

メタクリル酸ブチ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 : 0849

CAS No. 97-88-1

2018年3月22日

独立行政法人 労働者健康安全機構  
日本バイオアッセイ研究センター

## 標題

メタクリル酸ブチルのラットを用いた吸入によるがん原性試験

## 試験目的

メタクリル酸ブチルをラットに 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」に準拠し、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) を参考にして実施した。

## GLP 対応

本試験は、「労働安全衛生規則第 34 条の 3 第 2 項の規定に基づく試験施設等が具備すべき基準 (安衛法 GLP) 」(昭和 63 年 9 月 1 日労働省告示第 76 号、最終改正平成 12 年 12 月 25 日労働省告示第 120 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、「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 4 月 28 日環境省告示第 88 号、最終改正平成 25 年 8 月 30 日環境省告示第 84 号)、「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指針」(平成 18 年 6 月 1 日厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知) 及び「日本バイオアッセイ研究センターにおける動物実験等に関する規程」(平成 24 年 4 月 25 日規程第 17 号、最終改正平成 25 年 3 月 28 日規程第 12 号) 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審査された (承認番号 0101)。

# メタクリル酸ブチ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：0849

## 本文

## 本文目次

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

|                        |    |
|------------------------|----|
| - 3 観察・検査項目及び方法        | 8  |
| - 3 - 1 動物の生死及び一般状態の観察 | 8  |
| - 3 - 2 体重測定           | 9  |
| - 3 - 3 摂餌量測定          | 9  |
| - 3 - 4 尿検査            | 9  |
| - 3 - 5 血液学的検査         | 9  |
| - 3 - 6 血液生化学的検査       | 9  |
| - 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           | 10 |
| - 4 数値処理と統計方法          | 10 |
| - 4 - 1 数値の取り扱いと表示     | 10 |
| - 4 - 2 統計処理           | 11 |
| 試験成績                   | 12 |
| - 1 生死状況               | 12 |
| - 2 一般状態               | 12 |
| - 3 体重                 | 12 |
| - 4 摂餌量                | 13 |
| - 5 尿検査                | 13 |
| - 6 血液学的検査             | 13 |
| - 7 血液生化学的検査           | 13 |
| - 8 病理学的検査             | 14 |
| - 8 - 1 肉眼的観察          | 14 |
| - 8 - 2 臓器重量           | 14 |
| - 8 - 3 病理組織学的検査       | 15 |
| - 8 - 4 死因             | 17 |
| 考察及びまとめ                | 18 |
| - 1 生存率、一般状態、体重、摂餌量    | 18 |
| - 2 腫瘍性及び腫瘍関連病変        | 18 |
| - 3 その他の影響             | 19 |

|   |    |
|---|----|
| 結論 .....  | 20 |
| 文献 .....  | 21 |
| 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<br>及び試験計画書に従わなかつたこと ..... | 23 |

## 要約

メタクリル酸ブチ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、メタクリル酸ブチルを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)、30、125及び500ppm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。

メタクリル酸ブチル投与の結果、動物の生存率は、雄の500ppm群で低下が認められたが、雌では対照群と比較して差を認めなかった。一般状態では、雌雄ともメタクリル酸ブチル投与の影響と考えられる所見の増加は認められず、体重は雌雄の500ppm群で投与期間を通して低値傾向で推移した。摂餌量は、雄の500ppm群で投与終期に、雌の500ppm群で投与中期以降に低値が散見された。また、雄の125ppm群では投与中期に、雌の30ppm群と125ppm群では投与初期から中期にかけて高値が散見された。

病理組織学的検査の結果、雄における脾臓の単核球性白血病の発生が、対照群、30ppm群、125ppm群、500ppm群でそれぞれ、8匹、8匹、11匹、14匹に認められ、群間比較では有意差はないものの、Peto検定で有意な増加を認めた。単核球性白血病により死亡した動物(Peto検定致死腫瘍例)は、対照群5匹に対して500ppm群11匹であり、この6匹の増加による500ppm群における生存率の低下がPeto検定の判定に反映されたものと考えられた。脾臓の単核球性白血病は、F344ラットに好発する自然発生腫瘍の一つであり、本試験における対照群の発生数は、直近10年間(13試験)のヒストリカルコントロールデータでは2~7匹/50匹、全ヒストリカルコントロールデータ(67試験)では、1~11匹/50匹であり、対照群における発生率はヒストリカルコントロールデータの範囲内にとどまっていると判定した。一方、500ppm群における発生率はヒストリカルコントロールデータの範囲を超えた値であった。以上の結果より、雄の脾臓の単核球性白血病の発生増加は、メタクリル酸ブチルのラットに対するがん原性を示唆する証拠(some evidence)と考えられた。なお、雌では腫瘍の発生増加は認められなかった。

