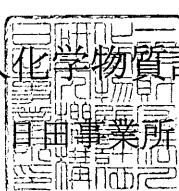


## 最 終 報 告 書

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

2015 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

2015 年 3 月 25 日

試験責任者 賀珠山 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 .....	5
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 .....	6
12. 最終報告書の承認 .....	6
13. 要 約 .....	7
14. 試験材料 .....	8
14.1 被験物質 .....	8
14.2 媒 体 .....	9
14.3 使用動物 .....	9
14.4 飼育環境 .....	9
15. 試験方法 .....	11
15.1 被験物質の設定用量 .....	11
15.2 群構成 .....	11
15.3 投与液 .....	11
15.4 投 与 .....	12
15.5 一般状態観察 .....	12
15.6 詳細な一般状態観察 .....	12
15.7 機能検査 .....	13
15.8 体重測定 .....	13
15.9 摂餌量測定 .....	13
15.10 尿検査 .....	14
15.11 血液検査 .....	14
15.12 病理学的検査 .....	17
15.13 統計学的方法 .....	20
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 .....	20
17. 試験成績 .....	21
17.1 一般状態 .....	21
17.2 詳細な一般状態 .....	21
17.3 機能検査 .....	21

17.4 体 重 .....	21
17.5 摂餌量 .....	21
17.6 尿検査 .....	21
17.7 血液検査 .....	21
17.8 病理学的検査 .....	22
18. 考 察 .....	24
19. 参考文献 .....	25

#### Figures

1 Body weights .....	26
2 Food consumption .....	27

#### Tables

1 Summary of general clinical observations .....	28
2 Summary of detailed clinical observations .....	29
3 Summary of functional observations .....	33
4 Summary of body weights .....	34
5 Summary of food consumption .....	35
6 Summary of urinalyses .....	36
7 Summary of hematological examinations .....	39
8 Summary of blood chemical examinations .....	43
9 Summary of absolute organ weights .....	47
10 Summary of relative organ weights .....	51
11 Summary of macroscopic examinations .....	55
12 Summary of histopathological examinations .....	59

#### Appendices

1 General clinical observations of individual animals .....	65
2 Detailed clinical observations of individual animals .....	68
3 Functional observations of individual animals .....	71
4 Body weights of individual animals .....	72
5 Food consumption of individual animals .....	84
6 Urinalytic data of individual animals .....	85
7 Hematological data of individual animals .....	91
8 Blood chemical data of individual animals .....	103
9 Absolute organ weights of individual animals .....	115
10 Relative organ weights of individual animals .....	127
11 Pathological findings of individual animals .....	139

## 1. 表 題

遺伝子発現量解析のためのPhenylbutazone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

Phenylbutazone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、Phenylbutazone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 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

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、平成 18 年)
- c) 「厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針」(厚生労働省、平成 18 年)
- d) 「農林水産省の所管する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」(農林水産省、平成 18 年)
- e) 「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、平成 18 年)
- f) 「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	2014 年 7 月 31 日
動物入荷日	2014 年 8 月 5 日
投与開始日	2014 年 8 月 14 日
1回投与後解剖日	2014 年 8 月 15 日
7日間投与後解剖日	2014 年 8 月 21 日
14日間投与後解剖日	2014 年 8 月 28 日
28日間投与後解剖日	2014 年 9 月 11 日
試験終了日	2015 年 3 月 25 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

2015 年 5 月 25 日

試験責任者

寶珠山五月

### 13. 要 約

Phenylbutazone 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)ラットにコーン油に懸濁させたPhenylbutazone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)、40及び200mg/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。

一般状態観察では、200mg/kg群で自発運動低下がみられたほか、40及び200mg/kg群で投与後短時間の流涎がみられた。

詳細な一般状態観察では200mg/kg群で投与4週目に流涎がみられた。

体重及び摂餌量では200mg/kg群で投与3日目に低値がみられた。

血液学的検査では、200mg/kg群で1回及び7日間投与後に白血球数及び好中球比率の高値、7及び28日間投与後にHb及びHtの低値並びに網状赤血球数比率の高値、28日間投与後に赤血球数の低値がみられた。

血液生化学的検査では、40mg/kg群で7日間投与後に総ビリルビンの低値、28日間投与後にALP及び総ビリルビンの低値、200mg/kg群で1回投与後にALT、BUN及びクレアチニンの高値、7日間投与後から総ビリルビンの低値、28日間投与後にBUNの高値並びにALP及びTBAの低値がみられた。

器官重量では、40mg/kg群で7日間投与後に腎臓の絶対及び相対重量の高値、200mg/kg群で1回投与後から肝臓の絶対又は相対重量の高値、1回、7及び28日間投与後に腎臓の絶対又は相対重量の高値又は高値傾向、14及び28日間投与後に甲状腺の絶対及び相対重量の高値がみられた。

剖検では、200mg/kg群で1回投与後に腎臓の腫大、1回投与後から肝臓の腫大がみられた。

病理組織学的検査では、200mg/kg群で1回投与後に腎臓の乳頭壊死、皮質又は髓質外帯の尿細管拡張、肝臓の小葉周辺性肝細胞肥大、7及び14日間投与後に肝臓のびまん性又は小葉中心性肝細胞肥大、14日間投与後に腎臓の皮質及び髓質外帯の尿細管拡張、28日間投与後に肝臓の小葉中心性肝細胞肥大、腎臓の皮質の尿細管拡張、精巣の精子細胞の基底側停滞及び成熟精子細胞の離出阻害、7及び28日間投与後に脾臓の髓外造血亢進がみられた。

機能検査及び尿検査では被験物質投与による影響は認められなかった。

以上のとおり、本試験条件下においてPhenylbutazoneの投与により、腎臓、肝臓及び血液に対する毒性影響が認められたほか、精巣及び甲状腺への影響が示唆された。

## 14. 試験材料

## 14.1 被験物質

## a) 名称等

名称 Phenylbutazone

CAS 番号 50-33-9

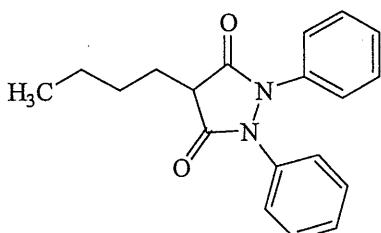
## b) 製造元及びロット番号

製造元 東京化成工業

ロット番号 8GNMI

## c) 構造式等

## 構造式

分子式 C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

分子量 308.37

## d) 純度等

純度 99.8% (HPLC area)

被験物質は純度 100%として取り扱った。

## e) 物理化学的性状

対水溶解度 (溶解性) 不溶 (0.2 g/L、25°C)

融点 106.6°C

常温における性状 白色～黄色の結晶～粉末固体

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)
メタノール	可溶

## 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冷所（許容範囲 1～10°C）で保管した。

## 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「Phenylbutazone の安定性、被験物質液の均一性、安定性及び濃度確認試験」（試験番号 X02-0285、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。

### 14.2 媒体

#### a) 名称

コーン油

#### b) 選択理由

被験物質液の調製法を精製水及びコーン油を用いて検討した。その結果、被験物質は精製水の表面に浮遊して懸濁しなかったが、コーン油には 6.0 w/v% の濃度で均一に懸濁した。また、被験物質液は調製後 7 日間の冷所保管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	ナカライトスク	化学用 (CP)	V3T2547	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つたため、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、群分け後は耳鉤を付けて識別した。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 138.0～163.2 g 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 3）に収容した。

ケージは、群分け前は W260×D380×H180 mm、群分け後は W165×D300×H150 mm のステンレス製金網床ケージを使用し、採尿時は W150×D200×H263 mm の代謝ケージを使用

した。なお、金網床ケージ使用時にはトレイを併用した。

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 140411、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「Phenylbutazone 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 P12-0121、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、100、200 及び 300 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、200 mg/kg 以上の群で自発運動低下、300 mg/kg 群で体重低値、100 mg/kg 群の 1 例で腎臓の乳頭の白色化、300 mg/kg 群の全例で腎臓の腫大、200 及び 300 mg/kg 群の全例で肝臓の腫大が認められた。

300 mg/kg 群で体重低値、肝臓及び腎臓の腫大がみられたことから、300 mg/kg/day 以上の用量で 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 200 mg/kg/day を高用量とし、低用量として 40 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)	40	5	0.800 4 ( 18 - 21 )
	低用量 (7 日間投与)	40	5	0.800 4 ( 22 - 25 )
	低用量 (14 日間投与)	40	5	0.800 4 ( 26 - 29 )
	低用量 (28 日間投与)	40	5	0.800 5 ( 30 - 34 )
	高用量 (1 回投与)	200	5	4.00 4 ( 35 - 38 )
	高用量 (7 日間投与)	200	5	4.00 4 ( 39 - 42 )
	高用量 (14 日間投与)	200	5	4.00 4 ( 43 - 46 )
	高用量 (28 日間投与)	200	5	4.00 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、乳鉢を用いて粉碎しコーン油を加えて練り合わせた。その後、超音波処理を行った後にコーン油を加えて定容し 4.00 w/v% の被験物質液（懸濁液）を調製した。さらに、4.00 w/v% の被験物質液をマグネチックスターラーで攪拌しながら一

部を採取し、コーン油を加えて希釈し、0.800 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プラスチック容器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(許容範囲1~10°C)で保管した。被験物質液は調製後10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) 被験物質液の均一性及び安定性の確認

5.00及び0.100 w/v%の被験物質液の均一性及び冷所保管での安定性を、当試験施設においてX02-0285で高速液体クロマトグラフィー(HPLC)により確認した。

均一性については、被験物質液の上、中及び下層の測定した被験物質濃度の変動係数(CV)が5.00及び0.100 w/v%の被験物質液でそれぞれ1.9及び1.5%と5%以内であったことから、均一であることが確認された。

$$CV(\%) = \frac{\text{各層の測定濃度の標準偏差}}{\text{各層の測定濃度の平均値}} \times 100$$

安定性については、冷所保管で調製14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0.100 w/v%の被験物質液でそれぞれ96.1及び99.4%と100±10%以内であったことから、保管条件下で13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4.00及び0.800 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X02-0285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4.00及び0.800 w/v%の被験物質液でそれぞれ101%及び98.0%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9:15~11:05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、5mL/kgで投与した。被験物質液はマグネットスターラーで攪拌しながら注射筒に採取した。

### 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 3 cm 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 30 cm 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（42.6 cm×26.5 cm の範囲を縦横 5 cm 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。なお、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つたため、低用量群については検査を行わなかつた。

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)	冰点降下法	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(CO<sub>2</sub>:O<sub>2</sub>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つた。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 G2030、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 CTR6101、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 fospha-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 fospha-ターゼ (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 ( $\gamma$ -GTP)	L- $\gamma$ -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	
A/G 比 (A/G ratio)	Albumin T - Protein – 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、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	胃、腸（十二指腸から直腸、パイエル板を含む）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*

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。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、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 以内に細切り *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。なお、左右いずれかのみに病変が認められた場合は、病変部を 10% 中性緩衝ホルマリン液で固定し、反対側を遺伝子発現量解析及び-80°C 凍結保存に供した。

