

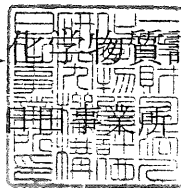
試験番号	B10-0112
------	----------

最 終 報 告 書

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

2014 年 3 月

一般財団法人化学物質評価研究機構



本文書は正本を正確に転写したものです。 一般財団法人 化学物質評価研究機構 日田事業所 2014年3月25日 試験責任者 寶珠山五月

目 次

	頁
1. 表 題	4
2. 試験委託者	4
3. 試験施設	4
4. 試験目的	4
5. 試験法	4
6. GLP 基準	4
7. 動物愛護	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	9
14.1 被験物質	9
14.2 媒 体	10
14.3 使用動物	10
14.4 飼育環境	10
15. 試験方法	12
15.1 被験物質の設定用量	12
15.2 群構成	12
15.3 投与液	12
15.4 投 与	13
15.5 一般状態観察	13
15.6 詳細な一般状態観察	13
15.7 機能検査	14
15.8 体重測定	14
15.9 摂餌量測定	14
15.10 尿検査	15
15.11 血液検査	15
15.12 病理学的検査	18
15.13 統計学的方法	21
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	21
17. 試験成績	22
17.1 一般状態	22
17.2 詳細な一般状態	22
17.3 機能検査	22

17.4	体 重	22
17.5	摄餌量	22
17.6	尿検査	22
17.7	血液検査	22
17.8	病理学的検査	23
18.	考 察	25
19.	参考文献	26

Figures

1	Body weights.....	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 individual animals	71
4	Body weights of individual animals.....	72
5	Food consumption of individual animals	84
6	Urinary data of individual animals	85
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 Potassium bromate 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

Potassium bromate 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、Potassium bromate の毒性を明らかにすることを目的とする。また、遺伝子発現量解析のための試料を採取する。

5. 試験法

以下の試験法を参考に実施した。

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

6. GLP 基準

適用しなかった。

7. 動物愛護

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

- 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) 「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」(文部科学省告示第 71 号、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	2013 年 9 月 12 日
動物入荷日	2013 年 9 月 17 日
投与開始日	2013 年 9 月 24 日
1 回投与後解剖日	2013 年 9 月 25 日
7 日間投与後解剖日	2013 年 10 月 1 日
14 日間投与後解剖日	2013 年 10 月 8 日
28 日間投与後解剖日	2013 年 10 月 22 日
試験終了日	2014 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

2014年3月25日

試験責任者

寶珠山五月

13. 要 約

Potassium bromate 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 Potassium bromate 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 (精製水)、30 及び 150 mg/kg/day とし、1、7 及び 14 日間投与後に解剖するサテライト群には 1 群あたり 4 匹、28 日間投与群には 1 群あたり 5 匹を使用した。投与期間中は全例について一般状態観察、体重測定及び摂餌量測定を行い、各投与期間終了後に CO₂/O₂ 混合ガス麻酔下で血液を採取した後解剖して、血液検査、病理学的検査及び遺伝子発現量解析のための試料採取を実施した。加えて、28 日間投与群については、投与期間中に詳細な一般状態観察及び機能検査を行い、最終投与日の翌日に尿を採取して尿検査を行った。

一般状態観察では、150 mg/kg 群の 1 例で投与 16 日目に流涎、投与 17 日目に自発運動低下、摂餌不良、糞量減少及び呼吸数減少がみられ、投与 18 日目に死亡を確認した。また、その他の生存動物についても投与 17 日目の観察終了後に一般状態の悪化がみられ、投与 18 日目に瀕死状態となった。

体重では 150 mg/kg 群で投与 7 及び 14 日目に低値がみられた。

摂餌量では 150 mg/kg 群で投与 14 日目に低値傾向がみられた。

尿検査では 30 mg/kg 群で尿量の高値がみられた。

血液学的検査では、150 mg/kg 群で 7 及び 14 日間投与後に Hb、Ht、MCV 及び MCH の低値がみられた。

血液生化学的検査では、150 mg/kg 群で 1 回、7 及び 14 日間投与後に ALP の高値又は高値傾向、7 及び 14 日間投与後に AST 及び総ビリルビンの高値、14 日間投与後に BUN の高値傾向がみられた。

器官重量では、150 mg/kg 群で 7 及び 14 日間投与後に腎臓の相対重量の高値、14 日間投与後に甲状腺の相対重量の高値がみられた。

剖検では、150 mg/kg 群で 1 回投与後に前胃の壁の水腫様変化、1 回投与後から前胃の境界縁隆起、14 日間投与後から腎臓の腫大がみられた。さらに、投与 18 日目に解剖した瀕死動物で腎臓の変色及び表面点状模様明瞭化がみられた。30 mg/kg 群では 28 日間投与後に腎臓の表面点状模様明瞭化がみられた。

病理組織学的検査では、150 mg/kg 群で 1 回投与後に前胃の粘膜下層の水腫及び好中球浸潤、腺胃の粘膜下層の水腫及び好酸球浸潤、7 日間投与後に腺胃の粘膜下層の水腫、1 回投与後から前胃の境界縁の扁平上皮過形成、7 日間投与後から腎臓の髓質外帯の尿細管再生、14 日間投与後から腎臓の髓質外帯の尿細管変性、尿細管単細胞壊死及び鉍質沈着がみられた。さらに、瀕死動物では腎臓の皮質に $\alpha_2\mu$ -グロブリンの蓄積による近位尿細管の硝子滴がみられた。30 mg/kg 群では 28 日間投与後に腎臓の皮質の近位尿細管の硝子滴がみられた。

詳細な一般状態観察、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 Potassium bromate の投与により、投与期間の初期から胃及び腎臓への毒性影響が確認されたが、150 mg/kg/day では投与 18 日目までに重篤な毒

性影響がみられ、28日間投与での試験結果が得られなかったため、異なる用量でのさらなる実験の実施が必要と判断した。

14. 試験材料

14.1 被験物質

a) 名称等

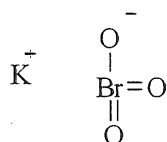
名 称 臭素酸カリウム
CAS 番号 7758-01-2

b) 製造元及びロット番号

製造元 関東化学
ロット番号 402U1647

c) 構造式等

構造式



示性式 KBrO_3
分子量 167.00

d) 純度等

純 度 99.8%

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 7% (20°C)
融 点 分解 (370°C)
沸 点 分解
常温における性状 白色の結晶または結晶性粉末
安定性 加熱すると分解して酸素を放出して支燃性を示す。
溶媒に対する溶解度 (溶解性)

溶 媒	溶解度 (溶解性)
エタノール	不溶

密 度 3.26 g/mL (20°C)

f) 保管条件

遮光した気密容器に入れ、被験物質保管室の保冷庫にて冷所保管した。

保管温度の実測値 1.7~7.0°C (許容範囲 10~30°C)

保管場所及び期間 保冷庫 005、2013 年 4 月 18 日~2013 年 4 月 22 日

保冷庫 007、2013 年 4 月 22 日~2013 年 10 月 11 日

g) 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

過去に飲水投与での毒性試験が実施されていることから、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5 w/v%の濃度で溶解した。24時間冷所保管後には調製液中に被験物質の結晶がみられたが、室温で攪拌すると再度溶解した。また、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、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
精製水	高杉製薬	日本薬局方	PC130508	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 CrI:CD(SD)ラット (SPF) を日本チャールス・リバー日野飼育センターから入手した。

4週齢の雄ラットを55匹入手し、1ケージあたり5匹の群飼育で入荷6日後まで検疫・馴化を行った。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、群分け後は耳鉾を付けて識別した。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125.7~148.5 gであり、全例の体重が全体の平均体重±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1)に収容した。温度及び相対湿度の実測値は、それぞれ22.6~23.4°C及び49.2~60.8%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×H180 mm)、群分け後はステンレス製金網床ケージ(W165×D300×H150 mm)を使用した。

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

飼料は固型飼料MF(ロット番号130612、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「Potassium bromate 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 P12-0112、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、15、50及び150 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、150 mg/kg/day (BrO₃⁻として115 mg/kg/day 相当)で前胃の境界縁隆起が3例全例に認められたことから、Potassium bromate は刺激性を有し、150 mg/kg/day の用量で28日間反復投与すると消化管等に何らかの毒性影響を及ぼすと予測した。

したがって、本試験では150 mg/kg/day を高用量とし、低用量として30 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	10	0	4 (1 - 4)	
媒体対照 (7日間投与)	0	10	0	4 (5 - 8)	
媒体対照 (14日間投与)	0	10	0	4 (9 - 12)	
媒体対照 (28日間投与)	0	10	0	5 (13 - 17)	
被 験 物 質	低用量 (1回投与)	30	10	0.300	4 (18 - 21)
	低用量 (7日間投与)	30	10	0.300	4 (22 - 25)
	低用量 (14日間投与)	30	10	0.300	4 (26 - 29)
	低用量 (28日間投与)	30	10	0.300	5 (30 - 34)
	高用量 (1回投与)	150	10	1.50	4 (35 - 38)
	高用量 (7日間投与)	150	10	1.50	4 (39 - 42)
	高用量 (14日間投与)	150	10	1.50	4 (43 - 46)
	高用量 (28日間投与)	150	10	1.50	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、精製水を加えて攪拌し溶解させた。その後、精製水を加えて定容し1.50 w/v%の被験物質液を調製した。さらに、1.50 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、0.300 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库7にて冷所(実測値1~9°C、許容範囲1~

10°C) で保管した。被験物質液は調製後 11 日以内に使用した。

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

b) 被験物質液の安定性の確認

2.00 及び 0.0200 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「Potassium bromate の被験物質液の安定性及び濃度確認試験」（試験番号 X02-0273、非 GLP 試験）で紫外可視分光光度法（UV-VIS）により確認した。

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 2.00 及び 0.0200 w/v%の被験物質液でそれぞれ 100%及び 96.7%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 1.50 及び 0.300 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 X02-0273 で UV-VIS により確認した。

測定した被験物質濃度が設定値に対し 1.50 及び 0.300 w/v%の被験物質液でそれぞれ 98.7%及び 97.7%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 9:15～11:46 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、10 mL/kg で投与した。なお、高用量群は投与 17 日目に一般状態の悪化がみられたため、投与 18 日目以降の投与を中止した。

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。なお、高用量群は投与 18 日目に瀕死動物として屠殺又は死亡したため、投与 4 週目の観察は行わなかった。

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 日間投与の対照群及び低用量群について、投与 4 週目（投与 23 日目）に 1 回、次表の項目を検査した。

反応性及び握力は詳細な一般状態観察と同様に試験群が判別できない状態で検査した。

反応性	視 覚	顔面前約 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

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。死亡動物については死亡発見時に体重を測定した。

- ・ 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）

なお、28 日間投与の高用量群の生存動物については、投与 18 日目に絶食をしない状態で体重を測定し、解剖時体重とした。

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。28 日間投与の高用量群については、投与 21 日目以降の測定は行わなかった。

- ・ 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日間投与の対照群及び低用量群について、投与28日目の午後にW 150×D 200×H 263 mm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。

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

使用機器 A: 自動浸透圧計 OM-6040 (アークレイ)

B: システム生物顕微鏡 BX41 (オリンパス)

