

グリシドールのラットを用いた  
吸入による 13 週間毒性試験報告書

試験番号：0316

CAS No. 556-52-5

2000 年 12 月 21 日

中央労働災害防止協会  
日本バイオアッセイ研究センター

グリシドールのラットを用いた  
吸入による 13 週間毒性試験報告書

試験番号：0316

本 文

## 本文目次

頁

要旨 .....	1
----------	---

## I 試験材料

## I-1 被験物質の性状等

I-1-1 名称と別名 .....	2
-------------------	---

I-1-2 構造式及び分子量 .....	2
----------------------	---

I-1-3 物理化学的性状等 .....	2
----------------------	---

I-2 被験物質の使用ロット等 .....	2
-----------------------	---

## I-3 被験物質の特性・同一性、安定性

I-3-1 特性・同一性 .....	3
--------------------	---

I-3-2 安定性 .....	3
-----------------	---

I-4 試験動物 .....	3
----------------	---

## II 試験方法

## II-1 投与

II-1-1 投与経路、投与方法及び投与期間 .....	4
------------------------------	---

II-1-2 投与濃度及びその設定理由 .....	4
---------------------------	---

II-1-3 被験物質の発生方法と濃度調整 .....	4
-----------------------------	---

II-1-4 被験物質の濃度測定 .....	4
------------------------	---

## II-2 動物管理

II-2-1 各群の使用動物数 .....	5
-----------------------	---

II-2-2 群分け及び個体識別方法 .....	5
--------------------------	---

II-2-3 飼育条件 .....	5
-------------------	---

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

## II-4 数値処理と統計学的方法

II-4-1 数値の取り扱いと表示 .....	7
II-4-2 母数の取り扱い .....	8
II-4-3 統計方法 .....	8

## II-5 試資料の保管 ..... 9

## III 試験成績

## III-1 動物の状態観察

III-1-1 生死状況 .....	10
III-1-2 一般状態 .....	10
III-1-3 体重 .....	10
III-1-4 摂餌量 .....	11

## III-2 血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査

III-2-1 血液学的検査 .....	11
III-2-2 血液生化学的検査 .....	11
III-2-3 尿検査 .....	12

## III-3 病理学的検査

III-3-1 剖検観察 .....	12
III-3-2 臓器重量 .....	12
III-3-3 病理組織学的検査 .....	13

## IV 考察及びまとめ ..... 14

V	文献 .....	16
---	----------	----

## TABLES

- TABLE 1    EXPERIMENTAL DESIGN AND MATERIALS AND METHODS IN THE  
13-WEEK INHALATION STUDY OF GLYCIDOL
- TABLE 2    SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES OF  
MALE RATS IN THE 13-WEEK INHALATION STUDY OF GLYCIDOL
- TABLE 3    SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES OF  
FEMALE RATS IN THE 13-WEEK INHALATION STUDY OF GLYCIDOL
- TABLE 4    FOOD CONSUMPTION CHANGES OF MALE RATS IN THE 13-WEEK  
INHALATION STUDY OF GLYCIDOL
- TABLE 5    FOOD CONSUMPTION CHANGES OF FEMALE RATS IN THE 13-WEEK  
INHALATION STUDY OF GLYCIDOL

