

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

試験番号

2 週 間 : ラット/0156 ; マウス/0157

1 3 週 間 : ラット/0166 ; マウス/0167

CAS No. 71 - 55 - 6

平成 8 年 6 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予備試験報告書

試験番号

2 週 間 : ラット/0156 ; マウス/0157

13 週 間 : ラット/0166 ; マウス/0167

本 文

目 次	頁
要 旨	1
I 試 験 材 料	
I - 1 被 験 物 質 の 性 状 等	
I - 1 - 1 名 称 と 別 名	3
I - 1 - 2 構 造 式、分 子 量	3
I - 1 - 3 物 理 化 学 的 性 状 等	3
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	
I - 3 - 1 同 一 性	4
I - 3 - 2 安 定 性	4
I - 4 試 験 動 物	4
II 試 験 方 法	
II - 1 投 与	
II - 1 - 1 投 与 経 路、投 与 方 法 及 び 投 与 期 間	5
II - 1 - 2 投 与 濃 度	5
II - 1 - 3 被 験 物 質 の 発 生 方 法 と 濃 度 調 整	5
II - 1 - 4 被 験 物 質 の 濃 度 測 定	6
II - 2 動 物 管 理	
II - 2 - 1 各 群 の 使 用 動 物 数	6
II - 2 - 2 群 分 け 及 び 個 体 識 別 方 法	6
II - 2 - 3 飼 育 条 件	6
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	7
II - 3 - 2 体 重 測 定	7
II - 3 - 3 摂 餌 量 測 定	7
II - 3 - 4 血 液 学 的 検 査	7
II - 3 - 5 血 液 生 化 学 的 検 査	7
II - 3 - 6 尿 検 査	8
II - 3 - 7 病 理 学 的 検 査	8
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	9
II - 4 - 2 母 数 の 取 り 扱 い と 表 示	9
II - 4 - 3 統 計 方 法	9

Ⅱ - 5	試資料の保管	10
Ⅲ	試験成績	
Ⅲ - 1	ラットを用いた試験	
Ⅲ - 1 - 1	2週間試験 (試験番号 : 0 1 5 6)	
1	動物の状態観察	11
2	血液学的検査・血液生化学的検査	12
3	病理学的検査	12
Ⅲ - 1 - 2	13週間試験 (試験番号 : 0 1 6 6)	
1	動物の状態観察	13
2	血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査	14
3	病理学的検査	14
Ⅲ - 2	マウスを用いた試験	
Ⅲ - 2 - 1	2週間試験 (試験番号 : 0 1 5 7)	
1	動物の状態観察	16
2	血液学的検査・血液生化学的検査	16
3	病理学的検査	17
Ⅲ - 2 - 2	13週間試験 (試験番号 : 0 1 6 7)	
1	動物の状態観察	17
2	血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査	18
3	病理学的検査	18
Ⅳ	考察及びまとめ	20
Ⅴ	文献	24

T A B L E S

- 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-WEEK STUDY)
- TABLE 3 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE RAT
(TWO-WEEK STUDY)
- TABLE 4 FOOD CONSUMPTION IN MALE RAT(TWO-WEEK STUDY)
- TABLE 5 FOOD CONSUMPTION IN FEMALE RAT(TWO-WEEK STUDY)
- TABLE 6 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE RAT
(THIRTEEN-WEEK STUDY)
- TABLE 7 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE RAT
(THIRTEEN-WEEK STUDY)
- TABLE 8 FOOD CONSUMPTION IN MALE RAT(THIRTEEN-WEEK STUDY)
- TABLE 9 FOOD CONSUMPTION IN FEMALE RAT(THIRTEEN-WEEK STUDY)
- TABLE 10 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE MOUSE
(TWO-WEEK STUDY)
- TABLE 11 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE MOUSE
(TWO-WEEK STUDY)
- TABLE 12 FOOD CONSUMPTION IN MALE MOUSE(TWO-WEEK STUDY)
- TABLE 13 FOOD CONSUMPTION IN FEMALE MOUSE(TWO-WEEK STUDY)
- TABLE 14 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE MOUSE
(THIRTEEN-WEEK STUDY)
- TABLE 15 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE MOUSE
(THIRTEEN-WEEK STUDY)
- TABLE 16 FOOD CONSUMPTION IN MALE MOUSE(THIRTEEN-WEEK STUDY)
- TABLE 17 FOOD CONSUMPTION IN FEMALE MOUSE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

F I G U R E S

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

FIGURE 2 BODY WEIGHT CHANGES:RAT:MALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 3 BODY WEIGHT CHANGES:RAT:FEMALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 4 FOOD CONSUMPTION:RAT:MALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 5 FOOD CONSUMPTION:RAT:FEMALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 6 BODY WEIGHT CHANGES:MOUSE:MALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 7 BODY WEIGHT CHANGES:MOUSE:FEMALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 8 FOOD CONSUMPTION:MOUSE:MALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 9 FOOD CONSUMPTION:MOUSE:FEMALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

A P P E N D I X E S

APPENDIX A 1-1 CLINICAL OBSERVATION (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE

APPENDIX A 1-2 CLINICAL OBSERVATION (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE

APPENDIX A 1-3 CLINICAL OBSERVATION (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE

APPENDIX A 1-4 CLINICAL OBSERVATION (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE

APPENDIX A 2-1 BODY WEIGHT CHANGES (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE

APPENDIX A 2-2 BODY WEIGHT CHANGES (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE

APPENDIX A 2-3 BODY WEIGHT CHANGES (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE

APPENDIX A 2-4 BODY WEIGHT CHANGES (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE

APPENDIX A 3-1 FOOD CONSUMPTION CHANGES (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE

APPENDIX A 3-2 FOOD CONSUMPTION CHANGES (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE

APPENDIX A 3-3 FOOD CONSUMPTION CHANGES (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE

APPENDIX A 3-4 FOOD CONSUMPTION CHANGES (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE

APPENDIX A 4-1 HEMATOLOGY (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE

