

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 rasH2 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 : 0912, 0913

CAS No. 2451 - 62 - 9

2020年3月13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
TABLES	A 1～Q 2	
FIGURES	1～6	
PHOTOGRAPHS	1～8	
APPENDICES	1-1～14-2	
(APPENDIX 4-1～14-2 (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 rasH2 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 (rasH2 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)及び「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 2018-02)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 0221)。

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 菅野 純
神奈川県秦野市平沢 2445

試験日程

本試験は、動物導入日より雄を試験番号 0912、雌を試験番号 0913 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理由から、雌雄ともに各群の動物を先頭動物番号より 12 匹 (A) と残り 13 匹 (B) の 2 グループに分けた。

試験開始日	2018年 9月 7日
動物導入日	2018年 9月 14日
群分け日	2018年 9月 24日 (0912 : A, B) 2018年 9月 26日 (0913 : A, B)
被験物質投与開始日	2018年 9月 25日 (0912 : A, B) 2018年 9月 27日 (0913 : A, B)
被験物質投与終了日	2019年 3月 25日 (0912 : A) 2019年 3月 26日 (0912 : B) 2019年 3月 27日 (0913 : A) 2019年 3月 28日 (0913 : B)
定期解剖日	2019年 3月 26日 (0912 : A) 2019年 3月 27日 (0912 : B) 2019年 3月 28日 (0913 : A) 2019年 3月 29日 (0913 : B)
試験終了日	2020年 3月 13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 rasH2 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 : 0912, 0913

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 被験物質等	3
I-2-1 使用被験物質	3
I-2-2 被験物質の製造量等	4
I-2-3 被験物質の主な用途	4
I-2-4 許容濃度等	4
I-3 被験物質の調製媒体	4
I-4 被験物質の同一性・安定性	4
I-4-1 同一性	4
I-4-2 安定性	4
I-5 試験動物	5
II 試験方法	5
II-1 投与	5
II-1-1 投与経路	5
II-1-2 投与方法及び投与期間	5
II-1-3 投与用量	5
II-1-4 投与方法、投与期間及び投与用量の設定理由	5
II-1-5 被験物質投与液の調製	6
II-1-6 被験物質調製液の濃度及び均一性確認	6
II-1-7 被験物質の濃度安定性確認	7
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	8

(1) 飼育環境	8
(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 尿検査	9
II-3-5 血液学的検査	9
II-3-6 血液生化学的検査	9
II-3-7 病理学的検査	9
(1) 肉眼的観察	9
(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	10
III 試験成績	12
III-1 生存率	12
III-2 一般状態	12
III-3 体重	12
III-4 摂餌量	13
III-5 尿検査	13
III-6 血液学的検査	13
III-7 血液生化学的検査	14
III-8 病理学的検査	14
III-8-1 肉眼的観察	14
III-8-2 臓器重量	15
III-8-3 病理組織学的検査	15
III-8-4 死因	17
IV 考察及びまとめ	18
IV-1 生存率、一般状態、体重、摂餌量	18

IV-2	腫瘍性及び腫瘍関連病変	18
IV-3	その他の影響	19
V	結論	21
VI	文献	22
VII	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	24

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 (rasH2 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。

被験物質投与群 3 群及び媒体対照群 1 群の計 4 群 (各群雌雄 25 匹) を設け、投与用量は、雌雄とも、0 (オリブ油)、3、10 及び 30 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、生存率、一般状態、体重及び摂餌量は、雌雄とも被験物質投与による影響は認められなかった。

腫瘍性病変は、雄の肺で細気管支-肺胞上皮腺腫の発生が、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。また、細気管支-肺胞上皮癌の発生は、Peto 検定と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。さらに、腺扁平上皮癌の発生が 3 mg/kg 群で 1 匹に認められた。細気管支-肺胞上皮腺腫、細気管支-肺胞上皮癌、及び腺扁平上皮癌を合わせた発生は、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。雌の肺で細気管支-肺胞上皮腺腫の発生が、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。また、細気管支-肺胞上皮癌が、3 mg/kg 群 1 匹、10 mg/kg 群 2 匹、30 mg/kg 群 1 匹に認められた。細気管支-肺胞上皮腺腫と細気管支-肺胞上皮癌を合わせた発生は、Fisher 検定では 3 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。雌雄の胸腺で悪性リンパ腫の発生が、Peto 検定と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。雌のハーダー腺で腺腫の発生が、Peto 検定と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、30 mg/kg 群の 1 匹は腺癌を伴っていた。