非腫瘍性病変としては、雌雄の鼻腔と雄の骨髄に影響がみられた。雌雄の鼻腔では、呼吸上皮の扁平上皮化生、嗅上皮の萎縮、再生、基底細胞過形成及び色素沈着が認められ、このうち嗅上皮の萎縮と色素沈着は、30ppm群から発生増加がみられた。また、雄の骨髄で造血亢進の発生増加が125ppm以上の群でみられた。

以上のように、F344/DuCr1Cr1jラットを用いて、メタクリル酸ブチルの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、1)雄ラットに対するがん原性を示唆する証拠が得られた(some evidence of carcinogenic activity)、2)雌ラットに対するがん原性を示す証拠は得られなかった(no evidence of carcinogenic activity)と結論された。

## メタクリル酸ブチ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  | 30 | 125 | 500 | Peto<br>検定 | Cochran-<br>Armitage<br>検定 |
|------------|-------------|----|----|-----|-----|------------|----------------------------|
| 検査動物数      |             | 50 | 50 | 50  | 50  |            |                            |
| 肺          | 細気管支-肺胞上皮腺腫 | 3  | 3  | 3   | 3   |            |                            |
|            | 脾臓          | 5  | 6  | 3   | 4   |            |                            |
| 精巣         | 島細胞腺腫       | 0  | 2  | 4   | 1   |            |                            |
|            | 間細胞腫        | 43 | 48 | 44  | 48  |            |                            |
| 前立腺        | 腺腫          | 3  | 1  | 0   | 2   |            |                            |
| 下垂体        | 腺腫          | 11 | 5  | 10  | 4 * |            |                            |
| 副腎         | 褐色細胞腫       | 5  | 4  | 3   | 4   |            |                            |
| 甲状腺        | C-細胞腺腫      | 7  | 9  | 4   | 8   |            |                            |
|            | C-細胞癌#      | 4  | 4  | 2   | 3   |            |                            |
| 皮膚         | 角化棘細胞腫      | 4  | 0  | 1   | 0   |            |                            |
| 皮下組織       | 線維腫         | 4  | 5  | 3   | 6   |            |                            |
| 脾臓         | 単核球性白血病#    | 8  | 8  | 11  | 14  |            |                            |

## メタクリル酸ブチ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  | 30  | 125  | 500 | Peto<br>検定 | Cochran-<br>Armitage<br>検定 |
|------------|-----------------|----|-----|------|-----|------------|----------------------------|
| 検査動物数      |                 | 50 | 50  | 50   | 50  |            |                            |
| 肺          | 細気管支-肺胞上皮腺腫     | 2  | 0   | 1    | 3   |            |                            |
|            | 下垂体             | 8  | 9   | 7    | 9   |            |                            |
| 甲状腺        | 腺腫              | 1  | 3   | 1    | 3   |            |                            |
|            | 腺癌#             | 4  | 3   | 9    | 6   |            |                            |
| 甲状腺        | C-細胞腺腫          | 4  | 3   | 9    | 6   |            |                            |
|            | C-細胞癌#          | 0  | 0   | 2    | 2   |            |                            |
| 乳腺         | C-細胞腺腫 + C-細胞癌# | 4  | 3   | 11 * | 8   |            |                            |
|            | 線維腺腫            | 6  | 4   | 6    | 9   |            |                            |
| 陰核腺        | 腺腫              | 3  | 0   | 2    | 0   |            |                            |
| 子宮         | 子宮内膜間質性ポリープ     | 10 | 3 * | 4    | 6   |            |                            |
| 脾臓         | 単核球性白血病#        | 5  | 8   | 9    | 6   |            |                            |

