

又試験施設の背景値 (Attached Data 3) と同様であったことから試験は適切に実施されたと考えられた。

7.2.2 連続処理法

24 時間処理の結果を Fig. 2-3、Table 2-3 及び Table 3-3 に、48 時間処理の結果を Fig. 2-4、Table 2-4 及び Table 3-4 に示した。

1) 被験物質添加直後の観察

被験物質添加に伴う培養液の色調の観察においては、24 時間処理及び 48 時間処理ともに全ての用量で変化は認められなかった。また、肉眼による被験物質添加に伴う析出の観察では、24 時間処理及び 48 時間処理ともに全ての用量で析出は認められなかった。

2) 被験物質処理終了時の培養細胞の観察

24 時間処理及び 48 時間処理ともに全ての用量で析出は認められなかった。被験物質用量群の細胞の状態を倒立位相差顕微鏡下で観察し、陰性対照群と比較すると、24 時間処理及び 48 時間処理ともに全ての用量で細胞の浮遊、形態変化が認められた。

3) 染色体構造異常

染色体構造異常の出現率 (TA) は、24 時間処理では 116 µg/mL では 0.5%、57.8 µg/mL では 0.5%、28.9 µg/mL では 0%及び 14.5 µg/mL では 0%と陰性の判定基準である 5%未満であったため、陰性と判定した。また、48 時間処理においては、116 µg/mL では 0.5%、57.8 µg/mL では 0%、28.9 µg/mL では 0.5%及び 14.5 µg/mL では 0%と陰性の判定基準である 5%未満であったため、陰性と判定した。

なお、陰性対照群においては染色体構造異常の出現率は陰性の判定基準内にあり、又試験施設の背景値 (Attached Data 3) と同様であった。更に、陽性対照群においては著しい染色体構造異常の誘発が認められ、その出現率は陽性の判定基準内にあった。従って、試験は適切に実施されたと考えられた。

4) 染色体数的異常

数的異常 (倍数体) の出現率は、24 時間処理では 116 µg/mL では 0.5%、57.8 µg/mL では 0%、28.9 µg/mL では 0.5%及び 14.5 µg/mL では 0%と陰性の判定基準である 5%未満であったため、陰性と判定した。また、48 時間処理においては、116 µg/mL では 0%、57.8 µg/mL では 0%、28.9 µg/mL では 0%及び 14.5 µg/mL では 0.5%と陰性の判定基準である 5%未満であったため、陰性と判定した。

なお、陰性対照群においては染色体数的異常の出現率は陰性の判定基準内にあり、又試験施設の背景値 (Attached Data 3) と同様であったことから試験は適切に実施されたと考えられた。

7.2.3 短時間処理法（再試験）

代謝活性化の結果を Fig. 2-5、Table 2-5 及び Table 3-5 に示した。

1) 被験物質添加直後の観察

被験物質添加に伴う培養液の色調の観察においては、全ての用量で変化は認められなかった。また、肉眼による被験物質添加に伴う析出の観察では、全ての用量で析出は認められなかった。

2) 被験物質処理終了時の培養細胞の観察

全ての用量で析出は認められなかった。被験物質用量群の細胞の状態を倒立位相差顕微鏡下で観察し、陰性対照群と比較すると、5.71 µg/mL 以上の用量で細胞の浮遊、形態変化が認められた。

3) 染色体構造異常

染色体構造異常の出現率 (TA) は、28.9 µg/mL では 1.5%、19.3 µg/mL では 0%、12.8 µg/mL では 0%、8.56 µg/mL では 1.5% 及び 5.71 µg/mL では 1.0% と陰性の判定基準である 5% 未満であったため、陰性と判定した。

なお、陰性対照群においては染色体構造異常の出現率は陰性の判定基準内にあり、又試験施設の背景値 (Attached Data 3) と同様であった。更に、陽性対照群においては著しい染色体構造異常の誘発が認められ、その出現率は陽性の判定基準内にあった。従って、試験は適切に実施されたと考えられた。

4) 染色体数的異常

数的異常 (倍数体) の出現率は、28.9 µg/mL では 0%、19.3 µg/mL では 0.5%、12.8 µg/mL では 0%、8.56 µg/mL では 0.5% 及び 5.71 µg/mL では 0% と陰性の判定基準である 5% 未満であったため、陰性と判定した。

なお、陰性対照群においては染色体数的異常の出現率は陰性の判定基準内にあり、又試験施設の背景値 (Attached Data 3) と同様であったことから試験は適切に実施されたと考えられた。

8. 考察

染色体異常試験の結果、染色体構造異常の一つの指標であるギャップを含まない染色体異常を有する細胞の出現率（TA 値）は、いずれの処理法においても陰性の判定基準である 5%未満であった。また、倍数性細胞の出現頻度も、いずれの処理法においても陰性の判定基準である 5%未満であった。

全ての処理法において、陰性対照群では染色体構造異常を有する細胞及び倍数体の出現頻度は 5%未満で、陰性の判定基準内であった。これに対して、陽性対照群では著しい染色体構造異常の誘発が認められた。なお、染色体異常試験の連続処理法において、陽性対照群の染色体構造異常頻度が、試験施設の背景値に比べてやや高い値を示したことから、細胞の陽性対照物質への感受性が多少 hypersensitive な状態にあったと推測される。しかしながら、陰性対照群及び被験物質処理群では染色体構造異常頻度は陰性の範囲内であったこと及び感受性が hypersensitive の状態においては、被験物質処理群の染色体構造異常が underestimation されることはないと考えられることから、被験物質の染色体構造異常誘発性の評価には問題はなく、試験は適切に実施されたと考えられた。

以上の結果から、 β -プロモスチレンは本試験条件下において染色体構造異常及び染色体数的異常は誘発しないと結論した。

Table 1-1

Cell-growth ratio in the cell-growth inhibition test in cultured Chinese hamster cells treated with beta-Bromostyrene

[Short-term treatment: +S9 mix]

Cell-growth inhibition test									
Study type		Treatment and Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Cell-growth ratio		Observation ^{c)}				
S9 mix	time (hr)		Plate 1 and 2	Mean (%) ^{b)}	Condition of cells ^{d)}	Color of medium ^{e)}	Precipitates/Crystals ^{f)}		
							1)	2)	
+	6-18	0 (NC)	100 ^{a)}	100	-	-	-	-	
			87		-	-	-	-	
		Test article	14.5	49	46	++	-	-	-
				37		++	-	-	-
			28.9	24	33	++	-	-	-
				37		++	-	-	-
			57.8	12	13	+++	-	-	-
				12		+++	-	-	-
			116	0	6	+++	-	-	-
				12		+++	-	-	-
231	0	0	+++	-	-	-	+		
	0		+++	-	-	-	+		
463	0	6	g)	-	+	+			
	12		g)	-	+	+			
925	0	6	g)	-	+	+			
	12		g)	-	+	+			
1850	12	13	g)	-	+	+			
	12		g)	-	+	+			
Concentration of 50% cell-growth inhibition : below					14.5	$\mu\text{g/mL}$			

NC: Negative Control(DMSO)

a) The plate in the negative control group was regarded as a 100% growth.

b) The mean showed as a growth ratio against the negative control value.

c) Condition of cells was observed at the end of treatment. Color of medium was observed immediately after addition of the test solutions. Precipitates/crystals were observed ¹⁾immediately after addition of the test solutions and ²⁾at the end of treatment.

d) - : Most of the cells were attached to the surface of plates and their shape was normal.

