アクリル酸のラットを用いた
吸入によるがん原性試験報告書

試験番号：0704

CAS No. 79-10-7

2011 年 3 月 30 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

標題

アクリル酸のラットを用いた吸入によるがん原性試験

試験目的

アクリル酸をラットに104週間全身暴露し、がん原性を検索した。

試験法

本試験は、平成9年3月11日付け、基発第144号「がん原性試験による調査の基準」及びOECD化学品テストガイドライン451（発癌性試験　1981年5月12日採択）に準じて実施した。

GLP対応

本試験は、昭和63年9月1日付け、労働省告示第76号「試験施設等が具備すべき基準(安衛法GLP)」（一部改正。平成12年3月29日付け、労働省告示第13号）に準拠し、OECD GLP（1997年11月26日採択）に準じて実施した。

動物福祉

本試験は、平成18年4月28日付け、環境省告示第88号「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」、平成18年6月1日付け、厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知「厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針」及び平成18年11月27日付け、日本バイオアッセイ研究センター制定「動物実験に関する指針」を遵守する。また、本試験は日本バイオアッセイ研究センターの動物実験委員会で承認された。

試験委託者

厚生労働省労働基準局安全衛生部化学物質対策課
東京都千代田区霞が関1-2-2

アクリル酸のラットを用いた
吸入によるがん原性試験報告書

試験番号：0704

本文

本文目次

頁

要約 …… 1

Ⅰ　試験材料 …… 3

Ⅰ－1　被験物質の性状等 …… 3
　Ⅰ－1－1　名称等 …… 3
　Ⅰ－1－2　構造式及び分子量 …… 3
　Ⅰ－1－3　物理化学的性状等 …… 3
Ⅰ－2　被験物質の使用ロット等 …… 3
Ⅰ－3　被験物質の特性・同一性、安定性 …… 4
　Ⅰ－3－1　特性・同一性 …… 4
　Ⅰ－3－2　安定性 …… 4
Ⅰ－4　試験動物 …… 4

Ⅱ　試験方法 …… 5

Ⅱ－1　投与 …… 5
　Ⅱ－1－1　投与経路 …… 5
　Ⅱ－1－2　被験物質の投与方法 …… 5
　Ⅱ－1－3　投与期間 …… 5
　Ⅱ－1－4　投与濃度 …… 5
　Ⅱ－1－5　投与経路、投与期間及び投与濃度の設定理由 …… 5
　Ⅱ－1－6　被験物質の発生方法と濃度調整 …… 6
　Ⅱ－1－7　被験物質濃度の測定 …… 6
Ⅱ－2　動物管理 …… 7
　Ⅱ－2－1　各群の使用動物数 …… 7
　Ⅱ－2－2　群分け及び個体識別方法 …… 7
　Ⅱ－2－3　飼育条件 …… 7
　（1）飼育環境 …… 7
　（2）飼料 …… 8
　（3）飲水 …… 8

Ⅱ－3　観察・検査項目及び方法 …… 8
Ⅱ－3－1　動物の生死及び一般状態の観察 …… 8
Ⅱ－3－2　体重測定 …… 9
Ⅱ－3－3　摂餌量測定 …… 9
Ⅱ－3－4　血液学的検査 …… 9
Ⅱ－3－5　血液生化学的検査 …… 9
Ⅱ－3－6　尿検査 …… 9
Ⅱ－3－7　病理学的検査 …… 10
（1）剖検 …… 10
（2）臓器重量 …… 10
（3）病理組織学的検査 …… 10
Ⅱ－4　数値処理と統計方法 …… 10
Ⅱ－4－1　数値の取り扱いと表示 …… 10
Ⅱ－4－2　統計処理 …… 11

Ⅲ　試験成績 …… 12

Ⅲ－1　生死状況 …… 12
Ⅲ－2　一般状態 …… 12
Ⅲ－3　体重 …… 12
Ⅲ－4　摂餌量 …… 13
Ⅲ－5　血液学的検査 …… 13
Ⅲ－6　血液生化学的検査 …… 13
Ⅲ－7　尿検査 …… 13
Ⅲ－8　病理学的検査 …… 14
Ⅲ－8－1　剖検 …… 14
Ⅲ－8－2　臓器重量 …… 14
Ⅲ－8－3　病理組織学的検査 …… 14
Ⅲ－8－4　死因 …… 16

Ⅳ　考察及びまとめ …… 17

Ⅳ－1　生存率、一般状態、体重、摂餌量 …… 17
Ⅳ－2　腫瘍性病変及び腫瘍関連病変 …… 17
Ⅳ－3　その他の影響 …… 18
Ⅳ－4　無毒性量（NOAEL） …… 19

Ⅳ－5　他文献との比較等 …… 19

Ⅴ　結論 …… 21

Ⅵ　文献 …… 22

Ⅶ　予見することのできなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態
及び試験計画書に従わなかったこと …… 25

要約

アクリル酸のがん原性を検索する目的でF344/DuCrlCrljラットを用いた吸入による2年間（104週間）の試験を実施した。

本試験は、被験物質投与群3群と対照群1群の計4群の構成で、各群雌雄とも50匹とし、合計400匹を用いた。被験物質の投与は、アクリル酸を1日6時間、1週5日間、104週間、動物に全身暴露することにより行った。投与濃度は、雌雄とも0（対照群）、10、40及び160 ppmとした。観察、検査として、一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、剖検、臓器重量測定及び病理組織学的検査を行った。

アクリル酸の暴露の結果、動物の生存率及び一般状態にアクリル酸の影響はみられなかった。体重は、雌雄の160 ppm群で増加の抑制がみられた。160 ppm群の最終体重は、対照群に対して雄は87%、雌は90%であった。摂餌量は雌雄の160 ppm群が投与期間を通して低値を示し、投与の前半には、雌雄の40 ppm群は多くの週で、雄の10 ppm群ではわずかに低値を示した週があった。

病理組織学的検査の結果、雌雄ともアクリル酸に関連した腫瘍の発生増加は認められなかった。非腫瘍性病変としては、雌雄とも鼻腔に嗅上皮の萎縮、呼吸上皮化生、扁平上皮化生及び配列不整、呼吸上皮の扁平上皮化生並びに固有層の腺の呼吸上皮化生の発生増加が認められたが、その病変の程度はいずれも多くの動物が軽度であり、10 ppm群にはアクリル酸の影響と考えられる変化はみられなかった。

