

m-フェニレンジアミン=二塩酸塩の  
ラット及びマウスを用いた  
経口によるがん原性試験結果報告書

昭和63年12月

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

## 目 次

要旨	1
試験施設の名称及び所在地	3
試験日程	4
試験関係一覧	5
I 試験物質	6
II 試験方法	7
II-1 被験物質の同一性、特性、安定性	
II-2 被験物質溶液の濃度測定	
II-3 被験物質の調製方法	
II-4 投与経路	
II-5 投与期間	
II-6 設定濃度	
II-7 急性毒性試験	
II-8 2週間毒性試験	
II-9 13週間毒性試験	
II-10 がん原性試験	
III 試験成績	13
III-1 被験物質	
III-2 ラットを用いた毒性試験	
III-3 マウスを用いた毒性試験	
IV 考察と結論	71

## 表

表 1	試験計画と方法
表 2	生存動物数（ラット・急性試験）
表 3	体重値（ラット・急性試験）
表 4	生存動物数（ラット・2週間試験）
表 5	体重値（ラット・2週間試験）
表 6	生存動物数（ラット・13週間試験）
表 7	体重値（ラット・13週間試験）
表 8	生存動物数（ラット・がん原性試験）
表 9	体重値（ラット・がん原性試験）
表 10	腫瘍性病変総数（良性／悪性）及び担癌動物数 （ラット・がん原性試験）
表 11	腫瘍性病変（発生頻度）－全動物・全期間－ （ラット・がん原性試験）
表 12	生存動物数（マウス・急性試験）
表 13	体重値（マウス・急性試験）
表 14	生存動物数（マウス・2週間試験）
表 15	体重値（マウス・2週間試験）
表 16	生存動物数（マウス・13週間試験）
表 17	体重値（マウス・13週間試験）
表 18	生存動物数（マウス・がん原性試験）
表 19	体重値（マウス・がん原性試験）
表 20	腫瘍性病変総数（良性／悪性）および担癌動物数 （マウス・がん原性試験）
表 21	腫瘍性病変（発生頻度）－全動物・全期間－ （マウス・がん原性試験）

## 図

図 1	生存動物数 (ラット・雄・がん原性試験)
図 2	生存動物数 (ラット・雌・がん原性試験)
図 3	体重値 (ラット・がん原性試験)
図 4	摂水量 (ラット・がん原性試験)
図 5	被験物質摂取量 (ラット・雄・がん原性試験)
図 6	被験物質摂取量 (ラット・雌・がん原性試験)
図 7	生存動物数 (マウス・雄・がん原性試験)
図 8	生存動物数 (マウス・雌・がん原性試験)
図 9	体重値 (マウス・がん原性試験)
図 1 0	摂水量 (マウス・がん原性試験)
図 1 1	被験物質摂取量 (マウス・雄・がん原性試験)
図 1 2	被験物質摂取量 (マウス・雌・がん原性試験)

## 付録表

付録表 I - 1	被験物質使用ロット一覧
付録表 I - 2	調製被験物質の濃度と安定性 (急性試験)
付録表 I - 3	調製被験物質の濃度と安定性 (2週間試験)
付録表 I - 4	調製被験物質の濃度と安定性 (13週間試験)
付録表 I - 5	調製被験物質の濃度と安定性 (がん原性試験)
付録表 I - 6	被験物質摂取量 (ラット・2週間試験)
付録表 I - 7	被験物質摂取量 (ラット・13週間試験)
付録表 I - 8	被験物質摂取量 (ラット・がん原性試験)
付録表 I - 9	被験物質摂取量 (マウス・2週間試験)
付録表 I - 10	被験物質摂取量 (マウス・13週間試験)
付録表 I - 11	被験物質摂取量 (マウス・がん原性試験)
付録表 II - 1	摂餌量 (ラット・2週間試験)
付録表 II - 2	摂水量 (ラット・2週間試験)
付録表 II - 3	摂餌量 (ラット・13週間試験)
付録表 II - 4	摂水量 (ラット・13週間試験)
付録表 II - 5	摂餌量 (ラット・がん原性試験)
付録表 II - 6	摂水量 (ラット・がん原性試験)
付録表 II - 7	一般症状の観察 (ラット・がん原性試験)
付録表 II - 8	摂餌量 (マウス・2週間試験)
付録表 II - 9	摂水量 (マウス・2週間試験)
付録表 II - 10	摂餌量 (マウス・13週間試験)
付録表 II - 11	摂水量 (マウス・13週間試験)
付録表 II - 12	摂餌量 (マウス・がん原性試験)
付録表 II - 13	摂水量 (マウス・がん原性試験)
付録表 II - 14	一般症状の観察 (マウス・がん原性試験)
付録表 III - 1	肉眼所見・総括表 (ラット・急性試験・死亡・瀕死動物)
付録表 III - 2	肉眼所見・総括表 (ラット・急性試験・定期解剖動物)
付録表 III - 3	病理組織学的所見・総括表 (ラット・急性試験・死亡・瀕死動物)
付録表 III - 4	病理組織学的所見・総括表 (ラット・急性試験・定期解剖動物)

付録表Ⅲ－5	肉眼所見・総括表 (ラット・2週間試験・死亡・瀕死動物)
付録表Ⅲ－6	肉眼所見・総括表 (ラット・2週間試験・定期解剖動物)
付録表Ⅲ－7	病理組織学的所見・総括表 (ラット・2週間試験・死亡・瀕死動物)
付録表Ⅲ－8	病理組織学的所見・総括表 (ラット・2週間試験・定期解剖動物)
付録表Ⅲ－9	肉眼所見・総括表 (ラット・13週間試験・定期解剖動物)
付録表Ⅲ－10	臓器重量(実重量)・総括表 (ラット・13週間試験)
付録表Ⅲ－11	臓器重量(体重比)・総括表 (ラット・13週間試験)
付録表Ⅲ－12	病理組織学的所見・総括表 (ラット・13週間試験・定期解剖動物)
付録表Ⅲ－13	肉眼所見・総括表 (ラット・がん原性試験・死亡・瀕死動物)
付録表Ⅲ－14	肉眼所見・総括表 (ラット・がん原性試験・定期解剖動物)
付録表Ⅲ－15	臓器重量(実重量)・総括表 (ラット・がん原性試験)
付録表Ⅲ－16	臓器重量(体重比)・総括表 (ラット・がん原性試験)
付録表Ⅲ－17	病理組織学的所見・総括表 (ラット・がん原性試験・死亡・瀕死動物)
付録表Ⅲ－18	病理組織学的所見・総括表 (ラット・がん原性試験・定期解剖動物)
付録表Ⅲ－19	腫瘍性病変－死亡・瀕死動物・期間別－ (ラット・がん原性試験)
付録表Ⅲ－20	腫瘍性病変－定期解剖動物・期間別－ (ラット・がん原性試験)
付録表Ⅲ－21	腫瘍性病変・発生時期 (ラット・がん原性試験)
付録表Ⅲ－22	肉眼所見・総括表 (マウス・急性試験・死亡・瀕死動物)

付録表Ⅲ－２３	肉眼所見・総括表 (マウス・急性試験・定期解剖動物)
付録表Ⅲ－２４	病理組織学的所見・総括表 (マウス・急性試験・死亡・瀕死動物)
付録表Ⅲ－２５	病理組織学的所見・総括表 (マウス・急性試験・定期解剖動物)
付録表Ⅲ－２６	肉眼所見・総括表 (マウス・２週間試験・死亡・瀕死動物)
付録表Ⅲ－２７	肉眼所見・総括表 (マウス・２週間試験・定期解剖動物)
付録表Ⅲ－２８	病理組織学的所見・総括表 (マウス・２週間試験・死亡・瀕死動物)
付録表Ⅲ－２９	病理組織学的所見・総括表 (マウス・２週間試験・定期解剖動物)
付録表Ⅲ－３０	肉眼所見・総括表 (マウス・１３週間試験・死亡・瀕死動物)
付録表Ⅲ－３１	肉眼所見・総括表 (マウス・１３週間試験・定期解剖動物)
付録表Ⅲ－３２	臓器重量(実重量)・総括表 (マウス・１３週間試験)
付録表Ⅲ－３３	臓器重量(体重比)・総括表 (マウス・１３週間試験)
付録表Ⅲ－３４	病理組織学的所見・総括表 (マウス・１３週間試験・死亡・瀕死動物)
付録表Ⅲ－３５	病理組織学的所見・総括表 (マウス・１３週間試験・定期解剖動物)
付録表Ⅲ－３６	肉眼所見・総括表 (マウス・がん原性試験・死亡・瀕死動物)
付録表Ⅲ－３７	肉眼所見・総括表 (マウス・がん原性試験・定期解剖動物)
付録表Ⅲ－３８	臓器重量(実重量)・総括表 (マウス・がん原性試験)
付録表Ⅲ－３９	臓器重量(体重比)・総括表 (マウス・がん原性試験)
付録表Ⅲ－４０	病理組織学的所見・総括表 (マウス・がん原性試験・死亡・瀕死動物)

付録表Ⅲ－４１	病理組織学的所見・総括表 (マウス・がん原性試験・定期解剖動物)
付録表Ⅲ－４２	腫瘍性病変－死亡・瀕死動物・期間別－ (マウス・がん原性試験)
付録表Ⅲ－４３	腫瘍性病変－定期解剖動物・期間別－ (マウス・がん原性試験)
付録表Ⅲ－４４	腫瘍性病変・発生時期 (マウス・がん原性試験)
付録表Ⅳ－１	血液学的検査・総括表 (ラット・１３週間試験)
付録表Ⅳ－２	血液生化学的検査・総括表 (ラット・１３週間試験)
付録表Ⅳ－３	尿検査・総括表 (ラット・１３週間試験)
付録表Ⅳ－４	血液学的検査・総括表 (ラット・がん原性試験)
付録表Ⅳ－５	血液生化学的検査・総括表 (ラット・がん原性試験)
付録表Ⅳ－６	尿検査・総括表 (ラット・がん原性試験)
付録表Ⅳ－７	血液学的検査・総括表 (マウス・１３週間試験)
付録表Ⅳ－８	血液生化学的検査・総括表 (マウス・１３週間試験)
付録表Ⅳ－９	尿検査・総括表 (マウス・１３週間試験)
付録表Ⅳ－１０	血液学的検査・総括表 (マウス・がん原性試験)
付録表Ⅳ－１１	血液生化学的検査・総括表 (マウス・がん原性試験)
付録表Ⅳ－１２	尿検査・総括表 (マウス・がん原性試験)



## 付録図

付録図 1	体重値 (ラット・急性試験)
付録図 2	体重値 (ラット・2 週間試験)
付録図 3	摂水量 (ラット・2 週間試験)
付録図 4	被験物質摂取量 (ラット・2 週間試験)
付録図 5	体重値 (ラット・13 週間試験)
付録図 6	摂水量 (ラット・13 週間試験)
付録図 7	被験物質摂取量 (ラット・13 週間試験)
付録図 8	摂餌量 (ラット・がん原性試験)
付録図 9	体重値 (マウス・急性試験)
付録図 10	体重値 (マウス・2 週間試験)
付録図 11	摂水量 (マウス・2 週間試験)
付録図 12	被験物質摂取量 (マウス・2 週間試験)
付録図 13	体重値 (マウス・13 週間試験)
付録図 14	摂水量 (マウス・13 週間試験)
付録図 15	被験物質摂取量 (マウス・13 週間試験)
付録図 16	摂餌量 (マウス・がん原性試験)

m-フェニレンジアミン=二塩酸塩の  
ラット及びマウスを用いた  
経口によるがん原性試験結果報告書

## 本 文

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

## 要旨

メタフェニレンジアミンニ塩酸塩の発癌性を検索する目的で Fischer 344 ラット、BDF<sub>1</sub> マウスを用いて経口による 104 週間の試験を実施した。

がん原性試験を実施する前に急性、2 週間、13 週間の短期毒性試験を行い、がん原性試験のための基礎的検討を行った。

がん原性試験は、1 群雌雄各 50 匹、ラット、マウス各 4 群の構成で 800 匹を用いた。投与方法はメタフェニレンジアミンニ塩酸塩を飲水に混ぜ、ラットでは 400, 160, 64ppm、マウスでは 180, 60, 20ppm を 104 週間連続的に自由経口摂取させた。

投与期間中は毎日動物の症状観察を行い、定期的に体重、摂餌量、摂水量の測定を行った。

投与期間の終期に尿検査を行い、104 週間の投与終了後まで生存した動物については血液学的検査、血液生化学的検査、病理学的検査を実施し、途中死亡、切迫屠殺動物についてはその時点で病理学的検査を実施した。

以下にがん原性試験によって得られた成績を要約する。

- (1) 104 週間のメタフェニレンジアミンニ塩酸塩の各群の投与量を 1 匹当たりの 1 日の平均摂取量で示すと、以下の如くとなり、

### ラット

	雄	雌
64ppm	3.6mg/kg/day	5.3mg/kg/day
160ppm	9.0mg/kg/day	12.8mg/kg/day
400ppm	20.4mg/kg/day	25.0mg/kg/day

### マウス

	雄	雌
20ppm	2.0mg/kg/day	2.8mg/kg/day
60ppm	6.2mg/kg/day	8.6mg/kg/day
180ppm	18.7mg/kg/day	24.9mg/kg/day

各群間の摂取量の比率はラットでは 2.0~2.5、マウスでは 2.9~3.1 となり、それぞれの公比である 2.5、3.0 に対して、近似した結果を示した。

- (2) 動物の生死状況についてはラット、マウスともに試験期間中および試験終了時において対照群と明らかな差を認めなかった。
- (3) 体重値では雌雄のラットの400ppm群で対照群にくらべて試験期間中ほぼ低下を示したが、摂水量、摂餌量についても同様の傾向を示した。他のラット投与群とマウスの投与群については対照群と明らかな差はみられなかった。
- (4) 血液学的検査ではラット、マウスともに被験物質投与群と対照群とに明かな差はみられなかった。
- (5) 血液生化学的検査ではラットの400ppm群の雌雄に対照群とくらべて尿素窒素、クレアチニン、カリウムに有意の増加、アルブミンに有意の減少がみられた。ラットの他の投与群とマウスの各投与群には対照群と明らかな差はみられなかった。
- (6) 病理組織学的検査では腫瘍の発生についてはラットでは担癌動物数、総腫瘍数、および腫瘍の種類別の発生とも対照群と被験物質投与群との間に差はみとめられなかった。また、マウスについては下垂体の前葉腺腫の発生が雌の180ppm群と20ppm群に対照群に比較して増加がみられたが、この所見は投与量に対応したものではなく、また、マウスの雌だけに出現したことからも被験物質の造腫瘍性を明確に示すものではないと考える。

非腫瘍性病変についてはラットでは雌の400ppm群に慢性腎症と鼻腔のエオジン好性変化の程度が強くあらわれ、発生数も高かった。また、マウスでは被験物質投与群に肺、肝臓、甲状腺などに特有の色素沈着が観察された。

試験施設の名称及び所在地

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

所長 館 正知

神奈川県秦野市平沢字大芝原2445番地  
電話 0463-82-3911

**試験日程**

(動物導入より投与終了日または観察期間終了日まで)

**急性毒性試験**

ラット	1983年	3月	9日	～	1983年	3月	30日
マウス	1983年	3月	10日	～	1983年	3月	31日

**2週間毒性試験**

ラット	1983年	10月	10日	～	1983年	11月	7日
マウス	1983年	10月	11日	～	1983年	11月	8日

**13週間毒性試験**

ラット	1984年	1月	23日	～	1984年	5月	10日
マウス	1984年	1月	30日	～	1984年	5月	17日

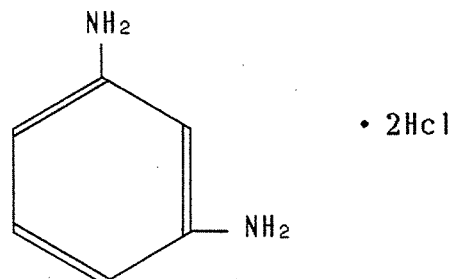
**がん原性試験**

ラット	1984年	11月	5日	～	1986年	11月	17日
マウス	1984年	11月	26日	～	1986年	12月	8日

## I 被験物質

名 称                   メタフェニレンジアミンニ塩酸塩  
(m-Phenylenediamine dihydrochloride)

分子式・構造式            $C_6H_4(NH_2)_2 \cdot 2HCl$



分 子 量                   181.07

供 試 元                   和光純薬工業株式会社

供 試 品                   特級試薬

ロット番号               LTL6725, PEG5982, CDR2738, CDG0410, STR0873

外 観                   わずかに紫色を帯びた結晶性粉末

溶 解 性               水、エタノールに可溶

水 溶 状               ほとんど透明

強 熱 残 分           0.05%以下  
(硫酸塩)

含 量                   99.0%以上

## II 試験方法

### II-1 被験物質の同一性・特性・安定性

#### 同一性・特性

紫外吸収スペクトル、赤外吸収スペクトル、高速液体クロマトグラムを測定した。

#### 安定性

試験毎に、使用したロットについて投与試験期間の前後で紫外吸収スペクトル、赤外吸収スペクトル、高速液体クロマトグラムを測定した。

### II-2 被験物質溶液の濃度測定

急性、2週間、13週間、発がん性試験で投与した被験物質溶液の濃度測定は、紫外分光光度法又は、高速液体クロマトグラフ法によりおこなった。

測定回数は急性・2週間試験が1回、13週間試験が1回/月、発がん性試験が1回/3か月でおこなった。

又、それぞれの試験における被験物質溶液の安定性についても、交換頻度に応じて濃度測定をおこない確認した。

### II-3 被験物質の調製方法

#### 急性毒性試験

投与当日、メタフェニレンジアミン二塩酸塩を滅菌した脱イオン水で溶解させ、最高投与濃度群の被験物質溶液を作製後、これを段階希釈して各投与群の被験物質溶液を作製した。

#### 2週間毒性試験、13週間毒性試験、がん原性試験

メタフェニレンジアミン二塩酸塩と脱イオン水を重量/重量方法に従って秤量し、マグネチックスターラを用いて溶解し、フィルター濾過滅菌して中間体を作成した。中間体と脱イオン水を各濃度群毎に、重量/重量方法に従って秤量し、マグネチックスターラを用いて希釈した。なお、調製頻度は給水びんの交換日当日であり、2週間毒性試験では週2回(4日目、7日目)、13週間毒性試験では週2回(3日目、7日目)



、がん原性試験では週2回(3日目、7日目)調製をおこなった。

## II-4 投与経路

### 急性毒性試験

被験物質溶液0.1 ml/体重10 gを胃ゾンデによって胃内に強制経口投与した。

### 2週間毒性試験、13週間毒性試験、がん原性試験

被験物質溶液を給水びんにて、自由に摂取させた。

## II-5 投与期間

急性毒性試験は1回、2週間毒性試験は14日間連続、13週間毒性試験は92日～94日間連続、がん原性試験は104週間連続投与した。ただし、がん原性試験では、試験途中、ラットは58週目の1週間、マウスは55週目の1週間、投与をおこなわなかった。

