

メタクリル酸 = 2,3 エポキシプロピ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 : 0795

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	1~6	
APPENDICES	1-1~3	

## 標題

メタクリル酸=2,3-エポキシプロピ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=2,3-エポキシプロピルをマウスに 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」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：0795

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 .....	6
- 2 - 1 各群の使用動物数 .....	6
- 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	8
- 3-4	血液学的検査	9
- 3-5	血液生化学的検査	9
- 3-6	尿検査	9
- 3-7	病理学的検査	9
(1)	肉眼的観察	9
(2)	臓器重量	9
(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	10
	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	血液学的検査	13
- 6	血液生化学的検査	13
- 7	尿検査	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	19
	考察及びまとめ	20
- 1	生存率、一般状態、体重、摂餌量	20
- 2	腫瘍性及び腫瘍関連病変	20
- 3	その他の影響	21
- 4	他文献との比較等	22

結論 .....	24
文献 .....	25
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 .....	27

## 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 B6D2F1/Crlj 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 = 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)、0.6、2.5 及び 10 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、雄は 2.5 ppm 以上の群で、雌は 0.6 ppm 群と 10 ppm 群で対照群に比べ低下した。体重は、雄では 10 ppm 群が投与期間を通じて対照群よりやや低値で推移し、雌は 0.6 ppm 群と 10 ppm 群で投与期間の初期に軽度の増加抑制がみられた。

腫瘍性病変としては、雄では鼻腔に血管肉腫と血管腫及び腺腫の発生増加がみられ、また、前胃の扁平上皮乳頭腫がわずかに増加した。雌でも、鼻腔に血管肉腫と血管腫の発生増加が認められ、1 匹ではあるが腺癌もみられた。また、雌では肺に細気管支 - 肺胞上皮癌、子宮に組織球性肉腫の発生増加が認められた。さらに、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雌雄の 10 ppm 群にみられ、血管系腫瘍に関連すると思われる血管拡張の発生も雌の 10 ppm 群で増加した。

その他の非腫瘍性病変としては、雌雄とも鼻腔 (呼吸上皮の炎症、再生、扁平上皮化生、エオジン好性変化、嗅上皮の呼吸上皮化生、エオジン好性変化、壊死及び固有層の腺の呼吸上皮化生) と鼻咽頭 (エオジン好性変化) に暴露の影響がみられた。鼻腔の変化 (嗅上皮と腺の呼吸上皮化生) は最低濃度の 0.6 ppm までみられた。

以上のように、B6D2F1/Crlj マウスを用いて、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、鼻腔の血管腫、血管肉腫、腺腫及び前胃の扁平上皮乳頭腫の発生増加が認められ、これらの腫瘍の発生増加は、雄マウス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、鼻腔の血管腫、血管肉腫、腺癌、肺の細気管支 - 肺胞上皮癌及び子宮の組織球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マウス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 (マウス 雄)

		投与濃度 (ppm)	0	0.6	2.5	10	Peto 検定	Cochran- Armitage 検定
		検査動物数	50	50	50	50		
良性 腫瘍	鼻腔	血管腫	0	0	3	8 **		
		腺腫	0	0	0	3		
	肺	細気管支 - 肺胞上皮腺腫	4	2	1	6		
	前胃	扁平上皮乳頭腫	0	1	0	3		
	ハーダー腺	腺腫	1	1	5	5		
悪性 腫瘍	鼻腔	血管肉腫	0	0	1	10 **		
	肺	細気管支 - 肺胞上皮癌	1	0	6	1		
	鼻腔	血管腫+血管肉腫	0	0	4	16 **		
		血管腫+血管肉腫+腺腫	0	0	4	19 **		