++ : There was discontinuity among approximately half of the surviving cells.

+++ : There was discontinuity among most of the surviving cells.

e) - : No changes of color

f) - : Absence of precipitates/crystals

+ : Presence of precipitates

g) Condition of cells could not be observed due to severe precipitate of the test article.

Table 1-2

Cell-growth ratio in the cell-growth inhibition test in cultured Chinese hamster cells treated with beta-Bromostyrene

[Short-term treatment: -S9 mix]

Cell-growth inhibition test									
Study type		Treatment and Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Cell-growth ratio		Observation ^{c)}				
S9 mix	time (hr)		Plate 1 and 2	Mean (%) ^{b)}	Condition of cells ^{d)}	Color of medium ^{e)}	Precipitates/Crystals ^{f)}		
							1)	2)	
-	6-18	0 (NC)	100 ^{a)}	100	-	-	-	-	
			100		-	-	-	-	
		14.5	71	71	+	-	-	-	-
			71		+	-	-	-	
		28.9	57	57	++	-	-	-	-
			57		++	-	-	-	
		57.8	71	57	++	-	-	-	-
			42		++	-	-	-	
		116	14	14	++	-	-	-	-
			14		++	-	-	-	
		231	14	7	+++	-	-	-	+
			0		+++	-	-	-	+
		463	0	0	g)	-	+	+	+
			0		g)	-	+	+	
925	0	0	g)	-	+	+	+		
	0		g)	-	+	+			
1850	0	0	g)	-	+	+	+		
	0		g)	-	+	+			
Concentration of 50% cell-growth inhibition :					67.3	$\mu\text{g/mL}$			

NC: Negative Control(DMSO)

a) The plate in the negative control group was regarded as a 100% growth.

b) The mean showed as a growth ratio against the negative control value.

c) Condition of cells was observed at the end of treatment. Color of medium was observed immediately after addition of the test solutions. Precipitates/crystals were observed ¹⁾ immediately after addition of the test solutions and ²⁾ at the end of treatment.

d) - : Most of the cells were attached to the surface of plates and their shape was normal.

+ : There was discontinuity among a small number of surviving cells.

++ : There was discontinuity among approximately half of the surviving cells.

+++ : There was discontinuity among most of the surviving cells.

e) - : No changes of color

f) - : Absence of precipitates/crystals

+ : Presence of precipitates

g) Condition of cells could not be observed due to severe precipitate of the test article.

Table 1-3

Cell-growth ratio in the cell-growth inhibition test in cultured Chinese hamster cells treated with beta-Bromostyrene
[Continuous treatment : 24hr]

Cell-growth inhibition test									
Study type		Treatment and Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Cell-growth ratio		Observation ^{c)}				
S9 mix	time (hr)		Plate 1 and 2	Mean (%) ^{b)}	Condition of cells ^{d)}	Color of medium ^{e)}	Precipitates/Crystals ^{f)}		
							1)	2)	
-	24-0	0 (NC)	100 ^{a)}	100	-	-	-	-	
			100		-	-	-	-	
		14.5	59	59	+	-	-	-	-
			59		+	-	-	-	-
		28.9	59	59	+	-	-	-	-
			59		+	-	-	-	-
		57.8	59	59	+	-	-	-	-
			59		+	-	-	-	-
		116	0	0	+++	-	-	-	-
			0		+++	-	-	-	-
		231	0	0	TOX	-	-	-	+
			0		TOX	-	-	-	+
		463	0	0	g)	-	+	+	+
			0		g)	-	+	+	+
925	0	0	g)	-	+	+	+		
	0		g)	-	+	+	+		
1850	0	0	g)	-	+	+	+		
	0		g)	-	+	+	+		
Concentration of 50% cell-growth inhibition :					66.7	$\mu\text{g/mL}$			

NC: Negative Control(DMSO)

a) The plate in the negative control group was regarded as a 100% growth.

b) The mean showed as a growth ratio against the negative control value.

c) Condition of cells was observed at the end of treatment. Color of medium was observed immediately after addition of the test solutions. Precipitates/crystals were observed ¹⁾ immediately after addition of the test solutions and ²⁾ at the end of treatment.

d) - : Most of the cells were attached to the surface of plates and their shape was normal.

+ : There was discontinuity among a small number of surviving cells.

+++ : There was discontinuity among most of the surviving cells.

TOX : Most of the cells were peeled off from the surface of plates or died and there were almost no surviving cells.

e) - : No changes of color

f) - : Absence of precipitates/crystals

+ : Presence of precipitates

g) Condition of cells could not be observed due to severe precipitate of the test article.

Table 1-4

Cell-growth ratio in the cell-growth inhibition test in cultured Chinese hamster cells treated with beta-Bromostyrene
 [Continuous treatment : 48hr]

Cell-growth inhibition test									
Study type		Treatment and Concentration (µg/mL)	Cell-growth ratio		Observation ^{e)}				
S9 mix	time (hr)		Plate 1 and 2	Mean (%) ^{b)}	Condition of cells ^{d)}	Color of medium ^{e)}	Precipitates/Crystals ^{f)}		
							1)	2)	
-	48-0	0 (NC)	100 ^{a)}	100	-	-	-	-	
			99		-	-	-	-	
		Test article	14.5	84	80	++	-	-	-
				76		++	-	-	-
			28.9	69	65	++	-	-	-
				61		++	-	-	-
			57.8	69	65	++	-	-	-
				61		++	-	-	-
			116	7	7	+++	-	-	-
				7		+++	-	-	-
231	0	0	TOX	-	-	-	+		
	0		TOX	-	-	-	+		
463	0	0	g)	-	+	+	+		
	0		g)	-	+	+	+		
925	0	0	g)	-	+	+	+		
	0		g)	-	+	+	+		
1850	0	0	g)	-	+	+	+		
	0		g)	-	+	+	+		
Concentration of 50% cell-growth inhibition :					72.9	µg/mL			

