

《 会 員 寄 稿 》

ビーグル犬を用いた安全性試験から得られる定量データの取扱い

第二報：バートレットの等分散検定による有意差検出率

小林克己・北島省吾
財団法人 食品農医薬品安全性評価センター

要 約

ゲッ歯類およびイヌを用いた安全性試験から得られる定量データの統計処理法はt-検定に代わって多重比較検定が増加しつつある。イヌを用いた安全性試験の場合、供試動物数が極めて小さくまた不等分散を示した場合有意差が出にくいことが指摘されている。この理由を解明する一環として、バートレットの等分散検定による有意差検出割合を調査した結果、イヌの試験での有意差検出割合はゲッ歯類の試験に比べて1/2 から1/4 と低かった。この理由はバートレットの等分散検定が群内頭数の大きさによって有意差検出力が大きく変化することが判明した。

1. はじめに

イヌを用いた安全性試験の特徴は、ゲッ歯類のそれに比べて使用頭数が1群3~6頭と極めて少ないこと、また同一個体から経時的に血液・尿等の採取が可能であることである。これらのイヌ試験から得られる定量データの統計手法については小林ら [1] によって前会報に発表した。日本では、イヌを含めた安全性試験に用いる統計手法は大別してt-検定系および順位検定と分散分析を含めた決定樹方式に分かれる。これら二つの手法の使用割合は国内の文献および当センターに共通してt-検定系が多い。一般的に順位検定は検出力が弱いと言われている [2]。しかし、この順位検定 [3] を含めた決定樹方式をイヌ試験に応用している場合が散見される。この理由の一つに医薬品では、当局からの指

導”ゲッ歯類と同一の統計手法で吟味しなければ公平に薬剤の影響が評価できない”が揚げられる。我々は前述の決定樹を用いてイヌ試験を実施した場合、ゲッ歯類に比べてバートレットの等分散検定による有意差検出(全群間の分散の一様性がない/不等分散)が少ないように思う。この第二報では、この理由を明確にするためイヌを用いた試験ではどのくらいの割合でバートレットの等分散検定で有意を示しノンパラメトリックの順位検定に移行するのか標準的なイヌの3試験を抽出しゲッ歯類を用いた安全性試験と比較検討し、併せて仮想データを用いて供試動物数と有意差検出率の関係について吟味した。

2. 材料および方法

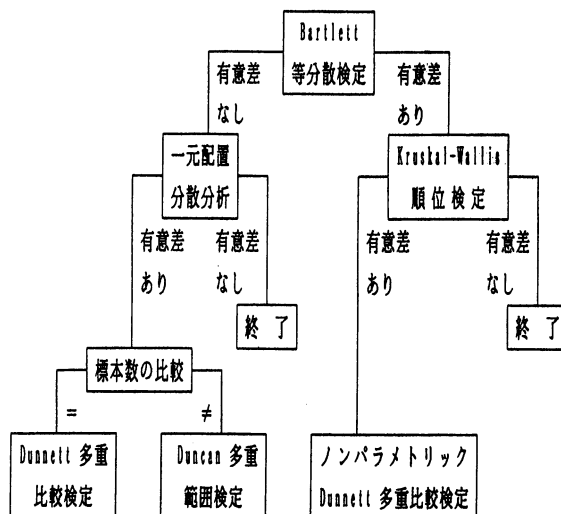


図1 多重比較(範囲)検定の決定樹

Bartlett's is based on the calculation of the corrected χ^2 (chi square) value by the formula:

$$\chi^2_{\text{corr}} = 2.3026 \frac{\sum df \left(\log_{10} \left[\frac{\sum [df(S^2)]}{\sum df} \right] \right) - \sum [df(\log_{10} S^2)]}{1 + \frac{1}{3(K-1)} \left[\sum \frac{1}{df} - \frac{1}{\sum df} \right]}$$

$$\text{where } S^2 = \text{variance} = \frac{N \sum X^2 - (\sum X)^2}{N-1}$$

X = individual datum within each group.
 N = number of data within each group.
 K = number of groups being compared.
 df = degrees of freedom for each group = $(N - 1)$.

