シクロヘキセンのラットを用いた
吸入によるがん原性試験報告書

試験番号：０３９９

CAS　Ｎｏ．１１０－８３－８

２００４年3月31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

シクロヘキセンのラットを用いた吸入によるがん原性試験

試験目的

シクロヘキセンをラットに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について」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「労働安全衛生法に基づく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。

試験委託者

厚生労働省労働基準局安全衛生部化学物質調査課
東京都千代田区霞ヶ関 1 - 2 - 2

試験施設及び運営管理者

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
所長　松島　泰次郎
神奈川県秦野市平沢2445

シクロヘキセンのラットを用いた
吸入によるがん原性試験報告書

試験番号：０３９９

本　　文

本文目次

頁

要約・・・

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 ･････････････････････････････ 8
Ⅱ－3－2　体重測定 ･･･ 8
Ⅱ－3－3　摂餌量測定 ･･ 8
Ⅱ－3－4　血液学的検査 ･･･ 8
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 ･･ 9

Ⅱ－4　数値処理と統計方法
Ⅱ－4－1　数値の取り扱いと表示 ･････････････････････････････････････ 10
Ⅱ－4－2　母数の取り扱い ･･ 10
Ⅱ－4－3　統計方法 ･･ 10

Ⅲ　試験成績

Ⅲ－1　生死状況 ･･ 12
Ⅲ－2　一般状態 ･･ 12
Ⅲ－3　体重 ･･ 12
Ⅲ－4　摂餌量 ･･･ 12
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 ･･ 13
Ⅲ－8－1　剖検 ･･ 13
Ⅲ－8－2　臓器重量 ･･ 13
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

Ⅳ－1　腫瘍性及び腫瘍関連病変 ･･････････････････････････････････････ 17
Ⅳ－2　その他の影響 ･･ 18
Ⅳ－3　無毒性量（NOAEL）/最小毒性量（LOAEL） ･･････････････････････ 19
Ⅳ－4　シクロヘキセンの職業性暴露限界値と無毒性量（NOAEL）との関連 ･･ 19
Ⅳ－5　他文献との比較等 ･･ 20

Ⅴ　結論 …… 22

Ⅵ　文献 …… 23

要約

シクロヘキセンのがん原性を検索する目的でラット（F344/DuCrj(Fischer)）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、雌雄各群とも50匹とし、合計400匹を用いた。被験物質の投与は、シクロヘキセンを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、雌雄ともに600、1200、2400 ppm（公比2）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。

シクロヘキセンの暴露の結果、生存率、一般状態及び摂餌量にシクロヘキセンの影響を認めなかったが、2400 ppm群の体重は雌雄とも全投与期間を通じ対照群に比べて低値であった。

腫瘍性病変は、雄に肝細胞腺腫と肝細胞癌を合わせた発生の増加が認められたが、その増加は僅かであった。また、雄の肝臓では前腫瘍性病変である好酸性小増殖巣の発生増加が2400 ppm群、肝海綿状変性の発生増加が1200 ppm以上の群に認められた。雌には腫瘍の発生増加は認められなかった。

その他、雄の腎臓（慢性腎症）、甲状腺（巣状濾胞細胞増生）及び雌雄の脳（小脳の顆粒細胞の変性）に病変の増加がみられた。無毒性量（NOAEL）は、雄の肝臓への影響（肝臓の重量と肝海綿状変性）をエンドポイントとして600 ppmであると考えた。

以上のように、F344/DuCrj(Fischer)ラットを用いてシクロヘキセンの2年間（104週間）の吸入によるがん原性試験を行った結果、雄では、肝細胞腺腫と肝細胞癌を合わせた発生数の増加がみられたが、その増加は僅かであり、肝細胞腺腫及び肝細胞癌、それぞれには発生増加がみられなかった。また、他の組織、臓器には腫瘍の発生増加は認められなかった。従って、本試験の結果からは雄ラットに対するがん原性を示す証拠は得られなかった。雌には、シクロヘキセンの暴露による腫瘍の発生増加は認められなかった。

シクロヘキセン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	600	1200	2400	Peto 検定	Cochran-Armitage 検定
	検査動物数		50	50	50	50		
良性腫瘍	皮膚	角化棘細胞腫	1	3	3	1		
	皮下組織	線維腫	6	6	7	3		
	肺	細気管支－肺胞上皮腺腫	2	3	6	0		
	肝臓	肝細胞腺腫	2	1	4	4		
	膵臓	膵島腺腫	6	5	1	2		
	下垂体	腺腫	9	15 a)	12 a)	10		
	甲状腺	C－細胞腺腫	15	15	7	11		
		濾胞状腺腫	0	0	1	0		
	副腎	褐色細胞腫	5	3	1	5		
	精巣	間細胞腫	46	48	44	47		
悪性腫瘍	脾臓	単核球性白血病	4	5	5	3		
	肝臓	肝細胞癌	0	0	0	1		
	甲状腺	C－細胞癌	3	1	1	2		
		濾胞状腺癌	1	2	0	2		
	腹膜	中皮腫	1	2	3	0		
	肝臓	肝細胞腺腫／肝細胞癌	2	1	4	5	↑	

シクロヘキセン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	600	1200	2400	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	4	2	0	0		
	肺	細気管支－肺胞上皮腺腫	3	1	2	0		
	肝臓	肝細胞腺腫	1	1	1	0		
	下垂体	腺腫	17a)	14 a)	19 b)	12		
	甲状腺	C－細胞腺腫	10	6	9	5		
	子宮	子宮内膜間質性ポリープ	4	7	2	6		
	乳腺	腺腫	2	5	4	2		
		線維腺腫	5	3	10	2		
悪性腫瘍	脾臓	単核球性白血病	5	5	4	6		
	肝臓	肝細胞癌	1	0	0	0		
	下垂体	腺癌	3 a)	3 a)	1 b)	1		

