

M-1308

数的異常を持つ細胞の出現率(%)によって以下のように判定した。

異常細胞の出現率	判定基準
5% 未満	陰 性 (－)
5% 以上 10% 未満	疑陽性 (±)
10% 以上	陽 性 (+)

染色体構造異常の総出現率は、ギャップを含む場合 (TAG) と含まない場合 (TA) とに分け、総合判定は後者によって行った。

異常細胞の出現率に用量依存性又は再現性が認められた場合を陽性と判定した。

7. 試験結果

7.1 細胞増殖抑制試験

7.1.1 短時間処理法

短時間処理法における代謝活性化の結果を Fig. 1-1 及び Table 1-1 に、非代謝活性化の結果を Fig. 1-2 及び Table 1-2 に示した。

1) 50%細胞増殖抑制濃度

代謝活性化では、241 µg/mL 以上の用量で 50%以上の細胞増殖抑制が認められ、50%細胞増殖抑制濃度（概略値）は 200.7 µg/mL だった。一方、非代謝活性化では、細胞増殖抑制は認められず、50%細胞増殖抑制濃度は求められなかった。

2) 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、代謝活性化及び非代謝活性化ともに 963 µg/mL 以上の用量で白桃色に変化が認められた。また、肉眼による被験物質添加に伴う析出の観察では、代謝活性化では、全ての用量で析出が認められた。一方、非代謝活性化では、60.2 µg/mL 以上の用量で析出が認められた。

3) 被験物質処理終了時の培養細胞の観察

代謝活性化では、全ての用量で析出が認められた。一方、非代謝活性化では、60.2 µg/mL 以上の用量で析出が認められた。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、代謝活性化及び非代謝活性化ともに 963 µg/mL 以上の用量では、被験物質と思われる物質が多量に存在していたため観察不能であった。また、代謝活性化では 120 µg/mL 以上、非代謝活性化では、241 µg/mL 以上の用量で細胞の浮遊、形態変化が認められた。

7.1.2 連続処理法

連続処理法における 24 時間処理の結果を Fig. 1-3 及び Table 1-3 に、48 時間処理の結果を Fig. 1-4 及び Table 1-4 に示した。

1) 50%細胞増殖抑制濃度

24 時間処理法及び 48 時間処理法ともに、単層細胞密度測定装置を用いて細胞密度の測定を行ったが、24 時間処理では 241 µg/mL 以上、48 時間処理では 120 µg/mL 以上の用量で、プレート底面に被験物質と思われる物質の固着が認められ、更に 24 時間処理では 963 µg/mL 以上、48 時間処理では 1930 µg/mL 以上の用量では、多量の固着が認められたため、これらの測定値は信頼性に欠けるものと判断した。また、その他の用量では細胞増殖抑制は認められなかったため、50%細胞増殖抑制濃度は求められなかった。

2) 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、963 µg/mL 以上の用量で白桃色に変化が認められた。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 60.2 µg/mL 以上

の用量で析出が認められた。

3) 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、60.2 µg/mL以上の用量で析出が認められた。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時間処理では963 µg/mL以上、48時間処理では481 µg/mL以上の用量で被験物質と思われる物質が多量に存在していたため、観察不能であった。また、24時間処理では241 µg/mL以上、48時間処理では241 µg/mLの用量で細胞の浮遊、形態変化が認められた。

7.2 染色体異常試験

7.2.1 短時間処理法

代謝活性化の結果を Fig. 2-1、Table 2-1 及び Table 3-1 に、非代謝活性化の結果を Fig. 2-2、Table 2-2 及び Table 3-2 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、代謝活性化では全ての用量で認められなかった。一方、非代謝活性化では963 µg/mL以上の用量で白桃色に変化が認められた。また、肉眼による被験物質添加に伴う析出の観察では、代謝活性化及び非代謝活性化ともに、全ての用量で析出が認められた。

2) 被験物質処理終了時の培養細胞の観察

代謝活性化及び非代謝活性化ともに全ての用量で析出が認められた。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、代謝活性化では60.2 µg/mL以上の用量で細胞の浮遊、形態変化が認められた。一方、非代謝活性化では全ての用量で被験物質と思われる物質が多量に存在していたため、観察不能であった。

3) 染色体構造異常

染色体構造異常の総出現率 (TA) は、代謝活性化では241 µg/mLでは0.5%、120 µg/mLでは1.0%、60.2 µg/mLでは2.5%及び30.1 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、非代謝活性化においては、3850 µg/mLでは2.5%、1930 µg/mLでは1.5%、963 µg/mLでは1.0%及び481 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構造異常の総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、その総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) の総出現率は、代謝活性化では241 µg/mLでは0%、120 µg/mLでは0.5%、60.2 µg/mLでは0%及び30.1 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。一方、非代謝活性化においては、3850 µg/mLで