APPENDIX A 4-2 HEMATOLOGY (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE

APPENDIX A 4-3 HEMATOLOGY (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE

APPENDIX A 4-4 HEMATOLOGY (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE

APPENDIXES (CONTINUED)

- APPENDIX A 5-1 BIOCHEMISTRY (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE
- APPENDIX A 5-2 BIOCHEMISTRY (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE
- APPENDIX A 5-3 BIOCHEMISTRY (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE
- APPENDIX A 5-4 BIOCHEMISTRY (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE
- APPENDIX A 6-1 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE:ALL ANIMALS
- APPENDIX A 6-2 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE:ALL ANIMALS
- APPENDIX A 7-1 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE:ALL ANIMALS
- APPENDIX A 7-2 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE:ALL ANIMALS
- APPENDIX A 7-3 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE:ALL ANIMALS
- APPENDIX A 7-4 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE:ALL ANIMALS
- APPENDIX A 8-1 IDENTITY AND PURITY OF 1,1,1-TRICHLOROETHANE (TWO-WEEK STUDIES)
- APPENDIX A 8-2 STABILITY OF 1,1,1-TRICHLOROETHANE (TWO-WEEK STUDIES)
- APPENDIX A 9-1 CONCENTRATION OF 1,1,1-TRICHLOROETHANE IN INHALATION CHAMBER
(TWO-WEEK STUDIES)
- APPENDIX A 9-2 ENVIRONMENT OF INHALATION CHAMBER
(TWO-WEEK STUDIES)

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

APPENDIX B 1-1 CLINICAL OBSERVATION (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE

APPENDIX B 1-2 CLINICAL OBSERVATION (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE

APPENDIX B 2-1 BODY WEIGHT CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE

APPENDIX B 2-2 BODY WEIGHT CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE

APPENDIX B 2-3 BODY WEIGHT CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE

APPENDIX B 2-4 BODY WEIGHT CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE

APPENDIX B 3-1 FOOD CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE

APPENDIX B 3-2 FOOD CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE

APPENDIX B 3-3 FOOD CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE

APPENDIX B 3-4 FOOD CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE

APPENDIX B 4-1 HEMATOLOGY (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE

APPENDIX B 4-2 HEMATOLOGY (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE

APPENDIX B 4-3 HEMATOLOGY (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE

APPENDIX B 4-4 HEMATOLOGY (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE

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

- APPENDIX B 5-1 BIOCHEMISTRY (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE
- APPENDIX B 5-2 BIOCHEMISTRY (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE
- APPENDIX B 5-3 BIOCHEMISTRY (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE
- APPENDIX B 5-4 BIOCHEMISTRY (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE
- APPENDIX B 6-1 URINALYSIS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE
- APPENDIX B 6-2 URINALYSIS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE
- APPENDIX B 6-3 URINALYSIS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE
- APPENDIX B 6-4 URINALYSIS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE
- APPENDIX B 7-1 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX B 7-2 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX B 7-3 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS
- APPENDIX B 7-4 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX B 7-5 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX B 7-6 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS
- APPENDIX B 7-7 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS

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

APPENDIX B 8-1 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY),ABSOLUTE
RAT:MALE

APPENDIX B 8-2 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY),ABSOLUTE
RAT:FEMALE

APPENDIX B 8-3 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY),ABSOLUTE
MOUSE:MALE

APPENDIX B 8-4 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY),ABSOLUTE
MOUSE:FEMALE

APPENDIX B 9-1 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY),RELATIVE
RAT:MALE

APPENDIX B 9-2 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY),RELATIVE
RAT:FEMALE

APPENDIX B 9-3 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY),RELATIVE
MOUSE:MALE

APPENDIX B 9-4 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY),RELATIVE
MOUSE:FEMALE

APPENDIX B 10-1 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE:SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX B 10-2 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX B 10-3 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS

APPENDIX B 10-4 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE:SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX B 10-5 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX B 10-6 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS

APPENDIX B 10-7 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS

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

APPENDIX B 11-1 IDENTITY AND PURITY OF 1,1,1-TRICHLOROETHANE (THIRTEEN-WEEK STUDIES)

APPENDIX B 11-2 STABILITY OF 1,1,1-TRICHLOROETHANE (THIRTEEN-WEEK STUDIES)

APPENDIX B 12-1 CONCENTRATION OF 1,1,1-TRICHLOROETHANE IN INHALATION CHAMBER
(THIRTEEN-WEEK STUDIES)

APPENDIX B 12-2 ENVIRONMENT OF INHALATION CHAMBER
(THIRTEEN-WEEK STUDIES)

APPENDIX C 1 METHODS FOR HEMATOLOGY, BIOCHEMISTRY AND URINALYSIS

APPENDIX C 2 UNITS AND DECIMAL PLACE FOR HEMATOLOGY AND BIOCHEMISTRY

要 旨

1,1,1-トリクロロエタンのがん原性を検索する目的でF344/DuCrj (Fischer)ラットとCrj:BDF₁マウスを用いて吸入による2年間(104週間)の試験を実施するに当たり、その投与濃度を設定するために本予備試験(2週間試験、13週間試験)を実施した。

2週間試験及び13週間試験はラット、マウスとも被験物質投与群:5群、対照群:1群の6群構成で行った。投与濃度は2週間試験のラットは雌雄とも、10000ppm、6700ppm、4400ppm、3000ppm、2000ppm、マウスは雌雄とも、6700ppm、4500ppm、3000ppm、2000ppm、1300ppm、13週間試験のラットは雌雄とも、10000ppm、6700ppm、4400ppm、3000ppm、2000ppm、マウスは雌雄とも、15000ppm、10000ppm、6700ppm、4400ppm、3000ppmとした。投与は被験物質を全身暴露することにより行った。観察、検査項目は、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(13週間試験)、剖検、臓器重量測定(13週間試験)及び病理組織学的検査を行った。

