

(11) 白血球数 (WBC)	酸性界面活性剤によるレーザーFCM 法
(12) 白血球百分率 (WBC Diff.)	ペルオキシダーゼ染色による FCM 法および酸性界面活性剤によるレーザーFCM 法

測定機器：

(1)～(3), (7), (8), (11), (12)： ADVIA120 (バイエル メディカル株式会社)  
 (9), (10)： CA-510 (シスメックス株式会社)

### 血清生化学的検査

児動物について、計画解剖時に採取した血液の一部を室温で 30 分間以上静置後、遠心分離 (3000 rpm, 2050 g, 10 分間, 約 4°C) し、得られた血清を用いて以下に示す項目を測定した。

項目	方法
(1) ASAT (GOT)	UV-rate法 (JSCC改良法)
(2) ALAT (GPT)	UV-rate法 (JSCC改良法)
(3) $\gamma$ GT	$\gamma$ -グルタミル-p-ニトロアニリド基質法 (SSCC改良法)
(4) ALP	p-ニトロフェニルリン酸基質法 (JSCC改良法)
(5) 総ビリルビン	酵素法 (BOD法)
(6) 尿素窒素	酵素-UV法 (Urease-LEDH法)
(7) クレアチニン	酵素法 (Creatininase-POD法)
(8) グルコース	酵素法 (HK-G6PDH法)
(9) 総コレステロール	酵素法 (CO-HDAOS法)
(10) トリグリセライド	酵素法 (GPO-HDAOS法, グリセリン消去法)
(11) 総蛋白	Biuret法
(12) アルブミン	BCG法
(13) A/G比	(11) および (12) より算出
(14) カルシウム	OCPC法
(15) 無機リン	酵素法 (PNP-XOD-POD法)
(16) ナトリウム (Na)	イオン選択電極法
(17) カリウム (K)	イオン選択電極法
(18) クロール (Cl)	イオン選択電極法

測定機器：TBA-200FR (株式会社東芝)

### 器官重量

児動物の下記の器官重量を電子天秤 (AW-120, 株式会社島津製作所) を用いて測定した。両

側性の器官はまとめて測定した。また、解剖日に体重を測定し、その体重に基づいて相対重量（対体重比）を算出した。

肝臓、腎臓、副腎、精巣、精巣上体、子宮、卵巣、胸腺、脾臓、脳、心臓

#### 病理解剖検査

児動物の計画解剖動物は採血後、腹大動脈を切断・放血し、安楽死させた後、剖検した。なお、母動物については離乳時に同様に剖検し、全例に異常がないことを確認した。

#### 病理組織学的検査

児動物の下記器官・組織を採取し、10 vol %中性リン酸緩衝ホルマリン液で固定し、保存した。ただし、精巣および精巣上体はブアン液で、眼球、ハーダー腺および視神経はダビドソン液でそれぞれ固定後、10 vol %中性リン酸緩衝ホルマリン液で保存した。

肉眼的異常部位、脳（4断面）、脊髄（頸部、胸部中央、腰部）、下垂体、甲状腺および上皮小体、胸腺、食道、唾液腺（下顎・舌下）、胃、十二指腸、空腸、回腸（パイエル板含む）、盲腸、結腸、直腸、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、脾臓、心臓、気管、肺、胸部大動脈、精巣、精巣上体、前立腺腹葉、精嚢、卵巣、子宮、膣、乳腺（雌のみ）、膀胱、下顎リンパ節、腸間膜リンパ節、坐骨神経、大腿筋、胸骨および骨髄、大腿骨および骨髄、皮膚、眼球およびハーダー腺、視神経

対照群と 1.0 mg/kg 群の雌雄全例の上記器官・組織、ならびに対照群を含む全動物の肉眼的異常部位について、常法に従ってヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製し、鏡検した。検査の結果、1.0 mg/kg 群で被験物質に起因すると考えられる変化が雌雄の肝臓に認められたため、0.1 および 0.3 mg/kg 群の雌雄の肝臓について検査を実施した。

