

グリシドールのラットを用いた  
吸入によるがん原性試験報告書

試験番号：0342

CAS No. 556-52-5

2003年3月25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  
吸入によるがん原性試験報告書

試験番号：0342

本 文

## 本文目次

頁

要約 ..... 1

## I 試験材料

## I-1 被験物質の性状等

I-1-1 名称等	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 被験物質の特性・同一性、安定性

I-3-1 特性・同一性	4
I-3-2 安定性	4

I-4 試験動物	4
----------	---

## II 試験方法

## II-1 投与

II-1-1 投与経路	5
II-1-2 被験物質の投与方法	5
II-1-3 投与期間	5
II-1-4 投与濃度	5
II-1-5 投与方法、投与期間及び投与濃度の設定理由	5
II-1-6 被験物質の発生方法と濃度調整	6
II-1-7 被験物質の濃度測定	6

## II-2 動物管理

II-2-1 各群の使用動物数	6
II-2-2 群分け及び個体識別方法	7
II-2-3 飼育条件	7

## II-3 観察・検査項目及び方法

II-3-1 動物の一般状態の観察	8
II-3-2 体重測定	9
II-3-3 摂餌量測定	9
II-3-4 血液学的検査	9
II-3-5 血液生化学的検査	9
II-3-6 尿検査	9
II-3-7 病理学的検査	10

## 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	10
II-4-2 母数の取り扱い	11
II-4-3 統計方法	11

## III 試験成績

III-1 生死状況	13
III-2 一般状態	13
III-3 体重	13
III-4 摂餌量	14
III-5 血液学的検査	14
III-6 血液生化学的検査	14
III-7 尿検査	14
III-8 病理学的検査	
III-8-1 剖検	14
III-8-2 臓器重量	15
III-8-3 病理組織学的検査	15
III-8-4 死因	19

## IV 考察及びまとめ

IV-1 腫瘍性及び腫瘍関連病変	20
IV-2 非腫瘍性病変	23
IV-3 他文献との比較等	24

V 結論 ..... 26

VI 文獻 ..... 27

## 要約

グリシドールのがん原性を検索する目的でラットを用いた吸入による 2 年間(104 週間)の試験を実施した。

試験には F344/DuCrj(Fischer) ラットを用い、被験物質投与群 3 群と対照群 1 群の計 4 群の構成で、各群雌雄各 50 匹（合計 400 匹）を使用した。投与はグリシドールを 1 日 6 時間、1 週 5 日間、104 週間、動物に全身暴露することにより行った。投与濃度は雌雄とも 3 ppm、10 ppm、30 ppm とした。また、観察、検査項目として一般状態の観察、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、臓器重量測定及び病理組織学的検査を行った。

雌雄とも 30 ppm 群で生存率が低下した。雄は腹膜の中皮腫と鼻腔腫瘍、雌は子宮腫瘍の発生増加に起因した。体重は雌雄とも 30 ppm 群で対照群に比べやや低値であった。

雄では、鼻腔腫瘍（扁平上皮癌、腺腫、腺癌、基底細胞癌）と腹膜腫瘍（中皮腫）の顕著な発生増加が認められ、また、乳腺腫瘍（線維腺腫）と皮膚腫瘍（扁平上皮乳頭腫）の発生増加も認められた。雌では、鼻腔腫瘍（腺腫、腺癌、扁平上皮癌）、子宮腫瘍（子宮内膜間質性肉腫）及び乳腺腫瘍（線維腺腫）の発生増加が認められた。これらの腫瘍が有意な発生増加を示した濃度は、雄の腹膜腫瘍（中皮腫）が 10 ppm 以上、鼻腔腫瘍（扁平上皮癌、腺腫）と乳腺腫瘍（線維腺腫）が 30 ppm、雌の乳腺腫瘍（線維腺腫）が 10 ppm 以上、鼻腔腫瘍（腺腫）と子宮腫瘍（子宮内膜間質性肉腫）が 30 ppm であった。

鼻腔には腫瘍以外にも、前腫瘍性病変と推察される移行上皮や呼吸上皮の過形成、呼吸上皮の扁平上皮化生、扁平上皮過形成の発生がみられ、これらの所見は異型化を伴っていた。また、鼻腺に異型化を伴う過形成のみられる動物もあった。その他、呼吸上皮の炎症、甲介骨の肥厚、嗅上皮の萎縮の発生も増加した。これらの所見は主に 30 ppm 群に観察されたが、移行上皮の過形成と甲介骨の肥厚は 10 ppm 以上の群で有意な増加が認められた。

以上のように、F344/DuCrj(Fischer) ラットを用いたグリシドールの吸入による 2 年間(104 週間)のがん原性試験を行った結果、雄では、鼻腔腫瘍（扁平上皮癌、腺腫、腺癌、基底細胞癌）と腹膜腫瘍（中皮腫）の顕著な発生増加が認められ、これらの腫瘍の発生増加はグリシドールの雄ラットに対するがん原性を示す明らかな証拠であると考察された。雌では、鼻腔腫瘍（腺腫、腺癌、扁平上皮癌）と子宮腫瘍（子宮内膜間質性肉腫）の発生増加が認められ、これらの腫瘍の発生増加はグリシドールの雌ラットに対するがん原性を示す明らかな証拠であると考察された。

また、雌雄とも鼻腔には異型化を伴う移行上皮や呼吸上皮の過形成、呼吸上皮の扁平上皮化生、扁平上皮過形成の発生増加がみられ、これらの所見は前腫瘍性変化と考えられた。その他、鼻腔には甲介骨の肥厚もみられた。

## グリシドール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	3	10	30	ペト一 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	鼻腔	腺腫	0	0	3	5*	↑↑	↑↑
	乳腺	線維腺腫	0	0	0	6*	↑↑	↑↑
		腺腫	0	0	0	1		
	皮膚	扁平上皮乳頭腫	0	0	1	3	↑↑	↑
	甲状腺	濾胞状腺腫	0	1	2	0		
	精巣	間細胞腫	41	37	44	47	↑↑	↑
	肺	細気管支 - 肺胞上皮腺腫	2	4	5	3		
悪性腫瘍	腹膜	中皮腫	2	3	12**	22**	↑↑	↑↑
	鼻腔	扁平上皮癌	0	0	0	14**	↑↑	↑↑
		腺癌	0	0	0	1		
		基底細胞癌	0	0	0	1		
	甲状腺	濾胞状腺癌	0	1	0	4	↑↑	↑↑
	肺	細気管支 - 肺胞上皮癌	4	3	2	0		↓
	鼻腔	腺腫/腺癌	0	0	3	6*	↑↑	↑↑
	乳腺	線維腺腫/腺腫	0	0	0	7**	↑↑	↑↑
	甲状腺	濾胞状腺腫/濾胞状腺癌	0	2	2	4	↑	
	肺	細気管支 - 肺胞上皮腺腫/ 細気管支 - 肺胞上皮癌	6	7	7	3		

