

食薬セ研第12-1905号

2002年 3月29日

*p-tert*-ブチルフェノールの  
マウスを用いる小核試験

厚生労働省医薬局審査管理課 委託

財団法人食品薬品安全研究所

秦野 麻呂 研究所

## 【目 次】

	頁
要 約 .....	1
緒 言 .....	2
実験材料 .....	3
1. 被験物質 .....	3
2. 実験動物および飼育条件 .....	3
毒性予備試験 .....	5
1. 方 法 .....	5
2. 結 果 .....	6
小核本試験 .....	7
1. 方 法 .....	7
2. 結 果 .....	9
考察および結論 .....	10
参考文献 .....	11
Table 1 .....	12
Table 2 .....	13
Table 3-1 .....	14
Table 3-2 .....	15

## 【要 約】

*p-tert*-ブチルフェノールの生体内における細胞遺伝学的影響を評価するために、CD-1(ICR) マウスを用い、単回腹腔内投与による小核試験を実施し、陰性の結果を得た。

毒性予備試験を *p-tert*-ブチルフェノールの 25、50、100 および 200 mg/kg を雌雄マウスにそれぞれ投与して行った結果、雄では 100 mg/kg 以上、雌では 200 mg/kg の用量において死亡例が認められた。症状に著しい性差がみられなかったため、小核本試験は雄だけを用いることとし、最高用量を死亡例が認められなかった 50 mg/kg とした。

小核本試験では、*p-tert*-ブチルフェノールの 12.5、25 および 50 mg/kg をそれぞれ雄マウスに単回腹腔内投与し、投与後24および48時間に骨髓の塗抹標本作製した。

標本観察の結果、投与後24および48時間のいずれにおいても、*p-tert*-ブチルフェノールの投与による小核出現頻度の統計学的に有意な増加は認められなかった。また、全赤血球中に占める幼若赤血球の比率についても、投与後24および48時間のいずれにおいても、陰性対照群と *p-tert*-ブチルフェノール投与群との間に有意な差は認められなかった。

以上の結果から、*p-tert*-ブチルフェノールは、本試験条件下で雄マウスの骨髓細胞において、染色体異常誘発作用あるいは紡錘体形成阻害作用を示さず、さらに骨髓細胞の増殖抑制作用も有しないものと結論した。

## 【緒 言】

*p*-tert-ブチルフェノールの安全性評価の一環として、生体内における細胞遺伝学的影響を調べるために、CD-1 (ICR) マウスを用いて骨髓細胞における小核試験を実施した。まず、雌雄のマウスを用いて単回腹腔内投与による毒性予備試験を行い、その結果に基づいて雄マウスを用いた小核本試験を行った。

本試験は「OECD 化学物質試験法ガイドライン474/哺乳動物の赤血球を用いる小核試験」(1997年7月21日採択) および、「化学物質 GLP」(昭和59年3月31日、環保業第39号、薬発第229号、59基局第85号、昭和63年11月18日改正、環企研第233号、衛生第38号、63基局第823号、平成12年3月1日一部改正、環保安第41号、生衛発第268号、平成12・02・14基局第1号) に準拠して実施した。

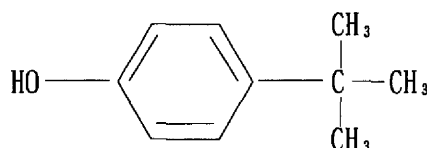
## 【実験材料】

### 1. 被験物質

被験物質として用いた *p*-*tert*-ブチルフェノール（以下 PTBP と略記）の性状等は、以下の通りである。

化学名	<i>p</i> - <i>tert</i> -ブチルフェノール
別名	4- <i>tert</i> -ブチルフェノール
英名	<i>p</i> - <i>tert</i> -butyl phenol
CAS No.	98-54-4
分子量	150.22
分子式	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O
物理化学的性質	
性状	: 白色固体
分配係数	: 提供元からのデータなし。
比重	: 提供元からのデータなし。
融点	: 99.0℃
沸点	: 236.5℃
蒸気圧	: 2.667 Pa (25℃)

構造式



試験には、から提供を受けた、ロット番号: 純度:  
99.9 wt%（不純物：2,4-di-*tert*-ブチルフェノール 0.006 wt%、2,6-di-*tert*-  
ブチルフェノール 0.001 wt%）を使用した。被験物質は室温で保管した。