#### **結果および結論**

母動物の哺育状況を確認するため、児動物の体重および摂餌量データについて各群の母動物ごとに一元配置分散分析を実施した。その結果、ほとんどのデータで同一群内の母動物間に有意差があることが確認された。しかし、有意差は群に偏ることなく、いずれの群でも認められていることから、児動物の体重および摂餌量データを用いた毒性評価は十分に可能であるものと判断した。

死亡例は認められず、また一般状態および病理解剖所見には何ら異常は認められなかった。

体重では、1.0 mg/kg 群の雌で第 22 日から投与期間終了時まで有意な低値が認められた。

血液学的検査では、0.3 および 1.0 mg/kg 群の雄に赤血球数の低値がみられ、また 1.0 mg/kg 群の雄に単球比の低値が認められた。さらに、1.0 mg/kg 群の雌に血小板数の高値および PT の延長が認められた。

血清生化学的検査では、1.0 mg/kg 群の雄にトリグリセライドの高値および A/G 比の低値が認

められた。

器官重量では、1.0 mg/kg 群の雌に肝臓の相対重量の高値が認められた。

病理組織学的検査では、1.0 mg/kg 群の雌雄全例に胆管増生がみられ、1.0 mg/kg 群の雄 9/12 例、雌 7/12 例にグリソン鞘における炎症性細胞浸潤が認められた。なお、造血系器官である骨髄、脾臓には異常変化はみられず、また脳のヘマトキシリン・エオジン染色標本では器質的变化は認められなかった。

以上の結果より、被験物質投与に起因すると考えられる変化が雄で 0.3 mg/kg 以上の群に、雌では 1.0 mg/kg 群に認められたことから、本試験条件下における DPAA の無影響量 (NOEL) は雄が 0.1 mg/kg/day、雌が 0.3 mg/kg/day と判断した。

#### 5.1.4 DPAA ラット 7 日反復経皮毒性試験

コード番号： A-4

試験番号： B040272

DPAA を 0 および 1000 mg/kg の用量で雄の SD 系ラット [Crj:CD(SD) IGS, SPF] に各群 5 匹ずつ 7 日間反復経皮投与し、現れる生体の機能および形態の変化を観察し、その毒性を評価した。

#### 結果および結論

投与期間を通じて、死亡動物は認められなかった。

一般状態において、着色尿 (黄色) が 1000 mg/kg 群に認められた。

体重では、1000 mg/kg 群に低値傾向が認められた。

器官重量において、1000 mg/kg 群に肝臓、脾臓、腎臓および副腎の絶対・相対重量の高値が認められた。

病理解剖検査において、1000 mg/kg 群に肝臓の腫大 (3/5 例)、精巣黄色化 (2/5 例)、副腎の腫大 (2/5 例)、脾臓の暗赤色化・腫大 (1/5 例)、肝臓の褪色・赤色斑 (各 1/5 例)、腎臓の腫大 (1/5 例) が認められた。

以上の結果より、DPAA 投与に起因すると考えられる種々の変化が認められた。したがって、本試験条件下では DPAA は経皮吸収される可能性があるものと判断した。

#### 5.1.5 PMAA ラット 28 日反復経口毒性試験

コード番号： A-5

試験番号： B050132

PMAA を 0, 0.12, 0.3, 1.2 および 5.0 mg/kg の用量で雌雄の SD 系ラット [Crj:CD(SD) IGS, SPF] に 28 日間反復経口投与し、現れる生体の機能および形態の変化を観察し、その毒性と

回復性を評価した。

#### 群構成

群名	動物数			
	投与期間終了後解剖		回復期間終了後解剖	
	雄	雌	雄	雌
対照	5	5	5	5
0.12 mg/kg	5	5	-	-
0.3 mg/kg	5	5	-	-
1.2 mg/kg	5	5	-	-
5.0 mg/kg	5	5	5	5

