

平成 10 年度 食品添加物規格基準設定等試験

食品添加物安全性再評価

トコトリエノールの 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



【要旨】

Tocotrienolは酸化防止剤として食品添加物として使用されている。これまでにtocotrienolの毒性に関する報告はないため、今回tocotrienolの安全性評価のためラットを用いた90日間反復投与毒性試験を実施した。6週齢の雌雄F344ラットにtocotrienolをそれぞれ3, 0.75, 0.19 および 0%の割合で混餌投与した。体重増加抑制は雄の3%群に認められた。血液学的検査ではMCVの減少が雄のtocotrienol投与群に認められた。血清生化学的検査ではA/G及びALPの増加が雄のtocotrienol投与群に、ALTの増加が雌雄の3%群に、AsT, γ -GTの増加が雌の3%群に認められた。臓器重量では肝重量の増加が雌雄の3%群で、副腎重量の増加が雄のtocotrienol投与群で、卵巣及び子宮重量の減少が雌の3%群に認められた。病理組織学的検査では軽微な肝細胞肥大が雄の0.75%以上の群に、副腎皮質の空胞減少が雄の3%群に認められた。肝臓及び副腎での変化はtocotrienolが有するHMG-CoA reductase阻害作用とそれに伴うコレステロール合成の低下に起因すると考えられた。無毒性量は肝臓の病理組織学的変化が雄の0.75%群で認められたため、0.19%と考えられた。無影響量は雄の血液学的検査でのMCVの減少、血清生化学検査でのA/G及びALPの増加、副腎重量の増加が軽度ではあるが全投与群で認められたため、今回の試験では求められなかった。

【はじめに】

TocotrienolはビタミンEの一種で、ビタミンEに一般的なchromanol核と16-carbon hydrocarbon鎖という構造を持ち、chromanol核にあるメチル基の数と配列によって、 α -、 β -、 γ -及び δ -の4つの異性体がある(Fig.1)。Tocotrienolは2つの主要な作用を持ち、一つは抗酸化作用で、ビタミンEの一種であるtocopherolも同様の作用を有する¹⁾。この抗酸化作用のためにtocotrienolは主に食品中に酸化防止剤として添加されている。また、種々の抗酸化物質ががん予防に有効であるとされているが、tocotrienolもがん予防に対して有効との報告がある²⁻⁴⁾。

Tocotrienolのもう一つの作用は血中コレステロールの増加抑制作用である。Tocotrienolはin vivoやin vitroの実験系でコレステロール合成を抑制することが報告されている⁵⁻⁹⁾。血中コレステロールの増加はアテローム動脈硬化症のrisk factorとされていることから、tocotrienolは機能性食品としての用途も検討されている。しかし、これまでにtocotrienolの毒性影響に関する報告はないため、安全性評価の一環としてラットを用いたtocotrienolの90日間反復投与毒性試験を行った。

【実験材料および方法】

1. 動物並びに飼育条件

5週齢のF344/DuCrj SPFラット雌雄各50匹を日本チャールス・リバー株式会社（神奈川県）より購入し、約1週間の馴化飼育の後、雌雄とも各群10匹ずつ5群に配した。動物の飼育はバリエーションシステムの動物室にて行い、室内の環境条件は温度 $24\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55\pm 5\%$ 、換気回数18回/時間、12時間蛍光灯照明、12時間消灯の条件下で行った。動物は、ポリカーボネート製箱形ケージに5匹ずつ収容し、床敷は三協ラボサービス株式会社（東京）のソフトチップを用い、週2回交換した。また、飲料水として水道水を自由に摂取させた。

2. 被験物質並びに投与量

Tocotrienol ()は から提供された。性状は黄褐色粘性の液で、パーム油から得られたビタミンE混合物を分子蒸留して精製した。精製の際、分離しにくいtocopherolが混入するため、今回使用した被験物質のビタミンE成分の構成は α -tocotrienol 21.4%、 β -tocotrienol 3.5%、 γ -tocotrienol 36.5%、 δ -tocotrienol 8.6%、 α -tocopherol 20.5%、 β -tocopherol 0.7%、 γ -tocopherol 1.0%及び δ -tocopherol 0.5%であった。被験物質は高用量を3%とし、以下公比4で用量を0.75、0.19%に設定し、それぞれの濃度の被験物質をCRF-1粉末飼料(オリエンタル酵母株式会社、東京)に混じて90日間自由に摂取させ、対照群にはCRF-1粉末飼料のみを同様に摂取させた。また、被験物質にはtocopherolが一部混在しているため、その影響を考慮してtocotrienolの高用量群(3%)に含まれるのと同量の0.69% α -tocopherol を与える群を1群設けた。なお、 α -tocopherolはタマ生化学株式会社製のものを使用した。