## FIGURES

FIGURE 1 GLYCIDOL VAPOR GENERATION SYSTEM AND  
INHALATION SYSTEM

FIGURE 2 BODY WEIGHT CHANGES OF MALE RATS IN THE 13-WEEK  
INHALATION STUDY OF GLYCIDOL

FIGURE 3 BODY WEIGHT CHANGES OF FEMALE RATS IN THE 13-WEEK  
INHALATION STUDY OF GLYCIDOL

FIGURE 4 FOOD CONSUMPTION CHANGES OF MALE RATS IN THE  
13-WEEK INHALATION STUDY OF GLYCIDOL

FIGURE 5 FOOD CONSUMPTION CHANGES OF FEMALE RATS IN THE  
13-WEEK INHALATION STUDY OF GLYCIDOL

## APPENDIXES

- APPENDIX A 1 CLINICAL OBSERVATION : SUMMARY, RAT : MALE  
( 13-WEEK STUDY )
- APPENDIX A 2 CLINICAL OBSERVATION : SUMMARY, RAT : FEMALE  
( 13-WEEK STUDY )
- APPENDIX B 1 BODY WEIGHT CHANGES : SUMMARY, RAT : MALE  
( 13-WEEK STUDY )
- APPENDIX B 2 BODY WEIGHT CHANGES : SUMMARY, RAT : FEMALE  
( 13-WEEK STUDY )
- APPENDIX C 1 FOOD CONSUMPTION CHANGES : SUMMARY, RAT : MALE  
( 13-WEEK STUDY )
- APPENDIX C 2 FOOD CONSUMPTION CHANGES : SUMMARY, RAT : FEMALE  
( 13-WEEK STUDY )
- APPENDIX D 1 HEMATOLOGY : SUMMARY, RAT : MALE ( 13-WEEK STUDY )
- APPENDIX D 2 HEMATOLOGY : SUMMARY, RAT : FEMALE ( 13-WEEK STUDY )
- APPENDIX E 1 BIOCHEMISTRY : SUMMARY, RAT : MALE  
( 13-WEEK STUDY )
- APPENDIX E 2 BIOCHEMISTRY : SUMMARY, RAT : FEMALE  
( 13-WEEK STUDY )
- APPENDIX F 1 URINALYSIS : SUMMARY, RAT : MALE ( 13-WEEK STUDY )
- APPENDIX F 2 URINALYSIS : SUMMARY, RAT : FEMALE ( 13-WEEK STUDY )



## APPENDIXES (CONTINUED)

- APPENDIX G 1 GROSS FINDINGS : SUMMARY, RAT : MALE :  
DEAD AND MORIBUND ANIMALS ( 13-WEEK STUDY)
- APPENDIX G 2 GROSS FINDINGS : SUMMARY, RAT : MALE :  
SACRIFICED ANIMALS ( 13-WEEK STUDY)
- APPENDIX G 3 GROSS FINDINGS : SUMMARY, RAT : FEMALE :  
DEAD AND MORIBUND ANIMALS ( 13-WEEK STUDY )
- APPENDIX G 4 GROSS FINDINGS : SUMMARY, RAT : FEMALE :  
SACRIFICED ANIMALS ( 13-WEEK STUDY )
- APPENDIX H 1 ORGAN WEIGHT, ABSOLUTE : SUMMARY, RAT : MALE  
( 13-WEEK STUDY )
- APPENDIX H 2 ORGAN WEIGHT, ABSOLUTE : SUMMARY, RAT : FEMALE  
( 13-WEEK STUDY )
- APPENDIX I 1 ORGAN WEIGHT, RELATIVE : SUMMARY, RAT : MALE  
( 13-WEEK STUDY )
- APPENDIX I 2 ORGAN WEIGHT, RELATIVE : SUMMARY, RAT : FEMALE  
( 13-WEEK STUDY )
- APPENDIX J 1 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS :  
SUMMARY, RAT : MALE : DEAD AND MORIBUND ANIMALS  
( 13-WEEK STUDY )
- APPENDIX J 2 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS :  
SUMMARY, RAT : MALE : SACRIFICED ANIMALS  
( 13-WEEK STUDY )
- APPENDIX J 3 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS :  
SUMMARY, RAT : FEMALE : DEAD AND MORIBUND ANIMALS  
( 13-WEEK STUDY )
- APPENDIX J 4 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS :  
SUMMARY, RAT : FEMALE : SACRIFICED ANIMALS  
( 13-WEEK STUDY )

## APPENDIXES (CONTINUED)

- APPENDIX K 1    IDENTITY OF GLYCIDOL IN THE 13-WEEK  
                         INHALATION STUDY
- APPENDIX K 2    STABILITY OF GLYCIDOL IN THE 13-WEEK  
                         INHALATION STUDY
- APPENDIX L 1    CONCENTRATION OF GLYCIDOL IN THE INHALATION  
                         CHAMBER OF THE 13-WEEK INHALATION STUDY
- APPENDIX L 2    ENVIRONMENTAL CONDITIONS OF INHALATION CHAMBER  
                         IN THE 13-WEEK IN HALATION STUDY OF GLYCIDOL
- APPENDIX M 1    METHODS FOR HEMATOLOGY, BIOCHEMISTRY AND  
                         URINALYSIS IN THE 13-WEEK INHALTION STUDY OF  
                         GLYCIDOLE
- APPENDIX M 2    UNITS AND DECIMARL PLACE FOR HEMATOLOGY AND  
                         BIOCHEMISTRY IN THE 13-WEEK INHALTION STUDY OF  
                         GLYCIDOL

## 要旨

グリシドールのがん原性を検索する目的で F344/DuCrj(Fischer)ラットを用いた吸入による 2 年間 (104 週間) の試験を実施するに当たり、その投与 (暴露) 濃度を設定するために本試験を実施した。

本試験は、各群雌雄各 10 匹のラットを用いて被験物質投与群 5 群、対照群 1 群の 6 群構成で行った。投与濃度は 160ppm、80ppm、40ppm、20ppm 及び 10ppm とした。投与はグリシドールを含む空気を所定の濃度で 1 日 6 時間、1 週 5 日間、13 週間全身暴露することにより行った。観察及び検査項目は、一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、剖検観察、臓器重量の測定及び病理組織学的検査とした。

