

アントラセンのラット及びマウスを用いた
経口投与によるがん原性試験(混餌試験)報告書

試験番号：ラット/0242；マウス/0243

CAS No. 120 - 12 - 7

平成10年6月30日

中央労働災害防止協会
日本バイオアッセイ研究センター

アントラセンのラット及びマウスを用いた
経口投与によるがん原性試験(混餌試験)報告書

試験番号：ラット/0242；マウス/0243

本 文

本文目次

| | 頁 |
|------------------------|---|
| 要 約 | 1 |
| I 試験材料 | 5 |
| I－1 被験物質 | 5 |
| I－1－1 名称 | 5 |
| I－1－2 構造式、分子量 | 5 |
| I－1－3 物理化学的性状等 | 5 |
| I－2 被験物質のロット等 | 5 |
| I－3 被験物質の同一性・安定性・不純物 | 6 |
| I－3－1 同一性 | 6 |
| I－3－2 安定性 | 6 |
| I－3－2 不純物 | 6 |
| I－4 試験動物 | 6 |
| II 試験方法 | 7 |
| II－1 投与 | 7 |
| II－1－1 投与経路、投与方法及び投与期間 | 7 |
| II－1－2 投与濃度 | 7 |
| II－1－3 被験物質の調製方法 | 7 |
| II－1－4 調製被験物質の濃度測定 | 7 |
| II－1－5 調製被験物質の安定性 | 8 |
| II－1－6 被験物質の摂取量 | 8 |
| II－2 動物管理 | 8 |
| II－2－1 各群の使用動物数 | 8 |
| II－2－2 群分け及び個体識別方法 | 8 |
| II－2－3 飼育条件 | 9 |

| | | |
|---------|----------------------|----|
| II-3 | 観察・検査項目及び方法 | 10 |
| II-3-1 | 動物の一般状態の観察 | 10 |
| II-3-2 | 体重測定 | 10 |
| II-3-3 | 摂餌量測定 | 10 |
| II-3-4 | 血液学的検査 | 10 |
| II-3-5 | 血液生化学的検査 | 10 |
| II-3-6 | 尿検査 | 11 |
| II-3-7 | 病理学的検索 | 11 |
| II-4 | 数値処理と統計処理 | 11 |
| II-4-1 | 数値の取り扱いと表示 | 11 |
| II-4-2 | 母数の取り扱い | 12 |
| II-4-3 | 統計処理 | 12 |
| II-5 | 試資料の保管 | 13 |
| III | 試験成績 | 14 |
| III-1 | ラットを用いた試験(試験番号:0242) | 14 |
| III-1-1 | 動物の状態観察 | 14 |
| III-1-2 | 血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査 | 15 |
| III-1-3 | 病理学的検査 | 18 |
| III-2 | マウスを用いた試験(試験番号:0243) | 26 |
| III-2-1 | 動物の状態観察 | 26 |
| III-2-2 | 血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査 | 27 |
| III-2-3 | 病理学的検査 | 29 |
| IV | 考察及びまとめ | 34 |
| IV-1 | ラットを用いた試験(0242) | 34 |
| IV-2 | マウスを用いた試験(0243) | 38 |
| IV-3 | アントラセンのがん原性について | 40 |
| V | 結論 | 42 |
| VI | 文献 | 43 |

TABLES

- TABLE 1 EXPERIMENTAL DESIGN AND MATERIALS AND METHODS IN THE 2-YEAR FEED STUDIES OF ANTHRACENE
- TABLE 2 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES OF MALE RATS IN THE 2-YEAR FEED STUDY OF ANTHRACENE
- TABLE 3 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES OF FEMALE RATS IN THE 2-YEAR FEED STUDY OF ANTHRACENE
- TABLE 4 INCIDENCE OF EXTERNAL AND INTERNAL MASS IN CLINICAL OBSERVATION OF MALE RATS IN THE 2-YEAR FEED STUDY OF ANTHRACENE
- TABLE 5 INCIDENCE OF EXTERNAL AND INTERNAL MASS IN CLINICAL OBSERVATION OF FEMALE RATS IN THE 2-YEAR FEED STUDY OF ANTHRACENE
- TABLE 6 FOOD CONSUMPTION CHANGES OF MALE RATS IN THE 2-YEAR FEED STUDY OF ANTHRACENE
- TABLE 7 FOOD CONSUMPTION CHANGES OF FEMALE RATS IN THE 2-YEAR FEED STUDY OF ANTHRACENE
- TABLE 8 NEOPLASTIC LESIONS INCIDENCE AND STATISTICAL ANALYSIS OF MALE RATS IN THE 2-YEAR FEED STUDY OF ANTHRACENE
- TABLE 9 NEOPLASTIC LESIONS INCIDENCE AND STATISTICAL ANALYSIS OF FEMALE RATS IN THE 2-YEAR FEED STUDY OF ANTHRACENE
- TABLE 10 CAUSE OF DEATH OF RATS IN THE 2-YEAR FEED STUDY OF ANTHRACENE
- TABLE 11 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES OF MALE MICE IN THE 2-YEAR FEED STUDY OF ANTHRACENE
- TABLE 12 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES OF FEMALE MICE IN THE 2-YEAR FEED STUDY OF ANTHRACENE
- TABLE 13 INCIDENCE OF EXTERNAL AND INTERNAL MASS IN CLINICAL OBSERVATION OF MALE MICE IN THE 2-YEAR FEED STUDY OF ANTHRACENE
- TABLE 14 INCIDENCE OF EXTERNAL AND INTERNAL MASS IN CLINICAL OBSERVATION OF FEMALE MICE IN THE 2-YEAR FEED STUDY OF ANTHRACENE

TABLES (CONTINUED)

TABLE 15 FOOD CONSUMPTION CHANGES OF MALE MICE IN THE 2-YEAR FEED STUDY OF ANTHRACENE

TABLE 16 FOOD CONSUMPTION OF FEMALE MICE IN THE 2-YEAR FEED STUDY OF ANTHRACENE

TABLE 17 NEOPLASTIC LESIONS INCIDENCE AND STATISTICAL ANALYSIS OF FEMALE MICE IN THE 2-YEAR FEED STUDY OF ANTHRACENE

TABLE 18 CAUSE OF DEATH OF MICE IN THE 2-YEAR FEED STUDY OF ANTHRACENE

FIGURES

- FIGURE 1 SURVIVAL ANIMAL RATE OF MALE RATS IN THE 2-YEAR FEED STUDY OF ANTHRACENE
- FIGURE 2 SURVIVAL ANIMAL RATE OF FEMALE RATS IN THE 2-YEAR FEED STUDY OF ANTHRACENE
- FIGURE 3 BODY WEIGHT CHANGES OF MALE RATS IN THE 2-YEAR FEED STUDY OF ANTHRACENE
- FIGURE 4 BODY WEIGHT CHANGES OF FEMALE RATS IN THE 2-YEAR FEED STUDY OF ANTHRACENE
- FIGURE 5 FOOD CONSUMPTION CHANGES OF MALE RATS IN THE 2-YEAR FEED STUDY OF ANTHRACENE
- FIGURE 6 FOOD CONSUMPTION CHANGES OF FEMALE RATS IN THE 2-YEAR FEED STUDY OF ANTHRACENE
- FIGURE 7 SURVIVAL ANIMAL RATE OF MALE MICE IN THE 2-YEAR FEED STUDY OF ANTHRACENE
- FIGURE 8 SURVIVAL ANIMAL RATE OF FEMALE MICE IN THE 2-YEAR FEED STUDY OF ANTHRACENE
- FIGURE 9 BODY WEIGHT CHANGES OF MALE MICE IN THE 2-YEAR FEED STUDY OF ANTHRACENE
- FIGURE 10 BODY WEIGHT CHANGES OF FEMALE MICE IN THE 2-YEAR FEED STUDY OF ANTHRACENE
- FIGURE 11 FOOD CONSUMPTION OF MALE MICE IN THE 2-YEAR FEED STUDY OF ANTHRACENE
- FIGURE 12 FOOD CONSUMPTION OF FEMALE MICE IN THE 2-YEAR FEED STUDY OF ANTHRACENE

PHOTOGRAPHS

- PHOTOGRAPH 1 LIVER : HEPATOCELLULAR CARCINOMA
RAT, MALE, 20000ppm, ANIMAL NO. 0242-1224 (H&E)
- PHOTOGRAPH 2 LIVER: HEPATOCELLULAR ADENOMA
RAT, MALE, 20000ppm, ANIMAL No. 0242-1247 (H&E)
- PHOTOGRAPH 3 LIVER : CLEAR CELL FOCUS
RAT, MALE, 50000ppm, ANIMAL No. 0242-1321 (H&E)
- PHOTOGRAPH 4 LIVER : BASOPHILIC CELL FOCUS
RAT, MALE, 50000ppm, ANIMAL No. 0242-1334 (H&E)
- PHOTOGRAPH 5 LIVER : ACIDOPHILIC CELL FOCUS
RAT, MALE, 8000ppm, ANIMAL No. 0242-1141 (H&E)
- PHOTOGRAPH 6 KIDNEY : RENAL CELL CARCINOMA
RAT, FEMALE, 50000ppm, ANIMAL No. 0242-2335 (H&E)
- PHOTOGRAPH 7 KIDNEY : RENAL CELL ADENOMA
RAT, FEMALE, 20000ppm, ANIMAL No. 0242-2232 (H&E)
- PHOTOGRAPH 8 KIDNEY : RENAL CELL ADENOMA
HIGHER MAGNIFICATION OF PHOTOGRAPH 7
RAT, FEMALE, 20000ppm, ANIMAL No. 0242-2232 (H&E)
- PHOTOGRAPH 9 KIDNEY : ATYPICAL TUBULE HYPERPLASIA
RAT, FEMALE, 20000ppm, ANIMAL No. 0242-2326 (H&E)
- PHOTOGRAPH 10 KIDNEY : EOSINOPHILIC DROPLET : PROXIMAL TUBULE(↑)
RAT, FEMALE, 50000ppm, ANIMAL No. 0242-2301 (H&E)
- PHOTOGRAPH 11 URINARY BLADDER : TRANSITIONAL CELL CARCINOMA
RAT, MALE, 20000ppm, ANIMAL No. 0242-1304 (H&E)
- PHOTOGRAPH 12 URINARY BLADDER : TRANSITIONAL CELL CARCINOMA
HIGHER MAGNIFICATION OF PHOTOGRAPH 11
RAT, MALE, 20000ppm, ANIMAL No. 0242-1304 (H&E)

PHOTOGRAPHS (CONTINUED)

PHOTOGRAPH 13 LIVER : HEPATOCELLULAR CARCINOMA
MOUSE, FEMALE, 50000ppm, ANIMAL No. 0243-2337 (H&E)

PHOTOGRAPH 14 LIVER : HEPATOCELLULAR ADENOMA
MOUSE, FEMALE, 50000ppm, ANIMAL No. 0243-2333 (H&E)

PHOTOGRAPH 15 LIVER : BASOPHILIC CELL FOCUS
MOUSE, FEMALE, 50000ppm, ANIMAL No. 0243-2304 (H&E)

PHOTOGRAPH 16 LIVER : CLEAR CELL FOCUS
MOUSE, FEMALE, 50000ppm, ANIMAL No. 0243-2338 (H&E)

)

)

要約

アントラセンのがん原性を検索する目的でラットとマウスを用いて経口投与による2年間（104週間）の試験を実施した。

試験には F344/DuCrj(Fischer)ラットと Crj:BDF₁ マウスを用いた。被験物質投与群3群と対照群1群の計4群の構成で、雌雄各群とも50匹とし、合計ラット400匹、マウス400匹を用いた。被験物質の投与は、アントラセンを混合調製した粉末飼料を動物に自由摂取させることにより行った。投与濃度は、ラットは雌雄とも8000ppm、20000ppm、50000ppm（公比2.5）、マウスの雄は3200ppm、8000ppm、20000ppm（公比2.5）、雌は8000ppm、20000ppm、50000ppm（公比2.5）とした。観察、検査項目は、一般状態の観察、体重、摂餌量の測定、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、剖検、臓器重量測定及び病理組織学的検査を行った。

ラットでは雌雄ともに動物の一般状態の観察においてアントラセンの投与の影響と思われる特徴的な所見は認められなかった。生存率についても対照群と投与群に著変は認められなかった。投与群の体重は、投与期間中対照群と比較して低い傾向を示したが、摂餌量の差は認められなかった。血液学的検査では雌雄ともに軽度の貧血傾向を示した。血液生化学的検査では GPT などの酵素活性、総コレステロール等に変化が認められた。病理組織学的検査では、雄で肝臓に明細胞性小増殖巣、好酸性小増殖巣及び海綿状変性の増加ならびに肝細胞腺腫と肝細胞癌の発生、膀胱に移行上皮乳頭腫と移行上皮癌の発生、腎臓に好酸滴の出現の増加、脾臓にヘモジデリン沈着と赤血球の充満の増加及び単核球性白血病の減少、脾臓に萎縮の増加、精巣に鉍質沈着の増加、鼻腔に呼吸上皮と嗅上皮のエオジン好性変化と腺の呼吸上皮化生の減少がみられた。雌では、腎臓に好酸滴の増加と慢性腎症の程度の増強、ならびに尿細管の異型過形成、腎細胞腺腫及び腎細胞癌の発生、膀胱に移行上皮癌の発生、子宮内膜間質性肉腫の発生、乳腺に繊維腺腫の発生増加、脾臓に萎縮の増加、鼻腔に嗅上皮の壊死と呼吸上皮化生の増加ならびに嗅上皮と呼吸上皮のエオジン好性変化及び腺の呼吸上皮化生の減少、下垂体に血管拡張の減少がみられた。

マウスでは雌雄ともに動物の一般状態の観察においてアントラセンの投与の影響と思われる特徴的な所見は認められなかった。生存率についても対照群と投与群に著変は認められなかった。投与群の体重は、投与期間中対照群と比較して低い傾向を示したが、摂餌量の差は認められなかった。血液学的検査では雄では軽度の貧血傾向を示したが、雌では赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値等は増加傾向を示した。血液生化学的検査では GPT などの酵素活性、総コレステロール等に変化が認められた。

病理組織学的検査では雌で肝臓の腫瘍（肝細胞癌、肝細胞腺腫）の発生が増加した。また、マウスの雌では悪性リンパ腫（全臓器）の発生率が減少し、アントラセンの投与の影響が疑われた。

以上より、雄ラットに肝細胞癌と肝細胞腺腫及び膀胱の移行上皮癌と乳頭腫の発生増加が認められ、これらの結果はアントラセンのがん原性を示す明らかな証拠と考えられた。雌ラットには腎細胞癌と腎細胞腺腫の発生増加が認められ、これらの結果はアントラセンのがん原性を示す明らかな証拠と考えられた。また、尿路系の膀胱に移行上皮癌の発生もみられた。さらに、子宮内膜間質性肉腫及び乳腺の線維腺腫の発生増加が認められ、これらの腫瘍の発生増加もアントラセンの投与による影響の可能性を否定できなかった。

雄マウスにはアントラセンの投与による腫瘍の発生増加を示す証拠は認められなかった。雌マウスには肝細胞癌と肝細胞腺腫の発生増加が認められ、これらの結果はアントラセンのがん原性を示す明らかな証拠と考えられた。

