

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試験(混水試験)報告書

試験番号

2 週間試験：ラット/0222；マウス/0223

13 週間試験：ラット/0234；マウス/0235

CAS No. 100-97-0

平成 7 年 5 月 31 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試験(混水試験)報告書

試験番号

2 週間試験：ラット/0222；マウス/0223

13 週間試験：ラット/0234；マウス/0235

本 文

目 次	頁
要 約	1
I 試 験 材 料	3
I - 1 被 験 物 質 の 性 状 等	3
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	4
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	5
II - 1 投 与	5
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 調 製 方 法	5
II - 1 - 4 調 製 時 に お け る 濃 度 測 定	6
II - 1 - 5 投 与 条 件 下 に お け る 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	7
II - 2 - 1 各 群 の 使 用 動 物 数	7
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	8
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
(1) 剖 検	9
(2) 臓 器 重 量	9
(3) 病 理 組 織 学 的 検 査	9
II - 4 数 値 処 理 と 統 計 学 的 方 法	10
II - 4 - 1 数 値 の 取 扱 い と 表 示	10
II - 4 - 2 母 数 の 取 扱 い	10
II - 4 - 3 統 計 方 法	11
II - 5 試 資 料 の 保 管	11

Ⅲ 試験成績	12
Ⅲ-1 ラットを用いた試験	12
Ⅲ-1-1 2週間試験(試験番号:0222)	12
1. 動物の状態観察	12
(1) 生死状況	12
(2) 一般状態	12
(3) 体重	12
(4) 摂水量	13
(5) 摂餌量	13
(6) 被験物質摂取量	13
2. 血液学的検査・血液生化学的検査	14
(1) 血液学的検査	14
(2) 血液生化学的検査	14
3. 病理学的検査	14
(1) 剖検	14
(2) 臓器重量	14
(3) 病理組織学的検査	15
Ⅲ-1-2 13週間試験(試験番号:0234)	16
1. 動物の状態観察	16
(1) 生死状況	16
(2) 一般状態	16
(3) 体重	16
(4) 摂水量	16
(5) 摂餌量	16
(6) 被験物質摂取量	17
2. 血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査	17
(1) 血液学的検査	17
(2) 血液生化学的検査	17
(3) 尿検査	18
3. 病理学的検査	18
(1) 剖検	18
(2) 臓器重量	18
(3) 病理組織学的検査	18
Ⅲ-2 マウスを用いた試験	19
Ⅲ-2-1 2週間試験(試験番号:0223)	19
1. 動物の状態観察	19
(1) 生死状況	19
(2) 一般状態	19
(3) 体重	19
(4) 摂水量	19
(5) 摂餌量	20
(6) 被験物質摂取量	20
2. 血液学的検査・血液生化学的検査	20
(1) 血液学的検査	20
(2) 血液生化学的検査	20
3. 病理学的検査	21
(1) 剖検	21
(2) 臓器重量	21
(3) 病理組織学的検査	21
Ⅲ-2-2 13週間試験(試験番号:0235)	22
1. 動物の状態観察	22
(1) 生死状況	22
(2) 一般状態	22

(3) 体 重	22
(4) 摄 水 量	22
(5) 摄 餌 量	22
(6) 被 験 物 質 摄 取 量	23
2. 血 液 学 的 検 査 ・ 血 液 生 化 学 的 検 査 ・ 尿 検 査	23
(1) 血 液 学 的 検 査	23
(2) 血 液 生 化 学 的 検 査	23
(3) 尿 検 査	23
3. 病 理 学 的 検 査	24
(1) 剖 検	24
(2) 臓 器 重 量	24
(3) 病 理 組 織 学 的 検 査	24
IV 考 察 及 び ま と め	25
V 文 献	30

TABLES

- TABLE 1 EXPERIMENTAL DESIGN AND MATERIALS AND METHODS
IN THE DRINKING STUDIES OF GLYOXAL
- 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 WATER CONSUMPTION IN MALE RAT (TWO-WEEK STUDY)
- TABLE 5 WATER CONSUMPTION IN FEMALE RAT (TWO-WEEK STUDY)
- TABLE 6 FOOD CONSUMPTION IN MALE RAT (TWO-WEEK STUDY)
- TABLE 7 FOOD CONSUMPTION IN FEMALE RAT (TWO-WEEK STUDY)
- TABLE 8 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE RAT
(THIRTEEN-WEEK STUDY)
- TABLE 9 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE RAT
(THIRTEEN-WEEK STUDY)
- TABLE 10 WATER CONSUMPTION IN MALE RAT (THIRTEEN-WEEK STUDY)
- TABLE 11 WATER CONSUMPTION IN FEMALE RAT (THIRTEEN-WEEK STUDY)
- TABLE 12 FOOD CONSUMPTION IN MALE RAT (THIRTEEN-WEEK STUDY)
- TABLE 13 FOOD CONSUMPTION IN FEMALE RAT (THIRTEEN-WEEK STUDY)

TABLES_(CONTINUED)

TABLE 14 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE MOUSE
(TWO-WEEK STUDY)

TABLE 15 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE MOUSE
(TWO-WEEK STUDY)

TABLE 16 WATER CONSUMPTION IN MALE MOUSE (TWO-WEEK STUDY)

TABLE 17 WATER CONSUMPTION IN FEMALE MOUSE (TWO-WEEK STUDY)

TABLE 18 FOOD CONSUMPTION IN MALE MOUSE (TWO-WEEK STUDY)

TABLE 19 FOOD CONSUMPTION IN FEMALE MOUSE (TWO-WEEK STUDY)

TABLE 20 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE MOUSE
(THIRTEEN-WEEK STUDY)

TABLE 21 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE MOUSE
(THIRTEEN-WEEK STUDY)

TABLE 22 WATER CONSUMPTION IN MALE MOUSE (THIRTEEN-WEEK STUDY)

TABLE 23 WATER CONSUMPTION IN FEMALE MOUSE (THIRTEEN-WEEK STUDY)

TABLE 24 FOOD CONSUMPTION IN MALE MOUSE (THIRTEEN-WEEK STUDY)

TABLE 25 FOOD CONSUMPTION IN FEMALE MOUSE (THIRTEEN-WEEK STUDY)

TABLE 26 HEIGHT OF GASTRIC MUCOSA(FUNDUS) IN RATS (THIRTEEN-WEEK STUDY)

TABLE 27 HEIGHT OF GASTRIC MUCOSA(FUNDUS) IN MICE (THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURES

- FIGURE 1 BODY WEIGHT CHANGES : RAT : MALE (THIRTEEN-WEEK STUDY)
- FIGURE 2 BODY WEIGHT CHANGES : RAT : FEMALE (THIRTEEN-WEEK STUDY)
- FIGURE 3 WATER CONSUMPTION : RAT : MALE (THIRTEEN-WEEK STUDY)
- FIGURE 4 WATER CONSUMPTION : RAT : FEMALE (THIRTEEN-WEEK STUDY)
- FIGURE 5 FOOD CONSUMPTION : RAT : MALE (THIRTEEN-WEEK STUDY)
- FIGURE 6 FOOD CONSUMPTION : RAT : FEMALE (THIRTEEN-WEEK STUDY)
- FIGURE 7 BODY WEIGHT CHANGES : MOUSE : MALE (THIRTEEN-WEEK STUDY)
- FIGURE 8 BODY WEIGHT CHANGES : MOUSE : FEMALE (THIRTEEN-WEEK STUDY)
- FIGURE 9 WATER CONSUMPTION : MOUSE : MALE (THIRTEEN-WEEK STUDY)
- FIGURE 10 WATER CONSUMPTION : MOUSE : FEMALE (THIRTEEN-WEEK STUDY)
- FIGURE 11 FOOD CONSUMPTION : MOUSE : MALE (THIRTEEN-WEEK STUDY)
- FIGURE 12 FOOD CONSUMPTION : MOUSE : FEMALE (THIRTEEN-WEEK STUDY)

