

1,4-ジオキサンのラット及びマウスを用いた
経口(混水)投与によるがん原性予備試験
(急性・2週間・13週間) 報告書

試験番号

急 性 : ラット/0003 ; マウス/0004
2週間 : ラット/0018 ; マウス/0019
13週間 : ラット/0053 ; マウス/0054

平成2年12月28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

1,4-ジオキサンのラット及びマウスを用いた
経口(湿水)投与によるがん原性予備試験
(急性・2週間・13週間) 報告書

本 文

目 次

	頁
要約	1
1,4-ジオキサンについて	3
I 試験材料	
I - 1 被験物質の使用ロット等	5
I - 2 被験物質の同一性と安定性	5
I - 2 - 1 同一性	5
I - 2 - 2 安定性	5
I - 3 試験動物	6
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	7
II - 1 - 2 投与量または投与濃度及びその設定理由	7
II - 1 - 3 濃度調製	7
II - 1 - 4 調製時における濃度測定	8
II - 1 - 5 投与条件下における被験物質の安定性	8
II - 1 - 6 被験物質の摂取量	8
II - 2 動物管理	
II - 2 - 1 群分け及び個体識別方法	9
II - 2 - 2 飼育条件	9

II - 3 観察・検査項目及び方法

II - 3 - 1 動物の一般症状の観察.....	10
II - 3 - 2 体重測定	10
II - 3 - 3 摂餌量測定	10
II - 3 - 4 摂水量測定	10
II - 3 - 5 血液学的検査	11
II - 3 - 6 血液生化学的検査	11
II - 3 - 7 尿検査	11
II - 3 - 8 病理学的検査	11
II - 4 数値処理と統計学的方法	14
II - 5 試資料の保管	15

III 試験成績

III - 1 ラットを用いたがん原性予備試験

III - 1 - 1 急性試験	
(1) 動物の状態観察	16
(2) 病理学的検査	19
III - 1 - 2 2週間試験	
(1) 動物の状態観察	20
(2) 病理学的検査	25
III - 1 - 3 13週間試験	
(1) 動物の状態観察	26
(2) 血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査	34
(3) 病理学的検査	35

III - 2 マウスを用いたがん原性予備試験

III - 2 - 1 急性試験

(1) 動物の状態観察	39
(2) 病理学的検査	42

III - 2 - 2 2週間試験

(1) 動物の状態観察	43
(2) 病理学的検査	48

III - 2 - 3 13週間試験

(1) 動物の状態観察	49
(2) 血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査	57
(3) 病理学的検査	58

IV 考察・結論	62
----------	-------	----

V 文献	66
------	-------	----

T A B L E S

- TABLE 1 EXPERIMENTAL DESIGN AND MATERIALS
IN THE DRINKING WATER (OR GAVAGE) STUDIES OF 1,4-DIOXANE
- TABLE 2 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE RAT(ACUTE STUDIES)
- TABLE 3 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE RAT(ACUTE STUDIES)
-) TABLE 4 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE RAT(TWO-WEEK STUDIES)
- TABLE 5 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE RAT(TWO-WEEK STUDIES)
- TABLE 6 FOOD CONSUMPTION IN MALE RAT(TWO-WEEK STUDIES)
- TABLE 7 FOOD CONSUMPTION IN FEMALE RAT(TWO-WEEK STUDIES)
- TABLE 8 WATER CONSUMPTION IN MALE RAT(TWO-WEEK STUDIES)
- TABLE 9 WATER CONSUMPTION IN FEMALE RAT(TWO-WEEK STUDIES)
- TABLE 10 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE RAT(THIRTEEN-WEEK STUDIES)
-) TABLE 11 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE RAT(THIRTEEN-WEEK STUDIES)
-) TABLE 12 FOOD CONSUMPTION IN MALE RAT(THIRTEEN-WEEK STUDIES)
- TABLE 13 FOOD CONSUMPTION IN FEMALE RAT(THIRTEEN-WEEK STUDIES)
- TABLE 14 WATER CONSUMPTION IN MALE RAT(THIRTEEN-WEEK STUDIES)
- TABLE 15 WATER CONSUMPTION IN FEMALE RAT(THIRTEEN-WEEK STUDIES)
- TABLE 16 NUMBER OF MALE RAT WITH SELECTED LESIONS
- TABLE 17 NUMBER OF FEMALE RAT WITH SELECTED LESIONS

T A B L E S (CONTINUED)

TABLE 18 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE MOUSE(ACUTE STUDIES)

TABLE 19 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE MOUSE(ACUTE STUDIES)

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

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

) TABLE 22 FOOD CONSUMPTION IN MALE MOUSE(TWO-WEEK STUDIES)

TABLE 23 FOOD CONSUMPTION IN FEMALE MOUSE(TWO-WEEK STUDIES)

TABLE 24 WATER CONSUMPTION IN MALE MOUSE(TWO-WEEK STUDIES)

TABLE 25 WATER CONSUMPTION IN FEMALE MOUSE(TWO-WEEK STUDIES)

TABLE 26 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE MOUSE(THIRTEEN-WEEK STUDIES)

TABLE 27 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE MOUSE(THIRTEEN-WEEK STUDIES)

) TABLE 28 FOOD CONSUMPTION IN MALE MOUSE(THIRTEEN-WEEK STUDIES)

) TABLE 29 FOOD CONSUMPTION IN FEMALE MOUSE(THIRTEEN-WEEK STUDIES)

TABLE 30 WATER CONSUMPTION IN MALE MOUSE(THIRTEEN-WEEK STUDIES)

TABLE 31 WATER CONSUMPTION IN FEMALE MOUSE(THIRTEEN-WEEK STUDIES)

TABLE 32 NUMBER OF MALE MOUSE WITH SELECTED LESIONS

TABLE 33 NUMBER OF FEMALE MOUSE WITH SELECTED LESIONS

FIGURES

FIGURE 1 BODY WEIGHT CHANGES : RAT:MALE(ACUTE STUDIES)

FIGURE 2 BODY WEIGHT CHANGES : RAT:FEMALE(ACUTE STUDIES)

FIGURE 3 BODY WEIGHT CHANGES : RAT:MALE(TWO-WEEK STUDIES)

FIGURE 4 BODY WEIGHT CHANGES : RAT:FEMALE(TWO-WEEK STUDIES)

) FIGURE 5 BODY WEIGHT CHANGES : RAT:MALE(THIRTEEN-WEEK STUDIES)

FIGURE 6 BODY WEIGHT CHANGES : RAT:FEMALE(THIRTEEN-WEEK STUDIES)

FIGURE 7 FOOD CONSUMPTION : RAT:MALE(THIRTEEN-WEEK STUDIES)

FIGURE 8 FOOD CONSUMPTION : RAT:FEMALE(THIRTEEN-WEEK STUDIES)

FIGURE 9 WATER CONSUMPTION : RAT:MALE(THIRTEEN-WEEK STUDIES)

FIGURE 10 WATER CONSUMPTION : RAT:FEMALE(THIRTEEN-WEEK STUDIES)

FIGURE 11 BODY WEIGHT CHANGES : MOUSE:MALE(ACUTE STUDIES)

) FIGURE 12 BODY WEIGHT CHANGES : MOUSE:FEMALE(ACUTE STUDIES)

FIGURE 13 BODY WEIGHT CHANGES : MOUSE:MALE(TWO-WEEK STUDIES)

FIGURE 14 BODY WEIGHT CHANGES : MOUSE:FEMALE(TWO-WEEK STUDIES)

FIGURE 15 BODY WEIGHT CHANGES : MOUSE:MALE(THIRTEEN-WEEK STUDIES)

FIGURE 16 BODY WEIGHT CHANGES : MOUSE:FEMALE(THIRTEEN-WEEK STUDIES)

FIGURE 17 FOOD CONSUMPTION : MOUSE:MALE(THIRTEEN-WEEK STUDIES)

FIGURE 18 FOOD CONSUMPTION : MOUSE:FEMALE(THIRTEEN-WEEK STUDIES)

FIGURE 19 WATER CONSUMPTION : MOUSE:MALE(THIRTEEN-WEEK STUDIES)

FIGURE 20 WATER CONSUMPTION : MOUSE:FEMALE(THIRTEEN-WEEK STUDIES)

PHOTOGRAPHS

- PHOTOGRAPH 1 NASAL CAVITY (LEVEL 3),
NUCLEAR ENLARGEMENT: OLFACTORY EPITHELIUM SUPPORTING CELL
RAT, MALE, 25000ppm, ANIMAL NO.0053-1506 (H.E., X300)
- PHOTOGRAPH 2 NASAL CAVITY (LEVEL 2),
NUCLEAR ENLARGEMENT: RESPIRATORY EPITHELIUM
RAT, MALE, 25000ppm, ANIMAL NO.0053-1510 (H.E., X150)
- PHOTOGRAPH 3 TRACHEA
NUCLEAR ENLARGEMENT: EPITHELIUM
RAT, MALE, 25000ppm, ANIMAL NO.0053-1507 (H.E., X150)
-) PHOTOGRAPH 4 LIVER
SWELLING: CENTRAL
RAT, FEMALE, 25000ppm, ANIMAL NO.0053-2506 (H.E., X300)
- PHOTOGRAPH 5 LIVER
VACUOLIC CHANGE: CENTRAL
RAT, FEMALE, 25000ppm, ANIMAL NO.0053-2501 (H.E., X150)
- PHOTOGRAPH 6 KIDNEY
HYDROPOIC CHANGE: PROXIMAL TUBULE
RAT, FEMALE, 5102mg/kg, ANIMAL NO.0003-2302 (H.E., X150)
-) PHOTOGRAPH 7 KIDNEY
REGENERATION: PROXIMAL TUBULE
RAT, MALE, 25000ppm, ANIMAL NO.0053-1509 (H.E., X150)
- PHOTOGRAPH 8 KIDNEY
NUCLEAR ENLARGEMENT: PROXIMAL TUBULE
RAT, MALE, 25000ppm, ANIMAL NO.0053-1508 (H.E., X150)
- PHOTOGRAPH 9 BRAIN
VACUOLIC CHANGE (HIPPOCAMPUS)
RAT, MALE, 25000ppm, ANIMAL NO.0053-1507 (H.E., X60)
- PHOTOGRAPH 10 BRAIN
VACUOLIC CHANGE (THALAMUS)
RAT, MALE, 25000ppm, ANIMAL NO.0053-1510 (H.E., X60)

PHOTOGRAPHS (CONTINUED)

-)
- PHOTOGRAPH 11 KIDNEY
TUBULAR NECROSIS:CORTICO-MEDULLARY JUNCTION
MOUSE, FEMALE, 6923mg/kg, ANIMAL NO.0004-2409(H.E.,X150)
- PHOTOGRAPH 12 NASAL CAVITY(LEVEL 3)
EOSINOPHILIC CHANGE:OLFACTORY EPITHELIUM
MOUSE, FEMALE, 25000ppm, ANIMAL NO.0054-2506(H.E.,X300)
- PHOTOGRAPH 13 NASAL CAVITY(LEVEL 3)
EOSINOPHILIC CHANGE:RESPIRATORY EPITHELIUM
MOUSE, FEMALE, 25000ppm, ANIMAL NO.0054-2506(H.E.,X600)
-)
- PHOTOGRAPH 14 NASAL CAVITY(LEVEL 2)
NUCLEAR ENLARGEMENT:OLFACTORY EPITHELIUM
MOUSE, MALE, 25000ppm, ANIMAL NO.0054-1502(H.E.,X600)
- PHOTOGRAPH 15 NASAL CAVITY(LEVEL 2)
NUCLEAR ENLARGEMENT:RESPIRATORY EPITHELIUM
MOUSE, FEMALE, 25000ppm, ANIMAL NO.0054-2506(H.E.,X300)
- PHOTOGRAPH 16 NASAL CAVITY(LEVEL 2)
VACUOLIC CHANGE:OLFACTORY NERVE
MOUSE, FEMALE, 25000ppm, ANIMAL NO.0054-2506(H.E.,X300)
-)
- PHOTOGRAPH 17 TRACHEA
NUCLEAR ENLARGEMENT:EPITHELIUM
MOUSE, FEMALE, 25000ppm, ANIMAL NO.0054-2504(H.E.,X300)
- PHOTOGRAPH 18 LUNG/BRONCH
ACCUMURATION OF FOAMY CELLS, NUCLEAR ENLARGEMENT:EPITHELIUM
MOUSE, FEMALE, 25000ppm, ANIMAL NO.0054-2504(H.E.,X300)
- PHOTOGRAPH 19 LUNG/BRONCH
DEGENERATION:BRONCHIAL EPITHELIUM
MOUSE, FEMALE, 25000ppm, ANIMAL NO.0054-2504(H.E.,X150)
- PHOTOGRAPH 20 LIVER
NECROSIS:SINGLE CELL, SWELLING:CENTRAL
MOUSE, MALE, 25000ppm, ANIMAL NO.0054-1509(H.E.,X300)

APPENDIXES

APPENDIX A 1-1 CLINICAL OBSERVATION (ACUTE STUDIES:SUMMARY)
RAT:MALE

APPENDIX A 1-2 CLINICAL OBSERVATION (ACUTE STUDIES:SUMMARY)
RAT:FEMALE

APPENDIX A 1-3 CLINICAL OBSERVATION (ACUTE STUDIES:SUMMARY)
MOUSE:MALE

APPENDIX A 1-4 CLINICAL OBSERVATION (ACUTE STUDIES:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE

APPENDIX A 2-1 GROSS FINDINGS (ACUTE STUDIES:SUMMARY)
RAT:MALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS

APPENDIX A 2-2 GROSS FINDINGS (ACUTE STUDIES:SUMMARY)
RAT:FEMALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS

APPENDIX A 2-3 GROSS FINDINGS (ACUTE STUDIES:SUMMARY)
RAT:MALE:SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX A 2-4 GROSS FINDINGS (ACUTE STUDIES:SUMMARY)
RAT:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX A 2-5 GROSS FINDINGS (ACUTE STUDIES:SUMMARY)
MOUSE:MALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS

APPENDIX A 2-6 GROSS FINDINGS (ACUTE STUDIES:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS

APPENDIX A 2-7 GROSS FINDINGS (ACUTE STUDIES:SUMMARY)
MOUSE:MALE:SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX A 2-8 GROSS FINDINGS (ACUTE STUDIES:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX A 3-1 HISTOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS (ACUTE STUDIES:SUMMARY)
RAT:MALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS

APPENDIX A 3-2 HISTOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS (ACUTE STUDIES:SUMMARY)
RAT:FEMALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS

APPENDIX A 3-3 HISTOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS (ACUTE STUDIES:SUMMARY)
RAT:MALE:SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX A 3-4 HISTOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS (ACUTE STUDIES:SUMMARY)
RAT:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS

APPENDICES (CONTINUED)

- APPENDIX A 3-5 HISTOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS (ACUTE STUDIES:SUMMARY)
MOUSE:MALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS
- APPENDIX A 3-6 HISTOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS (ACUTE STUDIES:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE:DEAD AND MRIBUND ANIMALS
- APPENDIX A 3-7 HISTOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS (ACUTE STUDIES:SUMMARY)
MOUSE:MALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX A 3-8 HISTOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS (ACUTE STUDIES:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX A 4-1 IDENTITY AND PURITY IN THE ACUTE STUDIES OF 1,4-DIOXANE
PERFORMED AT THE JAPAN BIOASSAY LABORATORY
- APPENDIX A 4-2 STABILITY IN THE ACUTE STUDIES OF 1,4-DIOXANE
AT THE JAPAN BIOASSAY LABORATORY
- APPENDIX A 4-3 RESULTS OF ANALYSIS OF FORMULATED DRINKING WATER
IN THE ACUTE STUDIES OF 1,4-DIOXANE
- APPENDIX A 5-1 GROSS FINDINGS (ACUTE STUDIES:INDIVIDUAL)
RAT:MALE
- APPENDIX A 5-2 GROSS FINDINGS (ACUTE STUDIES:INDIVIDUAL)
RAT:FEMALE
- APPENDIX A 5-3 GROSS FINDINGS (ACUTE STUDIES:INDIVIDUAL)
MOUSE:MALE
- APPENDIX A 5-4 GROSS FINDINGS (ACUTE STUDIES:INDIVIDUAL)
MOUSE:FEMALE
- APPENDIX A 6-1 HISTOLOGICAL FINDINGS (ACUTE STUDIES:INDIVIDUAL)
RAT:MALE
- APPENDIX A 6-2 HISTOLOGICAL FINDINGS (ACUTE STUDIES:INDIVIDUAL)
RAT:FEMALE
- APPENDIX A 6-3 HISTOLOGICAL FINDINGS (ACUTE STUDIES:INDIVIDUAL)
MOUSE:MALE
- APPENDIX A 6-4 HISTOLOGICAL FINDINGS (ACUTE STUDIES:INDIVIDUAL)
MOUSE:FEMALE

APPENDICES (CONTINUED)

APPENDIX B 1-1 CHEMICAL INTAKE CHANGES (TWO-WEEK STUDIES:SUMMARY)
RAT:MALE

APPENDIX B 1-2 CHEMICAL INTAKE CHANGES (TWO-WEEK STUDIES:SUMMARY)
RAT:FEMALE

APPENDIX B 1-3 CHEMICAL INTAKE CHANGES (TWO-WEEK STUDIES:SUMMARY)
MOUSE:MALE

APPENDIX B 1-4 CHEMICAL INTAKE CHANGES (TWO-WEEK STUDIES:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE

APPENDIX B 2-1 CLINICAL OBSERVATION (TWO-WEEK STUDIES:SUMMARY)
RAT:MALE

APPENDIX B 2-2 CLINICAL OBSERVATION (TWO-WEEK STUDIES:SUMMARY)
RAT:FEMALE

APPENDIX B 2-3 CLINICAL OBSERVATION (TWO-WEEK STUDIES:SUMMARY)
MOUSE:MALE

APPENDIX B 2-4 CLINICAL OBSERVATION (TWO-WEEK STUDIES:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE

APPENDIX B 3-1 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDIES:SUMMARY)
RAT:MALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS

APPENDIX B 3-2 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDIES:SUMMARY)
RAT:FEMALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS

APPENDIX B 3-3 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDIES:SUMMARY)
RAT:MALE:SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX B 3-4 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDIES:SUMMARY)
RAT:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX B 3-5 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDIES:SUMMARY)
MOUSE:MALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS

APPENDIX B 3-6 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDIES:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS

APPENDIX B 3-7 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDIES:SUMMARY)
MOUSE:MALE:SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX B 3-8 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDIES:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS

APPENDICES (CONTINUED)

- APPENDIX B 4-1 HISTOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-WEEK STUDIES:SUMMARY)
RAT:MALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS
- APPENDIX B 4-2 HISTOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-WEEK STUDIES:SUMMARY)
RAT:FEMALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS
- APPENDIX B 4-3 HISTOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-WEEK STUDIES:SUMMARY)
RAT:MALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX B 4-4 HISTOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-WEEK STUDIES:SUMMARY)
RAT:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX B 4-5 HISTOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-WEEK STUDIES:SUMMARY)
MOUSE:MALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS
- APPENDIX B 4-6 HISTOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-WEEK STUDIES:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE:DEAD AND MRIBUND ANIMALS
- APPENDIX B 4-7 HISTOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-WEEK STUDIES:SUMMARY)
MOUSE:MALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX B 4-8 HISTOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-WEEK STUDIES:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX B 5-1 IDENTITY AND PURITY IN THE TWO-WEEK STUDIES OF 1,4-DIOXANE
PERFORMED AT THE JAPAN BIOASSAY LABORATORY
- APPENDIX B 5-2 STABILITY IN THE TWO-WEEK STUDIES OF 1,4-DIOXANE
AT THE JAPAN BIOASSAY LABORATORY
- APPENDIX B 5-3 RESULTS OF ANALYSIS OF FORMULATED DRINKING WATER
IN THE TWO-WEEK STUDIES OF 1,4-DIOXANE
- APPENDIX B 5-4 RESULTS OF STABILITY OF FORMULATED DRINKING WATER
IN THE TWO-WEEK STUDIES OF 1,4-DIOXANE

APPENDICES (CONTINUED)

APPENDIX B 6-1 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL)
RAT:MALE

APPENDIX B 6-2 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL)
RAT:FEMALE

APPENDIX B 6-3 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL)
MOUSE:MALE

APPENDIX B 6-4 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL)
MOUSE:FEMALE

APPENDIX B 7-1 HISTOLOGICAL FINDINGS (TWO-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL)
RAT:MALE

APPENDIX B 7-2 HISTOLOGICAL FINDINGS (TWO-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL)
RAT:FEMALE

APPENDIX B 7-3 HISTOLOGICAL FINDINGS (TWO-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL)
MOUSE:MALE

APPENDIX B 7-4 HISTOLOGICAL FINDINGS (TWO-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL)
MOUSE:FEMALE

APPENDICES (CONTINUED)

- APPENDIX C 1 CHEMICAL INTAKE CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY)
RAT:MALE
- APPENDIX C 2 CHEMICAL INTAKE CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY)
RAT:FEMALE
- APPENDIX C 3 CHEMICAL INTAKE CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY)
MOUSE:MALE
- APPENDIX C 4 CHEMICAL INTAKE CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE

- APPENDIX D 1 CLINICAL OBSERVATION (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY)
RAT:MALE
- APPENDIX D 2 CLINICAL OBSERVATION (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY)
RAT:FEMALE
- APPENDIX D 3 CLINICAL OBSERVATION (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY)
MOUSE:MALE
- APPENDIX D 4 CLINICAL OBSERVATION (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE

- APPENDIX E 1 BODY WEIGHT CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY)
RAT:MALE
- APPENDIX E 2 BODY WEIGHT CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY)
RAT:FEMALE
- APPENDIX E 3 BODY WEIGHT CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY)
MOUSE:MALE
- APPENDIX E 4 BODY WEIGHT CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE

- APPENDIX F 1 FOOD CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY)
RAT:MALE
- APPENDIX F 2 FOOD CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY)
RAT:FEMALE
- APPENDIX F 3 FOOD CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY)
MOUSE:MALE
- APPENDIX F 4 FOOD CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE

APPENDICES (CONTINUED)

APPENDIX G 1 WATER CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY)
RAT:MALE

APPENDIX G 2 WATER CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY)
RAT:FEMALE

APPENDIX G 3 WATER CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY)
MOUSE:MALE

APPENDIX G 4 WATER CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE

APPENDIX H 1 HEMATOLOGY (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY)
RAT:MALE

APPENDIX H 2 HEMATOLOGY (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY)
RAT:FEMALE

APPENDIX H 3 HEMATOLOGY (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY)
MOUSE:MALE

APPENDIX H 4 HEMATOLOGY (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE

APPENDIX I 1 BIOCHEMISTRY (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY)
RAT:MALE

APPENDIX I 2 BIOCHEMISTRY (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY)
RAT:FEMALE

APPENDIX I 3 BIOCHEMISTRY (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY)
MOUSE:MALE

APPENDIX I 4 BIOCHEMISTRY (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE

APPENDIX J 1 URINALYSIS (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY)
RAT:MALE

APPENDIX J 2 URINALYSIS (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY)
RAT:FEMALE

APPENDIX J 3 URINALYSIS (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY)
MOUSE:MALE

APPENDIX J 4 URINALYSIS (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE

APPENDICES (CONTINUED)

- APPENDIX K 1 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY)
RAT:FEMALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS
- APPENDIX K 2 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY)
RAT:MALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX K 3 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY)
RAT:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX K 4 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY)
MOUSE:MALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS
- APPENDIX K 5 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY)
MOUSE:MALE:SACRIFICED ANIMALS
-) APPENDIX K 6 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS

- APPENDIX L 1 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY), ABSOLUTE
RAT:MALE
- APPENDIX L 2 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY), ABSOLUTE
RAT:FEMALE
- APPENDIX L 3 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY), ABSOLUTE
MOUSE:MALE
- APPENDIX L 4 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY), ABSOLUTE
MOUSE:FEMALE

-) APPENDIX M 1 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY), RELATIVE
RAT:MALE
- APPENDIX M 2 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY), RELATIVE
RAT:FEMALE
- APPENDIX M 3 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY), RELATIVE
MOUSE:MALE
- APPENDIX M 4 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY), RELATIVE
MOUSE:FEMALE

APPENDICES (CONTINUED)

- APPENDIX N 1 HISTOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS
(THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY) RAT:FEMALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS
- APPENDIX N 2 HISTOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS
(THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY) RAT:MALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX N 3 HISTOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS
(THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY) RAT:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX N 4 HISTOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS
(THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY) MOUSE:MALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS
- APPENDIX N 5 HISTOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS
(THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY) MOUSE:MALE:SACRIFICED ANIMALS
-) APPENDIX N 6 HISTOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS
(THIRTEEN-WEEK STUDIES:SUMMARY) MOUSE:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS

