

試験番号

B10-0106

## 最終報告書

遺伝子発現量解析のための  
N-Nitrosodimethylamine のラットにおける 28 日間反復経口投与毒性試験

2013 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

2013 年 3 月 8 日

試験責任者 審 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 .....	9
15.1 被験物質の設定用量 .....	9
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 .....	12
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 .....	22
19. 参考文献 .....	23

#### Figures

1 Body weights .....	24
2 Food consumption .....	25

#### Tables

1 Summary of general clinical observations .....	26
2 Summary of detailed clinical observations .....	27
3 Summary of functional observations .....	31
4 Summary of body weights .....	32
5 Summary of food consumption .....	33
6 Summary of urinalyses .....	34
7 Summary of hematological examinations .....	37
8 Summary of blood chemical examinations .....	41
9 Summary of absolute organ weights .....	45
10 Summary of relative organ weights .....	49
11 Summary of macroscopic examinations .....	53
12 Summary of histopathological examinations .....	57

#### Appendices

1 General clinical observations of individual animals .....	63
2 Detailed clinical observations of individual animals .....	66
3 Functional observations of individual animals .....	69
4 Body weights of individual animals .....	70
5 Food consumption of individual animals .....	82
6 Urinalytic data of individual animals .....	83
7 Hematological data of individual animals .....	89
8 Blood chemical data of individual animals .....	101
9 Absolute organ weights of individual animals .....	113
10 Relative organ weights of individual animals .....	125
11 Pathological findings of individual animals .....	137

## 1. 表 題

遺伝子発現量解析のための *N*-Nitrosodimethylamine 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

*N*-Nitrosodimethylamine 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、*N*-Nitrosodimethylamine 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）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 Guidelines 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

LABORATORY ANIMAL SCIENCE (1987) by the American Association for Laboratory Animal Science 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指針」並びに以下の法律、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	2012年10月4日
動物入荷日	2012年10月9日
投与開始日	2012年10月18日
1回投与後解剖日	2012年10月19日
7日間投与後解剖日	2012年10月25日
14日間投与後解剖日	2012年11月1日
28日間投与後解剖日	2012年11月15日
試験終了日	2013年3月8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 古賀孝之

(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

2013年3月8日

試験責任者

寶珠山五月

### 13. 要 約

*N-Nitrosodimethylamine* 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Crl:CD(SD)ラットに精製水に溶解させた*N-Nitrosodimethylamine*を1回、7、14又は28日間毎日強制経口投与した。投与用量は0(精製水)、0.8及び4mg/kg/dayとし、1回、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CO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub>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。

体重では、0.8mg/kg群で投与28日目に低値傾向、4mg/kg群で投与7日目以降に低値がみられた。

摂餌量では4mg/kg群で投与7日目以降に低値又は低値傾向がみられた。

尿検査では4mg/kg群で尿量の高値及び尿浸透圧の低値がみられた。

血液学的検査では4mg/kg群で7日間投与後から単球比率の高値がみられた。

血液生化学的検査では、4mg/kg群で7日間投与後からAST及びALTの高値、28日間投与後にALP、γ-GTP、総ビリルビン及び総胆汁酸の高値、BUN及び総蛋白の低値がみられた。

器官重量では、4mg/kg群で14日間投与後から脾臓の相対重量の高値、28日間投与後に肝臓の絶対重量の低値、脾臓の絶対重量の高値、副腎の相対重量の高値がみられた。

剖検では、4mg/kg群で14日間投与後から肝臓の腫大、28日間投与後に肝臓の葉の小型化、変色部及び葉間瘻着、肝リンパ節の腫大がみられた。

病理組織学的検査では、0.8mg/kg群で28日間投与後に肝リンパ節の傍皮質肥大、4mg/kg群で7日間投与後から肝臓のアポトーシス、14日間投与後に肝臓の細胞浸潤、14日間投与後から類洞内ヘモジデリン沈着、肝細胞单細胞壊死、28日間投与後に肝臓の小葉中心性肝細胞変性、有糸分裂像増加、肝細胞の核の大小不動、線維芽細胞増生、リンパ球浸潤、うつ血、腎臓の皮質の近位尿細管の核の大小不動、肝リンパ節の傍皮質肥大、脾臓の髓外造血亢進がみられた。

一般状態観察、詳細な一般状態観察及び機能検査では、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*N-Nitrosodimethylamine*の投与により、投与期間の初期から肝臓への毒性影響、投与期間の後期に腎臓への毒性影響が認められ、脾臓及び副腎への影響もみられた。

## 14. 試験材料

## 14.1 被験物質

## a) 名称等

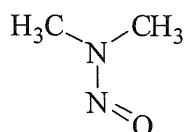
名 称 N-Nitrosodimethylamine  
 CAS 番号 62-75-9

## b) 製造元及びロット番号

製造元 東京化成工業  
 ロット番号 CGN01

## c) 構造式等

## 構造式



分子式 C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O

分子量 74.0818

## d) 純度等

純 度 99.9% (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 0.36 kPa/20°C

対水溶解度 (溶解性) 可溶

1-オクタノール/水分配係数 -0.57

沸 点 153°C

常温における性状 うすい黄色～こい黄色透明液体

安定性 適切な条件下においては安定

溶媒に対する溶解度 (溶解性)

溶 媒	溶解度 (溶解性)
アルコール	可溶
エーテル	可溶

比 重 1.0068 (20/20)

密 度 1.01

## f) 保管条件

遮光した気密容器に入れ、被験物質保管室の保冷庫にて室温保管した。

保管温度の実測値 2.3～6.8°C (許容範囲 1～10°C)

保管場所及び期間 保冷庫 005、2012年6月20日～2012年6月22日

保冷庫 007、2012年6月22日～2012年11月5日

g) 被験物質の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「*N*-Nitrosodimethylamine 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 X02-0266、非 GLP 試験）において確認した。

被験物質の同一性については、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）から入手したスペクトルと当試験施設において測定したデータを比較することにより確認した。投与開始前に測定した赤外吸収スペクトルは SDBS から入手したスペクトルと同様であった。

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。

## 14.2 媒体

a) 名称

精製水

b) 選択理由

被験物質は水に可溶との情報があることから、被験物質液の調製法は精製水を用いて検討した。その結果、被験物質は精製水に 1 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、精製水を媒体として選択した。

c) 製造元、グレード及びロット番号

製造元 高杉製薬

グレード 日本薬局方

ロット番号 PC120313

d) 保管

保管場所 試薬保管室

保管温度 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・リバ一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 8 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135.3～166.7gであり、全例の体重が全體の平均体重±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2）に収容した。温度及び相対湿度の実測値は、それぞれ22.5～23.3°C及び50.5～65.8%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×H180mm）、群分け後はステンレス製金網床ケージ（W165×D300×H150mm）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回、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120611及び120808、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3～5ppm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）したものを作成して使用した。

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「N-Nitrosodimethylamine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P12-0106、非GLP試験）を実施した。用量設定試験では精製水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、0.8、4及び20mg/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、20mg/kg/dayで蒼白、糞量減少、摂食不良、削瘦、体温低下、褐色尿、自発運動低下、呼吸数減少、半眼、立毛及び無便が認められ、投与期間終了後の解剖日に2例の死亡が発見された。症状の発現は投与3日目以降に認められ、蒼白及び糞量減少に引き続き、投与6日目から摂食不良や削瘦等の症状が観察され、急激な状態悪化が認められた。また、症状の発現とともに体重の低値がみられた。剖検では、削瘦、黄疸、肝臓の変色、腎臓の両側性の変色又は腫大が認められたほか、腸及び精巣からの出血を疑わせる変化が認められた。

20 mg/kg 群では投与期間の初期から体重低値がみられ、投与 6 日目以降に急激な状態悪化が認められたことから、半量の 10 mg/kg/day でも 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。

したがって、本試験では 4 mg/kg/day を高用量とし、低用量として 0.8 mg/kg/day を設定した。

### 15.2 群構成

被験物質投与群として 2 用量群を設ける他、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 回、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)	0.8	5	0.0160 4 (18 - 21)
	低用量 (7日間投与)	0.8	5	0.0160 4 (22 - 25)
	低用量 (14日間投与)	0.8	5	0.0160 4 (26 - 29)
	低用量 (28日間投与)	0.8	5	0.0160 5 (30 - 34)
	高用量 (1回投与)	4	5	0.0800 4 (35 - 38)
	高用量 (7日間投与)	4	5	0.0800 4 (39 - 42)
	高用量 (14日間投与)	4	5	0.0800 4 (43 - 46)
	高用量 (28日間投与)	4	5	0.0800 5 (47 - 51)

### 15.3 投与液

#### a) 被験物質液の調製及び保管

被験物質を秤量し、精製水を加えて溶解させた。その後、精製水を加えて定容し 0.0800 w/v% の被験物質液を調製した。さらに、0.0800 w/v% の被験物質液の一部を採取し、精製水を加えて希釈し、0.0160 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庫 7 にて冷所（実測値 4~7°C、許容範囲 1~10°C）で保管した。被験物質液は調製後 12 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

0.100 及び 0.00400 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 X02-0266 で高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 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 0.100 及び 0.00400 w/v% の被験物質液でそれぞれ 99.1% 及び 97.4% と  $100 \pm 10\%$  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 0.0800 及び 0.0160 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 X02-0266 で HPLC により確認した。

測定した被験物質濃度が設定値に対し 0.0800 及び 0.0160 w/v% の被験物質液でそれぞれ 99.0% 及び 102% と  $100 \pm 10\%$  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 回、7、14 又は 28 日間毎日 1 回、強制経口投与した。投与は 9:11～11:15 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22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にボールペンの鞘を近づけ、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疑われたため、低用量群についても検査を行った。

項目	方法	機器
尿量 (Urine volume)	メスシリンドーによる計量	—
色調 (Color)	肉眼観察	—
濁り (Turbidity)		
尿浸透圧 (Uosm)	氷点降下法	A
pH		
蛋白 (Protein)	試験紙法	
ケトン体 (Ketones)	(試験紙にはラブスティックス(シーメンス)を使用)	—
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 (アーカレイ)

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）、CO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub> 混合ガス麻酔 (CO<sub>2</sub>:O<sub>2</sub> 混合比=4:1) 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、ドライアイスを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 G1056、シスマックス) 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 WEQ6248、和光純薬工業) の 3.2 w/v% 水溶液を 100 μL 添加したガラス製試験管で採血し、遠心分離 (3000 r.p.m.×10 mins) して得た血漿
血 清	ガラス製試験管で採血し遠心分離 (3000 r.p.m.×10 mins) して得た血清

b) 血液学的検査

全血及び血漿を用い次の項目を測定した。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)	$\frac{\text{RBC} \times \text{MCV}}{10^3}$	
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)	$\frac{\text{Hb}}{\text{RBC}} \times 10^3$	
平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC)	$\frac{\text{Hb}}{\text{RBC} \times \text{MCV}} \times 10^5$	
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 fosfata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つた。

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 fosfataーゼ (ALP)	p-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)	L-γ-glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide 法	
総コレステロール (T-Chol)	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	F
A/G 比 (A/G ratio)	Albumin T - Protein – Albumin	
血糖 (Glucose)	Hexokinase · G-6-PDH 法	
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	E
無機リン (IP)	Fiske-Subbarow 法	
カルシウム (Ca)	OCPC 法	
ナトリウム (Na)	Crown-Ether 膜電極法	F
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 檢