図2 Bartlett の等分散検定の計算式

以下に示した1) から8) のデータに対して図1の決定樹(ユクムスク社製, 東京)を用いて各試験の全調査項目についてバートレットの等分散検定(図2) [4] で有意差を示す割合について調査した. 調査対象データは体重, 飼料摂取量, 飲水量等の飼育管理データ, 臨床検査値および臓器重量値等を用いた. 8) については総コレステロール値について吟味した.

- 1) イヌを用いた 52 週間の慢性毒性試験 1 試験
 - 2) イヌを用いた 13 週間の亜急性毒性試験 2 試験
 - 3) ラットを用いた 13 週間の亜急性毒性試験 7 試験
 - 4) マウスを用いた 13 週間の亜急性毒性試験 7 試験
 - 5) ラットを用いた 104 週間の慢性毒性・癌原性併合試験 3 試験
 - 6) ラットを用いた 104 週間の癌原性試験 2 試験
 - 7) マウスを用いた 104 週間の癌原性試験 5 試験
- 3) ~ 7) は比較対照試験.
- 8) イヌを 1 群 4 頭, 計 4 群を用いた安全性試験から得られた総コレステロール値および同一分散を示す仮想値.

3. 結果および考察

バートレットの等分散検定による有意差検出割合: イヌを用いた安全性試験から得られた定量データにおいてバートレットの等分散検定で有意差を示す割合を表1に示した. 試験例1の52週間の試験では, 総検定数850中不等分散によって有意差を示したものは67でその割合は8%であった. 試験例2の13週間の試験では, 総検定数606中不等分散によって有意差を示したものは51でその割合は8%であった. 試験例3の13週間の試験では, 総検定数588中不等分散によって有意差を示したものは46でその割合は8%であった. いずれのイヌを用いた安全性試験から得られた定量データについてもバートレットの等分散検定で有意差を示す割合は8%であった. これらの検出割合に対してゲッ歯類を用いた14の亜急性毒性試験および10の2年間の慢性毒性/癌原性試験から得られた定量データについてはバートレットの等分散検定で有意差を示す割合は16~35%でイヌの試験の検出割合に対して2~4倍と高かった(表2).

イヌの試験においてバートレットの等分散検定での有意差検出率が低い理由: 図1に示したバートレットの等分散検定による統計処理法は日本で常用されている. 吉村ら [5]によるとバートレットの等分散検定は1群が10頭以上であれば十分であると説明している. そこでイヌを用いた安全性試験から得られた総コレステロール値(9カ月令, 4頭/群)を用いて, これを基礎数値としてほぼ同様な分散を設定し1群10頭(ゲッ歯類を用いた3カ月間または亜慢性試験の体重値, 飼料摂取量値, 血液生化学的検査値および器官重量値等に常用される頭数)の場合と1群30頭(ゲッ歯類を用いた慢性試験/癌原性試験の体重値, 飼料摂取量値, 血液学的検査値および器官重量値等に常用される頭数)の場合の仮想データを用い, バートレットの等分散検定を用いて各々有意差検定を実施した. これらの結果は表3に示した. 1群4頭の場合は実質水準が24% (有意差なし, $p > 5\%$), 1群10頭の場合は実質水準が0.4% (有意差あり, $p < 1\%$) および1群30頭の場合は実

質水準が0.000% (有意差あり, $p < 0.1\%$) を各々示した. 以上のことからパートレットの等分散検定では1群の頭数が4頭と小さいと有意差検出力は極めて弱く, 頭数が増加するに従って, 有意差検出力は高くなることが分かった.

文 献

- [1] 小林克己・大橋信之・大川原一弘・井上博之 (1994): ビークル犬を用いた安全性試験から得られる定量データの取扱い第一報: 血液生化学的検査値の統計処理法の検索, 静岡実験動物研究会会報, 21, No 2, 27-30.
- [2] 小林克己 (1994): 薬剤Aの毒性試験における統計解析について, 第58回医薬安全性研究会定例会資料, 総評会館/東京, 1994. 4. 16.
- [3] 佐久間昭 (1981): 薬効評価II, p.23~27, 東京大学出版会, 東京.
- [4] Gad Shayne and Weil S. Carrol (1986): Statistics and Experimental Design for Toxicologists, p.43, The Telford Press, U.S.A.
- [5] 吉村功編著 (1987): 毒性・薬効データの統計解析, p.45. サイエンティスト社, 東京.

