

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

試験番号

2 週 間 : ラット/0193 ; マウス/0194

1 3 週 間 : ラット/0220 ; マウス/0221

CAS No. 120 - 12 - 7

平成 6 年 9 月 30 日

中 央 労 働 災 害 防 止 協 会  
日本バイオアッセイ研究センター

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

試験番号

2 週 間 : ラット/0193 ; マウス/0194

13 週 間 : ラット/0220 ; マウス/0221

本 文

目次	頁
要旨	1
アントラセンについて	2
I 試験材料	4
I-1 被験物質の使用ロット等	4
I-2 被験物質の同一性・安定性	4
I-2-1 同一性	4
I-2-2 安定性	4
I-3 試験動物	5
II 試験方法	6
II-1 投与	6
II-1-1 投与経路、投与方法及び投与期間	6
II-1-2 投与濃度	6
II-1-3 被験物質の濃度調製	6
II-1-4 調製時における濃度測定	6
II-1-5 調製被験物質中のアントラセンの安定性	7
II-1-6 被験物質の摂取量	7
II-2 動物管理	8
II-2-1 群分け及び個体識別方法	8
II-2-2 飼育条件	8
II-3 観察・検査項目及び方法	9
II-3-1 動物の一般状態の観察	9

Ⅱ-3-2	体重測定	9
Ⅱ-3-3	摂餌量測定	9
Ⅱ-3-4	血液学的検査	9
Ⅱ-3-5	血液生化学的検査	10
Ⅱ-3-6	尿検査	10
Ⅱ-3-7	病理学的検査	10
Ⅱ-4	数値処理と統計学的方法	11
Ⅱ-5	試資料の保管	12
Ⅲ	試験成績	13
Ⅲ-1	ラットを用いた試験	13
Ⅲ-1-1	2週間試験(試験番号:0193)	13
Ⅲ-1-2	13週間試験(試験番号:0220)	18
Ⅲ-2	マウスを用いた試験	24
Ⅲ-2-1	2週間試験(試験番号:0194)	24
Ⅲ-2-2	13週間試験(試験番号:0221)	28
Ⅳ	考察及びまとめ	34
Ⅴ	文献	40

## TABLES

TABLE 1 EXPERIMENTAL DESIGN AND MATERIALS AND METHODS  
IN THE FEEDING STUDIES OF ANTHRACENE

TABLE 2 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE RAT  
(TWO-WEEK STUDY)

TABLE 3 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE RAT  
(TWO-WEEK STUDY)

TABLE 4 FOOD CONSUMPTION IN MALE RAT(TWO-WEEK STUDY)

TABLE 5 FOOD CONSUMPTION IN FEMALE RAT(TWO-WEEK STUDY)

TABLE 6 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE RAT  
(THIRTEEN-WEEK STUDY)

TABLE 7 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE RAT  
(THIRTEEN-WEEK STUDY)

TABLE 8 FOOD CONSUMPTION IN MALE RAT(THIRTEEN-WEEK STUDY)

TABLE 9 FOOD CONSUMPTION IN FEMALE RAT(THIRTEEN-WEEK STUDY)

TABLE 10 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE MOUSE  
(TWO-WEEK STUDY)

TABLE 11 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE MOUSE  
(TWO-WEEK STUDY)

TABLE 12 FOOD CONSUMPTION IN MALE MOUSE(TWO-WEEK STUDY)

TABLE 13 FOOD CONSUMPTION IN FEMALE MOUSE(TWO-WEEK STUDY)

TABLES(CONTINUED)

TABLE 14 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE MOUSE  
(THIRTEEN-WEEK STUDY)

TABLE 15 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE MOUSE  
(THIRTEEN-WEEK STUDY)

TABLE 16 FOOD CONSUMPTION IN MALE MOUSE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

TABLE 17 FOOD CONSUMPTION IN FEMALE MOUSE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

## FIGURES

FIGURE 1 BODY WEIGHT CHANGES : RAT : MALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 2 BODY WEIGHT CHANGES : RAT : FEMALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 3 FOOD CONSUMPTION : RAT : MALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 4 FOOD CONSUMPTION : RAT : FEMALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 5 BODY WEIGHT CHANGES : MOUSE : MALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 6 BODY WEIGHT CHANGES : MOUSE : FEMALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 7 FOOD CONSUMPTION : MOUSE : MALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 8 FOOD CONSUMPTION : MOUSE : FEMALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)



## PHOTOGRAPHS

- PHOTOGRAPH 1 SPLEEN, NORMAL, A : RED PULP, B : WHITE PULP  
2-WEEK STUDY, RAT, MALE, CONTROL, ANIMAL No. 0193-1001  
(H&E, ×150)
- PHOTOGRAPH 2 SPLEEN, A : ENGORGEMENT ERYTHROCYTE(RED PULP), B : WHITE PULP  
2-WEEK STUDY, RAT, MALE, 50000ppm, ANIMAL No. 0193-1502  
(H&E, ×150)
- PHOTOGRAPH 3 BONE MARROW, NORMAL  
2-WEEK STUDY, RAT, FEMALE, CONTROL, ANIMAL No. 0193-2002  
(H&E, ×150)
- PHOTOGRAPH 4 BONE MARROW, ERYTHROPOIESIS : INCREASED  
2-WEEK STUDY, RAT, FEMALE, 50000ppm, ANIMAL No. 0193-2501  
(H&E, ×150)
- PHOTOGRAPH 5 KIDNEY, NORMAL  
2-WEEK STUDY, RAT, MALE, CONTROL, ANIMAL No. 0193-1002  
(H&E, ×150)
- PHOTOGRAPH 6 KIDNEY, EOSINOPHILIC BODY(↑)  
2-WEEK STUDY, RAT, MALE, 50000ppm, ANIMAL No. 0193-1502  
(H&E, ×150)
- PHOTOGRAPH 7 SPLEEN, NORMAL, A : RED PULP, B : WHITE PULP  
2-WEEK STUDY, MOUSE, FEMALE, CONTROL, ANIMAL No. 0194-2002  
(H&E, ×150)
- PHOTOGRAPH 8 SPLEEN, A : EXTRAMEDULLARY HEMATOPOIESIS(RED PULP), B : WHITE PULP  
2-WEEK STUDY, MOUSE, FEMALE, 50000ppm, ANIMAL No. 0194-2501  
(H&E, ×150)
- PHOTOGRAPH 9 SPLEEN , DARK(400ppm : 1201, 2000ppm : 1301, 10000ppm : 1401, 50000ppm : 1501)  
13-WEEK STUDY(No. 0220), RAT, MALE,
- PHOTOGRAPH 10 SPLEEN , DARK(400ppm : 2201, 2000ppm : 2301, 10000ppm : 2401, 50000ppm : 2501)  
13-WEEK STUDY(No. 0220), RAT, FEMALE,
- PHOTOGRAPH 11 SPLEEN, NORMAL, A : RED PULP, B : WHITE PULP  
13-WEEK STUDY, RAT, FEMALE, CONTROL, ANIMAL No. 0220-2004  
(H&E, ×150)



PHOTOGRAPHS(CONTINUED)

PHOTOGRAPH 12 SPLEEN, A : ENGORGEMENT ERYTHROCYTE(RED PULP), B : WHITE PULP  
13-WEEK STUDY, RAT, FEMALE, 50000ppm, ANIMAL No. 0220-2508  
(H&E, ×150)

PHOTOGRAPH 13 SPLEEN , DARK(50000ppm : 1501)  
13-WEEK STUDY(No. 0221), MOUSE, MALE,

PHOTOGRAPH 14 SPLEEN , DARK(50000ppm : 2501)  
13-WEEK STUDY(No. 0221), MOUSE, FEMALE,

PHOTOGRAPH 15 SPLEEN, NORMAL, A : RED PULP, B : WHITE PULP  
13-WEEK STUDY, MOUSE, FEMALE, CONTROL, ANIMAL No. 0221-2008  
(H&E, ×150)

PHOTOGRAPH 16 SPLEEN, A : EXTRAMEDULLARY HEMATOPOIESIS(RED PULP), B : WHITE PULP  
13-WEEK STUDY, MOUSE, FEMALE, 50000ppm, ANIMAL No. 0221-2506  
(H&E, ×150)

PHOTOGRAPH 17 URINARY BLADDER , NORMAL(SUPERFICIAL CELL, ↑ )  
13-WEEK STUDY, MOUSE, FEMALE, CONTROL, ANIMAL No. 0221-2005  
(H&E, ×300)

PHOTOGRAPH 18 URINARY BLADDER , HYALINE DROPLET DEGENERATION : SUPERFICIAL CELL OF  
TRANSITIONAL EPITHELIUM( ↑ )  
13-WEEK STUDY, MOUSE, FEMALE, 50000ppm, ANIMAL No. 0221-2507  
(H&E, ×300)

PHOTOGRAPH 19 URINARY BLADDER , HYALINE DROPLET DEGENERATION : SUPERFICIAL CELL OF  
TRANSITIONAL EPITHELIUM( ↑ )  
13-WEEK STUDY, MOUSE, FEMALE, 50000ppm, ANIMAL No. 0221-2507  
(PHOSPHOTUNGSTIC ACID HEMATOXYRIN STAIN, ×300)

PHOTOGRAPH 20 URINARY BLADDER , HYALINE DROPLET DEGENERATION : SUPERFICIAL CELL OF  
TRANSITIONAL EPITHELIUM( ↑ )  
13-WEEK STUDY, MOUSE, FEMALE, 50000ppm, ANIMAL No. 0221-2507  
(MASSON TRICHROME STAIN, ×300)

APPENDIXES

APPENDIX A 1-1 BODY WEIGHT CHANGES (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)  
RAT : MALE

APPENDIX A 1-2 BODY WEIGHT CHANGES (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)  
RAT : FEMALE

APPENDIX A 1-3 BODY WEIGHT CHANGES (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)  
MOUSE : MALE

APPENDIX A 1-4 BODY WEIGHT CHANGES (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)  
MOUSE : FEMALE

APPENDIX A 2-1 FOOD CONSUMPTION CHANGES (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)  
RAT : MALE

APPENDIX A 2-2 FOOD CONSUMPTION CHANGES (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)  
RAT : FEMALE

APPENDIX A 2-3 FOOD CONSUMPTION CHANGES (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)  
MOUSE : MALE

APPENDIX A 2-4 FOOD CONSUMPTION CHANGES (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)  
MOUSE : FEMALE

APPENDIX A 3-1 CHEMICAL INTAKE CHANGES (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)  
RAT : MALE

APPENDIX A 3-2 CHEMICAL INTAKE CHANGES (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)  
RAT : FEMALE

APPENDIX A 3-3 CHEMICAL INTAKE CHANGES (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)  
MOUSE : MALE

APPENDIX A 3-4 CHEMICAL INTAKE CHANGES (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)  
MOUSE : FEMALE

APPENDIX A 4-1 HEMATOLOGY (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)  
RAT : MALE

APPENDIX A 4-2 HEMATOLOGY (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)  
RAT : FEMALE

APPENDIX A 4-3 HEMATOLOGY (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)  
MOUSE : MALE