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。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は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。

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% 塩酸・ホルマリン液による脱灰を行った。また、1 回及び 14 日間投与群では肝臓及び腎臓に、7 日間投与群では肝臓及び脾臓に、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当該器官・組織の病理組織学的検査を行った。さらに、肉眼的病変部として 14 日間投与群の高用量群の 1 例（No. 45）の腺胃について検査を行った。

(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% 塩酸・ホルマリン液による脱灰を行った。また、高用量群で肝臓、腎臓、精巣、精巣上体及び脾臓に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当該器官・組織の病理組織学的検査を行った。

### 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)

200 mg/kg 群で流涎が 9 例、自発運動低下が 4 例で観察された。自発運動低下は投与 11 日目以降に散発的にみられた。流涎は、投与 7 日目から散発的又は継続的にみられ、投与回数の増加とともに発現時間が延長する傾向が認められたが、概ね投与後 1 時間以内に消失した。40 mg/kg 群では流涎が 5 例で認められた。流涎は、投与 7 日目から散発的にみられ、概ね投与後 15 分以内に消失した。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)

200 mg/kg 群で投与 1 及び 4 週目に排尿回数の有意な高値がみられた。40 mg/kg 群に有意な変動は認められなかった。被験物質投与群では排糞回数に有意な変動は認められなかった。他の詳細観察項目では、200 mg/kg 群で投与 4 週目に流涎が 5 例中 3 例にみられた。40 mg/kg 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)

200 mg/kg 群で測定 30~40 分の時間帯に自発運動量の有意な高値がみられたが、一過性であり、60 分間の合計に有意な変動が認められないことから、偶発的変動と考えた。40 mg/kg 群に有意な変動は認められなかった。また、被験物質投与群で握力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)

200 mg/kg 群で投与 3 日目に有意な低値（対照群の 93.8%）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。40 mg/kg 群に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)

200 mg/kg 群で投与 3 日目に有意な低値（対照群の 79.9%）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。40 mg/kg 群に有意な変動は認められなかった。

### 17.6 尿検査 (Table 6、Appendix 6)

被験物質投与群で尿量及び尿浸透圧に有意な変動は認められず、他の検査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。

### 17.7 血液検査

#### a) 血液学的検査 (Table 7、Appendix 7)

1 回投与群において、200 mg/kg 群で白血球数、好中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。40 mg/kg 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、200 mg/kg 群でヘモグロビン濃度 (Hb) 、ヘマトクリット値 (Ht) 及びリンパ球比率の有意な低値、血小板数、網状赤血球数比率、白血球数及び好中球比率の有意な高値がみられた。40 mg/kg 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、40 mg/kg 群で平均赤血球容積及び好中球比率の有意な低値、リンパ球比率の有意な高値がみられたが、いずれの項目も用量依存性がないことから偶発的変動と考えた。200 mg/kg 群に有意な変動は認められなかった。

28 日間投与群において、200 mg/kg 群で赤血球数、Hb 及び Ht の有意な低値、網状赤血球数比率の有意な高値がみられた。40 mg/kg 群に有意な変動は認められなかった。

b) 血液生化学的検査 (Table 8、Appendix 8)

1回投与群において、200 mg/kg 群でアラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、尿素窒素 (BUN) 及びクレアチニンの有意な高値がみられた。40 mg/kg 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、200 mg/kg 群で総ビリルビンの有意な低値がみられ、40 mg/kg 群でも総ビリルビンの有意な低値が認められた。

14日間投与群において、200 mg/kg 群で総ビリルビンの有意な低値がみられた。40 mg/kg 群ではアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST) の有意な低値がみられたが、用量依存性が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、200 mg/kg 群でアルカリ性 fosfataーゼ (ALP)、総ビリルビン及び総胆汁酸 (TBA) の有意な低値、BUN の有意な高値がみられた。40 mg/kg 群では ALP 及び総ビリルビンの有意な低値がみられた。

### 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、200 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 123.0% 及び 119.4%）、腎臓の絶対及び相対重量の有意な高値（対照群の 122.8% 及び 119.2%）がみられた。40 mg/kg 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、200 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 124.3% 及び 128.3%）、腎臓の絶対及び相対重量の有意な高値又は高値傾向（対照群の 112.2% 及び 116.1%）がみられたほか、精巣上体の絶対及び相対重量の有意な高値がみられた。40 mg/kg 群では腎臓の絶対及び相対重量の有意な高値（対照群の 116.5% 及び 120.2%）がみられた。

14日間投与群において、200 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 124.6% 及び 128.5%）、甲状腺の絶対及び相対重量の有意な高値（対照群の 135.0% 及び 136.8%）がみられた。40 mg/kg 群に有意な変動は認められなかった。

28日間投与群において、200 mg/kg 群で肝臓の相対重量の有意な高値（対照群の 127.6%）、腎臓の相対重量の有意な高値（対照群の 108.1%）、甲状腺の絶対及び相対重量の有意な高値（対照群の 162.3% 及び 173.3%）が認められたほか、解剖時体重が低値傾向（対照群の 91.8%）を示し、胸腺の絶対重量の有意な低値がみられた。このほか、200 mg/kg 群で精嚢の絶対重量の有意な低値、40 mg/kg 群で精嚢の絶対及び相対重量の有意な低値がみられたが、用量依存性に乏しく、他の生殖器系に異常が認められないことから、偶発的変動と考えた。

b) 剖 檢 (Table 11、Appendix 11)

1回投与群において、200 mg/kg 群で腎臓の両側性の腫大が 4 例中 3 例、肝臓の腫大が 1 例にみられた。40 mg/kg 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、200 mg/kg 群で肝臓の腫大が 4 例全例に認められたほか、対照群で右側腎臓の腎孟拡張が 1 例にみられた。40 mg/kg 群に異常は認められなかった。

14日間投与群において、200 mg/kg 群で肝臓の腫大が 4 例全例に認められたほか、腺胃の粘膜黒色部が 1 例にみられた。40 mg/kg 群では肝臓の方形葉の小型化が 1 例にみられ

た。対照群では大脳の皮質の部分欠損がみられた。

28日間投与群において200mg/kg群で肝臓の腫大が5例全例に認められた。40mg/kg群及び対照群に異常は認められなかつた。

c) 病理組織学的検査 (Table 12、Appendix 11)

1回投与群において、200mg/kg群で腎臓の乳頭壊死（軽度）が4例中2例、皮質の尿細管拡張（軽度）が2例、髓質外帯の尿細管拡張（軽度）が1例、肝臓の小葉周辺性肝細胞肥大（中等度）が1例に認められた。40mg/kg群及び対照群に異常は認められなかつた。

7日間投与群において、200mg/kg群で肝臓のびまん性肝細胞肥大（軽度）が4例中3例、小葉中心性肝細胞肥大（軽度）が1例、限局性肝細胞壊死（軽度）が1例、脾臓の髓外造血亢進（軽度）が2例に認められた。対照群では肉眼的に右側腎臓の腎孟拡張がみられた1例で組織学的にも腎孟拡張が確認された。40mg/kg群に異常は認められなかつた。

14日間投与群において、200mg/kg群で肝臓の小葉中心性肝細胞肥大（軽度）が4例中3例、びまん性肝細胞肥大（中等度）が1例、腎臓の皮質及び髓質外帯の尿細管拡張（ごく軽度）が1例に認められたほか、肉眼的に腺胃の粘膜黒色部がみられた1例で限局性胃底腺部粘膜壊死がみられた。40mg/kg群では肉眼的に肝臓の方形葉の小型化がみられた1例で肝臓の鉱質沈着を伴う肉芽組織が確認された。対照群に異常は認められなかつた。

28日間投与群において、200mg/kg群で肝臓の小葉中心性肝細胞肥大（軽度）が5例全例、腎臓の皮質の尿細管拡張（ごく軽度）が1例、脾臓の髓外造血亢進（軽度）が2例、精巣の精子細胞の基底側停滞及び成熟精子細胞の離出阻害並びに精巣上体の両側性の精細胞残渣が1例に認められた。対照群では、腎臓の皮質の瘢痕が1例、腹葉前立腺及び背側葉前立腺のリンパ球浸潤が各1例にみられた。40mg/kg群に異常は認められなかつた。

## 18. 考 察

被験物質は、非ステロイド系抗炎症薬であり、ヒトで胃潰瘍や腎乳頭壊死のほか好中球減少症等の血液疾患を誘発するとされている（NTP, 1990; 松本, 2009）。実験動物に対しては、ラットを用いた13週間経口投与試験において、200及び300mg/kg/dayで体重低値、下痢、被毛粗剛、紅涙及び自発運動低下、肝臓相対重量の高値、100mg/kg/day以上で腎臓及び精巣に病変がみられ、200mg/kg/dayでは雄で投与5週目、雌で投与1及び12週目、300mg/kg/dayでは雌雄とも投与1週目から死亡がみられたと報告されている（NTP, 1990）。本試験では、腎臓、肝臓及び血液に対する毒性影響が認められたほか、精巣及び甲状腺への影響が示唆された。

腎臓に対する影響として、200mg/kg群において1回投与後に肉眼的な腫大が認められ、器官重量は1回及び7日間投与後に絶対及び相対重量の高値又は高値傾向、28日間投与後に相対重量の高値を示した。病理組織学的検査においては、乳頭壊死、皮質及び髓質外帯の尿細管拡張が認められた。なお、乳頭壊死は1回投与後ののみの発現であったが、皮質又は髓質外帯の尿細管拡張は、1回投与後に認められたほか、ごく軽度ではあるが14又は28日間投与後にも観察された。血液生化学的検査では、1回投与後にBUN及びクレアチニンの高値、28日間投与後にBUNの高値がみられ、投与初期に腎障害が発現したことが示唆された。血液学的検査において、1回及び7日間投与後にみられた白血球数及び好中球比率の高値は、腎臓の組織傷害に反応した炎症性の変化と考えた。前述の13週間経口投与試験において100mg/kg群の最終屠殺動物で乳頭壊死及び水腫がみられたことから、本試験において腎臓毒性は急速に回復に転じたように見えたが、投与期間中は消失までには至らないと推察した。なお、40mg/kg群で7日間投与後に腎臓の絶対及び相対重量の高値がみられたが、他の検査項目では異常は認められなかった。

肝臓に対する影響として、200mg/kg群で1回投与後から絶対又は相対重量の高値がみられ、肉眼的な腫大が観察された。病理組織学的検査においては、1回投与後に小葉周辺性肝細胞肥大、7及び14日間投与後にびまん性肝細胞肥大及び小葉中心性肝細胞肥大、28日間投与後に小葉中心性肝細胞肥大が認められた。血液生化学的検査では、1回投与後にALTの高値がみられ肝細胞傷害が示唆されたが、その後は変動がなく、肝細胞肥大の領域の変化とともに肝臓での薬物代謝酵素の誘導により、毒性が軽減したと考えた。一方、7日間投与後から総ビリルビンの低値、28日間投与後にALP及びTBAの低値がみられ、肝機能低下も疑われた。40mg/kg群においても総ビリルビン及びALPの低値がみられた。

