メチルアミンのマウスを用いた
吸入による13週間毒性試験報告書

試験番号：0708

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

メチルアミンのマウス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、メチルアミンをマウスに 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

メチルアミンのマウスを用いた
吸入による13週間毒性試験報告書

試験番号：0708

本文

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 …… 5
　Ⅱ－2－1　各群の使用動物数 …… 5
　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 …… 7
Ⅱ－3－3　摂餌量測定 …… 7
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 …… 8
（1）剖検 …… 8
（2）臓器重量 …… 8
（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 …… 9

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 …… 12
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 …… 13
Ⅲ－8　病理学的検査 …… 13
Ⅲ－8－1　剖検 …… 13
Ⅲ－8－2　臓器重量 …… 13
Ⅲ－8－3　病理組織学的検査 …… 14

Ⅳ　考察及びまとめ …… 16

Ⅳ－1　用量－反応関係 …… 16
Ⅳ－2　無毒性量（NOAEL）／最小毒性量（LOAEL） …… 17
Ⅳ－3　がん原性試験の濃度決定 …… 17

Ⅴ　文献 ･･･ 19

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 ･･･ 21

要約

メチルアミンのがん原性を検索する目的で B6D2F1/Crlj マウス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、メチルアミンの影響と思われる動物の死亡はみられなかったが、一般状態の観察では、投与期間の後半に 160 ppm 群の雌雄で異常呼気音や不整呼吸がみられた。また、80 ppm 以上の群の雌雄で投与濃度に対応した体重増加の抑制と摂餌量の低値が投与期間を通して認められた。

血液学的検査では、白血球百分率で単球比及び好酸球比にわずかな変化がみられた。

血液生化学的検査では、トリグリセライド、リン脂質の低値が 80 ppm 以上の群の雄、ALP の高値が 80 ppm 以上の群の雌雄でみられた。

剖検では、胸腺の萎縮が 160 ppm 群の雌雄各 1 匹にみられた。

臓器重量の測定では、脾臓の重量低下が 80 ppm 以上の群の雌にみられた。

病理組織学的検査では鼻腔に変化がみられた。160 ppm 群では、雌雄とも鼻腔の呼吸上皮に炎症、潰瘍、エオジン好性変化、嗅上皮に萎縮、呼吸上皮化生がみられ、雌では嗅上皮のエオジン好性変化もみられた。雄の投与群では、呼吸上皮の炎症、潰瘍、エオジン好性変化は 20 ppm 群まで、嗅上皮の萎縮は 80 ppm 群までみられた。雌では、呼吸上皮の炎症、エオジン好性変化は 10 ppm 群まで、呼吸上皮の潰瘍、嗅上皮の萎縮、呼吸上皮化生及びエオジン好性変化は 80 ppm 群までみられた。

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 45 ppm とし、以下、15 ppm、5 ppm（公比 3）と決定した。また、本試験におけるメチルアミンのマウスに対する 13 週間吸入暴露による最小毒性量（LOAEL）は、鼻腔への影響をエンドポイントとして 10 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 B6D2F1/Crlj マウス（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：22.9～25.9g、雌：19.3～22.0g）を選別し、試験に用いた。

なお、がん原性試験に B6D2F1/Crlj マウス（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 62 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0682）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 以上の群の雌雄と250 ppm 群の雌に死亡がみられた。83 ppm 以下の群では死亡がみられなかった。83 ppm 群は、雌の体重が対照群に比べやや低値（最終体重、雄：対照群の97%、雌：同94%）であった。また、雌雄とも鼻腔の呼吸上皮の炎症、壊死、潰瘍、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、雌雄に鼻腔の呼吸上皮の炎症、扁平上皮化生、雄に呼吸上皮の壊死、潰瘍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 2.4%以内、変動係数（標準偏差／平均値×100）が 5.1%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（605 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℃　＜605 室；23.1±0.1℃＞
　　吸入試験室；21±2℃　＜604 室；21.9±0.1℃＞
　　吸入チャンバー内；20～24℃
湿　　度　：　検疫室；55±15%　＜605 室；53±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（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（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、動物の死亡発見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、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、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（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）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：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）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、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 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。

