化学的検査, 半定量検査を除く尿検査, 器官重量の成績について, Bartlett 法による等分散検定を行い, 5%有意水準で等分散が認められた場合, 一元配置分散分析を行った. 分散分析において有意差が認められた場合は, 媒体対照群と各投与群の間において, Dunnett 法による検定を行った. 等分散が認められない場合は Kruskal-Wallis の検定を行い, 有意差が認められた場合は, 媒体対照群と各投与群の間において, ノンパラメトリックの Dunnett 法による検定を行った. 病理組織所見については, グレード分けしたデータは Mann-Whitney の U 検定により, また陽性グレードの合計値は Fischer の直接確率の片側検定により, 媒体対照群と各投与群との間において有意差検定を行った.

## C. 結果

### 1 一般状態(Table 1)

雄:異常はみられなかった.

雌:異常はみられなかった.

### 2 体重(Fig.1, Table 2)

雄:1,000 mg/kg 群で day 22 以降に低値傾向, day 64, 85 及び 90 に有意な低値がみられた.

雌:1,000 mg/kg 群で day 22 以降に低値傾向がみられた.

### 3 摂餌量(Fig.2, Table 3)

雄:1,000 mg/kg 群で day 2 に有意な低値がみられた.

雌:1,000 mg/kg 群で day 2 に有意な低値がみられた. このほか, 100 及び 1,000 mg/kg 群で投与前の摂餌量(day 1)に有意な低値がみられた.

### 4 眼科学的検査(Table 4)

雄:300 mg/kg 群の 1 例で角膜損傷(±)がみられた.

雌:媒体対照群の1例で角膜損傷(±)がみられた。

#### 5 血液学的検査(Table 5)

雄:異常はみられなかった。

雌:異常はみられなかった。

#### 6 血液化学的検査(Table 6)

雄:異常はみられなかった。

雌:異常はみられなかった。

#### 7 尿検査(Table 7)

雄:媒体対照群の1例で尿沈渣での赤血球及び白血球の増加がみられた。

雌:異常はみられなかった。

#### 8 器官重量(Tables 8,9)

雄:1,000 mg/kg 群で副腎の絶対・相対重量の有意な増加, 脾臓の絶対重量の有意な減少, 脳相対重量の有意な増加がみられた。

雌:異常はみられなかった。

#### 9 剖検(Table 10)

雄:異常はみられなかった。

雌:異常はみられなかった。

#### 10 病理組織学的検査(Table 11)

雄:1,000 mg/kg 群で精巣の精細管の限局性萎縮(+, 1/10)がみられた。このほか, 媒体対照群で心臓の限局性心筋炎(+, 1/10), 眼球の網膜の限局性萎縮(+, 1/10), 100 mg/kg 群で精巣の精細管の限局性萎縮(+, 1/10), 1,000 mg/kg 群で心臓の限局性心筋炎(+, 1/10), 下垂体の異所性頭蓋咽頭管組織(+, 1/10)がみられた。

雌:媒体対照群で脾臓の小葉萎縮(+, 1/10), 甲状腺の嚢遺残(+, 1/10), 眼球の網膜の限局性萎縮(+, 1/10)がみられた。

#### D. 考察および結論

アマシードガムを F344/DuCrj ラットに 1,000, 300 及び 100 mg/kg/day の用量で強制経口投与し, 90 日間の毒性試験を行った。

今回の試験において死亡はみられず, 一般状態, 眼科学的検査, 血液学的検査, 血液化学的検査, 尿検査及び剖検に, 被験物質投与による影響は認められなかった。

体重においては, 1,000 mg/kg 群の雌雄で day 22 以降に低値傾向あるいは低値を示し, 投与期間の後半にかけて体重増加抑制がみられた。

摂餌量においては, 1,000 mg/kg 群の雌雄で day 2 に低値がみられたが, 投与開始直後のみの一過性の変動であり, 被験物質の臭味等に起因した毒性学的意義に乏しい変化と考えられた。なお, 上述の体重増加抑制については, day 2 を除いて摂餌量に差異がみられなかったことから, 摂餌効率の低下によるものと考えられた。

器官重量においては, 1,000 mg/kg 群の雄で副腎の絶対及び相対重量の増加がみられた。これらの変化は被験物質投与による影響と考えられ, 投与に伴ったストレスに関連した変化と推察されるが, 当所の背景値内<sup>1)</sup>の変動であり, 病理組織学的検査においても異常は認められなかったことから, 毒性学的意

義に乏しいものと考えられた。なお、1,000 mg/kg 群の雄で脾臓の絶対重量の有意な減少、脳の相対重量の有意な増加がみられたが、いずれも同群での低体重に伴った変動と考えられた。

病理組織学的検査においては、1,000 mg/kgの雄の1例で精巣の精細管の限局性萎縮がみられたが、100 mg/kg 群においても同様の変化が認められており、自然発生病変と考えられた。

このほか、上記以外にみられた変化は、散発的で用量依存性も認められないことから、偶発的あるいは自然発生

性の変化と考えられた。

以上の結果から、投与期間中の摂餌量には本試験条件下におけるアマシードガムの90日間反復経口投与毒性試験でのNOAELは、1,000 mg/kg 群の雌雄で体重増加抑制が認められたことから、300 mg/kg/day と推察された。

1) 当所の背景値(F344/DuCrj, 19週齢)

項目	性	n	Mean ± 2S.D.
副腎・絶対重量 (mg)	雄	30	37.9 ± 7.0
副腎・相対重量 (mg/100g)	雄	30	13.2 ± 3.0

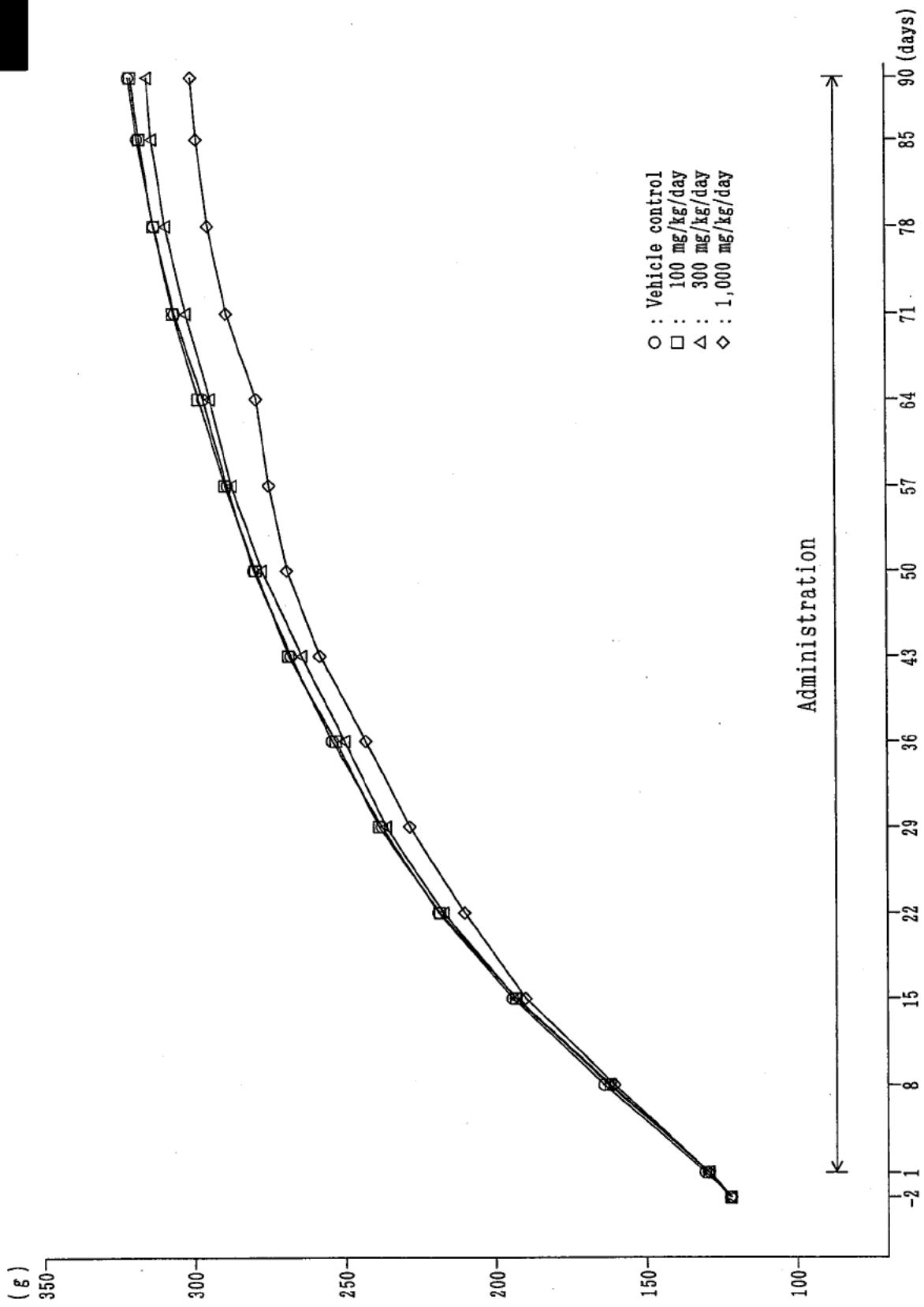


Fig. 1-1 Ninety-day repeated-dose oral toxicity study in rats  
Body weights : Male

