

メタクリル酸 = 2,3 エポキシプロピルのラットを用いた
吸入によるがん原性試験報告書

試験番号 : 0794

CAS No. 106-91-2

2015 年 3 月 23 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

目次

標題	i
試験目的	i
試験法	i
GLP 対応	i
動物福祉	i
試験委託者	i
試験施設及び運営管理者	ii
試験日程	ii
試験関係者一覧	ii
試資料の保管	iii
試験責任者（最終報告書作成者）の署名、捺印及び日付	iii
陳述書	iv
信頼性保証証明書	v
本文	vi
TABLES	A~R2	
FIGURES	1~6	
PHOTOGRAPHS	1~12	
APPENDICES	1-1~3	

標題

メタクリル酸=2,3-エポキシプロピルのラットを用いた吸入によるがん原性試験

試験目的

メタクリル酸=2,3-エポキシプロピルをラットに 104 週間全身暴露し、がん原性を検索した。

試験法

本試験は、平成 9 年 3 月 11 日付け、基発第 144 号「がん原性試験による調査の基準」及び OECD 化学品テストガイドライン 451（発癌性試験 2009 年 9 月 7 日採択）に準じて実施した。

GLP 対応

本試験は、昭和 63 年 9 月 1 日付け、労働省告示第 76 号「試験施設等が具備すべき基準（安衛法 GLP）」（一部改正。平成 12 年 3 月 29 日付け、労働省告示第 13 号）に準拠し、OECD GLP（1997 年 11 月 26 日採択）に準じて実施した。

動物福祉

本試験は、平成 18 年 4 月 28 日付け、環境省告示第 88 号「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」、平成 18 年 6 月 1 日付け、厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知「厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本方針」及び平成 18 年 11 月 27 日付け、日本バイオアッセイ研究センター制定「動物実験に関する指針」を遵守した。また、本試験は日本バイオアッセイ研究センターの動物実験委員会で承認された。

試験委託者

厚生労働省労働基準局安全衛生部化学物質対策課
東京都千代田区霞が関 1-2-2

メタクリル酸 = 2,3 エポキシプロピルのラットを用いた
吸入によるがん原性試験報告書

試験番号：0794

本文

本文目次

	頁
要約	1
試験材料	4
- 1 被験物質の性状等	4
- 1 - 1 名称等	4
- 1 - 2 構造式及び分子量	4
- 1 - 3 物理化学的性状等	4
- 2 被験物質の使用ロット等	4
- 3 被験物質の特性	5
- 3 - 1 同一性	5
- 3 - 2 安定性	5
- 4 試験動物	5
試験方法	6
- 1 投与	6
- 1 - 1 投与経路	6
- 1 - 2 被験物質の投与方法	6
- 1 - 3 投与期間	6
- 1 - 4 投与濃度	6
- 1 - 5 投与経路、投与期間及び投与濃度の設定理由	6
- 1 - 6 被験物質の発生方法と濃度調整	7
- 1 - 7 被験物質濃度の測定	7
- 2 動物管理	7
- 2 - 1 各群の使用動物数	7
- 2 - 2 群分け及び個体識別方法	8
- 2 - 3 飼育条件	8
(1) 飼育環境	8
(2) 飼料	9
(3) 飲水	9

- 3	観察・検査項目及び方法	9
- 3-1	動物の生死及び一般状態の観察	9
- 3-2	体重測定	9
- 3-3	摂餌量測定	9
- 3-4	血液学的検査	10
- 3-5	血液生化学的検査	10
- 3-6	尿検査	10
- 3-7	病理学的検査	10
(1)	肉眼的観察	10
(2)	臓器重量	10
(3)	病理組織学的検査	11
- 4	数値処理と統計方法	11
- 4-1	数値の取り扱いと表示	11
- 4-2	統計処理	11
	試験成績	13
- 1	生死状況	13
- 2	一般状態	13
- 3	体重	13
- 4	摂餌量	14
- 5	血液学的検査	14
- 6	血液生化学的検査	14
- 7	尿検査	15
- 8	病理学的検査	15
- 8-1	肉眼的観察	15
- 8-2	臓器重量	16
- 8-3	病理組織学的検査	16
- 8-4	死因	23
	考察及びまとめ	24
- 1	生存率、一般状態、体重、摂餌量	24
- 2	腫瘍性及び腫瘍関連病変	24
- 3	その他の影響	26
- 4	他文献との比較等	27

結論	29
文献	30
予見することのできなかつた試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態 及び試験計画書に従わなかつたこと	32

要約

メタクリル酸 = 2,3-エポキシプロピルのがん原性を検索する目的で F344/DuCr1Cr1j ラットを用いた吸入による 2 年間 (104 週間) の試験を実施した。

本試験は、被験物質投与群 3 群と対照群 1 群の計 4 群の構成で、各群雌雄とも 50 匹とし、合計 400 匹を用いた。被験物質の投与は、メタクリル酸 = 2,3-エポキシプロピルを 1 日 6 時間、1 週 5 日間で 104 週間、動物に全身暴露することにより行った。投与濃度は、雌雄とも 0 (対照群)、3.2、8 及び 20 ppm とした。観察、検査として、一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、解剖時の肉眼的観察、臓器重量測定及び病理組織学的検査を行った。

メタクリル酸 = 2,3-エポキシプロピルの暴露の結果、動物の生存率は雌雄の 20 ppm 群で低下した。一般状態では、雌雄の投与群に外部腫瘤の発生、雄の 20 ppm 群に不整呼吸と異常鼻音が多くみられ、雌の 8 ppm 以上の群で不整呼吸がやや多くみられた。体重は、雄では 20 ppm 群は投与期間を通じて、雌では 20 ppm 群は投与期間後半、8 ppm 群は投与期間終盤、それぞれ対照群より低値で推移した。

病理組織学的検査では、雌雄とも鼻腔に腫瘍の発生増加が認められた。また、雄では腹膜、皮膚及び皮下組織に、雌では乳腺と子宮に腫瘍の発生増加がみられた。鼻腔では雌雄に扁平上皮癌と腺腫、雄に鼻腔神経上皮腫の発生増加が認められ、さらに、雌雄に腺扁平上皮癌、雄に扁平上皮乳頭腫、腺癌、雌に鼻腔神経上皮腫、血管肉腫の発生もみられた。また、鼻腔では腫瘍の前段階と考えられる異型扁平上皮過形成、呼吸上皮の扁平上皮化生、異型を伴う扁平上皮化生、移行上皮過形成の発生増加が投与群にみられた。また、雄では腹膜の中皮腫、皮膚の基底細胞腫及び基底細胞腫と基底細胞癌を合わせた腫瘍、皮下組織の線維腫、雌では乳腺の線維腺腫及び線維腺腫と腺腫、腺癌を合わせた腫瘍、子宮の子宮内膜間質性肉腫の発生増加が認められた。その他の非腫瘍性病変としては、雌雄の鼻腔(呼吸上皮、嗅上皮、固有層の腺)、前胃、骨髄、脾臓及び雄の眼に暴露の影響がみられた。

以上のように、F344/DuCr1Cr1j ラットを用いて、メタクリル酸 = 2,3-エポキシプロピルの 2 年間 (104 週間) にわたる吸入によるがん原性試験を行った結果、以下の結論を得た。

雄では、鼻腔の腫瘍(扁平上皮癌、腺扁平上皮癌、扁平上皮乳頭腫、腺癌、腺腫、鼻腔神経上皮腫)、腹膜の中皮腫、皮膚の基底細胞腫及び基底細胞腫と基底細胞癌を合わせた腫瘍、皮下組織の線維腫の発生増加が認められ、これらの腫瘍の発生増加は雄ラットに対するがん原性を示す明らかな証拠と考えられた。

雌では、鼻腔の腫瘍(扁平上皮癌、腺扁平上皮癌、腺腫、鼻腔神経上皮腫、血管肉腫)、乳腺の線維腺腫及び線維腺腫と腺腫、腺癌を合わせた腫瘍、子宮の子宮内膜間質性肉腫の発生増加が認められ、これらの腫瘍の発生増加は雌ラットに対するがん原性を示す明らかな証拠と考えられた。

メタクリル酸=2,3-エポキシプロピルのがん原性試験における主な腫瘍発生 (ラット 雄)

投与濃度 (ppm)		0	3.2	8	20	Peto 検定	Cochran- Armitage 検定	
検査動物数		50	50	50	50			
良性 腫瘍	皮膚	基底細胞腫	0	1	1	4		
		角化棘細胞腫	0	4	3	3		
		扁平上皮乳頭腫	2	1	2	1		
	皮下組織	線維腫	5	4	4	13 *		
		腺腫	0	7 **	9 **	0		
	鼻腔	扁平上皮乳頭腫	0	0	0	1		
		島細胞腺腫	2	4	2	2		
	膵臓	C-細胞腺腫	4	5	3	4		
	甲状腺	間細胞腫	40	46	47 *	36		
	精巣	腺腫	0	0	1	0		
乳腺	線維腺腫	0	0	2	1			
悪性 腫瘍	皮膚	基底細胞癌	0	0	1	1		
		扁平上皮癌	0	2	1	2		
	皮下組織	線維肉腫	0	2	1	0		
		腺癌	0	0	0	2		
	鼻腔	扁平上皮癌	0	0	0	29 **		
		腺扁平上皮癌	0	0	1	1		
		鼻腔神経上皮腫	0	0	0	7 **		
		単核球性白血病	4	6	3	4		
	脾臓	島細胞腺癌	1	1	2	2		
	甲状腺	C-細胞癌	1	1	3	1		
	乳腺	腺癌	1	0	0	0		
	腹膜	中皮腫	1	7 *	16 **	14 **		
	皮膚	基底細胞腫 + 基底細胞癌	0	1	2	5 *		
鼻腔	腺腫 + 腺癌 + 扁平上皮乳頭腫 + 扁平上皮癌 + 腺扁平上皮癌	0	7 **	10 **	33 **			
	腺癌 + 扁平上皮癌 + 腺扁平上皮癌 + 鼻腔神経上皮腫	0	0	1	38 **			

