

1,3,5-トリス (2,3-エポキシプロピル) ヘキサヒドロ-1,3,5-トリアジン-  
2,4,6-トリオンの p53 KO マウスを用いた強制経口投与による  
中期発がん性試験報告書

試験番号 : 0923, 0924

CAS No. 2451 - 62 - 9

2020年11月12日

独立行政法人 労働者健康安全機構  
日本バイオアッセイ研究センター

## 目 次

標題	.....	i
試験目的	.....	i
試験法	.....	i
GLP 対応	.....	i
拡散防止措置及び動物福祉	.....	i
厚生労働省担当課	.....	ii
試験施設及び運営管理者	.....	ii
試験日程	.....	ii
試験関係者一覧	.....	iii
試資料の保管	.....	iii
試験責任者（最終報告書作成者）の署名、捺印及び日付	.....	iii
陳述書	.....	iv
信頼性保証証明書	.....	v
本文	.....	vi
<b>TABLES</b>	<b>A 1～A 38, B 1～B 28</b>	
<b>FIGURES</b>	<b>1～6</b>	
<b>PHOTOGRAPHS</b>	<b>1～4</b>	
<b>APPENDICES</b>	<b>1-1～17-2</b>	

（APPENDIX 7-1～17-2（個体表）は、報告書添付の CD に収録）

## 標題

1,3,5-トリス (2,3-エポキシプロピル) ヘキサヒドロ-1,3,5-トリアジン-2,4,6-トリオンの p53 KO マウスを用いた強制経口投与による中期発がん性試験

## 試験目的

1,3,5-トリス (2,3-エポキシプロピル) ヘキサヒドロ-1,3,5-トリアジン-2,4,6-トリオンを遺伝子改変マウス (p53 KO マウス) に 26 週間強制経口投与し、その発がん性を検索した。なお、本試験は、厚生労働省からの交付金事業として実施した。

## 試験法

本試験は「遺伝子改変動物を用いたがん原性試験による調査の基準」(平成 28 年度第 3 回発がん性評価ワーキンググループ：2017 年 3 月 1 日厚生労働省)に準拠して実施した。

## GLP 対応

本試験は、「労働安全衛生規則第 34 条の 3 第 2 項の規定に基づく試験施設等が具備すべき基準 (安衛法 GLP)」(昭和 63 年 9 月 1 日労働省告示第 76 号、最終改正 平成 28 年 4 月 18 日厚生労働省告示第 208 号)に準拠し、OECD GLP (1997 年 11 月 26 日採択)を参考にして実施した。

## 拡散防止措置及び動物福祉

本試験は、「日本バイオアッセイ研究センターにおける遺伝子組換え生物使用実験安全管理規程」(平成 26 年 9 月 3 日制定、最終改正平成 28 年 4 月 1 日)、「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 4 月 28 日環境省告示第 88 号、最終改正平成 25 年 8 月 30 日環境省告示第 84 号)、「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」(平成 18 年 6 月 1 日厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知、最終改正平成 27 年 2 月 20 日厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知)、「日本バイオアッセイ研究センターにおける動物実験等に関する規程」(平成 24 年 4 月 25 日制定、最終改正平成 28 年 4 月 1 日)を遵守した。

また、本試験は、日本バイオアッセイ研究センターの遺伝子組換え生物使用実験安全委員会(承認番号 2018-05)及び日本バイオアッセイ研究センターの動物実験委員会で審査された(承認番号 0237)。

厚生労働省担当課

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

試験施設及び運営管理者

独立行政法人 労働者健康安全機構  
日本バイオアッセイ研究センター  
所長代理 相磯 成敏  
神奈川県秦野市平沢 2445

試験日程

本試験は、雄を試験番号 0923、雌を試験番号 0924 として実施した。また、1 日当たりの解剖可能な動物数を限定する必要から、雌雄各群の動物を媒体対照群及び被験物質投与群は先頭動物番号より 12 匹を A グループ、残り 13 匹を B グループとし、陽性対照群は先頭動物番号より 8 匹を A グループ、残り 7 匹を B グループとした。

試験開始日	2019年 3月 5日
動物導入日	2019年 3月 25日
群分け日	2019年 4月 8日 (0923) 2019年 4月 10日 (0924)
被験物質投与開始日	2019年 4月 9日 (0923 : A, B) 2019年 4月 11日 (0924 : A, B)
被験物質投与終了日	2019年 10月 7日 (0923 : A) 2019年 10月 8日 (0923 : B) 2019年 10月 9日 (0924 : A) 2019年 10月 10日 (0924 : B)
定期解剖日	2019年 10月 8日 (0923 : A) 2019年 10月 9日 (0923 : B) 2019年 10月 10日 (0924 : A) 2019年 10月 11日 (0924 : B)
試験終了日	2020年 11月 12日

1,3,5-トリス (2,3-エポキシプロピル) ヘキサヒドロ-1,3,5-トリアジン-  
2,4,6-トリオンの p53 KO マウスを用いた強制経口投与による  
中期発がん性試験報告書

試験番号 : 0923, 0924

本文

## 本文目次

	頁
要約 .....	1
I 試験材料 .....	4
I-1 被験物質及び調製媒体 .....	4
I-1-1 被験物質の名称等 .....	4
I-1-2 被験物質の構造式及び分子量 .....	4
I-1-3 被験物質の物理化学的性状等 .....	4
I-1-4 被験物質の使用ロット等 .....	4
I-1-5 被験物質の製造量等 .....	5
I-1-6 被験物質の主な用途 .....	5
I-1-7 許容濃度等 .....	5
I-1-8 被験物質の調製媒体 .....	5
I-1-9 被験物質の同一性・安定性 .....	5
(1) 同一性 .....	5
(2) 安定性 .....	5
I-2 陽性対照物質及び調製媒体 .....	6
I-2-1 陽性対照物質の名称等 .....	6
I-2-2 陽性対照物質の構造式及び分子量 .....	6
I-2-3 陽性対照物質の物理化学的性状等 .....	6
I-2-4 陽性対照物質の使用ロット等 .....	6
I-2-5 陽性対照物質の調製媒体 .....	6
I-2-6 陽性対照物質の同一性・安定性 .....	7
(1) 同一性 .....	7
(2) 安定性 .....	7
I-3 試験動物 .....	7
II 試験方法 .....	7
II-1 投与 .....	7
II-1-1 投与経路 .....	7
II-1-2 投与方法及び投与期間 .....	8
II-1-3 投与用量 .....	8

II-1-4	投与方法、投与期間及び投与用量の設定理由	8
II-1-5	被験物質及び陽性対照物質投与液の調製	9
II-1-6	被験物質及び陽性対照物質調製液の濃度及び均一性確認	9
II-1-7	被験物質及び陽性対照物質調製液の濃度安定性確認	9
II-2	動物管理	10
II-2-1	各群の使用動物数	10
II-2-2	群分け及び個体識別方法	10
II-2-3	飼育条件	11
(1)	飼育環境	11
(2)	飼料	11
(3)	飲水	11
II-3	観察・検査項目及び方法	11
II-3-1	動物の生死及び一般状態の観察	11
II-3-2	体重測定	12
II-3-3	摂餌量測定	12
II-3-4	尿検査	12
II-3-5	血液学的検査	12
II-3-6	血液生化学的検査	12
II-3-7	病理学的検査	12
(1)	肉眼的観察	12
(2)	臓器重量	13
(3)	病理組織学的検査	13
II-3-8	病理ピアレビュー	13
II-4	数値処理と統計方法	13
II-4-1	数値の取り扱いと表示	13
II-4-2	統計処理	14
III	試験成績-1 (被験物質投与群)	15
III-1	生存率	15
III-2	一般状態	15
III-3	体重	15
III-4	摂餌量	16
III-5	尿検査	16
III-6	血液学的検査	16
III-7	血液生化学的検査	17

III-8 病理学的検査	17
III-8-1 肉眼的観察	17
III-8-2 臓器重量	18
III-8-3 病理組織学的検査	18
III-8-4 死因	21
IV 試験成績-2 (陽性対照群)	22
IV-1 生存率	22
IV-2 一般状態	22
IV-3 体重	22
IV-4 摂餌量	22
IV-5 尿検査	22
IV-6 血液学的検査	23
IV-7 血液生化学的検査	23
IV-8 病理学的検査	23
IV-8-1 肉眼的観察	23
IV-8-2 臓器重量	23
IV-8-3 病理組織学的検査	24
V 考察及びまとめ	27
V-1 生存率、一般状態、体重、摂餌量	27
V-2 腫瘍性及び腫瘍関連病変	27
V-3 その他の影響	28
V-4 陽性対照群 (2-Methoxy-5-methylaniline) の評価	29
VI 結論	30
VII 文献	31
VIII 予見することのできなかつ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つたこと	33



## 要 約

1,3,5-トリス (2,3-エポキシプロピル) ヘキサヒドロ-1,3,5-トリアジン-2,4,6-トリオンの発がん性を検索する目的で、遺伝子改変マウス (p53 ヘテロ欠損マウス) を用いた 26 週間にわたる強制経口投与による中期発がん性試験を行った。

