

食品添加物規格基準設定等試験検査

委託者：厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課

(平成 28 年度品目)

イソオイゲニルメチルエーテルの F344 ラットにおける
90 日間反復投与毒性試験

最終報告書



国立医薬品食品衛生研究所



担当者：



【概要】

イソオイゲニルメチルエーテルの亜慢性毒性試験を実施して、F344 ラット雌雄（各群 10 匹）に体重 1 kg あたり 8、40 または 200 mg/kg のイソオイゲニルメチルエーテルを 91 日間強制経口投与し、その毒性学的影響について検討した。試験期間を通じて途中死亡および一般状態の変化は見られなかった。9 週目以降に雄の 200 mg/kg 群で体重増加抑制が見られた。血清生化学的検査では、雄の 200 mg/kg 群で TG の減少が見られた。臓器重量については、雌雄ともに 200 mg/kg 群で肝臓の絶対および相対重量増加が見られた。病理組織学的検査では雄の 200 mg/kg 群で肝肥大の増加が見られた。以上の結果からイソオイゲニルメチルエーテルの主要標的臓器は肝臓であると考えられ、本試験における最大無毒性量（NOAEL）は 40 mg/kg 体重であると判断した。

【背景】

イソオイゲニルメチルエーテルは香料として用いられている食品添加物である。一般に香料はその多くが通常の食品成分であることや、食品への使用量が限られている（香料の食品への適切量以上の使用は香味の悪化を招くために自ずと避けられる）ためヒトの摂取量が非常に低いこと、種類は極めて多いが化学的構造的にグループ化ができることといった特性により、FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議（FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives; JECFA）では他の食品添加物のように一連の毒性試験データに基づいた安全性評価は必須ではないとして、判断樹（Decision Tree）に基づいて安全性の判断を行っている。イソオイゲニルメチルエーテルは構造クラス III であり、このクラスにおける 5 パーセントタイル NOEL（no observed effect level; 最大無作用量）は $147 \mu\text{g/kg body weight/day}$ 、体重を 60 kg と仮定して安全係数 100 を除した許容曝露閾値は $88 \mu\text{g/day}$ である。イソオイゲニルメチルエーテルのヨーロッパおよびアメリカ合衆国における 1 人あたり推定摂取量はそれぞれ 128 および $129 \mu\text{g/day}$ と許容曝露閾値を超過しているが、SD ラットを用いた 28 日間の混餌投与試験における NOEL が $100 \text{mg/kg body weight/day}$ であること(1)、および 90 日間の混餌投与における NOEL が $6 \text{mg/kg body weight/day}$ であることから安全性に関する懸念がない（no safety concern）と評価されている(2)。しかし、90 日間の混餌投与試験は米国フレーバー・エキス工業会（Flavor and Extract Manufacturers' Association of the United States; FEMA）への私信（Private communication）であり、査読を経て公表された知見として利用できるのは 28

週間の試験結果のみである。イソオイゲニルメチルエーテルの日本における使用量（2010年度）は484.1 kg、推定摂取量は122.8 μ g/dayであり国内でも許容曝露閾値を超過していることから、我が国独自の安全性評価においては改めて90日間反復投与毒性試験のデータが必要であると考えられた。そこで今回、食品添加物規格基準設定等試験検査の一環として、F344ラットを用いたイソオイゲニルメチルエーテルの90日間亜慢性毒性試験を実施した。

【実験材料および方法】

1. 被験物質および投与量

より提供されたイソオイゲニルメチルエーテル（Lot：、純度99.3%）を被験物質として使用した。被験物質は特有の香気を有する無色～淡黄色・透明の液体で、遮光して冷蔵庫内（4℃）に密封保存した。動物への投与にあたっては、コーン油に用時混合し2時間以内に投与した。なお、コーン油中の被験物質の安定性をガスクロマトグラフ質量分析により検討し、常温で2時間保存後も安定であることを確認している。本試験に先立って実施した4週間の用量設定試験において雄の50 mg/kg群で肝臓の相対重量増加が見られ、200 mg/kg群ではそれに加えて腎臓相対重量増加、胸腺の絶対および相対重量の低下、副腎の絶対および相対重量の増加、IPの増加が見られ、雌の200 mg/kg群では肝臓の絶対および相対重量増加、腎臓相対重量増加、Glcの増加、Alb、Na、Clの低下が見られたことから、投与量は0（溶媒対象）、8、40、および200 mg/kg体重/dayとし、PTFE製フレキシブルゾンデ（フチガミ器械、針長85 mm、外径1.46 mm、先玉2.4 mm）を用いて91日間強制経口投与した。