- APPENDIX O 1 IDENTITY AND PURITY IN THE THIRTEEN-WEEK STUDIES OF 1,4-DIOXANE
PERFORMED AT THE JAPAN BIOASSAY LABORATORY
- APPENDIX O 2 STABILITY IN THE THIRTEEN-WEEK STUDIES OF 1,4-DIOXANE
AT THE JAPAN BIOASSAY LABORATORY
- APPENDIX O 3 RESULTS OF ANALYSIS OF FORMULATED DRINKING WATER
IN THE THIRTEEN-WEEK STUDIES OF 1,4-DIOXANE
- APPENDIX O 4 RESULTS OF STABILITY OF FORMULATED DRINKING WATER
IN THE THIRTEEN WEEK STUDIES OF 1,4-DIOXANE

-) APPENDIX P 1 METHODS FOR HEMATOLOGY,BIOCHEMISTRY AND URINALYSIS
- APPENDIX P 2 UNITS AND DECIMAL PLACE FOR HEMATOLOGY AND BIOCHEMISTRY

APPENDICES (CONTINUED)

- APPENDIX Q 1 BODY WEIGHT CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL)
RAT:MALE
- APPENDIX Q 2 BODY WEIGHT CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL)
RAT:FEMALE
- APPENDIX Q 3 BODY WEIGHT CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL)
MOUSE:MALE
- APPENDIX Q 4 BODY WEIGHT CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL)
MOUSE:FEMALE
- APPENDIX R 1 FOOD CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL)
RAT:MALE
- APPENDIX R 2 FOOD CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL)
RAT:FEMALE
- APPENDIX R 3 FOOD CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL)
MOUSE:MALE
- APPENDIX R 4 FOOD CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL)
MOUSE:FEMALE
- APPENDIX S 1 WATER CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL)
RAT:MALE
- APPENDIX S 2 WATER CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL)
RAT:FEMALE
- APPENDIX S 3 WATER CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL)
MOUSE:MALE
- APPENDIX S 4 WATER CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL)
MOUSE:FEMALE
- APPENDIX T 1 HEMATOLOGY (THIRTEEN-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL)
RAT:MALE
- APPENDIX T 2 HEMATOLOGY (THIRTEEN-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL)
RAT:FEMALE
- APPENDIX T 3 HEMATOLOGY (THIRTEEN-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL)
MOUSE:MALE
- APPENDIX T 4 HEMATOLOGY (THIRTEEN-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL)
MOUSE:FEMALE

APPENDICES (CONTINUED)

- APPENDIX U 1 BIOCHEMISTRY (THIRTEEN-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL)
RAT:MALE
- APPENDIX U 2 BIOCHEMISTRY (THIRTEEN-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL)
RAT:FEMALE
- APPENDIX U 3 BIOCHEMISTRY (THIRTEEN-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL)
MOUSE:MALE
- APPENDIX U 4 BIOCHEMISTRY (THIRTEEN-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL)
MOUSE:FEMALE

-) APPENDIX V 1 URINALYSIS (THIRTEEN-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL)
RAT:MALE
- APPENDIX V 2 URINALYSIS (THIRTEEN-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL)
RAT:FEMALE
- APPENDIX V 3 URINALYSIS (THIRTEEN-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL)
MOUSE:MALE
- APPENDIX V 4 URINALYSIS (THIRTEEN-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL)
MOUSE:FEMALE

-) APPENDIX W 1 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL)
RAT:MALE
- APPENDIX W 2 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL)
RAT:FEMALE
- APPENDIX W 3 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL)
MOUSE:MALE
- APPENDIX W 4 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL)
MOUSE:FEMALE

APPENDICES (CONTINUED)

- APPENDIX X 1 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL),ABSOLUTE
RAT:MALE
- APPENDIX X 2 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL),ABSOLUTE
RAT:FEMALE
- APPENDIX X 3 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL),ABSOLUTE
MOUSE:MALE
- APPENDIX X 4 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL),ABSOLUTE
MOUSE:FEMALE
-) APPENDIX Y 1 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL),RELATIVE
RAT:MALE
-) APPENDIX Y 2 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL),RELATIVE
RAT:FEMALE
- APPENDIX Y 3 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL),RELATIVE
MOUSE:MALE
- APPENDIX Y 4 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL),RELATIVE
MOUSE:FEMALE
-) APPENDIX Z 1 HISTOLOGICAL FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL)
RAT:MALE
- APPENDIX Z 2 HISTOLOGICAL FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL)
RAT:FEMALE
-) APPENDIX Z 3 HISTOLOGICAL FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL)
MOUSE:MALE
- APPENDIX Z 4 HISTOLOGICAL FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDIES:INDIVIDUAL)
MOUSE:FEMALE

要約

1,4-ジオキサンのがん原性予備試験としてF344/DuCrj(Fischer)ラット、Crj:BDF₁マウスを用いて急性試験、2週間試験、13週間試験を実施した。

急性試験は、雌雄各群10匹、6群の構成でラット120匹、マウス120匹を用いた。投与は、1,4-ジオキサンを水溶液とし、ラットには10000mg/kg、7143mg/kg、5102mg/kg、3644mg/kg、2603mg/kg·body-weight(公比1.4)、マウスには9000mg/kg、6923mg/kg、5325mg/kg、4096mg/kg、3151mg/kg·body-weight(公比1.3)を、胃ゾンデにより胃内に1回強制経口投与し、その後2週間の観察を行った。なお、対照群には溶媒である脱イオン水のみを与えた。観察、検査項目として一般症状、体重測定、病理学的検査を行った。これより、急性試験において、ラットの雄は、投与後2週間までに10000mg/kg群で全例、7143mg/kg群では8例死亡し、5102mg/kg以下の群では死亡例はみられなかった。また、雌は、7143mg/kg以上の群で全例、5102mg/kg群では5例死亡し、3644mg/kg以下の群では死亡例はみられなかつた。マウスでは雌雄とも投与後2週間までに6923mg/kg以上の群で全例、5325mg/kg群では6例死亡し、4096mg/kg以下の群では死亡例はみられなかつた。病理学的検査より、1,4-ジオキサンによる影響がラットでは腎臓と肝臓、マウスでは腎臓にみられた。

以上の結果より、2週間試験の飲水での最高投与濃度は、1,4-ジオキサンの1日の摂取量が5000mg/kg程度になるよう動物の摂水量を考慮して、おおよそ9000ppmが適当と考えられた。

2週間試験は、雌雄各群10匹、6群の構成でラット120匹、マウス120匹を用いた。投与は、1,4-ジオキサンを飲水にラット、マウスとともに9000ppm、30000ppm、10000ppm、3330ppm、1110ppm(公比3.0)及び対照群(0ppm)となるように調製し、2週間自由摂取させた。観察、検査項目として、一般症状の観察、体重・摂餌量・摂水量の測定、病理学的検査を行つた。これより、ラットは9000ppm群で雌雄とも全例、30000ppm群の雌で2例死亡した。また、雌雄とも10000ppm以上の群で全期間において体重増加の抑制が認められた。マウスは、9000ppm群のみに死亡例がみられ、雄では9例、雌では全例死亡した。また、雌雄ともに10000ppm以上の群で全期間を通して体重増加の抑制が認められた。病理的には、ラットでは、肝臓、鼻腔、脳、腎臓に、またマウスでは、肝臓に1,4-ジオキサンによる影響が示唆された。これより13週間試験において最高投与濃度を30000ppm以上とした場合に、1,4-ジオキサンの毒性に動物が耐えられないことが予想され、これより少し低い濃度が望ましいと思われた。また、最低投与濃度は無作用濃度を把握するため、2週間試

験で剖検所見が認められた1100ppmより低い濃度が望ましいと思われた。

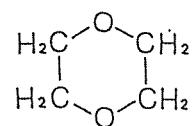
13週間試験は、雌雄各群10匹、6群の構成でラット120匹、マウス120匹を用いた。投与は、1,4-ジオキサンを飲水にラット、マウスとともに25000ppm、10000ppm、4000ppm、1600ppm、640ppm(公比2.5)及び対照群(0ppm)となるよう調製し、13週間自由摂取させた。観察、検査項目として一般症状、体重・摂餌量・摂水量の測定、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、臓器重量測定、病理組織学的検査を行った。これよりラットでは10000ppm以上の群で体重値と摂水量の低下、病理組織学的に鼻腔、気管、肝臓、腎臓、脳などに強い変化を認め、4000ppm群で摂水量の低下と鼻腔、気管、肝臓などの変化、1600ppm群で鼻腔、肝臓に変化がみられ、これらは1,4-ジオキサンの投与による影響であると考えられた。なお、640ppm群には著変はみられなかつた。また、マウスでは25000ppm群はラットの10000ppm以上の群と同様の所見が示され、10000ppm、4000ppm群では摂水量の低下と鼻腔、気管、肺、肝臓などの変化が認められ、これらの所見は1,4-ジオキサンの投与による影響であると考えられた。1600ppm群では肺に変化がみられたのみで640ppm群には著変はみられなかつた。

以上のことから、ラットの1,4-ジオキサンに対する感受性はマウスよりもやや高いことがうかがえた。

以上の結果を、総合的に考慮してがん原性試験の投与濃度を以下のように決定した。まず、中間投与濃度は発がんのボーダーライン近辺であり、しかも1,4-ジオキサンによる一般毒性が強く発現しないと考えられる濃度であるとすれば、ラットでは640～1600ppm、マウスではラットより1,4-ジオキサンに対する感受性が低いことを考慮すると1600ppmより、やや高い濃度の設定が考えられ、ラットで1000ppm、マウスで2000ppmと決定した。次に最高投与濃度は、強い毒性変化は現われないが、確実に発がんが証明できる濃度として、NCI(1978)が5000ppm以上の濃度で発がんを報告していることを考慮し、ラットでは5000ppmとし、マウスでは8000ppmと決定した。これよりラットの公比は5、マウスの公比は4となつたことより必然的に最低投与濃度は、ラットは200ppm、マウスでは500ppmと決定した。

1,4-ジオキサンについて

<構造式、分子量>



C₄H₈O₂

分子量 : 88.1

CAS.No. : 123-91-1

<名称と別名>

名 称 : 1,4-ジオキサン(1,4-Dioxane)

別 名 : Diethylene dioxide

1,4-Diethylene dioxide

Diethylene ether

Di(ethylene oxide)

1,4-Dioxacyclohexane

<物理化学的性状等>

性 状 : 無色、引火性の液体

沸 点 : 101°C

融 点 : 11.8°C

比 重 : d₄²⁰ 1.0329

蒸 气 压 : 37mmHg(25°C)

溶 解 性 : 水、エタノール、エーテル、その他通常の有機溶媒に可溶

保存条件 : 室温、遮光条件下で気密容器に保存

<用途>

1,4-ジオキサンは、皮革の表面処理、トランジスター、塗料、反応用、医薬品等の溶剤として、また、トリクロロエチレンの安定剤として使用されている。(文献 1,4)

<生産量>

1,4-ジオキサンの生産量は1968年に600t、1972年に2200t、1978年に2300t、1988年に7000tであり、その中で1974年に60~70t、1975年に約100tが主としてイギリスとオーストラリアに輸出された。(文献 1,5,6,7)

<許容濃度>

作業環境中の1,4-ジオキサンの許容濃度は日本(日本産業衛生学会)では、10ppm(1990)で経皮的に侵入し、全身的影響を起こしうる物質とされ、また、アメリカ(ACGIH)では25ppmである。(文献 8,9)

<人への影響>

1,4-ジオキサンは気中濃度が300ppmで眼、鼻、咽頭に刺激を感じさせる(文献 10)。また、高濃度に暴露された場合には、死亡例、治癒例とともに食欲不振、恶心、嘔吐などの消化器症状を訴え、死亡例ではさらに腹部から腰部にかけての疼痛、呼吸器の刺激症状、乏尿、嗜眠が観察され、2週間以内に意識混濁を経て死亡した。その剖検で死因は、出血性腎炎によるとされ、組織学的には腎臓皮質の壊死と出血がみられたとされている。

(文献 11)

I 試験材料

I - 1 被験物質の使用ロット等

使用ロット番号

急性試験：WKE1190

2週間試験：PEN6246

13週間試験：CDP4224

製造元：和光純薬工業株式会社

グレード：特級

純度：99%以上

水分：0.3%以下

不揮発物：0.01%以下

安定剤：ブチルヒドロキシトルエン 約5ppm

I - 2 被験物質の同一性と安定性

I - 2 - 1 同一性

同一性については、1,4-ジオキサンを各ロット毎に沸点、赤外吸収スペクトルを測定し、文献値と比較することにより、同一であることを確認した。なお、それらの結果について、急性試験はAppendix A 4-1、2週間試験はAppendix B 5-1、13週間試験はAppendix O 1に示した。

I - 2 - 2 安定性

安定性については、1,4-ジオキサンを各ロット毎に受領時及びその使用終了時に、沸点、赤外吸収スペクトル、ガスクロマトグラムを測定し、安定であることを確認した。なお、それらの結果について、急性試験はAppendix A 4-1、2週間試験はAppendix B 5-1、13週間試験はAppendix O 1に示した。

I - 3 試験動物

動物は、急性試験、2週間試験及び13週間試験とともに、日本チャールス・リバー(株)のF344/DuCrj(Fischer)ラット(SPF)及びCrj:BDF₁マウス(SPF)の雌雄を使用した。

急性試験で使用した動物は、ラット、マウスとも雌雄各72匹を生後5週令で導入し（出荷時体重範囲、ラット雄：85～100g、雌：80～90g、マウス雄：20～25g、雌：15～19g）、1週間の検疫、馴化を経た後、発育順調で一般症状に異常を認めなかつた動物から、体重値の中央値に近い雌雄各60匹（投与開始時体重範囲、ラット雄：104～119g、雌：86～95g、マウス雄：19.9～22.0g、雌：15.9～18.1g）を選別し、試験に供した。なお、動物の選別に先立ち、被験物質投与のための動物への前処置として、投与前日より絶食（18時間以上）を行つた。

2週間試験で使用した動物は、ラット、マウスとも雌雄各72匹を生後4週令で導入し（出荷時体重範囲、ラット雄：55～65g、雌：50～60g、マウス雄：15～20g、雌：13～17g）、2週間の検疫、馴化を経た後、発育順調で一般症状に異常を認めなかつた動物から、体重値の中央値に近い雌雄各60匹（投与開始時体重範囲、ラット雄：125～141g、雌：100～109g、マウス雄：22.2～24.9g、雌：18.6～20.7g）を選別し、試験に供した。

13週間試験で使用した動物は、ラット、マウスとも雌雄各72匹を生後4週令で導入し（出荷時体重範囲、ラット雄：50～75g、雌：50～65g、マウス雄：13～21g、雌：12～20g）、2週間の検疫、馴化を経た後、発育順調で一般症状に異常を認めなかつた動物から、体重値の中央値に近い雌雄各60匹（投与開始時体重範囲、ラット雄：123～137g、雌：97～107g、マウス雄：21.8～24.9g、雌：17.9～19.8g）を選別し、試験に供した。

なお、これらのがん原性予備試験でF344/DuCrj(Fischer)ラット及びCrj:BDF₁マウスを選択した理由は、がん原性試験での使用動物と合致させることによるが、がん原性試験における使用動物の選択理由は以下のとおりである。

がん原性試験における使用動物の選択理由

- イ) 遺伝的に安定している。
- ロ) 腫瘍の自然発生率が低い。
- ハ) 過去にがん原性試験のデータがあり、化学物質による腫瘍発生の感受性が知られている。

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

急性試験は、1,4-ジオキサンの水溶液を胃ゾンデによって胃内に1回強制経口投与した。動物は投与前日より絶食させ、投与容量は各群とも、体重（投与当日測定）10g当り0.1mℓとした。なお、対照群についても同様に脱イオン水を胃ゾンデによって胃内に体重10g当り0.1mℓ強制経口投与した。

2週間試験と13週間試験については、1,4-ジオキサンを溶解した飲水の自由摂取とし、2週間試験では14日間連続、13週間試験では92～94日間連続投与とした。また、対照群については脱イオン水の自由摂取とした。

II-1-2 投与量または投与濃度及びその設定理由

急性試験では、ラットの最高用量を10000mg/kg（体重1Kg当りの投与量）に設定し、それ以下、7143mg/kg、5102mg/kg、3644mg/kg、2603mg/kg（公比1.4）とした。マウスでは、最高用量を9000mg/kgに設定し、それ以下、6923mg/kg、5325mg/kg、4096mg/kg、3151mg/kg（公比1.3）とした。

2週間試験では、ラット、マウスとも最高濃度を90000ppmに設定し、以下、30000ppm、10000ppm、3330ppm、1110ppm（公比3.0）とした。

13週間試験では、ラット、マウスとも最高濃度を25000ppmに設定し、以下、10000ppm、4000ppm、1600ppm、640ppm（公比2.5）とした。

なお、濃度設定の理由としては、急性試験に関しては、文献値（文献1）等の結果を参考にして、2週間試験については、急性試験の結果を参考にして、また、13週間試験については2週間試験の結果を参考にして、各自設定した。

II-1-3 濃度調製

急性試験では、投与当日、1,4-ジオキサンを脱イオン水（高圧蒸気滅菌）に溶解し、最高投与群の被験物質溶液を調製後、段階希釈により各投与群の被験物質溶液を調製した。なお、投与濃度は、ラットでは、1000g/ℓを最高濃度とし、以下714.3g/ℓ、510.2g/ℓ、364.4g/ℓ、260.3g/ℓとし、マウスでは、900g/ℓを最高濃度として、以下692.3g/ℓ、532.5g/ℓ、409.6g/ℓ、315.1g/ℓとした。

2週間試験と13週間試験では1,4-ジオキサンを脱イオン水（紫外線・フィルター滅菌）により混合して所定の濃度（2週間試験は10%、13週間試験は16%（W/W））に調製し、さらに、各設定濃度になるように脱イオン水を加え、希釈調製した。なお、本試験における濃度の表示は%値 ppm値とともに、重量対重量比とした。また、調製頻度は飲水の交換にあわせて週2回とした。

II - 1 - 4 調製時における濃度測定

急性、2週間、13週間試験で投与した1,4-ジオキサン溶液の濃度は、ガスクロマトグラフ法によって測定し、設定濃度に対し急性試験では97～101%、2週間試験では92～100%、13週間試験では95～103%の範囲に各々調製されていることを確認した。なお、それらの結果について、急性試験はAppendix A 4-3、2週間試験はAppendix B 5-3、13週間試験はAppendix O 3に示した。

II - 1 - 5 投与条件下における被験物質の安定性

飲水中の1,4-ジオキサンの安定性については、その濃度をガスクロマトグラフ法により測定し、4日間の安定性を確認した。なお、それらの結果について、2週間試験はAppendix B 5-4、13週間試験はAppendix O 4に示した。

II - 1 - 6 被験物質の摂取量

2週間試験、13週間試験の1,4-ジオキサンの摂取量は、体重と摂水量の測定値及び設定濃度から算出した。

なお、それらの結果について、2週間試験はAppendix B 1-1～4、13週間試験はAppendix C 1～4に示した。

II - 2 動物管理

II - 2 - 1 群分け及び個体識別方法

試験に使用する動物の各投与群への割り当ては、急性試験、2週間試験及び13週間試験とともに、体重の偏りを小さくする群分け方法（適正層別方式）により実施した（文献2）。

試験期間中の動物の個体識別は、急性試験、2週間試験及び13週間試験とともに、ケージに個体識別番号を付すことにより行った。

なお、ラットとマウスは、急性試験、2週間試験及び13週間試験とともに、バリア区域内の独立した室にそれぞれ収容し、各室に試験番号、動物種及び動物番号を表示し、他試験と区別した。

II - 2 - 2 飼育条件

動物は、急性試験、2週間試験及び13週間試験とともに、温度 $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $50 \pm 5\%$ 、明暗サイクル：12時間点灯（8:00～20:00）／12時間消灯（20:00～8:00）、換気回数15～17回／時のバリアシステムの飼育室において飼育した。また、急性試験の検疫、馴化期間中及び2週間試験と13週間試験の検疫期間中は1ケージ当たり5匹の群飼（ステンレス製網ケージ、ラット：340W×294D×176H mm、マウス：220W×212D×120H mm）、2週間試験と13週間試験の馴化、投与期間中は1ケージ当たり1匹の単飼（ステンレス製網ケージ、ラット：170W×294D×176H mm、マウス：112W×212D×120H mm）の条件下で飼育した。なお、飼育ラックならびにケージは2週間毎に交換した。

飼料は、急性試験、2週間試験及び13週間試験とともに、オリエンタル酵母工業（株）のCRF-1固型飼料（3Mrad=30KGy-γ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。なお、急性試験においては、投与前日から投与終了時までは絶食（18時間以上）した。また、飲水は、急性試験の全飼育期間、2週間試験及び13週間試験の検疫期間では、市水（秦野市水道局供給）をフィルターろ過した後、紫外線滅菌し、自動給水により自由摂取させ、また、2週間試験及び13週間試験の馴化、投与期間では、同市水をフィルターろ過し、脱イオンした後、紫外線滅菌し、さらにフィルターろ過したものを使用し、給水瓶により自由摂取させた。

II - 3 観察・検査項目及び方法

II - 3 - 1 動物の一般症状の観察

急性試験では投与日は1,4-ジオキサン投与後、1、2、4及び6時間に、それ以降は毎日1回、また2週間試験及び13週間試験では毎日1回、動物の一般症状の観察を行った。

II - 3 - 2 体重測定

急性試験では観察期間の1週1日、1週2日、1週3日、1週4日、1週7日、2週3日及び2週7日、2週間試験では投与開始後1週1日、1週2日、1週4日、1週7日、2週3日及び2週7日、13週間試験では投与開始後毎週1回、体重測定を行った。

II - 3 - 3 摂餌量測定

2週間試験及び13週間試験では毎週1回、摂餌量測定を行った。

II - 3 - 4 摂水量測定

2週間試験及び13週間試験では毎週2回、摂水量測定を行った。

)

II - 3 - 5 血液学的検査

13週間試験の定期解剖時まで生存した動物について、剖検直前にエーテル麻酔下で腹大動脈より採血したEDTA-2K加血液を用いて血液学的検査を行った。また、白血球百分率の測定を行うためにEDTA-2K加血液を用いて血液塗抹標本を作製した。

なお、検査対象動物は解剖日前日より絶食（18時間以上）させた。

検査項目及び検査方法はTable 1, Appendix P 1に示した。

II - 3 - 6 血液生化学的検査

13週間試験の定期解剖時まで生存した動物について、剖検直前にエーテル麻酔下で腹大動脈より採血したヘパリンナトリウム加血液を遠心分離（3000rpm、30min.）して得られた血漿を用いて血液生化学的検査を行った。

なお、検査対象動物は解剖日前日より絶食（18時間以上）させた。

検査項目及び検査方法はTable 1, Appendix P 1に示した。

II - 3 - 7 尿検査

13週間試験の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。

検査項目及び検査方法はTable 1, Appendix P 1に示した。

II - 3 - 8 病理学的検査

各試験とも解剖時に全動物について肉眼的に観察を行った。急性試験と2週間試験では各群、雌雄2例以上任意の動物の臓器を、13週間試験では全動物の臓器を10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液にて固定後、Table 1に示した臓器及び肉眼的に変化のみられた臓器を、パラフィン包埋、薄切、ヘマトキシリン・エオジン染色し、光学顕微鏡にて病理組織学的に検査した。なお、鼻腔については切歯の後端（レベル1）、切歯乳頭（レベル2）、第一臼歯の前端（レベル3）の3カ所で切り出し（横断）、検査した。

臓器重量は13週間試験の定期解剖時まで生存した動物についてTable 1に示した臓器の湿重量（実重量）を測定した。

TABLE 1 EXPERIMENTAL DESIGN AND MATERIALS AND METHODS IN THE DRINKING WATER(OR GAVAGE) STUDIES OF 1,4-DIOXANE

Acute Studies	Two-week Studies	Thirteen-week Studies
Method of Administration		
Gavage	Drinking water	Drinking water
Number of Groups		
Male 6, Female 6	Male 6, Female 6	Male 6, Female 6
Size of Study Groups		
10 males and 10 females of each groups	10 males and 10 females of each groups	10 males and 10 females of each groups
Animals		
Strain and Species		
F344/DuCrj(Fischer)rat Crj:BDF ₁ mouse	F344/DuCrj(Fischer)rat Crj:BDF ₁ mouse	F344/DuCrj(Fischer)rat Crj:BDF ₁ mouse
Animal Source		
Charles River Japan, Inc.	Charles River Japan, Inc.	Charles River Japan, Inc.
During of Time Held Before Study		
1 wk	2 wk	2 wk
Age When Placed on Study		
6 wk	6 wk	6 wk
Age When Killed		
8 wk	8 wk	18 wk
Doses		
0,2603,3644,5102,7143 or 10000 mg/kg;rat 0,3151,4096,5325,6923 or 9000 mg/kg;mouse	0,1110,3330,10000,30000 or 90000 ppm	0,640,1600,4000,10000 or 25000 ppm
Duration of Dosing		
Single	7d/wk for 2 wk	7d/wk for 13 wk
Animal Maintenance		
Feed	Same as Acute Studies	Same as Acute Studies
CRF-1 (Oriental Yeast Co.,Ltd.) Sterilized by γ -ray Available ad libitum		
Water		
Sterilized by ultraviolet rays Automatic watering system Available ad libitum	Formulated water Deionized water sterilized by filter and ultraviolet ray Available ad libitum by water bottle	Same as Two-week Studies
Animals per Cage		
Single	Single	Single
Animal Room Environment		
Barrier system Temperature:24±2°C Humidity :55±10% Fluorescent light 12h/d 15-17 room air changes /h	Same as Acute Studies	Same as Acute Studies
Type and Frequency of Observation		
Clinical Sign		
Observed 1,2,4 and 6h after administration/ observed 1×d thereafter	Observed 1×d	Observed 1×d
Body Weight		
Weighed 0-0,1-1,1-2,1-3,1-4, 1-7,2-3 and 2-7(wk-d)	Weighed 0-0,1-1,1-2,1-4,1-7, 2-3 and 2-7(wk-d)	Weighed 1×wk for 13wk
Food Consumption		
None	Weighed 1×wk for 2wk	Weighed 1×wk for 13wk
Water Consumption		
None	Weighed 2×wk for 2wk	Weighed 2×wk for 13wk
Hematology		
None	None	Red blood cell(RBC) Hemoglobin Hematocrit Mean corpuscular volume(MCV) Platelet White blood cell(WBC) Differential WBC

TABLE 1 EXPERIMENTAL DESIGN AND MATERIALS AND METHODS IN THE DRINKING WATER(OR GAVAGE) STUDIES OF 1,4-DIOXANE
(Continued)

	Acute Studies	Two-week Studies	Thirteen-week Studies
Blood Biochemistry	None	None	Total protein Albumin A/G ratio T-bilirubin Glucose T-cholesterol Triglyceride <rat only> Glutamic oxaloacetic transaminase(GOT) Glutamic pyruvic transaminase(GPT) Lactate dehydrogenase(LDH) Alkaline phosphatase(ALP) Leucine aminopeptidase(LAP) Creatine phosphokinase(CPK) <rat only> Urea nitrogen Creatinine <rat only> Sodium Potassium Chloride Calcium <rat only> Inorganic phosphorus <rat only>
Urinalysis	None	None	pH Protein Glucose Ketone body Bilirubin <rat only> Occult blood Urobilinogen
Necropsy	Necropsy performed on all animals.	Same as acute studies	Same as acute studies
Organ Weight	None	None	Organ weight measurement performed on schedule sacrificed animals. The following organs were weighed: brain,lung,liver,spleen,heart, kidney,adrenal,testis,ovary,thymus.
Histopathologic Examination	Histopathologic examination performed on at least two animals per sex per group. The following organs were examined :brain,lung,liver,spleen,heart, kidney,adrenal,testis,ovary, pancreas,stomach, small intestine,large intestine, thymus,lymph nodes(axilla,inguinal), pituitary,bone marrow.	Same as acute studies	Histopathologic examination performed on all animals. The following organs were examined :brain,lung,liver,spleen,heart, kidney,adrenal,testis,ovary, thyroid,parathyroid,pancreas,stomach, small intestine,large intestine, thymus,lymph nodes(axilla,inguinal), pituitary,urinary bladder,eye, tongue,spinal cord, peripheral nerve(sciatic), esophagus,bone marrow,epididymis, seminal vesicle,prostate, salivary gland,skin,uterus,vagina, mammary gland,muscle,trachea, Harder gland,nasal cavity,bone.