従って、雄の肺及び胸腺における腫瘍の発生増加、雌の肺、胸腺及びハーダー腺における腫瘍の発生増加は、がん原性を示す明らかな証拠と判断した。

非腫瘍性病変として、精巣重量が 3 mg/kg 以上の群で低値を示し、10 mg/kg 以上の群では精原細胞壊死、さらに 30 mg/kg 群では精巣上体で精子数減少及び精上皮系細胞の残屑も認められた。血液学的検査では、雌雄とも 3 mg/kg 以上の群で貧血所見が認められ、用量依存的にその程度が増強した。また、網赤血球比の高値 (雄 10 mg/kg 以上の群、雌 30 mg/kg 群)、血小板数の高値 (雄 10 mg/kg 以上の群)、白血球数の低値 (雌雄 30 mg/kg 群) が認められた。

以上より、遺伝子改変マウス (rasH2 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 rasH2 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 (rasH2 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		
肺	細気管支-肺胞上皮腺腫 (A)	1	2	7 *	9 **	↑↑	↑↑
	細気管支-肺胞上皮癌# (B)	0	0	2	4	↑↑	↑↑
	腺扁平上皮癌# (C)	0	1	0	0		
A+B+C		1	3	9 **	13 **	↑↑	↑↑
胃	扁平上皮乳頭腫	1	0	0	1		
	扁平上皮癌#	0	1	0	0		
肝臓	肝細胞腺腫	0	1	0	0		
甲状腺	濾胞状腺腫	0	0	0	1		
胸腺	悪性リンパ腫#	0	0	0	3	↑↑	↑↑
脾臓	血管腫	1	1	0	1		

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 (rasH2 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 (A)	0	4	5 *	10 **	↑↑	↑↑
	細気管支-肺胞上皮癌# (B)	0	1	2	1		
	A+B	0	5 *	7 **	11 **	↑↑	↑↑
ハタゲ腺	腺腫 (C)	0	0	0	3	↑↑	↑↑
	腺癌# (D)	0	0	0	1		
	C+D	0	0	0	3	↑↑	↑↑
胃	扁平上皮乳頭腫	0	1	0	1		
腎臓	腎芽腫#	0	0	1	0		
胸腺	悪性リンパ腫#	0	0	0	3	↑↑	↑↑
	組織球性肉腫#	0	0	1	0		
脾臓	血管腫	1	1	0	1		
小腸	血管肉腫#	1	0	0	0		
子宮	血管腫	0	0	0	1		
	子宮内膜間質性ポリープ	0	0	1	0		

#: 悪性腫瘍

上段: 上皮系腫瘍 下段: 非上皮系腫瘍

* : $p \leq 0.05$ 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)

I 試験材料

I-1 被験物質の性状等

I-1-1 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)

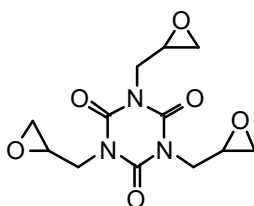
別 名 : 1,3,5-tris(oxiranylmethyl)-1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione
Triglycidyl isocyanurate (略称 TGIC)

CAS No. : 2451-62-9

被験物質番号 : 1259

I-1-2 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 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 (0.9g/100mL, 25°C)

保 管 条 件 : 室温かつ遮光

I-2 被験物質等

I-2-1 使用被験物質

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-2-2 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-2-3 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-2-4 許容濃度等

許容濃度等： 米国産業衛生専門家会議 (ACGIH)：TLV-TWA 0.05mg/m³ (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-3 被験物質の調製媒体

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-4 被験物質の同一性・安定性

I-4-1 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。

I-4-2 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-5 試験動物

動物は、日本クレア(株) (富士生育場) の Jic:CB6F1-Tg rasH2@Jcl マウス (rasH2 マウス) (SPF) の雌雄を使用した。

雌雄各 103 匹を 6 週齢で導入し、7 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 100 匹 (群分け時体重範囲、雄：21.8～27.6 g、雌：18.6～22.0 g) を選別し、試験に用いた。

