

キノリンのラット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：0303

CAS No. 91-22-5

2003年3月11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

キノリンのラット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：0303

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	4
I-1-1 名称等	4
I-1-2 構造式、示性式、分子量	4
I-1-3 物理化学的性状等	4
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	5
I-3-2 安定性	5
I-4 試験動物	5
II 試験方法	
II-1 投与	6
II-1-1 被験物質の投与経路	6
II-1-2 被験物質の投与方法	6
II-1-3 被験物質の投与期間	6
II-1-4 被験物質の投与濃度	6
II-1-5 被験物質の投与方法、投与期間、投与濃度の設定理由	6
II-1-6 被験物質混合飲水の調製方法	7
II-1-7 被験物質混合飲水中の被験物質の濃度	7
II-1-8 被験物質混合飲水中の被験物質の安定性	7
II-1-9 被験物質の摂取量	8
II-2 動物管理	
II-2-1 各群の使用動物数	8
II-2-2 群分け及び個体識別方法	8
II-2-3 飼育条件	9

## 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	9
Ⅱ－３－２ 体重測定	9
Ⅱ－３－３ 摂水量測定	10
Ⅱ－３－４ 摂餌量測定	10
Ⅱ－３－５ 血液学的検査	10
Ⅱ－３－６ 血液生化学的検査	10
Ⅱ－３－７ 尿検査	10
Ⅱ－３－８ 病理学的検査	11

## Ⅱ－４ 数値処理と統計処理

Ⅱ－４－１ 数値の取り扱いと表示	11
Ⅱ－４－２ 母数の取り扱い	12
Ⅱ－４－３ 統計処理	12

## Ⅲ 試験成績

Ⅲ－１ 生死状況	14
Ⅲ－２ 一般状態	14
Ⅲ－３ 体重	15
Ⅲ－４ 摂水量	15
Ⅲ－５ 摂餌量	15
Ⅲ－６ 被験物質摂取量	15
Ⅲ－７ 血液学的検査	16
Ⅲ－８ 血液生化学的検査	16
Ⅲ－９ 尿検査	16
Ⅲ－１０ 病理学的検査	
Ⅲ－１０－１ 剖検	17
Ⅲ－１０－２ 臓器重量	18
Ⅲ－１０－３ 病理組織学的検査	18
Ⅲ－１０－４ 死因	24

IV	考察	
IV-1	生死状況、死因、一般状態	25
IV-2	腫瘍性病変	25
IV-3	非腫瘍性病変	28
IV-4	他の文献との比較	28
V	結論	29
VI	文献	30

## 要約

キノリンのがん原性を検索する目的でラットを用いた経口投与(混水)による長期試験を実施した。

試験には雌雄の F344/DuCrj (Fischer) ラットを用いた。被験物質投与群 3 群と対照群 1 群の 4 群構成で、各群、雌雄各 50 匹とし、合計 400 匹を用いた。被験物質の投与は、キノリンを飲水で希釈混合したもの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 200ppm、400ppm、800ppm (公比 2.0)、雌は 150ppm、300ppm、600ppm (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、雄では投与群で多くの動物が腫瘍の発生により死亡したため、試験期間は 2 年間 (104 週間) の予定であったが、雄は 96 週間で投与を終了し、解剖を実施した。雌は試験計画通り 104 週間の投与後解剖した。投与終了時の生存率は、雄では対照群 : 98%、200ppm 群 38%、400ppm 群と 800ppm 群 : 0%、雌では対照群 : 82%、150ppm 群 : 34%、300ppm 群 : 4%、600ppm 群 : 0% であった。一般状態の観察では、雌の投与群に内部腫瘍が対照群と比較して多く観察された。体重増加の抑制と摂水量の低下が雌雄の各投与群に投与濃度に対応して認められた。摂餌量の低下も雌雄の各投与群にみられたが、その程度は軽度であった。

病理組織学的検査では、雌雄とも全ての投与群で肝臓に肝細胞腺腫 (雄 : 対照群 1 匹、200ppm 群 10 匹、400ppm 群 10 匹、800ppm 群 9 匹、雌 : 対照群 1 匹、150ppm 群 30 匹、300ppm 群 31 匹、600ppm 群 33 匹)、肝細胞癌 (雄 : 対照群 0 匹、200ppm 群 22 匹、400ppm 群 24 匹、800ppm 群 18 匹、雌 : 対照群 0 匹、150ppm 群 5 匹、300ppm 群 16 匹、600ppm 群 21 匹) 及び血管肉腫 (雄 : 対照群 0 匹、200ppm 群 25 匹、400ppm 群 34 匹、800ppm 群 43 匹、雌 : 対照群 0 匹、150ppm 群 15 匹、300ppm 群 27 匹、600ppm 群 41 匹) の顕著な発生増加がみられ、雌雄ともにこれらの腫瘍が死因となっていた。さらに、雌雄の投与群の肝臓に前腫瘍性変化である明細胞性小増殖巣、好酸性小増殖巣あるいは好塩基性小増殖巣の発生増加も認められた。また、雄の鼻腔に鼻腔神経上皮腫と肉腫の発生増加が認められ、嗅上皮の基底細胞過形成や萎縮も観察された。雌の鼻腔にも少数例ではあるが肉腫が発生した。血管腫や血管肉腫の発生は、雄では脂肪組織、腸間膜、腹膜、肺及び鼻腔、雌では脂肪組織、腹膜、後腹膜、肺及び卵巣にも少数例ではあるが観察された。また、雄の縦隔に肉腫及び雌の脾臓に単核球性白血病の発生増加がみられた。非腫瘍性病変については、雌雄とも肝臓腫瘍の発生に伴うと考えられる肝臓の巣状壊死と中心性壊死、肺の出血、骨髓の造血亢進、脾臓の髄外造血、腎臓の尿細管壊死とヘモジデリン沈着の発生増加が観察された。また、雌では腎臓に乳頭壊死と乳頭への鉍質沈着の増加がみられた。

以上のように、キノリンの投与によって雌雄とも投与群の肝臓に血管肉腫、肝細胞腺腫及び肝細胞癌の顕著な発生増加がみられ、鼻腔に自然発生が稀である腫瘍 (雄 : 鼻腔神経上皮腫と肉腫、雌 : 肉腫) の発生もみられた。これらの結果はキノリンの F344/DuCrj (Fischer) ラットの雌雄に対するがん原性を示す明らかな証拠と考えられた。また、肝臓以外の臓器でも、血管腫や血管肉腫の発生が雄では脂肪組織、腸間膜、腹膜、肺及び鼻腔、また、雌では脂肪組織、腹膜、後腹膜、肺及び卵巣に少数例ではあるが観察された。その他、雄の縦隔に肉腫と雌の脾臓に単核球性白血病の発生増加が認められた。

## キノリンのがん原性試験における主な腫瘍発生（ラット：雄）

投 与 濃 度 (ppm)		0	200	400	800	ベトー 検 定	コ克蘭- アミテージ 検 定
検 査 動 物 数		50	50	50	50		
良 性 腫 瘍	肝臓	肝細胞腺腫	1	10*	10*	9*	↑↑
	鼻腔	血管腫	0	0	1	0	
	腹膜	血管腫	0	0	0	1	
	腸間膜	血管腫	0	0	0	1	
	皮下組織	線維腫	3	2	0	0	↓ ②
	下垂体	腺腫	16	9	6*	0**	↓↓ ②
	甲状腺	C-細胞腺腫	7	4	2	1*	↓ ②
	精巣	間細胞腫	39	31	13**	0**	↓↓ ②
	鼻腔	腺腫	0	0	0	1	
悪 性 腫 瘍	肝臓	肝細胞癌	0	22**	24**	18**	↑↑
		血管肉腫	0	25**	34**	43**	↑↑
	鼻腔	肉腫 NOS <sup>a</sup>	0	1	5*	1	↑↑
		鼻腔神経上皮腫	0	0	1	6*	↑↑
	脂肪組織	血管肉腫	0	2	0	3	↑↑
	腸間膜	血管肉腫	0	0	2	2	
	肺	血管肉腫	0	0	2	1	
	腹膜	血管肉腫	0	0	0	1	
	縦隔	肉腫 NOS <sup>a</sup>	0	1	2	3	↑↑
	肝臓	肝細胞腺腫+肝細胞癌	1	31**	29**	23**	↑↑
	全臓器	血管肉腫	0	26**	36**	45**	↑↑