ラットを用いた2週間試験の結果、動物の死亡はみられなかった。高濃度群では立毛が多数例にみられ、雄の6700ppm以上の群と雌の10000ppm群では体重増加の抑制、雄の他の投与群では体重増加の抑制傾向が認められた。また、雌雄ともに血液学的検査及び血液生化学的検査の一部に変化がみられたが、ごく軽度のものであり、病理学的検査では著変はみられなかった。これらの結果から13週間試験の投与濃度は、雌雄とも最高濃度を10000ppmとし、以下6700、4400、3000、2000ppm(公比1.5 10の位四捨五入)とした。

ラットを用いた13週間試験の結果、雄の10000ppm群で3例の死亡がみられ、肺の退縮不全とうっ血、鼻腔に扁平上皮化生、呼吸上皮の炎症、嗅上皮の萎縮と核増大が観察された。生存例では雄の4400ppm以上、雌の6700ppm以上の群で体重増加の抑制、雌の3000ppm群と4400ppm群で体重増加の抑制傾向がみられた。また、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査の一部に軽度な変化がみられた。臓器重量では雌雄の3000ppm以上の群で腎臓の体重比が増加し、被験物質の影響を示唆するものと考えられた。病理組織学的検査では、雌雄の10000ppm群で鼻腔に扁平上皮化生、呼吸上皮の炎症と核増大、嗅上皮の萎縮と核増大がみられた。これらの結果からがん原性試験の最高濃度は、13週間試験において、雄で体重増加の抑制、雌で体重増加の抑制傾向、その他、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、臓器重量の測定の一部に変化がみられた4400ppmと、雌で体重増加の抑制傾向、その他、血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量の測定で一部に変化がみられた3000ppmの間で、より3000ppmに近い濃度が適当であると考えた。

また、最低濃度は現行許容濃度を考慮して設定した。すなわち、がん原性試験の投与濃度は、雌雄とも最高濃度を3200ppmとし、以下800、200ppm（公比4）とした。

マウスを用いた2週間試験の結果、全投与群とも動物の死亡はみられず、被験物質の動物への影響はほとんどみられなかった。最高濃度の6700ppm群でも、血液生化学的検査の一部に軽度な変化と病理組織学的検査で被験物質の胃への影響が示唆される所見がみられただけであった。これらの結果から13週間試験の投与濃度は、雌雄とも最高濃度を15000ppmとし、以下10000、6700、4400、3000ppm（公比1.5）に設定した。

マウスを用いた13週間試験の結果、雌雄の10000ppm群と15000ppm群で全例、雌の6700ppm群で1例の動物が死亡した。死亡例では雌に鼻腔の嗅上皮の空胞変性、肺のうっ血や出血がみられた。生存例では雄の全投与群で体重増加の抑制がみられた。また、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査の一部に変化がみられた。病理組織学的検査では、6700ppm群で雌雄ともに鼻腔の嗅上皮の核増大、前胃の過形成が観察され、雄では腎臓の近位尿細管上皮の空胞化の発生低下もみられた。これらの結果からがん原性試験の最高濃度は、13週間試験で雄の体重増加の抑制以外に目立った変化のみられなかった、3000ppm付近が適当であると考えた。また、最低濃度は現行許容濃度を考慮して設定した。すなわち、がん原性試験の投与濃度は、雌雄とも最高濃度を3200ppmとし、以下800、200ppm（公比4）とした。

I 試験材料

I-1 被験物質の性状等

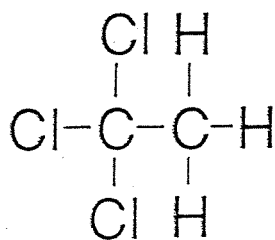
I-1-1 名称と別名

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、分子量



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 : -32.6℃

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 : 2 週 間 試 験 ECG 7864

1 3 週 間 試 験 ECG 7864, DSP 4087, DSQ 3398

製 造 元 : 和光純薬工業株式会社

純 度 : 95.0%以上

安 定 剤 : 1,4-ジオキサン (2週間試験 3.47%)

(13週間試験 3.43~3.49%)

I - 3 被験物質の同一性・安定性

I - 3 - 1 同一性

2週間試験及び13週間試験とも試験に使用した被験物質のマススペクトル及び赤外吸収スペクトルを測定し、それぞれの理論値及び文献値（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、2週間試験は APPENDIX A 8-1、13週間試験は APPENDIX B 11-1に示した。

I - 3 - 2 安定性

2週間試験及び13週間試験とも被験物質の安定性は、投与開始前及びその投与終了後に、その赤外吸収スペクトル及びガスクロマトグラムを測定し、それぞれのデータを比較することにより確認した。なお、それらの結果について、2週間試験は APPENDIX A 8-2、13週間試験は APPENDIX B 11-2に示した。

I - 4 試験動物

動物は2週間試験及び13週間試験ともに日本チャールス・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。

2週間試験では、ラット雌雄各75匹、マウス雌雄各75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60匹(投与開始時体重範囲、ラット雄:124~130g、雌:96~110g/マウス雄:21.8~24.4g、雌:18.6~21.3g)を選別し、試験に供した。

13週間試験では、ラットの雌雄各75匹、マウス雄75匹雌74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60匹(投与開始時体重範囲、ラット雄:122~143g、雌:96~115g/マウス雄:22.5~24.9g、雌:18.0~20.2g)を選別し、試験に供した。

なお、F344/DuCrj(Fischer)ラット及びCrj:BDF₁マウスを選択した理由は、がん原性試験で使用する動物種及び系統に合わせたことによる。

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

2週間試験及び13週間試験とも、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-トリクロロエタンガスを送り込み、試験動物を全身暴露する事により投与した。なお、対照群には、新鮮空気のみを暴露した。

各試験における投与期間及び暴露回数は以下の通りである。

2週間試験・・・6時間/日, 5日/週, 10回/2週間
13週間試験・・・6時間/日, 5日/週 65回/13週間

Ⅱ - 1 - 2 投与濃度

2週間試験

ラットは雌雄ともに最高用量を10000ppmに設定し、それ以下6700ppm、4400ppm、3000ppm、2000ppm（公比1.5、10の位四捨五入）とした。