血液に対する影響として、200mg/kg群で7日間投与後にHb及びHtの低値、28日間投与後に赤血球数、Hb及びHtの低値がみられ、貧血が生じていた。なお、血液生化学的検査では総ビリルビンが低値を示したことから、貧血の原因は溶血ではないと考えられたが、出血に関連する変化が認められず、同時に網状赤血球数比率の高値及び脾臓の髓外造血亢進がみられたことから、造血器障害も疑われないため、貧血の原因は不明である。

精巣に対する影響として、200mg/kg群で28日間投与後に精巣の精子細胞の基底側停滞及び成熟精子細胞の離出阻害並びに精巣上体の精細胞残渣がみられた。これらの所見は自然発生病変としても散見されるものであり、1例のみでの軽度な病変であるが、前述の13週間経口投与試験でみられた精巣の変性につながる変化である可能性があり、被験物質投与によ

る影響を否定できない。

被験物質投与によるその他の変化として、200 mg/kg 群で 14 日間投与後からみられた甲状腺重量の高値は、肝臓で誘導された薬物代謝酵素により甲状腺ホルモンの代謝が亢進した結果、下垂体からの TSH 分泌が亢進し甲状腺が肥大した（高岡, 2009）可能性があると考えた。なお、28 日間投与後の病理組織学的検査においては、甲状腺に異常は認められなかつたことから、毒性学的意義は小さいと考えられた。また、1 回投与後にみられたリンパ球比率の低値は、好中球比率の高値に随伴した変動と考えた。

投与期間中に 200 mg/kg 群で観察された自発運動低下、体重及び摂餌量の一過性の低値は、腎臓、肝臓への毒性影響を反映した所見と考えた。なお、40 及び 200 mg/kg 群でみられた流涎は、投与後短時間で消失し、刺激性を有する化合物を反復経口投与した場合にしばしば標的器官となる前胃に異常が認められなかつたこと、流涎は投与物質の味等によつても引き起こされる場合がある（Matsuo, 2000）ことから、被験物質の味により発現したものであり毒性学的意義は小さいと考えた。

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、一過性の変動であること、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動と考えた。

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腎臓、肝臓及び血液への毒性影響が認められ、精巣及び甲状腺への影響も示唆された。その他の消化器系、呼吸器系、心・血管系、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

- Matsuo R (2000) Role of saliva in the maintenance of taste sensitivity. Crit. Rev. Oral Biol. Med., 11, 216-229.
- National Toxicological Program (1990) NTP technical report on the toxicology and carcinogenesis studies of phenylbutazone (CAS No. 50-33-9) in F344/N rats and B6C3F<sub>1</sub> mice (gavage studies). NTP TR 367.
- 高岡雅哉 (2009) 6.15 内分泌毒性 *In 「新版トキシコロジー」* （日本トキシコロジー学会教育委員会編），朝倉書店，東京, p. 303-317.
- 松本清司 (2009) 6.10 血液毒性 *In 「新版トキシコロジー」* （日本トキシコロジー学会教育委員会編），朝倉書店，東京, p. 254-261.

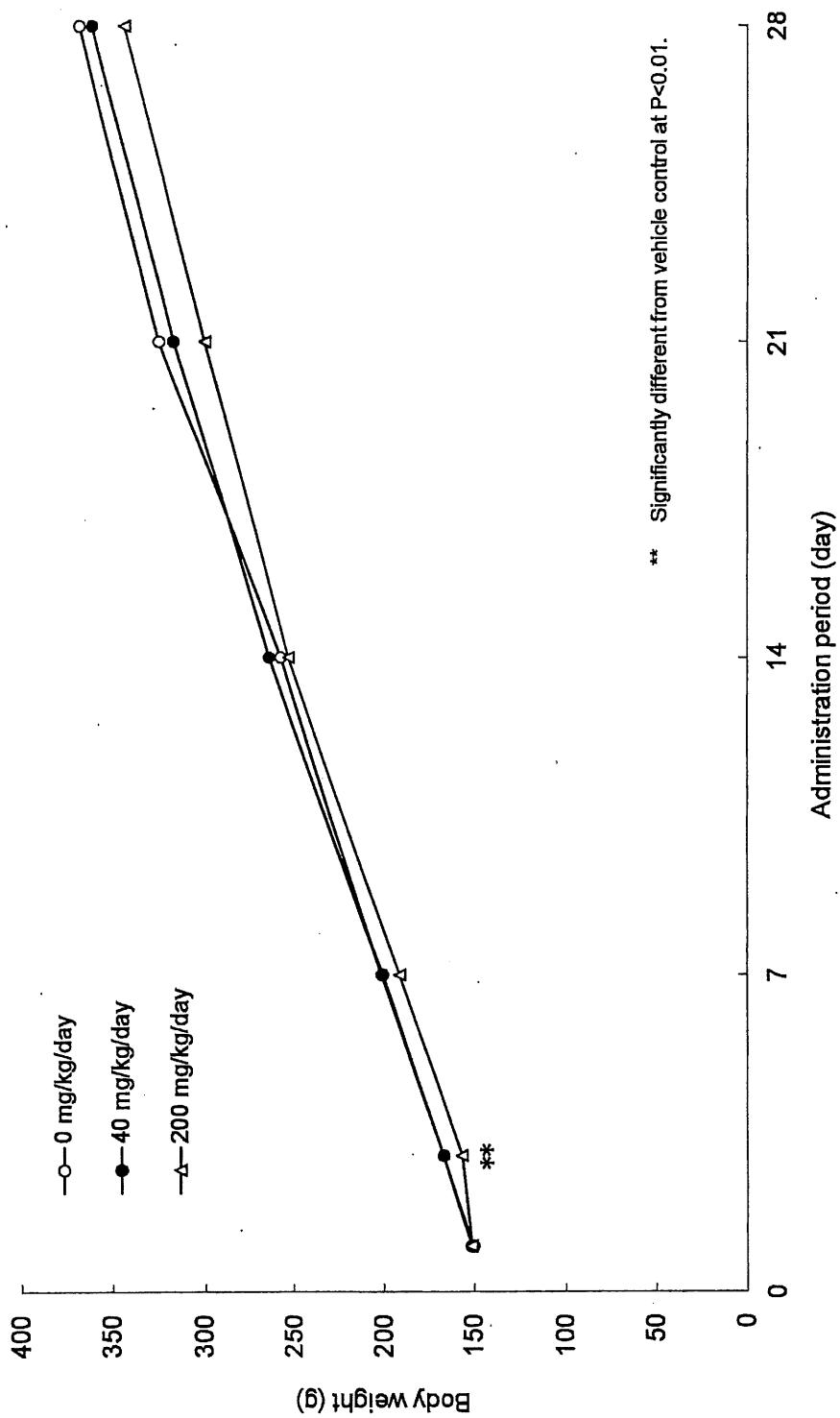


Fig. 1

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

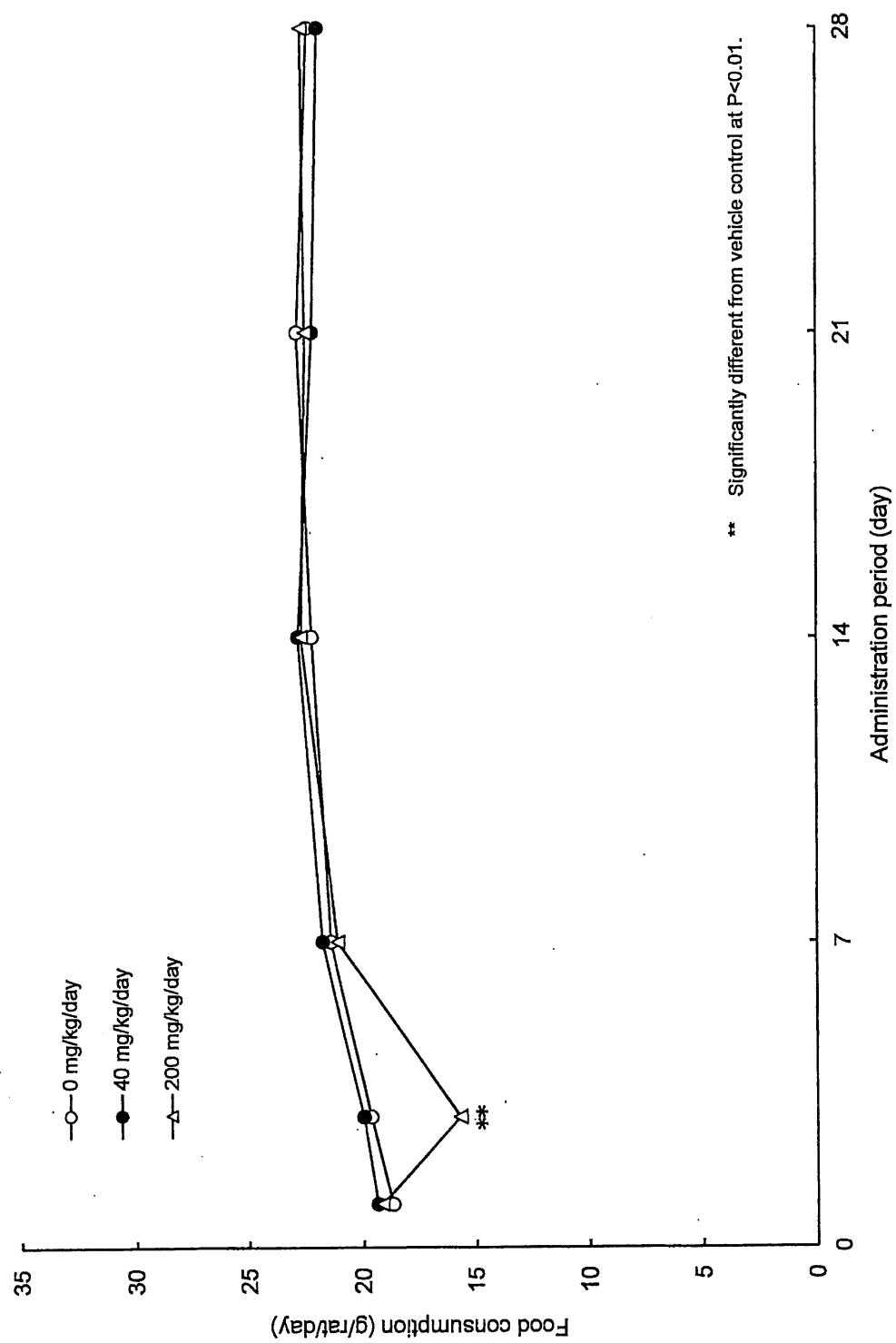


Fig. 2 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats  
Food consumption: Male

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	40	200
Male		ss	ss	ss	
		17 <sup>a)</sup>	17	17	
	No abnormalities detected	17	12	8	
	Salivation		5	9	
	Decreased spontaneous locomotion			4	