APPENDIX A 4-4 HEMATOLOGY (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)  
MOUSE : FEMALE

## APPENDIXES (CONTINUED)

- APPENDIX A 5-1 BIOCHEMISTRY (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)  
RAT : MALE
- APPENDIX A 5-2 BIOCHEMISTRY (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)  
RAT : FEMALE
- APPENDIX A 5-3 BIOCHEMISTRY (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)  
MOUSE : MALE
- APPENDIX A 5-4 BIOCHEMISTRY (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)  
MOUSE : FEMALE
- APPENDIX A 6-1 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)  
RAT : MALE : SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX A 6-2 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)  
RAT : FEMALE : SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX A 6-3 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)  
MOUSE : MALE : SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX A 6-4 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)  
MOUSE : FEMALE : SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX A 7-1 ORGAN WEIGHT (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY),ABSOLUTE  
RAT : MALE
- APPENDIX A 7-2 ORGAN WEIGHT (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY),ABSOLUTE  
RAT : FEMALE
- APPENDIX A 7-3 ORGAN WEIGHT (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY),ABSOLUTE  
MOUSE : MALE
- APPENDIX A 7-4 ORGAN WEIGHT (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY),ABSOLUTE  
MOUSE : FEMALE
- APPENDIX A 8-1 ORGAN WEIGHT (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY),RELATIVE  
RAT : MALE
- APPENDIX A 8-2 ORGAN WEIGHT (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY),RELATIVE  
RAT : FEMALE
- APPENDIX A 8-3 ORGAN WEIGHT (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY),RELATIVE  
MOUSE : MALE
- APPENDIX A 8-4 ORGAN WEIGHT (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY),RELATIVE  
MOUSE : FEMALE

APPENDIXES (CONTINUED)

APPENDIX A 9-1 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS  
(TWO-WEEK STUDY : SUMMARY) RAT : MALE : SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX A 9-2 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS  
(TWO-WEEK STUDY : SUMMARY) RAT : FEMALE : SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX A 9-3 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS  
(TWO-WEEK STUDY : SUMMARY) MOUSE : MALE : SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX A 9-4 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS  
(TWO-WEEK STUDY : SUMMARY) MOUSE : FEMALE : SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX A 10-1 IDENTITY AND PURITY OF ANTHRACENE PERFORMED  
AT THE JAPAN BIOASSAY LABORATORY  
(TWO-WEEK STUDIES)

APPENDIX A 10-2 STABILITY OF ANTHRACENE AT THE JAPAN BIOASSAY LABORATORY  
(TWO-WEEK STUDIES)

APPENDIX A 10-3 ANALYSIS OF ANTHRACENE CONCENTRATION IN FORMULATED DIETS  
OF THE TWO-WEEK STUDIES

APPENDIX A 10-4 STABILITY OF ANTHRACENE IN FORMULATED DIETS  
OF THE TWO-WEEK STUDIES

## APPENDIXES (CONTINUED)

- APPENDIX B 1-1 BODY WEIGHT CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)  
RAT : MALE
- APPENDIX B 1-2 BODY WEIGHT CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)  
RAT : FEMALE
- APPENDIX B 1-3 BODY WEIGHT CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)  
MOUSE : MALE
- APPENDIX B 1-4 BODY WEIGHT CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)  
MOUSE : FEMALE
- APPENDIX B 2-1 FOOD CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)  
RAT : MALE
- APPENDIX B 2-2 FOOD CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)  
RAT : FEMALE
- APPENDIX B 2-3 FOOD CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)  
MOUSE : MALE
- APPENDIX B 2-4 FOOD CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)  
MOUSE : FEMALE
- APPENDIX B 3-1 CHEMICAL INTAKE CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)  
RAT : MALE
- APPENDIX B 3-2 CHEMICAL INTAKE CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)  
RAT : FEMALE
- APPENDIX B 3-3 CHEMICAL INTAKE CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)  
MOUSE : MALE
- APPENDIX B 3-4 CHEMICAL INTAKE CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)  
MOUSE : FEMALE
- APPENDIX B 4-1 HEMATOLOGY (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)  
RAT : MALE
- APPENDIX B 4-2 HEMATOLOGY (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)  
RAT : FEMALE
- APPENDIX B 4-3 HEMATOLOGY (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)  
MOUSE : MALE
- APPENDIX B 4-4 HEMATOLOGY (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)  
MOUSE : FEMALE

## APPENDIXES (CONTINUED)

- APPENDIX B 5-1 BIOCHEMISTRY (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)  
RAT : MALE
- APPENDIX B 5-2 BIOCHEMISTRY (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)  
RAT : FEMALE
- APPENDIX B 5-3 BIOCHEMISTRY (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)  
MOUSE : MALE
- APPENDIX B 5-4 BIOCHEMISTRY (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)  
MOUSE : FEMALE
- APPENDIX B 6-1 URINALYSIS (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)  
RAT : MALE
- APPENDIX B 6-2 URINALYSIS (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)  
RAT : FEMALE
- APPENDIX B 6-3 URINALYSIS (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)  
MOUSE : MALE
- APPENDIX B 6-4 URINALYSIS (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)  
MOUSE : FEMALE
- APPENDIX B 7-1 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)  
RAT : MALE : SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX B 7-2 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)  
RAT : FEMALE : SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX B 7-3 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)  
MOUSE : FEMALE : DEAD AND MORIBUND ANIMALS
- APPENDIX B 7-4 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)  
MOUSE : MALE : SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX B 7-5 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)  
MOUSE : FEMALE : SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX B 8-1 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY),ABSOLUTE  
RAT : MALE
- APPENDIX B 8-2 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY),ABSOLUTE  
RAT : FEMALE
- APPENDIX B 8-3 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY),ABSOLUTE  
MOUSE : MALE
- APPENDIX B 8-4 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY),ABSOLUTE  
MOUSE : FEMALE

APPENDIXES (CONTINUED)

APPENDIX B 9-1 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY),RELATIVE  
RAT : MALE

APPENDIX B 9-2 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY),RELATIVE  
RAT : FEMALE

APPENDIX B 9-3 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY),RELATIVE  
MOUSE : MALE

APPENDIX B 9-4 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY),RELATIVE  
MOUSE : FEMALE

APPENDIX B 10-1 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS  
(THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY) RAT : MALE SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX B 10-2 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS  
(THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY) RAT : FEMALE SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX B 10-3 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS  
(THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY) MOUSE : FEMALE DEAD AND MORIBUND ANIMALS

APPENDIX B 10-4 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS  
(THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY) MOUSE : MALE SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX B 10-5 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS  
(THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY) MOUSE : FEMALE SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX B 11-1 IDENTITY AND PURITY OF ANTHRACENE PERFORMED  
AT THE JAPAN BIOASSAY LABORATORY (THIRTEEN-WEEK STUDIES)

APPENDIX B 11-2 STABILITY OF ANTHRACENE AT THE JAPAN BIOASSAY LABORATORY  
(THIRTEEN-WEEK STUDIES)

APPENDIX B 11-3 ANALYSIS OF ANTHRACENE CONCENTRATION IN FORMULATED DIETS  
OF THE THIRTEEN-WEEK STUDIES

APPENDIX B 11-4 STABILITY OF ANTHRACENE IN FORMULATED DIETS  
OF THE THIRTEEN-WEEK STUDIES

APPENDIX C 1 METHODS FOR HEMATOLOGY, BIOCHEMISTRY AND URINALYSIS

APPENDIX C 2 UNITS AND DECIMAL PLACE FOR HEMATOLOGY AND BIOCHEMISTRY



## 要旨

アントラセンのがん原性を検索する目的で、ラットとマウスを用いて経口投与(混餌試験)による2年間(104週間)の試験を実施するに当たり、その投与濃度を設定するために、本予備試験(2週間試験、13週間試験)を実施した。投与濃度はラットとマウスの2週間試験と13週間試験で雌雄とも50000ppm、10000ppm、2000ppm、400ppm、80ppm及び0ppm(対照群)とした。

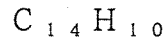
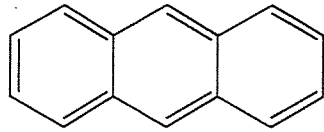
ラットでは2週間試験の結果、アントラセンの投与により雌雄とも50000ppm群で体重増加の抑制、400ppm以上の群で貧血傾向が認められた。また、雄では脾臓、肝臓及び腎臓の組織に変化が認められ、雌では脾臓、肝臓及び骨髄に変化が認められた。しかし、これらの変化は重篤なものでなかったため13週間試験における投与濃度は2週間試験と同じく、50000ppm、10000ppm、2000ppm、400ppm、80ppmとした。13週間試験では、雌の10000ppm以上の群で体重増加の抑制、雄の400ppm以上、雌の80ppm以上の群で貧血傾向が認められた。また、病理組織学的検査で雄では骨髄、脾臓、肝臓及び腎臓の組織に変化が認められ、雌では骨髄及び脾臓に変化が認められた。しかし、これらの変化は重篤なものでなかったためがん原性試験における最高投与濃度は13週間試験と同じく雌雄とも50000ppmとし、以下20000ppm、8000ppmとした。(公比2.5)

マウスでは2週間試験の結果、アントラセンの投与により雌雄の50000ppm群及び雌の10000ppm群で体重増加の抑制、雄では10000ppm以上の群、雌では2000ppm以上の群で貧血傾向が認められた。また、雌雄とも脾臓における髄外造血が認められた。しかし、これらの変化は重篤なものでなかったため13週間試験における投与濃度は2週間試験と同じく、50000ppm、10000ppm、2000ppm、400ppm、80ppmとした。13週間試験では、雌雄の10000ppm以上の群で体重増加の抑制が認められ、特に雄の50000ppm群の抑制が著しく、対照群と比較して、78%であった。また、雌雄の10000ppm以上の群で血液学的検査で貧血傾向が認められ、雌雄とも脾臓及び膀胱の組織に変化が認められた。しかし、これらの血液学及び病理組織学的変化は軽度のものであった。これらの結果より、がん原性試験における投与濃度を次のように決定した。雄では50000ppm群で飼料摂取不足によると考えられる体重増加の抑制が著しいため、最高投与群を20000ppmとし、以下8000ppm、3200ppm(公比2.5)とした。雌では最高投与群を50000ppmとし、以下20000ppm、8000ppmとした。

(公比2.5)

## アントラセンについて

### <構造式、分子量>



分子量：178.3

CAS.No.：120-12-7

### <名称>

名称：Anthracene(アントラセン)

### <物理化学的性状等>

性状：無色の粉末または板状結晶

沸点：340℃

融点：217～218℃

比重： $d_4^{17}$ 1.25

溶解性：水に不溶、各種有機溶剤に可溶

保存条件：火気のない冷暗所に保存

### <用途>

アントラキノン、アントラキノン染料、カーボンブラック、殺虫剤及び木材防腐剤の原料、シンチレーション計数器等に用いられている。

(文献 1, 2)

### <生産量>

日本では、1991年に粗製アントラセンとして約5,000t生産された。

(文献 1)

