Halopredone acetate (THS-201)の毒性試験

—(III) ラットにおける慢性毒性試験—

竹内 雅也, 一戸 瑞枝, 岡崎 修三, 太田 裕子
新保幸太郎, 須藤 純一*
田辺恒義*

株式会社化合物安全性研究所

*東日本学園大学薬学部毒理学教室

STUDY ON TOXICITY OF HALOPREDONE ACETATE

— (III) CHRONIC TOXICITY STUDY IN RATS —

Masaya TAKEUCHI, Mizue ICHINOHE, Shuzo OKAZAKI,
Yuko OHTA, Kotaro SHIMPO, Jun-ichi SUDO*
and Tsuneyoshi TANABE*

Safety Research Institute for Chemical Compounds,
849 North 30-joh West 11-chome, Kita-ku, Sapporo 001, Japan

*Department of Toxicology, Faculty of Pharmaceutical Sciences,
Higashi-Nippon-Gakuen University,
1757 Kanazawa, Ishikari Tobetsu, Hokkaido 061-02, Japan

Accepted June 5, 1985

Abstract.....Chronic toxicity study of halopredone acetate (THS-201), a synthetic corticosteroid, was carried out using Jcl : Wistar rats. THS-201 was subcutaneously administered to the rat in doses of 0.02, 0.1, 0.5 and 2.5 mg/kg/day, with the periods for administration and recovery being 12 and 2 months, respectively.

In the group of THS-201 2.5 mg/kg, the below findings were observed : thinning of lumbar hair, suppression in body weight gain, decrease of food consumption in both sexes and decrease of water consumption in male. The lesions to lymphatic system were indicated by the examinations of hemogram, organ weight and histopathology. A few changes in urinary and biochemical values were seen, and foreign body granuloma was observed in the injected subcutis. After 2 month-recovery period, above-mentioned findings almost disappeared.

In the group of THS-201 0.5 mg/kg, some of the changes were noted slightly and disappeared after the recovery period.

In the groups of THS-201 0.1 and 0.02 mg/kg, any toxic changes attributable to THS-201 were not observed.

It was concluded that the non-toxic dose and the defined toxic dose of THS-201 in this study were 0.1 and 0.5 mg/kg/day, respectively.

Key words: Halopredone acetate (THS-201), subcutaneous administration, chronic toxicity, rat

緒 言

合成抗炎症ステロイド剤 halopredone acetate (THS-201)は、局所貯留性を有し、かつ局所及び全身性の副作用を殆ど示さず、関節内注入剤として有用であることが報告されている（三宅ら, 1981；北川ら, 1984；金子ら, 1983）。この化合物の急性及び亜急性毒性については前報（竹内ら, 1985）に記載したところである。

今回、著者らは安全性試験の一環としてラットを用いた 12 箇月間慢性毒性試験及び 2 箇月間回復試験を実施したので、その成績を報告する。なお、ラットでは関節内注入が技術的に困難であるため、本試験では皮下投与による検討を行った。

材料及び方法

1. 被験物質

THS-201 (17 α , 21-diacetoxy-2-bromo-6 β , 9 α -difluoro-11 β -hydroxy-1, 4-pregnadiene-3, 20-dione, 大鵬薬品工業株式会社提供, Lot No. 8)は前報（竹内ら, 1985）に示す構造式を有する水に難溶性の白色結晶性粉末である。

検体の調製には同社提供の 0.35% CMC, 0.25% Tween 80 及び 0.7% benzylalcohol を含む生理食塩水を溶媒として用い、投与液量が 0.1 ml/100 g b. w.となるように THS-201 を投与量に対応する各濃度に懸濁させ、用時調製した。

2. 試験動物及び飼育条件

日本クレア株式会社生産の生後 4 週齢の雌雄の Jcl: Wistar 系 SPF ラットを約 1 週間馴化させ、異常の認められないものを試験に使用した。投与開始時の平均体重は雄 142.2 (124~157) g, 雌 114.6 (105~130) g であった。

動物の飼育はブラケット式金属製ケージに 2 匹（一部 3 匹）ずつ収容し、温度 23 $\pm$ 3 $^{\circ}$ C, 湿度 55 $\pm$ 10%, 換気回数 18 回/時間, 照明 12 時間（午前 8 時~午後 8 時）に設定されたバリアーシステムの飼育室で行った。固型飼料〔CE-2: 日本クレア(株)〕と水（水道水）は自由に摂取させた。

3. 投与群及び投与方法

実験群の構成を Table 1 に示す。

本試験の投与量は 3 箇月間亜急性毒性試験（竹内ら，1985）の結果を参考とした。すなわち，亜急性毒性試験での最高投与量 12.5 mg/kg では，死亡例は認められなかったものの，中等度の体重増加抑制，リンパ系組織の萎縮及び末梢血リンパ球の減少等が認められた。また 2.5 mg/kg ではより軽度な変化が観察された。従って本試験では投与期間が長期にわたることを考慮して最高投与量を 2.5 mg/kg とし，以下，公比 5 で 0.5, 0.1 及び 0.02 mg/kg の 4 用量とした。その他に前述の溶媒のみを THS-201 投与群と同液量 (0.1 ml/100 g b. w.) 投与する溶媒対照群及び無処置対照群を設け，計 6 群について試験を行った。

投与期間は臨床使用期間を想定して 12 箇月間 (53 週間) とした。また使用動物数は雌雄各 170 匹とし，投与終了時解剖群として各群雌雄各々 20 匹ずつを，さらに 0.02 mg/kg 群を除いた各群については投与後 2 箇月間 (9 週間) 休薬する回復群として雌雄各 10 匹ずつをそれぞれ充当した。

投与部位に関しては，亜急性毒性試験において，投与部位の肥厚と硬化及び投与時の出血が投与各群のほぼ全例に認められたため，本試験では背部を 7 ポイントに分け，曜日毎に投与部位を変えて，1 日 1 回連日，投与部位をアルコール綿で清拭後 25 ゲージ注射針（テルモ）を用いて皮下投与を行った。

Table 1 Experimental groups in the chronic toxicity test of THS-201.

Group	Dose (mg/kg/day)	No. of rats sacrificed for autopsy			
		Treatment for 12M		Recovery for 2M	
		Male	Female	Male	Female
Nontreated control	—	20	20	10	10
Vehicle control	0	20	20	10	10
THS-201	0.02	20	20	—	—
THS-201	0.1	20	20	10	10
THS-201	0.5	20	20	10	10
THS-201	2.5	20	20	10	10

4. 検査項目

(1) 一般症状，体重，摂餌量及び摂水量

投与期間及び回復期間中，一般症状の観察は全例について毎日 1 回以上行い，体重，摂餌量及び摂水量は投与開始 3 箇月目までの投与期間及び回復期間は週に 1 回，また投与開始 4 箇月～投与終了時までの期間は 2 週間に 1 回の頻度で測定した。

死亡例は発見後直ちに剖検し，また衰弱の著しく予後不良と判断された例は切迫屠殺を行った。

(2) 眼底検査

投与開始 6 箇月目，12 箇月目及び回復期間終了の最終週に，各群の雌雄各 5 例について，ミ

ドリン P (参天製薬) を点眼して散瞳させた後、眼底カメラ (Kowa RC-II 型) を用いて左右の眼底検査を実施した。

(3) スリットランプ検査

投与開始 6 箇月目、12 箇月目及び回復期間終了の最終週に、前述の眼底検査例について、スリットランプ顕微鏡 (Kowa, SL-2) を用いて角膜、前眼房及び虹彩の観察を実施した。

(4) 尿検査

投与開始 3 箇月目及び 6 箇月目の最終週に各群の雌雄各 5 例、投与開始 12 箇月目の最終週に各群の雌雄各 10 例、更に回復期間終了の最終週に雌雄各 5 例についてラット用代謝ケージ (夏目製作所) に収容し、採尿を行った。3 時間蓄尿について、pH、蛋白、糖、ケトン体、ウロビリノーゲン、潜血 (以上、Uro-Labstix-III, マイルス・三共)、ビリルビン (Ictostix-II, マイルス・三共) 及び沈渣の各検査を、また、21 時間蓄尿については、尿量、比重 (屈折計法、アタゴ製ユリコン)、Na、K (炎光法) 及び Cl (電量滴定法) を測定した。

(5) 血液学的検査

投与終了及び回復期間終了の翌日に、屠殺例全例について約 18 時間絶食後、エーテル麻酔下で股静脈より採血し、EDTA-2K 処理血液について赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、白血球数 (以上 Sysmex Micro Cell Counter CC-120 型)、網状赤血球率 (Brecher 法)、白血球分類 (May-Giemsa 染色標本鏡検)、血小板数 (Fonio 変法)、MCV (：平均赤血球容積)、MCH (：平均赤血球血色素量)、MCHC (：平均赤血球血色素濃度) (RBC, Ht あるいは Hb 値より算出) の検査を実施した。また、腹部大動脈より採血した 3.8% クエン酸ナトリウム処置血漿についてプロトロンビン時間 (一段法、シンプラスチン A, 小野薬品)、活性部分トロンボプラスチン時間 (プラテリンプラスアクティベーター, 小野薬品) の測定を、さらに股静脈より採血した無処理血液について凝固時間 (流体粘度変化による空気圧変化測定法、マイクロコアグロメーター) の測定を行った。

(6) 血清生化学的検査

前述の血液学的検査例の全例について、腹部大動脈より採血後、遠心分離して得られた血清について、GOT、GPT (UV 法)、AL-P (Kind-King 変法)、LDH (Wróblewski-La Due 法)、CPK (GSCC 準拠法)、総蛋白 (ビウレット法)、BUN (酵素法)、クレアチニン (Jaffé 法)、尿酸 (ウリカーゼ・MEHA 発色法)、総ビリルビン (安定化ジアゾニウム塩法)、Ca (OCPC 法)、P (モリブデンブルー直接法) (以上東芝 TBA-380 型自動化学分析装置)、血糖 (ムタロターゼ・GOD 法)、中性脂肪 (GPO・MEHA 発色法)、リン脂質 (酵素法)、総コレステロール (酵素法・MEHA 発色法)、(以上日立 105-50 型、105-SP 自動分析ユニット)、Na、K (炎光法、コーニング 480 型炎光光度計)、Cl (電量滴定法、クロライドメーター平沼 CL-6M 型)、A/G、血清蛋白分画 (セルロースアセテート膜電気泳動法) の測定を行った。

(7) 剖検及び臓器重量

投与終了及び回復期間終了の翌日に、屠殺例全例について体外表の観察後、直ちにエーテル麻酔下で放血致死させ内部諸臓器について肉眼的観察を行った。臓器摘出後、脳、下垂体、心、

Chronic toxicity of halopredone acetate in rats

胸腺, 肺, 肝, 腎, 脾, 副腎, 顎下腺, 精巣, 前立腺, 卵巣, 子宮について重量を測定し, また, 体重比重量の算出も行った。

(8)病理組織学的検査

前記の重量測定臓器に加え, 甲状腺, 上皮小体, 喉頭, 気管, 気管支, 舌, 食道, 膵, 耳下腺, 舌下腺, 下顎リンパ節, 腸間膜リンパ節, 皮膚(投与部位及び非投与部位), 乳腺, 眼球, ハーダー腺, 骨髄(大腿骨及び胸骨), 脊髄, 坐骨神経, 大腿筋, 大動脈, 胃, 十二指腸, 空腸, 回腸, 盲腸, 結腸, 膀胱, 精巣上体, 精のう, 膣及び病変部について, 10%中性緩衝ホルマリン液で固定後パラフィン包埋し, hematoxylin-eosin 染色標本について病理組織学的検査を行った。なお, 眼球及びハーダー腺はデビッドソン液で固定後組織検査を実施した。

(9)統計処理

溶媒対照群とその他の群の間で体重, 摂餌量, 摂水量, 臓器重量, 尿(尿量, 比重, Na, K, Cl), 血液学的検査及び生化学的検査についてはt検定を, また尿検査中の定性試験(pH, 蛋白, 糖, ケトン体, ウロビリノーゲン, ビリルビン, 潜血)については順位和検定を実施し, 群間の有意差検定を行った。なお, 腫瘍性病変に起因する変動等については統計処理から除外した。

結 果

1. 死亡及び切迫屠殺例

試験期間中, 計 15 例の死亡例または切迫屠殺例が認められた。死因別に分類すると, 白血病 4 例, 下垂体腫瘍 4 例, 線維肉腫 2 例, 脳腫瘍 2 例, 心の病変による死亡 1 例, 事故死 1 例及び死因不明 1 例であり, 腫瘍性病変によるものが 15 例中 12 例を占めた。また, 群別に分類すると無処置対照群では下垂体腫瘍 1 例, 溶媒対照群では白血病 1 例, 下垂体腫瘍 2 例及び脳腫瘍 1 例の計 4 例, 0.02 mg/kg 群では白血病 2 例及び事故死 1 例の計 3 例, 0.1 mg/kg 群では心の病変による死亡 1 例及び死因不明 1 例の計 2 例, 0.5 mg/kg 群では下垂体腫瘍 1 例及び脳腫瘍 1 例の計 2 例, 2.5 mg/kg 群では白血病 1 例及び線維肉腫 2 例の計 3 例の出現であった。いずれの死因に関しても出現頻度と投与用量との間に相関性は認められず, 偶発死と判断された。

