

B-6606

最終報告書

試験名：2-メルカプトナフタレンのラットを用いた
2週間回復性観察を含む28日間反復経口投与毒性試験

試験番号：B-6606

試験期間：2010年2月10日-2011年5月31日

試験実施施設

株式会社ボゾリサーチセンター 御殿場研究所
〒412-0039 静岡県御殿場市かまど 1284

試験委託者

厚生労働省 医薬食品局 審査管理課 化学物質安全対策室
〒100-8916 東京都千代田区霞が関 1-2-2

株式会社ボゾリサーチセンター

〒151-0065 東京都渋谷区大山町 36-7

2. 目次

2. 目次	3
4. 要約	10
5. 緒言	12
6. 試験材料及び方法	13
6.1 被験物質及び媒体	13
6.1.1 被験物質	13
6.1.2 媒体	14
6.2 投与液の調製	14
6.2.1 媒体（対照群投与液）の調製	14
6.2.2 被験液の調製	14
6.2.3 投与液の保存方法	14
6.2.4 媒体中での安定性	14
6.2.5 被験液の濃度・均一性確認	14
6.3 試験動物種及び系統の選択理由	15
6.4 試験動物及び群分け	16
6.5 飼育条件	16
6.6 飼料及び飲料水中の混入物質	16
6.7 動物の識別及びケージへの表示	16
6.8 投与経路、投与期間、投与回数及び回復期間とそれらの選択理由	17
6.9 投与方法	17
6.10 投与量及びその設定根拠並びに群構成	17
6.11 観察及び検査の方法	17

6.11.1	一般状態の観察	18
6.11.2	詳細な一般状態の観察、機能検査、握力及び自発運動量の測定	18
6.11.2.1	詳細な一般状態の観察	18
6.11.2.2	機能検査	18
6.11.2.3	握力測定	18
6.11.2.4	自発運動量の測定	19
6.11.3	体重測定	19
6.11.4	摂餌量測定	19
6.11.5	摂水量測定	19
6.11.6	尿検査	20
6.11.7	血液学検査	21
6.11.8	血液化学検査	22
6.11.9	病理学検査	23
6.11.9.1	剖検	23
6.11.9.2	器官重量測定	23
6.11.9.3	病理組織学検査	23
6.11.9.4	抗 $\alpha 2\mu$ グロブリン免疫組織化学染色及び PAS 染色	24
6.12	統計解析	24
7.	試験結果	25
7.1	一般状態	25
7.2	詳細な一般状態、機能検査、握力及び自発運動量	25
7.2.1	詳細な一般状態	25
7.2.2	機能検査	25
7.2.3	握力	25
7.2.4	自発運動量	26
7.3	体重	26
7.4	摂餌量	26
7.5	尿検査（摂水量含む）	26
7.6	血液学検査	27
7.7	血液化学検査	28
7.8	器官重量	29
7.9	剖検所見	31
7.10	病理組織学検査	31
8.	考察	35
9.	文献	38

図

Fig. 1~4	自発運動量
Fig. 5	体重
Fig. 6	摂餌量

表

Table 1-1~1-3	一般状態
Table 2-1~2-18	詳細な一般状態
Table 2-19、2-20	機能検査
Table 2-21、2-22	握力
Table 2-23、2-24	自発運動量
Table 3-1、3-2	体重
Table 4-1、4-2	摂餌量
Table 5-1~5-8	尿検査（摂水量含む）
Table 6-1~6-6	血液学検査
Table 7-1~7-4	血液化学検査
Table 8-1~8-8	器官重量
Table 9-1、9-2	剖検所見
Table 10-1~10-5	病理組織学検査

4. 要約

2-メルカプトナフタレンの28日間反復経口投与毒性試験を6週齢のSprague-Dawley系SPFラット〔CrI:CD(SD)、1群雌雄各6又は12匹〕を用いて実施した。投与量は0(0.5w/v%メチルセルロース水溶液：対照群)、8、20及び60 mg/kg/日とし、胃ゾンデを用いて1日1回強制経口投与した。また、対照群と60 mg/kg投与群の一部の個体(1群雌雄各6匹)については投与期間終了後2週間の回復期間を設け、毒性変化の可逆性を検討した。

一般状態、握力、自発運動量及び体重では被験物質投与の影響は認められなかった。

詳細な一般状態では、オープンフィールド内観察において、排糞数の高値が60 mg/kg投与群の雄で投与1週にみられたが、投与2、3及び4週並びに回復期間中の検査では、異常はみられなかった。

機能検査では、着地開脚幅の低値が60 mg/kg投与群の雌にみられた。

摂餌量では、60 mg/kg投与群の雌雄で投与7日に低値がみられた。

尿検査では、60 mg/kg投与群で摂水量の高値が雌雄に、浸透圧の低値が雌にみられた。また、同群では尿量の高値傾向が雌雄に、浸透圧の低値傾向が雄にみられた。

血液学検査では、赤血球数及びヘマトクリット値の低値が20及び60 mg/kg投与群の雌に、ヘモグロビン量の低値が20 mg/kg投与群の雌と60 mg/kg投与群の雌雄に、平均赤血球容積の高値及び平均赤血球血色素濃度の低値が60 mg/kg投与群の雌に、網赤血球率の高値が60 mg/kg投与群の雌雄にみられた。白血球数、リンパ球数、好中球の比率及び実数の高値が60 mg/kg投与群の雄にみられた。また、赤血球数及びヘマトクリット値の低値傾向が60 mg/kg投与群の雄にみられた。

血液化学検査では、カリウム及び総たん白質の高値が20及び60 mg/kg投与群の雄に、カルシウムの高値が60 mg/kg投与群の雄にみられた。

器官重量では、肝臓の絶対重量の高値傾向並びに相対重量の高値が20 mg/kg投与群の雌及び60 mg/kg投与群の雌雄に、脾臓の絶対及び相対重量の高値が60 mg/kg投与群の雄に、絶対重量の高値傾向並びに相対重量の高値が同群の雌にみられた。

剖検では、脾臓の暗調化が60 mg/kg投与群の雌雄に、前胃の壁肥厚が20 mg/kg投与群の雌と60 mg/kg投与群の雌雄にみられた。

病理組織学検査では、大腿骨及び胸骨骨髓における赤芽球造血の亢進が60 mg/kg投与群の雌に、肝臓の小葉中心性肝細胞肥大が20 mg/kg投与群の雄と60 mg/kg投与群の雌雄に、腎臓の尿細管の好酸性小体が60 mg/kg投与群の雄に、脾臓の褐色色素の増加が20 mg/kg投与群の雌と60 mg/kg投与群の雌雄に、髄外造血亢進が20及び60 mg/kg投与群の雌雄に、前胃の扁平上皮過形成又は角化亢進が20及び60 mg/kg投与群の雌雄に、境界縁の扁平上皮過形成が20及び60 mg/kg投与群の雌雄にみられた。

回復期間では、機能検査における着地開脚幅の低値及び病理組織学検査における脾臓の褐色色素の増加を除き、投与期間中にみられた変化は消失または軽減し、回復性

B-6606

が認められた。

以上の結果、2-メルカプトナフタレンの本試験条件下における無影響量は雌雄とも 8 mg/kg/日と判断した。

B-6606

5. 緒言

厚生労働省 医薬食品局 審査管理課 化学物質安全対策室の依頼により、2-メルカプトナフタレンをラットに28日間反復経口投与し、その影響を明らかにするとともに、2週間休薬し、障害の可逆性を検討する試験を実施したのでその成績を報告する。なお、本試験は株式会社ボゾリサーチセンター動物実験委員会の承認を受けている。

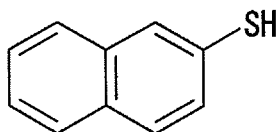
6. 試験材料及び方法

6.1 被験物質及び媒体

6.1.1 被験物質

被験物質は 購入した。本試験に使用した被験物質のロット番号、純度等は次の通りである。また、試験成績書を添付資料1に示した。

名称（別名）	:	2-メルカプトナフタレン（2-ナフタレンチオール）
英名（別名）	:	2-Mercaptonaphthalene (2-Naphthalenethiol)
CAS 番号	:	91-60-1
官報公示整理番号	:	4-980
分子式	:	$C_{10}H_7SH$
構造式又は示性式	:	



分子量	:	160.24
純度（GC）	:	99.9%
純度（よう素法）	:	99.0%
性状	:	白色結晶性粉末
熱メタノール溶状	:	澄明
融点	:	82.2°C
沸点	:	211°C/100 mmHg

入手量	:	100 g (25 g ; 4 本)
安定性	:	投与期間終了後、被験物質について株式会社ボゾリサーチセンター御殿場研究所で分析を行い、投与期間中の安定性を確認した（添付資料2）。
保存方法	:	冷暗所（冷蔵庫内；実測値：3~6°C）、密栓
保存場所	:	御殿場研究所 被験物質保存室及び第2研究棟4階被験物質調製室
取扱い上の注意	:	作業場の換気を十分に行い、マスク、保護眼鏡、保護手袋等の適切な保護具を着用し、直接の接触を防いだ。取り扱い後は、手、顔等を良く洗い、うがいをした。
返却	:	被験物質 1 g を保存試料として保存した。分析用に小分けした被験物質の残量は廃棄した。また、被験物質の残量は安定性を確認後、全て廃棄した。

B-6606

6.1.2 媒体

名称 : 0.5 w/v%メチルセルロース溶液（以下、0.5%MC 溶液と略）

なお、媒体については、本試験に先立って実施した 2-メルカプトナフタレンの被験液中安定性試験（試験番号：A-2188）において、0.5%MC 溶液中での被験物質の安定性に良好な結果が得られていることから、0.5%MC 溶液を選択した。

6.2 投与液の調製

6.2.1 媒体（対照群投与液）の調製

メチルセルロース 400（和光純薬工業株式会社、ロット番号；PEK4277）を注射用水（株式会社大塚製薬工場、ロット番号；9K74、9K75）に溶解し、0.5%MC 溶液とした。媒体は最大 7 日分を一括調製し、調製後 10 日以内に投与に用いた。調製後は冷蔵庫内（許容範囲：1~10℃、実測値：4~10℃）に保存した。

6.2.2 被験液の調製

濃度ごとに必要量の被験物質を秤取し、乳鉢を用いて媒体に懸濁し、1.6、4 及び 12 mg/mL 液を調製した。被験液は 7 日に 1 回以上の頻度で調製し、調製後 7 日以内に使用した。

6.2.3 投与液の保存方法

投与液は 1 日必要分ずつ褐色ガラス瓶に分注し、使用時まで冷所（冷蔵庫内、許容範囲 1~10℃；実測値 5~9℃）、遮光下で保存した。

6.2.4 媒体中での安定性

本被験物質の 1.00 及び 200 mg/mL 懸濁液（媒体：0.5%MC 溶液）は、褐色ガラス瓶に入れ、冷所（冷蔵庫内、許容範囲：1~10℃）で 8 日間、その後室温で 24 時間安定であることが株式会社ボゾリサーチセンターで確認されている（試験番号：A-2188）。

6.2.5 被験液の濃度・均一性確認

投与 1 週と 4 週の投与に用いる各濃度の被験液について、その濃度を株式会社ボゾリサーチセンターで HPLC 法を用いて確認した。その結果、表示値に対する濃度の割合は 96.7~102.5%（許容範囲：表示値に対する割合；100.0±10.0%）、均一性は 0.6~6.0%（許容値：CV10.0%以内）であり、いずれも許容範囲内であった（添付資料 3）。分析法の概略を次に示す。

1 濃度当たりの採取本数及び採取量

: 3 本（上、中及び下層から採取）、1 本につき 10 mL

測定対象物質 : 2-メルカプトナフタレン

B-6606

測定対象標準物質

名称 : 2-メルカプトナフタレン
 ロット番号 : 7MQYG
 保存方法 : 冷暗所（冷蔵庫内；実測値：3~5℃）、密栓
 保存場所 : 御殿場研究所 被験物質保存室及び生化学部標準物質保存場所

HPLC 測定条件

カラム : COSMOSIL 5C₁₈-MS-II (4.6 mm I.D. × 150 mm、5 μm、ナカライテスク株式会社)

カラム恒温槽設定温度

: 40℃

HPLC 移動相 : りん酸緩衝液／メタノール (2/3、v/v)

流速 : 1.0 mL/min

検出 : UV (測定波長 240 nm)

オートインジェクタ設定温度

: 4℃

注入量 : 10 μL

注入順序 :

注入順序	注入回数	注入内容
1	3	標準溶液（システム適合性用）
2	3	標準溶液（定量用）
3	1	測定実測試料（1.6 mg/mL-上層）
4	1	測定実測試料（4 mg/mL-上層）
5	1	測定実測試料（12 mg/mL-上層）
6	1	測定実測試料（1.6 mg/mL-中層）
7	1	測定実測試料（4 mg/mL-中層）
8	1	測定実測試料（12 mg/mL-中層）
9	1	測定実測試料（1.6 mg/mL-下層）
10	1	測定実測試料（4 mg/mL-下層）
11	1	測定実測試料（12 mg/mL-下層）

標準溶液及び測定実測試料の測定は、注入後 24 時間以内に実施した。なお、バリデーション試験で、オートサンプラー内における 24 時間保存後の安定性が確認されている。

6.3 試験動物種及び系統の選択理由

毒性試験法ガイドラインによりラットを用いた試験が必要とされている。この試験に使用された系統のラットは特性がよく知られ、背景資料が豊富であることから選択した。

6.4 試験動物及び群分け

Sprague-Dawley 系 SPF ラット [CrI:CD(SD)、日本チャールス・リバー株式会社、厚木飼育センター] 雌雄各 47 匹^{注)} を 5 週齢で入手し、当所で 8 日間検疫・馴化飼育し、一般状態の観察 (1 回/日)、体重測定 (3 回) 及び詳細な一般状態の観察 (1 回) を行い、体重増加量、一般状態及び詳細な一般状態の観察に異常がみられず健康と思われる雌雄各 36 匹 (主群として雌雄各 24 匹、回復群として雌雄各 12 匹) を選び、6 週齢で試験に供した。投与開始日の体重範囲は、雄で 208~231 g、雌で 145~174 g であった。動物は検疫・馴化期間中の体重増加量により選別後、群分け当日 (投与開始の 2 日前) の体重に基づいて、各群の平均体重ができるだけ均等となるよう各群を構成した。個体の割付けはコンピュータを用いたブロック配置法及び無作為抽出法の組合せ (ブロック配置法で必要な群を構成し、試験群及び群内の個体番号を無作為に割当てた) により行った。また、余剰動物は投与開始日に試験系から除外し、動物管理責任者に移管した。

注) : 試験計画書に従い、注文匹数は雌雄各 45 匹であったが、実際には雌雄各 47 匹が納入された。

6.5 飼育条件

動物は温度 22~26°C (許容範囲: 23±3°C)、相対湿度 35~60%、(許容範囲: 50±20%)、換気回数 1 時間 10~15 回、照明 1 日 12 時間 (07:00~19:00) の動物飼育室 (912 号室) で、ブラケット式金属製網ケージ (W 250×D 350×H 170 mm : リードエンジニアリング株式会社) で個別飼育し、毎日 1 回の飼育室内の清掃を実施した。固形飼料 CRF-1 (放射線滅菌、オリエンタル酵母工業株式会社、ロット番号 : 091104) 及び御殿場市営水道水を自動給水装置により自由に摂取させた。

6.6 飼料及び飲料水中の混入物質

飼料中の混入物質に関しては使用ロットについて Eurofins Scientific Analytics で分析を行い、また、飲料水については東芝機械環境センター株式会社に水道法に準拠する水質検査を定期的に (年 4 回) 依頼した。これらの分析成績書を入手し、試験成績に影響がないことを確認した後、写しを保存した。

6.7 動物の識別及びケージへの表示

動物は入荷時に小動物用耳標を装着して個体識別した。入荷から群分け前までの間は試験番号、性別及び耳標番号を明記したケージラベルをつけた。群分け後は、性別及び用量ごと (対照群、低、中及び高用量群の順) に 4 桁の番号をつけた。この場合、1000 の位は群、100 の位は性 (0 番を雄、1 番を雌)、10 と 1 の位は個体番号とした。各飼育ケージには、群分け前まで使用したケージラベルの裏に用量 (群) ごとに色分けしたラベルをつけ、試験番号、投与経路、投与量、性、動物番号、耳標番号及び剖検予定日を明記した。ただし、詳細な一般状態の観察、機能検査及び握力測定中は、観察者に対して投与の情報を制限するため、ケージラベルを裏返して試験番号、性別

及び耳標番号のみを表示した。

6.8 投与経路、投与期間、投与回数及び回復期間とそれらの選択理由

毒性試験法ガイドラインに準じ、投与経路は経口投与を選択し、投与期間は28日間とした。投与回数は反復投与試験で一般的に行われている1日1回(7回/週)とした。回復期間は障害の可逆性を検討するのに適当と考えられる2週間(14日間)とし、この間投与を行わなかった。

6.9 投与方法

投与容量は5 mL/kg 体重とし、胃ゾンデを用いて強制経口投与した(08:00~12:02の間)。対照群には媒体(0.5%MC溶液)を同様に投与した。個体ごとの投与液量(表示単位:0.1 mL)は最新の体重を基準に算出した。

