

1, 1, 1 - トリクロロエタンのラット及びマウスを用いた
吸 入 に よ る が ん 原 性 試 験 報 告 書

試験番号:ラット/0189 ; マウス/0190

CAS No. 71 - 55 - 6

平成 8 年 9 月 28 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

1, 1, 1 - トリクロロエタンのラット及びマウスを用いた
吸 入 に よ る が ん 原 性 試 験 報 告 書

試験番号:ラット/0189 ; マウス/0190

本 文

目 次	頁
要約	1
I 試験材料	2
I - 1 被験物質の性状等	2
I - 1 - 1 名称と別名	2
I - 1 - 2 構造式、示性式、分子量	2
I - 1 - 3 物理化学的性状等	2
I - 2 被験物質の使用ロット等	3
I - 3 被験物質の同一性・安定性	3
I - 3 - 1 同一性	3
I - 3 - 2 安定性	3
I - 4 試験動物	3
II 試験方法	4
II - 1 投与	4
II - 1 - 1 投与経路、投与方法及び投与期間	4
II - 1 - 2 投与濃度	4
II - 1 - 3 被験物質の発生方法と濃度調整	4
II - 1 - 4 被験物質濃度の測定	5
II - 2 動物管理	5
II - 2 - 1 各群の使用動物数	5
II - 2 - 2 群分け及び個体識別方法	5
II - 2 - 3 飼育条件	5
II - 3 観察・検査項目及び方法	6
II - 3 - 1 動物の一般状態の観察	6
II - 3 - 2 体重測定	6
II - 3 - 3 摂餌量測定	6
II - 3 - 4 血液学的検査	6
II - 3 - 5 血液生化学的検査	7
II - 3 - 6 尿検査	7
II - 3 - 7 病理学的検査	7
II - 4 数値処理と統計学的方法	8
II - 4 - 1 数値の取り扱いと表示	8
II - 4 - 2 母数の取り扱い	8
II - 4 - 3 統計方法	9
II - 5 試資料の保管	9

Ⅲ 試験成績	10
Ⅲ-1 ラットを用いた試験 (0189)	10
Ⅲ-1-1 動物の状態観察	10
(1) 生死状況	10
(2) 一般状態	10
(3) 体重	10
(4) 摂餌量	11
Ⅲ-1-2 血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査	11
(1) 血液学的検査	11
(2) 血液生化学的検査	11
(3) 尿検査	11
Ⅲ-1-3 病理学的検査	12
(1) 剖検	12
(2) 臓器重量	12
(3) 病理組織学的検査	12
(4) 死因	14
Ⅲ-2 マウスを用いた試験 (0190)	15
Ⅲ-2-1 動物の状態観察	15
(1) 生死状況	15
(2) 一般状態	15
(3) 体重	15
(4) 摂餌量	16
Ⅲ-2-2 血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査	16
(1) 血液学的検査	16
(2) 血液生化学的検査	16
(3) 尿検査	16
Ⅲ-2-3 病理学的検査	16
(1) 剖検	16
(2) 臓器重量	17
(3) 病理組織学的検査	17
(4) 死因	19
Ⅳ 考察及びまとめ	20
Ⅳ-1 ラット	20
Ⅳ-1-1 生死状況、体重、摂餌量、死因	20
Ⅳ-1-2 腫瘍性病変	20
Ⅳ-1-3 非腫瘍性病変	22
Ⅳ-2 マウス	22
Ⅳ-2-1 生死状況、体重、摂餌量、死因	22
Ⅳ-2-2 腫瘍性病変	22
Ⅳ-2-3 非腫瘍性病変	25

V	結 論	26
VI	文 献	27

TABLES

- TABLE 1 EXPERIMENTAL DESIGN AND MATERIALS AND METHODS
IN THE INHALATION STUDIES OF 1,1,1-TRICHLOROETHANE
- TABLE 2 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE RAT
(TWO-YEAR STUDY)
- TABLE 3 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE RAT
(TWO-YEAR STUDY)
- TABLE 4 INCIDENCE AND TIME OF MASS OCCURRENCE IN CLINICAL OBSERVATION
:RAT:MALE
- TABLE 5 INCIDENCE AND TIME OF MASS OCCURRENCE IN CLINICAL OBSERVATION
:RAT:FEMALE
- TABLE 6 FOOD CONSUMPTION IN MALE RAT(TWO-YEAR STUDY)
- TABLE 7 FOOD CONSUMPTION IN FEMALE RAT(TWO-YEAR STUDY)
- TABLE 8 CAUSE OF DEATH:RAT
- TABLE 9 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE MOUSE
(TWO-YEAR STUDY)
- TABLE 10 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE MOUSE
(TWO-YEAR STUDY)
- TABLE 11 INCIDENCE AND TIME OF MASS OCCURRENCE IN CLINICAL OBSERVATION
:MOUSE:MALE
- TABLE 12 INCIDENCE AND TIME OF MASS OCCURRENCE IN CLINICAL OBSERVATION
:MOUSE:FEMALE
- TABLE 13 FOOD CONSUMPTION IN MALE MOUSE(TWO-YEAR STUDY)
- TABLE 14 FOOD CONSUMPTION IN FEMALE MOUSE(TWO-YEAR STUDY)
- TABLE 15 CAUSE OF DEATH:MOUSE

FIGURES

FIGURE 1 1,1,1-TRICHLOROETHANE VAPOR GENERATION SYSTEM AND INHALATION SYSTEM

FIGURE 2 SURVIVAL ANIMAL RATE:RAT:MALE(TWO-YEAR STUDY)

FIGURE 3 SURVIVAL ANIMAL RATE:RAT:FEMALE(TWO-YEAR STUDY)

FIGURE 4 BODY WEIGHT CHANGES:RAT:MALE(TWO-YEAR STUDY)

FIGURE 5 BODY WEIGHT CHANGES:RAT:FEMALE(TWO-YEAR STUDY)

FIGURE 6 FOOD CONSUMPTION:RAT:MALE(TWO-YEAR STUDY)

FIGURE 7 FOOD CONSUMPTION:RAT:FEMALE(TWO-YEAR STUDY)

FIGURE 8 SURVIVAL ANIMAL RATE:MOUSE:MALE(TWO-YEAR STUDY)

FIGURE 9 SURVIVAL ANIMAL RATE:MOUSE:FEMALE(TWO-YEAR STUDY)

FIGURE 10 BODY WEIGHT CHANGES:MOUSE:MALE(TWO-YEAR STUDY)

FIGURE 11 BODY WEIGHT CHANGES:MOUSE:FEMALE(TWO-YEAR STUDY)

FIGURE 12 FOOD CONSUMPTION:MOUSE:MALE(TWO-YEAR STUDY)

FIGURE 13 FOOD CONSUMPTION:MOUSE:FEMALE(TWO-YEAR STUDY)

PHOTOGRAPHS

PHOTOGRAPH 1 PERITONIUM, MESOTHELIOMA
RAT, MALE, 3200ppm, ANIMAL NO.0189-1309(H&E, X32)

PHOTOGRAPH 2 LUNG, BLONCHIOLAR-ALVEOLAR ADENOMA(A)
RAT, MALE, 3200ppm, ANIMAL NO.0189-1311(H&E, X32)

PHOTOGRAPH 3 LIVER, HEPATOCELLULAR ADENOMA(A)
MOUSE, FEMALE, 3200ppm, ANIMAL NO.0190-2326(H&E, X32)

PHOTOGRAPH 4 HARDERIAN GLAND, ADENOMA
MOUSE, MALE, 3200ppm, ANIMAL NO.0190-1346(H&E, X16)