は 15.0%、1930 $\mu\text{g/mL}$ では 6.5%、963 $\mu\text{g/mL}$ では 6.0%及び 481 $\mu\text{g/mL}$ では 3.0%と 3850 $\mu\text{g/mL}$ で陽性の判定基準である 10%以上、1930 $\mu\text{g/mL}$ 及び 963 $\mu\text{g/mL}$ で疑陽性の判定基準である 5%以上 10%未満、481 $\mu\text{g/mL}$ で陰性の判定基準である 5%未満であったため、陽性と判定した。

なお、陰性対照群においては染色体数的異常の総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。

7.2.2 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、963 $\mu\text{g/mL}$ 以上の用量で白桃色に変化が認められた。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が認められた。

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が認められた。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 963 $\mu\text{g/mL}$ 以上の用量で被験物質と思われる物質が多量に存在していたため、観察不能であった。また、24 時間処理では 241 $\mu\text{g/mL}$ 以上、48 時間処理では 481 $\mu\text{g/mL}$ 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

染構造異常の総出現率 (TA) は、24 時間処理では 3850 $\mu\text{g/mL}$ では 0%、1930 $\mu\text{g/mL}$ では 0%、963 $\mu\text{g/mL}$ では 0.5%、481 $\mu\text{g/mL}$ では 0.5%及び 241 $\mu\text{g/mL}$ 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、3850 $\mu\text{g/mL}$ では 0.5%、1930 $\mu\text{g/mL}$ では 0.5%、963 $\mu\text{g/mL}$ では 0%、481 $\mu\text{g/mL}$ では 0%及び 241 $\mu\text{g/mL}$ 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構造異常の総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、その総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) の総出現率は、24 時間処理では 3850 $\mu\text{g/mL}$ では 4.0%、1930 $\mu\text{g/mL}$ では 3.5%、963 $\mu\text{g/mL}$ では 3.5%、481 $\mu\text{g/mL}$ では 4.5%及び 241 $\mu\text{g/mL}$ では 6.5%と 241 $\mu\text{g/mL}$ で疑陽性の判定基準である 5%以上 10%未満であったため、疑陽性と判定した。また、48 時間処理では 3850 $\mu\text{g/mL}$ では 30.5%、1930 $\mu\text{g/mL}$ では 21.0%、963 $\mu\text{g/mL}$

M-1308

では 30.5%、481 $\mu\text{g/mL}$ では 27.0%及び 241 $\mu\text{g/mL}$ では 18.5%と全ての用量で陽性の判定基準である 10%以上であったため、陽性と判定した。

なお、陰性対照群においては染色体数的異常の総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、染色体構造異常を有する細胞の総出現率のうちギャップを含まない場合（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。

一方、倍数体の総出現率においては、短時間処理法の非代謝活性化及び連続処理法の 48 時間処理で用量依存性を伴う増加が、連続処理法の 24 時間処理で最低用量において増加が認められたため、陽性と判定した。陽性と判定した処理法のうち、異常細胞の総出現率に用量依存性が認められた短時間処理法の非代謝活性化及び 48 時間処理について、染色体数的異常誘発性の強さの指標値である PD20 値¹⁾（観察細胞の 20% に数的異常が見られる用量）を求めたが、それぞれ 5.3 mg/mL 及び 0.36 mg/mL であった。

なお、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総出現率は 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。従って、試験は適切に実施されたと考えられた。

倍数体細胞の形成機序には、核内倍加、細胞融合、細胞質分裂の阻害等が知られている。本試験においては核内倍加体（endoreduplication）や細胞融合の際に特徴的に認められる細粉化（pulverization）や premature chromosome condensation は全く観察されなかったことから、本試験における倍数体の出現頻度の増加は、これらの機序に起因するものとは考え難い。IARC の分類において Group 1 とされている asbestos は、細胞膜を貫通することによって細胞質分裂を物理的に阻害し、倍数体の出現頻度を増加させると報告⁶⁾をされている。同様に、Vitamine B₂ が不溶性の針状結晶を形成した場合に、倍数体の出現頻度が増加することが Kawaguchi 等⁷⁾によって報告されている。本被験物質も培養液中では析出を生じ、顕微鏡観察において微細な針状結晶が細胞膜周辺に認められ、細胞質内に 2 核、3 核が存在する細胞が散見される（Photo 3 及び 4）ことから、asbestos や Vitamine B₂ と同様に細胞質分裂の物理的阻害が倍数体の出現頻度増加の機序であることが推測される。

本被験物質は化学構造上、benzidine (4,4'-diaminobiphenyl, CAS Registry No.92-87-5) を母核とするが、benzidine は IARC の Group 1 に分類される発癌物質で、強い染色体構造異常の誘発性を有する⁸⁾。また、本被験物質の類縁化合物である 3,3'-dimethylbenzidine は、細菌を用いる復帰突然変異試験⁹⁾及びマウスリンフォーマ TK 試験¹⁰⁾において陽性を示し、CHO 細胞を用いた試験においても姉妹染色分体交換と染色体構造異常を誘発することが報告されている¹¹⁾。しかしながら、本被験物質は

