メチルアミンのラットを用いた
吸入による13週間毒性試験報告書

試験番号：0701

CAS No. 74-89-5

2009年3月9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

目次

標題 …… i

試験目的 …… i

試験法 …… i

GLP 対応 …… i

試験委託者 …… i

試験施設及び運営管理者 …… i

試験日程 …… ii

試験関係者一覧 …… ii

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～L 2

FIGURES 1～4

APPENDICES 1-1～3

標題

メチルアミンのラットを用いた吸入による 13 週間毒性試験

試験目的

メチルアミンの吸入によるがん原性試験の投与濃度を決定する予備試験として、メチルアミンをラットに 13 週間全身暴露し、その生体影響を検索した。

試験法

本試験は OECD 化学品テストガイドライン 413（亜慢性吸入毒性 : 90 日試験　1981 年 5 月 12 日採択）を参考に実施した。

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　長野　嘉介
神奈川県秦野市平沢 2445

本文目次

頁

要約 …… 1

Ⅰ　試験材料 …… 2

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

Ⅱ　試験方法 …… 4

Ⅱ－1　投与 …… 4
　Ⅱ－1－1　投与経路 …… 4
　Ⅱ－1－2　被験物質の投与方法 …… 4
　Ⅱ－1－3　投与期間 …… 4
　Ⅱ－1－4　投与濃度 …… 4
　Ⅱ－1－5　投与経路、投与期間及び投与濃度の設定理由 …… 4
　Ⅱ－1－6　被験物質の発生方法と濃度調整 …… 5
　Ⅱ－1－7　被験物質濃度の測定 …… 5
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 …… 6
　Ⅱ－2－3　飼育条件 …… 6
　（1）飼育環境 …… 6
　（2）飼料 …… 7
　（3）飲水 …… 7

Ⅱ－3　観察・検査項目及び方法 …… 7
Ⅱ－3－1　動物の生死及び一般状態の観察 …… 7
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 …… 8
Ⅱ－3－6　尿検査 …… 8
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 …… 9
Ⅱ－4　数値処理と統計方法 …… 9
Ⅱ－4－1　数値の取り扱いと表示 …… 9
Ⅱ－4－2　統計処理 …… 10

Ⅲ　試験成績 …… 11

Ⅲ－1　生死状況 …… 11
Ⅲ－2　一般状態 …… 11
Ⅲ－3　体重 …… 11
Ⅲ－4　摂餌量 …… 11
Ⅲ－5　血液学的検査 …… 12
Ⅲ－6　血液生化学的検査 …… 12
Ⅲ－7　尿検査 …… 12
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 …… 13

Ⅳ　考察及びまとめ …… 15

Ⅳ－1　用量－反応関係 …… 15
Ⅳ－2　無毒性量（NOAEL）／最小毒性量（LOAEL） …… 16
Ⅳ－3　がん原性試験の濃度決定 …… 16

Ⅴ　文献 …… 18

Ⅵ　予見することのできなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態及び試験計画書に従わなかったこと …… 20

メチルアミンのラットを用いた
吸入による13週間毒性試験報告書

試験番号：0701

本文

要約

メチルアミンのがん原性を検索する目的で F344/DuCrlCrlj ラットを用いた吸入による 2 年間（104 週間）の試験を実施するに当たり、その投与濃度を決定するための予備試験として本試験（13 週間試験）を実施した。

本試験は、被験物質投与群 5 群と対照群 1 群の計 6 群の構成で、各群雌雄とも 10 匹とし、合計 120 匹を用いた。被験物質の投与は、メチルアミンを 1 日 6 時間、1 週 5 日間、13 週間、動物に全身暴露することにより行った。投与濃度は、雌雄とも 0（対照群）、10、20、40、80 及び 160 ppm（v/v）（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。

メチルアミンの暴露の結果、動物の死亡はみられず、一般状態の観察でも変化はみられなかったが、体重増加の抑制が 160 ppm 群の雌雄に投与期間を通して認められた。また 80 ppm 群の雌雄でも投与期間の前半に軽度な体重増加の抑制がみられた。

