

キノリン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：0304

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：0304

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	7
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	8

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	９
Ⅱ－３－４	摂餌量測定	９
Ⅱ－３－５	血液学的検査	９
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	１０
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	１１
Ⅱ－４－３	統計処理	１２
Ⅲ	試験成績	
Ⅲ－１	生死状況	１３
Ⅲ－２	一般状態	１３
Ⅲ－３	体重	１４
Ⅲ－４	摂水量	１４
Ⅲ－５	摂餌量	１４
Ⅲ－６	被験物質摂取量	１５
Ⅲ－７	血液学的検査	１５
Ⅲ－８	血液生化学的検査	１５
Ⅲ－９	尿検査	１５
Ⅲ－１０	病理学的検査	
Ⅲ－１０－１	剖検	１６
Ⅲ－１０－２	臓器重量	１７
Ⅲ－１０－３	病理組織学的検査	１７
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	
IV-2-1	血管腫及び血管肉腫	25
IV-2-2	その他の腫瘍性病変	27
IV-3	非腫瘍性病変	28
IV-4	他の文献との比較	29
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マウスを用いた経口投与(混水)による長期試験を実施した。

試験には雌雄の Crj:BDF<sub>1</sub> マウスを用いた。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、キノリンを希釈混合した飲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、雌雄とも 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、投与群の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 104 週間の予定であったが、雄は 65 週間、雌は 50 週間で投与を終了し、解剖を実施した。投与終了時の生存率は、雄では対照群:92%、150ppm 群:30%、300ppm 群と 600ppm 群:0%、雌では対照群:98%、150ppm 群:40%、300ppm 群:12%、600ppm 群:0%であった。一般状態の観察では、内部腫瘍が雌雄とも投与群に多く観察され、雌では外部腫瘍の増加もみられた。雄の体重は、各投与群に投与濃度に対応した増加抑制や低下がみられ、その程度は投与期間の経過に伴って顕著になった。雌の体重は、150ppm 群と 300ppm 群では投与期間の後期に対照群より低く、600ppm 群では投与初期より軽度な増加抑制がみられた。摂水量と摂餌量は雄の全投与群と雌の 300ppm 以上の群で対照群より低い値を示した期間が多かった。

病理組織学的検査では、雌雄とも全ての投与群で多くの動物に血管腫あるいは血管肉腫の発生がみられ(雄:対照群 1 匹、150ppm 群 44 匹、300ppm 群 47 匹、600ppm 群 46 匹、雌:対照群 1 匹、150ppm 群 45 匹、300ppm 群 48 匹、600ppm 群 50 匹)、これらの腫瘍が死因となっていた。血管由来の腫瘍が発生した臓器は、雄では後腹膜、腸間膜、肝臓、皮下組織、胸膜、縦隔、腹膜及び前立腺であり、特に後腹膜、腸間膜及び肝臓に血管肉腫の顕著な発生増加がみられた。雌では後腹膜、皮下組織、腸間膜、腹膜、卵巣、縦隔、肝臓、筋組織、胸膜及び子宮に発生がみられ、特に後腹膜及び皮下組織に血管腫、皮下組織、腸間膜及び腹膜に血管肉腫の顕著な発生増加がみられた。これらの腫瘍は他臓器への転移が多くみられた。その他、雄では肝臓の組織球性肉腫と肝細胞癌及び腎臓の腎細胞癌、雌では肝臓の組織球性肉腫の発生増加もみられた。非腫瘍性病変については、雌雄とも血管腫や血管肉腫の発生に伴ったと考えられる変化が肺(炎症性細胞浸潤、未熟血液細胞の出現及び出血)、骨髓(赤血球造血)、脾臓(髄外造血)、肝臓(未熟血液細胞の出現、髄外造血、中心性変性、巣状壊死、中心性壊死及び血管拡張)、腎臓(ヘモジデリン沈着と水腎症)に観察された。また、肝臓の組織球性肉腫に関連した病変と考えられるクッパー細胞の動員の発生が雌雄とも全ての投与群にみられた。

以上のように、雌雄とも最低用量群の 150ppm 群を含む全ての投与群で多くの動物に血管由来の腫瘍である血管腫あるいは血管肉腫の発生がみられた。特に雄では後腹膜、腸間膜及び肝臓、雌では後腹膜、皮下組織、腸間膜及び腹膜に血管肉腫の顕著な発生増加がみられた。その他、雄では肝臓に組織球性肉腫と肝細胞癌及び腎臓に腎細胞癌、雌では肝臓に組織球性肉腫の発生増加がみられた。これらの結果は、キノリンの Crj:BDF<sub>1</sub> マウスに対するがん原性を示す明らかな証拠と考えられた。

## キノリンのがん原性試験における主な腫瘍発生（マウス：雄）

	投 与 濃 度 (ppm)		0	150	300	600	ペトー 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	後腹膜	血管腫	0	0	0	3	↑↑	↑↑
	腸間膜	血管腫	0	1	1	2		
	肝臓	血管腫	1	1	1	1		
	皮下組織	血管腫	0	0	1	0		
	前立腺	血管腫	0	0	0	1		
	肝臓	肝細胞腺腫	4	4	3	0		
悪 性 腫 瘍	後腹膜	血管肉腫	0	35**	38**	35**	↑↑	↑↑
	腸間膜	血管肉腫	0	19**	22**	16**	↑↑	↑↑
	肝臓	血管肉腫	0	2	1	12**	↑↑	↑↑
	皮下組織	血管肉腫	0	2	2	3	↑↑	
	縦隔	血管肉腫	0	2	0	1		
	胸膜	血管肉腫	0	0	0	1		
	腹膜	血管肉腫	0	0	0	1		
	肝臓	肝細胞癌	0	4	0	1	↑↑	
		組織球性肉腫	0	0	3	1	↑↑	
	腎臓	腎細胞癌	0	1	2	2		
	全臓器	血管腫	1	2	3	7*	↑↑	↑↑
		血管肉腫	0	43**	47**	43**	↑↑	↑↑

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（ワイシャ検定）

↑：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、コ克蘭-アミテージ検定）

## キノリンのがん原性試験における主な腫瘍発生 (マウス：雌)

	投 与 濃 度 (ppm)		0	150	300	600	ベト- 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	皮下組織	血管腫	0	0	7**	15**	↑↑	↑↑
	腹膜	血管腫	0	2	6**	2	↑↑	
	肝臓	血管腫	0	1	2	5*	↑↑	↑↑
	後腹膜	血管腫	0	5*	1	1	↑	
	腸間膜	血管腫	0	2	2	2		
	縦隔	血管腫	0	0	0	1		
	卵巢	血管腫	1	0	0	0		
悪 性 腫 瘍	後腹膜	血管肉腫	0	27**	36**	32**	↑↑	↑↑
	皮下組織	血管肉腫	0	4	15**	33**	↑↑	↑↑
	腸間膜	血管肉腫	0	18**	18**	11**	↑↑	
	腹膜	血管肉腫	0	3	6*	15**	↑↑	↑↑
	卵巢	血管肉腫	0	1	4	1	↑↑	
	縦隔	血管肉腫	0	2	3	1	↑↑	
	肝臓	血管肉腫	0	0	0	2		
	筋組織	血管肉腫	0	0	0	2		
	胸膜	血管肉腫	0	0	1	0		
	子宮	血管肉腫	0	1	0	0		
	肝臓	組織球性肉腫	0	2	6*	4	↑↑	
	脾臓	悪性リンパ腫	3	1	0	0		↓ 注
	全臓器	血管腫	1	9**	16**	24**	↑↑	↑↑
		血管肉腫	0	43**	48**	49**	↑↑	↑↑