M-1308

官能基であるアミノ基に acetoacetyl が付加されているため、DNA との反応性を失い、染色体構造異常を誘発しなかったものと推測される。

以上の結果から、アゾイック CC5 は本試験条件下において染色体構造異常は誘発しないが、染色体数的異常を誘発すると結論した。

Table 1-1

Cell-growth ratio in the cell-growth inhibition test in cultured Chinese hamster cells treated with Azoic CC5

[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		-	-	-	-	
		Test article	30.1	83	83	-	-	+	+
				83		-	-	+	+
			60.2	83	83	-	-	+	+
				83		-	-	+	+
			120	66	66	+	-	+	+
				66		+	-	+	+
			241	33	42	+	-	+	+
				50		+	-	+	+
			481	16	25	++	-	+	+
				33		++	-	+	+
			963	16	16	g)	Whitish pink	+	+
				16		g)	Whitish pink	+	+
1930	16	25	g)	Whitish pink	+	+			
	33		g)	Whitish pink	+	+			
3850	33	33	g)	Whitish pink	+	+			
	33		g)	Whitish pink	+	+			

Concentration of 50% cell-growth inhibition : **200.7** $\mu\text{g/mL}$

NC: Negative Control(water for injection)

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 suspensions. Precipitates/crystals were observed ¹⁾immediately after addition of the test suspensions 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

+ : 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 Azoic CC5

[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	-	-	-	-	
			99		-	-	-	-	
		Test article	30.1	99	99	-	-	-	-
				99		-	-	-	-
			60.2	99	99	-	-	+	+
				99		-	-	+	+
			120	99	99	-	-	+	+
				99		-	-	+	+
			241	116	108	+	-	+	+
				99		+	-	+	+
481	116	108	++	-	+	+			
	99		++	-	+	+			
963	116	117	g)	Whitish pink	+	+			
	116		g)	Whitish pink	+	+			
1930	99	99	g)	Whitish pink	+	+			
	99		g)	Whitish pink	+	+			
3850	99	108	g)	Whitish pink	+	+			
	116		g)	Whitish pink	+	+			

Concentration of 50% cell-growth inhibition : above **3850.0** $\mu\text{g/mL}$

NC: Negative Control(water for injection)

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 suspensions. Precipitates/crystals were observed ¹⁾immediately after addition of the test suspensions 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

+ : 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 Azoic CC5
[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	-	-	-	-	
			99		-	-	-	-	
		Test article	30.1	83	91	-	-	-	-
				99		-	-	-	-
			60.2	99	99	-	-	+	+
				99		-	-	+	+
			120	99	99	-	-	+	+
				99		-	-	+	+
			241	99	99	+	-	+	+
				99		+	-	+	+
481	99	99	++	-	+	+			
	99		++	-	+	+			
963	116	108 ^{h)}	g)	Whitish pink	+	+			
	99		g)	Whitish pink	+	+			
1930	116	108 ^{h)}	g)	Whitish pink	+	+			
	99		g)	Whitish pink	+	+			
3850	116	108 ^{h)}	g)	Whitish pink	+	+			
	99		g)	Whitish pink	+	+			
Concentration of 50% cell-growth inhibition : above					481.0	$\mu\text{g/mL}$			

NC: Negative Control(water for injection)

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 suspensions. Precipitates/crystals were observed ¹⁾immediately after addition of the test suspensions 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

+ : Presence of precipitates

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

h) These values were judged to be unreliable since adherence of precipitation at the bottom of the plastic plate inhibited accurate measurement of the cell density.

Table 1-4

Cell-growth ratio in the cell-growth inhibition test in cultured Chinese hamster cells treated with Azoic CC5
[Continuous treatment: 48hr]

Cell-growth inhibition test									
Study type		Treatment and Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Cell-growth ratio		Observation ^{o)}				
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	-	-	-	-	
			100		-	-	-	-	
		30.1	100	100	-	-	-	-	-
			100		-	-	-	-	
		60.2	100	100	-	-	+	+	+
			100		-	-	+	+	
		120	100	100	-	-	+	+	+
			100		-	-	+	+	
		241	100	100	+	-	+	+	+
			100		+	-	+	+	
		481	100	96	g)	-	+	+	+
			91		g)	-	+	+	
		963	100	100	g)	Whitish pink	+	+	+
			100		g)	Whitish pink	+	+	
		1930	116	112 ^{h)}	g)	Whitish pink	+	+	+
			108		g)	Whitish pink	+	+	
		3850	108	104 ^{h)}	g)	Whitish pink	+	+	+
			100		g)	Whitish pink	+	+	
Concentration of 50% cell-growth inhibition : above 963.0 $\mu\text{g/mL}$									

NC: Negative Control(water for injection)

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 suspensions. Precipitates/crystals were observed ¹⁾immediately after addition of the test suspensions 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

+ : Presence of precipitates

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

h) These values were judged to be unreliable since adherence of precipitation at the bottom of the plastic plate inhibited accurate measurement of the cell density.