遺伝子改変動物を用いる中期発がん性試験に rasH2 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 9)。

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

雌雄ともに各群の動物を先頭動物番号より 12 匹 (A) と残り 13 匹 (B) の 2 グループに分けた。

被験物質はオリブ油に懸濁し、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：2018 年 9 月 25 日～2019 年 3 月 25 日 (A)、26 日 (B)、雌：2018 年 9 月 27 日～2019 年 3 月 27 日 (A)、28 日 (B))、毎日、12 時から 16 時の時間帯に強制経口投与した。投与量は 5 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

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。

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 10) 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 11）の結果を基に決定した。4 週間毒性試験では、雌雄の rasH2 マウス（non-Tg）を用いて、1 群当たり各 5 匹の動物に 0（オリーブ油）、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、雌雄ともに TGIC 投与に起因する動物の死亡及び一般状態の異常は認められなかった。雌の 100 mg/kg 群では投与開始時に比べて体重減少がみられたが、その他の投与群に体重の変化は認められなかった。

血液学的検査では、雌雄ともに最低用量の 10 mg/kg 群から貧血所見がみられ、投与用量に対応して顕著になった。また、雄の 100 mg/kg 群では白血球数の減少も認められた。

消化器官（胃・小腸・大腸）の病理組織学的検査の結果、雌雄の胃（腺胃）、小腸及び大腸の上皮細胞に軽度の壊死（単細胞壊死）が 10 mg/kg 以上または 30 mg/kg 以上の群に認められたが、投与用量に対応した変化ではなかった。また、前胃には潰瘍または過形成が、雌雄の 100 mg/kg 群の少数例にみられた。

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、10 mg/kg の用量から貧血、消化管上皮細胞の壊死及び精原細胞壊死が認められ、60 mg/kg 以上の用量では雌雄ともに貧血が顕著であった。貧血所見の程度から 60 mg/kg 以上の用量は 26 週間の最高用量としては高いと考えられるが、30 mg/kg は最高用量として 26 週間の投与に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 被験物質投与液の調製

秤量した被験物質にオリーブ油を加え、マグネチックスターラーで攪拌により混和し、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）。調製後の投与液は、投与日まで冷蔵庫（約 4℃、遮光）内で保管した。なお、被験物質投与液は、全濃度とも懸濁液であった。

II-1-6 被験物質調製液の濃度及び均一性確認

被験物質調製液中の被験物質の濃度確認と均一性確認は、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を測定することで確認した。

被験物質調製液の濃度は APPENDIX 2-1、均一性は APPENDIX 2-2 に示す。

被験物質調製液の平均濃度は、設定濃度に対して 94.0～101%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。

II-1-7 被験物質調製液の濃度安定性確認

被験物質調製液中の濃度安定性は、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。

被験物質調製液の濃度安定性確認の結果は APPENDIX 2-3 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 群の計 4 群を設け、1 群当たりの動物数は、雌雄各 25 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）

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 12）。

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 202 室、雌 203 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： $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ <202室： $22.5 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$ 、203室： $22.7 \pm 0.3^{\circ}\text{C}$ >

湿 度： $55 \pm 15\%$ <202室： $57 \pm 2\%$ 、203室： $56 \pm 2\%$ >

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°C 、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

投与最終週（雄：2019年3月20日、雌：2019年3月25日）に生存した動物のうち、自然排尿した動物の新鮮尿について、尿試験紙（ウロラブスティックス、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 3 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 3 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、 γ -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13）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-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 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、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。

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、尿検査についても媒体対照群と各投与群間で 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 14）、Cochran-Armitage 検定、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

Ⅲ-1 生存率

生存率を TABLE A 1, 2 及び FIGURE 1, 2 に示す。

—雄—

被験物質投与による生存率への影響は認められなかった。

各群の生存動物数 (生存率) は、媒体対照群 : 24 匹 (96%)、3 mg/kg 群 : 23 匹 (92%)、10 mg/kg 群 : 25 匹 (100%)、30 mg/kg 群 : 24 匹 (96%) であった。

—雌—

被験物質投与による生存率への影響は認められなかった。

各群の生存動物数 (生存率) は、媒体対照群 : 25 匹 (100%)、3 mg/kg 群 : 24 匹 (96%)、10 mg/kg 群 : 25 匹 (100%)、30 mg/kg 群 : 23 匹 (92%) であった。