## &lt; 許容濃度 &gt;

TLV 0.1mg/m<sup>3</sup> (暫定) (文献 2)

## &lt; 法的規制 &gt;

労働安全衛生法上の規制はされていない。

## &lt; 人への障害例 &gt;

アントラセン塗布後、紫外線の照射で皮膚に発赤を生じる。(文献 3)

## &lt; 動物試験 &gt;

動物の試験による報告を次表に示す。

試験の種類	動物種	投与期間	投与経路	内 容	文献番号
LD <sub>50</sub>	マウス	1回	腹腔内	LD <sub>50</sub> ≥ 430 mg/kg	(文献 4)
急性	ハリスマウス	40分	経皮	アントラセン 0.1g/L(メタノール)溶液を1匹当たり40μL塗布。 ・6時間後～48時間後まで発赤を生じた。	(文献 5)
慢性	ハリスマウス	38週間	経皮	週5回 アントラセン 0.1g/L(メタノール)溶液を1匹当たり40μL塗布後、週5日紫外線照射。 ・溶媒対照群と差は認められず。	(文献 5)
	ラット	78週間	経口	投与開始時は5mgのちに15mgのアントラセンをオリーブ油により週6日投与(total 4.5mg/rat) ・発がん性なし。	(文献 6)

## I 試験材料

### I-1 被験物質の使用ロット等

#### 使用ロット番号

2週間試験：304P4138

13週間試験：304P4138

製造元：関東化学株式会社

純度：97.9%以上

### I-2 被験物質の同一性・安定性

#### I-2-1 同一性

試験に使用したアントラセンの同一性の確認は、マススペクトル及び赤外吸収スペクトルを測定することにより行った。その結果、マススペクトルでは文献値と同じ分子量にピークが確認され、赤外吸収スペクトルでは文献と同じ波数にピークが確認された。これらの結果より、試験で使用した被験物質はアントラセンの特性を示した。なお、それらの結果について、2週間試験は Appendix A 10-1、13週間試験は Appendix B 11-1に示した。

#### I-2-2 安定性

被験物質として使用したアントラセンについて使用開始前及びその使用終了時にガスクロマトグラフ分析を実施することにより確認した。その結果、試験実施前後において被験物質のガスクロマトグラムに変化はみられず、試験実施中アントラセンは安定であった。なお、それらの結果について、2週間試験は Appendix A 10-2、13週間試験は Appendix B 11-2に示した。

### I - 3 試験動物

動物は2週間試験、13週間試験ともに日本チャールス・リバー（株）のF344/DuCrj(Fischer)ラット(SPF)及びCrj:BDF<sub>1</sub>マウス(SPF)の雌雄を使用した。

2週間試験では、ラット、マウスとも雌雄各75匹を生後4週齢で導入し、各1週間の検疫、馴化を経た後、発育順調で一般状態の観察所見に異常を認めなかった動物から、体重値の中央値に近い雌雄各60匹(投与開始時体重範囲、ラット雄:114~127g、雌:94~104g/マウス雄:22.1~24.7g、雌:17.9~20.2g)を選別し、試験に供した。

13週間試験では、ラット、マウスとも雌雄各75匹を生後4週齢で導入し、各1週間の検疫、馴化を経た後、発育順調で一般状態の観察所見に異常を認めなかった動物から、体重値の中央値に近い雌雄各60匹(投与開始時体重範囲、ラット雄:117~131g、雌:98~108g/マウス雄:21.8~24.3g、雌:18.2~20.3g)を選別し、試験に供した。

なお、F344/DuCrj(Fischer)ラット及びCrj:BDF<sub>1</sub>マウスを選択した理由は、がん原性試験で使用する動物種及び系統に合わせた。

## Ⅱ 試験方法

### Ⅱ－１ 投与

#### Ⅱ－１－１ 投与経路、投与方法及び投与期間

2週間試験、13週間試験において、経口投与（アントラセンを混合した粉末飼料の自由摂取）で、2週間試験では14日間連続、13週間試験では92～94日間連続投与した。なお、アントラセンと混合した粉末飼料は1週毎に冷蔵保存（約8℃）したもの、又は新たに調整したものと交換した。

#### Ⅱ－１－２ 投与濃度

ラット、マウスの2週間試験及び13週間試験では、雌雄ともに最高用量を50000ppmに設定し、それ以下 10000ppm、2000ppm、400ppm、80ppm（公比5.0）とした。

#### Ⅱ－１－３ 被験物質の濃度調製

2週間、13週間の各試験とも、アントラセンと粉末飼料を混合して各設定濃度になるように調製した。なお、各試験における濃度のppm表示は、重量対重量比とした。また、試験期間中の調製は2週間試験では試験期間を通じて1回、13週間試験では試験期間を通じて2回行い、調製したアントラセン調製被検物質は冷蔵保存した。

#### Ⅱ－１－４ 調製時における濃度測定

投与したアントラセンの混合飼料の濃度は、2週間、13週間試験の投与開始時にガスクロマトグラフ分析を実施した。その結果、設定濃度に対して2週間試験では88.5～101%、13週間試験では89.6～110%であった。

なお、それらの結果について、2週間試験は Appendix A 10-3、13週間試験は Appendix B 11-3に示した。

## Ⅱ－１－５ 調製被験物質中のアントラセンの安定性

粉末飼料と混合調製したアントラセンの安定性については、投与条件下及び保存条件下において各濃度のガスクロマトグラフ分析を実施することにより確認した。その結果、2週間試験の被験物質調製8日後（投与条件下：約24℃）及び3週間後（保存条件下：約8℃）の濃度と投与開始時の濃度に変化はみられなかった。また、13週間試験の調製約2ヶ月後（保存条件下：約8℃）の濃度と投与開始時の濃度に変化はみられず、投与期間中及び保存期間中の調製被験物質は安定であった。

なお、それらの結果について、2週間試験は Appendix A 10-4、13週間試験は Appendix B 11-4に示した。

## Ⅱ－１－６ 被験物質の摂取量

2週間、13週間試験のアントラセンの摂取量は、摂餌量にアントラセンの設定濃度を乗じ、体重で除して算出した。

なお、それらの結果について、2週間試験は Appendix A 3-1～4、13週間試験は Appendix B 3-1～4に示した。



## Ⅱ－２ 動物管理

### Ⅱ－２－１ 群分け及び個体識別方法

供試動物の各投与群への割り当ては、動物を体重の重い順より各群に1匹ずつ割り当て、二巡目からは各群の動物の体重の合計を比較して小さい群より順に体重の重い動物を割り当てることにより群間の体重の偏りを小さくする群分け方法(適正層別方式)により実施した(文献 7)。

動物の個体識別は、検疫期間及び馴化期間においては色素塗布により、投与期間においては耳パンチにより識別し、またケージにも個体識別番号を付した。

なお、ラットとマウスは、バリア区域内の独立した室にそれぞれ収容し、各室に試験番号、動物種及び動物番号を表示し、他の試験及び異種動物と区別した。

### Ⅱ－２－２ 飼育条件

動物は、各試験ともに、全飼育期間を通して、温度 $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 10\%$ 、明暗サイクル:12時間点灯(8:00~20:00)/12時間消灯(20:00~8:00)、換気回数15~17回/時の環境下で飼育した。

動物のケージへの収容は全て単飼(ステンレス製二連網ケージ、ラット:170W×294D×176H mm、マウス:112W×212D×120H mm)とし、ケージ交換は2週間毎に実施した。

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

飲水は、全飼育期間を通して、市水(秦野市水道局供給)をフィルターろ過した後、紫外線滅菌し、自動給水により自由摂取させた。

## Ⅱ－３ 観察・検査項目及び方法

### Ⅱ－３－１ 動物の一般状態の観察

各試験とも、毎日1回、動物の一般症状または生死状況の観察を行った。

### Ⅱ－３－２ 体重測定

2週間試験では、0日（投与開始直前）、1日（1週1日）、3日（1週3日）、7日（1週7日）、10日（2週3日）及び14日（2週7日）に体重を測定した。

13週間試験では、0日（投与開始直前）に測定し、以後1週毎に体重を測定した。

### Ⅱ－３－３ 摂餌量測定

2週間試験では週2回摂餌量を測定した。

13週間試験では週1回摂餌量を測定した。

### Ⅱ－３－４ 血液学的検査

ラットの2週間試験では雌雄とも1群当たり5匹の動物について、13週間試験では雌雄とも定期解剖まで生存したすべての動物について定期解剖時の剖検直前にエーテル麻酔下で腹大動脈よりEDTA-2K及びクエン酸ナトリウム入り採血管に採血した血液を用いて血液学的検査を行った。なお、クエン酸ナトリウム入り採血管に採血した血液はプロトロンビン時間および活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）の測定に用いた。

マウスの2週間試験では雌雄とも1群当たり5匹の動物について、13週間試験では雌雄とも定期解剖まで生存したすべての動物について定期解剖時の剖検直前にエーテル麻酔下で腹太動脈よりEDTA-2K入り採血管に採血した血液を用いて血液学的検査を行った。

なお、13週間試験においては、検査対象動物は解剖日前日より（18時間以上）絶食させた。

検査項目は Table 1、検査方法は Appendix C 1に示した。

### Ⅱ－３－５ 血液生化学的検査

2週間試験では、定期解剖時に雌雄とも1群当たり5匹の動物について、剖検直前にエーテル麻酔下で腹大動脈より採血したヘパリンリチウム加血液を遠心分離して得られた血漿を用いて血液生化学的検査を行った。

13週間試験では、雌雄各群ともに定期解剖時まで生存した全動物について、剖検直前にエーテル麻酔下で腹大動脈より採血したヘパリンリチウム加血液を遠心分離して得られた血漿を用いて血液生化学的検査を行った。

なお、13週間試験においては、検査対象動物は解剖日前日より絶食(18時間以上)させた。

検査項目は Table 1、検査方法は Appendix C 1に示した。

### Ⅱ－３－６ 尿検査

13週間試験の投与最終週まで生存した動物について、新鮮尿を採取し、尿検査を行った。

検査項目は Table 1、検査方法は Appendix C 1に示した。

### Ⅱ－３－７ 病理学的検査

#### (1) 剖検

各試験とも解剖時に全動物について肉眼的に観察を行った。

#### (2) 臓器重量

2週間試験では雌雄とも1群当たり5匹の動物についてTable 1に示した臓器の湿重量を測定した。

13週間試験では雌雄とも定期解剖時まで生存した動物についてTable 1に示した臓器の湿重量を測定した。

#### (3) 病理組織学的検査

2週間試験では雌雄各群の2匹の動物の臓器を、13週間試験では全動物の臓器を10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液にて固定後、Table 1に示した臓器及び肉眼的に変化のみられた臓器を、パラフィン包埋、薄切、ヘマトキシリン・エオジン染色し、光学顕微鏡にて病理組織学的に検査した。

## Ⅱ - 4 数値処理と統計学的方法

### (1) 数値の取扱いと表示

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

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

アントラセンの摂取量は摂餌量にアントラセンの設定濃度を乗じ体重で除した値をg/kg/dayを単位として小数点以下第4位を四捨五入して小数点以下第3位まで表示した。