アントラセンのがん原性試験における主な腫瘍発生（ラット：雄）

| 投 与 濃 度 (ppm) | | | 0 | 8000 | 20000 | 50000 | ベ トー | コ克蘭 |
|------------------|------|---------------------|------|------|-------|-------|------|-------------|
| 検 査 動 物 数 | | | 50 | 50 | 50 | 50 | 検 定 | アミテー ジ検定 |
| 良 性 腫 瘍 | 皮膚 | 角化棘細胞腫 | 4 | 3 | 2 | 4 | ↑ ↑ | ↑ ↑ |
| | 皮下組織 | 線維腫 | 2 | 4 | 1 | 4 | | |
| | 肺 | 細気管支－肺胞上皮腺腫 | 0 | 3 | 3 | 2 | | |
| | 肝臓 | 肝細胞腺腫 | 0 | 4 | 9** | 9** | | |
| | 脾臓 | 島細胞腺腫 | 3 | 2 | 0 | 2 | | |
| | 膀胱 | 移行上皮乳頭腫 | 0 | 0 | 2 | 0 | | |
| | 下垂体 | 腺腫 | 15a) | 10 | 10 | 10 | | |
| | 甲状腺 | C-細胞腺腫 | 3 | 5 | 5 | 2 | | |
| | 副腎 | 褐色細胞腫 | 6 | 10 | 12 | 3 | | |
| | 精巣 | 間細胞腫 | 43 | 46 | 47 | 47 | | |
| | 乳腺 | 線維腺腫 | 2 | 0 | 3 | 2 | | |
| | 包皮腺 | 腺腫 | 4 | 4 | 2 | 0 | | |
| | 腹膜 | 中皮腫 | 0 | 3 | 2 | 1 | | |
| 悪 性 腫 瘍 | 脾臓 | 単核球性白血病 | 8 | 1* | 1* | 1* | ↑ ↑ | ↓ ↑ ↑ |
| | 肝臓 | 肝細胞癌 | 0 | 0 | 5* | 5* | | |
| | 甲状腺 | 濾胞状腺癌 | 4 | 3 | 1 | 5 | | |
| | 膀胱 | 移行上皮癌 | 0 | 1 | 4 | 3 | | |
| | 膀胱 | (移行上皮癌/ 移行上皮乳頭腫) | 0 | 1 | 6* | 3 | | |

アントラセンのがん原性試験における主な腫瘍発生（ラット：雌）

| 投 与 濃 度 (ppm) | | | 0 | 8000 | 20000 | 50000 | ベ トー | コ克蘭 |
|------------------|-----|------------------|----|------|-------|-------|------|-------------|
| 検 査 動 物 数 | | | 50 | 50 | 50 | 50 | 検 定 | アミテー ジ検定 |
| 良 性 腫 瘍 | 肺 | 細気管支－肺胞上皮腺腫 | 1 | 0 | 3 | 0 | ↑ ↑ | ↑ ↑ |
| | 肝臓 | 肝細胞腺腫 | 1 | 3 | 3 | 2 | | |
| | 腎臓 | 腎細胞腺腫 | 0 | 3 | 6* | 4 | | |
| | 下垂体 | 腺腫 | 11 | 12 | 16 | 11 | | |
| | 甲状腺 | C-細胞腺腫 | 5 | 2 | 5 | 1a) | | |
| | 副腎 | 褐色細胞腫 | 0 | 3 | 2 | 3 | | |
| | 子宮 | 子宮内膜間質性ポリープ | 4 | 9 | 8 | 5 | | |
| | 乳腺 | 線維腺腫 | 3 | 2 | 3 | 9 | | |
| 悪 性 腫 瘍 | 脾臓 | 単核球性白血病 | 6 | 7 | 2 | 6 | ↑ ↑ | ↑ ↑ |
| | 腎臓 | 腎細胞癌 | 0 | 0 | 0 | 1 | | |
| | 子宮 | 子宮内膜間質性肉腫 | 0 | 0 | 0 | 3 | | |
| | 膀胱 | 移行上皮癌 | 0 | 2 | 3 | 2 | | |
| | 腎臓 | (腎細胞癌/ 腎細胞腺腫) | 0 | 3 | 6* | 5* | ↑ | ↑ |

検定結果については生物学的意義を考慮して記載した。

*:有意水準5%以下で有意

**:有意水準1%以下で有意（フィッシャー検定）

↑:有意水準5%以下で有意増加

↑↑:有意水準1%以下で有意増加（ベトー、コ克蘭アミテージ検定）

↓:有意水準5%以下で有意減少

↓↓:有意水準1%以下で有意減少（コ克蘭アミテージ検定）

a):検査動物数49、他は上段に表示の検査動物数と同じ

アントラセンのがん原性試験における主な腫瘍発生（マウス：雄）

| | 投 与 濃 度 (ppm) | | 0 | 3200 | 8000 | 20000 | ベトー | コ克蘭 |
|------------------|---------------|-------------|----|------|------|-------|-----|-------------|
| | 検 査 動 物 数 | | 49 | 50 | 50 | 50 | 検 定 | アミテー ジ検定 |
| 良 性 腫 瘍 | 肺 | 細気管支-肺胞上皮腺腫 | 1 | 3 | 2 | 1 | | |
| | 肝臓 | 肝細胞腺腫 | 4 | 6 | 1 | 5 | | |
| | ハーダー線 | 腺腫 | 0 | 1 | 2 | 3 | | |
| 悪 性 腫 瘍 | リンパ節 | 悪性リンパ腫 | 2 | 4 | 4 | 3 | | |
| | 肝臓 | 組織球性肉腫 | 2 | 4 | 5 | 3 | | |
| | 肝臓 | 肝細胞癌 | 1 | 3 | 0 | 0 | | |

アントラセンのがん原性試験における主な腫瘍発生（マウス：雌）

| | 投 与 濃 度 (ppm) | | 0 | 8000 | 20000 | 50000 | ベトー | コ克蘭 |
|------------------|---------------|-------------|----|------|-------|-------|-----|-------------|
| | 検 査 動 物 数 | | 50 | 50 | 50 | 50 | 検 定 | アミテー ジ検定 |
| 良 性 腫 瘍 | 肺 | 細気管支-肺胞上皮腺腫 | 1 | 2 | 4 | 0 | | |
| | 肝臓 | 肝細胞腺腫 | 2 | 3 | 6 | 20** | ↑ ↑ | ↑ ↑ |
| | 肝臓 | 血管腫 | 0 | 1 | 3 | 1 | | |
| | ハーダー線 | 腺腫 | 1 | 2 | 3 | 3 | | |
| 悪 性 腫 瘍 | リンパ節 | 悪性リンパ腫 | 11 | 13 | 7 | 7 | | |
| | 脾臓 | 悪性リンパ腫 | 4 | 1 | 4 | 0 | | |
| | 肝臓 | 組織球性肉腫 | 0 | 3 | 4 | 3 | | |
| | 肝臓 | 肝細胞癌 | 0 | 2 | 5* | 12** | ↑ ↑ | ↑ ↑ |
| | 子宮 | 組織球性肉腫 | 6 | 12 | 7 | 7 | | |
| | 全臓器 | 悪性リンパ腫 | 15 | 14 | 11 | 7 | | ↓ |

検定結果については生物学的意義を考慮して記載した。

*:有意水準5%以下で有意

** :有意水準1%以下で有意（フィッシャー検定）

↑:有意水準5%以下で有意増加

↑↑:有意水準1%以下で有意増加（ベトー、コ克蘭アミテージ検定）

↓:有意水準5%以下で有意減少

↓↓:有意水準1%以下で有意減少（コ克蘭アミテージ検定）

I 試験材料

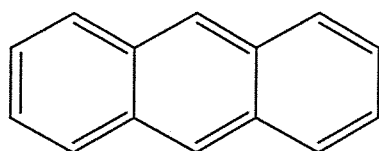
I - 1 被験物質

I - 1 - 1 名称

名称：アントラセン(Anthracene)

CAS.No. : 120-12-7

I - 1 - 2 構造式、分子量 (文献 1)



$C_{14}H_{10}$

分子量 : 178.2

I - 1 - 3 物理化学的性状等 (文献 1)

性 状 : 無色の粉末または板状結晶

沸 点 : 340℃

融 点 : 217～218℃

比 重 : 1.25

溶解性 : 水に不溶、各種有機溶剤に可溶

保存条件 : 火気のない冷暗所に保存

I - 2 被験物質の使用ロット等

使用ロット番号 : 507E4208, 507E4209, 507E4210

製 造 元 : 関東化学株式会社

グ レ ー ド : 特注

(アントラセン濃度 : 99%以上、カルバゾール濃度 : 0.1%以下)

純 度 : 99.8～99.9%(実測値)

不 純 物 : カルバゾール濃度 0.0594～0.0857%(実測値)

I - 3 被験物質の同一性・安定性・不純物

I - 3 - 1 同一性

被験物質の同一性の確認は被験物質のマススペクトル及び赤外吸収スペクトルを測定し、アントラセンの文献値と比較することにより行った。その結果、マススペクトルでは文献（文献 2）と同じ分子イオン及びフラグメントピークが確認された。また、赤外吸収スペクトルでは文献（文献 3）と同じ波数にピークが認められ、アントラセンであることを確認した。

それらの結果については、APPENDIX P 1 に示した。

I - 3 - 2 安定性

被験物質の安定性は投与開始前及びその投与終了後に、赤外吸収スペクトル測定及びガスクロマトグラムの測定を実施し、それぞれのデータを比較することにより行った。

その結果、それぞれの測定結果に差はみられず、投与期間中のアントラセンは安定であった。

それらの結果については、APPENDIX P 2 に示した。

I - 3 - 3 不純物

使用した 3 つのロットの被験物質をガスクロマトグラフ法により分析したところ、アントラセンと異なる 2 つの不純物のピークを認めた。その内の 1 つはカルバゾールと同定され、その濃度は 594ppm～897ppm であった。

それらの結果については、APPENDIX P 1 に示した。

I - 4 試験動物

動物は日本チャールス・リバー(株)より購入した F344/DuCrj(Fischer)ラット(SPF)及び Crj:BDF₁ マウス(SPF)の雌雄を使用した。

ラット、マウスとも雌雄各 240 匹を生後 4 週齢で導入し、各 1 週間の検疫、馴化を経た後、発育順調で異常を認めなかった動物から、体重値の中央値に近い雌雄各 200 匹(投与開始時体重範囲、ラット雄:118～135g、雌:94～111g/ マウス雄:21.8～24.5g、雌:17.4～20.0g)を選別し、試験に供した。

II 試験方法

試験計画、材料及び方法等の概要を TABLE 1 に示した。

II - 1 投与

II - 1 - 1 投与経路、投与方法及び投与期間

経口投与とした。すなわち、アントラセンを混合した粉末飼料の自由摂取により、104 週間定期解剖日前日まで連続投与した。なお、対照群の動物には粉末飼料のみを与えた。

II - 1 - 2 投与濃度

投与濃度は予備試験である 13 週間投与試験（文献 4）の結果に基づき決定した。

ラットでは雌雄とも 8000ppm、20000ppm、50000ppm(公比 2.5)、マウスの雄は、3200ppm、8000ppm、20000ppm とし、雌では 8000ppm、20000ppm、50000ppm(公比 2.5)とした。

II - 1 - 3 被験物質の調製方法

被験物質の調製は投与開始より 1994 年 8 月 25 日までは当センターで調製し、それ以降は飼料製造業者（オリエンタル酵母工業(株)）に委託した。それらの調製方法については、APPENDIX Q 1～ Q 2 に示した。

なお、各試験における濃度の表示は、ppm（重量対重量比）とした。また、アントラセン添加飼料の調製頻度は、当センターで調製したものについては 2 週に 1 回、オリエンタル酵母工業（株）に委託したものについては約 3 ヶ月に 1 回とした。

II - 1 - 4 調製被験物質の濃度測定

各投与濃度に調製された被験物質の濃度は、調製バッチ（入荷）毎にガスクロマトグラフを用いて分析した。それらの結果を APPENDIX P 3～4 に示した。

各群の調製濃度は設定濃度に対し、ラットの試験では 92.5～111.8%、マ

ウスの試験では 91.1～111.8%の範囲にあった。

II - 1 - 5 調製被験物質の安定性

当センターで調製したアントラセン添加飼料は冷蔵で最長で2週間保管した。オリエンタル酵母工業（株）に調製を依頼したアントラセン添加飼料は室温で最長で約5ヶ月保管した。

各投与濃度に調製された被験物質のうち3200ppmと50000ppmについて、調製直後及び当センターで調製したものについては2週間、オリエンタル酵母工業（株）に依頼した物については5ヶ月後の添加飼料の濃度をガスクロマトグラフを用いて分析し、その結果、各保管期間において安定であることを確認した。

それらの結果について、APPENDIX P 5に示した。

II - 1 - 6 被験物質の摂取量

各計測週における摂餌量と設定濃度より体重当たりの被験物質の摂取量(g/kg/day)を算出した。

それらの結果について、APPENDIX D 1～4に示した。

II - 2 動物管理

II - 2 - 1 各群の使用動物数

ラット、マウスとも投与群3群及び対照群1群の計4群を設け、雌雄各群50匹の動物を用いた。

II - 2 - 2 群分け及び個体識別方法

供試動物の各群への割り当ては、動物を体重の重い順より各群に1匹ずつ割り当て、二巡目からは各群の動物の体重の合計を比較して小さい群より順に体重の重い動物を割り当てることにより群間の体重の偏りを小さくする群分け方法(適正層別方式)により実施した(文献 5)。

試験期間中の動物の個体識別は、検疫期間及び馴化期間においては色素塗布した。投与期間においては耳パンチにより識別した。なお、全飼育期

間を通してケージにも個体識別番号を付した。

なお、ラットとマウスは、バリア区域（AC-2 エリア）内の独立した室（ラットの雄を 203 室、雌を 205 室、マウスの雄を 202 室、雌を 204 室）にそれぞれ収容し、各室に試験番号、動物種及び動物番号を表示し、他試験及び異種動物と区別した。

II - 2 - 3 飼育条件

動物は、各試験ともに、全飼育期間を通して、温度 $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 10\%$ 、明暗サイクル:12 時間点灯(8:00~20:00)/12 時間消灯(20:00~8:00)、換気回数 15~17 回/時に設定した環境下で飼育した。なお、飼育室の作業内容、空調設備の保守点検、一時的な停電により設定値の幅を超えることがあったが、動物の状態に影響を与えるほど長時間または大きな変化ではなく、一日の平均値は設定値の範囲内であった。

動物は単飼ケージ(ステンレス製二連網ケージ、ラット:170W×294D×176H mm、マウス:112W×212D×120H mm)に収容し、ケージ交換は 2 週間毎に実施した。

飼料は、オリエンタル酵母工業(株)の CRF-1 を使用し、検疫期間は CRF-1 固型飼料(30K Gy- γ 線照射滅菌飼料)を固型飼料給餌器により、また馴化期間及び投与期間は CRF-1 粉末飼料(30K Gy- γ 線照射滅菌飼料)を粉末飼料給餌器により自由摂取させた。

飲水は、全飼育期間を通して、フィルターろ過した市水(秦野市水道局供給)に紫外線を照射し、自動給水装置で、自由摂取させた。

なお、飼料の栄養成分についてはオリエンタル酵母工業(株)、夾雑物については(財)日本食品分析センターの分析データを使用ロットごとに入手し、飲料水については(財)食品薬品安全センターに 3 ヶ月毎に委託し、それぞれ異常のないことを確認した。

II - 3 観察・検査項目及び方法

II - 3 - 1 動物の一般状態の観察

各試験とも、毎日1回、動物の一般状態の観察を行った。

II - 3 - 2 体重測定

投与開始後14週までは週1回、それ以降は4週に1回、体重を測定した。
なお、動物の死亡発見時及び切迫屠殺時にも体重を測定した。

II - 3 - 3 摂餌量測定

投与開始後14週までは週1回、それ以降は4週に1回、給餌量と残餌量を測定し、その差を給餌期間で除した値を1日当たりの摂餌量とした。

II - 3 - 4 血液学的検査

定期解剖時まで生存した動物について、剖検直前にエーテル麻酔下で腹大動脈よりEDTA-2K入り採血管に採血した血液を用いて血液学的検査を行い、さらにラットにおいてはクエン酸ナトリウム入り採血管に採血した血液を遠心分離し、得られた血漿を用いてプロトロンビン時間及び活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)の測定を行った。

