

食品添加物規格基準設定等試験検査

食品添加物安全性再評価

委託者：厚生労働省医薬局食品保健部基準課

受託者：[REDACTED]

(平成13年度品目)

カテキンのF344ラットにおける90日間反復投与毒性試験

最終報告書

[REDACTED]
国立医薬品食品衛生研究所 [REDACTED]
[REDACTED]

はじめに

カテキンはツバキ科チャの茎もしくは葉、マメ科ペグアセンヤクの幹枝またはアカネ科ガンビールの幹枝もしくは葉などに含まれているポリフェノール化合物の総称であり、含まれるカテキン類としてはカテキン、ガロカテキン、エピカテキン、エピガロカテキン、エピカテキンガレート、エピガロカテキンガレート等があげられる。食品添加物としては酸化防止剤として水産加工品、食肉加工品、菓子類、油脂、清涼飲料水等に使用されている¹⁾。これまでにカテキンは抗酸化作用²⁾、発がん抑制作用³⁾や抗変異原性⁴⁾を有するなど、様々な作用が報告されているが、安全性評価を目的とした毒性試験に関する報告は見られない。そこで今回、カテキンの安全性を評価するため、ラットにおける90日間反復経口投与毒性試験を実施した。

実験材料および方法

被験物質および投与量

緑茶カテキンは渋味を有する赤褐色の粉末で水、アルコール、アセトン等に可溶で鉄との反応性を有する物質である。今回の実験には[]より提供された緑茶カテキン([])を使用した。[]の組成は水分(3%)、脂質(0.7%)、蛋白質(5.8%)、強熱残分(0.2%)、ポリフェノール画分(80.8%)、カフェイン(0.4%)及びその他(9.1%)である。ポリフェノール画分にはカテキン類(68.5%)としてエピガロカテキンガレート(29.4%)、エピガロカテキン(12.7%)、エピカテキンガレート(9.9%)、エピカテキン(7.3%)、ガロカテキン(5.3%)、ガロカテキンガレート(2.1%)及びカテキン(1.8%)が含まれている。この緑茶カテキンを粉末基礎飼料(CRF-1,オリエンタル酵母工業㈱)に混合した飼料を使用し実験に供した。本混合飼料は冷蔵、遮光下で4週間密閉保存後、室温、室内散乱光下で2週間開封保存した際の安定性が確認されていることから、使用時まで冷蔵の飼料貯蔵庫で保管し、動物に与えた飼料は安定性が確認されている期間内に適宜交換した。本試験における混合飼料中の被検物質濃度は、本試験に先立って実施した2週間の忌避試験の結果に基づき最高用量を5.0%とし、以下公比4で減じて1.25%あるいは0.3%の濃度で混じて投与し、対照群として0%群をもうけた。

動物および検査項目

5週齢のF344/DuCrjラット(SPF)雌雄各40匹を日本チャールス・リバー㈱より購入し、1週間の馴化飼育後、6週齢で実験に供した。動物は温度 $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ 、換気回数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ーシステムの飼育室で、ソフトチップ(三協ラボサービス)の床敷を敷いたプラスチックケージに1ケージ

あたり5匹ずつ収容して飼育し、ケージおよび床敷を週2回交換した。

投与開始当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5.0、1.25、0.3%あるいは0%の緑茶カテキン添加飼料および水道水を約90日間（雄；91日間、雌；92日間）自由に摂取させた。

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。投与期間終了後に全動物を一晩絶食後、エーテル麻酔下で開腹し、腹部大動脈より採血を行なった。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)を多項目自動血球計数装置(K-4500, Sysmex)を用いて測定すると共に、Wright染色した塗抹標本を作製し、桿状核好中球(Band)、分葉核好中球(Seg)、好酸球(Eosino)、好塩基球(Baso)、リンパ球(Lympho)、単球(Mono)および有核赤血球(Ebl)について血液細胞自動分析装置(MICROX HEG-120A型、立石電気)を用いて計測した。また、遠心分離により得た血清について総蛋白(TP)、アルブミン(Alb)、アルブミン/グロブリン比(A/G)、総ビリルビン(Bil)、トリグリセライド(TG)、総コレステロール(T-Cho)、尿素窒素(BUN)、クレアチニン(Cre)、カルシウム(Ca)、無機リン(IP)、ナトリウム(Na)、クロール(Cl)、カリウム(K)、アラニントランスアミナーゼ(ALT)、アスパラギン酸トランスアミナーゼ(AsT)、アルカリホスファターゼ(ALP)および γ -グルタミルトランスペプチダーゼ(γ GTP)の各項目を(株)エスアールエル(東京)に委託して測定した。採血終了後動物を放血死させ、剖検を実施すると共に、脳、胸腺、肺、心臓、脾臓、肝臓、副腎、腎臓および精巣を摘出し、重量を測定した。また、上記組織に加えリンパ節(頸部、腸間膜)、唾液腺、骨および骨髓(胸骨、大腿骨)、気管、大動脈、甲状腺および上皮小体、舌、食道、前胃、腺胃、十二指腸、小腸(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、卵巣および卵管、子宮、膣、下垂体、坐骨神経、骨格筋、皮膚、乳腺、脊髄、鼻腔、眼球およびその附属器を摘出し、10%中性緩衝ホルマリン液で、また精巣のみブアン液で固定した。なお甲状腺、下垂体、前立腺および子宮については固定後重量測定を行なった。常法に従ってこれらをパラフィンに包埋後、薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施して対照群と高用量群の動物について病理組織学的検査を行なった。

