

グリシドー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：0343

CAS No. 556-52-5

2003年3月25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

グリシドー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：0343

本 文

## 本文目次

	頁
要約 .....	1
I 試験材料	
I-1 被験物質の性状等	
I-1-1 名称等 .....	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 被験物質の特性・同一性、安定性	
I-3-1 特性・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 .....	5
II-1-2 被験物質の投与方法 .....	5
II-1-3 投与期間 .....	5
II-1-4 投与濃度 .....	5
II-1-5 投与方法、投与期間及び投与濃度の設定理由 .....	5
II-1-6 被験物質の発生方法と濃度調整 .....	6
II-1-7 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 .....	7
II-2-3 飼育条件 .....	7

## 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	8
II-3-2 体重測定	9
II-3-3 摂餌量測定	9
II-3-4 血液学的検査	9
II-3-5 血液生化学的検査	9
II-3-6 尿検査	9
II-3-7 病理学的検査	10

## 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	10
II-4-2 母数の取り扱い	11
II-4-3 統計方法	11

## III 試験成績

III-1 生死状況	13
III-2 一般状態	13
III-3 体重	13
III-4 摂餌量	14
III-5 血液学的検査	14
III-6 血液生化学的検査	14
III-7 尿検査	14
III-8 病理学的検査	
III-8-1 剖検	14
III-8-2 臓器重量	15
III-8-3 病理組織学的検査	15
III-8-4 死因	20

## IV 考察及びまとめ

IV-1 腫瘍性及び腫瘍関連病変	21
IV-2 非腫瘍性病変	25
IV-3 他文献との比較等	26

V	結論 .....	28
---	----------	----

VI	文献 .....	29
----	----------	----

## 要約

グリシドールのがん原性を検索する目的で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Crj:BDF<sub>1</sub>マウスを用い、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400匹)を使用した。投与はグリシドールを1日6時間、1週5日間、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4 ppm、13 ppm、40 ppm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。

雌雄とも13 ppm以上の群で生存率が低く、特に40 ppm群で低かった。雄は鼻腔腫瘍、雌は鼻腔と子宮の腫瘍に起因した。体重は雄の40 ppm群で対照群に比べ低値であった。

腫瘍性病変として、雌雄とも鼻腔腫瘍の顕著な発生増加が認められた。鼻腔腫瘍は血管肉腫と血管腫が多く、腺癌、腺腫、扁平上皮癌、扁平上皮乳頭腫の発生増加もみられた。また、雄にはハーダー腺(腺腫)、皮下組織(組織球性肉腫)及び末梢神経(組織球性肉腫)の腫瘍、雌にはハーダー腺(腺腫)、子宮(組織球性肉腫)及び乳腺(腺癌)の腫瘍の増加もみられた。これらの腫瘍が有意な発生増加を示した濃度は、雌雄の鼻腔の血管肉腫と血管腫が13 ppm以上、ハーダー腺の腺腫が40 ppm、雄の鼻腔の腺癌と腺腫を合わせた発生率が40 ppm、雌の子宮腫瘍(組織球性肉腫)が13 ppm以上、鼻腔の腺癌と腺腫を合わせた発生率及び扁平上皮癌と扁平上皮乳頭腫を合わせた発生率が40 ppmであった。

鼻腔には腫瘍の発生以外に、雌雄とも異型化を伴う呼吸上皮の扁平上皮化生と扁平上皮過形成、粘膜下の腺及び嗅上皮の呼吸上皮化生の発生増加、雌に移行上皮の過形成がみられた。これらの病変が有意な発生増加を示した濃度は主に13 ppm以上であったが、雌の粘膜下の腺及び嗅上皮の呼吸上皮化生は4 ppm群まで有意な発生増加となった。

以上のように、Crj:BDF<sub>1</sub>マウスを用いたグリシドールの吸入による2年間(104週)のがん原性試験の結果、雄では、鼻腔腫瘍(血管肉腫、血管腫、腺癌、腺腫、扁平上皮癌、扁平上皮乳頭腫)と皮下組織及び末梢神経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、グリシドールの雄マウスに対するがん原性を示す明らかな証拠であると考察された。雌でも鼻腔腫瘍(血管肉腫、血管腫、腺癌、腺腫、扁平上皮癌、扁平上皮乳頭腫)、子宮腫瘍(組織球性肉腫)及び乳腺腫瘍(腺癌)の発生増加が認められ、これらの腫瘍の発生増加は、グリシドールの雌マウスに対するがん原性を示す明らかな証拠であると考察された。また、雌雄とも鼻腔には異型化を伴う呼吸上皮の扁平上皮化生と扁平上皮過形成の発生がみられ、粘膜下の腺及び嗅上皮の呼吸上皮化生の発生増加も認められた。



## グリシドー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	4	13	40	ペトー 検 定	コクラン アミ テージ 検 定
	検 査 動 物 数		50	50	50	50 <sup>a)</sup>		
良性腫瘍	鼻腔	腺腫	0	0	3	2	↑	
		血管腫	0	3	13**	7**	↑↑	
	ハーダー腺	腺腫	2	6	7	10*	↑	↑
	肺	細気管支 - 肺胞上皮腺腫	3	5	5	5		
	肝臓	血管腫	3	2	3	2	↑	
		肝細胞腺腫	11	11	5	3*		↓
悪性腫瘍	鼻腔	腺癌	0	0	0	3	↑↑	↑↑
		血管肉腫	0	0	17**	33**	↑↑	↑↑
	皮下	組織球性肉腫	1	1	3	3	↑↑	
	末梢神経	組織球性肉腫	1	0	3	3	↑	
	肺	細気管支 - 肺胞上皮癌	4	7	3	4	↑	
	リンパ節	悪性リンパ腫	5	8	9	4	↑	
	肝臓	肝細胞癌	4	8	5	0		↓
	鼻腔	腺腫/腺癌	0	0	3	5*	↑↑	↑↑
		血管腫/血管肉腫	0	3	30**	40**	↑↑	↑↑
	肺	細気管支 - 肺胞上皮腺腫	7	11	8	9	↑	
		/細気管支 - 肺胞上皮癌						
	肝臓	肝細胞腺腫/肝細胞癌	15	18	10	3**		↓↓

a) ハーダー腺の検査動物数は49

## グリシドー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	4	13	40	ペトー 検 定	コクラン アミ テージ 検 定
	検 査 動 物 数		50	50	50	49		
良性腫瘍	鼻腔	腺腫	0	0	0	3	↑↑	↑↑
		血管腫	0	0	5*	10**	↑↑	↑↑
		扁平上皮乳頭腫	0	0	1	1		
	ハーダー腺	腺腫	1	1	6	7*	↑↑	↑↑
	肺	細気管支 - 肺胞上皮腺腫	2	1	1	3	↑	
悪性腫瘍	鼻腔	腺癌	0	0	0	2		
		血管肉腫	0	1	16**	21**	↑↑	↑↑
		扁平上皮癌	0	0	0	4	↑↑	↑↑
	子宮	組織球性肉腫	12	15	22*	18	↑↑	
	乳腺	腺癌	2	0	5	4	↑	
	肺	細気管支 - 肺胞上皮癌	2	0	2	1		
	リンパ節	悪性リンパ腫	17	14	14	6**		↓
	脾臓	悪性リンパ腫	4	2	2	1		
	鼻腔	腺腫/腺癌	0	0	0	5*	↑↑	↑↑
		血管腫/血管肉腫	0	1	21**	31**	↑↑	↑↑
	肺	扁平上皮乳頭腫/扁平上皮癌	0	0	1	5*	↑↑	↑↑
		細気管支 - 肺胞上皮腺腫	4	1	3	4	↑↑	
		/細気管支 - 肺胞上皮癌						