* : p 0.05 で有意

** : p 0.01 で有意

(Fisher 検定)

: p 0.05 で有意増加

: p 0.01 で有意増加

(Peto, Cochran-Armitage 検定)

: p 0.05 で有意減少

: p 0.01 で有意減少

(Cochran-Armitage 検定)

メタクリル酸=2,3-エポキシプロピルのがん原性試験における主な腫瘍発生 (ラット 雌)

投与濃度 (ppm)		0	3.2	8	20	Peto 検定	Cochran- Armitage 検定
検査動物数		50	50	50	50		
良性 腫瘍	皮下組織	線維腫	0	2	2	3	
	鼻腔	腺腫	0	3	3	1	
	甲状腺	C-細胞腺腫	1	1	3	4	
	子宮	腺腫	0	0	0	2	
		子宮内膜間質性ポリープ	6	10	7	7	
	乳腺	腺腫	0	0	1	0	
		線維腺腫	7	14	14	23 **	
	陰核腺	腺腫	0	3	3	4	
悪性 腫瘍	鼻腔	腺扁平上皮癌	0	0	0	1	
		扁平上皮癌	0	0	0	10 **	
		鼻腔神経上皮腫	0	0	0	2	
		血管肉腫	0	0	0	1	
	甲状腺	C-細胞癌	0	0	2	0	
	子宮	腺癌	0	1	0	1	
		子宮内膜間質性肉腫	1	1	1	5	
乳腺	腺癌	0	1	1	1		
鼻腔	腺腫 + 腺扁平上皮癌 + 扁平 上皮癌		0	3	3	12 **	
	腺扁平上皮癌 + 扁平上皮癌 + 鼻腔神経上皮腫 + 血管肉 腫		0	0	0	14 **	
乳腺	腺腫 + 線維腺腫 + 腺癌		7	15 *	15 *	23 **	

* : p 0.05 で有意

** : p 0.01 で有意

(Fisher 検定)

: p 0.05 で有意増加

: p 0.01 で有意増加

(Peto, Cochran-Armitage 検定)

: p 0.05 で有意減少

: p 0.01 で有意減少

(Cochran-Armitage 検定)

試験材料

- 1 被験物質の性状等

- 1 - 1 名称等

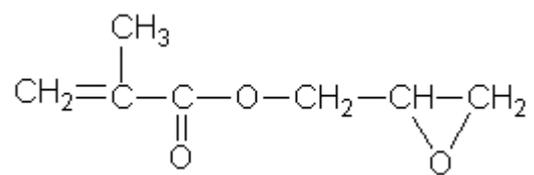
名 称 : メタクリル酸 = 2,3-エポキシプロピル
(2,3-Epoxypropyl methacrylate)

IUPAC 名: メタクリル酸グリシジル、グリシジルメタクリレート

CAS No. : 106-91-2

- 1 - 2 構造式及び分子量 (文献 1)

構 造 式 :



分 子 量 : 142.15

- 1 - 3 物理化学的性状等 (文献 1、2)

性 状 : 無色澄明の液体

比 重 : 1.07 (25)

沸 点 : 189

蒸 気 圧 : 0.622 mmHg (25)

溶 解 性 : 水に可溶 (16.5 g/L、25)、ベンゼン、エチルエーテル、エタノールに易溶

保 管 条 件 : 室温、暗所に保管

- 2 被験物質の使用ロット等

使用ロット番号 (使用期間) : MKBF2342V (2012/2/2 ~ 2012/8/3)

MKBG6062V (2012/8/6 ~ 2013/7/30)

MKBH2577V (2013/7/31 ~ 2014/1/29)

製 造 元： シグマ - アルドリッチ社
純 度： 99.7 ~ 99.8 % (シグマ - アルドリッチ社検査成績データ)

- 3 被験物質の特性

- 3 - 1 同一性

被験物質の同一性は、ロットごとにマスペクトルを質量分析計（(株)日立製作所 M-80B）を用いて測定し、また、赤外吸収スペクトルを赤外分光光度計（(株)島津製作所 FTIR-8200PC）を用いて測定し、それぞれの文献値と比較することにより確認した。

その結果、各ロットとも被験物質のマスペクトルは文献値（文献 3）と同じフラグメントピークを示し、また、赤外吸収スペクトルも文献値（文献 4）と同じ波数にピークが認められ、被験物質はメタクリル酸 = 2,3-エポキシプロピルであることを確認した。

それらの結果は APPENDIX 1-1 に示した。

- 3 - 2 安定性

被験物質の安定性は、ロットごとに使用開始前及び使用終了後にガスクロマトグラムをガスクロマトグラフ（アジレントテクノロジー 5890A）を用いて測定し、それぞれのデータを比較することにより確認した。

その結果、各ロットとも使用開始前と使用終了後の測定結果に差はみられず、使用期間中の被験物質は安定であることを確認した。

それらの結果は APPENDIX 1-2 に示した。

- 4 試験動物

動物は、日本チャールス・リバー(株)（厚木飼育センター：神奈川県厚木市下古沢 795）の F344/DuCr1Cr1j ラット（SPF）の雌雄を使用した。

雌雄各 222 匹を 4 週齢で導入し、検疫、馴化を各 1 週間実施した後、発育順調で一般状態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 200 匹（群構成時体重範囲、雄：108 ~ 133g、雌：90 ~ 104g）を選別し、試験に用いた。

なお、F344/DuCr1Cr1j ラット（SPF）を選択した理由は、遺伝的に安定していること、過去に多くのがん原性試験に用いたデータがあり、化学物質による腫瘍発生の感受性が知られていることによる。

試験方法

- 1 投与

- 1 - 1 投与経路

投与経路は全身暴露による経気道投与とした。

- 1 - 2 被験物質の投与方法

投与は、試験動物を収容した吸入チャンバー内に、設定濃度に調整した被験物質を含む空気を送り込み、動物に全身暴露することにより行った。

- 1 - 3 投与期間

投与期間は、1日6時間、原則として1週5日の暴露で104週間とし、計492回の暴露を行った。

- 1 - 4 投与濃度

投与濃度は、3.2、8及び20 ppm (体積比 v/v) の3段階 (公比 2.5) に設定した。なお、対照群は清浄空気による換気のみとした。

- 1 - 5 投与経路、投与期間及び投与濃度の設定理由

投与経路は、被験物質を生産、使用する作業環境における労働者への主な暴露経路に合わせ、全身暴露による経気道投与とした。

投与期間は、がん原性試験による調査の基準 (安衛法) (文献 5) 及び OECD 化学品テストガイドライン 451 (発癌性試験) (文献 6) に従い、2年間 (104週間) とした。

投与濃度は13週間試験 (試験番号 0770) の結果 (文献 7) をもとに決定した。13週間試験は0 (対照群)、1、2、5、10、20 ppm (v/v) の濃度で行った。その結果、各群とも動物の死亡はみられなかった。20 ppm 群では雌雄に体重増加の抑制 (雌は軽度) が認められ、病理組織学的検査では鼻腔に変化 (炎症性細胞浸潤、呼吸上皮の壊死、糜爛、再生、扁平上皮化生、過形成、嗅上皮の壊死、再生、萎縮) がみられた。しかし、最終体重は対照群に対し、雄は89%、雌は95%であり、鼻腔の変化は動物の生死に直ちに關わるものではなかった。また、一般状態、血液検査には被験物質の影響と思われる変化はみられ

なかった。従って、がん原性試験の最高濃度は 20 ppm が妥当と考えられた。がん原性試験の最低濃度については、13 週間試験で 5 ppm 群に少数例ながら、鼻腔に病理組織学的変化（炎症性細胞浸潤）がみられたことから、5 ppm より低い濃度が望ましいと考えられた。

以上のことから、がん原性試験の投与濃度は、雌雄とも 20 ppm を最高濃度とし、以下、8、3.2 ppm（公比 2.5）と決定した。

- 1 - 6 被験物質の発生方法と濃度調整

被験物質供給装置（柴田科学(株)特注）の発生容器内の被験物質を循環式恒温槽で加熱しながら、清浄空気のパブリングにより蒸発させた。この被験物質の蒸気を清浄空気（搬送空気）と混合しながら、循環式恒温槽で一定温度に冷却、再加温し、一定濃度にした後、流量計を用いて一定量を各吸入チャンバー上部のラインミキサーに供給した。

吸入チャンバー内の被験物質濃度はガスクロマトグラフで監視し、その濃度データをもとに設定濃度になるように被験物質の吸入チャンバーへの供給量を調節した。

- 1 - 7 被験物質濃度の測定

吸入チャンバー内の被験物質濃度は、自動サンプリング装置付ガスクロマトグラフ（株）島津製作所 GC-14B）により、暴露開始前から暴露終了後まで 15 分ごとに測定した。

濃度測定結果を TABLE A に示した。各投与群の被験物質濃度は、その平均値と設定濃度の差（（平均値 - 設定濃度）/ 設定濃度 × 100）が 1.3%以内、変動係数（標準偏差 / 平均値 × 100）が 3.1%以内であり、高い精度でチャンバー内濃度が管理されていることが示された。

- 2 動物管理

- 2 - 1 各群の使用動物数

投与群 3 群及び対照群 1 群の計 4 群を設け、各群雌雄各 50 匹の動物を用いた。

群名称	動物数（動物番号）	
	雄	雌
対照群	50 匹（1001～1050）	50 匹（2001～2050）
3.2 ppm 群	50 匹（1101～1150）	50 匹（2101～2150）
8 ppm 群	50 匹（1201～1250）	50 匹（2201～2250）
20 ppm 群	50 匹（1301～1350）	50 匹（2301～2350）

