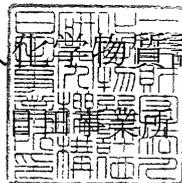


最終報告書

遺伝子発現量解析のための
四塩化炭素のラットにおける 28 日間反復経口投与毒性試験

2014 年 3 月

一般財団法人化学物質評価研究機構



本文書は正本を正確に転写したものです。

一般財団法人 化学物質評価研究機構 日田事業所

2014 年 3 月 11 日

試験責任者

寶珠山五月

目 次

	頁
1. 表 題	4
2. 試験委託者	4
3. 試験施設	4
4. 試験目的	4
5. 試験法	4
6. GLP 基準	4
7. 動物愛護	4
8. 試験日程	5
9. 試験責任者	5
10. 試験関係者及び業務分担	5
11. 試験資料の保管	5
12. 最終報告書の承認	5
13. 要 約	6
14. 試験材料	7
14.1 被験物質	7
14.2 媒 体	8
14.3 使用動物	8
14.4 飼育環境	9
15. 試験方法	10
15.1 被験物質の設定用量	10
15.2 群構成	10
15.3 投与液	10
15.4 投 与	11
15.5 一般状態観察	11
15.6 詳細な一般状態観察	11
15.7 機能検査	12
15.8 体重測定	12
15.9 摂餌量測定	12
15.10 尿検査	13
15.11 血液検査	13
15.12 病理学的検査	16
15.13 統計学的方法	19
16. 試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因及び試験計画書からの逸脱	19
17. 試験成績	20
17.1 一般状態	20
17.2 詳細な一般状態	20
17.3 機能検査	20

17.4	体 重	20
17.5	摂餌量	20
17.6	尿検査	20
17.7	血液検査	20
17.8	病理学的検査	21
18.	考 察	23
19.	参考文献	24
Figures		
1	Body weights	25
2	Food consumption	26
Tables		
1	Summary of general clinical observations	27
2	Summary of detailed clinical observations	28
3	Summary of functional observations	32
4	Summary of body weights	33
5	Summary of food consumption	34
6	Summary of urinalyses	35
7	Summary of hematological examinations	38
8	Summary of blood chemical examinations	42
9	Summary of absolute organ weights	46
10	Summary of relative organ weights	50
11	Summary of macroscopic examinations	54
12	Summary of histopathological examinations	58
Appendices		
1	General clinical observations of individual animals	64
2	Detailed clinical observations of individual animals	67
3	Functional observations individual animals	70
4	Body weights of individual animals	71
5	Food consumption of individual animals	83
6	Urinalytic data of individual animals	84
7	Hematological data of individual animals	90
8	Blood chemical data of individual animals	102
9	Absolute organ weights of individual animals	114
10	Relative organ weights of individual animals	126
11	Pathological findings of individual animals	138

1. 表 題

遺伝子発現量解析のための四塩化炭素のラットにおける 28 日間反復経口投与毒性試験

2. 試験委託者

名 称 一般財団法人化学物質評価研究機構 安全性評価技術研究所 研究第一部
所在地 〒345-0043 埼玉県北葛飾郡杉戸町下高野 1600 番地

3. 試験施設

名 称 一般財団法人化学物質評価研究機構 日田事業所
所在地 〒877-0061 大分県日田市石井町 3 丁目 822 番地

4. 試験目的

四塩化炭素をラットに 28 日間毎日反復経口投与したときに現れる生体の機能及び形態の変化を観察することにより、四塩化炭素の毒性を明らかにすることを目的とする。また、遺伝子発現量解析のための試料を採取する。

5. 試験法

以下の試験法を参考に実施した。

- a) 「新規化学物質等に係る試験の方法について」(平成 23 年 3 月 31 日、薬食発 0331 第 7 号、平成 23・03・29 製局第 5 号、環保企発第 110331009 号、一部改正:平成 24 年 4 月 2 日、薬食発 0402 第 1 号、平成 24・03・28 製局第 2 号、環保企発第 120402001 号)に定める「哺乳類を用いる 28 日間の反復投与毒性試験」
- b) OECD Guideline for the Testing of Chemicals, No. 407, October 3, 2008, “Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents”

6. GLP 基準

適用しなかった。

7. 動物愛護

以下の法律、指針、基準等を参考に当試験施設が作成した「日田事業所動物実験に関する規程」に従って試験を実施した。

- a) 「動物の愛護及び管理に関する法律」(法律第 105 号、昭和 48 年)
- b) 「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」(環境省告示第 88 号、平成 18 年)
- c) 「研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針」(文部科学省告示第 71 号、平成 18 年)
- d) 「動物実験の適正な実施に向けたガイドライン」(日本学術会議、平成 18 年)

8. 試験日程

試験開始日	2013年7月11日
動物入荷日	2013年7月16日
投与開始日	2013年7月24日
1回投与後解剖日	2013年7月25日
7日間投与後解剖日	2013年7月31日
14日間投与後解剖日	2013年8月7日
28日間投与後解剖日	2013年8月21日
試験終了日	2014年3月11日

9. 試験責任者

寶珠山 五月 (所属 試験第二課)

10. 試験関係者及び業務分担

試験担当者 坪倉 靖祐

(動物の検疫・馴化及び飼育管理、被験物質液の調製、投与、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、詳細な一般状態観察及び機能検査についての動物試験業務に対して責任を持つ)

病理検査責任者 大嶋 浩

(剖検、組織採取、器官重量測定及び病理組織学的検査についての病理検査業務に対して責任を持つ)

臨床検査責任者 室井 貴子

(尿検査、血液学的検査及び血液生化学的検査についての臨床検査業務に対して責任を持つ)

11. 試資料の保管

試験計画書(正本)、最終報告書(正本)、生データ、その他の記録、標本及び被験物質は当試験施設に保管する。

保管期間は試験終了後10年間とする。なお、保管期間中の被験物質の安定性は確認しない。保管期間終了後の処置(継続保管、廃棄又は返却)は、試験委託者と協議の上決定する。

12. 最終報告書の承認

2014年3月11日

試験責任者

寶珠山 五月

13. 要 約

四塩化炭素の生物学的な影響及び遺伝子発現に及ぼす影響について検討する目的で、化審法テストガイドライン及び OECD テストガイドライン 407 を参考に 28 日間反復経口投与毒性試験を実施した。

5 週齢の雄の CrI:CD(SD)ラットにコーン油に溶解させた四塩化炭素を 1、7、14 又は 28 日間毎日強制経口投与した。投与用量は 0 (コーン油)、20 及び 100 mg/kg/day とし、1、7 及び 14 日間投与後に解剖するサテライト群には 1 群あたり 4 匹、28 日間投与群には 1 群あたり 5 匹を使用した。投与期間中は全例について一般状態観察、体重測定及び摂餌量測定を行い、各投与期間終了後に CO₂/O₂ 混合ガス麻酔下で血液を採取した後解剖して、血液検査、病理学的検査及び遺伝子発現量解析のための試料採取を実施した。加えて、28 日間投与群については、投与期間中に詳細な一般状態観察及び機能検査を行い、最終投与日の翌日に尿を採取して尿検査を行った。

一般状態観察では、100 mg/kg 群で流涎、自発運動低下及び被毛湿潤がみられた。

詳細な一般状態観察では 100 mg/kg 群で流涎がみられた。

体重では 100 mg/kg 群で投与 3 日目に低値がみられた。

摂餌量では 20 及び 100 mg/kg 群で投与 3 日目に低値がみられた。

血液生化学的検査では、100 mg/kg 群で 7 日間投与後から AST 及び ALT の高値、14 日間投与後にクレアチニン及び総ビリルビンの高値、28 日間投与後に BUN の高値がみられた。

器官重量では、20 mg/kg 群で 7 日間投与後から肝臓の絶対及び相対重量の高値、100 mg/kg 群で 1 回投与後から肝臓の絶対及び相対重量の高値がみられた。

剖検では、20 mg/kg 群で 7 日間投与後から肝臓の腫大、退色及び小葉構造の顕在化、100 mg/kg 群で 1 回投与後から肝臓の腫大、7 日間投与後から肝臓の退色及び小葉構造の顕在化がみられた。

病理組織学的検査では、20 mg/kg 群で 1 回投与後から肝臓の小葉中心性肝細胞脂肪変性、7 日間投与後から肝臓の小肉芽腫、14 日間投与後から肝臓の有糸分裂像増加、100 mg/kg 群で 1 回投与後から肝臓の小葉中心性肝細胞脂肪変性、小葉中心性単細胞壊死及び小葉中心性肝細胞水腫変性、7 日間投与後から肝臓の小肉芽腫及び有糸分裂像増加がみられた。

機能検査、尿検査及び血液学的検査では被験物質投与による影響はみられなかった。

以上のとおり、本試験条件下において四塩化炭素の投与により、投与期間の初期から肝臓への毒性影響が認められ、腎臓への影響及び粘膜刺激性が示唆された。

14. 試験材料

14.1 被験物質

a) 名称等

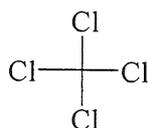
名 称 四塩化炭素
CAS 番号 56-23-5

b) 製造元及びロット番号

製造元 和光純薬工業
ロット番号 TLH5821

c) 構造式等

構造式

分子式 CCl_4

分子量 153.82

d) 純度等

純 度 99.8% (GC)

被験物質は純度 100%として取り扱った。

e) 物理化学的性状

蒸気圧 12.2 kPa/20°C

対水溶解度 (溶解性) 極めて溶けにくい

1-オクターム/水分配係数 $\log \text{Pow} = 2.64$ 融 点 -23°C 沸 点 76.8°C

常温における性状 無色澄明の液体

安定性 光により変質する

溶媒に対する溶解度 (溶解性)

溶 媒	溶解度 (溶解性)
エタノール	極めて溶けやすい
ジエチルエーテル	極めて溶けやすい

比 重 1.597 (20/20°C)

密 度 1.594 g/mL (20°C)

f) 保管条件

遮光した気密容器に入れ、被験物質保管室のキャビネットにて室温保管した。

保管温度の実測値 19.5~23.0°C (許容範囲 10~30°C)

保管場所及び期間 キャビネット 5、2013年4月15日~2013年4月16日
キャビネット 1、2013年4月16日~2013年8月12日

g) 被験物質の同一性及び保管条件下における安定性の確認

当試験施設で実施した「四塩化炭素の安定性、被験物質液の安定性及び濃度確認試験」（試験番号 X02-0269、非 GLP 試験）において確認した。

独立行政法人産業技術総合研究所の有機化合物のスペクトルデータベース（Spectral Database for Organic Compounds: SDBS）から入手した赤外吸収スペクトルと当試験施設において測定したスペクトルを比較することにより、被験物質の同一性を確認した。その結果、投与開始前に測定したスペクトルは SDBS から入手したスペクトルと同様であることが確認された。

また、投与開始前及び投与期間終了後の赤外吸収スペクトルを比較することにより、保管条件下における被験物質の安定性を確認した。投与開始前と比較して投与期間終了後のスペクトルに変化は認められなかったことから、被験物質は保管期間中安定であったと判断した。

h) 取扱い上の注意

皮膚及び目への接触並びに吸入をさけるため、手袋、マスク、帽子、保護めがね及び白衣を着用した。また、局所排気装置内で取り扱った。

14.2 媒体

a) 名称

コーン油

b) 選択理由

被験物質は水に極めて溶けにくいとの情報があることから、被験物質液の調製法はコーン油を用いて検討した。その結果、被験物質はコーン油に 10 w/v% の濃度で溶解した。また、被験物質液は調製後 7 日間で色調の変化等の異常がみられなかったことから、コーン油を媒体として選択した。

c) 製造元、グレード、ロット番号及び保管

名称	製造元	グレード	ロット番号	保管場所	保管温度
コーン油	ナカライテスク	化学用	V2H8729	試薬保管室	室温

14.3 使用動物

実験動物として確立された動物であり、一般毒性試験に汎用され、当試験施設においても背景データを保有している Crl:CD(SD)ラット（SPF）を日本チャールス・リバー日野飼育センターから入手した。

4 週齢の雄ラットを 55 匹入手し、1 ケージあたり 5 匹の群飼育で入荷 6 日後まで検疫・馴化を行った。さらに、投与開始 1 日前に相当する入荷 7 日後まで馴化し、すべての動物に異常がみられなかったため、当日測定した体重を用いて体重層別無作為抽出法で群分けし、51 匹を試験に使用した。群分け後は投与開始まで個別飼育で馴化した。群分けにより外れた動物は試験から除外した。また、受入れから投与開始までは、一般状態及び排泄物を毎日 1 回以上観察した。

動物は、群分け前は尾部へ油性インクを塗布し、群分け後は耳鉗を付けて識別した。ケージにはラベルを付け、ラックは試験番号を表示してそれぞれ識別した。

投与開始時の動物の週齢は5週齢、体重範囲は130.3～157.2 gであり、全例の体重が全体の平均体重 \pm 20%の範囲内であることを確認した。

14.4 飼育環境

動物は、検疫・馴化期間中を含む全飼育期間を通して、温度21～25°C、相対湿度40～70%、換気回数10～15回/時間、明暗サイクル12時間間隔（7時点灯、19時消灯）に設定したバリアーシステムの飼育室（検疫期間中は検疫室1、検疫終了後は飼育室1）に収容した。温度及び相対湿度の実測値は、それぞれ22.7～23.4°C及び50.3～61.9%であった。

ケージは、群分け前はステンレス製金網床ケージ（W260×D380×H180 mm）、群分け後はステンレス製金網床ケージ（W165×D300×H150 mm）を使用した。

トレイは、検疫期間終了時及び群分け時に交換し、群分け後は週2回の頻度で交換した。さらに、動物を飼育室から解剖室に搬出する際にも交換した。給餌器、ケージ及びラックは、群分け時に交換した。また、サテライト群（1、7及び14日間投与群）については解剖室に搬出する際にもラックを交換した。

飼料は固型飼料MF（ロット番号130515、オリエンタル酵母工業）を、飲料水は日田市上水道水に給水末端での塩素濃度が3～5 ppmとなるように次亜塩素酸ナトリウム（ピューラックス）を添加した水を、それぞれ自由摂取させた。飼料及び飼育用器材はオートクレーブ滅菌（121°C、30分間）したものをそれぞれ使用した。

飼料は、製造元から混入物の分析データを入手し、米国環境保護庁有害物質規制法の「飼料及び媒体の汚染物質限度」（1979）を参考に、当試験施設で定めた基準値内であることを確認したロットを使用した。

飲料水については、厚生労働省の「水質基準に関する省令」（厚生労働省令第101号）に準拠した水質検査を年2回の頻度で実施しており、動物入荷前に入手した検査結果及び最終報告書作成までに入手した検査結果が、同省令の基準を満たしていることを確認した。

15. 試験方法

15.1 被験物質の設定用量

用量設定試験として、当試験施設で「四塩化炭素のラットにおける7日間反復経口投与毒性試験」(試験番号 P12-0108、非 GLP 試験)を実施した。用量設定試験ではコーン油で調製した被験物質液を、各群3匹の5週齢の Crl:CD(SD)雄ラットに0、50、100、250及び500 mg/kg/dayの用量で7日間毎日投与した。投与期間中は一般状態観察及び体重測定を行い、最終投与1日後に剖検及び器官重量測定を行った。その結果、250 mg/kg以上の群で体重の低値傾向がみられ、肝臓重量が著しい高値を示したことから、250 mg/kg/dayを28日間反復投与すると瀕死や死亡等の重篤な毒性影響が発現する可能性があると考えた。一方、100 mg/kg群においては肝臓の重量高値、腫大及び退色が認められたが、一般状態及び体重には異常がみられなかったことから、100 mg/kg/dayを28日間反復投与しても瀕死や死亡等の重篤な毒性影響は発現しないと考えた。