検査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1%以下で有意（ウィットニソン検定）

↑：有意水準5%以下で有意増加    ↑↑：有意水準1%以下で有意増加（ベト、コ克蘭-アミテージ検定）

↓：有意水準5%以下で有意減少    ↓↓：有意水準1%以下有意減少（コ克蘭-アミテージ検定）

a：Not Otherwise Specified

（注：投与群での発生減少は、投与群の動物が対照群よりも早期に死亡したことによる。）

## キノリンのがん原性試験における主な腫瘍発生（ラット：雌）

	投 与 濃 度 (ppm)		0	150	300	600	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		
良 性 腫 瘍	肝臓	肝細胞腺腫	1	30**	31**	33**	↑↑	↑↑
	卵巣	血管腫	0	1	0	0		
	下垂体	腺腫	16	15	9	1**		↓↓ 注
	甲状腺	C-細胞腺腫	5	2	2	0*		↓ 注
	子宮	子宮内膜間質性ポリープ	10	4	9	2*		↓ 注
	乳腺	線維腺腫	8	5	1*	1*		↓↓ 注
	乳腺	線維腫	0	1	0	0		
悪 性 腫 瘍	肝臓	肝細胞癌	0	5*	16**	21**	↑↑	↑↑
	肝臓	血管肉腫	0	15**	27**	41**	↑↑	↑↑
	鼻腔	肉腫 NOS <sup>a</sup>	0	0	1	1		
	脂肪組織	血管肉腫	0	0	2	0		
	肺	血管肉腫	0	2	0	0		
	後腹膜	血管肉腫	0	0	0	1		
	腹膜	血管肉腫	0	0	1	0		
	脾臓	単核球性白血病	4	11*	6	2	↑↑	
	下垂体	腺癌	0	2	0	0		
	乳腺	腺癌	1	0	1	1		
	肝臓	肝細胞腺腫+肝細胞癌	1	32**	38**	42**	↑↑	↑↑
	全臓器	血管肉腫	0	17**	28**	42**	↑↑	↑↑

検査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1%以下で有意（フィッシャー検定）

↑：有意水準5%以下で有意増加    ↑↑：有意水準1%以下で有意増加（ペト、コクランアミテージ 検定）

↓：有意水準5%以下で有意減少    ↓↓：有意水準1%以下で有意減少（コクランアミテージ 検定）

a：Not Otherwise Specified

（注：投与群での発生減少は、投与群の動物が対照群よりも早期に死亡したことによる。）

## I 試験材料

## I-1 被験物質の性状等

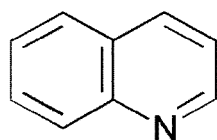
## I-1-1 名称等

名 称：キノリン (Quinoline)

別 名：1-Benzazine

CAS.No. : 91-22-5

## I-1-2 構造式、示性式、分子量

 $C_9H_7N$ 

分子量 : 129.16

## I-1-3 物理化学的性状等 (文献 1)

外 観：無色透明な液体

比 重：1.0900 (25℃)

沸 点：237.7℃

溶 解 性：水に可溶 (最大 60mg/mL)

保存条件：室温で暗所に保存した。

## I-2 被験物質の使用ロット等

使用ロット番号：FHE02(1996.2.21～1996.8.28)

：FHE03(1996.8.28～1998.2.19)

グ レ ー ド：東京化成特級

製 造 元：東京化成工業株式会社

純 度：98% 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

被験物質の同一性の確認は被験物質のマススペクトルと赤外吸収スペクトルをそれぞれマススペクトロメーター(日立製作所、M-80B)及び赤外吸収スペクトロメーター(島津製作所 FTIR-8200PC)で測定し、キノリンの文献値と比較することにより行った。その結果、マススペクトルでは文献(文献 2)と同じ分子イオン及びフラグメントピークが確認された。また、赤外吸収スペクトルでは文献(文献 3)と同じ波長にピークが認められ、キノリン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)によりキノリン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、それぞれの測定結果に差はみられず、投与期間中のキノリンは安定であった。

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)(繁殖所:神奈川県厚木市下古沢 795 番地)より導入した F344/DuCrj(Fischer)ラット(SPF)の雌雄を使用した。

ラット雌雄各 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:111~128g、雌:92~105g)を選別し、試験に供した。なお、F344/DuCrj(Fischer)ラットを選択した理由は、各種の毒性試験に広く使用されており、薬物反応及び自然発生病変等のバックグラウンドデータが豊富であることによる。

## Ⅱ 試験方法

### Ⅱ-1 投与

#### Ⅱ-1-1 被験物質の投与経路

経口投与

#### Ⅱ-1-2 被験物質の投与方法

被験物質を脱イオン水（市水をフィルターろ過し、紫外線滅菌し、脱イオン後フィルターろ過した飲水）によって設定濃度に希釈調製した被験物質混合飲水を加圧タンク（加圧空気圧力：0.1 Mpa）に充填し、自動給水装置により動物に自由摂取させた。なお、被験物質混合飲水の交換頻度は1週間に1度とした。

#### Ⅱ-1-3 被験物質の投与期間

雄は1996年2月21日から1997年12月25日までの96週間、雌は1996年2月21日から1998年2月19日までの104週間連続投与した。

#### Ⅱ-1-4 被験物質の投与濃度

雄は最高投与濃度を800ppmとし、以下400ppm、200ppm（公比2.0）、雌は600ppm群を最高投与群とし、以下300ppm、150ppm（公比2.0）のそれぞれ3投与群とした。なお、雌雄とも対照群として脱イオン水のみを設けた。

#### Ⅱ-1-5 被験物質の投与方法、投与期間、投与濃度の設定理由

被験物質は常温で液体、水に可溶、水溶液は安定であるので飲水による経口投与とした。

投与期間は、試験計画の段階ではがん原性試験で一般的な2年間を予定したが、雄では多くの動物が腫瘍の発生により死亡し、最低投与群である200ppm群でも死亡率が顕著に高くなったため96週間で投与を終了し、解剖を実施した。なお、雌については、当初の試験計画通り2年間投与した。

各群の投与濃度は13週間の予備試験の結果より設定した（文献4）。すなわち、投与は、キノリンを各投与濃度に調製した飲水の自由摂取で行った。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、雌雄とも800ppm、533ppm、355ppm、237ppm、158ppm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。

13 週間試験の結果、雌雄とも全投与群に死亡は認められなかったがその影響には性差が見られた。

雄では投与濃度が高くなるに従って動物の被験物質忌避によると考えられる摂水量の低下及びそれに伴う摂餌量の低下と体重増加の抑制が認められた。特に 800ppm 群では大幅な摂水量の減少と貧血傾向が認められ、肝臓と腎臓への影響が示唆された。しかし、体重増加の抑制は最高用量の 800ppm 群でも最終体重は対照群に比べ 93%とわずかな抑制であり、直ちに動物の生死に影響を与えるものでないと考えられた。以上の理由により、雄では 800ppm をがん原性試験の最高投与濃度とし、以下 400ppm、200ppm (公比:2) の投与濃度を設定した。

雌では、雄と同様に投与濃度が高くなるに従って動物の被験物質忌避によると考えられる摂水量の低下及びそれに伴う摂餌量の低下と体重増加の抑制が認められた。最高用量の 800ppm 群では、死亡動物はみられないものの、体重増加の抑制が著しく、最終計測時の体重は対照群に対して 83%であったことから、800ppm 以上の濃度で 13 週間以上動物に投与することは困難であると思われた。一方 533ppm 群では摂水量と摂餌量の減少がみられたものの体重増加の抑制は 89%であり、病理組織学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査等においても動物の生死に影響を及ぼすと考えられる変化は認められなかった。以上の理由により、雌におけるがん原性試験の最高投与濃度は 800ppm と 533ppm の間の 600ppm とし、以下 300ppm、150ppm (公比:2) の投与濃度を設定した。

## Ⅱ-1-6 被験物質混合飲水の調製方法

被験物質を脱イオン水に溶解して、設定濃度になるように混合調製した。なお、濃度の表示は、ppm (重量対重量比) とした。また、調製頻度は被験物質混合飲水供給タンクの交換に合わせて 1 週間に 1 回とし、調製はタンク交換日前日に実施した。

## Ⅱ-1-7 被験物質混合飲水中の被験物質の濃度

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 ヶ月毎に高速液体クロマトグラフ (Hewlett Packard 1090) による分析を実施した。各群の調製濃度は設定濃度に対し、95.3~101%の範囲であった。

それらの結果を APPENDIX Q 3 に示した。

## Ⅱ-1-8 被験物質混合飲水中の被験物質の安定性

被験物質混合飲水中の被験物質について、室温で 8 日間の加圧タンク中の安定性を確認した。すなわち、初回調製時に調製した被験物質混合飲水 (150ppm 及び 800ppm) の濃度と投与終了時 (8 日後) の濃度について高速液体クロマトグラフ (Hewlett Packard 1090) による分析を実施し、比較した。その結果、投与期間前後において被験物質の濃度に差は認められず、被験物質混合飲水中

の被験物質は安定であった。

それらの結果について、APPENDIX Q 4 に示した。

## II-1-9 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 kg 当たり一日の被験物質の摂取量 (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

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)
200ppm	50 匹 (1101~1150)	150ppm	50 匹 (2101~2150)
400ppm	50 匹 (1201~1250)	300ppm	50 匹 (2201~2250)
800ppm	50 匹 (1301~1350)	600ppm	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)。なお、群分けは被験物質投与直前の体重を基に実施した。