また、本試験におけるアクリル酸のラットに対する2年間吸入暴露による無毒性量（NOAEL）は、鼻腔への影響をエンドポイントとして10 ppmであると判断した。

以上のように、F344/DuCrlCrljラットを用いて、アクリル酸の2年間（104週間）にわたる吸入によるがん原性試験を行った結果、以下の結論を得た。

雌雄とも腫瘍の発生増加は認められず、アクリル酸のラットに対するがん原性はなかった。

付表１　　アクリル酸のがん原性試験における主な腫瘍発生（ラット　雄）

	投 与 濃 度 (ppm)		0	10	40	160	Peto 検定	Cochran-Armitage 検定
	検査動物数		50	50	50	50		
良性腫瘍	皮下組織	線維腫	5	6	5	6		
	肺	細気管支-肺胞上皮腺腫	3	1	1	4		
	肝臓	肝細胞腺腫	6	1	1	2		
	膵臓	島細胞腺腫	5	3	3	7		
	下垂体	腺腫	11	9	9	7		
	甲状腺	C-細胞腺腫	8	15	11	7		
	副腎	褐色細胞腫	8	5	5	7		
	精巣	間細胞腫	37	43	45 *	42		
	包皮腺	腺腫	3	1	1	1		
悪性腫瘍	脾臓	単核球性白血病	4	5	5	1		
	甲状腺	C-細胞癌	5	1	2	3		
	腹膜	中皮腫	1	3	5	2		

付表２　　アクリル酸のがん原性試験における主な腫瘍発生（ラット　雌）

	投 与 濃 度 (ppm)		0	10	40	160	Peto 検定	Cochran-Armitage 検定
	検査動物数		50	50	50	50		
良性腫瘍	肺	細気管支-肺胞上皮腺腫	3	1	0	1		
	下垂体	腺腫	14	16	12	15		
	甲状腺	C-細胞腺腫	6	7	5	3		
	子宮	子宮内膜間質性ポリープ	6	3	5	8		
	乳腺	線維腺腫	5	8	7	7		
悪性腫瘍	脾臓	単核球性白血病	3	2	4	2		

*：p≦0.05 で有意　　**　：p≦0.01 で有意　　(Fisher 検定)
↑：p≦0.05 で有意増加　　↑↑：p≦0.01 で有意増加　　(Peto, Cochran-Armitage 検定)
↓：p≦0.05 で有意減少　　↓↓：p≦0.01 で有意減少　　(Cochran-Armitage 検定)

Ⅰ　試験材料

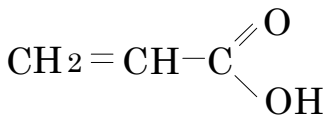
Ⅰ－1　被験物質の性状等

Ⅰ－1－1　名称等

名　　称：　アクリル酸（Acrylic acid）
CAS No.：　79-10-7

Ⅰ－1－2　構造式及び分子量（文献 1）

構 造 式：



分 子 量：　72.06

Ⅰ－1－3　物理化学的性状等（文献 1）

性　　状 ：　無色の液体
沸　　点 ：　141℃
蒸 気 圧 ：　3.97mmHg（25℃）
比　　重 ：　1.0511（20℃／4℃）
溶 解 性 ：　水、アルコールに可溶
保 管 条 件 ：　室温で暗所に保管

Ⅰ－2　被験物質の使用ロット等

使用ロット番号：　TSG6490　（2007/12/13～2008/12/12）
ALH5510　（2008/12/15～2009/08/10）
KWM0259（2009/08/11～2009/12/09）
製 造 元：　和光純薬工業(株)
グ レ ー ド：　和光特級
純　　度：　99.7～99.8%（和光純薬工業(株) 検査成績書データ）

Ⅰ－3　被験物質の特性・同一性、安定性

Ⅰ－3－1　特性・同一性

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

その結果、被験物質のマススペクトルは文献値（文献 2）と同じ分子イオン及びフラグメントピークを示し、また、赤外吸収スペクトルも文献値（文献 3）と同じ波数にピークが認められ、被験物質はアクリル酸であることを確認した。

それらの結果は APPENDIX 1- 1 に示した。

Ⅰ－3－2　安定性

被験物質の安定性は、ロットごとに使用開始前及び使用終了後にガスクロマトグラムをガスクロマトグラフ（アジレントテクノロジーズ 5890A）を用いて測定し、それぞれのデータを比較することにより確認した。

その結果、各ロットとも使用開始前と使用終了後の測定結果に差はみられず、使用期間中の被験物質は安定であることを確認した。

それらの結果は APPENDIX 1- 2 に示した。

Ⅰ－4　試験動物

動物は、日本チャールス・リバー(株)（厚木飼育センター：神奈川県厚木市下古沢 795）の F344/DuCrlCrlj ラット（SPF）の雌雄を使用した。

雌雄各 227 匹を 4 週齢で導入し、検疫、馴化を各 1 週間実施した後、発育順調で一般状態に異常を認めなかった動物から、体重値の中央値に近い雌雄各 200 匹（群構成時体重範囲、雄：114～134g、雌：91～104g）を選別し、試験に用いた。

なお、F344/DuCrlCrlj ラット（SPF）を選択した理由は、遺伝的に安定していること、過去に多くのがん原性試験に用いたデータがあり、化学物質による腫瘍発生の感受性が知られていることによる。

Ⅱ　試験方法

Ⅱ－1　投与

Ⅱ－1－1　投与経路

投与経路は全身暴露による経気道投与とした。

Ⅱ－1－2　被験物質の投与方法

投与は、試験動物を収容した吸入チャンバー内に、設定濃度に調整した被験物質を含む空気を送り込み、動物に全身暴露することにより行った。

Ⅱ－1－3　投与期間

投与期間は、1 日 6 時間、原則として 1 週 5 日の暴露で 104 週間とし、計 487 回の暴露を行った。

Ⅱ－1－4　投与濃度

投与濃度は、10、40 及び 160 ppm（体積比 v/v）の 3 段階（公比 4）に設定した。なお、対照群は清浄空気による換気のみとした。

Ⅱ－1－5　投与経路、投与期間及び投与濃度の設定理由

投与経路は、被験物質を生産、使用する作業環境における労働者への主な暴露経路に合わせ、全身暴露による経気道投与とした。

投与期間は、がん原性試験による調査の基準（安衛法）（文献 4）及び OECD 化学品テストガイドライン 451（発癌性試験）（文献 5）に従い、2 年間（104 週間）とした。