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樂死させ、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回、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*、精巣上体*、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	骨髓（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。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	骨髓（大腿骨）、腋窩リンパ節、肝リンパ節（No. 13、14 及び 47 を除く）、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<sup>®</sup> (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。

大腿骨は、左側を膝関節から大腿骨頭付近まで採取した。両端を切除し、RPMI1640 (Life Technologies) 5 mL で骨髄を洗い出し、70 μm のメッシュを通してコニカルチューブに回収した。4°C で遠心（1100 rpm、5 分間）後、上清を除いた。残渣を 2 mL の RNA/DNA Stabilization Reagent for Blood/Bone Marrow (Roche Diagnostics) に再浮遊させ、解剖終了直後に-80°C で凍結保存した。右側は膝関節を含むように採取し、10% 中性緩衝ホルマリン液で固定した。

脾臓は、重量を測定後、中央部から横断で幅 1~2 mm の組織片を 1 枚採取し、RNAlater に浸漬した。残りは約 5 mm 間隔で切り込みを入れた後に 10% 中性緩衝ホルマリン液で固定した。

胸腺は、重量を測定後、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。

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、ドライアイスを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を同封して安

全性評価技術研究所に送付した。脾臓については *RNA later* に浸漬させた状態で 4°C で 24 時間振とう後、組織片を取り出して液体窒素中で凍結保存した。

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回、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、骨髓（大腿骨）、脾臓、胸腺のパラフィン包埋薄切切片を作製し、ヘマトキシリソ・エオジン（HE）染色後、光学顕微鏡的に検査した。骨髓（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、7及び14日間投与群では肝臓について、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、それぞれ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。骨及び骨髓（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、腎臓、肝リンパ節及び脾臓については、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染色標本において類洞内に褐色色素の沈着がみられ、ヘモジデリン又は胆汁色素の蓄積が疑われたため、肝臓及び脾臓について、対照群の2例（No. 13及び14）及び高用量群の2例（No. 48及び50）についてベルリン青染色及びホール法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及び試験計画書からの逸脱は認められなかった。

## 17. 試験成績

### 17.1 一般状態 (Table 1、Appendix 1)

被験物質投与群及び対照群に異常は認められなかった。

### 17.2 詳細な一般状態 (Table 2、Appendix 2)

4 mg/kg 群で投与 1 週目に排尿回数が全例で 0 を示し、有意な低値となった。排糞回数については被験物質投与群に有意な変動は認められず、他の詳細観察項目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。

### 17.3 機能検査 (Table 3、Appendix 3)

反応性検査において、4 mg/kg 群の 1 例 (No. 49) で痛覚の反応性亢進 (+1) がみられたが、0.8 mg/kg 群及び対照群では異常は認められなかった。また、握力及び自発運動量においては被験物質投与群に有意な変動は認められなかった。

### 17.4 体重 (Fig. 1、Table 4、Appendix 4)

4 mg/kg 群で投与 7、14、21 及び 28 日目に有意な低値 (対照群の 91.8%、89.7%、86.6% 及び 85.1%) がみられた。0.8 mg/kg 群では投与 28 日目に低値傾向 (対照群の 93.8%) がみられた。

### 17.5 摂餌量 (Fig. 2、Table 5、Appendix 5)

4 mg/kg 群で投与 7、14、21 及び 28 日目に有意な低値又は低値傾向 (対照群の 88.7%、88.4%、88.5% 及び 84.2%) がみられた。0.8 mg/kg 群では有意な変動は認められなかった。

### 17.6 尿検査 (Table 6、Appendix 6)

4 mg/kg 群で尿量の有意な高値及び尿浸透圧の有意な低値がみられた。また、5 例全例で尿沈渣中に結晶が観察されなかった。0.8 mg/kg 群では尿量及び尿浸透圧に有意な変動は認められず、その他の検査項目において 0.8 mg/kg 群及び対照群に異常は認められなかった。

## 17.7 血液検査

### a) 血液学的検査 (Table 7、Appendix 7)

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、4 mg/kg 群で単球比率及び大型非染色球比率の有意な高値、リンパ球比率の有意な低値がみられた。0.8 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、4 mg/kg 群で白血球数及び単球比率の有意な高値、MCV の有意な低値がみられた。0.8 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、4 mg/kg 群で単球比率の有意な高値がみられた。0.8 mg/kg 群では PT 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、4 mg/kg 群で AST の有意な高値及び ALT の高値傾向がみられた。0.8 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、4 mg/kg 群で AST の高値傾向及び ALT の有意な高値がみられた。0.8 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、4 mg/kg 群で AST、ALT、ALP、コリンエステラーゼ、 $\gamma$ -GTP、トリグリセリド及び総ビリルビンの有意な高値、総胆汁酸の高値傾向、BUN 及び総蛋白の有意な低値がみられた。0.8 mg/kg 群では総コレステロールの有意な低値がみられたが、用量との関連性が認められる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、0.8 mg/kg 群で精巣の相対重量の有意な低値がみられたが、用量との関連性が認められることから偶発的変動と考えた。4 mg/kg 群では有意な変動は認められなかった。

7日間投与群において、4 mg/kg 群で解剖日体重が有意な低値（対照群の 94.2%）を示し、心臓の絶対重量の有意な低値がみられた。0.8 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、4 mg/kg 群で脾臓の相対重量の有意な高値（対照群の 121.9%）が認められたほか、解剖日体重が低値傾向（対照群の 94.2%）を示し、脳の絶対重量の有意な低値がみられた。0.8 mg/kg 群では甲状腺の絶対及び相対重量の有意な低値、精巣上体の絶対重量の有意な高値がみられたが、いずれも用量との関連性が認められることから偶発的変動と考えた。

28日間投与群において、4 mg/kg 群で脾臓の絶対及び相対重量の有意な高値（対照群の 129.7% 及び 151.8%）、副腎の相対重量の有意な高値（対照群の 132.1%）、肝臓の絶対重量の有意な低値が認められたほか、腹葉前立腺及び精嚢の絶対重量の有意な低値、精巣及び脳の相対重量の有意な高値がみられた。0.8 mg/kg 群では有意な変動は認められなかった。

#### b) 剖 檢 (Table 11、Appendix 11)

1回及び7日間投与群では被験物質投与群及び対照群に異常は認められなかった。

14日間投与群において、4 mg/kg 群で肝臓の腫大が 4 例中 2 例に認められた。0.8 mg/kg 群及び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、4 mg/kg 群で肝臓の腫大が 5 例全例、葉（乳頭突起又は内側左葉）の小型化が 3 例、変色部及び葉間瘻着が各 1 例、肝リンパ節の腫大が 4 例に認められたほか、右側腎臓の腎孟拡張が 1 例にみられた。0.8 mg/kg 群及び対照群に異常は認められなかった。

#### c) 病理組織学的検査 (Table 12、Appendix 11)

1回投与群では、高用量群及び対照群に異常は認められなかった。

7日間投与群において、4 mg/kg 群で肝臓のアポトーシス（軽度）が 4 例中 1 例に認められたほか、骨髓の好中球凝集が 1 例にみられた。対照群では腎臓の髓質囊胞が 1 例にみられた。0.8 mg/kg 群では検査を行った肝臓に異常は認められなかった。

14日間投与群において、4 mg/kg 群で肝臓の肝細胞単細胞壊死（軽度～中等度）が 4 例全例、アポトーシス（軽度）が 3 例、細胞浸潤（中等度）及び類洞内ヘモジデリン沈着（軽度）が各 1 例に認められたほか、腎臓の髓質囊胞が 1 例にみられた。検査を行った 0.8 mg/kg 群の肝臓及び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、4 mg/kg 群で肝臓の小葉中心性肝細胞変性（軽度～中等度）、肝細胞単細胞壊死（軽度～中等度）、線維芽細胞増生（軽度～中等度）、リンパ球浸潤（軽度～中等度）、類洞内ヘモジデリン沈着（軽度～中等度）が 5 例全例、アポトーシス（軽度）が 4 例、有糸分裂像増加（軽度～中等度）が 3 例、うつ血（軽度）が 2 例、肝細胞の核の大小不同（軽度）が 1 例、腎臓の皮質の近位尿細管の核の大小不動（ごく軽度～軽度）が 2 例、肝リンパ節の傍皮質肥大（中等度）が 4 例、脾臓の髓外造血亢進（軽度）が 2 例に認められたほか、腎孟拡張及び骨髄の骨線維化病変が各 1 例にみられた。0.8 mg/kg 群では、肝リンパ節の傍皮質肥大（軽度）が 1 例に認められたほか、腎臓の髓質囊胞が 1 例にみられた。対照群では、肺の出血、腎臓の髓質囊胞及び腹葉前立腺のリンパ球浸潤が各 1 例にみられた。

なお、28日間投与群の対照群及び4 mg/kg 群の各 2 例について実施した肝臓及び脾臓のベルリン青染色による検査では、対照群の肝臓及び脾臓においてともに陽性物質が認められなかったのに対し、4 mg/kg 群では肝臓の類洞に陽性物質が認められ、褐色色素がヘモジデリンであることが確認された。4 mg/kg 群の脾臓では赤脾髄に陽性物質がごくわずかに認められたが、生理的変動の範囲内であった。同様に、28日間投与群の対照群及び4 mg/kg 群の各 2 例について実施した肝臓及び脾臓のホール法による検査では、対照群及び4 mg/kg 群の肝臓及び脾臓において、いずれも緑色の陽性物質は認められなかつことから、胆汁色素は沈着していないと判定した。

## 18. 考 察

被験物質については、実験動物において比較的低用量での腫瘍発生が多く報告されており、米国国家毒性プログラム（National Toxicology Program, NTP）では「合理的にヒトに対して発がん性があることが予想される物質」に分類されている（NTP, 2011）。一方、発がん性以外の毒性影響については十分なデータが得られていないが、反復投与では肝臓及び腎臓への影響が報告されている（IPCS, 2002）。本試験においては、肝臓及び腎臓への毒性影響並びに脾臓及び副腎への影響が認められた。

肝臓に対する影響として、剖検において、4 mg/kg 群で 14 日間投与後から肉眼的腫大、28 日間投与後に葉の小型化、変色部及び葉間癒着がみられた。病理組織学的検査では、7 日間投与後からアポトーシス、14 日間投与後から肝細胞単細胞壊死、14 日間投与後に細胞浸潤がみられ、28 日間投与後には小葉中心性肝細胞変性、有糸分裂像増加、肝細胞の核の大小不動、線維芽細胞増生及びリンパ球浸潤が認められた。投与期間の初期からみられた病変については、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、さらに反復投与による細胞傷害とそれに対する炎症反応、再生又は修復反応と考えられる病変の発現がみられた。なお、器官重量で 28 日間投与後に絶対重量の低値がみられたものの相対重量に変動がなかったことは、細胞の壊死性変化と増殖性変化が混在する中で、壊死による細胞数の減少と分裂による細胞数の増加が拮抗していたことを示すものと考えた。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、28 日間投与後に  $\gamma$ -GTP、ALP、総ビリルビン及び総胆汁酸の高値がみられ、肝細胞傷害及び胆管傷害による胆汁うつ滞が示唆された。血液学的検査において 7 日間投与後からみられた単球比率の高値、並びに 28 日間投与後に認められ