検定結果については生物学的意義を考慮して記載した。

＊: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)

a):検査動物数 49、b):検査動物数 48

Ⅰ　試験材料

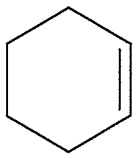
Ⅰ－1　被験物質の性状等

Ⅰ－1－1　名称等

名　　称：シクロヘキセン　(Cyclohexene)
CAS　No.：110-83-8

Ⅰ－1－2　構造式及び分子量（文献 1）

構 造 式：



分 子 量：82.14

Ⅰ－1－3　物理化学的性状等（文献 1）

性　　状：無色の液体
沸　　点：83.3℃
比　　重：0.8112（20℃／20℃）
溶 解 性：水に不溶
保存条件：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：ACJ6186　（1999 年　9 月 20 日～1999 年 11 月 25 日）
KSJ6321　（1999 年 11 月 26 日～2000 年　6 月 16 日）
ELN4601　（2000 年　6 月 19 日～2000 年 12 月 26 日）
ELG7745　（2000 年 12 月 27 日～2001 年　6 月 28 日）
DWM4754　（2001 年　6 月 29 日～2001 年　9 月 14 日）
製　　造　　元：和光純薬工業株式会社
グ レ ー ド：和光一級
純　　度：99%以上（和光純薬工業㈱検査成績書データ）

Ⅰ－3　被験物質の特性・同一性、安定性

Ⅰ－3－1　特性・同一性

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

その結果、被験物質のマススペクトルは文献値（文献 2）と同じ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、被験物質はシクロヘキセンであることを確認した。

また、試験に使用したシクロヘキセン中には、不純物として 1,3 - シクロヘキサジエン及び 1,4 - シクロヘキサジエンが確認された。シクロヘキセン中の不純物含有量は、1,3 - シクロヘキサジエンが 0.035～0.137%、1,4 - シクロヘキサジエンが 0.040～0.055%であった。

それらの結果は APPENDIX O 1 に示した。

Ⅰ－3－2　安定性

被験物質の安定性は、ロットごとに使用開始前及び使用終了後にガスクロマトグラムをガスクロマトグラフ（Hewlett Packard HP5890A）により測定し、それぞれのデータを比較することにより確認した。

その結果、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、被験物質は使用期間中、安定であることを確認した。

それらの結果は APPENDIX O 2 に示した。

Ⅰ－4　試験動物

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

ラット雌雄各 227 匹を生後 4 週齢で導入し（導入時体重範囲、雄:52～69g、雌:45～63g）、各 1 週間の検疫、馴化を経た後、発育順調で異常を認めない動物から、体重値の中央値に近い雌雄各 200 匹（群構成時体重範囲、雄:114～137g、雌:89～107g）を選別し、試験に用いた。

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

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シクロヘキセンを含む空気を送り込み、動物に全身暴露することにより行った。なお、対照群は新鮮空気による換気のみとした。

Ⅱ－1－3　投与期間

投与期間は1日6時間、1週5日の暴露（祝祭日は暴露なし）で104週間とし、計491回の暴露を行った。

Ⅱ－1－4　投与濃度

600、1200 及び2400 ppm の3段階（公比2）の投与濃度を設定した。

Ⅱ－1－5　投与方法、投与期間及び投与濃度の設定理由

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

投与期間は、安衛法ガイドラインがん原性試験による調査の基準（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13週間試験（試験番号0363）の結果（文献 6）をもとに決定した。

13週間試験は、その予備試験である2週間試験（試験番号0358）（文献 7）において、4800 ppm で動物の死亡がみられたため、2400 ppm を最高濃度とし、以下 1200、600、300 及び 150 ppm（公比2）で行った。その結果、2400 ppm で軽度の体重増加の抑制がみられた以外に大きな変化はみられなかった。以上の結果から、がん原性試験の投与濃度は、雌雄とも2400 ppm を最高濃度とし、以下公比2で濃度を設定した。

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（柴田科学株式会社　特注）の発生容器内のシクロヘキセンを循環式恒温槽で一定温度に保温しながら、清浄空気のバブリングにより蒸発させた。このシクロヘキセン蒸気を冷却、再加温及び清浄空気との混合により一定濃度に調整した後、流量計を用いて一定量を吸入チャンバーの上部のラインミキサーに供給した。

吸入チャンバー内のシクロヘキセン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シクロヘキセンの吸入チャンバーへの供給量を調節した。

Ⅱ－1－7　被験物質の濃度測定

吸入チャンバー内のシクロヘキセンの濃度は、自動サンプリング装置付ガスクロマトグラフ（Shimadzu GC-14A）により、暴露開始前から暴露終了後まで 15 分毎に測定した。

濃度測定結果を APPENDIX P 1 に示した。各投与群のシクロヘキセン濃度は、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 0.6%以内、変動係数（標準偏差／平均値×100%）が 0.7%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。

なお、被験物質の不純物である 1,3 - シクロヘキサジエン及び 1,4 - シクロヘキサジエンは、吸入チャンバー内からは検出されなかった。

Ⅱ－2　動物管理

Ⅱ－2－1　各群の使用動物数

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

各群の使用動物数と動物番号

群番号	群名称	雄 使用動物数（動物番号）	雌 使用動物数（動物番号）
0	対　照　群	50 匹（1001-1050）	50 匹（2001-2050）
1	600 ppm 群	50 匹（1101-1150）	50 匹（2101-2150）
2	1200 ppm 群	50 匹（1201-1250）	50 匹（2201-2250）
3	2400 ppm 群	50 匹（1301-1350）	50 匹（2301-2350）