投与濃度は 2 週間吸入試験（試験番号 0638）及び 13 週間試験（試験番号 0677）の結果（文献 6、7）をもとに決定した。2 週間試験は 38～600 ppm（体積比ｖ/ｖ）（公比 2）の濃度で行った。その結果、600 ppm 群で雌 1 匹が死亡した。300 ppm 以下の群では動物の死亡はみられなかったが、300 ppm 群の雄の最終体重は対照群の 90%未満であった。13 週間試験は 0、10、24、60、150、200 ppm の濃度で行った。その結果、各群とも死亡はみられなかった。雄の最終体重は 200 ppm 群で対照群の 90%、150 ppm 群で同 94%であった。また、両群とも雌雄に鼻腔の病理組織学的変化がみられた。しかし、両群の鼻腔の変

化はその種類、程度に大きな差はみられなかった。これらのことから、がん原性試験の最高濃度は、200 ppm と 150 ppm 群の中間で 150 ppm に近い 160 ppm が妥当と考えた。また、低濃度群では 24 ppm 群まで雌雄に鼻腔の嗅上皮の病理組織学的変化がみられたが、10 ppm 群では鼻腔の変化がみられなかったことから、がん原性試験の最低濃度は 10 ppm が妥当と考えた。従って、がん原性試験の投与濃度は、雌雄とも 160 ppm を最高濃度とし、以下、40、10 ppm（公比 4）と決定した。

Ⅱ－1－6　被験物質の発生方法と濃度調整

被験物質の発生方法は FIGURE 1 に示した。被験物質供給装置（柴田科学(株) 特注）の発生容器内の被験物質を循環式恒温槽で加熱しながら、清浄空気のバブリングにより蒸発させた。この被験物質の蒸気を清浄空気（搬送空気）と混合し、さらに循環式恒温槽で一定温度に冷却、再加熱し、一定濃度にした後、流量計を用いて一定量を吸入チャンバー上部のラインミキサーに供給した。

吸入チャンバー内の被験物質濃度はガスクロマトグラフで監視し、その濃度データをもとに設定濃度になるように被験物質の吸入チャンバーへの供給量を調節した。

Ⅱ－1－7　被験物質濃度の測定

吸入チャンバー内の被験物質濃度は、自動サンプリング装置付ガスクロマトグラフ（(株)島津製作所 GC-14B）により、暴露開始前から暴露終了後まで 15 分ごとに測定した。

濃度測定結果を TABLE A に示した。各投与群の被験物質濃度は、その平均値と設定濃度の差（（平均値－設定濃度）／設定濃度×100）が 2.0%以内、変動係数（標準偏差／平均値×100）が 1.0%以内であり、高い精度でチャンバー内濃度が管理されていることが示された。

Ⅱ－2　動物管理

Ⅱ－2－1　各群の使用動物数

投与群 3 群及び対照群 1 群の計 4 群を設け、各群雌雄各 50 匹の動物を用いた。

群 名 称	動物数（動物番号）	
	雄	雌
対　照　群	50 匹（1001～1050）	50 匹（2001～2050）
10 ppm 群	50 匹（1101～1150）	50 匹（2101～2150）
40 ppm 群	50 匹（1201～1250）	50 匹（2201～2250）
160 ppm 群	50 匹（1301～1350）	50 匹（2301～2350）

Ⅱ－2－2　群分け及び個体識別方法

供試動物の各群への割り当ては、一般状態及び体重の推移に異常を認めなかった動物を体重の重い順より各群に 1 匹ずつ割り当て、二巡目からは各群の動物の体重の合計を比較して、小さい群より順に体重の重い動物を割り当てることにより、群間の体重の偏りを小さくする群分け方法（適正層別方式）により実施した（文献 8）。

動物の個体識別は、検疫期間及び馴化期間では尾に油性マーカーによる色素塗布、投与期間では耳パンチにより行った。また、ケージには個体識別番号を記したラベルを付した。

なお、動物はバリア区域内の独立した室（512 室）に収容し、室の扉に試験番号、動物種及び動物番号を表示し、他試験及び異種動物と区別した。

Ⅱ－2－3　飼育条件

（1）飼育環境

検疫期間中は検疫室（517・518 室）で、馴化期間及び投与期間中は、吸入試験室（512 室）の吸入チャンバー内で動物を飼育した。

検疫室、吸入試験室及び吸入チャンバー内の環境条件及び使用したケージを以下に示した。検疫室、吸入試験室の温度、湿度は実測値（平均値±標準偏差）を＜　＞内に、また、吸入チャンバー内環境の測定結果は APPENDIX 2 に示した。検疫室、吸入試験室及び吸入チャンバー内の環境には、動物の健康状態に影響を与えるような大きな変化は認められなかった。

温　　度　：　検疫室；23±2℃　＜517 室；22.8±0.1℃、518 室；22.9±0.0℃＞
　　吸入試験室；22±2℃　＜512 室；22.3±0.4℃＞
　　吸入チャンバー内；23±2℃

湿　　度　：　検疫室；55±15%　＜517 室；51±1%、518 室；52±0%＞
　　吸入チャンバー内；50±20%

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　　：　検疫室；15～17 回／時
　　吸入試験室；7～9 回／時
　　吸入チャンバー内　；12±1 回／時
圧　　力　　：　吸入チャンバー内　；0～－15×10Pa
ケージへの動物の収容方法　　：　検疫期間；群飼（5 匹）、馴化・投与期間；単飼
ケージの材質・形状・寸法等　：
検疫期間；ステンレス製群飼網ケージ（340(W)×294(D)×176(H) mm/5 匹）
馴化期間；ステンレス製 6 連網ケージ（125(W)×216(D)×176(H) mm/匹）
投与期間；ステンレス製 5 連網ケージ（150(W)×216(D)×176(H) mm/匹）

（2）飼料

飼料は、全飼育期間を通して、オリエンタル酵母工業(株)（千葉工場：千葉県千葉市美浜区新港 8-2）の CRF-1 固型飼料（30kGy-γ線照射滅菌飼料）を固型飼料給餌器により自由摂取させた。ただし、定期解剖前日の夕方からは飼料を摂取させなかった。

なお、試験に使用した飼料の栄養成分についてはオリエンタル酵母工業(株)から自社分析データを使用ロットごとに入手し、保管した。飼料中の夾雑物については(財)日本食品分析センター（東京都渋谷区元代々木町 52-1）及びユーロフィンズサイエンティフィック社（東京都世田谷区下馬 4-16-21）の分析データを使用ロットごとに入手し、試験計画書に規定した許容基準と照合して異常のないことを確認し、保管した。