15.11 血液検査

a) 採血及び検査試料

各試験群の生存動物について最終投与日の午後から絶食し、翌日(絶食開始16~20時間後)、CO₂/O₂混合ガス(CO₂:O₂混合比=4:1)麻酔下で腹部大動脈から次表のとおり採血し、検査試料を作製した。28日間投与の高用量群の生存動物4例については、投与18日目にCO₂/O₂混合ガス麻酔下で腹部大動脈から採血し、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日間投与の対照群及び低用量群については、パクスジーンRNA採血管(日本ベクトン・ディッキンソン)を用いて血液を採取し転倒混和し、室温で2時間以上静置後、-20°Cで24時間保管した。その後、-80°Cで保管し、ドライアイスと同封して安全性評価技術研究所に送付した。

検査試料	作製方法
全血	EDTA-2K添加採血びんSB-41(ロット番号G2008、シスメックス)で採血した血液
血漿	くえん酸三ナトリウム二水和物(ロット番号WEJ0101、和光純薬工業)の3.2 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表の項目を測定した。サテライト群についてはプロトロンビン時間及び活性化部分トロンボプラスチン時間の測定は行わなかった。また、すべての項目について機器測定できたため、全血を用いた塗抹標本は作製しなかった。

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

検査試料 Cには全血、Dには血漿を使用

使用機器 C: 総合血液学検査装置 ADVIA 120 (シーメンス)

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

c) 血液生化学的検査

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

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

使用機器 E: 生化学自動分析装置 7170 形 (日立製作所)

F: 電解質分析装置 PVA-EX II (A&T)

15.12 病理学的検査

a) 剖 検

各試験群について最終投与日の翌日のいずれも採血後に、動物を腹部大動脈から放血して安楽死させ、体表、開孔部、皮下、頭蓋腔、胸腔、腹腔及び骨盤腔とその内容について肉眼的観察を行った。なお、投与 18 日目に瀕死状態となった高用量群の 4 例は、当日、採血後に腹部大動脈からの放血により安楽死させ、剖検を行った。死亡動物についても同様に剖検を行った。

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、肝臓*
心・血管系	心臓*
泌尿器系	腎臓*
生殖器系	精巣*、精巣上部*、腹葉前立腺*、背側葉前立腺*
神経系	脳* (大脳、小脳及び橋を含む)
造血器系	骨髓 (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、精巣及び精巣上部は左右を別々に測定し、左右の合計を算出した。副腎は左右をまとめて測定した。背側葉前立腺は尿道の一部を含めて測定した。甲状腺は上皮小体を含めて気管から分離せずに 10%中性緩衝ホルマリン液に浸漬し、翌日、左右の葉を気管から分離して重量を測定した。重量を測定した器官については、解剖日に測定した体重を基に相対重量も算出した。

(b) 28日間投与群

剖検時に次表の器官・組織を採取した。

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

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

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

c) 組織の固定及び保存

採取した器官・組織は、以下のように固定及び保存した。

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

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

精巣は、左右別々に重量を測定後、右側を 4 分割し、組織片の半分を RNAlater に浸漬した。残りの半分は氷冷後、-80°C で保存した。左側は変法デビットソン液で固定した。なお、左右いずれかのみに病変が認められた場合は、病変部を変法デビットソン液で固定し、反対側を遺伝子発現量解析及び-80°C 凍結保存に供した。

精巣上体は、重量を測定後、左右とも変法デビットソン液で固定した。

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

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

下垂体は、重量を測定後、RNAlater に浸漬した。

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

その他の器官・組織は、10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。なお、瀕死動物及び死亡動物については遺伝子発現量解析用の試料は採取せず、10%中性緩衝ホルマリン液又は変法デビットソン液で固定した。

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、胃、肝臓、腎臓、精巣、前立腺、骨髄（大腿骨）、脾臓、胸腺のパラフィン包埋薄切切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン（HE）染色後、光学顕微鏡的に検査した。骨髄（大腿骨）は切り出し前に10%蟻酸・ホルマリン液による脱灰を行った。

さらに、1回投与群では胃、7及び14日間投与群では胃及び腎臓について、高用量群で被験物質の投与に関連した変化が疑われたため、低用量群についても病理組織学的検査を行った。

(b) 28日間投与群

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

また、胃及び腎臓について、高用量群で被験物質の投与に関連した変化が疑われたため、低用量群についても病理組織学的検査を行った。さらに、低用量群及び高用量群の腎臓のHE染色標本において硝子滴が認められ、 α_{2u} -グロブリンとの関連性を検討する必要があるため、対照群、低用量群及び高用量群の各1例（No. 13、No. 33及びNo. 47）について抗 α_{2u} -グロブリン抗体による免疫組織化学的検査を行った。

15.13 統計学的方法

投与1～14日目の体重及び摂餌量、サテライト群の器官重量、血液学的検査及び血液生化学的検査の成績については、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。投与21及び28日目の体重及び摂餌量、握力、自発運動量、尿量及び尿浸透圧、28日間投与群の血液学的検査、血液生化学的検査及び器官重量の成績については、F-検定による分散比の検定を行い、5%有意水準で有意差がない場合はStudentのt-検定を行った。5%有意水準で有意差がある場合はAspin-Welchのt-検定を行った。投与前及び投与1～3週目の排糞回数（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。投与4週目の排糞回数及び排尿回数はMann-WhitneyのU検定を行った。

16. 試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因及び試験計画書からの逸脱

試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因は認められなかった。

試験計画書において2群間での有意差検定方法を定めていなかったが、SOPに従い、Studentのt-検定、Aspin-Welchのt-検定又はMann-WhitneyのU検定を行った。試験計画書からの逸脱となったが、統計学的手法として問題はないため、試験に及ぼす影響はないと判断した。

17. 試験成績

17.1 一般状態 (Table 1、Appendix 1)

投与 15 日目まで 30 及び 150 mg/kg 群並びに対照群の全例において異常は認められなかったが、150 mg/kg 群の 1 例 (No. 48) で投与 16 日目に流涎、投与 17 日目に自発運動低下、摂餌不良、糞量減少及び呼吸数減少がみられ、投与 18 日目に死亡を確認した。また、残りの 4 例についても投与 17 日目の観察終了後に一般状態の悪化がみられ、投与 18 日目に瀕死状態となったことから、当日屠殺した。サテライト群並びに 28 日間投与の 30 mg/kg 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)

すべての詳細観察項目において、被験物質投与群及び対照群に異常は認められなかった。また、被験物質投与群の排糞回数及び排尿回数に有意な変動は認められなかった。

17.3 機能検査 (Table 3、Appendix 3)

握力及び自発運動量測定では 30 mg/kg 群に有意な変動は認められず、反応性検査においても 30 mg/kg 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)

150 mg/kg 群において投与 7 及び 14 日目に有意な低値 (対照群の 94.0%及び 82.4%) が認められた。30 mg/kg 群に有意な変動は認められなかった。

17.5 摂餌量 (Table 5、Appendix 5)

150 mg/kg 群において投与 14 日目に低値傾向 (対照群の 89.1%) が認められた。30 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)

30 mg/kg 群において尿量の有意な高値が認められた。尿浸透圧においては 30 mg/kg 群に有意な変動は認められず、その他の検査項目においても 30 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 回投与群において、30 及び 150 mg/kg 群で赤血球数の有意な高値、30 mg/kg 群でヘモグロビン濃度 (Hb) の有意な高値、大型非染色球比率の有意な低値がみられたが、いずれも用量依存性のない又は明らかでない変動であった。

7 日間投与群において、150 mg/kg 群で Hb、ヘマトクリット値 (Ht)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH)、網状赤血球数比率及び好酸球比率の有意な低値、血小板数の有意な高値がみられた。30 mg/kg 群では好酸球比率の有意な低値がみられた。

14 日間投与群において、150 mg/kg 群で Hb、Ht、MCV、MCH 及び好酸球比率の有意な低値、白血球数の有意な高値がみられた。

28 日間投与群において、30 mg/kg 群で網状赤血球数比率の有意な高値がみられた。

b) 血液生化学的検査 (Table 8、Appendix 8)

1 回投与群において、150 mg/kg 群でアルカリ性フォスファターゼ (ALP) の有意な高値がみられた。30 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、150 mg/kg 群でアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST) 及び総ビリルビンの有意な高値、ALP の高値傾向が認められた。このほか、30 mg/kg 群で尿素窒素 (BUN) の有意な低値、30 及び 150 mg/kg 群でクレアチニンの有意な低値がみられたが、用量依存性のない又は明らかでない変動であった。

14日間投与群において、150 mg/kg 群で AST、ALP 及び総ビリルビンの有意な高値、BUN の高値傾向がみられた。30 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、30 mg/kg 群で BUN の有意な低値及び塩素の有意な高値がみられた。

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、被験物質投与群に有意な変動はみられなかった。

7日間投与群において、150 mg/kg 群で腎臓の絶対及び相対重量の有意な高値 (対照群の 113.0%及び 118.3%) が認められたほか、胸腺の相対重量の有意な高値がみられた。30 mg/kg 群では胸腺の絶対及び相対重量の有意な高値がみられた。

14日間投与群において、150 mg/kg 群で腎臓の相対重量の有意な高値 (対照群の 138.0%) 及び甲状腺の相対重量の有意な高値 (対照群の 149.4%) が認められたほか、解剖時体重が有意な低値 (対照群の 83.6%) を示し、脳の相対重量の有意な高値、腹葉前立腺の絶対重量の有意な低値、胸腺の絶対重量の有意な低値がみられた。30 mg/kg 群では有意な変動はみられなかった。

28日間投与群において、30 mg/kg 群で精巣及び精巣上体の相対重量の有意な低値がみられたが、絶対重量には有意な変動は認められなかった。

b) 剖 検 (Table 11、Appendix 11)

1回投与群において、150 mg/kg 群で前胃の壁の水腫様変化及び境界縁隆起が 4 例中各 3 例にみられた。30 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、150 mg/kg 群で前胃の境界縁隆起が 4 例全例にみられた。30 mg/kg 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、150 mg/kg 群で前胃の境界縁隆起が 4 例全例、腎臓の両側性腫大が 3 例に認められたほか、精巣及び精巣上体の片側性の小型化が 1 例にみられた。30 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、150 mg/kg 群の瀕死動物では、前胃の境界縁隆起が 4 例全例、脱水が 1 例、腎臓の両側性の表面点状模様明瞭化が 1 例、両側性の変色が 1 例、両側性腫大が 1 例、膀胱の尿による膨満が 1 例、前立腺及び精囊の小型化が 1 例にみられた。死亡動物 (No. 48) では、前胃の境界縁隆起、腎臓の両側性腫大、精囊の両側性小型化がみられた。30 mg/kg 群では腎臓の表面点状模様明瞭化が 5 例中 4 例にみられた。対照群では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回投与群において、150 mg/kg 群で前胃の境界縁の扁平上皮過形成 (軽度) 及び粘膜下層の水腫 (軽度～中等度) が 4 例全例、前胃の好中球浸潤 (軽度) が 1 例、腺胃の好酸球浸潤 (軽度) が 2 例、腺胃の粘膜下層の水腫 (軽度) が 1 例に認められたほか、腎

臓の髄質の嚢胞（軽度）が1例、背側葉前立腺のリンパ球浸潤（軽度）が1例にみられた。また、対照群で背側葉前立腺の上皮の限局性空胞化が4例中1例にみられた。30 mg/kg 群では異常は認められなかった。