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 (ワイット検定)

↑ : 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)

(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

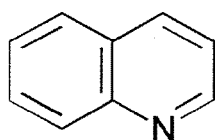
## I-1-1 名称等

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(1996.3.12～1996.8.28)

：FHE03(1996.8.28～1997.6.13)

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 Crj:BDF<sub>1</sub> マウス(SPF)の雌雄を使用した。

マウス雌雄各 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(投与開始時体重範囲、雄：22.4～25.6g、雌：18.5～21.0g)を選別し、試験に供した。なお、Crj:BDF<sub>1</sub> マウスを選択した理由は、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、脱イオンし、紫外線滅菌した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3月13日から1997年6月13日までの65週間、雌は1996年3月13日から1997年2月28日までの50週間連続投与した。

#### II-1-4 被験物質の投与濃度

雌雄とも最高投与濃度を600ppm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の群を設けた。

#### 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、雌雄とも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150ppm群でも死亡率が顕著に高くなったため雄では65週間、雌では50週で投与を終了し、解剖を実施した。

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1200ppm、800ppm、533ppm、355ppm、237ppm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。最高用量の1200ppm群と

800ppm 群では雌雄とも被験物質の忌避によると考えられる摂水量の低下が著しく、両群の投与期間中の摂水量(平均)は雌雄とも対照群と比較して 50%を下回っており、800ppm 以上の濃度で長期間の動物の飼育は困難であると考えた。533ppm 群でも摂水量は雌雄とも対照群と比較して低値を示しているが、体重については最終計測時には対照群に対して雄は 88%、雌は 98%と著しい増加の抑制もなく、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直ちに動物の生死に影響を与える変化は認められなかった。

以上のことから、雌雄ともがん原性試験の投与濃度は、最高用量を 533ppm よりやや高い 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、95.3~102%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 600ppm) 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）
150ppm	50 匹（1101～1150）	150ppm	50 匹（2101～2150）
300ppm	50 匹（1201～1250）	300ppm	50 匹（2201～2250）
600ppm	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）。

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動物飼育室 204 室、雌を 205 室に収容し、投与開始以降は 106 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±2℃、湿度：55±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:112×D:212×H:120mm/匹）に収容し、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(30KGγ-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65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週間は週1回、それ以降は4週に1回（但し、雄は65週にも測定した）給水量と残水量を計測した。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65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、解剖日前日夕刻より絶食後、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、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、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、卵巢、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、胆嚢、膵臓、腎臓、膀胱、下垂体、甲状腺、副腎、精巣、精巣上体、精嚢、前立腺、卵巢、子宮、陰、乳腺、脳、脊髄、末梢神経（坐骨神経）、眼球、ハーダー腺、筋肉、骨（大腿骨）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、小数点以下第 1 位まで計測し、小数点以下第 1 位まで表示した。

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 当りの一日摂取量は、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、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150ppm群でも死亡率が顕著に高くなったため、雄は65週間、雌は50週間で投与を終了し解剖を行った。また、雄の300ppm群と600ppm群及び雌の600ppm群は定期解剖までに全例が死亡したため、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150ppm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600ppm群では投与開始から55週、300ppm群では65週までに全ての動物が死亡した。65週（定期解剖前日）における生存動物数（生存率）は、対照群：46匹(92%)、150ppm群：15匹(30%)であった。

雌の600ppm群では投与開始から44週までに全ての動物が死亡した。50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%)、150ppm群：20匹(40%)、300ppm群：6匹(12%)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。

雄の投与群に内部腫瘍の増加、雌の投与群に内部腫瘍と外部腫瘍の増加が観察された。

雄では内部腫瘍の発生数（発生率）が対照群で1匹（2%）であったのに対し、150ppm群では18匹（36%）、300ppm群では19匹（38%）、600ppm群では11匹（22%）と増加する傾向を示した。

雌では内部腫瘍が対照群で0匹であったのに対し、150ppm群では8匹（16%）、300ppm群では21匹（42%）、600ppm群では10匹（20%）、外部腫瘍は対照群が0匹であったのに対し、150ppm群では2匹（4%）、300ppm群では11匹（22%）、600ppm群では29匹（58%）と双方とも増加する傾向を示した。

### 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。体重増加の抑制は投与期間の経過に伴って顕著になった。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：91%、300ppm 群（62 週）：81%、600ppm 群（54 週）：51%であった。

雌については、150ppm 群では投与開始から 42 週まで対照群に近い推移を示し、試験終了に近い 46 週以降に対照群より低値になるものの、その程度は軽度であった。300ppm 群では投与開始から 38 週まで対照群に近い推移を示し、42 週以降に対照群より低値になり 46 週では対照群に対し最大 86%まで低下した。600ppm 群では投与期間を通して体重増加の軽度な抑制が認められ、その程度は投与期間の経過に伴って増大し、38 週では対照群に対し最大 89%まで低下した。最終計測日における各投与群の体重は対照群に対し、150ppm 群：96%、300ppm 群：95%、600ppm 群（42 週）：97%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。

摂水量の値はばらつきが大きかったが、雄の全ての投与群と雌の 300ppm 以上の群で対照群より低い値を示した期間が多く、低下の程度は投与濃度にほぼ対応していた。各投与群の摂水量は対照群に対し、雄では 150ppm 群：68%～123%、300ppm 群：56%～106%、600ppm 群：27%～170%、雌では 150ppm 群：78%～139%、300ppm 群：42%～125%、600ppm 群：33%～100%であった。

なお、18 週の対照群の摂水量は、自動給水装置の不具合があったため、欠測データとした。

### 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。

雄については、150ppm 群では投与開始から 46 週まで対照群に近い推移を示し、50 週以降に対照群よりやや低い値になった。300ppm 群と 600ppm 群は投与期間を通して対照群より低い値を示した期間が多く、低下の程度は投与期間の経過に伴って大きくなり、300ppm 群では 54 週以降、600ppm 群では 46 週以降に低下が顕著になった。各投与群の摂餌量は対照群に対し、150ppm 群：89%～126%、300ppm 群：70%～126%、600ppm 群：43%～119%であった。

雌については、300ppm 群は 38 週以降に対照群より低値になり、600ppm 群は投与期間を通して対照群より低い値を示した期間が多かった。各投与群の摂餌量は対照群に対し、150ppm 群：93%～105%、300ppm 群：84%～106%、600ppm 群：79%～100%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 150ppm 群：11～37mg/kg、300ppm 群：18～65mg/kg、600ppm 群：25～124mg/kg、雌では 150ppm 群：20～61mg/kg、300ppm 群：22～108mg/kg、600ppm 群：41～151mg/kg の範囲であった。

### 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、150ppm 群に赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、血小板数及びリンパ球比の減少、分葉核好中球比、単核球比及びその他の白血球（異型白血球）比の増加が認められた。

雌では、150ppm、300ppm 群に赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、MCHC、血小板数及びリンパ球比の減少、MCV、白血球数、杆状核好中球比及び分葉核好中球比の増加が認められ、300ppm 群に好酸球比の減少、その他の白血球（異型白血球）比の増加が認められた。

### 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、150ppm 群に LDH 及び GOT 活性の上昇、ALP 活性の低下、リン脂質の増加、グルコースとアルブミンの減少が認められた。

