

厚生労働科学研究費補助金  
(食品の安全確保推進研究事業)

分担研究報告書

モニリフォルミンの Maus 28 日間反復投与毒性試験

研究分担者 渋谷 淳 (東京農工大学大学院 農学研究院 動物生命科学部門)

研究要旨

日本国内流通食品に検出される新興カビ毒の安全性確保に関する研究の一端として、新興カビ毒の一つであるモニリフォルミン (MON) についての毒性情報を得るため、MON の Maus を用いた 28 日間反復経口投与毒性試験を実施した。最高用量を 40 mg/kg、公比 2、溶媒対照群を含む 4 用量群を設定し、一般状態観察、体重、摂餌・摂水量測定、投与期間終了後の血液・血液化学検査、剖検、病理組織学検査を実施した。投与 2 日目及び 3 日目には 40 mg/kg 群の 3 例に死亡が認められ、投与 28 日目には 40 mg/kg 群の体重及び摂餌量が高値を示した。計画剖検時には 20 mg/kg 以上群で腎臓の絶対重量、40 mg/kg 群の心臓、肝臓の絶対重量が高値を示し、病理組織学的検査では 40 mg/kg 群の腎臓皮質における再生尿細管と肝臓における肝細胞肥大が認められた。一方で、いずれの投与群においても心臓に明らかな病理組織学変化は認められなかった。以上より、MON は腎臓を毒性標的とする可能性が考えられた。10 mg/kg 群に MON の影響と考えられる変化は認められず、無毒性量は 10 mg/kg と判断された。今後は Maus における腎尿細管壊死の機序解明試験を実施する予定である。

## A. 研究目的

カビ毒はカビが感染した農作物中に生産され、歴史的にカビ毒に汚染された食品により、急性摂取による中毒症状や慢性的な摂取による臓器障害が引き起こされており、動物実験の実施により腫瘍誘発性が証明されるようになり、発がん性等の毒性が懸念されてきている。これまで厚生労働科学研究において、平成13年度より様々なカビ毒について日本に流通する食品における汚染実態や毒性に関する研究を行い、カビ毒に汚染された食品摂取の低減を目的とした施策策定の科学的根拠となるデータを取得し、食の安全性確保に貢献してきている。

近年、新興カビ毒と呼ばれる今まで垣間見られてこなかった一群の新たなカビ毒の存在が注目されてきている。発見は数十年前であり、当時は健康危害物質として認知されていなかったものの、近年の分析法の発展によって食品を汚染していることが明らかになってきたカビ毒の総称であり、国際的な関心が高まっている。モニリフォルミン (MON) は、新興カビ毒に分類される化合物で、平成29年に公表された欧州食品安全機関 (EFSA) の評価結果において、実験動物において致死毒性を示すこと、様々な穀類に検出されることが公表され、国際的な関心が高まっており、さらなる情報の収集が望まれている。

既存のマウスを用いた MON の毒性試験 (Burmeister ら、1980) では、単回経口投与毒性試験における LD<sub>50</sub> 値が 47.6 mg/kg (体重 20 g と仮定して約 1 mg/animal/day) であったのに対し、21 日間反復飲水投与毒性試験においては上記 LD<sub>50</sub> 値の約 3 倍の摂取量に相当する 2.9 mg/animal/day の飲水投与用量群においても、有意な体重増加量の減少が認められたのみであり、一貫した結果が

得られていない。そのため、EFSA による MON のリスク評価 (EFSA, 2018) においてもマウスの毒性情報は考慮されていない。

そこで本分担研究では、マウスを用いた MON の単回及び一般毒性試験を実施し、毒性兆候及び無毒性量等、リスク評価に必要な毒性情報を取得することを目的とした。昨年度は、28 日間反復毒性試験の用量設定のための予備検討として、マウスを用いた単回及び 14 日間反復投与試験を実施した。単回投与試験では LD<sub>50</sub> 値は 68.1 mg/kg と求められ、14 日間反復投与試験では、40 mg/kg を最高用量として設定した。単回投与試験では腎臓の皮質深部を中心とした近位尿細管の急性尿細管壊死が認められ、14 日間反復投与試験では再生尿細管が認められた。これらの結果を基に、今年度は 40 mg/kg を最高用量とし、公比 2 で 3 段階の用量の投与群構成とした 28 日間反復投与毒性試験を実施した。