2. 一般症状

THS-201 投与に関連する症状としては投与後 7 週目頃から観察された腰部の疎毛であり, 特に雌で高頻度に認められた。

雌では投与 7 週目から溶媒対照群及び THS-201 投与各群に軽度の腰部疎毛が観察され, 8 週目までは溶媒対照群にやや高頻度であったが, 投与後 9 週目以降は 2.5 及び 0.5 mg/kg 群で出現例数の増加が認められ, 特に 2.5 mg/kg 群では投与 16 週目以降投与終了時まで全例に観察された。0.5 mg/kg 群では 30 例中 23 例に観察された投与 15 週目をピークに徐々に減少し, 投与 31 週目には 2 例に認められるのみとなったが, その後再び増加して投与 36 週目以降投与終了時まで 6~12 例に観察された。また, 2.5 及び 0.5 mg/kg 群における腰部疎毛の程度は溶媒対照群より強度であった。0.1 及び 0.02 mg/kg 群における発生頻度は溶媒対照群とほぼ同程度であった。なお, 無処置対照群の少数例にも前記所見が認められた。一方雄では投与 9 週目に

2.5 mg/kg 群の 1 例に腰部疎毛が観察され、同群ではその後徐々に増加して投与 26 週目には 30 例中 11 例に認められ投与終了時まで 6～10 例に継続して観察された。0.5 mg/kg 群でも投与 13 週目から 24 週目まで 1～3 例に認められた。0.1 mg/kg 群では投与 48 週目から 49 週目まで、また 0.02 mg/kg 群では投与 13 週目に 1 例にのみ認められたが、軽度かつ一過性のものであった。溶媒対照群及び無処置対照群には同所見は観察されなかった。

回復期間中、上記所見の回復傾向が雄の 2.5 mg/kg 群及び雌の 0.5 mg/kg 群で認められたが、雌の 2.5 mg/kg 群ではほとんど回復はみられなかった。THS-201 投与群のラットでは他に眼球的褪色あるいは白濁が 0.02, 0.1 及び 2.5 mg/kg 群の雄 1 例に観察されたが出現例数は少なく THS-201 投与との関連性は認められなかった。

その他の一般症状では、投与部位の脱毛及び痂皮形成が雌雄の溶媒対照群を含む各投与群の少数例に散見されたが、いずれも一過性であり、程度及び頻度と投与量との間に相関性は認められなかった。また、投与期間の後半には腋窩、鼠径部あるいは腹部の皮膚もしくは皮下腫瘍、後肢足蹠の胼胝形成、血涙、腰部以外の限局性の疎毛あるいは脱毛が無処置対照群の雌雄を含む各群に散見されたが、いずれの所見も THS-201 投与との間に関連性は認められなかった。なお、胼胝を有する例の一部には、胼胝からの出血による貧血も観察された。また無処置対照群を含む極く少数例には尿道口周囲の汚染、血尿、闘争的な挙動あるいは耳介内側の一部隆起がみられた。

3. 体 重

各群の平均体重の推移を Fig. 1 に示した。

投与期間中、2.5 mg/kg 群では雄で投与 14 日目以降、雌で投与 28 日目以降溶媒対照群を下

Fig. 1. Mean body weight changes in rats treated subcutaneously with THS-201 during 12 month-administration period and succeeding 2 month-recovery period.

回って推移した。また、体重増加量（投与 364 日目体重－投与 0 日目体重）及び体重増加率（体重増加量/投与 0 日目体重×100）の低下が雌雄ともに認められた。0.5 mg/kg 群では雄で投与 245 日目以降、雌で投与 56 日目以降、溶媒対照群を下回って推移し、雌雄の体重増加量及び雌の体重増加率は低値を示したが、雄の体重増加率では有意差は認められなかった。0.1 及び 0.02 mg/kg 群では雌雄ともに体重推移、体重増加量及び体重増加率ともに溶媒対照群とほぼ同様であった。

回復期間中、2.5 mg/kg 群では雌雄ともに溶媒対照群を下回って推移したが、体重増加量（回復 56 日目体重－回復 2 日目体重）では差はみられず逆に雄の体重増加率（体重増加量/回復 2 日目体重×100）では高値を示し、回復傾向が認められた。0.5 mg/kg 群では雌雄ともに溶媒対照群をやや下回って推移したが有意差は認められなかった。体重増加量及び体重増加率についても有意差はみられず、回復が認められた。

4. 摂 餌 量

各群の平均摂餌量の推移を Fig. 2 に示した。

投与期間中、雄の 2.5 mg/kg 群では投与 315 及び 343 日目を除く投与 21 日目以降、溶媒対照群を下回って推移した。同用量群の雌でも投与 28, 35, 70, 231, 357 及び 364 日目に有意な低値を示し、他の測定日でも投与 28 日目以降溶媒対照群に比べ幾分低めに推移したが、雄に比べその傾向はより軽度であった。0.5, 0.1 及び 0.02 mg/kg 群では一過性の低値あるいは高値が散見されたが、雌雄ともに溶媒対照群とほぼ同様の推移を示した。

回復期間中、雌雄いずれの THS-201 投与群にも有意差は認められなかった。

Fig. 2. Mean food consumption in rats treated subcutaneously with THS-201 during 12 month-administration period and succeeding 2 month-recovery period.

5. 摂水量

各群の平均摂水量の推移を Fig. 3 に示した。

投与期間中, 2.5 mg/kg 群の雄では投与 21, 42, 259 及び 301 日目に溶媒対照群に比べて低値を示し, 投与 21 日目以降のその他の期間についても溶媒対照群をやや下回って推移する傾向を示した。雌では投与 14 日目及び 175 日目に一過性の低値が認められたが, その他の投与期間は溶媒対照群とほぼ同様の推移を示した。0.5, 0.1 及び 0.02 mg/kg 群では, 一過性の低値あるいは高値が散見されたが, 雌雄ともに溶媒対照群とほぼ同様の推移を示した。なお, 無処置対照群の雄では投与 35 日目以降溶媒対照群を上回って推移した。

回復期間中, 雌雄いずれの THS-201 投与群にも有意差は認められなかった。

Fig. 3. Mean water consumption in rats treated subcutaneously with THS-201 during 12 month-administration period and succeeding 2 month-recovery period.

6. 眼底検査

無処置対照群のラットでは, 雌 1 例で左眼に動静脈の狭細が各検査時期に認められ, この例ではさらに回復期間終了検査時に右眼の透光体中に限界不明瞭な褐色斑が認められた。溶媒対照群のラットでは, 雄 1 例, 雌 2 例に異常所見が認められた。すなわち, 雄 1 例では 12 箇月間投与終了検査時に両眼において脈絡膜の蒼白化及び動静脈の黄橙色化がみられた他, 右眼ではさらに出血斑も認められた。この例では回復期間終了検査時には右眼底の出血斑はみられなくなったものの, 他の所見は残存して観察された。また雌 1 例では回復期間終了検査時のみに右眼底の動脈狭細及び口径不同が, また残る 1 例では右眼底の動静脈狭細が 12 箇月間投与終了及び回復期間終了検査時に認められた。

THS-201 投与群のラットでも上述と同様な所見が 0.02 mg/kg 群の雌 1 例, 0.5 mg/kg 群の雌 1 例及び 2.5 mg/kg 群の雄 1 例に観察された。THS-201 投与群のラットでは他に, 左眼底の

Chronic toxicity of halopredone acetate in rats

巨大乳頭及び強膜コーヌスが 0.02 mg/kg 群の雌 1 例で 6 箇月間投与及び 12 箇月間投与終了検査時に認められたがこの所見は高用量群には観察されず、いずれの所見も THS-201 投与との間に関連性は認められなかった。なお、上記所見中、脈絡膜の蒼白化及び動静脈黄橙色化を示した例は貧血の明らかな例であった。

7. スリットランプ検査

いずれの検査時期においても、雌雄いずれの検査例にも異常所見は観察されなかった。

8. 尿検査

各群の尿検査値の総括を Table 2～5 に示した。

定性試験項目では投与 3 箇月目、6 箇月目、12 箇月目及び回復期間終了時のいずれの検査時期においても、潜血反応痕跡～強陽性例 (trace～+++) あるいはウロビリノーゲン増加例が、ごく少数例に認められたが、群間に有意差は認められなかった。また尿沈渣においても扁平上皮細胞あるいは赤血球の出現がごく少数例に散見されたが、THS-201 投与との関連性は認められなかった。

定量試験項目に関しては 3 箇月目の中間検査では群間に有意差は認められず、6 箇月目検査では、尿量、Na、K、Cl の増加あるいはその傾向が THS-201 投与の雌の各群に認められたが、投与用量との相関性は明瞭でなく、また K の値は無処置対照群と同様であった。12 箇月目の投与終了時検査では、尿量の増加、軽度の比重の低下及び K の増加が 2.5 mg/kg 群の雌に認められた。K の軽度の増加は雄の 0.5 mg/kg 群にも認められ、さらに比重の上昇が 0.02 mg/kg 群の雄に認められたが、2.5 mg/kg 群の雄ではみられない変動であった。回復期間終了時検査では、尿量の増加が 2.5 mg/kg 群の雌に残存して認められたが、軽度であり回復傾向が認められた。

9. 血液学的検査

各群の血液学的検査結果の総括を Table 6, 7 に示した。なお、症状の項で述べた如く、後肢足蹠胼胝からの出血による貧血が観察されたが、これらのうち網状赤血球率が高値を示した例については赤血球系項目の統計処理から除外した。

投与終了時検査では白血球分類においてリンパ球率の減少及び分葉球率の増加が 2.5 mg/kg 群の雌雄及び 0.5 mg/kg 群の雄に認められた。赤血球系項目においては MCV の増加が 2.5 mg/kg 群の雌雄、0.1 及び 0.02 mg/kg 群の雌に、逆に減少が 0.1 mg/kg 群の雄に、また MCH の増加が 2.5 mg/kg 群の雌に、網状赤血球率の上昇が 2.5 mg/kg 群の雄に認められたが、赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリット値に変動は認められないことから赤血球系項目の変動は極く軽度のものであった。凝固系項目においてはプロトロンビン時間、血液凝固時間及び血小板数の変動が 0.5、0.1 あるいは 0.02 mg/kg 群の雌雄にみられたが、2.5 mg/kg 群には認められず、THS-201 投与との関連性は認められなかった。

回復期間終了時検査では投与終了時検査においてみられた変動は認められなかった。

Table 2 Urinary findings in rats treated subcutaneously with THS-201 for 3 months.

Sex	Dose (mg/kg)	No. of rats	Pro.	Glu.	pH	Ket.	Uro. EU/dl	Bil.	Occult Blood	Vol. ml	Grav.	Na mEq/day	K mEq/day	Cl mEq/day	Urinary sediments														
															RBC	WBC	SE	SRE											
			- trace	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Male	Vehicle control	5	0	1	2	2	0	5	0	0	0	13.84 ^{a)} ±4.80	1.0416 ±0.0109	1.1828 ±0.3442	2.2430 ±0.5446	1.2140 ±0.5822	5	0	5	3	2	0	0	4	1	0	5	0	0
	0.02	5	0	1	3	1	0	5	0	0	0	12.16 ±2.96	1.0426 ±0.0052	1.2560 ±0.7137	2.4468 ±1.0649	1.2186 ±0.6389	5	0	5	4	1	0	0	5	0	0	5	0	0
	0.1	5	0	3	2	0	0	5	0	0	0	14.76 ±3.37	1.0372 ±0.0068	1.1162 ±0.5644	2.3194 ±0.8578	1.0978 ±0.7881	5	0	5	4	1	0	0	4	1	0	5	0	0
	0.5	5	0	1	3	1	0	5	0	0	0	11.42 ±3.21	1.0444 ±0.0081	1.4286 ±0.3123	2.3164 ±0.4732	1.3034 ±0.3519	5	0	5	4	1	0	0	4	1	0	5	0	0
	2.5	5	0	2	2	1	0	5	0	0	0	15.46 ±2.56	1.0380 ±0.0064	1.5520 ±0.3084	2.5216 ±0.6837	1.6194 ±0.3685	5	0	5	4	1	0	0	4	1	0	5	0	0
	Nontreated control	5	0	1	4	0	0	5	0	0	0	15.06 ±3.49	1.0386 ±0.0061	0.9934 ±0.6463	2.5992 ±0.8070	1.0220 ±0.8103	5	0	5	4	1	0	0	5	0	0	5	0	0
Female	Vehicle control	5	0	1	2	2	0	5	0	0	0	16.58 ±6.38	1.0346 ±0.0086	1.4632 ±0.4204	2.1258 ±0.4146	1.4770 ±0.4590	5	0	5	4	1	0	0	5	0	0	5	0	0
	0.02	5	1	3	1	0	0	5	0	0	0	14.02 ±4.82	1.0362 ±0.0076	1.3142 ±0.2306	2.0346 ±0.4994	1.4236 ±0.2675	5	0	5	3	2	0	0	5	0	0	5	0	0
	0.1	5	0	3	2	0	0	5	0	0	0	16.18 ±5.24	1.0336 ±0.0070	1.1454 ±0.3099	1.8728 ±0.4292	1.0958 ±0.4041	5	0	5	4	1	0	0	5	0	0	5	0	0
	0.5	5	0	3	1	1	0	5	0	0	0	11.42 ±5.72	1.0414 ±0.0050	1.1974 ±0.6100	1.9260 ±0.7677	1.3048 ±0.6535	5	0	5	2	2	1	0	5	0	0	5	0	0
	2.5	5	0	1	3	1	0	5	0	0	0	14.48 ±4.41	1.0376 ±0.0045	1.4026 ±0.3648	2.2288 ±0.5486	1.4398 ±0.4607	5	0	5	4	1	0	0	3	2	0	5	0	0
	Nontreated control	5	0	3	2	0	0	5	0	0	0	15.42 ±4.53	1.0370 ±0.0076	1.4862 ±0.5440	2.2742 ±0.6642	1.5578 ±0.6911	5	0	5	2	2	1	0	5	0	0	5	0	0

a) : Mean $\pm$ S.D.