Table 2-1

Cell-growth ratio in the chromosome aberration test in cultured Chinese hamster cells treated with Azoic CC5

[Short-term treatment: +S9 mix]

Chromosome aberration test									
Study type		Treatment and Concentration ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	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		-	-	-	-	
		Test article	30.1	83	75	-	-	+	+
				66		-	-	+	+
			60.2	66	66	+	-	+	+
				66		+	-	+	+
		120	66	66	+	-	+	+	
			66		+	-	+	+	
		241	33	33	++	-	+	+	
			33		++	-	+	+	
PC	100	100	-	-	-	-			
	100		-	-	-	-			

NC: Negative Control(water for injection)

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

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 suspensions. Precipitates/crystals were observed ¹⁾ immediately after addition of the test suspensions 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

+ : Presence of precipitates

Table 2-2

Cell-growth ratio in the chromosome aberration test in cultured Chinese hamster cells treated with Azoic CCS

[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	-	-	-	-	
			99		-	-	-	-	
		Test article	481	85	85	g)	-	+	+
				85		g)	-	+	+
			963	99	85	g)	Whitish pink	+	+
				71		g)	Whitish pink	+	+
		1930	85	92	g)	Whitish pink	+	+	
			99		g)	Whitish pink	+	+	
		3850	99	92	g)	Whitish pink	+	+	
			85		g)	Whitish pink	+	+	
		PC	85	85	-	-	-	-	
			85		-	-	-	-	

NC: Negative Control(water for injection)

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 suspensions. Precipitates/crystals were observed ¹⁾ immediately after addition of the test suspensions and ²⁾ at the end of treatment.

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

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 2-3

Cell-growth ratio in the chromosome aberration test in cultured Chinese hamster cells treated with Azoic CC5
[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)	
-	24-0	0 (NC)	100 ^{a)}	100	-	-	-	-	
			125		-	-	-	-	
		Test article	241	99	88	+	-	+	+
				99		+	-	+	+
			481	99	88	++	-	+	+
				99		++	-	+	+
			963	99	88	g)	Whitish pink	+	+
				99		g)	Whitish pink	+	+
		1930	99	88	g)	Whitish pink	+	+	
			99		g)	Whitish pink	+	+	
		3850	125	111	g)	Whitish pink	+	+	
			125		g)	Whitish pink	+	+	
		PC	125	111	-	-	-	-	
			125		-	-	-	-	

NC: Negative Control(water for injection)

PC: Positive Control(mitomycin C : 0.05 $\mu\text{g/mL}$)

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 suspensions. Precipitates/crystals were observed ¹⁾immediately after addition of the test suspensions 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

+ : Presence of precipitates and crystals

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

Table 2-4

Cell-growth ratio in the chromosome aberration test in cultured Chinese hamster cells treated with Azoic CC5
[Continuous treatment : 48hr]

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)	
-	48-0	0 (NC)	100 ^{a)}	100	-	-	-	-	
			109		-	-	-	-	
		Test article	241	81	78	-	-	+	+
				81		-	-	+	+
			481	72	69	+	-	+	+
				72		+	-	+	+
			963	81	78	g)	Whitish pink	+	+
				81		g)	Whitish pink	+	+
		1930	81	78	g)	Whitish pink	+	+	
			81		g)	Whitish pink	+	+	
		3850	81	78	g)	Whitish pink	+	+	
			81		g)	Whitish pink	+	+	
		PC	90	82	-	-	-	-	
			81		-	-	-	-	

NC: Negative Control(water for injection)

PC: Positive Control(mitomycin C : 0.05 $\mu\text{g/mL}$)

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 suspensions. Precipitates/crystals were observed ¹⁾immediately after addition of the test suspensions 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

+ : Presence of precipitates and crystals

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

4. 要約

アゾイック CC5 の 28 日間反復経口投与毒性試験を 6 週齢の Sprague-Dawley 系 SPF ラット [CrI:CD(SD)、1 群雌雄各 6 又は 12 匹] を用いて実施した。投与量は 0 (0.5 w/v% メチルセルロース水溶液：対照群)、8、40、200 及び 1000 mg/kg/day とし、また、対照群と 1000 mg/kg 投与群の一部の個体 (1 群雌雄各 6 匹) については投与期間終了後 2 週間の休薬期間を設け、毒性変化の可逆性を検討した。

一般状態、詳細な一般状態の観察、機能検査、握力、自発運動量及び血液学検査に被験物質投与の影響は認められなかった。

体重では、低値が 40 mg/kg 以上の投与群の雌雄でみられ、投与期間中の体重増加量にも低値が認められた。

摂餌量では、低値が 40 mg/kg 以上の投与群の雌雄でみられた。

尿検査では、摂水量の低値が 40 mg/kg 以上の投与群の雄と 1000 mg/kg 投与群の雌で、尿量の低値が 1000 mg/kg の投与群の雄でみられた。