## II-6 設定濃度

各試験の設定濃度は表1のとおりとした。

## II-7 急性毒性試験(表1参照)

日本チャールス・リバー社より購入した5週令のFischer 344ラット(雌雄)とBDF1マウス(雌雄)を1週間検疫した後、群構成(雌雄各群10匹)を行い、胃ゾンデをもちいてメタフェニレンジアミン二塩酸塩を脱イオン滅菌水に溶解し、ラットでは800, 471, 277, 163, 96mg/kgBW、マウスでは345, 230, 153, 102, 68mg/kgBW)を1回強制投与し、その後観察飼育室に動物を移し、14日間観察した。なお、対照群には脱イオン滅菌水のみを投与した。

解剖は全動物について実施した。

病理組織学的検査は死亡、切迫屠殺動物は全例おこない、定期解剖まで生存した動物(定期解剖動物)は各群1～2例を任意に選出して実施した。

## II-8 2週間毒性試験(表1参照)

日本チャールス・リバー社より購入した4週令のFischer 344ラット(雌雄)とBDF1マウス(雌雄)を1週間検疫し、1週

間馴化した後群構成(雌雄各群10匹)を行い、メタフェニレンジアミンニ塩酸塩を飲水に混ぜ、ラットでは22,000、7,500、2,500、833、278 ppm、マウスでは9,000、3,000、1,000、333ppmを2週間連続投与した。なお、対照群には飲水だけを与えた。

解剖は全動物について実施した。

病理組織学的検査は死亡、瀕死動物は全例おこない、定期解剖まで生存した動物は各群2例を任意に選出して実施した。

## II-9 13週間毒性試験(表1参照)

日本チャールス・リバー社より購入した4週令のFischer 344ラット(雌雄)とBDF1マウス(雌雄)を1週間検疫し、1週間馴化した後、群構成(雌雄各群10匹)をおこない、メタフェニレンジアミンニ塩酸塩を飲水に混ぜラットでは1,000、500、250、125、62.5 ppm、マウスでは2,000、667、222、74.1、24.4ppmを13週間連続投与した。なお、対照群には飲水だけを与えた。

投与期間中動物の一般症状の観察は毎朝夕、体重と摂餌量の測定は週に1回、摂水量の測定は週に2回実施し、それぞれの観察・測定データは週単位でとりまとめた。

投与期間の終期に尿検査をおこない、13週間の投与終了後まで生存した動物については、エーテル麻酔下で採血、解剖し、血液学的検査、血液生化学的検査、病理学的検査を実施した。

なお、途中死亡と切迫屠殺動物については、その時点で病理学的検査を実施した。

各検査の項目は下記のとおりである。

### 検査項目

#### 血液学的検査

ラット・マウス 赤血球数, ヘモグロビン濃度, ヘマトクリット値,  
平均赤血球容積(MCV), 血小板数, 白血球数,  
白血球百分率

#### 血液生化学的検査

ラット 総蛋白, アルブミン, A/G比, 総ビリルビン,  
グルコース, 総コレステロール, トリグリセライド,  
GOT, GPT, LDH, ALP, LAP, CPK,

尿素窒素, クレアチニン, ナトリウム, カリウム,  
クロール, カルシウム, 無機リン  
マウス 総蛋白, アルブミン, A/G比, 総ビリルビン,  
グルコース, 総コレステロール, GOT, GPT,  
LDH, ALP, LAP, 尿素窒素, ナトリウム,  
カリウム, クロール

## 尿検査

ラット pH, 蛋白, グルコース, ケトン体, ビリルビン,  
潜血, 亜硝酸塩, ウロビリノーゲン  
マウス pH, 蛋白, グルコース, ケトン体, 潜血,  
ウロビリノーゲン

## 病理学的検査

### (剖検)

全動物について検索

### (臓器重量)

定期解剖動物について下記の臓器, 組織の重量を測定  
脳, 肝臓, 脾臓, 腎臓, 副腎, 精巣, 卵巢, 胸腺, 心臓, 肺,  
腫瘍

### (病理組織学的検査)

(イ) 途中で死亡、または屠殺したすべての動物について  
は、全臓器\*及び腫瘍部位、咽頭、喉頭を検索

(ロ) 定期解剖動物

全動物の全臓器\*及び腫瘍部位、咽頭、喉頭を検索

\* ) 全臓器: 皮膚, 乳腺, リンパ節, 大腿骨(骨髓を含む),  
胸腺, 気管, 肺, 気管支, 鼻腔, 心臓, 甲状腺  
及び上皮小体, 舌, 食道, 胃, 小腸, 大腸,  
唾液腺, 肝臓, 脾臓, 脾臓, 腎臓, 副腎, 膀胱,  
精巣, 卵巢, 性器付属器, 眼球及びハーダー腺,  
脳, 下垂体, 脊髄, 座骨神経, 骨格筋

## II-10 がん原性試験(表1参照)

日本チャールス・リバー社より購入した4週齢のFischer  
344ラット雌雄各250匹とBDF1マウス雌雄各250匹の合計  
1000匹を検疫し、検疫終了後、各240匹の合計960匹を任意に

選出し、1週間馴化をおこなった。

馴化終了後、体重を指標とする無作為群分け法によってラット・マウス雌雄各200匹ずつ合計800匹を選出し、1群雌雄各50匹で、ラット・マウス各4群の群構成をおこなった。メタフェニレンジアミンニ塩酸塩を飲水に混ぜラットでは400, 160, 64ppm、マウスでは180, 60, 20ppmを104週間連続投与した。なお、対照群には飲水だけを与えた。

投与期間中動物の一般症状の観察は毎朝夕、体重の測定は投与開始後14週間は週に1回、それ以降は2週に1回、摂餌量の測定は投与開始後14週間は週に1回、それ以降は4週に1回、摂水量の測定は投与開始後14週間は週に2回、それ以降は2週に1回実施した。観察・測定により得られたデータは項目ごとに週単位でとりまとめた。

投与期間終期に尿検査を行い、104週間の投与終了後まで生存した動物については、エーテル麻酔下で採血、解剖し、血液学的検査、血液生化学的検査、病理学的検査を実施した。なお、途中死亡と切迫屠殺動物については、その時点で病理組織学的検査を実施した。

各検査の項目は下記のとおりである。

## 検査項目

血液学的検査 13週間毒性試験に同じ

## 血液生化学的検査

### ラット

総蛋白, アルブミン, A/G比, 総ビリルビン, グルコース, 総コレステロール, トリグリセライド, リン脂質, GOT, GPT, LDH, ALP, LAP,  $\gamma$ -GTP, CPK, 尿素窒素, クレアチニン, ナトリウム, カリウム, クロール, カルシウム, 無機リン

### マウス

総蛋白, アルブミン, A/G比, 総ビリルビン, グルコース, 総コレステロール, トリグリセライド, リン脂質, GOT, GPT, LDH, ALP, LAP, CPK, 尿素窒素, ナトリウム, カリウム, クロール, カルシウム, 無機リン

尿検査 13週間毒性試験に同じ

## 病理組織学的検査

### (剖検)

全動物について検索

### (臓器重量)

定期解剖動物について下記の臓器、組織の重量を測定

脳、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣、卵巢、心臓、肺、腫瘍

### (病理組織学的検査)

全動物の全臓器・及び腫瘍部位、咽頭、喉頭を検索

＊) 全臓器：皮膚、乳腺、リンパ節、大腿骨（骨髓を含む）、  
胸腺、気管、肺、気管支、鼻腔、心臓、甲状腺及び上皮  
小体、舌、食道、胃、小腸、大腸、唾液腺、肝臓、脾臓、  
脾臓、腎臓、副腎、膀胱、精巣、卵巢、性器付属器、  
眼球及びハーダー腺、脳、下垂体、脊髄、座骨神経、  
骨格筋

### III 試験成績

#### III-1 被験物質

##### III-1-1 被験物質の同一性・特性・安定性

被験物質は試薬特級のメタフェニレンジアミンニ塩酸塩を和光純薬工業(株)より5ロット入手した。

ロットNo. 急性毒性試験 LTL6725、2週間毒性試験 PEG5982、13週間毒性試験 CDR2738、がん原性試験 CDG0410,STR0873を使用した(付録表I-1)。

##### 同一性・特性

紫外吸収スペクトルは293nm, 243nmに吸収極大を265nm, 215nmに谷を示し、文献値と一致した。赤外吸収スペクトルは2900, 2600, 1490, 1120, 930, 860, 675, 430,  $\text{cm}^{-1}$ に吸収を示し、文献値と一致した。

また、クロマトグラムは主なピーク1本を観察した。

##### 安定性

試験前後で、各ロットとも紫外吸収スペクトル、赤外吸収スペクトル、高速液体クロマトグラムに変化がなく、安定であることが確認された。

### III-1-2 被験物質の濃度及び安定性

付録表 I-2 ~ I-5 に各試験における被験物質の濃度と安定性の測定結果を一覧として示した。

急性毒性試験では、ラットの設定濃度 80,000, 47,000, 27,700, 16,300, 9,600(ppm) に対して測定濃度はそれぞれ 77,014, 46,858, 27,604, 16,066, 9,259(ppm) であった。又、マウスの設定濃度 34,500, 23,000, 15,300, 10,200, 6,800(ppm) に対して測定濃度はそれぞれ 34,726, 23,381, 15,644, 10,209, 6,796 (ppm) であった。又、これらの調製液のうち最高濃度 80,000ppm と最低濃度 6,800ppm の 1 日後の濃度を測定した結果、それぞれ 79,710ppm, 6,624ppm であった。

2 週間毒性試験では、ラットの設定濃度 22,500, 7,500, 2,500, 833, 278(ppm) に対して測定濃度は、それぞれ 22,388, 7,552, 2,674, 844, 293(ppm) であった。又、マウスの設定濃度 9,000, 3,000, 1,000, 333, 111(ppm) に対して測定濃度はそれぞれ、8,825, 2,920, 976, 323, 108(ppm) であった。又、これらラット、マウス投与用の調製液の 4 日後の濃度はそれぞれ 22,617, 7,663, 3,627, 858, 288, 9,124, 3,022, 1,002, 331, 114(ppm) であった。

1 3 週間毒性試験ではラットの設定濃度 1,000, 500, 250, 125, 62.5(ppm) に対して測定濃度はそれぞれ 993.5, 500.2, 251.3, 125.8, 62.5(ppm) であった。又、マウスの設定濃度 2,000, 667, 222, 74.1, 24.7(ppm) に対し、測定濃度は、それぞれ 2035.3, 687.7, 227.4, 75.4, 25.6(ppm) であった。又、これらラット、マウス投与用の調製液の 4 日後の濃度はそれぞれ、1001.1, 504.6, 252.6, 128.6, 64.6, 2014.3, 680.3, 225.9, 75.0, 25.0(ppm) であった。

がん原性試験ではラットの設定濃度 400, 160, 64(ppm) に対し測定濃度は 400.5, 158.7, 64.3(ppm) であった。又、マウスの設定濃度 80, 60, 20 に対して測定濃度は 179.5, 59.6, 20.1(ppm) であった。又、これらラット、マウス投与の調製液の 4 日後の濃度はそれぞれ 391.0, 157.6, 63.8, 176.0, 59.8, 20.9(ppm) で 7 日後の濃度はそれぞれ 404.0, 154.4, 63.4, 177.1, 58.0, 19.6(ppm) であった。

以上の結果から各試験とも、設定投与濃度に調製されていることが確認された。又、これらの調製溶液は投与期間中安定であることが確認された。

### Ⅲ-2 ラットを用いた毒性試験

#### Ⅲ-2-1 急性毒性試験

##### 生死の状況

投与後2週間の観察期間中における各群の生存動物数を表2に一覧として示した。

これより、雄では800mg/kg B w群では全例死亡し(0/10, 0%), 471mg/kg B wでは1/10(10%), 277mg/kg B w群では9/10(90%)生存し、163, 96mg/kg B w及び対照群では全例生存した。

雌では800, 471mg/kg B w全例死亡し(0/10, 0%), 277mg/kg B wでは5/10(50%), 163mg/kg B wでは9/10(90%)生存し、96mg/kg B w及び対照群では全例生存した。

##### 体重値

投与当日及び1, 2, 3, 4, 7, 10, 14日後の観察期間中の雌雄各群の平均体重値を表3に一覧とし、付録図1に図示した。

これより、生存動物の少なかった800, 471mg/kg B wを除いて、検討してみると、雌雄各群とも投与濃度が高くなるにつれ、体重増加の抑制がみられた。



## 病理学的検査

### 肉眼所見

剖見時に観察された雌雄各群の肉眼所見を付録表Ⅲ-1、Ⅲ-2に一覧として示した。

### 雄

(死亡および瀕死例：800mg/kg群10例／471mg/kg群9例／277mg/kg群1例)

鼻周囲の液付着、胸腺の変化(出血、赤色斑／点)、肺の変化(出血、鬱血、赤色化)、胸腔の液貯留、前胃の出血、腺胃の変化(出血、鬱血、び爛、赤色斑／点)、副腎の変化(鬱血、赤色化)が比較的多くの例にみられた。また、少数の例には、鼻腔の液貯留、唾液腺の赤色斑／点、心臓の白色斑／点、心房や心室の拡張、肝臓の鬱血、脾臓の腫大、腎臓の鬱血や淡色化、膀胱の出血が観察された。

(定期解剖例：471mg/kg群1例／277mg/kg群9例／163mg/kg群10例／96mg/kg群10例、対照群10例)

少数例に胸腺の出血、精巣や精囊の小型化が観察された。

### 雌

(死亡および瀕死例：800mg/kg群10例／471mg/kg群10例／277mg/kg群5例／163mg/kg群1例)

胸腺の変化(出血、赤色斑／点)、肺の変化(鬱血、赤色斑／点)、胸腔の液貯留、前胃の変化(出血、潰瘍)、腺胃の変化(出血、鬱血、び爛、液貯留、赤色斑／点)、副腎の変化(充血、鬱血、赤色化)が比較的多くの例にみられた。また、少数の例には、鼻腔の液貯留、脳の鬱血、無気肺、心臓の拡張や白色斑／点、心室の拡張、腹腔の液貯留、肝臓の鬱血やヘルニア、腸管膜の浮腫、腎臓の鬱血、腫脹、軟化、淡色化、褐色化、白色斑／点、膀胱の出血や赤色斑／点が観察された。

(定期解剖例：277mg/kg群5例／163mg/kg群9例／96mg/kg群10例／対照群10例)

少数例に肝臓のヘルニア、腎臓の癒着、子宮の拡張が観察された。

## 病理組織学的所見

死亡、瀕死例と観察期間終了まで生存した動物（定期解剖動物）から各群より必要に応じて1～2例を任意に選択し、病理組織学的検査を行い、その結果を総括所見として付録表Ⅲ－3、Ⅲ－4に一覧として示した。

### 雄

（死亡および瀕死例：800mg/kg群3例／471mg/kg群2例／277mg/kg群1例）

死亡および瀕死例の多くに、肺の鬱血や浮腫、腎臓の尿細管壊死（近位尿細管）や蛋白円柱、脾臓と胸腺の萎縮や核崩壊、リンパ節の核崩壊、副腎の出血、鼻腔上皮の変性が認められた。また、少数の例には喉頭の壊死、肺の出血、胃の出血や潰瘍、盲腸や大腸の壊死、心臓の出血や壊死がみられた。

（定期解剖例：471mg/kg群1例／277mg/kg群2例／163mg/kg群2例／96mg/kg群2例／対照群2例）

163mg/kg群の1例に腎臓の石灰沈着が観察された。その他には、特記すべき所見は認められなかった。

### 雌

（死亡および瀕死例：800mg/kg群2例／471mg/kg群2例／277mg/kg群2例／163mg/kg群1例）

死亡および瀕死例の多くに、肺の鬱血や浮腫、腎臓の尿細管壊死（近位尿細管）や蛋白円柱、小腸の壊死、脾臓と胸腺の萎縮や核崩壊、リンパ節の核崩壊、副腎の出血、鼻腔上皮の変性が認められた。また、少数の例には、腎臓の石灰沈着、胃の潰瘍、盲腸や大腸の壊死、心臓の出血や線維化がみられた。

（定期解剖例：277mg/kg群2例／163mg/kg群2例／96mg/kg群2例／対照群2例）

277mg/kg群の1例に腎臓の石灰沈着が観察された。その他には、特記すべき所見は認められなかった。

### III-2-2 2週間毒性試験

#### 生死の状況

投与期間中における各群の生存動物数を表4に一覧として示した。

これより、雄では22,500、7,500ppm群では全例死亡し、他の群では全例生存した。

雌では、22,500、7,500ppm群では全例死亡し、2,500ppm群では1/10(10%)生存し、他の群では全例生存した。

#### 体重値

投与初日及びその後1、2、4、7、10、14日の雌雄各群の平均体重値を表5に一覧とし、付録図2に示した。

これより、雄では2,500ppm群は対照群にくらべて顕著な低下が投与1日後よりみられ、試験終了まで体重は減少しつづけた。また833ppm群も対照群にくらべて有意の低下がみられた。雌では833ppm群に対照群にくらべて有意の低下がみられた。

#### 摂餌量

付録表II-1に1週間ごとの雌雄各群の平均摂餌量を一覧として示した。これより、雄では、22,500、7,500、2,500ppm群は著明な低下、833ppm群も低下をみた。また雌でも22,500、7,500、2,500、833ppm群で著明な低下278ppm群でも低下をみた。

#### 摂水量

付録表II-2に雌雄各群の1匹当りの1日の平均摂水量を一覧とし、付録図3に示した。これより、雌雄とも22,500、7,500、2,500ppm群は著しい低下を、833ppm群では低下をみた。

#### 被験物質摂取量

付録表I-6に雌雄各群の被験物質摂取量を一覧とし、付録図I-4に示した。これより、雄の全投与期間中の被験物質摂取量の平均は、278ppm群で30.50mg/kg/day、833ppm群で65.22mg/kg/day、2500ppm群で65.11mg/kg/day、7,500ppm群で91.08mg/kg/day、22,500ppm群で147.61mg/kg/dayであり、それぞれの平均被験物質摂取量の比は、278ppm群と833ppm群では

2.14倍、833ppm群と2,500ppm群では0.998倍、2,500ppm群と7,500ppm群では1.40倍、7,500ppm群と22,500ppm群では1.62倍であ

った。

雌の全投与期間中の被験物質摂取量の平均は278ppm群で36.35mg/kg/day、833ppm群で58.51mg/kg/day、2,500ppm群で54.51mg/kg/day、7,500ppm群で128.93mg/kg/day、22,500ppm群で221.44mg/kg/dayであり、それぞれの平均被験物質摂取量の比は、278ppm群と833ppm群で1.61倍、833ppm群と2,500ppm群では0.93倍、2,500ppm群と7,500ppm群で2.37倍、7,500ppm群と22,500ppm群では1.72倍であった。

## 病理学的検査

### 肉眼所見

剖見時に観察された雌雄各群の肉眼所見を付録表Ⅲ-5、Ⅲ-6に一覧として示した。

### 雄

(死亡および瀕死例：22,500ppm群10例／7,500ppm群10例)

