

ブチル 2,3-エポキシプロピル エーテルのマウス  
を用いた吸入によるがん原性試験報告書

試験番号：0438

CAS No.2426-08-6

2005年9月28日

中央労働災害防止協会  
日本バイオアッセイ研究センター

## 標題

ブチル 2,3-エポキシプロピル エーテルのマウスを用いた吸入によるがん原性試験

## 試験目的

ブチル 2,3-エポキシプロピル エーテルをマウスに 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。

## 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  
副所長 山本 静護  
神奈川県秦野市平沢 2445

ブチル 2,3-エポキシプロピル エーテルのマウス  
を用いた吸入によるがん原性試験報告書

試験番号：0438

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、示性式及び分子量 .....	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 .....	6
II-2-1 各群の使用動物数 .....	6
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	8
II-3-3	摂餌量測定	8
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	9
	(1) 剖検	9
	(2) 臓器重量	9
	(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	14
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	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	非腫瘍性病変	18
IV-4	量-反応関係	19

IV-5 他文献との比較等 .....	19
V 結論 .....	20
VI 文献 .....	21

## 要約

ブチル 2,3-エポキシプロピル エーテルのがん原性を検索する目的で Crj:BDF<sub>1</sub> マウス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、ブチル 2,3-エポキシプロピル エーテルを 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 5、15 及び 45 ppm (公比 3) 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。

腫瘍性病変として、雌雄とも鼻腔に血管腫の発生増加が認められた。血管腫が発生した濃度は、雄は 5 ppm 以上、雌は 15 ppm 以上であった。また、少数ではあるが、鼻腔には雌雄とも扁平上皮癌の発生が認められた。

また、鼻腔の呼吸上皮 (立方化、呼吸部の移行上皮の結節状過形成、エオジン好性変化)、呼吸上皮下の血管 (血管拡張)、嗅上皮 (呼吸上皮化生) 及び粘膜下腺 (呼吸上皮化生) に病変の発生がみられた。

以上のように、Crj:BDF<sub>1</sub> マウスを用いてブチル 2,3-エポキシプロピル エーテルの 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、鼻腔に血管腫の発生が認められ、マウスに対するがん原性を示す証拠である。

ブチル 2,3-エポキシプロピル エーテルのがん原性試験における主な腫瘍発生 (マウス雄)

		投与濃度 (ppm)	0	5	15	45	Peto 検定	Cochran- Armitage 検定
		検査動物数	50	49	50	49		
良性 腫瘍	鼻腔	血管腫	0	2	14 **	8 **	↑	↑
		神経鞘腫	0	0	0	1		
	肺	細気管支-肺胞上皮腺腫	7	6	3	1		
	脾臓	血管腫	3	2	2	0		
	肝臓	血管腫	5	5	7	1		
		肝細胞腺腫	11	11	12	1		
	ハーダー腺	腺腫	4	3	7	5		
悪性 腫瘍	鼻腔	扁平上皮癌	0	0	0	2		
		組織球性肉腫	0	2	0	0		
	肺	細気管支-肺胞上皮癌	6	8	5	2		
	リンパ節	悪性リンパ腫	8	13	10	4		
	肝臓	肝細胞癌	5	7	9	2		
		組織球性肉腫	3	2	1	3		
	膀胱	組織球性肉腫	1	3	0 a)	0		

ブチル 2,3-エポキシプロピル エーテルのがん原性試験における主な腫瘍発生 (マウス雌)

		投与濃度 (ppm)	0	5	15	45	Peto 検定	Cochran- Armitage 検定
		検査動物数	50	50	50	50		
良性 腫瘍	鼻腔	血管腫	0	0	2	7 **	↑↑	↑↑
	肺	細気管支-肺胞上皮腺腫	7	1	2	1		
	脾臓	血管腫	0	3	0	0		
	肝臓	血管腫	2	6	1	2		
		肝細胞腺腫	5	2	4	3		
	下垂体	腺腫	8	8	6	3		
	子宮	血管腫	0	3	0	1		
	ハーダー腺	腺腫	3	3	2	1		
悪性 腫瘍	鼻腔	扁平上皮癌	0	0	0	1		
		組織球性肉腫	0	0	1	0		
	肺	細気管支-肺胞上皮癌	3	3	3	1		
	リンパ節	悪性リンパ腫	22	19	18	16		
子宮	組織球性肉腫	6	10	15	15			

a) : 検査動物数 48、他は上段に表示の検査動物数と同じ。

検定結果については生物学的意義を考慮して記載した。

\*\* :  $p \leq 0.01$  で有意 (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)



