

(1 mL) を分注したチューブ (委託者指定のチューブ : 凍結試料の採取用と同じチューブ) に入れ, 送付時まで冷蔵庫 [採取日~送付日 (2011 年 6 月 28 日~2011 年 7 月 13 日) : -85.0~-80.0°C, 許容範囲 : 1~9°C] で保存した. 各臓器の採取にあたっては RNAase の混入を防ぐため清潔な器具を使用し, 開腹後に出来るだけ速やかに実施した (開腹後 6~22 分以内). なお, サンプル採取部位はできるだけ肉眼観察で病変の強くない部位とした.

4.8.10.6 腰椎の採取

例数 : 全例
採取時期 : 解剖時
採取器官 : 腰椎 (L1~L5)
採取方法 : 腰椎を採取し, L1~L3 (BMD 測定用) は液体窒素にて凍結させ, 超低温フリーザーで保存した. L4 (病理評価用) は 10%中性緩衝ホルマリン液で固定し, L5 (非脱灰標本用) は 70%エタノール液で固定した.

4.8.10.7 腋窩動脈の採取

例数 : 全例
採取時期 : 解剖時
採取器官 : 腋窩動脈 (近位, 遠位)
採取方法 : 腋窩動脈を採取し, 近位及び遠位を適当な長さ (5 mm 前後) 採取し, それぞれチューブに入れ液体窒素にて凍結した. 超低温フリーザーで送付時まで保存した.

4.8.11 眼科的検査

例数 : 1, 4 及び 5 群全例
検査時期 : 給餌 49 日目に 1 回 (給餌前)
検査方法 : 散瞳剤 (ミドリン P 点眼液, ロット番号 M283031, 参天製薬株式会社) の点眼後にメデトミジン水溶液 (ドミトール, Orion Corporation, 1 mg/mL, 0.04 mL/kg), 塩酸ケタミン水溶液 (Kamud Drugs Pvt. Ltd., 50 mg/mL, 0.1 mL/kg) 及びミダゾラム (10 mg/2 mL, 0.04 mL/kg) を筋肉内投与し, 麻酔下で額帯式双眼倒像検眼鏡 (IO- α Small Pupil, 株式会社ナイツ) を用いて眼底を検

査した。麻酔下での操作終了後、アチパメゾール水溶液（アンチセダン，Orion Corporation，5 mg/mL，0.02 mL/kg）を筋肉内投与した。

写真撮影：眼底に異常は認められなかったため実施しなかった。

4.8.12 頸部超音波検査

例数：2011年6月30日解剖例（Animal Nos. 3, 5, 9, 10, 14, 15, 19, 20, 23, 25）

検査時期：給餌58日目

検査方法：無麻酔下で超音波診断装置（SONOS7500，株式会社フイリップス エレクトロニクス ジャパン メディカル システムズ）を用いて頸部血管を確認し，動脈硬化あるいはそれに起因した変化のあるなしを調べた。

4.8.13 背景値データ収集

例数：雌雄各5例（5ヵ月齢，鹿児島大学から入手した凍結血清）

検査項目及び方法：「7.8.9 血液生化学的検査」に従い，JCA-BM8 及びエパライザを用いる項目すべてを測定した。

4.8.14 背景値用の血液学的検査

例数：雌10例（14ヵ月齢5例，25ヵ月齢2例，26ヵ月齢2例，27ヵ月齢1例）
雄13例（低月齢10匹，高月齢3匹）

検査時期

雌10例：2011年8月26日

雄13例：2011年9月1日

採血量：約2.5 mL

採血方法：ADVIA120 を用いた測定項目には，前大静脈洞より約1 mL 採血し，EDTA-2K で抗凝固処理した全血を使用した。CA-7000 を用いた測定項目には，前大静脈洞より3.8 w/v%クエン酸ナトリウム溶液を150 μ L 添加した注射筒を用いて約1.5 mL 採血し，遠心分離（4°C，1710 \times g，3000 rpm，15 分間，ユニバーサル冷却遠心機 5910，5922，株式会社久保田製作所）して得られた血漿を使用した。

検査項目及び方法： 次の表に示す。

検査項目	単位	測定方法	機種
赤血球	$10^6/\text{mm}^3$	2 角度レーザーフローサイトメトリー法	ADVIA120 ^{a)}
白血球	$10^3/\text{mm}^3$	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	%	計算式：(平均赤血球容積×赤血球) / 10	
ヘモグロビン	g/dL	シアンメトヘモグロビン変法	
血小板	$10^3/\text{mm}^3$	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	%	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 ^{b)}	$10^3/\text{mm}^3$, %	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	

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

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)

4.8.15 背景値用の血液生化学的検査

例数： 雌 10 例 (14 ヲ月齡 5 例, 25 ヲ月齡 2 例, 26 ヲ月齡 2 例,
27 ヲ月齡 1 例)
雄 13 例 (低月齡 10 匹, 高月齡 3 匹)