## B. 研究方法

### 動物実験

5 週齢の雄マウス (ICR [CrI:CD1 (ICR)]) をジャクソン・ラボラトリー・ジャパン株式会社、厚木飼育センターより購入し、1 週間の馴化後実験に用いた。バリア動物室のプラスチックケージにて、12 時間の明暗サイクル、室温 23±3°C、湿度 50±20% の制御環境下で個別に飼育した。実験期間中は固形飼料 CRF-1 (γ線滅菌：オリエンタル酵母工業株式会社) と水道水を自由摂取させた。

MON を注射用水で調製した被験液を 0、10、20、40 mg/kg 体重の投与量でそれぞれ 6 週齢 ICR [CrI:CD1 (ICR)] マウス (雄 10 匹/群) に 28 日間反復経口投与した。投与期間中は一般状態の観察及び体重、摂餌・摂

水量の測定を実施した。投与期間終了後、剖検時に血液を採取し、血液学検査と血液生化学検査を実施した。剖検では外表及び全ての器官、組織を詳細に観察した。所定の臓器を採取し重量測定後、固定し、パラフィン包埋した。死亡例については発見後速やかに剖検を実施したが、採血及び臓器重量の測定は行わなかった。各臓器のヘマトキシリン・エオジン（H・E）染色標本作製し、鏡検した。

### 一般状態の観察

投与期間中は投与前、投与直後及び 1~3 時間後の間に、剖検日は動物搬出前に 1 回実施した。全動物について、体外表、栄養状態、姿勢、行動及び排泄物の異常などの一般状態を観察した。

### 体重測定

投与期間中は投与 1、4 及び 7 日、以降は 7 日ごとに毎週 1 回、剖検日は動物搬出前に実施した。全動物について 07:00~12:30 の間に測定した。剖検日には相対器官重量算出のため、体重（非絶食）を測定した。

### 摂餌量測定

投与 1、4 及び 7 日、以降は 7 日ごとに毎週 1 回実施した。全動物について 07:00~12:30 の間に給餌量/残餌量を測定した。投与開始日の測定は前日からの 1 日量、投与 4 及び 7 日は 3 日間の累積摂取量、その後は 7 日ごとに 7 日間の累積摂取量に基づいて、1 匹当たりの 1 日摂餌量を算出した。

### 摂水量測定

投与 1、4 及び 7 日、以降は 7 日ごとに毎週 1 回実施した。全動物について 07:00~12:30 の間に給水瓶を用いて重量法で測定した。前日

からの 1 日摂水量に基づいて 1 匹当たりの 1 日摂水量を算出した。

### 血液学検査

計画剖検時に、全動物（非絶食）をイソフルラン麻酔下で開腹し、ヘパリンナトリウムで処理したシリンジを用いて後大静脈から全採血し、一部（約 0.3 mL）を EDTA-2K 加採血瓶（BD マイクロティナ MAP：日本ベクトン・ディッキンソン株式会社）に採取した。

### 血液生化学検査

血液学検査用試料の採取後に残った血液（約 0.4 mL）をヘパリン加試験管（キャピジェクト II ヘパリンリチウム：テルモ株式会社）に移し、遠心分離（3,100 rpm、1,690 ×g、12 分間）した。

### 剖検、器官重量測定

全ての動物を採血後腹大動脈切断により放血致死させ、外表及び全ての器官/組織を詳細に観察した。Table 1 に示す器官の重量（絶対重量）を測定するとともに、剖検時の体重から体重 100 g 当たりの相対重量を算出した。両側性の器官については左右別々に測定し、その合計値で評価した。

### 病理組織学検査

全ての動物について、Table 1 に示した対象器官/組織をリン酸緩衝 10%ホルマリン液で固定した。ただし、眼球及び視神経はリン酸緩衝 3%グルタルアルデヒド・2.5%ホルマリン液で固定、精巣及び精巣上体はブアン液で固定後、リン酸緩衝 10%ホルマリン液で保存した。全ての動物の検査対象器官/組織についてパラフィン包埋し、H・E 染色標本作製した。作製した全ての H・E 染色