## I 試験材料

## I-1 被験物質の性状等

## I-1-1 名称等

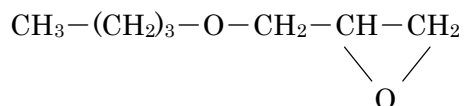
名 称： ブチル 2,3-エポキシプロピル エーテル (Butyl 2,3-epoxypropyl ether)

別 名： n-ブチルグリシジルエーテル、1-n-ブトキシ-2,3-エポキシプロパン

CAS No. : 2426-08-6

## I-1-2 構造式、示性式及び分子量 (文献 1)

構 造 式：



示 性 式：  $\text{C}_4\text{H}_9\text{OCH}_2\text{CHOCH}_2$

分 子 量： 130.21

## I-1-3 物理化学的性状等 (文献 1)

性 状： 無色透明の液体

沸 点： 164°C

蒸 気 圧： 3.2mmHg (25°C)

比 重： 0.908 (25°C/4°C)

溶 解 性： 水に 2%溶解 (20°C)

保 管 条 件： 室温で保管

## I-2 被験物質の使用ロット等

使用ロット番号： LDJ4265 (2001/11/08~2002/02/15)

LDE4969 (2002/02/18~2002/10/04)

WAK4372 (2002/10/07~2003/05/22)

PKQ5714 (2003/05/23~2003/11/05)

製 造 元： 和光純薬工業(株)

グ レ ー ド： 和光一級

純 度： 99.7% (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 (Hitachi 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 (Shimadzu 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、被験物質はブチル 2,3-エポキシプロピル エーテルであることを確認した。

それらの結果は APPENDIX A 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 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 A 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 Crj:BDF<sub>1</sub> マウス (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：21.8～25.6g、雌：17.5～20.7g) を選別し、試験に用いた。

なお、Crj:BDF<sub>1</sub> マウス (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490回の暴露を行った。

#### II-1-4 投与濃度

投与濃度は、5、15及び45 ppmの3段階（公比3）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13週間試験（試験番号0416）の結果（文献6）をもとに決定した。13週間試験は200、100、50、25及び12.5 ppmの濃度で行った。その結果、雄の全投与群と雌の50 ppm以上の群で体重増加の抑制がみられた（対照群に対する最終体重%、200 ppm群：雄78%、雌83%、100 ppm群：雄79%、雌88%、50 ppm群：雄83%、雌95%、25 ppm群：雄94%、雌100%、12.5 ppm群：雄94%、雌100%）。病理組織学的検査では、25 ppm以上の群で雌雄ともに主として鼻腔に変化が見られたが、その程度、内容から、がん原性試験において動物の生存率に大きな影響を及ぼすものではないと考えられた。これらの結果か

ら、がん原性試験の最高濃度は雄の体重増加の抑制をもとに 50 ppm よりやや低い濃度が適当と考えられた。また、最低濃度も 12.5 ppm 群の雄の体重増加の抑制を考慮して、それよりもやや低い濃度が適当と考えた。以上のことから、マウスを用いたがん原性試験の投与濃度は雌雄とも 45 ppm を最高濃度とし、以下、15、5 ppm（公比 3）に設定した。

#### 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) 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（Shimadzu 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 1 に示した。各投与群の被験物質濃度は、その平均値は設定濃度と差がなく、また、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。

### 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）
5 ppm 群	50 匹（1101～1150）	50 匹（2101～2150）
15 ppm 群	50 匹（1201～1250）	50 匹（2201～2250）
45 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 7）。

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（511 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（511 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 B 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 ;  $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$  < 517 室 ;  $22.8 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$ 、518 室 ;  $22.9 \pm 0.3^{\circ}\text{C}$  >