3. 統計学的処理

体重、血液学的検査、血清生化学的検査および臓器の絶対重量と相対重量については、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行い、不等分散の場合はKruskal-Wallisの方法により検定を行なった。群間に有意差が認められた場合の多重比較はDunnett法により有意差検定を行なった。

結果

1. 一般状態

試験期間中を通じて死亡動物は認められなかった。5.0%投与群の雄において、投与5週間目から試験終了時まで尾の顕著な汚れが見られた。また雌雄とも高用量群になるに従い床敷の著しい汚れが観察された。

2. 体重及び摂餌量

体重は対照群と比較して投与開始1週間目に雌雄ともに5.0%群で有意な体重増加抑制が見られ、雄では試験終了時まで有意な増加抑制が持続した (Fig.1)。雌の5%投与群においては、2週目より体重は対照群と同レベルに回復した (Fig.1)。摂餌量については雄では投与期間を通じて差は見られなかったが、雌では投与開始1週間の5%投与群の摂餌量が対照群に比べて減少し (対照群: 9.1 g/rat/day、5%投与群: 7.1 g/rat/day)、2週目以降は増加傾向を示した (Fig.2)。投与期間を通した1日当たりの被験物質平均摂取量は0.3%群の雄で179.9、雌で188.5 mg/kg b.w/day、1.25%群の雄で763.9、雌で820.1 mg/kg b.w/day、5%の雄で3524.6、雌で3541.6 mg/kg b.w/dayと飼料中被験物質濃度に応じて増加した (Table 1)。

3. 血液学的検査および血清生化学的検査

血液学的検査において、5%投与群の雌雄ではMCVおよびMCHの値が有意に高値を示した (Table 2,3)。また、0.3%投与群の雌においてWBCの有意な低値を示した (Table 3)。

血清生化学的検査において、雄では5%群でA/G、ALT及びALPの値が有意に上昇し、1.25%以上の投与群でIPが有意な増加を示した。またTGが1.25%以上の投与群で被験物質投与量に依存して有意な減少を示し、T-ChoおよびCreも0.3%以上の投与群で被験物質投与量依存的に有意な減少を示した (Table 4)。一方、雌では5%群でAlb、A/G、AsT、ALT及びALPが有意に上昇し、またTG及びCreが有意に減少した。0.3%以上の投与群ではIPが有意に増加し、Kは5%と0.3%群において有意な高値を示し、また1.25%群のClが有意な高値を示した (Table 5)。

4. 器官重量

雄の5%群において脳、胸腺、肺、心臓、脾臓、肝臓、甲状腺及び下垂体の実重量が有意に減少した。また体重100 g当たりの相対重量は、5%群において脳、肝臓、腎臓及び精巣で有意に増加した。また1.25%群以上の投与群において甲状腺相対重量が有意に減少した (Table 6)。

雌では甲状腺の実重量が1.25%投与群以上で有意に増加し、相対重量も5%群で有意に増加した。副腎の実重量が0.3%および5%群で有意に低値を示し、相対重量も0.3%群で有意に低下した。肝臓、腎臓相対重量が雄と同様に5%投与群で有意に増加した。

5. 病理組織学的検査

対照群と5%投与群について組織学的検査を実施した結果、Table 8、9に示す種々の所見が見られたが、5%投与群で特異的あるいは特に高率に発生するものは認められなかった。

考察

F344ラットを用いてカテキンの混餌投与による90日間反復投与毒性試験を実施した。雄の5%群で投与5週目からみられた尾の汚れと高用量群になるに従い顕著であった床敷の汚れは、カテキン摂取による排泄物の着色によるものと考えられた。

雄の5%群では対照群と比較し、投与期間を通じて有意な体重増加抑制がみられたが、摂餌量に変化が認められないことから、この体重増加抑制はカテキン投与による飼料効率の低下などによるものと考えられた。また、雌の5%投与群においては投与開始1週間目に有意な体重増加抑制が見られたが、投与開始1週間の摂餌量の減少が影響したと考えられた。

血液学的検査において、カテキン投与による著明な影響は認められなかった。5%投与群の雌雄でMCVおよびMCHが有意に高値を示したが、他の赤血球系パラメータに変動が認められないことから毒性学的意義の乏しい変化と考えられた。また0.3%投与群の雌においてWBCの有意な減少が認められたが投与用量との関連性はなく、偶発的な変化であると考えられた。

血清生化学的検査において、雄でT-Choが用量依存的に有意に低下し、TGについては雄の1.25%以上、雌の5%投与群において有意な減少が認められた。これまでに高コレステロール食を与えたラットにgreen tea polyphenol食を与えると血清T-Choが低下するとともに糞中コレステロール排泄が増加し^{5,6)}、緑茶カテキンはコレステロールの腸での吸収を低下させることが報告されている⁷⁾。従って、今回雄で認められたT-Choの減少はカテキン投与による脂質の吸収抑制による影響であることが示唆された。血清蛋白への影響として5%投与群の雌のAlbおよび雌雄のA/G比が軽度ながら有意な高値を示したが、TPに変化が見られなかったことから、偶発的な変化であり、カテキン投与による影響とは考えられなかった。

