

グリオキサルのマウスを用いた経口投与による
がん原性試験（混水試験）報告書

試験番号：0268

CAS No. 107-22-2

2000年4月21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

グリオキサルのマウスを用いた経口投与による
がん原性試験（混水試験）報告書

試験番号：0268

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 名称と別名	3
I-1-2 構造式及び分子量	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	4
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、投与方法及び投与期間	5
II-1-2 投与濃度及びその設定理由	5
II-1-3 被験物質混合飲水の調製方法	5
II-1-4 被験物質混合飲水中の被験物質の濃度測定	6
II-1-5 被験物質混合飲水中の被験物質の安定性	6
II-1-6 被験物質の摂取量	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	8
II-3-3 摂水量測定	8
II-3-4 摂餌量測定	8
II-3-5 血液学的検査	8
II-3-6 血液生化学的検査	8
II-3-7 尿検査	9
II-3-8 病理学的検査	9

II-4 数値処理と統計処理

II-4-1 数値の取り扱いと表示	9
II-4-2 母数の取り扱い	10
II-4-3 統計処理	10

II-5 試資料の保管 11

III 試験成績

III-1 生死状況	12
III-2 一般状態	12
III-3 体重	12
III-4 摂水量	12
III-5 摂餌量	13
III-6 被験物質摂取量	13
III-7 血液学的検査	13
III-8 血液生化学的検査	14
III-9 尿検査	14
III-10 病理組織学的検査	
III-10-1 剖検	14
III-10-2 臓器重量	15
III-10-3 病理組織学的検査	15
III-10-4 死因	17

IV 考察及びまとめ

IV-1	生死状況、死因、一般状態、体重、摂餌量、摂水量	18
IV-2	腫瘍性病変	18
IV-3	非腫瘍性病変	20
IV-4	その他	21

V	結論	22
---	----------	----

VI	文献	23
----	----------	----

TABLES

- TABLE 1 EXPERIMENTAL DESIGN AND MATERIALS AND METHODS IN THE DRINKING WATER STUDY OF GLYOXAL
- TABLE 2 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES OF MALE MICE IN THE 2-YEAR DRINKING WATER STUDY OF GLYOXAL
- TABLE 3 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES OF FEMALE MICE IN THE 2-YEAR DRINKING WATER STUDY OF GLYOXAL
- TABLE 4 INCIDENCE OF EXTERNAL AND INTERNAL MASS IN CLINICAL OBSERVATION OF MALE MICE IN THE 2-YEAR DRINKING WATER STUDY OF GLYOXAL
- TABLE 5 INCIDENCE OF EXTERNAL AND INTERNAL MASS IN CLINICAL OBSERVATION OF FEMALE MICE IN THE 2-YEAR DRINKING WATER STUDY OF GLYOXAL
- TABLE 6 WATER CONSUMPTION CHANGES OF MALE MICE IN THE 2-YEAR DRINKING WATER STUDY OF GLYOXAL
- TABLE 7 WATER CONSUMPTION CHANGES OF FEMALE MICE IN THE 2-YEAR DRINKING WATER STUDY OF GLYOXAL
- TABLE 8 FOOD CONSUMPTION CHANGES OF MALE MICE IN THE 2-YEAR DRINKING WATER STUDY OF GLYOXAL
- TABLE 9 FOOD CONSUMPTION CHANGES OF FEMALE MICE IN THE 2-YEAR DRINKING WATER STUDY OF GLYOXAL
- TABLE 10 NEOPLASTIC LESIONS INCIDENCE AND STATISTICAL ANALYSIS OF MALE MICE IN THE 2-YEAR DRINKING WATER STUDY OF GLYOXAL

TABLE 11 NEOPLASTIC LESIONS INCIDENCE AND STATISTICAL ANALYSIS OF
FEMALE MICE IN THE 2-YEAR DRINKING WATER STUDY OF
GLYOXAL

TABLE 12 NUMBER OF MICE WITH SELECTED NON-NEOPLASTIC LESIONS IN
THE 2-YEAR DRINKING WATER STUDY OF GLYOXAL

TABLE 13 CAUSE OF DEATH OF MICE IN THE 2-YEAR DRINKING WATER
STUDY OF GLYOXAL

FIGURES

- FIGURE 1 SURVIVAL ANIMAL RATE OF MALE MICE IN THE 2-YEAR DRINKING WATER STUDY OF GLYOXAL
- FIGURE 2 SURVIVAL ANIMAL RATE OF FEMALE MICE IN THE 2-YEAR DRINKING WATER STUDY OF GLYOXAL
- FIGURE 3 BODY WEIGHT CHANGES OF MALE MICE IN THE 2-YEAR DRINKING WATER STUDY OF GLYOXAL
- FIGURE 4 BODY WEIGHT CHANGES OF FEMALE MICE IN THE 2-YEAR DRINKING WATER STUDY OF GLYOXAL
- FIGURE 5 WATER CONSUMPTION CHANGES OF MALE MICE IN THE 2-YEAR DRINKING WATER STUDY OF GLYOXAL
- FIGURE 6 WATER CONSUMPTION CHANGES OF FEMALE MICE IN THE 2-YEAR DRINKING WATER STUDY OF GLYOXAL
- FIGURE 7 FOOD CONSUMPTION CHANGES OF MALE MICE IN THE 2-YEAR DRINKING WATER STUDY OF GLYOXAL
- FIGURE 8 FOOD CONSUMPTION CHANGES OF FEMALE MICE IN THE 2-YEAR DRINKING WATER STUDY OF GLYOXAL

PHOTOGRAPHS

- PHOTOGRAPH 1 KIDNEY :
 NECROSIS : PAPILLA (arrow A)
 DESQUAMATION : PELVIS (arrow B)
 MALE, 3000ppm, ANIMAL No. 1345 (H&E)
- PHOTOGRAPH 2 KIDNEY : DESQUAMATION : PELVIS (arrow)
 MALE, 3000ppm, ANIMAL No. 1303 (H&E)
- PHOTOGRAPH 3 KIDNEY : BASOPHYLIC CHANGE (arrow)
 MALE, 3000ppm, ANIMAL No. 1303 (H&E)
- PHOTOGRAPH 4 LIVER : GRANULATION (arrow)
 MALE, 3000ppm, ANIMAL No. 1304 (H&E)
- PHOTOGRAPH 5 NASAL CAVITY :
 EOSINOPHYLIC CHANGE : RESPIRATORY EPITHELIUM
 FEMALE, 6000ppm, ANIMAL No. 2316 (H&E)
- PHOTOGRAPH 6 NASAL CAVITY :
 EOSINOPHYLIC CHANGE : OLFACTORY EPITHELIUM
 MALE, 3000ppm, ANIMAL No. 1304 (H&E)
- PHOTOGRAPH 7 NASAL CAVITY :
 RESPIRATORY METAPLASIA : OLFACTORY EPITHELIUM
 MALE, 3000ppm, ANIMAL No. 1319 (H&E)
- PHOTOGRAPH 8 NASAL CAVITY :
 RESPIRATORY METAPLASIA : GLAND (arrow)
 FEMALE, 6000ppm, ANIMAL No. 2327 (H&E)