NC: Negative Control(DMSO)

- a) The plate in the negative control group was regarded as a 100% growth.
- b) The mean showed as a growth ratio against the negative control value.
- c) Condition of cells was observed at the end of treatment. Color of medium was observed immediately after addition of the test solutions. Precipitates/crystals were observed ¹⁾immediately after addition of the test solutions and ²⁾at the end of treatment.
- d) - : Most of the cells were attached to the surface of plates and their shape was normal.
 ++ : There was discontinuity among approximately half of the surviving cells.
 +++ : There was discontinuity among most of the surviving cells.
 TOX : Most of the cells were peeled off from the surface of plates or died and there were almost no surviving cells.
- e) - : No changes of color
- f) - : Absence of precipitates/crystals
 + : Presence of precipitates
- g) Condition of cells could not be observed due to severe precipitate of the test article.

Table 2-1

Cell-growth ratio in the chromosome aberration test in cultured Chinese hamster cells treated with beta-Bromostyrene
 [Short-term treatment: +S9 mix]

Chromosome aberration test									
Study type		Treatment and Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Cell-growth ratio		Observation ^{e)}				
S9 mix	time (hr)		Plate 1 and 2	Mean (%) ^{b)}	Condition of cells ^{d)}	Color of medium ^{e)}	Precipitates/Crystals ^{f)}		
							1)	2)	
+	6-18	0 (NC)	100 ^{a)}	100	-	-	-	-	
			100		-	-	-	-	
		Test article	0.90	100	93	-	-	-	-
				85		-	-	-	-
			1.81	100	100	-	-	-	-
				100		-	-	-	-
			3.61	100	93	-	-	-	-
		85	-	-		-	-		
7.23	85	85	-	-	-	-			
85	-		-	-	-				
14.5	71	78	+	-	-	-			
85	+		-	-	-				
PC	100	100	-	-	-	-			
	100		-	-	-	-			

NC: Negative Control(DMSO)

PC: Positive Control(cyclophosphamide : 14 $\mu\text{g/mL}$)

a) The plate in the negative control group was regarded as a 100% growth.

b) The mean showed as a growth ratio against the negative control value.

c) Condition of cells was observed at the end of treatment. Color of medium was observed immediately after addition of the test solutions. Precipitates/crystals were observed ¹⁾ immediately after addition of the test solutions and ²⁾ at the end of treatment.

d) - : Most of the cells were attached to the surface of plates and their shape was normal.

+ : There was discontinuity among a small number of surviving cells.

e) - : No changes of color

f) - : Absence of precipitates/crystals

Table 2-2

Cell-growth ratio in the chromosome aberration test in cultured Chinese hamster cells treated with beta-Bromostyrene
 [Short-term treatment: -S9 mix]

Chromosome aberration test									
Study type		Treatment and Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Cell-growth ratio		Observation ^{c)}				
S9 mix	time (hr)		Plate 1 and 2	Mean (%) ^{b)}	Condition of cells ^{d)}	Color of medium ^{e)}	Precipitates/Crystals ^{f)}		
							1)	2)	
-	6-18	0 (NC)	100 ^{a)}	100	-	-	-	-	
			88		-	-	-	-	
		Test article	7.23	66	76	-	-	-	-
				77		-	-	-	-
			14.5	77	82	+	-	-	-
				77		+	-	-	-
			28.9	66	76	+	-	-	-
				77		+	-	-	-
		57.8	66	70	+	-	-	-	
			66		+	-	-	-	
		116	55	59	++	-	-	-	
			55		++	-	-	-	
PC		88	94	-	-	-	-		
		88		-	-	-	-		

NC: Negative Control(DMSO)

PC: Positive Control(mitomycin C : 0.075 $\mu\text{g/mL}$)

a) The plate in the negative control group was regarded as a 100% growth.

b) The mean showed as a growth ratio against the negative control value.

c) Condition of cells was observed at the end of treatment. Color of medium was observed immediately after addition of the test solutions. Precipitates/crystals were observed ¹⁾ immediately after addition of the test solutions and ²⁾ at the end of treatment.

d) - : Most of the cells were attached to the surface of plates and their shape was normal.

+ : There was discontinuity among a small number of surviving cells.

++ : There was discontinuity among approximately half of the surviving cells.

e) - : No changes of color

f) - : Absence of precipitates/crystals

Table 2-3

Cell-growth ratio in the chromosome aberration test in cultured Chinese hamster cells treated with beta-Bromostyrene

[Continuous treatment: 24hr]

Chromosome aberration test									
Study type		Treatment and Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Cell-growth ratio		Observation ^{c)}				
S9 mix	time (hr)		Plate 1 and 2	Mean (%) ^{b)}	Condition of cells ^{d)}	Color of medium ^{e)}	Precipitates/Crystals ^{f)}		
							1)	2)	
		0 (NC)	$\frac{100}{85}$ ^{a)}	100	-	-	-	-	
		Test article	14.5	77	+	-	-	-	
					+	-	-	-	
			28.9	62	+	-	-	-	
					+	-	-	-	
			57.8	69	+	-	-	-	
					+	-	-	-	
			116	30	++	-	-	-	
					++	-	-	-	
			PC	$\frac{85}{85}$	92	-	-	-	-
						-	-	-	-

NC: Negative Control(DMSO)

PC: Positive Control(mitomycin C : 0.050 $\mu\text{g/mL}$)

a) The plate in the negative control group was regarded as a 100% growth.

b) The mean showed as a growth ratio against the negative control value.

c) Condition of cells was observed at the end of treatment. Color of medium was observed immediately after addition of the test solutions. Precipitates/crystals were observed ¹⁾ immediately after addition of the test solutions and ²⁾ at the end of treatment.

d) - : Most of the cells were attached to the surface of plates and their shape was normal.

+ : There was discontinuity among a small number of surviving cells.