表1 イヌを用いた安全性試験から得られた定量データにおいてパートレットの等分散検定で有意差を示す割合

測 定 値	試験例 1	試験例 2	試験例 3
	(For 52 weeks)	(For 13 weeks)	(For 13 weeks)
体 重	2 / 108	0 / 30	0 / 34
飼 料 摂 取 量	2 / 106	2 / 18	1 / 32
飲 水 量	2 / 30	2 / 10	0 / 6
血 液 学 的 検 査	10 / 84	2 / 88	5 / 110
凝 固 検 査	6 / 24	0 / 16	10 / 30
生 化 学 的 検 査	24 / 252	16 / 176	18 / 170
血 清 電 気 泳 動 検 査	2 / 72	1 / 96	3 / 60
尿 検 査	9 / 72	17 / 48	2 / 48
I C G 検 査	-	-	1 / 4
P S P 検 査	0 / 6	0 / 4	0 / 4
心 電 図 検 査	4 / 16	5 / 40	0 / 10
臓 器 重 量 測 定	3 / 40	2 / 40	3 / 40
臓 器 重 量 体 重 比 測 定	3 / 40	4 / 40	3 / 40
計	67 / 850 (8%)	51 / 606 (8%)	46 / 588 (8%)

パートレットの等分散検定によって有意差 ($p < 0.05$) を示した数/総検定数, カッコ内は率を表す.

表2 ゲツ歯類を用いた安全性試験から得られた定量データの内バートレットの等分散検定によって有意差を示す割合

動物種	試験数	体重	飼料摂取量	飼料効率	血液学的検査	生化学的検査	尿検査	臓器重量	臓器重量体重比	合計
<i>13週間の亜慢性毒性試験</i>										
ラット (♂+♀)	7	6/196*	20/182	25/182	41/136	74/202	3/20	12/104	17/104	198/1126
		(3%)	(11%)	(14%)	(30%)	(37%)	(15%)	(12%)	(16%)	(18%)
マウス (♂+♀)	7	16/196	12/182	33/182	20/ 82	19/ 54	--	12/104	17/104	129/ 904
		(8%)	(7%)	(18%)	(24%)	(35%)	(-)	(12%)	(16%)	(14%)
合計	14	22/392	29/364	58/364	61/218	93/256		24/208	29/208	327/2030
		(6%)	(8%)	(16%)	(28%)	(36%)		(12%)	(16%)	(16%)
<i>104週間の慢性毒性/癌原性併合試験または癌原性試験</i>										
ラット (♂+♀)	5	204/660	375/1020	155/390	120/304	187/440	14/80	58/192	85/192	1198/3278
		(31%)	(37%)	(39%)	(39%)	(43%)	(18%)	(30%)	(44%)	(37%)
マウス (♂+♀)	5	331/660	161/1020	150/390	137/280	--	--	58/138	65/138	882/2626
		(47%)	(16%)	(38%)	(49%)	(-)	(-)	(42%)	(47%)	(34%)
合計	10	515/1320	536/2040	305/780	257/584			116/330	150/330	2089/5904
		(39%)	(26%)	(39%)	(44%)			(35%)	(45%)	(35%)

