

博士論文

Wistar Hannover ラットを用いた一般毒性及び免疫毒性試験  
における性差及び加齢性変化に関する研究

大和矢 秀行

山口大学大学院連合獣医学研究科

(鹿児島大学)

2013 年 3 月

## 目 次

	頁
第1章 序文.....	1
1. Wistar Hannover ラットとは.....	1
2. Wistar Hannover ラットの特徴.....	1
3. アメリカ国家毒性プログラム (NTP) が推奨する動物の系統.....	3
4. 日本における Wistar Hannover ラットの使用実績.....	4
5. ラットで報告されている自然発生性特異病変.....	4
6. 本研究で使用する Wistar Hannover ラットの系統.....	4
7. 毒性試験評価項目におけるラットの系統差, 性差, 加齢性変化.....	5
8. 本研究の目的.....	6
第2章 Wistar Hannover ラットにおける一般毒性試験に関するデータ.....	8
1. 緒言.....	8
2. 材料及び方法.....	8
1) 動物.....	8
2) 体重.....	9
3) 摂餌量.....	9
4) 眼科的検査.....	9
5) 尿検査.....	9
6) 血液学的検査.....	10
7) 血液生化学的検査.....	11
8) 病理学的検査.....	12

(1) 剖検 .....	14
(2) 器官重量 .....	15
(3) 病理組織学的検査 .....	15
9) 肝薬物代謝酵素活性測定.....	15
10) 統計解析.....	16
3. 結果.....	17
1) 体重 .....	17
2) 摂餌量 .....	17
3) 一般状態 .....	17
4) 眼科的検査 .....	18
5) 尿検査 .....	18
6) 血液学的検査 .....	18
7) 血液生化学的検査 .....	19
8) 剖検 .....	19
9) 器官重量 .....	20
10) 病理組織学的検査.....	20
11) 肝薬物代謝酵素活性.....	20
4. 考察.....	21
5. Figures and Tables.....	26
第3章 Wistar Hannover ラットにおける免疫毒性試験に関するデータ .....	37
1. 緒言.....	37
2. 材料及び方法.....	39

1) 動物 .....	39
2) 白血球系細胞数, 血清アルブミン, グロブリン濃度 .....	39
3) イムノフェノタイピング (末梢血, 脾臓, 胸腺) .....	40
4) T細胞依存性抗体産生能.....	41
5) 統計解析 .....	42
3. 結果.....	42
1) 白血球系細胞数, 血清アルブミン, グロブリン濃度 .....	42
2) イムノフェノタイピング (末梢血, 脾臓, 胸腺) .....	43
3) T細胞依存性抗体産生.....	43
4. 考察.....	43
5. Tables.....	46
第4章 総合考察.....	49
第5章 要約.....	58
謝辞.....	61
引用文献.....	62
Attachment.....	71

# 第 1 章

## 序文

### 1. Wistar Hannover ラットとは

Wistar Hannover ラットは、欧州では従来から毒性試験に汎用されている系統である[1-4]。Zentral Institut für Versuchstierzucht (Hannover, Germany) はウィスター研究所 (Pennsylvania, USA) 由来の Wistar Hannover ラットを長年、維持・繁殖していた。1989年に Zentral Institut für Versuchstierzucht から Institute for Biomedical Research (Füllinsdorf, Switzerland) に 156 ペアが導入され、現在まで維持・繁殖されている。Institute for Biomedical Research はその後、Biological Research Laboratories Ltd. (Füllinsdorf, Switzerland), RCC Ltd. [Füllinsdorf, Switzerland, 現在 Harlan Laboratories, Inc. (Indiana, USA) グループ] に組織変更されている。RCC Ltd. 由来の Wistar Hannover ラットは、日本では株式会社日本医科学動物資材研究所 (東京, Harlan ブランド生産・販売ライセンス契約締結) が RccHan™:WIST, 日本チャールス・リバー株式会社 (横浜) が Cr1:WI(Han), 日本クレア株式会社 (東京) が Br1Han:WIST@Jcl (GALAS), 日本エスエルシー株式会社 (静岡) が Slc:WistarHannover/Rcc として生産・販売を行っている。本研究では RccHan™:WIST を用いた。

### 2. Wistar Hannover ラットの特徴

Wistar Hannover ラットは Sprague-Dawley (SD) ラットに比べて小型であり、長期

生存率に優れ、扱いやすい温和な性質であるとされている。

SD ラットを用いた 2 年間のがん原性試験終了時における体重は雄で  $770 \pm 140$  g, 雌で  $410 \pm 143$  g (平均±標準偏差) であるのに対して, Wistar Hannover ラットの体重は雄で約 650 g (体重範囲: 472~987 g), 雌で約 355 g (体重範囲: 179~533 g) であり, 雄で 120 g, 雌で 55 g 程度 SD ラットに比較して Wistar Hannover ラットが小型ということになる[3, 5].

Harlan Laboratories, Inc. において 1991~1995 年に行われた SD ラットを用いたがん原性試験の死亡率は雄で 69.1~81.8%, 雌で 61.8~76.4% であるのに対して, Wistar Hannover ラットの生存率は雌雄ともに約 73% である[3]. 平成 20 年 11 月 27 日薬食審査発第 1127001 号「医薬品のがん原性試験に関するガイドラインの改正について」では, 「最低用量群または対照群の動物の雌雄いずれか一方において累積死亡率が 75% になった場合には, その時点でその性の生存個体をと殺し, 試験を終了する。」と規定されており, がん原性試験における長期生存率に優れた Wistar Hannover ラットの有用性が期待されている. アメリカ国立衛生研究所 (National Institutes of Health: NIH, USA) のアメリカ国家毒性プログラム (National Toxicology Program: NTP, USA) ではがん原性試験での F344/N ラットの使用を推奨してきたが, 1971~1981 年の 11 年間に NTP が行った F344/N ラットを用いたがん原性試験における生存率は雄で 62.5~85.3%, 雌で 70.8~84.4% であり, 前述の Wistar Hannover ラットの生存率との間に明らかな差は認められない[6].

有坂らは Wistar Hannover ラット及び SD ラットを用い, 8 及び 10 週齢で血液生化学的検査, 血球測定, 血液凝固, 骨髄検査, 器官重量, 9~11 週齢で体重, 摂餌量, 摂水量測定, 自発行動解析を実施し, Wistar Hannover ラットが SD ラットに比較して

小型かつ温和な性質であるという系統差を報告している[7].

### 3. アメリカ国家毒性プログラム (NTP) が推奨する動物の系統

NTP ではがん原性試験において F344/N ラットの使用を推奨してきたが, F344 ラットは精巣の間細胞腫, 単核球性白血病, 下垂体腫瘍, 乳腺腫瘍などの自然発生腫瘍が高い確率で起きることが知られており, がん原性試験に用いる系統の検討がなされた[8-10]. 自然発生腫瘍のみならず, がん原性試験に使用する動物の系統選択には考慮すべきことが多く, 最終的な選択はその医薬品のがん原性試験以外の非臨床安全性試験で使用した動物の系統, Toxicokinetics 測定データ, 薬物に対する感受性などを含めて決定する必要がある. NTP でのがん生物学的検定に用いる系統の検討の結果, 毒性試験に用いるラットは, それまで使用してきた F344 ラットの使用の代替として, 次の 3 つの系統, すなわち他のソースから導入してコロニーを再構築した F344/N ラット, F344 ラットと Brown Norway ラットの F1 ハイブリッド, Wistar Hannover ラットの 3 種を検討するべきであるという提案があり[10], NTP は 2007 年 5 月 22 日にこれまでがん原性試験の系統に推奨してきた F344 ラットに代えて Wistar Hannover ラットを採用することに決定した. しかし, Wistar Hannover ラットは一腹当たりの産児数が少ない(10 匹に満たない)ことや胎児の性比が偏っているということなどから, NTP は 2009 年 2 月に Wistar Hannover ラットに代えて Harlan SD ラットを使用すると発表した. Harlan Laboratories, Inc. の背景データによると RccHan™:WIST の繁殖能は一腹当たり 11~14 匹であり, 胎児の性比もほぼ 1:1 であることから, NTP で導入した Wistar Hannover ラットに問題があった可能性がある.

#### 4. 日本における Wistar Hannover ラットの使用実績

日本におけるラットを用いた毒性試験ではSDラット及びF344ラットが汎用されているが、Wistar Hannover ラットの使用実績は少ない[11-15]。近年、SDラットと比較して小型、温和な性質、優れた長期生存性などから毒性試験における有用性が期待され、基礎データの収集が行われ始めた[7, 16, 17]。

#### 5. ラットで報告されている自然発生性特異病変

毒性試験を計画する過程において動物種及び系統を選択する際、その動物の特長を把握しておくことは非常に重要である。日本においてラットを用いた毒性試験に汎用されているF344ラットでは、前述のように精巢の間細胞腫、単核球性白血病、下垂体腫瘍、乳腺腫瘍などの自然発生腫瘍が発生し、同様に毒性試験の汎用系統であるSDラットでも下垂体及び乳腺腫瘍、慢性腎症が高頻度に起こることが知られている[8, 9, 18-21]。

Wistar Hannover ラットの由来は、Institute for Biomedical Research (Füllinsdorf, Switzerland) がすべてのブリーダーであるが、その自然発生性特異病変としてはBrlHan:WIST@Jcl (GALAS) では甲状腺形成不全と矮小ラット、Cr1:WI (Han) の冬眠腺腫及び慢性進行性腎症が知られている[22-26]。

#### 6. 本研究で使用する Wistar Hannover ラットの系統

RCC Ltd. は1996年、自社で生産しているWistar Hannover ラットに甲状腺に病変を確認したため、クリーニングを開始し、2000年にクリーニングが終了している。2000年以降にRCC Ltd. 由来のWistar Hannover ラットを導入している日本のブリーダーは



日本エスエルシー株式会社 (Slc:WistarHannover/Rcc) と株式会社日本医科学動物資材研究所 (RccHan<sup>TM</sup>:WIST) であるが、後者は定期的に遺伝子解析を行い、亜型が発現していないことを確認することで、毒性を評価する際にノイズとなる病変が発生しないように確認していることから、本研究で使用する Wistar Hannover ラットは RccHan<sup>TM</sup>:WIST とした。

## 7. 毒性試験評価項目におけるラットの系統差，性差，加齢性変化

げっ歯類の毒性評価項目において、血液学的検査及び血液生化学的検査では系統差，性差，加齢性変化があることが報告されている [27-29]。白田らは、血液学的検査及び血液生化学的検査項目の系統差を 7.5, 9.5, 18.5 週齢の SD ラット及び Wistar Hannover ラットを用いて検討した [27]。その結果，Wistar Hannover ラットと比較して，SD ラットでは雌雄で血小板，ロイシンアミノペプチダーゼ，トリグリセリド，雄でコリンエステラーゼ，尿素窒素，カリウム，雌で総コレステロール，遊離コレステロール，マグネシウムに系統差があり，特に総コレステロール，遊離コレステロール，トリグリセリドの系統差が顕著と報告している [27]。土屋らは，6～30 週齢の SD ラットにおける血液生化学的検査項目の性差と加齢性変化を検討し，加齢に伴い増加傾向が総蛋白，グルコース，総コレステロール，トリグリセリド， $\beta$  リポ蛋白，クレアチニン，直接ビリルビン，総ビリルビン，雌でアルブミン，リン脂質，コリンエステラーゼ，アラニントランスアミナーゼの合計 12 項目において雌雄で認められ，減少傾向がアスパラギン酸トランスアミナーゼ，アルカリフォスファターゼ，クレアチンキナーゼ，無機リンの 4 項目において雌雄で認められており，測定した週齢でほぼ一定の値を示して加齢性変化が全くみられなかったものとして，カルシウム，ナト

リウム，塩素の3項目が雌雄において，アラニントランスアミナーゼ，コリンエステラーゼ，アルブミンの3項目が雄において認められたと報告している[28]．また，雌が雄より高値を示したものはコリンエステラーゼ，アルブミン，リン脂質，遊離脂肪酸，尿素窒素，直接ビリルビン，総ビリルビン，鉄の8項目であり，カルシウム，ナトリウム，塩素及び総コレステロールには性差がないと報告している[28]．また，Murawski らは，Wistar Hannover ラットを用いて血清中の脂質代謝マーカー（コレステロールエステル，トリグリセリド，コレステロール，遊離脂肪酸，リン脂質，総脂質）及び総脂肪酸の37～1200日齢における加齢性変化を検討し，すべてのマーカーで有意な加齢性変化が認められ，135日齢以降の変化が特に顕著と報告している[29]．

ラットでは肝薬物代謝酵素においても系統差及び加齢性変化が報告されている[30, 31]．Warrington らは，CYP3A の発現量及び活性の加齢性変化を3～4カ月齢，13～14カ月齢及び25～26カ月齢のF344雄性ラットを用いて検討した[30]．その結果，CYP3A の発現量及び活性への加齢の影響は臓器によって特徴があり，CYP3A の発現量及び活性は肝臓では加齢と共に約50～70%に減少するが，腎臓ではCYP3A の1つのアイソフォームの発現量が1.5倍に増加したと報告している[30]．また，岸田らは，肝臓のCYP1A及び3Aの発現量の系統差をSDラット及びWistar Hannover ラットを用いて検討し，SDラットと比較してWistar Hannover ラットでは肝臓のCYP1A及び3AのmRNA発現量が有意に高いと報告している[31]．

## 8. 本研究の目的

以上のように，Wistar Hannover ラットは小型で長期生存率に優れ，扱いやすい温和な性質であり，毒性を評価する際にノイズとなる自然発生腫瘍などの病変も比較的

少なく、近年、日本においても毒性試験における Wistar Hannover ラットの使用が有用となることが期待されている。現在、日本におけるラットを用いた毒性試験の主な使用系統である SD ラットや F344 ラットでは、毒性評価項目における系統差、性差、加齢性変化が報告されており [32]、Wistar Hannover ラットを用いた毒性試験を計画する際には Wistar Hannover ラットの特徴を十分に把握しておく必要がある。そこで本研究では、Wistar Hannover ラットの中でも自然発生病変の報告が少ない RccHan<sup>TM</sup>:WIST ラットを用いて、「反復投与毒性試験に係るガイドラインの一部改正について」（平成 11 年 4 月 5 日医薬審第 655 号厚生省医薬安全局審査管理課長通知）及び「医薬品の免疫毒性試験に関するガイドラインについて」（平成 18 年 4 月 18 日薬食審査発第 0418001 号厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知）に関する代表的な検査項目について、亜急性から慢性毒性試験を想定した 8, 10, 19, 32 週齢でデータを収集し、性差及び加齢性変化に関する検討を行った。

本研究における動物実験は、株式会社新日本科学安全性研究所の動物実験委員会により承認されており、同研究所の動物実験規程に従って実施した。なお、試験施設は AAALAC International により認証されている。

## 第 2 章

### Wistar Hannover ラットにおける一般毒性試験に関するデータ

#### 1. 緒言

医薬品の製造（輸入）承認申請時に必要とされる反復投与毒性試験に関して「反復投与毒性試験に係るガイドラインの一部改正について」（平成 11 年 4 月 5 日医薬審第 655 号厚生省医薬安全局審査管理課長通知）では一般状態，体重，摂餌量，血液検査，尿検査，眼科的検査，剖検（器官・組織の肉眼的観察），器官重量測定，病理組織学的検査の実施が求められている。

そこで本研究では，Wistar Hannover ラットを用いた 2，4，13，26 週間反復毒性試験を想定した 8，10，19，32 週齢における一般毒性試験検査項目及び肝薬物代謝酵素活性のデータ収集を行い，性差及び加齢性変化について検討を行った。

#### 2. 材料及び方法

##### 1) 動物

株式会社日本医科学動物資材研究所の飯能生育場（埼玉）から 5 週齢の Wistar Hannover ラット（RccHan™:WIST ラット）を雌雄各 120 匹入手し，1 週間の検疫馴化を行った。動物は，許容範囲が室温 19～25℃，湿度が 30～70%，換気回数：15 回／時間，照明：1 日 12 時間（午前 7 時～午後 7 時）の人工照明に調整された株式会社新日本科学安全性研究所（鹿児島）の SPF 施設において，ステンレス製ケージ（325 mm×195 mm×180 mm）で個別飼育した。長期飼育用飼料（CR-LPF，オリエンタ

ル酵母工業株式会社，東京）を自由に与えたが，4時間以内の新鮮尿採取時及び剖検前日（17時前後より）は絶食させた．また，水道法水質基準に適合した水を自由に摂取させた．8，10，19，32週齢時にそれぞれ雌雄各30匹を用いて以下に示す各検査を実施した．

## 2) 体重

体重は全個体について週に1回，電子天秤（GX-4000，株式会社エー・アンド・デイ，東京）を用いて測定した．

## 3) 摂餌量

摂餌量は全個体について週に1回測定を行った．給餌量を電子天秤（GX-4000）で測定し，その翌日に残余量を測定して1日当たりの摂餌量を算出した．

## 4) 眼科的検査

8，10，19，32週齢時に各観察終了時に剖検した全個体（各観察ポイント雌雄各30匹）について眼科的検査を行った．肉眼及び対光反射検査はペンライトを用いて実施した．散瞳剤（ミドリンP，参天製薬株式会社，大阪）の点眼後にポータブルスリットランプ（SL-15，興和株式会社，愛知）を用いて前眼部及び中間透光体を額带式双眼倒像検眼鏡（I0- $\alpha$  Small Pupil，株式会社ナイツ，東京）を用いて眼底を検査した．

## 5) 尿検査

8，10，19，32週齢時に各観察終了時に剖検した全個体（各観察ポイント雌雄各30

匹) について尿検査を行った。代謝ケージを用いて 4 時間以内の尿を採取し、新鮮尿による検査を行った。また、代謝ケージを用いて 17 時前後から翌朝までの 16 時間蓄尿を採取して検査を行った。検査項目及び方法は以下の表に示す。

Table 1. 新鮮尿による検査 (検査項目及び方法)

検査項目	単位	測定方法	機種
蛋白	mg/dL	プロモピロガロールレッド・インジウム錯体法	UM-3410 <sup>a)</sup>
グルコース	mg/dL	GOD 過酸化水素電極法	

a) 全自動尿成分定量分析装置 (株式会社アークレイファクトリー, 京都)

Table 2. 蓄尿による検査 (検査項目及び方法)

検査項目	単位	測定方法	機種
尿量	mL	メスシリンダー使用	-
尿比重	-	尿比重屈折計法	Uricon-JE <sup>b)</sup>
ナトリウム	mEq/L, mEq <sup>c)</sup>	電極法	PVA- $\alpha$ III <sup>d)</sup>
カリウム	mEq/L, mEq <sup>c)</sup>	電極法	
塩素	mEq/L, mEq <sup>c)</sup>	電量滴定法	

b) 尿比重屈折計 (株式会社アタゴ, 東京)

c) 総排泄量は尿量と濃度から算出し、総排泄量のみを評価に用いた。

d) 全自動電解質分析装置 (株式会社エイアンドティー, 神奈川)

## 6) 血液学的検査

各観察期間終了 (剖検) 時に対象動物全個体 (各観察ポイント雌雄各 30 匹) について血液学的検査を行った。ペントバルビタールナトリウム (東京化成工業株式会社) の 6.48 mg/mL 水溶液を調製し、剖検のための腹腔内投与 (5 mL/kg) による麻酔下で後大静脈腹部から採血した。CA-7000 を用いる測定項目には、3.8 w/v%クエン酸ナトリウム溶液を 150  $\mu$ L 添加した注射器で約 1.5 mL/個体採血し、遠心分離 (4°C, 1710  $\times g$ , 3000 rpm, 15 分間) して得られた血漿を使用した。ADVIA120 を用いた測定項目には、注射器で約 1 mL/個体採血し、EDTA-2K で抗凝固処理した全血を使用した。検査項目及び方法は以下の表に示す。

Table 3. 血液学的検査

検査項目	単位	測定方法	機種
赤血球数	10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	2 角度レーザーフローサイトメトリー法	ADVIA120 <sup>a)</sup>
白血球数	10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	2 角度レーザーフローサイトメトリー法	
ヘマトクリット値	%	計算式：(平均赤血球容積×赤血球) / 10	
ヘモグロビン濃度	g/dL	シアンメトヘモグロビン変法	
血小板数	10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	2 角度レーザーフローサイトメトリー法	
平均赤血球容積	fL	2 角度レーザーフローサイトメトリー法	
平均赤血球ヘモグロビン量	pg	計算式：(ヘモグロビン/赤血球) ×10	
平均赤血球ヘモグロビン濃度	g/dL	計算式：[ヘモグロビン / (赤血球×平均赤血球容積)] ×1000	
網赤血球数及び比率	10 <sup>9</sup> /L, %	RNA 染色法による レーザーフローサイトメトリー法	
白血球分類 <sup>b)</sup>	10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> , %	ペルオキシダーゼ染色による フローサイトメトリー法及び 2 角度レーザーフローサイトメトリー法	
プロトロンビン時間	s	凝固法	
活性化部分トロンボプラスチン 時間	s	凝固法	
フィブリノゲン	mg/dL	凝固法	

a) 総合血液学検査装置 (Siemens Healthcare Diagnostics Manufacturing Ltd., USA)

b) 検査項目：好酸球，好塩基球，好中球，単球，リンパ球及び大型非染色細胞

c) 全自動血液凝固測定装置 (シスメックス株式会社，兵庫)

## 7) 血液生化学的検査

各観察期間終了（剖検）時に対象動物全個体（各観察ポイント雌雄各 30 匹）について血液生化学的検査を行った。血液学的検査のための採血後，腹大動脈から約 2 mL/個体採血し，室温で 20～60 分間静置後，遠心分離（室温，1710×g，3000 rpm，15 分間）して得られた血清を用いた。検査項目及び方法を以下の表に示す。

Table 4. 血液生化学的検査

検査項目	単位	測定方法	機種
アスパラギン酸トランスアミナーゼ	IU/L	JSCC 標準化対応	JCA-BM8 <sup>a)</sup>
アラニントランスアミナーゼ	IU/L	JSCC 標準化対応	
アルカリフォスファターゼ	IU/L	JSCC 標準化対応	
乳酸脱水素酵素	IU/L	JSCC 標準化対応	
クレアチンキナーゼ	IU/L	JSCC 標準化対応	
コリンエステラーゼ	IU/L	BTC-DTNB 法	
総ビリルビン	mg/dL	バナジン酸酸化法	
直接ビリルビン	mg/dL	バナジン酸酸化法	-
間接ビリルビン	mg/dL	計算式： 総ビリルビン - 直接ビリルビン	
総蛋白	g/dL	ビウレット法	JCA-BM8 <sup>a)</sup>
アルブミン	g/dL	計算式：総蛋白×アルブミン比率/100	-
グロブリン	g/dL	計算式：総蛋白-アルブミン	
総コレステロール	mg/dL	COD-HDAOS 法	JCA-BM8 <sup>a)</sup>
リン脂質	mg/dL	コリンオキシダーゼ・DAOS 法	
HDL コレステロール	mg/dL	直接測定法，抗体阻害法	
LDL コレステロール	mg/dL	直接測定法，選択保護法	
トリグリセリド	mg/dL	GPO-HDAOS 法，グリセリン消去法	
グルコース	mg/dL	ヘキソキナーゼ・G-6-PDH 法	
尿素窒素	mg/dL	ウレアーゼ・GIDH 法	
クレアチニン	mg/dL	クレアチニナーゼ・F-DAOS 法	
無機リン	mg/dL	PNP・XDH 法	
カルシウム	mg/dL	MXB 法	
ナトリウム	mEq/L	電極法	
カリウム	mEq/L	電極法	
塩素	mEq/L	電極法	
蛋白分画 <sup>b)</sup>	%	電気泳動法	

a) 自動分析装置（日本電子株式会社）

b) 検査項目：アルブミン比率， $\alpha_1$ -グロブリン比率， $\alpha_2$ -グロブリン比率， $\beta$ -グロブリン比率， $\gamma$ -グロブリン比率，A/G 比

c) 自動電気泳動分析装置（オリンパス株式会社，東京）

## 8) 病理学的検査

Table 5. 病理学的検査部位一覧表

器官名	器官重量	固定	病理組織学的検査 (標本作製及び検査)
気管	-	○	○
肺（気管支を含む）	左	○	○
	右	○	○



Table 5. 病理学的検査部位一覧表

器官名		器官重量	固定	病理組織学的検査 (標本作製及び検査)
舌		-	○	○
顎下腺/単孔舌下腺	左	○	○	○
	右	○	○	○
耳下腺	左	-	○	○
	右	-	○	○
食道	胸部	-	○	○
胃	前胃	-	○	○
	腺胃	-	○	○
小腸	十二指腸	-	○	○
	空腸	-	○	○
	回腸 <sup>a)</sup>	-	○	○
大腸	盲腸	-	○	○
	結腸	-	○	○
	直腸	-	○	○
脾臓		-	○	○
肝臓		○	○	○
大動脈	大動脈	-	○	○
心臓		○	○	○
腎臓	左	○	○	○
	右	○	○	○
膀胱		-	○	○
精巣	左	○	○	○
	右	○	○	○
精巣上部	左	○	○	○
	右	○	○	○
前立腺		○	○	○
精嚢	左	○	○	○
	右	○	○	-
卵巣	左	○	○	○
	右	○	○	○
子宮	左	○	○	○
	右	○	○	-
膣		-	○	○
脳	大脳	○	○	○
	小脳	○	○	○
	橋	○	○	○
	延髄	○	○	○
脊髄	胸部	-	○	○
坐骨神経	左	-	○	○
	右	-	○	-

Table 5. 病理学的検査部位一覧表

器官名	器官重量	固定	病理組織学的検査 (標本作製及び検査)
胸骨／胸骨骨髓	-	○	○
大腿骨／大腿骨骨髓	左	○	○
	右	○	-
顎下リンパ節	左	○	○
	右	○	-
腸間膜リンパ節	-	○	○
脾臓	○	○	○
胸腺	○	○	○
下垂体	○	○	○
甲状腺／上皮小体	左	○	○
	右	○	○
副腎	左	○	○
	右	○	○
眼球／視神経	左	-	○
	右	-	○
涙腺	左	-	○
	右	-	○
ハーダー腺	左	-	○
	右	-	○
骨格筋（大腿四頭筋）	左	-	○
	右	-	-
乳腺／皮膚（腹部）	左	-	○ <sup>b)</sup>
	右	-	-
皮膚（背部） <sup>c)</sup>	-	○	○
鼻腔 <sup>d)</sup>	-	○	○
肉眼的異常部位	-	○	○

○：実施した

-：実施しなかった

a) パイエル板を含む

b) 乳腺は雌のみ

c) 肩甲間部

d) 前庭，呼吸部及び嗅部

## (1) 剖検

各観察期間終了時に対象動物全個体（各観察ポイント雌雄各 30 匹）について剖検を実施した。体重を測定後，ペントバルビタールナトリウム（東京化成工業株式会社，東京）を用いて調製した 6.48 mg/mL 水溶液の腹腔内投与（5 mL/kg）により麻酔を行

い、検査のための血液を採取した後、放血安楽死して、外表及び内部諸器官を肉眼的に観察した。

## (2) 器官重量

各剖検時に対象動物全個体（各観察ポイント雌雄各 30 匹）について器官重量を測定した。病理学的検査部位一覧表（Table 5）に示す器官について、電子天秤（HR-200，株式会社エー・アンド・デイ，東京）を用いて測定した。さらに、剖検時の体重から 100 g 当たりの相対重量を算出した。左右個別に測定した器官については、左右の合計値を算出した。

## (3) 病理組織学的検査

対象動物全個体（各観察ポイント雌雄各 30 匹）について、病理学的検査部位一覧表（Table 5）に示す器官の検査を実施した。眼球及び視神経は 3%グルタールアルデヒド・2.5%ホルマリン混合液の浸漬固定，精巣はブアン液，その他は 10%中性緩衝ホルマリン液で浸漬固定した。常法によりパラフィン包埋及び薄切を行い，パラフィン切片を作製した後，HE 染色を施し，病理組織学的に検査した。

## 9) 肝薬物代謝酵素活性測定

10，19，32 週齢時に雌雄各 10 個体の測定を行った。器官重量測定後，肝臓の右葉及び中間葉を採取し，氷冷した生理食塩液（株式会社大塚製薬工場，徳島）で灌流を行った後，液体窒素で凍結して超低温フリーザー（許容範囲：-70℃以下）で凍結保存した。凍結試料は株式会社新日本科学薬物代謝分析センターにおいて肝薬物代謝酵

素活性測定を実施した。肝ミクロソームは鎌滝及び北川らの方法を参考に調製した [33]。蛋白含量は Bradford の方法に従って測定した [34]。総 P450 含量は大村及び佐藤らの方法に従って測定した [35]。CYP1A2, CYP3A2, CYP2B1 はそれぞれエトキシレゾルフィン *O*-脱エチル化活性, テストステロン 6 $\beta$  水酸化活性, テストステロン 16 $\beta$  水酸化活性として評価した。CYP2C11 はテストステロン 16 $\alpha$  及び 2 $\alpha$  水酸化活性で評価した。エトキシレゾルフィン *O*-脱エチル化活性はレゾルフィン濃度を蛍光光度計 (RF-5300PC, 株式会社島津製作所, 京都) を用いて測定し, テストステロン 6 $\beta$ , 2 $\alpha$ , 16 $\alpha$  及び 16 $\beta$  水酸化活性は 6 $\beta$ , 2 $\alpha$ , 16 $\alpha$  及び 16 $\beta$ -ヒドロキシテストステロンを Radio HPLC [HPCL システム: 島津 10A システム (株式会社島津製作所), RI 検出器: 515TR (MA, USA), UV 検出器: SPD-10Avp (株式会社島津製作所)] を用いて測定した。

#### 10) 統計解析

観察期間または観察期間終了時に得られたデータは, F 検定 (有意水準 5%, 両側) により分散の一樣性の検定を行い, 分散が一樣の場合には Student's *t*-test を用いて, 分散が一樣でない場合には Welch's *t*-test を用いて雌雄の比較を行った。これらの検定及び計算には MUSCOT 統計解析ソフトウェア (ユックムス株式会社, 東京) を使用した。検定の有意水準は 5% とし, 5% ( $P < 0.05$ ) 及び 1% ( $P < 0.01$ ) の指標で表記した。すべての定量データは Mean  $\pm$  SD (standard deviation of mean) で表記した。

### 3. 結果

#### 1) 体重

26 週間の観察期間での Wistar Hannover ラットの体重推移及び SD ラット [Cr1:CD(SD)ラット (日本チャールス・リバー株式会社, 滋賀)] の体重に関する背景データ (Control background data. Vol. 56. Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd. 2008.) を Fig. 1 に示した.