標本について鏡検を実施した。

## 統計解析

計量データ（体重/体重増加量、摂餌量、摂水量、血液学検査、血液化学検査及び器官重量）について溶媒対照群と各被験物質投与群との間で検定を行った。Levene 検定で等分散性を確認した後、Dunnnett の検定あるいは Bonferroni 補正を用いた Aspin-Welch の *t* 検定を行った。病理組織学変化については Fisher の正確確率検定と Mann-Whitney の *U* 検定を実施した。統計解析には IBM SPSS Statistics ver. 29 (IBM Corporation) を用いた。

### （倫理面への配慮）

動物実験は「動物の愛護及び管理に関する法律」（昭和48年10月1日法律第105号）、「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」（平成18年4月28日環境省告示第88号）、「動物実験の適正な実施に向けたガイドライン」（日本学術会議、平成18年6月1日）に従い動物福祉に考慮し実施された。また、社内動物実験委員会の承認後、各標準操作手順書に則って適切に実施された。

## C. 研究結果

### 一般状態の観察

投与2日目に高用量群の3例に自発運動の減少がみられ、うち2動物は同日に、1動物は投与3日目に死亡した。また、投与3日目に高用量群の1例に自発運動の減少がみられた。

### 体重の変化

投与28日目の高用量群に対照群と比較し高値がみられた（Table 2）。

### 摂餌量の変化

投与28日目の高用量群に対照群と比較し高値がみられた（Table 2）。

### 摂水量の変化

いずれの群においても投与期間中の摂水量に顕著な変化は認められなかった（Table 2）。

### 血液学検査

中間用量群において、hemoglobin が対照群と比較し低値を示し、red blood cell distribution width が対照群と比較し高値を示した（Table 3）。

### 血液化学検査

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（Table 4）。

### 剖検（肉眼所見）

剖検時の肉眼所見に明らかな変化は認められなかった。

### 器官重量

中間用量群の脾臓絶対重量が対照群と比較し高値を示した。高用量群の心臓及び肝臓が対照群と比較し高値を示した。中間用量群及び高用量群の腎臓絶対重量が対照群と比較し高値を示した（Table 5）。

### 病理組織学検査結果

腎臓に被験物質の投与に起因すると考えられる変化が認められた（Table 6）。すなわち、40 mg/kg 投与群で皮質深部を中心に再生尿細管が認められ、その発生率と重症度が有意な増加を示した。また、40 mg/kg 投与群の1例で皮質深部に近位尿細管の壊死が認められた。40 mg/kg 投与群では肝臓

に小葉中心性の肝細胞肥大が認められ、severity が有意な増加を示した。死亡例では、右心房及び右心室における内腔の拡張と壁の菲薄化、腎臓皮質全域における尿細管壊死が確認された。

#### D. 考察

昨年度の結果を基に、最高用量 40 mg/kg、公比 2 で 3 段階の用量の投与群構成とした 28 日間反復投与毒性試験を実施した。MON 投与の影響と考えられる変化として、20 mg/kg 群以上で腎臓絶対重量が高値を示し、40 mg/kg 群で腎臓皮質に再生尿細管が認められた。昨年度に実施した MON の単回投与試験では腎臓皮質に急性尿細管壊死が認められており、本試験における再生尿細管はこれに対する反応性変化と考えられた。また、40 mg/kg 群で肝臓絶対重量が高値を示した。病理組織学検査では小葉中心性の肝細胞肥大が認められており、MON を代謝ないし解毒するための適応反応と考えられた。40 mg/kg 群では、心臓絶対重量が高値を示した。ラットを用いた MON の 12 週間反復混餌投与試験 (Kriek ら、1977) では、混餌濃度 2% (約 17 mg/kg 相当) 以上の投与量で、心筋の変性・壊死・線維化が認められたことが報告されているが、マウスを用いた本試験において心臓の病理組織学変化は認められなかった。以上より、マウスにおいて MON は腎臓を毒性標的とする可能性が示唆された。20 mg/kg 群においては腎臓に統計学的に有意な発生率と重症度を示す病理組織学変化は認められなかったが、絶対重量の高値が認められており、本試験の条件下における無毒性量は 10 mg/kg と判断された。MON の腎毒性が投与後の全身性ショック時の有効循環血量の低下に起因するのか、あるいは、腎尿細管における MON 代謝の際