検査時期

雌 10 例： 2011 年 8 月 26 日

雄 13 例： 2011 年 9 月 1 日

採血量： 約 3 mL

ただし，雄 13 例のうちの低月齢の 10 匹に関しては約 10 mL 採血した。

採血方法： 前大静脈洞から採血し，室温で 20～60 分間静置後，遠心分離（室温，1710×g，3000 rpm，15 分間，テーブルトップ遠心機 5420，ユニバーサル冷却遠心機 5800，株式会社久保田製作所）して得られた血清を用いた。

検査項目及び方法

雌 10 例： 次の表に示す。

雄 13 例： 「7.8.9 血液生化学的検査」に従い，JCA-BM8 及びエパライザを用いた項目すべてを測定した。

検査項目	単位	測定方法	機種
アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ	IU/L	JSCC 標準化対応	JCA-BM8 a)
アラニンアミノトランスフェラーゼ	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	
クレアチンホスホキナーゼ	IU/L	JSCC 標準化対応	
総ビリルビン	mg/dL	バナジン酸酸化法	
総蛋白	g/dL	ビウレット法	
アルブミン	g/dL	BCG 法	
グロブリン	g/dL	計算式：総蛋白-アルブミン	
A/G 比	-	計算式：アルブミン/グロブリン	
総コレステロール	mg/dL	COD-HDAOS 法	JCA-BM8 a)
トリグリセリド	mg/dL	GPO-HDAOS 法，グリセリン消去法	
ブドウ糖	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	

検査項目	単位	測定方法	機種
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	

a) 自動分析装置 (日本電子株式会社)

4.8.16 「普通食高齢マイクロミニピッグにおける DIT, 遺伝子, 抗体, 骨粗鬆症 (雌のみ) の解析」用のデータ収集のための血液生化学的検査

例数: 雄 1 例 (14 カ月齢)
 卵巣摘出雌 4 例 (17 カ月齢 1 例, 18 カ月齢 3 例)
 雌 3 例 (15 カ月齢 1 例, 17 カ月齢 1 例, 18 カ月齢 1 例)

検査項目及び方法: 「7.8.9 血液生化学的検査」に従い, JCA-BM8 及びエパライザを用いた項目すべてを測定した.

4.8.17 高齢雌動物の血清採取

例数: 雌 5 例 (25 カ月齢 4 例, 26 カ月齢 4 例)
 Animal ID: 120, 155, 156, 161, 170
 採血時期: 2011 年 9 月 20 日
 採血量: 約 10 mL
 採血方法: 前大静脈洞から採血し, 室温で 20~60 分間静置後, 遠心分離 (室温, 1710×g, 3000 rpm, 15 分間, ユニバーサル冷却遠心機 5920, 株式会社久保田製作所) して得られた血清を約 1 mL×4 本に分注し, 超低温フリーザーで凍結保存した.

4.9 統計学的手法

2~5 群の馴化期間中及びモデル作製期間中の体重, 血圧, 心拍数, 血液学的検査, 血液生化学的検査, 器官重量 (絶対及び相対重量) のデータについては, 「1 群」と「特殊配合飼料群 (2~4 群)」の各 2 群間の比較を行った. 各データはま

ず，F 検定により等分散性の検定を行い，等分散の場合は student-t 検定を行った．F 検定により等分散性が認められなかった場合は Welch の検定を行った．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）を使用し，有意水準は 5%とした．一般状態，剖検所見及び眼科的検査については検定を実施しなかった．

5. 結果

5.1 一般状態

一般状態において全例で異常はみられなかった。

なお、対照群の1例（No. 4）が前日まで一般状態に何も異常なく、給餌15日目の朝に突然死していた。解剖結果に異常はなく、本原因は不明であったが、対照群であり、試験評価とは無関係な偶発的な突然死であると考えられた。

5.2 体重

（Tables 1-1, 1-2）

対照群と比較し、体重の増加が2～5群で給餌7日目以降にみられ、特殊配合飼料による影響だと示唆された。

〔参考として、給餌0日目（特殊配合飼料開始前）からの体重の増加率では、統計学的に有意な増加が2～5群でみられた。〕

5.3 血圧測定

（Tables 2-1, 2-2）

対照群と比較し、2～5群で明確な変化はみられなかった。

なお、収縮期血圧の統計学的に有意な増加あるいは減少が各特殊配合飼料群で散見されたが、特殊配合飼料における用量相関性がなく、あるいは投与前値からの変動がないため、偶発変化あるいは意義のない変化と考えられた。

5.4 心拍数測定

（Tables 3-1, 3-2）

対照群と比較し、2～5群で明確な変化はみられなかった。

5.5 血液学的検査

（Tables 4-1～4-4）

対照群と比較し、血小板の統計学的に有意な増加が3及び5群で給餌14日目以降にみられ、4群でも増加傾向がみられたが、特殊配合飼料摂取との関連性及び原因は不明であった。

なお、赤血球、ヘマトクリット値、ヘモグロビン濃度及びMCHCの統計学的に有意な高値が各特殊配合飼料群で散見されたが、特殊配合飼料における用量相関性がない変化、あるいは投与前値から著変のない変化であるため、偶発変化あるいは意義のない変化と考えられた。