6, 8, 10, 19, 32 週齢における Wistar Hannover ラットの平均体重は雄でそれぞれ  $136.8 \pm 8.0\text{g}$ ,  $226.0 \pm 13.9\text{g}$ ,  $284.3 \pm 20.5\text{g}$ ,  $401.9 \pm 34.0\text{g}$ ,  $462.8 \pm 44.5\text{g}$ , 雌でそれぞれ  $118.5 \pm 6.1\text{g}$ ,  $158.0 \pm 9.8\text{g}$ ,  $185.3 \pm 11.7\text{g}$ ,  $236.7 \pm 16.7\text{g}$ ,  $264.4 \pm 21.5\text{g}$  であり, SD ラットと比べて緩やかな体重増加を示し, 雄は雌の 1.2~1.8 倍の値で推移した.

#### 2) 摂餌量

摂餌量を Fig. 2 に示した.

雄では 6~7 週齢にかけて摂餌量の増加がみられたが, その後はほぼ一定の推移を示し, 26 週間の観察期間における 1 日当たりの摂餌量の平均値は 23g (最低値: 18g, 最高値: 25g) であった. 雌の摂餌量は観察期間を通してほぼ一定であり, 1 日当たりの摂餌量の平均値は 17g (最低値: 15g, 最高値: 18g) であった.

#### 3) 一般状態

一般状態観察では, 以下に示す眼科的検査でみられた異常を除き, 特記すべき症状は認められなかった.

#### 4) 眼科的検査

6, 8, 10, 19, 32 週齢時における眼科的検査結果を Table 6 に示した.

検疫馴化期間 (6 週齢) での検査では, 中間透光体の混濁が雄で約 25%, 雌で約 22% みられ, ほとんどが両側性の変化であった. 8 及び 10 週齢では中間透光体混濁の発現頻度に変化はみられなかったが, 19 週齢の雄 1 個体及び 32 週齢の雌 1 個体では 6 週齢では片側性の変化であったものが両側性の変化として認められた. また, 6 週齢ではみられなかった角膜の混濁が, 19 週齢の雄 1 個体及び 32 週齢の雌雄各 1 個体で認められた.

#### 5) 尿検査

8, 10, 19, 32 週齢時における尿検査結果を Table 7 に示した.

いずれの週齢においても雄と比較して, 雌では新鮮尿における蛋白濃度の低値 ( $P < 0.01$ ), 蓄尿における電解質 (ナトリウム, カリウム, 塩素) 総排泄量の低値 ( $P < 0.01$  または  $P < 0.05$ ) あるいは低値傾向がみられ, 10 週齢以降は尿比重及びグルコースの低値 ( $P < 0.01$ ) あるいは低値傾向, 尿量の高値 ( $P < 0.05$ ) あるいは高値傾向がみられた. 雄の蛋白濃度は 10 週齢で顕著に増加して平衡に達した.

#### 6) 血液学的検査

8, 10, 19, 32 週齢の剖検時における血液学的検査結果を Table 8 に示した.

いずれの週齢においても雄と比較して雌では, ヘマトクリット値及びフィブリノゲン濃度の低値, プロトロンビン時間の短縮がみられ ( $P < 0.01$ ), 10 週齢以降はヘモグロビン濃度の低値もみられた ( $P < 0.01$  または  $P < 0.05$ ). 白血球系パラメータで

は雄と比較して雌では、白血球数、好塩基球数、リンパ球数、大型非染色細胞数（白血球の分類を染色性によって分類する際、染色されない大きな白血球で、幼若顆粒球や単球系の細胞が含まれる）の低値がみられ（ $P < 0.01$  または  $P < 0.05$ ），10 週齢以降は好酸球、単球、好中球数の低値もみられた（ $P < 0.01$ ）。雄では白血球数、好酸球数、好塩基球数、単球数、リンパ球数、好中球数、大型非染色細胞数は 10 あるいは 19 週齢までわずかに増加し、その後、加齢に伴って徐々に減少したのに対して、雌の白血球数、好塩基球数、単球数、リンパ球数は 8 週齢以降、徐々に減少した。

#### 7) 血液生化学的検査

8, 10, 19, 32 週齢の剖検時における血液生化学的検査結果を Table 9 に示した。

いずれの週齢においても雄と比較して雌では、アルカリフォスファターゼ活性、トリグリセリド濃度、LDL コレステロールレベルの低値、総蛋白濃度、クレアチニン濃度、コリンエステラーゼ活性の高値がみられた（ $P < 0.01$  または  $P < 0.05$ ）。雌のコリンエステラーゼ活性は 8~32 週齢で顕著に上昇した。

#### 8) 剖検

8, 10, 19, 32 週齢の剖検時の所見を Table 10 に示した。

8 週齢では片側性の腎盂拡張が雄 1 個体、子宮の嚢胞あるいは大脳の陥凹巣が雌各 1 個体、10 週齢の動物では腎臓に片側性の嚢胞が雄 1 個体、片側性の腎臓の欠損あるいは両側性の腎盂拡張が雌各 1 個体、19 週齢の動物では腺胃粘膜面に赤色巣が雄 2 個体でみられた。32 週齢の動物では腹腔の結節あるいは片側性の腎盂拡張が雌各 1 個体、片側性の角膜混濁が雌 1 個体でみられた。

## 9) 器官重量

8, 10, 19, 32 週齢の剖検時における器官重量測定結果を Table 11 に示した.

いずれの週齢においても雄と比較して、雌では下垂体の絶対及び相対重量の高値、甲状腺、顎下腺、脳、心臓、肺の絶対重量の低値及び相対重量の高値、肝臓、腎臓の絶対重量の低値、副腎の相対重量の高値がみられた ( $P < 0.01$ ) . 8 及び 10 週齢の副腎の絶対重量に性差は認められなかった.

## 10) 病理組織学的検査

8, 10, 19, 32 週齢の剖検時における病理組織学的検査結果を Table 12 に示した.

いずれの週齢においても SD ラットで通常みられるような変化が散見されたが、甲状腺形成不全や慢性進行性腎症は認められなかった. 特徴的な病変としては角膜の石灰沈着及び網膜の異形成が高頻度にみられた. 肝細胞の褐色色素 (ヘモジデリン) 沈着が 19 週齢の雌 5 個体でみられたが、32 週齢の動物ではみられず、加齢による増悪はなかった.

## 11) 肝薬物代謝酵素活性

10, 19, 32 週齢の剖検時における肝薬物代謝酵素活性を Table 13 に示した.

いずれの週齢においても雄と比較して、雌では総 P450 含量及び CYP3A2 活性の低値 ( $P < 0.01$ ) あるいは低値傾向がみられた. CYP2C11 ( $16\alpha$ ,  $2\alpha$ ) 活性は雄のみで認められた.



#### 4. 考察

近年、日本において毒性試験における有用性が期待されている Wistar Hannover ラットを用いて「反復投与毒性試験に係るガイドラインの一部改正について」（平成 11 年 4 月 5 日医薬審第 655 号厚生省医薬安全局審査管理課長通知）及び「医薬品の免疫毒性試験に関するガイドラインについて」（平成 18 年 4 月 18 日薬食審査発第 0418001 号厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知）に関する代表的な検査項目について 8, 10, 19, 32 週齢時のデータを収集し、性差及び加齢性変化に関する検討を行った。26 週間の観察期間内に死亡した個体はなく、眼科的検査以外の一般状態に異常はみられなかった。

Wistar Hannover ラットの体重は SD ラットと比較して雌雄ともに緩やかな増加を示し、他の報告と同様な結果が得られた[5, 17]。雄の体重は雌の 1.2~1.8 倍の値で推移した。黒岩らは 2000~2002 年に行われた SD ラットを用いた毒性試験の対照群のデータを収集し、1 日当たりの摂餌量の平均値は雄で約 30g, 雌で約 20g であったことを報告した[36]。本研究では、雌雄ともに 8 週齢以降の摂餌量はほぼ一定で、1 日当たりの摂餌量の平均値は雄で 23g, 雌で 17g であり、黒岩らの報告と比較すると 1 日当たりの摂餌量は雄では 7g, 雌では 3g 少ないことから、毒性試験に Wistar Hannover ラットを用いることは対象となる被験物質や飼料のコスト面からも有用であると考えられた。

岡村ら及び楠岡らは、SD ラットと比較して Wistar Hannover ラットでは限局性角膜混濁（病理組織学的には石灰沈着）が高頻度で発現することを報告している[17, 37]。本研究においても雄では約 25%, 雌では約 22%の動物で中間透光体の混濁がみられ、ほとんどが両側性の変化であった。また、13 あるいは 26 週間の観察期間において、

中間透光体あるいは角膜に新たに混濁が発現する動物も認められた。姚らは Wistar Hannover ラットを 26 週間無処置飼育して眼科的基礎データを収集し、網膜機能及び形態学的検査を行った結果、Wistar Hannover ラットの中にはその発現頻度はラット背景データの範囲内ではあるものの若齢期から網膜異常がみられる個体が存在することを報告しており [38]、Wistar Hannover ラットを毒性試験で使用する際には、眼科的検査結果には注意を要すると考えられた。

尿検査では、いずれの週齢においても雄と比較して、雌では新鮮尿における蛋白濃度の低値がみられた。Neuhaus らは SD ラットにおける尿中の蛋白排泄の加齢性変化を検討し、離乳期から 12 カ月齢までの尿中の蛋白排泄には雄ラット特有の  $\alpha 2u$ -グロブリン及びアルブミンが関連していると報告している [39]。すなわち雄ラットの尿中への  $\alpha 2u$ -グロブリン排泄量は 40 日齢から急速に増加して、蛋白総排泄量に占める割合は 13 週齢前後には 30% に達し、その後は徐々に低下して 42 週齢前後で 10% を下回るのに対して、アルブミン排泄量の蛋白総排泄量に占める割合は 13 週齢前後までは 10% 以下であるが、徐々に増加して 26 週齢前後には 30% を上回ると報告されている [39]。雌ラットでは尿中に  $\alpha 2u$ -グロブリンはわずかに排泄されるか、あるいは尿中に  $\alpha 2u$ -グロブリンはないため、本研究で得られた蛋白濃度の性差は主に尿中への  $\alpha 2u$ -グロブリン排泄に起因するものと考えられた。そのほか、本研究ではいずれの週齢においても雄と比較して、雌では蓄尿において電解質（ナトリウム、カリウム、塩素）総排泄量の低値あるいは低値傾向、10 週齢以降は尿比重及びグルコース濃度の低値あるいは低値傾向、尿量の高値あるいは高値傾向などの性差が認められた。雄のグルコース濃度は加齢性変化（加齢に伴って増加）も認められた。

血液学的検査では、いずれの週齢においてもヘマトクリット値、フィブリノゲン濃

度、プロトロンビン時間に性差(雄と比較して雌では低値あるいは短縮)が認められ、10週齢以降はヘモグロビン濃度にも性差が認められた。白血球系パラメータでは白血球数、好塩基球数、リンパ球数、大型非染色細胞数に性差(雄と比較して雌では低値)がみられたほか、10週齢以降は好酸球、単球、好中球数にも性差がみられた。Wolfordらは、SDラットの血液学的検査及び血液生化学的検査における加齢性変化(2~29カ月齢)を検討し、雌雄ともにリンパ球数は2カ月齢から減少し続けること、赤血球数は200日齢程度まで増え続けてその後は減少すること、平均赤血球容積は赤血球数と逆の変化を示すこと、血小板数は雄では約200日齢程度まで減少してその後は増加すること、雌の血小板数は減少し続けることなどを報告しており、本研究で得られた傾向とほぼ一致した[40]。

血液生化学的検査では、いずれの週齢においても雄と比較して、雌ではアルカリフォスファターゼ活性、トリグリセリド濃度、LDLコレステロールレベル(雄と比較して雌では低値)、総蛋白濃度、クレアチニン濃度、コリンエステラーゼ活性(雄と比較して雌では高値)に差違が認められた。前述のWolfordらの報告によると、総蛋白濃度は約200日齢、トリグリセリド濃度は約500日齢まで雌雄ともに上昇し続け、その後は低下するとされており、本研究で得られた傾向と概ね一致した[40]。また、コレステロール濃度は雌雄ともに上昇し続けること、無機リン濃度は成長とともに低下し続けることが報告されているが[40]、本研究ではコレステロール濃度は雌でその傾向がみられ、無機リン濃度は雌雄ともに一致した結果が得られた。無機リン濃度が成長とともに低下するのは骨の成長に伴うものであると考えられている。コリンエステラーゼ活性の加齢性変化については複数の研究がなされている。コリンエステラーゼ活性は性差が顕著で、雄の活性値の変動はほとんどないが、雌の活性は加齢に伴い急

激に上昇するとされており、このコリンエステラーゼ活性の性差は性成熟が始まる 6 週齢から顕著になるため、性ホルモンにより支配されていると考えられている [28]. 本研究においても雌のコリンエステラーゼ活性は雄と比較して 6~11 倍高く、加齢に伴い顕著に上昇した.

病理学的検査では、いずれの週齢においても雄と比較して、雌では下垂体の絶対及び相対重量の高値がみられた. Pignatelli らは Wistar ラットを用いた検討により、雄と比較して雌では 50 週齢以降に副腎重量が高いこと、皮質及び束状帯の領域が広いこと、40~45 週齢以降にコルチコステロン及び 17-OH-プロゲステロンの分泌が多いこと、また、網状帯の領域の広さに性差がないことを報告しており、本研究においてほとんどすべての臓器・組織の器官重量が雄と比較して雌では低値がみられたのに対して、下垂体は雌が高値を示したのは加齢に伴うホルモン分泌パターンの変化に関連しているものと考えられた [41, 42]. 病理組織学的検査では雌雄ともに一般的に SD ラットでみられる変化が本研究においてもみられたが、甲状腺形成不全や慢性進行性腎症は認められなかった [43]. なお、7 週齢の Wistar Hannover GALAS ラットで報告されている肝細胞の褐色色素（ヘモジデリン）沈着が 19 週齢の雌 5 個体でみられた [44].

肝薬物代謝酵素活性では、10 あるいは 19 週齢以降に総 P450 含量及び CYP3A2 活性に性差（雄と比較して雌では減少あるいは低下）が認められ、CYP2C11 活性は雄のみで確認された. SD, F344, Wistar ラットでは薬物代謝の性的二形性が知られており、シトクロム P450 分子種の性特異的な発現あるいは活性によるものとされており、さらに CYP2C11 活性及び CYP3A2 活性は雄特異的あるいは優勢な酵素とされている [45-47]. 本研究では測定できなかったが、CYP2C12 活性にも性差があることが報告さ

れており、今後の Wistar Hannover ラットでの検討が必要と思われる[48].

以上のように、Wistar Hannover ラットを用いて 8, 10, 19, 32 週齢時における一般毒性試験検査項目及び肝薬物代謝酵素活性のデータ収集を行った結果、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査、病理学的検査、肝薬物代謝酵素活性で性差及び加齢性変化が認められ、本研究で得られたデータは本システムを用いて薬物の毒性を評価する際に有用と考えられた。

## 5. Figures and Tables

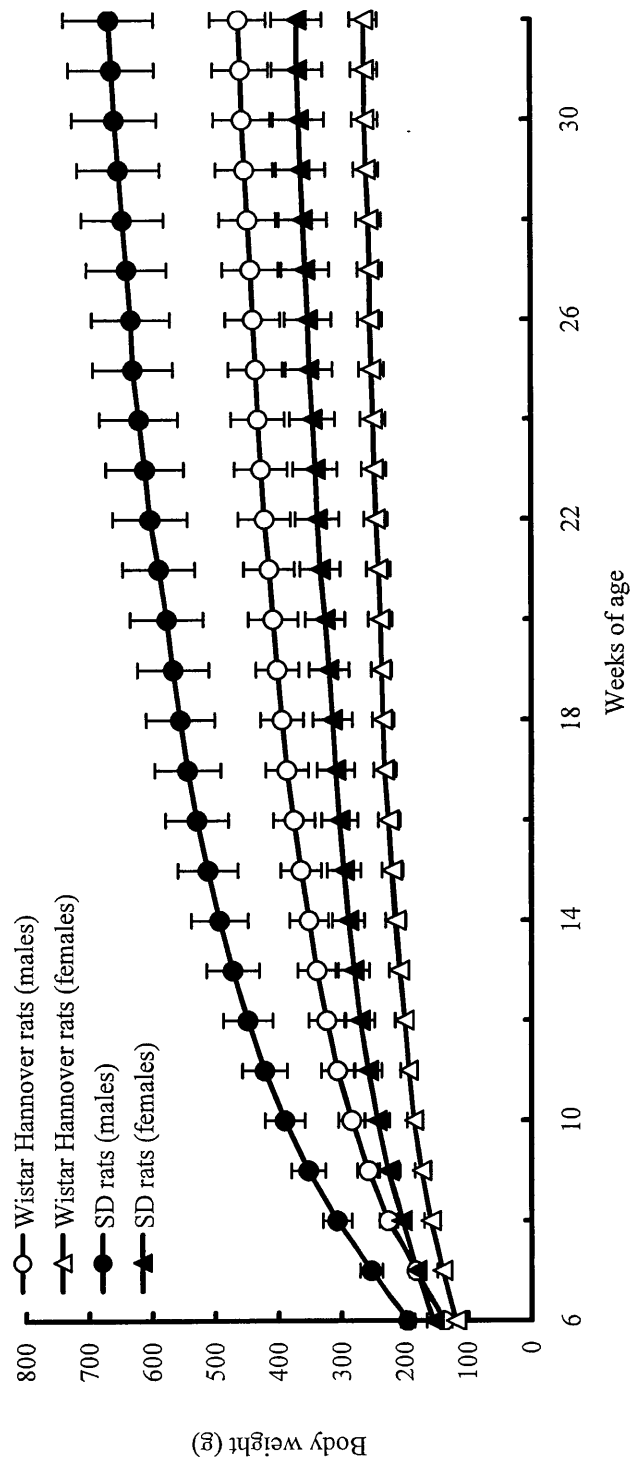


Fig. 1. Changes of body weight in Wistar Hannover and SD rats from 6 to 32 weeks of age. Values are mean  $\pm$  SD. The data from SD rats are SNBL historical data.

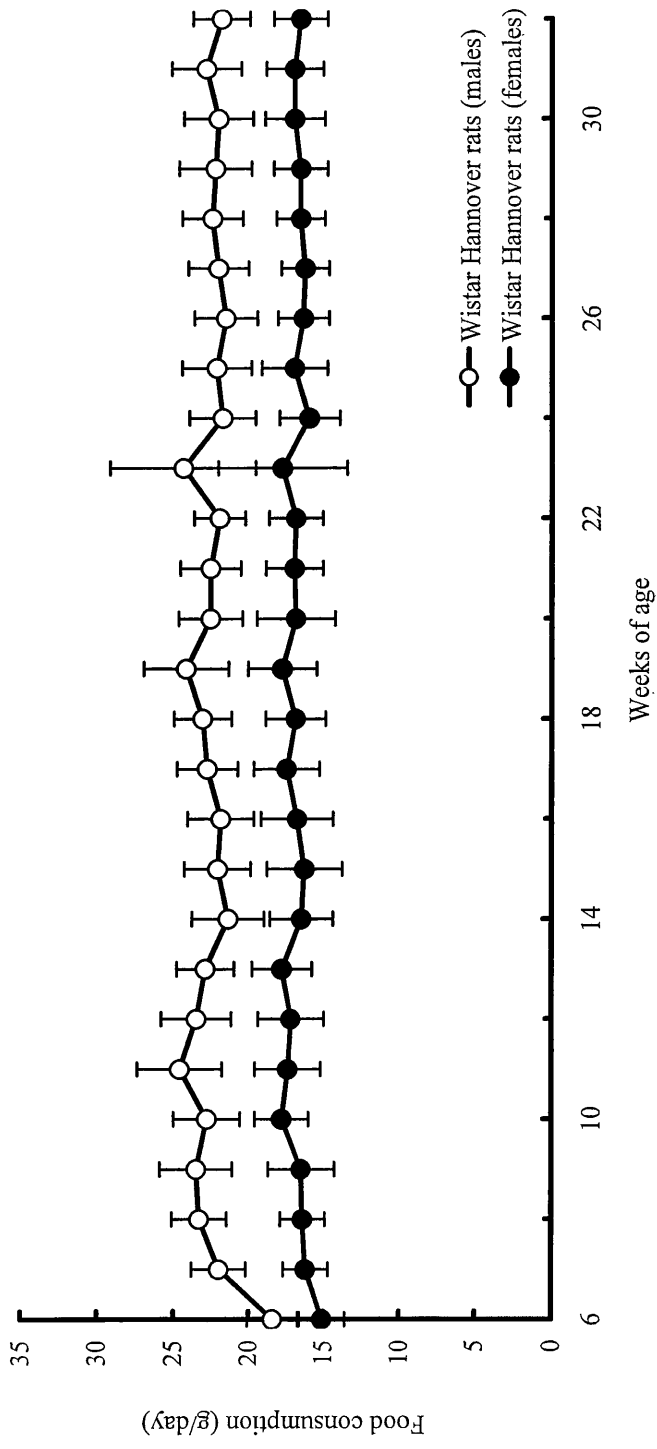


Fig. 2. Changes of food consumption in Wistar Hannover rats from 6 to 32 weeks of age. Values are mean  $\pm$  SD.

**Table 6.** Ophthalmological examinations in Wistar Hannover rats

Age (Weeks)	Quarantine and acclimation period		Observation period*							
	6		8		10		19		32	
Sex	Males	Females	Males	Females	Males	Females	Males	Females	Males	Females
No. of animals examined	120	120	30	30	30	30	30	30	30	30
Gross ophthalmological examination										
Cornea										
Right										
Opacity	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Left										
Opacity	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
Iris										
Right										
Anterior synechia	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Left										
Abnormal changes	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Slit-lamp examination										
Optic media										
Right										
Opacity	32 (28)	26 (22)	8 (8)	3 (3)	5 (4)	7 (6)	11 (10)	10 (8)	8 (7)	7 (7)
Left										
Opacity	29	27	8	4	4	7	10	9	8	8
Cornea										
Right										
Opacity	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Left										
Opacity	1	0	0	0	1	0	1	0	1	0
Iris										
Right										
Anterior synechia	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Left										
Abnormal changes	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fundusoscopic examination**										
Right										
Abnormal changes	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Left										
Abnormal changes	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

\*: Ophthalmological examinations were conducted in 30 males and 30 females for which sacrifice was scheduled at each end of the observation period.

\*\* : Fundusoscopic examination was performed for the 5 males and females.

Data are expressed as the number of animals with ophthalmological abnormalities.

( ): Number of animals in which the change was observed bilaterally



**Table 7.** Urinalysis in Wistar Hannover rats

Age (Weeks)	8		10		19		32	
	Males	Females	Males	Females	Males	Females	Males	Females
4-hour fresh urine								
Protein (mg/dL)	33.2 ± 17.3	7.6 ± 7.1**	68.5 ± 26.0	6.1 ± 4.5**	62.7 ± 28.5	9.2 ± 9.1**	69.7 ± 31.5	9.3 ± 8.9**
Glucose (mg/dL)	6.9 ± 3.2	8.7 ± 4.2	9.6 ± 4.5	7.4 ± 4.0	10.3 ± 4.6	7.2 ± 3.6**	14.3 ± 5.3	8.6 ± 4.7**
16-hour preserved urine								
Urine volume (mL)	7.81 ± 3.80	6.65 ± 3.78	8.78 ± 4.88	10.48 ± 5.11	9.76 ± 6.45	10.77 ± 6.52	7.76 ± 4.95	10.49 ± 4.97*
Specific gravity	1.05 ± 0.01	1.05 ± 0.02	1.05 ± 0.02	1.04 ± 0.01**	1.05 ± 0.02	1.04 ± 0.02**	1.06 ± 0.02	1.04 ± 0.01**
Sodium (mEq)	0.99 ± 0.10	0.73 ± 0.15**	1.02 ± 0.25	0.91 ± 0.13*	0.98 ± 0.21	0.81 ± 0.20**	0.99 ± 0.25	0.89 ± 0.19
Potassium (mEq)	2.13 ± 0.25	1.46 ± 0.32**	2.12 ± 0.40	1.82 ± 0.27**	1.99 ± 0.31	1.64 ± 0.38**	1.98 ± 0.40	1.74 ± 0.36*
Chloride (mEq)	1.43 ± 0.15	0.99 ± 0.22**	1.39 ± 0.28	1.23 ± 0.18**	1.34 ± 0.27	1.10 ± 0.26**	1.29 ± 0.29	1.13 ± 0.24*

Values are expressed as the mean±SD (n=30). \* and \*\*: significantly different from males (P<0.05 and P<0.01, respectively)

**Table 8.** Hematology in Wistar Hannover rats

Sex	8		10		19		32	
	Males	Females	Males	Females	Males	Females	Males	Females
Erythrocyte count ( $10^6/\text{mm}^3$ )	7.12 ± 0.34	7.17 ± 0.31	7.82 ± 0.60	7.57 ± 0.46	8.48 ± 0.46	7.53 ± 0.36**	8.56 ± 0.49	7.65 ± 0.47**
Leukocyte count ( $10^3/\text{mm}^3$ )	4.35 ± 0.87	3.57 ± 0.88**	4.93 ± 1.20	2.97 ± 0.70**	4.93 ± 1.18	2.60 ± 0.60**	3.79 ± 1.00	2.07 ± 0.55**
Ht (%)	42.0 ± 1.6	40.7 ± 1.3**	43.5 ± 3.0	41.5 ± 1.7**	43.4 ± 1.9	40.0 ± 1.5**	43.8 ± 1.9	41.0 ± 1.7**
Hb (g/dL)	13.8 ± 0.4	13.7 ± 0.4	14.7 ± 1.0	14.2 ± 0.6*	14.8 ± 0.6	13.8 ± 0.5**	14.8 ± 0.6	14.0 ± 0.5**
PLT ( $10^3/\text{mm}^3$ )	1261 ± 106	1250 ± 152	1053 ± 107	1091 ± 125	878 ± 84	1022 ± 118**	892 ± 114	981 ± 126**
MCV (fL)	59.0 ± 1.9	56.8 ± 1.8**	55.7 ± 1.9	54.9 ± 1.9	51.2 ± 1.4	53.2 ± 1.6**	51.2 ± 1.9	53.7 ± 3.1**
MCH (pg)	19.5 ± 0.8	19.1 ± 0.8	18.8 ± 0.9	18.8 ± 0.7	17.5 ± 0.6	18.3 ± 0.7**	17.3 ± 0.9	18.3 ± 1.0**
MCHC (g/dL)	33.0 ± 0.6	33.6 ± 0.6**	33.8 ± 0.7	34.3 ± 0.5**	34.1 ± 0.6	34.4 ± 0.6	33.7 ± 0.8	34.1 ± 0.7*
Reticulocyte count ( $10^9/\text{L}$ )	384 ± 36	226 ± 39**	235 ± 36	214 ± 30*	192 ± 20	204 ± 21*	195 ± 31	189 ± 31
Eosinophil ratio (%)	0.72 ± 0.32	0.90 ± 0.36*	0.88 ± 0.28	0.88 ± 0.33	1.41 ± 0.44	1.43 ± 0.64	1.25 ± 0.49	1.23 ± 0.58
Basophil ratio (%)	0.17 ± 0.07	0.17 ± 0.08	0.19 ± 0.09	0.13 ± 0.07**	0.19 ± 0.09	0.15 ± 0.10	0.13 ± 0.08	0.11 ± 0.07
Monocyte ratio (%)	1.68 ± 0.54	1.90 ± 0.52	2.05 ± 0.69	1.95 ± 0.71	2.12 ± 0.60	2.20 ± 0.83	1.88 ± 0.62	2.01 ± 0.67
Lymphocyte ratio (%)	86.96 ± 2.90	85.35 ± 3.02*	82.36 ± 4.81	82.65 ± 4.56	71.85 ± 5.61	76.61 ± 7.30**	71.11 ± 6.95	71.31 ± 9.61
Neutrophil ratio (%)	9.58 ± 2.49	10.86 ± 2.94	13.57 ± 4.43	13.74 ± 4.03	23.22 ± 5.16	18.41 ± 7.20**	24.89 ± 6.53	24.58 ± 9.07
Large unstained cell ratio (%)	0.88 ± 0.26	0.81 ± 0.23	0.93 ± 0.40	0.64 ± 0.26**	1.21 ± 0.38	1.19 ± 0.50	0.73 ± 0.32	0.76 ± 0.42
Eosinophil count ( $10^3/\text{mm}^3$ )	0.031 ± 0.012	0.031 ± 0.012	0.042 ± 0.017	0.026 ± 0.012**	0.065 ± 0.015	0.037 ± 0.015**	0.045 ± 0.014	0.025 ± 0.017**
Basophil count ( $10^3/\text{mm}^3$ )	0.008 ± 0.006	0.005 ± 0.005*	0.008 ± 0.006	0.003 ± 0.004**	0.011 ± 0.006	0.003 ± 0.005**	0.004 ± 0.006	0.001 ± 0.003*
Monocyte count ( $10^3/\text{mm}^3$ )	0.070 ± 0.018	0.068 ± 0.024	0.101 ± 0.047	0.058 ± 0.024**	0.104 ± 0.041	0.055 ± 0.022**	0.072 ± 0.032	0.042 ± 0.020**
Lymphocyte count ( $10^3/\text{mm}^3$ )	3.794 ± 0.813	3.058 ± 0.787**	4.069 ± 1.021	2.466 ± 0.628**	3.544 ± 0.905	2.008 ± 0.581**	2.717 ± 0.829	1.451 ± 0.328**
Neutrophil count ( $10^3/\text{mm}^3$ )	0.410 ± 0.108	0.382 ± 0.122	0.665 ± 0.296	0.401 ± 0.142**	1.142 ± 0.392	0.463 ± 0.155**	0.924 ± 0.269	0.535 ± 0.364**
LUC count ( $10^3/\text{mm}^3$ )	0.038 ± 0.012	0.031 ± 0.013*	0.047 ± 0.024	0.020 ± 0.010**	0.060 ± 0.028	0.031 ± 0.017**	0.028 ± 0.017	0.016 ± 0.012**
PT (s)	9.02 ± 0.52	8.58 ± 0.23**	9.80 ± 0.77	8.67 ± 0.32**	9.57 ± 0.35	8.73 ± 0.26**	10.47 ± 0.84	9.40 ± 0.49**
APTT (s)	13.8 ± 1.6	14.3 ± 1.0	15.3 ± 1.9	14.3 ± 1.2*	15.5 ± 1.3	15.1 ± 1.1	15.9 ± 1.5	15.0 ± 1.6*
Fibrinogen (mg/dL)	193 ± 17	171 ± 15**	199 ± 39	157 ± 14**	202 ± 16	141 ± 14**	195 ± 15	136 ± 20**