Table 3 Urinary findings in rats treated subcutaneously with THS-201 for 6 months.

Sex	Dose (mg/kg)	No. of rats	Pro.	Glu.	pH	Ket.	Uro. EU/dl	Bil.	Occult Blood	Vol. ml	Grav.	Na mEq/day	K mEq/day	Cl mEq/day	Urinary sediments													
															RBC	WBC	SE	RE	SRE									
			—	—	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0	—	0.1	1.0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Male	Vehicle control	5	0	0	2	3	0	5	0	0	1	3	0	1	5	0	5	4	1	0	5	0	5	0	5	0	0	0
	0.02	5	0	0	3	2	0	5	0	0	0	2	3	0	5	0	5	5	2	2	1	0	4	1	0	5	0	0
	0.1	5	0	1	2	2	0	5	0	0	1	0	3	1	5	0	5	5	1	4	0	5	0	5	0	0	0	
Female	0.5	5	0	1	2	2	0	5	0	0	1	0	3	1	5	0	5	5	1	4	0	5	0	5	0	0	0	
	2.5	5	0	1	2	2	0	5	0	0	2	1	2	0	5	0	5	5	4	1	0	5	0	5	0	0	0	
	Nontreated control	5	0	2	2	1	0	5	0	0	1	1	1	2	5	0	5	5	3	2	0	5	0	5	0	5	0	0
Male	Vehicle control	5	0	4	1	0	0	5	0	0	0	2	0	3	5	0	5	5	2	2	0	1	5	0	5	0	0	0
	0.02	5	0	2	2	1	0	5	0	0	0	0	4	1	5	0	5	5	3	2	0	4	1	0	5	0	0	
	0.1	5	0	2	2	1	0	5	0	0	0	2	1	2	5	0	5	5	0	5	0	5	0	5	0	0	0	
Female	0.5	5	0	1	4	0	0	5	0	0	1	1	0	3	0	5	5	4	1	0	4	1	0	5	0	0	0	
	2.5	5	0	3	2	0	0	5	0	0	2	2	0	1	5	0	5	5	3	2	0	4	1	0	5	0	0	
	Nontreated control	5	0	3	2	0	0	5	0	0	0	1	4	0	5	0	5	5	5	0	0	3	2	0	5	0	0	

a) : Mean $\pm$ S. D.* : Significantly different from vehicle control ($p < 0.05$).** : Significantly different from vehicle control ($p < 0.01$).

Table 4 Urinary findings in rats treated subcutaneously with THS-201 for 12 months.

Sex	Dose (mg/kg)	No. of rats	Pro.	Glu.	pH	Ket.	Uro. EU/dl	Bil.	Occult Blood	Vol. ml	Grav.	Na mEq/day	K mEq/day	Cl	Urinary sediments																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																				
															RBC	WBC	SE	RE	SRE																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																
			—	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0	—	0.1	1.0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

a) : Mean $\pm$ S. D.* : Significantly different from vehicle control ($p < 0.05$).

() : No. of examined rats.

Table 5 Urinary findings in rats recovered for 2 months after subcutaneous treatment with THS-201 for 12 months.

Sex	Dose (mg/kg)	No. of rats	Pro.	Glu.	pH	Ket.	Uro. EU/dl	Bil.	Occult Blood	Vol. ml	Grav.	Na mEq/day	K mEq/day	Cl mEq/day	Urinary sediments																					
															RBC	WBC	SE	RE	SRE																	
			—	trace	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—																
Male	Vehicle control	5	0	1	2	2	0	5	0	5	2 ^(a)	0	1	1	0	14.80 ^(a) ±7.41	1.0368 ±0.0097	0.3278 ±0.1761	1.7706 ±0.3899	0.3490 ±0.1514	4	1	5	4	1	0	0	4	1	0	5	0	0			
	0.1	5	0	2	0	3	0	5	0	0	0	2	2	1	5	14.50 ±5.95	1.0374 ±0.0048	0.6678 ^(a) ±0.4272	2.2178 ^(a) ±0.4252	0.6020 ^(a) ±0.4031	5	0	5	5	0	0	0	5	0	0	5	0	0	5	0	0
	0.5	5	0	3	0	2	0	5	0	0	1	2	2	0	5	14.00 ±7.03	1.0384 ±0.0093	0.6438 ±0.2791	2.0498 ±0.6786	0.6762 ±0.3391	4	1	5	5	0	0	0	5	0	0	4	1	0	4	1	0
	2.5	5	0	2	0	2	1	5	0	0	0	2	3	0	5	15.60 ±3.44	1.0318 ±0.0023	0.3848 ±0.2760	1.7418 ±0.3997	0.4716 ±0.2971	4	1	5	5	0	0	0	5	0	0	5	0	0	5	0	0
	Nontreated control	5	0	1	3	1	0	5	0	1	1	0	2	1	0	5	14.34 ±5.11	1.0374 ±0.0085	0.4664 ±0.2166	1.8418 ±0.2539	0.5136 ±0.3589	5	0	5	5	0	0	0	5	0	0	5	0	0	5	0
Female	Vehicle control	5	0	0	3	2	0	5	0	3	0	0	2	0	5	9.40 ±2.66	1.0412 ±0.0046	0.5214 ±0.4409	1.6832 ±0.9613	0.6062 ±0.5964	4	1	5	4	1	0	0	5	0	0	5	0	0	5	0	0
	0.1	5	0	0	2	2	1	5	0	1	1	1	1	0	5	16.18* ±4.42	1.0358* ±0.0024	1.0542 ±0.4351	2.5046 ±0.6330	1.3620 ±0.6053	5	0	5	5	0	0	0	5	0	0	5	0	0	5	0	0
	0.5	5	0	0	2	1	2	5	0	2	0	1	2	0	5	15.68 ±7.02	1.0368 ±0.0077	1.1690 ±0.6509	2.4026 ±0.8856	1.2872 ±0.7668	5	0	5	3	2	0	0	5	0	0	5	0	0	5	0	0
	2.5	5	0	0	5	0	0	5	0	1	1	1	1	0	5	16.78* ±5.49	1.0340 ±0.0083	1.0860 ±0.4890	2.4684 ±0.7688	1.2292 ±0.6387	5	0	5	5	0	0	0	5	0	0	5	0	0	5	0	0
	Nontreated control	5	0	1	3	0	1	5	0	3	0	1	0	1	0	5	13.10 ±6.01	1.0396 ±0.0071	0.9600 ±0.4204	2.2706 ±0.6152	1.1898 ±0.6102	5	0	5	5	0	0	0	5	0	0	5	0	0	5	0

a) : Mean±S. D.

* : Significantly different from vehicle control (p<0.05).

() : No. of examined rats.

Table 6 Hematological findings in rats treated subcutaneously with THS-201 for 12 months.

Sex	Dose (mg/kg)	No. of rats	RBC 10 ⁶ /mm ³	Ht. %	Hb. g/dl	MCV fl	MCH pg	MCHC %	Ret. %	P. T. sec.	APTT sec.	C. T. sec.	Plat. 10 ⁹ /mm ³	WBC 10 ⁶ /mm ³	Hemogram (%)						
															Neutro. Stab.	Seg.	Eos.	Bas.	Mono.	Lymph.	Other
Male	Vehicle control	18	848.5 ^(a) ±81.1	46.74 ±3.39	14.92 ±1.23	55.2 ±2.4	17.7 ±0.8	31.9 ±0.8	33.1 ±15.4	14.49 ±1.09	17.45 ±1.68	208.7 ±62.1	85.0 ±9.9	84.5 ±18.5	0.42 ±0.58	20.53 ±6.17	0.75 ±0.73	0.06 ±0.16	0.08 ±0.19	78.14 ±6.15	0.03 ±0.12
	0.02	19	857.8 ±70.9	46.30 ±3.10	14.87 ±1.03	54.2 ±3.0	17.4 ±1.1	32.1 ±0.8	35.8 ±18.2	14.00 ±0.63	17.55 ±1.19	215.4 ±57.5	94.7* ±16.7	86.3 ±22.5	0.37 ±0.47	21.26 ±6.24	0.92 ±0.79	0.03 ±0.11	0.11 ±0.27	77.24 ±6.69	0.08 ±0.19
	0.1	19	872.5 ⁽¹⁸⁾ ±46.1	46.49 ⁽¹⁸⁾ ±2.08	14.98 ⁽¹⁸⁾ ±0.97	53.4 ⁽¹⁸⁾ ±2.3	17.2 ⁽¹⁸⁾ ±1.1	32.2 ⁽¹⁸⁾ ±1.2	29.7 ⁽¹⁸⁾ ±13.7	14.43 ±1.22	17.11 ±1.08	186.2 ±39.6	90.8 ±15.5	90.3 ±24.7	0.45 ±0.47	19.05 ±6.64	0.74 ±0.67	0.03 ±0.11	0.08 ±0.19	79.58 ±6.85	0.08 ±0.19
	0.5	19	833.8 ⁽¹⁴⁾ ±69.2	45.09 ⁽¹⁴⁾ ±3.20	14.49 ⁽¹⁴⁾ ±1.36	54.1 ⁽¹⁴⁾ ±2.5	17.4 ⁽¹⁴⁾ ±0.8	32.2 ⁽¹⁴⁾ ±1.1	37.6 ⁽¹⁴⁾ ±16.1	14.33 ±1.09	17.29 ±1.57	189.5 ±43.1	84.6 ±14.5	88.7 ±27.9	0.53 ±0.49	26.55* ±10.63	0.84 ±0.80	0.03 ±0.11	0.08 ±0.19	71.92* ±10.97	0.05 ±0.16
	2.5	19	787.4 ⁽¹⁷⁾ ±99.6	44.94 ⁽¹⁷⁾ ±4.73	14.32 ⁽¹⁷⁾ ±1.81	57.2 ⁽¹⁷⁾ ±2.6	18.3 ⁽¹⁷⁾ ±1.0	31.8 ⁽¹⁷⁾ ±1.0	49.7 ⁽¹⁷⁾ ±30.4	14.08 ±0.64	17.88 ±1.28	216.9 ±57.1	81.4 ±9.9	71.8 ±22.7	0.32 ±0.34	34.11** ±9.53	0.58 ±0.56	0.05 ±0.16	0.05 ±0.16	64.84** ±9.46	0.05 ±0.16
Female	Nontreated control	20	857.6 ⁽¹⁸⁾ ±50.1	46.12 ⁽¹⁸⁾ ±3.04	14.81 ⁽¹⁸⁾ ±1.29	53.8 ⁽¹⁸⁾ ±2.6	17.3 ⁽¹⁸⁾ ±1.2	32.1 ⁽¹⁸⁾ ±1.3	34.8 ⁽¹⁸⁾ ±10.7	14.70 ±0.88	17.53 ±1.43	188.3 ±62.0	92.4 ±16.5	92.1 ±25.1	0.60 ±0.58	21.20 ±7.49	1.05 ±0.56	0.10 ±0.26	0.15 ±0.29	76.88 ±7.91	0.03 ±0.11
	Vehicle control	19	770.8 ±41.4	44.47 ±1.89	14.66 ±0.71	57.8 ±1.6	19.0 ±0.6	33.0 ±0.7	32.1 ±10.0	13.09 ±0.53	16.26 ±0.94	204.1 ±60.5	88.0 ±14.0	53.7 ±16.4	0.29 ±0.35	19.66 ±7.25	0.71 ±0.48	0.03 ±0.11	0.05 ±0.16	79.24 ±7.41	0.03 ±0.11
	0.02	18	746.2 ±69.5	44.19 ±3.66	14.48 ±1.29	59.4* ±2.5	19.4 ±0.9	32.8 ±0.6	33.7 ±17.6	13.35 ±0.71	16.48 ±0.92	202.7 ±59.3	87.9 ±17.8	51.6 ±14.0	0.56 ±0.62	19.64 ±7.40	0.89 ±0.63	0.03 ±0.12	0.08 ±0.19	78.81 ±8.02	0.00 ±0.00
	0.1	20	770.8 ⁽¹⁹⁾ ±38.1	45.58 ⁽¹⁹⁾ ±2.46	14.89 ⁽¹⁹⁾ ±0.86	59.3 ⁽¹⁹⁾ ±2.2	19.4 ⁽¹⁹⁾ ±0.8	32.7 ⁽¹⁹⁾ ±0.7	29.7 ⁽¹⁹⁾ ±6.3	13.59** ±0.53	16.72 ±1.01	179.9 ±46.8	87.2 ±14.6	49.2 ±14.8	0.13 ±0.28	19.98 ±10.04	1.03 ±0.72	0.03 ±0.11	0.05 ±0.15	78.78 ±10.08	0.03 ±0.11
	0.5	20	759.4 ±72.0	44.90 ±3.45	14.66 ±1.24	59.3 ±2.8	19.4 ±0.8	32.6 ±0.8	29.1 ±6.3	13.68** ±0.67	16.45 ±1.44	166.2* ±37.9	81.6 ±11.6	49.6 ±14.0	0.38 ±0.48	21.05 ±10.31	1.15 ±1.00	0.03 ±0.11	0.00 ±0.00	77.40 ±10.74	0.00 ±0.00
Nontreated control	2.5	20	734.4 ±85.6	43.78 ±4.02	14.32 ±1.43	59.8* ±2.8	19.6** ±0.8	32.8 ±0.6	32.9 ±16.7	13.36 ±0.58	16.35 ±0.91	175.0 ±52.5	82.6 ±14.3	50.5 ±11.1	0.53 ±0.73	25.20* ±7.91	1.05 ±0.86	0.03 ±0.11	0.03 ±0.11	73.18* ±7.91	0.00 ±0.00
	20	784.3 ±43.0	45.66 ±2.31	14.79 ±0.70	58.5 ±2.1	18.9 ±0.8	32.5* ±0.8	29.9 ±4.8	13.61* ±0.70	16.81 ±1.07	191.9 ±67.0	87.3 ±14.9	58.0 ±15.7	0.33 ±0.34	18.70 ±8.04	1.00 ±0.69	0.03 ±0.11	0.00 ±0.00	79.90 ±8.20	0.05 ±0.15	

a) : Mean±S. D.