Ⅱ－2－2　群分け及び個体識別方法

供試動物の各群への割り当ては、発育順調で異常を認めない動物を体重の重い順より各群に 1 匹ずつ割り当て、二巡目からは各群の動物の体重の合計を比較して小さい群より順に体重の

重い動物を割り当てることにより、群間の体重の偏りを小さくする群分け方法（層別体重平均法：適正層別方式）により実施した（文献 8）。

試験期間中の動物の個体識別は、検疫期間及び馴化期間は色素塗布により、投与期間は耳パンチにより行い、また、全期間を通してケージにも個体識別番号を付した。

なお、動物はバリア区域（AC-7 空調エリア）内の独立した室（504 室）に収容し、飼育室に試験番号、動物種及び動物番号を表示し、他の試験及び異種動物と区別した。

Ⅱ－2－3　飼育条件

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

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

	検疫室 (517 室：A) (518 室：B)	吸入試験室 (504 室)	吸入チャンバー内	
			馴化期間	投与期間
温度	23±2℃ (A:23.2±0.2℃) (B:23.1±0.2℃)	22±2℃ (21.8±0.5℃)	23±2℃	
湿度	55±15％ (A:53±1％) (B:53±1％)	－	55±15％	
明暗サイクル	12 時間点灯（8：00～20：00）／12 時間消灯（20：00～8：00）			
換気回数	15～17 回／時		12±1 回／時	
圧力	－	－	0～－15mmAq	
ケージへの動物の収容方法	群飼（5 匹）	－	単飼	単飼
ケージの材質・形状	ステンレス製 群飼ケージ	－	ステンレス製 6 連網ケージ	ステンレス製 5 連網ケージ
ケージ寸法	W340 D294 H176	－	W125 D216 H176	W150 D216 H176

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、定期解剖日の前日の夕方からは給餌しなかった。

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

なお、試験に使用した飼料の栄養成分についてはオリエンタル酵母工業(株)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）の分析データを使用ロットごとに入手し、また、飲水については(財)食品薬品安全センター秦野研究所（神奈川県秦野市落合 729-5）に 3 ヶ月毎に分析を委託し、それぞれ試験計画書に規定した許容基準と照合して異常のないことを確認した後、その記録を保管した。

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 回行った。また、一般状態の詳細観察は、検疫及び馴化期間中は検疫開始日（導入時）、検疫終了・馴化開始日及び馴化最終日（群構成時）に行い、投与期間中は週 1 回、暴露開始前に行った。

Ⅱ－3－2　体重測定

体重測定は、検疫及び馴化期間中は検疫開始日（導入時）、検疫終了・馴化開始日及び馴化最終日（群構成時）に行い、投与期間中は、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、切迫屠殺及び定期解剖の搬出時にも体重（搬出時体重）を測定した。

Ⅱ－3－3　摂餌量測定

全動物について、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、その差を給餌日数で除した値を 1 日当りの摂餌量とした。

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、下記の項目について検査を行った。検査方法は APPENDIX Q に示した。

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、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 Q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、GOT、GPT、LDH、ALP、γ-GTP、CPK、尿素窒素、クレアチニン、ナトリウム、カリウム、クロール、カルシウム、無機リン

Ⅱ－3－6　尿検査

投与104週まで生存した動物から新鮮尿を採取し、尿試験紙（マルティ スティックス、バイエル社製）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各臓器の湿重量（実重量）を測定した。また、各臓器の湿重量の定期解剖時の体重に対する百分率（臓器重量体重比）を算出した。

副腎、精巣、卵巣、心臓、肺、腎臓、脾臓、肝臓、脳

3　病理組織学的検査

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

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、膣、乳腺、脳、脊髄、末梢神経（坐骨神経）、眼球、ハーダー腺、筋肉、骨（大腿骨）、その他、肉眼的に変化のみられた器官、組織

Ⅱ－4　数値処理と統計方法

Ⅱ－4－1　数値の取り扱いと表示

各数値データは計測機器の精度に合わせて表示した。

吸入チャンバー内の被験物質濃度についてはppmを単位として、小数点以下3位まで計測し、小数点以下第2位を四捨五入し、小数点以下第1位までを表示した。

体重についてはgを単位とし、整数値の1の位まで計測し、表示した。

摂餌量についてはgを単位とし、給餌量及び残餌量を小数点以下第1位まで計測し、給餌量値から残餌量値を減じて摂餌量とした。この値を計測期間の日数で除し1日当りの平均摂餌量を算出し、小数点以下第2位を四捨五入して小数点以下第1位までを表示した。

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

血液学的検査、血液生化学的検査はAPPENDIX Qに示した単位と精度により表示した。

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

Ⅱ－4－2　母数の取り扱い

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

尿検査は、投与104週まで生存した動物を対象に行い、採尿できた動物数を母数とした。

血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量の測定は、定期解剖時まで生存した動物を対象とし、欠測となったデータについては母数より除いた。

剖検と病理組織学的検査は、全動物数を母数とした。ただし、病理組織学的検査データについては臓器別に、検査不能臓器をもつ動物数を除いたものを母数とした。

Ⅱ－4－3　統計方法

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

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として1～4にグレード分けし、

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、各群ごとの総担癌臓器数について、Peto 検定（文献 9）、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。