APPENDIXES

- 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 WATER CONSUMPTION CHANGES (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : MALE
- APPENDIX A 3-2 WATER CONSUMPTION CHANGES (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : FEMALE
- APPENDIX A 3-3 WATER CONSUMPTION CHANGES (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : MALE
- APPENDIX A 3-4 WATER CONSUMPTION CHANGES (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : FEMALE
- APPENDIX A 4-1 FOOD CONSUMPTION CHANGES (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : MALE
- APPENDIX A 4-2 FOOD CONSUMPTION CHANGES (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : FEMALE
- APPENDIX A 4-3 FOOD CONSUMPTION CHANGES (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : MALE
- APPENDIX A 4-4 FOOD CONSUMPTION CHANGES (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : FEMALE

APPENDIXES (CONTINUED)

APPENDIX A 5-1 CHEMICAL INTAKE CHANGES (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : MALE

APPENDIX A 5-2 CHEMICAL INTAKE CHANGES (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : FEMALE

APPENDIX A 5-3 CHEMICAL INTAKE CHANGES (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : MALE

APPENDIX A 5-4 CHEMICAL INTAKE CHANGES (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : FEMALE

APPENDIX A 6-1 HEMATOLOGY (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : MALE

APPENDIX A 6-2 HEMATOLOGY (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : FEMALE

APPENDIX A 6-3 HEMATOLOGY (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : MALE

APPENDIX A 6-4 HEMATOLOGY (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : FEMALE

APPENDIX A 7-1 BIOCHEMISTRY (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : MALE

APPENDIX A 7-2 BIOCHEMISTRY (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : FEMALE

APPENDIX A 7-3 BIOCHEMISTRY (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : MALE

APPENDIX A 7-4 BIOCHEMISTRY (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : FEMALE

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

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

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

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

APPENDIXES (CONTINUED)

- APPENDIX A 9-1 ORGAN WEIGHT (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY),RELATIVE
RAT : MALE
- APPENDIX A 9-2 ORGAN WEIGHT (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY),RELATIVE
RAT : FEMALE
- APPENDIX A 9-3 ORGAN WEIGHT (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY),RELATIVE
MOUSE : MALE
- APPENDIX A 9-4 ORGAN WEIGHT (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY),RELATIVE
MOUSE : FEMALE
- APPENDIX A 10-1 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS
(TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : MALE : DEAD AND MORIBUND ANIMALS
- APPENDIX A 10-2 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS
(TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : FEMALE : DEAD AND MORIBUND ANIMALS
- APPENDIX A 10-3 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS
(TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : MALE : SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX A 10-4 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS
(TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : FEMALE : SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX A 10-5 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS
(TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : MALE : SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX A 10-6 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS
(TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : FEMALE : SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX A 11-1 IDENTITY OF GLYOXAL
(TWO-WEEK STUDIES)
- APPENDIX A 11-2 STABILITY OF GLYOXAL
(TWO-WEEK STUDIES)
- APPENDIX A 11-3 CONCENTRATION GLYOXAL IN DRINKING WATER
(TWO-WEEK STUDIES)
- APPENDIX A 11-4 STABILITY OF GLYOXAL IN DRINKING WATER
(TWO-WEEK STUDIES)

APPENDIXES (CONTINUED)

- APPENDIX B 1-1 CLINICAL OBSERVATION (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : MALE
- APPENDIX B 1-2 CLINICAL OBSERVATION (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : FEMALE
- APPENDIX B 1-3 CLINICAL OBSERVATION (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : MALE
- APPENDIX B 1-4 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 WATER CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : MALE
- APPENDIX B 3-2 WATER CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : FEMALE
- APPENDIX B 3-3 WATER CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : MALE
- APPENDIX B 3-4 WATER CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : FEMALE
- APPENDIX B 4-1 FOOD CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : MALE
- APPENDIX B 4-2 FOOD CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : FEMALE
- APPENDIX B 4-3 FOOD CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : MALE
- APPENDIX B 4-4 FOOD CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : FEMALE

APPENDIXES (CONTINUED)

APPENDIX B 5-1 CHEMICAL INTAKE CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : MALE

APPENDIX B 5-2 CHEMICAL INTAKE CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : FEMALE

APPENDIX B 5-3 CHEMICAL INTAKE CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : MALE

APPENDIX B 5-4 CHEMICAL INTAKE CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : FEMALE

APPENDIX B 6-1 HEMATOLOGY (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : MALE

APPENDIX B 6-2 HEMATOLOGY (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : FEMALE

APPENDIX B 6-3 HEMATOLOGY (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : MALE

APPENDIX B 6-4 HEMATOLOGY (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : FEMALE

APPENDIX B 7-1 BIOCHEMISTRY (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : MALE

APPENDIX B 7-2 BIOCHEMISTRY (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : FEMALE

APPENDIX B 7-3 BIOCHEMISTRY (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : MALE

APPENDIX B 7-4 BIOCHEMISTRY (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : FEMALE

APPENDIX B 8-1 URINALYSIS (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : MALE

APPENDIX B 8-2 URINALYSIS (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : FEMALE

APPENDIX B 8-3 URINALYSIS (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : MALE

APPENDIX B 8-4 URINALYSIS (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : FEMALE

APPENDIXES (CONTINUED)

APPENDIX B 9-1 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : MALE : SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX B 9-2 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : FEMALE : SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX B 9-3 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : MALE : DEAD AND MORIBUND ANIMALS

APPENDIX B 9-4 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : MALE : SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX B 9-5 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : FEMALE : SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX B 10-1 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY),ABSOLUTE
RAT : MALE

APPENDIX B 10-2 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY),ABSOLUTE
RAT : FEMALE

APPENDIX B 10-3 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY),ABSOLUTE
MOUSE : MALE

APPENDIX B 10-4 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY),ABSOLUTE
MOUSE : FEMALE

APPENDIX B 11-1 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY),RELATIVE
RAT : MALE

APPENDIX B 11-2 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY),RELATIVE
RAT : FEMALE

APPENDIX B 11-3 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY),RELATIVE
MOUSE : MALE

APPENDIX B 11-4 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY),RELATIVE
MOUSE : FEMALE

APPENDIXES (CONTINUED)

APPENDIX B 12-1 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS
(THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : MALE : SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX B 12-2 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS
(THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : FEMALE : SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX B 12-3 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS
(THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : MALE : DEAD AND MORIBUND ANIMALS

APPENDIX B 12-4 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS
(THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : MALE : SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX B 12-5 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS
(THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : FEMALE : SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX B 13-1 IDENTITY OF GLYOXAL
(THIRTEEN-WEEK STUDIES)

APPENDIX B 13-2 STABILITY OF GLYOXAL
(THIRTEEN-WEEK STUDIES)

APPENDIX B 13-3 CONCENTRATION GLYOXAL IN DRINKING WATER
(THIRTEEN-WEEK STUDIES)

APPENDIX B 13-4 STABILITY OF GLYOXAL IN DRINKING WATER
(THIRTEEN-WEEK STUDIES)