（3）飲水

飲水は、全飼育期間を通して、市水（神奈川県秦野市水道局供給）をフィルターろ過した後、紫外線照射し、自動給水装置により自由摂取させた。

なお、飲水は、試験施設として実施している定期サンプリングによる飲水を(財)食品薬品安全センター秦野研究所（神奈川県秦野市落合 729-5）に依頼して、水道法を参考にして規定した項目について分析し、結果を試験計画書に規定した許容基準と照合して異常のないことを確認し、保管した。

Ⅱ－3　観察・検査項目及び方法

Ⅱ－3－1　動物の生死及び一般状態の観察

動物の生死及び瀕死の確認を毎日 1 回、また、一般状態の詳細な観察は週 1 回行った。

Ⅱ－3－2　体重測定

体重測定は、投与開始後 14 週間は週 1 回、それ以降は 4 週に 1 回（104 週にも測定）行った。また、動物の死亡発見時、切迫屠殺時及び定期解剖動物の搬出時にも体重（搬出時体重）を測定した。

Ⅱ－3－3　摂餌量測定

摂餌量は、投与開始後 14 週間は週 1 回、それ以降は 4 週に 1 回（104 週にも測定）給餌量及び残餌量を測定し、その値から 1 匹 1 日当たりの摂餌量を算出した。

Ⅱ－3－4　血液学的検査

定期解剖時に生存していた採血可能な動物について、剖検直前にエーテル麻酔下で腹大動脈より EDTA-2 カリウム入り採血管に採血した血液を用いて、下記の項目について検査を行った。検査方法は APPENDIX 3 に示した。

検査項目：赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量(MCH)、平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)、血小板数、網赤血球比、白血球数、白血球分類

Ⅱ－3－5　血液生化学的検査

定期解剖時に生存していた採血可能な動物について、剖検直前にエーテル麻酔下で腹大動脈よりヘパリンリチウム入り採血管に採血した血液を遠心分離し、得られた血漿を用いて、下記の項目について検査を行った。検査方法は APPENDIX 3 に示した。

検査項目：総蛋白、アルブミン、A/G 比、総ビリルビン、グルコース、総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質、AST、ALT、LDH、ALP、γ-GTP、CK、尿素窒素、クレアチニン、ナトリウム、カリウム、クロール、カルシウム、無機リン

Ⅱ－3－6　尿検査

投与 100 週の検査時まで生存した動物から、新鮮尿を採取し、尿試験紙（マルティスティックス、シーメンスヘルスケア･ダイアグノスティクス社）を用いて、下記の項目について検査を行った。

検査項目：pH、蛋白、グルコース、ケトン体、ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲン

Ⅱ－3－7　病理学的検査

（1）剖検

全動物について肉眼的に観察を行った。

（2）臓器重量

定期解剖時まで生存した動物について、下記に示した臓器の湿重量（臓器実重量）を測定した。また、各臓器の湿重量の搬出時体重に対する百分率（臓器重量体重比）を算出した。

測定臓器：副腎、精巣、卵巣、心臓、肺、腎臓、脾臓、肝臓、脳

（3）病理組織学的検査

全動物について下記に示した器官、組織を摘出し、10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液で固定後、パラフィン包埋、薄切、ヘマトキシリン・エオジン染色し、光学顕微鏡で病理組織学的に検査した。

検査器官・組織：皮膚、鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺、骨髄（大腿骨）、リンパ節（腋窩、腹壁等）、胸腺、脾臓、心臓、舌、唾液腺、食道、胃、小腸（十二指腸を含む）、大腸、肝臓、膵臓、腎臓、膀胱、下垂体、甲状腺、上皮小体、副腎、精巣、精巣上体、精嚢、前立腺、卵巣、子宮、腟、乳腺、脳、脊髄、末梢神経（坐骨神経）、眼球、ハーダー腺、筋肉、骨（大腿骨）、肉眼的に変化のみられた器官及び組織

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 ヶ所（文献 9）で切り出し（横断）、検査した。

Ⅱ－4　数値処理と統計方法

Ⅱ－4－1　数値の取り扱いと表示

各数値データは測定機器の精度に合わせて表示した。

吸入チャンバー内の被験物質濃度は ppm を単位として、小数点以下第 3 位まで測定し、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。

体重は g を単位とし、整数値の 1 の位まで測定し、表示した。

摂餌量は g を単位とし、給餌量及び残餌量を小数点以下第 1 位まで測定し、給餌量値から残餌量値を減じて摂餌量とした。この値を測定期間の日数で除し、1 日当たりの平均摂餌量を算出し、小数点以下第 2 位を四捨五入して小数点以下第 1 位までを表示した。

臓器実重量は g を単位とし、小数点以下第 3 位まで測定し、表示した。臓器重量体重比は臓器実重量値を搬出時体重で除し、パーセント単位で小数点以下第 4 位を四捨五入し、小数点以下第 3 位までを表示した。

血液学的検査、血液生化学的検査はAPPENDIX 3に示した単位と桁数により表示した。

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

Ⅱ－4－2　統計処理

各群の有効動物数は、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とした。

病理組織学的検査は、臓器ごとに検査不能臓器を除いた臓器数、その他の検査及び測定は、実施できた動物数を検査（測定）数とした。

体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査及び臓器重量の測定値は、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。

病理組織学的検査のうち非腫瘍性病変については、所見のみられなかった動物をグレード0、所見のみられた動物は、その所見の程度及び範囲などを基準にしてグレード 1～4 に分け、χ^2検定を行った。また、尿検査についても対照群と各投与群間とのχ^2検定を行った。

腫瘍性病変については、各臓器の腫瘍ごとに、各群ごとの総担腫瘍臓器数について、Peto 検定（文献 10）、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定を行った。また、Peto 検定は病理組織学的検査時に付与されたコンテックス(注)を用いて、死亡率法（コンテックス 3，4 を付与された腫瘍についての検定）、有病率法（コンテックス 0，1，2 を付与された腫瘍についての検定）、死亡率法＋有病率法（コンテックス 0～4 の総計で検定）を行った。

各検定は 5%の有意水準で、Peto 検定、Fisher 検定は片側検定、その他の検定は両側検定を行い、検定結果を表示する場合には 5%及び 1%の有意水準の表示を行った。