雌では、150ppm と 300ppm 群に GPT 活性の上昇、ALP 活性の低下、カルシウムとトリグリセライドの増加、CPK 及び尿素窒素の増加が認められ、LDH 活性も統計学的に有意ではないが顕著に高い値を示した。また、300ppm 群に総蛋白、アルブミンの減少、総ビリルビンの増加が認められた。その他、150ppm 群に総コレステロールとリン脂質に統計的に有意差が示されたが、投与用量に対応した変化ではなかった。

### Ⅲ-9 尿検査

尿検査の結果を APPENDIX H 1,2 に示した。

雄では、150ppm 群に pH の低下が認められた。

雌では、150ppm と 300ppm 群に蛋白の陽性度の増加とケトン体の陽性例の増加、300ppm 群に pH の低下が認められた。

### 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>

投与群の死亡及び瀕死例（150ppm 群 35 匹、300ppm 群と 600ppm 群各 50 匹）の多くの動物に後腹膜や腸間膜の腫瘍が観察された。すなわち、後腹膜の腫瘍の発生数（発生率）は 150ppm 群の 32 匹（91%）、300ppm 群の 36 匹（72%）及び 600ppm 群の 35 匹（70%）、腸間膜の腫瘍は 150ppm 群の 11 匹（31%）、300ppm 群の 17 匹（34%）及び 600ppm 群の 10 匹（20%）にみられた。これらの腫瘍は赤色を呈するものが多く、多数の動物で腹腔の出血や脾臓の腫大を伴っていた。同様の腫瘍は、皮下組織[300ppm 群と 600ppm 群各 3 匹（6%）]、縦隔[600ppm 群 1 匹（2%）]、腹膜[150ppm 群 1 匹（3%）と 600ppm 群 1 匹（2%）]、腹腔[150ppm 群 1 匹（2%）]、胸腔[600ppm 群 1 匹（2%）]にも少数例ではあるが認められた。

投与群の定期解剖動物（150ppm 群 15 匹）でも、後腹膜 7 匹（47%）、腸間膜 3 匹（20%）及び縦隔 1 匹（7%）に腫瘍が観察された。対照群には、定期解剖動物の 1 匹に腸間膜の腫瘍がみられただけであった。

なお、腹腔壁に発生した腫瘍は後腹膜や腸間膜の部位にみられる例が多かったため、臓器名は、まず、後腹膜や腸間膜にみられたものをそれぞれ後腹膜、腸間膜と分類し、それ以外の部位にみられたものを腹膜とした。

また、死亡及び瀕死例と定期解剖例を合わせた肝臓の結節が対照群に比べ投与群に多く観察された[対照群 4 匹（8%）、150ppm 群 8 匹（16%）、300ppm 群 9 匹（18%）、600ppm 群 12 匹（24%）]。

##### <雌>

投与群の死亡及び瀕死例（150ppm 群 30 匹、300ppm 群 44 匹、600ppm 群 50 匹）の多くの動物に後腹膜、皮下組織、腸間膜及び腹膜の腫瘍が観察された。すなわち、後腹膜の腫瘍の発生数（発生率）は 150ppm 群の 15 匹（50%）、300ppm 群の 27 匹（61%）及び 600ppm 群の 24 匹（48%）、皮下組織の腫瘍は 150ppm 群の 1 匹（3%）、300ppm 群の 13 匹（30%）及び 600ppm 群の 37 匹（74%）、腸間膜の腫瘍は 150ppm 群の 8 匹（27%）、300ppm 群の 15 匹（34%）及び 600ppm 群の 8 匹（16%）、腹膜の腫瘍は 150ppm 群の 2 匹（7%）、300ppm 群の 6 匹（14%）及び 600ppm 群の 12 匹（24%）に観察された。雄と同様に、これらの腫瘍は赤色を呈するものが多く、多数の動物で腹腔の出血や脾臓の腫大を伴っていた。同様の腫瘍は、胸腔[600ppm 群 1 匹（2%）]にも少数例ではあるが観察された。

投与群の定期解剖動物（150ppm 群 20 匹、及び 300ppm 群 6 匹）でも、後腹膜[150ppm 群 15 匹（75%）、300ppm 群 6 匹（100%）]、腸間膜[150ppm 群 8 匹（40%）、300ppm 群 3 匹（50%）]、脂肪組織[150ppm 群 2 匹（10%）、300ppm 群 2 匹（33%）]、皮下組織[150ppm 群 1 匹（5%）、300ppm 群 2 匹（33%）]、縦隔[150ppm 群 1 匹（5%）]及び胸腔[300ppm 群 1 匹（17%）]に腫瘍

や結節が観察された。対照群には、定期解剖動物の 1 匹に腸間膜の腫瘍がみられただけであった。

また、死亡及び瀕死例と定期解剖例を合わせた投与群の肝臓に結節[150ppm 群 2 匹 (4%)、300ppm 群 6 匹 (12%)、600ppm 群 10 匹 (20%) ]や腫大[150ppm 群 4 匹 (8%)、300ppm 群 6 匹 (12%)、600ppm 群 1 匹 (2%) ]、白色斑[150ppm 群 1 匹 (2%)、300ppm 群 3 匹 (6%)、600ppm 群 4 匹 (8%) ]が観察された。

### 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>

150ppm 群に脾臓の実重量と体重比の高値及び肝臓の体重比の高値が認められた。また、統計的に差は認められなかったが、腎臓の実重量及び体重比の値は対照群より高い値であった。その他、心臓の実重量の低値、精巣、肺及び脳の体重比の高値が認められたが、体重増加の抑制に伴う変化と思われた。

#### <雌>

150ppm 群及び 300ppm 群とも腎臓、脾臓及び肝臓の実重量と体重比の高値が認められた。なお、150ppm 群の副腎と肺の体重比に統計学的な有意差がみられたが、投与用量に対応した変化でなかった。

### 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>

多くの臓器で多数例に血管腫や血管肉腫の発生がみられ、肝臓には肝細胞癌と組織性肉腫の発生増加も認められた。その他、腎細胞癌の発生もみられた。

・後腹膜、腸間膜、肝臓、皮下組織、胸膜、縦隔、腹膜及び前立腺の血管腫と血管肉腫

後腹膜：血管腫が 600ppm 群の 3 匹 (6%)、血管肉腫が 150ppm 群の 35 匹 (70%)、300ppm 群の 38 匹 (76%) 及び 600ppm 群の 35 匹 (70%) に観察され、血管腫と血管肉腫の発生は 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 検定では全ての投与群で血管肉腫の増加を示した。なお、血管肉腫は他臓器への転移が認め

られた。すなわち、150ppm 群にリンパ節(3 匹)、腎臓(2 匹)、肺 (1 匹)、副腎 (1 匹) 及び前立腺 (1 匹) への転移が計 7 匹、300ppm 群に脾臓 (4 匹)、肺 (3 匹)、腎臓(2 匹)、リンパ節(1 匹) 及び前立腺 (1 匹) への転移が計 9 匹、600ppm 群に肺 (4 匹)、腎臓(4 匹)、副腎 (3 匹) 及び脾臓 (2 匹) への転移が計 10 匹観察された。

腸間膜：血管腫が 150ppm 群と 300ppm 群の各 1 匹 (2%) 及び 600ppm 群の 2 匹 (4%)、血管肉腫が 150ppm 群の 19 匹 (38%)、300ppm 群の 22 匹 (44%) 及び 600ppm 群の 16 匹 (32%) に観察され、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 検定では全ての投与群で増加を示した。