Ⅲ-2 一般状態

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

—雌雄—

投与期間を通して、被験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。

Ⅲ-3 体重

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

—雄—

投与期間を通して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 : 100 %、10 mg/kg 群 : 99 %、30 mg/kg 群 : 98 % であった。

—雌—

投与期間を通して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 : 99 %、10 mg/kg 群 : 102 %、30 mg/kg 群 : 98 % であった。

Ⅲ-4 摂餌量

摂餌量の推移を TABLE D 1~4 及び FIGURE 5, 6 に示す。なお、個体表は APPENDIX 6-1, 6-2 に示す。

—雄—

投与期間を通して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：3.4 g、3 mg/kg 群：3.5 g、10 mg/kg 群：3.4 g、30 mg/kg 群：3.4 g であった。

—雌—

投与期間を通して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：3.0 g、10 mg/kg 群：3.0 g、30 mg/kg 群：2.9 g であった。

Ⅲ-5 尿検査

尿検査の結果を TABLE E 1, 2 に示す。なお、個体表は APPENDIX 7-1, 7-2 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 F 1, 2 に示す。なお、個体表は APPENDIX 8-1, 8-2 に示す。

—雄—

3 mg/kg 以上の群で赤血球数の低値、並びに MCV、MCH 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、ヘマトクリット値の低値、並びに MCHC、血小板数、網赤血球比の高値が認められた。

30 mg/kg 群で白血球数、リンパ球比の低値、並びに好中球比、単球比の高値が認められた。

—雌—

3 mg/kg 以上の群で赤血球数の低値、並びに MCV、MCH、MCHC 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、ヘマトクリット値、リンパ球比の低値、並びに好中球比の高値が認められた。

30 mg/kg 群で白血球数の低値、並びに網赤血球比、単球比の高値が認められた。

Ⅲ-7 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を TABLE G 1, 2 に示す。なお、個体表は APPENDIX 9-1, 9-2 に示す。

—雄—

30 mg/kg 群で総ビリルビン、グルコース、総コレステロール及びリン脂質の高値が認められたが、軽度な変化であった。

なお、30 mg/kg 群で尿素窒素が低値を示したが、媒体対照群を含めた全群でばらつきも大きく、毒性学的意義については不明であった。また、3 mg/kg 群及び 10 mg/kg 群で AST に統計学的有意差が示されたが、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。

—雌—

30 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、毒性学的意義は乏しいと考えられた。また、3 mg/kg 群及び 30 mg/kg 群で ALT と ALP に統計学的有意差が示されたが、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 H 1, 2 に示す。なお、個体表は APPENDIX 10-1, 10-2 に示す。

—雄—

肺の白色斑が 10 mg/kg 群に 3 匹、30 mg/kg 群に 5 匹に認められ、結節が 3 mg/kg 群に 1 匹、10 mg/kg 群に 2 匹、30 mg/kg 群に 4 匹みられた。

胸腺の腫大が 30 mg/kg 群に 3 匹に認められ、うち、2 匹に胸水の貯留がみられた。

なお、上記所見は、媒体対照群では認められなかった。

—雌—

肺の白色斑が 3mg/kg 群に 1 匹、10 mg/kg 群に 2 匹、30 mg/kg 群に 7 匹認められ、結節が 3 mg/kg 群に 3 匹、10 mg/kg 群に 5 匹、30 mg/kg 群に 1 匹みられた。

胸腺では、30 mg/kg 群で腫大が 2 匹、結節が 1 匹に認められ、腫大あるいは結節が認められた各 1 匹に胸水の貯留がみられた。

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 I 1, 2、体重比を TABLE J 1, 2 に示す。なお、個体表は実重量を APPENDIX 11-1, 11-2、体重比を APPENDIX 12-1, 12-2 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。