- 2 - 2 群分け及び個体識別方法

供試動物の各群への割り当ては、一般状態及び体重の推移に異常を認めなかった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 8）。

動物の個体識別は、検疫期間及び馴化期間では尾に油性マーカーによる色素塗布、投与期間では耳パンチにより行った。また、ケージには個体識別番号を記したラベルを付した。

なお、動物はバリア区域内の独立した室（504 室）に収容し、室の扉に試験番号、動物種及び動物番号を表示し、他試験及び異種動物と区別した。

- 2 - 3 飼育条件

(1) 飼育環境

検疫期間中は検疫室（517・518 室）で、馴化期間及び投与期間中は、吸入試験室（504 室）の吸入チャンバー内で動物を飼育した。

検疫室、吸入試験室及び吸入チャンバー内の環境条件及び使用したケージを以下に示した。検疫室、吸入試験室の温度、湿度は実測値（平均値 ± 標準偏差）を < > 内に、また、吸入チャンバー内環境の測定結果は APPENDIX 2 に示した。検疫室、吸入試験室及び吸入チャンバー内の環境には、動物の健康状態に影響を与えるような大きな変化は認められなかった。

温 度 : 検疫室 ; 23 ± 2 < 517 室 ; 22.9 ± 0.1 、 518 室 ; 24.0 ± 0.5 >
吸入試験室 ; 22 ± 2 < 504 室 ; 21.7 ± 0.3 >

吸入チャンバー内 ; 23 ± 2

湿 度 : 検疫室 ; $55 \pm 15\%$ < 517 室 ; $51 \pm 1\%$ 、 518 室 ; $48 \pm 2\%$ >
吸入チャンバー内 ; $50 \pm 20\%$

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 : 検疫室 ; 15 ~ 17 回 / 時

吸入試験室 ; 7 ~ 9 回 / 時

吸入チャンバー内 ; 12 ± 1 回 / 時

圧 力 : 吸入チャンバー内 ; $0 \sim -15 \times 10 \text{ Pa}$

ケージへの動物の収容方法 : 検疫期間 ; 群飼 (5 匹)、馴化・投与期間 ; 単飼

ケージの材質・形状・寸法等 :

検疫期間 ; ステンレス製群飼網ケージ (340(W) × 294(D) × 176(H) mm/5 匹)

馴化期間 ; ステンレス製 6 連網ケージ (125(W) × 216(D) × 176(H) mm/匹)

投与期間 ; ステンレス製 5 連網ケージ (150(W) × 216(D) × 176(H) mm/匹)

(2) 飼料

飼料は、全飼育期間を通して、オリエンタル酵母工業(株) (千葉工場：千葉県千葉市美浜区新港 8-2) の CRF-1 固型飼料 (30kGy- 線照射滅菌飼料) を固型飼料給餌器により自由摂取させた。ただし、定期解剖前日の夕方からは飼料を摂取させなかった。

なお、試験に使用した飼料中の栄養成分と夾雑物についてはオリエンタル酵母工業(株) から分析データを使用ロットごとに入手し、保管した。また、飼料中の夾雑物は試験計画書に規定した許容基準と照合して異常のないことを確認し、保管した。

(3) 飲水

飲水は、全飼育期間を通して、市水 (神奈川県秦野市水道局供給) をフィルターろ過した後、紫外線照射し、自動給水装置により自由摂取させた。

なお、飲水は、試験施設として実施している定期サンプリングによる飲水を(財)食品薬品安全センター秦野研究所 (神奈川県秦野市落合 729-5) に依頼して、水道法を参考にして規定した項目について分析し、結果を試験計画書に規定した許容基準と照合して異常のないことを確認し、保管した。

- 3 観察・検査項目及び方法

- 3 - 1 動物の生死及び一般状態の観察

動物の生死及び瀕死の確認を毎日 1 回、また、一般状態の詳細な観察は週 1 回行った。

- 3 - 2 体重測定

体重測定は、投与開始後 14 週間は週 1 回、それ以降は 4 週に 1 回 (104 週にも測定) 行った。また、動物の死亡発見時、切迫屠殺時及び定期解剖動物の搬出時にも体重 (搬出時体重) を測定した。

- 3 - 3 摂餌量測定

摂餌量は、投与開始後 14 週間は週 1 回、それ以降は 4 週に 1 回 (104 週にも測定) 給餌量及び残餌量を測定し、その値から 1 匹 1 日当たりの摂餌量を算出した。

- 3 - 4 血液学的検査

定期解剖時に生存していた採血可能な動物について、イソフルラン麻酔下で腹大動脈より EDTA-2 カリウム入り採血管に採血した血液を用いて、下記の項目について検査を行った。検査方法は APPENDIX 3 に示した。

検査項目：赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量(MCH)、平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)、血小板数、網赤血球比、白血球数、白血球分類

- 3 - 5 血液生化学的検査

定期解剖時に生存していた採血可能な動物について、イソフルラン麻酔下で腹大動脈よりヘパリンリチウム入り採血管に採血した血液を遠心分離し、得られた血漿を用いて、下記の項目について検査を行った。検査方法は APPENDIX 3 に示した。

検査項目：総蛋白、アルブミン、A/G 比、総ビリルビン、グルコース、総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質、AST、ALT、LDH、ALP、 γ -GTP、CK、尿素窒素、クレアチニン、ナトリウム、カリウム、クロール、カルシウム、無機リン

- 3 - 6 尿検査

投与 104 週の検査時まで生存した動物から、新鮮尿を採取し、尿試験紙（マルティステック、シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス社）を用いて、下記の項目について検査を行った。

検査項目：pH、蛋白、グルコース、ケトン体、ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲン

- 3 - 7 病理学的検査

(1) 肉眼的観察

全動物について肉眼的に観察を行った。

(2) 臓器重量

定期解剖時まで生存した動物について、下記に示した臓器の湿重量（臓器実重量）を測定した。また、各臓器の湿重量の搬出時体重に対する百分率（臓器重量体重比）を算出した。

測定臓器：副腎、精巣、卵巣、心臓、肺、腎臓、脾臓、肝臓、脳

(3) 病理組織学的検査

全動物について下記に示した器官、組織を摘出し、10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液で固定後、パラフィン包埋、薄切、ヘマトキシリン・エオジン染色を行い、光学顕微鏡で病理組織学的に検査した。

なお、鼻腔については切歯の後端(レベル1)、切歯乳頭(レベル2)、第一臼歯の前端(レベル3)の3ヶ所(文献9)で切り出し(横断)、検査した。

検査器官・組織：皮膚、鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺、骨髄(大腿骨)、リンパ節(腋窩、鼠径等)、胸腺、脾臓、心臓、舌、唾液腺、食道、胃、小腸(十二指腸を含む)、大腸、肝臓、膵臓、腎臓、膀胱、下垂体、甲状腺、上皮小体、副腎、精巣、精巣上体、精嚢、前立腺、卵巣、子宮、膣、乳腺、脳、脊髄、末梢神経(坐骨神経)、眼球、ハーダー腺、筋肉、骨(大腿骨)、肉眼的に変化のみられた器官及び組織

- 4 数値処理と統計方法

- 4 - 1 数値の取り扱いと表示

各数値データは測定機器の精度に合わせて表示した。

吸入チャンバー内の被験物質濃度は ppm を単位として、小数点以下第3位まで測定し、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。

体重は g を単位とし、整数値の1の位まで測定し、表示した。

摂餌量は g を単位とし、給餌量及び残餌量を小数点以下第1位まで測定し、給餌量値から残餌量値を減じて摂餌量とした。この値を測定期間の日数で除し、1日当た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。

臓器実重量は g を単位とし、小数点以下第3位まで測定し、表示した。臓器重量体重比は臓器実重量値を搬出時体重で除し、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、血液生化学的検査は APPENDIX 3 に示した単位と桁数により表示した。

なお、各数値データ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い表示した。

- 4 - 2 統計処理

各群の有効動物数は、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とした。病理組織学的検査は、臓器ごとに検査不能臓器を除いた臓器数、その他の検査及び測定は、実施できた動物数を検査(測定)数とした。

体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査及び臓器重量の測定値は、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。

病理組織学的検査のうち非腫瘍性病変については、所見のみられなかった動物をグレード 0、所見のみられた動物は、その所見の程度及び範囲などを基準にしてグレード 1～4 に分け、²検定を行った。また、尿検査についても対照群と各投与群間との²検定を行った。

腫瘍性病変については、各臓器の腫瘍ごとに、各群ごとの総担腫瘍臓器数について、Peto 検定（文献 10）、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定を行った。また、Peto 検定は病理組織学的検査時に付与されたコンテックス(注)を用いて、死亡率法（コンテックス 3, 4 を付与された腫瘍についての検定）、有病率法（コンテックス 0, 1, 2 を付与された腫瘍についての検定）、死亡率法 + 有病率法（コンテックス 0～4 の総計で検定）を行った。

各検定は 5%の有意水準で、Peto 検定、Fisher 検定は片側検定、その他の検定は両側検定を行い、検定結果を表示する場合には 5%及び 1%の有意水準の表示を行った。

注： Peto 検定に用いるコンテックス

- 0：定期解剖動物にみつかった腫瘍
- 1：死亡 / 瀕死動物にみつかった腫瘍で、直接死因に関係しない腫瘍
- 2：多分 1 だと思いが、確かでない腫瘍
- 3：多分 4 だと思いが、確かでない腫瘍
- 4：死亡 / 瀕死動物にみつかった腫瘍で、直接死因に係わっていた腫瘍

試験成績

- 1 生死状況

生死状況を TABLE B 1, 2 及び FIGURE 1, 2 に示した。

- 雄 -

20 ppm 群で生存率が低下した。

各群の 104 週における生存動物数（生存率）は、対照群：41 匹（82%）、3.2 ppm 群：44 匹（88%）、8 ppm 群：39 匹（78%）、20 ppm 群：9 匹（18%）であった。