Ht: hematocrit value; Hb: hemoglobin concentration; PLT: platelet count; MCV: mean corpuscular volume; MCH: mean corpuscular hemoglobin; MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration; LUC: large unstained cell count; PT: prothrombin time; APTT: activated partial thromboplastin time  
 Values are expressed as the mean ± SD (n=30). \* and \*\*: significantly different from males ( $P < 0.05$  and  $P < 0.01$ , respectively)

**Table 9.** Clinical chemistry in Wistar Hannover rats

Sex	8		10		19		32	
	Males	Females	Males	Females	Males	Females	Males	Females
Aspartate aminotransferase (IU/L)	83.9 ± 15.0	75.8 ± 15.6*	82.2 ± 15.1	73.4 ± 17.7*	74.7 ± 19.3	72.1 ± 16.1	75.9 ± 17.6	75.6 ± 28.8
Alanine aminotransferase (IU/L)	19.1 ± 2.9	14.0 ± 1.8**	20.2 ± 2.6	16.0 ± 2.7**	23.7 ± 4.0	20.4 ± 7.6*	23.5 ± 3.9	29.3 ± 19.6
Alkaline phosphatase (IU/L)	489 ± 120	254 ± 53**	389 ± 83	171 ± 42**	203 ± 38	81 ± 20**	187 ± 40	63 ± 16**
Lactate dehydrogenase (IU/L)	582 ± 269	494 ± 150	637 ± 253	594 ± 223	499 ± 274	509 ± 181	590 ± 357	411 ± 146*
Creatine phosphokinase (IU/L)	549 ± 215	402 ± 96**	530 ± 176	470 ± 159	342 ± 171	356 ± 128	432 ± 262	292 ± 103**
Cholinesterase (IU/L)	71 ± 17	443 ± 115**	71 ± 19	610 ± 172**	83 ± 25	935 ± 183**	126 ± 35	996 ± 243**
Total bilirubin (mg/dL)	0.038 ± 0.008	0.037 ± 0.009	0.034 ± 0.009	0.055 ± 0.019**	0.050 ± 0.012	0.056 ± 0.018	0.044 ± 0.013	0.060 ± 0.016**
Direct bilirubin (mg/dL)	0.021 ± 0.005	0.021 ± 0.006	0.020 ± 0.006	0.030 ± 0.010**	0.021 ± 0.008	0.024 ± 0.010	0.025 ± 0.009	0.029 ± 0.007*
Indirect bilirubin (mg/dL)	0.017 ± 0.006	0.016 ± 0.006	0.015 ± 0.005	0.025 ± 0.010**	0.029 ± 0.007	0.032 ± 0.011	0.019 ± 0.007	0.031 ± 0.011**
Total protein (g/dL)	5.22 ± 0.18	5.37 ± 0.24**	5.29 ± 0.21	5.57 ± 0.34**	5.75 ± 0.17	5.97 ± 0.41**	5.55 ± 0.22	6.12 ± 0.35**
Albumin (g/dL)	3.07 ± 0.12	3.31 ± 0.18**	3.05 ± 0.21	3.54 ± 0.23**	3.13 ± 0.09	3.68 ± 0.28**	2.94 ± 0.13	3.66 ± 0.26**
Globulin (g/dL)	2.15 ± 0.11	2.06 ± 0.11**	2.24 ± 0.10	2.03 ± 0.13**	2.62 ± 0.13	2.29 ± 0.18**	2.62 ± 0.16	2.46 ± 0.17**
Total cholesterol (mg/dL)	74.2 ± 10.2	62.6 ± 10.2**	68.0 ± 9.2	60.0 ± 14.4*	74.7 ± 16.0	67.6 ± 19.1	76.0 ± 11.4	73.2 ± 15.3
Phospholipid (mg/dL)	114 ± 11	113 ± 14	107 ± 11	114 ± 22	117 ± 16	127 ± 28	121 ± 14	141 ± 22**
HDL cholesterol (mg/dL)	48.9 ± 5.8	42.7 ± 5.9**	43.1 ± 6.0	39.9 ± 9.1	45.5 ± 8.5	45.2 ± 11.1	47.3 ± 6.3	49.5 ± 9.1
LDL cholesterol (mg/dL)	13.2 ± 3.6	8.5 ± 2.4**	13.9 ± 3.3	7.8 ± 3.1**	12.8 ± 5.6	8.2 ± 3.5**	11.9 ± 3.6	7.5 ± 3.7**
Triglyceride (mg/dL)	31.6 ± 11.6	16.3 ± 4.7**	36.7 ± 9.9	14.8 ± 4.5**	41.1 ± 17.8	23.0 ± 8.5**	44.4 ± 25.1	23.7 ± 9.9**
Glucose (mg/dL)	110 ± 12	104 ± 9*	118 ± 13	112 ± 12	126 ± 11	122 ± 8	143 ± 15	123 ± 14**
Blood urea nitrogen (mg/dL)	19.6 ± 3.3	22.6 ± 3.1**	20.3 ± 2.5	21.7 ± 3.4	20.7 ± 2.4	23.6 ± 2.5**	20.0 ± 2.9	22.6 ± 2.7**
Creatinine (mg/dL)	0.225 ± 0.021	0.284 ± 0.045**	0.230 ± 0.022	0.268 ± 0.038**	0.299 ± 0.025	0.338 ± 0.040**	0.331 ± 0.057	0.374 ± 0.073*
Inorganic phosphorus (mg/dL)	9.34 ± 0.69	8.84 ± 0.74**	8.56 ± 0.85	7.87 ± 0.63**	6.18 ± 0.79	5.97 ± 0.81	5.47 ± 1.04	5.11 ± 1.18
Calcium (mg/dL)	9.77 ± 0.24	9.77 ± 0.24	9.79 ± 0.26	9.73 ± 0.24	9.69 ± 0.26	9.86 ± 0.27*	9.63 ± 0.31	9.88 ± 0.26**
Sodium (mEq/L)	145 ± 1	144 ± 1	143 ± 1	142 ± 1*	145 ± 1	144 ± 1	145 ± 1	145 ± 1**
Potassium (mEq/L)	3.82 ± 0.26	3.76 ± 0.23	3.91 ± 0.33	4.01 ± 0.41	3.95 ± 0.18	3.63 ± 0.21**	4.13 ± 0.25	3.77 ± 0.29**
Chloride (mEq/L)	107 ± 1	108 ± 1**	107 ± 1	108 ± 1**	109 ± 1	110 ± 1**	108 ± 1	108 ± 2
Albumin ratio (%)	58.9 ± 1.3	61.7 ± 1.4**	57.7 ± 2.6	63.7 ± 1.1**	54.5 ± 1.2	61.5 ± 1.7**	52.9 ± 1.7	59.7 ± 1.9**
α <sub>1</sub> -globulin ratio (%)	18.3 ± 1.0	16.6 ± 0.9**	18.4 ± 1.0	15.5 ± 0.9**	19.5 ± 1.2	15.2 ± 1.3**	19.1 ± 1.3	16.0 ± 1.0**
α <sub>2</sub> -globulin ratio (%)	6.65 ± 0.53	6.08 ± 0.40**	6.74 ± 0.52	5.68 ± 0.39**	8.38 ± 0.47	7.12 ± 0.49**	8.98 ± 0.69	6.67 ± 0.52**
β-globulin ratio (%)	13.5 ± 0.6	12.8 ± 0.8**	14.3 ± 1.4	12.4 ± 0.6**	13.9 ± 0.6	12.0 ± 0.9**	14.4 ± 0.7	12.7 ± 1.0**
γ-globulin ratio (%)	2.68 ± 0.20	2.83 ± 0.31*	2.80 ± 0.32	2.77 ± 0.30	3.67 ± 0.47	4.19 ± 0.61**	4.64 ± 0.70	4.99 ± 0.82
Albumin / globulin (%)	1.44 ± 0.08	1.62 ± 0.10**	1.37 ± 0.12	1.76 ± 0.09**	1.20 ± 0.06	1.61 ± 0.12**	1.13 ± 0.08	1.49 ± 0.11**

Values are expressed as the mean±SD (n=30). \* and \*\*: significantly different from males (P<0.05 and P<0.01, respectively)

**Table 10.** Necropsy findings in Wistar Hannover rats

Age (Weeks)	8		10		19		32	
	Males	Females	Males	Females	Males	Females	Males	Females
Sex								
No. of animals examined	30	30	30	30	30	30	30	30
Kidney								
Dilatation, pelvis (unilateral)	1	0	0	0	0	0	1	0
(bilateral)	0	0	0	1	0	0	0	0
Cyst	0	0	1	0	0	0	0	0
Absence (unilateral)	0	0	0	1	0	0	0	0
Uterus								
Cyst	-	1	-	0	-	0	-	0
Cerebrum								
Recessed focus	0	1	0	0	0	0	0	0
Stomach								
Red focus, glandular mucosa	0	0	0	0	2	0	0	0
Abdominal cavity								
Nodule	0	0	0	0	0	0	1	0
Eyeball								
Corneal opacity	0	0	0	0	0	0	0	1

Data are expressed as the number of animals with necropsy findings. -: Not applicable  
No appreciable changes in all other organs and tissues.

**Table 11.** Organ weights in Wistar Hannover rats

Sex	8		10		19		32	
	Males	Females	Males	Females	Males	Females	Males	Females
<b>Absolute</b>								
Pituitary (mg)	7.2 ± 0.9	8.9 ± 0.9**	8.3 ± 1.0	10.7 ± 1.3**	9.2 ± 1.1	13.7 ± 2.3**	10.0 ± 1.1	16.6 ± 2.4**
Thyroid (mg)	12.4 ± 1.6	10.2 ± 1.7**	16.6 ± 2.1	13.5 ± 2.6**	18.4 ± 3.7	14.9 ± 2.6**	21.7 ± 3.7	18.4 ± 3.2**
Adrenal (mg)	56.2 ± 7.3	58.2 ± 7.7	64.4 ± 9.4	67.1 ± 9.1	59.4 ± 6.9	66.8 ± 8.0**	52.3 ± 7.7	63.5 ± 10.8
Testis (mg)	2602 ± 180	-	3166 ± 210	-	3494 ± 261	-	3700 ± 209	-
Ovary (mg)	-	62.5 ± 10.5	-	79.7 ± 14.2	-	90.9 ± 10.8	-	84.1 ± 19.5
Thymus (mg)	574 ± 103	436 ± 78**	494 ± 98	398 ± 67**	332 ± 68	299 ± 57*	218 ± 56	203 ± 51
Submandibular gland (mg)	404 ± 26	320 ± 23**	518 ± 33	369 ± 26**	651 ± 76	444 ± 43**	678 ± 67	499 ± 48**
Spleen (mg)	645 ± 96	421 ± 69**	736 ± 114	483 ± 100**	791 ± 121	603 ± 112**	829 ± 162	592 ± 97**
Brain (mg)	1835 ± 59	1736 ± 60**	1922 ± 76	1778 ± 53**	2067 ± 61	1916 ± 59**	2125 ± 75	1949 ± 77**
Heart (mg)	696 ± 51	532 ± 49**	812 ± 76	590 ± 48**	955 ± 74	676 ± 50**	1065 ± 99	758 ± 57**
Lung (mg)	913 ± 61	733 ± 59**	1044 ± 75	813 ± 60**	1165 ± 81	888 ± 75**	1259 ± 97	943 ± 67**
Liver (g)	6.63 ± 0.48	4.66 ± 0.44**	7.84 ± 0.63	5.03 ± 0.37**	9.28 ± 0.91	5.77 ± 0.62**	9.90 ± 1.45	6.12 ± 0.54**
Kidney (mg)	1593 ± 111	1185 ± 97**	1847 ± 134	1235 ± 95**	2194 ± 241	1422 ± 135**	2301 ± 344	1510 ± 122**
Epididymis (mg)	431 ± 35	-	776 ± 72	-	1238 ± 108	-	1318 ± 114	-
Seminal vesicle (mg)	296 ± 69	-	650 ± 113	-	1250 ± 140	-	1390 ± 184	-
Prostate (mg)	404 ± 44	-	619 ± 72	-	1035 ± 134	-	1209 ± 192	-
Uterus (mg)	-	406 ± 232	-	586 ± 260	-	653 ± 392	-	663 ± 216
<b>Relative</b>								
Pituitary (mg/100 gBW)	3.55 ± 0.41	6.16 ± 0.58**	3.19 ± 0.32	6.33 ± 0.63**	2.42 ± 0.34	6.13 ± 0.80**	2.28 ± 0.25	6.67 ± 1.01**
Thyroid (mg/100 gBW)	6.13 ± 0.77	7.06 ± 1.12**	6.44 ± 0.74	7.99 ± 1.45**	4.81 ± 0.87	6.68 ± 1.08**	4.91 ± 0.77	7.42 ± 1.27**
Adrenal (mg/100 gBW)	27.9 ± 3.7	40.3 ± 4.8**	24.9 ± 3.1	39.8 ± 5.3**	15.6 ± 1.5	29.9 ± 3.3**	11.9 ± 1.6	25.6 ± 4.5**
Testis (mg/100 gBW)	1291 ± 91	-	1228 ± 67	-	920 ± 79	-	843 ± 70	-
Ovary (mg/100 gBW)	-	43.2 ± 6.5	-	47.3 ± 8.0	-	40.8 ± 5.0	-	33.9 ± 8.1
Thymus (mg/100 gBW)	285 ± 50	301 ± 45	191 ± 32	236 ± 35**	87 ± 19	134 ± 25**	50 ± 13	82 ± 19**
Submandibular gland (mg/100 gBW)	201 ± 16	221 ± 15**	201 ± 13	219 ± 15**	171 ± 18	199 ± 21**	154 ± 15	201 ± 19**
Spleen (mg/100 gBW)	320 ± 45	291 ± 43*	285 ± 37	286 ± 54	207 ± 27	269 ± 40**	187 ± 31	238 ± 40**
Brain (mg/100 gBW)	911 ± 46	1205 ± 68**	747 ± 47	1057 ± 53**	545 ± 35	859 ± 45**	484 ± 41	786 ± 64**
Heart (mg/100 gBW)	345 ± 23	368 ± 22**	314 ± 19	350 ± 23**	251 ± 14	303 ± 21**	242 ± 16	305 ± 20**
Lung (mg/100 gBW)	453 ± 28	507 ± 26**	405 ± 25	483 ± 34**	306 ± 15	397 ± 26**	286 ± 24	380 ± 33**
Liver (g/100 gBW)	3.28 ± 0.18	3.22 ± 0.19	3.04 ± 0.14	2.98 ± 0.16	2.43 ± 0.09	2.58 ± 0.16**	2.23 ± 0.16	2.45 ± 0.12**
Kidney (mg/100 gBW)	789 ± 43	820 ± 40**	715 ± 27	734 ± 48	575 ± 42	636 ± 45**	520 ± 47	607 ± 43**
Epididymis (mg/100 gBW)	214 ± 19	-	301 ± 30	-	327 ± 35	-	301 ± 37	-
Seminal vesicle (mg/100 gBW)	147 ± 35	-	252 ± 44	-	329 ± 39	-	317 ± 53	-
Prostate (mg/100 gBW)	200 ± 21	-	240 ± 28	-	273 ± 41	-	276 ± 50	-
Uterus (mg/100 gBW)	-	282 ± 167	-	352 ± 164	-	289 ± 156	-	266 ± 89

Values are expressed as the mean ± SD (n=30). \* and \*\*: significantly different from males (P<0.05 and P<0.01, respectively). -: Not applicable.

**Table 12-1.** Histopathological findings in Wistar Hannover rats

Age (Weeks)	8		10		19		32	
	Males	Females	Males	Females	Males	Females	Males	Females
Sex								
No. of animals examined	30	30	30	30	30	30	30	30
Abdominal cavity (mass, gross abnormal site)								
Necrosis, adipose tissue	-	-	-	-	-	-	1	-
Adrenal								
Accessory adrenal	0	0	0	0	0	2	1	0
Extramedullary hematopoiesis	0	0	0	0	0	1	0	0
Hypertrophy, zona fasciculata cell, focal	0	0	0	0	0	1	0	1
Metaplasia, osseous	0	0	0	0	1	0	0	0
Vacuolation, ganglion cell	0	0	1	1	0	0	0	0
Cecum								
Dilatation, crypt	0	0	0	0	0	0	2	0
Cerebrum								
Dilatation, lateral ventricle	0	1	0	0	0	0	0	0
Epididymis								
Cell debris, duct	0	-	1	-	0	-	0	-
Cellular infiltration, mononuclear cell, interstitium	0	-	0	-	1	-	1	-
Eyeball								
Degeneration/necrosis, corneal epithelium	0	0	1	0	0	0	0	0
Dysplasia, retina	11	6	6	7	8	11	6	6
Mineralization, cornea	0	2	9	7	16	3	10	5
Persistent, hyaloid artery	4	3	2	1	1	1	0	0
Synechia, iris-cornea	0	0	0	0	0	0	0	2
Harderian gland								
Cellular infiltration, mononuclear cell	0	0	1	0	1	4	5	2
Degeneration/necrosis, glandular epithelium	0	0	0	0	1	0	0	0
Heart								
Cardiomyopathy/Myocarditis	0	0	0	0	0	0	10	2
Myocarditis, focal	0	1	0	0	4	0	0	0
Kidney								
Basophilic tubule, focal	3	2	0	1	0	0	2	1
Cast, hyaline	0	0	0	0	0	0	2	2
Cell debris, pelvis	0	0	0	0	0	0	3	1
Cellular infiltration, inflammatory cell, pelvis	0	0	0	0	0	0	3	2
Cellular infiltration, mononuclear cell, focal	0	0	0	0	3	0	0	1
Cyst	0	0	1	1	0	0	0	0
Degenerative change, glomerulus	0	0	0	0	0	0	0	1
Dilatation, pelvis	1	0	0	1	0	0	1	0
Fibrosis, focal	0	0	0	0	0	1	0	0
Hypertrophy, transitional epithelium	0	0	0	0	0	0	0	1
Mineralization, papilla	1	0	0	0	0	0	0	0
Mineralization, pelvis	0	0	0	0	0	0	0	1
Lacrimal gland								
Cellular infiltration, mononuclear cell	0	0	0	0	4	1	8	1
Harderian gland alteration	3	1	0	2	8	2	8	0
Liver								
Altered cell focus, eosinophilic	0	0	0	0	0	0	1	0
Cellular infiltration, mononuclear cell, focal	13	6	10	13	26	13	16	13
Deposition, brown pigment, hepatocyte, periportal	0	0	0	0	0	5	0	0
Fibrosis, peribiliary duct	0	0	0	1	0	0	0	0
Microgranuloma	0	0	0	0	0	0	1	0
Microvacuolation, hepatocyte, periportal	0	0	0	0	0	0	1	0
Mineralization, bile duct	0	0	0	1	0	0	0	0
Necrosis, hepatocyte	1	0	0	0	1	0	0	0

Data are expressed as the number of animals with histopathological findings. -: Not applicable

No appreciable changes in all other organs and tissues.

**Table 12-2.** Continued.

Age (Weeks)	8		10		19		32	
	Males	Females	Males	Females	Males	Females	Males	Females
Sex								
No. of animals examined	30	30	30	30	30	30	30	30
Lung (including bronchus)								
Accumulation, foam cell, alveolus, focal	1	2	1	0	6	7	7	11
Cellular infiltration, eosinophil, perivascular, focal	0	1	0	0	0	0	0	0
Hemorrhage, alveolus, focal	0	1	0	0	0	0	1	0
Metaplasia, osseous	1	4	4	0	4	2	4	3
Mineralization, vascular wall	1	1	4	0	6	1	9	4
Lymph node (mesenteric)								
Dilatation, cystic, sinus	0	0	0	0	1	0	1	0
Pancreas								
Atrophy, acinar cell, focal	1	0	0	0	0	0	1	1
Cellular infiltration, mononuclear cell	0	0	0	0	0	0	1	1
Immature exocrine cell, focal	0	0	0	0	0	0	1	0
Parotid gland								
Cellular infiltration, mononuclear cell	0	0	0	0	2	0	3	2
Vesicular cell focus	6	1	1	0	0	0	0	1
Pituitary								
Cyst, anterior lobe	2	2	4	0	2	0	6	1
Cyst, pars intermedia	0	0	0	0	0	0	1	2
Prostate								
Cell debris, acinus	0	-	0	-	1	-	1	-
Cellular infiltration, mononuclear cell, interstitium	3	-	0	-	4	-	7	-
Hyperplasia, reactive, acinar epithelium	0	-	0	-	1	-	1	-
Spleen								
Extramedullary hematopoiesis	30	4	26	20	26	20	21	19
Siderotic plaque	0	0	0	0	1	0	1	1
Stomach (glandular stomach)								
Atrophy, foveolar cell, focal	0	1	0	0	5	8	5	6
Cellular infiltration, inflammatory cell, submucosa	0	0	0	0	1	0	0	0
Congestion/hemorrhage, lamina propria, focal	0	1	0	0	5	8	3	5
Erosion	0	1	0	0	0	0	0	1
Testis								
Degeneration, seminiferous tubule, focal	0	-	1	-	0	-	1	-
Thymus								
Dilatation, cystic	0	0	0	0	0	0	0	1
Thyroid								
Cellular infiltration, mononuclear cell	0	0	0	0	0	0	2	0
Ectopic thymus	0	2	2	0	0	1	0	0
Mineralization, follicle	0	0	0	0	0	0	1	0
Ultimobranchial body remnant	1	1	1	1	1	1	0	1
Urinary bladder								
Cellular infiltration, mononuclear cell, lamina propria	0	0	0	1	1	0	2	3
Uterus								
Cyst, glandular	-	1	-	0	-	0	-	0

Data are expressed as the number of animals with histopathological findings. -: Not applicable

No appreciable changes in all other organs and tissues.

**Table 13.** Microsomal protein and total P450 contents and drug-metabolizing enzyme activities in liver microsomes of Wistar Hannover rats

Age (Weeks)	10		19		32	
	Males	Females	Males	Females	Males	Females
CYP2B1 (nmol/min/mg protein)	0.020 ± 0.062	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.012 ± 0.039	0.000 ± 0.000
CYP1A2 (nmol/min/mg protein)	0.0634 ± 0.0087	0.0569 ± 0.0111	0.0610 ± 0.0096	0.0615 ± 0.0116	0.0675 ± 0.0094	0.0567 ± 0.0133
CYP2C11 (16α) (nmol/min/mg protein)	1.91 ± 0.60	-	1.55 ± 0.19	-	1.81 ± 0.56	-
CYP2C11 (2α) (nmol/min/mg protein)	1.58 ± 0.53	-	1.27 ± 0.14	-	1.44 ± 0.49	-
CYP3A2 (nmol/min/mg protein)	2.33 ± 0.57	0.46 ± 0.11**	2.12 ± 0.39	0.45 ± 0.07**	2.33 ± 0.67	0.44 ± 0.06**
Microsomal protein (mg/g liver)	14.9 ± 3.3	13.2 ± 4.2	17.7 ± 4.0	19.3 ± 4.6	12.0 ± 2.7	12.2 ± 2.3
Total P450 (nmol/mg protein)	0.557 ± 0.186	0.473 ± 0.056	0.803 ± 0.073	0.591 ± 0.089**	0.985 ± 0.118	0.455 ± 0.113**

2α: testosterone 2α-hydroxylase; 16α: testosterone 16α-hydroxylase.

Values are expressed as the mean±SD (n=10). \* and \*\*: significantly different from males (P<0.05 and P<0.01, respectively). -: Not detected



## 第3章

### Wistar Hannover ラットにおける免疫毒性試験に関するデータ

#### 1. 緒言

「医薬品の免疫毒性試験に関するガイドライン」（平成18年4月18日薬食審査発第0418001号厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知）により、平成18年10月1日以降に申請される医薬品に添付される免疫毒性に関する資料は、このガイドラインに基づいたものであることとされている。本ガイドラインは、ヒトへの投与を意図とした新医薬品の免疫毒性の検出のために行われる非臨床試験の望ましい実施方法を示すものであり、従来の非臨床試験における安全性評価に係るガイドラインを補完するものである。免疫毒性試験が必要か否かの判断は、①標準的毒性試験から得られた所見、②薬剤の薬理学的性質、③適応の対象となる患者集団、④既知の免疫調節剤との構造の類似性、⑤薬物の分布、⑥臨床情報をその重要性に基づいて評価すること（weight-of-evidence review）により行われる。なお、本ガイドラインで対象とされる免疫毒性とは、非意図的な免疫抑制あるいは免疫亢進であり、薬剤起因性の過敏反応や自己免疫は除かれる。

標準的毒性試験から得られたデータについては、免疫毒性の可能性を示す変化（兆候）について次の変化を考慮して評価を行う必要がある。

- ①白血球の減少または増加、顆粒球の減少または増加、リンパ球の減少または増加などの血液学的変化
- ②免疫系器官の重量または組織像の変化（例えば胸腺、脾臓、リンパ節、または骨髄の変化など）

③血清グロブリン濃度の変化：肝臓または腎臓への作用など，他に適切な理由がなければ，血清免疫グロブリン濃度が変化した可能性を示している。

④感染の発生率の増加

⑤腫瘍の発生率の増加：遺伝毒性，ホルモン作用，または肝臓の酵素誘導など，他に妥当な原因がなければ，免疫抑制の可能性を示す兆候の場合がある。

標準的毒性試験において免疫毒性の兆候として評価すべきパラメータは，血液学的検査として総白血球数及び白血球型別絶対数，血液生化学的検査としてグロブリン濃度及びアルブミン／グロブリン比率，剖検としてリンパ系器官／組織の所見，臓器重量として胸腺及び脾臓（オプションとしてリンパ節），病理組織学的検査として胸腺，脾臓，所属リンパ節，1つ以上の他のリンパ節，骨髓，パイエル板，気管支関連リンパ組織，鼻咽頭関連リンパ組織の所見である。

免疫毒性試験としては，T細胞依存性の抗体産生（T cell-dependent antibody response: TDAR）のような免疫機能試験の実施が望まれる。標準的毒性試験において，ある特定の細胞の免疫系機能に影響がみられ，その標的細胞が TDAR に関与しないことが知られている場合には，その細胞の機能を測定する試験法（ナチュラルキラー細胞活性検査，宿主抵抗性試験，マクロファージ／好中球機能試験，細胞性免疫能の検査など）を実施できるが，免疫毒性の標的が特定されていない場合には TDAR が推奨されている。また，白血球ポピュレーションの免疫フェノタイピングは，機能試験には該当しないものの，影響を受けた特定の細胞集団の同定に用いることができ，有用な臨床バイオマーカーを見出せる場合もある。

本研究では，Wistar Hannover ラットを用いた 2，4，13，26 週間における反復毒性試験を想定した 8，10，19，32 週齢における免疫毒性試験検査項目のデータ収集を行

い、性差及び加齢性変化について検討を行った。

## 2. 材料及び方法

### 1) 動物

株式会社日本医科学動物資材研究所の飯能生育場（埼玉）から 5 週齢の Wistar Hannover ラット（RccHan<sup>TM</sup>:WIST ラット）を雌雄各 120 匹入手し、1 週間の検疫馴化を行った。動物は、許容範囲が室温 19～25℃、湿度が 30～70%、換気回数：15 回／時間、照明：1 日 12 時間（午前 7 時～午後 7 時）の人工照明に調整された株式会社新日本科学安全性研究所（鹿児島）の SPF 施設において、ステンレス製ケージ（325 mm×195 mm×180 mm）で個別飼育した。長期飼育用飼料（CR-LPF、オリエンタル酵母工業株式会社、東京）を自由に与えたが、剖検前日（17 時前後より）は絶食させた。また、水道法水質基準に適合した水を自由に摂取させた。8、10、19、32 週齢時に白血球系細胞数、血清アルブミン及びグロブリン濃度、末梢血、脾臓及び胸腺における免疫フェノタイピング及び T 細胞依存性抗体産生能の検査を実施した。

### 2) 白血球系細胞数，血清アルブミン，グロブリン濃度

各観察期間終了（剖検）時に対象動物全個体（各観察ポイント雌雄各 30 匹）について検査を行った。採血方法については第 2 章 2. 材料及び方法（2.6. 血液学的検査及び 2.7. 血液生化学的検査）に示した。検査項目及び方法は以下の表に示す。

Table 14. 白血球系細胞数, 血清アルブミン及びグロブリン濃度

検査項目	単位	測定方法	機種
白血球数	10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	2 角度レーザーフローサイトメトリー法	ADVIA120 <sup>a)</sup>
白血球分類 <sup>b)</sup>	10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> , %	ペルオキシダーゼ染色による フローサイトメトリー法及び 2 角度レーザーフローサイトメトリー法	
アルブミン	g/dL	計算式: 総蛋白×アルブミン比率/100	-
グロブリン	g/dL	計算式: 総蛋白-アルブミン	-
蛋白分画 <sup>c)</sup>	%	電気泳動法	AES320 <sup>d)</sup>

a) 総合血液学検査装置 (Siemens Healthcare Diagnostics Manufacturing Ltd., USA)

b) 検査項目: 好酸球, 好塩基球, 好中球, 単球, リンパ球及び大型非染色細胞

c) 検査項目: アルブミン比率,  $\alpha_1$ -グロブリン比率,  $\alpha_2$ -グロブリン比率,  $\beta$ -グロブリン比率,  $\gamma$ -グロブリン比率, A/G 比

d) 自動電気泳動分析装置 (オリンパス株式会社, 東京)

### 3) イムノフェノタイピング (末梢血, 脾臓, 胸腺)

観察 4, 13, 26 週 (剖検) 時に対象動物全個体 (各観察ポイント雌雄各 10 匹, 胸腺のみ観察 4 週時) についてイムノフェノタイピングを行った. 末梢血は第 2 章 (2. 材料及び方法, 2. 6. 血液学的検査) の残余血液 (EDTA-2K で抗凝固処理した全血) を用いた. 胸腺及び脾臓は, 器官重量 [第 2 章 (2. 材料及び方法, 2. 8. 病理学的検査, 2. 8. 2. 器官重量)] を測定後, それぞれ全体の約 1/2 量を氷冷した Hanks' balanced salt solution [HBSS, インビトロジェン株式会社 (CA, USA)] に入れ, イムノフェノタイピングまで氷冷下で保存した. 氷冷した胸腺及び脾臓はそれぞれ HBSS の入ったシャーレ内でステンレスメッシュ及びスパチュラを用いて細胞浮遊液を調製した. 下記の標識抗体を用いて各細胞浮遊液を染色し, フローサイトメーター [FACS Calibur, Becton Dickinson Biosciences (NJ, USA)] 及び解析ソフト CELL Quest (ver. 3.3, Becton Dickinson Biosciences) を用いて計測を行い, リンパ球ゲート内の各陽性細胞を算出した. また, リンパ球数から各陽性細胞数を算出した.