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 observations	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
	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
	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	40	200	0	40	200
Number of animals	5	5	5	5	5	5
-2	0	0	0	0	0	0
-1	0	0	0	0	0	0
Ease of removal	0	5	5	5	5	5
Removal from cage	+1	0	0	0	0	0
+2	0	0	0	0	0	0
Vocalization	0	3	4	5	4	4
+1	2	1	0	1	1	1
+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	0
Cyanosis	-	5	5	5	5	5
+	0	0	0	0	0	0
Lacrimation	-	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
-1	0	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	+3	0	0	0	0	0
Lid closure	-	5	5	5	5	5
+	0	0	0	0	0	0
Gait	S	0	0	0	0	0
T	0	0	0	0	0	0
P	0	0	0	0	0	0
GD	0	0	0	0	0	0
Observation in arena	Tremor/ twitch/ convulsion	0	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	C	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	C	0	0	0	0	0
R	0	0	0	0	0	0
B	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>	0.4 ± 0.5	0.0 ± 0.0	0.4 ± 0.9	0.8 ± 1.8	0.4 ± 0.9	1.0 ± 1.0
Urination <sup>a)</sup>	0.8 ± 0.8	2.0 ± 1.4	1.8 ± 1.5	0.2 ± 0.4	0.8 ± 0.8	5.0 ± 3.3 *

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	40	200	0	40	200
Number of animals	5	5	5	5	5	5
-2	0	0	0	0	0	0
-1	0	0	0	0	0	0
Ease of removal	0	5	5	5	5	5
Removal from cage	+1	0	0	0	0	0
+2	0	0	0	0	0	0
Vocalization	0	5	5	3	4	4
+1	0	0	2	1	1	3
+2	0	0	0	0	0	0
Muscle tone	-1	0	0	0	0	0
Muscle tone	0	5	5	5	5	5
Muscle tone	+1	0	0	0	0	0
Subnormal temperature	-	5	5	5	5	5
Subnormal temperature	+	0	0	0	0	0
Piloerection	-	5	5	5	5	5
Piloerection	+	0	0	0	0	0
Staining hair	-	5	5	5	5	5
Staining hair	+	0	0	0	0	0
Unkempt hair	-	5	5	5	5	5
Unkempt hair	+	0	0	0	0	0
Paleness	-	5	5	5	5	5
Paleness	+	0	0	0	0	0
Reddening	-	5	5	5	5	5
Reddening	+	0	0	0	0	0
Cyanosis	-	5	5	5	5	5
Cyanosis	+	0	0	0	0	0
Lacration	-	5	5	5	5	5
Lacration	+	0	0	0	0	0
Exophthalmos	-	5	5	5	5	5
Exophthalmos	+	0	0	0	0	0
Pupillary size	-1	0	0	0	0	0
Pupillary size	0	5	5	5	5	5
Pupillary size	+1	0	0	0	0	0
Salivation	-	5	5	5	5	5
Salivation	+	0	0	0	0	0
Secretion	-	5	5	5	5	5
Secretion	+	0	0	0	0	0
Posture	0	5	5	5	5	5
Posture	+1	0	0	0	0	0
Posture	+2	0	0	0	0	0
Motor activity	-2	0	0	0	0	0
Motor activity	-1	0	0	0	0	0
Motor activity	0	4	5	3	5	4
Motor activity	+1	1	0	2	0	0
Motor activity	+2	0	0	0	0	0
Respiration	0	5	5	5	5	5
Respiration	+1	0	0	0	0	0
Respiration	+2	0	0	0	0	0
Respiration	+3	0	0	0	0	0
Lid closure	-	5	5	5	5	5
Lid closure	+	0	0	0	0	0
Gait	-	5	5	5	5	5
Gait	S	0	0	0	0	0
Gait	T	0	0	0	0	0
Gait	P	0	0	0	0	0
Gait	GD	0	0	0	0	0
Observation in arena	0	5	5	5	5	5
Tremor/ twitch/ convulsion	+1	0	0	0	0	0
Tremor/ twitch/ convulsion	+2	0	0	0	0	0
Tremor/ twitch/ convulsion	+3	0	0	0	0	0
Stereotypic behavior	-	5	5	5	5	5
Stereotypic behavior	C	0	0	0	0	0
Stereotypic behavior	G	0	0	0	0	0
Stereotypic behavior	S	0	0	0	0	0
Stereotypic behavior	H	0	0	0	0	0
Abnormal behavior	-	5	5	5	5	5
Abnormal behavior	S	0	0	0	0	0
Abnormal behavior	B	0	0	0	0	0
Abnormal behavior	C	0	0	0	0	0
Abnormal behavior	R	0	0	0	0	0
Abnormal behavior	W	0	0	0	0	0
Abnormal behavior	V	0	0	0	0	0
Abnormal behavior	ST	0	0	0	0	0
Abnormal behavior	T	0	0	0	0	0
Defecation <sup>a)</sup>		1.2 ± 1.6	0.2 ± 0.4	1.0 ± 0.7	0.2 ± 0.4	0.8 ± 1.3
Urination <sup>a)</sup>		1.0 ± 1.4	1.4 ± 1.7	4.2 ± 3.0	1.0 ± 1.0	0.2 ± 0.4
						4.2 ± 4.7

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	40	200
	Number of animals	5	5	5
	-2	0	0	0
	-1	0	0	0
Removal from cage	0	5	5	5
	+1	0	0	0
	+2	0	0	0
	0	5	5	3
Vocalization	+1	0	0	2
	+2	0	0	0
	-1	0	0	0
	0	5	5	5
Muscle tone	+1	0	0	0
	-	5	5	5
	+	0	0	0
	+	0	0	0
Subnormal temperature	-	5	5	5
	+	0	0	0
	-	5	5	5
	+	0	0	0
Piloerection	-	5	5	5
	+	0	0	0
	-	5	5	5
	+	0	0	0
Staining hair	-	5	5	5
	+	0	0	0
	-	5	5	5
	+	0	0	0
Unkempt hair	-	5	5	5
	+	0	0	0
	-	5	5	5
	+	0	0	0
Handling observation	-	5	5	5
	+	0	0	0
	-	5	5	5
	+	0	0	0
Reddening	-	5	5	5
	+	0	0	0
	-	5	5	5
	+	0	0	0
Cyanosis	-	5	5	5
	+	0	0	0
	-	5	5	5
	+	0	0	0
Lacration	-	5	5	5
	+	0	0	0
	-	5	5	5
	+	0	0	0
Exophthalmos	-	5	5	5
	+	0	0	0
	-	0	0	0
	+	0	0	0
Pupillary size	-1	0	0	0
	0	5	5	5
	+1	0	0	0
	-	5	5	2
Salivation	-	5	5	2
	+	0	0	3
	-	5	5	5
	+	0	0	0
Secretion	-	5	5	5
	+	0	0	0
	-	5	5	5
	+	0	0	0
Posture	0	5	5	5
	+1	0	0	0
	+2	0	0	0
	-2	0	0	0
Motor activity	-1	0	0	0
	0	5	5	5
	+1	0	0	0
	+2	0	0	0
Respiration	-	5	5	5
	0	5	5	5
	+1	0	0	0
	+2	0	0	0
Lid closure	+3	0	0	0
	-	5	5	5
	+	0	0	0
	-	5	5	5
Gait	S	0	0	0
	T	0	0	0
	P	0	0	0
	GD	0	0	0
Observation in arena	-	5	5	5
	0	5	5	5
	+1	0	0	0
	+2	0	0	0
Tremor/ twitch/ convulsion	+3	0	0	0
	-	5	5	5
	0	5	5	5
	+1	0	0	0
Stereotypic behavior	+2	0	0	0
	+3	0	0	0
	-	5	5	5
	C	0	0	0
Abnormal behavior	G	0	0	0
	S	0	0	0
	H	0	0	0
	-	5	5	5
	S	0	0	0
	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>		0.4 ± 0.9	0.0 ± 0.0	0.6 ± 0.5
Urination <sup>a)</sup>		0.2 ± 0.4	0.8 ± 1.8	5.8 ± 4.4 *

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	40	200	
	Number of animals	5	5	5	
	Approach contact/ touch response	-1 0 +1	0 5 0	0 5 0	
	Pinna response	-1 0 +1	0 5 0	0 5 0	
Sensorimotor function	Pain response (tail pinch)	-1 0 +1	0 5 0	0 5 0	
	Pupillary reflex	+	5	5	
		-	0	0	
	Air righting reflex	+	5	5	
		-	0	0	
	Grip strength	Forelimb (g) Hindlimb (g)	418 ± 76 419 ± 113	349 ± 73 482 ± 62	429 ± 144 426 ± 75
	Motor activity [Interval]	0-10 (min) 10-20 (min) 20-30 (min) 30-40 (min) 40-50 (min) 50-60 (min) Total	129 ± 36 89 ± 47 61 ± 22 27 ± 26 34 ± 39 33 ± 28 372 ± 86	180 ± 62 79 ± 35 58 ± 47 32 ± 23 33 ± 59 23 ± 47 406 ± 145	166 ± 55 93 ± 30 78 ± 45 68 ± 24 * 67 ± 27 29 ± 32 501 ± 60

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

## Scoring scale for sensorimotor function

	Approach contact/touch response	-1 0 +1	No reaction Normal Hyper reaction
	Pinna response	-1 0 +1	No reaction Normal Hyper reaction
Sensorimotor function	Pain response (tail pinch)	-1 0 +1	No reaction Normal Hyper reaction
	Pupillary reflex	+	Normal
		-	Abnormal reaction
	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	40	200
Administration period (day)	1	151.35 ±6.81 (17)	150.57 ±5.86 (17)	151.25 ±5.10 (17)
	3	166.92 ±9.90 (13)	166.77 ±7.83 (13)	156.55 ** ±7.46 (13)
	7	201.22 ±13.66 (13)	200.62 ±11.60 (13)	191.30 ±11.85 (13)
	14	257.92 ±29.49 (9)	264.60 ±13.68 (9)	253.42 ±19.05 (9)
	21	325.30 ±13.60 (5)	317.12 ±9.36 (5)	300.40 ±28.76 (5)
	28	368.78 ±17.63 (5)	361.66 ±9.84 (5)	344.00 ±34.24 (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  
B10-0121  
Summary of food consumption (g/rat/day) : male

	Dose (mg/kg/day)	0	40	200
Administration period (day)	1	18.69 ± 2.02 (13)	19.36 ± 1.60 (13)	19.16 ± 1.27 (13)
	3	19.63 ± 2.14 (13)	19.96 ± 1.39 (13)	15.68 ** ± 2.22 (13)
	7	21.38 ± 2.23 (13)	21.75 ± 2.07 (13)	21.07 ± 2.17 (13)
	14	22.21 ± 2.08 (9)	22.84 ± 2.02 (9)	22.70 ± 1.80 (9)
	21	22.86 ± 1.63 (5)	22.21 ± 1.33 (5)	22.50 ± 2.23 (5)
	28	22.42 ± 2.02 (5)	21.96 ± 0.94 (5)	22.69 ± 2.54 (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	40	200
Urine volume (mL)		10.4 ±5.6 (5)	11.4 ±8.3 (5)	17.8 ±12.1 (5)
Uosm (mOsm/L)		886.6 ±279.6 (5)	939.8 ±571.0 (5)	679.2 ±345.6 (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

B10-0121

Items	Group	Twenty-eight-day treatment			
		Dose (mg/kg/day)	0	40	200
	No. of animals		5	5	5
<b>Color</b>					
	SY	2	3	4	
	Y	3	2	1	
<b>Turbidity</b>					
	Clear	5	5	5	
<b>pH</b>					
	6.5	5	4	3	
	7.0	0	1	2	
<b>Protein</b>					
	-	0	1	1	
	±	1	1	2	
	1+	4	2	1	
	2+	0	1	1	
<b>Glucose</b>					
	-	5	5	5	
<b>Ketones</b>					
	-	0	2	4	
	±	5	2	1	
	1+	0	1	0	
<b>Occult blood</b>					
	-	4	5	5	
	±	1	0	0	

Color: SY: Slightly yellow, Y: Yellow

Table 6-3

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

B10-0121

Items	Group	Twenty-eight-day treatment			
		Dose (mg/kg/day)	0	40	200
	No. of animals		5	0	5
<b>Urinaly sediment</b>					
Red blood cells <sup>a)</sup>		0	5	---	5
White blood cells <sup>a)</sup>		0	5	---	5
Epithelial cells <sup>a)</sup>		0	5	---	4
		1-5	0	---	1
Casts <sup>b)</sup>		0	5	---	5
Crystals <sup>c)</sup>		-	0	---	1
		±	4	---	2
		1+	1	---	2

<sup>a)</sup>: Number of cells/10views(×400).<sup>b)</sup>: Number of casts/18×18 mm<sup>2</sup>.<sup>c)</sup>: Incidence of crystals/18×18 mm<sup>2</sup>.