要約

グリオキサルのがん原性を検索する目的でマウスを用いた経口投与による 2 年間（104 週間）の試験を実施した。

試験には Crj:BDF₁ マウスを用いた。被験物質投与群 3 群と対照群 1 群の計 4 群の構成で、雌雄各群とも 50 匹とし、合計 400 匹を用いた。被験物質の投与は、グリオキサルを希釈混合した飲料水を動物に自由摂取させることにより行った。投与濃度は、雄は 333ppm、1000ppm、3000ppm（公比 3.0）、雌は 1500ppm、3000ppm、6000ppm（公比 2.0）とした。観察、検査項目は、一般状態の観察、体重、摂水量、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。

試験の結果、最終計測週（104 週）における投与群の生存率は、雄の全投与群と雌の 3000ppm 群と 6000ppm 群が対照群より高値であった。投与期間中の一般状態の観察では、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。ただし、雄の投与群の内部腫瘍の発生数は、投与濃度に対応した減少が認められた。体重は、雌雄とも全投与群で投与濃度に対応した体重増加の抑制が認められた。投与群の摂水量と摂餌量は、雌雄ともほぼ全投与期間を通し、投与濃度に対応した低値が認められた。血液学的検査では血液濃縮様の変化が雄の 1000ppm 群と 3000ppm 群に認められた。血液生化学的検査では摂餌量の低下に起因すると思われる低栄養状態を示唆する変化が雄の 3000ppm 群と雌の 6000ppm 群に認められた。尿検査では、摂水量及び摂餌量の不足あるいは腎臓の障害が原因と思われる変化が雄の 1000ppm 群と 3000ppm 群ならびに雌の全投与群に認められた。病理組織学的検査では、雌雄とも腫瘍の発生増加は認められなかった。非腫瘍性病変については、グリオキサルの投与による影響と考えられる変化として、雄の腎臓の好塩基性変化と腎盂上皮の剥離、鼻腔の嗅上皮におけるエオジン好性変化と呼吸上皮化生及び肝臓の肉芽形成、ならびに雌の腎臓の腎盂上皮の剥離と乳頭壊死と水腎症及び鼻腔の呼吸上皮のエオジン好性変化と鼻腺の呼吸上皮化生が認められた。

以上のように、グリオキサルの投与により、BDF₁ マウスには雌雄ともに腫瘍の発生増加を示す証拠は認められなかった。

グリオキサルのがん原性試験におけるおもな腫瘍発生 (雄)

投 与 濃 度 (ppm)			0	333	1000	3000	ヘト- 検定	コクシア ミテ-ジ 検定
検査動物数			50	50	50	50		
良性腫瘍	肺	細気管支-肺胞上皮腺腫	3	3	4	0		
	肝臓	肝細胞腺腫	10	11	10	3*		↓
	ハーダー腺	腺腫	4	4	4	0		↓
	脾臓	血管腫	0	0	1	0		
悪性腫瘍	肺	細気管支-肺胞上皮癌	9	6	7	6		
	リンパ節	悪性リンパ腫	7	9	4	2		↓
	脾臓	悪性リンパ腫	0	3	1	1		
		血管肉腫	5	4	1	0*		↓
	肝臓	組織球性肉腫	5	1	5	3		
		血管肉腫	3	3	2	1		
		肝細胞癌	8	11	6	2*		↓
	全臓器	組織球性肉腫	7	1*	6	3		
		悪性リンパ腫	7	12	5	3		↓
		血管肉腫	5	7	3	1		↓
	脾臓	血管腫/血管肉腫	5	4	2	0*		↓
	肝臓	肝細胞腺腫/肝細胞癌	17	20	13	5**		↓

グリオキサルのがん原性試験におけるおもな腫瘍発生 (雌)

投 与 濃 度 (ppm)			0	1500	3000	6000	ヘト- 検定	コクシア ミテ-ジ 検定
検査動物数			50	50	50	49		
良性腫瘍	下垂体	腺腫	6a)	4a)	4	0*		↓
	卵巣	嚢胞腺腫	2	3	1	1		
	肝臓	血管腫	1	3	0	2		
		肝細胞腺腫	2	2	0	0		
悪性腫瘍	リンパ節	悪性リンパ腫	18	23	19	10		↓
	子宮	組織球性肉腫	6	10	9	11		
	肝臓	血管肉腫	1	0	0	1		
		肝細胞癌	1	0	0	0		
	下垂体	腺癌	0a)	0a)	1	0		
	全臓器	悪性リンパ腫	18	24	20	10		↓
	肝臓	血管腫/血管肉腫	2	3	0	3		
		肝細胞腺腫/肝細胞癌	3	2	0	0		↓
	下垂体	腺腫/腺癌	6a)	4a)	5	0*		↓

検定結果については生物学的意義を考慮して記載した。

*: $p \leq 0.05$ で有意

** : $p \leq 0.01$ で有意

(フィッシャー検定)

↑: $p \leq 0.05$ で有意増加

↑↑: $p \leq 0.01$ で有意増加

(ヘト-、コクシアミテ-ジ検定)

↓: $p \leq 0.05$ で有意減少

↓↓: $p \leq 0.01$ で有意減少

(コクシアミテ-ジ検定)

a) : 検査動物数 49、他は上段に表示の検査動物数と同じ

I 試験材料

I-1 被験物質の性状等

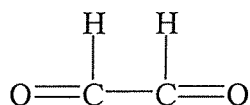
I-1-1 名称と別名

名 称 : グリオキサル(Glyoxal)

別 名 : ジホルミル、シュウ酸ジアルデヒド

CAS.No. : 107-22-2

I-1-2 構造式及び分子量 (文献 1)



分子量 : 58.04

I-1-3 物理化学的性状等 (文献 1,2)

純 度 : 100%

性 状 : 帯緑黄色液体

比 重 : 1.14 (15°C)

融 点 : 15°C

沸 点 : 50.4°C (101.3kPa)

蒸気圧 : 220mmHg (20°C)

溶解性 : 水に易溶、有機溶剤に可溶

その他 : 保存中に重合してパラグリオキサルになる。

少量の水とは激しく反応する。

純度 100%のグリオキサルは反応性に富むため、試験には 40%水溶液を使用した。

純 度 : 40%水溶液

性 状 : 無色透明水溶液

比 重 : 1.260~1.310 (20/20°C)

pH : 2.0~3.5

保存条件 : 遮光、火気のない冷暗所に保存

I-2 被験物質の使用ロット等

使用ロット番号：CAK4487 (1994.9.30～1995.8.18)

