

7. 血液生化学的検査成績 (表 8)

1000 mg/kg 投与群では、雌雄とも投与 1 週時に全例が死亡したため、血液生化学検査を実施しなかった。

300 mg/kg 投与群では、雄の投与 4 週時の検査においてアルブミン (Albumin) の減少に伴う総蛋白 (T.Prot.) の減少がみられ、A/G 比が減少した。また、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ (G-GTP)、総コレステロール (T.Chol.)、トリグリセライド (TGL)、血糖 (Glucose)、グロブリン (Globlin)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Creat.)、無機リン (IP) およびカリウム (K) が増加した。加えて、総ビリルビン (T.Bil.) およびカルシウム (Ca) が減少した。雌については投与 3 週時まで全例が死亡したため、血液生化学検査は実施しなかった。

100 mg/kg 投与群では、300 mg/kg 投与群と同様に雌雄とも Albumin の減少に伴い T.Prot. が有意に減少し、A/G 比も減少した。また、雌雄とも T.Bil. および Ca が減少し、T.Chol.、TGL、Glucose、Globlin、BUN、IP、Na および K の有意な増加あるいは増加傾向がみられた。その他、雄ではアルカリホスファターゼ (ALP) が有意に減少し、雌では逆に有意に上昇した。

10 mg/kg 投与群では、雌雄ともいずれの検査項目においても有意な変化は認められなかった。

8. 剖検所見 (表 9)

1000 mg/kg 投与群では、雌雄とも投与 1 週時に全例が死亡した。剖検の結果、雌雄ともほぼ全例に被験物質適用部位を含む全身性の皮下水腫、適用部位皮下織の黒色化、背

部骨格筋の黒色化および胸腺の水腫が観察された。また、雌雄とも肝臓に白色斑点が散見された。

300 mg/kg 投与群では、投与開始後 3 週間以内に雄の 3/8 例が、雌では全例が死亡あるいは容態悪化のため切迫殺された。これらの死亡・切迫殺例の剖検では、雌雄とも全身性皮下水腫、胸水、腹水、胸膜・腹膜の斑点、胸腺の萎縮、肺の斑点、消化管内容物黒色化、肝臓の白色斑点、腎臓の退色あるいは表面粗造、背部骨格筋の白色あるいは黒色化、適用部位皮下織の白色化あるいは水腫がしばしば観察された。その他、雄では精囊・前立腺の萎縮が、雌では胸腺の水腫あるいは脾臓の萎縮が散見された。一方、同群雄の投与 4 週後の計画殺動物では、全例に適用部位皮下織の白色化および背部骨格筋の白色化が観察され、また、半数以上の動物に胸腺の萎縮、腺胃粘膜の黒色斑点、肝臓の白色斑点、腎臓の退色・腫大、縦隔膜リンパ節の腫大が観察された。その他、少数例ではあるが、胸水、腹水、皮下水腫、精囊・前立腺の萎縮、腎部リンパ節の腫大等が散見された。

100 mg/kg 投与群では、投与 6 週時に雄 1 例が、また、投与 8 週時に雄 2 例および雌 1 例がそれぞれ死亡した。これらの死亡例の剖検では、雄において皮下水腫、腹水、胸膜・腹膜の白色斑点、胸腺の萎縮、消化管内容物の黒色化、脾臓の白色斑点、腎臓の腫大・退色、尿管拡張、膀胱粘膜の赤色化、縦隔・腎部リンパ節腫大、背部骨格筋の白色化あるいは黒色化、適用部位の皮下織の白色・黒色化あるいは水腫が観察された。雌の死亡例では、胸腺の萎縮、腎臓の腫大、背部骨格筋の白色化および適用部位皮下織の白色化が認められた。一方、投与 8 週後の計画殺動物では、

雌雄ともほぼ全例に適用部位の皮下織の白色化、背部骨格筋の白色化および縦隔・腎部リンパ節の腫大が観察された。また、雄では胸腺の萎縮および腎臓の腫大・退色が、雌では肺の黒色斑点、腹腔癒着あるいは腺胃粘膜黒色化が散見された。

10 mg/kg 投与群では、雌雄とも被験物質投与に関連付けられる肉眼的異常は認められなかった。

9. 臓器重量 (表 10)