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。

動物は検疫及び馴化期間は雄を 204 室、雌を 205 室に収容し、投与開始以降は 107 室に雌雄とも収容した。各飼育室には試験番号、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： $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度： $55\pm 10\%$ 、明暗サイクル：12 時間点灯（8:00～20:00）／12 時間消灯（20:00～8:00）、換気回数：15～17 回/時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超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かった。

動物はステンレス製二連網ケージ（W:170×D:294×H:176mm/匹）に收容し、単独飼育とした。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）（千葉工場：千葉県千葉市美浜区新港 8-2）の CRF-1 を使用し、試験期間を通して CRF-1 固型飼料(30KGy- $\gamma$ 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、定期解剖日前日の夕方からは絶食した。飼料の栄養成分についてはオリエンタル酵母工業（株）、夾雑物については（財）日本食品分析センターの分析データを使用ロットごとに入手した。

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、検疫及び馴化期間については自動給水装置で自由摂取させた。投与期間は加圧タンクを用いた自動給水装置により、自由摂取させた。飲水は（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）に水道法に準拠した項目について分析を委託した。

なお、飼料の夾雑物及び飲水については、それぞれの分析項目において試験計画書に規定した範囲内であることを確認した。

## 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

動物の生死確認は 1 日 1 回行った。一般状態の詳細な観察は検疫及び馴化期間には、導入時、馴化開始時及び群構成時に行い、投与開始以降は 1 週間に 1 回、生存するすべての動物について行った。

### 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（但し、雄は 96 週、雌は 96 及び 104 週にも測定した）生存するすべての動物について体重を測定した。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 週間までは週 1 回、それ以降は 4 週に 1 回（但し、雄は 96 週、雌は 96 及び 104 週にも測定した）給水量と残水量を計測した。摂水量は給水量と残水量との差を計測期間中生存していた動物の延べ匹・日数で除して群毎の 1 日当りの平均摂水量とした。

### 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、雄は 96 週、雌は 96 及び 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、前日の夕刻より絶食後、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血液学的検査を行った。検査項目は、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、白血球百分率について行った。なお、検査方法は APPENDIX R 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、前日の夕刻より絶食後、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。検査項目は、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、クレアチニン、ナトリウム、カリウム、クロール、カルシウム、無機リンについて行った。なお、検査方法は APPENDIX R 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 pH、蛋白、グルコース、ケトン体、ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲンについて行った。なお、検査方法は APPENDIX R 1 に示した。

## Ⅱ-3-8 病理学的検査

### (1) 剖検

全動物について死亡または定期解剖時に解剖し、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の副腎、精巣、卵巣、心臓、肺、腎臓、脾臓、肝臓及び脳の湿重量（臓器実重量）を測定した。また、湿重量の体重比、すなわち定期解剖時の体重に対する百分率（臓器重量体重比）も算出した。

### (3) 病理組織学的検査

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、脾臓、腎臓、膀胱、下垂体、甲状腺、副腎、精巣、精巣上体、精囊、前立腺、卵巣、子宮、膣、乳腺、脳、脊髓、末梢神経（坐骨神経）、眼球、ハーダー腺、筋肉、骨（大腿骨）及び肉眼的に変化のみられたその他の器官、組織を 10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液に固定後、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。

なお、血管腫と血管肉腫の発生臓器名は、剖検所見を参考にして分類した。また、原発臓器と転移の区別は、1) 他臓器の腫瘍組織の組織像にきわめて類似した腫瘍組織が多中心性に存在し、生物学的にも他臓器からの転移の可能性が高いもの、あるいは 2) 隣接した臓器にきわめて類似腫瘍の発生があるものを転移とした。それ以外の腫瘍はそれぞれの臓器を原発臓器とした。

## 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、小数点第 1 位まで計測し、四捨五入して整数値で表示した。

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第 1 位まで計測し、給餌量から残餌量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。

摂水量については g を単位として、計測期間を通して給水量と残水量を整数値で計測した。群毎に給水量と残水量との差を計測期間中生存していた動物の延べ匹・日数で除して、1 匹当たりの 1 日の平均摂水量を算出し、小数点第 2 位を四捨五入して小数点第 1 位までを表示した。

キノリンの体重 kg 当り 1 日の摂取量は、摂水量にキノリンの設定濃度を乗じ、群毎の平均体重で除した値を mg/kg(body weight)/day を単位として小数点以下第 1 位を四捨五入して整数値で表示した。

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 R 2に示した単位及び桁数により表示した。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原則として、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の多重比較により対照群と各投与群の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、各検査の測定時に群内のデータ数が2以下であった場合は、検定から除外し、さらに検定対象群が1群だけであった場合は、まずF検定により等分散の検定を行い、等分散の場合はStudentのt検定により、等分散でない場合はAspin-Welchのt検定により平均値の差の検定を行った。F検定については95%信頼限界で検定を行い、最終検定については95%および99%信頼限界で両側検定を行った。

病理組織学的検査のうち非腫瘍性病変については、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として1~4にグレード分けし、 $\chi^2$ 検定を行った。また、尿検査についても $\chi^2$ 検定を行った。なお、 $\chi^2$ 検定の場合もデータ数が2以下の場合は検定より除外した。

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。

$\chi^2$  検定と Fisher 検定は対照群と各投与群間との検定である。

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

### Ⅲ 試験成績

投与期間は2年間の予定であったが、雄については投与群の多くの動物が腫瘍の発生により死亡し、最低投与群である200ppm群でも死亡率が顕著に高くなったため、96週間で投与を終了し、解剖を実施した。また、雄の400ppm群と800ppm群及び雌の600ppm群は定期解剖までに全匹が死亡したため、定期解剖時の血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査及び臓器重量測定は雄では対照群と200ppm群、雌では対照群、150ppm群及び300ppm群についてのみ実施した。

#### Ⅲ-1 生死状況

生死状況をTABLE 1,2及びFIGURE 1,2に示した。

雄の800ppm群では投与開始から76週までに、400ppm群では95週までに全ての動物が死亡した。雄の96週（定期解剖前日）における生存動物数（生存率）は、対照群：49匹(98%)、200ppm群：19匹(38%)であった。

雌の600ppm群では投与開始から88週までに全ての動物が死亡した。雌の104週（定期解剖前日）における生存動物数（生存率）は、対照群：41匹(82%)、150ppm群：17匹(34%)、300ppm群：2匹(4%)であった。

#### 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をTABLE 3,4に示した。

雄では内部腫瘍の発生数（発生率）は対照群で0匹であったのに対し、200ppm群では2匹(4%)、400ppm群では3匹(6%)、800ppm群では2匹(4%)であった。一方、外部腫瘍については動物が早期に死亡したため、対照群が11匹(22%)であったのに対し、200ppm群では7匹(14%)、400ppm群では3匹(6%)、800ppm群では1匹(2%)と減少する傾向を示した。

雌の内部腫瘍の発生数（発生率）は対照群で0匹であったのに対し、150ppm群では7匹(14%)、300ppm群では9匹(18%)、600ppm群では7匹(14%)と増加する傾向を示した。一方、外部腫瘍については動物が早期に死亡したため、対照群が11匹(22%)であったのに対し、150ppm群では10匹(20%)、300ppm群では8匹(16%)、600ppm群では2匹(4%)と減少する傾向を示した。

### Ⅲ-3 体重

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

雄では各投与群に投与濃度に対応した体重増加の抑制がみられた。体重増加の抑制は各投与群とも投与期間を通して認められ、投与期間の経過に伴い抑制の程度が増大した。最終計測日における各投与群の体重は対照群に対し、200ppm 群：(96 週) 87%、400ppm 群 (94 週)：60%、800ppm 群 (74 週)：68%であった。

雌についても、各投与群に投与濃度に対応した体重増加の抑制がみられた。300ppm 群と 600ppm 群では投与期間を通して体重増加の抑制が認められ、投与期間の経過に伴い抑制の程度が増大した。150ppm 群では投与開始から 38 週まで軽度な体重増加の抑制が続いた後、42 から 78 週まで対照群とほぼ同程度で推移したが、82 週以降では対照群に比べ体重が低値になり試験終了時まで投与期間の経過に伴ってその程度が顕著となった。最終計測日における各投与群の体重は対照群に対し、150ppm 群 (104 週)：82%、300ppm 群 (104 週)：65%、600ppm 群 (86 週)：66%であった。

### Ⅲ-4 摂水量

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

雌雄とも各投与群に投与濃度に対応した摂水量の低下が認められた。各投与群の摂水量は対照群に対し、雄では 200ppm 群：64%～93%、400ppm 群：30%～83%、800ppm 群：50%～82%、雌では 150ppm 群：60%～102%、300ppm 群：43%～87%、600ppm 群：37%～72%であった。