た肝リンパ節の肉眼的腫大及び傍皮質肥大は、肝細胞傷害又は胆管傷害への反応性変化と考えられた。なお、14日間投与後に類洞内へモジデリン沈着がみられたが、一般的に赤血球破壊の場とされる脾臓では溶血を示唆する変化は観察されなかった。これは、28日間投与後に肝臓でうっ血が認められることから、肝障害の増悪に伴い肝臓内で循環障害が生じ溶血に繋がったものと考えた。投与期間中に4 mg/kg群でみられた体重及び摂餌量の低値は、主に肝臓に対する毒性影響を反映したものと考えられた。また、28日間投与後にみられたBUN及び総蛋白の低値は、肝障害による肝臓での尿素合成の低下及び摂餌量減少による蛋白質摂取量の減少を示すものと考えた。0.8 mg/kg群では明確な肝臓への毒性影響は認められなかつたが、投与28日目に体重低値、28日間投与後に肝リンパ節の傍皮質肥大がみられたことから、何らかの障害が生じていたと推察した。

腎臓に対する影響として、4 mg/kg群で28日間投与後に尿量の高値及び尿浸透圧の低値がみられた。血液生化学的検査では腎障害を示唆するパラメータの変動は認められなかつたが、病理組織学的検査において皮質の近位尿細管の核の大小不動がみられたことから、被験物質が尿細管上皮に何らかの影響を及ぼしたと考えた。

脾臓に対する影響として、4 mg/kg群で14日間投与後から相対重量の高値、28日間投与後に絶対重量の高値及び髓外造血亢進が認められた。血液学的検査では貧血及びそれに反応した造血亢進を示すパラメータの変動は認められなかつたが、脾臓の変化は肝臓での溶血に関連した変化と考えた。

28日間投与後に4 mg/kg群で副腎の相対重量の高値がみられたが、病理組織学的検査では異常が認められなかつたことからストレスに起因した変化と考えられ、毒性学的意義は小さいと判断した。また、4 mg/kg群で投与1週目に排尿回数の低値、投与4週目に痛覚の反応性亢進がみられたが、被験物質の神経系への影響は過去に報告がない (IPCS, 2002) ことから、偶発的所見と考えた。その他、4 mg/kg群で7日間投与後に心臓の絶対重量の低値、14日間投与後に脳の絶対重量の低値、28日間投与後に精巣及び脳の相対重量の高値、腹葉前立腺及び精嚢の絶対重量の低値がみられたが、いずれも解剖日体重が低値を示し、病理組織学的検査を行った精巣、前立腺及び精嚢に器質的変化が認められなかつたことから、体重低値に関連した変動と考えた。

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、投与期間の後期に腎臓への毒性影響が認められ、脾臓及び副腎への影響もみられた。その他の消化器系、呼吸器系、心・血管系、生殖器系、神経系、感覚器、筋・骨格系、乳腺への影響は検出されなかつた。

## 19. 参考文献

NTP (2011) *N*-Nitrosodimethylamine, Report on Carcinogens, Twelfth Edition. 306-308.

IPCS (2002) *N*-Nitrosodimethylamine. Concise International Chemical Assessment Document 38.

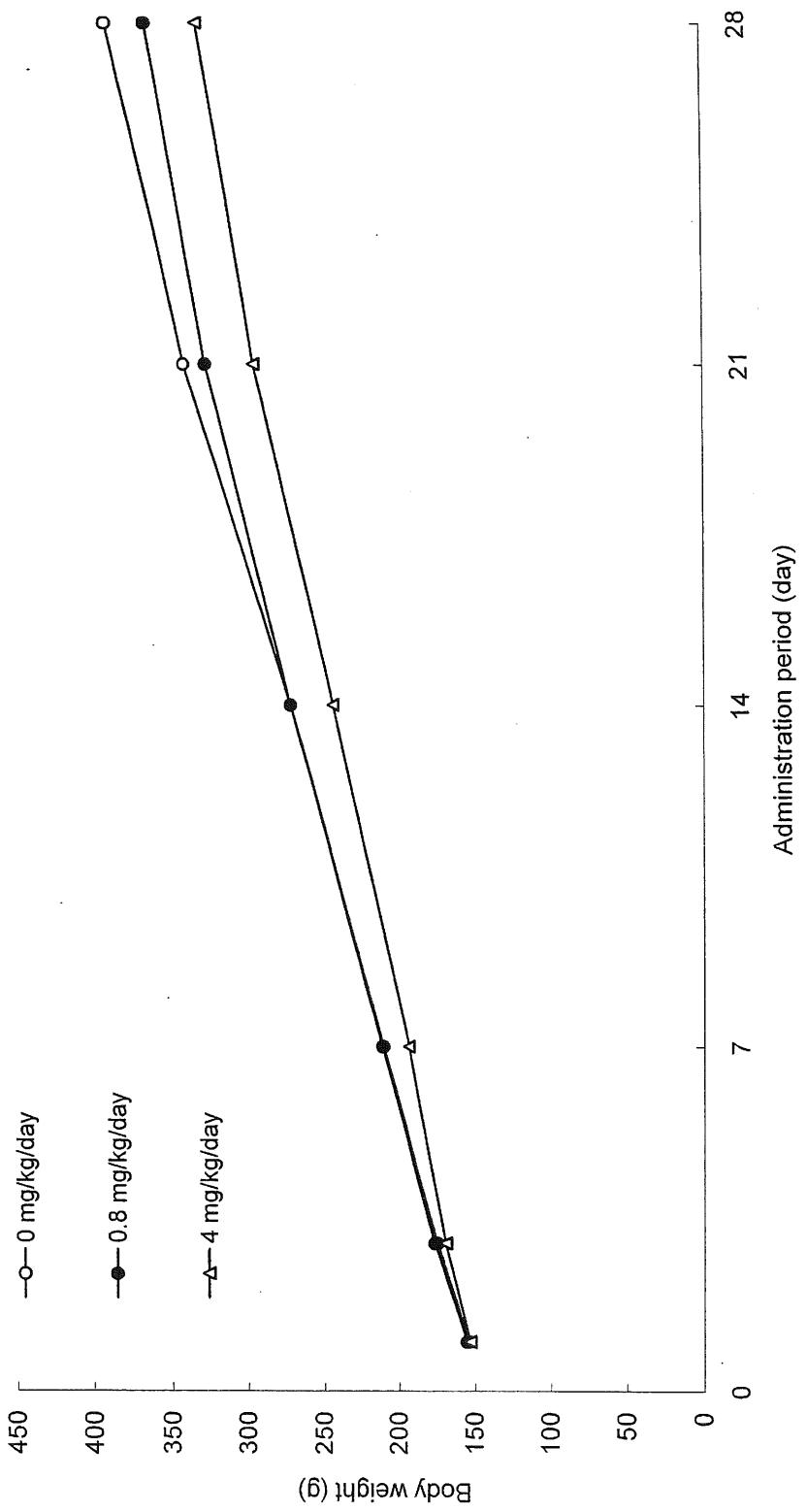


Fig. 1 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats  
Body weights: Male

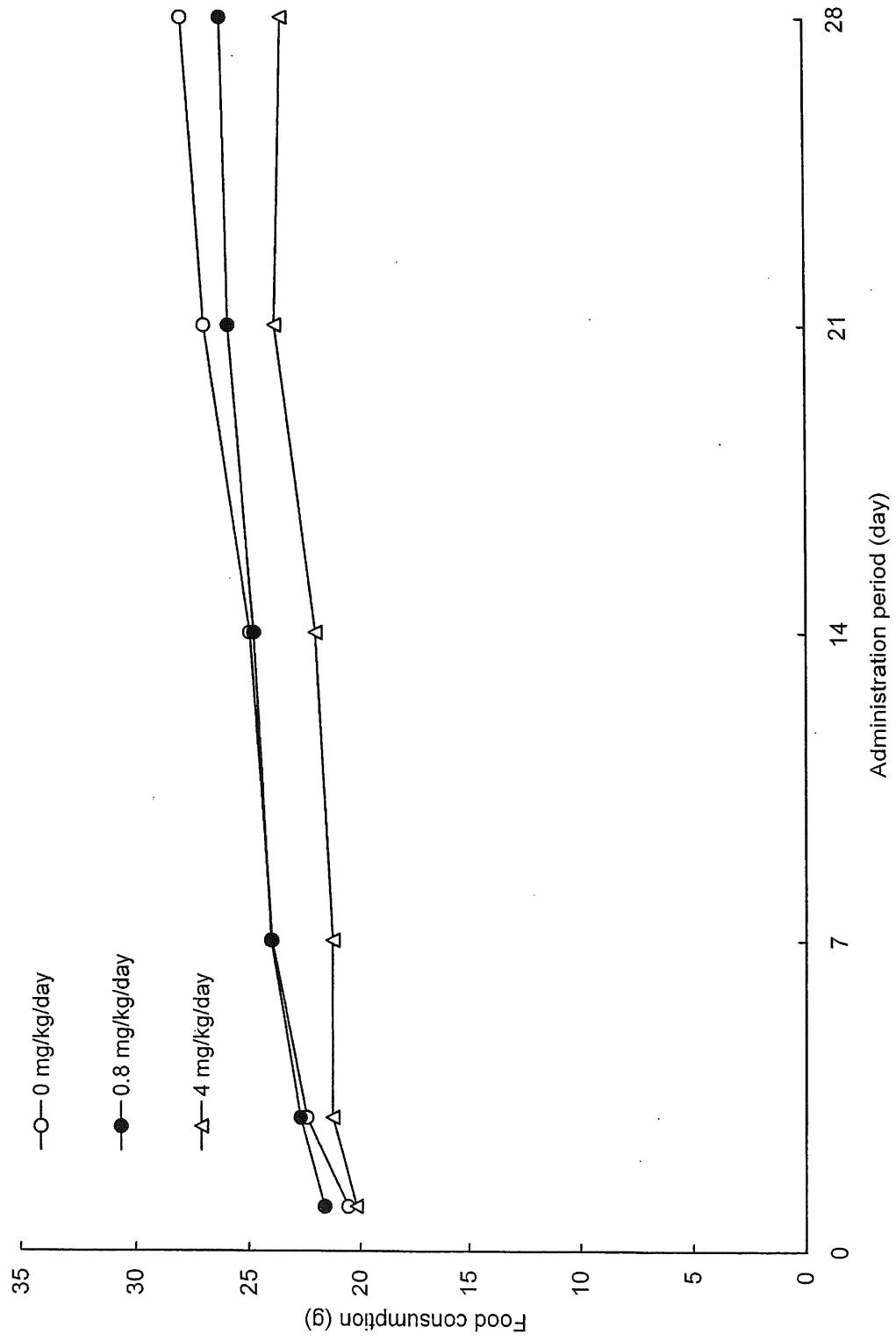


Fig. 2 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats  
Food consumption: Male

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	0.8
Male		ss	ss	ss
		17 <sup>a)</sup>	17	17
	No abnormalities detected	17	17	17

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
		+2	Very difficult
Vocalization		0	None
		+1	Vocalization during handling
		+2	Continuous vocalization
Handling obsevations	Muscle tone	-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
	Lacration	-	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
	Motor activity	-2	Significantly decreased
		-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 episthenous 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