5.6 血液生化学的検査

(Tables 5-1~5-20)

対照群と比較し、総コレステロール、遊離コレステロールの統計学的に有意な増加が3~5群で給餌14日目以降にみられ、2群においてもこれらの統計学的に有意な増加あるいは増加傾向がみられ、特殊配合飼料による影響だと示唆された。また、コレステロール分画では、対照群と比較し、HDL-コレステロール濃度の統計学的に有意な増加が2~5群で給餌14日目以降にみられた。LDL-コレステロール濃度及びVLDL-コレステロール濃度の統計学的に有意な増加が3~5群で給餌14日目以降にみられ、2群においても増加傾向がみられた。カイロミクロン濃度の統計学的に有意な増加が4及び5群で給餌14日目以降にみられ、2及び3群においてもこれらの統計学的に有意な増加あるいは増加傾向がみられた。また各濃度の変動に関連して各比率も変動がみられた。これらの変化は、特殊配合飼料による影響だと示唆された。トリグリセリド分画は各特殊配合飼料各群で変動が散見されたが、明らかな特殊配合飼料摂取との関連性のある変化であるかは不明であった。

対照群と比較し、ALP及び γ -GTPで統計学的に有意な増加が5群で給餌14, 28, 42あるいは56日目にみられ、2~4群においてもこれらの統計学的に有意な増加あるいは増加傾向が給餌14, 28, 42あるいは56日目にみられ、ASATの増加傾向も5群でみられ、総ビリルビンの統計学的に有意な増加あるいは増加傾向が4及び5群でみられ、5群を中心に特殊配合飼料による肝臓への影響が示唆された。対照群と比較し、尿素窒素の有意な減少あるいは減少傾向が2~5群で給餌28日目以降に、クレアチニンの減少傾向が5群で給餌14日目以降に、Caの増加が2~5群で給餌56日目にみられたが、特殊配合飼料摂取との関連性及び原因は不明であった。

なお、ALAT、アミラーゼ、直接ビリルビン、総蛋白質及びClの統計学的に有意な低値、グルコース、無機リン、Na及びKの増加の統計学的に有意な高値が各特殊配合飼料群で散見されたが、特殊配合飼料における用量相関性がない変化、あるいは投与前値から著変のない変化であるため、偶発変化あるいは意義のない変化と考えられた。

5.7 剖検所見

心臓（右冠状動脈）の白色線条が3~5群の全例でみられ、大動脈の白色線条が3群の2例（Nos. 13, 15）、4及び5群の全例でみられ、脾臓の退色が3群の1例（Nos. 12）、4群の3例（Nos. 16, 19, 20）及び5群の全例でみられ、肝臓の退

色が3群の3例 (Nos. 12, 13, 15) , 4及び5群の全例でみられ, 副腎の退色が5群の4例 (Nos. 22~25) でみられた. これらは特殊配合飼料摂取に起因した変化と考えられた.

なお, 対照群の1例 (No.5) で脾臓の結節, 3群の1例 (No.14) で心のうとの癒着がみられたが特殊配合飼料における用量相関性がない変化であるため, 偶発変化と判断した.

突然死した対照群の No.4 では, 死因と考えられる変化はみられなかった.

5.8 器官重量 (絶対及び相対重量)

(Tables 6-1~6-8)

対照群と比較し, 副腎の絶対重量の統計学的に有意な高値及び相対重量の高値傾向が5群でみられた. 肝臓の絶対重量の統計学的に有意な高値が4及び5群で, 相対重量の統計学的に有意な高値が5群でみられ, 4群でも相対重量の高値傾向がみられた. また, 3群でも肝臓の絶対及び相対重量の高値傾向がみられた. 大網の絶対及び相対重量の統計学的に有意な高値が2, 3及び5群でみられ, 4群でも高値傾向がみられた. 腸間膜脂肪の絶対及び相対重量の統計学的に有意な高値が5群でみられ, 2~4群でも高値傾向がみられた. これらは特殊配合飼料摂取に起因した変化と考えられた.

なお, 精巣重量及び精巣上体の絶対重量, 副腎の相対重量の低値で対照群と比較し, 各特殊配合飼料群で有意差がみられたが, 特殊配合飼料における用量相関性がなく, 偶発変化と考えられた.

5.9 眼科的検査

4及び5群で異常はみられなかった.

なお, 2及び3群では実施しなかった.

6. 結論

平成23年度には高脂肪・高コレステロール食負荷で誘導される高脂血症と動脈硬化について, マウス, ウサギ, ヒトと比較をする基盤研究を行った. また, 頸動脈結紮モデルによる内膜肥厚モデルを作製した. 合計29頭のMMPを用いた実験で以下の知見が得られた.

- 1) 体重はコレステロール群で増加傾向が見られたが, 対照群と有意差はない.
- 2) 8週間の低濃度コレステロール (0.2%) 食負荷で, 持続的な高脂血症を再現した.

