

アクリル酸メ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：0831

CAS No. 96-33-3

2017年3月29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

アクリル酸メ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

アクリル酸メチルをラットに 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 0060)。

アクリル酸メ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：0831

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	8
- 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	9
(1)	肉眼的観察	9
(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	14
- 8 - 4	死因	17
	考察及びまとめ	19
- 1	生存率、一般状態、体重、摂餌量	19
- 2	腫瘍性及び腫瘍関連病変	19
- 3	その他の影響	20

結論	22
文献	23
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	25

要約

アクリル酸メ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、アクリル酸メチルを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)、10、40、及び160ppm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。

アクリル酸メチルの暴露の結果、動物の生存率に投与の影響はみられなかった。一般状態では、雌雄ともアクリル酸メチルの影響と思われる所見はみられなかった。体重は、雌雄の160ppm群で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。摂餌量は、雄では160ppm群で投与期間を通じて、雌は160ppm群で投与14週まで、それぞれ対照群より低値であった。

病理組織学的検査では、雌雄とも、鼻腔に腫瘍の発生が認められた。雄では、鼻腔に扁平上皮癌の発生が40ppm群に1匹、160ppm群に6匹にみられ、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、Fisher検定で160ppm群に増加がみられた。雌でも鼻腔に扁平上皮癌の発生が160ppm群に2匹にみられ、統計学的な差は認められないものの、こ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おいて発生のない極めて稀な腫瘍であった。非腫瘍性病変としては、雌雄の鼻腔、喉頭、気管、眼及び雄の鼻咽頭に影響がみられた。鼻腔の呼吸上皮では、扁平上皮化生、炎症及び杯細胞過形成、嗅上皮では、基底細胞過形成、呼吸上皮化生、萎縮、炎症、再生及び扁平上皮化生が認められ、その他、腺の変性と呼吸上皮化生、炎症性ポリープ、甲介の癒着及び鉍質沈着が認められた。鼻咽頭では、杯細胞過形成が雄にみられ、喉頭では、扁平上皮化生が雌雄に、扁平上皮過形成が雄にみられた。気管では、雌雄に萎縮がみられた。眼では、角膜炎が雌雄に、角膜の変性が雄にみられた。

以上のように、F344/DuCr1Cr1jラットを用いて、アクリル酸メチルの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、雄ラットに対するがん原性を示す証拠(clear evidence of carcinogenic activity)、及び、雌ラットに対するがん原性を示唆する証拠(some evidence of carcinogenic activity)が得られたと結論された。

アクリル酸メ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)				Peto 検定	Cochran- Armitage 検定
			0	10	40	160		
検査動物数			50	50	50	50		
良性 腫瘍	皮膚	角化棘細胞腫	2	4	0	2		
	皮下組織	線維腫	6	2	2	3		
	肺	細気管支-肺胞上皮腺腫	2	6	1	5		
	膵臓	島細胞腺腫	2	4	4	2		
	下垂体	腺腫	13	9	8	5 *		
	甲状腺	C-細胞腺腫	10	5	9	8		
	副腎	褐色細胞腫	6	6	3	1		
	精巣	間細胞腫	42	47	45	45		
	悪性 腫瘍	鼻腔	扁平上皮癌	0	0	1	6 *	
脾臓		単核球性白血病	5	3	3	3		
膵臓		島細胞腺癌	1	3	0	0		
甲状腺		C-細胞癌	5	2	1	2		

アクリル酸メ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)				Peto 検定	Cochran- Armitage 検定
			0	10	40	160		
検査動物数			50	50	50	50		
良性 腫瘍	下垂体	腺腫	16	14	10	16		
	甲状腺	C-細胞腺腫	4	4	8	4		
	副腎	褐色細胞腫	1	0	1	2		
	子宮	子宮内膜間質性ポリープ	6	8	5	8		
	乳腺	線維腺腫	4	5	6	5		
悪性 腫瘍	鼻腔	扁平上皮癌	0	0	0	2		
	脾臓	単核球性白血病	5	5	2	4		
	下垂体	腺癌	2	3	1	0		
	副腎	褐色細胞腫:悪性	0	1	0	2		
	副腎	褐色細胞腫 + 褐色細胞腫:悪性	1	1	1	4		