Table 15. 末梢血, 脾臓及び胸腺におけるイムノフェノタイピング

検査項目	標識	クローン名	製造元
CD3	APC (Allophycocyanin)	1F4	BD Biosciences
CD4	FITC (Fluorescein isothiocyanate)	OX-38	
CD8a	PE (R-Phycoerythrin)	OX-8	
CD45RA	FITC (Fluorescein isothiocyanate)	OX-33	
NKR-P1A	PE (R-Phycoerythrin)	10/78	

#### 4) T細胞依存性抗体産生能

感作物質には Keyhole Limpet Hemocyanin (KLH, 和光純薬工業株式会社) を用い, 感作物質溶液の調製は次のように行った. 調製量の 90%の生理食塩液 (株式会社大塚製薬工場) に KLH を静かに入れて冷蔵庫で一晩放置した後, 攪拌し, 20 分間超音波処理を行った. 調製量の 10%に相当する 9%塩化ナトリウム溶液を加えて攪拌し, 遠心分離 (4°C, 1710×g, 3000 rpm, 10 分間) で得られた上清を感作物質溶液 (0.6 mg/mL) とした.

感作物質溶液は剖検の 10 日前に 1 回, 対象動物の静脈内に投与 (3 mg/kg, 5 mL/kg) した. 測定には第 2 章 (2. 材料及び方法, 2.7. 血液生化学的検査) で得られた血清の一部 (約 0.1 mL/個体) を用いた. 血清は ELISA 法による分析時まで凍結保存 (-70°C以下) した. 128 倍希釈血清から公比 2 の希釈系列を 11 段階設け, これらの希釈血清は KLH を固定化した ELISA 用プレート (F96 MAXISORP NUNC-IMMUNO PLATE, Nalge Nunc International K.K.) に添加し反応させた. 抗 KLH 抗体価は HRP 標識ヤギ抗ラット IgG 抗体あるいは HRP 標識ヤギ抗ラット IgM 抗体 (Nordic Immunology Laboratories) を二次抗体として ELISA 法で測定した. 発色反応後, プレートリダー (マルチスキャンアセント, Thermo Fisher Scientific K.K.) を用いて, 波長 492 nm の吸光度を測定した. 評価方法は波長 492 nm における吸光度を基準値 (0.100) とし,

抗 KLH 抗体価は測定値が基準値より高い最大希釈倍率とした。

## 5) 統計解析

観察期間中または観察期間終了時に得られたデータは、F 検定（有意水準 5%、両側）により分散の一樣性の検定を行い、その結果、分散が一樣の場合には Student's t-test を用いて、分散が一樣でない場合には Welch's t-test を用いて雌雄の比較を行った。これらの検定及び計算には MUSCOT 統計解析ソフトウェア（ユックムス株式会社、東京）を使用した。検定の有意水準は 5%とし、5% ( $P < 0.05$ ) 及び 1% ( $P < 0.01$ ) の指標で表記した。すべての定量データは Mean $\pm$ SD で表記した。

## 3. 結果

### 1) 白血球系細胞数，血清アルブミン，グロブリン濃度

8, 10, 19, 32 週齢の剖検時における白血球系細胞数，血清アルブミン，グロブリン濃度の結果を Table 16 に示した。

いずれの週齢においても雄と比較して、雌では白血球数、好塩基球数、リンパ球数、大型非染色細胞数の低値がみられ、10 週齢以降は好酸球、単球、好中球数の低値もみられた。雄では白血球系パラメータは 10 あるいは 19 週齢までわずかに増加し、その後、加齢に伴って徐々に減少したのに対して、雌の白血球系パラメータは 8 週齢以降、徐々に減少した。白血球系パラメータの比率には明らかな性差はみられなかった。また、いずれの週齢においても雄と比較して、雌では血清グロブリン濃度の低値、 $\alpha_1$ -、 $\alpha_2$ -及び $\beta$ -グロブリン比率の低値、アルブミン濃度の高値、アルブミン比率及びアルブミン/グロブリン比率の高値がみられた。

## 2) イムノフェノタイピング (末梢血, 脾臓, 胸腺)

10, 19, 32 週齢の剖検時における末梢血, 脾臓, 胸腺 (胸腺は 10 週齢のみ) のイムノフェノタイピングの結果は Table 17 に示した.

末梢血のイムノフェノタイピングでは, 雄と比較して雌で  $CD3^+$ ,  $CD3^+CD4^+$ ,  $CD3^+CD8a^+$ ,  $CD3^-CD45RA^+$ ,  $CD3^-NKR-P1A^+$  の細胞数の低値あるいは低値傾向がすべての週齢においてみられたのに対して, それらの比率では明らかな性差はみられなかった.

脾臓のイムノフェノタイピングでは, 雄と比較して雌で  $CD3^+$ ,  $CD3^+CD4^+CD8a^-$ ,  $CD3^+CD4^-CD8a^+$ ,  $CD3^-CD45RA^+$ ,  $CD3^-NKR-P1A^+$  の細胞数の低値が 10 週齢の剖検時にみられたが, 19 及び 32 週齢の剖検時の検査では明らかな性差はみられなかった. 脾細胞比率では, 雄と比較して雌で  $CD3^+$ ,  $CD3^+CD4^+CD8a^-$ ,  $CD3^+CD4^-CD8a^+$  の細胞比率の低値及び  $CD3^-CD45RA^+$  比率の高値が 32 週齢の剖検時の検査でみられた.

胸腺のイムノフェノタイピングでは, 雄と比較して雌で  $CD3^+CD4^-CD8a^+$  の細胞数及びその比率の高値が 10 週齢の剖検時の検査でみられたが, 他の細胞では明らかな性差はみられなかった.

## 3) T 細胞依存性抗体産生

10, 19, 32 週齢における T 細胞依存性抗体産生の結果を Table 18 に示した.

抗 KLH 抗体 (IgG 及び IgM) 産生は雌雄ともに加齢に伴って徐々に増加したが, 性差はみられなかった.

## 4. 考察

近年, 日本において毒性試験における有用性が期待されている Wistar Hannover ラ

ットを用いて「医薬品の免疫毒性試験に関するガイドライン」（平成 18 年 4 月 18 日 薬食審査発第 0418001 号厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知）に関する代表的な検査項目について、8, 10, 19, 32 週齢時のデータを収集し、性差及び加齢性変化に関する検討を行った。

Wolford らは、SD ラットの血液学的検査及び血液生化学的検査における加齢性変化を検討し、本研究と同一の週齢では白血球数及びリンパ球数が加齢に伴い減少することを報告している[40, 49]。また、土屋らは、6~30 週齢の SD ラットにおける血液生化学的検査項目の性差と加齢性変化を検討し、性差が認められる血液生化学的検査項目として雌における血清アルブミン濃度の高値を報告している[28]。本研究においてもこれらの報告と同様な傾向が認められた。

一般毒性試験に用いられる動物種としてはマウス、ラット、ビーグル犬、サル（カニクイザル、アカゲザル）が汎用されているが、免疫学的な背景を調べた報告はほとんどない。南らは、カニクイザルの末梢血を用いた検討により、リンパ球比率において最初の 10 年間は  $CD4^+CD8^+$ T 細胞が減少し、 $CD4^-CD8^+$ T 細胞が増加するが、生涯  $CD3^+$ T 細胞は比較的一定であり、性成熟後は  $CD20^+$ B 細胞に加齢性変化がないことを報告しており、げっ歯類においても免疫学的な背景を明らかにすることは今後の医薬品開発において有用な情報になると考えられる[50]。本研究においても末梢血及び脾臓のリンパ球サブセットの比率はほぼ性成熟したと考えられる 10 週齢以降は比較的一定であった。Morris らは、10~14 週齢の SD ラットのリンパ球サブセットでは軽度な性差があり、雌と比較して雄では末梢血及び脾臓のリンパ球数が多いことと、胸腺のリンパ球サブセットには性差がないことを報告している[51]。この SD ラットでの報告と同様に本研究では、いずれの週齢においても雌と比較して雄では末梢血及び脾臓のリン



パ球数の高値あるいは高値傾向がみられ、胸腺細胞では 10 週齢の CD3<sup>+</sup>CD4<sup>-</sup>CD8a<sup>+</sup>の細胞数及びその比率を除いて性差は認められなかった。

げっ歯類を用いた T 細胞依存性抗体産生能の経時的変化を検討した報告はほとんどない。高木らは C3H/HeN 系マウスを用いて 5~52 週齢における T 細胞依存性抗体産生能を plaque forming assay 法により検討した結果、加齢に伴い抗体産生能が増加することを報告している [52]。本研究においても Wistar Hannover ラットでは 10~32 週齢で T 細胞依存性抗体産生能が徐々に増加することが明らかとなった。

以上のように、Wistar Hannover ラットを用いて 8, 10, 19, 32 週齢時における免疫毒性試験検査項目のデータ収集を行った結果、白血球数、血清アルブミン及びグロブリン濃度、免疫フェノタイピング（末梢血、脾臓、胸腺）で性差及び加齢性変化が認められ、本研究で得られたデータは本システムを用いて薬物の免疫毒性を評価する際に有用と考えられた。

5. Tables

**Table 16.** Leukocyte parameters and serum albumin and globulin concentrations in Wistar Hannover rats

Age (Weeks)	8		10		19		32	
	Males	Females	Males	Females	Males	Females	Males	Females
<b>Leukocyte parameters</b>								
Leukocyte count ( $10^3/\text{mm}^3$ )#	4.35 ± 0.87	3.57 ± 0.88**	4.93 ± 1.20	2.97 ± 0.70**	4.93 ± 1.18	2.60 ± 0.60**	3.79 ± 1.00	2.07 ± 0.55**
Eosinophil count ( $10^3/\text{mm}^3$ )#	0.031 ± 0.012	0.031 ± 0.012	0.042 ± 0.017	0.026 ± 0.012**	0.065 ± 0.015	0.037 ± 0.015**	0.045 ± 0.014	0.025 ± 0.017**
Basophil count ( $10^3/\text{mm}^3$ )#	0.008 ± 0.006	0.005 ± 0.005*	0.008 ± 0.006	0.003 ± 0.004**	0.011 ± 0.006	0.003 ± 0.005**	0.004 ± 0.006	0.001 ± 0.003*
Monocyte count ( $10^3/\text{mm}^3$ )#	0.070 ± 0.018	0.068 ± 0.024	0.101 ± 0.047	0.058 ± 0.024**	0.104 ± 0.041	0.055 ± 0.022**	0.072 ± 0.032	0.042 ± 0.020**
Lymphocyte count ( $10^3/\text{mm}^3$ )#	3.794 ± 0.813	3.058 ± 0.787**	4.069 ± 1.021	2.466 ± 0.628**	3.544 ± 0.905	2.008 ± 0.581**	2.717 ± 0.829	1.451 ± 0.328**
Neutrophil count ( $10^3/\text{mm}^3$ )#	0.410 ± 0.108	0.382 ± 0.122	0.565 ± 0.296	0.401 ± 0.142**	1.142 ± 0.392	0.463 ± 0.155**	0.924 ± 0.269	0.535 ± 0.364**
Large unstained cell count ( $10^3/\text{mm}^3$ )#	0.038 ± 0.012	0.031 ± 0.013*	0.047 ± 0.024	0.020 ± 0.010**	0.060 ± 0.028	0.031 ± 0.017**	0.028 ± 0.017	0.016 ± 0.012**
Eosinophil ratio (%)	0.72 ± 0.32	0.90 ± 0.36*	0.88 ± 0.28	0.88 ± 0.33	1.41 ± 0.44	1.43 ± 0.64	1.25 ± 0.49	1.23 ± 0.58
Basophil ratio (%)	0.17 ± 0.07	0.17 ± 0.08	0.19 ± 0.09	0.13 ± 0.07**	0.19 ± 0.09	0.15 ± 0.10	0.13 ± 0.08	0.11 ± 0.07
Monocyte ratio (%)	1.68 ± 0.54	1.90 ± 0.52	2.05 ± 0.69	1.95 ± 0.71	2.12 ± 0.60	2.20 ± 0.83	1.88 ± 0.62	2.01 ± 0.67
Lymphocyte ratio (%)	86.96 ± 2.90	85.35 ± 3.02*	82.36 ± 4.81	82.65 ± 4.56	71.85 ± 5.61	76.61 ± 7.30**	71.11 ± 6.95	71.31 ± 9.61
Neutrophil ratio (%)	9.58 ± 2.49	10.86 ± 2.94	13.57 ± 4.43	13.74 ± 4.03	23.22 ± 5.16	18.41 ± 7.20**	24.89 ± 6.53	24.58 ± 9.07
Large unstained cell ratio (%)	0.88 ± 0.26	0.81 ± 0.23	0.93 ± 0.40	0.64 ± 0.26**	1.21 ± 0.38	1.19 ± 0.50	0.73 ± 0.32	0.76 ± 0.42
<b>Serum albumin and globulin concentrations</b>								
Albumin (g/dL)#	3.07 ± 0.12	3.31 ± 0.18**	3.05 ± 0.21	3.54 ± 0.23**	3.13 ± 0.09	3.68 ± 0.28**	2.94 ± 0.13	3.66 ± 0.26**
Globulin (g/dL)#	2.15 ± 0.11	2.06 ± 0.11**	2.24 ± 0.10	2.03 ± 0.13**	2.62 ± 0.13	2.29 ± 0.18**	2.62 ± 0.16	2.46 ± 0.17**
Albumin ratio (%)	58.9 ± 1.3	61.7 ± 1.4**	57.7 ± 2.6	63.7 ± 1.1**	54.5 ± 1.2	61.5 ± 1.7**	52.9 ± 1.7	59.7 ± 1.9**
$\alpha_1$ -globulin ratio (%)	18.3 ± 1.0	16.6 ± 0.9**	18.4 ± 1.0	15.5 ± 0.9**	19.5 ± 1.2	15.2 ± 1.3**	19.1 ± 1.3	16.0 ± 1.0**
$\alpha_2$ -globulin ratio (%)	6.65 ± 0.53	6.08 ± 0.40**	6.74 ± 0.52	5.68 ± 0.39**	8.38 ± 0.47	7.12 ± 0.49**	8.98 ± 0.69	6.67 ± 0.52**
$\beta$ -globulin ratio (%)	13.5 ± 0.6	12.8 ± 0.8**	14.3 ± 1.4	12.4 ± 0.6**	13.9 ± 0.6	12.0 ± 0.9**	14.4 ± 0.7	12.7 ± 1.0**
$\gamma$ -globulin ratio (%)	2.68 ± 0.20	2.83 ± 0.31*	2.80 ± 0.32	2.77 ± 0.30	3.67 ± 0.47	4.19 ± 0.61**	4.64 ± 0.70	4.99 ± 0.82
Albumin / globulin (%)	1.44 ± 0.08	1.62 ± 0.10**	1.37 ± 0.12	1.76 ± 0.09**	1.20 ± 0.06	1.61 ± 0.12**	1.13 ± 0.08	1.49 ± 0.11**

Values are expressed as the mean±SD (n=30). \* and \*\*: significantly different from males ( $P < 0.05$  and  $P < 0.01$ , respectively)

#: Data are cited from the results of hematological and clinical chemistry examinations (Tables 8 and 9).

**Table 17. Immunophenotyping (peripheral blood, spleen, and thymus) in Wistar Hannover rats**

Sex	10		19		32	
	Males	Females	Males	Females	Males	Females
<b>Peripheral blood</b>						
CD3 <sup>+</sup> (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	2.60 ± 0.75	1.51 ± 0.45**	2.37 ± 0.81	1.41 ± 0.43**	1.68 ± 0.64	0.93 ± 0.21**
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	1.92 ± 0.59	1.11 ± 0.35**	1.69 ± 0.56	0.98 ± 0.31**	1.19 ± 0.42	0.66 ± 0.14**
CD3 <sup>+</sup> CD8a <sup>+</sup> (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	0.74 ± 0.20	0.44 ± 0.13**	0.75 ± 0.31	0.45 ± 0.15*	0.52 ± 0.24	0.28 ± 0.10*
CD3 <sup>+</sup> CD45RA <sup>+</sup> (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	1.06 ± 0.34	0.51 ± 0.20**	0.97 ± 0.31	0.33 ± 0.12**	0.58 ± 0.17	0.26 ± 0.05**
CD3 <sup>+</sup> NKR-P1A <sup>+</sup> (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	0.18 ± 0.06	0.11 ± 0.04**	0.13 ± 0.06	0.09 ± 0.04	0.18 ± 0.17	0.06 ± 0.02
CD3 <sup>+</sup> (%)	66.0 ± 4.8	69.2 ± 6.1	65.9 ± 5.7	74.4 ± 4.8**	64.8 ± 8.5	69.1 ± 6.1
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> (%)	48.6 ± 3.9	50.7 ± 5.9	47.5 ± 6.7	52.0 ± 3.9	46.4 ± 6.1	49.5 ± 5.8
CD3 <sup>+</sup> CD8a <sup>+</sup> (%)	18.9 ± 2.1	20.1 ± 1.7	20.3 ± 3.3	23.6 ± 3.2*	19.4 ± 4.1	20.4 ± 5.1
CD3 <sup>+</sup> CD45RA <sup>+</sup> (%)	26.6 ± 4.4	23.2 ± 6.0	27.4 ± 5.4	17.9 ± 5.3**	23.5 ± 4.7	19.9 ± 4.7
CD3 <sup>+</sup> NKR-P1A <sup>+</sup> (%)	4.5 ± 1.3	5.0 ± 1.4	4.0 ± 2.3	5.4 ± 3.0	6.4 ± 4.2	4.9 ± 1.3
<b>Spleen</b>						
CD3 <sup>+</sup> (10 <sup>6</sup> cells)	19.5 ± 8.2	9.1 ± 3.2**	25.5 ± 15.2	16.4 ± 5.6	22.3 ± 12.6	14.5 ± 4.1
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD8a <sup>-</sup> (10 <sup>6</sup> cells)	9.2 ± 4.7	4.4 ± 1.9*	14.9 ± 7.7	8.6 ± 2.9*	14.1 ± 7.7	8.7 ± 2.6
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD8a <sup>+</sup> (10 <sup>6</sup> cells)	5.7 ± 2.5	2.4 ± 0.6**	7.1 ± 5.1	5.5 ± 2.0	6.5 ± 3.9	3.9 ± 1.1
CD3 <sup>+</sup> CD45RA <sup>+</sup> (10 <sup>6</sup> cells)	10.3 ± 6.0	5.4 ± 2.0*	13.4 ± 8.1	7.2 ± 4.7	8.0 ± 3.0	10.8 ± 4.6
CD3 <sup>+</sup> NKR-P1A <sup>+</sup> (10 <sup>6</sup> cells)	14.2 ± 7.6	6.4 ± 3.9*	6.5 ± 3.1	7.0 ± 2.7	5.8 ± 2.7	7.1 ± 3.1
CD3 <sup>+</sup> (%)	29.4 ± 4.5	29.1 ± 4.8	41.2 ± 7.1	40.1 ± 7.9	43.9 ± 8.9	30.4 ± 6.5**
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD8a <sup>-</sup> (%)	13.9 ± 3.4	14.1 ± 4.0	24.5 ± 4.1	21.4 ± 5.2	28.0 ± 6.3	18.4 ± 4.6**
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD8a <sup>+</sup> (%)	8.6 ± 1.7	8.1 ± 2.1	11.2 ± 3.3	13.5 ± 3.4	12.5 ± 3.2	8.4 ± 2.6**
CD3 <sup>+</sup> CD45RA <sup>+</sup> (%)	15.2 ± 8.1	17.4 ± 4.2	20.7 ± 5.9	16.1 ± 5.2	16.7 ± 3.2	21.2 ± 5.4*
CD3 <sup>+</sup> NKR-P1A <sup>+</sup> (%)	20.9 ± 6.1	19.2 ± 3.0	10.8 ± 2.7	17.9 ± 5.8**	12.1 ± 3.1	14.2 ± 2.4
<b>Thymus</b>						
CD4 <sup>+</sup> CD8a <sup>-</sup> (10 <sup>6</sup> cells)	30.2 ± 12.2	46.8 ± 29.6	-	-	-	-
CD4 <sup>+</sup> CD8a <sup>+</sup> (10 <sup>6</sup> cells)	225.0 ± 73.8	268.1 ± 66.1	-	-	-	-
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD8a <sup>+</sup> (10 <sup>6</sup> cells)	117.3 ± 37.6	132.0 ± 31.9	-	-	-	-
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD8a <sup>-</sup> (10 <sup>6</sup> cells)	7.2 ± 2.4	12.7 ± 4.2**	-	-	-	-
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD8a <sup>-</sup> (10 <sup>6</sup> cells)	22.2 ± 9.0	26.7 ± 12.3	-	-	-	-
CD3 <sup>+</sup> (10 <sup>6</sup> cells)	153.0 ± 47.6	181.5 ± 46.5	-	-	-	-
CD4 <sup>+</sup> CD8a <sup>-</sup> (%)	10.1 ± 2.5	11.8 ± 5.2	-	-	-	-
CD4 <sup>+</sup> CD8a <sup>+</sup> (%)	74.9 ± 2.8	71.4 ± 6.8	-	-	-	-
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD8a <sup>+</sup> (%)	39.8 ± 4.6	35.5 ± 5.4	-	-	-	-
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD8a <sup>-</sup> (%)	2.5 ± 0.6	3.3 ± 0.6**	-	-	-	-
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD8a <sup>-</sup> (%)	7.6 ± 2.2	7.0 ± 2.6	-	-	-	-
CD3 <sup>+</sup> (%)	52.0 ± 5.6	48.4 ± 6.3	-	-	-	-

Values are expressed as the mean±SD (n=10). \* and \*\*: Significantly different from males ( $P < 0.05$  and  $P < 0.01$ , respectively). -: Not examined.

**Table 18.** Anti-KLH antibody titer (dilution, log) in Wistar Hannover rats

Age (Weeks)	10		19		32	
	Males	Females	Males	Females	Males	Females
Anti-KLH IgG titer	13.0 ± 1.2	13.6 ± 1.0	13.6 ± 1.1	13.7 ± 0.7	14.6 ± 0.8	14.3 ± 0.8
Anti-KLH IgM titer	10.2 ± 0.8	10.7 ± 1.2	13.5 ± 0.7	13.8 ± 1.5	14.0 ± 0.7	14.3 ± 1.1

Values are expressed as the mean±SD (n=10). There were no significant differences.