### 2. 実験動物および飼育条件

試験には、日本チャールス・リバー(株)（以下、CRJ と略記）から購入した8週齢のICR系マウス [Crj:CD-1(ICR)、SPF] を、入荷日を含む7日間、検疫と馴化を兼ねて飼育した後、異常の認められなかった動物を9週齢で試験に供した。動物の入荷日、匹数および入荷時体重範囲は以下の通りであった。

	入荷日	入荷匹数	入荷時体重
毒性予備試験用	2001年4月11日	雄26匹	29.1~35.6 g
	2001年4月11日	雌26匹	23.2~28.2 g
小核本試験用	2001年5月2日	雄26匹 (再試験)	29.3~33.8 g
	2001年5月9日	雄52匹	29.1~35.1 g

動物は、全飼育期間を通じて、許容温度：21.0~25.0℃、許容湿度：40.0~75.0%、換気回数：約15回/時間、照明12時間（午前7時~午後7時）に設定された飼育室内で、

床敷として木製チップ（ホワイトフレーク、CRJ）を入れた TPX 樹脂製ケージ（143W × 293D × 148H mm、CRJ）に 1 匹ずつ収容し、固型飼料（CE-2、日本クレア(株)）と水道水（秦野市水道局給水）を自由摂取させて飼育した。なお、飼育期間中、飼育室の温度および湿度の実測値は、許容範囲内にあった（注 1）。また、供給した飼料、床敷および水道水の分析結果では、試験に支障をきたす可能性のある混入物はなかった。

動物の群分けは自由群分け法により行った。個体識別は、マウスの尾部に動物番号を標識し、ケージには群ごとに色の異なる動物カードに、試験計画番号、群（投与量および標本作製時期）および動物番号を記載して個体識別の補助とした。

---

（注 1）動物飼育期間中における飼育室の温湿度の実測値

温度：23.0～24.5℃

湿度：49.0～74.0%

## 【毒性予備試験】

### 1. 方法

#### 1) 実験群の設定

マウスを用いた腹腔内投与による急性毒性試験において、LD<sub>50</sub>値は 78 mg/kg であることが報告されていることから<sup>1)</sup>、雌雄マウスともに、25、50、100 および 200 mg/kg の被験物質投与群を設け、各群の投与動物数は 5 匹とした。

#### 2) 検体の調製および投与方法

被験物質を各濃度ごとに秤量し乳鉢で磨砕後、0.5 w/v%メチルセルロース水溶液 (0.5%MC) を少量ずつ加えながら練り混ぜて懸濁液とし、さらにあわとり練太郎 (株シンキー、AR-360M) を用いて公転速度 2000rpm、自転速度 600rpm で 1 分間ミキシング後、所定の濃度に調製した。0.5%MC は、メチルセルロース (50 cP、和光純薬工業株式会社、ロット番号:KSF7837) を日局注射用水 (光製薬株式会社、製造番号: 9912ST) に溶解して調製した。

調製検体中の被験物質の分析法を以下に示す。

分析法: 各調製検体の 1 mL を採取し、メタノールで一定量とした後、メタノールで適宜希釈し、高速液体クロマトグラフ (HPLC) 法により測定した。内標準物質には 4-ヒドロキシ安息香酸 n-ヘキシルを用い、同時に作成する検量線を用いて濃度を求めた。

#### HPLC 条件

分析カラム: Inertsil ODS-2 (4.6 mm i.d. × 150 mm、粒子径 5 μm、  
ジーエルサイエンス(株))  
移動相: アセトニトリル/水 (55/45)  
流速: 1.0 mL/min  
カラム温度: 25°C  
検出波長: 230 nm  
試料注入量: 10 μL

0.500 mg/mL および 20.0 mg/mL の投与検体を用いて安定性試験を行った結果、冷蔵、遮光条件下で 24 時間安定であることが確認された (Appendix 1)。また、各用量の投与検体について均一性および含量試験を行った結果、いずれも懸濁液の場合の当研究所の基準 (測定値のばらつきは平均値の 90.0~110%、平均含量は調製指示値の 85.0~115%) の範囲内にあることが確認された (Appendix 2、3)。

投与検体はいずれも、注射筒および注射針を用いて、投与直前に測定した体重をもとに個体別の投与液量 (10 mL/kg) を算出し、正確な量を腹腔内に単回投与した。投与時の体重範囲は、雄 32.5~38.8 g、雌 25.2~31.2 g であった。