6.10 投与量及びその設定根拠並びに群構成

2-メルカプトナフタレンの0(0.5%MC溶液)、20、60及び200 mg/kg/dayを1群雌雄各5匹のラットに14日間反復経口投与した結果¹⁾、主な変化として、200 mg/kg投与群で死亡例はみられなかったものの、体重、摂餌量、血液学・血液化学検査、器官重量及び剖検において明らかな被験物質投与の影響がみられた。更に、60 mg/kg投与群でも血液学検査、器官重量及び剖検において変化が認められた。以上のことから、本試験における投与量は、60 mg/kgを高用量とし、以下公比約3で除し、20 mg/kgを中用量に、8 mg/kgを低用量に設定し、対照群を加え4群構成とした。1群当たりの動物を主群では雌雄各6匹、回復群では対照群及び高用量群で雌雄各6匹とした。群構成を表1.に示す。

表 1.群構成

試験群	投与量 (mg/kg)	濃 度 (mg/mL)	投与容量 (mL/kg)	性	主 群		回 復 群	
					動物数	動物番号	動物数	動物番号
対照群	0	0	5	雄	6	1001~1006	6	1007~1012
				雌	6	1101~1106	6	1107~1112
低用量群	8	1.6	5	雄	6	2001~2006	-	-
				雌	6	2101~2106	-	-
中用量群	20	4	5	雄	6	3001~3006	-	-
				雌	6	3101~3106	-	-
高用量群	60	12	5	雄	6	4001~4006	6	4007~4012
				雌	6	4101~4106	6	4107~4112

6.11 観察及び検査の方法

それぞれ記載された時期に観察及び検査を実施した。試験日の起算に関しては下記の通りとした。

投与 1 日 (Day 1 of administration)	: 投与開始日
投与 1 週 (Week 1 of administration)	: 投与 1 から投与 7 日
回復 1 日 (Day 1 of recovery)	: 回復開始日 (投与期間終了の翌日)
回復 1 週 (Week 1 of recovery)	: 回復 1 から回復 7 日

6.11.1 一般状態の観察

全個体について投与期間中は毎日 3 回、投与前と投与直後及び約 2 時間後(ただし、詳細な一般状態の観察、機能検査、握力及び自発運動量測定を実施する時は投与前と投与直後の 2 回)、回復期間中は毎日 1 回、体外表、栄養状態、姿勢、行動及び排泄物などの一般状態を観察した。

6.11.2 詳細な一般状態の観察、機能検査、握力及び自発運動量の測定

詳細な一般状態の観察は、全個体について、投与開始前に 1 回、投与期間中及び回復期間中は毎週 1 回実施した。また、機能検査、握力及び自発運動量の測定は、投与 4 週(雄を投与 22 日、雌を投与 23 日)及び回復 2 週(回復 9 日)に行った。詳細な一般状態の観察及び機能検査については実測値あるいはスコア化した評点法を用いた。また、観察、検査及び測定は、動物をランダムに配置し、観察者に対して投与の情報を制限(ブラインド化)した状態で行った。ただし、自発運動量の測定はブラインド化しないで行った。

6.11.2.1 詳細な一般状態の観察

1) ケージ内観察

姿勢、痙攣、異常行動

2) 手に持った観察

ケージからの取り出し易さ、被毛・皮膚の状態、眼・鼻の分泌物、眼球突出、眼瞼閉鎖状態、可視粘膜、自律神経機能(流涙、流涎、立毛、瞳孔径、異常呼吸)、ハンドリングに対する反応、ハンドリング時の発声

3) オープンフィールド内観察

覚醒状態、痙攣、異常行動、常同行動、歩行、姿勢、身繕い、立ち上がり回数、排泄物(排糞数、排尿量)

6.11.2.2 機能検査

聴覚反応、接近反応、接触反応、痛覚反応、瞳孔反射、空中正向反射、着地開脚幅

6.11.2.3 握力測定

CPU ゲージ MODEL- RX-5 (アイコーエンジニアリング株式会社)を用いて前肢及び後肢の握力を測定した。

6.11.2.4 自発運動量の測定

実験動物用自発運動センサーNS-AS01（株式会社ニューロサイエンス）を用いて自発運動量を測定した。測定は1時間とし、10分間隔及び0~60分の測定値を集計した。

6.11.3 体重測定

全個体について、投与期間中は投与1、4、7、10、14、17、21、24及び28日の投与前に、回復期間中は回復1、4、7、10及び14日に測定した。測定は08:41~9:42の間に行った。剖検日には相対器官重量算出のため、前日から約16時間絶食させた後の体重を測定した（07:30~08:03）。

6.11.4 摂餌量測定

全個体について、投与期間中は投与1、7、14、21及び28日の投与前に、回復期間中は回復7及び14日に測定した。測定は08:57~10:16の間に行った。なお、投与開始日の測定は前日からの1日量を、投与7日は6日間の累積摂取量を、その後は7日ごとに7日間の累積摂取量を測定し、1匹1日量を算出した。回復1週は回復1日から7日までの6日間の累積摂取量を、その後は7日間の累積摂取量を測定し、1匹1日量を算出した。

6.11.5 摂水量測定

尿検査時（投与25~26日及び回復11~12日）に、尿検査対象動物について、前日から1日あたりの摂水量を、給水ビンを用いて測定した。測定は08:47~9:23の間に行った。

6.11.6 尿検査

投与4週（投与25~26日）及び回復2週（回復11~12日）に検査を行った。

投与4週は検査当日の投与後に主群及び回復群の全個体を、回復2週は回復群の全個体を、それぞれ採尿器をセットしたケージに収容し、絶食・自由摂水下で4時間尿を、次いで自由摂食・自由摂水下でその後の20時間尿を採取し、表2に記載した項目及び方法により検査した。

表2. 尿検査の項目、測定法及び使用機器など

1) 4時間尿についての検査	
検査項目	測定方法
pH	オーションスティックス-7EA 試験紙 ^{a)} （アークレイ株式会社）
たん白質	オーションスティックス-7EA 試験紙 ^{a)} （アークレイ株式会社）
ケトン体	オーションスティックス-7EA 試験紙 ^{a)} （アークレイ株式会社）
グルコース	オーションスティックス-7EA 試験紙 ^{a)} （アークレイ株式会社）
潜血	オーションスティックス-7EA 試験紙 ^{a)} （アークレイ株式会社）
ビリルビン	オーションスティックス-7EA 試験紙 ^{a)} （アークレイ株式会社）
ウロビリノーゲン	オーションスティックス-7EA 試験紙 ^{a)} （アークレイ株式会社）
色調	肉眼観察
沈渣	鏡検法
尿量（4時間量） ^{注)}	目盛付スピッツ管を用いた容量測定（単位：mL）
2) 20時間尿についての検査	
検査項目	測定方法
尿量（20時間量） ^{注)}	メスシリンダーを用いた容量測定（単位：mL）
浸透圧	氷点降下法 ^{b)} （単位：mOsm/kg）
使用測定機器	
^{a)} ：AUTION™ MINI AM-4290（アークレイ株式会社）	
^{b)} ：自動浸透圧測定装置 オートアンドスタット OM-6030（アークレイ株式会社）	

注)：4時間の尿量と20時間の尿量を合計して24時間の尿量（mL/24h）を算出した。

6.11.7 血液学検査

投与期間及び回復期間終了の翌日の計画剖検時に、前日から一夜（約 16~20 時間）絶食させた全個体について、エーテル麻酔下で開腹し、腹大動脈から EDTA-2K 加採血瓶（SB-41：シスメックス株式会社）に血液（約 1 mL）を採取した。得られた血液について表 3.1）に記載した項目及び方法により検査した。更に、血液（約 0.9 mL）を 3.8%クエン酸ナトリウム溶液加試験管（血液 9 容に対し 1 容の割合）に採取し、遠心分離（3,000 rpm、約 1,600×g、約 10 分間）により得られた血漿について表 3.2）に記載した項目及び方法により検査した。なお、鏡検による確認に備え、全個体について May-Grünwald-Giemsa 染色法による血液塗抹標本を作製したが、鏡検による確認は不要と判断し、鏡検は実施しなかった。

表 3. 血液学検査の項目、測定法及び使用機器など

1) EDTA-2K 加血液についての検査		
検査項目	測定方法	単位
赤血球数 (RBC)	2 角度レーザーフローサイトメトリー法 ^{a)}	10 ⁴ /μL
ヘモグロビン量 (HGB)	シアンメトヘモグロビン変法 ^{a)}	g/dL
ヘマトクリット値 (HCT)	赤血球数及び平均赤血球容積から算出 ^{a)}	%
平均赤血球容積 (MCV)	2 角度レーザーフローサイトメトリー法 ^{a)}	fL
平均赤血球血色素量 (MCH)	赤血球数及びヘモグロビン量から算出 ^{a)}	pg
平均赤血球血色素濃度 (MCHC)	ヘモグロビン量及びヘマトクリット値から算出 ^{a)}	g/dL
網赤血球率 (Reticul.)	RNA 染色によるレーザーフローサイトメトリー法 ^{a)}	%
血小板数 (PLT)	2 角度レーザーフローサイトメトリー法 ^{a)}	10 ⁴ /μL
白血球数 (WBC)	2 角度レーザーフローサイトメトリー法 ^{a)}	10 ² /μL
白血球百分率 ^{注)}	ペルオキシダーゼ染色によるフローサイトメトリー法 +2 角度レーザーフローサイトメトリー法 ^{a)}	% 10 ² /μL
2) クエン酸ナトリウム加血液から分離した血漿についての検査		
検査項目	測定方法	単位
プロトロンビン時間 (PT)	クロット法 ^{b)}	s
活性化部分トロンボ		
プラスチン時間 (APTT)	クロット法 ^{b)}	s
フィブリノーゲン量 (FIB)	トロンボプラスチン法 ^{b)}	mg/dL
使用測定機器		
^{a)} : 総合血液学検査装置アドヴィア 120 (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Illinois, USA)		
^{b)} : 血液凝固自動分析装置 ACL Elite Pro (Instrumentation Laboratory, MA, USA)		

注) : リンパ球 (LYMP)、好中球 (NEUT)、好酸球 (EOS)、好塩基球 (BASO)、単球 (MONO) 及び大型非染色球 (LUC)。また、白血球百分率と白血球数から各分画の実数を算出した。

6.11.8 血液化学検査

血液学検査用試料と同時に採取した血液（約 4 mL）を凝固促進剤入り試験管（ベノジェクト II-オートセップ：テルモ株式会社）に取り、遠心分離（3,000 rpm、約 1,670×g、約 10 分間）し、得られた血清について、表 4.1）に記載した項目及び方法により検査した。また、ヘパリン加試験管（血液 1 mL 当たり約 20 単位のヘパリン）に採取した血液（約 2 mL）を遠心分離（3,000 rpm、約 1,600×g、約 10 分間）し、得られた血漿について表 4.2）に記載した項目及び方法により検査した。

表 4. 血液化学検査の項目、測定法及び使用機器など

1) 分離した血清についての検査		
検査項目	測定方法	単位
ALP	Bessey-Lowry 法 ^{a)}	IU/L
総コレステロール (T-CHO)	CEH-COD-POD 法 ^{a)}	mg/dL
トリグリセライド (TG)	LPL-GK-GPO-POD 法 ^{a)}	mg/dL
リン脂質 (PL)	PLD-ChOD-POD 法 ^{a)}	mg/dL
総ビリルビン (T-BIL)	ビリルビンオキシダーゼ法 ^{a)}	mg/dL
グルコース (GLU)	グルコースデヒドロゲナーゼ法 ^{a)}	mg/dL
尿素窒素 (BUN)	Urease-LEDH 法 ^{a)}	mg/dL
クレアチニン (CRNN)	Creatininase-creatinase-sarcosine oxidase-POD 法 ^{a)}	mg/dL
ナトリウム (Na)	イオン選択電極法 ^{a)}	mmol/L
カリウム (K)	イオン選択電極法 ^{a)}	mmol/L
塩素 (Cl)	イオン選択電極法 ^{a)}	mmol/L
カルシウム (Ca)	OCPC 法 ^{a)}	mg/dL
無機リン (P)	モリブデン酸法 ^{a)}	mg/dL
総たん白質 (TP)	Biuret 法 ^{a)}	g/dL
アルブミン (ALB)	BCG 法 ^{a)}	g/dL
A/G 比 (A/G)	総たん白質及びアルブミンから算出	
2) ヘパリン加血液から分離した血漿についての検査		
検査項目	測定方法	単位
AST	UV-rate 法 ^{a)}	IU/L
ALT	UV-rate 法 ^{a)}	IU/L
LDH	UV-rate 法 ^{a)}	IU/L
γ-GTP	L-γ-グルタミル-3-カルボキシ-4-ニトロアニリド法 ^{a)}	IU/L
使用測定機器		
^{a)} : 臨床化学自動分析装置 TBA-120FR 形 (東芝メディカルシステムズ株式会社)		

B-6606

6.11.9 病理学検査

6.11.9.1 剖検

全ての動物について、採血後腹大動脈切断により放血致死させ、体外表・頭部・胸部・腹部を含む全身の器官・組織の肉眼による詳細な病理解剖を行い、結果を記録した。

6.11.9.2 器官重量測定

全ての動物について、次に示す器官の重量（絶対重量）を測定するとともに、絶対重量と剖検時の体重から体重 100 g 当たりの相対重量を算出した。

なお、*印を付した両側性の器官については左右別々に測定し、その合計値で評価した。

脳、副腎*、胸腺、脾臓、心臓、肝臓、腎臓*、精巣*、精巣上体*、卵巢*、子宮

6.11.9.3 病理組織学検査

全ての個体について次に示す器官・組織を採取し、リン酸緩衝 10vol%ホルマリン液で固定した。ただし、肺はリン酸緩衝 10vol%ホルマリン液を注入後、眼球及び視神経はリン酸緩衝液で調製した 3vol%グルタルアルデヒド・2.5vol%ホルマリン液で固定後、精巣及び精巣上体はブアン液で固定した後、それぞれ、リン酸緩衝 10vol%ホルマリン液で保存し、パラフィン包埋した。その後、切片としてヘマトキシリン・エオジン染色標本作製し、主群の対照群及び高用量群（肉眼的異常部位については全例）について鏡検した。*で示した両側性器官については両側を摘出したが、鏡検は左側のみ行った。なお、被験物質投与の影響が疑われた雌雄の肝臓、脾臓、胃、雄の腎臓、雌の胸骨（骨髄を含む）、大腿骨（骨髄を含む）については低及び中用量群並びに回復群の全個体を鏡検した。また、上皮小体の欠落が主群では低用量群の雌 1 例（動物番号：2104）と高用量群の雌 1 例（動物番号：4102）に、回復群では高用量群の雌 1 例（動物番号：4109）に認められたが、これらのうち検索対象例は 1 例（動物番号：4102）のみであり、他の高用量群の動物において被験物質投与の影響が認められていないことから、試験成績に影響はないと判断した。

大脳、小脳、脊髄（胸部）、坐骨神経*、眼球*、下垂体、甲状腺*、上皮小体*、副腎*、胸腺、脾臓、顎下リンパ節、腸間膜リンパ節、心臓、気管、肺（気管支を含む）、胃、十二指腸、空腸、回腸（パイエル板を含む）、盲腸、結腸、直腸、肝臓、腎臓*、膀胱、精巣*、精巣上体*、前立腺、卵巢*、子宮、胸骨（骨髄を含む）、大腿骨（骨髄を含む）*及び大腿部骨格筋*

他に、視神経*（視神経は眼球と分離せず、ヘマトキシリン・エオジン染色標本作製まで実施した。）、ハーダー腺*、胸大動脈、舌、食道、顎下腺*、舌下腺*、脾臓、腔、精囊、乳腺（鼠径部）*、皮膚（鼠径部）*、個体識別部位（耳介）及び喉頭を摘出して保存した。

6.11.9.4 抗 $\alpha 2\mu$ グロブリン免疫組織化学染色及び PAS 染色

病理組織学検査において、腎臓の尿細管の好酸性小体がみられた動物（60 mg/kg 投与群の 3 例、動物番号 4001、4002 及び 4003）の腎臓について、抗 $\alpha 2\mu$ グロブリン抗体を用いた免疫組織化学染色標本及び PAS 染色標本を作製し、鏡検した。

6.12 統計解析

オープンフィールド内観察の定量的項目、機能検査における定量的項目、握力測定、自発運動量の測定、体重、体重増加量、摂餌量、摂水量、尿検査の定量的項目、血液学検査、血液化学検査及び器官重量データについて、対照群と各投与群との間で統計解析を行った。まず、Bartlett 検定により分散性の検定を行った（有意水準：両側 1%）。分散が等しい場合は Dunnett 法を用いて、非等分散の場合は Dunnett 型の mean rank test を用いて、対照群と各投与群との間で検定を行った（有意水準：両側 5 及び 1%）。なお、回復群については、F 検定により各群の分散の均一性の検定（有意水準：片側 5%）を行った。その結果、等分散性が認められた場合には対照群と被験物質投与群との間で Student の t 検定（有意水準：両側 5 及び 1%）を、等分散性が認められなかった場合には Aspin-Welch の t 検定（有意水準：両側 5 及び 1%）を行った^{2) ~6)}。