- 雌 -

20 ppm 群で生存率が低下した。

各群の 104 週における生存動物数（生存率）は、対照群：39 匹（78%）、3.2 ppm 群：39 匹（78%）、8 ppm 群：35 匹（70%）、20 ppm 群：29 匹（58%）であった。

- 2 一般状態

一般状態の観察結果を TABLE C 1, 2 に示した。

- 雄 -

外部腫瘍の発生（対照群：9 匹、3.2 ppm 群：15 匹、8 ppm 群：18 匹、20 ppm 群：25 匹）が投与群に多かった。20 ppm 群では鼻の腫瘍が 5 匹にみられた。また、不整呼吸（対照群：4 匹、3.2 ppm 群：4 匹、8 ppm 群：2 匹、20 ppm 群：28 匹）と異常鼻音（対照群：0 匹、3.2 ppm 群：1 匹、8 ppm 群：0 匹、20 ppm 群：13 匹）が 20 ppm 群に多くみられた。

- 雌 -

外部腫瘍の発生（対照群：7 匹、3.2 ppm 群：20 匹、8 ppm 群：22 匹、20 ppm 群：25 匹）が投与群に多かった。また、不整呼吸（対照群：3 匹、3.2 ppm 群：3 匹、8 ppm 群：10 匹、20 ppm 群：8 匹）が 8 ppm 以上の群にやや多くみられた。

- 3 体重

体重の推移を TABLE D 1~4 及び FIGURE 3, 4 に示した。

- 雄 -

20 ppm 群は投与開始週より体重増加の抑制がみられ、投与期間を通じて対照群より低値で推移した。

最終計測日（104 週）の各投与群の体重は、対照群に対して 3.2 ppm 群：100%、8 ppm 群：98%、20 ppm 群：80%であった。

- 雌 -

20 ppm 群は投与期間初期に軽度の増加抑制がみられ、投与 8 週以降、回復したが、投与期間後半は対照群より低値で推移した。8 ppm 群は投与期間終盤、対照群より低値で推移した。

最終計測日（104 週）の各投与群の体重は、対照群に対して 3.2 ppm 群：100%、8 ppm 群：92%、20 ppm 群：87%であった。

- 4 摂餌量

摂餌量を TABLE E 1～4 及び FIGURE 5, 6 に示した。

- 雄 -

20 ppm 群は投与期間を通じて対照群よりやや低値であった。

- 雌 -

20 ppm 群は投与期間初期と後半、8 ppm 群は投与期間終盤、対照群よりやや低値であった。

- 5 血液学的検査

血液学的検査の結果を TABLE F 1, 2 に示した。

- 雄 -

MCHC の低値が 8 ppm 以上の群に、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値の低値及び網赤血球比の高値が 8 ppm 群にみられ、8 ppm 群で軽度の貧血が認められた。

その他、白血球百分率で好酸球比の低値が 8 ppm 群に、5 分類（好中球、リンパ球、単球、好酸球、好塩基球）以外のその他（other）に分類された血球比の高値が 20 ppm 群でみられたが、それぞれ変化が少なく被験物質の影響と考えなかった。

- 雌 -

赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値の低値が全投与群にみられ、全投与群で軽度の貧血が認められた。

その他、白血球数の高値が 3.2 ppm 群でみられたが、投与濃度に対応したものではなく、被験物質の影響とは考えなかった。

- 6 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を TABLE G 1, 2 に示した。

- 雄 -

アルブミンの低値が 8 ppm 以上の群に、総蛋白、グルコース、クレアチニン、カルシウ

△の低値が 20 ppm 群でみられた。

その他、無機リンの高値が 8 ppm 群にみられたが、投与濃度に対応したのではなく、被験物質の影響とは考えなかった。

- 雌 -

クレアチニンの低値が 20 ppm 群でみられた。

- 7 尿検査

尿検査の結果を TABLE H 1, 2 に示した。

- 雄 -

被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

なお、ビリルビンに有意な変化が 20 ppm 群でみられたが、変化が少なく被験物質の影響とは考えなかった。また、蛋白陽性度の増加が 8 ppm 群でみられたが、投与濃度に対応したものではなかった。

- 雌 -

蛋白陽性度の減少が 20 ppm 群でみられた。

- 8 病理学的検査

- 8 - 1 肉眼的観察

解剖時の肉眼的観察結果を TABLE I 1, 2 に示した。

- 雄 -

鼻の結節が 20 ppm 群の 13 匹に認められ、他の群（対照群 1 匹、3.2 ppm 群と 8 ppm 群 0 匹）に比較して多く認められ、鼻の隆起が 20 ppm 群の 2 匹にみられた。また、鼻腔の切り出し時には、鼻腔の結節が 20 ppm 群の 14 匹に認められ、他の群（対照群 0 匹、3.2 ppm 群 1 匹、8 ppm 群 2 匹）に比較して多くみられた。皮膚 / 付属器官の結節が 3.2 ppm 群の 8 匹、8 ppm 群の 5 匹及び 20 ppm 群の 8 匹に認められ、対照群の 1 匹に比較して多く認められた。腹膜の結節が 3.2 ppm 群の 7 匹、8 ppm 群の 14 匹及び 20 ppm 群の 11 匹に認められ、対照群の 2 匹に比較して多く認められた。さらに、腹水が 8 ppm 群の 11 匹と 20 ppm 群の 8 匹に認められ、他の群（対照群 0 匹、3.2 ppm 群 1 匹）に比較して多かった。また、眼球の混濁が 20 ppm 群の 4 匹に認められた。

- 雌 -

皮下の腫瘤が 3.2 ppm 群と 8 ppm 群の 19 匹及び 20 ppm 群の 29 匹に認められ、対照群の 8 匹に比較して多かった。子宮の結節が 20 ppm 群の 11 匹に認められ、他の群（対照群 5 匹、3.2 ppm 群と 8 ppm 群 4 匹）に比較して多かった。また、鼻腔の切り出し時には、

鼻腔の結節が 20 ppm 群の 6 匹に認められ、他の群（対照群と 3.2 ppm 群 0 匹、8 ppm 群 1 匹）に比較して多くみられた。

- 8 - 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 TABLE J 1, 2 と TABLE K 1, 2 に示した。

- 雄 -

心臓と脾臓の実重量と体重比の高値が 8 ppm 群でみられた。

その他、8 ppm 群で肺、腎臓、20 ppm 群で副腎、心臓、肺、腎臓、肝臓、脳の体重比の高値がみられたが、これらの変化は 8 ppm 以上の群の搬出時体重の低値によるものと思われる。

- 雌 -

被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

なお、8 ppm 以上の群では脳の実重量の低値や脾臓を除く臓器の体重比の高値がみられたが、これらの変化は 8 ppm 以上の群の搬出時体重の低値によるものと思われる。

- 8 - 3 病理組織学的検査

検査結果のうち非腫瘍性病変を TABLE L 1, 2 に示した。腫瘍性病変の結果は、担腫瘍動物数と腫瘍数を TABLE M 1, 2 に、腫瘍の種類別の発生数を TABLE N 1, 2 に、統計解析（Peto 検定、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定）の結果を TABLE O 1, 2 に、転移性病変を TABLE P 1, 2 に示した。また、腫瘍のうち統計学的に有意差が認められた腫瘍について、日本バイオアッセイ研究センターにおけるヒストリカルコントロールデータ（検査総匹数と腫瘍発生匹数、試験ごとの平均発生率(%)と発生率（最小%～最大%））を TABLE Q 1, 2 に示し、病理組織所見の代表例を写真 1～12 に示した。

- 雄 -

1) 腫瘍性病変

< 腹膜 >

中皮腫の発生は Peto 検定（死亡率法、有病率法、死亡率法+有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定ですべての投与群に増加がみられた。本試験における中皮腫の発生は、対照群で 1 匹（2%）、3.2 ppm 群で 7 匹（14%）、8 ppm 群で 16 匹（32%）、20 ppm 群で 14 匹（28%）であり、投与群の発生率はすべて当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲（最小 0%～最大 8%、平均発生率 2.5%）を超えた。従って、中皮腫の発生増加は被験物質の暴露によるものと考えられた。本試験で認められた中皮腫は F344 ラットの陰嚢や精索に自然発生する腹膜中皮腫と同様の形態であり、自然発生と同様の部位にみられた。

<鼻腔>

扁平上皮癌の発生は Peto 検定（死亡率法、有病率法、死亡率法+有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 20 ppm 群に増加がみられた。扁平上皮癌は、当センターのヒストリカルコントロールデータにはみられない極めて稀な腫瘍であるが、本試験における扁平上皮癌の発生は 20 ppm 群で 29 匹（58%）であった。従って、扁平上皮癌の発生増加は被験物質の暴露によるものと考えられた。また、腺腫の発生が 3.2 ppm 群で 7 匹（14%）、8 ppm 群で 9 匹（18%）にみられ、Fisher 検定で 3.2 ppm 群と 8 ppm 群に増加がみられた。両投与群の発生率は当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲（最小 0%～最大 2%、平均発生率 0.1%）を超えた。さらに、扁平上皮乳頭腫の発生が 20 ppm 群で 1 匹（2%）、腺扁平上皮癌の発生が 8 ppm 群と 20 ppm 群で 1 匹（2%）、腺癌の発生が 20 ppm 群で 2 匹（4%）にみられた。これらの腫瘍は当センターのヒストリカルコントロールデータにはみられない極めて稀な腫瘍である。従って、鼻腔の腺腫、腺癌、扁平上皮乳頭腫及び腺扁平上皮癌の発生増加も被験物質の暴露によるものと考えられた。