#### 観察・測定項目

##### 一般状態

投与期間は1日2回（投与前，投与後約30分）観察した。その他の期間は1日1回午前中に観察した。

##### 詳細な症状観察

投与開始前に1回，投与期間中に毎週1回（午後），下記の項目について検査を行った。飼育ケージ内で1分間，ハンドリング時およびオープンフィールド内で2分間の観察を行った。検査時には，動物番号とは別の検査番号を記載したラベルを付けて，用量および動物番号を観察者に判らないようにした。なお，投与期間中の検査で被験物質投与による影響はみられなかったことから，回復期間には検査を行わなかった。

- (1) 飼育ケージ内での観察  
振戦，間代性痙攣，強直性痙攣，呼吸
- (2) ハンドリング時の観察  
ケージからの取り出し易さ，ハンドリングに対する反応，攻撃性，皮膚（外傷，皮膚の色調），被毛（被毛の汚れ），眼（眼球突出，眼瞼閉鎖状態），粘膜（結膜の色調），分泌物，流涙，流涎，立毛，瞳孔径
- (3) オープンフィールド内での観察  
立ち上がり，覚醒度，排尿，排便，体位・姿勢，呼吸，運動協調性，歩行の異常，振戦，間代性痙攣，強直性痙攣，常同行動，異常行動

##### 機能検査

第4週に1回（午後），下記の項目について検査を行った。刺激に対する反応性を観察した後，

握力測定を行った。握力測定には、デジタルフォースゲージ（株式会社イマダ）を使用した。自発運動量の測定は、自発運動量測定装置（SUPERMEX, 室町機械株式会社）を用い1時間行った。なお、運動量測定時にはポリカーボネート製ケージ（床敷含む）を使用した。投与後の観察終了後、動物をポリカーボネート製ケージに移し、ケージ馴化を行った。その後、測定直前に新たなポリカーボネート製ケージに動物を移して測定した。また、測定期間中は餌および飲用水を与えなかった。自発運動量の測定以外の検査時には、動物番号とは別の検査番号を記載したラベルを付けて、用量および動物番号を観察者に判らないようにした。なお、第4週での検査で被験物質投与の影響による変化は認められなかったことから、回復期間には検査を行わなかった。

- (1) 刺激に対する反応性  
接近反応, 接触反応, 聴覚反応, テールピンチ反応, 空中正向反射
- (2) 握力測定  
前肢握力, 後肢握力
- (3) 自発運動量測定  
測定開始から10分毎に集計するとともに1時間の総量を求めた。

#### 体重

全生存例について、投与期間の第1, 8, 15, 22 および 28 日, 回復期間の第 29, 36 および 42 日に電子天秤（BX3200H：株式会社島津製作所）を用いて測定した。

#### 摂餌量

個別に飼料の風袋込み重量を電子天秤（BX3200H：株式会社島津製作所）を用いて測定し、投与期間中の第1～8, 8～15, 15～22, 24～28日, 回復期間中の第29～36 および 38～42日における1日平均摂餌量を算出した。また、摂餌量は測定期間の終了日で表示した。

#### 血液学的検査

投与および回復期間終了後の計画解剖日（第29 および 43 日）に全対象動物を前日の夕方より絶食し、ペントバルビタールナトリウム（ネンブタール, 大日本製薬株式会社）を腹腔内投与して麻酔し、後大静脈より採血した。採取した血液を用いて次に示す項目を測定した。プロトロンビン時間および活性化部分トロンボプラスチン時間の測定には、凝固阻止剤として3.2 w/v%クエン酸三ナトリウム水溶液を使用し、遠心分離（12000 rpm, 約 12000 g, 3 分間, 4°C）して得られた血漿を用いた。その他の項目の測定には、凝固阻止剤 EDTA-2K で処理した血液を用いた。