1000 mg/kg 投与群では、雌雄とも投与 1 週時に全例が死亡したため、臓器重量測定は実施しなかった。

300 mg/kg 投与群では、投与 4 週時に計画殺された雄において肝臓、腎臓、脾臓および副腎の絶対・相対重量がともに増加し、胸腺、精巣上体、前立腺および精囊の絶対重量・相対重量 (比体重値) がともに減少した。雌については投与 3 週時まで全例が死亡あるいは切迫殺されたため臓器重量測定は実施しなかった。

100 mg/kg 投与群では、雌雄とも肝臓、腎臓および脾臓の絶対・相対重量が有意に増加し、胸腺の絶対・相対重量が有意に減少あるいは減少傾向を示した。加えて、雄では前立腺および精囊の有意な減少あるいは減少傾向がみられ、雌では心臓の絶対・相対重量が有意に増加し、脳の絶対重量の有意な減少と相対重量の減少傾向が認められた。

10 mg/kg 投与群では、雌雄ともに被験物質投与に関連付けられる臓器重量変動は認められなかった。

10. 病理組織学的検査

病理組織学的検査は未完了で、現在検索中

のため、組織学的所見は次年度に報告予定。

11. 肝臓の酸化ストレス測定成績 (表 11)

1000 mg/kg 投与群では、雌雄とも投与 1 週時に全例が死亡したため酸化ストレスの測定は実施しなかった。

300 mg/kg 投与群では、投与 4 週時に計画殺された雄において過酸化脂質量が有意に減少した。雌については投与 3 週時まで全例が死亡あるいは切迫されたため酸化ストレスの測定は実施しなかった。

100 mg/kg 投与群では、雌において過酸化脂質量が有意に減少し、8-ヒドロキシデオキシグアノシン (8-OHdG) 含量が有意に増加した。しかし、雄では有意な変化は認められなかった。

10 mg/kg 投与群では、雌雄とも肝臓のストレスマーカーには異常は認められなかった。

12. 肝臓のメタロチオネイン遺伝子解析 (表 12)

1000 mg/kg 投与群では、雌雄とも投与 1 週時に全例が死亡したため、メタロチオネインの遺伝子解析は実施しなかった。

300 mg/kg 投与群では、投与 4 週時に計画殺された雄において、肝臓のメタロチオネインの遺伝子発現 (mRNA 量) が有意に増加した。雌については、投与 3 週時まで全例が死亡あるいは切迫殺されたため、同遺伝子解析は実施しなかった。

100 mg/kg 投与群では、雌雄とも肝臓におけるメタロチオネインの遺伝子発現 (mRNA 量) が有意に増加 (雌) あるいは増加傾向 (雄) を示した。

10 mg/kg 投与群では、雌雄とも肝臓にける

メタロチオネインの遺伝子発現量は対照群と同等であった。

D. 考察

木材防腐剤として使用される化学物質のリスク評価を行うことを目的に、平成16年度では、過去に使用量が多く、ヒト、特に子供への健康影響が懸念されるクロム・銅・ヒ素化合物系木材防腐剤 (CCA) ^{1,4} を対象に反復経皮投与毒性を実施した。本研究では、CCA の代表的薬剤種である CCA type B¹ (CrO₃ 35.3% + CuO 19.6% + As₂O₅ 45.1%) を0、10、100、300および1000 mg/kgの用量で雌雄のSD系ラットの背部皮膚に毎日1回、8週間に亘り反復投与し、臨床症状観察、眼検査、尿検査、血液・生化学検査、病理検査を含む諸検査を実施した。

臨床症状および死亡率では、100 mg/kg 以上の投与群において自発運動の低下および後肢麻痺が認められ、1000 mg/kg 投与群では雌雄とも投与開始後1週間以内に全例が死亡し、300 mg/kg 投与群では投与3週時までに雄の3/8例と雌全例が死亡あるいは容態悪化のため切迫殺された。剖検の結果、これらの死亡・切迫殺動物において皮下水腫、胸水・腹水症、胸腺の萎縮・水腫、消化管内容物の黒色化、肝白色斑点、腎臓の腫大・退色、背部骨格筋の変色(白色・黒色)あるいは被験物質適用部位皮下織の変色および水腫等が観察され、死因としては全身性的水腫(循環障害)、肝・腎障害および消化管障害が考えられた。これらの変化は、上記の後肢麻痺を含め、おそらく皮膚から吸収された CCA の有効成分クロム(腎毒性物質)、銅(消化管障害物質)およびヒ素(神経系、心血管系、肝臓および消化管に対する毒性物質)の複合