SKQ5736 (1995.8.18～1996.3.8)

SKE5515 (1996.3.8～1996.10.4)

製 造 元：和光純薬工業株式会社

グ レ ー ド：化学用

純 度：40.2～40.4% (水溶液)

CAK4487：40.2%

SKQ5736：40.4%

SKE5515：40.4%

I-3 被験物質の特性・同一性、安定性

I-3-1 特性・同一性

被験物質の同一性の確認は各ロット毎の被験物質のマススペクトルをマススペクトロメーター (Hitachi M-80B Mass Spectrometer) により測定し、グリオキサルの文献値と比較することにより行った。

その結果、被験物質のマススペクトルは文献値 (文献 3) と同じ分子イオン及びフラグメントピークを示し、グリオキサルであることを確認した。

それらの結果については、APPENDIX Q 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その使用終了後に、ガスクロマトグラフ (Hewlett Packard 5890A) により被験物質の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行った。

その結果、使用開始前及び使用終了後のガスクロマトグラムに差はみられず、投与期間中のグリオキサルは安定であった。

それらの結果については、APPENDIX Q 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) (神奈川県厚木市下古沢 795 番地) から購入した Crj:BDF₁ マウス (SPF) の雌雄を使用した。

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、発育順調で異常を認めなかった動物から、体重値の中央値に近い雌雄各 200 匹 (群構成時体重範囲、雄：21.8～24.3g、雌：17.3～19.8g) を選別し、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

被験物質を脱イオン水（市水を脱イオンし、紫外線滅菌し、フィルターろ過した飲料水）によって設定濃度に希釈調製した混水試料を褐色給水瓶に充填し、それを動物に自由摂取させる経口投与とした。投与期間は 104 週間とし、定期解剖日まで連続投与した。なお、対照群の動物には脱イオン水のみを与えた。

II-1-2 投与濃度及びその設定理由

各群の投与濃度は予備試験である 13 週間投与試験（文献 4）の結果に基づき決定した。すなわち、6 週齢の Crj:BDF₁ マウス 120 匹を 5 投与群と 1 対照群（各群雌雄 10 匹）に分け、グリオキサールを設定濃度に希釈調製し、動物に自由摂取させる 13 週間の経口投与を行った。グリオキサールの投与群の濃度は雌雄とも 8000ppm、4000ppm、2000ppm、1000ppm、500ppm とした。その結果、雄では病理組織所見では各群とも著変は認められなかった。4000ppm 群と 8000ppm 群では臓器重量及び血液・生化学的検査で著変が認められ、体重も対照群に対して 90%を下回っていた。2000ppm 群では各種検査結果に著変は認められず、長期間の投与を実施した場合、動物の生死に係わる濃度であるとは考えられなかった。以上のことから、がん原性試験の投与群の最高用量は 4000ppm と 2000ppm の間の 3000ppm とし、以下、1000ppm、333ppm（公比 3）とした。

雌では病理組織所見では各群とも著変は認められなかった。8000ppm 群では臓器重量及び血液・生化学的検査で著変が認められた。また、摂水量の減少が顕著に認められ、長期間の飼育に対する影響が考えられた。4000ppm 群では臓器重量及び血液・生化学的検査で変化が認められたが、その変化の程度は対照群に対してわずかであった。以上のことから、がん原性試験の投与群の最高用量は 8000ppm と 4000ppm の間の 6000ppm とし、以下、3000ppm、1500ppm（公比 2）とした。

II-1-3 被験物質混合飲水の調製方法

脱イオン水に被験物質を溶解して各設定濃度になるように希釈混合により調製した。なお、試験における濃度の表示は、ppm（重量対重量比）とした。また、被験物質混合飲水の調

製頻度は、給水瓶の交換頻度に合わせて週に 2 回とした。

II-1-4 被験物質混合飲水中の被験物質の濃度測定

各投与濃度に調製された被験物質混合飲水中の被験物質の濃度は、概ね 3 ヶ月毎にガスクロマトグラフ (Hewlett Packard 5890A) を用いて分析した。それらの結果を APPENDIX R 1 に示した。

各群の調製濃度は設定濃度に対し、96.3～117.5%の範囲であった。

II-1-5 被験物質混合飲水中の被験物質の安定性

被験物質混合飲水は、試験開始前に 8 日間、試験期間中に 14 日間室温で保管し、被験物質混合飲水中の被験物質の安定性を確認した。

被験物質混合飲水中の被験物質濃度はガスクロマトグラフ (Hewlett Packard 5890A) を用いて分析した。その結果、室温での保管期間において安定であることを確認した。

それらの結果について、APPENDIX R 2 に示した。

II-1-6 被験物質の摂取量

各計測週における摂水量と設定濃度より体重当たりの被験物質の摂取量 (g/kg/day) を算出した。

それらの結果について、APPENDIX E 1,2 に示した。

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、雌雄各群 50 匹の動物を用いた。

雄		雌	
群 名 称	使用動物数 (動物番号)	群 名 称	使用動物数 (動物番号)
対照群	50 匹 (1001～1050)	対照群	50 匹 (2001～2050)
333ppm	50 匹 (1101～1150)	1500ppm	50 匹 (2101～2150)
1000ppm	50 匹 (1201～1250)	3000ppm	50 匹 (2201～2250)
3000ppm	50 匹 (1301～1350)	6000ppm	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、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 5）。

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た。投与期間においては耳パンチにより識別した。なお、全飼育期間を通してケージにも個体識別番号を付した。

なお、動物は検疫期間を含む全飼育期間、バリア区域（AC-1 空調エリア）内の独立した室（雄を 102 室、雌を 105 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、他試験及び異種動物と区別した。

II-2-3 飼育条件

動物は、各試験ともに、全飼育期間を通して、温度： $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、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/時に設定した環境下で飼育した。なお、試験期間中飼育室の作業内容、空調設備の保守点検、一時的な停電により設定値の幅を越えることがあったが、動物の状態に影響を与えるほどの長時間または大きな変化ではなく、一日の平均値は設定値の範囲内であった。

動物は単飼ケージ（ステンレス製二連網ケージ：112W×212D×120H mm）に収容し、ケージ交換は 2 週間毎に実施した。

飼料は、全飼育期間を通してオリエンタル酵母工業(株) 千葉工場（千葉県千葉市美浜区新港 8-2）の CRF-1 固型飼料（30K Gy- γ 線照射滅菌飼料）を固型飼料給餌器により自由摂取させた。ただし、定期解剖前日の夕方から絶食させた。