## グリシドール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	3	10	30	ペト一 検定	コクラン アミテー ジ検定
	検査動物数		50	50	49	50		
良性腫瘍	鼻腔	腺腫	0	0	4	8**	↑↑	↑↑
	子宮	子宮内膜間質性ポリープ	6	11	11	13	↑	
	乳腺	線維腺腫	8	6	18*	17*	↑↑	↑
		腺腫	2	1	3	2		
	副腎	褐色細胞腫	3	3	1	0		
悪性腫瘍	鼻腔	腺癌	0	0	0	2		
		扁平上皮癌	0	0	0	2		
	脾臓	単核球性白血病	3	3	1	8	↑↑	↑
	子宮	子宮内膜間質性肉腫	1	4	4	7*	↑	↑
	乳腺	腺癌	2	1	1	2		
	副腎	褐色細胞腫:悪性	0	2	0	0		
	鼻腔	腺腫/腺癌	0	0	4	10**	↑↑	↑↑
	乳腺	線維腺腫/腺腫/腺癌	10	8	21*	19*	↑↑	↑
	副腎	褐色細胞腫/褐色細胞腫:悪性	3	5	1	0		↓

検定結果については生物学的意義を考慮して記載した。

\*: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 (ペト一、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)

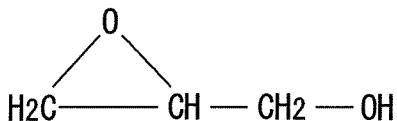
## I 試験材料

### I-1 被験物質の性状等 (文献1)

#### I-1-1 名称等

名 称 : グリシドール (Glycidol)  
 IUPAC名 : 2,3-エポキシプロパン-1-オール (2,3-Epoxypropan-1-ol)  
 CAS No. : 556-52-5

#### I-1-2 構造式、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 : 166~167°C (分解)  
 比 重 : 1.1143(25°C)  
 溶 解 性 : 水、エタノール、エーテル、ベンゼンに可溶  
 保存条件 : 20°C以下で保管

### I-2 被験物質の使用ロット等

使用ロット番号 : WTK5337 (1997年9月29日~1998年8月5日)  
 PAL5331 (1998年8月6日~1999年4月6日)  
 CKP4929 (1999年4月7日~1999年9月24日)

製 造 元 : 和光純薬工業株式会社  
 グ レ 一 ド : 化学用 (和光規格合格品)  
 純 度 : 85%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

被験物質の同一性は、ロットごとにマススペクトルを質量分析計 (Hitachi M-80B) により測定し、また、赤外吸収スペクトルを赤外分光光度計 (Shimadzu FTIR-8200PC) により測定し、それぞれの文献値と比較することにより確認した。

その結果、被験物質のマススペクトルは文献値（文献 2）と同じフラグメントピークを示し、また、赤外吸収スペクトルも文献値（文献 3）と同じ波長にピークが認められ、被験物質はグリシドールであることを確認した。

なお、それらの結果は APPENDIX O 1 に示した。

### I-3-2 安定性

被験物質の安定性は、ロットごとに使用開始前及び使用終了後にガスクロマトグラムをガスクロマトグラフ (Hewlett Packard 5890A) により測定し、それぞれのデータを比較することにより確認した。

その結果、測定結果に差はみられず、使用期間中の被験物質はそれぞれ安定であることを確認した。

なお、それらの結果は APPENDIX O 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) (厚木飼育センター：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。なお、動物は遺伝的に安定していること、腫瘍の自然発生率が低いこと、過去に多くのがん原性試験に用いたデータがあり、化学物質による腫瘍発生の感受性が知られていることの理由から F344/DuCrj(Fischer) ラットとした。

雌雄各 227 匹を生後 4 週齢で導入し (導入時体重範囲、雄:54~65g、雌:53~64g)、各 1 週間の検疫、馴化を経た後、発育順調で異常を認めない動物から、体重値の中央値に近い雌雄各 200 匹 (群構成時体重範囲、雄:113~131g、雌:89~103g) を選別し、試験に供した。

## II 試験方法

### II-1 投与

#### II-1-1 投与経路

投与経路は全身暴露による経気道投与とした。

#### II-1-2 被験物質の投与方法

投与は試験動物を収容した吸入チャンバー内に、設定濃度に調整したグリシドールを含む空気を送り込み、動物に全身暴露することにより行った。なお、対照群は新鮮空気による換気のみとした。

#### II-1-3 投与期間

投与期間は 104 週間とし、1 日 6 時間、1 週 5 日間（祝祭日を除く）の暴露を行った。投与期間中の総暴露回数は 104 週間で 489 回であった。

#### II-1-4 投与濃度

3 ppm、10 ppm 及び 30 ppm の 3 段階（公比 3）の投与濃度を設定した。

#### II-1-5 投与方法、投与期間及び投与濃度の設定理由

投与方法は、労働環境における暴露経路に合わせ、全身暴露による経気道投与とした。

投与期間は、OECD 化学品テストガイドライン 451（発癌性試験）（文献 4）に従い、2 年間（104 週間）とした。

投与濃度は 13 週間試験（試験番号:0316、設定濃度:10 ppm, 20 ppm, 40 ppm, 80 ppm, 160 ppm、各群雌雄各 10 匹使用）の結果（文献 5）より設定した。すなわち 13 週間試験では 160 ppm 群の雄で 5 匹、雌で 8 匹が鼻腔の病変で死亡し、雌雄ともに投与濃度に対応した体重増加の抑制が観察された。また、鼻腔の病変（鼻腔上皮の糜爛、潰瘍、扁平上皮化生、甲介の萎縮）は雄の 20 ppm 以上、雌では 40 ppm 以上の群にみられ、投与濃度に対応して変化の程度が強くなっていた。そこで、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 20 ppm と雄で 20 ppm 群よりも強い変化が出ていた 40 ppm 群の間の 30 ppm とし、以下 10 ppm、3 ppm（公比 3）とした。

## II-1-6 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。被験物質供給装置（柴田科学株式会社 特注）の発生容器内のグリシドールを循環式恒温槽で一定温度に加熱しながら、清浄空気のバーリングにより蒸発させた。このグリシドール蒸気を循環式恒温槽で一定温度に冷却し、清浄空気で希釈後、さらに再加熱し一定濃度に調整した後、流量計を用いて一定量を吸入チャンバーの上部のラインミキサーに供給した。

吸入チャンバー内のグリシドール濃度はガスクロマトグラフにより監視し、その濃度データをもとに設定濃度になるようにグリシドールの吸入チャンバーへの供給流量を調節した。

## II-1-7 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 (Shimadzu GC-14A) 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。測定結果を APPENDIX P 1 に示した。

各投与群における被験物質濃度の測定結果（平均値±標準偏差）は、3 ppm 群 :  $3.0 \pm 0.1$  ppm、10 ppm 群 :  $10.0 \pm 0.2$  ppm、30 ppm 群 :  $29.9 \pm 0.6$  ppm であり、各投与群ともに設定濃度に近似した値であった。

## 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、各群雌雄各 50 匹の動物を用いた。

各群の使用動物数と動物番号

群番号	群名称	雄	雌
		使用動物数 (動物番号)	使用動物数 (動物番号)
0	対照群	50 匹 (1001-1050)	50 匹 (2001-2050)
1	3 ppm 群	50 匹 (1101-1150)	50 匹 (2101-2150)
2	10 ppm 群	50 匹 (1201-1250)	50 匹 (2201-2250)
3	30 ppm 群	50 匹 (1301-1350)	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、発育順調で異常を認めない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 6）。

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行い、またケージにも個体識別番号を付した。

なお、動物はバリア区域（AC-7 空調エリア）内の独立した室（501 室）に収容し、飼育室に試験番号、動物種及び動物番号を表示し、他の試験及び異種動物と区別した。