なお、腸間膜の血管肉腫も他臓器への転移がみられた。すなわち、150ppm 群に脾臓(3 匹)、胃(2 匹)、リンパ節(1 匹)及び腎臓(1 匹)への転移が計 7 匹、300 ppm 群にリンパ節(6 匹)、脾臓 (3 匹) 及び胃 (2 匹) への転移が計 8 匹、600 ppm 群に胃 (2 匹)、肺 (1 匹)、リンパ節(1 匹)、肝臓 (1 匹) 及び脾臓 (1 匹) への転移が計 5 匹観察された。

肝臓：血管腫が対照群の 1 匹 (2%)、150ppm 群、300ppm 群及び 600ppm 群の各 1 匹 (2%)、血管肉腫が 150ppm 群の 2 匹 (4%)、300ppm 群の 1 匹 (2%) 及び 600ppm 群の 12 匹 (24%) 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 600ppm 群で増加を示した。

皮下組織：血管腫が 300 ppm 群の 1 匹(2%)、血管肉腫が 150ppm 群と 300ppm 群の各 2 匹(4%) 及び 600ppm 群の 3 匹 (6%) に観察され、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) で増加傾向を示した。なお、他臓器への転移については、300ppm 群の 2 匹に肺への転移、600ppm 群の 1 匹に眼球への転移が観察された。

その他、統計学的に有意差は示されないものの、縦隔には血管肉腫が 150 ppm 群の 2 匹 (4%) と 600ppm 群の 1 匹 (2%)、胸膜には血管肉腫が 600ppm 群の 1 匹 (2%)、腹膜には血管肉腫が 600ppm 群の 1 匹 (2%)、前立腺には血管腫が 600ppm 群の 1 匹 (2%) に観察された。

雄の血管腫を持つ動物数は全ての臓器を合わせると、対照群 1 匹 (2%)、150ppm 群 2 匹 (4%)、300ppm 群 3 匹 (6%) 及び 600ppm 群 7 匹 (14%)、血管肉腫を持つ動物数は 150ppm 群 43 匹 (86%)、300ppm 群 47 匹 (94%) 及び 600ppm 群 43 匹 (86%) であり、両者とも 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 検定では血管腫が 600ppm 群、血管肉腫が全ての投与群で増加を示した。また、血管腫あるいは血管肉腫を持つ動物数は、対照群 1 匹 (2%) に対し、150ppm 群では 44 匹 (88%)、300 ppm 群では 47 匹 (94%)、600 ppm 群では 46 匹 (92%) であった。

#### ・肝臓

血管肉腫の発生増加に加え、肝細胞癌が 150ppm 群の 4 匹 (8%) と 600ppm 群の 1 匹 (2%) に観察され、Peto 検定 (死亡率法) で増加傾向が示された。また、組織球性肉腫も 300ppm 群の 3 匹 (6%) と 600ppm 群の 1 匹 (2%) に発生し、Peto 検定 (死亡率法、死亡率法+有病率法) で増加傾向が示された。

・腎臓

統計学的に有意ではなかったが、腎細胞癌が 150ppm 群の 1 匹 (2%)、300ppm 群及び 600ppm 群の各 2 匹 (4%) に観察された。

<雌>

多くの臓器で多数例に血管腫や血管肉腫の発生がみられ、肝臓に組織性肉腫の発生増加も認められた。

・後腹膜、皮下組織、腸間膜、腹膜、卵巢、縦隔、肝臓、筋組織、胸膜及び子宮の血管腫と血管肉腫

後腹膜：血管腫が 150ppm 群の 5 匹 (10%)、300ppm 群と 600ppm 群の各 1 匹 (2%)、血管肉腫が 150ppm 群の 27 匹 (54%)、300ppm 群の 36 匹 (72%) 及び 600ppm 群の 32 匹 (64%) に観察された。血管腫の発生は Peto 検定 (有病率法) で増加傾向を示し、Fisher 検定では 150ppm 群で増加を示した。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 検定では全ての投与群で増加を示した。なお、血管肉腫は他臓器への転移が認められた。すなわち、150ppm 群に肺(3 匹)とリンパ節(1 匹)への転移が計 4 匹、300ppm 群にリンパ節(2 匹)と副腎 (1 匹) への転移が計 2 匹、600ppm 群に肺 (3 匹)、リンパ節(1 匹)及び副腎 (1 匹) への転移が計 4 匹観察された。

皮下組織：血管腫が 300ppm 群の 7 匹 (14%) と 600ppm 群の 15 匹 (30%)、血管肉腫が 150ppm 群の 4 匹 (8%)、300ppm 群の 15 匹 (30%) 及び 600ppm 群の 33 匹 (66%) に観察された。血管腫と血管肉腫の発生は Peto 検定 (血管腫：有病率法、死亡率法+有病率法、血管肉腫：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 300ppm 群と 600ppm 群で増加を示した。他臓器への転移については、300ppm 群と 600ppm 群の各 1 匹に肺への転移が観察された。

腸間膜：血管腫が 150ppm 群、300ppm 群及び 600ppm 群で各 2 匹 (4%)、血管肉腫が 150ppm 群と 300ppm 群の各 18 匹 (36%) 及び 600ppm 群の 11 匹 (22%) 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) 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、血管肉腫の転移が 150ppm 群の肝臓(2 匹)と脾臓(2 匹)に計 4 匹、300ppm 群のリンパ節(3 匹)、胃 (2 匹) 及び脾臓 (2 匹) に計 6 匹、600ppm 群のリンパ節に 1 匹観察された。

腹膜：血管腫が 150ppm 群の 2 匹 (4%)、300ppm 群の 6 匹 (12%) 及び 600ppm 群の 2 匹 (4%)、血管肉腫が 150ppm 群の 3 匹 (6%)、300ppm 群の 6 匹 (12%) 及び 600ppm 群の 15 匹 (30%) に観察された。血管腫の発生は Peto 検定 (有病率法) で増加傾向を示し、Fisher 検定では 300ppm 群で増加を示した。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 300ppm 群と 600ppm 群で増加を示した。なお、300ppm 群と 600ppm 群の各 1 匹に肝臓への血管肉腫の転移が観察された。

卵巢：血管腫が対照群の 1 匹 (2%)、血管肉腫が 150ppm 群の 1 匹 (2%)、300ppm 群の 4 匹

(8%) 及び 600ppm 群の 1 匹 (2%) に観察された。血管肉腫の発生及び両者を合わせた発生は Peto 検定 (有病率法、死亡率法+有病率法) で増加傾向を示した。なお、300ppm 群の 1 匹に肺への血管肉腫の転移が観察された。

縦隔：血管腫が 600ppm 群の 1 匹、血管肉腫が 150ppm 群の 2 匹 (4%)、300ppm 群の 3 匹 (6%) 及び 600ppm 群の 1 匹 (2%) に観察された。血管肉腫の発生は Peto 検定 (有病率法) で増加傾向を示した。

肝臓：血管腫が 150ppm 群の 1 匹 (2%)、300ppm 群の 2 匹 (4%) 及び 600ppm 群の 5 匹 (10%)、血管肉腫が 600ppm 群の 2 匹 (4%) に観察された。血管腫の発生は Peto 検定 (有病率法、死亡率法+有病率法) と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定では 600ppm 群で増加を示した。