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

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

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

### (2) 母数の取扱い

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

臓器重量、血液学的検査及び血液生化学的検査は定期解剖時まで生存した動物を対象(2週間試験では雌雄各群毎に5匹)とし、欠測となったデータについて母数より除いた。13週間試験の尿検査は、投与最終週まで生存した動物を対象に行い、検査数を母数とした。病理組織学的検査データは、各群の有効動物数(供試動物より事故等の理由で外された動物数を減じた動物数)を母数とした。

### (3) 統計方法

本試験で得られた測定値は対照群を基準群として、まずBartlett法により等分散の予備検定を行い、その結果が等分散の場合には一元配置分散分析を行い、群間に有意差が認められた場合はDunnettの多重比較により平均値の検定を行った。また、分散の等しくない場合には各群を通して測定値を順位化して、Kruskal-Wallisの順位検定を行い、群間に有意差が認められた場合にはDunnett(型)の多重比較を行った。

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

なお、13週間試験の病理組織学的検査の非腫瘍性病変及び尿検査の各項目については所見のみられなかった動物をグレード0として $\chi^2$ 検定を行った。

## II-5 試資料の保管

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

### Ⅲ 試験成績

#### Ⅲ-1 ラットを用いた試験

##### Ⅲ-1-1 2週間試験（試験番号：0193）

###### 1. 動物の状態観察

###### （1）生死状況

雌雄とも、全ての群で動物の死亡は認められなかった。

###### （2）一般状態

雌雄の投与群にアントラセンの投与と関連があると思われる所見は認められなかった。

###### （3）体重

体重の推移を Table 2.3、Appendix A 1-1～2に示した。

雌雄の 50000ppm群では、体重増加の抑制がみられた。なお、最終計測日における50000ppm群の体重値は雌雄ともに対照群の94%であった。

###### （4）摂餌量

摂餌量を Table 4.5、Appendix A 2-1～2に示した。

雄では初回計測時に2000ppm以上の群で忌避よるとと思われる摂餌量の低値が認められた。（対照群と比較して2000ppm、10000ppm、50000ppm群でそれぞれ93、84、76%）

雌では50000ppm群で投与期間を通じて摂餌量の低値（64～94%）が認められ、初回計測時に2000ppm以上の群で忌避よるとと思われる摂餌量の低値が認められた。（対照群と比較して2000ppm、10000ppm、50000ppm群でそれぞれ89、79、64%）

###### （5）被験物質摂取量

体重、摂餌量及び設定濃度より算出された被験物質摂取量を Appendix A 3-1～2に示した。なお、群間の摂取量の差は、概ね設定濃度の公比(5)を反映した値となった。

## 2. 血液学的検査、血液生化学的検査

## (1) 血液学的検査

定期解剖時に行った血液学的検査の結果をAppendix A 4-1~2に示し、アントラセンの投与により影響が現れたと思われる検査項目の平均値を以下の表に抜粋した。

## 0193 血液学的検査結果

群(ppm)	0	80	400	2000	10000	50000
<b>雄</b>						
動物数	5	5	5	5	5	5
赤血球数( $10^6 / \mu\text{L}$ )	8.00	7.83	7.74	7.62 **	7.48 **	7.61 **
ヘモグロビン濃度(g/dL)	14.9	14.7	14.5	14.1 *	13.9 **	14.0 **
ヘマトクリット値(%)	43.2	42.2	41.5 *	41.0 **	40.4 **	41.1 **
A P T T(sec)	20.0	20.6	20.8	21.3	22.0	22.3 *
<b>雌</b>						
動物数	5	5	5	5	5	5
赤血球数( $10^6 / \mu\text{L}$ )	8.16	8.14	7.52 **	7.35 **	7.48 **	7.35 **
ヘモグロビン濃度(g/dL)	15.5	15.6	14.3 **	13.9 **	13.8 **	13.7 **
MCHC(g/dL)	35.4	35.6	35.3	35.1	34.4 **	34.8
血小板数( $10^3 / \mu\text{L}$ )	833	840	900	930	985 *	952
ヘマトクリット値(%)	43.8	43.8	40.3 **	39.5 **	40.1 **	39.4 **
網赤血球比(%)	33	33	56 **	82 **	80 **	89 **
プロトロンビン時間(sec)	12.6	12.6	12.3	12.4	12.3	12.0 **
有意差	* ; $p \leq 0.05$ **: $p \leq 0.01$ Test of Dunnett					

雄では、ヘマトクリット値の減少が400ppm以上の群で、赤血球数及びヘモグロビン濃度の減少が2000ppm以上の群で、A P T T(活性化部分トロンボプラスチン時間)の延長が50000ppm群で認められた。

雌では、赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の減少と網赤血球比の増加が400ppm以上の群で認められた。また、プロトロンビン時間の短縮が50000ppm群で認められた。その他、MCHCの減少傾向及び血小板数の増加傾向が若干であるが認められた。



## (2) 血液生化学的検査

定期解剖時に行った血液生化学的検査の結果を Appendix A 5-1～2 に示し、アントラセンの投与により影響が現れたと思われる検査項目の平均値を以下の表に抜粋した。

## 0 1 9 3 血液生化学的検査結果

群(ppm)		0	80	400	2000	10000	50000
雄							
	動物数	5	5	5	5	5	5
GPT活性(IU/L)		17	17	15	15	15	13**
雌							
	動物数	5	5	5	5	5	5
総ビリルビン(mg/dL)		0.58	0.57	0.55	0.64	0.71	0.85*
GPT活性(IU/L)		16	16	15	14	14	13**
総蛋白(g/dL)		5.7	5.7	5.5	5.6	5.7	6.0**
総コレステロール(mg/dL)		64	70	71	72	81**	83**
リン脂質(mg/dL)		114	125	127	124	140**	142**
カルシウム(mg/dL)		10.4	10.6	10.8	10.8	10.8	11.2**
有意差		* ; $p \leq 0.05$ **; $p \leq 0.01$ Test of Dunnett					

雄では、GPT活性の低下が50000ppm群で認められた。

雌では、GPT活性の低下と総蛋白、総ビリルビン及びカルシウムの増加が50000ppm群で認められ、総コレステロール及びリン脂質の増加が10000ppm以上の群で認められた。

## 3. 病理学的検査

## (1) 剖検

解剖時に観察された剖検所見を Appendix A 6-1~2に示した。

雌雄の投与群に、投与と関連があると思われる所見は認められなかった。

## (2) 臓器重量

定期解剖時に測定した臓器の実重量と体重比を Appendix A 7-1~2 (実重量)、A 8-1~2 (体重比)に示し、アントラセンの投与により影響が現れたと思われる臓器重量(実重量及び体重比)の平均値を以下の表に抜粋した。

## 0 1 9 3 臓器重量測定結果

群(ppm)		0	80	400	2000	10000	50000
雄							
動物数		5	5	5	5	5	5
解剖日体重(g)		171	171	165	167	166	158 *
実重量(g)							
腎臓		1.360	1.365	1.382	1.422	1.430	1.421
脾臓		0.392	0.409	0.427 *	0.451 **	0.457 **	0.429 *
肝臓		6.816	6.673	6.583	7.440	8.246 **	8.921 **
体重比(%)							
腎臓		0.794	0.798	0.836	0.851	0.861 *	0.899 **
脾臓		0.229	0.239	0.259 **	0.271 **	0.276 **	0.272 **
肝臓		3.975	3.900	3.982	4.444 *	4.967 **	5.640 **
雌							
動物数		5	5	5	5	5	5
解剖日体重(g)		124	125	128	121	120	119
実重量(g)							
脾臓		0.304	0.316	0.361 **	0.397 **	0.382 **	0.372 **
肝臓		4.425	4.777	5.058 *	5.036	5.737 **	6.225 **
体重比(%)							
脾臓		0.245	0.254	0.282 **	0.382 **	0.317 **	0.313 **
肝臓		3.561	3.824	3.949 **	4.158 **	4.761 **	5.231 **
有意差		* ; p ≤ 0.05    **; p ≤ 0.01    Test of Dunnett					

雄では、脾臓と肝臓の実重量及び体重比が投与群で高値を示し、腎臓の体重比が高値を示した。その他、副腎及び脳の体重比が高値を示したが、これらは体重増加の抑制に伴った相対的な変化であり、アントラセンの投与の影響とは思われなかった。

雌では、脾臓及び肝臓の実重量及び体重比が投与群で高値を示した。

(3) 病理組織学的検査

病理組織学的所見を Appendix A 9-1~2に示した。

雄では、腎臓の尿細管上皮内に好酸体の出現をすべての投与群で認め、脾臓の赤血球充満を2000ppm以上の群に、肝細胞の中心性の腫脹を10000ppm以上の群に認めた。

雌では、骨髄での赤血球造血亢進、脾臓の赤血球充満及び肝細胞の中心性の腫脹を10000ppm以上の群に認めた。

Ⅲ－１－２　１３週間試験（試験番号：０２２０）

１．動物の状態観察

（１）生死状況

動物の死亡は、雌雄ともに全ての群で認められなかった。

（２）一般状態

雌雄の投与群にはアントラセンの投与と関連があると思われる所見は認められなかった。

（３）体重

体重の推移を Table 6, 7、Figure 1, 2、Appendix B 1-1～2に示した。

雄では対照群と比較していずれの投与群にも顕著な差は認められなかった。

雌では10000ppm以上の群で、体重増加の抑制がみられた。なお、最終計測日における体重値は50000ppm群で対照群の87%、10000ppm群で対照群の92%であった。

（４）摂餌量

摂餌量を Table 8, 9、Figure 3, 4、Appendix B 2-1～2に示した。

雄では対照群と比較していずれの投与群にも顕著な差は認められなかった。

雌では10000ppm以上の群で投与期間を通じて対照群と比較して低値を示した。なお、最終計測日における値は対照群と比較して10000ppm群で87%、50000ppm群で80%であった。

（５）被験物質摂取量

体重、摂餌量及び設定濃度より算出された被験物質摂取量を Appendix B 3-1～2に示した。なお、群間の摂取量の差は概ね設定濃度の公比(5)を反映した値となった。

## 2. 血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査

## (1) 血液学的検査

定期解剖時に行った血液学的検査の結果をAppendix B 4-1~2に示し、アントラセンの投与により影響が現れたと思われる検査項目の平均値を以下の表に抜粋した。

