

メタクリル酸ブチルのマウスを用いた吸入によるがん原性試験報告書

試験番号：0850

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マウス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マウスに 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 0102）。

メタクリル酸ブチルのマウスを用いた吸入によるがん原性試験報告書

試験番号：0850

本文

本文目次

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

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

V	結論	21
VI	文献	22
VII	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	24

要約

メタクリル酸ブチルのがん原性を検索する目的で B6D2F1/CrI マウス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)、8、30 及び 125 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。

メタクリル酸ブチル投与の結果、動物の生存率は、雄の 8 ppm 群と 125 ppm 群で低下が認められ、8 ppm 群では試験早期での死亡がやや多かった。なお、雌では対照群と差を認めなかった。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なかった。体重は、雄の 125 ppm 群で投与初期から終期にかけて有意な増加抑制が認められ、投与期間を通して対照群より低値傾向で推移した。また、雌の 125 ppm 群では投与初期と中期に有意な増加抑制が認められた。摂餌量は、雄の 125 ppm 群で投与期間の多くの週で低値がみられ、雌の 125 ppm 群では投与期間初期から中期にかけて低値が散見された。

病理組織学的検査の結果、雄では肝臓に肝細胞腺腫の発生が、対照群、8 ppm 群、30 ppm 群、125 ppm 群でそれぞれ、23 匹、27 匹、30 匹、24 匹に認められ、Peto 検定で有意な増加を認めた。肝細胞腺腫と肝細胞癌を合わせた肝細胞腫瘍の発生は、Fisher 検定で 30 ppm 群に有意な増加を示した。125 ppm 群では体重の増加抑制により腫瘍の発生が抑制されたと考えられた。従って、雄マウスでは肝細胞腫瘍 (肝細胞腺腫+肝細胞癌) の発生はメタクリル酸ブチルのマウスに対するがん原性を示唆する証拠 (some evidence) と考えられた。また、雄の全臓器の組織球性肉腫を合わせた発生が、Peto 検定で有意な増加を示した。雌では下垂体前葉腺腫の発生が、Peto 検定で有意な増加を示したが発生増加は僅かであり、前葉腺癌の発生、前葉腺腫と前葉腺癌を合わせた発生及び前腫瘍変化と考えられる前葉の過形成の発生に有意な増加は認めなかった。また、雌の全臓器の血管肉腫を合わせた発生が、Peto 検定で有意な増加を示したが、血管腫の発生増加は認められなかった。これらの腫瘍の発生は B6D2F1/CrIj マウスのヒストリカルコントロールデータと同程度であった。以上より、雄の全臓器の組織球性肉腫を合わせた発生、雌の下垂体前葉腺腫の発生及び全臓器の血管肉腫を合わせた発生はマウスに対するがん原性を示す不確実な証拠 (equivocal evidence) と考えられた。

非腫瘍性病変としては、雌雄の鼻腔及び鼻咽頭、雌の脾臓、胃及び子宮に影響が認められた。雌雄の鼻腔では、嗅上皮の萎縮、再生、呼吸上皮化生及びエオジン好性変化の発生増加が認められた。なお、エオジン好性変化は、呼吸上皮及び鼻咽頭上皮にもみられた。また、

呼吸上皮化生は固有層の腺組織にも認められた。このうち嗅上皮の再生は、雌雄の最低濃度の 8 ppm 群から発生増加がみられた。更に雌では、脾臓で濾胞の過形成の程度の増強、及びヘモジデリン沈着の増加、胃で腺胃に過形成の程度の増強、子宮では腺の過形成の発生増加がみられた。

以上のように、B6D2F1/Crl マウスを用いて、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) 雄マウス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) 雌マウスに対するがん原性を示す不確実な証拠が得られた（equivocal 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 (マウス 雄)