Male

Dose (mg/kg/day)	Predosing			Dosing 1 week		
	0	0.8	4	0	0.8	4
Number of animals	5	5	5	5	5	5
-2	0	0	0	0	0	0
Ease of removal	-1	0	0	0	0	0
Removal from cage	0	5	5	5	5	5
+1	0	0	0	0	0	0
+2	0	0	0	0	0	0
Vocalization	0	5	5	4	4	5
+1	0	0	0	1	1	0
+2	0	0	0	0	0	0
Muscle tone	-1	0	0	0	0	0
0	5	5	5	5	5	5
+1	0	0	0	0	0	0
Subnormal temperature	-	5	5	5	5	5
+	0	0	0	0	0	0
Piloerection	-	5	5	5	5	5
+	0	0	0	0	0	0
Staining hair	-	5	5	5	5	5
+	0	0	0	0	0	0
Unkempt hair	-	5	5	5	5	5
+	0	0	0	0	0	0
Paleness	-	5	5	5	5	5
+	0	0	0	0	0	0
Handling observation	Reddening	-	5	5	5	5
	+	0	0	0	0	0
Cyanosis	-	5	5	5	5	5
+	0	0	0	0	0	0
Lacration	-	5	5	5	5	5
+	0	0	0	0	0	0
Exophthalmos	-	5	5	5	5	5
+	0	0	0	0	0	0
Pupillary size	-1	0	0	0	0	0
0	5	5	5	5	5	5
+1	0	0	0	0	0	0
Salivation	-	5	5	5	5	5
+	0	0	0	0	0	0
Secretion	-	5	5	5	5	5
+	0	0	0	0	0	0
Posture	0	5	5	5	5	5
+1	0	0	0	0	0	0
+2	0	0	0	0	0	0
Motor activity	-2	0	0	0	0	0
0	5	5	5	5	5	5
+1	0	0	0	0	0	0
+2	0	0	0	0	0	0
Respiration	0	5	5	5	5	5
+1	0	0	0	0	0	0
+2	0	0	0	0	0	0
+3	0	0	0	0	0	0
Lid closure	-	5	5	5	5	5
+	0	0	0	0	0	0
Gait	-	5	5	5	5	5
S	0	0	0	0	0	0
T	0	0	0	0	0	0
P	0	0	0	0	0	0
Observation in arena	GD	0	0	0	0	0
Tremor/twitch/convulsion	0	5	5	5	5	5
+1	0	0	0	0	0	0
+2	0	0	0	0	0	0
+3	0	0	0	0	0	0
Stereotypic behavior	-	5	5	5	5	5
C	0	0	0	0	0	0
G	0	0	0	0	0	0
S	0	0	0	0	0	0
H	0	0	0	0	0	0
Abnormal behavior	-	5	5	5	5	5
C	0	0	0	0	0	0
R	0	0	0	0	0	0
W	0	0	0	0	0	0
V	0	0	0	0	0	0
ST	0	0	0	0	0	0
T	0	0	0	0	0	0
Defecation <sup>a)</sup>	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.4 ± 0.5	0.4 ± 0.5	0.4 ± 0.5
Urination <sup>a)</sup>	0.2 ± 0.4	1.0 ± 1.4	1.8 ± 1.8	3.4 ± 4.9	0.2 ± 0.4	0.0 ± 0.0 *

a): (count/min)

\*: significantly different from vehicle control at p&lt;0.05, \*\*: significantly different from vehicle control at p&lt;0.01

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

Male

Dose (mg/kg/day)	Dosing 2 week			Dosing 3 week		
	0	0.8	4	0	0.8	4
Number of animals	5	5	5	5	5	5
-2	0	0	0	0	0	0
Ease of removal	-1	0	1	1	0	0
Removal from cage	0	5	4	4	5	5
+1	0	0	0	0	0	0
+2	0	0	0	0	0	0
Vocalization	0	3	4	5	4	5
Muscle tone	+1	2	1	0	1	0
+2	0	0	0	0	0	0
-1	0	0	0	0	0	0
Subnormal temperature	0	5	5	5	5	5
+1	0	0	0	0	0	0
Piloerection	-	5	5	5	5	5
+1	0	0	0	0	0	0
Staining hair	-	5	5	5	5	5
+1	0	0	0	0	0	0
Unkempt hair	-	5	5	5	5	5
+1	0	0	0	0	0	0
Paleness	-	5	5	5	5	5
+1	0	0	0	0	0	0
Handling observation	Reddening	-	5	5	5	5
+1	0	0	0	0	0	0
Cyanosis	-	5	5	5	5	5
+1	0	0	0	0	0	0
Lacrimation	-	5	5	5	5	5
+1	0	0	0	0	0	0
Exophthalmos	-	5	5	5	5	5
+1	0	0	0	0	0	0
Pupillary size	-1	0	0	0	0	0
0	5	5	5	5	5	5
+1	0	0	0	0	0	0
Salivation	-	5	5	5	5	5
+1	0	0	0	0	0	0
Secretion	-	5	5	5	5	5
+1	0	0	0	0	0	0
Posture	0	5	5	5	5	5
+1	0	0	0	0	0	0
+2	0	0	0	0	0	0
Motor activity	-2	0	0	0	0	0
-1	1	0	0	0	0	0
0	4	5	4	5	5	5
+1	0	0	1	0	0	0
+2	0	0	0	0	0	0
Respiration	0	5	5	5	5	5
+1	0	0	0	0	0	0
+2	0	0	0	0	0	0
+3	0	0	0	0	0	0
Lid closure	-	5	5	5	5	5
+1	0	0	0	0	0	0
Gait	-	5	5	5	5	5
S	0	0	0	0	0	0
T	0	0	0	0	0	0
P	0	0	0	0	0	0
Observation in arena	GD	0	0	0	0	0
Tremor/twitch/convulsion	0	5	5	5	5	5
+1	0	0	0	0	0	0
+2	0	0	0	0	0	0
+3	0	0	0	0	0	0
Stereotypic behavior	-	5	5	5	5	5
C	0	0	0	0	0	0
G	0	0	0	0	0	0
S	0	0	0	0	0	0
H	0	0	0	0	0	0
Abnormal behavior	-	5	5	5	5	5
S	0	0	0	0	0	0
B	0	0	0	0	0	0
C	0	0	0	0	0	0
R	0	0	0	0	0	0
W	0	0	0	0	0	0
V	0	0	0	0	0	0
ST	0	0	0	0	0	0
T	0	0	0	0	0	0
Defecation <sup>a)</sup>	0.8 ± 1.1	0.4 ± 0.9	0.8 ± 0.4	0.6 ± 0.9	0.4 ± 0.5	0.4 ± 0.9
Urination <sup>a)</sup>	4.6 ± 6.6	0.6 ± 0.9	0.4 ± 0.5	3.0 ± 4.6	0.6 ± 1.3	0.0 ± 0.0

a): (count/min)

\*: significantly different from vehicle control at p&lt;0.05, \*\*: significantly different from vehicle control at p&lt;0.01

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

Male

		Dosing 4 week		
Dose (mg/kg/day)		0	0.8	4
Number of animals		5	5	5
Removal from cage	-2	0	0	0
	-1	0	0	0
	0	5	5	5
	+1	0	0	0
	+2	0	0	0
	0	4	5	5
	Vocalization	+1	1	0
Handling observation	+2	0	0	0
	-1	0	0	0
	Muscle tone	0	5	5
	+1	0	0	0
	Subnormal temperature	-	5	5
	+	0	0	0
	Piloerection	-	5	5
Observation in arena	+	0	0	0
	Staining hair	-	5	5
	+	0	0	0
	Unkempt hair	-	5	5
	+	0	0	0
	Paleness	-	5	5
	+	0	0	0
Respiration	Reddening	-	5	5
	+	0	0	0
	Cyanosis	-	5	5
	+	0	0	0
	Lacration	-	5	5
	+	0	0	0
	Exophthalmos	-	5	5
Abnormal behavior	+	0	0	0
	Pupillary size	-1	0	0
	0	5	5	
	+1	0	0	
	Salivation	-	5	5
	+	0	0	0
	Secretion	-	5	5
Defecation <sup>a)</sup>	+	0	0	0
	Posture	0	5	5
	+1	0	0	0
	+2	0	0	0
	-2	0	0	0
	-1	1	1	0
	Motor activity	0	4	4
Urination <sup>a)</sup>	+1	0	0	0
	+2	0	0	0
	+3	0	0	0
	Lid closure	-	5	5
	+	0	0	0
	Gait	-	5	5
	S	0	0	0
Defecation <sup>a)</sup>	T	0	0	0
	P	0	0	0
	GD	0	0	0
	Tremor/twitch/convulsion	0	5	5
	+1	0	0	0
	+2	0	0	0
	+3	0	0	0
Abnormal behavior	Stereotypic behavior	-	5	5
	C	0	0	0
	G	0	0	0
	S	0	0	0
	H	0	0	0
	-	5	5	5
	S	0	0	0
Urination <sup>a)</sup>	B	0	0	0
	C	0	0	0
	R	0	0	0
	W	0	0	0
	V	0	0	0
	ST	0	0	0
	T	0	0	0
Defecation <sup>a)</sup>		1.2 ± 1.6	0.0 ± 0.0	0.4 ± 0.9
Urination <sup>a)</sup>		2.0 ± 3.5	0.2 ± 0.4	0.0 ± 0.0

a): (count/min)

\*: significantly different from vehicle control at p&lt;0.05, \*\*: significantly different from vehicle control at p&lt;0.01

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

## Male

		Dosing 4 week		
Dose (mg/kg/day)	0	0.8	4	
Number of animals	5	5	5	
Sensorimotor function				
Approach contact/touch response	-1 0 +1	0 5 0	0 5 0	0 5 0
Pinna response	-1 0 +1	0 5 0	0 5 0	0 5 0
Pain response (tail pinch)	-1 0 +1	0 5 0	0 5 0	0 4 1
Pupillary reflex	+	5	5	5
Air righting reflex	+	5	5	5
Grip strength	Forelimb (g) Hindlimb (g)	413 ± 76 445 ± 42	426 ± 8 475 ± 33	416 ± 85 463 ± 46
Motor activity [Interval]	0-10 (min) 10-20 (min) 20-30 (min) 30-40 (min) 40-50 (min) 50-60 (min) Total	163 ± 92 99 ± 57 26 ± 28 21 ± 36 30 ± 29 13 ± 15	180 ± 53 79 ± 59 66 ± 40 78 ± 44 51 ± 37 40 ± 49	156 ± 53 44 ± 40 52 ± 34 34 ± 45 43 ± 40 9 ± 15

\*: significantly different from vehicle control at p<0.05, \*\*: significantly different from vehicle control at p<0.01

## Scoring scale for sensorimotor function

Sensorimotor function	Approach contact/touch response	-1 0 +1	No reaction Normal Hyper reaction
	Pinna response	-1 0 +1	No reaction Normal Hyper reaction
	Pain response (tail pinch)	-1 0 +1	No reaction Normal Hyper reaction
	Pupillary reflex	+	Normal
	Air righting reflex	+	Normal
		-	Abnormal reaction

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

	Dose (mg/kg/day)	0	0.8	4
Administration period	1	154.23 ±7.91 (17)	155.30 ±6.62 (17)	153.21 ±6.80 (17)
	3	174.19 ±9.11 (13)	176.18 ±7.24 (13)	169.12 ±7.48 (13)
	7	210.52 ±14.39 (13)	211.26 ±10.52 (13)	193.34 ** ±12.56 (13)
	14	271.91 ±20.02 (9)	271.80 ±17.55 (9)	243.79 * ±21.14 (9)
	21	341.12 ±18.23 (5)	327.10 ±12.92 (5)	295.44 ** ±23.81 (5)
	28	389.64 ±23.75 (5)	365.34 ±17.26 (5)	331.44 ** ±27.30 (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