7日間投与群において、150 mg/kg 群で前胃の境界縁の扁平上皮過形成（軽度～中等度）及び腎臓の髄質外帯の尿細管再生（ごく軽度）が4例全例、腺胃の粘膜下層の水腫（軽度）が1例にみられた。また、対照群で腎臓の被膜下の嚢胞が2例にみられた。30 mg/kg 群では異常は認められなかった。

14日間投与群において、150 mg/kg 群で前胃の境界縁の扁平上皮過形成（軽度）及び腎臓の髄質外帯の尿細管再生（軽度）が4例全例、腎臓の髄質外帯の尿細管変性（ごく軽度～軽度）が3例、腎臓の髄質外帯の尿細管単細胞壊死（ごく軽度～軽度）が2例、腎臓の髄質外帯の鉍質沈着（中等度）が1例に認められた。このほか、肉眼的に精巣及び精巣上体の片側性の小型化がみられた1例で、精巣の精細管のびまん性萎縮、ライディッヒ細胞のびまん性過形成、精細管の壊死及び鉍質沈着、精巣上体の精子消失がみられた。30 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、150 mg/kg 群の瀕死動物で、前胃の扁平上皮過形成（軽度）が4例中3例、腎臓の髄質外帯の尿細管変性（軽度）が2例、髄質外帯の尿細管単細胞壊死（軽度）が3例、髄質外帯の鉍質沈着（中等度～重度）が3例、髄質外帯の尿細管再生（軽度～中等度）が4例全例、皮質の近位尿細管の硝子滴（中等度）にみられた。死亡動物（No. 48）では、前胃の扁平上皮過形成（軽度）、腎臓の髄質外帯の尿細管変性（軽度）、髄質外帯の鉍質沈着（中等度）、髄質外帯の尿細管再生（軽度）がみられたほか、心臓の心筋の変性（中等度）、精巣の精細管のびまん性萎縮（重度）及びライディッヒ細胞のびまん性過形成（中等度）、精巣上体の精子消失（重度）、脾臓の萎縮（軽度）及びうっ血（中等度）がみられた。30 mg/kg 群では、腎臓の皮質の近位尿細管の硝子滴（ごく軽度～軽度）が5例中4例にみられた。対照群に異常は認められなかった。

なお、28日間投与群の対照群、30及び150 mg/kg 群の各1例（No. 13、No. 33及びNo. 47）について実施した腎臓の抗 α_{2u} -グロブリン抗体による免疫組織化学的検査では、対照群において皮質の近位尿細管上皮に陽性物質がわずかに認められたのに対し、30及び150 mg/kg 群ではより多くの陽性物質が認められ、硝子滴が α_{2u} -グロブリンの蓄積によるものであることが確認された。

18. 考 察

被験物質の発がん性については、ラットの雌雄で腎臓の尿細管腫瘍及び甲状腺腫瘍、雄で腹膜の中皮腫、マウスの雄で腎臓の尿細管腫瘍、ハムスターで腎臓の尿細管腫瘍の発生率の増加が報告されており、ヒトでは不十分な証拠しか得られていないが、実験動物では十分な証拠が得られているとして国際がん研究機関 (International Agency for Research on Cancer, IARC) の発がん性評価ではグループ 2B (ヒトに対して発がん性がある可能性がある) に分類されている (IARC, 1999)。また、ラットへの 13 週間飲水投与試験において、近位尿細管上皮内の好酸性の小滴及び顕著な尿細管の再生性変化がみられている (Kurokawa et al., 1990)。本試験においても、被験物質投与により腎臓への毒性影響及び胃粘膜に対する刺激性が認められたほか、肝臓への影響及び貧血も示唆された。

腎臓に対する影響として、150 mg/kg 群で 7 及び 14 日間投与後に相対重量の高値、14 日間投与後に肉眼的な腫大がみられた。また、投与 18 日目に解剖した瀕死動物で、表面点状模様明瞭化、変色及び腫大が認められ、死亡動物で腫大がみられた。表面点状模様明瞭化は、28 日間投与の 30 mg/kg 群でも認められた。病理組織学的検査では、150 mg/kg 群で 7 日間投与後から髄質外帯の尿細管再生、14 日間投与後から髄質外帯の尿細管の変性及び単細胞壊死並びに鉍質沈着が認められ、投与回数の増加に伴い重篤度及び発現頻度の上昇がみられた。血液生化学的検査では、150 mg/kg 群で 14 日間投与後に BUN の高値傾向、30 mg/kg 群で尿量の高値がみられ、腎障害が示されたが、30 mg/kg 群では傷害性変化は認められなかった。なお、150 mg/kg 群の瀕死動物及び 28 日間投与の 30 mg/kg 群では皮質の近位尿細管に $\alpha_2\mu$ -グロブリンの蓄積による硝子滴が認められたが、皮質には傷害性変化がみられなかったことから、硝子滴は動物の状態悪化に関与していないと判断した。

胃に対する影響として、150 mg/kg 群で 1 回投与後から前胃の境界縁隆起が認められ、1 回投与後には前胃の壁の水腫様変化もみられた。病理組織学的検査では、1 回投与後から前胃の境界縁の扁平上皮過形成が認められ、1 回投与後には前胃の粘膜下層の水腫及び好中球浸潤並びに腺胃の粘膜下層の水腫及び好酸球浸潤、7 日間投与後に腺胃の粘膜下層の水腫もみられた。前胃の境界縁隆起及び境界縁の扁平上皮過形成は投与 18 日目に解剖した瀕死及び死亡動物でも認められた。これらの所見は、被験物質投与により胃粘膜が傷害され、炎症と修復反応が生じたことを示すものと考えられ、被験物質は粘膜刺激性を有すると推測したが、広範なびらんや潰瘍等の重篤な病変はみられなかったことから、動物の状態悪化に関与したものではないと判断した。

肝臓に対する影響として、150 mg/kg 群で 1 回投与後から ALP の高値又は高値傾向、7 日間投与後から AST 及び総ビリルビンの高値がみられ、肝障害が示唆されたが、器質的変化は認められなかった。ラットでの 13 週間飲水投与試験においても、600 ppm で AST、ALT、乳酸脱水素酵素、ALP の高値が報告されているが、肝臓の器質的変化については報告されていない (Kurokawa et al., 1990)。

その他の影響として、150 mg/kg 群で 7 及び 14 日間投与後に Hb、Ht、MCV 及び MCH の低値がみられ、鉄欠乏性貧血がみられた。本試験において鉄欠乏が生じた原因は不明であるが、通常は摂取量の不足又は失血により生じるとされている。また、150 mg/kg 群で 14 日間投与後に甲状腺の相対重量の高値がみられた。ラットの雌雄で甲状腺腫瘍の発生が報告され

ているが、14日間投与後は甲状腺の詳細な検査を行っていないため、毒性学的意義は不明である。

投与期間中に150 mg/kg群でみられた体重の低値及び摂餌量の低値傾向、自発運動低下、摂餌不良、糞量減少及び呼吸数減少は、主に腎臓への毒性影響を反映したものと考えられた。

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、一過性又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胃及び腎臓への毒性影響が確認されたが、150 mg/kg/dayでは投与18日目までに重篤な毒性影響がみられ、28日間投与での試験結果が得られなかったため、異なる用量でのさらなる実験の実施が必要と判断した。

19. 参考文献

IARC (1999) IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. 73, 481-496.

Kurokawa Y, Maekawa A, Takahashi M, Hayashi Y (1990) Toxicity and carcinogenicity of potassium bromate-A new renal carcinogen. Environ. Health Perspect, 87, 309-335.

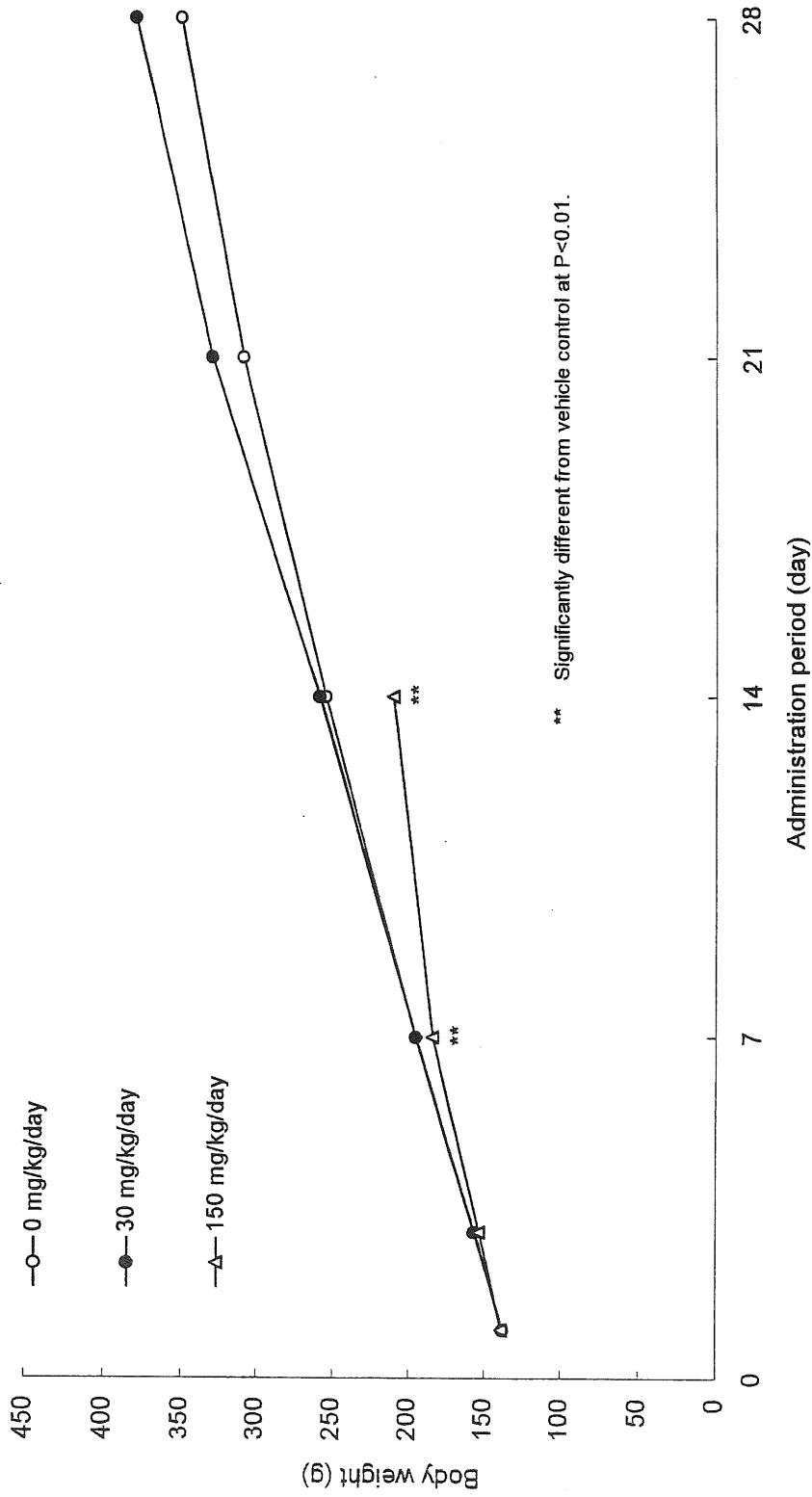


Fig. 1 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
Body weights: Male

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	30	150	
Male		ss	ss	ss	m	d
		17 ^{a)}	17	12	4	1
	No abnormalities detected	17	17	12	4	
	Salivation					1
	Decreased spontaneous locomotion					1
	Decreased respiratory rate					1
	Anorexia					1
	Decreased stool volume					1
	Moribund state				4	

ss, scheduled sacrifice animal, m, moribund animal during the administration period,
d, dead animal during the administration period.