その他、統計学的に有意ではなかったが、筋組織には血管肉腫が 600ppm 群の 2 匹 (肺への転移が 1 匹)、胸膜には血管肉腫が 300ppm 群の 1 匹、子宮には血管肉腫が 150ppm 群の 1 匹で観察された。

血管腫を持つ動物数は全ての臓器を合わせると、対照群 1 匹 (2%)、150ppm 群 9 匹 (18%)、300ppm 群 16 匹 (32%) 及び 600ppm 群 24 匹 (48%)、血管肉腫は、対照群 0 匹、150ppm 群 43 匹 (86%)、300ppm 群 48 匹 (96%) 及び 600ppm 群 49 匹 (98%) であり、両者とも Peto 検定 (血管腫：有病率法、死亡率法+有病率法、血管肉腫：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。また、血管腫あるいは血管肉腫を持つ動物数は、対照群 1 匹 (2%) に対し、150ppm 群では 45 匹 (90%)、300ppm 群では 48 匹 (96%)、600ppm 群では 50 匹 (100%) であった。

#### ・肝臓

血管肉腫の発生増加に加え、組織球性肉腫が 150ppm 群の 2 匹 (4%)、300ppm 群の 6 匹 (12%) 及び 600ppm 群の 4 匹 (8%) に発生し、Peto 検定 (死亡率法、有病率法、死亡率法+有病率法) で増加傾向が示された。

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、脾臓の悪性リンパ腫の発生が Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示した。

#### －非腫瘍性病変－

##### <雄>

#### ・肝臓

未熟血液細胞の出現が、対照群にみられないが 150ppm 群の 30 匹 (60%)、300ppm 群の 41 匹 (82%) 及び 600ppm 群の 28 匹 (56%) にみられた。また、中心性の変性が 150ppm 群の 10 匹 (20%)、300ppm 群の 18 匹 (36%) 及び 600ppm 群の 7 匹 (14%) 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。巣状壊死の発生は、対照群が 1 匹 (2%) であったのに

対し、150ppm 群 6 匹 (12%)、300ppm 群 10 匹 (20%)、600ppm 群 13 匹 (26%) であり、300ppm 群と 600ppm 群で発生増加を示した。中心性の壊死の発生も 150ppm 群の 3 匹 (6%)、300ppm 群 7 匹 (14%)、600ppm 群 5 匹 (10%) 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。クッパー細胞の動員は 150ppm 群の 2 匹 (4%)、300ppm 群と 600ppm 群の各 8 匹 (16%) にみられ、300ppm 群と 600ppm 群で発生増加が示された。髄外造血は 150ppm 群の 12 匹 (24%)、300ppm 群の 4 匹 (8%) 及び 600ppm 群の 6 匹 (12%) に観察され、150ppm 群と 600ppm 群で発生増加を示した。また、肝臓の血管拡張の増加が 300ppm 群に 1 匹 (2%) と 600ppm 群に 3 匹 (6%) みられた。

#### ・肺

未熟血液細胞の出現が 150ppm 群の 13 匹 (26%)、300ppm 群の 21 匹 (42%) 及び 600ppm 群の 22 匹 (44%) に観察された。また、炎症性細胞浸潤の発生は、対照群が 2 匹 (4%) であったのに対し、150ppm 群 23 匹 (46%)、300ppm 群 34 匹 (68%)、600ppm 群 32 匹 (64%) にみられた。これらの所見は全ての投与群で発生増加を示した。出血は対照群が 2 匹 (4%) であったのに対し、300ppm 群では 5 匹 (10%)、600ppm 群では 6 匹 (12%) 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。

#### ・腎臓

ヘモジデリン沈着が 150ppm 群の 8 匹 (16%)、300ppm 群の 5 匹 (10%) 及び 600ppm 群の 4 匹 (8%) にみられ、150ppm 群で発生増加を示した。また、水腎症も、対照群が 1 匹 (2%) であったのに対し、150ppm 群と 300ppm 群の各 8 匹 (16%)、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。投与群の水腎症は後腹膜に血管肉腫が発生した例で観察されることが多かった。

#### ・骨髓

赤血球造血の増加が 150ppm 群の 23 匹 (46%)、300ppm 群の 36 匹 (72%) 及び 600ppm 群の 27 匹 (54%) に観察され、全ての投与群で発生増加を示した。

#### ・脾臓

髄外造血が 150ppm 群の 40 匹 (80%)、300ppm 群の 48 匹 (96%)、600ppm 群の 44 匹 (88%) にみられ、全ての投与群で発生増加を示した。また、その程度も重度な例が多かった。

#### ・心臓

鉍質沈着が 150ppm 群 4 匹 (8%)、300ppm 群 17 匹 (34%)、600ppm 群 6 匹 (12%) にみられ、300ppm 群と 600ppm 群で発生増加を示した。

- ・皮下組織、腹膜、腸間膜

血管の増生が皮下組織に全ての投与群で各 1 匹 (2%)、腹膜に 600ppm 群で 1 匹 (2%)、腸間膜に 300ppm 群で 1 匹 (2%) に観察された。

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、鼻腔の嗅上皮の呼吸上皮化生、嗅上皮のエオジン好性変化及び腺の呼吸上皮化生、唾液腺のリンパ球浸潤、胃の腺胃の過形成、肝臓の中心性の脂肪変性、副腎の紡錘形細胞増生並びに精巣の鉍質沈着の発生が減少した。

### <雌>

- ・肝臓

未熟血液細胞の出現が 150ppm 群の 36 匹 (72%)、300ppm 群の 47 匹 (94%) 及び 600ppm 群の 46 匹 (92%) にみられた。また、クッパー細胞の動員が 150ppm 群の 6 匹 (12%)、300ppm 群の 8 匹 (16%) 及び 600ppm 群の 10 匹 (20%) に観察され、全ての投与群で発生増加を示した。巣状壊死の発生は、対照群が 1 匹 (2%) であったのに対し、150ppm 群 6 匹 (12%)、300ppm 群 9 匹 (18%)、600ppm 群 12 匹 (24%) であり、600ppm 群で発生増加を示した。中心性の変性は 150ppm 群の 6 匹 (12%)、300ppm 群の 2 匹 (4%) 及び 600ppm 群の 11 匹 (22%) にみられ、150ppm 群と 600ppm 群で発生増加を示した。髄外造血は 150ppm 群の 3 匹 (6%)、300ppm 群の 10 匹 (20%) 及び 600ppm 群の 6 匹 (12%) に観察され、300ppm 群と 600ppm 群で発生増加を示した。血管拡張も、150ppm 群と 300ppm 群の各 3 匹 (6%)、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。

- ・肺

未熟血液細胞の出現が 150ppm 群の 14 匹 (28%)、300ppm 群の 25 匹 (50%) 及び 600ppm 群の 29 匹 (58%) に観察された。また、炎症性細胞浸潤の発生が 150ppm 群の 22 匹 (44%)、300ppm 群の 31 匹 (62%)、600ppm 群 39 匹 (78%) にみられた。これらの所見は全ての投与群で発生増加を示した。出血は 150ppm 群の 2 匹 (4%)、300ppm 群の 4 匹 (8%) 及び 600ppm 群の 8 匹 (16%) に観察され、600ppm 群で発生増加を示した。