検査対象動物は解剖日前日より(18時間以上)絶食させた。検査項目はTABLE 1、検査方法はAPPENDIX R 1に示した。

II - 3 - 5 血液生化学的検査

定期解剖時まで生存した動物について、剖検直前にエーテル麻酔下で腹大動脈よりヘパリンリチウム入り採血管に採血した血液を遠心分離し、得られた血漿を用いて血液生化学的検査を行った。なお、検査対象動物は解剖日前日より絶食(18時間以上)させた。検査項目はTABLE 1、検査方法はAPPENDIX R 1に示した。

II - 3 - 6 尿 検 査

投与最終週まで生存した動物について、新鮮尿を採取し、尿検査を行った。検査項目は TABLE 1、検査方法は APPENDIX R 1 に示した。

II - 3 - 7 病理学的検査

(1) 剖 検

全動物について剖検を行った。

(2) 臓器重量

定期解剖時まで生存した動物について TABLE 1 に示した臓器の実重量を測定した。また、実重量の体重比、すなわち定期解剖時の体重に対する百分率を算出した。

(3) 病理組織学的検査

全動物の臓器を 10% 中性リン酸緩衝ホルマリン溶液にて固定後、TABLE 1 に示した臓器及び肉眼的に変化のみられた組織を、パラフィン包埋、薄切、ヘマトキシリン・エオジン染色し、光学顕微鏡にて病理組織学的に検査した。なお、腎臓については PAS 染色、鉄染色及び、抗 α -2 μ グロブリン抗体（住友化学（株）提供）を用いた免疫染色を雌雄各 6 例（対照群：2 例、8000ppm 群：1 例、50000 群：3 例）について実施した。

II - 4 数値処理と統計処理

II - 4 - 1 数値の取り扱いと表示

体重については g を単位とし、ラットでは小数点以下第 1 位を四捨五入して整数値で、マウスでは小数点以下第 2 位を四捨五入して小数点以下第 1 位までを表示した。

摂餌量については g を単位とし、計測期間を通しての摂餌量を小数点以下第 1 位まで計測し、この値を計測期間の日数で除し、1 日当たりの平均摂餌量を算出し、小数点以下第 2 位を四捨五入して小数点以下第 1 位までを表示した。

アントラセンの体重当りの摂取量は摂餌量にアントラセンの設定濃度

を乗じ体重で除した値を g/kg(body weight)/day を単位として小数点以下第 4 位を四捨五入して小数点以下第 3 位まで表示した。

臓器実重量については g を単位とし、小数点以下第 3 位まで計測し、表示した。臓器重量体重比については臓器実重量値を解剖時体重で除し、パーセント単位で小数点以下第 4 位を四捨五入し、小数点以下第 3 位までを表示した。

血液学的検査、血液生化学的検査については APPENDIX R 2 に示した精度により表示した。A/G 比はアルブミン/(総蛋白-アルブミン)による計算で求め、小数点以下第 2 位を四捨五入して小数点以下第 1 位までを表示した。

なお、各数値データにおいての平均値及び標準偏差は上記に示した桁数と同様になるよう四捨五入を行い表示した。

II - 4 - 2 母数の取り扱い

体重及び摂餌量については、各計測時に生存している全動物を対象に計測し、欠測となったデータについては母数より除いた。

臓器重量、血液学的検査、血液生化学的検査は、定期解剖時まで生存した動物を対象とし、欠測となったデータについては母数より除いた。

尿検査は、投与最終週まで生存した動物を対象に行い、検査ができた動物数を母数とした。

剖検と病理組織学的検査データは、各群の有効動物数(供試動物より事故等の理由で外された動物数を減じた動物数)を母数とした。ただし、腫瘍性病変については臓器別に、検査不能臓器数を除いたものを母数とした。

II - 4 - 3 統計処理

本試験で得られた測定値は対照群を基準群として、まず Bartlett 法により等分散の予備検定を行い、その結果が等分散の場合には一元配置分散分析を行い、群間に有意差が認められた場合は Dunnett の多重比較により平均値の検定を行った。

また、分散の等しくない場合には各群を通して測定値を順位化して、Kruskal-Wallis の順位検定を行い、群間に有意差が認められた場合には Dunnett(型)の多重比較を行った。

予備検定については 5% の有意水準で両側検定を行い、最終検定では 5% 及び 1% で両側検定を行った。

なお、病理組織学的検査のうち非腫瘍性病変については、所見のみられなかった動物をグレード 0 として χ^2 検定を行った。また、尿検査についても χ^2 検定を行った。

腫瘍性病変については、各臓器腫瘍ごとに、各群ごとの総担癌臓器数について、Peto 検定（文献 6）、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定を行った。また Peto 検定は病理組織学的検査時に付与されたコンテックス（注）を用いて、死亡率法（コンテックス 3,4 を付与された腫瘍についての検定）、有病率法（コンテックス 0,1,2 を付与された腫瘍についての検定）、死亡率法＋有病率法（コンテックス 0～4 の総計で検定）を行った。

χ^2 検定と Fisher 検定は対照群と各投与群間との検定である。

各群雌雄毎に検査数が 2 以下の項目については検定より除外した。

注： Peto 検定に用いるコンテックス

0：定期解剖例にみつかった腫瘍

1：死亡／瀕死例にみつかった腫瘍で、直接死因に関係しない腫瘍

2：多分 1 だと思うが、確かでない腫瘍

3：多分 4 だと思うが、確かでない腫瘍

4：死亡／瀕死例にみつかった腫瘍で、直接死因に関わっていた腫瘍

II－5 試資料の保管

試験計画書、標本、生データ、記録文書、最終報告書、信頼性保証証明書、被験物質、その他本試験に係る資料は試資料保管施設に保管する。保管期間は最終報告書提出後 10 年間とする。

Ⅲ 試験成績

Ⅲ－１ ラットを用いた試験（試験番号:0242）

Ⅲ－１－１ 動物の状態観察

（１）生死状況

生死状況を TABLE 2,3 及び FIGURE 1,2 に示した。

生存率は雌雄ともに対照群と投与群に大きな差は認められなかった。

各群の 104 週における生存動物数(生存率)は、雄では対照群:33/50 例(66%)、8000ppm 群:43/50 例(86%)、20000ppm 群:43/50 例(86%)、50000ppm 群:38/50 例(76%)、雌では対照群:40/50 例(82%)、8000ppm 群:40/50 例(80%)、20000ppm 群:40/50 例(80%)、50000ppm 群:37/50 例(74%)であった。

（２）一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX A 1,2 に、外部腫瘍、内部腫瘍の発生動物数を TABLE 4,5 に示した。

アントラセンの投与による特徴的な所見は死亡動物及び生存動物のいずれにも認めなかった。

外部腫瘍の発生例数においては差は認められなかった。なお、雌でみられた外部腫瘍のうち 50000ppm 群の 9 例、20000ppm 群の 4 例、8000ppm 群の 2 例、対照群の 1 例が乳腺の腫瘍であった。

また、雌雄の内部腫瘍及び雄の外部腫瘍の発生には著変は認められなかった。

（３）体重

体重の推移を TABLE 2,3、FIGURE 3,4 及び APPENDIX B 1,2 に示した。

雄では投与群に投与期間前半及び投与終了直前に対照群と比較して有意な低値が認められた。なお、対照群において 98 週に自動給水装置の不具合による体重の低下が認められたが、次回計測時までにはほぼ回復した。

雌ではすべての投与群で体重増加の抑制を示し、投与期間中のほとんどの週に対照群に比較して有意な低値が認められた。なお、20000ppm 群で 30 週に、8000ppm 群で 86 週に自動給水装置の不具合による体重の低下が認められたが、次回計測時までにはほぼ回復した。

(4) 摂餌量

摂餌量を TABLE 6,7、FIGURE 5,6 及び APPENDIX C 1,2 に示した。

雌雄ともに対照群と投与群の間に大きな差は認められなかった。ただし、雄の対照群の 98 週及び雌の 20000ppm 群の 30 週と 8000ppm 群の 86 週に自動給水装置の不具合に伴う摂餌量の低値が認められた。

(5) 被験物質摂取量

体重、摂餌量及び設定濃度より算出した被験物質摂取量を APPENDIX D 1,2 に示した。

被験物質の 1 日当たりの摂取量は、雄で 8000ppm 群：0.288～0.669g/kg、20000ppm 群：0.715～1.698g/kg、50000ppm 群：1.893～4.216g/kg、雌では 8000ppm 群：0.336～0.692g/kg、20000ppm 群：0.938～1.718g/kg、50000ppm 群：2.448～4.410g/kg であった。各計測期間における各群の被験物質摂取量の差は被験物質調製濃度の公比(2.5)にほぼ比例した。

III - 1 - 2 血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査

(1) 血液学的検査

血液学的検査の結果を APPENDIX E 1,2 に示し、統計学的に差を認めた所見を表 1 に抜粋した。

雄では、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、MCV 並びに MCH が全ての群で減少する傾向を示し、血小板数及び網状赤血球比(Q7°ロット図 APPENDIX S1 参照)の増加が全ての投与群で認められた。白血球数は 50000ppm 群で増加した。赤血球数は 8000ppm 群で減少したが、その変化はわずかであり、投与用量にも対応していなかった。

雌では、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値並びに MCHC の値が減少する傾向を投与群全てで示し、20000ppm 群で MCV の高値が見られ、血小板数及び網赤血球比が全ての投与群で増加した。

これらの結果より、アントラセンの投与により雌雄共に軽い貧血状態にあったことが示唆された。

その他、血液凝固系の検査では雄のプロトロンビン時間の延長が 50000ppm 群でみられ、雌では APTT の延長が 20000ppm 以上の群で見られた。また、雌の 8000ppm 群で認められたプロトロンビン時間の変化はわずかであり、投与用量にも対応していなかった。

表 1 血液学的検査

| | 群(ppm) | 0 | 8000 | 20000 | 50000 |
|----------------------------|--------|-----------------|--------------------|--------------------|---------------------|
| 雄 | 動物数 | 33 | 43 | 43 | 38 |
| 赤血球数($10^6/\mu\text{L}$) | | 8.64 \pm 1.44 | 8.09 \pm 1.34 * | 8.61 \pm 1.18 | 8.78 \pm 0.84 |
| ヘモグロビン濃度(g/dL) | | 15.3 \pm 2.6 | 13.5 \pm 2.4 ** | 14.4 \pm 1.9 * | 14.6 \pm 1.2 * |
| ヘマトクリット値(%) | | 44.5 \pm 7.1 | 39.7 \pm 6.3 ** | 42.3 \pm 5.1 * | 43.1 \pm 3.4 |
| MCV(fL) | | 51.6 \pm 2.2 | 49.4 \pm 4.1 ** | 49.2 \pm 2.0 ** | 49.3 \pm 3.6 ** |
| MCH(pg) | | 17.7 \pm 1.4 | 16.6 \pm 1.5 ** | 16.8 \pm 0.6 ** | 16.7 \pm 1.1 ** |
| 血小板数($10^3/\mu\text{L}$) | | 783 \pm 113 | 1013 \pm 178 ** | 960 \pm 131 ** | 987 \pm 206 ** |
| 網赤血球比(%) | | 58 \pm 59 | 74 \pm 51 ** | 58 \pm 23 ** | 60 \pm 19 ** |
| プロトロンビン時間(sec) | | 12.1 \pm 0.7 | 12.0 \pm 0.6 | 12.3 \pm 0.8 | 12.5 \pm 0.7 * |
| 白血球数($10^6/\mu\text{L}$) | | 6.51 \pm 4.18 | 7.03 \pm 2.61 | 6.09 \pm 1.82 | 10.70 \pm 22.75 * |
| 雌 | 動物数 | 40 | 40 | 38 | 36 |
| 赤血球数($10^6/\mu\text{L}$) | | 8.03 \pm 0.94 | 7.20 \pm 1.06 ** | 7.43 \pm 0.48 ** | 7.40 \pm 0.45 ** |
| ヘモグロビン濃度(g/dL) | | 15.4 \pm 1.3 | 13.6 \pm 1.9 ** | 13.8 \pm 1.2 ** | 13.9 \pm 0.7 ** |
| ヘマトクリット値(%) | | 44.1 \pm 3.4 | 40.2 \pm 5.5 ** | 40.7 \pm 3.2 ** | 40.8 \pm 1.9 ** |
| MCV(fL) | | 55.4 \pm 4.3 | 56.1 \pm 2.7 ** | 54.7 \pm 2.5 | 55.3 \pm 2.7 |
| MCHC(g/dL) | | 34.8 \pm 1.4 | 33.8 \pm 1.0 ** | 33.9 \pm 1.1 ** | 34.0 \pm 0.9 ** |
| 血小板数($10^3/\mu\text{L}$) | | 621 \pm 121 | 776 \pm 143 ** | 856 \pm 179 ** | 797 \pm 176 ** |
| 網赤血球比(%) | | 47 \pm 39 | 75 \pm 27 ** | 76 \pm 16 ** | 77 \pm 14 ** |
| プロトロンビン時間(sec) | | 11.6 \pm 0.7 | 11.5 \pm 1.5 ** | 11.3 \pm 4.0 | 11.5 \pm 2.0 |
| APTT(sec) | | 14.6 \pm 2.7 | 15.5 \pm 2.4 | 16.8 \pm 4.0 ** | 16.5 \pm 2.0 ** |

有意差 *; $p \leq 0.05$ **; $p \leq 0.01$ ダンネット検定

(2) 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を APPENDIX F 1,2 に示し、統計学的に差を認めた所見を表 2 に抜粋した。

雄では、総コレステロールの減少が 50000ppm 群で、GPT 活性の低下が 8000ppm 群及び 50000ppm 群でのみ有意であったが、20000ppm 群においても減少傾向にあった(Q7°ット図 APPENDIXS2 参照)。その他、クロールの増加が 50000ppm 群で認められた。無機リン増加が 8000ppm 群で認められたが、その変化は投与量に対応していなかった。

雌では、総ビリルビン、総コレステロール、リン脂質及び尿素窒素の増加と GPT 及び ALP 活性の低下が全投与群で認められた。これに加えてグルコースの値が全投与群で減少し、GOT 及び LDH 活性の低下は 20000ppm 以上の群で認められた。また、トリグリセライドの増加が 8000ppm 群でのみ有意であったが 20000ppm 群並びに 50000ppm においても増加傾向が認められた(Q7°ット図 APPENDIXS3 参照)。その他、対照群と比較して総蛋白、A/G 比及びカルシウムに差が認められたが、大きな変化ではなく投与量にも対応していなかった。