## 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、吸入チャンバー内に移動し、馴化を開始した。馴化期間も 1 週間とし、投与開始日の前日に群構成を行った。投与期間中は吸入チャンバー内で飼育した。

検疫室、吸入試験室及び吸入チャンバー内の環境条件及び使用した動物ケージを下表に示した。検疫室の温度、湿度、吸入試験室の温度については測定値（平均値±標準偏差）を（ ）内に記した。また、吸入チャンバー内環境の計測結果は APPENDIX P 2 に示した。検疫室、吸入試験室及び吸入チャンバー内の環境は、動物の状態に影響を与えるような変化は認められなかった。

飼育環境条件

	検疫室 (517 室 : A) (518 室 : B)	吸入試験室 (501 室)	吸入チャンバー内	
			馴化期間	投与期間
温度	22±2°C (A : 22.7±0.1°C) (B : 22.5±0.1°C)	22±2°C (22.0±0.5°C)	22±2°C	
湿度	55±15% (A : 50.4±0.9%) (B : 49.0±0.9%)	—	55±15%	
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		12±1 回／時	
圧力	—	—	0～-15mmAq	

## 使 用 ケ ー ジ

	検疫室 (517、518室)	吸入試験室 (502室)	吸入チャンバー内	
			馴化期間	投与期間
ケージへの動物 の収容方法	群飼 (5 匹)	—	単飼	単飼
ケージの材質・ 形状	ステンレス製 群飼ケージ	—	ステンレス製 6連ケージ	ステンレス製 5連ケージ
ケージ寸法	W340 D294 H176	—	W125 D216 H176	W150 D216 H176

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 (30KGy- $\gamma$ 線照射滅菌飼料、LOT No. 970604, 970708, 970808, 970906, 971008, 971112, 971208, 980110, 980207, 980307, 980409, 980508, 980608, 980709, 980810, 980904, 981014, 981105, 981209, 990109, 990203, 990309, 990406, 990511) を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。ただし、定期解剖日の前日の夕方からは給餌しなかった。

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、自動給水装置により自由摂取させた。

なお、試験に使用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)の自社分析データを使用ロットごとに入手し、保管した。飼料中の夾雜物については(財)日本食品分析センター (東京都渋谷区元代々木町 52-1) の分析データを使用ロットごとに入手し、また、飲水については(財)食品薬品安全センター秦野研究所 (神奈川県秦野市落合 729-5) に 3ヶ月毎に分析を委託し、それぞれ試験計画書に規定した許容基準と照合して異常のないことを確認した。

## II-3 観察・検査項目及び方法

## II-3-1 動物の一般状態の観察

全動物について、生死及び瀕死の確認を毎日 1 回行った。また、一般状態の詳細観察は、検疫及び馴化期間は導入時、馴化開始時及び群構成時に行い、投与期間は毎週 1 回、暴露開始前に行った。

## II-3-2 体重測定

検疫及び馴化期間は、全動物について導入時、馴化開始時及び群構成時に体重測定を行い、投与期間は、投与開始後 14 週間は週 1 回、それ以降は 4 週に 1 回（104 週にも測定）、体重を測定した。また、動物の死亡発見、切迫屠殺及び定期解剖の搬出時にも体重（搬出時体重）を測定した。

## II-3-3 摂餌量測定

投与開始後 14 週間は週に 1 回、それ以降は 4 週に 1 回（104 週にも測定）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

定期解剖時に生存している採血可能な動物について、剖検直前にエーテル麻酔下で腹大動脈より EDTA-2 カリウム入り採血管に採血した血液を用いて、下記の項目について検査を行った。検査方法は APPENDIX Q に示した。なお、検査対象動物は解剖日前日夕方より絶食(18 時間以上)させた。

検査項目：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、白血球分類

## II-3-5 血液生化学的検査

定期解剖時に生存している採血可能な動物について、剖検直前にエーテル麻酔下で腹大動脈よりヘパリシ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、下記の項目について検査を行った。検査方法は APPENDIX Q に示した。なお、検査対象動物は解剖日前日夕方より絶食(18 時間以上)させた。

検査項目：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

## II-3-6 尿検査

投与 104 週まで生存した動物について新鮮尿を採取し、尿試験紙（バイエル・三共（株）

製) を用いて検査した。

検査項目: 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

## II-3-7 病理学的検査

### 1 剖検

全動物について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について下記に示した各臓器の湿重量(実重量)を測定した。また、各臓器の湿重量の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。

副腎、精巣、卵巣、心臓、肺、腎臓、脾臓、肝臓、脳

### 3 病理組織学的検査

全動物について下記に示した器官、組織を摘出後、10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液にて固定し、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。

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、上皮小体、副腎、精巣、精巣上体、精嚢、前立腺、卵巣、子宮、膣、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)、その他、肉眼的に変化のみられた器官、組織

## 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

各数値データは計測機器の精度に合わせて表示した。

吸入チャンバー内の被験物質濃度については ppm を単位として、小数点以下 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 位までを表示した。

体重については g を単位とし、整数値の 1 の位まで計測し、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、給餌量値から残餌量値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 日あた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、血液生化学的検査は APPENDIX Q に示した単位と精度により表示した。

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、欠測となつ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、欠測となつたデータについては母数より除いた。

尿検査は、投与 103 週まで生存した動物を対象を行い、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、病理組織学的検査データについては臓器別に、検査不能臓器をもつ動物数を除いたものを母数とした。

#### II-4-3 統計方法

病理組織学的検査及び尿検査以外の本試験で得られた測定値は原則として、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つた。

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 型の多重比較を行つた。

病理組織学的検査のうち非腫瘍性病変については、対照群と各投与群間で  $\chi^2$  検定を行つた。検定は所見のみられなかった動物をグレード 0 として分類し各グレード毎の動物の度数分布により行つた。また、尿検査についても対照群と各投与群間との  $\chi^2$  検定を行つた。

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 7）、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定を行つた。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）を行つた。

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。

各検定は 5% の有意水準で両側検定（Peto 検定、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定は片側検定）を行い、検定結果を表示する場合には 5% 及び 1% の有意水準の表示を行つた。

注： Peto 検定に用いるコンテックス

- 0：定期解剖動物にみつかった腫瘍
- 1：死亡／瀕死動物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、確かにない腫瘍
- 3：多分 4 だと思うが、確かにない腫瘍
- 4：死亡／瀕死動物にみつかった腫瘍で、直接死因に係わっていた腫瘍

### III 試験成績

#### III-1 生死状況

投与期間中における群別の生存状況を TABLE 1, 2 及び FIGURE 2, 3 に示した。なお、雌の 10 ppm 群の 1 匹（動物番号 0342-2221）は投与の 10 週目に事故により死亡したため、有効動物数から除いた。

最終計測週（104 週）における生存数（生存率）は、雄では対照群：40 匹(80.0%)、3 ppm 群：42 匹(84.0%)、10 ppm 群：38 匹(76.0%)、30 ppm 群：23 匹(46.0%)であった。雌では、対照群：41 匹(82.0%)、3 ppm 群：38 匹(76.0%)、10 ppm 群：39 匹(79.6%)、30 ppm 群：32 匹(64.0%)であった。