- 3) コレステロールの腸管吸収を促進するコール酸の添加は必要ない。
- 4) 上記条件で、血中の低比重コレステロールは約 150mg/dL に達し、ヒトの脂質異常症とほぼ同様のレベルであった。
- 5) コール酸添加群では、脂肪肝と肝機能障害が見られた。
- 6) 全身動脈にヒトと同様の粥状動脈硬化病変が見られた。大動脈においては、病変の程度がコレステロール濃度依存性に増加した。
- 7) 肝や小腸のコレステロール代謝関連遺伝子 (LDL 受容体、HMG-CoA 還元酵素、コレステロール運搬蛋白) の発現および負荷食に対する反応は、ヒトとほぼ同様であった。
- 8) 肝での apoB editing 酵素の発現は FMP では見られない。
- 9) 血清中の cholesteryl ester transfer protein の活性は、高脂肪・高コレステロール食負荷で上昇した。
- 10) Hepatic lipase 活性は 90%以上が肝内に見られ、循環血液中にはわずかであった。
- 11) 8 週間の実験で、心筋梗塞、脳梗塞の発症はなかった。
- 12) 大網重量の増加が見られ、内臓脂肪型の肥満を呈したと考えられた。
- 13) 普通食投与の MMP 4 頭において頸動脈結紮を施行したところ、一部の個体では内膜に血栓を伴う線維性肥厚が生じた。

以上、MMP の脂質代謝はヒトに非常に類似しており、高脂肪・高コレステロール食および動脈結紮に対する病態もヒトと同様の挙動を示すことが検証され、平成 23 年度の目標の大部分 (80%) を達成できたと考える。とくに、MMP がヒトと同様の高 LDL 動物であることの根拠を証明し得た。動脈硬化病変における酸化ストレス損傷の評価は報告書作製時には、未だ検討中であり、報告は次年度になる予定である。血管リング標本を用いた *ex vivo* の薬理学的実験については、今年度は実施できなかった。

7. 参考文献

- 1) Miyoshi N, Tanimoto A, Yoshida H, Kawaguchi H, *et al.* Novel Microminipig model of atherosclerosis by high fat and high cholesterol diet, established in Japan. *In Vivo*, 24: 671-80, 2010
- 2) Kawaguchi H, Miyoshi N, Tanimoto A, Yoshida H, *et al.* Microminipig, a non-rodent experimental animal optimized for life science research: novel atherosclerosis model induced by high fat and cholesterol diet. *J Pharmacol Sci*, 115: 115-21, 2011

P29 Table 1-1 Body weight (kg) in male microminipigs

Group	Animal No. \ Day	-1	0	7	14	21	28	35	42	49	56
1	1	6.9	6.9	7.1	7.4	7.9	8.3	9.1	9.6	10.1	10.5
	2	5.0	5.0	5.2	5.3	5.5	5.7	6.0	6.3	6.7	7.0
	3	5.3	5.2	5.4	5.6	5.9	6.2	6.5	6.8	7.1	7.3
	4	5.5	5.5	5.8	6.1						
	5	4.6	4.7	4.7	4.7	4.7	4.7	5.0	5.0	5.2	5.2
	Mean	5.46	5.46	5.64	5.82	6.00	6.23	6.65	6.93	7.28	7.50
	±S.D.	0.87	0.86	0.91	1.02	1.36	1.52	1.75	1.94	2.05	2.20
2	6	5.3	5.2	5.5	5.8	6.2	6.6	7.1	7.6	8.2	8.7
	7	5.0	5.0	5.4	5.7	6.1	6.6	7.1	7.5	8.1	8.8
	8	5.6	5.5	5.7	6.1	6.5	6.8	7.3	7.7	8.2	8.5
	9	5.0	5.2	5.3	5.7	6.0	6.5	6.9	7.2	7.7	8.3
	10	6.8	7.0	7.4	7.7	8.3	8.6	9.2	9.6	10.3	11.0
	Mean	5.54	5.58	5.86	6.20	6.62	7.02	7.52	7.92	8.50	9.06
	±S.D.	0.75	0.81	0.87	0.85	0.96	0.89	0.95	0.96	1.03	1.10
3	11	5.2	5.1	5.4	5.5	6.0	6.4	7.0	7.4	8.1	8.6
	12	5.5	5.6	5.8	6.1	6.7	6.9	7.3	7.7	8.3	9.0
	13	6.3	6.3	6.7	7.4	8.0	8.6	9.5	10.1	11.3	11.8
	14	7.4	7.4	7.9	8.4	8.9	9.3	10.1	10.7	11.5	12.5
	15	4.8	4.8	4.9	5.1	5.5	5.7	6.0	6.7	6.9	7.6
	Mean	5.84	5.84	6.14	6.50	7.02	7.38	7.98	8.52	9.22	9.90
	±S.D.	1.03	1.04	1.18	1.37	1.41	1.52	1.74	1.77	2.06	2.13
4	16	6.9	6.9	7.5	8.1	8.6	9.5	10.2	11.1	12.0	12.7
	17	5.3	5.3	5.6	6.0	6.5	6.9	7.6	8.0	8.6	9.4
	18	5.1	5.1	5.3	5.5	5.8	6.1	6.6	7.0	7.5	8.0
	19	4.8	4.8	5.1	5.3	5.6	6.0	6.4	6.9	7.4	7.8
	20	5.5	5.4	5.7	6.0	6.3	6.9	7.4	7.8	8.3	9.0
	Mean	5.52	5.50	5.84	6.18	6.56	7.08	7.64	8.16	8.76	9.38
	±S.D.	0.81	0.82	0.96	1.12	1.20	1.42	1.52	1.71	1.88	1.97

Not significantly different from control.