吸入試験室 ;  $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$  < 511 室 ;  $21.9 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  >

吸入チャンバー内 ;  $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$

湿 度 : 検疫室 ;  $55 \pm 15\%$  < 517 室 ;  $53 \pm 1\%$ 、518 室 ;  $52 \pm 1\%$  >

吸入チャンバー内 ;  $55 \pm 15\%$

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 : 検疫室・吸入試験室 ; 15~17 回/時

吸入チャンバー内 ;  $12 \pm 1$  回/時

圧 力 : 吸入チャンバー内 ;  $0 \sim -15 \times 10\text{Pa}$

ケージへの動物の収容方法 : 単飼

ケージの材質・形状・寸法等 :

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

馴化期間 ; ステンレス製 6 連網ケージ (95(W)×116(D)×120(H) mm/匹)

投与期間 ; ステンレス製 5 連網ケージ (100(W)×116(D)×120(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 (30KG $\gamma$ -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) 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 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、AST(GOT)、ALT(GPT)、LDH、ALP、 $\gamma$ -GTP、CK(CPK)、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-3-6 尿検査

投与 103 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（ウロラプスティックス、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、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、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（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。

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、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 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 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として 1~4 にグレード分けし、 $\chi^2$  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  $\chi^2$  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 8）、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 だと思いが、確かでない腫瘍

3：多分 4 だと思いが、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 2, 3、FIGURE 2, 3 及び APPENDIX C 1, 2 に示した。なお、雄では 45 ppm 群で投与期間 2 週目に 1 匹（動物番号 1326）、5 ppm 群で投与期間 16 週目に 1 匹（動物番号 1102）、それぞれ事故死亡したため、45 ppm 群と 5 ppm 群の有効動物数は 49 匹となった。

##### —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：35 匹（70%）、5 ppm 群：35 匹（71%）、15 ppm 群：32 匹（64%）、45 ppm 群：36 匹（73%）であった。

##### —雌—

45 ppm 群の生存率がやや低値であった。

各群の 104 週における生存動物数（生存率）は、対照群：33 匹（66%）、5 ppm 群：31 匹（62%）、15 ppm 群：27 匹（54%）、45 ppm 群：22 匹（44%）であった。

#### Ⅲ-2 一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX C 1, 2 に示した。

##### —雄—

特記すべき所見はみられなかった。

##### —雌—

腹部膨隆が投与群に多く（対照群 4 匹、5 ppm 群 12 匹、15 ppm 群 15 匹、45 ppm 群 10 匹）みられた。これらの動物の多くは内部腫瘤を伴い、また多くは死亡あるいは瀕死に至った。

#### Ⅲ-3 体重

体重の推移を TABLE 2, 3、FIGURE 4, 5 及び APPENDIX D 1, 2 に示した。

##### —雄—

45 ppm 群が投与期間の 5 週以降、対照群に比べ低値であった。また、15 ppm 群は投与期間の終盤、対照群に比べやや低値であった。

最終計測日（104 週）の各投与群の体重は、対照群に対して 5 ppm 群：100%、15 ppm 群：93%、45 ppm 群：76%であった。

—雌—

45 ppm 群が投与期間の 14 週以降、対照群に比べ低値であった。

最終計測日（104 週）の各投与群の体重は、対照群に対して 5 ppm 群：108%、15 ppm 群：107%、45 ppm 群：89%であった。

### Ⅲ-4 摂餌量

摂餌量を TABLE 4, 5、FIGURE 6, 7 及び APPENDIX E 1, 2 に示した。

—雄—

45 ppm 群が投与期間を通じ、対照群に比べ低値であった。

—雌—

45 ppm 群が投与期間の 4 週以降、対照群に比べ低値であった。

### Ⅲ-5 血液学的検査

血液学的検査の結果を TABLE 6 と APPENDIX F 1, 2 に示した。

—雄—

ヘマトクリット値の増加及び白血球数の減少が 45 ppm 群でみられた。

—雌—

変化はみられなかった。

### Ⅲ-6 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を TABLE 7, 8 と APPENDIX G 1, 2 に示した。

—雄—

A/G 比、ALP の増加及び総コレステロール、リン脂質の減少が 45 ppm 群でみられた。

その他、ALT に変化がみられたが、低下性の変化であった。

—雌—

A/G 比、総ビリルビン、ALP、CK、カリウムの増加及びカルシウムの減少が 45 ppm 群でみられた。

その他、カルシウムの減少が 5 ppm 群でみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。また、ALT に変化がみられたが、低下性の変化であった。