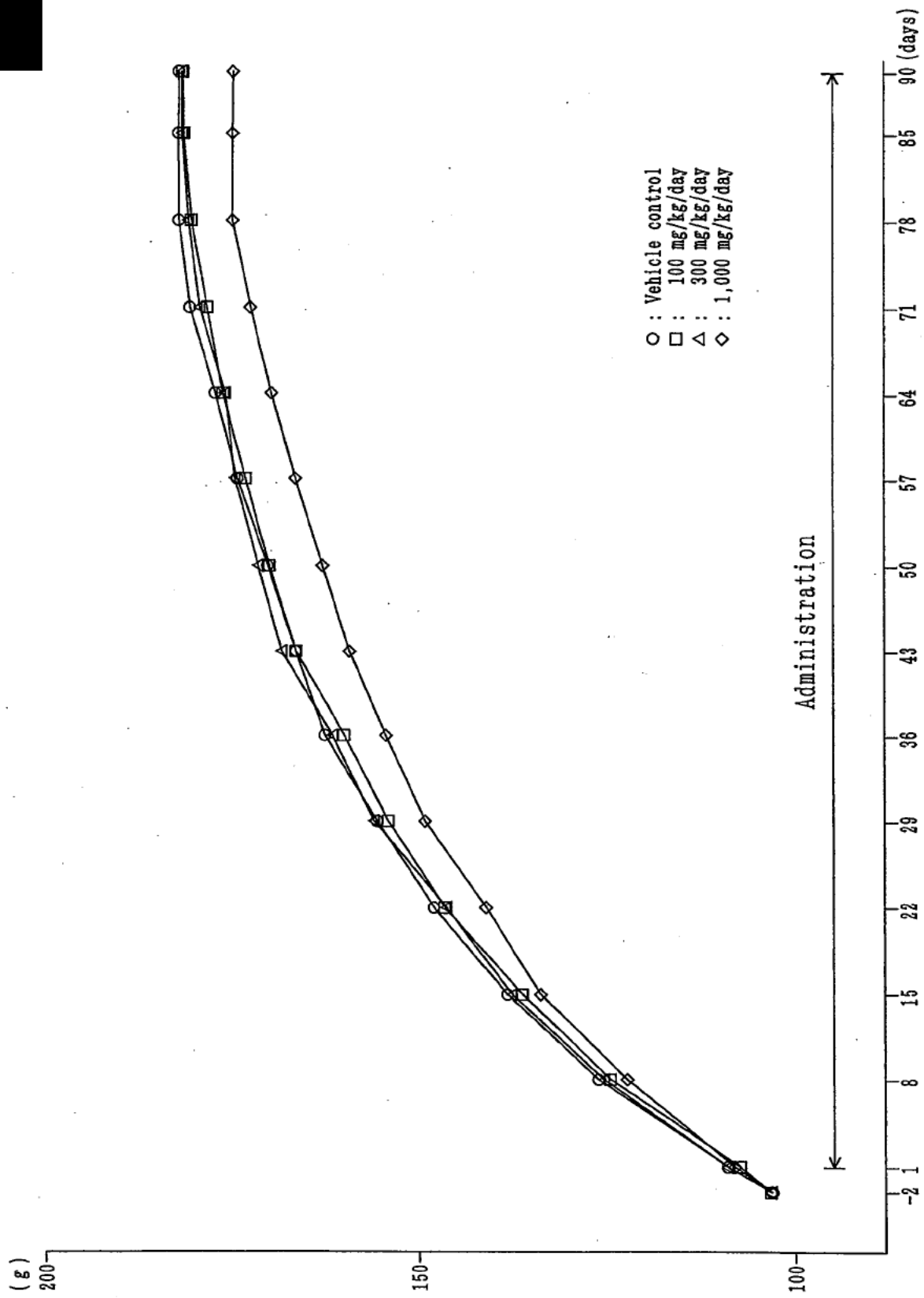


Fig. 1-2 Ninety-day repeated-dose oral toxicity study in rats  
Body weights : Female

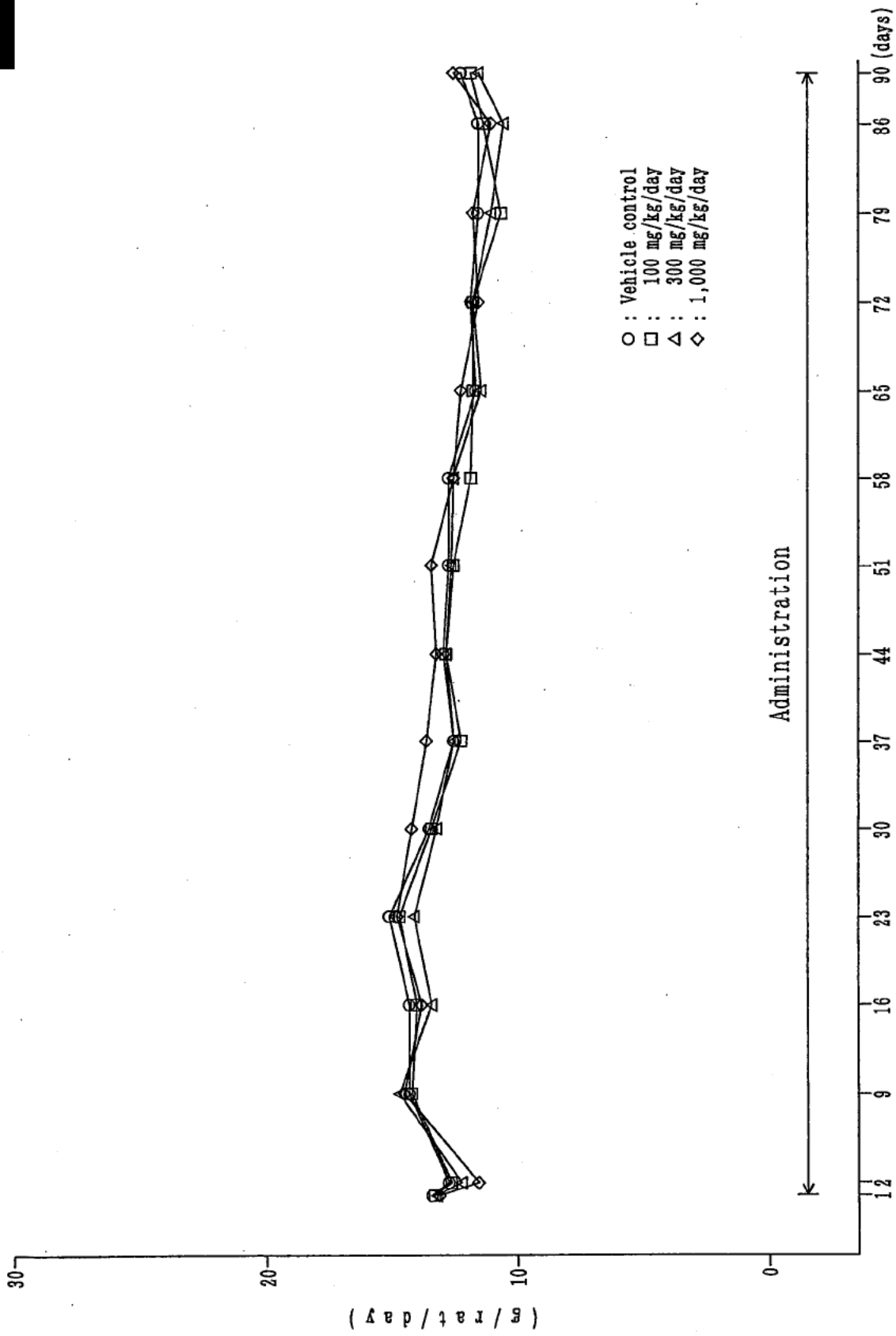


Fig. 2-1 Ninety-day repeated-dose oral toxicity study in rats  
Food intakes : Male