したがって、本試験では100 mg/kg/dayを高用量とし、低用量として20 mg/kg/dayを設定した。

15.2 群構成

被験物質投与群として2用量群を設けた他、媒体のみを投与する媒体対照群を設定した。また、媒体対照群及び各用量群に、1、7及び14日間投与後に解剖するサテライト群を設けた。以下、媒体対照群は対照群と記載する。

サテライト群の投与期間中の観察及び測定データは、28日間投与群に含めて取り扱った。

試験群	投与用量 (mg/kg/day)	投与容量 (mL/kg)	被験物質液 濃度(w/v%)	動物数 (動物番号)	
媒体対照 (1回投与)	0	5	0	4 (1 - 4)	
媒体対照 (7日間投与)	0	5	0	4 (5 - 8)	
媒体対照 (14日間投与)	0	5	0	4 (9 - 12)	
媒体対照 (28日間投与)	0	5	0	5 (13 - 17)	
被 験 物 質	低用量 (1回投与)	20	5	0.400	4 (18 - 21)
	低用量 (7日間投与)	20	5	0.400	4 (22 - 25)
	低用量 (14日間投与)	20	5	0.400	4 (26 - 29)
	低用量 (28日間投与)	20	5	0.400	5 (30 - 34)
	高用量 (1回投与)	100	5	2.00	4 (35 - 38)
	高用量 (7日間投与)	100	5	2.00	4 (39 - 42)
	高用量 (14日間投与)	100	5	2.00	4 (43 - 46)
	高用量 (28日間投与)	100	5	2.00	5 (47 - 51)

15.3 投与液

a) 被験物質液の調製及び保管

被験物質を秤量後、コーン油を加えて攪拌し溶解させた。その後、コーン油を加えて定容し2.00 w/v%の被験物質液を調製した。さらに、2.00 w/v%の被験物質液の一部を採

取し、コーン油を加えて希釈し、0.400 w/v%の被験物質液を調製した。

調製した各濃度の被験物質液及び投与に用いる媒体は蓋付きガラス製褐色ビンにそれぞれ小分けし、被験物質調製室の保冷库7にて冷所（実測値1～10°C、許容範囲1～10°C）で保管した。被験物質液は調製後11日以内に使用した。

小分け保管した各濃度の被験物質液及び媒体は、各投与日に投与に必要な個数を保管場所から取り出し、飼育室まで室温で運搬し投与に用いた。

b) 被験物質液の安定性の確認

5.00 及び 0.0500 w/v%の被験物質液の冷所保管での安定性を、当試験施設においてX02-0269でガスクロマトグラフィー質量分析法（GC/MS）により確認した。

冷所保管で調製13日後に測定した被験物質濃度が、調製直後の測定濃度に対し5.00及び0.0500 w/v%の被験物質液でそれぞれ96.9%及び97.3%と100±10%以内であったことから、保管条件下で12日間安定であることが確認された。

c) 投与に用いる被験物質液の濃度確認

初回に調製した2.00及び0.400 w/v%の被験物質液の調製直後の濃度を、当試験施設においてX02-0269でGC/MSにより確認した。

測定した被験物質濃度が設定値に対し2.00及び0.400 w/v%の被験物質液でそれぞれ97.5%及び97.3%と100±10%以内であったため、適切に調製できたと判定して投与に用いた。

15.4 投 与

1、7、14又は28日間毎日1回、強制経口投与した。投与は9:11～10:49に行った。

投与にはネラトンカテーテル（テルモ）を取り付けた注射筒（テルモ）を用い、測定した最新の体重を基に、5 mL/kgで投与した。

15.5 一般状態観察

投与期間中は毎日3回（投与前、投与直後～1時間後、投与2～6時間後）、生死を含む一般状態を観察した。

15.6 詳細な一般状態観察

28日間投与群について、投与開始前に1回、投与開始後は週1回の頻度で次表の項目を観察した。投与開始後の観察は動物に乱数（検査動物番号）を割付け、動物の並び替えを行った後、試験群が判別できない状態（盲検法）で行った。

ケージから取り出す際の反応	ケージに手を入れてから、動物をケージ外に取り出すまでの反応（出し易さ及び発声）を、スコアリング法で評価
手にとっての詳細な観察	筋緊張及び体温低下の有無、被毛の状態（立毛、毛の汚れ及び被毛粗剛）、皮膚及び粘膜の色（蒼白、発赤及びチアノーゼ）、眼の異常（流涙、眼球突出及び瞳孔径）、流涎及び分泌物の有無を観察
アリーナ内での行動の観察	動物を90 cm×60 cmの観察台上に1分間以上（5分以内）置き、姿勢、活動性、呼吸、歩行の状態、眼瞼閉鎖、振戦・攣縮・痙攣、常同行動及び異常行動の有無を観察 1分間の排糞回数（糞の数）及び排尿回数（尿のプール数）を測定

15.7 機能検査

28日間投与群について、投与4週目（投与23日目）に1回、次表の項目を検査した。反応性及び握力は詳細な一般状態観察と同様に試験群が判別できない状態で検査した。

反応性	視覚	顔面前約3cmにボールペンの軸を近づけ、4秒間保持したときの反応をスコアリング法で評価
	聴覚	頭上で指を鳴らしたときの反応をスコアリング法で評価
	痛覚	洗濯バサミで尾の1/3尾根部側を挟んだときの反応を観察
	瞳孔反射	眼を手で覆った後、瞳孔に光を当てたときの反応の有無を観察
	空中 正向反射	約30cmの高さから、動物の腹部を上にした状態で落としたときの異常反応の有無を観察
握力	握力メータ FGC-2（メイティス）を用い、前肢及び後肢の握力を2回測定し、平均値で評価	
自発運動量	ラット用運動量測定装置 ACTIMO-10（シンテクノ）を用い、動物の運動量を1時間（10分間隔で6回）測定し、赤外線（42.6cm×26.5cmの範囲を縦横5cm間隔で発生）を横切った回数で評価	

15.8 体重測定

全例について、電子上皿天秤（ザルトリウス）を用い、下記の日に体重を測定した。

- ・ 群分け日
- ・ 投与1、3、7、14、21及び28日目
- ・ 各試験群の解剖日（飼育室からの搬出前、絶食状態）

15.9 摂餌量測定

7、14及び28日間投与群について、電子上皿天秤（ザルトリウス）を用い、下記の日に餌重量を測定した。

- ・ 群分け日の給餌量
- ・ 投与1、3、7、14、21及び28日目の残餌量

投与7、14及び21日目には残餌量測定後に餌を補充し、補充後の給餌量を測定した。

測定した給餌量と残餌量から各測定日間での1日平均摂餌量を求めた。なお、各測定日に絶食を行う動物については残餌量のみを測定し、餌の補充及び給餌量の測定は行わなかった。

15.10 尿検査

a) 採尿

28日間投与群について、投与28日目の午後にW150×D200×H263mmの個体別代謝ケージに動物を収容し、自由飲水及び絶食状態で翌日までの約16時間の蓄積尿を採取した。

b) 検査項目及び方法

採取した蓄積尿を用い次表の項目を測定した。尿沈渣は対照群及び高用量群を検査した結果、高用量群で被験物質の投与に関連した変化が認められなかったため、低用量群については検査を行わなかった。

項目	方法	機器
尿量 (Urine volume)	メスシリンダーによる計量	—
色調 (Color)	肉眼観察	—
濁り (Turbidity)		
尿浸透圧 (Uosm)	氷点降下法	A
pH	試験紙法 (試験紙にはラブスティックス(シーメンス)を使用)	—
蛋白 (Protein)		
ケトン体 (Ketones)		
糖 (Glucose)		
潜血 (Occult blood)		
尿沈渣 (Urinary sediment)	Sternheimer 変法	B

使用機器 A: 自動浸透圧計 OM-6040 (アークレイ)

B: システム生物顕微鏡 BX41 (オリンパス)

15.11 血液検査

a) 採血及び検査試料

各試験群について最終投与日の午後から絶食し、翌日(絶食開始16~20時間後)、CO₂/O₂混合ガス(CO₂:O₂混合比=4:1)麻酔下で腹部大動脈から次表のとおり採血し、検査試料を作製した。なお、サテライト群については血漿の試料作製は行わなかった。また、28日間投与群については、パクスジーンRNA採血管(日本ベクトン・ディッキンソン)を用いて血液を採取し転倒混和し、室温で2時間以上静置後、-20°Cで24時間保管した。その後、-80°Cで保管し、ドライアイスと同封して安全性評価技術研究所に送付した。

検査試料	作製方法
全血	EDTA-2K添加採血びんSB-41(ロット番号G2008、シスメックス)で採血した血液
血漿	くえん酸三ナトリウム二水和物(ロット番号WEJ0101、和光純薬工業)の3.2w/v%水溶液を100µL添加したガラス製試験管で採血し、遠心分離(3000r.p.m.×10mins)して得た血漿
血清	ガラス製試験管で採血し遠心分離(3000r.p.m.×10mins)して得た血清

b) 血液学的検査

全血及び血漿を用い次表の項目を測定した。サテライト群についてはプロトロンビン時間及び活性化部分トロンボプラスチン時間の測定は行わなかった。また、すべての項目について機器測定できたため、全血を用いた塗抹標本は作製しなかった。

項目	方法	機器
赤血球数 (RBC)	暗視野板法	C
ヘモグロビン濃度 (Hb)	シアンメトヘモグロビン法	
ヘマトクリット値 (Ht)	$\frac{RBC \times MCV}{10^3}$	
平均赤血球容積 (MCV)	暗視野板法	
平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH)	$\frac{Hb}{RBC} \times 10^3$	
平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC)	$\frac{Hb}{RBC \times MCV} \times 10^5$	
血小板数 (Platelet)	暗視野板法	
網状赤血球数比率 (Reticulo)	RNA 染色法	
白血球数 (WBC)	フローサイトメトリー法	
白血球百分率 (Differentiation of leukocyte) 好中球 (Neutro)、リンパ球 (Lymph) 好酸球 (Eosino)、好塩基球 (Baso) 単球 (Mono)、大型非染色球 (LUC)	フローサイトメトリー法	
プロトロンビン時間 (PT)	粘度変化感知方式	D
活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)	粘度変化感知方式	

検査試料 Cには全血、Dには血漿を使用

使用機器 C: 総合血液学検査装置 ADVIA 120 (シーメンス)

D: 全自動血液凝固線溶測定装置 STA Compact (ロシュ・ダイアグノスティックス)

c) 血液生化学的検査

血清を用いて次表の項目を測定した。サテライト群についてはアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ、アルカリ性フォスファターゼ、尿素窒素、クレアチニン及び総ビリルビンを測定し、その他の項目は測定しなかった。

項目	方法	機器
アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)	UV 法 JSCC 標準化対応法	E
アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)	UV 法 JSCC 標準化対応法	
アルカリ性フォスファターゼ (ALP)	<i>p</i> -Nitrophenyl phosphate 法	
コリンエステラーゼ (ChE)	Butyrylthiocholine iodide 法	
γ -グルタミルトランスペプチダーゼ (γ -GTP)	<i>L</i> - γ -glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide 法	
総コレステロール (T-Cho)	COD・ESPAS 法	
トリグリセリド (TG)	GPO・ESPAS グリセロール消去法	
尿素窒素 (BUN)	Urease・GIDH 法	
クレアチニン (Creatinine)	Creatininase・F-DAOS 法	
総蛋白 (T-Protein)	Biuret 法	
アルブミン (Albumin)	Bromocresol green 法	
A/G 比 (A/G ratio)	$\frac{\text{Albumin}}{\text{T-Protein} - \text{Albumin}}$	—
血糖 (Glucose)	Hexokinase・G-6-PDH 法	E
総ビリルビン (T-Bil)	酵素法	
総胆汁酸 (TBA)	酵素サイクリング法	
無機リン (IP)	Fiske-Subbarow 法	
カルシウム (Ca)	OCPC 法	F
ナトリウム (Na)	Crown-Ether 膜電極法	
カリウム (K)	Crown-Ether 膜電極法	
塩素 (Cl)	MO 膜法	

使用機器 E: 生化学自動分析装置 7170 形 (日立製作所)

F: 電解質分析装置 PVA-EX II (A&T)

15.12 病理学的検査

a) 剖 検

各試験群について最終投与日の翌日のいずれも採血後に、動物を腹部大動脈から放血して安楽死させ、体表、開孔部、皮下、頭蓋腔、胸腔、腹腔及び骨盤腔とその内容について肉眼的観察を行った。

b) 組織採取及び器官重量測定

(a) サテライト群

1、7及び14日間投与群について、剖検時に次表の器官・組織を採取した。

分 類	器 官 ・ 組 織
消化器系	肝臓*
心・血管系	心臓*
泌尿器系	腎臓*
生殖器系	精巣*、精巣上部*、腹葉前立腺*、背側葉前立腺*
神経系	脳*（大脳、小脳及び橋を含む）
造血器系	骨髄（大腿骨）、脾臓*、胸腺*
内分泌系	下垂体*、甲状腺*（上皮小体を含む）、副腎*

甲状腺以外の「*」を付した器官は、固定液又は保存液に浸漬する前に電子天秤（ザルトリウス）で重量を測定した。腎臓、精巣及び精巣上部は左右を別々に測定し、左右の合計を算出した。副腎は左右をまとめて測定した。背側葉前立腺は尿道の一部を含めて測定した。甲状腺は上皮小体を含めて気管から分離せずに10%中性緩衝ホルマリン液に浸漬し、翌日、左右の葉を気管から分離して重量を測定した。重量を測定した器官については、解剖日に測定した体重を基に相対重量も算出した。

(b) 28 日間投与群

剖検時に次表の器官・組織を採取した。

分 類	器官・組織
呼吸器系	気管、肺
消化器系	顎下腺、胃、腸（十二指腸から直腸、パイエル板を含む）、 脾臓、肝臓*
心・血管系	心臓*
泌尿器系	腎臓*、膀胱
生殖器系	精巣*、精巣上体*、腹葉前立腺*、背側葉前立腺*、 精嚢*（凝固腺を含む）
神経系	脳*（大脳、小脳及び橋を含む）、脊髄、坐骨神経
造血器系	骨髄（大腿骨）、腋窩リンパ節、腸間膜リンパ節、脾臓*、 胸腺*
内分泌系	下垂体*、甲状腺*（上皮小体を含む）、副腎*
感覚器	眼球
筋・骨格系	骨格筋（大腿部）、骨（大腿骨）
皮膚・付属器	乳腺

気管、肺及び膀胱は 10%中性緩衝ホルマリン液を注入後に採取し、胃及び腸は 10%中性緩衝ホルマリン液を注入して同液に浸漬した後、内容物を水洗除去した。

甲状腺以外の「*」を付した器官は、固定液又は保存液に浸漬する前に電子天秤（ザルトリウス）で重量を測定した。腎臓、精巣及び精巣上体は左右を別々に測定し、左右の合計を算出した。副腎は左右をまとめて測定した。背側葉前立腺は尿道の一部を含めて測定した。精嚢は凝固腺を含めて起始部を糸で結紮して採取し、重量を測定した。甲状腺は上皮小体を含めて気管から分離せずに 10%中性緩衝ホルマリン液に浸漬し、翌日、左右の葉を気管から分離して重量を測定した。重量を測定した器官については、解剖日に測定した体重を基に相対重量も算出した。

c) 組織の固定及び保存

採取した器官・組織は、以下のように固定及び保存した。

肝臓は、重量を測定後、外側左葉の中央部から（門脈側とその反対側を結ぶ対角線に沿って）2～3 mm 幅の組織片 4 枚を採取し、遺伝子発現量解析用に供した。2 枚ずつの重量が 1.5 g 以下であることを確認後、それぞれ重量の 5 倍量以上の RNAlater® (Ambion, Inc.) に浸漬させた。1.5 g を超える場合は組織片の両端を切除し調節した。右葉は氷冷後、-80°C で保存した。外側左葉の遺伝子発現量解析用部位の採取後の残り部分及び残りの葉を 10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。