表 2 血液生化学的検査

| 群(ppm) | | 0 | 8000 | 20000 | 50000 |
|-----------------|--|-------------|----------------|----------------|----------------|
| 雄 | | | | | |
| 動物数 | | 33 | 43 | 43 | 38 |
| 総コレステロール(mg/dL) | | 182 ± 65 | 176 ± 61 | 165 ± 49 | 143 ± 52 * |
| GPT活性(IU/L) | | 40 ± 24 | 35 ± 20 * | 100 ± 382 | 29 ± 11 ** |
| クロール(mEq/L) | | 106 ± 2 | 107 ± 2 | 107 ± 1 | 108 ± 2 ** |
| 無機リン(mg/dL) | | 4.2 ± 1.2 | 4.3 ± 0.7 * | 4.7 ± 1.9 | 4.1 ± 0.6 |
| 雌 | | | | | |
| 動物数 | | 40 | 40 | 38 | 36 |
| 総蛋白(g/dL) | | 6.9 ± 0.3 | 7.0 ± 0.5 | 7.1 ± 0.3 * | 6.8 ± 0.4 |
| A/G比 | | 1.2 ± 0.1 | 1.1 ± 0.1 ** | 1.1 ± 0.2 ** | 1.2 ± 0.1 |
| 総ビリルビン(mg/dL) | | 0.20 ± 0.06 | 0.23 ± 0.06 ** | 0.21 ± 0.02 ** | 0.22 ± 0.04 ** |
| グルコース(mg/dL) | | 150 ± 22 | 142 ± 13 * | 133 ± 16 ** | 134 ± 15 ** |
| 総コレステロール(mg/dL) | | 146 ± 44 | 223 ± 72 ** | 223 ± 72 ** | 183 ± 42 ** |
| トリグリセライド(mg/dL) | | 99 ± 66 | 150 ± 101 * | 136 ± 85 | 114 ± 45 |
| リン脂質(mg/dL) | | 246 ± 65 | 354 ± 102 ** | 359 ± 107 ** | 302 ± 63 ** |
| GOT活性(IU/L) | | 117 ± 97 | 95 ± 59 | 83 ± 44 ** | 76 ± 46 ** |
| GPT活性(IU/L) | | 56 ± 27 | 39 ± 40 ** | 31 ± 10 ** | 28 ± 12 ** |
| LDH(IU/L) | | 261 ± 430 | 176 ± 82 | 167 ± 107 * | 175 ± 148 ** |
| ALP活性(IU/L) | | 120 ± 70 | 98 ± 45 ** | 77 ± 16 ** | 82 ± 25 ** |
| 尿素窒素(mg/dL) | | 15.2 ± 2.3 | 17.4 ± 3.5 ** | 17.8 ± 3.8 ** | 16.7 ± 1.6 ** |
| カルシウム(mg/dL) | | 10.4 ± 0.4 | 10.7 ± 0.4 ** | 10.7 ± 0.3 ** | 10.5 ± 0.3 |

有意差 *; p ≤ 0.05 **; p ≤ 0.01 ダンネット検定

(3) 尿検査

尿検査の結果を APPENDIX G 1,2 に示し、統計学的に差を認めた所見を
の表 3 に抜粋した。

表 3 尿検査

| 群(ppm) | | 0 | 8000 | | | | | | 20000 | | | | | | 50000 | | | | | | |
|-----------------------|--|-----------------------|------|-----------------------|--|--|--|--|-------|-----------------------|--|--|--|--|-------|-----------------------|--|--|--|--|--|
| 雄 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 動物数 | | 33 | | 43 | | | | | | 43 | | | | | | 38 | | | | | |
| 蛋白 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <u>- ± + 2+ 3+ 4+</u> | | <u>- ± + 2+ 3+ 4+</u> | | <u>- ± + 2+ 3+ 4+</u> | | | | | | <u>- ± + 2+ 3+ 4+</u> | | | | | | <u>- ± + 2+ 3+ 4+</u> | | | | | |
| 0 0 0 0 20 13 | | 0 0 0 0 15 28 * | | 0 0 0 1 24 18 | | | | | | 0 0 0 2 22 14 | | | | | | | | | | | |
| ----- | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 雌 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 動物数 | | 41 | | 40 | | | | | | 40 | | | | | | 38 | | | | | |
| 蛋白 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <u>- ± + 2+ 3+ 4+</u> | | <u>- ± + 2+ 3+ 4+</u> | | <u>- ± + 2+ 3+ 4+</u> | | | | | | <u>- ± + 2+ 3+ 4+</u> | | | | | | <u>- ± + 2+ 3+ 4+</u> | | | | | |
| 0 0 0 10 20 11 | | 0 0 0 1 25 14 * | | 0 0 0 2 29 9 * | | | | | | 0 0 2 7 23 6 | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| ビリルビン | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <u>- + 2+ 3+</u> | | <u>- + 2+ 3+</u> | | <u>- + 2+ 3+</u> | | | | | | <u>- + 2+ 3+</u> | | | | | | <u>- + 2+ 3+</u> | | | | | |
| 41 0 0 0 | | 39 1 0 0 | | 40 0 0 0 | | | | | | 32 6 0 0 ** | | | | | | | | | | | |

有意差 *; p ≤ 0.05 **; p ≤ 0.01 カイ 2 乗検定

雌では、50000ppm 群にビリルビンの陽性例の増加が認められた。

また、雌雄共に蛋白に変化がみられたが、用量に依存しておらず、かつ大きな変化ではなかった。

Ⅲ－１－３ 病理学的検査

(１) 剖検

解剖時に観察された剖検所見を APPENDIX H 1～4 に示した。

雄では、肝臓の結節が対照群で 0/50 例、8000ppm 群で 2/50 例、20000ppm 群で 13/50 例、50000ppm 群で 11/50 例認められた。

雌では、肝臓の結節が対照群で 0/50 例、8000ppm 群で 4/50 例、20000ppm 群で 8/50 例、50000ppm 群で 5/50 例認められた。

(２) 臓器重量

定期解剖時に測定した臓器の実重量と体重比を APPENDIX I 1,2、J 1,2 に示し、統計学的に差を認めた臓器の実重量及び体重比を表 4 に抜粋した。

雄では、精巣、肝臓及び腎臓の実重量と体重比の値が全ての投与群で対照群と比較して有意な高値を示した。

その他、脾臓の体重比は 50000ppm 群で増加する傾向がみられた。また、肺及び脳の体重比の値に変化は、体重増加の抑制に伴う変化と思われた。

雌では、腎臓、脾臓及び肝臓の実重量と体重比の値が全ての投与群で対照群と比較して有意な高値を示し、副腎の実重量 8000ppm 群で低値を示し、体重比が 20000ppm 以上なので対照群と比較して有意な高値を示した。その他、卵巣、心臓、肺及び脳の体重比の値に変化がみられたが、これらは体重増加の抑制に伴う変化と思われた。

表 4 臓器重量

| 群(ppm) | 0 | 8000 | 20000 | 50000 |
|----------|----------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| 雄 | | | | |
| 動物数 | 33 | 43 | 43 | 38 |
| 解剖日体重(g) | 410 ± 40 | 378 ± 39 ** | 374 ± 45 ** | 383 ± 33 ** |
| 実重量(g) | | | | |
| 精巣 | 4.280 ± 1.589 | 5.972 ± 2.068 ** | 6.401 ± 2.374 ** | 6.176 ± 2.085 ** |
| 腎臓 | 2.942 ± 0.290 | 3.159 ± 0.237 ** | 3.175 ± 0.342 ** | 3.159 ± 0.416 ** |
| 脾臓 | 1.340 ± 0.999 | 1.116 ± 0.229 | 1.020 ± 0.212 | 1.315 ± 1.115 |
| 肝臓 | 12.245 ± 1.761 | 13.805 ± 1.231 ** | 14.589 ± 4.065 ** | 13.824 ± 1.906 ** |
| 体重比(%) | | | | |
| 精巣 | 1.036 ± 0.360 | 1.583 ± 0.523 ** | 1.712 ± 0.598 ** | 1.599 ± 0.515 ** |
| 肺 | 0.448 ± 0.484 | 0.409 ± 0.084 ** | 0.404 ± 0.057 ** | 0.425 ± 0.152 ** |
| 腎臓 | 0.725 ± 0.109 | 0.847 ± 0.130 ** | 0.870 ± 0.212 ** | 0.828 ± 0.110 ** |
| 脾臓 | 0.327 ± 0.247 | 0.297 ± 0.067 * | 0.272 ± 0.045 ** | 0.362 ± 0.426 * |
| 肝臓 | 3.000 ± 0.425 | 3.687 ± 0.467 ** | 3.972 ± 1.320 ** | 3.625 ± 0.545 ** |
| 脳 | 0.513 ± 0.061 | 0.554 ± 0.063 ** | 0.564 ± 0.081 ** | 0.548 ± 0.047 ** |
| 雌 | | | | |
| 動物数 | 40 | 40 | 40 | 37 |
| 解剖日体重(g) | 300 ± 41 | 255 ± 22 ** | 238 ± 25 ** | 243 ± 19 ** |
| 実重量(g) | | | | |
| 副腎 | 0.076 ± 0.019 | 0.067 ± 0.009 ** | 0.118 ± 0.309 | 0.094 ± 0.134 |
| 腎臓 | 2.011 ± 0.200 | 2.206 ± 0.200 ** | 2.225 ± 0.200 ** | 2.176 ± 0.229 ** |
| 脾臓 | 0.772 ± 0.940 | 1.030 ± 1.171 ** | 0.994 ± 1.091 ** | 0.980 ± 0.522 ** |
| 肝臓 | 7.339 ± 0.842 | 8.531 ± 1.369 ** | 8.738 ± 1.478 ** | 8.725 ± 1.010 ** |
| 体重比(%) | | | | |
| 副腎 | 0.027 ± 0.014 | 0.026 ± 0.004 | 0.051 ± 0.134 ** | 0.038 ± 0.052 ** |
| 卵巣 | 0.043 ± 0.007 | 0.062 ± 0.066 ** | 0.051 ± 0.010 ** | 0.057 ± 0.051 ** |
| 心臓 | 0.314 ± 0.058 | 0.351 ± 0.041 ** | 0.373 ± 0.040 ** | 0.369 ± 0.037 ** |
| 肺 | 0.372 ± 0.124 | 0.435 ± 0.078 ** | 0.456 ± 0.064 ** | 0.462 ± 0.084 ** |
| 腎臓 | 0.688 ± 0.156 | 0.872 ± 0.110 ** | 0.950 ± 0.162 ** | 0.900 ± 0.116 ** |
| 脾臓 | 0.273 ± 0.374 | 0.408 ± 0.485 ** | 0.415 ± 0.438 ** | 0.413 ± 0.258 ** |
| 肝臓 | 2.494 ± 0.455 | 3.357 ± 0.559 ** | 3.371 ± 0.906 ** | 3.607 ± 0.474 ** |
| 脳 | 0.640 ± 0.114 | 0.717 ± 0.133 ** | 0.791 ± 0.084 ** | 0.776 ± 0.067 ** |

有意差 *; p ≤ 0.05 **; p ≤ 0.01 ダンネット検定

(3) 病理組織学的検査

非腫瘍性病変の結果を APPENDIX K 1~4 に示した。腫瘍性病変の結果は、APPENDIX L 1,2 に担腫瘍動物数と腫瘍数、APPENDIX M 1,2 に腫瘍の種類別の発生数、TABLE 8,9 と APPENDIX N 1,2 に統計解析(Peto 検定、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定)、APPENDIX O 1~4 に転移性病変について示した。また、統計学的に差を認めた所見または統計学的に差が認められなくとも投与の影響があったと思われる所見については表 5~8 に抜粋した。なお、腫瘍性病変を示した表 5 及び 7 には当センターヒストリカルコントロールデータを合わせて示した。

- 雄の主な病変 -

表 5 雄の腫瘍性病変

| 群 | | control | 8000ppm | 20000ppm | 50000ppm | ヒストリカルコントロールデータ | | |
|-------|---------------------------|---------------|---------------------|----------|----------|-----------------|--------|---------|
| | | | | | | 動物数：949 | | |
| 動物数 | | 50 | 50 | 50 | 50 | 担腫瘍 動物数 | 率 % | 範囲 % |
| [肝臓] | | | | | | | | |
| | 肝細胞癌 ^{b d} | 0 | 0 | 5 * | 5 * | 3 | 0.3 | 0-2 |
| | 肝細胞腺腫 ^{b d} | 0 | 4 | 9 ** | 9 ** | 18 | 1.9 | 0-6 |
| | 肝細胞癌,肝細胞腺腫 ^{b d} | 0 | 4 | 13 ** | 13 ** | 21 | 2.2 | 0-6 |
| [膀胱] | | | | | | | | |
| | 移行上皮癌 | 0 | 1 | 4 | 3 | 0 | 0.0 | 0-0 |
| | 移行上皮乳頭腫 | 0 | 0 | 2 | 0 | 1 | 0.1 | 0-2 |
| | 移行上皮乳頭腫,癌 | 0 | 1 | 6 * | 3 | 1 | 0.1 | 0-2 |
| [脾臓] | | | | | | | | |
| | 単核球性白血病 ^a | 8 | 1 * | 1 * | 1 * | 131 | 13.8 | 6-22 |
| [包皮腺] | | | | | | | | |
| | 腺腫 ^a | 4 | 4 | 2 | 0 | 35 | 3.7 | 0-12 |
| 有意差 | a ; p ≤ 0.05 | b ; p ≤ 0.01 | Cochran-Armitage検 定 | | | | | |
| | c ; p ≤ 0.05 | d ; p ≤ 0.01 | Peto検 定 | | | | | |
| | * ; p ≤ 0.05 | ** ; p ≤ 0.01 | Fisher検定 | | | | | |

表 6 雄の非腫瘍性病変

| 群(ppm) | 動物数 | Control | | | | 8000 | | | | 20000 | | | | 50000 | | | |
|--------|---------------|---------------------------------|-----|-----|-----|------|-----|-----|-------|-------|-----|-----|-------|-------|-----|-----|-------|
| | | 50 | | | | 50 | | | | 50 | | | | 50 | | | |
| グレード | | <1> | <2> | <3> | <4> | <1> | <2> | <3> | <4> | <1> | <2> | <3> | <4> | <1> | <2> | <3> | <4> |
| [肝臓] | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 明細胞性小増殖巣 | 6 | 2 | 1 | 0 | 2 | 12 | 17 | 11 ** | 2 | 13 | 14 | 14 ** | 5 | 20 | 8 | 5 ** |
| | 好酸性小増殖巣 | 4 | 0 | 0 | 0 | 5 | 14 | 14 | 7 ** | 3 | 9 | 13 | 15 ** | 3 | 6 | 8 | 15 ** |
| | 好塩基小増殖巣 | 5 | 8 | 0 | 0 | 8 | 9 | 4 | 0 | 6 | 13 | 0 | 1 | 11 | 9 | 3 | 0 |
| | 海綿状変性 | 0 | 1 | 0 | 0 | 11 | 3 | 0 | 0 ** | 8 | 3 | 1 | 0 ** | 9 | 5 | 1 | 0 ** |
| | 胆管増生 | 10 | 36 | 0 | 0 | 10 | 37 | 0 | 0 | 18 | 22 | 2 | 0 * | 18 | 22 | 1 | 0 * |
| [腎臓] | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 好酸滴：近位尿細管 | 1 | 0 | 0 | 0 | 19 | 4 | 0 | 0 ** | 27 | 5 | 0 | 0 ** | 23 | 13 | 0 | 0 ** |
| [脾臓] | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | ヘモジデリン沈着 | 1 | 1 | 1 | 0 | 4 | 1 | 0 | 0 | 8 | 1 | 0 | 0 | 9 | 5 | 0 | 0 ** |
| | 赤血球充満 | 0 | 0 | 0 | 0 | 13 | 2 | 0 | 0 ** | 14 | 0 | 0 | 0 ** | 10 | 0 | 0 | 0 ** |
| [鼻腔] | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | エオジン好性変化：嗅上皮 | 22 | 23 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 ** | 0 | 0 | 0 | 0 ** | 0 | 0 | 0 | 0 ** |
| | エオジン好性変化：呼吸上皮 | 35 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 ** | 0 | 0 | 0 | 0 ** | 0 | 0 | 0 | 0 ** |
| | 呼吸上皮化生：腺 | 31 | 3 | 0 | 0 | 27 | 4 | 0 | 0 | 19 | 0 | 0 | 0 ** | 18 | 1 | 0 | 0 ** |
| [膵臓] | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 萎縮 | 3 | 3 | 0 | 0 | 5 | 7 | 2 | 0 | 7 | 5 | 1 | 0 | 10 | 6 | 0 | 0 * |
| [精巣] | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 鉍質沈着 | 6 | 0 | 0 | 0 | 7 | 0 | 0 | 0 | 14 | 1 | 0 | 0 | 16 | 1 | 0 | 0 * |
| グレード | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | <1>:軽度 <2>:中等度 <3>:重度 <4>:超重度 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 有意差 | | *; p ≤ 0.05 **; p ≤ 0.01 カイ2乗検定 | | | | | | | | | | | | | | | |