各群雌雄毎に検査数が 2 以下の項目については検定より除外した。

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

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

投与期間中における群別の生存状況をTABLE 1, 2及びFIGURE 2, 3に示した。

最終計測週（104週）における生存数（生存率）は、雄では対照群：40匹（80.0%）、600 ppm群：40匹（80.0%）、1200 ppm群：44匹（88.0%）、2400 ppm群：38匹（76.0%）であった。雌では対照群：42匹（84.0%）、600 ppm群：44匹（88.0%）、1200 ppm群：47匹（94.0%）、2400 ppm群：36匹（72.0%）であった。

生存率には、被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

Ⅲ－2　一般状態

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

投与期間を通しての外部腫瘤の発生動物数は、雄では対照群：14匹、600 ppm群：14匹、1200 ppm群：12匹、2400 ppm群：10匹、雌では対照群：12匹、600 ppm群：13匹、1200 ppm群：15匹、2400 ppm群：7匹であった。

投与期間を通しての内部腫瘤の発生動物数は、雄では対照群：1匹、600 ppm群：1匹、1200 ppm群：1匹、2400 ppm群：2匹、雌では対照群：2匹、600 ppm群：3匹、1200 ppm群：1匹、2400 ppm群：3匹であった。

外部腫瘤及び内部腫瘤の発生数には、被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

その他の一般状態でも、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

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

2400 ppm群では、雌雄とも全投与期間を通じ、対照群に比べ低値であった。1200及び600 ppm群は、雌雄とも対照群と同様な値で推移した。

最終計測時（104週）の体重は、対照群に対して、雄では600 ppm群：101%、1200 ppm群：99%、2400 ppm群：93%、雌では600 ppm群：101%、1200 ppm群：104%、2400 ppm群：94%であった。

Ⅲ－4　摂餌量

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

雌雄とも全投与群の摂餌量は、対照群と同様な値で推移した。

Ⅲ－5　血液学的検査

定期解剖時に行った血液学的検査の結果をAPPENDIX D 1, 2に示した。
雌雄ともにいくつかの項目で有意差が認められたが、被験物質の影響と思われる変化ではなかった。

Ⅲ－6　血液生化学的検査

定期解剖時に行った血液生化学的検査の結果をTABLE 7及びAPPENDIX E 1, 2 に示した。
雄では、尿素窒素が全投与群で増加した。また、総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質、γ-GTP、クレアチニン、カルシウム及び無機リンが、1200 ppm以上の群で増加した。
その他、雌雄ともにいくつかの項目で有意差が認められたが、被験物質の影響と思われる変化ではなかった。

Ⅲ－7　尿検査

投与104週に行った尿検査の結果をTABLE 8,9及びAPPENDIX F 1, 2 に示した。
雄では、蛋白陽性度が1200 ppm以上の群で増加した。
雌では、ｐＨ が2400 ppm群で上昇した。
その他、雌ではいくつかの項目で有意差が認められたが、被験物質の影響と思われる変化ではなかった。

Ⅲ－8　病理学的検査

Ⅲ－8－1　剖検

剖検所見をAPPENDIX G 1～6に示した。
雄では、各投与群とも腎臓に顆粒状変化を呈する動物が増加した。
雌では、被験物質の影響と思われる所見はみられなかった。

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 10, 11及びAPPENDIX H 1, 2、I 1, 2 に示した。
雄では、肝臓の実重量と体重比の高値が1200 ppm以上の群でみられた。また、腎臓は1200 ppm群に実重量と体重比の高値、2400 ppm群に体重比の高値がみられた。また、精巣の実重

量と体重比の高値が 2400 ppm 群にみられた。その他、2400 ppm 群では、脳の実重量の低値、心臓、肺及び脳の体重比の高値がみられたが、この群の解剖時体重は対照群に比較して低値であり、これに伴う変化と考えられた。

雌では、2400 ppm 群に脳の実重量の低値、副腎、肺、脾臓及び肝臓の体重比の高値がみられたが、この群の解剖時体重は対照群に比較して低値であり、これに伴う変化と考えられた。なお、2400 ppm 群の卵巣の体重比に有意な低値がみられたが、平均値は 1200 ppm 群の方が低値であり、これらの変化が被験物質の暴露による影響かは不明であった。

Ⅲ－8－3　病理組織学的検査

主な腫瘍性病変と非腫瘍性病変の発生数を TABLE 12, 13 に示した。また、非腫瘍性病変を APPENDIX J 1～6 に示した。腫瘍性病変の結果は、担腫瘍動物数と腫瘍数を APPENDIX K 1, 2 に、腫瘍の種類別の発生数を APPENDIX L 1, 2 に、統計解析（Peto 検定、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定）の結果を APPENDIX M 1, 2 に、転移性病変を APPENDIX N 1～6 に示した。本試験でみられた腫瘍の日本バイオアッセイ研究センターにおけるヒストリカルコントロールデータ（発生匹数/総匹数と平均発生率（%）、試験毎の発生率（最小%～最大%））を雌雄別にそれぞれ TABLE 15, 16 に示した。さらに、観察された所見の代表例を PHOTOGRAPH 1～6 に示した。

1. 腫瘍性病変

－雄－

＜肝臓＞

肝細胞腺腫と肝細胞癌を合わせた発生（対照群：4.0%、600 ppm 群：2.0%、1200 ppm 群：8.0%、2400 ppm 群：10.0%）が Peto 検定（死亡率法+有病率法）で増加傾向を示した。当センターのヒストリカルコントロールデータでは、肝細胞腺腫と肝細胞癌を合わせた発生の範囲は最小 0%～最大 6%であり、1200 ppm 群と 2400 ppm 群の発生率はその範囲を越えていた。