なお、30 mg/kg 群で肝臓の体重比の高値がみられたが、軽度の変化であった。

—雌—

10 mg/kg 以上の群で脾臓の実重量と体重比の低値が認められた。

なお、30 mg/kg 群で肝臓の体重比の高値がみられたが、軽度の変化であった。

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 K 1, 2 に、統計解析 (Peto 検定、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定) の結果を TABLE L 1, 2 に、担腫瘍動物数と発生腫瘍数を TABLE M 1, 2 に、転移性病変を TABLE N 1, 2 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 rasH2 マウスのヒストリカルコントロールデータ (5 試験、雄 125 匹、雌 124 匹) を TABLE O 1, 2 に示す。また、非腫瘍性病変は TABLE P 1, 2 に示す。さらに、病理組織所見の代表例を PHOTOGRAPH 1~8 に示す。なお、病理組織所見の個体表は APPENDIX 13-1, 13-2 に示す。

—雄—

1) 腫瘍性病変

<肺>

細気管支-肺胞上皮腺腫の発生は、媒体対照群で 1 匹 (4%)、3 mg/kg 群で 2 匹 (8%)、10 mg/kg 群で 7 匹 (28%)、30 mg/kg 群で 9 匹 (36%) 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 (有病率法) と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。また、細気管支-肺胞上皮癌の発生は、媒体対照群と 3 mg/kg 群で 0 匹 (0%)、10 mg/kg 群で 2 匹 (8%)、30 mg/kg 群で 4 匹 (16%) に認められ、Peto 検定 (有病率法) と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。さらに、腺扁平上皮癌の発生が 3 mg/kg 群で 1 匹 (4%) に認められた。細気管支-肺胞上皮腺腫、細気管支-肺胞上皮癌及び腺扁平上皮癌を合わせた発生は、媒体対照群で 1 匹 (4%)、3 mg/kg 群で 3 匹 (12%)、10 mg/kg 群で 9 匹 (36%)、30 mg/kg 群で 13 匹 (52%) となり、Fisher 検定では 10 mg/kg 以上の群で有意な増加、Peto 検定 (有病率法、死亡率法+有病率法) と Cochran-Armitage 検定でも増加傾向を示した。

<胸腺>

悪性リンパ腫の発生は、媒体対照群、3 mg/kg 群及び 10 mg/kg 群で 0 匹 (0%)、30 mg/kg 群で 3 匹 (12%) に認められ、Peto 検定 (有病率法、死亡率法+有病率法) と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。

雄の坦腫瘍動物数は、媒体対照群で 3 匹 (12%)、3 mg/kg 群で 6 匹 (24%)、10 mg/kg 群で 9 匹 (36%)、30 mg/kg 群で 19 匹 (76%) であった。

2) 非腫瘍性病変

<精巣>

精原細胞壊死の発生匹数の増加が 10 mg/kg 群 (24 匹：軽度から中等度) と 30 mg/kg 群 (25 匹：中等度から重度) で認められ、30 mg/kg 群では、精原細胞が認められない重度の例も多くみられた。

<精巣上体>

精子数減少の発生匹数の増加が 30 mg/kg 群 (24 匹：軽度から重度) で認められ、精子が認められない重度の例もみられた。また、精上皮系細胞の残屑の発生匹数の増加が、30 mg/kg 群 (17 匹：軽度) で認められた。なお、10 mg/kg 群でも精子数減少が 1 匹 (中等度)、精上皮系細胞の残屑が 5 匹 (軽度) が認められたが、統計学的有意差はなかった。

—雌—

1) 腫瘍性病変

<肺>

細気管支-肺胞上皮腺腫の発生は、媒体対照群で 0 匹 (0%)、3 mg/kg 群で 4 匹 (16%)、10 mg/kg 群で 5 匹 (20%)、30 mg/kg 群で 10 匹 (40%) 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 (有病率法) と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。また、細気管支-肺胞上皮癌の発生は、媒体対照群で 0 匹 (0%)、3 mg/kg 群で 1 匹 (4%)、10 mg/kg 群で 2 匹 (8%)、30 mg/kg 群で 1 匹 (4%) に認められた。細気管支-肺胞上皮腺腫と細気管支-肺胞上皮癌を合わせた発生は、媒体対照群で 0 匹 (0%)、3 mg/kg 群で 5 匹 (20%)、10 mg/kg 群で 7 匹 (28%)、30 mg/kg 群で 11 匹 (44%) となり、Fisher 検定では 3 mg/kg 以上の群で有意な増加、Peto 検定 (有病率法、死亡率法+有病率法) と Cochran-Armitage 検定でも増加傾向を示した。