APPENDIX C 1 METHODS FOR HEMATOLOGY, BIOCHEMISTRY AND URINALYSIS

APPENDIX C 2 UNITS AND DECIMAL PLACE FOR HEMATOLOGY AND BIOCHEMISTRY

要約

グリオキサルのがん原性を検索する目的で F344/DuCrj(Fischer)ラットとCrj:BDF₁マウスを用いて経口投与による 2年間(104週間)の試験を実施するに当たり、その投与濃度を検索するために予備試験(2週間試験、13週間試験)を実施した。投与は、グリオキサルを各投与濃度に調製した飲水の自由摂取で行った。2週間試験及び 13週間試験のラット、マウスとも 1群当たり雌雄各 10匹とし、被験物質投与群を5群、対照群を 1群の 6群構成で行った。投与濃度は、2週間試験ではラット、マウスの雌雄とも 9000ppm、6000ppm、4000ppm、2667ppm、1778ppmとし、13週間試験ではラットは雌雄とも 4000ppm、2000ppm、1000ppm、500ppm、250ppm、マウスは雌雄とも 8000ppm、4000ppm、2000ppm、1000ppm、500ppm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(13週間試験)、剖検、臓器重量測定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、雌雄ともにグリオキサルの投与により、6000ppmと9000ppm群で飲水の忌避によると思われる大幅な摂水量の低値、摂餌量の低値、体重増加の抑制が認められ、6000ppm群の雌で 1例、9000ppm群の雄で 5例、雌で 9例の死亡・瀕死動物がみられた。4000ppmでは、摂水量及び摂餌量の低値がみられたものの体重の増加抑制率は対照群に対して雄 16%、雌 10%であった。また、2667ppm、1778ppm群では摂水量に影響はなかった。これらの結果から 6000ppm以上の濃度を 13週間連続投与することは困難であると思われ、4000ppmが 13週間試験における最大耐量であると考えた。以上のことから、13週試験の投与濃度は、雌雄とも最高用量を 4000ppmとし、以下 2000ppm、1000ppm、500ppm、250ppm(公比 2.0)に設定した。

ラットを用いた13週間試験の結果、雌雄ともにグリオキサルの投与による重篤な毒性症状はみられなかった。しかし、最高用量の 4000ppm群では、顕著な摂水量の低値がみられ、体重増加の抑制率が雄では 18%、雌では 14%あり、軽度であるが栄養障害が疑われた。また、2000ppm以下の群では体重増加の抑制及び摂水量の低下は少なく他の検査結果にも著変を認めなかった。以上のことから、4000ppmでの 2年間の連続投与は困難であると考えられた。がん原性試験の最高用量は 4000ppmと 2000ppmの間の 3000ppmとし、以下、1500ppm、750ppm(公比 2.0)に設定した。

マウスを用いた 2週間試験の結果、グリオキサルの投与により顕著な毒性症状は観察されなかった。また、最高用量 9000ppm群の体重増加の抑制は対照群に比べ 10%程度であった。しかし、9000ppm群では雌雄とも対照群に対し 20~40%程度の摂水量しかないので 9000ppmでの 13週間の連続投与は困難であると考えられ、13週試験での最高用量は 9000ppmより僅かに下げべきであると考えた。以上のことから、13週間試験における投与濃度は、雌雄とも最高用量を 8000ppmとし、以下 4000ppm、2000ppm、1000ppm、500ppm(公比 2.0)に設定した。

マウスを用いた13週間試験の結果、各種データから性差が認められた。雄では、4000ppm以上では摂水量の低下による 10%以上の体重増加の抑制がみられ、血液学的検査で血液濃縮、血液生化学的検査で低栄養状態を示唆する所見が観察された。2000ppmでは、摂水量の低値(対照群に比較して66~80%)と体重増加の抑制(対照群に比較して 94%)がみられたが、動物の生存に影響を与えるような障害はみられなかった。以上のことから、4000ppmでの長期間投与に動物は耐えられないと判断し、雄のがん原性試験における用量は、最高用量を 4000ppmと 2000ppmの間の 3000ppmとし、以下 1000ppm、333ppm(公比 3.0)に設定した。雌では、最高用量の 8000ppmで、6%と体重増加の抑制の程度は少なかったが、大幅な摂水量の低値(対照群に比較して 31~45%)とわずかではあるが血液学的検査での血液濃縮、血液生化学的検査で低栄養状態を示唆する所見が観察された。4000ppm群では、摂水量の低値(対照群に比較して 47~64%)があったのみで、動物の生存に影響を与えるような障害はみられなかった。以上のことから、8000ppmの長期間投与に動物は耐えられないと判断し、雌のがん原性試験における用量は、最高用量を 8000ppmと 4000ppmの間の 6000ppmとし、以下、3000ppm、1500ppm(公比 2.0)に設定した。

I 試験材料

I - 1 被験物質の性状等

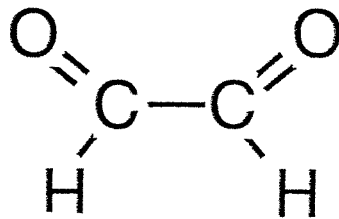
I - 1 - 1 名称と別名

名称：グリオキサル (Glyoxal)

別名：Aerotex Glyoxal

CAS.No. : 107-22-2

I - 1 - 2 構造式、分子量



$C_2H_2O_2$ (分子量 : 58.04)

I - 1 - 3 物理化学的性状等

外 観 : 無色～微黄色の透明な液体

比 重 : 1.14 (15℃)

p H : 2.1～2.7

保存条件 : 火気のない場所に直射日光を避けて密閉容器で保存した。

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 WDL5585

13週間試験 WDL5585

製 造 元 : 和光純薬工業株式会社

純 度 : 40% (40%水溶液)

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同一性の確認はマススペクトルを測定し、文献値（文献 1）と比較することにより行った。その結果、供試被験物質には文献値と同じ分子量を示すピークが確認され、グリオキサールであることを確認した。

なお、それらの結果は、2週間試験を APPENDIX A 11-1、13週間試験を APPENDIX B 13-1 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として使用したグリオキサールについて、投与開始前及びその投与終了後に、ガスクロマトグラムを測定し、それぞれのデータを比較した。

その結果、測定結果に差はみられず、投与期間中のグリオキサールは安定であった。

なお、それらの結果は、2週間試験を APPENDIX A 11-2、13週間試験を APPENDIX B 13-2 に示した。

I - 4 試験動物

動物は2週間試験、13週間試験ともに日本チャールス・リバー（株）より購入した 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、マウスとも雌雄各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：119～136g、雌：99～112g/マウス雄：22.4～25.2g、雌：17.2～20.2g）を選別し、試験に供した。

13週間試験では、ラット、マウスとも雌雄各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：114～128g、雌：98～110g/マウス雄：21.3～23.7g、雌：17.1～19.3g）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。

Ⅱ 試験方法

試験計画、材料及び方法等の概要を TABLE1 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、13週間試験とも経口投与とした。すなわち、褐色遮光のガラス製給水瓶を用い、被験物質を混合した飲料水の自由摂取により、2週間試験では14日間、13週間試験では92～93日間解剖直前まで連続投与した。

Ⅱ - 1 - 2 投与濃度

2週間試験

ラット及びマウスの雌雄ともに最高投与濃度を9000ppmに設定し、以下、6000ppm、4000ppm、2667ppm、1778ppm(公比1.5)とした。なお、対照群として飲料水だけの群を設けた。

13週間試験

ラットは雌雄ともに最高投与濃度を4000ppmに設定し、以下、2000ppm、1000ppm、500ppm、250ppm(公比2.0)とした。なお、対照群として飲料水だけの群を設けた。

マウスは雌雄ともに最高投与濃度を8000ppmに設定し、以下、4000ppm、2000ppm、1000ppm、500ppm(公比2.0)とした。なお、対照群として飲料水だけの群を設けた。

Ⅱ - 1 - 3 被験物質の調製方法

2週間、13週間の各試験とも、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被験物質を溶解して各設定濃度になるように希釈調製した。なお、各試験における濃度の表示は、ppm(重量対重量比)とした。また、調製頻度は給水交換に合わせて2週間、13週間試験とも毎週2回とした。

II - 1 - 4 調製時における濃度測定

各投与濃度に調製された被験物質の濃度は、2週間試験、13週間試験ともガスクロマトグラフを用いて分析し確認した。

各群の調製濃度は設定濃度に対し、2週間のラット及びマウスの試験では95.8～99.3%、13週間のラットの試験では102.8～107.2%、マウスの試験では99.4～101.7%の範囲にあった。

それらの結果を2週間試験はAPPENDIX A 11-3、13週間試験はAPPENDIX B 13-3に示した。

II - 1 - 5 調製被験物質の安定性

2週間試験、13週間試験とも各投与濃度に調製された被験物質の投与期間中(7日)の安定性は、投与前後の調製被験物質の濃度をガスクロマトグラフを用いて分析し、その結果を比較することにより確認した。