7. 試験結果

7.1 一般状態

成績を Table 1-1~1-3 及び Appendix 1~10 に示した。

1) 投与期間

雌雄ともにいずれの投与群においても、被験物質投与に起因すると考えられる異常はみられなかった。

なお、対照群の雄 1 例 (No.1005) で投与 4 日から 13 日の間に陰茎部の外傷がみられた。

2) 回復期間

雌雄いずれの動物にも異常はみられなかった。

7.2 詳細な一般状態、機能検査、握力及び自発運動量

7.2.1 詳細な一般状態

成績を Table 2-1~2-18 及び Appendix 11~70 に示した。

1) 投与期間

投与 1 週のオープンフィールド内観察において、排糞数の有意な高値が 60 mg/kg 投与群の雄にみられた。

投与 2、3 及び 4 週の観察では、雌雄ともにいずれの検査項目でも異常はみられなかった。

2) 回復期間

回復 1 及び 2 週の観察において、雌雄ともにいずれの検査項目でも異常はみられなかった。

7.2.2 機能検査

成績を Table 2-19、2-20 及び Appendix 71~76 に示した。

1) 投与 4 週

雄では、いずれの検査項目においても、各被験物質投与群と対照群との間に差はみられなかった。

雌では、着地開脚幅の有意な低値が 60 mg/kg 投与群にみられた。

2) 回復 2 週

雄では、いずれの検査項目においても 60 mg/kg 投与群と対照群との間に差はみられなかった。

雌では、着地開脚幅の有意な低値が 60 mg/kg 投与群にみられた。

7.2.3 握力

成績を Table 2-21、2-22 及び Appendix 77~82 に示した。

B-6606

1) 投与 4 週

雌雄ともに、各被験物質投与群と対照群との間に有意差はみられなかった。

2) 回復 2 週

雌雄ともに、60 mg/kg 投与群と対照群との間に有意差はみられなかった。

7.2.4 自発運動量

成績を Fig. 1~4、Table 2-23、2-24 及び Appendix 83~88 に示した。

1) 投与 4 週

雄では、各被験物質投与群とも対照群との間に有意差はみられなかった。

雌では、60 mg/kg 投与群で測定開始後 40~50 分の測定値に有意な高値がみられたが、一過性の変化であり、0~60 分の合計値では明らかな差はみられなかったことから偶発性の変化と考えられた。

2) 回復 2 週

60 mg/kg 投与群の雌雄とも対照群との間に有意差はみられなかった。

7.3 体重

成績を Fig.5、Table 3-1、3-2 及び Appendix 89~94 に示した。

1) 投与期間

各被験物質投与群の雌雄ともに、対照群との間に有意差はみられなかった。

2) 回復期間

60 mg/kg 投与群の雄に体重増加量の有意な高値がみられたが、回復期間終了時の体重は雌雄ともに、対照群とほぼ同等であった。

7.4 摂餌量

成績を Fig.6、Table 4-1、4-2 及び Appendix 95~100 に示した。

1) 投与期間

60 mg/kg 投与群では雌雄ともに投与 7 日に対照群と比べ有意な低値がみられたが、投与 14 日以降は対照群との間に明らかな差はみられなかった。

8 及び 20 mg/kg 投与群では雌雄ともに、対照群との間に有意差はみられなかった。

2) 回復期間

60 mg/kg 投与群の雌雄ともに、回復期間を通じて対照群との間に有意差はみられなかった。

7.5 尿検査（摂水量含む）

成績を Table 5-1~5-8 及び Appendix 101~118 に示した。

1) 投与 4 週

成績の総括を表 5 に示す。

表 5. 尿検査の総括（投与 4 週）

性	雄			雌		
投与量 (mg/kg)	8	20	60	8	20	60
動物数	6	6	12	6	6	12
摂水量 ^{a)}	N	N	+26%*	N	N	+33%*
尿量 ^{a)}	N	N	+37%	N	N	+56%
浸透圧 ^{a)}	N	N	-20%	N	N	-33%*

a): 表中の数値は対照群平均に対する増減率 (+: 増加、-: 減少)

N: 著変なし

*: p<0.05 (対照群との間に有意差あり)

摂水量及び尿量の高値並びに浸透圧の低値が 60 mg/kg 投与群の雌雄にみられ、雌雄の尿量及び雄の浸透圧を除いて統計学的に有意な変化であった。

8 及び 20 mg/kg 投与群では、いずれの項目でも対照群との間に差はみられなかった。

2) 回復 2 週

雌雄ともに、いずれの項目にも異常はみられなかった。

7.6 血液学検査

成績を Table 6-1~6-6 及び Appendix 119~136 に示した。

1) 投与期間終了時

成績の総括を表 6-1 に示す。

表 6-1. 血液学検査の総括（投与期間終了時）

性	雄			雌		
投与量 (mg/kg)	8	20	60	8	20	60
動物数	6	6	6	6	6	6
赤血球数	N	N	-3%	N	-6%**	-13%**
ヘモグロビン量	N	N	-5%**	N	-6%**	-10%**
ヘマトクリット値	N	N	-3%	N	-6%**	-8%**
平均赤血球容積	N	N	N	N	N	+6%*
平均赤血球血色素濃度	N	N	N	N	N	-2%**
網赤血球率	N	N	+81%**	N	N	+247%**
白血球数	N	N	+46%**	N	N	N
リンパ球	比率	N	N	N	N	N
	実数	N	N	N	N	N
好中球	比率	N	N	N	N	N
	実数	N	N	N	N	N
好酸球	比率	N	N	N	N	-46%*
	実数	N	N	N	N	-54%*
大型非染色球	比率	N	N	-50%*	N	N
	実数	N	N	-56%*	N	N

表中の数値は対照群平均に対する増減率 (+: 増加、-: 減少)

N: 著変なし

*: p<0.05, **: p<0.01 (対照群との間に有意差あり)

赤血球系項目では、赤血球数、ヘモグロビン量及びヘマトクリット値の低値が 20 mg/kg 投与群の雌と 60 mg/kg 投与群の雌雄にみられ、60 mg/kg 投与群の雄の赤血

球数及びヘマトクリット値を除いて統計学的に有意な変化であった。また、平均赤血球容積の有意な高値及び平均赤血球血色素濃度の有意な低値が 60 mg/kg 投与群の雌に、網赤血球率の有意な高値が 60 mg/kg 投与群の雌雄にみられた。

白血球系項目では、白血球数の有意な高値が 60 mg/kg 投与群の雄にみられた。白血球分画では、リンパ球数、好中球の比率及び実数の有意な高値が 60 mg/kg 投与群の雄にみられた。

他に、好酸球の比率及び実数の有意な低値が 60 mg/kg 投与群の雌にみられたが、白血球に占める割合の少ない分画における僅かな変動であることから、毒性学的に意義のない変化と考えられた。また、大型非染色球の比率及び実数の有意な低値が 8 mg/kg 投与群の雌でみられたが、用量に関連した変化ではなかった。

2) 回復期間終了時

成績の総括を表 6-2 に示す。

表 6-2. 血液学検査の総括（回復期間終了時）

性	雄	雌
投与量 (mg/kg)	60	60
動物数	6	6
赤血球数	-4%**	N
ヘモグロビン量	-5%**	+5%**
ヘマトクリット値	N	+5%**
平均赤血球容積	N	+3%*
平均赤血球血色素濃度	-2%**	N
網赤血球率	+50%*	-29%*

表中の数値は対照群平均に対する増減率（+：増加、-：減少）

N：著変なし

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$ （対照群との間に有意差あり）

赤血球数、ヘモグロビン量及び平均赤血球血色素濃度の有意な低値並びに網赤血球率の有意な高値が 60 mg/kg 投与群の雄に、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値及び平均赤血球容積の有意な高値並びに網赤血球率の有意な低値が 60 mg/kg 投与群の雌にみられた。

7.7 血液化学検査

成績を Table 7-1~7-4 及び Appendix 137~148 に示した。

1) 投与期間終了時

成績の総括を表 7-1 に示す。

表 7-1. 血液化学検査の総括（投与期間終了時）

性	雄			雌		
投与量 (mg/kg)	8	20	60	8	20	60
動物数	6	6	6	6	6	6
カリウム	N	+9%*	+11%*	N	N	N
カルシウム	N	N	+5%**	N	N	N
総たん白質	N	+5%*	+7%**	N	N	N

表中の数値は対照群平均に対する増減率（+：増加）

N: 著変なし

*: $p<0.05$, **: $p<0.01$ （対照群との間に有意差あり）

カリウム及び総たん白質の有意な高値が 20 及び 60 mg/kg 投与群の雄に、カルシウムの有意な高値が 60 mg/kg 投与群の雄にみられた。

雌では、いずれの項目でも対照群との間に差はみられなかった。

2) 回復期間終了時

成績の総括を表 7-2 に示す。

表 7-2. 血液化学検査の総括（回復期間終了時）

性	雄	雌
投与量 (mg/kg)	60	60
動物数	6	6
無機リン	+10%*	N
総たん白質	N	-6%*
アルブミン	-3%*	-8%**

表中の数値は対照群平均に対する増減率（+：増加、-：減少）

N: 著変なし

*: $p<0.05$, **: $p<0.01$ （対照群との間に有意差あり）

無機リンの有意な高値が 60 mg/kg 投与群の雄に、総たん白質の有意な低値が 60 mg/kg 投与群の雌に、アルブミンの有意な低値が 60 mg/kg 投与群の雌雄にみられたが、いずれも投与期間終了時検査では認められない変化であった。

7.8 器官重量

成績を Table 8-1~8-8 及び Appendix 149~172 に示した。

1) 投与期間終了時

成績の総括を表 8-1 に示す。

表 8-1. 器官重量の総括（投与期間終了時）

性	雄			雌		
投与量 (mg/kg)	8	20	60	8	20	60
動物数	6	6	6	6	6	6
剖検時体重	N	N	N	N	N	-7%
肝臓						
絶対重量	N	N	+17%	N	+8%	+4%
相対重量	N	N	+16%**	N	+9%**	+12%**
脾臓						
絶対重量	N	N	+29%**	N	N	+18%
相対重量	N	N	+28%*	N	N	+29%**
子宮						
絶対重量	/	/	/	N	N	+38%*
相対重量	/	/	/	N	N	+49%*

表中の数値は対照群平均に対する増減率（+：増加、-：減少）

N: 著変なし

/: 該当せず

*: p<0.05, **: p<0.01（対照群との間に有意差あり）

- 肝臓 : 絶対及び相対重量の高値が 20 mg/kg 投与群の雌及び 60 mg/kg 投与群の雌雄にみられ、相対重量では統計学的な有意差も認められた。
- 脾臓 : 絶対及び相対重量の高値が 60 mg/kg 投与群の雌雄にみられ、60 mg/kg 投与群の雌の絶対重量を除いて統計学的な有意差も認められた。
- 子宮 : 絶対及び相対重量の有意な高値が 60 mg/kg 投与群にみられた。

2) 回復期間終了時

成績の総括を表 8-2 に示した。

表 8-2. 器官重量の総括（回復期間終了時）

性	雄	雌
投与量 (mg/kg)	60	60
動物数	6	6
剖検時体重	N	N
胸腺		
絶対重量	+21%*	N
相対重量	+22%*	N
脾臓		
絶対重量	+23%**	N
相対重量	+25%**	N
精巣上部		
絶対重量	-8%*	/
相対重量	N	/

表中の数値は対照群平均に対する増減率（+：増加、-：減少）

N: 著変なし

/: 該当せず

*: p<0.05, **: p<0.01（対照群との間に有意差あり）

B-6606

脾臓 : 絶対及び相対重量の有意な高値が 60 mg/kg 投与群の雄にみられた。

他に、胸腺の絶対及び相対重量の有意な高値並びに精巣上体の絶対重量の有意な低値が 60 mg/kg 投与群の雄にみられたが、投与期間終了時検査では認められない変化であった。

7.9 剖検所見

成績を Table 9-1、9-2 及び Appendix 173~244 に示した。

1) 投与期間終了時

脾臓 : 暗調化が 60 mg/kg 投与群の雄 4/6 例と雌全例にみられた。

胃 : 前胃の壁肥厚が 20 mg/kg 投与群の雌 1/6 例と 60 mg/kg 投与群の雌雄各全例にみられた。

他に、腺胃の暗赤色巣が 20 及び 60 mg/kg 投与群の雌各 1/6 例に、甲状腺の小型化（片側性）が 60 mg/kg 投与群の雌 1/6 例にみられたが、出現頻度から偶発性の変化と考えられた。

2) 回復期間終了時

雌雄いずれの動物にも異常はみられなかった。

7.10 病理組織学検査

成績を Table 10-1~10-5 及び Appendix 173~244 に示した。

1) 投与期間終了時

成績の総括を表 9-1 に示す。

表 9-1. 病理組織学検査の総括（投与期間終了時）

性	雄				雌			
投与量 (mg/kg)	0	8	20	60	0	8	20	60
動物数	6	6	6	6	6	6	6	6
大腿骨（骨髄）								
赤芽球造血の亢進	0	—	—	0	0	0	0	5
軽微	0	—	—	0	0	0	0	5
胸骨（骨髄）								
赤芽球造血の亢進	0	—	—	0	0	0	0	5
軽微	0	—	—	0	0	0	0	5
肝臓								
小葉中心性肝細胞肥大	0	0	5	6	0	0	0	6
軽微	0	0	5	2	0	0	0	6
軽度	0	0	0	4	0	0	0	0
腎臓								
尿細管の好酸性小体	0	0	0	3	0	—	—	0
軽微	0	0	0	3	0	—	—	0
免疫組織化学染色 ^{a)} (抗 $\alpha 2\mu$ -グロブリン抗体)								
陽性	—	—	—	3	—	—	—	—
PAS 染色 ^{a)}								
陰性	—	—	—	3	—	—	—	—
脾臓								
髄外造血の亢進	0	0	3	6	0	0	3	6
軽微	0	0	3	4	0	0	3	4
軽度	0	0	0	2	0	0	0	2
褐色色素の増加	0	0	0	6	0	0	6	6
軽微	0	0	0	6	0	0	6	0
軽度	0	0	0	0	0	0	0	6
胃								
前胃の扁平上皮過形成	0	0	4	6	0	0	4	6
軽微	0	0	4	0	0	0	2	0
軽度	0	0	0	5	0	0	2	3
中等度	0	0	0	1	0	0	0	3
境界線の扁平上皮過形成	0	0	5	6	0	0	5	6
軽微	0	0	5	4	0	0	4	2
軽度	0	0	0	2	0	0	1	4
前胃の角化亢進	0	0	2	6	0	0	2	6
軽微	0	0	2	0	0	0	2	0
軽度	0	0	0	6	0	0	0	5
中等度	0	0	0	0	0	0	0	1

a)： 腎臓の尿細管の好酸性小体がみられた動物（60 mg/kg 投与群 3 例）について実施表中の数値は出現例数を示す。

—： 検査せず。

被験物質投与によると考えられる変化が大腿骨（骨髄）、胸骨（骨髄）、肝臓、腎臓、脾臓、胃で認められた。

大腿骨（骨髄を含む）

： 軽微な赤芽球造血の亢進が 60 mg/kg 投与群の雌 5 例にみられた。

- 胸骨（骨髄を含む）： 軽微な赤芽球造血の亢進が 60 mg/kg 投与群の雌 5 例にみられた。
- 肝臓： 軽微あるいは軽度な小葉中心性肝細胞肥大が 20 mg/kg 投与群の雄 5 例と 60 mg/kg 投与群の雌雄全例にみられ、これらの動物では、肝細胞の細胞質がスリガラス状を呈した。
- 腎臓： 軽微な尿細管の好酸性小体が 60 mg/kg 投与群の雄 3 例にみられた。これらの動物について抗 $\alpha_2\mu$ グロブリン抗体を用いた免疫組織化学染色及び PAS 染色を実施した結果、いずれの個体でも抗 $\alpha_2\mu$ グロブリン抗体に陽性、PAS 染色に陰性を示した。
- 脾臓： 軽微又は軽度な褐色色素の増加が 20 mg/kg 投与群の雌と 60 mg/kg 投与群の雌雄の全例に、軽微又は軽度な髄外造血亢進が 20 mg/kg 投与群の雌雄各 3 例と 60 mg/kg 投与群の雌雄全例にみられた。
- 胃： 軽微から中等度の前胃の扁平上皮過形成が 20 mg/kg 投与群の雌雄各 4 例と 60 mg/kg 投与群の雌雄全例に、軽微又は軽度の境界縁の扁平上皮過形成が 20 mg/kg 投与群の雌雄各 5 例と 60 mg/kg 投与群の雌雄全例に、軽微から中等度の前胃の角化亢進が 20 mg/kg 投与群の雌雄各 2 例と 60 mg/kg 投与群の雌雄全例にみられた。

なお、Table 及び Appendix に示したその他の所見はその出現状況あるいは病理組織学的性状からいずれも偶発性の変化と判断した。

2) 回復期間終了時

成績の総括を表 9-2 に示す。

表 9-2. 病理組織学検査の総括（回復期間終了時）

性	雄		雌	
投与量 (mg/kg)	0	60	0	60
動物数	6	6	6	6
脾臓				
褐色色素の増加	0	6	1	6
軽微	0	6	1	0
軽度	0	0	0	6
胃				
前胃の扁平上皮過形成	0	1	0	0
軽微	0	1	0	0
境界縁の扁平上皮過形成	1	3	0	3
軽微	1	3	0	3

表中の数値は出現例数を示す。

B-6606

被験物質投与によると考えられる変化が脾臓及び胃でみられた。

- 脾臓 : 軽微又は軽度な褐色色素の増加が対照群の雌 1 例と 60 mg/kg 投与群の雌雄各全例にみられた。
- 胃 : 軽微な前胃の扁平上皮過形成が 60 mg/kg 投与群の雄 1 例に、軽微な境界縁の扁平上皮過形成が対照群の雄 1 例と 60 mg/kg 投与群の雌雄各 3 例にみられた。