さらに5%投与群の雄ではALTとALPが、雌ではAsT、ALTおよびALPが有意に高値を示し、また雌雄ともに5%投与群において相対肝重量の有意な増加が認められ肝臓に対する影響が示唆された。しかし病理学的組織検査では、雌雄ともに血液生化学値の変動に関連すると思われる変化は認められなかった。またカテキン投与によると思われるCreの減少、IPの増加および腎臓の相対重量の増加が認められたが、腎臓あるいは骨などの病理学的組織学的変化は認められなかった。このほかにいくつかの血清生化学検査による変化が認められたが、いずれも投与濃度に依存しない変化であったため、毒性学的意義の乏しいものと考えられた。

器官重量変化について、雄の5%群が解剖時体重の減少に伴い脳、胸腺、肺、心臓、脾臓、

肝臓、甲状腺及び下垂体の実重量が有意に減少した。相対重量については体重変化に影響されにくい脳及び精巣が高値を示した。相対甲状腺重量は雄では軽度ながら有意な低下、雌では有意な高値を示したが、いずれにおいても病理組織学的変化は見られなかった。

以上の結果より、カテキンを最高用量5%とし、以下公比4で減じて1.25%あるいは0.3%の濃度で混じて投与し、対照群として0%群をもうけて90日間雌雄のF344ラットに混餌投与した本試験では、雄の5%投与群において体重増加抑制が認められ、血清ALTとALPが有意に高値を示し、病理学的検査で異常は見られなかったものの肝臓、腎臓の相対重量が有意に増加し、1.25%以上の投与群で甲状腺の相対重量が有意に低下し、また0.3%以上の投与群で血清T-Choが有意に低下したことから、カテキンの無毒性量は雄ラットで0.3%(179.9 mg/kg b.w/day)未満であった。また雌の5%投与群においては血清AsT、ALTおよびALPが有意に高値を示し、肝臓、腎臓および甲状腺の相対重量が有意に増加し、1.25%投与群以上で甲状腺の実重量が有意に増加したことから、雌における無毒性量は0.3%(188.5 mg/kg b.w/day)であった。

参考文献

- 1) 既存添加物名簿収載品目リスト注解書, 日本食品添加物協会, P141 (1999)
- 2) Miura, Y., Chiba, T., Tomita, I., Koizumi, H., Miura, S., Umegaki, K., Hara, Y., Ikeda, M., Tomita, T.: *J Nutr.* 131, 27-32 (2001)
- 3) Tanaka, H., Hirose, M., Kawabe, M., Sano, M., Takesada, Y., Hagiwara, A., Shirai, T.: *Cancer Lett.* 116, 47-52 (1997)
- 4) Kada, T., Kaneko, K., Matsuzaki, S., Matsuzaki, T., Hara, Y.: *Mutation Res.* 150, 127-132 (1985)
- 5) Yokozawa, T., Nakagawa, T., Kitani, Kenichi.: *J. Agric. Food Chem.* 50, 3549-3552 (2002)
- 6) T, T., yang., W, L, Koo.: *Life Science.* 66, 5, 411-423 (2000)
- 7) Ikeda, I., Imasato, Y., Sasaki, E., Nakayama, M., Nagao, H., Takeo, T., Yayabe, F., Sugano, M.: *Biochim Biophys Acta* 29, 1127(2), 141-6 (1992)