P30 Table 1-2 Body weight (kg) in male microminipigs

Group	Animal No. \ Day	-1	0	7	14	21	28	35	42	49	56
5	21	6.8	6.9	7.5	8.1	8.9	9.6	10.4	11.2	12.3	13.3
	22	5.2	5.3	5.5	6.1	6.3	6.6	6.9	7.1	7.3	7.7
	23	6.0	6.1	6.7	7.1	7.7	8.2	9.1	9.6	10.7	11.4
	24	5.2	5.2	5.5	5.7	6.2	6.4	6.9	7.3	8.1	8.5
	25	4.7	4.6	4.9	5.1	5.6	5.7	6.1	6.4	6.8	7.2
	Mean	5.58	5.62	6.02	6.42	6.94	7.30	7.88	8.32	9.04	9.62
	±S.D.	0.83	0.89	1.05	1.19	1.34	1.58	1.80	2.01	2.36	2.62

Not significantly different from control.

P31 Table 2-1 Blood pressure (mmHg) in male microminipigs

Group	Animal No. \ Day	Max.		Min.	
		Pre	53	Pre	53
1	1	94	69	53	47
	2	87	79	50	42
	3	116	90	63	40
	4	119		50	
	5	101	101	61	83
	Mean		103.4	84.8	55.4
	±S.D.	13.8	13.8	6.2	20.2
2	6	91	98	51	52
	7	115	116	63	59
	8	114	114	59	64
	9	98	112	66	70
	10	86	92	42	46
	Mean		100.8	106.4 *	56.2
	±S.D.	13.2	10.7	9.7	9.5
3	11	93	101	59	45
	12	91	95	56	46
	13	68	108	42	57
	14	97	74	67	41
	15	78	104	36	66
	Mean		85.4	96.4	52.0
	±S.D.	12.1	13.4	12.7	10.3
4	16	75	111	52	54
	17	74	95	44	59
	18	92	102	61	48
	19	83	67	40	32
	20	69	74	33	42
	Mean		78.6 **	89.8	46.0
	±S.D.	9.0	18.7	10.8	10.5

Notes) Max.: Systolic blood pressure Min.: Diastolic blood pressure
 * P<0.05, ** P<0.01: Significantly different from control.

P32 Table 2-2 Blood pressure (mmHg) in male microminipigs

Group	Animal No. \ Day	Max.		Min.	
		Pre	53	Pre	53
5	21	92	104	53	95
	22	95	79	72	52
	23	99	95	57	52
	24	103	87	65	41
	25	76	96	52	70
	Mean	93.0	92.2	59.8	62.0
	±S.D.	10.4	9.5	8.5	21.2

Notes) Max.: Systolic blood pressure Min.: Diastolic blood pressure

Not significantly different from control.

P33 Table 3-1 Heart rate (beats/min) in male microminipigs

Group	Animal No. \ Day	Pre	53
1	1	102	147
	2	98	71
	3	96	96
	4	77	
	5	130	106
	Mean	100.6	105.0
	±S.D.	19.0	31.6
2	6	142	85
	7	80	97
	8	82	98
	9	94	121
	10	91	102
	Mean	97.8	100.6
	±S.D.	25.4	13.0
3	11	98	76
	12	114	131
	13	100	117
	14	114	102
	15	120	125
	Mean	109.2	110.2
	±S.D.	9.7	22.0
4	16	94	110
	17	89	105
	18	102	131
	19	110	97
	20	99	108
	Mean	98.8	110.2
	±S.D.	8.0	12.6

Not significantly different from control.

P34 Table 3-2 Heart rate (beats/min) in male microminipigs

Group	Animal No. \ Day	Pre	53
5	21	117	163
	22	126	115
	23	77	90
	24	90	87
	25	126	99
	Mean	107.2	110.8
	±S.D.	22.4	31.1

Not significantly different from control.

