

食品添加物安全性再評価費

(平成 17 年度試験品目)

没食子酸の 90 日間反復投与毒性試験および慢性毒性試験
(平成 20 年度最終報告書)

[Redacted]

担当者

[Redacted]

部長

国立医薬品食品衛生研究所
安全性生物試験研究センター [Redacted]

[Redacted]

[概要]

ラットを用いた没食子酸の 90 日間反復投与毒性試験および慢性毒性試験を実施した。6 週齢の雌雄 F344 ラットに、90 日間反復投与毒性試験では 0、0.2、1 及び 5%の用量で 13 週間、慢性毒性試験では、0、0.2、0.6、1.8 %の用量で 52 週間没食子酸を混餌投与した。試験期間中は体重、摂餌量を測定し、試験終了時に血液・血清生化学的検査の他、全身諸臓器を採取し、臓器重量測定、病理組織学的検索、精子検査（90 日間試験のみ）およびホルモン測定（90 日間試験のみ）を実施した。90 日間反復投与毒性試験では、5 %群の雌雄において、実験期間を通じた体重増加抑制が認められ、雌では摂餌量の減少がみられた。血液学的検査において 5 %群の雌雄で軽度な貧血が、血清生化学的検査では、5%群の雌雄においてビリルビンの増加が認められた。臓器重量は 5%群の雌雄において肝臓、脾臓の絶対・相対重量が増加した。同群の雄では腹側前立腺の絶対・相対重量が減少したが、精子検査およびホルモン測定において異常が認められず、病理組織学的検査においても前立腺の変化に群間の差がなかったことから、臓器重量の変化は投与に関連性がないものと考えられた。病理組織学的検索では雄の 5 %群において、肝臓の小葉中心性肝細胞肥大、脾臓のうっ血、褐色色素沈着及び髓外造血亢進、腎臓近位尿細管上皮細胞の褐色色素沈着、軽度のびまん性甲状腺濾胞上皮肥大が観察された。ホルモン測定において、5 %群の雄で T4、雌で T3 が減少した。慢性毒性試験では、1.8 %群の雌に持続的な体重増加抑制が投与 20 週以降認められた。血液学的検査では、1.8 %群の雌雄に軽度な貧血が認められた。さらに 1.8 %群の雄では、血液生化学的検査において直接ビリルビン、総コレステロール、AST、ALT、 γ -GTP の有意な増加と肝臓の絶対・相対重量の有意な増加が観察された。病理組織学的検査では投与に関連した所見として、1.8%群の雄で小葉中心性肝細胞肥大が、雌で小葉周辺性肝細胞肥大が軽度ながら有意に増加した。精巣、前立腺、甲状腺において亜急性毒性試験と同様の変化は観察されなかった。慢性毒性試験では腫瘍性病変も散見されたが、有意な増加を示す腫瘍の発生は認められなかった。

これらの結果より、没食子酸投与の主たる標的が肝臓、血液であるこ

とが明らかになった。また慢性毒性試験より高用量を投与した亜急性毒性試験では、肝臓、血液の変化に加え、甲状腺、脾臓、腎臓への影響も観察された。亜急性毒性試験で懸念された生殖器系器官への影響は、慢性毒性試験では認められず、関連する検査項目においても異常は認められなかったことから、没食酸が生殖器系器官へ影響を及ぼす可能性は少ないと考えられた。本試験結果より、没食子酸の最小毒性量は、慢性毒性試験の雌雄 1.8 % (雄 325.0 mg/kg/day、雌 359.9 mg/kg/day)、無毒性量は 0.6 % (雄 107.4 mg/kg/day、雌 117.8 mg/kg/day) であると考えられた。

[はじめに]

没食子酸 (3,4,5-trihydroxybenzoic acid, gallic acid : $C_7H_6O_5/C_6H_2(OH)_3COOH$) は、酸化防止作用を有する植物フェノールで、植物の各部に広く遊離状態で存在し、主にタンニンの構成成分となっている¹⁾。古くから生薬としても知られており、ブナ科ウラジロガシ (*Quercus infectoria*) やウルシ科ヌルデ (*Rhus javanica*) に生ずる虫こぶ、マメ科タラ (*Caesalpinia spinosa*) の実の莢から抽出したタンニンを加水分解して得られる。性状は白～淡類黄色の結晶性粉末で、水、エタノール、グリセリンに可溶、油脂には溶けにくい¹⁾⁻²⁾。

没食子酸は日本において、酸化防止剤として食品に添加されており、食品以外の分野でもインキ用原料、発色剤、塗料用原料、医薬品原料、写真用薬品製造原料、解膠剤として用いられている²⁾⁻³⁾。また、没食子酸プロピル (propyl gallate)、没食子酸オクチル (octyl gallate)、没食子酸ドデシル (dodecyl gallate) などの誘導體も、防腐や保存のため食品や化粧品などに使用されている⁴⁾。従って、食品中に含まれる加水分解型タンニンや没食子酸誘導體に由来する没食子酸も体内に摂取されている可能性が考えられる⁵⁾⁻⁶⁾。没食子酸誘導體の中では、没食子酸プロピルが最も吸収されやすく、経口摂取量の 70% 以上が消化管から吸収される。同様に、没食子酸オクチルや没食子酸ドデシルも消化管より吸収され、加水分解を経て没食子酸となり、さらにメチル化されて 4-O-methyl gallic acid を生じる⁴⁾。

タンニンおよび没食子酸は、蛋白質や鉄、亜鉛、カルシウムなどの金

属と結合して不溶性の複合体を形成し、その生体内利用率に影響を与えることが知られている⁷⁾⁻⁹⁾。また、没食子酸は抗炎症作用¹⁰⁾、抗変異原性作用¹¹⁾⁻¹²⁾および抗癌作用^{13), 14)}を持つことが報告されている。Ames試験では S-9 添加の有無にかかわらず、*Salmonella typhimurium* TA98、TA100 および TA1535 において陰性^{6), 15)}、マウス骨髄細胞を用いた小核試験でも陰性である¹⁶⁾。急性毒性に関しては、ウサギにおける LD50 値は強制経口投与で 5000 mg/kg であることが報告されており¹⁷⁾、マウスに 28 日間経口投与した実験では、無毒性量 (NOAEL) は 5000 mg/kg であった¹⁸⁾。

我々は天然添加物の安全性再評価の一環として、ラットを用いた 90 日間反復投与毒性試験を実施しており、没食子酸の 0.6% 以上混餌投与した群では貧血、肝細胞肥大、腎尿細管上皮の褐色色素沈着を認めた¹⁹⁾。また、精巢は 1.7% 以上投与群において相対重量の増加、体重増加抑制を認めた 5% 投与群では絶対重量も増加傾向を示したため、生殖器系・内分泌系への影響が示唆された。したがって、本試験では、内分泌・生殖器系への影響の検索を追加し、没食子酸の 90 日間反復投与毒性試験および慢性毒性試験を実施した。

[試験材料及び方法]

1. 動物

動物は 5 週齢の F344/DuCrj 系ラット (SPF) 雌雄各 120 匹を日本チャールス・リバー株式会社 (神奈川) より購入し、基礎飼料 (CRF-1 固形飼料、オリエンタル酵母工業株式会社、東京) と水道水で 1 週間馴化飼育した後、群間に体重の偏りが無いように雌雄各 4 群 (90 日間反復投与毒性試験; 各群 10 匹、慢性毒性試験; 各群 20 匹) に分け、試験に供した。動物の飼育はバリエーションシステムの飼育室にて、室温 24 ± 1 °C、湿度 55 ± 5 %、換気回数 18 回/時 (オールフレッシュ)、12 時間蛍光灯照明、12 時間消灯の条件下で行った。動物は透明なポリカーボネート製ケージ (幅 26 cm、長さ 42 cm、高さ 17 cm) に 3~4 匹ずつ収容し、床敷き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 回交換を行った。飲料水として、水道水を試験期間中自由に摂取させた。

リン比 (A/G)、総ビリルビン (total Bil)、直接ビリルビン (direct Bil)、間接ビリルビン (indirect Bil)、グルコース、トリグリセライド (TG)、総コレステロール (TC)、尿素窒素 (UN)、クレアチニン (CRN)、ナトリウム (Na)、塩素 (Cl)、カリウム (K)、カルシウム (Ca)、無機リン (IP)、AST、ALT、アルカリフォスファターゼ (ALP)、 γ -GTP を測定した。

5. 病理組織学検査

諸臓器は肉眼的に観察後摘出し、脳、心臓、肺、肝臓、脾臓、副腎、腎臓、精巣、精巣上体、卵巣、子宮の重量測定を行った。90日間試験のみ胸腺の重量測定を行った。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、唾液腺、舌、気管、食道、甲状腺、胸腺、膵臓、胃、小腸、大腸、腸間膜リンパ節、大腿筋、大腿骨、胸骨、脊髄、坐骨神経、皮膚、乳腺、膀胱、精囊、凝固腺、前立腺、膣については摘出後直ちに10%中性緩衝ホルマリン液にて固定した。精巣はブアン液にて1昼夜固定した。90日間反復投与毒性試験では、ホルマリン固定後に下垂体、精囊、腹側前立腺、背側前立腺の重量測定を行った。病理組織学的検索は対照群および最高用量群の全臓器と、中間用量群の肝臓、脾臓、腎臓、副腎、心臓、脳、肺、乳腺、甲状腺、精巣、下垂体、精巣上体、雄性副生殖器、卵巣、子宮、膣について実施した。臓器は定法に従ってパラフィン包埋し、薄切標本を作製後、ヘマトキシリン・エオジン染色を施し鏡検した。また必要に応じて特殊染色を行った。

6. 精子検査

90日間反復投与毒性試験では、放血殺直後に右側精巣上体尾部より精液を採取し、XXXXXXXXXXに委託して精子運動性指数 (Sperm Motility Index; SMI)、総精子数、異常精子数の測定を行った。即ち、SMIは採取した精液 $5\mu\text{l}$ に DMEM 希釈液 $625\mu\text{l}$ を加え 126 倍希釈し、ウォーターバス中で 37°C 1 時間インキュベーションした後、SQA (Sperm Quality Analyzer) により測定した。総精子数は、126 倍希釈精液 $50\mu\text{l}$ に生理食塩水 $1150\mu\text{l}$ を加え 3024 倍希釈した精液サンプルを用い、Burker-Turk 血球計算盤を使用して光学顕微鏡下で精子数を観察し、1ml

中の精子数を算出した。異常精子数は精子塗沫標本を 10%ギムザ水溶液で 5~10 分間染色後、1 個体あたり 500 個の精子について形態観察を実施し、部位別異常精子数（頭部、頸部、中片部、尾部）を求めた。

7. 血中ホルモン測定

血清生化学検査に用いた血清の一部を用いて、甲状腺ホルモン(TSH)、トリヨードサイロキシン(T3)、血清総サイロキシン(T4)、テストステロン(TST、雄のみ)、 17β エストラジオール(E2、雌のみ)を ██████████ に委託して測定した。供試動物数は、雄では各群 10 匹、雌では 0%、0.2%、1%および 5%各群において発情休止期を示したそれぞれ 6、4、9 および 6 匹を用いて測定を行った。