2. 動物および飼育条件

5週齢のSPFラット（F344/DuCrIj）雌雄各40匹を日本チャールス・リバーより購入し、基礎飼料（CRF-1；オリエンタル酵母工業）および水道水にて1週間馴化飼育後、6週齢で実験に供した。動物は温度24±1℃、湿度55±5%、換気回数約18回/時（オールフレッシュ）、12時間の明暗サイクルに制御されたバリアシステムの飼育室で飼育した。床敷としてソフトチップ（三協ラボサービス）を敷いたポリカーボネート製箱型ケージに3～4匹ずつ収容し、ケージおよび床敷を週2回の頻度で交換した。動物実験は国立医薬品食品衛生研究所動物実験委員会の審査・承認を経て、同所の定める「動物実験の適正な実施に関する規定」を遵守して行った。

動物は投与開始日の体重に基づいて、各群の平均体重が近似するように雌雄とも 1 群 10 匹からなる 4 群に分け、試験期間中は基礎飼料および水道水を自由摂取させた。

3. 一般状態観察および検査項目

実験期間中、一般状態および死亡動物の有無を毎日観察し、体重および摂餌量を週 1 回測定した。動物は投与期間終了後に一晩絶食させ、イソフルラン吸入麻酔下で開腹し、腹部大動脈より採血を行った。血液学的検査として赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン量 (Hb)、ヘマトクリット値 (Ht)、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) および白血球数 (WBC) を測定した。血液塗抹標本はメイ・ギムザ染色を施した後、桿状核好中球 (Band)、分葉核好中球 (Seg)、好酸球 (Eosin)、好塩基球 (Baso)、リンパ球 (Lymph) および赤芽球 (Ebl) を計数した。また、血清生化学的検索として、総タンパク (TP)、アルブミン/グロブリン比 (A/G)、アルブミン (Alb)、総ビリルビン (Bil)、グルコース、トリグリセリド (TG)、総コレステロール (T-Cho)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cre)、ナトリウム (Na)、クロール (Cl)、カリウム (K)、カルシウム (Ca)、無機リン (IP)、アスパラギン酸トランスアミナーゼ (AST)、アラニントランスアミナーゼ (ALT)、アルカリフォスファターゼ (ALP) および γ -グルタミルトランスぺプチダーゼ (γ -GTP) の各項目をエスアールエルに委託して測定した。採血後に動物を放血死させ、剖検を実施するとともに、脳、胸腺、肺、心臓、脾臓、肝臓、副腎、腎臓、卵巣あるいは精巣を摘出し、重量を測定した。また、上記の組織に加え胸骨、気管、大動脈、甲状腺および上皮小体、舌、食道、前胃、腺胃、小腸 (十二指腸、空腸、回腸)、大腸 (盲腸、結腸、直腸)、膵臓、膀胱、精囊、前立腺、精巣上体、子宮、陰、下垂体、大腿筋、坐骨神経、三叉神経、脊髄および鼻腔を摘出した。眼球およびハーダー腺はダビッドソン固定液、精巣はブアン固定液により固定し、その他の臓器は 10% 中性緩衝ホルマリン液で固定した後、常法に従いパラフィン包埋、薄切標本作製後、ヘマトキシリン・エオジン染色を施して病理組織学的検索を実施した。

4. 統計学的処理

体重、血液学的・血清生化学的検査値および臓器重量については、各群の分散比を Bartlett の方法で検定し、等分散の場合は一元配置分散分析を、不等分散の場合は Kruskal-Wallis 法を用いて検討した。群間に有意差が認められた場合、Dunnnett 法による多重比較検定を行った。病理組織学的所見の発生頻度については、Fischer's exact test に