PHOTOGRAPH 5 SPLEEN, MALIGNANT LYMPHOMA
MOUSE, MALE, 3200ppm, ANIMAL NO.0190-1330(H&E, X160)

PHOTOGRAPH 6 LUNG, BLONCHIOLAR-ALVEOLAR CARCINOMA
MOUSE, MALE, 3200ppm, ANIMAL NO.0190-1327(H&E, X32)

PHOTOGRAPH 7 LUNG, BLONCHIOLAR-ALVEOLAR ADENOMA(A)
MOUSE, FEMALE, 3200ppm, ANIMAL NO.0190-2341(H&E, X32)

A P P E N D I X E S

- APPENDIX A 1 CLINICAL OBSERVATION (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE
- APPENDIX A 2 CLINICAL OBSERVATION (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE
- APPENDIX A 3 CLINICAL OBSERVATION (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE
- APPENDIX A 4 CLINICAL OBSERVATION (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE
- APPENDIX B 1 BODY WEIGHT CHANGES (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE
- APPENDIX B 2 BODY WEIGHT CHANGES (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE
- APPENDIX B 3 BODY WEIGHT CHANGES (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE
- APPENDIX B 4 BODY WEIGHT CHANGES (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE
- APPENDIX C 1 FOOD CONSUMPTION CHANGES (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE
- APPENDIX C 2 FOOD CONSUMPTION CHANGES (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE
- APPENDIX C 3 FOOD CONSUMPTION CHANGES (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE
- APPENDIX C 4 FOOD CONSUMPTION CHANGES (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE
- APPENDIX D 1 HEMATOLOGY (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE
- APPENDIX D 2 HEMATOLOGY (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE
- APPENDIX D 3 HEMATOLOGY (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE
- APPENDIX D 4 HEMATOLOGY (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE

A P P E N D I X E S (CONTINUED)

- APPENDIX E 1 BIOCHEMISTRY (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE
- APPENDIX E 2 BIOCHEMISTRY (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE
- APPENDIX E 3 BIOCHEMISTRY (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE
- APPENDIX E 4 BIOCHEMISTRY (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE
- APPENDIX F 1 URINALYSIS (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE
- APPENDIX F 2 URINALYSIS (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE
- APPENDIX F 3 URINALYSIS (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE
- APPENDIX F 4 URINALYSIS (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE
- APPENDIX G 1 GROSS FINDINGS (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS
- APPENDIX G 2 GROSS FINDINGS (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS
- APPENDIX G 3 GROSS FINDINGS (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX G 4 GROSS FINDINGS (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX G 5 GROSS FINDINGS (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS
- APPENDIX G 6 GROSS FINDINGS (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS
- APPENDIX G 7 GROSS FINDINGS (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX G 8 GROSS FINDINGS (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS

APPENDIXES (CONTINUED)

- APPENDIX H 1 ORGAN WEIGHT (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY),ABSOLUTE
RAT:MALE
- APPENDIX H 2 ORGAN WEIGHT (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY),ABSOLUTE
RAT:FEMALE
- APPENDIX H 3 ORGAN WEIGHT (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY),ABSOLUTE
MOUSE:MALE
- APPENDIX H 4 ORGAN WEIGHT (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY),ABSOLUTE
MOUSE:FEMALE
- APPENDIX I 1 ORGAN WEIGHT (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY),RELATIVE
RAT:MALE
- APPENDIX I 2 ORGAN WEIGHT (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY),RELATIVE
RAT:FEMALE
- APPENDIX I 3 ORGAN WEIGHT (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY),RELATIVE
MOUSE:MALE
- APPENDIX I 4 ORGAN WEIGHT (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY),RELATIVE
MOUSE:FEMALE
- APPENDIX J 1 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS
- APPENDIX J 2 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS
- APPENDIX J 3 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX J 4 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX J 5 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS
- APPENDIX J 6 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS
- APPENDIX J 7 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX J 8 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS

APPENDIXES (CONTINUED)

- APPENDIX K 1 NUMBER OF ANIMALS WITH TUMORS AND NUMBER OF TUMORS-TIME RELATED
RAT:MALE
- APPENDIX K 2 NUMBER OF ANIMALS WITH TUMORS AND NUMBER OF TUMORS-TIME RELATED
RAT:FEMALE
- APPENDIX K 3 NUMBER OF ANIMALS WITH TUMORS AND NUMBER OF TUMORS-TIME RELATED
MOUSE:MALE
- APPENDIX K 4 NUMBER OF ANIMALS WITH TUMORS AND NUMBER OF TUMORS-TIME RELATED
MOUSE:FEMALE
- APPENDIX L 1 HISTOLOGICAL FINDINGS:NEOPLASTIC LESIONS (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE
- APPENDIX L 2 HISTOLOGICAL FINDINGS:NEOPLASTIC LESIONS (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE
- APPENDIX L 3 HISTOLOGICAL FINDINGS:NEOPLASTIC LESIONS (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE
- APPENDIX L 4 HISTOLOGICAL FINDINGS:NEOPLASTIC LESIONS (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE
- APPENDIX M 1 NEOPLASTIC LESIONS-INCIDENCE AND STATISTICAL ANALYSIS
RAT:MALE
- APPENDIX M 2 NEOPLASTIC LESIONS-INCIDENCE AND STATISTICAL ANALYSIS
RAT:FEMALE
- APPENDIX M 3 NEOPLASTIC LESIONS-INCIDENCE AND STATISTICAL ANALYSIS
MOUSE:MALE
- APPENDIX M 4 NEOPLASTIC LESIONS-INCIDENCE AND STATISTICAL ANALYSIS
MOUSE:FEMALE
- APPENDIX N 1 HISTOLOGICAL FINDINGS:METASTASIS OF TUMOR (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS
- APPENDIX N 2 HISTOLOGICAL FINDINGS:METASTASIS OF TUMOR (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS
- APPENDIX N 3 HISTOLOGICAL FINDINGS:METASTASIS OF TUMOR (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX N 4 HISTOLOGICAL FINDINGS:METASTASIS OF TUMOR (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS

A P P E N D I X E S (CONTINUED)

APPENDIX N 5 HISTOLOGICAL FINDINGS:METASTASIS OF TUMOR (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS

APPENDIX N 6 HISTOLOGICAL FINDINGS:METASTASIS OF TUMOR (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS

APPENDIX N 7 HISTOLOGICAL FINDINGS:METASTASIS OF TUMOR (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE:SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX N 8 HISTOLOGICAL FINDINGS:METASTASIS OF TUMOR (TWO-YEAR STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX O 1 IDENTITY OF 1,1,1-TRICHLOROETHANE (TWO-YEAR STUDIES)

APPENDIX O 2 STABILITY OF 1,1,1-TRICHLOROETHANE (TWO-YEAR STUDIES)

APPENDIX P 1 CONCENTRATION OF 1,1,1-TRICHLOROETHANE IN INHALATION CHAMBER
(TWO-YEAR STUDIES)

APPENDIX P 2 ENVIRONMENT OF INHALATION CHAMBER
(TWO-YEAR STUDIES)

APPENDIX Q 1 METHODS FOR HEMATOLOGY,BIOCHEMISTRY AND URINALYSIS

APPENDIX Q 2 UNITS AND DECIMAL PLACE FOR HEMATOLOGY AND BIOCHEMISTRY

要約

1,1,1-トリクロロエタンのがん原性を検索する目的でラットと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。