上段：上皮系腫瘍      下段：非上皮系腫瘍

# : 悪性腫瘍

\* : 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

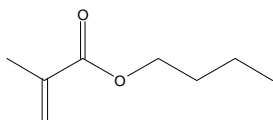
- 1 被験物質の性状等

- 1 - 1 名称等

名 称 : メタクリル酸ブチル ( Butyl methacrylate )  
別 名 : n-ブチルメタクリレート  
CAS No. : 97-88-1  
被験物質番号 : 1230

- 1 - 2 構造式及び分子量 ( 文献 1、2 )

構 造 式 :



分 子 量 : 142.20

- 1 - 3 物理化学的性状等 ( 文献 1、2 )

性 状 : 無色透明の液体  
比 重 : 0.8936 ( 20 )  
沸 点 : 160  
蒸 気 圧 : 2.12 mmHg ( 25 )  
溶 解 性 : エタノール、エチルエーテルに可溶。水に 800 mg/L ( 25 ) 溶解  
保 管 条 件 : 室温、暗所に保管

- 2 被験物質の使用ロット等

製 造 元 : 和光純薬工業(株)  
規 格 : 和光一級  
純 度 : KPE0872 : 99.9 % ( 和光純薬工業(株)検査成績書データ )  
ECF5588 : 99.8%  
DSK6422 : 99.8%  
ロット番号 : KPE0872 ( 2015/1/30 ~ 2016/3/3 )  
( 使用期間 ) ECF5588 ( 2016/3/3 ~ 2016/10/27 )  
DSK6422 ( 2016/10/27 ~ 2017/1/26 )

### - 3 被験物質の特性

#### - 3 - 1 同一性

被験物質の同一性は、ロットごとに被験物質の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、その測定値を文献値と比較することにより確認した。

その結果、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、被験物質はメタクリル酸ブチルであることを確認した。

それらの結果は APPENDIX 1-1 に示す。

#### - 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その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ズ(株) 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 に示す。

### - 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)の F344/DuCrIcrlj ラット(SPF)の雌雄を使用した。

雌雄各 220 匹を 4 週齢で導入し、検疫を 8 日間、馴化を 9 日間実施した後、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（群分け時体重範囲、雄：114～134 g、雌：91～105 g）を選別し、試験に用いた。

なお、F344/DuCrIcrlj ラット（SPF）を選別した理由は、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487回の暴露を行った。

#### - 1 - 4 投与濃度

投与濃度は、30、125及び500 ppm（体積比 v/v）の3段階に設定した。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4）及びOECD化学剤テストガイドライン451（発癌性試験）（文献5）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0829）の結果をもとに決定した（文献6）。13週間試験は0（対照群）、63、125、250、500及び1000 ppmの濃度で行った。その結果、動物の死亡はみられず、一般状態観察でも雌雄に変化はみられなかった。しかし、1000 ppm群では、雌雄で体重増加の抑制（対照群に対し、雄87%、雌90%）がみられ、摂餌量も多くの週で低値であった。また、臓器重量は体重増加の抑制に伴い、多くの臓器で低値が認められた。血液学的検査では、軽度の貧血（赤血球数等の低値）が認められ、赤血球数とヘマトクリット値への影響は雌雄とも125 ppm群までみられた。病理組織学的検査では、被験

物質の刺激に起因すると考えられる変化が鼻腔に認められ、鼻腔への影響は雌雄の 125 ppm までみられた。従って、1000 ppm は体重増加の抑制や摂餌量の低値から、がん原性試験の最高濃度としては高いと考えられた。一方、500 ppm 群では、雌雄とも軽度の貧血と雄で胸腺重量の低下が認められたが、体重抑制は雌雄とも軽度（雄 96%、雌 97%）であり、鼻腔への影響は 1000 ppm 群よりも減弱した。従って、がん原性試験の最高濃度として刺激性物質の 2 年間投与を考えると、500 ppm が妥当であると判断した。また、最低濃度については、63 ppm では毒性影響は認められなかったものの、投与期間が 2 年間の長期にわたることから、63 ppm 以下が適切であると考えられた。