II - 4 数値処理と統計学的方法

(1) 数値の取扱いと表示

各数値データは計測機器の精度に合わせて表示した。

体重についてはgを単位としラットでは小数点以下第1位を四捨五入して整数値で、マウスでは小数点以下第2位を四捨五入して小数点以下第1位までを表示した。

摂餌量についてはgを単位とし、1週間を通しての摂餌量を小数点以下第1位まで計測し、この値を7日で除し、1日当りの平均摂餌量を算出し、小数点以下第2位を四捨五入して小数点以下第1位までを表示した。

摂水量についてはgを単位とし、週内3~4日間を通しての摂水量を小数点以下第1位まで計測し、この値を日数で除し、1日当りの平均摂水量を算出し、小数点以下第2位を四捨五入して小数点以下第1位までを表示した。

1,4-ジオキサンの摂取量は摂水量に1,4-ジオキサンの設定濃度を乗じ体重で除した値の群毎の平均値をg/kg(body weight)/dayを単位として小数点以下第4位を四捨五入して、小数点以下第3位まで表示した。

臓器実重量についてはgを単位とし、小数点以下第3位まで計測し、表示した。臓器重量体重比については臓器実重量値を解剖時体重で除し、ペ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 P 2に示した精度により表示した。A/G比はアルブミン/(総蛋白ーアルブミン)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った。

(2) 母数の取扱いと表示

各種統計検定における群内動物数(母数)は総括表に示した。

体重、摂餌量及び摂水量については、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、投与最終週まで生存した動物を対象に行い、検査数を母数とした。

剖検及び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。急性試験及び2週間試験の病理組織学的検査データについては検査数を母数とした。

(3) 統計方法

本試験で得られた測定値は対照群を基準群として、まずBartlett法により等分散の予備検定を行い、その結果が等分散の場合には一元配置分散分析を行い、群間に有意差が認められた場合はDunnettの多重比較により平均値の検定を行った。

また、分散の等しくない場合には各群を通して測定値を順位化して、 Kruskal-Wallisの順位検定を行い、群間に有意差が認められた場合には Dunnett(型)の多重比較を行った。

予備検定については5%の有意水準で両側検定を行い、最終検定では5%及び1%で両側検定を行った。

なお、病理組織学的検査のうち13週間試験の非腫瘍性病変については、所見のみられなかつた動物をグレード0として χ^2 検定を行つた。また、尿検査については χ^2 検定を行つた。

II - 5 試資料の保管

試験計画書、標本、生データ、記録文書、最終報告書、信頼性保証証明書、被験物質、その他本試験に係わる資料は日本バイオアッセイ研究センターの標準操作手順書にしたがつて、試資料保管施設に保管する。保管期間は最終報告書提出後10年間とする。

III 試験成績

III-1 ラットを用いたがん原性予備試験

III-1-1 急性試験

(1) 動物の状態観察

生死状況

動物の死亡は、雄の7143mg/kg以上及び雌の5102mg/kg以上の群に認められ、雄では10000mg/kg群で投与日に5/10例（投与後2~4時間に4/10例、4~6時間に1/10例）、1週1日に5/10例の計10/10例、7143mg/kg群で投与日に1/10例（投与後2~4時間に1/10例）、1週1日に6/10例、1週2日に1/10例の計8/10例であった。また、雌の10000mg/kg群で投与日に4/10例（投与後1~2時間に2/10例、2~4時間に2/10例）、1週1日に6/10例の計10/10例、7143mg/kg群で1週1日に10/10例、5102mg/kg群で1週2日に3/10例、1週3日に1/10例、1週4日に1/10例の計5/10例が死亡した。（Table 2,3）

一般症状

死亡動物の症状は、雌雄の各投与群とともに、投与後から死亡までに自発運動量減少、立毛、腹臥または横臥姿勢、眼瞼閉鎖、流涙、衰弱、正向反射消失、チアノーゼ、異常呼吸（不整呼吸、呼吸抑制、呼吸困難）、体温低下等の症状が認められた。また、生存動物では、雌雄の各投与群とともに、自発運動量減少、立毛、姿勢の異常（円背位、腹臥、横臥姿勢）、流涙、着色、鼻血性分泌物、失調性歩行、不整呼吸及び眼瞼閉鎖等がみられたが、時間経過に伴い動物の状態は回復し、立毛、円背位等の症状は観察期間半ばまで認められたが、観察期間半ば以降はほとんど症状は認められなくなった。（Appendix A 1-1,2）

体重

体重推移は、雌雄とも生存例の認められた全群で、ほぼ全観察期間に対照群に比べ投与量に対応した体重増加の抑制が認められ、それらの最終（2週7日）体重値は対照群に対して、雄では7143mg/kg群で92%、5102mg/kg群で86%、3644mg/kg群で91%、2603mg/kg群で93%、雌では5102mg/kg群で93%、3644mg/kg群で94%、2603mg/kg群で96%であった。

（Table 2,3、Figure 1,2）

TABLE 2 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE RAT (ACUTE STUDIES)

Week-Day on Study	Control		2603		3644		5102		7143		10000			
	Au.Wt.	No.of Surviv.	Au.Wt.	mg/kg % of cont.	No.of Surviv.									
0-0	113 (10)	10	113 (10)	100	10	113 (10)	100	10	113 (10)	100	10	113 (10)	100	5
1-1	126 (10)	10	118 (10)	94	10	110 (10)	87	10	103 (10)	82	10	110 (9)	87	3
1-2	133 (10)	10	125 (10)	94	10	117 (10)	88	10	103 (10)	77	10	108 (3)	81	2
1-3	139 (10)	10	130 (10)	94	10	125 (10)	90	10	113 (10)	81	10	113 (2)	81	2
1-4	146 (10)	10	136 (10)	93	10	131 (10)	90	10	118 (9)	81	10	118 (2)	81	2
1-7	162 (10)	10	152 (10)	94	10	147 (10)	91	10	137 (9)	85	10	141 (2)	87	2
2-3	180 (10)	10	167 (10)	93	10	162 (10)	90	10	153 (9)	85	10	160 (2)	89	2
2-7	200 (9)	10	186 (10)	93	10	181 (10)	91	10	172 (9)	86	10	183 (2)	92	2

TABLE 3 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE RAT (ACUTE STUDIES)

Week-Day on Study	Control		2603		3644		5102		7143		10000			
	Au.Wt.	No.of Surviv.	Au.Wt.	mg/kg % of cont.	No.of Surviv.	Au.Wt.	mg/kg % of cont.	No.of Surviv.	Au.Wt.	mg/kg % of cont.	No.of Surviv.	Au.Wt.	mg/kg % of cont.	No.of Surviv.
0-0	90 (10)	10	90 (10)	100	10	90 (10)	100	10	90 (10)	100	10	90 (10)	100	6
1-1	99 (10)	10	91 (10)	92	10	87 (10)	88	10	85 (10)	86	10	87 (10)	88	0
1-2	103 (10)	10	97 (10)	94	10	91 (10)	88	10	80 (10)	78	7			
1-3	107 (10)	10	100 (10)	93	10	96 (10)	90	10	82 (7)	77	6			
1-4	109 (10)	10	104 (10)	95	10	100 (10)	92	10	91 (5)	83	5			
1-7	117 (10)	10	113 (10)	97	10	110 (9)	94	10	103 (5)	88	5			
2-3	125 (10)	10	118 (10)	94	10	118 (10)	94	10	114 (5)	91	5			
2-7	134 (10)	10	129 (10)	96	10	126 (10)	94	10	125 (5)	93	5			

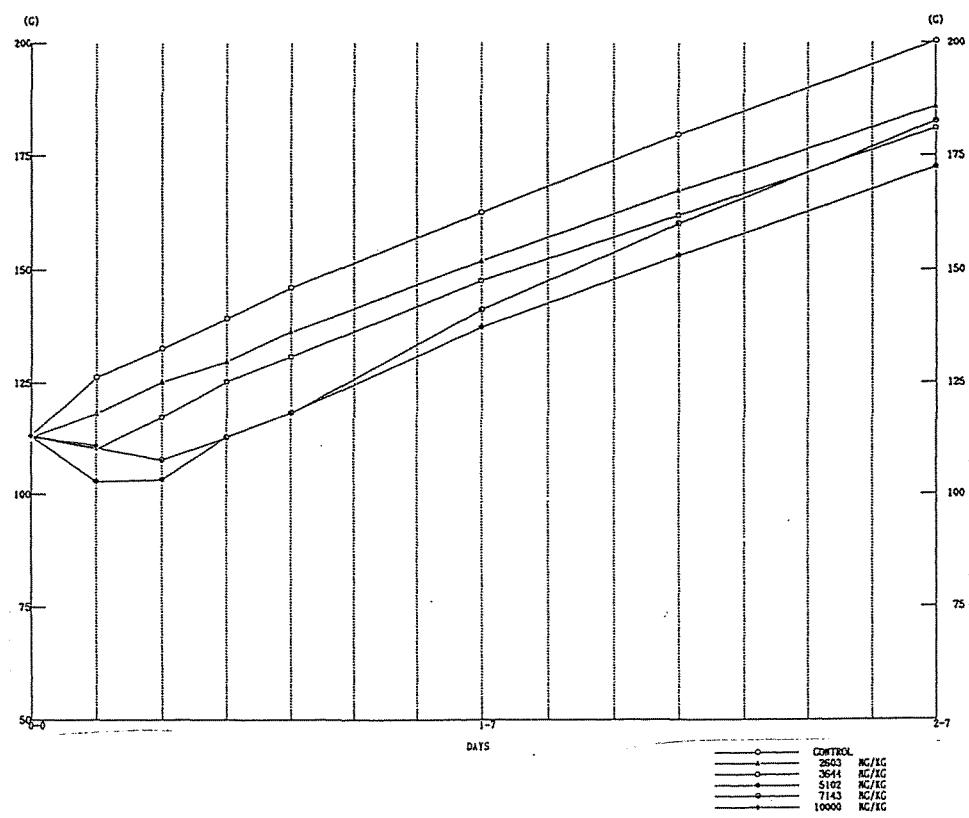


FIGURE 1 BODY WEIGHT CHANGES : RAT:MALE (ACUTE STUDIES)

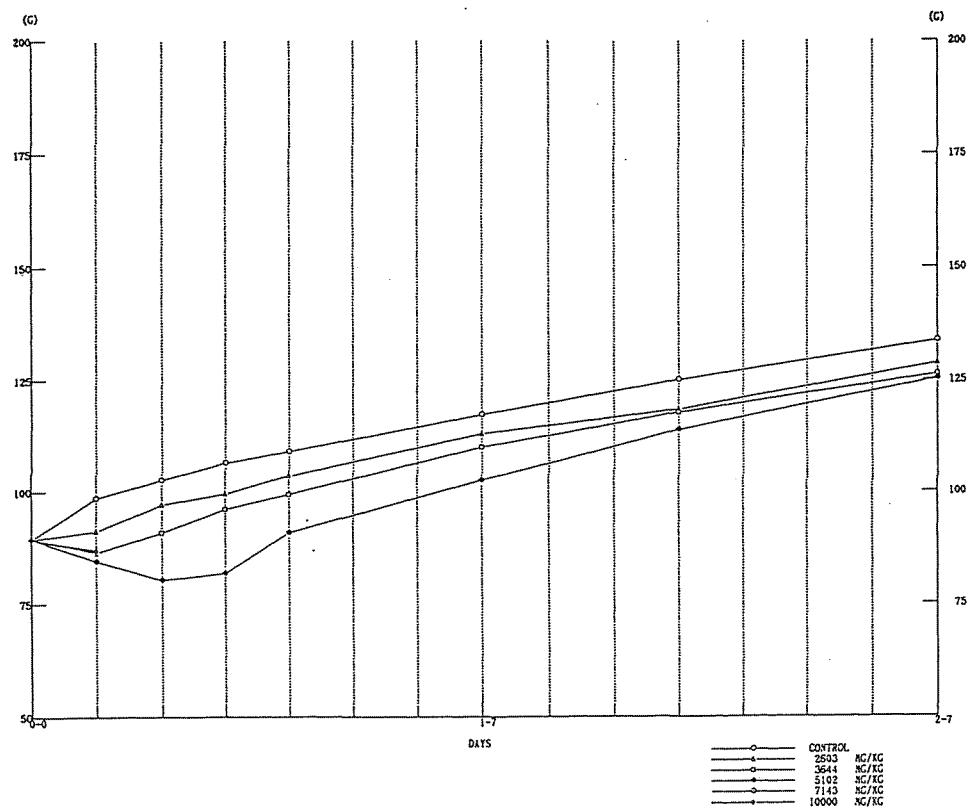


FIGURE 2 BODY WEIGHT CHANGES : RAT:FEMALE (ACUTE STUDIES)

(2) 病理学的検査

剖検

解剖時に観察された剖検所見をAppendix A 2-1~4(総括表)、Appendix A 5-1,2(個体表)に示した。

死亡動物では、雌雄とも多くの例に胸腺と腺胃に赤色点／斑、胃または小腸に黒色・褐色・赤色あるいは透明の液貯留が観察された。その他、雌の7143mg/kg群では半数以上の例に腎臓の腫大、5102mg/kg群では半数以上の例に腎臓の腫大と貧血様色調が観察された。

定期解剖動物は雌雄とともに投与群に特徴的な所見は認められなかつた。

病理組織学的検査

死亡動物では10000mg/kg群で雌雄各3例、7143mg/kg群で雄3例、雌2例、5102mg/kg群で雌3例、定期解剖動物は7143mg/kg群以下の各群で雌雄2例について病理組織学的検査を行つた。その結果をAppendix A 3-1~4(総括表、非腫瘍性病変)、Appendix A 6-1,2(個体表)に示した。

死亡動物では肺の鬱血・血管周囲の浮腫・出血、脾臓の鬱血、腺胃の糜爛、腎臓の尿細管壊死・近位尿細管の水腫様変性、胸腺の出血・核崩壊、心臓の出血、肝臓の小葉中心性の空胞変性、副腎の出血、角膜の炎症がみられた。

定期解剖動物では肺の出血、腎臓の近位尿細管の再生像、脾臓の髓外造血がみられた。なお、対照群に肺の出血、腎臓の鉱質沈着がみられた。

III - 1 - 2 2週間試験

(1) 動物の状態観察

生死状況

動物の死亡は、雄の90000ppm群及び雌の30000ppm以上の群に認められ、雄では90000ppm群で2週1日に1/10例、2週3日に4/10例、2週4日に2/10例、2週5日に2/10例、2週6日に1/10例の計10/10例であった。また、雌では90000ppm群で2週1日に1/10例、2週2日に3/10例、2週3日に3/10例、2週4日に3/10例の計10/10例、30000ppm群では2週3日に1/10例、2週5日に1/10例の計2/10例が死亡した。(Table 4,5)

一般症状

死亡動物の症状は、雌雄の各群ともに、1週2~4日頃より認められ、自発運動量減少、立毛、円背位、鼻血性分泌物または眼血性分泌物、汚染、失調性歩行等がみられ、時間経過に伴い動物は衰弱し、瘦削、不整呼吸、体温低下等の症状が認められ、死に至った。また、生存動物では、雌雄の30000ppm群で、1週2日以降の投与期間中、立毛、円背位、鼻血性分泌物等の症状が多くの動物に認められた。(Appendix B 1-1,2)

体重

体重推移は、雌雄とも10000ppm以上の群で、ほぼ全投与期間に対照群に比べ投与量に対応した体重増加の抑制が認められ、それらの最終(2週7日)体重値は対照群に対して、雄では30000ppm群で73%、10000ppm群で94%、雌では30000ppm群で76%、10000ppm群で97%であった。(Table 4,5, Figure 3,4)

摂餌量

摂餌量は、雌雄とも10000ppm以上の群で、体重増加の抑制にほぼ対応した低下が認められた。(Table 6,7)

摂水量

摂水量は、雌雄とも3300ppm以上の群で、ほぼ全投与期間に対照群に比べ投与濃度に対応した低下が認められ、それら雌雄の各群の摂水量は対照群に対して、90000ppm群で10%前後、30000ppm群で約50~60%、10000ppm群で約80%及び3330ppm群で約90%であった。(Table 8,9)

TABLE 4 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE RAT (TWO-WEEK STUDIES)

Week-Day on Study	Control		1110 ppm		3330 ppm		10000 ppm		30000 ppm		90000 ppm			
	Au.Wt.	No.of Surviv.	Au.Wt.	% of cont.	No.of Surviv.	Au.Wt.	% of cont.	No.of Surviv.	Au.Wt.	% of cont.	No.of Surviv.	Au.Wt.	% of cont.	No.of Surviv.
0-0	132 (10)	10	132 (10)	100	10	132 (10)	100	10	132 (10)	100	10	132 (10)	100	10
1-1	139 (10)	10	137 (10)	99	10	137 (10)	99	10	134 (10)	96	10	126 (10)	91	10
1-2	144 (10)	10	142 (10)	99	10	142 (10)	99	10	138 (10)	96	10	123 (10)	85	10
1-4	155 (10)	10	153 (10)	99	10	152 (10)	98	10	148 (10)	95	10	122 (10)	78	10
1-7	172 (10)	10	168 (10)	98	10	168 (10)	98	10	164 (10)	95	10	128 (10)	74	10
2-3	188 (10)	10	185 (10)	98	10	184 (10)	98	10	179 (10)	95	10	138 (10)	73	10
2-7	209 (10)	10	206 (10)	99	10	205 (10)	98	10	197 (10)	94	10	153 (10)	73	10

TABLE 5 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE RAT (TWO-WEEK STUDIES)

Week-Day on Study	Control		1110 ppm		3330 ppm		10000 ppm		30000 ppm		90000 ppm			
	Au.Wt.	No.of Surviv.	Au.Wt.	% of cont.	No.of Surviv.	Au.Wt.	% of cont.	No.of Surviv.	Au.Wt.	% of cont.	No.of Surviv.	Au.Wt.	% of cont.	No.of Surviv.
0-0	104 (10)	10	104 (10)	100	10	104 (10)	100	10	104 (10)	100	10	105 (10)	101	10
1-1	107 (10)	10	108 (10)	101	10	107 (10)	100	10	104 (10)	97	10	99 (10)	93	10
1-2	110 (10)	10	110 (10)	100	10	109 (10)	99	10	107 (10)	97	10	98 (10)	89	10
1-4	116 (10)	10	115 (10)	99	10	115 (10)	99	10	112 (10)	97	10	98 (10)	84	10
1-7	124 (10)	10	123 (10)	99	10	123 (10)	99	10	120 (10)	97	10	96 (10)	77	10
2-3	133 (10)	10	132 (10)	99	10	132 (10)	99	10	128 (10)	96	10	97 (10)	73	9
2-7	141 (10)	10	141 (10)	100	10	142 (10)	101	10	137 (10)	97	10	107 (8)	76	8

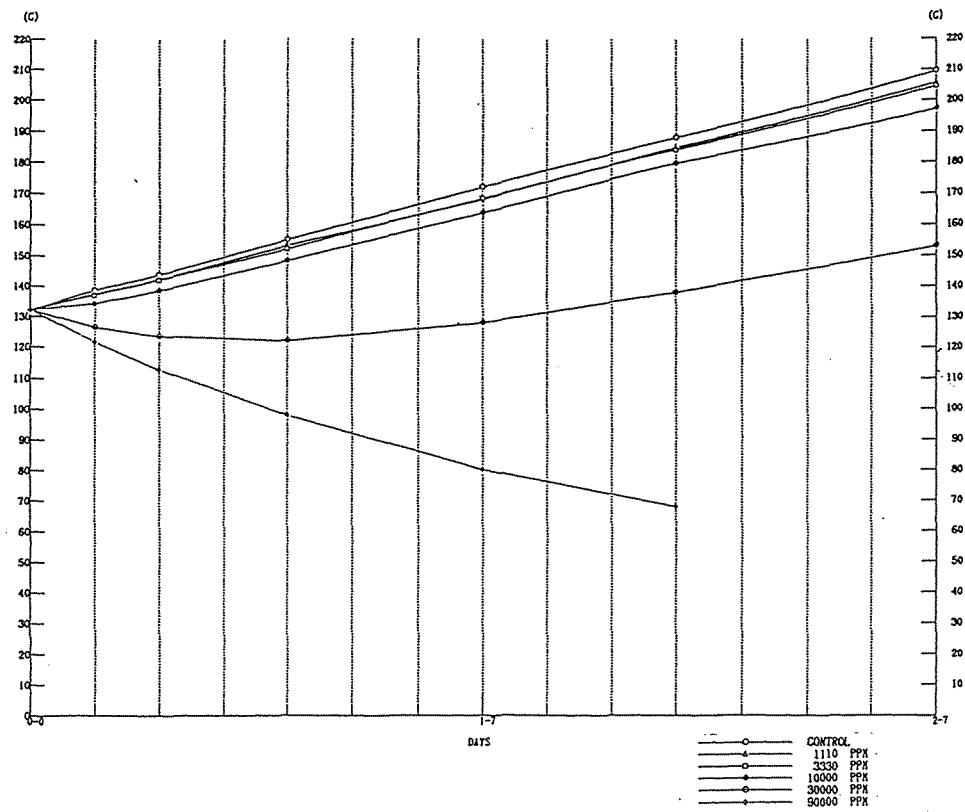


FIGURE 3 BODY WEIGHT CHANGES : RAT:MALE (TWO-WEEK STUDIES)