試験にはF344/DuCrj(Fischer)ラットとCrj:BDF₁マウスを用い、それぞれ被験物質投与群3群と対照群1群の計4群の構成で各群雌雄各50匹(合計ラット400匹、マウス400匹)を使用した。投与は1,1,1-トリクロロエタン(1,4-ジオキサン:3.34~3.50%を含む)を1日6時間、1週5日間で、動物に全身暴露することにより行った。投与濃度はラット、マウスの雌雄ともに200 ppm、800ppm、3200ppmとした。また、観察、検査項目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、剖検、臓器重量測定及び病理組織学的検査を行った。

投与の結果、ラットでは雄の腹膜の中皮腫の発生増加が認められた。また、投与濃度に対応はしていないものの、雄の細気管支-肺胞上皮腺腫の発生増加がみられ、被験物質の投与による影響が疑われた。雄の3200ppm群では前述の腹膜の中皮腫の発生増加に伴い生存率がやや低下した。非腫瘍性病変としては、雌雄の鼻腔の嗅上皮のエオジン好性変化(全投与群)、雄の副腎の皮質細胞増生(3200ppm群)の発生が増加し、雄の肝臓の胆管増生(3200ppm群)、雌の乳腺嚢胞(3200ppm)の発生が減少した。

マウスでは、雄のハーダー腺の腺腫と脾臓由来の悪性リンパ腫及び細気管支-肺胞上皮癌、雌の肝細胞腺腫と細気管支-肺胞上皮腺腫の発生増加が認められた。雄の投与群ではこの脾臓由来の悪性リンパ腫により生存率がやや低下した。

以上のように、F344/DuCrj(Fischer)ラットでは雄の腹膜の中皮腫、Crj:BDF₁マウスでは雄のハーダー腺の腺腫と脾臓由来の悪性リンパ腫及び細気管支-肺胞上皮癌、雌の肝細胞腺腫と細気管支-肺胞上皮腺腫の発生増加が認められ、1,1,1-トリクロロエタン(1,4-ジオキサン:3.34~3.50%を含む)のがん原性が証明された。

I 試験材料

I - 1 被験物質の性状等

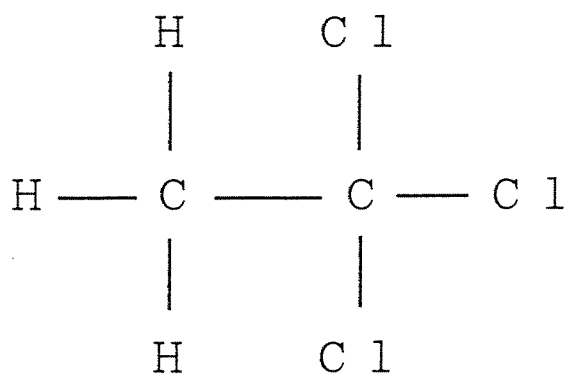
I - 1 - 1 名称と別名

名 称 : 1,1,1-トリクロロエタン(1,1,1-Trichloroethane)

別 名 : メチルクロロホルム(Methyl chloroform)

CAS.No. : 71-55-6

I - 1 - 2 構造式、示性式、分子量



CH_3CCl_3 (分子量 : 133.42)

I - 1 - 3 物理化学的性状等

性 状 : 無色透明、揮発性液体、特有の甘い臭気

沸 点 : 74.0℃

融 点 : -34.6℃

比 重 : 1.349(20/4℃)

蒸 気 圧 : 100mmHg(20℃)

溶 解 性 : 水には少量(0.55g/100g, 20℃)可溶、通常の有機溶剤及び塩素化溶剤に可溶

保存条件 : 室温で気密容器に保存

I - 2 被験物質の使用ロット等

使用ロット番号：DSQ 3398 (1991年11月21日～1991年12月21日)

DSN 4909 (1991年12月21日～1992年 3月12日)

DSE 3320 (1992年 3月12日～1992年 9月 8日)

TWL 7670 (1992年 9月 8日～1993年 3月19日)

TWE 4858 (1993年 3月19日～1993年 9月13日)

APK 2260 (1993年 9月13日～1993年12月 9日)

製 造 元：和光純薬工業株式会社

グ レ ー ド：特級

純 度：95.0%以上

安 定 剤：1,4-ジオキサン (3.34～3.50%)

I - 3 被験物質の同一性・安定性

I - 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及び赤外吸収スペクトルを測定し、マススペクトルによる分子量は計算値、赤外吸収スペクトルは文献値(文献 1)と比較することにより確認した。なお、それらの結果について、APPENDIX 0 1に示した。

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、赤外吸収スペクトル測定及びガスクロマトグラフ分析を実施し、それぞれのデータを比較することにより確認した。なお、それらの結果については、APPENDIX 0 2に示した。

I - 4 試験動物

動物は、日本チャールス・リバー(株)のF344/DuCrj(Fischer)ラット(SPF)及びCrj:BDF₁マウス(SPF)の雌雄を使用した。

ラット、マウスとも雌雄各248匹を生後4週齢で導入し、各1週間の検疫、馴化を経た後、発育順調で一般状態の観察所見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(投与開始時体重範囲、ラット雄：124～144g、雌：95～112g/マウス雄：20.2～25.4g、雌：15.9～20.4g)選別し、試験に供した。

II 試験方法

試験計画、材料及び方法等の概要を TABLE 1 に示した。

II - 1 投与

II - 1 - 1 投与経路、投与方法及び投与期間

投与経路は全身暴露による経気道投与とした。すなわち吸入チャンバー内に設定濃度に調整した1,1,1-トリクロロエタンを送り込み、試験動物に全身暴露する事により投与した。投与期間は104週間とし、1日6時間、1週5日間（祝祭日を除く）、暴露を行った。なお、対照群の動物には新鮮空気のみを暴露した。

投与期間中の総暴露回数は以下の通りである。

ラット(試験番号:0189):104週間/488回

マウス(試験番号:0190):104週間/487回

II - 1 - 2 投与濃度

投与濃度はラット、マウスの雌雄とも200ppm、800ppm、3200ppmと設定した。

II - 1 - 3 被験物質の発生方法と濃度調整

発生方法は FIGURE 1 に示す通り、発生容器内の1,1,1-トリクロロエタンを循環式恒温槽で加熱しながら、清浄空気のパブリングにより蒸発させた。この1,1,1-トリクロロエタン蒸気を循環式恒温槽で冷却、再加熱し、新鮮空気と混合して一定濃度に調整した後、流量計を用いて一定量を各吸入チャンバーのラインミキサーに供給した。次に、各吸入チャンバー内の1,1,1-トリクロロエタン濃度をガスクロマトグラフにより監視しながら、設定値になるように吸入チャンバーへの供給流量を調節した。

II - 1 - 4 被験物質濃度の測定

吸入チャンバー内の1,1,1-トリクロロエタンの濃度は自動サンプリング装置付ガスクロマトグラフを用い、暴露開始前から暴露終了後まで15分毎に測定した。APPENDIX P 1 に測定結果を示した。

各試験とも投与濃度の平均値は設定濃度を満足する結果を示した。なお、各投与群における被験物質濃度の測定結果(平均値±標準偏差)は、ラットでは200ppm群:200.4±4.1ppm、800ppm群:796.6±8.8ppm、3200ppm群:3181.1±34.1ppmであり、マウスでは200ppm群:200.6±3.3ppm、800ppm群:800.6±8.7ppm、3200ppm群:3204.3±24.0ppmであった。