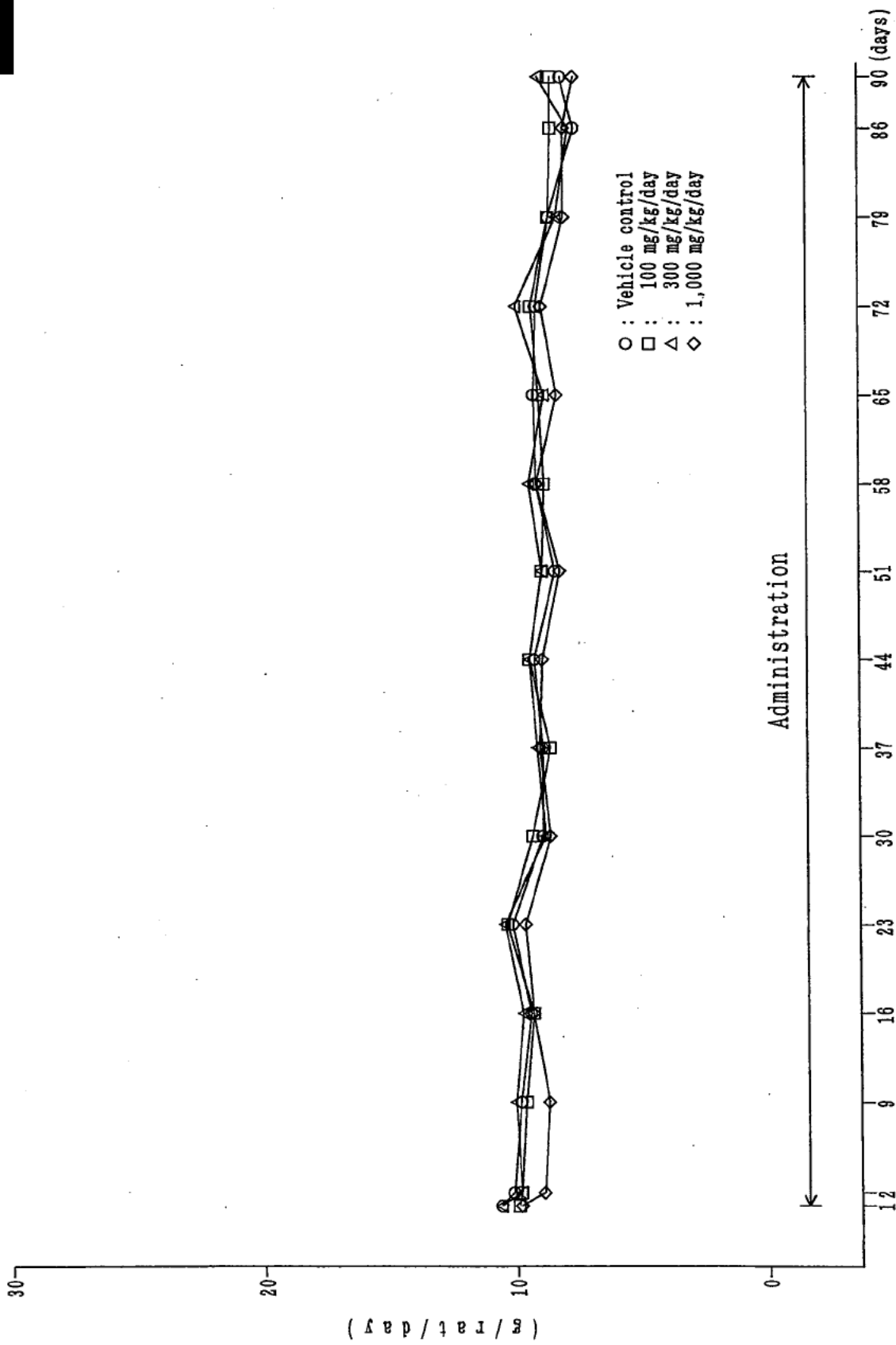


Fig. 2-2 Ninety-day repeated-dose oral toxicity study in rats  
Food intakes : Female

Table 1 Ninety-day repeated-dose oral toxicity study in rats  
Summary of clinical signs

Sex	Signs	mg/kg/day	Administration Period			
			VC	100	300	1,000
Male			ta	ta	ta	ta
			10 <sup>a)</sup>	10	10	10
	No abnormalities detected		10	10	10	10
Female			ta	ta	ta	ta
			10 <sup>a)</sup>	10	10	10
	No abnormalities detected		10	10	10	10

a) Number of animals examined.

VC, Vehicle control.

ta, terminal autopsy.

Table 2-1 Ninety-day repeated-dose oral toxicity study in rats  
Summary of body weights(g)

Sex	Exp.group (mg/kg/day)	Number of animals	Administration period										
			-2	1	8	15	22	29	36	43	50	57	(days)
Male	Vehicle control	10	122.0 ± 2.9	130.4 ± 2.8	164.1 ± 3.8	194.3 ± 7.0	218.7 ± 7.3	237.7 ± 8.1	254.1 ± 9.3	267.6 ± 10.6	279.8 ± 10.9	288.5 ± 13.0	
	100	10	121.8 ± 3.3	129.2 ± 3.7	162.0 ± 5.9	193.2 ± 8.4	218.3 ± 10.8	238.6 ± 12.5	253.0 ± 13.4	268.3 ± 14.7	279.2 ± 13.0	289.1 ± 14.6	
	300	10	121.8 ± 3.1	129.4 ± 3.9	162.5 ± 6.1	193.4 ± 8.1	217.1 ± 8.3	236.2 ± 9.9	250.1 ± 10.8	264.0 ± 11.4	277.1 ± 12.7	287.0 ± 15.2	
	1,000	10	121.8 ± 3.1	129.4 ± 3.1	160.7 ± 3.3	190.1 ± 5.1	210.1 ± 5.9	228.2 ± 5.2	243.0 ± 5.1	258.0 ± 6.2	268.8 ± 10.5	274.7 ± 12.3	
Female	Vehicle control	10	103.0 ± 3.7	108.8 ± 3.4	125.9 ± 3.3	137.9 ± 4.9	147.8 ± 5.1	155.5 ± 5.3	162.4 ± 4.3	166.2 ± 5.4	169.9 ± 6.3	174.0 ± 7.0	
	100	10	103.2 ± 3.1	107.2 ± 3.5	124.3 ± 5.3	135.9 ± 6.2	146.3 ± 7.7	154.0 ± 7.6	159.8 ± 8.8	166.2 ± 9.2	169.7 ± 11.7	172.9 ± 12.0	
	300	10	103.1 ± 3.2	108.8 ± 3.7	125.2 ± 3.4	137.3 ± 4.6	146.1 ± 5.2	155.9 ± 6.9	161.4 ± 9.7	168.1 ± 9.5	171.2 ± 10.1	174.3 ± 10.7	
	1,000	10	103.0 ± 3.0	107.9 ± 3.5	122.1 ± 5.3	133.5 ± 5.2	140.7 ± 6.0	149.0 ± 7.8	154.3 ± 8.1	159.1 ± 7.3	162.7 ± 8.0	166.2 ± 7.6	

Mean ± S.D.

\* Significantly different from vehicle control at P<0.05.

\*\* Significantly different from vehicle control at P<0.01.

Table 2-2 Ninety-day repeated-dose oral toxicity study in rats

Sex	Exp. group (mg/kg/day)	Number of animals	Administration period					
			64	71	78	85	90	
Male	Vehicle control	10	296.6 ± 16.5	305.9 ± 18.0	312.8 ± 18.9	318.3 ± 20.4	321.2 ± 20.2	
	100	10	298.1 ± 15.1	306.4 ± 12.9	312.9 ± 11.5	317.6 ± 11.8	320.5 ± 13.4	
	300	10	294.3 ± 16.3	302.2 ± 18.0	309.0 ± 18.8	313.5 ± 17.6	315.1 ± 16.8	
	1,000	10	278.8 * ± 16.9	288.6 ± 14.0	295.0 ± 14.0	298.7 * ± 16.0	300.4 * ± 17.3	
Female	Vehicle control	10	176.9 ± 8.4	180.3 ± 9.9	181.7 ± 9.9	181.8 ± 10.4	181.7 ± 11.1	
	100	10	175.9 ± 12.6	178.0 ± 12.2	180.1 ± 11.3	181.1 ± 11.8	181.2 ± 11.7	
	300	10	175.6 ± 12.5	179.0 ± 11.3	180.5 ± 12.6	181.3 ± 12.5	181.3 ± 12.5	
	1,000	10	169.4 ± 7.3	172.2 ± 6.9	174.6 ± 6.5	174.6 ± 6.6	174.5 ± 7.4	

Mean ± S.D.