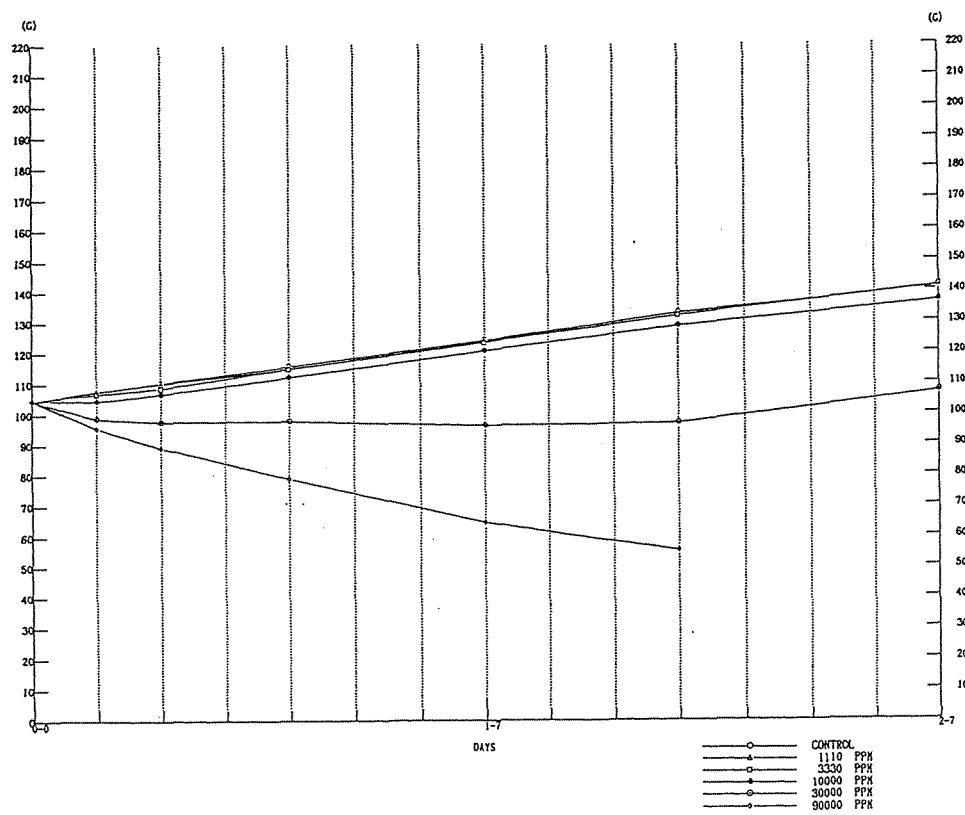


FIGURE 4 BODY WEIGHT CHANGES : RAT:FEMALE (TWO-WEEK STUDIES)

TABLE 6 FOOD CONSUMPTION IN MALE RAT (TWO-WEEK STUDIES)

Week-Day on Study	Control		1110			3330			10000			30000			90000		
	Au.FC.	No.of Surviv.	Au.FC.	ppm % of cont.	No.of Surviv.	Au.FC.	ppm % of cont.	No.of Surviv.									
1-7	16.5 (10)	10	16.0 (10)	97	10	16.0 (10)	97	10	15.3 (10)	93	10	10.6 (10)	64	10	3.0 (10)	18	10
2-7	17.4 (10)	10	17.1 (10)	98	10	17.1 (10)	98	10	16.3 (10)	94	10	13.0 (10)	75	10			

TABLE 7 FOOD CONSUMPTION IN FEMALE RAT (TWO-WEEK STUDIES)

TABLE 8 WATER CONSUMPTION IN MALE RAT (TWO-WEEK STUDIES)

Week-Day on Study	Control				1110 ppm				3330 ppm				10000 ppm				30000 ppm				90000 ppm			
	Au.WC.	No.of Surviv.	Au.WC.	% of cont.	No.of Surviv.	Au.WC.	% of cont.	No.of Surviv.	Au.WC.	% of cont.	No.of Surviv.													
1-4	22.0 (10)	10	20.6 (10)	94	10	19.9 (10)	90	10	17.6 (10)	80	10	9.8 (10)	45	10	2.6 (10)	12	10							
1-7	22.1 (10)	10	20.4 (10)	92	10	20.1 (10)	91	10	18.0 (10)	81	10	12.7 (10)	57	10	0.8 (10)	4	10							
2-3	22.5 (10)	10	21.0 (10)	93	10	20.3 (10)	90	10	18.0 (10)	80	10	14.2 (10)	63	10	1.1 (6)	5	5							
2-7	23.6 (10)	10	22.0 (10)	93	10	20.9 (10)	89	10	18.2 (10)	77	10	15.0 (10)	64	10										

TABLE 9 WATER CONSUMPTION IN FEMALE RAT (TWO-WEEK STUDIES)

Week-Day on Study	Control				1110 ppm				3330 ppm				10000 ppm				30000 ppm				90000 ppm			
	Au.WC.	No.of Surviv.	Au.WC.	% of cont.	No.of Surviv.	Au.WC.	% of cont.	No.of Surviv.	Au.WC.	% of cont.	No.of Surviv.													
1-4	17.1 (10)	10	17.4 (10)	102	10	15.3 (10)	89	10	12.8 (10)	75	10	7.4 (10)	43	10	2.0 (10)	12	10							
1-7	16.9 (10)	10	17.5 (10)	104	10	15.2 (10)	90	10	13.4 (10)	79	10	9.1 (10)	54	10	0.9 (10)	5	10							
2-3	17.6 (10)	10	17.8 (10)	101	10	16.1 (10)	91	10	13.7 (10)	78	10	10.0 (9)	57	9	1.0 (3)	6	3							
2-7	17.7 (10)	10	18.8 (10)	106	10	16.0 (10)	90	10	13.1 (10)	74	10	9.6 (8)	54	8										

(2) 病理学的検査

剖検

解剖時に観察された剖検所見を Appendix B 3-1~4 (総括表)、Appendix B 6-1,2 (個体表) に示した。

死亡／瀕死動物では90000ppm群で雌雄とも多くの例に胸腺の萎縮、腺胃の赤色点／斑がみられ、また雄の少数例には胃に黒色液の貯留が、雌の少数例には肝臓の赤色化が観察された。30000ppm群の雌では胸腺の萎縮・赤色化、腺胃の赤色点／斑、肝臓の混濁、腎臓の腫大・貧血様色調・表面粗がみられた。

定期解剖動物では雄の全投与群で肝臓と腎臓の貧血様色調が、30000ppm群に肝臓の黄色化・小葉構造の明瞭化が多くの例にみられた。雌の3330 ppm以上の群で腎臓の貧血様色調が、30000ppm群に胸腺の萎縮が多くの例にみられた。

病理組織学的検査

死亡／瀕死動物では90000ppm群で雌雄3例、30000ppm群で雌2例、定期解剖動物は30000ppm以下の群で雌雄2例について病理組織学的検査を行った。その結果を Appendix B 4-1~4 (総括表)、Appendix B 7-1,2 (個体表) に示した。

死亡動物に肺の出血、心臓の出血、腺胃の糜爛・出血、腎臓の近位尿細管の水腫様変性、胸腺の出血、副腎の出血、肝臓の小葉中心性の空胞変性、脳の空胞変性がみられた。

定期解剖動物に鼻腔の嗅上皮（支持細胞）の核増大、肺の血管周囲性の浮腫、肝臓の小葉中心性の肝細胞腫脹・小葉中心性の空胞変性、腎臓の好酸体の出現・近位尿細管の水腫様変性・近位尿細管の再生像、脳の空胞変性、心臓の出血、副腎の出血がみられた。また対照群に心臓の出血、腎臓の好酸体の出現がみられた。

III - 1 - 3 13週間試験

(1) 動物の状態観察

生死状況

動物の死亡は、雌の25000ppm群でのみ、投与開始後2週に1例認められた。
(Table 10,11)

一般症状

死亡動物では、立毛、円背位、鼻血性分泌物、汚染、被毛の着色、尿による外陰部周囲の汚染がみられた。また、生存動物では、雌雄の25000ppm以上の群で、立毛、鼻血性分泌物または眼血性分泌物、被毛の着色等多くの動物に認められた。(Appendix D 1,2)

体重

雌雄とも4000ppm以上の群で対照群に比べ、投与量に対応した体重増加の抑制が認められ、各群の最終(13週)体重値は対照群に対して、雄では25000ppm群で79%、10000ppm群で93%、4000ppm群で97%、1600ppm群で101%、640ppm群で101%、また、雌では25000ppm群で79%、10000ppm群で88%、4000ppm群で94%、1600ppm群で97%、640ppm群で101%であった。

(Table 10,11、Figure 5,6、Appendix E 1,2(総括表)、Appendix Q 1,2(個体表))

摂餌量

雄では25000ppm群で、また雌では10000ppm以上の群で低下が認められ、それらの投与群の摂餌量は対照群に対して、雄では25000ppm群で84~97%、また、雌では25000ppm群で82~90%、10000ppm群で87~97%であった。

(Table 12,13、Figure 7,8、Appendix F 1,2(総括表)、Appendix R 1,2(個体表))

摂水量

雌雄とも4000ppm以上の群で、対照群に比べ明かな低下が投与濃度に対応して認められ、それらの投与群の摂水量は対照群に対して、雄では25000ppm群で43~74%、10000ppm群で56~83%、4000ppm群で62~91%、また、雌では25000ppm群で32~58%、10000ppm群で41~75%、4000ppm群で57~97%であった。(Table 14,15、Figure 9,10、Appendix G 1,2(総括表)、Appendix S 1,2(個体表))

TABLE 10 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE RAT (THIRTEEN-WEEK STUDIES)

Week-Day on Study	Control		640		1600		4000		10000		25000			
	Au.Wt.	No.of Surviv.	Au.Wt.	ppm % of cont.	No.of Surviv.									
0-0	130 (10)	10	130 (10)	100	10	130 (10)	100	10	130 (10)	100	10	130 (10)	100	10
1-7	162 (10)	10	158 (10)	98	10	165 (10)	102	10	162 (10)	100	10	158 (10)	98	10
2-7	195 (10)	10	194 (10)	99	10	201 (10)	103	10	197 (10)	101	10	193 (10)	99	10
3-7	224 (10)	10	225 (10)	100	10	231 (10)	103	10	224 (10)	100	10	219 (10)	98	10
4-7	246 (10)	10	250 (10)	102	10	255 (10)	104	10	247 (10)	100	10	240 (10)	98	10
5-7	265 (10)	10	268 (10)	101	10	272 (10)	103	10	264 (10)	100	10	255 (10)	96	10
6-7	280 (10)	10	281 (10)	100	10	286 (10)	102	10	277 (10)	98	10	267 (10)	95	10
7-7	293 (10)	10	296 (10)	101	10	301 (10)	103	10	289 (10)	98	10	280 (10)	96	10
8-7	308 (10)	10	310 (10)	101	10	315 (10)	102	10	300 (10)	97	10	290 (10)	94	10
9-7	319 (10)	10	322 (10)	101	10	327 (10)	103	10	313 (10)	98	10	302 (10)	95	10
10-7	328 (10)	10	331 (10)	101	10	334 (10)	102	10	319 (10)	97	10	309 (10)	94	10
11-7	336 (10)	10	340 (10)	101	10	343 (10)	102	10	326 (10)	97	10	315 (10)	94	10
12-7	345 (10)	10	351 (10)	102	10	352 (10)	102	10	334 (10)	97	10	322 (10)	93	10
13-7	355 (10)	10	359 (10)	101	10	360 (10)	101	10	343 (10)	97	10	329 (10)	93	10

-27-

TABLE 11 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE RAT (THIRTEEN-WEEK STUDIES)

Week-Day on Study	Control		640		1600		4000		10000		25000			
	Au.Wt.	No.of Surviv.	Au.Wt.	ppm % of cont.	No.of Surviv.									
0-0	102 (10)	10	102 (10)	100	10	102 (10)	100	10	102 (10)	100	10	102 (10)	100	10
1-7	119 (10)	10	121 (10)	102	10	119 (10)	100	10	118 (10)	99	10	116 (10)	97	10
2-7	135 (10)	10	138 (10)	102	10	136 (10)	101	10	134 (10)	99	10	131 (10)	97	10
3-7	147 (10)	10	150 (10)	102	10	147 (10)	100	10	146 (10)	99	10	141 (10)	96	10
4-7	158 (10)	10	161 (10)	102	10	158 (10)	100	10	155 (10)	98	10	149 (10)	94	10
5-7	167 (10)	10	170 (10)	102	10	166 (10)	99	10	165 (10)	99	10	156 (10)	93	10
6-7	175 (10)	10	178 (10)	102	10	173 (10)	99	10	171 (10)	98	10	161 (10)	92	10
7-7	184 (10)	10	186 (10)	101	10	179 (10)	97	10	177 (10)	96	10	166 (10)	90	10
8-7	188 (10)	10	190 (10)	101	10	185 (10)	98	10	181 (10)	96	10	169 (10)	90	10
9-7	196 (10)	10	198 (10)	101	10	190 (10)	97	10	186 (10)	95	10	173 (10)	88	10
10-7	198 (10)	10	200 (10)	101	10	193 (10)	97	10	189 (10)	95	10	176 (10)	88	10
11-7	203 (10)	10	206 (10)	101	10	198 (10)	98	10	193 (10)	95	10	180 (10)	89	10
12-7	206 (10)	10	209 (10)	101	10	201 (10)	98	10	196 (10)	95	10	182 (10)	88	10
13-7	210 (10)	10	213 (10)	101	10	204 (10)	97	10	198 (10)	94	10	184 (10)	88	10

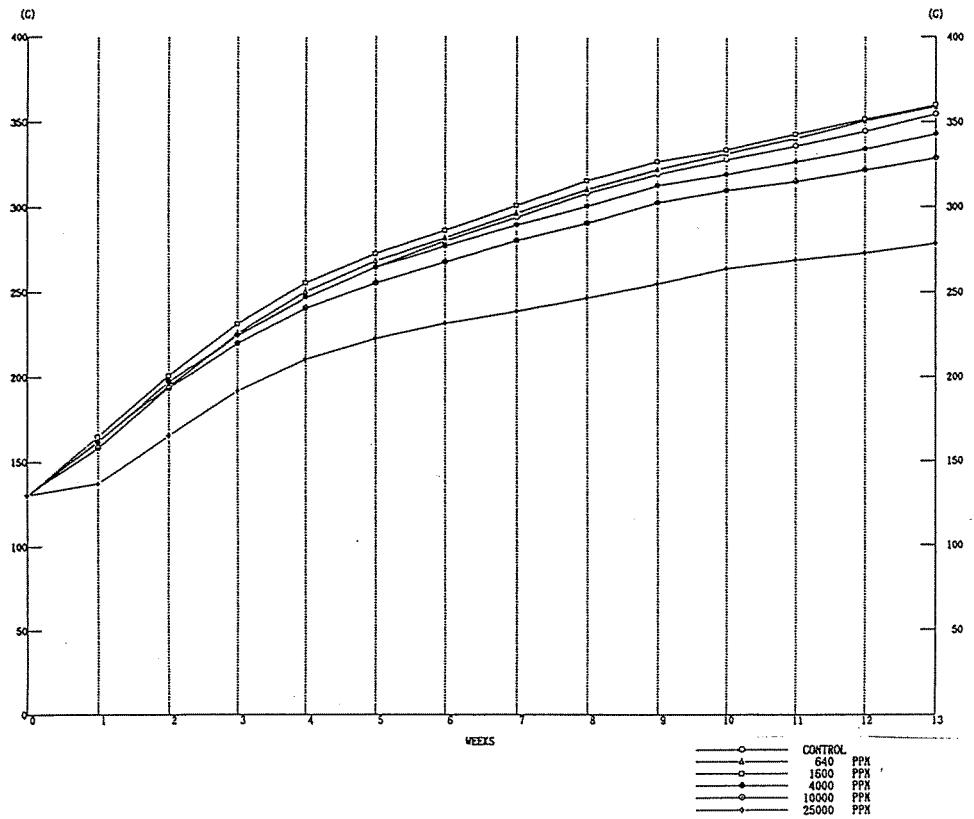


FIGURE 5 BODY WEIGHT CHANGES : RAT:MALE (THIRTEEN-WEEK STUDIES)

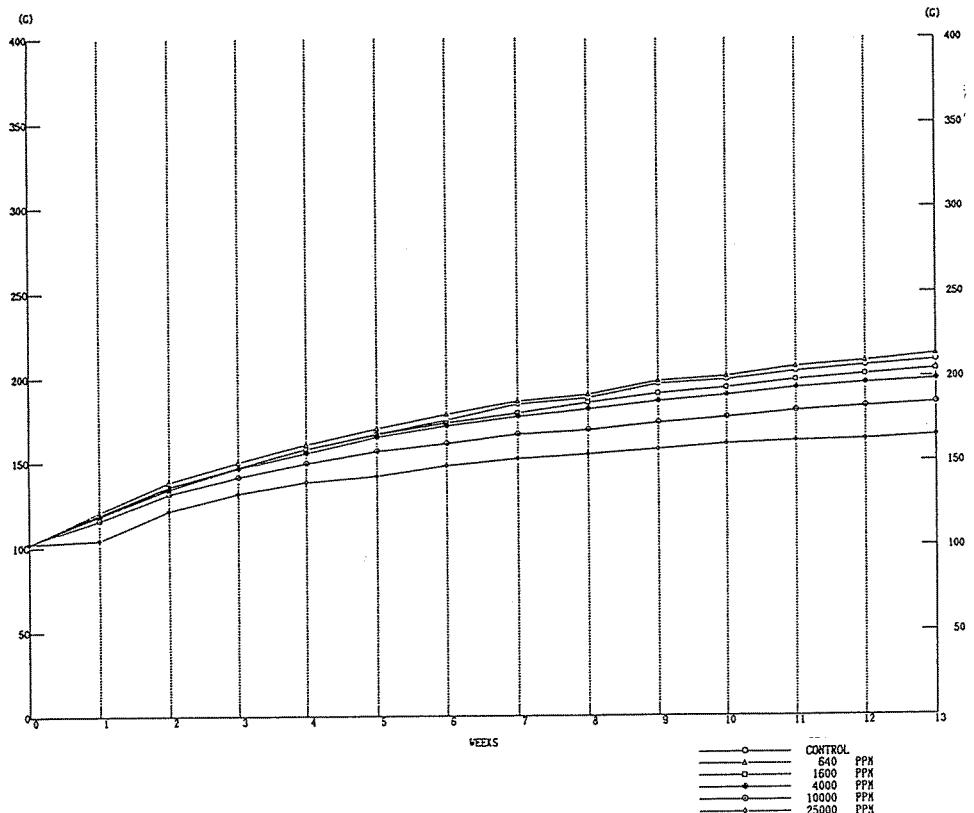


FIGURE 6 BODY WEIGHT CHANGES : RAT:FEMALE (THIRTEEN-WEEK STUDIES)

TABLE 12
FOOD CONSUMPTION IN MALE RAT (THIRTEEN-WEEK STUDIES)

Week-Day on Study	Control		640		1600		4000		10000		25000						
	Au.FC.	No.of Surviv.	Au.FC.	ppm % of cont.	No.of Surviv.												
1-7	15.0 (10)	10	14.3 (10)	95	10	15.0 (10)	100	10	14.8 (10)	99	10	14.1 (10)	94	10	12.9 (10)	86	10
2-7	15.7 (10)	10	16.5 (10)	105	10	17.0 (10)	108	10	16.3 (10)	104	10	15.7 (10)	100	10	13.8 (10)	88	10
3-7	17.0 (10)	10	17.3 (10)	102	10	17.8 (10)	105	10	16.7 (10)	98	10	16.1 (10)	95	10	14.3 (10)	84	10
4-7	16.8 (10)	10	17.9 (10)	107	10	18.1 (10)	108	10	17.3 (10)	103	10	16.7 (10)	99	10	15.3 (10)	91	10
5-7	17.4 (10)	10	18.3 (10)	105	10	18.1 (10)	104	10	17.5 (9)	101	10	17.2 (10)	99	10	16.2 (10)	93	10
6-7	17.5 (10)	10	17.9 (10)	102	10	18.0 (10)	103	10	17.2 (10)	98	10	17.4 (10)	99	10	16.3 (10)	93	10
7-7	18.4 (10)	10	18.7 (10)	102	10	18.7 (10)	102	10	17.6 (10)	96	10	18.2 (10)	99	10	16.6 (10)	90	10
8-7	17.7 (10)	10	18.0 (10)	102	10	17.9 (10)	101	10	17.3 (10)	98	10	17.2 (10)	97	10	16.5 (10)	93	10
9-7	17.5 (10)	10	18.2 (10)	104	10	18.2 (10)	104	10	17.6 (10)	101	10	17.8 (10)	102	10	16.7 (10)	95	10
10-7	17.6 (10)	10	18.4 (10)	105	10	18.3 (10)	104	10	17.6 (10)	100	10	17.8 (10)	101	10	17.0 (10)	97	10
11-7	18.1 (10)	10	18.6 (10)	103	10	18.8 (10)	104	10	17.9 (10)	99	10	18.2 (10)	101	10	17.2 (10)	95	10
12-7	17.6 (10)	10	18.1 (10)	103	10	18.4 (10)	105	10	17.3 (10)	98	10	17.6 (10)	100	10	16.2 (10)	92	10
13-7	17.8 (10)	10	18.4 (10)	103	10	18.3 (10)	103	10	17.5 (10)	98	10	17.4 (10)	98	10	16.1 (10)	90	10

67
TABLE 13
FOOD CONSUMPTION IN FEMALE RAT (THIRTEEN-WEEK STUDIES)

Week-Day on Study	Control		640		1600		4000		10000		25000						
	Au.FC.	No.of Surviv.	Au.FC.	ppm % of cont.	No.of Surviv.												
1-7	11.4 (10)	10	11.8 (10)	104	10	11.5 (10)	101	10	11.6 (10)	102	10	10.9 (10)	96	10	9.4 (10)	82	10
2-7	11.8 (10)	10	12.5 (10)	106	10	12.3 (10)	104	10	12.0 (10)	102	10	11.5 (10)	97	10	10.3 (9)	87	9
3-7	11.8 (10)	10	12.5 (10)	106	10	12.0 (10)	102	10	11.7 (10)	99	10	11.0 (10)	93	10	10.3 (9)	87	9
4-7	12.0 (10)	10	12.7 (10)	106	10	12.3 (10)	103	10	11.9 (10)	99	10	11.2 (10)	93	10	10.5 (9)	88	9
5-7	12.9 (10)	10	13.1 (10)	102	10	12.6 (10)	98	10	12.2 (10)	95	10	11.3 (10)	88	10	10.8 (9)	84	9
6-7	12.9 (10)	10	13.2 (10)	102	10	12.9 (10)	100	10	12.3 (10)	95	10	11.3 (10)	88	10	10.8 (9)	84	9
7-7	13.4 (10)	10	13.4 (10)	100	10	12.9 (10)	96	10	12.3 (10)	92	10	11.7 (10)	87	10	11.2 (9)	84	9
8-7	12.3 (10)	10	12.7 (10)	103	10	12.6 (10)	102	10	11.7 (10)	95	10	11.0 (10)	89	10	11.0 (9)	89	9
9-7	12.9 (10)	10	13.0 (10)	101	10	12.5 (10)	97	10	11.7 (10)	91	10	11.2 (10)	87	10	10.9 (9)	84	9
10-7	12.8 (10)	10	12.9 (10)	101	10	12.5 (10)	98	10	12.2 (10)	95	10	11.4 (10)	89	10	11.5 (9)	90	9
11-7	12.5 (10)	10	13.1 (10)	105	10	12.8 (10)	102	10	12.1 (10)	97	10	11.7 (10)	94	10	11.3 (9)	90	9
12-7	12.7 (10)	10	12.7 (10)	100	10	12.7 (10)	100	10	12.0 (10)	94	10	11.4 (10)	90	10	11.1 (9)	87	9
13-7	12.2 (10)	10	12.7 (10)	104	10	12.0 (10)	98	10	11.6 (10)	95	10	11.2 (10)	92	10	11.0 (9)	90	9

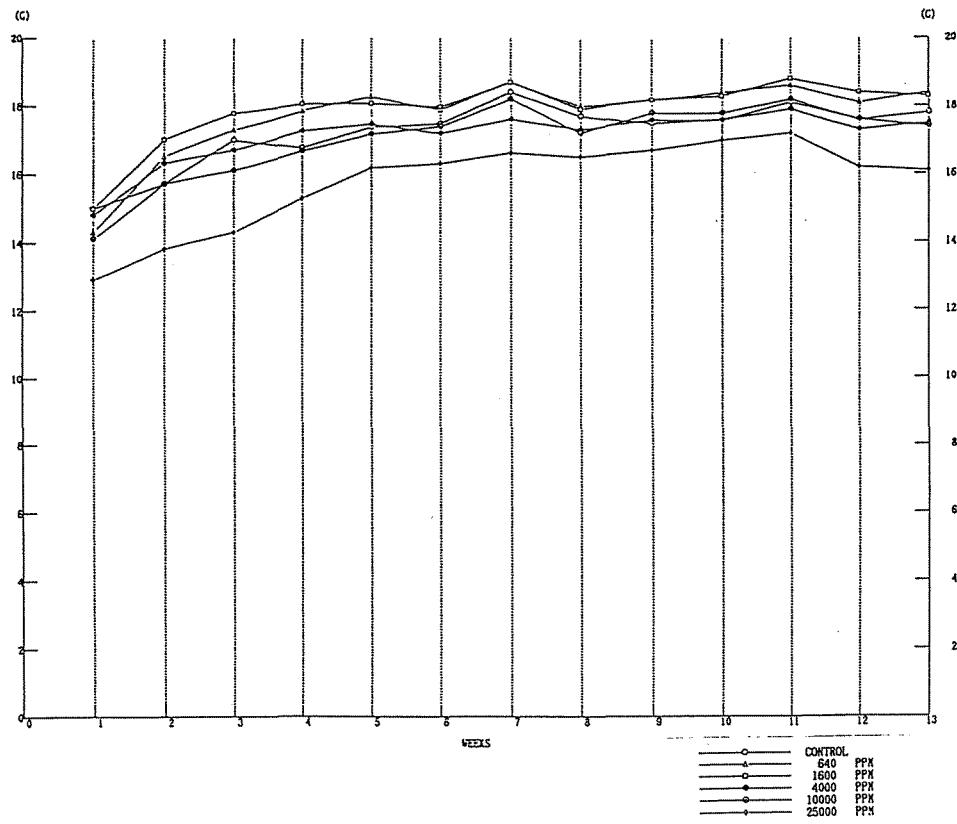


FIGURE 7 FOOD CONSUMPTION : RAT:MALE (THIRTEEN-WEEK STUDIES)