++ : There was discontinuity among approximately half of the surviving cells.

e) - : No changes of color

f) - : Absence of precipitates/crystals

Table 2-4

Cell-growth ratio in the chromosome aberration test in cultured Chinese hamster cells treated with beta-Bromostyrene
 [Continuous treatment: 48hr]

Chromosome aberration test									
Study type		Treatment and Concentration (µg/mL)	Cell-growth ratio		Observation ^{c)}				
S9 mix	time (hr)		Plate 1 and 2	Mean (%) ^{b)}	Condition of cells ^{d)}	Color of medium ^{e)}	Precipitates/Crystals ^{f)}		
							1)	2)	
-	48-0	0 (NC)	100 ^{a)}	100	-	-	-	-	
			118		-	-	-	-	
		Test article	14.5	90	83	+	-	-	-
				90		+	-	-	-
			28.9	90	78	+	-	-	-
				81		+	-	-	-
		57.8	81	78	+	-	-	-	
			90		+	-	-	-	
		116	18	21	++	-	-	-	
			27		++	-	-	-	
		PC	99	91	-	-	-	-	
			99		-	-	-	-	

NC: Negative Control(DMSO)

PC: Positive Control(mitomycin C : 0.050 µg/mL)

a) The plate in the negative control group was regarded as a 100% growth.

b) The mean showed as a growth ratio against the negative control value.

c) Condition of cells was observed at the end of treatment. Color of medium was observed immediately after addition of the test solutions. Precipitates/crystals were observed ¹⁾immediately after addition of the test solutions and ²⁾at the end of treatment.

d) - : Most of the cells were attached to the surface of plates and their shape was normal.

+ : There was discontinuity among a small number of surviving cells.

++ : There was discontinuity among approximately half of the surviving cells.

e) - : No changes of color

f) - : Absence of precipitates/crystals

Table 2-5

Cell-growth ratio in the chromosome aberration test in cultured Chinese hamster cells treated with beta-Bromostyrene
[retest : +S9 mix]

Chromosome aberration test									
Study type		Treatment and Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Cell-growth ratio		Observation ^{c)}				
S9 mix	time (hr)		Plate 1 and 2	Mean (%) ^{b)}	Condition of cells ^{d)}	Color of medium ^{e)}	Precipitates/Crystals ^{f)}		
							1)	2)	
+	6-18	0 (NC)	100 ^{a)}	100	-	-	-	-	
			99		-	-	-	-	
		Test article	1.69	99	99	-	-	-	-
				99		-	-	-	-
			2.54	99	99	-	-	-	-
				99		-	-	-	-
			3.81	133	134	-	-	-	-
				133		-	-	-	-
			5.71	133	134	+	-	-	-
				133		+	-	-	-
			8.56	99	99	+	-	-	-
99	+	-		-		-			
12.8	66	83	+	-	-	-			
	99		+	-	-	-			
19.3	66	66	++	-	-	-			
	66		++	-	-	-			
28.9	33	33	++	-	-	-			
	33		++	-	-	-			
PC	133	134	-	-	-	-			
	133		-	-	-	-			

NC: Negative Control(DMSO)

PC: Positive Control(cyclophosphamide : 14 $\mu\text{g/mL}$)

a) The plate in the negative control group was regarded as a 100% growth.

b) The mean showed as a growth ratio against the negative control value.

c) Condition of cells was observed at the end of treatment. Color of medium was observed immediately after addition of the test solutions. Precipitates/crystals were observed ¹⁾ immediately after addition of the test solutions and ²⁾ at the end of treatment.

d) - : Most of the cells were attached to the surface of plates and their shape was normal.

+ : There was discontinuity among a small number of surviving cells.

++ : There was discontinuity among approximately half of the surviving cells.

e) - : No changes of color

f) - : Absence of precipitates/crystals

4. 要約

Sprague-Dawley系 SPF ラット [CrI:CD(SD)] を用いて、 β -プロモスチレンの反復投与による毒性並びにその可逆性を検討した。投与量は 0 (コーン油：対照群)、30、125 及び 500 mg/kg/day とし、28 日間反復強制経口投与した。1 群の動物数は対照群及び 500 mg/kg 投与群で雌雄各 12 匹、30 及び 125 mg/kg 投与群で雌雄各 6 匹とした。このうち、対照群の雌雄各 6 例及び 500 mg/kg 投与群の雄 6 例と雌 5 例については、28 日間投与後 2 週間休薬させた。

500 mg/kg 投与群の雌 1 例が投与 3 日に死亡した。病理学検査における主な変化として肉眼的に血性腹水及び胸水と肝臓の大型化など、組織学的に肝臓の小葉中心性壊死とうっ血などが認められたが、死因は明らかではなかった。

一般状態では、投与開始日に 500 mg/kg 投与群の雌雄全例で自発運動の減少が認められた。

詳細な一般状態では、投与 3 及び 4 週に 500 mg/kg 投与群の雌雄で流涎が散見された。この変化は休薬により消失した。

体重では、投与初期に 500 mg/kg 投与群の雌雄で低値傾向が認められた。

摂餌量では、投与初期に 500 mg/kg 投与群の雌雄で低値が認められた。

尿検査では、125 mg/kg 以上の投与群の雄で尿量の高値と浸透圧の低値が、500 mg/kg 投与群の雌で尿量の高値が、また、沈渣において 500 mg/kg 投与群の雄で小円形上皮細胞の陽性例の発現頻度の増加が認められた。これらの変化はいずれも休薬により消失した。

血液化学検査では、125 mg/kg 以上の投与群の雌で総コレステロールとリン脂質の高値が、500 mg/kg 投与群の雌雄で総たん白質の高値が、雄でアルブミンと無機リンの高値が、雌でトリグリセライドと塩素の高値が認められた。これらの変化は休薬によりほぼ消失した。

病理学検査では、肝臓において、125 mg/kg 以上の投与群の雌雄で絶対あるいは相対重量の高値が、500 mg/kg 投与群の雌雄で肉眼的に大型化と組織学的に小葉中心性肝細胞肥大が認められた。腎臓において、500 mg/kg 投与群の雌雄で絶対あるいは相対重量の高値が、組織学的に 125 mg/kg 以上の投与群の雄で尿細管上皮細胞の好酸性小体が、500 mg/kg 投与群の雄で尿細管変性が認められた。甲状腺において、組織学的に 125 mg/kg 以上の投与群の雌と 500 mg/kg 投与群の雄で濾胞上皮細胞の肥大が認められた。これらの変化はいずれも休薬により消失あるいは軽減した。

以上の結果から、 β -プロモスチレンの本試験条件下における無影響量は雌雄とも 30 mg/kg/day であると推定された。また、みられた変化はいずれも可逆性が認められた。