注： Peto 検定に用いるコンテックス

0：定期解剖動物にみつかった腫瘍

1：死亡／瀕死動物にみつかった腫瘍で、直接死因に関係しない腫瘍

2：多分 1 だと思うが、確かでない腫瘍

3：多分 4 だと思うが、確かでない腫瘍

4：死亡／瀕死動物にみつかった腫瘍で、直接死因に係わっていた腫瘍

Ⅲ　試験成績

Ⅲ－1　生死状況

生死状況を TABLE B 1, 2 及び FIGURE 2, 3 に示した。

－雄－

投与群の生存率に被験物質の影響はみられなかった。

各群の 104 週における生存動物数（生存率）は、対照群：38 匹（76%）、10 ppm 群：36 匹（72%）、40 ppm 群：41 匹（82%）、160 ppm 群：42 匹（84%）であった。

－雌－

投与群の生存率に被験物質の影響はみられなかった。

各群の 104 週における生存動物数（生存率）は、対照群：37 匹（74%）、10 ppm 群：40 匹（80%）、40 ppm 群：38 匹（76%）、160 ppm 群：43 匹（86%）であった。

Ⅲ－2　一般状態

一般状態の観察結果を TABLE C 1, 2 に示した。

－雌雄－

被験物質の影響と思われる所見はみられなかった。

Ⅲ－3　体重

体重の推移を TABLE D 1～4 及び FIGURE 4, 5 に示した。

－雄－

160 ppm 群で投与期間を通じて体重増加に抑制がみられた。

最終計測日（104 週）の各投与群の体重は、対照群に対して 10 ppm 群：98%、40 ppm 群：98%、160 ppm 群：87%であった。

－雌－

160 ppm 群で投与期間を通じて体重増加に抑制がみられた。

最終計測日（104 週）の各投与群の体重は、対照群に対して 10 ppm 群：104%、40 ppm 群：100%、160 ppm 群：90%であった。

Ⅲ－4　摂餌量

摂餌量を TABLE E 1～4 及び FIGURE 6, 7 に示した。

－雄－

160 ppm 群の摂餌量は投与期間を通して低値で推移した。40 ppm 群では、主に投与の前半で低値を示し、10 ppm 群では投与の初期に低値の週があった。

－雌－

160 ppm 群の摂餌量は投与初期の 1 週から 22 週までは連続して、その後も有意ではない週もあったが低値で推移した。40 ppm 群の摂餌量は投与の前半に低値を示す週が多くみられた。

Ⅲ－5　血液学的検査

血液学的検査の結果を TABLE F 1, 2 に示した。

－雄－

MCV と MCH の低値が 160 ppm 群でみられた。

－雌－

白血球分類で好酸球比の高値が 160 ppm 群でみられた。

Ⅲ－6　血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を TABLE G 1, 2 に示した。

－雄－

A/G 比の高値、総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質、クレアチニンの低値が 160 ppm 群でみられた。

その他、10 ppm 群で総蛋白の低値が見られたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

－雌－

A/G 比と尿素窒素の高値が 160 ppm 群でみられた。

その他、10 ppm 群でトリグリセライドとリン脂質の高値がみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

Ⅲ－7　尿検査

尿検査の結果を TABLE H 1, 2 に示した。

－雄－

蛋白陽性度の減少が 160 ppm 群でみられた。

－雌－

ケトン体陽性例の増加が 40 ppm 以上の群でみられた。

Ⅲ－8　病理学的検査

Ⅲ－8－1　剖検

剖検所見を TABLE I 1～6 に示した。

－雌雄－

被験物質の影響と思われる所見の増加は認められなかった。

Ⅲ－8－2　臓器重量

定期解剖時に測定した臓器の実重量と体重比を TABLE J 1, 2 と TABLE K 1, 2 に示した。

－雄－

被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

なお、心臓、肺、腎臓、脾臓、肝臓の実重量の低値と心臓、肺、脳の体重比の高値が 160 ppm 群にみられたが、これらの変化は 160 ppm 群の搬出時体重の低値によるものと考えた。

－雌－

被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

なお、肺の体重比の低値が 10 ppm 群でみられたが、投与濃度との対応及び実重量の有意な変化がみられず、毒性学的意義はないものと考えた。また、副腎、心臓、肺、腎臓、肝臓、脳の体重比の高値が 160 ppm 群にみられたが、これらの変化は 160 ppm 群の搬出時体重の低値によるものと考えた。

Ⅲ－8－3　病理組織学的検査

検査結果のうち非腫瘍性病変を TABLE L 1～6 に示した。腫瘍性病変の結果は、担腫瘍動物数と腫瘍数を TABLE M 1, 2 に、腫瘍の種類別の発生数を TABLE N 1, 2 に、統計解析（Peto 検定、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定）の結果を TABLE O 1, 2 に、転移性病変を TABLE P 1, 2 に示した。また、病理組織所見の代表例を写真 1～4 に示した。