ほとんどの例は衰弱し(体脂肪の減少)、胸腺、睪臓、脾臓、精嚢の萎縮が多く例にみられた。また、少数の例には肺の鬱血、胃の液貯留あるいは腺胃の出血が観察された。

(定期解剖例：2,500ppm群10例／833ppm群10例／278ppm群10例／対照群10例)

2,500ppm群は、脳と下垂体の鬱血、胸腺の萎縮、肝臓の鬱血と萎縮、着色斑／点、脾臓の萎縮、腎臓の鬱血や萎縮、精嚢の萎縮が多く例にみられ、また、少数例には下垂体の出血、腺胃のび爛や赤色斑が認められた。833ppm以下の群では少数例に下垂体の鬱血、肺の出血、膀胱の結石が観察された。

### 雌

(死亡および瀕死例：2,250ppm群10例／7,500ppm群10例／2,500ppm群9例)

ほとんどの例は衰弱し(体脂肪の減少)、胸腺、睪臓、脾臓の萎縮、腺胃の出血や液貯留が多く例にみられた。また、少数の例には肺の鬱血、肝臓の鬱血や赤色化、胃の液貯留、前胃のび爛、腎臓の鬱血や赤色化、子宮の萎縮が観察された。

(定期解剖例：2,500ppm群1例／833ppm群10例／278ppm群10例／対照群10例)

2,500ppm群の1例は衰弱し、脳の鬱血、胸腺の萎縮がみられた。833ppm群でも多くの例に衰弱(あるいは貧血)が認められた。278ppm群は著変がみられなかった。

## 病理組織学的所見

死亡、瀕死例と観察期間終了まで生存した動物（定期解剖動物）から各群より必要に応じて1～2例以上を任意に選択し、病理組織学的検査を行い、その結果を総括所見として付録表Ⅲ-7、Ⅲ-8に一覧として示した。

### 雄

（死亡および瀕死例：22,500ppm群2例／7,500ppm群2例）

死亡および瀕死例のほとんどに、肝臓の萎縮、壊死（単細胞壊死）、および色素沈着（クッパー細胞内、褐色）、脾臓、胸腺、およびリンパ節の萎縮、骨髄の鬱血と減形成が認められた。また、精巣の萎縮と精巣上体の出血が1例にみられた。

（定期解剖例：2,500ppm群2例／833ppm群2例／278ppm群2例／対照群2例）

2,500ppm群の1または2例に、肝臓の萎縮と壊死（単細胞壊死）、脾臓、胸腺、およびリンパ節の萎縮、骨髄の鬱血と減形成が認められた。833ppm以下の群には特記すべき所見は認められなかった。

### 雌

（死亡および瀕死例：22,500ppm群3例／7,500ppm群3例／2,500ppm群1例）

死亡および瀕死例のほとんどに、肝臓の萎縮と色素沈着（クッパー細胞内、褐色）、脾臓、胸腺、およびリンパ節の萎縮、副腎の出血、骨髄の鬱血と減形成が認められた。また、肝臓の壊死（単細胞壊死）が2例、骨髄の石灰沈着が1例にみられた。

（定期解剖例：2,500ppm群1例／833ppm群2例／278ppm群2例／対照群2例）

2,500ppm群の例に、肝臓の萎縮、壊死（単細胞壊死）および色素沈着（クッパー細胞内、褐色）、脾臓、胸腺、およびリンパ節の萎縮、骨髄の鬱血と減形成が認められた。833ppm群では2例に骨髄の減形成が認められた。278ppm群では脾臓の萎縮が1例に観察された。

### III-2-3 13週間毒性試験

#### 生死の状況

投与期間中における各群の生存動物数を表6に一覧として示した。

これより、雌雄とも全例生存した。

#### 体重値

投与初日及びその後毎週1回測定した雌雄各群の平均体重値を表7に一覧とし、付録図I-5に示した。

これより、雌雄とも1,000ppm、500ppm群が対照群にくらべて有意の低下を1週目より示した。

#### 摂餌量

付録表II-3に1週間ごとの雌雄各群の平均摂餌量を一覧として示した。これより、雌雄の1,000ppm群と雌の500ppm群に試験期間中、対照群にくらべて有意の低下を示し、雄の500ppm群も最終週を除いて有意の低下を示した。他の群では異常はみられなかった。

#### 摂水量

付録表II-4に雌雄各群の1匹当りの1週間ごとの1日の平均摂水量を一覧とし、付録図6に示した。これより、雌雄とも1,000ppm群は対照群にくらべて統計的にあきらかな減少が全投与期間を通じてみられ、1,000ppm群は、500ppm群より摂水量が少なかった。また、500ppm群以下の投与群では雄の250ppm群、125ppm群、雌の250ppm群において、対照群とくらべて投与期間中に統計学的に有意な減少が数例みられたのみで、対照群とほぼ同じ摂水量を示した。

#### 被験物質摂取量

付録表I-7に雌雄各群の被験物質摂取量を一覧とし、付録図7に示した。これより、雄の全投与期間中の被験物質摂取量の平均は、62.5ppm群で5.09mg/kg/day、125ppm群で9.78mg/kg/day、250ppm群で20.31mg/kg/day、500ppm群で29.65mg/kg/day、1,000ppm群で54.21mg/kg/dayであり、それぞれ平均被験物質摂取量の比は62.5ppm群と125ppm群で1.92倍、125ppm群と2,500ppm群で2.08倍、250ppm群と500ppm群で1.46倍、500ppm群と1,000ppm群で1.83倍であった。

雌の全投与期間中の被験物質摂取量の平均は、62.5ppm群で7.42mg/kg/

day、125ppm群で14.56mg/kg/day、250ppm群で22.86mg/kg/day、500ppm群で31.91mg/kg/day、1,000ppm群で57.37mg/kg/dayであり、それぞれ平均被験物質摂取量の比は、62.5ppm群と125ppm群で1.96倍、125ppm群と250ppm群で1.57倍、250ppm群と500ppm群で1.40倍、500ppm群と1,000ppm群で1.80倍であった。



## 血液学的検査

赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、平均赤血球容積(MCV)、血小板数、白血球数、白血球百分率の雌雄各群の平均値を付録表IV-1に一覧として示した。

### 〔雄〕

1,000ppm群で赤血球数、血小板数に有意の減少平均赤血球容積(MCV)対照群にくらべてに有意の増加が認められた。

500ppm群で赤血球数に有意の減少、平均赤血球容積(MCV)に有意の増加が認められた。

その他の群には特に異常は認められなかった。

### 〔雌〕

1,000ppm群で血小板数に有意の減少、平均赤血球容積(MCV)に有意の増加が認められた。

なお、250ppm群でヘモグロビン濃度に有意の減少が認められた。

その他の群には特に異常は認められなかった。

## 血液生化学的検査

総蛋白、アルブミン、A/G比、総ビリルビン、グルコース、総コレステロール、トリグリセライド、GOT、GPT、LDH、ALP、LAP、CPK、尿素窒素、クレアチニン、ナトリウム、カリウム、クロール、カルシウム、無機リンの雌雄各群の平均値を付録表IV-2に一覧として示した。

### 〔雄〕

1,000ppm群で総蛋白、アルブミン、ナトリウム、カルシウム、GOT、GPT、LDH、CPKに対照群にくらべて有意の減少および総コレステロールに有意の増加が認められた。

500ppm群で総蛋白、アルブミン、ナトリウム、LAPに有意の減少および総コレステロールに有意の増加が認められた。

250ppm群でナトリウムに有意の減少が認められた。

その他の群には特に異常は認められなかった。

### 〔雌〕

1,000ppm群で総蛋白、アルブミン、カルシウム、グルコース、総コレステロール、トリグリセライドに有意の減少A/G比、ALP、LAP、尿素

窒素に有意の増加が認められた。

500ppm群で総蛋白、アルブミン、カルシウム、総コレステロールに有意の減少、A/G比に有意の増加が認められた。

250ppm群でカルシウムの減少が認められた。

その他の群には特に異常は認められなかった。

#### 尿検査

pH、蛋白、グルコース、ケトン体、ビリルビン、潜血、亜硝酸塩、ウロビリノーゲンの雌雄各群の集計値を付録表IV-3に一覧として示した。

##### [雄]

1,000ppm群でpHの減少傾向および蛋白、ケトン体の増加傾向が認められた。

500ppm群でpHの減少傾向および蛋白、ケトン体の増加傾向が認められた。

その他の群には特に異常は認められなかった。

##### [雌]

1,000ppm群でpHの減少傾向および蛋白、ケトン体の増加傾向が認められた。

500ppm群でpHの減少傾向および蛋白、ケトン体の増加傾向が認められた。

250ppm群でpHの減少傾向およびケトン体の増加傾向が認められた。

その他の群には特に異常は認められなかった。

## 病理学的検査

### 肉眼所見

剖見時に観察された肉眼所見を付録表Ⅲ-9に一覧として示した。

### 雄

(定期解剖例：1,000ppm群10例、500ppm群10例、250ppm群10例、125ppm10例、62.5ppm群10例、対照群10例)

少数例に肺の出血、肝臓の腫大、黄色化、ヘルニアが観察された。

### 雌

(定期解剖例、1,000ppm群10例、500ppm群10例、250ppm群10例、125ppm10例、62.5ppm群10例、対照群10例)

胸腺の退縮が1,000ppm群の3例に認められた。各群に子宮の内腔拡張がみられたが、1,000ppm群では他群に比べ発生数が低値であった。

その他、外陰部の汚染、唾液腺の縮小、肺の出血や鬱血、肝臓の鬱血、黄色化、ヘルニア、卵巣の赤色化や赤色斑／点、子宮の縮小や萎縮が観察されたが、いずれの所見も少数例であった。

### 臓器重量

定期解剖時に測定した臓器の実重量と体重比(%) = (臓器重量(g) / 体重(g) × 100) の各群別の平均値を付録表Ⅲ-10、Ⅲ-11に一覧として示した。

### 雄

胸腺、心臓、肺、脾臓、および肝臓の実重量が500ppm群以上で、精巣、脳の実重量が1,000ppm群で対照群に比較して低値であった。しかし、体重比では精巣、肺、腎臓、および脳が500ppm群以上で、副腎が1,000ppm群で対照群に比較して高値であった。(これらの所見は体重の低下による変化と考えられる)

その他、対照群に比較して62.5ppm群の精巣(右側)の実重量の低値、500ppm群と250ppm群の心臓の体重比の低値が認められた。

## 雌

卵巢の実重量が250ppm群以上で、胸腺、副腎、心臓、肺、肝臓、脳の実重量が500ppm群以上で、また、脾臓の実重量が1,000ppm群で対照群に比較して低値であった。これらの臓器の体重比は胸腺が500ppm群以上で低値を示したが、脾臓と脳が500ppm群以上で、副腎と肺が1,000ppm群で対照群に比較して高値みられた。腎臓は500ppm群で実重量、250ppm群以上で体重比の高値が認められた。

その他、対照群に比較して250ppm群と62.5ppm群の卵巢（左側）の体重比の低値、125ppm群の心臓の体重比の低値が認められた。

## 病理組織学的所見

付録表Ⅲ-12に病理組織学的所見を一覧として示した。

## 雄

（定期解剖例：1,000ppm群10例、500ppm群10例、250ppm群10例、125ppm10例、62.5ppm群10例、対照群10例）

腎臓の色素沈着と変性が投与量の増大に伴い増加した。腎臓の色素沈着は1,000ppm群の全例と500ppm群の9例に認められ、色調は黄褐色、沈着部位は近位尿細管上皮であり、鉄染色陰性であった。腎臓の変性は乳頭部の軽度な変性であり、1,000ppm群の5例と500ppm群の1例に認められた。

その他、肝臓の肉芽、腎臓の再生像や蛋白円柱、脾臓の色素沈着（黄色、鉄染色陽性、ヘモジデリン）、肺炎、心臓の肉芽、ハーダー腺の肉芽が観察された。

## 雌

（定期解剖例：1,000ppm群10例、500ppm群10例、250ppm群10例、125ppm10例、62.5ppm群10例、対照群10例）

腎臓の色素沈着が1,000ppm群と500ppm群の全例、250ppm群の9例に認められ、その程度も投与量の増大に伴い強くなっていた。この色素の色調は黄褐色で、沈着部位は近位尿細管上皮であり、鉄染色陰性であった。また、腎臓の乳頭部の軽度な変性が、1,000ppm群の6例と500ppm群の2例に認められた。また、肝臓に少量の色素沈着が1,000ppm群に4例観察されたが、この色素は黄褐色、鉄染色陰性であり腎臓にみられたものと同質のものと考えられた。なお、胸腺にも2例に少量の色素沈着がみられたが、この色

素は鉄染色陽性であり、ヘモジデリンと考えられた。

その他、肝臓の肉芽、腎臓の石灰沈着、再生像あるいは嚢胞、子宮の色素沈着（黄色、鉄染色陽性、ヘモジデリン）、脾臓の色素沈着（黄色、鉄染色陽性、ヘモジデリン）、リンパ節の肉芽、膀胱、心臓の肉芽、副腎の色素沈着（黄色、鉄染色陰性）、ハーダー腺の肉芽、鼻腔の石灰沈着、骨髓の肉芽が観察された。

### III-2-4 がん原性試験

#### 生死の状況

被験物質の投与期間中における雌雄各群の動物の生存状況を表8および図1～2に示した。

雄では、最初の死亡例が400ppm群に投与開始後55週で認められた。この死亡以降、各群の最初の死亡は160ppm群では56週に、また、対照群では67週に、64ppm群では77週にみられ、投与期間最終週の104週における死亡数は、400ppm群で13例、および160ppm群で8例、64ppm群で7例、対照群で9例であった。この結果より、104週における生存動物数（生存率％）は、400ppm群で37/50例（74％）および、160ppm群で42/50例（84％）、64ppm群で43/50例（86％）、対照群で41/50例（82％）であった。

雌では、最初の死亡例が64ppm群に投与開始後59週で認められた。この死亡以降、各群の最初の死亡は、対照群では68週および160ppm群では77週、400ppm群では77週にみられた。投与期間最終週の104週における死亡数は、400ppm群で8例および160ppm群で10例、64ppm群で11例、対照群で9例であった。この結果より、104週における生存動物数（生存率％）は、400ppm群で42/50例（84％）および160ppm群で40/50例（80％）、64ppm群で39/50例（78％）、対照群で41/50例（82％）であった。

雌雄において、投与開始後104週における動物の生存数（生存率％）について、対照群と各被験物質投与群との間で $\chi^2$ 検定\*を行ったところ雌雄の各被験物質投与群の生存数は対照群と有意な差が認められなかった。

\*：佐久間昭著「生物検定法」§14.3 2つの出現率 p234～236 1974

#### 体重値

被験物質の投与期間中の雌雄各群の体重値の計測結果を、平均値として表9および図3に示した。

雄では400ppm群において投与開始1週から104週までの全期間を通して、体重推移の抑制が認められた。つまり400ppm群の各週の体重値は、対照群と比較して低値を示し、投与開始後32週および36週から50週の間を除いて、統計的に有意な低下傾向が認められた。また、160ppm群における体重推移は、投与開始より68週にかけては対照群とほぼ差

はなかったが、70週以降102週までは各計測週において有意な低下傾向がみられた。因に、各群の体重推移を具体的に平均値（対照群に対する百分率%）で追ってみると、投与後13週値では400ppm群が340g（97%）、160ppm群が348g（100%）、64ppm群が354g（101%）、対照群が349g（100%）、26週値では、400ppm群が395g（98%）、160ppm群が401g（100%）、64ppm群が409g（101%）、対照群が403g（100%）、52週値では400ppm群が448g（98%）、160ppm群が457g（100%）、64ppm群が464g（102%）、対照群が457g（100%）、78週値では、400ppm群が460g（93%）、160ppm群が480g（98%）、64ppm群が493g（100%）、対照群が492g（100%）、104週値では、400ppm群が377g（86%）、160ppm群が421g（96%）、64ppm群が436g（99%）、対照群が440g（100%）であった。

雌では400ppm群において投与開始1週から104週までの全期間を通して、体重推移の抑制が認められた。つまり400ppm群の各週の体重値は、対照群と比較して有意な低下傾向が認められた。一方、160ppm群においては投与全期間を通じて、体重値の推移は対照群とほぼ同様に経過した。また、64ppm群では投与開始後3週から84週にかけて、対照群の値を上回る体重の推移がみられたが88週頃、その傾向は逆転し、それ以降104週まで対照群にくらべて、やや低値で推移した。因に、各群の体重推移を具体的に平均値（対照群に対する百分率%）で追ってみると、投与後13週値では400ppm群が189g（93%）、160ppm群が204g（100%）、64ppm群が209g（103%）、対照群が203g（100%）、26週値では、400ppm群が212g（94%）、160ppm群が229g（101%）、64ppm群が235g（104%）、対照群が226g（100%）、52週値では400ppm群が242g（92%）、160ppm群が266g（101%）、64ppm群が273g（104%）、対照群が263g（100%）、78週値では、400ppm群が286g（88%）、160ppm群が324g（100%）、64ppm群が329g（102%）、対照群が324g（100%）、104週値では、400ppm群が258g（77%）、160ppm群が328g（98%）、64ppm群が320g（96%）、対照群が335g（100%）であった。

## 摂餌量

付録表Ⅱ-5に1週間ごとの雌雄各群の被験物質摂取量を一覧として付録図8に示した。

雄では、まず、400ppm群において投与期間初期（1週から8週にかけて）に摂餌量の有意な低下傾向が認められた。しかし、400ppm群の摂餌

量の低下傾向は9週以降66週頃までは認められず、対照群とほぼ同値で推移した、また、400ppm群の70週以降104週における摂餌量は再び対照群に比べて低値が認められ、有意な低値を示す週も多く認められた。一方、160ppm群および64ppm群における摂餌量の推移は、投与期間を通じて、対照群とほぼ同様であった。(なお、両群における摂餌量において、対照群に比べ有意な増加傾向が認められる週が、わずかながら散見された。)

雌では、まず、400ppm群において、投与開始1週から104週の投与全期間を通して、摂餌量は低値で推移し、一部の計測週を除いて多くの週で対照群に比べ統計的に有意な低下傾向が認められた。一方、160ppm群および64ppm群における摂餌量は160ppm群で投与開始後13週頃から、また、64ppm群においては投与開始週(1週)から両群ともに対照群より高値で推移し、この傾向は80週付近まで継続した。この傾向は64ppm群で顕著で、この傾向の認められた期間内の計測週のほとんどの値に有意な増加傾向が認められた。しかし、この両群の80週以降104週の摂餌量は、対照群との間に差はほとんど見られなかった。

## 摂水量

付録表Ⅱ-6に雌雄各群の摂水量を一覧とし、図4に示した。

これより、雌雄とも64ppm群では、対照群と比べると全投与期間を通じてほぼ同じ摂水量を示した。

160ppm群雄では、対照群とくらべると全投与期間を通してほぼ同じ摂水量を示した。雌の160ppm群では、投与開始後32週目までに対照群にくらべ約1割の減少を示した時もみられたが、以降は対照群とほぼ同じ摂水量を示し、全投与期間の平均ではほぼ対照群と同程度であった。