腎臓は、左右別々に重量を測定後、右側の中央部から乳頭を含むように横断で 4～5 mm 幅の組織片を採取した。組織片から被膜を取り除いた後、正中で二分した。半分を幅 3 mm 以内に細切し RNAlater に浸漬した。残りの半分から乳頭、髓質内帯、髓質外帯及び皮質を分けてサンプリングし、それぞれ RNAlater に浸漬した。残りの部分は氷冷後、-80°C で保存した。左側は 10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。

精巣は、左右別々に重量を測定後、右側を 4 分割し、組織片の半分を RNAlater に浸漬した。残りの半分は氷冷後、-80°C で保存した。左側は変法デビットソン液で固定した。

精巣上体は、重量を測定後、左右とも変法デビットソン液で固定した。

腹葉前立腺は、重量測定後、正中で二分し、一方を RNAlater に浸漬した。残りは 10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。

脳は、重量を測定後、氷冷したメタカーン液（メタノール:クロロホルム:酢酸混合比 =6:3:1）に浸漬した。その後、氷冷下で 5 時間振とうした後、無水エタノールに交換した。さらに氷冷下で振とうしながら、1 時間おきに 2 回、無水エタノールを交換した。氷冷下で一晩振とうした後、無水エタノールを再度交換し 4°C で保存した。保存した試料は保冷剤を同封して東京農工大学に送付した。

下垂体は、重量を測定後、RNAlater に浸漬した。

RNAlater に浸漬した各組織は RNAlater を組織に浸潤させるため、4°C で 24 時間放置した後、RNAlater に浸漬させたまま -80°C で凍結し、ドライアイスと同封して安全性評価技術研究所に送付した。-80°C 凍結保存した組織についてもドライアイスと同封して安全性評価技術研究所に送付した。

その他の器官・組織は、10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。

d) 病理組織学的検査

(a) サテライト群

1、7 及び 14 日間投与群の対照群及び高用量群について、肝臓、腎臓、精巣、前立腺、骨髄（大腿骨）、脾臓、胸腺のパラフィン包埋薄切切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン（HE）染色後、光学顕微鏡的に検査した。骨髄（大腿骨）は切り出し前に 10%蟻酸・ホルマリン液による脱灰を行った。

さらに、肝臓について、高用量群で被験物質の投与に関連した変化が疑われたため、低用量群についても病理組織学的検査を行った。

(b) 28 日間投与群

対照群及び高用量群について、脳及び下垂体を除いて採取したすべての器官又は組織のパラフィン包埋薄切切片を作製し、HE 染色後、光学顕微鏡的に検査した。骨及び骨髄（大腿骨）は切り出し前に 10% 蟻酸・ホルマリン液による脱灰を行った。

また、肝臓については、高用量群で被験物質の投与に関連した変化が疑われたため、低用量群についても病理組織学的検査を行った。さらに、高用量群の肝臓の HE 染色標本において肝細胞の空胞化がみられ、脂肪の蓄積が疑われたため、対照群の 2 例（No. 3 及び 13）及び高用量群の 3 例（No. 35、49 及び 51）についてオイル赤 O 染色による検査を行った。

15.13 統計学的方法

体重、摂餌量、握力、自発運動量、血液学的検査、血液生化学的検査、尿量、尿浸透圧及び器官重量の成績については、Bartlett 法による等分散検定を行い、5% 有意水準で等分散が認められた場合は、Dunnett 法による検定を行った。等分散が認められない場合はノンパラメトリックの Dunnett 法による検定を行った。排糞回数（糞の数）及び排尿回数（尿のプール数）はノンパラメトリックの Dunnett 法による検定を行った。

16. 試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因及び試験計画書からの逸脱
試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因は認められなかった。

17. 試験成績

17.1 一般状態 (Table 1、Appendix 1)

100 mg/kg 群で流涎が 6 例、自発運動低下及び口から腹部にかけての被毛湿潤が 1 例で観察された。流涎は投与 6 日目以降に散発的又は継続的に観察されたが、いずれも投与後 30 分又は 1 時間以内に消失した。自発運動低下及び被毛湿潤は、投与 15 日目に 1 例のみで単発的に観察された。20 mg/kg 群及び対照群では異常は認められなかった。

17.2 詳細な一般状態 (Table 2、Appendix 2)

100 mg/kg 群で投与 4 週目に流涎が 5 例中 1 例にみられた。他の詳細観察項目においては、すべての群に異常は認められなかった。また、被験物質投与群の排糞回数及び排尿回数に有意な変動は認められなかった。

17.3 機能検査 (Table 3、Appendix 3)

握力及び自発運動量において被験物質投与群に有意な変動は認められず、反応性検査においても被験物質投与群及び対照群に異常は認められなかった。

17.4 体重 (Fig. 1、Table 4、Appendix 4)

100 mg/kg 群で投与 3 日目に有意な低値 (対照群の 96.3%) が認められたが、それ以降は有意な変動はみられなかった。20 mg/kg 群では有意な変動は認められなかった。

17.5 摂餌量 (Fig. 2、Table 5、Appendix 5)

100 及び 20 mg/kg 群で投与 3 日目に有意な低値 (対照群の 92.9%及び 92.4%) がみられたが、それ以降は有意な変動は認められなかった。

17.6 尿検査 (Table 6、Appendix 6)

尿量及び尿浸透圧において被験物質投与群に有意な変動は認められず、その他の検査項目においても被験物質投与群に異常は認められなかった。対照群では潜血 (2+) が 5 例中 1 例にみられた。

17.7 血液検査

a) 血液学的検査 (Table 7、Appendix 7)

1 回投与群において、20 mg/kg 群で白血球数の有意な高値がみられたが、用量との関連性が認められないことから偶発的変動と考えた。100 mg/kg 群では有意な変動は認められなかった。

7 日間投与群では被験物質投与群に有意な変動は認められなかった。

14 日間投与群において、20 及び 100 mg/kg 群で平均赤血球ヘモグロビン濃度の有意な低値がみられたが、20 mg/kg 群でより低値を示し、用量との関連性が明らかでないことから偶発的変動と考えた。

28 日間投与群において、100 mg/kg 群で平均赤血球容積及び平均赤血球ヘモグロビン量の有意な低値がみられた。20 mg/kg 群ではプロトロンビン時間及び活性化部分トロンボプラスチン時間の有意な延長がみられたが、用量との関連性が認められないことから偶発的変動と考えた。

b) 血液生化学的検査 (Table 8、Appendix 8)

1 回投与群では被験物質投与群に有意な変動は認められなかった。

7 日間投与群において、100 mg/kg 群でアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ

(AST) 及びアラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) の有意な高値がみられた。20 mg/kg 群では有意な変動は認められなかった。

14 日間投与群において、100 mg/kg 群で AST、ALT、クレアチニン及び総ビリルビンの有意な高値がみられた。20 mg/kg 群では有意な変動は認められなかった。

28 日間投与群において、100 mg/kg 群で AST、ALT 及び尿素窒素 (BUN) の有意な高値がみられた。そのほか、20 及び 100 mg/kg 群で総コレステロールの有意な低値がみられたが、20 mg/kg 群でより低値を示し、用量との関連性が明らかでないことから偶発的変動と考えた。

17.8 病理学的検査

a) 器官重量 (Table 9 及び 10、Appendix 9 及び 10)

1 回投与群において、100 mg/kg 群で肝臓の絶対及び相対重量の有意な高値 (対照群の 117.6% 及び 113.3%) が認められたほか、甲状腺の相対重量の有意な低値がみられた。20 mg/kg 群では腹葉前立腺の絶対及び相対重量の有意な高値がみられた。

7 日間投与群において、100 mg/kg 群で肝臓の絶対及び相対重量の有意な高値 (対照群の 136.8% 及び 138.9%)、甲状腺の絶対及び相対重量の有意な低値 (対照群の 77.1% 及び 78.0%) が認められた。20 mg/kg 群では肝臓の絶対及び相対重量の有意な高値 (対照群の 115.7% 及び 119.7%) が認められたほか、心臓及び脳の絶対重量の有意な低値、下垂体の相対重量の有意な高値がみられた。

14 日間投与群において、100 mg/kg 群で肝臓の絶対及び相対重量の有意な高値 (対照群の 134.5% 及び 136.9%) が認められたほか、甲状腺の絶対及び相対重量の有意な高値 (対照群の 129.1% 及び 133.6%)、脾臓の絶対及び相対重量の有意な低値 (対照群の 83.5% 及び 86.0%) 及び腎臓の絶対重量の有意な低値 (対照群の 90.5%) がみられた。20 mg/kg 群では肝臓の絶対重量の高値傾向 (対照群の 120.6%) 及び相対重量の有意な高値 (対照群の 119.3%) が認められた。

28 日間投与群において、100 mg/kg 群で肝臓の絶対及び相対重量の有意な高値 (対照群の 142.6% 及び 147.2%) が認められたほか、心臓の相対重量の有意な低値がみられた。20 mg/kg 群では肝臓の相対重量の有意な高値 (対照群の 119.3%) が認められたほか、心臓の絶対重量及び相対重量の有意な低値並びに精巣及び精囊の絶対重量の有意な低値がみられた。

b) 剖 検 (Table 11、Appendix 11)

1 回投与群において、100 mg/kg 群で肝臓の腫大が 4 例中 1 例にみられた。20 mg/kg 群及び対照群では異常は認められなかった。

7 日間投与群において、100 mg/kg 群で肝臓の腫大が 4 例全例、退色が 3 例、小葉構造の顕在化が 1 例に認められた。20 mg/kg 群では肝臓の腫大が 1 例、退色が 1 例、小葉構造の顕在化が 3 例に認められた。対照群では異常は認められなかった。

14 日間投与群において、100 mg/kg 群で肝臓の腫大が 4 例中 3 例、退色が 3 例、小葉構造の顕在化が 1 例に認められた。20 mg/kg 群では肝臓の小葉構造の顕在化が 4 例全例に認められた。対照群に異常は認められなかった。

28 日間投与群において、100 mg/kg 群で肝臓の腫大及び退色が 5 例全例に認められた。

20 mg/kg 群では肝臓の腫大が 3 例、小葉構造の顕在化が 4 例に認められた。

c) 病理組織学的検査 (Table 12、Appendix 11)

1 回投与群において、100 mg/kg 群で肝臓の小葉中心性肝細胞脂肪変性（ごく軽度）が 4 例全例、小葉中心性単細胞壊死（軽度）が 3 例、小葉中心性肝細胞水腫変性（ごく軽度）が 1 例に認められたほか、限局性肝細胞壊死（軽度）が 1 例にみられた。20 mg/kg 群では肝臓の小葉中心性肝細胞脂肪変性（ごく軽度）が 1 例に認められた。対照群では肝臓の限局性肝細胞壊死（軽度）及び腎臓の被膜下の嚢胞が各 1 例にみられた。

7 日間投与群において、100 mg/kg 群で肝臓の小葉中心性肝細胞脂肪変性（軽度～中等度）及び小肉芽腫（軽度）が 4 例全例、小葉中心性肝細胞水腫変性（軽度）が 3 例、有糸分裂像増加（中等度）が 2 例に認められた。20 mg/kg 群では、肝臓の小葉中心性肝細胞脂肪変性（ごく軽度～中等度）及び小肉芽腫（軽度～中等度）が 4 例全例に認められたほか、限局性肝細胞壊死が 1 例にみられた。対照群では、腎臓の被膜下の嚢胞及び背側葉前立腺のリンパ球浸潤が各 1 例にみられた。

14 日間投与群において、100 mg/kg 群で肝臓の小葉中心性肝細胞脂肪変性（軽度～中等度）、小葉中心性肝細胞水腫変性（軽度～中等度）、小肉芽腫（軽度～中等度）及び有糸分裂像増加（軽度～中等度）が 4 例全例、限局性肝細胞壊死（軽度）が 2 例に認められた。20 mg/kg 群では、肝臓の小葉中心性肝細胞脂肪変性（軽度）及び小肉芽腫（軽度～中等度）が 4 例全例、有糸分裂像増加（軽度～中等度）が 2 例に認められた。対照群では、肝臓の小肉芽腫及び背側葉前立腺のリンパ球浸潤が 1 例にみられた。

28 日間投与群において、100 mg/kg 群で肝臓の小葉中心性肝細胞脂肪変性（軽度～重度）及び小葉中心性肝細胞水腫変性（軽度～中等度）が 5 例全例、小肉芽腫（中等度）及び有糸分裂像増加（軽度～中等度）が各 4 例、限局性肝細胞壊死（軽度）が 2 例に認められた。20 mg/kg 群では、肝臓の小葉中心性肝細胞脂肪変性（軽度）及び小肉芽腫（軽度）が 5 例全例、有糸分裂像増加（軽度）が 2 例に認められた。対照群では、腎臓の腎盂拡張が 1 例にみられた。

なお、1 回投与群の対照群及び 100 mg/kg 群の各 1 例、28 日間投与群の対照群の 1 例及び 100 mg/kg 群の 2 例について実施した肝臓のオイル赤 O 染色による検査では、対照群では陽性物質が認められなかった又はわずかに認められたのに対し、100 mg/kg 群では小葉中心部の肝細胞内に微細～大型の陽性物質が認められ、空胞化が脂肪の蓄積によるものであることが確認された。なお、空胞化した大型の肝細胞の一部では陽性物質が確認されなかったことから、水腫変性が生じているものと判断した。

18. 考 察

被験物質は肝毒性を示す代表的化合物であり、脂肪肝、肝細胞死、肝線維症及び肝硬変等を引き起こすことが知られている（鈴木ら, 2013）。発がん性については、ヒトでは不十分な証拠しか得られていないが、実験動物では十分な証拠が得られているとして国際がん研究機関（International Agency for Research on Cancer, IARC）の発がん性評価ではグループ 2B（ヒトに対して発がん性がある可能性がある）に分類されている（IARC, 1999）。本試験においても被験物質投与により肝臓への毒性影響が認められたほか、腎臓への影響及び粘膜刺激性を示唆する所見がみられた。

肝臓に対する影響として、100 mg/kg 群において、1 回投与後から絶対及び相対重量高値並びに肉眼的腫大、7 日間投与後から退色及び小葉構造の顕在化がみられた。病理組織学的検査では、1 回投与後から小葉中心性肝細胞脂肪変性、小葉中心性単細胞壊死及び小葉中心性肝細胞水腫変性が認められ、投与回数の増加に伴い重篤度及び発現頻度の上昇がみられた。このように病変が小葉中心性に偏在したことにより、肉眼的に小葉構造が顕在化し、病変が重篤化するに従って退色へと移行したものと考えられた。なお、7 日間投与後には小肉芽腫の形成及び有糸分裂像の増加が認められ、肝細胞の傷害に対する修復及び再生性変化が早期に生じていることが明らかとなった。血液生化学的検査では、7 日間投与後から AST 及び ALT の高値がみられ、肝細胞傷害が示唆された。また、胆汁うっ滞を明瞭に示す組織学的変化はみられなかったものの、14 日間投与後にみられた総ビリルビンの高値は、より長期のばく露により肝線維症へ移行する可能性を示唆する変化と考えた。20 mg/kg 群においても、7 日間投与後から絶対及び相対重量の高値、肉眼的な腫大、退色及び小葉構造の顕在化、1 回投与後から小葉中心性肝細胞脂肪変性、7 日間投与後から小肉芽腫、14 日間投与後から有糸分裂像増加が認められ、肝臓への毒性影響が確認された。投与期間中にみられた体重及び摂餌量の低値並びに自発運動低下は、肝臓への毒性影響を反映した変化と考えられたが、軽度且つ一過性又は単発的な発現であることから、毒性学的意義は小さいと考えた。