飲水については、検疫期間はフィルターろ過した市水（秦野市水道局供給）に紫外線を照射し、自動給水装置により自由摂取させた。馴化期間は市水を脱イオンし、紫外線照射し、フィルターろ過した飲料水を給水瓶により自由摂取させた。投与期間は市水を脱イオンし、紫外線照射し、フィルターろ過した飲料水に被験物質を希釈混合したものを給水瓶により自由摂取させた。

なお、飼料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 番 1 号）の分析データを使用ロットごとに入手し、また飲料水については(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比較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

投与期間中は生死及び瀕死の確認を毎日 1 回以上行い、全動物の一般状態の観察を週 1 回行った。

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、動物の死亡発見時と切迫屠殺時及び定期解剖動物の搬出時にも体重を測定した。

II-3-3 摂水量測定

投与開始後 14 週までは週 1 回、それ以降は 4 週に 1 回（但し、104 週にも測定した）、給水量と残水量を測定し、その差を給水日数で除した値を 1 日当たりの摂水量とした。

II-3-4 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（但し、104 週にも測定した）、給餌量と残餌量を測定し、その差を給餌日数で除した値を 1 日当たりの摂餌量とした。

II-3-5 血液学的検査

定期解剖時まで生存した全動物について、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。検査対象動物は解剖日前日夕方より（18 時間以上）絶食させた。検査項目は TABLE 1、検査方法は APPENDIX S 1 に示した。

II-3-6 血液生化学的検査

定期解剖時まで生存した全動物について、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、遠心分離して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夕方より絶食（18 時間以上）させた。検査項目は TABLE 1、検査方法は APPENDIX S 1 に示した。

II-3-7 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 S 1 に示した。

II-3-8 病理学的検査

1 剖検

全動物について剖検を行った。

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固定後、TABLE 1 に示した臓器及び肉眼的に変化のみられた組織を、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 数値処理と統計処理

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、小数点以下第 1 位まで計測し、そのまま小数点以下第 1 位まで表示した。

摂餌量と摂水量については g を単位とし、計測期間を通しての摂取量を小数点以下第 1 位まで計測し、この値を計測期間の日数で除し、1 日当たりの平均摂取量を算出し、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。

グリオキサルの体重当りの摂取量は摂水量にグリオキサルの設定濃度を乗じ体重で除した値を g/kg(body weight)/day を単位として小数点以下第 4 位を四捨五入して小数点以下第 3 位まで表示した。

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 S 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、摂水量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、その中から欠測となったデータを除外して母数とした。

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を除外して母数とした。

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、腫瘍性病変については臓器別に、検査不能臓器数を除いたものを母数とした。

II-4-3 統計処理

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。

なお、病理組織学的検査のうち非腫瘍性病変については、所見のみられなかった動物をグレード 0、所見のみられた動物は、その所見の程度及び範囲等を基準に 1~4 のグレード分けし、 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。

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 6）、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との検定である。

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。

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、直接死因に関わっていた腫瘍

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 5 年間とする。

III 試験成績

III-1 生死状況

生死状況を TABLE 2,3 及び FIGURE 1,2 に示した。

試験終了時の生存率は、雄の全投与群で対照群より高値であり、雌では、3000ppm 群と 6000ppm 群で対照群より高値であった。

各群の 104 週における生存動物数（生存率）は、雄では対照群：33/50 例(66%)、333ppm 群：41/50 例(82%)、1000ppm 群：38/50 例(76%)、3000ppm 群：40/50 例(80%)、雌では対照群：30/50 例(60%)、1500ppm 群：29/50 例(58%)、3000ppm 群：32/50 例(64%)、6000ppm 群：39/49 例(80%)であった。

なお、雌の 6000ppm 群で投与開始後 1 週目に事故により動物が 1 例死亡したため、雌の 6000ppm 群の有効動物数は 49 匹とした。

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を TABLE 4,5 に示した。

グリオキサルの投与による特徴的な所見は、雌雄とも死亡動物及び生存動物のいずれにも認めなかった。投与群の外部腫瘍の発生時期及び発生数は、対照群に比べ顕著な差はなかった。雄の投与群の内部腫瘍の発生数は、投与濃度に対応した減少が認められた。

III-3 体重

体重の推移を TABLE 2,3、FIGURE 3,4 及び APPENDIX B 1,2 に示した。

雌雄とも、投与濃度に対応した体重増加の抑制が認められた。

雄の 3000ppm 群ならびに雌の 6000ppm 群と 3000ppm 群では、全投与期間を通して、また、雄の 1000ppm 群では 26 週以降の多くの週に有意な低値が認められた。また、雌の 1500ppm 群では、投与期間終盤の 74 週、78 週及び 90 週に有意な低値が認められた。

なお、投与終了時の各投与群の体重は対照群に対して、雄は 333ppm 群：99%、1000ppm 群：97%、3000ppm 群：81%であり、雌は 1500ppm 群：90%、3000ppm 群：78%、6000ppm 群：71%であった。

III-4 摂水量

摂水量を TABLE 6,7、FIGURE 5,6 及び APPENDIX C 1,2 に示した。

雌雄ともにほぼ全投与期間を通して投与濃度に対応した摂水量の低下が認められた。

雄の全投与期間における各群の平均摂水量は、対照群：4.0g(100%)、333ppm 群：3.7g(92.5%)、1000ppm 群：3.2g(80.0%)、3000ppm 群：2.3g(57.5%)であった。また、雌の全投与期間における各群の平均摂水量は、対照群：4.1g(100%)、1500ppm 群：3.0g(73.2%)、3000ppm 群：2.4g(58.5%)、6000ppm 群：1.8g(43.9%)であった。

III-5 摂餌量

摂餌量を TABLE 8,9、FIGURE 7,8 及び APPENDIX D 1,2 に示した。

雌雄ともにほぼ全投与期間を通して投与濃度に対応した摂餌量の低下が認められた。

雄の全投与期間における各群の平均摂餌量は、対照群：4.1g(100%)、333ppm 群：4.0g(97.6%)、1000ppm 群：4.0g(97.6%)、3000ppm 群：3.7g(90.2%)であった。また、雌の全投与期間における各群の平均摂餌量は、対照群：3.8g(100%)、1500ppm 群：3.6g(94.7%)、3000ppm 群：3.4g(89.5%)、6000ppm 群：3.2g(84.2%)であった。

III-6 被験物質摂取量

体重、摂水量及び設定濃度より算出した被験物質摂取量を APPENDIX E 1,2 に示した。

1日当たりの被験物質摂取量は、雄で 333ppm 群：0.109～0.251g/kg、1000ppm 群：0.198～0.444g/kg、3000ppm 群：0.346～0.734g/kg、雌では 1500ppm 群：0.126～0.239g/kg、3000ppm 群：0.256～0.392g/kg、6000ppm 群：0.413～0.654g/kg の範囲にあった。