## 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 (マウス 雌)

		投与濃度 (ppm)	0	0.6	2.5	10	Peto 検定	Cochran- Armitage 検定
		検査動物数	50	50	50	50		
良性 腫瘍	鼻腔	血管腫	0	0	3	7 **		
	肺	細気管支 - 肺胞上皮腺腫	2	2	2	0		
	ハーダー腺	腺腫	1	1	2	4		
悪性 腫瘍	鼻腔	血管肉腫	0	0	1	4		
		腺癌	0	0	0	1		
	肺	細気管支 - 肺胞上皮癌	0	2	0	5 *		
	子宮	組織球性肉腫	11	10	12	18		
	鼻腔	血管腫+血管肉腫	0	0	4	11 **		
		血管腫+血管肉腫+腺癌	0	0	4	12 **		
		血管肉腫+腺癌	0	0	1	5 *		

\*: 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

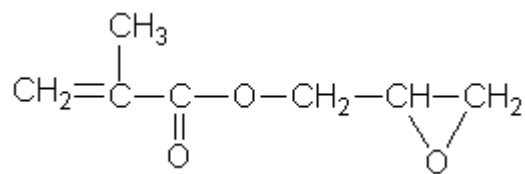
名 称 : メタクリル酸 = 2,3-エポキシプロピル  
(2,3-Epoxypropyl methacrylate)

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 (2012/2/25 ~ 2012/8/3)

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

MKBH2577V (2013/7/31 ~ 2014/2/21)

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 B6D2F1/Crlj マウス（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：22.9 ~ 26.5g、雌：18.1 ~ 21.7g）を選別し、試験に用いた。

なお、B6D2F1/Crlj 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491回の暴露を行った。

#### - 1 - 4 投与濃度

投与濃度は、0.6、2.5及び10 ppm (体積比v/v)の3段階(公比4、少数点第2位以下切り捨て)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化学剤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0771)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が、10 ppm以上の群で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雌雄とも鼻腔に変化(呼吸上皮の再生、壊死とエオジン好性変化、嗅上皮の萎縮、再生、呼吸上皮化生、壊死とエオジン好性変化及び嗅腺の過形成、萎縮と呼吸上皮化生等)がみられた。また、雌に鼻咽頭管の変化(エオジン好性変化)がみられた。そのうち、10 ppm群の最終体重は対照群に対し、雄は92%、雌は95%であり、鼻腔

の変化は20 ppm 群と同等ではあるが、動物の生死に直に関わるものではなかった。また、10 ppm 群の一般状態及び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10 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週間試験で最低濃度の1 ppm でも鼻腔（呼吸上皮、嗅上皮、嗅腺）に病理組織学的変化がみられたことから、1 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 10 ppm を最高濃度とし、以下、2.5、0.6 ppm（公比4、少数点第2位以下切り捨て）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、清浄空気のパブリックにより蒸発させた。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）及び変動係数（標準偏差 / 平均値 × 100）とも、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）
0.6 ppm 群	50 匹（1101～1150）	50 匹（2101～2150）
2.5 ppm 群	50 匹（1201～1250）	50 匹（2201～2250）
10 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（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。

## - 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（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 ;  $23 \pm 2$  < 517 室 ;  $22.6 \pm 0.0$  、 518 室 ;  $23.1 \pm 0.1$  >

吸入試験室 ;  $22 \pm 2$  < 503 室 ;  $21.7 \pm 0.4$  >

吸入チャンバー内 ;  $23 \pm 2$

湿 度 : 検疫室 ;  $55 \pm 15\%$  < 517 室 ;  $52 \pm 1\%$ 、 518 室 ;  $51 \pm 0\%$  >

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 ;  $12 \pm 1$  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 : 単飼

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：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、 $\gamma$ -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

#### - 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（ウロラプスティックス、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

#### - 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、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

#### - 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、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。

##### - 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 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 -

2.5 ppm 以上の群で動物の生存率の低下がみられた。

各群の 105 週 (定期解剖は 105 週の 3 日目より行なった) における生存動物数 (生存率) は、対照群 : 26 匹 (52%)、0.6 ppm 群 : 26 匹 (52%)、2.5 ppm 群 : 15 匹 (30%)、10 ppm 群 : 14 匹 (28%) であった。