\* Significantly different from vehicle control at P<0.05.

\*\* Significantly different from vehicle control at P<0.01.

Table 3-1 Ninety-day repeated-dose oral toxicity study in rats  
Summary of food intakes(g/rat/day)

Sex	Exp.group (mg/kg/day)	Number of animals	Administration period										
			1	2	9	16	23	30	37	44	51	58	(days)
Male	Vehicle control	10	13.4 ± 0.9	12.7 ± 0.7	14.3 ± 1.1	14.3 ± 1.2	15.1 ± 1.5	13.5 ± 1.4	12.5 ± 1.1	12.9 ± 1.0	12.7 ± 0.9	12.7 ± 1.3	
	100	10	13.3 ± 1.1	12.6 ± 0.8	14.2 ± 0.9	14.0 ± 1.1	14.7 ± 1.1	13.4 ± 1.6	12.2 ± 1.3	12.8 ± 1.1	12.5 ± 1.2	11.8 ± 0.8	
	300	10	13.2 ± 1.2	12.2 ± 1.2	14.7 ± 0.8	13.4 ± 0.8	14.1 ± 0.8	13.2 ± 1.0	12.5 ± 1.0	12.8 ± 0.6	12.6 ± 1.3	12.5 ± 1.7	
	1,000	10	13.1 ± 0.9	11.5* ± 0.9	14.5 ± 1.1	13.8 ± 0.9	14.9 ± 1.2	14.2 ± 1.1	13.6 ± 1.6	13.2 ± 1.1	13.4 ± 0.9	12.5 ± 0.9	
Female	Vehicle control	10	10.6 ± 0.7	10.1 ± 1.2	9.8 ± 0.9	9.4 ± 0.8	10.1 ± 1.6	8.9 ± 0.9	8.9 ± 0.9	9.2 ± 1.0	8.4 ± 1.0	9.1 ± 1.5	
	100	10	9.9* ± 0.7	9.8 ± 0.8	9.6 ± 1.6	9.3 ± 0.9	10.3 ± 3.1	9.3 ± 1.3	8.6 ± 1.0	9.4 ± 1.0	8.9 ± 1.3	8.8 ± 1.1	
	300	10	10.6 ± 0.5	9.8 ± 0.8	10.0 ± 0.7	9.7 ± 1.3	10.4 ± 1.1	8.8 ± 0.7	9.1 ± 1.0	9.4 ± 1.3	8.9 ± 0.9	9.4 ± 1.4	
	1,000	10	9.8* ± 0.5	8.9* ± 0.8	8.7 ± 2.5	9.3 ± 1.1	9.6 ± 0.6	8.6 ± 0.7	9.0 ± 1.0	8.9 ± 0.6	8.2 ± 0.9	9.1 ± 0.9	

Mean ± S.D.

\* Significantly different from vehicle control at P<0.05.

\*\* Significantly different from vehicle control at P<0.01.

Table 3-2 Ninety-day repeated-dose oral toxicity study in rats  
Summary of food intakes(g/rat/day)

Sex	Exp.group (mg/kg/day)	Number of animals	Administration period					
			65	72	79	86	90	(days)
Male	Vehicle control	10	11.6 ± 1.1	11.8 ± 1.0	11.5 ± 0.8	11.5 ± 1.1	12.2 ± 0.8	
	100	10	11.7 ± 1.0	11.7 ± 1.3	10.6 ± 0.9	11.3 ± 1.1	11.8 ± 1.6	
	300	10	11.4 ± 1.0	11.7 ± 1.2	11.0 ± 1.2	10.5 ± 1.1	11.5 ± 1.1	
	1,000	10	12.2 ± 0.7	11.5 ± 1.3	11.7 ± 1.2	11.0 ± 2.2	12.5 ± 1.4	
Female	Vehicle control	10	9.2 ± 1.8	9.1 ± 2.1	8.6 ± 1.6	7.6 ± 0.9	8.1 ± 1.3	
	100	10	9.0 ± 1.6	9.3 ± 1.2	8.6 ± 0.9	8.5 ± 1.6	8.5 ± 1.2	
	300	10	8.8 ± 1.3	9.9 ± 3.4	8.3 ± 1.2	7.8 ± 2.5	9.0 ± 0.9	
	1,000	10	8.3 ± 1.2	8.9 ± 0.8	8.0 ± 1.0	8.0 ± 1.6	7.6 ± 0.7	

Mean ± S.D.

\* Significantly different from vehicle control at P<0.05.

\*\* Significantly different from vehicle control at P<0.01.

Table 4 Ninety-day repeated-dose oral toxicity study in rats  
Summary of ophthalmological findings

Sex	Findings	mg/kg/day	Administration (week 13)			
			VC	100	300	1,000
Male			5 <sup>a)</sup>	5	5	5
	No abnormalities detected		5	5	4	5
	Corneal wound ±				1	
Female			5 <sup>a)</sup>	5	5	5
	No abnormalities detected		4	5	5	5
	Corneal wound ±		1			

a) Number of animals examined.

VC, Vehicle control.

±, very slight.

Table 5-1 Ninety-day repeated-dose oral toxicity study in rats  
Summary of hematological examinations

Sex	Exp-group	Number of animals	RBC	WBC	Hb	Ht	MCV	MCH	MCHC	Platelet	Reticulo	PT	APTT
	(mg/kg/day)		( $\times 10^4/\mu\text{L}$ )	( $\times 10^2/\mu\text{L}$ )	(g/dL)	(%)	(fL)	(pg)	(g/dL)	( $\times 10^4/\mu\text{L}$ )	(%)	(sec)	(sec)
Male	Vehicle control	10	916 $\pm 17$	66.9 $\pm 11.2$	15.1 $\pm 0.2$	41.4 $\pm 0.7$	45.2 $\pm 0.4$	16.5 $\pm 0.1$	36.5 $\pm 0.3$	70.0 $\pm 4.3$	2.1 $\pm 0.1$	15.4 $\pm 0.7$	29.9 $\pm 2.3$
	100	10	916 $\pm 25$	66.1 $\pm 10.0$	15.1 $\pm 0.4$	41.6 $\pm 1.0$	45.5 $\pm 0.4$	16.5 $\pm 0.2$	36.3 $\pm 0.2$	71.1 $\pm 3.6$	2.3 $\pm 0.2$	15.3 $\pm 0.4$	30.2 $\pm 2.0$
	300	10	934 $\pm 14$	70.0 $\pm 10.9$	15.3 $\pm 0.3$	42.2 $\pm 0.6$	45.2 $\pm 0.3$	16.4 $\pm 0.2$	36.3 $\pm 0.2$	66.2 $\pm 3.5$	2.0 $\pm 0.1$	15.7 $\pm 0.6$	30.5 $\pm 1.8$
	1,000	10	930 $\pm 14$	68.3 $\pm 12.6$	15.4 $\pm 0.5$	42.1 $\pm 0.8$	45.2 $\pm 0.3$	16.5 $\pm 0.4$	36.6 $\pm 0.7$	68.7 $\pm 3.5$	2.2 $\pm 0.3$	16.0 $\pm 1.6$	32.4 $\pm 3.7$
Female	Vehicle control	10	865 $\pm 23$	52.0 $\pm 8.1$	15.1 $\pm 0.3$	41.1 $\pm 0.9$	47.5 $\pm 0.3$	17.5 $\pm 0.2$	36.8 $\pm 0.3$	77.2 $\pm 4.3$	2.0 $\pm 0.4$	15.2 $\pm 0.3$	25.1 $\pm 1.2$
	100	10	861 $\pm 29$	55.1 $\pm 9.7$	15.1 $\pm 0.5$	40.9 $\pm 1.3$	47.5 $\pm 0.3$	17.5 $\pm 0.2$	36.9 $\pm 0.3$	76.3 $\pm 4.1$	2.0 $\pm 0.3$	15.1 $\pm 0.4$	25.1 $\pm 1.4$
	300	10	886 $\pm 13$	58.1 $\pm 12.4$	15.4 $\pm 0.2$	41.7 $\pm 0.6$	47.1 $\pm 0.6$	17.3 $\pm 0.3$	36.8 $\pm 0.3$	76.0 $\pm 4.1$	1.8 $\pm 0.2$	15.2 $\pm 0.3$	25.7 $\pm 1.4$
	1,000	10	869 $\pm 40$	47.3 $\pm 9.3$	15.3 $\pm 0.4$	41.1 $\pm 2.0$	47.3 $\pm 0.4$	17.6 $\pm 0.8$	37.2 $\pm 1.7$	73.2 $\pm 5.5$	1.7 $\pm 0.2$	15.2 $\pm 0.4$	25.4 $\pm 1.3$

Mean  $\pm$  S.D.