*バートレットの等分散検定によって有意差(p<0.05)を示した数/総検定数、カッコ内は率を表す。

表3 同一分散で各群の標本数が異なる場合のバートレットの等分散検定による有意差検出の変化

	イヌ (9カ月令) の総コレステロール値, mg/dl										平均値±S. D.	
対 照 群	213	185	177	96							分散: 2574	168±51
低用量群	108	153	124	95							分散: 624	120±25
中用量群	113	125	142	112							分散: 194	123±14
高用量群	200	116	139	119							分散: 1523	144±39
標本数: 4, 実質水準: 24.778%												
対 照 群	213	185	177	96	213	185	177	96	213	96	分散: 2476	165±50
低用量群	108	153	124	95	108	153	124	95	153	95	分散: 606	121±25
中用量群	113	125	142	112	113	125	142	112	142	112	分散: 183	124±14
高用量群	200	116	139	119	200	116	139	119	200	116	分散: 1445	146±38
標本数: 10, 実質水準: 0.356%												
対 照 群	213	185	177	96	213	185	177	96	213	96	213	
	185	177	96	213	185	177	96	213	96	228	200	
	192	111	198	170	162	81	213	96			分散: 2367	165±49
低用量群	108	153	124	95	108	153	124	95	153	95	108	
	153	124	95	108	153	124	95	183	95	123	168	
	139	110	93	168	139	80	153	95			分散: 788	124±28
中用量群	113	125	142	112	113	125	142	112	142	112	113	
	125	142	112	113	125	142	112	142	112	128	140	
	157	127	98	110	127	97	142	112			分散: 232	124±15
高用量群	200	116	139	119	200	116	139	119	200	116	200	
	116	139	119	200	116	139	119	200	116	215	131	
	154	134	185	101	124	104	200	116			分散: 1407	146±38
標本数: 30, 実質水準: 0.000%												

《 調査報告 》

米国NTP 癌原性試験に於ける混餌および強制経口投与による生存率、
事故率と最終体重の比較調査

小林 克己
財団法人 食品農医薬品安全性評価センター

〔 目 的 〕

〔調査項目および方法〕

我が国の農薬および医薬の発がん（癌原性）試験はラット・マウスを用いて通常104週間被験物質を投与し、発癌性の有無を評価している。各ガイドライン [1, 2] には投薬方法が明記されていないが、農薬の発がん性試験は一般的に混餌によって被験物質を投与している。しかし、医薬の経口投与の場合は、混餌と強制投与どちらの投薬法で試験を実施するかは試験責任者の経験、最終評価の有効性や被験物質の性状等によって決定される。我が国に於いては、血中移行性試験も同時に実施したいことや実際の使用場面を考えてゾンデによる強制経口投与を指示する試験責任者が少なくない。一般的にこれらどちらの投薬方法が発癌試験に最適であるかは成書以外に定説がない。一成書の坂口・鍵山(1984) [3] によると、カテーテルを用いて強制投与する場合、ラット、マウスでは6カ月程度、ウサギ、イヌでは3カ月程度は問題なく投与できるが、それ以上の器官に及ぶと懸壜垂が次第に麻痺するため、気道への誤入が多くなる。それゆえ、これ以上の期間投与する場合には、ラット・マウスでは飼料に混入して投与する方法が一般に用いられていると述べている。強制経口投与は混餌投与に比べて誤投与による事故が多いこと、また溶媒による影響等が考えられる。今回、米国NIH (National Institutes of Health) で集計された既存化学物質の2年間の発癌性試験から混餌と強制経口投与に分け、それぞれラットとマウスに対する生存率、事故率および最終体重を調査し、両者の差を比較検討した。

調査したNTP (National Toxicology Program) は米国NIHが国内で実施した既存化学物質に対する *in vitro* 試験から始まり4週間、13週間に次いで発癌性試験を含めた一連の試験を定型の表に集積し全世界へ公表している報告書である。当センターに蔵書されている1993~1988年に発行されたNTP報告書48報に掲載された2年間の発癌性試験の内、混餌(Feed studies)と強制経口投与(Gavage studies)を対象にF344ラットおよびB6C3F₁マウスに分け各試験結果から対照群の生存率、全群の事故率および対照群の最終体重等を調査した。同時に強制経口投与試験では溶媒名も併せて調査した。調査試験数は下表に示した。生存率および最終体重は、ラット・マウスに分類し混餌と強制経口投与の差をt検定(両側検定)で事故率はカイ自乗検定で吟味した。使用統計ソフトはMuscot統計解析 [(株)YDK, 東京]。なお、今回調査した期間内に吸入毒性試験 (Inhalation studies) と飲水投与試験 (Drinking water studies) が各々2報掲載されていた。