< 肝臓 >

肝細胞癌が 20000ppm 群と 50000ppm 群の各々 5/50 例に発生した。統計学的には Peto 検定（有病率法、有病率法＋死亡率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定でも 20000ppm 以上の群に対照群と比較して有意な増加を認めた。肝細胞腺腫は 8000ppm 群の 4/50 例、20000ppm 群に 9/50 例、50000ppm 群の 9/50 例に発生し、Peto 検定（有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定でも 20000ppm 以上の群に対照群と比較して有意な増加を認めた。なお、肝細胞癌と肝細胞腺腫を合わせた発生も Peto 検定（有病率法、有病率法＋死亡率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定でも 20000ppm 以上の群に対照群と比較して有意な増加を認めた。

明細胞性小増殖巣、好酸性小増殖巣及び海綿状変性は全ての投与群で有意な増加を示した。また、統計学的には有意な差を認めなかったが、好塩基性小増殖巣も全ての投与群で対照群に比較して多くみられた。

その他、胆管増生の発生に統計学的な有意差が見られたが、投与量に対応した変化ではなかった。

< 膀胱 >

移行上皮癌が 8000ppm 群の 1/50 例、20000ppm 群の 4/50 例及び 50000ppm 群の 3/50 例、また、移行上皮乳頭腫が 20000ppm 群の 2/50 例に発生した。統計学的には移行上皮癌と移行上皮乳頭腫を合わせた発生が 20000ppm 群で対照群と比較して有意な増加を示した。

< 脾臓 >

単核球性白血病の発生は Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示し、Fisher 検定でも全ての投与群で対照群と比較して有意な減少を示した。

ヘモジデリン沈着が 50000ppm 群で、赤血球充満が全ての投与群で有意な増加を示した。

< 包皮腺 >

腺腫の発生が Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示したが、ヒストリカルコントロールデータの範囲内だった。

< 腎臓 >

近位尿細管の好酸滴の出現が全ての投与群で有意な増加を示した。この

好酸滴は近位尿細管の細胞質内に存在し、形状はほぼ円形滴状、大きさは微小なものから尿細管上皮の核の大きさ程度であった。色調は無染色標本は概して淡褐色、HE染色標本では帯黄色エオジン好性、個々の滴あるいは同一滴内であっても色調が不均一であった。また、特殊染色の結果からはPAS染色では軽度の陽性、鉄染色では部分的に軽度の陽性を示した。さらに、抗 α -2 μ グロブリン抗体を用いた免疫染色では軽度の陽性を示す部分もみられたが、多くの好酸滴は陰性であった。

<鼻腔>

嗅上皮と呼吸上皮のエオジン好性変化が、全ての投与群に有意な減少を示した。さらに、鼻腺の呼吸上皮化生が20000ppm以上の群で有意な減少を示した。

<脾臓>

萎縮が50000ppm群で有意に増加した。

<精巣>

鉍質沈着が50000ppm群で有意な増加を示した。

一雌の主な病変

表7 雌の腫瘍性病変

| 群 | 動物数 | control | 8000ppm | 20000ppm | 50000ppm | ヒストリカルコントロールデータ | | |
|------|-----------------------------|---------------|---------------------|----------|----------|-----------------|--------|---------|
| | | 50 | 50 | 50 | 50 | 動物数：948 | | |
| | | | | | | 担腫瘍 動物数 | 率 % | 範囲 % |
| [腎臓] | | | | | | | | |
| | 腎細胞癌 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0.0 | 0-0 |
| | 腎細胞腺腫 | 0 | 3 | 6 * | 4 | 1 | 0.1 | 0-2 |
| | 腎細胞癌, 腺腫 ^c | 0 | 3 | 6 * | 5 * | 1 | 0.1 | 0-2 |
| [膀胱] | | | | | | | | |
| | 移行上皮癌 | 0 | 2 | 3 | 2 | 0 | 0.0 | 0-0 |
| [子宮] | | | | | | | | |
| | 子宮内膜間質性肉腫 ^{b d} | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | 0.3 | 0-2 |
| [乳腺] | | | | | | | | |
| | 線維腺腫 ^{b d} | 3 | 2 | 3 | 9 | 92 | 9.7 | 0-20 |
| | 腺腫 | 0 | 2 | 0 | 1 | 44 | 4.6 | 0-18 |
| | 腺癌 | 0 | 0 | 2 | 0 | 14 | 1.5 | 0-6 |
| | 腺腫, 線維腺腫 ^{a d} | 3 | 4 | 3 | 10 | 136 | 14.3 | 4-24 |
| | 腺癌, 腺腫, 線維腺腫 ^{b d} | 3 | 4 | 5 | 10 | 150 | 15.8 | 4-26 |
| 有意差 | | | | | | | | |
| | a ; p ≤ 0.05 | b ; p ≤ 0.01 | Cochran-Armitage 検定 | | | | | |
| | c ; p ≤ 0.05 | d ; p ≤ 0.01 | Peto 検定 | | | | | |
| | * ; p ≤ 0.05 | ** ; p ≤ 0.01 | Fisher 検定 | | | | | |

表 8 雌の非腫瘍性病変

| 群(ppm) | 動物数 | control | | | | 8000 | | | | 20000 | | | | 50000 | | | |
|--------|---------------|---------|-----|-----|-----|------|-----|-----|------|-------|-----|-----|------|-------|-----|-----|------|
| | | 50 | | | | 50 | | | | 50 | | | | 50 | | | |
| グレード | | <1> | <2> | <3> | <4> | <1> | <2> | <3> | <4> | <1> | <2> | <3> | <4> | <1> | <2> | <3> | <4> |
| 〔肝臓〕 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 明細胞性小増殖巣 | 1 | 0 | 0 | 0 | 3 | 6 | 0 | 0 * | 8 | 7 | 0 | 0 ** | 5 | 6 | 2 | 0 ** |
| | 好酸性小増殖巣 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6 | 11 | 3 | 0 ** | 6 | 10 | 3 | 1 ** | 10 | 5 | 1 | 1 ** |
| 〔腎臓〕 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 異型尿細管過形成 | 0 | 0 | 0 | 0 | 12 | 0 | 0 | 0 ** | 13 | 0 | 0 | 0 ** | 7 | 0 | 0 | 0 ** |
| | 好酸滴：近位尿細管 | 2 | 0 | 0 | 0 | 14 | 32 | 0 | 0 ** | 5 | 37 | 0 | 0 ** | 8 | 37 | 0 | 0 ** |
| | 慢性腎症 | 23 | 11 | 3 | 3 | 10 | 15 | 15 | 4 ** | 10 | 21 | 8 | 5 * | 17 | 18 | 7 | 0 |
| | 鉍質沈着：乳頭 | 2 | 0 | 0 | 0 | 11 | 1 | 0 | 0 * | 7 | 0 | 0 | 0 | 5 | 0 | 0 | 0 |
| 〔鼻腔〕 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | エオジン好性変化：嗅上皮 | 4 | 29 | 16 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 ** | 0 | 0 | 0 | 0 ** | 0 | 0 | 0 | 0 ** |
| | エオジン好性変化：呼吸上皮 | 36 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 ** | 0 | 0 | 0 | 0 ** | 0 | 0 | 0 | 0 ** |
| | 呼吸上皮化生：嗅上皮 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 8 | 0 | 0 | 0 ** |
| | 呼吸上皮化生：腺 | 30 | 2 | 0 | 0 | 18 | 0 | 0 | 0 * | 23 | 0 | 0 | 0 | 15 | 0 | 0 | 0 ** |
| | 壊死：嗅上皮 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 14 | 0 | 0 | 0 ** | 25 | 0 | 0 | 0 ** |
| 〔脾臓〕 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | ヘモジデリン沈着 | 15 | 9 | 0 | 0 | 22 | 8 | 1 | 0 | 28 | 7 | 1 | 0 * | 21 | 9 | 0 | 0 |
| | 赤血球充満 | 0 | 0 | 0 | 0 | 22 | 6 | 0 | 0 ** | 29 | 4 | 0 | 0 ** | 20 | 8 | 0 | 0 ** |
| 〔膵臓〕 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 萎縮 | 4 | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | 0 | 0 | 3 | 7 | 0 | 0 * | 5 | 3 | 0 | 0 |
| 〔下垂体〕 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 血管拡張 | 6 | 5 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 ** | 1 | 0 | 0 | 0 ** | 4 | 0 | 0 | 0 |
| 〔眼球〕 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 網膜萎縮 | 9 | 4 | 0 | 0 | 5 | 4 | 1 | 0 | 1 | 9 | 0 | 0 * | 2 | 5 | 0 | 0 |

グレード <1>:軽度 <2>:中等度 <3>:重度 <4>:超重度

有意差 *:p ≤ 0.05 **:p ≤ 0.01 カイ2乗検定

< 腎臓 >

腎細胞腺腫が8000ppm群の3/50例、20000ppm群の6/50例、50000ppm群の4/50例に発生した。この発生例数はヒストリカルコントロールデータの範囲を超えており、統計学的には20000ppm群ではFisher検定で有意な増加を示した。また、腎細胞癌が50000ppm群の1/50例に発生した。腎細胞癌と腎細胞腺腫を合わせた発生は、Peto検定(死亡率法+有病率法)で有意な増加傾向、Fisher検定でも20000ppm以上の群で対照群と比較して有意な増加を示した。さらに、尿細管上皮の異型過形成の発生が全ての投与群で認められた。腎細胞腺腫と異型過形成の組織像は近似しており、大きさが糸球体3個を超えるものを腎細胞腺腫と診断した。また、近位尿細管の好酸滴の出現が全ての投与群で有意な増加を示した。この所見は雄でみられた変化と形態的に一致しており、また特殊染色、免疫染色の結果も雄と同様であった。さらに、8000ppm群と20000ppm群では慢性腎症の程度

の増強がみられた。

その他 8000ppm 群に乳頭部鉍質沈着の増加が認められたが投与量に対応した変化ではないため被験物質の投与による影響とは考えられなかった。

<膀胱>

統計学的には有意でなかったが、移行上皮癌が 8000ppm 群の 2/50 例、20000ppm 群の 3/50 例及び 50000ppm の 2/50 例に発生した。

<子宮>

子宮内膜間質性肉腫が 50000ppm 群で 3/50 例発生し、Peto 検定（有病率法、有病率法＋死亡率法）、Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。

<乳腺>

線維腺腫が対照群で 3/50 例、8000ppm 群で 2/50 例、20000ppm 群で 3/50 例及び 50000ppm 群で 9/50 例発生し、Peto 検定（有病率法、死亡率法、有病率法＋死亡率法）、Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。

<肝臓>

明細胞性小増殖巣と好酸性小増殖巣が全ての投与群で有意な増加を示した。

<脾臓>

赤血球充満が全ての投与群、ヘモデジリン沈着が 20000ppm 群で有意な増加を示した。

<鼻腔>

嗅上皮の壊死が 20000ppm 以上の群で、呼吸上皮化生が 50000ppm 群で有意な増加(χ^2 検定)を示した。嗅上皮と呼吸上皮のエオジン好性変化が何れも全ての投与群に有意な減少を示した。さらに、鼻腺の呼吸上皮化生が 8000ppm 群と 50000ppm 群で有意な減少(χ^2 検定)を示した。

<脾臓>

萎縮が 20000ppm 群で有意(χ^2 検定)な増加を示した。

<下垂体>

血管拡張が 8000ppm 群と 20000ppm 群で有意な減少を示した。

<眼球>

20000ppm 群で網膜萎縮の程度の増強が認められたが、総数としては減少しており、被験物質投与の影響とは思われなかった。

(4) 死因

病理学的にみた死亡／瀕死の原因を TABLE 10 に示した。

雌雄とも投与群に特定な原因による死亡の増加は認められなかった。むしろ雄の投与群は下垂体腫瘍及び白血病による死亡が対照群に比べ少なかった。

Ⅲ－２ マウスを用いた試験（試験番号:0243）

Ⅲ－２－１ 動物の状態観察

（１）生死状況

生死状況を TABLE 11,12 及び FIGURE 7,8 に示した。

雌雄ともに各投与群の動物の生存率は対照群と比較して顕著な低下を認めなかった。ただし、対照群において自動給水ノズルの不良により絶水状態となり 1 例の死亡例があった。

各群の 104 週における生存動物数(生存率)は、雄では対照群:41/49 例(84%)、3200ppm 群:41/50 例(82%)、8000ppm 群:37/50 例(74%)、20000ppm 群:42/50 例(84%)、雌では対照群:35/50 例(70%)、8000ppm 群:31/50 例(62%)、20000ppm 群:34/50 例(68%)、50000ppm 群:34/50 例(68%)であった。

（２）一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX A 3,4 に、外部腫瘍、内部腫瘍の発生動物数を TABLE 13,14 に示した。

アントラセンの投与による特徴的な所見は死亡動物及び生存動物のいずれにも認められなかった。

外部腫瘍の発生例数においては差は認められなかった。内部腫瘍の発生状況は雌雄とも投与群に増加傾向が認められた。雄においては特定の腫瘍との関連は認められなかった。雌において認められた内部腫瘍は組織球性肉腫(対照群:6/8 例、8000ppm 群:7/10 例、20000ppm 群:7/9 例、50000ppm 群:2/7 例)、悪性リンパ種(対照群:2/8 例、8000ppm 群:2/10 例、20000ppm 群:0/9 例、50000ppm 群:0/7 例)、肝細胞癌(対照群:0/8 例、8000ppm 群:0/10 例、20000ppm 群:0/9 例、50000ppm 群:4/7 例)などであった。

（３）体重

体重の推移を TABLE 11,12、FIGURE 9,10 及び APPENDIX B 3,4 に示した。

雌雄ともほぼ用量に依存した体重増加の抑制を示し、投与期間のほとんどの週で対照群と比較して低値を示した。また、雄における対照群と投与群との差は最大で 4.1g(78 週)、雌における対照群と投与群との差は最大で 3.2g(58 週)であった。なお、66 週目に給餌方法の不具合による体重の減少が認められた。

(4) 摂餌量

摂餌量を TABLE 15,16、FIGURE 11,12 及び APPENDIX C 3,4 に示した。

雌雄ともに各投与群の動物の摂餌量は対照群と比較して大きな変化は認められなかった。なお、66週目に給餌方法の不具合による摂餌量の減少が認められた。

(5) 被験物質摂取量

体重、摂餌量及び設定濃度より算出した被験物質の摂取量を APPENDIX D 3,4 に示した。

被験物質の1日当たりの摂取量は、雄で 3200ppm 群：0.305～0.573g/kg、8000ppm 群：0.829～1.503g/kg、20000ppm 群：2.106～3.682g/kg、雌で 8000ppm 群：1.029～1.783g/kg、20000ppm 群：2.616～4.448g/kg、50000ppm 群：7.350～1.147g/kg であった。各計測期間における各群の被験物質摂取量の差は被験物質調製濃度の公比にほぼ比例した。