その結果、測定濃度に差はみられず、投与期間中の調製された被験物質の濃度は安定であった。

それらの結果について、2週間試験はAPPENDIX A 11-4、13週間試験はAPPENDIX B 13-4に示した。

II - 1 - 6 被験物質の摂取量

摂水量より被験物質の体重当たりの摂取量(mg/kg/day)を算出した。

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週間試験のラット、マウスとも投与群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、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/時の環境下で飼育した。

動物は単飼ケージ(ステンレス製二連網ケージ、ラット:170W×294D×176H mm、マウス: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、オリエンタル酵母工業(株)のCRF-1固型飼料(3Mrad- γ 線照射滅菌飼料)を使用し、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、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、検疫期間については自動給水装置で、馴化期間及び投与期間は褐色遮光のガラス製給水瓶によって自由摂取させた。なお、給水瓶交換は週2回行った。

－ 3 観察・検査項目及び方法

－ 3 － 1 動物の一般状態の観察

各試験とも、毎日 1 回、動物の一般状態の観察を行った。

－ 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)、2日目(1週 2日)、4日目(1週 4日)、7日目(1週 7日)、10日目(2週 3日)及び 14日目(2週 7日)に、13週間試験では毎週 1回(投与開始直前及び各週 7日目)体重を測定した。

－ 3 － 3 摂水量測定

2週間試験では、4日目(1週 4日)、7日目(1週 7日)、10日目(2週 3日)及び 14日目(2週 7日)に、13週間試験では週 1回摂水量を個体別に測定した。

－ 3 － 4 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。

－ 3 － 5 血液学的検査

2週間試験は各群 5例、13週間試験は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週間試験においては、検査対象動物は解剖日前日より(18時間以上)絶食させた。

なお、検査項目は TABLE1、検査方法は APPENDIX C 1 に示した。

－ 3 － 6 血液生化学的検査

2週間試験は各群 5例、13週間試験は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、13週間試験においては、検査対象動物は解剖日前日より

絶食(18時間以上)させた。

なお、検査項目は TABLE1、検査方法は APPENDIX C 1 に示した。

－ 3 － 7 尿 検 査

13週間試験の投与最終週に採尿可能な全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 TABLE1、検査方法は APPENDIX C 1 に示した。

－ 3 － 8 病理学的検査

(1) 剖 検

各試験とも全動物について肉眼的に観察を行った。

(2) 臓器重量

2週間試験では各群 5例、また、13週間試験では全動物について定期解剖時に TABLE1 に示した臓器の湿重量(臓器実重量)を測定した。また、湿重量の体重比(臓器重量体重比)、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

2週間試験では雌雄各群の 2～4例の動物の臓器を、13週間試験では全動物の臓器を 10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液にて固定後、TABLE1 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。

－ 4 数値処理と統計学的方法

－ 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。

摂水量については g を単位とし、計測期間を通しての摂水量を小数点以下第 1 位まで計測し、この値を計測期間の日数で除し、1 日当りの平均摂水量を算出し、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た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 $\text{mg/kg}(\text{body weight})/\text{day}$ 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 C 2 に示した精度により表示した。13 週間試験で算出した 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、各数値データにおける平均値及び標準偏差は上記に示した桁数と同様になるよう四捨五入を行い表示した。

－ 4 － 2 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。

13 週間試験の尿検査は、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。

－ 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。

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13週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。 χ^2 検定は対照群と各投与群との検定である。

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。

－ 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。

試験成績

－ 1 ラットを用いた試験

－ 1 － 1 2週間試験(試験番号:0 2 2 2)

1. 動物の状態観察

(1) 生死状況

生死状況をTABLE 2、3、APPENDIX A 1-1、2 に示した。

雄では、最高用量の 9000ppm群で投与開始後 2週 3日に 1匹の死亡と1匹の瀕死動物、並びに 2週 4日に 3匹の瀕死動物がみられ、投与終了時の生存動物は 5匹であった。

雌では、最高用量の 9000ppm群で投与開始後 1週 7日に 1匹瀕死動物、2週 1日に 1匹死亡、2週 2日に 1匹死亡と1匹瀕死動物、2週 4日に 2匹瀕死動物、2週 6日に 2匹死亡、並びに 2週の 7日に 1匹死亡がみられ、投与終了時の生存動物は 1匹であった。また、6000ppm群でも 2週 6日に 1匹の死亡がみられた。

4000ppm以下の群では雌雄とも死亡動物は認められなかった。

(2) 一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX A 1-1、2 に示した。

雄では、最高用量の 9000ppm群に 1週 5日より糞小粒と糞少量、2週 1日より立毛が観察され投与終了時にはほとんどの動物に認められた。また、2週 2日より円背位が観察され投与終了時にはおよそ半数の動物に認められた。

雌では最高用量の 9000ppm群で 1週 5日より糞小粒、糞少量及び外陰部汚染、1週 6日より立毛と円背位が観察され、これらの所見は死亡時、瀕死解剖時あるいは投与終了時迄認められた。6000ppm群でも 1週の 5日より外陰部汚染が観察され、本所見は投与終了時には約半数の動物に認められた。また、2週の 1日より立毛が小数例に認められた。

4000ppm以下の群では雌雄とも所見は認められなかった。

(3) 体重

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

雌雄とも 2667ppm以上の投与群に投与濃度に対応した体重増加の抑制が認められた。1778ppm群では、雌雄とも対照群と比較して体重推移に顕著な

差は認められなかった。

なお、最終計測日（2週 7日）における各投与群の体重は、対照群と比較して、雄では 9000ppm群:48%（有効動物数：5匹）、6000ppm群:69%、4000ppm群:84%、2667ppm群:93%、1778ppm群:96%、雌では 9000ppm群:53%（有効動物数：1匹）、6000ppm群:80%（有効動物数：9匹）、4000ppm群:90%、2667ppm群:95%、1778ppm群:98%であった。

（４）摂水量

摂水量を TABLE 4、5、APPENDIX A 3-1、2 に示した。

雌雄の全投与群で、投与濃度に対応した摂水量の低値が認められ、投与期間中の投与群の摂水量は対照群に対して雄では 9000ppm群:17～26%、6000ppm群:26～48%、4000ppm群:43～71%、2667ppm群:64～75%、1778ppm群:73～78%、雌では 9000ppm群:17～28%、6000ppm群:28～56%、4000ppm群:45～65%、2667ppm群:60～70%、1778ppm群:64～72%であった。

（５）摂餌量

摂餌量を TABLE 6、7、APPENDIX A 4-1、2 に示した。

雌雄とも全投与群で、投与濃度に対応した摂餌量の低値が認められ、投与期間中の投与群の摂餌量は対照群に対して雄では 9000ppm群:31～38%、6000ppm群:49～63%、4000ppm群:67～83%、2667ppm群:86～91%、1778ppm群:91～93%、雌では 9000ppm群:30～45%、6000ppm群:46～76%、4000ppm群:70～89%、2667ppm群:84～95%、1778ppm群:93～98であった。

（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 A 5-1、2 に示した。

雌雄とも摂水量の低下に伴い雄では 4000ppm以上の群で、雌では 6000ppm以上の群で公比どうりの摂取量を示さなかった。即ち、設定濃度は雌雄とも 9000、6000、4000、2667、1778ppm（公比 1.5）であるのに対し、全投与期間の平均被験物質摂取量は雄で 9000ppm群:408mg/kg、6000ppm群:394mg/kg、4000ppm群:338mg/kg、2667ppm群:229mg/kg、1778ppm群:151mg/kg、雌では 9000ppm群:484mg/kg、6000ppm群:486mg/kg、4000ppm群:349mg/kg、2667ppm群:238mg/kg、1778ppm群:162mg/kg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 6-1, 2 に示した。