－雄－

1）腫瘍性病変

被験物質の暴露による腫瘍の発生増加はみられなかった。

肝臓の肝細胞腺腫と肝細胞癌を合わせた発生が、40 ppm 以下の群に統計的に有意な減少を示した。

なお、精巣の間細胞腫の発生が 40 ppm 群で統計的に有意な増加を示したが、投与濃度に

対応した変化ではなかった。

2）非腫瘍性病変

＜鼻腔＞

呼吸上皮、嗅上皮及び腺に病変の増加が観察された。

呼吸上皮には、扁平上皮化生の発生匹数の増加が 160 ppm 群で認められ、病変の程度はほとんどの動物で軽度であった。呼吸上皮の扁平上皮化生は、呼吸上皮が扁平上皮に置き換えられた変化であり、鼻の前方に近いレベル 1 の鼻甲介の先端、上顎甲介の上部及び鼻中隔に認められた。嗅上皮には、上皮の萎縮と配列不整の発生匹数の増加が 40 ppm 以上の群で認められ、呼吸上皮化生と扁平上皮化生の発生匹数の増加が 160 ppm 群で認められた。これらの病変の程度はいずれも軽度であった。また、嗅上皮のエオジン好性変化の程度の増強が 160 ppm 群で認められた。エオジン好性変化の中等度または重度を示した発生匹数が対照群では 6 匹であるのに対し、160 ppm 群では 30 匹であった。嗅上皮の萎縮は、嗅細胞の数の減少により嗅上皮の丈が低くなった変化であり、レベル 2 またはレベル 3 の背側に認められた。嗅上皮の配列不整は嗅細胞の配列が乱れる変化であり、レベル 3 の背側や篩骨甲介の嗅上皮に認められた。嗅上皮の呼吸上皮化生は嗅上皮が呼吸上皮に置き換わった変化であり、レベル 2、レベル 3 の背側に認められた。嗅上皮の扁平上皮化生は嗅上皮が扁平上皮に置き換えられた変化である。本試験でみられた扁平上皮化生は、角化層の形成はみられないが、細胞間橋を持った有棘細胞より構成される上皮に置き換えられていた。嗅上皮の扁平上皮化生はレベル 2 の背側に認められた。エオジン好性変化は呼吸上皮や嗅上皮の細胞質内にエオジン好性に染色される滴状物質が貯留した変化である。発生部位については対照群と投与群に差はみられなかった。固有層の腺には、呼吸上皮化生の発生匹数の増加が 160 ppm 群で認められ、病変の程度はいずれも軽度であった。腺の呼吸上皮化生は、固有層に存在する腺が呼吸上皮に置き換えられた変化であり、レベル 1 の背側、レベル 2 の中隔や背側の鼻腺または嗅腺に認められた。

その他、腎臓の慢性腎症の程度が 160 ppm 群で減弱した。

なお、10 ppm 群の前胃の潰瘍の発生が、対照群との間に統計学的に有意な差を示したが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

－雌－

1）腫瘍性病変

被験物質の暴露による腫瘍の発生増加はみられなかった。

2）非腫瘍性病変

＜鼻腔＞

呼吸上皮、嗅上皮及び腺に病変の増加が観察された。

呼吸上皮には、扁平上皮化生の発生匹数の増加が 160 ppm 群で認められ、病変の程度はいずれも軽度であった。嗅上皮には、上皮の萎縮と配列不整の発生匹数の増加が 40 ppm 以上の群で認められ、呼吸上皮化生と扁平上皮化生の発生匹数の増加が 160 ppm 群で認められた。これらの病変の程度はいずれも軽度であった。また、エオジン好性変化の程度の増強が 160 ppm 群で認められた。エオジン好性変化が重度を示した発生匹数は対照群では 8 匹であるのに対し、160 ppm 群では 26 匹であった。固有層の腺では、呼吸上皮化生の発生匹数の増加が 160 ppm 群で認められ、病変の程度はいずれも軽度であった。

その他、鼻涙管の炎症が 160 ppm 群で減少した。

Ⅲ－8－4　死因

病理学的にみた死亡／瀕死の原因を TABLE Q 1, 2 に示した。

－雌雄－

投与群に特定の病変あるいは腫瘍による死亡の増加はみられなかった。

Ⅳ　考察及びまとめ

アクリル酸のラットを用いた2年間の全身暴露による吸入試験（投与濃度：0（対照群）、10、40及び160 ppm）を行ったが、アクリル酸による腫瘍性病変の発生は認められなかった。

Ⅳ－1　生存率、一般状態、体重、摂餌量

生存率及び一般状態にアクリル酸の暴露による影響はみられなかった。

体重は、雌雄の160 ppm群で増加の抑制がみられた。雄の最終体重は、対照群に対して10 ppm群：98%、40 ppm群：98%、160 ppm群：87%であった。雌の最終体重は、対照群に対して10 ppm群：104%、40 ppm群：100%、160 ppm群：90%であった。

摂餌量は、雌雄の160 ppm群においては投与期間を通して低値で推移した。投与の前半では雌雄の40 ppm群が低値を示し、雄の10 ppm群でも投与の初期に低値のみられる週があった。雌雄の160 ppmにみられた体重増加の抑制は、摂餌量の低値に伴う変化と考えられた。

Ⅳ－2　腫瘍性病変及び腫瘍関連病変

雌雄ともアクリル酸の暴露による腫瘍の発生増加及び腫瘍関連病変の発生増加は認められなかった。

IARC（文献 11）は、がん原性試験の最高投与濃度を、亜慢性試験の結果からある程度の毒性影響が起きることが推定され、腫瘍発生の結果以外で動物の寿命の長さを短縮させず、対照群と比較して 10%以上の体重増加の抑制を引き起こす毒性兆候を惹起させないことが推定される濃度と定義した。米国国立がん研究所（NCI）小動物発がん性試験ガイドラインでは（文献12)、小動物を用いるがん原性試験の最高投与濃度は、対照群と比較して10%以下の体重抑制を引き起こす濃度で、かつ発がん性に関係する反応以外に、毒性的兆候、病理学的障害による死亡率の上昇を引き起こさないと推定される最高濃度、即ち、最大耐量（Maximum Tolerated Dose（MTD)）を最高投与濃度として用いると定義した。また、体重増加の抑制に関する勧告は経験的なものであり、結果として超過した場合でもがん原性試験を無効にするものではないともいわれている（文献13)。

本がん原性試験の投与濃度は、II－1－5に示したように、2週間吸入試験（試験番号0638）及び13週間吸入試験（試験番号0677）の結果（文献6、7）をもとに決定した。2週間試験では、600 ppm群で雌の1例が死亡したが、300 ppm以下の群では死亡はみられなかった。13週間試験は10～200 ppmの濃度で行った。その結果、各群とも動物の死亡はみられなかった。200 ppm群では、病理組織学的検査で雌雄の鼻腔に変化がみられ、また、雄に体重増加の抑制（対照群の90%）が認められた。150 ppm群では、鼻腔の病理組織学的検査で変化がみられたが、雌雄とも体重に差はみられなかった。これらの結果より、がん原性試験の最高濃度は、雌

雄とも 160 ppm とした。

本がん原性試験においては、最高濃度群の 160 ppm 群での雄の最終体重は対照群の 87%、雌は同 90%であり、鼻腔の病理組織学的変化がみられた。また、雌雄とも生存率に暴露による低下はみられなかった。従って、最高濃度を 160 ppm とした本がん原性試験の投与濃度の設定は、上記の MTD に関する基準をほぼ満たし、適切であると判断した。

Ⅳ－3　その他の影響

血液学的及び血液生化学的検査では 160 ppm 群でいくつかの項目に変化がみられ、尿検査では雄の 160 ppm 群、雌の 40 ppm 以上の群に変化がみられた。