III - 2 - 2 血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査

(1) 血液学的検査

血液学的検査の結果を APPENDIX E 3,4 に示し、統計学的に差を認めた所見を表 9 に抜粋した。

表 9 血液学的検査

| 群(ppm) | | 0 | 3200 | 8000 | 20000 |
|----------------------------|-----|-------------|-------------|-------------|----------------|
| 雄 | | | | | |
| | 動物数 | 41 | 41 | 36 | 40 |
| 赤血球数($10^6/\mu\text{L}$) | | 9.99 ± 1.34 | 9.56 ± 1.04 | 9.67 ± 0.44 | 9.48 ± 0.73 ** |
| ヘモグロビン濃度(g/dL) | | 14.8 ± 1.8 | 14.1 ± 1.4 | 14.4 ± 0.5 | 14.2 ± 0.8 ** |
| MCV(fL) | | 45.0 ± 1.8 | 45.6 ± 1.6 | 45.8 ± 0.9 | 46.5 ± 1.9 ** |
| MCHC(g/dL) | | 33.0 ± 1.5 | 32.3 ± 0.7 | 32.5 ± 0.8 | 32.3 ± 0.6 ** |
| 血小板数($10^3/\mu\text{L}$) | | 2152 ± 600 | 2352 ± 553 | 2425 ± 392 | 2477 ± 448 ** |
| 白血球百分率 | | | | | |
| 杆状核好中球(%) | | 1 ± 1 | 1 ± 1 | 2 ± 1 * | 2 ± 1 ** |
| 群(ppm) | | 0 | 8000 | 20000 | 50000 |
| 雌 | | | | | |
| | 動物数 | 33 | 30 | 34 | 34 |
| 赤血球数($10^6/\mu\text{L}$) | | 9.86 ± 0.81 | 9.20 ± 1.96 | 9.63 ± 1.32 | 10.91 ± 1.66 * |
| ヘモグロビン濃度(g/dL) | | 14.4 ± 1.2 | 13.8 ± 2.5 | 14.3 ± 1.5 | 15.7 ± 1.8 ** |
| ヘマトクリット値(%) | | 43.9 ± 3.4 | 41.8 ± 7.0 | 43.6 ± 4.4 | 48.0 ± 5.5 ** |
| 血小板数($10^3/\mu\text{L}$) | | 1148 ± 271 | 1157 ± 353 | 1314 ± 385 | 1554 ± 431 ** |

有意差 *; $p \leq 0.05$ **; $p \leq 0.01$ ダンネット検定

雄では、赤血球数、ヘモグロビン濃度並びに MCHC の値が 20000ppm 群で減少した。一方、血小板数及び MCV の増加が 20000ppm 群で、杆状核好中球比が 8000ppm 以上の群で増加した。雌では、雄とは逆に、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値が 50000ppm 群で増加し、血小板数もまた 50000ppm 群で増加した。

(2) 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を APPENDIX F 3,4 に示し、統計学的に差を認めた所見を表 10 に抜粋した。

表 10 血液生化学的検査

| 群(ppm) | | 0 | 3200 | 8000 | 20000 |
|--------|-----------------|-------------|---------------|---------------|----------------|
| 雄 | | | | | |
| | 動物数 | 41 | 41 | 36 | 41 |
| | アルブミン(g/dL) | 2.8 ± 0.3 | 2.9 ± 0.3 | 2.9 ± 0.2 | 3.0 ± 0.3 * |
| | A/G比 | 1.3 ± 0.1 | 1.3 ± 0.1 | 1.3 ± 0.2 * | 1.3 ± 0.1 ** |
| | 総コレステロール(mg/dL) | 78 ± 31 | 90 ± 31 ** | 82 ± 14 * | 83 ± 22 |
| | トリグリセライド(mg/dL) | 19 ± 6 | 24 ± 15 | 25 ± 14 * | 26 ± 11 |
| | ALP活性(IU/L) | 172 ± 29 | 154 ± 81 ** | 147 ± 23 ** | 151 ± 34 ** |
| | カリウム(mEq/L) | 4.3 ± 0.3 | 4.2 ± 0.4 | 4.1 ± 0.3 ** | 4.1 ± 0.4 ** |
| | カルシウム(mg/dL) | 8.7 ± 0.4 | 8.8 ± 0.4 | 8.7 ± 0.2 | 8.9 ± 0.3 ** |
| 群(ppm) | | 0 | 8000 | 20000 | 50000 |
| 雌 | | | | | |
| | 動物数 | 33 | 30 | 34 | 34 |
| | 総蛋白(g/dL) | 5.1 ± 0.4 | 5.0 ± 0.7 | 5.2 ± 0.6 | 5.9 ± 1.1 ** |
| | アルブミン(g/dL) | 2.8 ± 0.2 | 2.9 ± 0.4 | 3.0 ± 0.3 | 3.3 ± 0.5 ** |
| | 総ビリルビン(mg/dL) | 0.18 ± 0.02 | 0.20 ± 0.04 * | 0.20 ± 0.03 * | 0.26 ± 0.16 ** |
| | 総コレステロール(mg/dL) | 62 ± 11 | 79 ± 43 | 80 ± 39 * | 155 ± 124 ** |
| | GOT活性(IU/L) | 93 ± 88 | 169 ± 458 | 86 ± 48 | 208 ± 274 ** |
| | GPT活性(IU/L) | 32 ± 35 | 149 ± 619 | 41 ± 24 ** | 157 ± 179 ** |
| | ALP活性(IU/L) | 270 ± 86 | 374 ± 321 | 352 ± 132 ** | 508 ± 291 ** |
| | カリウム(mEq/L) | 4.2 ± 0.5 | 4.1 ± 0.8 | 3.9 ± 0.5 ** | 3.9 ± 0.3 |
| | クロール(mEq/L) | 124 ± 2 | 123 ± 3 | 122 ± 3 | 120 ± 4 ** |
| | カルシウム(mg/dL) | 8.9 ± 0.5 | 9.0 ± 0.5 | 9.0 ± 0.4 | 9.5 ± 1.0 * |

有意差 *; p ≤ 0.05 **; p ≤ 0.01 ダンネット検定

雄では、トリグリセライドの増加が 8000ppm 以上の群で、アルブミン及びカルシウムの増加が 20000ppm 群で認められた。また、ALP 活性の低下が投与群すべてで、カリウムの減少が 8000ppm 以上の群で認められた。なお、A/G 比において平均値に変化が無いにも係わらず有意な差が認められたが、これは投与群の数値の分布が増加側にシフトしたためであった(Q7°ロット図 APPENDIX S4 参照)。総コレステロールの増加が 3200、8000ppm 群で認められた。

雌では、総ビリルビンの増加が全ての投与群で認められた。また、GPT及びALP活性の上昇と総コレステロールの増加が20000ppm以上の群で認められた。これに加え、総蛋白並びにアルブミンの増加、GOT活性の上昇、クロールの減少並びにカルシウムの増加が50000ppm群で認められた。また、カリウムの減少が20000ppm群で認められた。

(3) 尿検査

尿検査の結果を APPENDIX G 3,4 に示し、統計学的に差を認められた所見を表11に抜粋した。

表 11 尿検査

| 群(ppm) | | 0 | | | | | | 3200 | | | | | | 8000 | | | | | | 20000 | | | | | |
|----------|--|----------------|--|--|--|--|--|----------------|--|--|--|--|--|----------------|--|--|--|--|--|------------------|--|--|--|--|--|
| 雄 動物数 | | 41 | | | | | | 40 | | | | | | 37 | | | | | | 41 | | | | | |
| ケトン体 | | — ± + 2+ 3+ 4+ | | | | | | — ± + 2+ 3+ 4+ | | | | | | — ± + 2+ 3+ 4+ | | | | | | — ± + 2+ 3+ 4+ | | | | | |
| | | 19 17 5 0 0 0 | | | | | | 20 15 4 1 0 0 | | | | | | 17 17 3 0 0 0 | | | | | | 30 11 0 0 0 0 * | | | | | |
| 群(ppm) | | 0 | | | | | | 8000 | | | | | | 20000 | | | | | | 50000 | | | | | |
| 雌 動物数 | | 35 | | | | | | 31 | | | | | | 34 | | | | | | 34 | | | | | |
| 蛋白 | | — ± + 2+ 3+ 4+ | | | | | | — ± + 2+ 3+ 4+ | | | | | | — ± + 2+ 3+ 4+ | | | | | | — ± + 2+ 3+ 4+ | | | | | |
| | | 0 3 19 13 0 0 | | | | | | 0 8 17 5 1 0 | | | | | | 0 3 27 4 0 0 * | | | | | | 0 12 18 4 0 0 ** | | | | | |
| 潜血 | | — ± + 2+ 3+ | | | | | | — ± + 2+ 3+ | | | | | | — ± + 2+ 3+ | | | | | | — ± + 2+ 3+ | | | | | |
| | | 21 1 0 1 12 | | | | | | 24 3 0 0 4 | | | | | | 26 2 0 1 5 | | | | | | 31 3 0 0 0 ** | | | | | |
| 有意差 | | *:p ≤ 0.05 | | | | | | **:p ≤ 0.01 | | | | | | カイ2乗検定 | | | | | | | | | | | |

雄では、20000ppm群でケトン体の陽性度の有意な低下が認められた。

雌では、20000ppm以上の群で蛋白の陽性度の有意な低下が認められ、50000ppm群で潜血の陽性度の有意な低下が認められた。

III - 2 - 3 病理学的検査

(1) 剖検

解剖時に認められた剖検所見を APPENDIX H5~8 に示した。

雄においては著変は認められなかったが、雌では肝臓の結節が対照群で13例であったのに対し、8000ppm群で13例、20000ppm群で24例、50000ppm群で34例と投与濃度に依存して増加する傾向を示した。

(2) 臓器重量

定期解剖時に測定した臓器の実重量と体重比を APPENDIX I 3,4、J 3,4 に示し、統計学的に差を認めた臓器の実重量及び体重比を表 12 に抜粋した。

表 12 臓器重量

| 群(ppm) | 0 | 3200 | 8000 | 20000 |
|----------|---------------|------------------|------------------|------------------|
| 雄 | | | | |
| 動物数 | 41 | 41 | 37 | 42 |
| 解剖日体重(g) | 31.7 ± 3.4 | 30.9 ± 3.2 | 30.5 ± 3.2 | 29.7 ± 2.0 ** |
| 実重量(g) | | | | |
| 肝臓 | 1.120 ± 0.253 | 1.307 ± 0.498 ** | 1.179 ± 0.153 ** | 1.282 ± 0.345 ** |
| 体重比(%) | | | | |
| 心臓 | 0.565 ± 0.064 | 0.585 ± 0.073 | 0.574 ± 0.053 | 0.606 ± 0.042 ** |
| 腎臓 | 1.647 ± 0.151 | 1.715 ± 0.154 | 1.697 ± 0.131 | 1.746 ± 0.137 ** |
| 肝臓 | 3.545 ± 0.691 | 4.232 ± 1.460 ** | 3.878 ± 0.490 ** | 4.322 ± 1.152 ** |
| 脳 | 1.464 ± 0.176 | 1.518 ± 0.176 | 1.534 ± 0.175 | 1.570 ± 0.135 * |
| 群(ppm) | 0 | 8000 | 20000 | 50000 |
| 雌 | | | | |
| 動物数 | 35 | 31 | 34 | 34 |
| 解剖日体重(g) | 26.1 ± 3.7 | 25.9 ± 3.0 | 25.8 ± 2.7 | 23.6 ± 2.6 ** |
| 実重量(g) | | | | |
| 脾臓 | 0.167 ± 0.237 | 0.152 ± 0.197 | 0.124 ± 0.199 | 0.085 ± 0.080 * |
| 肝臓 | 1.095 ± 0.238 | 1.283 ± 0.416 | 1.250 ± 0.394 | 1.613 ± 0.936 ** |
| 体重比(%) | | | | |
| 心臓 | 0.546 ± 0.106 | 0.574 ± 0.074 | 0.546 ± 0.055 | 0.616 ± 0.098 ** |
| 肝臓 | 4.210 ± 0.690 | 4.979 ± 1.678 * | 4.904 ± 1.704 | 6.943 ± 4.248 ** |
| 脳 | 1.822 ± 0.287 | 1.850 ± 0.223 | 1.836 ± 0.191 | 1.997 ± 0.218 ** |

有意差 *; p ≤ 0.05 **; p ≤ 0.01 ダンネット検定

雄では肝臓の実重量が 3200ppm 以上、体重比で全ての投与群で対照群と比較して有意な高値を示した。その他、心臓、腎臓、脳の体重比に変化がみられたが、これらは体重増加の抑制に伴う変化であると思われた。

雌では肝臓の実重量が 50000ppm 群、体重比で 8000ppm 群及び 50000ppm 群で対照群と比較して有意な高値を示した。その他、心臓、脳の体重比と脾臓の実重量に変化がみられたが、これらは体重増加の抑制に伴う変化であると思われた。

(3) 病理組織学的検査

非腫瘍性病変の結果を APPENDIX K5~8 に示した。腫瘍性病変の結果は、APPENDIX L3,4 に担腫瘍動物数と腫瘍数、APPENDIX M3,4 に腫瘍の種類別の発生数、TABLE 17 と APPENDIX N3,4 に統計解析(Peto 検定、

Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定)、 APPENDIX O5～8 に転移性病変について示した。また、統計学的に差を認めた所見または統計学的に差が認められなくとも投与の影響があったと思われる所見については表 13～15 に抜粋した。なお、腫瘍性病変を示した表 14 には、当センターのヒストリカルコントロールデータを合わせて示した。

－雄の主な病変－

雄では、アントラセンの投与による腫瘍の発生または発生増加はみられなかった。

表 13 雄の非腫瘍性病変

| グレード | 群(ppm) | Control | | | | 3200 | | | | 8000 | | | | 20000 | | | |
|------|----------------|---------|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-------|-----|-----|-----|
| | 動物数 | 49 | | | | 50 | | | | 50 | | | | 50 | | | |
| | | <1> | <2> | <3> | <4> | <1> | <2> | <3> | <4> | <1> | <2> | <3> | <4> | <1> | <2> | <3> | <4> |
| 【腎臓】 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 近位尿細管上皮空胞化 | 21 | 1 | 0 | 0 | 14 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 【膀胱】 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 硝子滴変性：移行上皮表層細胞 | 0 | 0 | 0 | 0 | 28 | 0 | 0 | 0 | 0 | 38 | 4 | 0 | 0 | 20 | 27 | 0 |
| 【脳】 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 鉍質沈着 | 17 | 16 | 0 | 0 | 18 | 24 | 0 | 0 | 9 | 22 | 0 | 0 | 14 | 29 | 0 | 0 |
| 【歯】 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 異形成 | 13 | 4 | 0 | 0 | 7 | 2 | 0 | 0 | 4 | 0 | 2 | 0 | 8 | 5 | 0 | 0 |