検定結果については生物学的意義を考慮して記載した。

\*:有意水準5%以下で有意

↑:有意水準5%以下で有意増加

↓:有意水準5%以下で有意減少

\*:有意水準1%以下で有意 (フィッシャー検定)

↑↑:有意水準1%以下で有意増加 (ペトー、コクランアミテージ 検定)

↓↓:有意水準1%以下で有意減少 (コクランアミテージ 検定)

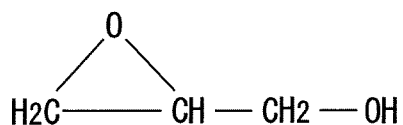
## I 試験材料

## I-1 被験物質の性状等 (文献 1)

## I-1-1 名称等

名 称 : グリシドール (Glycidol)  
 IUPAC 名 : 2,3-エポキシプロパン-1-オール (2,3-Epoxypropan-1-ol)  
 CAS No. : 556-52-5

## I-1-2 構造式、分子量



分子量 : 74.08

## I-1-3 物理化学的性状等

性 状 : 無色透明の液体  
 沸 点 : 166~167°C (分解)  
 比 重 : 1.1143(25°C)  
 溶 解 性 : 水、エタノール、エーテル、ベンゼンに可溶  
 保存条件 : 20°C以下で保管

## I-2 被験物質の使用ロット等

使用ロット番号 : WTK5337 (1997年10月24日~1998年8月5日)  
 PAL5331 (1998年8月6日~1999年4月6日)  
 CKP4929 (1999年4月7日~1999年10月21日)

製 造 元 : 和光純薬工業株式会社  
 グ レ ー ド : 化学用 (和光規格合格品)  
 純 度 : 85%以上 (和光純薬工業(株)検査成績書データ)



### I-3 被験物質の特性・同一性、安定性

#### I-3-1 特性・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 (Hitachi M-80B) により測定し、また、赤外吸収スペクトルを赤外分光光度計 (Shimadzu FTIR-8200PC) により測定し、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、被験物質のマススペクトルは文献値 (文献 2) 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 3) と同じ波長にピークが認められ、被験物質はグリシドールであることを確認した。

なお、それらの結果は APPENDIX O 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ガスクロマトグラムをガスクロマトグラフ (Hewlett Packard 5890A) により測定し、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、測定結果に差はみられず、使用期間中の被験物質はそれぞれ安定であることを確認した。

なお、それらの結果は APPENDIX O 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) (厚木飼育センター：神奈川県厚木市下古沢 795) の Crj:BDF<sub>1</sub> マウス (SPF) の雌雄を使用した。なお、動物は遺伝的に安定していること、腫瘍の自然発生率が低いこと、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からの理由から、Crj:BDF<sub>1</sub> マウスとした。

雌雄各 227 匹を生後 4 週齢で導入し (導入時体重範囲、雄:14.6~18.8g、雌:13.1~16.8g)、各 1 週間の検疫、馴化を経た後、発育順調で異常を認めない動物から、体重値の中央値に近い雌雄各 200 匹 (群構成時体重範囲、雄:20.8~23.9g、雌:16.5~19.5g) を選別し、試験に供した。

## II 試験方法

### II-1 投与

#### II-1-1 投与経路

投与経路は全身暴露による経気道投与とした。

#### II-1-2 被験物質の投与方法

投与は試験動物を収容した吸入チャンバー内に、設定濃度に調整したグリシドール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。なお、対照群は新鮮空気による換気のみとした。

#### II-1-3 投与期間

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）の暴露を行った。投与期間中の総暴露回数は104週間で489回であった。

#### II-1-4 投与濃度

4 ppm、13 ppm 及び 40 ppm の3段階（公比 3.15）の投与濃度を設定した。

#### II-1-5 投与方法、投与期間及び投与濃度の設定理由

投与方法は、労働環境における暴露経路に合わせ、全身暴露による経気道投与とした。

投与期間は、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：0317、設定濃度：5 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 40 ppm, 80 ppm）の結果（文献 5）より設定した。すなわち 13週間試験では、グリシドールの暴露による死亡はみられなかったが、80 ppm 群の雌雄及び 40 ppm 群の雄で体重増加の抑制がみられ、10 ppm 以上の群では雌雄ともに病理組織学的検査で鼻腔に傷害がみられた。それらの変化の中で、80 ppm 群の雄の体重増加の抑制は強く、2年間の投与には耐えられないと考えられた。40 ppm 群は体重増加の抑制（雄）、鼻腔の傷害（雌雄）ともに軽度であり、がん原性試験の最高濃度として妥当と考えられた。また、最低濃度はグリシドールの影響がほとんどみられなかった 5 ppm 前後が妥当と考えられた。以上により、がん原性試験の最

高濃度を 40 ppm とし、以下 13 ppm、4 ppm（公比 3.15）とした。

## II-1-6 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 に示した。被験物質供給装置（柴田科学株式会社 特注）の発生容器内のグリシドールを循環式恒温槽で一定温度に加熱しながら、清浄空気のバブリングにより蒸発させた。このグリシドール蒸気を循環式恒温槽で一定温度に冷却し、清浄空気で希釈後、さらに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上部のラインミキサーに供給した。

吸入チャンバー内のグリシドール濃度はガスクロマトグラフにより監視し、その濃度データをもとに設定濃度になるようにグリシドールの吸入チャンバーへの供給流量を調節した。

## II-1-7 被験物質の濃度測定

吸入チャンバー内のグリシドールの濃度は自動サンプリング装置付ガスクロマトグラフ（Shimadzu GC-14A）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。測定結果を APPENDIX P 1 に示した。

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、4 ppm 群：4.0±0.1 ppm、13 ppm 群：13.0±0.2 ppm、40 ppm 群：40.0±0.6 ppm であり、各投与群ともに設定濃度に近似した値であった。

## II-2 動物管理

### II-2-1 各群の使用動物数

投与群 3 群及び対照群 1 群の計 4 群を設け、各群雌雄各 50 匹の動物を用いた。

各群の使用動物数と動物番号

群番号	群名称	雄 使用動物数（動物番号）	雌 使用動物数（動物番号）
0	対 照 群	50 匹（1001-1050）	50 匹（2001-2050）
1	4 ppm 群	50 匹（1101-1150）	50 匹（2101-2150）
2	13 ppm 群	50 匹（1201-1250）	50 匹（2201-2250）
3	40 ppm 群	50 匹（1301-1350）	50 匹（2301-2350）

## II-2-2 群分け及び個体識別方法

供試動物の各群への割り当ては、発育順調で異常を認めない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）。

試験期間中の動物の個体識別は、検疫期間及び馴化期間は色素塗布により、投与期間は耳パンチにより行い、またケージにも個体識別番号を付した。

なお、動物はバリア区域（AC-7 空調エリア）内の独立した室（502 室）に収容し、飼育室に試験番号、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

動物は検疫室で 1 週間の検疫飼育を行った後、吸入チャンバー内に移動し馴化を開始した。馴化期間も 1 週間とし、投与開始日の前日に群構成を行った。投与期間中は吸入チャンバー内で飼育した。

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動物ケージを下表に示した。検疫室の温度、湿度、吸入試験室の温度については測定値（平均値±標準偏差）を（ ）内に記した。また、吸入チャンバー内環境の計測結果は APPENDIX P 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は、動物の状態に影響を与えるような変化は認められなかった。

飼 育 環 境 条 件

	検疫室 (517 室:A) (518 室:B)	吸入試験室 (502 室)	吸入チャンバー内	
			馴化期間	投与期間
温度	22±2℃ (A:22.1±0.2℃) (B:22.3±0.1℃)	22±2℃ (22.0±0.4℃)	22±2℃	
湿度	55±15% (A:50.5±0.9%) (B:48.8±0.9%)	—	55±15%	
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		12±1 回/時	
圧力	—	—	0～－15mmAq	