グリシドールの投与によって、160ppm 群の雄で 5 例、雌で 8 例が死亡した。病理組織学的検査では、雌雄とも鼻腔の障害が顕著であり、呼吸上皮の壊死や炎症性細胞浸潤、潰瘍が鼻腔の前半部であるレベル 1 に発生し、嗅上皮の壊死が嗅部の全域に及んでいるのが観察された。これら鼻腔の障害の程度は強く、動物の死因になったと推察された。

160ppm 群の生存例及び他の投与群では、一般状態の観察時、著変を認めなかった。雌雄とも投与濃度に相関して体重増加の抑制が観察された。また、摂餌量でも雌雄ともに低値を示した週があり、体重増加の抑制にほぼ対応した。血液学的検査では、雌雄ともに貧血傾向がみられた。また、血液生化学的検査で、脂質代謝異常の可能性が示唆された。病理組織学的検査では、雌雄ともに、鼻腔上皮の糜爛、潰瘍、萎縮、扁平上皮化生、甲介 (特に鼻甲介) の強い萎縮などがみられ、これらの鼻腔の病変は雄で 20ppm 以上、雌で 40ppm 以上の群にみられた。また、80ppm 以上の雄に精巣上体の精子減少及び精上皮系細胞の残屑、精巣の精原細胞壊死がみられ、臓器重量の測定でも精巣は実重量及び体重比の低値がみられた。また雄の副腎に微小滴性脂肪化がみられ、血液生化学的検査結果と同様脂質代謝異常の可能性が示唆された。その他、死亡例、生存例とも動物の状態の悪化に伴った二次的変化 (胸腺の萎縮、脾臓のヘモジデリン沈着、肺の鬱血) がみられた。

以上の結果より、体重増加の抑制は雌雄ともにすべての投与群でみられ、病理組織学的検査では、鼻腔の呼吸上皮の扁平上皮化生が、雌雄とも濃度に相関して変化の程度が強くなっていた。この変化が将来、扁平上皮癌になる可能性があると考えた。このことからがん原性試験の最高濃度は、雌で扁平上皮化生がみられなかった 20ppm と、雄で 20ppm 群よりも強い変化が出ていた 40ppm 群の間の 30ppm 適切であると考えた。また、中間濃度は、雌雄ともに軽度の体重増加の抑制以外は変化を認めなかった 10ppm 程度、最低濃度は 10ppm より低い濃度が望ましいと考えられた。よって、がん原性試験の投与濃度は雌雄とも、30、10、3.3ppm (公比 3、小数点以下第 2 位四捨五入) とした。

## 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 : グリシドール(Glycidol)

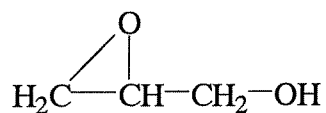
IUPAC名 : 2,3-Epoxy-1-propanol

別 名 : Epoxypopyl alcohol

Glycide

CAS No. : 556-52-5

#### I-1-2 構造式及び分子量



分子量 : 74.08

#### I-1-3 物理化学的性状等

性 状 : 無色透明の液体

沸 点 : 166~177°C

融 点 : -45°C

比 重 : 1.117( $d_4^{20}$ )

蒸 気 圧 : 0.9mmHg(25°C)

保存条件 : 2~10°Cで暗所に保存

### I-2 被験物質の使用ロット等

使用ロット番号 : LER 5803 (1996年 9月 3日~ 1996年 10月 14日)

LEQ 5980 (1996年 10月 15日~ 1996年 12月 2日)

製 造 元 : 和光純薬工業株式会社

グ レ ー ド : 化学用 (和光 規格合格品)

純 度 : 85%以上

### I-3 被験物質の特性・同一性、安定性

#### I-3-1 特性・同一性

被験物質の同一性は、そのマススペクトル及び赤外吸収スペクトルを測定し、それぞれの文献値（文献 1, 2）と比較することにより確認した。なお、それらの結果について、APPENDIX K 1 に示した。

#### I-3-2 安定性

被験物質の安定性は、投与開始前及び投与終了後に、その赤外吸収スペクトル及び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確認した。なお、それらの結果については APPENDIX K 2 に示した。

### I-4 試験動物

動物は日本チャールス・リバー(株)(神奈川県厚木市下古沢 795)の F344/DuCrj(Fischer)ラット(SPF)の雌雄を使用した。

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、それぞれ体重値の中央値に近い雌雄各 60 匹(群構成時体重範囲は、雄:100～114g、雌:90～99g)を選別して試験に供した。

なお、F344/DuCrj(Fischer)ラットを選択した理由は、がん原性試験で使用する動物種及び系統に合わせたことによる。

## II 試験方法

試験計画、材料及び方法等の概要を TABLE 1 に示した。

### II-1 投与

#### II-1-1 投与経路、投与方法及び投与期間

投与経路は全身暴露による経気道投与とした。吸入チャンバー内にグリシドールを含む空気を送り込み、所定の濃度で 6 時間/日、5 日/週、61 日/13 週間（祝祭日を除く）、試験動物に全身暴露することにより投与した。なお、対照群は換気のみとした。