なお、Table 及び Appendix に示したその他の所見はその出現状況あるいは病理組織学的性状からいずれも偶発性の変化と判断した。

8. 考察

2-メルカプトナフタレンの28日間反復経口投与毒性試験を6週齢のSprague-Dawley系SPFラット〔CrI:CD(SD)、1群雌雄各6又は12匹〕を用いて実施した。投与量は0(0.5%メチルセルロース溶液:対照群)、8、20及び60 mg/kg/日とし、胃ゾンデを用いて1日1回強制経口投与した。また、対照群と60 mg/kg投与群の一部の個体(1群雌雄各6匹)については投与期間終了後2週間の回復期間を設け、毒性変化の可逆性を検討した。

投与期間及び回復期間を通じて死亡動物はみられず、一般状態、握力、自発運動量及び体重では被験物質投与の影響は認められなかった。

詳細な一般状態では、投与1週検査時に排糞数の高値が60 mg/kg投与群の雄でみられたが、投与1週のみの一過性の変化であることから毒性学的意義の低い変化と判断した。

機能検査では、着地開脚幅の低値が60 mg/kg投与群の雌にみられた。病理学検査では、中枢及び末梢神経に異常はみられなかったが、被験物質投与による影響と考えられた。回復2週検査時でも同様の変化が認められ、回復性は明らかではなかった。

摂餌量の低値が60 mg/kg投与群の雌雄で投与7日にみられた。同様の変化は2-メルカプトナフタレンのラットを用いた14日間反復経口投与毒性試験(予備試験)¹⁾でもみられており、被験物質投与の影響と考えられるが、一過性の変化であり、体重への影響もみられなかったことから毒性学的意義の低い変化と考えられた。

尿検査では、摂水量及び尿量の高値並びに浸透圧の低値が60 mg/kg投与群の雌雄にみられたが、腎臓の病理組織学検査では関連する変化はみられなかったことから毒性学的意義の低い変化と考えられた。

血液学検査では20 mg/kg投与群の雌と60 mg/kg投与群の雌雄に赤血球数、ヘマトクリット値及びヘモグロビン量の低値並びに網赤血球率の高値などがみられ、貧血が示唆された。貧血は2-メルカプトナフタレンのラットを用いた14日間反復経口投与毒性試験(予備試験)¹⁾において、60 mg/kg投与群の雌及び200 mg/kg投与群の雌雄でもみられており、被験物質投与に起因する変化と考えられた。病理組織学検査では、脾臓において髄外造血の亢進及び褐色色素の増加が20及び60 mg/kg投与群の雌雄に、大腿骨及び胸骨骨髓では赤芽球造血の亢進が60 mg/kg投与群の雌にみられ、脾臓重量の増加及び肉眼的にみられた暗調化はこれらの組織学的変化を反映する変化と考えられた。構造的に類似するナフタレンはメトヘモグロビンを形成し、溶血性貧血を惹起することが知られており⁷⁾、本試験でみられた脾臓の褐色色素沈着も同様の機序で生じたものと考えられた。また、脾臓の髄外造血の亢進、大腿骨及び胸骨でみられた赤芽球系造血の亢進は貧血への反応性変化と考えられた。なお、20 mg/kg投与群の雄では、血液学検査において赤血球系パラメータに変化は認められなかったものの、脾臓の髄外造血の亢進がみられたことから、この群においても赤血球への影響があったこ

とが示唆された。回復期間終了時には、60 mg/kg 投与群の雄で赤血球数、ヘモグロビン量及び平均赤血球色素濃度の低値並びに網赤血球率の高値がみられたが、網赤血球率の変化の程度は投与期間終了時と比べて軽減した。また、脾臓重量の高値がみられたが変化の程度は減弱し、病理組織学的にも脾臓の髄外造血の亢進は消失していたことから、回復傾向にあると判断した。60 mg/kg 投与群の雌では、ヘモグロビン量及びヘマトクリット値の高値並びに網赤血球率の低値がみられ、回復性が認められた。なお、回復期間終了時にも脾臓の病理組織学検査において、60 mg/kg 投与群の雌雄で褐色色素の増加がみられ、回復性は明らかではなかった。

白血球数の高値が 60 mg/kg 投与群の雄にみられ、白血球分画ではリンパ球数、好中球の比率及び実数の高値がみられたが、病理組織学検査で炎症性の変化は認められず、発現機序は不明であった。

血液化学検査では、カルシウムの高値が 60 mg/kg 投与群の雄にみられた。病理組織学検査では骨、副腎及び甲状腺に関連した変化はみられず、発現機序は不明であった。また、血清カリウムの高値が 20 及び 60 mg/kg 投与群の雄にみられたが、溶血あるいは赤血球の処理亢進に関連する変化と考えられ、貧血に伴う二次的な変化と考えられた。更に、総たん白質の高値が 20 及び 60 mg/kg 投与群の雄にみられたが、生理的範囲内の僅かな変動であり、減少ではなく高値であることから毒性学的意義の低い変化と考えられた。回復期間終了時では、これらの変化はみられず、回復性が認められた。

器官重量では、子宮重量の高値が 60 mg/kg 投与群にみられた。子宮は、性周期のステージによって重量が変動することが知られている。本試験では、個体別の子宮重量の変動は生理的範囲内の変動であり、病理組織学検査でも子宮を始めとする雌性生殖器に異常は認められなかったことから偶発性の変化と判断した。

病理学検査では、上記の他に、肝臓、腎臓及び胃に被験物質投与に起因すると考えられる変化が認められた。肝臓では、重量の高値が 20 mg/kg 投与群の雌及び 60 mg/kg 投与群の雌雄にみられ、病理組織学検査では小葉中心性肝細胞肥大が 20 mg/kg 投与群の雄及び 60 mg/kg 投与群の雌雄にみられたが、小葉中心帯の肝細胞が増大し、その細胞質がスリガラス状を呈する以外に明らかな変性所見がないこと、血液化学検査で肝細胞障害を示唆する所見がないこと及び休業により、速やかにこれらの所見が消失したことから薬物代謝酵素に関係する変化と考えられた。胃では、肉眼的な壁肥厚に一致して、前胃の扁平上皮過形成及び角化亢進、並びに境界縁の扁平上皮過形成が 20 及び 60 mg/kg 投与群の雌雄にみられ、投与量の増加に伴い程度が増強した。2-メルカプトナフタレンは皮膚、眼、粘膜への刺激性を有することから⁸⁾、これらの変化は被験物質の胃粘膜への刺激作用による変化と考えられた。腎臓では、尿細管の好酸性小体が 60 mg/kg 投与群の雄にみられた。これらの動物について抗 $\alpha 2\mu$ グロブリン免疫組織化学染色標本及び PAS 染色標本を作製して鏡検した結果、全例が抗 $\alpha 2\mu$ グロブリン抗体に陽性、PAS 染色に陰性を示した。以上のことから、本試験でみられた腎臓の好酸性小体は $\alpha 2\mu$ グロブリンに由来するものと考えられ、雄性ラットに発現する種特異的な変化が被験物質投与により増強されたと推察される。これらの肝臓、腎臓及び

B-6606

胃でみられた変化は回復期間終了時には程度が減弱又は消失し、回復性が認められた。

以上の結果、2-メルカプトナフタレンの本試験条件下における無影響量は、主として雌の血液学検査における貧血、雄の血液化学検査におけるカリウムの高値、雌雄の肝臓、脾臓及び胃の病理学検査から、雌雄とも 8 mg/kg/日と判断した。なお、回復期間終了時に雌の着地開脚幅の低値及び病理組織学検査の脾臓の褐色色素の増加は投与期間中と同様にみられたものの、その他の変化はいずれも休薬による回復性あるいは回復傾向が認められた。

9. 文献

- 1) 2-メルカプトナフタレンのラットを用いた14日間反復経口投与毒性試験（反復投与予備試験）（株式会社ボゾリサーチセンター、試験番号：C-B464、2009年）
- 2) Snedecor GW, Cochran WG. Statistical methods. 8th ed. Ames: Iowa State University Press; 1989.
- 3) Dunnett CW. A multiple comparison procedure for comparing several treatments with a control. J Am Stat Assoc 1955; 50:1096-121.
- 4) Dunnett CW. New tables for multiple comparisons with a control. Biometrics 1964; 20:482-91.
- 5) 佐久間昭（1977）：薬効評価－計画と解析－I 東京大学出版会, 東京.
- 6) 佐久間昭（1981）：薬効評価－計画と解析－II 東京大学出版会, 東京.
- 7) 化学物質評価研究機構（1997）：既存化学物質安全性（ハザード）評価シート、ナフタレン
- 8) 東京化成工業株式会社（2001）：化学物質等安全データシート、2-ナフタレンチオール

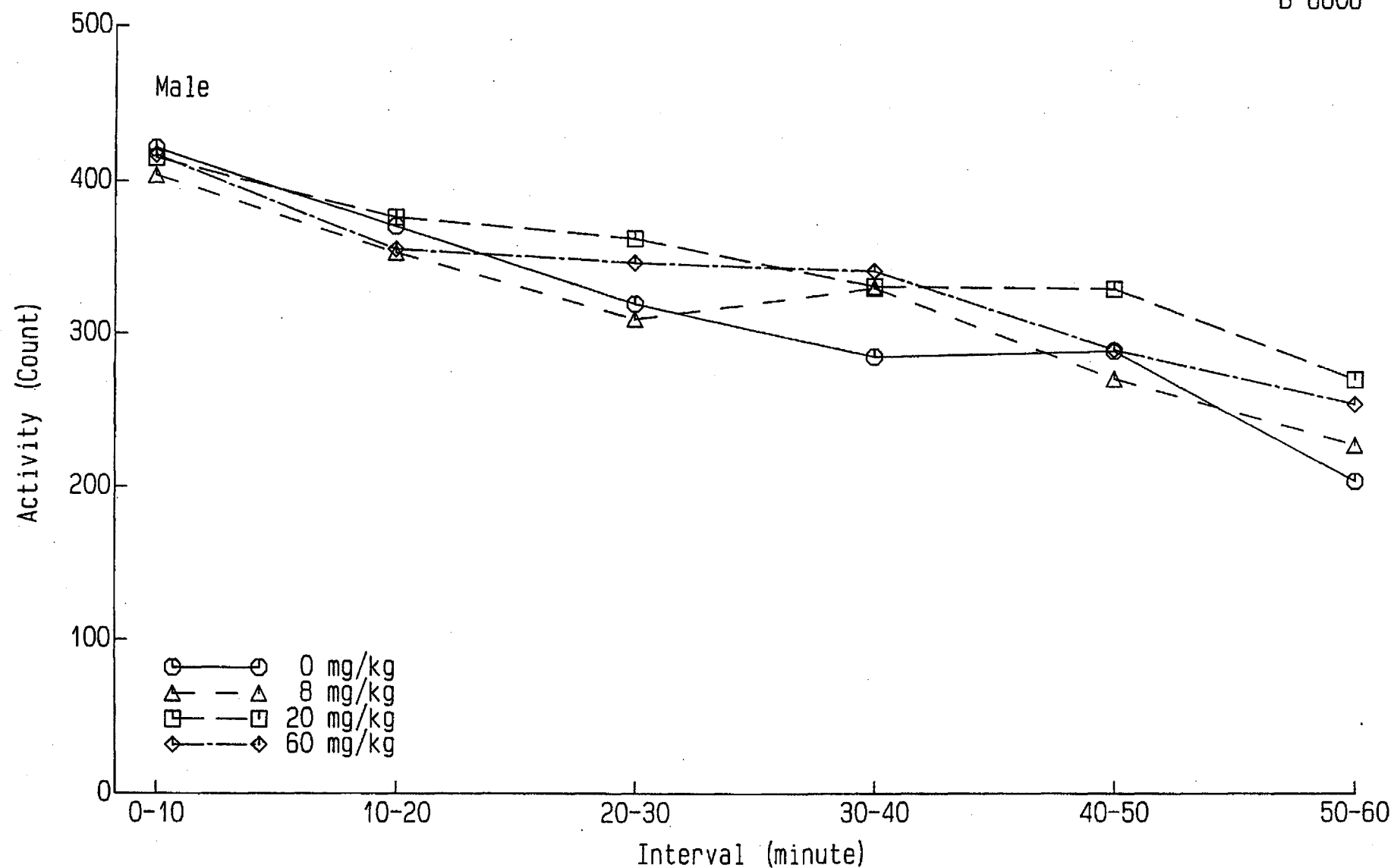


Fig.1 A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptanaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks

— Motor activity (Week 4 of administration period) —

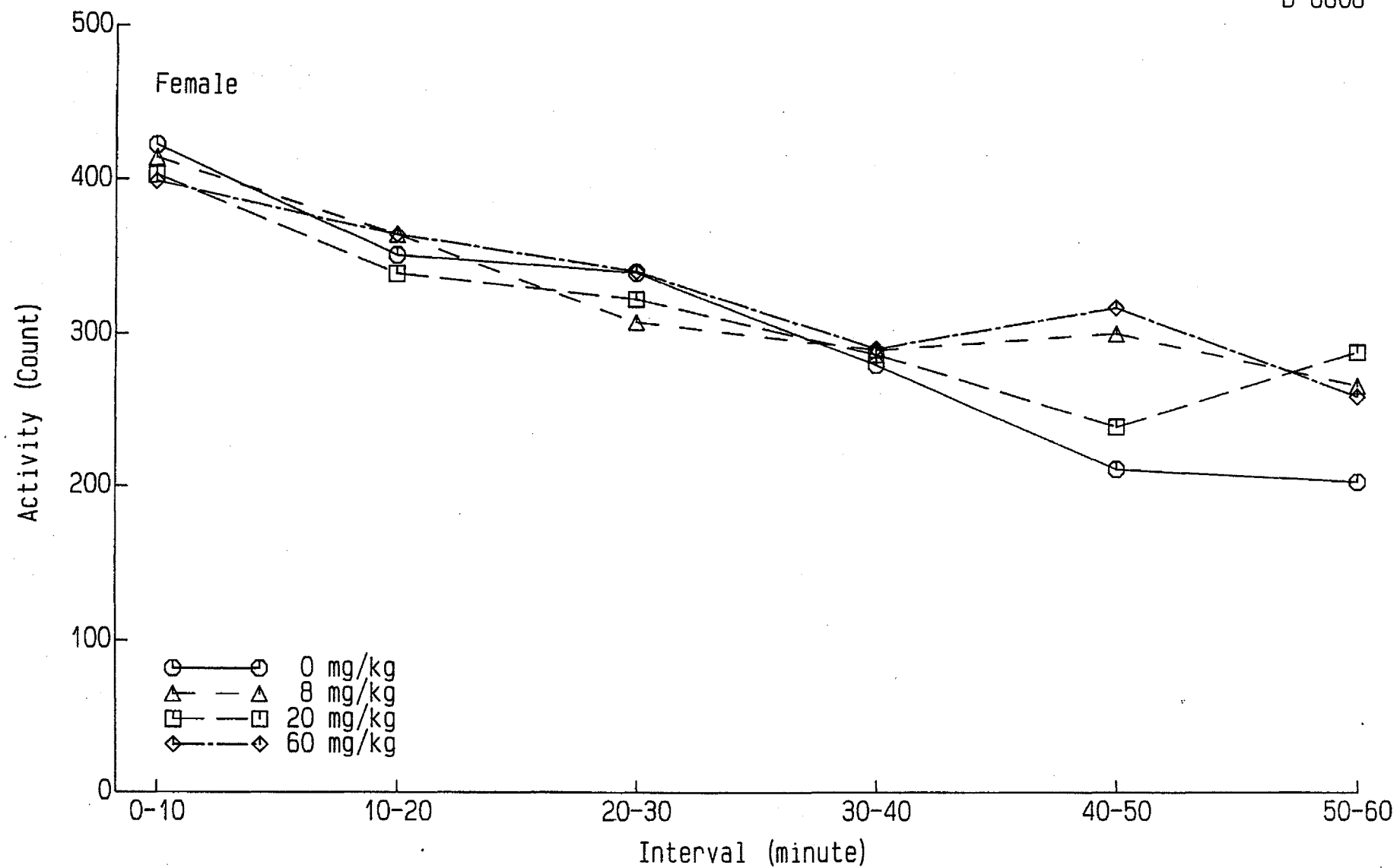


Fig.2 A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptanaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks
—— Motor activity (Week 4 of administration period) ——