生じる活性中間代謝産物等の毒性に起因するのかについては、今後検討が必要と考えられた。

#### E. 健康危機情報

特になし

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Ojiro, R., Okano, H., Ozawa, S., Yamagata, H., Zou, X., Tang, Q., Jin, M., Sasaki, K., Yoshida, T., Yoshinari, T., Shibutani, M.: Pharmacokinetics and 28-day repeated-dose toxicity of enniatin B after oral administration in mice. Food Chem. Toxicol. 177:113814, 2023.

##### 2. 学会発表

1. 尾城椋太、岡野 拓、小澤俊介、高嶋和巳、高橋康徳、唐 倩、鄒 昕羽、吉田敏則、吉成知也、渋谷 淳：新興カビ毒エンニアチン B のマウスにおける薬物動態と 28 日間反復投与による一般毒性について。第 10 回アジア獣医病理学会／第 10 回日本獣医病理学専門家協会合同学術集会。東京 (ハイブリッド開催)、第 10 回アジア獣医病理学会／第 10 回日本獣医病理学専門家協会合同学術集会講演要旨集：PC-15, pp.85, 3 月 29 日-31 日, 2023 (オンライン)。

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

該当なし

##### 2. 実用新案登録

該当なし

##### 3. その他

該当なし

Table 1 病理学検査対象器官/組織

組 織	H・E 標本作製	重量測定
大脳	√	√ (脳として)
小脳	√	
脊髄 (胸部)	√	
坐骨神経	√*	
眼球	√	
視神経	√	
ハーダー腺	√	
下垂体	√	
甲状腺	√	
上皮小体	√*#	
副腎	√	
胸腺	√	√
脾臓	√	√
顎下リンパ節	√*	
腸間膜リンパ節	√	
心臓	√	√
胸大動脈	√	
気管	√	
肺 (気管支を含む)	√	√
舌	√	
食道	√	
胃	√	
十二指腸	√	
空腸	√	
回腸 (パイエル板を含む)	√	
盲腸	√	
結腸	√	
直腸	√	
顎下腺	√	
舌下腺	√	
肝臓	√	√ (肝臓として)
胆嚢	√	
膵臓	√	
腎臓	√	√
膀胱	√	
精巣	√	√
精巣上部	√	√
前立腺	√	
精嚢 (凝固腺を含む)	√	
胸骨 (骨髄を含む)	√	
大腿骨 (膝関節及び骨髄を含む)	√*	
大腿部骨格筋	√*	
皮膚 (鼠径部)	√*	

組 織	H・E 標本作製	重量測定
肉眼的異常部位	√	
喉頭		(保存のみ)
鼻腔		(保存のみ)
個体識別部 (耳標を装着した耳介)		(保存のみ)

各項目該当ある場合は√で示す。

\*：両側を摘出し、片側を標本作製する（他の両側性器官は両側を鏡検）。

#：上皮小体は微小な器官であるため両側の標本作製を試みる。各群 80%以上の動物で片側（左を優先）の鏡検が可能と判断される場合、標本の再作製は行わない。

Table 2

Changes in body weight and food and water consumption during the administration period of the 28-day dosing study of moniliformin in CD1 (ICR) male mice