II - 2 動物管理

II - 2 - 1 各群の使用動物数

ラット及びマウスとも投与群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。

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、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 2)。

試験期間中の動物の個体識別は、検疫期間及び馴化期間においては色素塗布し、またケージにも個体識別番号を付けた。投与期間においては耳パンチにより識別し、またケージにも個体識別番号を付した。

なお、ラットとマウスはバリア区域内の独立した室にそれぞれ収容し、各室に試験番号、動物種及び動物番号を表示し、他の試験及び異種動物と区別した。

II - 2 - 3 飼育条件

馴化期間及び投与期間中は、動物を吸入チャンバー内で飼育した。吸入チャンバー内の環境条件を TABLE 1 に、その計測結果を APPENDIX P 2 にそれぞれ示した。また、検疫室(検疫期間)及び吸入チャンバー室(馴化期間及び投与期間)の室内環境条件は、温度 $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55\pm 10\%$ 、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15~17

回/時であった。

また、検疫期間中は1ケージ当たり5匹の群飼(ステンレス製網ケージ、ラット:340W×294D×176H mm、マウス:224W×212D×120H mm)、馴化期間中は1ケージ当たり1匹の単飼(ステンレス製六連ケージ、ラット:125W×216D×176H mm、マウス:95W×116D×120H mm)、投与期間中は1ケージ当たり1匹の単飼(ステンレス製五連ケージ、ラット:150W×216D×176H mm、マウス:100W×116D×120H mm)で飼育した。なお、ケージは2週間毎に交換した。

飼料はオリエンタル酵母工業(株)のCRF-1固型飼料(3Mrad=30KGy-γ線照射滅菌飼料)を全飼育期間を通して固型飼料給餌器により自由摂取させた。

飲水は全飼育期間を通して市水(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、飼料の栄養成分についてはオリエンタル酵母工業(株)の自社分析データを、夾雑物については(財)日本食品分析センターの分析データを使用ロットごとに入手し、また飲水については(財)食品薬品安全センターの分析データを3ヶ月に1回入手し、それぞれ異常のないことを確認した。

II-3 観察・検査項目及び方法

II-3-1 動物の一般状態の観察

毎日1回、動物の一般状態の観察を行った。

II-3-2 体重測定

投与開始後14週までは週1回、それ以降は4週に1回、体重を測定した。

なお、動物の死亡発見時及び切迫屠殺時にも体重を測定した。

II-3-3 摂餌量測定

投与開始後14週までは週1回、それ以降は4週に1回、摂餌量を個体別に測定した。

II-3-4 血液学的検査

定期解剖時まで生存した動物について、剖検直前にエーテル麻酔下で腹大動脈よりEDTA-2K入り採血管に採血した血液を用いて血液学的検査を行った。なお、検査対象動物は解剖日前日より絶食(18時間以上)させた。

検査項目は TABLE 1、検査方法は APPENDIX Q 1 に示した。

II - 3 - 5 血液生化学的検査

定期解剖時まで生存した動物について、剖検直前にエーテル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血液生化学的検査を行った。なお、検査対象動物は解剖日前日より絶食(18時間以上)させた。

検査項目は TABLE 1、検査方法は APPENDIX Q 1 に示した。

II - 3 - 6 尿検査

投与最終週まで生存した動物について、新鮮尿を採取し尿検査を行った。

検査項目は TABLE 1、検査方法は APPENDIX Q 1 に示した。

II - 3 - 7 病理学的検査

(1) 剖検

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 TABLE 1 に示した臓器の実重量を測定した。また、実重量の体重比、すなわち定期解剖時の体重に対する百分率を算出した。

(3) 病理組織学的検査

全動物の臓器を10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液にて固定後、TABLE 1 に示した臓器及び肉眼的に変化がみられた組織を、パラフィン包埋、薄切、ヘマトキシリン・エオジン染色し、光学顕微鏡にて病理組織学的に検査した。

II - 4 数値処理と統計学的方法

II - 4 - 1 数値の取り扱いと表示

体重についてはgを単位とし、ラットでは小数点以下第1位を四捨五入して整数値で、マウスでは小数点以下第2位を四捨五入して小数点以下第1位までを表示した。

摂餌量についてはgを単位とし、計測期間を通しての摂餌量を小数点以下第1位まで計測し、この値を計測期間の日数で除し、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。

臓器実重量についてはgを単位とし、小数点以下第3位まで計測し、表示した。臓器重量体重比については臓器実重量値を解剖時体重で除し、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、血液生化学的検査については APPENDIX Q 2 に示した精度により表示した。A/G比はアルブミン/(総蛋白-アルブミン)による計算で求め、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。

なお、各数値データにおいて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 母数の取り扱い

体重及び摂餌量については、各計測時に生存している全動物を対象に計測し、欠測となったデータについては母数より除いた。

臓器重量、血液学的検査、血液生化学的検査は、定期解剖時まで生存した動物を対象とし、欠測となったデータについては母数より除いた。

尿検査は、投与最終週まで生存した動物を対象に行い、検査数を母数とした。

剖検と病理組織学的検査データは、各群の有効動物数(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)を母数とした。ただし、腫瘍性病変については臓器別に、検査不能臓器をもつ動物数を除いたものを母数とした。

II - 4 - 3 統計方法

病理組織学的検査及び尿検査以外の本試験で得られた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。予備検定については5%の有意水準で両側検定を行い、最終検定では5%及び1%で両側検定を行った。

尿検査については χ^2 検定を行った。

また、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として 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、各群ごとの総担癌臓器数について、Peto検定(文献3)、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。

χ^2 検定とFisher検定は対照群と各投与群間の検定を行った。

各群雌雄ごとに検査数が2以下の項目については検定より除外した。

(注) Peto検定に用いるコンテックス

- 0 : 定期解剖例にみつかった腫瘍
- 1 : 死亡/瀕死例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だと思うが、確かでない腫瘍
- 3 : 多分4だと思うが、確かでない腫瘍
- 4 : 死亡/瀕死例にみつかった腫瘍で、直接死因に係わっていた腫瘍

II - 5 試資料の保管

試験計画書、標本、生データ、記録文書、最終報告書、信頼性保証証明書、被験物質、その他本試験に係る資料は日本バイオアッセイ研究センターの標準操作手順書にしたがって、試資料保管施設に保管する。保管期間は最終報告書提出後10年間とする。

Ⅲ 試験成績

Ⅲ－１ ラットを用いた試験

Ⅲ－１－１ 動物の状態観察

(１) 生死状況

投与期間中における群別の生存状況を TABLE 2,3 及び FIGURE 2,3 に示した。

最終計測週(104週)における生存数(生存率)は、雄の3200ppm群が対照群に比べやや低値であった。各群の生存数(生存率)は、雄の対照群:34/50例(68%)、200ppm群:36/50例(72%)、800ppm群:36/50例(72%)、3200ppm群:28/50例(56%)、雌の対照群:38/50例(76%)、200ppm群:38/50例(76%)、800ppm群:42/50例(84%)、3200ppm群:38/50例(76%)であった。

(２) 一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX A 1,2 に、内部腫瘍、外部腫瘍の発生動物数を TABLE 4,5 に示した。

一般状態の観察では、被験物質の投与によると思われる特徴的な所見は認められなかった。

また、全動物(死亡及び生存動物)における各投与群の内部腫瘍及び外部腫瘍の発生状況は、雌雄ともに対照群と比較して大きな変化はみられなかった。

(３) 体重

投与期間中における群別の体重推移を TABLE 2,3、FIGURE 4,5 及び APPENDIX B 1,2 に示した。

雄の3200ppm群は投与期間を通じて対照群に比較して低値を示し、体重増加に軽度な抑制が認められた。

雌では、200ppm群は投与期間前期(3～14週)に対照群に比較して低値であったが、その後は対照群と同様に推移した。3200ppm群は投与期間を通じて対照群に比較して低値を示し、体重増加に軽度な抑制が認められた。