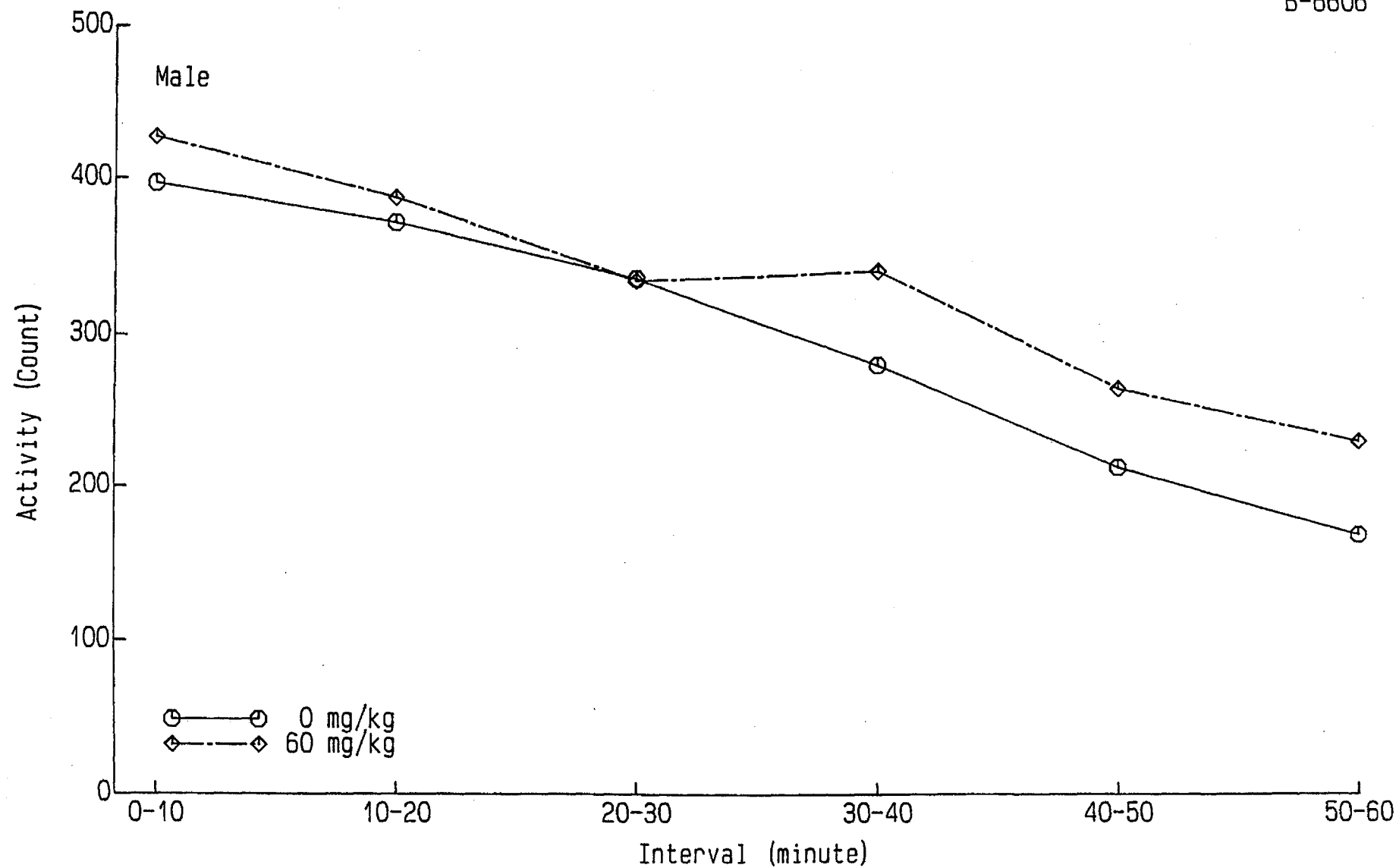


Fig.3 A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks
—— Motor activity (Week 2 of recovery period) ——

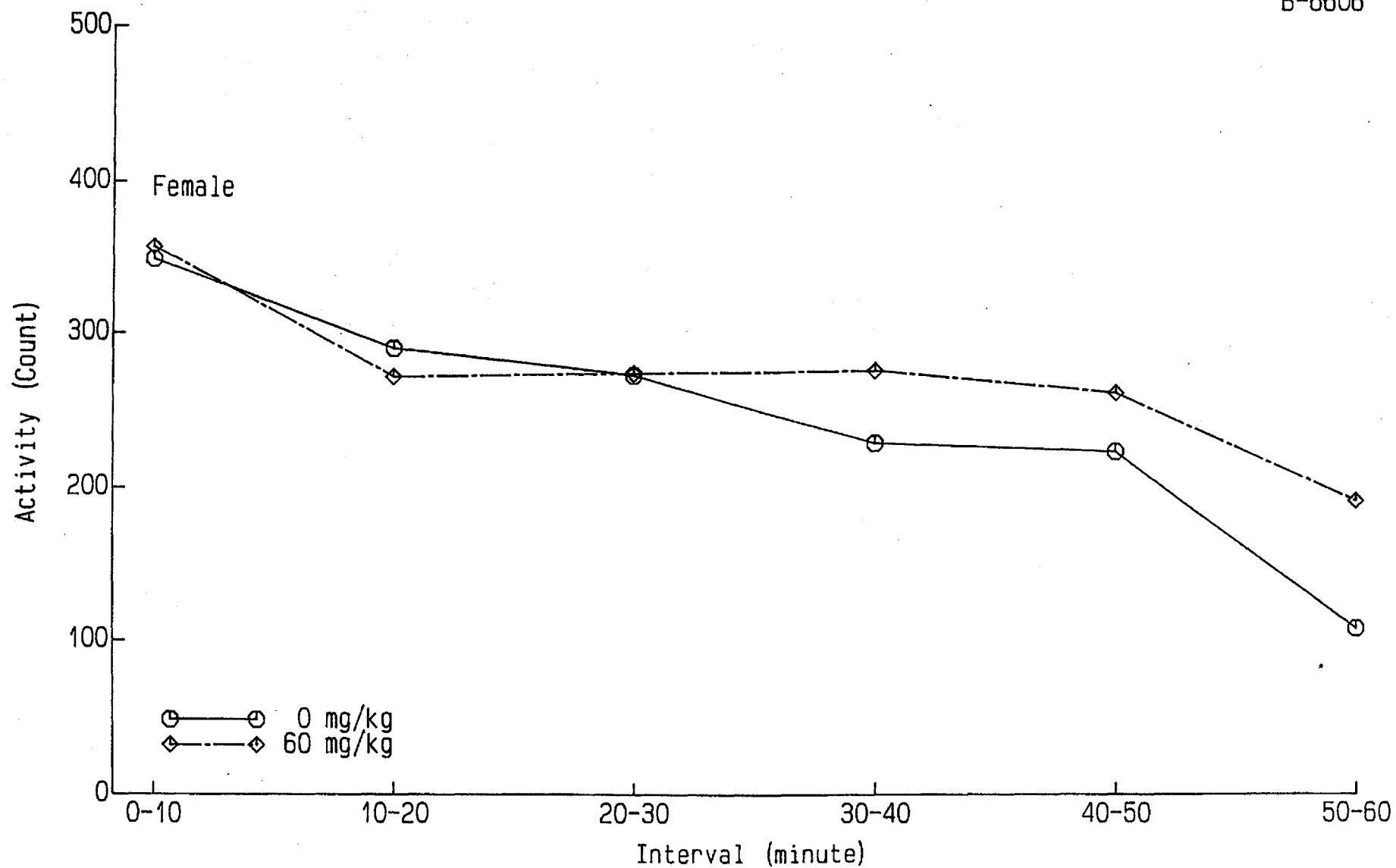


Fig.4 A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptanaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks

— Motor activity (Week 2 of recovery period) —

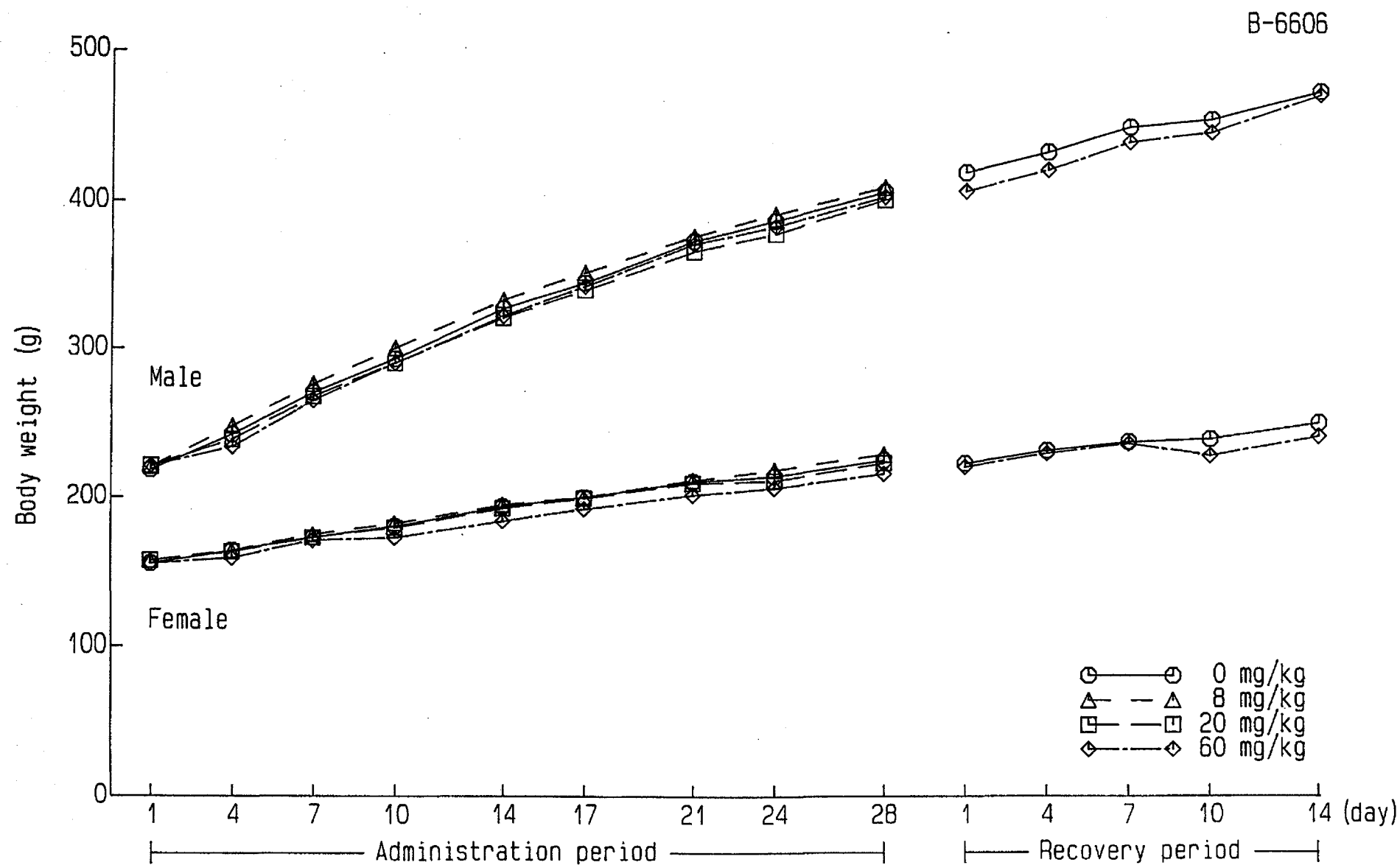


Fig.5 A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks

— Body weight —

B-6606

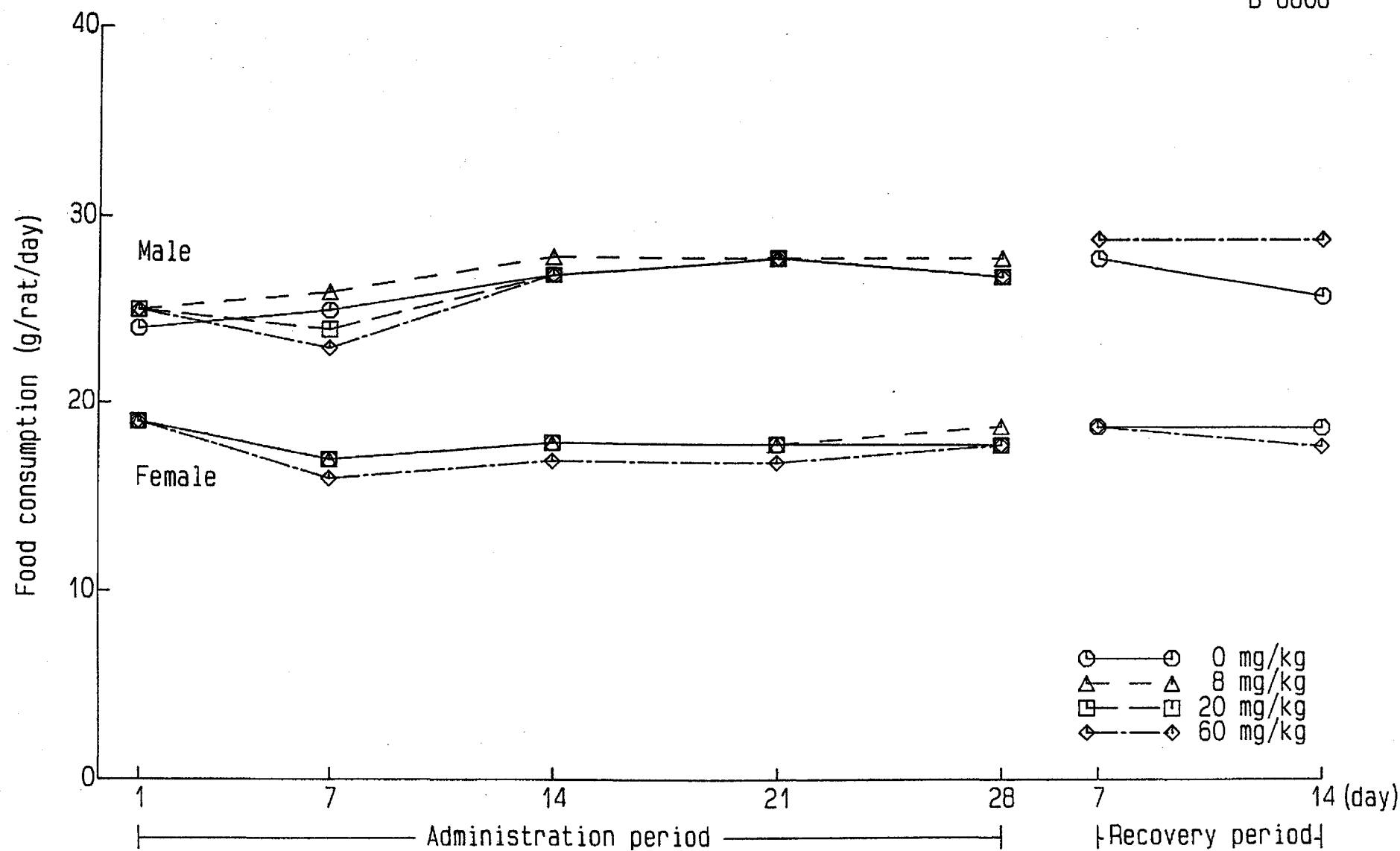


Fig.6 A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks
 — Food consumption —

Table 1-1

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks

Clinical signs (Administration period)

[illegible]

Table 1-2

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks

Clinical signs (Administration period)

[illegible]

Table 1-3

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks

Clinical signs (Recovery period)

[illegible]

Table 2-1

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : home cage observation (Week 1 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	8	20	60	0	8	20	60
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	12

Table 2-2

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : home cage observation (Week 2 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	8	20	60	0	8	20	60
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	12

Table 2-3

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : home cage observation (Week 3 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	8	20	60	0	8	20	60
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	12

Table 2-4

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : home cage observation (Week 4 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	8	20	60	0	8	20	60
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	12

Table 2-5

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : home cage observation (Week 1 of recovery period)

Parameter	Sex	Male		Female	
	Dose (mg/kg)	0	60	0	60
	No. of animals	6	6	6	6
Posture					
Normal		6	6	6	6
Convulsion					
None		6	6	6	6
Abnormal behavior					
None		6	6	6	6

Table 2-6

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptanaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : home cage observation (Week 2 of recovery period)

Parameter	Sex	Male		Female	
	Dose (mg/kg)	0	60	0	60
	No. of animals	6	6	6	6
Posture					
Normal		6	6	6	6
Convulsion					
None		6	6	6	6
Abnormal behavior					
None		6	6	6	6

Table 2-7 A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptanaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks
Detailed clinical signs : in-the-hand observation (Week 1 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	8	20	60	0	8	20	60
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Ease of removal from cage									
Easy		12	6	6	12	12	6	6	12
Fur condition									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Skin									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Secretions-Eye, Nose									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Exophthalmos									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Palpebral closure									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Mucosal membranes									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Lacrimation									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Piloerection									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Pupil size									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Salivation									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal respiration									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Vocalization									
None		12	6	5	12	11	6	6	12
Soft		0	0	1	0	1	0	0	0
Reactivity to handling									
Easy		12	6	6	12	12	6	6	12

Table 2-8

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptanaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : in-the-hand observation (Week 2 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	8	20	60	0	8	20	60
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Ease of removal from cage									
Easy		12	6	6	12	12	6	6	12
Fur condition									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Skin									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Secretions-Eye, Nose									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Exophthalmos									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Palpebral closure									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Mucosal membranes									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Lacrimation									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Piloerection									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Pupil size									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Salivation									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal respiration									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Vocalization									
None		12	5	6	12	12	6	6	11
Soft		0	1	0	0	0	0	0	1
Reactivity to handling									
Easy		12	6	6	12	12	6	6	11
Slightly awkward		0	0	0	0	0	0	0	1

Table 2-9

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : in-the-hand observation (Week 3 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	8	20	60	0	8	20	60
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Ease of removal from cage									
Easy		12	6	6	12	12	6	6	12
Fur condition									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Skin									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Secretions-Eye, Nose									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Exophthalmos									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Palpebral closure									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Mucosal membranes									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Lacrimation									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Piloerection									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Pupil size									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Salivation									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal respiration									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Vocalization									
None		12	6	6	12	11	6	6	12
Soft		0	0	0	0	1	0	0	0
Reactivity to handling									
Easy		12	6	6	12	12	6	6	12