B-6354

6. 試験材料及び方法

6.1 被験物質及び媒体

6.1.1 被験物質

被験物質は東京化成工業株式会社より購入した。当試験に使用した被験物質のロット番号、純度等は次の通りである。また、試験成績を添付資料 1 に示した。

名称	:	β-ブロモスチレン
英名	:	β-Bromostyrene
CAS 番号	:	103-64-0
示性式	:	C ₆ H ₅ CH:CHBr
ロット番号	:	TEYUC
分子量	:	183.05
純度	:	99.6% (GC 法、cis-,trans-混合物)
入手量	:	500 g (25 g を 20 本)
性状	:	黄色透明液体
比重	:	1.42
引火点	:	120°C
安定性	:	動物試験終了後、被験物質の分析を試験受託者で HPLC 法により実施し、安定であることを確認した。 (添付資料 2)
保存方法	:	冷蔵 (実測値 : 3~9°C)、遮光、防湿
保存場所	:	御殿場研究所 被験物質保存室及び第 1 研究棟被験物質調製室
取扱い上の注意	:	マスク、手袋を着用する。 取扱い場所及び周囲の火気を厳禁し、高温物及び強酸化剤との接触を避ける。
返却 ^{注)}	:	被験物質約 1 g を保存試料として保存した。また、投与期間中の安定性を確認するため、投与後の残量は全てβ-ブロモスチレン (Lot No. TEYUC) の安定性試験 (試験番号 ; A-2153) へ移管した。

注) : 試験計画書では分析用に小分けするとしていたが、実際には小分けをしなかった。

6.1.2 媒体

名称	:	コーン油
ロット番号	:	WKJ3948
製造者	:	和光純薬工業株式会社
保存方法	:	室温
保存場所	:	御殿場研究所 第 1 研究棟被験物質調製室

B-6354

6.2 投与液の調製

濃度ごとに必要量の被験物質を正確に採取し、コーン油で希釈して 6 mg/mL 液（低用量群液）、25 mg/mL 液（中用量群液）及び 100 mg/mL 液（高用量群液）を調製した。被験液は週 1 回以上の頻度で調製し、調製後 8 日以内に使用した。

6.2.1 投与液の保存方法

投与液は 1 日の必要分ずつ遮光瓶に分注し、使用時まで冷所（冷蔵庫内、実測値：4~6°C）に保存した。

6.2.2 媒体中での安定性

本被験物質の 0.5 及び 200 mg/mL 希釈液（媒体：コーン油）は、冷所（冷蔵庫内、1~10°C）で 8 日間、その後室温で 24 時間安定であることを株式会社ボゾリサーチセンター御殿場研究所で確認した（試験番号：A-2109、添付資料 3）。

6.2.3 調製物の濃度確認

投与 1 週と 4 週の投与に用いる各濃度の被験液について、その濃度を株式会社ボゾリサーチセンター御殿場研究所で HPLC 法を用いて確認した。その結果、表示値に対する濃度の割合は 97.8~104.0%（許容範囲：100±10%）であり、いずれも許容範囲内であった（添付資料 4 及び 5）。分析法の概略を次に示す。

1 濃度当たりの採取本数及び採取量

： 1 本（10 mL）
測定対象物質： β-プロモスチレン

測定対象標準物質

名称： β-プロモスチレン
ロット番号： TEYUC
保存方法： 冷蔵（冷蔵庫内、実測値：3~7°C）、遮光、防湿で保存

測定条件

HPLC 条件

カラム： L-column ODS（4.6 mm I.D.×150 mm、5 μm、財団法人 化学物質評価研究機構）

カラム恒温槽設定温度

： 40°C

HPLC 移動相

試薬名	混合比*
Milli-Q 水	50%
アセトニトリル	50%

*：HPLC システムで混合。

流速 : 1.0 mL/min
 オートサンプラー設定温度 : 4°C
 注入量 : 20 µL
 検出 : UV (測定波長 257 nm)
 注入順序 :

注入順序	注入回数	注入内容
1	3	標準溶液 (システム適合性用)
2	3	標準溶液 (定量用)
3	1	測定試料 (6 mg/mL)
4	1	測定試料 (25 mg/mL)
5	1	測定試料 (100 mg/mL)

なお、標準溶液及び測定実測試料の測定は 24 時間以内に実施した (バリデーション試験で、オートサンプラー内における 24 時間保存後の安定性が確認されている)。

6.3 試験動物種及び系統の選択理由

毒性試験法ガイドラインによりラットを用いた試験が必要とされている。この試験に使用される系統のラットは特性がよく知られ、背景資料が豊富であることから選択した。

6.4 試験動物及び群分け

Sprague-Dawley系SPFラット [CrI:CD(SD)、日本チャールス・リバー株式会社、厚木飼育センター] 雌雄各 47 匹^{注)} を 5 週齢で入手し、当所で 7 日間検疫・馴化飼育し、一般状態の観察 (1 回/日)、体重測定 (3 回) 及び詳細な一般状態の観察 (1 回) を行い、体重増加量、詳細な一般状態の観察及び一般状態に異常がみられず健康と思われる雌雄各 36 匹 (主群として雌雄各 24 匹、回復群として雌雄各 12 匹) を選び、6 週齢で試験に供した。投与開始日の体重範囲は、雄で 182~216 g、雌で 145~171 g であった。動物は、検疫・馴化期間中の体重増加量により選別後、群分け当日 (投与開始の 2 日前) の体重に基づいて層別化し、各群の平均体重ができるだけ均等となるよう各群を構成した。個体の割付けはコンピュータを用いたブロック配置法及び無作為抽出法の組合せ (ブロック配置法で必要な群を構成し、試験群及び群内の個体番号を無作為に割当て) により行った。また、余剰動物は投与開始日に試験系から除外し、安楽死させた。

注) : 試験計画書に従い、注文匹数は雌雄各 45 匹であったが、実際には雌雄各 47 匹が納入された。

6.5 飼育条件

動物は温度 21~23°C、相対湿度 49~66%、換気回数 1 時間 10~15 回、照明 1 日 12 時間 (07:00~19:00) の動物飼育室 (301 号室) で、ブラケット式金属製網ケージ (W 250×D 350×H 200 mm : 日本ケージ株式会社) で個別飼育し、毎日 1 回の飼育室内の清掃を実

施した。固形飼料 CRF-1（オリエンタル酵母工業株式会社、ロット番号：080305 及び 080509）及び御殿場市営水道水を給水瓶により自由に摂取させた。

6.6 飼料及び飲料水中の混入物質

飼料中の混入物質に関しては使用全ロットについて財団法人日本食品分析センターあるいは Eurofins Scientific Analytics で分析を行い、また、飲料水については東芝機械環境センター株式会社で水道法に準拠する水質検査を定期的に（年 4 回）行った。これらの分析成績書を入手し、試験成績に影響がないことを確認した後、写しを保存した。