作用^{5,7}に起因するものと推察した。

体重変化では、100 mg/kg 以上の投与群の特に雄において摂餌量の減少を伴う軽度の体重増加抑制が認められた。

眼検査では、雌雄ともいずれの用量群においても CCA 投与に関連付けられる異常は認められなかった。

尿検査では、100 mg/kg 以上の投与群において雌雄とも尿蛋白、ビリルビンあるいは糖の増加がみられ、腎機能障害が疑われた。事実、これらの動物の剖検時において腎腫大・退色がみとめられ、腎重量が増加した。同変化は、おそらく CCA 中のクロムの作用⁶に起因するものと解釈した。

血液学的検査では、100 mg/kg 以上の投与群において雌雄とも小球性低色素性貧血がみられ、これに伴い網赤血球数あるいは血小板数が増加した。また、これらの用量群では好中球あるいはリンパ球の増加を伴う総白血球数(WBC)の増加がみられ、300 mg/kg 投与群では凝固系因子のプロトロンビン時間(PT)の短縮も認められた。上記の貧血に関しては、CCAの主成分のひとつであり、造血器系への影響が示唆⁸されているヒ素により誘発されたものと推察した。好中球・リンパ球の増加を伴うWBCの増加については、被験物質適用部位の皮膚において投与初期から痂皮形成がみられ、また、暴露期間の延長に伴い潰瘍や皮下水腫など炎症性変化がみられたことから、CCAに起因する炎症性変化付随する二次的変化と考えられた。なお、PTの短縮に関しては、その毒性学的意味は不明である。

血液生化学的検査では、100 mg/kg 以上の投与群において雌雄とも低蛋白血症(アルブミンの減少)がみられ、また、総コレステロ

ール (T.Chol.)、トリグリセライド (TGL)、血糖、グロブリン、尿素窒素、無機リン (IP)、ナトリウム (Na) あるいはカリウム (K) が増加し、加えて、総ビリルビンおよびカルシウム (Ca) の減少がみられた。これらの変化は概ね腎障害を反映する所見であり、尿検査結果とも一致し、後述する腎臓の腫大・退色あるいは重量増加と関連する変化と推察した。一般に腎疾患 (機能障害) 時、特にネフローゼ症候群では、血中のアルブミンが減少するため低比重リポ蛋白が増加し高コレステロール血症を呈し、重度の場合には肝での超低比重リポ蛋白の産生も亢進するため高トリグリセライド血症を招来することが知られている⁸⁾。また、腎機能が障害されると糸球体濾過率が低下するため血中のリン値が増加し、電解質のバランス維持のためカルシウムは逆に減少することが知られている。従って、上記の電解質の変動についても CCA 投与 (特にクロム) の影響と考えられ、その原因として腎障害あるいは前述の全身性の水腫の関与が考えられた。ただし、グロブリンの増加については炎症性変化との関連性が疑われた。

剖検所見では、100 mg/kg 以上の投与群において雌雄とも皮下水腫、胸水・腹水症、胸腺の水腫・萎縮、腎臓の腫大・退色、肝臓の白色斑点、消化管内容物の黒色化、リンパ節 (縦隔、腎部) の腫大、背部骨格筋の変色、適用背部皮膚痂皮形成あるいは皮下織の変色・水腫等が観察され、その程度は高用量群の死亡・切迫殺動物においてより顕著であった。これらの変化は、いずれも被験物質物投与の影響を反映する所見であり、CCA の構成成分であるクロム、銅およびヒ素の毒作用⁵⁾に起因するものと考えられ、CCA の循環

器系、消化器系、肝臓あるいは腎臓への影響が示唆された。ただし、適用部位の皮下織あるいは背部骨格筋の変色については、経皮投与されたクロム、銅およびヒ素の吸収過程における組織の色彩的变化であり毒性所見とは異なるものと思われた。また、リンパ節の腫大はおそらく炎症に対する二次的变化と推察した。