	Dose (mg/kg/day)	0	0.8	4
Administration period	1	20.59 ± 1.69 (13)	21.63 ± 1.81 (13)	20.19 ± 1.61 (13)
	3	22.43 ± 1.53 (13)	22.74 ± 1.60 (13)	21.28 ± 1.44 (13)
	7	24.01 ± 2.18 (13)	24.06 ± 1.69 (13)	21.29 ** ± 2.06 (13)
	14	24.96 ± 2.11 (9)	24.80 ± 1.94 (9)	22.06 * ± 2.32 (9)
	21	26.96 ± 2.43 (5)	25.90 ± 1.17 (5)	23.85 ± 2.49 (5)
	28	27.89 ± 2.32 (5)	26.16 ± 1.04 (5)	23.49 ** ± 2.36 (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	0.8	4
Urine volume (mL)		13.6 ±3.9 (5)	14.4 ±6.7 (5)	32.8 ** ±12.9 (5)
Uosm (mOsm/L)		809.2 ±139.5 (5)	753.2 ±171.9 (5)	309.0 ** ±104.3 (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

B10-0106

Items	Group	Twenty-eight-day treatment		
		Dose (mg/kg/day)	0	0.8
	No. of animals		5	5
<b>Color</b>				
	SY	2	2	5
	Y	3	3	0
<b>Turbidity</b>				
	Clear	5	5	5
<b>pH</b>				
	6.0	0	1	3
	6.5	3	3	2
	7.0	2	1	0
<b>Protein</b>				
	-	1	1	5
	±	4	4	0
<b>Glucose</b>				
	-	5	5	5
<b>Ketones</b>				
	-	0	2	5
	±	1	3	0
	1+	4	0	0
<b>Occult blood</b>				
	-	4	5	3
	±	1	0	0
	2+	0	0	2

Color: SY: Slightly yellow, Y: Yellow.

Table 6-3

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

B10-0106

Items	Group	Twenty-eighth-day treatment		
		Dose (mg/kg/day)	0	0.8
	No. of animals	5	5	5
<b>Urinaly sediment</b>				
Red blood cells <sup>a)</sup>				
	0	5	4	5
	1-5	0	1	0
White blood cells <sup>a)</sup>				
	0	5	5	5
Epithelial cells <sup>a)</sup>				
	0	5	5	4
	1-5	0	0	1
Casts <sup>b)</sup>				
	0	5	5	5
Crystals <sup>c)</sup>				
	-	0	1	5
	±	4	4	0
	1+	1	0	0

<sup>a)</sup>: Number of cells/10views( $\times 400$ ).<sup>b)</sup>: Number of casts/ $18 \times 18 \text{ mm}^2$ .<sup>c)</sup>: Incidence of crystals/ $18 \times 18 \text{ mm}^2$ .