#### - 雌 -

0.6 ppm 群と 10 ppm 群で動物の生存率の低下がみられた。

各群の 105 週における生存動物数 (生存率) は、対照群 : 27 匹 (54%)、0.6 ppm 群 : 15 匹 (30%)、2.5 ppm 群 : 19 匹 (38%)、10 ppm 群 : 9 匹 (18%) 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 -

不整呼吸 (対照群 : 5 匹、0.6 ppm 群 : 2 匹、2.5 ppm 群 : 12 匹、10 ppm 群 : 14 匹) が 2.5 ppm 以上の群にやや多くみられた。

#### - 雌 -

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 -

10 ppm 群は投与期間の前半に体重増加に軽度の抑制がみられ、投与期間を通じて対照群よりやや低値で推移した。

最終計測日 (104 週) の各投与群の体重は、対照群に対して 0.6 ppm 群 : 101%、2.5 ppm 群 : 94%、10 ppm 群 : 97% であった。

#### - 雌 -

0.6 ppm 群と 10 ppm 群は投与期間の初期に体重増加に軽度の抑制がみられたが、その後、回復し、対照群とほぼ同様な値で推移した。

最終計測日 (104 週) の各投与群の体重は、対照群に対して 0.6 ppm 群 : 108%、2.5 ppm

群：104%、10 ppm 群：97%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 -

10 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 -

各投与群とも、投与期間の前半に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 -

血小板数の低値が 10 ppm 群にみられた。

なお、2.5 ppm 群の血小板数の平均値は 10 ppm 群の平均値より低値であったが、2.5 ppm 群には血小板数の極めて低い動物が 2 匹おり、統計学的には 2.5 ppm 群は有意な変化とならなかった。

- 雌 -

被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

- 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。

- 雌雄 -

被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

- 7 尿検査

尿検査の結果を TABLE H 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。

## - 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 -

被験物質の影響と思われる所見の増加は認められなかった。

- 雌 -

子宮の結節が 10 ppm 群の 16 匹に認められ、他の群（対照群 11 匹、0.6 ppm 群 10 匹、2.5 ppm 群 11 匹）に比較して多かった。また、卵巣の腫大が 2.5 ppm 群の 6 匹、10 ppm 群の 8 匹に認められ、他の群（対照群 3 匹、0.6 ppm 群 2 匹）に比較して多かった。

### - 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 -

被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

- 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、0.6 ppm 群で肺と脳、2.5 ppm 群で肺の体重比の低値がみられたが、これらの変化は 0.6 ppm 群と 2.5 ppm 群の搬出時体重の高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 1～6 に示した。

- 雄 -

#### 1) 腫瘍性病変

##### < 鼻腔 >

血管腫の発生は Peto 検定（有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 10 ppm 群に増加がみられた。また、血管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、本試験における血管腫の発生は 10 ppm 群で 8 匹 (16%)、2.5 ppm 群で 3 匹 (6%) であった。また、血管肉腫の発生は 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 10 ppm 群に増加がみられた。10 ppm 群における血管肉腫の発生は 10 匹 (20%) であり、この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 0.0%) を超えた。さらに、血管腫と血管肉腫を合わせた発生も 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 10 ppm 群に増加がみられた。10 ppm 群における血管腫と血管肉腫を合わせた発生は 16 匹 (32%) であり、この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 0.0%) を超えた。また、2.5 ppm 群においても血管腫と血管肉腫を合わせた発生が 4 匹 (8%) にみられ、この群の発生率も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た。従って、血管腫及び血管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。なお、血管腫と血管肉腫は主に鼻腔の呼吸部前方の中隔、壁側や鼻甲介の呼吸上皮下に発生した。

血管腫と血管肉腫の診断は毒性病理組織学 (文献 11) を参考にした。血管腫は不規則に拡張した血管腔を形成し、腫瘍性の血管内皮細胞が単層に増殖していた。また、正常な血管内皮と比べて腫瘍細胞の核は大きく、血管内腔への突出が顕著であった。血管肉腫では、腫瘍性内皮細胞の多層化や周囲の鼻腔組織 (中隔や鼻骨) への浸潤、破壊など浸潤性増殖が認められた。