対照群と比較して、雌雄ともに 30 ppm 群で生存率の低下がみられた。

#### III-2 一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX A 1, 2 に、外部腫瘍と内部腫瘍の発生動物数（一般状態の観察時に腫瘍を視診または触診できた数）を TABLE 3, 4 に示した。

投与期間を通しての外部腫瘍の発生動物数は、雄では対照群：16 匹、3 ppm 群：15 匹、10 ppm 群：16 匹、30 ppm 群：29 匹、雌では対照群：10 匹、3 ppm 群：7 匹、10 ppm 群：20 匹、30 ppm 群：23 匹であり、雄の 30 ppm 群と雌の 10 ppm 以上の群で対照群と比較して外部腫瘍の発生が多かった。

投与期間を通しての内部腫瘍の発生動物数は、雄では対照群：6 匹、3 ppm 群：0 匹、10 ppm 群：1 匹、30 ppm 群：2 匹であり、投与群の内部腫瘍の発生は対照群に比較して少なかった。これに対し、雌では対照群：2 匹、3 ppm 群：3 匹、10 ppm 群：7 匹、30 ppm 群：8 匹であり、10 ppm 以上の群で対照群と比較して内部腫瘍の発生が多かった。

他の一般状態には、雌雄ともに投与群と対照群の間で特記すべき差を認めなかった。

#### III-3 体重

投与期間中における群別の体重推移を TABLE 1, 2, FIGURE 4, 5 及び APPENDIX B 1, 2 に示した。

雌雄とも 30 ppm 群は投与期間の前半から、対照群に比べやや低い値で推移した。他の投与群は雌雄とも対照群と同様な値であった。

最終計測時の体重は、対照群に対して、雄では 3 ppm 群：102%、10 ppm 群：98%、30 ppm 群：84%、雌では 3 ppm 群：101%、10 ppm 群：101%、30 ppm 群：94% であった。

### III-4 摂餌量

投与期間中における群別の摂餌量（1日1匹当たりの摂餌量）を TABLE 5,6、FIGURE 6, 7 及び APPENDIX C 1, 2 に示した。

雄の 30 ppm 群は対照群に比べやや低値であった。雌の 30 ppm 群は投与期間の後半、対照群に比べやや低値であった。他の投与群は雌雄とも対照群と同様な値であった。

### III-5 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 D 1, 2 に示した。

雌で 30 ppm 群に赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値及び MCHC の減少、ならびに白血球数の増加が認められた。

### III-6 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 E 1,2 に示した。

被験物質の暴露の影響と思われる変化はみられなかった。

### III-7 尿検査

投与 104 週に行った尿検査の結果を APPENDIX F 1, 2 に示した。

被験物質の暴露の影響と思われる変化はみられなかった。

### III-8 病理学的検査

#### III-8-1 剖検

解剖時に観察された剖検所見を APPENDIX G 1~6 及び PHOTOGRAPH 1 に示した。

雄では、30 ppm 群の 6 匹に鼻の隆起がみられた。また、腹膜の結節、腹水、皮膚の結節及び皮下腫瘍の発生匹数が投与濃度に対応して増加した。

雌では、子宮の結節が対照群に比較して各投与群とも多くの例にみられた。また、皮下腫瘍の発生が 10 ppm 以上の群、脾臓の腫大と皮膚の結節が 30 ppm 群に多く観察された。なお、鼻の隆起が 30 ppm 群の 1 匹にみられた。

### III-8-2 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 TABLE 7,8 及び APPENDIX H 1, 2, I 1, 2 に示した。

雄では、30 ppm 群で脾臓以外の全ての臓器に体重比の高値がみられた。しかし、この群の解剖時体重は対照群に比較して低値であることから、これら体重比の高値は体重の低下に伴った変化であると考えられる。

雌では、腎臓と脾臓の実重量と体重比の高値が 30 ppm 群に認められた。なお、30 ppm 群では心臓、肺、肝臓、脳に体重比のみの高値が認められたが、この群の解剖時体重は対照群に比較して低値であることから、これら体重比の高値は体重の低下に伴った変化であると考えられる。

### III-8-3 病理組織学的検査

主な腫瘍性病変と非腫瘍性病変の発生数を TABLE 9,10 に示した。また、非腫瘍性病変を APPENDIX J 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 K 1, 2 に、腫瘍の種類別の発生数を APPENDIX L 1, 2 に、統計解析 (Peto 検定、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定) の結果を TABLE 11,12 及び APPENDIX M 1, 2 に、転移性病変を APPENDIX N 1~6 に示した。本試験でみられた腫瘍の日本バイオ アッセイ研究センターにおけるヒストリカルコントロールデータ (発生匹数/総匹数と平均発生率(%))、試験毎の発生率 (最小%~最大%) を雌雄別にそれぞれ TABLE 14, 15 に示した。さらに、観察された所見の代表例を PHOTOGRAPH 2~16 に示した。

なお、雌の 10 ppm 群の 1 匹は事故により死亡したため、この群の検査動物数は 49 匹であった。

#### 1. 腫瘍性病変

腫瘍の発生増加が雄の鼻腔、腹膜、乳腺、皮膚、甲状腺及び精巣、雌の鼻腔、乳腺、子宮及び脾臓にみられた。

－雄－

<鼻腔>

扁平上皮癌と腺腫の発生増加がみられた。

扁平上皮癌の発生は 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 30 ppm 群に発生増加が認められた。扁平上皮癌は当センターのヒストリカルコントロールデータではこれまで観察されていない腫瘍であるが、30 ppm 群では 28.0% に発生していた。

腺腫の発生は Peto 検定 (有病率法) と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 30 ppm 群に発生増加が認められ、10 ppm 群と 30 ppm 群における腺腫の発生率 (10 ppm 群 6.0%、30 ppm 群 10.0%) は当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲を越えていた。

その他、30 ppm 群には腺癌と基底細胞癌の発生がそれぞれ 1 匹にみられた。腺癌と基底細胞癌は当センターのヒストリカルコントロールデータではこれまで観察されていない。

これらの腫瘍の発生部位は、本来は移行上皮あるいは呼吸上皮が分布している鼻腔の前半部であった。

#### ＜腹膜＞

中皮腫の発生増加がみられた。

中皮腫の発生は 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 10 ppm 群と 30 ppm 群に発生増加が認められた。10 ppm 群と 30 ppm 群における発生率 (10 ppm 群 24.0%、30 ppm 群 44.0%) は当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲を越えていた。

#### ＜乳腺＞

線維腺腫の発生増加がみられた。

線維腺腫の発生は 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 30 ppm 群に発生増加が認められた。30 ppm 群における線維腺腫の発生率 (12.0%) は当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲を越えていた。

#### ＜皮膚＞

扁平上皮乳頭腫の発生増加がみられた。

扁平上皮乳頭腫の発生は Peto 検定 (有病率法) と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。30 ppm 群における扁平上皮乳頭腫の発生率 (6.0%) は当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲を越えていた。

#### ＜甲状腺＞

濾胞状腺癌の発生増加がみられた。

濾胞状腺癌の発生は Peto 検定 (有病率法) と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。また、30 ppm 群における発生率 (8.0%) は当センターのヒストリカルコントロールデータの上限に相当する値であった。

#### ＜精巣＞

間細胞腫の発生増加がみられた。

間細胞腫の発生は Peto 検定 (有病率法) と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。しかし、その発生率は各投与群とも当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲内であり、この腫瘍の発生増加と被験物質の暴露との関連は明らかでないと判断した。

