

試験番号

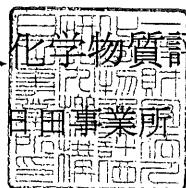
B10-0124

最 終 報 告 書

遺伝子発現量解析のための
Sulfone, bis(*p*-chlorophenyl)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 27 日

試験責任者 鎌珠山五月

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	11
15.1 被験物質の設定用量	11
15.2 群構成	11
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 摂餌量	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	26
19. 参考文献	27

Figures

1 Body weights.....	28
2 Food consumption.....	29

Tables

1 Summary of general clinical observations	30
2 Summary of detailed clinical observations.....	31
3 Summary of functional observations.....	35
4 Summary of body weights.....	36
5 Summary of food consumption	37
6 Summary of urinalyses	38
7 Summary of hematological examinations	41
8 Summary of blood chemical examinations	45
9 Summary of absolute organ weights	49
10 Summary of relative organ weights.....	53
11 Summary of macroscopic examinations.....	57
12 Summary of histopathological examinations	61

Appendices

1 General clinical observations of individual animals	67
2 Detailed clinical observations of individual animals.....	70
3 Functional observations individual animals	73
4 Body weights of individual animals.....	74
5 Food consumption of individual animals	86
6 Urinalytic data of individual animals	87
7 Hematological data of individual animals	93
8 Blood chemical data of individual animals	105
9 Absolute organ weights of individual animals	117
10 Relative organ weights of individual animals	129
11 Pathological findings of individual animals	141

1. 表 題

遺伝子発現量解析のための Sulfone, bis(*p*-chlorophenyl)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

Sulfone, bis(*p*-chlorophenyl)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、Sulfone, bis(*p*-chlorophenyl)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 9 月 25 日
動物入荷日	2014 年 9 月 30 日
投与開始日	2014 年 10 月 8 日
1回投与後解剖日	2014 年 10 月 9 日
7日間投与後解剖日	2014 年 10 月 15 日
14日間投与後解剖日	2014 年 10 月 22 日
28日間投与後解剖日	2014 年 11 月 5 日
試験終了日	2015 年 3 月 27 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 橋 爪 直 樹

(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 3 月 27 日

試験責任者

寶珠山五月

13. 要 約

Sulfone, bis(*p*-chlorophenyl)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Sulfone, bis(*p*-chlorophenyl)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)、50及び250mg/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、250mg/kg群の1例で投与4日目に自発運動低下、呼吸数減少、摂餌不良、糞量減少、削瘦及び半眼が発現した後、投与5日目によろめき歩行及び褐色尿がみられ、投与6日目に死亡が確認された。250mg/kg群の生存動物では流涎が散発的にみられたのみであった。

体重では、50mg/kg群で投与14日目以降に低値又は低値傾向、250mg/kg群で投与3日目以降に低値がみられた。

摂餌量では、50mg/kg群で投与21日目以降に低値傾向、250mg/kg群で投与3日目以降に低値又は低値傾向がみられた。

尿検査では、50及び250mg/kg群でケトン体の高値、250mg/kg群で尿量の低値及び尿浸透圧の高値がみられた。

血液学的検査では、50mg/kg群で14日間投与後に血小板数の高値、28日間投与後にMCHの低値、250mg/kg群で7日間投与後からMCH及び白血球数の低値又は低値傾向、7日間投与後にMCHCの低値、7及び14日間投与後に血小板数の高値、14日間投与後にHbの低値がみられた。

血液生化学的検査では、50mg/kg群で14日間投与後にALPの低値、28日間投与後にALT、総コレステロール、総蛋白、アルブミン及びカルシウムの有意な高値、γ-GTPの高値傾向、250mg/kg群で7日間投与後からALTの高値又は高値傾向、14日間投与後にALPの低値、14日間投与後からBUNの高値、28日間投与後にγ-GTP、総コレステロール、総蛋白、アルブミン及びカルシウムの高値、血糖の低値、ChEの低値傾向がみられた。

器官重量では、50及び250mg/kg群で1回投与後から肝臓の絶対及び相対重量の高値がみられたほか、50mg/kg群で7日間投与後に胸腺の絶対重量の低値、250mg/kg群で7日間投与後に脾臓及び胸腺の絶対及び相対重量の低値、7及び14日間投与後に腎臓の相対重量の高値、28日間投与後に脾臓の絶対及び相対重量の低値がみられた。

剖検では、50mg/kg群で7日間投与後から肝臓の腫大、7及び14日間投与後に肝臓の白色部、250mg/kg群で1回投与後から肝臓の腫大、7日間投与後から肝臓の白色部がみられた。死亡動物では、削瘦、空腸の黒色内容物、肝臓の腫大及び白色部、精嚢及び脾臓の小型化がみられた。

病理組織学的検査では、50 及び 250 mg/kg 群で 7 日間投与後から肝臓の核小体明瞭化及びくもり硝子変性を伴う小葉中心性肝細胞肥大並びに限局性肝細胞壊死がみられたほか、250 mg/kg 群で 1 回投与後に脾臓の核濃縮リンパ球の貪食、1 及び 7 日間投与後に胸腺の核濃縮リンパ球の貪食、7 日間投与後から脾臓のうつ血、7 及び 14 日間投与後に脾臓の髄外造血低下がみられた。死亡動物では、肝臓の核小体明瞭化及びくもり硝子変性を伴う小葉中心性肝細胞肥大、限局性肝細胞壊死並びに脾臓の萎縮がみられた。

詳細な一般状態観察及び機能検査では被験物質投与による影響は認められなかった。

以上のとおり、本試験条件下において Sulfone, bis(*p*-chlorophenyl)の投与により、肝臓、血液及び造血器への毒性影響が認められたほか、腎臓への影響もみられた。

14. 試験材料

14.1 被験物質

a) 名称等

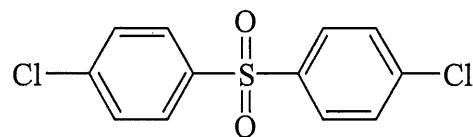
名 称	4,4'-Dichlorodiphenyl sulfone
別 名	Sulfone, bis(<i>p</i> -chlorophenyl)
CAS 番号	80-07-9

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	QYQMC

c) 構造式等

構造式



分子式 C₁₂H₈Cl₂O₂S

分子量 287.16

d) 純度等

純 度 99.9% (GC)

被験物質は純度 100%として取り扱った。

e) 物理化学的性状

融 点 149.8°C

常温における性状 白色～ほとんど白色の結晶～粉末固体

安定性 適切な条件下においては安定

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「Sulfone, bis(*p*-chlorophenyl)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 X02-0288、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: SDDBS) 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 SDDBS 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は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、精製水に 20.0 w/v% の濃度で溶解せず懸濁状態も不良であったが、コーン油には 20 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・リバーワン野飼育センターから入手した。

4 週齢の雄ラットを 55 匹入手し、1 ケージあたり 5 匹の群飼育で入荷 6 日後まで検疫・馴化を行った。さらに、投与開始 1 日前に相当する入荷 7 日後まで馴化し、すべての動物に異常がみられなかつたため、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、群分け後は耳鉗を付けて識別した。ケージにはラベルを付け、ラックは試験番号を表示してそれぞれ識別した。

投与開始時の動物の週齢は 5 週齢、体重範囲は 130.1～157.9 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 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。なお、摂餌不良及び糞量減少がみられた死亡動物（No.47）については、摂餌活動の状況及び糞の観察が出来るよう

に、上記変化の確認時にも交換した。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 及び 140715、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「Sulfone, bis(*p*-chlorophenyl)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 P12-0124、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 0,250、500 及び 1000 mg/kg/day の用量で 7 日間毎日投与した。投与期間中は一般状態観察及び体重測定を行い、最終投与 1 日後に剖検及び器官重量測定を行った。その結果、250 mg/kg 以上の群で肝臓の褐色化、腫大、白色部及び重量高値、500 mg/kg 以上の群で体重の低値傾向がみられ、1000 mg/kg 群の 1 例が瀕死状態となった。500 mg/kg 群では一般状態に異常が認められなかったものの、体重低値や肝臓の著しい腫大がみられたことから、500 mg/kg/day 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 250 mg/kg/day を高用量とし、低用量として 50 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)	50	5	1.00 4(18 - 21)
	低用量 (7日間投与)	50	5	1.00 4(22 - 25)
	低用量 (14日間投与)	50	5	1.00 4(26 - 29)
	低用量 (28日間投与)	50	5	1.00 5(30 - 34)
	高用量 (1回投与)	250	5	5.00 4(35 - 38)
	高用量 (7日間投与)	250	5	5.00 4(39 - 42)
	高用量 (14日間投与)	250	5	5.00 4(43 - 46)
	高用量 (28日間投与)	250	5	5.00 5(47 - 51)

15.3 投与液

a) 被験物質液の調製及び保管

被験物質を秤量後、コーン油を加えて練り合わせた。その後、コーン油を加えて定容し 5.00 w/v% の被験物質液（懸濁液）を調製した。さらに、5.00 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、1.00 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 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) 被験物質液の均一性及び安定性の確認

20.0 及び 0.200 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 X02-0288 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 20.0 及び 0.200 w/v% の被験物質液でそれぞれ 2.8 及び 2.2% 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 13 日後に測定した被験物質濃度が、調製直後の測定濃度に対し 20.0 及び 0.200 w/v% の被験物質液でそれぞれ 94.8 及び 94.3% と $100 \pm 10\%$ 以内であったことから、保管条件下で 12 日間安定であることが確認された。

c) 投与に用いる被験物質液の濃度確認

初回に調製した 5.00 及び 1.00 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 X02-0288 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 5.00 及び 1.00 w/v% の被験物質液でそれぞれ 105% 及び 104% と $100 \pm 10\%$ 以内であったため、適切に調製できたと判定して投与に用いた。

15.4 投与

1、7、14 又は 28 日間毎日 1 回、強制経口投与した。投与は 9:12~10:54 に行った。

投与にはネラトンカテーテル（テルモ）を取り付けた注射筒（テルモ）を用い、測定した最新の体重を基に、5 mL/kg で投与した。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 日間投与群の生存動物について、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日間投与群の生存動物について、投与4週目（投与23日目）に1回、次表の項目を検査した。反応性及び握力は詳細な一般状態観察と同様に試験群が判別できない状態で検査した。

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

15.8 体重測定

生存動物について、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。なお、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）

15.9 摂餌量測定

7及び14日間投与群並びに28日間投与群の生存動物について、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日間投与群の生存動物について、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)	メスシリンドラーによる計量	—
色調 (Color)	肉眼観察	—
濁り (Turbidity)		
尿浸透圧 (Uosm)	氷点降下法	A
pH		
蛋白 (Protein)	試験紙法	
ケトン体 (Ketones)	(試験紙にはラブスティックス(シーメンス)を使用)	—
糖 (Glucose)		
潜血 (Occult blood)		
尿沈渣 (Urinary sediment)	Sternheimer 変法	B

使用機器 A: 自動浸透圧計 OM-6040 (アークレイ)

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。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3.2w/v%水溶液を100μL添加したガラス製試験管で採血し、遠心分離（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 fosfataze、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 fosfataze (ALP)	p-Nitrophenyl phosphate 法	
コリンエステラーゼ (ChE)	Butyrylthiocholine iodide 法	
γグルタミルトランスペプチダーゼ (γ-GTP)	L-γ-glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide 法	
総コレステロール (T-Chol)	COD・ESPAS 法	
トリグリセリド (TG)	GPO・ESPAS グリセロール消去法	
尿素窒素 (BUN)	Urease・GIDH 法	
クレアチニン (Creatinine)	Creatininase・F-DAOS 法	
総蛋白 (T-Protein)	Biuret 法	
アルブミン (Albumin)	Bromocresol green 法	—
A/G 比 (A/G ratio)	Albumin T - Protein – Albumin	
血糖 (Glucose)	Hexokinase・G-6-PDH 法	
総ビリルビン (T-Bil)	酵素法	
総胆汁酸 (TBA)	酵素サイクリング法	E
無機リン (IP)	Fiske-Subbarow 法	
カルシウム (Ca)	OCPC 法	
ナトリウム (Na)	Crown-Ether 膜電極法	
カリウム (K)	Crown-Ether 膜電極法	F
塩素 (Cl)	MO 膜法	