## 0 2 2 0 血液学的検査結果

群(ppm)	0	80	400	2000	10000	50000
<b>雄</b>						
動物数	10	10	10	10	10	10
赤血球数( $10^6/\mu\text{L}$ )	9.49	9.40	8.95*	8.87*	8.70**	8.49**
ヘモグロビン濃度(g/dL)	16.6	16.2	15.6**	15.4**	15.2**	15.0**
ヘマトクリット値(%)	45.3	45.2	44.0	44.1	43.1*	41.7**
MCV(fL)	47.7	48.1	49.1**	49.7**	49.5**	49.1**
血小板数( $10^3/\mu\text{L}$ )	789	829	900**	924**	974**	1004**
網赤血球比(‰)	33	35	49**	59**	59**	55**
プロトロンビン時間(sec)	16.2	16.5	17.6	19.3*	23.8**	26.2**
APTT(sec)	25.6	25.7	25.4	27.6	29.0	33.0**
<b>雌</b>						
動物数	10	10	10	10	10	10
赤血球数( $10^6/\mu\text{L}$ )	8.62	8.31	7.89**	7.60**	7.62**	7.63**
ヘモグロビン濃度(g/dL)	16.2	15.5**	15.0**	14.6**	14.6**	14.4**
ヘマトクリット値(%)	43.8	42.9	42.0	40.9**	40.7**	40.4**
MCV(fL)	50.8	51.7**	53.2**	53.8**	53.5**	52.9**
MCHC(g/dL)	37.1	36.1	35.8*	35.6**	35.9*	35.6**
血小板数( $10^3/\mu\text{L}$ )	841	893	931**	955**	1007**	1055**
網赤血球比(‰)	31	43*	61**	78**	70**	73**
APTT(sec)	18.9	18.9	19.5	22.1*	25.5**	25.9**

有意差 \* ;  $p \leq 0.05$  \*\*;  $p \leq 0.01$  Test of Dunnett

雄では、赤血球数及びヘモグロビン濃度の減少とMCV（平均赤血球容積）、血小板数及び網赤血球比の増加が400ppm以上の群で、ヘマトクリット値の減少が10000ppm以上の群で認められた。また、プロトロンビン時間の延長が2000ppm以上の群で、APTT（活性化部分トロンボプラスチン時間）の延長が50000ppm群で認められた。

雌では、ヘモグロビン濃度の減少、MCV及び網赤血球比の増加が全投与群で、赤血球数及びMCHC（平均赤血球ヘモグロビン濃度）の減少と血小板数の増加が400ppm以上の群で、ヘマトクリット値の減少が2000ppm以上の群で認められた。また、APTTの延長が2000ppm以上の群で認められた。

## (2) 血液生化学的検査

定期解剖時に行った血液生化学的検査の結果をAppendix B 5-1～2に示し、アントラセンの投与により影響が現れたと思われる検査項目の平均値を以下の表に抜粋した。

## 0220 血液生化学的検査結果

群(ppm)	0	80	400	2000	10000	50000
<b>雄</b>						
動物数	10	10	10	10	10	10
総蛋白(g/dL)	6.7	6.7	6.6	6.5	6.7	7.1 **
アルブミン(g/dL)	3.9	3.9	3.8	3.8	3.9	4.1 **
総コレステロール(mg/dL)	58	58	58	65 **	73 **	80 **
リン脂質(mg/dL)	116	116	117	131	143 **	159 **
GOT活性(IU/L)	88	74	61	60 *	52 **	51 **
GPT活性(IU/L)	29	23	18 *	18 **	16 **	17 **
ALP活性(IU/L)	310	308	305	302	281 *	267 **
カリウム(mEq/L)	3.4	3.4	3.5	3.5	3.5	3.8 *
クロール(mEq/L)	106	105	105	105	105	103 **
カルシウム(mg/dL)	10.4	10.4	10.4	10.4	10.6	10.9 **
<b>雌</b>						
動物数	10	10	10	10	10	10
総蛋白(g/dL)	6.4	6.5	6.4	6.6	6.9 **	7.2 **
アルブミン(g/dL)	3.7	3.8	3.7	3.8	3.9	4.1 **
A/G比	1.4	1.4	1.4	1.4	1.3	1.3 **
総コレステロール(mg/dL)	76	79	78	91	107 **	121 **
トリグリセライド(mg/dL)	38	39	35	33 *	33 *	30 **
リン脂質(mg/dL)	143	150	148	165 **	187 **	210 **
GOT活性(IU/L)	74	75	69	75	57 **	49 **
GPT活性(IU/L)	23	25	20	20	15 **	13 **
ALP活性(IU/L)	234	226	210	187 **	162 **	163 **
γ-GTP活性(IU/L)	1	1	1	1	1	3 **
カリウム(mEq/L)	3.3	3.3	3.5	3.5	3.5	3.8 **
クロール(mEq/L)	108	108	108	107	107	106 *
カルシウム(mg/dL)	10.0	10.1	10.0	10.2	10.3 *	10.6 **

有意差 \* :  $p \leq 0.05$  \*\* :  $p \leq 0.01$  Test of Dunnett

雄では、GPT活性の低下が400ppm以上の群で、総コレステロール及びGOT活性の低下が2000ppm以上の群で、リン脂質の増加とALP活性の低下が10000ppm以上の群で、総蛋白、アルブミン、カリウム及びカルシウムの増加とクロールの減少が50000ppm群で認められた。

雌では、トリグリセライドの減少、リン脂質の増加及びALP活性の低下が2000ppm以上の群で、総蛋白、総コレステロール及びカルシウムの増加とGOT活性及びGPT活性の低下が10000ppm以上の群で、アルブミンとカリウムの増加、A/G比とクロールの減少及びγ-GTP活性の上昇が50000ppmで認められた。

(3) 尿検査

尿検査の結果を Appendix B 6-1~2に示した。

雌雄共に、対照群と投与群の間に顕著な差は認めなかった。

3. 病理学的検査

(1) 剖検

解剖時に観察された剖検所見を Appendix B 7-1~5に示した。

雄では、脾臓の暗色化を400ppm群で5/10例、2000ppm以上の群では全例(10/10)の動物に認めた。

雌では脾臓の暗色化を400ppm以上の全例(10/10)動物に認めた。

(2) 臓器重量

定期解剖時に測定した臓器の実重量と体重比を Appendix B 8-1~2 (実重量)、B 9-1~2 (体重比)に示し、アントラセンの投与により影響が現れたと思われる臓器重量(実重量及び体重比)の平均値を以下の表に抜粋した。

## 0 2 2 0 臓器重量測定結果

群(ppm)	0	80	400	2000	10000	50000
<b>雄</b>						
動物数	10	10	10	10	10	10
解剖日体重(g)	314	322	311	306	300	299*
実重量(g)						
胸腺	0.218	0.239	0.213	0.195	0.202	0.184**
副腎	0.053	0.052	0.056	0.056	0.057	0.058
精巣	2.857	2.938	2.298	2.980	3.050**	3.114**
腎臓	1.920	1.980	2.064	2.084*	2.109*	2.136**
脾臓	0.537	0.581	0.615*	0.641**	0.648**	0.644**
肝臓	8.008	8.266	8.272	8.856**	9.992**	11.909**
体重比(%)						
胸腺	0.070	0.074	0.068	0.064	0.067	0.061**
副腎	0.017	0.016	0.018	0.019	0.019*	0.020**
精巣	0.910	0.913	0.963	0.977*	1.023**	1.044**
腎臓	0.611	0.615	0.664**	0.682**	0.704**	0.715**
脾臓	0.171	0.180*	0.197**	0.210**	0.216**	0.215**
肝臓	2.549	2.566	2.658*	2.897**	3.338**	3.988**
<b>雌</b>						
動物数	10	10	10	10	10	10
解剖日体重(g)	181	182	170	170	164**	154**
実重量(g)						
胸腺	0.194	0.197	0.170*	0.178	0.160**	0.161**
脾臓	0.365	0.397	0.446**	0.492**	0.473**	0.433**
肝臓	4.276	4.375	4.318	4.923**	5.235**	6.127**
体重比(%)						
胸腺	0.108	0.108	0.100	0.104	0.098	0.104
脾臓	0.203	0.218*	0.263**	0.289**	0.289**	0.281**
肝臓	2.366	2.402	2.548	2.896**	3.199**	3.973**
有意差	* ; $p \leq 0.05$ **; $p \leq 0.01$ Test of Dunnett					

雄では、脾臓の実重量が400ppm以上の群で体重比が全ての投与群で高値を示し、肝臓及び腎臓の実重量が2000ppm以上の群で、体重比が400ppm以上の群で高値を示した。精巣の実重量は10000ppm以上の群で、体重比は2000ppm以上の群で高値を示した。また、胸腺の実重量及び体重比は50000ppm群で低値を示し、副腎の体重比が10000ppm以上の群で高値を示した。

雌では、脾臓の実重量が400ppm以上の群で体重比が全ての投与群で高値を示し、肝臓の実重量及び体重比が2000ppm以上の群で高値を示した。また、胸腺の実重量は10000ppm以上の群で低値を示した。その他、肺の実重量及び体重比、心臓の実重量、腎臓及び脳の体重比で変化がみられた。



がこれらの変化は体重増加の抑制に伴う変化であり、アントラセンの投与による影響とは思われなかった。

### (3) 病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果を Appendix B 10-1~5に示し、アントラセンの投与により影響が現れたと思われる臓器及び所見を以下の表に抜粋した。

#### 0 2 2 0 病理組織学的検査

群(ppm)		0	80	400	2000	10000	50000
グレード		<1> <2> <3> <4>	<1> <2> <3> <4>	<1> <2> <3> <4>	<1> <2> <3> <4>	<1> <2> <3> <4>	<1> <2> <3> <4>
雄							
	動物数	10	10	10	10	10	10
[骨髓]	造血亢進	0 0 0 0	1 0 0 0	3 0 0 0	5 0 0 0*	7 0 0 0**	6 1 0 0**
[脾臓]	赤血球充満	0 0 0 0	0 0 0 0	10 0 0 0**	9 1 0 0**	6 4 0 0**	9 1 0 0**
[肝臓]	肝細胞腫脹(中心性)	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	6 0 0 0*
[腎臓]	好酸体	8 2 0 0	2 8 0 0*	4 6 0 0	2 6 2 0*	0 6 4 0**	5 5 0 0
雌							
	動物数	10	10	10	10	10	10
[鼻腔上皮]	炎症	7 0 0 0	8 0 0 0	7 0 0 0	4 0 0 0	3 0 0 0	0 0 0 0**
[骨髓]	造血亢進	0 0 0 0	1 0 0 0	7 0 0 0**	4 5 0 0**	5 5 0 0**	6 3 0 0**
[脾臓]	ヘモジデリン沈着	5 0 0 0	10 0 0 0*	10 0 0 0*	5 5 0 0**	2 8 0 0**	1 9 0 0**
	赤血球充満	0 0 0 0	0 0 0 0	10 0 0 0**	9 1 0 0**	3 7 0 0**	3 7 0 0**
[腎臓]	皮髄境界部鉍質沈着	1 9 0 0	1 9 0 0	5 5 0 0	6 4 0 0	9 0 0 0**	6 2 0 0**

有意差 \* :  $p \leq 0.05$  \*\* :  $p \leq 0.01$  Test of chi square <1>:Slight <2>:Moderate <3>:Marked <4>:Severe

雄では、骨髓の造血亢進を2000ppm以上の群で、脾臓の赤血球充満を400ppm以上の群で、肝臓の肝細胞の腫脹を50000ppm群で認めた。また、腎臓の好酸体の出現が全ての投与群で増強した。

雌では、骨髓の造血亢進と脾臓の赤血球充満を400ppm以上の群で認め、脾臓のヘモジデリン沈着が全ての投与群で増強した。また、鼻腔上皮の炎症及び腎臓の皮髄境界部への鉍質沈着が減少した。