3. 観察並びに検索方法

投与期間中、一般状態の観察を連日実施し、体重及び摂餌量は毎週1回測定した。動物は、剖検前日より絶食させ、翌日エーテル麻酔下で腹部大動脈から採血後、屠殺剖検した。

血液学的検査は、自動血球計数装置(Sysmex M-2000, 東亜医用電子社, 兵庫)を用いて、白血球数(WBC)、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)及び白血球百分率について測定した。なお、白血球百分率において、白血球を桿状核球(Band)、分節核球(Seg)、好酸球(Eosi)、好塩基球(Baso)、リンパ球(Lymp)及び単球(Mono)に分類した。

血清生化学的検査は、分離した血清を総蛋白(TP)、アルブミン/グロブリン比(A/G)、アルブミン(AIB)、総ビリルビン(T.Bil)、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(CRN)、カルシウム(Ca)、無機リン(P)、ナトリウム(Na)、カリウム(K)、塩素(Cl)、アスパラギントランスアミナーゼ(AsT)、アラニントランスアミナーゼ(ALT)、 γ -グルタミルトランスアミナーゼ(γ -GT)及びアルカリフォスファターゼ(ALP)について に依頼し測定した。

諸臓器は肉眼的に観察後摘出し脳、心臓、肺、胸腺、肝臓、脾臓、副腎、腎臓、

精巣，卵巣及び子宮の重量を測定した．上記の臓器に加え鼻腔を含む頭蓋，下垂体，眼球，ハーダー腺，脊髄，唾液腺，胃，小腸，大腸，膵臓，膀胱，皮膚，乳腺，リンパ節，気管，食道，甲状腺，舌，大腿筋，坐骨神経，精巣上体，精囊，前立腺及び膣を10%中性緩衝ホルマリン液にて固定した．病理組織学的検索は，雌雄の各3%群と対照群のみ実施し，変化のあった臓器に関しては全群について検索を実施した．臓器は常法に従い，パラフィン包埋後，薄切切片を作製し，ヘマトキシリン・エオジン染色を施した．

4. 統計学的処理法

血液学的検査値，血清生化学的検査値及び臓器の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った．群間に有意差が認められた場合の多重比較はDunnettの方法で対照群と各被験物質投与群との間で有意差検定を行った．病理組織所見の頻度に関しては X^2 独立性検定により対照群と各被験物質投与群との間で有意差検定を行った．

【結果】

1. 一般状態及び死亡動物

投与期間中の死亡動物は認められず，いずれの動物においても一般状態の異常は認められなかった．

2. 体重及び摂餌量

投与期間中の各群の体重推移をFig.2に示した．雄の3%群で有意な増加抑制が認められたが，雌では認められなかった．

摂餌量及び被験物質摂取量をTable 1 に示した．摂餌量は雌雄とも投与期間を通じて対照群とほぼ同様な推移を示した．また，被験物質摂取量は用量公比にほぼ相関した値を示し，雌雄間に大きな差は認められなかった．

3. 血液学的及び血清生化学的検査

血液学的及び血清生化学的検査の結果をTable 2及び3に示した．

血液学的検査では，雄でMCVの有意な減少がtocotrienol投与群に，血小板数の有意な減少が0.75%以上の投与群に，MCHの有意な減少及び白血球数の有意な増加が3%群に認められた．雌ではHb，MCV，MCH及びMCHCの有意な減少が3及び0.75%群に，Htの有意な減少が3%群に認められた．白血球百分率では，雄で単球の有意な減少が3%群で認められた．また桿状核球の有意な減少が0.75%群で認められたが，用量に応じた変化ではなかった．雌では分節核球及び単球の有意な減少とリンパ球の有意な増加が0.75%以上の投与群に，好酸球の有意な減少が3%群に認められた．

血清生化学的検査では，雄でA/G及びALPの有意な増加がtocotrienol投与群に，T.Cholの有意な減少が0.75%以上の投与群に，Alb，BUN，Ca及びALTの有意な増加とPの有意な減少が3%群に認められた．またNaの有意な増加が0.75%群で認められたが，用量に応じた変化ではなかった．雌ではNaの有意な減少及びKの

有意な増加が0.75%以上の群に，A/G，TG，BUN，P，ALT， γ -GT，ALPの有意な増加が3%投与群に，AsTの有意な増加が3%群に，有意な減少が0.19%群に認められた．またCaの有意な増加が0.19%群に認められたが，用量に応じた変化ではなかった．tocopherol 群では雄において対照群と比較してCRNの有意な減少とAsT，ALT及びALPの有意な増加が認められた．雌ではAsTの有意な減少とBUN及びCaの有意な増加が認められた．なお， γ -GTは雄の全ての群及び雌の3%を除く全ての群で測定値が検出限界以下であった．