400ppm群の雄では、対照群にくらべて14週目までは8割程度、以降は9割程度の摂水量を示し、全投与期間を平均すると対照群に対し9割の摂水量であり、ほぼ全投与期間を通して有意の減少がみられた。400ppm群の雌では、対照群にくらべて52週目までは5割～7割、以降は8割～9割の摂水量を示し、全投与期間を平均すると対照群に対して7割の摂水量であり、全投与期間を通じて有意の減少がみられた。

## 一般症状の観察

被験物質の投与期間中の雌雄各群の一般症状観察結果を付録表Ⅱ-7に示した。

〈雄・死亡動物〉



各群の死亡または切迫屠殺動物では、一部の動物を除いて、円背位および立毛、自発運動量の減少、異常呼吸（不整呼吸又は抑制呼吸等の異常呼吸）、体温低下、足底部の床ずれ等の症状がほぼ共通して認められ、また眼脂（眼血性分泌物の乾性痕も含む）、流涙、貧血、尿による外陰部周囲の汚染、精巣異常、瘦削等の症状が比較的多くの例に認められ、また、白内障、角膜混濁等の眼の異常さらに黄疸、失調性または麻痺性歩行の歩行異常等を伴う例が散見された。

死亡動物において、症状観察より把握した腫瘍の発生個体数は、対照群で1/9例（頸部腫瘍）、64ppm群で4/7例（腹部および口周囲、背側前部、腹腔内部腫瘍）、160ppm群で3/8例（口周囲および腹部腫瘍）400ppm群で3/13例（頸部および眼部、腹腔内部腫瘍）であった。

#### 〈雄・生存動物〉

各群に共通して、足底部の床ずれが、投与開始後8週間より認められ、15週には各群とも全例に見られた。この症状は、投与終了時まで観察された。また、投与期間後期より、精巣の萎縮、軟弱化または硬化等の精巣異常が各群とも高率に認められ、この症状は、投与終了時（104週）に、対照群では17/41例に、64ppm群では26/43例に、160ppm群では26/41例に、400ppm群では27/37例に認められ、対照群にくらべて各投与群でやや高率であった。また、投与期間中に角膜、前眼房等の混濁および白内障（水晶体の混濁）等の眼の異常症状が、各群に少数例認められ、104週においては、対照群で8/41例、64ppm群で5/43例、160ppm群で7/41例、400ppm群で13/37例に見られ、400ppm群で若干高率であった。また、投与期間終期（104週）に、瀕死には至らないまでも、円背位、自発運動量減少、立毛、貧血、瘦削、体温低下、異常呼吸等の比較的重篤な症状を有する動物が各群に散見され、104週におけるこれらの症状の合計数は、対照群で17症状、64ppm群で19症状、160ppm群で20症状、400ppm群で25症状であった。

生存動物において症状観察により把握した腫瘍発生率は、対照群で12/41例（29%）（鼻部および前肢、胸部、腹部、背側前部、背側後部腫瘍）、および64ppm群で15/43例（35%）（鼻部および周囲、胸部、腹部、背側前部、背側後部、外陰部腫瘍）、180ppm群で17/41例（41%）（眼部および耳根部、頸部、前肢、胸部、腹部、背側前部、後肢、尾腫瘍）、400ppm群で6/37例（16%）（口周囲、および腹部、背側後部腫瘍）で、160ppm群でやや高率であった。

尚、全動物における症状観察より把握した腫瘍発生率は、対照群で

13/50例(26%)および、64ppm群で19/50例(38%)、160ppm群で20/50例(40%)、400ppm群で9/50例(18%)であった。しかし、この腫瘍の発生率については、各投与群とも対照群との間に有意な差は認められなかった。

#### 〈雌・死亡動物〉

各群の、死亡または切迫屠殺動物では、一部の動物を除いて、円背位、立毛、自発運動量の減少、異常呼吸(不整呼吸または抑制呼吸等の異常呼吸)、体温低下、尿による外陰部周囲の汚染、足底部の床ずれ、瘦削等の症状がほぼ共通して認められ、貧血、流涙、眼脂(眼血性分泌物の乾性分泌痕)等が比較的多数の例において、また、失調性歩行または麻痺性歩行、転倒等の歩行異常や、黄疸等を伴う例が少数例に見られた。また、角膜、前眼房の混濁および白内障等の眼の異常が、各群に少数例認められ、104週においては、対照群で3/9例 および64ppm群で1/11例、160ppm群で1/10例、400ppm群で5/8例に認められ、400ppm群で高率であった。

死亡動物において症状観察より把握した腫瘍の発生個体数は、対照群で4/9例(眼部および耳根部、背側前部、肛門、腹腔内部、胸部腫瘍)、および64ppm群で1/11例(外陰部付近の腫瘍)、160ppm群で2/10例(腹腔内部腫瘍)、400ppm群で2/8例(外陰部付近および腹腔内部、胸部腫瘍)であった。

#### 〈雌・生存動物〉

各群に共通して、足底部の床ずれが、投与開始後14週頃より認められ、48週には各群とも全例に見られた。この症状は、投与終了時まで観察された。また、投与期間中に角膜・前眼房等の混濁および、白内障等の眼の異常症状が各群に少数例認められ、104週においては対照群で3/41例、64ppm群で4/39例、160ppm群で2/40例、400ppm群で16/42例と、400ppm群で高率であった。また、投与期間終期(104週)に、瀕死には至らないまでも円背位、自発運動量の減少、異常呼吸、貧血、体温低下、瘦削等の比較的重篤な症状を有する動物が各群に散見され、これらの症状の合計数は対照群で17症状および64ppm群で22症状、160ppm群で14症状、400ppm群で18症状であった。

生存動物において症状観察より把握した腫瘍発生率は、対照群で15/41例(37%)(耳根部および前肢、胸部、腹部腫瘍)、64ppm群で7/39例(18%)(胸部および腹部腫瘍)、160ppm群で8/40例(20%)(口周囲および頸部、腹部腫瘍)、400ppm群で12/42例(29%)(前肢および部、腹部腫瘍)であった。

尚、全動物における症状観察より把握した腫瘍発生率は、対照群で 19/50 例 (38%)、64ppm 群で 8/50 例 (16%)、160ppm 群で 13/50 例 (26%)、400ppm 群で 14/50 例 (28%) であった。この腫瘍の発生率については  $\chi^2$  検定の結果、64ppm 群及び 160ppm 群で対照群に比べ有意な低率傾向が認められた。

#### 被験物質摂取量

付録表 I - 8 に雌雄各群の被験物質摂取量を一覧とし、図 5, 6 に示した。これより、雄の全投与期間の被験物質摂取量の平均は 64ppm 群で 3.6mg/kg/day、160ppm 群で 9.0mg/kg/day、400ppm 群で 20.4mg/kg/day であり、それぞれの被験物質摂取量の比は 64ppm 群と 160ppm 群では 2.5 倍、160ppm 群と 400ppm 群では 2.3 倍となり、設定濃度の公比 2.5 に近い値となった。

雌では、全投与期間の被験物質摂取量の平均は 64ppm 群で 5.3mg/kg/day、160ppm 群で 12.8mg/kg/day、400ppm 群で 25.0mg/kg/day であり、それぞれの被験物質摂取量の比は、64ppm 群と 160ppm 群では 2.4 倍、160ppm 群と 400ppm 群では 2.0 倍であった。

## 血液学的検査

赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、平均赤血球容積(MCV)、血小板数、白血球数、白血球百分率の雌雄各群の平均値を付録表IV-4に一覧として示した。

### [雄]

64ppm群でヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値の減少が認められた。

その他の群には特に変動は認められなかった。

### [雌]

64ppm群でヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値の減少が認められた。

その他の群には特に変動は認められなかった。

## 血液生化学的検査

総蛋白、アルブミン、A/G比、総ビリルビン、グルコース、総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質、GOT、GPT、LDH、ALP、LAP、 $\gamma$ -GTP、CPK、尿素窒素、クレアチニン、ナトリウム、カリウム、クロール、カルシウム、無機リンの雌雄各群の平均値を付録表IV-5に一覧として示した。

### [雄]

400ppm群で尿素窒素、クレアチニン、カリウム、無機リンの増加およびアルブミンの減少が認められた。

なお、160ppm群でCPK、クロールの増加が認められたが投与量に対応したものではなかった。

その他の群には特に変動は認められなかった。

### [雌]

400ppm群で総コレステロール、リン脂質、トリグリセライド、尿素窒素、クレアチニン、カリウム、カルシウムの増加およびアルブミン、A/G比、グルコース、ナトリウム、GPTの減少が認められた。

160ppm群でGPTの減少が認められた。

その他の群には特に変動は認められなかった。

## 尿検査

p H、蛋白、グルコース、ケトン体、ビリルビン、潜血、亜硝酸塩、ウロビリノーゲンの雌雄各群の集計値を付録表Ⅳ-6に一覧として示した。

### [雄]

400ppm群でウロビリノーゲンの増加傾向およびp Hの減少傾向が認められた。

160ppm群でウロビリノーゲンの増加傾向が認められた。

その他の群には特に変動は認められなかった。

### [雌]

400ppm群で潜血の増加傾向およびp Hの減少傾向が認められた。

160ppm群でp Hの減少傾向が認められた。

その他の群には特に変動は認められなかった。

## 病理学的検査

### 肉眼所見

剖見時に観察された雌雄各群の肉眼所見を付録表Ⅲ-13、Ⅲ-14に一覧として示した。

#### 雄

(死亡および瀕死例：400ppm群13例、160ppm群8例、64ppm群7例、対照群9例)

いずれの所見も投与群と対照群との間に顕著な差は認められなかった。

(定期解剖例：400ppm群37例、160ppm群42例、64ppm群43例、対照群41例)

いずれの所見も投与群と対照群との間に顕著な差は認められなかった。

#### 雌

(死亡および瀕死例：400ppm群8例、160ppm群10例、64ppm群11例、対照群9例)

いずれの所見も投与群と対照群との間に顕著な差は認められなかった。

(定期解剖例：400ppm群42例、160ppm群40例、64ppm群39例、対照群41例)

腎臓の細顆粒状化が400ppm群で33例、160ppm群で25例、64ppm群で17例、対照群で15例に観察され、160ppm以上の群で対照群に比較して発生数の増加が認められた( $\chi^2$ 検定で400ppm群は1%有意、160ppm群は5%有意)。

その他の所見は投与群と対照群との間に顕著な差は認められなかった。

## 臓器重量

定期解剖時に測定した臓器の実重量と体重比(%) = (臓器重量(g) / 体重(g) × 100) の各群別の平均値を付録表Ⅲ-15、Ⅲ-16に一覧として示した。

### 雄

腎臓は実重量が64ppm以上、体重比が160ppm以上の群で対照群に比較して高値を示した。その他、心臓、肺、および脳の実重量が400ppm群で対照群に比較して低値、体重比では副腎、肺、肝臓および脳が400ppm群で対照群に比較して高値であった。

### 雌

腎臓は400ppm群で実重量と体重比とも対照群に比較して高値を示した。その他、400ppm群で副腎、卵巣、心臓、肺、肝臓および脳の体重比が対照群に比較して高値であった。

なお、対照群に比較して64ppm群の卵巣(左側)の実重量に高値が認められた。

## 病理組織学的所見

付録表Ⅲ-17、Ⅲ-18に病理組織学的所見を一覧として示した。また、表10、表11、付録表Ⅲ-19～Ⅲ-21に腫瘍性病変を抜粋して示した。

### 1. 腫瘍性病変

#### 雄(各群50例)

担癌動物数は対照群が50例(単一腫瘍を持つ動物7例、複数腫瘍を持つ動物43例)であったのに対し、400ppm群は49例(単一の腫瘍を持つ動物9例、複数の腫瘍を持つ動物40例)、160ppm群は50例(単一腫瘍を持つ動物6例、複数腫瘍を持つ動物44例)、64ppm群は50例(単一腫瘍を持つ動物3例、複数腫瘍を持つ動物47例)であり、各群とも対照群と比較して著明な差は認められなかった。

腫瘍の総数は対照群が123(良性腫瘍110、悪性腫瘍13)であったのに対し、400ppm群は117(良性腫瘍108、悪性腫瘍9)、160ppm

群126(良性腫瘍110、悪性腫瘍16)、64ppm群は137(良性腫瘍124、悪性腫瘍13)であり、各群とも対照群と比較して顕著な差はみられなかった。

本試験の雄に観察された腫瘍の種類は、脳の膠細胞腫、脊髄の膠細胞腫、肺の細気管支/肺胞腺腫・細気管支/肺胞腺癌、甲状腺の濾胞状腺腫・濾胞状腺癌・C細胞腺腫・C細胞腺癌、肝臓の肝細胞腺腫・肝細胞癌、回腸の悪性神経鞘腫、膀胱の乳頭腫、精巣の間細胞腫、脾臓の白血病・血管腫・血管肉腫、リンパ節の肉腫、膵島細胞腺腫・膵島細胞癌・膵腺房腺腫、乳腺の腺腫・線維腺腫、皮膚の乳頭腫・皮脂腺腺腫・毛嚢上皮腫・角化きよく細胞腫、皮下織の肉腫・線維腫・脂肪腫・血管腫・悪性神経鞘腫、下垂体の前葉腺腫、副腎の皮質腺腫・褐色細胞腫・悪性褐色細胞腫、骨の骨肉腫、腹膜の中皮腫・悪性神経鞘腫、包皮腺の腺腫、外耳道腺の腺腫であったが、いずれの腫瘍も対照群と投与群の間に顕著な差は認められなかった。

#### 雌(各群50例)

担癌動物数は対照群が46例(単一腫瘍を持つ動物17例、複数腫瘍を持つ動物29例)であったのに対し、400ppm群は46例(単一の腫瘍を持つ動物19例、複数の腫瘍を持つ動物27例)、160ppm群は41例(単一腫瘍を持つ動物10例、複数腫瘍を持つ動物31例)、64ppm群は47例(単一腫瘍を持つ動物25例、複数腫瘍を持つ動物22例)であり、各群とも対照群と比較して著明な差をみられなかった。

腫瘍の総数は対照群が88(良性腫瘍70、悪性腫瘍18)であったのに対し、400ppm群は83(良性腫瘍74、悪性腫瘍9)、160ppm群は85(良性腫瘍73、悪性腫瘍12)、64ppm群は77(良性腫瘍63、悪性腫瘍14)であり、各群とも対照群と比較して顕著な差はみられなかった。

本試験の雌に観察された腫瘍の種類は、肺の細気管支/肺胞腺腫・細気管支/肺胞腺癌、甲状腺の濾胞状腺腫・C細胞腺腫・C細胞腺癌、肝臓の肝細胞腺腫・肉腫、腎臓の腺腫・腎芽腫、回腸の表皮嚢腫、大腸の平滑筋肉腫、膀胱の乳頭腫、子宮の乳頭腫・ポリープ・腺癌・肉腫、脾臓の白血病・血管肉腫、膵臓の膵島細胞腺腫・膵島細胞癌、乳腺の腺腫・腺癌・線維腺腫、皮膚の乳頭腫・角化きよく細胞腫、皮下織の肉腫・線維腫、筋肉の骨肉腫、下垂体の前葉腺腫、副腎の皮質腺腫・褐色細胞腫・神経節細胞腫・悪性褐色細胞腫、卵巣の悪性顆粒膜夾膜細胞腫、歯のエナメル芽細胞腫、骨の骨肉腫、陰核腺の腺腫、外耳道腺のへん平上皮癌であったが、い



ずれの腫瘍も対照群と投与群の間に顕著な差はみられなかった。

## 2. 非腫瘍性病変

### 雄

(死亡および瀕死例：400ppm群13例、160ppm群8例、64ppm群7例、対照群9例)

いずれの所見も投与群と対照群との間に著明な差は認められなかった。

(定期解剖例：400ppm群37例、160ppm群42例、64ppm群43例、対照群41例)

眼の網膜萎縮と白内障が400ppm群で対照群に比較して程度が強い例が多くみられた(Dunnett型検定で5%有意)。また、動脈の石灰沈着は全投与群で発生数の減少が認められた(Dunnett型検定で5%有意)。その他、対照群に比較して発生数あるいは程度が腎臓の慢性腎症は400ppm群と64ppm群で高値を、心臓の線維化は64ppm群で高値を、動脈炎は400ppm群と64ppm群で高値を、下垂体の過形成は64ppm以上の群で低値を示した。

### 雌

(死亡および瀕死例：400ppm群8例、160ppm群10例、64ppm群11例、対照群9例)

400ppm群において腎臓の慢性腎症(Dunnett型検定で1%有意)と鼻腔のエオジン好性変化(Dunnett型検定で1%有意)の発生数と程度が、また、胃の鉍質沈着(Dunnett型検定で5%有意)、乳腺の過形成(Dunnett型検定で5%有意)および動脈の石灰沈着(Dunnett型検定で5%有意)の発生数が対照群と比較して高値を示した。

(定期解剖例：400ppm群42例、160ppm群40例、64ppm群39例、対照群41例)

400ppm群において腎臓の慢性腎症（Dunnett型検定で1%有意）、眼の白内障（Dunnett型検定で5%有意）および鼻腔のエオジン好性変化（Dunnett型検定で1%有意）の程度が、また、動脈炎（Dunnett型検定で1%有意）の発生数と程度が対照群と比較して高値を示した。

### Ⅲ-2 マウスを用いた毒性試験

#### Ⅲ-2-1 急性毒性試験

##### 生死の状況

投与後2週間の観察期間中における各群の生存動物数を表12に一覧として示した。

これより、雄では345, 230mg/kgBw群では全例死亡し(0/10, 0%), 153mg/kgBwでは3/10(30%), 102mg/kgBw群では8/10(80%)生存し、68mg/kgBw及び対照群では全例生存した。

雌では345mg/kgBwでは全例死亡し(0/10, 0%), 230mg/kgBwでは1/10(10%), 153mg/kgBwでは4/10(40%), 102mg/kgBwでは9/10(90%)生存し、68mg/kgBw及び対照群では全例生存した。

##### 体重値

投与当日及び1, 2, 3, 4, 7, 10, 14日後の観察期間中の雌雄各群の平均体重値を表13に一覧とし、付録図9に図示した。

これより、生存動物の少なかつた345, 230, 153mg/kgBwを除いて、検討してみると、雌雄とも被験物質投与群に投与後1週間まで、体重増加の抑制がみられたが、その後は回復をみた。

## 病理学的検査

### 肉眼所見

剖見時に観察された雌雄各群の肉眼所見を付録表Ⅲ-22、Ⅲ-23に一覧として示した。

### 雄

(死亡および瀕死例、345mg/kg群10例、230mg/kg群10例、153mg/kg群7例、102mg/kg群2例)

肺の変化(鬱血、無気肺、赤色化)、心室や心房の拡張、肝臓の混濁、副腎の赤色化が比較的多くの例にみられた。また、少数の例には、鼻腔の液貯留、胸腺の萎縮、心房の鬱血や白色斑/点、肝臓の出血や鬱血、脾臓の貧血、黒色斑、着色斑、あるいは小型化、胃の白色斑/点、前胃の潰瘍、腺胃の出血、腎臓の淡色化が観察された。

(定期解剖例、153mg/kg群3例、102mg/kg群8例、68mg/kg群10例、対照群10例)

