

## オレンジ色素の F344 ラットを用いた 13 週間亜慢性毒性試験

宮内 慎・古川文夫\*・西川秋佳・中村英明・今沢孝喜・広瀬雅雄

## A 13-week Subchronic Oral Toxicity Study of Orange Color in F344 Rats

Makoto Miyauchi, Fumio Furukawa\*, Akiyoshi Nishikawa, Hideaki Nakamura, Takayoshi Imazawa and Masao Hirose

A 13-week subchronic toxicity study of orange color was performed in both sexes of F344 rats by feeding them a CRF-1 powder diet containing 0%, 0.18%, 0.55%, 1.66%, and 5% concentrations of the substance. No animals died during the administration period, and no changes in body weight or food intake were found in any of the dosage groups. There were significant increases in serum cholesterol in males given 1.66% or higher concentrations of orange color and in females given 0.55% or higher concentrations, and significant increases in alkaline phosphatase in males given 1.66% or higher concentrations, possibly due to the high-fat composition of the orange color diets. In addition, some hematological, serum biochemical, and histopathological changes were observed in the groups given greater than 0.55% concentrations, but they did not suggest obvious toxicity. These findings indicate that under these experimental conditions the no-observed-effect level (NOEL) of orange color in the diet for 13 weeks is 0.18% and the no-observed-adverse-effect level (NOAEL) is 5%.

Keywords: orange color, F344 rat, subchronic toxicity study, food additive

## はじめに

オレンジ色素はミカン科アマダイダイ (*Citrus sinensis*) の果実もしくは果皮より搾汁したもの、又は加熱時にエタノール、ヘキサンもしくはアセトンで抽出し、溶媒を除去して得られたものである。主色素はキサントフィル及びカロテン、性状は暗赤色のやや粘調な液体で、特有のにおいがある<sup>1)</sup>。用途としては菓子類、冷菓、柑橘系飲料の着色料として用いられている<sup>2)</sup>。この色素は黄色系色素として初めて果実色素と表示できるようになった色素であり、ブドウ果汁色素等の赤色の果実色素と組み合わせて、果汁色素表示で幅広い色調を作出できる<sup>3)</sup>。しかし、これまでにオレンジ色素の毒性評価に関する報告はない。今回、ラットを用いてオレンジ色素の安全性評価の一環として 13 週間の亜慢性毒性試験を実施した。

## 実験材料及び方法

## 1. 動物ならびに飼育条件

5 週齢の F344 ラット雌雄各 50 匹を日本チャールス・リ

バー (株) より購入し、約 1 週間の馴化飼育の後、雌雄とも各群 10 匹ずつ 5 群に配した。動物の飼育はバリヤーステムの動物室にて行い、室内の環境条件は温度 24±1 °C、湿度 55±5 %、換気回数 18 回/時間、12 時間蛍光灯照明、12 時間消灯の条件下で行った。動物は、ポリカーボネート製箱型ケージに 5 匹ずつ収容し、床敷は三協ラボサービス (株) のソフトチップを用い、週 2 回交換した。また、飲料水として水道水を自由に摂取させた。

## 2. 被験物質ならびに投与量

オレンジ色素は原体として三栄源エフ・エフ・アイ (株) から供与を受けた (Lot No. 97.10.28)。実験に使用したオレンジ色素は、オレンジ果皮より得たオレンジ油を減圧濃縮したものであり、脂質を 97.1 % 含有する。既に実施した予備試験の結果に基づき、最高用量を 5 % とし、公比 3 で除して以下の用量を 1.66, 0.55, 0.18 % に設定した。それぞれ CRF-1 粉末飼料 (日本チャールス・リバー社) に混じて 13 週間自由に摂取させ、また対照群には粉末飼料のみを同様に摂取させた。なお、安定性試験の結果、0.04 % のオレンジ色素を 5 °C で 28 日間保存したときでも 90 % の色価が残存していたことから、混合飼料は隔週ごとに作製し、使用時まで 4 °C、遮光下で保存した。