---: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	40	200
RBC	( $\times 10^4/\mu\text{L}$ )	787.3 $\pm 90.8$ (4)	757.5 $\pm 42.6$ (4)	721.3 $\pm 76.0$ (4)
Hb	(g/dL)	16.50 $\pm 1.78$ (4)	15.58 $\pm 0.83$ (4)	15.20 $\pm 1.56$ (4)
Ht	(%)	54.58 $\pm 6.10$ (4)	51.65 $\pm 2.67$ (4)	49.68 $\pm 5.00$ (4)
MCV	(fL)	69.38 $\pm 0.53$ (4)	68.23 $\pm 1.63$ (4)	68.93 $\pm 1.89$ (4)
MCH	(pg)	20.98 $\pm 0.32$ (4)	20.53 $\pm 0.52$ (4)	21.05 $\pm 0.66$ (4)
MCHC	(g/dL)	30.28 $\pm 0.28$ (4)	30.10 $\pm 0.08$ (4)	30.55 $\pm 0.17$ (4)
Platelet	( $\times 10^4/\mu\text{L}$ )	118.73 $\pm 42.23$ (4)	130.28 $\pm 22.43$ (4)	111.48 $\pm 27.28$ (4)
Reticulo	(%)	10.88 $\pm 0.69$ (4)	10.18 $\pm 0.67$ (4)	11.10 $\pm 0.85$ (4)
WBC	( $\times 10^2/\mu\text{L}$ )	75.10 $\pm 24.46$ (4)	93.10 $\pm 19.86$ (4)	158.88 * $\pm 54.88$ (4)
<b>Differentiation of leukocyte</b>				
Neutro	(%)	8.53 $\pm 2.71$ (4)	14.23 $\pm 5.66$ (4)	24.38 ** $\pm 6.77$ (4)
Lymph	(%)	85.30 $\pm 3.82$ (4)	80.10 $\pm 6.86$ (4)	67.23 ** $\pm 6.57$ (4)
Eosino	(%)	0.33 $\pm 0.10$ (4)	0.40 $\pm 0.14$ (4)	0.40 $\pm 0.08$ (4)
Baso	(%)	2.13 $\pm 1.16$ (4)	1.63 $\pm 0.41$ (4)	1.65 $\pm 0.71$ (4)
Mono	(%)	3.10 $\pm 0.83$ (4)	2.95 $\pm 1.24$ (4)	4.00 $\pm 0.87$ (4)
LUC	(%)	0.65 $\pm 0.19$ (4)	0.70 $\pm 0.28$ (4)	2.38 * $\pm 1.56$ (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	40	200
RBC	( $\times 10^4/\mu\text{L}$ )	709.8 $\pm 38.1$ (4)	717.0 $\pm 32.6$ (4)	649.3 $\pm 38.0$ (4)
Hb	(g/dL)	14.85 $\pm 0.39$ (4)	14.70 $\pm 0.70$ (4)	13.68 * $\pm 0.62$ (4)
Ht	(%)	48.18 $\pm 1.32$ (4)	47.55 $\pm 2.02$ (4)	45.10 * $\pm 1.48$ (4)
MCV	(fL)	67.98 $\pm 2.39$ (4)	66.33 $\pm 0.61$ (4)	69.50 $\pm 2.91$ (4)
MCH	(pg)	20.93 $\pm 0.57$ (4)	20.48 $\pm 0.38$ (4)	21.10 $\pm 0.74$ (4)
MCHC	(g/dL)	30.80 $\pm 0.54$ (4)	30.88 $\pm 0.41$ (4)	30.35 $\pm 0.40$ (4)
Platelet	( $\times 10^4/\mu\text{L}$ )	125.95 $\pm 22.50$ (4)	118.28 $\pm 14.91$ (4)	192.58 ** $\pm 28.05$ (4)
Reticulo	(%)	8.18 $\pm 0.49$ (4)	7.53 $\pm 1.32$ (4)	13.38 ** $\pm 2.22$ (4)
WBC	( $\times 10^2/\mu\text{L}$ )	98.63 $\pm 21.97$ (4)	124.73 $\pm 17.59$ (4)	136.43 * $\pm 18.15$ (4)
<b>Differentiation of leukocyte</b>				
Neutro	(%)	17.18 $\pm 3.75$ (4)	17.00 $\pm 3.05$ (4)	23.85 * $\pm 1.14$ (4)
Lymph	(%)	77.38 $\pm 4.27$ (4)	77.18 $\pm 3.50$ (4)	69.50 * $\pm 1.45$ (4)
Eosino	(%)	0.55 $\pm 0.19$ (4)	0.65 $\pm 0.25$ (4)	0.38 $\pm 0.10$ (4)
Baso	(%)	1.23 $\pm 0.15$ (4)	1.15 $\pm 0.26$ (4)	1.10 $\pm 0.16$ (4)
Mono	(%)	2.88 $\pm 0.67$ (4)	2.98 $\pm 1.05$ (4)	4.00 $\pm 1.55$ (4)
LUC	(%)	0.85 $\pm 0.53$ (4)	1.08 $\pm 0.63$ (4)	1.18 $\pm 0.40$ (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	40	200
RBC	( $\times 10^4/\mu\text{L}$ )	759.8 $\pm 37.7$ (4)	770.0 $\pm 72.3$ (4)	719.8 $\pm 33.4$ (4)
Hb	(g/dL)	15.78 $\pm 0.22$ (4)	15.35 $\pm 1.18$ (4)	14.85 $\pm 0.82$ (4)
Ht	(%)	51.08 $\pm 1.53$ (4)	49.38 $\pm 4.28$ (4)	48.05 $\pm 3.30$ (4)
MCV	(fL)	67.28 $\pm 1.29$ (4)	64.18 * $\pm 1.30$ (4)	66.70 $\pm 1.95$ (4)
MCH	(pg)	20.80 $\pm 0.70$ (4)	19.98 $\pm 0.48$ (4)	20.60 $\pm 0.48$ (4)
MCHC	(g/dL)	30.88 $\pm 0.48$ (4)	31.13 $\pm 0.30$ (4)	30.95 $\pm 0.44$ (4)
Platelet	( $\times 10^4/\mu\text{L}$ )	138.43 $\pm 9.39$ (4)	140.83 $\pm 3.98$ (4)	146.13 $\pm 19.71$ (4)
Reticulo	(%)	6.30 $\pm 0.28$ (4)	5.40 $\pm 0.52$ (4)	7.45 $\pm 1.06$ (4)
WBC	( $\times 10^2/\mu\text{L}$ )	123.85 $\pm 43.04$ (4)	135.00 $\pm 16.36$ (4)	140.63 $\pm 60.10$ (4)
<b>Differentiation of leukocyte</b>				
Neutro	(%)	18.20 $\pm 3.34$ (4)	12.65 * $\pm 2.25$ (4)	18.23 $\pm 2.76$ (4)
Lymph	(%)	75.70 $\pm 2.59$ (4)	81.50 * $\pm 2.91$ (4)	76.03 $\pm 3.38$ (4)
Eosino	(%)	0.40 $\pm 0.22$ (4)	0.53 $\pm 0.19$ (4)	0.38 $\pm 0.10$ (4)
Baso	(%)	1.58 $\pm 0.43$ (4)	1.25 $\pm 0.26$ (4)	0.98 $\pm 0.43$ (4)
Mono	(%)	3.23 $\pm 0.67$ (4)	2.75 $\pm 0.87$ (4)	3.38 $\pm 0.57$ (4)
LUC	(%)	0.88 $\pm 0.17$ (4)	1.28 $\pm 0.34$ (4)	1.03 $\pm 0.34$ (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	40	200
RBC	( $\times 10^6/\mu\text{L}$ )	806.0 $\pm 63.5$ (5)	793.4 $\pm 30.1$ (5)	729.8 * $\pm 43.4$ (5)
Hb	(g/dL)	15.96 $\pm 0.90$ (5)	15.66 $\pm 0.71$ (5)	14.20 ** $\pm 0.70$ (5)
Ht	(%)	50.30 $\pm 2.90$ (5)	49.54 $\pm 2.37$ (5)	44.44 ** $\pm 1.85$ (5)
MCV	(fL)	62.50 $\pm 3.11$ (5)	62.42 $\pm 1.76$ (5)	60.96 $\pm 1.72$ (5)
MCH	(pg)	19.86 $\pm 0.79$ (5)	19.74 $\pm 0.50$ (5)	19.46 $\pm 0.44$ (5)
MCHC	(g/dL)	31.78 $\pm 0.45$ (5)	31.62 $\pm 0.53$ (5)	31.92 $\pm 0.36$ (5)
Platelet	( $\times 10^4/\mu\text{L}$ )	107.36 $\pm 8.76$ (5)	111.28 $\pm 11.70$ (5)	117.54 $\pm 15.29$ (5)
Reticulo	(%)	3.06 $\pm 0.35$ (5)	3.38 $\pm 0.52$ (5)	4.68 * $\pm 1.20$ (5)
WBC	( $\times 10^2/\mu\text{L}$ )	123.46 $\pm 47.40$ (5)	142.12 $\pm 18.20$ (5)	133.46 $\pm 21.33$ (5)
<b>Differentiation of leukocyte</b>				
Neutro	(%)	14.40 $\pm 4.12$ (5)	18.36 $\pm 3.53$ (5)	19.74 $\pm 4.80$ (5)
Lymph	(%)	80.82 $\pm 3.69$ (5)	76.06 $\pm 3.21$ (5)	74.96 $\pm 4.30$ (5)
Eosino	(%)	0.52 $\pm 0.11$ (5)	0.78 $\pm 0.42$ (5)	0.48 $\pm 0.24$ (5)
Baso	(%)	1.28 $\pm 0.55$ (5)	1.30 $\pm 0.38$ (5)	1.14 $\pm 0.32$ (5)
Mono	(%)	2.12 $\pm 0.61$ (5)	2.32 $\pm 0.61$ (5)	2.78 $\pm 0.67$ (5)
LUC	(%)	0.84 $\pm 0.17$ (5)	1.20 $\pm 0.49$ (5)	0.92 $\pm 0.33$ (5)
PT	(sec)	18.00 $\pm 4.39$ (5)	19.64 $\pm 5.56$ (5)	19.50 $\pm 2.66$ (5)
APTT	(sec)	18.70 $\pm 7.24$ (5)	20.06 $\pm 3.58$ (5)	18.10 $\pm 2.94$ (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	40	200
AST	(IU/L)	90.5 ±6.2 (4)	87.5 ±5.2 (4)	94.8 ±9.4 (4)
ALT	(IU/L)	37.5 ±2.1 (4)	33.0 ±2.8 (4)	49.5 ** ±5.4 (4)
ALP	(IU/L)	933.0 ±210.9 (4)	847.0 ±86.0 (4)	1048.3 ±236.2 (4)
BUN	(mg/dL)	9.85 ±0.79 (4)	10.75 ±0.96 (4)	27.55 ** ±7.83 (4)
Creatinine	(mg/dL)	0.130 ±0.018 (4)	0.158 ±0.010 (4)	0.240 ** ±0.041 (4)
T-Bil	(mg/dL)	0.073 ±0.021 (4)	0.053 ±0.010 (4)	0.058 ±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 8-2 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	40	200
AST	(IU/L)	84.5 ±8.6 (4)	80.0 ±5.0 (4)	63.0 ±25.0 (4)
ALT	(IU/L)	32.5 ±3.4 (4)	32.5 ±2.6 (4)	26.0 ±13.4 (4)
ALP	(IU/L)	820.8 ±118.1 (4)	845.0 ±279.5 (4)	570.8 ±193.9 (4)
BUN	(mg/dL)	11.25 ±2.18 (4)	11.65 ±3.44 (4)	11.98 ±6.08 (4)
Creatinine	(mg/dL)	0.193 ±0.021 (4)	0.168 ±0.035 (4)	0.163 ±0.082 (4)
T-Bil	(mg/dL)	0.063 ±0.010 (4)	0.045 * ±0.006 (4)	0.035 ** ±0.006 (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	40	200
AST	(IU/L)	79.5 ±2.5 (4)	71.5 * ±3.0 (4)	78.3 ±3.9 (4)
ALT	(IU/L)	29.0 ±4.7 (4)	23.8 ±1.5 (4)	31.8 ±5.3 (4)
ALP	(IU/L)	826.5 ±230.0 (4)	847.3 ±31.2 (4)	735.5 ±138.6 (4)
BUN	(mg/dL)	10.03 ±2.19 (4)	9.70 ±1.78 (4)	13.40 ±2.24 (4)
Creatinine	(mg/dL)	0.200 ±0.026 (4)	0.193 ±0.010 (4)	0.223 ±0.040 (4)