少数例に脾臓の黒色斑、腎臓の腫大、腫脹、軟化、白色斑/点、あるいは水腎症、膀胱の出血が観察された。

### 雌

(死亡および瀕死例、345mg/kg群10例、230mg/kg群9例、153mg/kg群6例、102mg/kg群1例)

肺の変化(鬱血、無気肺、赤色化)、心室や心房の拡張、肝臓の混濁が比較的多くの例にみられた。また、少数の例には、胸腺の萎縮、胆嚢の液貯留、脾臓の赤色または黒色斑、腺胃の出血、副腎の赤色化、子宮の内腔拡張が観察された。

(定期解剖例、230mg/kg群1例、153mg/kg群4例、102mg/kg群9例、68mg/kg群10例、対照群10例)

少数例に脾臓の白色または黒色斑、子宮の腫大または内腔拡張が観察された。

## 病理組織学的所見

死亡、瀕死例と観察期間終了まで生存した動物（定期解剖動物）から各群より必要に応じて1～2例を任意に選択し、病理組織学的検査を行い、その結果を総括所見として付録表Ⅲ-24、Ⅲ-25に一覧として示した。

### 雄

（死亡および瀕死例、345mg/kg群3例、230mg/kg群3例、153mg/kg群3例、102mg/kg群1例）

死亡および瀕死例の多くに、肺や肝臓の鬱血、脾臓の萎縮や核崩壊、胸腺の核崩壊、鼻腔上皮の変性が認められた。また、やや少数の例には喉頭の壊死、肝臓の肉芽、腎臓の再生像、尿細管壊死あるいは蛋白円柱、胃潰瘍、精巣の萎縮、胸腺の萎縮、リンパ節の萎縮や核崩壊、心臓と舌の小壊死がみられた

（定期解剖例、153mg/kg群2例、102mg/kg群2例、68mg/kg群2例、対照群2例）

数例に肝臓の肉芽、腎臓の再生像や水腎症、精巣上体の肉芽、心臓の小壊死が観察された。

### 雌

（死亡および瀕死例、345mg/kg群2例、230mg/kg群2例、153mg/kg群2例、102mg/kg群1例）

死亡および瀕死例の多くに、肺の鬱血と鼻腔上皮の変性が認められた。また、やや少数の例には肝臓の肉芽、脾臓、胸腺、あるいはリンパ節の萎縮や核崩壊がみられた

（定期解剖例、230mg/kg群1例、153mg/kg群2例、102mg/kg群2例、68mg/kg群2例、対照群2例）

数例に気管支肺炎、肝臓の肉芽、脾臓の髄外造血が観察された。

### Ⅲ-2-2 2週間毒性試験

#### 生死の状況

投与期間中における各群の生存動物数を表14に一覧として示した。

これより、雄では9,000ppm群では全例死亡し、3,000ppm群では6例生存し、他の群では全例生存した。

雌では、9,000, 3,000ppm群では全例死亡し、他の群では全例生存した。

#### 体重値

投与初日及びその後1, 2, 4, 7, 10, 14日の雌雄各群の平均体重値を表15に一覧とし、付録図10に示した。

これより、雄では3,000, 1,000ppm群は対照群にくらべて顕著な低下が投与1日後よりみられ、試験終了まで体重は減少しつづけた。また333ppm群も、投与開始1週間まで対照群にくらべて有意の低下がみられたが、その後、回復をみた。雌では1,000ppm群に投与開始より対照群にくらべて有意の低下が投与終了までみられた。

#### 摂餌量

付録表Ⅱ-8に1週間ごとの雌雄各群の平均摂餌量を一覧として示した。これより、雌雄とも、9,000, 3,000ppm群は著明な低下、1,000, 333ppm群も投与開始1週間まで低下をみた。

#### 摂水量

付録表Ⅱ-9に雌雄各群の1匹当りの1日の平均摂水量を一覧とし、付録図11に示した。これより、雌雄とも333ppm群以上の投与群で対照群にくらべて有意の減少が全期間を通じてみられた。また、投与濃度が高くなるに従って摂水量の減少がみられた。

#### 被験物質摂取量

付録表Ⅰ-9に雌雄各群の被験物質摂取量を一覧とし、付録図12に示した。

雄の全投与期間中の被験物質摂取量の平均は111ppm群で19.99mg/kg、333ppm群で35.33mg/kg/day、1,000ppm群で54.48mg/kg、3,000ppm群で62.29mg/kg/day、9,000ppm群で112.98mg/kg/dayであり、それぞれ平均被験物質摂取量の比は、111ppm群と333ppm群では1.77倍、333ppm群と1,000ppm群では1.54倍、1,000ppm群と3,000ppm群では1.14倍、

3,000ppm群と9,000ppm群では1.81倍であった。

雌の全投与期間中の被験物質摂取量の平均は、111ppm群で22.85mg/kg/day、333ppm群で38.54mg/kg/day、1,000ppm群で68.12mg/kg/day、3,000ppm群で70.69mg/kg/day、9,000ppm群で112.42mg/kg/dayであり、それぞれ平均被験物質摂取量の比は、111ppm群と333ppm群は1.69倍、333ppm群と1,000ppm群は1.77倍、1,000ppm群と3,000ppm群は1.04倍、3,000ppm群と9,000ppm群は1.59倍であった。

## 病理学的検査

### 肉眼所見

剖見時に観察された肉眼所見を付録表Ⅲ-26、Ⅲ-27に一覧として示した。

### 雄

(死亡および瀕死例、9000ppm群10例、3000ppm群4例)

ほとんどの例は衰弱し(体脂肪の減少)、胸腺の萎縮、腺胃の出血や液貯留が多く、例にみられた。また、少数の例には脳の鬱血や腫脹、肺の鬱血、無気肺、あるいは赤色化、肝臓の赤色化や小型化、胆嚢の萎縮、脾臓の萎縮、胃の液貯留、膵臓の萎縮、腎臓の赤色化が観察された。

(定期解剖例、3000ppm群6例、1000ppm群10例、333ppm群10例、111ppm群10例、対照群10例)

3000ppm群は、全例が衰弱し(体脂肪の減少)、胸腺の萎縮、肝臓の暗色化や褐色化、あるいは小型化、脾臓の小型化が多く、例にみられた。また、少数の例には肝臓の赤色化、胃の液貯留、腺胃の出血や液貯留が観察された。1000ppm群では肝臓の黄色化や小型化、脾臓の腫大が多く、例にみられた。333ppm以下の群では特記すべき異常を認めなかった。

### 雌

(死亡および瀕死例、9000ppm群10例、3000ppm群10例、)

ほとんどの例は衰弱し(体脂肪の減少)、胸腺の萎縮、腺胃の出血や液貯留が多く、例にみられた。また、少数の例には肺の赤色化、脾臓の萎縮、膵臓の萎縮、あるいは腎臓の赤色化が観察された。

(定期解剖例、1,000ppm群10例、333ppm群10例、111ppm群10例、対照群10例)

1,000ppm群のほとんどの例に肝臓の黄色化や小型化、脾臓の腫大、子宮の萎縮がみられた。333ppm群でも脾臓の腫大が全例に認められた。111ppm群では子宮の拡張が2例に観察された。



## 病理組織学的所見

死亡、瀕死例と観察期間終了まで生存した動物（定期解剖動物）から各群より必要に応じて2例を任意に選択し、病理組織学的検査を行い、その結果を総括所見として付録表Ⅲ-28、Ⅲ-29に一覧として示した。

## 雄

（死亡および瀕死例、9000ppm群3例、3000ppm群1例）

死亡および瀕死例の全例に、肝臓の萎縮と壊死（単細胞壊死）、脾臓の萎縮、骨髓の鬱血と減形成が認められた。また、一部の例には肺の鬱血、胃の潰瘍、精巣の萎縮、脾臓の髄外造血亢進、胸腺やリンパ節の萎縮、骨髓の萎縮や色素沈着（褐色）がみられた。

（定期解剖例、3,000ppm群2例、1,000ppm群2例、333ppm群2例、111ppm群2例、対照群2例）

3,000ppm群の1または2例に、肺の鬱血、肝臓の萎縮と壊死（単細胞壊死）、胃の潰瘍、脾臓の萎縮や色素沈着（褐色）、胸腺の萎縮、骨髓の鬱血、減形成および色素沈着（褐色）が認められた。1,000ppm群では、肝臓の色素沈着（褐色）、脾臓の萎縮、色素沈着（褐色）および髄外造血の亢進、胸腺の萎縮、骨髓の色素沈着（褐色）が認められた。333ppm群では、脾臓の色素沈着（褐色）および髄外造血の亢進、骨髓の色素沈着（褐色）が認められた。111ppm群には特記すべき所見を認めなかった。

## 雌

（死亡および瀕死例、9,000ppm群2例、3,000ppm群2例）

死亡および瀕死例の全例に、肝臓の萎縮、脾臓の萎縮、骨髓の鬱血、減形成および色素沈着（褐色）が認められた。また、一部の例には肺の鬱血、肝臓の色素沈着（クッパー細胞内、褐色）、胃の潰瘍、脾臓の色素沈着（褐色）がみられた。

（定期解剖例、1,000ppm群2例、333ppm群2例、111ppm群2例、対照群2例）

1,000ppm群は2例とも、肝臓の色素沈着（クッパー細胞内、褐色）、脾臓の色素沈着（褐色）と髄外造血亢進、骨髓の色素沈着（褐色）が認められた。333ppm群では1,000ppm群と同様の所見が1ないし2例にみられた。

111ppm群では脾臓の色素沈着と髄外造血亢進が認められた。その他、肝臓の肉芽と髄外造血が一部の群に観察されたが、投与量に対応した発生は示さなかった。

### III-2-3 13週間毒性試験

#### 生死の状況

投与期間中における各群の生存動物数を表16に一覧として示した。

これより、2,000ppmで雄は6/10(60%)、雌は2/8(25%)生存し、他の群では全例生存した。

#### 体重値

投与初日及びその後毎週1回測定した雌雄各群の平均体重値を表17に一覧とし、付録図13に示した。

これより、雄では2,000ppm、667ppm群が対照群にくらべて投与後1週間より投与終了まで有意の低下を示した。

雌では、2例しか生存しなかった2,000ppm群を除いて検討したところ、667、222ppm群に対照群と比べ有意の低下をみた。(但し、667ppm群は13週、222ppm群は7、8、11、13週は有意差なし)

#### 摂餌量

付録表II-10に1週間ごとの雌雄各群の平均摂餌量を一覧として示した。なお、雌の2,000ppm群は生存例が少ないことから検討からは除外した。これより、雄では2,000ppm群に有意の低下がみられた。(但し、4~8週では有意差なし)雌では、667ppmで1週と10週に有意の低下をみたが、継続的な低下ではなかった。他の群では異常はみられなかった。

#### 摂水量

付録表II-11に雌雄各群の1匹当りの1日の平均摂水量を一覧とし、付録図14に示した。なお、雌の2,000ppm群は生存例が少ないことから検討からは除外した。これより、雄では2,000、667ppm群、雌では667ppm群に対照群にくらべ全期間を通して有意の低下がみられた。

#### 被験物質摂取量

付録表I-10に雌雄各群の被験物質摂取量を一覧とし、付録図15に示した。

これより、雄の全投与期間中における被験物質摂取量の平均は、24.7ppm群で3.39mg/kg/day、74.1ppm群で10.13mg/kg/day、222ppm群で28.90mg/kg/day、667ppm群で48.86mg/kg/day、2,000ppm群で107.97mg/kg/dayであり、それぞれ平均被験物質摂取量の比は、24.7ppm群と74.1ppm群は

2. 99倍、74.1ppm群と222ppm群は2.85倍、222ppm群と667ppm群は1.69倍、667ppm群と200ppm群は2.21倍であった。

雌の全投与期間中における被験物質摂取量の平均は、24.7ppm群で6.05mg/kg/day、74.1ppm群で17.49mg/kg/day、222ppm群で51.64mg/kg/day、667ppm群で67.23mg/kg/day、2,000ppm群で131.73mg/kg/dayであり、それぞれ平均被験物質摂取量の比は、24.7ppm群と74.1ppm群は2.98倍、74.1ppm群と222ppm群は2.95倍、222ppm群と667ppm群は1.30倍、667ppm群と2,000ppm群は1.96倍であった。

## 血液学的検査

赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、平均赤血球容積(MCV)、血小板数、白血球数、白血球百分率の雌雄各群の平均値を付録表IV-7に一覧として示した。なお、雌の2,000ppm群は生存例が少ないことから検討から除外した。

### 〔雄〕

2000ppm群で赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値に对照群にくらべて有意の減少が認められた。

667ppm群で赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値に有意の減少が認められた。

その他の群には特に異常は認められなかった。

### 〔雌〕

667ppm群で赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、平均赤血球容積(MCV)に有意の減少が認められた。

222ppm群で平均赤血球容積(MCV)に有意の減少が認められた。

その他の群には特に異常は認められなかった。

## 血液生化学的検査

総蛋白、アルブミン、A/G比、総ビリルビン、グルコース、総コレステロール、GOT、GPT、LDH、ALP、LAP、尿素窒素、ナトリウム、カリウム、クロールの雌雄各群の平均値を付録表IV-8に一覧として示した。なお、雌の2,000ppm群は生存例が少ないことから検討から除外した。

### 〔雄〕

2,000ppm群でGOT、GPT、総コレステロール、総ビリルビンに对照群にくらべて有意の増加および総蛋白、グルコース、尿素窒素の減少が認められた。

667ppm群でGOT、GPT、総コレステロール、総ビリルビンに有意の増加および尿素窒素に有意の減少が認められた。

222ppm群でGOT、GPT、総コレステロールに有意の増加および尿素窒素に有意の減少が認められた。

74.1ppm群で総コレステロールに有意の増加が認められた。

なお、667ppm群でLAPに有意の減少が認められた。

その他の群には特に異常は認められなかった。

〔雌〕

667ppm群でG O T、G P T、L D H、総コレステロール、総ビリルビン、クロールに有意の増加が認められた。

222ppm群でG O T、G P T、L D H、総コレステロール、総蛋白、アルブミンに有意の増加が認められた。

74.1ppm群でG O Tに有意の増加が認められた。

なお、222ppm群でL A Pに有意の増加が認められた。

その他の群には特に異常は認められなかった。

尿検査

p H、蛋白、グルコース、ケトン体、潜血、ウロビリノーゲンの雌雄各群の集計値を付録表IV-9に一覧として示した。なお、雌の2,000ppm群は生存例が少ないことから検討から除外した。

〔雄〕

2,000ppm群でp Hの減少傾向および蛋白、ウロビリノーゲンの増加傾向が認められた。

667ppm群でp Hの減少傾向および蛋白、ウロビリノーゲンの増加傾向が認められた。

その他の群には特に異常は認められなかった。

〔雌〕

667ppm群でp Hの減少傾向およびウロビリノーゲンの増加傾向が認められた。

その他の群には特に異常は認められなかった。

## 病理学的検査

### 肉眼所見

剖見時に観察された肉眼所見を付録表Ⅲ-30、Ⅲ-31に一覧として示した。

### 雄

(死亡および瀕死例、2,000ppm群4例)

胸腺の萎縮が全例に観察された。その他、肺の鬱血や浮腫、腺胃の出血や液貯留が1例にみられた。

(定期解剖例、2,000ppm群6例、667ppm群10例、222ppm群10例、74.1ppm群10例、24.7ppm群10例、対照群10例)

皮下組織の褐色化が667ppm以上、肝臓の緑褐色化が222ppm以上、脾臓の黒褐色または黒色化が222ppm以上の群の全例～数例にみられた。また、脾臓の腫大が667ppm以上の群の数例に認められた。

なお、その他に唾液腺の腫大、肝臓の腫瘤、脾臓の黒色斑、腺胃の出血、脾臓の白色斑/点、精巣の灰色化が少数例に観察された。

### 雌

(死亡および瀕死例、2,000ppm群6例)

胸腺の萎縮が4例に観察された。その他、胸腺の鬱血、肺の鬱血や赤色化、肝臓の黒色化、脾臓の萎縮、腺胃の出血、液貯留あるいは赤色化、小腸の液貯留、腎臓の黒色斑が1～2例にみられた。

(定期解剖例、2,000ppm群2例、667ppm群10例、222ppm群10例、74.1ppm群10例、24.7ppm群10例、対照群10例)

皮下組織の褐色化が667ppm以上、肝臓の緑褐色化が222ppm以上、脾臓の黒褐色または黒色化が74.1ppm以上の群の全例～数例にみられた。また、脾臓の腫大が222ppm以上の群の全例～数例に認められた。

なお、その他に唾液腺の褐色化、肝臓の腫瘤、脾臓の黒色斑、腺胃の出血、脾臓の白色斑/点、小腸の液貯留、膀胱の液貯留または黄色化、卵巣の嚢胞、子宮水腫が観察されたが、これらの所見は投与量に対応した発生

は示さなかった。

#### 臓器重量

定期解剖時に測定した臓器の実重量と体重比(%) = (臓器重量(g) / 体重(g) × 100) の各群別の平均値を付録表Ⅲ-32、Ⅲ-33に一覧として示した。

#### 雄

脾臓は実重量および体重比とも222ppm以上の群で対照群に比較して高値であった。その他、胸腺と副腎は2,000ppm群で体重比の高値、精巣、心臓、肺および腎臓は667ppm以上の群で体重比の高値、肝臓は222ppm以上の群で体重比の高値、脳は667ppm以上の群で実重量の低値と体重比の高値がみられた。(222ppm以上の群で認められた脾臓の重量増加は投与物質による直接的な影響とみられる。しかし、胸腺、副腎、精巣、心臓、肺、腎臓、肝臓、および脳の所見は体重の低下にともなう変化と考えられる)

なお、対照群に比較して74.1ppm群の肝臓と脳の実重量の高値が認められたが、投与量に対応したものでなかった。

#### 雌

腎臓は667ppm以上の群、脾臓は222ppm以上の群で実重量および体重比の高値が認められた。その他、肝臓は74.1ppm以上の群で体重比の高値、肺は2,000ppm群と222ppm群(右側のみ)で体重比の高値、脳は2000ppm群で実重量の低値がみられた。(667ppm以上の群で認められた腎臓の重量増加と222ppm以上の群で認められた脾臓の重量増加は投与物質による直接的な影響とみられる。しかし、肺、肝臓、脳の所見は体重の低下による変化と考えられる)

なお、対照群に比較して222ppmと74.1ppm群の心臓、および74.1ppm群の肝臓に実重量の高値、222ppm以上の群の心臓に体重比の高値が認められたが、投与量に対応したものでなかった。

#### 病理組織学的所見

付録表Ⅲ-34、Ⅲ-35に病理組織学的所見を一覧として示した。



雄

(死亡および瀕死例、2,000ppm群4例)

肺の鬱血や色素沈着、肝臓の硝子滴出現や色素沈着、腎臓のヘモジデリン沈着、脾臓の鬱血、萎縮あるいは色素沈着、胸腺の萎縮、心臓の拡張、筋肉の壊死、骨髄の色素沈着が全例～数例に認められた。

以上の所見のほかに、脾臓の髄外造血とリンパ節の色素沈着が観察されたが、これらは本実験の対照群にも同等にみられる所見であった。

(定期解剖例、2,000ppm群6例、667ppm群10例、222ppm群10例、74.1ppm群10例、24.7ppm群10例、対照群10例)