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 episthotonus etc.)	
Stereotypic behavior		-	None	
		C	Circling	
		G	Grooming	
		S	Sniffing	
		H	Head bobbing	
Abnormal behavior		-	None	
		S	Self-biting	
		B	Backing	
		C	Circling	
	R	Rolling		
	W	Writhing		
	V	Vocalization		
	ST	Straub tail		
	T	Tail lashing behavior		

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

Male		Dose (mg/kg/day)					
		Predosing			Dosing week 1		
		0	30	150	0	30	150
Number of animals		5	5	5	5	5	5
Removal from cage	-2	0	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
Vocalization	0	5	5	4	5	5	5
	+1	0	0	1	0	0	0
	+2	0	0	0	0	0	0
	-1	0	0	0	0	0	0
	0	5	5	5	5	5	5
Muscle tone	+1	0	0	0	0	0	0
	-	5	5	5	5	5	5
	+	0	0	0	0	0	0
	-	5	5	5	5	5	5
	+	0	0	0	0	0	0
Subnormal temperature	-	5	5	5	5	5	5
	+	0	0	0	0	0	0
	-	5	5	5	5	5	5
	+	0	0	0	0	0	0
	-	5	5	5	5	5	5
Piloerection	+	0	0	0	0	0	0
	-	5	5	5	5	5	5
	+	0	0	0	0	0	0
	-	5	5	5	5	5	5
	+	0	0	0	0	0	0
Staining hair	-	5	5	5	5	5	5
	+	0	0	0	0	0	0
	-	5	5	5	5	5	5
	+	0	0	0	0	0	0
	-	5	5	5	5	5	5
Unkempt hair	+	0	0	0	0	0	0
	-	5	5	5	5	5	5
	+	0	0	0	0	0	0
	-	5	5	5	5	5	5
	+	0	0	0	0	0	0
Paleness	-	5	5	5	5	5	5
	+	0	0	0	0	0	0
	-	5	5	5	5	5	5
	+	0	0	0	0	0	0
	-	5	5	5	5	5	5
Reddening	+	0	0	0	0	0	0
	-	5	5	5	5	5	5
	+	0	0	0	0	0	0
	-	5	5	5	5	5	5
	+	0	0	0	0	0	0
Cyanosis	-	5	5	5	5	5	5
	+	0	0	0	0	0	0
	-	5	5	5	5	5	5
	+	0	0	0	0	0	0
	-	5	5	5	5	5	5
Lacrimation	+	0	0	0	0	0	0
	-	5	5	5	5	5	5
	+	0	0	0	0	0	0
	-	5	5	5	5	5	5
	+	0	0	0	0	0	0
Exophthalmos	-	5	5	5	5	5	5
	+	0	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
Pupillary size	-	5	5	5	5	5	5
	+	0	0	0	0	0	0
	-	5	5	5	5	5	5
	+	0	0	0	0	0	0
	-	5	5	5	5	5	5
Salivation	+	0	0	0	0	0	0
	-	5	5	5	5	5	5
	+	0	0	0	0	0	0
	-	5	5	5	5	5	5
	+	0	0	0	0	0	0
Secretion	-	5	5	5	5	5	5
	+	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
Posture	-2	0	0	0	0	0	0
	-1	0	0	0	0	0	0
	0	5	5	5	2	5	5
	+1	0	0	0	3	0	0
	+2	0	0	0	0	0	0
Motor activity	0	5	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
	-	5	5	5	5	5	5
Respiration	+	0	0	0	0	0	0
	+2	0	0	0	0	0	0
	+3	0	0	0	0	0	0
	-	5	5	5	5	5	5
	+	0	0	0	0	0	0
Lid closure	-	5	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
	GD	0	0	0	0	0	0
Observation in arena	0	5	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
	-	5	5	5	5	5	5
Stereotypic behavior	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
	-	5	5	5	5	5	5
Abnormal behavior	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
Defecation ^{a)}	V	0	0	0	0	0	0
	ST	0	0	0	0	0	0
	T	0	0	0	0	0	0
	U	1.6 ± 1.5	0.8 ± 1.3	0.2 ± 0.4	0.6 ± 0.9	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	U	5.2 ± 2.8	3.8 ± 3.3	2.2 ± 2.3	2.6 ± 3.2	2.6 ± 4.2	0.2 ± 0.4

a): (count/min, mean ± S.D.)

* : significantly different from vehicle control at p<0.05

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

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

Male		Dosing week 2			Dosing week 3		
Dose (mg/kg/day)		0	30	150	0	30	150
Number of animals		5	5	5	5	5	5
Removal from cage	Ease of removal	-2 0	0	0	0	0	0
		-1 0	1	0	0	0	0
		0 5	4	5	5	5	5
		+1 0	0	0	0	0	0
	+2 0	0	0	0	0	0	
Vocalization		0 4	5	2	3	5	3
		+1 1	0	3	2	0	2
		+2 0	0	0	0	0	0
Muscle tone		-1 0	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	5
	+	0	0	0	0	0	0
Piloerection	-	5	5	5	5	5	5
	+	0	0	0	0	0	0
Staining hair	-	5	5	5	5	5	5
	+	0	0	0	0	0	0
Unkempt hair	-	5	5	5	5	5	5
	+	0	0	0	0	0	0
Paleness	-	5	5	5	5	5	5
	+	0	0	0	0	0	0
Reddening	-	5	5	5	5	5	5
	+	0	0	0	0	0	0
Cyanosis	-	5	5	5	5	5	5
	+	0	0	0	0	0	0
Lacrimation	-	5	5	5	5	5	5
	+	0	0	0	0	0	0
Exophthalmos	-	5	5	5	5	5	5
	+	0	0	0	0	0	0
Pupillary size	-1 0	0	0	0	0	0	0
	0 5	5	5	5	5	5	5
Salivation	+1 0	0	0	0	0	0	0
	-	5	5	5	5	5	5
Secretion	+	0	0	0	0	0	0
	-	5	5	5	5	5	5
Posture	0 5	5	5	5	5	5	5
	+1 0	0	0	0	0	0	0
	+2 0	0	0	0	0	0	0
Motor activity	-2 0	0	0	0	0	0	0
	-1 0	0	1	0	0	0	0
	0 4	5	4	3	4	5	
	+1 1	0	0	2	1	0	
	+2 0	0	0	0	0	0	
Respiration	0 5	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	5
	+	0	0	0	0	0	0
Gait	-	5	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	0
	Tremor/twitch/convulsion	0 5	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	5
	C	0	0	0	0	0	0
	G	0	0	0	0	0	0
	S	0	0	0	0	0	0
Abnormal behavior	H	0	0	0	0	0	0
	-	5	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	
Defecation ^{a)}	ST	0	0	0	0	0	0
	T	0	0	0	0	0	0
Defecation ^{a)}		1.6 ± 1.8	0.6 ± 0.5	1.4 ± 1.1	0.8 ± 1.3	0.6 ± 0.5	0.8 ± 1.3
Urination ^{a)}		1.6 ± 1.5	1.2 ± 1.6	2.8 ± 2.2	0.8 ± 1.3	0.0 ± 0.0	2.2 ± 1.9

a): (count/min, mean±S.D.)

* : significantly different from vehicle control at p<0.05

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

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

Male		Dosing week 4				
		0	30	150		
	Dose (mg/kg/day)					
	Number of animals	5	5	0		
Removal from cage	-2	0	0	0		
	-1	1	2	0		
	Ease of removal	0	3	3	0	
	+1	1	0	0		
	+2	0	0	0		
Vocalization	0	3	5	0		
	+1	2	0	0		
	+2	0	0	0		
	-1	0	0	0		
	Muscle tone	0	5	5	0	
Subnormal temperature	+1	0	0	0		
	-	5	5	0		
	+	0	0	0		
	Piloerection	-	5	5	0	
	+	0	0	0		
Staining hair	-	5	5	0		
	+	0	0	0		
	Unkempt hair	-	5	5	0	
	+	0	0	0		
	Paleness	-	5	5	0	
+		0	0	0		
Handling observation		Reddening	-	5	5	0
		+	0	0	0	
		Cyanosis	-	5	5	0
	+	0	0	0		
	Lacrimation	-	5	5	0	
+	0	0	0			
Exophthalmos	-	5	5	0		
	+	0	0	0		
	Pupillary size	-1	0	0	0	
	0	5	5	0		
	+1	0	0	0		
Salivation	-	5	5	0		
	+	0	0	0		
	Secretion	-	5	5	0	
	+	0	0	0		
	Posture	0	5	5	0	
+1		0	0	0		
+2		0	0	0		
-2		0	0	0		
-1		0	0	0		
Motor activity	0	4	5	0		
	+1	1	0	0		
	+2	0	0	0		
	0	5	5	0		
	Respiration	+1	0	0	0	
+2	0	0	0			
+3	0	0	0			
Lid closure	-	5	5	0		
	+	0	0	0		
	Gait	-	5	5	0	
		S	0	0	0	
		T	0	0	0	
P		0	0	0		
GD		0	0	0		
Observation in arena	Tremor/ twitch/ convulsion	0	5	5	0	
	+1	0	0	0		
	+2	0	0	0		
	+3	0	0	0		
	-	5	5	0		
Stereotypic behavior	C	0	0	0		
	G	0	0	0		
	S	0	0	0		
	H	0	0	0		
	-	5	5	0		
Abnormal behavior	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 ^{a)}	0.8 ± 1.3	0.4 ± 0.9	—		
Urination ^{a)}	1.8 ± 4.0	0.0 ± 0.0	—			

a): (count/min, mean ± S.D.)

* : significantly different from vehicle control at p<0.05

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

—: not conducted.

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

Male		Dosing week 4		
		0	30	150
Dose (mg/kg/day)				
Number of animals		5	5	0
Sensorimotor function	Approach contact/ touch response	-1	0	0
		0	5	5
		+1	0	0
	Pinna response	-1	0	0
		0	5	5
		+1	0	0
	Pain response (tail pinch)	-1	0	0
		0	5	5
		+1	0	0
	Pupillary reflex	+	5	5
		-	0	0
	Air righting reflex	+	5	5
-		0	0	
Grip strength	Forelimb (g)	379 ± 62	368 ± 70	---
	Hindlimb (g)	497 ± 64	496 ± 68	---
Motor activity [Interval]	0-10 (min)	188 ± 70	153 ± 60	---
	10-20 (min)	113 ± 42	88 ± 33	---
	20-30 (min)	62 ± 26	64 ± 23	---
	30-40 (min)	39 ± 41	52 ± 29	---
	40-50 (min)	35 ± 51	36 ± 24	---
	50-60 (min)	15 ± 24	27 ± 41	---
	Total	451 ± 141	420 ± 127	---

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

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

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

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

* : significantly different from vehicle control at p<0.05

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

---: not conducted.