動物	調査試験数	
	混 餌	強 制
ラット	23	20
マウス	23	15

〔調査結果〕

各投与経路毎にラット・マウスに分け各試験毎に生存率、事故率、最終体重および使用溶媒等を付表 (Appendix) 1に、それらの要約を表1に各々示した。

表1. ラット・マウスに対する混餌および強制経口投与による生存率, 事故率および最終体重の比較調査結果

	F344 ラット				B6C3F1 マウス			
	混餌投与 23 試験		強制経口投与 20 試験		混餌投与 23 試験		強制経口投与 15 試験	
平均生存率, % (a)	♂	52±8 (26/50)	63±12*** (32/50)	71±12 (35/50)	66±11 (33/50)			
	♀	62±8 (31/50)	62±9 (31/50)	72±13 (36/50)	68±11 (34/50)			
	♂+♀	57±10 (28/50)	63±10 (31/50)	71±13 (36/50)	67±11 (34/50)			
死亡事故率, (b) ♂+♀	0		2.9% (203/6946)		0.3% (25/8700)		2.2%*** (114/5100)	
最終体重, g, (%)	♂	437±26 (100)	466±34** (107)	40.0±3.2 (100)	43.4±3.2* (109)			
	♀	343±17 (100)	331±19* (96.5)	42.6±4.0 (100)	42.0±3.0 (98.6)			

(a) 最終屠殺時の生存動物数/サテライト群を除いた計画屠殺分。

(b) 事故死, 事故による屠殺または誤投与による死亡動物数/全供試動物数。

* p < 0.05, ** p < 0.01 および *** p < 0.001 で混餌投与に対して有意差を示す。

1. 生存率

混餌投与によるラットの生存率は雌雄合わせて57%で, これに対して強制経口投与のそれは63%と有意に6%の増加を示した。混餌投与によるマウスの生存率は雌雄合わせて71%で, これに対して強制経口投与のそれは67%と4%低かったが有意な増加ではなかった。

2. 事故率

混餌投与によるラットの事故率は認められず, これに対して強制経口投与の事故率は2.9% (203/6946) を示した。

混餌投与によるマウスの事故率は0.3% (25/8700) で, これに対して強制経口投与の事故率は有意に高く2.2% (114/5100) を示した。

3. 最終体重

強制経口投与の雄ラット・マウスは混餌投与に比べていずれも8~9%有意に体重増加を示した。しかし, 強制経口投与の雌ラットは混餌投与に比べて逆に3.5%有意に低値を示し, 雌マウスは混餌投与とほぼ同様であった。これら強制経口投与は体重の変化が示唆されることから, 強制経口投与に使用する溶媒のコーンオイルの影響を検討するため他の溶媒(蒸留水, 脱イオン水)を除いた試験を集め, これと混餌投与と比較した結果を表2に示した。この結果, コーンオイルを溶媒に用いることによって雄のラットおよびマウスに対しては, 混餌投与に比べて体重増加が8および10%増加を示した。また, 雌のラッ

トおよびマウスに対してはコーンオイルの影響が認められなかった。

表2. 強制経口投与によるコーンオイルの体重への影響

	F344 ラット	
	混餌投与 23 試験	強制経口投与 16 試験
最終体重, g, (%)	♂	437±26 (100) 474±18*** (108)
	♀	343±17 (100) 335±15 (97.5)
	B6C3F1 マウス	
	混餌投与 23 試験	強制経口投与 12 試験
最終体重, g, (%)	♂	40.0±3.2 (100) 44.1±3.1*** (110)
	♀	42.6±4.0 (100) 42.2±2.6 (99.1)

*** p < 0.001 で混餌投与に対して有意差を示す。

[まとめ]

生存率はラットで混餌<強制, マウスで混餌=強制
 事故率はラットで混餌<強制, マウスで混餌<強制
 強制投与による死亡事故率はラットで24,000回・マウスで30,000回に1回
 体重は雄ラットで混餌<強制, 雄マウスで混餌<強制
 体重は雌ラットで混餌=強制, 雌マウスで混餌=強制
 混餌投与と強制経口投与試験の実施された比率は混餌:強制=1:0.7

文 献

[1] 厚生省薬務局審査課：医薬品の製造（輸入）承認に必要な毒性試験のガイドラインについて，厚生省（薬審第24号），1989.

[2] 農林水産省農蚕園芸局物防疫課：農薬の登録申請に係わる毒性試験成績取り扱いについて，59農蚕第4200号，1985.
 [3] 坂口孝，鍵山直子：動物実験の要点，214～215頁，丸善，東京1984.

Appendix 1. Comparison of feed and gavage studies for survival, accidental deaths and final body weight in F344 rats and B6C3F₁ mice for two-years studies.