投与濃度の設定公比（雄：3.0、雌：2.0）に対して、全投与期間における各群の平均被験物質摂取量は、雄では 333ppm 群と 1000ppm 群：1.8 倍、1000ppm 群と 3000ppm 群：1.6 倍であった。雌では 1500ppm 群と 3000ppm 群：1.8 倍、3000ppm 群と 6000ppm 群：1.6 倍であった。

III-7 血液学的検査

血液学的検査の結果を APPENDIX F 1,2 に示した。

雄では、ヘモグロビン濃度、血小板数及びリンパ球比の増加ならびに分葉核好中球比の減少が 3000ppm 群で認められた。また、赤血球数とヘマトクリット値の増加が 1000ppm 群で認められた。

雌では、白血球数の減少が 3000ppm 群と 6000ppm 群で認められた。

III-8 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を APPENDIX G 1,2 に示した。

雄では、総蛋白、総コレステロール、トリグリセライド、尿素窒素及びカルシウムの減少、ならびに GOT 活性、GPT 活性及び LDH 活性の低下が 3000ppm 群で認められた。

雌では、トリグリセライドとカルシウムの減少ならびに尿素窒素の増加が 6000ppm 群で、GOT 活性及び GPT 活性の低下が 3000ppm 群と 6000ppm 群で認められた。また、LDH 活性の低下が 3000ppm 群で認められた。

III-9 尿検査

尿検査の結果を APPENDIX H 1,2 に示した。

雄では、ケトン体の陽性例の増加が 1000ppm 群と 3000ppm 群で、pH の低下例の増加と蛋白の陽性度の増加が 3000ppm 群に認められた。

雌では、pH の低下例の増加が全投与群で、蛋白の陽性度の増加とケトン体の陽性例の増加が 6000ppm 群で認められた。

III-10 病理学的検査

III-10-1 剖検

解剖時に観察された剖検所見を APPENDIX I 1~6 に示した。

雄では、肺の結節、脾臓の腫大及び肝臓の結節が 3000ppm 群で減少した。

その発生例数は、肺の結節（対照群：13/50 例、333ppm 群：9/50 例、1000ppm 群：13/50 例、3000ppm 群：6/50 例）、脾臓の腫大（対照群：6/50 例、333ppm 群：7/50 例、1000ppm 群：2/50 例、3000ppm 群：1/50 例）、肝臓の結節（対照群：25/50 例、333ppm 群：23/50 例、1000ppm 群：16/50 例、3000ppm 群：5/50 例）、胸腔の胸水（対照群：4/50 例、333ppm 群：4/50 例、1000ppm 群：4/50 例、3000ppm 群：1/50 例）であった。

雌では、リンパ節の腫大、胸水及び脾臓の結節の減少が 6000ppm 群で認められた。その発生例数は、リンパ節の腫大（対照群：7/50 例、1500ppm 群：7/50 例、3000ppm 群：4/50 例、6000ppm 群：2/49 例）、胸水（対照群：12/50 例、1500ppm 群：13/50 例、3000ppm 群：10/50 例、6000ppm 群：3/49 例）、脾臓の腫大（対照群：8/50 例、1500ppm 群：9/50 例、3000ppm 群：5/50 例、6000ppm 群：0/49 例）、胸腔の胸水（対照群：12/50 例、1500ppm 群：13/50 例、3000ppm 群：10/50 例、6000ppm 群：3/49 例）であった。

III-10-2 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 J 1,2、K 1,2 に示した。

雄では 3000ppm 群の解剖時体重は対照群と比較して低値であり、これに伴って、3000ppm 群で精巣、心臓、肺、腎臓、脾臓及び肝臓の実重量の有意な低値と精巣、腎臓及び脳の体重比の高値がみられた。

雌では 3000ppm 群と 6000ppm 群の解剖時体重は対照群と比較して低値であり、これに伴って 3000ppm 群では心臓、肝臓及び脳の実重量の低値と副腎、心臓、肺、腎臓及び脳の体重比の高値がみられ、6000ppm 群では心臓、腎臓、脾臓、肝臓及び脳の実重量の低値と副腎、心臓、肺、腎臓及び脳の体重比の高値がみられた。また、雌の 6000ppm 群で腎臓の実重量は対照群より高値であったが、統計的には有意な低値を示した。これは 1 例に水腎症があり極めて高い値を示したためであった。

III-10-3 病理組織学的検査

非腫瘍性病変の結果は APPENDIX L 1~6 に、その中のおもな非腫瘍性病変を TABLE 12 に抜粋して示した。腫瘍性病変の結果は、APPENDIX M 1,2 に担腫瘍動物数と腫瘍数、APPENDIX N 1,2 に腫瘍の種類別の発生数、APPENDIX O 1,2 に統計解析（Peto 検定、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定）、APPENDIX P 1~6 に転移性病変を示し、おもな腫瘍性病変を TABLE 10,11 に抜粋した。

<鼻腔>

雄では、嗅上皮のエオジン好性変化と嗅上皮の呼吸上皮化生の増加が 1000ppm 群と 3000ppm 群で認められた。

雌では、呼吸上皮のエオジン好性変化と鼻腺の呼吸上皮化生の増加が 3000ppm 群と 6000ppm 群で認められた。

<脾臓>

雄では、血管肉腫の発生（対照群：5/50 例、333ppm 群：4/50 例、1000ppm 群：1/50 例、3000ppm 群：0/50 例）が、Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示し、Fisher 検定でも 3000ppm 群で対照群と比較して有意な減少を示した。また、血管腫と血管肉腫を合わせた発生（対照群：5/50 例、333ppm 群：4/50 例、1000ppm 群：2/50 例、3000ppm 群：0/50 例）も Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示し、Fisher 検定でも 3000ppm 群で対照群と比較して有意な減少を示した。

雌では、ヘモジデリン沈着の減少が 3000ppm 群と 6000ppm 群で認められた。

<副腎>

雄では、皮質の巣状脂肪変性の減少が 1000ppm 群と 3000ppm 群で認められた。

<腎臓>

雄では、好塩基性変化の増加が全投与群で、腎盂の剥離の増加が 3000ppm 群で認められた。

雌では、乳頭の鉍質沈着の減少が全投与群で、腎盂の剥離の増加が全投与群（3000ppm 群では統計的には有意差はないが対照群より発生数が多い）で、水腎症の増加が 3000ppm 群と 6000ppm 群で、乳頭壊死の増加が 6000ppm 群で認められた。