P35 Table 4-1 Hematology in male microminipigs

Group	Animal No. \ Day	RBC (10 ⁶ /mm ³)					WBC (10 ³ /mm ³)				
		-6	14	28	42	56	-6	14	28	42	56
1	1	8.87	8.07	8.10	8.29	7.84	16.50	10.75	11.18	11.33	9.96
	2	8.21	6.40	7.20	7.23	7.36	18.89	16.22	14.71	9.87	9.89
	3	7.61	7.40	7.70	6.91	7.41	16.05	9.75	10.65	9.89	11.37
	4	8.39	6.96				14.16	13.46			
	5	9.64	6.73	7.33	7.50	8.26	12.44	11.69	8.21	11.05	6.91
	Mean ±S.D.		8.544 0.761	7.112 0.647	7.583 0.405	7.483 0.590	7.718 0.421	15.608 2.444	12.374 2.548	11.188 2.681	10.535 0.765
2	6	8.21	7.53	7.56	8.03	7.30	15.40	12.25	9.10	8.58	9.75
	7	7.70	7.48	8.46	7.87	8.50	12.31	17.24	8.75	11.21	11.48
	8	10.32	9.56	9.60	8.23	9.18	19.11	11.86	13.28	11.49	9.74
	9	9.24	8.31	9.06	9.06	9.46	21.24	14.44	12.16	12.29	10.33
	10	9.35	8.73	8.36	8.05	8.13	13.01	10.02	11.01	11.42	9.75
	Mean ±S.D.		8.964 1.028	8.322* 0.871	8.608* 0.770	8.248 0.472	8.514 0.860	16.214 3.867	13.162 2.769	10.860 1.944	10.998 1.413
3	11	8.41	7.40	8.21	7.67	7.62	16.38	16.10	13.88	11.79	11.66
	12	7.41	7.22	7.51	7.48	8.08	18.07	11.26	13.33	10.98	12.32
	13	8.16	6.91	7.38	7.05	7.36	12.96	14.86	13.66	10.16	12.85
	14	7.85	9.53	7.44	8.39	8.15	22.25	9.58	17.01	12.55	11.21
	15	8.89	4.13	7.59	7.70	7.00	15.92	17.74	10.47	10.94	18.02
	Mean ±S.D.		8.144 0.560	7.038 1.927	7.626 0.336	7.658 0.485	7.642 0.485	17.116 3.410	13.908 3.396	13.670 2.321	11.284 0.913
4	16	7.96	7.77	6.82	7.00	6.34	14.10	10.00	10.40	10.57	9.22
	17	9.55	8.25	8.28	8.09	7.88	14.77	11.93	11.13	9.87	12.20
	18	7.91	8.75	8.38	8.23	7.96	25.02	14.08	12.42	9.66	9.71
	19	8.40	6.79	6.70	6.38	6.61	14.22	12.38	11.54	8.96	8.75
	20	8.98	7.67	7.29	6.26	7.15	18.69	11.42	10.59	9.37	10.54
	Mean ±S.D.		8.560 0.701	7.846 0.730	7.494 0.795	7.192 0.929	7.188 0.730	17.360 4.681	11.962 1.484	11.216 0.809	9.686 0.601
5	21	9.85	10.27	9.03	9.15	8.30	21.85	17.17	14.77	15.38	13.64
	22	7.74	7.30	6.71	6.37	5.53	21.16	19.37	17.87	10.85	9.82
	23	9.64	8.24	8.07	8.11	7.65	15.65	12.92	16.00	12.07	11.46
	24	8.88	8.32	9.08	6.63	7.62	16.76	20.47	18.94	26.06	17.88
	25	9.10	7.67	6.98	6.90	6.53	12.73	11.11	10.71	12.59	9.41
	Mean ±S.D.		9.042 0.827	8.360 1.147	7.974 1.111	7.432 1.169	7.126 1.095	17.630 3.839	16.208 4.059	15.658 3.204	15.390 6.191

Notes) RBC : Erythrocyte count * P<0.05 : Significantly different from control.
WBC : Leukocyte count