よる検定を実施した。いずれの検定においても、 $P < 0.05$ の場合を統計学的に有意と判定した。

【結果】

1. 死亡動物および一般状態変化

試験期間中の途中死亡および一般状態の変化は見られなかった。

2. 体重および摂餌量

投与 9 週目以降に雄の 200 mg/kg 群で有意な体重増加抑制が見られた。(Fig. 1A) 摂餌量については試験期間を通じて群間で顕著な差は観察されなかった (Fig. 1B)。

3. 血液学および血清生化学的検査

血液学的検査では雄の 40 mg/kg 群で Mono の減少、雌の 200 mg/kg 群で MCV の減少が見られた (Table 1)。血清生化学的検査では雄の 200 mg/kg 群で TG および AST の減少と、Ca および IP の増加が見られた。雌では 8 mg/kg 群で Bil の増加、40 mg/kg 以上群で BUN の低下と K の増加が見られ、200 mg/kg 群ではそれに加えて Ca の増加と AST の減少が見られた (Table 2)。

4. 臓器重量

雄の 200 mg/kg 群で肝臓の絶対および相対重量、肺、副腎、腎臓、精巣の相対重量の増加が見られた。雌では 40 mg/kg 群で副腎の相対重量の低下が見られ、200 mg/kg 群で肝臓の絶対および相対重量の増加が見られた (Table 3)。

5. 病理組織学的検査

肝臓、腎臓および脾臓は全動物について、その他の臓器は対照群および 200 mg/kg 群について標本を作製して病理組織学的検査を行ったところ、雄の 200 mg/kg 群で肝肥大の増加が見られた。雌の 200 mg/kg 群では 10 匹中 2 匹で肝肥大が見られたが、統計学的に有意ではなかった。

【考察】

雌雄の F344 ラットにイソオイゲニルメチルエーテルを 91 日間強制経口投与したところ、投与期間を通じて、死亡、一般状態の変化は見られなかった。9 週目以降に雄の 200 mg/kg 群で体重増加抑制が見られ、摂餌量に変動が見られなかったことから被験物質の投与に伴う直接的な影響であると考えられた。

血液学的検査では雌の 200 mg/kg 群で MCV の低下が見られたが、MCH および MCHC の変動が見られなかったことから毒性学的な意義は小さいと考えられる。また雄の 40 mg/kg 群で見られた Mono の低下は用量相関性がないことから偶発的な変動であったと考えられる。

血清生化学検査では雄の 200 mg/kg 群で TG の低下が見られた。この他、雄の 200 mg/kg 群で Ca、IP の増加が見られ、雌では 40 mg/kg 以上の群で K、200 mg/kg 群で Ca の増加が見られるなど無機塩類の変動が多く見られたが、骨および腎臓に病理組織学的所見は認められず、Cre および BUN の上昇が見られなかったことから毒性学的な意義は小さいと考えられる。また雌雄の 200 mg/kg 群では AST の減少、雌の 40 mg/kg 以上群では BUN の低下が見られたが、これらはそれぞれ肝臓および腎臓の障害で通常認められる変化とは逆であり、毒性学的な意義は乏しいと考えられる。また雌の 8 mg/kg 群で見られた Bil の増加は用量相関性がないため偶発的な変動であったと考えられる。過去の論文では 28 日間の 300 mg/kg 体重/day 相当の混餌投与により雌で ALT の上昇が報告されているが(1)、今回検討した用量では見られなかった。

臓器重量では、雌雄ともに 200 mg/kg 群で肝臓の絶対および相対重量の増加が見られた。雄の 200 mg/kg 群ではこのほか、肺、副腎、腎臓、精巣の相対重量の増加が見られたが、絶対重量には有意な変動がなく、病理組織学的変化が認められなかったことから、体重減少に伴う変動であったと考えられる。雌の 40 mg/kg 群で見られた副腎の相対重量低下は、用量相関性がないため偶発的な変動であったと考えられる。