腺腫の発生は Peto 検定 (有病率法) と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。10 ppm 群における腺腫の発生は 3 匹 (6%) であり、この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、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。なお、腺腫は鼻腔の呼吸上皮分布領域前方の鼻甲介や壁側にみられた。腺腫の診断は Proliferative and nonproliferative lesions of the rat and mouse respiratory tract (文献 12) を参考にした。腫瘍細胞は線毛を持たない呼吸上皮に類似しており、内腔に突出する乳頭状増殖を示していた。

なお、鼻腔にみられた血管腫、血管肉腫及び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 10 ppm 群に増加がみられた。

#### < 肺 >

細気管支 - 肺胞上皮腺腫の発生は Peto 検定 (有病率法) で増加傾向を示した。しかしながら、10 ppm 群における細気管支 - 肺胞上皮腺腫の発生は 6 匹 (12%) であり、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 18%、平均発生率 8.7%) 内であった。従って、肺の細気管支 - 肺胞上皮腺腫の発生増加は、被験物質の暴露によるものとは判断しなかった。

## &lt; 胃 &gt;

前胃の扁平上皮乳頭腫の発生は Peto 検定 (有病率法) と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。10 ppm 群における扁平上皮乳頭腫の発生は 3 匹 (6%) であり、この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 0.3%) を超えた。従って、扁平上皮乳頭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。

## &lt; ハーダー腺 &gt;

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、10 ppm 群と 2.5 ppm 群における腺腫の発生は各 5 匹 (10%) であり、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 4.6%) 内であった。従って、ハーダー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。

その他、肝臓の肝細胞腺腫の発生は Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示した。

## 2) 非腫瘍性病変

## &lt; 鼻腔 &gt;

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。

呼吸上皮には、炎症、再生と扁平上皮化生の発生匹数の増加が 10 ppm 群で認められ、これらの病変の程度はいずれも軽度であった。また、移行上皮過形成とエオジン好性変化の発生匹数の増加が 10 ppm 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、呼吸上皮化生の発生匹数の増加と程度の増強が 0.6 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。また、エオジン好性変化の発生匹数の増加が 10 ppm 群で認められ、この病変の程度はいずれも軽度であった。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発生増加と程度の増強が 0.6 ppm 以上の群で認められ、この病変の程度は軽度から重度であった。移行上皮の過形成は鼻腔の呼吸上皮分布領域前方にみられ、線毛を持たない呼吸上皮 (移行上皮) が限局性に増生する変化であった。また、上皮細胞の壊死や変性、炎症性細胞浸潤を伴っており、中には基底細胞の増生の強いもの、異型を伴ったものもみられた。さらに、少数例ではあるが呼吸上皮の固有層には血管拡張が 2.5 ppm 群に 1 匹、10 ppm 群に 3 匹みられ、血管拡張は血管内皮細胞の軽度な増生を伴っていた。

## &lt; 鼻咽頭 &gt;

エオジン好性変化の発生匹数の増加が 10 ppm 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、2.5 ppm 群では骨髄の顆粒球造血の増加が、対照群との間に統計学的に有意な差を示したが、投与濃度に対応した変化ではなかった。その他、肺と大腸ではアミロイド沈着の発生が 10 ppm 群で減少し、腎臓では嚢胞の発生が 2.5 ppm 群で減少した。