\* Significantly different from vehicle control at  $P < 0.05$ .

\*\* Significantly different from vehicle control at  $P < 0.01$ .

Table 5-2 Ninety-day repeated-dose oral toxicity study in rats  
Summary of hematological examinations

Sex	Exp. group (mg/kg/day)	Number of animals	Differentiation of leukocyte (%)						
			Neutro	Eosino	Baso	Lymph	Mono	LUC	
Male	Vehicle control	10	30.4 ± 7.1	1.1 ± 0.3	0.2 ± 0.1	65.7 ± 6.8	1.7 ± 0.3	1.0 ± 0.3	
		100	31.1 ± 6.0	1.0 ± 0.2	0.2 ± 0.1	65.1 ± 6.3	1.6 ± 0.3	0.9 ± 0.2	
	300	28.0 ± 3.7	1.1 ± 0.3	0.2 ± 0.0	68.1 ± 4.2	1.7 ± 0.5	0.9 ± 0.3		
	1,000	30.4 ± 7.6	1.0 ± 0.2	0.3 ± 0.1	65.6 ± 7.2	1.8 ± 0.5	1.1 ± 0.4		
	Female	Vehicle control	10	23.2 ± 7.0	1.0 ± 0.3	0.3 ± 0.1	72.8 ± 7.9	1.6 ± 0.6	1.2 ± 0.4
			100	23.7 ± 4.7	1.0 ± 0.4	0.2 ± 0.0	72.7 ± 5.2	1.4 ± 0.4	1.0 ± 0.3
		300	25.5 ± 5.0	1.0 ± 0.4	0.3 ± 0.1	70.6 ± 4.2	1.5 ± 0.6	1.1 ± 0.5	
		1,000	22.8 ± 4.6	1.2 ± 0.5	0.3 ± 0.1	73.2 ± 4.2	1.6 ± 0.4	1.0 ± 0.2	

Mean ± S.D.

\* Significantly different from vehicle control at P<0.05.

\*\* Significantly different from vehicle control at P<0.01.

Table 6-1 Ninety-day repeated-dose oral toxicity study in rats  
Summary of blood chemical examinations

Sex	Exp.group (mg/kg/day)	Number of animals	GOT (IU/L)	GPT (IU/L)	ALP (IU/L)	ChE (IU/L)	$\gamma$ -GTP (IU/L)	T-Chol (mg/dL)	TG (mg/dL)	Glucose (mg/dL)	T-Protein (g/dL)	Albumin (g/dL)	A/G ratio
Male	Vehicle control	10	92 ± 30	48 ± 16	302 ± 20	181 ± 20	1.0 ± 0.1	54 ± 4	37 ± 9	130 ± 16	5.9 ± 0.1	3.1 ± 0.1	1.12 ± 0.06
	100	10	86 ± 15	45 ± 6	281 ± 29	184 ± 25	1.1 ± 0.1	54 ± 6	47 ± 17	132 ± 13	5.8 ± 0.1	3.1 ± 0.1	1.10 ± 0.06
	300	10	97 ± 13	52 ± 10	302 ± 22	183 ± 27	1.0 ± 0.2	54 ± 5	43 ± 14	139 ± 18	5.8 ± 0.1	3.1 ± 0.1	1.14 ± 0.04
	1,000	10	91 ± 24	53 ± 17	298 ± 25	157 ± 15	1.0 ± 0.1	53 ± 7	45 ± 19	136 ± 20	5.7 ± 0.2	3.1 ± 0.1	1.16 ± 0.07
Female	Vehicle control	10	75 ± 6	31 ± 5	213 ± 29	796 ± 94	1.2 ± 0.2	61 ± 4	14 ± 10	114 ± 7	5.6 ± 0.2	3.0 ± 0.1	1.17 ± 0.09
	100	10	69 ± 9	31 ± 3	212 ± 27	727 ± 90	1.1 ± 0.2	59 ± 5	11 ± 3	114 ± 13	5.5 ± 0.3	2.9 ± 0.1	1.14 ± 0.09
	300	10	80 ± 12	37 ± 8	217 ± 22	712 ± 74	1.2 ± 0.2	59 ± 5	11 ± 4	118 ± 10	5.7 ± 0.2	3.0 ± 0.1	1.12 ± 0.06
	1,000	10	74 ± 9	34 ± 4	228 ± 13	717 ± 101	1.1 ± 0.2	63 ± 6	12 ± 6	107 ± 9	5.5 ± 0.2	3.0 ± 0.1	1.20 ± 0.10

Mean ± S.D.

\* Significantly different from vehicle control at P < 0.05.

\*\* Significantly different from vehicle control at P < 0.01.

Table 6-2 Ninety-day repeated-dose oral toxicity study in rats  
Summary of blood chemical examinations

Sex	Exp. group (mg/kg/day)	Number of animals	BUN (mg/dL)	Creatinine (mg/dL)	T-Bil (mg/dL)	Ca (mg/dL)	IP (mg/dL)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)	
Male	Vehicle control	10	16.0 ± 1.1	0.26 ± 0.03	0.04 ± 0.01	10.2 ± 0.2	5.9 ± 0.5	141 ± 1	4.3 ± 0.2	103.8 ± 0.9	
		100	15.5 ± 1.1	0.25 ± 0.03	0.04 ± 0.01	10.3 ± 0.1	6.0 ± 0.6	141 ± 1	4.2 ± 0.2	103.9 ± 1.0	
	300	10	15.8 ± 1.5	0.24 ± 0.02	0.04 ± 0.01	10.2 ± 0.1	6.0 ± 0.6	141 ± 1	4.0 ± 0.3	103.5 ± 1.6	
		1,000	15.7 ± 1.5	0.25 ± 0.02	0.04 ± 0.00	10.1 ± 0.2	5.9 ± 0.7	141 ± 1	4.0 ± 0.5	103.8 ± 1.4	
	Female	Vehicle control	10	16.6 ± 1.4	0.24 ± 0.02	0.06 ± 0.01	9.8 ± 0.2	5.1 ± 0.8	140 ± 1	4.2 ± 0.2	105.9 ± 1.4
			100	15.9 ± 1.2	0.23 ± 0.02	0.06 ± 0.01	10.0 ± 0.1	6.0 ± 0.6	141 ± 2	4.1 ± 0.3	105.7 ± 1.2
		300	10	17.1 ± 1.6	0.24 ± 0.02	0.06 ± 0.01	9.8 ± 0.1	5.6 ± 0.6	140 ± 1	4.0 ± 0.2	104.9 ± 1.0
			1,000	15.6 ± 1.1	0.24 ± 0.02	0.06 ± 0.01	9.9 ± 0.1	5.3 ± 0.9	140 ± 1	3.9 ± 0.2	105.8 ± 0.7

Mean ± S.D.

\* Significantly different from vehicle control at P<0.05.

\*\* Significantly different from vehicle control at P<0.01.