## 3. 観察ならびに検索方法

投与期間中、一般状態の観察を連日実施し、体重及び摂餌量は毎週 1 回測定した。動物は、剖検日前日より一晩絶

\* To whom correspondence should be addressed: Fumio Furukawa; Division of Pathology, 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: 03-3700-9819; Fax: 03-3700-1425; E-mail: furukawa@nihs.go.jp

食させ、翌日エーテル麻酔下で腹部大動脈から採血後、剖検した。

血液学的検査は、自動血球計数装置 (Sysmex M-2000, シスメックス社) を用いて、白血球数 (WBC), 赤血球数 (RBC), ヘモグロビン量 (Hb), ヘマトクリット値 (Ht), 平均赤血球容積 (MCV), 平均赤血球血色素量 (MCH), 平均赤血球血色素濃度 (MCHC) 及び血小板数 (PLT) について測定した。

血清生化学的検査は、分離した血清を凍結後、総蛋白 (TP), アルブミン・グロブリン比 (A/G), アルブミン (Alb), 総ビリルビン (T.Bil), トリグリセリド (TG), 総コレステロール (T.Cho), 尿素窒素 (BUN), クレアチニン (CRN), ナトリウム (Na), 塩素 (Cl), カリウム (K), カルシウム (Ca), 無機リン (P), アスパラギン酸トランスアミナーゼ (AsT), アラニントランスアミナーゼ (AIT), アルカリフォスファターゼ (ALP) 及び $\gamma$ -グルタミルトランスアミナーゼ ( $\gamma$ -GT) について SRL 社に依頼し測定した。

諸臓器は肉眼的に観察後摘出し、脳、胸腺、肺、心臓、脾臓、肝臓、副腎、腎臓及び精巣の重量を測定した。上記の臓器に加え、鼻腔を含む頭蓋、下垂体、眼球、ハーダー腺、脊髄、唾液腺、胃、小腸、大腸、膵臓、膀胱、皮膚、乳腺、リンパ節、気管、食道、甲状腺、舌、大腿筋、坐骨神経、精巣上体、精囊、前立腺、子宮、卵巣及び膈を 10 % 中性緩衝ホルマリン液にて固定した。なお、精巣は対照群及び最高用量群各 5 匹 (番号の小さいものから) をブアン液にて固定した。病理組織学的検索は、雌雄の各 5 % 群

と対照群のみ実施した<sup>4)</sup>。臓器は常法に従い、パラフィン包埋後、薄切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施した。なお、精巣に関しては PAS 染色を施した。

#### 4. 統計学的処理法<sup>5)</sup>

血液学的検査、血清生化学的検査及び臓器の相対重量については、各群の分散比を Bartlett の方法で検定し、等分散の場合は一元配置分散分析を行い、不等分散の場合は Kruskal-Wallis の方法により検定を行った。群間に有意差が認められた場合の多重比較は Dunnett の方法で対照群と各被験物質投与群との間で有意差検定を行った。

## 結 果

### 1. 一般状態及び死亡動物

投与期間中の死亡動物は認められず、いずれの動物においても一般状態の異常は認められなかった。なお、1.66 % 以上の群の糞色は黄褐色を呈した。

### 2. 体重及び摂餌量

試験期間中の各群の体重推移を Fig. 1 に示した。雌雄とも被験物質投与群と対照群との間に差は認められなかった。摂餌量を Table 1 に示した。雌雄とも投与期間を通じて対照群とはほぼ同様な推移を示した。1 日当たりの平均摂餌量は、雄において約 14 g, 雌で約 9 g であり、摂餌量の減少は認められなかった。オレンジ色素の 13 週間の総摂取量は、雄では 5 % 群で 64.3 g, 1.66 % 群で 21.0 g, 0.55 % 群で 7.1 g, 0.18 % 群で 2.3 g, 雌では 5 % 群で 39.9 g, 1.66 % 群で 13.6 g, 0.55 % 群で 4.5 g, 0.18 % 群で 1.5 g であり、雌雄とも