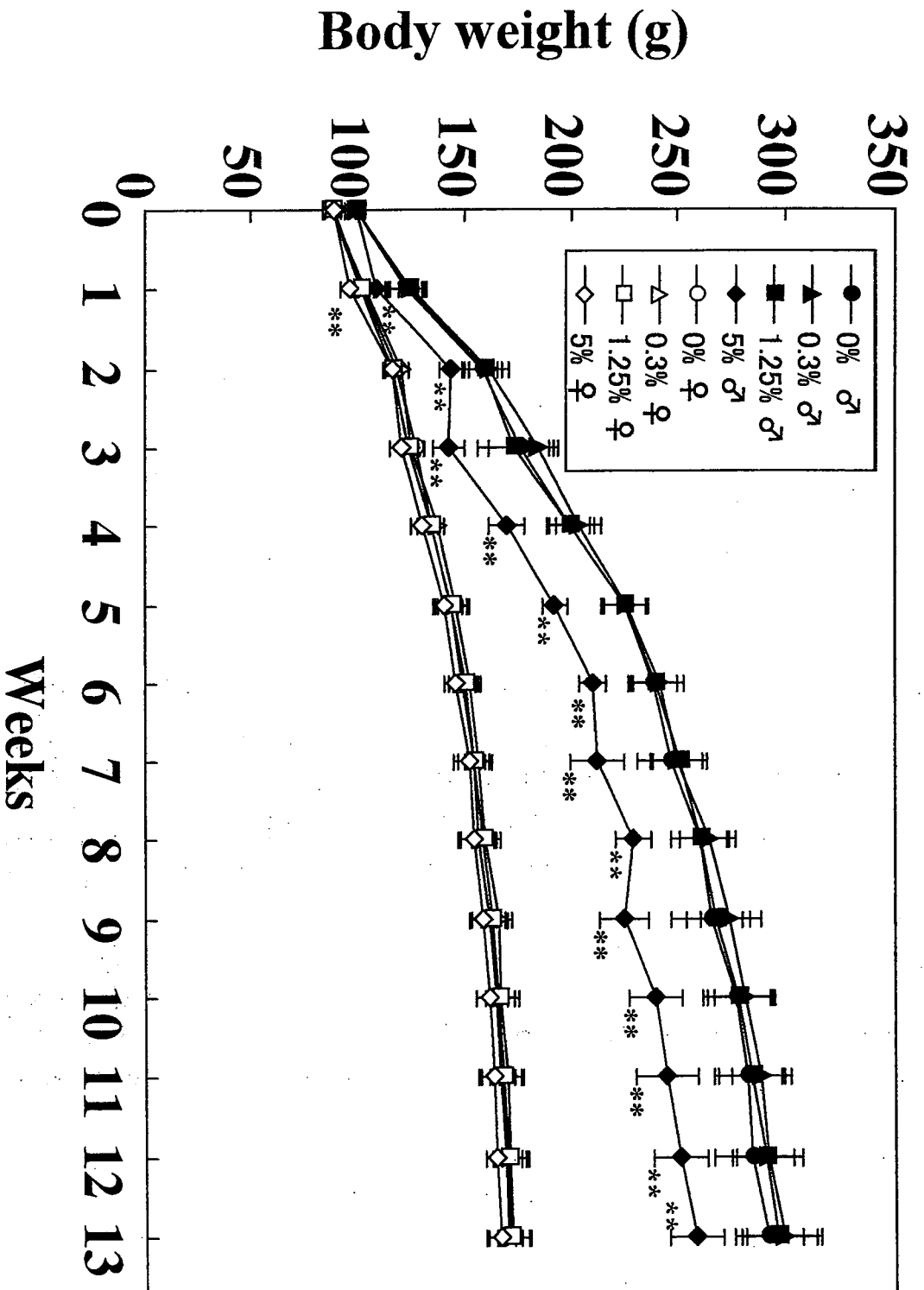


Fig.1 Body weight curves of rats fed diet containing catechin for 90days

****:** Significantly different from the control at $p < 0.01$

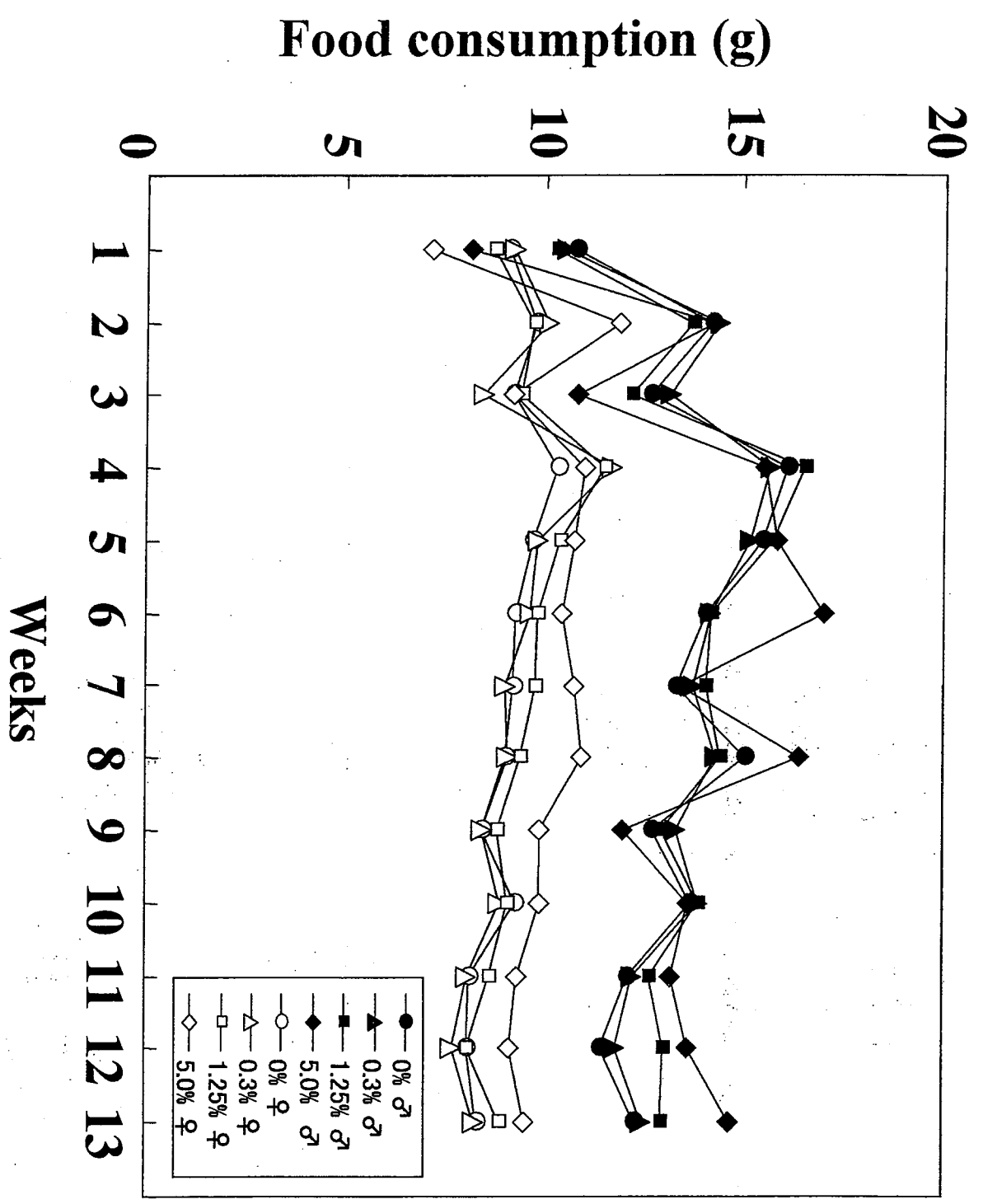


Fig.2 Food intake in rats fed diet containing catechin for 90days

Table 1 Food consumption and catechin intake in rats fed diet containing catechin for 90 days

Dose level (%)	Animal.No (n)	Body weights		Food consumption		Intakes of catechin (mg/kg b.w/day)
		Initial(g)	T arrinal(g)	(g/rat/day)		
Male	0	10	98.7 ± 4.4	292.1 ± 16.3	13.4	—
	0.3	10	98.7 ± 3.8	299.0 ± 17.1	13.5	179.9
	1.25	10	98.7 ± 3.1	296.7 ± 17.2	13.6	763.9
	5.0	10	98.7 ± 3.0	258.4 ± 12.5**	13.8	3524.6
	0	10	88.0 ± 4.1	169.7 ± 9.7	9.1	—
	0.3	10	88.0 ± 3.9	172.2 ± 8.2	9.1	188.5
Female	1.25	10	88.0 ± 4.0	170.5 ± 5.4	9.4	820.1
	5.0	10	88.1 ± 3.9	166.2 ± 7.0	10.0	3541.6

Each value represents the mean throughout the experimental period.

** : Significantly different from the control at p<0.01

Table 2 Hematology in male rats fed diet containing catechin for 90 days

Dose level (%)	0 (control)	0.3	1.25	5.0
No. of animals	10	10	10	10
RBC $10^{10}/L$	896 ± 47	898 ± 25	856 ± 38	878 ± 42
Hb g/dL	15.1 ± 0.9	15.0 ± 0.5	14.5 ± 0.9	15.5 ± 0.8
Ht %	48.3 ± 2.4	48.4 ± 1.4	46.5 ± 2.1	49.1 ± 2.2
MCV fL	53.9 ± 0.5	53.9 ± 0.3	54.3 ± 0.6	55.9 ± 0.4**
MCH pg	16.9 ± 0.3	16.7 ± 0.2	16.9 ± 0.6	17.7 ± 0.4***
MCHC g/dL	31.3 ± 0.6	31.0 ± 0.3	31.1 ± 0.8	31.6 ± 0.6
Plt $10^{10}/L$	74.8 ± 6.9	72.9 ± 4.4	70.5 ± 2.9	70.8 ± 3.0
WBC $10^8/L$	44.2 ± 9.6	40.2 ± 4.6	41.8 ± 5.2	43.1 ± 7.8