8. 統計学処理法

試験期間中の体重、摂餌量、血液学的・血清生化学検査結果、諸臓器の絶対重量及び相対重量、精子検査およびホルモン測定の結果については、各群の分散を Bartlett の方法で検定し、等分散の場合は一元配置の分散分析を行い、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検は 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。病理組織学的変化については、発生頻度を Fisher の直接確率法で検定した。

[結果]

・ 90 日間反復投与毒性試験

1. 一般状態

試験期間中、死亡個体は認められず、いずれの個体においても一般状態の異常は認められなかった。解剖前 3 週間における雌の性周期には、群間の差はみられなかった。

2. 体重及び摂餌量

投与期間中の各群の体重の推移を Fig. 1 に示した。5%群において、雄では 2 週目から、雌では 3 週目から投与期間を通じて有意な体重増加

抑制が認められた。1%以下の群では明らかな変動を認めなかった。

試験期間中における摂餌量の推移を Fig. 2 に、各群における一匹の一日当りの平均摂餌量及び被験物質摂取量を Table 1 に示した。一匹あたりの摂餌量は、雄では群間の差はみられなかったが、雌の 0.2%群、1%群、5%群において有意に低値を示した。しかし、これに相関して体重増加抑制も認められたため、体重当りの摂餌量に明らかな差は認められなかった。よって試験期間を通して被験物質の用量比に応じた体重あたりの摂取量を示した。

3. 血液学的及び血清生化学的検査

血液学的検査の結果を Table 2 に示した。雄では 5%群で RBC 数が減少傾向を示すと共に、Hb、Ht、MCV、MCH、MCHC の有意な低値が認められた。雌においても 5%群で RBC 数は減少傾向を示し、Hb、Ht、MCV、MCH の有意な減少と共に Plt の有意な増加も認められた。WBC 数および白血球型別分類は雌雄ともに群間に差は認められなかった。網状赤血球数は雄の 5%群で有意に増加し、雌においても 5%群で増加傾向を示した。

血清生化学的検査の結果を Table 3 に示した。雄の 5%群で TP、Alb、total Bil、direct Bil、indirect Bil、Na、K の有意な高値及び CRN、Cl の有意な低値が認められ、Na の有意な高値は 1%群でも認められた。雌では 5%群で total Bil、direct Bil の有意な高値及び CRN の有意な低値が認められた。

4. 最終体重・臓器重量

最終体重と臓器重量を Table 4 に示した。最終体重では雌雄共に 5%群で有意な低値が認められた。5%群の雌雄で、脾臓、肝臓の絶対・相対重量の有意な高値及び、胸腺、心臓の絶対重量の有意な低値、脳、腎臓の相対重量の有意な高値が認められた。他に 5%群の雄では肺の絶対重量の有意な低値、心臓の相対重量の有意な高値、雌で副腎相対重量の有意な低値が認められた。

生殖器及び下垂体の重量を Table 5 に示した。雄では、対照群に比し 5%群で腹側前立腺の絶対・相対重量が有意に減少した他、下垂体、精

巢、精巣上体の相対重量増加が認められた。雌では対照群に比し5%群で、下垂体、卵巣、子宮絶対重量の有意な低値が認められたが、相対重量の有意な変動は見出されなかった。

5. 精子検査

精子検査の結果を Table 6 に示した。精子の運動性を示す SMI、精液中の精子数、異常精子の出現頻度について、いずれも群間の差は認められなかった。

5. 血中ホルモン測定

血中ホルモン測定の結果を Table 7 に示した。5%群では雄の T4、雌の T3 が軽度であるが、低値を示した。TSH をはじめ、その他のホルモンについては群間の有意差および傾向は認められなかった。

6. 病理組織学的所見

病理組織学的検索の結果を Table 8 に示した。5%群では、雌雄において脾臓赤脾髄領域の褐色色素沈着、髄外造血亢進およびうっ血、腎臓近位尿細管上皮細胞の褐色色素沈着および甲状腺濾胞上皮の軽度なびまん性肥大が有意な増加を示した。これらの増加に認められた褐色色素はシュモール反応およびベルリン青染色により、脾臓ではリポフスチンとヘモジデリン色素、腎臓ではリポフスチン色素であると同定された。また同群の雄で小葉中心性肝細胞肥大が、雌で小葉周辺性肝細胞肥大が有意に増加した。1%群では、雄で肝臓の小葉中心性肝細胞肥大は少数例観察された。生殖器系の各器官において、雌雄とも対照群と比較して有意な変化を示す所見は認められなかった。

・ 慢性毒性試験

1. 一般状態

試験期間中、44 週において雌の対照群にて 1 例、削瘦・衰弱している個体があり途中解剖を行った。その他の動物については一般状態の異常は認められず、試験終了まで生存した。

2. 体重及び摂餌量

投与期間中の各群の体重の推移を Fig. 3 に示した。対照群に比し 1.8% 群の雌で 7 週及び 8 週目、20 週から最終週まで体重の有意な増加抑制が認められた。雄では群間の体重の差は認められなかった。

試験期間中における摂餌量の推移を Fig. 4 に、各群における一匹の一日当りの平均摂餌量及び被験物質摂取量を Table 8 に示した。平均摂餌量は雌雄共に群間の差は認められず、試験期間を通して被験物質の用量比に相関した没食子酸の摂取量を示した。

3. 血液及び血液生化学検査

血液学的検査の結果を Table 9 に示した。1.8% 群において、雄では Hb、MCV、MCH、雌では Hb、Ht、MCV の有意な低値が認められた。WBC 数および白血球型別分類においては雌雄共に群間の差は認められなかった。

血清生化学検査の結果を Table 10 に示した。雄では 1.8% 群で direct Bil、TC、AST、ALT、 γ -GTP の有意な高値及び CRN の有意な低値が認められた。雌では 1.8% 群で CRN、Ca の有意な低値が認められた。

4. 最終体重・臓器重量

最終体重と臓器の絶対重量及び相対重量を Table 11 に示した。雄では対照群に比し 1.8% 群において肝臓の絶対および相対重量が有意に増加した。雌では 1.8% 群において最終体重の有意な低値、脳および脾臓相対重量の有意な高値が認められた。

5. 病理肉眼的検査

最終解剖における剖検所見を Table 12 に示した。種々の肉眼所見が各群に認められたが、対照群との間に有意な所見は認められなかった。

6. 病理組織学的検査

病理組織学的検査結果を Table 13 に示した。5% 群において、雄で小葉中心性肝細胞肥大、雌で小葉周辺性肝細胞肥大の発生頻度が対照群と比較し有意に増加した。これらの変化の程度はいずれも軽度であった。

対照群を含む各群の雌雄とも、さまざまな病変が各臓器に観察されたが、いずれの頻度および程度においても対照群と有意な差は認められなかった。精巣については、胚上皮の変化に群間での差は認められず、ライデッヒ細胞の限局性過形成も対照群を含む各群に認められ、同所見の群間差は認められなかった。対照群において試験途中には安楽死させた動物は全身への転移を伴う基底細胞癌と診断された。

[考察]

・ 90 日間反復投与毒性試験

F344 ラットに、0、0.2、1 及び 5%の用量で 13 週間没食子酸を混餌投与した。その結果、5%群の雌雄において、実験期間を通じた体重増加抑制が認められ、雌では摂餌量の減少もみられた。

血液学的検査において 5%群の雌雄で観察された Hb、Ht、MCV、MCH、RBC 数あるいは網状赤血球数の変化は、軽度な貧血に関連する変化であることから、本化合物の 5 %の投与により雌雄のラットに貧血が誘発されると考えられた。血清生化学的検査で 5%群の雌雄においてビリルビンの増加が認められ、このうち直接ビリルビンの増加はこの変化は慢性毒性試験でも観察されていることから、投与による変化であると考えられた。

臓器重量は 5%群の雌雄において肝臓、脾臓の絶対・相対重量が増加し、病理組織学的検査においてもこれらに対応する所見として、同群の雄で小葉中心性幹細胞肥大、雌で小葉周辺性肝細胞肥大が、雌雄で脾臓の髓外造血亢進および褐色色素沈着が観察された。このうち肝臓の変化は慢性毒性試験でも認められたことから、肝への影響は没食子酸投与による毒性の特徴の一つであると考えられた。1 %群の雄の数例に小葉中心性肝細胞肥大が認められたが、有意ではなく、同群で肝重量の変化および肝機能障害を示唆する所見が認められていないことから、没食子酸投与による毒性学的影響を示唆する変化ではないと考えた。

脾臓の変化のうち髓外造血亢進およびヘモジデリン沈着増加は、一般的に溶血性貧血に関連する変化である。本化合物投与により明らかな溶血性貧血を示す変化は認められていないものの、軽度な貧血やビリルビ

ンへの影響が認められていることから、脾臓での病理組織学的所見も、没食子酸投与による血液への影響に関連している可能性が示唆された。

雄では5%群で腹側前立腺の絶対・相対重量が減少を示したが、精子検査では精子の運動性と総数、異常精子の出現頻度に群間での差は認められず、ホルモン測定においても雄のテストステロンおよび雌のE2の異常は観察されなかった。また病理組織学的にも雄性および雌性生殖器に投与に関連する病変も増加は認められなかった。これらの結果は、腹側前立腺の絶対・相対重量が減少の原因は不明であるものの、本化合物が雌雄の生殖器に影響を及ぼす可能性が極めて低いことを示唆するものと考えられた。

亜急性毒性試験において、5%群の雌雄で観察された甲状腺びまん性肥大は本化合物投与の影響と考えられた。文献において、没食子酸は肝臓の薬物代謝第2相酵素を誘導することや²⁰⁾⁻²¹⁾、CYPをはじめとする様々な酵素の活性を増加あるいは阻害することが報告されている²²⁾⁻²⁵⁾。今回の試験においても、5%群では肝肥大が認められており、同群で観察された甲状腺への影響は、肝臓での薬物代謝酵素誘導による間接的な変化である可能性が高いと考えられた。しかし、血清T3あるいはT4の軽度な低下は認められたもののTSHの変動は雌雄とも認められなかったことから、今回の観察された甲状腺への影響の機序を明らかにすることはできなかった。

これらの亜急性毒性試験での結果は、同用量の没食子酸をラットに同期間投与した過去の報告¹⁹⁾と体重増加抑制、貧血、肝細胞肥大、腎尿細管上皮の褐色色素沈着など一部の項目では類似しているものの、びまん性甲状腺濾胞上皮肥大など異なる点も認められた。

・ 慢性毒性試験

1.8%群の雌では亜急性毒性試験と同様、投与期間の経過とともに体重増加抑制が認められ、この抑制は没食子酸投与に起因するものと考えられた。雄では体重、摂餌量ともに投与による影響は認められず、没食子酸1.8%投与は雄の体重へは影響を及ぼさないと考えられた。