6.7 動物の識別及びケージへの表示

動物は入荷時に耳標を装着して個体識別した。入荷から群分け前までの間は試験番号、性別及び耳標番号を明記したケージラベルをつけた。群分け後は、性別及び用量ごと（対照群、低、中及び高用量群の順）に 4 桁の番号をつけた。この場合、1000 の位は群、100 の位は性（0 番を雄、1 番を雌）、10 と 1 の位は個体番号とした。各飼育ケージには、群分け前まで使用したケージラベルの裏に用量（群）ごとに色分けしたラベルをつけ、試験番号、投与経路、投与量、性、動物番号、耳標番号及び剖検予定日を明記した。ただし、詳細な一般状態の観察、機能検査、握力及び自発運動量測定中は、観察者に対して投与の情報を制限するため、ケージラベルを裏返して試験番号、性別及び耳標番号のみを表示した。

6.8 投与経路、投与期間、投与回数及び回復期間とそれらの選択理由

毒性試験法ガイドラインに準じ、投与経路は経口を選択し、投与期間は 28 日間とした。投与回数は反復投与試験で一般的に行われている 1 日 1 回（7 回/週）とした。回復期間は障害の可逆性を検討するのに適当と考えられる 2 週間（14 日間）とし、この間投与を行わなかった。

6.9 投与方法

投与容量は 5 mL/kg 体重とし、胃ゾンデを用いて強制経口投与した（08：00~11：57 の間）。対照群には媒体（コーン油）を同様に投与した。個体ごとの投与液量は最新の体重を基準に算出した。

6.10 投与量及びその設定根拠並びに群構成

β -ブロモスチレンの 0（コーン油）、100、300 及び 1000 mg/kg/day を 1 群雌雄各 5 匹のラットに 14 日間反復経口投与した結果¹⁾、主な変化としては、1000 mg/kg 投与群の雌雄全例で死亡が認められた。また、300 mg/kg 投与群では器官重量において雌雄で肝臓の相対重量の高値、雌で腎臓の相対重量の高値が認められた。したがって、本試験における投与量は、500 mg/kg を高用量とし、以下公比約 4 で除して、125 及び 30

mg/kgの3用量を設定した。これに対照群を加え、計4群を設けた。主群では雌雄各6匹、回復群では対照群及び高用量群で雌雄各6匹とした。群構成表を次の表1.に示す。

表 1.群構成表

試験群	投与量 (mg/kg)	濃 度 (mg/mL)	投与容量 (mL/kg)	性	主 群		回 復 群	
					動物数	動物番号	動物数	動物番号
対照群	0	0	5	雄	6	1001~1006	6	1007~1012
				雌	6	1101~1106	6	1107~1112
低用量群	30	6	5	雄	6	2001~2006	-	-
				雌	6	2101~2106	-	-
中用量群	125	25	5	雄	6	3001~3006	-	-
				雌	6	3101~3106	-	-
高用量群	500	100	5	雄	6	4001~4006	6	4007~4012
				雌	6	4101~4106	6	4107~4112

6.11 観察及び検査の方法

それぞれ記載された時期に観察及び検査を実施した。試験日の起算に関しては下記の通りである。

投与1日 (day 1 of administration) : 投与開始日

投与1週 (week 1 of administration) : 投与1から投与7日

回復1日 (day 1 of recovery) : 回復開始日 (投与期間終了の翌日)

回復1週 (week 1 of recovery) : 回復1から回復7日

6.11.1 一般状態の観察

全生存動物について投与期間中は毎日3回、投与前と投与直後及び投与約2時間後 (ただし、土曜及び休日は投与前と投与直後の2回)、回復期間中は毎日1回、体外表、栄養状態、姿勢、行動及び排泄物などの一般状態を観察した。

6.11.2 詳細な一般状態の観察、機能検査、握力及び自発運動量の測定

詳細な一般状態の観察は、全ての動物について投与開始前に1回、また、全生存動物について投与期間中及び回復期間中は毎週1回実施した。また、機能検査、握力及び自発運動量の測定は、全生存動物について投与4週 (雄を投与25日、雌を投与26日) 及び回復2週 (回復11日) に行った。なお、観察及び検査は投与の情報を制限 (ブラインド化) し、動物をランダムに配置した状態で行った。

投与開始前 (検疫・馴化期間中) の詳細な一般状態の観察において異常は認められなかった。

7. 試験結果

7.1 一般状態

成績を Table 1-1~1-3 及び Appendix 1~10 に示した。

1) 投与期間

30 及び 125 mg/kg 投与群の雌雄では、観察期間を通じて異常は認められなかった。

500 mg/kg 投与群では、雌 1 例（動物番号：4111）が投与 3 日に死亡した。この動物では、投与開始日に自発運動の減少が認められたが、その後は一般状態に異常は観察されなかった。その他、雌雄全例で投与開始日に自発運動の減少が認められたが、その後は全生存動物で異常はみられなかった。

2) 回復期間

いずれの動物においても、回復期間を通じて異常は認められなかった。

7.2 詳細な一般状態、機能検査、握力及び自発運動量

7.2.1 詳細な一般状態

成績を Table 2-1~2-18 及び Appendix 11~70 に示した。

1) 投与期間

(1) 投与 1 週

オープンフィールド内観察において、30 mg/kg 投与群の雄で立ち上がり回数の有意な高値がみられたが、高用量群に同様な変化は認められていないことから偶発性と判断した。

(2) 投与 2 週

いずれの検査項目においても異常はなく、各被験物質投与群の雌雄とも対照群との間に有意差は認められなかった。

(3) 投与 3 週

手に持つての観察において、500 mg/kg 投与群の雄 4 例と雌 1 例で軽度な流涎が認められた。

(4) 投与 4 週

手に持つての観察において、500 mg/kg 投与群の雄 3 例と雌 2 例で軽度な流涎が認められた。その他にはオープンフィールド内観察において、500 mg/kg 投与群の雌で立ち上がり回数の有意な低値が認められたが、ごく軽度であり、また、投与 1~3 週までの回数とほぼ同様であり、自発運動量などの関連した項目にも変化がないことから、偶発性と判断した。