血液生化学的検査において、100 mg/kg 群で 14 日間投与後にクレアチニンの高値、28 日間投与後に BUN の高値がみられた。病理学的検査においては腎臓に異常は認められなかったが、被験物質は腎臓にも毒性を示すとの報告がある（U.S. EPA, 2010）ことから、これらの変化は被験物質の腎臓への影響を示唆するものである可能性があると考えた。

投与期間中に 100 mg/kg 群で観察された流涎は、投与後 1 時間以内に消失したことから被験物質の味により発現した（Matsuo, 2000）ものと考えられたが、被験物質は皮膚及び眼への刺激性を有するとされている（IPCS, 1999）ことから被験物質の粘膜刺激性を示唆する症状であると考えた。また、同群の 1 例でみられた被毛湿潤は、多量に分泌された唾液によって口から腹部にかけての被毛が濡れたものであり、毒性学的意義は低いと考えた。

投与期間中又は各投与期間終了時にみられたその他の変化は、用量依存性のない変動であること、他に関連する変化が認められないこと、又は自然発生病変として散見される所見であること等から、被験物質投与とは関連のない変化と考えた。

以上のとおり、本試験では被験物質投与により投与期間の初期から肝臓への毒性影響が認められ、腎臓への影響及び粘膜刺激性を示唆する所見もみられたが、その他の消化器系、呼吸器系、心・血管系、泌尿器系、生殖器系、造血器系、感覚器、筋・骨格系、乳腺への影響

は検出されなかった。

19. 参考文献

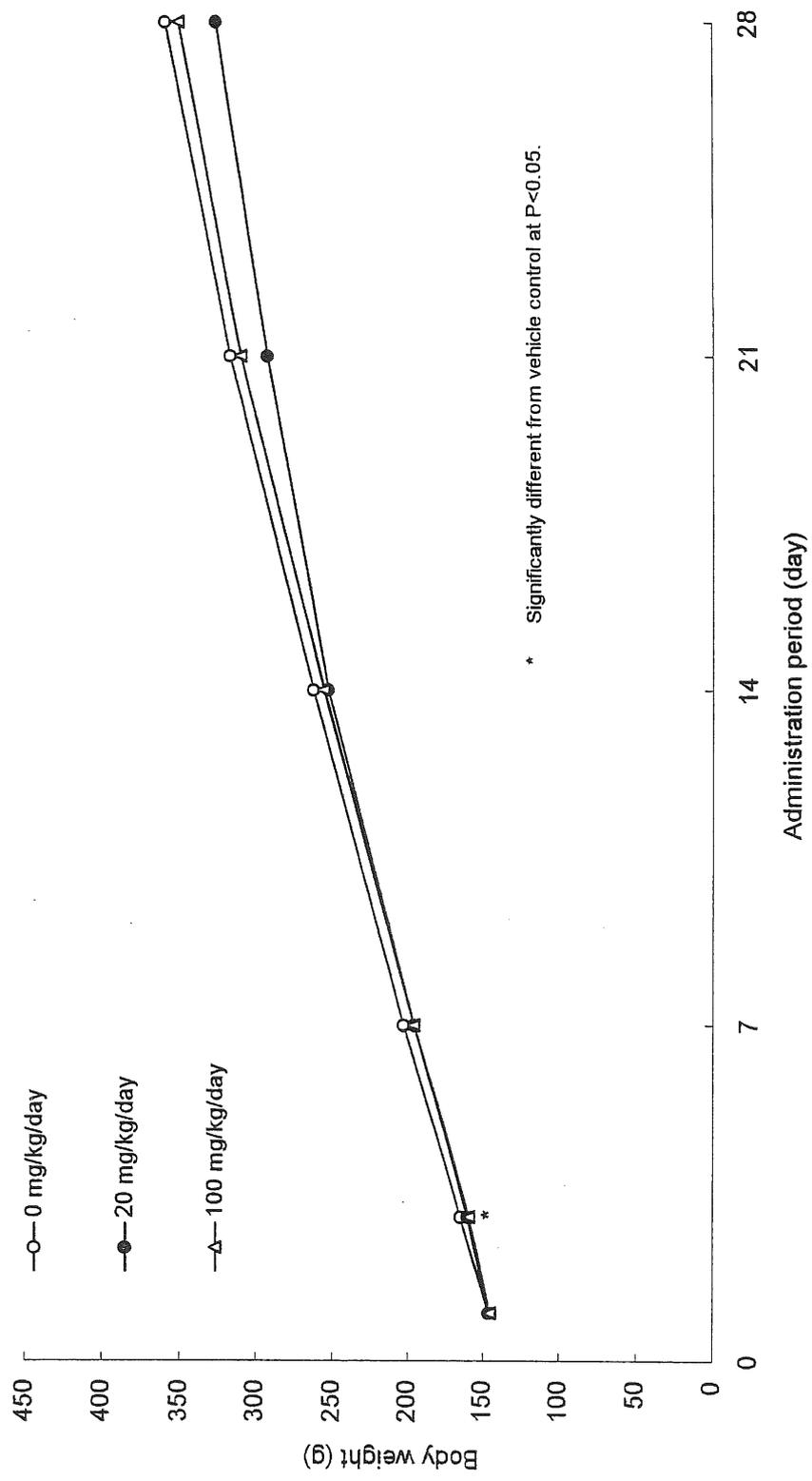
IARC (1999) IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. 71, 401-432.

IPCS (1999) Carbon tetrachloride, Environmental health criteria, 208, WHO, Genova.

Matsuo R (2000) Role of saliva in the maintenance of taste sensitivity. Crit. Rev. Oral Biol. Med., 11, 216-229.

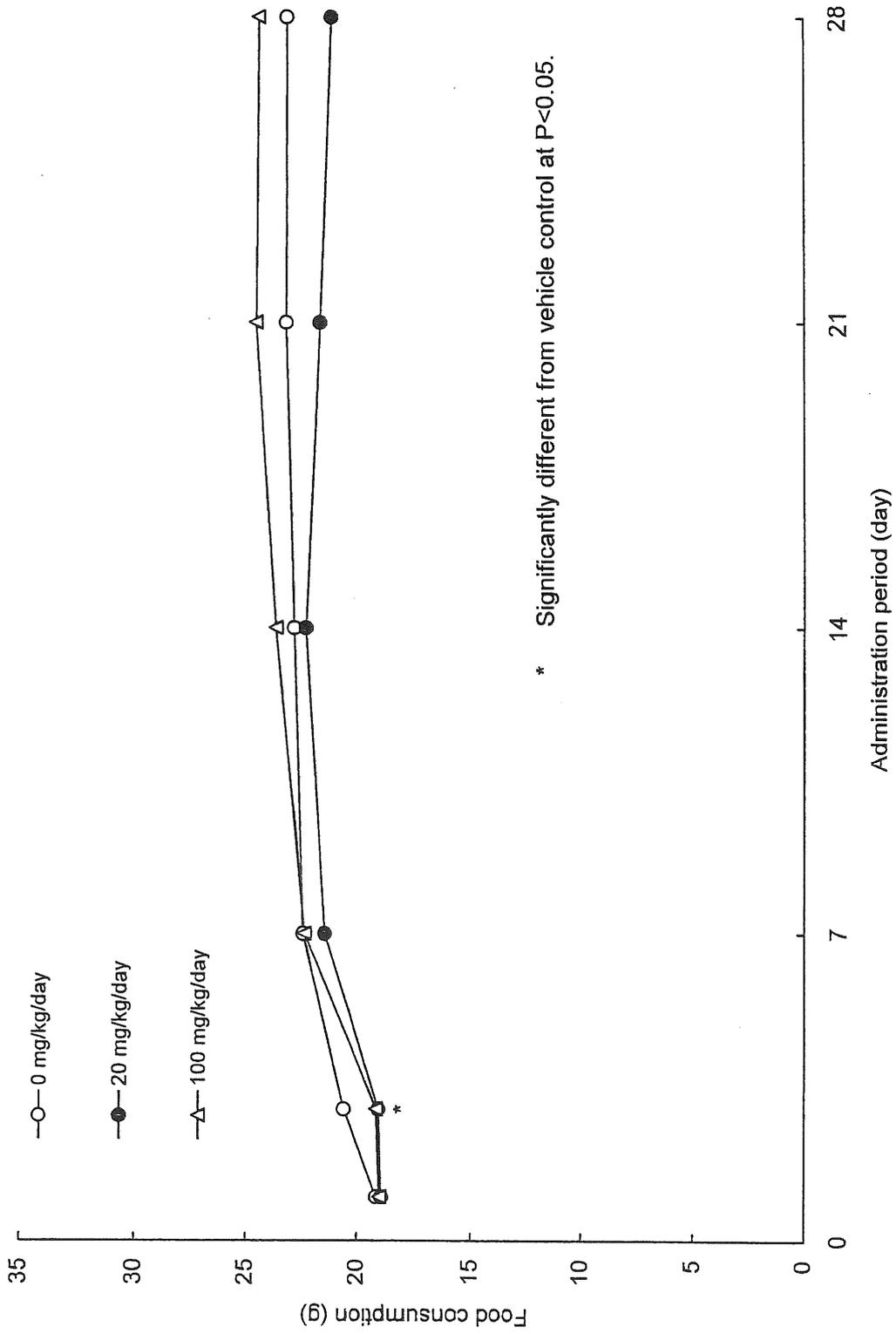
U.S. EPA (2010) Toxicological review of carbon tetrachloride (CAS No. 56-23-5) In support of summary information on the integrated risk information system (IRIS).

鈴木周吾, 二口充 (2013) 6.10 肝臓, 胆嚢. In 「伊東毒性病理学」 (高橋道人, 福島昭治編), 丸善出版, 東京, p. 235-255.



* Significantly different from vehicle control at P<0.05.

Fig. 1 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
Body weights: Male



* Significantly different from vehicle control at P<0.05.

Fig. 2 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
Food consumption: Male

Table 1 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
Summary of general clinical observations

Sex	Signs	Administration period		
		mg/kg/day	0	20
Male		ss	ss	ss
		17 ^{a)}	17	17
	No abnormalities detected	17	17	11
	Salivation			6
	Decreased spontaneous locomotion			1
	Moist hair (around mouth to abdomen)			1

ss, scheduled sacrifice animal.

a) Number of animals examined.

Table 2 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
Summary of detailed clinical observations (scoring scale for detailed clinical observations)

Removal from cage	Ease of removal	-2	No reaction
		-1	Very easy
		0	Easy (slight resistance)
		+1	Difficult
Vocalization		+2	Very difficult
		0	None
		+1	Vocalization during handling
Handling observations	Muscle tone	+2	Continuous vocalization
		-1	Decreased
		0	Normal
		+1	Increased
Subnormal temperature		-	Absent
		+	Present
Piloerection		-	Absent
		+	Present
Staining hair		-	Absent
		+	Present
Unkempt hair		-	Absent
		+	Present
Paleness		-	Absent
		+	Present
Reddening		-	Absent
		+	Present
Cyanosis		-	Absent
		+	Present
Lacrimation		-	Absent
		+	Present
Exophthalmos		-	Absent
		+	Present
Pupillary size		-1	Miosis
		0	Normal
		+1	Mydriasis
Salivation		-	Absent
		+	Present
Secretion		-	Absent
		+	Present
Observation in arena	Posture	0	Normal
		+1	Crouching position or hunchback position
		+2	Prone position or lateral position
		-2	Significantly decreased
Motor activity		-1	Decreased
		0	Normal
		+1	Increased
		+2	Significantly increased
Respiration		0	Normal
		+1	Slightly insufficiency
		+2	Moderately insufficiency
		+3	Severely insufficiency
Lid closure		-	Absent
		+	Present
Gait		-	Normal
		S	Staggering gait
		T	Tip toe gait
		P	Shuffling (paralytic) gait
		GD	Gait disturbance
Tremor/twitch/convulsion		0	None
		+1	Tremor
		+2	Twitch or convulsion
		+3	Systematic tonic convulsion (opisthotonus or episthotonus etc.)
Stereotypic behavior		-	None
		C	Circling
		G	Grooming
		S	Sniffing
		H	Head bobbing
Abnormal behavior		-	None
		S	Self-biting
		B	Backing
		C	Circling
		R	Rolling
		W	Writhing
		V	Vocalization
		ST	Straub tail
		T	Tail lashing behavior

Table 2-1 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
Summary of detailed clinical observations

Dose (mg/kg/day)		Predosing			Dosing week 1		
		0	20	100	0	20	100
Number of animals		5	5	5	5	5	5
Removal from cage	Ease of removal	-2	0	0	0	0	0
		-1	1	0	0	1	0
		0	4	5	5	4	5
	Vocalization	+1	0	0	0	0	0
		+2	0	0	0	0	0
		0	5	5	5	5	3
Muscle tone	+1	0	0	0	0	2	
	+2	0	0	0	0	0	
	-1	0	0	0	0	0	
Subnormal temperature	0	5	5	5	5	5	
	+1	0	0	0	0	0	
	+2	0	0	0	0	0	
Piloerection	-	5	5	5	5	5	
	+	0	0	0	0	0	
Staining hair	-	5	5	5	5	5	
	+	0	0	0	0	0	
Unkempt hair	-	5	5	5	5	5	
	+	0	0	0	0	0	
Paleness	-	5	5	5	5	5	
	+	0	0	0	0	0	
Reddening	-	5	5	5	5	5	
	+	0	0	0	0	0	
Cyanosis	-	5	5	5	5	5	
	+	0	0	0	0	0	
Lacrimation	-	5	5	5	5	5	
	+	0	0	0	0	0	
Exophthalmos	-	5	5	5	5	5	
	+	0	0	0	0	0	
Pupillary size	-1	0	0	0	0	0	
	0	5	5	5	5	5	
	+1	0	0	0	0	0	
Salivation	-	5	5	5	5	5	
	+	0	0	0	0	0	
Secretion	-	5	5	5	5	5	
	+	0	0	0	0	0	
Posture	0	5	5	5	5	5	
	+1	0	0	0	0	0	
	+2	0	0	0	0	0	
Motor activity	-2	0	0	0	0	0	
	-1	0	0	0	1	0	
	0	5	4	5	3	5	
	+1	0	1	0	1	0	
	+2	0	0	0	0	0	
Respiration	0	5	5	5	5	5	
	+1	0	0	0	0	0	
	+2	0	0	0	0	0	
	+3	0	0	0	0	0	
Lid closure	-	5	5	5	5	5	
	+	0	0	0	0	0	
Gait	-	5	5	5	5	5	
	S	0	0	0	0	0	
	T	0	0	0	0	0	
	P	0	0	0	0	0	
Observation in arena	GD	0	0	0	0	0	
	Tremor/twitch/convulsion	0	5	5	5	5	
	+1	0	0	0	0	0	
	+2	0	0	0	0	0	
Stereotypic behavior	+3	0	0	0	0	0	
	-	5	5	5	5	5	
	C	0	0	0	0	0	
	G	0	0	0	0	0	
Abnormal behavior	S	0	0	0	0	0	
	H	0	0	0	0	0	
	-	5	5	5	5	5	
	S	0	0	0	0	0	
	B	0	0	0	0	0	
	C	0	0	0	0	0	
	R	0	0	0	0	0	
W	0	0	0	0	0		
Defecation ^{a)}	V	0	0	0	0	0	
	ST	0	0	0	0	0	
	T	0	0	0	0	0	
Defecation ^{a)}		0.0 ± 0.0	0.2 ± 0.4	0.4 ± 0.9	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Urination ^{a)}		1.4 ± 1.7	1.8 ± 3.5	1.8 ± 1.9	0.8 ± 1.3	0.0 ± 0.0	0.6 ± 1.3

a): (count/min, mean±S.D.)