雄では、6000ppm以上の群で血小板数と網赤血球比の減少、並びにヘモグロビン濃度の増加、9000ppm群で白血球数の減少、並びに赤血球数とヘマトクリット値の増加がそれぞれ認められた。

雌では、最高用量の 9000ppm群では生存動物が 1匹で動物は極度に衰弱しており、定期解剖時に血液は採取できなかった。6000ppm以下の投与群では、2667ppm以上の群で血小板数の減少が認められた。その他、雌の 4000ppm群で実数値では僅かの変化であるがMCVの減少が認められた。しかし、投与量に対応した変化ではなかった。

(2) 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を APPENDIX A 7-1, 2 に示した。

雄では、4000ppm以上の群でリン脂質の減少、6000ppm以上の群でA/G比と尿素窒素の増加、9000ppm群で総蛋白、グルコース、カリウム及びカルシウムの減少、並びにナトリウムとクロールの増加がそれぞれ認められた。

雌では、最高用量の 9000ppm群では生存動物が 1匹で動物は極度に衰弱しており、定期解剖時に血液は採取できなかった。6000ppm以下の投与群では、2667ppm以上の群でリン脂質と総コレステロールの減少、4000ppm以上の群でA/G比の増加、6000ppm群でグルコースの減少、GOT活性の上昇及びカリウムの増加がそれぞれ認められた。

その他、雄の 1778~6000ppm群でGPT活性の低下、6000ppm群で無機リンの減少、雌では 1778ppm群と 2667ppm群でGPT活性の低下がみられたが、投与量に対応した変化ではなかった。

3. 病理学的検査

(1) 剖検

対照群及び投与群に著変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 A 8-1, 2 (実重量)、A 9-1, 2 (体重比) に示した。なお、雌の最高用量の 9000ppm群の定期解剖時の生存数は 1例であったので検査数は 1とした。

雄では、肝臓は 4000ppm以上の群で実重量の低値、9000ppm群で体重比の

低値、胸腺は 6000ppm以上の群で実重量及び体重比の低値が認められ、これらの臓器の重量低下が顕著であった。なお、4000ppm以上の群の心臓、6000ppm以上の群の精巣、肺、腎臓、脾臓に実重量の低値、9000ppm群で脳に実重量の低値、6000ppm以上の群で腎臓及び脳の体重比の高値、9000ppm群で副腎、心臓、肺、の体重比の高値、肝臓の体重比の低値がみられたが、以上の変化は、体重増加の抑制に伴った相対的な変化と考えられた。

雌では、4000ppm以上の群の脾臓の実重量の低値、6000ppm群で胸腺、心臓、肺及び肝臓の実重量の低値、2667ppm以上の群で腎臓の体重比の高値、6000ppm群で脳の体重比の高値が認められたが、以上の変化は、体重増加の抑制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

死亡・瀕死動物の病理組織学的所見（検査数 雄：9000ppm群 2匹、雌：6000ppm群 1匹、9000ppm群 2匹）を APPENDIX A 10-1、2 に、定期解剖動物の病理組織学的所見（雌雄とも各群 2匹、ただし、雌 9000ppm群は 1匹）を APPENDIX A 10-3、4 に示した。

死亡・瀕死例では、雄の 9000ppm群に骨髓の鬱血と造血低下、胸腺の萎縮と核崩壊、脾臓の萎縮、腎臓の近位尿細管直部の空胞変性、副腎の出血、精巣の萎縮及び精巣上体の精上皮細胞の残屑が認められた。雌では、6000ppm群に骨髓の鬱血と造血低下、胸腺の萎縮及び脾臓の萎縮、並びに9000ppm群に骨髓の鬱血と造血低下、胸腺の萎縮と核崩壊、脾臓の萎縮と核崩壊、腎臓の皮髄境界部の鉍質沈着及び副腎の出血が認められた。

定期解剖例では、雄の 9000ppm群に骨髓の鬱血と造血低下、胸腺の萎縮と核崩壊、脾臓の核崩壊、精巣の萎縮及び精巣上体の精上皮細胞の残屑が認められた。雌では、9000ppm群に骨髓の造血低下、胸腺の萎縮と核崩壊、腎臓の好塩基性変化及び肝臓の出血が認められた。

その他の投与群では雌雄ともに特徴的な所見あるいは対照群と比較して顕著に高い発生を示した所見は認められなかった。

- 1 - 2 1 3 週間試験 (試験番号: 0 2 3 4)

1. 動物の状態観察

(1) 生死状況

動物の死亡は、雌雄ともに全ての群で認められなかった。

(2) 一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX B 1-1, 2 に示した。

雌雄ともに全ての群で投与の影響と思われる所見は観察されなかった。

(3) 体重

体重の推移を TABLE 8, 9, FIGURE 1, 2, APPENDIX B 2-1, 2 に示した。

雄の 4000ppm群では、対照群と比較して、全投与期間を通した体重増加の抑制が認められた。雌では、2000ppm群と 4000ppm群に対照群と比較して、全投与期間を通した体重増加の抑制が認められた。その他の投与群の体重推移は雌雄とも対照群との間に差はみられなかった。

最終計測日(13週 7日)における各投与群の体重は、対照群と比較して、雄では 4000ppm群:82%、2000ppm群:95%、1000ppm群:95%、500ppm群:99%、250ppm群:93%、雌では 4000ppm群:86%、2000ppm群:92%、1000ppm群:97%、500ppm群:96%、250ppm群:101%であった。

(4) 摂水量

摂水量を TABLE 10, 11, FIGURE 3, 4, APPENDIX B 3-1, 2 に示した。

雌雄とも 1000ppm以上の投与群の摂水量は、ほぼ全投与期間にわたり対照群と比較して低値を示した。

投与期間中の投与群の摂水量は、対照群と比較して、雄では 4000ppm群:56~72%、2000ppm群:69~84%、1000ppm群:76~87%、500ppm群:93~113%、250ppm群:87~97%、雌では 4000ppm群:49~59%、2000ppm群:58~69%、1000ppm群:67~95%、500ppm群:85~117%、250ppm群:87~100%であった。

(5) 摂餌量

摂餌量を TABLE 12, 13, FIGURE 5, 6, APPENDIX B 4-1, 2 に示した。

雄の 4000ppm群及び雌の 2000ppm以上の群においてほぼ全投与期間に、対照群と比較して摂餌量の低値が認められた。

投与期間中の投与群の摂餌量は対照群に対して、雄では 4000ppm群:73~91%、2000ppm群:90~102%、1000ppm群:94~100%、500ppm群:98~105%、

250ppm群:90~97%、雌では 4000ppm群:66~92%、2000ppm群:85~96%、1000ppm群:96~100%、500ppm群:94~99%、250ppm群:97~102%であった。

(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 B 5-1, 2 に示した。

全投与期間の平均被験物質摂取量は雄で 4000ppm群:226mg/kg、2000ppm群:121mg/kg、1000ppm群:65mg/kg、500ppm群:38mg/kg、250ppm群:18mg/kg、雌では 4000ppm群:251mg/kg、2000ppm群:138mg/kg、1000ppm群:83mg/kg、500ppm群:50mg/kg、250ppm群:23mg/kgであった。

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 6-1, 2 に示した。

雄では、有意な変化は認められなかった。

雌では、最高用量の 4000ppm群でMCVの減少、プロトロンビン時間の短縮及びAPTTの延長が認められたが僅かな変化であった。

(2) 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を APPENDIX B 7-1, 2 に示した。

雄では、500ppm以上の群でALP活性の低下、1000ppm以上の群でGPT活性の低下、2000ppm以上の群で総蛋白とアルブミンの減少、GOT活性の低下、並びにA/G比、尿素窒素及び無機リンの増加、4000ppm群で総コレステロールとリン脂質の低下が認められた。

雌では、全投与群でアルブミンの低下、500ppm以上の群で総コレステロールの減少とALP活性の低下、1000ppm以上の群で総蛋白の減少、2000ppm以上の群でリン脂質、ナトリウム及びカルシウムの低下、GPT活性の低下、並びにA/G比とカリウムの増加、4000ppm群で尿素窒素の増加が認められた。なお、雌の1000ppm群と2000ppm群でγ-GTP活性の低下がみられたが、投与量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 B 8-1, 2 に示した。