- ・腎臓

ヘモジデリン沈着が 150ppm 群の 11 匹 (22%)、300ppm 群と 600ppm 群の各 13 匹 (26%) にみられ、全ての投与群で発生増加を示した。水腎症は、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%)、600ppm 群の 2 匹 (4%) にみられ、統計学的には有意でないが 150ppm 群と 300ppm 群の発生は対照群より多かった。尿細管壊死の発生も 150ppm 群の 2 匹 (4%)、300ppm 群の 3 匹 (6%) 及び 600ppm 群の 5 匹 (10%) にみられ、統計学的には有意でないが対照群より多かった。

- ・皮下組織

出血が 600ppm 群の 8 匹 (16%) に観察され、発生増加を示した。また、血管の増生が 300ppm 群の 2 匹 (4%) と 600ppm 群の 1 匹 (2%) に観察された。

- ・骨髓

赤血球造血の増加が 150ppm 群の 27 匹 (54%)、300ppm 群の 33 匹 (66%) 及び 600ppm 群の 35 匹 (70%) 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 150ppm 群の 36 匹 (72%)、300ppm 群の 47 匹 (94%) 及び 600ppm 群の 50 匹 (100%) に発生し、全ての投与群で発生増加を示した。また、その程度も中等度から重度な例が多かった。

- ・脳

出血の発生は、対照群が 1 匹 (2%) であったのに対し、150ppm 群 5 匹 (10%)、300ppm 群 6 匹 (12%)、600ppm 群 9 匹 (18%) であり、600ppm 群で発生増加を示した。

- ・鼻腔

呼吸上皮のエオジン好性変化の発生は、対照群が 20 匹 (40%) であったのに対し、150ppm 群では 29 匹 (58%)、300ppm 群では 36 匹 (72%)、600ppm 群では 46 匹 (92%) にみられ、全ての投与群で発生増加を示した。また、腺の呼吸上皮化生は、対照群が 1 匹 (2%) であったのに対し、150ppm 群では 2 匹 (4%)、300ppm 群では 3 匹 (6%)、600ppm 群では 10 匹 (20%) にみられ、600ppm 群で発生増加を示した。

- ・心臓

鉍質沈着が 150ppm 群の 2 匹 (4%)、300ppm 群の 5 匹 (10%) 及び 600ppm 群の 1 匹 (2%) 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。

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、唾液腺のリンパ球浸潤、胃の腺胃の過形成、肝臓の炎症性細胞集簇巣、副腎の紡錘形細胞増生、子宮の囊胞状内膜増生及び脳の鉍質沈着の発生が減少した。

### 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 4 匹の死因は、尿閉、動脈炎、水腎症及び脾臓腫瘍（組織球性肉腫）が各 1 匹（25%）であった。これに対し、150ppm 群の死亡動物 35 匹の死因は、後腹膜腫瘍（血管肉腫）が 25 匹（71%）、腸間膜腫瘍（血管肉腫）が 8 匹（23%）、肝臓腫瘍（血管肉腫）と肝臓病変が各 1 匹（3%）であった。300ppm 群では、死亡動物 50 匹の死因は後腹膜腫瘍（血管肉腫）が 29 匹（58%）、腸間膜腫瘍（血管肉腫）が 13 匹（26%）、肝臓腫瘍[組織球性肉腫 3 匹（6%）、血管肉腫 1 匹（2%）]が 4 匹（8%）、皮下腫瘍（血管肉腫）が 2 匹（4%）、腎臓腫瘍（腎細胞癌）と肝臓病変が各 1 匹（2%）であった。また、600ppm 群の死亡動物 50 匹の死因は、後腹膜腫瘍[血管肉腫 29 匹（58%）、血管腫 2 匹（4%）]が 31 匹（62%）、腸間膜腫瘍（血管肉腫）が 7 匹（14%）、肝臓腫瘍[血管肉腫 3 匹（6%）、組織球性肉腫 1 匹（2%）]が 4 匹（8%）、皮下腫瘍（血管肉腫）が 2 匹（4%）、胸膜腫瘍（血管肉腫）、縦隔腫瘍（血管肉腫）及び水腎症が各 1 匹（2%）、死因の特定が出来なかったものが 3 匹（6%）であった。

#### <雌>

対照群の死亡動物 1 匹の死因は水腎症であった。これに対し、150ppm 群の死亡動物 30 匹の死因は、後腹膜腫瘍（血管肉腫）が 13 匹（43%）、腸間膜腫瘍（血管肉腫）が 11 匹（37%）、肝臓腫瘍[血管腫 1 匹（2%）、組織球性肉腫 1 匹（2%）]が 2 匹（4%）、皮下腫瘍（血管肉腫）、白血病及び水腎症が各 1 匹（2%）、死因の特定が出来なかったものが 1 匹（2%）であった。300ppm 群では、死亡動物 44 匹の死因は後腹膜腫瘍（血管肉腫）が 22 匹（50%）、腸間膜腫瘍（血管肉腫）が 8 匹（18%）、皮下腫瘍（血管肉腫）が 7 匹（14%）、肝臓腫瘍（組織球性肉腫）が 5 匹（10%）、卵巣腫瘍（血管肉腫）と腹膜腫瘍（血管肉腫）が各 1 匹（2%）であった。また、600ppm 群の死亡動物 50 匹の死因は、後腹膜腫瘍（血管肉腫）が 21 匹（42%）、皮下腫瘍（血管肉腫）が 18 匹（36%）、腹膜腫瘍（血管肉腫）が 5 匹（10%）、腸間膜腫瘍（血管肉腫）が 3 匹（6%）、肝臓腫瘍（組織球性肉腫）が 2 匹（4%）、死因の特定が出来なかったものが 1 匹（2%）であった。

## IV 考察

### IV-1 生死状況、死因、一般状態

雄の 600ppm 群は投与開始から 55 週、300ppm 群では 65 週までに全ての動物が死亡し、最低投与群である 150ppm 群でも死亡率が顕著に高くなったため、65 週間で投与を終了し、解剖を行った。投与を終了した 65 週における雄の生存動物数（生存率）は対照群が 46 匹(92%)であったのに対し、150ppm 群：15 匹(30%)であった。雌についても、600ppm 群では投与開始から 44 週までに全ての動物が死亡し、150ppm 群と 300ppm 群でも死亡率が顕著に高くなったため、50 週間で投与を終了し、解剖を行った。投与を終了した 50 週における雌の生存動物数（生存率）は、対照群が 49 匹(98%)であったのに対し、150ppm 群：20 匹(40%)、300ppm 群：6 匹(12%)であった。

雄の投与群における死亡動物の死因は 150ppm 群の 34 匹（97%）、300ppm 群の 47 匹（94%）、600ppm 群の 45 匹（90%）が後腹膜や腸間膜などに発生した血管腫や血管肉腫であった。雌の投与群における死亡/瀕死動物の死因も 150ppm 群の 26 匹（87%）、300ppm 群の 39 匹（89%）、600ppm 群の 47 匹（94%）が後腹膜や腸間膜、皮下組織などに発生した血管腫や血管肉腫であった。対照群の死亡/瀕死動物には雌雄とも血管腫や血管肉腫による死亡はみられず、投与群での死亡増加の原因のほとんどは血管腫や血管肉腫の発生によるものであった。血管肉腫による動物の死亡時期は、雄では 150ppm 群 36 週、300ppm 群 40 週、600ppm 群では 32 週以降、雌では 150ppm 群 33 週、300ppm 群 28 週、600ppm 群で 27 週以降であり、投与濃度に対応して早まる傾向を示した。