これに対し、肝細胞腺腫の発生率は、対照群：4.0%、600 ppm 群：2.0%、1200 ppm 群：8.0%、2400 ppm 群：8.0%であり、1200 ppm 群と 2400 ppm 群の発生率は、当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲（最小 0%～最大 6%）を越えてはいるものの、有意な増加傾向は示されなかった。また、肝細胞癌は 2400 ppm 群の 1 匹にのみ発生がみられただけであり、その発生率（2.0%）は当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲（最小 0%～最大 2%）の上限に相当する値であった。また、その肝細胞癌には他の臓器への転移及び多重腫瘍発生は認められなかった。

その他、1200 ppm 群の膵臓の膵島腺腫と膵島腺癌を合わせた発生及び甲状腺の C－細胞腺腫の発生に統計学的な有意差が示されたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

－雌－

腫瘍の発生増加は認められなかった。

なお、皮下組織の線維腫の発生（対照群：8.0%、600 ppm 群：4.0%、1200 ppm 群と 2400 ppm 群：0%）が Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示したが、各投与群の発生率は当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲内（最小 0%～最大 4%）であった。

2. 非腫瘍性病変

腫瘍以外の病変の発生増加が雄の肝臓、腎臓、甲状腺、脳及び雌の脳にみられた。

－雄－

＜肝臓＞

好酸性小増殖巣と肝海綿状変性の発生増加がみられた。

好酸性小増殖巣は投与濃度に対応して発生が増加し、有意な発生増加が 2400 ppm 群に示された。なお、明細胞性小増殖巣や好塩基性小増殖巣、空胞性小増殖巣の発生は対照群と投与群の間に差を認めなかった。

肝海綿状変性の発生も投与濃度に対応して増加し、有意な発生増加が 1200 ppm 以上の群に示された。肝海綿状変性は多房状の嚢胞が出現する所見であり、小増殖巣や肝細胞腺腫の病巣内に認められることが多く、病巣の大部分（80%以上）が嚢胞に置き換わっているものを肝海綿状変性と診断した。

＜腎臓＞

慢性腎症の程度は、1200 ppm 以上の群では重度の動物が対照群に比較して多くみられた。

＜甲状腺＞

巣状濾胞細胞増生の発生が投与濃度に対応して増加し、有意な発生増加が 2400 ppm 群に示された。巣状濾胞細胞増生は、甲状腺組織の一部に濾胞上皮細胞の過形成がみられる所見であり、過形成巣内の濾胞は嚢胞状に拡張し、濾胞腔内への単層の濾胞上皮の突出や小型濾胞が結節状に集合した像がみられる。

＜脳＞

小脳の顆粒細胞の変性が 2400 ppm 群の 6 匹にみられた。小脳の顆粒細胞の変性は、小脳顆粒層に存在する顆粒細胞に核の濃縮や崩壊が認められる所見である。

その他、鼻腔の鉱質沈着の発生が 2400 ppm 群で減少した。

－雌－

<脳>

小脳の顆粒細胞の変性が 2400 ppm 群の 6 匹にみられた。

その他、鼻腔の鉱質沈着の発生が、全投与群で減少した。

雌雄とも他の器官、組織には被験物質の影響と思われる所見はみられなかった。

Ⅲ－8－4　死因

病理学的にみた死亡／瀕死の原因を TABLE 14 に示した。

2400 ppm 群は、雄の 2 匹と雌の 3 匹が中枢神経病変（小脳の顆粒細胞の変性）により死亡した。

その他には、被験物質の暴露に関連した死因を認めなかった。

Ⅳ　考察及びまとめ

シクロヘキセンのラットを用いた2年間の吸入試験（投与濃度：600 、1200 、2400 ppm）の結果、生存率、一般状態及び摂餌量にシクロヘキセンの影響を認めなかったが、2400 ppm群の体重は雌雄とも対照群に比べて低値であった。

腫瘍の発生増加が雄の肝臓に認められた。その他、雄の腎臓、甲状腺、脳及び雌の脳に暴露による影響がみられた。

Ⅳ－1　腫瘍性及び腫瘍関連病変

雄には肝細胞腫瘍の発生増加が認められた。雌には暴露に関連した腫瘍の発生増加は認められなかった。

＜肝臓＞

雄の肝細胞腺腫と肝細胞癌を合わせた発生（対照群：4.0%、600 ppm群：2.0%、1200 ppm群：8.0%、2400 ppm群：10.0%）が増加傾向を示し、1200 ppm以上の群の発生率は当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲を僅かに越えていた。しかし、良性腫瘍である肝細胞腺腫については、発生率が対照群：4.0%、600 ppm群：2.0%、1200 ppm群：8.0%、2400 ppm群：8.0%であり、1200 ppm以上の群の発生率は、当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲を僅かに越えてはいるものの、投与群に有意な発生増加または増加傾向がみられなかった。従って、この結果からは肝細胞腺腫の発生が増加したとは言えず、シクロヘキセンの暴露との関連が不明確であった。悪性腫瘍である肝細胞癌は2400 ppm群の1匹にのみ発生がみられただけであり、当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲の上限に相当する値であり、この肝細胞癌が暴露によって発生したとは言えなかった。

肝臓腫瘍の前腫瘍性病変である小増殖巣（文献 10）については、雄で好酸性小増殖巣の発生が投与濃度に対応して増加し、2400 ppm群に有意な発生増加が示された。ただし、明細胞性小増殖巣や好塩基性小増殖巣、空胞性小増殖巣の発生には増加が認められなかった。その他、雄では肝海綿状変性の発生が投与濃度に対応して増加し、1200 ppm以上の群に有意な発生増加がみられた。肝海綿状変性は小増殖巣の増加に伴って発生する病変であり（文献 11)、この様な嚢胞状変化は前腫瘍性病変の変性または退行を示す所見であると報告されている（文献 12)。本試験で観察された肝海綿状変性も小増殖巣や肝細胞腺腫の病巣内に認められることが多く、小増殖巣や肝細胞腺腫が変性または退行したことにより発生した変化であると考えられる。