項目	方法
(1) 赤血球数 (RBC)	球状化处理二次元レーザーFCM 法
(2) ヘモグロビン濃度 (Hb)	シアンメトヘモグロビン法
(3) ヘマトクリット値 (Ht)	球状化处理二次元レーザーFCM 法
(4) 平均赤血球容積 (MCV)	(1), (3)より算出
(5) 平均赤血球血色素量 (MCH)	(1), (2)より算出
(6) 平均赤血球血色素濃度 (MCHC)	(2), (3)より算出
(7) 網赤血球数 (Ret)	RNA 染色によるレーザーFCM 法
(8) 血小板数 (PLT)	球状化处理二次元レーザーFCM 法
(9) プロトロンビン時間 (PT)	光散乱検出方式
(10) 活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)	光散乱検出方式
(11) 白血球数 (WBC)	酸性界面活性剤によるレーザーFCM 法
(12) 白血球百分率 (WBC Diff.)	ペルオキシダーゼ染色による FCM 法および酸性界面活性剤によるレーザーFCM 法

測定機器：

(1)-(3), (7), (8), (11), (12) : ADVIA120 (バイエル メディカル株式会社)

(9), (10) : CA-510 (シスメックス株式会社)

### 血清生化学的検査

計画解剖時に採取した血液の一部を室温で30分間以上静置後、遠心分離(3000 rpm, 約2050 g, 10分間, 約4°C)し、得られた血清を用いて下記の項目を測定した。なお、対照群の雌1例(動物番号70109)のカリウムについては、測定上限を越えたため、精製水にて希釈後再測定し、データとした。

項目	方法
(1) ASAT (GOT)	UV-rate法 (JSCC改良法)
(2) ALAT (GPT)	UV-rate法 (JSCC改良法)
(3) $\gamma$ GT	$\gamma$ -グルタミル-p-ニトロアニリド基質法 (SSCC改良法)
(4) ALP	p-ニトロフェニルリン酸基質法 (JSCC改良法)
(5) アセチルコリンエステラーゼ	アセチルチオコリン-DTNB法
(6) 総ビリルビン	酵素法 (BOD法)
(7) 尿素窒素	酵素-UV法 (Urease-LEDH法)
(8) クレアチニン	酵素法 (Creatininase-POD法)

(9)	グルコース	酵素法 (HK-G6PDH法)
(10)	総コレステロール	酵素法 (CO-HDAOS法)
(11)	トリグリセライド	酵素法 (GPO-HDAOS法, グリセリン消去法)
(12)	総蛋白	Biuret法
(13)	アルブミン	BCG法
(14)	A/G比	(12) および (13) より算出
(15)	カルシウム	OCPC法
(16)	無機リン	酵素法 (PNP-XOD-POD法)
(17)	ナトリウム (Na)	イオン選択電極法
(18)	カリウム (K)	イオン選択電極法
(19)	クロール (Cl)	イオン選択電極法

測定機器： TBA-200FR (株式会社東芝)

#### 尿検査

投与期間最終週 (第4週) に, 各群雌雄5匹 (各群動物番号の小さい順に5例), 回復期間最終週 (第6週) に, 対照群および5.0 mg/kg 群の全生存動物の新鮮尿を採取して, 下記の試験紙法の項目および尿沈渣を検査した. また, 約21時間蓄積尿を採取して, 尿量, 比重, ナトリウム, カリウムおよびクロールを検査した.

項目	方法
(1) pH	試験紙法 (マルティスティックス, バイエルメディカル株式会社)
(2) 蛋白	試験紙法 (マルティスティックス, バイエルメディカル株式会社)
(3) グルコース	試験紙法 (マルティスティックス, バイエルメディカル株式会社)
(4) ケトン体	試験紙法 (マルティスティックス, バイエルメディカル株式会社)
(5) ビリルビン	試験紙法 (マルティスティックス, バイエルメディカル株式会社)
(6) 潜血	試験紙法 (マルティスティックス, バイエルメディカル株式会社)
(7) ウロビリノーゲン	試験紙法 (マルティスティックス, バイエルメディカル株式会社)
(8) 尿量	メスシリンダーで測定
(9) 比重	屈折法
(10) ナトリウム	イオン選択電極法
(11) カリウム	イオン選択電極法
(12) クロール	電量滴定法
(13) 尿沈渣	Sternheimer-Malbin 染色した標本を鏡検