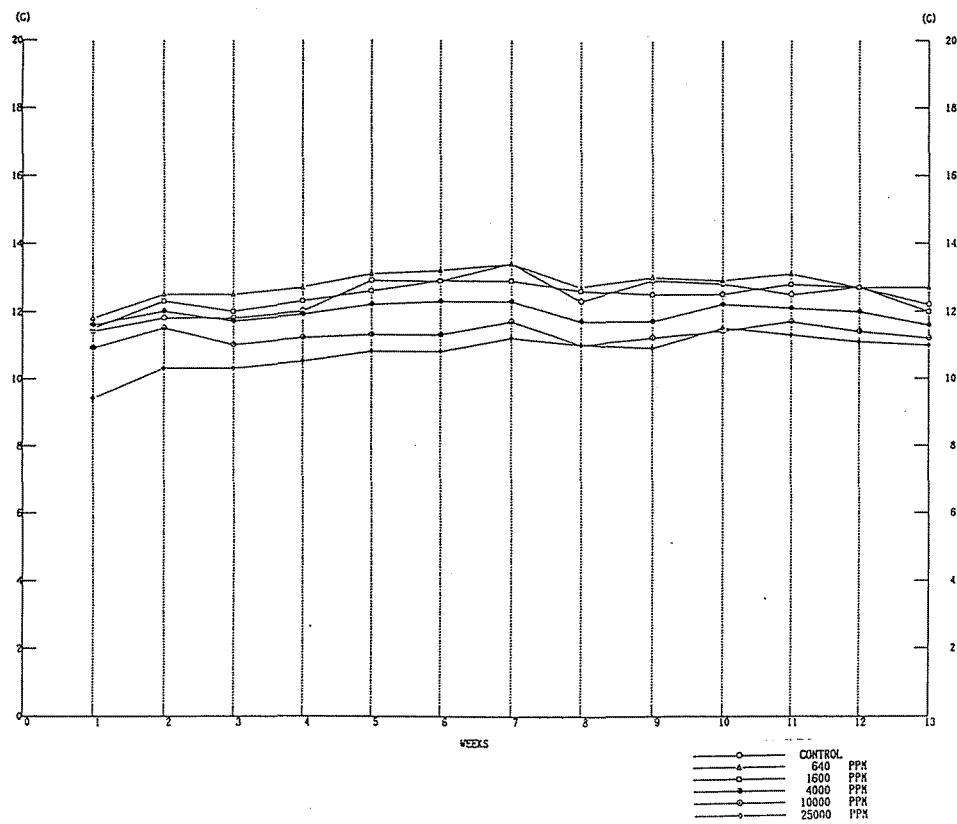


FIGURE 8 FOOD CONSUMPTION : RAT:FEMALE (THIRTEEN-WEEK STUDIES)

TABLE 14

WATER CONSUMPTION IN MALE RAT (THIRTEEN-WEEK STUDIES)

Week-Day on Study	Control		640		1600		4000		10000		25000		
	Au.W.C.	No.of Surviv.	Au.W.C.	% of cont.	Au.W.C.	% of cont.	Au.W.C.	% of cont.	Au.W.C.	% of cont.	Au.W.C.	% of cont.	
1-3	19.8 (10)	10	18.1 (10)	91	10	18.2 (10)	92	10	17.2 (10)	87	10	16.1 (10)	81
1-7	20.3 (10)	10	16.8 (10)	83	10	19.1 (10)	94	10	17.8 (10)	88	10	15.9 (10)	78
2-3	20.5 (10)	10	20.4 (10)	100	10	20.5 (10)	100	10	18.7 (10)	91	10	17.0 (10)	83
2-7	21.4 (10)	10	20.7 (10)	97	10	21.8 (10)	102	10	19.3 (10)	90	10	17.6 (10)	82
3-3	28.7 (10)	10	21.3 (10)	74	10	22.7 (10)	78	10	19.0 (10)	66	10	17.2 (10)	60
3-7	29.8 (10)	10	22.2 (10)	74	10	24.0 (10)	81	10	19.9 (10)	67	10	18.2 (10)	61
4-3	25.6 (10)	10	22.4 (10)	88	10	23.5 (10)	92	10	19.7 (10)	77	10	18.1 (10)	71
4-7	27.9 (10)	10	22.2 (10)	80	10	23.9 (10)	86	10	19.9 (10)	71	10	18.2 (10)	65
5-3	27.3 (10)	10	22.8 (10)	84	10	25.4 (10)	93	10	19.6 (10)	72	10	18.3 (10)	67
5-7	28.8 (10)	10	24.0 (10)	83	10	25.3 (10)	88	10	19.7 (10)	68	10	18.3 (10)	64
6-3	27.6 (10)	10	24.0 (10)	87	10	23.3 (10)	84	10	19.2 (10)	70	10	17.6 (10)	64
6-7	28.2 (10)	10	23.1 (10)	82	10	23.1 (10)	82	10	19.7 (10)	70	10	18.2 (10)	65
7-3	29.6 (10)	10	23.6 (10)	80	10	22.4 (10)	76	10	18.4 (10)	62	10	21.9 (10)	74
7-7	30.7 (10)	10	23.5 (10)	77	10	22.6 (10)	74	10	19.1 (10)	62	10	21.6 (10)	70
8-3	28.7 (10)	10	23.6 (10)	82	10	21.7 (10)	76	10	18.5 (10)	64	10	16.7 (10)	58
8-7	29.0 (10)	10	23.7 (10)	82	10	22.7 (10)	78	10	19.1 (10)	66	10	17.3 (10)	60
9-3	26.4 (10)	10	24.9 (10)	94	10	21.7 (10)	82	10	19.4 (10)	73	10	16.7 (10)	63
9-7	28.6 (10)	10	24.7 (10)	86	10	21.9 (10)	77	10	19.2 (10)	67	10	17.2 (10)	60
10-3	26.6 (10)	10	24.6 (10)	92	10	21.9 (10)	82	10	18.0 (10)	68	10	15.7 (10)	59
10-7	30.4 (10)	10	25.6 (10)	84	10	23.3 (10)	77	10	19.5 (10)	64	10	18.0 (10)	59
11-3	27.5 (10)	10	25.5 (10)	93	10	23.5 (10)	85	10	18.5 (10)	67	10	17.0 (10)	62
11-7	28.6 (10)	10	24.8 (10)	87	10	22.9 (10)	80	10	18.7 (10)	65	10	16.8 (10)	59
12-3	27.6 (10)	10	24.8 (10)	90	10	22.7 (10)	82	10	18.7 (10)	68	10	17.5 (10)	63
12-7	29.6 (10)	10	25.4 (10)	86	10	23.3 (10)	79	10	18.3 (10)	62	10	16.5 (10)	56
13-3	29.0 (10)	10	24.6 (10)	85	10	24.2 (10)	83	10	18.4 (10)	63	10	16.4 (10)	57
13-7	27.7 (10)	10	24.5 (10)	88	10	22.9 (10)	83	10	18.4 (10)	66	10	16.9 (10)	61

TABLE 15

WATER CONSUMPTION IN FEMALE RAT (THIRTEEN-WEEK STUDIES)

Week-Day on Study	Control		640		1600		4000		10000		25000				
	Au.WC.	No.of Surviv.	Au.WC.	% of cont.	No.of Surviv.										
1-3	16.6 (10)	10	16.8 (10)	101	10	15.8 (10)	95	10	14.8 (10)	89	10	12.5 (10)	75	10	7.9 (10) 48 10
1-7	19.2 (10)	10	18.9 (10)	98	10	16.8 (10)	88	10	15.3 (10)	80	10	12.9 (10)	67	10	11.2 (10) 58 10
2-3	17.8 (10)	10	19.7 (10)	111	10	17.3 (10)	97	10	15.2 (10)	85	10	12.7 (10)	71	10	10.3 (10) 58 9
2-7	18.7 (10)	10	25.1 (10)	134	10	19.2 (10)	103	10	15.9 (10)	85	10	13.0 (10)	70	10	10.7 (9) 57 9
3-3	18.7 (10)	10	24.5 (10)	131	10	18.5 (10)	99	10	15.7 (10)	84	10	12.2 (10)	65	10	10.3 (9) 55 9
3-7	20.2 (10)	10	23.0 (10)	114	10	19.2 (10)	95	10	16.2 (10)	80	10	12.7 (10)	63	10	10.0 (9) 50 9
4-3	19.6 (10)	10	23.8 (10)	121	10	19.5 (10)	99	10	16.2 (10)	83	10	12.6 (10)	64	10	8.7 (9) 44 9
4-7	20.4 (10)	10	24.9 (10)	122	10	20.2 (10)	99	10	19.6 (10)	96	10	12.6 (10)	62	10	10.1 (9) 50 9
5-3	21.4 (10)	10	23.6 (10)	110	10	19.1 (10)	89	10	20.6 (10)	96	10	12.1 (10)	57	10	8.9 (9) 42 9
5-7	21.9 (10)	10	23.5 (10)	107	10	20.6 (10)	94	10	21.0 (10)	96	10	12.5 (10)	57	10	10.0 (9) 46 9
6-3	21.1 (10)	10	24.2 (10)	115	10	21.2 (10)	100	10	17.9 (10)	85	10	12.2 (10)	58	10	9.2 (9) 44 9
6-7	24.9 (10)	10	24.4 (10)	98	10	23.4 (10)	94	10	21.2 (10)	85	10	11.9 (10)	48	10	9.3 (9) 37 9
7-3	23.5 (10)	10	23.0 (10)	98	10	19.1 (10)	81	10	22.5 (10)	96	10	11.8 (10)	50	10	8.6 (9) 37 9
7-7	24.3 (10)	10	22.7 (10)	93	10	20.6 (10)	85	10	21.6 (10)	89	10	12.1 (10)	50	10	9.5 (9) 39 9
8-3	22.5 (10)	10	21.2 (10)	94	10	19.7 (10)	88	10	20.2 (10)	90	10	11.5 (10)	51	10	8.2 (9) 36 9
8-7	23.1 (10)	10	22.4 (10)	97	10	19.7 (10)	85	10	18.1 (10)	78	10	11.9 (10)	52	10	9.4 (9) 41 9
9-3	23.1 (10)	10	22.0 (10)	95	10	23.9 (10)	103	10	22.3 (10)	97	10	11.5 (10)	50	10	9.1 (9) 39 9
9-7	27.3 (10)	10	26.2 (10)	96	10	22.1 (10)	81	10	20.9 (10)	77	10	11.6 (10)	42	10	8.7 (9) 32 9
10-3	21.8 (10)	10	22.5 (10)	103	10	18.8 (10)	86	10	17.7 (10)	81	10	11.6 (10)	53	10	8.7 (9) 40 9
10-7	30.0 (10)	10	25.9 (10)	86	10	22.5 (10)	75	10	17.2 (10)	57	10	12.3 (10)	41	10	9.9 (9) 33 9
11-3	23.5 (10)	10	22.9 (10)	97	10	19.0 (10)	81	10	17.5 (10)	74	10	12.2 (10)	52	10	8.9 (9) 38 9
11-7	25.9 (10)	10	26.9 (10)	104	10	20.8 (10)	80	10	18.1 (10)	70	10	12.0 (10)	46	10	9.1 (9) 35 9
12-3	25.9 (10)	10	21.8 (10)	84	10	20.1 (10)	78	10	17.3 (10)	67	10	12.1 (10)	47	10	9.4 (9) 36 9
12-7	25.2 (10)	10	22.4 (10)	89	10	22.1 (10)	88	10	16.4 (10)	65	10	11.9 (10)	47	10	8.7 (9) 35 9
13-3	26.3 (10)	10	21.9 (10)	83	10	19.4 (10)	74	10	16.4 (10)	62	10	11.6 (10)	44	10	8.6 (9) 33 9
13-7	25.1 (9)	10	22.9 (10)	91	10	21.5 (10)	86	10	16.1 (10)	64	10	11.4 (10)	45	10	9.2 (9) 37 9

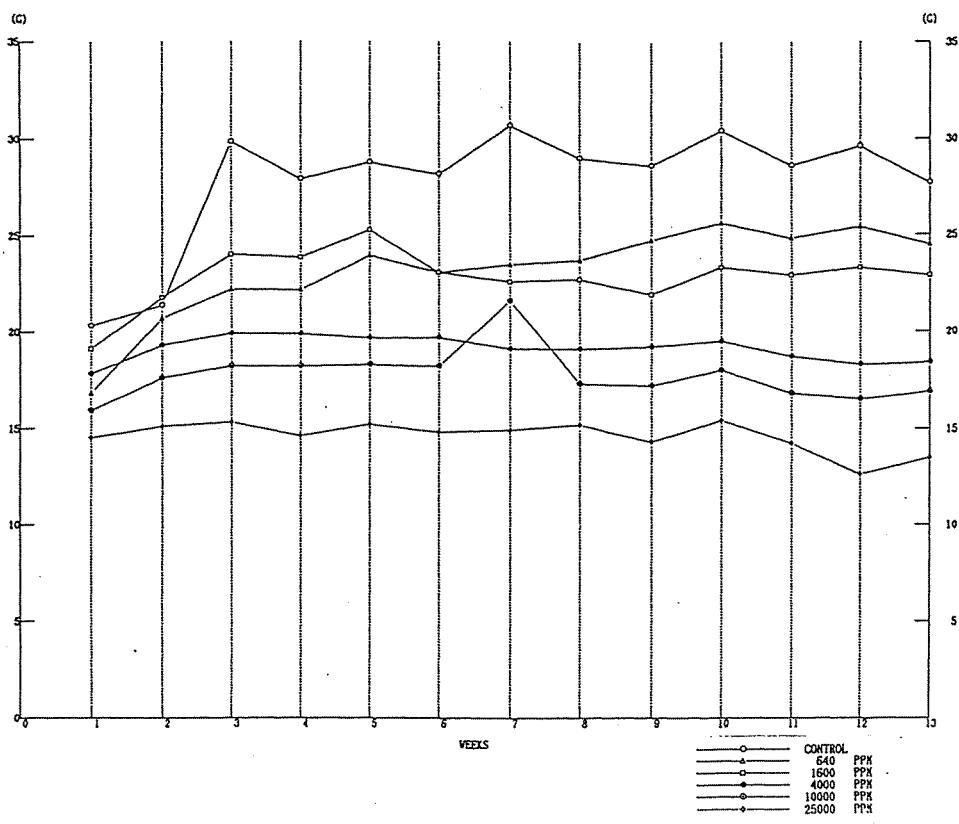


FIGURE 9 WATER CONSUMPTION : RAT:MALE (THIRTEEN-WEEK STUDIES)

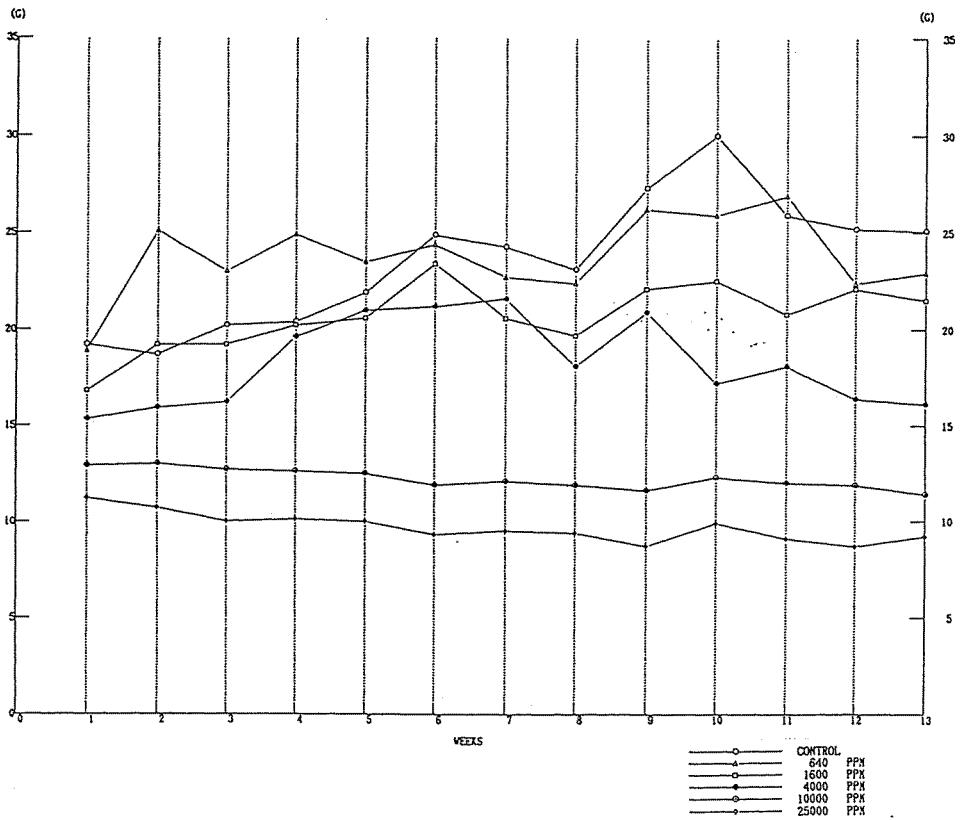


FIGURE 10 WATER CONSUMPTION : RAT:FEMALE (THIRTEEN-WEEK STUDIES)

(2) 血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査

血液学的検査

血液学的検査の結果をAppendix H 1,2(総括表)、Appendix T 1,2(個体表)に示した。

雄では25000ppm群で赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、分葉核好中球比の増加及びリンパ球比の減少が認められた。

雌では25000ppm群で平均赤血球容積、血小板数の減少が認められ、10000ppm群でも平均赤血球容積の減少が認められた。

血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果をAppendix I 1,2(総括表)、Appendix U 1,2(個体表)に示した。

雄では25000ppm群でGOT、GPT、ALP、LAP、A/G比の増加及び総蛋白、アルブミン、グルコース、総コレステロール、トリグリセライド、ナトリウムの減少が認められ、10000ppm群でもALP、LAPの増加及び総蛋白、アルブミンの減少が認められ、さらに4000ppm群でも総蛋白、アルブミンの減少が認められた。

雌では25000ppm群でGOT、ALP、LAP、A/G比の増加及び総蛋白、アルブミン、グルコース、総コレステロール、ナトリウム、カルシウムの減少が認められ、10000ppm群でもLAPの増加及び総蛋白、アルブミンの減少が認められ、さらに4000ppm群でも総蛋白、アルブミンの減少が認められた。

尿検査

尿検査の結果をAppendix J 1,2(総括表)、Appendix V 1,2(個体表)に示した。

雄では25000、10000、4000ppm群でpHの低下が認められた。

雌では25000、10000ppm群でpHの低下が認められた。

(3) 病理学的検査

剖検

解剖時に観察された剖検所見をAppendix K 1~3(総括表)、Appendix W 1,2(個体表)に示した。

25000ppm群の雌の死亡例(1例)に、胸腺と脾臓の萎縮、肝臓の小葉構造明晰化、腎臓の腫大がみられた。また、定期解剖動物では雌雄とともに、投与群に特徴的な所見は認められなかつた。

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 L 1,2(実重量・総括表)、M 1,2(体重比・総括表)、Appendix X 1,2(実重量・個体表)、Y 1,2(体重比・個体表)に示した。

雄では対照群に比較して25000ppm群は胸腺、肝臓、脾臓、肺(右側のみ)、腎臓(右側のみ)及び心臓の実重量が有意な低値を示し、脳、副腎、精巣、肺、腎臓及び肝臓の体重比が有意な高値を示した。10000ppm群では心臓の実重量の有意な低値を示し、副腎(左側のみ)、精巣(左側のみ)、腎臓(右側のみ)及び肝臓の体重比が有意な高値を示した。4000ppm群では肺(左側のみ)の体重比が有意な高値を示した。

雌では対照群に比較して25000ppm群は胸腺、副腎(左側のみ)、肺、脾臓、脳及び心臓の実重量が有意な低値を示し、腎臓の実重量と体重比、肺、肝臓及び脳の体重比が有意な高値を示した。10000ppm群では心臓の実重量の有意な低値を示し、腎臓の実重量と体重比、肺(右側のみ)、脾臓、肝臓及び脳の体重比が有意な高値を示した。4000ppm群では腎臓、肝臓、脳の体重比が有意な高値を示した。1600ppm群では腎臓及び肝臓の実重量と体重比が有意な高値を示した。

なお、雄の10000ppm以上の群と雌の4000ppm以上の群では解剖時体重は対照群に比較して有意な低値であった。

病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果をAppendix N 1~3(総括表、非腫瘍性病変)、Appendix Z 1,2(個体表)に示し、その主要所見をTable 16,17にまとめた。

25000ppm群の雌の死亡例(1例)に、鼻腔の嗅上皮(支持細胞)の核増大及び呼吸上皮の核増大、気管に上皮の核増大、肝臓の小葉中心性の空胞変性、腎臓の近位尿細管の水腫様変性及び皮質の鉱質沈着、脳の空胞変性の発生がみられ、死因は腎臓病変(近位尿細管の水腫様変性)と診断した。

定期解剖動物において観察された所見のうち、対照群と比較して有意差の認められたものを以下に述べる。

鼻腔に嗅上皮(支持細胞)の核増大が雌雄の4000ppm以上の群、呼吸上皮の核増大が雌雄の1600ppm以上の群で発生増加を示した。

気管上皮の核増大が雌雄の4000ppm以上の群で発生増加を示した。

肺に気管支上皮の核増大が雌の25000ppm群で発生増加を示した。

肝臓に肉芽形成が雌雄の25000ppm群と雄の4000ppm群、小葉中心性の肝細胞腫脹が雄の1600ppm以上の群及び雌の10000ppm以上の群及び小葉中心性の空胞変性が雄の10000ppm以上の群、雌の25000ppm群で発生増加を示した。

腎臓に近位尿細管の水腫様変性が雌雄の25000ppm群、近位尿細管上皮の核増大が雌雄の10000ppm以上の群で発生増加を示した。雄の好酸体の出現の程度は、4000ppm以上の群で減弱を示した。なお、腫瘍性病変として腎芽腫が雄の4000ppm群に1例みられた。

脳に空胞変性が雌雄の25000ppm群で発生増加を示した。

ハーダー腺に変性をともなう炎症が雌の25000ppm群で発生減少を示した。

TABLE 16 NUMBER OF MALE RAT WITH SELECTED LESIONS

Group (ppm)	Control 10	640 10	1600 10	4000 10	10000 10	25000 10
Number of Examined Animals						
NASAL CAVITY						
Nuclear enlargement:olfactory epithelium				10	9	10
Nuclear enlargement:respiratory epithelium		9	10	9	10	
TRACHEA						
Nuclear enlargement:epithelium				10	10	10
LUNG/BRONCH						
Nuclear enlargement:bronchial epithelium					1	2
LIVER						
Granulation				5	2	10
Swelling:central	9		10	10	10	
Vacuolic change:central	1			10	10	
KIDNEY						
Nuclear enlargement:proximal tubule				1	5	9
Hydropic change:proximal tubule						7
BRAIN						
Vacuolic change						10
HARDERIAN GLAND						
Inflammation	2	2	1	2		

TABLE 17 NUMBER OF FEMALE RAT WITH SELECTED LESIONS

Group (ppm)	Control 10	640 10	1600 10	4000 10	10000 10	25000 10
Number of Examined Animals						
NASAL CAVITY						
Nuclear enlargement:olfactory epithelium				9	10	9
Nuclear enlargement:respiratory epithelium		5	10	10	9	
TRACHEA						
Nuclear enlargement:epithelium				9	10	10
LUNG/BRONCH						
Nuclear enlargement:bronchial epithelium				1	1	6
LIVER						
Granulation	2		1	5	5	8
Swelling:central			1		9	9
Vacuolic change:central						10
KIDNEY						
Nuclear enlargement:proximal tubule					8	9
Hydropic change:proximal tubule						6
BRAIN						
Vacuolic change						9
HARDERIAN GLAND						
Inflammation	6	5	6	4	4	

III - 2 マウスを用いたがん原性予備試験

III - 2 - 1 急性試験

(1) 動物の状態観察

生死状況

動物の死亡は、雌雄とも5325mg/kg以上の群で認められ、雄においては、9000mg/kg群で投与日に5/10例（投与後2～4時間に4/10例、4～6時間に1/10例）、1週1日に5/10例の計10/10例、6923mg/kg群で1週1日に8/10例、1週2日に2/10例の計10/10例、5325mg/kg群で1週1日に3/10例、1週2日に3/10例の計6/10例であった。また、雌においては、9000mg/kg群では投与日に1/10例（投与後4～6時間に1/10例）、1週1日に9/10例の計10/10例、6923mg/kg群では1週1日に9/10例、1週2日に1/10例の計10/10例、5325mg/kg群では1週1日に1/10例、1週2日に5/10例の計6/10例が死亡した。（Table 18, 19）