一雌一

＜鼻腔＞

腺腫の発生増加がみられた。

腺腫の発生は Peto 検定 (有病率法) と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 30 ppm 群に発生増加が認められた。腺腫は当センターの雌ラットのヒストリカルコントロールデータではこれまで観察されていない腫瘍であるが、10 ppm 群の 8.2% と 30 ppm 群の 16.0% に発生していた。

その他、30 ppm 群に腺癌と扁平上皮癌の発生がそれぞれ 2 匹でみられた。これらの腫瘍も当センターのヒストリカルコントロールデータではこれまで観察されていない。

これらの腫瘍の発生部位は、雄と同様に、鼻腔の前半部の本来は移行上皮あるいは呼吸上皮が分布している部位であった。

＜乳腺＞

線維腺腫の発生増加がみられた。

線維腺腫の発生は Peto 検定 (有病率法) と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 10 ppm と 30 ppm 群に発生増加が認められた。10 ppm 群と 30 ppm 群における線維腺腫の発生率 (10 ppm 群 36.7%、30 ppm 群 34.0%) は当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲を越えていた。

＜子宮＞

子宮内膜間質性肉腫と子宮内膜間質性ポリープの発生増加がみられた。

子宮内膜間質性肉腫の発生は Peto 検定 (死亡率法、死亡率法 + 有病率法) と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 30 ppm 群に発生増加が認められた。また、子宮内膜間質性肉腫の発生率 (3 ppm 群 8.0%、10 ppm 群 8.2%、30 ppm 群 14.0%) は当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲を越えていた。

子宮内膜間質性ポリープの発生も Peto 検定 (有病率法) で増加傾向を示した。しかし、その発生率 (3 ppm 群 22.0%、10 ppm 群 22.4%、30 ppm 群 26.0%) は、各投与群とも当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲内であった。

＜脾臓＞

単核球性白血病の発生増加がみられた。

単核球性白血病の発生は 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た。しかし、その発生率は各投与群とも当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲内であった。

## 2. 非腫瘍性病変

腫瘍以外の病変の発生増加が雄の鼻腔、脾臓及び骨髓、雌の鼻腔及び副腎にみられた。

### 一雄一

#### <鼻腔>

移行上皮、呼吸上皮、甲介骨、鼻腺及び嗅上皮に病変の発生が観察された。

移行上皮には、過形成すなわち上皮の厚さの増加がみられ、一部の動物では異型化（核の大型化や不整化）を伴う過形成が認められた。これらの所見は 10 ppm 群と 30 ppm 群に発生増加が認められた。

呼吸上皮にも過形成や異型化（核の大型化や不整化）を伴う過形成が認められた。これらの過形成は 30 ppm 群に発生増加が認められた。また、呼吸上皮には扁平上皮への置き換わった像である扁平上皮化生がみられ、投与群にみられた扁平上皮化生は基底細胞様の大型細胞の出現あるいは層状分化の不整、固有層への下方増生等の異型化を示す組織像を伴っていた。異型化を伴う扁平上皮化生は 30 ppm 群の多くの動物にみられた。また、3 ppm 群の 1 匹と 10 ppm 群の 5 匹にもこの所見が観察された。さらに、扁平上皮の過形成、すなわち細胞層の厚さの増加が 30 ppm 群の多くの動物にみられ、この過形成は異型化を伴うもののが多かった。また、30 ppm 群の呼吸上皮には炎症の発生増加も認められた。呼吸上皮に壊死のある動物は 30 ppm 群で対照群より多くみられたが、その発生数は他の所見に比べ少数であった。

甲介骨には肥厚がみられた。骨の肥厚が観察された甲介は移行上皮や呼吸上皮が分布する鼻甲介と上顎甲介であった。この所見は 10 ppm 群と 30 ppm 群に顕著な発生増加が認められた。また、3 ppm 群の 3 匹にもこの所見が観察された。

鼻腺、すなわち移行上皮や呼吸上皮の上皮下に存在する腺組織にも、30 ppm 群の 3 匹で異型化（核の大型化や不整化）を伴う過形成がみられた。

嗅上皮には萎縮の発生増加が 30 ppm 群で認められた。しかし、その発生数は呼吸上皮の病変に比較して少数であった。

#### <脾臓>

髓外造血と線維症の発生が 30 ppm 群で増加した。

#### <骨髓>

赤血球造血の増加を示す動物が 30 ppm 群で増加した。

### 一雌一

#### <鼻腔>

移行上皮、呼吸上皮、甲介骨、鼻腺及び嗅上皮に病変の発生が観察された。

移行上皮には、過形成の発生増加が 10 ppm 群と 30 ppm 群で認められ、30 ppm 群には少数例ではあるが、異型化（核の大型化や不整化）を伴う過形成もみられた。また、3 ppm

群の 2 匹にも過形成がみられた。

呼吸上皮には扁平上皮化生がみられ、投与群にみられた扁平上皮化生は多くの例が異型化（核の大型化や不整化）を伴っていた。異型化を伴う扁平上皮化生は 30 ppm 群の多くの動物にみられた。また、10 ppm 群の 2 匹にもこの所見が観察された。異型化を伴う扁平上皮の過形成も 30 ppm 群で増加していたが、その発生は雄に比較して少なかった。30 ppm 群の呼吸上皮には炎症の発生増加も認められた。呼吸上皮に壞死のある動物は 30 ppm 群で対照群より多くみられたが、その発生数は他の所見に比べ少なかった。

甲介骨には肥厚の発生増加が 10 ppm 群と 30 ppm 群に認められた。

鼻腺には過形成と異型化（核の大型化や不整化）を伴う過形成が 30 ppm 群で観察されたが、発生数はそれぞれ 1 匹であった。

嗅上皮には萎縮の発生増加が 30 ppm 群で認められた。しかし、その発生数は呼吸上皮の病変に比較して少なかった。

＜副腎＞

皮質の巣状脂肪変性の発生増加が 30 ppm 群に認められた。

### III-8-4 死因

病理学的にみた死亡／瀕死の原因を TABLE 13 に示した。

雄では腹膜の中皮腫と鼻腔腫瘍による動物の死亡が投与群に多くみられた。腹膜の中皮腫により死亡した動物は対照群にはなかったが、3 ppm 群では 1 匹、10 ppm 群では 2 匹、30 ppm 群では 12 匹が腹膜の中皮腫により死亡した。また、鼻腔腫瘍により死亡した動物は 30 ppm 群のみに 5 匹みられた。

雌では子宮腫瘍による動物の死亡が投与群に多くみられた。子宮腫瘍により死亡した動物は対照群では 1 匹であったのに対し、3 ppm 群の 2 匹、10 ppm 群の 4 匹、30 ppm 群の 6 匹が子宮腫瘍により死亡した。また、鼻腔腫瘍を死因とした例が 30 ppm 群に 1 匹みられた。なお、白血病により死亡した動物は、対照群 1 匹に対し、3 ppm 群と 10 ppm 群各 2 匹、30 ppm 群 4 匹であり、投与群にやや多かった。