- 雌 -

#### 1) 腫瘍性病変

##### < 鼻腔 >

血管腫の発生は Peto 検定（有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 10 ppm 群に増加がみられた。10 ppm 群における血管腫の発生は 7 匹（14%）であり、この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 0.0%）を超えた。また、2.5 ppm 群においても血管腫の発生が 3 匹（6%）にみられ、この群の発生率も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た。また、血管肉腫の発生は 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た。血管肉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、本試験における血管肉腫の発生は 10 ppm 群で 4 匹（8%）、2.5 ppm 群で 1 匹（2%）であった。さらに、血管腫と血管肉腫を合わせた発生も 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 10 ppm 群に増加がみられた。10 ppm 群における血管腫と血管肉腫を合わせた発生は 11 匹（22%）であり、この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 0.0%）を超えた。また、2.5 ppm 群においても血管腫と血管肉腫を合わせた発生が 4 匹（8%）にみられ、この群の発生率も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た。従って、血管腫及び血管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。

腺癌の発生は 10 ppm 群に 1 匹（2%）みられ、雄にみられた腺腫と同様に呼吸上皮分布領域前方に認められた。腺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。従って、鼻腔の腺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。腺癌の腫瘍細胞は線毛をもたない呼吸上皮に類似した形態を示し、腫瘍細胞の細胞異型や構造異型が強く、さらに周囲組織への浸潤が認められた。

なお、鼻腔にみられた血管腫、血管肉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 10 ppm 群に増加がみられた。また、2 種類の悪性腫瘍（血管肉腫、腺癌）を合わせた発生も、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 10 ppm 群に増加がみられた。



## &lt; 肺 &gt;

細気管支 - 肺胞上皮癌の発生は 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 10 ppm 群に増加がみられた。10 ppm 群における細気管支 - 肺胞上皮癌の発生は 5 匹（10%）であり、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 2.7%）を超えた。従って、肺の細気管支 - 肺胞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。

## &lt; 子宮 &gt;

組織球性肉腫の発生は 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た。10 ppm 群における組織球性肉腫の発生は 18 匹（36%）であり、この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 10%～最大 34%、平均発生率 21.0%）を超えた。従って、子宮の組織球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。なお、子宮の組織球性肉腫の発生増加により、子宮腫瘍（組織球性肉腫）の卵巢転移も 10 ppm 群に多くみられた。

## &lt; ハーダー腺 &gt;

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、10 ppm 群における腺腫の発生は 4 匹（8%）であり、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 12%、平均発生率 3.1%）内であった。従って、ハーダー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。

その他、リンパ節の悪性リンパ腫の発生は Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示し、2.5 ppm 群における肝臓の組織球性肉腫の発生は統計的に有意な減少を示した。

## 2) 非腫瘍性病変

## &lt; 鼻腔 &gt;

呼吸上皮、嗅上皮及び固有層の腺と血管に病変の増加が観察された。

呼吸上皮には、移行上皮の過形成と扁平上皮化生の発生匹数の増加が 10 ppm 群で認められ、これらの病変の程度はいずれも軽度であった。また、再生の発生匹数の増加が 2.5 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。嗅上皮には、呼吸上皮化生の発生匹数の増加と程度の増強が 0.6 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。また、壊死とエオジン好性変化の発生匹数の増加が 10 ppm 群で認められ、この病変の程度はいずれも軽度であった。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発生増加と程度の増強が 0.6 ppm 以上の群で認められ、この病変の程度は軽度から重度であった。また、呼吸上皮の固有層では、血管拡張が 10 ppm 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。

< 鼻咽頭 >

エオジン好性変化の発生匹数の増加が 0.6 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、0.6 ppm 群では鼻腔における呼吸上皮のエオジン好性変化が、2.5 ppm 群では大腸のアミロイド沈着が発生の増加や程度の増強を示したが、投与濃度に対応した変化ではなかった。その他、副腎の紡錘形細胞過形成、胃のアミロイド沈着と腺胃の過形成の発生または程度が 10 ppm 群で減少し、腺胃の糜爛の発生は 2.5 ppm 群で減少した。また、小腸のリンパ節炎と大腸のアミロイド沈着と卵巣の嚢胞の発生が 0.6 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 -

鼻腔の腫瘍による死亡は対照群では 0 匹であったが、2.5 ppm 群では 1 匹、10 ppm 群では 8 匹が鼻腔の腫瘍（血管肉腫）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 -