Ebl count/200 WBC	1.3 ± 1.0	1.7 ± 1.7	1.4 ± 1.1	2.5 ± 2.6
Differential cell count (%)				
Band	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Seg	19.1 ± 3.9	21.3 ± 4.3	20.4 ± 5.0	18.8 ± 4.0
Eosino	1.0 ± 0.6	0.9 ± 0.9	1.1 ± 1.1	0.5 ± 0.8
Baso	0.3 ± 0.6	0.1 ± 0.2	0.3 ± 0.3	0.2 ± 0.2
Lympho	78.1 ± 3.7	75.7 ± 4.5	76.1 ± 5.7	77.9 ± 3.8
Mono	1.5 ± 0.7	2.0 ± 1.0	2.2 ± 1.6	2.7 ± 1.7

Each value represents the mean ± S.D.

***: Significantly different from the control at $p < 0.01$

Table 3 Hematology in female rats fed diet containing catechin for 90 days

Dose level (%)	0 (control)	0.3	1.25	5.0
No. of animals	10	10	10	10
RBC $10^{10}/L$	841 \pm 39	831 \pm 57	836 \pm 26	822 \pm 27
Hb g/dL	14.9 \pm 1.0	14.9 \pm 1.1	15.1 \pm 0.6	15.1 \pm 0.8
Ht %	47.5 \pm 2.0	46.9 \pm 3.1	47.2 \pm 1.4	47.1 \pm 1.4
MCV fL	56.4 \pm 0.4	56.4 \pm 0.4	56.5 \pm 0.2	57.3 \pm 0.3**
MCH pg	17.7 \pm 0.4	18.0 \pm 0.4	18.1 \pm 0.2	18.4 \pm 0.5**
MCHC g/dL	31.4 \pm 0.9	31.8 \pm 0.5	32.0 \pm 0.5	32.1 \pm 0.8
Plt $10^{10}/L$	78.9 \pm 4.1	80.3 \pm 13.9	76.3 \pm 4.1	78.4 \pm 5.6
WBC $10^8/L$	36.3 \pm 6.8	27.6 \pm 9.3*	40.0 \pm 5.4	37.7 \pm 7.1
Ebl count/200 WBC	2.6 \pm 1.4	5.0 \pm 6.0	3.6 \pm 3.3	2.8 \pm 2.0
Differential cell count (%)				
Band	0.0 \pm 0.0	0.1 \pm 0.2	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
Seg	16.0 \pm 5.2	15.7 \pm 3.5	15.2 \pm 5.4	13.1 \pm 4.3
Eosino	1.0 \pm 0.6	1.1 \pm 0.8	0.8 \pm 0.7	0.7 \pm 0.6
Baso	0.1 \pm 0.2	0.1 \pm 0.2	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
Lympho	82.4 \pm 5.0	82.1 \pm 3.6	82.9 \pm 6.0	85.4 \pm 4.6
Mono	0.6 \pm 0.5	1.1 \pm 0.9	1.2 \pm 0.6	0.8 \pm 0.8