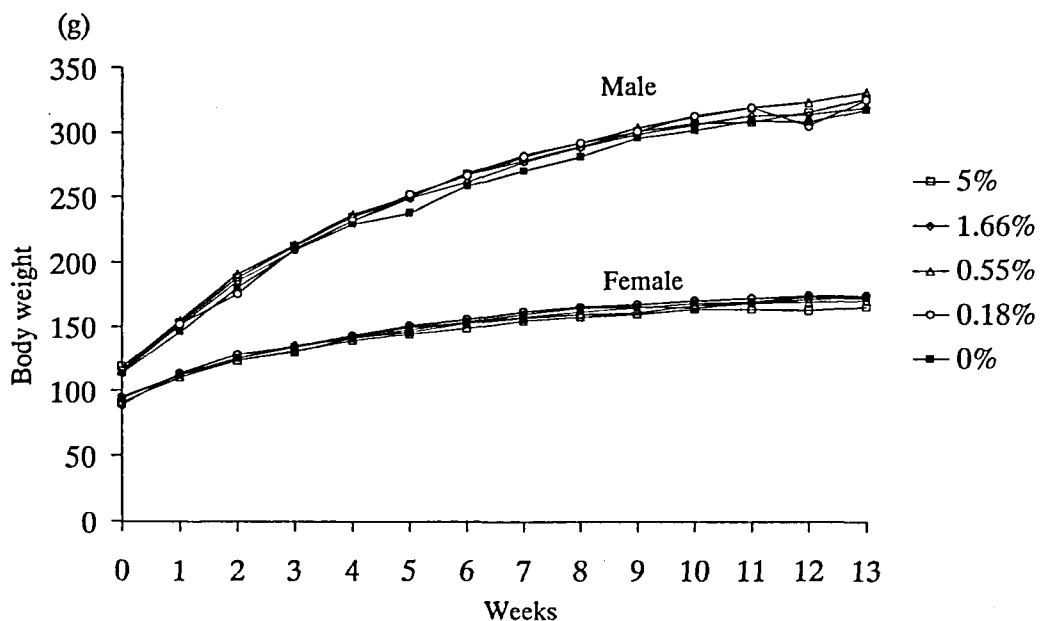


Fig.1. Growth curves for F344 rats treated with orange color for 13 weeks

Table 1. Food consumption and intake of orange color

Group	Food consumption (g/rat/day)		Daily intake (g/rat)		Total intake (g/rat)	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female
5%	14.1	8.8	0.71	0.44	64.3	39.9
1.66%	13.9	9.0	0.23	0.15	21.0	13.6
0.55%	14.2	9.1	0.08	0.05	7.1	4.5
0.18%	14.0	9.3	0.03	0.02	2.3	1.5
0%	13.8	9.3	-	-	-	-

Table 2. Hematological and serum biochemical data for F344 male rats treated with orange color for 13 weeks