肺、肝臓、精巣、脾臓、腎臓、骨髄の色素沈着が、投与量の増大に伴い、出現率あるいは程度が増加した。肺の色素沈着は667ppm以上の群に軽度に認められ、色素顆粒の色調は褐色、沈着部位は気管支周囲であり、鉄染色陰性であった。肝臓の色素沈着は222ppm以上の群に投与量に対応して軽度～重度に認められ、色調は褐色、沈着部位はクッパー細胞内であり、ほとんどの色素顆粒が鉄染色陰性であった。精巣の色素沈着は667ppm以上の群に軽度に認められ、色調は褐色、沈着部位は間質であり、鉄染色陰性であった。脾臓の色素沈着は対照群でも軽度に認められたが全投与群とも投与量の増大に伴い出現率あるいは程度が増加しており、色素顆粒の色調は黄色～黄褐色、沈着部位は赤脾髄であり、対照群および74.1ppm以下の群にみられた色素顆粒は鉄染色陽性でありヘモジデリンと考えられたが、222ppm以上の群では鉄染色陰性の顆粒を含んでいた。骨髄の色素沈着は222ppm以上の群に軽度に認められ、色素顆粒の色調は黄褐色、鉄染色陰性であった。また、腎臓の近位尿細管上皮内にも黄褐色色素の沈着が222ppm以上の群に投与量に対応して軽度～重度に認められたが、この色素顆粒は鉄染色陽性でありヘモジデリンと考えられた。その他、667ppm以上の群に細胞崩壊食作用を示唆する組織球の出現が多数例に軽度に認められた。この骨髄の変化は222ppm以下の群にも1～2例ずつみられたが、投与量に対応したものではなかった。なお、通常の対照例にみられる腎臓の空胞変性が667ppm以上の群で減少していた。

以上の所見のほかに、肝臓の脂肪変性や肉芽、腎臓の脂肪変性、再生像あるいは嚢胞、胃の壊死、精巣の萎縮、脾臓の髄外造血や赤血球貪食、リンパ節の色素沈着、脾臓の水腫様変化、副副腎が観察されたが、これらの所見は投与量に対応した発生は示さなかった。

雌

(死亡および瀕死例、2,000ppm群6例)

肺の鬱血、肝臓の硝子滴出現や色素沈着、腎臓の壊死、ヘモジデリン沈着、あるいは蛋白円柱、胃の鬱血、子宮の色素沈着、脾臓の萎縮、色素沈着、あるいは赤血球貪食像、胸腺の萎縮、心臓の拡張、筋肉の壊死、骨髓の色素沈着や組織球の出現が全例～数例に認められた。

以上の所見のほかに、胃のび爛、脾臓の髄外造血とリンパ節の色素沈着が観察されたが、これらは本実験の対照群にも同等にみられる所見であった。

(定期解剖例、2000ppm群2例、667ppm群10例、222ppm群10例、74.1ppm群10例、24.7ppm群10例、対照群10例)

肺、肝臓、子宮、脾臓、卵巢、腎臓、骨髓の色素沈着が、投与量の増大に伴い、出現率あるいは程度が増加した。肺の色素沈着は667ppm以上の群に軽度認められ、色素顆粒の色調は褐色、沈着部位は気管支周囲であり、鉄染色陰性であった。肝臓の色素沈着は222ppm以上の群に投与量に対応して軽度～重度に認められ、色調は褐色、沈着部位はクッパー細胞内であり、ほとんどの色素顆粒が鉄染色陰性であった。子宮の色素沈着は667ppm以上の群に軽度認められ、色調は黄褐色、沈着部位は間質であり、鉄染色性は少量の陽性顆粒を含むもののほとんどが陰性であった。脾臓の色素沈着は対照群でも軽度～中等度に認められたが、222ppm以上の群で沈着の程度が強くなり、色素顆粒の色調は黄色～黄褐色、沈着部位は赤脾髄であり、対照群および74.1ppm以下の群にみられた色素顆粒は鉄染色陽性でありヘモジデリンと考えられたが、222ppm以上の群では鉄染色陰性の顆粒を含んでいた。卵巢の軽度な色素沈着は対照群にもみられたが、667ppm以上の群に出現率の増加がみられ、色素顆粒の色調は褐色、沈着部位は間質であり、鉄染色陰性であった。骨髓の色素沈着は222ppm以上の群に軽度認められ、色素顆粒の色調は黄褐色、鉄染色陰性であった。また、腎臓の近位尿細管上皮内にも黄褐色色素の沈着が74.1ppm以上の群に投与量に対応して軽度～重度に認められたが、この色素顆粒は鉄染色陽性でありヘモジデリンと考えられた。その他、74.1ppm以上の群に細胞崩壊食作用を示唆する組織球の出現が軽度認められた。

以上の所見のほかに、肝臓の脂肪変性や肉芽、腎臓の空胞変性、脂肪変性、あるいは再生像、胃の壊死やび爛、脾臓の髄外造血、胸腺の萎縮、リンパ節の色素沈着、副副腎が観察された。

### Ⅲ-2-4 がん原性試験

#### 生死の状況

被験物質の投与期間中における雌雄各群の動物の生存状況を表18および図7、図8に示した。

雄では、最初の死亡例が60ppm群に投与開始後9週で認められた。この死亡以降、各群の最初の死亡は20ppm群では19週に、および、対照群では39週に、180ppm群では40週に見られ、投与期間最終週の104週における死亡数は、180ppm群で21例、および60ppm群で21例、20ppm群で20例、対照群で17例であった。この結果より、104週における生存動物数(生存率%)は、180ppm群で29/50例(58%)および、60ppm群で26/47例(55%)、20ppm群で30/50例(60%)、対照群で33/50例(66%)であった。尚、60ppm群において、投与開始後98週において、事故死亡(ケージ交換時に当該動物収容ケージを床に落下させる)が、3例認められ、動物の有効匹数はそれ以降47匹となった。

雌では、最初の死亡例が対照群に投与開始後42週で認められた。この死亡以降、各群の最初の死亡は、60ppm群では43週および20ppm群では50週に、180ppm群では62週に見られ、投与期間最終週の104週における死亡数は、180ppm群で19例、60ppm群で24例、20ppm群で29例、対照群で29例であった。この結果より、104週における生存動物数(生存率%)は、180ppm群で31/50例(62%)および60ppm群で26/50例(52%)、20ppm群で20/49例(41%)、対照群で21/50例(42%)であった。なお、20ppm群において、投与開始後75週において、事故死亡が1例認められ、動物の有効匹数はそれ以降49匹となった。

雌雄において、投与開始後104週における動物の生存数(生存率%)について、対照群と各投与群との間で $\chi^2$ 検定\*を行ったところ雌、雄の各被験物質投与群の生存数は対照群との間にそれぞれ有意な差は認められなかった。

\*: 佐久間昭著「生物検定法」§14.3 2つの出現率 p234~236 1974  
体重値

被験物質の投与期間中の雌雄各群の体重値の計測結果を、平均値として表19および図9に示した。

雄では、まず、180ppm群において、投与期間初期(2週から10週)

において、体重の抑制傾向が認められた。この期間においては5週値および9週値を除いて、各週の体重値は対照群に比べて有意な低下傾向が見られた。

しかし、この抑制傾向は、11週以降認められなくなり、投与期間終期までの体重値は、対照群とほぼ差がなく推移した。一方、60ppm群および20ppm群においては投与全期間を通じて、体重の推移は対照群のそれと差が認められなかった。因に、各群の体重推移を具体的に平均値（対照群に対する百分率%）で追ってみると、投与後13週値では180ppm群が35.7g（100%）、60ppm群が35.9g（100%）、20ppm群が35.9g（100%）、対照群が35.8g（100%）、26週値では、180ppm群が44.2g（96%）、60ppm群が44.2g（96%）、20ppm群が44.8g（97%）、対照群が46.1g（100%）、52週値では180ppm群が50.2g（99%）、60ppm群が50.2g（99%）、20ppm群が50.3g（99%）、対照群が50.9g（100%）、78週値では、180ppm群が54.4g（100%）、60ppm群が54.4g（100%）、20ppm群が53.6g（98%）、対照群が54.5g（100%）、104週値では、180ppm群が48.4g（95%）、60ppm群が48.4g（95%）、20ppm群が50.7g（99%）、対照群が51.1g（100%）であった。

雌では、まず、180ppm群においては投与全期間を通して、体重の抑制傾向が認められた。つまり、投与開始後26週から60週の期間を除くほとんどの計測週における体重値は対照群に比べ有意な低下傾向を示した。また、60ppm群においては投与期間初期（2週から10週）に体重の抑制傾向が認められたが、11週以降104週においては対照群と体重推移に差はほとんど見られなかった。一方、20ppm群においては、投与全期間を通して、体重の推移は対照群のそれと差が認められなかった。因に、各群の体重の推移を具体的に平均値（対照群に対する百分率%）で追ってみると、投与後13週値では、180ppm群が26.3g（96%）、60ppm群が27.2g（100%）、20ppm群が27.3g（100%）、対照群が27.3g（100%）、26週値では、180ppm群が31.4g（98%）、60ppm群が32.3g（100%）、20ppm群が32.7g（102%）、対照群が32.2g（100%）、52週値では180ppm群が34.6g（96%）、60ppm群が35.7g（99%）、20ppm群が35.7g（99%）、対照群が36.1g（100%）、78週値では、180ppm群が39.0g（97%）、60ppm群が41.1g（102%）、20ppm群が40.5g（101%）、対照群が40.2g（100%）、104週値では、180ppm群が37.1g（93%）、60ppm群が38.8g（98%）、20ppm群が39.0g（98%）、対照群が39.7g（100%）であった。

## 摂餌量

被験物質投与期間中の雌雄各群の摂餌量は、平均値として付録表Ⅱ-12および付録図16に示した。

雌雄の各投与群の摂取量は投与全期間を通して対照群の摂取量と差はほとんど認められなかった。

## 摂水量

付録表Ⅱ-13に雌雄各群の摂水量を一覧とし、図10に示した。これより、雌雄とも20ppm群では対照群とくらべると、全投与期間を通じてほぼ同じ摂水量を示した。

60ppm群雄では対照群とくらべると投与開始後8週目ぐらいまで9割程度であったが、以降はほぼ同じ摂水量であり、全投与期間の平均でも対照群と同じ摂水量であった。60ppm群雌では投与期間中期までは対照群にくらべてほぼ同じか若干(1割)の増加が見られたものの全投与期間を通じ対照群とほぼ同じ摂水量であり、全投与期間の平均でも対照群とほぼ同じ摂水量であった。

180ppm群雄では、投与開始後10週目までは対照群とくらべて9割程度であったものの全投与期間を通じて対照群とほぼ同じ摂水量であり、全投与期間の平均でも対照群とほぼ同じ摂水量であった。180ppm群雌では、投与開始後84週目までは対照群とくらべてほぼ同じ摂水量を示したが、それ以降対照群に対して9割程度であった。全投与期間の平均では対照群とほぼ同じ摂水量を示した。

## 一般症状の観察

被験物質の投与期間中の雌雄各群の一般症状観察結果を付録表Ⅱ-14に示した。

### 〈雄・死亡動物〉

各群の、死亡または切迫屠殺動物では、一部の動物を除いて、円背位または腹臥、横臥姿勢および立毛、自発運動量の減少、異常呼吸(不整呼吸または抑制呼吸等の異常呼吸)、体温低下、尿による外陰部周囲の汚染、脱毛等の症状がほぼ共通して認められた。これらの動物で、貧血を伴う動物が、対照群で5/17例、20ppm群で10/20例、60ppm群で11/21例、180ppm群で13/21例、また、浮腫を伴う動物が、対照群で1/17例、20ppm群で1/20例、また、旋回運動が見られた動物が、対照群で2/17例であった。

死亡動物において、症状観察より把握した腫瘍の発生個体数は、対照

群で2/17例(腹部および腹腔内部)、20ppm群で7/20例(後肢および尾、腹腔内部腫瘍)、60ppm群で7/21例(眼部および腹部、頸部、腹腔内部腫瘍)、180ppm群で6/21例(鼻部および眼部、外陰部、頸部、背側前部、後部、腹腔内部腫瘍)であった。

#### 〈雄・生存動物〉

各群に共通して、脱毛が、投与開始後2週間より認められ、30週には各群とも約6割の動物に認められ、この症状は、投与終了時まで観察された。また、投与期間終期(104週)に、瀕死には至らないまでも円背位、自発運動の減少、立毛、貧血、体温低下、異常呼吸等の比較的重篤な症状を有する動物が各群に散見され、これらの症状の合計数は対照群で9症状および20ppm群で6症状、60ppm群で11症状、180ppm群で25症状であった。

生存動物において症状観察より把握した腫瘍発生率は、対照群で5/33例(15%) (耳介部および肩甲間部、尾、腹腔内部腫瘍)、20ppm群で5/30例(17%) (眼部および後肢、尾、腹部腫瘍)、60ppm群で3/26例(12%) (耳根部および胸部、腹腔内部腫瘍)、180ppm群で11/29例(38%) (鼻部および眼部、耳介部、尾、腹腔内部腫瘍)であった。

尚、全動物における症状観察より把握した腫瘍発生率は、対照群で7/50例(14%)、20ppm群で12/50例(24%)、60ppm群で10/47例(21%)、180ppm群で17/50例(34%)であった。各群における腫瘍発生率について対照群との間で $\chi^2$ 検定を実施したところ、180ppm群の腫瘍発生率で有意( $p<0.05$ )に高かった。

#### 〈雌・死亡動物〉

各群とも、一部の動物を除いて、死亡または切迫屠殺動物に、円背位または腹臥、横臥姿勢および立毛、自発運動量の減少、異常呼吸(不整呼吸または抑制呼吸等の異常呼吸)、体温低下、尿による外陰部周囲の汚染、脱毛等の症状がほぼ共通して認められた。これらの動物で貧血を伴う動物が、対照群で10/29例、20ppm群で10/29例、60ppm群で12/24例、180ppm群で12/19例、また、浮腫を伴う動物が、対照群で3/29例、20ppm群で7/29例、60ppm群で4/24例、180ppm群で1/19例であった。

死亡動物において症状観察より把握した腫瘍の発生個体数は、対照群で8/29例(頸部および腹腔内部腫瘍)、および20ppm群で4/29例(頸部および腹腔内部腫瘍)、60ppm群で10/24例(腹腔内部およ

び頸部、腹部、背側前部、肩甲間部腫瘤)、400ppm群で10/19例(外陰部付近および腹腔内部、頸部、眼部腫瘤)であった。

#### 〈雌・生存動物〉

各群に共通して、脱毛が、投与開始後2週間頃より認められ、40週頃には各群ともほぼ全例に認められ、この症状は、投与終了時まで観察された。また、投与期間終期(104週)に、瀕死には至らないまでも、円背位または腹臥、横臥姿勢、および自発運動量減少、立毛、貧血、体温低下、異常呼吸等の比較的重篤な症状を有する動物が各群に散見され、これらの症状の合計数は、対照群で12症状、20ppm群で3症状、160ppm群で、14症状、400ppm群で14症状であった。

生存動物において症状観察により把握した腫瘤発生率は、対照群で2/21例、(10%) (頸部および腹腔内部腫瘤)、および20ppm群で4/20例(20%) (腹部および肛門、尾、腹腔内部腫瘤)、60ppm群で3/26例(12%) (眼部および腹部、腹腔内部腫瘤)、180ppm群で7/31例(23%) (眼部および耳介部、頸部、腹部、尾腫瘤)であった。

尚、全動物における症状観察より把握した腫瘤発生率は、対照群で10/50例(20%)および20ppm群で8/49例(16%)、60ppm群で13/50例(26%)、180ppm群で17/50例(34%)であった。各投与群における腫瘤発生率は対照群と比較して、有意な差は認められなかった。

#### 被験物質摂取量

付録表I-11に雌雄各群の被験物質の摂取量を一覧とし、図11、図12に示した。これより、雄の全投与期間の被験物質摂取量の平均は20ppm群では2.0mg/kg/day、60ppm群では6.2mg/kg/day、180ppm群では18.7mg/kg/dayであった。それぞれの被験物質摂取量の比は20ppm群と60ppm群では3.1倍、60ppm群と180ppm群では3.0倍であった。雌の全投与期間の被験物質摂取量の平均は20ppm群では2.8mg/kg/day、60ppm群では8.6mg/kg/day、180ppm群では24.9mg/kg/dayであった。それぞれの被験物質摂取量の比は、20ppm群と60ppmでは3.1倍、60ppm群と180ppm群では2.9倍であった。

## 血液学的検査

赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、平均赤血球容積(MCV)、血小板数、白血球数、白血球百分率の雌雄各群の平均値を付録表IV-10に一覧として示した。

### [雄]

180ppm群で平均赤血球容積(MCV)の増加が認められた。

20ppm群で赤血球数、ヘマトクリット値の減少が認められた。

その他の群には特に変動は認められなかった。

### [雌]

180ppm群で赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値の増加が認められた。

60ppm群で赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値の増加が認められた。

その他の群には特に変動は認められなかった。

## 血液生化学的検査

総蛋白、アルブミン、A/G比、総ビリルビン、グルコース、総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質、GOT、GPT、LDH、ALP、LAP、CPK、尿素窒素、ナトリウム、カリウム、クロール、カルシウム、無機リンの雌雄各群の平均値を付録表IV-11に一覧として示した。

### [雄]

180ppm群でCPKの増加が認められた。

60ppm群でグルコースの減少が認められた。

その他の群には特に変動は認められなかった。

### [雌]

180ppm群でトリグリセライド、リン脂質、カルシウムの増加が認められた。

その他の群には特に変動は認められなかった。



## 尿検査

p H、蛋白、グルコース、ケトン体、潜血、ウロビリノーゲンの雌雄各群の集計値を付録表IV-12に一覧として示した。

### [雄]

180ppm群でp Hの減少傾向が認められた。

60ppm群でp Hの減少傾向が認められた。

その他の群には特に変動は認められなかった。

### [雌]

180ppm群で潜血の増加傾向が認められた。

60ppm群で潜血の増加傾向が認められた。

その他の群には特に変動は認められなかった。

## 病理学的検査

### 肉眼所見

剖見時に観察された肉眼所見を付録表Ⅲ-36、Ⅲ-37に一覧として示した。

### 雄

(死亡および瀕死例、180ppm群21例、60ppm群21例、20ppm群20例、対照群17例)

腺胃の肥厚が180ppm群の7例に観察され、対照群(1例)に比較して発生数の増加がみられた( $\chi^2$ 検定で5%有意)。なお、軟部組織に結節をもつ動物数が60ppm群で増加していたが投与量に対応した発生は示さなかった。

(定期解剖例、180ppm群29例、60ppm群26例、20ppm群30例、対照群33例)

精巣上体に結節を持つ動物の数が20ppm群で減少していたが、投与量に対応した発生は示さなかった。その他の所見には投与群と対照群との間に顕著な差を認めなかった。

### 雌

(死亡および瀕死例、180ppm群19例、60ppm群24例、20ppm群30例、対照群29例)