Each value represents the mean \pm S.D.

*, **: Significantly different from the control at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively

Table 4 Serum biochemistry changes in male rats fed diet containing catechin for 90 days

Dose level (%)	0 (control)	0.3	1.25	5.0
No. of animals	10	10	10	10
TP g/dL	6.4 ± 0.1	6.3 ± 0.1	6.3 ± 0.2	6.3 ± 0.2
Alb g/dL	4.3 ± 0.1	4.2 ± 0.1	4.3 ± 0.2	4.4 ± 0.2
A/G	2.1 ± 0.1	2.1 ± 0.1	2.1 ± 0.1	2.4 ± 0.2**
Bil mg/dL	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0
T-Chol mg/dL	64.1 ± 6.0	58.1 ± 5.5*	58.4 ± 3.8*	47.8 ± 5.1**
TG mg/dL	63.4 ± 11.6	57.4 ± 19.6	47.5 ± 13.4*	29.8 ± 8.1**
γ-GTP IU/L	<2	<2	<2	<2
Ast IU/L	92.6 ± 8.0	95.4 ± 12.7	98.0 ± 10.7	83.2 ± 13.8
Alt IU/L	46.4 ± 4.7	50.0 ± 6.6	52.4 ± 5.8	65.6 ± 6.6**
ALP IU/L	334.5 ± 22.9	334.4 ± 22.3	327.0 ± 26.9	402.9 ± 21.6**
BUN mg/dL	17.0 ± 1.3	17.0 ± 1.7	16.7 ± 1.3	18.2 ± 1.4
Cre mg/dL	0.31 ± 0.02	0.28 ± 0.02*	0.27 ± 0.02**	0.26 ± 0.02**
Ca mg/dL	10.4 ± 0.1	10.4 ± 0.2	10.5 ± 0.1	10.7 ± 0.4
IP mg/dL	5.8 ± 0.2	6.1 ± 0.2	6.4 ± 0.3**	6.9 ± 0.7**
Na mEq/L	143.2 ± 1.2	143.9 ± 0.9	143.3 ± 0.8	143.8 ± 1.5
K mEq/L	4.4 ± 0.4	4.4 ± 0.3	4.2 ± 0.1	4.6 ± 0.4
Cl mEq/L	101.5 ± 1.3	102.7 ± 1.0	102.1 ± 0.9	102.1 ± 1.2

Each value represents the mean ± S.D.

*, **: Significantly different from the control at p<0.05 and p<0.01, respectively

Table 5 Serum biochemistry changes in female rats fed diet containing cathchin for 90 days

Dose level (%)	0 (control)		0.3		1.25		5.0	
	No. of animals		10		10		10	
TP	g/dL	6.4 ± 0.3	6.5 ± 0.3	6.6 ± 0.2	6.6 ± 0.2	6.6 ± 0.2	6.6 ± 0.2	6.6 ± 0.2
Alb	g/dL	4.5 ± 0.2	4.5 ± 0.2	4.6 ± 0.2	4.6 ± 0.2	4.7 ± 0.1*	4.7 ± 0.1*	4.7 ± 0.1*
A/G		2.3 ± 0.1	2.3 ± 0.2	2.4 ± 0.2	2.4 ± 0.2	2.5 ± 0.1*	2.5 ± 0.1*	2.5 ± 0.1*
Bil	mg/dL	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0
T-Cho	mg/dL	86.6 ± 10.7	91.4 ± 7.1	91.6 ± 7.4	91.6 ± 7.4	80.2 ± 7.3	80.2 ± 7.3	80.2 ± 7.3
TG	mg/dL	52.2 ± 34.7	55.4 ± 22.6	36.5 ± 17.4	36.5 ± 17.4	26.5 ± 12.2*	26.5 ± 12.2*	26.5 ± 12.2*
γ-GTP	IU/L	<2	<2	<2	<2	2.5 ± 0.7	2.5 ± 0.7	2.5 ± 0.7
Ast	IU/L	80.3 ± 5.6	79.5 ± 8.7	89.8 ± 15.4	89.8 ± 15.4	100.5 ± 14.31**	100.5 ± 14.31**	100.5 ± 14.31**
Alt	IU/L	43.5 ± 5.6	41.5 ± 3.8	48.0 ± 5.5	48.0 ± 5.5	60.1 ± 6.6**	60.1 ± 6.6**	60.1 ± 6.6**
ALP	IU/L	224.2 ± 32.5	236.7 ± 23.2	220.2 ± 23.7	220.2 ± 23.7	265.7 ± 27.3**	265.7 ± 27.3**	265.7 ± 27.3**
BUN	mg/dL	19.2 ± 1.6	19.4 ± 1.7	18.3 ± 1.7	18.3 ± 1.7	20.1 ± 1.7	20.1 ± 1.7	20.1 ± 1.7
Cre	mg/dL	0.33 ± 0.02	0.33 ± 0.03	0.31 ± 0.03	0.31 ± 0.03	0.30 ± 0.02*	0.30 ± 0.02*	0.30 ± 0.02*
Ca	mg/dL	10.7 ± 0.4	10.8 ± 0.6	10.7 ± 0.3	10.7 ± 0.3	10.8 ± 0.3	10.8 ± 0.3	10.8 ± 0.3
IP	mg/dL	4.9 ± 0.4	6.0 ± 1.0**	5.7 ± 0.5*	5.7 ± 0.5*	6.4 ± 0.6**	6.4 ± 0.6**	6.4 ± 0.6**
Na	MEQ/L	144.5 ± 1.2	145.2 ± 2.4	144.8 ± 1.5	144.8 ± 1.5	144.9 ± 1.7	144.9 ± 1.7	144.9 ± 1.7
K	MEQ/L	3.5 ± 0.3	4.3 ± 0.8**	3.8 ± 0.3	3.8 ± 0.3	4.1 ± 0.5*	4.1 ± 0.5*	4.1 ± 0.5*
Cl	MEQ/L	103.0 ± 0.9	103.6 ± 1.3	104.4 ± 1.3*	104.4 ± 1.3*	103.2 ± 1.0	103.2 ± 1.0	103.2 ± 1.0