P36 Table 4-2 Hematology in male microminipigs

Group	Animal No. \ Day	Ht (%)					Hb (g/dL)				
		-6	14	28	42	56	-6	14	28	42	56
1	1	43.1	41.6	43.4	46.1	42.5	14.0	13.4	14.0	14.8	14.0
	2	44.0	37.1	43.4	44.0	45.6	14.2	12.2	14.6	14.6	15.0
	3	41.0	44.1	46.9	43.2	47.1	13.3	14.0	15.3	14.5	15.1
	4	45.6	39.2				14.4	12.6			
	5	49.8	37.1	41.9	44.1	49.9	15.8	11.7	13.5	14.1	15.5
	Mean	44.70	39.82	43.90	44.35	46.28	14.34	12.78	14.35	14.50	14.90
	±S.D.	3.30	3.03	2.12	1.23	3.08	0.92	0.92	0.78	0.29	0.64
2	6	44.6	43.0	45.3	46.2	44.6	14.6	14.1	15.2	15.2	14.2
	7	44.0	45.3	54.1	50.7	56.7	14.4	15.1	18.1	16.8	17.9
	8	52.2	56.4	58.1	50.7	57.0	17.2	17.8	18.5	16.0	17.4
	9	46.3	46.0	52.1	53.6	57.5	15.6	14.7	17.4	17.5	18.4
	10	47.7	48.0	50.3	50.6	51.5	16.0	15.5	16.2	16.5	16.7
	Mean	46.96	47.74*	51.98*	50.36**	53.46	15.56	15.44**	17.08**	16.40**	16.92
	±S.D.	3.27	5.16	4.73	2.65	5.52	1.13	1.42	1.37	0.86	1.65
3	11	38.0	35.9	43.3	40.6	40.1	12.7	12.2	13.8	13.2	12.8
	12	38.5	40.7	43.7	44.0	48.6	12.4	13.3	13.9	14.3	15.1
	13	43.6	39.7	44.5	41.9	44.0	14.1	12.8	14.0	13.2	13.6
	14	40.4	56.0	45.2	54.1	51.5	13.7	18.1	13.8	16.3	15.8
	15	47.9	24.0	44.9	46.6	41.5	15.4	7.7	14.6	14.9	13.2
	Mean	41.68	39.26	44.32	45.44	45.14	13.66	12.82	14.02	14.38	14.10
	±S.D.	4.11	11.47	0.80	5.35	4.81	1.20	3.70	0.33	1.30	1.29
4	16	42.0	44.0	39.1	40.7	37.8	13.8	14.4	13.2	13.5	12.4
	17	48.1	43.7	46.2	46.8	46.4	15.5	14.3	15.3	15.3	14.7
	18	38.6	47.0	46.5	48.2	47.4	12.9	15.3	15.7	15.8	15.0
	19	41.3	34.5	36.3	36.9	39.8	13.7	11.9	12.3	11.9	12.6
	20	46.0	41.5	42.8	38.1	45.4	15.6	13.7	13.7	12.1	14.4
	Mean	43.20	42.14	42.18	42.14	43.36	14.30	13.92	14.04	13.72	13.82
	±S.D.	3.81	4.70	4.45	5.11	4.28	1.19	1.27	1.43	1.79	1.23
5	21	43.0	49.8	44.1	45.7	42.6	14.0	15.4	14.2	14.1	12.9
	22	39.7	40.2	36.5	34.3	30.6	13.0	13.4	12.8	12.0	10.8
	23	50.8	47.7	47.1	47.8	46.5	16.5	15.1	15.1	15.3	14.7
	24	45.6	45.5	54.2	39.2	48.7	14.7	14.6	17.2	12.7	14.9
	25	46.4	40.3	38.6	39.9	38.5	15.8	13.6	13.1	13.5	12.2
	Mean	45.10	44.70	44.10	41.38	41.38	14.80	14.42*	14.48	13.52	13.10
	±S.D.	4.12	4.34	7.05	5.41	7.17	1.39	0.89	1.77	1.27	1.73

Notes) Ht : Hematocrit value * P<0.05 : Significantly different from control.
Hb : Hemoglobin concentration

P37 Table 4-3 Hematology in male microminipigs

Group	Animal No. \ Day	Plat. ($10^3/\text{mm}^3$)					MCV (fL)				
		-6	14	28	42	56	-6	14	28	42	56
1	1	483	294	432	438	410	48.6	51.6	53.6	55.6	54.1
	2	450	317	324	365	402	53.6	58.0	60.3	60.9	62.0
	3	740	362	429	476	418	53.9	59.6	60.9	62.5	63.6
	4	367	387				54.3	56.2			
	5	416	371	400	409	326	51.6	55.1	57.2	58.8	60.4
	Mean	491.2	346.2	396.3	422.0	389.0	52.40	56.10	58.00	59.45	60.03
	±S.D.	145.6	39.1	50.3	46.9	42.5	2.37	3.05	3.35	2.98	4.16
2	6	358	342	407	515	615	54.3	57.0	59.9	57.5	61.1
	7	437	264	141	375	344	57.2	60.5	63.9	64.4	66.7
	8	374	265	244	226	202	50.5	59.0	60.5	61.6	62.0
	9	496	577	429	521	413	50.1	55.3	57.6	59.2	60.8
	10	313	373	334	355	388	51.0	55.0	60.1	62.8	63.4
	Mean	395.6	364.2	311.0	398.4	392.4	52.62	57.36	60.40	61.10	62.80
	±S.D.	71.6	128.2	119.4	123.3	148.8	3.05	2.37	2.26	2.77	2.40
3	11	509	424	633	475	518	45.1	48.5	52.7	53.0	52.6
	12	637	509	629	632	494	52.0	56.4	58.3	58.9	60.1
	13	521	454	598	663	560	53.5	57.4	60.2	59.5	59.7
	14	343	380	663	388	525	51.5	58.7	60.8	64.5	63.2
	15	396	219	376	437	414	53.9	58.1	59.2	60.5	59.3
	Mean	481.2	397.2	579.8*	519.0	502.2*	51.20	55.82	58.24	59.28	58.98
	±S.D.	115.1	110.1	116.2	121.8	54.7	3.55	4.18	3.24	4.13	3.89
4	16	377	345	347	400	368	52.8	56.6	57.4	58.2	59.7
	17	180	319	328	363	343	50.3	53.0	55.8	57.8	58.9
	18	413	326	459	508	415	48.8	53.7	55.5	58.6	59.6
	19	494	830	966	1077	1062	49.2	50.9	54.3	57.9	60.2
	20	333	351	381	366	363	51.2	54.2	58.7	60.8	63.5
	Mean	359.4	434.2	496.2	542.8	510.2	50.46	53.68	56.34	58.66	60.38
	±S.D.	116.4	221.6	267.4	304.4	309.6	1.61	2.06	1.72	1.24	1.80
5	21	540	420	833	637	639	43.7	48.5	48.9	49.9	51.3
	22	700	715	566	393	401	51.3	55.0	54.4	53.8	55.4
	23	227	364	534	460	507	52.7	57.8	58.4	58.9	60.8
	24	450	575	471	521	522	51.3	54.7	59.7	59.1	64.0
	25	272	544	629	597	645	51.0	52.6	55.2	57.9	59.0
	Mean	437.8	523.6*	606.6*	521.6	542.8*	50.00	53.72	55.32	55.92	58.10
	±S.D.	194.5	137.7	138.8	99.2	101.9	3.58	3.45	4.21	3.99	4.91