血液学的検査と尿検査ではメチルアミンの影響はみられなかった。

血液生化学的検査では、総蛋白、アルブミン、A/G 比、総コレステロール、リン脂質、トリグリセライド、ALP、尿素窒素、カルシウム、カリウムに変化がみられた。

剖検では、メチルアミンの影響と思われる変化はみられなかった。

臓器重量の測定では、副腎の重量増加が雄の 80 ppm 以上の群に、胸腺の重量低下が雄の 160 ppm 群にみられた。

病理組織学的検査では鼻腔に変化がみられた。160 ppm 群の雌雄と 80 ppm 群の雄では、鼻腔の扁平上皮と呼吸上皮に炎症の発生匹数や程度の増加及び潰瘍の発生がみられ、嗅上皮には萎縮がみられた。また、160 ppm 群の雄 1 匹に呼吸上皮の扁平上皮化生がみられた。

以上の結果より、メチルアミンのがん原性試験は雌雄とも最高濃度を 80 ppm とし、以下、20 ppm、5 ppm（公比 4）と決定した。また、本試験におけるメチルアミンのラットに対する 13 週間吸入暴露による無毒性量（NOAEL）は、副腎の重量と鼻腔への影響をエンドポイントとして 40 ppm であると考えられた。

Ⅰ　試験材料

Ⅰ－1　被験物質の性状等

Ⅰ－1－1　名称等

名　　称：　メチルアミン（Methylamine）
CAS No.：　74-89-5

Ⅰ－1－2　構造式及び分子量（文献 1）

構 造 式：

$$H_3C-NH_2$$

分 子 量：　31.06

Ⅰ－1－3　物理化学的性状等（文献 1）

性　　状：　無色の気体
沸　　点：　－6.3℃
蒸 気 圧：　2.65×10^3 mmHg（25℃）
溶 解 性：　水、エタノール、アセトンに可溶
保管条件：　室温で暗所に保管

Ⅰ－2　被験物質の使用ロット等

製　造　元：　三菱ガス化学(株)
規　　格：　工業用製品
純　　度：　99.98%（三菱ガス化学(株) 試験成績表データ）
使用ロット番号：　M70124

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、そのマススペクトルを質量分析計（(株)日立製作所 M-80B）を用いて測定し、そ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、被験物質はメチルアミンであることを確認した。

それらの結果は APPENDIX 1-1 に示した。

Ⅰ－3－2　安定性

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

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

それらの結果は APPENDIX 1-2 に示した。

Ⅰ－4　試験動物

動物は、メチルアミンのがん原性試験で使用する動物種及び系統に合わせ、日本チャールス・リバー(株)（厚木飼育センター：神奈川県厚木市下古沢 795）の F344/DuCrlCrlj ラット（SPF）の雌雄を使用した。

雌雄各 75 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 60 匹（群構成時体重範囲、雄：118～137g、雌：92～101g）を選別し、試験に用いた。

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

Ⅱ　試験方法

Ⅱ－1　投与

Ⅱ－1－1　投与経路

投与経路は全身暴露による経気道投与とした。

Ⅱ－1－2　被験物質の投与方法

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

Ⅱ－1－3　投与期間

投与期間は、1 日 6 時間、原則として 1 週 5 日の暴露で 13 週間とし、計 60 回の暴露を行った。

Ⅱ－1－4　投与濃度

投与濃度は、10、20、40、80 及び 160 ppm（v/v）の 5 段階（公比 2）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の投与濃度を決定するため、週 5 日の暴露で 13 週間とした。

投与濃度は 2 週間試験（試験番号 0681）の結果（文献 3）をもとに決定した。2 週間試験は 0（対照群）、28、83、250、500 及び 750 ppm（v/v）の濃度で行った。その結果、500 ppm 以上の群で雌雄とも死亡がみられた。250 ppm 以下の群では死亡がみられなかった。250 ppm 群は、雌雄ともに体重増加の抑制がみられ（最終体重、雄：対照群の 78%、雌：同 85%）、一般状態の変化として異常呼気音や不整呼吸が観察された。また、病理組織学的検査で雌雄に鼻腔の扁平上皮の炎症、壊死、潰瘍及び呼吸上皮の炎症、壊死、潰瘍、扁平上皮化生、雌に嗅上皮の萎縮がみられたことから、250 ppm は 13 週間試験の最高濃度としては高すぎると考えられた。83 ppm 群は、雄に体重増加の抑制（最終体重、雄：対