臓器重量では、100 mg/kg 以上の投与群において雌雄とも肝臓、腎臓および脾臓の重量が増加し、胸腺の重量が減少した。また、雌では脳の重量減少と心臓の有意な重量増加が認められた。これらの変化のうち、心重量・肝重量の増加はヒ素的作用により、腎重量増加についてはクロムの毒性作用⁶⁾に起因するものと推測した。一方、脳重量および胸腺重量の減少については CCA の神経・免疫系への影響を反映する所見とも考えられた。脾臓の重量増加に関しては、前述の貧血に対する反応所見 (髄外造血亢進) と推察した。

肝臓の酸化ストレスの測定では、100 mg/kg 投与群の雌において DNA への酸化ストレスの産物である 8-ヒドロキシグアノシン (8-OHdG) の増加が認められ、CCA の酸化ストレス産生能が示唆された。ただし、確実な結論を得るためには今後の幅広い研究成果が待たれる。

一方、肝臓におけるメタロチオネイン (金属結合蛋白) の遺伝子解析では、100 mg/kg 以上の投与群において雌雄とも同遺伝子発現量 (mRNA 量) が増加した。ヒ素化合物は生体内でメタロチオネインを誘導することが報告されており、同蛋白の誘導はヒ素の毒性に対して防御効果があると考えられている⁹⁾。従って、今回のメタロチオネインの mRNA 発現量の増加は、CCA の主成分のひ

とつであるヒ素の毒性に対する生体反応(防御反応)と解釈された。

E. 結論

本実験条件下では、CCAをラットに反復経皮投与した場合、皮下水腫、胸水・腹水症、貧血、肝・腎障害を誘発し、100 mg/kg前後が最大耐量であると結論された。また、CCAは神経・免疫系、消化器系あるいは循環器系にも影響を及ぼす可能性が示唆された。

F. 引用文献

- 1) Penha J, Catilu V, and Tolaymat T: Generation, use, disposal, and management options for CCA-treated wood. Florida Center for Solid and Hazardous Waste Management, Florida, USA, Report #98-1, pp. 1-54, 1998.
- 2) Odiott O and Roberts SM: Preliminary evaluation of the non-dietary hazard and exposure to children from contact with chromated copper arsenate (CCA)-treated wood playground structures and CCA-contaminated soil. FIFRA Scientific Advisory Panel (SAP), SAP Report #2001-12, pp. 1-63, 2001.
- 3) Aviado D, Dang W, Elkassabany N, Jakob W, Jensen J, Montague K, Mostaghimi S, Quick B, Shamin N, and Vaughan: Children's exposure to CCA-treated wood playground equipment and CCA-contaminated soil. In: FIFRA Scientific Advisory Panel Background Document, US EPA, pp.1-54, 2001.

- 4) McMahon TF and Chen J: Hazard identification and toxicology endpoint selection for inorganic arsenic and inorganic chromium. In: FIFRA Scientific Advisory Panel Background Document, US EPA, pp. 1-36, 2001.
- 5) Gwaltney-Brant SM: Heavy metals. In: Handbook of Toxicologic Pathology (Haschek WM, Rousseaux CG, Wallig MA, eds.), Academic Press, San Diego, pp. 701-733, 2002.
- 6) Goyer RA and Clarkson TW: Toxic effects of metals. In: Casarett & Doull's Toxicology (Klaassen CD, ed.), McGraw-Hill, New York, pp. 811-867, 2001.
- 7) Hostynek JJ, Hinz RS, Lorence CR, Price M, and Guy RH: Metals and the skin. Critical Reviews in Toxicology, 23(2): 171-235, 1993.
- 8) 河合忠: 血液化学検査、異常値の出るメカニズム(河合忠・玄番昭夫・尾形稔編)、医学書院、東京、pp.79-133、1993.