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

		Dose		
		0	30	150
		(mg/kg/day)		
Administration period (day)	1	137.61 ±5.20 (17)	137.83 ±5.04 (17)	138.63 ±4.76 (17)
	3	156.99 ±5.71 (13)	156.39 ±6.54 (13)	153.43 ±7.01 (13)
	7	195.44 ±7.41 (13)	194.95 ±10.37 (13)	183.72 ** ±9.39 (13)
	14	255.01 ±9.66 (9)	259.37 ±18.33 (9)	210.22 ** ±18.55 (9)
	21	308.68 ±14.09 (5)	329.36 ±19.06 (5)	— —
	28	349.08 ±17.55 (5)	379.18 ±24.90 (5)	— —

Values are shown as Mean ± S.D..

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

* Significantly different from vehicle control at P<0.05.

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

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

B10-0112

Sex	Dose (mg/kg/day)			
		0	30	150
Administration period (day)	1	19.31 ± 1.33 (13)	18.39 ± 1.21 (12)	19.46 ± 1.75 (13)
	3	21.18 ± 1.76 (13)	20.89 ± 1.59 (13)	20.11 ± 1.64 (13)
	7	23.69 ± 1.46 (13)	23.13 ± 1.75 (13)	22.29 ± 1.67 (13)
	14	23.56 ± 2.11 (9)	25.38 ± 2.38 (9)	21.06 ± 2.56 (9)
	21	25.95 ± 2.69 (5)	28.22 ± 1.39 (5)	-
	28	25.79 ± 2.86 (5)	29.02 ± 1.68 (5)	-

Values are shown as Mean ± S.D..

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

* Significantly different from vehicle control at P<0.05.

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

Table 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	30
Urine volume	(mL)	9.2	24.4 *
		±2.6 (5)	±9.1 (5)
Uosm	(mOsm/L)	937.6	513.6
		±295.5 (5)	±321.1 (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

B10-0112

Items	Group	Twenty-eight-day treatment	
	Dose (mg/kg/day)	0	30
	No. of animals	5	5
Color			
	SY	3	4
	Y	2	1
Turbidity			
	Clear	3	4
	Cloudy	2	1
pH			
	6.5	5	3
	7.0	0	2
Protein			
	-	0	1
	±	4	3
	1+	1	1
Glucose			
	-	5	5
Ketones			
	-	0	3
	±	4	2
	1+	1	0
Occult blood			
	-	4	3
	±	0	2
	1+	1	0

Color: SY: Slightly yellow, Y: Yellow.

Table 6-3

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

B10-0112

Items	Group	Twenty-eight-day treatment	
	Dose (mg/kg/day)	0	30
	No. of animals	5	5
Urinary sediment			
Red blood cells ^{a)}			
	0	5	5
White blood cells ^{a)}			
	0	5	5
Epithelial cells ^{a)}			
	0	5	5
Casts ^{b)}			
	0	5	5
Crystals ^{c)}			
	-	0	3
	±	3	2
	1+	2	0

^{a)}: Number of cells/10views($\times 400$).

^{b)}: Number of casts/18 \times 18 mm².

^{c)}: Incidence of crystals/18 \times 18 mm².