* : 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 : アクリル酸メチル (Methyl acrylate)
別 名 : 2-プロペン酸メチル、アクリル酸メチルエステル
CAS No. : 96-33-3
被験物質番号 : 1249

- 1 - 2 構造式及び分子量 (文献 1)

示 性 式 : $\text{CH}_2=\text{CHCOOCH}_3$
分 子 量 : 86.09

- 1 - 3 物理化学的性状等 (文献 1)

性 状 : 無色の揮発性の液体
比 重 : 0.9535 (20)
沸 点 : 80.7
蒸 気 圧 : 86.6 mmHg (25)
溶 解 性 : エタノール、エチルエーテル、アセトン、クロロホルム、ベンゼンに可
溶
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 : 和光特級
純 度 : 99.9%(和光純薬工業(株)検査成績書データ)
ロット番号 : AWF1535 (2014/1/30 ~ 2014/10/31)
(使用期間) KPJ3619 (2014/11/4 ~ 2015/8/18)
ECL0060 (2015/8/19 ~ 2016/1/27)

- 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 2）と同じ擬分子イオン及びフラグメントピークを示し、被験物質はアクリル酸メチ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）の F344/DuCrjCrj 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、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（群分け時体重範囲、雄：114～136g、雌：91～107g）を選別し、試験に用いた。

なお、F344/DuCrjCrj 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489回の暴露を行った。

- 1 - 4 投与濃度

投与濃度は、10、40及び160 ppm (体積比 v/v) の3段階 (公比4) 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3) 及び OECD 化学品テストガイドライン 451 (発癌性試験) (文献4) 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0803) の結果 (文献5) をもとに決定した。13週間試験は0 (対照群)、12.5、25、50、100 及び 200 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明確な変化はみられなかった。体重は200 ppm 群で、雌雄に体重増加の抑制がみられた。病理組織学的検査では、被験物質の刺激によると考えられる変化が鼻腔、喉頭及び気管に認められた。特に鼻腔の変化が最も顕著であり、鼻腔への影響は濃度依存的に減弱しながらも25 ppm 群まで認められた。病理組織学的検査でみられた所見は、鼻腔上皮の壊死、潰瘍、剥離、炎症、萎縮、再生、過形成、化生等であっ

たが、その程度は200 ppm 群においても軽度から中等度であり、動物の生存に影響を及ぼすものではないと判断した。しかし、200 ppm 群の最終体重は対照群に対し、雄で85 %、雌で92%であることから、雄の200 ppm はがん原性試験における最大耐量を越えると思われる。一方、100 ppm 群では、最終体重は対照群に対し、雄が97 %、雌が99 %であり、この濃度を最高濃度とするにはやや低いと考えられた。これらの結果より、がん原性試験の最高濃度は100 ppm と200 ppm の中間の濃度が妥当であると考えられた。また、がん原性試験の最低濃度については、投与期間が長期にわたることを考慮し、13週間試験で投与の影響がみられなかった12.5 ppm と同等かやや低い濃度が望ましいと考えた。

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160 ppm とし、以下、40 ppm、10 ppm（公比4）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循環式恒温槽で一定温度に冷却した後、清浄空気（希釈空気）と混合しながら再加熱し、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 0.3%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)
10 ppm 群	50 匹 (1101 ~ 1150)	50 匹 (2101 ~ 2150)
40 ppm 群	50 匹 (1201 ~ 1250)	50 匹 (2201 ~ 2250)
160 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 6)。

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 512 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 (512 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 ± 0.2 、 518 室 ; 22.9 ± 0.0 >
 吸入試験室 ; 22 ± 2 < 512 室 ; 22.2 ± 0.3 >
 吸入チャンバー内 ; 23 ± 2
 湿度 : 検疫室 ; $55 \pm 15\%$ < 517 室 ; $56 \pm 2\%$ 、 518 室 ; $56 \pm 0\%$ >
 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～-15×10Pa
 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-1 固型(30kGy 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、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

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。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 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（マルティステイックス、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 - 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 - 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、瀕死動物及び定期解剖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7)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 8）、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 -