以上のことから、がん原性試験の投与濃度は、雌雄とも最高濃度を 500 ppm とし、以下、125 ppm、30 ppm 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、清浄空気のバ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、再加熱し、一定濃度にした後、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 に示す。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 0.4 %以内、変動係数（標準偏差 / 平均値 × 100）が 1.0 %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) |
| 30 ppm 群  | 50 匹 (1101 ~ 1150) | 50 匹 (2101 ~ 2150) |
| 125 ppm 群 | 50 匹 (1201 ~ 1250) | 50 匹 (2201 ~ 2250) |
| 500 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 7)。

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 (検疫 517・518 室、馴化・投与 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 (雄: 517 室、雌: 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 ;  $23 \pm 2$  < 517 室 ;  $22.7 \pm 0.1$  、 518 室 ;  $22.6 \pm 0.1$  >  
 吸入試験室 ;  $22 \pm 2$  < 504 室 ;  $21.9 \pm 0.3$  >  
 吸入チャンバー内 ;  $23 \pm 2$   
 湿度 : 検疫室 ;  $55 \pm 15$  % < 517 室 ;  $54 \pm 2$  %、 518 室 ;  $54 \pm 1$  % >

吸入チャンバー内；30～70 %（ただし、被験物質の湿度センサーへの付着により、正常な測定ができないため、投与群の湿度は暴露中及び暴露終了後1時間まで測定しなかった。）

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；飼育中  $12 \pm 1$  回/時、暴露中  $6 \pm 0.5$  回/時

圧力： 吸入チャンバー内；0～ $15 \times 10$  Pa

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

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)×270(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)千葉工場製造のCRF-LPF固型（30kGy $\gamma$ 線照射滅菌飼料）を自由摂取させた。ただし、定期解剖前日の夕方からは絶食させた。

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)から分析データを入手し、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、自動給水ノズルから自由摂取させた。

飲水の水質は、試験施設として3ヶ月ごとに実施している水質検査で、建築物衛生法施行規則第4条に基づく水質基準に適合していることを確認した。なお、2015年5月27日以降に実施した検査は、動物試験施設として定期的（年2回）に実施している水道水の検査において、水道法に定められている水質基準に適合していることを確認した。

### - 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

全動物について、週1回、吸入暴露前の一般状態を詳細に観察した。その他の日は、暴露日は吸入暴露前に、非暴露日は1日1回生死及び瀕死を確認した。

### - 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。定期解剖日には絶食後の体重（搬出時体重）を測定した。

また、死亡及び瀕死の動物は、飼育室からの搬出時に体重を測定した。

### - 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 尿検査

投与 103 週の検査時まで生存した採尿可能な動物から、新鮮尿を採取し、尿試験紙（マルティスティックス、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 - 5 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開腹し、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 に示す。

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 - 6 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開腹し、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 に示す。

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、 $\gamma$ -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 - 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。なお、定期解剖動物及び切迫屠殺動物はイソフルラン麻酔下で腹大動脈を切断し、放血することで安楽死させた。

#### (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8)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、骨髓(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、精囊、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、<sup>2</sup>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<sup>2</sup>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 9）、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 に示す。

#### - 雄 -

最終生存率は、500 ppm 群で低下が認められた。

各群の 104 週における生存動物数（生存率）は、対照群：38 匹（76%）、30 ppm 群：41 匹（82%）、125 ppm 群：36 匹（72%）、500 ppm 群：28 匹（56%）であった。

#### - 雌 -

投与群の生存率に被験物質投与による影響は認められなかった。

各群の 104 週における生存動物数（生存率）は、対照群：39 匹（78%）、30 ppm 群：38 匹（76%）、125 ppm 群：37 匹（74%）、500 ppm 群：37 匹（74%）であった。

### - 2 一般状態

一般状態の観察結果を TABLE C 1, 2 に示す。

#### - 雌雄 -

被験物質投与の影響と考えられる所見の増加は認められなかった。

### - 3 体重

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

#### - 雄 -

500 ppm 群では投与初期と終期に体重増加の抑制が認められ、投与期間を通して対照群より低値傾向で推移した。また、125 ppm 群では投与期間中期に体重の高値が散見された。