<肝臓>

雄では、肝細胞腺腫の発生（対照群：10/50 例、333ppm 群：11/50 例、1000ppm 群：10/50 例、3000ppm 群：3/50 例）と肝細胞癌の発生（対照群：8/50 例、333ppm 群：11/50 例、1000ppm 群：6/50 例、3000ppm 群：2/50 例）が Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示し、Fisher 検定でも両腫瘍とも 3000ppm 群で対照群と比較して有意な減少を示した。なお、肝細胞腺腫と肝細胞癌を合わせた発生（対照群：17/50 例、333ppm 群：20/50 例、1000ppm 群：13/50 例、3000ppm 群：5/50 例）も Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示し、Fisher 検定でも 3000ppm 群で対照群と比較して有意な減少を示した。また、非腫瘍性病変として肉芽形成の増加が 3000ppm 群に認められた。

雌では、肝細胞腺腫と肝細胞癌を合わせた発生（対照群：3/50 例、1500ppm 群：2/50 例、3000ppm 群：0/50 例、6000ppm 群：0/49 例）が Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示した。

<ハーダー腺>

雄では、腺腫の発生（対照群：4/50 例、333ppm 群：4/50 例、1000ppm 群：4/50 例、3000ppm 群：0/50 例）が Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示した。

<リンパ節>

雄では、悪性リンパ腫の発生（対照群：7/50 例、333ppm 群：9/50 例、1000ppm 群：4/50 例、3000ppm 群：2/50 例）が、Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示した。

雌では、悪性リンパ腫の発生（対照群：18/50 例、1500ppm 群：23/50 例、3000ppm 群：19/50 例、6000ppm 群：10/49 例）が、Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示した。

<下垂体>

雌で腺腫の発生（対照群：6/49 例、1500ppm 群：4/49 例、3000ppm 群：4/50 例、6000ppm 群：0/49 例）が Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示し、Fisher 検定でも 6000ppm 群

で対照群と比較して有意な減少を示した。また、腺腫と腺癌を合わせた発生（対照群：6/49 例、1500ppm 群：4/49 例、3000ppm 群：5/50 例、6000ppm 群：0/49 例）も Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示し、Fisher 検定でも 6000ppm 群で対照群と比較して有意な減少を示した。

<全臓器>

雄では、悪性リンパ腫の発生（対照群：7/50 例、333ppm 群：12/50 例、1000ppm 群：5/50 例、3000ppm 群：3/50 例）と血管肉腫の発生（対照群：5/50 例、333ppm 群：7/50 例、1000ppm 群：3/50 例、3000ppm 群：1/50 例）が Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示した。

雌では、悪性リンパ腫の発生（対照群：18/50 例、1500ppm 群：24/50 例、3000ppm 群：20/50 例、6000ppm 群：10/49 例）が Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示した。

<その他>

投与用量に対応しない変化として以下のものが認められた。

鼻腔では、嗅上皮の呼吸上皮化生の減少が雌の 3000ppm 群で認められた。

骨髄では、肉芽形成の減少が雌の 3000ppm 群で認められた。

腎臓では、炎症性ポリープの増加が雌の 3000ppm 群にのみ認められた。

脳では、鉍質沈着の増加が雌の 1500ppm 群にのみ認められた。

精巣では、鉍質沈着の増加が雄の 333ppm 群に認められた。

全臓器では、雄で組織球性肉腫の発生（対照群：7/50 例、333ppm 群：1/50 例、1000ppm 群：6/50 例、3000ppm 群：3/50 例）が Fisher 検定で 333ppm 群にのみ対照群と比較して有意な減少を示した。

III-10-4 死因

病理学的にみた死亡／瀕死の原因を TABLE 13 に示した。

雄の投与群では、脾臓と肝臓の腫瘍による死亡数が少なかった。

雌では、6000ppm 群の白血病による死亡数が少なかった。

IV 考察及びまとめ

IV-1 生死状況、死因、一般状態、体重、摂餌量、摂水量

最終計測週（104 週）における投与群の生存率は、雄の全投与群と雌の 3000ppm 群と 6000ppm 群で対照群より高値であった。動物の生存率は、制限給餌を行った場合など体重増加の抑制があるときに向上すると報告されており（文献 7）、今回投与群の生存率の向上は、飲水量低下に伴う摂餌量の低下あるいは体重増加の抑制によるものと考えられた。

投与期間中の一般状態の観察では、被験物質の投与によると思われる所見は認められず、被験物質投与群に特徴的な死因は認められなかった。ただし、雄の投与群の内部腫瘍の発生数は、投与濃度に対応した減少が認められた。これは、後述する投与群の肝臓及び脾臓の腫瘍発生数の減少によるものと考えられた。

投与群の体重は、雌雄とも投与濃度に対応した増加抑制が認められた。雌雄ともほぼ全投与期間を通して投与濃度に対応した摂水量と摂餌量の低値が認められた。投与群に認められた体重増加の抑制は摂水量の減少ならびに摂餌量の減少に起因するものと考えられた。

IV-2 腫瘍性病変

腫瘍性病変については、雌雄ともにグリオキサール投与による腫瘍発生の増加は認められなかった。これに対し、雄ではリンパ節の悪性リンパ腫、脾臓の血管肉腫、肝細胞腺腫及び肝細胞癌、全臓器の悪性リンパ腫及び血管肉腫、雌ではリンパ節の悪性リンパ腫、肝細胞腺腫と肝細胞癌の合計及び下垂体の腺腫並びに腺腫と腺癌の合計の発生に有意な減少が示された。これらの変化について考察する。

雄のリンパ節の悪性リンパ腫の発生は、対照群が 7/50 例(14%)であるのに対し 333ppm 群では 9/50 例(18%)、1000ppm 群では 4/50 例(8%)、3000ppm 群では 2/50 例(4%)であり、Cochran-Armitage 検定で減少傾向が示された。また、雄の全臓器の悪性リンパ腫の発生は対照群が 7/50 例(14%)であるのに対し 333ppm 群では 12/50 例(24%)、1000ppm 群では 5/50 例(10%)、3000ppm 群では 3/50 例(6%)であった。しかし、当センターでのヒストリカルコントロールデータでは雄の対照群におけるリンパ節の悪性リンパ腫の発生率は 2～18%（82/848 例、平均 9.7%）の範囲であり、投与群の発生率はこの範囲内にあるし、群間の差が小さくグリオキサールの投与によってリンパ節の悪性リンパ腫の発生が抑制されたとは断言できなかった。

雄の脾臓の血管肉腫の発生は、対照群が 5/50 例(10%)であるのに対し 333ppm 群では 4/50 例(8%)、1000ppm 群では 1/50 例(2%)、3000ppm 群では 0/50 例(0%)であり、Cochran-Armitage 検定で減少傾向、Fisher 検定で 3000ppm 群に有意な減少が示された。また、血管腫と血管肉腫を合わせた発生も Cochran-Armitage 検定で減少傾向が示された。また、