照群の 91%、雌：同 99%）がみられ、また、雌雄とも鼻腔の扁平上皮の炎症、壊死、潰瘍及び呼吸上皮の炎症、扁平上皮化生がみられた。しかし、体重及び鼻腔の変化は軽度であり、一般状態には変化がみられなかった。従って、83 ppm は 13 週間試験の最高濃度としてはやや低いと考えられた。これらのことから、13 週間試験の最高濃度は、250 ppm と 83 ppm の中間の濃度、160 ppm が妥当と考えた。また、28 ppm 群まで、雌雄に鼻腔の扁平上皮の炎症、雌に呼吸上皮の炎症、扁平上皮化生がみられたことから、13 週間試験の最低濃度は、28 ppm 以下が望ましいと考えた。

以上のことから、13 週間試験の投与濃度は雌雄とも、160 ppm を最高濃度とし、以下、公比 2 で、80、40、20、10 ppm とした。

Ⅱ－1－6　被験物質の発生方法と濃度調整

被験物質の液化ボンベより得た被験物質の蒸気を清浄空気と混合し、一定濃度にした後、流量計を用いて一定量を吸入チャンバー上部のラインミキサーに供給した。

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

Ⅱ－1－7　被験物質濃度の測定

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

濃度測定結果を TABLE A に示した。各投与群の被験物質濃度は、その平均値と設定濃度の差（（平均値－設定濃度）／設定濃度×100）が 3.0%以内、変動係数（標準偏差／平均値×100）が 6.0%以内であり、高い精度でチャンバー内濃度が管理されていることが示された。

Ⅱ－2　動物管理

Ⅱ－2－1　各群の使用動物数

投与群 5 群及び対照群 1 群の計 6 群を設け、各群雌雄各 10 匹の動物を用いた。

群 名 称	動物数（動物番号）	
	雄	雌
対　照　群	10 匹（1001～1010）	10 匹（2001～2010）
10 ppm 群	10 匹（1101～1110）	10 匹（2101～2110）
20 ppm 群	10 匹（1201～1210）	10 匹（2201～2210）
40 ppm 群	10 匹（1301～1310）	10 匹（2301～2310）
80 ppm 群	10 匹（1401～1410）	10 匹（2401～2410）
160 ppm 群	10 匹（1501～1510）	10 匹（2501～2510）

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 4）。

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（604 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（606 室）で、馴化期間及び投与期間中は、吸入試験室（604 室）の吸入チャンバー内で動物を飼育した。

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

温　　度　　：　検疫室；23±2℃　＜606 室；23.2±0.0℃＞
　　吸入試験室；21±2℃　＜604 室；20.9±0.1℃＞
　　吸入チャンバー内；20～24℃

湿　　度　　：　検疫室；55±15%　＜606 室；56±1%＞
　　吸入試験室；55±15%　＜604 室；59±1%＞
　　吸入チャンバー内；30～70%
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±1 回／時
圧　　力　　：　吸入チャンバー内　；0～－15×10Pa
ケージへの動物の収容方法　　：　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（170(W)×294(D)×176(H) mm/匹）
馴化期間；ステンレス製 6 連網ケージ（125(W)×216(D)×176(H) mm/匹）
投与期間；ステンレス製 5 連網ケージ（150(W)×216(D)×176(H) mm/匹）

（2）飼料

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

なお、試験に使用した飼料の栄養成分についてはオリエンタル酵母工業(株)から自社分析データを使用ロットごとに入手し、保管した。飼料中の夾雑物については(財)日本食品分析センター（東京都渋谷区元代々木町 52-1）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

体重測定は週 1 回行った。また、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　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及びクエン酸ナトリウム入り採血管（下記*印検査項目）に採血した。EDTA-2 カリウム入り採血管の血液は全血を用いて、クエン酸ナトリウム入り採血管の血液は、遠心分離し、得られた血漿を用いて、下記の項目について検査を行った。検査方法は APPENDIX 3 に示した。

検査項目：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、プロトロンビン時間*、活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）*、白血球数、白血球分類

Ⅱ－3－5　血液生化学的検査

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

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

Ⅱ－3－6　尿検査

投与 13 週の検査時まで生存した動物から、新鮮尿を採取し、尿試験紙（マルティスティックス、シーメンスヘルスケア･ダイアグノスティクス）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

全動物について、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：胸腺、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。