## 第4章

### 総合考察

本研究では、Wistar Hannover ラットを用いた 2, 4, 13, 26 週間における反復毒性試験を想定した週齢 (8, 10, 19, 32 週齢) における一般毒性試験, 免疫毒性試験の検査項目, 肝薬物代謝酵素活性についてデータを収集し, 性差及び加齢性変化に関する検討を行った。

その結果, 26 週間の観察期間内に死亡はなく, 一般状態では眼科的検査で中間透光体や角膜の混濁に関連する変化のみがみられたが, それ以外に異常はみられなかった。眼科的検査では雌雄ともに 20~25%の動物で中間透光体の混濁などがみられたが, 明らかな性差や加齢性変化は認められなかった。

Wistar Hannover ラットの体重はSD ラットと比較して雄では約 70%, 雌では約 75%, 雄の体重は雌の 1.2~1.8 倍の値で推移した。Kelly らは, チャールス・リバー (英) から入手した SD ラット [Cr1:CD(SD)IGSBR] と Wistar Hannover ラットを用いて毒性データの比較を行った結果, 後者の体重は前者の体重と比較して, 雌雄ともに本研究と同様の約 70%であったことを報告している [53]。摂餌量については, SD ラットの 1 日当たりの摂餌量の平均値は, 黒岩らの報告によると雄では約 30 g, 雌では約 20 g と考えられるが [36], 本研究の結果から Wistar Hannover の摂餌量は 1 日当たり雄では 23 g, 雌では 17 g であり, 毒性試験に Wistar Hannover ラットを用いることは毒性評価対象となる医薬品候補化合物や飼料のコスト面からも有用であると考えられた。

尿検査では, 新鮮尿における蛋白濃度, 蓄尿における電解質 (ナトリウム, カリウム, 塩素) 総排泄量, 尿比重, グルコース (雄と比較して雌で低値あるいは低値傾向),

尿量（雄と比較して雌で高値あるいは高値傾向）で性差が認められた。雄の蛋白濃度は8週齢から顕著に増加してほぼ性成熟したと考えられる10週齢で平衡に達した。蛋白濃度の性差及び加齢性変化には雄性ラット特有の $\alpha_2$ u-グロブリンとアルブミンが関連していると考えられた。

血液学的検査では、ヘマトクリット値、ヘモグロビン濃度、フィブリノゲン濃度、白血球系パラメータ（白血球数、好塩基球数、リンパ球数、大型非染色細胞数、好酸球、単球、好中球数）、プロトロンビン時間に性差（雄と比較して雌では低値あるいは短縮）がみられた。測定項目は限られているが、日本クレア株式会社が公開している情報 (<http://www.clea-japan.com/>) では、ヘマトクリット値、ヘモグロビン濃度、白血球数についてはWistar Hannover GALAS ラットでも本研究と同様な傾向がみられている。SD ラットでは2カ月齢からリンパ球数が加齢とともに減少し続けることが報告されているが[40]、本研究においても雄では10週齢以降、雌では8週齢以降に同様な加齢性変化が認められた。医薬品の毒性評価を行う際、データの個体差は無視できないアーティファクトとなる。そこで本研究ではWistar Hannover ラットとSD ラットの個体差をより正確に比較するため、本研究で得られたWistar Hannover ラットのデータ及び株式会社新日本科学社内資料のSD ラットのデータ (Attachment) について、10及び19週齢の各検査項目の変動係数を算出した。その結果、SD ラットと比較してWistar Hannover ラットでは18項目のうち10項目（白血球数、網赤血球数、好酸球数、単球数、リンパ球数、好中球数、大型非染色細胞数、平均赤血球容積、平均赤血球ヘモグロビン濃度、プロトロンビン時間）の変動係数が小さく、Wistar Hannover ラットはSD ラットと比較して毒性試験に用いた場合、よりノイズが少ないデータで評価できる可能性が示唆された (Table 19)。

血液生化学的検査では、アルカリフォスファターゼ活性、トリグリセリド濃度、LDL コレステロールレベル（雄と比較して雌では低値）、総蛋白濃度、クレアチニン濃度、コリンエステラーゼ活性（雄と比較して雌では高値）に性差が認められた。日本クレア株式会社が公開している情報（<http://www.clea-japan.com/>、LDL コレステロールの情報なし）では、アルカリフォスファターゼ活性、トリグリセリド濃度、コリンエステラーゼ活性については Wistar Hannover GALAS ラットでも本研究と同様な傾向がみられている。SD ラットでは加齢に伴いトリグリセリド濃度及びコレステロール濃度が増加することが報告されており、本研究においてもほぼ同様な結果が得られた[40]。SD ラットでは、コリンエステラーゼ活性は性差が激しく、雄の活性値の変動はほとんどないが、雌の活性は加齢に伴い急激に上昇するとされており、本研究においても Wistar Hannover ラットの雌のコリンエステラーゼ活性は 8～19 週齢で顕著に上昇した[28]。SD ラットでは、コリンエステラーゼ活性の性差は性成熟が始まる 6 週齢から顕著になるとされており、雌性 Wistar Hannover ラットにおけるコリンエステラーゼ活性の加齢性変化も性ホルモンに影響されていると考えられた[28]。血液学的検査と同様に 10 及び 19 週齢の各検査項目の変動係数を算出した結果、SD ラットと比較して Wistar Hannover ラットでは 18 項目のうち 11 項目（アラニントランスアミナーゼ、アルカリフォスファターゼ、クレアチンキナーゼ、グロブリン、トリグリセリド、グルコース、尿素窒素、クレアチニン、カルシウム、ナトリウム、塩素）における変動係数が低く、Wistar Hannover ラットは SD ラットと比較して個体差が小さいことが明らかとなった（Table 20）。

器官重量では、いずれの週齢においても雄と比較して、雌では下垂体の絶対及び相対重量の高値がみられた。Wistar ラットにエストラジオール・ベンツァート（女性ホル

モン) を生後 10 日目から 100 日目まで隔日皮下投与を行うと、対照群の雄の下垂体重量は雌の約 50%であったのに対して、エストラジオール・ベンツァート群では約 90%であり、下垂体重量は性ホルモンとの関係が深いと考えられている [42]。従って、本研究で認められた下垂体重量の性差も加齢に伴うホルモン分泌パターンの変化に関連しているものと考えられた。血液及び血液生化学的検査と同様に 10 及び 19 週齢の各検査項目の変動係数を算出した結果、雌雄で 11 項目のうち 9 項目(肺, 肝臓, 心臓, 腎臓, 脳, 胸腺, 下垂体, 甲状腺, 副腎)における絶対及び相対重量が、雄で 4 項目のうち 3 項目(精巣, 精巣上部, 前立腺)における生殖器官の絶対及び相対重量が、SD ラットと比較して変動係数が低く、Wistar Hannover ラットは SD ラットと比較して個体差が小さいことが明らかとなった (Table 21)。

病理組織学的検査では雌雄ともに一般的に SD ラットでみられる変化が本研究においてもみられたが [43], 甲状腺形成不全及び慢性進行性腎症は認められなかった。なお, 7 週齢の Wistar Hannover GALAS ラットで報告されている肝細胞の褐色色素沈着が, 19 週齢の雌 5 個体でみられた [44]。

肝薬物代謝酵素活性では, 10 あるいは 19 週齢以降に総 P450 含量及び CYP3A2 活性に性差 (雄と比較して雌では減少あるいは低下) が認められ, CYP2C11 活性は雄のみで確認された。

白血球系細胞数, 血清アルブミン及びグロブリン濃度では, SD ラットの報告と同様な傾向, すなわち加齢に伴う白血球数及びリンパ球数の減少と血清アルブミン濃度における性差 (雄と比較して雌で高値) が認められた [28, 40, 49]。

イムノフェノタイピング (末梢血, 脾臓, 胸腺) では, 末梢血及び脾臓のリンパ球サブセットの比率はほぼ性成熟したと考えられる 10 週齢以降, 比較的一定であるこ



とが明らかとなった。10～14週齢のSDラットでは、雌と比較して雄では末梢血及び脾臓のリンパ球数が多いことと、胸腺のリンパ球サブセットには性差がないことが報告されており、本研究においても雌と比較して雄では末梢血及び脾臓のリンパ球数の高値あるいは高値傾向であることと、胸腺細胞では10週齢の $CD3^+CD4^-CD8a^+$ の細胞数及びその比率を除いて性差は認められないことが明らかとなった[51]。また、Wistar Hannover及びSDラットの10週齢時の末梢血免疫フェノタイピングの結果を比較した結果、SDラットと比較してWistar Hannoverラットの雄でB細胞の高値とNK細胞の低値傾向、雌でB細胞の高値とT細胞及びNK細胞の低値傾向がみられ、雄のB細胞及び雌雄のNK細胞の系統差は顕著であり、Wistar Hannoverラットの免疫学的な特徴である可能性が示唆された (Table 22)。なお、比較に用いたSDラット [Cr1:CD (SD), 日本チャールス・リバー株式会社] の結果は株式会社新日本科学安全性研究所所有のデータを用いた。

T細胞依存性抗体産生能では、げっ歯類においてその経時的変化を検討した報告はほとんどないが、本研究においてはC3H/HeN系マウスを用いた検討により認められる加齢性変化、すなわち加齢に伴い抗体産生能が増加することが明らかとなった。

以上のように、Wistar Hannoverラットを用いて8, 10, 19, 32週齢時における一般毒性試験及び免疫毒性試験の検査項目、さらに肝薬物代謝酵素活性のデータ収集を行った結果、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査、器官重量、免疫フェノタイピング、T細胞依存性抗体産生能で性差及び加齢性変化が認められた。また、血液学的検査、血液生化学的検査、器官重量の多くの検査項目において、SDラットと比較して個体差が少ないデータが得られることが明らかとなり、本研究で得られたデータは本システムを用いた薬物の一般毒性及び免疫毒性を評価する際に有用と考えられた。

Table 19. SD 及び Wistar Hannover ラットの血液学的検査における変動係数

性別 週齢 系統	雄				雌			
	10		19		10		19	
	WH	SD	WH	SD	WH	SD	WH	SD
赤血球数	8	6	5	5	6	6	5	6
白血球数	24	29	24	30	24	33	23	33
ヘマトクリット値	7	5	4	5	4	5	4	6
ヘモグロビン濃度	7	5	4	5	4	6	3	6
血小板数	10	12	10	13	11	14	12	11
平均赤血球容積	3	3	3	4	3	3	3	3
平均赤血球ヘモグロビン量	5	4	3	4	4	4	4	4
平均赤血球ヘモグロビン濃度	2	3	2	3	2	3	2	4
網赤血球数	15	17	10	17	14	36	10	18
好酸球数	40	49	23	39	46	58	41	44
好塩基球数	75	64	55	89	133	79	167	89
単球数	47	50	39	45	41	61	40	55
リンパ球数	25	32	26	33	25	35	29	35
好中球数	45	57	34	39	35	51	33	54
大型非染色細胞数	51	76	47	62	50	68	55	64
PT	8	31	4	19	4	4	3	4
APTT	12	20	8	11	9	8	7	7
フィブリノゲン	20	15	8	10	9	11	10	11

WH : Wistar Hannover ラット, SD : SD ラット

PT : プロトロンビン時間, APTT : 活性化部分トロンボプラスチン時間

Table 20. SD 及び Wistar Hannover ラットの血液生化学的検査における変動係数

性別 週齢 系統	雄				雌			
	10		19		10		19	
	WH	SD	WH	SD	WH	SD	WH	SD
AST	18	24	26	27	24	22	22	44
ALT	13	18	17	18	17	30	37	80
アルカリフォスファターゼ	21	22	19	20	24	25	25	31
クレアチンキナーゼ	33	64	50	63	34	47	36	53
総ビリルビン	26	33	24	33	35	32	32	31
総蛋白	4	5	3	6	6	5	7	7
アルブミン	7	7	3	7	6	7	8	10
グロブリン	4	8	8	8	6	8	8	8
総コレステロール	14	21	21	27	24	20	28	21
トリグリセリド	27	49	43	62	30	54	37	56
グルコース	11	12	8	12	11	11	6	10
尿素窒素	12	17	12	12	16	16	11	14
クレアチニン	10	15	8	15	14	14	12	128
無機リン	10	9	13	12	8	14	14	24
カルシウム	3	3	3	4	2	4	3	4
ナトリウム	1	1	1	1	1	1	1	1
カリウム	8	8	5	8	10	7	6	7
塩素	1	2	1	2	1	2	1	2

WH: Wistar Hannover ラット, SD: SD ラット

AST: アスパラギン酸トランスアミナーゼ, ALT: アラニントランスアミナーゼ

Table 21. SD 及び Wistar Hannover ラットの器官重量における変動係数

性別 週齢 系統	雄				雌			
	10		19		10		19	
	WH	SD	WH	SD	WH	SD	WH	SD
絶対重量								
肺	7	12	7	9	7	12	8	9
顎下腺	6	11	12	11	7	10	10	11
肝臓	8	16	10	15	7	13	11	14
心臓	9	11	8	10	8	10	7	10
腎臓	7	11	11	11	8	10	9	12
精巣	7	8	7	11	-	-	-	-
精巣上部	9	9	9	9	-	-	-	-
前立腺	12	15	13	19	-	-	-	-
精嚢	17	16	11	14	-	-	-	-
卵巣	-	-	-	-	18	16	12	17
子宮	-	-	-	-	44	37	60	38
脳	4	4	3	4	3	4	3	4
脾臓	15	18	15	17	21	18	19	18
胸腺	20	24	21	27	17	22	19	25
下垂体	12	14	12	14	12	17	16	18
甲状腺	12	21	20	20	19	21	18	21
副腎	15	15	12	15	14	15	12	14
相対重量								
肺	6	11	5	9	7	9	6	9
顎下腺	6	11	11	12	7	10	11	12
肝臓	4	9	4	9	5	7	6	9
心臓	6	8	6	8	6	8	7	8
腎臓	4	8	7	11	6	8	7	10
精巣	5	11	9	14	-	-	-	-
精巣上部	10	11	11	13	-	-	-	-
前立腺	12	15	15	21	-	-	-	-
精嚢	18	17	12	18	-	-	-	-
卵巣	-	-	-	-	17	15	12	16
子宮	-	-	-	-	47	38	54	38
脳	6	10	6	10	5	9	5	10
脾臓	13	16	13	16	19	15	15	15
胸腺	17	21	21	25	15	19	19	24
下垂体	10	13	14	14	10	16	13	17
甲状腺	11	20	18	19	18	21	16	21
副腎	12	15	10	17	13	14	11	15

WH : Wistar Hannover ラット, SD : SD ラット

Table 22. SD 及び Wistar Hannover ラットの末梢血免疫フェノタイピングの比較

	Wistar Hannover ラット*		SD ラット**	
	雄 (n = 10)	雌 (n = 10)	雄 (n = 8)	雌 (n = 8)
CD3 <sup>+</sup> (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	2.60 ± 0.75	1.51 ± 0.45	2.85 ± 0.67	2.38 ± 0.75
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	1.92 ± 0.59	1.11 ± 0.35	1.95 ± 0.56	1.65 ± 0.54
CD3 <sup>+</sup> CD8a <sup>+</sup> (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	0.74 ± 0.20	0.44 ± 0.13	0.94 ± 0.20	0.74 ± 0.23
CD3 <sup>-</sup> CD45RA <sup>+</sup> (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	1.06 ± 0.34	0.51 ± 0.20	0.48 ± 0.17	0.30 ± 0.05
CD3 <sup>-</sup> NKR-P1A <sup>+</sup> (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	0.18 ± 0.06	0.11 ± 0.04	1.94 ± 0.80	1.22 ± 0.81

\* : 本研究で得られた結果からの抜粋 (10 週齢)

\*\* : 株式会社新日本科学安全性研究所の社内データ (10 週齢)

## 第 5 章

### 要約

Wistar Hannover (WH) ラットは、欧州では従来から広く毒性試験に汎用されている系統である。WH ラットは Sprague-Dawley (SD) ラットに比べて小型であり、長期生存し、扱いやすい温和な性質で、自然発生性の病変も少ないとされている。本邦における WH ラットの使用実績は少ないが、近年、毒性試験における有用性が求められるようになり、基礎データの収集が行われている。本邦におけるラットを用いた毒性試験の主な使用系統である SD ラットや F344 ラットでは、毒性評価項目における系統差、性差、加齢性変化が報告されており、WH ラットを用いた毒性試験を計画する際にも系統の特徴を十分に把握しておく必要がある。そこで本研究では、WH ラットの中でも自然発生性病変の報告が少ないとされている RccHan<sup>TM</sup>:WIST ラットを用い、「反復投与毒性試験に係るガイドラインの一部改正について」（医薬審第 655 号厚生省医薬安全局審査管理課長通知）及び「医薬品の免疫毒性試験に関するガイドラインについて」（薬食審査発第 0418001 号厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知）に関する代表的な検査項目について、8, 10, 19, 32 週齢でデータを収集し、性差及び加齢性変化に関する検討を行い、以下の結果を得た。

#### 一般毒性試験評価項目

WH ラットは SD ラットと比べて緩やかな体重増加を示し、雄は雌の 1.2~1.8 倍の値で推移した。雄では 6~7 週齢にかけて摂餌量の増加がみられたが、その後はほぼ一定の推移を示し、全体的に SD ラットと比べて雌雄とも摂餌量は少なく、毒性試験で WH ラットを用いることにより、毒性評価対象となる医薬品候補化合物や飼料のコスト面からも有用であると考えられた。

眼科的検査では、SD ラットに比べて角膜の混濁が高頻度にみられ、WH ラットを毒性試験で使用する際には、眼科的検査には注意を要すると考えられた。一般状態観察では眼科的検査の異常以外に特記すべき異常所見は認められなかった。尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査では、性差及び加齢性変化が複数の項目でみられたが、SD ラットでも認められる変化とほぼ同様であった。また、WH ラットと SD ラットの個体差をより正確に比較するために、本研究で得られた血液学的検査、血液生化学的検査、器官重量のデータと SD ラットの背景データ（株式会社新日本科学所有）から変動係数を算出して比較した結果、WH ラットでは多くの検査値で SD ラットに比べて個体差が少なく、毒性評価の際にノイズがより少ないデータが得られる可能性が示唆された。

器官重量では、いずれの週齢においても雄と比較して雌では多くの臓器・組織の絶対重量の低値、相対重量が高値を示したが、SD ラットと同様に下垂体重量は雌が高値を示した。剖検及び病理組織学的検査では、SD ラットでもみられる自然発生性の病変が散見されたが、網膜形成異常及び角膜の石灰沈着が高頻度に見られた。SD ラットで問題となる甲状腺形成不全や慢性進行性腎症は認められず、Wistar Hannover GALAS ラットで報告されている肝細胞の褐色色素（ヘモジデリン）沈着も 19 週齢の雌ではみられたが、加齢に伴う増悪は認められなかった。

肝薬物代謝酵素活性では、総 P450 含量、CYP3A2、CYP2C11 活性に性差がみられた。

#### 免疫毒性試験評価項目

末梢血の免疫フェノタイピングでは CD3<sup>+</sup>（T 細胞全般）、CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>（ヘルパー T 細胞）、CD3<sup>+</sup>CD8a<sup>+</sup>（細胞障害性 T 細胞）、CD3<sup>-</sup>CD45RA<sup>+</sup>（B 細胞）、CD3<sup>-</sup>NKR-P1A<sup>+</sup>（NK 細胞）の細胞数、脾臓では CD3<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD8a<sup>-</sup>、CD3<sup>+</sup>CD4<sup>-</sup>CD8a<sup>+</sup>、CD3<sup>-</sup>CD45RA<sup>+</sup>、CD3<sup>-</sup>NKR-P1A<sup>+</sup>

の細胞数，さらに  $CD3^+$ ， $CD3^+CD4^+CD8a^-$ ， $CD3^+CD4^-CD8a^+$ ， $CD3^-CD45RA^+$  の比率，胸腺では  $CD3^+CD4^-CD8a^+$  の細胞数及びその比率に性差がみられた．T 細胞依存性抗体産生では，抗 KLH (Keyhole Limpet Hemocyanin) 抗体 (IgG 及び IgM) 産生は雌雄ともに加齢に伴って徐々に増加することが認められた．10 週齢の WH ラットの末梢血免疫フェノタイピングの結果を SD ラットの背景データ (株式会社新日本科学所有) と比較すると，雄では B 細胞の高値と NK 細胞の低値傾向，雌で B 細胞の高値と T 細胞及び NK 細胞の低値傾向がみられ，雄の B 細胞及び雌雄の NK 細胞の系統差は顕著であり，WH ラットの免疫学的な特徴である可能性が示唆された．

以上の結果から，尿検査，血液学的検査，血液生化学的検査，器官重量，免疫フェノタイピングにおいて性差及び加齢性変化がみられ，本研究で得られたデータは WH ラットを用いて薬物の一般毒性及び免疫毒性を評価する際に有用と考えられた．



## 謝辞

本稿を終えるにあたり、終始ご指導、ご鞭撻を賜りました国立大学法人鹿児島大学共同獣医学部獣医学科病態予防獣医学講座組織病理学分野の三好宣彰教授をはじめ、川口博明准教授、同学科基礎獣医学講座薬理学分野の宮本篤教授、白石光也准教授、株式会社新日本科学の福崎好一郎博士、大島洋次郎博士、茶谷文雄博士、山下和正博士に深甚の謝意を表します。

最後に、本研究の動物の飼育管理、投与、採血、測定をはじめとする実験全般において、多大なるご協力、ご支援を頂戴しました株式会社新日本科学の各位に心から御礼申し上げます。

## 引用文献

- [1] Bell D.R., Clode S., Fan M.Q., Fernandes A., Foster P.M., Jiang T., Loizou G., MacNicol A., Miller B.G., Rose M., Tran L., and White S. Relationships between tissue levels of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD), mRNAs, and toxicity in the developing male Wistar (Han) rat. *Toxicol. Sci.* 2007. 99: 591-604.
- [2] Lenz B., Crameri F.M., Eichler D.A., Schläppi B., Wiltshire H.R., Wood J., and Seymour R.A. Modulation of oral squamous cell carcinoma incidence in rats via diet and a novel calcium channel antagonist. *Toxicol. Pathol.* 2005. 33: 356-364.
- [3] Weber K., Razinger T., Hardisty J.F., Mann P., Martel K.C., Frische E.A., Blumbach K., Hillen S., Song S., Anzai T., and Chevalier H.J. Differences in rat models used in routine toxicity studies. *Int. J. Toxicol.* 2011. 30: 162-173.
- [4] York M., Scudamore C., Brady S., Chen C., Wilson S., Curtis M., Evans G., Griffiths W., Whayman M., Williams T., and Turton J. Characterization of troponin responses in isoproterenol-induced cardiac injury in the Hanover Wistar rat. *Toxicol. Pathol.* 2007. 35: 606-617.
- [5] Nagayabu T., Kandori H., Miyoshi H., Nishida N., Kitasaki T., and Sasaki S. Crj:CD(SD)IGS rats and the effects of a commercial low protein diet in carcinogenicity studies at the Drug Safety Research Laboratories in Takeda Chemical Industries, Ltd. *CD(SD)IGS Study Group.* 2000: 221-245.

- [6] Rao G.N., Haseman J.K., Grumbein S., Crawford D.D., and Eustis S.L. Growth, body weight, survival, and tumor trends in F344/N rats during eleven-year period. *Toxicol. Pathol.* 1990. 18: 61-70.
- [7] Arisaka N., Muto S., Okuhara Y., Matsumi S., Tsutsui Y., Sakai S., Takezawa H., Yamada H., Mikami H., Hirao M., Nishio A., Tomozawa H., and Matsumoto K. A study for the differences between Wistar Hannover and Sprague Dawley rats in toxicity parameters. *J. Toxicol. Sci.* 2009. 34 (Supplement): S190 (in Japanese).
- [8] Chandra M. and Frith C.F. Spontaneous neoplasms in aged control Fischer 344 rats. *Cancer Lett.* 1992. 62: 49-56.
- [9] Maekawa A. Characteristics of F344 rats in a stand-point of naturally occurring neoplastic and non-neoplastic lesions. *Exp. Anim.* 1990. 39: 507-517 (in Japanese).
- [10] King-Herbert A. and Thayer K. NTP Workshop: animal models for the NTP rodent cancer bioassay: stocks and strains - should we switch? *Toxicol. Pathol.* 2006. 34: 802-805.
- [11] Hagiwara A., Imai N., Numano T., Nakashima H., Tamano S., Sakaue K., Tanaka K., Yasuhara K., and Hayashi S. A twenty eight-day repeated dose toxicity study of black soybean extract in Sprague-Dawley rats. *J. Toxicol. Sci.* 2010. 35: 87-96.
- [12] Yamazaki K., Suzuki M., Kano H., Umeda Y., Matsumoto M., Asakura M., Nagano K., Arito H., and Fukushima S. Oral carcinogenicity and toxicity of

- 2-amino-4-chlorophenol in rats. *J. Occup. Health.* 2009. 51: 249-260.
- [13] Moto M., Okamura M., Watanabe T., Kashida Y., and Mitsumori K. Thirteen-week repeated dose toxicity of rice bran glycosphingolipid in Wistar Hannover (GALAS) rats. *J. Toxicol. Sci.* 2004. 29 (1): 73-80.
- [14] Muto T., Watanabe T., Okamura M., Moto M., Kashida Y., and Mitsumori K. Thirteen-week repeated dose toxicity of wormwood (*ARTEMISIA ABSINTHIUM*) extract in rats. *J. Toxicol. Sci.* 2003. 28: 471-478.
- [15] Yoshida M., Takahashi M., Inoue K., Nakae D., and Nishikawa A. Lack of chronic toxicity and carcinogenicity of dietary administered catechin mixture in Wistar Hannover GALAS rats. *J. Toxicol. Sci.* 2011. 36: 297-311.
- [16] Yamada A., Tonooka T., Kimura M., Furukawa E., Ogawa M., Kurimoto Y., Ishida H., Hirota R., Kasuga T., Moriguchi A., Okazaki Y., and Oishi Y. A study on the biological profiles in Wistar Hannover rat from different animal sources. *J. Toxicol. Sci.* 2010. 35 (Supplement): S144 (in Japanese).
- [17] Okamura T., Suzuki S., Ogawa T., Kobayashi J., Kusuoka O., Hatayama K., Mochizuki M., Hoshiya T., Okazaki S., and Tamura K. Background data for general toxicology parameters in RccHan<sup>TM</sup>:WIST rats at 8, 10, 19, and 32 weeks of age. *J. Toxicol. Pathol.* 2011. 24: 195-205.
- [18] Baldrick P. Carcinogenicity evaluation: comparison of tumor data from dual control groups in the Sprague-Dawley rat. *Toxicol. Pathol.* 2005. 33: 283-291.

- [19] Dinse G.E., Peddada S.D., Harris S.F., and Elmore S.A. Comparison of NTP historical control tumor incidence rates in female Harlan Sprague Dawley and Fischer 344/N rats. *Toxicol. Pathol.* 2010. 38: 765-775.
- [20] Kuramoto K., Tahara S., Sasaki T., Matsumoto S., Kaneko T., Kondo H., Yanabe M., Takagi S., and Shinkai T. Spontaneous dwarf rat: a novel model for aging research. *Geriatr. Gerontol. Int.* 2010. 10: 94-101.
- [21] Son W.C. and Gopinath C. Early occurrence of spontaneous tumors in CD-1 mice and Sprague-Dawley rats. *Toxicol. Pathol.* 2004. 32: 371-374.
- [22] Doi T., Namiki M., Ashina M., Toyota N., Kokoshima H., Kanno T., Wako Y., Tayama M., Nakashima Y., Nasu M., and Tsuchitani M. Morphological and endocrinological characteristics of the endocrine systems in Wistar Hannover GALAS rats showing spontaneous dwarfs. *J. Toxicol. Pathol.* 2004. 17: 197-203.
- [23] Kokoshima H., Doi T., Kurotaki T., Sato J., Kotani Y., and Tsuchitani M. Morphological characteristics of bone in dwarf rats derived from Wistar Hannover GALAS rats. *J. Toxicol. Pathol.* 2007. 20: 155-160.
- [24] Weber K., Ernst R., Frankhauser H., Hardisty J.F., Heider W., and Stevens K. Thyroid dysplasia in Wistar Hannover GALAS rats. *J. Toxicol. Pathol.* 2009. 22: 247-254.
- [25] Chandra S., Dochterman W., Ploch S., Torrey C., Cummings C.A., Peterson R. A carcinogenicity study with unusually high incidence of spontaneous hibernomas in Wistar-Han rats. Society of Toxicologic Pathology, annual

- meeting, San Francisco, CA. Poster No. 14. 2008.
- [26] Junker-Walker U., Brander-Weber P., Persohn E., Pfister R., and Provencher-Bolliger A. Severe spontaneous chronic progressive nephrosis in young wistar ras. SOT/ESTP Congress Lindau, Germany, 2004
- [27] Usuda K., Abe M., Kubota R., and Furukawa S. Comparison of hematology and blood chemistry parameters between Crj:CD(SD)IGS rats and BrlHan:WIST@Jcl(GALAS) rats. *CD(SD)IGS Study Group*. 2002/2003: 48-52.
- [28] Tsuchiya N., Harada Y., Taki M., Minematsu S., Maemura S., and Amagaya S. Age-related changes and sex differences on the serum chemistry values in Sprague-Dawley rats - I. 6-30 weeks of age - *Exp. Anim.* 1995. 43: 671-678 (in Japanese).
- [29] Murawski U., Kriesten K., and Egge H. Age-related changes of lipid fractions and total fatty acids in the serum of female and male rats aged from 37 to 1200 days. *Comp. Biochem. Physiol.* 1989. 94: 525-536.
- [30] Warrington J.S., Greenblatt D.J., and von Moltke L.L. Age-related differences in CYP3A expression and activity in the rat liver, intestine, and kidney. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2004. 309: 720-729.
- [31] Kishida T., Muto S., Hayashi M., Tsutsui M., Tanaka S., Murakami M., and Kuroda J. Strain differences in hepatic cytochrome P450 1A and 3A expression between Sprague-Dawley and Wistar rats. *J. Toxicol. Sci.* 2008. 33: 447-457.

- [32] Petterino C. and Argentino-Storino A. Clinical chemistry and haematology historical data in control Sprague-Dawley rats from pre-clinical toxicity studies. *Exp. Toxicol. Pathol.* 2006. 57: 213-219.
- [33] Kamataki T. and Kitagawa H. Effects of lyophilization and storage of rat liver microsomes on activity of aniline hydroxylase, contents of cytochrome b<sub>5</sub> and cytochrome P-450 and aniline-induced P-450 difference spectrum. *Jpn. J. Pharmacol.* 1974. 24: 195-203.
- [34] Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 1976. 72: 248-254.
- [35] Omura T. and Sato R. The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. *J. Biol. Chem.* 1964. 239: 2379-2385.
- [36] Kuroiwa Y., Hatayama K., and Okazaki S. Background data of general toxicological parameters in Crj:CD(SD)IGS rats at 10, 19, and 32 weeks of age. *CD(SD)IGS Study Group.* 2002/2003: 61-72.
- [37] 楠岡修, 星谷達, 山口裕子, 中村厚, 岡村俊也, 岡崎修三, 田村一利. Wistar Hannover (RccHan™:WIST) ラットの104週間飼育時の背景データ. 第28回日本毒性病理学会総会および学術集会 講演要旨集. 2012: 120.
- [38] 姚玉林, 勝田修. Wistar Hannover (RccHan™:WIST) ラットにおける網膜機能および形態学的検査. 第28回日本毒性病理学会総会および学術集会 講演要旨集. 2012: 100.

- [39] Neuhaus O.W. and Flory W. Age-dependent changes in the excretion of urinary proteins by the rat. *Nephron*. 1978. 22: 570-576.
- [40] Wolford S.T., Schroer R.A., Gallo P.P., Gohs F.X., Brodeck M., Falk H.B., and Ruhren R. Age-related changes in serum chemistry and hematology values in normal Sprague-Dawley rats. *Fundam. Appl. Toxicol.* 1987. 8: 80-88.
- [41] Pignatelli D., Xiao F., Gouveia A.M., Ferreira J.G., and Vinson G.P. Adrenarche in the rat. *J. Endocrinol.* 2006. 191: 301-308.
- [42] Tanaka S. Effects of estradiol benzoate on the growth and development in rats. *J. Tokyo. Wom. Med. Univ.* 1959: 29: 227-634.
- [43] Sugimoto K., Shibuya K., Ihara M., Saitoh T., Itabashi M., and Nunoya T. Background data on organ weights and histopathological lesions in Crj:CD(SD) IGS rats for 4-, 13- and 26-week repeated-dose toxicity studies. *CD(SD) IGS Study Group*. 2000: 79-87.
- [44] Miyata K., Sukata T., Kushida M., Ogata K., Suzuki M., Ozaki M., Ozaki K., and Uwagawa S. Spontaneous iron accumulation in hepatocytes of a 7-week-old female rat. *J Toxicol. Pathol.* 2009. 22: 199-203.
- [45] Hirao J., Nishimura M., Arakawa S., Niino N., Mori K., Furukawa T., Sanbuissho A., Manabe S., Nishihara M., and Mori Y. Sex and circadian modulatory effects on rat liver as assessed by transcriptome analyses. *J. Toxicol. Sci.* 2011. 36: 9-22.
- [46] Liu L., Jiang Z., Liu J., Huang X., Wang T., Liu J., Zhang Y., Zhou Z., Guo J., Yang L., Chen Y., and Zhang L. Sex differences in subacute toxicity



- and hepatic microsomal metabolism of triptolide in rats. *Toxicology*. 2010. 271: 57-63.
- [47] Narimatsu S., Yonemoto R., Masuda K., Katsu T., Asanuma M., Kamata T., Katagi M., Tsuchihashi H., Kumamoto T., Ishikawa T., Naito S., Yamano S., and Hanioka N. Oxidation of 5-methoxy-N, N-diisopropyltryptamine in rat liver microsomes and recombinant cytochrome P450 enzymes. *Biochem. Pharmacol.* 2008. 75: 752-760.
- [48] Pampori N.A. and Shapiro B.H. Gender differences in the responsiveness of the sex-dependent isoforms of hepatic P450 to the feminine plasma growth hormone profile. *Endocrinology*. 1999. 140: 1245-1254.
- [49] Wolford S.T., Schroer R.A., Gohs F.X., Gallo P.P., Brodeck M., Falk H.B., and Ruhren R. Reference range data base for serum chemistry and hematology values in laboratory animals. *J. Toxicol. Environ. Health*. 1986. 18: 161-188.
- [50] Nam K.H., Akari H., Terao K., Itagaki S., and Yoshikawa Y. Age-related changes in major lymphocyte subsets in cynomolgus monkeys. *Exp. Anim.* 1998. 47: 159-166.
- [51] Morris D.L. and Komocsar W.J. Immunophenotyping analysis of peripheral blood, splenic, and thymic lymphocytes in male and female rats. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*. 1997. 37: 37-46.