使用機器 E: 生化学自動分析装置 7170 形 (日立製作所)

F: 電解質分析装置 PVA-EX II (A&T)

15.12 病理学的検査

a) 剖 檢

各試験群について最終投与日の翌日のいずれも採血後に、動物を腹部大動脈から放血して安樂死させ、体表、開孔部、皮下、頭蓋腔、胸腔、腹腔及び骨盤腔とその内容について肉眼的観察を行った。なお、死亡動物も生存動物と同様に剖検した。

b) 組織採取及び器官重量測定

(a) サテライト群

1、7及び14日間投与群について、剖検時に次表の器官・組織を採取した。

分類	器官・組織
消化器系	肝臓*
心・血管系	心臓*
泌尿器系	腎臓*
生殖器系	精巣*、精巣上体*、腹葉前立腺*、背側葉前立腺*
神経系	脳*（大脑、小脳及び橋を含む）
造血器系	骨髓（大腿骨）、脾臓*、胸腺*
内分泌系	下垂体*、甲状腺*（上皮小体を含む）、副腎*

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

(b) 28 日間投与群

剖検時に次表の器官・組織を採取した。

分類	器官・組織
呼吸器系	気管、肺
消化器系	顎下腺、胃、腸（十二指腸から直腸、パインエル板を含む）、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

生存動物について、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。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ゾン液で固定した。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ゾン液で固定し、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ゾン液で固定した。

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。

死亡動物については、採取したすべての器官・組織を 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、ヘマトキシリン・エオジン（HE）染色後、光学顕微鏡的に検査した。骨髓（大腿骨）は切り出し前に 10% 蟻酸・ホルマリン液による脱灰を行った。また、1 回投与群では脾臓及び胸腺、7 日間投与群では肝臓、脾臓及び胸腺、14 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 1 回投与群の低用量群の 1 例（No. 19）の腎臓及び高用量群の 1 例（No. 35）の精巣上体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% 蟻酸・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は認められなかった。

28 日間投与後の採血時に、対照群、低用量群及び高用量群の各 1 例（No. 13、No. 30 及び No. 48）について、血液凝固検査用及び血液生化学的検査用の血液試料が採取できなかった。よって、各試験群とも 1 例の PT 及び APTT 並びに血液生化学的検査の全項目のデータが欠失した。なお、各群とも 3 例以上の検査結果が得られ、統計学的処理も可能であったことから、評価は可能であり、試験に及ぼす影響はない判断した。

17. 試験成績

17.1 一般状態 (Table 1、Appendix 1)

250 mg/kg 群の 1 例 (No. 47) で投与 4 日目に自発運動低下、呼吸数減少、摂餌不良、糞量減少、削瘦及び半眼が発現した後、投与 5 日目によろめき歩行及び褐色尿がみられ、投与 6 日目に死亡が確認された。生存動物では流涎が 2 例に観察されたのみであった。流涎は投与 14 日目から散発的にみられた。50 mg/kg 群及び対照群に異常は認められなかつた。

17.2 詳細な一般状態 (Table 2、Appendix 2)

被験物質投与群で排糞回数及び排尿回数に有意な変動は認められず、他の詳細観察項目においても被験物質投与群及び対照群に異常は認められなかつた。

17.3 機能検査 (Table 3、Appendix 3)

被験物質投与群で握力及び自発運動量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つた。

17.4 体 重 (Fig. 1、Table 4、Appendix 4)

250 mg/kg 群で投与 3、7、14、21 及び 28 日目に有意な低値（それぞれ対照群の 92.5%、91.1%、88.5%、82.9% 及び 80.5%）がみられたほか、1 例 (No. 47) で投与 3 日目に前回測定値からの大幅な減少がみられた。50 mg/kg 群では投与 14 及び 21 日目に低値傾向（それぞれ対照群の 94.7% 及び 91.6%）、投与 28 日目に有意な低値（89.8%）が認められた。

17.5 摂餌量 (Fig. 2、Table 5、Appendix 5)

250 mg/kg 群で投与 3、7、14、21 及び 28 日目に有意な低値又は低値傾向（それぞれ対照群の 77.3%、87.7%、91.4%、85.0% 及び 83.3%）がみられた。50 mg/kg 群では投与 21 及び 28 日目に低値傾向（それぞれ対照群の 90.5% 及び 92.2%）が認められた。

17.6 尿検査 (Table 6、Appendix 6)

250 mg/kg 群で尿量の有意な低値及び尿浸透圧の有意な高値がみられた。50 mg/kg 群に有意な変動は認められなかつた。他の検査項目では、250 mg/kg 群でケトン体 (3+) が 4 例中 2 例にみられた。50 mg/kg 群ではケトン体 (2+) が 5 例中 1 例に認められた。対照群に異常は認められなかつた。

17.7 血液検査

a) 血液学的検査 (Table 7、Appendix 7)

1 回投与群では被験物質投与群に有意な変動は認められなかつた。

7 日間投与群において、250 mg/kg 群で平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH)、平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC) 及び白血球数の有意な低値、血小板数の有意な高値がみられた。50 mg/kg 群に有意な変動は認められなかつた。

14 日間投与群において、250 mg/kg 群でヘモグロビン濃度 (Hb) の有意な低値、血小板数の有意な高値、MCH 及び白血球数の低値傾向がみられた。50 mg/kg 群では血小板数の有意な高値がみられた。

28 日間投与群において、250 mg/kg 群で MCH の有意な低値及び白血球数の低値傾向がみられ、50 mg/kg 群でも MCH の有意な低値がみられた。

b) 血液生化学的検査 (Table 8、Appendix 8)

1回投与群では被験物質投与群に有意な変動は認められなかった。

7日間投与群において、250 mg/kg 群でアラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) の有意な高値がみられた。50 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、250 mg/kg 群でアルカリ性フォスファターゼ (ALP) の有意な低値、尿素窒素 (BUN) の有意な高値及び ALT の高値傾向がみられた。50 mg/kg 群では ALP の有意な低値がみられた。

28日間投与群において、250 mg/kg 群で ALT、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ (γ -GTP) 、総コレステロール、BUN、総蛋白、アルブミン及びカルシウムの有意な高値、血糖の有意な低値、コリンエステラーゼ (ChE) の低値傾向がみられた。50 mg/kg 群では ALT、総コレステロール、総蛋白、アルブミン及びカルシウムの有意な高値、 γ -GTP の高値傾向がみられた。

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、250 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 116.3% 及び 113.8%）がみられ、50 mg/kg 群でも肝臓の絶対及び相対重量の有意な高値（対照群の 113.6% 及び 111.7%）がみられた。

7日間投与群において、250 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 200.1% 及び 229.5%）、腎臓の相対重量の有意な高値（対照群の 113.7%）、脾臓の絶対及び相対重量の有意な低値（対照群の 65.6% 及び 73.9%）、胸腺の絶対及び相対重量の有意な低値（対照群の 64.8% 及び 73.3%）が認められたほか、解剖時体重が有意な低値（対照群の 87.5%）を示し、脳の絶対及び相対重量の有意な高値、下垂体の絶対重量の有意な低値がみられた。50 mg/kg 群では肝臓の絶対及び相対重量の有意な高値（対照群の 162.9% 及び 176.5%）、胸腺の絶対重量の有意な低値（対照群の 73.3%）がみられたほか、解剖時体重が低値傾向（対照群の 92.6%）を示し、脳の相対重量の有意な高値が認められた。また、50 mg/kg 群では心臓の絶対重量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。

14日間投与群において、250 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 195.4% 及び 225.7%）、腎臓の相対重量の有意な高値（対照群の 116.4%）が認められたほか、解剖時体重が有意な低値（対照群の 86.7%）を示し、副腎の絶対重量の有意な低値がみられた。50 mg/kg 群では肝臓の絶対及び相対重量の有意な高値（対照群の 170.0% 及び 176.2%）がみられた。このほか、250 mg/kg 群で甲状腺の絶対重量の有意な低値がみられ、50 mg/kg 群でも甲状腺の絶対及び相対重量の有意な低値が認められたが、用量依存性に乏しい変動であることから、被験物質投与に関連した変化ではないと考えた。

28日間投与群において、250 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 179.6% 及び 223.7%）、脾臓の絶対及び相対重量の有意な低値（対照群の 67.1% 及び 84.0%）が認められたほか、解剖時体重が有意な低値（対照群の 80.1%）を示し、下垂体の絶対重量の有意な低値、精巣上体及び脳の相対重量の有意な高値がみられた。50

mg/kg 群では肝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 161.2% 及び 177.9%）がみられたほか、解剖時体重が低値傾向（対照群の 90.6%）を示し、脳の相対重量の有意な高値がみられた。

b) 割 檢 (Table 11、Appendix 11)

1 回投与群において、250 mg/kg 群で肝臓の腫大が 4 例中 1 例に認められたほか、左側精巣及び左側精巣上体の小型化が 1 例にみられた。50 mg/kg 群では腎臓の囊胞が 1 例にみられた。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、250 mg/kg 群で肝臓の腫大が 4 例全例、肝臓の白色部が 3 例に認められた。50 mg/kg 群では、肝臓の腫大が 4 例全例、肝臓の白色部が 1 例にみられた。対照群では、右側精巣の小型化が 1 例にみられた。

14 日間投与群において、250 mg/kg 群で肝臓の腫大が 4 例全例、肝臓の白色部が 2 例に認められた。50 mg/kg 群では、肝臓の腫大が 4 例全例、肝臓の白色部が 1 例にみられた。対照群に異常は認められなかった。

28 日間投与群において、250 mg/kg 群の生存動物で、肝臓の腫大が 4 例全例、肝臓の白色部が 2 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。50 mg/kg 群では、肝臓の腫大が 5 例全例に認められた。対照群に異常は認められなかった。

なお、投与期間中に死亡した 250 mg/kg 群の 1 例では、削瘦、空腸の黒色内容物、肝臓の腫大及び白色部、精囊及び脾臓の小型化が認められた。

c) 病理組織学的検査 (Table 12、Appendix 11)

1 回投与群において、250 mg/kg 群で、脾臓及び胸腺の核濃縮リンパ球の貪食（軽度）が 4 例中 1 例に認められたほか、肉眼的に左側精巣及び精巣上体の小型化がみられた 1 例で、精巣の精細管壊死及び精巣上体の片側性の精巣上体管の壊死が確認された。肉眼的に腫大がみられた肝臓には異常は認められなかった。50 mg/kg 群では、肉眼的に腎臓の囊胞がみられた 1 例で病理組織標本上に病変部を確認することができなかった。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、250 mg/kg 群で、肝臓の核小体明瞭化及びくもり硝子変性を伴う小葉中心性肝細胞肥大（中等度～重度）が 4 例全例、限局性肝細胞壊死（軽度）が 3 例、脾臓のうつ血（軽度）及び髄外造血低下（軽度～中等度）が各 2 例、胸腺の核濃縮リンパ球の貪食（軽度）が 1 例に認められたほか、腎臓の被膜下の囊胞が 1 例にみられた。50 mg/kg 群では、肝臓の核小体明瞭化及びくもり硝子変性を伴う小葉中心性肝細胞肥大（軽度）が 4 例全例、限局性肝細胞壊死（軽度）が 1 例に認められた。対照群では、腎臓の被膜下の囊胞が 1 例にみられたほか、肉眼的に右側精巣の小型化がみられた 1 例で、精巣の限局性精細管萎縮が認められた。