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	0.8	4
RBC	( $\times 10^4/\mu\text{L}$ )	752.8 $\pm 82.9$ (4)	789.8 $\pm 30.4$ (4)	803.3 $\pm 15.9$ (4)
Hb	(g/dL)	15.28 $\pm 1.97$ (4)	16.35 $\pm 0.37$ (4)	16.23 $\pm 0.83$ (4)
Ht	(%)	52.38 $\pm 6.90$ (4)	55.88 $\pm 1.63$ (4)	56.28 $\pm 3.44$ (4)
MCV	(fL)	69.43 $\pm 1.50$ (4)	70.85 $\pm 1.81$ (4)	70.05 $\pm 3.08$ (4)
MCH	(pg)	20.25 $\pm 0.47$ (4)	20.73 $\pm 0.41$ (4)	20.13 $\pm 0.68$ (4)
MCHC	(g/dL)	29.15 $\pm 0.47$ (4)	29.25 $\pm 0.29$ (4)	28.80 $\pm 0.32$ (4)
Platelet	( $\times 10^4/\mu\text{L}$ )	148.93 $\pm 35.24$ (4)	136.43 $\pm 22.91$ (4)	127.90 $\pm 25.20$ (4)
Reticulo	(%)	10.58 $\pm 1.35$ (4)	11.23 $\pm 1.32$ (4)	10.70 $\pm 1.50$ (4)
WBC	( $\times 10^2/\mu\text{L}$ )	94.63 $\pm 24.52$ (4)	80.73 $\pm 18.52$ (4)	77.60 $\pm 7.27$ (4)
Differentiation of leukocyte				
Neutro	(%)	9.58 $\pm 2.05$ (4)	9.38 $\pm 1.63$ (4)	11.93 $\pm 6.16$ (4)
Lymph	(%)	81.20 $\pm 5.34$ (4)	82.88 $\pm 1.80$ (4)	80.25 $\pm 7.96$ (4)
Eosino	(%)	0.68 $\pm 0.15$ (4)	0.63 $\pm 0.10$ (4)	0.65 $\pm 0.29$ (4)
Baso	(%)	0.88 $\pm 0.13$ (4)	0.95 $\pm 0.13$ (4)	1.03 $\pm 0.29$ (4)
Mono	(%)	4.78 $\pm 2.53$ (4)	3.83 $\pm 0.50$ (4)	3.90 $\pm 1.19$ (4)
LUC	(%)	2.90 $\pm 1.53$ (4)	2.38 $\pm 0.35$ (4)	2.25 $\pm 0.44$ (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	0.8	4
RBC	( $\times 10^4/\mu\text{L}$ )	711.3 $\pm 23.5$ (4)	760.5 $\pm 44.4$ (4)	739.5 $\pm 34.8$ (4)
Hb	(g/dL)	14.55 $\pm 0.29$ (4)	15.43 $\pm 0.82$ (4)	15.15 $\pm 0.47$ (4)
Ht	(%)	48.95 $\pm 1.38$ (4)	52.33 $\pm 3.17$ (4)	50.73 $\pm 1.28$ (4)
MCV	(fL)	68.83 $\pm 1.11$ (4)	68.90 $\pm 1.88$ (4)	68.65 $\pm 2.30$ (4)
MCH	(pg)	20.48 $\pm 0.29$ (4)	20.28 $\pm 0.57$ (4)	20.50 $\pm 0.50$ (4)
MCHC	(g/dL)	29.70 $\pm 0.37$ (4)	29.43 $\pm 0.24$ (4)	29.85 $\pm 0.31$ (4)
Platelet	( $\times 10^4/\mu\text{L}$ )	140.93 $\pm 15.30$ (4)	150.68 $\pm 11.08$ (4)	170.70 $\pm 49.84$ (4)
Reticulo	(%)	8.50 $\pm 1.18$ (4)	8.25 $\pm 0.17$ (4)	6.38 $\pm 1.20$ (4)
WBC	( $\times 10^2/\mu\text{L}$ )	98.63 $\pm 12.24$ (4)	108.03 $\pm 18.72$ (4)	114.73 $\pm 20.03$ (4)
<b>Differentiation of leukocyte</b>				
Neutro	(%)	12.28 $\pm 5.15$ (4)	10.30 $\pm 4.70$ (4)	15.15 $\pm 2.44$ (4)
Lymph	(%)	81.03 $\pm 5.21$ (4)	82.80 $\pm 5.87$ (4)	70.85 * $\pm 4.88$ (4)
Eosino	(%)	0.75 $\pm 0.13$ (4)	0.53 $\pm 0.10$ (4)	1.08 $\pm 0.38$ (4)
Baso	(%)	0.63 $\pm 0.13$ (4)	0.65 $\pm 0.13$ (4)	0.93 $\pm 0.22$ (4)
Mono	(%)	3.28 $\pm 0.44$ (4)	3.50 $\pm 1.10$ (4)	7.10 ** $\pm 1.31$ (4)
LUC	(%)	2.10 $\pm 0.42$ (4)	2.23 $\pm 0.31$ (4)	4.90 * $\pm 2.28$ (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	0.8	4
RBC	( $\times 10^4/\mu\text{L}$ )	763.0 $\pm 66.8$ (4)	793.8 $\pm 76.9$ (4)	798.5 $\pm 59.7$ (4)
Hb	(g/dL)	15.65 $\pm 1.11$ (4)	15.95 $\pm 1.14$ (4)	15.38 $\pm 1.75$ (4)
Ht	(%)	52.15 $\pm 4.72$ (4)	53.05 $\pm 4.41$ (4)	51.43 $\pm 5.33$ (4)
MCV	(fL)	68.38 $\pm 1.01$ (4)	66.95 $\pm 2.52$ (4)	64.33 * $\pm 1.87$ (4)
MCH	(pg)	20.55 $\pm 0.34$ (4)	20.18 $\pm 1.07$ (4)	19.28 $\pm 0.75$ (4)
MCHC	(g/dL)	30.10 $\pm 0.63$ (4)	30.08 $\pm 0.52$ (4)	29.95 $\pm 0.31$ (4)
Platelet	( $\times 10^4/\mu\text{L}$ )	145.50 $\pm 32.93$ (4)	153.00 $\pm 22.40$ (4)	161.40 $\pm 34.02$ (4)
Reticulo	(%)	5.98 $\pm 0.84$ (4)	5.33 $\pm 0.31$ (4)	4.88 $\pm 1.24$ (4)
WBC	( $\times 10^2/\mu\text{L}$ )	129.63 $\pm 11.59$ (4)	98.98 $\pm 28.67$ (4)	170.38 * $\pm 17.64$ (4)
<b>Differentiation of leukocyte</b>				
Neutro	(%)	14.30 $\pm 1.53$ (4)	16.60 $\pm 8.89$ (4)	15.18 $\pm 1.61$ (4)
Lymph	(%)	79.13 $\pm 0.89$ (4)	76.78 $\pm 8.48$ (4)	72.53 $\pm 8.01$ (4)
Eosino	(%)	0.45 $\pm 0.17$ (4)	0.40 $\pm 0.18$ (4)	0.68 $\pm 0.10$ (4)
Baso	(%)	0.68 $\pm 0.15$ (4)	0.68 $\pm 0.36$ (4)	1.03 $\pm 0.22$ (4)
Mono	(%)	2.85 $\pm 0.97$ (4)	3.58 $\pm 0.99$ (4)	5.85 * $\pm 1.87$ (4)
LUC	(%)	2.55 $\pm 1.45$ (4)	1.98 $\pm 0.58$ (4)	4.70 $\pm 6.41$ (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	0.8	4
RBC	( $\times 10^4/\mu\text{L}$ )	806.6 $\pm 29.8$ (5)	809.0 $\pm 42.6$ (4)	830.8 $\pm 13.4$ (5)
Hb	(g/dL)	15.56 $\pm 0.36$ (5)	15.25 $\pm 0.44$ (4)	15.56 $\pm 0.42$ (5)
Ht	(%)	51.10 $\pm 1.06$ (5)	50.45 $\pm 1.49$ (4)	50.72 $\pm 1.18$ (5)
MCV	(fL)	63.36 $\pm 1.33$ (5)	62.40 $\pm 1.86$ (4)	61.06 $\pm 1.74$ (5)
MCH	(pg)	19.30 $\pm 0.39$ (5)	18.88 $\pm 0.93$ (4)	18.76 $\pm 0.70$ (5)
MCHC	(g/dL)	30.46 $\pm 0.29$ (5)	30.25 $\pm 0.83$ (4)	30.74 $\pm 0.42$ (5)
Platelet	( $\times 10^4/\mu\text{L}$ )	131.38 $\pm 11.49$ (5)	128.23 $\pm 23.14$ (4)	108.46 $\pm 9.26$ (5)
Reticulo	(%)	3.42 $\pm 0.64$ (5)	2.90 $\pm 0.75$ (4)	3.90 $\pm 0.38$ (5)
WBC	( $\times 10^2/\mu\text{L}$ )	108.68 $\pm 22.22$ (5)	129.78 $\pm 14.55$ (4)	134.34 $\pm 13.02$ (5)
Differentiation of leukocyte				
Neutro	(%)	16.78 $\pm 4.20$ (5)	18.55 $\pm 7.01$ (4)	16.26 $\pm 4.15$ (5)
Lymph	(%)	78.28 $\pm 5.56$ (5)	75.78 $\pm 8.32$ (4)	75.14 $\pm 3.84$ (5)
Eosino	(%)	0.66 $\pm 0.42$ (5)	0.65 $\pm 0.19$ (4)	0.68 $\pm 0.16$ (5)
Baso	(%)	0.72 $\pm 0.16$ (5)	0.73 $\pm 0.13$ (4)	0.86 $\pm 0.18$ (5)
Mono	(%)	2.68 $\pm 1.46$ (5)	3.35 $\pm 1.50$ (4)	5.88 ** $\pm 0.99$ (5)
LUC	(%)	0.88 $\pm 0.44$ (5)	0.95 $\pm 0.29$ (4)	1.18 $\pm 0.28$ (5)
PT	(sec)	19.62 $\pm 3.29$ (5)	27.05 * $\pm 5.28$ (4)	17.44 $\pm 2.64$ (5)
APTT	(sec)	22.60 $\pm 6.20$ (5)	27.30 $\pm 3.72$ (4)	21.18 $\pm 4.68$ (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	0.8	4
AST	(IU/L)	91.8 ±9.7 (4)	95.3 ±10.2 (4)	93.3 ±9.0 (4)
ALT	(IU/L)	32.8 ±7.1 (4)	34.3 ±5.2 (4)	35.5 ±6.4 (4)
ALP	(IU/L)	831.0 ±168.5 (4)	908.0 ±206.4 (4)	891.0 ±163.0 (4)
BUN	(mg/dL)	12.13 ±1.72 (4)	12.60 ±2.32 (4)	11.40 ±1.76 (4)
Creatinine	(mg/dL)	0.130 ±0.008 (4)	0.135 ±0.010 (4)	0.135 ±0.010 (4)
T-Bil	(mg/dL)	0.070 ±0.008 (4)	0.075 ±0.024 (4)	0.083 ±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 8-2 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	0.8	4
AST	(IU/L)	76.8 ±8.3 (4)	76.8 ±4.3 (4)	103.0 * ±18.3 (4)
ALT	(IU/L)	27.8 ±6.2 (4)	25.8 ±1.0 (4)	47.3 ±17.2 (4)
ALP	(IU/L)	865.5 ±184.3 (4)	823.8 ±70.5 (4)	709.0 ±127.5 (4)
BUN	(mg/dL)	14.23 ±2.48 (4)	12.40 ±0.77 (4)	12.53 ±1.95 (4)
Creatinine	(mg/dL)	0.158 ±0.013 (4)	0.140 ±0.008 (4)	0.150 ±0.026 (4)
T-Bil	(mg/dL)	0.073 ±0.013 (4)	0.058 ±0.015 (4)	0.093 ±0.022 (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	0.8	4
AST	(IU/L)	66.0 ±4.8 (4)	71.0 ±8.3 (4)	93.8 ±23.2 (4)
ALT	(IU/L)	21.5 ±1.7 (4)	23.8 ±4.1 (4)	38.0 ** ±8.5 (4)
ALP	(IU/L)	586.3 ±47.9 (4)	713.5 ±171.7 (4)	716.8 ±127.2 (4)
BUN	(mg/dL)	15.08 ±3.47 (4)	13.50 ±2.86 (4)	14.00 ±1.75 (4)
Creatinine	(mg/dL)	0.180 ±0.022 (4)	0.188 ±0.022 (4)	0.185 ±0.025 (4)
T-Bil	(mg/dL)	0.045 ±0.010 (4)	0.053 ±0.015 (4)	0.068 ±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 8-4 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	0.8	4
AST	(IU/L)	73.6 ±7.0 (5)	69.0 ±7.0 (4)	160.2 * ±51.7 (5)
ALT	(IU/L)	24.6 ±2.5 (5)	24.5 ±1.0 (4)	74.4 * ±29.7 (5)
ALP	(IU/L)	548.0 ±123.5 (5)	425.5 ±103.3 (4)	803.4 * ±133.1 (5)
ChE	(IU/L)	56.0 ±17.4 (5)	54.5 ±4.2 (4)	100.2 ** ±12.4 (5)
γ-GTP	(IU/L)	0.70 ±0.43 (5)	0.98 ±0.25 (4)	2.08 ** ±0.45 (5)
T-Cho	(mg/dL)	67.2 ±10.4 (5)	52.8 * ±5.7 (4)	55.6 ±5.9 (5)
TG	(mg/dL)	75.8 ±14.6 (5)	67.8 ±15.9 (4)	139.6 * ±46.0 (5)
BUN	(mg/dL)	15.04 ±1.70 (5)	14.88 ±1.39 (4)	12.44 * ±1.57 (5)
Creatinine	(mg/dL)	0.246 ±0.029 (5)	0.215 ±0.013 (4)	0.268 ±0.051 (5)
T-Protein	(g/dL)	6.38 ±0.19 (5)	6.33 ±0.26 (4)	5.88 ** ±0.19 (5)
Albumin	(g/dL)	2.84 ±0.09 (5)	2.73 ±0.05 (4)	2.76 ±0.09 (5)
A/G ratio	(-)	0.806 ±0.066 (5)	0.758 ±0.039 (4)	0.886 ±0.052 (5)
Glucose	(mg/dL)	165.4 ±32.7 (5)	184.3 ±24.0 (4)	123.2 ±27.1 (5)
T-Bil	(mg/dL)	0.056 ±0.023 (5)	0.058 ±0.010 (4)	0.118 ** ±0.031 (5)
TBA	(μmol/L)	25.72 ±26.98 (5)	23.20 ±13.37 (4)	83.88 ±56.63 (5)
IP	(mg/dL)	12.66 ±1.81 (5)	12.40 ±0.37 (4)	13.30 ±0.48 (5)
Ca	(mg/dL)	11.84 ±0.40 (5)	12.20 ±0.37 (4)	11.82 ±0.50 (5)
Na	(mEq/L)	146.6 ±2.1 (5)	147.5 ±1.7 (4)	145.8 ±1.3 (5)
K	(mEq/L)	6.82 ±0.36 (5)	6.23 ±0.42 (4)	6.94 ±0.55 (5)
Cl	(mEq/L)	102.66 ±2.45 (5)	101.30 ±0.98 (4)	104.58 ±1.86 (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	0.8	4
Liver	(g)	4.440 ±0.583 (4)	4.650 ±0.425 (4)	4.655 ±0.224 (4)
Heart	(g)	0.625 ±0.073 (4)	0.635 ±0.057 (4)	0.638 ±0.022 (4)
Kidney(R)	(g)	0.655 ±0.045 (4)	0.670 ±0.068 (4)	0.695 ±0.058 (4)
Kidney(L)	(g)	0.648 ±0.053 (4)	0.660 ±0.083 (4)	0.690 ±0.066 (4)
Kidneys	(g)	1.303 ±0.094 (4)	1.330 ±0.147 (4)	1.385 ±0.122 (4)
Testis(R)	(g)	0.698 ±0.031 (4)	0.630 ±0.067 (4)	0.743 ±0.057 (4)
Testis(L)	(g)	0.700 ±0.022 (4)	0.623 ±0.064 (4)	0.738 ±0.068 (4)
Testes	(g)	1.398 ±0.052 (4)	1.253 ±0.129 (4)	1.480 ±0.125 (4)
Epididymis(R)	(g)	0.078 ±0.013 (4)	0.073 ±0.010 (4)	0.083 ±0.005 (4)
Epididymis(L)	(g)	0.080 ±0.012 (4)	0.070 ±0.014 (4)	0.080 ±0.008 (4)
Epididymides	(g)	0.158 ±0.019 (4)	0.143 ±0.024 (4)	0.163 ±0.013 (4)
Ventral prostate	(g)	0.080 ±0.008 (4)	0.075 ±0.006 (4)	0.090 ±0.016 (4)
Dorsolateral prostate	(g)	0.055 ±0.017 (4)	0.043 ±0.010 (4)	0.053 ±0.010 (4)
Brain	(g)	1.730 ±0.032 (4)	1.775 ±0.026 (4)	1.768 ±0.048 (4)
Spleen	(g)	0.380 ±0.070 (4)	0.430 ±0.088 (4)	0.353 ±0.017 (4)
Thymus	(mg)	460.98 ±87.43 (4)	533.75 ±83.83 (4)	534.73 ±52.31 (4)
Pituitary gland	(mg)	5.30 ±0.41 (4)	5.28 ±1.03 (4)	5.30 ±0.92 (4)
Thyroid	(mg)	11.08 ±1.83 (4)	12.13 ±1.84 (4)	11.68 ±0.56 (4)
Adrenals	(mg)	30.48 ±4.32 (4)	30.05 ±4.03 (4)	27.33 ±2.65 (4)
Final body weight	(g)	127.90 ±8.55 (4)	129.95 ±8.65 (4)	129.95 ±6.24 (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	0.8	4
Liver	(g)	6.673 ±0.456 (4)	6.695 ±0.378 (4)	6.158 ±0.485 (4)
Heart	(g)	0.898 ±0.030 (4)	0.870 ±0.028 (4)	0.803 ** ±0.040 (4)
Kidney(R)	(g)	0.940 ±0.063 (4)	0.895 ±0.065 (4)	0.830 ±0.062 (4)
Kidney(L)	(g)	0.910 ±0.067 (4)	0.878 ±0.066 (4)	0.813 ±0.076 (4)
Kidneys	(g)	1.850 ±0.126 (4)	1.773 ±0.129 (4)	1.643 ±0.137 (4)
Testis(R)	(g)	1.070 ±0.070 (4)	1.020 ±0.107 (4)	0.938 ±0.104 (4)
Testis(L)	(g)	1.070 ±0.066 (4)	0.985 ±0.065 (4)	0.950 ±0.100 (4)
Testes	(g)	2.140 ±0.136 (4)	2.005 ±0.170 (4)	1.888 ±0.202 (4)