最終計測日（104 週）の各投与群の体重は、対照群に対して 30 ppm 群：99%、125 ppm 群：99%、500 ppm 群：94%であった。

#### - 雌 -

500 ppm 群では投与初期と中期以降に体重増加の抑制が認められ、投与期間を通して対照群より低値傾向で推移した。また、125 ppm 群では投与期間初期から終期にかけて体重の高値が認められた。

最終計測日（104 週）の各投与群の体重は、対照群に対して 30 ppm 群：98%、125 ppm 群：104%、500 ppm 群：92%であった。

#### - 4 摂餌量

摂餌量を TABLE E 1～4 及び FIGURE 5, 6 に示す。

- 雄 -

500 ppm 群では投与期間終期に摂餌量の低値が散見された。また、125 ppm 群では投与中期に高値が散見された。

- 雌 -

500 ppm 群では投与期間中期以降に摂餌量の低値が散見された。また、30 ppm 群及び 125 ppm 群では投与初期から中期に高値が散見された。

#### - 5 尿検査

尿検査の結果を TABLE F 1, 2 に示す。

- 雄 -

被験物質投与の影響と考えられる変化は認められなかった。

- 雌 -

ケトン体の陽性例の減少が 125 ppm 群で認められたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

#### - 6 血液学的検査

血液学的検査の結果を TABLE G 1, 2 に示す。

- 雄 -

MCHC の低値が 30 ppm 以上の群で、赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低値、並びに網赤血球比の高値が 125 ppm 以上の群で認められた。

なお、好酸球比の低値が 500 ppm 群で、その他に分類された細胞の高値が 125 ppm 以上の群で統計学的有意差を示したものの、ごく僅かな変化であり、投与の影響とは考えなかった。

- 雌 -

被験物質投与の影響と考えられる変化は認められなかった。

#### - 7 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を TABLE H 1, 2 に示す。

- 雄 -

尿素窒素の高値が 125 ppm 以上の群で認められた。また、総蛋白、アルブミン、総コレ

ステロール及びナトリウムの低値、並びにカリウム、クロール及び無機リンの高値が 500 ppm 群で認められた。なお、総蛋白は 30 ppm 群でも低値を示した。

- 雌 -

ALT の低値が 500 ppm 群で認められたが、低下性の変化であり、ごく軽度の変化であった。

## - 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 に示す。

- 雄 -

脾臓の腫大が対照群 12 匹に対して 500 ppm 群 19 匹、胸腔の胸水が対照群 3 匹に対して 500 ppm 群 8 匹、更に、皮下組織の腫瘤が対照群 5 匹に対して 500 ppm 群 9 匹に認められた。

- 雌 -

肺の白色斑が対照群 3 匹に対して 500 ppm 群 13 匹に認められたが、病理組織学的検査ではこれに対応する所見の増加はなかった。

### - 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 に示す。

- 雄 -

腎臓の実重量と体重比の高値、及び肝臓の体重比の高値が 125 ppm 以上の群で認められた。

その他、500 ppm 群で心臓、肺及び脳に体重比の高値がみられたが、解剖時体重の低値による影響と判断した。

- 雌 -

腎臓の実重量の高値が 125 ppm 以上の群、体重比の高値が 500 ppm 群で認められた。更に、肝臓の体重比の高値が 500 ppm 群で認められた。

その他、500 ppm 群で肺及び脳に体重比の高値がみられたが、解剖時体重の低値による影響と判断した。

### - 8 - 3 病理組織学的検査

腫瘍性病変は、腫瘍の種類別の発生数を TABLE L 1, 2 に、統計解析 (Peto 検定、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定) の結果を TABLE M 1, 2 に示す。本項で取り上げた腫瘍については、日本バイオアッセイ研究センターにおける直近 10 年間 (13 試験、2008 年 ~ 2017 年) の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、平均発生率 (%) と試験ごとの発生率 (最小 % ~ 最大 %)) を TABLE N 1, 2 に示す。また、非腫瘍性病変は TABLE O 1, 2 に、転移性病変は TABLE P 1, 2 に示す。さらに、病理組織所見の代表例を PHOTOGRAPH 1 ~ 6 に示す。