媒体対照群、被験物質投与群 3 群及び陽性対照群 (2-Methoxy-5-methylaniline) の計 5 群を設け、媒体対照群と被験物質投与群は雌雄とも各 25 匹、陽性対照群は 15 匹とした。被験物質の投与用量は、雌雄とも 0 (オリブ油)、3、10 及び 30 mg/kg BW、陽性対照物質は雌雄とも 300 mg/kg BW とし、投与は毎日 1 回の強制経口投与 (26 週間) 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、解剖時の肉眼的観察、臓器重量測定及び病理組織学的検査を行った。

その結果、最終生存率は、雌雄とも 10 mg/kg 群と 30 mg/kg 群で低下が認められた。投与群で死因が特定できなかった例を除き、10 mg/kg 群及び 30 mg/kg 群の死亡/瀕死動物の死因は、全例白血病 (骨髄性白血病ないし胸腺の悪性リンパ腫) によるものであった。切迫屠殺あるいは死亡動物の一般状態は、30 mg/kg 群の雌雄で貧血及び不整呼吸、雄で内部腫瘍及び自発運動の減少を呈した動物が多く認められた。また、10 mg/kg 群でも雌雄で不整呼吸を呈した動物が多くみられた。体重は雄の 30 mg/kg 群で低値が散見され、摂餌量は雄の 30 mg/kg 群で投与期間の多くの週で低値が認められた。

腫瘍性病変は、雌雄で骨髄性白血病の発生が Fisher 検定では 30 mg/kg 群で有意な増加、Peto 検定と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。また、雌雄で胸腺の悪性リンパ腫の発生が、Fisher 検定では 10 mg/kg 以上の群で有意な増加、Peto 検定と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。造血系腫瘍である上記の骨髄性白血病と胸腺の悪性リンパ腫を合わせた発生は、雌雄とも Fisher 検定では 10 mg/kg 以上の群で有意な増加、Peto 検定と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。さらに、雌雄で小腸に前腫瘍性病変と考えられる上皮の異型過形成が 30 mg/kg 群で増加し、雌では小腸の腺癌の発生が 30 mg/kg 群の 1 匹認められた。

従って、雌雄の骨髄及び胸腺における腫瘍の発生増加、雌の小腸における腫瘍の発生は発がん性を示す明らかな証拠と判断した。

非腫瘍性病変は、雄の精巣で精細管の萎縮の増加と程度の増強が 10 mg/kg 以上の群で認められ、3 mg/kg 群でも発生がみられた。精巣重量は、3 mg/kg 以上の群で実重量と体重比の低値を示した。精巣上体では精上皮系細胞の残層の増加が 10 mg/kg 以上の群に認められた。また、雌雄で小腸上皮に核巨大化の増加 (30 mg/kg 群)、雄で腎臓に近位尿管上皮の核増大の増加 (30 mg/kg 群)、雌で腺胃の上皮に核巨大化の増加、卵巣の間質細胞空胞化の増加及び子宮の嚢胞状内膜過形成の減少 (30 mg/kg 群) が認められた。血液学的検査では、雌雄とも 3 mg/kg 以上の群で貧血が認められ、3 mg/kg ないし 10 mg/kg 以上の群で赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低値、MCV 及び MCH の高値がみられ、用量依存的にその程度は増強した。

以上より、遺伝子改変マウス (p53 ヘテロ欠損マウス) を用いて、1,3,5-トリス (2,3-エポキシプロピル) ヘキサヒドロ-1,3,5-トリアジン-2,4,6-トリオンの 26 週間にわたる強制経口投与による中期発がん性試験を行った結果、雌雄 p53 ヘテロ欠損マウスに対するがん原性を示す明らかな証拠 (clear evidence of carcinogenic activity) が得られたと結論された。

1,3,5-トリス (2,3-エポキシプロピル) ヘキサヒドロ-1,3,5-トリアジン-2,4,6-トリオンの  
中期発がん性試験における腫瘍発生 (p53 ヘテロ欠損マウス 雄)

投与用量 (mg/kg)		0	3	10	30	Peto 検定	Cochran- Armitage 検定
検査動物数		25	25	25	25		
ハタゲ腺	腺腫	0	0	1	0		
骨髄	骨髄性白血病 #	0	0	2	10 **	↑↑	↑↑
胸腺	悪性リンパ腫 #	0	0	9 **	14 **	↑↑	↑↑
骨髄 ・胸腺	骨髄性白血病 # + 悪性リンパ腫 #	0	0	11 **	23 **	↑↑	↑↑
筋肉	横紋筋肉腫 #	0	0	1	0		

1,3,5-トリス (2,3-エポキシプロピル) ヘキサヒドロ-1,3,5-トリアジン-2,4,6-トリオンの  
中期発がん性試験における腫瘍発生 (p53 ヘテロ欠損マウス 雌)

投与用量 (mg/kg)		0	3	10	30	Peto 検定	Cochran- Armitage 検定
検査動物数		25	25	25	25		
肺	細気管支-肺胞上皮腺腫	0	1	0	1		
小腸	腺癌 #	0	0	0	1		
骨髄	骨髄性白血病 #	0	0	0	8 **	↑↑	↑↑
胸腺	悪性リンパ腫 #	0	1	6 *	14 **	↑↑	↑↑
骨髄 ・胸腺	骨髄性白血病 # + 悪性リンパ腫 #	0	1	6 *	22 **	↑↑	↑↑

上段：上皮系腫瘍 下段：非上皮系腫瘍

#：悪性腫瘍

\*： $p \leq 0.05$  で有意増加 \*\*： $p \leq 0.01$  で有意増加 (Fisher 検定)

↑： $p \leq 0.05$  で有意増加 ↑↑： $p \leq 0.01$  で有意増加 (Peto, Cochran-Armitage 検定)

↓： $p \leq 0.05$  で有意減少 ↓↓： $p \leq 0.01$  で有意減少 (Cochran-Armitage 検定)

陽性対照物質 (2-Methoxy-5-methylaniline) 投与群における腫瘍発生  
(p53 ヘテロ欠損マウス 雄)

投与用量 (mg/kg)		媒体対照 0	陽性対照 300
検査動物数		25	15
肺 膀胱	細気管支・肺胞上皮腺腫	0	1
	移行上皮乳頭腫	0	2
	移行上皮癌 #	0	1
	移行上皮乳頭腫 + 移行上皮癌 #	0	3 *
膀胱	平滑筋肉腫	0	1

上段：上皮系腫瘍 下段：非上皮系腫瘍

陽性対照物質 (2-Methoxy-5-methylaniline) 投与群における腫瘍発生  
(p53 ヘテロ欠損マウス 雌)

投与用量 (mg/kg)		媒体対照 0	陽性対照 300
検査動物数		25	15
鼻腔 膀胱	腺腫	0	1
	扁平上皮乳頭腫	0	1
	移行上皮乳頭腫	0	1
	扁平上皮乳頭腫	0	2
	+ 移行上皮乳頭腫	0	2

上皮系腫瘍

#：悪性腫瘍

\*： $p \leq 0.05$  で有意 \*\*： $p \leq 0.01$  で有意 (Fisher 検定)

陽性対照物質 (2-Methoxy-5-methylaniline) 投与群における前腫瘍性病変の発生  
(p53 ヘテロ欠損マウス 雄)

投与用量 (mg/kg)		媒体対照 0	陽性対照 300
検査動物数		25	15
膀胱	PN 過形成	0	10 **

陽性対照物質 (2-Methoxy-5-methylaniline) 投与群における前腫瘍性病変の発生  
(p53 ヘテロ欠損マウス 雌)

投与用量 (mg/kg)		媒体対照 0	陽性対照 300
検査動物数		25	15
膀胱	PN 過形成	0	4 *

PN 過形成：乳頭状ないし結節状過形成

\*： $p \leq 0.05$  で有意 \*\*： $p \leq 0.01$  で有意 ( $\chi^2$  検定)

I 試験材料

I-1 被験物質及び調製媒体

I-1-1 被験物質の名称等 (文献 1, 2)

名 称 : 1,3,5-トリス (2,3-エポキシプロピル) ヘキサヒドロ-1,3,5-トリアジン-  
2,4,6-トリオン

(1,3,5-Tris(2,3-epoxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazine-2,4,6-trione)

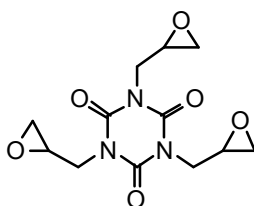
別 名 : 1,3,5-tris(oxiranylmethyl)-1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione  
Triglycidyl isocyanurate (略称 TGIC)

CAS No. : 2451-62-9

被験物質番号 : 1259

I-1-2 被験物質の構造式及び分子量 (文献 1, 2)

構 造 式 :



化 学 式 :  $C_{12}H_{15}N_3O_6$

分 子 量 : 297.27

I-1-3 被験物質の物理化学的性状等 (文献 3)

性 状 : 白色～ほとんど白色の結晶～粉末

融 点 : 108 °C

溶 解 性 : 水に難溶 (0.9 g / 100 mL, 25 °C)

保 管 条 件 : 室温かつ遮光

I-1-4 被験物質の使用ロット等

製 品 名 : Triglycidyl Isocyanurate

製 造 元 : 東京化成工業(株)

純 度 : 99.6 % (東京化成工業(株) 試験成績書)