投与濃度 (ppm)		0	8	30	125	Peto 検定	Cochran- Armitage 検定		
検査動物数		50	50	50	50				
肺	細気管支-肺胞上皮腺腫	7	5	8	3	↑			
	細気管支-肺胞上皮癌 [#]	2	5	3	3				
肝臓	肝細胞腺腫	23	27	30	24				
	肝細胞癌 [#]	12	13	16	10				
	肝細胞腺腫 + 肝細胞癌 [#]	32	33	41 *	31				
膵臓	島細胞腺腫	1	2	3	0				
ハート腺	腺腫	4	4	4	3				
肝臓	血管腫	4	3	2	0			↑	
全臓器	組織球性肉腫 [#]	0	1	1	3				
肝臓	〃	0	0	1	1				
精巣上体	〃	0	0	0	1				
腹膜	〃	0	0	0	1				
皮下組織	〃	0	1	0	0				

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 (マウス 雌)

投与濃度 (ppm)		0	8	30	125	Peto 検定	Cochran- Armitage 検定
検査動物数		50	50	50	50		
肺	細気管支-肺胞上皮腺腫	2	3	2	1	↑	
肝臓	肝細胞腺腫	7	6	10	6		
卵巣	嚢胞腺腫	1	2	1	4		
下垂体	腺腫,前葉	3	1	4	6		
	腺癌,前葉 [#]	0	1	0	0		
	腺腫,前葉 + 腺癌,前葉 [#]	3	2	4	6		
ハート腺	腺腫	2	0	0	3		
子宮	組織球性肉腫 [#]	5	5	8	10	↑	
全臓器	悪性リンパ腫 [#]	11	12	10	7		
リンパ節	〃	9	9	10	6		
脾臓	〃	2	3	0	1		
全臓器	血管肉腫 [#]	1	2	2	4		
肝臓	〃	0	1	0	1		
子宮	〃	0	0	1	0		
骨髄	〃	0	0	0	1		
脾臓	〃	1	0	0	2		
腹膜	〃	0	0	0	1		
後腹膜	〃	0	0	0	1		
皮下組織	〃	0	1	1	1		

上段：上皮系腫瘍 下段：非上皮系腫瘍

#：悪性腫瘍

*： $p \leq 0.05$ で有意**： $p \leq 0.01$ で有意

(Fisher 検定)

↑： $p \leq 0.05$ で有意増加↑↑： $p \leq 0.01$ で有意増加

(Peto, Cochran-Armitage 検定)

↓： $p \leq 0.05$ で有意減少↓↓： $p \leq 0.01$ で有意減少

(Cochran-Armitage 検定)

I 試験材料

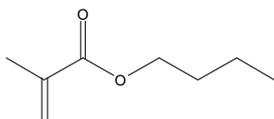
I-1 被験物質の性状等

I-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

I-1-2 構造式及び分子量 (文献 1、2)

構 造 式 :



分 子 量 : 142.20

I-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°C)
沸 点 : 160°C
蒸 気 圧 : 2.12 mmHg (25°C)
溶 解 性 : エタノール、エチルエーテルに可溶。水に 800 mg/L (25°C) 溶解
保 管 条 件 : 室温、暗所に保管

I-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 (2015/2/10~2016/3/2)
(使用期間) ECF5588 (2016/3/2~2016/10/27)
DSK6422 (2016/10/27~2017/2/6)

I-3 被験物質の特性

I-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。

I-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。

I-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 B6D2F1/Crl マウス（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 10 日間、馴化を 8 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：23.2～27.2 g、雌：18.3～22.1 g）を選別し、試験に用いた。

なお、B6D2F1/Crl マウス（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実績があることによる。

II 試験方法

II-1 投与

II-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。

II-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。

II-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。

II-1-4 投与濃度

投与濃度は、8、30及び125 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。

II-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0830）の結果（文献6）をもとに決定した。13週間試験は0（対照群）、31、63、125、250及び500 ppmの濃度で行った。その結果、自然発生の腎臓病変により、投与群で計3匹の死亡／瀕死がみられたが、被験物質投与による影響ではないと判断した。また、一般状態観察でも投与による影響は雌雄ともみられなかった。500 ppm群では、体重増加の抑制（対照群に対し、雄84%、雌95%）がみられ、体重への影響は、雄の125 ppm群まで軽度の増加抑制がみられた。また、臓器重量は体重増加の抑制に伴い、いくつかの臓器で低値が認められ、肝臓重量への影響は雄の125 ppm群ま