## 使 用 ケ ー ジ

	検疫室 (517、518 室)	吸入試験室 (502 室)	吸入チャンバー内	
			馴化期間	投与期間
ケージへの動物 の収容方法	単飼	—	単飼	単飼
ケージの材質・ 形状	ステンレス製 2 連ケージ	—	ステンレス製 6 連ケージ	ステンレス製 5 連ケージ
ケージ寸法 1 匹当り (mm)	W112 D212 H120	—	W 95 D116 H120	W100 D116 H120

飼料は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- $\gamma$ 線照射滅菌飼料、LOT No. 970708, 970808, 970906, 971008, 971112, 971208, 980110, 980207, 980307, 980409, 980508, 980608, 980709, 980810, 980904, 981014, 981105, 981209, 990109, 990203, 990309, 990406, 990511)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。ただし、定期解剖日の前日の夕方からは給餌しなかった。

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、試験に使用した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使用ロットごとに入手し、保管した。飼料中の夾雑物については(財)日本食品分析センター(東京都渋谷区元代々木町 52-1)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秦野研究所(神奈川県秦野市落合 729-5)に3ヶ月毎に分析を委託し、それぞれ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

全動物について、生死及び瀕死の確認を毎日1回行った。また、一般状態の詳細観察は、検疫及び馴化期間は導入時、馴化開始時及び群構成時に行い、投与期間は毎週1回、暴露開始前に行った。

### II-3-2 体重測定

検疫及び馴化期間は、全動物について導入時、馴化開始時及び群構成時に体重測定を行い、投与期間は、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）、体重を測定した。また、動物の死亡発見、切迫屠殺及び定期解剖の搬出時にも体重（搬出時体重）を測定した。

### II-3-3 摂餌量測定

投与開始後 14 週間は週に 1 回、それ以降は 4 週に 1 回（104 週にも測定）給餌量と残餌量を測定し、その値から摂餌量を算出した。

### II-3-4 血液学的検査

定期解剖時に生存している採血可能な動物について、剖検直前にエーテル麻酔下で腹大動脈より EDTA-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 Q に示した。なお、検査対象動物は解剖日前日夕方より絶食(18 時間以上)させた。

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、平均赤血球ヘモグロビン量、平均赤血球ヘモグロビン濃度、血小板数、白血球数、白血球分類

### II-3-5 血液生化学的検査

定期解剖時に生存している採血可能な動物について、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、下記の項目について検査を行った。検査方法は APPENDIX Q に示した。なお、検査対象動物は解剖日前日夕方より絶食(18 時間以上)させた。

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、GOT、GPT、LDH、ALP、 $\gamma$ -GTP、CPK、尿素窒素、ナトリウム、カリウム、クロール、カルシウム、無機リン

### II-3-6 尿検査

投与 104 週まで生存した動物について新鮮尿を採取し、尿試験紙（バイエル・三共（株）製）を用いて、下記の項目について検査を行った。

検査項目：pH、蛋白、グルコース、ケトン体、潜血、ウロビリノーゲン

## Ⅱ-3-7 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下記に示した各臓器の湿重量（実重量）を測定した。また、各臓器の湿重量の定期解剖時の体重に対する百分率（臓器重量体重比）も算出した。

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、組織を摘出後、10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液にて固定し、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。

皮膚、鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺、骨髓（大腿骨）、リンパ節（腋窩、腹壁等）、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）、その他、肉眼的に変化のみられた器官、組織

## 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

各数値データは計測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については ppm を単位として、小数点以下 4 位まで計測し、小数点以下第 2 位を四捨五入し小数点以下第 1 位までを表示した。

体重については g を単位とし、小数点以下第 1 位まで計測し、表示した。

摂餌量については g を単位とし、給餌量及び残餌量を小数点以下第 1 位まで計測し、給餌量値から残餌量値を減じて摂餌量とした。この値を計測期間の日数で除し 1 日あ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、血液生化学的検査は APPENDIX Q に示した単位と精度により表示した。  
 なお、各数値データの平均値及び標準偏差は上記に示した桁数と同様になるよう四捨五入  
 を行い表示した。

#### II-4-2 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 104 週まで生存した動物を対象に行い、検査ができた動物数を母数とし  
 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、病理組織学的検査データについては臓  
 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原則として対照群を基準  
 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、対照群と各投与群間で  $\chi^2$  検定を行っ  
 た。検定は所見のみられなかった動物をグレード 0 として分類し各グレード毎の動物の度  
 数分布により行った。また、尿検査についても対照群と各投与群間との  $\chi^2$  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 7）、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。

各検定は 5% の有意水準で両側検定（Peto 検定、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定  
 は片側検定）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キスト

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/瀕死動物にみつかった腫瘍で、直接死因に係わっていた腫瘍

### Ⅲ 試験成績

#### Ⅲ-1 生死状況

投与期間中における群別の生存状況を TABLE 1, 2 及び FIGURE 2, 3 に示した。なお、雌の 40 ppm 群の 1 匹（動物番号 0343-2330）は投与 1 週に事故により死亡したため、この群の有効動物数はこの 1 匹を除いた 49 匹となった。

最終計測週（104 週）における生存数（生存率）は、雄では対照群：38 匹(76.0%)、4 ppm 群：35 匹(70.0%)、13 ppm 群：18 匹(36.0%)、40 ppm 群：3 匹(6.0%)であった。雌では、対照群：28 匹(56.0%)、4 ppm 群：22 匹(44.0%)、13 ppm 群：10 匹(20.0%)、40 ppm 群：1 匹(2.0%)であった。

対照群と比較して、雌雄ともに 13 ppm 以上の群で生存率が低く、特に 40 ppm 群は顕著に低かった。

#### Ⅲ-2 一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX A 1, 2 に、外部腫瘍、内部腫瘍の発生動物数（一般状態の観察時に腫瘍を視診または触診できた数）を TABLE 3, 4 に示した。

投与期間を通しての外部腫瘍の発生動物数は、雄では対照群：4 匹、4 ppm 群：5 匹、13 ppm 群：9 匹、40 ppm 群：14 匹、雌では対照群：3 匹、4 ppm 群：1 匹、13 ppm 群：7 匹、40 ppm 群：8 匹であり、雌雄ともに 13 ppm 以上の群で対照群と比較して発生数の増加がみられた。

投与期間を通しての内部腫瘍の発生動物数は、雄では対照群：10 匹、4 ppm 群：13 匹、13 ppm 群：10 匹、40 ppm 群：3 匹、雌では対照群：20 匹、4 ppm 群：21 匹、13 ppm 群：22 匹、40 ppm 群：12 匹であり、雌雄ともに 40 ppm 群で対照群と比較して発生が少なかった。

その他の一般状態には、雌雄とも投与群と対照群との間に特記すべき差を認めなかった。

#### Ⅲ-3 体重

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

雄の 40 ppm 群は、対照群に比べ投与期間の前半よりやや低い値で推移し、後半は低値となった。雌の 40 ppm 群と雄の 13 ppm 群は、対照群と同様な値で推移していたが、投与期間の終盤に対照群に比べ低値となった。

最終計測時の体重は、対照群に対して雄は 4 ppm 群：103%、13 ppm 群：80%、40 ppm

群：61%、雌は4 ppm 群：103%、13 ppm 群：107%、40 ppm 群：69%であった。

### Ⅲ-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 5, 6、FIGURE 6, 7 及び APPENDIX C 1, 2 に示した。

雄の40 ppm 群は投与期間の後半、雌の40 ppm 群と雄の13 ppm 群は投与期間の終盤に对照群に比べ低値であった。

### Ⅲ-5 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。なお、40 ppm 群は、雌雄ともにデータ数が3匹未満のため結果の評価から除外した。

被験物質の暴露の影響と思われる変化はみられなかった。

### Ⅲ-6 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。なお、雌の40 ppm 群はデータ数が3匹未満のため結果の評価から除外した。

雄は、40 ppm 群でグルコース、総コレステロール、トリグリセライド及びリン脂質の減少、13 ppm 群でグルコース、総コレステロール及びリン脂質の減少がみられた。