#### II-1-2 投与濃度及びその設定理由

雌雄ともに最高濃度を 160ppm に設定し、以下 80ppm、40ppm、20ppm、10ppm（公比 2）とした

投与濃度の設定理由：600ppm、300ppm、150ppm、75ppm 及び 37.5ppm の濃度で 2 週間の予備試験を行った結果、300ppm 以上の群では全例死亡した。150ppm 群では、鼻腔の変化がみられるものの呼吸の妨げになるほどの変化ではなく、一般状態にも著変がみられなかった。以上のことから最高投与濃度を 160ppm とした（文献 3）。

#### II-1-3 被験物質の発生方法と濃度調整

被験物質の発生方法は FIGURE 1 に示した。発生容器内のグリシドールを循環式恒温層で加熱しながら、清浄空気のパブリングにより蒸発させた。さらにこのグリシドール蒸気を循環式恒温槽で冷却後、清浄空気希釈し再加熱した後、流量計を用いて一定量を吸入チャンバーのラインミキサーに供給した。暴露中は吸入チャンバー内のグリシドール濃度をガスクロマトグラフにより測定、監視しながら、設定濃度になるように吸入チャンバーへの供給流量を調節して濃度調整を行った。

#### II-1-4 被験物質の濃度測定

吸入チャンバー内のグリシドールの濃度は自動サンプリング装置付ガスクロマトグラフを用い、暴露開始前から暴露終了後まで 15 分毎に測定した。投与濃度の平均値は設定濃度を満足する結果を示した。測定結果を APPENDIX L 1 に示した。

## II-2 動物管理

## II-2-1 各群の使用動物数

投与群 5 群及び対照群 1 群の計 6 群を設け、各群雌雄各 10 匹の動物を用いた。

群番号	群名称	雄 使用動物数 (動物番号)	雌 使用動物数 (動物番号)
0	対 照 群	10 匹 (1001~1010)	10 匹 (2001~2010)
1	10ppm 群	10 匹 (1101~1110)	10 匹 (2101~2110)
2	20ppm 群	10 匹 (1201~1210)	10 匹 (2201~2210)
3	40ppm 群	10 匹 (1301~1310)	10 匹 (2301~2310)
4	80ppm 群	10 匹 (1401~1410)	10 匹 (2401~2410)
5	160ppm 群	10 匹 (1501~1510)	10 匹 (2501~2510)

## 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（層別体重平均方法）により実施した。（文献 4）

試験期間中の動物の個体識別は、検疫期間及び馴化期間は色素塗布により、投与期間は耳パンチにより識別し、またケージにも個体識別番号を付した。なお、他の試験との区別は、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することにより行った。

## II-2-3 飼育条件

動物は検疫室で 1 週間の検疫飼育を行った後、馴化期間及び投与期間中は吸入チャンバー内で飼育した。検疫室、吸入チャンバー室及び吸入チャンバー内の環境条件を TABLE 1 に示した。また、吸入チャンバー内環境の計測結果を APPENDIX L 2 に示した。吸入チャンバー内環境はすべて設定条件の範囲内であった。

検疫期間中は 1 ケージ当たり 1 匹の単飼(ステンレス製 2 連型網ケージ：170W×294D×176H mm)、馴化期間中は 1 ケージ当たり 1 匹の単飼(ステンレス製 6 連型網ケージ：125W×216D×176H mm)、投与期間中は 1 ケージ当たり 1 匹の単飼(ステンレス製 5 連型網ケージ：150W×216D×176H mm)の条件下で飼育した。

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 固型飼料(3Mrad- $\gamma$  線照射滅菌飼料)を飼育全期間を通して固型飼料給餌器により自由摂取させた。ただし、定期解剖日前日の夕方からは給餌は行わなかった。飼料中の栄養成分に

については成分分析結果をオリエンタル酵母工業(株)から入手し、夾雑物については(財)日本食品分析センター(東京都渋谷区元代々木町 52 番 1 号)のデータを入手した。

また、飲料水は飼育全期間を通して、市水(秦野市水道局供給)をフィルターろ過した後、紫外線照射し、自動給水により自由摂取させた。飲料水は(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)に依頼して、水道法に準拠した項目について分析した。

飼料の夾雑物及び飲料水については、全ての項目で試験計画書に規定した許容基準の範囲内であった。

## 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

動物の生死確認は毎日 1 回行った。また、一般状態の詳細観察は、検疫及び馴化期間には、導入時、馴化開始時及び群構成時に実施し、投与期間中は、毎週 1 回暴露開始前に行った。