一般状態の観察では、雌雄ともに内部腫瘍が多く観察され、雌では外部腫瘍の増加もみられた。これらの内部腫瘍や外部腫瘍の増加は多くの例が血管腫や血管肉腫の発生に伴う所見であった。

### IV-2 腫瘍性病変

#### IV-2-1 血管腫及び血管肉腫の発生

雄：

後腹膜、腸間膜、肝臓、皮下組織、胸膜、縦隔、腹膜及び前立腺に血管腫や血管肉腫の発生増加がみられた。

投与群では血管由来の腫瘍である血管腫あるいは血管肉腫が 150ppm 群の 44 匹(88%)、300ppm 群の 47 匹（94%）、600ppm 群の 46 匹（92%）に発生した。これに対し、対照群には 1 匹（2%）に肝臓の血管腫の発生が観察されただけであった。血管腫の発生がみられた動物は 150ppm 群の 2 匹（4%）、300ppm 群の 3 匹（6%）及び 600ppm 群の 7 匹（14%）であったのに対し、血管肉腫の発生がみられた動物は 150ppm 群の 43 匹（86%）、300ppm 群の 47 匹（94%）及び 600ppm 群の 43 匹（86%）であり、多くの例に悪性腫瘍である血管肉腫の発生が観察された。血管由来の腫瘍が発生した臓器は、後腹膜、腸間膜、肝臓、皮下組織、胸膜、縦隔、腹膜及び前立腺であり、

後腹膜、腸間膜、肝臓及び皮下組織の血管肉腫ならびに後腹膜の血管腫の発生は統計学的 (Fisher 検定、Peto 検定あるいは Cochran-Armitage 検定) に有意な増加を示した。特に後腹膜と腸間膜における血管由来の腫瘍は顕著な発生増加がみられ、明らかに被験物質の投与による影響と考えられる。また、肝臓の血管肉腫の発生は、104 週の試験では対照群にも稀に発生が認められる腫瘍であるが (当センターの 104 週間試験におけるヒストリカルコントロールデータ: 997 匹中 42 匹発生)、投与期間が 65 週間であること、かつ、本試験の 600ppm 群の発生率は 24% と高率であり明らかに被験物質の投与による増加と考えられる。皮下組織、前立腺、胸膜、縦隔及び腹膜に発生した血管由来の腫瘍も発生数は少ないものの、自然発生が稀な腫瘍であり、対照群には発生が認められないこと、かつ、投与期間が 65 週間であることを考慮すると被験物質の投与によって発生したと推察される。

腫瘍の発生がみられる用量については、後腹膜と腸間膜の血管肉腫は最低濃度の 150ppm 群まで顕著な発生増加がみられた。

なお、血管肉腫の他臓器への転移が、後腹膜の血管肉腫で 26 匹、腸間膜の血管肉腫で 20 匹、皮下組織の血管肉腫で 3 匹にみられた。また、転移先の臓器も脾臓、リンパ節、肺、腎臓、胃、副腎など多臓器にわたり、本腫瘍の悪性度は高いものと思われた。

雌:

後腹膜、皮下組織、腸間膜、腹膜、卵巣、縦隔、肝臓、筋組織、胸膜及び子宮に血管腫や血管肉腫の発生増加がみられた。

投与群では血管腫あるいは血管肉腫が 150ppm 群の 45 匹 (90%)、300ppm 群の 48 匹 (96%)、600ppm 群の 50 匹 (100%) に発生した。これに対し、対照群には 1 匹 (2%) に卵巣の血管腫の発生が観察されただけであった。血管腫の発生がみられた動物は 150ppm 群の 9 匹 (18%)、300ppm 群の 16 匹 (32%) 及び 600ppm 群の 24 匹 (48%) であったのに対し、血管肉腫の発生がみられた動物は 150ppm 群の 43 匹 (86%)、300ppm 群の 48 匹 (96%) 及び 600ppm 群の 49 匹 (98%) であり、雄と同様に悪性腫瘍である血管肉腫の発生が多かった。血管由来の腫瘍が発生した臓器は後腹膜、皮下組織、腸間膜、腹膜、卵巣、縦隔、肝臓、筋組織、胸膜及び子宮であり、これらの臓器のうち後腹膜、皮下組織、腸間膜、腹膜、卵巣及び縦隔の血管肉腫、ならびに皮下組織、腹膜、肝臓及び後腹膜の血管腫の発生は統計学的 (Fisher 検定、Peto 検定あるいは Cochran-Armitage 検定) に有意な増加を示した。特に後腹膜、皮下組織、腸間膜及び腹膜には顕著な発生増加がみられ、明らかに被験物質の投与による影響と考えられる。また、卵巣、縦隔、筋組織、胸膜及び子宮の血管腫や血管肉腫についても、発生数は少ないものの自然発生が稀な腫瘍であり、本試験の試験期間が 50 週間であることを考慮すると被験物質の投与によって発生したと推察される。肝臓の血管由来腫瘍は他の臓器より自然発生が多い腫瘍であるが (当センターの 104 週間試験におけるヒストリカルコントロールデータ: 998 匹中 27 匹発生)、本試験では対照群に発生は認められず、かつ、600ppm 群で血管腫または血管肉腫を持つ動物は 7 匹 (14%) と高率であるため、肝臓の血管由来腫瘍も被験物質の投与により増加したと考えられる。

腫瘍の発生がみられる用量についても、雄と同様に後腹膜と腸間膜の血管肉腫は最低濃度の

150ppm 群まで顕著な発生増加がみられた。

なお、血管肉腫の肺、リンパ節、肝臓、膵臓などへの転移が、腸間膜の血管肉腫で 11 匹、後腹膜の血管肉腫で 10 匹、皮下組織と腹膜の血管肉腫で各 2 匹、筋肉と卵巣の血管肉腫で各 1 匹にみられた。

#### IV-2-2 その他の腫瘍性病変

血管腫や血管肉腫以外の腫瘍については、雄では肝臓の肝細胞癌と組織球性肉腫及び腎臓の腎細胞癌、雌では肝臓の組織球性肉腫の発生増加がみられた。

##### <肝臓>

雄：

肝細胞癌の発生は Peto 検定で増加傾向が認められた。投与群の肝細胞癌の発生は 150ppm 群で 4 匹 (8%)、600ppm 群で 1 匹 (2%) と少数であったが、本試験の肝細胞癌の発生が 66 週までに解剖された動物のデータであること、対照群に発生は認められなかったことを考慮すると肝細胞癌も被験物質の投与によって増加した可能性を否定できないと考えた。

組織球性肉腫の発生も Peto 検定で増加傾向を示した。投与群の発生は 300ppm 群で 3 匹 (6%)、600ppm 群で 1 匹 (2%) と少数であったが、本試験は 66 週までに解剖した動物のデータであること、対照群に発生は認められなかったこと、かつ、雌にも肝臓の組織球性肉腫の発生増加が認められることから被験物質の投与により発生が増加したと考えられた。また、投与群の肝臓にクッパー細胞の動員の増加が認められており、肝臓のクッパー細胞は組織球に属する細胞であることから、この変化と組織球性肉腫の発生の間に関連性がある可能性が示唆される。

雌：

雌の肝臓の組織球性肉腫の発生も Peto 検定で増加傾向を示した。この腫瘍の発生は対照群に認められず、かつ、本試験の動物は 51 週までに解剖された動物のデータであることを考慮すると、被験物質の投与により発生が増加したと考えられる。また、雄と同様に、投与群の肝臓にクッパー細胞の動員の増加が認められており、この変化と組織球性肉腫の発生の間に関連性がある可能性が示唆される。