血液化学検査では、リン脂質の高値が 40 mg/kg 投与群の雄と 1000 mg/kg 投与群の雌雄で、高値傾向が 200 mg/kg 投与群の雄で、総コレステロールの高値が 1000 mg/kg 投与群の雌雄でみられた。

病理学検査では、肝臓において相対重量の高値が 40 mg/kg 以上の投与群の雄と 200 mg/kg 以上の投与群の雌で、組織学的に小葉中心性の肝細胞肥大が 40 mg/kg 以上の投与群の雌雄でみられた。

上述したいずれの変化も休薬により、軽減あるいは消失し回復性を示した。

以上の結果、アゾイック CC5 の本試験条件下における無影響量は主として雌雄で体重及び摂餌量の低値と病理学組織学検査における小葉中心性肝細胞肥大、雄で肝臓の相対重量の変化から、雌雄とも 8 mg/kg/day と推定された。

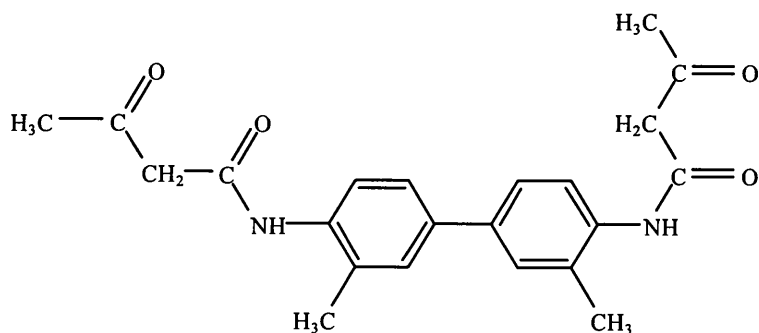
6. 試験材料及び方法

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。本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	:	アゾイック CC5
英名	:	Azoic CC5
別名	:	ナフトール AS-G
化学名	:	N,N'-(3,3'-dimethylbiphenyl-4,4'-ylene)di (acetoacetamide)
官報公示整理番号	:	5-2275
CAS 番号	:	91-96-3
分子量	:	380.44
分子式	:	C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₄
構造式	:	



ロット番号	:	4EPBE
純度	:	96.9 %
入手量	:	500 g
性状	:	薄い黄色粉末
保存方法	:	冷暗所（冷蔵庫内、実測値 3~8°C）、密栓
安定性	:	投与終了後、被験物質について購入先で安定性の確認を実施し、安定であることが確認された（添付資料2）。
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、手袋を着用した。 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た。
返却	:	被験物質 1 g を保存試料として保存した。分析用に小分けした被験物質の残量は廃棄した。また、被験物質の残量は安定性を確認後、すべて廃棄した。

6.10 投与量及びその設定根拠並びに群構成

アゾイック CC5 の 0 (0.5 w/v%メチルセルロース水溶液)、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⁾、主な変化として雄では 100 mg/kg 以上の投与群の摂餌量と器官重量、雌では 300 mg/kg 以上の投与群の血液化学検査に変化がみられたものの、被験物質投与との関連性は明らかではなかった。したがって、本試験における投与量は、毒性試験ガイドラインにおける最大投与量である 1000 mg/kg を最高用量とし、公比 5 で除して、200、40 及び 8 mg/kg の 4 用量を設定した。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	8	1.6	5	雄	6	2001~2006	-	-
				雌	6	2101~2106	-	-
中用量群	40	8	5	雄	6	3001~3006	-	-
				雌	6	3101~3106	-	-
高用量群	200	40	5	雄	6	4001~4006	-	-
				雌	6	4101~4106	-	-
最高用量群	1000	200	5	雄	6	5001~5006	6	5007~5012
				雌	6	5101~5106	6	5107~5112

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とした。

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

全個体について投与期間中は毎日 3 回、投与前と投与直後及び約 2 時間後(ただし、休日と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を実施する時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、全個体について、投与開始前に 1 回、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、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、

7. 試験結果

7.1 一般状態

成績を Table 1-1~1-3 及び Appendix 1~12 に示した。

1) 投与期間

いずれの動物においても、投与期間を通じて異常は認められなかった。

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 13~84 に示した。

1) 投与期間

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

2) 回復期間

いずれの検査項目においても異常はなく、1000 mg/kg 投与群と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 85~91 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対照群との間に有意差は認められなかった。

2) 回復2週

着地開脚幅の有意な高値が 1000 mg/kg 投与群の雄で認められた。

7.2.3 握力

成績を Table 2-21、2-22 及び Appendix 92~98 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の間に有意差は認められなかった。

2) 回復2週

1000 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。

7.2.4 自発運動量

成績を Fig. 1~4、Table 2-23、2-24 及び Appendix 99~105 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つ