No. of animals examined	Dose of moniliformin (mg/kg/day)			
	0 (controls)	10	20	40
	10	10	10	7 or 10
<b>Body weight (g)</b>				
Day 1	30.9 ± 1.3 <sup>a</sup>	31.0 ± 1.7	31.0 ± 1.9	31.1 ± 1.7
Day 4	31.2 ± 1.6	31.0 ± 1.6	31.3 ± 2.0	31.4 ± 1.7
Day 7	31.7 ± 1.6	31.5 ± 1.7	31.9 ± 2.3	32.1 ± 2.0
Day 14	32.3 ± 1.9	32.4 ± 1.9	33.2 ± 2.5	33.5 ± 2.1
Day 21	32.8 ± 2.2	32.9 ± 2.0	33.9 ± 2.3	34.8 ± 2.4
Day 28	33.7 ± 2.3	33.8 ± 2.0	35.3 ± 2.3	36.5 ± 2.4*
<b>Food consumption (g/animal/day)</b>				
Day 1	5.1 ± 0.7	5.2 ± 0.5	5.0 ± 0.4	5.5 ± 0.5
Day 4	4.7 ± 0.5	4.7 ± 0.4	4.6 ± 0.4	4.6 ± 0.3
Day 7	4.9 ± 0.5	4.6 ± 0.3	4.7 ± 0.4	4.9 ± 0.6
Day 14	4.6 ± 0.3	4.5 ± 0.4	4.7 ± 0.5	4.9 ± 0.7
Day 21	4.4 ± 0.4	4.2 ± 0.3	4.5 ± 0.6	4.8 ± 0.6
Day 28	4.5 ± 0.3	4.4 ± 0.2	4.7 ± 0.5	5.1 ± 0.6*
<b>Water consumption (mL/animal/day)</b>				
Day 1	8.0 ± 1.8	7.7 ± 1.2	7.7 ± 1.3	7.6 ± 1.1
Day 4	6.8 ± 1.3	6.9 ± 1.2	7.2 ± 1.5	8.3 ± 1.0
Day 7	6.5 ± 1.1	6.7 ± 1.0	6.9 ± 0.9	7.5 ± 0.6
Day 14	6.5 ± 0.8	6.4 ± 1.2	7.3 ± 0.9	7.7 ± 1.1
Day 21	6.7 ± 1.2	6.3 ± 0.8	6.9 ± 0.9	7.8 ± 2.2
Day 28	6.1 ± 1.2	6.4 ± 1.0	6.6 ± 0.9	7.3 ± 0.8

<sup>a</sup> Mean ± SD.

\* $P < 0.05$ , compared with the vehicle controls by Dunnett's test or Aspin–Welch's  $t$ -test with Bonferroni correction.

Table 3  
Hematological data at the end of repeated administration of moniliformin for 28 days in CD1 (ICR) male mice

No. of animals examined	Dose of moniliformin (mg/kg/day)			
	0 (controls)	10	20	40
	10	10	10	7
RBC ( $10^4/\mu\text{L}$ )	936.0 $\pm$ 35.0 <sup>a</sup>	941.0 $\pm$ 45.0	912.0 $\pm$ 76.0	898.0 $\pm$ 23.0
Hemoglobin (g/dL)	14.3 $\pm$ 0.4	14.2 $\pm$ 0.8	13.5 $\pm$ 1.0*	13.9 $\pm$ 0.5
Hematocrit (%)	46.9 $\pm$ 1.2	46.8 $\pm$ 2.1	44.8 $\pm$ 2.8	45.3 $\pm$ 1.5
MCV (fL)	50.1 $\pm$ 1.6	49.7 $\pm$ 1.2	49.3 $\pm$ 2.3	50.5 $\pm$ 1.2
MCH (pg)	15.3 $\pm$ 0.6	15.1 $\pm$ 0.4	14.9 $\pm$ 0.9	15.5 $\pm$ 0.4
MCHC (g/dL)	30.6 $\pm$ 0.5	30.3 $\pm$ 0.6	30.1 $\pm$ 0.6	30.6 $\pm$ 0.3
RDW (%)	12.5 $\pm$ 0.4	12.5 $\pm$ 0.5	13.3 $\pm$ 0.7**	12.9 $\pm$ 0.5
Reticulocytes ( $10^9/\text{L}$ )	309.9 $\pm$ 28.5	315.8 $\pm$ 24.3	339.5 $\pm$ 39.1	346.8 $\pm$ 38.2
Platelets ( $10^4/\mu\text{L}$ )	119.7 $\pm$ 12.0	112.5 $\pm$ 12.1	114.9 $\pm$ 13.6	115.9 $\pm$ 9.3
WBC ( $10^2/\mu\text{L}$ )	48.6 $\pm$ 15.1	49.0 $\pm$ 17.1	46.6 $\pm$ 22.7	53.7 $\pm$ 14.4
Differential leukocyte counts ( $10^2/\mu\text{L}$ )				
Lymphocytes	39.2 $\pm$ 12.5	41.0 $\pm$ 15.6	35.8 $\pm$ 17.8	44.2 $\pm$ 13.4
Neutrophils	7.5 $\pm$ 2.9	5.9 $\pm$ 1.6	8.3 $\pm$ 5.2	6.9 $\pm$ 1.4
Eosinophils	1.0 $\pm$ 0.4	1.1 $\pm$ 0.5	1.1 $\pm$ 0.4	1.3 $\pm$ 0.4
Basophils	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.1	0.0 $\pm$ 0.0	0.1 $\pm$ 0.1
Monocytes	0.8 $\pm$ 0.5	0.8 $\pm$ 0.3	1.0 $\pm$ 0.7	0.9 $\pm$ 0.4
Large unstained cells	0.2 $\pm$ 0.1	0.2 $\pm$ 0.2	0.2 $\pm$ 0.2	0.2 $\pm$ 0.2