### Ⅲ-5 摂餌量

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

雌雄とも各投与群に軽度な摂餌量の低下が認められた。各投与群の摂餌量は対照群に対し、雄では 200ppm 群：91%～101%、400ppm 群：29%～99%、800ppm 群：76%～96%、雌では 150ppm 群：89%～101%、300ppm 群：72%～101%、600ppm 群：80%～98%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 200ppm 群：7～21mg/kg、400ppm 群：10～34mg/kg、800ppm 群：24～60mg/kg、雌では 150ppm 群：8～18mg/kg、300ppm 群：14～29mg/kg、600ppm 群：28～45mg/kg の範囲であった。

### Ⅲ-7 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 F 1,2 に示した。

血液学的検査においては、雌雄共に貧血が認められた。すなわち、雄では、200ppm 群にヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、MCV、MCH、MCHC の減少及び血小板数の増加が認められた。雌では、150ppm 群に赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、MCHC 及びリンパ球比の減少が認められた。なお、300ppm 群は検査動物数が 2 匹のため、検定からは除外した。

### Ⅲ-8 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 G 1,2 に示した。

血液生化学的検査においては、雌雄共に肝臓等への影響が認められた。すなわち、雄では、200ppm 群に ALP 活性の上昇、並びにグルコースの低下が認められ、統計学的には有意ではないが GOT、GPT、LDH 及び  $\gamma$ -GTP 活性も顕著に高い値であった。雌では、150ppm 群に総ビリルビン、総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質の増加、GOT、GPT、LDH、ALP、 $\gamma$ -GTP 及び CPK 活性の上昇、並びにアルブミン、A/G 比及びグルコースの低下が認められ、統計学的には有意ではないが総ビリルビンも顕著に高い値を示した。なお、300ppm 群は検査動物数が 2 匹のため、検定からは除外した。

### Ⅲ-9 尿検査

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

雄では、200ppm 群に蛋白の陽性度の増加、ケトン体の陽性例の増加が認められたが、軽度な変化であった。

雌では、150ppm 群に pH の低下が認められたが、軽度な変化であった。なお、300ppm 群は検査動物数が 2 匹のため、検定からは除外した。

### 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>

死亡／瀕死例（対照群 1 匹、200ppm 群 31 匹、400 及び 800ppm 群各 50 匹）では、投与群の多くの動物に肝臓の結節が観察された[200ppm 群 25 匹 (81%)、400ppm 群 45 匹 (90%)、800ppm 群 47 匹 (94%) ]。肝臓の結節は赤色を呈するものが多く、腹腔の出血を伴う例[200ppm 群 9 匹 (29%)、400ppm 群 20 匹 (40%)、800ppm 群 31 匹 (62%) ]も多かった。肺に赤色斑[200ppm 群 8 匹 (26%)、400ppm 群 17 匹 (34%)、800ppm 群 16 匹 (32%) ]や赤色化[200ppm 群 2 匹 (6%)、400ppm 群 3 匹 (6%)、800ppm 群 5 匹 (10%) ]がみられる動物も多く、これらの例には胸腔の出血[200ppm 群 9 匹 (29%)、400ppm 群 9 匹 (18%)、800ppm 群 7 匹 (14%) ]が認められた。また、腹膜の腫瘍が 400ppm 群の 2 匹 (4%) と 800ppm 群の 3 匹 (6%)、腹腔内の腫瘍が 400ppm 群と 800ppm 群の各 1 匹 (2%)、腸間膜の腫瘍が 400ppm 群の 2 匹 (4%) と 800ppm 群の 3 匹 (6%) に観察された。これらの腫瘍も赤色を呈しており腹腔の出血を伴う動物が多数認められた。

定期解剖動物（対照群 49 匹、200ppm 群 19 匹）でも、200ppm 群に肝臓の結節 17 匹 (89%) と腹腔の出血 3 匹 (10%) が観察された。対照群には、肝臓の結節が 1 匹 (3%) のみ認められた。

なお、死亡／瀕死例と定期解剖例を合わせた発生は、腎臓が顆粒状を呈する例[対照群 14 匹 (28%)、200ppm 群 4 匹 (8%)、400ppm 群 0 匹、800ppm 群 0 匹]と精巣の結節[対照群 30 匹 (60%)、200ppm 群 22 匹 (44%)、400ppm 群 9 匹 (18%)、800ppm 群 0 匹]が投与群で減少した。

##### <雌>

死亡／瀕死例（対照群 9 匹、150ppm 群 33 匹、300ppm 群 48 匹、600ppm 群 50 匹）では、投与群の多くの動物に肝臓の結節[150ppm 群 24 匹 (73%)、300ppm 群 36 匹 (75%)、600ppm 群 44 匹 (88%) ]が観察された。雄と同様に、肝臓の結節は赤色を呈するものが多く、腹腔の出血[150ppm 群 5 匹 (15%)、300ppm 群 19 匹 (40%)、600ppm 群 25 匹 (50%) ]を伴ったものが多数確認された。肺の結節[150ppm 群 1 匹 (3%)、300ppm 群 4 匹 (8%)、600ppm 群 9 匹 (18%) ]、赤色斑[150ppm 群 5 匹 (15%)、300ppm 群 12 匹 (25%)、600ppm 群 12 匹 (24%) ]及び赤色化[150ppm 群 2 匹 (6%)、300ppm 群 3 匹 (6%)、600ppm 群 3 匹 (6%) ]も投与群のみにみられ、これらの例には胸腔の出血[150ppm 群 4 匹 (12%)、300ppm 群 5 匹 (10%)、600ppm 群 2 匹 (4%) ]や胸水[150ppm 群 1 匹 (3%)、300ppm 群 6 匹 (13%)、600ppm 群 6 匹 (12%) ]も認められた。観察された胸水のほとんどが赤色を呈していた。また、腹膜の腫瘍が 300ppm 群の 2 匹 (4%)、後腹膜の腫瘍が 600ppm 群の 1 匹 (2%) に観察された。これらの腫瘍も赤色を呈しており、腹腔の出血を伴う動物が多数認められた。

定期解剖動物（対照群 41 匹、150ppm 群 17 匹、及び 300ppm 群 2 匹）でも、投与群の多くの

例に肝臓の結節[150ppm 群 16 匹 (94%)、300ppm 群 2 匹 (100%)]が観察された。対照群には、肝臓の結節が 1 匹 (2%) のみ認められた。

なお、死亡／瀕死例と定期解剖例を合わせた発生は、下垂体の腫大[対照群 12 匹 (24%)、150ppm 群 10 匹 (20%)、300ppm 群 0 匹、600ppm 群 1 匹 (2%)]と皮下組織の腫瘤[対照群 11 匹 (22%)、150ppm 群 8 匹 (16%)、300ppm 群 5 匹 (10%)、600ppm 群 3 匹 (6%)]が投与群で減少した。

### 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>

200ppm 群の肝臓と腎臓に実重量と体重比の高値が認められた。また、200ppm 群は解剖時体重が対照群に比べ低値であり、心臓、肺及び脳に体重比の高値がみられた。

#### <雌>

150ppm 群では、肝臓、腎臓、肺及び心臓に実重量と体重比の高値が認められた。150ppm 群は解剖時体重が対照群に比べ低値であり、脳の体重比の高値がみられた。なお、300ppm 群は計測動物数が 2 匹であるため検定からは除外したが、肝臓の実重量と体重比は顕著な高値を示した。

### Ⅲ-10-3 病理組織学的検査

非腫瘍性病変の結果を APPENDIX L 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 M 1,2、腫瘍の種類別の発生数を APPENDIX N 1,2、統計解析 (Peto 検定、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定) を APPENDIX O 1,2、転移性病変を APPENDIX P 1~6 に示し、主な腫瘍性病変を TABLE 9,10 に抜粋した。

#### －腫瘍性病変－

##### <雄>

肝臓に肝細胞腺腫、肝細胞癌及び血管肉腫、鼻腔に肉腫 NOS、鼻腔神経上皮腫及び血管腫、複数の臓器に血管腫や血管肉腫、また縦隔に肉腫 NOS の発生増加が認められた。

##### ・肝臓

肝細胞腺腫が対照群の 1 匹 (2%)、200ppm 群の 10 匹 (20%)、400ppm 群の 10 匹 (20%) 及び 800ppm 群の 9 匹 (18%)、肝細胞癌が 200ppm 群の 22 匹 (44%)、400ppm 群の 24 匹 (48%) 及び 800ppm 群の 18 匹 (36%) に観察された。肝細胞腺腫の発生は Peto 検定 (有病率法) で増加傾向を示し、Fisher 検定で全ての投与群で増加を示した。肝細胞癌の発生は 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 検定では全ての投与群で増加を示した。なお、肝細胞腺腫と肝細胞癌を合わせた発生も 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 検定では全

での投与群で増加を示した。

血管肉腫が 200ppm 群の 25 匹 (50%)、400ppm 群の 34 匹 (68%) 及び 800ppm 群の 43 匹 (86%) に観察され、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 検定で全ての投与群で発生増加を示した。