雄では、変化は認められなかった。

雌では、2000ppm以上の群で蛋白の陽性度の増加、4000ppm群でケトン体の陽性例の増加が認められた。

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 9-1, 2 に示した。

雌雄とも、投与群に特徴的な所見あるい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。

(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 10-1, 2 (実重量)、B 11-1, 2 (体重比) に示した。

雄では、4000ppm群の胸腺、心臓、肺、腎臓、脾臓及び肝臓の実重量の低値、2000ppm以上の群の脾臓、並びに4000ppm群の精巣、腎臓、肝臓及び脳の体重比の高値が認められたが、これらの変化は、体重増加の抑制に伴った相対的な変化と考えられた。

雌では、2000ppm以上の群の胸腺及び4000ppm群の心臓と肺の実重量の低値、1000ppm以上の群の脾臓、2000ppm以上の群の腎臓及び4000ppm群の肝臓と脳の体重比の高値が認められた。これらの変化は、体重増加の抑制に伴った相対的な変化と考えられた。また、2000ppm群の副腎の実重量は低値を示したが投与濃度に対応した変化ではなかった。

(3) 病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果を APPENDIX B 12-1, 2 に示した。

雄では、投与群に特徴的な所見あるい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。

雌では、2000ppm群の鼻腔の扁平上皮の炎症の発生低下がみられたが投与用量に対応した変化ではなかった。その他、投与群に特徴的な所見あるい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:0223)

1. 動物の状態観察

(1) 生死状況

動物の死亡は、雌雄ともに全ての群で認められなかった。

(2) 一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX A 1-3, 4 に示した。

雄では、9000ppm群で立毛、糞小粒及び糞小量が各 1例認められた。

雌では 9000ppm群で糞小粒と糞小量が各 1例認められた。

その他の投与群では、雌雄とも投与の影響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 14, 15, APPENDIX A 2-3, 4 に示した。

雄では、6000ppm以上の群で全投与期間にわたり体重増加の抑制がみられた。その他の群では、対照群とほぼ同様な体重増加の推移を示した。

雌では、4000ppm群で投与開始後 1週間は体重増加の抑制が認められたが、その後回復傾向を示し投与終了時には対照群と同様の値を示した。

6000ppm以上の群では全投与期間にわたり体重増加の抑制がみられた。その他の群では、対照群とほぼ同様な体重増加の推移を示した。

最終計測日(2週7日)における各投与群の体重は対照群と比較して、雄では 9000ppm群:89%、6000ppm群:95%、4000ppm群:98%、2667ppm群:98%、1778ppm群:101%、雌では 9000ppm群:92%、6000ppm群:95%、4000ppm群:98%、2667ppm群:97%、1778ppm群:99%であった。

(4) 摂水量

摂水量を TABLE 16, 17, APPENDIX A 3-3, 4 に示した。

雌雄とも全投与群で、投与濃度に対応した摂水量の低値が認められた。

投与期間中の投与群の摂水量は対照群に対して、雄では、9000ppm群:26~43%、6000ppm群:38~53%、4000ppm群:51~60%、2667ppm群:64~70%、1778ppm群:77~82%、雌では 9000ppm群:21~40%、6000ppm群:33~49%、4000ppm群:49~60%、2667ppm群:60~62%、1778ppm群:69~72%であった。

(5) 摂餌量

摂餌量を TABLE 18、19、APPENDIX A 4-3、4 に示した。

雄では 6000ppm以上の群の第 1週 7日に対照群と比較して摂餌量の低値が認められた。その他の群では対照群と比較して顕著な差は認められなかった。

雌では 2667ppm以上の群に対照群と比較して摂餌量の低値が認められた。1778ppm群では対照群と比較して顕著な差は認められなかった。

投与期間中の投与群の摂餌量は対照群に対して、雄では、9000ppm群：83～97%、6000ppm群：89～97%、4000ppm群：91～97%、2667ppm群：97%、1778ppm群：100%、雌では 9000ppm群：72～89%、6000ppm群：81～89%、4000ppm群：84～89%、2667ppm群：88～91%、1778ppm群：94%であった。

(6) 被験物質摂取量

体重、摂水量及び設定濃度より算出された被験物質摂取量を APPENDIX A 5-3、4 に示した。

被験物質摂取量は、雄で 9000ppm群：661mg/kg、6000ppm群：500mg/kg、4000ppm群：368mg/kg、2667ppm群：292mg/kg、1778ppm群：226mg/kg、雌では 9000ppm群：903mg/kg、6000ppm群：632mg/kg、4000ppm群：531mg/kg、2667ppm群：389mg/kg、1778ppm群：287mg/kg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 6-3、4 に示した。

雄では最高用量の 9000ppm群で赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の増加が認められた。その他、6000ppm群でMCHCの増加が認められたが投与量に対応した変化ではなかった。

雌では、変化は認められなかった。

(2) 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を APPENDIX A 7-3、4 に示した。

雄では、1778ppm群、4000ppm群及び 6000ppm群で総コレステロールの増加が認められたが、投与量に対応した変化ではなかった。

雌では、9000ppm群で尿素窒素、ナトリウム及びカリウムの増加が認められた。その他、1778ppm群と 2667ppm群で総コレステロールの減少が認めら

れたが、投与量に対応した変化ではなかった。

3. 病理学的検査

(1) 剖検

雌雄とも対照群及び投与群に著変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 A 8-3、4 (実重量)、A 9-3、4 (体重比) に示した。

雄では、対照群に比べ実重量及び体重比とも著変はみられなかった。

雌では、4000ppm以上の群で腎臓の体重比の高値と 9000ppm群で脳の実重量の低値が認められた。

(3) 病理組織学的検査

各群の雌雄各2匹の病理組織学的所見を APPENDIX A 10-5、6 に示した。

雌雄とも投与群に特徴的な所見は認められなかった。

Ⅲ - 2 - 2 1 3 週間試験 (試験番号: 0 2 3 5)

1. 動物の状態観察

(1) 生死状況

雄の 2000ppm群で 10週 7日目に 1匹死亡がみられたほかは、雌雄ともに他の投与群には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 B 1-3, 4 に示した。

雌の最高用量の 8000ppm群で立毛が投与初期より観察され、投与終了時には約半数の動物に認められたほかは、雌雄ともに他の投与群には投与の影響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 20, 21, FIGURE 7, 8, APPENDIX B 2-3, 4 に示した。

雄では 4000ppm以上の投与群で全投与期間にわたり投与濃度に対応した体重増加の抑制が認められた。雌では最高投与群の 8000ppm群で全投与期間にわたり体重増加の抑制がみられた。

最終計測日(13週7日)における各投与群の体重は対照群と比較して、雄では 8000ppm群:76%、4000ppm群:83%、2000ppm群:94%、1000ppm群:99%、500ppm群:96%、雌では 8000ppm群:94%、4000ppm群:95%、2000ppm群:100%、1000ppm群:101%、500ppm群:101%であった。

(4) 摂水量

摂水量を TABLE 22, 23, FIGURE 9, 10, APPENDIX B 3-3, 4 に示した。

雌雄とも 2000ppm以上の投与群で全投与期間にわたり投与濃度に対応した摂水量の低下が認められた。

投与期間中の投与群の摂水量は対照群に対して、雄では 8000ppm群:37~46%、4000ppm群:47~62%、2000ppm群:66~80%、1000ppm群:89~100%、500ppm群:87~106%、雌では 8000ppm群:31~45%、4000ppm群:47~64%、2000ppm群:62~75%、1000ppm群:81~91%、500ppm群:85~107%であった。