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 5）に加えて鼻前庭部の 1 ヶ所で切り出し（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、腹壁等）、胸腺、脾臓、心臓、舌、唾液腺、食道、胃、小腸（十二指腸を含む）、大腸、肝臓、膵臓、腎臓、膀胱、下垂体、甲状腺、上皮小体、副腎、精巣、精巣上体、精嚢、前立腺、卵巣、子宮、腟、乳腺、脳、脊髄、末梢神経（坐骨神経）、眼球、ハーダー腺、筋肉、骨（大腿骨）、肉眼的に変化のみられた器官及び組織

Ⅱ－4　数値処理と統計方法

Ⅱ－4－1　数値の取り扱いと表示

各数値データは測定機器の精度に合わせて表示した。

吸入チャンバー内の被験物質濃度は ppm を単位として、小数点以下第 3 位まで測定し、小数点以下第 2 位を四捨五入して小数点以下第 1 位までを表示した。

体重は g を単位とし、整数値の 1 の位まで測定し、表示した。

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

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

血液学的検査、血液生化学的検査は APPENDIX 3 に示した単位と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非腫瘍性病変は、所見のみられなかった動物をグレード 0、所見のみられた動物は、その所見の程度及び範囲などを基準にしてグレード 1～4 に分け、χ^2 検定を行った。また、尿検査についても対照群と各投与群間との χ^2 検定を行った。

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　生死状況

生死状況を TABLE B 1, 2 に示した。

－雌雄－

動物の死亡はみられなかった。

Ⅲ－2　一般状態

一般状態の観察結果を TABLE C 1, 2 に示した。

－雌雄－

特記すべき所見はみられなかった。

Ⅲ－3　体重

体重の推移を TABLE D 1～4 及び FIGURE 1, 2 に示した。

－雄－

160 ppm 群では投与期間を通して体重増加の抑制がみられた。80 ppm 群は主に投与期間の前半に軽度な体重増加の抑制がみられた。

投与群の最終体重は対照群に対し、10 ppm 群：97%、20 ppm 群：97%、40 ppm 群：97%、80 ppm 群：95%、160 ppm 群：84%であった。

－雌－

160 ppm 群では投与期間を通して体重増加の抑制がみられた。80 ppm 群は主に投与期間の前半に軽度な体重増加の抑制がみられた。また、40 ppm 以下の群の体重も対照群に比べやや低値で推移したが、投与濃度との対応はみられなかった。

投与群の最終体重は対照群に対し、10 ppm 群：94%、20 ppm 群：95%、40 ppm 群：96%、80 ppm 群：95%、160 ppm 群：90%であった。

Ⅲ－4　摂餌量

摂餌量を TABLE E 1～4 及び FIGURE 3, 4 に示した。

－雄－

160 ppm 群の摂餌量は投与期間を通して低値であった。80 ppm 群は主に投与期間の前半に低値であった。

投与群の対照群に対する 13 週間の平均摂餌量は、10 ppm 群：98%、20 ppm 群：97%、

40 ppm 群：96%、80 ppm 群：93%、160 ppm 群：86%であった。

－雌－

80 ppm 以上の群で主に投与期間の前半に摂餌量が低値であった。なお、10 ppm と 20 ppm 群の摂餌量もやや低値であったが、投与濃度との対応はみられなかった。

投与群の対照群に対する 13 週間の平均摂餌量は、10 ppm 群：94%、20 ppm 群：95%、40 ppm 群：98%、80 ppm 群：94%、160 ppm 群：92%であった。

Ⅲ－5　血液学的検査

血液学的検査の結果を TABLE F 1, 2 に示した。

－雌雄－

被験物質の影響と思われる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 G 1, 2 に示した。

－雄－

総蛋白の低値が 80 ppm 以上の群で、総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質、ALT、カルシウムの低値が 160 ppm 群でみられた。また、尿素窒素の高値が 40 ppm 群と 160 ppm 群でみられ、有意差はみられないものの 80 ppm 群の尿素窒素も対照群より高値であった。

その他、80 ppm 以上の群では A/G 比に統計学的に有意な高値が示されたが、それぞれ対照群との差は僅少であり、また、投与濃度に対応した変化ではなかった。

－雌－

総蛋白の低値が 20 ppm 以上の群で、アルブミン、総コレステロール、リン脂質、カルシウムの低値が 160 ppm 群でみられた。また、A/G 比の高値が 80 ppm 以上の群で、ALP、カリウムの高値が 160 ppm 群でみられた。