以上のように、シクロヘキセンの暴露によって雄ラットの肝臓では、1）肝細胞腺腫と肝細胞癌を合わせた発生数の増加がみられるが、その増加は僅かである、2）肝細胞腺腫及び肝細胞癌、それぞれには発生増加がみられない、3）前腫瘍性病変である好酸性小増殖巣の発生増加がみられるが、他のタイプの小増殖巣の発生増加はみられない、4）前腫瘍性病変の変性または退行を示す肝海綿状変性の増加がみられる、という結果が得られた。この結果は、シクロヘキセンの暴露による肝の前腫瘍性病変の発生増加の可能性を示すものであるが、シクロヘキ

センのがん原性を示す証拠とは言えないと考えた。

また、雌にはシクロヘキセンの暴露によると考えられる腫瘍の発生増加は認められなかった。

OECD 発がん性試験ガイドライン（文献 5）によれば、がん原性試験における最高投与濃度は、腫瘍以外の影響により正常な寿命の長さを変えないで、最小の毒性兆候、すなわち血清酵素濃度を変化させるかまたは僅少な体重抑制（対照群と比較して 10%以下の抑制）を引き起こす濃度であると定義される。IARC（文献 13）は、最高投与濃度を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%以下の体重抑制を引き起こす毒性兆候を惹起させる濃度と定義したが、同時に、体重減少率を 10%以下と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試験を無効にするものではないとも述べている。また、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（文献 14）では、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、かつ腫瘍反応に関係する反応以外に、毒性的兆候,病理学的傷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大濃度、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。本がん原性試験の投与濃度は、II-1-5 項に示したように、2 週間と 13 週間の予備試験の結果から 2400 ppm を最高濃度として設定し、その最高濃度はがん原性試験における MTD であると推定した。根拠として、4800 ppm の濃度では 2 週間暴露により雄ラット 1 匹に死亡がみられたこと（文献 7）及び 2400 ppm の濃度で 13 週間暴露した雌雄ラットの体重抑制は、対照群に比べて、それぞれ、4 %と 3 %であり、MTD 決定における体重抑制指標である 10%の条件よりも少なかったことである（文献 6）。本がん原性試験の結果でも、最高濃度群の体重の減少は雌雄ともに対照群に比べて 6 ～7%であること及び最高濃度群の生存率は雌雄ともに対照群の生存率と変わらないことから、この濃度が 2 年間のがん原性試験における MTD であることを確認した。

Ⅳ－2　その他の影響

雄の腎臓、甲状腺、脳及び雌の脳に暴露による影響がみられた。

雄の腎臓は、剖検観察で顆粒状変化を呈する動物が投与群で増加し、1200 ppm 以上の群に臓器重量の増加が示された。また、血液生化学的検査では、尿素窒素の増加が全投与群、クレアチニン、カルシウム及び無機リンの増加が 1200 ppm 以上の群に認められた。尿検査では、蛋白陽性度の増加が 1200 ppm 以上の群に示された。病理組織学的検査では 1200 ppm 以上の群に慢性腎症の程度が重度な動物が対照群に比較して多くみられた。慢性腎症はラットに自然発生する加齢性病変であり（文献 15）、シクロヘキセンの暴露により発生が増強された可能性があると考えられる。

雄の甲状腺は、巣状濾胞細胞増生の発生が投与濃度に対応して増加し、有意な発生増加が 2400 ppm 群に示され、この病変がシクロヘキセンの暴露により発生した可能性が示唆された。巣状濾胞細胞増生は濾胞上皮細胞の過形成が限局性に発生する所見であり、negative-feedback 機構により甲状腺の過形成を起こす物質では、びまん性過形成の中に発生することが知られている。また、甲状腺濾胞由来の腫瘍の前腫瘍性病変として発生することがあると報告されてい

る（文献 16）。しかし、本試験ではびまん性過形成の発生はみられず、また、甲状腺濾胞由来の腫瘍の発生増加も認められなかった。

脳には、小脳の顆粒細胞の変性が雌雄とも 2400 ppm 群（雌雄各 6 匹）にみられ、雄 2 匹と雌 3 匹はこの病変が原因で死亡した。この病変は雌雄に共通して 2400 ppm 群にみられたこと及びシクロヘキセンの 2 週間試験の 4800 ppm 群で雄ラットに発生がみられたことから（文献 7）、シクロヘキセンの暴露により発生したものと考えた。なお、小脳顆粒細胞変性を示した動物のうち、1 匹に失調歩行がみられたが、他の動物には歩行障害等の運動失調はみられなかった。小脳の顆粒細胞の変性は、小脳顆粒層に存在する顆粒細胞に核の濃縮や崩壊が認められる所見であり、臭化メチルの吸入によってラットとマウスの小脳に発生する変化と同様の組織像を呈していた（文献 17、18）。

その他、雄では総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質及びγ-GTP の増加が 1200 ppm 以上の群でみられた。

Ⅳ－3　無毒性量（NOAEL）/最小毒性量（LOAEL）

シクロヘキセンの暴露による影響（雄の肝臓、甲状腺、脳及び雌の脳）は下記の濃度で観察された。

雄の肝臓への影響は、肝臓重量の増加と肝海綿状変性の発生増加が 1200 ppm 以上の群で認められた。甲状腺（巣状濾胞細胞増生の発生増加）と脳（小脳の顆粒細胞の変性）への影響は 2400 ppm 群で認められた。なお、腎臓への影響として、シクロヘキセンの暴露により慢性腎症が増強した可能性が示されたが、この変化はラットに特有な病変（文献 15）であることから、無毒性量（NOAEL）の評価に用いなかった。