これらの腫瘍は他臓器への転移が認められた。すなわち、血管肉腫の転移が 200ppm 群の肺 (17 匹) や脾臓 (1 匹)、脂肪組織 (1 匹) に計 17 匹、400ppm 群の肺 (25 匹) や脾臓 (3 匹)、腹膜 (2 匹)、腸間膜 (2 匹)、縦隔 (2 匹)、脂肪組織 (2 匹)、脾臓 (1 匹) に計 27 匹、800ppm 群の肺 (23 匹) やリンパ節 (2 匹)、鼻腔 (1 匹)、胃 (1 匹)、脊髄 (1 匹) 及び脂肪組織 (1 匹) に計 23 匹観察された。また、肝細胞癌の転移は、200ppm 群の肺 (8 匹) や脾臓 (1 匹)、副腎 (1 匹)、腹膜 (1 匹) に計 8 匹、400ppm 群の 7 匹と 800ppm 群の 3 匹の肺に観察された。

#### ・鼻腔

鼻腔神経上皮腫が 400ppm 群の 1 匹 (2%) と 800ppm 群の 6 匹 (12%)、肉腫 NOS (Not Otherwise Specified) が 200ppm 群の 1 匹 (2%)、400ppm 群の 5 匹 (10%) 及び 800ppm 群の 1 匹 (2%) に観察された。また、血管腫が 400ppm 群の 1 匹 (2%)、腺腫が 800ppm 群の 1 匹 (2%) に観察された。鼻腔神経上皮腫の発生は 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 検定では 800ppm 群で増加を示した。また、肉腫 NOS 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、Fisher 検定では 400ppm 群で増加を示した。なお、これらの腫瘍は他臓器への転移が認められ、鼻腔神経上皮腫の転移が 800ppm 群の 2 匹の脳に、肉腫 NOS の転移が 400ppm 群の 1 匹の唾液腺、下垂体及びハーダー腺に観察された。

#### ・脂肪組織、腸間膜、肺、腹膜

血管腫と血管肉腫は、脂肪組織、腸間膜、肺及び腹膜にも発生がみられた。すなわち、脂肪組織には血管肉腫が 200ppm 群の 2 匹 (4%) と 800ppm 群の 3 匹 (6%) に観察され、Peto 検定 (有病率法、死亡率法+有病率法) で増加傾向を示した。また、腸間膜には血管腫が 800ppm 群の 1 匹 (2%) に、血管肉腫が 400ppm 群と 800ppm 群のそれぞれ 2 匹 (4%) に観察され、血管腫と血管肉腫の発生を合わせると Peto 検定 (死亡率法、死亡率法+有病率法) と Cochran-Armitage 検定で増加傾向が示された。その他、統計学的に有意差は示されないものの、肺に血管肉腫が 400ppm 群の 2 匹 (4%) と 800ppm 群の 1 匹 (2%)、腹膜に血管腫と血管肉腫が 800ppm 群の各 1 匹 (2%) に観察された。

血管肉腫を持つ動物数は、全ての臓器を合わせると 200ppm 群 26 匹 (52%)、400ppm 群 36 匹 (72%) 及び 800ppm 群 45 匹 (90%) であり、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、Fisher 検定では全ての投与群で発生増加を示した。

#### ・縦隔

肉腫 NOS が 200ppm 群の 1 匹 (2%)、400ppm 群の 2 匹 (4%) 及び 800ppm 群の 3 匹 (6%)

に観察され、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。

なお、投与群の動物は対照群の動物より早期に死亡したため、精巣の間細胞腫、下垂体の腺腫、甲状腺の C-細胞腺腫及び皮下組織の線維腫の発生が減少した。

#### <雌>

肝臓に肝細胞腺腫、肝細胞癌及び血管肉腫、複数の臓器に血管腫や血管肉腫の発生増加が認められ、また鼻腔に肉腫 NOS の発生がみられた。

##### ・肝臓

肝細胞腺腫が対照群の 1 匹 (2%)、150ppm 群の 30 匹 (60%)、300ppm 群の 31 匹 (62%) 及び 600ppm 群の 33 匹 (66%)、肝細胞癌が 150ppm 群の 5 匹 (10%)、300ppm 群の 16 匹 (32%) 及び 600ppm 群の 21 匹 (42%) に観察された。肝細胞腺腫、肝細胞癌及び両者を合わせた発生はいずれも Peto 検定（肝細胞腺腫：有病率法、肝細胞癌/両者を合わせた発生：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 検定では全投与群で増加を示した。

血管肉腫が 150ppm 群の 15 匹 (30%)、300ppm 群の 27 匹 (54%) 及び 600ppm 群の 41 匹 (82%) に観察された。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 検定では全投与群で増加を示した。

これらの腫瘍は他臓器への転移が認められた。すなわち、血管肉腫の転移が 150ppm 群の肺(10 匹)や胃 (1 匹) に計 10 匹、300ppm 群の肺 (15 匹) や胃 (1 匹)、脂肪組織 (1 匹) に計 15 匹、600ppm 群の肺 (24 匹) や胃 (2 匹)、脾臓 (1 匹) に計 15 匹観察された。また、肝細胞癌の転移が 150ppm 群の 4 匹及び 300ppm 群の 6 匹の肺に、800ppm 群の肺 (6 匹) や副腎 (1 匹) に計 7 匹観察された。

##### ・脂肪組織、肺、後腹膜、腹膜及び卵巣

血管腫と血管肉腫は、脂肪組織、肺、後腹膜、腹膜及び卵巣にも発生がみられた。すなわち脂肪組織に血管肉腫が 300ppm 群の 2 匹 (4%)、肺に血管肉腫が 150ppm 群の 2 匹 (4%)、後腹膜に血管肉腫が 600ppm 群の 1 匹 (2%)、腹膜に血管肉腫が 300ppm 群の 1 匹 (2%)、また、卵巣には血管腫が 150 ppm 群の 1 匹 (2%) に観察された。

血管肉腫を持つ動物数は全ての臓器を合わせると 150 ppm 群 17 匹 (34%)、300ppm 群 28 匹 (56%) 及び 600ppm 群 42 匹 (84%) であり、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 検定では全ての投与群で発生増加を示した。

- ・鼻腔

肉腫 NOS が 300ppm 群の 1 匹 (2%) と 600ppm 群の 1 匹 (2%) に観察された。

- ・脾臓

単核球性白血病の発生は対照群が 4 匹 (8%) であったのに対し、150ppm 群の 11 匹 (22%)、300ppm 群の 6 匹 (12%)、600ppm 群の 2 匹 (4%) に観察され、Peto 検定 (死亡率法、有病率法、死亡率法+有病率法) で増加傾向、Fisher 検定では 150ppm 群で増加を示した。

なお、投与群の動物は対照群の動物より早期に死亡したため、下垂体の腺腫、子宮の子宮内膜間質性ポリープ、乳腺の線維腺腫及び甲状腺の C-細胞腺腫の発生が減少した。

－非腫瘍性病変－

<雄>

- ・肝臓

中心性壊死が 200 ppm 群の 10 匹 (20%)、400ppm 群の 22 匹 (44%) 及び 800ppm 群の 11 匹 (22%) にみられ、全ての投与群で発生増加を示した。また、巣状壊死が 200ppm 群の 7 匹 (14%)、400ppm 群の 17 匹 (34%) 及び 800ppm 群の 16 匹 (32%) に観察され、400ppm 以上の群で発生増加を示した。明細胞性小増殖巣は対照群では 3 匹 (6%) であったのに対し、投与群では 200ppm 群の 15 匹 (30%) と 400ppm 群の 4 匹 (8%)、好塩基性小増殖巣は対照群では 8 匹 (16%) であったのに対し、200ppm 群の 24 匹 (48%)、400ppm 群の 12 匹 (24%) 及び 800ppm 群の 9 匹 (18%) に観察された。また、肝海綿状変性が対照群では 4 匹 (8%) であったのに対し、200ppm 群の 17 匹 (34%)、400ppm 群の 1 匹 (2%) 及び 800ppm 群の 5 匹 (10%) に観察された。これらの所見はいずれも 200ppm 群で発生増加を示した。さらに、好酸性小増殖巣が対照群では 6 匹 (12%) であったのに対し、200ppm 群では 14 匹 (28%) にみられ、統計学的には有意でないが対照群より発生が多かった。また、血管の増生が 200ppm 群の 2 匹 (4%) と 400ppm 群の 1 匹 (2%) にみられた。

- ・鼻腔

鉾質沈着が 200ppm 群の 12 匹 (24%)、400ppm 群の 7 匹 (14%) 及び 800ppm 群の 15 匹 (30%) に観察され、全投与群で発生増加を示した。嗅上皮の基底細胞過形成は 800ppm 群で 10 匹 (20%) に観察され、発生増加を示した。また、嗅上皮の萎縮が 200ppm 群の 2 匹 (4%)、400ppm 群の 6 匹 (12%) 及び 800ppm 群の 21 匹 (42%) に観察され、400ppm 以上の群で発生増加を示した。その他、統計学的には有意ではなかったが、嗅腺の異型を伴った拡張が 800ppm 群の 2 匹 (4%) に観察された。その他、異物性炎症が 200ppm 群のみで有意な増加を示したが投与濃度に対応した変化ではなかった。