### II-3-2 体重測定

検疫及び馴化期間には、導入時、馴化開始時及び群構成時に実施し、投与期間中は、投与期間中は、毎週 1 回暴露前に生存していた全動物の体重を測定した。

なお、死亡動物及び定期解剖動物の搬出時にも体重を測定した。

### II-3-3 摂餌量測定

週 1 回、給餌量と残餌量を測定し、その値から摂餌量を算出した。

### II-3-4 血液学的検査

動物を解剖日前日より絶食(18 時間以上)させ、定期解剖時まで生存した全動物について、剖検直前にエーテル麻酔下で腹大動脈より、EDTA-2K 入り採血管、及びクエン酸ナト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 TABLE 1、検査方法は APPENDIX M 1 に示した。



## II-3-5 血液生化学的検査

動物を解剖日前日より絶食(18時間以上)させ、定期解剖時まで生存した全動物について、剖検直前にエーテル麻酔下で腹大動脈より、ヘパリンリチウム入り採血管に採血した血液を遠心分離し、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 TABLE 1、検査方法は APPENDIX M 1 に示した。

## II-3-6 尿検査

投与最終週までに生存した動物について新鮮尿を採取し、尿検査を行った。

検査項目は TABLE 1、検査方法は APPENDIX M 1 に示した。

## II-3-7 病理学的検査

### 1 剖検観察

全動物を肉眼的に観察した。

### 2 臓器重量

定期解剖時まで生存した全動物について TABLE 1 に示した臓器の湿重量(実重量)を測定した。また、定期解剖時の体重に対する百分率(体重比)を算出した。

### 3 病理組織学的検査

全動物の TABLE 1 に示した臓器を 10%中性リン酸緩衝ホルマリン液にて固定し、さらに鼻腔と大腿骨は 5%ギ酸で脱灰後パラフィン包埋し、ヘマトキシリン・エオジン染色組織標本を作製し、光学顕微鏡にて病理組織学的に検査した。なお鼻腔は切歯の後端(レベル I)、切歯乳頭(レベル II)、第一臼歯の前端(レベル III)の 3ヶ所で切り出し(横断)、検査した(文献 5)。

## II-4 数値処理と統計学的方法

### II-4-1 数値の取り扱いと表示

チャンバー内被験物質濃度については ppm を単位とし、小数点以下第 4 位まで計測し、小数点以下第 2 位を四捨五入し、小数点以下第 1 位まで表示した。

体重については g を単位とし、小数点以下第 1 位を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以下第 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日当りの平均摂餌量を算出し、小数点以下第2位を四捨五入して小数点以下第1位までを表示した。

臓器実重量についてはgを単位とし、小数点以下第3位まで計測し、表示した。臓器重量体重比については臓器実重量値を解剖時体重で除し、パーセント単位で小数点以下第4位を四捨五入し、小数点以下第3位までを表示した。

血液学的検査、血液生化学的検査については APPENDIX M 2 に示した精度により表示した。A/G比はアルブミン/(総蛋白-アルブミン)による計算で求め、小数点以下第2位を四捨五入して小数点以下第1位までを表示した。

なお、各数値データの平均値及び標準偏差は上記に示した桁数と同様になるよう四捨五入を行い表示した。

#### II-4-2 母数の取り扱い

体重及び摂餌量については、各計測時に生存している全動物を対象に計測し、欠測となったデータについては母数から除いた。

血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量の測定は、定期解剖時まで生存した全動物について検査し、母数とした。

尿検査は、投与最終週に行い、検査数を母数とした。

剖検は各群の有効動物数(供試動物数から事故等の理由ではずされた動物を除いた動物数)、病理組織学的検査は各群の有効臓器数(供試臓器数から欠損臓器を除いた臓器数)を母数とした。

#### II-4-3 統計方法

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。なお、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、各群雌雄毎に検査数が2以下の項目については検定から除外した。

病理組織学的検査は、所見のみられなかった動物をグレード0として $\chi^2$ 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 $\chi^2$ 検定は対照群と各投与群間との検定であり、最終検定では5%及び1%で両側検定を行った。また、各群雌雄毎に検査数が2以下の項目については検定より除外した。

## II-5 試資料の保管

試験計画書、標本、生データ、記録文書、報告書、信頼性保証証明書、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試資料保管施設に保管する。保管期間は報告書提出後 10 年間とする。なお、標本については品質が評価に耐え得る期間保管する。

### III 試験成績

#### III-1 動物の状態観察

##### III-1-1 生死状況

雌雄の 160ppm 群で死亡がみられ、雄は 5 例(1 週 1 例、2 週 2 例、4 週 1 例、8 週 1 例)、雌は、8 例(2 週 1 例、3 週 2 例、4 週 1 例、5 週 2 例、7 週 1 例、8 週 1 例)が死亡した。