#### 測定機器

- (1)～(7)：クリニテック 100 (バイエル メディカル株式会社)  
(9)：ユリコン-JE (株式会社アタゴ)  
(10)～(12)：PVA- $\alpha$  III (株式会社エイアンドティー)

#### 器官重量

全生存例について、下記の器官重量を電子天秤 (AW120, ED-H60：株式会社島津製作所) を用いて測定した (両側性の器官はまとめて測定した)。解剖日に体重を測定し、その体重に基づいて相対重量 (対体重比) を算出した。死亡動物については、体重は測定したが、器官重量は測定しなかった。

肝臓、腎臓、副腎、精巣、精巣上部、卵巣、胸腺、脾臓、脳、心臓

#### 病理解剖検査

全計画解剖動物については、採血後、腹大動脈を切断・放血し、安楽死させた後、剖検した。死亡動物については、発見後速やかに剖検した。

#### 病理組織学的検査

全例の下記器官・組織を採取し、10 vol %中性リン酸緩衝ホルマリン液で固定し、保存した。ただし、精巣および精巣上部はブアン液で、眼球およびハーダー腺はダビドソン液でそれぞれ固定後、10 vol %中性リン酸緩衝ホルマリン液で保存した (死亡動物については10 vol %中性リン酸緩衝ホルマリン液で固定)。脳の固定については、特殊染色を行うため、10 vol %中性リン酸緩衝ホルマリン液中にて常温で約24時間とした。

脳 (大脳、小脳および橋を含む部位、4断面)、脊髄、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、副腎、脾臓、心臓、胸部大動脈、胸腺、眼球およびハーダー腺、下垂体、甲状腺 (上皮小体を含む)、気管および肺、精巣、卵巣、精巣上部、前立腺、子宮、膣、膀胱、下顎リンパ節、腸間膜リンパ節、坐骨神経 (大腿筋に付けて採材)、骨髄 (大腿骨)、腸腰筋 (腰腸筋)

投与期間終了後解剖動物の対照群と5.0 mg/kg群の雌雄全例および死亡動物の上記器官・組織について、常法に従ってヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製し、鏡検した。検査の結果、被験物質投与に起因すると思われる変化が肝臓に認められたため、全例の肝臓を検査した。なお、投与期間終了後解剖動物の対照群および5.0 mg/kg群の脳について、アポトーシス検出のためのTUNEL法、髄鞘を確認するためのKluver-Barrera染色、神経膠線維を確認するためのHolzer染色、軸索・神経線維を確認するためのBodian's染色を実施した。

#### 結果および結論

被験物質投与群に死亡動物は認められなかった。



5.0 mg/kg 群の雌雄に摂餌量の低値が認められた。

血清生化学的検査において、5.0 mg/kg 群でクロールの低値が雌雄に、トリグリセライドの低値が雄に、総ビリルビンの低値が雌に認められた。

病理組織学的検査において、5.0 mg/kg 群の雌雄に肝臓の胆管増生およびグリソン鞘における炎症性細胞浸潤が認められた。なお、造血系器官である骨髄、脾臓には異常変化はみられず、また脳のヘマトキシリン・エオジン染色標本では器質的变化は認められなかった。

一般状態観察、体重測定、血液学・血清生化学的検査、尿検査および剖検において、被験物質投与に起因した変化は認められなかった。

本試験で認められた変化のうち、肝臓の胆管増生が5.0 mg/kg 群の雄で投与期間終了後にもみられ、回復性が認められなかった。その他の変化については、回復性あるいは回復傾向が認められた。