でみられた。血液学的検査では、雌雄に軽度の貧血（赤血球数等の低値）と雄に白血球数の低値が認められ、白血球数への影響は雄の 63 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と鼻咽頭に認められ、鼻腔への影響は、雄の 63 ppm 群と雌の 31 ppm 群までみられたが、いずれも動物の生存に影響を及ぼすものではないと考えられた。がん原性試験の最高濃度は、雄の 250 ppm では最終体重が対照群に対し 86%であることからやや高いと判断した。一方、125 ppm 群の最終体重は、雄では軽度（89%）の増加抑制がみられたものの、自然発生による重度の腎臓病変症の 1 匹を除いた体重は、対照群に対して 91%であり、がん原性試験の最高濃度として 125 ppm が妥当であると判断した。また、最低濃度については、雌の 31 ppm で鼻腔に影響がみられ、投与期間が 2 年間の長期にわたることから、31 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 125 ppm とし、以下、30 ppm、8 ppm と決定した。

II-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。

II-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（ $(\text{平均値} - \text{設定濃度}) / \text{設定濃度} \times 100$ ）が 0.4 %以内、変動係数（標準偏差 / 平均値 $\times 100$ ）が 1.3 %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。

II-2 動物管理

II-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)
8 ppm 群	50 匹 (1101~1150)	50 匹 (2101~2150)
30 ppm 群	50 匹 (1201~1250)	50 匹 (2201~2250)
125 ppm 群	50 匹 (1301~1350)	50 匹 (2301~2350)

II-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 503 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。

II-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 (503 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; $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ < 517 室; $22.7 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$ 、518 室; $22.6 \pm 0.0^{\circ}\text{C}$ >

吸入試験室; $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ < 503 室; $22.0 \pm 0.4^{\circ}\text{C}$ >

吸入チャンバー内; $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$

湿度 : 検疫室; $55 \pm 15\%$ < 517 室; $52 \pm 1\%$ 、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±1回／時、暴露中 6±0.5回／時

圧力： 吸入チャンバー内；0～15×10 Pa

ケージへの動物の収容方法： 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2連網ケージ（112(W)×212(D)×120(H) mm/匹）

馴化期間；ステンレス製6連網ケージ（95(W)×116(D)×120(H) mm/匹）

投与期間；ステンレス製5連網ケージ（100(W)×116(D)×120(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-γ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。

II-3 観察・検査項目及び方法

II-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。

II-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。

II-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。

II-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（ウロラブスティックス、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、潜血、ウロビリノーゲン

II-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

II-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、 γ -GTP、CK、尿素窒素、ナトリウム、カリウム、クロール、カルシウム、無機リン

II-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、胆嚢、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

II-4 数値処理と統計方法

II-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、小数点以下第1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。

II-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、 χ^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 χ^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 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

Ⅲ 試験成績

Ⅲ-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、対照群と比較して 8 ppm 群と 125 ppm 群で低下が認められた。また、8 ppm 群では試験早期での死亡がやや多かった。

各群の 104 週における生存動物数（生存率）は、対照群：45 匹（90%）、8 ppm 群：35 匹（70%）、30 ppm 群：41 匹（82%）、125 ppm 群：37 匹（74%）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：36 匹（72%）、8 ppm 群：32 匹（64%）、30 ppm 群：33 匹（66%）、125 ppm 群：33 匹（66%）であった。