他の濃度の投与群では、雌雄とも死亡がみられず全例生存した。

##### III-1-2 一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX A 1, A 2 に示した。

雄では、160ppm 群で投与 7 週に円背位と立毛が 1 例にみられ、この動物はその後死亡した。

雌では、160ppm 群で 1 週目 1 例に異常呼吸音、3 週目から円背位が 4 例にみられ、7 週目(通算 5 例)まで同所見がみられた動物がいた。また、通算 3 例に立毛がみられた。上記所見がみられた動物のうち、立毛のみがみられた 2 例は回復したが、他の動物はその後死亡した。なお、20ppm 群で 13 週目に眼混濁と白内障がみられたが、投与濃度との相関がないため被験物質の影響とは考えられなかった。

##### III-1-3 体重

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

雄では 10ppm 群で 12 週から、20ppm 群で 7 週から、40ppm 以上の群では投与期間を通して、それぞれ投与終了まで対照群より低値を示し、投与濃度に相関して体重増加の抑制がみられた。投与群の最終体重は対照群に対してそれぞれ、10ppm 群：95%、20ppm 群：93%、40ppm 群：93%、80ppm 群：87%、160ppm 群：48%であった。

雌では 10ppm 群で 8 週から、20ppm 群と 40ppm 群で 6 週から、80ppm 群では投与期間を通して、それぞれ投与終了まで対照群より低値を示し、投与濃度に相関して体重増加の抑制がみられた。なお、160ppm 群では生存動物数が 2 例になった 8 週目以降検定からは除外したが、投与期間を通して対照群より低値を示し体重増加の抑制がみられた。投与群の最終体重は対照群に対してそれぞれ、10ppm 群：93%、20ppm 群：91%、40ppm 群：87%、80ppm 群：85%、160ppm 群：56%であった。

### Ⅲ-1-4 摂餌量

摂餌量(1日1匹当り)を TABLE 4, 5、FIGURE 4, 5 及び APPENDIX C 1, C 2 に示した。

雄では全ての投与群で、10週目と12週目に低値を示した。40ppm 群は主に投与期間後半に、80ppm 群では投与期間のほとんどの週、160ppm 群では投与期間を通して摂餌量の低値を示した。

雌では、10ppm 群で8週目以降、20ppm 群と40ppm 群で5週目以降、80ppm 群で投与期間を通してそれぞれ摂餌量の低値を示す週が多かった。160ppm 群では生存動物数が2例になった8週目以降検定からは除外したが、投与期間を通して摂餌量の低値を示した。

### Ⅲ-2 血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査

#### Ⅲ-2-1 血液学的検査

血液学的検査の結果を APPENDIX D 1, D 2 に示した。

雄では、80ppm 以上の群で赤血球数、ヘモグロビン濃度の減少、160ppm 群でヘマトクリット値の減少及びMCVの増加、白血球数、リンパ球比の減少及び分葉核好中球比の増加が認められた。

雌では、40ppm、80ppm 群でヘモグロビン濃度の減少、80ppm 群で赤血球数、ヘマトクリット値の減少が認められた。また、20ppm、80ppm 群で網赤血球比の増加がみられた。上記のようにヘモグロビン濃度の減少、赤血球数、ヘマトクリット値の減少がみられ、網赤血球比の増加はそれに関連した変化とも考えられるが、投与濃度に対応した変化ではなく被験物質の影響とは断定できなかった。なお、160ppm 群は群内データ数が少なく評価を行なわなかった。

#### Ⅲ-2-2 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を APPENDIX E 1, E 2 に示した。

雄では、80ppm 以上の群でアルブミン、総コレステロール及びリン脂質の増加、160ppm 群でLDH活性の上昇、グルコース、トリグリセライド及びカルシウムの減少が認められた。

雌では、10ppm、40ppm、80ppm 群で総蛋白の減少、40ppm、80ppm 群でクレアチニンの減少が認められたが、その変化はごく僅かなものであり、用量相関性も明確ではなかった。なお、160ppm 群は群内データ数が少なく評価を行なわなかった。

### Ⅲ-2-3 尿検査

尿検査の結果を APPENDIX F 1, F 2 に示した。

雄では 160ppm 群でケトン体の陽性例の増加が認められた。

雄の 20ppm、160ppm 群で尿蛋白の陽性度の増加、雌の 40ppm 群で pH 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。また、160ppm 群は群内データ数が少なく評価を行なわなかった。

### Ⅲ-3 病理学的検査

#### Ⅲ-3-1 剖検観察

解剖時に観察された剖検所見を APPENDIX G 1, G 3 (投与期間中死亡例)、APPENDIX G 2, G 4 (定期解剖例) に示した。

##### <投与期間中死亡例>

雌雄とも、160ppm 群で胸腺の萎縮がみられた。また、雌の 160ppm 群で膀胱の尿多量貯留が認められた。

##### <定期解剖例>

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みられなかった。

#### Ⅲ-3-2 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 H 1, H 2 (実重量)、APPENDIX I 1, I 2 (体重比) に示した。

雄では、20ppm 群に腎臓の体重比の高値、40ppm 群に腎臓、脾臓及び肝臓の体重比の高値、80ppm 群に胸腺の実重量の低値ならびに腎臓、副腎、精巣、心臓、肺、脾臓、肝臓及び脳の (胸腺以外の臓器の) 体重比の高値、160ppm 群に全ての臓器の実重量の低値ならびに腎臓、副腎、心臓、肺、脾臓、肝臓及び脳の (胸腺以外の臓器の) 体重比の高値と精巣の体重比の低値がみられた。