* : significantly different from vehicle control at p<0.05

** : significantly different from vehicle control at p<0.01

Table 2-2 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
Summary of detailed clinical observations

Male		Dosing week 2			Dosing week 3		
Dose (mg/kg/day)		0	20	100	0	20	100
Number of animals		5	5	5	5	5	5
Removal from cage	Ease of removal	-2 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		-1 2	1 1	2 2	3 3	2 2	2 2
		0 3	4 4	3 3	2 2	2 2	3 3
		+1 0	0 0	0 0	0 0	1 1	0 0
		+2 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
Vocalization		0 4	3 3	5 5	5 5	5 5	5 5
		+1 1	2 2	0 0	0 0	0 0	0 0
		+2 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		-1 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		0 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5
Muscle tone		+1 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		- 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5
		+ 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		- 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5
		+ 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
Subnormal temperature		- 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5
		+ 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		- 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5
		+ 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		- 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5
Piloerection		+ 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		- 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5
		+ 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		- 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5
		+ 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
Staining hair		- 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5
		+ 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		- 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5
		+ 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		- 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5
Unkempt hair		+ 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		- 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5
		+ 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		- 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5
		+ 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
Paleness		- 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5
		+ 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		- 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5
		+ 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		- 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5
Reddening		+ 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		- 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5
		+ 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		- 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5
		+ 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
Cyanosis		- 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5
		+ 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		- 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5
		+ 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		- 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5
Lacrimation		+ 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		- 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5
		+ 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		- 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5
		+ 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
Exophthalmos		- 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5
		+ 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		-1 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		0 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5
		+1 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
Pupillary size		- 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5
		+ 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		- 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5
		+ 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		- 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5
Salivation		+ 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		- 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5
		+ 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		- 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5
		+ 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
Secretion		- 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5
		+ 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		0 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5
		+1 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		+2 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
Posture		-2 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		-1 0	0 0	1 1	0 0	0 0	0 0
		0 5	5 5	4 4	4 4	4 4	5 5
		+1 0	0 0	0 0	1 1	1 1	0 0
		+2 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
Motor activity		0 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5
		+1 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		+2 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		- 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5
		+1 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
Respiration		+2 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		+3 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		- 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5
		+ 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		- 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5
Lid closure		S 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		T 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		P 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		GD 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		0 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5
Tremor/twitch/convulsion		+1 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		+2 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		+3 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		- 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5
		C 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
Stereotypic behavior		G 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		S 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		H 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		- 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5
		S 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
Abnormal behavior		B 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		C 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		R 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		W 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		V 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		ST 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		T 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
		Defecation ^{a)}	0.0 ± 0.0	1.0 ± 1.4	0.6 ± 0.5	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	Urination ^{a)}	1.0 ± 1.2	3.4 ± 4.0	2.2 ± 3.3	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	1.6 ± 2.3

a): (count/min, mean±S.D.)

* : significantly different from vehicle control at p<0.05

** : significantly different from vehicle control at p<0.01

Table 2-3 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
Summary of detailed clinical observations

Male		Dose (mg/kg/day)	Dosing week 4		
			0	20	100
Number of animals			5	5	5
Removal from cage		-2	0	0	0
	Ease of removal	-1	0	2	0
		0	5	3	5
		+1	0	0	0
	+2	0	0	0	
Vocalization		0	4	4	5
	+1	1	1	0	
	+2	0	0	0	
Muscle tone		-1	0	0	0
	0	5	5	5	
	+1	0	0	0	
Subnormal temperature		-	5	5	5
	+	0	0	0	
Piloerection		-	5	5	5
	+	0	0	0	
Staining hair		-	5	5	5
	+	0	0	0	
Unkempt hair		-	5	5	5
	+	0	0	0	
Paleness		-	5	5	5
	+	0	0	0	
Reddening		-	5	5	5
	+	0	0	0	
Cyanosis		-	5	5	5
	+	0	0	0	
Lacrimation		-	5	5	5
	+	0	0	0	
Exophthalmos		-	5	5	5
	+	0	0	0	
Pupillary size		-1	0	0	0
	0	5	5	5	
	+1	0	0	0	
Salivation		-	5	5	4
	+	0	0	1	
Secretion		-	5	5	5
	+	0	0	0	
Posture		0	5	5	5
	+1	0	0	0	
	+2	0	0	0	
Motor activity		-2	0	0	0
		-1	0	0	0
	0	5	5	5	
	+1	0	0	0	
	+2	0	0	0	
Respiration		0	5	5	5
	+1	0	0	0	
	+2	0	0	0	
	+3	0	0	0	
Lid closure		-	5	5	5
	+	0	0	0	
Gait		-	5	5	5
	S	0	0	0	
	T	0	0	0	
	P	0	0	0	
	GD	0	0	0	
Tremor/ twitch/ convulsion		0	5	5	5
	+1	0	0	0	
	+2	0	0	0	
	+3	0	0	0	
Stereotypic behavior		-	5	5	5
	C	0	0	0	
	G	0	0	0	
	S	0	0	0	
	H	0	0	0	
Abnormal behavior		-	5	5	5
	S	0	0	0	
	B	0	0	0	
	C	0	0	0	
	R	0	0	0	
	W	0	0	0	
	ST	0	0	0	
T	0	0	0		
Defecation ^{a)}		0.4 ± 0.9	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	
Urination ^{a)}		0.8 ± 1.3	0.0 ± 0.0	1.0 ± 2.2	

a): (count/min, mean±S.D.)

* : significantly different from vehicle control at p<0.05

** : significantly different from vehicle control at p<0.01

Table 3 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
Summary of functional observations

Male		Dosing week 4			
		Dose (mg/kg/day)	0	20	100
Number of animals			5	5	5
Sensorimotor function	Approach contact/ touch response	-1	0	0	0
		0	5	5	5
		+1	0	0	0
	Pinna response	-1	0	0	0
		0	5	5	5
		+1	0	0	0
	Pain response (tail pinch)	-1	0	0	0
		0	5	5	5
		+1	0	0	0
	Pupillary reflex	+	5	5	5
		-	0	0	0
	Air righting reflex	+	5	5	5
-		0	0	0	
Grip strength	Forelimb (g)	406 ± 101	348 ± 88	437 ± 55	
	Hindlimb (g)	556 ± 30	534 ± 46	587 ± 107	
Motor activity [Interval]	0-10 (min)	205 ± 33	201 ± 98	215 ± 75	
	10-20 (min)	103 ± 66	146 ± 33	141 ± 60	
	20-30 (min)	84 ± 53	82 ± 32	82 ± 54	
	30-40 (min)	72 ± 62	47 ± 33	44 ± 46	
	40-50 (min)	46 ± 56	42 ± 48	26 ± 28	
	50-60 (min)	41 ± 25	36 ± 25	62 ± 68	
	Total	550 ± 240	554 ± 118	571 ± 283	

"Approach contact/touch response", "Pinna response" and "Pain response";

-1: no reaction, 0: normal, +1: hyper reaction

"Pupillary reflex" and "Air righting reflex"; +: normal, -: abnormal reaction

"Grip strength" and "Motor activity": mean ± S.D.

* : significantly different from vehicle control at p<0.05

** : significantly different from vehicle control at p<0.01

Table 4 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
Summary of body weights (g) : Male

		Dose		
		0	20	100
		(mg/kg/day)		
Administration period (day)	1	146.10 ±6.08 (17)	146.05 ±4.39 (17)	145.51 ±5.29 (17)
	3	165.32 ±7.42 (13)	160.39 ±5.06 (13)	159.15 * ±7.17 (13)
	7	202.83 ±11.17 (13)	195.90 ±7.43 (13)	195.88 ±10.87 (13)
	14	263.03 ±19.19 (9)	253.00 ±17.95 (9)	256.10 ±15.15 (9)
	21	316.78 ±31.43 (5)	292.66 ±19.54 (5)	309.82 ±12.50 (5)
	28	359.32 ±35.10 (5)	325.96 ±24.53 (5)	350.74 ±15.26 (5)

Values are shown as Mean ± S.D..

Figure(s) in parentheses indicate number of animals used for the statistical analysis.

* Significantly different from vehicle control at P<0.05.

** Significantly different from vehicle control at P<0.01.

Table 5 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
Summary of food consumption (g/rat/day) : male

B10-0108

Sex	Dose (mg/kg/day)			
		0	20	100
Administration period (day)	1	19.13 ± 1.46 (13)	18.90 ± 1.27 (13)	18.99 ± 1.49 (13)
	3	20.60 ± 1.73 (13)	19.04 * ± 1.07 (13)	19.14 * ± 1.50 (13)
	7	22.43 ± 2.09 (13)	21.47 ± 1.23 (13)	22.37 ± 1.62 (13)
	14	22.84 ± 2.82 (9)	22.32 ± 2.40 (9)	23.66 ± 2.06 (9)
	21	23.19 ± 4.01 (5)	21.72 ± 2.08 (5)	24.57 ± 2.04 (5)
	28	23.12 ± 3.41 (5)	21.17 ± 2.83 (5)	24.40 ± 1.53 (5)

Values are shown as Mean ± S.D..

Figure(s) in parentheses indicate number of animals used for the statistical analysis.

* Significantly different from vehicle control at P<0.05.

** Significantly different from vehicle control at P<0.01.

Table 6-1 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
Summary of urinalyses:Male

Items	Dose (mg/kg/day)	Twenty-eight-day treatment		
		0	20	100
Urine volume	(mL)	14.2 ±8.3 (5)	10.2 ±6.2 (5)	8.4 ±4.7 (5)
Uosm	(mOsm/L)	859.8 ±839.3 (5)	877.8 ±352.0 (5)	1154.6 ±658.5 (5)

Values are shown as Mean ± S.D..

Figure(s) in parentheses indicate number of animals used for the statistical analysis.

* Significantly different from vehicle control at P<0.05.

** Significantly different from vehicle control at P<0.01.

Table 6-2

Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
Summary of urinalyses: Male

B10-0108

Items	Group	Twenty-eight-day treatment		
	Dose (mg/kg/day)	0	20	100
	No. of animals	5	5	5
Color				
	SY	3	1	1
	Y	1	4	3
	YB	1	0	1
Turbidity				
	Clear	5	5	5
pH				
	6.0	0	1	2
	6.5	5	4	3
Protein				
	±	2	3	1
	1+	2	2	3
	2+	1	0	1
Glucose				
	-	5	5	5
Ketones				
	-	3	1	3
	±	2	4	2
Occult blood				
	-	4	5	4
	±	0	0	1
	2+	1	0	0

Color: SY: Slightly yellow, Y: Yellow, YB: Yellow-brown.

Table 6-3

Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
Summary of urinalyses: Male

B10-0108

Items	Group	Twenty-eight-day treatment		
	Dose (mg/kg/day)	0	20	100
	No. of animals	5	0	5
Urinary sediment				
Red blood cells ^{a)}				
	0	5	---	5
White blood cells ^{a)}				
	0	5	---	5
Epithelial cells ^{a)}				
	0	5	---	4
	1-5	0	---	1
Casts ^{b)}				
	0	5	---	5
Crystals ^{c)}				
	-	1	---	3
	±	3	---	0
	1+	0	---	1
	2+	1	---	1

^{a)}: Number of cells/10views(×400).^{b)}: Number of casts/18×18 mm².^{c)}: Incidence of crystals/18×18 mm².

---: Not examined.

Table 7-1 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
Summary of hematological examinations:Male

Items	Dose (mg/kg/day)	One-day treatment		
		0	20	100
RBC	($\times 10^4/\mu\text{L}$)	727.5 ± 106.5 (4)	779.0 ± 89.3 (4)	738.0 ± 85.9 (4)
Hb	(g/dL)	15.18 ± 2.43 (4)	16.38 ± 2.24 (4)	15.85 ± 1.99 (4)
Ht	(%)	51.30 ± 9.31 (4)	56.30 ± 8.68 (4)	54.23 ± 7.27 (4)
MCV	(fL)	70.23 ± 2.42 (4)	72.05 ± 3.03 (4)	73.35 ± 1.75 (4)
MCH	(pg)	20.80 ± 0.42 (4)	21.00 ± 0.67 (4)	21.43 ± 0.32 (4)
MCHC	(g/dL)	29.60 ± 0.57 (4)	29.13 ± 0.53 (4)	29.25 ± 0.31 (4)
Platelet	($\times 10^4/\mu\text{L}$)	141.55 ± 32.17 (4)	128.45 ± 42.42 (4)	134.00 ± 19.25 (4)
Reticulo	(%)	11.93 ± 2.03 (4)	12.20 ± 1.03 (4)	12.08 ± 1.75 (4)
WBC	($\times 10^2/\mu\text{L}$)	67.75 ± 13.32 (4)	97.38 * ± 9.68 (4)	89.48 ± 16.61 (4)
Differentiation of leukocyte				
Neutro	(%)	14.20 ± 6.86 (4)	9.85 ± 1.48 (4)	13.78 ± 2.00 (4)
Lymph	(%)	80.38 ± 7.28 (4)	84.38 ± 1.20 (4)	78.58 ± 1.71 (4)
Eosino	(%)	0.80 ± 0.70 (4)	0.53 ± 0.10 (4)	0.43 ± 0.13 (4)
Baso	(%)	1.03 ± 0.66 (4)	1.35 ± 0.60 (4)	1.80 ± 0.67 (4)
Mono	(%)	3.05 ± 0.45 (4)	3.00 ± 0.59 (4)	4.63 ± 1.52 (4)
LUC	(%)	0.58 ± 0.13 (4)	0.90 ± 0.24 (4)	0.83 ± 0.26 (4)

Values are shown as Mean \pm S.D..

Figure(s) in parentheses indicate number of animals used for the statistical analysis.

* Significantly different from vehicle control at $P < 0.05$.

** Significantly different from vehicle control at $P < 0.01$.

Table 7-2 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
Summary of hematological examinations:Male

Items	Dose (mg/kg/day)	Seven-day treatment		
		0	20	100
RBC	($\times 10^4/\mu\text{L}$)	753.3 ± 79.3 (4)	740.8 ± 61.1 (4)	753.3 ± 35.7 (4)
Hb	(g/dL)	15.60 ± 1.43 (4)	15.15 ± 1.28 (4)	15.23 ± 0.74 (4)
Ht	(%)	51.93 ± 5.26 (4)	50.68 ± 5.03 (4)	51.03 ± 3.22 (4)
MCV	(fL)	68.98 ± 0.46 (4)	68.35 ± 1.38 (4)	67.70 ± 2.30 (4)
MCH	(pg)	20.73 ± 0.51 (4)	20.48 ± 0.17 (4)	20.23 ± 0.67 (4)
MCHC	(g/dL)	30.08 ± 0.54 (4)	29.95 ± 0.68 (4)	29.85 ± 0.56 (4)
Platelet	($\times 10^4/\mu\text{L}$)	132.65 ± 21.32 (4)	117.10 ± 28.02 (4)	114.48 ± 8.91 (4)
Reticulo	(%)	9.38 ± 0.59 (4)	8.33 ± 1.62 (4)	7.93 ± 1.22 (4)
WBC	($\times 10^2/\mu\text{L}$)	93.10 ± 16.79 (4)	112.00 ± 17.85 (4)	118.53 ± 15.14 (4)
Differentiation of leukocyte				
Neutro	(%)	14.58 ± 3.07 (4)	15.23 ± 2.40 (4)	15.15 ± 4.31 (4)
Lymph	(%)	79.03 ± 3.47 (4)	77.75 ± 1.12 (4)	78.75 ± 4.05 (4)
Eosino	(%)	0.78 ± 0.17 (4)	0.50 ± 0.29 (4)	0.60 ± 0.22 (4)
Baso	(%)	1.35 ± 0.37 (4)	1.25 ± 0.31 (4)	1.18 ± 0.28 (4)
Mono	(%)	3.53 ± 0.30 (4)	4.18 ± 0.90 (4)	3.45 ± 0.58 (4)
LUC	(%)	0.78 ± 0.15 (4)	1.03 ± 0.32 (4)	0.88 ± 0.21 (4)

Values are shown as Mean \pm S.D..