雌では、各項目とも変化を認めなかった。

### Ⅲ-7 尿検査

投与104週に行った尿検査の結果を APPENDIX F 1, 2 に示した。なお、雌の40 ppm 群はデータ数が3匹未満のため結果の評価から除外した。

被験物質の暴露の影響と思われる変化はみられなかった。

### Ⅲ-8 病理学的検査

#### Ⅲ-8-1 剖検

解剖時に観察された剖検所見を APPENDIX G 1~6 及び PHOTOGRAPH 1 に示した。

雄は、ハーダー腺に結節がみられる動物が13 ppm 群と40 ppm 群が多かった。また、少数例ではあるが、鼻腔の赤色斑（2匹）及び鼻の隆起（2匹）と結節（1匹）が40 ppm 群

の動物に観察された。

雌にも、少数例ではあるが、鼻腔の赤色斑が 13 ppm 群 (1 匹) と 40 ppm 群 (2 匹)、鼻の結節が 40 ppm 群 (1 匹) の動物に観察された。

### Ⅲ-8-2 臓器重量

定期解剖時に測定した臓器の実重量と体重比を TABLE 7, 8 及び APPENDIX H 1, 2, I 1, 2 に示した。なお、雌の 40 ppm 群はデータ数が 3 匹未満のため結果の評価から除外した。

雄は、実重量の低値が 13 ppm 群と 40 ppm 群の心臓と脾臓及び 40 ppm 群の肝臓に示された。また、体重比の高値が 13 ppm 群と 40 ppm 群の精巣、肺及び脳に示された。しかし、これらの変化は、実重量の低値あるいは体重比の高値のみの変化であり、また、これらの群の解剖時体重が低値であることから、解剖時体重の低下に伴った変化であると判断した。なお、腎臓の体重比も 13 ppm 群と 40 ppm 群で有意な低値を示したが、生物学的な意義は明らかではないと判断した。

雌では、4 ppm 群で卵巣の実重量と体重比に有意差が示されたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

他にも投与濃度に対応した臓器重量の変化は認められなかった。

### Ⅲ-8-3 病理組織学的検査

主な腫瘍性病変と非腫瘍性病変の発生数を TABLE 9, 10 に示した。また、非腫瘍性病変を APPENDIX J 1~6 に示した。腫瘍性病変の結果は、担腫瘍動物数と腫瘍数を APPENDIX K 1, 2 に、腫瘍の種類別の発生数を APPENDIX L 1, 2 に、統計解析 (Peto 検定、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定) の結果を TABLE 11, 12 及び APPENDIX M 1, 2 に、転移性病変を APPENDIX N 1~6 に示した。本試験でみられた腫瘍の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 (発生匹数/総匹数と平均発生率(%))、試験毎の発生率 (最小%~最大%) を雌雄別にそれぞれ TABLE 14, 15 に示した。さらに、観察された所見の代表例を PHOTOGRAPH 2~18 に示した。

なお、雌の 40 ppm 群の 1 匹は事故により死亡したため、この群の検査動物数は 49 匹であった。

#### 1. 腫瘍性病変

腫瘍の発生増加が雄の鼻腔、ハーダー腺、皮下組織、末梢神経、肺、リンパ節及び肝臓、雌の鼻腔、ハーダー腺、子宮、乳腺及び肺にみられた。

—雄—

#### <鼻腔>

血管肉腫、血管腫、腺癌及び腺腫の発生増加がみられた。

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 13 ppm 群と 40 ppm 群に発生増加が認められた。また、血管腫の発生も Peto 検定（死亡率法、有病率法、死亡率法＋有病率法）で増加傾向を示し、Fisher 検定で 13 ppm 群と 40 ppm 群に発生増加が認められた。なお、血管腫と血管肉腫の発生を合わせた発生率も 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 13 ppm 群と 40 ppm 群に発生増加を認めた。血管肉腫や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ではこれまで観察されていない腫瘍であるが、血管肉腫は 13 ppm 群の 34.0%と 40 ppm 群の 66.0%、血管腫は 4 ppm 群の 6.0%、13 ppm 群の 26.0%及び 40 ppm 群の 14.0%に発生していた。血管肉腫と血管腫の発生部位は、雌雄とも鼻腔前半部の鼻中隔や鼻甲介、上顎甲介、側壁の粘膜固有層であり、特に鼻中隔に腫瘍が存在する動物が多かった。血管肉腫と血管腫は、内皮と薄い間質に囲まれた血管様の組織により形成されていた。腫瘍組織は血液により満たされた広い内腔を持つものが多く、その組織型は海綿状血管腫に分類される。血管肉腫と診断した腫瘍は、内皮に細胞異型、すなわち、核に顕著な大型化と不整化のみられる細胞の出現が特徴であった。

腺癌の発生は 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、また、腺腫の発生も Peto 検定（有病率法）で増加傾向を示した。なお、腺腫と腺癌の発生を合わせた発生率は 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 40 ppm 群に発生増加が認められた。腺癌は当センターのヒストリカルコントロールデータではこれまで観察されていない腫瘍であるが、40 ppm 群の 6.0%に発生していた。また、腺腫も 13 ppm 群の 6.0%と 40 ppm 群の 4.0%に発生しており、当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲を越えていた。なお、腺癌と腺腫は雌雄とも鼻腔前半部の呼吸上皮や鼻腺から発生していた。

その他、40 ppm 群には扁平上皮癌、13 ppm 群には扁平上皮乳頭腫の発生がそれぞれ 1 匹にみられた。扁平上皮癌と扁平上皮乳頭腫も当センターのヒストリカルコントロールデータではこれまで観察されていない腫瘍である。

#### <ハーダー腺>

腺腫の発生増加がみられた。

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、Fisher 検定で 40 ppm 群に発生増加が認められた。4 ppm 群、13 ppm 群及び 40 ppm 群の腺腫の発生率は 12.0%、14.0%及び 20.0%であり、各投与群ともそ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を越えていた。

#### <皮下組織>

組織球性肉腫の発生増加がみられた。

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）で増加傾向を示した。13 ppm 群と 40 ppm 群の組織球性肉腫の発生率はそれぞれ 6.0%であり、そ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を越えていた。

#### <末梢神経>

組織球性肉腫の発生増加がみられた。

組織球性肉腫の発生は Peto 検定（死亡率法、死亡率法＋有病率法）で増加傾向を示した。13 ppm 群と 40 ppm 群の組織球性肉腫の発生率はそれぞれ 6.0%であり、そ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を越えていた。

なお、皮下組織や末梢神経を含む全ての臓器における組織球性肉腫の発生を合わせた発生率も Peto 検定（死亡率法、有病率法、死亡率法＋有病率法）で増加傾向を示した。

#### <肺>

細気管支-肺胞上皮癌の発生増加がみられた。

細気管支-肺胞上皮癌の発生は Peto 検定（死亡率法）で増加傾向を示した。しかし、各投与群とも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内にあった。また、高濃度群である 40 ppm 群の発生率（8.0%）は対照群（8.0%）と変わらなかった。従って、統計学的に示された細気管支-肺胞上皮癌の発生増加は被験物質の暴露による変化ではないと判断した。

#### <リンパ節>

悪性リンパ腫の発生増加がみられた。

悪性リンパ腫の発生は Peto 検定（有病率法、死亡率法＋有病率法）で増加傾向を示した。しかし、各投与群とも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内にあった。また、高濃度群である 40 ppm 群の発生率（8.0%）は対照群（10.0%）より低い値であった。さらに、全臓器の悪性リンパ腫の発生を合わせた発生率には増加傾向が認められなかった。従って、リンパ節に Peto 検定で示された悪性リンパ腫の発生増加傾向は、被験物質の暴露による変化ではないと判断した。