- [52] Takagi Y., Maeda A., Ueba N., Higashi N., Yamamura H., and Nunoura Y.  
Effect of Mao-bushi-saishin-to on the primary antibody response in mice  
of different ages. *J. Trad. Med.* 1996. 13: 94-99 (in Japanese).
- [53] Kelly J.L. and Springall C. Toxicological data on Crj:CD(SD)BR,  
Crj:CD(SD)IGSBR and hannover wistar - a comparison of body weight, food  
consumption, clinical pathology and survival data. *CD(SD) IGS Study Group.*  
1999: 29-33.

## Attachment

10 及び 19 週齢の SD ラットの背景データ（株式会社新日本科学社内資料，総 20 頁）

SNBL CONTROL BACKGROUND DATA ( HEMATOLOGY )

Species : Rat Strain : CrI:GD(SD) (Crj:GD(SD) IGS) Sex : Male Age : 2-3 M (10-10 W) Between : Jan. 2005 and Dec. 2010

LN	Item	Mean	S. D.	No.	-2S. D.	+2S. D.	-3S. D.	+3S. D.	Min	Max	2.5%	97.5%
1.	RBC	7.996	0.458	( 366 )	7.080	8.912	6.622	9.370	6.72	9.54	7.10	8.94
2.	WBC	7.965	2.338	( 366 )	3.289	12.641	0.951	14.979	3.19	17.51	4.28	13.69
3.	Ht	45.88	2.29	( 366 )	41.30	50.46	39.01	52.75	40.1	51.8	41.0	50.8
4.	Hb	16.02	0.83	( 366 )	14.36	17.68	13.53	18.51	13.9	18.8	14.4	17.6
5.	Plat.	1131.2	131.4	( 366 )	868.4	1394.0	737.0	1525.4	745	1762	910	1396
6.	MCV	57.44	1.87	( 366 )	53.70	61.18	51.83	63.05	52.4	62.6	53.7	61.6
7.	MCH	20.05	0.73	( 366 )	18.59	21.51	17.86	22.24	18.3	22.6	18.7	21.7
8.	MCHC	34.92	0.97	( 366 )	32.98	36.86	32.01	37.83	32.2	37.2	33.2	36.8
9.	MPV			( 0 )								
10.	Ret.	2.31	0.54	( 370 )	1.23	3.39	0.69	3.93	1.2	4.8	1.5	3.4
11.	Ret.	195.85	33.27	( 16 )	129.31	262.39	96.04	295.66	140.5	257.1		
12.	Hemogram											
13.	Eosino.	1.16	0.52	( 370 )	0.12	2.20		2.72	0.3	4.3	0.4	2.4
14.	Baso.	0.26	0.12	( 370 )	0.02	0.50		0.62	0.0	0.8	0.1	0.5
15.	Mono.	1.84	0.73	( 370 )	0.38	3.30		4.03	0.7	6.6	0.9	3.5
16.	Lymph.	80.16	6.81	( 370 )	66.54	93.78	59.73	100.59	43.3	91.7	64.5	90.0
17.	Neutro.	15.73	6.38	( 370 )	2.97	28.49		34.87	5.4	51.9	6.5	28.9
18.	LUC	0.86	0.46	( 370 )		1.78		2.24	0.2	5.0	0.2	1.9
19.	Eosino.	0.089	0.044	( 370 )	0.001	0.177		0.221	0.02	0.39	0.03	0.18
20.	Baso.	0.022	0.014	( 370 )		0.050		0.064	0.00	0.08	0.00	0.06
21.	Mono.	0.146	0.073	( 370 )		0.292		0.365	0.03	0.63	0.06	0.31
22.	Lymph.	6.402	2.021	( 370 )	2.360	10.444	0.339	12.465	2.54	14.41	3.29	11.14
23.	Neutro.	1.239	0.706	( 370 )		2.651		3.357	0.33	9.09	0.49	2.81
24.	LUC	0.070	0.053	( 370 )		0.176		0.229	0.01	0.69	0.01	0.17
25.	MPXI			( 0 )								
26.	methHb			( 0 )								
27.	CPC			( 0 )								
28.	PT	14.27	3.51	( 155 )	7.25	21.29	3.74	24.80	8.4	24.4	8.9	21.8
29.	APTT	23.49	2.48	( 155 )	18.53	28.45	16.05	30.93	16.9	32.8	19.4	28.8
30.	Fibrin.	239.7	19.3	( 42 )	201.1	278.3	181.8	297.6	204	275	10.0	29.0
31.	PT	16.65	5.21	( 202 )	6.23	27.07	1.02	32.28	9.4	43.5	15.1	34.6
32.	APTT	22.62	4.63	( 202 )	13.36	31.88	8.73	36.51	13.7	43.3		
33.	Fibrin.	223.41	32.51	( 62 )	158.39	288.43	125.88	320.94	174.7	382.2		
34.	TtO			( 0 )								
35.	HpT			( 0 )								
36.	AT3			( 0 )								
37.	APL			( 0 )								
38.	PIg			( 0 )								
39.	PC			( 0 )								
40.	FDP			( 0 )								
41.	DD			( 0 )								
LN	Item	No.	<2.5	2.5	5	10	20	40	80	160	≤	

42. FDP ( μg/mL )

SNBL CONTROL BACKGROUND DATA ( HEMATOLOGY )

Species : Rat Strain : Crj:CD(SD) (Grj:CD(SD) IGS) Sex : Female Age : 2-3 M (10-10 W) Between : Jan. 2005 and Dec. 2010

LN	Item	Mean	S. D.	No.	-2S. D.	+2S. D.	-3S. D.	+3S. D.	Min	Max	2.5%	97.5%
1.	RBC	7.674	0.439	( 432 )	6.796	8.552	6.357	8.991	6.46	8.93	6.87	8.54
2.	WBC	6.351	2.069	( 432 )	2.213	10.489	0.144	12.558	2.46	17.24	3.40	11.28
3.	Ht	43.12	2.29	( 432 )	38.54	47.70	36.25	49.99	37.2	51.5	38.7	47.9
4.	Hb	15.38	0.85	( 432 )	13.68	17.08	12.83	17.93	12.7	17.8	13.6	17.0
5.	Plat.	1184.7	167.8	( 432 )	849.1	1520.3	681.3	1688.1	117	2623	936	1461
6.	MCV	56.23	1.83	( 432 )	52.57	59.89	50.74	61.72	51.1	63.8	52.5	59.7
7.	MCH	20.06	0.76	( 432 )	18.54	21.58	17.78	22.34	18.2	22.6	18.6	21.6
8.	MCHC	35.68	1.10	( 432 )	33.48	37.88	32.38	38.98	32.9	38.9	33.6	37.9
9.	MPV			( 0 )								
10.	Ret.	2.06	0.62	( 436 )	0.82	3.30	0.20	3.92	0.9	5.0	1.2	3.8
11.	Ret.	177.08	63.70	( 16 )	49.68	304.48		368.18	87.8	332.1		
12.	Hemogram											
13.	Eosino.	1.54	0.83	( 436 )	3.20	4.03		4.03	0.4	8.7	0.6	3.7
14.	Baso.	0.20	0.11	( 436 )	0.42	0.53		0.53	0.0	0.5	0.0	0.5
15.	Mono.	1.75	0.77	( 436 )	0.21	3.29		4.06	0.6	5.9	0.8	3.7
16.	Lymph.	79.70	7.15	( 436 )	65.40	94.00	58.25	101.15	53.6	92.3	61.8	90.5
17.	Neutro.	15.87	6.75	( 436 )	2.37	29.37		36.12	4.8	41.9	6.2	34.0
18.	LUC	0.93	0.42	( 436 )	0.09	1.77		2.19	0.2	3.9	0.3	1.9
19.	Eosino.	0.095	0.055	( 436 )	0.036	0.154		0.260	0.02	0.55	0.03	0.22
20.	Baso.	0.014	0.011	( 436 )	0.006	0.022		0.047	0.00	0.08	0.00	0.04
21.	Mono.	0.113	0.069	( 436 )	0.025	0.201		0.320	0.03	0.54	0.04	0.29
22.	Lymph.	5.102	1.803	( 436 )	1.496	8.708		10.511	1.90	14.31	2.53	9.27
23.	Neutro.	0.986	0.501	( 436 )	1.988	1.988		2.489	0.22	4.01	0.35	2.23
24.	LUC	0.062	0.042	( 436 )	0.146	0.146		0.188	0.01	0.32	0.01	0.17
25.	MPXI			( 0 )								
26.	methb			( 0 )								
27.	GPC			( 0 )								
28.	PT	7.74	0.34	( 217 )	7.06	8.42	6.72	8.76	7.0	8.9	7.1	8.4
29.	APTT	17.96	1.50	( 217 )	14.96	20.96	13.46	22.46	14.4	23.4	15.4	20.7
30.	Fibrin.	197.0	18.1	( 77 )	160.8	233.2	142.7	251.3	153	232		
31.	PT	8.88	0.35	( 208 )	8.18	9.58	7.83	9.93	8.0	10.1	8.4	9.7
32.	APTT	14.72	1.22	( 208 )	12.28	17.16	11.06	18.38	11.8	19.5	12.5	17.2
33.	Fibrin.	180.55	19.38	( 48 )	141.79	219.31	122.41	238.69	136.3	222.7		
34.	TtO			( 0 )								
35.	HpT			( 0 )								
36.	AT3			( 0 )								
37.	APL			( 0 )								
38.	PIg			( 0 )								
39.	PC			( 0 )								
40.	FDP			( 0 )								
41.	DD			( 0 )								
LN	Item	No.	<2.5	10	2.5	5	10	20	40	80	160	≧
42.	FDP	( μg/mL )	10	[100.0%]	***	***	***	***	***	***	***	***

SNBL CONTROL BACKGROUND DATA ( HEMATOLOGY )

Species : Rat Strain : Crj:CD(SD) (Crj:CD(SD)IGS) Sex : Male Age : 4-5 M (19-19 W) Between : Jan. 2005 and Dec. 2010

LN	Item	Mean	S. D.	No.	-2S. D.	+2S. D.	-3S. D.	+3S. D.	Min	Max	2.5%	97.5%
1.	RBC	9.020	0.462	( 246 )	8.096	9.944	7.634	10.406	6.89	10.27	8.21	9.96
2.	WBC	7.182	2.151	( 246 )	2.880	11.484	0.729	13.635	2.88	15.61	3.91	12.50
3.	Ht	46.02	2.39	( 246 )	41.24	50.80	38.85	53.19	38.3	55.0	42.3	51.8
4.	Hb	15.83	0.78	( 246 )	14.27	17.39	13.49	18.17	12.9	18.2	14.5	17.5
5.	Plat.	1064.9	135.2	( 246 )	794.5	1335.3	659.3	1470.5	779	1482	833	1365
6.	MCV	51.06	2.14	( 246 )	46.78	55.34	44.64	57.48	43.4	59.0	47.0	55.3
7.	MCH	17.57	0.74	( 246 )	16.09	19.05	15.35	19.79	14.6	19.9	16.1	18.8
8.	MCHC	34.41	0.98	( 246 )	32.45	36.37	31.47	37.35	31.5	37.2	32.6	36.4
9.	MPV			( 0 )								
10.	Ret.	1.90	0.64	( 229 )	0.62	3.18		3.82	1.1	9.5	1.2	2.7
11.	Ret.	173.62	29.46	( 22 )	114.70	232.54	85.24	262.00	114.8	232.1		
12.	Hemogram											
13.	Eosino.	1.71	0.60	( 246 )	0.51	2.91		3.51	0.6	4.0	0.8	3.2
14.	Baso.	0.24	0.14	( 246 )	0.07	0.52		0.66	0.0	0.8	0.1	0.6
15.	Mono.	2.15	0.72	( 246 )	0.71	3.59		4.31	0.6	4.6	1.0	3.9
16.	Lymph.	77.13	6.35	( 246 )	64.43	89.83	58.08	96.18	51.0	90.5	63.3	87.4
17.	Neutro.	17.86	6.07	( 246 )	5.72	30.00		36.07	5.8	43.8	8.7	31.3
18.	LUC	0.91	0.47	( 246 )	0.027	1.85		2.32	0.2	2.6	0.2	2.1
19.	Eosino.	0.119	0.046	( 246 )	0.014	0.211		0.257	0.04	0.27	0.05	0.23
20.	Baso.	0.018	0.016	( 246 )	0.001	0.050		0.066	0.00	0.13	0.00	0.06
21.	Mono.	0.154	0.070	( 246 )	0.014	0.294		0.364	0.03	0.45	0.06	0.33
22.	Lymph.	5.574	1.859	( 246 )	1.856	9.292		11.151	2.12	13.26	2.83	10.71
23.	Neutro.	1.249	0.490	( 246 )	0.269	2.229		2.719	0.31	3.23	0.53	2.41
24.	LUC	0.066	0.041	( 246 )	0.001	0.148		0.189	0.01	0.23	0.01	0.16
25.	MPXI			( 0 )								
26.	methb			( 0 )								
27.	GPC			( 0 )								
28.	PT	12.87	2.65	( 62 )	7.57	18.17	4.92	20.82	8.4	20.2		
29.	APTT	22.80	2.44	( 62 )	17.92	27.68	15.48	30.12	16.5	27.0		
30.	Fibrin.	257.1	39.3	( 22 )	178.5	335.7	139.2	375.0	207	328		
31.	PT	15.01	2.78	( 179 )	9.45	20.57	6.67	23.35	9.9	25.1	10.7	22.5
32.	APTT	21.28	2.43	( 179 )	16.42	26.14	13.99	28.57	16.0	31.0	17.2	27.2
33.	Fibrin.	213.08	21.41	( 22 )	170.26	255.90	148.85	277.31	180.9	263.7		
34.	TTO			( 0 )								
35.	HpT			( 0 )								
36.	AT3			( 0 )								
37.	APL			( 0 )								
38.	PIg			( 0 )								
39.	PC			( 0 )								
40.	FDP			( 0 )								
41.	DD			( 0 )								

LN	Item	No.	<2.5	2.5	5	10	20	40	80	160
42.	FDP	( μg/mL )	<2.5	2.5	5	10	20	40	80	160

SNBL CONTROL BACKGROUND DATA ( HEMATOLOGY )

Species : Rat Strain : CrI:GD(SD) (Grj:GD(SD) IGS) Sex : Female Age : 4-5 M (19-19 W) Between : Jan. 2005 and Dec. 2010

LN	Item	Mean	S.D.	No.	-2S.D.	+2S.D.	-3S.D.	+3S.D.	Min	Max	2.5%	97.5%
1.	RBC	8.053	0.485	( 214 )	7.083	9.023	6.598	9.508	4.37	9.18	7.17	8.77
2.	WBC	4.877	1.586	( 214 )	1.705	8.049	0.119	9.635	2.06	14.52	2.73	8.38
3.	Ht	43.10	2.48	( 214 )	38.14	48.06	35.66	50.54	24.5	49.4	39.3	48.4
4.	Hb	15.26	0.88	( 214 )	13.50	17.02	12.62	17.90	8.5	17.0	13.6	16.7
5.	Plat.	1095.1	115.0	( 214 )	865.1	1325.1	750.1	1440.1	807	1433	863	1342
6.	MCV	53.56	1.77	( 214 )	50.02	57.10	48.25	58.87	49.7	60.1	50.5	57.0
7.	MCH	18.97	0.73	( 214 )	17.51	20.43	16.78	21.16	16.9	21.1	17.5	20.4
8.	MCHC	35.44	1.26	( 214 )	32.92	37.96	31.66	39.22	32.2	38.5	33.0	38.0
9.	MPV			( 0 )								
10.	Ret.	1.80	0.45	( 197 )	0.90	2.70	0.45	3.15	0.8	4.2	1.0	2.8
11.	Ret.	155.98	28.18	( 10 )	99.62	212.34	71.44	240.52	115.4	199.9		
12.	Hemogram											
13.	Eosino.	1.84	0.82	( 204 )	0.20	3.48		4.30	0.4	6.5	0.8	4.0
14.	Baso.	0.18	0.13	( 204 )		0.44		0.57	0.0	1.3	0.0	0.4
15.	Mono.	2.15	0.83	( 204 )	0.49	3.81		4.64	0.7	4.9	1.0	4.0
16.	Lymph.	75.97	7.62	( 204 )	60.73	91.21	53.11	98.83	51.8	90.5	59.4	87.3
17.	Neutro.	19.00	7.36	( 204 )	4.28	33.72		41.08	5.6	45.4	9.2	36.1
18.	LUC	0.88	0.44	( 204 )		1.76		2.20	0.2	3.0	0.3	1.9
19.	Eosino.	0.085	0.037	( 204 )	0.011	0.159		0.196	0.02	0.29	0.04	0.17
20.	Baso.	0.009	0.008	( 204 )		0.025		0.033	0.00	0.05	0.00	0.02
21.	Mono.	0.105	0.058	( 204 )		0.221		0.279	0.03	0.55	0.04	0.22
22.	Lymph.	3.734	1.325	( 204 )	1.084	6.384		7.709	1.36	8.47	1.92	6.89
23.	Neutro.	0.906	0.492	( 204 )		1.890		2.382	0.32	5.25	0.41	2.03
24.	LUC	0.044	0.028	( 204 )		0.100		0.128	0.01	0.15	0.01	0.12
25.	MPXI			( 0 )								
26.	metHb			( 0 )								
27.	CPC			( 0 )								
28.	PT	7.54	0.29	( 77 )	6.96	8.12	6.67	8.41	6.9	8.3		
29.	APTT	17.79	1.29	( 77 )	15.21	20.37	13.92	21.66	13.1	21.1		
30.	Fibrin.	191.6	39.9	( 22 )	111.8	271.4	71.9	311.3	161	354	8.0	9.5
31.	PT	8.78	0.31	( 132 )	8.16	9.40	7.85	9.71	7.9	9.5		
32.	APTT	14.65	1.02	( 132 )	12.61	16.69	11.59	17.71	12.3	17.7	12.8	16.8
33.	Fibrin.	162.24	17.74	( 22 )	126.76	197.72	109.02	215.46	131.5	220.2		
34.	T10			( 0 )								
35.	HpT			( 0 )								
36.	AT3			( 0 )								
37.	APL			( 0 )								
38.	PIg			( 0 )								
39.	PC			( 0 )								
40.	FDP			( 0 )								
41.	DD			( 0 )								
LN	Item	No.	<2.5	2.5	5	10	20	40	80	160	≧	

42. FDP ( μg/mL )

SNBL CONTROL BACKGROUND DATA ( BLOOD CHEMISTRY )

Species : Rat Strain : Cr1:CD(SD) (Crj:CD(SD) IGS) Sex : Male Age : 2-3 M (10-10 W) Between : Jan. 2005 and Dec. 2010

LN	Item	Mean	S. D.	No.	-2S. D.	+2S. D.	-3S. D.	+3S. D.	Min	Max	2.5%	97.5%
1.	ASAT (IU/L)	91.2	21.5	( 315)	48.2	134.2	26.7	155.7	59	179	64	145
2.	ALAT (IU/L)	29.1	5.1	( 321)	18.9	39.3	13.8	44.4	20	54	22	41
3.	ALP (IU/L)	610.6	136.5	( 321)	337.6	883.6	201.1	1020.1	346	1256	399	912
4.	LDH (IU/L)	622.2	449.2	( 81)		1520.6		1969.8	50	2123		
5.	LAP (IU/L)			( 0)								
6.	G-GTP (IU/L)	0.9	0.8	( 52)		2.5		3.3	0	3		
7.	CPK (IU/L)	423.1	270.0	( 238)		963.1		1233.1	119	1679	140	1216
8.	ChE (IU/L)			( 0)								
9.	Amylase (IU/L)	1131.7	133.3	( 16)	865.1	1398.3	731.8	1531.6	927	1429		
10.	ALD (IU/L)			( 0)								
11.	TRAP (IU/L)			( 0)								
12.	T. Bil. (mg/dL)	0.036	0.012	( 321)	0.012	0.060	4.62	0.072	0.00	0.07	0.01	0.06
13.	T. Prot. (g/dL)	5.46	0.28	( 321)	4.90	6.02	3.62	6.30	4.7	6.3	4.9	6.1
14.	Albumin (g/dL)	4.13	0.24	( 162)	3.65	4.61	3.41	4.85	3.5	4.7	3.6	4.6
15.	A/G (mg/dL)	2.759	0.248	( 9)	2.263	3.255	2.015	3.503	2.40	3.08		
16.	T. Chol. (mg/dL)	49.7	10.5	( 321)	28.7	70.7	18.2	81.2	27	90	34	74
17.	F. Chol. (mg/dL)			( 0)								
18.	FFA (mEq/L)			( 0)								
19.	TGL (mg/dL)	32.8	16.0	( 321)	0.8	64.8	36.7	80.8	9	105	12	75
20.	PL (mg/dL)	88.3	17.2	( 67)	53.9	122.7	86.2	139.9	62	139		
21.	Glucose (mg/dL)	137.2	17.0	( 321)	103.2	171.2	86.2	188.2	88	259	106	170
22.	BUN (mg/dL)	16.43	2.84	( 321)	10.75	22.11	7.91	24.95	10.6	40.3	11.9	22.5
23.	Creat. (mg/dL)	0.216	0.032	( 321)	0.152	0.280	0.120	0.312	0.14	0.34	0.16	0.28
24.	UA (mg/dL)			( 0)								
25.	IP (mg/dL)	8.212	0.729	( 313)	6.754	9.670	6.025	10.399	6.13	10.62	6.80	9.66
26.	Ca (mg/dL)	9.58	0.33	( 316)	8.92	10.24	8.59	10.57	8.5	10.4	8.9	10.3
27.	Mg (mg/dL)			( 0)								
28.	Fe (10 <sup>-3</sup> mg/dL)			( 0)								
29.	D. Bil. (mg/dL)			( 45)	0.006	0.038		0.046	0.00	0.04		
30.	Urea (mg/dL)			( 0)								
31.	A-HBDH (IU/L)			( 0)								
32.	UIBC (10 <sup>-3</sup> mg/dL)			( 0)								
33.	ChE2 (IU/L)			( 0)								
34.	T-ACP (IU/L)			( 0)								
35.	B-ACP (IU/L)			( 0)								
36.	P-AMY (IU/L)			( 0)								
37.	HDL-C (mg/dL)			( 0)								
38.	CRP (mg/dL)			( 0)								
39.	LIPA (IU/L)			( 0)								
40.	IgG (mg/dL)			( 0)								
41.	IgA (mg/dL)			( 0)								
42.	IgM (mg/dL)			( 0)								
43.	U-ALB (mg/dL)			( 0)								
44.	LA (mg/dL)			( 0)								
45.	B-LP (mg/dL)			( 0)								
46.	LDL-C (mg/dL)			( 0)								
47.	CRP-LA (mg/dL)			( 0)								
48.	U-TP (mg/dL)			( 0)								
49.	S-B2M (mg/L)			( 0)								
50.	Apo-AI (mg/dL)			( 0)								
51.	Apo-B (mg/dL)			( 0)								
52.	Apo-CIII (mg/dL)			( 0)								



Species : Rat Strain : CrI:CD (SD) (Crj:CD (SD) IGS) Sex : Male Age : 2-3 M (10-10 W) Between : Jan. 2005 and Dec. 2010

LN	Item	Mean	S. D.	No.	-2S. D.	+2S. D.	-3S. D.	+3S. D.	Min	Max	2.5%	97.5%
53.	NAG (mEq/L)	143.3	1.6	( 0 )	140.1	146.5	138.5	148.1	138	148	140	147
54.	Na (mEq/L)	4.00	0.33	( 316 )	3.34	4.66	3.01	4.99	3.2	5.8	3.4	4.6
55.	K (mEq/L)	105.3	2.0	( 316 )	101.3	109.3	99.3	111.3	100	110	101	109
56.	Cl (mEq/L)			( 0 )								
57.	Protein fraction			( 0 )								
58.	Albumin (%)	52.84	2.73	( 284 )	47.38	58.30	44.65	61.03	33.5	60.0	48.4	57.8
59.	A1-glob. (%)	20.74	2.40	( 284 )	15.94	25.54	13.54	27.94	13.0	28.4	15.1	24.7
60.	A2-glob. (%)	7.55	0.88	( 284 )	5.79	9.31	4.91	10.19	5.1	10.9	5.7	9.2
61.	B-glob. (%)	14.63	1.13	( 284 )	12.37	16.89	11.24	18.02	11.9	23.4	12.9	16.7
62.	G-glob. (%)	4.25	0.76	( 284 )	2.73	5.77	1.97	6.53	2.5	7.1	3.0	5.8
63.	A/G	1.128	0.117	( 284 )	0.894	1.362	0.777	1.479	0.50	1.50	0.94	1.37
64.	ICG [15] (mg/dL)			( 0 )								
65.	BSP (%)			( 0 )								
66.	E/T (%)			( 0 )								
67.	Glut. (mg/L)			( 0 )								
68.	Keton body			( 0 )								
69.	TKB (10 <sup>-3</sup> mmol/L)			( 0 )								
70.	Acet. (10 <sup>-3</sup> mmol/L)			( 0 )								
71.	3-Hydr. (10 <sup>-3</sup> mmol/L)			( 0 )								
72.	Gluc. -15 (mg/dL)			( 0 )								
73.	Gluc. -45 (mg/dL)			( 0 )								
74.	I3 (ng/mL)			( 0 )								
75.	T4 (10 <sup>-3</sup> mg/dL)			( 0 )								
76.	ChE (mg/dL)			( 0 )								
77.	I. Bil. (mg/dL)	0.011	0.008	( 45 )		0.027		0.035	0	0.03		
78.	IgE			( 0 )								
79.	Apo-A1I			( 0 )								
80.	FER (ng/mL)			( 0 )								
81.	Hp (mg/dL)			( 0 )								
82.	PSP-15 (%)			( 0 )								
83.	PSP-45 (%)			( 0 )								
84.	TCARH (μmol/L)			( 0 )								
85.	FCAR (μmol/L)			( 0 )								
86.	T-KB			( 0 )								
87.	Globulin (g/dL)	1.36	0.23	( 162 )	0.90	1.82	0.67	2.05	0.4	1.9	0.9	1.7
88.	Albumin (g/dL)	2.89	0.20	( 284 )	2.49	3.29	2.29	3.49	1.6	3.5	2.5	3.2
89.	Globulin (g/dL)	2.58	0.20	( 284 )	2.18	2.98	1.98	3.18	2.0	3.1	2.2	3.0

SNBL CONTROL BACKGROUND DATA ( BLOOD CHEMISTRY ) [[ Serum ]]

Species : Rat Strain : Crj:CD(SD) (Crj:CD(SD) 16S) Sex : Female Age : 2-3 M (10-10 W) Between : Jan.2005 and Dec.2010