## IV 考察及びまとめ

グリシドールのラットを用いた2年間の吸入試験(投与濃度:3 ppm、10 ppm、30 ppm)の結果、主に腫瘍性病変と腫瘍関連病変の発生が認められた。生存率は、対照群と比べ雌雄とも30 ppm群で低下した。その低下は、雄は腹膜の中皮腫と鼻腔腫瘍、雌は子宮腫瘍の発生増加に起因した。体重は雌雄とも30 ppm群で対照群に比べやや低値であった。

### IV-1 腫瘍性及び腫瘍関連病変

腫瘍の発生増加が雄の鼻腔、腹膜、乳腺、皮膚及び甲状腺、雌の鼻腔、乳腺及び子宮にみられた。

#### 〈鼻腔腫瘍〉

雄では、悪性腫瘍である扁平上皮癌(30 ppm群:28.0%)と良性腫瘍である腺腫(10 ppm群:6.0%、30 ppm群:10.0%)の発生が投与濃度に対応して増加した。

扁平上皮癌は、発生増加が30 ppm群に認められた。また、鼻腔の扁平上皮癌は当センターのヒストリカルコントロールデータ(1249匹)では発生のみられていない稀な腫瘍である。従って、本試験における扁平上皮癌の発生増加は暴露によるものと考察される。腺腫は、発生率の増加が30 ppm群に認められた。また、30 ppm群、10 ppm群ともその発生率は、当センターのヒストリカルコントロールデータの発生率0.2% (試験単位の発生率は最小0%、最大2%)に比較して明らかに高い値であった。従って、これらの群における腺腫の発生増加は暴露によるものと考察される。30 ppm群には腺癌と基底細胞癌が各1匹ではあるが発生した。これらの腫瘍も当センターのヒストリカルコントロールデータでは発生のみられていない非常に稀な腫瘍であることから、暴露に関連した発生と考察され、腺癌は鼻腔の腺腫が悪性化したと考えられる。

雌でも腺腫(10 ppm群:8.2%、30 ppm群:16.0%)の発生増加がみられた。この腫瘍の発生は投与濃度に対応した増加傾向を示し、発生率の増加が30 ppm群にみられた。当センターの雌ラットのヒストリカルコントロールデータ(1197匹)では鼻腔の腫瘍はいずれの種類とも発生しておらず、鼻腔の腫瘍は極めて稀である。従って、これらの群における腺腫の発生増加は暴露によるものと考察される。また、30 ppm群には悪性腫瘍である腺癌が2匹に発生し、雄と同様に本試験でみられた鼻腔の腺腫が悪性腫瘍に移行したと考えられる。また、扁平上皮癌が30 ppm群の2匹に発生した。この腫瘍は極めて稀な腫瘍であること、また、雄でも同種の腫瘍の発生が認められることから、暴露に関連した発生であると考察される。

以上のように、雌雄とも自然発生が稀な鼻腔腫瘍の発生が投与濃度に依存した増加を示し、グリシドールの暴露により惹起された腫瘍の増加であると考えられた。雄では悪性腫瘍である扁平上皮癌の顕著な発生増加が認められることから、NTPのがん原性の評価基準

(文献 8) に従い、この腫瘍の増加はグリシドールの雄ラットに対するがん原性を示す明らかな証拠と考えられる。雌では明確な発生増加は良性腫瘍である腺腫にのみ認められた。しかし、少数ではあるが腺癌の発生があり、腺腫が悪性腫瘍に移行したと考えられること及び雄に比較して発生率は低いが悪性腫瘍である扁平上皮癌の発生があることから、雌における鼻腔の腫瘍増加も、グリシドールのがん原性を示す明らかな証拠と考えるべきであると考察する。また、鼻腔腫瘍が有意な発生増加を示した濃度は、雄の扁平上皮癌と腺腫、雌の腺腫がいずれも 30 ppm であった。

鼻腔腫瘍の発生部位は、いずれも移行上皮あるいは呼吸上皮が分布している鼻腔の前半部であった。

移行上皮や呼吸上皮には増殖性病変である過形成の発生がみられ、一部の動物では異型化を伴った過形成が認められた。また、少数例ではあるが、移行上皮や呼吸上皮の上皮下に存在する鼻腺に異型化のみられる動物もあった。鼻腔の腺腫や腺癌は移行上皮、呼吸上皮、あるいは上皮下の腺組織から発生するとされており(文献 9)、本試験で発生増加した腺腫と腺癌も移行上皮、呼吸上皮あるいは鼻腺から発生したと推察される。

呼吸上皮には多数の動物に扁平上皮への置換すなわち扁平上皮化生及びこの扁平上皮が増殖した扁平上皮過形成みられた。これら扁平上皮化生や扁平上皮過形成は多くの例で、基底細胞様の大型細胞の出現あるいは層状分化の不整、固有層への下方増生等、異型化を伴う組織像を伴っているのが特徴であった。ホルムアルデヒドなど、鼻腔に扁平上皮癌を誘発させる化学物質の吸入暴露では、腫瘍の発生とともに呼吸上皮に扁平上皮への化生や扁平上皮の過形成が観察されることが報告されており(文献 10、11)、これらの変化を経て扁平上皮癌が発生するとされている。上述したように本試験でも扁平上皮化生や扁平上皮過形成が多数の動物に観察されており、過去の報告と一致している。また、腫瘍への移行を示唆する異型化を伴っている例が多く、扁平上皮への化生や扁平上皮過形成は扁平上皮癌の前駆変化であると考える。これに対し、鼻腔の前端部、すなわち、本来、扁平上皮が分布している部位には腫瘍の発生や前腫瘍性病変が認められなかった。従って、本試験で発生増加した扁平上皮癌の発生母地は呼吸上皮部であり、まず呼吸上皮に扁平上皮への化生が起り、さらに扁平上皮過形成を経て扁平上皮癌が発生すると推察される。本試験に先立って実施したラットを用いた 13 週間吸入試験でも、呼吸上皮の扁平上皮化生が雄の 20 ppm 以上、雌では 40 ppm 以上の濃度で観察されており(文献 5)、この変化がより長期間の暴露によって腫瘍の発生に進展したと考えられる。

その他、呼吸上皮には炎症の発生増加がみられ、移行上皮や呼吸上皮が分布する鼻甲介と上顎甲介の甲介骨には肥厚が観察されており、これらの所見は移行上皮や呼吸上皮に対するグリシドールの影響を示す変化と考えられる。

嗅上皮には萎縮がみられたが、嗅上皮からの腫瘍の発生は観察されなかった。

鼻腔への病変が有意な発生増加を示した濃度は、移行上皮の過形成と甲介の骨肥厚が雌雄とも 10 ppm 以上、呼吸上皮の扁平上皮化生、扁平上皮過形成、呼吸上皮の炎症及び嗅

上皮の萎縮が雌雄とも 30 ppm、呼吸上皮の過形成が雄の 30 ppm であった。

<腹膜腫瘍>

雄に中皮腫の発生増加 (対照群 : 4.0%、3 ppm 群 : 6.0%、10 ppm 群 : 24.0%、30 ppm 群 : 44.0%) が認められた。この腫瘍の発生は投与濃度に対応した増加傾向を示し、30 ppm 群と 10 ppm 群に発生増加が認められた。また、これらの群の発生率は当センターのヒストリカルコントロールデータの発生率 2.5% (試験単位の発生率は最小 0%、最大 8%) に比較して、顕著に高い値であった。従って、中皮腫の発生増加は暴露によるものと考察される。中皮腫は悪性腫瘍に分類される腫瘍であり、この腫瘍の発生増加もグリシドールの雄ラットに対するがん原性を示す明らかな証拠と考えられる。