### Ⅲ－２ マウスを用いた試験

#### Ⅲ－２－１ ２週間試験（試験番号：０１９４）

##### １．動物の状態観察

###### （１）生死状況

雌雄とも、全ての群で動物の死亡は認められなかった。

###### （２）一般状態

雌雄の投与群にはアントラセンの投与と関連があると思われる所見は認められなかった。

###### （３）体重

体重の推移を Table10,11、Appendix A 1-3～4に示した。

雌雄の 50000ppm群及び雌の10000ppm群で体重増加の抑制がみられた。なお、最終計測日における体重は対照群と比較して50000ppm群の雄で91%、雌で95%、10000ppm群の雌で96%であった。

###### （４）摂餌量

摂餌量を Table12,13、Appendix A 2-3～4に示した。

雌雄の50000及び雌の10000ppm群でやや低値を示す傾向がみられた。なお、最終計測日における摂餌量は対照群と比較して50000ppm群の雄で90%、雌で91%、10000ppm群の雌で89%であった。

###### （５）被験物質摂取量

体重、摂餌量及び設定濃度より算出された被験物質摂取量を Appendix A 3-3～4に示した。なお、群間の摂取量の差は、概ね設定濃度の公比(5)を反映する値となった。

## 2. 血液学的検査、血液生化学的検査

## (1) 血液学的検査

定期解剖時に行った血液学的検査の結果をAppendix A 4-3~4に示し、アントラセンの投与により影響が現れたと思われる検査項目の平均値を以下の表に抜粋した。

## 0194 血液学的検査結果

群(ppm)	0	80	400	2000	10000	50000
<b>雄</b>						
動物数	5	5	5	5	5	5
赤血球数( $10^6/\mu\text{L}$ )	10.91	10.79	10.70	10.80	10.28**	10.07**
ヘモグロビン濃度(g/dL)	16.3	16.4	16.3	16.2	15.7	15.2*
ヘマトクリット値(%)	49.0	49.4	49.0	49.4	47.1	45.9*
血小板数( $10^3/\mu\text{L}$ )	1323	1334	1334	1326	1477*	1681**
白血球百分率						
分葉核好中球(%)	13	16	11	16	17	26**
リンパ球(%)	81	78	84	79	75	65**
<b>雌</b>						
動物数	5	5	5	5	5	5
赤血球数( $10^6/\mu\text{L}$ )	10.52	10.52	10.20	9.99*	10.02*	9.61**
ヘモグロビン濃度(g/dL)	15.8	15.9	15.5	15.2*	15.3	14.7**
ヘマトクリット値(%)	47.3	47.3	46.2	45.1	45.5	43.7**
血小板数( $10^3/\mu\text{L}$ )	1099	1146	1155	1144	1322**	1419**
白血球数( $10^3/\mu\text{L}$ )	1.49	1.05	1.37	1.10	0.72*	0.56**
有意差	* : $p \leq 0.05$ ** : $p \leq 0.01$ Test of Dunnett					

雄では、赤血球数の減少及び血小板の増加が10000ppm以上の群で認められ、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値及びリンパ球比の減少と分葉核好中球比の増加が50000ppm群で認められた。

雌では、赤血球数の減少が2000ppm以上の群で、ヘモグロビン濃度の減少が2000ppmと50000ppm群で、ヘマトクリット値の減少が50000ppm群で認められた。また、血小板数の増加及び白血球数の減少が10000ppm以上の群で認められた。

## (2) 血液生化学的検査

定期解剖時に行った血液学的検査の結果をAppendix A 5-3~4に示した。

雄ではアルブミンの増加が50000ppm群で認められた。

雌では総コレステロールの減少が50000ppm群で認められた。

## 3. 病理学的検査

## (1) 剖検

解剖時に観察された剖検所見を Appendix A 6-3~4に示した。

雌雄の投与群に、投与と関連があると思われる所見は認められなかった。

## (2) 臓器重量

定期解剖時に測定した臓器の実重量と体重比を Appendix A 7-3~4(実重量)、A 8-3~4(体重比)に示し、アントラセンの投与により影響が現れたと思われる臓器重量(実重量及び体重比)の平均値を以下の表に抜粋した。

0194 臓器重量測定結果

群(ppm)		0	80	400	2000	10000	50000
雄							
	動物数	5	5	5	5	5	5
解剖日体重(g)		24.8	24.5	24.1	24.6	24.2	22.4
	実重量(g)						
胸腺		0.054	0.051	0.048	0.053	0.049	0.037*
肝臓		1.166	1.220	1.237	1.270	1.397	1.311
	体重比(%)						
胸腺		0.219	0.217	0.225	0.219	0.226	0.231
肝臓		4.713	4.982	5.127	5.148	5.784**	5.851**
雌							
	動物数	5	5	5	5	5	5
解剖時体重(g)		19.5	19.8	18.8	19.1	18.4	18.1
	実重量(g)						
肝臓		0.811	0.850	0.849	0.924	0.880	0.945
	体重比(%)						
肝臓		4.165	4.277	4.514	4.832	4.755	5.225*
有意差		*: $p \leq 0.05$ **: $p \leq 0.01$ Test of Dunnett					

雄では、肝臓の体重比が10000ppm以上の群で、高値を示した。また、胸腺の実重量が50000ppm群で低値を示した。

雌では、肝臓の体重比が50000ppm群で高値を示した。

その他、脳の体重比が雄の50000ppm群と雌の10000ppm群で高値を示したが、これらの変化は体重増加の抑制に伴う変化であり、アントラセンの投与の影響と思われなかった。

(3) 病理組織学的検査

病理組織学的所見を Appendix A 9-3～4に示した。

雌雄とも、50000ppm群で脾臓の髄外造血を認めた。

Ⅲ－２－２ １３週間試験（試験番号：０２２１）

１．動物の状態観察

（１）生死状況

投与開始後３週目に雌の４００ppm群で１匹の死亡例が認められたが死因については特定できなかった。

（２）一般状態

投与期間中の一般状態の観察において、雌雄の投与群にはアントラセンの投与と関連があると思われる所見は認められなかった。

（３）体重

体重の推移を Table 14, 15、Figure 5, 6、Appendix B 1-3～4に示した。

雌雄の１００００ppm以上の群で、体重増加の抑制がみられた。また、統計的に有意ではなかったが、雄の２０００ppm群でも体重の抑制がみられた。なお、最終計測日における体重値は対照群と比較して５００００ppm群の雄で７８％、雌で９２％、１００００ppm群の雄で８５％、雌で９３％、２０００ppm群では９２％であった。

（４）摂餌量

摂餌量を Table 16, 17、Figure 7, 8、Appendix B 2-3～4に示した。

雄では、１００００ppm以上の群で投与期間を通じて低い値（対照群と比較して５００００ppmで７７～８９％、１００００ppm群で８５～９８％）を示した。

雌でも、１００００ppm以上の群で投与期間を通じて低い値（対照群と比較して５００００ppmで７９～９２％、１００００ppm群で８７～９６％）を示した。

（５）被験物質摂取量

体重、摂餌量及び設定濃度より算出された被験物質摂取量を Appendix B 3-3～4に示した。なお、群間の摂取量の差は、概ね設定濃度の公比（５）を反映した値となった。

## 2. 血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査

## (1) 血液学的検査

定期解剖時に行った血液学的検査の結果をAppendix B 4-3～4に示し、アントラセンの投与により影響が現れたと思われる検査項目の平均値を以下の表に抜粋した。

## 0 2 2 1 血液学的検査結果

群(ppm)	0	80	400	2000	10000	50000
<b>雄</b>						
動物数	10	10	10	10	10	10
赤血球数( $10^6/\mu\text{L}$ )	10.54	10.31	10.44	10.01	9.67**	9.21**
ヘモグロビン濃度(g/dL)	15.6	15.3	15.4	14.9	14.5**	14.0**
ヘマトクリット値(%)	46.4	45.3	46.1	44.4	43.9**	42.8**
M C V (fL)	44.0	44.0	44.2	44.3	45.4**	46.5**
M C H (pg)	14.8	14.8	14.7	14.9	15.0	15.2*
M C H C (g/dL)	33.7	33.8	33.4	33.7	33.0	32.8*
血小板数( $10^3/\mu\text{L}$ )	1475	1462	1571	1584	1753**	2336**
白血球数( $10^3/\mu\text{L}$ )	1.73	1.66	1.47	1.24	0.90*	1.05
白血球百分率						
分葉核好中球(%)	16	15	18	18	21	33**
好酸球(%)	1	1	2	1	1	0*
単球(%)	4	4	3	3	2*	2*
リンパ球(%)	79	80	77	78	75	64**
<b>雌</b>						
動物数	10	10	9	10	10	10
赤血球数( $10^6/\mu\text{L}$ )	10.24	10.42	10.41	9.92	9.84	9.38**
ヘモグロビン濃度(g/dL)	15.5	15.7	15.5	15.1	15.2	14.6**
M C V (fL)	44.2	44.2	44.5	44.5	45.3**	46.5**
M C H (pg)	15.2	15.1	14.9	15.3	15.5	15.6*
血小板数( $10^3/\mu\text{L}$ )	1199	1245	1244	1275	1475**	1585**
白血球数( $10^3/\mu\text{L}$ )	1.78	1.16	1.38	1.00	0.91*	0.56**
白血球百分率						
分葉核好中球(%)	15	17	17	19	18	23**

有意差 \* ;  $p \leq 0.05$  \*\*;  $p \leq 0.01$  Test of Dunnett

雄では、赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の減少とM C V (平均赤血球容積) 及び血小板数の増加が10000ppm以上の群で、M C H (平均赤血球ヘモグロビン量) 及び分葉核好中球比の増加とM C H C (平均赤血球ヘモグロビン濃度) の減少が50000ppm群で認められた。また、単球比、リンパ球及び好酸球比の減少が10000ppm以上の群で認められた。その他、白血球数の減少が10000ppm群で認められた。

雌では、MCV及び血小板数の増加と白血球数の減少が10000ppm以上の群で、赤血球数及びヘモグロビン濃度の減少とMCHの増加が50000ppm群で認められた。また、分葉核好中球比の増加が50000ppm群で認められた。

## (2) 血液生化学的検査

定期解剖時に行った血液生化学的検査の結果をAppendix B 5-3～4に示し、アントラセンの投与により影響が現れたと思われる検査項目の平均値を以下の表に抜粋した。

### 0 2 2 1 血液生化学的検査結果

群(ppm)	0	80	400	2000	10000	50000
<b>雄</b>						
動物数	10	10	10	10	10	10
総蛋白(g/dL)	5.3	5.2	5.3	5.4	5.4	5.0**
アルブミン(g/dL)	2.9	2.8	2.9	3.0*	3.0**	2.7**
グルコース(mg/dL)	263	239	211	213	183**	148**
ALP活性(IU/L)	188	199	179	175	164**	142**
ナトリウム(mEq/L)	153	153	153	153	154	155**
<b>雌</b>						
動物数	10	10	9	10	10	10
アルブミン(g/dL)	3.0	3.1	3.1	3.1	3.3**	3.2**
A/G比	1.4	1.5	1.5	1.5	1.6**	1.6**
グルコース(mg/dL)	184	157	159	157	145*	133**
総コレステロール(mg/dL)	71	66	64	66	64	52**
尿素窒素(mg/dL)	19.3	19.9	20.5	20.2	20.9	22.9**
カリウム(mEq/L)	4.5	4.5	4.5	4.2	4.2	3.9**
有意差	* ; $p \leq 0.05$ **; $p \leq 0.01$ Test of Dunnett					