Table 7-1 Ninety-day repeated-dose oral toxicity study in rats  
Summary of urinalyses

Sex	Exp.group (mg/kg/day)	Number of animals	Volume (mL)	Uosm (mOsm/L)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)	Na (mEq/15-17h)	K (mEq/15-17h)	Cl (mEq/15-17h)	
Male	Vehicle control	5	4	1420	14	127.0	43.2	0.06	0.44	0.15	
			± 2	± 516	± 11	± 54.4	± 22.6	± 0.04	± 0.12	± 0.06	
	100	5	5	1409	22	172.2	50.6	0.07	0.54	0.14	
			± 3	± 863	± 19	± 127.2	± 48.2	± 0.03	± 0.11	± 0.07	
	300	5	6	846	6	85.2	17.8	0.03	0.44	0.09	
			± 2	± 306	± 2	± 28.6	± 7.8	± 0.01	± 0.09	± 0.01	
	1,000	5	5	1163	7	126.1	21.1	0.03	0.45	0.08	
			± 3	± 747	± 4	± 77.2	± 10.6	± 0.01	± 0.12	± 0.01	
	Female	Vehicle control	5	5	1275	28	124.1	47.5	0.10	0.46	0.17
				± 3	± 552	± 15	± 54.5	± 27.8	± 0.06	± 0.16	± 0.10
100		5	6	875	28	81.0	29.1	0.12	0.39	0.13	
			± 4	± 349	± 23	± 39.5	± 22.1	± 0.07	± 0.06	± 0.04	
300		5	4	1663	38	170.3	68.1	0.13	0.55	0.25	
			± 3	± 893	± 19	± 81.6	± 27.5	± 0.07	± 0.18	± 0.11	
1,000		5	7	760	30	78.0	34.4	0.20	0.52	0.23	
			± 2	± 258	± 15	± 13.7	± 12.7	± 0.12	± 0.15	± 0.11	

Mean ± S.D.

\* Significantly different from vehicle control at P<0.05.

\*\* Significantly different from vehicle control at P<0.01.

Table 7-2 Ninety-day repeated-dose oral toxicity study in rats  
Summary of urinalyses

Sex	Exp. group (mg/kg/day)	Number of animals	Color		pH		Protein	Ketones	Bilirubin	Occult Blood	Glucose	Urobilinogen (EU/dL)										
			SY	Y	YB	6.0							6.5	7.0								
Male	Vehicle control	5	0	2	3	5	0	2	1	2	0	2	3	5	4	0	0	1	5	5		
	100	5	0	3	2	2	3	0	1	2	2	0	3	2	5	5	0	0	0	5	5	
	300	5	1	4	0	3	2	0	1	4	0	0	3	2	5	5	0	0	0	5	5	
	1,000	5	1	3	1	3	2	0	0	1	3	1	0	0	5	4	0	1	0	5	5	
Female	Vehicle control	5	1	2	2	3	2	0	2	2	1	0	4	1	0	5	0	0	0	5	5	
	100	5	1	4	0	2	2	1	3	2	0	0	4	1	0	5	4	1	0	0	5	5
	300	5	0	3	2	4	1	0	2	1	1	1	4	1	0	5	5	0	0	0	5	5
	1,000	5	1	4	0	1	1	3	4	1	0	0	5	0	0	5	5	0	0	0	5	5

SY, Slightly yellow.  
Y, Yellow.  
YB, Yellow-brown.

Table 7-3 Ninety-day repeated-dose oral toxicity study in rats  
Summary of urinalyses(urinary sediment)

Sex	Exp.group (mg/kg/day)	Number of animals	Red blood cells <sup>a)</sup>			White blood cells <sup>b)</sup>			Epithelial cells <sup>c)</sup>			Casts <sup>b)</sup>			Crystals <sup>c)</sup>		
			0	6-20	51-499	0	1-5	6-20	51-499	0	1-5	6-20	0	±	+	++	+++
Male	Vehicle control	5	4	0	1	4	0	0	1	4	0	5	0	1	1	3	0
	100	5	5	0	0	3	2	0	0	2	3	0	5	0	1	2	0
	300	5	5	0	0	0	4	1	0	0	5	0	5	1	1	2	1
	1,000	5	4	1	0	3	1	1	0	0	4	1	5	0	1	4	0
Female	Vehicle control	5	5	0	0	3	2	0	0	0	3	2	5	0	1	3	1
	100	5	5	0	0	4	1	0	0	0	5	0	5	2	0	2	0
	300	5	5	0	0	2	3	0	0	1	3	1	5	0	1	4	0
	1,000	5	5	0	0	2	3	0	0	0	3	2	5	0	0	2	3

a) Number of cells/10 views (×400).

b) Number of casts/18×18 mm<sup>2</sup>.

c) Incidence of crystals/18×18 mm<sup>2</sup>.

Table 8-1 Ninety-day repeated-dose oral toxicity study in rats

Summary of absolute organ weights

Sex	Exp. group (mg/kg/day)	Number of animals	Salivary					Seminal				Body weight (g)
			Lung (g)	Salivary gland (g)	Liver (g)	Heart (g)	Kidney (g)	Testis (g)	Epididymis (g)	Prostate (g)	Seminal vesicle (g)	
Male	Vehicle control	10	1.00 ± 0.05	0.43 ± 0.03	7.08 ± 0.53	0.90 ± 0.06	1.90 ± 0.10	3.07 ± 0.10	0.93 ± 0.05	0.53 ± 0.06	1.02 ± 0.11	307.7 ± 18.8
	100	10	1.01 ± 0.06	0.43 ± 0.01	7.05 ± 0.32	0.88 ± 0.05	1.88 ± 0.05	3.06 ± 0.18	0.95 ± 0.05	0.51 ± 0.06	0.98 ± 0.07	306.9 ± 11.3
	300	10	1.02 ± 0.10	0.42 ± 0.02	6.95 ± 0.44	0.87 ± 0.06	1.84 ± 0.08	3.07 ± 0.11	0.92 ± 0.03	0.49 ± 0.06	0.96 ± 0.09	301.7 ± 17.4
	1,000	10	0.98 ± 0.08	0.41 ± 0.03	6.61 ± 0.50	0.84 ± 0.04	1.82 ± 0.11	2.99 ± 0.16	0.92 ± 0.06	0.48 ± 0.05	0.93 ± 0.11	286.6 ± 15.5
Female	Vehicle control	10	0.77 ± 0.04	0.30 ± 0.02	3.99 ± 0.32	0.60 ± 0.03	1.24 ± 0.05	-	-	-	-	173.3 ± 10.2
	100	10	0.76 ± 0.05	0.30 ± 0.02	3.89 ± 0.26	0.60 ± 0.05	1.18 ± 0.06	-	-	-	-	171.4 ± 10.7
	300	10	0.78 ± 0.04	0.31 ± 0.03	3.91 ± 0.28	0.59 ± 0.06	1.21 ± 0.08	-	-	-	-	171.8 ± 12.4
	1,000	10	0.74 ± 0.04	0.30 ± 0.02	3.70 ± 0.23	0.57 ± 0.04	1.17 ± 0.08	-	-	-	-	165.4 ± 7.7

Mean ± S.D.

a) Statistical analysis was not applied.

\* Significantly different from vehicle control at P<0.05.

\*\* Significantly different from vehicle control at P<0.01.

Table 8-2 Ninety-day repeated-dose oral toxicity study in rats  
Summary of absolute organ weights

Sex	Exp.-group (mg/kg/day)	Number of animals	Ovary (mg)	Uterus (g)	Brain (g)	Spleen (g)	Thymus (mg)	Pituitary			Body <sup>a)</sup> weight (g)
								Thyroid (mg)	Adrenal (mg)	Thyroid (mg)	
Male	Vehicle control	10	-	-	1.95 ± 0.03	0.54 ± 0.02	150.5 ± 18.3	9.4 ± 0.7	18.7 ± 1.6	37.1 ± 3.2	307.7 ± 18.8
	100	10	-	-	1.94 ± 0.02	0.53 ± 0.02	157.9 ± 9.9	8.8 ± 0.4	18.5 ± 2.1	40.7 ± 5.6	306.9 ± 11.3
	300	10	-	-	1.94 ± 0.04	0.51 ± 0.03	148.7 ± 11.8	9.0 ± 0.9	17.7 ± 2.3	38.9 ± 2.8	301.7 ± 17.4
	1,000	10	-	-	1.92 ± 0.02	0.49 ** ± 0.04	133.7 ± 23.5	8.7 ± 0.7	17.1 ± 1.4	41.9 * ± 2.6	286.6 ± 15.5
Female	Vehicle control	10	55.5 ± 5.1	0.72 ± 0.29	1.80 ± 0.03	0.40 ± 0.04	133.6 ± 13.2	12.9 ± 1.6	15.0 ± 1.6	45.1 ± 3.8	173.3 ± 10.2
	100	10	53.8 ± 4.9	0.61 ± 0.27	1.81 ± 0.02	0.40 ± 0.02	135.9 ± 10.8	13.5 ± 1.7	16.4 ± 1.9	44.2 ± 3.7	171.4 ± 10.7
	300	10	54.9 ± 7.9	0.49 ± 0.26	1.82 ± 0.04	0.40 ± 0.04	138.0 ± 13.9	12.0 ± 0.7	15.0 ± 2.1	44.3 ± 3.1	171.8 ± 12.4
	1,000	10	51.7 ± 5.3	0.56 ± 0.23	1.82 ± 0.05	0.38 ± 0.03	134.9 ± 10.1	11.4 ± 1.6	15.6 ± 1.6	41.9 ± 4.5	165.4 ± 7.7

Mean ± S.D.

a) Statistical analysis was not applied.