－雄－

被験物質の影響と思われる動物の死亡はみられなかった。

なお、投与 5 週の 7 日目に 40 ppm 群の 1 匹を状態悪化（横臥、内部腫瘤、呼吸緩徐、体温低下）により切迫屠殺したが、病理組織学的検査の結果、水腎症であった。また、2 週の 2 日目に 160 ppm 群の 1 匹（動物番号 1510）、4 日目に 20 ppm 群の 1 匹（動物番号 1205）がそれぞれ死亡したが、これらは自動給水装置のノズルの不良により飲水ができず衰弱死したもので、事故死亡とした。その結果、20 ppm 群と 160 ppm 群の有効動物数はそれぞれ 9 匹となった。

－雌－

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。

－雄－

160 ppm 群で投与 7 週以降、不整呼吸が 2 匹、異常呼気音が 4 匹にみられた。

なお、投与群には上記、40 ppm 群の切迫屠殺動物以外にも内部腫瘤がみられたが、これらの動物は病理組織学的検査の結果、80 ppm 群の 1 匹を除いて水腎症であった。

－雌－

160 ppm 群で投与 9 週以降、異常呼気音が 6 匹（総計）にみられた。

Ⅲ－3　体重

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

－雄－

80 ppm 以上の群で体重増加の抑制が投与期間を通してみられた。また、20 ppm 群と 40 ppm 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：97%、20 ppm 群：93%、40 ppm 群：95%、80 ppm 群：81%、160 ppm 群：73%であった。

－雌－

80 ppm 以上の群で体重増加の抑制が投与期間を通してみられた。

投与群の最終体重は対照群に対し、10 ppm 群：102%、20 ppm 群：102%、40 ppm 群：102%、80 ppm 群：91%、160 ppm 群：83%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－

80 ppm 以上の群の摂餌量は投与期間を通して低値であった。

投与群の対照群に対する 13 週間の平均摂餌量は、10 ppm 群：106%、20 ppm 群：97%、40 ppm 群：98%、80 ppm 群：84%、160 ppm 群：81%であった。

－雌－

80 ppm 以上の群の摂餌量は投与期間を通して低値であった。

投与群の対照群に対する 13 週間の平均摂餌量は、10 ppm 群：100%、20 ppm 群：101%、40 ppm 群：98%、80 ppm 群：87%、160 ppm 群：79%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。

－雄－

白血球百分率で単球比の低値が 40 ppm 以上の群で、好酸球比の低値が 160 ppm 群でみられた。

その他、赤血球数の高値が 80 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。

－雌－

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－

トリグリセライド、リン脂質の低値及び ALP の高値が 80 ppm 以上の群でみられた。

その他、トリグリセライドの低値が 20 ppm 群で、総蛋白とアルブミンの低値が 40 ppm 群で、A/G 比の高値と総コレステロールの低値が 80 ppm 群でみられたが、いずれも投与濃度に対応した変化ではなかった。

－雌－

ALP の高値が 80 ppm 以上の群でみられた。

その他、アルブミンの高値が 80 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。

－雄－

被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

なお、ケトン体陽性例の増加が 80 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。

－雌－

ケトン体陽性例の増加が 160 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 TABLE I 1, 2 に示した。

－雌雄－

胸腺の萎縮が 160 ppm 群に 1 匹みられた。

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 J 1, 2 と TABLE K 1, 2 に示した。

－雄－

被験物質の暴露の影響と思われる変化はみられなかった。

なお、投与群では胸腺、心臓、腎臓、脾臓、肝臓の実重量の低値及び副腎、精巣、心臓、肺、腎臓、脾臓、脳の体重比の高値がみられたが、これらの変化は投与群の搬出時体重の低値（20 ppm 以上の群は統計学的に有意な低値）によるものと思われる。

－雌－

脾臓の実重量と体重比の低値が 80 ppm 以上の群にみられた。

その他、80 ppm 以上の群では胸腺、副腎、卵巣、心臓、腎臓、肝臓、脳の実重量の低値、肺、腎臓、脳の体重比の高値がみられたが、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。

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（呼吸上皮、嗅上皮）に変化がみられた。鼻腔の呼吸上皮には炎症（軽度～重度）が全動物に、潰瘍（軽度～重度）が 7 匹に、エオジン好性変化（軽度）が 4 匹に認められ、嗅上皮には萎縮（軽度～中等度）が全動物に、呼吸上皮化生（軽度）が 4 匹に認められた。