雄の全臓器の血管肉腫の発生は対照群が 5/50 例(10%)であるのに対し 333ppm 群では 7/50 例(14%)、1000ppm 群では 3/50 例(6%)、3000ppm 群では 1/50 例(2%)であり、両腫瘍とも Cochran-Armitage 検定で減少傾向が示された。しかし、当センターでのヒストリカルコントロールデータでは雄の脾臓の血管肉腫の発生率は 0~6% (18/848 例、平均 2.1%) の範囲であり、1000ppm 群と 3000ppm 群の発生率はこの範囲内にあることと、群間の差が小さいことからグリオキサルの投与によってこの腫瘍の発生が抑制されたとは断言できなかった。

雄の肝細胞腺腫の発生は、対照群が 10/50 例(20%)であるのに対し 333ppm 群では 11/50 例(22%)、1000ppm 群では 10/50 例(20%)、3000ppm 群では 3/50 例(6%)であり、Cochran-Armitage 検定で減少傾向が示され、Fisher 検定でも 3000ppm 群に有意な減少が示された。また、肝細胞癌の発生も、対照群が 8/50 例(16%)であるのに対し 333ppm 群では 11/50 例(22%)、1000ppm 群では 6/50 例(12%)、3000ppm 群では 2/50 例(4%)であり、Cochran-Armitage 検定で減少傾向が示され、Fisher 検定でも 3000ppm 群に有意な減少が示された。また、両腫瘍の発生数を合計すると Cochran-Armitage 検定で減少傾向が示された。しかし、当センターでのヒストリカルコントロールデータでは雄の肝細胞腺腫と肝細胞癌の発生率はそれぞれ 4~30% (143/848 例、平均 16.9%) と 2~38% (190/848 例、平均 22.4%) の範囲であり、投与群の発生率は両腫瘍ともこの範囲内にあることから、この腫瘍の減少傾向も被験物質の投与との関連性は明らかでなかった。しかし、肝臓腫瘍は体重の低い動物ほど発生が低いと報告されており(文献 7,8)、3000ppm 群の雄は顕著な体重増加の抑制があることから、肝細胞腺腫と肝細胞癌の発生低下はグリオキサルの投与による体重増加の抑制に対応したものと考えた。

雄のハーダー腺の腺腫の発生は対照群が 4/50 例(8%)であるのに対し 333ppm 群では 4/50 例(8%)、1000ppm 群では 4/50 例(8%)、3000ppm 群では 0/49 例(0%)であり、Cochran-Armitage 検定で減少傾向が示された。しかし、当センターでのヒストリカルコントロールデータでは雄のハーダー腺の腺腫の発生率は 0~10% (37/848 例、平均 4.4%) の範囲で、投与群の発生率はこの範囲内にあることと、群間の差が小さいことグリオキサルの投与によってハーダー腺の腫瘍の発生が抑制されたとは断言できなかった。

雌のリンパ節の悪性リンパ腫の発生は、対照群が 18/50 例(36%)であるのに対し 1500ppm 群では 23/50 例(46%)、3000ppm 群では 19/50 例(38%)、6000ppm 群では 10/49 例(20.4%)であり、Cochran-Armitage 検定で減少傾向が示された。また、雌の全臓器の悪性リンパ腫の発生は、対照群が 18/50 例(36%)であるのに対し 1500ppm 群では 24/50 例(48%)、3000ppm 群では 20/50 例(40%)、6000ppm 群では 10/49 例(20.4%)であり、Cochran-Armitage 検定で減少傾向、Fisher 検定で 6000ppm 群に有意な減少が示された。しかし、当センターでのヒストリカルコントロールデータでは雌のリンパ節の悪性リンパ腫の発生率は 12~40% (187/850 例、平均 22.0%) の範囲で、3000ppm 群と 6000ppm 群の発生率はこの範囲内にあることから、グリオキサルの投与によりこの腫瘍の発生が抑制されたとは

断言できなかった。

雌の肝細胞腺腫と肝細胞癌の発生は、対照群が肝細胞腺腫 2/50 例(4%)と肝細胞癌 1/50 例(2%)であるのに対し 1500ppm 群では肝細胞腺腫 2/50 例(4%)であり、3000ppm 群と 6000ppm 群にはこれらの腫瘍の発生を認めず、両腫瘍の発生数を合計すると Cochran-Armitage 検定で減少傾向が示された。当センターでのヒストリカルコントロールデータでは、雌の肝細胞腺腫と肝細胞癌の発生率はそれぞれ 2~10% (42/850 例、平均 4.9%) と 0~8% (19/850 例、平均 2.2%) の範囲であり、3000ppm 群と 6000ppm 群の肝細胞腺腫の発生率はこれらより低いことから、被験物質の投与によってこの腫瘍が減少した可能性がある。また、肝臓腫瘍は体重の低い動物ほど発生が低いと報告されており(文献 7,8)、雌の 3000ppm 群と 6000ppm 群には体重増加の抑制があることから、肝細胞腺腫と肝細胞癌の発生数の合計の減少はグリオキサルの投与による体重増加の抑制に対応したものと考えた。

雌の下垂体の腺腫の発生は、対照群が 6/49 例(12.2%)であるのに対し 1500ppm 群では 4/49 例(8.2%)、3000ppm 群では 4/50 例(8%)、6000ppm 群では 0/49 例(0%)であり、Cochran-Armitage 検定で減少傾向、Fisher 検定で 6000ppm 群に有意な減少が示された。また、腺腫と腺癌(3000ppm 群にのみ 1 例発生)の発生数を合計すると Cochran-Armitage 検定で減少傾向が示された。しかし、当センターでのヒストリカルコントロールデータでは、雌の下垂体の腺腫の発生率は 2~34% (124/850 例、平均 14.6%) の範囲で、6000ppm 群の発生率はこれらより低いことから、被験物質の投与によってこの腫瘍が減少した可能性がある。また、雌の下垂体腫瘍は体重の低い動物ほど発生が低いと報告されており(文献 7,8)、雌の 6000ppm 群には体重増加の抑制があることから、下垂体の腺腫の発生の減少はグリオキサルの投与による体重増加の抑制に対応したものと考えた。

以上のように、雌雄ともグリオキサルの投与によると考えられる腫瘍の発生増加は認められなかった。これに対して、統計的に種々の腫瘍の発生低下(雄では、リンパ節の悪性リンパ腫、脾臓の血管肉腫、肝細胞腺腫及び肝細胞癌、ハーダー腺の腺腫、雌ではリンパ節の悪性リンパ腫、肝細胞腺腫と肝細胞癌の合計、下垂体の腺腫)が認められた。このうち、雄の肝細胞腺腫と肝細胞癌、雌の肝細胞腺腫と肝細胞癌の合計と下垂体腺腫の発生減少傾向は、被験物質の投与による体重増加の抑制に伴う変化である可能性があった。