Abbreviations: MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; MCV, mean corpuscular volume; RBC, red blood cell count; RDW, red blood cell distribution width; WBC, white blood cell count.

<sup>a</sup> Mean  $\pm$  SD.

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , compared with the vehicle controls by Dunnett's test or Aspin-Welch's  $t$ -test with Bonferroni correction.

Table 4

Blood biochemistry data at the end of repeated administration of moniliformin for 28 days in CD1 (ICR) male mice

No. of animals examined	Dose of moniliformin (mg/kg/day)			
	0 (controls)	10	20	40
	10	10	10	7
AST (IU/L)	42.0 ± 5.0 <sup>a</sup>	38.0 ± 5.0	42.0 ± 10.0	38.0 ± 4.0
ALT (IU/L)	28.0 ± 3.0	25.0 ± 3.0	30.0 ± 17.0	26.0 ± 4.0
LDH (IU/L)	166.0 ± 47.0	159.0 ± 42.0	186.0 ± 61.0	166.0 ± 70.0
ALP (IU/L)	229.0 ± 44.0	213 ± 47.0	222.0 ± 27.0	212.0 ± 43.0
Triglyceride (mg/dL)	114.0 ± 13.0	112.0 ± 35.0	90.0 ± 24.0	91.0 ± 27.0
Glucose (mg/dL)	220.0 ± 39.0	216.0 ± 22.0	214.0 ± 22.0	211.0 ± 22.0
BUN (mg/dL)	23.0 ± 3.0	23.0 ± 4.0	24.0 ± 3.0	21.0 ± 4.0
Creatinine (mg/dL)	0.12 ± 0.02	0.11 ± 0.02	0.11 ± 0.02	0.12 ± 0.01
Total protein (g/dL)	4.9 ± 0.3	4.8 ± 0.2	4.8 ± 0.2	4.7 ± 0.1
Albumin (g/dL)	3.3 ± 0.2	3.3 ± 0.2	3.2 ± 0.1	3.1 ± 0.1
A/G ratio	2.0 ± 0.2	2.2 ± 0.2	2.0 ± 0.2	2.0 ± 0.1

Abbreviations: A/G, albumin/globulin; ALP, alkaline phosphatase; ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase; BUN, blood urea nitrogen; LDH, lactate dehydrogenase.

<sup>a</sup> Mean ± SD.