♂	5%	1.66%	0.55%	0.18%	0%
WBC ( $10^2/\mu\text{l}$ )	44±5 <sup>a)</sup>	45±5	40±4	42±2	42±6
RBC ( $10^4/\mu\text{l}$ )	919±41	943±36	911±26	918±26	907±29
Hb (g/dl)	15.1±0.6	15.6±0.6	15.1±0.5	15.3±0.4	15.0±0.5
Ht (%)	43.2±1.9	44.3±1.6	43.6±1.1	43.5±1.1	43.3±1.3
MCV (fl)	47.0±0.4 <sup>**</sup>	47.0±0.3 <sup>**</sup>	47.9±0.6	47.4±0.3	47.8±0.5
MCH (pg)	16.4±0.1 <sup>*</sup>	16.5±0.2	16.5±0.1	16.6±0.1	16.5±0.4
MCHC (g/dl)	34.9±0.4	35.1±0.2	34.5±0.5	35.1±0.3	34.7±0.7
PLT ( $10^4/\mu\text{l}$ )	82.9±2.4	82.2±5.2	81.3±1.2	81.9±3.7	80.7±3.5
TP (g/dl)	6.8±0.2 <sup>**</sup>	6.5±0.1	6.6±0.1	6.5±0.1	6.5±0.1
A/G	2.5±0.1 <sup>**</sup>	2.4±0.1 <sup>*</sup>	2.3±0.2	2.4±0.2 <sup>*</sup>	2.2±0.2
Alb (g/dl)	4.9±0.2 <sup>**</sup>	4.6±0.1	4.6±0.1	4.6±0.1 <sup>*</sup>	4.5±0.1
T.Bil (mg/dl)	0.1±0	0.1±0	0.1±0	0.1±0	0.1±0
TG (mg/dl)	89±23	96±22	109±41 <sup>**</sup>	78±22	69±21
T.Cho (mg/dl)	74±4 <sup>**</sup>	63±5 <sup>**</sup>	60±4	57±7	56±5
BUN (mg/dl)	23.0±0.8 <sup>**</sup>	20.2±1.3	18.7±1.5	18.0±1.6	19.2±2.0
CRN (mg/dl)	0.3±0.1 <sup>**</sup>	0.3±0	0.3±0	0.3±0	0.3±0
Na (mEQ/dl)	144±1	144±1	145±1 <sup>*</sup>	143±1	143±1
Cl (mEQ/dl)	103±1	104±1	103±1	104±1	104±1
K (mEQ/dl)	4.5±0.2	4.6±0.2	4.7±0.2	4.8±0.1	4.6±0.3
Ca (mg/dl)	10.8±0.3 <sup>*</sup>	10.3±0.2	10.4±0.1	10.4±0.2	10.4±0.2
P (mg/dl)	6.4±0.6	5.8±0.4 <sup>**</sup>	6.1±0.2 <sup>*</sup>	6.0±0.3 <sup>**</sup>	6.5±0.3
AsT (IU/l)	88±6	79±10	93±6 <sup>*</sup>	75±9	81±11
ALT (IU/l)	55±5	56±7	58±6	50±5	55±5
ALP (IU/l)	369±19 <sup>**</sup>	351±25 <sup>*</sup>	344±15	329±19	323±30

<sup>a)</sup>: Mean±S.D

<sup>\*</sup>,<sup>\*\*</sup>: Significantly different from the control group at p<0.05, p<0.01, respectively.

Table 3. Hematological and serum biochemical data for F344 female rats treated with orange color for 13 weeks

♀	5%	1.66%	0.55%	0.18%	0%
WBC ( $10^2/\mu\text{l}$ )	30±7 <sup>a)</sup> *	39±5	37±5	36±5	37±7
RBC ( $10^4/\mu\text{l}$ )	873±27	891±37	889±19	884±20	864±20
Hb (g/dl)	15.4±0.5	15.8±0.7	15.8±0.3	15.6±0.4	15.4±0.3
Ht (%)	43.3±1.3	44.4±1.9	44.5±1.0	44.0±0.9	43.2±1.1
MCV (fl)	49.6±0.3 <sup>*</sup>	49.8±0.3	50.0±0.3	49.8±0.4	50.1±0.4
MCH (pg)	17.6±0.2	17.7±0.2	17.8±0.3	17.7±0.3	17.8±0.2
MCHC (g/dl)	35.6±0.4	35.6±0.4	35.5±0.4	35.5±0.5	35.6±0.5
PLT ( $10^4/\mu\text{l}$ )	79.6±3.5	80.7±4.3	81.7±5.0	81.9±3.5	77.4±3.6
TP (g/dl)	6.6±0.2	6.5±0.2 <sup>**</sup>	6.5±0.2 <sup>**</sup>	6.6±0.2	6.9±0.2
A/G	2.7±0.2	2.6±0.2	2.7±0.2	2.7±0.1	2.7±0.2
Alb (g/dl)	4.8±0.2 <sup>*</sup>	4.7±0.1 <sup>**</sup>	4.8±0.2 <sup>**</sup>	4.8±0.1	5.0±0.1
T.Bil (mg/dl)	0.1±0	0.1±0	0.1±0	0.1±0	0.1±0
TG (mg/dl)	48±21 <sup>*</sup>	55±15 <sup>**</sup>	41±16	53±21 <sup>**</sup>	29±8
T.Cho (mg/dl)	117±9 <sup>**</sup>	103±5 <sup>**</sup>	93±14 <sup>*</sup>	89±14	82±6
BUN (mg/dl)	18.8±2.2	17.3±1.7	17.3±1.7	16.1±0.9	17.2±1.3
CRN (mg/dl)	0.3±0	0.3±0	0.3±0	0.3±0	0.3±0
Na (mEQ/dl)	143±1	143±1 <sup>*</sup>	144±1	144±1	144±2
Cl (mEQ/dl)	104±2	105±1	107±1 <sup>*</sup>	106±1	105±1
K (mEQ/dl)	4.3±0.4	4.5±0.3 <sup>**</sup>	4.3±0.3	4.4±0.7	4.0±0.3
Ca (mg/dl)	10.5±0.4 <sup>*</sup>	10.4±0.2 <sup>**</sup>	10.5±0.1	10.6±0.2	10.8±0.2
P (mg/dl)	5.6±0.7	5.4±0.3	5.6±0.5	5.9±0.7	5.9±0.3
AsT (IU/l)	72±6	75±6	75±7	80±10	76±5
AIT (IU/l)	43±5	43±3	41±4	41±4	42±4
ALP (IU/l)	234±19	240±17	238±22	215±25	216±27