- 雄 -

#### 1) 腫瘍性病変

##### < 脾臓 >

単核球性白血病の発生は、対照群で 8 匹 (16 %)、30 ppm 群で 8 匹 (16 %)、125 ppm 群で 11 匹 (22 %)、500 ppm 群で 14 匹 (28 %) に認められ、Peto 検定 (死亡率法、死亡率法+有病率法) で有意な増加を示した。単核球性白血病は、当センターのヒストリカルコントロールデータ (最小 4 % ~ 最大 14 %、平均 9.4 %) で通常みられる腫瘍であるが、本試験における発生は、対照群を含む全投与群でその範囲を超えた。なお、単核球性白血病は肉眼的観察で脾臓の腫大として認められ、胸水を伴う例もみられた。

##### < 皮下組織 >

線維腫の発生は、対照群で 4 匹 (8 %)、30 ppm 群で 5 匹 (10 %)、125 ppm 群で 3 匹 (6 %)、500 ppm 群で 6 匹 (12 %) に認められ、Peto 検定 (死亡率法) で有意な増加を示した。線維腫は、当センターのヒストリカルコントロールデータ (最小 6 % ~ 最大 16 %、平均 11.6 %) でみられる腫瘍であり、本試験における発生は、いずれもヒストリカルコントロールデータの範囲内であった。従って、線維腫の発生増加は被験物質の暴露による影響ではないと判断した。

##### < 精巣 >

間細胞腫の発生は、対照群で 43 匹 (86 %)、30 ppm 群で 48 匹 (96 %)、125 ppm 群で 44 匹 (88 %)、500 ppm 群で 48 匹 (96 %) に認められ、Peto 検定 (有病率法) で有意な増加を示した。間細胞腫は、当センターのヒストリカルコントロールデータ (最小 72 % ~ 最大 98 %、平均 81.8 %) でみられる腫瘍であり、本試験における発生は、いずれもヒストリカルコントロールデータの範囲内であった。従って、間細胞腫の発生増加は被験物質の暴露による影響ではないと判断した。

その他、下垂体の腺腫の発生は Fisher 検定で 500 ppm 群に減少がみられた。

## 2) 非腫瘍性病変

## &lt; 鼻腔 &gt;

呼吸上皮と嗅上皮に病変の増加が観察された。

呼吸上皮には、扁平上皮化生の発生匹数の増加が 500 ppm 群で認められ、その程度は軽度から中等度であった。嗅上皮では、萎縮と色素沈着の発生匹数の増加が 30 ppm 以上の群で、再生と基底細胞の過形成が 500 ppm 群で認められた。萎縮の程度は軽度から中等度、再生、基底細胞の過形成及び色素沈着の程度は軽度であった。更に、嗅上皮の壊死（軽度）が 125 ppm 以上の群で少数例に認められた。色素沈着は、橙色の色素が嗅上皮の嗅細胞層の基底側に認められるものが多かった。

## &lt; 骨髄 &gt;

造血亢進の発生匹数の増加が 125 ppm 以上の群で認められ、この程度は軽度から中等度であった。

その他、肝臓の好酸性小増殖巣の増加が 30 ppm 群のみで認められたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。また、鼻腔の異物性炎症（異物性鼻炎）の発生匹数の減少と嗅上皮のエオジン好性変化の程度の減弱が 500 ppm 群でみられた。

- 雌 -

## 1) 腫瘍性病変

## &lt; 乳腺 &gt;

線維腺腫の発生は、対照群で 6 匹（12%）、30 ppm 群で 4 匹（8%）、125 ppm 群で 6 匹（12%）、500 ppm 群で 9 匹（18%）に認められ、Peto 検定（有病率法）で有意な増加を示した。線維腺腫は、当センターのヒストリカルコントロールデータ（最小 6%～最大 20%、平均 11.5%）でみられる腫瘍であり、本試験における発生は、いずれもヒストリカルコントロールデータの範囲であった。従って、線維腺腫の発生増加は被験物質の暴露による影響ではないと判断した。