\* Significantly different from vehicle control at P<0.05.

\*\* Significantly different from vehicle control at P<0.01.

Table 9-1 Ninety-day repeated-dose oral toxicity study in rats  
Summary of relative organ weights

Sex	Exp. group (mg/kg/day)	Number of animals	Salivary							Body weight (g)		
			Lung (g/100g)	Salivary gland (g/100g)	Liver (g/100g)	Heart (g/100g)	Kidney (g/100g)	Testis (g/100g)	Epididymis (g/100g)		Prostate (g/100g)	Seminal vesicle (g/100g)
Male	Vehicle control	10	0.32 ± 0.01	0.14 ± 0.01	2.30 ± 0.08	0.29 ± 0.02	0.62 ± 0.02	1.00 ± 0.06	0.30 ± 0.02	0.17 ± 0.02	0.33 ± 0.03	307.7 ± 18.8
	100	10	0.33 ± 0.03	0.14 ± 0.01	2.30 ± 0.07	0.29 ± 0.02	0.61 ± 0.02	1.00 ± 0.04	0.31 ± 0.01	0.17 ± 0.02	0.32 ± 0.03	306.9 ± 11.3
	300	10	0.34 ± 0.03	0.14 ± 0.01	2.30 ± 0.05	0.29 ± 0.01	0.61 ± 0.01	1.02 ± 0.05	0.31 ± 0.01	0.16 ± 0.02	0.32 ± 0.03	301.7 ± 17.4
	1,000	10	0.34 ± 0.03	0.14 ± 0.01	2.30 ± 0.06	0.29 ± 0.01	0.64 ± 0.03	1.05 ± 0.08	0.32 ± 0.03	0.17 ± 0.02	0.32 ± 0.03	286.6 ± 15.5
Female	Vehicle control	10	0.44 ± 0.02	0.17 ± 0.01	2.30 ± 0.09	0.35 ± 0.01	0.72 ± 0.03	-	-	-	-	173.3 ± 10.2
	100	10	0.44 ± 0.03	0.18 ± 0.01	2.27 ± 0.06	0.35 ± 0.02	0.69 ± 0.02	-	-	-	-	171.4 ± 10.7
	300	10	0.46 ± 0.03	0.18 ± 0.01	2.28 ± 0.05	0.35 ± 0.01	0.70 ± 0.04	-	-	-	-	171.8 ± 12.4
	1,000	10	0.45 ± 0.03	0.18 ± 0.01	2.24 ± 0.12	0.35 ± 0.02	0.71 ± 0.06	-	-	-	-	165.4 ± 7.7

Mean ± S.D.

a) Statistical analysis was not applied.

\* Significantly different from vehicle control at P<0.05.

\*\* Significantly different from vehicle control at P<0.01.

Table 9-2 Ninety-day repeated-dose oral toxicity study in rats  
Summary of relative organ weights

Sex	Exp. group (mg/kg/day)	Number of animals	Ovary (mg/100g)	Uterus (g/100g)	Brain (g/100g)	Spleen (g/100g)	Thymus (mg/100g)	Pituitary			Body <sup>a)</sup> weight (g)
								Thyroid (mg/100g)	Adrenal (mg/100g)	Pituitary gland (mg/100g)	
Male	Vehicle control	10	-	-	0.63 ± 0.03	0.17 ± 0.01	49.0 ± 5.9	3.0 ± 0.1	6.1 ± 0.6	12.1 ± 1.1	307.7 ± 18.8
	100	10	-	-	0.63 ± 0.03	0.17 ± 0.00	51.6 ± 4.3	2.9 ± 0.2	6.0 ± 0.8	13.3 ± 1.6	306.9 ± 11.3
	300	10	-	-	0.65 ± 0.03	0.17 ± 0.01	49.3 ± 2.8	3.0 ± 0.3	5.9 ± 0.7	13.0 ± 1.4	301.7 ± 17.4
	1,000	10	-	-	0.67* ± 0.03	0.17 ± 0.01	46.5 ± 6.5	3.1 ± 0.3	6.0 ± 0.6	14.6** ± 1.0	286.6 ± 15.5
Female	Vehicle control	10	32.0 ± 1.9	0.42 ± 0.18	1.04 ± 0.06	0.23 ± 0.02	77.3 ± 7.7	7.5 ± 0.8	8.7 ± 1.0	26.0 ± 1.7	173.3 ± 10.2
	100	10	31.5 ± 3.0	0.35 ± 0.14	1.06 ± 0.06	0.23 ± 0.01	79.4 ± 6.3	7.9 ± 0.7	9.6 ± 0.9	25.8 ± 1.7	171.4 ± 10.7
	300	10	31.9 ± 4.0	0.29 ± 0.14	1.06 ± 0.06	0.24 ± 0.01	80.3 ± 4.7	7.0 ± 0.5	8.7 ± 0.9	25.9 ± 1.5	171.8 ± 12.4
	1,000	10	31.2 ± 2.9	0.33 ± 0.14	1.10 ± 0.05	0.23 ± 0.01	81.6 ± 5.6	6.9 ± 1.0	9.4 ± 1.0	25.4 ± 2.8	165.4 ± 7.7

Mean ± S.D.

a) Statistical analysis was not applied.

\* Significantly different from vehicle control at P<0.05.

\*\* Significantly different from vehicle control at P<0.01.

Table 10 Ninety-day repeated-dose oral toxicity study in rats  
 Summary of macroscopic examinations

Findings	Male						Female					
	Vehicle control		100	300	1,000	1,000	Vehicle control		100	300	1,000	1,000 (mg/kg/day)
	ta	10 <sup>a)</sup>	ta	10	10	10	ta	10	ta	10	10	ta
No abnormalities detected	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

ta, terminal autopsy.

a) Number of animals examined.

Table 11-1 Ninety-day repeated-dose oral toxicity study in rats  
Summary of histopathological examinations

Findings	Grade	Male						Female							
		Vehicle control		300		1,000		Vehicle control		300		1,000		(mg/kg/day)	
		ta	ta	ta	ta	ta	ta	ta	ta	ta	ta	ta	ta	ta	
Trachea		10 <sup>b)</sup>	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
No abnormalities detected	10/10 <sup>b)</sup>	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	
Lung		10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	
No abnormalities detected	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	
Tongue		10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	
No abnormalities detected	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	
Submandibular gland		10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	
No abnormalities detected	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	
Sublingual gland		10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	
No abnormalities detected	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	
Esophagus		10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	
No abnormalities detected	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	
Forestomach		10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	
No abnormalities detected	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	
Glandular stomach		10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	
No abnormalities detected	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	
Duodenum		10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	
No abnormalities detected	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	
Jejunum		10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	
No abnormalities detected	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	
Ileum		10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	
No abnormalities detected	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	

ta, terminal autopsy.

a) Number of animals autopsied.

b) Number of animals affected / Number of animals examined.

—, Not examined.

\* Significantly different from vehicle control at P<0.05.

\*\* Significantly different from vehicle control at P<0.01.

Table 11-2 Ninety-day repeated-dose oral toxicity study in rats  
Summary of histopathological examinations

Findings	Male						Female					
	Vehicle control		100	300	1,000	Vehicle control	100	300	1,000	(mg/kg/day)		
	ta	ta	ta	ta	ta	ta	ta	ta	ta	ta		
Cecum												
No abnormalities detected	10/10 <sup>a)</sup>	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
Colon												
No abnormalities detected	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
Rectum												
No abnormalities detected	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
Pancreas												
No abnormalities detected	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	9/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
Lobular atrophy	+	0/10	0/10	0/10	0/10	1/10	1/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
Liver												
No abnormalities detected	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
Heart												
No abnormalities detected	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
Focal myocarditis	+	1/10	1/10	1/10	1/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
Aorta												
No abnormalities detected	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
Kidney												
No abnormalities detected	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
Urinary bladder												
No abnormalities detected	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10

ta, terminal autopsy.

a) Number of animals autopsied.

b) Number of animals affected / Number of animals examined.

—, Not examined.

+, slight.

\* Significantly different from vehicle control at P<0.05.