マウスでは雌雄ともに最高用量を6700ppmに設定し、それ以下4500ppm、3000ppm、2000ppm、1300ppm（公比1.5、10の位四捨五入）とした。

13週間試験

ラットは雌雄ともに最高用量を10000ppmに設定し、それ以下6700ppm、4400ppm、3000ppm、2000ppm（公比1.5、10の位四捨五入）とした。

マウスでは雌雄ともに最高用量を15000ppmに設定し、それ以下10000ppm、6700ppm、4400ppm、3000ppm（公比1.5、10の位四捨五入）とした。

Ⅱ - 1 - 3 被験物質の発生方法と濃度調整

被験物質の発生方法は FIGURE 1 に示す通り、発生容器に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、清浄空気のバ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、再加熱し一定濃度に調整した後、流量計を用いて一定量を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はガスクロマトグラフによる測定値を監視しながら、設定値になるようにその混合ガスの供給流量を調節した。

Ⅱ－１－４ 被験物質の濃度測定

各試験における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。

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。

2週間試験は APPENDIX A 9-1、13週間試験は APPENDIX B 12-1 に測定結果を示した。

Ⅱ－２ 動物管理

Ⅱ－２－１ 各群の使用動物数

2週間試験及び13週間試験とも投与群5群及び対照群1群の計6群を設け、雌雄各群10匹の動物を用いた。

Ⅱ－２－２ 群分け及び個体識別方法

供試動物の各投与群への割り当ては、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により、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、他の試験との区別は、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することにより行った。

Ⅱ－２－３ 飼育条件

動物は、2週間試験及び13週間試験とも、検疫室で1週間の検疫飼育を行った後、馴化期間及び投与期間中は吸入チャンバー内で飼育した。各試験で使用した検疫室、吸入チャンバー室及び吸入チャンバー内の環境条件をTABLE 1 に示した。また、各試験の吸入チャンバー内の計測結果を2週間試験は APPENDIX A 9-2 に、13週間試験は APPENDIX B 12-2 に示した。マウスにおける13週間試験の10000ppm群では、チャンバー内平均温度が設定条件をやや下まわったが動物に影響はなかった。他の試験は設定条件の範囲内であった。

各試験の検疫期間中は1ケージ当り1匹の単飼（ステンレス製2連型網ケージ、ラット：170W×294D×176H mm、マウス：112W×212D×120H mm）、馴化期間中は1ケージ当り1匹の単飼（ステンレス製6連型網ケージ、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5連網ケージ、ラット：150W×216D×176H mm、マウス：100W×116D×120H mm)の条件下で飼育した。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)を飼育全期間を通して固型飼料給餌器により自由摂取させた。また、飲水は飼育全期間を通して、市水(秦野市水道局供給)をフィルターろ過した後、紫外線滅菌し、自動給水により自由摂取させた。なお、2週間試験は1,1,1-トリクロロエタン暴露中の給餌、給水しなかった。

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

2週間試験では1日2回(投与日以外は1日1回)、13週間試験では毎日1回、動物の一般状態の観察を行った。

II-3-2 体重測定

2週間試験では、0日目(投与開始直前)、1日目(1週1日)、7日目(1週7日)、及び14日目(2週7日)、13週間試験では週1回、体重を測定した。

II-3-3 摂餌量測定

2週間試験及び13週間試験とも週1回、摂餌量を個体別に測定した。

II-3-4 血液学的検査

2週間試験及び13週間試験とも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、13週間試験の検査対象動物は解剖日前日より(18時間以上)絶食させた。

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

II-3-5 血液生化学的検査

2週間試験及び13週間試験とも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、13週間試験の検査対象動物は解剖日前日より絶食(18時間以上)さ

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 C 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 母数の取り扱いと表示

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から除いた。

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から除いた。

尿検査は、投与最終週に行い、検査数を母数とした。

剖検と病理組織学的検査は、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。

Ⅱ - 4 - 3 統計方法

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。なお、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。

病理組織学的検査のうち13週間試験は非腫瘍性病変について、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。また、尿検査についても χ^2 検定を行った。なお χ^2 検定は対照群と各投与群間との検定であり、最終検定では5%及び1%で両側検定を行った。また 各群雌雄毎に検査数が2以下の項目については検定より除外した。

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従って、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。

Ⅱ 試験成績

Ⅱ-1 ラットを用いた試験

Ⅱ-1-1 2週間試験 (試験番号:0156)

1 動物の状態観察

(1) 生死状況

生死状況は TABLE 2, 3 に示した。

動物の死亡はみられなかった。

(2) 一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX A 1-1, A 1-2 に示した。

雌雄とも各群で投与初期より立毛がみられたが、投与期間後期には3000ppm以上の群で観察され、その発生例は暴露開始前より暴露終了後の観察時の方が多く、また、高投与群により多く観察された。また、雌では投与期間を通じて、投与各群に尿による外陰部周囲の汚染がみられたが、発生例が少なく被験物質の投与によるものと断定できなかった。その他、投与群では異常呼吸(不整呼吸、深呼吸、異常鼻音)、異常呼吸音(異常呼気音)、軟便、流涙、眼脂、眼混濁(角膜混濁、前眼房の混濁)、流涎等がみられたが、いずれも散発的で発生例も少なく、被験物質の影響とは考えられなかった。

(3) 体重

体重の推移を TABLE 2, 3 及び APPENDIX A 2-1, A 2-2 に示した。

雄の6700ppmと10000ppm群では、体重が投与期間を通じて対照群と比較して有意な低値を示し、被験物質の投与による体重増加の抑制が認められた。また、その他の投与群についても、有意差はみられなかったものの、投与後7日目(1週7日)以降、対照群に比べ低値であり、体重増加に抑制傾向がみられた。