Table 2-10

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptanaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : in-the-hand observation (Week 4 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	8	20	60	0	8	20	60
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Ease of removal from cage									
Easy		11	6	6	12	12	6	6	12
Some resistance/avoidance		1	0	0	0	0	0	0	0
Fur condition									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Skin									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Secretions-Eye, Nose									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Exophthalmos									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Palpebral closure									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Mucosal membranes									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Lacrimation									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Piloerection									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Pupil size									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Salivation									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal respiration									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Vocalization									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Reactivity to handling									
Easy		12	6	6	12	12	6	6	12

Table 2-11

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : in-the-hand observation (Week 1 of recovery period)

Parameter	Sex	Male		Female	
	Dose (mg/kg)	0	60	0	60
	No. of animals	6	6	6	6
Ease of removal from cage					
Easy		6	6	6	6
Fur condition					
Normal		6	6	6	6
Skin					
Normal		6	6	6	6
Secretions-Eye, Nose					
Absent		6	6	6	6
Exophthalmos					
Absent		6	6	6	6
Palpebral closure					
Normal		6	6	6	6
Mucosal membranes					
Normal		6	6	6	6
Lacrimation					
Normal		6	6	6	6
Piloerection					
Absent		6	6	6	6
Pupil size					
Normal		6	6	6	6
Salivation					
None		6	6	6	6
Abnormal respiration					
Absent		6	6	6	6
Vocalization					
None		5	6	6	6
Soft		1	0	0	0
Reactivity to handling					
Easy		6	6	6	6

Table 2-12

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : in-the-hand observation (Week 2 of recovery period)

Parameter	Sex Dose (mg/kg) No. of animals	Male		Female	
		0	60	0	60
		6	6	6	6
Ease of removal from cage					
Easy		5	6	6	6
Some resistance/avoidance		1	0	0	0
Fur condition					
Normal		6	6	6	6
Skin					
Normal		6	6	6	6
Secretions-Eye, Nose					
Absent		6	6	6	6
Exophthalmos					
Absent		6	6	6	6
Palpebral closure					
Normal		6	6	6	6
Mucosal membranes					
Normal		6	6	6	6
Lacrimation					
Normal		6	6	6	6
Piloerection					
Absent		6	6	6	6
Pupil size					
Normal		6	6	6	6
Salivation					
None		6	6	6	6
Abnormal respiration					
Absent		6	6	6	6
Vocalization					
None		5	6	6	6
Soft		1	0	0	0
Reactivity to handling					
Easy		5	5	6	6
Slightly awkward		1	1	0	0

Table 2-13

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : open field observation (Week 1 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	8	20	60	0	8	20	60
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Arousal									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Stereotypy									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Gait									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Grooming									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Rearing count (Mean±S.D.)		4± 2	4± 1	2± 2	4± 2	4± 2	4± 2	5± 1	4± 2
Defecation count (Mean±S.D.)		0± 0	1± 1	1± 1	1± 1*DT	0± 0	0± 0	0± 0	0± 1
Urination									
None		10	4	5	5	10	6	6	9
Small amount		2	2	1	6	2	0	0	3
Moderate amount		0	0	0	1	0	0	0	0

* : p<0.05 (Significant difference from control group)

DT : Dunnett-type rank test

Table 2-14

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : open field observation (Week 2 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	8	20	60	0	8	20	60
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Arousal									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Stereotypy									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Gait									
No/minimal location		1	1	0	0	0	0	0	0
Normal		11	5	6	12	12	6	6	12
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Grooming									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Rearing count (Mean±S.D.)		4± 2	3± 3	4± 2	4± 2	6± 2	6± 3	7± 1	6± 2
Defecation count (Mean±S.D.)		1± 1	1± 1	1± 1	0± 1	0± 1	0± 0	0± 0	0± 0
Urination									
None		10	4	6	9	11	5	6	12
Small amount		2	2	0	3	1	1	0	0

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-15

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks
 Detailed clinical signs : open field observation (Week 3 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	8	20	60	0	8	20	60
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Arousal									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Stereotypy									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Gait									
No/minimal location		2	1	1	0	0	0	0	0
Normal		10	5	5	12	12	6	6	12
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Grooming									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Rearing count (Mean±S.D.)		4± 2	2± 2	3± 2	3± 2	7± 3	6± 2	8± 4	7± 2
Defecation count (Mean±S.D.)		0± 1	1± 1	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0
Urination									
None		11	5	6	10	12	6	6	11
Small amount		1	1	0	2	0	0	0	1

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-16

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : open field observation (Week 4 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	8	20	60	0	8	20	60
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Arousal									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Stereotypy									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Gait									
No/minimal location		2	1	0	1	0	0	0	0
Normal		10	5	6	11	12	6	6	12
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Grooming									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Rearing count (Mean±S.D.)		4± 2	4± 2	5± 3	3± 2	8± 2	9± 3	9± 3	8± 3
Defecation count (Mean±S.D.)		0± 1	1± 2	0± 0	0± 1	0± 0	0± 0	0± 1	0± 0
Urination									
None		9	5	6	10	12	6	5	12
Small amount		3	1	0	2	0	0	1	0

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-17

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : open field observation (Week 1 of recovery period)

Parameter	Sex	Male		Female	
	Dose (mg/kg)	0	60	0	60
	No. of animals	6	6	6	6
Arousal					
Normal		6	6	6	6
Convulsion					
None		6	6	6	6
Abnormal behavior					
None		6	6	6	6
Stereotypy					
None		6	6	6	6
Gait					
No/minimal location		1	1	0	0
Normal		5	5	6	6
Posture					
Normal		6	6	6	6
Grooming					
None		6	6	6	6
Rearing count (Mean±S.D.)		5± 3	4± 4	8± 2	10± 3
Defecation count (Mean±S.D.)		0± 0	0± 1	0± 0	0± 0
Urination					
None		4	5	6	6
Small amount		2	0	0	0
Moderate amount		0	1	0	0

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-18

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : open field observation (Week 2 of recovery period)

Parameter	Sex	Male		Female	
	Dose (mg/kg)	0	60	0	60
	No. of animals	6	6	6	6
Arousal					
Normal		6	6	6	6
Convulsion					
None		6	6	6	6
Abnormal behavior					
None		6	6	6	6
Stereotypy					
None		6	6	6	6
Gait					
Normal		6	6	6	6
Posture					
Normal		6	6	6	6
Grooming					
None		6	6	6	6
Rearing count (Mean±S.D.)		7± 3	5± 3	10± 1	10± 3
Defecation count (Mean±S.D.)		0± 1	0± 1	0± 0	0± 0
Urination					
None		3	6	6	6
Small amount		3	0	0	0

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-19

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks
 Manipulative test (Week 4 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	8	20	60	0	8	20	60
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Auditory response									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Approach response									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Touch response									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Tail pinch response									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Pupillary reflex									
Pass, both		12	6	6	12	12	6	6	12
Aerial righting reflex									
(Total score: Mean±S.D.)		0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0
Landing foot splay (mm: Mean±S.D.)		79±21	73±16	75±16	84±13	69±17	57±12	58±12	51±12**D

** : p<0.01 (Significant difference from control group)

D : Dunnett's test

Table 2-20

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks
 Manipulative test (Week 2 of recovery period)

Parameter	Sex	Male		Female	
	Dose (mg/kg)	0	60	0	60
	No. of animals	6	6	6	6
Auditory response					
Normal		6	6	6	6
Approach response					
Normal		6	6	6	6
Touch response					
Normal		6	6	6	6
Tail pinch response					
Normal		6	6	6	6
Pupillary reflex					
Pass, both		6	6	6	6
Aerial righting reflex					
(Total score: Mean±S.D.)		0± 0	0± 0	0± 0	0± 0
Landing foot splay (mm: Mean±S.D.)		87±16	93±13	83±20	56±11*T

* : $p < 0.05$ (Significant difference from control group)

T : Student's t-test

Table 2-21

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks
Grip strength (Week 4 of administration period)

Sex	Dose mg/kg		Fore limb g	Hind limb g
Male	0	No.	12	12
		Mean	1088	579
		S.D.	107	98
	8	No.	6	6
		Mean	1085	711
		S.D.	85	96
	20	No.	6	6
		Mean	1026	549
		S.D.	167	139
	60	No.	12	12
		Mean	1053	655
		S.D.	144	117
Female	0	No.	12	12
		Mean	943	604
		S.D.	126	88
	8	No.	6	6
		Mean	939	640
		S.D.	48	79
	20	No.	6	6
		Mean	997	676
		S.D.	128	115
	60	No.	12	12
		Mean	980	571
		S.D.	127	97

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-22

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks
Grip strength (Week 2 of recovery period)

Sex	Dose mg/kg		Fore limb g	Hind limb g
Male	0	No.	6	6
		Mean	1059	846
		S.D.	102	166
	60	No.	6	6
		Mean	1222	803
		S.D.	220	55
Female	0	No.	6	6
		Mean	811	581
		S.D.	73	97
	60	No.	6	6
		Mean	792	545
		S.D.	70	117

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-23

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptanaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks
 Motor activity (Week 4 of administration period)

Sex	Dose mg/kg		Interval (minutes)						Total(0-60)
			0-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60	
Male	0	No.	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	421	371	321	287	291	206	1898
		S.D.	36	55	82	99	144	131	440
	8	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	404	354	311	332	273	230	1904
		S.D.	48	43	53	49	126	176	352
	20	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	415	377	364	333	332	273	2094
		S.D.	50	24	33	37	67	111	206
	60	No.	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	417	356	348	343	292	257	2012
		S.D.	49	79	51	59	93	99	299
Female	0	No.	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	422	352	341	281	213	205	1814
		S.D.	27	39	40	82	107	122	251
	8	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	414	365	309	291	302	268	1948
		S.D.	47	70	56	76	84	95	305
	20	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	403	340	324	288	241	290	1886
		S.D.	44	53	64	104	126	121	427
	60	No.	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	399	365	342	292	319*	261	1978
		S.D.	33	44	75	86	75D	102	281

Unit : Count

* : p<0.05 (Significant difference from control group)

D : Dunnett's test

Table 2-24

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks
 Motor activity (Week 2 of recovery period)

Sex	Dose mg/kg		Interval (minutes)						
			0-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60	Total(0-60)
Male	0	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	397	373	338	283	216	171	1777
		S.D.	40	43	53	74	113	130	369
	60	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	427	389	337	344	268	234	1999
		S.D.	49	47	120	46	132	156	379
Female	0	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	349	291	275	232	227	110	1484
		S.D.	28	52	52	67	112	91	228
	60	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	357	273	276	279	265	195	1645
		S.D.	83	132	106	80	72	103	432

Unit : Count

No significant difference between treated group and control group.

Table 3-1

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks
Body weight (Administration period)

Sex	Dose mg/kg		Day of administration									Gain 1-28
			1	4	7	10	14	17	21	24	28	
Male	0	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	219	243	271	294	328	346	375	389	408	190
		S.D.	6	11	14	17	21	24	26	29	31	28
	8	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	221	249	277	301	334	353	378	393	411	190
		S.D.	6	5	6	4	8	14	16	19	21	22
	20	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	222	240	269	291	322	341	368	380	403	182
		S.D.	7	7	10	11	14	20	26	29	27	21
	60	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	222	235	266	291	323	344	373	385	405	183
		S.D.	7	7	9	11	14	16	19	19	22	20
Female	0	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	155	164	173	181	195	202	213	217	228	72
		S.D.	7	8	11	12	13	13	14	16	16	13
	8	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	157	164	175	183	196	202	214	221	232	76
		S.D.	9	9	10	13	18	20	20	22	23	18
	20	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	157	163	173	180	194	201	212	214	226	70
		S.D.	10	7	10	10	12	9	11	12	11	9
	60	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	155	159	171	173	185	194	204	209	219	64
		S.D.	8	9	11	13	15	16	17	17	17	13

Unit : g

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 3-2

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks
Body weight (Recovery period)

Sex	Dose mg/kg		Day of recovery					Gain 1-14
			1	4	7	10	14	
Male	0	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	421	435	452	457	476	55
		S.D.	28	29	29	31	29	7
	60	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	409	423	442	448	474	66*
		S.D.	21	22	25	24	24	8T
Female	0	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	226	235	241	243	254	28
		S.D.	19	20	25	26	25	9
	60	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	224	233	240	232	245	21
		S.D.	16	17	19	23	25	10

Unit : g

* : p<0.05 (Significant difference from control group)

T : Student's t-test

Table 4-1 A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks
Food consumption (Administration period)

Sex	Dose mg/kg		Day of administration				
			1	7	14	21	28
Male	0	No.	12	12	12	12	12
		Mean	24	25	27	28	27
		S.D.	2	2	2	2	2
	8	No.	6	6	6	6	6
		Mean	25	26	28	28	28
		S.D.	2	1	2	2	2
	20	No.	6	6	6	6	6
		Mean	25	24	27	28	27
		S.D.	2	1	1	2	2
	60	No.	12	12	12	12	12
		Mean	25	23*	27	28	27
		S.D.	2	1D	2	2	2
Female	0	No.	12	12	12	12	12
		Mean	19	17	18	18	18
		S.D.	2	1	1	1	1
	8	No.	6	6	6	6	6
		Mean	19	17	18	18	19
		S.D.	2	1	2	2	2
	20	No.	6	6	6	6	6
		Mean	19	17	18	18	18
		S.D.	2	1	1	2	1
	60	No.	12	12	12	12	12
		Mean	19	16*	17	17	18
		S.D.	2	2D	1	2	2

Unit : g/rat/day

* : p<0.05 (Significant difference from control group)

D : Dunnett's test

Table 4-2

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptanaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks
Food consumption (Recovery period)

Sex	Dose mg/kg	Day of recovery		
			7	14
Male	0	No.	6	6
		Mean	28	26
		S.D.	2	1
	60	No.	6	6
		Mean	29	29
		S.D.	2	2
Female	0	No.	6	6
		Mean	19	19
		S.D.	2	2
	60	No.	6	6
		Mean	19	18
		S.D.	2	2

Unit : g/rat/day

No significant difference between treated group and control group.

Table 5-1

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks
 Urinalysis (Week 4 of administration period)

Sex	Dose mg/kg	No.	pH										1) Protein						2) Ketone body						3) Glucose					
			5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0	-	+-	+	++	+++	++++	-	+-	+	++	+++	++++	-	+-	+	++	+++	++++	
Male	0	12	0	0	0	0	0	0	1	7	4	3	4	5	0	0	0	6	4	2	0	0	0	12	0	0	0	0	0	
	8	6	0	0	0	0	0	0	0	5	1	1	5	0	0	0	0	5	1	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	
	20	6	0	0	0	0	0	0	0	5	1	0	4	2	0	0	0	3	2	1	0	0	0	6	0	0	0	0	0	
	60	12	0	0	0	0	0	1	2	9	0	2	6	4	0	0	0	8	2	2	0	0	0	12	0	0	0	0	0	
Female	0	12	0	0	0	1	0	2	1	5	3	9	2	0	1	0	0	9	1	2	0	0	0	12	0	0	0	0	0	
	8	6	0	0	0	0	1	0	1	4	0	5	1	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	
	20	6	0	0	0	0	4	2	0	0	0	3	2	1	0	0	0	4	1	1	0	0	0	6	0	0	0	0	0	
	60	12	0	0	0	2	2	2	2	2	2	9	3	0	0	0	0	11	1	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	
1)	-	:	<10 mg/dL		+-		:	10 - 25 mg/dL		+		:	26 - 85 mg/dL		++		:	86 - 250 mg/dL		+++		:	251 - 600 mg/dL		++++		:	>600 mg/dL		
2)	-	:	<5 mg/dL		+-		:	5 - 7.5 mg/dL		+		:	7.6 - 30 mg/dL		++		:	31 - 70 mg/dL		+++		:	71 - 125 mg/dL		++++		:	>125 mg/dL		
3)	-	:	<30 mg/dL		+-		:	30 - 60 mg/dL		+		:	61 - 125 mg/dL		++		:	126 - 250 mg/dL		+++		:	251 - 750 mg/dL		++++		:	>750 mg/dL		

Table 5-2

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks

Urinalysis (Week 4 of administration period)

Sex	Dose mg/kg	No.	4) Occult blood					5) Bilirubin					6) Urobilinogen					7) Color		
			-	+-	+	++	+++	-	+	++	+++	++++	+-	+	++	+++	++++	LY	Y	DY
Male	0	12	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	12	0
	8	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0
	20	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0
	60	12	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	12	0
Female	0	12	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	11	1	0	0	0	0	12	0
	8	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0
	20	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0
	60	12	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	12	0

4) - : <0.03 mg/dL +- : 0.03 - 0.05 mg/dL + : 0.06 - 0.15 mg/dL ++ : 0.16 - 0.75 mg/dL +++ : >0.75 mg/dL
 5) - : <0.5 mg/dL + : 0.5 - 1.5 mg/dL ++ : 1.6 - 5.0 mg/dL +++ : 5.1 - 10.0 mg/dL ++++ : >10.0 mg/dL
 6) +- : <2.0 mg/dL + : 2.0 - 3.5 mg/dL ++ : 3.6 - 7.0 mg/dL +++ : 7.1 - 12.0 mg/dL ++++ : >12.0 mg/dL
 7) LY : Light yellow Y : Yellow DY : Dark yellow

Table 5-4 A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks
 Water intake and urinalysis (Week 4 of administration period)