4. 臓器重量

相対重量の結果をTable 4に示した．雄で副腎重量の増加がtocotrienol投与群に脳，心，肝，腎及び精巣重量の増加が3%群に認められた．雌では肺重量の有意な減少及び減少傾向がtocotrienol投与群に，肝及び脾重量の増加と卵巣及び子宮重量の減少が3%群に認められた．tocopherol 群では雌で肝重量の有意な増加が認められた．

5. 病理組織学的検索

病理組織学的検索の結果をTable 5に示した，雄で軽微な肝細胞の肥大が0.75%以上の群で認められた．また，副腎皮質の束状帯から網状帯にかけて細胞質内の空胞減少が3%群で認められた．雌では病理組織学的な変化は認められなかった．

【考察】

今回，F344 ラットを用いてtocotrienolの混餌投与による90日間亜慢性毒性試験を実施した．その結果，被験物質投与に関連する変化の1つとして，体重の増加抑制が雄の3%群で認められた．血液学的検査では，雄でMCVの有意な減少が全用量群に，MCHの有意な減少が3%群に認められたが値の変動も小さく，貧血の指標となる赤血球数，Hb及びHtに変化はないことから，毒性学的意義は低いと考えられた．雌ではHb，MCV，MCH及びMCHCの有意な減少が3及び0.75%群に，Htの有意な減少が3%群に認められた．加えて，脾重量の増加が3%群で認められ，非常に軽微ながら貧血傾向が示唆された．しかし病理組織学的な変化は認められなかった．

白血球数の有意な増加が3%群の雄に認められ，白血球百分率では，単球の有意な減少が雄の3%群に，分節核球及び単球の有意な減少とリンパ球の有意な増加が雌の0.75%以上の投与群に，好酸球の有意な減少が雌の3%群に認められた．しかし，大腿骨や胸骨の組織像に変化は見られず，その他，白血球百分率の変化の原因となるような著しい出血などの病理組織学的変化も認められなかったことから，毒性学的意義は低いと考えられた．

血清生化学検査では，総コレステロールの有意な減少が雄の0.75%以上の投与群に認められた．Tocotrienolはin vivoやin vitroの実験系でコレステロール合成を抑制することが報告されており^{5,9)}，血清中の総コレステロールの減少はtocotrienolの有するコレステロール合成阻害作用によるものと考えられた．

BUNの有意な増加が雌雄の3%群に認められた。また雌ではNaの有意な減少及びKの有意な増加が0.75%以上の群に認められたが、クレアチニンの上昇やClの変化はなく、腎臓において重量変動及び病理組織学的変化は認められなかったことから、毒性学的意義は低いと考えられた。AITの有意な増加が雌雄の3%群に、AsT、 γ -GTの有意な増加が雌の3%群に認められた。また、雌雄の3%群で肝重量の有意な増加が認められ、雄ではさらに病理組織学的変化と、軽微ではあるが肝細胞肥大が0.75%以上の投与群に認められた。1993年のParkerらの報告で、コレステロール合成の主要な律速酵素である3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A (HMG-CoA) reductaseをtocotrienolが阻害することが示されている⁽¹⁰⁾。Tocotrienolと同じくHMG-CoA reductase阻害作用を有する薬物でも肝機能の指標となる血清酵素であるAsT、AIT等の上昇がラットで認められたこと^{11, 12)}から、HMG-CoA reductase阻害作用に起因した変化と考えられた。また、雄のtocopherol群でAsT及びAITの増加が認められたことから、tocopherolが肝臓に何らかの影響を与えている可能性も考えられた。ALPの有意な増加が雄のtocotrienol投与群と雌の3%群に認められた。ALPは肝臓での胆汁うっ滞や、骨代謝の増加等に伴い増加することが知られている。しかし、今回は総ビリルビンの変化や胆汁のうっ滞を示す肝臓の変化が認められず、また骨に関連するその他のパラメーター（血清中Ca、P等）に用量依存的な変化や大きな数値の変化はないため毒性学的意義は低いと考えられた。A/Gの有意な増加が雄の全投与群と雌の3%群に認められた。また、雄ではそれに加え、アルブミンの有意な増加が3%群に認められたが、変動の幅も小さくA/Gの増加が示唆する毒性変化(脱水状態、甲状腺機能低下等)に関連したその他のパラメーターや組織所見にも変化はないため、毒性学的意義は低いと考えられた。