Figure(s) in parentheses indicate number of animals used for the statistical analysis.

* Significantly different from vehicle control at $P < 0.05$.

** Significantly different from vehicle control at $P < 0.01$.

Table 7-3 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
Summary of hematological examinations: Male

Items	Dose (mg/kg/day)	Fourteen-day treatment		
		0	20	100
RBC	($\times 10^4/\mu\text{L}$)	720.0 ± 46.3 (4)	732.0 ± 21.4 (4)	737.5 ± 32.1 (4)
Hb	(g/dL)	14.95 ± 0.66 (4)	14.95 ± 0.29 (4)	14.68 ± 0.85 (4)
Ht	(%)	48.58 ± 2.23 (4)	49.53 ± 1.25 (4)	48.48 ± 2.68 (4)
MCV	(fL)	67.58 ± 2.26 (4)	67.68 ± 2.40 (4)	65.70 ± 1.50 (4)
MCH	(pg)	20.78 ± 0.65 (4)	20.48 ± 0.62 (4)	19.90 ± 0.47 (4)
MCHC	(g/dL)	30.78 ± 0.29 (4)	30.23 ** ± 0.17 (4)	30.28 * ± 0.15 (4)
Platelet	($\times 10^4/\mu\text{L}$)	149.80 ± 4.00 (4)	139.13 ± 20.61 (4)	139.13 ± 13.27 (4)
Reticulo	(%)	6.13 ± 1.07 (4)	6.63 ± 1.22 (4)	6.13 ± 0.61 (4)
WBC	($\times 10^2/\mu\text{L}$)	142.73 ± 12.25 (4)	123.25 ± 33.94 (4)	134.78 ± 17.03 (4)
Differentiation of leukocyte				
Neutro	(%)	18.45 ± 3.40 (4)	16.35 ± 6.01 (4)	13.73 ± 3.58 (4)
Lymph	(%)	76.30 ± 3.18 (4)	76.83 ± 7.53 (4)	81.10 ± 4.14 (4)
Eosino	(%)	0.48 ± 0.17 (4)	0.55 ± 0.06 (4)	0.50 ± 0.16 (4)
Baso	(%)	0.98 ± 0.13 (4)	1.03 ± 0.17 (4)	1.08 ± 0.25 (4)
Mono	(%)	2.95 ± 0.37 (4)	4.40 ± 1.96 (4)	2.83 ± 0.97 (4)
LUC	(%)	0.80 ± 0.12 (4)	0.93 ± 0.22 (4)	0.75 ± 0.19 (4)

Values are shown as Mean \pm S.D..

Figure(s) in parentheses indicate number of animals used for the statistical analysis.

* Significantly different from vehicle control at $P < 0.05$.

** Significantly different from vehicle control at $P < 0.01$.

Table 7-4 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
Summary of hematological examinations: Male

Items	Dose (mg/kg/day)	Twenty-eight-day treatment		
		0	20	100
RBC	($\times 10^6/\mu\text{L}$)	765.6 ± 50.2 (5)	820.0 ± 24.5 (5)	783.2 ± 57.6 (5)
Hb	(g/dL)	15.04 ± 0.74 (5)	15.52 ± 0.30 (5)	14.40 ± 0.62 (5)
Ht	(%)	47.92 ± 2.14 (5)	49.06 ± 1.13 (5)	46.26 ± 1.86 (5)
MCV	(fL)	62.66 ± 1.75 (5)	59.86 ± 1.53 (5)	59.24 * ± 2.68 (5)
MCH	(pg)	19.66 ± 0.52 (5)	18.90 ± 0.34 (5)	18.48 * ± 0.78 (5)
MCHC	(g/dL)	31.36 ± 0.23 (5)	31.62 ± 0.33 (5)	31.22 ± 0.31 (5)
Platelet	($\times 10^4/\mu\text{L}$)	134.30 ± 8.30 (5)	127.82 ± 7.47 (5)	123.76 ± 18.46 (5)
Reticulo	(%)	3.20 ± 0.62 (5)	2.92 ± 0.18 (5)	3.38 ± 0.70 (5)
WBC	($\times 10^2/\mu\text{L}$)	141.56 ± 43.71 (5)	116.78 ± 35.44 (5)	127.86 ± 20.40 (5)
Differentiation of leukocyte				
Neutro	(%)	18.42 ± 5.21 (5)	14.88 ± 2.85 (5)	19.54 ± 3.23 (5)
Lymph	(%)	76.54 ± 5.44 (5)	80.32 ± 2.53 (5)	74.66 ± 4.31 (5)
Eosino	(%)	0.50 ± 0.12 (5)	0.50 ± 0.20 (5)	0.40 ± 0.16 (5)
Baso	(%)	0.92 ± 0.19 (5)	0.86 ± 0.13 (5)	1.02 ± 0.26 (5)
Mono	(%)	2.76 ± 0.84 (5)	2.56 ± 0.49 (5)	3.44 ± 1.79 (5)
LUC	(%)	0.90 ± 0.17 (5)	0.84 ± 0.19 (5)	0.92 ± 0.28 (5)
PT	(sec)	14.94 ± 0.50 (5)	19.16 ** ± 2.32 (5)	16.66 ± 2.01 (5)
APTT	(sec)	17.44 ± 1.77 (5)	21.66 * ± 2.28 (5)	16.08 ± 2.22 (5)

Values are shown as Mean \pm S.D..

Figure(s) in parentheses indicate number of animals used for the statistical analysis.

* Significantly different from vehicle control at $P < 0.05$.

** Significantly different from vehicle control at $P < 0.01$.

Table 8-1 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
Summary of blood chemical examinations:Male

Items	Dose (mg/kg/day)	One-day treatment		
		0	20	100
AST	(IU/L)	99.8 ±13.6 (4)	94.8 ±10.2 (4)	113.0 ±15.3 (4)
ALT	(IU/L)	32.3 ±7.5 (4)	32.5 ±4.7 (4)	45.8 ±12.2 (4)
ALP	(IU/L)	895.8 ±200.1 (4)	955.5 ±204.7 (4)	1223.5 ±203.9 (4)
BUN	(mg/dL)	12.13 ±3.28 (4)	11.60 ±0.72 (4)	13.68 ±1.80 (4)
Creatinine	(mg/dL)	0.133 ±0.025 (4)	0.110 ±0.041 (4)	0.138 ±0.013 (4)
T-Bil	(mg/dL)	0.070 ±0.024 (4)	0.078 ±0.013 (4)	0.095 ±0.017 (4)

Values are shown as Mean ± S.D..

Figure(s) in parentheses indicate number of animals used for the statistical analysis.

* Significantly different from vehicle control at P<0.05.

** Significantly different from vehicle control at P<0.01.

Table 8-2 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
Summary of blood chemical examinations: Male

Items	Dose (mg/kg/day)	Seven-day treatment		
		0	20	100
AST	(IU/L)	86.0 ±9.6 (4)	102.5 ±30.8 (4)	232.5 ** ±41.4 (4)
ALT	(IU/L)	34.8 ±5.1 (4)	40.3 ±12.8 (4)	101.5 * ±34.8 (4)
ALP	(IU/L)	879.8 ±187.9 (4)	836.3 ±84.9 (4)	1103.3 ±174.3 (4)
BUN	(mg/dL)	11.10 ±1.83 (4)	11.03 ±1.66 (4)	13.85 ±3.41 (4)
Creatinine	(mg/dL)	0.173 ±0.015 (4)	0.180 ±0.008 (4)	0.190 ±0.022 (4)
T-Bil	(mg/dL)	0.068 ±0.013 (4)	0.070 ±0.014 (4)	0.093 ±0.015 (4)

Values are shown as Mean ± S.D..

Figure(s) in parentheses indicate number of animals used for the statistical analysis.

* Significantly different from vehicle control at P<0.05.

** Significantly different from vehicle control at P<0.01.

Table 8-3 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
Summary of blood chemical examinations:Male

Items	Dose (mg/kg/day)	Fourteen-day treatment		
		0	20	100
AST	(IU/L)	68.3 ±6.2 (4)	82.8 ±10.0 (4)	220.5 ** ±53.2 (4)
ALT	(IU/L)	24.8 ±3.1 (4)	30.8 ±5.9 (4)	121.8 ** ±29.5 (4)
ALP	(IU/L)	762.5 ±110.0 (4)	897.5 ±269.1 (4)	1082.0 ±115.2 (4)
BUN	(mg/dL)	10.43 ±0.95 (4)	9.63 ±1.74 (4)	12.98 ±2.43 (4)
Creatinine	(mg/dL)	0.195 ±0.013 (4)	0.195 ±0.013 (4)	0.230 * ±0.018 (4)
T-Bil	(mg/dL)	0.050 ±0.012 (4)	0.053 ±0.017 (4)	0.083 * ±0.010 (4)

Values are shown as Mean ± S.D..

Figure(s) in parentheses indicate number of animals used for the statistical analysis.

* Significantly different from vehicle control at P<0.05.

** Significantly different from vehicle control at P<0.01.

Table 8-4 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
Summary of blood chemical examinations:Male

Items	Dose (mg/kg/day)	Twenty-eight-day treatment		
		0	20	100
AST	(IU/L)	68.0 ±12.1 (5)	67.2 ±16.1 (5)	214.2 * ±83.6 (5)
ALT	(IU/L)	28.2 ±14.7 (5)	27.2 ±7.7 (5)	190.8 ** ±109.1 (5)
ALP	(IU/L)	618.0 ±92.8 (5)	463.2 ±60.1 (5)	621.4 ±180.8 (5)
ChE	(IU/L)	64.2 ±15.4 (5)	42.4 ±16.7 (5)	46.2 ±9.5 (5)
γ-GTP	(IU/L)	0.84 ±0.36 (5)	0.64 ±0.17 (5)	1.20 ±0.40 (5)
T-Cho	(mg/dL)	63.6 ±7.4 (5)	42.4 ** ±5.9 (5)	43.8 ** ±12.6 (5)
TG	(mg/dL)	69.0 ±25.9 (5)	52.0 ±19.1 (5)	52.2 ±14.5 (5)
BUN	(mg/dL)	10.76 ±1.55 (5)	11.22 ±1.19 (5)	15.10 * ±3.29 (5)
Creatinine	(mg/dL)	0.242 ±0.028 (5)	0.208 ±0.022 (5)	0.262 ±0.075 (5)
T-Protein	(g/dL)	5.80 ±0.65 (5)	4.22 ±2.30 (5)	5.36 ±0.63 (5)
Albumin	(g/dL)	2.58 ±0.29 (5)	2.38 ±0.23 (5)	2.48 ±0.33 (5)
A/G ratio	(-)	0.800 ±0.026 (5)	0.450 ±0.861 (5)	0.860 ±0.052 (5)
Glucose	(mg/dL)	152.6 ±48.7 (5)	119.2 ±19.8 (5)	118.0 ±14.2 (5)
T-Bil	(mg/dL)	0.054 ±0.015 (5)	0.040 ±0.012 (5)	0.062 ±0.008 (5)
TBA	(μmol/L)	43.40 ±22.76 (5)	22.64 ±14.04 (5)	37.68 ±24.98 (5)
IP	(mg/dL)	11.14 ±0.79 (5)	10.68 ±0.95 (5)	11.54 ±1.55 (5)
Ca	(mg/dL)	11.10 ±1.18 (5)	10.24 ±0.84 (5)	11.00 ±1.34 (5)
Na	(mEq/L)	148.0 ±1.0 (5)	149.4 ±1.1 (5)	147.2 ±1.9 (5)
K	(mEq/L)	7.54 ±0.36 (5)	7.66 ±0.38 (5)	7.96 ±0.30 (5)
Cl	(mEq/L)	105.00 ±2.27 (5)	105.32 ±1.03 (5)	104.76 ±0.68 (5)

Values are shown as Mean ± S.D..

Figure(s) in parentheses indicate number of animals used for the statistical analysis.

* Significantly different from vehicle control at P<0.05.

** Significantly different from vehicle control at P<0.01.

Table 9-1 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
Summary of absolute organ weights:Male

Items	Dose (mg/kg/day)	One-day treatment		
		0	20	100
Liver	(g)	4.448 ±0.172 (4)	4.743 ±0.335 (4)	5.233 ** ±0.110 (4)
Heart	(g)	0.638 ±0.039 (4)	0.648 ±0.051 (4)	0.630 ±0.012 (4)
Kidney(R)	(g)	0.653 ±0.043 (4)	0.680 ±0.042 (4)	0.645 ±0.083 (4)
Kidney(L)	(g)	0.628 ±0.046 (4)	0.663 ±0.022 (4)	0.640 ±0.088 (4)
Kidneys	(g)	1.280 ±0.090 (4)	1.343 ±0.059 (4)	1.285 ±0.170 (4)
Testis(R)	(g)	0.590 ±0.041 (4)	0.688 ±0.080 (4)	0.665 ±0.049 (4)
Testis(L)	(g)	0.593 ±0.067 (4)	0.680 ±0.067 (4)	0.648 ±0.033 (4)
Testes	(g)	1.183 ±0.107 (4)	1.368 ±0.147 (4)	1.313 ±0.081 (4)
Epididymis(R)	(g)	0.068 ±0.013 (4)	0.085 ±0.006 (4)	0.090 ±0.022 (4)
Epididymis(L)	(g)	0.065 ±0.013 (4)	0.085 ±0.017 (4)	0.080 ±0.020 (4)
Epididymides	(g)	0.133 ±0.025 (4)	0.170 ±0.022 (4)	0.170 ±0.041 (4)
Ventral prostate	(g)	0.060 ±0.018 (4)	0.088 * ±0.013 (4)	0.080 ±0.008 (4)
Dorsolateral prostate	(g)	0.053 ±0.029 (4)	0.065 ±0.013 (4)	0.050 ±0.008 (4)
Brain	(g)	1.748 ±0.060 (4)	1.780 ±0.093 (4)	1.733 ±0.086 (4)
Spleen	(g)	0.365 ±0.054 (4)	0.410 ±0.045 (4)	0.418 ±0.068 (4)
Thymus	(mg)	467.58 ±133.94 (4)	515.93 ±95.84 (4)	467.90 ±98.75 (4)
Pituitary gland	(mg)	5.38 ±0.57 (4)	5.50 ±0.22 (4)	5.23 ±0.56 (4)
Thyroid	(mg)	16.05 ±2.85 (4)	14.48 ±1.74 (4)	12.70 ±2.37 (4)
Adrenals	(mg)	31.25 ±5.39 (4)	27.85 ±2.34 (4)	27.33 ±3.94 (4)
Final body weight	(g)	123.63 ±7.46 (4)	126.50 ±5.05 (4)	128.28 ±5.13 (4)

Values are shown as Mean ± S.D..

Figure(s) in parentheses indicate number of animals used for the statistical analysis.

* Significantly different from vehicle control at P<0.05.