・腎臓

尿細管壊死が対照群で 1 匹 (2%) であったのに対し、投与群では 200ppm 群の 18 匹 (36%)、400ppm 群の 23 匹 (46%) 及び 800ppm 群の 20 匹 (40%) にみられ、全投与群で発生増加を示した。ヘモジデリン沈着は対照群で 1 匹 (2%) であったのに対し、200ppm 群の 6 匹 (12%)、400ppm 群の 13 匹 (26%) 及び 800ppm 群の 7 匹 (14%) にみられ、400ppm 群で発生増加を示した。

・肺

出血が 200ppm 群の 16 匹 (32%)、400ppm 群の 20 匹 (40%) 及び 800ppm 群の 14 匹 (28%) に観察され、全投与群で発生増加を示した。また、炎症性細胞浸潤の発生は、対照群が 1 匹 (2%) であったのに対し、投与群では 200ppm 群の 2 匹 (4%)、400ppm 群の 2 匹 (4%)、800ppm 群の 8 匹 (16%) にみられ、800ppm 群で発生増加を示した。

・骨髄

造血亢進が対照群では 4 匹 (8%) であったのに対し、投与群では 200 ppm 群の 25 匹 (50%)、400ppm 群の 38 匹 (76%) 及び 800ppm 群の 38 匹 (36%) に観察され、全ての投与群で発生増加を示した。

・脾臓

髓外造血が対照群では 2 匹 (4%) であったのに対し、投与群では 200ppm 群の 21 匹 (42%)、400ppm 群の 40 匹 (80%) 及び 800ppm 群の 33 匹 (66%) に観察され、全ての投与群で発生増加を示した。

なお、投与群の動物は対照群の動物に比べ早期に死亡したため、鼻腔の嗅上皮のエオジン好性変化と呼吸上皮化生、腺の呼吸上皮化生、心臓の心筋線維症、肝臓の肉芽形成と胆管増生、脾臓の萎縮、腎臓の慢性腎症、下垂体の過形成、甲状腺の C-細胞増生、精巣の萎縮、動脈炎及び間細胞増生、精巣上体の細胞残屑、並びに眼球の網膜萎縮の発生が減少した。

<雌>

・肝臓

中心性壊死は対照群が 1 匹で (2%) あったのに対し、投与群では 150ppm 群の 10 匹 (20%)、300ppm 群の 14 匹 (28%) 及び 600ppm 群の 11 匹 (22%) にみられ、巣状壊死は 150ppm 群の 18 匹 (36%)、300ppm 群の 15 匹 (30%)、600ppm 群の 17 匹 (34%) にのみ観察された。これらの所見は全ての投与群で発生増加を示した。また、血管の増生が 150ppm 群の 5 匹 (10%)、300ppm 群の 1 匹 (2%) 及び 600ppm 群の 9 匹 (18%) に観察され、600ppm 群で発生増加を示した。さらに、好酸性小増殖巣は対照群が 1 匹 (2%) であったのに対し、150ppm 群の 6 匹 (12%)、300ppm 群の 9 匹 (18%) 及び 600ppm 群の 5 匹 (10%) にみられ、300ppm 群のみではあるが発

生増加を示した。また、明細胞性小増殖巣は対照群が 1 匹 (2%) であったのに対し、150ppm 群の 5 匹 (10%)、300ppm 群の 6 匹 (12%) 及び 600ppm 群の 7 匹 (14%) にみられ、統計学的には有意でないが対照群より発生が多かった。

#### ・鼻腔

嗅上皮の萎縮が 300ppm 群の 5 匹 (10%) 及び 600ppm 群の 20 匹 (40%) にみられ、600ppm 群で発生増加を示した。また、統計学的には有意ではなかったが、嗅上皮の基底細胞過形成が 600ppm 群の 2 匹 (4%) に、嗅腺の異型を伴った拡張が 600ppm 群の 3 匹 (6%) に観察された。

#### ・腎臓

尿細管壊死は対照群が 3 匹 (6%) であったのに対し、投与群では 150ppm 群の 13 匹 (26%)、300ppm 群の 19 匹 (38%) 及び 600ppm 群の 20 匹 (40%) にみられ、乳頭壊死は 150ppm 群の 18 匹 (36%)、300ppm 群の 35 匹 (70%)、600ppm 群の 29 匹 (58%) に観察された。これらの所見は全ての投与群で発生増加を示した。また、乳頭の鉍質沈着は対照群が 8 匹 (16%) であったのに対し、150ppm 群の 12 匹 (24%)、300ppm 群の 21 匹 (42%) 及び 600ppm 群の 28 匹 (56%) に観察され、300ppm 群と 600ppm 群で発生増加を示した。ヘモジデリン沈着の発生は 150ppm 群の 3 匹 (6%)、300ppm 群の 4 匹 (8%) 及び 600ppm 群の 8 匹 (16%) であり、600ppm 群で増加が示された。

#### ・肺

出血が 150ppm 群の 9 匹 (18%)、300ppm 群の 17 匹 (34%) 及び 600ppm 群の 18 匹 (36%) に観察され、全ての投与群で発生増加を示した。

#### ・骨髓

造血亢進は対照群が 7 匹であったのに対し、150ppm 群の 18 匹 (36%)、300ppm 群の 29 匹 (58%) 及び 600ppm 群の 40 匹 (80%) に観察され、全ての投与群で発生増加を示した。

#### ・脾臓

髓外造血は対照群が 8 匹 (16%) であったのに対し、150ppm 群の 16 匹 (32%)、300ppm 群の 27 匹 (54%) 及び 600ppm 群の 36 匹 (72%) に発生し、全ての投与群で発生増加を示した。

なお、投与群の動物は対照群の動物に比べ早期に死亡したため、鼻腔の嗅上皮と呼吸上皮のエオジン好性変化、脾臓のヘモジデリン沈着、肝臓の肉芽形成、好塩基性小増殖巣及び胆管増生、腎臓の慢性腎症と腎盂の鉍質沈着、下垂体の嚢胞、甲状腺の C-細胞増生、副腎の紫斑様変化と皮質の巣状脂肪変性、並びに眼球の網膜萎縮の発生が減少した。

### Ⅲ-10-4 死因

病理学的にみた死亡/瀕死例の死因を TABLE 11 に示した。

#### <雄>

対照群の死亡動物 1 匹の死因は、呼吸器病変であった。これに対し、200ppm 群の死亡動物 31 匹の死因は、肝臓腫瘍[血管肉腫 18 匹 (58%)、肝細胞癌 6 匹 (19%)]が 24 匹 (77%)、脂肪組織腫瘍(血管肉腫)、縦隔腫瘍(肉腫 NOS)、鼻腔腫瘍(肉腫 NOS)、下垂体腫瘍、皮下腫瘍及び腎病変が各 1 匹、死因の特定が出来なかったものが 1 匹であった。400ppm 群では、死亡動物 50 匹の死因は肝臓腫瘍[血管肉腫 33 匹 (66%)、肝細胞癌 7 匹 (14%)]が 40 匹 (80%)、鼻腔腫瘍(肉腫 NOS)が 3 匹 (6%)、縦隔腫瘍(肉腫 NOS)が 2 匹 (4%)、腸間膜腫瘍(血管肉腫)、下垂体腫瘍、耳道腺腫瘍、白血病及び体腔病変(胸腔内出血)が各 1 匹 (2%)であった。また、800ppm 群の死亡動物 50 匹の死因は、肝臓腫瘍[血管肉腫 39 匹 (78%)、肝細胞癌 2 匹 (4%)]が 41 匹 (82%)、腸間膜腫瘍(血管肉腫)、鼻腔腫瘍(肉腫 NOS)及び縦隔腫瘍(肉腫 NOS)が各 2 匹 (4%)、脂肪組織腫瘍(血管肉腫)、肺腫瘍(血管肉腫)及び体腔病変(胸腔内出血)が各 1 匹 (2%)であった。