血液学的検査では、1.8%群の雌雄に軽度な貧血が認められ、軽度な貧血は、亜急性毒性試験の5%群の雌雄にも認められており、没食子酸投

与により軽度ながら血液への毒性が誘発されることが明らかとなった。

血液生化学的検査において1.8%群の雄では直接ビリルビン、TC、AST、ALT、 γ -GTPの増加など肝機能障害を示唆する変化が認められ、同群の雄ではさらに肝臓の絶対・相対重量増加と小葉中心性肝細胞肥大が、雌では小葉周辺性肝細胞肥大が認められた。同様の肝臓の組織学的変化は亜急性毒性試験でも認められており、没食子酸は血液だけでなく、肝臓が標的であることが慢性毒性試験でも明らかとなった。しかし、生化学的検査で認められた検査値の異常も顕著なものではなく、肝肥大以外に肝障害を示す組織学的所見が認められなかったことから、その肝臓への毒性影響が重篤なものであるとは考えられなかった。また肝臓における肥大部位に雌雄差が認められたが、その原因を明らかにすることはできなかった。

1.8%群の雌で認められた脳の相対重量増加は体重増加抑制に関連した変化と考えられた。

病理組織学的検査において、慢性毒性試験では甲状腺に亜急性毒性試験と同様な変化は認められず、生殖器系器官にも投与に関連した所見は観察されなかった。散見された腫瘍性病変、過形成病変および肝臓における肝細胞変異巣など各群に観察された増殖性病変においても、投与に関連した増加は認められなかった。

これらの毒性試験結果より、没食子酸投与による主たる毒性影響は、肝臓、血液に認められた。慢性毒性試験より高用量を投与した亜急性毒性試験では、さらに甲状腺、脾臓、腎臓への影響も観察された。亜急性毒性試験で懸念された精巣への影響は、慢性毒性試験では認められず、没食酸が精巣へ影響を及ぼす可能性はないと考えられた。したがって、本試験における最小毒性量を慢性毒性試験結果より、雌雄1.8%(雄325.0 mg/kg/day、雌359.9 mg/kg/day)、無毒性量を0.6%(雄107.4 mg/kg/day、雌117.8 mg/kg/day)と設定した。

[文献]

- 1) 今堀和友、山川民夫監修：生化学辞典、東京化学同人、東京、pp. 1258、(1990)
- 2) 藤原喜久男、栗飯原景昭監修：食品衛生ハンドブック、南江堂、東京、pp. 445
- 3) Y. Nakagawa, P. Moldeus and G. Moore: *Arch. Toxicol.*, **72**, 33-37, (1997)
- 4) C. A. van der Heijden, P. J. Janssen and J. J. Strik: *Food Chem. Toxicol.*, **24**, 1067-1070, (1986)
- 5) K. T. Chung, T. Y. Wong, C. I. Wei, Y. W. Huang and Y. Lin: *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **38**, 421-464, (1998)
- 6) S. C. Chen and K. T. Chung: *Food Chem. Toxicol.*, **38**, 1-5, (2000)
- 7) M. Brune, L. Rossander and L. Hallberg: *Eur. J. Clin. Nutr.*, **43**, 547-557, (1989)
- 8) A. Carmona: *Arch. Latinoam Nutr.*, **44**, 31S-35S, (1996)
- 9) M. B. Reddy and M. Love: *Adv. Exp. Med. Biol.*, **459**, 99-106, (1999)
- 10) B. H. Kroes, A. J. van den Berg, H. C. Quarles van Ufford, H. van Dijk and R. P. Labadie: *Planta. Med.*, **58**, 499-504, (1992)
- 11) M. T. Huang, R. L. Chang, A. W. Wood, H. L. Newmark, J. M. Sayer, H. Yagi, D. M. Jerina and A. H. Conney: *Carcinogenesis*, **6**, 237-242, (1985)
- 12) T. Gichner, F. Pospisil, J. Veleminsky, V. Volkeova and J. Volke: *Folia Microbiol.*, **32**, 55-62, (1987)
- 13) S. S. Mirvish, A. Cardesa, L. Wallcave and P. Shubik: *J. Natl. Cancer Inst.*, **55**, 633-636, (1975)
- 14) M. Inoue, R. Suzuki, N. Sakaguchi, Z. Li, T. Takeda, Y. Ogihara, B. Y. Jiang and Y. Chen: *Biol. Pharm. Bull.*, **18**, 1526-1530, (1995)
- 15) K. A. Rashid, I. T. Baldwin, J. G. Babish, J. C. Schultz and R. O. Mumma: *J. Environ. Sci. Health B.*, **20**, 153-165, (1985)
- 16) 平成 15 年度厚生科学研究費 分担研究報告書、(2003)
- 17) J. W. Dollahite, R. F. Pigeon and B. J. Camp: *Am. J. Vet. Res.*, **23**, 1264-1267, (1962)
- 18) K. Rajalakshmi, H. Devaraj and S. Niranjili Devaraj: *Food Chem. Toxicol.*, **39**, 919-922, (2001)
- 19) N. Niho, M. Shibutani, T. Tamura, K. Toyoda, C. Uneyama, N. Takahashi

- and M. Hirose: *Food Chem. Toxicol.*, 39, 1063-1070, (2001)
- 20) Y. Y. Ow and I. Stupans: *Curr Drug Metab.*, 4, 241-248, (2003)
- 21) C. T. Yeh, S. M. Huang and G. C. Yen: *J Agric Food Chem.*, 53, 4766-4773, (2005)
- 22) C. T. Yeh and G. C. Yen: *J Nutr.*, 136, 11-15, (2006)
- 23) I. Stupans, A. Kirlich, K. L. Tuck and P. J. Hayball: *J Agric Food Chem.*, 50, 2464-2469, (2002)
- 24) J. C. Park, W. D. Han, J. R. Park, S. H. Choi and J. W. Choi: *J Ethnopharmacol.*, 102, 313-318, (2005)
- 25) E. Shinno, M. Shimoji, N. Imaizumi, S. Kinoshita, H. Sunakawa and Y. Aniya: *Life Sci.*, 78, 99-106, (2005)

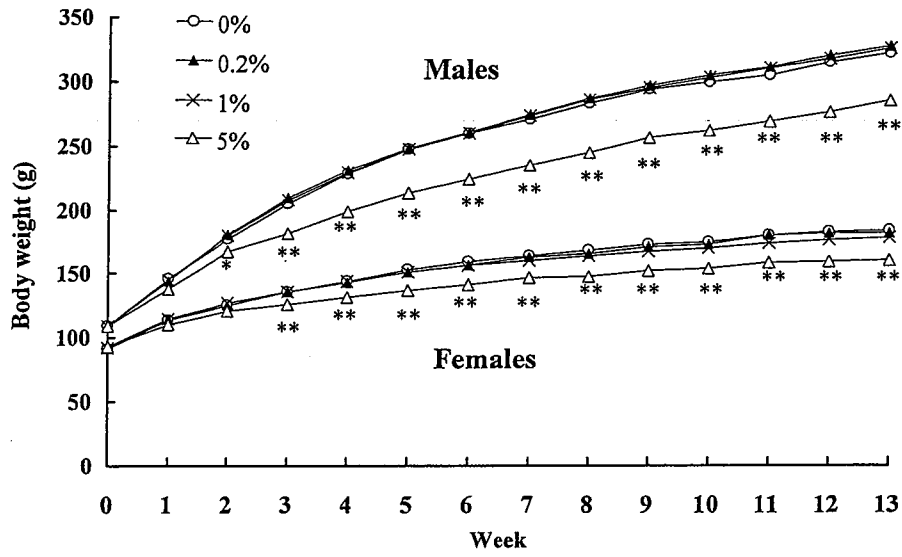


Fig. 1.
 Body weight curves for male and female F344 rats given gallic acid for 90 days.
 * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$, as compared with 0% group (Dunnett's test or Dunnett type rank-sum test).

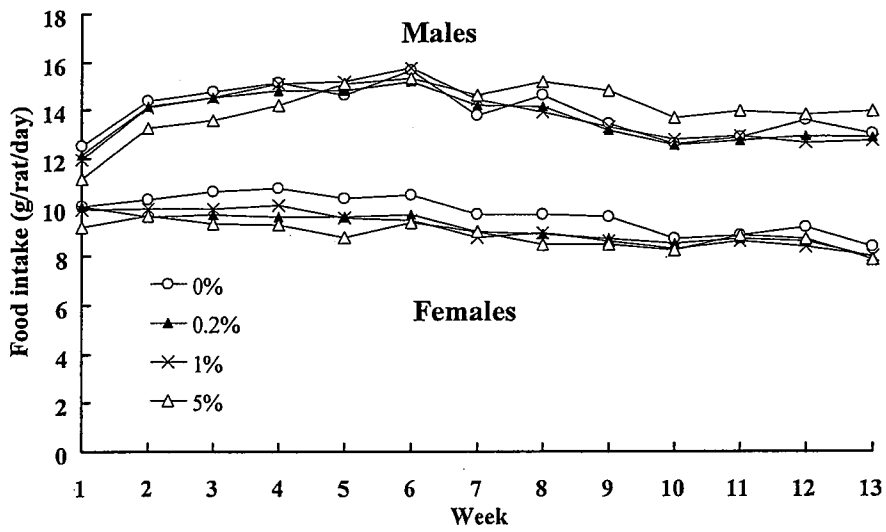


Fig. 2.
 Daily food intake for male and female F344 rats given gallic acid for 90 days.

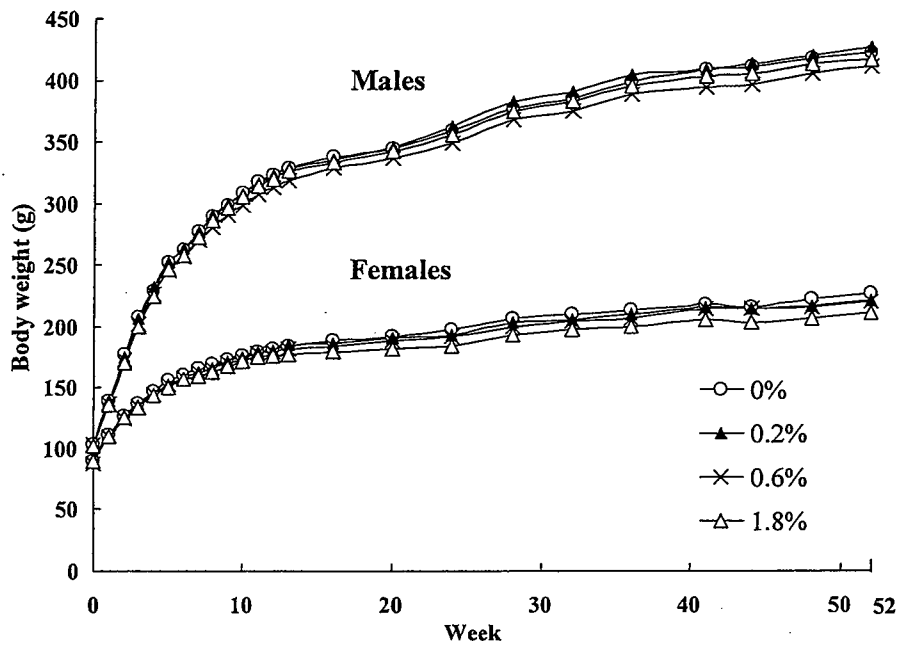


Fig. 3.
Body weight curves for male and female F344 rats given gallic acid for 52 weeks.