(4) 摂餌量

投与期間中における群別の摂餌量(1日1匹当たりの摂餌量)を TABLE 6,7、FIGURE 6,7 及び APPENDIX C 1,2 に示した。

雄の800ppm群では投与開始週より66週まで散発的に摂餌量の低値がみられ、また3200ppm群では投与開始週より18週までは連続して、19週以降66週まではしばしば摂餌量が低値を示したが、その後は両群とも対照群と同様な値であった。

雌では、200ppm群で5週まで、800ppm群で10週まで、3200ppm群では12週まで、それぞれ投与開始週より連続して摂餌量の低値がみられたが、その後は各群とも対照群と同様な値であった。

Ⅲ - 1 - 2 血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査

(1) 血液学的検査

定期解剖時に行った血液学的検査の結果を APPENDIX D 1,2 に示した。

雌の3200ppm群でM C Vの減少が認められた。

(2) 血液生化学的検査

定期解剖時に行った血液生化学的検査の結果を APPENDIX E 1,2 に示した。

雌の3200ppm群でG O T活性の増加とL D H活性の減少が認められた。

その他、雄の800ppm群でカリウムの有意な減少がみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

(3) 尿検査

投与期間最終週に行った尿検査の結果を APPENDIX F 1,2 に示した。

雌雄とも特記すべき変化は認められなかった。

Ⅲ－１－３ 病理学的検査

(１) 剖検

解剖時に観察された剖検所見をAPPENDIX G 1～4に示した。

雄の3200ppm群で腹膜の結節（対照群：1/50例，200ppm群：1/50例，800ppm群：1/50例，3200ppm群：15/50例）と腹水の貯留（対照群：2/50例，200ppm群：2/50例，800ppm群：0/50例，3200ppm群：14/50例）が対照群に比較して多く観察された。これらの変化は、後述する腹膜の中皮腫の発生増加によるものであった。

(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APPENDIX H 1, 2、I 1, 2に示した。

解剖時体重の低値に伴って、雌の3200ppm群で脳の実重量の低値と体重比の高値及び肺と腎臓の体重比の高値が認められた。

(３) 病理組織学的検査

非腫瘍性病変の結果をAPPENDIX J 1～4に示した。腫瘍性病変の結果はAPPENDIX K 1, 2に担腫瘍動物数と腫瘍数、APPENDIX L 1, 2に腫瘍の種類別の発生数、APPENDIX M 1, 2に統計解析（Peto検定、Cochran-Armitage検定、Fisher検定）、APPENDIX N 1～4に転移性病変について示した。

－主な腫瘍性病変－

<腹膜>

雄の中皮腫の発生（対照群：1/50例，200ppm群：2/50例，800ppm群：1/50例，3200ppm群：16/50例）が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検定でも3200ppm群に対照群と比べて発生増加が認められた。

<肺>

雄の細気管支－肺胞上皮腺腫の発生（対照群：0/50例，200ppm群：1/50例，800ppm群：7/50例，3200ppm群：4/50例）がPeto検定（有病率法）で増加傾向を示し、Fisher検定でも800ppm群に対照群と比べて発生増加が認められた。

<下垂体>

雄の腺腫の発生（対照群：22/50例，200ppm群：9/50例，800ppm群：13/50例，3200ppm群：5/50例）がCochran-Armitage検定で減少傾向を示し、Fisher検定で200ppm群と3200ppm群に発生低下が認められた。

－その他の腫瘍性病変－

下記の腫瘍の発生は統計学的に増加または減少傾向、あるいは対照群と投与群の間に有意差が示されたが、被験物質の投与による影響とは考えられなかった。

雄の皮下組織の線維腫の発生（対照群：1/50例，200ppm群：1/50例，800ppm群：5/50例，3200ppm群：5/50例）はPeto検定（有病率法）で増加傾向を示した。しかし、この腫瘍の発生率は、ヒストリカルコントロールデータ（文献4）の範囲内（平均：7.8%，試験単位での発生率：2～14%）であり、被験物質の投与による影響とは考えられなかった。

雄の甲状腺のC－細胞腺腫（対照群：8/50例，200ppm群：9/50例，800ppm群：12/50例，3200ppm群：3/50例）とC－細胞癌（対照群：1/50例，200ppm群：1/50例，800ppm群：0/50例，3200ppm群：0/50例）を合わせた発生はCochran-Armitage検定で減少傾向を示したが、これらの腫瘍の発生率は各投与群ともヒストリカルコントロールデータの範囲内（C－細胞腺腫；平均：10.9%，試験単位での発生率：4～26%，C－細胞癌；平均：1.6%，試験単位での発生率：0～4%）であり被験物質の投与による影響とは考えられなかった。また、濾胞状腺腫（対照群：1/50例，200ppm群：2/50例，800ppm群：0/50例，3200ppm群：2/50例）と濾胞状腺癌（対照群：0/50例，200ppm群：0/50例，800ppm群：1/50例，3200ppm群：2/50例）を合わせた発生はPeto検定（有病率法，死亡率法＋有病率法）で増加傾向を示したが、これらの腫瘍の発生率は各投与群ともヒストリカルコントロールデータの範囲内（濾胞状腺腫；平均：0.9%，試験単位での発生率：0～4%，濾胞状腺癌；平均：1.8%，試験単位での発生率：0～6%）であり、被験物質の投与による影響とは考えられなかった。

雌の乳腺の線維腺腫の発生（対照群：2/50例，200ppm群：7/50例，800ppm群：4/50例，3200ppm群：9/50例）は、Fisher検定で3200ppm群に対照群と比較して発生の増加を認めたが、この腫瘍の発生率はヒストリカルコントロールデータの範囲内（平均：8.7%，試験単位での発生率：0～20%）であり、被験物質の投与による影響とは考えられなかった。

－ 非腫瘍性病変 －

主な非腫瘍性病変を以下に示す。

< 鼻腔 >

雌雄の全投与群（200ppm, 800ppm, 3200ppm）の定期解剖例で嗅上皮のエオジン好性変化の発生増加が認められた。

< 肝臓 >

雄の3200ppm群の定期解剖例で胆管増生の発生減少が認められた。

< 副腎 >

雄の3200ppm群の定期解剖例で皮質細胞増生の発生増加が認められた。

< 乳腺 >

雌の3200ppm群の定期解剖例で乳腺嚢胞の発生減少が認められた。

上記以外の非腫瘍性病変で、対照群と比較して投与群で統計学的に有意な発生増加あるいは減少を示したものは、死亡／瀕死例では雄の3200ppm群の鼻腔の嗅上皮のエオジン好性変化の発生減少、雌の3200ppm群の前胃潰瘍の発生減少、定期解剖例では雄の800ppm群の脾臓の髓外造血の発生増加、肝臓の好塩基性小増殖巣の発生増加、雌の800ppm群の下垂体の嚢胞の発生増加であった。しかし、これらの所見は死亡／瀕死例のみにみられた変化、あるいは投与濃度に対応したものではなかったことから、被験物質の投与による影響とは考えられなかった。また、雌の3200ppm群の定期解剖例の肉芽形成の発生が統計学的に対照群との間で有意差を示したが、その発生数は増加したものの程度は弱くなり、生物学的に意味がある変化ではなかった。