* : Significantly different from vehicle control (p<0.05).

** : Significantly different from vehicle control (p<0.01).

() : No. of examined rats.

Table 7 Hematological findings in rats recovered for 2 months after subcutaneous treatment with THS-201 for 12 months.

Sex	Dose (mg/kg)	No. of rats	RBC 10 ⁶ /mm ³	Ht. %	Hb. g/dl	MCV fl	MCH pg	MCHC %	Ret. %	P. T. sec.	APTT sec.	C. T. sec.	Plat. 10 ⁹ /mm ³	WBC 10 ⁹ /mm ³	Hemogram (%)						
															Neutro.		Eos.	Bas.	Mono.	Lymph.	Other
															Stab.	Seg.					
Male	Vehicle control	10	863.9 ⁽⁸⁾ ±39.6	46.90 ⁽⁸⁾ ±1.63	14.86 ⁽⁸⁾ ±0.47	54.4 ⁽⁸⁾ ±2.6	17.1 ⁽⁸⁾ ±0.8	31.8 ⁽⁸⁾ ±0.5	34.9 ⁽⁸⁾ ±15.3	15.00 ±0.76	16.92 ±0.71	182.6 ±56.8	79.1 ±14.5	90.9 ±38.1	0.45 ±0.37	20.00 ±6.43	0.35 ±0.63	0.00 ±0.00	0.00 ±0.00	79.20 ±6.20	0.00 ±0.00
	0.1	9	859.1 ⁽⁷⁾ ±26.8	47.30 ⁽⁷⁾ ±2.17	15.19 ⁽⁷⁾ ±0.91	55.0 ⁽⁷⁾ ±2.4	17.4 ⁽⁷⁾ ±1.0	32.1 ⁽⁷⁾ ±0.7	34.0 ⁽⁷⁾ ±12.4	14.61 ±0.78	17.22 ±1.07	163.1 ±51.7	78.6 ⁽⁸⁾ ±15.0	83.9 ⁽⁸⁾ ±20.7	0.25 ⁽⁸⁾ ±0.27	18.38 ⁽⁸⁾ ±6.29	1.06 ⁽⁸⁾ ±0.68	0.00 ⁽⁸⁾ ±0.00	0.00 ⁽⁸⁾ ±0.00	80.31 ⁽⁸⁾ ±6.74	0.00 ⁽⁸⁾ ±0.00
	0.5	10	796.3 [*] ±59.6	45.10 ±2.79	14.50 ±1.02	56.7 ±2.7	18.2 [*] ±0.9	32.0 ±0.7	39.3 ±11.7	15.40 ±1.48	17.34 ±1.05	179.8 ±67.4	90.0 ±12.8	91.0 ±18.3	0.40 ±0.52	24.90 ±7.13	0.85 ±0.91	0.00 ±0.00	0.00 ±0.00	73.85 ±7.39	0.00 ±0.00
	2.5	9	840.7 ⁽⁷⁾ ±93.9	47.21 ⁽⁷⁾ ±3.24	15.14 ⁽⁷⁾ ±1.15	56.6 ⁽⁷⁾ ±3.3	18.1 ⁽⁷⁾ ±1.1	32.1 ⁽⁷⁾ ±0.4	38.0 ⁽⁷⁾ ±29.5	14.63 ±0.80	16.97 ±1.53	182.4 ±66.9	82.1 ±10.9	89.2 ±46.8	0.06 ^{**} ±0.17	27.17 ±10.99	0.33 ±0.35	0.00 ±0.00	0.06 ±0.17	72.39 ±10.78	0.00 ±0.00
	Nontreated control	10	827.4 ±88.7	46.04 ±4.88	14.73 ±1.75	55.8 ±4.4	17.9 ±1.7	32.0 ±0.9	49.6 ±24.3	14.39 [*] ±0.44	17.08 ±0.68	166.8 ±38.2	88.4 ±17.8	86.3 ±14.0	0.10 [*] ±0.21	16.10 ±5.96	1.00 [*] ±0.53	0.00 ±0.00	0.05 ±0.16	82.70 ±6.45	0.05 ±0.16
Female	Vehicle control	9	773.1 ±44.2	44.84 ±2.47	14.68 ±0.73	58.0 ±1.7	19.1 ±0.6	32.7 ±0.5	34.1 ±7.5	13.12 ±0.48	16.38 ±0.56	197.6 ±48.5	77.6 ±10.6	50.6 ±11.3	0.22 ±0.26	21.06 ±5.80	0.50 ±0.66	0.00 ±0.00	0.11 ±0.22	78.11 ±6.10	0.00 ±0.00
	0.1	10	755.3 ⁽⁸⁾ ±88.1	44.56 ⁽⁸⁾ ±4.64	14.61 ⁽⁸⁾ ±1.62	59.0 ⁽⁸⁾ ±1.6	19.4 ⁽⁸⁾ ±1.1	32.7 ⁽⁸⁾ ±1.0	52.4 ⁽⁸⁾ ±21.2	12.93 ±0.73	16.70 ±0.86	195.6 ±43.5	75.9 ±9.8	64.6 ±22.5	0.40 ±0.39	25.45 ±8.33	0.90 ±0.39	0.00 ±0.00	0.10 ±0.21	73.15 ±8.37	0.00 ±0.00
	0.5	9	753.4 ±89.8	43.49 ±3.95	14.23 ±1.41	58.0 ±2.9	18.8 ±0.8	32.7 ±0.9	43.3 ±20.2	12.83 ±0.56	15.74 ±0.71	152.9 [*] ±26.2	80.3 ±12.7	60.2 ±19.8	0.11 ±0.22	21.78 ±8.51	0.78 ±0.79	0.00 ±0.00	0.00 ±0.00	77.33 ±8.84	0.00 ±0.00
	2.5	9	749.9 ⁽⁷⁾ ±46.7	43.69 ⁽⁷⁾ ±2.30	14.23 ⁽⁷⁾ ±0.73	58.3 ⁽⁷⁾ ±2.3	18.9 ⁽⁷⁾ ±0.7	32.7 ⁽⁷⁾ ±0.5	46.4 ⁽⁷⁾ ±16.1	13.11 ±0.56	15.68 ±1.22	148.7 [*] ±27.1	74.0 ±13.8	67.2 ±21.4	0.00 [*] ±0.00	24.67 ±7.26	0.33 ±0.35	0.00 ±0.00	0.00 ±0.00	75.00 ±7.31	0.00 ±0.00
	Nontreated control	9	768.3 ±43.3	45.00 ±1.56	14.74 ±0.58	58.6 ±2.1	19.3 ±1.0	32.9 ±0.8	31.3 ±8.6	13.02 ±0.55	16.00 ±1.16	177.6 ±43.7	75.4 ±11.2	50.3 ±14.2	0.00 [*] ±0.00	13.89 ^{**} ±2.79	0.83 ±0.71	0.00 ±0.00	0.00 ±0.00	85.28 ^{**} ±2.61	0.00 ±0.00

a) : Mean±S. D.

* : Significantly different from vehicle control (p<0.05).

** : Significantly different from vehicle control (p<0.01).

() : No. of examined rats.

10. 血清生化学的検査

各群の血清生化学的検査結果の総括を Table 8, 9 に示した。

投与終了時検査では、脂質系項目において中性脂肪の減少が 2.5 mg/kg 群の雌に、リン脂質の増加が 2.5 mg/kg 群の雄に認められた。蛋白系項目では AG 比及びアルブミン分画の減少が 2.5 及び 0.5 mg/kg 群の雄に認められた。また、 α_1 -グロブリン分画の減少が 2.5 mg/kg 群の雌雄に、さらに同用量群の雄では α_2 -、 β -及び γ -グロブリン分画の増加が認められた。 β -グロブリン分画の増加は 0.5 mg/kg 群の雄にも認められた。その他、GOT 及び CPK の低下が 2.5 mg/kg 群の雄に認められた他、総ビリルビン、BUN の低下が 2.5 mg/kg 群の雌雄に、クレアチニンの低下が 2.5 mg/kg 群の雄に認められた。

回復期間終了時検査では蛋白系項目中、 α_1 -グロブリン分画の減少が 2.5 mg/kg 群の雌に、また α_2 -グロブリン分画の増加が 2.5 mg/kg 群の雄に残存して認められたが、AG 比及びアルブミン率に変動は認められず軽度のものであった。また酵素系の項目では GOT の低下が 2.5 mg/kg 群の雄に認められた。上述以外に、投与終了時検査においてみられた変動は認められなかった。

11. 臓器重量

各群の臓器重量の総括を Table 10~13 に示した。なお、腫瘍性病変あるいは偶発的な貧血による脾腫等の大型化を示した臓器については、統計処理から除外した。

投与終了時検査例では 2.5 及び 0.5 mg/kg 群の雄に胸腺の実測重量の減少、2.5 mg/kg 群の雄のみに脾の実測重量の減少が認められたが、いずれも体重比重量では溶媒対照群との間に差はみられず、軽度の変動であった。その他、2.5 及び 0.5 mg/kg 群の雌雄に体重増加抑制に伴う実測重量の減少あるいは体重比重量の増加が諸臓器に散見された。0.1 mg/kg 群では雌雄のごく少数の臓器に変動が認められたが、THS-201 投与との間に関連性は認められず、0.02 mg/kg 群では雌雄ともにいずれの臓器にも変動は認められなかった。

回復期間終了時検査では 2.5 mg/kg 群の雄において脾の実測重量の減少が投与終了時検査と同様に認められたが、2.5 及び 0.5 mg/kg 群の雄にみられた胸腺重量の減少は回復を示した。他に体重増加抑制に伴う変動が 2.5 mg/kg 群の雄ではほとんどの臓器に、雌では少数の臓器に散見された。

12. 病理解剖学的検査

投与終了時検査例では投与部位の皮下出血が溶媒対照群を含む各投与群の雌雄各 16~19 例ずつに認められた。THS-201 投与群ではさらに、投与部位皮下の検体残存が 2.5 mg/kg 群の雄 15 例及び雌 19 例及び 0.5 mg/kg 群の雌 1 例に投与部皮下の膿瘍が 2.5 mg/kg 群の雄 1 例と雌 2 例及び 0.5 mg/kg 群の雌 2 例に観察された。なお皮下膿瘍は溶媒対照群の雌 1 例にも認められた。その他諸臓器に赤色点、黒色点あるいはチステの形成等の限局性変化、下垂体、皮下、乳腺、子宮等に加齢に伴う変化が散見されたが、いずれの所見も THS-201 投与との関連性は認められなかった。

回復期間終了時検査例では投与終了時検査例と同様に投与部皮下検体残存が雌雄の 2.5 mg/

Table 8 Biochemical findings in rats treated subcutaneously with THS-201 for 12 months.