雌でも10000ppm群で、投与後7日目(1週7日)以降、対照群と比較して有意な低値がみられ、体重増加の抑制が認められた。しかし、雌のその他の群では対照群と差はみられなかった。

(4) 摂餌量

摂餌量(1日1匹当り)を TABLE 4, 5 及び APPENDIX A 3-1, A 3-2 に示した。

投与1週目に雄の3000ppm以上の群と雌の4400ppm以上の群で、投与2週目に雌雄の10000ppm群で、それぞれ摂餌量の有意な減少が認められた。雄ではこれに伴い体重増加の抑制または抑制傾向となったと思われるが、

雌では10000ppm群以外は体重値に影響がみられなかった。その他、雌の3000ppm群で投与2週目に摂餌量の有意な低値がみられが、投与量、体重値に対応したものではなく、被験物質との関連は不明であった。

2 血液学的検査・血液生化学的検査

(1) 血液学的検査

血液学的検査の結果を APPENDIX A 4-1, A 4-2 に示した。

雄の6700ppm以上の群で赤血球数、ヘマトクリット値の有意な増加、10000ppm群でヘモグロビン濃度の有意な増加が認められた。その他、雄で血小板数、分葉核好中球比及びリンパ球比、雌でヘモグロビン濃度、リンパ球比に変化が認められたが、いずれも投与量に対応したものではなかった。

(2) 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を APPENDIX A 5-1, A 5-2 に示した。

雌の全投与群で尿素窒素の有意な減少がみられた。一部、投与量との対応が明確ではないが、全投与群で尿素窒素が減少しており被験物質の投与によるものと思われた。その他、雄の3000、6700、10000ppm群でA/G比及び総コレステロールの有意な増加、10000ppm群でアルブミンの有意な増加が認められたが、それぞれごくわずかな変化であり、A/G比、総コレステロールでは投与量との対応がみられず、被験物質との関連は不明であった。また、雄で総蛋白、GOT活性、雌で総コレステロール、無機リンに変化がみられたが、いずれも投与量に対応したものではなかった。

3 病理学的検査

(1) 剖検

定期解剖時に行われた剖検観察では、雌雄とも各群に特記すべき所見はみられなかった。

(2) 病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果を APPENDIX A 7-1, A 7-2 に示した。

投与群では雄の2000ppm群で鼻腔の扁平上皮の炎症が1例みられたのみで、被験物質の影響と思われる所見はみられなかった。

Ⅲ - 1 - 2 13週間試験 (試験番号:0166)

1 動物の状態観察

(1) 生死状況

生死状況を TABLE 6, 7 に示した。

雄の10000ppm群で3例(5週7日、9週1日、9週7日)が死亡した。

雌では、死亡はみられなかった。

(2) 一般状態

一般状態の観察では、雌雄ともに特記すべき症状は観察されなかった。

(3) 体重

体重の推移を TABLE 6, 7、FIGURE 2, 3 及び APPENDIX B 2-1, B 2-2 に示した。

雄では4400ppm群で2週目(2週7日)を除く投与期間中、6700ppm群と10000ppm群では投与期間を通じて、対照群と比較して体重が有意な低値を示し、4400ppm群以上の群で体重増加の抑制が認められた。

雌では6700ppm群で1週目(1週7日)と9週目(9週7日)以降投与終了時まで、10000ppm群では4週目(4週7日)を除く投与期間中、対照群と比較して体重が有意な低値を示し、6700ppm群以上の群で体重増加の抑制が認められた。また、3000ppm群と4400ppm群でも有意差はないものの、投与期間後期においては対照群に比べ体重が低値を示し、最終体重は対照群と比較して、3000ppm群:93%、4400ppm群:92%となり、体重増加に抑制傾向がみられた。

(4) 摂餌量

摂餌量(1日1匹当り)を TABLE 8, 9、FIGURE 4, 5 及び APPENDIX B 3-1, B 3-2 に示した。

雄では4400ppm群で投与1週目に対照群に比べ有意な低値を示し、それ以降も投与期間を通じて対照群より低値であった。6700ppm群では1~3、6、8、11、13週目に対照群に比べ有意な低値がみられ、他の週も対照群より低値であった。また、10000ppm群は投与期間を通じて対照群に比べ有意な低値を示した。雌では3000ppm群で13週目、4400ppm群で1、8、13週目、6700ppm群で1週目に対照群に比べ有意な低値がみられ、これらの群では投与期間の後期は対照群より低値であった。また、10000ppm群では1、2、8、9、13週目に対照群に比べ有意な低値を示し、他の週も対照群より低値であった。雌雄ともこれらの摂餌量の減少に伴い体重増加の抑制または抑制傾向になったと思われた。

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

血液学的検査の結果を APPENDIX B 4-1, B 4-2 に示した。

雌の3000ppm以上の群でMCVの有意な減少、10000ppm群でMCHの有意な減少が認められた。その他、雄の10000ppm群で分葉核好中球比の有意な増加及びリンパ球比の有意な減少が認められたが、白血球数から換算した好中球数の増加は大きな変化でなく、病理組織学的検査においてもこれらの変化を示唆する所見がみられないことから、被験物質との関連は不明であった。また、雄でMCVに変化がみられたが、投与量に対応したものではなかった。

(2) 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を APPENDIX B 5-1, B 5-2 に示した。

雄では全投与群でALP活性の有意な低下、6700ppm以上の群でGOT及びGPT活性の有意な低下、尿素窒素の有意な減少、10000ppm群でグルコース、トリグリセライドの有意な減少が認められた。雌でも6700ppm以上の群でGPT活性の有意な低下が認められた。その他、雄でリン脂質、雌でアルブミン、GOTに変化がみられたが、いずれも投与量に対応したものではなかった。