以上の結果から、本試験条件下におけるPMAAの無影響量(NOEL)は雌雄ともに1.2 mg/kg/dayと判断した。

#### 5.1.6 MPAА ラット 28 日反復経口毒性試験

コード番号： A-6

試験番号： B050572

MPAA を 0, 2, 5 および 15 mg/kg の用量で雌雄ラット [CrI:CD(SD), SPF] に 28 日間反復経口投与し、現れる生体の機能および形態の変化を観察し、その毒性と回復性を評価した。

#### 群構成

群 名	動物数			
	投与期間終了後解剖		回復期間終了後解剖	
	雄	雌	雄	雌
対 照	5	5	5	5
2 mg/kg	5	5	-	-
5 mg/kg	5	5	-	-
15 mg/kg	6	5	4	5

#### 観察・測定項目

##### 一般状態

投与期間は1日2回（投与前，投与後約30分）観察した。その他の期間は1日1回午前中に観察した。

### 詳細な症状観察

投与開始前に1回、投与期間中に毎週1回（午後）、下記の項目について検査を行った。飼育ケージ内で1分間、ハンドリング時およびオープンフィールド内で2分間の観察を行った。検査時には、動物番号とは別の識別番号を記載したラベルを付けて、用量および動物番号を観察者に判らないようにした。なお、生存動物には被験物質投与による影響はみられなかったことから、回復期間には検査を行わなかった。

- (1) 飼育ケージ内での観察  
振戦、間代性痙攣、強直性痙攣、呼吸
- (2) ハンドリング時の観察  
ケージからの取り出し易さ、ハンドリングに対する反応、攻撃性、皮膚（外傷、皮膚の色調）、被毛（被毛の汚れ）、眼（眼球突出、眼瞼閉鎖状態）、粘膜（結膜の色調）、分泌物、流涙、流涎、立毛、瞳孔径
- (3) オープンフィールド内での観察  
立ち上がり、覚醒度、排尿、排便、体位・姿勢、呼吸、運動協調性、歩行の異常、振戦、間代性痙攣、強直性痙攣、常同行動、異常行動

### 機能検査

第4週に1回（午後）、下記の項目について検査を行った。刺激に対する反応性を観察した後、握力測定を行った。握力測定には、デジタルフォースゲージ（株式会社イマダ）を使用した。自発運動量の測定は、自発運動量測定装置（SUPERMEX、室町機械株式会社）を用い1時間行った。なお、運動量測定時には滅菌済みポリカーボネート製ケージ（床敷含む）を使用した。投与後の観察終了後、動物をポリカーボネート製ケージに移し、ケージ馴化を行った。その後、測定直前に新たなポリカーボネート製ケージに動物を移して測定した。また、測定期間中は餌および飲用水を与えなかった。自発運動量の測定以外の検査時には、動物番号とは別の識別番号を記載したラベルを付けて、用量および動物番号を観察者に判らないようにした。なお、第4週での検査で被験物質投与の影響が疑われる変化は認められなかったことから、回復期間には検査を行わなかった。

- (1) 刺激に対する反応性  
接近反応、接触反応、聴覚反応、テールピンチ反応、空中正向反射
- (2) 握力測定  
前肢握力、後肢握力
- (3) 自発運動量測定  
測定開始から10分毎に集計するとともに1時間の総量を求めた。

### 体重

全生存例について、投与期間の第1, 8, 15, 22 および 28 日、回復期間の第 29, 36 および 42 日に電子天秤（EB-3200S：株式会社島津製作所）を用いて測定した。また、各測定日間の

体重増加量を算出した。

### 摂餌量

個別に飼料の風袋込み重量を電子天秤（EB-3200S：株式会社島津製作所）を用いて測定し、投与期間中の第1～8, 8～15, 15～22, 23～28日, 回復期間中の第29～36および36～39日における1日平均摂餌量を算出した。また、摂餌量は測定期間の終了日で表示した。