Sex	Dose (mg/kg)	No. of rats	GOT mU/ml	GPT mU/ml	ALP KAU	LDH mU/ml	CPK mU/ml	Glu. mg/dl	T-Chol. mg/dl	T.G mg/dl	P.L mg/dl	T-Bil. mg/dl	BUN mg/dl	Crea. mg/dl	U.A mg/dl	Na mEq/l	K mEq/l	Cl mEq/l	Ca mg/dl	P mg/dl	T.P g/dl	A/G	Alb.	Electrophoresis (%)			
																								α_1	α_2	β	γ
Male	Vehicle control	18	184.9 ^{a)} ±123.0	42.1 ±41.9	8.43 ±2.62	2513.2 ±732.2	250.6 ±96.2	131.4 ±19.1	122.9 ±22.3	115.2 ±40.1	147.9 ±21.7	0.12 ±0.04	17.6 ±2.6	0.46 ±0.05	1.16 ±0.30	146.28 ^{a)} ±1.07	4.871 ±0.364	106.4 ±1.8	9.45 ±0.34	6.18 ±0.57	5.71 ±0.41	0.991 ±0.149	49.63 ±3.59	20.37 ±1.24	9.37 ±1.51	15.91 ±1.98	4.72 ±1.89
	0.02	19	139.1 ±82.6	28.6 ±39.4	8.34 ±3.34	2254.7 ±824.5	241.6 ±108.0	128.0 ±13.4	130.4 ±31.0	103.0 ±30.1	151.5 ±29.2	0.13 ±0.05	15.6 ±3.4	0.46 ±0.05	1.26 ±0.37	146.58 ±1.69	4.847 ±0.327	107.0 ±2.3	9.40 ±0.34	6.14 ±0.53	5.68 ±0.42	0.967 ±0.148	49.03 ±3.64	20.66 ±2.42	9.75 ±1.25	15.38 ±1.64	5.17 ±2.37
	0.1	19	148.3 ±57.0	31.2 ±17.9	7.87 ±2.64	2207.8 ±796.0	231.1 ±102.1	128.3 ±11.7	127.8 ±18.6	123.7 ±38.2	155.5 ±20.9	0.13 ±0.05	17.4 ±3.0	0.49 ±0.07	1.30 ±0.42	146.68 ±1.53	4.907 ±0.458	105.8 ±2.1	9.59 ±0.43	6.22 ±0.60	5.79 ±0.42	0.944 ±0.157	48.39 ±4.04	21.40 ±2.56	9.05 ±1.10	16.23 ±2.60	4.93 ±2.20
	0.5	19	165.4 ±113.3	29.8 ±22.2	9.42 ±3.76	2391.7 ±712.4	229.1 ±63.7	125.3 ±12.6	122.8 ±24.7	116.7 ±37.2	156.9 ±24.1	0.11 ±0.02	16.5 ±3.5	0.48 ±0.07	1.32 ±0.40	147.13 ±4.45	5.090 ±0.503	105.8 ±2.5	9.48 ±0.40	6.47 ±0.56	5.69 ±0.45	0.842 ^{**} ±0.144	45.56 ^{**} ±4.25	20.85 ±2.65	9.31 ±1.64	18.63 ^{**} ±3.35	5.66 ±1.70
	2.5	19	115.9 [*] ±57.5	23.4 ±19.5	8.20 ±3.45	2205.7 ±809.4	188.9 [*] ±64.4	124.6 ±15.7	136.5 ±29.9	113.8 ±33.7	170.1 [*] ±28.9	0.10 [*] ±0.02	15.8 [*] ±1.8	0.43 [*] ±0.05	1.25 ±0.49	146.66 ±1.46	4.857 ±0.342	105.7 ±3.1	9.36 ±0.31	6.53 ±0.62	5.69 ±0.44	0.879 [*] ±0.167	46.55 [*] ±4.62	17.74 ^{**} ±1.75	10.66 [*] ±1.60	18.88 ^{**} ±2.11	6.16 [*] ±2.15
Nontreated control	19	165.6 ±105.5	31.8 ±24.5	7.91 ±3.01	2419.6 ±790.6	249.1 ±97.6	129.3 ±16.7	117.3 ±24.3	135.6 ±71.9	151.7 ±32.8	0.12 ±0.04	16.8 ±2.7	0.48 ±0.06	1.36 ±0.52	146.11 ±1.16	4.837 ±0.464	106.6 ±2.6	9.52 ±0.35	6.05 ±0.44	5.94 ±0.72	0.972 ±0.098	49.29 ±2.57	22.01 ±3.42	8.39 [*] ±1.24	15.88 ±2.09	4.43 ±1.61	
Female	Vehicle control	20	102.9 ±34.8	14.5 ±5.5	4.08 ±1.60	1229.2 ±502.6	99.1 ±48.5	114.6 ±14.4	115.1 ±29.0	116.3 ±41.9	184.3 ±34.4	0.18 ±0.04	16.7 ±3.0	0.53 ±0.06	1.24 ±0.43	146.33 ±1.70	3.977 ±0.411	107.2 ±2.3	9.75 ±0.33	5.29 ±0.72	6.39 ±0.36	1.308 ±0.201	56.44 ±3.94	16.32 ±2.43	7.21 ±1.16	13.22 ±1.76	6.81 ±2.32
	0.02	18	132.7 ±71.0	18.2 ±14.4	3.90 ±1.09	1296.2 ±381.7	95.4 ±40.3	115.8 ±14.1	114.1 ±32.4	126.6 ±50.0	182.2 ±43.4	0.20 ±0.03	15.5 ±2.5	0.51 ±0.07	1.12 ±0.38	146.47 ±2.02	4.154 ±0.581	108.6 ±2.7	9.73 ±0.30	5.37 ±0.78	6.29 ±0.41	1.319 ±0.183	56.70 ±3.43	15.73 ±1.34	7.65 ±1.87	13.22 ±1.80	6.69 ±1.82
	0.1	20	109.1 ±66.1	18.0 ±18.8	3.54 ±1.19	1318.0 ±437.2	111.1 ±50.8	109.0 ±13.4	110.8 ±26.9	102.1 ±41.2	176.7 ±34.3	0.18 ±0.05	17.0 ±6.2	0.52 ±0.11	1.14 ±0.33	146.78 ±1.93	3.976 ±0.447	108.4 ±3.6	9.64 ±0.44	5.14 ±0.72	6.32 ±0.29	1.264 ±0.196	55.59 ±4.15	16.38 ±2.21	7.21 ±1.09	13.07 ±1.45	7.75 ±1.90
	0.5	20	139.3 ±144.8	24.0 ±34.5	4.20 ±2.19	1332.1 ±479.4	111.9 ±57.0	112.2 ±13.9	114.4 ±28.9	117.0 ±53.7	184.9 ±44.2	0.18 ±0.06	16.4 ±2.4	0.50 ±0.04	1.26 ±0.47	145.93 ±1.73	4.085 ±0.572	108.5 ±2.1	9.71 ±0.36	5.09 ±0.96	6.36 ±0.40	1.246 ±0.165	55.33 ±3.46	15.88 ±1.87	6.90 ±1.16	13.85 ±2.03	8.05 ±2.35
	2.5	20	99.7 ±33.1	14.1 ±6.7	3.48 ±1.02	1480.1 ±574.8	137.6 ±76.7	114.9 ±15.9	109.1 ±21.2	89.8 [*] ±26.4	176.0 ±28.9	0.15 [*] ±0.05	14.7 [*] ±2.2	0.49 ±0.06	1.26 ±0.37	145.90 ±1.65	4.080 ±0.488	106.7 ±2.9	9.68 ±0.36	5.48 ±0.73	6.47 ±0.26	1.271 ±0.148	55.87 ±2.88	15.08 [*] ±1.28	6.67 ±0.88	14.21 ±1.57	8.19 ±2.05
Nontreated control	20	126.0 ±57.9	20.9 ±13.7	4.41 ±1.43	1417.7 ±459.3	110.2 ±55.7	114.2 ±15.8	101.0 ±23.0	116.0 ±41.4	169.2 ±35.2	0.19 ±0.04	16.3 ±2.3	0.52 ±0.08	1.06 ±0.23	146.45 ±2.29	4.070 ±0.385	108.7 ±3.5	9.72 ±0.41	5.28 ±0.70	6.26 ±0.29	1.337 ±0.164	57.10 ±3.02	15.90 ±1.75	6.76 ±1.17	13.31 ±1.59	6.94 ±2.08	

a) : Mean ± S.D.

*: Significantly different from vehicle control (p<0.05).

***: Significantly different from vehicle control (p<0.01).

Table 9 Biochemical findings in rats recovered for 2 months after subcutaneous treatment with THS-201 for 12 months.

Sex	Dose (mg/kg)	No. of rats	GOT mU/ml	GPT mU/ml	ALP KAU	LDH mU/ml	CPK mU/ml	Glu mg/dl	T-Chol mg/dl	T-G mg/dl	P-L mg/dl	T-Bil mg/dl	BUN mg/dl	Crea. mg/dl	U.A mg/dl	Na mEq/l	K mEq/l	Cl mEq/l	Ca mg/dl	P mg/dl	T.P g/dl	A/G	Electrophoresis (%)				
																							Alb.				
																							α_1	α_2	β	γ	
Male	Vehicle control	10	124.5 ^{a)} ±54.8	30.1 ±20.5	8.31 ±2.51	1721.5 ±716.3	152.2 ±74.7	118.0 ±14.5	111.2 ±23.4	111.5 ±43.2	135.4 ±27.3	0.13 ±0.05	17.5 ±2.8	0.58 ±0.04	1.71 ±0.55	148.45 ^{a)} ±2.52	5.005 ±0.553	109.7 ±1.7	9.99 ±0.53	6.02 ±0.94	5.67 ±0.33	0.977 ±0.184	19.10 ±1.86	7.59 ±0.87	18.47 ±2.98	5.72 ±3.26	
	0.1	9	129.2 ±79.1	37.6 ±37.8	6.64 ±1.90	1713.9 ±639.8	149.0 ±48.5	116.6 ±7.6	143.7* ±28.6	121.1 ±32.5	165.9* ±32.1	0.16 ±0.07	17.8 ±1.7	0.57 ±0.07	1.50 ±0.67	147.94 ±1.31	4.929 ±0.395	109.1 ±1.8	10.00 ±0.24	5.79 ±0.44	1.029 ±0.21	50.73 ±0.082	20.29 ±1.52	8.08 ±0.90	16.37 ±1.48	4.53 ±0.57	
	0.5	10	93.2 ±31.6	20.5 ±14.9	5.24** ±1.23	1684.9 ±753.0	137.3 ±81.6	120.1 ±21.0	128.5 ±26.3	116.5 ±39.0	159.8 ±31.5	0.14 ±0.05	17.1 ±2.5	0.58 ±0.08	1.56 ±0.51	145.20* ±3.46	4.750 ±0.179	107.0* ±2.6	9.72 ±0.41	6.10 ±0.43	5.59 ±0.54	0.948 ±0.210	19.64 ±2.98	8.41 ±1.52	16.62 ±1.56	6.88 ±1.23	
	2.5	9	77.6* ±23.0	13.7* ±5.4	7.02 ±2.74	1426.2 ±576.9	126.2 ±62.6	123.2 ±19.2	137.4 ±37.2	134.7 ±44.9	154.6 ±33.2	0.10 ±0.05	18.8 ±3.1	0.56 ±0.05	1.47 ±0.52	146.83 ±3.46	4.978 ±0.481	108.0* ±1.8	9.78 ±0.72	6.68 ±0.53	5.59 ±0.54	0.902 ±0.210	46.99 ±6.22	18.81 ±1.60	9.63* ±2.30	18.16 ±3.15	6.41 ±2.06
Nontreated control		10	106.0 ±26.2	27.9 ±13.8	6.71 ±3.13	1626.3 ±616.6	141.4 ±61.2	131.6 ±20.6	137.7* ±32.0	133.1 ±44.1	162.9 ±33.8	0.14 ±0.05	17.2 ±1.6	0.61 ±0.03	1.34 ±0.49	146.35 ±4.27	4.784 ±0.505	107.2 ±3.7	9.91 ±0.31	6.19 ±0.53	5.74 ±0.18	1.121 ±0.229	52.44 ±5.47	19.75 ±3.11	7.25 ±1.23	15.58* ±1.13	4.98 ±3.87
Female	Vehicle control	9	93.2 ±26.0	18.1 ±6.5	4.34 ±1.85	917.7 ±327.5	66.4 ±17.9	113.8 ±19.0	123.4 ±25.5	149.3 ±60.1	198.7 ±32.8	0.24 ±0.05	16.4 ±1.6	0.56 ±0.05	1.32 ±0.43	148.78 ±1.82	3.972 ±0.343	106.4 ±2.8	10.71 ±0.51	5.28 ±0.59	6.54 ±0.41	1.373 ±0.132	57.84 ±3.24	16.69 ±0.54	13.23 ±1.54	6.11 ±1.01	
	0.1	10	100.8 ±43.4	16.2 ±12.0	5.79 ±4.58	1130.9 ±358.4	81.5 ±35.6	112.5 ±7.7	132.1 ±74.7	194.7 ±134.9	211.6 ±103.3	0.21 ±0.06	17.3 ±2.8	0.68 ±0.40	1.59 ±0.54	147.20 ±1.67	3.956 ±0.287	106.1 ±3.5	10.79 ±0.60	5.72 ±0.67	6.40 ±0.63	1.224 ±0.218	54.72 ±5.20	17.86 ±6.43	6.70 ±0.70	14.59 ±2.13	6.13 ±1.82
	0.5	9	134.2 ±65.9	20.9 ±10.8	5.44 ±2.31	1345.8* ±428.7	94.4* ±30.9	113.7 ±16.7	119.0 ±40.1	181.0 ±87.6	195.9 ±62.7	0.22 ±0.07	19.0* ±3.1	0.56 ±0.05	1.56 ±0.62	147.83 ±1.06	3.920 ±0.498	105.7 ±3.0	10.73 ±0.59	5.70 ±0.84	6.17 ±0.80	1.399 ±0.231	58.07 ±4.08	15.28 ±3.55	6.30 ±1.95	15.36* ±2.05	5.00 ±1.45
	2.5	9	147.0* ±69.0	23.7 ±15.3	4.16 ±1.64	1188.9 ±378.2	108.8** ±26.6	107.1 ±25.4	111.4 ±24.7	119.7 ±40.2	173.3 ±31.1	0.18 ±0.08	20.1** ±2.9	0.56 ±0.05	1.41 ±0.20	146.72* ±2.21	4.262 ±0.754	106.9 ±3.1	10.64 ±0.77	6.32* ±1.21	6.01* ±0.43	1.216 ±0.256	54.37 ±5.63	13.94* ±1.53	6.79 ±1.78	17.32** ±3.07	7.58 ±2.08
Nontreated control		9	100.7 ±38.0	17.4 ±5.7	5.64 ±1.90	1102.4 ±392.4	92.4 ±48.4	128.1 ±12.5	106.9 ±29.5	165.9 ±53.3	177.4 ±46.1	0.22 ±0.07	17.9 ±1.8	0.59 ±0.08	1.46 ±0.49	147.17 ±1.66	4.219 ±0.460	108.2 ±3.5	10.64 ±0.49	5.44 ±0.41	6.22 ±0.43	1.318 ±0.173	56.72 ±3.28	15.31 ±2.18	6.49 ±1.20	14.56 ±3.04	6.92 ±1.97

a) : Mean ± S. D.