### Ⅲ-7 尿検査

尿検査の結果を TABLE 9, 10 と APPENDIX H 1, 2 に示した。

—雌雄—

ケトン体の陽性例の増加が 45 ppm 群でみられた。

### Ⅲ-8 病理学的検査

#### Ⅲ-8-1 剖検

剖検所見を APPENDIX I 1~6 に示した。

—雄—

投与群で発生が増加した所見はなかった。

—雌—

投与群で皮下の浮腫と子宮の結節の発生が増加した。

皮下の浮腫は、対照群で 1 匹、5 ppm 群で 7 匹、15 ppm 群で 8 匹、45 ppm 群で 12 匹にみられた。子宮の結節は、対照群で 8 匹、5 ppm 群で 12 匹、15 ppm 群で 13 匹、45 ppm 群で 16 匹にみられた。

#### 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 11, 12 と APPENDIX J 1, 2、APPENDIX 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。

45 ppm 群では、精巣、心臓、肺、腎臓、脾臓、肝臓の実重量の低値及び副腎、精巣、心臓、肺、腎臓、脳の体重比の高値がみられたが、これらの変化は 45 ppm 群の解剖時体重の低値によるものと思われる。なお、肺と腎臓の体重比では対照群に極めて高い値を示す動物があり、平均値は対照群と 45 ppm 群は同等あるいは対照群が高値であったが、45 ppm 群の肺と腎臓の体重比は統計的には有意な高値であった。

—雌—

被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

45 ppm 群では、心臓、腎臓、肝臓、脳の実重量の低値がみられたが、これらの変化は 45 ppm 群の解剖時体重の低値によるものと思われる。また、脳の体重比の低値が 5 ppm 群でみられたが、5 ppm 群の解剖時体重の高値によるものと思われる。

### 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 13～16 に示した。また、非腫瘍性病変を APPENDIX 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 APPENDIX M 1, 2 に、腫瘍の種類別の発生数を APPENDIX N 1, 2 に、統計解析 (Peto 検定、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定) の結果を APPENDIX O 1, 2 に、転移性病変を APPENDIX P 1～6 に示した。また、本試験でみられた腫瘍について、日本バイオアッセイ研究センターにおけるヒストリカルコントロールデータ (試験ごとの発生率 (最小%～最大%) と平均発生率 (%), 発生匹数/総匹数) を雌雄別にそれぞれ TABLE 17 と 18 に示した。

—雄—

#### 1) 腫瘍性病変

##### <鼻腔>

血管腫の発生は、Peto 検定 (有病率法) と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 15 ppm 群と 45 ppm 群に増加がみられた。この腫瘍は当センターのヒストリカルコントロールデータではこれまでに観察されていない稀な腫瘍である。従って、血管腫の 5、15 及び 45 ppm 群における発生 (2 匹、4%、14 匹、28%、8 匹、16%) は被験物質の暴露によるものと考えられた。血管腫の発生部位は主に鼻腔前方の呼吸部上皮下であった。組織像は鼻腔内腔へ隆起した海綿状血管腫様で、単層の血管内皮に覆われた不規則に拡張した血管腔の増生がみられた。また、正常な血管に比べ、血管内皮に核の大型化と血管内腔への突出が顕著にみられた。血管腫には血栓の形成もみられた。

この他に、45 ppm 群には扁平上皮癌が 2 匹 (4%) に認められた。この腫瘍の発生は統計的有意差を示さなかったが、当センターのヒストリカルコントロールデータではこれまでに観察されていない稀な腫瘍であることから、被験物質の暴露によるものと考えられた。