### 血液学的検査

投与および回復期間終了後の計画解剖日（第29および43日）に全対象動物を前日の夕方より絶食し、ペントバルビタールナトリウム（ネンブタール、大日本製薬株式会社）を腹腔内投与して麻酔し、後大静脈より採血した。採取した血液を用いて次に示す項目を測定した。プロトロンビン時間および活性化部分トロンボプラスチン時間の測定には、凝固阻止剤として3.2 w/v%クエン酸三ナトリウム水溶液を使用し、遠心分離（12000 rpm, 約12000 g, 3分間, 4°C）して得られた血漿を用いた。その他の項目の測定には、凝固阻止剤EDTA-2Kで処理した血液を用いた。

項目	方法
(1) 赤血球数 (RBC)	球状化処理二次元レーザーFCM法
(2) ヘモグロビン濃度 (Hb)	シアンメトヘモグロビン法
(3) ヘマトクリット値 (Ht)	球状化処理二次元レーザーFCM法
(4) 平均赤血球容積 (MCV)	(1), (3)より算出
(5) 平均赤血球血色素量 (MCH)	(1), (2)より算出
(6) 平均赤血球血色素濃度 (MCHC)	(2), (3)より算出
(7) 網赤血球数 (Ret)	RNA染色によるレーザーFCM法
(8) 血小板数 (PLT)	球状化処理二次元レーザーFCM法
(9) プロトロンビン時間 (PT)	光散乱検出方式
(10) 活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)	光散乱検出方式
(11) 白血球数 (WBC)	酸性界面活性剤によるレーザーFCM法
(12) 白血球百分率 (WBC Diff.)	ペルオキシダーゼ染色によるFCM法および酸性界面活性剤によるレーザーFCM法

測定機器：

(1)～(3), (7), (8), (11), (12)：ADVIA120（バイエルメディカル株式会社）

(9), (10)：CA-510（シスメックス株式会社）

### 血清生化学的検査

計画解剖時に採取した血液の一部を室温で 30 分間以上静置後、遠心分離 (3000 rpm, 2050 g, 10 分間, 約 4°C) し、得られた血清を用いて下記の項目を測定した。なお、対照群の雄 1 例 (動物番号: 40102) のカリウムについては、測定上限を越えたため、精製水にて 2 倍に希釈した後再測定し、データとした。

項目	方法
(1) ASAT (GOT)	UV-rate法 (JSCC改良法)
(2) ALAT (GPT)	UV-rate法 (JSCC改良法)
(3) $\gamma$ GT	$\gamma$ -グルタミル-p-ニトロアニリド基質法 (SSCC改良法)
(4) ALP	p-ニトロフェニルリン酸基質法 (JSCC改良法)
(5) アセチルコリンエステラーゼ	アセチルチオコリン-DTNB法
(6) 総ビリルビン	酵素法 (BOD法)
(7) 尿素窒素	酵素-UV法 (Urease-LEDH法)
(8) クレアチニン	酵素法 (Creatininase-POD法)
(9) グルコース	酵素法 (HK-G6PDH法)
(10) 総コレステロール	酵素法 (CO-HDAOS法)
(11) トリグリセライド	酵素法 (GPO-HDAOS法, グリセリン消去法)
(12) 総蛋白	Biuret法
(13) アルブミン	BCG法
(14) A/G比	(12) および (13) より算出
(15) カルシウム	OCPC法
(16) 無機リン	酵素法 (PNP-XOD-POD法)
(17) ナトリウム (Na)	イオン選択電極法
(18) カリウム (K)	イオン選択電極法
(19) クロール (Cl)	イオン選択電極法

測定機器: TBA-200FR (株式会社東芝)

### 尿検査

投与期間最終週 (第 4 週) に、各群雌雄 5 匹 (各群動物番号の小さい順に 5 例)、回復期間最終週 (第 6 週) に、対照群および 15 mg/kg 群の全例 (15 mg/kg 群の雄は 3 例、それ以外は各 5 例) の新鮮尿を採取して、下記の試験紙法の項目および尿沈渣を検査した。また、約 21 時間蓄積尿を採取して、尿量、比重、ナトリウム、カリウムおよびクロールを検査した。