* : Significantly different from vehicle control (p<0.05).

** : Significantly different from vehicle control (p<0.01).

Table 10 Mean organ weight in male rats treated subcutaneously with THS-201 for 12 months.

Dose (mg/kg)	No. of rats	B. W. (g)	Brain (g)	Hypo- physis (mg)	Submandibular gland R: (mg) L: (mg)	Thymus (mg)	Heart (g)	Lung (g)	Liver (g)	Spleen (g)	Kidney R: (g) L: (g)	Adrenal R: (mg) L: (mg)	Testis R: (g) L: (g)	Prostate (mg)			
Absolute	Vehicle control	634.4 ^{a)} ±66.9	2.368 ±0.089	13.95 ^(a) ±1.79	316.2 ±40.5	321.8 ±42.5	85.4 ±27.9	1.648 ±0.191	14.613 ±2.272	1.042 ±0.226	1.757 ±0.206	1.758 ±0.187	25.0 ±3.9	24.7 ±3.8	2.016 ±0.182	2.035 ±0.151	455.7 ±92.6
	0.02	628.4 ±60.5	2.370 ±0.102	14.69 ^(a) ±2.42	340.3 ±68.4	343.2 ±56.2	76.9 ±31.5	1.617 ±0.187	14.784 ±2.094	0.992 ±0.170	1.737 ±0.206	1.731 ±0.190	23.7 ±4.3	25.7 ^(a) ±5.0	2.009 ±0.193	2.027 ±0.182	392.3 ±106.5
	0.1	616.1 ±55.1	2.348 ±0.104	14.86 ^(a) ±1.95	326.0 ±57.0	317.2 ±50.4	93.9 ±27.5	1.604 ±0.146	14.778 ±2.034	1.027 ^(a) ±0.168	1.776 ±0.195	1.746 ±0.173	27.1 ±3.2	27.8* ±4.2	1.990 ^(a) ±0.327	1.983 ±0.396	452.5 ±92.2
	0.5	597.5 ±63.7	2.361 ±0.085	15.14 ^(a) ±2.16	316.5 ±48.6	307.9 ±47.2	69.2* ±19.6	1.569 ±0.138	14.604 ±2.739	1.000 ^(a) ±0.111	1.748 ±0.257	1.738 ±0.250	23.7 ±3.8	26.4 ±3.5	1.878 ±0.478	2.030 ±0.228	399.3 ±113.1
	2.5	465.3** ±47.4	2.376 ±0.091	14.55 ^(a) ±2.30	300.9 ±46.7	293.2 ±45.9	62.9* ±25.2	1.469** ±0.142	12.483** ±2.087	0.786** ±0.124	1.658 ±0.182	1.649 ±0.284	21.1** ±3.9	22.9 ±3.8	1.891* ±0.137	1.924* ±0.138	411.4 ±95.0
Nontreated control	20	632.3 ±63.6	2.367 ±0.089	15.62 ^(a) ±2.36	329.9 ±32.2	325.2 ±27.7	88.6 ±23.2	1.663 ±0.168	14.494 ±1.937	0.998 ^(a) ±0.182	1.864 ±0.283	1.873 ±0.276	25.6 ±3.1	26.8 ±5.3	2.054 ±0.166	2.049 ±0.199	499.9 ±175.6
Relative	Vehicle control		0.376 ±0.033	2.20 ^(a) ±0.34	50.20 ±7.53	51.20 ±8.37	13.47 ±4.12	0.261 ±0.027	2.298 ±0.204	0.164 ±0.027	0.278 ±0.033	0.278 ±0.028	3.97 ±0.67	3.92 ±0.70	0.321 ±0.044	0.325 ±0.041	72.36 ±15.53
	0.02		0.379 ±0.036	2.38 ^(a) ±0.38	54.22 ±9.55	54.84 ±8.85	12.24 ±4.80	0.257 ±0.020	2.349 ±0.205	0.157 ±0.021	0.277 ±0.025	0.275 ±0.025	3.80 ±0.70	4.11 ^(a) ±0.91	0.323 ±0.043	0.325 ±0.034	62.73 ±16.52
	0.1		0.384 ±0.035	2.40 ^(a) ±0.30	52.74 ±6.97	51.44 ±6.65	15.28 ±4.24	0.261 ±0.023	2.394 ±0.200	0.167 ^(a) ±0.025	0.288 ±0.030	0.285 ±0.026	4.42* ±0.60	4.54* ±0.78	0.325 ±0.061	0.326 ±0.070	73.88 ±15.55
	0.5		0.400 ±0.045	2.56 ^(a) ±0.34	53.08 ±6.97	51.74 ±7.56	11.58 ±3.17	0.264 ±0.024	2.436 ±0.259	0.166 ^(a) ±0.016	0.292 ±0.027	0.290 ±0.027	4.02 ±0.77	4.46* ±0.62	0.316 ±0.062	0.341 ±0.039	67.58 ±20.24
	2.5		0.515** ±0.046	3.13 ^(a) ±0.44	64.79** ±8.86	63.04** ±7.77	13.59 ±5.16	0.317** ±0.035	2.671** ±0.225	0.169 ±0.018	0.357** ±0.034	0.356** ±0.061	4.54* ±0.75	4.96** ±0.87	0.408** ±0.046	0.418** ±0.050	89.49* ±23.26
Nontreated control	20		0.380 ±0.042	2.48 ^(a) ±0.41	52.45 ±5.20	51.75 ±5.18	14.04 ±3.63	0.264 ±0.020	2.290 ±0.165	0.159 ^(a) ±0.025	0.296 ±0.036	0.298 ±0.042	4.06 ±0.56	4.24 ±0.86	0.328 ±0.038	0.325 ±0.036	80.02 ±28.96

a) : Mean±S.D.

* : Significantly different from vehicle control (p<0.05).

** : Significantly different from vehicle control (p<0.01).

() : No. of examined rats.

Table 11 Mean organ weight in female rats treated subcutaneously with THS -201 for 12 months.

Dose (mg/kg)	No. of rats	B. W. (g)	Brain (g)	Hypo- physis (mg)	Submandibular gland		Thymus (mg)	Heart (g)	Lung (g)	Liver (g)	Spleen (g)	Kidney		Adrenal		Ovary	Uterus	
					R: (mg)	L: (mg)						R: (g)	L: (g)	R: (mg)	L: (mg)	R: (mg)	L: (mg)	(g)
Absolute	Vehicle control	375.3 ^a ±41.4	2.173 ±0.210	18.82 ^(a) ±2.66	219.9 ±26.3	217.1 ±27.7	85.1 ±32.2	1.117 ±0.139	1.115 ±0.105	8.892 ±0.979	0.656 ⁽¹⁷⁾ ±0.080	1.213 ±0.150	1.161 ⁽¹⁸⁾ ±0.100	29.1 ±4.2	32.3 ⁽¹⁸⁾ ±6.5	43.0 ±12.8	46.1 ±18.8	0.932 ±0.515
	0.02	373.8 ±43.5	2.169 ±0.218	18.49 ^(a) ±3.27	235.9 ±33.3	227.6 ±31.1	75.1 ±24.2	1.125 ±0.142	1.107 ±0.089	9.142 ±1.895	0.702 ±0.113	1.148 ±0.119	1.109 ±0.120	30.0 ±6.5	32.7 ±5.1	50.4 ±16.8	48.0 ±17.0	0.740 ⁽¹⁸⁾ ±0.215
	0.1	357.7 ±40.8	2.182 ±0.097	19.86 ⁽¹⁸⁾ ±3.82	223.8 ±30.6	223.2 ±37.8	79.3 ±22.3	1.156 ±0.102	1.123 ±0.086	8.271 ±1.116	0.664 ⁽¹⁸⁾ ±0.078	1.186 ±0.286	1.163 ±0.259	30.5 ±9.0	32.2 ±8.5	39.5 ⁽¹⁸⁾ ±13.3	46.0 ⁽¹⁸⁾ ±16.4	0.847 ±0.292
	0.5	349.7 ±40.2	2.154 ±0.096	19.25 ⁽¹⁸⁾ ±3.03	215.5 ±29.4	217.2 ±28.8	76.0 ±23.0	1.071 ±0.124	1.072 ±0.085	8.323 ±0.854	0.653 ⁽¹⁸⁾ ±0.106	1.090 [*] ±0.147	1.048 [*] ±0.122	28.1 ±5.6	28.5 ±5.2	39.4 ±14.4	40.4 ±16.5	0.736 ⁽¹⁸⁾ ±0.372
	2.5	322.7 ^{**} ±37.5	2.161 ±0.124	19.65 ⁽¹⁸⁾ ±3.21	229.6 ±36.9	229.2 ±35.6	72.8 ±20.2	1.048 ±0.105	0.993 ^{**} ±0.061	8.447 ±1.499	0.609 ⁽¹⁸⁾ ±0.065	1.084 ^{**} ±0.094	1.056 [*] ±0.088	25.8 ±6.0	26.3 ^{**} ±4.8	40.7 ±12.8	45.7 ±14.1	0.680 ⁽¹⁸⁾ ±0.267
Nontreated control	20	369.6 ±47.0	2.155 ±0.094	18.51 ⁽¹⁸⁾ ±5.18	226.4 ±27.3	219.7 ±25.8	91.4 ±23.9	1.092 ±0.093	1.120 ±0.075	8.278 ±1.189	0.692 ±0.088	1.130 ±0.135	1.109 ±0.131	30.9 ±4.7	32.3 ±6.3	44.1 ±13.4	47.3 ±11.6	0.806 ⁽¹⁸⁾ ±0.323
Relative	Vehicle control		0.585 ±0.080	5.19 ^(a) ±0.75	59.45 ±10.66	58.71 ±11.11	22.54 ±7.88	0.298 ±0.031	0.299 ±0.032	2.376 ±0.171	0.176 ⁽¹⁷⁾ ±0.027	0.324 ±0.036	0.314 ⁽¹⁸⁾ ±0.035	7.80 ±1.34	8.66 ⁽¹⁸⁾ ±1.82	11.77 ±4.30	12.68 ±6.01	0.247 ±0.121
	0.02		0.589 ±0.101	4.96 ^(a) ±0.99	63.57 ±8.98	61.53 ±9.91	20.20 ±6.32	0.303 ±0.035	0.298 ±0.027	2.428 ±0.269	0.187 ±0.021	0.311 ±0.037	0.298 ±0.034	8.08 ±1.75	8.84 ±1.69	13.43 ±4.22	12.73 ±4.10	0.201 ⁽¹⁸⁾ ±0.072
	0.1		0.617 ±0.073	5.71 ⁽¹⁸⁾ ±1.25	63.39 ±11.99	63.23 ±13.81	22.23 ±5.60	0.327 ^{**} ±0.040	0.317 ±0.034	2.316 ±0.214	0.188 ⁽¹⁸⁾ ±0.028	0.338 ±0.110	0.331 ±0.102	8.60 ±1.27	9.05 ±2.39	11.29 ⁽¹⁸⁾ ±3.64	12.97 ⁽¹⁸⁾ ±4.41	0.241 ±0.088
	0.5		0.622 ±0.069	5.56 ⁽¹⁸⁾ ±1.02	62.36 ±10.79	62.83 ±10.68	21.72 ±5.87	0.309 ±0.042	0.310 ±0.041	2.390 ±0.202	0.189 ⁽¹⁸⁾ ±0.038	0.315 ±0.047	0.303 ±0.042	8.11 ±1.69	8.27 ±1.83	11.56 ±4.73	11.72 ±4.68	0.216 ⁽¹⁸⁾ ±0.114
	2.5		0.677 ^{**} ±0.075	6.21 ^{**} ⁽¹⁸⁾ ±1.17	71.87 ^{**} ±13.08	71.70 ^{**} ±12.55	22.88 ±7.03	0.327 ^{**} ±0.038	0.311 ±0.029	2.615 ^{**} ±0.318	0.191 ⁽¹⁸⁾ ±0.025	0.338 ±0.032	0.331 ±0.030	8.08 ±2.07	8.22 ±1.66	12.60 ±3.77	14.27 ±4.65	0.217 ⁽¹⁸⁾ ±0.101
Nontreated control	20		0.591 ±0.079	4.96 ⁽¹⁸⁾ ±1.32	61.99 ±9.94	60.12 ±9.09	25.20 ±7.47	0.299 ±0.035	0.307 ±0.042	2.243 [*] ±0.202	0.190 ±0.032	0.308 ±0.040	0.303 ±0.040	8.42 ±1.35	8.82 ±1.90	12.04 ±3.74	12.86 ±3.03	0.222 ⁽¹⁸⁾ ±0.094

a) : Mean ± S. D.