なお、毒性予備試験では、最初に試験計画書に従って投与検体を調製したが、雄動物の

投与中に調製した投与検体に媒体（メチルセルロース、1500 cp）に起因すると思われる塊状の浮遊物が認められた。そこで、数種類の媒体を用いて調製法の検討を行った結果、0.5 w/v%メチルセルロース（50cp）で良好な懸濁性が得られたことから、媒体には0.5 w/v%メチルセルロース（50cp）を用いることとした。雄動物については投与後に試験を中止し、新たに動物を購入して再試験を行い、雌動物については日程を変更してそのまま使用した。

### 3) 症状観察

投与日は投与後約1時間にわたり継続的に生死および一般状態を観察し、その後は投与後約6時間に観察した。観察第2日以降は、午前10時前後に観察を行った。

## 2. 結果

雄および雌の毒性予備試験の結果をそれぞれ Table 1、2 に示す。雄では投与後1時間の観察で自発運動低下が全ての投与群でみられ、100 および 200 mg/kg 投与群では腹臥位となった。200 mg/kg 投与群ではさらに挙尾、強直性痙攣、異常発声、流涎が認められ、投与後6時間までに全例が死亡した。100 mg/kg 投与群では観察期間中に3例の死亡がみられた。雌では投与後1時間の観察で自発運動低下が50 mg/kg 以上の投与群でみられ、100 mg/kg 投与群では、腹臥位も1例みられた。200 mg/kg 投与群では腹臥位、挙尾、強直性痙攣、異常発声が認められ、観察期間中に4例の死亡がみられた。雄の100 および雌の200 mg/kg 投与群の生存例では、観察期間の間一般状態の変化が続いたが、その他の群では観察2日目以降一般状態は回復した。

以上の結果から、一般状態の変化および最大耐量に著しい性差はないと判断し、小核本試験は、雄マウスのみを用いて行うこととした。また、本被験物質の最大耐量は50 mg/kg であることから、小核本試験に用いる高用量を50 mg/kg とした。



## 【小核本試験】

### 1. 方法

#### 1) 実験群の設定

毒性予備試験の結果に基づいて、被験物質 *p-tert*-ブチルフェノールの投与量は、低用量 12.5 mg/kg、中用量 25 mg/kg、高用量 50 mg/kg とした。標本作製時期を投与後24および48時間とし、陰性対照群および陽性対照群を加え各群 5 匹からなる以下の 9 群を設けた。

---

標本作製時期：24時間

- 1) 陰性対照群 (0.5% MC、10 mL/kg)
- 2) PTBP 12.5 mg/kg 投与群
- 3) PTBP 25 mg/kg 投与群
- 4) PTBP 50 mg/kg 投与群
- 5) 陽性対照群 (Cyclophosphamide、CPA 50 mg/kg) \*

標本作製時期：48時間

- 6) 陰性対照群 (0.5% MC、10 mL/kg)
  - 7) PTBP 12.5 mg/kg 投与群
  - 8) PTBP 25 mg/kg 投与群
  - 9) PTBP 50 mg/kg 投与群
- 

\* 当研究所で、本用量のCPAを強制経口投与することにより、投与後24時間に小核出現頻度が有意に増加することが確認されている。

#### 2) 検体の調製および投与方法

被験物質の投与検体の調製および投与方法は、毒性予備試験の場合と同様に行った。ただし、安定性試験の結果、調製後24時間の安定性が確認されたことから、投与前日に調製し、遮光条件で気密容器で冷蔵し、24時間以内に投与に用いた。

陰性対照群の投与は、被験物質と同様にして行った。また、陽性対照物質 (CPA、Sigma Chemical Co. USA、Lot. No. 108H0568) を、日局生理食塩液 (株大塚製薬工場、製造番号：7H92N) に溶解して、所定の濃度に調製した。陽性対照物質は、10 mL/kg の液量で強制経口投与した。投与時の体重範囲は、33.0~40.7 g であった。