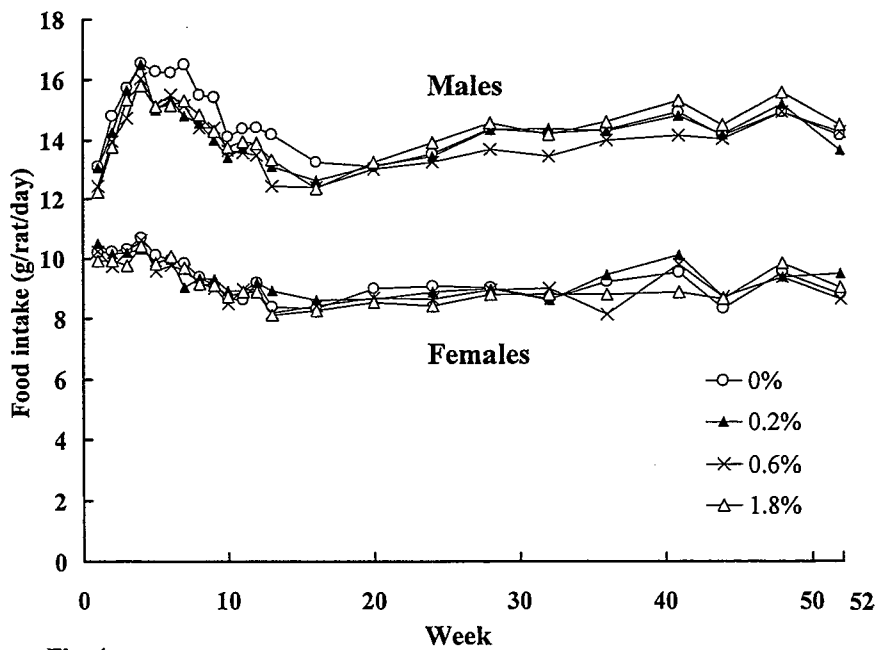


Fig. 4.
Daily food intake for male and female F344 rats given gallic acid for 52 weeks.

Table 1. Food consumption and intake of gallic acid by F344 rats fed diets containing the compound for 90 days.

Sex	Gallic acid in the diet (%)	No. of rats examined	Food consumption (g/rat/day)	Mean daily intake of gallic acid (g/kg BW/day) ^a	Total intake of gallic acid (g/kg BW) ^b
Males	0	10	13.9 (57.1) ^c	0	0
	0.2	10	13.7 (55.6)	0.11	10.0
	1	10	13.8 (56.0)	0.56	50.4
	5	10	14.1 (64.0)	3.20	287.9
Females	0	10	9.8 (63.4)	0	0
	0.2	10	9.1 [*] (59.8)	0.12	10.8
	1	10	9.1 [*] (60.2)	0.60	54.2
	5	10	8.9 ^{**} (63.5)	3.18	286.0

^aValues were calculated by multiplying the food consumption (g/kg BW/day) by the dietary level of gallic acid (g/g diet).

^bValues are the sums of gallic acid administered during the experimental period and were calculated by multiplying the mean daily intake of gallic acid (g/kg BW/day) by 90 (days).

^cValues in parentheses are for food consumption calculated as g/kg BW/day.

Abbreviation: BW, Body weight.

^{*}, ^{**}: Significantly different from 0% group at $P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively (Dunnett's test or Dunnett type rank-sum test).

Table 2. Hematological data for F344 rats fed diets containing gallic acid for 90 days.

	Gallic acid in the diet (%)			
	0	0.2	1	5
Males				
No. of animals examined	10	10	10	10
RBC ($\times 10^4/\mu\text{l}$)	942.1 \pm 36.2 ^a	935.6 \pm 28.5	922.6 \pm 34.5	902.6 \pm 36.9
Hb (g/dl)	16.2 \pm 0.6	16.1 \pm 0.4	15.8 \pm 0.7	14.6 \pm 0.6**
Ht (%)	51.1 \pm 1.7	50.7 \pm 1.5	50.0 \pm 2.1	47.3 \pm 1.8**
MCV (fl)	54.2 \pm 0.4	54.2 \pm 0.5	54.2 \pm 0.3	52.4 \pm 0.6**
MCH (pg)	17.2 \pm 0.3	17.2 \pm 0.2	17.1 \pm 0.2	16.2 \pm 0.4**
MCHC (g/dl)	31.7 \pm 0.5	31.7 \pm 0.3	31.5 \pm 0.4	30.9 \pm 0.5**
Plt ($\times 10^4/\mu\text{l}$)	71.4 \pm 3.6	71.1 \pm 4.4	66.2 \pm 9.9	66.7 \pm 14.0
WBC ($\times 10^2/\mu\text{l}$)	40.2 \pm 9.2	41.6 \pm 8.8	31.8 \pm 12.6	44.2 \pm 9.9
Differential leukocyte counts				
No. of animals examined	10	10	10	10
Band form neutrophils (%)	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
Segmented neutrophils (%)	23.1 \pm 4.3	19.6 \pm 2.9	21.4 \pm 5.2	23.3 \pm 4.3
Eosinophils (%)	1.0 \pm 0.9	1.0 \pm 0.6	0.5 \pm 0.6	0.7 \pm 0.7
Basophils (%)	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
Lymphocytes (%)	75.2 \pm 4.7	79.2 \pm 3.0	77.7 \pm 5.3	75.7 \pm 4.4
Monocytes (%)	0.7 \pm 0.7	0.3 \pm 0.5	0.4 \pm 0.5	0.3 \pm 0.4
Reticulocytes (/ 100 cells)	0.7 \pm 0.6	1.6 \pm 0.9	1.2 \pm 1.0	4.7 \pm 3.6**
Females				
No. of animals examined	10	6 ^b	10	8 ^b
RBC ($\times 10^4/\mu\text{l}$)	817.9 \pm 61.9	739.7 \pm 34.3	811.6 \pm 51.7	748.6 \pm 70.1
Hb (g/dl)	15.0 \pm 1.2	14.8 \pm 0.7	15.1 \pm 0.7	12.8 \pm 1.0**
Ht (%)	42.7 \pm 12.2	45.3 \pm 1.7	46.3 \pm 3.0	39.8 \pm 3.3**
MCV (fl)	57.1 \pm 0.5	57.1 \pm 0.5	57.1 \pm 0.6	53.2 \pm 0.8**
MCH (pg)	18.4 \pm 0.5	18.7 \pm 0.4	18.7 \pm 0.4	17.1 \pm 0.4**
MCHC (g/dl)	32.2 \pm 0.8	32.7 \pm 0.6	32.7 \pm 0.9	32.1 \pm 0.5
Plt ($\times 10^4/\mu\text{l}$)	61.1 \pm 18.6	63.5 \pm 8.9	71.3 \pm 2.8	76.7 \pm 4.0*
WBC ($\times 10^2/\mu\text{l}$)	33.1 \pm 9.9	39.3 \pm 6.7	39.5 \pm 5.5	38.6 \pm 9.1
Differential leukocyte counts				
No. of animals examined	8 ^b	5 ^b	9 ^b	7 ^b
Band form neutrophils (%)	0.1 \pm 0.2	0.2 \pm 0.3	0.1 \pm 0.2	0.3 \pm 0.3
Segmented neutrophils (%)	15.4 \pm 4.6	14.8 \pm 4.8	16.1 \pm 5.4	18.0 \pm 6.0
Eosinophils (%)	1.0 \pm 1.0	1.0 \pm 0.7	1.0 \pm 0.6	1.3 \pm 1.0
Basophils (%)	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
Lymphocytes (%)	82.4 \pm 5.0	82.6 \pm 4.5	81.5 \pm 4.9	79.2 \pm 6.2
Monocytes (%)	1.1 \pm 0.8	1.4 \pm 0.8	1.3 \pm 0.8	1.2 \pm 1.1
Reticulocytes (/ 100 cells)	2.2 \pm 1.2	1.2 \pm 1.0	1.7 \pm 0.8	3.3 \pm 1.9

^aMean \pm SD.

^bNumbers are excluded animals of which blood samples were insufficiently collected.

Abbreviations: RBC, red blood cell; Hb, hemoglobin; Ht, hematocrit; MCV, mean corpuscular volume; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; Plt, platelet; WBC, white blood cell.

*, **: Significantly different from 0% group at $P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively (Dunnett's test or Dunnett type rank-sum test).

Table 3. Serum biochemical data for F344 rats fed diets containing gallic acid for 90 days.