（４）死因

病理学的にみた死亡／瀕死の原因を TABLE 8 に示した。

雄では腹膜の中皮腫による死亡が3200ppm群で増加した。

雌では各投与群と対照群の間に顕著な差を認めなかった。

Ⅲ－２ マウスを用いた試験

Ⅲ－２－１ 動物の状態観察

(１) 生死状況

投与期間中における群別の生存状況を TABLE 9,10 及び FIGURE 8,9 に示した。

最終計測週(104週)における生存数(生存率)は、雄の各投与群が対照群に比較してやや低値であったが、投与群間では差はみられなかった。各群の生存数(生存率)は、雄の対照群:40/50例(80%)、200ppm群:34/50例(68%)、800ppm群:34/50例(68%)、3200ppm群:31/50例(62%)、雌の対照群:29/50例(58%)、200ppm群:28/48例(58%)、800ppm群:29/50例(58%)、3200ppm群:29/49例(59%)であった。

なお、雌の200ppm群で2例、3200ppm群で1例が事故死亡した。

(２) 一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX A 3,4 に、内部腫瘍、外部腫瘍の発生動物数を TABLE 11,12 に示した。

一般状態の観察では、被験物質の投与によると思われる特徴的な所見は認められなかった。

また、全動物(死亡及び生存動物)における各投与群の内部腫瘍及び外部腫瘍の発生状況は、雌雄ともに対照群と比較して大きな変化はみられなかった。

(３) 体重

投与期間中における群別の体重推移を TABLE 9,10、FIGURE 10,11 及び APPENDIX B 3,4 に示した。

雄では200ppm群は投与期間前期(7～14週)に対照群に比較して低値であったが、その後は対照群と同様に推移した。一方、3200ppm群は投与期間前期(9～12週)及び投与期間後期(90～104週)に対照群に比較して低値であった。

雌では、各投与群と対照群の体重値は同様に推移した。

(4) 摂餌量

投与期間中における群別の摂餌量(1日1匹当たりの摂餌量)を TABLE 13, 14、FIGURE 12,13 及び APPENDIX C 3,4 に示した。

雄の投与群ではほぼ投与期間を通じて、雌の投与群では66週までに、それぞれ対照群に比較して摂餌量の低値がしばしばみられた。

Ⅲ－2－2 血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査

(1) 血液学的検査

定期解剖時に行った血液学的検査の結果を APPENDIX D 3,4 に示した。
雌雄とも特記すべき変化は認められなかった。

(2) 血液生化学的検査

定期解剖時に行った血液生化学的検査の結果を APPENDIX E 3,4 に示した。

雌の800ppm群で総蛋白及びアルブミンの増加がみられたが、投与濃度に対応したものではなかった。

(3) 尿検査

投与期間最終週に行った尿検査の結果を APPENDIX F 3,4 に示した。
雄の3200ppm群でケトン体の増加が認められた。

Ⅲ－2－3 病理学的検査

(1) 剖検

解剖時に観察された剖検所見をAPPENDIX G 5～8に示した。

雌の3200ppm群で肝臓の結節(対照群:9/50例, 200ppm群:16/48例, 800ppm群:15/50例, 3200ppm群:26/49例)が対照群に比較して多く観察された。この結節の増加は後述する肝臓腫瘍の発生増加によるものであった。

(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APPENDIX H 3, 4、I 3, 4に示した。

雌雄ともに各臓器に特記すべき変化は認められなかった。

(3) 病理組織学的検査

非腫瘍性病変の結果をAPPENDIX J 5～8に示した。腫瘍性病変の結果はAPPENDIX K 3, 4に担腫瘍動物数と腫瘍数、APPENDIX L 3, 4に腫瘍の種類別の発生数、APPENDIX M 3, 4に統計解析(Peto検定、Cochran-Armitage検定、Fisher検定)、APPENDIX N 5～8に転移性病変について示した。

－ 主な腫瘍性病変 －

< 肝臓 >

雌の肝細胞腺腫の発生(対照群: 2/50例, 200ppm群: 9/48例, 800ppm群: 14/50例, 3200ppm群: 19/49例)がPeto検定(有病率法)とCochran-Armitage検定で増加傾向を示し、Fisher検定では200ppm、800ppm及び3200ppm群に発生の増加を認めた。また肝細胞腺腫と肝細胞癌を合わせた発生(対照群: 4/50例, 200ppm群: 10/48例, 800ppm群: 16/50例, 3200ppm群: 20/49例)もPeto検定(有病率法)とCochran-Armitage検定で増加傾向を示し、Fisher検定では800ppmと3200ppm群に発生の増加を認めた。

また、雄の肝細胞腺腫の発生(対照群: 10/50例, 200ppm群: 8/50例, 800ppm群: 12/50例, 3200ppm群: 15/50例)はPeto検定(有病率法)で増加傾向を示した。しかし、肝細胞腺腫と肝細胞癌を合わせた発生(対照群: 23/50例, 200ppm群: 19/50例, 800ppm群: 21/50例, 3200ppm群: 26/50例)では、増加傾向を認めなかった。

< ハーダー腺 >

雄の腺腫の発生(対照群: 1/50例, 200ppm群: 4/50例, 800ppm群: 4/50例, 3200ppm群: 8/50例)がPeto検定(有病率法)とCochran-Armitage検定で増加傾向を示し、Fisher検定で3200ppm群に発生の増加を認めた。

< 悪性リンパ腫 >

雄の全臓器を合わせた悪性リンパ腫の発生(対照群: 4/50例, 200ppm群: 8/50例, 800ppm群: 14/50例, 3200ppm群: 13/50例)がPeto検定(死亡率法, 死亡率法+有病率法)で増加傾向を示し、Fisher検定でも800ppm群と3200ppm群に発生の増加を認めた。

原発臓器別では、脾臓原発の悪性リンパ腫の発生(対照群: 3/50例,

200ppm群：4/50例，800ppm群：3/50例，3200ppm群：9/50例）がPeto検定（死亡率法，死亡率法＋有病率法）とCochran-Armitage検定で増加傾向を示した。また、リンパ節原発の悪性リンパ腫の発生（対照群：1/50例，200ppm群：4/50例，800ppm群：11/50例，3200ppm群：4/50例）はFisher検定で800ppm群にのみ発生増加を示した。

< 肺 >

雄の細気管支－肺胞上皮腺腫の発生（対照群：4/49例，200ppm群：8/50例，800ppm群：4/50例，3200ppm群：1/50例）がCochran-Armitage検定で減少傾向を示した。これに対し、細気管支－肺胞上皮癌の発生（対照群：3/49例，200ppm群：5/50例，800ppm群：6/50例，3200ppm群：10/50例）はPeto検定（死亡率法，死亡率法＋有病率法）とCochran-Armitage検定で増加傾向を示した。また、細気管支－肺胞上皮腺腫と細気管支－肺胞上皮癌を合わせた発生（対照群：7/49例，200ppm群：13/50例，800ppm群：10/50例，3200ppm群：11/50例）はPeto検定（死亡率法）で増加傾向を示した。

雌の細気管支－肺胞上皮腺腫の発生（対照群：0/50例，200ppm群：0/48例，800ppm群：0/50例，3200ppm群：5/49例）はPeto検定（有病率法）とCochran-Armitage検定で増加傾向を示し、Fisher検定でも3200ppm群に発生増加を認めた。また細気管支－肺胞上皮腺腫と細気管支－肺胞上皮癌を合わせた発生（対照群：1/50例，200ppm群：3/48例，800ppm群：1/50例，3200ppm群：7/49例）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検定でも3200ppm群に発生の増加を認めた。