子宮の腫瘍による死亡は対照群では 8 匹であったが、10 ppm 群では 12 匹が子宮の腫瘍（組織球性肉腫）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。

## 考察及びまとめ

メタクリル酸 = 2,3-エポキシプロピ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、0.6、2.5 及び 10 ppm) を行った結果、雄の投与群に鼻腔と前胃の腫瘍、雌の投与群に鼻腔、肺及び子宮の腫瘍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、雄では 2.5 ppm 以上の群で、雌は 0.6 ppm 群と 10 ppm 群で対照群に比べ低下した。一般状態では、雄の 2.5 ppm 以上の群に不整呼吸がやや多くみられた。

体重は、雄では 10 ppm 群が投与期間を通じて対照群よりやや低値で推移し、雌は 0.6 ppm 群と 10 ppm 群で投与期間の初期に軽度の増加抑制がみられた。摂餌量は、雄の 10 ppm 群は投与期間を通じて、雌は全投与群で投与期間の前半に、それぞれ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、雄では前胃に、雌では肺と子宮にも腫瘍の発生増加がみられた。

雄では、鼻腔に血管肉腫と血管腫の発生増加が認められた。また、腺腫の発生増加もわずかにみられた。血管腫は血管系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 10 ppm 群に増加がみられ、2.5 ppm 群と 10 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。血管肉腫は血管腫の悪性化した腫瘍であり、その発生は増加傾向 (Peto 検定、Cochran-Armitage 検定) を示し、Fisher 検定で 10 ppm 群に増加がみられ、10 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、鼻腔の血管腫と血管肉腫の発生増加は雄のマウスに対するがん原性を示す証拠と考えられた。鼻腔の腺腫は線毛を持たない呼吸上皮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、10 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。さらに、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 10 ppm 群にみられた。従って、鼻腔の腺腫の発生増加は雄のマウスに対するがん原性を示す証拠と考えられた。

前胃では扁平上皮乳頭腫がわずかに増加した。扁平上皮乳頭腫は扁平上皮由来の良性腫瘍である。その発生は増加傾向 (Peto 検定、Cochran-Armitage 検定) を示し、10 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、前胃の扁平上皮乳頭腫の発生増加は雄のマウスに対するがん原性を示す証拠と考えられた。

雌でも、鼻腔に血管肉腫と血管腫の発生増加が認められた。また、1 匹ではあるが腺癌もみられた。良性腫瘍である血管腫の発生は増加傾向 (Peto 検定、Cochran-Armitage 検定) を示し、

Fisher 検定で 10 ppm 群に増加がみられ、2.5 ppm 群と 10 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。悪性腫瘍の血管肉腫の発生は増加傾向 (Peto 検定、Cochran-Armitage 検定) を示し、2.5 ppm 群と 10 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。さらに、血管系腫瘍に関連すると思われる血管拡張の発生も 10 ppm 群で増加した。従って、鼻腔の血管腫と血管肉腫の発生増加は雌のマウスに対するがん原性を示す証拠と考えられた。鼻腔の腺癌は鼻腔の線毛を持たない呼吸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稀な腫瘍であった。さらに、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 10 ppm 群にみられた。従って、鼻腔の腺癌の発生も雌のマウスに対するがん原性を示す証拠と考えられた。

肺には細気管支 - 肺胞上皮癌の発生増加が認められた。細気管支 - 肺胞上皮癌は細気管支 - 肺胞上皮由来の悪性腫瘍である。その発生は増加傾向 (Peto 検定、Cochran-Armitage 検定) を示し、Fisher 検定で 10 ppm 群に増加がみられ、10 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、肺腫瘍 (細気管支 - 肺胞上皮癌) の発生増加は雌のマウスに対するがん原性を示す証拠と考えられた。

子宮には組織球性肉腫の発生増加が認められた。組織球性肉腫は組織球由来の悪性腫瘍である。その発生は増加傾向 (Peto 検定、Cochran-Armitage 検定) を示し、10 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、子宮腫瘍 (組織球性肉腫) の発生増加は雌のマウスに対するがん原性を示す証拠と考えられた。