----- Feed studies in rats -----

No.	Survival(a)		Accidental deaths(b)		Final body weight (g)		NTP No., (year)
	Male	Female	Male	Female	Male	Female	
1	27/50	30/50	--	--	432	320	431 (1993)
2	25/50	29/50	--	--	466	317	420 (1993)
3	29/50	40/50	--	--	436	371	398 (1993)
4	27/50	30/50	--	--	461	328	394 (1993)
5	22/50	30/50	--	--	343	340	412 (1992)
6	28/50	32/50	--	--	426	355	407 (1992)
7	26/50	30/50	--	--	464	357	409 (1992)
8	30/50	33/50	--	--	478	324	378 (1991)
9	27/50	22/50	--	--	439	321	368 (1989)
10	22/50	33/50	--	--	441	365	365 (1989)
11	22/50	29/50	--	--	435	352	364 (1989)
12	18/50	31/50	--	--	458	366	357 (1989)
13	17/50	35/50	--	--	443	365	356 (1989)
14	29/50	35/50	--	--	440	353	355 (1989)
15	33/50	34/50	--	--	438	334	353 (1989)
16	28/50	34/50	--	--	436	338	348 (1989)
17	24/50	27/50	--	--	445	355	345 (1989)
18	27/50	27/50	--	--	429	324	344 (1989)
19	23/50	25/50	--	--	412	352	341 (1989)
20	28/50	38/50	--	--	449	354	266 (1988)
21	22/50	27/50	--	--	432	343	320 (1988)
22	28/50	29/50	--	--	420	328	338 (1988)
23	33/50	28/50	--	--	422	331	337 (1988)
Mean	26/50	31/50	Not described		437±26	343±17	

(a) Number surviving/number initially in group except for satellite number.

(b) Including of accidental death, accidentally killed and gavage deaths, number/number initially in all groups.

Appendix 1. -continued.

----- Gavage studies in rats -----

No.	Survival(a)		Accidental deaths(b)		Final body weight (g)		Solvent or suspension	NTP No., (year)
	Male	Female	Male	Female	Male	Female		
1	23/50	32/50	0/240	3/240	464	310	Deionized water	425 (1993)
2	27/50	31/50	6/240	11/240	459	323	Corn oil	423 (1993)
3	37/50	24/50	2/150	1/150	442	338	Corn oil	395 (1991)
4	41/50	37/50	5/210	2/210	490	325	Corn oil	399 (1991)
5	36/50	32/50	5/180	7/180	465	321	Corn oil	391 (1991)
6	29/50	42/50	7/150	13/150	473	339	Corn oil	347 (1990)
7	33/50	31/50	1/150	1/150	478	364	Corn oil	376 (1990)
8	33/50	31/50	1/150	0/150	478	364	Corn oil	367 (1990)
9	27/50	31/50	0/150	1/150	342	345	Deionized water	340 (1990)
10	31/50	28/50	2/150	25/150	481	314	Corn oil	382 (1990)
11	16/50	28/50	1/150	1/150	472	299	Dist. water	374 (1990)
12	31/50	32/50	3/150	1/150	499	358	Corn oil	361 (1989)
13	30/50	38/50	12/150	4/150	492	326	Corn oil	359 (1989)
14	31/50	31/50	10/150	1/150	462	327	Corn oil	342 (1989)
15	32/50	24/50	9/150	9/150	461	326	Corn oil	339 (1988)
16	34/50	28/50	9/150	5/150	438	336	Corn oil	336 (1988)
17	33/50	30/50	8/150	6/150	486	332	Corn oil	334 (1988)
18	42/50	28/50	1/150	2/150	492	340	Corn oil	332 (1988)
19	37/50	37/50	1/150	3/150	447	290	Dist. water	331 (1988)
20	30/50	28/50	12/150	12/150	488	333	Corn oil	330 (1988)
Mean	32/50	31/50	95/3270	108/3270	466±34	331±19		

(a) Number surviving/number initially in group except for satellite number.

(b) Including of accidental death, accidentally killed and gavage deaths, number/number initially in all groups.

Appendix 1. -continued.