雌では、10ppm 群に腎臓及び脳の体重比の高値、20ppm 群に肺の実重量の低値と腎臓、心臓及び脳の体重比の高値、40ppm 群に胸腺、肝臓及び脳の実重量の低値と腎臓、心臓、肺及び脳の体重比の高値、80ppm 群に腎臓の実重量の高値、胸腺と脳の実重量の低値と腎臓、心臓、肺、脾臓、肝臓及び脳の体重比の高値がみられた。なお、160ppm 群は測定例数が少ないために検定を除外した。これら臓器重量の変化の中で雄の精巣の実重量及び体重比の低値は被験物質の直接的な影響を示唆する可能性があった。さらに、雌雄の胸腺の重

量低下は体重増加の抑制のほかに消耗があったためと考えた。副腎、心臓、肺、脾臓、肝臓及び脳の重量の変化は動物の体重の低値に伴った変化であると考えた。

### Ⅲ-3-3 病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果を APPENDIX J 1, J 3 (投与期間中死亡例)、APPENDIX J 2, J 4 (定期解剖例) に示した。

#### <投与期間中死亡例>

雌雄とも鼻腔で呼吸上皮の壊死、糜爛、潰瘍及び扁平上皮化生、嗅上皮の萎縮及び呼吸上皮化生、甲介の萎縮及び癒着、炎症細胞浸潤がみられ、肺で鬱血と水腫、小脳の顆粒細胞層の変性、胸腺の萎縮、脾臓のヘモジデリン沈着がみられ、雌には肺のヘモジデリン沈着と脾臓の萎縮がみられた。また雄では精巣の精原細胞壊死がみられ、これに伴う精巣上体の精子減少と精上皮系細胞の残屑がみられた。

#### <定期解剖例>

雌雄ともに鼻腔の障害が顕著であった。雄の 20ppm 以上の群と雌の 40ppm 以上の群で呼吸上皮の扁平上皮化生がみられた。雌雄の 80ppm 以上の群の鼻腔では嗅上皮及び甲介の萎縮と炎症細胞浸潤がみられ、雄ではさらに呼吸上皮の糜爛、嗅上皮の潰瘍及び呼吸上皮化生、雌で嗅上皮の扁平上皮化生がみられた。さらに、雄の 80ppm 以上の群で精巣の精原細胞の壊死とこれに伴う精巣上体の精子の減少及び精上皮細胞の残屑がみられ、また、雌の 80ppm 群のみで脾臓の髓外造血がみられた。これに加え、雌雄の 160ppm 群では鼻腔の呼吸上皮の壊死、糜爛及び潰瘍、雄では扁平上皮の糜爛がみられ、雌では嗅上皮の呼吸上皮化生がみられた。さらに、雌雄の 160ppm 群では脾臓のヘモジデリン沈着、小脳の顆粒層の変性がみられ、雄に肺の水腫、副腎の微小空胞状脂肪化がみられた。

#### IV 考察及びまとめ

グリシドールのがん原性を検索する目的で F344/DuCrj(Fischer)ラットを用いた吸入による2年間(104週間)の試験を実施するに当たり、その投与(暴露)濃度を設定するために本試験を実施した。

本試験は、各群雌雄各10匹のラットを用いて被験物質投与群5群、対照群1群の6群構成で行った。投与濃度は160ppm、80ppm、40ppm、20ppm及び10ppmとした。投与はグリシドールを含む空気を所定の濃度で1日6時間、1週5日間、13週間全身暴露することにより行った。観察及び検査項目は、一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、剖検観察、臓器重量の測定及び病理組織学的検査とした。

グリシドールの投与によって、160ppm群の雄で5例、雌で8例が死亡した。これら死亡例には、雌雄に円背位、立毛、雌に異常呼吸音がみられた動物もいた。また、剖検所見では、雌雄に胸腺の萎縮がみられた。病理組織学的検査では、雌雄とも鼻腔の障害が顕著であり、呼吸上皮の壊死や炎症性細胞浸潤、潰瘍が鼻腔の前半部であるレベルIに発生し、嗅上皮の壊死は嗅部の全域に及んでいるのが観察された。これら鼻腔の障害の程度は強く、動物の死因になったと推察された。また、動物の状態の悪化に伴った二次的变化(胸腺の萎縮、脾臓のヘモジデリン沈着、肺の鬱血)がみられた。