Epididymis(R)	(g)	0.125 ±0.013 (4)	0.133 ±0.015 (4)	0.123 ±0.010 (4)
Epididymis(L)	(g)	0.125 ±0.010 (4)	0.128 ±0.005 (4)	0.115 ±0.006 (4)
Epididymides	(g)	0.250 ±0.022 (4)	0.260 ±0.018 (4)	0.238 ±0.005 (4)
Ventral prostate	(g)	0.123 ±0.013 (4)	0.128 ±0.015 (4)	0.105 ±0.021 (4)
Dorsolateral prostate	(g)	0.100 ±0.000 (4)	0.118 ±0.043 (4)	0.100 ±0.018 (4)
Brain	(g)	1.865 ±0.062 (4)	1.870 ±0.038 (4)	1.833 ±0.073 (4)
Spleen	(g)	0.538 ±0.106 (4)	0.588 ±0.062 (4)	0.550 ±0.062 (4)
Thymus	(mg)	630.08 ±74.74 (4)	641.45 ±108.98 (4)	566.08 ±66.66 (4)
Pituitary gland	(mg)	6.90 ±0.57 (4)	7.80 ±0.88 (4)	6.83 ±1.00 (4)
Thyroid	(mg)	15.90 ±0.86 (4)	16.18 ±2.46 (4)	14.70 ±2.64 (4)
Adrenals	(mg)	40.33 ±5.12 (4)	39.65 ±6.62 (4)	39.05 ±4.21 (4)
Final body weight	(g)	181.95 ±5.34 (4)	185.60 ±4.35 (4)	171.45 * ±2.95 (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	0.8	4
Liver	(g)	8.068 ±0.320 (4)	8.953 ±0.879 (4)	8.215 ±1.256 (4)
Heart	(g)	1.018 ±0.033 (4)	0.995 ±0.024 (4)	0.920 ±0.102 (4)
Kidney(R)	(g)	1.013 ±0.062 (4)	1.070 ±0.102 (4)	0.988 ±0.127 (4)
Kidney(L)	(g)	1.000 ±0.059 (4)	1.055 ±0.093 (4)	0.975 ±0.140 (4)
Kidneys	(g)	2.013 ±0.119 (4)	2.125 ±0.195 (4)	1.963 ±0.263 (4)
Testis(R)	(g)	1.283 ±0.049 (4)	1.235 ±0.013 (4)	1.238 ±0.095 (4)
Testis(L)	(g)	1.288 ±0.063 (4)	1.228 ±0.057 (4)	1.225 ±0.097 (4)
Testes	(g)	2.570 ±0.111 (4)	2.463 ±0.070 (4)	2.463 ±0.190 (4)
Epididymis(R)	(g)	0.180 ±0.018 (4)	0.215 ±0.031 (4)	0.165 ±0.013 (4)
Epididymis(L)	(g)	0.168 ±0.010 (4)	0.200 * ±0.022 (4)	0.170 ±0.014 (4)
Epididymides	(g)	0.348 ±0.028 (4)	0.415 * ±0.049 (4)	0.335 ±0.027 (4)
Ventral prostate	(g)	0.190 ±0.028 (4)	0.243 ±0.026 (4)	0.178 ±0.043 (4)
Dorsolateral prostate	(g)	0.160 ±0.022 (4)	0.173 ±0.036 (4)	0.130 ±0.065 (4)
Brain	(g)	1.965 ±0.054 (4)	1.890 ±0.026 (4)	1.815 ** ±0.048 (4)
Spleen	(g)	0.633 ±0.043 (4)	0.620 ±0.070 (4)	0.735 ±0.152 (4)
Thymus	(mg)	700.63 ±12.80 (4)	606.18 ±120.94 (4)	649.43 ±187.13 (4)
Pituitary gland	(mg)	8.45 ±0.93 (4)	8.38 ±0.70 (4)	7.38 ±1.96 (4)
Thyroid	(mg)	18.43 ±1.62 (4)	14.63 * ±2.31 (4)	16.18 ±1.75 (4)
Adrenals	(mg)	44.95 ±7.87 (4)	50.33 ±6.11 (4)	44.78 ±5.58 (4)
Final body weight	(g)	224.95 ±14.13 (4)	239.98 ±21.76 (4)	211.98 ±22.70 (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	0.8	4
Liver	(g)	10.930 ±1.273 (5)	10.882 ±0.587 (5)	9.228 * ±1.187 (5)
Heart	(g)	1.278 ±0.085 (5)	1.252 ±0.193 (5)	1.102 ±0.123 (5)
Kidney(R)	(g)	1.356 ±0.147 (5)	1.322 ±0.149 (5)	1.190 ±0.131 (5)
Kidney(L)	(g)	1.344 ±0.148 (5)	1.300 ±0.093 (5)	1.202 ±0.123 (5)
Kidneys	(g)	2.700 ±0.290 (5)	2.622 ±0.241 (5)	2.392 ±0.253 (5)
Testis(R)	(g)	1.548 ±0.140 (5)	1.528 ±0.059 (5)	1.520 ±0.080 (5)
Testis(L)	(g)	1.540 ±0.132 (5)	1.528 ±0.090 (5)	1.504 ±0.050 (5)
Testes	(g)	3.088 ±0.267 (5)	3.056 ±0.146 (5)	3.024 ±0.129 (5)
Epididymis(R)	(g)	0.400 ±0.037 (5)	0.376 ±0.028 (5)	0.344 * ±0.030 (5)
Epididymis(L)	(g)	0.366 ±0.038 (5)	0.386 ±0.048 (5)	0.356 ±0.013 (5)
Epididymides	(g)	0.766 ±0.064 (5)	0.762 ±0.075 (5)	0.700 ±0.041 (5)
Ventral prostate	(g)	0.422 ±0.027 (5)	0.392 ±0.098 (5)	0.280 ** ±0.049 (5)
Dorsolateral prostate	(g)	0.300 ±0.050 (5)	0.346 ±0.077 (5)	0.236 ±0.023 (5)
Seminal vesicle	(g)	0.860 ±0.095 (5)	0.940 ±0.082 (5)	0.678 ** ±0.053 (5)
Brain	(g)	2.012 ±0.078 (5)	1.946 ±0.052 (5)	1.954 ±0.049 (5)
Spleen	(g)	0.814 ±0.171 (5)	0.738 ±0.093 (5)	1.056 * ±0.174 (5)
Thymus	(mg)	583.28 ±76.68 (5)	601.78 ±71.22 (5)	530.76 ±46.21 (5)
Pituitary gland	(mg)	11.10 ±0.86 (5)	11.26 ±1.15 (5)	10.22 ±1.36 (5)
Thyroid	(mg)	18.48 ±3.65 (5)	22.04 ±3.61 (5)	18.08 ±1.93 (5)
Adrenals	(mg)	48.84 ±7.18 (5)	51.34 ±7.26 (5)	54.88 ±4.43 (5)
Final body weight	(g)	356.38 ±21.17 (5)	338.22 ±15.93 (5)	304.18 ** ±23.11 (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	0.8	4
Liver	(g/100g)	3.463 ±0.232 (4)	3.575 ±0.099 (4)	3.585 ±0.091 (4)
Heart	(g/100g)	0.488 ±0.033 (4)	0.490 ±0.022 (4)	0.490 ±0.022 (4)
Kidney(R)	(g/100g)	0.513 ±0.030 (4)	0.515 ±0.039 (4)	0.538 ±0.043 (4)
Kidney(L)	(g/100g)	0.508 ±0.017 (4)	0.508 ±0.038 (4)	0.530 ±0.044 (4)
Kidneys	(g/100g)	1.020 ±0.042 (4)	1.023 ±0.070 (4)	1.068 ±0.084 (4)
Testis(R)	(g/100g)	0.548 ±0.022 (4)	0.483 * ±0.035 (4)	0.570 ±0.032 (4)
Testis(L)	(g/100g)	0.548 ±0.029 (4)	0.480 * ±0.034 (4)	0.565 ±0.040 (4)
Testes	(g/100g)	1.095 ±0.051 (4)	0.963 * ±0.066 (4)	1.135 ±0.070 (4)
Epididymis(R)	(g/100g)	0.060 ±0.008 (4)	0.055 ±0.006 (4)	0.060 ±0.000 (4)
Epididymis(L)	(g/100g)	0.063 ±0.010 (4)	0.053 ±0.010 (4)	0.060 ±0.000 (4)
Epididymides	(g/100g)	0.123 ±0.010 (4)	0.108 ±0.015 (4)	0.120 ±0.000 (4)
Ventral prostate	(g/100g)	0.063 ±0.005 (4)	0.058 ±0.005 (4)	0.070 ±0.014 (4)
Dorsolateral prostate	(g/100g)	0.043 ±0.013 (4)	0.033 ±0.010 (4)	0.043 ±0.010 (4)
Brain	(g/100g)	1.358 ±0.113 (4)	1.370 ±0.073 (4)	1.363 ±0.048 (4)
Spleen	(g/100g)	0.295 ±0.037 (4)	0.330 ±0.052 (4)	0.270 ±0.018 (4)
Thymus	(mg/100g)	359.50 ±53.38 (4)	408.93 ±38.02 (4)	411.58 ±37.73 (4)
Pituitary gland	(mg/100g)	4.15 ±0.37 (4)	4.03 ±0.54 (4)	4.08 ±0.57 (4)
Thyroid	(mg/100g)	8.65 ±1.18 (4)	9.33 ±1.26 (4)	9.00 ±0.41 (4)
Adrenals	(mg/100g)	23.75 ±2.24 (4)	23.35 ±4.49 (4)	21.03 ±1.74 (4)
Final body weight	(g)	127.90 ±8.55 (4)	129.95 ±8.65 (4)	129.95 ±6.24 (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	0.8	4
Liver	(g/100g)	3.670 ±0.262 (4)	3.608 ±0.196 (4)	3.593 ±0.269 (4)
Heart	(g/100g)	0.493 ±0.026 (4)	0.468 ±0.010 (4)	0.470 ±0.022 (4)
Kidney(R)	(g/100g)	0.518 ±0.032 (4)	0.483 ±0.025 (4)	0.485 ±0.033 (4)
Kidney(L)	(g/100g)	0.498 ±0.033 (4)	0.473 ±0.029 (4)	0.475 ±0.042 (4)
Kidneys	(g/100g)	1.015 ±0.062 (4)	0.955 ±0.053 (4)	0.960 ±0.075 (4)
Testis(R)	(g/100g)	0.588 ±0.033 (4)	0.550 ±0.050 (4)	0.548 ±0.068 (4)
Testis(L)	(g/100g)	0.590 ±0.036 (4)	0.530 ±0.029 (4)	0.555 ±0.064 (4)
Testes	(g/100g)	1.178 ±0.069 (4)	1.080 ±0.078 (4)	1.103 ±0.132 (4)
Epididymis(R)	(g/100g)	0.070 ±0.008 (4)	0.070 ±0.008 (4)	0.075 ±0.006 (4)
Epididymis(L)	(g/100g)	0.068 ±0.005 (4)	0.070 ±0.000 (4)	0.065 ±0.006 (4)
Epididymides	(g/100g)	0.138 ±0.013 (4)	0.140 ±0.008 (4)	0.140 ±0.000 (4)
Ventral prostate	(g/100g)	0.068 ±0.005 (4)	0.068 ±0.005 (4)	0.063 ±0.013 (4)
Dorsolateral prostate	(g/100g)	0.053 ±0.005 (4)	0.060 ±0.022 (4)	0.060 ±0.012 (4)
Brain	(g/100g)	1.028 ±0.064 (4)	1.005 ±0.006 (4)	1.068 ±0.051 (4)
Spleen	(g/100g)	0.295 ±0.057 (4)	0.315 ±0.029 (4)	0.320 ±0.037 (4)
Thymus	(mg/100g)	345.63 ±31.50 (4)	345.40 ±56.13 (4)	330.45 ±41.45 (4)
Pituitary gland	(mg/100g)	3.80 ±0.24 (4)	4.20 ±0.41 (4)	3.98 ±0.63 (4)
Thyroid	(mg/100g)	8.75 ±0.68 (4)	8.70 ±1.24 (4)	8.58 ±1.45 (4)
Adrenals	(mg/100g)	22.15 ±2.44 (4)	21.35 ±3.37 (4)	22.78 ±2.10 (4)
Final body weight	(g)	181.95 ±5.34 (4)	185.60 ±4.35 (4)	171.45 * ±2.95 (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	0.8	4
Liver	(g/100g)	3.590 ±0.099 (4)	3.730 ±0.111 (4)	3.865 ±0.265 (4)
Heart	(g/100g)	0.455 ±0.017 (4)	0.418 ±0.029 (4)	0.433 ±0.026 (4)
Kidney(R)	(g/100g)	0.448 ±0.021 (4)	0.445 ±0.025 (4)	0.465 ±0.037 (4)
Kidney(L)	(g/100g)	0.445 ±0.013 (4)	0.438 ±0.025 (4)	0.458 ±0.025 (4)
Kidneys	(g/100g)	0.893 ±0.033 (4)	0.883 ±0.050 (4)	0.923 ±0.060 (4)
Testis(R)	(g/100g)	0.573 ±0.017 (4)	0.518 ±0.042 (4)	0.585 ±0.049 (4)
Testis(L)	(g/100g)	0.573 ±0.017 (4)	0.513 * ±0.035 (4)	0.580 ±0.037 (4)
Testes	(g/100g)	1.145 ±0.031 (4)	1.030 ±0.075 (4)	1.165 ±0.086 (4)
Epididymis(R)	(g/100g)	0.080 ±0.000 (4)	0.090 ±0.014 (4)	0.078 ±0.010 (4)
Epididymis(L)	(g/100g)	0.073 ±0.005 (4)	0.085 ±0.013 (4)	0.083 ±0.005 (4)
Epididymides	(g/100g)	0.153 ±0.005 (4)	0.175 ±0.025 (4)	0.160 ±0.014 (4)
Ventral prostate	(g/100g)	0.083 ±0.010 (4)	0.103 ±0.017 (4)	0.080 ±0.014 (4)
Dorsolateral prostate	(g/100g)	0.073 ±0.017 (4)	0.073 ±0.013 (4)	0.060 ±0.024 (4)
Brain	(g/100g)	0.878 ±0.064 (4)	0.793 ±0.073 (4)	0.863 ±0.075 (4)
Spleen	(g/100g)	0.283 ±0.028 (4)	0.260 ±0.035 (4)	0.345 * ±0.033 (4)
Thymus	(mg/100g)	312.18 ±15.41 (4)	253.50 ±51.42 (4)	304.53 ±75.57 (4)
Pituitary gland	(mg/100g)	3.75 ±0.30 (4)	3.50 ±0.08 (4)	3.50 ±0.76 (4)
Thyroid	(mg/100g)	8.23 ±0.85 (4)	6.18 * ±1.40 (4)	7.68 ±0.92 (4)
Adrenals	(mg/100g)	20.13 ±4.30 (4)	21.23 ±3.99 (4)	21.18 ±2.26 (4)
Final body weight	(g)	224.95 ±14.13 (4)	239.98 ±21.76 (4)	211.98 ±22.70 (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	0.8	4
Liver	(g/100g)	3.064 ±0.253 (5)	3.222 ±0.198 (5)	3.028 ±0.240 (5)
Heart	(g/100g)	0.358 ±0.020 (5)	0.370 ±0.048 (5)	0.362 ±0.019 (5)
Kidney(R)	(g/100g)	0.378 ±0.028 (5)	0.390 ±0.042 (5)	0.390 ±0.016 (5)
Kidney(L)	(g/100g)	0.378 ±0.026 (5)	0.384 ±0.027 (5)	0.394 ±0.018 (5)
Kidneys	(g/100g)	0.756 ±0.052 (5)	0.774 ±0.068 (5)	0.784 ±0.034 (5)
Testis(R)	(g/100g)	0.434 ±0.045 (5)	0.454 ±0.030 (5)	0.502 * ±0.048 (5)
Testis(L)	(g/100g)	0.432 ±0.043 (5)	0.452 ±0.041 (5)	0.496 ±0.038 (5)
Testes	(g/100g)	0.866 ±0.087 (5)	0.906 ±0.071 (5)	0.998 * ±0.085 (5)
Epididymis(R)	(g/100g)	0.112 ±0.015 (5)	0.112 ±0.013 (5)	0.112 ±0.013 (5)
Epididymis(L)	(g/100g)	0.104 ±0.011 (5)	0.114 ±0.015 (5)	0.116 ±0.009 (5)
Epididymides	(g/100g)	0.216 ±0.023 (5)	0.226 ±0.028 (5)	0.228 ±0.022 (5)
Ventral prostate	(g/100g)	0.116 ±0.005 (5)	0.116 ±0.029 (5)	0.092 ±0.015 (5)
Dorsolateral prostate	(g/100g)	0.084 ±0.018 (5)	0.102 ±0.026 (5)	0.078 ±0.008 (5)
Seminal vesicle	(g/100g)	0.242 ±0.036 (5)	0.278 ±0.028 (5)	0.224 ±0.027 (5)
Brain	(g/100g)	0.566 ±0.031 (5)	0.574 ±0.030 (5)	0.648 ** ±0.049 (5)
Spleen	(g/100g)	0.228 ±0.040 (5)	0.216 ±0.021 (5)	0.346 ** ±0.049 (5)
Thymus	(mg/100g)	163.54 ±18.47 (5)	178.34 ±24.00 (5)	174.80 ±14.34 (5)
Pituitary gland	(mg/100g)	3.10 ±0.12 (5)	3.32 ±0.27 (5)	3.36 ±0.48 (5)
Thyroid	(mg/100g)	5.22 ±1.20 (5)	6.52 ±0.86 (5)	5.94 ±0.54 (5)
Adrenals	(mg/100g)	13.72 ±2.07 (5)	15.20 ±2.28 (5)	18.12 ** ±1.73 (5)
Final body weight	(g)	356.38 ±21.17 (5)	338.22 ±15.93 (5)	304.18 ** ±23.11 (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		
	0	0.8	4
	ss	ss	ss
	4 <sup>a)</sup>	4	4
No abnormalities detected	4	4	4