(3) 尿検査

尿検査の結果を APPENDIX B 6-1, B 6-2 に示した。

雄の4400ppm以上の群で尿蛋白の陽性度の有意な減少が認められた。

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 B 7-1, B 7-2, B 7-3 に示した。

雄の10000ppm群の死亡例(3例)では1例に肺の退縮不全が観察されたが、他の死亡例には著変を認めなかった。

定期解剖動物では、胸腺の赤色斑、肝臓のヘルニア、腺胃の潰瘍、卵巣の液貯留、脳の変形が少数例みられたのみで、被験物質の影響と思われる所見はみられなかった。

(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 B 8-1, B 8-2 (実重量)、APPENDIX B 9-1, B 9-2 (体重比) に示した。

雄では、3000ppm群で腎臓の体重比の有意な高値、4400ppm群で解剖時体重の有意な低値とともに胸腺と肝臓の実重量の有意な低値、副腎、精

巢、心臓、肺、腎臓、脾臓、脳の体重比の有意な高値、6700ppm群で解剖時体重の有意な低値とともに胸腺、心臓、腎臓、脾臓、肝臓、脳の実重量の有意な低値、胸腺の体重比の有意な低値、副腎、精巣、心臓、肺、腎臓、脾臓、脳の体重比の有意な高値、10000ppm群で解剖時体重の有意な低値とともに胸腺、心臓、肺、腎臓、脾臓、肝臓、脳の実重量の有意な低値、副腎、精巣、心臓、肺、腎臓、脾臓、肝臓、脳の体重比の有意な高値を認めた。これらの変化の中で腎臓の体重比の増加は、解剖時体重に変化のみられない3000ppm群からの増加であり、後述する雌の結果と考え合わせて、被験物質による直接的な障害の可能性を示唆するものと考えられた。また、胸腺の実重量と体重比の低下は全身状態の不良に伴う変化と考えられた。しかし、4400ppm以上の群にみられた副腎、精巣、心臓、肺、脾臓、肝臓及び脳における変化は解剖時体重の低値に伴った相対的な変化と考えられた。

雌では、3000ppm群と4400ppm群で腎臓の体重比の有意な高値、6700ppm群で解剖時体重の有意な低値とともに胸腺の実重量の有意な低値、腎臓と肝臓の体重比の有意な高値、10000ppm群で解剖時体重の有意な低値とともに胸腺と脳の実重量の有意な低値、副腎、肺、腎臓、肝臓の体重比の有意な高値を認めた。これらのうち、腎臓の体重比の増加は解剖時体重で対照群と有意差のみられない3000ppm群、4400ppm群においてもみられており、被験物質による直接的な障害の可能性を示唆するものと考えられた。なお、6700ppm以上の群にみられた胸腺の実重量の低値は雄に比べ変化量が少なく、解剖時体重の低値に伴う変化と思われた。また、同様に6700ppm以上の群にみられた副腎、肺、肝臓及び脳の変化も解剖時体重の低値に伴った相対的な変化と考えられた。

(3) 病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果を APPENDIX B 10-1, B 10-2, B 10-3に示した。

雄の10000ppm群の死亡例では鼻腔に扁平上皮化生、呼吸上皮の炎症及び嗅上皮の萎縮と核増大、また、肺にうっ血が認められた。

定期解剖動物では、10000ppm群で雌雄とも鼻腔に扁平上皮化生、呼吸上皮の炎症と核増大及び嗅上皮の萎縮と核増大が観察された。その他、投与群では肺、心臓、骨髄、肝臓、腎臓、下垂体、甲状腺、副腎、精巣、前立腺、眼球、ハーダー腺において所見がみられたが、投与群に特徴的な所見、または対照群と比較して顕著に高い発生率を示した所見は認められなかった。

Ⅲ - 2 マウスを用いた試験

Ⅲ - 2 - 1 2週間試験 (試験番号:0157)

1 動物の状態観察

(1) 生死状況

死亡状況は TABLE 10, 11 に示した。

動物の死亡はみられなかった。

(2) 一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX A 1-3, A 1-4 に示した。

投与群では立毛と脱毛が少数例にみられたのみで、被験物質の投与によられると思われる所見は認められなかった。

(3) 体重

体重の推移を TABLE 10, 11 及び APPENDIX A 2-3, A 2-4 に示した。

投与期間を通じて、雌雄各群とも体重は順調に増加し、各投与群と対照群の体重値を比較したが、雌雄とも統計学的有意差はみられなかった。

(4) 摂餌量

摂餌量(1日1匹当り)を TABLE 12, 13 及び APPENDIX A 3-3, A 3-4 に示した。

各投与群と対照群の摂餌量を比較したが、雌雄とも統計学的有意差はみられなかった。

2 血液学的検査・血液生化学的検査

(1) 血液学的検査

血液学的検査の結果を APPENDIX A 4-3, A 4-4 に示した。

各投与群と対照群の各検査項目の測定値を比較したが、雌雄とも統計学的有意差はみられなかった。

(2) 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を APPENDIX A 5-3, A 5-4 に示した。

雌雄の6700ppm群で総コレステロールの有意な増加、雌の4500ppm以上の群でカリウムの有意な増加が認められた。

その他、雌でGOT活性に変化がみられたが、投与量に対応したものではなかった。

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 A 6-1, A 6-2 に示した。

投与群では脾臓の黒色点／斑が少数例にみられたのみで、被験物質の影響と思われる所見はみられなかった。

(2) 病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果を APPENDIX A 7-3, A 7-4 に示した。

雌雄の6700ppm群で前胃の過形成が各1例観察され、被験物質の胃への影響が示唆された。その他、投与群では脾臓、肝臓、精巣上体で所見がみられたが、被験物質の投与によるもの、または被験物質に関連するものと思われる所見は認められなかった。

Ⅲ - 2 - 2 13週間試験 (試験番号:0167)

1 動物の状態観察

(1) 生死状況

生死状況は TABLE 14, 15 に示した。

雄では10000ppm群(1週1日:1例、3日:6例、6日:1例、2週3日:2例)、及び15000ppm群(1週1日)で全例の動物が死亡した。

雌では6700ppm群で1例(1週6日)、10000ppm群で全例(1週1日:4例、3日:6例)及び15000ppm群でも全例の(1週1日)動物が死亡した。

(2) 一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX B 1-1, B 1-2 に示した。

投与群の死亡例では雌雄とも特記すべき所見はみられなかった。また、投与群の生存例でも雌雄ともに脱毛が少数例にみられたのみで、被験物質の投与による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 14, 15、FIGURE 6, 7 及び APPENDIX B 2-3, B 2-4 に示した。