* : Significantly different from vehicle control (p<0.05).

** : Significantly different from vehicle control (p<0.01).

() : No. of examined rats.

Table 12 Mean organ weight in male rats recovered for 2 months after subcutaneous treatment with THS-201 for 12 months.

Dose (mg/kg)	No. of rats	B. W. (g)	Brain (g)	Hypo- physis (mg)	Submandibular gland		Thymus (mg)	Heart (g)	Lung (g)	Liver (g)	Spleen (g)	Kidney		Adrenal		Testis		Prostate (mg)
					R: (mg)	L: (mg)						R: (g)	L: (g)	R: (mg)	L: (mg)	R: (g)	L: (g)	
Absolute	Vehicle control	616.3 ^{a)} ±74.3	2.401 ±0.067	18.56 ⁽⁸⁾ ±8.08	312.5 ±37.9	303.5 ±43.8	69.2 ±23.2	1.654 ±0.161	1.554 ±0.114	13.880 ±2.366	0.972 ⁽⁸⁾ ±0.131	1.634 ±0.194	1.627 ±0.170	25.9 ±3.9	26.2 ±3.1	2.017 ±0.465	1.949 ±0.149	538.6 ±147.9
	0.1	605.2 ±102.4	2.420 ±0.096	17.73 ⁽⁷⁾ ±2.55	330.1 ±55.8	325.9 ±47.5	68.7 ±21.4	1.689 ±0.195	1.606 ±0.208	14.521 ±2.789	1.060 ±0.108	1.757 ±0.231	1.717 ±0.223	25.6 ±4.7	27.4 ±5.0	2.052 ±0.196	2.058 ±0.221	574.6 ±179.3
	0.5	593.2 ±62.2	2.409 ±0.106	16.33 ⁽⁴⁾ ±2.06	322.0 ±22.8	322.4 ±35.0	61.7 ±24.3	1.527 ±0.216	1.495 ±0.118	13.845 ±2.866	1.062 ±0.237	1.684 ±0.178	1.674 ±0.176	27.4 ±7.9	29.1 ±8.0	1.840 ±0.423	1.841 ±0.295	519.4 ⁽⁹⁾ ±99.9
	2.5	476.4 ^{**} ±33.0	2.424 ±0.089	14.65 ⁽⁸⁾ ±0.95	277.9 ±41.3	282.2 ±49.5	59.4 ±16.0	1.434 ^{**} ±0.114	1.324 ^{**} ±0.120	12.606 ±2.445	0.786 ^{** (8)} ±0.115	1.586 ±0.221	1.559 ±0.198	23.6 ±3.9	25.2 ±5.2	1.988 ±0.161	1.901 ±0.306	383.8 [*] ±87.4
	Nontreated control	633.6 ±38.0	2.412 ±0.107	15.13 ⁽⁶⁾ ±1.70	320.1 ±34.2	330.0 ±43.2	67.1 ±19.6	1.566 ±0.046	1.595 ±0.094	14.378 ±1.102	1.036 ⁽⁸⁾ ±0.122	1.747 ±0.210	1.828 ±0.257	25.6 ±2.9	28.6 ±5.8	1.736 ±0.616	1.956 ±0.229	439.7 ±88.3
Relative	Vehicle control		0.396 ±0.050	2.94 ⁽⁸⁾ ±1.01	50.96 ±5.58	49.51 ±6.70	11.23 ±3.54	0.271 ±0.036	0.252 ±0.031	2.248 ±0.229	0.156 ⁽⁸⁾ ±0.024	0.266 ±0.025	0.265 ±0.022	4.24 ±0.67	4.28 ±0.66	0.326 ±0.049	0.320 ±0.027	88.78 ±26.69
	0.1		0.410 ±0.068	3.10 ⁽⁷⁾ ±0.58	54.96 ±7.13	54.38 ±6.63	11.88 ±4.82	0.281 ±0.021	0.269 ±0.031	2.414 ±0.349	0.179 ±0.026	0.292 ±0.031	0.287 ±0.030	4.26 ±0.67	4.58 ±0.71	0.349 ±0.075	0.350 ±0.082	94.74 ±21.76
	0.5		0.408 ±0.048	2.60 ⁽⁴⁾ ±0.39	54.63 ±4.60	54.51 ±4.63	10.23 ±3.50	0.253 ±0.028	0.253 ±0.026	2.317 ±0.313	0.180 ±0.051	0.284 ±0.024	0.283 ±0.028	4.72 ±1.64	5.00 ±1.66	0.311 ±0.068	0.311 ±0.047	89.58 ⁽⁹⁾ ±24.43
	2.5		0.511 ^{**} ±0.030	3.09 ⁽⁸⁾ ±0.14	58.58 ±10.00	59.38 [*] ±10.57	12.42 ±2.85	0.302 [*] ±0.016	0.278 ±0.028	2.741 ^{**} ±0.452	0.166 ⁽⁸⁾ ±0.028	0.330 ^{**} ±0.034	0.327 ^{**} ±0.030	4.98 ±1.06	5.33 [*] ±1.23	0.418 ^{**} ±0.041	0.399 ^{**} ±0.061	80.53 ±17.15
	Nontreated control		0.383 ±0.029	2.38 ⁽⁶⁾ ±0.29	50.53 ±4.57	52.01 ±4.92	10.52 ±2.73	0.248 ±0.014	0.254 ±0.028	2.268 ±0.052	0.164 ⁽⁸⁾ ±0.017	0.277 ±0.028	0.287 ±0.033	4.07 ±0.49	4.54 ±0.89	0.276 ±0.101	0.313 ±0.049	69.27 [*] ±12.04

a) : Mean±S. D.

* : Significantly different from vehicle control (p<0.05).

** : Significantly different from vehicle control (p<0.01).

() : No. of examined rats.

Table 13 Mean organ weight in female rats recovered for 2 months after subcutaneous treatment with THS-201 for 12 months.

Dose (mg/kg)	No. of rats	B. W. (g)	Brain (g)	Hypo- physis (mg)	Submandibular gland		Thymus (mg)	Heart (g)	Lung (g)	Liver (g)	Spleen (g)	Kidney		Adrenal		Ovary		Uterus
					R: (mg)	L: (mg)						R: (g)	L: (g)	R: (mg)	L: (mg)	R: (mg)	L: (mg)	(g)
Absolute	Vehicle control	373.1 ^(a) ±56.8	2.223 ±0.092	20.81 ^(a) ±4.11	225.4 ±33.8	231.2 ±28.0	67.5 ^(a) ±20.6	1.152 ±0.117	1.172 ±0.090	8.928 ±1.327	0.770 ±0.189	1.228 ±0.171	1.179 ^(a) ±0.165	29.9 ±7.8	32.1 ±5.2	31.3 ±12.0	35.6 ±14.1	0.786 ^(a) ±0.230
	0.1	416.7 ±60.5	2.163 ±0.104	17.05 ^(a) ±2.91	251.8 ±42.9	251.3 ±33.4	75.1 ±11.1	1.175 ±0.136	1.160 ±0.116	9.981 ±1.837	0.804 ^(a) ±0.152	1.201 ±0.232	1.169 ±0.231	31.7 ±9.3	31.3 ±7.7	36.1 ^(a) ±14.8	36.9 ^(a) ±12.6	0.825 ±0.335
	0.5	350.3 ±21.1	2.203 ±0.138	18.53 ^(a) ±1.21	226.6 ±30.7	224.9 ±26.3	78.3 ±23.2	1.088 ±0.083	1.099 ±0.059	8.468 ±0.936	0.688 ^(a) ±0.085	1.124 ±0.125	1.068 ±0.084	29.6 ^(a) ±5.9	31.4 ^(a) ±4.9	43.6 ±20.2	37.8 ±16.7	0.891 ^(a) ±0.341
	2.5	320.8* ±28.3	2.188 ±0.094	19.61 ^(a) ±4.93	227.4 ±25.4	229.9 ±24.2	49.6 ±18.6	1.057 ±0.082	1.121 ±0.127	8.730 ±1.123	0.661 ^(a) ±0.066	1.097 ±0.103	1.063 ±0.109	30.3 ±9.1	31.1 ±6.7	37.7 ±12.3	36.1 ±13.5	0.895 ^(a) ±0.502
	Nontreated control	9	406.7 ±48.4	2.177 ±0.049	17.62 ±2.83	225.0 ±38.4	231.4 ±33.2	76.2 ±17.8	1.147 ±0.133	1.162 ±0.120	9.038 ±1.270	0.692 ±0.079	1.118 ±0.146	1.104 ±0.159	29.9 ±4.4	33.1 ±4.5	43.9 ±13.2	43.2 ±12.1
Relative	Vehicle control	9	0.607 ±0.080	5.58 ^(a) ±0.82	61.57 ±12.61	63.08 ±11.20	18.84 ^(a) ±6.11	0.314 ±0.048	0.321 ±0.044	2.399 ±0.177	0.207 ±0.048	0.333 ±0.054	0.323 ^(a) ±0.059	8.11 ±2.21	8.79 ±1.83	8.46 ±3.14	9.51 ±3.26	0.201 ^(a) ±0.066
	0.1	10	0.526* ±0.067	4.47 ^(a) ±1.10	61.27 ±11.86	61.15 ±10.22	18.50 ±4.52	0.287 ±0.032	0.281 ±0.041	2.398 ±0.313	0.200 ^(a) ±0.036	0.290 ±0.052	0.283 ±0.050	7.66 ±2.34	7.56 ±1.72	8.63 ^(a) ±3.97	8.77 ^(a) ±3.10	0.201 ±0.085
	0.5	9	0.632 ±0.066	5.31 ^(a) ±0.30	64.62 ±7.48	64.21 ±6.60	22.14 ±5.57	0.311 ±0.033	0.316 ±0.023	2.422 ±0.271	0.198 ^(a) ±0.027	0.322 ±0.039	0.306 ±0.027	8.55 ^(a) ±1.86	9.04 ^(a) ±1.58	12.37 ±5.48	10.69 ±4.44	0.223 ^(a) ±0.088
	2.5	9	0.687* ±0.073	5.99 ^(a) ±1.44	71.60 ±11.71	72.42 ±11.85	15.40 ±5.13	0.332 ±0.038	0.352 ±0.049	2.717** ±0.196	0.210 ^(a) ±0.034	0.343 ±0.036	0.333 ±0.026	9.50 ±2.83	9.72 ±2.01	11.77 ±3.80	11.37 ±4.54	0.280 ^(a) ±0.156
	Nontreated control	9	0.542 ±0.066	4.36** ±0.66	55.26 ±6.15	57.10 ±6.30	19.12 ±5.47	0.282 ±0.022	0.288 ±0.024	2.222* ±0.167	0.173 ±0.032	0.276** ±0.021	0.272* ±0.022	7.44 ±1.47	8.22 ±1.41	10.81 ±3.14	10.58 ±2.45	0.169 ±0.054

a) : Mean ± S. D.

* : Significantly different from vehicle control (p < 0.05).

** : Significantly different from vehicle control (p < 0.01).

() : No. of examined rats.

Chronic toxicity of halopredone acetate in rats

kg 群の多数例及び 0.5 mg/kg 群の少数例に認められ、投与部位の皮下膿瘍も 2.5 mg/kg 群の雄 1 例と雌 3 例及び 0.5 mg/kg 群の雌雄各 1 例ずつに観察された。なお投与部位の皮下出血は雌雄のいずれの投与群にも認められず、回復がみられた。

13. 病理組織学的検査

各群の主な病理組織学的所見の総括を Table 14, 15 に示した。

肝：投与終了時検査例では限局性の肝細胞壊死、出血、肝細胞索の萎縮、小葉周辺帯の脂肪滴沈着、小円形細胞の局所性集簇巣、グリソン鞘細胞浸潤あるいは胆管増生が無処置対照群を含む各群の少数例に散見され、さらにチステの形成が溶媒対照群の雌 1 例に認められた。THS-201 投与群では上記所見に加えて小葉中間帯あるいは限局性の脂肪滴沈着が各群各 1 例ずつに認められたが、以上の所見の出現頻度及び病変の程度と THS-201 投与との間に関連性は認められなかった。

腎：投与終了時検査例では尿細管上皮の好塩基性変性、尿円柱あるいは間質の細胞浸潤が無処置対照群を含む各群の一部の例に、尿細管上皮の腫大、腎盂の拡張、石灰沈着、腎盂炎あるいはチステの形成が無処置対照群を含む各群のごく少数例に、限局性の脂肪滴が溶媒対照群の雄 1 例に認められた。THS-201 投与群では上記所見に加えて腎盂腎炎が 0.5 及び 0.1 mg/kg 群の各 1 例ずつに認められたが、以上の所見と THS-201 投与との間に関連性は認められなかった。

脾：投与終了時検査例では中等度あるいは軽度の髄外造血が無処置対照群を含む各群の 1～3 例に認められたが、THS-201 投与との関連性は認められず、上記所見例は後肢足蹠腓脈からの出血のみられた例であり、また剖検上脾腫を示した例では中等度の髄外造血が観察された。

胸腺：投与終了時検査例では皮質の萎縮あるいは髄質の萎縮が単独あるいは重複して雄の無処置対照群、溶媒対照群及び 0.5 mg/kg 以下の THS-201 投与各群の 1 または 2 例ずつに、また雌では少数例に認められた。一方、2.5 mg/kg 群の雄では皮質の萎縮が 5 例、髄質の萎縮が 4

Table 14 Histopathological findings in rats treated subcutaneously with THS-201 for 12 months.