ロット番号 : LL3GF

I-1-5 被験物質の製造量等 (文献 4)

製造、輸入量：5,000 t (平成 27 年度)

I-1-6 被験物質の主な用途 (文献 5)

粉体塗料用 (ポリエステル系の硬化剤)、ソルダーレジストインク、光半導体封止樹脂等

I-1-7 許容濃度等

許容濃度等：米国産業衛生専門家会議 (ACGIH)：TLV-TWA 0.05 mg/m<sup>3</sup> (文献 6)

ドイツ研究振興協会 (DFG)：呼吸器、皮膚感作性あり (文献 7)

日本産業衛生学会：未設定

発がん分類：国際がん研究機関 (IARC)、米国国家毒性プログラム (NTP)、ACGIH、日本産業衛生学会：評価していない

I-1-8 被験物質の調製媒体

名称：オリブ油 (日本薬局方)

製造元：丸石製薬(株)

ロット番号：85171

保管条件：室温かつ遮光

I-1-9 被験物質の同一性・安定性

(1) 同一性

被験物質の同一性は、赤外吸収スペクトルを赤外分光光度計 ((株)島津製作所 IRAffinity-1) を用いて測定し、文献値 (文献 8) と比較することにより確認した。その結果は APPENDIX 1-1 に示す。

被験物質の赤外吸収スペクトルは文献値と同じ波数にピークを示したことから、被験物質は 1,3,5-トリス (2,3-エポキシプロピル) ヘキサヒドロ-1,3,5-トリアジン-2,4,6-トリオンであることを確認した。

(2) 安定性

被験物質の安定性は、使用開始前及び使用終了後に赤外吸収スペクトルを赤外分光光度計 ((株)島津製作所 IRAffinity-1) 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。その結果は APPENDIX 1-2 に示す。

使用開始前と使用終了後の赤外吸収スペクトルに差はみられず、使用期間中の被験物質は安定であることを確認した。

I-2 陽性対照物質及び調製媒体

I-2-1 陽性対照物質の名称等 (文献 9)

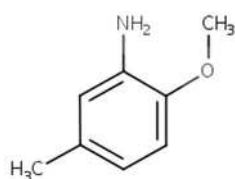
名 称 : 2-Methoxy-5-methylaniline

別 名 : *p*-Cresidine

CAS No. : 120-71-8

I-2-2 陽性対照物質の構造式及び分子量 (文献 10)

構 造 式 :



化 学 式 :  $C_8H_{11}NO$

分 子 量 : 137.18

I-2-3 陽性対照物質の物理化学的性状等 (文献 9, 10)

性 状 : 白色固体

融 点 : 51.5 °C

溶 解 性 : 水にやや溶ける

保 管 条 件 : 室温かつ遮光

I-2-4 陽性対照物質の使用ロット等

製 造 元 : Sigma-Aldrich Co. LLC.

純 度 : 99.6 % (Sigma-Aldrich 分析証明書データ)

ロット番号 : BCBR6445V

I-2-5 陽性対照物質の調製媒体

名 称 : オリーブ油 (日本薬局方)

製 造 元 : 丸石製薬(株)

ロット番号 : 85171

保 管 条 件 : 室温かつ遮光

## I-2-6 陽性対照物質の同一性・安定性

### (1) 同一性

陽性対照物質の同一性は、赤外吸収スペクトルを赤外分光光度計（(株)島津製作所 IRAffinity-1）を用いて測定し、文献値（文献 11）と比較することにより確認した。

その結果は APPENDIX 2-1 に示す。

陽性対照物質の赤外吸収スペクトルは文献値と同じ波数にピークを示したことから、陽性対照物質は 2-Methoxy-5-methylaniline であることを確認した。

### (2) 安定性

陽性対照物質の安定性は、使用開始前及び使用終了後に赤外吸収スペクトルを赤外分光光度計（(株)島津製作所 IRAffinity-1）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。

その結果は APPENDIX 2-2 に示す。

使用開始前と使用終了後の赤外吸収スペクトルに差はみられず、使用期間中の陽性対照物質は安定であることを確認した。

## I-3 試験動物

動物は、日本チャールス・リバー(株)（筑波 SAS センター）へ繁殖を委託し、B6.129S2-Trp53 tm1Tyj/J マウス（p53 ヘテロ欠損マウス、p53 KO マウス）（SPF）の雌雄を使用した。

雌雄各 120 匹を 6 週齢で導入し、8 日間を検疫と馴化を兼ねて飼育し、その後群分けまで待機飼育した。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 115 匹（群分け時体重範囲、雄：21.7～29.7 g、雌：17.9～25.7 g）を選別し、試験に用いた。

中期発がん性試験に p53 ヘテロ欠損マウスを選択した理由は、中期発がん性試験としての有用性が検証されていることによる（文献 12）。

## II 試験方法

### II-1 投与

#### II-1-1 投与経路

投与経路は経口投与とした。

## II-1-2 投与方法及び投与期間

雌雄各群の動物を媒体対照群及び被験物質投与群は、先頭動物番号より 12 匹 (A) と残り 13 匹 (B) の 2 グループに分けた。また、陽性対照群は、先頭動物番号より 8 匹 (A) と残り 7 匹 (B) の 2 グループに分けた。

オリブ油に懸濁させた被験物質及び溶解させた陽性対照物質を、ディスポーザブル注射筒 (ニプロ(株)製、1 mL) 及びフレキシブル経口ゾンデ ((有)フチガミ器械製、No.5202) を用いて、1 日 1 回、26 週間 (雄: 2019 年 4 月 9 日~2019 年 10 月 7 日 (A)、10 月 8 日 (B)、雌: 2019 年 4 月 11 日~2019 年 10 月 9 日 (A)、10 月 10 日 (B))、毎日 12 時から 16 時の時間帯に強制経口投与した。媒体対照群及び被験物質投与群の投与液量は 5 mL/kg BW、陽性対照群の投与液量は 10 mL/kg BW とし、直前に測定した体重に基づいて個体別に算出した。

## II-1-3 投与用量

被験物質の投与用量は、雌雄ともに、3、10 及び 30 mg/kg BW の 3 段階に設定した。また、媒体対照群としてオリブ油を投与する群を設けた。

陽性対照物質の投与用量は、雌雄ともに 300 mg/kg BW とした。

## II-1-4 投与方法、投与期間及び投与用量の設定理由

1,3,5-トリス (2,3-エポキシプロピル) ヘキサヒドロ-1,3,5-トリアジン-2,4,6-トリオン (以下、TGIC) は水に難溶 (0.9 g/100 mL, 25 °C) であり (文献 3)、水中で加水分解されるため (文献 2)、オリブ油を調製媒体とする強制経口投与方法を選択した。

投与期間は、「遺伝子改変動物を用いたがん原性試験による調査の基準」 (文献 13) に従い、26 週間とした。

本試験の投与用量は、用量設定試験として実施した 4 週間毒性試験 (文献 14) の結果を基に決定した。4 週間毒性試験では、雌雄の C57BL/6J マウスを用いて、1 群当たり各 5 匹の動物に 0 (オリブ油)、10、30、60 及び 100 mg/kg BW の用量で、毎日、4 週間強制経口投与した。

その結果、一般状態では、雌雄 100 mg/kg 群の全例が貧血様を呈し、雄の 1 匹は試験途中で安楽死させた。また、雌 60 mg/kg 群の 1 例にも貧血様所見がみられた。体重は、雌雄の 100 mg/kg 群で有意な体重の低値がみられ、投与開始時に比べて体重が減少した。また、雌の 60 mg/kg 群も投与開始時に比べて体重減少がみられた。

造血系への影響として、病理組織学的に雄の 30 mg/kg 以上の群と雌の 60 mg/kg 以上の群で骨髓の造血低下がみられた。血液学的検査では、雌雄ともに最低用量の 10 mg/kg 群から、貧血所見 (赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値の低値) がみられ、投与用量に対応して顕著になった。また、雌雄の 100 mg/kg 群では血小板数減少、並びに白血球数の減少傾向がみられた。



消化器官（胃・小腸）の病理組織学的検査の結果、雌雄の胃（前胃）に潰瘍と過形成、小腸の単細胞壊死がいずれも 100 mg/kg 群でみられた。

精巣の病理組織学的検査では、精原細胞壊死が 10 mg/kg 群からみられ、投与用量に対応してその程度は増強した。

以上から、TGIC の 4 週間経口投与により認められた貧血所見及び骨髄の造血低下の程度を根拠に、60 mg/kg 以上の用量は長期間の投与に耐えられないが、30 mg/kg は耐えうる用量であると判断した。従って、本試験の投与用量は、高用量を 30 mg/kg BW に設定し、以下、中用量を 10 mg/kg BW、低用量を 3 mg/kg BW とした。

#### II-1-5 被験物質及び陽性対照物質投与液の調製

被験物質投与液の調製は、秤量した被験物質にオリブ油を加え、攪拌により混和し、0.6、2 及び 6 mg/mL の濃度の投与液を調製した。調製した投与液は、調製液中の被験物質の安定性が確認された 8 日間以内に使用した（II-1-7 参照）。なお、被験物質投与液は、全濃度とも懸濁液であった。