** Significantly different from vehicle control at P<0.01.

Table 9-2 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
Summary of absolute organ weights:Male

Items	Dose (mg/kg/day)	Seven-day treatment		
		0	20	100
Liver	(g)	6.330 ±0.508 (4)	7.323 * ±0.655 (4)	8.660 ** ±0.380 (4)
Heart	(g)	0.843 ±0.039 (4)	0.745 * ±0.044 (4)	0.828 ±0.066 (4)
Kidney(R)	(g)	0.845 ±0.071 (4)	0.830 ±0.042 (4)	0.830 ±0.041 (4)
Kidney(L)	(g)	0.810 ±0.055 (4)	0.778 ±0.025 (4)	0.833 ±0.026 (4)
Kidneys	(g)	1.655 ±0.123 (4)	1.608 ±0.043 (4)	1.663 ±0.055 (4)
Testis(R)	(g)	0.923 ±0.056 (4)	0.900 ±0.029 (4)	0.933 ±0.054 (4)
Testis(L)	(g)	0.920 ±0.058 (4)	0.890 ±0.033 (4)	0.918 ±0.069 (4)
Testes	(g)	1.843 ±0.111 (4)	1.790 ±0.047 (4)	1.850 ±0.117 (4)
Epididymis(R)	(g)	0.113 ±0.005 (4)	0.118 ±0.005 (4)	0.120 ±0.016 (4)
Epididymis(L)	(g)	0.118 ±0.017 (4)	0.123 ±0.015 (4)	0.113 ±0.017 (4)
Epididymides	(g)	0.230 ±0.022 (4)	0.240 ±0.014 (4)	0.233 ±0.033 (4)
Ventral prostate	(g)	0.120 ±0.018 (4)	0.145 ±0.021 (4)	0.113 ±0.025 (4)
Dorsolateral prostate	(g)	0.088 ±0.021 (4)	0.090 ±0.018 (4)	0.070 ±0.012 (4)
Brain	(g)	1.820 ±0.016 (4)	1.730 * ±0.069 (4)	1.820 ±0.008 (4)
Spleen	(g)	0.545 ±0.134 (4)	0.505 ±0.037 (4)	0.440 ±0.028 (4)
Thymus	(mg)	671.78 ±155.76 (4)	548.88 ±52.90 (4)	552.75 ±113.66 (4)
Pituitary gland	(mg)	6.18 ±0.61 (4)	6.93 ±0.57 (4)	6.68 ±0.74 (4)
Thyroid	(mg)	15.75 ±1.57 (4)	14.18 ±1.41 (4)	12.15 * ±1.74 (4)
Adrenals	(mg)	36.68 ±7.34 (4)	36.43 ±2.14 (4)	32.35 ±3.16 (4)
Final body weight	(g)	177.33 ±6.58 (4)	171.55 ±5.44 (4)	175.20 ±8.58 (4)

Values are shown as Mean ± S.D..

Figure(s) in parentheses indicate number of animals used for the statistical analysis.

* Significantly different from vehicle control at P<0.05.

** Significantly different from vehicle control at P<0.01.

Table 9-3 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
Summary of absolute organ weights:Male

Items	Dose (mg/kg/day)	Fourteen-day treatment		
		0	20	100
Liver	(g)	8.505 ±0.711 (4)	10.260 ±0.361 (4)	11.440 * ±1.942 (4)
Heart	(g)	1.043 ±0.082 (4)	1.055 ±0.054 (4)	0.928 ±0.071 (4)
Kidney(R)	(g)	1.118 ±0.021 (4)	1.113 ±0.049 (4)	1.018 * ±0.074 (4)
Kidney(L)	(g)	1.070 ±0.042 (4)	1.083 ±0.029 (4)	0.963 ±0.093 (4)
Kidneys	(g)	2.188 ±0.056 (4)	2.195 ±0.067 (4)	1.980 * ±0.166 (4)
Testis(R)	(g)	1.203 ±0.074 (4)	1.245 ±0.064 (4)	1.218 ±0.078 (4)
Testis(L)	(g)	1.193 ±0.082 (4)	1.270 ±0.061 (4)	1.188 ±0.099 (4)
Testes	(g)	2.395 ±0.153 (4)	2.515 ±0.122 (4)	2.405 ±0.175 (4)
Epididymis(R)	(g)	0.183 ±0.030 (4)	0.178 ±0.015 (4)	0.188 ±0.033 (4)
Epididymis(L)	(g)	0.168 ±0.029 (4)	0.185 ±0.013 (4)	0.173 ±0.024 (4)
Epididymides	(g)	0.350 ±0.058 (4)	0.363 ±0.022 (4)	0.360 ±0.055 (4)
Ventral prostate	(g)	0.235 ±0.086 (4)	0.220 ±0.036 (4)	0.188 ±0.074 (4)
Dorsolateral prostate	(g)	0.183 ±0.059 (4)	0.150 ±0.024 (4)	0.140 ±0.036 (4)
Brain	(g)	1.910 ±0.037 (4)	1.903 ±0.071 (4)	1.935 ±0.166 (4)
Spleen	(g)	0.710 ±0.047 (4)	0.655 ±0.056 (4)	0.593 ** ±0.021 (4)
Thymus	(mg)	634.53 ±91.00 (4)	641.63 ±95.21 (4)	693.53 ±84.99 (4)
Pituitary gland	(mg)	9.15 ±1.26 (4)	10.05 ±1.45 (4)	8.40 ±1.83 (4)
Thyroid	(mg)	16.75 ±2.36 (4)	16.18 ±0.75 (4)	21.63 * ±2.98 (4)
Adrenals	(mg)	43.40 ±3.24 (4)	40.15 ±4.29 (4)	38.58 ±1.46 (4)
Final body weight	(g)	238.25 ±9.46 (4)	241.48 ±10.47 (4)	233.55 ±24.78 (4)

Values are shown as Mean ± S.D..

Figure(s) in parentheses indicate number of animals used for the statistical analysis.

* Significantly different from vehicle control at P<0.05.

** Significantly different from vehicle control at P<0.01.

Table 9-4 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
Summary of absolute organ weights:Male

Items	Dose (mg/kg/day)	Twenty-eight-day treatment		
		0	20	100
Liver	(g)	10.606 ±1.536 (5)	11.556 ±1.233 (5)	15.120 ** ±1.590 (5)
Heart	(g)	1.378 ±0.240 (5)	1.100 * ±0.105 (5)	1.188 ±0.095 (5)
Kidney(R)	(g)	1.328 ±0.152 (5)	1.220 ±0.122 (5)	1.244 ±0.123 (5)
Kidney(L)	(g)	1.322 ±0.181 (5)	1.214 ±0.116 (5)	1.226 ±0.112 (5)
Kidneys	(g)	2.650 ±0.331 (5)	2.434 ±0.238 (5)	2.470 ±0.233 (5)
Testis(R)	(g)	1.630 ±0.203 (5)	1.406 ±0.081 (5)	1.508 ±0.122 (5)
Testis(L)	(g)	1.658 ±0.177 (5)	1.382 * ±0.123 (5)	1.484 ±0.140 (5)
Testes	(g)	3.288 ±0.377 (5)	2.788 * ±0.203 (5)	2.992 ±0.258 (5)
Epididymis(R)	(g)	0.372 ±0.025 (5)	0.356 ±0.029 (5)	0.376 ±0.021 (5)
Epididymis(L)	(g)	0.364 ±0.023 (5)	0.336 ±0.013 (5)	0.368 ±0.016 (5)
Epididymides	(g)	0.736 ±0.045 (5)	0.692 ±0.039 (5)	0.744 ±0.031 (5)
Ventral prostate	(g)	0.384 ±0.083 (5)	0.386 ±0.126 (5)	0.326 ±0.045 (5)
Dorsolateral prostate	(g)	0.348 ±0.016 (5)	0.300 ±0.107 (5)	0.294 ±0.059 (5)
Seminal vesicle	(g)	1.094 ±0.095 (5)	0.916 * ±0.121 (5)	0.954 ±0.066 (5)
Brain	(g)	1.986 ±0.034 (5)	1.914 ±0.044 (5)	1.934 ±0.063 (5)
Spleen	(g)	0.726 ±0.209 (5)	0.606 ±0.069 (5)	0.676 ±0.079 (5)
Thymus	(mg)	568.50 ±109.40 (5)	563.14 ±94.92 (5)	473.88 ±72.86 (5)
Pituitary gland	(mg)	11.64 ±2.21 (5)	9.48 ±1.22 (5)	10.62 ±0.65 (5)
Thyroid	(mg)	14.96 ±1.61 (5)	16.20 ±2.06 (5)	14.04 ±3.69 (5)
Adrenals	(mg)	49.56 ±5.55 (5)	48.36 ±7.10 (5)	48.78 ±4.13 (5)
Final body weight	(g)	335.40 ±32.02 (5)	306.78 ±23.81 (5)	325.44 ±14.79 (5)

Values are shown as Mean ± S.D..

Figure(s) in parentheses indicate number of animals used for the statistical analysis.

* Significantly different from vehicle control at P<0.05.

** Significantly different from vehicle control at P<0.01.

Table 10-1 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
Summary of relative organ weights:Male

Items	Dose (mg/kg/day)	One-day treatment		
		0	20	100
Liver	(g/100g)	3.603 ±0.151 (4)	3.748 ±0.136 (4)	4.083 ** ±0.210 (4)
Heart	(g/100g)	0.515 ±0.019 (4)	0.510 ±0.024 (4)	0.493 ±0.026 (4)
Kidney(R)	(g/100g)	0.530 ±0.029 (4)	0.535 ±0.025 (4)	0.500 ±0.047 (4)
Kidney(L)	(g/100g)	0.505 ±0.029 (4)	0.523 ±0.030 (4)	0.500 ±0.056 (4)
Kidneys	(g/100g)	1.035 ±0.058 (4)	1.058 ±0.048 (4)	1.000 ±0.102 (4)
Testis(R)	(g/100g)	0.478 ±0.024 (4)	0.545 ±0.073 (4)	0.518 ±0.031 (4)
Testis(L)	(g/100g)	0.478 ±0.039 (4)	0.538 ±0.057 (4)	0.503 ±0.017 (4)
Testes	(g/100g)	0.955 ±0.057 (4)	1.083 ±0.130 (4)	1.020 ±0.047 (4)
Epididymis(R)	(g/100g)	0.053 ±0.010 (4)	0.068 ±0.005 (4)	0.070 ±0.014 (4)
Epididymis(L)	(g/100g)	0.053 ±0.010 (4)	0.068 ±0.017 (4)	0.063 ±0.019 (4)
Epididymides	(g/100g)	0.105 ±0.019 (4)	0.135 ±0.021 (4)	0.133 ±0.032 (4)
Ventral prostate	(g/100g)	0.048 ±0.010 (4)	0.068 * ±0.013 (4)	0.063 ±0.010 (4)
Dorsolateral prostate	(g/100g)	0.043 ±0.021 (4)	0.053 ±0.010 (4)	0.040 ±0.008 (4)
Brain	(g/100g)	1.420 ±0.091 (4)	1.413 ±0.096 (4)	1.350 ±0.051 (4)
Spleen	(g/100g)	0.295 ±0.029 (4)	0.325 ±0.039 (4)	0.323 ±0.041 (4)
Thymus	(mg/100g)	374.95 ±90.27 (4)	406.28 ±61.70 (4)	365.40 ±78.68 (4)
Pituitary gland	(mg/100g)	4.35 ±0.31 (4)	4.35 ±0.19 (4)	4.08 ±0.53 (4)
Thyroid	(mg/100g)	12.90 ±1.63 (4)	11.50 ±1.74 (4)	9.85 * ±1.55 (4)
Adrenals	(mg/100g)	25.25 ±3.92 (4)	22.00 ±1.94 (4)	21.33 ±3.20 (4)
Final body weight	(g)	123.63 ±7.46 (4)	126.50 ±5.05 (4)	128.28 ±5.13 (4)

Values are shown as Mean ± S.D..

Figure(s) in parentheses indicate number of animals used for the statistical analysis.

* Significantly different from vehicle control at P<0.05.

** Significantly different from vehicle control at P<0.01.

Table 10-2 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
Summary of relative organ weights:Male

Items	Dose (mg/kg/day)	Seven-day treatment		
		0	20	100
Liver	(g/100g)	3.565 ±0.181 (4)	4.268 * ±0.378 (4)	4.953 ** ±0.366 (4)
Heart	(g/100g)	0.475 ±0.017 (4)	0.433 ±0.022 (4)	0.470 ±0.029 (4)
Kidney(R)	(g/100g)	0.478 ±0.025 (4)	0.483 ±0.022 (4)	0.473 ±0.017 (4)
Kidney(L)	(g/100g)	0.458 ±0.015 (4)	0.455 ±0.017 (4)	0.478 ±0.019 (4)
Kidneys	(g/100g)	0.935 ±0.037 (4)	0.938 ±0.026 (4)	0.950 ±0.024 (4)
Testis(R)	(g/100g)	0.523 ±0.048 (4)	0.528 ±0.029 (4)	0.533 ±0.029 (4)
Testis(L)	(g/100g)	0.520 ±0.048 (4)	0.518 ±0.031 (4)	0.525 ±0.040 (4)
Testes	(g/100g)	1.043 ±0.095 (4)	1.045 ±0.055 (4)	1.058 ±0.066 (4)
Epididymis(R)	(g/100g)	0.065 ±0.006 (4)	0.068 ±0.005 (4)	0.070 ±0.008 (4)
Epididymis(L)	(g/100g)	0.068 ±0.013 (4)	0.070 ±0.008 (4)	0.065 ±0.010 (4)
Epididymides	(g/100g)	0.133 ±0.017 (4)	0.138 ±0.010 (4)	0.135 ±0.017 (4)
Ventral prostate	(g/100g)	0.068 ±0.010 (4)	0.085 ±0.013 (4)	0.068 ±0.013 (4)
Dorsolateral prostate	(g/100g)	0.048 ±0.010 (4)	0.053 ±0.010 (4)	0.040 ±0.008 (4)
Brain	(g/100g)	1.030 ±0.047 (4)	1.010 ±0.024 (4)	1.040 ±0.046 (4)
Spleen	(g/100g)	0.308 ±0.069 (4)	0.295 ±0.025 (4)	0.250 ±0.014 (4)
Thymus	(mg/100g)	379.35 ±88.28 (4)	320.80 ±39.86 (4)	317.23 ±72.74 (4)
Pituitary gland	(mg/100g)	3.48 ±0.29 (4)	4.03 * ±0.25 (4)	3.80 ±0.24 (4)
Thyroid	(mg/100g)	8.88 ±0.64 (4)	8.25 ±0.74 (4)	6.93 * ±0.96 (4)
Adrenals	(mg/100g)	20.63 ±3.56 (4)	21.20 ±0.78 (4)	18.48 ±1.67 (4)
Final body weight	(g)	177.33 ±6.58 (4)	171.55 ±5.44 (4)	175.20 ±8.58 (4)

Values are shown as Mean ± S.D..

Figure(s) in parentheses indicate number of animals used for the statistical analysis.

* Significantly different from vehicle control at P<0.05.