その他、カリウムの高値が 40 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。

Ⅲ－7　尿検査

尿検査の結果を TABLE H 1, 2 に示した。

－雌雄－

被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

Ⅲ－8　病理学的検査

Ⅲ－8－1　剖検

剖検所見を TABLE I 1, 2 に示した。

－雌雄－

被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

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 J 1, 2 と TABLE K 1, 2 に示した。

－雄－

副腎の実重量の高値が 160 ppm 群に、体重比の高値が 80 ppm 以上の群にみられた。また、胸腺の実重量と体重比の低値が 160 ppm 群にみられた。

その他、心臓、腎臓、脾臓、肝臓の実重量の低値が 160 ppm 群に、心臓、脳の体重比の高値が 80 ppm 以上の群に、精巣、肺、腎臓の体重比の高値が 160 ppm 群にみられたが、これらの変化は 80 ppm 以上の群の搬出時体重の低値によるものと思われる。

－雌－

胸腺の実重量の低値が 10 ppm 群と 160 ppm 群にみられた。

なお、心臓、脾臓、肝臓の実重量の低値が 10 ppm 群と 160 ppm 群に、副腎の実重量の低値が 10 ppm 群に、また、腎臓の体重比の高値が 40 ppm 以上の群に、肺の体重比の高値が 20 ppm 群と 160 ppm 群に、副腎と脳の体重比の高値が 160 ppm 群にみられたが、これらの変化は投与群の搬出時体重の低値（対照群に対する投与群の搬出時体重、10 ppm 群：94%、20 ppm 群：95%、40 ppm 群：96%、80 ppm 群：95%、160 ppm 群：89%）によるものと思われる。

Ⅲ－8－3　病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果を TABLE L 1, 2 に示した。

－雄－

［160 ppm 群］

鼻腔（扁平上皮、呼吸上皮、嗅上皮）に変化がみられた。鼻腔の扁平上皮には炎症（中等度～重度）と潰瘍（軽度～重度）が全動物にみられた。呼吸上皮には炎症（中等度～重度）が全動物にみられ、発生匹数、程度とも対照群に比較して増加していた。また、呼吸上皮には潰瘍（重度）が全動物に、扁平上皮化生（軽度）が 1 匹にみられた。嗅上皮には萎縮（軽

度）が 8 匹にみられた。

［80 ppm 群］

鼻腔（扁平上皮、呼吸上皮、嗅上皮）に変化がみられた。鼻腔の扁平上皮には炎症（軽度）が 4 匹に、潰瘍（重度）が 2 匹にみられた。呼吸上皮には炎症（軽度）が全動物にみられ、発生匹数が対照群に比較して増加していた。嗅上皮には萎縮（軽度）が 1 匹にみられた。

［40 ppm 群、20 ppm 群、10 ppm 群］

いずれの臓器にも被験物質の暴露の影響と思われる変化は認められなかった。

－雌－

［160 ppm 群］

鼻腔（扁平上皮、呼吸上皮、嗅上皮）に変化がみられた。鼻腔の扁平上皮には炎症（軽度～中等度）が全動物にみられ、発生匹数、程度とも対照群に比較して増加していた。また、扁平上皮には潰瘍（軽度～重度）が 5 匹にみられた。呼吸上皮には炎症（軽度～中等度）が 9 匹にみられ、発生匹数、程度とも対照群に比較して増加していた。また、呼吸上皮には潰瘍（軽度～重度）が 7 匹にみられた。嗅上皮には萎縮（軽度）が 1 匹にみられた。

［80 ppm 群、40 ppm 群、20 ppm 群、10 ppm 群］

いずれの臓器にも被験物質の暴露の影響と思われる変化は認められなかった。

以上のように鼻腔の扁平上皮、呼吸上皮、嗅上皮に病変がみられた。

扁平上皮の炎症は扁平上皮への炎症細胞の浸潤であり、鼻前庭とレベル 1 の扁平上皮や粘膜固有層にみられた。また、呼吸上皮の炎症は呼吸上皮への炎症細胞の浸潤であり、程度が強いものでは鼻中隔や甲介の変形や癒着を伴っていた。扁平上皮と呼吸上皮の潰瘍は鼻前庭部の鼻中隔や鼻甲介、上顎甲介にみられ、程度が強いものは潰瘍の深さが骨に達し、骨の破壊や変形もみられた。嗅上皮の萎縮は、レベル 2 の背側に分布する嗅上皮にみられた。