2) 回復期間

いずれの検査項目においても異常はなく、500 mg/kg 投与群の雌雄とも対照群との間に有意差は認められなかった。

7.2.2 機能検査

成績を Table 2-19、2-20 及び Appendix 71~76 に示した。

1) 投与 4 週

いずれの検査項目においても異常はなく、各被験物質投与群の雌雄とも対照群との間に有意差は認められなかった。

2) 回復 2 週

500 mg/kg 投与群の雄で着地開脚幅に有意な低値が認められたが、投与 4 週ではみられていないことから偶発性と判断した。

7.2.3 握力

成績を Table 2-21、2-22 及び Appendix 77~82 に示した。

1) 投与 4 週

125 mg/kg 投与群の雌で後肢に有意な高値が認められたが、高用量群に同様な変化はみられていないことから偶発性と判断した。

2) 回復 2 週

500 mg/kg 投与群の雄で前肢に有意な低値が認められたが、投与 4 週にみられていないことから偶発性と判断した。

7.2.4 自発運動量

成績を Fig. 1~4、Table 2-23、2-24 及び Appendix 83~88 に示した。

1) 投与 4 週

各被験物質投与群の雌雄とも対照群とほぼ同様に推移し、有意差は認められなかった。

2) 回復 2 週

500 mg/kg 投与群の雄で測定開始後 40~50 分の測定に有意な低値が認められたが、投与 4 週ではみられていないことから偶発性と判断した。

7.3 体重

成績を Fig. 5、Table 3-1、3-2 及び Appendix 89~94 に示した。

1) 投与期間

500 mg/kg 投与群の雌雄で投与 4 日に低値傾向が認められた。その他には 125 mg/kg 投与群の雌で投与 17、21 及び 24 日と投与期間中の体重増加量に有意な高値が認められたが、高用量群では同様な変化はみられていないことから偶発性と判断した。

2) 回復期間

500 mg/kg 投与群の雌で回復期間中の体重増加量に有意な低値が認められたが、通常みられる程度の変化であることから偶発性と判断した。

7.4 摂餌量

成績を Fig. 6、Table 4-1、4-2 及び Appendix 95~100 に示した。

1) 投与期間

500 mg/kg 投与群の雌雄で投与 4 日に有意な低値が認められた。その他には 125 mg/kg 投与群の雌で投与 7、10、14、17 及び 21 日に、500 mg/kg 投与群の雌で投与 7、14、17、21 及び 28 日に有意な高値が認められたが、いずれも通常みられる程度の変化であることから偶発性と判断した。

2) 回復期間

500 mg/kg 投与群の雌で回復 7 及び 14 日に有意な低値が認められたが、いずれも通常みられる程度の変化であることから偶発性と判断した。

7.5 尿検査（摂水量含む）

成績を Table 5-1~5-8 及び Appendix 101~118 に示した。

1) 投与 4 週

125 mg/kg 以上の投与群の雄で尿量の有意な高値と浸透圧の有意な低値が、更に、500 mg/kg 投与群の雌で尿量の有意な高値が認められた。また、沈渣において 500 mg/kg 投与群の雄 12 例中 5 例、雌 11 例中 1 例で小円形上皮細胞の陽性例が認められ、500 mg/kg 投与群の雄で対照群と比べ発現頻度が増加した。その他には 125 mg/kg 投与群の雌で摂水量の有意な低値が認められたが、高用量群では同様な変化はみられていないことから偶発性と判断した。

2) 回復 2 週

500 mg/kg 投与群の雌雄とも定性的項目で異常は認められず、また、尿量、摂水量及び浸透圧でも対照群との間に有意差は認められなかった。

7.6 血液学検査

成績を Table 6-1~6-6 及び Appendix 119~136 に示した。

1) 投与期間終了時

30 mg/kg 投与群の雄で平均赤血球血色素量の有意な低値が、125 mg/kg 投与群の雌で活性化部分トロンボプラスチン時間の有意な短縮とフィブリノーゲン量の有意な高値が認められたが、高用量群に同様な変化はみられていないことから偶発性と判断した。また、500 mg/kg 投与群の雌雄で平均赤血球血色素濃度の有意な低値が、雄で平均赤血球血色素量の有意な低値が、雌で網赤血球率の有意な高値が認められたが、いずれもごく軽度な変化であり、赤血球数等に明らかな変化はみられていないことから偶発性と判断した。さらに、雄で白血球百分率と白血球数から算出した各分画の実数において単球数の有意な高値が認められたが、ごく軽度な変化であり、白血球数及び白血球百分率等には変化はみられていないことから偶発性と判断した。

2) 回復期間終了時

500 mg/kg 投与群の雄で白血球百分率において好酸球比率の有意な低値が、雌で白

血球百分率において単球数比率の有意な高値が認められたが、いずれも投与期間終了時にみられていないことから偶発性と判断した。

7.7 血液化学検査

成績を Table 7-1~7-4 Appendix 137~148 に示した。

1) 投与期間終了時

125 mg/kg 以上の投与群の雌で総コレステロールとリン脂質の有意な高値が、500 mg/kg 投与群の雌雄で総たん白質の有意な高値が、雄で無機リン及びアルブミンの有意な高値が、雌でトリグリセライド及び塩素の有意な高値が認められた。その他には 125 mg/kg 投与群の雄で LDH の有意な低値、125mg/kg 以上の投与群の雄で AST の有意な低値と 500 mg/kg 投与群の雄で ALT とクレアチニンの有意な低値が認められたが、いずれも毒性を示唆する高値の変化ではないことから偶発性と判断した。また、125 mg/kg 以上の投与群の雄でカルシウムの有意な高値が認められたが、通常みられる程度の変化であることから偶発性と判断した。

2) 回復期間終了時

500 mg/kg 投与群の雌でトリグリセライドの有意な高値が認められた。

7.8 器官重量

成績を Table 8-1~8-8 及び Appendix 149~172 に示した。

1) 投与期間終了時

被験物質投与によると考えられる変化が肝臓及び腎臓に認められた。

肝臓 : 500 mg/kg 投与群の雌雄に絶対及び相対重量の有意な高値が、125 mg/kg 投与群の雌に絶対重量の有意な高値が、125 mg/kg 投与群の雄に相対重量の有意な高値が認められた。