<胸腺>

悪性リンパ腫の発生は、媒体対照群、3 mg/kg 群及び 10 mg/kg 群で 0 匹 (0%)、30 mg/kg 群で 3 匹 (12%) に認められ、Peto 検定 (有病率法、死亡率法+有病率法) と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。

<ハーダー腺>

腺腫の発生は、媒体対照群、3 mg/kg 群及び 10 mg/kg 群で 0 匹 (0%)、30 mg/kg 群で 3 匹 (12%) に認められ、Peto 検定 (有病率法) と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。なお、30 mg/kg 群で腺腫の発生がみられた 3 匹のうち 1 匹は腺癌を伴っていた。

雌の坦腫瘍動物数は、媒体対照群で 2 匹 (8%)、3 mg/kg 群で 7 匹 (28%)、10 mg/kg 群で 10 匹 (40%)、30 mg/kg 群で 15 匹 (60%) であった。

2) 非腫瘍性病変

<ハーダー腺>

過形成の発生が、10 mg/kg 群と 30 mg/kg 群 (各 2 匹：軽度から中等度) に認められたが、統計学的有意差はなかった。

III-8-4 死因

病理学的にみた死亡/瀕死の原因を TABLE Q 1, 2 に示す。なお、個体表は APPENDIX 14-1, 14-2 に示す。

—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認められなかった。

IV 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 (rasH2 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。

被験物質投与群 3 群及び媒体対照群 1 群の計 4 群 (各群雌雄 25 匹) を設け、投与用量は、雌雄とも、0 (オリブ油)、3、10 及び 30 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。

IV-1 生存率、一般状態、体重、摂餌量

生存率、一般状態、体重及び摂餌量は、雌雄とも被験物質投与による影響は認められなかった。

IV-2 腫瘍性及び腫瘍関連病変

雄では、肺の細気管支-肺胞上皮腺腫の発生が、媒体対照群で 1 匹 (4%)、3 mg/kg 群で 2 匹 (8%)、10 mg/kg 群で 7 匹 (28%)、30 mg/kg 群で 9 匹 (36%) 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。また、細気管支-肺胞上皮癌の発生が、媒体対照群と 3 mg/kg 群で 0 匹 (0%) に対し、10 mg/kg 群で 2 匹 (8%)、30 mg/kg 群で 4 匹 (16%) に認められ、Peto 検定と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。さらに、腺扁平上皮癌の発生が 3 mg/kg 群で 1 匹 (4%) に認められた。細気管支-肺胞上皮腺腫、細気管支-肺胞上皮癌及び腺扁平上皮癌を合わせた発生は、媒体対照群で 1 匹 (4%)、3 mg/kg 群で 3 匹 (12%)、10 mg/kg 群で 9 匹 (36%)、30 mg/kg 群で 13 匹 (52%) となり、Fisher 検定では 10 mg/kg 以上の群で有意な増加、Peto 検定と Cochran-Armitage 検定でも増加傾向を示した。なお、当センターの雄 rasH2 マウスのヒストリカルコントロールデータ (5 試験、125 匹) では、細気管支-肺胞上皮腺腫の発生率は、平均 6.4% (試験ごとの発生率: 最小 0%~最大 12%) である。また、細気管支-肺胞上皮癌の発生率は、125 匹中 1 匹 (0.8%) と極めて稀な腫瘍で、腺扁平上皮癌の発生はない。本試験における細気管支-肺胞上皮腺腫、及び細気管支-肺胞上皮癌の発生率は、いずれも 10 mg/kg 以上の群でその最大発生率を超えた。

雄の胸腺で悪性リンパ腫の発生が、30 mg/kg 群のみに 3 匹 (12%) 認められ、Peto 検定と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。なお、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のない極めて稀な腫瘍である。