各用量の投与検体について、均一性および含量試験を実施した。その結果、いずれも当研究所の基準範囲内であることが確認された (Appendix 4、5)。

#### 3) 症状観察

投与日は投与後約 1 時間にわたり継続的に生死および一般状態を観察し、その後は投与後約 6 時間に観察した。投与の翌日以降は、午前10時前後に観察を行った。

#### 4) 標本の作製

小核の観察のための骨髓塗抹標本は、Schmid の方法<sup>2, 3)</sup>に従って作製した。すなわち、投与後所定の時間に頸椎脱臼法によりマウスを致死させて左右の大腿骨を摘出した。その両骨端を切断して、骨髓細胞を 0.6 mL の非働化处理したウシ胎児血清〔GIBCOBRL Co.、(現:Life Technologies Inc.)、Lot. No. 1077012〕で洗い出し、遠沈管に集め、約1200rpm で5分間遠心分離して、上清を除いた。沈渣をピペティングした後、細胞浮遊液の一部をスライドグラス上に塗抹(各個体につき3枚の標本)し、それぞれの骨髓塗抹標本に試験計画番号、コード番号およびスライド番号を記し、室温で自然乾燥させた。乾燥した骨髓塗抹標本は5分間メタノールで固定し、標本観察時まで室温保存した。

#### 5) 骨髓塗抹標本のアクリジンオレンジ(AO)蛍光染色および小核の観察

骨髓塗抹標本の AO 蛍光染色および小核の観察は、Hayashi らの方法<sup>4)</sup>に従い、40  $\mu$ g/mL の AO 溶液を骨髓塗抹標本上に滴下し、カバーグラスをかけて蛍光顕微鏡下で観察した。

骨髓塗抹標本はそれぞれの個体について、2名の観察者により観察した。1個体あたり2000個の幼若赤血球を観察し、その中の小核を有する幼若赤血球の数を記録した。また、赤血球(幼若赤血球および成熟赤血球)を1個体あたり1000個観察し、幼若赤血球の数を記録した。

#### 6) 統計処理法および判定基準

##### ①小核出現頻度

陰性対照群と陽性対照群の小核出現頻度が、背景データのばらつきの範囲内(平均値  $\pm 3 \times$  標準偏差)にあるか否かを調べた。

小核出現頻度については、陰性対照群と被験物質投与群の間および陰性対照群と陽性対照群との間で Fisher の正確確率検定法<sup>5)</sup>(片側検定)により有意差検定を実施した。なお、検定にあたっては、多重性を考慮して Bonferroni の補正<sup>6)</sup>を行った。また、小核出現頻度の用量(対数值)依存性について、Cochran-Armitage の傾検定<sup>7)</sup>(片側検定)を行った。

##### ②赤血球中に占める幼若赤血球の比率

骨髓細胞の増殖抑制の指標としての幼若赤血球の比率について、まず Bartlett 検定<sup>5)</sup>により陽性対照群を除く各群の分散の一様性の検定を行った。その結果、等分散であったことから Dunnett 検定<sup>8)</sup>を用いて陰性対照群と各被験物質投与群との平均値の差の検定を行った。

陰性対照群と陽性対照群との比較については、F 検定<sup>5)</sup>により2群の分散の一様性の検

定を行い、等分散であったことから Student の t 検定<sup>5)</sup>を行った。

### ③判定

被験物質が骨髄細胞において、染色体異常誘発作用または紡錘体形成阻害作用を示すか否かの判定は、統計解析の結果をもとに、用量反応性および陰性対照群の背景データ、骨髄細胞増殖への影響等を参考にして総合的に行った。

## 2. 結果

*p-tert*-ブチルフェノールの投与直後から1時間の間、25 および 50 mg/kg 投与群の全例に自発運動低下が認められたが、投与後6時間には回復した。その他の個体については、一般状態の変化は認められなかった。

投与後24および48時間における小核出現頻度と、全赤血球中の幼若赤血球の比率をそれぞれ、Table 3-1 および 3-2 に示す。投与後24および48時間の陰性対照群と、陽性対照群（投与後24時間のみ）の小核出現頻度は、背景データ（Appendix 6）のばらつきの範囲内であった。

投与後24および48時間の小核出現頻度は、*p-tert*-ブチルフェノールのいずれの投与群においても、陰性対照群と比較して有意な増加は示さず、用量依存性も認められなかった。一方、CPA 50 mg/kg を投与した陽性対照群では、0.01%水準で有意な小核出現頻度の増加が認められた。

また、投与後24および48時間の赤血球中に占める幼若赤血球の比率は、*p-tert*-ブチルフェノールの各投与群および陽性対照群（投与後24時間）のいずれにおいても、陰性対照群との間に有意差は認められなかった。