剖検所見で胸腺の萎縮を認めた個体（1 匹）には、病理組織学的にも萎縮（重度）が認められた。

［80 ppm 群］

鼻腔（呼吸上皮、嗅上皮）に変化がみられた。鼻腔の呼吸上皮には炎症（軽度～中等度）が全動物に、潰瘍（軽度～重度）が 4 匹に、エオジン好性変化（軽度）が全動物に認められ、嗅上皮には萎縮（軽度）が 9 匹に認められた。

［40 ppm 群］

鼻腔の呼吸上皮に炎症（軽度～中等度）が 9 匹に、エオジン好性変化（軽度）が 6 匹に認められた。

水腎症を有する個体（1 匹）に、胸腺の萎縮（重度）がみられた。

［20 ppm 群］

鼻腔の呼吸上皮に炎症（軽度～中等度）が 7 匹に、潰瘍（軽度）が 1 匹に、エオジン好性変化（軽度）が 5 匹に認められた。

［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（呼吸上皮、嗅上皮）に変化がみられた。鼻腔の呼吸上皮には炎症（軽度～重度）が全動物に、潰瘍（重度）が 7 匹に、エオジン好性変化（軽度）が 7 匹に認められ、嗅上皮には萎縮（軽度）が全動物に、呼吸上皮化生（軽度）が 4 匹に、エオジン好性変化（軽度）が 5 匹に認められた。

剖検所見で胸腺の萎縮を認めた個体（1 匹）には、病理組織学的にも萎縮（中等度）が認められた。

［80 ppm 群］

鼻腔（呼吸上皮、嗅上皮）に変化がみられた。鼻腔の呼吸上皮には炎症（軽度～中等度）が全動物に、潰瘍（軽度～重度）が 8 匹に、エオジン好性変化（軽度）が全動物に認めら

れ、嗅上皮には萎縮（軽度）が 7 匹に、呼吸上皮化生（軽度）が 1 匹に、エオジン好性変化（軽度）が 2 匹に認められた。

［40 ppm 群］

鼻腔の呼吸上皮に炎症（軽度～中等度）とエオジン好性変化（軽度）が全動物に認められた。

［20 ppm 群］

鼻腔の呼吸上皮に炎症（軽度～中等度）とエオジン好性変化（軽度）が全動物に認められた。

［10 ppm 群］

鼻腔の呼吸上皮に炎症（軽度）が 2 匹に、エオジン好性変化（軽度～中等度）が 9 匹に認められた。

以上のように鼻腔の呼吸上皮、嗅上皮に病変がみられた。

呼吸上皮の炎症はレベル 1 にみられ、呼吸上皮及び粘膜固有層への炎症細胞の浸潤が認められた。呼吸上皮の潰瘍はレベル 1 の鼻甲介、鼻中隔、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。呼吸上皮のエオジン好性変化はレベル 1 の上顎甲介、上顎甲介から鼻腔底部にかけての側壁に分布する呼吸上皮にみられた。嗅上皮のエオジン好性変化はレベル 2 の背側から鼻甲介内側面にかけて分布する嗅上皮にみられた。嗅上皮の萎縮と呼吸上皮化生は、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、B6D2F1/Crlj マウス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、暴露の影響と思われる動物の死亡はみられなかったが、一般状態の観察では、投与期間の後半に 160 ppm 群の雌雄で異常呼気音や不整呼吸がみられた。また、80 ppm 以上の群の雌雄で投与濃度に対応した体重増加の抑制と摂餌量の低値が投与期間を通して認められた。

血液学的検査では、白血球百分率で単球比の低値が 40 ppm 以上の群の雄で、好酸球比の低値が 160 ppm 群の雄でみられたが、血液系への影響を示唆する病理組織所見は認められず、本試験結果からは毒性的意味は不明であった。血液生化学的検査では、トリグリセライド、リン脂質の低値が 80 ppm 以上の群の雄、ALP の高値が 80 ppm 以上の群の雌雄でみられた。トリグリセライド、リン脂質の低値は摂餌量の低値によるものと思われる。また、ALP は骨疾患や肝・胆道疾患等により高値になるが、他の検査、観察ではそれらに関連すると思われる変化は認められなかった。尿検査ではケトン体陽性例の増加が 160 ppm 群の雌でみられただけであった。