なお、肝臓の血管肉腫による動物の死亡時期は、200ppm 群では 75 週以降、400ppm 群では 56 週以降、800ppm 群では 22 週以降であった。

#### <雌>

対照群の死亡動物 9 匹の死因は下垂体腫瘍が 3 匹 (33%)、肝病変、白血病、皮下腫瘍、甲状腺腫瘍、子宮腫瘍及び乳腺腫瘍が各 1 匹 (11%)であった。これに対し、150ppm 群の死亡動物 33 匹の死因は、肝臓腫瘍(血管肉腫)が 11 匹 (33%)、白血病が 7 匹 (21%)、下垂体腫瘍が 6 匹 (18%)、肺腫瘍(血管肉腫)、耳道腺及び気管腫瘍が各 2 匹 (6%)、子宮腫瘍、乳腺腫瘍及び肝臓病変が各 1 匹 (3%)であった。300ppm 群では、死亡動物 48 匹の死因は肝臓腫瘍[血管肉腫 27 匹 (56%)、肝細胞癌 2 匹 (4%)]が 29 匹 (60%)、白血病が 6 匹 (13%)、皮下腫瘍及び乳腺腫瘍が各 2 匹 (4%)、脂肪組織腫瘍(血管肉腫)、気管腫瘍、呼吸器病変、肝臓病変及び腎病変が各 1 匹 (2%)、死因の特定が出来なかったものが 4 匹 (8%)であった。また、600ppm 群の死亡動物 50 匹の死因は、肝臓腫瘍[血管肉腫 39 匹 (78%)、肝細胞癌 4 匹 (8%)]が 43 匹 (86%)、後腹膜腫瘍(血管肉腫)、鼻腔腫瘍(肉腫 NOS)、白血病、子宮腫瘍及び中枢神経系病変が各 1 匹 (2%)、死因の特定が出来なかったものが 2 匹 (4%)であった。

なお、肝臓の血管肉腫による動物の死亡時期は、150ppm 群では 68 週以降、300ppm 群では 62 週以降、600ppm 群では 49 週以降であった。

## IV 考察

### IV-1 生死状況、死因、一般状態

雄の 800ppm 群は投与開始から 76 週、400ppm 群では 95 週までに全ての動物が死亡し、最低投与群である 200ppm 群でも死亡率が顕著に高くなったため、96 週間で投与を終了し、解剖を行った。投与を終了した 96 週における雄の生存動物数（生存率）は対照群：49 匹(98%)、200ppm 群：19 匹(38%)であった。雌についても、600ppm 群では投与開始から 88 週までに全ての動物が死亡した。定期解剖を行った 104 週における雌の生存動物数（生存率）は、対照群：41 匹(82%)、150ppm 群：17 匹(34%)、300ppm 群：2 匹(4%)であった。

雄の投与群の死亡動物（200ppm 群 31 匹、400ppm 群と 800ppm 群 50 匹）の死因は肝臓腫瘍が最も多く、200ppm 群の 18 匹（58%）、400ppm 群の 33 匹（66%）及び 800ppm 群の 39 匹（78%）が肝臓の血管肉腫、200ppm 群の 6 匹（19%）、400ppm 群の 7 匹（14%）及び 800ppm 群の 2 匹（4%）が肝細胞癌で死亡した。雌の投与群の死亡/瀕死動物（150ppm 群 33 匹、300ppm 群 48 匹、600ppm 群 50 匹）の死因も肝臓腫瘍が最も多く、150ppm 群の 11 匹（33%）、300ppm 群の 27 匹（56%）及び 600ppm 群の 39 匹（78%）が肝臓の血管肉腫、300ppm 群の 2 匹（4%）及び 600ppm 群の 4 匹（8%）が肝細胞癌で死亡した。対照群の死亡/瀕死動物には肝臓腫瘍による死亡はみられず、投与群での死亡増加の主な原因は肝臓腫瘍、特に血管肉腫の発生によると考えられた。肝臓の血管肉腫による動物の死亡時期は、雄では 200ppm 群 75 週、400ppm 群 56 週、800ppm 群で 22 週以降、また、雌では 150ppm 群 68 週、300ppm 群 62 週、600ppm 群で 49 週以降であり、投与濃度が高い群ほど肝臓の血管肉腫による死亡時期が早かった。

投与期間中の一般状態の観察では、雌の投与群で内部腫瘍が対照群と比較して多く観察された。

### IV-2 腫瘍性病変

#### <肝臓>

雄：

雌雄とも肝細胞腺腫、肝細胞癌及び血管肉腫の発生増加が認められた。

肝細胞腺腫の発生は対照群 1 匹（2%）に対し、200ppm 群 10 匹（20%）、400ppm 群 10 匹（20%）、800ppm 群 9 匹（18%）、肝細胞癌の発生は対照群 0 匹に対し、200ppm 群 22 匹（44%）、400ppm 群 24 匹（48%）、800ppm 群 18 匹（36%）であり、投与群に発生増加が認められた。また、肝細胞腺腫や肝細胞癌の前腫瘍性病変である好塩基性小増殖巣、明細胞性小増殖巣及び好酸性小増殖巣（文献 7,8,9）が 200ppm 群を中心に増加し、さらに、肝海綿状変性も 200ppm 群で増加していた。以上のことから、本試験の投与群でみられた肝臓の肝細胞腺腫と肝細胞癌の発生増加は明らかに被験物質の投与による影響と考えられた。なお、肝細胞癌の他臓器への転移が 18 匹（36%）にみられ、主な転移先は肺であった。

血管肉腫の発生は対照群 0 匹に対し、200ppm 群 25 匹（50%）、400ppm 群 34 匹（68%）、800ppm

群 43 匹 (86%) であり、投与群に発生増加が認められた。肝臓の血管肉腫は非常に稀な腫瘍であり、本試験の投与群でみられた肝臓の血管肉腫の顕著な発生増加は明らかに被験物質の投与による影響と考えられる。また、肝臓の血管肉腫は肺等への転移が 67 匹にみられ、悪性度が高い腫瘍であることが示された。なお、血管腫や血管肉腫の前段階の変化である可能性のある肝臓の血管の増生が 200ppm 群の 2 匹 (4%) と 400ppm 群 1 匹 (2%) に観察された。

雌：

肝細胞腺腫の発生は対照群 1 匹 (2%) に対し、150ppm 群 30 匹 (60%)、300ppm 群 31 匹 (62%)、600ppm 群 33 匹 (66%)、肝細胞癌の発生は対照群 0 匹に対し、150ppm 群 5 匹 (10%)、300ppm 群 16 匹 (32%)、600ppm 群 21 匹 (42%) であり、投与群に発生増加が認められた。また、肝細胞腺腫や肝細胞癌の前腫瘍性病変である好酸性小増殖巣と明細胞性小増殖巣も投与群で増加していた。以上のことから雌の投与群でみられた肝臓の肝細胞腺腫と肝細胞癌の発生増加も明らかに被験物質の投与による影響と考えられた。なお、肝細胞癌の他臓器への転移が 17 匹 (34%) にみられ、主な転移先は肺であった。

血管肉腫は 150ppm 群の 15 匹 (30%)、300ppm 群の 27 匹 (54%) 及び 800ppm 群の 41 匹 (82%) にみられ、明らかに投与により発生が増加していた。肺等への転移が 67 匹にみられ、雄と同様に悪性度が高い腫瘍であることが示された。

#### <鼻腔>

雄：

鼻腔神経上皮腫が 400ppm 群の 1 匹 (2%) と 800ppm 群の 6 匹 (12%)、また、肉腫 NOS が 200ppm 群の 1 匹 (2%)、400ppm 群の 5 匹 (10%) 及び 800ppm 群の 1 匹 (2%) で観察された。また、鼻腔神経上皮腫の前腫瘍性病変である嗅上皮の基底細胞過形成(文献 8)が 800ppm 群の 10 匹 (20%) に観察された。これらの鼻腔の腫瘍は極めて稀な腫瘍であり、本試験の投与群の鼻腔にみられた鼻腔神経上皮腫と肉腫 NOS の発生は明らかに被験物質の投与による影響と考えられた。また、血管腫が 400ppm 群に 1 匹 (2%)、腺腫が 800ppm 群の 1 匹 (2%) にみられ、これらの腫瘍も自然発生が稀な腫瘍であることから被験物質投与による影響と推察される。なお、嗅上皮の萎縮が投与濃度に対応して各投与群に観察され、腫瘍の発生に関与した変化である可能性が示唆された。

雌：

肉腫 NOS が 300ppm 群と 600ppm 群の各 1 匹 (2%) に観察された。この腫瘍も極めて稀な腫瘍であること、また、雄にも明らかな増加が認められたことから、雌にみられた鼻腔の肉腫 NOS の発生も被験物質の投与による影響と推察された。なお、嗅上皮の基底細胞過形成が 600ppm 群の 2 匹 (4%) に、嗅上皮の萎縮が投与濃度に対応して 300ppm 以上の群に観察されが、鼻腔神経上皮腫の発生はみられなかった。

### ＜他の臓器の血管系腫瘍＞

雄の投与群には脂肪組織[血管肉腫：200ppm 群 2 匹 (4%)、800ppm 群 3 匹 (6%) ]、腸間膜[血管腫：800ppm 群 1 匹 (2%)、血管肉腫：400ppm 群 2 匹 (4%)、800ppm 群 2 匹 (4%) ]、腹膜[血管腫、血管肉腫：800ppm 群各 1 匹 (2%) ]、肺[血管肉腫：400ppm 群 2 匹 (4%)、800ppm 群 1 匹 (2%) ]にも血管腫あるいは血管肉腫の発生がみられ、脂肪組織と腸間膜に発生増加が示された。これらの腫瘍は自然発生が稀な腫瘍であり、被験物質の投与によって発生したと考えられた。