160ppm群の生存例及び他の投与群では、一般状態の観察時、著変を認めなかった。体重値では、増加の抑制が観察され始める時期が低投与群ほど投与後期になるものの、雌雄とも投与濃度に相関してすべての投与群で体重増加の抑制が観察され、特に160ppm群では雌雄ともに著しい体重増加の抑制がみられた。投与群の最終体重は対照群に対して雄では、10ppm群:95%、20ppm群:93%、40ppm群:93%、80ppm群:87%、160ppm群:48%、雌では、10ppm群:93%、20ppm群:91%、40ppm群:87%、80ppm群:85%、160ppm群:56%であった。また、摂餌量でも雌雄ともに低値を示した週があり、体重値とほぼ一致した。血液学的検査では、80ppm以上の雄で赤血球数、ヘモグロビン濃度の減少、160ppm群でヘマトクリット値の減少及びMCVの増加、雌でも、40ppm、80ppm群でヘモグロビン濃度の減少、80ppm群で赤血球数、ヘマトクリット値の減少が認められ、雌雄ともに貧血傾向がみられた。また、血液生化学的検査では、80ppm以上の雄で総コレステロールとリン脂質の増加がみられ、脂質代謝異常の可能性が示唆された。160ppm群の雄でグルコース、トリグリセライド、カルシウムの減少、さらに尿検査でみられたケトン体の陽性例の増加は、摂餌量の減少や体重増加の抑制等のストレスによるものであると考えられた。病理組織学的検査では、雌雄ともに鼻腔に様々な障害がみられた。鼻腔上皮の糜爛、潰瘍、萎縮、扁平上皮化生、甲介(特に鼻甲介)の強い萎縮など、これらの病変はレベルI、II、IIIのいずれも背側に強くみられ、刺激性物質に特有の病変であった。鼻腔



の病変は 20ppm 以上の雄、40ppm 以上の雌でみられた。また、160ppm 群の雌雄で小脳の顆粒細胞層の変性、80ppm 以上の雄に精巣上体の精子減少及び精上皮系細胞の残屑、精巣の精原細胞壊死がみられた。精原細胞壊死を起こす物質は造精機能に対して完全なダメージを与えるものが多いが、精巣上体の精子減少や精上皮系細胞の残屑がみられたことは、造精機能が完全なダメージを受けてはいないと考えられた。臓器重量の測定でも精巣は実重量及び体重比の低値がみられた。160ppm 群の雄の副腎に微小滴性脂肪化がみられ、血液生化学的検査結果と同様脂質代謝異常の可能性が示唆された。80ppm 群の雌で腎臓の実重量が高値を示したが組織に変化はみられなかった。その他、死亡例と同様、動物の状態の悪化に伴った二次的变化（胸腺の萎縮、脾臓のヘモジデリン沈着）がみられた。

以上の結果をまとめると、体重増加の抑制は雌雄ともにすべての投与群でみられ、病理組織学的検査では、雄の 20ppm 以上、雌の 40ppm 以上の群でみられた鼻腔の呼吸上皮の扁平上皮化生が、雌雄とも濃度に相関して変化の程度が強くなっていた。この変化が将来、扁平上皮癌になる可能性があると考えた（文献 6,7）。このことからがん原性試験の最高濃度は、雌で扁平上皮化生がみられなかった 20ppm と、雄で 20ppm 群よりも強い変化が出ていた 40ppm 群の間の 30ppm 適切であると考えた。また、中間濃度は、雌雄ともに対照群と比較して軽度の体重増加の抑制以外は変化を認めなかった 10ppm 程度、最低濃度は 10ppm より低い濃度が望ましいと考えられた。よって、がん原性試験の投与濃度は雌雄とも、30、10、3.3ppm（公比 3、小数点以下第 2 位四捨五入）とした。

V 文献

1. Fred W. McLafferty (1994) Wiley Registry of Mass Spectral Data, 6th edition.  
John Wiley and Sons, Inc. (U.S.), Entry Number 1733
2. William W. Simons (1978) The Sadtler Handbook of Infrared Spectra.  
Sadtler Research Laboratories, Inc. (U.K.), pp.480
3. 日本バイオアッセイ研究センター (2000)  
グリシドールのラットを用いた吸入による2週間毒性試験報告書  
日本バイオアッセイ研究センター、神奈川
4. 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
5. Nagano K, et al. (1988)  
Toxicologic Pathology of Upper Respiratory Tract  
Journal of Toxicologic Pathology. 1, 115-127
6. 高橋道人 (1981)  
ホルムアルデヒドの癌原性  
変異原と毒性、vol.4 No.4 別刷
7. William D. Kerns, et al. (1983)  
Carcinogenicity of Formaldehyde in Rats and Mice after Long-Term Inhalation  
Exposure  
Cancer Research. 43, 4382-4392