G. 研究発表

1. 論文発表なし
2. 学会発表なし

H. 知的財産権の出願・取得状況

1. 特許取得なし
2. 実用新案登録なし
3. その他なし

Table 1 Interim deaths in rats

Group	Dose	Female	
		Male	Female
Water for injection		0/8	0%
CCA	10 mg/kg	0/8	0%
CCA	100 mg/kg	3/8	37.5%
CCA	300 mg/kg	3/8	37.5%
CCA	1000 mg/kg	8/8	100%

Clinical Sign

Grade

- 0 : No abnormal signs
- 1 : Slight
- 2 : Moderate
- 3 : Severe
- + : Non-graded clinical signs

Table 2-1 Clinical signs in male rats

Group	Dose(mg/kg)	Grade	Water for injection			CCA			CCA			CCA		
			0	1	2 3 +	0	1	2 3 +	0	1	2 3 +	0	1	2 3 +
Day	Item													
0	No abnormal signs		8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
1	No abnormal signs		8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
2	Decrease in spontaneous activity		8	0	0	8	0	0	8	0	0	8	0	0
	Decrease in stool volume		8	0	0	8	0	0	8	0	0	8	0	0
	Death		8	0	0	8	0	0	8	0	0	8	0	0
3	Death		8	0	0	8	0	0	8	0	0	8	0	0
4	Dirty lower belly by urine		8	0	0	8	0	0	7	1	0	8	0	0
5	No abnormal signs		8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
6	No abnormal signs		8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
7	No abnormal signs		8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
8	No abnormal signs		8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
9	No abnormal signs		8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
10	No abnormal signs		8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
11	No abnormal signs		8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
12	No abnormal signs		8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
13	Decrease in stool volume		8	0	0	8	0	0	8	0	0	7	0	1
14	Decrease in stool volume		8	0	0	8	0	0	8	0	0	7	0	1
15	Paralysis of hindleg		8	0	0	8	0	0	8	0	0	7	0	1
	Decrease in stool volume		8	0	0	8	0	0	8	0	0	7	0	1
16	Paralysis of hindleg		8	0	0	8	0	0	8	0	0	7	0	1
	Decrease in stool volume		8	0	0	8	0	0	8	0	0	7	0	1
	Trace of reddish rhinorrhea		8	0	0	8	0	0	8	0	0	6	0	2
17	Paralysis of hindleg		8	0	0	8	0	0	8	0	0	7	0	1
	Decrease in stool volume		8	0	0	8	0	0	8	0	0	7	0	1
	Trace of reddish rhinorrhea		8	0	0	8	0	0	8	0	0	4	0	4
18	Paralysis of hindleg		8	0	0	8	0	0	8	0	0	6	0	2
	Decrease in stool volume		8	0	0	8	0	0	8	0	0	7	0	1
	Blanching skin or pale skin		8	0	0	8	0	0	8	0	0	7	0	1
	Trace of reddish rhinorrhea		8	0	0	8	0	0	8	0	0	2	0	6

Numerals represent the number of animals.

Table 2-2 Clinical signs in male rats

Group	Water for injection	CCA	CCA	CCA	CCA	CCA
Dose(mg/kg)	Grade	0	1	2	3	+
Day	Item	0	1	2	3	+
19	Decrease in spontaneous activity	8	0	0	0	0
	Paralysis of hindleg	8	0	0	0	0
	Hypothermia	8	0	0	0	0
	Decrease in stool volume	8	0	0	0	0
	Blanching skin or pale skin	8	0	0	0	0
	Trace of reddish rhinorrhea	8	0	0	0	0
20	Paralysis of hindleg	8	0	0	0	0
	Decrease in stool volume	8	0	0	0	0
	Trace of reddish rhinorrhea	8	0	0	0	0
21	Decrease in spontaneous activity	8	0	0	0	0
	Trace of reddish rhinorrhea	8	0	0	0	0
	Death	8	0	0	0	0
22	Decrease in spontaneous activity	8	0	0	0	0
	Trace of reddish rhinorrhea	8	0	0	0	0
23	Decrease in spontaneous activity	8	0	0	0	0
	Blanching skin or pale skin	8	0	0	0	0
	Trace of reddish rhinorrhea	8	0	0	0	0
24	Decrease in spontaneous activity	8	0	0	0	0
	Blanching skin or pale skin	8	0	0	0	0
	Trace of reddish rhinorrhea	8	0	0	0	0
25	Decrease in spontaneous activity	8	0	0	0	0
	Paralysis of hindleg	8	0	0	0	0
	Blanching skin or pale skin	8	0	0	0	0
	Reddish rhinorrhea	8	0	0	0	0
	Trace of reddish rhinorrhea	8	0	0	0	0
26	Decrease in spontaneous activity	8	0	0	0	0
	Paralysis of hindleg	8	0	0	0	0
	Hypothermia	8	0	0	0	0
	Blanching skin or pale skin	8	0	0	0	0
	Trace of reddish rhinorrhea	8	0	0	0	0
27	No abnormal signs	8	8	8	8	8
28	No abnormal signs	8	8	8	8	8
29	No abnormal signs	8	8	8	8	8
30	No abnormal signs	8	8	8	8	8
31	Paralysis of hindleg	8	0	0	0	0

Numerals represent the number of animals.