## 【考察および結論】

*p-tert*-ブチルフェノールについては復帰突然変異試験では陰性、染色体異常試験では陽性の結果が報告されている<sup>7)</sup>。しかし、マウスの骨髄細胞を用いて行った小核本試験の結果、*p-tert*-ブチルフェノールの投与により、小核出現頻度の増加は認められず、幼若赤血球の比率の変化も認められなかった。

以上の結果から、本試験条件下では被験物質 *p-tert*-ブチルフェノールは、マウス骨髄細胞において、染色体異常誘発作用あるいは紡錘体形成阻害作用を示さず、また、骨髄細胞の増殖抑制作用も示さないと結論した。

【参 考 文 献】

- 1) National Institute of Occupational Safety and Health (NIOSH) Registry of Toxic Effects of Chemical Substances (RTECS)
- 2) Schmid, W. : The micronucleus test. *Mutat. Res.* 31 : 9-15 (1975)
- 3) Schmid, W. : The micronucleus test for cytogenetic analysis. in "Chemical Mutagens" Hollaender, A. ed., Plenum Press, N.Y.-London (1976), vol. 4. pp. 76-78.
- 4) Hayashi, M., T. Sofuni and M. Ishidate, Jr. : An application of acridine orange fluorescent staining to the micronucleus test. *Mutat. Res.* 120 : 241-247 (1983)
- 5) Snedecor, G.W., Cochran, W.G. : "Statistical methods", 7th ed., Iowa State Univ. Press (1980)
- 6) Margolin, B.H., Resnick, M.A., Rimpo, J., Archer, P., Galloway, S.M., Bloom, A.D., Zeiger, E. : statistical analyses for in vitro cytogenetic assays using chinese hamster ovary cells. *Environ. Mutagen.* 8:183-204 (1986)
- 7) Margolin, B.H., Risko, K.J. in "Evaluation of Short-Term Tests for Carcinogens" Ashby, J. et al. eds., Cambridge Univ. Press, (1988) pp. 1.29-1.42
- 8) Dunnett, C.W. : A multiple comparison procedure for comparing several treatments with a control. *J. Am. Statist. Assoc.* 50: 1096-1121 (1955)
- 9) 厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室 監修 : 化学物質毒性試験報告, Vol. 4, 化学物質点検推進連絡協議会, 東京, p.277 (1996)

Table 1. Toxic symptoms and mortality of male CD-1 (ICR) mice after single intraperitoneal injection of PTBP in the dose-finding test

Dose (mg/kg)	Number of mice administered	Toxic symptoms	Number of mice that showed toxic symptom				Mortality
			Hours after administration		Days after administration		
			0~1	6	2	3	
25	5	Decrease in locomotor activity	5	0	0	0	0 / 5
50	5	Decrease in locomotor activity	5	1	0	0	0 / 5
100	5	Decrease in locomotor activity	5	5	2	1	3 / 5
		Prone position	5	0	0	0	
		Death	0	0	2	1	
200	5	Decrease in locomotor activity	5	0	-	-	5 / 5
		Prone position	5	0	-	-	
		Tonic convulsion	4	0	-	-	
		Abnormal phonation	2	0	-	-	
		Straub tail	4	0	-	-	
		Salivation	3	0	-	-	
		Death	1	4	-	-	

Table 2. Toxic symptoms and mortality of female CD-1 (ICR) mice after single intraperitoneal injection of PTBP in the dose-finding test

Dose (mg/kg)	Number of mice administered	Toxic symptoms	Number of mice that showed toxic symptom				Mortality
			Hours after administration		Days after administration		
			0~1	6	2	3	
25	5	No observable symptoms	5	5	5	5	0 / 5
50	5	Decrease in locomotor activity	5	0	0	0	0 / 5
100	5	Decrease in locomotor activity Prone position	5 1	1 0	0 0	0 0	0 / 5
200	5	Decrease in locomotor activity Prone position Tonic convulsion Abnormal phonation Straub tail Death	5 5 5 2 1 0	2 0 0 0 0 3	2 0 0 0 0 0	1 0 0 0 0 1	4 / 5

Table 3-1. Results of micronucleus test in male CD-1 (ICR) mice after single intraperitoneal injection of PTBP (sampling time: 24 hours)