投与群の生存率に被験物質の影響はみられなかった。

各群の 104 週における生存動物数（生存率）は、対照群：38 匹（76%）、10 ppm 群：42 匹（84%）、40 ppm 群：35 匹（70%）、160 ppm 群：39 匹（78%）であった。

- 雌 -

投与群の生存率に被験物質の影響はみられなかった。

各群の 104 週における生存動物数（生存率）は、対照群：40 匹（80%）、10 ppm 群：39 匹（78%）、40 ppm 群：43 匹（86%）、160 ppm 群：41 匹（82%）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。

- 雌雄 -

被験物質の影響と思われる所見はみられなかった。

- 3 体重

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

- 雄 -

160 ppm 群では投与開始週より体重増加に抑制がみられ、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 10 ppm 群：99%、40 ppm 群：99%、160 ppm 群：85%であった。

- 雌 -

160 ppm 群では投与開始週より体重増加に抑制がみられ、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 10 ppm 群：99%、40 ppm 群：101%、160 ppm 群：91%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 -

160 ppm 群は投与期間を通して対照群より低値であった。

- 雌 -

160 ppm 群は投与開始から投与 14 週まで対照群より低値であった。

- 5 尿検査

尿検査の結果を TABLE F 1, 2 に示した。

- 雌雄 -

被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

- 6 血液学的検査

血液学的検査の結果を TABLE G 1, 2 に示した。

- 雄 -

MCH と MCHC の低値が 160 ppm 群にみられた。

- 雌 -

ヘモグロビンの高値が 40 ppm 以上の群で、ヘマトクリット値の高値が 160 ppm 群でみられた。また、白血球分類では好中球比の高値が 160 ppm 群でみられた。

- 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 に示した。

- 雄 -

総蛋白、尿素窒素、クレアチン及びカルシウムの低値並びに ALP 及び無機リンの高値が 160 ppm 群で、総コレステロール、トリグリセライド及びリン脂質の低値並びにナトリウム及びクロールの高値が 10 ppm 群と 160 ppm 群でみられた。

なお、A/G 比の高値が 160 ppm 群のみでみられたが、僅かな変化であり、投与の影響とは考えなかった。

- 雌 -

ALT 及び γ -GTP の高値とトリグリセライドの低値が 160 ppm 群でみられた。

なお、カリウムの低値が 40 ppm 群のみでみられたが、投与濃度に対応したものではなかった。

- 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 に示した。

- 雄 -

鼻の隆起が 160 ppm 群の 2 匹、鼻の結節が 160 ppm 群の 1 匹に認められ、眼の混濁が 160 ppm 群の 5 匹に認められた。その他に投与と関連があると思われる所見は認められなかった。

- 雌 -

鼻の隆起が 160 ppm 群の 1 匹に認められ、眼の混濁が 160 ppm 群の 5 匹に認められた。その他に投与と関連があると思われる所見は認められなかった。

- 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 -

40 ppm 群と 160 ppm 群の脾臓で実重量と体重比の低値が認められた。また、160 ppm 群の肝臓で体重比の低値、10 ppm 群と 160 ppm 群の肝臓と腎臓で実重量の低値を示した。しかしながら、これらに対応した病理組織学的変化はみられなかった。この他、160 ppm 群で心臓、肺及び脳の体重比の高値、副腎、心臓、肺及び脳の実重量の低値を示したが、解剖時体重の低値による影響と判断した。なお、160 ppm 群の脾臓の体重比の平均値は、単核球性白血病のために極端に脾臓が肥大した個体があったため対照群より高い値を示しているが、統計学的には対照群と比較して低値であった。

- 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、160 ppm 群で副腎、卵巣、心臓、肺、腎臓及び脳の体重比の高値と脳の実重量の低値を示したが、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 に示し、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 N 1, 2 に示した。また、非腫瘍性病変は TABLE O 1, 2 に、転移性病変は TABLE