また、これらの腫瘍に加え、鼻腔神経上皮腫の発生は Peto 検定（死亡率法、有病率法、死亡率法+有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 20 ppm 群に増加がみられた。鼻腔神経上皮腫は、当センターのヒストリカルコントロールデータにはみられない極めて稀な腫瘍であるが、本試験における鼻腔神経上皮腫の発生は 20 ppm 群で 7 匹（14%）であった。従って、鼻腔神経上皮腫の発生増加も被験物質の暴露によるものと考えられた。

なお、上記の鼻腔上皮に由来する 5 種類の腫瘍（扁平上皮癌、腺扁平上皮癌、扁平上皮乳頭腫、腺腫及び腺癌）を合わせた発生は、Peto 検定（死亡率法、有病率法、死亡率法+有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定ですべての投与群で増加を示した。さらに、鼻腔でみられた 4 種類の悪性腫瘍（扁平上皮癌、腺扁平上皮癌、腺癌及び鼻腔神経上皮腫）を合わせた発生は、Peto 検定（死亡率法、有病率法、死亡率法+有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 20 ppm 群で増加を示した。

鼻腔腫瘍の診断は毒性病理組織学（文献 11）及び Proliferative and nonproliferative lesions of the rat and mouse respiratory tract（文献 12）を参考にした。扁平上皮癌、腺扁平上皮癌、扁平上皮乳頭腫、腺腫及び腺癌は主に鼻腔の第 1 レベルの背側や鼻甲介の呼吸上皮あるいは上皮下に発生した。腫瘍細胞の異型化や多層化、鼻腔（中隔や鼻骨）の破壊や浸潤性増殖が認められるものを悪性と診断した。また、鼻腔神経上皮腫は、主に第 3 レベルと第 2 レベルの背側にみられる嗅上皮あるいは上皮下にみられた。

<皮膚>

基底細胞腫の発生は Peto 検定（有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し

た。本試験における基底細胞腫の発生は、3.2 ppm 群と 8 ppm 群で 1 匹 (2%)、20 ppm 群で 4 匹 (8%) であり、20 ppm 群の発生率は当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲 (最小 0% ~ 最大 2%、平均発生率 0.1%) を超えた。また、基底細胞癌の発生が 8 ppm 群と 20 ppm 群で 1 匹 (2%) にみられた。基底細胞癌は当センターのヒストリカルコントロールデータでは最大 1 匹しかみられない腫瘍である。基底細胞腫と基底細胞癌を合わせた発生は Peto 検定 (有病率法、死亡率法+有病率法) と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 20 ppm 群に増加がみられた。基底細胞腫と基底細胞癌を合わせた発生は、3.2 ppm 群で 1 匹 (2%)、8 ppm 群で 2 匹 (4%)、20 ppm 群で 5 匹 (10%) であり、8 ppm 群と 20 ppm 群の発生率は当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲 (最小 0% ~ 最大 2%、平均発生率 0.1%) を超えた。従って、基底細胞腫及び基底細胞腫と基底細胞癌を合わせた発生の増加は被験物質の暴露によるものと考えられた。

また、角化棘細胞腫の発生は Peto 検定 (有病率法) で増加傾向を示した。しかしながら、角化棘細胞腫の発生は、3.2 ppm 群で 4 匹 (8%)、8 ppm 群と 20 ppm 群で 3 匹 (6%) であり、投与群の発生率はすべて当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲 (最小 0% ~ 最大 14%、平均発生率 3.3%) 内であった。従って、角化棘細胞腫の発生増加は被験物質の暴露によるものとは判断しなかった。

<皮下組織>

線維腫の発生は Peto 検定 (有病率法) と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 20 ppm 群に増加がみられた。線維腫の発生は、対照群で 5 匹 (10%)、3.2 ppm 群と 8 ppm 群で 4 匹 (8%)、20 ppm 群で 13 匹 (26%) であり、20 ppm 群の発生率は当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲 (最小 2% ~ 最大 20%、平均発生率 8.5%) を超えた。従って、線維腫の発生の増加は被験物質の暴露によるものと考えられた。

<脾臓>

単核球性白血病の発生は Peto 検定 (死亡率法) で増加傾向を示した。しかしながら、単核球性白血病の発生は、対照群と 20 ppm 群で 4 匹 (8%)、3.2 ppm 群で 6 匹 (12%)、8 ppm 群で 3 匹 (6%) であり、投与群の発生率はすべて当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲 (最小 2% ~ 最大 22%、平均発生率 11.3%) 内であった。従って、脾臓の単核球性白血病の発生増加は被験物質の暴露によるものとは判断しなかった。

<甲状腺>

C - 細胞腺腫と C - 細胞癌をあわせた発生は Peto 検定 (有病率法) で増加傾向を示した。しかしながら、C - 細胞腺腫と C - 細胞癌をあわせた発生は、対照群と 20 ppm 群で 5 匹 (10%)、3.2 ppm 群と 8 ppm 群で 6 匹 (12%) であり、投与群の発生率はすべて当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲 (最小 4% ~ 最大 38%、平均発生率 17.5%)

内であった。従って、甲状腺のC - 細胞腺腫とC - 細胞癌を合わせた発生の増加は被験物質の暴露によるものとは判断しなかった。

< 膵臓 >

島細胞腺腫と島細胞腺癌を合わせた発生の増加は Peto 検定（有病率法）で増加傾向を示した。しかしながら、島細胞腺腫と島細胞腺癌を合わせた発生の増加は、対照群で 3 匹（6%）、3.2 ppm 群で 5 匹（10%）、8 ppm 群と 20 ppm 群で 4 匹（8%）であり、投与群の発生率はすべて当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲（最小 0%～最大 14%、平均発生率 7.7%）内であった。従って、膵臓の島細胞腺腫と島細胞腺癌を合わせた発生の増加は被験物質の暴露によるものとは判断しなかった。

< 精巣 >

間細胞腫の発生は Peto 検定（有病率法）で増加傾向を示し、Fisher 検定で 8 ppm 群に増加がみられた。しかしながら、間細胞腫の発生は、対照群で 40 匹（80%）、3.2 ppm 群で 46 匹（92%）、8 ppm 群で 47 匹（94%）、20 ppm 群で 36 匹（72%）であり、投与群の発生率はすべて当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲（最小 56%～最大 98%、平均発生率 82.3%）内であった。従って、精巣の間細胞腫の発生増加は被験物質の暴露によるものとは判断しなかった。

< 乳腺 >

腺腫と線維腺腫を合わせた発生の増加は Peto 検定（有病率法）で増加傾向を示した。しかしながら、腺腫と線維腺腫を合わせた発生の増加は、8 ppm 群で 3 匹（6%）と 20 ppm 群で 1 匹（2%）であり、投与群の発生率はすべて当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲（最小 0%～最大 8%、平均発生率 2.3%）内であった。従って、乳腺の腺腫と線維腺腫を合わせた発生の増加は被験物質の暴露によるものとは判断しなかった。

その他、下垂体の腺腫の発生は Fisher 検定で 8 ppm 群と 20 ppm 群に減少がみられ、Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示した。

2) 非腫瘍性病変

< 鼻腔 >

扁平上皮、呼吸上皮及び嗅上皮に病変の増加が観察された。

扁平上皮には、異型を伴った扁平上皮過形成の発生匹数の増加が 20 ppm 群で認められ、この病変の程度は軽度から重度であった。呼吸上皮には、扁平上皮化生及び異型を伴う扁平上皮化生の発生匹数の増加が 8 ppm 以上の群で認められ、これらの病変の程度は軽度から中等度であった。また、有意差は示さなかったが潰瘍（軽度から重度）が 20 ppm 群でみら

れた。さらに、移行上皮過形成の発生匹数の増加が 3.2 ppm 群と 8 ppm 群で認められ、この病変の程度は軽度から重度であった。嗅上皮には、呼吸上皮化生と萎縮の発生匹数の増加が 8 ppm 以上の群で認められ、この病変の程度は軽度から中等度であった。なお、壊死(軽度)が 8 ppm 群のみで発生匹数が増加し、有意差は示さなかったが軽度から中等度の潰瘍が 20 ppm 群にみられた。

扁平上皮の過形成は鼻腔前方の第 1 レベルにみられ、強い角化を示した。また、移行上皮の過形成は鼻腔の第 1 レベルにみられ、線毛を持たない呼吸上皮(移行上皮)が限局性に増殖する傾向にあった。呼吸上皮の扁平上皮化生は主に第 1 レベルにみられた。嗅上皮の呼吸上皮化生は主に第 2 レベルの背側にみられた。これらの病変の程度の強いものは、鼻腔後方の第 3 レベルの背側や篩骨甲介まで広がっていた。

< 骨髄 >

造血亢進の発生増加と程度の増強が 8 ppm 群で認められ、病変の程度は軽度から重度であった。

< 脾臓 >

髓外造血の発生増加と程度の増強が全投与群で認められ、病変の程度は軽度から重度であった。

< 胃 >

前胃の過形成の発生増加が 20 ppm 群で認められ、病変の程度は軽度から中等度であった。

< 眼 >

角膜潰瘍と角膜炎の発生の増加が 20 ppm 群で認められ、病変の程度はいずれも軽度から重度であった。

その他、鼻腔では腺の呼吸上皮化生の発生が 8 ppm 以上の群、異物性炎症、鉍質沈着及び嗅上皮のエオジン好性変化の発生が 20 ppm 群で減少した。肝臓では肉芽、好酸性小増殖巣、胆管増生が 20 ppm 群で発生減少または程度が減弱し、腎臓では慢性腎症が 20 ppm 群で程度が減弱した。前立腺では炎症の発生が 8 ppm 群で増加し、20 ppm 群で減少した。眼では白内障の発生が 20 ppm 群で減少した。