Ⅲ-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。

Ⅲ-3 体重

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

—雄—

125 ppm 群では投与初期から終期にかけて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。

最終計測日（104 週）の各投与群の体重は、対照群に対して 8 ppm 群：102 %、30 ppm 群：103 %、125 ppm 群：100 %であった。

—雌—

125 ppm 群では投与初期と中期に体重増加の抑制が認められた。

最終計測日（104 週）の各投与群の体重は、対照群に対して 8 ppm 群：102 %、30 ppm 群：101 %、125 ppm 群：100 %であった。

Ⅲ-4 摂餌量

摂餌量を TABLE E 1~4 及び FIGURE 5, 6 に示す。

—雄—

125 ppm 群では投与期間の多くの週で摂餌量の低値が認められた。

—雌—

125 ppm 群では投与期間初期から中期にかけて摂餌量の低値が散見された。

Ⅲ-5 尿検査

尿検査の結果を TABLE F 1, 2 に示す。

—雄—

pH の上昇が 8 ppm 以上の群で認められた。

—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。

Ⅲ-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—

ヘモグロビン濃度及び MCHC の高値、並びに網赤血球比及び白血球数の低値が 125 ppm 群で認められた。

—雌—

MCH の高値が 8 ppm 以上の群で認められた。また、MCV の高値が 8 ppm 群と 125 ppm 群でみられた。

Ⅲ-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—

アルブミン及び A/G 比の高値が 30 ppm 以上の群で、グルコースの高値、並びに AST、ALT、LDH、CK、尿素窒素、ナトリウム及び無機リンの低値が 125 ppm 群で認められた。また、ALP が 30 ppm 群で高値を示した。

—雌—

総コレステロール及びリン脂質の低値が 8 ppm 群でみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

Ⅲ-8 病理学的検査

Ⅲ-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。

—雌雄—

被験物質投与と関連があると考えられる所見の増加は認められなかった。

Ⅲ-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—

脾臓の実重量と体重比の低値が 125 ppm 群で認められた。

—雌—

脾臓の体重比の高値が 8 ppm 群でみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

Ⅲ-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。また、非腫瘍性病変は TABLE N 1, 2 に、転移性病変は TABLE O 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

<肝臓>

肝細胞腺腫の発生は、対照群で 23 匹 (46%)、8 ppm 群で 27 匹 (54%)、30 ppm 群で 30 匹 (60%)、125 ppm 群で 24 匹 (48%) に認められ、Peto 検定 (死亡率法) で有意な増加を示した。なお、肝細胞癌の発生増加は認められなかった。更に、肝細胞腺腫と肝細胞癌を合わせた発生は、対照群で 32 匹 (64%)、8 ppm 群で 33 匹 (66%)、30 ppm 群で 41 匹 (82%)、125 ppm 群で 31 匹 (62%) 認められ、Fisher 検定で 30 ppm 群のみ増加を示した。

<全臓器>

組織球性肉腫の発生は、対照群で 0 匹、8 ppm 群で 1 匹 (2%)、30 ppm 群で 1 匹 (2%)、125 ppm 群で 3 匹 (6%) 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。本試験における組織球性肉腫の発生は、皮下組織、肝臓、精巣上体及び腹膜に認められたが、各臓器ごとでの発生増加は認められなかった。

2) 非腫瘍性病変

<鼻腔>

嗅上皮、呼吸上皮、固有層の腺に病変の増加が観察された。

嗅上皮では、再生の発生匹数の増加が 8 ppm 以上の群、萎縮、呼吸上皮化生及びエオジン好性変化の発生匹数の増加が 125 ppm 群で認められた。再生の程度はいずれも軽度、萎縮、呼吸上皮化生及びエオジン好性変化の程度は、軽度から中等度であった。嗅上皮の呼吸上皮化生は第 2～第 3 レベル背側に認められた。

呼吸上皮では、エオジン好性変化の発生匹数の増加が 125 ppm 群で認められ、その程度は軽度から中等度であった。

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発生匹数の増加が 125 ppm 群で認められ、その程度は軽度から重度であった。腺の呼吸上皮化生は対照群を含めた全ての群で第 1～2 レベルの背側の鼻腺や嗅腺に認められ、投与群ではさらに第 2 レベルの呼吸上皮と嗅上皮の境界部、第 3 レベルの背側や篩骨甲介にも認められた。