一般症状

死亡動物の症状は、雌雄の各投与群とともに、投与後から死亡までに自発運動量減少、立毛、姿勢の異常（円背位、腹臥、横臥姿勢）、失調性歩行、流涙、衰弱、正向反射消失、異常呼吸（不整呼吸、呼吸抑制、呼吸困難）、体温低下等の症状が認められた。また、生存動物では、雌雄の各投与群とともに、投与後、自発運動量減少、立毛、円背位、失調性歩行、不整呼吸等がみられたが、時間経過に伴い動物の状態は回復し、1週3日以降はほとんど症状は認められなくなった。（Appendix A 1-3, 4）

体重

体重推移は、雌雄とも生存例の認められた5325mg/kg以下の群では、5325mg/kgの1週1日と1週2日にのみ、対照群に比べ体重増加の抑制が認められたが、この抑制は1週3日以降は認められなくなり、各投与群における最終（2週7日）体重値は対照群に対して、雄では5325mg/kg群で100%、4096mg/kg群で100%、3151mg/kg群で102%、雌では5325mg/kg群で100%、4096mg/kg群で101%、3151mg/kg群で99%であった。（Table 18, 19, Figure 11, 12）

TABLE 18 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE MOUSE (ACUTE STUDIES)

TABLE 19 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE MOUSE (ACUTE STUDIES)

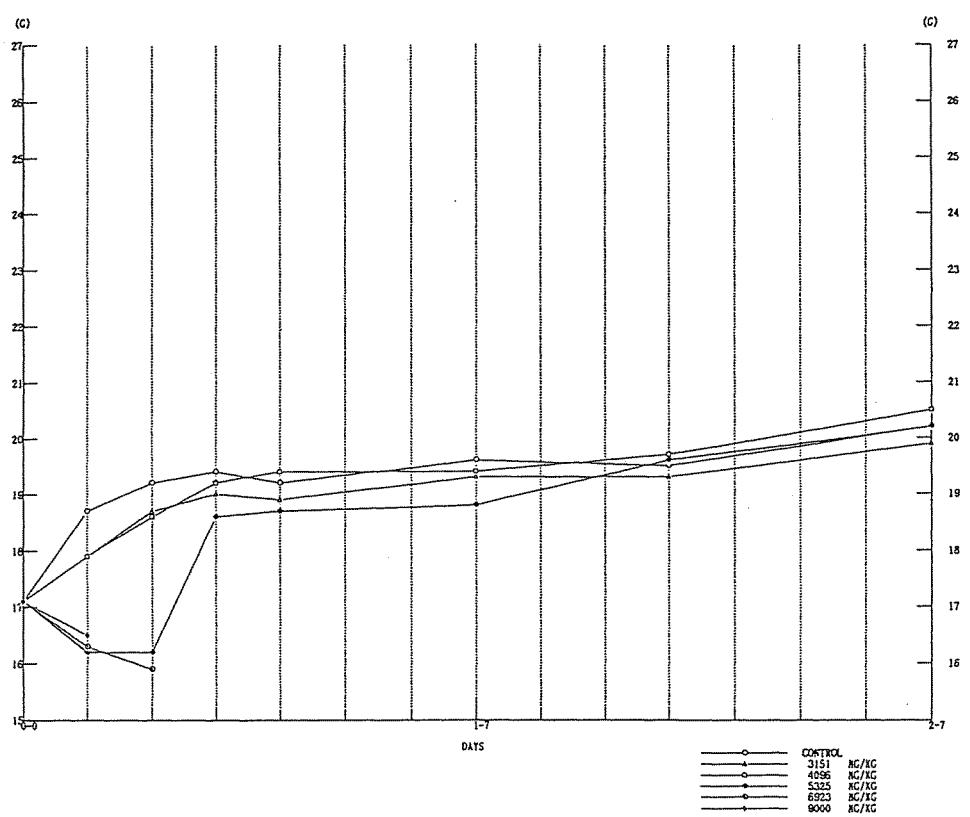
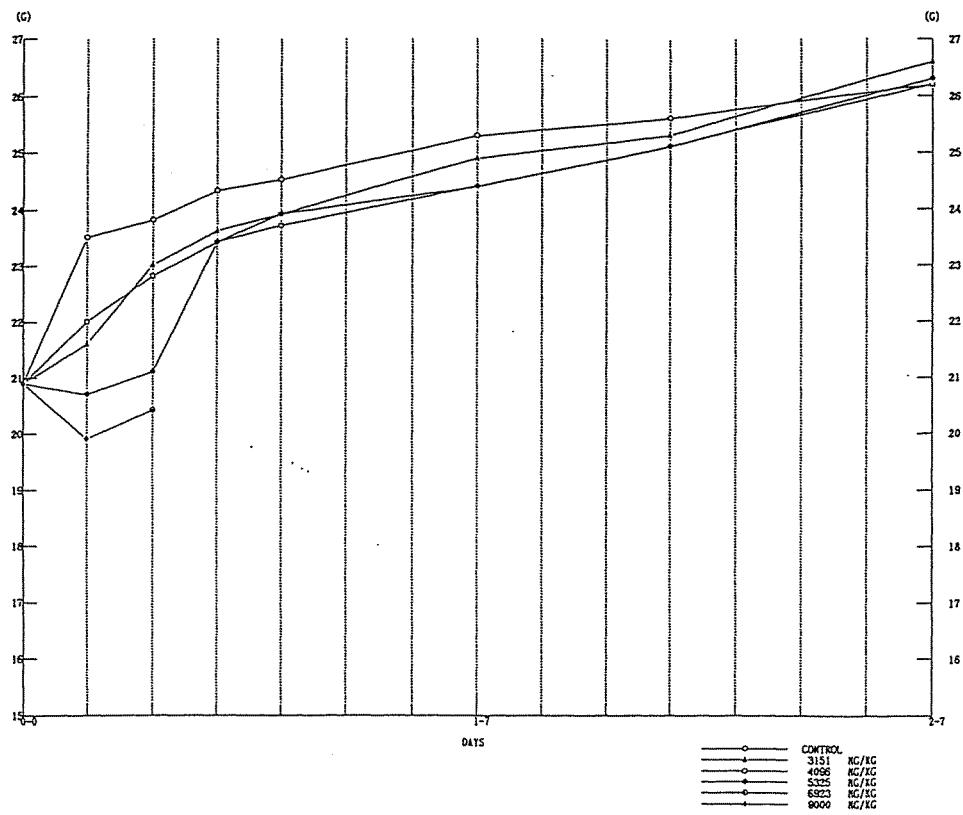


FIGURE 12 BODY WEIGHT CHANGES : MOUSE:FEMALE (ACUTE STUDIES)

(2) 病理学的検査

剖検

解剖時に観察された剖検所見を Appendix A 2-5~8 (総括表)、 Appendix A 5-1,2 (個体表) に示した。

死亡動物では、 6923mg/kg以上の群で雌雄とも肺の赤色化と腺胃の赤色点／斑が、 雄の6923mg/kg群、 雌の6923mg/kg以上の群には胃または小腸に黒色・褐色・赤色あるいは透明液の貯留が多くの例に観察された。

5325mg/kg群の雄では少数例に6923mg/kg群と同様の所見がみられ、 雌では多数例に肺の赤色化と胃または小腸に黒色・褐色あるいは赤色液の貯留、 少数例に腺胃の赤色点／斑が観察された。 また、 5325mg/kg群では雌雄とも半数以上の例の肝臓及び腎臓が貧血様色調を呈していた。

定期解剖動物は雌雄とともに投与群に特徴的な所見は認められなかつた。

病理組織学的検査

死亡動物では9000mg/kg群と6923mg/kg群で雌雄各2例、 5325mg/kg群では雄2例、 雌1例、 定期解剖動物では5325mg/kg以下の各群で雌雄2例について病理組織学的検査を行つた。 その結果を Appendix A 3-5~8 (総括表)、 Appendix A 6-1,2 (個体表) に示した。

死亡動物については肺の鬱血、 骨髓の鬱血、 リンパ節の核崩壊像、 脾臓の鬱血・核崩壊像、 水腎症、 下垂体の鬱血、 副腎の鬱血、 脳の鬱血、 胸腺の核崩壊像、 腎臓の近位尿細管（皮髓境界部）の壞死、 腺胃の出血がみられた。

定期解剖動物については前胃の潰瘍・糜爛、 胸腺の出血、 精巣の萎縮、 脂肪織の鬱血、 脾臓のメラニン沈着がみられた。

III - 2 - 2 2週間試験

生死状況

動物の死亡は、雌雄の90000ppm群にのみ認められ、雄では2週1日に2/10例、2週2日に2/10例、2週3日に2/10例、2週4日に2/10例、2週5日に1/10例の計9/10例であった。また、雌では1週7日に1/10例、2週1日に5/10例、2週2日に1/10例、2週3日に3/10例の計10/10例が死亡した。(Table 20, 21)

一般症状

死亡動物の症状は、雌雄とともに、1週3日頃より認められ、立毛、円背位、汚染、失調性歩行等がみられ、時間経過に伴い動物は衰弱し、自発運動量減少、瘦削等が認められ、死に至った。また、生存動物の症状は、雄では10000ppm以上の群、雌では30000ppm群で1週3日頃より認められ、雄の90000ppm群の生存例(1例)は投与最終日(2週7日)においても、自発運動量減少、立毛、円背位、汚染及び衰弱が継続して認められた。雄の30000ppm群では自発運動量減少、立毛、円背位、雄の10000ppm群では立毛、雌の30000ppm群では立毛、円背位が多くの動物に認められた。(Appendix B 1-3, 4)

体重

体重推移は、雌雄とも30000ppm以上の群で、ほぼ全投与期間に対照群に比べ投与量に対応した体重増加の抑制が認められ、それらの最終(2週7日)体重値は対照群に対して、雄では90000ppm群で52%、30000ppm群で85%、雌では30000ppm群で91%であった。(Table 20, 21, Figure 13, 14)

摂餌量

摂餌量は、雌雄の30000ppm以上の群で、対照群と比べ投与濃度に対応した低下が認められた。(Table 22, 23)

摂水量

摂水量は、雌雄とも10000ppm以上の群で、ほぼ全投与期間に対照群に比べ投与濃度に対応した低下が認められ、それら雌雄の各群の摂水量は対照群に対して、90000ppm群で10%前後、30000ppm群で約20~50%、10000ppm群で約70~80%であった。(Table 24, 25)

TABLE 20

SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE MOUSE (TWO-WEEK STUDIES)

Week-Day on Study	Control		1110 ppm				3330 ppm				10000 ppm				30000 ppm				90000 ppm			
	Au.Wt.	No.of Surviv.	Au.Wt.	% of cont.	No.of Surviv.																	
0-0	23.7 (10)	10	23.7 (10)	100	10	23.8 (10)	100	10	23.8 (10)	100	10	23.8 (10)	100	10	23.8 (10)	100	10	23.8 (10)	100	10		
1-1	23.4 (10)	10	23.5 (10)	100	10	23.4 (10)	100	10	22.2 (10)	95	10	21.5 (10)	92	10	21.2 (10)	91	10					
1-2	24.4 (10)	10	24.2 (10)	99	10	24.2 (10)	99	10	22.5 (10)	92	10	20.2 (10)	83	10	19.9 (10)	82	10					
1-4	24.7 (10)	10	24.8 (10)	100	10	24.5 (10)	99	10	23.8 (10)	96	10	18.8 (10)	76	10	17.8 (10)	72	10					
1-7	25.1 (10)	10	25.0 (10)	100	10	25.4 (10)	101	10	24.5 (10)	98	10	17.5 (10)	70	10	15.0 (10)	60	10					
2-3	25.2 (10)	10	25.5 (10)	101	10	25.7 (10)	102	10	24.9 (10)	99	10	19.7 (10)	78	10	13.7 (6)	54	4					
2-7	26.0 (10)	10	26.2 (10)	101	10	26.4 (10)	102	10	25.8 (10)	99	10	22.0 (10)	85	10	13.5 (1)	52	1					

TABLE 21

SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE MOUSE (TWO-WEEK STUDIES)

Week-Day on Study	Control		1110 ppm				3330 ppm				10000 ppm				30000 ppm				90000 ppm			
	Au.Wt.	No.of Surviv.	Au.Wt.	% of cont.	No.of Surviv.																	
0-0	19.6 (10)	10	19.6 (10)	100	10	19.6 (10)	100	10	19.6 (10)	100	10	19.6 (10)	100	10	19.6 (10)	100	10	19.6 (10)	100	10		
1-1	19.3 (10)	10	18.6 (10)	96	10	19.0 (10)	98	10	18.8 (10)	97	10	17.4 (10)	90	10	16.8 (10)	87	10					
1-2	19.2 (10)	10	18.9 (10)	98	10	18.8 (10)	98	10	19.2 (10)	100	10	16.5 (10)	86	10	15.5 (10)	81	10					
1-4	19.9 (10)	10	19.3 (10)	97	10	19.3 (10)	97	10	19.7 (10)	99	10	16.9 (10)	85	10	13.5 (10)	68	10					
1-7	19.9 (10)	10	19.6 (10)	98	10	19.1 (10)	96	10	19.8 (10)	99	10	17.5 (10)	88	10	11.1 (10)	56	9					
2-3	20.0 (10)	10	20.2 (10)	101	10	19.8 (10)	99	10	20.0 (10)	100	10	18.8 (10)	94	10	10.4 (3)	52	0					
2-7	20.8 (10)	10	20.9 (10)	100	10	20.4 (10)	98	10	20.7 (10)	100	10	19.0 (3)	91	10								

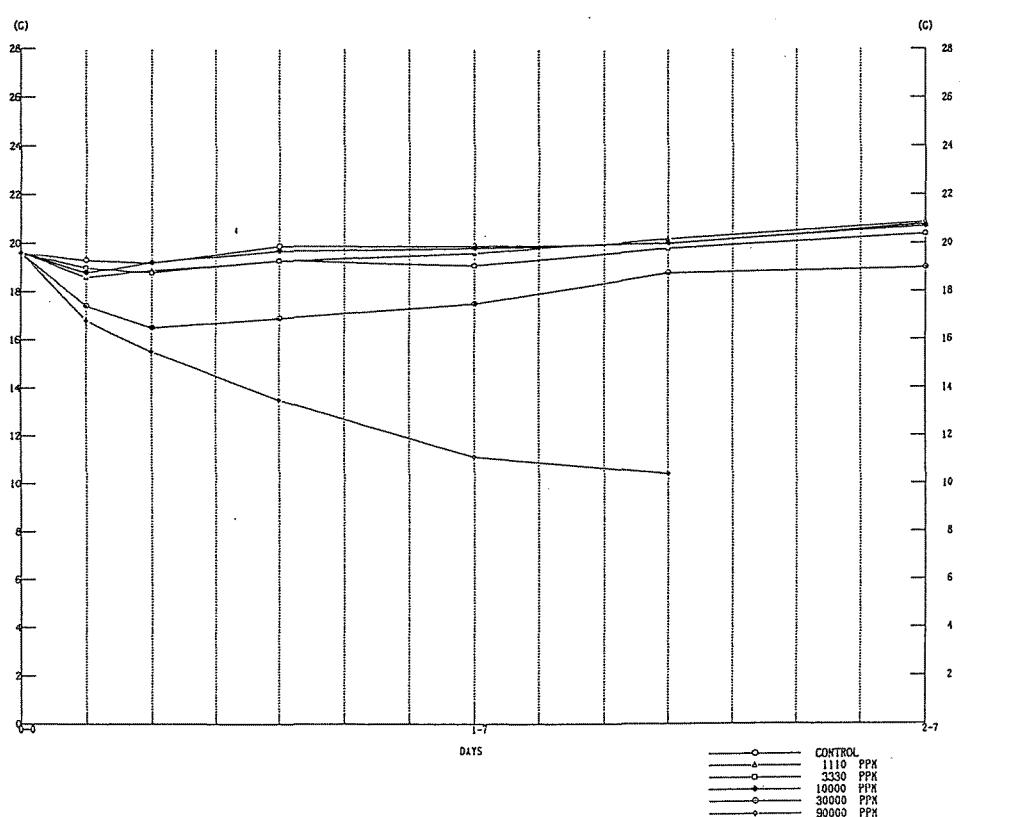
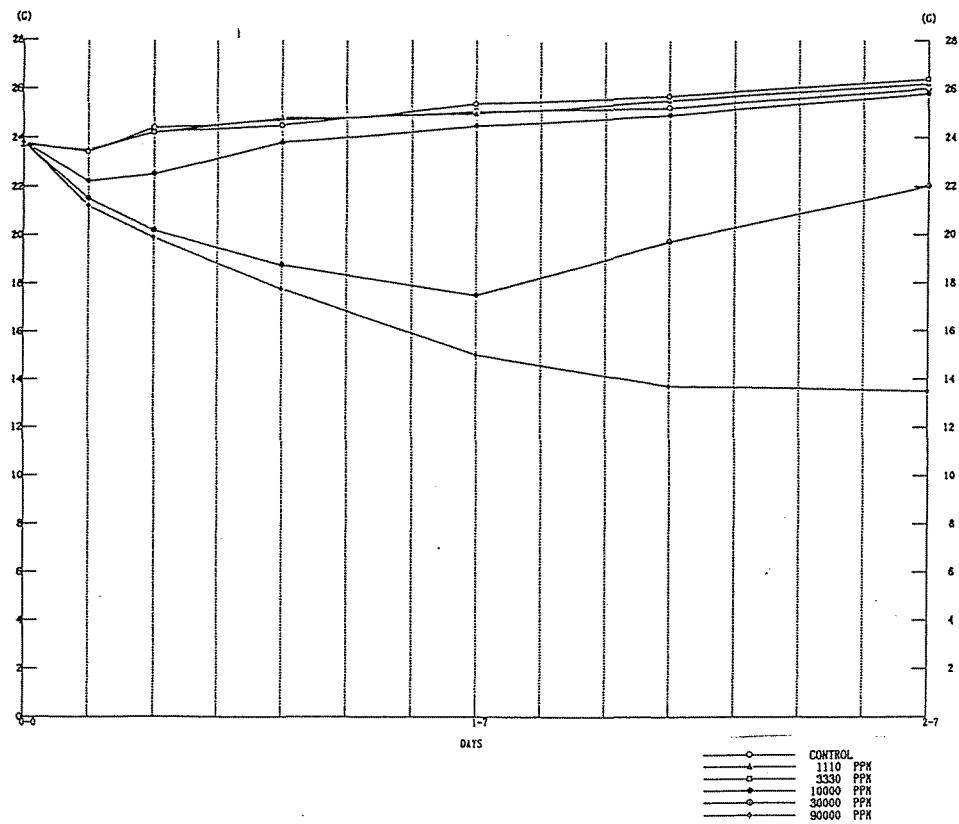


TABLE 22 FOOD CONSUMPTION IN MALE MOUSE (TWO-WEEK STUDIES)

Week-Day on Study	Control		1110 ppm		3330 ppm		10000 ppm		30000 ppm		90000 ppm			
	Avg.F.C.	No.of Surviv.	Avg.F.C.	% of cont.	No.of Surviv.	Avg.F.C.	% of cont.	No.of Surviv.	Avg.F.C.	% of cont.	No.of Surviv.	Avg.F.C.	% of cont.	No.of Surviv.
1-7	3.8 (10)	10	3.9 (10)	103	10	3.8 (10)	103	10	3.6 (10)	95	10	1.8 (10)	47	10
2-7	3.6 (10)	10	3.6 (10)	100	10	3.7 (10)	103	10	3.7 (10)	103	10	3.6 (10)	100	10
												1.4 (10)	37	10
												1.0 (1)	28	1

94
TABLE 23 FOOD CONSUMPTION IN FEMALE MOUSE (TWO-WEEK STUDIES)

Week-Day on Study	Control		1110 ppm		3330 ppm		10000 ppm		30000 ppm		90000 ppm			
	Avg.F.C.	No.of Surviv.	Avg.F.C.	% of cont.	No.of Surviv.	Avg.F.C.	% of cont.	No.of Surviv.	Avg.F.C.	% of cont.	No.of Surviv.	Avg.F.C.	% of cont.	No.of Surviv.
1-7	3.2 (10)	10	3.1 (10)	97	10	3.1 (10)	97	10	3.3 (10)	103	10	2.5 (10)	78	10
2-7	3.3 (10)	10	3.3 (10)	100	10	3.2 (10)	97	10	3.3 (10)	100	10	3.1 (3)	94	10
												1.3 (10)	41	9

TABLE 24
WATER CONSUMPTION IN MALE MOUSE (TWO-WEEK STUDIES)

Week-Day on Study	Control				1110 ppm				3330 ppm				10000 ppm				30000 ppm				90000 ppm			
	Au.WC.	No.of Surviv.	Au.WC.	% of cont.	No.of Surviv.	Au.WC.	% of cont.	No.of Surviv.																
1-4	4.7 (10)	10	4.5 (10)	96	10	4.8 (10)	102	10	3.1 (10)	66	10	0.9 (10)	19	10	0.5 (10)	11	10							
1-7	4.8 (10)	10	4.5 (10)	94	10	5.1 (10)	106	10	3.3 (10)	69	10	1.0 (10)	21	10	0.3 (10)	6	10							
2-3	5.0 (10)	10	4.7 (10)	94	10	4.9 (10)	98	10	3.4 (10)	68	10	2.2 (10)	44	10	0.5 (4)	10	4							
2-7	5.2 (10)	10	5.0 (10)	96	10	5.2 (10)	100	10	3.6 (10)	69	10	2.5 (10)	48	10	0.8 (1)	15	1							

TABLE 25
WATER CONSUMPTION IN FEMALE MOUSE (TWO-WEEK STUDIES)

Week-Day on Study	Control				1110 ppm				3330 ppm				10000 ppm				30000 ppm				90000 ppm			
	Au.WC.	No.of Surviv.	Au.WC.	% of cont.	No.of Surviv.	Au.WC.	% of cont.	No.of Surviv.																
1-4	4.6 (10)	10	4.4 (10)	96	10	4.3 (10)	93	10	3.5 (10)	76	10	1.6 (10)	35	10	0.5 (10)	11	10							
1-7	4.6 (10)	10	3.8 (10)	83	10	4.4 (10)	96	10	3.6 (10)	78	10	2.1 (10)	46	10	0.4 (10)	9	9							
2-3	4.8 (10)	10	4.8 (10)	100	10	4.3 (10)	90	10	3.4 (10)	71	10	2.4 (10)	50	10										
2-7	4.8 (10)	10	4.9 (10)	102	10	4.5 (10)	94	10	3.6 (10)	75	10	2.2 (10)	46	10										

(2) 病理学的検査

剖検

解剖時に観察された剖検所見をAppendix B 3-5～8（総括表）Appendix B 6-3,4（個体表）に示した。

死亡／瀕死動物では90000ppm群で雌雄とともに多くの例に胸腺の萎縮や腺胃の赤色点／斑がみられ、少数例には肺の赤色点／斑や小腸の褐色液貯留が観察された。

定期解剖動物では90000ppm群の雄1例に死亡動物とほぼ同様の所見がみられた。雄の30000ppm群では肝臓の小葉構造明瞭化と貧血様色調が多くの例にみられ、胸腺の萎縮も半数例以上にみられた。10000ppm群では肝臓の貧血様色調が約半数例に、腎臓の貧血様色調が少数例にみられた。雌の30000ppm群では肝臓の小葉構造明瞭化と貧血様色調が多くの例にみられ、胸腺の萎縮も少数例にみられた。10000ppm群と3330ppm群では肝臓の小葉構造明瞭化が少数例にみられた。

病理組織学的検査

死亡動物では90000ppm群で雄3例、雌2例、定期解剖動物は90000ppm群で雄1例、30000ppm以下の各群で雌雄2例について病理組織学的検査を行った。

その結果をAppendix B 4-5～8（総括表）、Appendix B 7-3,4（個体表）に示した。

死亡／瀕死動物の雄については骨髄の鬱血、胸腺の萎縮・核崩壊像、脾臓の萎縮、肝臓の単細胞壊死がみられた。

定期解剖動物については骨髄の鬱血、胸腺の萎縮、肝臓の小葉中心性の肝細胞腫脹がみられた。

対照群では脾臓のメラニン沈着がみられた。

III - 2 - 3 13週間試験

(1) 動物の状態観察

生死状況

動物の死亡は、雄の25000ppm群でのみ、投与開始後2週に1例認められた。
(Table 26, 27)

一般症状

死亡動物では、立毛、円背位、汚染、尿による外陰部周囲の汚染及び瘦削がみられた。また、生存動物では、雄の25000ppm以上の群で、立毛が多くの動物に認められた。(Appendix D 3, 4)

体重

雄の25000ppm群でのみ、対照群に比べ体重増加の抑制が認められ、各群の最終(13週)体重値は対照群に対して、雄では25000ppm群で71%、10000ppm群で94%、4000ppm群で100%、1600ppm群で102%、640ppm群で105%、また、雌では25000ppm群で96%、10000ppm群で103%、4000ppm群で103%、1600ppm群で102%、640ppm群で102%であった。(Table 26, 27、Figure 15, 16、Appendix E 3, 4(総括表)、Appendix Q 3, 4(個体表))

摂餌量

雄の25000ppm群でのみ、対照群にくらべ体重増加の抑制に対応した低下が認められた。(Table 28, 29、Figure 17, 18、Appendix F 3, 4(総括表)、Appendix R 3, 4(個体表))