雄では、グルコースの減少及びALP(アルカリフォスファターゼ)活性の低下が10000ppm以上の群で、総蛋白の減少及びナトリウムの増加が50000ppmで認められた。なお、アルブミンは50000ppmでは減少し、10000ppmと2000ppm群では増加を示した。

雌では、アルブミンの及びA/G比の増加とグルコースの減少が10000ppm以上の群で認められ、総コレステロール及びカリウムの減少と尿素窒素の増加が50000ppm群で認められた。

## (3) 尿検査

尿検査の結果を Appendix B 6-3～4に示した。

雄の400ppm群でケトン体の陽性例の減少がみられたが、投与量に対応した変化ではなかった。



## 3. 病理学的検査

## (1) 剖検

解剖時に観察された剖検所見を Appendix B 7-3~5に示した。

雌の400ppm群で1例みられた死亡例では、胸腺の萎縮を認めた。

定期解剖動物では脾臓の暗色化を50000ppm群で雌雄ともに全ての動物に認めた。

## (2) 臓器重量

定期解剖時に測定した臓器の実重量と体重比を Appendix B 8-3~4(実重量)、B 9-3~4(体重比)に示し、アントラセンの投与により影響が現れたと思われる臓器重量(実重量及び体重比)の平均値を以下の表に抜粋した。

## 0221 臓器重量測定結果

群(ppm)		0	80	400	2000	10000	50000
雄							
	動物数	10	10	10	10	10	10
体重(g)		30.9	30.2	30.0	28.3	25.7 **	23.4 **
	実重量(g)						
胸腺		0.043	0.035 *	0.035 *	0.037	0.033 **	0.030 **
脾臓		0.046	0.047	0.045	0.048	0.043	0.068 **
肝臓		1.046	1.045	1.102	1.094	1.085	1.100
	体重比(%)						
胸腺		0.139	0.119	0.115	0.132	0.127	0.128
脾臓		0.150	0.157	0.150	0.170	0.166	0.291 **
肝臓		3.388	3.481	3.683 **	3.873 **	4.222 **	4.708 **
雌							
	動物数	10	10	9	10	10	10
体重(g)		21.7	20.7	20.9	20.7	19.4 **	19.2 **
	実重量(g)						
脾臓		0.050	0.047	0.049	0.050	0.045	0.055
肝臓		0.858	0.813	0.850	0.850	0.830	0.901
	体重比(%)						
脾臓		0.231	0.227	0.233	0.240	0.231	0.286 **
肝臓		3.959	3.927	4.065	4.110	4.286 **	4.694 **
有意差		* ; p ≤ 0.05    **; p ≤ 0.01    Test of Dunnett					

雄では、胸腺の重量の低値が全ての投与群で、脾臓の実重量及び体重比の高値が50000ppm群で、肝臓の体重比の高値が400ppm以上の群で認められた。

その他、心臓、肺、腎臓、脳の実重量または体重比に変化がみられたがこれらの変化は体重増加の抑制に伴う変化であり、アントラセンの投与の影響

とは思われなかった。

雌では、脾臓の体重比の高値が50000ppm群で、肝臓の体重比の高値が10000ppm以上に群で認められた。その他、肺の実重量、腎臓の実重量及び脳の体重比に変化がみられたがこれらの変化は体重増加の抑制に伴う変化であり、アントラセンの投与の影響とは思われなかった。

### (3) 病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果を Appendix B 10-3~5に示し、アントラセンの投与により影響が現れたと思われる臓器及び所見を以下の表に抜粋した。

#### 0221 病理組織学的検査

ppm	0	80	400	2000	10000	50000
グレード	<1> <2> <3> <4>	<1> <2> <3> <4>	<1> <2> <3> <4>	<1> <2> <3> <4>	<1> <2> <3> <4>	<1> <2> <3> <4>
雄						
動物数	10	10	10	10	10	10
[脾臓]						
ヘモジデリン沈着	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	9 0 0 0**	10 0 0 0**
髄外造血	0 0 0 0	0 0 0 0	7 0 0 0**	5 5 0 0**	3 7 0 0**	0 2 8 0**
[腎臓]						
近位尿細管上皮空胞化	6 1 0 0	2 0 0 0	2 0 0 0	0 0 0 0**	0 0 0 0**	0 0 0 0**
[膀胱]						
硝子滴変性: (移行上皮表層細胞)	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	6 4 0 0**	0 10 0 0**	0 10 0 0**
雌						
動物数	10	10	9	10	10	10
[脾臓]						
ヘモジデリン沈着	0 0 0 0	1 0 0 0	8 0 0 0**	8 0 0 0**	8 0 0 0**	10 0 0 0**
髄外造血	5 2 0 0	9 1 0 0	7 1 0 0	8 2 0 0	3 7 0 0*	2 7 1 0*
[膀胱]						
硝子滴変性: (移行上皮表層細胞)	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	10 0 0 0**	0 10 0 0**

有意差 \* :  $p \leq 0.05$  \*\* :  $p \leq 0.01$  Test of chi square <1>:Slight <2>:Moderate <3>:Marked <4>:Severe

雄では、脾臓の髄外造血を2000ppm以上の群で、脾臓のヘモジデリン沈着を10000ppm以上の群で認めた。膀胱の硝子滴変性を10000ppm以上の群で認めた。また、全ての投与群で腎臓の近位尿細管移行上皮の空胞化が抑制される傾向が認められた。

雌では、脾臓のヘモジデリン沈着を400ppm以上の群で認め、脾臓の髄外造血が10000ppm以上の群で増強された。また、膀胱の移行上皮表層細胞の硝子滴変性を10000ppm以上の群で認めた。

なお、膀胱の移行上皮表層細胞に認めた硝子滴変性はエオジンに好染する滴状物質が出現する所見であり、PAS染色に陰性、マッソントリクローム染色やPTAH染色で赤染する。

## IV 考察及びまとめ

## ーラットー

## &lt;2週間試験&gt;(0193)

F344ラットに2週間にわたりアントラセンを50000ppm、10000ppm、2000ppm、400ppm及び80ppmの濃度で経口(混餌)投与した。その結果、雌雄の全投与群ともに動物の死亡を認めなかった。

最高投与群である50000ppm群では雌雄とも体重増加の抑制を全投与期間にわたり認め、投与終了時における体重は対照群に対して雌雄とも94%であった。血液学的検査では雌雄ともに赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の減少を認め、貧血傾向にあることが示唆された。また、雄にAPTTの延長を、雌に網赤血球比の増加及びプロトロンビン時間の短縮を認めた。血液生化学的検査では雌雄ともにGPT活性の低下を認め、雌に総ビリルビン、総タンパク、総コレステロール、リン脂質及びカルシウムの増加を認めた。臓器重量では、雌雄の肝臓と脾臓の実重量及び体重比が、雄の腎臓の体重比が高値を示した。病理組織学的検査では雌雄とも脾臓に赤血球充満を認め、脾臓での赤血球の崩壊の亢進を示唆した。雌の骨髄では赤血球造血亢進を認め、雌雄とも肝細胞に中心性の腫脹を認めた。また、雄の尿細管上皮内に好酸体の出現を認めた。

10000ppm以下の群では50000ppm群で認めた所見が徐々に減少または軽減する傾向を示した。体重増加の抑制は雌雄ともに10000ppm以下の群では認められなかった。血液学的検査で認めた貧血を示唆する所見等は雌雄ともに400ppm群まで、血液生化学的検査で認めた所見は雌で10000ppm群まで認め、雄では10000ppm以下の群では認められなかった。臓器重量に変化を認めた脾臓は雌雄とも400ppm群、肝臓は雄で2000ppm群、雌で400ppm群、雄の腎臓は10000ppm群まで影響を認めた。病理組織学的検査では、雌雄の肝細胞の腫脹を10000ppm群、雌の骨髄での造血亢進及び脾臓における赤血球充満を10000ppm群、雄の尿細管上皮内における好酸体の出現を80ppm群まで認めた。

以上の様にアントラセンの2週間投与により50000ppm群の雌雄で僅かな体重増加の抑制がみられたものの、一般状態においても変化を認めなかった。また、貧血の所見は最高投与群である50000ppm群においても比較的軽度であった。雄の尿細管上皮内の好酸体の出現の程度は重篤と言える変化はではなかった。肝細胞の中心性の腫脹も化学物質を動物に投与した際にしばしばみられる解毒に係わる変化と思われ、血液生化学的検査においても肝機能に

大きな異常を認めないことより、適応性変化の範囲にあると思われる。したがって、13週間試験の最高投与濃度は2週間試験と同じ50000ppmでも十分耐えられると判断した。ただし、雌雄とも400ppm群まで血液学的検査でアントラセンの投与の影響が認められているため長期間の投与により、より重度の所見に変化する可能性を考慮し、公比を広くとり、雌雄とも50000ppm以下の濃度を10000ppm、2000ppm、400ppm及び80ppm(公比:5)とした。

#### <13週間試験>(0220)

2週間試験の結果に基づき、F344ラットに13週間にわたりアントラセンを50000ppm、10000ppm、2000ppm、400ppm及び80ppmの濃度で経口(混餌)投与した。

その結果、雌雄の全投与群とも動物の死亡を認めなかった。

50000ppm群及び10000ppm群では雌で体重増加の抑制が全投与期間にわたり認められ、投与終了時における体重は対照群に対して50000ppm群で87%、10000ppm群では92%であった。また、飼料(調製被験物質)摂取量の低値が全投与期間にわたり認められた。投与終了時における飼料摂取量は対照群に対して50000ppm群で80%、10000ppm群で87%であった。

50000ppm群において、血液学的検査では雌雄ともに赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の減少を認め、貧血傾向にあることが示唆された。また、雌雄ともにMCV、血小板数及び網赤血球比が増加し、雌にMCHCの減少を認めた。血液凝固検査では雌雄ともにAPTTの延長を認め、雄のみでプロトロンビン時間の延長を認めた。血液生化学的検査では雌雄ともに総蛋白、アルブミン、総コレステロール、リン脂質、カリウム及びカルシウムの増加を認め、GOT活性、GPT活性、ALP活性及びクロールの低下を認めた。また、雌にA/G比とトリグリセライドの減少及び $\gamma$ -GTP活性の上昇を認めた。剖検においては脾臓の暗色化を雌雄のすべての動物に認めた。臓器重量測定においては肝臓と脾臓の実重量及び体重比が雌雄とも高値を示し、胸腺の実重量が雌雄で、体重比が雄で低値を示した。また、雄で精巣と腎臓の実重量及び体重比が高値を示し、副腎の体重比が高値を示した。病理組織学的検査では雌雄とも脾臓に赤血球充満を、雌にヘモジデリンの沈着を認め、脾臓での赤血球の崩壊の亢進を示唆した。また、雌雄の骨髄では赤血球崩壊に伴う貧血を補うためと思われる造血亢進を認めた。その他、雄では肝細胞の中心性の腫脹や尿細管上皮内における好酸体の出現の増強が観察された。一方、臓器重量測定で変化を認めた精巣では病理組織学的検査においては著変を認めなかった。