LN	Item	Mean	S.D.	No.	-2S.D.	+2S.D.	-3S.D.	+3S.D.	Min	Max	2.5%	97.5%
1.	ASAT (IU/L)	98.4	21.9	( 386 )	54.6	142.2	32.7	164.1	52	189	63	148
2.	ALAT (IU/L)	24.3	7.4	( 392 )	9.5	39.1	2.1	46.5	14	100	16	42
3.	ALP (IU/L)	350.2	88.8	( 392 )	172.6	527.8	83.8	616.6	141	994	217	532
4.	LDH (IU/L)	1065.5	531.1	( 103 )	3.3	2127.7		2658.8	256	2633		
5.	LAP (IU/L)	60.7	1.2	( 3 )	58.3	63.1	57.1	64.3	60	62		
6.	G-GTP (IU/L)	1.6	0.9	( 59 )		3.4		4.3	0	3		
7.	CPK (IU/L)	542.2	253.8	( 267 )	34.6	1049.8		1303.6	92	1289	172	1136
8.	ChE (IU/L)			( 0 )								
9.	Amylase (IU/L)	618.9	143.4	( 16 )	332.1	905.7	188.7	1049.1	415	843		
10.	ALD (IU/L)			( 0 )								
11.	TRAP (IU/L)			( 0 )								
12.	T.Bil. (mg/dL)	0.044	0.014	( 392 )	0.016	0.072	0.002	0.086	0.01	0.10	0.02	0.08
13.	T.Prot. (g/dL)	5.66	0.31	( 392 )	5.04	6.28	4.73	6.59	4.9	6.7	5.1	6.3
14.	Albumin (g/dL)	4.40	0.29	( 217 )	3.82	4.98	3.53	5.27	3.7	5.4	3.9	5.1
15.	A/G (mg/dL)	3.642	0.583	( 25 )	2.476	4.808	1.893	5.391	2.63	4.89		
16.	T.Chol. (mg/dL)	61.5	12.6	( 392 )	36.3	86.7	23.7	99.3	26	103	38	88
17.	F.Chol. (mg/dL)	20.0	5.3	( 3 )	9.4	30.6	4.1	35.9	14	24		
18.	FFA (mEq/L)	0.583	0.124	( 3 )	0.335	0.831	0.211	0.955	0.44	0.66		
19.	TGL (mg/dL)	16.3	8.8	( 392 )	33.9	33.9	42.7	42.7	3	90	7	40
20.	PL (mg/dL)	110.5	22.1	( 62 )	66.3	154.7	44.2	176.8	59	163		
21.	Glucose (mg/dL)	131.9	14.6	( 392 )	102.7	161.1	88.1	175.7	87	175	102	162
22.	BUN (mg/dL)	17.40	2.72	( 392 )	11.96	22.84	9.24	25.56	11.0	28.2	12.8	23.8
23.	Creat. (mg/dL)	0.249	0.035	( 392 )	0.179	0.319	0.144	0.354	0.15	0.39	0.20	0.32
24.	UA (mg/dL)			( 0 )								
25.	IP (mg/dL)	7.264	1.040	( 384 )	5.184	9.344	4.144	10.384	4.11	9.92	5.02	9.20
26.	Ca (mg/dL)	9.55	0.34	( 387 )	8.87	10.23	8.53	10.57	8.6	10.6	8.9	10.2
27.	Mg (mg/dL)			( 0 )								
28.	Fe (10 <sup>-3</sup> mg/dL)	193.0	60.1	( 3 )	72.8	313.2	12.7	373.3	144	260		
29.	D.Bil. (mg/dL)	0.024	0.006	( 48 )	0.012	0.036	0.006	0.042	0.01	0.04		
30.	Urea (mg/dL)			( 0 )								
31.	A-HBDH (IU/L)			( 0 )								
32.	UIBC (10 <sup>-3</sup> mg/dL)			( 3 )	141.3	320.1	96.6	364.8	182	270		
33.	ChE2 (IU/L)	230.7	44.7	( 0 )								
34.	T-ACP (IU/L)			( 0 )								
35.	B-ACP (IU/L)			( 0 )								
36.	P-AMY (mg/dL)			( 0 )								
37.	HDL-C (mg/dL)			( 0 )								
38.	CRP (mg/dL)			( 0 )								
39.	LIPA (IU/L)			( 0 )								
40.	IgG (mg/dL)			( 0 )								
41.	IgA (mg/dL)			( 0 )								
42.	IgM (mg/dL)			( 0 )								
43.	U-ALB (mg/dL)			( 0 )								
44.	LA (mg/dL)			( 0 )								
45.	B-LP (mg/dL)			( 0 )								
46.	LDL-C (mg/dL)			( 0 )								
47.	CRP-LA (mg/dL)			( 0 )								
48.	U-TP (mg/L)			( 0 )								
49.	S-B2M (mg/dL)			( 0 )								
50.	Apo-AI (mg/dL)			( 0 )								
51.	Apo-B (mg/dL)			( 0 )								
52.	Apo-CIII (mg/dL)			( 0 )								

SNBL CONTROL BACKGROUND DATA ( BLOOD CHEMISTRY )

Species : Rat Strain : CrI:CD(SD) (Crj:CD(SD) IGS) Sex : Female Age : 2-3 M (10-10 W) Between : Jan. 2005 and Dec. 2010

LN	Item	Mean	S. D.	No.	-2S. D.	+2S. D.	-3S. D.	+3S. D.	Min	Max	2.5%	97.5%
53.	NAG			( 0 )								
54.	Na (mEq/L)	142.4	1.7	( 387 )	139.0	145.8	137.3	147.5	138	150	139	146
55.	K (mEq/L)	3.89	0.27	( 387 )	3.35	4.43	3.08	4.70	3.1	5.3	3.4	4.5
56.	Cl (mEq/L)	106.5	2.1	( 387 )	102.3	110.7	100.2	112.8	101	115	102	110
57.	Protein fraction			( 0 )								
58.	Albumin (%)	56.81	2.52	( 352 )	51.77	61.85	49.25	64.37	49.0	64.7	52.2	61.7
59.	A1-glob. (%)	17.00	2.15	( 352 )	12.70	21.30	10.55	23.45	8.4	21.3	11.6	20.6
60.	A2-glob. (%)	6.65	0.91	( 352 )	4.83	8.47	3.92	9.38	4.8	11.0	5.1	8.5
61.	B-glob. (%)	14.51	1.17	( 352 )	12.17	16.85	11.00	18.02	11.3	19.1	12.1	16.9
62.	G-glob. (%)	5.03	1.03	( 352 )	2.97	7.09	1.94	8.12	2.7	8.4	3.2	7.3
63.	A/G	1.323	0.138	( 352 )	1.047	1.599	0.909	1.737	0.96	1.83	1.09	1.61
64.	ICG [15] (mg/dL)			( 0 )								
65.	BSP (%)			( 0 )								
66.	E/T (%)			( 0 )								
67.	Glut. (mg/L)			( 0 )								
68.	Keton body			( 0 )								
69.	TKB (10 <sup>-3</sup> mmol/L)			( 0 )								
70.	Acet. (10 <sup>-3</sup> mmol/L)			( 0 )								
71.	3-Hydr. (10 <sup>-3</sup> mmol/L)			( 0 )								
72.	Gluc. -15 (mg/dL)			( 0 )								
73.	Gluc. -45 (mg/dL)			( 0 )								
74.	T3 (ng/mL)			( 0 )								
75.	T4 (10 <sup>-3</sup> mg/dL)			( 0 )								
76.	ChE (mg/dL)			( 0 )								
77.	I. Bil. (mg/dL)	0.020	0.008	( 48 )	0.004	0.036	0.044	0.044	0.01	0.04	0.01	
78.	IgE [BM8]			( 0 )								
79.	Apo-A1I [BM8]			( 0 )								
80.	FER (ng/mL)			( 0 )								
81.	Hp (mg/dL)			( 0 )								
82.	PSP-15 (%)			( 0 )								
83.	PSP-45 (%)			( 0 )								
84.	TCARH (μmol/L)			( 0 )								
85.	FCAR [BM8]			( 0 )								
86.	T-KB [BM8]			( 0 )								
87.	Globulin (g/dL)	1.25	0.18	( 217 )	0.89	1.61	0.71	1.79	0.2	1.7	0.9	1.6
88.	Albumin (g/dL)	3.22	0.23	( 352 )	2.76	3.68	2.53	3.91	2.5	3.9	2.8	3.7
89.	Globulin (g/dL)	2.45	0.19	( 352 )	2.07	2.83	1.88	3.02	1.8	3.0	2.1	2.8

SNBL CONTROL BACKGROUND DATA ( BLOOD CHEMISTRY ) [[ Serum ]]

Species : Rat Strain : CrI:GD(SD) (Grj:GD(SD)IGS) Sex : Male Age : 4-5 M (19-19 W) Between : Jan. 2005 and Dec. 2010

LN	Item	Mean	S. D.	No.	-2S. D.	+2S. D.	-3S. D.	+3S. D.	Min	Max	2.5%	97.5%
1.	ASAT (IU/L)	85.2	22.9	( 176)	39.4	131.0	16.5	153.9	53	192	56	140
2.	ALAT (IU/L)	29.6	5.4	( 176)	18.8	40.4	13.4	45.8	19	53	22	45
3.	ALP (IU/L)	297.2	60.7	( 176)	175.8	418.6	115.1	479.3	155	533	199	436
4.	LDH (IU/L)	778.6	489.4	( 60)		1757.4		2246.8	158	2301		
5.	LAP (IU/L)			( 0)								
6.	G-GTP (IU/L)	1.0	0.9	( 22)		2.8		3.7	0	3		
7.	CPK (IU/L)	398.1	249.5	( 119)		897.1		1146.6	109	1757		
8.	ChE (IU/L)			( 0)								
9.	Amylase (IU/L)			( 0)								
10.	ALD (IU/L)			( 0)								
11.	TRAP (IU/L)			( 0)								
12.	T. Bil. (mg/dL)	0.042	0.014	( 176)	0.014	0.070		0.084	0.00	0.08	0.02	0.07
13.	T. Prot. (g/dL)	6.00	0.33	( 176)	5.34	6.66	5.01	6.99	5.1	7.0	5.4	6.8
14.	Albumin (g/dL)	4.28	0.32	( 57)	3.64	4.92	3.32	5.24	3.7	5.1		
15.	A/G (mg/dL)	2.411	0.295	( 10)	1.821	3.001	1.526	3.296	1.79	2.73		
16.	T. Chol. (mg/dL)	61.4	16.8	( 176)	27.8	95.0	11.0	111.8	28	126	35	101
17.	F. Chol. (mg/dL)			( 0)								
18.	FFA (mEq/L)			( 0)								
19.	TGL (mg/dL)	49.1	30.4	( 176)		109.9		140.3	14	285	17	125
20.	PL (mg/dL)	100.1	24.3	( 61)	51.5	148.7	27.2	173.0	61	217		
21.	Glucose (mg/dL)	138.3	16.1	( 176)	106.1	170.5	90.0	186.6	106	198	115	168
22.	BUN (mg/dL)	16.72	2.05	( 176)	12.62	20.82	10.57	22.87	12.0	23.3	13.0	21.2
23.	Creat. (mg/dL)	0.257	0.038	( 176)	0.181	0.333	0.143	0.371	0.18	0.37	0.19	0.33
24.	UA (mg/dL)			( 0)								
25.	IP (mg/dL)	6.663	0.808	( 166)	5.047	8.279	4.239	9.087	5.07	8.54	5.12	8.13
26.	Ca (mg/dL)	9.61	0.34	( 176)	8.93	10.29	8.59	10.63	8.9	10.5	9.0	10.4
27.	Mg (mg/dL)			( 0)								
28.	Fe (10 <sup>-3</sup> mg/dL)			( 0)								
29.	D. Bil. (mg/dL)	0.032	0.011	( 10)	0.010	0.054		0.065	0.02	0.05		
30.	Urea (mg/dL)			( 0)								
31.	A-HBDH (IU/L)			( 0)								
32.	UIBC (10 <sup>-3</sup> mg/dL)			( 0)								
33.	ChE2 (IU/L)			( 0)								
34.	T-AGP (IU/L)			( 0)								
35.	B-AGP (IU/L)			( 0)								
36.	P-AMY (IU/L)			( 0)								
37.	HDL-C (mg/dL)			( 0)								
38.	CRP (mg/dL)			( 0)								
39.	LIPA (IU/L)			( 0)								
40.	IgG (mg/dL)			( 0)								
41.	IgA (mg/dL)			( 0)								
42.	IgM (mg/dL)			( 0)								
43.	U-ALB (mg/dL)			( 0)								
44.	LA (mg/dL)			( 0)								
45.	B-LP (mg/dL)			( 0)								
46.	LDL-C (mg/dL)			( 0)								
47.	CRP-LA (mg/dL)			( 0)								
48.	U-IP (mg/dL)			( 0)								
49.	S-B2M (mg/L)			( 0)								
50.	Apo-AI (mg/dL)			( 0)								
51.	Apo-B (mg/dL)			( 0)								
52.	Apo-CIII (mg/dL)			( 0)								

SNBL CONTROL BACKGROUND DATA ( BLOOD CHEMISTRY ) [[ Serum ]]

Species : Rat Strain : CrI:CD(SD) (Grj:GD(SD) IGS) Sex : Male Age : 4-5 M (19-19 W) Between : Jan. 2005 and Dec. 2010

LN	Item	Mean	S.D.	No.	-2S.D.	+2S.D.	-3S.D.	+3S.D.	Min	Max	2.5%	97.5%
53.	NAG			( 0 )								
54.	Na (mEq/L)	144.0	1.8	( 176 )	140.4	147.6	138.6	149.4	140	149	141	148
55.	K (mEq/L)	4.33	0.35	( 176 )	3.63	5.03	3.28	5.38	3.7	5.8	3.8	5.1
56.	Cl (mEq/L)	106.0	1.7	( 176 )	102.6	109.4	100.9	111.1	101	111	102	110
57.	Protein fraction			( 0 )								
58.	Albumin (%)	49.45	2.43	( 154 )	44.59	54.31	42.16	56.74	42.8	55.1	45.0	54.2
59.	A1-glob. (%)	22.06	2.44	( 154 )	17.18	26.94	14.74	29.38	15.6	27.3	16.5	26.7
60.	A2-glob. (%)	7.49	1.02	( 154 )	5.45	9.53	4.43	10.55	5.3	10.5	5.7	9.9
61.	B-glob. (%)	15.65	1.10	( 154 )	13.45	17.85	12.35	18.95	13.3	19.0	13.8	18.0
62.	G-glob. (%)	5.35	1.00	( 154 )	3.35	7.35	2.35	8.35	2.7	8.1	3.6	7.6
63.	A/G	0.983	0.096	( 154 )	0.791	1.175	0.695	1.271	0.75	1.23	0.82	1.19
64.	IGG [15] (mg/dL)			( 0 )								
65.	BSP (%)			( 0 )								
66.	E/T (%)			( 0 )								
67.	Glut. (mg/L)			( 0 )								
68.	Ketone body			( 0 )								
69.	TKB (10 <sup>-3</sup> mmol/L)			( 0 )								
70.	Acet. (10 <sup>-3</sup> mmol/L)			( 0 )								
71.	3-Hydr. (10 <sup>-3</sup> mmol/L)			( 0 )								
72.	Gluc.-15 (mg/dL)			( 0 )								
73.	Gluc.-45 (mg/dL)			( 0 )								
74.	T3 (ng/mL)			( 0 )								
75.	T4 (10 <sup>-3</sup> mg/dL)			( 0 )								
76.	ChE (mg/dL)			( 0 )								
77.	I.Bil. (mg/dL)	0.020	0.007	( 10 )	0.006	0.034	0.041	0.041	0.01	0.03		
78.	IgE [BM8]			( 0 )								
79.	Apo-A1I [BM8]			( 0 )								
80.	FER (ng/mL)			( 0 )								
81.	Hb (mg/dL)			( 0 )								
82.	PSP-15 (%)			( 0 )								
83.	PSP-45 (%)			( 0 )								
84.	TCARH (μmol/L)			( 0 )								
85.	FCAR [BM8]			( 0 )								
86.	T-KB [BM8]			( 0 )								
87.	Globulin (g/dL)	1.80	0.23	( 57 )	1.34	2.26	1.11	2.49	1.3	2.4	2.6	3.4
88.	Albumin (g/dL)	2.96	0.20	( 154 )	2.56	3.36	2.36	3.56	2.5	3.6	2.5	3.5
89.	Globulin (g/dL)	3.03	0.25	( 154 )	2.53	3.53	2.28	3.78	2.4	3.9	2.5	3.5

SNBL CONTROL BACKGROUND DATA ( BLOOD CHEMISTRY ) [[ Serum ]]

Species : Rat Strain : CrI:OD(SD) (Crj:OD(SD) IGS) Sex : Female Age : 4-5 M (19-19 W) Between : Jan. 2005 and Dec. 2010

LN	Item	Mean	S. D.	No.	-2S. D.	+2S. D.	-3S. D.	+3S. D.	Min	Max	2.5%	97.5%
1.	ASAT (IU/L)	102.3	45.2	( 159)	11.9	192.7		237.9	50	437	60	233
2.	ALAT (IU/L)	35.7	28.4	( 159)		92.5		120.9	16	196	17	133
3.	ALP (IU/L)	147.8	45.6	( 159)	56.6	239.0	11.0	284.6	75	370	83	244
4.	LDH (IU/L)	1026.9	422.9	( 40)	181.1	1872.7		2295.6	314	2114		
5.	LAP (IU/L)			( 0)								
6.	G-GTP (IU/L)	1.2	0.6	( 32)		2.4		3.0	0	2		
7.	CPK (IU/L)	478.3	253.4	( 114)		985.1		1238.5	121	1555		
8.	ChE (IU/L)			( 0)								
9.	Amylase (IU/L)			( 0)								
10.	ALD (IU/L)			( 0)								
11.	TRAP (IU/L)			( 0)								
12.	T. Bil. (mg/dL)	0.067	0.021	( 159)	0.025	0.109	0.004	0.130	0.03	0.14	0.03	0.11
13.	T. Prot. (g/dL)	6.34	0.46	( 159)	5.42	7.26	4.96	7.72	5.3	8.0	5.5	7.4
14.	Albumin (g/dL)	4.99	0.51	( 72)	3.97	6.01	3.46	6.52	3.9	6.2		
15.	A/G (mg/dL)	4.348	1.084	( 10)	2.180	6.516	1.096	7.600	2.73	6.57		
16.	T. Chol. (mg/dL)	74.3	15.5	( 159)	43.3	105.3	27.8	120.8	41	118	47	105
17.	F. Chol. (mg/dL)			( 0)								
18.	FFA (mEq/L)			( 0)								
19.	TGL (mg/dL)	29.4	16.4	( 159)		62.2		78.6	7	114	10	77
20.	PL (mg/dL)	138.9	23.2	( 49)	92.5	185.3	69.3	208.5	85	189		
21.	Glucose (mg/dL)	133.5	12.7	( 159)	108.1	158.9	95.4	171.6	99	183	110	167
22.	BUN (mg/dL)	16.78	2.42	( 159)	11.94	21.62	9.52	24.04	11.1	24.7	12.1	22.1
23.	Creat. (mg/dL)	0.290	0.037	( 159)	0.216	0.364	0.179	0.401	0.20	0.40	0.22	0.37
24.	UA (mg/dL)			( 0)								
25.	IP (mg/dL)	5.378	1.299	( 159)	2.780	7.976	1.481	9.275	2.58	8.40	3.19	8.02
26.	Ca (mg/dL)	9.67	0.42	( 159)	8.83	10.51	8.41	10.93	8.8	11.0	9.0	10.6
27.	Mg (mg/dL)			( 0)								
28.	Fe (10 <sup>-3</sup> mg/dL)			( 0)								
29.	D. Bil. (mg/dL)			( 0)								
30.	Urea (mg/dL)			( 0)								
31.	A-HBDH (IU/L)			( 0)								
32.	UIBC (10 <sup>-3</sup> mg/dL)			( 0)								
33.	ChE2 (IU/L)			( 0)								
34.	T-ACP (IU/L)			( 0)								
35.	B-ACP (IU/L)			( 0)								
36.	P-AMY (mg/dL)			( 0)								
37.	HDL-C (mg/dL)			( 0)								
38.	CRP (mg/dL)			( 0)								
39.	LIPA (IU/L)			( 0)								
40.	IgG (mg/dL)			( 0)								
41.	IgM (mg/dL)			( 0)								
42.	IgA (mg/dL)			( 0)								
43.	U-ALB (mg/dL)			( 0)								
44.	LA (mg/dL)			( 0)								
45.	B-LP (mg/dL)			( 0)								
46.	LDL-C (mg/dL)			( 0)								
47.	CRP-LA (mg/dL)			( 0)								
48.	U-TP (mg/L)			( 0)								
49.	S-B2M (mg/dL)			( 0)								
50.	Apo-AI (mg/dL)			( 0)								
51.	Apo-B (mg/dL)			( 0)								
52.	Apo-CIII (mg/dL)			( 0)								

SNBL CONTROL BACKGROUND DATA ( BLOOD CHEMISTRY )

Species : Rat Strain : Ori:CD(SD) (Orj:CD(SD) IGS) Sex : Female Age : 4-5 M (19-19 W) Between : Jan.2005 and Dec.2010

LN	Item	Mean	S. D.	No.	-2S. D.	+2S. D.	-3S. D.	+3S. D.	Min	Max	2.5%	97.5%
53.	NAG			( 0 )								
54.	Na (mEq/L)	143.0	1.8	( 159 )	139.4	146.6	137.6	148.4	140	148	140	147
55.	K (mEq/L)	3.93	0.28	( 159 )	3.37	4.49	3.09	4.77	3.1	5.2	3.5	4.6
56.	Cl (mEq/L)	107.0	2.3	( 159 )	102.4	111.6	100.1	113.9	102	115	103	112
57.	Protein fraction			( 0 )								
58.	Albumin (%)	57.12	2.41	( 137 )	52.30	61.94	49.89	64.35	45.5	63.0	53.2	61.2
59.	A1-glob. (%)	16.23	1.47	( 137 )	13.29	19.17	11.82	20.64	11.1	19.6	13.1	19.0
60.	A2-glob. (%)	5.88	0.75	( 137 )	4.38	7.38	3.63	8.13	4.2	9.6	4.5	7.4
61.	B-glob. (%)	14.51	1.41	( 137 )	11.69	17.33	10.28	18.74	11.6	19.9	11.8	17.3
62.	G-glob. (%)	6.26	1.12	( 137 )	4.02	8.50	2.90	9.62	3.5	10.0	4.2	8.6
63.	A/G	1.339	0.128	( 137 )	1.083	1.595	0.955	1.723	0.84	1.70	1.13	1.58
64.	ICG [15] (mg/dL)			( 0 )								
65.	BSP (%)			( 0 )								
66.	E/T (%)			( 0 )								
67.	Glut. (mg/L)			( 0 )								
68.	Keton body			( 0 )								
69.	TKB (10 <sup>-3</sup> mmol/L)			( 0 )								
70.	Acet. (10 <sup>-3</sup> mmol/L)			( 0 )								
71.	3-Hydr. (10 <sup>-3</sup> mmol/L)			( 0 )								
72.	Gluc.-15 (mg/dL)			( 0 )								
73.	Gluc.-45 (mg/dL)			( 0 )								
74.	T3 (ng/mL)			( 0 )								
75.	T4 (10 <sup>-3</sup> ng/dL)			( 0 )								
76.	ChE (mg/dL)			( 0 )								
77.	I. Bil. (mg/dL)			( 0 )								
78.	IgE			( 0 )								
79.	Apo-AII			( 0 )								
80.	FER (ng/mL)			( 0 )								
81.	Hp (mg/dL)			( 0 )								
82.	PSP-15 (%)			( 0 )								
83.	PSP-45 (%)			( 0 )								
84.	TCARH (μmol/L)			( 0 )								
85.	FCAR (μmol/L)			( 0 )								
86.	T-KB			( 0 )								
87.	Globulin (g/dL)	1.43	0.25	( 72 )	0.93	1.93	0.68	2.18	0.7	2.3	3.1	4.5
88.	Albumin (g/dL)	3.63	0.35	( 137 )	2.93	4.33	2.58	4.68	2.8	4.6	3.4	3.1
89.	Globulin (g/dL)	2.72	0.21	( 137 )	2.30	3.14	2.09	3.35	2.3	3.4	2.4	3.1

SNBL CONTROL BACKGROUND DATA ( ORGAN WEIGHT )

Species : Rat Strain : CrI:CD(SD) (Grj:CD(SD) IGS) Sex : Male Age : 2-3 M (10-10 W) Between : Jan. 2005 and Dec. 2010

LN	Item	Mean	S. D.	No.	-2S. D.	+2S. D.	-3S. D.	+3S. D.	Min	Max	2.5%	97.5%
1.	Pituit.	10.61	1.53	( 329)	7.55	13.67	6.02	15.20	6.8	17.3	7.8	13.9
2.	Thyro. R	10.25	2.32	( 301)	5.61	14.89	3.29	17.21	6.1	19.0	7.1	16.6
3.	Thyro. L	9.01	2.22	( 301)	4.57	13.45	2.35	15.67	3.6	19.5	5.6	13.5
4.	Thyr. R&L	19.26	4.04	( 301)	11.18	27.34	7.14	31.38	12.3	37.1	13.4	30.0
5.	Adre. R	30.52	4.58	( 321)	21.36	39.68	16.78	44.26	18.4	50.9	22.4	40.6
6.	Adre. L	32.30	4.91	( 321)	22.48	42.12	17.57	47.03	20.3	58.1	23.4	43.2
7.	Adre. R&L	62.83	9.27	( 321)	44.29	81.37	35.02	90.64	39.4	109.0	46.2	83.2
8.	Ovary. R			( 0)								
9.	Ovary. L			( 0)								
10.	OvaryR&L			( 0)								
11.	Brain	2.013	0.090	( 338)	1.833	2.193	1.743	2.283	1.66	2.26	1.83	2.21
12.	Thymus	0.473	0.115	( 348)	0.243	0.703	0.128	0.818	0.23	0.88	0.29	0.74
13.	Subm. R	0.310	0.035	( 281)	0.240	0.380	0.205	0.415	0.22	0.41	0.24	0.38
14.	Subm. L	0.307	0.034	( 281)	0.239	0.375	0.205	0.409	0.22	0.41	0.24	0.37
15.	Subm. R&L	0.617	0.068	( 281)	0.481	0.753	0.413	0.821	0.44	0.82	0.48	0.75
16.	Heart	1.253	0.138	( 357)	0.977	1.529	0.839	1.667	0.93	1.67	1.00	1.56
17.	Lung	1.239	0.153	( 333)	0.933	1.545	0.780	1.698	0.82	2.15	1.03	1.55
18.	Stomach			( 0)								
19.	Liver	10.609	1.714	( 357)	7.181	14.037	5.467	15.751	6.97	18.43	7.77	14.78
20.	Kidn. R	1.425	0.163	( 357)	1.099	1.751	0.936	1.914	0.96	1.91	1.11	1.82
21.	Kidn. L	1.408	0.162	( 357)	1.084	1.732	0.922	1.894	0.94	1.92	1.11	1.78
22.	Kidn. R&L	2.833	0.320	( 357)	2.193	3.473	1.873	3.793	1.90	3.79	2.22	3.57
23.	Spleen	0.752	0.136	( 372)	0.480	1.024	0.344	1.160	0.47	1.28	0.54	1.05
24.	Test. R	1.592	0.138	( 340)	1.316	1.868	1.178	2.006	0.72	1.96	1.32	1.86
25.	Test. L	1.586	0.135	( 340)	1.316	1.856	1.181	1.991	0.89	2.15	1.33	1.86
26.	Test. R&L	3.178	0.253	( 340)	2.672	3.684	2.419	3.937	2.50	3.89	2.65	3.69
27.	Epid. R	0.426	0.039	( 281)	0.348	0.504	0.309	0.543	0.20	0.57	0.36	0.50
28.	Epid. L	0.418	0.038	( 281)	0.342	0.494	0.304	0.532	0.23	0.55	0.35	0.50
29.	Epid. R&L	0.844	0.073	( 281)	0.698	0.990	0.625	1.063	0.60	1.12	0.70	0.99
30.	Sem. V.	1.158	0.183	( 275)	0.792	1.524	0.609	1.707	0.69	1.74	0.80	1.53
31.	Prost.	0.978	0.143	( 320)	0.692	1.264	0.549	1.407	0.62	1.38	0.69	1.30
32.	Uterus			( 0)								
33.	Pancr.	1.128	0.286	( 17)	0.556	1.700	0.270	1.986	0.53	1.61		
34.	Cecum			( 0)								
35.	U. Blad.			( 0)								
36.	Cerebr.			( 0)								
37.	Cerebe.			( 0)								
38.	Brain. S			( 0)								
39.	L. Intes.			( 0)								
40.	S. Intes.			( 0)								
41.	Carcass			( 0)								
42.	Cecum. I			( 0)								
43.	Sali. R			( 0)								
44.	Sali. L			( 0)								
45.	Sali. R&L			( 0)								
46.	Eye. R			( 0)								
47.	Eye. L			( 0)								
48.	Eye. R&L			( 0)								



SNBL CONTROL BACKGROUND DATA ( ORGAN WEIGHT )

Species : Rat Strain : CrI:CD(SD) (Crj:CD(SD) IGS) Sex : Female Age : 2-3 M (10-10 W) Between : Jan. 2005 and Dec. 2010