T-Bil	(mg/dL)	0.055 ±0.013 (4)	0.045 ±0.010 (4)	0.033 * ±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	40	200
AST	(IU/L)	58.8 ±12.9 (5)	58.6 ±4.2 (5)	60.4 ±4.9 (5)
ALT	(IU/L)	23.8 ±2.9 (5)	22.6 ±3.6 (5)	24.8 ±3.0 (5)
ALP	(IU/L)	691.8 ±40.1 (5)	543.2 ** ±95.4 (5)	431.0 ** ±60.0 (5)
ChE	(IU/L)	60.6 ±4.8 (5)	53.2 ±15.1 (5)	56.4 ±17.4 (5)
γ-GTP	(IU/L)	0.84 ±0.13 (5)	1.06 ±0.15 (5)	1.10 ±0.24 (5)
T-Cho	(mg/dL)	58.2 ±15.1 (5)	63.2 ±14.7 (5)	66.0 ±8.7 (5)
TG	(mg/dL)	63.4 ±17.1 (5)	78.8 ±25.6 (5)	111.8 ±48.5 (5)
BUN	(mg/dL)	10.96 ±1.37 (5)	11.76 ±1.56 (5)	14.32 ** ±1.38 (5)
Creatinine	(mg/dL)	0.250 ±0.031 (5)	0.232 ±0.015 (5)	0.266 ±0.030 (5)
T-Protein	(g/dL)	6.00 ±0.23 (5)	5.80 ±0.32 (5)	5.82 ±0.23 (5)
Albumin	(g/dL)	2.86 ±0.15 (5)	2.76 ±0.11 (5)	2.70 ±0.07 (5)
A/G ratio	(-)	0.916 ±0.089 (5)	0.912 ±0.045 (5)	0.868 ±0.050 (5)
Glucose	(mg/dL)	141.6 ±34.8 (5)	136.2 ±21.5 (5)	128.8 ±36.0 (5)
T-Bil	(mg/dL)	0.054 ±0.011 (5)	0.038 * ±0.008 (5)	0.020 ** ±0.007 (5)
TBA	(μmol/L)	46.40 ±48.17 (5)	19.22 ±11.42 (5)	11.44 * ±1.63 (5)
IP	(mg/dL)	12.12 ±1.81 (5)	11.68 ±0.30 (5)	12.04 ±0.43 (5)
Ca	(mg/dL)	10.92 ±0.86 (5)	10.80 ±0.40 (5)	11.48 ±0.68 (5)
Na	(mEq/L)	146.6 ±1.8 (5)	148.4 ±0.5 (5)	146.6 ±0.9 (5)
K	(mEq/L)	7.32 ±0.67 (5)	6.92 ±0.44 (5)	7.22 ±0.37 (5)
Cl	(mEq/L)	98.82 ±1.40 (5)	99.76 ±1.40 (5)	97.84 ±0.74 (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	40	200
Liver (g)		4.603 ±0.321 (4)	4.748 ±0.300 (4)	5.660 * ±0.659 (4)
Heart (g)		0.635 ±0.019 (4)	0.633 ±0.085 (4)	0.660 ±0.037 (4)
Kidney(R) (g)		0.673 ±0.030 (4)	0.680 ±0.070 (4)	0.818 * ±0.094 (4)
Kidney(L) (g)		0.668 ±0.017 (4)	0.660 ±0.062 (4)	0.828 ** ±0.037 (4)
Kidneys (g)		1.340 ±0.047 (4)	1.340 ±0.131 (4)	1.645 ** ±0.116 (4)
Testis(R) (g)		0.653 ±0.095 (4)	0.680 ±0.056 (4)	0.700 ±0.042 (4)
Testis(L) (g)		0.640 ±0.075 (4)	0.693 ±0.049 (4)	0.688 ±0.043 (4)
Testes (g)		1.293 ±0.165 (4)	1.373 ±0.102 (4)	1.388 ±0.078 (4)
Epididymis(R) (g)		0.083 ±0.019 (4)	0.078 ±0.013 (4)	0.080 ±0.008 (4)
Epididymis(L) (g)		0.083 ±0.005 (4)	0.080 ±0.016 (4)	0.093 ±0.005 (4)
Epididymides (g)		0.165 ±0.024 (4)	0.158 ±0.029 (4)	0.173 ±0.013 (4)
Ventral prostate (g)		0.075 ±0.024 (4)	0.083 ±0.026 (4)	0.073 ±0.010 (4)
Dorsolateral prostate (g)		0.048 ±0.015 (4)	0.058 ±0.015 (4)	0.055 ±0.013 (4)
Brain (g)		1.770 ±0.057 (4)	1.775 ±0.062 (4)	1.800 ±0.066 (4)
Spleen (g)		0.383 ±0.069 (4)	0.408 ±0.105 (4)	0.440 ±0.075 (4)
Thymus (mg)		495.65 ±72.90 (4)	479.28 ±74.42 (4)	524.58 ±55.86 (4)
Pituitary gland (mg)		5.20 ±0.63 (4)	5.23 ±0.15 (4)	5.53 ±0.17 (4)
Thyroid (mg)		9.18 ±0.46 (4)	9.00 ±1.21 (4)	9.18 ±1.10 (4)
Adrenals (mg)		26.73 ±4.61 (4)	28.28 ±4.55 (4)	29.93 ±4.34 (4)
Final body weight (g)		129.03 ±5.57 (4)	128.98 ±4.66 (4)	132.60 ±8.39 (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	40	200
Liver	(g)	6.188 ±0.642 (4)	6.390 ±0.350 (4)	7.690 ** ±0.382 (4)
Heart	(g)	0.793 ±0.065 (4)	0.790 ±0.045 (4)	0.808 ±0.039 (4)
Kidney(R)	(g)	0.773 ±0.059 (4)	0.920 * ±0.075 (4)	0.873 ±0.066 (4)
Kidney(L)	(g)	0.763 ±0.051 (4)	0.868 * ±0.046 (4)	0.850 * ±0.044 (4)
Kidneys	(g)	1.535 ±0.107 (4)	1.788 * ±0.111 (4)	1.723 ±0.106 (4)
Testis(R)	(g)	0.945 ±0.058 (4)	0.915 ±0.066 (4)	0.993 ±0.026 (4)
Testis(L)	(g)	0.960 ±0.073 (4)	0.895 ±0.051 (4)	0.965 ±0.035 (4)
Testes	(g)	1.905 ±0.129 (4)	1.810 ±0.109 (4)	1.958 ±0.061 (4)
Epididymis(R)	(g)	0.113 ±0.010 (4)	0.113 ±0.013 (4)	0.143 ** ±0.010 (4)
Epididymis(L)	(g)	0.115 ±0.013 (4)	0.133 ±0.025 (4)	0.133 ±0.010 (4)
Epididymides	(g)	0.228 ±0.022 (4)	0.245 ±0.034 (4)	0.275 * ±0.017 (4)
Ventral prostate	(g)	0.095 ±0.026 (4)	0.128 ±0.019 (4)	0.115 ±0.030 (4)
Dorsolateral prostate	(g)	0.085 ±0.025 (4)	0.098 ±0.010 (4)	0.100 ±0.008 (4)
Brain	(g)	1.815 ±0.105 (4)	1.778 ±0.064 (4)	1.800 ±0.092 (4)
Spleen	(g)	0.520 ±0.106 (4)	0.493 ±0.068 (4)	0.590 ±0.054 (4)
Thymus	(mg)	670.60 ±167.26 (4)	554.83 ±162.23 (4)	480.70 ±41.26 (4)
Pituitary gland	(mg)	6.20 ±0.64 (4)	6.65 ±0.52 (4)	5.88 ±0.70 (4)
Thyroid	(mg)	14.73 ±2.68 (4)	13.18 ±2.27 (4)	17.20 ±3.47 (4)
Adrenals	(mg)	37.30 ±6.34 (4)	37.18 ±2.55 (4)	33.73 ±2.13 (4)
Final body weight	(g)	176.08 ±10.16 (4)	171.28 ±7.13 (4)	170.85 ±7.40 (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	40	200
Liver	(g)	8.360 ±0.829 (4)	9.023 ±1.075 (4)	10.415 * ±0.683 (4)
Heart	(g)	0.925 ±0.068 (4)	1.018 ±0.095 (4)	0.905 ±0.041 (4)
Kidney(R)	(g)	1.000 ±0.076 (4)	1.103 ±0.051 (4)	1.123 ±0.209 (4)
Kidney(L)	(g)	0.970 ±0.073 (4)	1.058 ±0.038 (4)	1.068 ±0.114 (4)
Kidneys	(g)	1.970 ±0.147 (4)	2.160 ±0.088 (4)	2.190 ±0.315 (4)
Testis(R)	(g)	1.238 ±0.189 (4)	1.258 ±0.046 (4)	1.268 ±0.215 (4)
Testis(L)	(g)	1.210 ±0.172 (4)	1.248 ±0.049 (4)	1.290 ±0.180 (4)
Testes	(g)	2.448 ±0.362 (4)	2.505 ±0.093 (4)	2.558 ±0.395 (4)
Epididymis(R)	(g)	0.183 ±0.025 (4)	0.185 ±0.017 (4)	0.200 ±0.018 (4)
Epididymis(L)	(g)	0.170 ±0.022 (4)	0.173 ±0.019 (4)	0.193 ±0.026 (4)
Epididymides	(g)	0.353 ±0.046 (4)	0.358 ±0.036 (4)	0.393 ±0.043 (4)
Ventral prostate	(g)	0.200 ±0.043 (4)	0.203 ±0.048 (4)	0.198 ±0.050 (4)
Dorsolateral prostate	(g)	0.163 ±0.033 (4)	0.178 ±0.029 (4)	0.155 ±0.013 (4)
Brain	(g)	1.835 ±0.066 (4)	1.910 ±0.059 (4)	1.863 ±0.051 (4)
Spleen	(g)	0.608 ±0.078 (4)	0.628 ±0.053 (4)	0.688 ±0.172 (4)
Thymus	(mg)	616.20 ±126.45 (4)	627.95 ±120.32 (4)	568.95 ±84.60 (4)
Pituitary gland	(mg)	8.53 ±0.91 (4)	9.23 ±0.47 (4)	8.40 ±0.56 (4)
Thyroid	(mg)	14.80 ±2.37 (4)	15.63 ±2.68 (4)	19.98 * ±2.02 (4)
Adrenals	(mg)	45.50 ±4.64 (4)	41.85 ±5.13 (4)	40.38 ±1.34 (4)
Final body weight	(g)	231.05 ±24.00 (4)	236.60 ±14.34 (4)	224.23 ±13.42 (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	40	200
Liver	(g)	10.770 ±0.360 (5)	10.850 ±0.420 (5)	12.706 ±2.233 (5)
Heart	(g)	1.256 ±0.070 (5)	1.180 ±0.085 (5)	1.150 ±0.162 (5)
Kidney(R)	(g)	1.358 ±0.054 (5)	1.318 ±0.080 (5)	1.370 ±0.156 (5)
Kidney(L)	(g)	1.362 ±0.064 (5)	1.300 ±0.085 (5)	1.350 ±0.207 (5)
Kidneys	(g)	2.720 ±0.108 (5)	2.618 ±0.163 (5)	2.720 ±0.361 (5)
Testis(R)	(g)	1.620 ±0.178 (5)	1.536 ±0.074 (5)	1.590 ±0.113 (5)
Testis(L)	(g)	1.610 ±0.184 (5)	1.542 ±0.089 (5)	1.592 ±0.097 (5)
Testes	(g)	3.230 ±0.360 (5)	3.078 ±0.161 (5)	3.182 ±0.204 (5)
Epididymis(R)	(g)	0.396 ±0.031 (5)	0.380 ±0.036 (5)	0.370 ±0.034 (5)
Epididymis(L)	(g)	0.380 ±0.027 (5)	0.386 ±0.023 (5)	0.346 ±0.046 (5)
Epididymides	(g)	0.776 ±0.053 (5)	0.766 ±0.055 (5)	0.716 ±0.068 (5)
Ventral prostate	(g)	0.444 ±0.051 (5)	0.348 ±0.073 (5)	0.358 ±0.073 (5)
Dorsolateral prostate	(g)	0.360 ±0.068 (5)	0.328 ±0.044 (5)	0.312 ±0.049 (5)
Seminal vesicle	(g)	1.044 ±0.167 (5)	0.822 * ±0.100 (5)	0.842 * ±0.079 (5)
Brain	(g)	1.996 ±0.168 (5)	1.934 ±0.104 (5)	1.974 ±0.059 (5)