また、解剖時の肉眼的観察では、雌の子宮の結節が 10 ppm 群に多くみられたが、この変化は 10 ppm 群でみられた子宮の組織球性肉腫の発生増加によるものと考えられた。また、卵巣の腫大が 2.5 ppm 群と 10 ppm 群に多くみられたが、雌の 10 ppm 群では子宮腫瘍 (組織球性肉腫) の卵巣転移が多くみられた。

### - 3 その他の影響

血液や尿の検査では、血小板数の低値が雄の 10 ppm 群にみられたのみであった。

臓器重量では雌雄とも被験物質の影響と思われる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と鼻咽頭に影響がみられた。鼻腔では、呼吸上皮の炎症、再生、扁平上皮化生、エオジン好性変化、嗅上皮の呼吸上皮化生、エオジン好性変化、壊死及び固有層の腺の呼吸上皮化生の発生匹数が増加または程度が増強した。これらの影響がみられた濃度は、嗅上皮や腺の呼吸上皮化生は 0.6 ppm 以上、雌の呼吸上皮の再生は 2.5 ppm 以上、その他の病変は 10 ppm であった。

呼吸上皮には傷害を示す変化として炎症が認められ、傷害に伴った変化として、再生、扁平上皮化生の増加が認められた。嗅上皮にも傷害を示す変化として壊死が認められ、傷害に伴った変化として、呼吸上皮化生の増加と程度の増強が認められた。さらに呼吸上皮や嗅上皮の固

有層にみられる腺にも呼吸上皮化生の増加と程度の増強が認められた。呼吸上皮の再生は傷害の修復による変化であり、呼吸上皮分布領域の前方に存在する移行上皮は増殖性病変への進展がみられた。また、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る(文献 12)。嗅上皮や腺の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、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、傷害を受けそれに伴った修復反応と考えられた。さらに、鼻腔の呼吸上皮と嗅上皮のエオジン好性変化も発生匹数の増加が認められた。エオジン好性変化は加齢性変化として高齢マウスでの発生増加が報告されている(文献 9)。今回、対照群の動物と比較して、投与群で呼吸上皮や嗅上皮のエオジン好性変化の発生匹数や程度に増加が認められたことは、加齢性変化をメタクリル酸=2,3-エポキシプロピルの暴露が増強したものと考えられた。

鼻咽頭では、エオジン好性変化の発生匹数の増加が雌では 0.6 ppm 以上から、雄は 10 ppm でみられた。この変化は対照群にもみられることから、鼻腔と同様に加齢性変化と考えられ、メタクリル酸=2,3-エポキシプロピルの暴露により増強され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 週間試験(文献 7)では、雌雄の鼻腔の嗅上皮や呼吸上皮に対する影響が認められた。この 13 週間試験の最高濃度である 20 ppm 群では、呼吸上皮の再生は呼吸上皮分布領域前方に限局してみられ、この病変は傷害の修復による変化であり、軽い肥厚を伴っていた。13 週間試験でみられた呼吸上皮の再生は量 反応関係を伴って最低濃度である 1 ppm 群まで認められた。また、呼吸上皮のエオジン好性変化、嗅上皮の萎縮、再生、呼吸上皮化生及びエオジン好性変化と嗅腺の過形成も量 反応関係を伴って最低濃度である 1 ppm 群まで認められた。今回の 104 週間吸入試験においても、13 週間試験と同様に最低濃度の 0.6 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。

#### - 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

B6D2F1/Crlj マウスを用いて、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、鼻腔の血管腫、血管肉腫、腺腫及び前胃の扁平上皮乳頭腫の発生増加が認められ、これらの腫瘍の発生増加は、雄マウス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、鼻腔の血管腫、血管肉腫、腺癌、肺の細気管支 - 肺胞上皮癌及び子宮の組織球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マウス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.
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。