	Gallic acid in the diet (%)			
	0	0.2	1	5
Males				
No. of animals examined	10	10	10	10
TP (g/dL)	6.62 ± 0.14 ^a	6.71 ± 0.25	6.68 ± 0.18	7.04 ± 0.21**
A/G	1.86 ± 0.13	1.88 ± 0.08	1.90 ± 0.08	1.78 ± 0.08
Alb (g/dL)	4.30 ± 0.07	4.37 ± 0.12	4.37 ± 0.09	4.50 ± 0.11**
Total Bil (mg/dL)	0.036 ± 0.007	0.041 ± 0.007	0.032 ± 0.006	0.116 ± 0.028**
Direct Bil (mg/dL)	0.040 ± 0.005	0.042 ± 0.004	0.040 ± 0.007	0.104 ± 0.023**
Indirect Bil (mg/dL)	0.004 ± 0.005	0.005 ± 0.005	0.004 ± 0.005	0.033 ± 0.013**
Glucose (mg/dL)	134.1 ± 7.9	136.4 ± 15.9	127.4 ± 7.9	139.9 ± 12.9
TG (mg/dL)	63.9 ± 17.0	84.4 ± 39.5	63.9 ± 16.3	71.3 ± 18.4
TC (mg/dL)	60.2 ± 5.5	63.7 ± 4.6	60.6 ± 2.9	60.6 ± 4.8
BUN (mg/dL)	19.6 ± 1.9	20.5 ± 1.3	19.2 ± 1.0	20.6 ± 1.3
CRN (mg/dL)	0.33 ± 0.03	0.33 ± 0.04	0.34 ± 0.02	0.29 ± 0.02**
Na (mEQ/L)	144.5 ± 0.7	145.7 ± 1.9	147.3 ± 1.3**	146.8 ± 1.1**
Cl (mEQ/L)	104.7 ± 1.1	105.0 ± 1.6	104.9 ± 1.1	103.3 ± 1.3*
K (mEQ/L)	4.65 ± 0.29	4.70 ± 0.27	4.61 ± 0.20	4.99 ± 0.25*
Ca (mg/dL)	10.60 ± 0.18	10.65 ± 0.46	10.80 ± 0.29	10.70 ± 0.25
IP (mg/dL)	6.55 ± 0.30	6.66 ± 0.61	6.78 ± 0.63	6.33 ± 0.37
AST (IU/L)	88.6 ± 11.6	89.9 ± 17.1	79.1 ± 7.9	85.7 ± 22.1
ALT (IU/L)	46.6 ± 7.0	49.9 ± 10.2	40.6 ± 3.5	42.6 ± 8.8
ALP (IU/L)	441.4 ± 31.0	436.2 ± 34.3	435.9 ± 37.0	459.5 ± 25.1
γ-GTP (IU/L)	<2	<2	<2	<2
Females				
No. of animals examined	10	9 ^b	10	9 ^b
TP (g/dL)	6.66 ± 0.39	6.63 ± 0.27	6.67 ± 0.25	6.74 ± 0.35
A/G	2.09 ± 0.14	2.10 ± 0.10	2.09 ± 0.13	2.06 ± 0.14
Alb (g/dL)	4.51 ± 0.20	4.50 ± 0.18	4.50 ± 0.15	4.52 ± 0.19
Total Bil (mg/dL)	0.036 ± 0.007	0.038 ± 0.007	0.032 ± 0.004	0.069 ± 0.012**
Direct Bil (mg/dL)	0.045 ± 0.007	0.041 ± 0.008	0.041 ± 0.003	0.077 ± 0.016*
Indirect Bil (mg/dL)	0.005 ± 0.008	0.002 ± 0.004	0.005 ± 0.005	0.006 ± 0.007
Glucose (mg/dL)	148.8 ± 25.7	148.3 ± 27.8	152.4 ± 18.7	146.3 ± 12.8
TG (mg/dL)	63.6 ± 22.7	56.6 ± 16.7	53.4 ± 18.3	44.2 ± 11.8
TC (mg/dL)	88.1 ± 8.7	85.6 ± 5.6	93.3 ± 5.7	87.6 ± 5.4
BUN (mg/dL)	19.3 ± 2.5	20.50 ± 1.2	19.9 ± 1.8	21.0 ± 2.1
CRN (mg/dL)	0.29 ± 0.02	0.28 ± 0.03	0.28 ± 0.02	0.21 ± 0.03**
Na (mEQ/L)	146.2 ± 2.2	144.8 ± 3.0	145.5 ± 2.3	144.9 ± 1.9
Cl (mEQ/L)	106.0 ± 1.6	105.4 ± 1.8	106.1 ± 1.3	107.2 ± 1.5
K (mEQ/L)	4.05 ± 0.34	4.40 ± 0.70	4.03 ± 0.24	4.49 ± 0.60
Ca (mg/dL)	9.83 ± 3.01	10.78 ± 0.66	10.64 ± 0.50	10.44 ± 0.49
IP (mg/dL)	5.82 ± 1.04	5.52 ± 0.83	5.92 ± 0.74	5.69 ± 1.01
AST (IU/L)	77.2 ± 10.5	81.2 ± 13.1	78.0 ± 12.8	78.2 ± 12.1
ALT (IU/L)	36.1 ± 5.0	39.7 ± 5.8	34.7 ± 2.7	34.2 ± 4.1
ALP (IU/L)	578.1 ± 74.3	578.1 ± 48.1	594.8 ± 73.2	569.0 ± 66.4
γ-GTP (IU/L)	<2	<2	<2	4.1 ± 1.4 ^c

^a Mean ± SD. ^b Numbers are excluded animals of which blood samples were insufficiently collected.

^c The mean value was calculated by counting the value below detection limit as 2.0. The number of animals which showed the value below detection limit was 2.

Abbreviations: TP, total protein; A/G, albumin: globulin ratio; Alb, albumin; Bil, bilirubin; TG, triglyceride; TC, total cholesterol; BUN, blood urea nitrogen; CRN, creatinine; Na, sodium; Cl, chloride; K, potassium; Ca, calcium; IP, inorganic phosphate; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; ALP, alkaline phosphatase; γ-GTP, gamma glutamyl transpeptidase.

*, **: Significantly different from 0% group at $P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively (Dunnett's test or Dunnett type rank-sum test).

Table 4. Final body and organ weights for F344 rats fed diets containing gallic acid for 90 days.

		Gallic acid in the diet (%)			
		0	0.2	1	5
Males					
No. of animals examined		10	10	10	10
BW	(g)	309.7 ± 11.7 ^a	314.0 ± 10.6	312.2 ± 15.2	270.7 ± 10.5 ^{**}
Brain	(g)	1.95 ± 0.04	1.97 ± 0.04	1.97 ± 0.06	1.93 ± 0.04
	(g%)	0.631 ± 0.026	0.628 ± 0.022	0.631 ± 0.027	0.712 ± 0.021 ^{**}
Thymus	(g)	0.183 ± 0.027	0.185 ± 0.032	0.180 ± 0.018	0.148 ± 0.019 ^{**}
	(g%)	0.059 ± 0.009	0.059 ± 0.009	0.058 ± 0.006	0.055 ± 0.007
Lungs	(g)	0.971 ± 0.048	0.974 ± 0.056	1.004 ± 0.076	0.905 ± 0.029 [*]
	(g%)	0.314 ± 0.017	0.311 ± 0.021	0.322 ± 0.020	0.335 ± 0.018
Heart	(g)	0.866 ± 0.038	0.881 ± 0.029	0.894 ± 0.043	0.807 ± 0.036 ^{**}
	(g%)	0.280 ± 0.012	0.281 ± 0.014	0.286 ± 0.012	0.298 ± 0.009 ^{**}
Spleen	(g)	0.640 ± 0.033	0.654 ± 0.037	0.646 ± 0.036	0.862 ± 0.086 ^{**}
	(g%)	0.207 ± 0.007	0.208 ± 0.009	0.207 ± 0.009	0.319 ± 0.035 ^{**}
Liver	(g)	6.70 ± 0.33	6.95 ± 0.38	6.94 ± 0.31	8.15 ± 0.39 ^{**}
	(g%)	2.16 ± 0.07	2.21 ± 0.07	2.23 ± 0.05	3.01 ± 0.01 ^{**}
Adrenals	(mg)	34.5 ± 2.8	36.2 ± 7.4	32.5 ± 3.1	35.4 ± 4.4
	(mg%)	11.2 ± 1.0	11.6 ± 2.7	10.4 ± 0.9	13.1 ± 1.9
Kidneys	(g)	1.80 ± 0.07	1.81 ± 0.10	1.74 ± 0.07	1.79 ± 0.11
	(g%)	0.581 ± 0.022	0.577 ± 0.025	0.559 ± 0.026	0.663 ± 0.031 ^{**}
Females					
No. of animals examined		10	10	10	10
BW	(g)	183.7 ± 9.2	181.2 ± 10.9	179.0 ± 5.8	160.2 ± 5.9 ^{**}
Brain	(g)	1.82 ± 0.05	1.79 ± 0.03	1.80 ± 0.03	1.79 ± 0.04
	(g%)	0.989 ± 0.036	0.993 ± 0.055	1.004 ± 0.029	1.117 ± 0.040 ^{**}
Thymus	(g)	0.165 ± 0.020	0.164 ± 0.014	0.165 ± 0.022	0.144 ± 0.006 [*]
	(g%)	0.090 ± 0.009	0.091 ± 0.008	0.092 ± 0.011	0.090 ± 0.005
Lungs	(g)	0.722 ± 0.044	0.732 ± 0.072	0.708 ± 0.045	0.685 ± 0.062
	(g%)	0.393 ± 0.018	0.405 ± 0.040	0.396 ± 0.024	0.428 ± 0.045
Heart	(g)	0.552 ± 0.029	0.544 ± 0.033	0.540 ± 0.025	0.498 ± 0.024 ^{**}
	(g%)	0.301 ± 0.012	0.300 ± 0.013	0.302 ± 0.010	0.311 ± 0.018
Spleen	(g)	0.422 ± 0.017	0.417 ± 0.031	0.415 ± 0.029	0.563 ± 0.069 ^{**}
	(g%)	0.230 ± 0.007	0.230 ± 0.014	0.232 ± 0.012	0.352 ± 0.045 ^{**}
Liver	(g)	4.66 ± 0.37	4.58 ± 0.31	4.73 ± 0.36	5.19 ± 0.20 ^{**}
	(g%)	2.53 ± 0.15	2.53 ± 0.12	2.64 ± 0.13	3.24 ± 0.11 ^{**}
Adrenals	(mg)	37.3 ± 4.2	37.5 ± 5.7	35.8 ± 3.1	32.4 ± 3.7 [*]
	(mg%)	20.3 ± 1.7	20.7 ± 3.1	20.0 ± 1.7	20.3 ± 2.6
Kidneys	(g)	1.12 ± 0.06	1.11 ± 0.10	1.07 ± 0.06	1.09 ± 0.03
	(g%)	0.608 ± 0.020	0.613 ± 0.059	0.596 ± 0.026	0.681 ± 0.029 ^{**}

^aMean±SD.

Abbreviation: BW, Body weight.

*, **: Significantly different from 0% group at $P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively (Dunnett's test or Dunnett type rank-sum test).

Table 5. Reproductive organ weights for F344 rats fed diets containing gallic acid for 90 days.

		Gallic acid in the diet (%)			
		0	0.2	1	5
Males					
No. of animals examined		10	10	10	10
Pituitary ^b	(mg)	9.60 ± 0.70	9.90 ± 0.70	10.10 ± 1.10	9.40 ± 0.70
	(mg%)	3.09 ± 0.24	3.14 ± 0.22	3.24 ± 0.27	3.48 ± 0.20**
Testes	(g)	3.02 ± 0.27	3.06 ± 0.14	3.09 ± 0.12	3.05 ± 0.20
	(g%)	0.978 ± 0.101	0.975 ± 0.055	0.990 ± 0.038	1.127 ± 0.081*
Epididymides	(g)	0.866 ± 0.057	0.874 ± 0.024	0.882 ± 0.034	0.861 ± 0.048
	(g%)	0.280 ± 0.024	0.279 ± 0.009	0.283 ± 0.012	0.318 ± 0.019*
Ventral prostate ^b	(g)	0.380 ± 0.094	0.310 ± 0.079	0.342 ± 0.066	0.223 ± 0.049**
	(g%)	0.123 ± 0.030	0.098 ± 0.025	0.111 ± 0.023	0.083 ± 0.018**
Dorsolateral prostate ^b	(g)	0.449 ± 0.053	0.370 ± 0.033**	0.408 ± 0.027	0.378 ± 0.046**
	(g%)	0.145 ± 0.018	0.118 ± 0.010**	0.131 ± 0.013	0.140 ± 0.018
Seminal vesicles ^b	(g)	1.09 ± 0.13	0.94 ± 0.09**	1.02 ± 0.07	0.91 ± 0.09**
	(g%)	0.350 ± 0.039	0.300 ± 0.022**	0.327 ± 0.031	0.338 ± 0.036
Females					
No. of animals examined		10	10	10	10
Pituitary ^b	(mg)	12.90 ± 1.50	12.40 ± 1.40	12.40 ± 1.20	10.10 ± 1.10**
	(mg%)	7.01 ± 0.59	6.83 ± 0.83	6.91 ± 0.65	6.31 ± 0.65
Ovaries	(mg)	52.6 ± 3.7	51.4 ± 6.4	48.2 ± 4.7	45.0 ± 3.1**
	(mg%)	28.7 ± 2.1	28.4 ± 3.3	26.9 ± 2.3	28.1 ± 2.5
Uterus	(g)	0.561 ± 0.143	0.504 ± 0.157	0.446 ± 0.118	0.352 ± 0.106**
	(g%)	0.304 ± 0.070	0.279 ± 0.088	0.250 ± 0.067	0.220 ± 0.065

^aMean±SD.