10000ppm以下の群では50000ppm群で認めた所見が徐々に減少または軽減する傾向を示した。血液学的検査では雄で400ppm群、雌で80ppm群まで貧血を示す所見を認め、血液生化学検査では雄の400ppm群、雌の2000ppm群まで投与の影響を認めた。脾臓の暗色化は雌雄とも400ppm群まで認めた。臓器重量(実重量または体重比)においては、脾臓は雌雄ともに400ppm群まで、雌雄の肝臓は2000ppm群まで、腎臓は雄の400ppm群まで、精巣は2000ppm群まで、胸腺は雌の10000ppm群まで影響を認めた。病理組織学的検査では脾臓の赤血球充満を雌雄とも400ppm群まで、造血亢進を雄の2000ppm群、雌の400ppm群まで認めた。また、雄に認めた近位尿細管での好酸体の出現および雌の脾臓でのヘモジデリン沈着はそれぞれ80ppm群まで認めたが、投与濃度が低くなるにつれてその程度は弱くなった。

以上の様にアントラセンの13週間投与により10000ppm以上の群の雌で体重増加の抑制がみられたもののその程度は50000ppm群でも10%に近く、飼料摂取量の低下によると考えられ、一般状態においても変化を認めなかった。がん原性試験を実施するに当たり動物の生存期間に影響を与える可能性のある所見は貧血、肝臓の中心性の腫脹及び腎臓の好酸体出現と考えた。しかし、貧血の所見は最高投与群である50000ppm群においても比較的軽度であり、雌の400ppm以上の群及び雄の2000ppm以上の群では骨髓での造血亢進が観察され、貧血に適応していると思われる。雄の50000ppm群のみで認めた肝細胞の中心性の腫脹も化学物質を動物に投与した際にしばしばみられる解毒に係わる変化と思われ、血液生化学的検査においても肝機能に大きな異常を認めないことより、適応性変化の範囲にあると思われる。また、腎臓で認めた好酸体の出現の程度も重篤な変化とは思われなかった。しかも、13週間試験は2週間試験と同じ投与濃度で実施したが、各検査で観察された所見等は2週間試験の所見及び程度に大きな変化を認めず、投与期間の延長により2週間試験で認めた所見が重篤な所見に変化したとは思われない。したがって、がん原性試験の最高投与濃度は雌雄とも13週間試験と同じ50000ppmでも耐えられると推察した。

よって、最高投与濃度を50000ppmとし、以下20000ppm、3200ppm(公比: 2.5)とした。

— マウス —

<2週間試験>(0194)

BDF<sub>1</sub> マウスに2週間にわたりアントラセンを50000ppm、10000ppm、2000ppm、400ppm及びの濃度で経口(混餌)投与した。

その結果、雌雄の全投与群ともに動物の死亡を認めなかった。

雌雄の50000ppm群及び雌の10000ppm群では体重増加の抑制を認め、投与終了時における体重は対照群に対して50000ppm群の雄で91%、雌で95%、10000ppm群の雌で96%であった。また、飼料(調製被験物質)摂取量の低下が認められ、投与終了時における飼料摂取量は対照群に対して50000ppm群の雄で90%、雌で91%、10000ppm群の雌で89%であった。

50000ppm群では血液学的検査において雌雄ともに赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の減少を認め、貧血傾向にあることが示唆された。また、雌雄に血小板数の増加、雄に白血球百分率のうち分葉核好中球の増加及びリンパ球比の減少、雌に白血球数の減少を認めた。血液生化学的検査では雄にアルブミンの増加、雌に総コレステロールの減少を認めた。剖検において対照群と比較して著明な変化は認められなかったが、臓器重量測定において、雌雄とも肝臓の体重比が高値を示し、雄で胸腺の実重量が低値を示した。病理組織学的検査では雌雄とも脾臓に髄外造血を認めた。

10000ppm以下の群では50000ppm群で認めた所見が徐々に減少または軽減する傾向を示した。血液学的検査では雄で10000ppm群、雌で2000ppm群まで貧血を示す所見を認めた。血液生化学検査では10000ppm以下の群において投与の影響を認めなかった。臓器重量(実重量または体重比)においては、雄の肝臓で10000ppm群まで影響を認めたが、その他の臓器では10000ppm以下の群で変化を認めなかった。病理組織学的変化は10000ppm以下の群では認めなかった。

以上のようにアントラセンの2週間投与により50000ppm群の雌雄及び10000ppm群の雌に体重増加の抑制がみられたものの、その程度はわずかであり、一般状態においても変化を認めなかった。また、血液学的検査で認めた貧血の所見は最高投与群である50000ppm群においても比較的軽度であった。病理組織学的検査で脾臓に認めた髄外造血の所見も貧血を補うもので適応性変化の範囲にあると思われる。したがって、13週間試験の最高投与濃度は2週間試験と同じ50000ppmでも十分耐えられると判断した。ただし、雌雄とも400ppm群まで血液学的検査でアントラセンの投与の影響が認められているため長期間の投与により、より重度の所見に変化する可能性を考慮し、公比を

広くとり、雌雄とも50000ppm以下の濃度を10000ppm、2000ppm、400ppm及び80ppm(公比:5)とした。

#### <13週間試験>(0221)

2週間試験の結果に基づきBDF1マウスに13週間にわたりアントラセンを50000ppm、10000ppm、2000ppm、400ppm及び80ppmの濃度で経口(混餌)投与した。

その結果、雌の400ppm群で1匹の死亡例が認められたが、後述するアントラセンの投与により認められる脾臓及び膀胱の病理組織学的変化等が認められないため、アントラセンの投与が直接の死因とは思われなかった。

雌雄の10000ppm以上の群では概ね全投与期間において体重増加の抑制を認め、投与終了時における体重は対照群に対して50000ppm群の雄で78%、雌で92%、10000ppm群の雄で85%、雌で93%であった。顕著に体重の抑制が認められた50000ppm群の雄では飼料(調製被験物質)摂取量の低下が認められ、投与終了時における飼料摂取量は対照群に対して84%であった。

50000ppm群において、雌雄とも赤血球数及びヘモグロビン濃度の減少を認め、雄にはヘマトクリット値の減少もみられ、貧血傾向にあることが示唆された。また、MCV、MCH、血小板数及び白血球百分率の分葉核好中球比の増加、白血球数の減少を雌雄ともに認めた。その他、雄にMCHC、白血球百分率の好酸球、単球及びリンパ球の減少を認めた。血液生化学的検査においては雄で総蛋白及びグルコースの減少ならびに、ALP活性の低下及びナトリウムの増加を認めた。雌ではアルブミン、A/G比及び尿素窒素が増加し、グルコース、総コレステロール及びカリウムが減少した。剖検においては脾臓の暗色化を雌雄のすべての動物に認めた。臓器重量測定においては雌雄の肝臓と脾臓の体重比が高値を示し、雄では脾臓の実重量の高値及び胸腺の実重量の低値も認めた。病理組織学的検査では雌雄とも脾臓にヘモジデリンの沈着と髄外造血を認め、脾臓での赤血球の崩壊の亢進及び貧血に補う造血亢進を示唆した。また、膀胱移行上皮表層細胞の硝子滴変性を雌雄ともに認めた。10000ppm以下の群では50000ppm群で認めた所見が徐々に減少または軽減する傾向を示した。血液学的検査では雌雄とも10000ppm群まで貧血を示す。所見を認めた。血液生化学検査での変化は10000ppm群まで認められた。臓器重量(実重量または体重比)においては、雄の肝臓で400ppm群、雌の肝臓で10000ppm群まで影響を認め、雄の胸腺では80ppm群まで影響を認めた。なお、脾臓の臓器重量の変化は10000ppm以下の群では認められなかった。病理組織学的検査においては脾臓におけるヘモジデリンの沈着を雄で10000ppm

群、雌で400ppm群まで認め、脾臓の髓外造血を雄で400ppm群、雌で10000ppm群まで認めた。また、膀胱移行上皮表層細胞の硝子滴変性を雄で2000ppm群、雌で10000ppm群まで認めた。

以上のようにアントラセンの13週間投与により雌に比較して雄により強い影響を認めた。

雌については、50000ppm群で体重増加の抑制を認めたが、その程度はわずかであった。また、13週間試験は2週間試験と同じ投与濃度で実施したが、雌では各検査で観察された各所見は2週間試験の所見及び程度に大きな変化を認めず、投与期間の延長により2週間試験で認めた所見が重篤な所見に変化したとは思われない。また、2週間試験では観察されなかった膀胱の所見も動物の生存に影響を与える変化とは思われなかった。したがって、がん原性試験の最高投与濃度は13週間試験と同じ50000ppmでも耐えられると推察した。よって、雌の最高投与濃度を50000ppmとし、以下20000ppm、8000ppm(公比:2.5)とした。一方、雄については、50000ppm群で顕著な体重増加の抑制(対照群と比較して78%)が認められたが、これは飼料摂取量の低下によるものと思われる。また、血液生化学的検査ではグルコースの減少や総蛋白の低下を認め、栄養障害を疑わせた。このことから50000ppmでのがん原性試験の実施は動物の生存を危うくすると推察した。そこで、雌との試験結果の比較も考慮し、雄の最高投与濃度を雌の中間投与濃度である20000ppmとし、以下8000ppm、3200ppm(公比2.5)とした。



V 文献

1. 化学工業日報社(1993)

12093の化学商品

pp279-280, 化学工業日報社 東京

2. 海外技術資料研究所(1985)

有害化学品 危険物・毒物処理取り扱いマニュアル

pp36-37, 海外技術資料研究所, 東京

3. Kays H. Kaidbey and Shigeo Nonaka(1984)

Action spectrum for Anthracene-induced  
photosensitization of human skin.

Photochemistry and Photobiology Vol.39, No.3,  
375-378

4. Salamone M. F.(1981)

Toxicity of 41 carcinogenes and noncarcinogenic  
analogs.

Mutat. Res., 1, 682-685

5. P. D. Forbes, R. E. Davies and F. Urbach(1976)

Phototoxicity and photocarcinogenesis: comparative  
effects of anthracene and 8-methoxypsoralen in the  
skin of mice.

Fd Cosmet. Vol. 14, 303-306

6. Dietrich shamahl(1955)

Prufung von naphthalin und anthracene auf cancerogene  
wirkung an ratten.

Zeitschrift fur Krebsforschung, Bd.60, S.697-710

7. 阿部正信(1986)

長期毒性試験に用いるラット、マウスの体重変化の解析による群分け  
適正層別方式の確立

薬理と治療, 14, 7285-7302