病理組織学的検査では雄の 200 mg/kg 群で肝肥大が見られた。雌の 200 mg/kg 群では 10 匹中 2 匹に肝肥大の所見が見られたが、統計学的に有意ではなかった。雌雄ともに 200 mg/kg 群で肝臓の相対および絶対重量の増加が見られたこと、血液生化学的検査において雄の 200 mg/kg 群で TG の有意な低下が見られたことから、イソオイゲニルメチルエーテルは肝臓において器質的・機能的変化を伴う毒性を示すと考えられた。

以上の結果からイソオイゲニルメチルエーテルの主要標的臓器は肝臓であると考えられた。本試験における NOAEL は 40 mg/kg 体重であると判断した。

【参考文献】

1. Purchase,R., Ford,G.P., Creasy,D.M. and Brantom,P.G. (1992) A 28-day feeding study with methyl isoeugenol in rats. *Food Chem Toxicol*, 10.1016/0278-6915(92)90098-6.
2. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (2004) Evaluation of certain food additives and contaminants (Sixty-first report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). *WHO Tech. Report Ser. No.922*

Table 1. Hematology of F344 rats treated with isoeugenyl methyl ether for 13 weeks

Dose level (mg/kg)	0	8	40	200
<i>Male</i>				
No. of animals	10	10	10	10
RBC ($\times 10^4/\mu\text{l}$)	901 \pm 43	898 \pm 29	888 \pm 46	887 \pm 27
Hb (g/dL)	14.8 \pm 0.7	14.7 \pm 0.5	14.5 \pm 0.5	14.5 \pm 0.5
Ht (%)	48.4 \pm 2.2	48.2 \pm 1.5	47.9 \pm 2.4	47.8 \pm 1.4
MCV (fl)	53.7 \pm 0.4	53.7 \pm 0.3	53.9 \pm 0.4	54.0 \pm 0.3
MCH (pg)	16.4 \pm 0.3	16.4 \pm 0.3	16.3 \pm 0.4	16.3 \pm 0.4
MCHC (g/dL)	30.5 \pm 0.6	30.6 \pm 0.5	30.3 \pm 0.7	30.3 \pm 0.7
PLT ($\times 10^4/\mu\text{l}$)	63.5 \pm 3.6	63.0 \pm 5.4	61.7 \pm 5.1	66.7 \pm 7.1
WBC ($\times 10^2/\mu\text{l}$)	28.3 \pm 9.1	22.5 \pm 6.1	22.0 \pm 10.9	23.6 \pm 9.6
Differential cell counts				