以上の結果から、雄 **rasH2** マウスの肺及び胸腺における腫瘍の発生増加は、がん原性を示す明らかな証拠と判断した。

雌では、肺の細気管支-肺胞上皮腺腫の発生が、媒体対照群で 0 匹 (0%)、3 mg/kg 群で 4 匹 (16%)、10 mg/kg 群で 5 匹 (20%)、30 mg/kg 群で 10 匹 (40%) 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。また、細気管支-肺胞上皮癌の発生が、媒体対照群で 0 匹 (0%)、3 mg/kg 群で 1 匹 (4%)、10 mg/kg 群で 2 匹 (8%)、30 mg/kg 群で 1 匹 (4%) に認められた。細気管支-肺胞上皮腺腫と細気管支-肺胞上皮癌を合わせた発生は、媒体対照群で 0 匹 (0%)、3 mg/kg 群で 5 匹 (20%)、10 mg/kg 群で 7 匹 (28%)、30 mg/kg 群で 11 匹 (44%) となり、Fisher 検定では 3 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。なお、当センターの雌 **rasH2** マウスのヒストリカルコントロールデータ (5 試験、124 匹) では、細気管支-肺胞上皮腺腫の発生率は、平均 4.8% (最小 0%~最大 12%)、細気管支-肺胞上皮癌の発生率は、平均 2.4% (最小 0%~最大 8%)、細気管支-肺胞上皮腺腫と細気管支-肺胞上皮癌を合わせた発生率は、平均 7.3% (最小 0%~最大 16%) である。本試験における細気管支-肺胞上皮腺腫の発生、及び細気管支-肺胞上皮腺腫と細気管支-肺胞上皮癌を合わせた発生は、いずれも 3 mg/kg 以上の群でその最大発生率を超えた。

雌の胸腺で悪性リンパ腫の発生が、30 mg/kg 群のみに 3 匹 (12%) 認められ、Peto 検定と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。なお、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の発生は、124 匹中 1 匹 (0.8%) と極めて稀な腫瘍であり、本試験における 30 mg/kg 群の発生は、その最大発生率を超えた。

雌のハーダー腺で腺腫の発生が、30 mg/kg 群のみに 3 匹 (12%) 認められ、Peto 検定と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。30 mg/kg 群で腺腫の発生がみられた 3 匹のうち 1 匹は腺癌を伴っていた。また、ハーダー腺の過形成の発生が、10 mg/kg 群と 30 mg/kg 群に各 2 匹に認められた。なお、ヒストリカルコントロールデータでは、ハーダー腺の腺腫の発生率は、平均 1.6% (最小 0%~最大 4%) であり、腺癌の発生はない。本試験における 30 mg/kg 群の発生は、その最大発生率を超えた。

以上の結果から、雌 **rasH2** マウスの肺、胸腺及びハーダー腺における腫瘍の発生増加は、がん原性を示す明らかな証拠と判断した。

IV-3 その他の影響

雄の精巣では、精原細胞壊死が 10 mg/kg 以上の群で認められ、これに伴った精巣上体での精子減少、並びに精上皮系細胞の残屑が、それぞれ 30 mg/kg 群で認められた。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が認められた。なお、本試験の用量設

定試験として実施した、rasH2 マウス (non-Tg) を用いた 4 週間毒性試験 (文献 11) (投与用量 : 0、10、30、60 及び 100 mg/kg BW) でも、10 mg/kg 以上の群で精巣重量 (実重量、体重比) の低値、及び精原細胞壊死が認められ、投与用量に対応してその程度は増強した。また、精巣上体での精子数減少が 100 mg/kg 群 (1 例)、精上皮細胞の残屑が 60 mg/kg 以上の群でみられた。投与期間の延長により、精巣上体での精子減少や精上皮系細胞の残屑はより低用量より認められた。

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、MCH 及び MCHC の高値がみられ、用量依存的にその程度は増強した。また、網赤血球比の高値 (雄 10 mg/kg 以上の群、雌 30 mg/kg 群)、血小板数の高値 (雄 10 mg/kg 以上の群)、白血球数の低値 (雌雄 30 mg/kg 群) がみられた。

V 結論

遺伝子改変マウス (rasH2 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 rasH2 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。

VI 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 [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 (27年度実績) 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) ACGIH. 2001. 1,3,5-Triglycidyl-s-Triazinetrione. Documentation of the Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices, 7th Ed. Cincinnati, OH: American Conference of Governmental Industrial Hygienists.
- 7) Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) 2018. List of MAK and BAT Values 2018. p153.
- 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://sdb.db.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/cre_index.cgi [accessed 2018/04/24].
- 9) 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.