臓器の相対重量では、副腎重量の増加が雄の全用量群に認められたが、3%群以外の用量群の変動は小さかった。加えて、病理組織学的変化として副腎皮質の空胞減少が雄の3%群のみで認められた。副腎皮質はステロイドホルモンの産生が盛んでコレステロールの蓄積する場所であることが知られている。そのことから副腎皮質で認められた空胞はコレステロールと考えられ、それが3%群で減少していたのは、tocotrienolのコレステロール合成阻害作用に関連していると考えられる。雌では卵巣及び子宮重量の減少が3%群に認められた。病理組織学的変化は認められなかったが、生殖器の臓器重量は性ホルモンの微弱な動きを比較的反映しやすいため、コレステロールの減少がステロイドホルモンの産生に何らかの影響を与えている可能性も考えられる。また、肺重量の有意な減少及び減少傾向が全用量群に認められたが、値の変動が小さく病理組織学的変化も認められなかったことから、毒性学的意義は低いと思われた。なお脳、心、腎及び精巣重量の増加が雄の3%群に認められたが、体重の低値による見かけ上の増加と思われ、被験物質による影響ではないと考えられた。

以上の結果、tocotrienolを混餌で90日間雌雄のラットに投与したところ、毒性変化として、AITの増加が雌雄に、AsT、 γ -GTの増加が雌に認められた。また、貧血傾向が雌に認められた。雌雄で肝重量の増加が認められ、雄ではさらに病理

組織学的変化として、軽微な肝細胞肥大が認められた。副腎重量の増加が雄に認められ、加えて、病理組織学的に副腎皮質の空胞減少が観察された。また、その他に体重増加抑制が雄に、卵巣及び子宮重量の減少が認められた。無毒性量(NOAEL)は貧血傾向が雌の0.75%以上の群で、肝臓の病理組織学的変化が雄の0.75%以上の群で認められたため、0.19%と考えられた。無影響量(NOEL)は雄の血液学的検査でのMCVの減少、血清生化学検査でのA/G及びALPの増加、副腎重量の増加が軽度ではあるがtocotrienol投与群で認められたため、今回の試験では求めることができなかった。

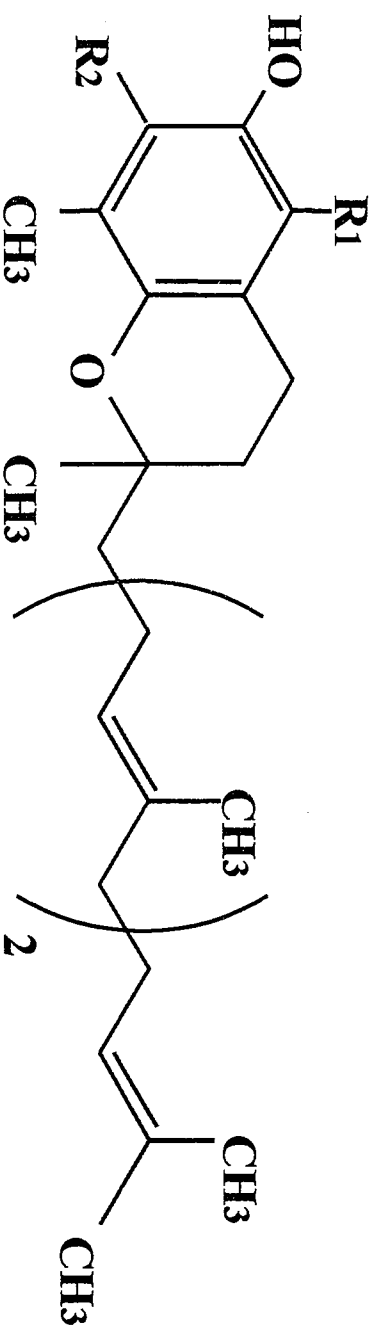
【文献】

1. Serbinova, E., Kagan, V., Han, D. and Packer, L.: Free radical recycling and intermembrane mobility in the antioxidant properties of alpha-tocopherol and alpha-tocotrienol. *Free Radic. Biol. Med.* 10: 263-275 (1991)
2. Sundram, K., Khor, H., Ong, A.S. and Pathmanathan, R.: Effects of dietary palm oil on mammary carcinogenesis in female rats induced by 7, 12-dimethylbenz(α)anthracene. *Cancer Res.* 49: 1447-1451 (1989)
3. Komiyama, K., Iizuka, K., Yamaoka, M., Watanabe, H., Tsuchiya, N. and Umezawa, I.: Studies on the biological activity of Tocotrienols. *Chem. Pharm. Bull.* 37: 1369-1371 (1989)
4. Goh, S.H., Hew, N.F., Norhanom, A.W. and Yadav, M.: Inhibition of tumour promotion by various palm-oil tocotrienols. *Int. J. Cancer* 57: 529-531 (1994)
5. Qureshi A.A., Burger, W.C., Peterson, D.M. and Elson, C.E.: The structure of an inhibitor of cholesterol biosynthesis isolated from barley. *J. Biol. Chem.* 261: 10544-10550 (1986)
6. Qureshi A.A., Qureshi N., Hasler-Rapacz, J.O., Weber F.E., Chaudhary, V., Crenshaw T.D., Gapor, A., Ong, A.S., Chong, Y.H., Peterson, D, et al.: Dietary tocotrienols reduce concentrations of plasma cholesterol, apolipoprotein B, thromboxane B2, and platelet factor 4 in pigs with inherited hyperlipidemias. *Am. J. Clin. Nutr.* 53 (Suppl.): 1042S-1046S (1991)
7. Qureshi A.A., Qureshi N., Wright, J.J., Shen, Z., Kramer, G., Gapor, A., Chong, Y.H., DeWitt, G., Ong, A.S., Peterson, D.M. et al.: Lowering of serum cholesterol in hypercholesterolemic humans by tocotrienols (palmvitee). *Am. J. Clin. Nutr.* 53 (Suppl.): 1021S-1026S (1991)
8. Pearce, B.C., Parker, R.A., Deason, M.E., Qureshi, A.A. and Wright, J.J.: Hypocholesterolemic activity of synthetic and natural tocotrienols. *J. Med. Chem.* 35: 3595-3606 (1992)