- 雌 -

1) 腫瘍性病変

< 鼻腔 >

扁平上皮癌の発生は Peto 検定(死亡率法、有病率法、死亡率法+有病率法)と

Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 20 ppm 群に増加がみられた。扁平上皮癌は当センターのヒストリカルコントロールデータにはみられない極めて稀な腫瘍であるが、本試験における扁平上皮癌の発生は 20 ppm 群で 10 匹 (20%) であった。従って、鼻腔の扁平上皮癌の発生増加は被験物質の暴露によるものと考えられた。また、腺腫の発生が 3.2 ppm 群と 8 ppm 群で 3 匹 (6%)、20 ppm 群で 1 匹 (2%) に認められた。腺腫の 3.2 ppm 群と 8 ppm 群の発生率は当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲 (最小 0% ~ 最大 2%、平均発生率 0.1%) を超えた。さらに、腺扁平上皮癌の発生が 20 ppm 群で 1 匹 (2%)、鼻腔神経上皮腫の発生が 20 ppm 群で 2 匹 (4%)、血管肉腫の発生が 20 ppm 群で 1 匹 (2%) にみられた。これらの腫瘍は当センターのヒストリカルコントロールデータにはみられない極めて稀な腫瘍である。従って、鼻腔の腺腫、腺扁平上皮癌、鼻腔神経上皮腫及び血管肉腫の発生増加も被験物質の暴露によるものと考えられた。

なお、上記の鼻腔上皮に由来する 3 種類の腫瘍 (扁平上皮癌、腺扁平上皮癌、腺腫) を合わせた発生は、Peto 検定 (死亡率法、有病率法、死亡率法+有病率法) と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 20 ppm 群で増加を示した。また、鼻腔でみられた 4 種類の悪性腫瘍 (扁平上皮癌、腺扁平上皮癌、鼻腔神経上皮腫、血管肉腫) を合わせた発生は、Peto 検定 (死亡率法、有病率法、死亡率法+有病率法) と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 20 ppm 群で増加を示した。

< 乳腺 >

線維腺腫の発生は Peto 検定 (有病率法、死亡率法+有病率法) と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 20 ppm 群に増加がみられた。本試験における線維腺腫の発生は、対照群で 7 匹 (14%)、3.2 ppm 群と 8 ppm 群で 14 匹 (28%)、20 ppm 群で 23 匹 (46%) であり、20 ppm 群の線維腺腫の発生率は当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲 (最小 0% ~ 最大 28%、平均発生率 11.6%) を超えた。従って、乳腺の線維腺腫の発生増加は被験物質の暴露によるものと考えられた。また、腺腫の発生が 8 ppm 群で 1 匹 (2%) に、腺癌の発生が各投与群で 1 匹 (2%) に認められ、線維腺腫と腺腫、腺癌を合わせた発生は、Peto 検定 (有病率法、死亡率法+有病率法) と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定ですべての投与群に増加がみられた。投与群の発生は、3.2 ppm 群と 8 ppm 群で 15 匹 (30%)、20 ppm 群で 23 匹 (46%) であり、20 ppm 群の発生率は当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲 (最小 4% ~ 最大 30%、平均発生率 14.6%) を超えた。従って、乳腺の線維腺腫と腺腫、腺癌を合わせた発生の増加は被験物質の暴露によるものと考えられた。

< 子宮 >

子宮内膜間質性肉腫の発生は Peto 検定 (死亡率法、死亡率法+有病率法) と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。本試験における子宮内膜間質性肉腫の発生

は、対照群、3.2 ppm 群及び 8 ppm 群で 1 匹 (2%)、20 ppm 群で 5 匹 (10%) であり、20 ppm 群における子宮内膜間質性肉腫の発生は当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲 (最小 0% ~ 最大 8%、平均発生率 1.9%) を超えた。従って、子宮内膜間質性肉腫の発生増加は被験物質の暴露によるものと考えられた。

<皮下組織>

線維腫の発生は Peto 検定 (有病率法) で増加傾向を示した。しかしながら、線維腫の発生は、3.2 ppm 群と 8 ppm 群で 2 匹 (4%)、20 ppm 群で 3 匹 (6%) であり、投与群の発生率はすべて当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲 (最小 0% ~ 最大 8%、平均発生率 1.1%) 内であった。従って、皮下組織の線維腫の発生増加は被験物質の暴露によるものとは判断しなかった。

<陰核腺>

腺腫の発生は Peto 検定 (死亡率法、死亡率法+有病率法) で増加傾向を示した。しかしながら、腺腫の発生は、3.2 ppm 群と 8 ppm 群で 3 匹 (6%)、20 ppm 群で 4 匹 (8%) であり、投与群の発生率はすべて当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲 (最小 0% ~ 最大 10%、平均発生率 3.0%) 内であった。従って、陰核腺の腺腫の発生増加は被験物質の暴露によるものとは判断しなかった。

<甲状腺>

C - 細胞腺腫の発生は Peto 検定 (有病率法) で増加傾向を示した。しかしながら、C - 細胞腺腫の発生は、対照群と 3.2 ppm 群で 1 匹 (2%)、8 ppm 群で 3 匹 (6%)、20 ppm 群で 4 匹 (8%) であり、投与群の発生率はすべて当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲 (最小 0% ~ 最大 20%、平均発生率 10.4%) 内であった。従って、C - 細胞腺腫の発生増加は被験物質の暴露によるものとは判断しなかった。

2) 非腫瘍性病変

<鼻腔>

扁平上皮、呼吸上皮、嗅上皮及び固有層の腺に病変の増加が観察された。

扁平上皮には、異型を伴った扁平上皮過形成の発生匹数の増加が 20 ppm 群で認められ、この病変の程度は軽度から重度であった。呼吸上皮には、扁平上皮化生の発生匹数の増加が全投与群でみられ、この病変の程度は軽度から中等度であり、異型を伴う扁平上皮化生の発生匹数の増加が 20 ppm 群で認められ、この病変の程度は軽度から重度であった。また、呼吸上皮には、炎症の発生匹数の増加が 8 ppm 以上の群に認められ、病変の程度は軽度であった。さらに、移行上皮過形成の発生匹数の増加が全投与群で認められ、この病変の程度は軽度から中等度であった。嗅上皮には、萎縮の発生匹数の増加が 8 ppm 以上の群で認めら

れ、病変の程度は軽度から中等度であり、また、呼吸上皮化生と再生の発生匹数の増加が 20 ppm 群で認められ、この病変の程度は軽度であった。さらに、呼吸上皮や嗅上皮の固有層に分布する腺の呼吸上皮化生のわずかな程度の増強が 8 ppm 以上の群で認められ、この病変の程度は軽度から中等度であった。

扁平上皮の過形成、移行上皮の過形成、呼吸上皮の扁平上皮化生及び嗅上皮の呼吸上皮化生等の所見は、雄と同様であった。

< 骨髄 >

造血亢進の発生増加と程度の増強が 20 ppm 群で認められ、病変の程度は軽度から重度であった。

< 脾臓 >

髓外造血の程度の増強が 20 ppm 群で認められ、病変の程度は軽度から重度であった。

< 胃 >

前胃の過形成の発生の増加が 20 ppm 群で認められ、病変の程度は軽度から中等度であった。

その他、鼻腔では呼吸上皮と嗅上皮のエオジン好性変化が 8 ppm 以上の群で発生減少または程度が減弱し、鉍質沈着の発生が 3.2 ppm 群で増加した。肝臓では肉芽の発生が 20 ppm 群で減少し、胆管増生の発生が 3.2 ppm 群で増加した。腎臓では慢性腎症の発生が 20 ppm 群で減少した。甲状腺では C - 細胞過形成の発生が 8 ppm 群で減少した。

- 8 - 4 死因

病理学的にみた死亡 / 瀕死の原因を TABLE R 1, 2 に示した。

- 雄 -

鼻腔腫瘍による死亡は対照群ではみられなかったが、20 ppm 群では 31 匹が鼻腔腫瘍により死亡した。また、腹膜腫瘍による死亡は対照群に 2 匹みられたが、8 ppm 群で 3 匹、20 ppm 群で 5 匹が腹膜腫瘍 (中皮腫) により死亡した。その他、投与群に特定の病変あるいは腫瘍による死亡の増加はみられなかった。

- 雌 -

鼻腔腫瘍による死亡は対照群ではみられなかったが、8 ppm 群で 1 匹、20 ppm 群で 6 匹が鼻腔腫瘍により死亡した。その他、投与群に特定の病変あるいは腫瘍による死亡の増加はみられなかった。

考察及びまとめ

メタクリル酸 = 2,3-エポキシプロピルのラットを用いた 2 年間の全身暴露による吸入試験 (投与濃度: 0、3.2、8 及び 20 ppm) を行った結果、雌雄の投与群に鼻腔の腫瘍、雄の投与群に腹膜、皮膚及び皮下組織の腫瘍、雌の投与群に乳腺と子宮の腫瘍の発生の増加がみられた。

- 1 生存率、一般状態、体重、摂餌量

動物の生存率は、雌雄の 20 ppm 群で低下した。特に雄の 20 ppm 群では鼻腔腫瘍の発生増加に伴い大きく生存率が低下 (暴露終了時、18%) した。一般状態では、雌雄とも投与群に外部腫瘍の発生が多かった。また、雄の 20 ppm 群で不整呼吸と異常鼻音が多くみられ、雌の 8 ppm 以上の群で不整呼吸がやや多くみられた。雄の 20 ppm 群でみられた異常鼻音は鼻腔腫瘍の発生に起因すると思われる。

体重は、雄では 20 ppm 群に体重増加の抑制がみられ、投与期間を通じて対照群より低値で推移した。雌では 20 ppm 群に投与期間初期に軽度の増加抑制がみられた。また、20 ppm 群は投与期間後半、8 ppm 群は投与期間終盤、対照群より低値で推移した。摂餌量は、雄では 20 ppm 群が投与期間を通じて、雌は 20 ppm 群が投与期間初期と後半、8 ppm 群が投与期間終盤に対照群よりやや低値であった。