た。

2) 回復 2 週

測定開始後 0~60 分の測定値の有意な高値が 1000 mg/kg 投与群の雌で認められた。

7.3 体重

成績を Fig.5、Table 3-1、3-2 及び Appendix 106~112 に示した。

1) 投与期間

有意な低値が 40 mg/kg 投与群の雄で投与 7 から 28 日、雌で投与 24 及び 28 日に、200 及び 1000 mg/kg 投与群の雄で投与 4 から 28 日に、200 mg/kg 投与群の雌で投与 28 日に、1000 mg/kg 投与群の雌で投与 17 から 28 日に認められた。更に、投与期間中での体重増加量の有意な低値が 40 mg/kg 以上の投与群の雌雄で認められた。なお、8 mg/kg 投与群の雄についても投与期間を通じて低値傾向が認められた。

2) 回復期間

有意な低値が 1000 mg/kg 投与群の雄で回復 1 から 14 日、雌で回復 1 日に認められた。

7.4 摂餌量

成績を Fig.6、Table 4-1、4-2 及び Appendix 113~119 に示した。

1) 投与期間

有意な低値が 40 mg/kg 以上の投与群の雄で投与 7 から 28 日に、40 mg/kg 投与群の雌で投与 21 及び 28 日に、200 mg/kg 投与群の雌で投与 7 及び 28 日に、1000 mg/kg 投与群の雌で投与 21 及び 28 日に認められた。

2) 回復期間

有意な低値が 1000 mg/kg 投与群の雄で回復 7 日に認められた。

7.5 尿検査（摂水量含む）

成績を Table 5-1~5-8 及び Appendix 120~140 に示した。

1) 投与 4 週

各被験物質投与群の雌雄とも定性的項目で異常は認められなかった。また、摂水量の有意な低値が 40 mg/kg 以上の投与群の雄と 1000 mg/kg 投与群の雌で、尿量の有意な低値が 1000 mg/kg の雄で認められた。

2) 回復 2 週

1000 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 141~161 に示した。

1) 投与期間終了時

フィブリノーゲン量の有意な低値が 40 mg/kg 以上の投与群の雄で、プロトロビン時間の有意な短縮が 40 及び 200 mg/kg 投与群の雄で、ヘモグロビン量とヘマトクリット値の有意な高値と網赤血球率の有意な低値が 200 mg/kg 投与群の雄で認められた。また、白血球百分率で好酸球比率と分画実数で好酸球数の有意な低値が 40 及び 200 mg/kg 投与群の雄で認められた。

2) 回復期間終了時

赤血球数の有意な低値と網赤血球率の有意な高値が 1000 mg/kg 投与群の雄で、血小板数の有意な高値が 1000 mg/kg 投与群の雌で認められた。また、白血球百分率でリンパ球比率の有意な低値と好中球比率の有意な高値が 1000 mg/kg 投与群の雄で、好酸球比率の有意な低値が 1000 mg/kg 投与群の雌で、分画実数で好中球数の有意な高値が 1000 mg/kg 投与群の雄で認められた。

7.7 血液化学検査

成績を Table 7-1~7-4 及び Appendix 162~175 に示した。

1) 投与期間終了時

ALT の有意な低値が 40 mg/kg 以上の投与群の雌で、ALP の有意な低値が 40 mg/kg 投与群の雌と 1000 mg/kg 投与群の雄で、総コレステロールの有意な高値が 1000 mg/kg 投与群の雌雄で、リン脂質の有意な高値が 40 mg/kg 投与群の雄と 1000 mg/kg 投与群の雌雄で、高値傾向が 200 mg/kg の投与群の雄で認められた。

2) 回復期間終了時

AST、ALT 及びカリウムの有意な高値が 1000 mg/kg 投与群の雄で認められた。

7.8 器官重量

成績を Table 8-1~8-8 及び Appendix 176~203 に示した。

1) 投与期間終了時

最終体重の有意な低値が 40 mg/kg 以上の投与群の雌雄で認められた。

脳	:	絶対重量の有意な低値が 1000 mg/kg 投与群の雄に、相対重量の有意な高値が 200 mg/kg 投与群の雄と 40 mg/kg 以上の投与群の雌に認められた。
胸腺	:	絶対重量の有意な低値が 200 mg/kg 以上の投与群の雄に認められた。
心臓	:	相対重量の有意な高値が 200 mg/kg 投与群の雄に認められた。
肝臓	:	相対重量の有意な高値が 40 mg/kg 以上の投与群の雄と 200 mg/kg 以上の投与群の雌に認められた。

- 脾臓 : 絶対重量の有意な低値が 200 mg/kg 以上の投与群の雄と 1000 mg/kg 投与群の雌に認められた。
- 腎臓 : 絶対重量の有意な低値が 1000 mg/kg 投与群の雌に認められた。
- 副腎 : 絶対重量の有意な低値が各被験物質投与群の雄と 1000 mg/kg 投与群の雌に、相対重量の有意な低値が 40 mg/kg 投与群の雄に認められた。
- 精巣 : 相対重量の有意な高値が 40 及び 200 mg/kg 投与群に認められた。
- 卵巣 : 絶対重量の有意な低値が 200 mg/kg 投与群に認められた。