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	30	150
RBC	($\times 10^4/\mu\text{L}$)	664.5 ± 29.7 (4)	761.3 * ± 34.1 (4)	740.5 * ± 53.5 (4)
Hb	(g/dL)	13.98 ± 0.68 (4)	15.93 * ± 0.79 (4)	15.78 ± 1.49 (4)
Ht	(%)	45.58 ± 2.32 (4)	51.98 ± 2.82 (4)	50.73 ± 5.13 (4)
MCV	(fL)	68.60 ± 1.44 (4)	68.28 ± 1.35 (4)	68.43 ± 2.10 (4)
MCH	(pg)	21.00 ± 0.49 (4)	20.93 ± 0.22 (4)	21.28 ± 0.52 (4)
MCHC	(g/dL)	30.65 ± 0.13 (4)	30.68 ± 0.67 (4)	31.10 ± 0.29 (4)
Platelet	($\times 10^4/\mu\text{L}$)	153.55 ± 11.92 (4)	137.78 ± 8.15 (4)	127.30 ± 34.80 (4)
Reticulo	(%)	12.93 ± 0.49 (4)	12.70 ± 0.63 (4)	12.08 ± 0.88 (4)
WBC	($\times 10^2/\mu\text{L}$)	75.48 ± 14.65 (4)	67.90 ± 22.29 (4)	95.10 ± 18.24 (4)
Differentiation of leukocyte				
Neutro	(%)	10.28 ± 2.03 (4)	15.05 ± 6.48 (4)	13.60 ± 3.32 (4)
Lymph	(%)	84.80 ± 1.85 (4)	79.65 ± 7.77 (4)	80.95 ± 3.28 (4)
Eosino	(%)	0.70 ± 0.29 (4)	0.85 ± 0.41 (4)	0.70 ± 0.14 (4)
Baso	(%)	0.85 ± 0.06 (4)	0.90 ± 0.16 (4)	1.00 ± 0.32 (4)
Mono	(%)	2.33 ± 0.41 (4)	3.00 ± 1.17 (4)	2.78 ± 0.69 (4)
LUC	(%)	1.05 ± 0.13 (4)	0.60 ** ± 0.16 (4)	0.95 ± 0.06 (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	30	150
RBC	($\times 10^4/\mu\text{L}$)	725.8 ± 10.7 (4)	738.5 ± 54.3 (4)	688.5 ± 29.9 (4)
Hb	(g/dL)	15.75 ± 0.33 (4)	15.73 ± 1.13 (4)	13.10 * ± 0.18 (4)
Ht	(%)	50.80 ± 0.94 (4)	50.65 ± 3.76 (4)	41.55 * ± 0.70 (4)
MCV	(fL)	69.95 ± 1.42 (4)	68.58 ± 0.60 (4)	60.43 ** ± 2.15 (4)
MCH	(pg)	21.70 ± 0.61 (4)	21.30 ± 0.32 (4)	19.05 ** ± 0.85 (4)
MCHC	(g/dL)	31.03 ± 0.36 (4)	31.05 ± 0.17 (4)	31.55 ± 0.37 (4)
Platelet	($\times 10^4/\mu\text{L}$)	121.48 ± 17.60 (4)	134.20 ± 15.61 (4)	189.70 ** ± 10.47 (4)
Reticulo	(%)	9.43 ± 0.41 (4)	9.43 ± 0.43 (4)	6.78 * ± 2.11 (4)
WBC	($\times 10^2/\mu\text{L}$)	84.13 ± 5.06 (4)	111.68 ± 20.70 (4)	133.03 ± 50.80 (4)
Differentiation of leukocyte				
Neutro	(%)	11.68 ± 2.08 (4)	9.15 ± 1.64 (4)	12.33 ± 1.32 (4)
Lymph	(%)	82.43 ± 2.63 (4)	85.78 ± 1.96 (4)	83.13 ± 1.91 (4)
Eosino	(%)	0.68 ± 0.15 (4)	0.40 * ± 0.14 (4)	0.25 ** ± 0.10 (4)
Baso	(%)	1.08 ± 0.38 (4)	1.18 ± 0.29 (4)	0.68 ± 0.10 (4)
Mono	(%)	3.40 ± 0.77 (4)	2.55 ± 0.73 (4)	2.70 ± 0.95 (4)
LUC	(%)	0.75 ± 0.13 (4)	0.93 ± 0.17 (4)	0.93 ± 0.29 (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	30	150
RBC	($\times 10^4/\mu\text{L}$)	736.0 ± 20.1 (4)	787.3 ± 39.6 (4)	735.8 ± 20.9 (4)
Hb	(g/dL)	15.60 ± 0.42 (4)	16.15 ± 0.85 (4)	12.65 ** ± 0.51 (4)
Ht	(%)	49.33 ± 1.38 (4)	51.13 ± 3.39 (4)	40.18 ** ± 1.45 (4)
MCV	(fL)	67.05 ± 1.57 (4)	64.90 ± 1.15 (4)	54.63 ** ± 2.25 (4)
MCH	(pg)	21.20 ± 0.39 (4)	20.53 ± 0.10 (4)	17.20 ** ± 0.57 (4)
MCHC	(g/dL)	31.63 ± 0.22 (4)	31.68 ± 0.43 (4)	31.55 ± 1.03 (4)
Platelet	($\times 10^4/\mu\text{L}$)	153.33 ± 19.67 (4)	144.20 ± 26.38 (4)	178.00 ± 18.50 (4)
Reticulo	(%)	5.25 ± 0.44 (4)	5.28 ± 0.40 (4)	6.95 ± 2.98 (4)
WBC	($\times 10^2/\mu\text{L}$)	100.13 ± 24.17 (4)	117.20 ± 28.67 (4)	193.70 ** ± 33.23 (4)
Differentiation of leukocyte				
Neutro	(%)	14.43 ± 4.35 (4)	14.03 ± 1.46 (4)	18.55 ± 4.66 (4)
Lymph	(%)	80.63 ± 4.15 (4)	81.65 ± 1.55 (4)	75.40 ± 4.37 (4)
Eosino	(%)	0.65 ± 0.10 (4)	0.40 ± 0.22 (4)	0.25 * ± 0.13 (4)
Baso	(%)	0.85 ± 0.10 (4)	1.23 ± 0.31 (4)	0.90 ± 0.16 (4)
Mono	(%)	2.50 ± 0.37 (4)	1.78 ± 0.31 (4)	2.75 ± 0.52 (4)
LUC	(%)	0.95 ± 0.37 (4)	0.93 ± 0.21 (4)	2.13 ** ± 0.43 (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	30
RBC	($\times 10^4/\mu\text{L}$)	791.6 ± 32.8 (5)	798.8 ± 22.1 (5)
Hb	(g/dL)	15.92 ± 0.68 (5)	15.82 ± 0.28 (5)
Ht	(%)	50.54 ± 2.65 (5)	50.12 ± 0.63 (5)
MCV	(fL)	63.84 ± 1.97 (5)	62.80 ± 1.19 (5)
MCH	(pg)	20.08 ± 0.38 (5)	19.80 ± 0.46 (5)
MCHC	(g/dL)	31.52 ± 0.45 (5)	31.52 ± 0.19 (5)
Platelet	($\times 10^4/\mu\text{L}$)	121.26 ± 15.66 (5)	122.92 ± 10.03 (5)
Reticulo	(%)	3.12 ± 0.23 (5)	3.54 * ± 0.30 (5)
WBC	($\times 10^2/\mu\text{L}$)	95.32 ± 28.81 (5)	129.86 ± 27.86 (5)
Differentiation of leukocyte			
Neutro	(%)	15.96 ± 4.41 (5)	16.98 ± 2.16 (5)
Lymph	(%)	79.72 ± 4.66 (5)	77.64 ± 1.96 (5)
Eosino	(%)	0.56 ± 0.09 (5)	0.42 ± 0.13 (5)
Baso	(%)	1.16 ± 0.19 (5)	1.34 ± 0.36 (5)
Mono	(%)	1.78 ± 0.32 (5)	2.20 ± 0.30 (5)
LUC	(%)	0.82 ± 0.53 (5)	1.38 ± 0.59 (5)
PT	(sec)	18.10 ± 2.60 (5)	20.92 ± 3.52 (5)
APTT	(sec)	18.28 ± 2.80 (5)	20.22 ± 1.17 (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	30	150
AST	(IU/L)	94.3 ±2.8 (4)	92.5 ±9.0 (4)	101.3 ±8.8 (4)
ALT	(IU/L)	31.3 ±2.6 (4)	30.5 ±5.4 (4)	31.5 ±4.4 (4)
ALP	(IU/L)	743.3 ±164.9 (4)	867.5 ±46.9 (4)	1004.5 * ±94.0 (4)
BUN	(mg/dL)	11.55 ±3.10 (4)	11.40 ±0.96 (4)	13.30 ±2.33 (4)
Creatinine	(mg/dL)	0.135 ±0.025 (4)	0.120 ±0.012 (4)	0.125 ±0.017 (4)
T-Bil	(mg/dL)	0.075 ±0.010 (4)	0.075 ±0.006 (4)	0.083 ±0.005 (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	30	150
AST	(IU/L)	82.8 ±6.2 (4)	89.3 ±5.9 (4)	131.5 ** ±10.8 (4)
ALT	(IU/L)	34.3 ±3.3 (4)	35.0 ±4.7 (4)	36.0 ±3.6 (4)
ALP	(IU/L)	949.5 ±85.8 (4)	790.5 ±200.2 (4)	2425.8 ±1518.9 (4)
BUN	(mg/dL)	15.25 ±1.71 (4)	11.30 * ±1.96 (4)	14.43 ±1.44 (4)
Creatinine	(mg/dL)	0.180 ±0.000 (4)	0.150 * ±0.014 (4)	0.155 * ±0.013 (4)
T-Bil	(mg/dL)	0.063 ±0.019 (4)	0.048 ±0.013 (4)	0.090 * ±0.008 (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	30	150
AST	(IU/L)	71.5 ±2.6 (4)	89.5 ±15.9 (4)	103.5 ** ±12.0 (4)
ALT	(IU/L)	22.5 ±1.0 (4)	29.8 ±4.7 (4)	31.5 ±7.6 (4)
ALP	(IU/L)	792.3 ±51.0 (4)	763.0 ±116.3 (4)	1166.8 ** ±81.7 (4)
BUN	(mg/dL)	13.00 ±2.19 (4)	12.65 ±2.47 (4)	21.95 ±9.33 (4)
Creatinine	(mg/dL)	0.188 ±0.010 (4)	0.168 ±0.022 (4)	0.205 ±0.048 (4)
T-Bil	(mg/dL)	0.043 ±0.017 (4)	0.043 ±0.028 (4)	0.095 ** ±0.013 (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	30
AST	(IU/L)	67.6 ±9.8 (5)	75.8 ±5.2 (5)
ALT	(IU/L)	26.2 ±2.6 (5)	27.0 ±4.1 (5)
ALP	(IU/L)	675.0 ±125.4 (5)	678.0 ±72.9 (5)
ChE	(IU/L)	61.4 ±24.4 (5)	54.0 ±3.2 (5)
γ-GTP	(IU/L)	0.74 ±0.11 (5)	0.98 ±0.22 (5)
T-Cho	(mg/dL)	54.6 ±13.5 (5)	57.6 ±8.1 (5)
TG	(mg/dL)	72.4 ±16.0 (5)	68.8 ±22.1 (5)
BUN	(mg/dL)	14.96 ±1.24 (5)	13.34 * ±0.34 (5)
Creatinine	(mg/dL)	0.232 ±0.027 (5)	0.212 ±0.004 (5)
T-Protein	(g/dL)	6.34 ±0.21 (5)	6.30 ±0.17 (5)
Albumin	(g/dL)	2.90 ±0.14 (5)	2.92 ±0.04 (5)
A/G ratio	(-)	0.846 ±0.080 (5)	0.866 ±0.046 (5)
Glucose	(mg/dL)	174.2 ±32.8 (5)	171.8 ±12.9 (5)
T-Bil	(mg/dL)	0.056 ±0.011 (5)	0.056 ±0.009 (5)
TBA	(μmol/L)	30.72 ±24.62 (5)	19.14 ±9.39 (5)
IP	(mg/dL)	12.32 ±1.28 (5)	12.56 ±0.99 (5)
Ca	(mg/dL)	11.90 ±0.16 (5)	11.86 ±0.32 (5)
Na	(mEq/L)	147.0 ±1.0 (5)	147.4 ±1.1 (5)
K	(mEq/L)	7.26 ±0.40 (5)	7.30 ±0.25 (5)
Cl	(mEq/L)	101.88 ±1.71 (5)	104.24 * ±0.98 (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	30	150
Liver	(g)	4.255 ±0.190 (4)	4.263 ±0.213 (4)	4.328 ±0.219 (4)
Heart	(g)	0.613 ±0.033 (4)	0.600 ±0.037 (4)	0.603 ±0.049 (4)
Kidney(R)	(g)	0.635 ±0.077 (4)	0.615 ±0.044 (4)	0.668 ±0.025 (4)
Kidney(L)	(g)	0.615 ±0.042 (4)	0.623 ±0.034 (4)	0.653 ±0.037 (4)
Kidneys	(g)	1.250 ±0.115 (4)	1.238 ±0.076 (4)	1.320 ±0.062 (4)
Testis(R)	(g)	0.640 ±0.024 (4)	0.663 ±0.078 (4)	0.588 ±0.066 (4)
Testis(L)	(g)	0.630 ±0.022 (4)	0.670 ±0.077 (4)	0.608 ±0.048 (4)
Testes	(g)	1.270 ±0.038 (4)	1.333 ±0.153 (4)	1.195 ±0.114 (4)
Epididymis(R)	(g)	0.075 ±0.006 (4)	0.088 ±0.010 (4)	0.070 ±0.008 (4)
Epididymis(L)	(g)	0.075 ±0.006 (4)	0.080 ±0.008 (4)	0.083 ±0.013 (4)
Epididymides	(g)	0.150 ±0.008 (4)	0.168 ±0.017 (4)	0.153 ±0.017 (4)
Ventral prostate	(g)	0.073 ±0.017 (4)	0.075 ±0.019 (4)	0.075 ±0.010 (4)
Dorsolateral prostate	(g)	0.043 ±0.010 (4)	0.060 ±0.022 (4)	0.058 ±0.005 (4)
Brain	(g)	1.683 ±0.069 (4)	1.728 ±0.059 (4)	1.710 ±0.067 (4)
Spleen	(g)	0.358 ±0.043 (4)	0.358 ±0.050 (4)	0.375 ±0.056 (4)
Thymus	(mg)	411.15 ±50.43 (4)	446.80 ±91.61 (4)	453.73 ±46.55 (4)
Pituitary gland	(mg)	5.48 ±0.46 (4)	5.55 ±0.31 (4)	5.33 ±0.91 (4)
Thyroid	(mg)	13.15 ±2.96 (4)	11.20 ±1.75 (4)	11.10 ±2.16 (4)
Adrenals	(mg)	27.63 ±3.57 (4)	29.60 ±3.25 (4)	29.25 ±2.63 (4)
Final body weight	(g)	117.13 ±5.02 (4)	117.68 ±3.58 (4)	119.05 ±1.48 (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	30	150
Liver	(g)	5.970 ±0.358 (4)	6.038 ±0.214 (4)	5.590 ±0.417 (4)
Heart	(g)	0.785 ±0.040 (4)	0.793 ±0.046 (4)	0.813 ±0.063 (4)
Kidney(R)	(g)	0.823 ±0.071 (4)	0.840 ±0.042 (4)	0.910 ±0.048 (4)
Kidney(L)	(g)	0.798 ±0.069 (4)	0.820 ±0.052 (4)	0.920 * ±0.047 (4)
Kidneys	(g)	1.620 ±0.138 (4)	1.660 ±0.094 (4)	1.830 * ±0.093 (4)
Testis(R)	(g)	0.880 ±0.074 (4)	0.913 ±0.022 (4)	0.873 ±0.046 (4)
Testis(L)	(g)	0.888 ±0.071 (4)	0.903 ±0.021 (4)	0.868 ±0.061 (4)
Testes	(g)	1.768 ±0.143 (4)	1.815 ±0.024 (4)	1.740 ±0.107 (4)
Epididymis(R)	(g)	0.113 ±0.005 (4)	0.123 ±0.005 (4)	0.115 ±0.024 (4)
Epididymis(L)	(g)	0.115 ±0.010 (4)	0.115 ±0.006 (4)	0.110 ±0.014 (4)
Epididymides	(g)	0.228 ±0.010 (4)	0.238 ±0.010 (4)	0.225 ±0.038 (4)
Ventral prostate	(g)	0.138 ±0.022 (4)	0.140 ±0.038 (4)	0.108 ±0.010 (4)
Dorsolateral prostate	(g)	0.075 ±0.013 (4)	0.085 ±0.019 (4)	0.058 ±0.010 (4)
Brain	(g)	1.858 ±0.090 (4)	1.805 ±0.108 (4)	1.788 ±0.026 (4)
Spleen	(g)	0.543 ±0.095 (4)	0.550 ±0.037 (4)	0.528 ±0.077 (4)
Thymus	(mg)	493.95 ±58.94 (4)	681.75 * ±108.43 (4)	654.15 ±110.62 (4)
Pituitary gland	(mg)	7.30 ±1.11 (4)	6.83 ±0.50 (4)	6.65 ±0.31 (4)
Thyroid	(mg)	14.60 ±2.18 (4)	14.03 ±1.84 (4)	13.60 ±0.70 (4)