#### <肝臓>

血管腫の発生増加がみられた。

血管腫の発生は Peto 検定（死亡率法）で増加傾向を示した。しかし、各投与群とも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内にあった。また、高濃度群である 40 ppm 群の発生率（4.0%）は対照群（6.0%）より低い値であった。さらに、血管腫の発生に悪性腫瘍である血管肉腫の発生を合わせた発生率には、増加傾向が認められない。従って、肝臓の血管腫の発生増加は被験物質の暴露による変化ではないと判断した。



—雌—

#### <鼻腔>

血管肉腫、血管腫、腺腫及び扁平上皮癌の発生増加がみられた。

血管肉腫及び血管腫の発生はともに 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 13 ppm 群と 40 ppm 群に発生増加が認められた。なお、血管腫と血管肉腫の発生を合わせた発生率も 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 13 ppm 群と 40 ppm 群に発生増加を認めた。血管肉腫や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ではこれまで観察されていない腫瘍であるが、血管肉腫は 4 ppm 群の 2.0%、13 ppm 群の 32.0%及び 40 ppm 群の 42.9%、血管腫は 13 ppm 群の 10.0%と 40 ppm 群の 20.4%に発生していた。

腺腫の発生（40 ppm 群：6.1%）は Peto 検定（有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。また、40 ppm 群では腺癌が 2 匹に発生しており、腺腫と腺癌の発生を合わせた発生率も 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 40 ppm 群に発生増加が認められた。腺腫と腺癌も当センターの雌マウスのヒストリカルコントロールデータではこれまで観察されていない。

扁平上皮癌の発生（40 ppm 群：8.2%）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た。また、13 ppm 群と 40 ppm 群では扁平上皮乳頭腫が各 1 匹に発生しており、扁平上皮癌と扁平上皮乳頭腫の発生を合わせた発生率も 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 40 ppm 群に発生増加が認められた。扁平上皮癌と扁平上皮乳頭腫も当センターのヒストリカルコントロールデータではこれまで観察されていない腫瘍である。

その他、40 ppm 群の 1 匹に肉腫の発生がみられた。この腫瘍も当センターのヒストリカルコントロールデータではこれまで観察されていない腫瘍である。

#### <ハーダー腺>

腺腫の発生増加がみられた。

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、Fisher 検定で 40 ppm 群に発生増加が認められた。40 ppm 群の発生率（14.3%）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越えていた。また、13 ppm 群の発生率（12.0%）も当センターのヒストリカルコントロールデータの上限に相当する値であった。

#### <子宮>

組織球性肉腫の発生増加がみられた。

子宮の組織球性肉腫の発生は Peto 検定（有病率法、死亡率法、死亡率法＋有病率法）で増加傾向を示し、Fisher 検定で 13 ppm 群に発生増加が認められた。13 ppm 群と 40 ppm 群の発生率（44.0%と 36.7%）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

越えていた。

#### <乳腺>

腺癌の発生増加がみられた。

腺癌の発生は Peto 検定（有病率法）で増加傾向を示した。13 ppm 群の発生率（10.0%）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越えていた。また、40 ppm 群の発生率（8.2%）も当センターのヒストリカルコントロールデータの上限に相当する値であった。

#### <肺>

細気管支-肺胞上皮腺腫の発生増加がみられた。

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、その発生率は各投与群と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内であり、この腫瘍の発生増加と被験物質の暴露との関係は明らかではないと判断した。

## 2. 非腫瘍性病変

腫瘍以外の病変の発生増加が雄の鼻腔、胃及び腎臓、雌の鼻腔と腎臓にみられた。

#### —雄—

##### <鼻腔>

呼吸上皮には扁平上皮化生がみられ、多くの動物では扁平上皮化生に異型化、すなわち、大きな基底細胞様の細胞の出現や層状分化の不整を伴っていた。これらの所見は 13 ppm 群と 40 ppm 群に発生増加が認められた。さらに、この扁平上皮には過形成、すなわち細胞層の厚さの増加がみられた。扁平上皮の過形成も扁平上皮化生と同様な異型化を伴う例が多く、13 ppm 群と 40 ppm 群に発生増加が認められた。扁平上皮過形成の発生部位は、多くの例が本来は呼吸上皮が分布している領域であった。

鼻腔の血管肉腫や血管腫の発生した動物では、多くの例に鼻腔の内腔や粘膜内への出血が観察された。また、内腔に滲出液の貯留がみられる動物も多かった。

粘膜下の腺と嗅上皮の呼吸上皮化生は 13 ppm 群と 40 ppm 群に発生増加が認められた。

その他、投与群の少数の動物に、血管拡張、血栓、移行上皮の過形成、呼吸上皮の炎症、壊死、萎縮、立方化、過形成、異型的過形成及び異型化、嗅上皮の炎症、萎縮及び壊死、鼻腺の異型的過形成、甲介の骨の肥厚及び黄色肉芽腫がみられた。

##### <胃>

前胃の過形成の発生が 13 ppm 以上の群にみられ、40 ppm 群で発生増加が認められた。

##### <腎臓>

皮質の鉍質沈着の発生が 13 ppm 以上の群で増加した。

—雌—

<鼻腔>

雄と同様に、呼吸上皮には扁平上皮化生がみられ、多くの動物では扁平上皮化生に異型化を伴っていた。これらの所見は 13 ppm 群と 40 ppm 群に発生増加が認められた。さらに、この扁平上皮の過形成や異型化を伴う過形成が 13 ppm 群からみられ、40 ppm 群では発生増加が認められた。また、移行上皮の過形成が 13 ppm 群で発生増加を示した。

鼻腔の血管肉腫や血管腫の発生した動物では、多くの例に鼻腔の内腔や粘膜内への出血が観察された。また、内腔に滲出液の貯留がみられる動物もみられた。

粘膜下の腺と嗅上皮の呼吸上皮化生は 4 ppm 群まで発生増加が認められた。

その他、投与群の少数の動物に、血管拡張、血栓、呼吸上皮の炎症、壊死、萎縮、立方化及び過形成、嗅上皮の炎症と壊死がみられた。

<腎臓>

硝子滴の発生が 13 ppm 群で増加した。

Ⅲ-8-4 死因

病理学的にみた死亡／瀕死の原因を TABLE 13 に示した。

投与群は、雄では鼻腔の腫瘍、雌では鼻腔と子宮の腫瘍による死亡が増加した。

雄では鼻腔の腫瘍を死因とした動物が 13 ppm 群に 12 匹、40 ppm 群に 29 匹みられた。雌では鼻腔の腫瘍を死因とした動物が 13 ppm 群に 7 匹、40 ppm 群に 21 匹みられ、子宮腫瘍を死因とした動物は対照群が 7 匹であるのに対し、4 ppm 群に 12 匹、13 ppm 群に 17 匹、40 ppm 群に 15 匹みられた。

#### IV 考察及びまとめ

グリシドールのマウスを用いた2年間の吸入試験(投与濃度:4 ppm、13 ppm、40 ppm)の結果、主に腫瘍性病変と腫瘍関連病変の発生が認められた。生存率は、対照群と比べ雌雄とも13 ppm以上の群で低く、特に40 ppm群では顕著に低かった。その低下は、雄は鼻腔腫瘍、雌は鼻腔と子宮の腫瘍に起因した。体重は雄の40 ppm群で対照群に比べ低値であった。