9. Watkins, T., Lenz, P., Gapor, A., Struck, M., Tomeo, A. and Bierenbaum, M.: γ -Tocotrienol as a hypocholesterolemic and antioxidant agent in rats fed atherogenic diets. *Lipids* 28: 1113-1118 (1993)
10. Parker, R.A., Pearce, B.C., Clark, R.W., Gordon, D.A. and Wright, J.J.: Tocotrienols regulate cholesterol production in mammalian cells by post-transcriptional suppression of 3-hydroxy-methylglutaryl-coenzyme A reductase. *J. Biol. Chem.* 268: 11230-11238 (1993)
11. Pispirigos, K., Simopoulos, K., Kouskoukis, K., Kounis, N. and Avramopoulos, A.: Evaluation of kidney and liver subacute toxicity induced by Bezalip-Pravastatin-Lopid antihyperlipidaemic compounds in rats. *Biochem. Mol. Biol. Int.* 47: 519-528 (1999)
12. Akiba, T., Shibuta, T., Amano, Y., Okubo, M., Asanuma, A., Koga, T., Tanaka, M. and Takimoto, M.: 28-day repeated oral toxicity study of a hypolipidemic agent, NK-104 in rats. *J. Toxicol. Sci.* 23 Suppl 5: 701-711 (1998)

Fig.1. Chemical structure of tocotrienols.