腎臓 : 500 mg/kg 投与群の雄に絶対及び相対重量の有意な高値が、500 mg/kg 投与群の雌に相対重量の有意な高値が認められた。

以下に示す変化については、その出現状況からいずれも被験物質投与との関連性のない変化と判断した。

脳 : 125 mg/kg 投与群の雌に相対重量の有意な低値が認められた。

脾臓 : 30 mg/kg 投与群の雄に相対重量の有意な低値が認められた。

精巣 : 500 mg/kg 投与群に絶対重量の有意な低値が認められた。

B-6354

2) 回復期間終了時

被験物質投与によると考えられる変化が肝臓に認められた。

肝臓 : 500 mg/kg 投与群の雌に相対重量の有意な高値が認められた。

以下に示す変化については、その出現状況から被験物質投与との関連性のない変化と判断した。

心臓 : 500 mg/kg 投与群の雌に相対重量の有意な高値が認められた。

7.9 剖検所見

成績を Table 9-1~9-3 及び Appendix 173~244 に示した。

1) 死亡動物

動物番号：4111 で以下の所見が認められた。

腹腔 : 血性腹水貯留が認められた。

胸腔 : 血性胸水貯留が認められた。

肝臓 : 大型化が認められた。

胃 : 腺胃暗赤色巣が認められた。

2) 投与期間終了時

被験物質投与によると考えられる変化が肝臓に認められた。

肝臓 : 500 mg/kg 投与群の雄 3 例と雌 2 例に大型化が認められた。

以下に示す変化については、その出現状況からいずれも被験物質投与との関連性のない変化と判断した。

肺 (気管支を含む) : 対照群の雌 1 例、125 mg/kg 投与群の雄 1 例に暗赤色巣が認められた。

胃 : 125 及び 500 mg/kg 投与群の雌各 1 例に腺胃暗赤色巣が認められた。

甲状腺 : 30 及び 500 mg/kg 投与群の雌各 1 例に小型化 (片側性) が認められた。

3) 回復期間終了時

被験物質投与によると考えられる変化が肝臓に認められた。

肝臓 : 500 mg/kg 投与群の雄 1 例に大型化が認められた。

7.10 病理組織学検査

成績を Table 10-1~10-7 及び Appendix 173~244 に示した。

1) 死亡動物

回腸（パイエル板含む）

：	軽微なパイエル板の萎縮が認められた。	
腎臓	：	軽微な尿細管の拡張が認められた。
肝臓	：	中等度な小葉中心性壊死と軽度なうっ血が認められた。
肺（気管支を含む）	：	軽微な限局性出血と泡沫細胞の集簇が認められた。
腸間膜リンパ節	：	軽微な萎縮が認められた。
顎下リンパ節	：	軽微な萎縮が認められた。
脾臓	：	軽微な造血の増加と白脾髄の萎縮が認められた。
胃	：	軽度な腺胃のびらんが認められた。
胸腺	：	軽微な萎縮が認められた。
甲状腺	：	鰓後体の遺残が認められた。

2) 投与期間終了時

被験物質投与によると考えられる変化が雌雄の肝臓及び甲状腺と雄の腎臓に認められた。

腎臓	：	125 mg/kg 投与群の雄 2 例に軽微な頻度の尿細管上皮細胞の好酸性小体が、500 mg/kg 投与群の雄全例に軽度な頻度の尿細管上皮細胞の好酸性小体が、また、500 mg/kg 投与群の雄 2 例に軽度な尿細管変性が認められた。
肝臓	：	剖検において肝臓の大型化がみられた 500 mg/kg 投与群の雄 3 例と雌 2 例を含め次の所見が認められた。500 mg/kg 投与群の雌雄全例に軽微あるいは軽度な小葉中心性肝細胞肥大が認められた。
甲状腺	：	125 mg/kg 投与群の雌 1 例、500 mg/kg 投与群の雄 2 例と雌 5 例に軽微な濾胞上皮細胞の肥大が認められた。

以下に示す所見については、その出現状況あるいは病理組織学的性状からいずれも偶発性の変化と判断した。なお、剖検時に肺で暗赤色巣が認められた対照群の雌 1 例、125 mg/kg 投与群の雄 1 例と甲状腺で小型化が認められた 30 及び 500 mg/kg 投与群の雌各 1 例については病理組織学検査において剖検所見に関連する異常は認められなかった。

心臓	：	対照群の雄 1 例に軽微な限局性の心筋炎が認められた。
直腸	：	対照群の雄 1 例に軽微な粘膜下の細胞浸潤が認められた。
腎臓	：	対照群の雄 2 例と雌 1 例、30 mg/kg 投与群の雄 3 例、125 mg/kg 投与群の雄 2 例、500 mg/kg 投与群の雄 3 例

と雌 2 例に軽微な再生尿細管が、対照群の雌 1 例、500 mg/kg 投与群の雄 3 例に軽微な硝子円柱が、対照群の雄 1 例と雌 4 例に、30 mg/kg 投与群の雄 5 例、125 mg/kg 投与群の雄 4 例、500 mg/kg 投与群の雄 4 例と雌 2 例に軽微な間質の鉍質沈着が、対照群の雄 2 例と雌 3 例、30 mg/kg 投与群の雄 1 例、125 mg/kg 投与群の雄 1 例、500 mg/kg 投与群の雄 3 例に軽微な間質の細胞浸潤が認められた。

- 肝臓 : 剖検において肝臓の大型化がみられた 500 mg/kg 投与群の雄 3 例と雌 2 例を含め次の所見が認められた。対照群の雄 1 例と雌 4 例、30 mg/kg 投与群の雌 4 例、125 mg/kg 投与群の雌 1 例、500 mg/kg 投与群の雌 2 例に軽微あるいは軽度な辺縁帯の空胞化が、30 mg/kg 投与群の雄 1 例、125 mg/kg 投与群の雄 1 例、500 mg/kg 投与群の雌 1 例に軽微な髓外造血が、500 mg/kg 投与群の雌 1 例に軽度な肉芽腫が、対照群の雄 4 例と雌全例、30 mg/kg 投与群の雄 4 例と雌 5 例、125 mg/kg 投与群の雄 4 例と雌 5 例、500 mg/kg 投与群の雄全例と雌 2 例に軽微あるいは軽度な微小肉芽腫が認められた。
- 前立腺 : 対照群の 4 例、500 mg/kg 投与群の 5 例に軽微あるいは軽度なリンパ球の細胞浸潤が認められた。
- 大腿部骨格筋 : 対照群の雄 1 例に軽微な細胞浸潤が認められた。
- 脾臓 : 対照群及び 500 mg/kg 投与群の雄各 1 例に軽微な造血の増加が認められた。
- 胃 : 剖検において腺胃の暗赤色巣がみられた 125 及び 500 mg/kg 投与群の雌各 1 例には軽微な腺胃のびらんが認められた。
- 甲状腺 : 対照群の雄 2 例に異所性胸腺が、500 mg/kg 投与群の雄 1 例に軽微な間質の細胞浸潤が、対照群の雌雄各 2 例、30 mg/kg 投与群の雄 1 例と雌 2 例、125 mg/kg 投与群の雄 2 例、500 mg/kg 投与群の雄 1 例と雌 3 例に鰓後体の遺残が認められた。
- 膀胱 : 500 mg/kg 投与群の雄 1 例に軽微な粘膜下の細胞浸潤が認められた。

3) 回復期間終了時

被験物質投与によると考えられる変化が雄の腎臓と甲状腺に認められた。

- 腎臓 : 500 mg/kg 投与群の雄 3 例に軽微な頻度の尿細管上皮細胞の好酸性小体が認められた。また、対照群の雄 3