LN	Item	Mean	S. D.	No.	-2S. D.	+2S. D.	-3S. D.	+3S. D.	Min	Max	2.5%	97.5%
1.	Pituit.	12.79	2.15	( 393)	8.49	17.09	6.34	19.24	8.3	20.1	9.0	17.5
2.	Thyro. R	8.10	1.82	( 390)	4.46	11.74	2.64	13.56	4.7	15.6	5.0	12.5
3.	Thyro. L	7.29	1.77	( 389)	3.75	10.83	1.98	12.60	2.5	13.0	4.0	11.3
4.	Thyr. R&L	15.40	3.19	( 389)	9.02	21.78	5.83	24.97	8.2	27.0	10.1	22.4
5.	Adre. R	34.50	6.52	( 410)	21.46	47.54	14.94	54.06	23.2	121.7	25.9	45.6
6.	Adre. L	36.04	5.06	( 410)	25.92	46.16	20.86	51.22	22.7	53.8	27.0	46.8
7.	Adre. R&L	70.54	10.59	( 410)	49.36	91.72	38.77	102.31	45.9	158.5	54.1	91.7
8.	Ovary. R	42.08	8.09	( 394)	25.90	58.26	17.81	66.35	19.1	76.5	25.9	60.4
9.	Ovary. L	41.55	7.46	( 394)	26.63	56.47	19.17	63.93	20.9	71.8	27.7	57.6
10.	OvaryR&L	83.63	13.48	( 394)	56.67	110.59	43.19	124.07	49.7	134.9	58.0	113.5
11.	Brain	1.882	0.078	( 394)	1.726	2.038	1.648	2.116	1.65	2.16	1.73	2.05
12.	Thymus	0.447	0.098	( 395)	0.251	0.643	0.153	0.741	0.23	0.78	0.28	0.68
13.	Subm. R	0.207	0.022	( 366)	0.163	0.251	0.141	0.273	0.15	0.29	0.17	0.25
14.	Subm. L	0.206	0.022	( 366)	0.162	0.250	0.140	0.272	0.15	0.28	0.17	0.26
15.	Subm. R&L	0.413	0.042	( 366)	0.329	0.497	0.287	0.539	0.30	0.56	0.35	0.50
16.	Heart	0.855	0.086	( 433)	0.683	1.027	0.597	1.113	0.62	1.29	0.71	1.04
17.	Lung	0.988	0.115	( 410)	0.758	1.218	0.643	1.333	0.77	1.65	0.82	1.24
18.	Stomach			( 0)								
19.	Liver	6.644	0.869	( 433)	4.906	8.382	4.037	9.251	4.98	11.77	5.26	8.63
20.	Kidn. R	0.915	0.095	( 433)	0.725	1.105	0.630	1.200	0.69	1.23	0.74	1.13
21.	Kidn. L	0.896	0.093	( 433)	0.710	1.082	0.617	1.175	0.64	1.20	0.73	1.10
22.	Kidn. R&L	1.812	0.184	( 433)	1.444	2.180	1.260	2.364	1.36	2.42	1.48	2.22
23.	Spleen	0.533	0.097	( 438)	0.339	0.727	0.242	0.824	0.32	1.04	0.37	0.76
24.	Test. R			( 0)								
25.	Test. L			( 0)								
26.	Test. R&L			( 0)								
27.	Epid. R			( 0)								
28.	Epid. L			( 0)								
29.	Epid. R&L			( 0)								
30.	Sem. V.			( 0)								
31.	Prost.			( 0)								
32.	Uterus	0.485	0.181	( 370)	0.123	0.847	0.483	1.028	0.27	1.39	0.30	0.95
33.	Pancr.	0.951	0.156	( 22)	0.639	1.263	0.483	1.419	0.72	1.28		
34.	Cecum			( 0)								
35.	U. Blad.			( 0)								
36.	Cerebr.			( 0)								
37.	Cerebe.			( 0)								
38.	Brain. S			( 0)								
39.	L. Intes.			( 0)								
40.	S. Intes.			( 0)								
41.	Carcass			( 0)								
42.	Cecum. I			( 0)								
43.	Sali. R			( 0)								
44.	Sali. L			( 0)								
45.	Sali. R&L			( 0)								
46.	Eye. R			( 0)								
47.	Eye. L			( 0)								
48.	Eye. R&L			( 0)								

SNBL CONTROL BACKGROUND DATA ( ORGAN WEIGHT )

Species : Rat Strain : CrI:GD(SD) (Orj:GD(SD) IGS) Sex : Male Age : 4-5 M (19-19 W) Between : Jan. 2005 and Dec. 2010

LN	Item	Mean	S. D.	No.	-2S. D.	+2S. D.	-3S. D.	+3S. D.	Min	Max	2.5%	97.5%
1.	Pituit.	12.40	1.74	( 241)	8.92	15.88	7.18	17.62	9.0	18.3	9.4	16.2
2.	Thyro.R	12.74	2.91	( 241)	6.92	18.56	4.01	21.47	6.5	24.9	8.3	19.3
3.	Thyro.L	11.72	2.79	( 240)	6.14	17.30	3.35	20.09	3.5	20.0	6.6	17.8
4.	Thyr. R&L	24.44	4.91	( 240)	14.62	34.26	9.71	39.17	12.4	44.2	16.5	35.6
5.	Adre. R	29.49	4.63	( 241)	20.23	38.75	15.60	43.38	15.3	47.8	21.1	39.0
6.	Adre. L	31.23	4.82	( 241)	21.59	40.87	16.77	45.69	20.7	49.9	22.3	41.2
7.	Adre. R&L	60.72	9.19	( 241)	42.34	79.10	33.15	88.29	41.5	95.8	43.8	78.4
8.	Ovary.R			( 0)								
9.	Ovary.L			( 0)								
10.	OvaryR&L			( 0)								
11.	Brain	2.156	0.097	( 241)	1.962	2.350	1.865	2.447	1.80	2.51	1.98	2.36
12.	Thymus	0.297	0.080	( 241)	0.137	0.457	0.057	0.537	0.12	0.55	0.17	0.49
13.	Subm. R	0.365	0.041	( 241)	0.283	0.447	0.242	0.488	0.27	0.49	0.30	0.45
14.	Subm. L	0.363	0.041	( 241)	0.281	0.445	0.240	0.486	0.27	0.48	0.30	0.45
15.	Subm. R&L	0.729	0.081	( 241)	0.567	0.891	0.486	0.972	0.54	0.96	0.59	0.91
16.	Heart	1.572	0.151	( 241)	1.270	1.874	1.119	2.025	1.14	2.12	1.32	1.89
17.	Lung	1.455	0.124	( 246)	1.207	1.703	1.083	1.827	1.16	1.86	1.25	1.68
18.	Stomach			( 0)								
19.	Liver	14.234	2.157	( 241)	9.920	18.548	7.763	20.705	9.06	22.59	10.74	19.53
20.	Kidn. R	1.753	0.198	( 241)	1.357	2.149	1.159	2.347	1.21	2.35	1.42	2.21
21.	Kidn. L	1.736	0.199	( 241)	1.338	2.134	1.139	2.333	1.14	2.42	1.36	2.16
22.	Kidn. R&L	3.489	0.391	( 241)	2.707	4.271	2.316	4.662	2.36	4.77	2.80	4.38
23.	Spleen	0.888	0.153	( 241)	0.582	1.194	0.429	1.347	0.60	1.44	0.65	1.21
24.	Test. R	1.735	0.197	( 241)	1.341	2.129	1.144	2.326	0.41	2.13	1.44	2.03
25.	Test. L	1.743	0.182	( 241)	1.379	2.107	1.197	2.289	0.53	2.19	1.43	2.03
26.	Test. R&L	3.478	0.370	( 241)	2.738	4.218	2.368	4.588	0.96	4.29	2.88	4.05
27.	Epid. R	0.670	0.069	( 206)	0.532	0.808	0.463	0.877	0.30	0.88	0.55	0.80
28.	Epid. L	0.662	0.062	( 206)	0.538	0.786	0.476	0.848	0.29	0.85	0.55	0.78
29.	Epid. R&L	1.331	0.126	( 206)	1.079	1.583	0.953	1.709	0.59	1.66	1.11	1.58
30.	Sem. V.	1.791	0.255	( 241)	1.281	2.301	1.026	2.556	1.17	2.58	1.37	2.34
31.	Prost.	1.439	0.274	( 241)	0.891	1.987	0.617	2.261	0.36	2.46	0.88	2.02
32.	Uterus			( 0)								
33.	Pancr.	1.392	0.291	( 15)	0.810	1.974	0.519	2.265	0.98	1.90		
34.	Cecum			( 0)								
35.	U. Blad.			( 0)								
36.	Cerebr.			( 0)								
37.	Cerebe.			( 0)								
38.	Brain. S			( 0)								
39.	L. Intes.			( 0)								
40.	S. Intes.			( 0)								
41.	Carcass			( 0)								
42.	Cecum. I			( 0)								
43.	Sali. R			( 0)								
44.	Sali. L			( 0)								
45.	Sali. R&L			( 0)								
46.	Eye. R			( 0)								
47.	Eye. L			( 0)								
48.	Eye. R&L			( 0)								

SNBL CONTROL BACKGROUND DATA ( ORGAN WEIGHT )

Species : Rat Strain : CrI:CD(SD) (Crj:CD(SD) IGS) Sex : Female Age : 4-5 M (19-19 W) Between : Jan.2005 and Dec.2010

LN	Item	Mean	S. D.	No.	-2S. D.	+2S. D.	-3S. D.	+3S. D.	Min	Max	2.5%	97.5%
1.	Pituit.	16.20	2.99	( 209 )	10.22	22.18	7.23	25.17	10.2	27.1	11.1	22.8
2.	Thyro. R	9.53	2.16	( 209 )	5.21	13.85	3.05	16.01	3.7	18.5	5.7	14.0
3.	Thyro. L	8.41	2.06	( 208 )	4.29	12.53	2.23	14.59	2.7	14.1	5.0	13.1
4.	Thyr. R&L	17.93	3.77	( 208 )	10.39	25.47	6.62	29.24	10.2	30.1	11.3	25.5
5.	Adre. R	33.99	5.04	( 209 )	23.91	44.07	18.87	49.11	23.7	55.3	25.9	44.5
6.	Adre. L	35.61	5.26	( 209 )	25.09	46.13	19.83	51.39	24.9	53.2	27.6	47.1
7.	Adre. R&L	69.59	10.04	( 209 )	49.51	89.67	39.47	99.71	48.6	108.5	52.5	92.9
8.	Ovary. R	39.93	7.70	( 209 )	24.53	55.33	16.83	63.03	18.5	75.5	26.0	54.5
9.	Ovary. L	40.18	7.64	( 209 )	24.90	55.46	17.26	63.10	12.9	67.5	24.9	54.5
10.	OvaryR&L	80.12	13.77	( 209 )	52.58	107.66	38.81	121.43	31.4	129.3	54.8	107.6
11.	Brain	1.965	0.082	( 209 )	1.801	2.129	1.719	2.211	1.71	2.32	1.80	2.10
12.	Thymus	0.269	0.066	( 209 )	0.137	0.401	0.071	0.467	0.12	0.50	0.16	0.42
13.	Subm. R	0.226	0.025	( 209 )	0.176	0.276	0.151	0.301	0.16	0.30	0.18	0.27
14.	Subm. L	0.224	0.025	( 209 )	0.174	0.274	0.149	0.299	0.15	0.30	0.18	0.27
15.	Subm. R&L	0.450	0.049	( 209 )	0.352	0.548	0.303	0.597	0.31	0.59	0.36	0.55
16.	Heart	0.987	0.100	( 209 )	0.787	1.187	0.687	1.287	0.78	1.24	0.80	1.19
17.	Lung	1.096	0.094	( 214 )	0.908	1.284	0.814	1.378	0.89	1.37	0.92	1.26
18.	Stomach			( 0 )								
19.	Liver	7.511	1.087	( 209 )	5.337	9.685	4.250	10.772	5.59	11.25	5.70	9.84
20.	Kidn. R	0.994	0.127	( 209 )	0.740	1.248	0.613	1.375	0.70	1.38	0.77	1.26
21.	Kidn. L	0.971	0.119	( 209 )	0.733	1.209	0.614	1.328	0.71	1.37	0.76	1.22
22.	Kidn. R&L	1.965	0.243	( 209 )	1.479	2.451	1.236	2.694	1.43	2.74	1.54	2.47
23.	Spleen	0.572	0.103	( 209 )	0.366	0.778	0.263	0.881	0.36	0.93	0.38	0.79
24.	Test. R			( 0 )								
25.	Test. L			( 0 )								
26.	Test. R&L			( 0 )								
27.	Epid. R			( 0 )								
28.	Epid. L			( 0 )								
29.	Epid. R&L			( 0 )								
30.	Sem. V.			( 0 )								
31.	Prost.			( 0 )								
32.	Uterus	0.679	0.260	( 209 )	0.159	1.199	0.564	1.459	0.32	1.76	0.38	1.30
33.	Pancr.	1.131	0.189	( 15 )	0.753	1.509		1.698	0.70	1.45		
34.	Cecum			( 0 )								
35.	U. Blad.			( 0 )								
36.	Cerebr.			( 0 )								
37.	Cerebe.			( 0 )								
38.	Brain. S			( 0 )								
39.	L. Intes.			( 0 )								
40.	S. Intes.			( 0 )								
41.	Carcass			( 0 )								
42.	Cecum. I			( 0 )								
43.	Sali. R			( 0 )								
44.	Sali. L			( 0 )								
45.	Sali. R&L			( 0 )								
46.	Eye. R			( 0 )								
47.	Eye. L			( 0 )								
48.	Eye. R&L			( 0 )								

SNBL CONTROL BACKGROUND DATA ( RELATIVE ORGAN WEIGHT )

Species : Rat Strain : Crj:CD(SD) (Grj:CD(SD) IGS) Sex : Male Age : 2-3 M (10-10 W) Between : Jan.2005 and Dec.2010

LN	Item	Mean	S.D.	No.	-2S.D.	+2S.D.	-3S.D.	+3S.D.	Min	Max	2.5%	97.5%
1.	Pituit.	3.06	0.41	( 329)	2.24	3.88	1.83	4.29	2.1	4.8	2.3	3.8
2.	Thyro.R	2.93	0.64	( 301)	1.65	4.21	1.01	4.85	1.8	5.9	2.0	4.6
3.	Thyro.L	2.58	0.62	( 301)	1.34	3.82	0.72	4.44	1.0	5.3	1.6	4.1
4.	Thyr.R&L	5.51	1.11	( 301)	3.29	7.73	2.18	8.84	3.3	10.9	3.7	8.4
5.	Adre.R	8.83	1.37	( 321)	6.09	11.57	4.72	12.94	4.9	13.2	6.5	11.8
6.	Adre.L	9.34	1.45	( 321)	6.44	12.24	4.99	13.69	5.3	14.0	7.0	12.4
7.	Adre.R&L	18.17	2.76	( 321)	12.65	23.69	9.89	26.45	10.3	26.2	13.5	24.0
8.	Ovary.R			( 0)								
9.	Ovary.L			( 0)								
10.	OvaryR&L			( 0)								
11.	Brain	585.2	56.3	( 338)	472.6	697.8	416.3	754.1	445	837	488	711
12.	Thymus	135.2	28.7	( 348)	77.8	192.6	49.1	221.3	70	218	88	197
13.	Subm.R	89.2	9.6	( 281)	70.0	108.4	60.4	118.0	65	120	73	112
14.	Subm.L	88.3	9.6	( 281)	69.1	107.5	59.5	117.1	63	116	71	110
15.	Subm.R&L	177.5	18.9	( 281)	139.7	215.3	120.8	234.2	129	234	145	221
16.	Heart	362.4	29.9	( 357)	302.6	422.2	272.7	452.1	291	531	305	418
17.	Lung	357.6	40.2	( 333)	277.2	438.0	237.0	478.2	293	692	307	471
18.	Stomach			( 0)								
19.	Liver	3.049	0.262	( 357)	2.525	3.573	2.263	3.835	2.46	4.06	2.62	3.70
20.	Kidn.R	411.8	33.5	( 357)	344.8	478.8	311.3	512.3	305	528	348	490
21.	Kidn.L	406.8	32.3	( 357)	342.2	471.4	309.9	503.7	313	517	346	468
22.	Kidn.R&L	818.6	63.6	( 357)	691.4	945.8	627.8	1009.4	618	1024	699	943
23.	Spleen	216.5	34.3	( 372)	147.9	285.1	113.6	319.4	141	406	159	295
24.	Test.R	459.0	51.8	( 340)	355.4	562.6	303.6	614.4	172	663	364	563
25.	Test.L	457.0	49.7	( 340)	357.6	556.4	307.9	606.1	245	644	368	560
26.	Test.R&L	916.0	98.1	( 340)	719.8	1112.2	621.7	1210.3	649	1307	719	1115
27.	Epid.R	122.2	14.3	( 281)	93.6	150.8	79.3	165.1	49	175	97	148
28.	Epid.L	119.7	14.1	( 281)	91.5	147.9	77.4	162.0	62	173	95	148
29.	Epid.R&L	241.8	27.5	( 281)	186.8	296.8	159.3	324.3	144	348	192	296
30.	Sem.V.	332.0	55.6	( 275)	220.8	443.2	165.2	498.8	210	547	231	449
31.	Prost.	282.1	41.3	( 320)	199.5	364.7	158.2	406.0	186	444	205	372
32.	Uterus			( 0)								
33.	Pancr.	323.6	87.9	( 17)	147.8	499.4	59.9	587.3	160	496		
34.	Cecum			( 0)								
35.	U.Blad.			( 0)								
36.	Cerebr.			( 0)								
37.	Cerebe.			( 0)								
38.	Brain.S			( 0)								
39.	L.Intes.			( 0)								
40.	S.Intes.			( 0)								
41.	Carcass			( 0)								
42.	Cecum.I			( 0)								
43.	Sali.R			( 0)								
44.	Sali.L			( 0)								
45.	Sali.R&L			( 0)								
46.	Eye.R			( 0)								
47.	Eye.L			( 0)								
48.	Eye.R&L			( 0)								

SNBL CONTROL BACKGROUND DATA ( RELATIVE ORGAN WEIGHT )

Species : Rat Strain : Crj:CD(SD) (Grj:CD(SD) IGS) Sex : Female Age : 2-3 M (10-10 W) Between : Jan. 2005 and Dec. 2010

LN	Item	Mean	S. D.	No.	-2S. D.	+2S. D.	-3S. D.	+3S. D.	Min	Max	2.5%	97.5%
1.	Pituit.	5.85	0.91	( 393)	4.03	7.67	3.12	8.58	3.8	10.1	4.3	8.2
2.	Thyro. R	3.68	0.83	( 390)	2.02	5.34	1.19	6.17	2.0	7.0	2.3	5.7
3.	Thyro. L	3.31	0.80	( 389)	1.71	4.91	0.91	5.71	1.1	5.5	1.8	5.1
4.	Thyr. R&L	6.99	1.46	( 389)	4.07	9.91	2.61	11.37	4.0	11.6	4.4	10.3
5.	Adre. R	15.71	2.68	( 410)	10.35	21.07	7.67	23.75	10.1	43.8	11.7	20.1
6.	Adre. L	16.43	2.32	( 410)	11.79	21.07	9.47	23.39	9.9	26.6	12.5	20.9
7.	Adre. R&L	32.14	4.64	( 410)	22.86	41.42	18.22	46.06	20.0	57.0	24.9	41.5
8.	Ovary. R	19.27	3.57	( 394)	12.13	26.41	8.56	29.98	7.8	34.7	12.5	27.0
9.	Ovary. L	19.01	3.15	( 394)	12.71	25.31	9.56	28.46	10.1	30.1	13.1	25.3
10.	OvaryR&L	38.29	5.71	( 394)	26.87	49.71	21.16	55.42	22.0	59.7	26.0	50.5
11.	Brain	865.4	74.8	( 394)	715.8	1015.0	641.0	1089.8	690	1079	725	1012
12.	Thymus	203.5	38.5	( 395)	126.5	280.5	88.0	319.0	101	343	139	295
13.	Subm. R	94.3	10.1	( 366)	74.1	114.5	64.0	124.6	62	133	74	114
14.	Subm. L	93.7	9.9	( 366)	73.9	113.5	64.0	123.4	65	125	74	113
15.	Subm. R&L	188.1	19.6	( 366)	148.9	227.3	129.3	246.9	135	258	149	228
16.	Heart	388.4	29.4	( 433)	329.6	447.2	300.2	476.6	308	483	338	452
17.	Lung	449.5	42.7	( 410)	364.1	534.9	321.4	577.6	361	730	385	562
18.	Stomach			( 0)								
19.	Liver	3.009	0.213	( 433)	2.583	3.435	2.370	3.648	2.54	4.36	2.67	3.44
20.	Kidn. R	416.1	33.6	( 433)	348.9	483.3	315.3	516.9	327	532	347	486
21.	Kidn. L	407.4	33.3	( 433)	340.8	474.0	307.5	507.3	326	522	341	474
22.	Kidn. R&L	823.5	64.6	( 433)	694.3	952.7	629.7	1017.3	659	1053	699	960
23.	Spleen	241.6	37.1	( 438)	167.4	315.8	130.3	352.9	154	460	178	321
24.	Test. R			( 0)								
25.	Test. L			( 0)								
26.	Test. R&L			( 0)								
27.	Epid. R			( 0)								
28.	Epid. L			( 0)								
29.	Epid. R&L			( 0)								
30.	Sem. V.			( 0)								
31.	Prost.			( 0)								
32.	Uterus	221.7	83.6	( 370)	54.5	388.9	236.6	472.5	123	634	136	443
33.	Pancr.	427.1	63.5	( 22)	300.1	554.1	236.6	617.6	333	560		
34.	Cecum			( 0)								
35.	U. Blad.			( 0)								
36.	Cerebe.			( 0)								
37.	Cerebe.			( 0)								
38.	Brain. S			( 0)								
39.	L. Intes.			( 0)								
40.	S. Intes.			( 0)								
41.	Carcass			( 0)								
42.	Cecum. I			( 0)								
43.	Sali. R			( 0)								
44.	Sali. L			( 0)								
45.	Sali. R&L			( 0)								
46.	Eye. R			( 0)								
47.	Eye. L			( 0)								
48.	Eye. R&L			( 0)								

SNBL CONTROL BACKGROUND DATA ( RELATIVE ORGAN WEIGHT )

Species : Rat Strain : CrI:CD(SD) (Crj:CD(SD) IGS) Sex : Male Age : 4-5 M (19-19 W) Between : Jan.2005 and Dec.2010

LN	Item	Mean	S. D.	No.	-2S. D.	+2S. D.	-3S. D.	+3S. D.	Min	Max	2.5%	97.5%
1.	Pituit.	2.36	0.32	( 241)	1.72	3.00	1.40	3.32	1.7	3.6	1.8	3.1
2.	Thyro. R	2.42	0.52	( 241)	1.38	3.46	0.86	3.98	1.1	4.7	1.6	3.6
3.	Thyro. L	2.23	0.51	( 240)	1.21	3.25	0.70	3.76	0.6	3.8	1.3	3.3
4.	Thyr. R&L	4.64	0.88	( 240)	2.88	6.40	2.00	7.28	2.0	8.3	3.2	6.8
5.	Adre. R	5.63	0.98	( 241)	3.67	7.59	2.69	8.57	1.9	9.7	3.9	7.7
6.	Adre. L	5.96	1.06	( 241)	3.84	8.08	2.78	9.14	3.8	10.9	4.2	8.6
7.	Adre. R&L	11.58	2.01	( 241)	7.56	15.60	5.55	17.61	6.1	20.6	8.3	16.5
8.	Ovary. R			( 0)								
9.	Ovary. L			( 0)								
10.	OvaryR&L			( 0)								
11.	Brain	411.7	41.5	( 241)	328.7	494.7	287.2	536.2	281	525	337	496
12.	Thymus	56.1	13.8	( 241)	28.5	83.7	14.7	97.5	26	100	34	89
13.	Subm. R	69.6	8.3	( 241)	53.0	86.2	44.7	94.5	45	94	55	90
14.	Subm. L	69.1	8.2	( 241)	52.7	85.5	44.5	93.7	44	94	55	87
15.	Subm. R&L	138.7	16.3	( 241)	106.1	171.3	89.8	187.6	89	186	111	175
16.	Heart	298.6	24.2	( 241)	250.2	347.0	226.0	371.2	238	419	256	351
17.	Lung	276.8	25.0	( 246)	226.8	326.8	201.8	351.8	190	337	229	323
18.	Stomach			( 0)								
19.	Liver	2.687	0.231	( 241)	2.225	3.149	1.994	3.380	2.20	3.47	2.28	3.17
20.	Kidn. R	333.2	36.4	( 241)	260.4	406.0	224.0	442.4	244	450	271	412
21.	Kidn. L	330.0	36.8	( 241)	256.4	403.6	219.6	440.4	230	464	261	408
22.	Kidn. R&L	663.2	72.0	( 241)	519.2	807.2	447.2	879.2	474	914	538	821
23.	Spleen	168.5	26.3	( 241)	115.9	221.1	89.6	247.4	110	266	125	228
24.	Test. R	331.7	49.2	( 241)	233.3	430.1	184.1	479.3	52	491	257	425
25.	Test. L	333.1	46.2	( 241)	240.7	425.5	194.5	471.7	69	493	260	427
26.	Test. R&L	664.8	94.2	( 241)	476.4	853.2	382.2	947.4	121	984	513	854
27.	Epid. R	128.3	17.9	( 206)	92.5	164.1	74.6	182.0	38	188	103	165
28.	Epid. L	126.8	17.1	( 206)	92.6	161.0	75.5	178.1	37	179	98	163
29.	Epid. R&L	255.1	34.3	( 206)	186.5	323.7	152.2	358.0	75	367	201	321
30.	Sem. V.	342.6	61.0	( 241)	220.6	464.6	159.6	525.6	208	522	235	466
31.	Prost.	274.7	56.7	( 241)	161.3	388.1	104.6	444.8	68	465	163	383
32.	Uterus			( 0)								
33.	Pancre.	263.5	49.0	( 15)	165.5	361.5	116.5	410.5	196	345		
34.	Cecum			( 0)								
35.	U. Blad.			( 0)								
36.	Cerebr.			( 0)								
37.	Cerebe.			( 0)								
38.	Brain. S			( 0)								
39.	L. Intes.			( 0)								
40.	S. Intes.			( 0)								
41.	Carcass			( 0)								
42.	Cecum. I			( 0)								
43.	Sali. R			( 0)								
44.	Sali. L			( 0)								
45.	Sali. R&L			( 0)								
46.	Eye. R			( 0)								
47.	Eye. L			( 0)								
48.	Eye. R&L			( 0)								

SNBL CONTROL BACKGROUND DATA ( RELATIVE ORGAN WEIGHT )

Species : Rat Strain : Crj:CD(SD) (Gr.j:CD(SD)IGS) Sex : Female Age : 4-5 M (19-19 W) Between : Jan.2005 and Dec.2010

LN	Item	Mean	S. D.	No.	-2S. D.	+2S. D.	-3S. D.	+3S. D.	Min	Max	2.5%	97.5%
1.	Pituit.	5.51	0.96	( 209 )	3.59	7.43	2.63	8.39	3.4	8.9	3.9	7.7
2.	Thyro. R	3.24	0.72	( 209 )	1.80	4.68	1.08	5.40	1.4	6.0	2.1	4.8
3.	Thyro. L	2.86	0.71	( 208 )	1.44	4.28	0.73	4.99	1.0	5.1	1.7	4.5
4.	Thyr. R&L	6.10	1.27	( 208 )	3.56	8.64	2.29	9.91	3.8	10.8	3.9	8.7
5.	Adre. R	11.60	1.85	( 209 )	7.90	15.30	6.05	17.15	8.0	20.3	8.4	15.7
6.	Adre. L	12.15	1.88	( 209 )	8.39	15.91	6.51	17.79	8.6	19.6	9.0	16.2
7.	Adre. R&L	23.75	3.65	( 209 )	16.45	31.05	12.80	34.70	17.0	39.9	17.5	31.3
8.	Ovary. R	13.60	2.53	( 209 )	8.54	18.66	6.01	21.19	6.1	22.5	9.0	19.2
9.	Ovary. L	13.68	2.50	( 209 )	8.68	18.68	6.18	21.18	4.3	21.6	9.0	18.9
10.	OvaryR&L	27.28	4.46	( 209 )	18.36	36.20	13.90	40.66	10.4	39.8	18.1	36.5
11.	Brain	672.8	70.2	( 209 )	532.4	813.2	462.2	883.4	515	897	560	822
12.	Thymus	91.5	21.7	( 209 )	48.1	134.9	26.4	156.6	44	161	58	143
13.	Subm. R	77.1	9.3	( 209 )	58.5	95.7	49.2	105.0	55	104	60	97
14.	Subm. L	76.5	9.3	( 209 )	57.9	95.1	48.6	104.4	53	104	59	97
15.	Subm. R&L	153.6	18.3	( 209 )	117.0	190.2	98.7	208.5	109	207	119	196
16.	Heart	335.9	26.5	( 209 )	282.9	388.9	256.4	415.4	261	409	287	391
17.	Lung	372.8	32.4	( 214 )	308.0	437.6	275.6	470.0	282	487	314	444
18.	Stomach			( 0 )								
19.	Liver	2.544	0.220	( 209 )	2.104	2.984	1.884	3.204	2.14	3.26	2.18	3.04
20.	Kidn. R	337.9	33.9	( 209 )	270.1	405.7	236.2	439.6	250	430	277	407
21.	Kidn. L	329.9	31.4	( 209 )	267.1	392.7	235.7	424.1	246	409	276	398
22.	Kidn. R&L	667.8	64.2	( 209 )	539.4	796.2	475.2	860.4	497	839	564	803
23.	Spleen	194.4	29.9	( 209 )	134.6	254.2	104.7	284.1	132	269	141	260
24.	Test. R			( 0 )								
25.	Test. L			( 0 )								
26.	Test. R&L			( 0 )								
27.	Epid. R			( 0 )								
28.	Epid. L			( 0 )								
29.	Epid. R&L			( 0 )								
30.	Sem. V.			( 0 )								
31.	Prost.			( 0 )								
32.	Uterus	231.6	88.4	( 209 )	54.8	408.4	210.7	496.8	103	570	128	485
33.	Panor.	367.3	52.2	( 15 )	262.9	471.7		523.9	245	442		
34.	Cecum			( 0 )								
35.	U. Blad.			( 0 )								
36.	Cerebr.			( 0 )								
37.	Cerebe.			( 0 )								
38.	Brain. S			( 0 )								
39.	L. Intes.			( 0 )								
40.	S. Intes.			( 0 )								
41.	Carcass			( 0 )								
42.	Cecum. I			( 0 )								
43.	Sali. R			( 0 )								
44.	Sali. L			( 0 )								
45.	Sali. R&L			( 0 )								
46.	Eye. R			( 0 )								
47.	Eye. L			( 0 )								
48.	Eye. R&L			( 0 )								