雄では3000ppm群で投与4週目(4週7日)以降継続して、4400ppm群では投与7週目(7週7日)、8週目(8週7日)、11~13週目(11週7日~13週7日)に、6700ppm群では投与1週目(1週7日)、4週目(4週7日)及び6週目(6週7日)以降継続して、それぞれ対照群に比べ体重が有意な低値を示し、雄の生存した全投与群で体重増加の抑制が認められた。なお、10000ppm群の1週目(1週7日)の生存動物2例は、投与開始前より体重が減少し、2週目に死亡した。

雌では6700ppm群で1週目（1週7日）に体重の有意な低値がみられが、その後の体重は順調に増加した。また、その他の生存した群においても投与期間を通じて体重は順調に増加した。

（４）摂餌量

摂餌量（1日1匹当り）を TABLE 16, 17、FIGURE 8, 9 及び APPENDIX B 3-3, B 3-4 に示した。

6700ppm群で雄は1、6週目、雌は7、8週目に摂餌量の有意な低値がみられたが、他の週では有意差はみられず、特に摂餌量の減少は認められなかった。また、その他の生存した投与群では、雌雄とも対照群との間に統計学的有意差はみられなかった。

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

血液学的検査の結果を APPENDIX B 4-3, B 4-4 に示した。

雌の6700ppm群でヘモグロビン濃度の有意な増加がみられた。その他、雌でMCHに変化がみられたが、投与量に対応したものではなかった。

（２）血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を APPENDIX B 5-3, B 5-4 に示した。

雄の生存していた全投与群でトリグリセライドの有意な減少がみられた。

（３）尿検査

尿検査の結果を APPENDIX B 6-3, B 6-4 に示した。

雄の生存していた全投与群でケトン体の陽性度の有意な増加が認められた。その他、雄でpH値に変化がみられたが、投与量に対応したものではなかった。

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 B 7-4, B 7-5, B 7-6, B 7-7 に示した。

死亡例では、肺の赤色斑が10000ppm群の雌1例及び15000ppm群の雄1例、雌2例で観察された。その他の死亡例には著変を認めなかった。

定期解剖動物では、脾臓の黒色斑が少数例にみられたのみで、被験物質の投与によると思われる所見は認められなかった。

(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 B 8-3, B 8-4 (実重量)、APPENDIX B 9-3, B 9-4 (体重比)に示した。

雄では、3000ppm群で解剖時体重の有意な低値とともに、胸腺の実重量の有意な低値、精巣、心臓、肺、腎臓、脾臓、肝臓、脳の体重比の有意な高値、4400ppm群で解剖時体重の有意な低値とともに肺、腎臓、肝臓の体重比の有意な高値、6700ppm群で解剖時体重の有意な低値とともに胸腺の実重量の有意な低値、精巣、心臓、肺、腎臓、肝臓、脳の体重比の有意な高値を認めた。しかし、これらの変化は解剖時体重の低値に伴った相対的な変化と考えられた。

雌では各臓器とも投与群と対照群の間に著変を認めなかった。

(3) 病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果を APPENDIX B 10-4, B 10-5, B 10-6, B 10-7 に示した。

死亡例では雌で鼻腔の嗅上皮の空胞変性、肺のうっ血や出血が観察された。その他、胃、肝臓、副腎に所見がみられたが、特に被験物質の影響とは思われなかった。

定期解剖動物では6700ppm群で雌雄ともに鼻腔の嗅上皮に核増大、また前胃に過形成が観察された。また、同群の雄では腎臓の近位尿細管上皮の空胞化の発生低下もみられた。その他、投与群では脾臓、肝臓、副腎、卵巣において所見がみられたが、投与群に特徴的な所見、または対照群と比較して顕著に高い発生率を示した所見は認められなかった。

Ⅳ 考察及びまとめ

ラット

<2週間試験>

ラットの2週間試験の結果、全投与群とも動物の死亡はみられなかった。投与群では雌雄とも立毛がみられ、特に投与期間後期は高濃度群で多数例にみられた。また、雄の6700ppm以上の群と雌の10000ppm群では、摂餌量の減少に伴う体重増加の抑制がみられ、さらに雄ではその他の投与群においても体重増加に抑制傾向が認められた。血液学的検査及び血液生化学的検査では、雄の6700ppm以上の群で赤血球数、ヘマトクリット値の増加、10000ppm群でヘモグロビン濃度の増加がみられ、また、雌の全投与群に尿素窒素の減少がみられたが、いずれもごく軽度のものであった。病理学的検査では著変を認めなかった。

これらの結果から13週間試験の投与濃度を考えると、2週間試験の最高濃度の10000ppm群では雌雄で立毛、体重増加の抑制、摂餌量の減少がみられ、また、血液学的検査及び血液生化学的検査の一部で変化がみられた。しかし、これらはすべて重篤なものではないことから、13週間試験においても10000ppmは動物が耐え得る濃度と考え、13週間試験の最高濃度は10000ppmとした。また、最低濃度の2000ppm群では、雄で体重増加に抑制傾向がみられたのみであることから、13週間試験の最低濃度も2000ppmとし、動物の変化をみることにした。すなわち、13週間試験の投与濃度は雌雄とも最高濃度を10000ppmとし、以下6700、4400、3000、2000ppm（公比1.5 10の位四捨五入）とした。