- 2 腫瘍性及び腫瘍関連病変

雌雄とも鼻腔に腫瘍の発生増加が認められた。また、雄では腹膜、皮膚及び皮下組織に、雌では乳腺と子宮に腫瘍の発生の増加がみられた。

雄では、腹膜の中皮腫の発生増加が認められた。中皮腫は腹膜中皮の悪性腫瘍であり、その発生は増加傾向 (Peto 検定、Cochran-Armitage 検定) を示し、すべての投与群において Fisher 検定で増加がみられ、発生は当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲を超えていた。従って、腹膜の中皮腫の発生増加は、雄のラットに対するがん原性を示す証拠と考えられた。

鼻腔では扁平上皮癌と腺腫の発生増加が認められた。扁平上皮癌は扁平上皮由来の悪性腫瘍であり、当センターのヒストリカルコントロールデータにはみられない極めて稀な腫瘍であった。その発生は増加傾向 (Peto 検定、Cochran-Armitage 検定) を示し、Fisher 検定で 20 ppm 群に増加がみられた。また、扁平上皮由来の腫瘍の前段階と考えられる (文献 11、12) 異型扁平上皮過形成の発生増加が 20 ppm 群、呼吸上皮の扁平上皮化生または異型を伴う扁平上皮化生の発生増加が 8 ppm 以上の群にみられた。鼻腔の腺腫は呼吸上皮あるいは上皮下の腺組織由来の良性腫瘍であり、その発生は Fisher 検定で 3.2 ppm 群と 8 ppm 群に増加がみられ、両投与群の発生は当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲を超えていた。また、鼻腔

の上皮系腫瘍の前段階と考えられる（文献 11、12）移行上皮過形成の発生増加が 3.2 ppm 群と 8 ppm 群にみられた。従って、鼻腔の扁平上皮癌と腺腫の発生増加は、雄のラットに対するがん原性を示す証拠と考えられた。これらに加えて、扁平上皮乳頭腫、腺扁平上皮癌及び腺癌の発生も少数例にみられた。これらの腫瘍は当センターのヒストリカルコントロールデータにはみられない稀な腫瘍である。腺扁平上皮癌は腺癌と扁平上皮癌の両成分が混在する悪性腫瘍、腺癌は鼻腔の呼吸上皮や腺組織由来の悪性腫瘍である。従って、鼻腔の扁平上皮乳頭腫、腺扁平上皮癌及び腺癌の発生増加も、雄のラットに対するがん原性を示す証拠と考えられた。さらに、鼻腔では鼻腔神経上皮腫の発生増加が認められた。鼻腔神経上皮腫は嗅上皮由来の悪性腫瘍であり、当センターのヒストリカルコントロールデータにはみられない極めて稀な腫瘍であった。その発生は増加傾向（Peto 検定、Cochran-Armitage 検定）を示し、Fisher 検定で 20 ppm 群に増加がみられた。従って、鼻腔神経上皮腫の発生増加は、雄のラットに対するがん原性を示す証拠と考えられた。

皮膚では基底細胞腫の発生増加が認められた。基底細胞腫は良性腫瘍であり、その発生は増加傾向（Peto 検定、Cochran-Armitage 検定）を示し、20 ppm 群の発生は当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲を超えていた。また、皮膚の基底細胞腫と悪性腫瘍である基底細胞癌を合わせた発生は増加傾向（Peto 検定、Cochran-Armitage 検定）を示し、Fisher 検定で 20 ppm 群に増加がみられ、8 ppm 群と 20 ppm 群の発生は当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲を超えていた。従って、皮膚の基底細胞腫及び基底細胞腫と基底細胞癌を合わせた発生増加は、雄のラットに対するがん原性を示す証拠と考えられた。

皮下組織では線維腫の発生増加が認められた。皮下組織の線維腫は皮下線維組織由来の良性腫瘍であり、その発生は増加傾向（Peto 検定、Cochran-Armitage 検定）を示し、Fisher 検定で 20 ppm 群に増加がみられ、20 ppm 群の発生は当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲を超えていた。従って、皮下組織の線維腫の発生増加は、雄のラットに対するがん原性を示す証拠と考えられた。

雌でも、鼻腔に扁平上皮癌と腺腫の発生増加が認められた。悪性腫瘍である扁平上皮癌は当センターのヒストリカルコントロールデータにはみられない極めて稀な腫瘍であった。その発生は増加傾向（Peto 検定、Cochran-Armitage 検定）を示し、Fisher 検定で 20 ppm 群に増加がみられた。また、扁平上皮由来の腫瘍の前段階と考えられる異型扁平上皮過形成の発生増加が 20 ppm 群、呼吸上皮の扁平上皮化生の発生増加が全投与群、異型を伴う扁平上皮化生の発生増加が 20 ppm 群にみられた。良性腫瘍である腺腫の発生は投与群のみにみられ、3.2 ppm 群と 8 ppm 群の発生は当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲を超えていた。また、鼻腔の上皮系腫瘍の前段階と考えられる移行上皮過形成の発生増加が全投与群にみられた。従って、鼻腔の扁平上皮癌と腺腫の発生増加は、雌のラットに対するがん原性を示す証拠と考えられた。さらに、鼻腔には腺扁平上皮癌、鼻腔神経上皮腫及び血管肉腫の発生も少数例にみられた。血管肉腫は血管系組織由来の悪性腫瘍である。これらの腫瘍は当センターのヒストリカルコントロールデータにはみられない極めて稀な腫瘍であった。従って、鼻腔の腺扁平上皮

癌、鼻腔神経上皮腫及び血管肉腫の発生増加も、雌のラットに対するがん原性を示す証拠と考えられた。

乳腺では線維腺腫の発生増加が認められた。乳腺の線維腺腫は良性腫瘍であり、その発生は増加傾向（Peto 検定、Cochran-Armitage 検定）を示し、Fisher 検定で 20 ppm 群に増加がみられ、20 ppm 群の発生は当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲を超えていた。また、線維腺腫に良性腫瘍である腺腫と悪性腫瘍である腺癌を加えた発生は、増加傾向（Peto 検定、Cochran-Armitage 検定）を示し、Fisher 検定で全投与群に増加がみられ、20 ppm 群の発生は当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲を超えていた。従って、乳腺の線維腺腫及び線維腺腫と腺腫、腺癌を合わせた腫瘍の発生増加は、雌のラットに対するがん原性を示す証拠と考えられた。

子宮では子宮内膜間質性肉腫の発生増加が認められた。子宮内膜間質性肉腫は子宮の悪性腫瘍であり、その発生は増加傾向（Peto 検定、Cochran-Armitage 検定）を示し、20 ppm 群の発生は当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲を超えていた。従って、子宮の子宮内膜間質性肉腫の発生増加は、雌のラットに対するがん原性を示す証拠と考えられた。

なお、解剖時の肉眼的観察では、雌雄に多くみられた鼻腔の腫瘍は鼻や鼻腔の結節、雄にみられた腹膜の中皮腫は腹膜の結節、皮膚の腫瘍は皮膚の結節、皮下組織の腫瘍は皮下の腫瘍、雌にみられた乳腺の腫瘍は皮下の腫瘍、子宮の腫瘍は子宮の結節として認められた。

- 3 その他の影響

血液学的検査では、雄の 8 ppm 群と雌の全投与群で軽度の貧血がみられた。雄の 20 ppm 群は MCHC が低値で、ヘモグロビン濃度やヘマトクリット値に低値の傾向がみられた。血液生化学的検査と尿検査では、メタクリル酸 = 2,3-エポキシプロピルの有害性を直接示唆するような変化はみられなかった。

解剖時の肉眼的観察では、雄で眼球の混濁が 20 ppm 群でみられたが、この変化は 20 ppm 群でみられた角膜炎や角膜潰瘍に対応する変化であった。

臓器重量では心臓と脾臓の重量増加が雄の 8 ppm 群にみられた。雄では脾臓の髄外造血の発生増加と程度の増強が全投与群でみられているが、8 ppm 群は発生匹数が最も多く、程度が重度の動物もやや多くみられた。心臓には関連すると思われる病理組織学的変化はみられなかった。

病理組織学的検査では、雌雄とも鼻腔に影響がみられた。鼻腔では、呼吸上皮に炎症（雌のみ）、潰瘍（雄のみ）、嗅上皮に萎縮、呼吸上皮化生及び壊死（雄のみ）、潰瘍（雄のみ）、再生（雌のみ）、固有層の腺に呼吸上皮化生（雌のみ）の発生匹数の増加または程度の増強がみられた。これらの影響がみられた濃度は、呼吸上皮の炎症（雌）、嗅上皮の萎縮（雌雄）、呼吸上皮化生（雄）、壊死（雄）、固有層の腺の呼吸上皮化生（雌）は 8 ppm 以上、その他の鼻腔にみられた病変は 20 ppm であった。

呼吸上皮には傷害を示す変化として潰瘍や炎症が認められた。嗅上皮にも傷害を示す変化として、潰瘍、壊死及び萎縮が認められ、嗅上皮の再生や呼吸上皮化生は傷害を受けた上皮の修復像としてみられることが報告されている（文献 11、12）。従って、鼻腔のこれらの変化はメタクリル酸=2,3-エポキシプロピルの暴露により鼻腔粘膜に傷害を受け、それに伴った修復反応であると考えた。

その他の変化として、骨髄の造血亢進の発生増加や程度の増強が雄の 8 ppm 群と雌の 20 ppm 群で、脾臓の髄外造血の発生増加や程度の増強が雄の全投与群と雌の 20 ppm 群でみられた。定期解剖時の血液検査では、雄の 8 ppm 群と雌の全投与群で軽度の貧血がみられているが、骨髄と脾臓の造血亢進はそれらに関連する変化と思われる。また、前胃の過形成が雌雄とも 20 ppm 群で増加を示し、この変化は前胃の潰瘍の修復から発生する変化と考えられた。さらに、雄では角膜の潰瘍や角膜炎が 20 ppm 群でみられ、眼に対する傷害性の変化と考えられた。