陽性対照物質投与液の調製は、秤量した陽性対照物質にオリブ油を加え、マグネチックスターラーで攪拌・混合して溶解し、30 mg/mL の濃度の投与液を調製した。調製した投与液は、調製液中の陽性対照物質濃度の安定性が確認された 8 日間以内に使用した（II-1-7 参照）。調製後の被験物質及び陽性対照物質投与液は、投与日まで冷蔵庫（約 4℃、遮光）内で保管した。

#### II-1-6 被験物質及び陽性対照物質調製液の濃度及び均一性確認

被験物質及び陽性対照物質調製液の濃度及び均一性確認は、全調製濃度について実施した。初回調製時及び 13 週目に調製容器内から各 7 点サンプリングし、高速液体クロマトグラフ（株）島津製作所 LC-10）を用いて被験物質濃度及び陽性対照物質濃度を測定することで確認した。

被験物質調製液の濃度は APPENDIX 3-1、均一性は APPENDIX 3-2 に示す。また、陽性対照物質調製液の濃度は APPENDIX 4-1、均一性は APPENDIX 4-2 示す。

被験物質調製液の平均濃度は、設定濃度に対して 90.5～97.5 % の範囲にあった。また、均一性は各調製濃度ともばらつきが少なかった。従って、被験物質調製液は設定濃度に対して正確に調製されたことを確認した。

陽性対照物質調製液の平均濃度は、設定濃度に対して 95.7 % 及び 93.0 % であった。また、均一性もばらつきが少なかった。従って、陽性対照物質調製液は設定濃度に対して正確に調製されたことを確認した。

#### II-1-7 被験物質及び陽性対照物質調製液の濃度安定性確認

被験物質調製液の濃度安定性は、被験物質調製液（0.2 mg/mL 及び 40 mg/mL : 投与用量

として 1 mg/kg BW 及び 200 mg/kg BW に相当) を冷蔵保管 (約 4℃) し、調製後 8 日間の濃度は安定であることを確認した (試験番号: 8049)。本試験では安定性を確認した濃度の範囲内で実施したため、濃度安定性確認は行わなかった。

陽性対照物質調製液の濃度安定性は、陽性対照物質調製液 (20 mg/mL 及び 40 mg/mL : 投与用量として 200 mg/kg BW 及び 400 mg/kg BW に相当) を冷蔵保管 (約 4℃) し、調製後 8 日間の濃度は安定であることを確認した (試験番号: 8046)。本試験では安定性を確認した濃度の範囲内で実施したため、濃度安定性確認は行わなかった。

被験物質調製液の濃度安定性確認の結果は APPENDIX 5-1 に、陽性対照物質調製液の濃度安定性確認の結果は APPENDIX 5-2 に示す。

## II-2 動物管理

### II-2-1 各群の使用動物数

媒体対照群 1 群、被験物質投与群 3 群及び陽性対照群の計 5 群を設け、1 群当たりの動物数は、媒体対照群と被験物質投与群は雌雄各 25 匹、陽性対照群は雌雄各 15 匹の動物を用いた。

群名称	動物数 (動物番号)	
	雄	雌
媒体対照群	25 匹 (1001~1025)	25 匹 (2001~2025)
3 mg/kg 群	25 匹 (1101~1125)	25 匹 (2101~2125)
10 mg/kg 群	25 匹 (1201~1225)	25 匹 (2201~2225)
30 mg/kg 群	25 匹 (1301~1325)	25 匹 (2301~2325)
陽性対照群	15 匹 (1401~1415)	15 匹 (2401~2415)

### 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 15)。

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 (雄 204 室、雌 205 室) に収容し、室の扉に試験番号、試験動物、飼育期間及び遺伝子改変動物飼育中を表示し、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

飼育室の環境条件及び使用したケージ等を以下に示した。飼育室の温度と湿度は、実測値(平均値±標準偏差)を<>内に示した。

温度：23±2℃ <204室：22.9±0.2℃、205室：23.0±0.2℃>

湿度：55±15% <204室：56±2%、205室：53±1%>

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

ケージへの動物の収容方法：個別飼育

ケージの材質・形状・寸法等：

ステンレス製2連網ケージ(112(W)×212(D)×120(H)mm/匹)

飼育器材の滅菌方法：飼育器材(ラック、ケージ、餌箱、給水ノズル、作業台車、トレイ等)は、オートクレーブを用いて滅菌(約120℃、15分以上)した。

### (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)製造のCRF-1固型(30kGy-γ線照射滅菌飼料)を自由摂取させた。ただし、定期解剖前日(投与最終日)の夕方からは絶食させた。

試験に使用した飼料中の栄養成分と夾雑物については、オリエンタル酵母工業(株)から分析データを入手し、確認後保管した。

### (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、自動給水ノズルから自由摂取させた。

飲水の水質は、動物試験施設として定期的(年2回)に実施している水道水の検査において、水道法に定められている水質基準に適合していることを確認した。

## II-3 観察・検査項目及び方法

### II-3-1 動物の生死及び一般状態の観察

全動物について、毎日、投与前及び投与後に生死及び一般状態を観察した。また、定期解剖日は飼育室からの搬出時に一般状態を観察した。なお、瀕死状態または著しい苦痛を呈した動物は、速やかに安楽死させた。

### II-3-2 体重測定

全動物について、週 1 回、投与前に体重測定を行った。また、定期解剖日には絶食後の体重（搬出時体重）を測定した。

死亡及び瀕死状態の動物は、飼育室からの搬出時に体重を測定した。

### II-3-3 摂餌量測定

全動物について、週 1 回、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 尿検査

投与終期（2019 年 9 月 25 日）に生存していた動物のうち、自然排尿した動物の新鮮尿について、尿試験紙（ウロラプスティックス、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、潜血、ウロビリノーゲン

### II-3-5 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、剖検直前にイソフルラン麻酔下で開腹し、腹大動脈から 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 6 に示す。

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-3-6 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、剖検直前にイソフルラン麻酔下で開腹し、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 6 に示す。

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、 $\gamma$ -GTP、CK、尿素窒素、ナトリウム、カリウム、クロール、カルシウム、無機リン

### II-3-7 病理学的検査

#### (1) 肉眼的観察

全動物について肉眼的に観察を行った。なお、定期解剖動物はイソフルラン麻酔下で腹大動脈より採血後、腹大動脈を切断し、放血することで安楽死させた。

## (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・エオジン染色を行い、光学顕微鏡で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ヶ所（文献16）で切り出し（横断）、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、鼠径等）、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、胆嚢、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（胸骨、大腿骨）、肉眼的に変化のみられた器官及び組織

## II-3-8 病理ピアレビュー

病理組織診断の最終化後に外部専門家4名による病理ピアレビューを実施し、被験物質投与による造血系腫瘍及び非腫瘍性病変について確認を行った。

その結果、小腸の異型過形成1例（雌30 mg/kg群）を腺癌に変更した。

## 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。

体重はgを単位とし、小数点以下第1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 6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、媒体対照群を基準群として、まず Bartlett 法により等分散の予備検定を行い、その結果が等分散の場合には一元配置分散分析を行い、群間に有意差が認められた場合は、Dunnett の多重比較により平均値の検定を行った。また、分散の等しくない場合には、各群を通して測定値を順位化して、Kruskal-Wallis の順位検定を行い、群間に有意差が認められた場合には、Dunnett 型の多重比較を行った。なお、媒体対照群と陽性対照群間の有意差検定は、まず F 検定を用い、等分散である場合は Student の  $t$  検定を行い、等分散でない場合は Aspin-Welch の  $t$  検定を行った。

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、 $\chi^2$  検定を行った。また、尿検査についても媒体対照群と各投与群間で  $\chi^2$  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 17）、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定を行った。なお、媒体対照群と陽性対照群間は、各群の総担腫瘍臓器数について Fisher 検定を行った。

各検定は 5% の有意水準で両側検定を行い、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。

### Ⅲ 試験成績-1 (被験物質投与群)

#### Ⅲ-1 生存率

生存率を TABLE A 1, 2 及び FIGURE 1, 2 に示す。

##### —雄—

30 mg/kg 群では 9 週目以降、10 mg/kg 群では 19 週目以降に切迫屠殺あるいは死亡動物が多くみられ、最終生存率の低下が認められた。

各群の生存動物数 (生存率) は、媒体対照群 : 24 匹 (96%)、3 mg/kg 群 : 25 匹 (100%)、10 mg/kg 群 : 18 匹 (72%)、30 mg/kg 群 : 7 匹 (28%) であった。

##### —雌—

30 mg/kg 群では 10 週目以降、10 mg/kg 群では 15 週目以降に切迫屠殺あるいは死亡動物が多くみられ、最終生存率の低下が認められた。

各群の生存動物数 (生存率) は、媒体対照群 : 24 匹 (96%)、3 mg/kg 群 : 24 匹 (96%)、10 mg/kg 群 : 18 匹 (72%)、30 mg/kg 群 : 5 匹 (20%) であった。

#### Ⅲ-2 一般状態

一般状態の観察結果を TABLE A 3, 4 に示す。なお、個体表は APPENDIX 7-1, 7-2 に示す。

##### —雄—

切迫屠殺あるいは死亡動物では、30 mg/kg 群で貧血、内部腫瘍、不整呼吸及び自発運動の減少を呈した動物が多く認められた。また、10 mg/kg 群では、不整呼吸を呈した動物が多くみられた。