P 1, 2 に示した。さらに、病理組織所見の代表例を PHOTOGRAPH 1 ~ 12 に示した。

- 雄 -

1) 腫瘍性病変

< 鼻腔 >

扁平上皮癌の発生は 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、Fisher 検定で 160 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 (直近 10 年間、検査総匹数 649 匹) で発生の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 40 ppm 群で 1 匹 (2%)、160 ppm 群で 6 匹 (12%) に認められた。扁平上皮癌の発生は、鼻腔の前方から中央 (レベル 1 から 2) の背側に多くみられ、腫瘍細胞の異型が明らかであり、扁平上皮における正常な層状分化の過程を取らない増殖を示した。鼻腔腫瘍の診断は、毒性病理組織学 (文献 9) 及び Proliferative and nonproliferative lesions of the rat and mouse respiratory tract (文献 10) を参考とした。肉眼的観察で、160 ppm 群に 2 匹に認められた鼻の隆起と 1 匹に認められた結節は、いずれも扁平上皮癌であった。

その他、下垂体の腺腫の発生は Fisher 検定で 160 ppm 群に減少がみられ、副腎の褐色細胞腫の発生は Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示した。

2) 非腫瘍性病変

< 鼻腔 >

呼吸上皮、嗅上皮、固有層の腺、甲介に病変の増加または程度の増強が観察された。

呼吸上皮には、扁平上皮化生と炎症及び移行上皮に過形成の発生匹数の増加が 160 ppm 群で認められ、有意差を示さなかったが、扁平上皮化生は 40 ppm 群でも認められた。また、呼吸上皮の杯細胞過形成 (粘液産生機能亢進) の発生匹数の増加が 40 ppm 以上の群で認められた。呼吸上皮の扁平上皮化生と炎症の程度は軽度から中等度、移行上皮の過形成は軽度から重度、杯細胞過形成は軽度であった。

嗅上皮では、基底細胞の過形成、呼吸上皮化生及び萎縮の発生匹数の増加が 40 ppm 以上の群で認められ、炎症は 160 ppm 群で、再生は 40 ppm 群で発生匹数の増加が認められ、有意差を示さなかったが、再生及び扁平上皮化生が 160 ppm 群でも認められた。基底細胞の過形成、呼吸上皮化生、再生及び扁平上皮化生の程度は軽度、炎症は軽度から中等度、萎縮は中等度から重度であり、萎縮では程度の増強傾向が見られた。

呼吸上皮や嗅上皮の固有層に分布する腺には、変性の発生匹数の増加と呼吸上皮化生の程度の増強、甲介の癒着の発生匹数の増加及び鉍質沈着の程度の増強が 160 ppm 群で認められ、変性と呼吸上皮化生及び鉍質沈着の程度は軽度から中等度、癒着の程度は軽度であった。

上記に加え、有意ではなかったが、炎症性ポリープ及び扁平上皮過形成が 160 ppm 群で認められた。炎症性ポリープは中等度、扁平上皮過形成は軽度から重度であった。嗅上皮の

炎症は、粘膜及び固有層内の炎症性細胞浸潤と浮腫性変化であり、呼吸上皮化生は嗅上皮や固有層の腺上皮が線毛を持った単層または多列円柱上皮に置き換わった変化であり、嗅上皮が分布する鼻腔中央から後方（レベル 2～3）の背側に認められた。また、甲介の癒着は鼻腔の後方（レベル 3）の篩骨甲介を中心に認められ、鉍質沈着は、鼻腔後方（レベル 3）の嗅上皮領域に多く認められた。

< 鼻咽頭 >

有意ではないが、杯細胞の過形成が 160 ppm 群で認められ、その程度は軽度であった。

< 喉頭 >

有意ではないが、扁平上皮化生と扁平上皮過形成が 160 ppm 群で認められ、扁平上皮化生が軽度、扁平上皮過形成が中等度であった。

< 気管 >

上皮の萎縮の発生匹数の増加が 160 ppm 群で認められた。また、有意ではないが炎症が 160 ppm 群で認められた。これらの程度はいずれも軽度であった。

< 眼 >

角膜炎と角膜の変性の発生匹数の増加が 160 ppm 群で認められた。角膜炎は軽度から重度、角膜の変性は軽度であった。肉眼的観察で、160 ppm 群に 5 匹に認められた眼の混濁は、いずれも角膜炎であった。