Spleen	(g)	0.682 ±0.118 (5)	0.728 ±0.119 (5)	0.694 ±0.135 (5)
Thymus	(mg)	710.98 ±180.91 (5)	613.80 ±132.93 (5)	499.60 * ±42.02 (5)
Pituitary gland	(mg)	11.56 ±1.04 (5)	10.90 ±0.52 (5)	10.80 ±1.34 (5)
Thyroid	(mg)	14.90 ±1.42 (5)	19.20 ±4.61 (5)	24.18 ** ±5.67 (5)
Adrenals	(mg)	54.14 ±5.11 (5)	51.84 ±6.80 (5)	46.76 ±10.53 (5)
Final body weight	(g)	346.40 ±14.71 (5)	338.36 ±10.40 (5)	318.08 ±33.43 (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	40	200
Liver	(g/100g)	3.568 ±0.121 (4)	3.678 ±0.120 (4)	4.260 ** ±0.283 (4)
Heart	(g/100g)	0.490 ±0.014 (4)	0.490 ±0.050 (4)	0.498 ±0.017 (4)
Kidney(R)	(g/100g)	0.523 ±0.042 (4)	0.528 ±0.038 (4)	0.618 ±0.081 (4)
Kidney(L)	(g/100g)	0.520 ±0.036 (4)	0.513 ±0.033 (4)	0.625 ** ±0.034 (4)
Kidneys	(g/100g)	1.043 ±0.077 (4)	1.040 ±0.070 (4)	1.243 * ±0.110 (4)
Testis(R)	(g/100g)	0.505 ±0.062 (4)	0.525 ±0.026 (4)	0.533 ±0.063 (4)
Testis(L)	(g/100g)	0.498 ±0.054 (4)	0.535 ±0.019 (4)	0.523 ±0.054 (4)
Testes	(g/100g)	1.003 ±0.110 (4)	1.060 ±0.042 (4)	1.055 ±0.113 (4)
Epididymis(R)	(g/100g)	0.063 ±0.013 (4)	0.060 ±0.008 (4)	0.063 ±0.005 (4)
Epididymis(L)	(g/100g)	0.065 ±0.006 (4)	0.063 ±0.013 (4)	0.068 ±0.010 (4)
Epididymides	(g/100g)	0.128 ±0.017 (4)	0.123 ±0.021 (4)	0.130 ±0.014 (4)
Ventral prostate	(g/100g)	0.058 ±0.015 (4)	0.065 ±0.017 (4)	0.055 ±0.006 (4)
Dorsolateral prostate	(g/100g)	0.038 ±0.015 (4)	0.045 ±0.013 (4)	0.043 ±0.010 (4)
Brain	(g/100g)	1.373 ±0.043 (4)	1.378 ±0.034 (4)	1.360 ±0.078 (4)
Spleen	(g/100g)	0.293 ±0.042 (4)	0.318 ±0.077 (4)	0.328 ±0.042 (4)
Thymus	(mg/100g)	383.48 ±46.65 (4)	372.00 ±58.00 (4)	398.78 ±67.18 (4)
Pituitary gland	(mg/100g)	4.05 ±0.33 (4)	4.05 ±0.06 (4)	4.18 ±0.22 (4)
Thyroid	(mg/100g)	7.13 ±0.54 (4)	6.98 ±0.68 (4)	6.93 ±0.46 (4)
Adrenals	(mg/100g)	20.65 ±2.96 (4)	21.88 ±2.86 (4)	22.48 ±1.91 (4)
Final body weight	(g)	129.03 ±5.57 (4)	128.98 ±4.66 (4)	132.60 ±8.39 (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	40	200
Liver	(g/100g)	3.508 ±0.170 (4)	3.733 ±0.139 (4)	4.500 ** ±0.051 (4)
Heart	(g/100g)	0.450 ±0.012 (4)	0.463 ±0.010 (4)	0.470 ±0.014 (4)
Kidney(R)	(g/100g)	0.438 ±0.010 (4)	0.538 ** ±0.033 (4)	0.510 ** ±0.022 (4)
Kidney(L)	(g/100g)	0.430 ±0.008 (4)	0.505 ** ±0.013 (4)	0.498 ** ±0.015 (4)
Kidneys	(g/100g)	0.868 ±0.010 (4)	1.043 ** ±0.040 (4)	1.008 ** ±0.030 (4)
Testis(R)	(g/100g)	0.538 ±0.031 (4)	0.535 ±0.024 (4)	0.583 ±0.029 (4)
Testis(L)	(g/100g)	0.543 ±0.039 (4)	0.523 ±0.022 (4)	0.565 ±0.039 (4)
Testes	(g/100g)	1.080 ±0.067 (4)	1.058 ±0.039 (4)	1.148 ±0.067 (4)
Epididymis(R)	(g/100g)	0.063 ±0.005 (4)	0.065 ±0.006 (4)	0.085 ** ±0.010 (4)
Epididymis(L)	(g/100g)	0.065 ±0.006 (4)	0.078 ±0.013 (4)	0.075 ±0.006 (4)
Epididymides	(g/100g)	0.128 ±0.010 (4)	0.143 ±0.013 (4)	0.160 ** ±0.014 (4)
Ventral prostate	(g/100g)	0.058 ±0.017 (4)	0.075 ±0.010 (4)	0.065 ±0.017 (4)
Dorsolateral prostate	(g/100g)	0.048 ±0.013 (4)	0.058 ±0.005 (4)	0.058 ±0.005 (4)
Brain	(g/100g)	1.033 ±0.071 (4)	1.038 ±0.025 (4)	1.058 ±0.073 (4)
Spleen	(g/100g)	0.295 ±0.053 (4)	0.288 ±0.039 (4)	0.345 ±0.042 (4)
Thymus	(mg/100g)	379.78 ±87.34 (4)	323.13 ±89.37 (4)	281.15 ±17.28 (4)
Pituitary gland	(mg/100g)	3.53 ±0.39 (4)	3.88 ±0.21 (4)	3.45 ±0.26 (4)
Thyroid	(mg/100g)	8.38 ±1.62 (4)	7.73 ±1.30 (4)	10.10 ±2.00 (4)
Adrenals	(mg/100g)	21.15 ±3.10 (4)	21.73 ±1.47 (4)	19.75 ±1.14 (4)
Final body weight	(g)	176.08 ±10.16 (4)	171.28 ±7.13 (4)	170.85 ±7.40 (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	40	200
Liver	(g/100g)	3.618 ±0.025 (4)	3.805 ±0.232 (4)	4.648 * ±0.148 (4)
Heart	(g/100g)	0.403 ±0.029 (4)	0.430 ±0.027 (4)	0.405 ±0.013 (4)
Kidney(R)	(g/100g)	0.435 ±0.045 (4)	0.468 ±0.010 (4)	0.500 ±0.065 (4)
Kidney(L)	(g/100g)	0.420 ±0.032 (4)	0.448 ±0.013 (4)	0.473 ±0.038 (4)
Kidneys	(g/100g)	0.855 ±0.076 (4)	0.915 ±0.021 (4)	0.973 ±0.094 (4)
Testis(R)	(g/100g)	0.535 ±0.048 (4)	0.530 ±0.016 (4)	0.563 ±0.066 (4)
Testis(L)	(g/100g)	0.523 ±0.050 (4)	0.528 ±0.017 (4)	0.573 ±0.054 (4)
Testes	(g/100g)	1.058 ±0.097 (4)	1.058 ±0.033 (4)	1.135 ±0.119 (4)
Epididymis(R)	(g/100g)	0.078 ±0.010 (4)	0.080 ±0.000 (4)	0.090 ±0.008 (4)
Epididymis(L)	(g/100g)	0.075 ±0.010 (4)	0.073 ±0.005 (4)	0.088 ±0.010 (4)
Epididymides	(g/100g)	0.153 ±0.019 (4)	0.153 ±0.005 (4)	0.178 ±0.017 (4)
Ventral prostate	(g/100g)	0.090 ±0.022 (4)	0.085 ±0.017 (4)	0.090 ±0.028 (4)
Dorsolateral prostate	(g/100g)	0.070 ±0.008 (4)	0.073 ±0.010 (4)	0.068 ±0.005 (4)
Brain	(g/100g)	0.800 ±0.061 (4)	0.808 ±0.046 (4)	0.833 ±0.049 (4)
Spleen	(g/100g)	0.268 ±0.050 (4)	0.265 ±0.019 (4)	0.308 ±0.085 (4)
Thymus	(mg/100g)	267.25 ±49.94 (4)	266.00 ±54.15 (4)	253.53 ±32.55 (4)
Pituitary gland	(mg/100g)	3.70 ±0.24 (4)	3.93 ±0.13 (4)	3.75 ±0.19 (4)
Thyroid	(mg/100g)	6.53 ±1.50 (4)	6.60 ±0.80 (4)	8.93 * ±0.90 (4)
Adrenals	(mg/100g)	19.73 ±1.27 (4)	17.65 ±1.52 (4)	18.08 ±1.05 (4)
Final body weight	(g)	231.05 ±24.00 (4)	236.60 ±14.34 (4)	224.23 ±13.42 (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	40	200
Liver	(g/100g)	3.112 ±0.094 (5)	3.208 ±0.115 (5)	3.972 ** ±0.301 (5)
Heart	(g/100g)	0.364 ±0.011 (5)	0.348 ±0.016 (5)	0.360 ±0.012 (5)
Kidney(R)	(g/100g)	0.394 ±0.018 (5)	0.390 ±0.019 (5)	0.430 * ±0.016 (5)
Kidney(L)	(g/100g)	0.394 ±0.015 (5)	0.384 ±0.018 (5)	0.422 ±0.029 (5)
Kidneys	(g/100g)	0.788 ±0.031 (5)	0.774 ±0.036 (5)	0.852 * ±0.043 (5)
Testis(R)	(g/100g)	0.468 ±0.050 (5)	0.456 ±0.023 (5)	0.502 ±0.047 (5)
Testis(L)	(g/100g)	0.466 ±0.051 (5)	0.454 ±0.027 (5)	0.502 ±0.052 (5)
Testes	(g/100g)	0.934 ±0.100 (5)	0.910 ±0.049 (5)	1.004 ±0.097 (5)
Epididymis(R)	(g/100g)	0.114 ±0.009 (5)	0.112 ±0.013 (5)	0.116 ±0.018 (5)
Epididymis(L)	(g/100g)	0.110 ±0.010 (5)	0.114 ±0.011 (5)	0.110 ±0.012 (5)
Epididymides	(g/100g)	0.224 ±0.017 (5)	0.226 ±0.023 (5)	0.226 ±0.027 (5)
Ventral prostate	(g/100g)	0.128 ±0.016 (5)	0.106 ±0.022 (5)	0.112 ±0.016 (5)
Dorsolateral prostate	(g/100g)	0.104 ±0.021 (5)	0.098 ±0.015 (5)	0.096 ±0.005 (5)
Seminal vesicle	(g/100g)	0.300 ±0.041 (5)	0.240 * ±0.035 (5)	0.266 ±0.036 (5)
Brain	(g/100g)	0.578 ±0.048 (5)	0.572 ±0.027 (5)	0.624 ±0.050 (5)
Spleen	(g/100g)	0.198 ±0.031 (5)	0.214 ±0.032 (5)	0.218 ±0.034 (5)
Thymus	(mg/100g)	204.58 ±46.73 (5)	181.74 ±40.60 (5)	157.84 ±13.87 (5)
Pituitary gland	(mg/100g)	3.34 ±0.23 (5)	3.22 ±0.16 (5)	3.38 ±0.28 (5)
Thyroid	(mg/100g)	4.34 ±0.55 (5)	5.68 ±1.31 (5)	7.52 ** ±0.99 (5)
Adrenals	(mg/100g)	15.60 ±1.15 (5)	15.32 ±2.01 (5)	14.60 ±1.86 (5)
Final body weight	(g)	346.40 ±14.71 (5)	338.36 ±10.40 (5)	318.08 ±33.43 (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	40	200
	ss	ss	ss
	4 <sup>a)</sup>	4	4
No abnormalities detected	4	4	0
Liver			
Enlargement	0	0	1
Kidney			
Enlargement, bilateral	0	0	3