雌については、脳への影響（小脳の顆粒細胞の変性）が 2400 ppm 群で認められた。

以上の結果から、ラットにおける 2 年間の吸入試験によるシクロヘキセンの無毒性量（NOAEL）は、雄の肝臓への影響（肝臓の重量と肝海綿状変性）をエンドポイントとして 600 ppm であると考えた。

Ⅳ－4　シクロヘキセンの職業性暴露限界値と無毒性量（NOAEL）との関連

米国労働衛生専門家会議（ACGIH）、米国国立職業安全衛生研究所（NIOSH）及び連邦安全衛生庁（OSHA）は、シクロヘキセンの職業性暴露限界値（OEL）を定めているが（文献 19）、日本産業衛生学会はまだ OEL を勧告していない。ACGIH の OEL（Threshold Limit Value (TLV)）300 ppm は、動物の吸入試験データとシクロヘキセンと類似の分子構造を持つシクロヘキサンのヒト（労働者）に対する眼と粘膜刺激のデータに基づいて、決定されている（文献 20）。しかしながら、ラットにおける 2 年間の吸入試験によるシクロヘキセンの無毒性量（NOAEL）は、雄の肝臓への影響（肝臓の重量と肝海綿状変性）をエンドポイントとして 600 ppm であり、マウスを用いたがん原性試験の NOAEL は 300 ppm であった。これらの新しい知見は、シクロヘキセン OEL の妥当性を再検討する重要な情報を提供するものと考えられる。

即ち、シクロヘキセンのOELをげっ歯類動物の毒性評価試験から得られたNOAEL値と動物からヒトへ外挿する際に用いる不確実係数（UF）10（文献 21）により求めると、NOAEL/UF値は60 ppm と30 ppmとなる。即ち、この値は現行のACGIH-TLVよりも大幅に低下した値となることが当センターにおける一連のシクロヘキセンがん原性試験及びその予備試験で得られたNOAEL値から明らかになった。ただし、600 ppm以上のシクロヘキセンに2週間暴露されたマウスに、肺の出血と鬱血、血管周囲の浮腫を原因とする死亡がみられたこと及び300 ppmで13週間及び2年間暴露されたマウスに顕著な非腫瘍性病変が認められなかったことは、即ち、マウスの毒性試験では、シクロヘキセン暴露濃度の上昇とともに、急激な有害影響が惹起され、死亡に至ったことは、シクロヘキセンOELの策定にあたって、留意すべきことである。シクロヘキセンの体内代謝と標的臓器への活性代謝物の反応のメカニズムの解明とリスクアセスメントのための用量―反応関係の評価に関する今後の研究の成果が必要となろう。

Ⅳ－5　他文献との比較等

① 反復毒性：シクロヘキセンの長期毒性試験はないが、シクロヘキセンを75、150、300及び600 ppmの濃度で、雄のラット、モルモット、ウサギに6ヶ月間吸入暴露した試験では、ラットの600 ppm群で体重増加の抑制が認められ、全投与群でALPが上昇した（文献22）。

シクロヘキセンを50、150及び500 mg/kgの投与量で、Crj:CD(SD)ラットに交配前14日間及び交配期間14日間を通して経口投与し、さらに雄では交配期間終了後20日間、雌では妊娠期間から分娩後の哺育期間4日まで連続投与し、親動物の反復投与毒性と生殖・発生毒性の影響を検討した試験が報告されている（文献 23）。これによると、反復投与による影響として、雌雄の150 mg/kg以上の投与群で流涎及び流涙が観察された。また、血液生化学検査で雄の150 mg/kg以上、雌の50 mg/kg以上の投与群で総胆汁酸が高値、雄の500 mg/kg群でトリグリセライドが低値を示した。

② 変異原性：シクロヘキセンの微生物を用いる変異原性試験は、ネズミチフス菌の5菌株（TA98 、TA 100、TA1535 、TA1537、TA2637）及び大腸菌1菌株（WP2*uvrA*/pKM101）を用いて、プレインキュベーション法で代謝活性化による場合及びよらない場合について実施された。その結果、TA 2637では代謝活性化によらない場合においてのみ陽性を示した（文献 24、25、26）。

シクロヘキセンのほ乳類培養細胞（CHL）を用いる染色体異常試験は、＋S9処理（S9添加6時間処理）、－S9処理（S9無添加6時間処理）、24時間処理（S9無添加）、48時間処理（S9無添加）について実施された（文献 27）。いずれの処理方法によっても染色体の構造異常及び倍数体細胞の誘発は認められなかった。

③ 代謝：ウサギの肝ミクロゾームを使用した実験では、シクロヘキセンは肝ミクロゾーム

でエポキシ化され、さらに、グリコール体に水酸化されると報告されている（文献 28)。

シクロヘキセン（3 mmol/kg）をラットに投与し、投与後 30 分、1 時間、2 時間、4 時間の肝臓中のグルタチオン量（100g 肝あたり）を測定した実験では、シクロヘキセン投与により肝臓中のグルタチオンは減少（コントロール：184 mg、30 分後：67 mg、1 時間後： 23 mg、2 時間後：39 mg、4 時間後：25 mg）した。また、主代謝物として 3 - ヒドロキシシクロヘキシルメルカプツール酸（投与量の約 13%）が、その他の代謝物として 2 - ヒドロキシシクロヘキシルメルカプツール酸が検出された。ウサギでは投与量の約 25%が 3 - ヒドロキシシクロヘキシルメルカプツール酸、20%がグルクロン酸抱合体、4%が硫酸抱合体であった（文献 29)。