<13週間試験>

13週間試験の結果、雄の10000ppm群で3例の死亡（5週1例、9週2例）がみられた。体重の推移では、雄の4400ppm以上、雌の6700ppm以上の群で体重増加の抑制がみられ、雌の3000ppm群と4400ppm群では体重増加に抑制傾向がみられた。また、上記の投与群ではそれぞれ、摂餌量の減少または減少傾向がみられた。血液学的検査では、雌の3000ppm以上の群でMCVの減少、10000ppm群でMCHの減少が認められたが、赤血球数やヘモグロビン濃度に変化がなく被験物質の影響は軽微なものと考えられた。血液生化学的検査及び尿検査では、雌雄の6700ppm以上の群でGPT活性の低下、雄の6700ppm以上の群でGOT活性の低下、尿素窒素の減少、雄の10000ppm群でグルコース、トリグリセライドの減少、雄の4400ppm以上の群で尿蛋白の陽性度の減少がみられ、これらは体重増加の抑制や摂餌量の減少に関連した

変化と思われた。また、雄の全投与群でALP活性の低下がみられた。他の観察や検査結果でこの変化を示唆するものがみられず、その意味するところは本試験結果からは不明であったが、被験物質の投与によるものと思われた。臓器重量の測定では、雌雄の3000ppm以上の群で腎臓の体重比の高値が認められ、被験物質の直接的な影響を示唆するものと考えられた。また、雄の4400ppm以上の群の胸腺の重量低下は、全身状態の不良に伴うものと考えられた。病理組織学的検査では、雄の10000ppm群の死亡例で鼻腔に扁平上皮化生、呼吸上皮の炎症、嗅上皮の萎縮と核増大及び肺のうっ血がみられた。定期解剖例でも、雌雄の10000ppm群で、鼻腔に扁平上皮化生、呼吸上皮の炎症と核増大、嗅上皮の萎縮と核増大がみられた。

これらの結果からがん原性試験の投与濃度を考えると、最高濃度は13週間試験において、雄で体重増加の抑制（最終体重：対照群に対し87%）、雌で体重増加の抑制傾向（最終体重：同92%）、その他、雌雄で摂餌量の減少傾向、腎臓の体重比の増加、雄でALP活性の低下、尿蛋白の陽性度の減少、胸腺の重量低下、雌でMCVの減少がみられた4400ppmと、雌で体重増加の抑制傾向（最終体重：同93%）、その他、雌雄で腎臓の体重比の増加、雄でALP活性の低下、雌で摂餌量の減少傾向、MCVの減少がみられた3000ppmの間で、より3000ppmに近い濃度が適当であると考えられた。また、最低濃度は現行許容濃度の200ppm（日本産業衛生学会）及び350ppm（ACGIH）を考慮して設定した（文献3）。すなわち、がん原性試験の投与濃度は、雌雄とも最高濃度を3200ppmとし、以下800、200ppm（公比4）とした。

マウス

< 2週間試験 >

マウスの2週間試験の結果、全投与群とも死亡はみられなかった。動物の一般状態の観察、体重測定、摂餌量の測定及び血液学的検査でも、被験物質の影響は認められなかった。血液生化学的検査では、雌雄の6700ppm群で総コレステロールの増加、雌の4500ppm以上の群でカリウムの増加がみられ、これらの変化は被験物質の投与によるものと思われたが、他の検査項目では変化がみられず、その毒性学的意味は不明であった。病理組織学的検査では、雌雄の6700ppm群で前胃の過形成が一部の例にみられ、被験物質の胃への影響が示唆された。

これらの結果から13週間試験の投与濃度を考えると、2週間試験では動物への被験物質の影響はほとんどみられず、最高濃度の6700ppm群においても血液生化学的検査の一部の軽度な変化と被験物質の胃への影響が示唆される所見がみられただけであった。また、ラットの2週間試験における同濃度群の動物の状態と比較して、マウスの13週間試験における最大耐量はラットのそれよりも高いと考え、最高濃度は15000ppmに設定した。最低濃度は2週間試験で被験物質の影響がまったくみられなかった、3000ppmに設定した。すなわち、13週間試験の投与濃度は、雌雄とも最高濃度を15000ppmとし、以下10000、6700、4400、3000ppm（公比1.5 10の位四捨五入）とした。

< 13週間試験 >

13週間試験の結果、雌雄とも10000ppm群と15000ppm群で全例の動物が死亡し、雌では6700ppm群でも1例が死亡した。体重の推移をみると、雄では生存していた全投与群（3000ppm群、4400ppm群、6700ppm群）で体重増加の抑制がみられたが、雌では体重値に被験物質の影響はみられなかった。血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査では、雌の6700ppm群のヘモグロビン濃度の増加がみられたが、他の赤血球系の項目に変化がみられず被験物質の影響は軽度であると考えられた。また、雄の全投与群でトリグリセライドの減少、尿ケトン体の陽性度の増加がみられたが、他の観察や検査結果でこれらの変化を示唆するものがみられず、その意味するところは本試験結果からは不明であった。病理組織学的検査では、死亡例の雌に鼻腔の嗅上皮の空胞変性、肺のうっ血や出血がみられた。定期解剖例では、6700ppm群で雌雄ともに鼻腔の嗅上皮の核増大、前胃の過形成、雄で腎臓の近位尿細管上皮の空胞化の発生低下がみられた。

これらの結果からがん原性試験の投与濃度を考えると、13週間試験では雄で最低濃度の3000ppm群まで体重増加の抑制がみられたが、雄の3000ppm

群の最終体重の低下は対照群の値の10%未満であり、他に血液生化学的検査、尿検査の一部に変化がみられただけであることから、がん原性試験の最高濃度は3000ppm付近が適当であると考えられた。また、最低濃度は現行許容濃度の200ppm（日本産業衛生学会）及び350ppm（ACGIH）を考慮して設定した（文献3）。すなわち、がん原性試験の投与濃度は、雌雄とも最高濃度を3200ppmとし、以下800、200ppm（公比4）とした。

V 文献

1. William W.Simons (1978)
Sadtler Handbook of Infrared Spectra
pp106, Sadtler Research Laboratories, Inc.
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. 中央労働災害防止協会(1991)
化学物質の危険・有害便覧
pp698, 中央労働災害防止協会, 東京