Band (%)	4.3 \pm 2.1	2.5 \pm 1.1	4.3 \pm 2.0	4.1 \pm 1.5
Seg (%)	22.7 \pm 7.9	24.0 \pm 5.6	26.1 \pm 6.9	25.4 \pm 5.0
Eosino (%)	1.4 \pm 0.9	1.1 \pm 0.9	1.0 \pm 0.7	1.2 \pm 0.8
Baso (%)	0.1 \pm 0.2	0.0 \pm 0.0	0.1 \pm 0.2	0.0 \pm 0.0
Lympho (%)	69.8 \pm 8.9	70.9 \pm 5.2	68.2 \pm 6.8	68.4 \pm 5.2
Mono (%)	1.9 \pm 1.2	1.6 \pm 1.2	0.5 \pm 0.5**	1.1 \pm 0.9
Ebl (per 200 WBC)	2.3 \pm 1.6	3.1 \pm 1.3	3.5 \pm 1.4	3.2 \pm 1.8
<i>Female</i>				
No. of animals	10	10	10	10
RBC ($\times 10^4/\mu\text{l}$)	786 \pm 49	807 \pm 28	800 \pm 28	810 \pm 36
Hb (g/dL)	13.9 \pm 0.9	14.2 \pm 0.4	14.2 \pm 0.7	14.3 \pm 0.5
Ht (%)	44.7 \pm 2.6	45.8 \pm 1.4	45.4 \pm 1.6	45.5 \pm 2.2
MCV (fl)	56.9 \pm 0.7	56.7 \pm 0.4	56.7 \pm 0.2	56.2 \pm 0.4**
MCH (pg)	17.6 \pm 0.3	17.6 \pm 0.2	17.8 \pm 0.3	17.7 \pm 0.4
MCHC (g/dL)	31.1 \pm 0.6	31.0 \pm 0.4	31.4 \pm 0.5	31.5 \pm 0.6
PLT ($\times 10^4/\mu\text{l}$)	65.6 \pm 6.4	62.7 \pm 3.7	64.4 \pm 3.7	67.7 \pm 5.7
WBC ($\times 10^2/\mu\text{l}$)	18.7 \pm 10.5	17.0 \pm 4.9	14.5 \pm 5.2	19.1 \pm 8.5
Differential cell counts				
Band (%)	2.5 \pm 0.9	2.5 \pm 1.0	2.2 \pm 1.0	2.2 \pm 1.3
Seg (%)	19.6 \pm 4.6	26.1 \pm 7.9	23.4 \pm 4.7	23.7 \pm 4.4
Eosino (%)	1.2 \pm 0.9	1.5 \pm 1.2	1.0 \pm 0.7	1.0 \pm 0.7
Baso (%)	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.1 \pm 0.2	0.1 \pm 0.2
Lympho (%)	75.9 \pm 4.4	69.0 \pm 7.0	72.8 \pm 4.9	72.0 \pm 5.7
Mono (%)	0.9 \pm 0.7	1.1 \pm 0.7	0.7 \pm 0.5	1.1 \pm 0.8
Ebl (per 200 WBC)	5.2 \pm 1.5	4.1 \pm 1.8	4.1 \pm 2.7	5.3 \pm 2.5