本試験の予備試験として当センターで実施したメタクリル酸=2,3-エポキシプロピルの 13 週間試験（文献 7）では、雌雄の鼻腔の呼吸上皮や嗅上皮に影響が認められた。この 13 週間試験の最高濃度である 20 ppm 群では、呼吸上皮で再生、過形成及び扁平上皮化生が雌雄に、壊死が雄に、糜爛が雌にみられ、嗅上皮で壊死、萎縮及び再生が雌雄に認められた。13 週間試験でみられた鼻腔の変化はメタクリル酸=2,3-エポキシプロピルの 104 週間の吸入暴露により腫瘍へと進展した。また、13 週間試験では、鼻腔の変化（炎症性細胞の浸潤）が 5 ppm 群まで認められ、2 ppm 群ではメタクリル酸=2,3-エポキシプロピルの影響はみられなかったが、今回の 104 週間試験では、最低濃度の 3.2 ppm 群までメタクリル酸=2,3-エポキシプロピルの暴露による病変が認められた。また、13 週間試験でみられなかった鼻腔以外の病変として、雌雄の前胃や骨髄、脾臓及び雄の眼にも影響がみられた。

- 4 他文献との比較等

がん原性

Fischer ラット雌雄（3～15 匹/群）にメタクリル酸 = 2,3-エポキシプロピル 0.001～0.3 mg / 匹 / 日（詳細不明）を 1 週 5 日で 1 年間強制経口投与した試験では、投与群の腫瘍の発生率等は対照群と同様であった（文献 13）と報告されているが、投与期間及び動物数が不十分であり、また、詳細不明でメタクリル酸 = 2,3-エポキシプロピルのがん原性を評価できないと考える。

IARC ではメタクリル酸 = 2,3-エポキシプロピルのがん原性について評価を行っていない。

変異原性

メタクリル酸=2,3-エポキシプロピルの変異原性に関しては、*in vitro* 試験系で微生物を用いた変異原性試験（Ames 試験）、哺乳類培養細胞を用いた試験（遺伝子突然変異試験、姉妹染色

分体交換試験、染色体異常試験)及び *in vivo* 試験系でマウスを用いた小核試験の報告がある。これらの報告の結果は全て陽性であったため、メタクリル酸 = 2,3-エポキシプロピルは *in vitro* 及び *in vivo* の両方の条件下で変異原性を示す遺伝毒性物質であると考えられた。

・ *in vitro* 試験系

微生物を用いた試験系では、Canter ら (文献 14) がネズミチフス菌 TA97、TA98、TA100 及び TA1535 の 4 菌株を用いて、代謝活性化の有無で Ames 試験を実施し、代謝活性化によらない場合及びよる場合両方で、TA97、TA100 及び TA1535 で陽性、TA98 で陰性であることを報告した。この論文のデータから比活性値を算出すると、1000 Revertants/mg を超える強い変異原性を示す値となった。

哺乳類の培養細胞を用いた試験系では、Schweickl ら (文献 15) がチャイニーズ・ハムスター培養細胞 (V79) を用いて、短時間処理は代謝活性化の有無で、連続処理は代謝活性化によらない場合のみで遺伝子突然変異試験を実施し、短時間処理の代謝活性化によらない場合及び連続処理で陽性、短時間処理の代謝活性化による場合で陰性の結果を報告した。また、von der Hude ら (文献 16) は、チャイニーズ・ハムスター培養細胞 (V79) を用いて、姉妹染色分体交換 (SCE) 試験を実施した結果、統計学的に有意な SCE 誘発を示し、被験物質用量に依存した有意な増加傾向が認められたことを報告した。さらに、染色体異常試験では(文献 17)、チャイニーズ・ハムスター培養細胞 (CHL/IU) を用いて、短時間処理は代謝活性化の有無で、連続処理 (24 時間及び 48 時間) は代謝活性化によらない場合のみで試験が実施された。その結果、染色体の構造異常は全ての処理法で陽性、染色体の倍数体誘発は短時間処理の代謝活性化による場合及び連続処理の 48 時間で陽性であったと報告されている。

・ *in vivo* 試験系

in vivo 骨髄小核試験では(文献 17)、各群 5 匹の Crj:BDF1 マウスを用い、雄は 0、188、375、750 mg/kg、雌は 0、250、500、1000 mg/kg で被験物質を強制経口投与し、投与の 48 時間後に骨髄の塗抹標本が作製された。その結果、小核出現頻度は雌雄の高濃度群で各溶媒対照群に比較して統計学的に有意な増加を示し、傾向検定では、雌雄ともに被験物質用量に依存した有意な増加傾向が認められたと報告されている。

結論

F344/DuCr1Cr1j ラットを用いて、メタクリル酸=2,3-エポキシプロピルの2年間(104週間)にわたる吸入によるがん原性試験を行った結果、以下の結論を得た。

雄では、鼻腔の腫瘍(扁平上皮癌、腺扁平上皮癌、扁平上皮乳頭腫、腺癌、腺腫、鼻腔神経上皮腫)、腹膜の中皮腫、皮膚の基底細胞腫及び基底細胞腫と基底細胞癌を合わせた腫瘍、皮下組織の線維腫の発生増加が認められ、これらの腫瘍の発生増加は雄ラットに対するがん原性を示す明らかな証拠と考えられた。

雌では、鼻腔の腫瘍(扁平上皮癌、腺扁平上皮癌、腺腫、鼻腔神経上皮腫、血管肉腫)、乳腺の線維腺腫及び線維腺腫と腺腫、腺癌を合わせた腫瘍、子宮の子宮内膜間質性肉腫の発生増加が認められ、これらの腫瘍の発生増加は雌ラットに対するがん原性を示す明らかな証拠と考えられた。

文献

1. U.S. National Library of Medicine, Specialized Information Services 2007. Glycidyl methacrylate. Chemical/Physical Properties. Hazardous Substances Data Bank (HSDB). Available: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search> [accessed 2009/11/19].
2. Syracuse Research Corporation. 2010. PhysProp Database. North Syracuse, NY: SRC. Available: <http://www.srcinc.com/what-we-do/databaseforms.aspx?id=386> [accessed 2010/01/08].
3. McLafferty FW, ed. 1994. Wiley Registry of Mass Spectral Data. 6th ed. New York, NY: John Wiley and Sons.
4. 和光純薬工業(株). 2010. メタクリル酸 = 2,3-エポキシプロピル, 赤外吸収スペクトル.
5. 労働省労働基準局長. 1997. がん原性試験による調査の基準. 基発第 144 号, 平成 9 年 3 月 11 日.
6. OECD. 2009. OECD Guideline for Testing of Chemicals 451: "Carcinogenicity Studies". Paris: Organisation for Economic Co-operation and Development.
7. 日本バイオアッセイ研究センター. 2012. メタクリル酸 = 2,3-エポキシプロピルのラットを用いた吸入による 13 週間毒性試験報告書. 神奈川: 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.
8. 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の適正層別方式の確立. 薬理と治療 14: 7285-7302.
9. Nagano K, Katagiri T, Aiso S, Senoh H, Sakura Y, Takeuchi T. 1997. Spontaneous lesions of nasal cavity in aging F344 rats and BDF1 mice. *Exp Toxic Pathol.* 49: 97-104.
10. Peto R, Pike MC, Day NE, Gray RG, Lee PN, Parish S, et al. 1980. Guidelines for simple, sensitive significance tests for carcinogenic effects in long-term animal experiments. In: Long-Term and Short-Term Screening Assays for Carcinogens: A

Critical Appraisal. Lyon: IARC. IARC Monographs Suppl 2: 311-426.

11. 長野嘉介 . 2000 . 各論 1 章 , 上部気道 . 毒性病理組織学 (日本毒性病理学会編) . 名古屋 : 日本毒性病理学会 , 99-116 .
12. Renne R, Brix A, Harkema J, Herbert R, Kittel B, Lewis D, March T, Nagano K, Pino M, Rittinghausen S, Rosenbruch M, Tellier P, Wohrmann T. 2009. Proliferative and nonproliferative lesions of the rat and mouse respiratory tract. *Toxicol Pathol* 37: 5S-73S.
13. Hadidian Z, Fredrickson TN, Weisburger EK, Weisburger JH, Glass RM, Mantel N. 1968. Tests for chemical carcinogens. Report on the activity of derivatives of aromatic amines, nitrosamines, quinolines, nitroalkanes, amides, epoxides, aziridines, and purine antimetabolites. *J Nat Cancer Inst* 41: 985-1036.
14. Canter DA, Zrrol E, Haworth S, Lawlor T, Mortelmans K, Speck W. 1986. Comparative mutagenicity of aliphatic epoxides in *Salmonella*. *Mutation Research*. 172: 105-138.
15. Schweickl H, Schmalz G, Rackebrandt K. 1998. The mutagenic activity of unpolymerized resin monomers in *Salmonella typhimurium* and V79 cells. *Mutation Research*. 415: 119-130.
16. von der Hude W, Carstensen S, Obe G. 1991. Structure-activity relationships of epoxides : induction of sister-chromatid exchanges in Chinese hamster V79 cells. *Mutation Research*. 249: 55-70.
17. 化学物質点検推進連絡協議会. 1997. 「化学物質毒性試験報告 (厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室監修)」 . 東京: 化学物質点検推進連絡協議会. 377-385.

予見することのできなかつた試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態及び試験計画書に従わなかつたこと

予見することのできなかつた試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態及び試験計画書に従わなかつたことはなかつた。