Each value represents the mean ± S.D.

*, **: Significantly different from the control at p<0.05 and p<0.01, respectively

Table 6 Organ weight of male rats fed diet containing catechin for 90 days

Dose level (%)	0 (control)		0.3		1.25		5.0	
	No. of animals		No. of animals		No. of animals		No. of animals	
Body weight (g)	280.0 ± 16.8		285.9 ± 15.3		283.3 ± 15.9		245.4 ± 12.2**	
Absolute								
Brain (g)	1.889 ± 0.073		1.908 ± 0.039		1.914 ± 0.074		1.823 ± 0.040*	
Thymus (g)	0.220 ± 0.055		0.209 ± 0.040		0.211 ± 0.042 ^a		0.151 ± 0.027**	
Lungs (g)	0.911 ± 0.060		0.881 ± 0.045		0.899 ± 0.056		0.811 ± 0.060**	
Heart (g)	0.814 ± 0.051		0.811 ± 0.065		0.816 ± 0.047		0.739 ± 0.035**	
Spleen (g)	0.566 ± 0.038		0.563 ± 0.058		0.564 ± 0.058		0.511 ± 0.034*	
Liver (g)	6.080 ± 0.389		6.283 ± 0.503		6.098 ± 0.370		5.578 ± 0.368*	
Adrenals (mg)	35.8 ± 6.6		34.4 ± 5.6 ^a		35.3 ± 6.7		33.2 ± 4.3	
Kidneys (g)	1.618 ± 0.095		1.655 ± 0.096		1.625 ± 0.106		1.599 ± 0.096	
Thyroids (mg)	21.2 ± 6.6		15.6 ± 2.1		15.0 ± 2.7		13.4 ± 2.6**	
Pituitary (mg)	9.9 ± 1.9		8.5 ± 1.6		8.2 ± 1.6		7.3 ± 1.1**	
Testes (g)	3.004 ± 0.202		3.018 ± 0.155		3.013 ± 0.098		2.980 ± 0.115	
Prostate (g)	0.736 ± 0.168		0.755 ± 0.103		0.702 ± 0.090		0.608 ± 0.057	
Relative (g/100g B.W.)								
Brain (g/100g B.W.)	0.677 ± 0.052		0.669 ± 0.036		0.677 ± 0.034		0.744 ± 0.034**	
Thymus (g/100g B.W.)	0.079 ± 0.018		0.073 ± 0.012		0.074 ± 0.015 ^a		0.062 ± 0.011	
Lung (g/100g B.W.)	0.325 ± 0.011		0.308 ± 0.008		0.318 ± 0.017		0.331 ± 0.022	
Heart (g/100g B.W.)	0.291 ± 0.010		0.284 ± 0.015		0.288 ± 0.012		0.301 ± 0.012	
Spleen (g/100g B.W.)	0.202 ± 0.010		0.197 ± 0.017		0.199 ± 0.013		0.208 ± 0.012	
Liver (g/100g B.W.)	2.171 ± 0.045		2.195 ± 0.071		2.153 ± 0.058		2.273 ± 0.093**	
Adrenal (mg/100g B.W.)	12.7 ± 2.3		11.5 ± 2.5 ^a		12.4 ± 2.0		13.6 ± 2.1	
Kidneys (g/100g B.W.)	0.578 ± 0.021		0.580 ± 0.033		0.574 ± 0.014		0.652 ± 0.035**	
Thyroids (mg/100g B.W.)	7.7 ± 2.5		5.6 ± 0.8		5.2 ± 1.1*		5.3 ± 0.8*	
Pituitary (mg/100g B.W.)	3.5 ± 0.7		3.1 ± 0.6		2.9 ± 0.6		2.9 ± 0.6	
Testes (g/100g B.W.)	1.076 ± 0.095		1.057 ± 0.040		1.066 ± 0.059		1.216 ± 0.056**	
Prostate (g/100g B.W.)	0.262 ± 0.054		0.264 ± 0.036		0.248 ± 0.027		0.248 ± 0.022	

Each value represents the mean ± S.D.