##### —雌—

切迫屠殺あるいは死亡動物では、30 mg/kg 群で貧血及び不整呼吸を呈した動物が多く認められた。また、10 mg/kg 群では、不整呼吸を動物が多くみられた。

#### Ⅲ-3 体重

体重の推移を TABLE A 5~8 及び FIGURE 3, 4 に示す。なお、個体表は APPENDIX 8-1, 8-2 に示す。

##### —雄—

30 mg/kg 群では体重の低値が散見された。

投与群の最終体重は媒体対照群に対して、3 mg/kg 群 : 102%、10 mg/kg 群 : 96%、30 mg/kg 群 : 86% であった。

—雌—

30 mg/kg 群では投与 23 週目に有意な低値がみられたが、それ以外は媒体対照群との間に差は認められなかった。

投与群の最終体重は媒体対照群に対して、3 mg/kg 群：101%、10 mg/kg 群：102%、30 mg/kg 群：97%であった。

### Ⅲ-4 摂餌量

摂餌量の推移を TABLE A 9~12 及び FIGURE 5, 6 に示す。なお、個体表は APPENDIX 9-1, 9-2 に示す。

—雄—

30 mg/kg 群では投与期間の多くの週で摂餌量の低値が認められた。

投与期間を通しての 1 匹当たりの 1 日平均摂餌量は、媒体対照群：3.3 g、3 mg/kg 群：3.3 g、10 mg/kg 群：3.2 g、30 mg/kg 群：3.1 g であった。

—雌—

30 mg/kg 群では投与 21 週と 23 週目に有意な低値がみられたが、それ以外は媒体対照群との間に差は認められなかった。

投与期間を通しての 1 匹当たりの 1 日平均摂餌量は、媒体対照群：3.0 g、3 mg/kg 群：3.1 g、10 mg/kg 群：3.0 g、30 mg/kg 群：3.0 g であった。

### Ⅲ-5 尿検査

尿検査の結果を TABLE A 13, 14 に示す。なお、個体表は APPENDIX 10-1, 10-2 に示す。

—雌雄—

雌雄とも媒体対照群との間に差は認められなかった。

### Ⅲ-6 血液学的検査

血液学的検査の結果を TABLE A 15, 16 に示す。なお、個体表は APPENDIX 11-1, 11-2 に示す。

—雄—

3 mg/kg 以上の群で赤血球数の低値、並びに MCV の高値が認められた。

10 mg/kg 以上の群でヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低値、並びに MCH 及び単球比の高値が認められた。

30 mg/kg 群で好中球比の高値、並びにリンパ球比の低値が認められた。



なお、10 mg/kg で網赤血球比が高値を示したが、投与用量に相関した変化ではなかった。

—雌—

3 mg/kg 以上の群で赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低値、並びに MCV、MCH、網赤血球比及び単球比の高値が認められた。

30 mg/kg 群で好中球比の高値、並びにリンパ球比の低値が認められた。

### Ⅲ-7 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を TABLE A 17, 18 に示す。なお、個体表は APPENDIX 12-1, 12-2 に示す。

—雄—

30 mg/kg 群で ALT、LDH 及びナトリウムの高値が認められた。

—雌—

30 mg/kg 群で総コレステロール、リン脂質及び尿素窒素の高値が認められた。

なお、10 mg/kg 群で A/G 比の高値がみられたが、ごく軽度の変化であり、投与用量に相関した変化でないことから偶発的変動と判断した。

### Ⅲ-8 病理学的検査

#### Ⅲ-8-1 肉眼的観察

解剖時の剖検観察所見を TABLE A 19, 20 に示す。なお、個体表は APPENDIX 13-1, 13-2 に示す。

—雄—

胸腺の腫大が 10 mg/kg 群に 9 匹、30 mg/kg 群に 15 匹認められ、うち、10 mg/kg 群の 5 匹と 30 mg/kg 群の 10 匹は胸腔内に胸水貯留を伴っていた。

脾臓の腫大が 10 mg/kg 群に 2 匹、30 mg/kg 群に 9 匹認められた。

なお、上記所見は、媒体対照群では認められなかった。

—雌—

胸腺の腫大が 3 mg/kg 群に 1 匹、10 mg/kg 群に 6 匹、30 mg/kg 群に 16 匹認められ、うち、10 mg/kg 群の 6 匹と 30 mg/kg 群の 13 匹は胸腔内に胸水貯留を伴っていた。

脾臓の腫大が 10 mg/kg 群に 2 匹、30 mg/kg 群に 11 匹認められた。

なお、上記所見は、媒体対照群で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を TABLE A 21, 22、体重比を TABLE A 23, 24 に示す。なお、個体表は実重量を APPENDIX 14-1, 14-2、体重比を APPENDIX 15-1, 15-2 に示す。

—雄—

3 mg/kg 以上の群で精巣の実重量と体重比の低値が認められた。

30 mg/kg 群で脾臓の体重比の高値が認められ、実重量は統計学的に有意でないものの高値傾向であった。

その他、30 mg/kg 群で肺、肝臓及び脳の体重比の高値がみられたが、30 mg/kg 群の搬出時体重は低値であり、それに起因するものと考えられた。

—雌—

媒体対照群との間に差は認められなかった。

### Ⅲ-8-3 病理組織学的検査

腫瘍性病変は、腫瘍の種類別の発生数を TABLE A 25, 26 に、統計解析（Peto 検定、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定）の結果を TABLE A 27, 28 に、担腫瘍動物数と発生腫瘍数を TABLE A 29, 30 に、転移性病変を TABLE A 31, 32 に示す。本項で取り上げた腫瘍について、日本バイオアッセイ研究センターにおける p53 ヘテロ欠損マウスのヒストリカルコントロールデータ（2 試験、雌雄各 50 匹）を TABLE A 33 A34 に示す。また、非腫瘍性病変は TABLE A 35, 36 に示す。さらに、病理組織所見の代表例を PHOTOGRAPH 1~4 に示す。なお、病理組織所見の個体表は APPENDIX 16-1, 16-2 に示す。

—雄—

#### 1) 腫瘍性病変

##### <骨髄>

骨髄性白血病の発生は、媒体対照群及び 3 mg/kg 群で 0 匹（0%）、10 mg/kg 群で 2 匹（8%）、30 mg/kg 群で 10 匹（40%）に認められ、Fisher 検定では 30 mg/kg 群で有意な増加を示し、Peto 検定（死亡率法、有病率法、死亡率法+有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。

##### <胸腺>

悪性リンパ腫の発生は、媒体対照群及び 3 mg/kg 群で 0 匹（0%）、10 mg/kg 群で 9 匹（36%）、30 mg/kg 群で 14 匹（56%）に認められ、Fisher 検定では 10 mg/kg 以上の群で有意な増加を示し、Peto 検定（死亡率法、有病率法、死亡率法+有病率法）と Cochran-

Armitage 検定で増加傾向を示した。

<骨髄及び胸腺>

骨髄性白血病と胸腺の悪性リンパ腫を合わせた発生は、媒体対照群及び 3 mg/kg 群で 0 匹 (0%)、10 mg/kg 群で 11 匹 (44%)、30 mg/kg 群で 23 匹 (92%) に認められ、Fisher 検定では 10 mg/kg 以上の群で有意な増加を示し、Peto 検定 (死亡率法、有病率法、死亡率法+有病率法) と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。

なお、骨髄性白血病と胸腺の悪性リンパ腫からの白血病細胞浸潤は、主に肺、脾臓及び肝臓に認められ、その他、骨髄、リンパ節、胸腺、心臓、腎臓、下垂体、副腎、脳及び胸膜にみられた。

雄の坦腫瘍動物数は、媒体対照群で 0 匹 (0%)、3 mg/kg 群で 0 匹 (0%)、10 mg/kg 群で 11 匹 (44%)、30 mg/kg 群で 23 匹 (92%) であった。

2) 非腫瘍性病変

<小腸>

前腫瘍性病変と考えられる上皮の異型過形成の発生匹数の増加が 30 mg/kg 群 (6 匹：軽度) で認められた。また、上皮の核巨大化の発生匹数の増加が 30 mg/kg 群 (15 匹：軽度から中等度) で認められた。

<腎臓>

近位尿細管上皮の核増大の発生匹数の増加が 30 mg/kg 群 (7 匹：軽度) で認められた。なお、10 mg/kg 群でも (3 匹：軽度) に発生がみられたが、統計学的有意差はなかった。

<精巣>

精細管萎縮の発生匹数の増加が 10 mg/kg 群と 30 mg/kg 群 (各 25 匹：軽度から中等度) で認められ、30 mg/kg 群ではその程度が増強した。なお、3 mg/kg 群 (5 匹：軽度から中等度) でも発生がみられたが、統計学的有意差はなかった。

<精巣上体>

精上皮系細胞の残屑の発生匹数の増加が、10 mg/kg 群 (14 匹：軽度) と 30 mg/kg 群 (23 匹：軽度) で認められた。

—雌—

## 1) 腫瘍性病変

### <骨髄>

骨髄性白血病の発生は、媒体対照群、3 mg/kg 群及び 10 mg/kg 群で 0 匹 (0%)、30 mg/kg 群で 8 匹 (32%) に認められ、Fisher 検定では 30 mg/kg 群で有意な増加を示し、Peto 検定 (死亡率法、死亡率法+有病率法) と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。