Sex	Dose mg/kg	No.		Water intake mL/24h	Urine volume mL/24h	Osmolality mOsm/kg
Male	0	12	Mean	39	11.3	2200
			S.D.	6	4.4	447
	8	6	Mean	46	14.8	1851
			S.D.	11	6.8	711
	20	6	Mean	44	11.2	2169
			S.D.	4	4.6	538
	60	12	Mean	49*	15.5	1765
			S.D.	10D	6.0	437
Female	0	12	Mean	30	5.4	2505
			S.D.	5	2.4	983
	8	6	Mean	35	7.8	2154
			S.D.	8	2.2	381
	20	6	Mean	32	5.3	2486
			S.D.	4	2.4	511
	60	12	Mean	40*	8.4	1685*
			S.D.	11D	5.2	671D

* : $p < 0.05$ (Significant difference from control group)
 D : Dunnett's test

Table 5-5

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks
Urinalysis (Week 2 of recovery period)

Sex	Dose mg/kg	No.	pH									1) Protein						2) Ketone body						3) Glucose					
			5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0	-	+-	+	++	+++	++++	-	+-	+	++	+++	++++	-	+-	+	++	+++	++++
Male	0	6	0	0	0	0	0	0	0	1	5	0	3	3	0	0	0	1	3	2	0	0	0	6	0	0	0	0	0
	60	6	0	0	0	0	0	0	0	1	5	0	2	4	0	0	0	2	2	2	0	0	0	6	0	0	0	0	0
Female	0	6	0	0	0	1	1	0	0	0	4	1	1	4	0	0	0	2	0	4	0	0	0	6	0	0	0	0	0
	60	6	0	0	0	1	0	0	0	0	5	1	4	1	0	0	0	3	2	1	0	0	0	6	0	0	0	0	0
1) - : <10 mg/dL			+- : 10 - 25 mg/dL			+ : 26 - 85 mg/dL			++ : 86 - 250 mg/dL			+++ : 251 - 600 mg/dL			++++ : >600 mg/dL														
2) - : <5 mg/dL			+- : 5 - 7.5 mg/dL			+ : 7.6 - 30 mg/dL			++ : 31 - 70 mg/dL			+++ : 71 - 125 mg/dL			++++ : >125 mg/dL														
3) - : <30 mg/dL			+- : 30 - 60 mg/dL			+ : 61 - 125 mg/dL			++ : 126 - 250 mg/dL			+++ : 251 - 750 mg/dL			++++ : >750 mg/dL														

Table 5-6

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks

Urinalysis (Week 2 of recovery period)

Sex	Dose mg/kg	No.	4) Occult blood					5) Bilirubin					6) Urobilinogen					7) Color		
			-	+	++	+++	++++	-	+	++	+++	++++	+-	+	++	+++	++++	LY	Y	DY
Male	0	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0
	60	6	5	1	0	0	0	6	0	0	0	0	5	1	0	0	0	0	6	0
Female	0	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	5	1	0	0	0	0	6	0
	60	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0

4)	-	: <0.03 mg/dL	+-	: 0.03 - 0.05 mg/dL	+	: 0.06 - 0.15 mg/dL	++	: 0.16 - 0.75 mg/dL	+++	: >0.75 mg/dL
5)	-	: <0.5 mg/dL	+	: 0.5 - 1.5 mg/dL	++	: 1.6 - 5.0 mg/dL	+++	: 5.1 - 10.0 mg/dL	++++	: >10.0 mg/dL
6)	+-	: <2.0 mg/dL	+	: 2.0 - 3.5 mg/dL	++	: 3.6 - 7.0 mg/dL	+++	: 7.1 - 12.0 mg/dL	++++	: >12.0 mg/dL
7)	LY	: Light yellow	Y	: Yellow	DY	: Dark yellow				

Table 5-8

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks
Water intake and urinalysis (Week 2 of recovery period)

Sex	Dose mg/kg	No.		Water intake mL/24h	Urine volume mL/24h	Osmolality mOsm/kg
Male	0	6	Mean	39	13.8	1803
			S.D.	8	6.4	559
	60	6	Mean	41	11.9	1989
			S.D.	4	3.5	364
Female	0	6	Mean	31	4.4	2447
			S.D.	3	1.6	520
	60	6	Mean	35	6.8	1913
			S.D.	6	3.0	427

No significant difference between treated group and control group.

Table 6-1

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks
Hematology (After administration period)

Sex	Dose mg/kg	No.		RBC X10 ⁴ /μL	HGB g/dL	HCT %	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	Reticul. %	PLT X10 ⁴ /μL	PT s	APTT s	FIB mg/dL
Male	0	6	Mean	854	16.1	47.4	55.5	18.8	33.9	2.1	114.1	15.4	23.2	281
			S.D.	18	0.3	1.1	0.8	0.3	0.3	0.4	18.8	1.6	1.3	23
	8	6	Mean	858	15.9	46.9	54.7	18.5	33.8	1.9	120.3	14.7	24.0	295
			S.D.	26	0.4	1.3	1.4	0.5	0.4	0.1	16.3	2.0	5.4	20
	20	6	Mean	858	16.1	47.7	55.7	18.8	33.8	2.5	119.9	15.3	22.7	297
			S.D.	41	0.2	0.6	2.2	0.7	0.3	0.2	12.8	1.6	2.4	22
	60	6	Mean	832	15.3**	45.8	55.1	18.4	33.5	3.8**	122.2	16.6	25.1	305
			S.D.	21	0.4D	1.3	1.7	0.5	0.1	0.4D	12.9	1.8	3.9	25
Female	0	6	Mean	858	15.9	45.9	53.5	18.6	34.6	1.7	135.8	11.9	18.1	255
			S.D.	20	0.4	1.2	0.6	0.2	0.3	0.3	8.2	0.6	2.2	45
	8	6	Mean	851	15.7	45.4	53.4	18.5	34.6	1.9	140.3	11.5	17.7	238
			S.D.	25	0.4	1.2	1.3	0.5	0.3	0.3	16.3	0.4	1.2	25
	20	6	Mean	808**	15.0**	43.2**	53.5	18.6	34.7	2.6	141.2	11.8	17.9	233
			S.D.	36D	0.2D	1.0D	2.7	0.9	0.6	0.7	14.8	0.8	2.3	15
	60	6	Mean	745**	14.3**	42.1**	56.6*	19.2	33.9**	5.9**	151.1	11.6	16.7	227
			S.D.	22D	0.5D	1.3D	1.6D	0.6	0.2D	1.0D	34.1	0.4	0.9	39

* : p<0.05 ; ** : p<0.01 (Significant difference from control group)

D : Dunnett's test

Table 6-2

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks
Hematology (After administration period)

Sex	Dose mg/kg	No.		WBC	Differential leukocyte counts (%)					
				$\times 10^2/\mu\text{L}$	LYMP	NEUT	EOS	BASO	MONO	LUC
Male	0	6	Mean	71.6	77.2	19.1	1.2	0.4	1.7	0.4
			S.D.	14.1	7.1	7.0	0.4	0.1	0.5	0.1
	8	6	Mean	70.7	76.9	19.6	1.2	0.4	1.6	0.4
			S.D.	10.5	6.7	6.6	0.3	0.1	0.4	0.1
	20	6	Mean	86.3	77.3	19.8	0.9	0.4	1.4	0.3
			S.D.	15.0	4.2	4.2	0.2	0.1	0.2	0.1
	60	6	Mean	104.3**	69.0	28.1*	0.8	0.3	1.4	0.4
			S.D.	21.3D	4.8	4.9D	0.4	0.1	0.7	0.2
Female	0	6	Mean	96.6	77.7	18.2	1.3	0.5	1.5	0.8
			S.D.	32.8	8.9	8.9	0.4	0.1	0.5	0.4
	8	6	Mean	78.5	78.0	18.7	1.0	0.4	1.6	0.4*
			S.D.	25.0	8.7	8.7	0.3	0.2	0.5	0.1D
	20	6	Mean	83.4	77.8	18.7	1.1	0.4	1.6	0.5
			S.D.	21.3	4.9	5.1	0.3	0.1	0.2	0.2
	60	6	Mean	79.6	83.1	14.2	0.7*	0.4	1.2	0.5
			S.D.	16.4	3.7	3.0	0.3D	0.1	0.7	0.1

LUC : Large unstained cells

* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$ (Significant difference from control group)

D : Dunnett's test

Table 6-3

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks
Hematology (After administration period)

Sex	Dose mg/kg	No.		Differential leukocyte counts ($\times 10^2/\mu\text{L}$)					
				LYMP	NEUT	EOS	BASO	MONO	LUC
Male	0	6	Mean	54.5	14.5	0.9	0.3	1.3	0.3
			S.D.	5.8	8.4	0.3	0.1	0.6	0.1
	8	6	Mean	54.8	13.4	0.8	0.3	1.1	0.3
			S.D.	12.1	2.9	0.2	0.1	0.3	0.1
	20	6	Mean	66.5	17.2	0.7	0.3	1.2	0.3
			S.D.	10.8	5.6	0.2	0.1	0.3	0.1
	60	6	Mean	71.8*	29.4**	0.8	0.4	1.5	0.4
			S.D.	14.8D	8.2D	0.3	0.1	0.9	0.3
Female	0	6	Mean	74.9	17.6	1.3	0.5	1.6	0.9
			S.D.	26.9	11.7	0.8	0.2	0.8	0.6
	8	6	Mean	61.6	14.3	0.8	0.3	1.3	0.4*
			S.D.	22.3	6.4	0.1	0.2	0.8	0.3D
	20	6	Mean	64.9	15.7	0.9	0.3	1.3	0.5
			S.D.	17.1	6.2	0.4	0.1	0.3	0.2
	60	6	Mean	65.9	11.5	0.6*	0.3	1.0	0.4
			S.D.	12.4	4.4	0.2DT	0.1	0.8	0.1

LUC : Large unstained cells

* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$ (Significant difference from control group)

D : Dunnett's test

DT : Dunnett-type rank test

Table 6-4 A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks
Hematology (After recovery period)

Sex	Dose mg/kg	No.		RBC X10 ⁶ /μL	HGB g/dL	HCT %	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	Reticul. %	PLT X10 ⁴ /μL	PT s	APTT s	FIB mg/dL
Male	0	6	Mean	922	16.2	47.6	51.6	17.6	34.0	2.0	125.3	15.0	21.5	278
			S.D.	15	0.2	1.2	0.7	0.1	0.4	0.4	6.8	1.5	2.3	20
	60	6	Mean	881**	15.4**	46.4	52.7	17.5	33.2**	3.0*	122.5	13.8	19.9	253
			S.D.	21T	0.5T	0.8	1.4	0.5	0.5T	0.7T	7.9	1.1	2.3	33
Female	0	6	Mean	835	14.8	43.3	51.9	17.8	34.3	2.1	129.8	12.1	16.7	214
			S.D.	16	0.4	0.9	1.3	0.7	0.5	0.3	9.6	0.6	1.7	13
	60	6	Mean	850	15.6**	45.5**	53.6*	18.3	34.2	1.5*	135.6	12.5	17.2	229
			S.D.	38	0.4T	1.4T	1.1T	0.5	0.2	0.4T	12.7	0.5	2.3	19

* : p<0.05 ; ** : p<0.01 (Significant difference from control group)

T : Student's t-test

Table 6-5

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks
Hematology (After recovery period)

Sex	Dose mg/kg	No.		WBC	Differential leukocyte counts (%)					
				$\times 10^2/\mu\text{L}$	LYMP	NEUT	EOS	BASO	MONO	LUC
Male	0	6	Mean	98.0	79.8	16.3	1.1	0.5	1.9	0.4
			S.D.	30.3	5.7	4.4	0.6	0.1	1.0	0.1
	60	6	Mean	110.1	80.5	16.0	0.9	0.5	1.5	0.6
			S.D.	24.2	5.8	5.6	0.5	0.1	0.5	0.3
Female	0	6	Mean	83.7	79.6	16.8	0.9	0.5	1.7	0.6
			S.D.	16.5	4.3	4.1	0.4	0.2	0.8	0.2
	60	6	Mean	85.0	80.5	15.8	0.9	0.4	1.6	0.8
			S.D.	30.3	3.7	3.6	0.4	0.1	0.6	0.3

LUC : Large unstained cells

No significant difference between treated group and control group.

Table 6-6

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks
Hematology (After recovery period)

Sex	Dose mg/kg	No.		Differential leukocyte counts ($\times 10^2/\mu\text{L}$)					
				LYMP	NEUT	EOS	BASO	MONO	LUC
Male	0	6	Mean	78.2	15.9	1.1	0.5	1.9	0.4
			S.D.	24.6	6.5	0.7	0.2	1.0	0.1
	60	6	Mean	89.0	17.1	1.1	0.6	1.7	0.7
			S.D.	22.0	5.5	0.7	0.2	0.9	0.5
Female	0	6	Mean	66.1	14.5	0.8	0.5	1.4	0.5
			S.D.	10.0	6.3	0.4	0.2	0.8	0.2
	60	6	Mean	68.2	13.6	0.8	0.4	1.4	0.8
			S.D.	23.3	6.6	0.4	0.2	0.9	0.6

LUC : Large unstained cells

No significant difference between treated group and control group.

Table 7-1 A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks
 Blood chemistry (After administration period)

Sex	Dose mg/kg	No.		AST IU/L	ALT IU/L	LDH IU/L	γ -GTP IU/L	ALP IU/L	T-CHO mg/dL	TG mg/dL	PL mg/dL	T-BIL mg/dL	GLU mg/dL
Male	0	6	Mean	62	24	54	0	576	53	49	93	0.1	136
			S.D.	6	4	9	1	77	16	17	21	0.0	23
	8	6	Mean	60	28	57	0	646	62	38	103	0.1	127
			S.D.	6	4	15	0	103	9	18	18	0.0	7
	20	6	Mean	62	25	61	0	692	60	37	100	0.1	129
			S.D.	6	4	16	1	59	5	14	5	0.0	14
	60	6	Mean	58	26	53	0	560	69	43	108	0.1	127
			S.D.	3	3	15	0	100	12	28	15	0.0	10
Female	0	6	Mean	63	20	53	0	403	59	17	107	0.1	105
			S.D.	7	1	17	0	49	12	6	17	0.0	9
	8	6	Mean	64	20	47	1	408	63	17	110	0.1	108
			S.D.	7	3	3	1	123	18	6	24	0.0	8
	20	6	Mean	56	19	55	1	316	75	18	133	0.1	111
			S.D.	6	4	14	1	110	10	6	19	0.0	7
	60	6	Mean	55	21	49	1	304	79	16	135	0.1	106
			S.D.	6	3	9	1	114	16	6	28	0.0	9

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 7-2

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks
 Blood chemistry (After administration period)

Sex	Dose mg/kg	No.		BUN mg/dL	CRNN mg/dL	Na mmol/L	K mmol/L	Cl mmol/L	Ca mg/dL	P mg/dL	TP g/dL	ALB g/dL	A/G
Male	0	6	Mean	12	0.21	143	4.4	106	9.7	7.8	5.9	3.1	1.11
			S.D.	2	0.02	2	0.3	1	0.1	0.7	0.2	0.1	0.05
	8	6	Mean	12	0.19	143	4.4	108	9.8	7.8	6.1	3.2	1.08
			S.D.	2	0.02	1	0.3	2	0.3	0.4	0.1	0.1	0.06
	20	6	Mean	12	0.22	143	4.8*	107	9.9	7.7	6.2*	3.2	1.06
			S.D.	1	0.03	1	0.2D	1	0.1	0.8	0.2D	0.1	0.10
	60	6	Mean	12	0.21	143	4.9*	106	10.2**	8.3	6.3**	3.3	1.07
			S.D.	1	0.03	1	0.3D	2	0.2D	0.7	0.2D	0.1	0.06
Female	0	6	Mean	18	0.30	140	4.7	108	9.7	7.2	6.1	3.2	1.14
			S.D.	5	0.08	2	0.3	1	0.3	0.5	0.3	0.1	0.11
	8	6	Mean	17	0.29	141	4.8	108	9.8	7.5	6.0	3.3	1.17
			S.D.	4	0.05	1	0.4	2	0.2	0.7	0.2	0.1	0.03
	20	6	Mean	17	0.28	140	4.6	107	9.9	7.1	6.2	3.3	1.14
			S.D.	5	0.06	2	0.4	1	0.2	0.2	0.3	0.2	0.10
	60	6	Mean	16	0.24	142	4.6	108	9.9	7.0	6.3	3.4	1.20
			S.D.	2	0.03	2	0.4	1	0.2	0.3	0.3	0.1	0.07

* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$ (Significant difference from control group)

D : Dunnett's test

Table 7-3

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks
 Blood chemistry (After recovery period)

Sex	Dose mg/kg	No.		AST	ALT	LDH	γ -GTP	ALP	T-CHO	TG	PL	T-BIL	GLU
				IU/L	IU/L	IU/L	IU/L	IU/L	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL
Male	0	6	Mean	61	27	52	1	460	57	54	98	0.1	136
			S.D.	3	3	8	0	80	11	16	16	0.0	16
	60	6	Mean	59	26	48	1	422	54	50	91	0.1	136
			S.D.	3	2	11	0	66	8	15	10	0.0	25
Female	0	6	Mean	56	19	51	1	279	57	16	110	0.1	112
			S.D.	7	4	17	0	56	6	7	10	0.0	17
	60	6	Mean	62	21	52	2	333	55	11	99	0.1	102
			S.D.	5	1	19	1	61	8	5	12	0.0	16

No significant difference between treated group and control group.