Group	Animal No.	MNPCE / PCE <sup>a</sup>	PCE / ERY <sup>b</sup>
Negative control 0.5% MC 10 mL/kg	1	5 / 2000	498 / 1000
	2	2 / 2000	570 / 1000
	3	1 / 2000	482 / 1000
	4	4 / 2000	487 / 1000
	5	4 / 2000	547 / 1000
	Total	16 / 10000	2584 / 5000
	%(Mean±S.D.)	( 0.16 ± 0.08 )	( 51.7 ± 3.9 )
PTBP 12.5 mg/kg	6	2 / 2000	456 / 1000
	7	0 / 2000	579 / 1000
	8	1 / 2000	455 / 1000
	9	2 / 2000	457 / 1000
	10	1 / 2000	559 / 1000
	Total	6 / 10000	2506 / 5000
	%(Mean±S.D.)	( 0.06 ± 0.04 )	( 50.1 ± 6.2 )
PTBP 25 mg/kg	11	4 / 2000	607 / 1000
	12	3 / 2000	592 / 1000
	13	1 / 2000	562 / 1000
	14	2 / 2000	474 / 1000
	15	2 / 2000	503 / 1000
	Total	12 / 10000	2738 / 5000
	%(Mean±S.D.)	( 0.12 ± 0.06 )	( 54.8 ± 5.7 )
PTBP 50 mg/kg	16	3 / 2000	530 / 1000
	17	0 / 2000	473 / 1000
	18	1 / 2000	468 / 1000
	19	3 / 2000	260 / 1000
	20	2 / 2000	483 / 1000
	Total	9 / 10000	2214 / 5000
	%(Mean±S.D.)	( 0.09 ± 0.07 )	( 44.3 ± 10.5 )
Positive control CPA 50 mg/kg	21	25 / 2000	426 / 1000
	22	47 / 2000	478 / 1000
	23	51 / 2000	586 / 1000
	24	33 / 2000	324 / 1000
	25	39 / 2000	514 / 1000
	Total	195 / 10000	2328 / 5000
	%(Mean±S.D.)	( 1.95 ± 0.52 )***	( 46.6 ± 9.8 )

a: Number of micronucleated polychromatic erythrocytes / number of polychromatic erythrocytes observed

b: Number of polychromatic erythrocytes / number of erythrocytes observed

CPA: Cyclophosphamide MC: Methyl cellulose

\*\*\*: Significantly higher than the negative control at 0.1% level.



Table 3-2. Results of micronucleus test in male CD-1 (ICR) mice after single intraperitoneal injection of PTBP (sampling time: 48 hours)

Group	Animal No.	MNPCE / PCE <sup>a</sup>	PCE / ERY <sup>b</sup>
Negative control 0.5% MC 10 mL/kg	26	2 / 2000	579 / 1000
	27	5 / 2000	525 / 1000
	28	3 / 2000	517 / 1000
	29	2 / 2000	617 / 1000
	30	4 / 2000	535 / 1000
	Total	16 / 10000	2773 / 5000
	%(Mean±S.D.)	( 0.16 ± 0.07 )	( 55.5 ± 4.2 )
PTBP 12.5 mg/kg	31	0 / 2000	607 / 1000
	32	2 / 2000	486 / 1000
	33	1 / 2000	523 / 1000
	34	2 / 2000	627 / 1000
	35	3 / 2000	523 / 1000
	Total	8 / 10000	2766 / 5000
	%(Mean±S.D.)	( 0.08 ± 0.06 )	( 55.3 ± 6.1 )
PTBP 25 mg/kg	36	3 / 2000	484 / 1000
	37	2 / 2000	502 / 1000
	38	1 / 2000	452 / 1000
	39	3 / 2000	542 / 1000
	40	2 / 2000	529 / 1000
	Total	11 / 10000	2509 / 5000
	%(Mean±S.D.)	( 0.11 ± 0.04 )	( 50.2 ± 3.6 )
PTBP 50 mg/kg	41	1 / 2000	486 / 1000
	42	2 / 2000	631 / 1000
	43	1 / 2000	460 / 1000
	44	1 / 2000	343 / 1000
	45	1 / 2000	558 / 1000
	Total	6 / 10000	2478 / 5000
	%(Mean±S.D.)	( 0.06 ± 0.02 )	( 49.6 ± 10.8 )

a: Number of micronucleated polychromatic erythrocytes / number of polychromatic erythrocytes observed

b: Number of polychromatic erythrocytes / number of erythrocytes observed

MC: Methyl cellulose