Ⅳ　考察及びまとめ

メチルアミンのがん原性を検索する目的で、F344/DuCrlCrlj ラットを用いた吸入による 2 年間（104 週間）の試験を実施するに当たり、その投与濃度を決定するための予備試験として本試験（13 週間試験）を実施した。

本試験は、投与群 5 群、対照群 1 群の計 6 群（各群雌雄各 10 匹）を設け、メチルアミンの投与濃度は、0（対照群）、10、20、40、80 及び 160 ppm とした。投与期間は 1 日 6 時間、1 週 5 日間の投与（全身暴露による経気道投与）で 13 週間とし、投与期間中、生死及び一般状態の観察、体重、摂餌量の測定、尿検査を行い、投与期間終了後、動物を解剖し、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検観察、臓器重量の測定及び病理組織学的検査を行った。

Ⅳ－1　用量－反応関係

メチルアミンの暴露の結果、動物の死亡はみられず、一般状態の観察でも変化はみられなかったが、体重増加の抑制が 160 ppm 群の雌雄に認められた。また、80 ppm 群の雌雄も投与期間の前半に軽度な体重増加の抑制がみられた。摂餌量は、160 ppm 群の雄は投与期間を通して、160 ppm 群の雌と 80 ppm 群の雌雄は主に投与期間の前半に低値であった。

血液学的検査と尿検査ではメチルアミンの影響はみられなかった。血液生化学的検査では、総蛋白の低値が 80 ppm 以上の群の雌雄及び 20 ppm 群と 40 ppm 群の雌、アルブミンの低値が 160 ppm 群の雌、A/G 比の高値が 80 ppm 以上の群の雌、総コレステロールとリン脂質の低値が 160 ppm 群の雌雄、トリグリセライドの低値が 160 ppm 群の雄でみられた。これらの変化は主に各投与群の摂餌量の低値によるものと思われる。また、ALP の高値が 160 ppm 群の雌、尿素窒素の高値が 40 ppm 以上の群の雄、カルシウムの低値が 160 ppm 群の雌雄、カリウムの高値が 160 ppm 群の雌にみられた。これらのうち、尿素窒素の変化は腎臓への影響を示唆するものと思われたが、病理組織学的検査では腎臓の変化はみられなかった。

剖検では、メチルアミンの影響と思われる変化はみられなかった。

臓器重量の測定では、副腎の重量増加が雄の 160 ppm 群（実重量と体重比）と 80 ppm 群（体重比）に、胸腺の重量低下が雄の 160 ppm 群（実重量と体重比）にみられた。化学物質の強制経口投与によるストレス反応によって、副腎の過形成や重量増加、胸腺と脾臓の萎縮や重量低下が起きることが報告されており（文献 6、7）、本試験でみられたメチルアミン吸入暴露による副腎と胸腺の重量変化は動物がストレス状態にあったことを示唆している。また、雌の 160 ppm 群に胸腺の重量低下（実重量）がみられ、この群もストレス状態にあったことが示唆されたが、雌の 10 ppm 群にも胸腺の重量低下（実重量）が認められるため、投与との関連が明らかでなかった。

病理組織学的検査では鼻腔に変化がみられた。160 ppm 群の雌雄では、鼻腔の扁平上皮と呼吸上皮に炎症または炎症の発生匹数や程度の増加及び潰瘍の発生がみられ、嗅上皮には萎

縮がみられた。また、160 ppm 群の雄 1 匹に呼吸上皮の扁平上皮化生がみられた。80 ppm 群の雄にも、扁平上皮に炎症と潰瘍の発生、呼吸上皮に炎症の発生匹数の増加、嗅上皮に萎縮がみられた。これらの所見は鼻前庭からレベル 2、すなわち鼻腔の前半部に発生し、その程度は軽度から重度であった。本試験の予備試験として行った 2 週間試験では、雌雄とも 28 ppm 群まで鼻腔の扁平上皮や呼吸上皮に炎症等の変化がみられた（文献 3)。しかし、本 13 週間試験では 40 ppm 以下の群の動物の鼻腔にメチルアミンの影響は認められなかった。