14 日間投与群において、250 mg/kg 群で、肝臓の核小体明瞭化及びくもり硝子変性を伴う小葉中心性肝細胞肥大（中等度～重度）が 4 例全例、限局性肝細胞壊死（中等度）が 2 例、脾臓の髄外造血低下（中等度）が 2 例、脾臓のうつ血（軽度）が 1 例に認められた。50 mg/kg 群では、肝臓の核小体明瞭化及びくもり硝子変性を伴う小葉中心性肝細胞肥大（中等度）が 4 例全例、限局性肝細胞壊死（軽度～中等度）が 2 例に認められた。対照群に異常は認められなかった。

28日間投与群において、250 mg/kg 群の生存動物で、肝臓の核小体明瞭化及びくもり硝子変性を伴う小葉中心性肝細胞肥大（中等度～重度）並びに限局性肝細胞壊死（軽度～中等度）が4例全例、脾臓のうつ血（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例で胃底腺部粘膜壊死がみられた。50 mg/kg 群では、肝臓の核小体明瞭化及びくもり硝子変性を伴う小葉中心性肝細胞肥大（中等度）が5例全例、限局性肝細胞壊死（軽度）が1例に認められた。対照群では肝臓の限局性肝細胞壊死（軽度）が1例にみられた。

なお、投与期間中に死亡した250 mg/kg 群の1例では、肝臓の核小体明瞭化及びくもり硝子変性を伴う小葉中心性肝細胞肥大（重度）、限局性肝細胞壊死（軽度）並びに脾臓の萎縮（中等度）が認められた。

18. 考 察

被験物質は、Dichlorodiphenyl trichloroethane (DDT) の類似構造体であり、DDT と同様の殺虫作用を持つとされ、高生産量化学物質として National Toxicity Program (NTP) において毒性及び発がん性試験が実施されている (Chhabra et al., 2001; NTP, 2001)。ラットを用いた 14 週間混餌投与試験においては、6 mg/kg/day 相当以上で肝臓及び腎臓の相対重量の高値並びに小葉中心性肝細胞肥大、19 mg/kg/day 相当以上で体重増加抑制及び腎症の重篤化、65 mg/kg/day 相当以上でヘモグロビン濃度の低値がみられたと報告されている (Chhabra et al., 2001; NTP, 2001)。本試験においては、被験物質投与により肝臓、血液及び造血器への毒性影響が認められたほか、腎臓への影響がみられた。

肝臓に対する影響として、50 及び 250 mg/kg 群において、1 回投与後から肝臓の絶対及び相対重量の高値がみられ、7 日間投与後以降はともに著しい高値を示した。剖検では、250 mg/kg 群で 1 回投与後から、50 mg/kg 群で 7 日間投与後から腫大が観察され、白色部も認められた。病理組織学的検査においては、50 及び 250 mg/kg 群で 7 日間投与後から、核小体明瞭化及びくもり硝子変性を伴う小葉中心性肝細胞肥大及び限局性肝細胞壊死が認められ、投与回数が増すに応じて、病変の重篤化がみられた。肝細胞肥大は、蛋白質合成の亢進と考えられる核小体明瞭化及び薬物代謝酵素誘導と考えられるくもり硝子変性を伴っていたことから、適応性変化と考えた。しかしながら、限局性肝細胞壊死と併せて、血液生化学的検査において、250 mg/kg 群で 7 日間投与後から ALT の高値、28 日間投与後に γ -GTP の高値、50 mg/kg 群で 28 日間投与後に ALT 及び γ -GTP の高値又は高値傾向がみられたことから、肝細胞の傷害も生じていたことが明らかであった。

血液及び造血器への影響として、50 mg/kg 群で 14 日間投与後に血小板数の高値、28 日間投与後に MCH の低値、250 mg/kg 群で 7 日間投与後から MCH 及び白血球数の低値又は低値傾向、7 日間投与後に MCHC の低値、7 及び 14 日間投与後に血小板数の高値、14 日間投与後に Hb の低値がみられた。また、50 mg/kg 群で 7 日間投与後に胸腺の絶対重量の低値、250 mg/kg 群で 7 日間投与後に脾臓及び胸腺の絶対及び相対重量の低値、28 日間投与後に脾臓の絶対及び相対重量の低値がみられた。病理組織学的検査では、250 mg/kg 群で、1 回投与後に脾臓の核濃縮リンパ球の貪食、1 回及び 7 日間投与後に胸腺の核濃縮リンパ球の貪食、7 日間投与後から脾臓のうっ血、7 及び 14 日間投与後に脾臓の髄外造血低下が認められた。脾臓及び胸腺でのリンパ球の貪食は、投与初期の被験物質投与による強いストレスにより、リンパ球が壊死に陥った結果と推察した。なお、赤血球への影響は前述の 14 週間混餌投与試験においても認められた (Chhabra et al., 2001; NTP, 2001) が、造血器での器質的变化は報告されていない。

腎臓への影響として、250 mg/kg 群で 7 及び 14 日間投与後に相対重量の高値がみられ、14 日間投与後から BUN の高値、28 日間投与後に尿量の低値及び尿浸透圧の高値がみられた。病理組織学的検査では被験物質投与に関連した変化は認められず、毒性学的意義は小さいと考えられたが、14 週間混餌投与試験において腎症の重篤化がみられている (Chhabra et al., 2001; NTP, 2001) ことから、より長期間の投与では明らかな毒性が発現する可能性があると考えられた。

なお、尿検査において、50 及び 250 mg/kg 群でケトン体の高値がみられた理由は不明であ

るが、被験物質が脂溶性であり、脂肪組織に長く残存すること（Chhabra et al., 2001; NTP, 2001）と関連しているかもしれない。

投与期間中にみられた体重及び摂餌量の低値は、主に肝臓、血液及び造血器への毒性影響を反映した変化と考えた。

その他、50 mg/kg 群で、14 日間投与後に ALP の低値、28 日間投与後に総コレステロール、総蛋白、アルブミン及びカルシウムの高値、250 mg/kg 群で 14 日間投与後に ALP の低値、28 日間投与後に総コレステロール、総蛋白、アルブミン及びカルシウムの高値、血糖の低値、ChE の低値傾向がみられた。これらの変化の毒性学的意義は不明であるが、いくつかは 14 週間混餌投与試験においてもみられている（Chhabra et al., 2001; NTP, 2001）ことから、被験物質投与と関連した変化と考えた。

投与期間中に死亡した 250 mg/kg 群の 1 例では、投与 3 日目に体重が減少し、その後、急速な状態の悪化がみられた。病理学的検査では、衰弱に伴う所見のほか、生存動物と同様の病変が認められたが、投与過誤や誤飲等の偶発的事故を疑わせる所見が認められなかったことから、被験物質の毒性影響が特に強く発現して死に至ったものと推察した。

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

以上のとおり、本試験では被験物質投与により肝臓、血液及び造血器への毒性影響が認められたほか、腎臓への影響もみられた。その他の消化器系、呼吸器系、心・血管系、生殖器系、神経系、内分泌系、感覚器、筋・骨格系、乳腺への影響は検出されなかった。

19. 参考文献

- Chhabra RS, Herbert RA, Bucher JR, Travlos GS, Johnson JD, Hejtmancik MR (2001) Toxicology and carcinogenesis studies of *p,p'*-dichlorodiphenyl sulfone in rats and mice. *Toxicol. Sci.* 60, 28-37.
- NTP (2001) Toxicology and carcinogenesis studies of *p,p'*-dichlorodiphenyl sulfone (CAS No. 80-07-9) in F344/N rats and B6C3F₁ mice (feed studies). NTP TR 501.