Values are mean \pm S.D. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

Table 2. Serum biochemistry of F344 rats treated with isoeugenyl methyl ether for 13 weeks

Dose level (mg/kg)	0	8	40	200
<i>Male</i>				
No. of animals	10	10	10	10
TP (g/dL)	6.39 ± 0.15	6.40 ± 0.16	6.44 ± 0.16	6.49 ± 0.12
A/G	2.28 ± 0.11	2.29 ± 0.15	2.27 ± 0.09	2.35 ± 0.11
Alb (g/dL)	4.43 ± 0.12	4.44 ± 0.12	4.47 ± 0.09	4.54 ± 0.11
Bil (mg/dL)	0.041 ± 0.007	0.037 ± 0.007	0.039 ± 0.009	0.040 ± 0.005
Glucose (mg/dL)	158.1 ± 22.6	153.4 ± 21.8	166.7 ± 29.8	162.6 ± 41.0
TG (mg/dL)	71.4 ± 13.0	69.9 ± 22.3	59.4 ± 10.6	45.8 ± 7.8**
T-Cho (mg/dL)	56.4 ± 4.2	53.8 ± 4.2	54.8 ± 3.2	52.4 ± 3.9
BUN (mg/dL)	20.0 ± 1.6	19.8 ± 2.3	20.2 ± 0.9	20.4 ± 1.6
Cre (mg/dL)	0.35 ± 0.03	0.35 ± 0.02	0.34 ± 0.03	0.33 ± 0.02
Na (mEQ/L)	142.9 ± 0.9	143.4 ± 0.7	143.4 ± 1.2	143.1 ± 0.7
Cl (mEQ/L)	101.0 ± 1.2	101.4 ± 0.8	101.4 ± 1.6	101.0 ± 0.9
K (mEQ/L)	4.50 ± 0.21	4.51 ± 0.15	4.42 ± 0.16	4.50 ± 0.19
Ca (mg/dL)	10.51 ± 0.15	10.45 ± 0.18	10.56 ± 0.16	10.73 ± 0.18*
IP (mg/dL)	5.24 ± 0.43	5.49 ± 0.67	5.46 ± 0.57	6.25 ± 0.40**
AST (IU/L)	75.2 ± 14.0	78.7 ± 15.4	71.5 ± 7.4	61.1 ± 5.5*
ALT (IU/L)	50.5 ± 8.0	52.2 ± 6.3	48.7 ± 6.2	51.1 ± 6.0
ALP (IU/L)	461.8 ± 46.0	452.5 ± 33.7	467.7 ± 33.7	443.3 ± 46.1
γ-GTP (IU/L)	<3	<3	<3	<3
<i>Female</i>				
No. of animals	10	10	10	10
TP (g/dL)	5.83 ± 0.23	5.94 ± 0.17	5.87 ± 0.19	6.02 ± 0.17
A/G	2.59 ± 0.20	2.57 ± 0.22	2.61 ± 0.12	2.59 ± 0.18
Alb (g/dL)	4.20 ± 0.16	4.27 ± 0.15	4.24 ± 0.14	4.34 ± 0.12
Bil (mg/dL)	0.048 ± 0.006	0.058 ± 0.010*	0.050 ± 0.008	0.044 ± 0.010
Glucose (mg/dL)	128.8 ± 20.0	128.0 ± 23.9	116.9 ± 12.9	129.9 ± 16.3
TG (mg/dL)	43.2 ± 17.6	44.0 ± 20.2	43.4 ± 21.7	30.5 ± 6.4
T-Cho (mg/dL)	70.7 ± 8.1	70.7 ± 4.7	70.1 ± 8.9	76.8 ± 7.5
BUN (mg/dL)	19.7 ± 2.0	17.9 ± 2.2	16.9 ± 1.9**	16.8 ± 2.0**
Cre (mg/dL)	0.35 ± 0.03	0.34 ± 0.02	0.34 ± 0.04	0.32 ± 0.02
Na (mEQ/L)	143.3 ± 0.9	143.7 ± 0.9	143.3 ± 1.2	142.5 ± 1.4
Cl (mEQ/L)	104.2 ± 3.0	104.7 ± 1.8	104.2 ± 1.4	103.1 ± 1.5
K (mEQ/L)	4.10 ± 0.12	4.26 ± 0.24	4.35 ± 0.10**	4.35 ± 0.10**
Ca (mg/dL)	10.02 ± 0.20	10.06 ± 0.13	9.94 ± 0.15	10.21 ± 0.16*
IP (mg/dL)	4.28 ± 0.52	4.23 ± 0.63	4.37 ± 0.70	4.81 ± 0.73
AST (IU/L)	77.0 ± 9.3	77.5 ± 12.0	70.8 ± 5.3	66.1 ± 6.5*
ALT (IU/L)	41.8 ± 6.2	44.4 ± 8.0	38.0 ± 3.8	38.9 ± 5.1
ALP (IU/L)	317.3 ± 36.2	344.4 ± 35.2	332.0 ± 52.1	319.4 ± 28.3
γ-GTP (IU/L)	<3	<3	<3	<3

Values are mean ± S.D. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

Table 3. Organ weights of F344 rats treated with isoeugenyl methyl ether for 13 weeks