その他、肺の細気管支-肺胞上皮腺腫と肝臓の肝細胞腺腫の発生が 45 ppm 群で有意に減少した。

#### 2) 非腫瘍性病変

##### <鼻腔>

呼吸上皮、呼吸上皮下の血管、嗅上皮及び粘膜下腺に病変の発生がみられた。

呼吸上皮に立方化が全投与群でみられ、呼吸部の移行上皮には結節状過形成が 15 ppm 以上の群で認められた。また、呼吸上皮のエオジン好性変化が 45 ppm 群で増加した。

呼吸上皮の立方化は、呼吸上皮が線毛を失った立方状の上皮へと変化した所見であり、多層化もみられた。移行上皮の結節状過形成は、移行上皮の一部の組織が結節性に周囲組織から境されるような増生を示す所見であった。

呼吸上皮下には血管拡張が 15 ppm 以上の群で認められた。呼吸上皮下の血管が局所性に粘膜上皮を押し上げるような拡張を示したものを血管拡張として診断した。

嗅上皮の呼吸上皮化生の増加が 15 ppm 以上の群で認められた。嗅上皮の呼吸上皮化生は嗅上皮が呼吸上皮で置き換わる変化で、線毛を有する呼吸上皮の存在を確認して診断した。この変化は鼻腔中央部の鼻腔背側壁と鼻中隔、並びに鼻腔後方の鼻腔背側壁、鼻中隔及び篩骨甲介にみられ、変化が鼻腔中央部にとどまっていたものを軽度、鼻腔中央部から鼻腔後方にかけてみられたものを中等度とした。45 ppm 群には中等度、15 ppm 群には軽度な動物が多かった。

粘膜下の腺には、腺の呼吸上皮化生の増加が 15 ppm 以上の群で認められた。腺の呼吸上皮化生は粘膜下腺が呼吸上皮で置き換わる変化で、線毛を有する呼吸上皮の存在を確認して診断した。また、この病変は先に示した嗅上皮の呼吸上皮化生とともにみられ、45 ppm 群には中等度、15 ppm 群には軽度な動物が多かった。病変の程度が強い 45 ppm 群では、鼻腔後方で鼻腔内にエオジンに淡染する滲出液の貯留もみられた。

その他、脳の鈣質沈着の発生が 45 ppm 群で減少し、腺胃の過形成の程度が 45 ppm 群で弱くなっていた。

—雌—

#### 1) 腫瘍性病変

##### <鼻腔>

血管腫の発生は、Peto 検定（有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 45 ppm 群に増加がみられた。また、血管腫の 15 ppm 群と 45 ppm 群における発生（2 匹、4%、7 匹、14%）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%、平均発生率 0.1%）を超えていた。従って、この腫瘍の発生増加は被験物質の暴露によるものと考えられた。

この他に、45 ppm 群には扁平上皮癌が 1 匹（2%）に認められた。この腫瘍の発生は統計的に有意差を示さなかったが、当センターのヒストリカルコントロールデータではこれまで観察されていない稀な腫瘍の発生であることから、被験物質の暴露によるものと考えられた。

##### <子宮>

組織球性肉腫の発生が、Peto 検定（有病率法、有病率法＋死亡率法）で増加傾向を示し、Fisher 検定で 15 ppm 群と 45 ppm 群に増加がみられた。しかし、組織球性肉腫の 15 ppm 群と 45 ppm 群における発生（各々、15 匹、30%）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 10%～最大 32%、平均発生率 20.1%）であり、この腫瘍の発生増加は被験物質の暴露によるものではないと判断した。なお、剖検で観察された投与群の

皮下の浮腫と子宮の結節の増加は、子宮での組織球性肉腫の発生によるものと考えられる。

その他、肺の細気管支-肺胞上皮腺腫の発生が 5 ppm 群と 45 ppm 群で有意に減少した。

## 2) 非腫瘍性病変

### <鼻腔>

呼吸上皮、呼吸上皮下の血管、嗅上皮及び粘膜下腺に病変の発生が観察された。

呼吸上皮には立方化が全投与群でみられた。また、15 ppm 群と 45 ppm 群の各 1 匹には立方化に扁平上皮化生を伴っていた。呼吸部の移行上皮には結節状過形成が 15 ppm 以上の群で認められた。