(5) 摂餌量

摂餌量を TABLE 24, 25, FIGURE 11, 12, APPENDIX B 4-3, 4 に示した。

雌雄とも 4000ppm以上の投与群で、全投与期間にわたり摂餌量の低下が認められた。

投与期間中の投与群の摂餌量は対照群に対して、雄では 8000ppm群:80~95%、4000ppm群:83~94%、2000ppm群:89~100%、1000ppm群:98~106%、500ppm群:94~103%、雌では 8000ppm群:74~92%、4000ppm群:89~97%、2000ppm群:92~100%、1000ppm群:94~103%、500ppm群:94~103%であった。

(6) 被験物質摂取量

体重、摂水量及び設定濃度より算出された被験物質摂取量を APPENDIX B 5-3, 4 に示した。

被験物質摂取量は、雄では 8000ppm群:523mg/kg、4000ppm群:328mg/kg、2000ppm群:205mg/kg、1000ppm群:129mg/kg、500ppm群:69mg/kg、雌では 8000ppm群:669mg/kg、4000ppm群:463mg/kg、2000ppm群:271mg/kg、1000ppm群:170mg/kg、500ppm群:98mg/kgであった。

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 6-3, 4 に示した。

雄では、最高用量の 8000ppm群で赤血球数、ヘマトクリット値及び血小板数の減少、雌では 4000ppm以上の群でヘモグロビン濃度の減少が認められた。

(2) 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を APPENDIX B 7-3, 4 に示した。

雄では、4000ppm以上の群で総蛋白、グルコース、総コレステロール及びトリグリセライドの減少、8000ppm群でGPT活性、カルシウム及びアルブミンの減少、並びにA/G比の増加が認められた。

雌では、2000ppm以上の群でGPT活性の低下、4000ppm以上の群で総蛋白、アルブミンの減少、8000ppm群でカリウムの減少と無機リンの増加が認められた。

(3) 尿検査

投与期間最終週に行った尿検査の結果をAPPENDIX B 8-3, 4 に示した。

雄では、2000ppm以上の群でpH値の低下と蛋白の陽性度の増加が認められた。

雌では、2000ppm以上の群で蛋白の陽性度の増加が認められた。

3. 病理学的検査

(1) 剖検

死亡・瀕死動物（雄の 2000ppm群に 1例）の解剖時に観察された剖検所見を APPENDIX B 9-3 に示した。定期解剖動物の解剖時に観察された所見を APPENDIX B 9-4、5 に示した。

雄の 2000ppm群で 10週 7日目に死亡した動物は、腎臓の萎縮、水腎症及び尿管の拡張がみられた。

定期解剖例では、雌雄とも投与群に特徴的な所見あるい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。

(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 10-3、4（実重量）、B 11-3、4（体重比）に示した。

雄では、胸腺の実重量の低値が 4000ppm以上の群、また、体重比の低値が 8000ppm群に認められた。その他、解剖時体重の低値に伴って 4000ppm以上の群の肝臓と 8000ppm群の脾臓の実重量の低値、2000ppm以上の群の精巣、心臓及び肺並びに 4000ppm以上の群の腎臓と脳の体重比の高値が認められた。

雌では、4000ppm以上の群に腎臓の実重量と体重比の高値が認められた。その他、解剖時体重の低値に伴って 8000ppm群で心臓と肺の体重比の低値が認められた。

(3) 病理組織学的検査

死亡・瀕死動物（雄の 2000ppm群に 1例）の病理組織学的所見を APPENDIX B 12-3 に示し、定期解剖動物に観察された所見を APPENDIX B 12-4、5 に示した。

雄の 2000ppm群で10週の7日目に死亡した動物は、脾臓のヘモジデリン沈着、心臓の巣状壊死、腎臓の炎症性ポリープ及び水腎症が観察された。定期解剖例の雄では、4000ppm以上の群で腎臓の近位尿細管上皮の空胞化の発生が有意に低下したほかは、投与群に特徴的な所見あるい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。

雌では、投与群に特徴的な所見あるい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

グリオキサルの混水投与によるがん原性試験の投与濃度を設定するために、F344/DuCrj(Fischer)ラット、Crj:BDF₁マウスを用いて2週間投与試験(投与濃度 ラット・マウスとも:0, 1778, 2667, 4000, 6000, 9000ppm)及び13週間試験(投与濃度 ラット:0, 250, 500, 1000, 2000, 4000ppm, マウス:0, 500, 1000, 2000, 4000, 8000ppm)を順次実施した。

ラット

<2週間試験>

最高用量の9000ppm群では、雌雄の動物に被験物質の忌避によると考えられる大幅な摂水量の低下(対照群に対して 雄:17~26%、雌:17~28%)が認められ、それに起因すると思われる所見として、雄に5例、雌に9例の死亡・瀕死が認められ、生存動物にも糞少量、糞小粒、立毛、円背位等の多くの症状が観察され、摂餌量の低下(対照群に対して 雄:31~38%、雌:30~45%)及び体重増加の抑制(最終計測日において対照群に対して 雄:48%、雌:53%)がみられた。血液学的検査では、雄で飲水の減少に起因すると思われる尿素窒素の増加、血液濃縮とみられる赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の増加、さらに血小板数の減少が認められた。また、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総蛋白やグルコースの減少等の低栄養状態を示唆する所見が認められた。なお、雌では採血できなかった。剖検所見と臓器重量では毒性を示唆する所見や数値は認められなかったが、病理組織所見で認められた所見は飲水量低下に起因すると思われる消耗性変化と考えた。

6000ppm群では、大幅な摂水量の低下が雌雄に(対照群に対して 雄:26~48%、雌:28~56%)認められ、それに起因すると思われる所見として、雌に1例の死亡が認められ、摂餌量の低下が雌雄に(対照群に対して 雄:49~63%、雌:46~76%)及び体重増加の抑制が雌雄に(試験終了時対照群に対して 雄:69%、雌:80%)みられた。しかし、血液学的検査と血液生化学的検査では9000ppm群にみられた変化は徐々に軽減あるいは消失する傾向を示した。また、病理組織学的検査でも死亡動物に9000ppm群とほぼ同様な変化を観察したものの、投与終了時まで生存した動物には著変を認めなかった。

4000ppm群では、大幅な摂水量の低下が雌雄に(対照群に対して 雄:43~71%、雌:45~65%)認められたが、摂餌量の低下は対照群に対して 雄:67~83%、雌:70~89%、体重増加の抑制は試験終了時対照群に対して 雄:84%、雌:90%であった。さらに血液学的検査及び血液生化学的検査では9000ppm

群及び 6000ppm群にみられた変化は徐々に軽減あるいは消失する傾向を示した。

2667ppm群及び 1778ppm群では摂水量の低下(2667ppm群 雄: 64~75%、雌: 60~70% 1778ppm群 雄: 73~78%、雌: 64~72%)は認められるものの、他の検査結果では対照群に比較すると顕著な変化を認めず、僅かな体重、摂餌量の低下及び 2667ppm群の雌の血液検査に変化がみられたのみであった。

以上の様に、グリオキサルの 2週間投与により、6000ppmと 9000ppm群で飲水の忌避によると思われる大幅な摂水量の低下、摂餌量の低下及び体重増加の抑制が認められ、6000ppm群の雌で 1例、9000ppm群の雄で 5例、雌で 9例の死亡・瀕死動物があったことから 6000ppm以上の濃度を 13週間連続投与することは困難であると思われる。

4000ppmでは、摂水量及び摂餌量の低下がみられたものの体重の増加抑制率は対照群に対して雄 16%、雌 10%で比較的軽度であったことから、4000ppmは 13週間試験における最大耐量であると考えた。従って、13週試験の投与濃度は、雌雄とも最高用量を 4000ppmとし、以下 2000ppm、1000ppm、500ppm、250ppm(公比 2.0)に設定した。