－ 非腫瘍性病変 －

対照群と比較して投与群で統計学的に有意な発生増加あるいは減少を示したものは、定期解剖例では雄の800ppm群の腎臓の皮質の鉍質沈着の発生増加、死亡／瀕死例では雄の3200ppm群の腎臓の近位尿細管の再生の発生減少、雌の800ppm群の鼻腔の呼吸上皮のエオジン好性変化の発生減少と腺胃の過形成の発生増加及び3200ppm群の脾臓の髓外造血の発生増加であった。しかし、これらの所見は、死亡／瀕死例のみにみられた所見、あるいは投与濃度に対応したものではなかったことから、被験物質の投与による影響とは考えられなかった。

(4) 死因

病理学的にみた死亡／瀕死の原因を TABLE 15 に示した。

雄の投与群では脾臓由来の悪性リンパ腫による死亡が投与濃度に対応して増加した。

雌では各投与群と対照群の間に顕著な差を認めなかった。

IV 考察及びまとめ (0189, 0190)

IV-1 ラット

被験物質の投与によって雄の腹膜の中皮腫の発生増加が認められた。また、雄の細気管支-肺胞上皮腺腫の発生増加がみられ、被験物質の投与による影響を否定できなかった。非腫瘍性病変としては、雌雄の鼻腔の嗅上皮のエオジン好性変化、及び雄の副腎の皮質細胞増生の発生が増加し、雄の肝臓の胆管増生、及び雌の乳腺嚢胞の発生が低下した。

IV-1-1 生死状況、体重、摂餌量

雄では3200ppm群で腹膜の中皮腫による死亡例が増加し、生存率が低下した。雌では投与群と対照群で生存率及び死因に顕著な差はみれなかった。

体重では雌雄の3200ppm群で体重増加の軽度な抑制がみられた。

摂餌量では、雄の800ppm群及び3200ppm群で66週まで、また、雌の投与群では12週まで、連続的あるいは散発的に摂餌量の低下がみられたが、それ以降はそれぞれ対照群と同様な値であった。

IV-1-2 腫瘍性病変

(1) 腹膜

投与群の雄の中皮腫の発生が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検定でも3200ppm群に発生増加が認められた。すなわち、雄の中皮腫の発生率は被験物質の投与濃度に対応して増加していた。また当センターにおけるF344ラットのヒストリカルコントロールデータでは、雄の中皮腫の発生は3.4%（試験単位での発生率の範囲：0～6%）であり、雄の3200ppm群の中皮腫の発生率（32.0%）はヒストリカルコントロールデータの上限をはるかに越えていた。

これらのことから、雄の中皮腫の発生は被験物質の投与によって増加し、その発生増加のみられる濃度は3200ppmと考えられた。

(2) 肺

投与群の雄の細気管支－肺胞上皮腺腫の発生がPeto検定（有病率法）で増加傾向を示し、Fisher検定では800ppm群に発生増加が認められた。すなわち、雄の細気管支－肺胞上皮腺腫の発生は800ppm群と3200ppm群で発生率が逆転するものの、投与群に発生率が増加していることが示された。当センターにおけるF344ラットのヒストリカルコントロールデータでは雄の細気管支－肺胞上皮腺腫の発生は2.2%（試験単位での発生率の範囲：0～6%）であり、雄の800ppm群（14%）と3200ppm群（8%）の細気管支－肺胞上皮腺腫の発生率はヒストリカルコントロールデータの上限を越えていた。

これらのことから、雄の細気管支－肺胞上皮腺腫の発生増加は、投与濃度に対応していないものの、被験物質の投与による影響を否定できなかった。

(3) 下垂体

雄の腺腫の発生がCochran-Armitage検定で減少傾向を示し、Fisher検定でも200ppm群と3200ppm群に発生低下が認められた。当センターにおけるF344ラットのヒストリカルコントロールデータでは、雄の下垂体の腺腫の発生は191/550（34.7%，試験単位での発生率の範囲：22～54%）であり、200ppm群と3200ppm群の両群ともヒストリカルコントロールデータの下限より低率であった。しかし、中間濃度である800ppmの発生率は対照群との間に有意差がみられずヒストリカルコントロールデータの範囲内であることから、より低濃度の200ppm群で認められた発生率の低下は投与濃度に対応した変化とは言えず、被験物質の投与による影響とは考えられなかった。これに対して、3200ppm群の発生率の低下は200ppm群と800ppm群の発生率より低値であり、投与による影響は否定できなかった。3200ppm群の雄に下垂体腫瘍の発生を低下させた原因として以下の要因が考えられる。

- 1) 3200ppm群の雄は中皮腫の発生によって、他の群に比べ動物がやや早期に死亡している。
- 2) 3200ppm群の雄は体重増加の抑制がみられ、制限給餌や体重増加抑制によってラットの下垂体腫瘍の発生が抑制されることが知られている（文献 5）。

以上のように下垂体腫瘍の発生低下は、被験物質の投与による影響を否定できなかったが、その影響は直接的な作用ではなく、上記の要因に付随した二次的变化と考えられた。

IV - 1 - 3 非腫瘍性病変

対照群と投与群の間に投与濃度に対応した発生の差が認められ、被験物質の投与による影響と考えられる所見を以下に示す。

○発生増加が認められた所見

鼻腔の嗅上皮のエオジン好性変化（雌雄の全投与群）

副腎の皮質細胞増生（雄の3200ppm群）

○発生低下が認められた所見

肝臓の胆管増生（雄の3200ppm群）

乳腺嚢胞（雌の3200ppm群）

IV - 2 マウス

被験物質の投与によって雄のハーダー腺の腺腫と脾臓由来の悪性リンパ腫及び細気管支－肺胞上皮癌、雌の肝細胞腺腫と細気管支－肺胞上皮腺腫の発生が増加した。特に雌の肝細胞腺腫については全投与群において発生増加が認められた。

IV - 2 - 1 生死状況、体重、摂餌量

雄の投与群では脾臓由来の悪性リンパ腫による死亡が投与濃度に対応して増加し、生存率が対照群に比べ低下した。雌では投与群と対照群で生存率及び死因に顕著な差はみられなかった。

体重では雄の200ppm群は投与期間前期(7～14週)に、3200ppm群は投与期間前期(9～12週)及び投与期間後期(90～104週)に対照群に比較して低値であった。

摂餌量では雄の投与群でほぼ投与期間を通じて、雌の投与群では66週までの多くの週で、それぞれ対照群に比較して低値がみられた。

IV - 2 - 2 腫瘍性病変

(1) 肝臓

雌の肝細胞腺腫の発生がPeto検定（有病率法）とCochran-Armitage検定で増加傾向を示し、Fisher検定で全投与群に発生の増加を認めた。また肝細胞腺腫と肝細胞癌を合わせた発生もPeto検定（有病率法）とCochran-Armitage検定で増加傾向を示し、Fisher検定で800ppm群及び3200ppm群に発

生の増加を認めた。すなわち、雌の肝細胞腺腫発生率は被験物質の投与濃度に対応して増加した。また、当センターにおけるBDF₁マウスのヒストリカルコントロールデータでは、雌の肝細胞腺腫の発生は5.1%（試験単位での発生率の範囲：2～10%）であり、雌の200ppm群（18.8%）、800ppm群（28.0%）及び3200ppm群（38.8%）の肝細胞腺腫の発生率はヒストリカルコントロールデータの上限を越えていた。