<鼻咽頭>

エオジン好性変化の発生匹数の増加が 125 ppm 群で認められ、その程度は軽度であった。

その他、腎臓の近位尿細管の再生が 8 ppm 以上の群、包皮腺の炎症が 30 ppm 以上の群、包皮腺の腺管拡張が 8 ppm 群、腺胃の過形成が 125 ppm 群で発生匹数の減少または程度の減弱が認められた。

—雌—

1) 腫瘍性病変

<下垂体>

前葉腺腫の発生は、対照群で 3 匹 (6%)、8 ppm 群で 1 匹 (2%)、30 ppm 群で 4 匹 (8%)、125 ppm 群で 6 匹 (12%) に認められ、Peto 検定 (死亡率法+有病率法) で有意な増加を示した。

<全臓器>

血管肉腫の発生は、対照群で 1 匹 (2%)、8 ppm で 2 匹 (4%)、30 ppm 群で 2 匹 (4%)、125 ppm 群で 4 匹 (8%) に認められ、Peto 検定 (有病率法) で有意な増加を示した。本試験における血管肉腫の発生は、皮下組織、骨髄、脾臓、肝臓、子宮、腹膜及び後腹膜に認められたが、各臓器ごとでの発生増加は認められなかった。

2) 非腫瘍性病変

<鼻腔>

嗅上皮、呼吸上皮、固有層の腺に病変の増加や程度の増強が観察された。

嗅上皮では、再生の発生匹数の増加が 8 ppm 群と 30 ppm 群、萎縮の発生匹数の増加が

30 ppm 群、呼吸上皮化生の発生匹数の増加が 30 ppm 以上の群、エオジン好性変化の発生匹数の増加が 125 ppm 群で認められた。再生、呼吸上皮化生及びエオジン好性変化の程度は軽度から中等度、萎縮の程度は軽度であった。

呼吸上皮では、エオジン好性変化の程度の増強が 125 ppm 群で認められ、その程度は軽度から重度であった。一方、8 ppm 群では程度の減弱が認められ、その程度は軽度から中等度であった。

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発生匹数の増加が 30 ppm 以上の群で認められ、その程度は軽度から重度であった。なお、嗅上皮の呼吸上皮化生と腺の呼吸上皮化生の分布は、雄と同様であった。

<鼻咽頭>

エオジン好性変化の発生匹数の増加が、30 ppm 以上の群で認められ、その程度は軽度から中等度であった。

<脾臓>

濾胞過形成の程度の増強が 30 ppm 以上の群で認められ、ヘモジデリン沈着の発生匹数の増加が 125 ppm 群で認められた。濾胞過形成の程度は軽度から重度、ヘモジデリン沈着の程度は軽度から中等度であった。

<胃>

腺胃の過形成の程度の増強が 125 ppm 群で認められ、その程度は軽度から重度であった。

<子宮>

子宮の腺の過形成が 30 ppm 群で発生匹数が増加し、その程度は軽度であった。

その他、腎臓の硝子円柱が 8 ppm 群、肝臓のリンパ球浸潤が 125 ppm 群で発生匹数が減少した。

Ⅲ-8-4 死因

病理学的にみた死亡／瀕死の原因を TABLE P 1, 2 に示す。

—雄—

対照群と比較して 8 ppm 群と 125 ppm 群の最終生存率は低下傾向を示し、特に 8 ppm 群では試験早期から死亡が認められた。しかしこれらの群や期間に、特定の病変あるいは腫瘍による死亡の増加は認められなかった。

—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認められなかった。

IV 考察及びまとめ

メタクリル酸ブチルのマウスを用いた 2 年間の全身暴露による吸入試験（投与濃度：0、8、30 及び 125 ppm）を行った結果、雄では肝細胞腺腫、肝細胞腺腫と肝細胞癌を合わせた発生、及び全臓器の組織球性肉腫を合わせた発生に増加がみられ、雌では下垂体前葉腺腫の発生及び全臓器の血管肉腫を合わせた発生に増加がみられた。