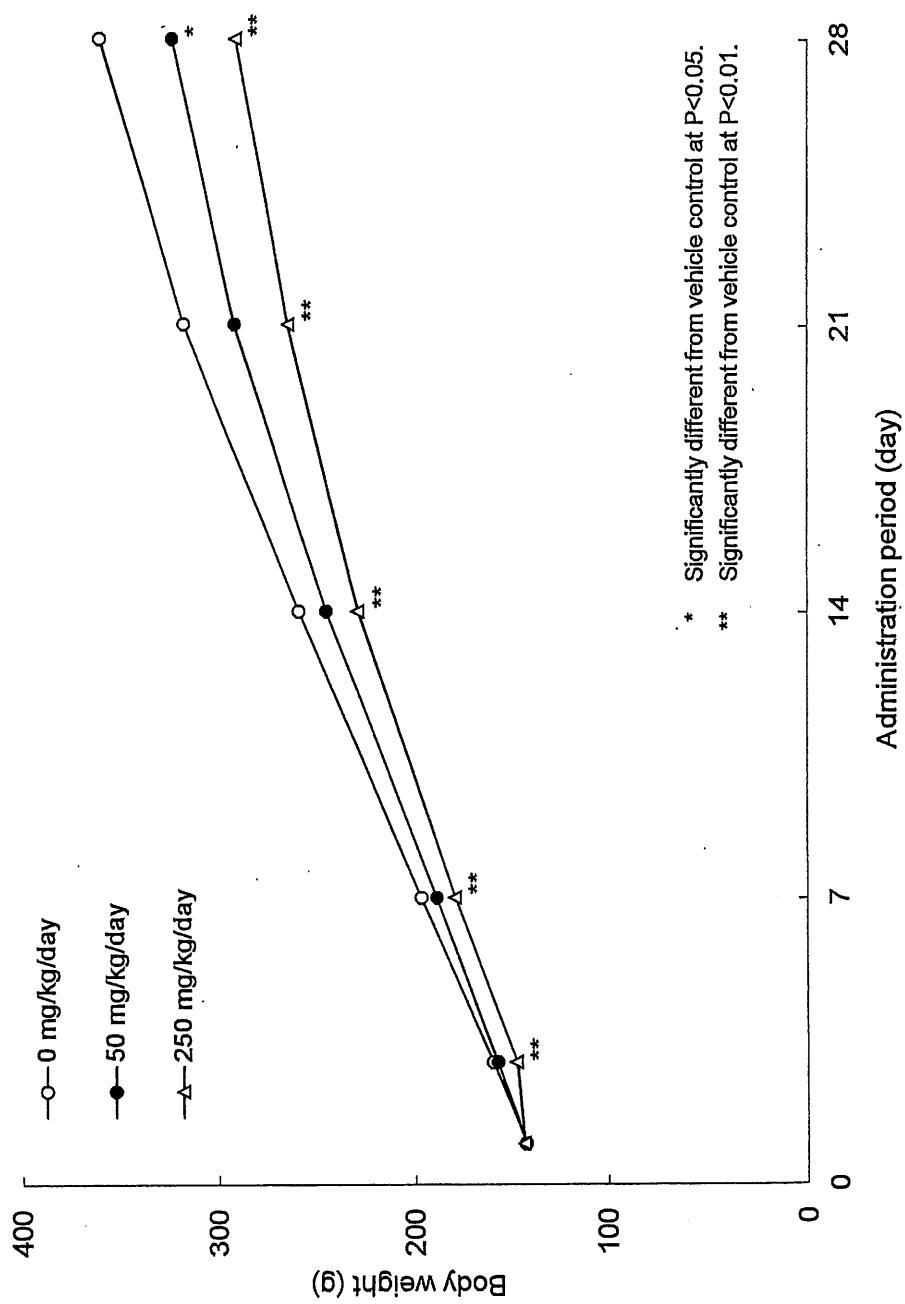


Fig. 1 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
Body weights: Male

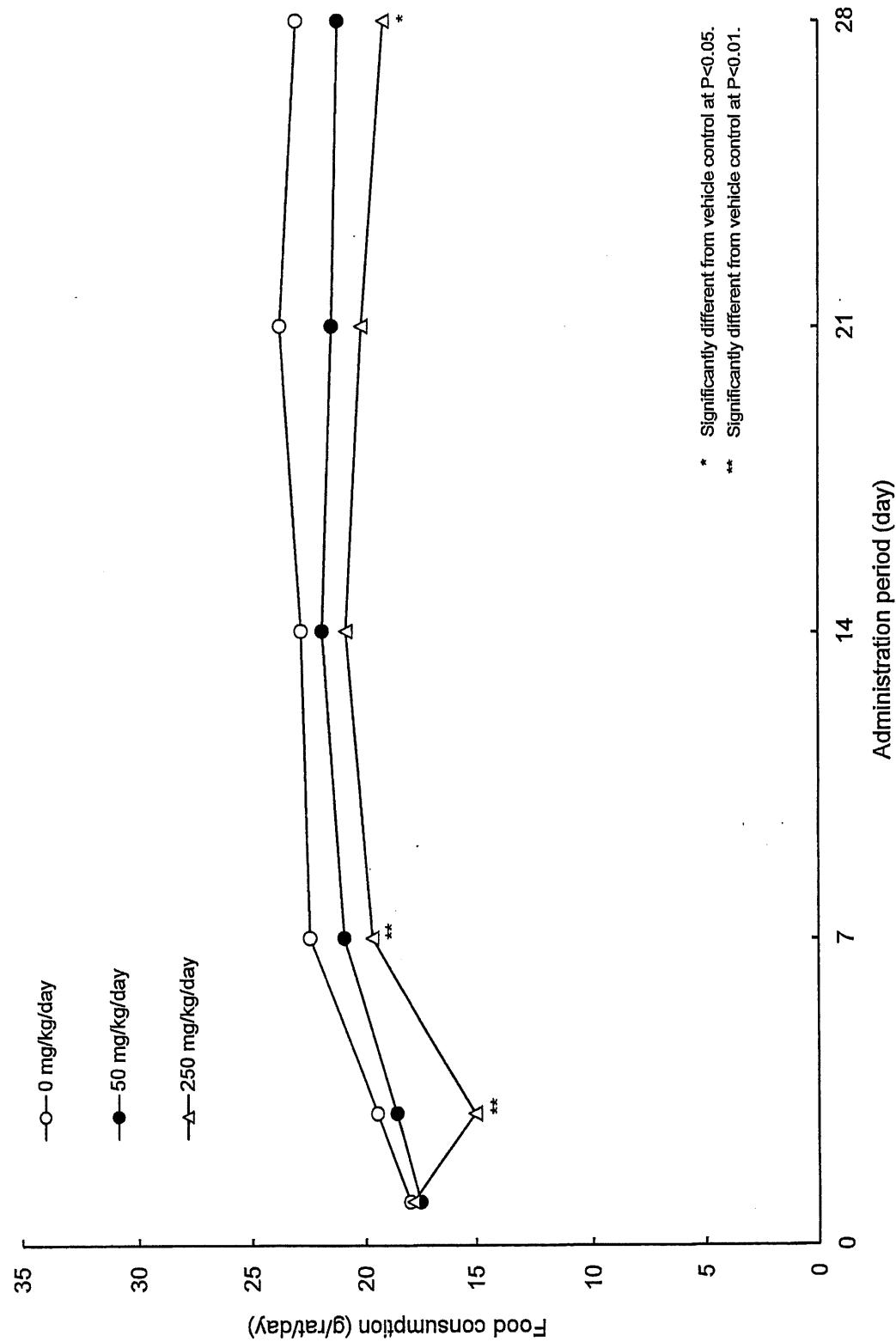


Fig. 2 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
Food consumption: Male

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	50	250
Male		ss 17 ^{a)}	ss 17	ss 16	d 1
	No abnormalities detected	17	17	14	
	Decreased spontaneous locomotion				1
	Decreased respiratory rate				1
	Anorexia				1
	Decreased stool volume				1
	Emaciation				1
	Incomplete eyelid opening				1
	Staggering gait				1
	Brownish urine				1
	Salivation (disappeared within 15 minutes after dosing)			2	
	Death				1

ss: scheduled sacrifice animal, d: dead 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
Handling observations	Vocalization	0	None
		+1	Vocalization during handling
		+2	Continuous vocalization
Handling obsevations	Muscle tone	-1	Decreased
		0	Normal
		+1	Increased
	Subnormal temperature	-	Absent
		+	Present
	Piloerection	-	Absent
		+	Present
	Staining hair	-	Absent
		+	Present
	Unkempt hair	-	Absent
		+	Present
	Paleness	-	Absent
		+	Present
	Reddening	-	Absent
		+	Present
	Cyanosis	-	Absent
		+	Present
	Lacration	-	Absent
		+	Present
	Exophthalmos	-	Absent
		+	Present
Observation in arena	Posture	-1	Miosis
		0	Normal
		+1	Mydriasis
	Salivation	-	Absent
		+	Present
	Secretion	-	Absent
		+	Present
	Motor activity	0	Normal
		+1	Crouching position or hunchback position
		+2	Prone position or lateral position
Observation in arena	Respiration	-2	Significantly decreased
		-1	Decreased
		0	Normal
		+1	Increased
		+2	Significantly increased
	Lid closure	0	Normal
		+1	Slightly insufficiency
		+2	Moderately insufficiency
		+3	Severely insufficiency
	Gait	-	Absent
		+	Present
		-	Normal
		S	Staggering gait
		T	Tip toe gait
Observation in arena	Tremor/twitch/convulsion	P	Shuffling (paralytic) gait
		GD	Gait disturbance
		0	None
		+1	Tremor
		+2	Twitch or convulsion
	Stereotypic behavior	+3	Systematic tonic convulsion (opisthotonus or episthenotonus etc.)
		-	None
		C	Circling
		G	Grooming
		S	Sniffing
Observation in arena	Abnormal behavior	H	Head bobbling
		-	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	50	250	0	50	250
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	4	5
Removal from cage	+1	0	0	0	1	0
+2	0	0	0	0	0	0
Vocalization	0	4	5	4	3	4
+1	1	0	1	2	0	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
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
Secretion	-1	0	0	0	0	0
0	5	5	5	5	5	5
+1	0	0	0	0	0	0
Posture	+2	0	0	0	0	0
	-2	0	0	0	0	0
Motor activity	-1	0	0	0	0	0
0	4	5	5	4	3	4
+1	1	0	0	1	2	1
+2	0	0	0	0	0	0
Respiration	0	5	5	5	5	5
+1	0	0	0	0	0	0
+2	0	0	0	0	0	0
+3	0	0	0	0	0	0
Lid closure	-	5	5	5	5	5
+	0	0	0	0	0	0
Gait	-	5	5	5	5	5
S	0	0	0	0	0	0
T	0	0	0	0	0	0
P	0	0	0	0	0	0
GD	0	0	0	0	0	0
Observation in arena	Tremor/ twitch/ convulsion	0	5	5	5	5
	+1	0	0	0	0	0
	+2	0	0	0	0	0
	+3	0	0	0	0	0
	Stereotypic behavior	-	5	5	5	5
	C	0	0	0	0	0
	G	0	0	0	0	0
	S	0	0	0	0	0
	H	0	0	0	0	0
	Abnormal behavior	-	5	5	5	5
	C	0	0	0	0	0
	R	0	0	0	0	0
	W	0	0	0	0	0
	V	0	0	0	0	0
	ST	0	0	0	0	0
	T	0	0	0	0	0
Defecation ^{a)}		0.8 ± 0.8	0.0 ± 0.0	0.2 ± 0.4	1.4 ± 1.7	0.6 ± 0.9
Urination ^{a)}		2.2 ± 1.3	2.0 ± 2.3	1.8 ± 1.8	1.0 ± 1.4	1.6 ± 1.8
						4.2 ± 3.9

a): (count/min)

*: 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

Dose (mg/kg/day)	Dosing 2 week			Dosing 3 week		
	0	50	250	0	50	250
Number of animals	5	5	4	5	5	4
-2	0	0	0	0	0	0
-1	0	0	0	0	0	0
Ease of removal	0	5	4	5	5	4
Removal from cage	+1	0	0	0	0	0
	+2	0	0	0	0	0
Vocalization	0	2	2	4	5	2
	+1	3	3	2	1	2
	+2	0	0	0	0	0
Muscle tone	-1	0	0	0	0	0
	0	5	5	4	5	4
	+1	0	0	0	0	0
Subnormal temperature	-	5	5	4	5	4
	+	0	0	0	0	0
Piloerection	-	5	5	4	5	4
	+	0	0	0	0	0
Staining hair	-	5	5	4	5	4
	+	0	0	0	0	0
Unkempt hair	-	5	5	4	5	4
	+	0	0	0	0	0
Paleness	-	5	5	4	5	4
	+	0	0	0	0	0
Handling observation	-	5	5	4	5	4
	+	0	0	0	0	0
Cyanosis	-	5	5	4	5	4
	+	0	0	0	0	0
Lacrimation	-	5	5	4	5	4
	+	0	0	0	0	0
Exophthalmos	-	5	5	4	5	4
	+	0	0	0	0	0
	-1	0	0	0	0	0
Pupillary size	0	5	5	4	5	4
	+1	0	0	0	0	0
Salivation	-	5	5	4	5	4
	+	0	0	0	0	0
Secretion	-	5	5	4	5	4
	+	0	0	0	0	0
	0	5	5	4	5	4
Posture	+1	0	0	0	0	0
	+2	0	0	0	0	0
	-2	0	0	0	0	0
	-1	0	1	0	0	1
Motor activity	0	5	3	4	5	3
	+1	0	1	0	0	0
	+2	0	0	0	0	0
	0	5	5	4	5	4
Respiration	+1	0	0	0	0	0
	+2	0	0	0	0	0
	+3	0	0	0	0	0
Lid closure	-	5	5	4	5	4
	+	0	0	0	0	0
	-	5	5	4	5	4
Gait	S	0	0	0	0	0
	T	0	0	0	0	0
	P	0	0	0	0	0
	GD	0	0	0	0	0
Observation in arena	0	5	5	4	5	4
	+1	0	0	0	0	0
	+2	0	0	0	0	0
	+3	0	0	0	0	0
	-	5	5	4	5	4
Tremor/ twitch/ convulsion	C	0	0	0	0	0
	G	0	0	0	0	0
	S	0	0	0	0	0
	H	0	0	0	0	0
	-	5	5	4	5	4
Stereotypic behavior	C	0	0	0	0	0
	G	0	0	0	0	0
	S	0	0	0	0	0
	H	0	0	0	0	0
	-	5	5	4	5	4
Abnormal behavior	S	0	0	0	0	0
	B	0	0	0	0	0
	C	0	0	0	0	0
	R	0	0	0	0	0
	W	0	0	0	0	0
	V	0	0	0	0	0
	ST	0	0	0	0	0
	T	0	0	0	0	0
Defecation ^{a)}	0.4 ± 0.9	0.4 ± 0.5	0.5 ± 0.6	0.2 ± 0.4	0.2 ± 0.4	0.3 ± 0.5
Urination ^{a)}	2.8 ± 4.1	3.8 ± 3.2	1.3 ± 1.9	1.8 ± 3.0	6.6 ± 9.1	2.5 ± 2.5

a): (count/min)

*: 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 4 week		
Dose (mg/kg/day)	0	50	250
Number of animals	5	5	4
	-2	0	0
	-1	0	0
Ease of removal	0	5	5
Removal from cage	+1	0	0
	+2	0	0
	0	3	4
Vocalization	+1	2	1
	+2	0	0
Muscle tone	-1	0	0
	0	5	5
	+1	0	0
Subnormal temperature	-	5	5
	+	0	0
Piloerection	-	5	5
	+	0	0
Staining hair	-	5	5
	+	0	0
Unkempt hair	-	5	5
	+	0	0
Paleness	-	5	5
	+	0	0
Handling observation	-	5	5
	+	0	0
Cyanosis	-	5	5
	+	0	0
Lacrimation	-	5	5
	+	0	0
Exophthalmos	-	5	5
	+	0	0
	-1	0	0
Pupillary size	0	5	5
	+1	0	0
Salivation	-	5	5
	+	0	0
Secretion	-	5	5
	+	0	0
	0	5	5
Posture	+1	0	0
	+2	0	0
	-2	0	0
	-1	1	1
Motor activity	0	4	4
	+1	0	0
	+2	0	0
	0	5	5
Respiration	+1	0	0
	+2	0	0
	+3	0	0
Lid closure	-	5	5
	+	0	0
	-	5	5
Gait	S	0	0
	T	0	0
	P	0	0
Observation in arena	GD	0	0
	0	5	5
Tremor/ twitch/ convulsion	+1	0	0
	+2	0	0
	+3	0	0
	-	5	5
Stereotypic behavior	C	0	0
	G	0	0
	S	0	0
	H	0	0
	-	5	5
Abnormal behavior	S	0	0
	B	0	0
	C	0	0
	R	0	0
	W	0	0
	V	0	0
	ST	0	0
	T	0	0
Defecation ^{a)}	0.0 ± 0.0	0.4 ± 0.9	0.3 ± 0.5
Urination ^{a)}	0.0 ± 0.0	0.8 ± 1.8	1.8 ± 2.9

a): (count/min)