## &lt; 甲状腺 &gt;

C-細胞腺腫と C-細胞癌を合わせた発生は、対照群で 4 匹（8%）、30 ppm 群で 3 匹（6%）、125 ppm 群で 11 匹（22%）、500 ppm 群で 8 匹（16%）に認められ、Fisher 検定で 125 ppm 群のみで増加を示した。C-細胞腺腫と C-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（最小 2%～最大 26%、平均 12.9%）でみられる腫瘍であり、本試験における発生は、いずれもヒストリカルコントロールデータの範囲内であった。また、それぞれ単独での発生増加は認められなかった。従って、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影響ではないと判断した。

その他、子宮の子宮内膜間質性ポリープの発生は Fisher 検定で 30 ppm 群に減少がみられた。

## 2) 非腫瘍性病変

### < 鼻腔 >

呼吸上皮と嗅上皮に病変の増加が観察された。

呼吸上皮には、扁平上皮化生の発生匹数の増加が 125 ppm 以上の群で認められ、その程度は軽度であった。また、嗅上皮では、萎縮と色素沈着の発生匹数の増加が 30 ppm 以上の群、基底細胞の過形成が 500 ppm 群で認められた。萎縮の程度は軽度から中等度、色素沈着と基底細胞の過形成の程度は軽度であった。更に、嗅上皮の再生及び壊死が 500 ppm 群で少数例に認められ、それらの程度は軽度であった。

その他、鼻腔の嗅上皮のエオジン好性変化が 125 ppm 以上の群で程度が減弱し、呼吸上皮のエオジン好性変化は 500 ppm 群で発生がみられなかった。更に、肝臓の好塩基性小増殖巣が 30 ppm 群で程度が減弱した。

### - 8 - 4 死因

病理学的にみた死亡 / 瀕死の原因を TABLE Q 1, 2 に示す。

#### - 雄 -

500 ppm 群では脾臓の単核球性白血病を死因とする動物が多く認められた。

脾臓の単核球性白血病を死因とした動物数は、対照群：5 匹、30 ppm 群：3 匹、125 ppm 群：6 匹、500 ppm 群：11 匹であった。

#### - 雌 -

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

メタクリル酸ブチ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、30、125及び500 ppm)を行った結果、雄の投与群に脾臓の単核球性白血病の発生増加がみられた。

### - 1 生存率、一般状態、体重、摂餌量

動物の生存率は、雄の500 ppm群で低下が認められたが、雌では対照群と比較して差を認めなかった。一般状態では、雌雄ともメタクリル酸ブチル投与の影響と考えられる所見の増加は認められず、体重は雌雄の500 ppm群で投与期間を通して低値傾向で推移した。摂餌量は、雄の500 ppm群で投与終期に、雌の500 ppm群で投与中期以降に低値が散見された。また、雄の125 ppm群では投与中期に、雌の30 ppm群と125 ppm群では投与初期から中期に高値が散見された。

### - 2 腫瘍性及び腫瘍関連病変

雄では脾臓の単核球性白血病の発生が、対照群で8匹、30 ppm群で8匹、125 ppm群で11匹、500 ppm群で14匹みられ、群間比較では有意差がないものの、Peto検定(死亡率法、死亡率法+有病率法)で有意な増加を示した。単核球性白血病により死亡/瀕死した動物(Peto検定致死腫瘍例)は、対照群5匹に対して500 ppm群11匹であり、この6匹の増加による500 ppm群における生存率の低下がPeto検定の判定に反映されたものと考えられた。脾臓の単核球性白血病は、F344ラットに好発する自然発生腫瘍の一つであり(文献10,11)、本試験における対照群の発生数は、直近10年間(13試験、649匹)のヒストリカルコントロールデータ(最小4%~最大14%、平均9.4%)と比較し、その最大発生数を1例超えていたが、当センターの全ヒストリカルコントロールデータ67試験(1987年~2017年、3348匹、最小2%~最大22%、平均発生11.0%)との比較では、対照群の発生は変動の範囲内であり、対照群における発生率はヒストリカルコントロールデータの範囲内にとどまっていると判定した。一方、500 ppm群における発生率はヒストリカルコントロールデータの最大発生率を超えており、被験物質投与による影響と判定される所見であった。従って、雄に認められた脾臓の単核球性白血病の発生増加は、ラットに対するがん原性を示唆する証拠と考えられた。