有意差 *, $p \leq 0.05$ **, $p \leq 0.01$ カイ2乗検定

< 腎臓 >

近位尿細管上皮の空胞化が 8000ppm 以上の群で有意な減少を示した。

< 膀胱 >

移行上皮表層細胞の硝子滴変性が全ての群で有意な増加を示した。

< 脳 >

鉍質沈着が 20000ppm 群で有意に増強された。

< 歯 >

異形成が 8000ppm 群で統計学的に有意な減少が認められたが投与量に対応した変化ではなかった。

- 雌の主な病変 -

表 14 雌の腫瘍性病変

| 群 | control | 8000ppm | 20000ppm | 50000ppm | ヒストリカルコントロールデータ 動物数：899 | | |
|---------------------------|--------------|--------------------|-----------------|------------------|----------------------------|--------|---------|
| 動物数 | 50 | 50 | 50 | 50 | 担腫瘍 動物数 | 率 % | 範囲 % |
| [肝臓] | | | | | | | |
| 肝細胞癌 ^{b d} | 0 | 2 | 5 [*] | 12 [*] | 20 | 2.2 | 0-8 |
| 肝細胞腺腫 ^{b d} | 2 | 3 | 6 | 20 ^{**} | 45 | 5 | 2-10 |
| 肝細胞癌,肝細胞腺腫 ^{b d} | 2 | 5 | 11 [*] | 26 ^{**} | 65 | 7.2 | 2-12 |
| [全臓器] | | | | | | | |
| 組織球性肉腫 | 6 | 18 [*] | 11 | 11 | 199 | 22.1 | 12-30 |
| [全臓器] | | | | | | | |
| 悪性リンパ腫 ^a | 15 | 14 | 11 | 7 | 298 | 33.1 | 20-46 |
| 有意差 | | | | | | | |
| a; p ≤ 0.05 | b; p ≤ 0.01 | Cochran-Armitage検定 | | | | | |
| c; p ≤ 0.05 | d; p ≤ 0.01 | Peto検定 | | | | | |
| *; p ≤ 0.05 | **; p ≤ 0.01 | Fisher検定 | | | | | |

表 15 雌の非腫瘍性病変

| 群(ppm) | Control | 8000 | 20000 | 50000 |
|----------------|-----------------|----------------------|------------------------|------------------------|
| 動物数 | 49 | 50 | 50 | 50 |
| グレード | <1> <2> <3> <4> | <1> <2> <3> <4> | <1> <2> <3> <4> | <1> <2> <3> <4> |
| [肝臓] | | | | |
| 明細胞小増殖巣 | 1 1 0 3 | 1 1 0 0 | 0 3 0 1 | 1 10 3 1 [*] |
| 好塩基性小増殖巣 | 0 0 0 0 | 1 1 0 0 | 2 4 0 0 [*] | 0 8 4 2 ^{**} |
| 肉芽形成 | 7 18 3 0 | 6 12 0 0 | 14 5 1 0 ^{**} | 6 10 1 0 |
| [膀胱] | | | | |
| 硝子滴変性：移行上皮表層細胞 | 0 0 0 0 | 5 0 0 0 | 12 0 0 0 ^{**} | 24 0 0 0 ^{**} |
| [脾臓] | | | | |
| 濾胞増生 | 6 1 1 0 | 0 3 0 0 [*] | 2 1 2 0 | 1 1 1 0 |
| 有意差 | | | | |
| *; p ≤ 0.05 | **; p ≤ 0.01 | カイ2乗検定 | | |

< 肝臓 >

肝細胞癌が8000ppm群で2/50例、20000ppm群で5/50例及び50000ppm群で12/50例発生した。統計学的にはPeto検定（有病率法、有病率法＋死亡率法）とCochran-Armitage検定で増加傾向を示し、Fisher検定でも20000ppm以上の群に対照群と比較して有意な増加を示した。また、肝細胞腺腫が対照群で2/50例、8000ppm群で3/50例、20000ppm群で6/50例及び50000ppm群で20/50例発生した。統計学にはPeto検定（有病率法）とCochran-Armitage検定で増加傾向を示し、Fisher検定でも50000ppm（定期解剖例では、20000ppm以上の群）で対照群と比較して有意な増加を示した。また、肝細胞癌と肝細胞腺腫を合わせた発生はPeto検定（有病率法、有病率法＋死亡率法）とCochran-Armitage検定で増加傾向を示し、Fisher検定でも20000ppm以上の群に対照群と比較して有意な増加を示した。

非腫瘍性病変としては、明細胞性小増殖巣が 50000ppm で、好塩基性小増殖巣が 20000ppm 以上の群で増加並びに増強が認められた。

その他、20000ppm 群で肉芽形成の減少がみられたが投与量に対応した変化ではなくかつ大きな変化ではなかったため投与の影響とは思われなかった。

<全臓器>

Cochran-Armitage 検定で悪性リンパ腫（全臓器）の発生が減少傾向を示した。また、組織球性肉腫の発生が Fisher 検定で 8000ppm 群で有意に増加を示したが、投与量に対応した変化ではなく投与の影響とは思われなかった。

<膀胱>

移行上皮表層細胞の硝子滴変性が 20000ppm 以上の群で有意(χ 検定)に増加した。

<脾臓>

脾臓の濾胞増生の減少が認められたが投与量に対応した変化ではなくアントラセンの投与の影響とは思われなかった。

(4) 死因

病理学的にみた死亡/瀕死例の死因を TABLE 18 に示した。

雌において肝臓の腫瘍における死亡例の増加が認められた。

IV 考察及びまとめ

IV-1 ラットを用いた試験（試験番号:0242）

<肝臓>

アントラセンの投与により、雄では肝細胞癌が 20000ppm 以上の群に発生し、統計学的に有意な増加（Peto 検定、Cochran-Armitage、Fisher 検定）を示した。また、肝細胞腺腫が 20000ppm 以上の群で統計学的に有意な増加（Peto 検定、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定）を示した。さらに、肝細胞癌と肝細胞腺腫を合わせた発生も有意な増加を示した。当センターのヒストリカルコントロールデータと比較しても肝細胞癌（平均発生率：0.3%、試験単位の発生：0～2%）では 20000ppm 以上の群で、肝細胞腺腫（平均発生率：1.9%、試験単位の発生率：0～6%）では 8000ppm 以上の群でその範囲を超えており、これらの腫瘍の発生増加はアントラセンのラット雄に対するがん原性の明らかな証拠(clear evidence)と考えられた。また、20000ppm 群と 50000ppm 群では肝細胞癌と肝細胞腺腫の発生に群間の差はなかった。

上記の前腫瘍性病変として、明細胞性小増殖巣と好酸性小増殖巣が全ての投与群で有意な増加を示した。また、塩基性小増殖巣が、全ての投与群で対照群に比較してやや多かった。これらの変化は発生増加を示したのみならず、程度の増強も顕著に見られ腫瘍との境界病変も認められた。その他、海綿状変性が全ての投与群の定期解剖例で有意な増加を示した。この変化はラットにおいては肝発癌物質の投与により高率に発生すると報告されており、肝細胞由来の腫瘍やその前段階である小増殖巣の出現にともなって現れることが多く、前腫瘍性病変として考えられている（文献 7）。

雌では肝細胞腺腫は投与群でやや多く発生しているものの、当センターのヒストリカルコントロールデータ（平均発生率：1.4%、試験単位の発生率が 0～6%）の試験単位での発生率の範囲内であり、アントラセンのラット雌については、肝臓に対するがん原性の証拠は得られなかった。しかし、これらの前腫瘍性病変である明細胞性小増殖巣と好酸性小増殖巣の発生が全ての投与群で統計学的に有意な増加を示した。また、雄と同様に程度の増強も見られ腫瘍との境界病変も認められた。これらのことより前腫瘍性病変の発生増加はアントラセンの投与によるものと考えられた。

しかしながら、病理組織学的検査以外の結果は臓器重量において実重量及び体重比で投与群に増加が認められたが、血液生化学検査において肝臓の異常を示唆する所見は認められなかった。既知の肝発癌物質である四塩化炭素や 1,4-ジオキサン等の発癌試験(文献 8～9)では GOT、GPT、ALP 活

性は上昇しているが、今回の試験では雄の GPT 活性、雌の GOT、GPT、ALP 活性及び LDH 活性等はことごとく低下した。制限給餌下で体重増加が抑制された動物において対照群と比較して血清アルブミン量や GOT、GPT、ALP 活性等が減少するという報告(文献 10)があるが、本試験では体重増加の抑制はあるもののアルブミン量等、他の血液生化学的検査の結果は一致しない。したがって、これらの変化は体重増加の抑制の結果であるとは断定できない。また、腫瘍が認められた組織の腫瘍病巣と周囲の正常細胞との境界付近に認められる壊死像は比較的少なかった。さらに、肝臓の腫瘍が原因で死亡した動物は雄の 50000ppm 群でわずか 1 匹認められたにすぎず、アントラセンによる肝臓における癌化は正常な細胞を急激に破壊することなく非常にゆっくりと進行していったものと思われた。

<腎臓>

雄では腎臓の腫瘍はみられなかった。

雌では腎細胞腺腫が 8000ppm 群の 3/50 例、20000ppm 群の 6/50 例及び 50000ppm 群の 4/50 例に、また、腎細胞癌が 50000ppm 群に 1/50 例発生した。統計学的にも腎細胞腺腫が Fischer 検定で 20000ppm 群に有意な増加、腎細胞腺腫と腎細胞癌を合わせると Peto 検定と Cochran-Armitage 検定で増加傾向、Fischer 検定で 20000ppm 以上の群に有意な増加が示された。さらに、これらの腫瘍は自然発生が稀な腫瘍で、当センターのヒストリカルコントロールデータによると腎細胞癌が 0/948 例、腎細胞腺腫が 1/948 例である。以上のことより、これらの腫瘍の発生はアントラセンのラット雌に対するがん原性の明らかな証拠(clear evidence)と考えられた。また、これらの腫瘍の前段階と思われる病変として、尿細管の異型過形成が雌の全投与群に発生し、その発生例数は 8000ppm と 20000ppm 群で多く、かえって 50000ppm 群でそれらを下回る傾向がみられた。腎発癌物質の投与では尿細管の異型過形成の発生の増加がみられ、この病変が腎細胞腺腫や腎細胞癌に移行すると報告(文献 11)されている。本試験でみられた尿細管の異型過形成も、腎細胞腺腫と比較して病巣が小さいだけでその組織像は近似しており、腎細胞腺腫の前段階の病変と考えられた。

さらに、近位尿細管の好酸滴沈着が雌雄の全投与群の多くの動物にみられた。この所見は、雄よりも雌に強く現れる傾向を示した。また、雄では投与用量の高い群ほど発生率が高く程度も増強される傾向を示したが、雌では最低用量の 8000ppm 群でも多く認められ、用量間の発生率や程度はほぼ同等であった。この好酸滴は近位尿細管上皮の細胞質内に認められ、雄ラットの生理的な変化として報告されている好酸体(文献 12)と HE 染色

標本の観察では出現部位、染色動態ともに類似していた。しかし、本試験で認めた好酸滴は小型ないし中型の円形滴状物として認められ、HE 染色では帯黄色エオジン好性、PAS 染色では軽度な陽性を示した。これに対し、生理的に出現するとされている好酸体は小型のものから大型のものまで幅広く存在し、小型のものは HE 染色でエオジン好性の円形の滴状物、比較的大型のものはエオジン淡染性の不整形滴状として認められる。また、好酸体は滴の大小にかかわらず、HE 染色では好酸滴の様な黄色調をとらず、PAS 染色では陰性を示す。さらに好酸滴は雌雄ともに認められる変化であったのに対し、好酸体は性成熟期以降の週齢の雄のみに認められる。好酸体の本態は α -2 μ グロブリンの細胞質内への沈着であることが予想された（文献 13,14）が、本試験の腎臓を抗 α -2 μ グロブリン抗体で免疫染色した結果、多くの好酸体は陰性であり、 α -2 μ グロブリンであることが否定された。これらのことから今回の試験で認めた近位尿細管の好酸滴は雄ラットで生理的に出現する好酸体とは異なるものであり、その出現の程度はアントラセンの投与により増強されるものと考えられた。なお、好酸滴は対照群にも雄 1 例、雌 2 例とわずかではあるが認めており、好酸滴の発生がアントラセンの投与による特異的な変化であるのか、または加齢等による生理的な変化の増強であるかは今後さらに究明が必要と考える。

慢性腎症は雌の 8000ppm 群と 20000ppm 群でその程度が増強し、投与の影響と考えられた。慢性腎症を強く増強させる化学物質では尿細管の細胞のターンオーバーが増加するのに伴って腎臓の腫瘍の発生が増加することが報告されている（文献 15）。しかし、アントラセンの投与では慢性腎症の増加はあるものの、その程度は顕著ではなく、また、最高投与群である 50000ppm 群では腎腫瘍の増加はみられたが慢性腎症の発生に対照群との間に差がないことから、アントラセンによる腎腫瘍の発生には慢性腎症が関与していないと考えられた。

<膀胱>

雄では移行上皮癌が 8000ppm 群に 1/50 例、20000ppm 群に 4/50 例、50000ppm 群に 3/50 例、移行上皮乳頭腫が 20000ppm 群に 2/50 例発生した。移行上皮癌と乳頭腫を合わせた発生は、8000ppm 群に 1/50 例、20000ppm 群に 6/50 例、50000ppm 群に 3/50 例となり、20000ppm 群で統計学的（Fisher 検定）に有意な増加を示した。統計学的には 20000ppm 群のみに有意差を示したが、これらの腫瘍は自然発生が稀（ヒストリカルコントロールデータ:1/949）な腫瘍である。したがって、この腫瘍の発生増加はアントラセンのラット雄に対するがん原性の明らかな証拠（clear evidence）と考えられ

た。

雌では移行上皮癌が 8000ppm 群に 2/50 例、20000ppm 群に 3/50 例、50000ppm 群に 2/50 例発生した。これらは発生数が少なく統計学的は有意差を示していない。しかし、前述のようにこの腫瘍は雌においても自然発生が稀(ヒストリカルコントロールデータ:0/948)な腫瘍である。このことから、移行上皮癌の発生はアントラセンのラットの雌に対するがん原性がある程度示唆する証拠(some evidence)と考えられた。

<鼻腔>

雌雄の全ての投与群で嗅上皮と呼吸上皮のエオジン好性変化が減少し、鼻腺の呼吸上皮化生が雄の 20000ppm 以上の群、雌の 50000ppm で減少した。これらの変化は通常ラットにみられる加齢性の変化であるが、これらがアントラセンの投与により抑制されたと思われる。また、雌の 50000ppm で嗅上皮の呼吸上皮化生が増加しているが、これは雌の 20000ppm 以上の群で認められた嗅上皮の壊死の修復に関連した所見と思われた。なお、呼吸上皮化生が認められた動物 8 匹のうち 5 匹において嗅上皮の壊死が認められた。

<生殖器系臓器>

雄では、精巣の鉍質沈着が増加した。精巣については臓器重量の増加が認められているが、これらの関連は認められなかった。なお、精巣の臓器重量の増加傾向は本試験の予備試験である 2 週間及び 13 週間試験でも認められているが、病理組織学的検査では著変を認めていない(文献 4)。

雌に子宮の子宮内膜間質性肉腫と乳腺の腫瘍(線維腺腫、腺腫、腺癌)の発生が有意な増加を示した。当センターのヒストリカルコントロールデータと比較すると、子宮内膜間質性肉腫では 50000ppm 群でその範囲(平均発生率は 0.3%で、試験単位の発生率は 0~2%)を超えている。乳腺腫瘍では試験単位での発生率の範囲内(平均発生率は 15.8%で、試験単位の発生率は 4~26%)にあるものの群間の差が大きく、20000ppm 群では 2 例の腺癌も認められている。なお、これら乳腺の腫瘍(腺腫、繊維腺腫、腺癌の合計)のうち 50000ppm 群の 9/10 例、20000ppm 群の 4/5 例、8000ppm 群の 2/4 例、対照群の 1/3 例は動物の一般状態観察時に確認されており、それぞれの群で最も早く確認された腫瘍は 50000ppm 群で投与開始後 76 週目、20000ppm 群で 66 週目、8000ppm 群で 101 週目、対照群で 103 週目であった。これらの変化は明らかながん原性を示すものではないが、いずれも性ホルモンが関与する臓器でありアントラセンの投与の影響を否定できず、