2) 回復期間終了時

最終体重の有意な低値が 1000 mg/kg 投与群の雄で認められた。

- 脳 : 相対重量の有意な高値が 1000 mg/kg 投与群の雄に認められた。
- 心臓 : 絶対重量の有意な低値が 1000 mg/kg 投与群の雄に認められた。
- 脾臓 : 相対重量の有意な高値が 1000 mg/kg 投与群の雄に認められた。
- 副腎 : 絶対重量の有意な低値が 1000 mg/kg 投与群の雄に認められた。
- 精巣 : 相対重量の有意な高値が 1000 mg/kg 投与群に認められた。
- 精巣上体 : 相対重量の有意な高値が 1000 mg/kg 投与群に認められた。

7.9 剖検所見

成績を Table 9-1、9-2 及び Appendix 204~287 に示した。

1) 投与期間終了時

- 腎臓 : 陥凹巣が対照群及び 40 mg/kg 投与群の雌各 1 例に、のう胞が 200 mg/kg 投与群の雄 1 例と 40 及び 1000 mg/kg 投与群の雌各 1 例に認められた。
- 脾臓 : 白色巣が 40 mg/kg 投与群の雄 1 例に認められた。
- 精巣 : 小型化が 40 mg/kg 投与群の 1 例に認められた。

2) 回復期間終了時

- 腎臓 : 陥凹巣が 1000 mg/kg 投与群の雌雄各 1 例に、のう胞が 1000 mg/kg 投与群の雌 1 例に認められた。
- 脾臓 : 白色巣が 1000 mg/kg 投与群の雌 1 例に認められた。

胃 : 前胃の隆起巣が 1000 mg/kg 投与群の雌 1 例に、腺胃の暗赤色巣が対照群の雌 1 例に認められた。

7.10 病理組織学検査

成績を Table 10-1~10-4 及び Appendix 204~287 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で認められた。

肝臓 : 軽微な小葉中心性の肝細胞肥大が 40 mg/kg 投与群の雄 3 例と雌 2 例、200 mg/kg 投与群の雄 3 例と雌全例、1000 mg/kg 投与群の雌 5 例で、軽度な小葉中心性の肝細胞肥大が 200 mg/kg 投与群の雄 3 例、1000 mg/kg 投与群の雄全例と雌 1 例で認められた。

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。

眼球 : 軽微な網膜異形成が 1000 mg/kg 投与群の雄 1 例で、軽微な網膜萎縮が対照群の雄 1 例、1000 mg/kg 投与群の雌 1 例で認められた。

心臓 : 軽微な限局性の心筋炎が対照群の雌 1 例で認められた。

腎臓 : 軽微な再生尿細管が対照群の雌雄各 3 例、1000 mg/kg 投与群の雄 5 例と雌 1 例で認められた。

肝臓 : 軽微あるいは軽度な門脈周囲の肝細胞の空胞化が対照群の雄 2 例と雌 5 例、8 mg/kg 投与群の雄 1 例と雌全例、40 mg/kg 投与群の雌 4 例、200 mg/kg 投与群の雌 5 例、1000 mg/kg 投与群の雌 3 例で、軽微な限局性壊死が 40 mg/kg 投与群の雌 1 例で、軽微な微小肉芽腫が対照群の雌雄各 5 例、8 mg/kg 投与群の雄 2 例と雌全例、40 mg/kg 投与群の雄全例と雌 5 例、200 mg/kg 投与群の雄 3 例と雌全例、1000 mg/kg 投与群の雄 2 例と雌 5 例で認められた。

肺 : 軽微な肺胞マクロファージの出現が対照群の雌雄各 1 例、1000 mg/kg 投与群の雌 1 例で認められた。

下垂体 : 軽微な異所性頭蓋咽頭組織が対照群の雄 1 例で認められた。

前立腺 : 軽微な間質性細胞浸潤が 1000 mg/kg 投与群の 2 例で認められた。

脾臓 : 軽微な髓外造血が対照群の雄 1 例と雌 2 例で認められた。また、軽微な線維性被膜が 1000 mg/kg 投与群の雄 1 例で認められた。

- 甲状腺 : 軽微な異所性胸腺が対照群の雄 1 例で認められた。
 精巢 : 軽度な精子肉芽腫が 40 mg/kg 投与群の 1 例で認められた。

以下に示す所見については、剖検時にみられた肉眼所見に相当すると考えられた。

- 腎臓 : 陥凹巣がみられた対照群及び 40 mg/kg 投与群の雌各 1 例では軽微な線維化が認められた。のう胞がみられた 200 mg/kg 投与群の雄 1 例と 40 及び 1000 mg/kg 投与群の雌各 1 例では軽微なのう胞が認められた。
 脾臓 : 白色巣がみられた 40 mg/kg 投与群の雄 1 例では軽微な線維性被膜が認められた。
 精巢 : 小型化がみられた 40 mg/kg 投与群の 1 例では高度な精細管萎縮が認められた。