血液学的検査では、160 ppm 群の雄に MCV とＭＣＨの低値がでみられ、雌に白血球分類で好酸球比の高値がみられた。血液生化学的検査では、160 ppm 群の雌雄にA/G比の高値、雄に総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質、クレアチニンの低値がみられた。尿検査では雄の 160 ppm 群に蛋白陽性度の減少、雌の 40 ppm 以上の群にケトン体陽性例の増加がみられた。しかし、赤血球数等の血液学的検査の他の項目、及び病理学的検査ではこれらの変化に関連すると思われる変化は認められなかった。

剖検や臓器重量にはアクリル酸の影響と思われる変化はみられなかった。

病理組織学的検査では雌雄の鼻腔にアクリル酸の影響がみられ、嗅上皮に萎縮、呼吸上皮化生、扁平上皮化生及び配列不整、呼吸上皮に扁平上皮化生並びに固有層の腺に呼吸上皮化生の発生匹数が増加した。嗅上皮の萎縮と配列不整は雌雄とも 40 ppm 以上、その他の鼻腔の病変についてはいずれも 160 ppm 群で発生匹数の増加が認められた。このように、嗅上皮には傷害を示す変化として萎縮が認められ、傷害に伴った変化として呼吸上皮化生や配列不整、扁平上皮化生が認められた。呼吸上皮化生や配列不整は傷害を受けた嗅上皮の修復像としてみられることが報告されている（文献 14、15）。また、嗅上皮の扁平上皮化生は傷害に対する修復や慢性炎症に伴って認められる変化である（文献 15）。異型を伴った扁平上皮化生が化学物質の吸入暴露により、腫瘍へと進展する前腫瘍性病変としてみられることがある（文献 16）、本試験でみられた扁平上皮化生では病理形態学的に明らかな細胞異型、有糸分裂像の増加等の増殖性病変を示唆する変化は認められず、扁平上皮由来の腫瘍発生もみられなかった。嗅上皮のエオジン好性変化は加齢性変化として高齢ラットでの発生増加が報告されている（文献 17）。今回、対照群の動物と比較して、160 ppm 群で嗅上皮のエオジン好性変化の程度に増強が認められたことは、加齢性変化をアクリル酸暴露が増強したものと考えられる。嗅上皮のエオジン好性変化はタバコ、塩素、ジメチルアミン等の刺激性のある化学物質の吸入暴露によって発生することが報告されているが、その毒性的意義は現在のところ不明である（文献 18,19）。呼吸上皮には傷害に伴った変化として扁平上皮化生が認められた。扁平上皮化生は傷害に対する修復や炎症に伴って認められると報告されている（文献 15）。今回の結果からは呼吸上皮に傷害を示す変化は認められなかったが、当センターで実施したアクリル酸の 2 週間試験（文献 6）では 150 ppm

群に呼吸上皮の壊死が認められた。従って、本試験の結果は呼吸上皮が早期に傷害を受け、慢性影響として修復性変化のみが認められたものと考えられる。この慢性影響として見られた呼吸上皮の扁平上皮化生にも、明らかな細胞異型や有糸分裂像の増加等の増殖性病変を示唆する兆候は認められず、扁平上皮由来の腫瘍発生もみられなかった。固有層内に存在する腺（鼻腺、嗅腺）の呼吸上皮化生は刺激に対する反応としてみられるほか、加齢によって発生が増加することが報告されている（文献 15)。今回、腺の呼吸上皮化生が 160 ppm 群で発生匹数の増加を示したことから、アクリル酸暴露による直接影響に加えて加齢性変化の増強があったと考えられる。

以上のように、アクリル酸の 2 年間の吸入暴露によって鼻腔の呼吸上皮と嗅上皮に傷害性の変化が起きることが示されたが、その程度は軽度であり、腫瘍への移行も認められなかった。本試験の予備試験として当センターで実施した 13 週間試験（文献 7）では、雌雄の鼻腔の嗅上皮や呼吸上皮に対する影響が量―反応関係を伴って認められた。すなわち、13 週間試験では、24 ppm 以上の群で嗅上皮の萎縮が、60 ppm 以上の群で呼吸上皮の扁平上皮化生が、150 ppm 以上の群で嗅上皮の扁平上皮化生が認められたが、10 ppm 群にはアクリル酸の影響と考えられる変化は認められなかった。今回の 2 年間の試験でも、13 週間試験とほぼ同様の生体反応が鼻腔に認められ、嗅上皮の萎縮は 40 ppm 以上の群で、呼吸上皮と嗅上皮の扁平上皮化生は 160 ppm 群で認められ、アクリル酸の影響と考えられる変化は 10 ppm 群にはみられなかった。従って、13 週間試験でみられた鼻腔の病変は、アクリル酸を長期間暴露しても進展しないことが示された。

Ⅳ－4　無毒性量（NOAEL）

以上のように本がん原性試験では投与群に体重増加の抑制がみられ、また、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、病理組織学的検査でアクリル酸の影響と思われる変化がみられた。

その中で、最も低濃度まで認められた明らかな変化は、病理組織学的検査でみられた鼻腔の嗅上皮の萎縮と配列不整であり、雌雄とも 40 ppm 以上の群で認められた。10 ppm 群にはアクリル酸の影響と考えられる変化はみられなかった。

以上の結果から、本試験におけるアクリル酸のラットに対する 2 年間吸入暴露による無毒性量（NOAEL）は、鼻腔の嗅上皮の萎縮と配列不整をエンドポイントとして雌雄とも 10 ppm であると判断した。

Ⅳ－5　他文献との比較等

① がん原性：アクリル酸のラットを用いた吸入によるがん原性試験または長期試験に関する文献はなかった。また、IARC ではアクリル酸のがん原性について、疫学、動物実験とも

適切なデータがなく、グループ 3（ヒトに対する発がん性については分類できない物質）に分類している（文献 20）。

② 変異原性： アクリル酸の変異原性については、Ames 試験に関する陰性の報告が 1 報と、mouse lymphoma L5178 TK+/-アッセイに関する陽性の報告が 2 報ある。Cameron ら（文献 21）は、Ames 試験と Mouse Lymphoma L5178 TK+/-アッセイの 2 報を報告しており、Ames 試験では、ネズミチフス菌 TA98、TA100、TA1535 及び TA1537 の 4 菌株を用いて、代謝活性化を用いない場合、ラット S9 の代謝活性化を用いた場合及びハムスターS9 の代謝活性化を用いた場合と、菌株ごとに 3 系列で試験を実施し、いずれの場合も陰性の結果を報告した。また、Mouse Lymphoma L5178 TK+/-アッセイでは、ラット S9 の代謝活性化を用いた場合と代謝活性化を用いない場合で試験を実施しており、いずれの場合も陽性の結果を報告した。さらに、Moore ら（文献 22）は、Mouse Lymphoma L5178 TK+/-アッセイを代謝活性化を用いない場合でのみ実施し、遺伝子突然変異作用は陰性で、染色体異常誘発作用が陽性であることを報告している。尚、Cameron らのアクリル酸に関しての Mouse Lymphoma L5178 TK+/-アッセイの結果には、コロニーの大きさのデータが無いため、この論文ではアクリル酸の突然変異誘発性が遺伝子突然変異によるものか、染色体の構造異常によるものかを判断することはできなかった。