*, **: Significantly different from the control at p < 0.05 and p < 0.01, respectively

a: N=9

Table 7 Organ weight of female rats fed diet containing cathchin for 90 days

Dose level (%)	0 (control)	0.3	1.25	5.0
No. of animals	10	10	10	10
Body weight (g)	162.6 ± 9.6	163.3 ± 8.1	163.0 ± 5.6	157.3 ± 6.4
Absolute				
Brain (g)	1.772 ± 0.038	1.796 ± 0.057	1.783 ± 0.055	1.760 ± 0.057
Thymus (g)	0.168 ± 0.027	0.160 ± 0.023	0.168 ± 0.032	0.144 ± 0.016
Lungs (g)	0.688 ± 0.046	0.707 ± 0.075	0.665 ± 0.044	0.687 ± 0.090
Heart (g)	0.553 ± 0.037	0.547 ± 0.029	0.546 ± 0.030	0.517 ± 0.034
Spleen (g)	0.387 ± 0.017	0.387 ± 0.023	0.383 ± 0.025	0.393 ± 0.030
Liver (g)	3.434 ± 0.272	3.692 ± 0.468	3.528 ± 0.134	3.609 ± 0.279
Adrenals (mg)	44.2 ± 4.6	38.8 ± 3.2*	40.8 ± 4.5	38.9 ± 3.1*
Kidneys (g)	0.964 ± 0.033	1.012 ± 0.117	1.007 ± 0.047	1.011 ± 0.089
Thyroids (mg)	10.9 ± 1.7	12.0 ± 1.6	13.4 ± 2.4*	13.4 ± 2.1*
Pituitary (mg)	11.9 ± 2.0	12.1 ± 1.2	10.5 ± 1.2	11.9 ± 1.7
Uterus (g)	0.508 ± 0.183	0.609 ± 0.291	0.417 ± 0.066	0.419 ± 0.178
Relative (g/100g B.W.)				
Brain (g/100g B.W.)	1.093 ± 0.059	1.101 ± 0.034	1.095 ± 0.043	1.120 ± 0.051
Thymus (g/100g B.W.)	0.104 ± 0.019	0.098 ± 0.014	0.103 ± 0.021	0.092 ± 0.010
Lung (g/100g B.W.)	0.424 ± 0.037	0.432 ± 0.032	0.408 ± 0.022	0.436 ± 0.039
Heart (g/100g B.W.)	0.340 ± 0.014	0.335 ± 0.023	0.335 ± 0.014	0.329 ± 0.023
Spleen (g/100g B.W.)	0.239 ± 0.016	0.237 ± 0.011	0.235 ± 0.012	0.250 ± 0.014
Liver (g/100g B.W.)	2.111 ± 0.081	2.259 ± 0.237	2.166 ± 0.097	2.292 ± 0.108*
Adrenal (mg/100g B.W.)	27.3 ± 3.5	23.7 ± 2.8*	25.2 ± 3.0	24.7 ± 1.8
Kidneys (g/100g B.W.)	0.594 ± 0.025	0.619 ± 0.053	0.618 ± 0.022	0.642 ± 0.034**
Thyroids (mg/100g B.W.)	6.8 ± 1.0	7.2 ± 1.1	8.1 ± 1.7	8.5 ± 1.3*
Pituitary (mg/100g B.W.)	7.2 ± 0.9	7.5 ± 0.7	6.3 ± 0.7	7.7 ± 1.2
Uterus (g/100g B.W.)	0.313 ± 0.113	0.374 ± 0.183	0.256 ± 0.041	0.264 ± 0.101

Each value represents the mean ± S.D.

*, **: Significantly different from the control at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively

Table 8 Histopathological findings in male rats fed diet containing catechin for 90 days

Organ	Finding	Grade	Dose(%)	
			0	5
			N	10
Liver	Microgranuloma	+	0	1
Kidney	Basophilic tubules	+	2	0
Pancreas	Focal necrosis, acinar cells	+	0	1
Heart	Myocarditis,focal	+	3	4
		++	1	0
Forestomach	Submucosal edema	+	1	0
Testes	Seminiferous tubular atrophy, focal, unilateral	+	1	0
Epididymides	Desquamated epithelial cells, unilateral	+	1	0
Prostate	Inflammatory cell infiltration, focal	+	0	1

Table 9 Histopathological findings in female rats fed diet containing catechin for 90 days

Organ	Finding	Grade	Dose(%)	
			0	5
			N	10
Liver	Microgranuloma	+	1	1
Kidney	Calcification	+	1	1
Pancreas	Acinar cell atrophy, focal	+	2	1
Tongue	Inflammatory cell infiltration, focal	+	1	0
Pituitary	Cyst, anterior lobe	+	0	2
Stomach	Erosion, pylorus, focal	+	1	0
Harderian gland	Inflammatory cell infiltration, focal	+	1	1
Others				
Abdomen	Necrosis, adipose tissue	+	1	0