### <胸腺>

悪性リンパ腫の発生は、媒体対照群で 0 匹 (0%)、3 mg/kg 群で 1 匹 (4%)、10 mg/kg 群で 6 匹 (24%)、30 mg/kg 群で 14 匹 (56%) に認められ、Fisher 検定では 10 mg/kg 以上の群で有意な増加を示し、Peto 検定 (死亡率法、有病率法、死亡率法+有病率法) と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。

### <骨髄及び胸腺>

骨髄性白血病と胸腺の悪性リンパ腫を合わせた発生は、媒体対照群で 0 匹 (0%)、3 mg/kg 群で 1 匹 (4%)、10 mg/kg 群で 6 匹 (24%)、30 mg/kg 群で 22 匹 (88%) に認められ、Fisher 検定では 10 mg/kg 以上の群で有意な増加を示し、Peto 検定 (死亡率法、有病率法、死亡率法+有病率法) と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。

なお、骨髄性白血病と胸腺の悪性リンパ腫からの白血病細胞浸潤は、主に肺、脾臓及び肝臓に認められ、その他、骨髄、リンパ節、胸腺、心臓、腎臓、下垂体、副腎、卵巣、脳及び脊髄にみられた。

### <小腸>

腺癌の発生は、媒体対照群、3 mg/kg 群及び 10 mg/kg 群で 0 匹 (0%)、30 mg/kg 群で 1 匹 (4%) に認められたが、統計学的有意差はなかった。

雌の坦腫瘍動物数は、媒体対照群で 0 匹 (0%)、3 mg/kg 群で 2 匹 (8%)、10 mg/kg 群で 6 匹 (24%)、30 mg/kg 群で 23 匹 (92%) であった。

## 2) 非腫瘍性病変

### <小腸>

前腫瘍性病変と考えられる上皮の異型過形成の発生匹数の増加が 30 mg/kg 群 (12 匹 : 軽度) で認められた。また、上皮の核巨大化の発生匹数の増加が 30 mg/kg 群 (18 匹 : 軽度から中等度) で認められた。

<胃>

腺胃の上皮に核巨大化の発生匹数の増加が 30 mg/kg 群（16 匹：軽度）で認められた。

<卵巣>

間質細胞空胞化の発生匹数の増加が 30 mg/kg 群（9 匹：軽度）で認められた。

<子宮>

嚢胞状内膜過形成の発生匹数の減少が 30 mg/kg 群（2 匹：軽度）で認められた。

### III-8-4 死因

病理学的にみた死亡／瀕死の原因を TABLE A 37, 38 に示す。なお、個体表は APPENDIX 17-1, 17-2 に示す。

—雌雄—

投与群で死因が特定できなかった例（雌：3 mg/kg 群 1 匹、10 mg/kg 群 1 匹）を除き、10 mg/kg 群及び 30 mg/kg 群の死亡／瀕死動物の死因は、全例白血病（骨髄性白血病ないし胸腺の悪性リンパ腫）によるものであった。

## 試験成績-2 (陽性対照群)

### IV-1 生存率

生存率を TABLE B 1, 2 に示す。

雌雄とも陽性対照群に動物の死亡は認められなかった。

### IV-2 一般状態

一般状態の観察結果を TABLE B 3, 4 に示す。なお、個体表は APPENDIX 7-1, 7-2 に示す。

雌雄とも投与期間を通して、陽性対照物質投与の影響と考えられる異常所見の増加は認められなかった。

### IV-3 体重

体重の推移を TABLE B 5, 6 に示す。なお、個体表は APPENDIX 8-1, 8-2 に示す。

雌雄とも投与 6 週目以降体重の低値が認められた。最終体重は媒体対照群に対して、雄 84 %、雌 92 %であった。

### IV-4 摂餌量

摂餌量の推移を TABLE B 7, 8 に示す。なお、個体表は APPENDIX 9-1, 9-2 に示す。

雌雄とも投与期間を通して摂餌量の低値が認められた。1 匹当たりの 1 日平均摂餌量は、雄では媒体対照群 3.3 g、陽性対照群 2.7 g、雌では媒体対照群 3.0 g、陽性対照群 2.6 g であった。

### IV-5 尿検査

尿検査の結果を TABLE B 9, 10 に示す。なお、個体表は APPENDIX 10-1, 10-2 に示す。

雌雄とも尿蛋白及びケトン体の陽性度の減少が認められた。また、雄では尿 pH の低下が認められた。

#### IV-6 血液学的検査

血液学的検査の結果を TABLE B 11, 12 に示す。なお、個体表は APPENDIX 11-1, 11-2 に示す。

雌雄とも赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、MCH 及び MCHC の低値、並びに血小板数、網赤血球比及び白血球数の高値が認められた。また、雄では MCV 及びリンパ球比の低値と好中球比の高値、雌では単球比の高値が認められた。

#### IV-7 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を TABLE B 13, 14 に示す。なお、個体表は APPENDIX 12-1, 12-2 に示す。

雌雄ともアルブミン、総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質、ALT、尿素窒素及びカルシウムの高値、並びにナトリウム及びクロールの低値が認められた。また、雄では総ビリルビン、AST、LDH 及び ALP の高値、雌では総蛋白及び  $\gamma$ -GTP の高値が認められた。

なお、グルコースは雄では低値、雌では高値、CK は雄では高値、雌では低値と相反する変化を示した。

#### IV-8 病理学的検査

##### IV-8-1 肉眼的観察

解剖時の剖検観察所見を TABLE B 15, 16 に示す。なお、個体表は APPENDIX 13-1, 13-2 に示す。

雄では腎臓の変形が 5 匹に認められた。なお、雌では剖検観察時に肉眼的異常所見は認められなかった。

##### IV-8-2 臓器重量

定期解剖時に測定した臓器の実重量を TABLE B 17, 18 に、体重比を TABLE B 19, 20 に示す。なお、個体表は実重量を APPENDIX 14-1, 14-2、体重比を APPENDIX 15-1, 15-2 に示す。

雌雄の脾臓、雌の肝臓で実重量と体重比の高値が認められた。

その他、雌雄の肺及び脳、雄の副腎、精巣、心臓及び肝臓で体重比の高値、雄の心臓で実重量の低値、雌の腎臓で体重比の高値がみられたが、雌雄とも陽性対照群の搬出時体重は有

意に低値であり、それに起因するものと考えられた。

#### IV-8-3 病理組織学的検査

腫瘍性病変は、腫瘍の種類別の発生数を TABLE B 21, 22 に、統計解析 (Fisher 検定) の結果を TABLE B 23, 24 に、担腫瘍動物数と発生腫瘍数を TABLE B 25, 26 に示す。また、非腫瘍性病変は TABLE B 27, 28 に示す。なお、病理組織所見の個体表は APPENDIX 16-1, 16-2 に示す。

—雄—

##### 1) 腫瘍性病変

<膀胱>

移行上皮乳頭腫の発生は、媒体対照群で 0 匹 (0%) に対し、陽性対照群で 2 匹 (13.3%) に認められた。移行上皮癌の発生は、媒体対照群で 0 匹 (0%) に対し、陽性対照群で 1 匹 (6.7%) に認められた。また、移行上皮乳頭腫と移行上皮癌を合わせた発生は、媒体対照群で 0 匹 (0%) に対し、陽性対照群で 3 匹 (20%) に認められ、Fisher 検定で有意な増加を示した。

平滑筋肉腫の発生は、媒体対照群で 0 匹 (0%) に対し、陽性対照群で 1 匹 (6.7%) に認められた。

<肺>

細気管支-肺胞上皮腺腫の発生は、媒体対照群で 0 匹 (0%) に対し、陽性対照群で 1 匹 (6.7%) に認められた。

担腫瘍動物数は媒体対照群 0 匹 (0%) に対し、陽性対照群 5 匹 (33.3%) であった。

##### 2) 非腫瘍性病変

<膀胱>

前腫瘍性病変と考えられる PN 過形成 (乳頭状ないし結節状過形成) の発生匹数の増加 (10 匹: 軽度) が認められた。また、移行上皮の扁平上皮化生 (9 匹: 軽度) 及び単純過形成 (15 匹: 軽度から中等度) の発生匹数の増加が認められた。なお、少数例であるが糜爛 (3 匹: 軽度) の発生もみられた。

<腎臓>

再生 (12 匹: 軽度)、癒痕 (7 匹: 軽度から重度) 及び乳頭壊死 (11 匹: 軽度から中等度) の発生匹数の増加が認められた。



<肝臓>

変性／壊死（15 匹：軽度から中等度）の発生匹数の増加が認められた。変性／壊死は小葉中間帯の肝細胞にみられた。

<脾臓>

髓外造血（15 匹：軽度）の発生匹数の増加が認められた。

<鼻腔>

嗅上皮にエオジン好性変化（15 匹：軽度）、呼吸上皮化生（13 匹：軽度から重度）及び萎縮（15 匹：軽度から重度）の発生匹数の増加が認められた。また、鼻腔の腺に呼吸上皮化生（4 匹：中等度から重度）の発生匹数の増加が認められた。