\*\* Significantly different from vehicle control at P<0.01.

Table 11-3 Ninety-day repeated-dose oral toxicity study in rats  
Summary of histopathological examinations

Findings	Male						Female							
	Vehicle control		300		1,000		Vehicle control		100		300		1,000 (mg/kg/day)	
	ta	ta	ta	ta	ta	ta	ta	ta	ta	ta	ta	ta	ta	
Testis														
No abnormalities detected	10 <sup>a)</sup>	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Focal atrophy of seminiferous tubules	0/10	1/10	0/10	0/10	1/10	1/10	10/10 <sup>b)</sup>	9/10	10/10	10/10	9/10	9/10	9/10	9/10
Epididymis														
No abnormalities detected	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
Prostate														
No abnormalities detected	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
Coagulating gland														
No abnormalities detected	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
Seminal vesicle														
No abnormalities detected	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
Ovary														
No abnormalities detected	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
Oviduct														
No abnormalities detected	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
Uterus														
No abnormalities detected	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
Vagina														
No abnormalities detected	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10

ta, terminal autopsy.

a) Number of animals autopsied.

b) Number of animals affected / Number of animals examined.

—, Not examined.

+, slight.

\* Significantly different from vehicle control at P<0.05.

\*\* Significantly different from vehicle control at P<0.01.

Table 11-4 Ninety-day repeated-dose oral toxicity study in rats  
Summary of histopathological examinations

Findings	Male				Female			
	Vehicle control		1,000		Vehicle control		1,000	
	ta	ta	ta	ta	ta	ta	ta	ta
Brain								
No abnormalities detected	10/10 <sup>a)</sup>	10	10	10/10	10/10	10	10	10/10
Spinal cord								
No abnormalities detected	10/10	10	10	10/10	10/10	10	10	10/10
Sciatic nerve								
No abnormalities detected	10/10	10	10	10/10	10/10	10	10	10/10
Bone marrow								
No abnormalities detected	10/10	10	10	10/10	10/10	10	10	10/10
Cervical lymph node								
No abnormalities detected	10/10	10	10	10/10	10/10	10	10	10/10
Mesenteric lymph node								
No abnormalities detected	10/10	10	10	10/10	10/10	10	10	10/10
Spleen								
No abnormalities detected	10/10	10	10	10/10	10/10	10	10	10/10
Thymus								
No abnormalities detected	10/10	10	10	10/10	10/10	10	10	10/10
Pituitary gland								
No abnormalities detected	10/10	10	10	10/10	10/10	10	10	10/10
Aberrant cranio-pharyngeal tissue	+	0/10	0	1/10	0/10	0	0	0/10
Thyroid								
No abnormalities detected	10/10	10	10	10/10	10/10	10	10	10/10
Ultimobranchial rest	+	0/10	0	0/10	1/10	0	0	0/10

ta, terminal autopsy.

a) Number of animals autopsied.

b) Number of animals affected / Number of animals examined.

-, Not examined.

+, slight.

\* Significantly different from vehicle control at P<0.05.

\*\* Significantly different from vehicle control at P<0.01.

Table 11-5 Ninety-day repeated-dose oral toxicity study in rats  
Summary of histopathological examinations

Findings	Grade	Male					Female												
		Vehicle control		300	1,000	Vehicle control	100	300	1,000	(mg/kg/day)									
		ta	ta	ta	ta	ta	ta	ta	ta	ta									
Parathyroid																			
No abnormalities detected		10/10 <sup>b)</sup>	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
Adrenal																			
No abnormalities detected		10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
Eye ball																			
No abnormalities detected		9/10	10/10	10/10	10/10	9/10	10/10	10/10	9/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
Focal atrophy of retina	+	1/10	0/10	0/10	0/10	1/10	1/10	1/10	1/10	1/10	1/10	1/10	1/10	1/10	1/10	1/10	1/10	1/10	1/10
Optic nerve																			
No abnormalities detected		10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
Harderian gland																			
No abnormalities detected		10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
Skeletal muscle																			
No abnormalities detected		10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
Bone																			
No abnormalities detected		10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
Skin																			
No abnormalities detected		10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
Mammary gland																			
No abnormalities detected		10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10

ta, terminal autopsy.

a) Number of animals autopsied.

b) Number of animals affected / Number of animals examined.

-, Not examined.

+, slight.

\* Significantly different from vehicle control at P<0.05.

\*\* Significantly different from vehicle control at P<0.01.

食品添加物のラットを用いる90日間反復投与毒性試験結果報告書(平成15年度)

1. 一般的事項

食品添加物の名称	アマシードガム
別名	—
主成分/成分	アマ科アマ( <u>Linum usitatissimum</u> LINNE)の種子の胚乳部分より、室温時～温時水又は含水アルコールで抽出して得られたものである。主成分は多糖類である。
常温における性状	白～淡黄褐色の粉末(淡褐色粉末(細かい))
安定性	—
溶解性	水、温水に溶けやすく、エタノールに不溶。(水(5 mg/mL)及びメタノール(1 mg/mL) 不溶)

2. 投与量設定の根拠となった試験

試験の種類及び期間	14日間反復投与毒性試験						
動物種	ラット						
投与経路	強制経口						
投与用量(mg/kg/day)	1群あたりの動物数	一般状態	体重	血液学的検査	血液化学的検査	器官重量	剖検
1,000	雄 3	投与第3日の投与直後のみに流涎(1/3)	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし
300	雄 3	異常なし	異常なし	検査せず	検査せず	異常なし	異常なし
100	雄 3	異常なし	異常なし	検査せず	検査せず	異常なし	異常なし

3-1. 90日間反復投与毒性試験

試験実施年度		平成15年度									
使用動物・系統		ラット, F344/DuCrj, SPF				1群あたりの動物数					
投与経路		強制経口投与				雄:10 雌:10					
		群		媒体対照		低用量		中用量		高用量	
		投与量(mg/kg)		0		100		300		1,000	
		性		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
体重	投与第22日~57日					-	-	-	-	↓	↓
	投与第64日					-	-	-	-	▽	↓
	投与第71日、78日					-	-	-	-	↓	↓
	投与第85日、90日					-	-	-	-	▽	↓
摂餌量	投与前					-	▽	-	-	-	▽
	投与第2日					-	-	-	-	▽	▽
一般状態						-	-	-	-	-	-
眼科学的検査	角膜損傷	(±)				-	1/5	-	1/5	-	-
血液学的検査						-	-	-	-	-	-
血液化学的検査						-	-	-	-	-	-
尿検査	沈渣	赤血球	51-499/10views	1/5	-	-	-	-	-	-	-
		白血球	51-499/10views	1/5	-	-	-	-	-	-	-
器官重量(絶対重量)	脾臓					-	-	-	-	▽	-
	副腎					-	-	-	-	△	-
器官重量(相対重量)	脳					-	-	-	-	△	-
	副腎					-	-	-	-	▲	-
剖検						-	-	-	-	-	-
病理組織学的検査 <sup>a)</sup>	脾臓	小葉萎縮	(+)	-	1/10	*	*	*	*	-	-
	心臓	限局性心筋炎	(+)	1/10	-	*	*	*	*	1/10	-
	精巣	精細管の限局性萎縮	(+)	-	-	1/10	-	-	-	1/10	-
	下垂体	異所性頭蓋咽頭管組織	(+)	-	-	*	*	*	*	1/10	-
	甲状腺	嚢嚢遺残	(+)	-	1/10	*	*	*	*	-	-
	眼球	網膜の限局性萎縮	(+)	1/10	1/10	*	*	*	*	-	-
NOAEL(mg/kg/day)						雄:300 mg/kg/day		雌:300 mg/kg/day			
NOAELの推定根拠とした変化		1,000 mg/kg群の雌雄で認められた体重増加抑制。									

△, 対照群に比べ有意な増加(p<0.05)

▽, 対照群に比べ有意な減少(p<0.05)

▲, 対照群に比べ有意な増加(p<0.01)

▼, 対照群に比べ有意な減少(p<0.01)

↑, 対照群に比べて増加傾向

↓, 対照群に比べて減少傾向

-, 変化なし

±~+, 陽性

数值, 例数

\*, 検査せず

空欄, 該当なし

a) いずれの所見においても、陽性例数について、媒体対照群との間に有意差はみられなかった。

注) 例数を記載した項目については「↑」及び「↓」の記号を省略する

4. その他

反復投与毒性試験 実施機関	名称	
	所在地	
試験責任者	職氏名	
試験実施年度	平成15年度	