^bMeasured after fixation.

*, **: Significantly different from 0% group at $P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively (Dunnett's test or Dunnett type rank-sum test).

Table 6. Data of sperm analysis for male F344 rats fed diets containing gallic acid for 90 days.

	Gallic acid in the diet (%)			
	0	0.2	1	5
No. of animals examined	10	10	10	10
Sperm motility index (SMI)	321.6 ± 31.3 ^a	303.2 ± 27.2	318.4 ± 32.6	303.1 ± 48.7
Total sperm count (10 ⁶ /ml)	1838.6 ± 80.4	1883.9 ± 262.5	1696.4 ± 230.3	1763.0 ± 160.9
Sperm abnormality rate ^b				
Total (%)	0.36 ± 0.28	0.18 ± 0.18	0.28 ± 0.19	0.40 ± 0.31
Head (%)	0.14 ± 0.16	0.04 ± 0.08	0.10 ± 0.14	0.12 ± 0.21
Cervical (%)	0.04 ± 0.08	0.06 ± 0.13	0.14 ± 0.10	0.18 ± 0.20
Middle piece (%)	0.10 ± 0.17	0.06 ± 0.13	0.02 ± 0.06	0.04 ± 0.08
Tail (%)	0.08 ± 0.14	0.02 ± 0.06	0.02 ± 0.06	0.06 ± 0.10

^aMean±SD.^b(No. of abnormal sperms/500 sperms)X100

Table 7. Data of hormone assay for male and female F344 rats fed diets containing gallic acid for 90 days.

Doses	Dose (%)							
	0		0.2		1		5	
<u>Male rats</u>								
No. of rats examined	10		10		10		10	
T3	0.975	± 0.082 ^a	0.950	± 0.108	0.94	± 0.067	0.909	± 0.124
T4	3.01	± 0.53	2.71	± 0.25	2.92	± 0.20	2.07	± 0.21*
TSH	4.44	± 1.08	3.93	± 0.56	4.40	± 0.35	4.49	± 0.44
TST	1.04	± 1.12	1.06	± 0.79	1.09	± 0.98	0.91	± 0.84
<u>Female rats</u>								
No. of rats examined	6		4		9		6	
T3	0.975	± 0.086	0.995	± 0.088	0.946	± 0.070	0.857	± 0.071*
T4	2.10	± 0.41	2.30	± 0.41	1.940	± 0.610	1.73	± 0.22
TSH	4.37	± 0.65	3.85	± 0.34	4.14	± 0.67	5.42	± 1.82
E2	21.00	± 10.48	18.23	± 11.26	13.86	± 4.96	14.58	± 6.56

^aMean±SD.

*: Significantly different from 0% group at $P < 0.05$

Table 8. Histopathologic changes following dietary administration of gallic acid to male F344 rats for 90 days.

Organ/Findings	Sex	Male				Female				
		Dose (%)	0	0.2	1	5	0	0.2	1	5
Pituitary	Rathke's pouch		5	2	3	3	8	8	7	7
	Cyst in pars distalis		3	1	0	0	1	0	1	0
	Cyst-like structure in pars distalis		0	0	0	0	0	1	0	0
	Mononuclear cell infiltration, focal		0	0	0	0	0	0	1	0
Harderian gl.	Mononuclear cell infiltration, focal		0	0	0	1	3	0	0	6
Skeletal muscle	Single necrosis of muscle fiber		1	0	0	0	1	0	0	0
Heart	Focal necrosis		10	10	10	10	7	6	5	5
Lung	Subendothelial mineralization of the pulmonary arteries		10	8	10	8	3	7	7	8
	Focal inflammatory cell infiltration		4	3	6	3	3	1	3	0
	Macrophages accumulation		0	0	0	0	0	1	0	2
	Ossification in the pulmonary alveoli		2	0	1	0	2	1	0	0
Thymus	Squamous metaplasia of epithelial cells		0	0	0	1	2	0	0	1
Liver	Microgranuloma		9	10	10	10	9	6	9	8
	Focal necrosis		1	1	2	1	0	0	0	0
	Hepatocellular hypertrophy, centrilobular		0	0	2	8*	0	0	0	0
	Hepatocellular hypertrophy, eosinophilic, Peripheral		0	0	0	0	0	0	0	8*
Kidney	Fatty acid degeneration, focal		1	0	0	0	0	0	0	0
	Eosinophilic body, proximal tubular epithelium		10	10	10	10	0	0	0	0
	Hyaline droplet degeneration, proximal tubular epithelium		10	10	10	10	0	0	0	0
	Regenerative tubules		10	10	10	9	2	1	2	2
	Mineralization		6	5	6	8	7	9	8	9
	Pigment deposition, proximal tubular epithelium		0	0	0	10*	0	0	0	10*
	Mononuclear cell infiltration, focal		0	1	2	3	0	0	0	1
	Cast		1	1	1	1	0	0	0	2
Spleen	Brown pigment deposition		0	0	0	10*	0	0	0	10*
	Congestion		0	0	0	6*	0	0	0	6*
	Extramedullary hematopoiesis		0	0	0	10*	0	0	0	10*
Pancreas	Mononuclear cell infiltration, focal		4	0	0	2	1	0	0	2
	Focal atrophy		0	0	0	0	1	0	0	1
Glandular stomach	Dilatation of gastric gland		3	0	0	0	0	0	0	0
	Mononuclear cell infiltration, focal		1	0	0	0	0	0	0	0
Mesenteric L.N.	Microgranuloma		6	0	0	8	7	0	0	7
Thyroid	Ultimobranchial cyst		1	1	3	0	1	0	1	0
	Diffuse follicular cell hyperplasia, bilateral		0	0	0	6*	0	0	0	8*
Adrenal	Accessory adrenal gland		1	0	0	0	0	0	0	0
	Sinusoidal dilatation		2	2	2	1	1	1	0	1
	Mineralization		0	0	1	0	0	0	0	0
Urethra	Mononuclear cell infiltration, focal		0	0	0	0	0	0	0	1
Uterus	Mononuclear cell infiltration, focal						1	0	2	1
	Endometritis						0	0	1	1
Vagina	Squamous epithelial cyst						1	0	0	0
Testis	Atrophy of germinal epithelium within seminiferous tubules		2	1	1	2				
Epididymis	Cell debris in the epididymal duct		2	1	1	1				
	Decrease of sperm in the epididymal duct		1	0	0	0				
	Sperm granuloma		0	0	0	1				
Prostate	Decrease of secretory fluid, ventral lobe		0	1	1	2				
	Inflammation, dorsolateral lobe		3	4	1	2				
Seminal vesicle	Chronic inflammation		1	0	0	0				
Nasal cavity	Chronic inflammation of nasolacrimal duct		3	0	0	5	6	0	0	7
Mammary gland	Mononuclear cell infiltration, focal		0	0	0	0	0	3	0	0
	Lobular hyperplasia		0	0	0	0	0	0	1	0
Femur/marrow	Granuloma		0	0	0	0	2	0	0	0
Subcutis	Mononuclear cell infiltration, focal		0	0	0	0	1	0	0	1

Values are numbers of rats with lesions.

*: Significantly different from 0% group at P<0.05 (Fisher's exact probability test).

Table 9. Food consumption and intake of gallic acid by F344 rats fed diets containing the compound for 52 weeks.

Sex	Gallic acid in the diet (%)	No. of rats examined	Food consumption (g/rat/day)	Mean daily intake of gallic acid (g/kg BW/day) ^a	Total intake of gallic acid (g/kg BW) ^b
Males	0	20	14.7 (50.5) ^c	0	0
	0.2	20	14.2 (47.8)	0.10	35.5
	0.6	20	14.0 (48.2)	0.30	107.4
	1.8	20	14.3 (49.6)	0.89	325.0
Females	0	20	9.3 (53.8)	0	0
	0.2	20	9.4 (54.7)	0.11	39.8
	0.6	20	9.2 (53.9)	0.32	117.8
	1.8	20	9.2 (54.9)	0.99	359.9

^aValues were calculated by multiplying the food consumption (g/kg BW/day) by the dietary level of gallic acid (g/g diet).

^bValues are the sums of gallic acid administered during the experimental period and were calculated by multiplying the mean daily intake of gallic acid (mg/kg BW/day) by 52 (weeks).

^cValues in parentheses are for food consumption calculated as g/kg BW/day.

Abbreviation: BW, Body weight.

Table 10. Hematological data for F344 rats fed diets containing gallic acid for 52 weeks.