a): Mean ± S.D

\*, \*\* : Significantly different from each the control group at  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ , respectively.

に投与濃度に相関していた。

### 3. 血液学的及び血清生化学的検査

血液学的及び血清生化学的検査の結果を Table 2 及び 3 に示した。血液学的検査では雄で MCV の減少が 1.66 % 以上の群で、MCH の減少が 5 % 群で認められた。雌では WBC 及び MCV の減少が 5 % 群で認められた。これらの変化は統計学的に有意であるものの、その変化は小さいものであった。なお、白血球型別分類については雌雄ともに各群間に有意差を認めなかった。血清生化学的検査では、投与用量に相関した変化として、雄で T.Cho 及び ALP の増加が 1.66 % 以上の群で認められた。雌では Alb の減少及び T.Cho の増加が 0.55 % 以上の群で、Ca の減少が 1.66 % 以上の群で認められた。しかし、それらの生化学的検査値の変動は統計学的に有意であるものの、いずれも軽微な増減であった。この他に TP, TG, Na 等様々な項目で有意差が散見されたが、その変化は小さく、明らかな用量相関性は認められなかった。なお、 $\gamma$ -GT は全ての群で測定値が検出限界以下であった。

### 4. 臓器重量

相対重量の結果を Table 4 に示した。肝重量の増加が雄の

1.66 % 以上の群及び雌の 5 % 群で認められたが、いずれも 15 % 以下の軽度の増加であった。精巣 (右) 重量が 0.55 % 及び 0.18 % 群で、精巣 (左) 重量が 5 % 群で対照群に比し有意に減少した。その他の臓器では、雌雄とも対照群と比し有意差は認められなかった。

### 5. 病理組織学的所見

病理組織学的検索の結果、雄では対照群及び 5 % 群に軽度ではあるが、肝臓及び心臓の小肉芽腫、腎臓の再生性尿管の出現、膀胱増生、限局性の膵腺房細胞の壊死、射精管上皮下の限局性血管内皮の増生、雌では肝臓の小肉芽腫が認められたが、群間に差は認められなかった。

### 考 察

今回、F344 ラットを用いてオレンジ色素の混餌投与による 13 週間亜慢性毒性試験を実施した。その結果、一般状態に変化は認められず、死亡動物もなかった。体重推移、摂餌量も群間に差は認められず、被験物質の摂取量も用量に相関して認められた。血液学的検査で、雄で MCV の減少が 1.66 % 以上の群で、MCH の減少が 5 % 群で認められた。雌では WBC 及び MCV の減少が 5 % 群で認められた。こ