IV-1 生存率、一般状態、体重、摂餌量

動物の生存率は、雄の 8 ppm 群と 125 ppm 群で低下が認められ、8 ppm 群では試験早期での死亡がやや多かった。なお、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。体重は、雄の 125 ppm 群で投与初期から終期にかけて有意な増加抑制が認められ、投与期間を通して対照群より低値傾向で推移した。また、雌の 125 ppm 群では投与初期と中期に有意な増加抑制が認められた。摂餌量は、雄の 125 ppm 群で投与期間の多くの週で低値がみられ、雌の 125 ppm 群では投与初期から中期にかけて低値が散見された。

IV-2 腫瘍性及び腫瘍関連病変

当センターで実施したマウスを用いたがん原性試験では、国内生産による B6D2F1/Crlj マウスの系統を使用し、飼料は CRF-1 固形飼料を使用してきた。近年、同系統マウスを使用したがん原性試験結果では、アミロイドーシスの発症と腎臓病変による死亡が増加していることから、本試験から使用マウスを IGS (International genetic standardization) 生産システムによる B6D2F1/Crl マウスに変更した。更に、使用飼料も長期飼育用に設計された蛋白質含量を低減した CR-LPF 固形飼料に変更した。

本試験の対照群で好発した腫瘍はこれまで当センターで蓄積したヒストリカルコントロールデータと変化はなく、メタクリル酸ブチルのがん原性試験結果の評価判断に、B6D2F1/Crlj マウス（2008 年～2015 年、吸入試験 8 試験、雄：399 匹、雌：400 匹）のヒストリカルコントロールデータを評価の参考とした。

雄では肝臓に肝細胞腺腫の発生が対照群、8 ppm 群、30 ppm 群、125 ppm 群でそれぞれ、23 匹、27 匹、30 匹、24 匹に認められ、Peto 検定（死亡率法）で有意な増加が示された。肝細胞癌の発生は有意な増加は示さなかったが、肝細胞腺腫と肝細胞癌を合わせた肝細胞腫瘍の発生は、Fisher 検定で 30 ppm 群に有意な増加を示した。125 ppm 群では Fisher 検定による増加を示さなかったが、これは雄 125 ppm 群で体重の増加抑制がみられており、動物の栄養状態の不良によって肝臓腫瘍の発生が抑制されていたためと考えられた。従って、雄マウスでは

肝細胞腫瘍（肝細胞腺腫＋肝細胞癌）の発生はメタクリル酸ブチルの投与による影響と判断した。

雄の全臓器の組織球性肉腫を合わせた発生（皮下組織、肝臓、精巣上体及び腹膜）が、対照群、8 ppm 群、30 ppm 群、125 ppm 群でそれぞれ、0 匹、1 匹、1 匹、3 匹に認められ、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。

雌では下垂体の前葉腺腫の発生が、対照群、8 ppm 群、30 ppm 群、125 ppm 群でそれぞれ、3 匹、1 匹、4 匹、6 匹に認められ、Peto 検定（有病率法+死亡率法）で有意な増加を示した。しかし、その発生増加は僅かであり、前葉腺癌の発生、前葉腺腫と前葉腺癌を合わせた発生及び前腫瘍変化と考えられる前葉の過形成の発生に有意な増加は認められなかった。

雌の全臓器の血管肉腫を合わせた発生（皮下組織、骨髄、脾臓、肝臓、子宮、腹膜及び後腹膜）が、対照群、8 ppm 群、30 ppm 群、125 ppm 群でそれぞれ、1 匹、2 匹、2 匹、4 匹に認められ、Peto 検定（有病率法）で有意な増加を示した。しかし、血管腫の発生増加は認められなかった。