- 10) 「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.
- 11) 日本バイオアッセイ研究センター. 2018. 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 rasH2 マウス (nonTg) を用いた強制経口投与による 4 週間毒性試験 (中期がん原性試験予備試験) 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.
- 12) 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.
- 13) 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.
- 14) 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.

Ⅶ 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) 動物飼育環境条件の逸脱

電気設備点検（非常用回路への切換え及び全停電）により、試験計画で規定した飼育環境の許容範囲からの逸脱が以下の通り認められた。

試験番号 (飼育室番号)	逸脱日	内容
試験番号 0912 (202 室：雄)	2018 年 10 月 20 日	空調機の停止 (9:15～9:18、11:35～16:13) 湿度の上昇 最大 77% (15:00～16:00)
試験番号 0913 (203 室：雌)	2018 年 10 月 20 日	空調機の停止 (9:15～9:18、11:35～16:13) 湿度の上昇 最大 80% (15:00～16:00)

電気設備点検が終了し、空調機の運転開始後、動物の一般状態に異常のないことを確認した。動物飼育環境条件の逸脱は、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) 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 0912 (雄)	2018 年 10 月 30 日	1118	瀕死
	2019 年 2 月 4 日	1308	状態異常
	2019 年 2 月 13 日	1001	瀕死
試験番号 0913 (雌)	2019 年 3 月 4 日	2125	瀕死
	2019 年 3 月 14 日	2303	呼吸異常、体重低下

動物番号 1118、1001、2125、2303 は投与中止日当日、1308 は翌日切迫屠殺した。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。

(3) 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 0912 (雄)	2019 年 3 月 26 日	1009
試験番号 0913 (雌)	2019 年 3 月 29 日	2221

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。

(4) 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 0912 (雄)	2019年3月27日	1014, 1215
試験番号 0913 (雌)	2019年3月29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。

(5) 血液生化学的検査のホストサーバ格納データの修正

試験番号 0913 (雌) の解剖日 2 日目の血液生化学的検査のデータを、分析装置からデータ収集端末に取込み後、総コレステロール値 (T-Cho) がトリグリセライド値 (TG)、TG 値が T-Cho 値、AST 値が LDH 値、ALT 値が AST 値及び LDH 値が ALT 値として格納されていた。

原因は、データ収集端末の項目定義ファイルの誤りによるものであり、以下の通り対応した。なお、生化学自動分析装置より出力された生データ (紙媒体) の訂正は発生しない。

試験番号 (性)	対応日	対応
試験番号 0912 (雄)	2019年4月4, 5日	ホストサーバにおいて、データ訂正作業処理を行った。
試験番号 0913 (雌)	2019年3月29日	雌の1日目測定データは、データ収集端末より手入力した。 雌の2日目の測定データは、分析装置からデータ収集端末への再取り込みを行った。

生データがホストサーバ内のデータに正確に反映されていることを確認した。従って、本操作が試験の評価に影響を及ぼすものでないと判断した。

(6) 尿検査データの欠落

投与最終週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	データ欠落動物番号
試験番号 0912 (雄)	2019年3月20日	1003, 1007, 1008, 1013, 1120, 1204, 1207, 1219, 1319, 1325
試験番号 0913 (雌)	2019年3月25日	2002, 2012, 2021, 2023, 2104, 2201, 2207, 2216, 2221, 2224, 2307

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。

(7) 病理ピアレビューの実施

試験計画書には記載がなかったが、病理組織診断終了後、外部専門家 4 名による病理ピアレビューを実施し、肺、胸腺、ハーダー腺及び死因に関わる臓器についての確認を行った。その結果、雌雄各 2 例について肺腫瘍の診断を変更し、雄 1 例について死因にかかわる脾臓腫瘍とその転移先（筋肉）の診断及び死因の変更を行った。

(8) 最終報告書 (TABLE、APPENDIX) 表示のマウスの系統名

本試験で使用した *rasH2* マウスの系統名は、*Jic:CB6F1-Tg rasH2@Jcl* であるが、動物生産業者の系統名表記が 2019 年 5 月 7 日以降、*CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic(tg/wt)* に変更された。当センターのホストコンピューターへの動物系統名登録情報を変更したため、TABLE 及び APPENDIX の動物名称は、*CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic(tg/wt)* と表示されている。