摂水量

雌雄とも10000ppm以上の群で、対照群に比べ明かな低下が投与濃度に対応して認められ、それらの投与群の摂水量は対照群に対して、雄では25000ppm群で7~48%、10000ppm群で43~63%、雌では25000ppm群で24~50%、10000ppm群で61~74%であった。(Table 30, 31、Figure 19, 20、Appendix G 3, 4(総括表)、Appendix S 3, 4(個体表))

TABLE 26 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE MOUSE (THIRTEEN-WEEK STUDIES)

Week-Day on Study	Control		640		1600		4000		10000		25000			
	Av.Wt.	No.of Surviv.	Av.Wt.	ppm % of cont.	No.of Surviv.									
0-0	23.5 (10)	10	23.5 (10)	100	10	23.5 (10)	100	10	23.5 (10)	100	10	23.5 (10)	100	10
1-7	24.7 (10)	10	24.9 (10)	101	10	24.8 (10)	100	10	24.6 (10)	100	10	24.1 (10)	98	10
2-7	25.6 (10)	10	26.1 (10)	102	10	26.2 (10)	102	10	25.7 (10)	100	10	25.4 (10)	99	10
3-7	26.6 (10)	10	27.4 (10)	103	10	27.4 (10)	103	10	26.6 (10)	100	10	26.5 (10)	100	10
4-7	27.3 (10)	10	28.3 (10)	104	10	28.1 (10)	103	10	27.8 (10)	102	10	27.7 (10)	101	10
5-7	28.3 (10)	10	29.1 (10)	103	10	28.9 (10)	102	10	28.4 (10)	100	10	28.0 (10)	99	10
6-7	29.5 (10)	10	30.2 (10)	102	10	29.9 (10)	101	10	29.2 (10)	99	10	28.9 (10)	98	10
7-7	29.9 (10)	10	31.3 (10)	105	10	30.9 (10)	103	10	30.0 (10)	100	10	29.9 (10)	100	10
8-7	30.9 (10)	10	32.0 (10)	104	10	31.7 (10)	103	10	31.1 (10)	101	10	30.7 (10)	99	10
9-7	31.6 (10)	10	32.9 (10)	104	10	32.2 (10)	102	10	31.6 (10)	100	10	31.4 (10)	99	10
10-7	32.8 (10)	10	34.0 (10)	104	10	33.1 (10)	101	10	32.6 (10)	98	10	32.1 (10)	98	10
11-7	33.5 (10)	10	34.7 (10)	104	10	33.9 (10)	101	10	33.7 (10)	101	10	32.4 (10)	97	10
12-7	34.4 (10)	10	35.7 (10)	104	10	34.7 (10)	101	10	33.1 (10)	96	10	32.7 (10)	95	10
13-7	34.5 (10)	10	36.1 (10)	105	10	35.2 (10)	102	10	34.6 (10)	100	10	32.5 (10)	94	10

TABLE 27 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE MOUSE (THIRTEEN-WEEK STUDIES)

Week-Day on Study	Control		640		1600		4000		10000		25000			
	Av.Wt.	No.of Surviv.	Av.Wt.	ppm % of cont.	No.of Surviv.									
0-0	18.9 (10)	10	18.9 (10)	100	10	18.9 (10)	100	10	18.9 (10)	100	10	18.9 (10)	100	10
1-7	19.3 (10)	10	19.4 (10)	101	10	19.2 (10)	99	10	19.3 (10)	100	10	19.4 (10)	101	10
2-7	19.4 (10)	10	20.3 (10)	105	10	19.7 (10)	102	10	20.4 (10)	105	10	20.4 (10)	105	10
3-7	20.9 (10)	10	20.7 (10)	99	10	20.9 (10)	100	10	21.0 (10)	100	10	21.1 (10)	101	10
4-7	20.8 (10)	10	20.9 (10)	100	10	20.9 (10)	100	10	21.4 (10)	103	10	21.3 (10)	102	10
5-7	21.2 (10)	10	21.3 (10)	100	10	21.7 (10)	102	10	21.9 (10)	103	10	21.9 (10)	103	10
6-7	21.4 (10)	10	21.8 (10)	102	10	21.9 (10)	102	10	22.0 (10)	103	10	22.2 (10)	104	10
7-7	22.7 (10)	10	22.3 (10)	98	10	22.3 (10)	98	10	22.7 (10)	100	10	22.4 (10)	99	10
8-7	22.4 (10)	10	22.5 (10)	100	10	22.7 (10)	101	10	23.2 (10)	104	10	23.2 (10)	104	10
9-7	22.8 (10)	10	23.1 (10)	101	10	23.7 (10)	104	10	24.3 (10)	107	10	24.1 (10)	106	10
10-7	23.3 (10)	10	23.3 (10)	100	10	24.4 (10)	105	10	24.1 (10)	103	10	23.7 (10)	102	10
11-7	24.2 (10)	10	24.2 (10)	100	10	24.6 (10)	102	10	24.8 (10)	102	10	24.5 (10)	101	10
12-7	23.8 (10)	10	24.4 (10)	103	10	24.5 (10)	103	10	24.2 (10)	102	10	24.3 (10)	102	10
13-7	23.8 (10)	10	24.2 (10)	102	10	24.2 (10)	102	10	24.5 (10)	103	10	24.5 (10)	103	10

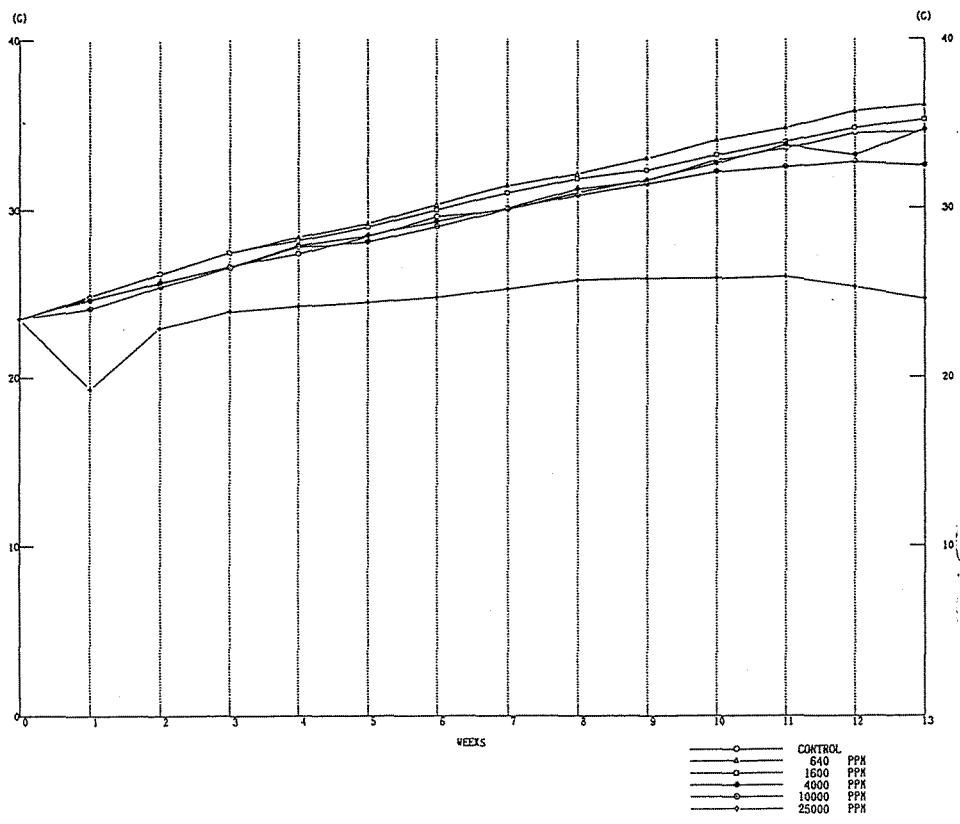


FIGURE 15 BODY WEIGHT CHANGES : MOUSE:MALE (THIRTEEN-WEEK STUDIES)

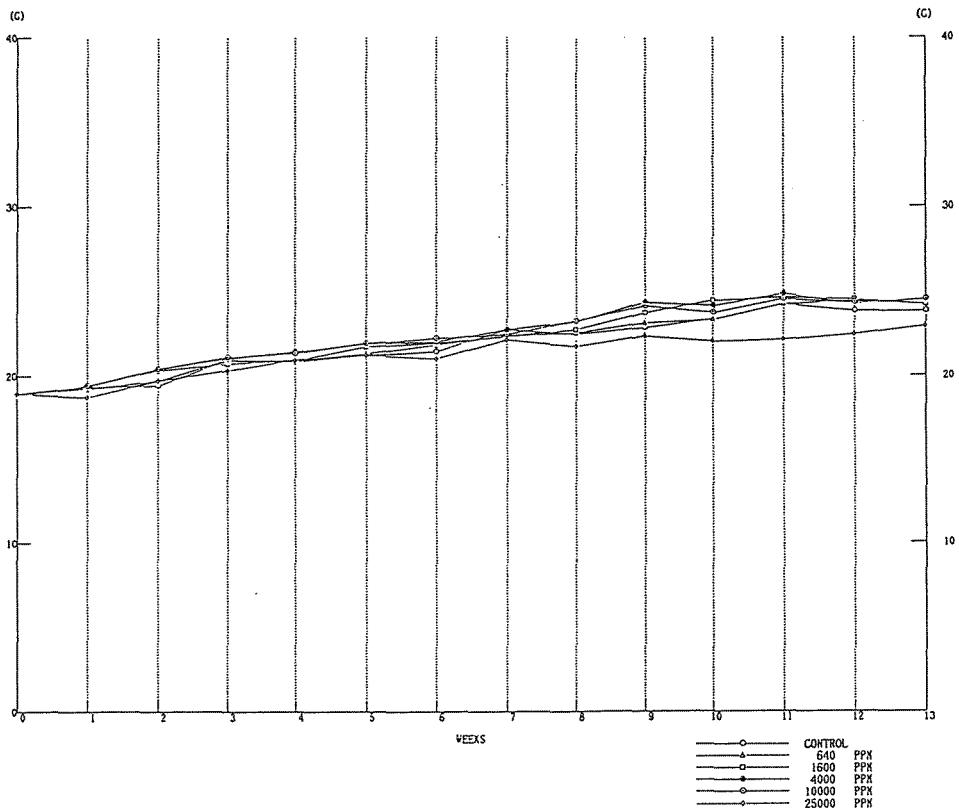


FIGURE 16 BODY WEIGHT CHANGES : MOUSE:FEMALE (THIRTEEN-WEEK STUDIES)

TABLE 28
FOOD CONSUMPTION IN MALE MOUSE (THIRTEEN-WEEK STUDIES)

Week-Day on Study	Control		640		1600		4000		10000		25000				
	Au.FC.	No.of Surviv.	Au.FC.	ppm % of cont.	No.of Surviv.										
1-7	3.8 (10)	10	3.8 (10)	100	10	3.8 (10)	100	10	3.8 (10)	100	10	3.5 (10)	92	10	
2-7	3.7 (10)	10	3.8 (10)	103	10	3.9 (10)	105	10	3.8 (10)	103	10	3.7 (10)	100	10	
3-7	3.8 (10)	10	3.9 (10)	103	10	4.0 (10)	105	10	3.9 (10)	103	10	3.8 (10)	100	10	
4-7	4.0 (10)	10	4.1 (10)	103	10	4.1 (10)	103	10	4.0 (10)	100	10	4.0 (10)	100	10	
5-7	4.1 (10)	10	4.1 (10)	100	10	4.2 (10)	102	10	4.1 (10)	100	10	4.0 (10)	98	10	
6-7	4.4 (10)	10	4.3 (10)	98	10	4.4 (10)	100	10	4.3 (10)	98	10	4.2 (10)	95	10	
7-7	4.1 (10)	10	4.1 (10)	100	10	4.2 (10)	102	10	4.1 (10)	100	10	4.1 (10)	100	10	
8-7	4.2 (10)	10	4.1 (10)	98	10	4.2 (10)	100	10	4.1 (10)	98	10	4.0 (10)	95	10	
9-7	4.3 (10)	10	4.3 (10)	100	10	4.3 (10)	100	10	4.3 (10)	100	10	4.2 (10)	98	10	
10-7	4.6 (10)	10	4.6 (10)	100	10	4.4 (10)	96	10	4.5 (10)	98	10	4.3 (10)	93	10	
11-7	4.2 (10)	10	4.2 (10)	100	10	4.2 (10)	100	10	4.3 (10)	102	10	4.0 (10)	95	10	
12-7	4.3 (10)	10	4.3 (10)	100	10	4.3 (10)	100	10	4.0 (10)	93	10	3.9 (10)	91	10	
13-7	3.8 (10)	10	3.8 (10)	100	10	3.9 (10)	103	10	3.9 (10)	103	10	3.6 (10)	95	10	
													3.3 (9)	87	9

TABLE 29
FOOD CONSUMPTION IN FEMALE MOUSE (THIRTEEN-WEEK STUDIES)

Week-Day on Study	Control		640		1600		4000		10000		25000			
	Au.FC.	No.of Surviv.	Au.FC.	ppm % of cont.	No.of Surviv.									
1-7	3.2 (10)	10	3.2 (10)	100	10	3.2 (10)	100	10	3.3 (10)	103	10	3.2 (10)	100	10
2-7	3.3 (10)	10	3.4 (10)	103	10	3.5 (10)	106	10	3.5 (10)	106	10	3.4 (10)	103	10
3-7	3.6 (10)	10	3.5 (10)	97	10	3.6 (10)	100	10	3.6 (10)	100	10	3.6 (10)	100	10
4-7	4.0 (10)	10	3.9 (10)	98	10	4.0 (10)	100	10	4.1 (10)	103	10	4.0 (10)	100	10
5-7	4.0 (10)	10	4.0 (10)	100	10	4.0 (10)	100	10	4.0 (10)	100	10	4.0 (10)	100	10
6-7	4.3 (10)	10	4.2 (10)	98	10	4.2 (10)	98	10	4.2 (10)	98	10	4.2 (10)	98	10
7-7	4.3 (10)	10	4.1 (10)	95	10	4.1 (10)	95	10	4.3 (10)	100	10	4.1 (10)	95	10
8-7	4.2 (10)	10	4.1 (10)	98	10	4.1 (10)	98	10	4.2 (10)	100	10	4.1 (10)	98	10
9-7	4.5 (10)	10	4.5 (10)	100	10	4.4 (10)	98	10	4.5 (10)	100	10	4.4 (10)	98	10
10-7	4.7 (10)	10	4.4 (10)	94	10	4.6 (10)	98	10	4.6 (10)	98	10	4.4 (10)	94	10
11-7	4.5 (10)	10	4.3 (10)	96	10	4.4 (10)	98	10	4.4 (10)	98	10	4.2 (10)	93	10
12-7	4.3 (10)	10	4.4 (10)	102	10	4.6 (10)	107	10	4.2 (10)	98	10	4.2 (10)	98	10
13-7	3.9 (10)	10	3.8 (10)	97	10	3.8 (10)	97	10	3.8 (10)	97	10	3.8 (10)	97	10

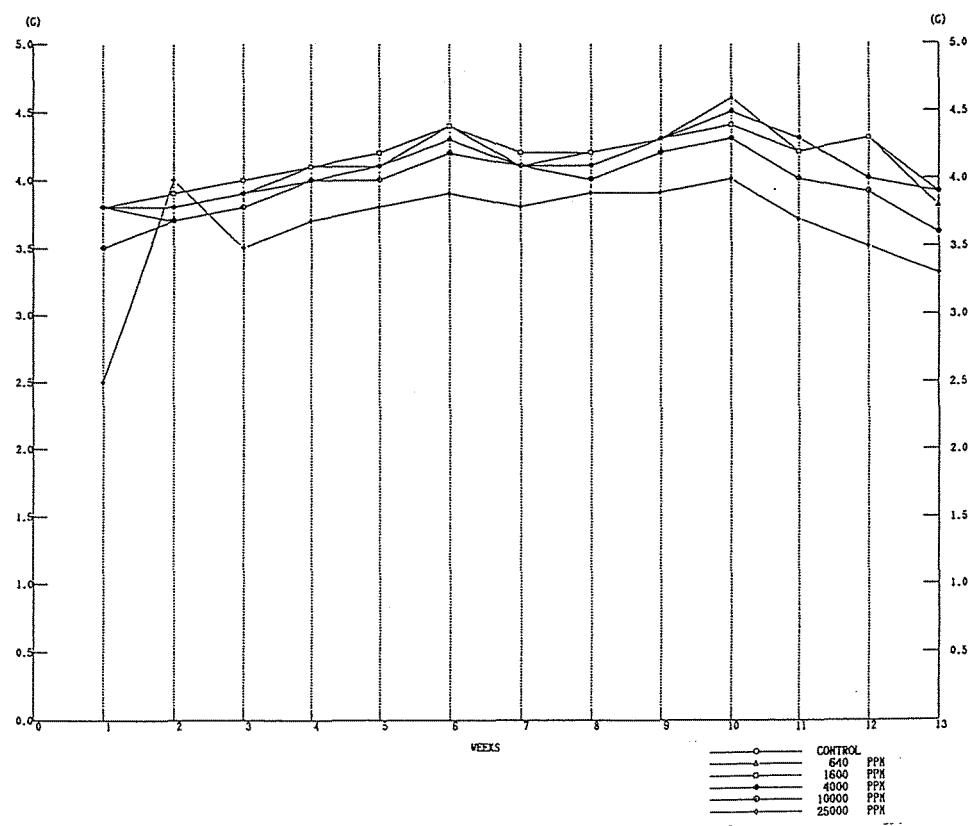


FIGURE 17 FOOD CONSUMPTION : MOUSE:MALE (THIRTEEN-WEEK STUDIES)

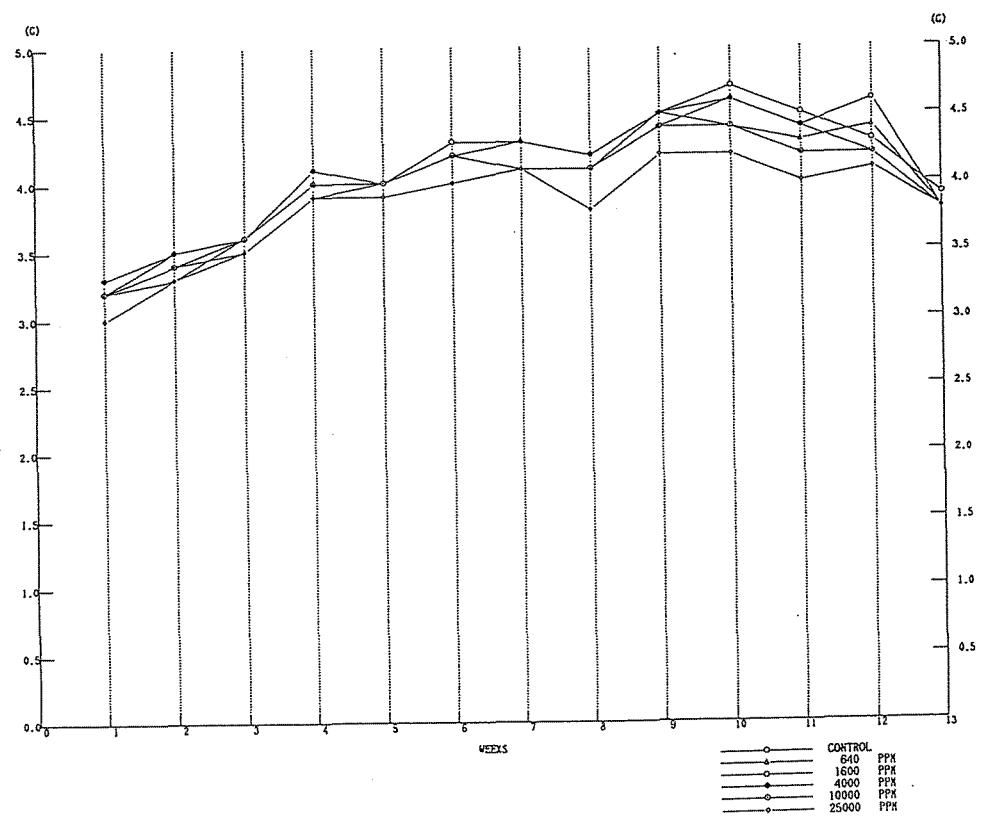


FIGURE 18 FOOD CONSUMPTION : MOUSE:FEMALE (THIRTEEN-WEEK STUDIES)

TABLE 30

WATER CONSUMPTION IN MALE MOUSE (THIRTEEN-WEEK STUDIES)

Week-Day on Study	Control		640		1600		4000		10000		25000		
	Au.WC.	No.of Surviv.	Au.WC.	ppm % of cont.	Au.WC.	ppm % of cont.	Au.WC.	ppm % of cont.	Au.WC.	ppm % of cont.	Au.WC.	ppm % of cont.	
1-3	4.6 (10)	10	4.4 (10)	96	10	4.6 (10)	100	10	4.2 (10)	91	10	2.3 (10)	50
1-7	5.0 (10)	10	4.8 (10)	96	10	4.9 (10)	98	10	4.5 (10)	90	10	2.8 (10)	56
2-3	4.8 (10)	10	4.3 (10)	90	10	4.8 (10)	100	10	4.3 (10)	90	10	2.5 (10)	52
2-7	5.1 (10)	10	4.4 (10)	86	10	4.7 (10)	92	10	5.0 (10)	98	10	2.7 (10)	53
3-3	6.1 (10)	10	4.6 (10)	75	10	4.4 (10)	72	10	4.7 (10)	77	10	2.6 (10)	43
3-7	5.8 (10)	10	4.4 (10)	76	10	4.4 (10)	76	10	5.0 (10)	86	10	2.8 (10)	48
4-3	6.6 (10)	10	4.5 (10)	68	10	4.5 (10)	68	10	5.3 (10)	80	10	2.9 (10)	44
4-7	5.8 (10)	10	4.3 (10)	74	10	4.8 (10)	83	10	4.6 (10)	79	10	2.8 (10)	48
5-3	5.6 (10)	10	4.0 (10)	71	10	4.1 (10)	73	10	5.1 (10)	91	10	2.6 (10)	46
5-7	4.8 (10)	10	4.1 (10)	85	10	4.3 (10)	90	10	4.1 (10)	85	10	2.7 (10)	56
6-3	5.2 (10)	10	4.0 (10)	77	10	4.2 (10)	81	10	4.4 (10)	85	10	2.8 (10)	54
6-7	5.8 (10)	10	4.2 (10)	72	10	4.5 (10)	78	10	4.1 (10)	71	10	2.7 (10)	47
7-3	5.4 (10)	10	4.2 (10)	78	10	4.2 (10)	78	10	4.5 (10)	83	10	2.7 (10)	50
7-7	5.4 (10)	10	4.4 (10)	81	10	4.3 (10)	80	10	4.7 (10)	87	10	2.7 (10)	50
8-3	5.4 (10)	10	4.0 (10)	74	10	4.5 (10)	83	10	4.3 (10)	80	10	2.5 (10)	46
8-7	5.1 (10)	10	4.1 (10)	80	10	4.6 (10)	90	10	4.0 (10)	78	10	2.6 (10)	51
9-3	5.0 (10)	10	4.2 (10)	84	10	4.3 (10)	86	10	4.0 (10)	80	10	2.6 (10)	52
9-7	4.6 (10)	10	4.0 (10)	87	10	4.2 (10)	91	10	4.5 (10)	98	10	2.5 (10)	54
10-3	4.5 (10)	10	4.1 (10)	91	10	4.3 (10)	96	10	4.1 (10)	91	10	2.7 (10)	60
10-7	4.3 (10)	10	3.9 (10)	91	10	3.9 (10)	91	10	3.8 (10)	88	10	2.4 (10)	56
11-3	4.4 (10)	10	3.7 (10)	84	10	4.0 (10)	91	10	3.8 (10)	86	10	2.5 (10)	57
11-7	4.1 (10)	10	3.6 (10)	88	10	4.0 (10)	98	10	3.6 (10)	88	10	2.4 (10)	59
12-3	4.4 (10)	10	3.8 (10)	86	10	4.2 (10)	95	10	3.6 (10)	82	10	2.5 (10)	57
12-7	4.2 (10)	10	3.8 (10)	90	10	4.0 (10)	95	10	3.0 (10)	71	10	2.2 (10)	52
13-3	4.1 (10)	10	3.8 (10)	93	10	4.2 (10)	102	10	4.0 (10)	98	10	2.6 (10)	63
13-7	4.1 (10)	10	3.8 (10)	93	10	4.1 (10)	100	10	4.2 (10)	102	10	2.4 (10)	59

TABLE 31

WATER CONSUMPTION IN FEMALE MOUSE (THIRTEEN-WEEK STUDIES)