) <子宮腫瘍>

子宮内膜間質性肉腫の発生増加が認められた。

子宮内膜間質性肉腫の発生 (対照群 : 2.0%、3 ppm 群 : 8.0%、10 ppm 群 : 8.2%、30 ppm 群 : 14.0%) は投与濃度に対応した増加傾向を示し、30 ppm 群に発生増加が認められた。また、10 ppm 群と 3 ppm 群を含む各投与群の発生率は、ともに当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲を越えていた。従って、子宮内膜間質性肉腫の発生増加は暴露によるものと考察される。子宮内膜間質性肉腫は悪性腫瘍に分類される腫瘍であり、この腫瘍の増加もグリシドールの雌ラットに対するがん原性を示す明らかな証拠と考えられる。

<乳腺腫瘍>

) 雌雄とも線維腺腫の発生増加が認められた。この腫瘍の発生は投与濃度に依存した増加傾向を示し、雄の 30 ppm 群 (12.0%) 及び雌の 30 ppm 群と 10 ppm 群 (34.0% と 36.7%) に発生増加が認められた。また、これらの群の発生率は当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲を越えていた。従って、雌雄とも線維腺腫の発生増加は暴露によるものと考察される。線維腺腫は良性腫瘍に分類される腫瘍であり、グリシドールの雌雄ラットに対するがん原性を示唆する証拠と考えられる。

<皮膚腫瘍>

雄では扁平上皮乳頭腫の発生 (対照群、3 ppm 群 : 0%、10 ppm 群 : 2%、30 ppm 群 : 6%) が投与濃度に対応した増加傾向を示した。当センターのヒストリカルコントロールデータでは扁平上皮乳頭腫の試験単位の発生率は最小 0%、最大 4% の範囲 (平均 1.1%) であり、30 ppm 群の発生率はこの上限を越えており、この扁平上皮乳頭腫の発生増加は暴露によるものと考えられる。扁平上皮乳頭腫は良性腫瘍に分類される腫瘍であり、グリシドールの雄ラットに対するがん原性を示唆する証拠と考える。

## &lt;甲状腺腫瘍&gt;

雄の濾胞状腺癌（対照群：0%、3 ppm 群：2.0%、10 ppm 群：0%、30 ppm 群：8.0%）が投与濃度に対応した増加傾向を示した。当センターのヒストリカルコントロールデータでは濾胞状腺癌の試験単位の発生率は最小0%、最大8%の範囲（平均2.2%）にある。30 ppm 群の発生率はこの上限値に相当した値であり、本試験における濾胞状腺癌の発生増加はグリシドールとの関連を否定することは出来ないものの、不確実な証拠と考察した。

## &lt;その他の臓器の腫瘍&gt;

その他、統計学的に有意な増加傾向が雄では精巣の間細胞腫、雌では子宮内膜間質性ポリープと脾臓の単核球性白血病の発生に示された。しかし、これらの腫瘍の発生率は各投与群とも当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲内にあり、グリシドールとの関係は明らかでないと判断した。

以上のように、グリシドールの暴露によって雄では鼻腔腫瘍（扁平上皮癌、腺腫、腺癌、基底細胞癌）と腹膜腫瘍（中皮腫）の顕著な発生増加が投与濃度に対応して認められ、これらの腫瘍の発生増加はグリシドールの雄ラットに対するがん原性を示す明らかな証拠であると考察された。また、鼻腔には前腫瘍性変化と考えられる異型化を伴った移行上皮や呼吸上皮の過形成、呼吸上皮の扁平上皮化生、扁平上皮過形成の顕著な発生がみられた。その他、乳腺腫瘍（線維腺腫）と皮膚腫瘍（扁平上皮乳頭腫）の発生増加が認められ、これらの腫瘍の増加もグリシドールの暴露に関連したものと考えられた。なお、甲状腺腫瘍（濾胞状腺癌）の発生増加も示されたが、暴露との関連は不明確であった。

雌では鼻腔腫瘍（腺腫、腺癌、扁平上皮癌）と子宮腫瘍（子宮内膜間質性肉腫）の発生増加が認められ、これらの腫瘍の発生増加はグリシドールの雌ラットに対するがん原性を示す明らかな証拠であると考察された。また、雄と同様に鼻腔には前腫瘍性変化の顕著な増加がみられた。その他、乳腺腫瘍（線維腺腫）の発生増加が認められ、この腫瘍の増加もグリシドールの暴露に関連したものと考えられた。

上記の腫瘍が有意な発生増加を示した濃度は、雄では腹膜腫瘍（中皮腫）が10 ppm 以上、鼻腔腫瘍（扁平上皮癌、腺腫）と乳腺腫瘍（線維腺腫）が30 ppm であった。また、雌は乳腺腫瘍（線維腺腫）が10 ppm 以上、鼻腔腫瘍（腺腫）と子宮腫瘍（子宮内膜間質性肉腫）が30 ppm であった。

## IV-2 非腫瘍性病変

雄の骨髓と脾臓、雌の副腎にグリシドールの暴露による影響と考えられる変化がみられた。

雄では骨髓の赤血球造血と脾臓の髓外造血の発生増加が30 ppm 群でみられた。これら

の所見がみられる動物の多くは腹膜に中皮腫の発生がみられる動物である。また、腹膜の中皮腫は腹腔への出血を伴うことが知られている（文献 12）。従って、骨髓の赤血球造血と脾臓の髓外造血の発生増加は腹膜中皮腫の発生増加に伴う二次的な変化、すなわち、腹膜中皮腫からの出血を補償するための造血亢進であると考察する。その他、雄の 30 ppm 群の脾臓には線維症の発生増加も認められた。また、雌の 30 ppm 群に副腎の皮質の巢状脂肪変性の増加が示された。これらの変化はグリシドール暴露との関連を否定できなかつたが、毒性学的な意義については明らかでなかった。

血液学的検査では、雌の 30 ppm 群に赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値及び MCHC の低下が認められた。本試験に先立って実施したラットを用いた 13 週間吸入試験でも、80 ppm 以上の濃度で赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低下が観察されており（文献 5）、この変化が長期暴露でも継続していた可能性がある。しかし、この群は子宮や乳腺腫瘍等、出血を伴う腫瘍の発生数が多いことを考えると、これらの腫瘍の発生による二次的な変化である可能性もある。また、雌の 30 ppm 群は白血球数の増加が認められているが、この群は単核球性白血病の発生がみられる動物が多いため、白血病に伴う白血球数の増加である可能性が高いと推察される。

#### IV-3 他文献との比較等

① がん原性：グリシドールの吸入暴露による長期実験は報告がみられず、強制経口投与による長期実験が Irwin ら(1996)（文献 13）によって報告されている。

Irwin らは F344 ラット（雌雄、各群 50 匹）に、グリシドール（純度 94%）を 0、37.5、75mg/kg・bw の濃度で、1 日 1 回、週 5 日間、2 年間の強制経口投与を行った。その結果、早期の死亡が雌雄ともみられ、死因は雄では腹膜の中皮腫、雌では乳腺腫瘍の早期発生であった。腫瘍は投与濃度に応じて様々な臓器に発生し、雌雄に乳腺の線維腺腫、脳の膠腫（神経膠腫）、前胃の扁平上皮乳頭腫/扁平上皮癌、雄に腹膜（精巣鞘膜）の中皮腫、耳道腺（ジンバル腺）の腺癌、甲状腺の濾胞状腺腫/濾胞状腺癌、皮膚の皮脂腺腺腫/腺癌あるいは基底細胞腫、腸の腺腫様ポリープ/腺癌、雌に乳腺の腺癌、陰核腺の腺腫/腺癌、口腔/舌の乳頭腫/扁平上皮癌及び白血病が増加したと報告している。