その他、鼻腔の異物性炎症（異物性鼻炎）で発生匹数の減少及び腎臓の慢性腎症で病変の程度の減弱が 160 ppm 群で認められた。

- 雌 -

1) 腫瘍性病変

< 鼻腔 >

扁平上皮癌の発生が 160 ppm 群に 2 匹（4%）認められた。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（直近 10 年間、検査総匹数 650 匹）においても、これまで当センターで実施した全てのがん原性試験の雌の対照群（検査総匹数 3047 匹）でも発生のみられない極めて稀な腫瘍である。扁平上皮癌の形態や発生部位は、雄と同様であった。肉眼的観察で、160 ppm 群に 1 匹に認められた鼻の隆起は、扁平上皮癌であった。

< 副腎 >

褐色細胞腫と悪性褐色細胞腫を合わせた発生は Peto 検定（死亡率法+有病率法）で増加傾向を示した。しかしながら、褐色細胞腫と悪性褐色細胞腫を合わせた発生は、対照群、10 ppm 群及び 40 ppm 群で各 1 匹（2%）、160 ppm 群で 4 匹（8%）であり、投与群での発生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 2.8%）内であった。従って、褐色細胞腫と悪性褐色細胞腫を合わせた発生は被

験物質の暴露によるものかは明らかではなかった。

2) 非腫瘍性病変

< 鼻腔 >

呼吸上皮、嗅上皮、固有層の腺、甲介に病変の増加が観察された。

呼吸上皮には、扁平上皮化生、炎症及び杯細胞過形成の発生匹数の増加が 160 ppm 群で認められ、有意差を示さなかったが移行上皮の過形成が 160 ppm 群で認められた。呼吸上皮の扁平上皮化生、炎症及び杯細胞過形成の程度は軽度から中等度、移行上皮の過形成は軽度であった。

嗅上皮では、萎縮と基底細胞過形成の発生匹数の増加が 40 ppm 以上の群で認められ、炎症と呼吸上皮化生は 160 ppm 群、再生は 40 ppm 群で発生匹数の増加が認められた。また、有意ではなかったが、嗅上皮の扁平上皮化生が 160 ppm 群で認められた。基底細胞過形成、再生及び扁平上皮化生の程度は軽度、炎症は軽度から中等度、萎縮は中等度から重度であり、萎縮では程度の増強傾向がみられた。

呼吸上皮や嗅上皮の固有層に分布する腺では、呼吸上皮化生の程度の増強が 40 ppm 以上の群で、腺の変性と甲介の癒着の発生匹数の増加と鉍質沈着の程度の増強が 160 ppm 群で認められた。腺の呼吸上皮化生と鉍質沈着の程度は軽度から中等度、腺の変性は中等度、甲介の癒着は軽度であった。また、上記に加え、有意ではなかったが炎症性ポリープと扁平上皮の過形成が 160 ppm 群で認められ、炎症性ポリープが軽度、扁平上皮の過形成が軽度から中等度であった。

< 喉頭 >

扁平上皮化生の発生匹数の増加が 160 ppm 群で認められ、その程度は軽度であった。

< 気管 >

上皮の萎縮の発生匹数の増加が 160 ppm 群で認められた。その程度は軽度であった。

< 眼 >

角膜炎の発生匹数の増加が 160 ppm 群で認められ、有意ではなかったが角膜の変性が 160 ppm 群で認められた。角膜炎の程度は軽度から重度、角膜の変性は軽度であった。肉眼的観察で、160 ppm 群に認められた眼の混濁は、5 匹中 4 匹が角膜炎であった。

その他、鼻腔の嗅上皮でエオジン好性変化の程度が 10 ppm 以上の群で減弱し、呼吸上皮のエオジン好性変化、鼻咽頭の杯細胞過形成及び鼻涙管の炎症が 160 ppm 群で、骨髄の肉芽形成が 10 ppm 群で発生匹数が減少した。

- 8 - 4 死因

病理学的にみた死亡 / 瀕死の原因を TABLE Q 1, 2 に示した。

- 雌雄 -

雌雄とも、特定の原因による死亡例の増加はなかった。

なお、鼻腔腫瘍を死因とする例が 160 ppm 群の雄に 4 匹、雌に 1 匹認められた。

考察及びまとめ

アクリル酸メ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、10、40 及び 160 ppm）を行った結果、雌雄の投与群に鼻腔の腫瘍の発生がみられた。