これらのことから、雌の肝細胞腺腫の発生は被験物質の投与によって増加し、その発生増加は本試験の最低濃度である200ppmでも起こると考えられた。

なお、雄の肝細胞腺腫の発生もPeto検定（有病率法）で増加傾向を示した。しかし、肝細胞癌を合わせた発生率では有意な増加傾向がみられないことから、被験物質の投与によって肝細胞由来の腫瘍が増加したとは考えられなかった。

（２）ハーダー腺

雄の腺腫の発生はPeto検定（有病率法）とCochran-Armitage検定で増加傾向を示し、Fisher検定で3200ppm群に発生の増加を認めた。すなわち雄の腺腫は被験物質の投与濃度に対応して発生率が増加した。当センターにおけるBDF₁マウスのヒストリカルコントロールデータでは雄の腺腫の発生は5.1%（試験単位での発生率の範囲：2～10%）であり、雄の3200ppm群（16.0%）の腺腫の発生率はヒストリカルコントロールデータの上限を越えていた。

これらのことから、雄の腺腫は被験物質の投与によって3200ppm群に発生が増加したと考えた。

（３）悪性リンパ腫

雄の全臓器を合わせた悪性リンパ腫の発生がPeto検定（死亡率法，死亡率法＋有病率法）で増加傾向を示し、Fisher検定でも800ppm群と3200ppm群に発生増加を認めた。

悪性リンパ腫の発生を原発臓器別にみると、脾臓原発の悪性リンパ腫はPeto検定（死亡率法，死亡率法＋有病率法）とCochran-Armitage検定で増加傾向を示したが、リンパ節原発の悪性リンパ腫はFisher検定で800ppm群にのみ発生増加を示し、投与濃度に対応した増加傾向がみられなかった。したがって、脾臓原発の悪性リンパ腫だけが投与濃度に対応した発生増加を示したと考えられた。当センターにおけるヒストリカルコントロールデータでは雄の脾臓原発の悪性リンパ腫の発生は4.9%（試験単位での発生率

の範囲：2～10%）であり、3200ppm群の発生率（18.0%）はヒストリカルコントロールデータの上限を越えていた。

このことから雄の脾臓由来の悪性リンパ腫は被験物質の投与によって増加したと考えた。

（４）肺

雄の細気管支－肺胞上皮癌の発生が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、被験物質の投与濃度に対応して、この腫瘍の発生が増加することが示された。当センターにおけるBDF₁マウスのヒストリカルコントロールデータでは雄の細気管支－肺胞上皮癌の発生率は11.6%（試験単位での発生率の範囲：2～22%）であり、3200ppm群の発生率は上限よりやや低い値であった。一方、細気管支－肺胞上皮腺腫の発生は、Cochran-Armitage検定で減少傾向を示し、細気管支－肺胞上皮癌と細気管支－肺胞上皮腺腫を合わせた発生は、Peto検定で死亡率法でのみ増加傾向を認めるものの、発生数は各投与群間で大差がなかった。

これらの結果から、肺の細気管支－肺胞上皮由来の腫瘍の総発生率は投与濃度に対応した増加を示さないが、悪性である細気管支－肺胞上皮癌の比率は投与濃度に対応してやや増加しており、この細気管支－肺胞上皮癌は死因となる例が多いため、両腫瘍を合わせた発生率ではPeto検定で死亡率法でのみに増加傾向が示されたと推察された。

雌の細気管支－肺胞上皮腺腫の発生はPeto検定（有病率法）とCochran-Armitage検定で増加傾向を示し、Fisher検定でも3200ppm群に発生増加が認められた。また細気管支－肺胞上皮腺腫と細気管支－肺胞上皮癌を合わせた発生もほぼ同様の結果であった。すなわち、雌の細気管支－肺胞上皮腺腫の発生は被験物質の投与濃度に対応して増加していた。当センターにおけるBDF₁マウスのヒストリカルコントロールデータでは雌の細気管支－肺胞上皮腺腫の発生率は4.2%（試験単位での発生率の範囲：0～10%）であり、3200ppm群の発生率は、ほぼ上限に相当する値であった。

以上のように被験物質の投与濃度に対応して、雄では細気管支－肺胞上皮癌の比率の増加傾向、雌では細気管支－肺胞上皮腺腫の増加傾向と3200ppm群での発生増加が示された。ヒストリカルコントロールデータと比較すると、各々の発生率は3200ppm群においても雄は上限よりやや低い値、雌は上限とほぼ同様の値であり、顕著な変化ではなかったが、雌雄ともに肺の腫瘍の発生に変化が観察されたことから、被験物質の投与がこれらの変化を引き起こしたと考えるのが妥当であろう。

IV - 2 - 3 非腫瘍性病変

非腫瘍性病変の発生に被験物質の投与によると考えられる変化は認められなかった。

V 結論

F344/DuCrj(Fischer)ラット及び Crj:BDF₁マウスを用いて1,1,1-トリクロロエタン(1,4-ジオキサン:3.34~3.50%を含む)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。

ラットでは雄の腹膜の中皮腫の発生増加が認められた。また、投与濃度に対応はしていないものの、雄の細気管支-肺胞上皮腺腫の発生増加がみられ、被験物質の投与による影響が疑われた。雄の3200ppm群では前述の腹膜の中皮腫の発生増加に伴い生存率がやや低下した。非腫瘍性病変としては、雌雄の鼻腔の嗅上皮のエオジン好性変化(全投与群)、雄の副腎の皮質細胞増生(3200ppm群)の発生が増加し、雄の肝臓の胆管増生(3200ppm群)、雌の乳腺嚢胞(3200ppm)の発生が減少した。

マウスでは、雄のハーダー腺の腺腫と脾臓由来の悪性リンパ腫及び細気管支-肺胞上皮癌、雌の肝細胞腺腫と細気管支-肺胞上皮腺腫の発生増加が認められた。雄の投与群ではこの脾臓由来の悪性リンパ腫により生存率がやや低下した。

以上のように、F344/DuCrj(Fischer)ラットでは雄の腹膜の中皮腫、Crj:BDF₁マウスでは雄のハーダー腺の腺腫と脾臓由来の悪性リンパ腫及び細気管支-肺胞上皮癌、雌の肝細胞腺腫と細気管支-肺胞上皮腺腫の発生増加が認められ、1,1,1-トリクロロエタン(1,4-ジオキサン:3.34~3.50%を含む)のがん原性が証明された。

VI 文献

1. Simons,W.W. (1978)
Sadtler Handbook of Infrared Spectra,pp.106.
Sadtler Research Laboratories,Inc,Philadelphia.
2. 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.
3. Peto,R.,Pike,M.C.,Day,N.E.,Gray,R.G.,Lee,P.N.,Parish,S.,
Peto,J.,Richrds,S. and Wahrendorf,J. (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,
IARC Monographs,Suppl.2,pp.311-426.
International Agency for Research on Cancer,Lyon.
4. 日本バイオアッセイ研究センター内部資料 (1984-1994)
5. Imai,K.,Yoshimura,S.,Yamaguchi,K.,Matsui,E.,Isaka,H.,Hashimoto,K.
and Boorman,A.G. (1990)
Effects of Dietary Restriction on Age-associated Pathologic
Changes in F-344 Rats.
J.Toxicol.Pathol.,3, 209~221.
6. 日本バイオアッセイ研究センター (1996)
1,1,1-トリクロロエタンのラット及びマウスを用いた吸入によるがん原
性予備試験報告書
日本バイオアッセイ研究センター, 神奈川