雌では腫瘍の発生増加は認められず、雌ラットに対するがん原性を示す証拠は得られなかった。



### - 3 その他の影響

病理組織学的検査では、雌雄の鼻腔と雄の骨髄に影響がみられた。

鼻腔では、呼吸上皮の扁平上皮化生、嗅上皮の萎縮、再生、基底細胞過形成及び色素沈着が認められ、このうち嗅上皮の萎縮と色素沈着は、30 ppm 群で発生匹数の増加が認められた。呼吸上皮の扁平上皮化生は、傷害に対する修復や慢性炎症に伴って認められる変化であり（文献 12）、嗅上皮にも傷害による萎縮と修復を示す再生が認められた。嗅上皮の基底細胞過形成は、基底細胞が傷害を受けたのちに上皮の基底細胞層に反応性または増殖性の病変としてみられることが知られている（文献 8, 13）。本試験では、嗅上皮の基底細胞過形成は嗅上皮由来の腫瘍には進展しなかった。以上のように、メタクリル酸ブチルの暴露による傷害は鼻腔上皮にみられ、その傷害に伴った反応がみられた。

血液学的検査では、雄の 30 ppm 以上の群で MCHC の低値、125 ppm 以上の群で赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低値、並びに網赤血球比の高値が認められ、病理組織学的検査では、125 ppm 以上の群で骨髄の造血亢進が認められた。これは貧血の傾向とこれに対する二次的な造血と考えた。更に、125 ppm 以上の群で腎臓重量の増加が雌雄にみられ、血液生化学検査では雄で尿素窒素の高値が認められた。なお、雄の 125 ppm 以上の群及び雌の 500 ppm 群で肝臓重量（体重比）の高値が認められたが、病理組織所見では腎臓あるいは肝臓に変化はみられなかった。その他、総蛋白、アルブミン、総コレステロール及びナトリウムの低値、並びにカリウム、クロール及び無機リンの高値が 500 ppm 群で認められた。

本試験の予備試験として当センターで実施した 13 週間吸入試験（投与濃度：0、63、125、250、500 及び 1000 ppm）（文献 6）では、メタクリル酸ブチルによる鼻腔への影響は、雌雄とも 125 ppm 群までみられたが、本試験では最低濃度の 30 ppm 群でも鼻腔への影響が認められた。これらの結果は暴露期間の延長により鼻腔の嗅上皮への影響がさらに低い濃度までみられたことを示した。

## 結論

F344/DuCr1Cr1j ラットを用いて、メタクリル酸ブチルの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、

1. 雄ラットに対するがん原性を示唆する証拠が得られた (some evidence of carcinogenic activity)
2. 雌ラットに対するがん原性を示す証拠は得られなかった (no evidence of carcinogenic activity)

と結論された。

## 文献

- 1) U.S. National Library of Medicine. Hazardous Substance Data Bank (HSDB). Available: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB> [accessed 2014/12/11]
- 2) 化学工業日報社. 2014. 2014 年版 16514 の化学商品. 東京: 化学工業日報社, 378.
- 3) McLafferty FW, ed. 1994. Wiley Registry of Mass Spectral Data. 6th ed. New York, NY: John Wiley and Sons.
- 4) 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.
- 5) OECD. 2009. OECD Guideline for Testing of Chemicals 451: "Carcinogenicity Studies". Paris: Organisation for Economic Co-operation and Development.
- 6) 日本バイオアッセイ研究センター. 2015. メタクリル酸ブチ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.
- 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の適正層別方式の確立. 薬理と治療 14: 7285-7302.
- 8) 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.
- 9) 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.
- 10) 高信健司, 相磯成敏, 梅田ゆみ, 妹尾英樹, 齋藤美佐江, 片桐卓, ら . 2015. F344/DuCr1Cr1j ラットの自然発生腫瘍. *産業衛生学雑誌* 57: 85-96.

- 11) Thomas J, Haseman JK, Goodman JI, Ward JM, Loughran TP Jr, Spencer PJ. 2007. A review of large granular lymphocytic leukemia in Fischer 344 rats as an initial step toward evaluating the implication of the endpoint to human cancer risk assessment. *Toxicol Sci.* 99: 3–19.
- 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) 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.

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。