上記腫瘍を B6D2F1/Crlj マウスのヒストリカルコントロールデータと比較すると、雄の全臓器の組織球性肉腫（最小 2 %～最大 12 %、平均 7.8 %）と雌の下垂体の前葉腺腫（最小 4 %～最大 20 %、平均 12.8 %）、及び全臓器の血管肉腫（最小 0 %～最大 6 %、平均 3.0 %）の発生率はヒストリカルコントロールデータと同程度であった。一方、雄の肝細胞腺腫（最小 8 %～最大 36 %、平均 20.1 %）の発生率は対照群を含めた全ての群でヒストリカルコントロールデータの範囲を超えていた。本試験における肝細胞腺腫の発生率のヒストリカルコントロールからの逸脱の原因については、IGS マウスへの変更、低蛋白飼料への変更が考慮されるが、現段階では詳細は不明である。

以上より、雄の肝細胞腺腫、肝細胞腺腫と肝細胞癌を合わせた発生は、マウスに対するがん原性を示唆する証拠と考えられた。また、雄の全臓器の組織球性肉腫を合わせた発生、雌の下垂体前葉腺腫の発生及び全臓器の血管肉腫を合わせた発生は、マウスに対するがん原性を示す不確実な証拠と考えられた。

IV-3 その他の影響

病理組織学的検査では、雌雄とも鼻腔と鼻咽頭に影響が認められた。更に、雌では脾臓、胃及び子宮にも影響が認められた。

鼻腔への影響は、雌雄とも嗅上皮、呼吸上皮及び嗅上皮や呼吸上皮の固有層に分布する腺組織に認められ、鼻咽頭管の上皮にも暴露の影響が認められた。嗅上皮には、傷害性の変化として萎縮の増加が雄の 125 ppm 群と雌の 30 ppm 群で認められ、また、上皮の再生像は雄の 8 ppm 以上の群及び雌の 8 ppm 群と 30 ppm 群で認められた。更に、傷害された嗅上皮がより抵抗性の強い呼吸上皮に置き換わる呼吸上皮化生も雄の 125 ppm 群と雌の 30 ppm 以上の群でその発生増加が認められ、メタクリル酸ブチル暴露による鼻腔嗅上皮に対する毒性影響は、雄よりも

雌で低濃度までみられる傾向があった。なお、雌の 125 ppm 群では、傷害がみられた嗅上皮は、そのほとんどが呼吸上皮に化生したため、萎縮や再生の増加はみられなかった。また、呼吸上皮化生は固有層の腺組織にも認められ、嗅上皮の変化と同様に雌で低濃度までみられる傾向があった。嗅上皮と呼吸上皮にはエオジン好性変化の発生増加や程度の増強が雌雄とも 125 ppm 群で認められた。また、鼻咽頭管の上皮にもエオジン好性変化の増加が、雄の 125 ppm 群と雌の 30 ppm 以上の群でみられた。エオジン好性変化は B6D2F1 マウスの加齢性変化としてみられるが（文献 8）、弱い慢性刺激による反応としても認められている（文献 10）。従って、呼吸上皮及び鼻咽頭上皮のエオジン好性変化の発生増加は、メタクリル酸ブチルの暴露が加齢性変化を増強したものと考えた。

脾臓では濾胞の過形成の程度の増強が雌の 30 ppm 以上の群に、ヘモジデリン沈着の増加が雌の 125 ppm 群で認められたが、これらの病変は当センターで実施した 2 週間試験（文献 11）や 13 週間試験（文献 6）では認められないものであった。また、濾胞の過形成とヘモジデリン沈着は雌マウスの加齢性病変としても知られており（文献 12, 13, 14, 15）、雌マウスにみられる自然発生病変を増加させた可能性がある。また、ヘモジデリン沈着の増加については、メタクリル酸ブチル暴露による血管肉腫の増加に対する 2 次的な影響も考えられた。

胃では腺胃に過形成の程度の増強が雌の 125 ppm 群に認められたが、腺胃の過形成もマウスの加齢性病変として知られている変化であり（文献 16）、各群とも対照群を含むほとんどの動物に発生が認められることから、毒性学的には重要な意義はないと考えられた。