Fig.2. Body weight curves of rats treated with tocotrienol for 13 weeks



Tocotrienol

- α : R₁, R₂ = CH₃
- β : R₁ = CH₃, R₂ = H
- γ : R₁ = H, R₂ = CH₃
- δ : R₁, R₂ = H

Fig.1. Chemical structure of tocotrienols

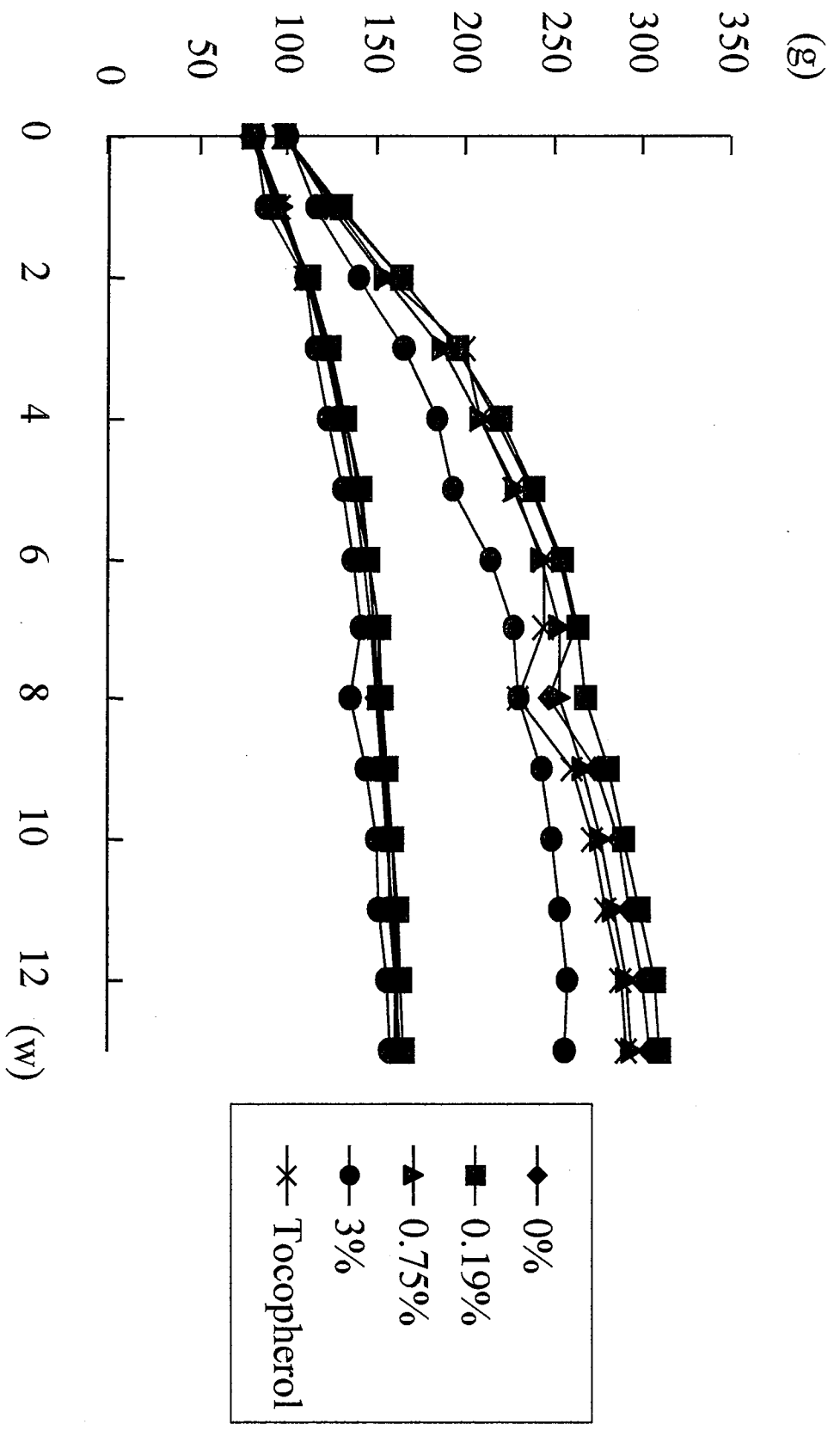


Fig. 2 Body weight curves of rats treated with tocotrienol for 13 weeks

Table 1. Food consumption and intake of tocotrienol

Dose level	Food consumption (g/animal/day)		Daily intake (mg/kg/day)		Total intake (g/kg)	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female
	0%	14.2	9.4	-	-	-
0.19%	14.7	9.4	119.0	129.8	10.7	11.7
0.75%	14.2	9.1	474.2	491.0	42.7	44.2
3%	14.4	9.0	2130.3	2046.6	191.7	184.2

Table 2. Hematological and serum biochemical data of F344 male rats treated with tocotrienol for 13 weeks

Item	Tocotrienol				Tocopherol
	0%	0.19%	0.75%	3%	0.69%
RBC ($10^4/\mu\text{l}$)	20.3±35.0 ^{a)}	12.4±23.4	901.7±31.7	916.9±61.7	926.1±19.6
Hb (g/dl)	15.2±0.5	15.0±0.3	14.7±0.5	14.8±1.0	15.3±0.4
Ht (%)	44.3±1.7	43.4±1.1	42.5±1.4	43.3±3.0	44.6±1.0
MCV (fL)	48.1±0.3	47.6±0.5*	47.1±0.3**	47.2±0.5**	48.2±0.4
MCH (pg)	16.5±0.4	16.4±0.2	16.3±0.1	16.1±0.1**	16.5±0.2
MCHC (g/d)	34.3±0.9	34.6±0.3	34.6±0.4	34.1±0.3	34.3±0.3
PLT ($10^4/\mu\text{l}$)	76.8±3.7	75.6±4.0	71.3±3.6*	68.7±5.6**	74.4±5.1
WBC ($10^2/\mu\text{l}$)	36.1±6.7	42.2±4.7	36.5±4.4	44.0±9.8*	40.6±6.8
Band ^{b)} (%)	0.3±0.4	0.1±0.2	0*	0.1±0.2	0.3±0.3
Seg (%)	19.3±3.3	21.5±2.8	21.4±4.1	21.3±5.4	22.2±4.2
Eosi (%)	1.1±0.7	0.9±0.7	0.9±1.0	1.3±0.9	1.3±0.7
Baso (%)	0	0	0	0	0
Lymp (%)	77.7±3.5	76.0±3.6	76.4±3.5	76.8±6.1	74.9±4.2
Mono (%)	1.7±0.9	1.5±0.8	1.2±0.8	0.4±0.6**	1.4±1.0
TP (g/dl)	6.0±0.3	6.0±0.3	5.8±0.3	6.0±0.1	6.0±0.2
A/G	2.5±0.2	2.7±0.2*	2.9±0.2*	3.5±0.3**	2.7±0.2
AIB (g/dl)	4.3±0.2	4.4±0.2	4.3±0.2	4.7±0.1*	4.4±0.1
T.Bil (mg/dl)	0.19±0.28	0.10±0.00	0.10±0.00	0.11±0.03	0.10±0.00
TG (mg/dl)	44.2±11.1	56.3±14.6	45.7±16.1	55.9±10.9	38.6±12.9
T.Cho (mg/l)	65.3±8.1	61.5±3.1	53.3±4.0**	53.7±5.9**	59.5±7.8
BUN (mg/dl)	16.0±1.9	17.9±1.7	18.9±1.7	22.0±4.1**	16.4±1.1
CRN (mg/dl)	0.27±0.05	0.26±0.05	0.26±0.05	0.30±0.00	0.22±0.04*
Ca (mg/dl)	9.6±0.4	10.0±0.3	9.6±0.3	10.1±0.5*	9.9±0.2
P (mg/dl)	5.8±0.4	6.0±0.3	5.4±0.4	5.0±1.1*	5.8±0.2
Na (mEQ/l)	142.5±1.4	142.2±0.6	141.2±1.1*	142.3±1.4	142.3±0.9
K (mEQ/l)	4.5±0.2	4.3±0.3	4.4±0.4	4.6±0.4	4.4±0.3
Cl (mEQ/l)	103.3±1.3	103.8±0.8	104.2±0.6	104.5±2.1	104.6±1.3
AsT (IU/l)	79.1±9.2	77.5±13.8	86.1±17.3	90.6±6.2	153.4±89.6**
AIT (IU/l)	50.7±6.0	54.7±6.6	50.9±5.6	78.4±9.3**	103.8±51.7**
ALP (IU/l)	326.5±21.4	365.8±23.9	393.7±44.3	437.6±38.4	366.5±32.3*