	Gallic acid in the diet (%)			
	0	0.2	0.6	1.8
Males				
No. of animals examined	20	19 ^b	20	20
RBC ($\times 10^4/\mu\text{l}$)	987.1 \pm 31.8 ^a	1002.2 \pm 67.0	983.7 \pm 57.8	967.7 \pm 53.1
Hb (g/dl)	16.6 \pm 0.7	16.8 \pm 1.2	16.5 \pm 0.8	15.9 \pm 1.0*
Ht (%)	52.3 \pm 1.7	53.2 \pm 3.5	52.3 \pm 2.9	50.7 \pm 2.9
MCV (fl)	53.0 \pm 0.5	53.1 \pm 0.3	53.2 \pm 0.4	52.4 \pm 0.6**
MCH (pg)	16.8 \pm 0.4	16.8 \pm 0.3	16.8 \pm 0.5	16.5 \pm 0.4*
MCHC (g/dl)	31.7 \pm 0.7	31.7 \pm 0.6	31.5 \pm 0.7	31.4 \pm 0.7
Plt ($\times 10^4/\mu\text{l}$)	68.2 \pm 8.2	73.1 \pm 6.3	68.9 \pm 5.9	71.5 \pm 3.9
WBC ($\times 10^2/\mu\text{l}$)	26.5 \pm 8.7	31.9 \pm 8.5	26.5 \pm 9.0	29.9 \pm 9.1
Differential leukocyte counts				
No. of animals examined	20	20	20	20
Band form neutrophils (%)	0.2 \pm 0.4	0.3 \pm 0.5	0.2 \pm 0.3	0.2 \pm 0.3
Segmented neutrophils (%)	40.2 \pm 8.9	43.2 \pm 8.0	39.6 \pm 8.1	40.9 \pm 6.6
Eosinophils (%)	1.5 \pm 1.0	1.3 \pm 0.9	1.5 \pm 1.0	1.2 \pm 0.9
Basophils (%)	0.0 \pm 0.0	0.1 \pm 0.2	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
Lymphocytes (%)	57.0 \pm 8.9	54.6 \pm 7.7	57.7 \pm 7.9	56.8 \pm 6.6
Monocytes (%)	1.2 \pm 0.6	0.7 \pm 0.5	1.1 \pm 0.7	0.9 \pm 0.8
Reticulocytes (/ 100 cells)	1.5 \pm 1.1	1.3 \pm 0.8	1.1 \pm 0.7	1.2 \pm 0.8
Females				
No. of animals examined	17 ^b	20	20	19 ^b
RBC ($\times 10^4/\mu\text{l}$)	827.6 \pm 52.2	831.3 \pm 46.6	839.7 \pm 42.2	806.0 \pm 33.5
Hb (g/dl)	15.3 \pm 0.7	15.2 \pm 0.9	15.3 \pm 0.7	14.5 \pm 0.5**
Ht (%)	47.6 \pm 2.3	47.5 \pm 2.7	48.2 \pm 2.4	45.7 \pm 1.8*
MCV (fl)	57.2 \pm 0.3	57.2 \pm 0.3	57.3 \pm 0.5	56.7 \pm 0.5*
MCH (pg)	18.4 \pm 0.5	18.3 \pm 0.5	18.2 \pm 0.5	18.0 \pm 0.4
MCHC (g/dl)	32.2 \pm 0.7	32.1 \pm 0.8	31.8 \pm 0.8	31.8 \pm 0.7
Plt ($\times 10^4/\mu\text{l}$)	58.7 \pm 3.5	61.8 \pm 4.0	61.3 \pm 4.5	62.1 \pm 5.0
WBC ($\times 10^2/\mu\text{l}$)	18.5 \pm 3.3	19.5 \pm 5.1	18.7 \pm 4.9	16.7 \pm 3.9
Differential leukocyte counts				
No. of animals examined	18 ^b	20	20	19 ^b
Band form neutrophils (%)	0.1 \pm 0.4	0.2 \pm 0.4	0.2 \pm 0.3	0.2 \pm 0.3
Segmented neutrophils (%)	28.4 \pm 10.4	29.2 \pm 7.1	29.7 \pm 6.3	27.7 \pm 6.8
Eosinophils (%)	1.3 \pm 0.9	1.9 \pm 1.1	1.2 \pm 0.9	1.7 \pm 1.2
Basophils (%)	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
Lymphocytes (%)	69.4 \pm 10.1	64.7 \pm 15.1	68.2 \pm 6.5	69.7 \pm 6.3
Monocytes (%)	0.8 \pm 0.7	0.6 \pm 0.8	0.8 \pm 0.7	0.7 \pm 0.8
Reticulocytes (/ 100 cells)	3.1 \pm 1.8	3.4 \pm 2.5	3.8 \pm 1.9	2.5 \pm 1.4

^aMean \pm SD.

^bNumbers are excluded animals of which blood samples were insufficiently collected.

Abbreviations: RBC, red blood cell; Hb, hemoglobin; Ht, hematocrit; MCV, mean corpuscular volume; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; Plt, platelet; WBC, white blood cell.

*, **: Significantly different from 0% group at $P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively (Dunnett's test or Dunnett type rank-sum test).

Table 11. Serum biochemical data for F344 rats fed diets containing gallic acid for 52weeks.

	Gallic acid in the diet (%)			
	0	0.2	0.6	1.8
Males				
No. of animals examined	20	20	20	20
TP (g/dL)	7.2 ± 0.2 ^a	7.2 ± 0.5	7.1 ± 0.2	7.3 ± 0.2
A/G	1.6 ± 0.1	1.6 ± 0.1	1.6 ± 0.1	1.5 ± 0.1
Alb (g/dL)	4.4 ± 0.1	4.4 ± 0.3	4.4 ± 0.1	4.4 ± 0.1
Total Bil (mg/dL)	0.077 ± 0.009	0.084 ± 0.017	0.076 ± 0.009	0.085 ± 0.013
Direct Bil (mg/dL)	0.056 ± 0.007	0.059 ± 0.013	0.055 ± 0.009	0.064 ± 0.010*
Indirect Bil (mg/dL)	0.021 ± 0.006	0.025 ± 0.008	0.021 ± 0.010	0.021 ± 0.007
Glucose (mg/dL)	160.1 ± 15.5	160.1 ± 14.6	151.3 ± 10.3	164.0 ± 17.2
TG (mg/dL)	113.0 ± 45.7	99.3 ± 29.3	92.9 ± 33.7	103.7 ± 36.5
TC (mg/dL)	107.4 ± 9.3	110.2 ± 11.8	105.5 ± 10.6	120.7 ± 14.9**
BUN (mg/dL)	18.4 ± 1.5	18.2 ± 2.1	17.9 ± 1.4	18.1 ± 1.2
CRN (mg/dL)	0.29 ± 0.03	0.29 ± 0.04	0.29 ± 0.02	0.26 ± 0.02**
Na (mEQ/L)	144.6 ± 1.0	146.8 ± 8.2	144.6 ± 1.4	145.1 ± 1.1
Cl (mEQ/L)	103.7 ± 1.2	106.0 ± 6.8	104.2 ± 1.4	103.9 ± 1.0
K (mEQ/L)	4.6 ± 0.2	4.7 ± 0.3	4.6 ± 0.2	4.8 ± 0.3
Ca (mg/dL)	10.8 ± 0.2	10.9 ± 0.8	10.7 ± 0.2	10.8 ± 0.2
IP (mg/dL)	5.2 ± 0.3	5.1 ± 0.5	5.0 ± 0.4	5.0 ± 0.5
AST (IU/L)	116.9 ± 23.6	111.1 ± 19.9	118.9 ± 26.4	144.9 ± 32.2**
ALT (IU/L)	72.0 ± 15.8	72.0 ± 11.8	64.1 ± 9.7	88.2 ± 12.6**
ALP (IU/L)	494.3 ± 61.9	505.8 ± 86.6	473.1 ± 44.4	528.5 ± 82.2
γ-GTP (IU/L)	3.0 ± 1.1 ^c	3.3 ± 2.0 ^c	3.3 ± 1.6 ^c	8.5 ± 5.5**
Females				
No. of animals examined	18 ^b	20	20	19 ^b
TP (g/dL)	7.6 ± 0.5	7.7 ± 0.4	7.4 ± 0.5	7.5 ± 0.3
A/G	1.9 ± 0.1	1.9 ± 0.1	1.9 ± 0.2	1.8 ± 0.1
Alb (g/dL)	4.9 ± 0.3	5.0 ± 0.3	4.9 ± 0.3	4.9 ± 0.2
Total Bil (mg/dL)	0.087 ± 0.017	0.098 ± 0.026	0.084 ± 0.010	0.088 ± 0.009
Conjugated Bil (mg/dL)	0.066 ± 0.015	0.073 ± 0.020	0.064 ± 0.007	0.067 ± 0.009
Free Bil (mg/dL)	0.021 ± 0.011	0.025 ± 0.013	0.021 ± 0.007	0.021 ± 0.007
Glucose (mg/dL)	140.2 ± 13.6	127.8 ± 16.4	130.7 ± 20.0	138.9 ± 14.6
TG (mg/dL)	108.3 ± 65.0	93.1 ± 53.4	65.9 ± 40.1	76.6 ± 49.4
TC (mg/dL)	131.5 ± 11.2	133.2 ± 10.9	130.5 ± 9.5	132.4 ± 11.1
BUN (mg/dL)	17.6 ± 2.6	18.4 ± 2.1	17.2 ± 1.2	17.8 ± 1.8
CRN (mg/dL)	0.31 ± 0.03	0.30 ± 0.02	0.30 ± 0.02	0.28 ± 0.02**
Na (mEQ/L)	143.5 ± 0.9	143.9 ± 1.5	143.9 ± 1.0	144.2 ± 1.4
Cl (mEQ/L)	103.7 ± 1.1	103.5 ± 1.4	103.7 ± 1.5	104.2 ± 1.3
K (mEQ/L)	3.9 ± 0.3	4.0 ± 0.4	3.9 ± 0.3	3.8 ± 0.2
Ca (mg/dL)	10.7 ± 0.3	10.7 ± 0.3	10.5 ± 0.3	10.4 ± 0.4*
IP (mg/dL)	3.8 ± 0.7	4.2 ± 1.1	4.1 ± 0.6	3.9 ± 0.8
AST (IU/L)	77.0 ± 11.3	81.4 ± 12.1	79.6 ± 13.6	84.6 ± 21.2
ALT (IU/L)	34.4 ± 4.0	34.5 ± 3.5	33.3 ± 4.3	34.0 ± 4.7
ALP (IU/L)	197.2 ± 23.3	200.0 ± 31.1	201.5 ± 45.0	185.4 ± 23.2
γ-GTP (IU/L)	<2	<2	<2	2.3 ± 0.6 ^c

^a Mean ± SD. ^b Numbers are excluded animals of which blood samples were insufficiently collected.

^c The mean value was calculated by counting the value below detection limit as 2.0. The number of animals which showed the value below detection limit were 8 in 0%, 9 in 0.2%, 8 in 0.6% group in male and 15 in 1.8% group in female.

Abbreviations: TP, total protein; A/G, albumin: globulin ratio; Alb, albumin; Bil, bilirubin; TG, triglyceride; TC, total cholesterol; BUN, blood urea nitrogen; CRN, creatinine; Na, sodium; Cl, chloride; K, potassium; Ca, calcium; IP, inorganic phosphate; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; ALP, alkaline phosphatase; γ-GTP, gamma glutamyl transpeptidase.

*, **: Significantly different from 0% group at P<0.05 and P<0.01, respectively (Dunnnett's test or Dunnnett type rank-sum test).

Table 12. Final body and organ weights for F344 rats fed diets containing gallic acid for 52 weeks.