Table 2-3 Clinical signs in male rats

Group	Dose(mg/kg)	Grade	Water for injection			CCA			CCA			CCA					
			0	1	2	3	+	0	1	2	3	+	0	1	2	3	+
Day	Item																
32	Paralysis of hindleg		8	0	0	8	0	7	1								
33	Paralysis of hindleg		8	0	0	8	0	7	1								
34	Paralysis of hindleg		8	0	0	8	0	7	1								
35	Paralysis of hindleg		8	0	0	8	0	7	1								
36	Paralysis of hindleg		8	0	0	8	0	7	1								
37	Paralysis of hindleg		8	0	0	8	0	7	1								
38	Death		8	0	0	8	0	7	1								
39	No abnormal signs		8			8		7									
40	No abnormal signs		8			8		7									
41	No abnormal signs		8			8		7									
42	No abnormal signs		8			8		7									
43	No abnormal signs		8			8		7									
44	No abnormal signs		8			8		7									
45	No abnormal signs		8			8		7									
46	No abnormal signs		8			8		7									
47	No abnormal signs		8			8		7									
48	Paralysis of hindleg		8	0	0	8	0	6	1								
49	Paralysis of hindleg		8	0	0	8	0	6	1								
50	Paralysis of hindleg		8	0	0	8	0	6	1								
51	Paralysis of hindleg		8	0	0	8	0	6	1								
52	Decrease in spontaneous activity		8	0	0	8	0	0	6	1	0	0					
	Paralysis of hindleg		8	0	0	8	0	0	6	1	0	1					
	Hypothermia		8	0	0	8	0	0	6	1	0	1					
53	Decrease in spontaneous activity		8	0	0	8	0	0	6	1	0	0					
	Hypothermia		8	0	0	8	0	0	6	1	0	1					
	Death		8	0	0	8	0	0	5	2							

Numerals represent the number of animals.

Table 2-4 Clinical signs in male rats

Group		Water for injection	CCA	CCA	CCA	CCA
Dose (mg/kg)			10	100	300	1000
Grade		0 1 2 3 +	0 1 2 3 +	0 1 2 3 +	0 1 2 3 +	0 1 2 3 +
Day	Item					
54	No abnormal signs	8	8	5		

Numerals represent the number of animals.

Table 2-5 Clinical signs in female rats

Group	Dose(mg/kg)	Grade	Water for injection			CCA			CCA			CCA						
			0	1	2	3	+	0	1	2	3	+	0	1	2	3	+	
Day	Item																	
0	No abnormal signs		8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
1	No abnormal signs		8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
2	Decrease in spontaneous activity		8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0
	Ataxic gait		8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0
	Dirty lower belly by urine		8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0
3	Decrease in spontaneous activity		8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0
	Ataxic gait		8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0
	Hypothermia		8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0
	Death		8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0
4	Death		8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0
5	No abnormal signs		8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
6	No abnormal signs		8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
7	No abnormal signs		8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
8	Decrease in spontaneous activity		8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0
	Hypothermia		8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0
9	No abnormal signs		8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
10	No abnormal signs		8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
11	Paralysis of hindleg		8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0
12	Paralysis of hindleg		8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0
13	Paralysis of hindleg		8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0
14	Decrease in spontaneous activity		8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0
	Paralysis of hindleg		8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0
	Hypothermia		8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0
15	Paralysis of hindleg		8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0
16	Paralysis of hindleg		8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0
17	Decrease in spontaneous activity		8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0
	Paralysis of hindleg		8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0
	Hypothermia		8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0
18	Decrease in spontaneous activity		8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0
	Paralysis of hindleg		8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0

Numerals represent the number of animals.