- 1 生存率、一般状態、体重、摂餌量

動物の生存率は、雌雄とも対照群と比較して差を認めなかった。一般状態では、雌雄ともアクリル酸メチルの影響と思われる所見はみられなかった。

体重は、雌雄の 160 ppm 群で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。摂餌量は、雄では 160ppm 群で投与期間を通じて、雌は 160 ppm 群で投与 14 週まで、それぞれ対照群より低値であった。

- 2 腫瘍性及び腫瘍関連病変

雌雄とも、鼻腔に腫瘍の発生が認められた。

雄では、鼻腔に扁平上皮癌の発生が 40 ppm 群で 1 匹、160 ppm 群で 6 匹にみられ、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、Fisher 検定で 160 ppm 群に増加がみられた。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（直近 10 年間、検査総匹数 649 匹）では、発生のみられない極めて稀な腫瘍である。また、扁平上皮癌は鼻腔前方から中央（レベル 1 から 2）の背側に認められるものが多いことから、呼吸上皮や嗅上皮の扁平上皮化生を経て発生したと考えられ、少数例であるが腫瘍の前段階と考えられる扁平上皮過形成（文献 9、10）も雌雄の 160 ppm 群に認められている。また、扁平上皮と呼吸上皮の移行部に存在する移行上皮の過形成（文献 10）も 160 ppm 群で有意に増加している。従って、扁平上皮癌の発生は、雄ラットに対するがん原性を示す証拠（clear evidence of carcinogenic activity）と考えられた。

雌では、鼻腔に扁平上皮癌の発生が 160 ppm 群に 2 匹にみられた。鼻腔の扁平上皮癌は、雄と同様な形態を示しており、当センターのヒストリカルコントロールデータ（直近 10 年間、検査総匹数 650 匹）においても、これまで当センターで実施した全てのがん原性試験の雌の対照群（検査総匹数 3047 匹）でも発生のみられない極めて稀な腫瘍である。また、雄と同様に腫瘍に関連した病変として扁平上皮化生が 160 ppm 群で認められ、扁平上皮過形成、移行上皮過形成も少数例であるがみられた。従って、扁平上皮癌の発生は、雌ラットに対するがん原性を示唆する証拠（some evidence of carcinogenic activity）と考えられた。

なお、本がん原性試験結果の評価については、National Toxicology Program の Definition of Carcinogenicity Results（文献 10）を参考にした。

- 3 その他の影響

血液学的検査では、雄で MCH と MCHC の低値が 160 ppm 群にみられ、雌でヘモグロビン濃度の高値が 40 ppm 以上の群に、ヘマトクリット値と好中球比の高値が 160 ppm 群にみられた。血液生化学的検査では、雄で総蛋白、尿素窒素、クレアチン及びカルシウムの低値並びに ALP 及び無機リンの高値が 160 ppm 群で、総コレステロール、トリグリセライド及びリン脂質の低値並びにナトリウム及びクロールの高値が 10 ppm 群と 160 ppm 群でみられ、雌で ALT 及び γ -GTP の高値とトリグリセライドの低値が 160 ppm 群でみられた。しかし、血液学的検査、血液生化学検査の変化に関連すると思われる病理組織学的所見は認められなかった。

臓器重量では、雄で肝臓の実重量と体重比の低値が 160 ppm 群で、脾臓の実重量と体重比の低値が 40 ppm 群と 160 ppm 群でみられたが、脾臓、肝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、雌雄の鼻腔、喉頭、気管、眼及び雄の鼻咽頭に影響がみられた。