V　結論

F344/DuCrj(Fischer) ラットを用いてシクロヘキセンの吸入による 2 年間（104 週間）のがん原性試験を行った結果、以下の結論を得た。

雄では、肝細胞腺腫と肝細胞癌を合わせた発生数の増加がみられたが、その増加は僅かであり、肝細胞腺腫及び肝細胞癌、それぞれには発生増加がみられなかった。他の組織、臓器には腫瘍の発生増加は認められなかった。従って、本試験の結果からは雄ラットに対するがん原性を示す証拠は得られなかった。

雌には、シクロヘキセンの暴露による腫瘍の発生増加は認められなかった。

また、雄の肝臓（好酸性小増殖巣、肝海綿状変性）、腎臓（慢性腎症の程度）、甲状腺（巣状濾胞細胞増生）、脳（小脳の顆粒細胞の変性）及び雌の脳（小脳の顆粒細胞の変性）に投与によると考えられる変化がみられた。

Ⅵ 文献

1. 化学工業日報社. 2004. 14504 の化学商品. 499-500.

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). 1999. シクロヘキセン、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について. 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. 2000. シクロヘキセン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.

7. 日本バイオアッセイ研究センター. 2000. シクロヘキセン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.

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. 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.

10. Bannasch P, Zerban H. 1994. Preneoplastic and neoplastic lesions of the rat liver. In: Pathology of Neoplasia and Preneoplasia in Rodents (Bannasch P, Gössner W, eds). Stuttgart; New York, NY : Schattauer, 18-63.

11. Popp JA, Cattley RC. 1991. Hepatobiliary system. In: Handbook of Toxicologic Pathology (Haschek WM, Rousseaux CG, eds). San Diego,CA : Academic Press, 279-314.

12. Hirota N, Williams GM. 1979. Persistence and growth of rat liver neoplastic nodules following cessation of carcinogen exposure. JNCI 63: 1257-1265.

13. Griesemer RA, Venitt S. 1986. Long-term and Short-term Assay for Carcinogens: A Critical Appraisal. Lyon: IARC. IARC Scientific Publications No.83: 34-35.

14. 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.

15. 日本実験動物学会長期飼育ワーキンググループ（代表　河合清之）. 1980. ラット長期飼育ワーキンググループ報告. Exp Anim 29(2): 181-231.

16. 今井清, 広瀬雅雄. 2000. 各論 15 章, 甲状腺／上皮小体, 毒性病理組織学, 日本毒性病理学会編, 日本毒性病理学会, 名古屋, 435-446.

17. Hurtt ME, Morgan KT, Working PK. 1987. Histopathology of acute toxic responses in selected tissues from rats exposed by inhalation to methyl bromide. Fundam Appl Toxicol 9: 352-365.

18. Gotoh K, Nishizawa T, Yamaguchi T, Kanou H, Kasai T, Ohsawa M, et al. 1994. Two-year toxicological and carcinogenesis studies of methyl bromide in F344 rats and BDF1 mice, Inhalation studies. In: Proceedings of Second Asia-Pacific Symposium on Environmental and Occupational Health: 22-24 July 1993, Kobe, Japan. Environmental and Occupational Chemical Hazards(2) (Sumino K, ed). Kobe, Japan: International Center for Medical Research, Kobe University School of Medicine, 185-191.

19. ACGIH. 2002. Guide to Occupational Exposure Values –2002– compiled by the American Conference of Governmental Industrial Hygienists . Cincinnati, OH: American Conference of Governmental Industrial Hygienists .

20. ACGIH. 2002. Documentation of the TLVs and BEIs with Other Worldwide Occupational Exposure Values. Cincinnati, OH: American Conference of Governmental Industrial Hygienists .CD-ROM-2002.

21. Barnes DG, Dourson M. 1988. Referennce dose (RfD): Description and use in health risk assessments. Regul Toxicol Pharmacol 8:471-486.

22. Sandmeyer EE. 1981. Alicyclic hydrocarbons. In: Patty's Industrial Hygiene and Toxicology, 3rd revised ed.(Clayton GD, Clayton FE, eds). New York, NY : John Wiley and Sons.Vol 2B: 3233-3236.

23. 化学物質点検推進連絡協議会. 2002. 化学物質毒性試験報告:Toxicity Testing Reports of Environmental Chemicals（厚生労働省医薬局審査管理課化学物質安全対策室監修）. Vol. 9: 235-250.

24. 松島泰次郎, 松下秀鶴, 清水英佑. 1981. 変異原性に着目したがん原性物質のスクリーニング技術開発に関する研究.　昭和 56 年度　労働安全衛生に関する委託研究, 労働省.

25. 日本バイオアッセイ研究センター. 2000. 既存化学物質に係る変異原性の評価に関する調査研究. 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.

26. 日本バイオアッセイ研究センター. 2002. 既存化学物質に係る変異原性の評価に関する調査研究. 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.

27. 化学物質点検推進連絡協議会. 2002. 化学物質毒性試験報告:Toxicity Testing Reports of Environmental Chemicals（厚生労働省医薬局審査管理課化学物質安全対策室監修）. Vol. 9: 255-259.

28. Leibman KC, Ortiz E. 1970. Epoxide intermediates in microsomal oxidation of olefins to glycols. J Pharmacol Exp Ther 173: 242-246.

29. James SP, Jeffery DJ, Waring RH, White DA. 1971. Reaction of mono-bromo derivatives of cyclopentane, cyclohexane and cycloheptane and of related compounds with glutathione *in vivo* and the nature of the sulphur-containing metabolites excreted. Biochem Pharmacol 20: 897-907.