呼吸上皮下には血管拡張が 15 ppm 以上の群で認められた。

嗅上皮には呼吸上皮化生が全投与群で発生が増加し、投与濃度に対応した程度の増強がみられた。

粘膜下の腺には呼吸上皮化生の発生増加が 15 ppm 以上の群でみられ、45 ppm 群には中等度、15 ppm 群には軽度な病変の動物が多かった。45 ppm 群では、鼻腔後方でエオジンに淡染する滲出液の貯留もみられた。

その他、鼻腔の呼吸上皮のエオジン好性変化が 15 ppm 以上の群、腺胃の過形成が 45 ppm 群で減少した。

なお、鼻咽頭のエオジン好性変化、脾臓の髓外造血、歯の異型性、副腎の紡錘形細胞過形成の発生に統計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。

## III-8-4 死因

病理学的にみた死亡／瀕死の原因を TABLE 19 に示した。

雄では、特記すべき死因は認められなかった。

雌では、子宮の腫瘍による死亡が投与群に多くみられた。子宮の腫瘍による死亡は対照群では 3 匹であったが、5 ppm 群では 7 匹、15 ppm 群では 13 匹、45 ppm 群では 9 匹であった。

#### IV 考察及びまとめ

ブチル 2,3-エポキシプロピル エーテルのマウスを用いた 2 年間の全身暴露による吸入試験（投与濃度：5、15 及び 45 ppm）によって、腫瘍性病変、腫瘍関連病変と非腫瘍性病変及びこれらの病変を反映する諸々の指標の変化が認められた。

##### IV-1 生存率、一般状態、体重、摂餌量

生存率は、雄には変化はみられなかったが、雌では 45 ppm 群がやや低値であった。

一般状態は、雄には特記すべき所見はみられなかったが、雌では腹部膨隆が投与群に多くみられた。

体重は、雄では 45 ppm 群が投与期間の 5 週以降、低値であった。また、15 ppm 群は投与期間の終盤、やや低値であった。雌は 45 ppm 群が投与期間の 14 週以降、低値であった。

摂餌量は、雌雄とも 45 ppm 群が低値であった。

##### IV-2 腫瘍性及び腫瘍関連病変

雌雄とも鼻腔に腫瘍の発生増加が認められ、それに関連した病変が認められた。

雌雄とも鼻腔に血管腫の発生増加が認められた。血管腫は血管系の良性腫瘍であることから、血管腫の発生増加は、雌雄のマウスに対するがん原性を示す証拠と考えられた。血管腫が発生した濃度は、雄は 5 ppm 以上、雌は 15 ppm 以上であった。

また、45 ppm 群には少数の動物ではあるが、雌雄ともに扁平上皮癌の発生が認められた。この腫瘍は悪性腫瘍に分類されるが、発生数が少ないことから、がん原性を示す明らかな証拠やがん原性を示す証拠とするには不十分と考えた。

血管腫の発生部位は鼻腔前方の呼吸上皮であり、この部位の呼吸上皮には血管拡張が雌雄とも 15 ppm 以上の群で認められた。また、血管腫は血管拡張をきたした血管との連続性がみられた。従って、血管腫の発生と血管拡張との関連が示唆された。

##### IV-3 非腫瘍性病変

雌雄とも鼻腔の呼吸上皮、嗅上皮及び粘膜下腺に変化がみられた。

呼吸上皮には立方化が雌雄とも 5 ppm 以上、移行上皮の結節状過形成が 15 ppm 以上の濃度でみられ、呼吸上皮への傷害性が示された。また、雄の 45 ppm 群には呼吸上皮のエオジン好性変化の発生増加がみられ、この変化は鼻腔の加齢性変化（文献 9）が増強されたものと考えた。嗅上皮には、呼吸上皮化生が雄の 15 ppm 以上、雌の 5 ppm 以上の濃度でみられた。この変化は傷害を受たり欠損した嗅上皮が呼吸上皮に類似した多列線毛上皮に置き換え