##### <腎臓>

雄：

腎細胞癌の発生が 150ppm 群の 1 匹 (2%)、及び 300ppm 群と 600ppm 群の各 2 匹 (4%) に観察された。この発生は統計学的には有意な差を示さなかったが、自然発生が稀な腫瘍であり、本試験の腎細胞癌の発生が 66 週までに解剖された動物のデータであることを考慮すると、被験物質の投与の影響と推察された。

以上のように、雌雄とも最低用量群の 150ppm 群を含む全ての投与群で多くの動物に血管由来の腫瘍である血管腫あるいは血管肉腫の発生がみられた。血管由来の腫瘍が発生した臓器は、雄では後腹膜、腸間膜、肝臓、皮下組織、胸膜、縦隔、腹膜及び前立腺であり、特に後腹膜、腸間膜及び肝臓の血管肉腫の発生が顕著であった。雌では後腹膜、皮下組織、腸間膜、腹膜、卵巣、縦隔、肝臓、筋組織、胸膜及び子宮に発生がみられ、後腹膜、皮下組織、腸間膜及び腹膜の発生増加が顕著であった。これら血管由来の腫瘍の発生増加は雌雄のマウスに対するキノリンのがん原性を示す明確な証拠 (clear evidence) と考えた。また、雄では肝臓の肝細胞癌と組織球性肉腫及び腎臓の腎細胞癌、雌では肝臓の組織球性肉腫の発生増加がみられた。

#### IV-3 非腫瘍性病変

雄：

肺の炎症性細胞浸潤と未熟血液細胞の出現、骨髄の赤血球造血、脾臓の髄外造血、及び肝臓の未熟血液細胞の出現が全ての投与群で顕著に増加した。また、心臓の鉍質沈着、肝臓の中心性変性、巣状壊死、中心性壊死、髄外造血、及びクッパー細胞の動員、ならびに腎臓のヘモジデリン沈着と水腎症も全ての投与群とも対照群より多く観察された。これに加えて、肺の出血、及び肝臓の血管拡張の増加が 300ppm 群と 600ppm 群にみられた。

これらの非腫瘍性病変のうち、多くの所見が血管腫や血管肉腫の発生に伴う変化であると考えられた。すなわち、骨髄の赤血球造血及び脾臓と肝臓の髄外造血の増加は血管腫や血管肉腫からの出血、腫瘍組織での血液のうっ滞あるいは溶血による血液の不足を補うための生体の適応反応と考えられた。また、血液の不足が急激におきたため未熟な段階の赤血球が血流中に放出され肺や肝臓に未熟血液細胞が出現したと推察された。腎臓のヘモジデリン沈着も血管腫や血管肉腫の発生によりおきた溶血に伴う変化であると思われた。水腎症は後腹膜に血管肉腫のある例でみられることが多く、腫瘍が尿管を圧迫したことにより発生したと考えられた。肺の出血、肝臓の中心性変性、中心性壊死、巣状壊死及び血管拡張も血管腫や血管肉腫の発生に伴う変化である可能性が高い。なお、血管腫や血管肉腫の前段階の変化である可能性がある血管の増生は、150ppm 群、300ppm 群及び 600ppm 群の各 1 匹の皮下組織、300ppm 群の 1 匹の腸間膜、及び 600ppm 群の 1 匹の腹膜に観察されただけであった。肝臓のクッパー細胞の動員については、前述したように組織球肉腫の発生に関連した変化と推察された。

雌：

雌でも、雄と同様に血管系腫瘍の発生に伴う変化と考えられる肺の炎症性細胞浸潤と未熟血液細胞の出現、骨髄の赤血球造血、脾臓の髄外造血及び肝臓の未熟血液細胞の出現が全ての投与群で顕著に増加した。また、肺の出血、肝臓の中心性変性、巣状壊死、髄外造血、血管拡張、腎臓のヘモジデリン沈着と尿細管壊死、ならびに脳の出血も全ての投与群とも対照群より多く観察された。これに加えて、皮下組織の出血の増加が 600ppm 群、水腎症の増加が 150ppm 群と 300ppm 群にみ

られた。また、血管腫や血管肉腫の前段階の変化である可能性がある血管の増生は、300ppm 群の 2 匹と 600ppm 群の 1 匹の皮下組織、300ppm 群の 1 匹の後腹膜に観察されただけであった。肝臓の組織球性肉腫に関連した変化と考えられるクッパー細胞の動員も雄と同様に全ての投与群に発生した。その他、鼻腔の加齢性病変である呼吸上皮のエオジン好性変化が全ての投与群、腺の呼吸上皮化生が 600ppm 群で認められた。

#### IV-4 他の文献との比較

Shinohara ら (文献 7) はマウスを用いた混餌投与による試験、LaVoie ら (文献 8) はマウスを用いた腹腔内投与による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、動物の系統が違ふこと、Shinohara らと LaVoie らの試験では試験期間が短いことと使用動物数が非常に少ないことから単純な比較はできない。しかし、かれらは肝臓の腫瘍の発生増加を報告している。本試験の結果はこれらの報告と同様な肝臓の腫瘍がみられ、その発生はより顕著であった。さらに肝臓の腫瘍に加えて後腹膜、腸間膜、腹膜及び皮下組織にもより顕著な血管系腫瘍の発生が観察された。

#### V 結論

Crj:BDF<sub>1</sub> マウス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。試験期間は 2 年間の予定であったが、投与群の多くの動物が腫瘍の発生により死亡し、最低用量群である 150ppm 群でも死亡率が顕著に高くなったため、雄は 65 週間、雌は 50 週間で試験を終了した。

その結果、雌雄とも最低用量群の 150ppm 群を含む全ての投与群で多くの動物に血管由来の腫瘍である血管腫あるいは血管肉腫の発生がみられた。血管由来の腫瘍が発生した臓器は、雄では後腹膜、腸間膜、肝臓、皮下組織、胸膜、縦隔、腹膜及び前立腺であり、特に後腹膜、腸間膜及び肝臓の血管肉腫の発生が顕著であった。雌では後腹膜、皮下組織、腸間膜、腹膜、卵巣、縦隔、肝臓、筋組織、胸膜及び子宮に発生がみられ、後腹膜、皮下組織、腸間膜及び腹膜の発生増加が顕著であった。その他、雄では肝臓に組織球性肉腫と肝細胞癌及び腎臓に腎細胞癌、雌では肝臓に組織球性肉腫の発生増加がみられた。

これらの結果は、キノリンの Crj:BDF<sub>1</sub> マウスに対するがん原性を示す明らかな証拠と考えられた。

## 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) Wiliam 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)  
キノリンのマウス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 effect in long-term animal experiments.  
In: Long-Term and Short-Term Screening Assay for Carcinogenes: A Critical Proposal.  
IARC Monographs, Suppl. 2, pp.311-426, IARC, Lyon.
- 7) Shinohara Y., Ogino T., Hananouchi M., Nakanishi K., Yoshimura T. and Ito N.  
Effect of various factors on the induction of liver tumors in animals by quinoline.  
Gann, .68, 785-796, 1977
- 8) LaVoie E. J., Shigematsu A. and Rivenson A.  
The carcinogenicity of quinoline and benzoquinoline in newborn mice.  
Jpn. J. Cancer Res., 78, 139-143, 1987