##### IV-1 腫瘍性及び腫瘍関連病変

雌雄とも鼻腔腫瘍の顕著な発生増加が認められた。また、雄はハーダー腺、皮下組織及び末梢神経の腫瘍、雌にはハーダー腺、子宮及び乳腺の腫瘍の増加もみられた。

##### <鼻腔腫瘍>

雌雄とも血管肉腫と血管腫が多く動物に発生した。また、腺癌、腺腫、扁平上皮癌、扁平上皮乳頭腫の発生増加もみられた。

雄では、悪性腫瘍である血管肉腫(13 ppm群:34.0%、40 ppm群:66.0%)と良性腫瘍である血管腫(4 ppm群:6.0%、13 ppm群:26.0%、40 ppm群:14.0%)の顕著な発生増加がみられた。これらの腫瘍の発生は投与濃度に対応した増加傾向を示し、発生率の増加が13 ppm群と40 ppm群に認められた。また、両腫瘍とも当センターのヒストリカルコントロールデータ(1047匹)では発生のみられていない稀な腫瘍である。従って、本試験における血管肉腫と血管腫の発生増加は暴露によるものと考察される。血管肉腫と血管腫の発生部位は、後述する雌を含めて、鼻腔前半部の鼻中隔や鼻甲介、上顎甲介、側壁の粘膜固有層であり、その組織型は海綿状血管腫に分類された。また、血管肉腫は顕著な細胞異型、すなわち核の顕著な大型化と不整化を持つ細胞が出現するのが特徴であった。

腺癌(40 ppm群:6.0%)と腺腫(13 ppm群:6.0%、40 ppm群:4.0%)の発生も増加傾向を示した。腺癌と腺腫の発生を合わせた発生率は40 ppm群で発生率の増加を示した。腺癌は当センターのヒストリカルコントロールデータではこれまで観察されていない稀な腫瘍であり、また、13 ppm群と40 ppm群の腺腫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発生率0.1%(試験単位の発生率は最小0%、最大2%)に比較して明らかに高い値であった。従って、腺癌と腺腫の発生増加も暴露によるものと考察される。なお、腺癌と腺腫は雌雄とも鼻腔前半部の呼吸上皮や鼻腺から発生していた。

また、40 ppm群には扁平上皮癌、13 ppm群には扁平上皮乳頭腫の発生がそれぞれ1匹にみられた。扁平上皮癌と扁平上皮乳頭腫も当センターのヒストリカルコントロールデータではこれまで観察されていない腫瘍であり、また、後述するように鼻腔にはこれらの腫瘍の前駆的な病変である呼吸上皮の扁平上皮化生や扁平上皮過形成の顕著な発生増加が認められた。従って、これらの腫瘍も、発生率は高くないものの、暴露に関連した発生と考

察される。

雌でも、悪性腫瘍である血管肉腫（4 ppm 群：2.0%、13 ppm 群：32.0%、40 ppm 群：42.9%）と良性腫瘍である血管腫（13 ppm 群：10.0%、40 ppm 群：20.4%）の顕著な発生増加がみられた。これらの腫瘍の発生は投与濃度に対応した増加傾向を示し、発生率の増加が 13 ppm 群と 40 ppm 群に認められた。また、両腫瘍とも当センターのヒストリカルコントロールデータ（1048 匹）では発生のみられていない稀な腫瘍である。従って、本試験における雌の血管肉腫と血管腫の発生増加も暴露によるものと考察される。

腺腫の発生（40 ppm 群：6.1%）も増加傾向を示した。また、腺癌が 40 ppm 群の 2 匹に発生しており、腺腫と腺癌の発生を合わせた発生率は増加傾向を示し、発生率の増加が 40 ppm 群に認められた。これらの腫瘍も当センターのヒストリカルコントロールデータでは発生のみられていない稀な腫瘍であり、暴露によるものと考察される。

扁平上皮癌の発生（40 ppm 群：8.2%）も増加傾向を示した。また、扁平上皮乳頭腫も 13 ppm 群と 40 ppm 群の各 1 匹に発生しており、扁平上皮癌と扁平上皮乳頭腫の発生を合わせた発生率も増加傾向を示し、発生率の増加が 40 ppm 群に認められた。これらの腫瘍も当センターのヒストリカルコントロールデータでは発生のみられていない稀な腫瘍であり、グリシドールの暴露によるものと考察される。

また、40 ppm 群の 1 匹には肉腫の発生がみられた。この腫瘍も当センターのヒストリカルコントロールデータではこれまで観察されていない腫瘍であることから、グリシドールの暴露に関連した発生と考察される。

以上のように、雌雄とも自然発生が稀な鼻腔腫瘍の発生が暴露濃度に依存した増加を示し、グリシドールの暴露により惹起された腫瘍増加であると考えられた。雌雄とも血管肉腫の顕著な発生増加、また雄には悪性腫瘍である腺癌、雌には悪性腫瘍である扁平上皮癌の発生増加も認められることから、NTP のがん原性の評価基準（文献 8）に従い、これらの腫瘍の増加はグリシドールの雌雄のマウスに対するがん原性を示す明らかな証拠であると考察する。また、鼻腔腫瘍が有意な発生増加を示した濃度は、雄では血管肉腫と血管腫が 13 ppm 以上、腺癌と腺腫の発生を合わせた発生率が 40 ppm であった。また、雌は、血管肉腫と血管腫が 13 ppm 以上、腺癌と腺腫の発生を合わせた発生率及び扁平上皮癌と扁平上皮乳頭腫の発生を合わせた発生率が 40 ppm であった。

鼻腔には、腫瘍以外の病変として、呼吸上皮の扁平上皮化生と扁平上皮過形成の顕著な発生増加が雌雄ともみられ、これらの病変は細胞異型と構造異型を伴っていた。また、雌雄で粘膜下の腺及び嗅上皮の呼吸上皮化生、雌で移行上皮の過形成に発生増加が認められた。

呼吸上皮には扁平上皮化生あるいは異型化を伴う扁平上皮化生が多く動物に発生し、発生率の増加が雌雄とも 13 ppm 以上の群で認められた。また、扁平上皮過形成は雌の 40 ppm 群、異型化を伴う扁平上皮過形成は雄では 13 ppm 以上の群、雌では 40 ppm 群で発生率の増加が示された。扁平上皮過形成の発生部位は、多くの例が本来は呼吸上皮が分布

している領域であり、呼吸上皮における扁平上皮化生が増殖性病変に進展したものと考えられる。本試験に先立って実施したマウスの 13 週間吸入試験では、呼吸上皮への影響は少なく、80 ppm の濃度で雄にのみ少数の動物で呼吸上皮の扁平上皮化生がみられた（文献 5）。本試験では、104 週間の吸入暴露により、より低濃度まで呼吸上皮への傷害が発生し、また、その変化が扁平上皮過形成まで進展したことを示す結果が得られた。

扁平上皮化生や扁平上皮過形成は扁平上皮癌に移行する可能性がある病変であるとされている（文献 9、10）。しかし、本試験では、扁平上皮化生や扁平上皮過形成が多発し、また異型化を伴う動物が多かったにもかかわらず、これらの病変の発生率に比較して扁平上皮癌の発生は少数であった。ホルムアルデヒドの吸入実験では、ラットの鼻腔に呼吸上皮の扁平上皮への化生や扁平上皮過形成とともに扁平上皮癌の発生増加があるが、マウスでは扁平上皮癌の発生は少ないことが報告されている（文献 11、12）。グリンドールについても、本試験と同時に実施したラットの試験では呼吸上皮の扁平上皮への化生や扁平上皮過形成とともに扁平上皮癌の顕著な発生増加が観察されており、ホルムアルデヒドにおいてラットとマウス間でみられた種差に類似した結果が得られたものとする。

一方、血管肉腫と血管腫の発生増加に伴う変化としては、鼻腔の内腔や粘膜内への出血がこれらの腫瘍が発生した動物に観察された。しかし、血管の変化は出血以外には血管拡張と血栓がみられたが、その発生数は少数であった。鼻腔の血管由来の腫瘍に関する知見は乏しく、どのような変化が前腫瘍性病変であるか不明であるが、本試験でもこれら腫瘍の前腫瘍性変化となる可能性がある病変を見出せなかった。また、本試験に先立って実施したマウスの 13 週間吸入試験でも血管の変化は認められていない（文献 5）。