胸腔の出血の発生数が60ppm群で増加していたが投与量に対応した発生は示さなかった。その他の所見には投与群と対照群との間に顕著な差を認めなかった。

(定期解剖例、180ppm群31例、60ppm群26例、20ppm群20例、対照群21例)

脾臓あるいはリンパ節の腫大が20ppm群で減少していたが、投与量に対応した発生は示さなかった。その他の所見には投与群と対照群との間に顕著な差を認めなかった。

## 臓器重量

定期解剖時に測定した臓器の実重量と体重比(%) = (臓器重量(g) / 体重(g) × 100) の各群別の平均値を付録表Ⅲ-38、Ⅲ-39に一覧として示した。

## 雄

対照群に比較して60ppm群の腎臓(左側)の実重量の低値が認められたが、投与量に対応したものでなかった。

## 雌

心臓と肺は180ppm群で実重量と体重比とも対照群に比較して高値を示した。その他、180ppm群で副腎の体重比が対照群に比較して高値であった。

(心臓と肺の重量増加は投与物質による直接的な影響とみられる。しかし、副腎の所見は体重の低下による変化と考えられる)

## 病理組織学的所見

付録表Ⅲ-40、Ⅲ-41に病理組織学的所見を一覧として示した。また、表20、表21と付録表Ⅲ-42～Ⅲ-44に腫瘍性病変を抜粋して示した。

### 1. 腫瘍性病変

雄(180ppm群50例、60ppm群47例、20ppm群50例、対照群50例)

担癌動物数は対照群が41例(単一腫瘍を持つ動物17例、複数腫瘍を持つ動物24例)であったのにたいし、180ppm群は46例(単一の腫瘍を持つ動物25例、複数の腫瘍を持つ動物21例)、60ppm群は38例(単一腫瘍を持つ動物17例、複数腫瘍を持つ動物21例)、20ppm群は42例(単一腫瘍を持つ動物24例、複数腫瘍を持つ動物18例)であり、各群とも対照群と比較して著明な差を認めなかった。

腫瘍の総数は対照群が78(良性腫瘍40、悪性腫瘍38)であったのにたいし、180ppm群76(良性腫瘍35、悪性腫瘍41)、60ppm群70(良性腫瘍27、悪性腫瘍43)、20ppm群65(良性腫瘍35、悪性腫瘍30)であり、各群とも対照群と比較して顕著な差を認めなかった。

本試験の雄に観察された腫瘍の種類は、脳の脳室上衣腫、肺の細気管支

／肺胞腺腫・細気管支／肺胞腺癌、肝臓の肝細胞腺腫・肉腫・肝細胞癌・血管肉腫・肝芽細胞腫、尿管のポリープ、胃の腺癌・角化きよく細胞腫・平滑筋肉腫、大腸の血管腫・血管肉腫、精巣の間細胞腫、精巣上体の黄色腫、精囊の平滑筋肉腫、前立腺の腺腫・横紋筋肉腫、脾臓の悪性リンパ腫・血管腫・リンパ節の悪性リンパ腫、膵島細胞腺腫、乳腺の腺腫、皮膚の表皮嚢胞、皮下織の血管腫・血管内皮腫・悪性線維性組織球腫、筋肉の血管肉腫、末梢神経の悪性神経鞘腫、下垂体の前葉腺腫、副腎の皮質腺腫・褐色細胞腫、ハーダー腺の腺腫、歯の良性腫瘍（歯牙腫）、骨髄の白血病、腹膜の血管内皮腫・横紋筋肉腫であった。これらの腫瘍の中で下垂体の前葉腺腫の発生が全投与群（180ppm群と60ppm群0例、20ppm群1例）とも対照群（6例）と比較して有意の減少が認められた（ $\chi^2$ 検定で5%有意）。なお、リンパ節の悪性リンパ腫の発生が60ppm群で高値を示したが（ $\chi^2$ 検定で1%有意）、180ppm群の発生率では有意の増加が認められず、投与量に対応した発生ではなかった。その他の腫瘍の発生には対照群と投与群の間に顕著な差を認めなかった。

#### 雌（各群50例）

担癌動物数は対照群が45例（単一腫瘍を持つ動物29例、複数腫瘍を持つ動物16例）であったのにたいし、180ppm群は47例（単一の腫瘍を持つ動物23例、複数の腫瘍を持つ動物24例）、60ppm群は43例（単一腫瘍を持つ動物25例、複数腫瘍を持つ動物18例）、20ppm群は36例（単一腫瘍を持つ動物20例、複数腫瘍を持つ動物16例）であり、各群とも対照群と比較して著明な差を認めなかった。

腫瘍の総数は対照群が63（良性腫瘍23、悪性腫瘍40）であったのにたいし、180ppm群80（良性腫瘍36、悪性腫瘍44）、60ppm群64（良性腫瘍31、悪性腫瘍33）、20ppm群58（良性腫瘍29、悪性腫瘍29）であり、180ppm群は対照群と比較して腫瘍総数がやや多かった。

本試験の雌に観察された腫瘍の種類は、肺の細気管支／肺胞腺腫・細気管支／肺胞腺癌、甲状腺のC細胞腺腫、肝臓の肝細胞腺腫・肉腫・肝細胞癌・血管肉腫、尿管のポリープ、膀胱の乳頭腫、子宮のポリープ・肉腫・血管腫、脾臓の悪性リンパ腫・血管腫・血管肉腫、リンパ節の悪性リンパ腫・肥胖細胞腫、膵島細胞腺腫、乳腺の腺癌、皮下織の肥胖細胞腫、筋肉の血管内皮腫、末梢神経の悪性神経鞘腫、下垂体の前葉腺腫と腺癌、副腎の皮質腺腫、卵巣の嚢胞腺腫、ハーダー腺の腺腫・腺癌、骨の骨肉腫、腹膜の血管腫・血管肉腫・肥胖細胞腫あった。これらの腫瘍の中で下垂体の

前葉腺腫の発生が180ppm群(20例、 $\chi^2$ 検定で1%有意)と20ppm群(17例、 $\chi^2$ 検定で5%有意)で対照群(8例)と比較して有意の増加が認められた。その他の腫瘍の発生には対照群と投与群の間に顕著な差を認めなかった。

## 2. 非腫瘍性病変

### 雄

(死亡および瀕死例、180ppm群21例、60ppm群21例、20ppm群20例、対照群17例)

甲状腺、肺および肝臓に投与群に特有な色素沈着がみられた。甲状腺の色素沈着は180ppm群の19例に軽度～重度(Dunnett型検定で1%有意)、60ppm群の1例に軽度にみられ、色調は黄色～褐色で、沈着部位は濾胞上皮の細胞質内、鉄染色陰性であった。肺の色素沈着は180ppm群の10例に軽度～中等度にみられ(Dunnett型検定で1%有意)、色調は黄色～褐色で、沈着部位は気管支周囲、鉄染色陰性であった。肝臓の色素沈着は180ppm群の12例に軽度～中等度にみられ(Dunnett型検定で1%有意)、色調は褐色で、沈着部位はクッパー細胞、鉄染色陰性であった。また、精巣の萎縮が180ppm群の6例に軽度～中等度に観察され対照群(0例)より高値(Dunnett型検定で5%有意)、肝臓の壊死が対照群(4例)に比べ180ppm群(0例)では低値(Dunnett型検定で5%有意)であった。

その他、脳石灰沈着が対照群(11例)に比べ20ppm群(5例)では減少していたが、投与量に対応した発生は示さなかった。

(定期解剖例、180ppm群29例、60ppm群26例、20ppm群30例、対照群33例)

甲状腺、肺および肝臓に死亡および瀕死例と同様な色素沈着がみられた。甲状腺の色素沈着は180ppm群の27例(軽度～重度、Dunnett型検定で1%有意)と60ppm群の4例(軽度)、肺の色素沈着は180ppm群の12例(軽度、Dunnett型検定で1%有意)、肝臓の色素沈着は180ppm群の20例(軽度～中等度、Dunnett型検定で1%有意)に認められた。また、腎臓の空胞変性の出現が対照群(29例)に比べ180ppm群(14例)で低値であった(Dunnett型検定で1%有意)。

その他、副腎の過形成が対照群（5例）に比べ20ppm群（0例）で低値（Dunnett型検定で5%有意）、歯の過形成が対照群（2例）に比べ20ppm群（12例）で高値（Dunnett型検定で1%有意）であったが、これらの所見は投与量に対応した発生は示さなかった。

## 雌

（死亡および瀕死例、180ppm群19例、60ppm群24例、20ppm群30例、対照群29例）

甲状腺、肺および肝臓に雄と同様な色素沈着がみられた。甲状腺の色素沈着は180ppm群の18例（軽度～重度、Dunnett型検定で1%有意）、60ppm群の12例（軽度、Dunnett型検定で1%有意）、肺の色素沈着は180ppm群の11例（軽度、Dunnett型検定で1%有意）、肝臓の色素沈着は180ppm群の17例（軽度～中等度、Dunnett型検定で1%有意）、60ppm群の5例（軽度）と20ppm群の1例（軽度）に認められた。その他、肝臓の壊死が対照群（9例）に比べ60ppm群（1例）で低値（Dunnett型検定で5%有意）、胃の萎縮が対照群（11例）に比べ高値（Dunnett型検定で5%有意）、鼻腔の呼吸上皮化生が対照群（1例）に比べ180ppm群（6例、Dunnett型検定で5%有意）と20ppm群（10例、Dunnett型検定で1%有意）で高値、脾臓の他臓器からの腫瘍転移が対照群（3例）に比べ60ppm群（9例）で高値（Dunnett型検定で5%有意）であったが、これらの所見は投与量に対応したものではなかった。

（定期解剖例、180ppm群31例、60ppm群26例、20ppm群20例、対照群21例）

甲状腺、肺および肝臓に雌と同様な色素沈着がみられた。甲状腺の色素沈着は180ppm群の全例（軽度～重度、Dunnett型検定で1%有意）、60ppm群の24例（軽度～中等度、Dunnett型検定で1%有意）および20ppm群の8例（軽度）、肺の色素沈着は180ppm群の24例（軽度、Dunnett型検定で1%有意）、肝臓の色素沈着は180ppm群の全例（軽度～中等度、Dunnett型検定で1%有意）と60ppm群の3例（軽度）に認められた。また、胃の萎縮の発生数が対照群（8例）に比べ180ppm群（28例）、60ppm群（26例）および20ppm群（18例）で増加

(Dunnett型検定で1%有意)、眼の白内障が対照群(12例)に比べ180ppm群(全例)と60ppm群(全例)で発生数および程度とも高値

(Dunnett型検定で1%有意)、卵巢の嚢胞が対照群(0例)にくらべ180ppm群(7例)では高値(Dunnett型検定で1%有意)であった。

## 考察・結論

### がん原性試験の実施に至る経緯

メタフェニレンジアミン  $C_6H_4(NH_2)_2$  は無色の針状結晶で、空気中では不安定で、塩酸塩の型  $C_6H_4(NH_2) \cdot 2HCl$  では安定である。各種の染料や試薬として使われている。

有害性については、先ず、エームテストによる変異原性試験では、R. COLIN GARNER, CAROL A NUTMAN (1977), ROSALINE de GIOVANNI - DONNELLY (1981) および NTP (1987) が陽性であることを報告している。

次に、動物を用いたがん原性試験では、IARC (1978) ではメタフェニレンジアミン及びその塩酸塩については不適切 (inadequate) であり、がん原性については評価できないと報告し、HARRY A MILMAN, CHERYL PETERSON (1984) も塩酸塩ではラット・マウスについて、がん原性は認められなかったと発表している。また、ヒトへの発癌性についての研究は IARC (1978) では、報告なし (No Case reports) と発表している。さらに、IARC (1982) は、メタフェニレンジアミンの発癌性の評価をヒトにおける研究では、No DATE, 実験動物における研究では、不適切 (Inadequate) で、全体の評価としてグループ3 (ヒトに対する発癌性の証拠があると認められない) とした。

今回、このような背景から経口投与によるラット・マウスを用いたがん原性試験が計画され、メタフェニレンジアミンの安定性に問題があることからその塩酸塩を用いて実施した。



## 動物、投与方法の選択

今回、がん原性試験を実施するにあたってメタフェニレンジアミン二塩酸塩の標的臓器は文献からでは推定できなかったが、パラフェニレンジアミンの生体内分布、代謝、排泄に関する研究(1978)で、パラフェニレンジアミンの生体内分布の主要部位は肝臓、腎臓、腸管内容物であり、24時間以内にそのほとんどが生体内より消失すると報告されていることから、メタフェニレンジアミンも同様であると推定し、肝臓を中心として代謝されると予想し、肝臓の自然発生腫瘍の比較的少ないFischer 344ラットとBDF<sub>1</sub>マウスを選択した。

投与は皮下注射、皮膚塗布、混餌による経口投与などがおこなわれているが、メタフェニレンジアミン二塩酸塩は水溶性であることから、飲水に混ぜ、自由経口摂取とした。

## がん原性試験の投与濃度の決定に至る経過

急性毒性試験、2週間毒性試験の結果から13週間毒性試験の投与濃度を決定し、さらに、13週間毒性試験の実施結果をもとにがん原性試験の投与濃度を決定した。

以下にその経過を述べる。

### 急性毒性試験

#### ラット

死亡は雄では最高投与群の800mg/KgBW群が全例(10/10)、471mg/KgBWが9例、277mg/KgBWが1例、163,96mg/KgBWは全例生存し、雌では800, 471mg/KgBWが全例(10/10)、277mg/KgBWが5例、163mg/KgBWが1例死亡し、96mg/KgBWは全例生存した。また、体重値は雌雄各群とも投与濃度が高くなるにつれて体重の抑制がみられた。

病理学的には肺の鬱血や浮腫、腎臓の尿細管壊死(近位尿細管)や蛋白円柱、小腸の壊死、脾臓と胸腺の萎縮や核崩壊、リンパ節の核崩壊、副腎の出血、鼻腔上皮の変性が認められた。したがって、死因もこれらの臓器を標的とする障害によると考えられた。

また、観察期間の終了まで生存した例(定期解剖例)の病理組織学的所見はいずれも少数例にのみ観察され、投与量に対応した発生もみられないことから、投与に起因した変化とは考えられなかった。

雄は17.6%  
雌は10.0%  
生存した例は  
観察期間中に  
死亡した例は

#### マウス

死亡は345、230mg/KgBW群が雌雄ともほぼ全例(雌の230mg/kg群が1例生存)、153mg/kgBW群では雄に7例、雌に4例みられた。

また、体重値は雌雄とも102, 68mg/kgBW群についてのみ検討したが、投与後1週間まで被験物質の影響と思われる体重増加の抑制がみられたが、その後は回復をみた。

病理学的には肺や肝臓の鬱血、脾臓の萎縮や核崩壊、胸腺の核崩壊、鼻腔上皮の変性が認められた。また、やや少数の例には喉頭の壊死、肝

臓の肉芽、腎臓の再生像、尿細管壊死あるいは蛋白円柱、胃の潰瘍、精巣の萎縮、脾臓、胸腺、あるいはリンパ節の萎縮や核崩壊、心臓と舌の小壊死がみられた。したがって、死因もこれらの臓器を標的とする中毒的障害によると考えられた。また、14日まで生存した例(定期解剖例)にみられた病理組織学的所見は、いずれも少数例にのみ観察され、投与群に対応した発生もみられないことから、投与に起因した変化とは考えられなかった。

以上の結果より、ラットでは471mg/kgBW、マウスでは230mg/kgBWが全例死亡する投与量であることが推定された。

2週間試験は5投与濃度群を設定するが、最高投与群は動物が飲水可能な最高濃度とし、最低投与群は比較的安全とされる濃度、中間投与群は毒性が比較的強く出現する濃度を目標として、急性試験から投与濃度の検討をおこない予備飲水試験から最高投与群についてはラットでは22,500ppmマウスでは9,000ppmとした。次に中間値については被験物質の代謝が極めて早いことから1日の飲水量が死亡値に達する程度の量を推定したところ、ラットでは2,500ppm、マウスでは1,000ppm程度となった。この数値は最高投与群を基準とすると公比3に一致することから中間値を2,500ppmと1,000ppmで決定した。これより、公比3で各濃度を決定すると、最低投与濃度群の1日の投与量は急性毒性試験の最低投与群の半量値程度となり、比較的安全な濃度と考える。

## 2 週間毒性試験

## ラット

死亡は雌雄の22,500, 7,500ppm群で全例(10/10)、雌の2,500ppm群で9例(9/10)みられた。そこで、被験物質の総摂取量から1匹当たりの平均摂取量をしらべたところ、下記の如くとなり

	雄		雌	
	1日の摂取量	比率	1日の摂取量	比率
278ppm群	30.50mg/kg/day		36.35mg/kg/day	
833ppm群	65.22mg/kg/day	2.14倍	58.51mg/kg/day	1.61倍
2,500ppm群	65.11mg/kg/day	0.998倍	54.51mg/kg/day	0.93倍
7,500ppm群	91.08mg/kg/day	1.40倍	128.93mg/kg/day	2.37倍
22,500ppm群	147.61mg/kg/day	1.62倍	221.44mg/kg/day	1.72倍

雄では0.998~2.14倍、雌では0.93~2.37倍にとどまり、設定濃度の公比3に対し、被験物質の摂取量はかなり下回った。

とくに833ppm群と2,500ppm群では雌雄ともに逆転現象(0.998, 0.93倍)が生じた。

また、22,500, 7,500ppm群では雄は10日目までの総量は平均で1476.1と910.8mg/kgとなり、急性試験で9例(9/10)死亡した471mgの約2~3倍量程度に達している。雌においても7日目の総量は1,550, 902.5mgとなり、これも2~3倍程度となり、死亡原因は被験物質によることが十分に示唆が、摂水量、摂餌量の低下に伴う体力消耗も加わったものと推察される。

病理学的所見として瀕死・死亡については動物の衰弱に伴い、肝臓の萎縮と壊死(単細胞壊死)、脾臓、胸腺、およびリンパ節の萎縮、副腎の出血、骨髓の鬱血と減形成などの消耗性と考えられる変化が観察され、また、肝臓には色素沈着(クッパー細胞内、褐色)がみられ、死因はいずれもこれらの臓器を標的とした障害と考えられる。また14日まで生存した例(定期解剖例)でも雄の2,500ppm群、雌の2,500ppmと833ppm群には死亡および瀕死例とほぼ同様な変化がみられたが、雄の833ppm以下の群、雌の278ppm群では投与に起因した変化は認められなかった。しかし被験物質の投与量からみると雌雄とも833ppm群と2,500ppm群では、ほぼ同量である。それにもかかわらず病理学的検査では雄でも833ppm群に

は著変がみられなかったことは判断しかねるところであるが、2,500ppm群では摂水量、摂餌量の低下による体力消耗で負荷がかかったために高濃度群と同様の所見が生じ、負荷の少なかった833ppm群には、症状が出現しなかったものと推察される。