Table 7-4 A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks
 Blood chemistry (After recovery period)

Sex	Dose mg/kg	No.		BUN mg/dL	CRNN mg/dL	Na mmol/L	K mmol/L	Cl mmol/L	Ca mg/dL	P mg/dL	TP g/dL	ALB g/dL	A/G
Male	0	6	Mean	13	0.25	144	4.4	107	9.5	7.0	6.0	3.2	1.18
			S.D.	1	0.03	2	0.3	2	0.4	0.4	0.2	0.1	0.11
	60	6	Mean	12	0.22	144	4.8	106	9.4	7.7*	5.9	3.1*	1.11
			S.D.	2	0.02	1	0.3	1	0.4	0.5T	0.3	0.1T	0.08
Female	0	6	Mean	18	0.31	143	4.4	110	9.6	6.9	6.5	3.6	1.27
			S.D.	3	0.06	0	0.4	1	0.2	0.4	0.3	0.2	0.06
	60	6	Mean	19	0.36	142	4.5	111	9.4	6.7	6.1*	3.3**	1.22
			S.D.	3	0.06	1	0.2	1	0.2	0.6	0.2T	0.1T	0.07

* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$ (Significant difference from control group)

T : Student's t-test

Table 8-1

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks

Absolute and relative organ weight (After administration period)

Male

	Dose mg/kg		Body weight	Brain	Thymus	Heart	Liver	Spleen	Kidney (R+L)	Adrenal (R+L)
			g	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	371	2.00	524	1.24	10.68	0.66	2.68	61
		S.D.	36	0.11	115	0.06	1.82	0.05	0.31	7
	8	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	380	2.05	512	1.37	11.13	0.62	2.91	62
		S.D.	22	0.08	155	0.24	1.19	0.07	0.24	8
	20	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	372	2.04	531	1.35	10.93	0.74	2.81	60
		S.D.	26	0.11	102	0.19	1.08	0.09	0.20	9
	60	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	377	2.00	462	1.23	12.52	0.85**	2.91	63
		S.D.	21	0.08	44	0.12	0.81	0.13D	0.24	8
Relative	0	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.55	140	0.34	2.87	0.18	0.72	17
		S.D.		0.09	20	0.04	0.28	0.02	0.05	2
	8	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.54	134	0.36	2.92	0.16	0.77	16
		S.D.		0.03	35	0.06	0.17	0.01	0.04	2
	20	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.55	143	0.37	2.94	0.20	0.76	16
		S.D.		0.04	25	0.03	0.17	0.03	0.07	3
	60	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.53	123	0.33	3.32**	0.23*	0.77	17
		S.D.		0.04	9	0.04	0.11D	0.03D	0.04	2

* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$ (Significant difference from control group)

D : Dunnett's test

Table 8-2

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks

Absolute and relative organ weight (After administration period)

Male

		Dose		Testis	Epididymis
		mg/kg		(R+L)	(R+L)
				g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	6	6	6
		Mean	3.12	845	
		S.D.	0.13	67	
	8	No.	6	6	6
		Mean	3.21	832	
		S.D.	0.27	60	
	20	No.	6	6	6
		Mean	3.04	810	
		S.D.	0.12	61	
	60	No.	6	6	6
		Mean	3.29	835	
		S.D.	0.36	73	
Relative	0	No.	6	6	6
		Mean	0.85	231	
		S.D.	0.11	36	
	8	No.	6	6	6
		Mean	0.85	219	
		S.D.	0.06	15	
	20	No.	6	6	6
		Mean	0.82	218	
		S.D.	0.04	19	
	60	No.	6	6	6
		Mean	0.88	222	
		S.D.	0.11	22	

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 8-3

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks

Absolute and relative organ weight (After administration period)

Female

	Dose mg/kg		Body weight	Brain	Thymus	Heart	Liver	Spleen	Kidney (R+L)	Adrenal (R+L)
			g	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	214	1.78	432	0.78	5.85	0.45	1.58	63
		S.D.	11	0.06	68	0.05	0.45	0.02	0.10	9
	8	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	214	1.85	459	0.74	6.10	0.45	1.60	68
		S.D.	21	0.05	62	0.04	0.52	0.07	0.18	10
	20	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	211	1.84	452	0.81	6.31	0.47	1.67	69
		S.D.	12	0.06	64	0.08	0.45	0.08	0.12	10
	60	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	199	1.82	444	0.75	6.11	0.53	1.55	64
		S.D.	18	0.05	98	0.10	0.45	0.09	0.13	7
Relative	0	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.83	202	0.36	2.74	0.21	0.74	29
		S.D.		0.06	33	0.02	0.17	0.02	0.05	3
	8	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.87	214	0.35	2.86	0.21	0.75	32
		S.D.		0.09	10	0.03	0.11	0.02	0.04	4
	20	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.88	215	0.38	2.99**	0.22	0.79	32
		S.D.		0.07	31	0.03	0.15D	0.04	0.04	3
	60	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.92	222	0.38	3.07**	0.27**	0.78	32
		S.D.		0.10	38	0.03	0.10D	0.04D	0.05	4

** : p<0.01 (Significant difference from control group)

D : Dunnett's test

Table 8-4

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks

Absolute and relative organ weight (After administration period)

Female

		Ovary (R+L)		Uterus
Dose mg/kg		mg(mg/100g BW)		mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	6	6
		Mean	79.6	356
		S.D.	5.7	61
	8	No.	6	6
		Mean	88.3	452
		S.D.	8.2	85
	20	No.	6	6
		Mean	82.9	423
		S.D.	14.7	81
	60	No.	6	6
		Mean	84.0	490*
		S.D.	10.4	94D
Relative	0	No.	6	6
		Mean	37.3	167
		S.D.	2.7	30
	8	No.	6	6
		Mean	41.4	212
		S.D.	3.5	39
	20	No.	6	6
		Mean	39.2	202
		S.D.	6.0	47
	60	No.	6	6
		Mean	42.3	249*
		S.D.	5.0	60D

* : p<0.05 (Significant difference from control group)

D : Dunnett's test

Table 8-5

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks

Absolute and relative organ weight (After recovery period)

Male

	Dose mg/kg		Body weight	Brain	Thymus	Heart	Liver	Spleen	Kidney (R+L)	Adrenal (R+L)
			g	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	444	2.05	403	1.25	11.85	0.70	2.86	64
		S.D.	27	0.11	36	0.06	0.80	0.05	0.28	10
	60	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	439	2.09	486*	1.48	12.06	0.86**	3.04	71
		S.D.	24	0.15	54T	0.32	1.39	0.10T	0.25	15
Relative	0	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.46	91	0.28	2.67	0.16	0.64	14
		S.D.		0.03	7	0.01	0.08	0.02	0.04	2
	60	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.48	111*	0.34	2.74	0.20**	0.69	16
		S.D.		0.05	18AT	0.07	0.21	0.02T	0.05	3

* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$ (Significant difference from control group)

T : Student's t-test

AT : Aspin-Welch t-test

Table 8-6

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks

Absolute and relative organ weight (After recovery period)

Male

		Testis (R+L) g(g/100g BW)		Epididymis (R+L) mg(mg/100g BW)	
Dose mg/kg					
Absolute	0	No.	6	6	
		Mean	3.27	1125	
		S.D.	0.16	55	
	60	No.	6	6	
		Mean	3.18	1030*	
		S.D.	0.20	77T	
Relative	0	No.	6	6	
		Mean	0.74	254	
		S.D.	0.03	16	
	60	No.	6	6	
		Mean	0.73	235	
		S.D.	0.08	24	

* : p<0.05 (Significant difference from control group)

T : Student's t-test

Table 8-7

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks

Absolute and relative organ weight (After recovery period)

Female

	Dose mg/kg		Body weight	Brain	Thymus	Heart	Liver	Spleen	Kidney (R+L)	Adrenal (R+L)
			g	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	237	1.88	398	0.80	6.75	0.52	1.70	69
		S.D.	27	0.08	98	0.09	0.59	0.08	0.19	7
	60	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	229	1.81	409	0.77	6.06	0.53	1.65	70
		S.D.	21	0.12	93	0.08	0.62	0.06	0.20	8
Relative	0	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.80	168	0.34	2.86	0.22	0.72	29
		S.D.		0.09	43	0.02	0.20	0.02	0.07	2
	60	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.80	179	0.34	2.65	0.23	0.72	31
		S.D.		0.05	37	0.01	0.15	0.03	0.05	3

No significant difference between treated group and control group.

Table 8-8

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks

Absolute and relative organ weight (After recovery period)

Female

		Ovary (R+L)		Uterus
Dose mg/kg		mg(mg/100g BW)		mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	6	6
		Mean	94.8	515
		S.D.	12.5	178
	60	No.	6	6
		Mean	90.3	376
		S.D.	13.2	40
Relative	0	No.	6	6
		Mean	40.4	216
		S.D.	7.3	67
	60	No.	6	6
		Mean	39.5	165
		S.D.	4.4	14

No significant difference between treated group and control group.

Table 9-1

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks
Gross pathological findings (After administration period)

Organs	Sex:	M	M	M	M	F	F	F	F
Findings	Dose(mg/kg): Number:	0 6	8 6	20 6	60 6	0 6	8 6	20 6	60 6
Spleen									
Discoloration, dark		0	0	0	4	0	0	0	6
Stomach									
Thickening, wall, forestomach		0	0	0	6	0	0	1	6
Focus, dark red, glandular stomach		0	0	0	0	0	0	1	1
Thyroid									
Small		0	0	0	0	0	0	0	1

M : Male, F : Female

Table 9-2

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks

Gross pathological findings (After recovery period)

Organs	Sex:	M	M	F	F
Findings	Dose(mg/kg): Number:	0 6	60 6	0 6	60 6
All tissues					
Not remarkable		6	6	6	6

M : Male, F : Female

Table 10-1

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptanaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks
 Histopathological findings (After administration period)

Organs	Sex:	M	M	M	M	F	F	F	F
Findings	Dose(mg/kg): Number:	0 6	8 6	20 6	60 6	0 6	8 6	20 6	60 6
Adrenal									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Bone+Bone marrow, femoral									
Number examined		6	0	0	6	6	6	6	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	6	6	1
Erythropoiesis, increased		0	0	0	0	0	0	0	5
minimal		0	0	0	0	0	0	0	5
Bone+Bone marrow, sternal									
Number examined		6	0	0	6	6	6	6	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	6	6	1
Erythropoiesis, increased		0	0	0	0	0	0	0	5
minimal		0	0	0	0	0	0	0	5
Cerebellum									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Cerebrum									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Epididymis									
Number examined		6	0	0	6	-	-	-	-
Not remarkable		3	0	0	3	-	-	-	-
Cell infiltration, interstitial		3	0	0	3	-	-	-	-
minimal		3	0	0	3	-	-	-	-
Eye									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Heart									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Intestine, duodenum									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Intestine, jejunum									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Intestine, ileum(Peyer's patch)									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Intestine, cecum									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Intestine, colon									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Intestine, rectum									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6

M : Male, F : Female
 - : Not applicable

Table 10-2 A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks
Histopathological findings (After administration period)

Organs	Sex:	M	M	M	M	F	F	F	F
Findings	Dose(mg/kg): Number:	0 6	8 6	20 6	60 6	0 6	8 6	20 6	60 6
Liver									
Number examined		6	6	6	6	6	6	6	6
Not remarkable		1	1	1	0	2	4	2	0
Microgranuloma		5	5	2	4	4	2	4	3
minimal		5	5	2	4	4	2	4	3
Hypertrophy, hepatocytic, central		0	0	5	6	0	0	0	6
minimal		0	0	5	2	0	0	0	6
mild		0	0	0	4	0	0	0	0
Lung(bronchus)									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		5	0	0	6	6	0	0	6
Appearance, alveolar macrophage		1	0	0	0	0	0	0	0
minimal		1	0	0	0	0	0	0	0
Lymph node, mesenteric									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Lymph node, submandibular									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Kidney									
Number examined		6	6	6	6	6	0	0	6
Not remarkable		2	4	5	1	4	0	0	5
Regeneration, tubular		2	2	1	2	2	0	0	0
minimal		2	2	1	2	2	0	0	0
Eosinophilic body, tubular cell		0	0	0	3	0	0	0	0
minimal		0	0	0	3	0	0	0	0
Urinary cast, hyaline		1	0	0	0	0	0	0	0
minimal		1	0	0	0	0	0	0	0
Cell infiltration, interstitial		2	1	0	2	1	0	0	1
minimal		2	1	0	2	1	0	0	1
Kidney(alpha2u globulin)									
Number examined		0	0	0	3	0	0	0	0
Alpha2u globulin, immunohistochemistry		0	0	0	3	0	0	0	0
positive		0	0	0	3	0	0	0	0
Kidney(PAS stain)									
Number examined		0	0	0	3	0	0	0	0
PAS reaction		0	0	0	3	0	0	0	0
negative		0	0	0	3	0	0	0	0
Ovary									
Number examined		-	-	-	-	6	0	0	6
Not remarkable		-	-	-	-	6	0	0	6
Parathyroid									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	5
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	5
No sample		0	0	0	0	0	0	0	1
Pituitary									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Prostate									
Number examined		6	0	0	6	-	-	-	-
Not remarkable		4	0	0	3	-	-	-	-
Cell infiltration, inflammatory		2	0	0	3	-	-	-	-
minimal		1	0	0	2	-	-	-	-
mild		1	0	0	1	-	-	-	-

M : Male, F : Female
- : Not applicable

Table 10-3

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks
 Histopathological findings (After administration period)

Organs	Sex:	M	M	M	M	F	F	F	F
Findings	Dose(mg/kg): Number:	0 6	8 6	20 6	60 6	0 6	8 6	20 6	60 6
Sciatic nerve									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Skeletal muscle, femoral									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		4	0	0	5	5	0	0	5
Cell infiltration		2	0	0	1	1	0	0	1
minimal		2	0	0	1	1	0	0	1
Spinal cord, thoracic									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Spleen									
Number examined		6	6	6	6	6	6	6	6
Not remarkable		6	6	3	0	6	6	0	0
Hematopoiesis, increased		0	0	3	6	0	0	3	6
minimal		0	0	3	4	0	0	3	4
mild		0	0	0	2	0	0	0	2
Brown pigment, increased		0	0	0	6	0	0	6	6
minimal		0	0	0	6	0	0	6	0
mild		0	0	0	0	0	0	0	6
Stomach									
Number examined		6	6	6	6	6	6	6	6
Not remarkable		6	6	1	0	6	6	0	0
Erosion, glandular stomach		0	0	0	0	0	0	1	1
minimal		0	0	0	0	0	0	1	1
Hyperplasia, squamous, forestomach		0	0	4	6	0	0	4	6
minimal		0	0	4	0	0	0	2	0
mild		0	0	0	5	0	0	2	3
moderate		0	0	0	1	0	0	0	3
Hyperplasia, squamous, limiting ridge		0	0	5	6	0	0	5	6
minimal		0	0	5	4	0	0	4	2
mild		0	0	0	2	0	0	1	4
Hyperkeratosis, forestomach		0	0	2	6	0	0	2	6
minimal		0	0	2	0	0	0	2	0
mild		0	0	0	6	0	0	0	5
moderate		0	0	0	0	0	0	0	1
Testis									
Number examined		6	0	0	6	-	-	-	-
Not remarkable		6	0	0	6	-	-	-	-
Thymus									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Thyroid									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		3	0	0	5	4	0	0	6
Ectopic thymus		2	0	0	0	0	0	0	0
minimal		2	0	0	0	0	0	0	0
Remnant, ultimobranchial body		1	0	0	1	2	0	0	0
minimal		1	0	0	1	2	0	0	0
Trachea									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6

M : Male, F : Female
 - : Not applicable

Table 10-4

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks

Histopathological findings (After administration period)

Organs	Sex:	M	M	M	M	F	F	F	F
Findings	Dose(mg/kg): Number:	0 6	8 6	20 6	60 6	0 6	8 6	20 6	60 6
Urinary bladder									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Uterus									
Number examined		-	-	-	-	6	0	0	6
Not remarkable		-	-	-	-	6	0	0	6

M : Male, F : Female

- : Not applicable

Table 10-5

A 28-day oral toxicity study of 2-Mercaptonaphthalene in rats with a recovery period of 2 weeks
 Histopathological findings (After recovery period)

Organs	Sex: Dose(mg/kg): Number:	M 0 6	M 60 6	F 0 6	F 60 6
Findings					
Bone+Bone marrow,femoral					
Number examined		0	0	6	6
Not remarkable		0	0	6	6
Bone+Bone marrow, sternal					
Number examined		0	0	6	6
Not remarkable		0	0	6	6
Liver					
Number examined		6	6	6	6
Not remarkable		2	0	2	0
Microgranuloma		4	6	4	6
minimal		4	6	4	6
Kidney					
Number examined		6	6	0	0
Not remarkable		4	2	0	0
Regeneration,tubular		2	4	0	0
minimal		2	4	0	0
Cell infiltration,interstitial		1	2	0	0
minimal		1	2	0	0
Spleen					
Number examined		6	6	6	6
Not remarkable		6	0	5	0
Brown pigment,increased		0	6	1	6
minimal		0	6	1	0
mild		0	0	0	6
Stomach					
Number examined		6	6	6	6
Not remarkable		5	3	6	3
Hyperplasia,squamous,forestomach		0	1	0	0
minimal		0	1	0	0
Hyperplasia,squamous,limiting ridge		1	3	0	3
minimal		1	3	0	3

M : Male, F : Female