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	40	200
	ss	ss	ss
	4 <sup>a)</sup>	4	4
No abnormalities detected	3	4	0
Liver			
Enlargement	0	0	4
Kidney			
Pelvic dilatation, unilateral	1	0	0

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			(mg/kg/day)
	0	40	200	
	ss	ss	ss	
	4 <sup>a)</sup>	4	4	
No abnormalities detected	3	3	0	
Glandular stomach				
Blackish region of mucosa	0	0	1	
Liver				
Decrease in size of quadrate lobe	0	1	0	
Enlargement	0	0	4	
Cerebrum				
Partial defect of cortex	1	0	0	

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	40	200	
	ss	ss	ss	
	5 <sup>a)</sup>	5	5	
No abnormalities detected	5	5	0	
Liver				
Enlargement	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	40	200
		ss	ss	ss
		4 <sup>a)</sup>	4	4
<b>Liver</b>				
No abnormalities detected		4/4 <sup>b)</sup>	4/4	3/4
Hypertrophy/Hepatocyte/Periportal	++	0/4	0/4	1/4
<b>Kidney</b>				
No abnormalities detected		4/4	4/4	1/4
Dilatation/Renal tubule/Cortex	+	0/4	0/4	2/4
Dilatation/Renal tubule/Outer medulla	+	0/4	0/4	1/4
Necrosis/Papilla	+	0/4	0/4	2/4
<b>Testis</b>				
No abnormalities detected		4/4	---	4/4
<b>Ventral prostate</b>				
No abnormalities detected		4/4	---	4/4
<b>Dorsolateral prostate</b>				
No abnormalities detected		4/4	---	4/4
<b>Bone marrow</b>				
No abnormalities detected		4/4	---	4/4
<b>Spleen</b>				
No abnormalities detected		4/4	---	4/4
<b>Thymus</b>				
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 12-2 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats  
Summary of histopathological examinations: Seven-day treatment

Findings	Grade	Male		
		0	40	200
		(mg/kg/day)	ss	ss
		4 <sup>a)</sup>	4	4
Liver				
No abnormalities detected		4/4 <sup>b)</sup>	4/4	0/4
Hypertrophy/Hepatocyte/ Centrilobular	+	0/4	0/4	1/4
Hypertrophy/Hepatocyte/Diffuse	+	0/4	0/4	3/4
Necrosis/Hepatocyte/Focal	+	0/4	0/4	1/4
Kidney				
No abnormalities detected		3/4	---	4/4
Dilatation/Pelvis	+	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	2/4
Hematopoiesis, extramedullary, increased	+	0/4	0/4	2/4
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	40	200
		(mg/kg/day)	ss	ss
		4 <sup>a)</sup>	4	4
<b>Glandular stomach</b>				
Necrosis/Fundic mucosa/Focal	+	---	---	1/1 <sup>b)</sup>
<b>Liver</b>				
No abnormalities detected		4/4	3/4	0/4
Granulation tissue with mineralization	+++	0/4	1/4	0/4
Hypertrophy/Hepatocyte/Centrilobular	+	0/4	0/4	3/4
Hypertrophy/Hepatocyte/Diffuse	++	0/4	0/4	1/4
<b>Kidney</b>				
No abnormalities detected		4/4	4/4	3/4
Dilatation/Renal tubule/Cortex	±	0/4	0/4	1/4
Dilatation/Renal tubule/Outer medulla	±	0/4	0/4	1/4
<b>Testis</b>				
No abnormalities detected		4/4	---	4/4
<b>Ventral prostate</b>				
No abnormalities detected		4/4	---	4/4
<b>Dorsolateral prostate</b>				
No abnormalities detected		4/4	---	4/4
<b>Bone marrow</b>				
No abnormalities detected		4/4	---	4/4
<b>Spleen</b>				
No abnormalities detected		4/4	---	4/4
<b>Thymus</b>				
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, +++: severe.

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	40	200	
		ss	ss	ss	
		5 <sup>a)</sup>	5	5	
Trachea					
No abnormalities detected		5/5 <sup>b)</sup>	---	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	

ss: scheduled sacrifice animal.

a) Number of animals autopsied.

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

---: Not examined.

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	40	200
		(mg/kg/day)	ss	ss
		5 <sup>a)</sup>	5	5
Liver				
No abnormalities detected		5/5 <sup>b)</sup>	5/5	0/5
Hypertrophy/Hepatocyte/ Centrilobular	+	0/5	0/5	5/5
Heart				
No abnormalities detected		5/5	---	5/5
Kidney				
No abnormalities detected		4/5	5/5	4/5
Dilatation/Renal tubule/Cortex	±	0/5	0/5	1/5
Scar/Cortex	+	1/5	0/5	0/5
Urinary bladder				
No abnormalities detected		5/5	---	5/5
Testis				
No abnormalities detected		5/5	5/5	4/5
Deep retention/Spermatid	+	0/5	0/5	1/5
Spermiation, inhibited	+	0/5	0/5	1/5
Epididymis				
No abnormalities detected		5/5	5/5	4/5
Germ cell debris/Bilateral	+	0/5	0/5	1/5
Ventral prostate				
No abnormalities detected		4/5	---	5/5
Cellular infiltration, lymphocyte	+	1/5	---	0/5
Dorsolateral prostate				
No abnormalities detected		4/5	---	5/5
Cellular infiltration, lymphocyte	+	1/5	---	0/5
Coagulating gland				
No abnormalities detected		5/5	---	5/5
Seminal vesicle				
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.

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	40	200
		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	---	5/5
Axillary 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	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.