IV-3 非腫瘍性病変

非腫瘍性病変については、グリオキサルの投与による影響と考えられる変化が腎臓、鼻腔及び肝臓にみられた。

腎臓では、腎盂上皮の剥離が雄の 3000ppm 群と雌の全投与群で、乳頭壊死が雌の 3000ppm 群と 6000ppm 群で認められた。これはグリオキサルが腎臓に対して傷害性の影響があることが示唆された。また、雄の全投与群に認められた好塩基性変化は尿細管上皮の再生を示す病変で、やはり腎臓にグリオキサルによる傷害があったことが考えられた。水腎

症が雌の 3000ppm 群と 6000ppm 群で増加した。水腎症は尿路系の閉塞を示す病変で、その閉塞の原因として剥離した腎盂上皮が考えられたが、特定できなかった。また、乳頭の硬質沈着が雌の投与群で減少したが、その原因も明らかでなかった。マウスの腎臓に認められた傷害性の病変をラットと比較すると、ラットの雌には乳頭の結晶沈着がみられたがマウスには認められず、マウスでは腎盂上皮の剥離が認められたがラットでは認められなかった。以上のことから、ラットとマウスではグリオキサルの代謝系が異なることが考えられた。

鼻腔の変化は、雄では嗅上皮におけるエオジン好性変化と呼吸上皮化生が 1000ppm 群と 3000ppm 群で増加し、雌では呼吸上皮のエオジン好性変化と鼻腺の呼吸上皮化生が 1000ppm 群と 3000ppm 群で増加していた。これらの所見はいずれも加齢病変であり（文献 9,10）、その増加が何を意味するかは明らかにされていないが、鼻腔に対するグリオキサルの投与による影響と考えられた。

肝臓には雄の 3000ppm 群で自然発生病変である肉芽形成の発生増加がみられ、グリオキサルの投与による影響の可能性があったが、発生例数の増加がみられるだけであり病変の範囲の拡大や程度が重度になる例はなかった。

上記の非腫瘍性病変の増加に対し、雄における副腎の皮質の巣状脂肪変性及び雌の脾臓のヘモジデリン沈着には有意な減少が示された。これら自然発生性病変の減少の原因は明らかではないが、グリオキサルの投与による影響と考えられた。

IV-4 その他

血液学的検査では、雄に赤血球数の増加、ヘモグロビン濃度の増加、ヘマトクリット値の増加、血小板数の増加がおもに 1000ppm 群と 3000ppm 群に認められた。これらの変化は、摂水量低下に起因する血液濃縮を示唆する所見と考えられたが、制限給餌でもこれらの変化が起こると報告されている（文献 7）ことと、同じ摂水量の低下のある雌ではこれらの変化は認められなかったことからこの原因は不明であった。血液生化学的検査では、雄の 3000ppm 群で総蛋白と総コレステロールの減少、雄の 3000ppm 群と雌の 6000ppm 群にトリグリセライドの減少が認められた。これらの変化は、摂餌量の低下に起因する低栄養状態を示唆する変化と思われた。尿検査では、摂水量及び摂餌量の不足あるいは病理組織学的検査で認められた腎臓の障害が原因と思われる変化として pH の低下が雄では 3000ppm 群で、雌では全投与群で、蛋白の陽性度の増加が雄の 3000ppm 群と雌の 6000ppm 群で、ケトン体の陽性例の増加が雄では 1000ppm 群と 3000ppm 群で、雌では 6000ppm 群に認められた。臓器重量では、諸臓器にみられた実重量の低値や体重比の高値は体重増加の抑制に伴う変化と考えられた。

その他、血液学的検査、血液生化学的検査で変化のみられたパラメータがあった。しかし、これらの変化は、わずかな変化であったり、病理組織学的検査でも関連する臓器や組織に変化が認められなかったことから、被験物質との関連は不明であった。

V 結論

Crj:BDF₁ マウスを用いてグリオキサルの 2 年間 (104 週間) にわたる経口投与 (混水) によるがん原性試験を行った。

その結果、雌雄ともグリオキサルの投与による腫瘍の発生増加を示す証拠は認められなかった。

なお、非腫瘍性病変については、グリオキサルの投与による影響と考えられる変化として、雄の腎臓の好塩基性変化と腎盂上皮の剥離、鼻腔の嗅上皮におけるエオジン好性変化と呼吸上皮化生及び肝臓の肉芽形成ならびに雌の腎臓の腎盂上皮の剥離と乳頭壊死と水腎症及び鼻腔の呼吸上皮のエオジン好性変化と鼻腺の呼吸上皮化生が認められた。

VI 文献

1. 化学工業日報社 (1999)
13599 の化学商品
p.429, 化学工業日報社, 東京
2. 後藤稔、池田正之、原一郎 編 (1977)
産業中毒便覧 (増補版)
pp.1092-1093, 医歯薬出版, 東京
3. Heller, S.R. and Milne, G.W.A. (1978)
EPA/NIH Mass Spectral Data Base Vol.1, p.882
U. S. Government Printing Office, Washington
4. 日本バイオアッセイ研究センター (1995)
グリオキサルのラット及びマウスを用いた経口投与によるがん原性予備 (混水試験) 試験報告書
日本バイオアッセイ研究センター, 神奈川
5. 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
6. Peto, R., Pike, M.C., Day, N.E., Gray, R.G., Lee, P.N., Parish, S., Peto, J., Richards, S. and Wahrendorf, J. (1980)
Guideline for simple, sensitive significance test for carcinogenic effects in long-term animal experiments.
In: Long-Term and Short-Term Screening Assays for Carcinogenes: A Critical Proposal.
IARC Monographs, Suppl. 2, pp.311-426, IARC, Lyon.
7. Witt, W.M., Sheldon, W.G., and Thurman, J.D. (1991)
Pathological endpoints in dietary restricted rodents-Fischer 344 rats and B₆C₃F₁ mice.
In: L. Fishbein (ed.) Biological Effects of Dietary Restriction.

pp.73-86, Springer-Verlag, New York

8. Seilkop, S.E. (1995)

The effect of body weight on tumor incidence and carcinogenicity testing in $B_6C_3F_1$ mice and F344 rats.

Fundamental and Applied Toxicology. 24, pp.247-259

9. Nagano K., Enomoto M., Yamanouchi K., Aiso S. and Katagiri T. (1988)

上気道病変

Journal Pathology. Vol. 1, No.2 Autumn, pp.115-127

10. Nagano K., Katagiri T., Aiso S., Senoh H., Sakura Y. and Takeuchi T. (1997)

Spontaneous lesions of nasal cavity in aging in F344 Rats and BDF₁ mice.

Exp. Toxic Pathol 49, pp.97-104