Table 5

Organ weight data at the necropsy after repeated administration of moniliformin for 28 days in CD1 (ICR) male mice

No. of animals examined		Dose of moniliformin (mg/kg/day)			
		0 (controls)	10	20	40
		10	10	10	7
Body weight	(g)	34.1 ± 2.4 <sup>a</sup>	34.4 ± 2.0	35.7 ± 2.5	36.8 ± 2.5
Brain	AB (mg)	494.0 ± 24.0	475.0 ± 22.0	490.0 ± 18.0	502.0 ± 20.0
	RE (%)	1.45 ± 0.09	1.39 ± 0.11	1.38 ± 0.08	1.37 ± 0.06
Thymus	AB (mg)	41.0 ± 10.0	39.0 ± 8.0	38.0 ± 12.0	42.0 ± 8.0
	RE (%)	0.12 ± 0.03	0.11 ± 0.02	0.11 ± 0.03	0.11 ± 0.03
Spleen	AB (mg)	83.0 ± 16.0	87.0 ± 16.0	101.0 ± 14.0*	101.0 ± 11.0
	RE (%)	0.24 ± 0.04	0.25 ± 0.05	0.28 ± 0.04	0.28 ± 0.04
Heart	AB (mg)	152.0 ± 11.0	147.0 ± 11.0	156.0 ± 11.0	167.0 ± 10.0*
	RE (%)	0.45 ± 0.03	0.43 ± 0.03	0.44 ± 0.01	0.46 ± 0.03
Lung	AB (mg)	173.0 ± 19.0	174.0 ± 8.0	183.0 ± 13.0	180.0 ± 12.0
	RE (%)	0.51 ± 0.04	0.51 ± 0.02	0.51 ± 0.02	0.49 ± 0.03
Liver	AB (g)	1.82 ± 0.17	1.93 ± 0.12	1.99 ± 0.15	2.08 ± 0.22**
	RE (%)	5.34 ± 0.31	5.61 ± 0.35	5.58 ± 0.22	5.64 ± 0.30
Kidney	AB (mg)	468.0 ± 50.0	510.0 ± 45.0	541.0 ± 72.0*	555.0 ± 91.0*
	RE (%)	1.38 ± 0.15	1.48 ± 0.05	1.51 ± 0.11	1.50 ± 0.16
Testis	AB (mg)	226.0 ± 40.0	249.0 ± 30.0	233.0 ± 70.0	206.0 ± 46.0
	RE (%)	0.66 ± 0.09	0.73 ± 0.09	0.65 ± 0.19	0.56 ± 0.11
Epididymis	AB (mg)	88.0 ± 8.0	91.0 ± 5.0	92.0 ± 17.0	90.0 ± 12.0
	RE (%)	0.26 ± 0.01	0.27 ± 0.02	0.26 ± 0.05	0.25 ± 0.02

Abbreviation: AB, absolute weight; RE, Relative weight by body weight.

<sup>a</sup> Mean ± SD.

\**P* < 0.05, compared with the vehicle controls by Dunnett's test or Aspin–Welch's *t*-test with Bonferroni correction.

Table 6

Histopathological data after repeated administration of moniliformin for 28 days in CD1 (ICR) male mice

End of administration	No. of animals examined	Dose of moniliformin (mg/kg/day)			
		0 (controls)	10	20	40
Kidney		10	10	10	7
Necrosis, proximal tubule		0 <sup>a</sup>	0	0	1
minimal		0	0	0	1
Regeneration, tubule		2	2	3	6*
minimal		2	2	3	2 ##
mild		0	0	0	4
Infiltrate, mononuclear cell		0	0	1	2
minimal		0	0	1	2
Cast, hyaline		0	0	0	1
minimal		0	0	0	1
Vacuolation, tubule		0	0	0	1
moderate		0	0	0	1
Dilatation, tubule		1	0	1	0
minimal		1	0	1	0
Heart					
Infiltrate, mononuclear cell		0	0	0	1
minimal		0	0	0	1
Liver					
Hypertrophy, hepatocyte		0	0	0	3
minimal		0	0	0	2 #
mild		0	0	0	1
Infiltrate, mixed inflammatory cell		1	0	0	0
minimal		1	0	0	0
Infiltrate, mononuclear cell		0	0	1	0
minimal		0	0	1	0
Glandular stomach					
Dilatation, gland		0	0	1	0
minimal		0	0	1	0

<sup>a</sup> The number of animals with findings.\* $P < 0.05$ , significantly different from the vehicle controls by Fisher's exact test.# $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$ , significantly different from the vehicle controls by Mann-Whitney's  $U$  test.

Criterion of the lesions were selected from minimal, mild, moderate, or severe.