Adrenals	(mg)	37.50 ±3.49 (4)	37.78 ±1.75 (4)	34.78 ±1.51 (4)
Final body weight	(g)	167.83 ±7.10 (4)	170.58 ±6.31 (4)	159.85 ±6.32 (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	30	150
Liver	(g)	7.778 ±0.107 (4)	7.883 ±1.099 (4)	7.143 ±0.818 (4)
Heart	(g)	1.020 ±0.093 (4)	0.970 ±0.045 (4)	0.873 ±0.127 (4)
Kidney(R)	(g)	1.023 ±0.103 (4)	1.043 ±0.090 (4)	1.168 ±0.138 (4)
Kidney(L)	(g)	0.998 ±0.079 (4)	1.028 ±0.122 (4)	1.168 ±0.138 (4)
Kidneys	(g)	2.020 ±0.180 (4)	2.070 ±0.205 (4)	2.335 ±0.274 (4)
Testis(R)	(g)	1.225 ±0.066 (4)	1.155 ±0.033 (4)	0.938 ±0.588 (4)
Testis(L)	(g)	1.198 ±0.077 (4)	1.138 ±0.026 (4)	1.208 ±0.084 (4)
Testes	(g)	2.423 ±0.141 (4)	2.293 ±0.054 (4)	2.145 ±0.619 (4)
Epididymis(R)	(g)	0.185 ±0.024 (4)	0.173 ±0.022 (4)	0.143 ±0.028 (4)
Epididymis(L)	(g)	0.168 ±0.017 (4)	0.165 ±0.025 (4)	0.158 ±0.017 (4)
Epididymides	(g)	0.353 ±0.040 (4)	0.338 ±0.042 (4)	0.300 ±0.024 (4)
Ventral prostate	(g)	0.233 ±0.048 (4)	0.203 ±0.030 (4)	0.148 * ±0.034 (4)
Dorsolateral prostate	(g)	0.163 ±0.033 (4)	0.165 ±0.006 (4)	0.123 ±0.031 (4)
Brain	(g)	1.940 ±0.067 (4)	1.840 ±0.022 (4)	1.870 ±0.073 (4)
Spleen	(g)	0.640 ±0.029 (4)	0.643 ±0.116 (4)	0.538 ±0.123 (4)
Thymus	(mg)	641.90 ±81.36 (4)	530.85 ±98.97 (4)	485.78 * ±51.82 (4)
Pituitary gland	(mg)	8.68 ±0.25 (4)	8.30 ±1.21 (4)	8.33 ±0.57 (4)
Thyroid	(mg)	15.95 ±2.50 (4)	20.08 ±4.38 (4)	20.03 ±4.22 (4)
Adrenals	(mg)	45.55 ±6.23 (4)	47.50 ±4.73 (4)	40.78 ±5.22 (4)
Final body weight	(g)	226.23 ±7.62 (4)	218.68 ±17.43 (4)	189.20 * ±17.31 (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	30	150
Liver	(g)	10.216 ±1.020 (5)	10.968 ±0.997 (5)	— —
Heart	(g)	1.150 ±0.085 (5)	1.262 ±0.123 (5)	— —
Kidney(R)	(g)	1.284 ±0.146 (5)	1.480 * ±0.112 (5)	— —
Kidney(L)	(g)	1.288 ±0.159 (5)	1.464 ±0.136 (5)	— —
Kidneys	(g)	2.572 ±0.295 (5)	2.944 ±0.248 (5)	— —
Testis(R)	(g)	1.538 ±0.067 (5)	1.524 ±0.149 (5)	— —
Testis(L)	(g)	1.542 ±0.078 (5)	1.528 ±0.141 (5)	— —
Testes	(g)	3.080 ±0.139 (5)	3.052 ±0.288 (5)	— —
Epididymis(R)	(g)	0.358 ±0.036 (5)	0.338 ±0.024 (5)	— —
Epididymis(L)	(g)	0.346 ±0.024 (5)	0.338 ±0.026 (5)	— —
Epididymides	(g)	0.704 ±0.056 (5)	0.676 ±0.047 (5)	— —
Ventral prostate	(g)	0.422 ±0.077 (5)	0.392 ±0.054 (5)	— —
Dorsolateral prostate	(g)	0.324 ±0.029 (5)	0.326 ±0.044 (5)	— —
Seminal vesicle	(g)	1.062 ±0.160 (5)	0.944 ±0.040 (5)	— —
Brain	(g)	1.942 ±0.059 (5)	2.006 ±0.061 (5)	— —
Spleen	(g)	0.578 ±0.086 (5)	0.718 ±0.126 (5)	— —
Thymus	(mg)	544.96 ±88.99 (5)	627.98 ±69.03 (5)	— —
Pituitary gland	(mg)	10.72 ±0.72 (5)	11.08 ±1.34 (5)	— —
Thyroid	(mg)	20.20 ±2.87 (5)	23.60 ±5.41 (5)	— —
Adrenals	(mg)	49.48 ±10.56 (5)	53.76 ±10.20 (5)	— —
Final body weight	(g)	320.30 ±13.37 (5)	346.32 ±22.38 (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	30	150
Liver	(g/100g)	3.635 ±0.054 (4)	3.620 ±0.109 (4)	3.635 ±0.181 (4)
Heart	(g/100g)	0.525 ±0.024 (4)	0.510 ±0.037 (4)	0.505 ±0.044 (4)
Kidney(R)	(g/100g)	0.543 ±0.061 (4)	0.523 ±0.052 (4)	0.560 ±0.024 (4)
Kidney(L)	(g/100g)	0.525 ±0.026 (4)	0.530 ±0.044 (4)	0.548 ±0.037 (4)
Kidneys	(g/100g)	1.068 ±0.087 (4)	1.053 ±0.095 (4)	1.108 ±0.061 (4)
Testis(R)	(g/100g)	0.548 ±0.028 (4)	0.563 ±0.075 (4)	0.490 ±0.052 (4)
Testis(L)	(g/100g)	0.538 ±0.010 (4)	0.570 ±0.076 (4)	0.510 ±0.034 (4)
Testes	(g/100g)	1.085 ±0.037 (4)	1.133 ±0.150 (4)	1.000 ±0.085 (4)
Epididymis(R)	(g/100g)	0.065 ±0.006 (4)	0.078 ±0.010 (4)	0.060 ±0.008 (4)
Epididymis(L)	(g/100g)	0.065 ±0.006 (4)	0.070 ±0.008 (4)	0.070 ±0.008 (4)
Epididymides	(g/100g)	0.130 ±0.008 (4)	0.148 ±0.017 (4)	0.130 ±0.014 (4)
Ventral prostate	(g/100g)	0.063 ±0.017 (4)	0.063 ±0.017 (4)	0.065 ±0.010 (4)
Dorsolateral prostate	(g/100g)	0.035 ±0.013 (4)	0.048 ±0.017 (4)	0.048 ±0.005 (4)
Brain	(g/100g)	1.438 ±0.056 (4)	1.468 ±0.034 (4)	1.438 ±0.056 (4)
Spleen	(g/100g)	0.305 ±0.033 (4)	0.305 ±0.040 (4)	0.315 ±0.048 (4)
Thymus	(mg/100g)	350.20 ±29.84 (4)	379.28 ±72.54 (4)	381.10 ±38.67 (4)
Pituitary gland	(mg/100g)	4.68 ±0.40 (4)	4.73 ±0.36 (4)	4.48 ±0.79 (4)
Thyroid	(mg/100g)	11.18 ±2.21 (4)	9.53 ±1.56 (4)	9.30 ±1.76 (4)
Adrenals	(mg/100g)	23.58 ±2.81 (4)	25.15 ±2.34 (4)	24.55 ±2.06 (4)
Final body weight	(g)	117.13 ±5.02 (4)	117.68 ±3.58 (4)	119.05 ±1.48 (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	30	150
Liver	(g/100g)	3.555 ±0.089 (4)	3.540 ±0.083 (4)	3.495 ±0.153 (4)
Heart	(g/100g)	0.470 ±0.022 (4)	0.468 ±0.036 (4)	0.508 ±0.031 (4)
Kidney(R)	(g/100g)	0.490 ±0.026 (4)	0.495 ±0.033 (4)	0.568 ** ±0.031 (4)
Kidney(L)	(g/100g)	0.478 ±0.025 (4)	0.483 ±0.043 (4)	0.578 ** ±0.036 (4)
Kidneys	(g/100g)	0.968 ±0.048 (4)	0.978 ±0.076 (4)	1.145 ** ±0.066 (4)
Testis(R)	(g/100g)	0.525 ±0.050 (4)	0.533 ±0.025 (4)	0.548 ±0.049 (4)
Testis(L)	(g/100g)	0.528 ±0.043 (4)	0.533 ±0.033 (4)	0.545 ±0.057 (4)
Testes	(g/100g)	1.053 ±0.092 (4)	1.065 ±0.054 (4)	1.093 ±0.105 (4)
Epididymis(R)	(g/100g)	0.068 ±0.005 (4)	0.070 ±0.000 (4)	0.070 ±0.014 (4)
Epididymis(L)	(g/100g)	0.070 ±0.000 (4)	0.068 ±0.005 (4)	0.068 ±0.010 (4)
Epididymides	(g/100g)	0.138 ±0.005 (4)	0.138 ±0.005 (4)	0.138 ±0.024 (4)
Ventral prostate	(g/100g)	0.080 ±0.014 (4)	0.085 ±0.019 (4)	0.068 ±0.010 (4)
Dorsolateral prostate	(g/100g)	0.043 ±0.010 (4)	0.053 ±0.010 (4)	0.038 ±0.010 (4)
Brain	(g/100g)	1.110 ±0.050 (4)	1.063 ±0.086 (4)	1.120 ±0.047 (4)
Spleen	(g/100g)	0.323 ±0.046 (4)	0.323 ±0.034 (4)	0.330 ±0.036 (4)
Thymus	(mg/100g)	294.83 ±39.29 (4)	399.30 * ±60.12 (4)	407.95 * ±54.82 (4)
Pituitary gland	(mg/100g)	4.33 ±0.48 (4)	4.00 ±0.34 (4)	4.15 ±0.21 (4)
Thyroid	(mg/100g)	8.70 ±1.15 (4)	8.25 ±1.22 (4)	8.50 ±0.37 (4)
Adrenals	(mg/100g)	22.38 ±2.17 (4)	22.20 ±1.76 (4)	21.78 ±1.21 (4)
Final body weight	(g)	167.83 ±7.10 (4)	170.58 ±6.31 (4)	159.85 ±6.32 (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	30	150
Liver	(g/100g)	3.443 ±0.095 (4)	3.593 ±0.262 (4)	3.773 ±0.173 (4)
Heart	(g/100g)	0.450 ±0.032 (4)	0.445 ±0.034 (4)	0.460 ±0.028 (4)
Kidney(R)	(g/100g)	0.453 ±0.030 (4)	0.475 ±0.017 (4)	0.618 ** ±0.078 (4)
Kidney(L)	(g/100g)	0.443 ±0.019 (4)	0.468 ±0.022 (4)	0.618 ** ±0.082 (4)
Kidneys	(g/100g)	0.895 ±0.047 (4)	0.943 ±0.029 (4)	1.235 ** ±0.160 (4)
Testis(R)	(g/100g)	0.540 ±0.029 (4)	0.530 ±0.043 (4)	0.493 ±0.320 (4)
Testis(L)	(g/100g)	0.528 ±0.029 (4)	0.523 ±0.046 (4)	0.643 ±0.095 (4)
Testes	(g/100g)	1.068 ±0.057 (4)	1.053 ±0.089 (4)	1.135 ±0.347 (4)
Epididymis(R)	(g/100g)	0.083 ±0.010 (4)	0.080 ±0.008 (4)	0.075 ±0.013 (4)
Epididymis(L)	(g/100g)	0.073 ±0.005 (4)	0.075 ±0.010 (4)	0.083 ±0.015 (4)
Epididymides	(g/100g)	0.155 ±0.013 (4)	0.155 ±0.013 (4)	0.158 ±0.017 (4)
Ventral prostate	(g/100g)	0.103 ±0.019 (4)	0.093 ±0.005 (4)	0.080 ±0.022 (4)
Dorsolateral prostate	(g/100g)	0.070 ±0.014 (4)	0.075 ±0.010 (4)	0.068 ±0.022 (4)
Brain	(g/100g)	0.858 ±0.025 (4)	0.845 ±0.065 (4)	0.995 * ±0.073 (4)
Spleen	(g/100g)	0.283 ±0.015 (4)	0.293 ±0.033 (4)	0.283 ±0.043 (4)
Thymus	(mg/100g)	283.93 ±37.01 (4)	242.73 ±38.31 (4)	257.33 ±25.13 (4)
Pituitary gland	(mg/100g)	3.85 ±0.13 (4)	3.78 ±0.34 (4)	4.43 ±0.60 (4)
Thyroid	(mg/100g)	7.03 ±0.92 (4)	9.28 ±2.60 (4)	10.50 * ±1.43 (4)
Adrenals	(mg/100g)	20.18 ±2.98 (4)	21.75 ±2.06 (4)	21.68 ±3.27 (4)
Final body weight	(g)	226.23 ±7.62 (4)	218.68 ±17.43 (4)	189.20 * ±17.31 (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	30	150
Liver	(g/100g)	3.182 ±0.186 (5)	3.166 ±0.173 (5)	— —
Heart	(g/100g)	0.358 ±0.025 (5)	0.364 ±0.018 (5)	— —
Kidney(R)	(g/100g)	0.398 ±0.029 (5)	0.426 ±0.022 (5)	— —
Kidney(L)	(g/100g)	0.400 ±0.031 (5)	0.424 ±0.027 (5)	— —
Kidneys	(g/100g)	0.798 ±0.055 (5)	0.850 ±0.048 (5)	— —
Testis(R)	(g/100g)	0.482 ±0.013 (5)	0.438 * ±0.032 (5)	— —
Testis(L)	(g/100g)	0.480 ±0.022 (5)	0.444 ±0.029 (5)	— —
Testes	(g/100g)	0.962 ±0.034 (5)	0.882 * ±0.060 (5)	— —
Epididymis(R)	(g/100g)	0.112 ±0.013 (5)	0.098 ±0.008 (5)	— —
Epididymis(L)	(g/100g)	0.108 ±0.004 (5)	0.098 ** ±0.004 (5)	— —
Epididymides	(g/100g)	0.220 ±0.016 (5)	0.196 * ±0.011 (5)	— —
Ventral prostate	(g/100g)	0.132 ±0.018 (5)	0.114 ±0.018 (5)	— —
Dorsolateral prostate	(g/100g)	0.102 ±0.008 (5)	0.094 ±0.011 (5)	— —
Seminal vesicle	(g/100g)	0.332 ±0.052 (5)	0.274 ±0.027 (5)	— —
Brain	(g/100g)	0.606 ±0.032 (5)	0.582 ±0.023 (5)	— —
Spleen	(g/100g)	0.178 ±0.020 (5)	0.208 ±0.029 (5)	— —
Thymus	(mg/100g)	169.70 ±22.70 (5)	181.36 ±17.31 (5)	— —
Pituitary gland	(mg/100g)	3.36 ±0.21 (5)	3.20 ±0.25 (5)	— —
Thyroid	(mg/100g)	6.34 ±1.11 (5)	6.88 ±1.79 (5)	— —
Adrenals	(mg/100g)	15.48 ±3.43 (5)	15.48 ±2.29 (5)	— —
Final body weight	(g)	320.30 ±13.37 (5)	346.32 ±22.38 (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	30	150
	(mg/kg/day)		
	ss	ss	ss
	4 ^{a)}	4	4
No abnormalities detected	4	4	0
Forestomach			
Edematous change of wall	0	0	3
Elevation of limiting ridge	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			(mg/kg/day)
	0	30	150	
	ss 4 ^{a)}	ss 4	ss 4	
No abnormalities detected	4	4	0	
Forestomach				
Elevation of limiting ridge	0	0	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	30	150
	(mg/kg/day)		
	ss	ss	ss
	4 ^{a)}	4	4
No abnormalities detected	4	4	0
Forestomach			
Elevation of limiting ridge	0	0	4
Kidney			
Enlargement, bilateral	0	0	3
Testis			
Small, unilateral	0	0	1
Epididymis			
Small, unilateral	0	0	1