鼻腔の呼吸上皮では、扁平上皮化生、炎症及び杯細胞過形成、嗅上皮では、基底細胞過形成、呼吸上皮化生、萎縮、炎症、再生及び扁平上皮化生が認められ、その他、腺の変性と呼吸上皮化生、炎症性ポリープ、甲介の癒着及び鉍質沈着が 160 ppm 群で認められた。これらの鼻腔に対する影響のうち、呼吸上皮の杯細胞過形成(雄)、嗅上皮の萎縮(雌雄)、再生(雄)、呼吸上皮化生(雄)、基底細胞過形成(雌雄)及び腺の呼吸上皮化生(雌)は 40 ppm まで認められた。このうち傷害を示す変化として、呼吸上皮と嗅上皮に炎症、嗅上皮に萎縮、固有層の腺には変性がみられた。傷害の修復による変化として、呼吸上皮と嗅上皮に扁平上皮化生、嗅上皮と固有層の腺に呼吸上皮化生がみられ、また、嗅上皮の基底細胞過形成がみられた。

甲介の癒着は強い炎症により起こることが知られており(文献 11)、また、炎症性ポリープの発生は粘膜固有組織の炎症性細胞浸潤と浮腫により粘膜の限局性隆起としてみられる炎症性変化である(文献 11)。なお、嗅上皮の再生が、雌雄とも 40 ppm 群のみで有意な増加を示したことは、嗅上皮の傷害が 160 ppm 群で強く、嗅上皮の広い範囲で呼吸上皮化生や萎縮が起こったためと考えた。

鼻咽頭では、杯細胞過形成が雄にみられ、喉頭では、扁平上皮化生が雌雄に、扁平上皮過形成が雄にみられ、鼻腔でみられた変化は鼻咽頭や喉頭でも認められた。

気管では、雌雄に萎縮、雄の少数例に炎症がみられ、被験物質の影響は下部気道の気管まで認められた。

眼では、角膜炎が雌雄に、角膜の変性が雄にみられ、これらはいずれも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 13 週間試験(文献 5)では、雌雄の鼻腔の呼吸上皮や嗅上皮に対する影響がみられた。この 13 週間試験の最高濃度である 200 ppm 群では、移行上皮で扁平上皮化生と過形成、呼吸上皮で再生と炎症性細胞浸潤、嗅上皮で壊死、剥離、萎縮、再生及び萎縮が雌雄に認められ、嗅上皮の潰瘍が雄にみられた。13 週間試験でみられた

鼻腔の変化はアクリル酸メチルの 104 週間吸入暴露においても、その程度の増強を伴い認められ、これらの中から腫瘍（扁平上皮癌）へと進展するものが現れたものと考察される。また、13 週間試験では、鼻腔の呼吸上皮の再生、杯細胞過形成（雄のみ）、嗅上皮の再生が 50 ppm 群まで認められ、25 ppm 群ではみられなかったが、今回の 104 週間試験でも、40 ppm 群までアクリル酸メチルの暴露による病変が認められ、ほぼ同じ濃度まで影響がみられたと考えた。一方、喉頭に対する影響は、13 週間試験では上皮の再生であったものが 104 週間暴露では扁平上皮化生となり、気管に対しては、13 週間試験では上皮の再生と萎縮であったものが 104 週間暴露では萎縮となった。さらに、眼に対する影響として、角膜炎が 13 週間暴露では雄の 200 ppm 群に 1 匹みられたのみであったが、104 週間暴露では、雌雄とも 160 ppm 群に多くみられた。

結論

F344/DuCr1Cr1j ラットを用いて、アクリル酸メチルの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、雄ラットに対するがん原性を示す証拠 (clear evidence of carcinogenic activity) 及び、雌ラットに対するがん原性を示唆する証拠 (some evidence of carcinogenic activity) が得られたと結論された。

文献

1. U.S. National Library of Medicine. Hazardous Substances Data Bank (HSDB). Available: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB> [accessed 2012/1/4]
2. McLafferty FW, ed. 1994. Wiley Registry of Mass Spectral Data. 6th ed. New York, NY : John Wiley and Sons.
3. 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.
4. OECD. 2009. OECD Guideline for Testing of Chemicals 451: "Carcinogenicity Studies". Paris: Organisation for Economic Co-operation and Development.
5. 日本バイオアッセイ研究センター. 2014. アクリル酸メ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.
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. 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.
10. National Toxicology Program (NTP). Definition of Carcinogenicity Results, Available: <https://ntp.niehs.nih.gov/go/baresults>, [accessed 2017/3/28].

11. 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.

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。