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

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

Male

		Dosing 4 week			
	Dose (mg/kg/day)	0	50	250	
	Number of animals	5	5	4	
	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)	215 ± 17 320 ± 27	210 ± 43 314 ± 43	218 ± 59 336 ± 42
	Motor activity [Interval]	0-10 (min) 10-20 (min) 20-30 (min) 30-40 (min) 40-50 (min) 50-60 (min)	180 ± 69 95 ± 30 91 ± 52 82 ± 33 54 ± 50 30 ± 36	187 ± 34 120 ± 58 65 ± 71 109 ± 51 64 ± 70 69 ± 54	188 ± 42 129 ± 13 62 ± 46 65 ± 53 27 ± 32 33 ± 67
	Total		532 ± 212	615 ± 311	505 ± 97

*: 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	50	250
Administration period (day)	1	143.24 ±7.00 (17)	143.87 ±4.96 (17)	144.52 ±5.07 (17)
	3	160.42 ±8.80 (13)	157.98 ±7.45 (13)	148.38 ** ±12.21 (13)
	7	197.25 ±12.22 (13)	189.40 ±9.66 (13)	179.78 ** ±12.64 (12)
	14	258.80 ±17.46 (9)	244.99 ±13.95 (9)	229.08 ** ±21.19 (8)
	21	319.00 ±15.63 (5)	292.08 ±22.93 (5)	264.45 ** ±20.71 (4)
	28	382.02 ±11.82 (5)	325.06 * ±27.85 (5)	291.53 ** ±26.65 (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 5

Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats

B10-0124

Summary of food consumption (g/rat/day) : male

	Dose (mg/kg/day)	0	50	250
Administration period (day)	1	17.96 ± 1.51 (13)	17.48 ± 1.16 (13)	17.82 ± 1.47 (13)
	3	19.46 ± 1.84 (13)	18.57 ± 1.53 (13)	15.04 ** ± 3.33 (13)
	7	22.45 ± 2.30 (13)	20.96 ± 1.51 (13)	19.68 ** ± 2.23 (12)
	14	22.84 ± 2.48 (9)	21.92 ± 2.07 (9)	20.88 ± 2.60 (8)
	21	23.79 ± 2.17 (5)	21.52 ± 2.58 (5)	20.21 ± 1.82 (4)
	28	23.10 ± 1.10 (5)	21.29 ± 2.24 (5)	19.24 * ± 2.06 (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 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	50	250
Urine volume (mL)		10.0 ±3.2 (5)	7.6 ±3.4 (5)	4.5 * ±1.7 (4)
Uosm (mOsm/L)		806.0 ±200.2 (5)	1155.8 ±519.9 (5)	1683.0 ** ±318.2 (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 6-2 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
Summary of urinalyses: Male

B10-0124

Items	Group	Twenty-eight-day treatment			
		Dose (mg/kg/day)	0	50	250
	No. of animals		5	5	4
Color					
	SY	1	2	0	
	Y	4	2	1	
	YB	0	1	3	
Turbidity					
	Clear	0	4	4	
	Cloudy	5	1	0	
pH					
	6.0	0	2	3	
	6.5	3	3	1	
	7.0	2	0	0	
Protein					
	±	2	4	0	
	1+	2	1	4	
	2+	1	0	0	
Glucose					
	-	5	5	4	
Ketones					
	-	0	3	2	
	±	4	0	0	
	1+	1	1	0	
	2+	0	1	0	
	3+	0	0	2	
Occult blood					
	-	3	5	4	
	1+	2	0	0	

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

Table 6-3

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

B10-0124

Items	Group	Twenty-eight-day treatment			
		Dose (mg/kg/day)	0	50	250
	No. of animals	5	0	4	
Urinaly sediment					
Red blood cells ^{a)}					
	0	5	---	4	
White blood cells ^{a)}					
	0	5	---	4	
Epithelial cells ^{a)}					
	0	5	---	4	
Casts ^{b)}					
	0	5	---	4	
Crystals ^{c)}					
	±	2	---	2	
	1+	2	---	2	
	2+	1	---	0	

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

---:Not examined.

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

Items	Dose (mg/kg/day)	One-day treatment		
		0	50	250
RBC	($\times 10^4/\mu\text{L}$)	667.8 ± 49.2 (4)	713.0 ± 53.0 (4)	727.8 ± 33.8 (4)
Hb	(g/dL)	14.38 ± 0.66 (4)	15.05 ± 0.70 (4)	15.53 ± 0.95 (4)
Ht	(%)	47.43 ± 1.76 (4)	49.45 ± 2.77 (4)	51.18 ± 3.02 (4)
MCV	(fL)	71.15 ± 2.62 (4)	69.50 ± 1.89 (4)	70.25 ± 1.22 (4)
MCH	(pg)	21.53 ± 0.74 (4)	21.13 ± 0.77 (4)	21.33 ± 0.38 (4)
MCHC	(g/dL)	30.25 ± 0.34 (4)	30.40 ± 0.32 (4)	30.33 ± 0.15 (4)
Platelet	($\times 10^4/\mu\text{L}$)	125.53 ± 9.27 (4)	146.50 ± 9.28 (4)	120.98 ± 23.84 (4)
Reticulo	(%)	11.53 ± 1.74 (4)	11.78 ± 1.23 (4)	11.60 ± 1.53 (4)
WBC	($\times 10^2/\mu\text{L}$)	80.25 ± 21.50 (4)	76.73 ± 15.23 (4)	78.23 ± 17.36 (4)
Differentiation of leukocyte				
Neutro	(%)	13.03 ± 3.50 (4)	8.53 ± 2.29 (4)	13.60 ± 5.33 (4)
Lymph	(%)	81.33 ± 2.77 (4)	86.23 ± 3.06 (4)	81.95 ± 5.20 (4)
Eosino	(%)	0.48 ± 0.19 (4)	0.40 ± 0.14 (4)	0.40 ± 0.08 (4)
Baso	(%)	0.80 ± 0.20 (4)	1.20 ± 0.28 (4)	0.95 ± 0.34 (4)
Mono	(%)	3.40 ± 0.66 (4)	2.80 ± 0.32 (4)	2.48 ± 0.57 (4)
LUC	(%)	0.90 ± 0.29 (4)	0.85 ± 0.34 (4)	0.58 ± 0.21 (4)

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

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

* Significantly different from vehicle control at P<0.05.

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

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

Items	Dose (mg/kg/day)	Seven-day treatment		
		0	50	250
RBC	($\times 10^4/\mu\text{L}$)	707.8 ± 33.7 (4)	694.3 ± 28.9 (4)	686.8 ± 20.5 (4)
Hb	(g/dL)	15.23 ± 0.82 (4)	14.38 ± 0.57 (4)	13.95 ± 0.82 (4)
Ht	(%)	50.33 ± 3.12 (4)	48.03 ± 2.20 (4)	47.25 ± 2.36 (4)
MCV	(fL)	71.05 ± 1.26 (4)	69.20 ± 2.54 (4)	68.78 ± 1.84 (4)
MCH	(pg)	21.45 ± 0.31 (4)	20.68 ± 0.76 (4)	20.28 * ± 0.64 (4)
MCHC	(g/dL)	30.20 ± 0.29 (4)	29.93 ± 0.39 (4)	29.50 * ± 0.42 (4)
Platelet	($\times 10^4/\mu\text{L}$)	127.80 ± 18.19 (4)	157.98 ± 12.93 (4)	198.43 ** ± 47.36 (4)
Reticulo	(%)	9.50 ± 1.68 (4)	7.93 ± 0.63 (4)	7.55 ± 0.78 (4)
WBC	($\times 10^2/\mu\text{L}$)	84.00 ± 25.24 (4)	80.20 ± 26.22 (4)	57.63 * ± 3.43 (4)
Differentiation of leukocyte				
Neutro	(%)	11.35 ± 2.83 (4)	16.55 ± 6.94 (4)	17.98 ± 7.28 (4)
Lymph	(%)	83.48 ± 3.72 (4)	77.70 ± 7.08 (4)	76.35 ± 7.99 (4)
Eosino	(%)	0.43 ± 0.21 (4)	0.38 ± 0.17 (4)	0.30 ± 0.08 (4)
Baso	(%)	0.80 ± 0.32 (4)	0.78 ± 0.17 (4)	0.65 ± 0.25 (4)
Mono	(%)	3.18 ± 0.88 (4)	3.63 ± 0.74 (4)	3.70 ± 0.67 (4)
LUC	(%)	0.75 ± 0.10 (4)	0.95 ± 0.21 (4)	1.00 ± 0.37 (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	50	250
RBC	(x10 ⁴ /μL)	733.8 ±37.7 (4)	710.5 ±27.9 (4)	702.3 ±27.9 (4)
Hb	(g/dL)	15.28 ±0.67 (4)	14.50 ±0.52 (4)	13.98 * ±0.29 (4)
Ht	(%)	50.00 ±2.43 (4)	48.25 ±2.29 (4)	46.68 ±0.86 (4)
MCV	(fL)	68.18 ±1.64 (4)	67.93 ±1.44 (4)	66.53 ±2.74 (4)
MCH	(pg)	20.83 ±0.72 (4)	20.40 ±0.62 (4)	19.93 ±0.96 (4)
MCHC	(g/dL)	30.53 ±0.39 (4)	30.03 ±0.56 (4)	29.95 ±0.26 (4)
Platelet	(x10 ⁴ /μL)	133.08 ±5.22 (4)	160.88 ** ±12.06 (4)	151.88 * ±10.72 (4)
Reticulo	(%)	5.90 ±0.59 (4)	6.00 ±0.68 (4)	6.10 ±1.27 (4)
WBC	(x10 ² /μL)	111.35 ±10.34 (4)	99.40 ±35.84 (4)	69.93 ±18.71 (4)
Differentiation of leukocyte				
Neutro	(%)	17.48 ±3.31 (4)	15.30 ±4.68 (4)	18.68 ±5.67 (4)
Lymph	(%)	78.00 ±3.15 (4)	79.13 ±5.79 (4)	75.15 ±6.00 (4)
Eosino	(%)	0.50 ±0.18 (4)	0.90 ±0.37 (4)	0.73 ±0.36 (4)
Baso	(%)	0.75 ±0.06 (4)	0.80 ±0.18 (4)	0.68 ±0.21 (4)
Mono	(%)	2.58 ±0.75 (4)	3.00 ±1.11 (4)	3.83 ±0.81 (4)
LUC	(%)	0.75 ±0.13 (4)	0.88 ±0.31 (4)	1.00 ±0.41 (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 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	50	250
RBC	($\times 10^4/\mu\text{L}$)	742.6 ± 45.9 (5)	773.0 ± 6.2 (5)	779.8 ± 21.1 (4)
Hb	(g/dL)	14.78 ± 0.63 (5)	14.74 ± 0.28 (5)	14.73 ± 0.50 (4)
Ht	(%)	48.60 ± 1.72 (5)	49.02 ± 0.82 (5)	49.43 ± 1.04 (4)
MCV	(fL)	65.58 ± 3.18 (5)	63.40 ± 0.62 (5)	63.38 ± 0.75 (4)
MCH	(pg)	19.94 ± 0.47 (5)	19.08 * ± 0.31 (5)	18.88 ** ± 0.41 (4)
MCHC	(g/dL)	30.42 ± 0.73 (5)	30.06 ± 0.58 (5)	29.83 ± 0.59 (4)
Platelet	($\times 10^4/\mu\text{L}$)	113.18 ± 9.95 (5)	125.70 ± 15.87 (5)	124.33 ± 22.90 (4)
Reticulo	(%)	3.26 ± 0.36 (5)	3.10 ± 0.25 (5)	2.70 ± 0.50 (4)
WBC	($\times 10^2/\mu\text{L}$)	92.82 ± 36.89 (5)	78.56 ± 22.54 (5)	50.18 ± 20.39 (4)
Differentiation of leukocyte				
Neutro	(%)	18.22 ± 3.14 (5)	20.50 ± 8.45 (5)	21.23 ± 6.68 (4)
Lymph	(%)	77.20 ± 3.39 (5)	75.54 ± 7.53 (5)	74.00 ± 7.37 (4)
Eosino	(%)	0.38 ± 0.13 (5)	0.56 ± 0.38 (5)	0.60 ± 0.36 (4)
Baso	(%)	0.82 ± 0.28 (5)	0.66 ± 0.17 (5)	0.78 ± 0.25 (4)
Mono	(%)	2.60 ± 1.30 (5)	2.02 ± 0.80 (5)	2.63 ± 1.06 (4)
LUC	(%)	0.76 ± 0.21 (5)	0.70 ± 0.22 (5)	0.80 ± 0.26 (4)
PT	(sec)	19.18 ± 4.57 (4)	21.08 ± 4.68 (4)	24.07 ± 6.23 (3)
APTT	(sec)	17.28 ± 5.41 (4)	18.68 ± 6.61 (4)	26.33 ± 1.70 (3)