また、腺癌と腺腫の前腫瘍性病変については、移行上皮の過形成が雌の 13 ppm 群で発生増加がみられたが、腺癌や腺腫との関連を明らかにすることは出来なかった。

その他、雄では、粘膜下の腺と嗅上皮の呼吸上皮化生が 13 ppm 群と 40 ppm 群で発生増加が認められた。雌では、粘膜下の腺と嗅上皮の呼吸上皮化生が 4 ppm 群まで発生増加が認められた。これらの所見は本系統のマウスの長期間飼育で遭遇することが報告されている病変であり（文献 13）、本試験でみられた発生増加は加齢性病変が促進された可能性がある。しかし、本試験に先立って実施したマウスの 13 週間吸入試験では嗅上皮の呼吸上皮化生の発生増加が観察されており、この変化が 104 週間の吸入暴露でも継続していた可能性もある。

以上のように、鼻腔には腫瘍の発生以外に、雌雄とも異型化を伴う呼吸上皮の扁平上皮化生と扁平上皮過形成、粘膜下の腺及び嗅上皮の呼吸上皮化生の発生増加、雌には移行上皮の過形成がみられ、これらの病変が有意な発生増加を示した濃度は、雄ではいずれの病変も 13 ppm 以上であり、雌では粘膜下の腺及び嗅上皮の呼吸上皮化生の発生増加が 4 ppm まで、異型化を伴う呼吸上皮の扁平上皮化生と移行上皮の過形成が 13 ppm 以上、異型化を伴う扁平上皮過形成が 40 ppm であった。

#### <ハーダー腺>

雌雄とも腺腫の発生が投与濃度に対応した増加傾向を示し、発生率の増加が 40 ppm 群に認められた。雄の腺腫の発生率（対照群：4.0%、4 ppm 群：12.0%、13 ppm 群：14.0%、40 ppm 群：20.0%）は各投与群とも当センターの雄マウスのヒストリカルコントロールデータの範囲（平均 4.3%、試験単位の発生率は最小 0%、最大 10%）を越えていた。また、雌の 13 ppm 群と 40 ppm 群の腺腫の発生率（対照群：2.0%、4 ppm 群：2.0%、13 ppm 群：12.0%、40 ppm 群：14.3%）は当センターの雌マウスにおけるヒストリカルコントロールデータの範囲（平均 3.1%、試験単位の発生率は最小 0%、最大 12%）の上限を越えていた。従って、雌雄とも腺腫の発生増加は暴露によるものと考察した。腺腫は良性腫瘍に分類される腫瘍であり、グリシドールの雌雄マウスに対するがん原性を示唆する証拠と考えられる。

#### <皮下組織腫瘍>

雄の組織球性肉腫の発生（対照群：2.0%、4 ppm 群：2.0%、13 ppm 群：6.0%、40 ppm 群：6.0%）が増加傾向を示した。13 ppm 群と 40 ppm 群の組織球性肉腫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（平均 0.4%、試験単位の発生率は最小 0%、最大 4%）を越えていた。従って、雄の皮下組織の組織球性肉腫は暴露によるものと考察した。組織球性肉腫は悪性腫瘍に分類される腫瘍であり、この腫瘍の増加もグリシドールの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る。

#### <末梢神経腫瘍>

雄の組織球性肉腫の発生（対照群：2.0%、13 ppm 群：6.0%、40 ppm 群：6.0%）が増加傾向を示した。13 ppm 群と 40 ppm 群の組織球性肉腫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（平均 0.3%、試験単位の発生率は最小 0%、最大 2%）を越えていた。従って、雄の末梢神経の組織球性肉腫も暴露によるものと考察した。組織球性肉腫は悪性腫瘍に分類される腫瘍であり、この腫瘍の増加もグリシドールの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る。

#### <子宮腫瘍>

組織球性肉腫の発生（対照群：24.0%、4 ppm 群：30.0%、13 ppm 群：44.0%、40 ppm 群：36.7%）が増加傾向を示し、発生率の増加が 13 ppm 群に認められた。13 ppm 群と 40 ppm 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（平均 19.8%、試験単位の発生率は最小 10%、最大 30%）を越えていた。従って、子宮の組織球性肉腫も暴露によるものと考察した。組織球性肉腫は悪性腫瘍に分類される腫瘍であり、この腫瘍の増加もグリシドールの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る。



#### <乳腺腫瘍>

雌の腺癌の発生（対照群：4.0%、13 ppm 群：10.0%、40 ppm 群：8.2%）が増加傾向を示した。雌マウスの腺癌における当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲は平均 1.5%、試験単位の発生率は最小 0%、最大 8%であり、13 ppm 群の発生率はこの範囲を越えていた。また、40 ppm 群の発生率も上限に相当する値であった。従って、この腫瘍の発生増加も暴露によるものと考察した。腺癌は悪性腫瘍に分類される腫瘍であり、この腫瘍の増加もグリシドールの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る。

#### <その他の臓器の腫瘍>

その他、統計学的に有意な増加傾向が雄では肺の細気管支-肺胞上皮癌、リンパ節原発の悪性リンパ腫、肝臓の血管腫、雌では肺の細気管支-肺胞上皮腺腫の発生に示された。しかし、これらの腫瘍の発生率は各投与群と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内にあり、グリシドールとの関係は明らかでないと判断した。

以上のように、グリシドールの暴露によって、雄では鼻腔腫瘍（血管肉腫、血管腫、腺癌、腺腫、扁平上皮癌、扁平上皮乳頭腫）と皮下組織及び末梢神経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グリシドールの雄マウスに対するがん原性を示す明らかな証拠であると考察された。雌でも鼻腔腫瘍（血管肉腫、血管腫、腺癌、腺腫、扁平上皮癌、扁平上皮乳頭腫）、子宮腫瘍（組織球性肉腫）及び乳腺腫瘍（腺癌）の発生増加が認められ、これらの腫瘍の発生増加はグリシドールの雌マウスに対するがん原性を示す明らかな証拠であると考察された。さらに、雌雄ともハーダー腺の腺腫の発生増加もみられた。

また、鼻腔には雌雄とも扁平上皮癌と扁平上皮乳頭腫に移行する可能性のある呼吸上皮の扁平上皮化生と扁平上皮過形成の発生増加がみられ、これらの病変は異型化を伴っていた。

上記の腫瘍が有意な発生増加を示した濃度は、雄では鼻腔の血管肉腫と血管腫が 13 ppm 以上、鼻腔の腺癌と腺腫の発生を合わせた発生率とハーダー腺腫瘍（腺腫）が 40 ppm であった。また、雌は鼻腔の血管肉腫と血管腫及び子宮腫瘍（組織球性肉腫）が 13 ppm 以上、鼻腔の腺癌と腺腫の発生を合わせた発生率及び扁平上皮癌と扁平上皮乳頭腫の発生を合わせた発生率ならびにハーダー腺腫瘍（腺腫）が 40 ppm であった。

#### IV-2 非腫瘍性病変

鼻腔以外の非腫瘍性病変としては、雄に前胃の過形成と腎臓皮質の鉍質沈着、雌に腎臓の硝子滴の発生増加が認められた。

グリシドールは軽度の刺激性を有することが知られており（文献 14）、雄の前胃の過形成の増加は鼻腔に沈着したグリシドールが口腔への移行を経て嚥下され、胃に刺激性の変化を与えた可能性を示唆していると考ええる。腎臓の皮質の鉍質沈着については、グリシドールの暴露による影響を否定できなかったが、毒性学的意義は明らかでなかった。