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	30	150	(mg/kg/day)
	ss 5 ^{a)}	ss 5	m 4	d 1
No abnormalities detected	5	1	0	0
Dehydration	0	0	1	0
Forestomach				
Elevation of limiting ridge	0	0	4	1
Kidney				
Apparent spotty pattern of surface, bilateral	0	4	1	0
Discoloration, bilateral	0	0	1	0
Enlargement, bilateral	0	0	1	1
Urinary bladder				
Distended with urine	0	0	1	0
Testis				
Small, bilateral	0	0	0	1
Prostate				
Small	0	0	1	0
Seminal vesicle				
Small	0	0	1	0

ss: scheduled sacrifice animal, m: moribund animal, d: dead 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	30	150
		(mg/kg/day)		
		ss	ss	ss
		4 ^{a)}	4	4
Forestomach				
No abnormalities detected		4/4 ^{b)}	4/4	0/4
Cellular infiltration, neutrophil	+	0/4	0/4	1/4
Edema/Submucosa	+	0/4	0/4	1/4
	++	0/4	0/4	3/4
Hyperplasia/Squamous epithelium/ Limiting ridge	+	0/4	0/4	4/4
Glandular stomach				
No abnormalities detected		4/4	4/4	1/4
Cellular infiltration, eosinophil	+	0/4	0/4	2/4
Edema/Submucosa	+	0/4	0/4	1/4
Liver				
No abnormalities detected		4/4	---	4/4
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		3/4	---	3/4
Cellular infiltration, lymphocyte	+	0/4	---	1/4
Vacuolization/Epithelium/Focal	+	1/4	---	0/4
Bone marrow				
No abnormalities detected		4/4	---	4/4
Spleen				
No abnormalities detected		4/4	---	4/4
Thymus				
No abnormalities detected		4/4	---	4/4

ss: scheduled sacrifice animal.

a) Number of animals autopsied.

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

---: Not examined.

+: slight, ++: moderate.

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

Findings	Grade	Male			(mg/kg/day)
		0	30	150	
		ss 4 ^{a)}	ss 4	ss 4	
Forestomach					
No abnormalities detected		4/4 ^{b)}	4/4	0/4	
Hyperplasia/Squamous epithelium/ Limiting ridge	+	0/4	0/4	3/4	
	++	0/4	0/4	1/4	
Glandular stomach					
No abnormalities detected		4/4	4/4	3/4	
Edema/Submucosa	+	0/4	0/4	1/4	
Liver					
No abnormalities detected		4/4	---	4/4	
Kidney					
No abnormalities detected		2/4	4/4	0/4	
Cyst/Subcapsule	+	2/4	0/4	0/4	
Regeneration/Renal tubule/ Outer medulla	±	0/4	0/4	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.

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

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

Findings	Grade	Male		
		0	30	150
		(mg/kg/day)		
		ss	ss	ss
		4 ^{a)}	4	4
Forestomach				
No abnormalities detected		4/4 ^{b)}	4/4	0/4
Hyperplasia/Squamous epithelium/ Limiting ridge	+	0/4	0/4	4/4
Glandular stomach				
No abnormalities detected		4/4	4/4	4/4
Liver				
No abnormalities detected		4/4	---	4/4
Kidney				
No abnormalities detected		4/4	4/4	0/4
Degeneration/Renal tubule/ Outer medulla	±	0/4	0/4	1/4
Mineralization/Outer medulla	++	0/4	0/4	1/4
Regeneration/Renal tubule/ Outer medulla	+	0/4	0/4	4/4
Single cell necrosis/Renal tubule/ Outer medulla	±	0/4	0/4	1/4
	+	0/4	0/4	1/4
Testis				
No abnormalities detected		4/4	---	3/4
Atrophy/Seminiferous tubule/Diffuse	+++	0/4	---	1/4
Hyperplasia/Leydig cell/Diffuse	++	0/4	---	1/4
Mineralization	++	0/4	---	1/4
Necrosis/Seminiferous tubule	++	0/4	---	1/4
Epididymis				
Loss/Sperm/Unilateral	+++	---	---	1/1
Ventral prostate				
No abnormalities detected		4/4	---	4/4
Dorsolateral prostate				
No abnormalities detected		4/4	---	4/4
Bone marrow				
No abnormalities detected		4/4	---	4/4
Spleen				
No abnormalities detected		4/4	---	4/4
Thymus				
No abnormalities detected		4/4	---	4/4

ss: scheduled sacrifice animal.

a) Number of animals autopsied.

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

---: Not examined.

±: very slight, +: slight, ++: 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			
		0	30	150	(mg/kg/day)
		ss 5 ^{a)}	ss 5	m 4	d 1
Trachea					
No abnormalities detected		5/5 ^{b)}	---	4/4	1/1
Lung					
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	1/1
Submandibular gland					
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	1/1
Forestomach					
No abnormalities detected		5/5	5/5	1/4	0/1
Hyperplasia/Squamous epithelium/ Limiting ridge	+	0/5	0/5	3/4	1/1
Glandular stomach					
No abnormalities detected		5/5	5/5	4/4	1/1
Duodenum					
Autolysis ^{c)}		0/5	---	0/4	1/1
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	---
Jejunum					
Autolysis		0/5	---	0/4	1/1
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	---
Ileum					
Autolysis		0/5	---	0/4	1/1
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	---
Cecum					
Autolysis		0/5	---	0/4	1/1
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	---
Colon					
Autolysis		0/5	---	0/4	1/1
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	---
Rectum					
Autolysis		0/5	---	0/4	1/1
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	---
Pancreas					
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	1/1
Liver					
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	1/1
Heart					
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	0/1
Degeneration/Myocardium	++	0/5	---	0/4	1/1

ss: scheduled sacrifice animal, m: moribund animal, d: dead animal.

a) Number of animals autopsied.

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

c) Not available for further histopathological examinations.

---: Not examined.

+: slight, ++: moderate.

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	30	150	(mg/kg/day)
		ss	ss	m	d
		5 ^{a)}	5	4	1
Kidney					
No abnormalities detected		5/5 ^{b)}	1/5	0/4	0/1
Degeneration/Renal tubule/ Outer medulla	+	0/5	0/5	2/4	1/1
	±	0/5	1/5	0/4	0/1
Hyaline droplet/Proximal tubule/ Cortex	+	0/5	3/5	0/4	0/1
	++	0/5	0/5	3/4	0/1
	++	0/5	0/5	2/4	1/1
Mineralization/Outer medulla	+++	0/5	0/5	1/4	0/1
	+	0/5	0/5	2/4	1/1
Regeneration/Renal tubule/ Outer medulla	++	0/5	0/5	2/4	0/1
Single cell necrosis/Renal tubule/ Outer medulla	+	0/5	0/5	3/4	0/1
Urinary bladder					
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	1/1
Testis					
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	0/1
Atrophy/Seminiferous tubule/Diffuse	+++	0/5	---	0/4	1/1
Hyperplasia/Leydig cell/Diffuse	++	0/5	---	0/4	1/1
Epididymis					
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	0/1
Loss/Sperm/Bilateral	+++	0/5	---	0/4	1/1
Ventral prostate					
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	1/1
Dorsolateral prostate					
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	1/1
Coagulating gland					
Autolysis ^{c)}		0/5	---	0/4	1/1
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	---
Seminal vesicle					
Autolysis		0/5	---	0/4	1/1
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	---
Spinal cord					
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	1/1
Sciatic nerve					
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	1/1

ss: scheduled sacrifice animal, m: moribund animal, d: dead animal.

a) Number of animals autopsied.

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

c) Not available for further histopathological examinations.

---: Not examined.

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

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	30	150	(mg/kg/day)
		ss	ss	m	d
		5 ^{a)}	5	4	1
Bone marrow					
No abnormalities detected		5/5 ^{b)}	---	4/4	1/1
Axillar lymph node					
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	1/1
Mesenteric lymph node					
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	1/1
Spleen					
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	0/1
Atrophy	+	0/5	---	0/4	1/1
Congestion	++	0/5	---	0/4	1/1
Thymus					
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	1/1
Thyroid					
Autolysis ^{c)}		0/5	---	0/4	1/1
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	---
Parathyroid					
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	1/1
Adrenal					
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	1/1
Eye ball					
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	1/1
Skeletal muscle					
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	1/1
Bone					
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	1/1
Mammary gland					
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	1/1

ss: scheduled sacrifice animal, m: moribund animal, d: dead animal.

a) Number of animals autopsied.

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

c) Not available for further histopathological examinations.

---: Not examined.

+: slight, ++: moderate.