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	50	250
AST	(IU/L)	90.5 ±13.3 (4)	76.0 ±6.0 (4)	80.5 ±11.8 (4)
ALT	(IU/L)	31.8 ±5.5 (4)	25.5 ±3.7 (4)	29.5 ±2.1 (4)
ALP	(IU/L)	926.0 ±138.8 (4)	923.0 ±63.8 (4)	887.3 ±120.0 (4)
BUN	(mg/dL)	10.95 ±1.89 (4)	10.18 ±0.96 (4)	9.83 ±2.37 (4)
Creatinine	(mg/dL)	0.160 ±0.020 (4)	0.143 ±0.010 (4)	0.148 ±0.015 (4)
T-Bil	(mg/dL)	0.053 ±0.017 (4)	0.058 ±0.013 (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	50	250
AST	(IU/L)	79.0 ±5.4 (4)	83.0 ±13.8 (4)	95.3 ±17.6 (4)
ALT	(IU/L)	32.5 ±3.8 (4)	37.8 ±7.0 (4)	44.3 * ±7.2 (4)
ALP	(IU/L)	921.3 ±155.5 (4)	688.0 ±105.7 (4)	744.8 ±168.0 (4)
BUN	(mg/dL)	9.98 ±0.98 (4)	9.85 ±1.01 (4)	12.33 ±1.83 (4)
Creatinine	(mg/dL)	0.163 ±0.015 (4)	0.173 ±0.013 (4)	0.180 ±0.014 (4)
T-Bil	(mg/dL)	0.065 ±0.013 (4)	0.048 ±0.005 (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 8-3 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	50	250
AST	(IU/L)	70.5 ±6.2 (4)	72.0 ±22.4 (4)	84.0 ±19.1 (4)
ALT	(IU/L)	25.5 ±5.1 (4)	31.5 ±16.7 (4)	45.5 ±19.1 (4)
ALP	(IU/L)	856.0 ±101.0 (4)	539.0 ** ±82.6 (4)	655.0 * ±105.2 (4)
BUN	(mg/dL)	9.23 ±1.04 (4)	11.35 ±2.41 (4)	12.63 * ±1.46 (4)
Creatinine	(mg/dL)	0.205 ±0.017 (4)	0.210 ±0.008 (4)	0.188 ±0.010 (4)
T-Bil	(mg/dL)	-0.045 ±0.006 (4)	0.035 ±0.010 (4)	0.038 ±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	50	250
AST (IU/L)		65.5 ±8.6 (4)	64.3 ±18.7 (4)	69.0 ±4.6 (3)
ALT (IU/L)		22.5 ±5.1 (4)	36.8 * ±9.8 (4)	41.0 * ±4.6 (3)
ALP (IU/L)		525.3 ±114.8 (4)	423.0 ±65.0 (4)	440.3 ±107.4 (3)
ChE (IU/L)		62.0 ±8.5 (4)	59.5 ±13.7 (4)	38.3 ±28.7 (3)
γ-GTP (IU/L)		0.70 ±0.37 (4)	2.63 ±1.36 (4)	27.97 ** ±8.85 (3)
T-Chol (mg/dL)		62.0 ±5.1 (4)	135.8 ** ±9.5 (4)	213.0 ** ±22.5 (3)
TG (mg/dL)		96.5 ±20.7 (4)	58.0 ±14.4 (4)	119.3 ±106.8 (3)
BUN (mg/dL)		9.28 ±1.86 (4)	12.23 ±1.85 (4)	14.87 ** ±1.17 (3)
Creatinine (mg/dL)		0.208 ±0.031 (4)	0.200 ±0.018 (4)	0.220 ±0.035 (3)
T-Protein (g/dL)		5.83 ±0.21 (4)	6.93 ** ±0.21 (4)	7.53 ** ±0.31 (3)
Albumin (g/dL)		2.85 ±0.13 (4)	3.18 * ±0.10 (4)	3.57 ** ±0.23 (3)
A/G ratio (-)		0.960 ±0.074 (4)	0.850 ±0.048 (4)	0.900 ±0.050 (3)
Glucose (mg/dL)		166.3 ±26.6 (4)	66.0 ±8.0 (4)	53.7 ** ±3.5 (3)
T-Bil (mg/dL)		0.048 ±0.022 (4)	0.053 ±0.045 (4)	0.033 ±0.012 (3)
TBA (μmol/L)		19.35 ±22.07 (4)	6.15 ±3.44 (4)	6.40 ±2.43 (3)
IP (mg/dL)		12.58 ±1.16 (4)	13.78 ±0.67 (4)	14.17 ±1.50 (3)
Ca (mg/dL)		12.03 ±0.41 (4)	13.20 ** ±0.34 (4)	13.03 * ±0.31 (3)
Na (mEq/L)		147.8 ±2.2 (4)	148.0 ±1.2 (4)	145.7 ±0.6 (3)
K (mEq/L)		6.58 ±0.78 (4)	6.78 ±0.66 (4)	7.43 ±0.40 (3)
Cl (mEq/L)		101.20 ±1.36 (4)	99.80 ±2.75 (4)	97.80 ±1.82 (3)