a) : Mean±S.D.

b) : Band; Band form leukocyte, Seg; Segmented leukocyte, Eosi; Eosinophilic leukocyte, Baso; Basophilic leukocyte, Lymp; Lymphocyte, Mono; Monocyte

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

Table 3. Hematological and serum biochemical data of F344 female rats treated with tocotrienol for 13 weeks

Item	Tocotrienol				Tocopherol
	0%	0.19%	0.75%	3%	0.69%
RBC ($10^4/\mu\text{l}$)	70.7±37.0 ^{a)}	862.4±27.7	859.7±23.1	852.4±30.7	891.0±30.2
Hb (g/dl)	16.0±0.6	15.6±0.5	15.2±0.4**	14.7±0.4**	16.3±0.5
Ht (%)	43.6±1.7	43.2±1.3	42.7±1.1	41.9±1.4*	44.5±1.5
MCV (fL)	50.1±0.3	50.1±0.2	49.6±0.2*	49.2±0.5**	50.0±0.5
MCH (pg)	18.3±0.2	18.1±0.2	17.7±0.1**	17.2±0.3**	18.2±0.2
MCHC (g/d)	36.6±0.4	36.2±0.4	35.7±0.3**	35.0±0.5**	36.5±0.3
PLT ($10^4/\mu\text{l}$)	75.9±7.4	79.1±5.2	78.0±2.5	74.3±5.0	77.5±3.1
WBC ($10^2/\mu\text{l}$)	32.8±4.1	33.0±3.7	28.3±5.1	37.5±5.1	33.7±6.8
Band ^{b)} (%)	0.1±0.2	0.1±0.2	0.1±0.2	0.1±0.2	0.1±0.3
Seg (%)	20.4±3.4	21.2±3.9	16.0±2.5**	13.2±2.1**	17.5±4.7
Eosi (%)	1.1±0.7	0.8±0.5	0.9±0.2	0.5±0.6*	0.6±0.6
Baso (%)	0	0	0	0	0
Lymp (%)	76.3±3.4	76.7±3.3	82.3±2.6**	85.8±2.4**	79.9±5.1
Mono (%)	2.1±1.2	1.3±0.9	0.7±0.9**	0.6±0.6**	2.0±1.1
TP (g/dl)	5.9±0.2	5.9±0.2	5.8±0.2	5.8±0.1	6.1±0.2
A/G	3.2±0.2	3.1±0.3	3.3±0.2	3.7±0.2**	3.1±0.2
AlB (g/dl)	4.5±0.1	4.5±0.1	4.5±0.1	4.6±0.1	4.6±0.2
T.Bil (mg/dl)	0.10±0.00	0.10±0.00	0.10±0.00	0.10±0.00	0.10±0.00
TG (mg/dl)	13.4±2.4	17.5±4.6	14.8±2.5	29.1±6.0**	12.8±3.9
T.Cho (mg/dl)	82.0±7.6	87.6±7.9	86.6±7.9	75.0±6.1	86.6±10.3
BUN (mg/dl)	15.7±1.1	16.1±1.3	16.5±0.6	20.1±1.8**	17.9±2.8*
CRN (mg/dl)	0.29±0.03	0.25±0.05	0.29±0.03	0.27±0.05	0.30±0.00
Ca (mg/dl)	9.6±0.2	9.8±0.2**	9.7±0.1	9.7±0.1	9.9±0.4**
P (mg/dl)	5.4±0.4	5.6±0.2	5.5±0.4	5.8±0.4*	5.6±0.7
Na (mEQ/l)	144.5±1.0	143.9±0.9	143.4±0.8*	142.2±1.0**	144.2±0.8
K (mEQ/l)	3.7±0.2	3.9±0.3	4.1±0.2**	4.5±0.2**	3.8±0.3
Cl (mEQ/l)	106.8±1.1	107.6±1.0	107.4±0.8	107.0±0.8	106.6±2.8
AsT (IU/l)	80.8±6.7	70.3±3.2**	78.0±5.2	97.7±8.4**	71.6±5.1**
AlT (IU/l)	39.3±3.6	41.5±5.0	37.1±2.3	58.4±10.0**	42.8±7.1
γ-GT (IU/l)	-	-	-	6.5±0.7**	-
ALP (IU/l)	256.4±29.5	276.0±33.2	278.7±22.2	413.5±31.9**	282.0±34.1