Table 2-8 Clinical signs in male rats (Administration site)

Study No.: SBL94-83

Group	Number of animals	Item	Day of administration (Before administration)																											
			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
Water for injection	8		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
CCA (10 mg/kg)	8		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
CCA (100 mg/kg)	8	Crust	0	0	0	0	0	2	3	3	6	7	7	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	
CCA (300 mg/kg)	8	Crust	0	0	0	0	2	6	7	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	
CCA (1000 mg/kg)	8		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

Numerals represent the number of animals.

Table 2-9 Clinical signs in male rats (Administration site)

Group	Number of animals	Item	Day of administration (Before administration)																											
			28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	
Water for injection	8		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
CCA (10 mg/kg)	8	Crust	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	3	
CCA (100 mg/kg)	8	Crust	8	8	8	8	8	8	8	8	8	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	6	

Numerals represent the number of animals.

Table 2-10 Clinical signs in female rats (Administration site)

Study No.: SBL94-83

Group	Number of animals	Item	Day of administration (Before administration)																											
			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
Water for injection	8		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CCA (10 mg/kg)	8	Crust	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
CCA (100 mg/kg)	8	Crust	0	0	0	0	0	1	1	2	3	6	7	7	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
CCA (300 mg/kg)	8	Crust	0	0	0	0	1	4	5	6	4	4	4	4	4	4	4	3	3	2										
CCA (1000 mg/kg)	8		0	0	0	0	0																							

Numerals represent the number of animals.

Table 2-11 Clinical signs in female rats (Administration site)

Group	Number of animals	Day of administration (Before administration)																											
		28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	
Water for injection	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
CCA (10 mg/kg)	8	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	3	3	3	4	4	4	4	4	4	4	
CCA (100 mg/kg)	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	7	

Numerals represent the number of animals.

Table 3-1 Food consumption (g/day) in male rats

Group	Water for injection	CCA		
		10	100	300
Day Pre				
5	23.4± 1.7(8)	22.4± 1.4(8)	23.0± 1.1(8)	21.8± 2.1(8)
12	23.4± 2.3(8)	23.1± 4.0(8)	21.6± 2.5(8)	18.3± 2.1(8)
19	26.8± 3.1(8)	26.1± 3.3(8)	22.8± 2.5(8)*	20.8± 3.0(8)
22	28.3± 6.2(8)	25.0± 3.3(8)	24.1± 4.3(8)	14.7± 6.4(7)
26	27.1± 2.4(8)	27.5± 2.6(8)	26.4± 3.6(8)	22.2± 4.6(5)
33	26.9± 2.6(8)	27.9± 2.4(8)	26.9± 3.4(8)	
40	27.0± 2.4(8)	26.9± 2.0(8)	23.6± 3.6(7)*	
47	27.8± 2.1(8)	27.9± 2.2(8)	23.4± 3.8(7)*	
50	26.4± 2.3(8)	26.5± 2.9(8)	22.9± 5.3(7)	

Values are expressed as the mean ± S.D. (N).
 Statistical analyses were not performed at 300 mg/kg.
 * P<0.05 : Significantly different from Water for injection.

Table 3-2 Food consumption (g/day) in female rats

Group	Water for injection	CCA		
		10	100	300
Dose (mg/kg)				
Day Pre				
	17.9± 1.4(8)	17.8± 1.2(8)	17.3± 1.3(8)	17.4± 2.1(8)
5	20.1± 1.9(8)	19.1± 1.9(8)	20.3± 2.4(8)	14.3± 3.9(7)
12	20.6± 2.8(8)	22.5± 2.3(8)	20.4± 2.4(8)	19.5± 1.0(4)
19	21.0± 2.8(8)	20.3± 2.9(8)	19.8± 2.3(8)	
26	19.6± 2.1(8)	21.3± 2.9(8)	21.5± 0.9(8)	
33	21.1± 2.1(8)	20.5± 1.9(8)	22.5± 2.2(8)	
40	20.1± 1.7(8)	20.3± 1.3(8)	19.6± 1.7(8)	
47	20.4± 2.9(8)	20.9± 2.5(8)	19.6± 1.6(8)	
50	20.8± 2.3(8)	20.9± 2.0(8)	17.9± 5.4(8)	17.4± 1.7(8)

Values are expressed as the mean ± S.D. (N).
 Statistical analyses were not performed at 300 mg/kg.
 Not significantly different from Water for injection.