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	50	250
Liver	(g)	4.533 ±0.295 (4)	5.148 * ±0.333 (4)	5.270 * ±0.282 (4)
Heart	(g)	0.625 ±0.071 (4)	0.640 ±0.036 (4)	0.640 ±0.028 (4)
Kidney(R)	(g)	0.623 ±0.050 (4)	0.658 ±0.015 (4)	0.685 ±0.044 (4)
Kidney(L)	(g)	0.610 ±0.048 (4)	0.648 ±0.022 (4)	0.678 ±0.099 (4)
Kidneys	(g)	1.233 ±0.096 (4)	1.305 ±0.024 (4)	1.363 ±0.141 (4)
Testis(R)	(g)	0.610 ±0.041 (4)	0.623 ±0.033 (4)	0.635 ±0.077 (4)
Testis(L)	(g)	0.613 ±0.049 (4)	0.608 ±0.022 (4)	0.468 ±0.317 (4)
Testes	(g)	1.223 ±0.084 (4)	1.230 ±0.053 (4)	1.103 ±0.317 (4)
Epididymis(R)	(g)	0.080 ±0.000 (4)	0.070 ±0.000 (4)	0.080 ±0.012 (4)
Epididymis(L)	(g)	0.073 ±0.010 (4)	0.070 ±0.008 (4)	0.053 ±0.035 (4)
Epididymides	(g)	0.153 ±0.010 (4)	0.140 ±0.008 (4)	0.133 ±0.030 (4)
Ventral prostate	(g)	0.058 ±0.022 (4)	0.073 ±0.017 (4)	0.078 ±0.010 (4)
Dorsolateral prostate	(g)	0.068 ±0.017 (4)	0.058 ±0.022 (4)	0.065 ±0.017 (4)
Brain	(g)	1.763 ±0.052 (4)	1.775 ±0.052 (4)	1.725 ±0.062 (4)
Spleen	(g)	0.390 ±0.037 (4)	0.398 ±0.042 (4)	0.370 ±0.018 (4)
Thymus	(mg)	448.73 ±88.72 (4)	485.40 ±38.03 (4)	494.40 ±55.86 (4)
Pituitary gland	(mg)	5.00 ±0.57 (4)	5.55 ±0.72 (4)	5.50 ±0.79 (4)
Thyroid	(mg)	12.38 ±1.02 (4)	12.45 ±1.92 (4)	12.20 ±1.40 (4)
Adrenals	(mg)	28.75 ±4.68 (4)	32.73 ±7.56 (4)	33.00 ±5.03 (4)
Final body weight	(g)	121.83 ±8.52 (4)	123.70 ±2.12 (4)	124.38 ±3.11 (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	50	250
Liver	(g)	6.180 ±0.681 (4)	10.070 ** ±0.352 (4)	12.368 ** ±0.923 (4)
Heart	(g)	0.833 ±0.074 (4)	0.698 * ±0.045 (4)	0.755 ±0.057 (4)
Kidney(R)	(g)	0.820 ±0.027 (4)	0.823 ±0.046 (4)	0.803 ±0.099 (4)
Kidney(L)	(g)	0.803 ±0.055 (4)	0.810 ±0.040 (4)	0.815 ±0.080 (4)
Kidneys	(g)	1.623 ±0.071 (4)	1.633 ±0.084 (4)	1.618 ±0.180 (4)
Testis(R)	(g)	0.790 ±0.184 (4)	0.923 ±0.051 (4)	0.855 ±0.119 (4)
Testis(L)	(g)	0.928 ±0.122 (4)	0.913 ±0.065 (4)	0.858 ±0.118 (4)
Testes	(g)	1.718 ±0.096 (4)	1.835 ±0.113 (4)	1.713 ±0.236 (4)
Epididymis(R)	(g)	0.108 ±0.013 (4)	0.105 ±0.010 (4)	0.110 ±0.008 (4)
Epididymis(L)	(g)	0.113 ±0.017 (4)	0.105 ±0.013 (4)	0.108 ±0.005 (4)
Epididymides	(g)	0.220 ±0.029 (4)	0.210 ±0.022 (4)	0.218 ±0.010 (4)
Ventral prostate	(g)	0.133 ±0.042 (4)	0.118 ±0.005 (4)	0.105 ±0.026 (4)
Dorsolateral prostate	(g)	0.093 ±0.028 (4)	0.090 ±0.022 (4)	0.080 ±0.018 (4)
Brain	(g)	1.763 ±0.061 (4)	1.823 ±0.036 (4)	1.838 * ±0.005 (4)
Spleen	(g)	0.465 ±0.117 (4)	0.383 ±0.039 (4)	0.305 * ±0.040 (4)
Thymus	(mg)	626.15 ±88.96 (4)	459.00 * ±26.88 (4)	405.80 ** ±77.53 (4)
Pituitary gland	(mg)	6.75 ±0.79 (4)	6.30 ±0.18 (4)	5.78 * ±0.26 (4)
Thyroid	(mg)	14.33 ±1.82 (4)	12.08 ±2.99 (4)	10.53 ±1.34 (4)
Adrenals	(mg)	33.60 ±5.44 (4)	31.10 ±3.01 (4)	33.90 ±3.69 (4)
Final body weight	(g)	173.48 ±11.87 (4)	160.60 ±1.90 (4)	151.73 ** ±7.05 (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	50	250
Liver	(g)	7.928 ±0.790 (4)	13.475 ** ±0.844 (4)	15.490 ** ±1.571 (4)
Heart	(g)	0.920 ±0.047 (4)	0.945 ±0.042 (4)	0.845 ±0.081 (4)
Kidney(R)	(g)	0.970 ±0.029 (4)	1.038 ±0.005 (4)	1.000 ±0.124 (4)
Kidney(L)	(g)	0.970 ±0.075 (4)	0.988 ±0.025 (4)	0.958 ±0.123 (4)
Kidneys	(g)	1.940 ±0.101 (4)	2.025 ±0.025 (4)	1.958 ±0.243 (4)
Testis(R)	(g)	1.250 ±0.098 (4)	1.253 ±0.126 (4)	1.155 ±0.233 (4)
Testis(L)	(g)	1.240 ±0.085 (4)	1.253 ±0.131 (4)	1.148 ±0.238 (4)
Testes	(g)	2.490 ±0.182 (4)	2.505 ±0.257 (4)	2.303 ±0.471 (4)
Epididymis(R)	(g)	0.188 ±0.028 (4)	0.170 ±0.014 (4)	0.145 ±0.037 (4)
Epididymis(L)	(g)	0.168 ±0.005 (4)	0.165 ±0.017 (4)	0.138 ±0.042 (4)
Epididymides	(g)	0.355 ±0.030 (4)	0.335 ±0.030 (4)	0.283 ±0.078 (4)
Ventral prostate	(g)	0.235 ±0.013 (4)	0.213 ±0.035 (4)	0.150 ±0.080 (4)
Dorsolateral prostate	(g)	0.190 ±0.026 (4)	0.170 ±0.022 (4)	0.120 ±0.072 (4)
Brain	(g)	1.898 ±0.076 (4)	1.888 ±0.107 (4)	1.863 ±0.046 (4)
Spleen	(g)	0.605 ±0.093 (4)	0.548 ±0.074 (4)	0.463 ±0.119 (4)
Thymus	(mg)	634.63 ±115.92 (4)	559.60 ±28.75 (4)	602.68 ±131.13 (4)
Pituitary gland	(mg)	7.60 ±0.47 (4)	8.38 ±0.61 (4)	7.13 ±1.25 (4)
Thyroid	(mg)	21.25 ±1.55 (4)	13.88 ** ±1.56 (4)	17.15 * ±2.99 (4)
Adrenals	(mg)	42.33 ±3.20 (4)	41.95 ±1.18 (4)	36.75 * ±2.90 (4)
Final body weight	(g)	226.43 ±15.82 (4)	218.20 ±3.90 (4)	196.30 * ±19.00 (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	50	250
Liver	(g)	11.020 ±0.551 (5)	17.764 * ±1.928 (5)	19.788 ** ±2.945 (4)
Heart	(g)	1.260 ±0.082 (5)	1.188 ±0.115 (5)	1.123 ±0.069 (4)
Kidney(R)	(g)	1.410 ±0.145 (5)	1.276 ±0.116 (5)	1.238 ±0.093 (4)
Kidney(L)	(g)	1.348 ±0.132 (5)	1.244 ±0.113 (5)	1.193 ±0.096 (4)
Kidneys	(g)	2.758 ±0.276 (5)	2.520 ±0.225 (5)	2.430 ±0.186 (4)
Testis(R)	(g)	1.550 ±0.211 (5)	1.504 ±0.100 (5)	1.458 ±0.292 (4)
Testis(L)	(g)	1.580 ±0.207 (5)	1.478 ±0.086 (5)	1.435 ±0.277 (4)
Testes	(g)	3.130 ±0.417 (5)	2.982 ±0.183 (5)	2.893 ±0.569 (4)
Epididymis(R)	(g)	0.362 ±0.036 (5)	0.366 ±0.031 (5)	0.355 ±0.042 (4)
Epididymis(L)	(g)	0.350 ±0.034 (5)	0.360 ±0.023 (5)	0.355 ±0.029 (4)
Epididymides	(g)	0.712 ±0.070 (5)	0.726 ±0.051 (5)	0.710 ±0.070 (4)
Ventral prostate	(g)	0.416 ±0.150 (5)	0.368 ±0.028 (5)	0.340 ±0.049 (4)
Dorsolateral prostate	(g)	0.314 ±0.060 (5)	0.324 ±0.032 (5)	0.318 ±0.051 (4)
Seminal vesicle	(g)	1.008 ±0.274 (5)	0.922 ±0.116 (5)	0.873 ±0.046 (4)
Brain	(g)	1.920 ±0.111 (5)	1.968 ±0.059 (5)	1.938 ±0.082 (4)
Spleen	(g)	0.660 ±0.075 (5)	0.556 ±0.076 (5)	0.443 ** ±0.067 (4)
Thymus	(mg)	514.26 ±61.91 (5)	479.14 ±83.16 (5)	384.35 ±118.22 (4)
Pituitary gland	(mg)	10.64 ±1.23 (5)	9.60 ±1.13 (5)	8.30 * ±0.42 (4)
Thyroid	(mg)	18.98 ±3.52 (5)	17.16 ±2.48 (5)	18.35 ±1.24 (4)
Adrenals	(mg)	53.46 ±6.94 (5)	48.04 ±3.68 (5)	44.53 ±5.68 (4)
Final body weight	(g)	336.16 ±9.33 (5)	304.46 ±25.78 (5)	269.28 ** ±25.21 (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 10-1 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	50	250
Liver	(g/100g)	3.723 ±0.115 (4)	4.160 * ±0.225 (4)	4.238 ** ±0.218 (4)
Heart	(g/100g)	0.515 ±0.044 (4)	0.518 ±0.019 (4)	0.513 ±0.034 (4)
Kidney(R)	(g/100g)	0.510 ±0.027 (4)	0.533 ±0.021 (4)	0.553 ±0.026 (4)
Kidney(L)	(g/100g)	0.500 ±0.035 (4)	0.525 ±0.019 (4)	0.545 ±0.066 (4)
Kidneys	(g/100g)	1.010 ±0.061 (4)	1.058 ±0.031 (4)	1.098 ±0.089 (4)
Testis(R)	(g/100g)	0.500 ±0.034 (4)	0.503 ±0.028 (4)	0.515 ±0.070 (4)
Testis(L)	(g/100g)	0.503 ±0.015 (4)	0.490 ±0.016 (4)	0.373 ±0.254 (4)
Testes	(g/100g)	1.003 ±0.043 (4)	0.993 ±0.043 (4)	0.888 ±0.248 (4)
Epididymis(R)	(g/100g)	0.063 ±0.005 (4)	0.060 ±0.000 (4)	0.063 ±0.010 (4)
Epididymis(L)	(g/100g)	0.058 ±0.005 (4)	0.058 ±0.005 (4)	0.043 ±0.029 (4)
Epididymides	(g/100g)	0.120 ±0.008 (4)	0.118 ±0.005 (4)	0.105 ±0.026 (4)
Ventral prostate	(g/100g)	0.048 ±0.015 (4)	0.060 ±0.014 (4)	0.060 ±0.008 (4)
Dorsolateral prostate	(g/100g)	0.055 ±0.010 (4)	0.045 ±0.019 (4)	0.050 ±0.012 (4)
Brain	(g/100g)	1.455 ±0.152 (4)	1.435 ±0.053 (4)	1.388 ±0.051 (4)
Spleen	(g/100g)	0.323 ±0.025 (4)	0.323 ±0.030 (4)	0.298 ±0.013 (4)
Thymus	(mg/100g)	371.18 ±85.77 (4)	392.25 ±26.75 (4)	398.45 ±54.86 (4)
Pituitary gland	(mg/100g)	4.13 ±0.46 (4)	4.48 ±0.53 (4)	4.43 ±0.62 (4)
Thyroid	(mg/100g)	10.15 ±0.75 (4)	10.05 ±1.40 (4)	9.83 ±1.08 (4)
Adrenals	(mg/100g)	23.53 ±2.99 (4)	26.45 ±5.90 (4)	26.50 ±3.75 (4)
Final body weight	(g)	121.83 ±8.52 (4)	123.70 ±2.12 (4)	124.38 ±3.11 (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	50	250
Liver	(g/100g)	3.555 ±0.153 (4)	6.275 ** ±0.290 (4)	8.158 ** ±0.619 (4)
Heart	(g/100g)	0.483 ±0.015 (4)	0.435 ±0.026 (4)	0.498 ±0.034 (4)
Kidney(R)	(g/100g)	0.473 ±0.035 (4)	0.513 ±0.029 (4)	0.528 ±0.043 (4)
Kidney(L)	(g/100g)	0.463 ±0.013 (4)	0.503 ±0.022 (4)	0.535 ** ±0.029 (4)
Kidneys	(g/100g)	0.935 ±0.044 (4)	1.015 ±0.049 (4)	1.063 * ±0.071 (4)
Testis(R)	(g/100g)	0.460 ±0.132 (4)	0.578 ±0.028 (4)	0.563 ±0.061 (4)
Testis(L)	(g/100g)	0.535 ±0.048 (4)	0.568 ±0.036 (4)	0.563 ±0.063 (4)
Testes	(g/100g)	0.995 ±0.121 (4)	1.145 ±0.061 (4)	1.125 ±0.123 (4)
Epididymis(R)	(g/100g)	0.060 ±0.008 (4)	0.068 ±0.005 (4)	0.073 * ±0.005 (4)
Epididymis(L)	(g/100g)	0.065 ±0.013 (4)	0.065 ±0.006 (4)	0.070 ±0.008 (4)
Epididymides	(g/100g)	0.125 ±0.021 (4)	0.133 ±0.010 (4)	0.143 ±0.010 (4)
Ventral prostate	(g/100g)	0.075 ±0.026 (4)	0.073 ±0.005 (4)	0.070 ±0.014 (4)
Dorsolateral prostate	(g/100g)	0.055 ±0.013 (4)	0.058 ±0.017 (4)	0.050 ±0.012 (4)
Brain	(g/100g)	1.018 ±0.039 (4)	1.135 ** ±0.031 (4)	1.213 ** ±0.059 (4)
Spleen	(g/100g)	0.268 ±0.049 (4)	0.240 ±0.020 (4)	0.198 * ±0.022 (4)
Thymus	(mg/100g)	364.65 ±74.16 (4)	285.75 ±14.87 (4)	267.23 * ±47.79 (4)
Pituitary gland	(mg/100g)	3.90 ±0.34 (4)	3.93 ±0.15 (4)	3.83 ±0.13 (4)
Thyroid	(mg/100g)	8.23 ±0.61 (4)	7.50 ±1.81 (4)	6.95 ±0.94 (4)
Adrenals	(mg/100g)	19.38 ±2.94 (4)	19.38 ±2.10 (4)	22.33 ±1.89 (4)
Final body weight	(g)	173.48 ±11.87 (4)	160.60 ±1.90 (4)	151.73 ** ±7.05 (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	50	250
Liver	(g/100g)	3.503 ±0.223 (4)	6.173 ** ±0.300 (4)	7.908 ** ±0.625 (4)
Heart	(g/100g)	0.410 ±0.024 (4)	0.433 ±0.019 (4)	0.430 ±0.018 (4)
Kidney(R)	(g/100g)	0.428 ±0.030 (4)	0.478 ±0.005 (4)	0.508 ** ±0.017 (4)
Kidney(L)	(g/100g)	0.428 ±0.026 (4)	0.453 ±0.010 (4)	0.488 ** ±0.024 (4)
Kidneys	(g/100g)	0.855 ±0.051 (4)	0.930 ±0.008 (4)	0.995 ** ±0.039 (4)
Testis(R)	(g/100g)	0.553 ±0.041 (4)	0.575 ±0.051 (4)	0.588 ±0.086 (4)
Testis(L)	(g/100g)	0.548 ±0.043 (4)	0.575 ±0.053 (4)	0.583 ±0.090 (4)
Testes	(g/100g)	1.100 ±0.083 (4)	1.150 ±0.103 (4)	1.170 ±0.176 (4)
Epididymis(R)	(g/100g)	0.080 ±0.008 (4)	0.078 ±0.010 (4)	0.075 ±0.017 (4)
Epididymis(L)	(g/100g)	0.075 ±0.006 (4)	0.075 ±0.010 (4)	0.068 ±0.019 (4)
Epididymides	(g/100g)	0.155 ±0.006 (4)	0.153 ±0.019 (4)	0.143 ±0.036 (4)
Ventral prostate	(g/100g)	0.105 ±0.013 (4)	0.100 ±0.018 (4)	0.073 ±0.033 (4)
Dorsolateral prostate	(g/100g)	0.083 ±0.005 (4)	0.078 ±0.010 (4)	0.060 ±0.032 (4)
Brain	(g/100g)	0.843 ±0.059 (4)	0.865 ±0.042 (4)	0.953 ±0.079 (4)
Spleen	(g/100g)	0.268 ±0.022 (4)	0.253 ±0.035 (4)	0.238 ±0.051 (4)
Thymus	(mg/100g)	281.30 ±56.73 (4)	256.53 ±14.38 (4)	307.20 ±65.58 (4)
Pituitary gland	(mg/100g)	3.38 ±0.24 (4)	3.85 ±0.30 (4)	3.63 ±0.36 (4)
Thyroid	(mg/100g)	9.45 ±1.08 (4)	6.35 ** ±0.65 (4)	8.75 ±1.45 (4)
Adrenals	(mg/100g)	18.75 ±1.91 (4)	19.23 ±0.61 (4)	18.80 ±1.51 (4)
Final body weight	(g)	226.43 ±15.82 (4)	218.20 ±3.90 (4)	196.30 * ±19.00 (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	50	250
Liver	(g/100g)	3.278 ±0.141 (5)	5.830 ±0.269 (5)	7.333 ** ±0.661 (4)
Heart	(g/100g)	0.376 ±0.026 (5)	0.394 ±0.051 (5)	0.418 ±0.015 (4)
Kidney(R)	(g/100g)	0.422 ±0.036 (5)	0.418 ±0.028 (5)	0.458 ±0.022 (4)
Kidney(L)	(g/100g)	0.400 ±0.031 (5)	0.410 ±0.020 (5)	0.445 * ±0.017 (4)
Kidneys	(g/100g)	0.822 ±0.066 (5)	0.828 ±0.045 (5)	0.903 ±0.037 (4)
Testis(R)	(g/100g)	0.462 ±0.059 (5)	0.496 ±0.047 (5)	0.543 ±0.115 (4)
Testis(L)	(g/100g)	0.470 ±0.056 (5)	0.488 ±0.043 (5)	0.533 ±0.111 (4)
Testes	(g/100g)	0.932 ±0.115 (5)	0.984 ±0.089 (5)	1.075 ±0.226 (4)
Epididymis(R)	(g/100g)	0.108 ±0.013 (5)	0.122 ±0.018 (5)	0.133 ±0.025 (4)
Epididymis(L)	(g/100g)	0.104 ±0.009 (5)	0.118 ±0.015 (5)	0.135 * ±0.017 (4)
Epididymides	(g/100g)	0.212 ±0.022 (5)	0.240 ±0.032 (5)	0.268 * ±0.042 (4)
Ventral prostate	(g/100g)	0.124 ±0.043 (5)	0.122 ±0.015 (5)	0.128 ±0.015 (4)
Dorsolateral prostate	(g/100g)	0.094 ±0.015 (5)	0.108 ±0.018 (5)	0.118 ±0.021 (4)
Seminal vesicle	(g/100g)	0.298 ±0.079 (5)	0.302 ±0.043 (5)	0.328 ±0.046 (4)
Brain	(g/100g)	0.570 ±0.022 (5)	0.650 * ±0.055 (5)	0.720 ** ±0.052 (4)
Spleen	(g/100g)	0.194 ±0.023 (5)	0.184 ±0.011 (5)	0.163 * ±0.013 (4)
Thymus	(mg/100g)	152.72 ±15.04 (5)	157.94 ±26.40 (5)	144.95 ±54.27 (4)
Pituitary gland	(mg/100g)	3.18 ±0.31 (5)	3.18 ±0.36 (5)	3.08 ±0.17 (4)
Thyroid	(mg/100g)	5.66 ±1.16 (5)	5.68 ±1.22 (5)	6.88 ±1.08 (4)
Adrenals	(mg/100g)	15.92 ±2.22 (5)	15.86 ±1.67 (5)	16.55 ±1.79 (4)
Final body weight	(g)	336.16 ±9.33 (5)	304.46 ±25.78 (5)	269.28 ** ±25.21 (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 11-1 Twenty-eight-day repeated-dose oral toxicity study in rats
Summary of macroscopic examinations: One-day treatment