** Significantly different from vehicle control at P<0.01.

Table 10-3 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
Summary of relative organ weights:Male

Items	Dose (mg/kg/day)	Fourteen-day treatment		
		0	20	100
Liver	(g/100g)	3.563 ±0.178 (4)	4.250 ** ±0.091 (4)	4.878 ** ±0.381 (4)
Heart	(g/100g)	0.440 ±0.041 (4)	0.438 ±0.032 (4)	0.398 ±0.017 (4)
Kidney(R)	(g/100g)	0.470 ±0.024 (4)	0.463 ±0.005 (4)	0.435 ±0.031 (4)
Kidney(L)	(g/100g)	0.450 ±0.022 (4)	0.450 ±0.022 (4)	0.413 ±0.033 (4)
Kidneys	(g/100g)	0.920 ±0.043 (4)	0.913 ±0.022 (4)	0.848 ±0.062 (4)
Testis(R)	(g/100g)	0.505 ±0.044 (4)	0.515 ±0.019 (4)	0.528 ±0.064 (4)
Testis(L)	(g/100g)	0.503 ±0.043 (4)	0.525 ±0.013 (4)	0.513 ±0.056 (4)
Testes	(g/100g)	1.008 ±0.087 (4)	1.040 ±0.032 (4)	1.040 ±0.119 (4)
Epididymis(R)	(g/100g)	0.075 ±0.013 (4)	0.075 ±0.006 (4)	0.078 ±0.010 (4)
Epididymis(L)	(g/100g)	0.070 ±0.008 (4)	0.078 ±0.005 (4)	0.075 ±0.006 (4)
Epididymides	(g/100g)	0.145 ±0.021 (4)	0.153 ±0.010 (4)	0.153 ±0.015 (4)
Ventral prostate	(g/100g)	0.100 ±0.033 (4)	0.093 ±0.010 (4)	0.080 ±0.027 (4)
Dorsolateral prostate	(g/100g)	0.078 ±0.022 (4)	0.060 ±0.014 (4)	0.058 ±0.013 (4)
Brain	(g/100g)	0.803 ±0.037 (4)	0.788 ±0.010 (4)	0.835 ±0.109 (4)
Spleen	(g/100g)	0.300 ±0.008 (4)	0.273 ±0.021 (4)	0.258 * ±0.030 (4)
Thymus	(mg/100g)	266.83 ±41.28 (4)	266.18 ±41.15 (4)	297.65 ±29.28 (4)
Pituitary gland	(mg/100g)	3.83 ±0.43 (4)	4.15 ±0.48 (4)	3.55 ±0.41 (4)
Thyroid	(mg/100g)	7.00 ±0.73 (4)	6.70 ±0.45 (4)	9.35 * ±1.59 (4)
Adrenals	(mg/100g)	18.23 ±1.03 (4)	16.63 ±1.52 (4)	16.63 ±1.45 (4)
Final body weight	(g)	238.25 ±9.46 (4)	241.48 ±10.47 (4)	233.55 ±24.78 (4)

Values are shown as Mean ± S.D..

Figure(s) in parentheses indicate number of animals used for the statistical analysis.

* Significantly different from vehicle control at P<0.05.

** Significantly different from vehicle control at P<0.01.

Table 10-4 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
Summary of relative organ weights:Male

Items	Dose (mg/kg/day)	Twenty-eight-day treatment		
		0	20	100
Liver	(g/100g)	3.154 ±0.194 (5)	3.762 ** ±0.148 (5)	4.644 ** ±0.418 (5)
Heart	(g/100g)	0.408 ±0.031 (5)	0.358 * ±0.029 (5)	0.366 * ±0.013 (5)
Kidney(R)	(g/100g)	0.394 ±0.017 (5)	0.396 ±0.023 (5)	0.384 ±0.026 (5)
Kidney(L)	(g/100g)	0.394 ±0.021 (5)	0.396 ±0.023 (5)	0.378 ±0.022 (5)
Kidneys	(g/100g)	0.788 ±0.036 (5)	0.792 ±0.046 (5)	0.762 ±0.047 (5)
Testis(R)	(g/100g)	0.488 ±0.052 (5)	0.462 ±0.042 (5)	0.464 ±0.045 (5)
Testis(L)	(g/100g)	0.492 ±0.039 (5)	0.452 ±0.054 (5)	0.456 ±0.040 (5)
Testes	(g/100g)	0.980 ±0.090 (5)	0.914 ±0.094 (5)	0.920 ±0.084 (5)
Epididymis(R)	(g/100g)	0.110 ±0.007 (5)	0.118 ±0.011 (5)	0.114 ±0.005 (5)
Epididymis(L)	(g/100g)	0.110 ±0.007 (5)	0.108 ±0.008 (5)	0.114 ±0.005 (5)
Epididymides	(g/100g)	0.220 ±0.014 (5)	0.226 ±0.018 (5)	0.228 ±0.008 (5)
Ventral prostate	(g/100g)	0.114 ±0.017 (5)	0.122 ±0.031 (5)	0.100 ±0.019 (5)
Dorsolateral prostate	(g/100g)	0.102 ±0.008 (5)	0.100 ±0.045 (5)	0.090 ±0.020 (5)
Seminal vesicle	(g/100g)	0.326 ±0.017 (5)	0.302 ±0.054 (5)	0.294 ±0.023 (5)
Brain	(g/100g)	0.594 ±0.045 (5)	0.626 ±0.042 (5)	0.594 ±0.024 (5)
Spleen	(g/100g)	0.216 ±0.060 (5)	0.198 ±0.008 (5)	0.208 ±0.023 (5)
Thymus	(mg/100g)	169.48 ±29.18 (5)	183.42 ±25.86 (5)	145.22 ±18.14 (5)
Pituitary gland	(mg/100g)	3.46 ±0.46 (5)	3.08 ±0.19 (5)	3.28 ±0.31 (5)
Thyroid	(mg/100g)	4.46 ±0.32 (5)	5.28 ±0.58 (5)	4.32 ±0.98 (5)
Adrenals	(mg/100g)	14.76 ±0.84 (5)	15.72 ±1.55 (5)	15.02 ±1.54 (5)
Final body weight	(g)	335.40 ±32.02 (5)	306.78 ±23.81 (5)	325.44 ±14.79 (5)

Values are shown as Mean ± S.D..

Figure(s) in parentheses indicate number of animals used for the statistical analysis.

* Significantly different from vehicle control at P<0.05.

** Significantly different from vehicle control at P<0.01.

Table 11-1 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
 Summary of macroscopic examinations: One-day treatment

Findings	Male			(mg/kg/day)
	0	20	100	
	ss	ss	ss	
	4 ^{a)}	4	4	
No abnormalities detected	4	4	3	
Liver				
Enlargement	0	0	1	

ss: scheduled sacrifice animal.

a) Number of animals examined.

Table 11-2 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
 Summary of macroscopic examinations: Seven-day treatment

Findings	Male			(mg/kg/day)
	0	20	100	
	ss	ss	ss	
	4 ^{a)}	4	4	
No abnormalities detected	4	0	0	
Liver				
Accentuation of lobular structure	0	3	1	
Enlargement	0	1	4	
Pale	0	1	3	

ss: scheduled sacrifice animal.

a) Number of animals examined.

Table 11-3 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
 Summary of macroscopic examinations: Fourteen-day treatment

Findings	Male		
	0	20	100
	(mg/kg/day)		
	ss	ss	ss
	4 ^{a)}	4	4
No abnormalities detected	4	0	0
Liver			
Accentuation of lobular structure	0	4	1
Enlargement	0	0	3
Pale	0	0	3

ss: scheduled sacrifice animal.

a) Number of animals examined.

Table 11-4 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
 Summary of macroscopic examinations: Twenty-eight-day treatment

Findings	Male			(mg/kg/day)
	0	20	100	
	ss	ss	ss	
	5 ^{a)}	5	5	
No abnormalities detected	5	0	0	
Liver				
Accentuation of lobular structure	0	4	0	
Enlargement	0	3	5	
Pale	0	0	5	

ss: scheduled sacrifice animal.

a) Number of animals examined.

Table 12-1 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
Summary of histopathological examinations: One-day treatment

Findings	Grade	Male		
		0	20	100
		(mg/kg/day)		
		ss	ss	ss
		4 ^{a)}	4	4
Liver				
No abnormalities detected		3/4 ^{b)}	3/4	0/4
Degeneration, fatty/Hepatocyte/ Centrilobular	±	0/4	1/4	4/4
Degeneration, hydropic/Hepatocyte/ Centrilobular	±	0/4	0/4	1/4
Necrosis/Hepatocyte/Focal	+	1/4	0/4	1/4
Single cell necrosis/Hepatocyte/ Centrilobular	+	0/4	0/4	3/4
Kidney				
No abnormalities detected		3/4	---	4/4
Cyst/Subcapsule	+	1/4	---	0/4
Testis				
No abnormalities detected		4/4	---	4/4
Ventral prostate				
No abnormalities detected		4/4	---	4/4
Dorsolateral prostate				
No abnormalities detected		4/4	---	4/4
Bone marrow				
No abnormalities detected		4/4	---	4/4
Spleen				
No abnormalities detected		4/4	---	4/4
Thymus				
No abnormalities detected		4/4	---	4/4

ss: scheduled sacrifice animal.

a) Number of animals autopsied.

b) Number of animals affected / Number of animals examined.

---: Not examined.

±: very slight, +: slight.

Table 12-2 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
Summary of histopathological examinations: Seven-day treatment

Findings	Grade	Male		
		0	20	100
		(mg/kg/day)		
		ss	ss	ss
		4 ^{a)}	4	4
Liver				
No abnormalities detected		4/4 ^{b)}	0/4	0/4
Degeneration, fatty/Hepatocyte/ Centrilobular	±	0/4	1/4	0/4
	+	0/4	1/4	1/4
	++	0/4	2/4	3/4
Degeneration, hydropic/Hepatocyte/ Centrilobular	+	0/4	0/4	3/4
Microgranuloma	+	0/4	1/4	4/4
	++	0/4	3/4	0/4
Mitosis, increased	++	0/4	0/4	2/4
Necrosis/Hepatocyte/Focal	+	0/4	1/4	0/4
Kidney				
No abnormalities detected		3/4	---	4/4
Cyst/Subcapsule	+	1/4	---	0/4
Testis				
No abnormalities detected		4/4	---	4/4
Ventral prostate				
No abnormalities detected		4/4	---	4/4
Dorsolateral prostate				
No abnormalities detected		3/4	---	4/4
Cellular infiltration, lymphocyte	+	1/4	---	0/4
Bone marrow				
No abnormalities detected		4/4	---	4/4
Spleen				
No abnormalities detected		4/4	---	4/4
Thymus				
No abnormalities detected		4/4	---	4/4

ss: scheduled sacrifice animal.

a) Number of animals autopsied.

b) Number of animals affected / Number of animals examined.

---: Not examined.

±: very slight, +: slight, ++: moderate.

Table 12-3 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
Summary of histopathological examinations: Fourteen-day treatment

Findings	Grade	Male		
		0	20	100
		(mg/kg/day)		
		ss	ss	ss
		4 ^{a)}	4	4
Liver				
No abnormalities detected		3/4 ^{b)}	0/4	0/4
Degeneration, fatty/Hepatocyte/ Centrilobular	+	0/4	4/4	2/4
	++	0/4	0/4	2/4
Degeneration, hydropic/Hepatocyte/ Centrilobular	+	0/4	0/4	3/4
	++	0/4	0/4	1/4
Microgranuloma	+	1/4	2/4	2/4
	++	0/4	2/4	2/4
Mitosis, increased	+	0/4	1/4	3/4
	++	0/4	1/4	1/4
Necrosis/Hepatocyte/Focal	+	0/4	0/4	2/4
Kidney				
No abnormalities detected		4/4	---	4/4
Testis				
No abnormalities detected		4/4	---	4/4
Ventral prostate				
No abnormalities detected		4/4	---	4/4
Dorsolateral prostate				
No abnormalities detected		3/4	---	4/4
Cellular infiltration, lymphocyte	+	1/4	---	0/4
Bone marrow				
No abnormalities detected		4/4	---	4/4
Spleen				
No abnormalities detected		4/4	---	4/4
Thymus				
No abnormalities detected		4/4	---	4/4

ss: scheduled sacrifice animal.

a) Number of animals autopsied.

b) Number of animals affected / Number of animals examined.

---: Not examined.

+: slight, ++: moderate.

Table 12-4 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
Summary of histopathological examinations: Twenty-eight-day treatment

Findings	Grade	Male			(mg/kg/day)
		0	20	100	
		ss 5 ^{a)}	ss 5	ss 5	
Trachea					
No abnormalities detected		5/5 ^{b)}	---	5/5	
Lung					
No abnormalities detected		5/5	---	5/5	
Submandibular gland					
No abnormalities detected		5/5	---	5/5	
Forestomach					
No abnormalities detected		5/5	---	5/5	
Glandular stomach					
No abnormalities detected		5/5	---	5/5	
Duodenum					
No abnormalities detected		5/5	---	5/5	
Jejunum					
No abnormalities detected		5/5	---	5/5	
Ileum					
No abnormalities detected		5/5	---	5/5	
Cecum					
No abnormalities detected		5/5	---	5/5	
Colon					
No abnormalities detected		5/5	---	5/5	
Rectum					
No abnormalities detected		5/5	---	5/5	
Pancreas					
No abnormalities detected		5/5	---	5/5	
Liver					
No abnormalities detected		5/5	0/5	0/5	
Degeneration, fatty/Hepatocyte/ Centrilobular	+	0/5	5/5	2/5	
	++	0/5	0/5	2/5	
	+++	0/5	0/5	1/5	
Degeneration, hydropic/Hepatocyte/ Centrilobular	+	0/5	0/5	3/5	
	++	0/5	0/5	2/5	
Microgranuloma	+	0/5	5/5	0/5	
	++	0/5	0/5	4/5	
Mitosis, increased	+	0/5	2/5	1/5	
	++	0/5	0/5	3/5	
Necrosis/Hepatocyte/Focal	+	0/5	0/5	2/5	
Heart					
No abnormalities detected		5/5	---	5/5	

ss: scheduled sacrifice animal.

a) Number of animals autopsied.

b) Number of animals affected / Number of animals examined.

---: Not examined.

+: slight, ++: moderate, +++: severe.

Table 12-5 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
Summary of histopathological examinations: Twenty-eight-day treatment

Findings	Grade	Male		
		0	20	100
		(mg/kg/day)		
		ss	ss	ss
		5 ^{a)}	5	5
Kidney				
No abnormalities detected		4/5 ^{b)}	---	5/5
Dilatation/Pelvis	+	1/5	---	0/5
Urinary bladder				
No abnormalities detected		5/5	---	5/5
Testis				
No abnormalities detected		5/5	---	5/5
Epididymis				
No abnormalities detected		5/5	---	5/5
Ventral prostate				
No abnormalities detected		5/5	---	5/5
Dorsolateral prostate				
No abnormalities detected		5/5	---	5/5
Coagulating gland				
No abnormalities detected		5/5	---	5/5
Seminal vesicle				
No abnormalities detected		5/5	---	5/5
Spinal cord				
No abnormalities detected		5/5	---	5/5
Sciatic nerve				
No abnormalities detected		5/5	---	5/5
Bone marrow				
No abnormalities detected		5/5	---	5/5
Axillar lymph node				
No abnormalities detected		5/5	---	5/5
Mesenteric lymph node				
No abnormalities detected		5/5	---	5/5
Spleen				
No abnormalities detected		5/5	---	5/5
Thymus				
No abnormalities detected		5/5	---	5/5

ss: scheduled sacrifice animal.

a) Number of animals autopsied.

b) Number of animals affected / Number of animals examined.

---: Not examined.

+: slight.

Table 12-6 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
 Summary of histopathological examinations: Twenty-eight-day treatment

Findings	Grade	Male			(mg/kg/day)
		0	20	100	
		ss	ss	ss	
		5 ^{a)}	5	5	
Thyroid					
No abnormalities detected		5/5 ^{b)}	---	5/5	
Parathyroid					
No abnormalities detected		5/5	---	5/5	
Adrenal					
No abnormalities detected		5/5	---	5/5	
Eye ball					
No abnormalities detected		5/5	---	5/5	
Skeletal muscle					
No abnormalities detected		5/5	---	5/5	
Bone					
No abnormalities detected		5/5	---	5/5	
Mammary gland					
No abnormalities detected		5/5	---	5/5	

ss: scheduled sacrifice animal.

a) Number of animals autopsied.

b) Number of animals affected / Number of animals examined.

---: Not examined.