メチルアミンは強いアルカリ性であり、皮膚や眼に対し刺激性を有することが報告されている（文献 8)。また、水に可溶な刺激性化学物質を吸入すると鼻腔に沈着し、沈着部に傷害を発生させることが報告されている（文献 9)。160 ppm 群の雌雄と 80 ppm 群の雄の鼻腔病変は、刺激性を有する化学物質の吸入暴露によって生じることが知られている変化と同様である（文献 10)。これらのことから、本試験で観察された高濃度群の鼻腔の所見はメチルアミンの強いアルカリ性と関連する刺激性に起因した変化と考えられる。

その他の臓器及び器官にはメチルアミンの影響と思われる病変の発生匹数の増加や程度の増強は認められなかった。

Ⅳ－2　無毒性量（NOAEL）／最小毒性量（LOAEL）

メチルアミンのラットへの 13 週間吸入暴露により、80 ppm 群の雄では、副腎の重量増加（体重比）及び病理組織所見で鼻腔の扁平上皮の炎症と潰瘍、呼吸上皮の炎症の発生匹数の増加及び嗅上皮の萎縮がみられた。40 ppm 以下の群では、暴露に関連した明らかな毒性影響は認められなかった。従って、本試験におけるメチルアミンのラットに対する 13 週間吸入暴露による無毒性量（NOAEL）は、副腎の重量と鼻腔への影響をエンドポイントとして 40 ppm であると考えられた。

Ⅳ－3　がん原性試験の濃度決定

本試験の結果より、がん原性試験の投与濃度を以下のように設定した。

本試験では動物の死亡はみられなかったが、160 ppm 群で雌雄に体重増加の抑制がみられた。また、臓器重量では雄の副腎と胸腺、病理組織学的検査では雌雄の鼻腔に変化がみられた。特に、最終体重は対照群に対し、雄で 84%、雌で 90%であることから、雄においては 160 ppm はがん原性試験における最大耐量を越えると思われた。80 ppm 群は、体重増加の抑制がみられたが、最終体重は対照群に対し雌雄とも 95%であった。また、病理組織学的検査では雄で鼻腔に変化がみられ、臓器重量（副腎）にも変化がみられた。しかし、鼻腔の病理組織変化は動物の生存に影響を及ぼすものでなく、副腎の重量変化も軽度なものであった。これらの結果より、がん原性試験の最高濃度は 80 ppm が妥当と考えられた。また、がん原性試験の最低濃度は現在の労働現場での許容濃度（ACGIH、TLV-TWA、文献 11）5 ppm を考慮した。以上の

ことから、がん原性試験は雌雄とも最高濃度を 80 ppm とし、以下、20 ppm、5 ppm（公比 4）と決定した。

V　文献

1. U.S. National Library of Medicine, Specialized Information Services 2007. Methylamine Chemical/Physical Properties. Hazardous Substances Data Bank (HSDB). Available: http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB [accessed 2007/01/19].

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

3. 日本バイオアッセイ研究センター. 2007. メチルアミ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.

4. 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.

5. 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.

6. Boyd EM. 1972. Multiposal toxicity syndromes. In: Predictive Toxicometrics. Bristol: Scientechnica LTD, 367-378.

7. Boyd EM. 1972. Uniposal toxicity syndromes. In: Predictive Toxicometrics. Bristol: Scientechnica LTD, 271-296.

8. Beard RR, Noe JT. 1981. Aliphatic and Alicyclic Amines. In: Patty's Industrial Hygiene and Toxicology, 3rd ed. (Clayton GD, Clayton FE. eds.). New York, NY：John Wiley and Sons. 3135-3173.

9. Morgan KT, Monticello TM. 1990. Airflow, gas deposition, and lesion distribution in the nasal passages. Environmental Health Perspectives 88, 209-218.

10. Jiang XZ, Morgan KT, Beauchamp RO Jr. 1984. Histopathology of acute and subacute nasal toxicity. In: Toxicology of the Nasal Passages (Barrow CS. ed). Washington: Hemisphere Publishing Corporation, 51-66.

11. ACGIH. 2007. Methylamine. Documentation of the Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices. 7th ed. Cincinnati, OH: American Conference of Governmental Industrial Hygienists.

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

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

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