—雌—

1) 腫瘍性病変

<膀胱>

扁平上皮乳頭腫の発生は、媒体対照群で 0 匹（0%）に対し、陽性対照群で 1 匹（6.7%）に認められた。移行上皮乳頭腫は、媒体対照群で 0 匹（0%）に対し、陽性対照群で 1 匹（6.7%）に認められた。また、扁平上皮乳頭腫と移行上皮乳頭腫を合わせた発生は、媒体対照群で 0 匹（0%）に対し、陽性対照群で 2 匹（13.3%）に認められた。

<鼻腔>

腺腫の発生は、媒体対照群で 0 匹（0%）に対し、陽性対照群で 1 匹（6.7%）に認められた。

坦腫瘍動物数は媒体対照群 0 匹（0%）に対し、陽性対照群 3 匹（20%）であった。

2) 非腫瘍性病変

<膀胱>

前腫瘍性病変と考えられる PN 過形成（乳頭状ないし結節状過形成）の発生匹数の増加（4 匹：軽度）が認められた。また、移行上皮の扁平上皮化生（4 匹：軽度）及び単純過形成（15 匹：軽度から中等度）の発生匹数の増加が認められた。

<腎臓>

乳頭壊死（5 匹：軽度）及び尿細管の再生（6 匹：軽度）の発生匹数の増加が認められた。

<肝臓>

変性／壊死（14匹：軽度）の発生匹数の増加が認められた。変性／壊死は小葉中間帯の肝細胞にみられた。

<脾臓>

髄外造血（15匹：軽度）の発生匹数の増加が認められた。

<鼻腔>

嗅上皮にエオジン好性変化（14匹：軽度から中等度）、呼吸上皮化生（5匹：軽度から中等度）及び萎縮（4匹：軽度から中等度）の発生匹数の増加が認められた。

<卵巢>

間質細胞空胞化（4匹：軽度）の発生匹数の増加が認められた。

その他、子宮の嚢胞状内膜過形成は、媒体対照群で13例に発生が認められたが、陽性対照群に発生はみられなかった。

## V 考察及びまとめ

1,3,5-トリス (2,3-エポキシプロピル) ヘキサヒドロ-1,3,5-トリアジン-2,4,6-トリオンの発がん性を検索する目的で、遺伝子改変マウス (p53 ヘテロ欠損マウス) を用いた 26 週間にわたる強制経口投与による中期発がん性試験を行った。

媒体対照群、被験物質投与群 3 群及び陽性対照群 (2-Methoxy-5-methylaniline) の計 5 群を設け、媒体対照群と被験物質投与群は雌雄とも各 25 匹、陽性対照群は 15 匹とした。被験物質の投与用量は、雌雄とも 0 (オリブ油)、3、10 及び 30 mg/kg BW、陽性対照物質は雌雄とも 300 mg/kg BW とし、投与は毎日 1 回の強制経口投与 (26 週間) 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、解剖時の肉眼的観察、臓器重量測定及び病理組織学的検査を行った。

### V-1 生存率、一般状態、体重、摂餌量

動物の最終生存率は、媒体対照群と比較して雌雄とも 10 mg/kg 群と 30 mg/kg 群で低下が認められた。投与群で死因が特定できなかった例を除き、10 mg/kg 群及び 30 mg/kg 群の死亡/瀕死動物の死因は、全例白血病 (骨髄性白血病ないし胸腺の悪性リンパ腫) によるものであった。切迫屠殺あるいは死亡動物の一般状態は、30 mg/kg 群の雌雄で貧血及び不整呼吸、雄で内部腫瘤及び自発運動の減少を呈した動物が多く認められた。また、10 mg/kg 群でも雌雄で不整呼吸を呈した動物が多くみられた。体重は雄の 30 mg/kg 群で低値が散見され、摂餌量は雄の 30 mg/kg 群で投与期間の多くの週で低値が認められた。

### V-2 腫瘍性及び腫瘍関連病変

雄では、骨髄性白血病の発生が、媒体対照群及び 3 mg/kg 群で 0 匹 (0%)、10 mg/kg 群で 2 匹 (8%)、30 mg/kg 群で 10 匹 (40%) に認められ、Fisher 検定では 30 mg/kg 群で有意な増加を示し、Peto 検定と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。なお、日本バイオアッセイ研究センターで過去に実施した雄 p53 ヘテロ欠損マウスのヒストリカルコントロールデータ (2 試験、50 匹) では、骨髄性白血病は発生がない腫瘍である。

胸腺では、悪性リンパ腫の発生が、媒体対照群及び 3 mg/kg 群で 0 匹 (0%)、10 mg/kg 群で 9 匹 (36%)、30 mg/kg 群で 14 匹 (56%) に認められ、Fisher 検定では 10 mg/kg 以上の群で有意な増加を示し、Peto 検定と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。なお、当センターのヒストリカルコントロールデータでは、胸腺の悪性リンパ腫は発生がない腫瘍である。

造血系腫瘍である上記の骨髄性白血病と胸腺の悪性リンパ腫を合わせた発生は、媒体対照群及び 3 mg/kg 群で 0 匹 (0%)、10 mg/kg 群で 11 匹 (44%)、30 mg/kg 群で 23 匹

(92%) に認められ、Fisher 検定では 10 mg/kg 以上の群で有意な増加を示し、Peto 検定と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。

小腸では、前腫瘍性病変と考えられる上皮の異型過形成が 30 mg/kg 群で増加したが、腫瘍の発生はみられなかった。

以上の結果から、雄 p53 ヘテロ欠損マウスの骨髄及び胸腺における腫瘍の発生増加は、発がん性を示す明らかな証拠と判断した。

雌では、骨髄性白血病の発生が、媒体対照群、3 mg/kg 群及び 10 mg/kg 群で 0 匹 (0%)、30 mg/kg 群で 8 匹 (32%) に認められ、Fisher 検定では 30 mg/kg 群で有意な増加を示し、Peto 検定と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。なお、当センターの雌 p53 ヘテロ欠損マウスのヒストリカルコントロールデータ (2 試験、50 匹) では、骨髄性白血病は発生がない腫瘍である。

胸腺の悪性リンパ腫の発生が、媒体対照群で 0 匹 (0%)、3 mg/kg 群で 1 匹 (4%)、10 mg/kg 群で 6 匹 (24%)、30 mg/kg 群で 14 匹 (56%) に認められ、Fisher 検定では 10 mg/kg 以上の群で有意な増加を示し、Peto 検定と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。なお、当センターのヒストリカルコントロールデータでは、胸腺の悪性リンパ腫は発生がない腫瘍である。

造血系腫瘍である上記の骨髄性白血病と胸腺の悪性リンパ腫を合わせた発生は、媒体対照群で 0 匹 (0%)、3 mg/kg 群で 1 匹 (4%)、10 mg/kg 群で 6 匹 (24%)、30 mg/kg 群で 22 匹 (88%) に認められ、Fisher 検定では 10 mg/kg 以上の群で有意な増加を示し、Peto 検定と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。

小腸で腺癌の発生が 30 mg/kg 群のみに 1 匹 (4%) 認められ、さらに、前腫瘍性病変と考えられる上皮の異型過形成が 30 mg/kg 群で増加した。なお、当センターのヒストリカルコントロールデータでは、小腸の腺癌は発生がない腫瘍である。

以上の結果から、雌 p53 ヘテロ欠損マウスの骨髄と胸腺における腫瘍の発生増加、及び小腸における腫瘍の発生は、発がん性を示す明らかな証拠と判断した。

### V-3 その他の影響

雄の精巣では精細管の萎縮が 3 mg/kg 以上の群にみられ、同所見の増加と程度の増強が 10 mg/kg 以上の群に認められた。また、精巣重量は、3 mg/kg 以上の群で実重量と体重比の低値を示した。精巣上体では精上皮系細胞の残層の増加が 10 mg/kg 以上の群に認められた。なお、本試験の用量設定試験として実施した、C57BL/6J マウスを用いた 4 週間毒性試験 (文献 14) (投与用量: 0、10、30、60 及び 100 mg/kg BW) では、精巣の精原細胞壊死が 10 mg/kg 以上の群で用量依存的に増加し、100 mg/kg 群ではセルトリ細胞のみが残存する精細管となっていた。精巣重量は、実重量 (10 mg/kg 以上) 及び体重比 (30 mg/kg 以

上) が低値を示した。さらに、精巣上体で精上皮系細胞の残屑の増加 (60 mg/kg 以上) が認められた。

雌雄の 30 mg/kg 群で、小腸上皮に核巨大化の増加が認められた。

雄の 30 mg/kg 群で、腎臓に近位尿細管上皮の核増大の増加が認められ、10 mg/kg 群でも数例に発生がみられた。

雌の 30 mg/kg 群で、腺胃の上皮に核巨大化の増加、卵巣の間質細胞空胞化の増加及び子宮の嚢胞状内膜過形成の減少が認められた。

血液学的検査では、雌雄とも 3 mg/kg 以上の群で貧血が認められ、3 mg/kg ないし 10 mg/kg 以上の群で赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低値、MCV 及び MCH の高値がみられ、用量依存的にその程度は増強した。