られる変化であり（文献 9）、嗅上皮への傷害性が示された。また、粘膜下腺の呼吸上皮化生が雌雄とも 15 ppm 以上の濃度で発生が増加した。

本試験に先立ち実施した 13 週間試験で呼吸上皮に変化がみられた濃度は雌雄とも 50 ppm 以上、嗅上皮に変化がみられた濃度は雌雄とも 25 ppm 以上であり（文献 6）、本試験では、13 週間試験よりも低い濃度で鼻腔への影響が示された。

#### IV-4 量-反応関係

腫瘍の発生増加は、雌雄とも鼻腔にみられた。鼻腔腫瘍（血管腫）の発生増加が認められた濃度は、雄は 5 ppm 以上、雌は 15 ppm 以上であった。

腫瘍以外の影響も雌雄とも鼻腔にみられた。これらの影響が認められた濃度は、雌雄とも 5 ppm 以上（雄：呼吸上皮の立方化、雌：呼吸上皮の立方化、嗅上皮の呼吸上皮化生）であった。

#### IV-5 他文献との比較等

① がん原性：ブチル 2,3-エポキシプロピル エーテルについての報告はない。

類似化学物質であるアリル グリシジル エーテルについては、吸入による長期試験が報告されている。

B6C3F<sub>1</sub> マウスにアリル グリシジル エーテルを 5 及び 10 ppm の濃度で 6 時間/日、5 日/週、102 週間吸入暴露した実験では、投与群の鼻腔に雌雄とも化膿性炎症と呼吸上皮の変性が高率に発生した。呼吸上皮には雌雄とも過形成、異型性、基底細胞過形成、扁平上皮化生も発生し、腺腫の発生が数匹にみられた。粘膜下には血管拡張と血管腫が雌雄とも少数の動物にみられた。また、鼻腺の過形成と嗅上皮の呼吸上皮化生も雌雄とも高い発生率を示した（文献 10）。

② 変異原性：ブチル 2,3-エポキシプロピル エーテルの微生物を用いる変異原性試験は、2 種類のネズミチフス菌 (TA98, TA100) 及び 2 種類の大腸菌 (WP2*uvrA*, WP2*uvrA/pKM101*) を使用し、プレインキュベーション法でラット肝 S9 を用いた代謝活性化による場合及びよらない場合で実施されている。その結果、TA100、WP2*uvrA*、WP2*uvrA/pKM101* の 3 菌株で、代謝活性化による場合及びよらない場合でともに陽性を示している（文献 11）。

ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験では、チャイニーズハムスター培養細胞 (CHL/IU) を使用し、ラット肝 S9 を用いた代謝活性化による場合に陽性であったと報告がある（文献 12）。

## V 結論

Crj:BDF<sub>1</sub> マウスを用いてブチル 2,3-エポキシプロピル エーテルの 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、鼻腔に血管腫の発生が認められ、マウスに対するがん原性を示す証拠である。また、雌雄とも、少数ではあるが、鼻腔に扁平上皮癌の発生がみられた。

## VI 文献

1. U.S. National Library of Medicine, Specialized Information Services 2005. N-Butyl Glycidyl Ether, Chemical/Physical Properties. Hazardous Substances Data Bank(HSDB). Available:<http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search> [accessed 10 May 2005].
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). 2000. ブチル 2,3-エポキシプロピル エーテル, 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. 2003. ブチル 2,3-エポキシプロピル エーテルのマウス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. 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.
8. 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.
9. Herbert RA, Leininger JR. 1999. Nose, Larynx, and Trachea. In: Pathology of the Mouse, Reference and Atlas. Vienna: Cache River Press. 259-292.
10. Renne RA, Brown HR, Jokinen MP. 1992. Morphology of nasal lesions induced in Osborne-Mendel rats and B6C3F1 mice by chronic inhalation of allyl glycidyl ether. Toxicol Pathol. 20: 416-425.

11. 松島泰次郎, 松下秀鶴, 清水英佑. 1982. 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.
12. JETOC. 1985. 動物細胞を用いた変異原性試験の開発に関する研究. 昭和 59 年度 労働省委託研究報告書. 東京 : 日本化学物質安全・情報センター.