Organ and findings	Sex	Male						Female					
	Dose (mg/kg)	Vehicle control	0.02	0.1	0.5	2.5	Nontreated control	Vehicle control	0.02	0.1	0.5	2.5	Nontreated control
	No. of rats	18	19	19	19	19	20	19	18	20	20	20	20
Thymus	Grade	(16)	(18)	(18)		(18)	(18)				(19)		
atrophy of cortex	+	1	2	2	2	5	2	0	1	0	0	0	1
atrophy of medulla	+	1	2	2	2	4	1	0	1	0	0	0	0
Skin (injection site)													
subcutaneous productive inflammation	+	18	19	19	19	19	—	19	18	20	20	20	—
foreign body granuloma	+	0	0	0	0	2	—	0	0	0	0	0	—
abscess	+	0	0	0	1	0	—	0	0	0	2	3	—
hemorrhage	+	11	10	11	6	6	—	10	14	7	11	13	—

(): No. of examined rats.

Table 15 Histopathological findings in rats recovered for 2 months after subcutaneous treatment with THS-201 for 12 months.

Organ and findings	Sex	Male					Female				
	Dose (mg/kg)	Vehicle control	0.1	0.5	2.5	Nontreated control	Vehicle control	0.1	0.5	2.5	Nontreated control
	No. of rats	10	9	10	9	10	9	10	9	9	9
Thymus	Grade	(9)	(8)	(7)			(8)			(8)	
atrophy of cortex	+	2	0	0	2	1	0	0	0	1	1
atrophy of medulla	+	2	0	0	2	1	0	0	0	1	1
Skin (injection site)							(8)				
subcutaneous productive inflammation	+	10	9	10	9	—	9	7	7	9	—
foreign body granuloma	+	0	0	1	4	—	0	0	0	4	—
abscess	+	0	0	1	0	—	0	0	1	1	—
hemorrhage	+	0	1	0	0	—	0	0	0	0	—

(): No. of examined rats.

例とやや高頻度であった。なお、雌の 2.5 mg/kg 群では同所見は認められなかった。回復期間終了時検査例では上記所見は 2.5 mg/kg 群の雄 2 例、雌 1 例、溶媒対照群の雄 2 例、無処置対照群の雌雄各 1 例のみに認められ、各群ほぼ同程度であった。

投与部皮膚：投与終了時検査例では溶媒対照群を含む各群の雌雄全例に皮下増殖炎が観察され、同時に皮下出血も雌雄の各群の約半数例に付随して認められたが、出現頻度及び程度と THS-201 投与との間に関連性は認められなかった。THS-201 投与群では他に異物肉芽腫が 2.5 mg/kg 群の雄 2 例に、皮下膿瘍が 2.5 mg/kg 群の雌 3 例及び 0.5 mg/kg 群の雄 1 例、雌 2 例に観察され、これらの所見は 0.1 mg/kg 以下の群に認められないものであった。回復期間終了時検査例では皮下増殖炎が溶媒対照群を含む各投与群でほぼ全例にみられたが、出血は 0.1 mg/kg 群の雄 1 例に観察されたにすぎなかった。また異物肉芽腫が 2.5 mg/kg 群の雌雄各 4 例及び 0.5 mg/kg 群の雄 1 例に、皮下膿瘍が 2.5 mg/kg 群の雌 1 例及び 0.5 mg/kg 群の雌雄各 1 例に残存して認められた。

その他、諸臓器に限局性の変性、細胞浸潤、長期飼育に伴う進行性病変が散見されたが、いずれの所見も THS-201 投与との間に関連性は認められなかった。

Photo 1. Thymus from a vehicle control male rat at 12 months. H. E. Staining. $\times 100$. No significant changes were seen.

Photo 2. Thymus from a male rat treated with THS-201 2.5 mg/kg/day for 12 months. H. E. Staining. $\times 100$. Slight cortical atrophy and slight medullary atrophy were noted.

Photo 3. Skin of injection site from a vehicle control male rat at 12 months. H. E. Staining. $\times 20$. Slight subcutaneous productive inflammation and slight hemorrhage were noted.

Photo 4. Skin of injection site from a male rat treated with THS-201 2.5 mg/kg/day for 12 months. H. E. Staining. $\times 40$. Foreign body granuloma was noted slightly.

考 察

試験期間中に計 15 例の死亡もしくは切迫屠殺例がみられたが、腫瘍性病変によるものが 12 例と多数を占め、その他の原因によるものが 3 例であった。

白血病による死亡 4 例のうち、THS-201 投与群に属する動物は 3 例であったが結果の項で述べた如く、その出現状況と投与用量との間に相関性は認められず、偶発的出現であった。また Wistar 系ラットにおける自然発生白血病の頻度は平均寿命 22 箇月間で 15.8~22%との報告 (Moloney et al., 1969) があり、本試験での約 15 箇月齢までの出現頻度は約 1 % であって高率にはみられていないことから白血病の出現と THS-201 との間に関連性はないものと考えられる。下垂体の色素嫌性細胞腫の出現状況も溶媒及び無処置対照群計 3 例に対して THS-201 投与群では 1 例のみであり偶発的出現であった。線維肉腫は 2.5 mg/kg 群の 2 例であったが出現例数は少なく、Wistar 系ラットにおける自然発生も報告されており (Maekawa et al., 1983) THS-201 投与の影響とは考え難い。脳腫瘍及び心の病変についても THS-201 投与群では低用量群 1 例のみであり偶発的出現と考えられる。またその他の原因による死亡例の出現も低用量群のみであって、本試験では THS-201 投与による中毒死は認められなかった。

一般症状では、既実施の亜急性毒性試験と同様に THS-201 投与により、腰部の疎毛が 0.5 mg/kg 以上の群に高頻度に認められ、雌において特に顕著であった。この所見は 2.5 mg/kg 群では回復期間中も残存して認められた。投与期間中、体重増加抑制が 0.5 mg/kg 以上の群で、摂餌量の減少が 2.5 mg/kg 群で認められた。また雄の 2.5 mg/kg 群では摂水量の減少が認められたが、尿量の減少はみられていないこと、逆に同用量群の雌では尿量の増加及び比重の低下、K の増加が認められた。これらの変動は glucocorticoid の薬理作用の一つである mineral-corticoid に対する増強作用と関連したものと推察される。なお、血清の Na 及び K 値には変動は認められないことより、電解質代謝に及ぼす影響は比較的軽度のものであった。回復期間終了時検査においても尿量の増加は残存して認められたが軽度であり、回復傾向が認められた。

血液学的検査ではリンパ球率の減少及び分葉球率の増加が 0.5 mg/kg 以上の群で認められ、病理組織学的検査における胸腺の萎縮、胸腺及び脾における実測重量のみの減少、投与部の膿瘍形成と併せて glucocorticoid のリンパ球に対する障害性 (山本, 1974) 及び感染症の誘発・憎悪作用に起因するものと考えられる。しかしながら、上述の変化は比較的軽度のものであり、また、副腎の萎縮も認められなかった。

血清生化学的検査では、AG 比及びアルブミン分画の減少がみられた他、グロブリン分画の変動、中性脂肪の減少あるいはリン脂質の増加が 0.5 mg/kg 以上の投与群に認められたが、その作用機序は明らかでない。上記の変動のうち、グロブリン分画のみの変動が回復期間終了時にも残存して認められた。なお、GOT, CPK, クレアチニン、総ビリルビン及び BUN の低下が 2.5 mg/kg 群で認められたが、毒性の発現とは考え難い。

病理組織学的検査では既述の所見以外に投与部皮膚における異物肉芽腫が 2.5 mg/kg 群に認められ、この所見は回復期間終了時にも残存していたことは、THS-201 の貯留性によるもの

と考えられる。なお、本試験では下垂体の色素嫌性細胞腫の出現頻度は死亡例も含め、雌雄ともに約 20%であったが、この腫瘍は Wistar 系ラットにおいて最も発生頻度の高いものであり、平均寿命 23 箇月の雌で 27.3%の自然発生が報告されている (Kim et al., 1960)。

以上の如く、THS-201 の投与により 0.5 mg/kg/day 以上の群で変動が認められたが、そのほとんどは THS-201 の薬理作用に起因するものであった。

以上のことから、THS-201 の 12 箇月間連続皮下投与による無影響量は 0.1 mg/kg/day であり、確実中毒量は 0.5 mg/kg/day であることが示された。

要 約

局所貯留性ステロイド剤である THS-201 についてラットにおける 12 箇月間の連続皮下投与を実施し、その毒性及び 2 箇月間の休薬による回復性を検討した結果、以下の結論を得た。

1. 試験期間中、計 15 例の死亡あるいは切迫屠殺例が認められたが、いずれも偶発と判断された。
2. THS-201 の 2.5 mg/kg/day 投与群では一般症状で腰部の疎毛がみられ、体重増加抑制、摂餌量の減少及び雄のみに摂水量の減少も認められた。尿量の増加、尿比重の低下及び尿中 K 排泄量の増加が雌のみに、また、白血球分類ではリンパ球率の減少及び分葉球率の増加がみられ、それらに関連して軽度の胸腺の萎縮及び脾重量の減少が認められた。また血清リン脂質の増加、AG 比及びアルブミン分画の減少、 α_2 -、 β -及び γ -グロブリン分画の増加が雄のみに、中性脂肪の減少が雌のみに、 α_1 -グロブリン分画の減少が雌雄にみられ、投与部位には検体残存と関連して異物肉芽腫及び膿瘍が観察された。上記の変動のうち投与部位の変化、雌の腰部疎毛及び α_1 -グロブリン分画の減少、雄の α_2 -グロブリン分画の増加を除き、回復傾向が認められた。
3. THS-201 の 0.5 mg/kg/day 投与群では一般症状で雌のみに腰部の疎毛が観察され、軽度の体重増加抑制が認められた。また 2.5 mg/kg 群と同様の白血球系の変動及び β -グロブリン分画の増加及び胸腺重量の減少が雄のみに認められた。これらの変動はいずれも 2.5 mg/kg 群より軽度であり全てに回復がみられた。
4. THS-201 の 0.1 及び 0.02 mg/kg/day 投与群では検体投与の影響と考えられる変化は認められなかった。
5. 以上のことから THS-201 の 12 箇月間連続皮下投与による無影響量は 0.1 mg/kg/day であり、確実中毒量は 0.5 mg/kg/day であることが示された。

文 献

- Maekawa, A., Onodera, H., Tanigawa, H., et al (1983): Neoplastic and non-neoplastic lesions in aging Slc: Wistar rats. J. Toxicol. Sci., **8**, 279-290.
- 金子久美子, 柳川 明, 星 恵子ら(1983): 局所ステロイド halopredone acetate の関節リウマチの関与療法。炎症, **3**, 28-30.
- 北川敏夫, 石川浩一郎, 大平 卓ら(1984): Halopredone diacetate 関節内注入の家兎膝関節軟骨に及

Chronic toxicity of halopredone acetate in rats

- ばす影響について. 整形外科基礎科学, **11**, 115-124.
- 三宅秀和, 藤原耕介, 小野尚彦ら(1981): いちじるしく局所貯留性のある合成ステロイド F-2 の薬理作用. 炎症, **1**, 3, 407-411.
- Kim, U., Clifton, K. H. and Furth, J. (1960): A highly inbred line of Wistar rats yielding spontaneous mammo-somatotropic pituitary and other tumors. J. Nat. Cancer Inst., **24** (5), 1031-1047.
- Moloney, W. C., Boschetti, A. E. and King, V. P. (1969): Observations on leukemia in Wistar Furth rats. Cancer Res., **29**, 938-946.
- 山本 慧 (1974): 胸腺と副腎皮質ホルモン. 代謝, **11** (2), 789-798.
- 竹内雅也, 加我雅代, 都香智子ら (1985): Halopredone acetate (THS-201)の毒性試験一(I)マウス及びラットにおける急性毒性試験一. J. Toxicol. Sci., **10**, Suppl. I, 1-10.
- 竹内雅也, 一戸瑞枝, 岡崎修三ら (1985): Halopredone acetate (THS-201)の毒性試験一(II)ラットにおける亜急性毒性試験一. J. Toxicol. Sci., **10**, Suppl. I, 11-39.