雌についても投与群に脂肪組織[血管肉腫：300ppm 群 2 匹 (4%) ]、肺[血管肉腫：150ppm 群 2 匹 (4%) ]、後腹膜[血管肉腫：600ppm 群 1 匹 (2%) ]、腹膜[血管肉腫：300ppm 群 1 匹 (2%) ]、卵巣[血管腫：150ppm 群 1 匹 (2%) ]に少数例ではあるが血管腫や血管肉腫が発生がみられた。これらの臓器の血管系腫瘍も雄と同様に自然発生が稀であり、また、雌雄に共通して発生の増加が認められることから、発生例数は少ないものの被験物質の投与によって発生したと推察される。

### ＜縦隔＞

雄における肉腫 NOS の発生が 200ppm 群の 1 匹 (2%)、400ppm 群の 2 匹 (4%) 及び 800ppm 群の 3 匹 (6%) に観察され、増加傾向を示した。この腫瘍も稀な腫瘍であり、被験物質投与による影響と推察される。

### ＜脾臓＞

雌の単核球性白血病の発生は対照群 4 匹 (8%)、150ppm 群 11 匹 (22%)、300ppm 群 6 匹 (12%)、600ppm 群 2 匹 (4%) に観察され、発生増加が示された。また、150ppm 群の動物死亡は対照群に比べ早期であることから、投与群での単核球性白血病の発生増加は被験物質投与の影響と推察された。なお、高用量になるに従って発生例数の減少がみられているが、用量が高いほど早期に動物が死亡しているためと考えられる。

以上のように、雌雄とも最低用量群（雄 200ppm 群、雌 150ppm 群）を含む全ての投与群の肝臓に、肝細胞腺腫、肝細胞癌及び血管肉腫の顕著な発生増加がみられた。肝細胞腺腫及び肝細胞癌の発生については、本試験の対照群における肝臓腫瘍の発生は雌雄とも肝細胞腺腫が 1 匹みられただけであり、また、雌雄とも肝臓の前腫瘍性病変が投与群で増加したことからこれらの腫瘍の発生増加は明らかに被験物質投与による影響と考えられた。血管肉腫についても自然発生が稀であり、被験物質の投与による影響と考えられる。その他、雄では鼻腔に自然発生が極めて稀な鼻腔神経上皮腫と肉腫の発生も認められた。また、雌でも鼻腔に少数例ではあるが肉腫の発生がみられた。肝臓の血管肉腫と肝細胞癌、及び鼻腔の肉腫と鼻腔神経上皮腫は悪性に分類される腫瘍であり、これらの腫瘍の発生増加は雌雄のラットに対するキノリンのがん原性を示す明らかな証拠（clear evidence）と考えられた。なお、肝臓以外の臓器では、雄では脂肪組織、腸間膜、腹膜、肺及び鼻腔、また、雌では脂肪組織、肺、後腹膜、腹膜及び卵巣に血管腫や血管肉腫が少数例ではあるが観察された。また、縦隔の肉腫の発生が雄で、脾臓の単核球性白血病の発生増加が雌でみられた。

## IV-3 非腫瘍性病変

## &lt;雄&gt;

投与群では骨髓に造血亢進、脾臓に髄外造血、肺に出血、肝臓に巣状壊死と中心性壊死、腎臓に尿細管壊死とヘモジデリン沈着の発生増加が観察された。これらの所見のうち、肺の出血は肝臓の血管肉腫の肺への転移に伴う変化であった。また、肝臓の血管肉腫と肺への転移に伴い、剖検時に胸腔や腹腔に出血がみられ、血液学的検査を実施した 200ppm 群では貧血傾向が観察されており、貧血を補う適応性変化として骨髓の造血亢進と脾臓の髄外造血の増加が起きたと考えられた。腎臓のヘモジデリン沈着も血管肉腫の発生に伴って血管内で溶血があったことを示唆する所見と推察される。また、肝臓の巣状壊死と中心性壊死及び腎臓の尿細管壊死についても、これらの所見が観察された動物はほとんどの例が肝臓腫瘍等の病変を有する動物であったことから、肝臓腫瘍等、他の病変の発生に伴う二次的な変化と考えられた。

## &lt;雌&gt;

雄と同様に腫瘍の発生に伴う骨髓の造血亢進、脾臓の髄外造血、肺の出血、肝臓の巣状壊死と中心性壊死、腎臓の尿細管壊死とヘモジデリン沈着の発生増加が観察された。また、雌ではこれに加えて、腎臓に乳頭壊死と乳頭への鉍質沈着の増加もみられた。腎臓の乳頭壊死と乳頭への鉍質沈着については、肝臓腫瘍を持たない動物にもこれらの所見がみられること、また、雄でも肝臓腫瘍の発生が多いにもかかわらずこれらの所見が少数例にしか観察されないことから、腎臓の乳頭壊死と乳頭への鉍質沈着は腫瘍発生に伴う変化ではなく、被験物質の投与による変化である可能性が高いと思われた。

## IV-4 他の文献との比較

Hirao ら(文献 11)、Shinohara ら(文献 12)、Hasegawa ら(文献 13)は、ラットを用い混餌投与のがん原性試験を実施している。これらの試験の結果と本試験の結果の比較については、用いた動物の系統が違ふこと、Hirao、Shinohara、Hasegawa らの試験では試験期間が非常に短いことと使用動物数が少ないことから単純な比較はできない。しかし、これらの報告では肝細胞癌と血管内皮腫の発生が有意に増加することを確認している。本試験の結果はこれらの報告とほぼ合致したものと考えられた。なお、本試験では、肝臓の腫瘍に加えて雄の鼻腔に鼻腔神経上皮腫と肉腫、複数の臓器に血管腫と血管肉腫、縦隔に肉腫の発生増加が認められた。

## V 結論

F344/DuCrj (Fischer) ラットを用いてキノリンの経口投与によるがん原性試験を行った。投与期間は2年間(104週間)の予定であったが、投与群の多くの動物が肝臓腫瘍の発生により死亡し、雄については最低用量群である200ppm群でも死亡率が顕著に高くなったため96週間で試験を終了した。

その結果、雌雄とも投与群に肝臓の血管肉腫、肝細胞腺腫及び肝細胞癌の顕著な発生増加がみられ、鼻腔に自然発生が稀である腫瘍(雄：鼻腔神経上皮腫と肉腫、雌：肉腫)の発生もみられた。これらの結果はキノリンのF344/DuCrj (Fischer) ラットの雌雄に対するがん原性を示す明らかな証拠と考えられた。また、肝臓以外の臓器でも、血管腫や血管肉腫の発生が雄では脂肪組織、腸間膜、腹膜、肺及び鼻腔、また、雌では脂肪組織、腹膜、後腹膜、肺及び卵巣に少数例ではあるが観察された。その他、雄の縦隔に肉腫と雌の脾臓に単核球性白血病の発生増加が認められた。

## VI 文献

- 1) 化学大事典 (1989)  
東京化学同人、東京
- 2) Fred W. McLafferty (1994)  
Wiley Registry of Mass Spectral Data, 6th edition, Entry Number 6221.  
Jone Wiley and Sons Inc. (U.S.).
- 3) William W. Simons (1978)  
The Sadtler Handbook of Infrared Spectra, p.218  
Sadtler Research Laboratories, Inc. (U.K.).
- 4) 日本バイオアッセイ研究センター (1999)  
キノリンのラットを用いた経口投与による 13 週間毒性試験（混水試験）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) Bannasch P. and Zerban H. (1994)  
Preneoplastic and neoplastic lesions of the rat liver.  
In : Pathology of Neoplasia and Preneoplasia in Rodents. p.58,  
Schattauer, Stuttgart, New York.
- 8) 原田孝則、真板敬三 (2000)  
各論 5 章 肝/胆嚢、毒性病理組織学、日本毒性病理学会編、pp.182-192.  
日本毒性病理学会、名古屋

- 9) Charles A., Montgomery J. R. and John C. S. (1990)  
Liver. In: Pathology of the Fischer Rat.  
Gary A. B., Scot L. E., Michael R., Charles A. M. and William F.M. pp71-94  
Academic Press, Inc. San Diego.
- 10) 長野嘉介 (2000)  
各論 1 章 上部気道、毒性病理組織学、日本毒性病理学会編、pp.99-116.  
日本毒性病理学会、名古屋
- 11) Hirao K., Shinohara Y., Tsuda H., Fukushima S., Takahashi M. and Ito N. (1976)  
Carcinogenic activity of quinoline on rat liver  
Cancer Research, 36 329-335
- 12) Shinohara Y., Ogino T., Hananouchi M., Nakanishi K., Yoshimura T. and Ito N. (1977)  
Effect of various factors on the induction of liver tumors in animals by quinoline  
Gann, 68, 785-796
- 13) Hasegawa R., Fukuhara F., Toyoda K., Sato H., Imaida K. and Takahashi M. (1989)  
Sequential analysis of quinoline-induced hepatic hemangioendothelioma development in  
rats. Carcinogenesis, 10, 711-716