Findings	Male		
	0	50	250
	(mg/kg/day)	ss	ss
4 ^{a)}	4	4	4
No abnormalities detected	4	3	2
Liver			
Enlargement	0	0	1
Kidney			
Cyst	0	1	0
Testis			
Small, unilateral	0	0	1
Epididymis			
Small, unilateral	0	0	1

ss: scheduled sacrifice animal.

a) Number of animals examined.

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

Findings	Male		
	0	50	250
	(mg/kg/day)	ss	ss
4 ^{a)}	4	4	
No abnormalities detected	3	0	0
Liver			
Enlargement	0	4	4
Whitish region	0	1	3
Testis			
Small, 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		
	0	50	250
	ss	ss	ss
	4 ^{a)}	4	4
No abnormalities detected	4	0	0
Liver			
Enlargement	0	4	4
Whitish region	0	1	2

ss: scheduled sacrifice animal.

a) Number of animals examined.

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

Findings	Male			
	0	50	250	(mg/kg/day)
	ss	ss	ss	d
5 ^{a)}	5	4	1	
No abnormalities detected	5	0	0	0
Emaciation	0	0	0	1
Glandular stomach				
Blackish region of mucosa	0	0	1	0
Ileum				
Blackish contents	0	0	0	1
Liver				
Enlargement	0	5	4	1
Whitish region	0	0	2	1
Seminal vesicle				
Small	0	0	0	1
Spleen				
Small	0	0	0	1

ss: scheduled sacrifice 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	50	250
		ss	ss	ss
		4 ^{a)}	4	4
Liver				
No abnormalities detected		4/4 ^{b)}	---	4/4
Kidney				
No abnormalities detected		4/4	1/1	4/4
Testis				
No abnormalities detected		4/4	---	3/4
Necrosis/Seminiferous tubule	+++	0/4	---	1/4
Epididymis				
Necrosis/Duct/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	3/4
Phagocytosis/Pyknotic lymphocyte	+	0/4	0/4	1/4
Thymus				
No abnormalities detected		4/4	4/4	3/4
Phagocytosis/Pyknotic lymphocyte	+	0/4	0/4	1/4

ss: scheduled sacrifice animal.

a) Number of animals autopsied.

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

---: Not examined.

+: slight, +++: severe.

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

Findings	Grade	Male		
		0	50	250
		(mg/kg/day)	ss	ss
		4 ^{a)}	4	4
Liver				
No abnormalities detected		4/4 ^{b)}	0/4	0/4
Hypertrophy with prominent nucleoli and ground glass appearance/	++	0/4	4/4	1/4
Hepatocyte/Centrilobular	+++	0/4	0/4	3/4
Necrosis/Hepatocyte/Focal	+	0/4	1/4	3/4
Kidney				
No abnormalities detected		3/4	---	3/4
Cyst/Subcapsule	+	1/4	---	1/4
Testis				
No abnormalities detected		3/4	---	4/4
Focal atrophy/Seminiferous tubule	++	1/4	---	0/4
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	1/4
Congestion	+	0/4	0/4	2/4
Hematopoiesis, extramedullary, decreased	+	0/4	0/4	1/4
++	0/4	0/4	1/4	
Thymus				
No abnormalities detected		4/4	4/4	3/4
Phagocytosis/Pyknotic lymphocyte	+	0/4	0/4	1/4

ss: scheduled sacrifice animal.

a) Number of animals autopsied.

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

---: Not examined.

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

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

Findings	Grade	Male		
		0	50	250
		ss	ss	ss
	4 ^{a)}	4	4	
Liver				
No abnormalities detected	4/4 ^{b)}	0/4	0/4	
Hypertrophy with prominent nucleoli and ground glass appearance/	++	0/4	4/4	2/4
Hepatocyte/Centrilobular	+++	0/4	0/4	2/4
Necrosis/Hepatocyte/Focal	+	0/4	1/4	0/4
	++	0/4	1/4	2/4
Kidney				
No abnormalities detected	4/4	---	4/4	
Testis				
No abnormalities detected	4/4	---	4/4	
Ventral prostate				
No abnormalities detected	4/4	---	4/4	
Dorsolateral prostate				
No abnormalities detected	4/4	---	4/4	
Bone marrow				
No abnormalities detected	4/4	---	4/4	
Spleen				
No abnormalities detected	4/4	4/4	2/4	
Congestion	+	0/4	0/4	1/4
Hematopoiesis, extramedullary, decreased	++	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, ++: 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	50	250	(mg/kg/day)
		ss	ss	ss	d
		5 ^{a)}	5	4	1
Trachea					
Autolysis ^{c)}		0/5 ^{b)}	---	0/4	1/1
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	---
Lung					
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	1/1
Submandibular gland					
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	1/1
Forestomach					
Autolysis		0/5	---	0/4	1/1
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	---
Glandular stomach					
Autolysis		0/5	---	0/4	1/1
No abnormalities detected		5/5	---	3/4	---
Necrosis/Fundic mucosa/Focal	+	0/5	---	1/4	---
Duodenum					
Autolysis		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

ss: scheduled sacrifice 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.

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	50	250	(mg/kg/day)
		ss 5 ^{a)}	ss 5	ss 4	d 1
Liver					
No abnormalities detected		4/5 ^{b)}	0/5	0/4	0/1
Hypertrophy with prominent nucleoli and ground glass appearance/	++	0/5	5/5	3/4	0/1
Hepatocyte/Centrilobular	+++	0/5	0/5	1/4	1/1
Necrosis/Hepatocyte/Focal	+	1/5	1/5	3/4	1/1
	++	0/5	0/5	1/4	0/1
Heart					
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	1/1
Kidney					
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	1/1
Urinary bladder					
Autolysis ^{c)}		0/5	---	0/4	1/1
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	---
Testis					
Autolysis		0/5	---	0/4	1/1
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	---
Epididymis					
Autolysis		0/5	---	0/4	1/1
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	---
Ventral prostate					
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	1/1
Dorsolateral prostate					
Autolysis		0/5	---	0/4	1/1
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	---
Coagulating gland					
Autolysis		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	---

ss: scheduled sacrifice 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, +++: 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		250	
		ss	ss	ss	d
		5 ^{a)}	5	4	1
Spinal cord					
Autolysis ^{c)}		0/5 ^{b)}	---	0/4	1/1
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	---
Sciatic nerve					
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	1/1
Bone marrow					
Autolysis		0/5	---	0/4	1/1
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	---
Axillary lymph node					
Autolysis		0/5	---	0/4	1/1
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	---
Mesenteric lymph node					
Autolysis		0/5	---	0/4	1/1
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	---
Spleen					
No abnormalities detected		5/5	5/5	3/4	0/1
Atrophy	++	0/5	0/5	0/4	1/1
Congestion	+	0/5	0/5	1/4	0/1
Thymus					
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	1/1
Thyroid					
Autolysis		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					
Autolysis		0/5	---	0/4	1/1
No abnormalities detected		5/5	---	4/4	---

ss: scheduled sacrifice 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.