雌では 13 ppm 群に腎臓の硝子滴の発生増加がみられた。腎臓の硝子滴は組織球性肉腫の発生に伴ってみられる変化であり、この群は子宮の組織球性肉腫の発生が増加していることから、子宮の組織球性肉腫の発生増加に伴う変化と考えた。

血液生化学的検査では、雄の 40 ppm 群にグルコース、総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質、13 ppm 群にグルコース、総コレステロール、リン脂質の減少が認められた。

#### IV-3 他文献との比較等

① がん原性：マウスを使用したグリシドールの吸入経路による長期実験は報告がみられなかったが、強制経口投与の報告は Irwin ら(1996)（文献 15）により、皮膚塗布は Van Duuren ら(1967)（文献 16）によって報告されている。

Irwin らは B6C3F<sub>1</sub> マウス（雌雄、各群 50 匹）に、グリシドール（純度 94%）を 0、25、50mg/kg.bw の濃度で、1 日 1 回、週 5 日間、2 年間の強制経口投与を行った。その結果、生存率は雌の高濃度群で低下した。腫瘍は投与濃度に従って様々な臓器に発生し、雌雄にハーダー腺の腺腫/腺癌、雄に肝臓の肝細胞腺腫と肝細胞癌、前胃と皮膚の扁平上皮乳頭腫、肺の細気管支 - 肺胞上皮腺腫、雌に乳腺の腺癌、皮下の肉腫/線維肉腫及び子宮の腺癌が発生増加を示したと報告している。また、Van Duuren らは ICR/Ha マウス（雌、各群 20 匹）にグリシドール（市販グレード）を 5%アセトン溶液として背部皮膚に週 3 回、520 日間塗布した試験で、皮膚の障害や皮膚の腫瘍はみられなかったと報告している。

Irwin らの強制経口投与の結果と本試験（吸入暴露）の結果を比較すると、腫瘍の発生部位が大きく異なるが、両試験とも多臓器に腫瘍が発生した。吸入暴露と経口投与に共通してみられた腫瘍は、雌の乳腺の腺癌と雌雄のハーダー腺の腺腫であった。吸入暴露では投与経路である鼻腔に腫瘍（血管肉腫、血管腫、腺癌、腺腫、扁平上皮癌、扁平上皮乳頭腫）の発生が認められた。

② 変異原性：旧労働省が委託した研究（文献 17）によれば、グリシドールの微生物を用いる変異原性試験は、ネズミチフス菌の 2 菌株（TA98、TA100）及び大腸菌の 2 菌株（WpuvzA、WPuvzA/pKM101）を用いて、代謝活性化による場合及びよらない場合について実施された。その結果、試験に用いた 4 菌株全てが、代謝活性化による場合及びよらない場合の両方の条件で溶媒対照値の 2 倍以上の復帰変異コロニー数の上昇を示し、陽性の結果であった。また、日本バイオアッセイ研究センターで実施した委託研究（文献 18）

によれば、グリシドールのは乳類培養細胞(CHL)を用いる染色体異常試験は、+S9 処理 (S9 添加 6 時間処理)、-S9 処理 (S9 無添加 6 時間処理)、24 時間処理 (S9 無添加)、48 時間処理 (S9 無添加) について実施された。その結果、全ての処理法において構造異常を有する細胞の出現頻度が 10%以上を示し、陽性の結果であった。グリシドールは、微生物 (ネズミチフス菌及び大腸菌) 及びは乳類培養細胞の異なる系で変異原性を示した。

## V 結論

Crj:BDF<sub>1</sub> マウスを用いてグリシドールの吸入による 2 年間(104 週間)のがん原性試験を行った結果、以下の結論を得た。

雄では鼻腔腫瘍（血管肉腫、血管腫、腺癌、腺腫、扁平上皮癌、扁平上皮乳頭腫）と皮下組織及び末梢神経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グリシドールの雄マウスに対するがん原性を示す明らかな証拠であると考察された。雌でも鼻腔腫瘍（血管肉腫、血管腫、腺癌、腺腫、扁平上皮癌、扁平上皮乳頭腫）、子宮腫瘍（組織球性肉腫）及び乳腺腫瘍（腺癌）の発生増加が認められ、これらの腫瘍の発生増加はグリシドールの雌マウスに対するがん原性を示す明らかな証拠であると考察された。なお、雌雄ともハーダー腺の腺腫の発生増加も認められた。

また、雌雄とも鼻腔には異型化を伴う呼吸上皮の扁平上皮化生と扁平上皮過形成の発生がみられ、粘膜下の腺及び嗅上皮の呼吸上皮化生の発生増加も認められた。

## VI 文献

1. 化学大辞典(1978)  
3 巻, pp.100-101, 共立出版株式会社, 東京
2. McLafferty,F.W. (1994)  
Wiley Registry of Mass Spectral Data (6<sup>th</sup> edition) , Entry Number 1733.  
John Wiley and Sons, Inc.,New York
3. 和光純薬工業からの提供資料(1996)  
赤外線吸収スペクトル
4. Organization for Economic Co-operation and Development (OECD) (1981)  
OECD Guidelines for the Testing of Chemicals 451 : Carcinogenicity Studies.  
OECD, Paris
5. 日本バイオアッセイ研究センター (2000)  
グリシドールのマウスを用いた吸入による 13 週間毒性試験報告書  
日本バイオアッセイ研究センター, 神奈川
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. Peto,R., Pike,M.C., Day,N.E., Gray,R.G., Lee,P.N., Parish,S., Peto,J., Richards,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 Proposal.  
IARC Monographs, Suppl. 2, pp.311-426, IARC, Lyon.
8. National Toxicology Program (1993)  
Compendium of abstracts from long-term cancer studies reported by the National  
Toxicology Program of the National Institute of Environmental Health Sciences

from 1976 to 1992. Levels of evidence of carcinogenicity.  
Environmental Health Perspectives 101 (Supplement 1):2

9. Mohr,U. (1992)  
International Classification of Rodent Tumours. Part I :the rat.  
International Agency Research on Cancer, Lyon
10. 伊東信行編著 (1994)  
標的器官の毒性病理 (1) 、呼吸器系 A.鼻腔  
最新毒性病理学, pp. 85-95, 中山書店, 東京
11. 高橋道人 (1981)  
ホルムアルデヒドの癌原性  
変異原と毒性, 4(4):102-111
12. Kerns,W.D., Pavkov,K.L., Donofrio,D.J., Gralla,E.J. and Swenberg,J.A. (1983)  
Carcinogenicity of formaldehyde in rats and mice after long-term inhalation  
exposure.  
Cancer Research 43:4382-4392
13. Nagano,K., Katagiri,T., Aiso,S., Senoh,H., Sakura,Y. and Takeuchi,T (1997)  
Spontaneous lesions of nasal cavity in aging F344 rats and BDF<sub>1</sub> mice  
Exp. Toxicol. Pathol. 49: 97-104
14. 内藤裕史、横手規子監訳 (1999)  
化学物質毒性ハンドブック I , pp.160-161  
丸善株式会社, 東京
15. Irwin,R.D., Evstis,S.L., Stefanski,S. and Hasaman,J.K. (1996)  
Carcinogenicity of Glycidol in F344 rats and B6C3F1 mice.  
J. Appl. Toxicology 16:201-209
16. Van Duuren,B.L., Langesth,L., Goldschmidt, B.M. and Orris,L.(1967)  
Carcinogenicity of epoxides,lactones,and peroxy compounds.  
VI.Structure and carcinogenic activity.  
J.Natl. Cancer Inst. 39:1217-1228

17. 松島泰次郎, 松下秀鶴, 清水英佑 (1981)  
変異原性に着眼したがん原性物質のスクリーニング技術開発に関する研究  
昭和 56 年度 労働安全衛生に関する委託研究
18. 労働安全衛生法有害性調査制度に基づく既存化学物質変異原性試験データ集 (1996)  
日本化学物質安全・情報センター(JETOC) 編集・発行, 東京