Table 4. Relative organ weights of rats treated with orange color

♂	5%	1.66%	0.55%	0.18%	0%
Body weight (g)	312.0±12.3 <sup>a)</sup>	316.5±28.5	327.3±29.1	310.1±18.6	302.5±16.0
Brain (g%)	0.62±0.03	0.61±0.04	0.60±0.05	0.62±0.03	0.63±0.03
Thymus (g%)	0.071±0.015	0.065±0.016	0.060±0.015	0.065±0.010	0.068±0.012
Lung (R)(g%)	0.20±0.01	0.20±0.02	0.19±0.02	0.20±0.01	0.20±0.01
(L)(g%)	0.11±0.00	0.11±0.01	0.10±0.01	0.11±0.01	0.11±0.01
Heart (g%)	0.29±0.01	0.29±0.03	0.29±0.02	0.29±0.02	0.30±0.02
Spleen (g%)	0.20±0.01	0.20±0.01	0.20±0.02	0.21±0.01	0.20±0.01
Liver (g%)	2.48±0.08 <sup>**</sup>	2.26±0.20 <sup>*</sup>	2.23±0.22	2.24±0.06	2.19±0.07
Adrenal (R)(g%)	0.006±0.001	0.005±0.001	0.005±0.001	0.006±0.001	0.005±0.001
(L)(g%)	0.006±0.001	0.006±0.001	0.006±0.001	0.006±0.001	0.006±0.001
Kidney (R)(g%)	0.30±0.02	0.29±0.03	0.29±0.03	0.31±0.01	0.27±0.10
(L)(g%)	0.30±0.01	0.30±0.02	0.30±0.03	0.31±0.01	0.31±0.02
Testis (R)(g%)	0.48±0.02	0.47±0.03	0.47±0.04 <sup>**</sup>	0.48±0.02 <sup>**</sup>	0.50±0.03
(L)(g%)	0.48±0.02 <sup>*</sup>	0.48±0.04	0.47±0.04	0.48±0.01	0.51±0.02

♀	5%	1.66%	0.55%	0.18%	0%
Body weight (g)	158.9±7.0	164.7±8.3	160.5±5.2	167.7±7.6	163.4±6.4
Brain (g%)	1.12±0.05	1.07±0.04	1.09±0.04	1.06±0.04	1.08±0.05
Thymus (g%)	0.097±0.014	0.095±0.010	0.097±0.009	0.097±0.016	0.093±0.013
Lung (R)(g%)	0.29±0.02	0.28±0.03	0.28±0.02	0.27±0.02	0.28±0.02
(L)(g%)	0.16±0.01	0.15±0.01	0.15±0.01	0.15±0.01	0.15±0.01
Heart (g%)	0.37±0.03	0.35±0.02	0.36±0.02	0.36±0.02	0.35±0.03
Spleen (g%)	0.24±0.02	0.24±0.01	0.24±0.01	0.23±0.01	0.23±0.01
Liver (g%)	2.53±0.17 <sup>**</sup>	2.28±0.10	2.25±0.12	2.13±0.11	2.19±0.10
Adrenal (R)(g%)	0.012±0.002	0.011±0.002	0.011±0.001	0.011±0.001	0.012±0.002
(L)(g%)	0.014±0.002	0.012±0.002	0.012±0.002	0.012±0.002	0.014±0.002
Kidney (R)(g%)	0.32±0.02	0.31±0.02	0.32±0.01	0.32±0.02	0.33±0.01
(L)(g%)	0.32±0.02	0.32±0.01	0.33±0.01	0.32±0.02	0.33±0.01

<sup>a)</sup>: Mean±S.D

\*, \*\*: Significantly different from each control group at p<0.05, p<0.01, respectively.