## マウス

被験物質の総摂取量から1匹当りの1日の平均摂取量をしらべたところ、下記の如くとなり

	雄		雌	
	1日の摂取量	比率	1日の摂取量	比率
111ppm群	19.99mg/kg/day		22.85mg/kg/day	
333ppm群	35.33mg/kg/day	1.77倍	38.54mg/kg/day	1.69倍
1000ppm群	54.48mg/kg/day	1.54倍	68.12mg/kg/day	1.77倍
3000ppm群	62.29mg/kg/day	1.14倍	70.69mg/kg/day	1.04倍
9000ppm群	112.98mg/kg/day	1.81倍	112.42mg/kg/day	1.59倍

各群間の被験物質摂取量の比は雄は1.14～1.81、雌は1.04～1.77にとどまり、設定濃度の公比3に対し、ラットの場合と同様被験物質摂取量はかなり下回った。とくに、1,000ppm群と3,000ppm群は雌雄ともに近似した値を示した。

死亡は雄では9,000ppm群は全例、3,000ppm群では4例、雌の9,000、3,000ppm群で全例みられたが、3,000ppm群と近似した摂取量であった1,000ppm群については全例生存した。摂水量は雌雄とも死亡がみられた9,000、3,000ppm群は著しい低下を示し、1,000、333ppm群も低下を示した。摂餌量も摂水量と同じような傾向を示したが、1,000、333ppm群については試験の終了時には回復がみられた。

体重値は雌雄とも9,000、3,000ppm群は著明な低下を示し、1,000ppm群も試験期間中を通して低下がみられた。333ppm群では試験期間の前半まで低下を示したが、その後、回復した。

病理学的所見として、雌雄とも3,000ppm以上の投与群で死亡および瀕死がみられたが、これらの例は動物の衰弱に伴い、肺の鬱血、肝臓の壊死(単細胞壊死)、精巣の萎縮、脾臓や胸腺リンパ節の萎縮、胃の潰瘍、骨髄の鬱血や減形成などの消耗性と考えられる変化が観察され、また、肝臓の色素沈着(クッパー細胞内、褐色)、脾臓の髓外造血亢進や色素

沈着(褐色)、骨髓の鬱血、減形成あるいは色素沈着(褐色)が認められ、死因はこれらの臓器を標的とする障害と考えられる。14日まで生存した例(定期解剖例)でも、雄の3,000ppm群では死亡および瀕死例とほぼ同様な変化がみられ、1,000ppm以下の群でも、肉眼的に脾臓の腫大が雄の1,000ppmと雌の333ppm以上の群でみられ、病理組織学的には肝臓の色素沈着(クッパー細胞内、褐色)が雄の1,000ppmおよび雌の333ppm以上、骨髓の色素沈着(褐色)が雌雄の333ppm以上、脾臓の色素沈着と髄外造血亢進が雄の333ppmと雌の111ppm以上の群で認められた。

以上の結果より、ラットでは2,500ppm以上、マウスでは3,000ppm以上の群では飲水量、摂餌量、体重値が著しく低下し、体力消耗がみられたことから13週間試験では最高投与群は当然のことながらそれ以下の濃度で検討し、ラット、マウスとも833ppm、1,000ppmで飲水量が対照群にくらべて低下はしているものの試験の進行に伴って徐々に増加してきたことから、13週間試験もこれらの数値より若干高い濃度にも耐えられるものと判断し、ラットでは1,000ppm、マウスでは2,000ppmと決定した。

しかし、最高投与濃度に差があることから公比はラットが2.0、マウスは3.0で実施した。

## 13 週間毒性試験

## ラット

被験物質の総摂取量から1匹当りの1日の平均摂取量をしらべたところ下記の如くとなり、

雄				雌			
	1日の摂取量	比率		1日の摂取量	比率		
62.5ppm群	5.09mg/kg/day			7.42mg/kg/day			
125 ppm群	9.78mg/kg/day	1.92倍		14.56mg/kg/day	1.96倍		
250 ppm群	20.31mg/kg/day	2.08倍		22.86mg/kg/day	1.57倍		
500 ppm群	29.65mg/kg/day	1.46倍		31.91mg/kg/day	1.40倍		
1,000 ppm群	54.21mg/kg/day	1.83倍		54.37mg/kg/day	1.80倍		

設定濃度の公比2に対し、雄では1.46～2.08、雌では1.40～1.96の範囲にあり、2週間毒性試験でみられたような高濃度が低濃度群より摂取量が少なくなるような逆転現象はみられなかった。

生死状況については雌雄共に全例生存した。

摂水量、摂餌量、体重値ともに雌雄の1,000ppmと群500ppm群に低下がみられた。

血液学的検査では雌雄の1,000ppm群に血小板数の減少とMCVの増加、雄の1,000, 500ppm群に赤血球数の減少がみられ、高投与群で血液検査に変化がみられた。

血液生化学的検査では1,000, 500ppm群の雌雄にほぼ共通してみられた所見は総蛋白、アルブミン、カルシウムの減少であった。また、総コレステロールについては1,000, 500ppm群で雄では増加を、雌では逆に減少を示した。また、ナトリウムの減少が雄の1,000, 500, 250ppm群にみられた。

尿検査では蛋白、ケトン体の増加が雌雄の1,000, 500ppm群にみられた。

病理学的所見では、肉眼的には雌の1,000ppm群の数例に胸腺の退縮が観察された。臓器重量では胸腺の重量低下が雌の500ppm以上、腎臓の重量増加が雌の250ppm以上、体重の低値にともなった臓器重量の変化が雌雄の500ppm以上の群に認められた。病理組織学的には腎臓への色素沈着(色調は黄褐色、沈着部位は近位尿細管上皮、鉄染色陰性)が雄の500

ppm以上と雌の250ppm以上の群、乳頭部の軽度な変性が雌雄の500ppm以上の群で投与量に対応して認められた。また、雌の1,000ppm群の数例の肝臓に沈着したものと同質と考えられる色素沈着が少量観察された。腎臓を中心とする上記の病理学的所見は尿・血液の生化学的検査で500ppm以上の雌雄の投与群で認められた。主として腎機能の障害に対応するものと考えられるが、器質的病変としては著明な障害ではなく、色素沈着の意義についても明らかではない。したがって、雄では250ppm以下、雌では125ppm以下の投与群では特に中毒的障害は認められないと考察される。

## マウス

被験物質の総摂取量から1匹当りの1日の平均摂取量をしらべたところ下記の如くとなり、

雄			雌		
	1日の摂取量	比率	1日の摂取量	比率	
24.7ppm群	3.39mg/kg/day		6.05mg/kg/day		
74.1ppm群	10.13mg/kg/day	2.99倍	17.49mg/kg/day	2.98倍	
222 ppm群	28.90mg/kg/day	2.85倍	51.64mg/kg/day	2.95倍	
667 ppm群	48.86mg/kg/day	1.69倍	67.23mg/kg/day	1.30倍	
2,000 ppm群	107.97mg/kg/day	2.21倍	131.73mg/kg/day	1.96倍	

各群間の被験物質摂取量の比は雄では1.69～2.99、雌では1.30～2.98となり設定濃度の公比3に対し、とくに667ppm群に摂取量の低下がみられたが、各群間に逆転現象は示さなかった。

死亡は最高投与群の2,000ppm群で雄に4例(4/10)、雌に6例(6/8)みられた。

摂水量は雌雄とも2,000, 667ppm群で減少がみられ、とくに2,000ppm群では死亡例が生じなかった投与開始2日目(事故死亡した2例を除く)までの摂水量に著明な低下がみられた。また、摂餌量も摂水量と同様の傾向を示し、これに伴って体重の減少や増加の抑制がみられた。

血液学的検査では、雄の2,000, 667ppm群、雌の667ppm群に赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値などに減少がみられ、貧血症状のあることが認められた(なお、雌の2,000ppm群は生存例が少ないことから検討から除外した)。

血液生化学的検査でも血液学的検査と同様雌雄の、2,000, 667, 222



ppm群にGOT、GPT、総ビリルビン、総コレステロールに対照群にくらべて有意の増加がみられた(なお、雌の222ppm群は総ビリルビンは異常なし)。

病理学的所見として雌雄とも2,000ppm群で死亡および瀕死例がみられたが、肉眼的に胸腺の萎縮、病理組織学的には肺の鬱血や色素沈着、肝臓の硝子滴出現や色素沈着、腎臓のヘモジデリン沈着、壊死あるいは蛋白円柱、胃の鬱血、子宮の色素沈着、脾臓の鬱血、萎縮、色素沈着あるいは赤血球貪食像、胸腺の萎縮、心臓の拡張、筋肉の壊死、骨髄の色素沈着や組織球の出現が認められ、死因はいずれもこれらの臓器を標的とする障害によると考えられた。13週まで生存した例(定期解剖例)では、肉眼的に皮下組織の褐色化が雌雄の667ppm以上の群、肝臓の緑褐色化が雌雄の222ppm以上の群、脾臓の黒褐色または黒色化が雄の222ppm、雌の74.1ppm以上の群、また脾臓の腫大が雄の667ppm、雌の222ppm以上の群で観察された。臓器重量では脾臓の重量増加が雌雄の222ppm以上の群、腎臓の重量増加が雌の667ppm以上の群に、体重の低値に伴った臓器重量の変化が雄の222ppm以上、雌の74.1ppm以上の群で認められた。病理組織学的には、鉄染色陰性の色素顆粒が肺(褐色、気管支周囲、雄の667ppm以上と雌の222ppm以上の群)、肝臓(褐色、クッパー細胞内、雌雄の222ppm以上の群)、精巣(褐色、間質、雄の667ppm以上の群)卵巣(褐色、間質、雌の667ppm以上の群)、子宮(黄褐色、間質、雌の667ppm以上の群)および骨髄(黄褐色、雌雄の222ppm以上の群)でみられ、腎臓にはヘモジデリンの沈着が雄の222ppm以上と雌の74.1ppm以上の群で増加していた。また、脾臓では雌雄の222ppm以上の群に鉄染色陰性顆粒の沈着とヘモジデリン沈着の増加、雌の74.1ppmと24.7ppm群にはヘモジデリン沈着のみの増加がみられた。その他、雄の667ppm以上の群に腎臓の空胞変性の減少、雌の骨髄には細胞崩壊食作用を示唆する組織球の軽度な出現の増加が認められた。

赤血球系を中心とする血液学的検査値の異常や、尿・血液の生化学的検査から示唆される肝・腎機能障害は667ppm以上の群で明確であった。肝細胞の硝子滴変性や筋壊死などの強い障害像は、雌雄とも2000ppm群の死亡および瀕死例で観察され、その生存例や667ppm以下の群では上述のように色素沈着を主体とする病変が脾臓、肝臓、肺、骨髄、精巣、子宮、卵巣、腎臓などに広範に認められた。メトヘモグロビン形成などによると考えられる血液毒性的な変化は雄では222ppm以上、雌では74.1ppm以上の投与群に観察された。

以上の結果より、ラットの1,000ppm群、500ppm群、マウスの2,000ppm群、667ppm群で摂水量が低下し、これに伴って摂餌量の低下と、体重値の増加抑制がみられたことから、がん原性試験の最高投与濃度は当然のことながら上記の濃度以下で検討した。

血液学的検査、病理学的検査などからラットについては250ppm以下の群では雌に腎臓の色素沈着が認められた以外には著変を認められなかったことから400ppmを最高投与濃度とし、以下、公比2.5に設定し、160ppm、64ppmの3投与濃度を決定した。また、マウスでは病理学的検査などから222ppm以上の群には被験物質によると思われる中毒作用がみられ、また、74ppm群についても血液毒的な変化がみられたことから最高投与濃度は222ppm以下であること、さらに中間投与濃度も74ppm以下であることが望ましいことから、中間濃度を60ppmとし、公比を3とし、最高投与濃度を180ppm、最低投与濃度を20ppmと決定した。

## がん原性試験の実施と投与状況

メタフェニレンジアミン二塩酸塩を飲水に混ぜ、自由経口摂取により104週間投与した各投与群の1匹あたりの1日の平均摂取量をしらべたところ下記の如くとなり

## ラット

	雄		雌	
	1日の摂取量	比率	1日の摂取量	比率
64ppm群	3.6mg/kg/day		5.3mg/kg/day	
160ppm群	9.0mg/kg/day	2.5倍	12.8mg/kg/day	2.4倍
400ppm群	20.4mg/kg/day	2.3倍	25.0mg/kg/day	2.0倍

## マウス

	雄		雌	
	1日の摂取量	比率	1日の摂取量	比率
20ppm群	2.0mg/kg/day		2.8mg/kg/day	
60ppm群	6.2mg/kg/day	3.1倍	8.6mg/kg/day	3.1倍
180ppm群	18.7mg/kg/day	3.0倍	24.9mg/kg/day	2.9倍

雌雄各群間の被験物質の摂取量の比はラットでは2.0～2.5マウスでは2.9～3.1の範囲となり、設定濃度の公比2.5、3.0に近い数値が示された。

これより、今回のがん原性試験において、ラット、マウス共に試験実施前に設定した量のメタフェニレンジアミン二塩酸塩を投与させることができたといえる。

## 試験結果の評価

## ラット

生死状況については1年目の52週では全例生存し、55週目にはじめて雄の400ppm群に死亡が観察された。以後1年6ヶ月の78週では各群

1～2例の死亡にとどまり、試験終了時でも雄の被験物質投与群が7～13例、対照群が9例、雌では被験物質投与群が8～11例、対照群が9例であり、雌雄各群とも被験物質投与群と対照群との間に死亡数に有意の差はみられなかった。

また、摂餌量、摂水量は雌雄とも400ppm群で対照群とくらべて低値を示し、これに伴い、体重値も有意の低下がみられた。

血液学的検査では雌雄の64ppm群でヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値に対照群とくらべて有意の低下がみられたものの、投与量に対応した変化ではなかった。

血液生化学的検査では400ppm群の雌雄に尿素窒素、クレアチニン、カリウムに対照群とくらべて有意の増加がみられ、また、アルブミンは減少がみられた。

病理学的検査では肉眼的には、雄には被験物質投与対照群とには著変が認められなかったが、雌の160ppm以上の群で腎臓が細顆粒化を呈する例が増加していた。臓器重量では腎臓の重量増加が雄の64ppm以上の群と、雌の400ppm群で、また、体重の低値に伴う変化が雌雄の400ppm群で認められた。

腫瘍の発生については、担癌動物数、総腫瘍数、および腫瘍の種類別の発生とも対照群と被験物質投与群との間に差を認めなかった。しかし、非腫瘍性病変については、400ppm群ではラットの加齢性変化である眼の網膜萎縮と白内障の程度が雄（定期解剖群）で、腎臓の慢性腎症と鼻腔のエオジン好性変化の発生数あるいは程度が雌（定期解剖例と死亡および瀕死例）で高くなり、慢性腎症の随伴変化とされる胃の鉍質沈着と動脈の石灰沈着の発生数が雌の死亡および瀕死例で増加していた。また、動脈炎の発生数と程度が雌の400ppm群の定期解剖例で高くなっており、慢性腎症との関連（原因あるいは結果）が推察される。本被験物質の中毒性作用が腎臓を標的とすること、雌が雄に比べ感受性の高いことは、13週間毒性試験でも認められており、本がん原性試験においても雌の400ppm群で血液・生化学検査の成績や病理学的検査の結果から同様の所見は観察された。しかし、400ppm群で認められた脂質代謝に関連した生化学値の異常については明確な形態病変を伴うものではなかった。その他、動脈の石灰沈着の発生数の減少（雄全投与群、定期解剖例）と乳腺の過形成の発生数の増加（雌の400ppm群、死亡および瀕死例）が観察された。

## マウス

生死状況については1年目の52週では各群0～2例の死亡にとどまり、1年6ヶ月の78週では3～7例、試験終了時の104週では雄の被験物質投与群は20～21例、対照群が17例、雌では被験物質投与群が19～29例、対照群が29例であり、雌雄各群とも被験物質投与群と対照群との間に死亡数に有意の差はみられなかった。

また、摂水量、摂餌量、体重値には雌雄各群とも対照群とほとんど差がみられなかった。

血液学的検査、血液生化学的検査にも被験物質の投与によると思われる異常所見は観察されなかった。

病理学的検査では肉眼的には、雄の180ppm群（死亡および瀕死例）で腺胃の肥厚が増加していたが、雌には対照群との著変が認められなかった。臓器重量は、雄には著変が認められなかったが、雌の180ppm群で心臓と肺の重量増加と体重の低値に伴う変化が認められた。

腫瘍の発生は、雄は担癌動物数と総腫瘍数に対照群と被験物質投与群との間に差を認めなかったが、下垂体の前葉腺腫の発生が全投与群とも対照群に比較して低値であった。これに対し、雌は担癌動物数は対照群との差を認めなかったが、総腫瘍数が180ppm群でやや高値を示し、腫瘍の種類別に発生数を比較すると下垂体の前葉腺腫の発生が180ppm群と20ppm群で対照群に比較して増加していた。

非腫瘍性病変については、甲状腺、肺および肝臓に投与群に特有な色素沈着がみられた。すなわち、甲状腺の色素沈着（黄色～褐色、沈着部位は濾胞上皮の細胞質内、鉄染色陰性）は雄の60ppm以上と雌の20ppm以上の群、肺の色素沈着（黄色～褐色、沈着部位は気管支周囲、鉄染色陰性）は雌雄とも180ppm群、また肝臓の色素沈着（褐色、沈着部位はクッパー細胞、鉄染色陰性）は雄の180ppm群と雌の20ppm群で観察された。その他、雄の180ppm群で、死亡および瀕死例で精巣の萎縮の高値と肝臓の壊死の低値、定期解剖例では腎臓の空胞変性の低値がみられた。雌では定期解剖例の全投与群に胃の萎縮の増加、60ppm以上の群に眼の白内障の発生数と程度の増加がみられた。

以上のように、腫瘍の発生は、下垂体の前葉腺腫が雄では全投与群で低下していたのに対し、雌では180ppm群と20ppm群で増加していた。しかし、雌の下垂体前葉腺腫の増加は60ppm群では認められず、投与量との相関は明瞭ではなかった。また、後述の甲状腺濾胞上皮内の色素沈着による機能障害がTSHホルモンを介し、下垂体の前葉細胞の増殖を招く可

能性についても、この腫瘍の発生に雌雄差の認められる本試験の結果を説明できない。非腫瘍性病変についてみると、13週間試験と同様に肺と肝臓に投与群に特有な色素沈着がみられたのに加えて、甲状腺にも色素沈着が観察された。しかし、これら臓器の実質細胞に変性・壊死などの障害は認められなかった。13週間試験で観察された腎機能値の異常も、本試験では180ppm群にも明らかではなく、形態学的にも特に障害像は観察されなかった。

その他の所見については散発的に生じたものであることから被験物質による作用とは考えられないと推察される。

## 結 論

### ラットを用いた毒性試験

- ① 被験物質に起因すると思われる腫瘍性病変は雌雄各群とも出現しなかった。
- ② 非腫瘍性病変において雌の400ppm群で慢性腎症と鼻腔のエオジン好性変化の程度が強く出現し、発生数も高かった。

### マウスを用いた毒性試験

- ① 下垂体の前葉腺腫の発生増加が対照群にくらべて、雌の180ppm群と20ppm群にみられたが、被験物質の造腫瘍性を明確に示すものではなかった。
- ② 非腫瘍性病変として、被験物質投与群に肺と肝臓、甲状腺などに特有の色素沈着がみられた。