子宮では腺の過形成の発生増加が、雌の 30 ppm 群に認められ、8 ppm 群と 125 ppm 群の発生も統計学的に有意でないものの対照群と比較して多かった。この病変は、様々な系統のマウスの加齢性病変としても知られている（文献 17）。また、当センターで実施した 13 週間試験（文献 6）では認められなかった。従って、メタクリル酸ブチル暴露により、自然発生病変を増加させたものと考えられた。

本試験の予備試験として当センターで実施した 13 週間吸入試験（投与濃度：0、31、63、125、250 及び 500 ppm）（文献 6）では、鼻腔への毒性影響は、雄では 63 ppm 群まで、雌では 31 ppm 群までみられた。これらの病変はメタクリル酸ブチル暴露による鼻腔への傷害とそれに対する修復による変化であり、13 週間試験でみられた鼻腔の病変は、本試験においても同様であった。13 週間試験でみられた嗅上皮の萎縮、呼吸上皮化生、呼吸上皮や嗅上皮の腺の呼吸上皮化生は、本試験では雌の 30 ppm 群まで認められており、更に、嗅上皮の再生は最低濃度の 8 ppm 群まで認められた。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更に低い濃度までみられたことを示した。

V 結論

B6D2F1/Cr1 マウスを用いて、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. 雄マウス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. 雌マウスに対するがん原性を示す不確実な証拠が得られた (equivocal evidence of carcinogenic activity)

と結論された。

VI 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マウス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) Elizabeth FM, Rodney AM. 2007. A review of upper respiratory tract inhalation pathology. *Comp Clin Pathol.* 4: 215-222.

- 11) 日本バイオアッセイ研究センター. 2013. メタクリル酸ブチルのマウスを用いた吸入による2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.
- 12) 渋谷一元, 久田茂, 田村一利, 大町康, 細川暁. 2017. 各論 I, 第7章 免疫系. 新毒性病理組織学 (日本毒性病理学会編). 東京: 西村書店, 445-476.
- 13) Frith CH, Highman B, Burger G, Sheldon WD. 1983. Spontaneous lesions in virgin and retired breeder BALB/c and C57BL/6 mice. *Lab Anim Sci.* 33: 273-286.
- 14) Hirouchi Y, Iwata H, Yamakawa S, Kato M, Kobayashi K, Yamamoto T, Inoue H, Enomoto M. 1994. Historical data of neoplastic and non-neoplastic lesions in B6C3F1 (C57BL/6CrSlc×C3H/HeSlc) Mice. *J Toxicol Pathol.* 7: 153-177.
- 15) Cesta MF. Normal structure, function, and histology of the spleen. 2006. *Toxicol Pathol.* 34: 455-465.
- 16) 眞鍋淳, 塚本徹哉, 乾公正, 大石裕司. 2017. 各論 I, 第2章 消化器系, 5 胃. 新毒性病理組織学 (日本毒性病理学会編). 東京: 西村書店, 168-187.
- 17) Dixon D, Alison R, Bach U, Colman K, Foley GL, Harleman JH, Haworth R, Herbert R, Heuser A, Long G, Mirsky M, Regan K, Van Esch E, Westwood FR, Vidal J, Yoshida M. 2014. Non-proliferative and proliferative lesions of the rat and mouse female reproductive system. *J Toxicol Pathol.* 27(3-4 Suppl.): 1S-107S.

Ⅶ 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

1. 動物導入体重及び最終検疫時の体重値表示桁数

本試験で使用した新規動物種・系統（MOUSE B6D2F1/Crl）を登録の際、誤って動物体重の測定桁数を小数点以下 1 桁まで測定しなければならないところ、整数値での登録を行ってしまった。その結果、導入時体重と最終検疫体重が整数値でホストコンピューター内に格納されてしまった。

導入時から最終検疫にかけての体重の増加量等の判断には影響が少ないと考えられ、その後の群分け時の体重測定は、小数点以下 1 桁まで正確に測定でき、群分け作業は正常に行うことができた。従って、試験の精度及び信頼性に与える影響はなかつたと判断した。