#### V-4 陽性対照群 (2-Methoxy-5-methylaniline) の評価

陽性対照物質として、2-Methoxy-5-methylaniline を 26 週間反復強制経口投与 (雌雄 15 匹、300 mg/kg BW) した。

雌雄とも陽性対照群に死亡動物は認められなかった。体重は媒体対照群に比較して、雌雄とも投与 6 週目以降に増加の抑制が認められ、摂餌量は投与期間を通して低値であった。

腫瘍性病変の発生は、雌雄とも膀胱に認められた。雄では移行上皮乳頭腫 (2 匹) と移行上皮癌 (1 匹) の発生がみられ、両腫瘍を合わせた発生が有意な増加を示した。雌では扁平上皮乳頭腫 (1 匹) と移行上皮乳頭腫 (1 匹) の発生がみられたが、両腫瘍を合わせた発生に統計学的有意差は示さなかった。また、前腫瘍性病変である PN 過形成 (乳頭状ないし結節状過形成) は、雌雄ともに有意な発生増加を示した。

その他、統計学的有意差はないものの、雄で肺に細気管支・肺胞上皮腺腫 (1 匹)、雌で鼻腔に腺腫 (1 匹) の発生が認められた。これらの腫瘍は、日本バイオアッセイ研究センターにおける p53 ヘテロ欠損マウスのヒストリカルコントロールデータ (2 試験、雌雄各 50 匹) では発生のない腫瘍である。

以上より、雌雄とも陽性対照物質投与による膀胱腫瘍の発生は少数例であったものの、前腫瘍性病変の発生増加が認められたことから本試験の有効性が確認された。

## VI 結論

遺伝子改変マウス (p53 ヘテロ欠損マウス) を用いて、1,3,5-トリス (2,3-エポキシプロピル) ヘキサヒドロ-1,3,5-トリアジン-2,4,6-トリオンの 26 週間にわたる強制経口投与による中期発がん性試験を行った結果、雌雄 p53 ヘテロ欠損マウスに対するがん原性を示す明らかな証拠 (clear evidence of carcinogenic activity) が得られたと結論された。

## VII 文献

- 1) 独立行政法人 製品評価技術基盤機構 (NITE) NITE 化学物質総合情報提供システム (NITE-CHRIP). [https://www.nite.go.jp/chem/chrip/chrip\\_search/systemTop](https://www.nite.go.jp/chem/chrip/chrip_search/systemTop) [accessed 2018/04/24]
- 2) National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme (NICNAS). 1994. Triglycidylisocyanurate (TGIC). Priority Existing Chemical No. 1. Australian Government Publishing Service, Canberra, Australia.
- 3) 東京化成工業(株). 安全データシート. Triglycidyl Isocyanurate.
- 4) 経済産業省. 2017. 一般化学物質の製造・輸入数量 (平成 27 年度実績) [https://www.meti.go.jp/policy/chemical\\_management/kasinhou/information/volume\\_general.html](https://www.meti.go.jp/policy/chemical_management/kasinhou/information/volume_general.html) [accessed 2019/10/29]
- 5) 新エネルギー・産業技術開発機構、化学物質評価研究機構、製品評価技術基盤機構. 2008. 有害性評価書. No.146. 1,3,5-トリス (2,3-エポキシプロピル) -1,3,5-トリアジン-2,4,6 (1*H*, 3*H*, 5*H*)-トリオン.
- 6) American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH). 2001. 1,3,5-Triglycidyl-s-Triazinetrione. Documentation of the Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices, 7th Ed. Cincinnati, OH: ACGIH.
- 7) Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) 2020. List of MAK and BAT Values 2020. p129.
- 8) 国立研究開発法人 産業技術総合研究所 有機化合物スペクトルデータベース (SDBS). 1,3,5-tris(oxiranylmethyl)-1,3,5-triazine-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-trione. [https://sdfs.db.aist.go.jp/sdfs/cgi-bin/cre\\_index.cgi](https://sdfs.db.aist.go.jp/sdfs/cgi-bin/cre_index.cgi) [accessed 2018/04/24].
- 9) シグマ アルドリッチ ジャパン合同会社. 2017. 2-Methoxy-5-methylaniline 安全データシート.

- 10) U.S. National Library of Medicine. 2009. P-CRESIDINE. Chemical/Physical Properties. Hazardous Substances Data Bank (HSDB).  
<https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/r?dbs+hsdb:@term+@rn+@rel+120-71-8>. [accessed 2018/01/05]
- 11) 国立研究開発法人 産業技術総合研究所 有機化合物スペクトルデータベース(SDBS).  
5-methyl-o-anisidine  
[https://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/cre\\_index.cgi](https://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/cre_index.cgi) [accessed 2018/01/30].
- 12) Robinson DE, MacDonald JS. 2001. Background and framework for ILSI's collaborative evaluation program on alternative models for carcinogenicity assessment. *Toxicol Pathol* 29 (Suppl.): 13-19.
- 13) 「遺伝子改変動物を用いたがん原性試験による調査の基準」 2017. 平成 28 年度第 3 回発がん性評価ワーキンググループ (平成 29 年 3 月 1 日厚生労働省) 資料.
- 14) 日本バイオアッセイ研究センター. 2019. 1,3,5-トリス (2,3-エポキシプロピル) ヘキサヒドロ-1,3,5-トリアジン-2,4,6-トリオンの C57BL/6J マウスを用いた強制経口投与による 4 週間毒性試験 (中期発がん性試験予備試験) 報告書. 神奈川: 独立行政法人 労働者健康安全機構, 日本バイオアッセイ研究センター.
- 15) 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.
- 16) 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.
- 17) 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.



Ⅷ 予見することのできなかつ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つたこと

(1) 試験動物への被験物質投与の中止

以下の動物について、被験物質の投与を中止した。

試験番号 (性)	投与中止日	投与中止 動物番号	投与中止理由
試験番号 0923 (雄)	2019年6月18日	1301	瀕死
	2019年6月23日	1314	状態異常
	2019年6月25日	1322	瀕死
	2019年6月27日	1308	状態異常
	2019年6月27日	1320	状態異常
	2019年6月27日	1321	状態異常
	2019年8月19日	1316	瀕死
	2019年8月19日	1219	瀕死
	2019年9月10日	1310	状態異常
	2019年9月29日	1212	瀕死
	2019年10月2日	1221	瀕死
	試験番号 0924 (雌)	2019年6月18日	2321
2019年6月22日		2309	状態異常
2019年6月24日		2311	状態異常
2019年6月25日		2311	瀕死
2019年7月2日		2306	瀕死
2019年7月30日		2325	瀕死
2019年8月5日		2317	状態異常
2019年8月6日		2317	瀕死
2019年8月8日		2301	瀕死
2019年8月16日		2211	瀕死
2019年8月18日		2316	状態異常
2019年8月20日		2217	瀕死
2019年8月31日		2323	状態異常
2019年8月31日		2324	状態異常
2019年9月9日		2318	状態異常
2019年9月14日		2302	状態異常
2019年9月15日		2208	状態異常
2019年9月20日	2223	瀕死	

瀕死状態の動物は投与中止当日に切迫屠殺した。動物番号 2318、2323、2324 は、該当日は投与を中止したが、翌日からは投与を継続し、その後切迫屠殺した。それ以外の状態異常の動物は、翌日に死亡搬出、或いは切迫屠殺した。従って、試験結果の評価に影響を及ぼすものではないと判断した。

## (2) 血液学的検査データの欠落

試験計画書では、定期解剖時に生存している全動物について血液学的検査を行うことになっていたが、以下の動物について血液凝固、検体量不足等により、血液学的検査を実施せず、データが欠落となった。

試験番号 (性)	検査日	データ欠落動物番号
試験番号 0923 (雄)	2019年10月8日	1401
	2019年10月9日	1315
試験番号 0924 (雌)	2019年10月10日	2009
	2019年10月11日	2219

血液学的検査データの欠落については、評価に必要な検査動物数が確保されたことから、試験結果の評価に影響を及ぼすものではないと判断した。

## (3) 血液生化学的検査データの欠落

試験計画書では、定期解剖時に生存している全動物について血液生化学的検査を行うことになっていたが、以下の動物について検体量不足等により、血液生化学的検査を実施せず、データが欠落となった。

試験番号 (性)	検査日	データ欠落動物番号
試験番号 0923 (雄)	2019年10月9日	1315
試験番号 0924 (雌)	2019年10月10日	2009, 2103
	2019年10月11日	2221

血液生化学的検査データの欠落については、評価に必要な検査動物数が確保されたことから、試験結果の評価に影響を及ぼすものではないと判断した。

## (4) 尿検査データの欠落

投与終期に生存した動物から自然排尿した新鮮尿の検査を実施したが、以下の動物について尿採取ができず、データが欠落となった。なお、本欠落は試験計画書からの逸脱には該当しない。

試験番号 (性)	検査日 (試験週-日)	データ欠落動物番号
試験番号 0923 (雄)	2019年9月25日 (25週-2日)	1003, 1005, 1006, 1008, 1012, 1020, 1101, 1109, 1114, 1115, 1201, 1204, 1213, 1215, 1220, 1224, 1225, 1302, 1305, 1315, 1414
試験番号 0924 (雌)	2019年9月25日 (24週-7日)	2206, 2210

尿検査データの欠落については、評価に必要な検査動物数が確保されたことから、試験結果の評価に影響を及ぼすものではないと判断した。