本試験（吸入暴露）の結果と比較すると、投与経路によって発生する腫瘍の部位が大きく異なるが、両試験とも多臓器に腫瘍が発生した。吸入暴露と経口投与に共通してみられた腫瘍は、雄の腹膜の中皮腫と雌雄の乳腺の線維腺腫であった。吸入暴露では投与経路である鼻腔に腫瘍（扁平上皮癌、腺腫、腺癌、基底細胞癌）の発生が認められた。

② 変異原性：旧労働省が委託した研究（文献 14）によれば、グリシドールの微生物を用いる変異原性試験は、ネズミチフス菌の 2 菌株（TA98、TA100）及び大腸菌の 2 菌株（WP<sub>uvrA</sub>、WP<sub>uvrA/pKM101</sub>）を用いて、代謝活性化による場合及びよらない場合につ

いて実施された。その結果、試験に用いた4菌株全てが、代謝活性化による場合及びよらない場合の両方の条件で溶媒対照値の2倍以上の復帰変異コロニー数の上昇を示し、陽性の結果であった。また、日本バイオアッセイ研究センターで実施した委託研究（文献15）によれば、グリシドールのほ乳類培養細胞(CHL)を用いる染色体異常試験は、+S9処理(S9添加6時間処理)、-S9処理(S9無添加6時間処理)、24時間処理(S9無添加)、48時間処理(S9無添加)について実施された。その結果、全ての処理法において構造異常を有する細胞の出現頻度が10%以上を示し、陽性の結果であった。グリシドールは、微生物(ネズミチフス菌及び大腸菌)及びほ乳類培養細胞の異なる系で変異原性を示した。

③ 代謝：ラットにグリシドールを腹腔内投与した実験では、尿中代謝物としてS-(2,3-ジヒドロキシプロピル)グルタチオン、S-(2,3-ジヒドロキシプロピル)システイン、 $\beta$ -クロロ乳酸が検出されている（文献16）。 $\alpha$ -クロロヒドリンがラットに投与された場合も同様な代謝物がみられることから、グリシドールは体内で $\alpha$ -クロロヒドリンに変換されることが示唆されている。また、グリシドールの一部はラット肝ミクロソーム分画で、グリセロールに変換される（文献17）。

## V 結論

F344/DuCrj(Fischer) ラットを用いてグリシドールの吸入による2年間(104週間)のがん原性試験を行った結果、以下の結論を得た。

雄では、鼻腔腫瘍（扁平上皮癌、腺腫、腺癌、基底細胞癌）と腹膜腫瘍（中皮腫）の顕著な発生増加が認められ、これらの腫瘍の発生増加はグリシドールの雄ラットに対するがん原性を示す明らかな証拠であると考察された。雌では、鼻腔腫瘍（腺腫、腺癌、扁平上皮癌）と子宮腫瘍（子宮内膜間質性肉腫）の発生増加が認められ、これらの腫瘍の発生増加はグリシドールの雌ラットに対するがん原性を示す明らかな証拠であると考察された。なお、雌雄に乳腺腫瘍（線維腺腫）、雄に皮膚腫瘍（扁平上皮乳頭腫）の発生増加も認められた。

また、雌雄とも鼻腔には異型化を伴う移行上皮や呼吸上皮の過形成、呼吸上皮の扁平上皮化生、扁平上皮過形成の発生増加がみられ、これらの所見は前腫瘍性変化と考えられた。その他、鼻腔には甲介骨の肥厚もみられた。

## VI 文献

1. 化学大辞典(1978)  
3巻, pp.100-101, 共立出版株式会社, 東京
2. McLafferty,F.W. (1994)  
Wiley Registry of Mass Spectral Data (6<sup>th</sup> edition) , Entry Number 1733.  
John Wiley and Sons, Inc., New York
3. 和光純薬工業からの提供資料(1996)  
赤外線吸収スペクトル  
)
4. Organization for Economic Co-operation and Development (OECD) (1981)  
OECD Guidelines for the Testing of Chemicals 451 : Carcinogenicity Studies.  
OECD, Paris
5. 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 13 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  
)
6. 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  
)
7. Peto,R., Pike,M.C., Day,N.E., Gray,R.G., Lee,P.N., Parish,S., Peto,J., Richards,S.  
and Wahrendorf, J. (1980)  
Guidelines for simple, sensitive significance tests for carcinogenic effects in long-  
term animal experiments.  
In : Long-Term and Short-Term Screening Assays for Carcinogens:  
A Critical Proposal.  
IARC Monographs, Suppl. 2, pp.311-426, IARC, Lyon.
8. National Toxicology Program (1993)  
Compendium of abstracts from long-term cancer studies reported by the National  
Toxicology Program of the National Institute of Environmental Health Sciences

- from 1976 to 1992. Levels of evidence of carcinogenicity.  
Environmental Health Perspectives 101 (Supplement 1):2
9. Schwarz,L.W., Hahn,F.F., Keenan,K.P., Keenan,C.M., Brown,H.R. and Mann,C.M. (1994)  
Proliferative lesions of the rat respiratory tract.  
In: Guides for Toxicologic Pathology. pp. 1-24, STP/ARP/AFIP, Washington, DC.
10. 高橋道人 (1981)  
ホルムアルデヒドの癌原性  
変異原と毒性, 4(4):102-111
11. Kerns,W.D., Pavkov,K.L., Donofrio,D.J., Gralla,E.J. and Swenberg,J.A. (1983)  
Carcinogenicity of formaldehyde in rats and mice after long-term inhalation exposure.  
Cancer Research 43:4382-4392
12. 伊東信行編著 (1994)  
標的器官の毒性病理 (4) 、体腔 H.腹膜、胸腔、その他の体腔  
最新毒性病理学, pp. 367-374, 中山書店, 東京
13. Irwin,R.D., Evstis,S.L., Stefanski,S. and Hasaman,J.K. (1996)  
Carcinogenicity of Glycidol in F344 rats and B6C3F1 mice.  
J. Appl. Toxicology 16:201-209
14. 松島泰次郎,松下秀鶴,清水英佑 (1981)  
変異原性に着眼したがん原性物質のスクリーニング技術開発に関する研究  
昭和 56 年度 労働安全衛生に関する委託研究
15. 労働安全衛生法有害性調査制度に基づく既存化学物質変異原性試験データ集 (1996)  
日本化学物質安全・情報センター(JETOC) 編集・発行, 東京
16. Jones,A.R. and Obrien,R.W.(1980)  
Metabolism of three active analogues of the male antifertility agent  $\alpha$ -chloro-hydrin in the rat.  
Xenobiotica 10:365-370

17. Patel,J.M., Wood,J.C. and Leibman,K.C.(1980)

The biotransformation of allyl alcohol and acrolein in rat liver and lung preparations.

Drug Metab. Dispos. 8:305-308

)

)