これらの変化は統計学的に有意であるものの、その変化は小さいものであった。また、他の関連するパラメータに変化が認められなかったことから、毒性学的意義に乏しい変化と考えられた。

血清生化学的検査では雄で T.Chol 及び ALP の増加が 1.66 % 以上の群で、雌では Alb の減少及び T.Chol の増加が 0.55 % 以上の群で、いずれも用量相関的に認められ、被験物質摂取による影響と考えられた。肝・胆道障害時または高脂肪食摂取などにより、血清中のコレステロール及び ALP が増加することが知られている<sup>6,9)</sup>。しかし、病理組織学的に、肝・胆道病変を示唆する所見は認められなかった。今回使用したオレンジ色素には脂質が 97.1 % 含まれており、肝比重量が増加していることから、これらの変化は、被験物質中の脂肪成分による可能性が考えられた。しかし、対照群と被験物質投与群との間の体重推移に差は認められず、肝臓に脂肪変性等の毒性所見が認められないこと、脂肪組織にオレンジ色素の沈着が認められなかったことから、高脂肪による影響はそれほど強くないものと考えられた。また、血清 Ca の増加が雄の 5 % 群で認められたが、雌の 1.66 % 以上の群では減少しており、被験物質投与による影響とは考えられなかった。雄の 5 % 群で BUN, CRN の有

意な増加が認められたが、組織学的にこれを裏付ける所見が認められず、偶発的な所見と考えられた。この他に TP, TG, Na 等様々な項目で有意差が散見されたが、その変化は小さく、明らかな用量相関性は認められず、被験物質投与による影響とは考えられなかった。

病理組織学的検査の結果、雄では肝臓及び心臓の小肉芽腫、腎臓の再生性尿細管の出現、膵管増生、限局性の膵腺房細胞の壊死、射精管上皮下の限局性血管内皮の増生、雌では肝臓の小肉芽腫が軽度で認められた。しかし、これらの病変は対照群にも観察され、F344 ラットでの自然発生が知られていることから、偶発的な病変であると考えられた<sup>10)</sup>。

以上の結果、オレンジ色素を混餌で 13 週間雌雄のラットに投与したところ、最高濃度の 5 % でも病理組織学的に被験物質に起因すると思われる顕著な毒性変化は認められなかったため、本実験条件下において無毒性量は 5 % と考えられる。また、オレンジ色素中の脂肪分に起因すると考えられる血清中の総コレステロール及びアルカリホスファターゼの増加が雄の 1.66 % 以上の群、血清総コレステロールの増加が雌の 0.55 % 以上の群で認められたことから、無影響量は 0.18 % と考えられた。

## 文 献

- 1) 日本食品添加物協会編集：第二版 化学的合成品以外の食品添加物 自主規格追補，日本食品添加物協会，東京，pp.12 (1996)
- 2) 総合食品安全事典編集委員会編集：総合食品安全事典，産業調査会，東京，pp.714-715 (1994)
- 3) 佐々木泰司，土井 巖，西山浩司：月刊フードケミカル，5，74-79 (1996)
- 4) 厚生省生活衛生局食品化学課監修：食品添加物の指定及び使用基準改正に関する指針，日本食品添加物協会，東京，pp.19-22 (1996)
- 5) 山崎 実，野口雄次，丹田 勝，新谷 茂：武田研究所報，40，163-187 (1981)
- 6) 谷本義文：実験動物の臨床化学，清至書院，東京，pp.126 (1981)
- 7) Pugalendhi K.V. and Ramakrishnan S.: *Indian J. Exp. Biol.*, 28, 895-897 (1990)
- 8) Saini P.K. and Posen S.: *Biochim. Biophys. Acta*, 177,42-49 (1969)
- 9) Rao, G.N.,: *Fundam. Appl. Toxicol.*, 32, 102-108 (1996)
- 10) Eustis, S.L., Boorman G.A. and Hayashi Y.: "Pathology of the Fischer Rat, References and Atlas" eds. by Boorman, G.A., Eustis, S.L., Elwell, M.R., Montgomery, C.A., Jr. and Mackenzie, W.F., Academic Press, San Diego, pp.95-108 (1990)