V　結論

F344/DuCrlCrlj ラットを用いて、アクリル酸の 2 年間（104 週間）にわたる吸入によるがん原性試験を行った結果、以下の結論を得た。

雌雄とも腫瘍の発生増加は認められず、アクリル酸のラットに対するがん原性はなかった。

Ⅵ　文献

1. U.S. National Library of Medicine, Specialized Information Services 2005. Acrylic acid Chemical/Physical Properties. Hazardous Substances DataBank(HSDB). Available: http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB [accessed 13 November 2007].

2. McLafferty FW, ed. 1994. Wiley Registry of Mass Spectral Data. 6th ed. New York, NY：John Wiley and Sons.

3. 和光純薬工業(株). 2006. アクリル酸，赤外吸収スペクトル.

4. 労働省労働基準局長. 1997. がん原性試験による調査の基準. 基発　第 144 号, 平成 9 年 3 月 11 日.

5. OECD. 1981. OECD Guideline for Testing of Chemicals 451 “Carcinogenicity Studies”. Paris: Organisation for Economic Co-operation and Development.

6. 日本バイオアッセイ研究センター. 2006. アクリル酸のラットを用いた吸入による 2 週間毒性試験報告書. 神奈川: 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.

7. 日本バイオアッセイ研究センター. 2006. アクリル酸のラットを用いた吸入による 13 週間毒性試験報告書. 神奈川: 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.

8. 阿部正信. 1986. 長期毒性試験に用いるラット、マウスの体重変化の解析による群分けの適正層別方式の確立. 薬理と治療 14: 7285-7302.

9. Nagano K, Katagiri T, Aiso S, Senoh H, Sakura Y, Takeuchi T. 1997. Spontaneous lesions of nasal cavity in aging F344 rats and BDF1 mice. Exp Toxic Pathol. 49: 97-104.

10. Peto R, Pike MC, Day NE, Gray RG, Lee PN, Parish S, et al. 1980. Guidelines for simple, sensitive significance tests for carcinogenic effects in long-term animal experiments. In: Long-Term and Short-Term Screening Assays for Carcinogens: A Critical Appraisal. Lyon: IARC. IARC Monographs Suppl 2: 311-426.

11. Bannasch P, Griesemer RA, Anders F, Becker R, Cabral JR, Della Porta G, et al. 1986. Long-term assays for carcinogenicity in animals. In: Long-Term and Short-Term Assays for Carcinogens: A Critical Appraisal. (Montesano R, Bartsch H, Vainio H, Wilbourn J, Yamasaki H. eds.). Lyon: IARC. IARC Scientific Publications No. 83: 13-83.

12. Sontag JM, Page NP, Saffiotti U. 1976. Guidelines for carcinogene bioassay in small rodents. NCI-CG-TR-1. DHEW Publication No.(NIH)76-801. Bethesda,MD: National Cancer Institute. 13-15.

13. Haseman JK. 1985. Issues in carcinogenicity testing: dose selection. Fundam Appl Toxicol. 5: 66-78.

14. 長野嘉介. 2000. 各論 1 章, 上部気道, 毒性病理組織学（日本毒性病理学会編）. 名古屋:日本毒性病理学会. 99-116.

15. Renne R, Brix A, Harkema J, Herbert R, Kittel B, Lewis D, March T, Nagano K, Pino M, Rittinghausen S, Rosenbruch M, Tellier P, Wohrmann T. 2009. Proliferative and nonproliferative lesions of the rat and mouse, respiratory tract. Toxicol Pathol 37: 5S-73S.

16. Monticello TM, Morgan KT, Uraih L. 1990. Nonneoplastic nasal lesions in rats and mice. Environ Health Perspect. 85: 249-255

17. Nagano K, Katagiri T, Aiso S, Senoh H, Sakura Y, Takeuchi T. 1997. Spontaneous lesions of nasal cavity in aging F344 rats and BDF1 mice. Exp Toxic Pathol. 49: 97-104.

18. Buckley LA, Morgan KT, Swenberg JA, James RA, Hamm TE Jr, Barrow CS. 1985. The toxicity of dimethylamine in F-344 rats and B6C3F1 mice following a 1-year inhalation exposure. Fundam Appl Toxicol. 5: 341-352

19. Wolf DC, Morgan KT, Gross EA, Barrow C, Moss OR, James RA, et al. 1995. Two-year inhalation exposure of female and male B6C3F1 mice and F344 rats to chlorine gas induces lesions confined to the nose. Fundam Appl Toxicol. 24: 111-131

.

20. International Agency for Cancer, 1999. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Vol 71 : 1223-1230. Lyon : IARC

21. Cameron T, Rogera-Back A, Lowlor T, Harbell J, Seifried H and Dunkel V, 1991. Genotoxicity of Multifunctional Acrylates in tha Salmonella/Mammalian-Microsome Assay and Mouse Lymphoma TK+/-Assay. Environmental and Molecular Mutagenesis. 17: 264-271.1998.

22. Moore M, Amtower A, Doerr C, Brock K and Dearfield K, 1988. Genotoxicity of Acrylic Acid, Methyl Acrylate, Ethyl Acrylate, Methyl Methacrylate, and Ethyl Methacrylate in L5178Y Mouse Lymphoma Cells. Environmental and Molecular Mutagenesis.11:49-63.

Ⅶ　予見することのできなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態及び試験計画書に従わなかったこと

予見することのできなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態及び試験計画書に従わなかったことはなかった。

なお、被験物質の安定性の測定に使用したガスクロマトグラフ（5890A）、血液学的検査で使用した総合血液学検査装置（ADVIA 120）及び尿検査で使用した尿試験紙（マルティスティックス）の製造会社の社名が変更されたため、本報告書はそれぞれ、新社名を記載した。