		Gallic acid in the diet (%)			
		0	0.2	0.6	1.8
Males					
No. of animals examined		20	20	20	20
BW	(g)	408.6 ± 17.7	412.2 ± 20.3	396.8 ± 18.0	402.9 ± 19.4
Brain	(g)	2.08 ± 0.04	2.08 ± 0.04	2.07 ± 0.05	2.09 ± 0.05
	(g%)	0.51 ± 0.01	0.51 ± 0.03	0.52 ± 0.03	0.52 ± 0.03
Lungs	(g)	1.12 ± 0.06	1.12 ± 0.05	1.10 ± 0.06	1.13 ± 0.04
	(g%)	0.27 ± 0.01	0.27 ± 0.01	0.28 ± 0.01	0.28 ± 0.02
Heart	(g)	1.05 ± 0.06	1.04 ± 0.06	1.03 ± 0.03	1.05 ± 0.05
	(g%)	0.26 ± 0.01	0.25 ± 0.01	0.26 ± 0.01	0.26 ± 0.01
Spleen	(g)	0.71 ± 0.04	0.72 ± 0.04	0.69 ± 0.04	0.73 ± 0.05
	(g%)	0.17 ± 0.01	0.18 ± 0.01	0.18 ± 0.01	0.18 ± 0.01
Liver	(g)	9.21 ± 0.62	9.28 ± 0.70	8.79 ± 0.55	10.05 ± 0.84**
	(g%)	2.25 ± 0.10	2.25 ± 0.13	2.22 ± 0.10	2.49 ± 0.13**
Adrenals	(mg)	38.4 ± 4.2	38.6 ± 4.4	38.4 ± 5.5	45.9 ± 32.7
	(mg%)	9.38 ± 0.87	9.36 ± 1.05	9.68 ± 1.42	11.42 ± 8.17
Kidneys	(g)	2.20 ± 0.12	2.21 ± 0.09	2.11 ± 0.09*	2.23 ± 0.11
	(g%)	0.54 ± 0.02	0.54 ± 0.01	0.53 ± 0.02	0.55 ± 0.03
Testes	(g)	3.46 ± 0.23	3.38 ± 0.37	3.39 ± 0.19	3.55 ± 0.08
	(g%)	0.85 ± 0.06	0.82 ± 0.09	0.86 ± 0.04	0.88 ± 0.04
Epididymides	(g)	0.92 ± 0.06	0.91 ± 0.07	0.90 ± 0.07 ^b	0.94 ± 0.03
	(g%)	0.23 ± 0.02	0.22 ± 0.02	0.23 ± 0.02 ^b	0.23 ± 0.01
Females					
No. of animals examined		19	20	20	20
BW	(g)	217.9 ± 16.5	213.2 ± 11.2	211.7 ± 9.6	202.4 ± 13.6**
Brain	(g)	1.88 ± 0.05	1.90 ± 0.06	1.87 ± 0.05	1.88 ± 0.04
	(g%)	0.87 ± 0.07	0.89 ± 0.04	0.89 ± 0.05	0.93 ± 0.06**
Lungs	(g)	0.80 ± 0.08	0.79 ± 0.07	0.78 ± 0.05	0.76 ± 0.03
	(g%)	0.37 ± 0.04	0.37 ± 0.03	0.37 ± 0.03	0.37 ± 0.03
Heart	(g)	0.69 ± 0.04	0.69 ± 0.05	0.67 ± 0.04	0.67 ± 0.04
	(g%)	0.32 ± 0.02	0.32 ± 0.02	0.32 ± 0.02	0.33 ± 0.02
Spleen	(g)	0.45 ± 0.03	0.47 ± 0.04	0.45 ± 0.03	0.45 ± 0.03
	(g%)	0.21 ± 0.02	0.22 ± 0.02	0.21 ± 0.02	0.22 ± 0.02*
Liver	(g)	4.82 ± 0.26	4.75 ± 0.35	4.61 ± 0.38	4.73 ± 0.31
	(g%)	2.22 ± 0.14	2.23 ± 0.16	2.18 ± 0.18	2.34 ± 0.19
Adrenals	(mg)	47.4 ± 8.3	45.8 ± 6.1	45.1 ± 6.1	42.1 ± 5.2
	(mg%)	21.72 ± 3.25	21.46 ± 2.48	21.36 ± 3.17	20.90 ± 2.97
Kidneys	(g)	1.35 ± 0.08	1.37 ± 0.09	1.32 ± 0.07	1.31 ± 0.07
	(g%)	0.62 ± 0.04	0.64 ± 0.04	0.62 ± 0.05	0.65 ± 0.05
Ovaries	(mg)	50.4 ± 13.4	45.5 ± 9.0	46.0 ± 6.1	47.1 ± 6.4
	(mg%)	23.0 ± 5.6	21.3 ± 4.1	21.8 ± 3.3	23.3 ± 3.5
Uterus	(g)	0.91 ± 0.18	0.93 ± 0.21	1.04 ± 0.26	0.94 ± 0.16
	(g%)	0.42 ± 0.07	0.44 ± 0.10	0.49 ± 0.13	0.47 ± 0.08

^aMean±SD.

^bn=19

Abbreviation: BW, Body weight.

*, **: Significantly different from 0% group at $P<0.05$ and $P<0.01$, respectively (Dunnett's test or Dunnett type rank-sum test).

Table 12. Macroscopical changes following dietary administration of gallic acid to male F344 rats for 52 weeks

Organ/Findings		Sex		Male				Female			
		Dose (%)		0	0.2	0.6	1.8	0	0.2	0.6	1.8
No. of animals examined				20	20	20	20	19	20	20	20
Liver	Hernia			1	4	2	2	6	3	2	2
Testis	Atrophy/soft, unilaterally			1	4	3	0	0	0	0	0
Skin	Mass, Ear			0	1	0	0	0	0	0	0
Lung	Hemorrhage, patchy			0	0	0	1	0	0	0	0
Pituitary	Dark red area			0	0	0	1	1	1	1	3
Lymph node	Dark red (mesenteric)			0	0	0	1	0	0	0	0
Adrenal	Enlargement, unilaterally			0	0	0	1	0	0	0	0
Ovary	Cyst, unilaterally							1	1	0	0
Abdominal cavity	Yellow mass			0	0	0	0	0	1	2	0
Uterus	Thinning, unilaterally							1	0	0	0
	Cystic/hydrometra, unilaterally							0	0	1	1
Stomach	Thickening of wall			0	0	0	0	0	0	1	0

Values are numbers of rats with lesions.

Table 13. Histopathological changes following dietary administration of gallic acid to male F344 rats for 52 weeks

Organ/Findings	Dose (%)	Male				Female			
		0	0.2	0.6	1.8	0	0.2	0.6	1.8
	Number of rats examined	20	20	20	20	20	20	20	20
<i>Non-neoplastic lesions</i>									
Pituitary	Rathke's pouch remnant	1	-	-	2	0	-	-	1
	Dilatation, sinusoid	0	-	-	0	0	-	-	1
Thyroid	Ultimobranchial cyst, unilateral	1	0	0	0	1	0	0	0
	C-cell hyperplasia, focal	2	0	1	0	0	0	0	0
Thymus	Hyperplasia, epithelial thymocyte	2	0	0	0	1	0	0	0
Heart	Inflammation/fibrosis, myocardium, focal	8	7	3	3	1	1	2	0
Lung	Focal hyperplasia, alveolar epithelium	0	0	0	0	0	0	1	0
Liver	Bile duct proliferation	14	7	8	10	0	1	2	0
	Cholangio-fibrosis, extrahepatic	1	0	0	0	0	0	0	0
	Necrosis, hepatocyte, focal	0	2	0	0	1	0	0	1
	Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular	0	0	0	11*	0	0	0	0
	Hypertrophy, hepatocyte, peripheral	0	0	0	0	0	0	0	7*
	Fatty change, hepatocyte, peripheral/diffuse	0	0	0	2	0	0	0	0
	Altered foci, basophilic	0	0	0	0	6	4	2	4
Kidney	Dilatation, pelvis, unilateral	0	0	0	0	1	0	0	0
Spleen	Brown pigment deposition	2	0	0	0	4	5	3	4
	Fibrosis, focal	1	0	0	0	0	0	0	0
Pancreas	Acinar cell atrophy, focal	7	-	-	3	0	-	-	1
Skeletal muscle	Degeneration with lymphoid cell aggregation, focal	1	-	-	0	0	-	-	0
Tongue	Chronic inflammation, focal	0	-	-	0	1	-	-	0
Mesenteric LN	Granulation tissue/microgranuloma	3	-	-	1	0	-	-	0
	Proliferation, lymphoid cell	5	-	-	1	2	-	-	0
Stomach	Dilatation, fungic gland	2	-	-	2	5	-	-	0
Ovary	Atrophy					3	8	5	2
	Proliferation, interstitial cell					1	0	0	0
	Prominent, corpus luteum, Cyst					1	0	0	2
	Paraovarian cyst, unilateral					1	0	0	0
	Atypical hyperplasia, focal, luminal epithelium, unilateral					1	0	0	0
Uterus	Dilatation of lumen, bilateral					0	0	0	1
	Inflammation					1	0	1	1
	Hypoplasia, unilateral					0	1	0	1
	Atrophy					2	0	0	0
Vagina	Mucification					0	0	0	4
	Cornification					0	0	0	1

Table 13. Histopathological changes following dietary administration of gallic acid to male F344 rats for 52 weeks. (Continued)

Organ/Findings	Dose (%)	Male				Female			
		0	0.2	0.6	1.8	0	0.2	0.6	1.8
	Number of rats examined	20	20	20	20	20	20	20	20
- Continued									
Prostate	Aggregation, lymphoid cell	8	8	5	3				
	Granulomatous inflammation	0	0	0	1				
Epididymis	Atrophy, unilateral	1	0	0	0				
	Sperm granuloma, unilateral	0	1	0	0				
	Sperm granuloma, unilateral	0	0	1	0				
	Decrease, sperm, unilateral	0	1	2	0				
	Decrease, sperm, unilateral	0	1	0	0				
Testis	Leydig cell hyperplasia, focal, unilateral	8	6	5	6				
	Leydig cell hyperplasia, focal, bilateral	3	1	0	8				
	Tubular atrophy, focal, unilateral	1	2	3	3				
	Tubular atrophy, diffuse, unilateral	1	4	2	0				
	Dilatation, rete testis, unilateral	2	0	0	0				
Mammary gland	Hyperplasia, acinar cell	1	1	0	0	0	1	0	0
	Atrophy, acinar cell	0	0	0	3				
	Atrophy, acinar cell	0	0	0	0	11	5	6	7
Bone	Granuloma	0	-	-	0	5	-	-	8
Naval cavity	Intracytoplasmic eosinophilic body	7	-	-	11	17	-	-	15
Abdominal cavity	Fatty necrosis	0	-	-	0	0	-	-	2
Harderian gland	Chronic inflammation	0	-	-	0	1	-	-	0
<u>Noeplastic lesions</u>									
Pituitary	Adenoma	0	-	-	1	0	-	-	0
Thyroid	C-cell adenoma, unilateral	0	0	1	0	0	0	0	0
Lung	Adenoma	0	0	0	1	0	0	0	0
Mammary gland	Fibroadenoma	0	0	0	0	1	0	0	0
Ear	Neural crest tumor	0	1	0	0	0	0	0	0
Adrenal	Pheochromocytoma, malignant, unilateral	0	0	0	1	0	0	0	0
Uterus	Endometrial stromal polyp, unilateral					1	1	1	1
Urethra	Papilloma, transtital cell	0	0	1	0	0	0	0	0
Skin	Basal cell carcinoma, metastatic	0	0	0	0	1	0	0	0

Values are numbers of rats with lesions.

*: Significantly different from 0% group at $P < 0.05$ (Fisher's exact probability test).