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で認められた。

- 肝臓 : 軽微な小葉中心性の肝細胞肥大が 1000 mg/kg 投与群の雄 3 例、軽度な小葉中心性の肝細胞肥大が 1000 mg/kg 投与群の雄 1 例で認められた。

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。

- 腎臓 : 1000 mg/kg 投与群の雌 1 例では軽微な再生尿細管が認められた。
 肝臓 : 軽微な門脈周囲の肝細胞の空胞化が対照群の雌 2 例、1000 mg/kg 投与群の雄 1 例と雌 2 例で、軽微あるいは軽度の微小肉芽腫が対照群の雄 4 例と雌全例、1000 mg/kg 投与群の雄 2 例と雌全例で認められた。

以下に示す所見については、剖検時にみられた肉眼所見に相当すると考えられた。

- 腎臓 : 陥凹巣がみられた 1000 mg/kg 投与群の雄 1 例では軽微なのう胞が認められた。陥凹巣とのう胞がみられた 1000 mg/kg 投与群の雌 1 例では軽微なのう胞と線維化が認められた。
 脾臓 : 白色巣がみられた 1000 mg/kg 投与群の雌 1 例では軽度な炎症性細胞浸潤が認められた。
 胃 : 前胃の隆起巣がみられた 1000 mg/kg 投与群の雌 1 例では軽微な異所性胃底腺が認められた。また、腺胃の暗赤色巣がみられた対照群の雌 1 例では軽微な腺胃のびらんが認められた。

8. 考察

アゾイック CC5 の 28 日間反復経口投与毒性試験を 6 週齢の Sprague-Dawley 系 SPF ラット [CrI:CD(SD)、1 群雌雄各 6 又は 12 匹] を用いて実施した。投与量は 0 (0.5 w/v% メチルセルロース水溶液：対照群)、8、40、200 及び 1000 mg/kg/day とし、また、対照群と 1000 mg/kg 投与群の一部の個体 (1 群雌雄各 6 匹) については投与期間終了後 2 週間の休薬期間を設け、毒性変化の可逆性を検討した。

一般状態、詳細な一般状態の観察及び握力では異常は認められなかった。

機能検査では、回復 2 週に着地開脚幅の高値が 1000 mg/kg 投与群の雄でみられたが、ごく軽度な変化であり、投与 4 週には認められていないことから偶発性の変化と判断した。

自発運動量では、回復 2 週に測定開始後 0~60 分の測定値の高値が 1000 mg/kg 投与群の雌でみられたが、ごく軽度な変化であり、10 分間隔の測定値に異常は認められていないことから偶発性の変化と判断した。

体重では、投与期間中に低値が 40 mg/kg 以上の投与群の雌雄でみられ、体重増加量も低値を示し、被験物質投与の影響が疑われた。また、8 mg/kg 投与群の雄で投与期間を通じて低値傾向が認められたが、ごく軽度な変化であった。なお、回復期間中も低値が 1000 mg/kg 投与群の雄で回復 1 から 14 日、雌で回復 1 日にみられたが、体重増加量は雌雄とも対照群と差がなく回復性が認められた。

摂餌量では、投与期間中に低値が 40 mg/kg 以上の投与群の雌雄でみられ、被験物質投与の影響が疑われた。なお、回復期間中も低値が 1000 mg/kg 投与群の雄で回復 7 日にみられたが回復 14 日には変化がみられていないことから、回復性が認められた。

尿検査では、投与 4 週に摂水量の低値が 40 mg/kg 以上の投与群の雄と 1000 mg/kg 投与群の雌で、尿量の低値が 1000 mg/kg 投与群の雄でみられ、被験物質投与の影響が疑われた。なお、これらの変化は休薬により、いずれも消失し、回復性が認められた。

血液学検査では、投与期間終了時にフィブリノーゲン量の低値が 40 mg/kg 以上の投与群の雄でみられたがごく軽度な変化であり、投与量との関連性がないことから偶発性と判断した。また、プロトロンビン時間の短縮が 40 及び 200 mg/kg 投与群の雄で、ヘモグロビン量とヘマトクリット値の高値及び網赤血球率の低値が 200 mg/kg 投与群の雄で、更に、白血球百分率及び実数において好酸球の低値が 40 及び 200 mg/kg 投与群の雄でみられたが、いずれも軽度であり、最高用量群ではみられていないことから偶発性の変化と判断した。なお、回復期間終了時にも赤血球数の低値と網赤血球率の高値が 1000 mg/kg 投与群の雄で、血小板数の高値が 1000 mg/kg 投与群の雌で、更に白血球百分率においてリンパ球比率の低値と好中球比率の高値が 1000 mg/kg 投与群の雄で、好酸球比率の低値が 1000 mg/kg 投与群の雌で、各分画の実数で好中球数の高値が 1000 mg/kg 投与群の雄でみられたが、いずれの変化もごく軽度であり、投与期間終了時には認められていないことから偶発性の変化と判断した。