<13週間試験>

雌雄とも全ての投与群に動物の死亡はみられず、動物の一般状態、血液学的検査、及び剖検及び病理組織学的検査には投与群に特徴的な変化はみられなかった。

高用量の 4000ppm群では、雌雄ともに動物の忌避によると思われる大幅な摂水量の低下(対照群に対して 雄: 56~72%、雌: 49~59%)が認められ、それに起因すると思われる摂餌量の低下(対照群に対して 雄: 73~91%、雌: 66~92%)と体重増加の抑制(試験終了時対照群に対して 雄: 82%、雌: 86%)がみられた。また、雌雄の血液生化学的検査(総コレステロール、総蛋白等の低下)及び雌の尿検査(ケトン体の陽性例の増加)でごく軽度ではあるが低栄養状態を示唆する所見が観察された。また、雌の尿検査で腎臓への負荷と考えられる蛋白の陽性度の増加がみられた。さらに、雌雄とも解剖時体重の低下に伴って種々の臓器に重量の変化が認められた。

2000ppm群では、僅かな体重増加の抑制が雌に(対照群に対して試験終了時 92%)、摂水量の低下が雌雄に(対照群に対して 雄: 69~84%、雌: 58~69%)認められた。摂餌量のわずかな低下が雌に(対照群に対して 85~96%)認められた。4000ppm群で認められた血液生化学的検査の低栄養状態を示唆する所見は雌雄に、雌の尿検査で腎臓への負荷と考えられる蛋白の陽性度の

増加は雌に認められたが、4000ppm群のものより軽減あるいは消失していた。

1000ppm以下の群では、摂水量の低下が1000ppm群で雌雄に(雄:76~87%、雌:67~95%)認められた。血液生化学的検査では、雄は500ppm群まで、雌では最低用量の250ppmまで変化が認められた。しかし、これらの変化は動物の生存に影響を及ぼすような顕著な変化ではなかった。

以上の様に、グリオキサルの13週間投与により、最高用量の4000ppm群では、飲水の忌避によると思われる顕著な摂水量の低下がみられ、体重増加の抑制率が雄では18%、雌では14%もあり、さらに軽度であるが栄養障害が疑われることから、4000ppmでの2年間の連続投与は困難であると考えられた。2000ppm以下の群では摂水量の低下及び体重増加の抑制は少なく他の検査結果にも動物の生存に影響を及ぼすような顕著な変化を認めなかった。以上のことから、がん原性試験の最高用量は4000ppmと2000ppmの間の3000ppmとし、以下1500ppm、750ppm(公比2.0)に設定した。

マウス

<2週間試験>

雌雄とも全ての投与群に動物の死亡はみられず、剖検所見、臓器重量、病理組織学的検査には投与群に特徴的な変化はみられなかった。

最高用量の9000ppm群では、雌雄の動物に忌避によると思われる顕著な摂水量の低下(対照群に比較して雄:26~43%、雌:21~40%)が認められ、それに起因すると思われる所見として、摂餌量の低下が雌雄に(対照群に比較して雄:83~97%、雌:72~89%)、体重増加の抑制が雌雄に(対照群に比較して試験終了時雄:89%、雌:92%)みられた。血液学的検査で雄に赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の増加、血液生化学的検査で、雌に尿素窒素、ナトリウム及びカリウムの増加がみられたが、その変化の程度は小さく、重篤なものではなかった。

6000ppm以下の群では、雌雄の摂水量の低下が最低用量の1778ppm群までみられたが、6000ppm群の雌雄にわずかな体重増加の抑制がみられたのみで他の検査項目で対照群との間に著変は認めなかった。

以上の様にグリオキサルの2週間の投与により顕著な毒性症状は観察されなかった。また、最高用量の9000ppm群の体重増加の抑制率は対照群に比べ10%程度であった。しかし、9000ppm群では雌雄とも対照群に対し20~40%程度の摂水量しかないので9000ppmでの13週間の連続投与は困難であ

ると考えられ、13週試験での最高用量は9000ppmより僅かに下げるべきであると考えた。以上のことから、13週間試験における投与濃度は、雌雄とも最高用量を8000ppmとし、以下4000ppm、2000ppm、1000ppm、500ppm(公比2.0)に設定した。

<13週間試験>

雄の2000ppm群で水腎症が原因の死亡が1例みられたほかは雌雄とも全ての投与群に動物の死亡はみられず、剖検では投与群に特徴的な変化はみられなかった。

高用量の8000ppm群では、雌雄の動物に忌避よると思われる大幅な摂水量の低下(対照群に比較して雄:37~46%、雌:31~45%)が認められ、それに起因すると思われる摂餌量の低下(対照群に比較して雄:80~95%、雌:74~92%)と体重増加の抑制(対照群に比較して試験終了時雄:76%、雌:94%)が認められた。血液学的検査では、血液濃縮を示唆する所見が雌雄に、血液生化学的検査では、雄に軽度の、雌ではより軽度の低栄養状態を示唆する所見(総コレステロール、総蛋白等の低下)が観察された。また、尿検査で雌雄に腎臓への負荷と考えられる蛋白の陽性度の増加がみられた。臓器重量では、雌に腎臓重量の増加が認められた。その他の臓器では、雌雄ともに解剖時体重の低値に伴って種々の臓器に重量の変化が認められた。病理組織学的検査では、雄の腎臓の近位尿細管上皮空胞化の発生減少が認められた。雌の腎臓の重量増加と雄の近位尿細管上皮空胞化の減少の毒性学的意義は明らかでないが、これらの変化は動物の生存に影響を及ぼすような顕著な変化ではないと考える。

4000ppm群では、雌雄に摂水量の低下(対照群に比較して雄:47~62%、雌:47~64%)と摂餌量の低下(対照群に比較して雄:83~94%、雌:89~97%)、雄に体重増加の抑制(対照群に比較して試験終了時83%)がみられた。血液学的検査では、わずかではあるが血液濃縮を示唆する所見が雌に、血液生化学的検査では、雄にごく軽度の、雌では軽度の低栄養状態を示唆する所見が観察された。また、尿検査で蛋白の陽性度の増加がみられた。臓器重量では、雌に腎臓重量の増加が認められた。その他の臓器では、雄に解剖時体重の低下に伴って種々の臓器に重量の変化が認められた。病理組織学的検査では、雄の腎臓の近位尿細管上皮空胞化の減少が認められた。

2000ppm群では、摂水量の低下が対照群に比較して雄:66~80%、雌:62~75%みられたのみで、4000ppm以上の投与群にみられた所見は徐々に軽減あるいは消失した。認めなかった。

1000ppm以下の投与群では、対照群との間に顕著な差を認めなかった。

以上のようにグリオキサルの投与による影響に性差が認められ、特に体重への影響は顕著であった。従ってがん原性試験の投与濃度は雌雄で異なる設定とするのが妥当であると考えた。

雄のがん原性試験の投与濃度は、4000ppm以上では摂水量の低下による体重増加の抑制が10%以上みられたことと、血液学的検査で血液濃縮、血液生化学的検査で低栄養状態を示唆する所見が観察されたことから長期間投与に対して動物は耐えられないと判断した。2000ppmでは、摂水量の低下(対照群に比較して66~80%)と体重増加の抑制(対照群に比較して94%)がみられたが、動物の生存に影響を与えるような障害はみられなかったことから、雄のがん原性試験における用量は、最高用量を4000ppmと2000ppmの間の3000ppmとし、以下1000ppm、333ppm(公比3.0)に設定した。

雌では、最高用量の8000ppmで、体重増加の抑制率が6%と軽度であったが、大幅な摂水量の低下(対照群に比較して31~45%)とわずかではあるが血液学的検査での血液濃縮、血液生化学的検査で低栄養状態を示唆する所見が観察されたことから長期間投与に対して動物は耐えられないと判断した。4000ppm群では、摂水量の低下(対照群に比較して47~64%)があったのみで、動物の生存に影響を与えるような障害はみられなかった。以上のことから、雌のがん原性試験における用量は、最高用量を8000ppmと4000ppmの間の6000ppmとし、以下3000ppm、1500ppm(公比2.0)に設定した。

V 文献

1. EPA/NIH Mass Spectral Data Base (1978) Vol.1,7.
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.