Notes) Plat. : Platelet count
 MCV : Mean corpuscular volume Not significantly different from control.

P38 Table 4-4 Hematology in male microminipigs

Group	Animal No. \ Day	MCH (pg)					MCHC (g/dL)				
		-6	14	28	42	56	-6	14	28	42	56
1	1	15.8	16.6	17.3	17.9	17.8	32.5	32.1	32.3	32.2	32.9
	2	17.3	19.0	20.3	20.2	20.5	32.2	32.8	33.7	33.1	33.0
	3	17.5	19.0	19.9	20.9	20.4	32.6	31.8	32.7	33.5	32.0
	4	17.2	18.1				31.6	32.2			
	5	16.4	17.3	18.4	18.8	18.7	31.7	31.4	32.2	31.9	31.0
	Mean	16.84	18.00	18.98	19.45	19.35	32.12	32.06	32.73	32.68	32.23
	±S.D.	0.72	1.06	1.38	1.35	1.32	0.45	0.52	0.68	0.75	0.93
2	6	17.7	18.7	20.2	18.9	19.4	32.7	32.7	33.7	32.9	31.8
	7	18.7	20.2	21.4	21.3	21.1	32.8	33.4	33.5	33.0	31.6
	8	16.6	18.6	19.3	19.5	19.0	32.9	31.5	31.9	31.7	30.6
	9	16.9	17.6	19.2	19.3	19.4	33.7	31.9	33.3	32.7	31.9
	10	17.1	17.8	19.4	20.5	20.6	33.5	32.3	32.3	32.6	32.4
	Mean	17.40	18.58	19.90	19.90	19.90	33.12**	32.36	32.94	32.58	31.66
	±S.D.	0.83	1.03	0.93	0.98	0.90	0.45	0.73	0.79	0.52	0.66
3	11	15.1	16.5	16.8	17.2	16.8	33.5	34.1	31.9	32.5	31.9
	12	16.7	18.5	18.5	19.1	18.7	32.2	32.8	31.7	32.4	31.1
	13	17.3	18.5	19.0	18.7	18.4	32.3	32.3	31.5	31.5	30.8
	14	17.5	19.0	18.6	19.5	19.4	33.9	32.3	30.6	30.2	30.7
	15	17.4	18.7	19.3	19.4	18.8	32.2	32.2	32.6	32.0	31.7
	Mean	16.80	18.24	18.44	18.78	18.42	32.82	32.74	31.66	31.72	31.24
	±S.D.	1.00	0.99	0.97	0.94	0.98	0.82	0.80	0.72	0.94	0.54
4	16	17.4	18.5	19.4	19.3	19.5	32.9	32.7	33.8	33.2	32.7
	17	16.3	17.4	18.5	18.9	18.6	32.3	32.8	33.2	32.7	31.7
	18	16.3	17.5	18.8	19.2	18.8	33.4	32.6	33.9	32.7	31.5
	19	16.3	17.5	18.3	18.6	19.1	33.2	34.4	33.7	32.1	31.7
	20	17.4	17.9	18.9	19.4	20.2	33.9	33.1	32.2	31.9	31.7
	Mean	16.74	17.76	18.78	19.08	19.24	33.14*	33.12*	33.36	32.52	31.86
	±S.D.	0.60	0.46	0.42	0.33	0.63	0.59	0.74	0.70	0.52	0.48
5	21	14.2	15.0	15.8	15.5	15.6	32.4	31.0	32.3	31.0	30.3
	22	16.8	18.4	19.0	18.9	19.5	32.7	33.4	35.0	35.0	35.1
	23	17.1	18.3	18.7	18.9	19.2	32.5	31.7	32.0	32.0	31.5
	24	16.6	17.5	18.9	19.2	19.5	32.4	32.0	31.7	32.5	30.5
	25	17.4	17.7	18.7	19.5	18.7	34.1	33.7	33.8	33.7	31.7
	Mean	16.42	17.38	18.22	18.40	18.50	32.82	32.36	32.96	32.84	31.82
	±S.D.	1.28	1.38	1.36	1.64	1.65	0.73	1.15	1.40	1.55	1.93

Notes) MCH : Mean corpuscular hemoglobin Not significantly different from control.
MCHC : Mean corpuscular hemoglobin concentration