Dose level (mg/kg)	0	8	40	200
<i>Male</i>				
No. of animals	10	10	10	10
Body weight (g)	316.5 ± 11.0	318.4 ± 15.7	315.8 ± 10.6	297.8 ± 16.4*
Absolute (g)				
Brain	2.008 ± 0.045	1.979 ± 0.037	1.983 ± 0.079	1.968 ± 0.032
Thymus	0.176 ± 0.014	0.171 ± 0.033	0.169 ± 0.024	0.152 ± 0.017
Lungs	0.932 ± 0.079	0.992 ± 0.052	0.944 ± 0.068	0.956 ± 0.052
Heart	0.882 ± 0.037	0.870 ± 0.042	0.881 ± 0.042	0.842 ± 0.058
Spleen	0.538 ± 0.024	0.542 ± 0.024	0.554 ± 0.020	0.526 ± 0.033
Liver	7.394 ± 0.405	7.401 ± 0.387	7.620 ± 0.447	7.934 ± 0.553*
Adrenals	0.037 ± 0.004	0.038 ± 0.005	0.038 ± 0.004	0.041 ± 0.003
Kidneys	1.838 ± 0.107	1.831 ± 0.073	1.804 ± 0.059	1.825 ± 0.096
Testes	3.045 ± 0.117	3.065 ± 0.132	3.029 ± 0.099	3.065 ± 0.171
Relative (g%)				
Brain	0.635 ± 0.026	0.623 ± 0.034	0.629 ± 0.037	0.663 ± 0.036
Thymus	0.056 ± 0.006	0.054 ± 0.012	0.054 ± 0.007	0.051 ± 0.004
Lungs	0.294 ± 0.019	0.312 ± 0.021	0.299 ± 0.026	0.321 ± 0.015*
Heart	0.279 ± 0.007	0.273 ± 0.010	0.279 ± 0.012	0.283 ± 0.015
Spleen	0.170 ± 0.006	0.170 ± 0.002	0.176 ± 0.007	0.177 ± 0.005
Liver	2.336 ± 0.094	2.325 ± 0.048	2.411 ± 0.074	2.663 ± 0.083**
Adrenals	0.012 ± 0.001	0.012 ± 0.001	0.012 ± 0.001	0.014 ± 0.001**
Kidneys	0.581 ± 0.037	0.576 ± 0.024	0.571 ± 0.015	0.613 ± 0.019*
Testes	0.963 ± 0.043	0.964 ± 0.044	0.960 ± 0.037	1.032 ± 0.075*
<i>Female</i>				
No. of animals	10	10	10	10
Body weight (g)	159.8 ± 6.5	162.2 ± 9.0	162.5 ± 8.9	161.0 ± 9.1
Absolute (g)				
Brain	1.768 ± 0.033	1.796 ± 0.043	1.795 ± 0.037	1.785 ± 0.037
Thymus	0.137 ± 0.023	0.143 ± 0.016	0.146 ± 0.029	0.139 ± 0.011
Lungs	0.640 ± 0.048	0.645 ± 0.049	0.628 ± 0.086	0.625 ± 0.053
Heart	0.520 ± 0.047	0.524 ± 0.028	0.520 ± 0.064	0.521 ± 0.040
Spleen	0.348 ± 0.030	0.357 ± 0.023	0.354 ± 0.026	0.341 ± 0.031
Liver	3.535 ± 0.206	3.504 ± 0.226	3.610 ± 0.163	4.062 ± 0.296**
Adrenals	0.041 ± 0.008	0.037 ± 0.006	0.034 ± 0.002*	0.042 ± 0.007
Kidneys	0.992 ± 0.047	1.007 ± 0.055	1.009 ± 0.063	1.022 ± 0.044
Ovaries	0.041 ± 0.005	0.042 ± 0.005	0.039 ± 0.007	0.041 ± 0.005
Relative (g%)				
Brain	1.108 ± 0.043	1.110 ± 0.058	1.108 ± 0.074	1.112 ± 0.064
Thymus	0.086 ± 0.013	0.088 ± 0.009	0.090 ± 0.019	0.087 ± 0.008
Lungs	0.400 ± 0.023	0.398 ± 0.023	0.387 ± 0.051	0.389 ± 0.034
Heart	0.326 ± 0.025	0.323 ± 0.011	0.320 ± 0.030	0.324 ± 0.026
Spleen	0.218 ± 0.018	0.220 ± 0.009	0.218 ± 0.015	0.212 ± 0.016
Liver	2.212 ± 0.086	2.161 ± 0.075	2.224 ± 0.080	2.524 ± 0.115**
Adrenals	0.026 ± 0.005	0.023 ± 0.004	0.021 ± 0.002*	0.026 ± 0.005
Kidneys	0.621 ± 0.032	0.621 ± 0.017	0.622 ± 0.040	0.636 ± 0.030
Ovaries	0.026 ± 0.003	0.026 ± 0.003	0.024 ± 0.004	0.026 ± 0.004

Values are mean ± S.D. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

Tabel 4. Histopathological findings for F344 rat treated with Isoeugenyl methyl ether for 13 weeks