a) : Mean±S.D.

b) : Band; Band form leukocyte, Seg; Segmented leukocyte, Eosi; Eosinophilic leukocyte, Baso; Basophilic leukocyte, Lymp; Lymphocyte, Mono; Monocyte

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

Table 4. Relative organ weights of rats treated with tocotrienol for 13 weeks

♂	Tocotrienol				Tocopherol
	0%	0.19%	0.75%	3%	0.69%
Body Weight (g)	290.9±18.9 ^{a)}	296.4±10.2	281.8±21.1	244.9±14.5 ^{**}	276.7±14.7
Brain (g%)	0.66±0.04	0.65±0.02	0.68±0.04	0.77±0.04 ^{**}	0.68±0.04
Heart (g%)	0.34±0.10	0.30±0.01	0.30±0.01	0.32±0.01	0.30±0.01
Thymus (g%)	0.065±0.011	0.062±0.005	0.058±0.010	0.056±0.006	0.058±0.008
Lungs (g%)	0.331±0.015	0.319±0.025	0.318±0.017	0.349±0.016	0.312±0.013
Liver (g%)	2.28±0.11	2.34±0.05	2.31±0.06	2.60±0.10 ^{**}	2.30±0.10
Spleen (g%)	0.20±0.01	0.19±0.01	0.19±0.01	0.21±0.02	0.19±0.01
Adrenals (g%)	0.011±0.001	0.013±0.001	0.013±0.002	0.016±0.002 ^{**}	0.012±0.002
Kidneys (g%)	0.63±0.03	0.63±0.02	0.65±0.03	0.69±0.03 ^{**}	0.65±0.02
Testes (g%)	1.05±0.05	1.04±0.03	1.04±0.03	1.14±0.06 ^{**}	1.10±0.07

♀	Tocotrienol				Tocopherol
	0%	0.19%	0.75%	3%	0.69%
Body Weight (g)	149.8±8.8	154.2±8.1	152.6±8.9	145.3±6.7	164.5±5.6
Brain (g%)	1.17±0.06	1.12±0.08	1.15±0.07	1.18±0.05	1.13±0.07
Heart (g%)	0.36±0.02	0.37±0.06	0.35±0.02	0.35±0.02	0.36±0.03
Thymus (g%)	0.104±0.012	0.107±0.009	0.098±0.012	0.100±0.008	0.107±0.008
Lungs (g%)	0.48±0.05	0.43±0.03 [*]	0.43±0.03	0.43±0.05 [*]	0.43±0.03
Liver (g%)	2.27±0.09	2.20±0.07	2.22±0.05	2.44±0.10 ^{**}	2.47±0.14 ^{**}
Spleen (g%)	0.23±0.01	0.22±0.01	0.23±0.01	0.25±0.02 ^{**}	0.23±0.02
Adrenals (g%)	0.025±0.004	0.024±0.004	0.024±0.002	0.022±0.004	0.025±0.003
Kidneys (g%)	0.67±0.03	0.68±0.03	0.69±0.03	0.70±0.03	0.68±0.03
Ovaries (g%)	0.039±0.004	0.039±0.003	0.040±0.003	0.033±0.003 ^{**}	0.037±0.005
Uterus (g%)	0.35±0.14	0.35±0.10	0.32±0.09	0.20±0.09 ^{**}	0.31±0.09

a) : Mean±S.D.

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

Table 5 Histopathological changes in male rats treated with tocotrienol for 13 weeks

No. of animals	Liver		Adrenal	
	enlargement of hepatocyte	reduction of cytoplasmic vacuolation in cortical region	-	+
0%	10	10	0	0
0.19%	10	10	0	0
0.75%	10	5	5*	0
3%	10	3	7**	10**

a) : - ; absent, + ; slight

b) : - ; absent, + ; present

*,** : * p<0.05, ** p<0.01 vs. the 0% group values