----- Feed studies in mice -----

No.	Survival(a)		Accidental deaths(b)		Final body weight (g)		NTP No., (year)
	Male	Female	Male	Female	Male	Female	
1	45/50	39/50	0/240	0/240	48.5	53.9	443 (1993)
2	29/50	33/50	0/240	0/240	39.0	46.6	413 (1993)
3	39/50	29/50	0/240	0/240	43.9	40.3	431 (1993)
4	47/50	38/50	0/240	0/240	45.0	46.0	420 (1993)
5	31/50	35/50	0/480	0/480	37.7	38.4	398 (1993)
6	32/50	27/50	0/240	4/240	40.7	45.5	394 (1993)
7	43/50	43/50	0/180	0/180	38.3	37.5	412 (1992)
8	33/50	39/50	0/240	2/240	39.7	41.0	407 (1992)
9	48/50	38/50	1/150	0/150	45.6	41.4	387 (1991)
10	33/50	40/50	0/150	0/150	36.3	42.3	368 (1989)
11	26/50	38/50	0/150	0/150	39.0	41.6	365 (1989)
12	36/50	39/50	1/150	0/150	37.2	40.5	364 (1989)
13	43/50	38/50	0/150	0/150	37.9	40.3	357 (1989)
14	31/50	36/50	0/150	1/150	36.7	39.9	356 (1989)
15	29/50	37/50	0/150	0/150	39.2	40.4	355 (1989)
16	33/50	45/50	4/150	0/150	38.9	42.1	353 (1989)
17	44/50	42/50	4/150	4/150	42.0	43.8	348 (1989)
18	27/50	14/50	0/150	1/150	37.3	42.0	344 (1989)
19	34/50	31/50	0/150	0/150	42.0	52.0	266 (1988)
20	29/50	37/50	0/150	0/150	38.9	42.6	320 (1988)
21	34/50	38/50	0/150	1/150	37.5	40.4	338 (1988)
22	39/50	39/50	1/150	1/150	39.6	42.7	337 (1988)
23	33/50	36/50	0/150	0/150	38.2	39.6	333 (1988)
Mean	35/50	36/50	11/4350	14/4350	40.0±3.2	42.6±4.0	

(a) Number surviving/number initially in group except for satellite number.

(b) Including of accidental death, accidentally killed and gavage deaths, number/number initially in all groups.

Appendix 1. -continued

----- Gavage studies in mice -----

No.	Survival(a)		Accidental deaths(b)		Final body weight (g)		Solvent or suspension	NTP No., (year)
	Male	Female	Male	Female	Male	Female		
1	39/50	39/50	0/240	3/240	43.7	43.6	Deionized water	425 (1993)
2	42/50	36/50	3/280	3/280	48.9	46.4	Corn oil	423 (1993)
3	38/50	32/50	2/150	1/150	37.5	38.6	Corn oil	395 (1991)
4	25/50	31/50	12/180	10/180	44.1	44.1	Corn oil	391 (1991)
5	33/50	42/50	6/150	1/150	44.3	41.6	Corn oil	347 (1990)
6	35/50	22/50	2/150	1/150	40.4	37.6	Corn oil	367 (1990)
7	36/50	38/50	0/150	0/150	39.4	44.7	Deionized water	340 (1990)
8	35/50	33/50	8/200	3/200	46.6	42.1	Corn oil	382 (1990)
9	35/50	25/50	1/150	13/150	44.2	39.4	Corn oil	342 (1989)
10	27/50	28/50	1/150	1/150	45.9	41.4	Corn oil	339 (1988)
11	24/50	36/50	3/150	1/150	41.5	43.3	Corn oil	336 (1988)
12	31/50	37/50	6/150	10/150	44.1	42.5	Corn oil	334 (1988)
13	38/50	35/50	6/150	4/150	47.1	44.8	Corn oil	332 (1988)
14	23/50	41/50	5/150	8/150	39.8	35.9	Dist. water	331 (1988)
15	36/50	35/50	0/150	0/150	44.0	44.4	Corn oil	330 (1988)
Mean	33/50	34/50	55/2550	59/2550	43.4±3.2	42.0±3.0		

(a) Number surviving/number initially in group except for satellite number.

(b) Including of accidental death, accidentally killed and gavage deaths, number/number initially in all groups.