		Male				Female			
		0 mg/kg	8 mg/kg	40 mg/kg	200 mg/kg	0 mg/kg	8 mg/kg	40 mg/kg	200 mg/kg
		10	10	10	10	10	10	10	10
Pituitary gland	Cyst, anterior lobe	0	-	-	0	1	-	-	0
Parotid gland	Basophilic hypertrophic cell foci	0	-	-	2	1	-	-	0
	Infiltrate, inflammatory cell, interstitial	1	-	-	0	0	-	-	1
Heart	Atrophy, acinar, focal	1	-	-	2	1	-	-	0
	Infiltrate, inflammatory cell, myocardium	7	-	-	5	4	-	-	2
	Mononuclear cell infiltrate/fibrosis,	0	-	-	1	0	-	-	0
Lung	Infiltrate, inflammatory cell, interstitial	1	-	-	0	0	-	-	1
	Aggregation of foamy cell	1	-	-	3	0	-	-	1
Liver	Microgranuloma	5	2	2	5	3	4	6	6
	Hypertrophy	0	0	0	7**	0	0	0	2
Pancreas	Infiltrate, inflammatory cell, interstitial	2	-	-	0	0	-	-	0
	Atrophy, acinar, focal	0	-	-	2	0	-	-	1
Stomach	Cystic gland, glandular stomach	1	-	-	0	1	-	-	0
	Basal cell hyperplasia, limiting ridge, focal	0	-	-	1	0	-	-	0
	Infiltrate, mononuclear cell, glandular stomach, lamina propria mucosae, focal	0	-	-	0	1	-	-	1
Spleen	Increased hemosiderin deposition	0	-	-	0	0	-	-	1
Kidney	Regenerative tubules	9	7	9	10	0	0	0	0
	Mineralization, cortex	1	0	0	2	0	0	0	1
	Mineralization, medulla	8	5	6	7	10	7	9	8
	Infiltrate, inflammatory cell, interstitial	0	0	0	0	0	0	1	0
Urinary bladder	Infiltrate, inflammatory cell, focal	1	-	-	0	0	-	-	0
Epididymis	Infiltrate, inflammatory cell, interstitial	1	-	-	0	0	-	-	0
Prostate	Infiltrate, inflammatory cell, foci	2	-	-	3	-	-	-	-
Bulbourethral gland	Infiltrate, inflammatory cell	1	-	-	0	-	-	-	-
Harderian gland	Infiltrate, inflammatory cell, interstitial	0	-	-	1	2	-	-	2

** $P < 0.01$. -; not evaluated.

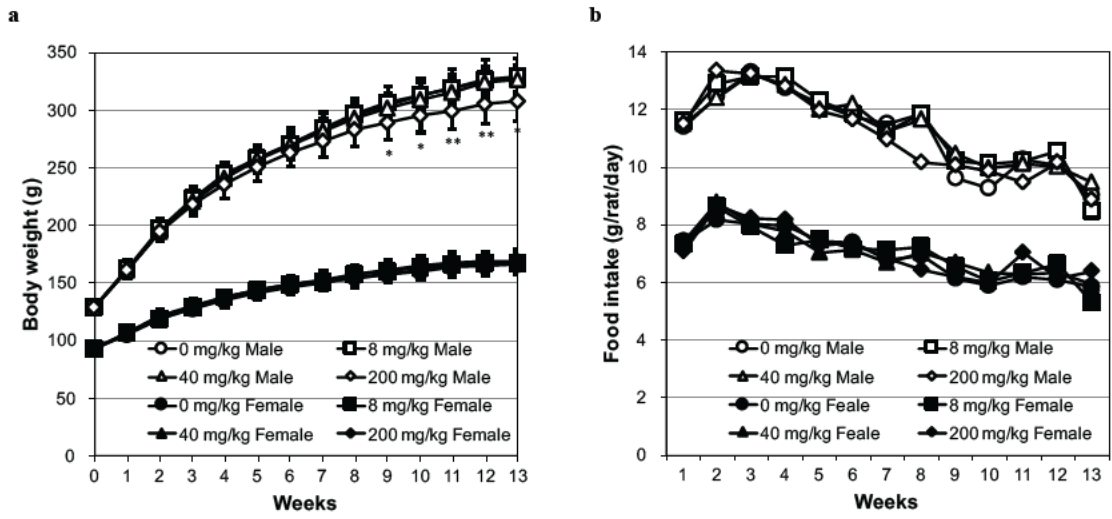


Figure 1. (a) Body weight and **(b)** food intake of F344 rats treated with isoeugenyl methyl ether for 13 weeks.