Week-Day on Study	Control		640 ppm		1600 ppm		4000 ppm		10000 ppm		25000 ppm			
	Ave.WC.	No.of Surviv.	Ave.WC.	% of cont.	No.of Surviv.	Ave.WC.	% of cont.	No.of Surviv.	Ave.WC.	% of cont.	No.of Surviv.	Ave.WC.	% of cont.	No.of Surviv.
1-3	4.1 (10)	10	4.0 (10)	98	10	4.8 (10)	117	10	3.8 (10)	93	10	2.9 (10)	71	10
1-7	5.0 (10)	10	4.6 (10)	92	10	5.0 (10)	100	10	4.4 (10)	88	10	3.2 (10)	64	10
2-3	4.7 (10)	10	4.6 (10)	98	10	5.3 (10)	113	10	4.6 (10)	98	10	3.3 (10)	70	10
2-7	4.8 (10)	10	4.8 (10)	100	10	6.2 (10)	129	10	5.0 (10)	104	10	3.5 (10)	73	10
3-3	5.3 (10)	10	4.7 (10)	89	10	5.6 (10)	106	10	4.7 (10)	89	10	3.5 (10)	66	10
3-7	5.6 (10)	10	5.7 (10)	102	10	6.0 (10)	107	10	5.3 (10)	95	10	3.6 (10)	64	10
4-3	5.8 (10)	10	6.0 (10)	103	10	5.9 (10)	102	10	5.2 (10)	90	10	3.9 (10)	67	10
4-7	6.1 (10)	10	6.3 (10)	103	10	6.2 (10)	102	10	5.5 (10)	90	10	4.2 (10)	69	10
5-3	5.5 (10)	10	6.0 (10)	109	10	5.4 (10)	98	10	5.3 (10)	96	10	3.9 (10)	71	10
5-7	5.5 (10)	10	6.0 (10)	109	10	5.0 (10)	91	10	5.1 (10)	93	10	3.9 (10)	71	10
6-3	5.6 (10)	10	6.1 (10)	109	10	5.3 (10)	95	10	4.6 (10)	82	10	3.7 (10)	66	10
6-7	5.5 (10)	10	6.5 (10)	118	10	5.8 (10)	105	10	5.3 (10)	96	10	3.8 (10)	69	10
7-3	5.7 (10)	10	6.1 (10)	107	10	6.0 (10)	105	10	5.7 (10)	100	10	3.9 (10)	68	10
7-7	5.5 (10)	10	6.3 (10)	115	10	5.7 (10)	104	10	4.9 (10)	89	10	3.9 (10)	71	10
8-3	5.3 (10)	10	6.1 (10)	115	10	5.9 (10)	111	10	5.1 (10)	96	10	3.8 (10)	72	10
8-7	5.0 (10)	10	5.5 (10)	110	10	5.1 (10)	102	10	4.9 (10)	98	10	3.7 (10)	74	10
9-3	6.2 (10)	10	6.7 (10)	108	10	5.1 (10)	82	10	5.4 (10)	87	10	3.8 (10)	61	10
9-7	5.8 (10)	10	5.9 (10)	102	10	5.0 (10)	86	10	5.7 (10)	98	10	3.6 (10)	62	10
10-3	5.3 (10)	10	6.7 (10)	126	10	5.7 (10)	108	10	5.1 (10)	96	10	3.7 (10)	70	10
10-7	5.4 (10)	10	6.4 (10)	119	10	4.8 (10)	89	10	5.1 (10)	94	10	3.5 (10)	65	10
11-3	5.6 (10)	10	6.0 (10)	107	10	4.8 (10)	86	10	5.3 (10)	95	10	3.7 (10)	66	10
11-7	5.6 (10)	10	6.6 (10)	118	10	5.1 (10)	91	10	5.3 (10)	95	10	3.6 (10)	64	10
12-3	5.5 (10)	10	7.3 (10)	133	10	5.2 (10)	95	10	5.1 (10)	93	10	3.7 (10)	67	10
12-7	4.9 (10)	10	5.9 (10)	120	10	4.6 (10)	94	10	4.8 (10)	98	10	3.5 (10)	71	10
13-3	5.7 (10)	10	6.4 (10)	112	10	5.2 (10)	91	10	4.7 (10)	82	10	3.6 (10)	63	10
13-7	5.7 (10)	10	5.8 (10)	102	10	5.1 (10)	89	10	4.8 (10)	84	10	3.6 (10)	63	10

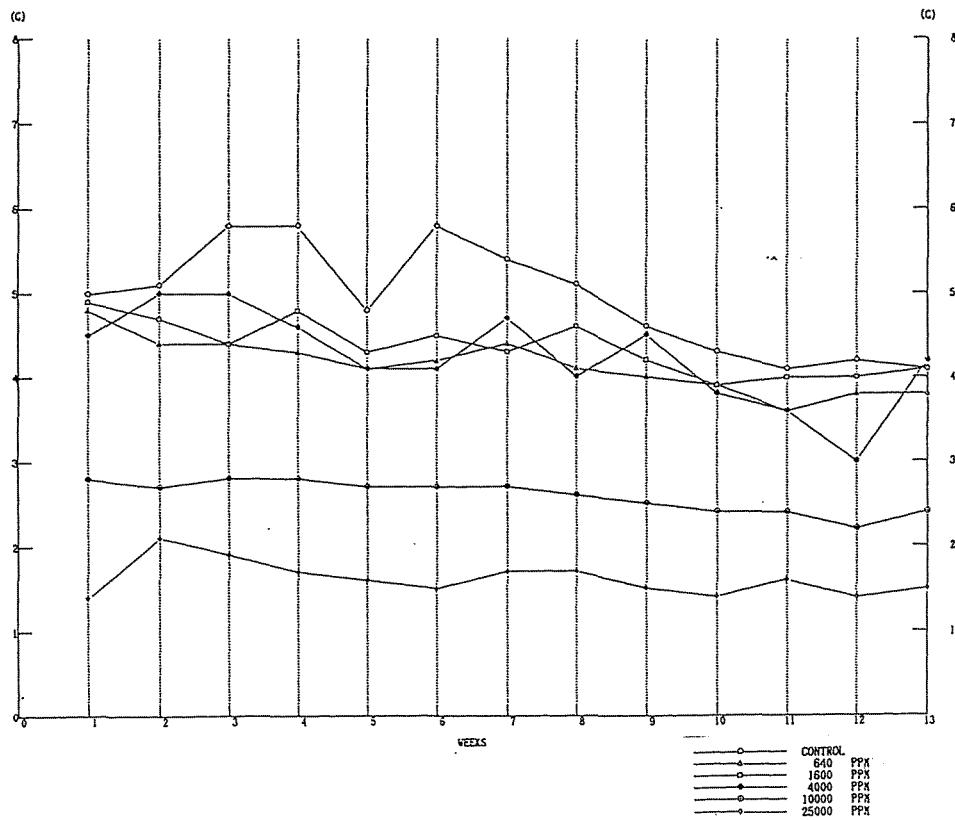


FIGURE 19 WATER CONSUMPTION : MOUSE:MALE (THIRTEEN-WEEK STUDIES)

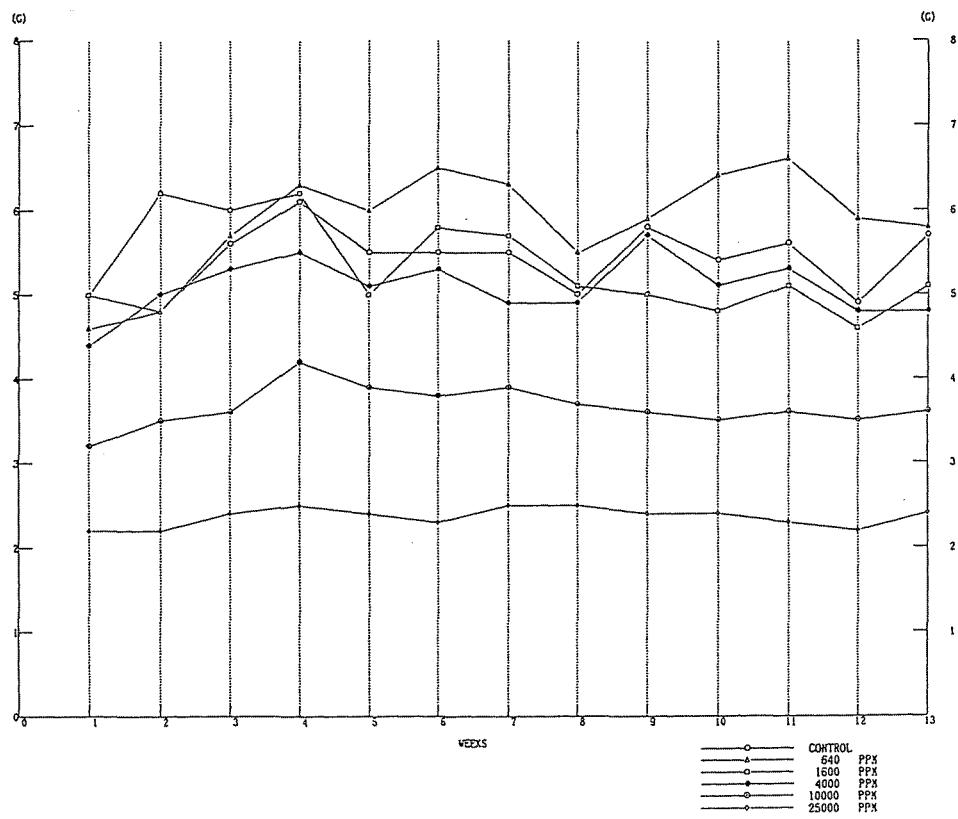


FIGURE 20 WATER CONSUMPTION : MOUSE:FEMALE (THIRTEEN-WEEK STUDIES)

(2) 血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査

血液学的検査

血液学的検査の結果をAppendix H 3,4(総括表)、Appendix T 3,4(個体表)に示した。

雄では25000ppm群で赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、平均赤血球容積の増加が認められ、10000ppm群でも平均赤血球容積の増加が認められた。その他、4000ppm群で血小板数の増加がみられた。

雌では25000、10000ppm群で平均赤血球容積の増加が認められた。

血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果をAppendix I 3,4(総括表)、Appendix U 3,4(個体表)に示した。

雄では25000ppm群でGOT、GPT、ALPの増加及び総蛋白、アルブミン、グルコース、総コレステロールの減少が認められ、10000、4000ppm群でもALPの増加及び総コレステロールの減少が認められた。その他、10000、1600ppm群でLDHの減少、1600、640ppm群でカリウムの増加がみられた。

雌では25000ppm群でGOT、GPT、LDH、ALPの増加及び総蛋白、アルブミン、グルコース、総コレステロールの減少が認められ、10000ppm群でもGPT、LDHの増加及び総蛋白、グルコース、総コレステロールの減少が認められた。

尿検査

尿検査の結果をAppendix J 3,4(総括表)、Appendix V 3,4(個体表)に示した。

雄では25000ppm群でpHの低下及び蛋白の増加が認められ、10000ppm群でpHの低下が認められ、1600ppm群で蛋白の増加が認められた。

雌では25000、10000ppm群でpHの低下が認められた。

(3) 病理学的検査

剖検

解剖時に観察された剖検所見をAppendix K 4~6(総括表)、Appendix W 3,4(個体表)に示した。

25000ppm群の雄の死亡動物(1例)は、胸腺の萎縮、腺胃及び十二指腸に黒色液の貯留を認めた。また、定期解剖動物では雌雄とともに、投与群に特徴的な所見は認められなかつた。

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 L 3,4(実重量・総括表)、M 3,4(体重比・総括表)、Appendix X 3,4(実重量・個体表)、Y 3,4(体重比・個体表)に示した。

雄では、対照群に比較して25000ppm群は胸腺、心臓、腎臓(右側のみ)、脾臓、肝臓及び脳の実重量が有意な低値、肺の実重量と体重比、副腎(左側のみ)、精巣、腎臓及び脳の体重比が有意な高値を示した。

雌では、対照群に比較して25000ppm群は肺、腎臓の実重量と体重比が有意な高値、肝臓の実重量と体重比の有意な低値、脳の実重量が有意な低値を示し、10000ppm群では肺の実重量と体重比の有意な高値が示され、腎臓では実重量の有意な高値が示された。

なお、雄の25000ppm群の解剖時体重は対照群に比較して有意な低値であった。

病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果をAppendix N 4~6(総括表)、Appendix Z 3~4(個体表)に示し、その主要所見をTable 32,33にまとめた。

死亡した25000ppm群の雄(1例)では鼻腔の呼吸上皮核増大、肺／気管支の気腫、腺胃の糜爛、骨髄の鬱血、胸腺及び脾臓の萎縮がみられたが、死因は病理学的に特定できなかつた。

定期解剖動物において観察された所見のうち、対照群と比べて有意な変化を示した所見について以下に述べる。

鼻腔に嗅上皮と呼吸上皮のエオジン好性変化が雄の25000ppm群、雌の10000ppm以上の群、嗅上皮(支持細胞)の核増大が雌雄の4000ppm以上の群、

呼吸上皮の核の増大が雄の10000ppm群と雌の25000ppm群、嗅上皮下の嗅神経線維束の空胞化が雌雄の25000ppm群で発生増加を示した。

気管の上皮に核の増大が雌雄の4000ppm以上の群で発生増加を示した。

肺に気管支上皮の核の増大が雄の4000ppm以上の群と雌の1600ppm以上の群で、気管支上皮の変性及び泡沫細胞の出現が雄の25000ppm群と雌の10000ppm以上の群で発生増加を示した。

肝臓に単細胞壊死・小葉中心性の肝細胞腫脹が雌雄の4000ppm以上の群で発生増加を示した。

腎臓に近位尿細管の空胞化が雄の4000ppm以上の群で発生減少を示した。

TABLE 32 NUMBER OF MALE MOUSE WITH SELECTED LESIONS

Group (ppm)	Control	640	1600	4000	10000	25000
Number of Examined Animals	10	10	10	10	10	10
NASAL CAVITY						
Eosinophilic change:olfactory epithelium						6
Eosinophilic change:respiratory epithelium						5
Nuclear enlargement:olfactory epithelium			9	10	9	
Nuclear enlargement:respiratory epithelium		2		5	1	
Vacuolic change:olfactory nerve						9
TRACHEA						
Nuclear enlargement:epithelium			7	9	9	
LUNG/BRONCH						
Accumuration of foamy cells						6
Nuclear enlargement:bronchial epithelium		9	9	9	9	
Degeneration:bronchial epithelium						8
LIVER						
Necrosis:single cell			5	10	9	
Swelling:central		10	10	10	9	
KIDNEY						
Vacuolization of proximal tube	10	7	6	5		

TABLE 33 NUMBER OF FEMALE MOUSE WITH SELECTED LESIONS

Group (ppm)	Control 10	640 10	1600 10	4000 10	10000 10	25000 10
Number of Examined Animals						
NASAL CAVITY						
Eosinophilic change:olfactory epithelium				1	6	6
Eosinophilic change:respiratory epithelium		1		1	5	9
Nuclear enlargement:olfactory epithelium				6	10	10
Nuclear enlargement:respiratory epithelium				3	3	7
Vacuolic change:olfactory nerve				2		8
TRACHEA						
Nuclear enlargement:epithelium			2	9	10	10
LUNG/BRONCH						
Accumuration of foamy cells					10	10
Nuclear enlargement:bronchial epithelium			10	10	10	10
Degeneration:bronchial epithelium					7	10
LIVER						
Necrosis:single cell				7	10	9
Swelling:central	1	1	10	10	10	9

IV 考察

<試験結果の評価>

急性試験において、ラットでは、雄は、投与後2週間までに10000mg/kg群で全例死亡し、7143mg/kg群では8例死亡し、5102mg/kg以下の群では死亡例はみられなかつた。また、雌は、7143mg/kg以上の群で全例、5102mg/kg群では5例死亡し、3644mg/kg以下の群では死亡例はみられなかつた。マウスでは雌雄とも投与後2週間までに6923mg/kg以上の群では全例死亡し、5325mg/kg群では6例死亡し、4096mg/kg以下の群では死亡例はみられなかつた。また、病理学的検査より、1,4-ジオキサンによる影響がラットでは腎臓と肝臓、マウスでは腎臓にみられた。

以上の結果より、2週間試験の飲水での最高投与濃度は、1,4-ジオキサンの1日の摂取量が5000mg/kg程度（半数程度の動物が死亡すると考えられる量）になるよう動物の摂水量を考慮して、おおよそ90000ppmが適当と考えられた。

2週間試験において、急性試験の結果より投与濃度は90000ppmを最高濃度とし、以下、公比3.0で30000ppm、10000ppm、3330ppm、1110ppmで実施した。

ラットでは90000ppm群で雌雄とも全例死亡し、30000ppm群の雌で2例死亡した。また、雌雄とも10000ppm以上の群で全期間に通して体重の増加抑制が認められ、定期解剖動物では雌雄とともに10000ppm以上の群に嗅上皮（支持細胞）の核増大が、30000ppm群では、肝臓の小葉中心性の肝細胞腫脹及び小葉中心性の空胞変性、腎臓の近位尿細管の水腫様変性、脳の空胞変性が認められた。マウスでは、90000ppm群のみに死亡例がみられ雄では9例、雌では全例死亡した。また、雌雄ともに10000ppm以上の群で全期間を通して体重の増加抑制が認められ、定期解剖動物では雌雄とともに30000ppm群では、肝臓の小葉中心性の肝細胞腫脹がみられた。さらに、剖検においてラットでは1100ppm群まで肝臓及び腎臓に貧血様色調がみられ、マウスでは3300ppm群まで肝臓の小葉構造明瞭化がなどがみられた。

以上の結果より、ラットでは、肝臓、鼻腔、脳、腎臓に、またマウスでは、肝臓に、1,4-ジオキサンによる影響が示唆された。これより13週間試験の最高投与濃度は、30000ppm以上とした場合には、1,4-ジオキサンの毒性に動物が耐えられないことが予想され、これより少し低い濃度が望ましいと思われた。また、最低投与濃度は無作用濃度を把握するため、2週間試験で剖検所見が認められた1100ppmより低い濃度が望ましいと思われた。

13週間試験において、2週間試験の結果より投与濃度は25000ppmを最高濃度に公比2.5で以下10000ppm, 4000ppm, 1600ppm, 640ppmで実施した。

ラットでは、25000ppm群で雌に1例の死亡がみられ、生存した動物の最終体重値は雌雄とも対照群に比べ20%以上の低下がみられた。また、摂水量においては対照群に比べて雄で26~57%、雌で42~68%の低下がみられ、1,4-ジオキサンに対する忌避行為がみられた。病理組織学的には雌雄とも鼻腔の嗅上皮（支持細胞）と呼吸上皮及び気管の上皮細胞の核増大、肝臓の肉芽形成、小葉中心性の肝細胞腫脹及び小葉中心性の空胞変性、腎臓の近位尿細管上皮の核増大と近位尿細管の水腫様変性、脳の空胞変性、雌に気管支上皮の核増大などの発生増加がみられ、これらの所見は、いずれも1,4-ジオキサンの投与による影響であると考えられた。

10000ppm群では動物の最終体重値が対照群に比べて、雄では7%の低下にとどまったが、雌では12%の低下がみられ、長期の毒性試験の投与濃度を決定する上での目安となる10%の体重値の低下の範囲を越えていた。また、摂水量においても雄で17~44%、雌で25~59%の低下がみられた。病理組織学的には雌雄に鼻腔の嗅上皮（支持細胞）と呼吸上皮及び気管の上皮細胞の核増大、肝臓の小葉中心性の肝細胞腫脹、腎臓の近位尿細管上皮の核増大、雄に肝臓の小葉中心性の空胞変性などの発生増加がみられ、これらの変化は、1,4-ジオキサンの投与による影響であると考えられた。

4000ppm群では体重の低下は対照群に比べて、雄で3%、雌で6%と極くわずかであったものの、摂水量は対照群に比べて雄で9~38%、雌で3~38%の低下を示した。病理組織学的には雌雄に鼻腔の嗅上皮（支持細胞）と呼吸上皮及び気管の上皮細胞の核増大、雄に肝臓の肉芽形成と小葉中心性の肝細胞腫脹などの発生増加がみられ、1,4-ジオキサンの投与による影響と考えられた。

1600ppm群では体重値、摂水量の低下は対照群に比べてほとんどみられなかつたが、病理組織学的にはその程度は軽弱であるものの雌雄に鼻腔の呼吸上皮の核増大、雄では肝臓の小葉中心性の肝細胞腫脹の発生増加が認められた。

640ppm群では、著変はなく、1,4-ジオキサンの影響はみられなかつた。

マウスでは、25000ppm群で雄に1例の死亡がみられ、生存した動物の最終体重値は対照群に比べ雌では4%の低下にとどましたが、雄では29%の低下を示し、摂水量は雄で52~93%、雌で50~76%の低下を示した。病理組織学的には雌雄とも鼻腔の嗅上皮と呼吸上皮のエオジン好性変化、嗅上皮（支持細胞）の核増大及び嗅神経腺維束の空胞化、気管の上皮の核増大、肺の泡沫細胞の出現、気管支上皮の核増大及び気管支上皮の変性、肝臓の単細胞壊死と小葉中心性の肝細胞腫脹、雌では鼻腔の呼吸上皮の核増大がみられ、いずれも

1,4-ジオキサンの投与による影響であると考えられた。

10000ppm群では、体重値が対照群に比べて、雄で6%の低下をみたにとどまつたが、摂水量は雄で37~57%、雌で26~39%の低下を示した。病理組織学的には雌雄に鼻腔の嗅上皮（支持細胞）、気管の上皮及び気管支上皮の核増大、肝臓の単細胞壊死と小葉中心性の肝細胞腫脹、雄では鼻腔の呼吸上皮の核増大、雌では鼻腔の嗅上皮と呼吸上皮のエオジン好性変化及び肺の泡沫細胞出現と気管支上皮の変性などの発生増加がみられ、1,4-ジオキサンの投与による影響と考えられた。

4000ppm群では体重、摂水量ともに対照群に比べて低下はほとんどみられなかつたが、病理組織学的には雌雄に鼻腔の嗅上皮（支持細胞）、気管の上皮及び肺の気管支上皮の核増大、肝臓の単細胞壊死と小葉中心性の肝細胞腫脹などの発生増加がみられ、これらの変化は1,4-ジオキサンの投与による影響と考えられた。

1600ppm群では体重値、摂水量ともに対照群に比べて低下はみられなかつた。しかし、病理組織学的には雌に気管支上皮の核増大の発生増加が認められた。

640ppm群では、著変はなく1,4-ジオキサンの影響は認められなかつた。

これより、ラットでは10000ppm以上の群で体重値と摂水量の低下、病理組織学的に強い変化を認め、4000ppm群で摂水量の低下と鼻腔、気管、肝臓などの変化、1600ppm群で鼻腔、肝臓に変化がみられた。また、マウスでは25000ppm群はラットの10000ppm以上の群と同様の所見が示され、10000、4000ppm群では摂水量の低下と鼻腔、気管、肺、肝臓などの変化、1600ppm群では主として肺に変化がみられたにとどまつた。

<がん原性試験の投与濃度の設定について>

結果の評価の項で述べたように13週間試験の結果から、ラットの1,4-ジオキサンに対する感受性はマウスよりもやや高いことがうかがえた。

また、これまでの1,4-ジオキサンを飲水に混ぜて投与したがん原性試験に関する報告では、NCI (1978) が5000ppm、10000ppmの濃度でラットの雌雄に鼻腔の腫瘍（扁平上皮癌）、雌に肝細胞腺腫、マウスの雌雄に肝細胞癌がみられたことが報告（文献 3）されていることから、少なくとも1,4-ジオキサンは5000ppm以上の濃度では鼻腔や肝臓に対して発がん作用のあることが、ほぼ間違いないものと推察された。

以上のことから総合的に考慮して、がん原性試験の投与濃度を検討すると、中間投与濃度は発がん作用のボーダーライン近辺であり、しかも1,4-ジオキ

サンによる一般毒性が強く発現しないと考えられる濃度であるとすれば、ラットでは640～1600ppm、マウスではラットより1,4-ジオキサンに対する感受性がわずかに低いことを考慮すると、1600ppmよりやや高濃度での設定が考えられ、ラットで1000ppm、マウスで2000ppmと決定した。次に最高投与濃度は、強い毒性変化は現われないが、確実に発がんが証明できる濃度として、ラットでは4000～5000ppm、マウスではラットと同じ公比で考えると、8000～10000ppmが考えられ、ラットではNCIの報告を参考にして5000ppmとし、マウスでは1,4-ジオキサンを混ぜた飲水に対する忌避を考慮すると、10000ppmではやや高濃度であると考えられ、8000ppmと決定した。これよりラットの公比は5、マウスの公比は4となつたことから必然的に最低投与濃度は、ラットは200ppm、マウスでは500ppmと決定した。

<結論>

1,4-ジオキサンの経口投与（混水）によるがん原性試験の投与濃度は、ラットでは5000ppm、1000ppm、200ppm、マウスでは8000ppm、2000ppm、500ppmと決定した。

V 文献

1. IARC MONOGRAPH vol.11
2. 阿部正信, 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 (1986).
3. National Cancer Institute CARCINOGENESIS Technical Report Series (1978)
BIOASSAY OF 1,4-DIOXANE FOR POSSIBLE CARCINOGENICITY
U.S Department of Health, Education, and Welfare.
)
4. 産業中毒便覧(1981)
5. New dioxane plant completed.Japan chemical week, April 6, p.2 (1972).
6. 7680の化学商品、化学工業日報社(1980).
7. 11290の化学商品、化学工業日報社(1990).
8. 産業医学,32、384(1990).
9. (社) 日本作業環境測定協会 日測協資料 No.12
ACGIH 化学物質と物理因子のTLV 化学物質のBEL(1987~88年使用)
10. Silverman,L. et al.:J.Ind.Hyg.Toxicol.,28:262(1946).
11. Browning,E.:Toxicity and Metabolism of Industrial Solvents, Elsevier, Amsterdam, 1965.