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		
	0	0.8	4
	ss	ss	ss
	4 <sup>a)</sup>	4	4
No abnormalities detected	4	4	4

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	0.8	4
	ss	ss	ss
	4 <sup>a)</sup>	4	4
No abnormalities detected	4	4	2
Liver			
Enlargement	0	0	2

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		
	0	0.8	4
	ss	ss	ss
	5 <sup>a)</sup>	5	5
No abnormalities detected	5	5	0
Liver			
Decrease in size of papillary process	0	0	2
Decrease in size of papillary process and left medial lobe	0	0	1
Discolored region	0	0	1
Enlargement	0	0	5
Interlobar adhesion	0	0	1
Kidney			
Pelvic dilatation, unilateral	0	0	1
Hepatic lymph node			
Enlargement	0	0	4

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	0.8	4
		ss	ss	ss
	4 <sup>a)</sup>	4	4	
Liver				
No abnormalities detected	4/4 <sup>b)</sup>	---	4/4	
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	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.

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

Findings	Grade	Male		
		0	0.8	4
		ss	ss	ss
		4 <sup>a)</sup>	4	4
Liver				
No abnormalities detected		4/4 <sup>b)</sup>	4/4	3/4
Apoptosis	+	0/4	0/4	1/4
Kidney				
No abnormalities detected		3/4	---	4/4
Cyst/Medulla	+	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	---	3/4
Aggregation, neutrophil	+	0/4	---	1/4
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.

Table 12-3 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats

Summary of histopathological examinations: Fourteen-day treatment

Findings	Grade	Male		
		0	0.8	4
		ss	ss	ss
		4 <sup>a)</sup>	4	4
Liver				
No abnormalities detected		4/4 <sup>b)</sup>	4/4	0/4
Apoptosis	+	0/4	0/4	3/4
Cellular infiltration	++	0/4	0/4	1/4
Deposit, hemosiderin/Sinusoid	+	0/4	0/4	1/4
Single cell necrosis/Hepatocyte	+	0/4	0/4	3/4
	++	0/4	0/4	1/4
Kidney				
No abnormalities detected		4/4	---	3/4
Cyst/Medulla	+	0/4	---	1/4
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.

+: 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		
		0	0.8	4 (mg/kg/day)
		ss	ss	ss
		5 <sup>a)</sup>	5	5
Trachea				
No abnormalities detected		5/5 <sup>b)</sup>	---	5/5
Lung				
No abnormalities detected		4/5	---	5/5
Hemorrhage	+	1/5	---	0/5
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

ss: scheduled sacrifice animal.

a) Number of animals autopsied.

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

---: Not examined.

+: slight.

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	0.8	4
		ss 5 <sup>a)</sup>	ss 5	ss 5
<b>Liver</b>				
No abnormalities detected		5/5 <sup>b)</sup>	5/5	0/5
Anisonucleosis/Hepatocyte	+	0/5	0/5	1/5
Apoptosis	+	0/5	0/5	4/5
Cellular infiltration, lymphocyte	+	0/5	0/5	3/5
	++	0/5	0/5	2/5
Congestion	+	0/5	0/5	2/5
Degeneration/Hepatocyte/ Centrilobular	+	0/5	0/5	2/5
	++	0/5	0/5	3/5
Deposit, hemosiderin/Sinusoid	+	0/5	0/5	2/5
	++	0/5	0/5	3/5
Increased mitosis	+	0/5	0/5	1/5
	++	0/5	0/5	2/5
Proliferation, fibroblast	+	0/5	0/5	3/5
	++	0/5	0/5	2/5
Single cell necrosis/Hepatocyte	+	0/5	0/5	1/5
	++	0/5	0/5	4/5
<b>Heart</b>				
No abnormalities detected		5/5	---	5/5
<b>Kidney</b>				
No abnormalities detected		4/5	4/5	2/5
Anisonucleosis/Proximal tubule/ Cortex	±	0/5	0/5	1/5
Cyst/Medulla	+	1/5	1/5	0/5
Dilatation/Pelvis	+	0/5	0/5	1/5
<b>Urinary bladder</b>				
No abnormalities detected		5/5	---	5/5
<b>Testis</b>				
No abnormalities detected		5/5	---	5/5
<b>Epididymis</b>				
No abnormalities detected		5/5	---	5/5
<b>Ventral prostate</b>				
No abnormalities detected		4/5	---	5/5
Cellular infiltration, lymphocyte	+	1/5	---	0/5
<b>Dorsolateral prostate</b>				
No abnormalities detected		5/5	---	5/5
<b>Coagulating gland</b>				
No abnormalities detected		5/5	---	5/5
<b>Seminal vesicle</b>				
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.

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

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

Findings	Grade	Male		
		0	0.8	4
		ss	ss	ss
		5 <sup>a)</sup>	5	5
Spinal cord				
No abnormalities detected		5/5 <sup>b)</sup>	---	5/5
Sciatic nerve				
No abnormalities detected		5/5	---	5/5
Bone marrow				
No abnormalities detected		5/5	---	4/5
Fibro-osseous lesion	+	0/5	---	1/5
Axillary lymph node				
No abnormalities detected		5/5	---	5/5
Hepatic lymph node				
No abnormalities detected		3/3	4/5	0/4
Hypertrophy/Paracortex	+	0/3	1/5	0/4
	++	0/3	0/5	4/4
Mesenteric lymph node				
No abnormalities detected		5/5	---	5/5
Spleen				
No abnormalities detected		5/5	5/5	3/5
Hematopoiesis, extramedullary, increased	+	0/5	0/5	2/5
Thymus				
No abnormalities detected		5/5	---	5/5
Thyroid				
No abnormalities detected		5/5	---	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.

+: slight, ++: moderate.