アントラセンのラットの雌に対するがん原性の可能性を示唆するものの不確実な証拠(equivocal evidence)と考えられた。

<脾臓>

ヘモジデリン沈着が雄では 50000ppm 群で有意な増加を示し、雌では全投与群で高率に認められた。また、赤血球充満が雌雄の全ての投与群で有意な増加を示した。また、血液学的検査において貧血が雌雄に認められており、これらはアントラセンの投与により、破壊または寿命が短くなった赤血球が脾臓で濾過されたことによるものと思われた。また、網状赤血球比が増加していることから、赤血球の崩壊に伴って造血も行われていると思われ、雄の各投与群で認められた赤血球数の増加及び減少は赤血球の崩壊と造血の亢進の差によるものと考えられる。これらの変化は、本試験の予備試験である 2 週間及び 13 週間試験（文献 4）にも認められたが、長期間投与することによって、これらが腫瘍性の病変へと進展することはなかった。むしろ、長期間の投与によって貧血の程度及び脾臓のヘモジデリン沈着並びに赤血球充満は減弱された。

<その他の臓器>

雄の脾臓の単核球性白血病の発生が有意な減少を示した。当センターのヒストリカルコントロールデータと比較すると、その範囲（平均発生率は 13.8%で、試験単位の発生率は 6~22%）を下回っており、アントラセン投与による影響を否定できない。また、雌雄の脾臓が萎縮する傾向が認められたが、特に雌では血液生化学的検査で認められたグルコース、総コレステロール、トリグリセライド及びリン脂質などの変化との関連が疑われた。

IV-2 マウスを用いた試験（試験番号:0243）

雄では、アントラセンの投与により、腫瘍の発生増加は認められなかった。非腫瘍性病変として膀胱移行上皮細胞（被蓋細胞）の硝子的変性の増加並びに程度の増強、腎臓の近位尿細管の空胞化の減少及び程度の減弱等の所見が認められたが、これらの所見はがん原性に結びつくものではなかった。

雌では肝細胞癌が全ての投与群で発生し、統計学的に 20000ppm 以上の群で有意な増加（Peto 検定、Cochran-Armitage、Fisher 検定）を示した。また、肝細胞腺腫が 50000ppm 群で統計学的に有意な増加（Peto 検定、

Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定)を示した。さらに、肝細胞癌と肝細胞腺腫を合わせた発生も有意な増加を示した。当センターのヒストリカルコントロールデータと比較しても肝細胞癌(平均発生率:2.2%、試験単位の発生:0~8%)では20000ppm以上の群で、肝細胞腺腫(平均発生率:5.0%、試験単位の発生率:2~10%)では20000ppm以上の群でその発生範囲を超えており、また、これらの腫瘍の発生増加は用量に依存していることから、マウスの雌に対するがん原性の明らかな証拠(clear evidence)と考えられた。また、剖検における肝臓の結節の増加はこれら肝臓の腫瘍の増加と対応したものだった。

上記の前腫瘍性病変として、好塩基性小増殖巣が、全ての投与群で対照群に比較して多かった。これらの変化は発生増加を示したのみならず、程度の増強も顕著に見られ腫瘍との境界病変も認められた。血液生化学的検査で認められた GOT、GPT、ALP 活性の上昇はこれらの肝臓の病変と対応していた。

膀胱においては、雄と同様に移行上皮細胞の硝子滴変性が増加した。

その他、悪性リンパ腫の発生率が減少傾向を示し、50000ppm 群ではヒストリカルコントロールデータの範囲を下回っており、投与の影響を否定できなかった。

IV-3 アントラセンのがん原性について

1. 不純物について

今回の長期試験に被験物質として使用した3ロットのアントラセンの純度は、99.8～99.9%であったが、不純物の1つとしてカルバゾールがこれら各ロットで594ppm～857ppm検出された。カルバゾールの発癌性については、 $B_6C_3F_1$ マウスの雌雄に1500,3000及び6000ppmの濃度で飼料に混ぜたカルバゾールを104週にわたって投与すると雌の全ての投与群と雄の3000及び6000ppm群で肝細胞癌の発生が増加するという報告がある(文献16)。このことから、今回の試験で認められたマウスの肝腫瘍の発生にカルバゾールの関与の可能性が考えられた。しかし、今回の試験で用いた最高用量の50000ppmでもカルバゾール濃度を換算すると30～43ppmとなり、前述の報告での発癌濃度と比較してかなり低濃度となる。したがって、今回の試験で認められたマウス肝腫瘍の発生への関与の可能性は低いと考えられた。

2. 代謝との関連性

アントラセンの代謝についてはいくつか報告されている(文献17～21)。アントラセンは、生体内において不安定な中間体、1,2-エポキシドを経て、1,2-ジヒドロジオール体、グルタチオン抱合体やメルカプツール酸体を形成する。また、9,10位は酸化されやすく、9,10-ジヒドロジオールとなり、種々のフェノール、アントラキノンを生じる。エポキシドの分子構造は発癌と関係があるとされ、タンパク質や核酸などと共有結合する。代謝酵素としてはアントラセンの投与により、P-450(CYP1A2)が誘導されることも報告されている(文献22～23)。また、アントラセンの代謝物の1つである2-ヒドロキシ-9,10-アントラキノンは変異原性を示すことも知られている(文献24)。一方、アントラセンの変異原性の報告はほとんどが陰性(文献25～34)であるが、代謝活性化法においてのみ陽性を示す報告が培養細胞を用いた変異原性試験で1例(文献35)、微生物を用いた変異原性試験で2例(文献36～37)報告されている。変異原性が認められた微生物を用いた試験のうち、Mortemansらの報告(文献37)では、代謝活性化をラットのS9を用い4、10及び20%添加して行った場合には4及び10%では変異原性を認めないが、20%添加した場合は変異原性を認めた。また、同一用量においては、変異原性の強さはS9の濃度に依存することも示していた。さらに、ハムスターのS9を用いた場合には10%でも変異原性を認め、変異原性の強さもラット同様S9の濃度に依存していることも示されている。

以上のことから、今回の長期投与試験で示された腫瘍を含む各種の病変の種差及び性差は発生部位が比較的 P-450 などの代謝酵素の多い臓器(肝臓、腎臓、鼻腔など)又は代謝物の濃度が高いと推定される臓器(腎臓、膀胱など)であることから、上述したようにアントラセンの各臓器での代謝物の違い及びそれらの濃度の差等、代謝経路の違いが関連していると思われる。

V 結論

F344/DuCrj(Fischer)ラット及び Crj:BDF₁ マウスを用いてアントラセンの2年間(104週間)にわたる経口投与(混餌)によるがん原性試験を行った。

その結果、雄ラットに肝細胞癌と肝細胞腺腫及び膀胱の移行上皮癌と乳頭腫の発生増加が認められ、これらの結果はアントラセンのがん原性を示す明らかな証拠と考えられた。雌ラットには腎細胞癌と腎細胞腺腫の発生増加が認められ、これらの結果はアントラセンのがん原性を示す明らかな証拠と考えられた。また、尿路系の膀胱に移行上皮癌の発生もみられた。さらに、子宮内膜間質性肉腫及び乳腺の線維腺腫の発生増加が認められ、これらの腫瘍の発生増加もアントラセンの投与による影響の可能性を否定できなかった。

雄マウスにはアントラセンの投与による腫瘍の発生増加を示す証拠は認められなかった。雌マウスには肝細胞癌と肝細胞腺腫の発生増加が認められ、これらの結果はアントラセンのがん原性を示す明らかな証拠と考えられた。

文献

- 1) 化学大事典 (1989)
東京化学同人 東京
- 2) Heller, S. R. and Milne, G. W. A. (1978)
EPA/NIH Mass Spectral Data Base Vol.1, pp.882
U. S. Government Printing Office, Washington
- 3) Sadtler Handbook by Sadtler Laboratories, Inc. (1978) pp.78
- 4) 日本バイオアッセイ研究センター(1994)
アントラセンのラット及びマウスを用いた経口投与によるがん原性予備（混餌試験）試験報告書
日本バイオアッセイ研究センター,神奈川
- 5) 阿部正信 (1968)
長期毒性試験に用いるラット、マウス体重変化の解析による群分けの適正層別方式の確立
薬理と治療、14、7285-7302
- 6) Peto R., Pike M. C., Day N.E., Gray R. G. Lee P.N., Parish S., Peto J., Richrds S. and Wahrendorf J. (1980)
Guidline for simple,sensitive significance tests for carcinogenic effects in long-term animal experiments.
Long-Term and Short-Term Screening Assays for Carcinogens:A Critical Appraisal,IARC Monographs,Suppl.2,pp.311-426
International Agency for Recerch on Cancer,Lyon
- 7) International AGENCY for Research on Cancer (1990)
Bannasch P., Zerban H.
Tumours of the liver. In:Pathology of Tumours in Laboratory Animals.
Turusov V., Mohr U., eds. Vol.I Tumours of the Rat, 2nd edition.
pp.199-240, IARC, Lyon

- 8) 日本バイオアッセイ研究センター (1987)
四塩化炭素のラット及びマウスを用いた吸入によるがん原性試験報告書
日本バイオアッセイ研究センター, 神奈川
- 9) 日本バイオアッセイ研究センター (1990)
1,4-ジオキサンのラット及びマウスを用いた経口(混水)投与によるがん原性試験報告書
日本バイオアッセイ研究センター, 神奈川
- 10) Imai K., Yoshimura S., Yamaguchi K., Matsui E., Isaka H., Hashimoto K. and Boorman G. A. (1990)
Effects of dietary restriction on age associated pathologic changes in F344 rats.
Journal of Toxicologic Pathology. 3, 209-221
- 11) Hard G. C., Alden C. L. and Stula E. F. (1995)
Proliferative Lesions of Kidney in Rats, URG-1. In: Guides for Toxicologic Pathology. STP/ARP/AFIP, Washington, D.C.
- 12) 河合清之 (1980)
ラット長期飼育ワーキンググループ報告
実験動物, 29(2), 181-231
- 13) Borghoff S. J., Short B. G. and Swenberg J. A. (1990)
Biochemical mechanisms and pathobiology of $\alpha_2\mu$ -globulin nephropathy.
Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol., 30, 349-367
- 14) Alden C. L. and Frith C. H. (1991)
Urinary system. In: Handbook of Toxicologic Pathology.
Hascek W. M and Rousseaux C. G. pp315-387, Academic press, Inc. San Diego

- 15) Charles A., Montgomery J. R. and John C. S. (1990)
Kidney. In: Pathology of the Fisher Rat.
Gary A. B., Scot L. E., Michael R., Charles A. M. and William F.M.
pp127-153
Academic Press, Inc. San Diego
- 16) Tuda H., Hagiwara A., Shibata M., Ohshima M. and Ito N. (1982)
Carcinogenic effect of Carbazole in the liver of (C57BL/6N × C3H/HeN)_{F₁}
Mice
J.Natl.Cancer Inst., **69**, 1383-1387
- 17) Akhtar M. N., Hamilton J. G., Boyd D. R., Braunstein A., Seifried H. E. and
Jerina D. M. (1979)
Anthracene 1,2-Oxid: Synthesis and Role in the Metabolism of Anthracene
by Mammals
J.C.S.Perkin I pp.1442-1446
- 18) Törrönen R., Nousiainen U. and Hänninen O. (1981)
Induction of Aldehyde Dehydrogenase by Polycyclic Aromatic
Hydrocarbons in rats
Chem.-Biol.Interactions, **36**, 33-44
- 19) Nousiainen U., Törrönen R. and Hänninen O. (1984)
Differential Induction of Various Carboxylesterases by Certain Polycyclic
Aromatic Hydrocarbons in the Rat
Toxicology, **32**, 243-251
- 20) LaVoie E. J., Coleman D. T., Rice J. E., Geddie N. G. and
Hoffmann D. (1985)
Tumour-initiating activity ,mutagenicity, and metabolism of methylated
anthracenes
Carcinogenesis, **6**, 1483-1488
- 21) P.Sims (1964)
Metabolism of Polycyclic Compounds
Biochem. J. **92**, 621-631

- 22) Chaloupka K., Santostefano M., Goldfarb I S., Liu G., Myers M. J., Tsyroly I. B., Gelboin H. V., Krishnan V. and Safe S. (1994)
Aryl hydrocarbon (Ah) receptor-independent induction of Cypla2 gene expression by acenaphthylene and related compounds in B6C3F1 mice
Carcinogenesis, **15**, 2835-2840
- 23) Bu-Abbas A., Ioannides C. and Walker R. (1994)
Evaluation of the antimutagenic potential of anthracene:
in vitro and ex vivo studies
Mutation Research, **309**, 101-107
- 24) Tikkanen L., Matsushima T. and Natori S. (1983)
Mutagenicity of anthraquinones in the Salmonella preincubation test
Mutation Research, **116**, 297-304
- 25) Williams G. M. (1977)
Detection of chemical carcinogens by Unscheduled DNA Synthesis in rat liver primary cell cultures
Cancer Research, **37**, 1845-1851
- 26) Probst G. S., McMahon R. E., Hill L. E., Thompson C. Z., Epp J. K. and Neal S. B. (1981)
Chemically-induced Unscheduled DNA synthesis in primary rat hepatocyte cultures: A comparison with bacterial mutagenicity using 218 compounds
Environmental Mutagenesis, **3**, 11-32
- 27) Flora S. D., Zanicchi P., Camoirano A., Bennicelli C. and Badolati G. S. (1984)
Genotoxic activity and potency of 135 compounds in the Ames reversion test and in a bacterial DNA-repair test
Mutation Research, **133**, 161-198

- 28) Ho C., Clark B. R., Guerin M. R., Barkenbus B. D., Rao T. K. and Epler J. L. (1981)
Analytical and biological analyses of test materials from the synthetic fuel technologys
Mutation Research, 85, 335-345
- 29) Tong C., Brat S. V. and Williams G. M. (1981)
Sister-chromatid exchange induction by polycyclic aromatic hydrocarbons in an intact cell system of adult rat-liver epithelial cells
Mutation Research, 91, 467-473
- 30) Kaden D. A., Hites R. A. and Thilly W. G. (1979)
Mutagenicity of soot and associated polycyclic aromatic hydrocarbons to Salmonella thimurium
Cancer Research, 39, 4152-4159
- 31) Martin C. N., McDermid A. C. and Garner R. C. (1978)
Testing of known carcinogens and noncarcinogens for their ability to induce Unscheduled DNA Synthesis in Hela cells
Cancer Research, 38, 2621-2627
- 32) Ohe T. (1984)
Mutagenicity of photochemical reaction products of polycyclic aromatic hydrocarbons with nitrite
The Science of the Total Environment, 39, 161-175
- 33) Djomo J. E., Ferrier V., Gauthier L., Zoll-Moreux C. and Marty J. (1995)
Amphibian micronucleus test in vivo: evalution of the genotoxicity of some major polycyclic aromatic hydrocarbons found in a crude oil
Mutagenesis, 10, 223-226
- 34) Bos R. P., Theuws J. L.G., Jongeneelen F. J. and Henderson P. Th. (1988)
Mutagenicity of bi-,tri- and tetra-cyclic aromatic hydrocarbons in the "taped-plate assey" and in the conventional Salmonella mutagenicity assay
Mutation Research, 204, 203-206

35) 染色体異常試験データ集 (1987)

エル・アイ・シー 東京

36) Sakai M., Yoshida D. and Mizusaki S. (1985)

Mutagenicity of polycyclic aromatic hydrocarbons and quinones on
Salmonella typhimurium TA97

Mutation Research, 156, 61-67

37) Mortelmans K., Haworth S., Lawlow T., Speck W., Tainer B.,
and Zeiger E. (1986)

Salmonella Mutagenicity tests: II . Results from the testing of 270
chemicals

Environmental Mutagenesis, 8, Supplement 7, 1-119