臓器重量の測定では、脾臓の重量低下（実重量と体重比）が 80 ppm 以上の群の雌にみられた。また、胸腺については、臓器重量は 80 ppm 以上の群の雌雄に実重量の低下がみられたが、体重比では対照群との間に差が認められないため、体重の低値に伴う変化と推測した。しかし、剖検では、胸腺の萎縮が 160 ppm 群の雌雄各 1 匹にみられ、これらの変化は病理組織学的にも確認された。化学物質の強制経口投与によるストレス反応によって、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）、本試験でみられた脾臓の重量低下と胸腺の萎縮は動物がストレス状態にあったことを示唆している。

病理組織学的検査では鼻腔に変化がみられた。160 ppm 群では、雌雄とも鼻腔の呼吸上皮に炎症、潰瘍、エオジン好性変化、嗅上皮に萎縮、呼吸上皮化生がみられ、雌では嗅上皮のエオジン好性変化がみられた。その程度は軽度から重度であった。嗅上皮の呼吸上皮化生は嗅上皮の傷害に対する修復性の変化であり（文献 8）、嗅上皮の傷害とその修復過程が同時に

進んでいたと考えられた。呼吸上皮と嗅上皮のエオジン好性変化は老齢動物に自然発生するが（文献 5、8)、化学物質の吸入により発生が増加することが報告されている（文献 9、10)。雄では、呼吸上皮の炎症、潰瘍、エオジン好性変化は 20 ppm 群まで、嗅上皮の萎縮は 80 ppm 群までみられた。雌では、呼吸上皮の炎症、エオジン好性変化は 10 ppm 群まで、呼吸上皮の潰瘍、嗅上皮の萎縮、呼吸上皮化生、エオジン好性変化は 80 ppm 群までみられた。本試験の予備試験として行った 2 週間試験では、雌雄とも鼻腔の呼吸上皮に炎症、壊死、潰瘍や扁平上皮化生が最低濃度の 28 ppm 群までみられており（文献 3)、本試験ではより低濃度まで呼吸上皮にメチルアミンの影響が認められた。

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 11)。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 12)。鼻腔にみられた呼吸上皮の炎症、潰瘍、嗅上皮の萎縮、呼吸上皮化生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（文献 9)。これらのことから、本試験で観察された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。また、本試験で観察された異常呼気音、不整呼吸はメチルアミンの刺激性に起因した鼻腔の傷害に伴う変化と考えられる。

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）

メチルアミンのマウスへの 13 週間吸入暴露により、病理組織学的検査で最低濃度群の 10 ppm 群（雌）まで呼吸上皮の炎症がみられた。従って、本試験におけるメチルアミンのマウスに対する 13 週間吸入暴露による最小毒性量（LOAEL）は、鼻腔への影響をエンドポイントとして 10 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、80 ppm 以上の群の雌雄に体重増加の抑制がみられ、病理組織学的検査では鼻腔の呼吸上皮に炎症、潰瘍、嗅上皮に萎縮や呼吸上皮化生等の変化がみられた。80 ppm 群の最終体重は対照群に対し、雄で 81%、雌で 91%であることから、雄においては 80 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。40 ppm 群は、病理組織学的検査で雌雄に鼻腔の呼吸上皮に変化がみられたが、鼻腔の変化は動物の生存に影響を及ぼすものでなく、体重増加の抑制もみられなかった。これらの結果より、がん原性試験の最高濃度は 40 ppm 前後が妥当と考えられた。低濃度群では、最低投与群の

10 ppm 群（雌）まで鼻腔の呼吸上皮の炎症がみられたことから、がん原性試験の最低濃度は 10 ppm 未満が望ましいと考えた。以上の結果及び現在の許容濃度（ACGIH、TLV-TWA、文献 13）が 5 ppm であることを考慮にいれ、がん原性試験は雌雄とも最高濃度を 45 ppm とし、以下、15 ppm、5 ppm（公比 3）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. メチルアミンのマウス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. 長野嘉介. 2000. 各論 1 章，上部気道，毒性病理組織学（日本毒性病理学会編）. 名古屋: 日本毒性病理学会, 99-116.

9. 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.

10. Monticello TM, Morgan KT, Uraih L. 1990. Nonneoplastic nasal lesions in rats and mice. Environmental Health Perspectives 88, 249-274.

11. 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.

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

13. 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、20 ppm 群の雄 1 匹（動物番号 1205）と 160 ppm 群の雄 1 匹（動物番号 1510）が自動給水装置のノズルの不良により衰弱死したが何れも事故死亡とした。従って、雄 20 ppm 群と 160 ppm 群の有効動物数はそれぞれ 9 匹となった。

また、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（ウロラブスティックス）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。