

ブチルアルデヒドのラットを用いた
吸入によるがん原性試験報告書

試験番号：0914

CAS No. 123-72-8

2022 年 3 月 17 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	
試験目的	
試験法	
GLP 対応	
動物福祉	
厚生労働省担当課	
試験施設及び運営管理者	
試験日程	
試験関係者一覧	
試資料の保管	
試験責任者（最終報告書作成者）の署名、捺印及び日付	
陳述書	
信頼性保証証明書	
本文	
TABLES	A ~ Q 2
FIGURES	1 ~ 7
PHOTOGRAPHS	1 ~ 6
APPENDICES	1-1 ~ 3
(APPENDIX 4-1 ~ 14-2 (個体表) は、報告書添付の CD に収録)	

標題

ブチルアルデヒドのラットを用いた吸入によるがん原性試験

試験目的

本試験は、ブチルアルデヒドをラットに 104 週間全身暴露（経気道投与）し、そのがん原性を検索することを目的とした。

試験法

本試験は「がん原性試験による調査の基準」（平成 9 年 3 月 11 日労働省労働基準局長基発第 144 号）に準拠し、OECD 化学品テストガイドライン 451（発癌性試験 2009 年 9 月 7 日採択）を参考にして実施した。

GLP 対応

本試験は、「労働安全衛生規則第 34 条の 3 第 2 項の規定に基づき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）に準じて実施した。

動物福祉

本試験は、「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）及び「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）を遵守して行った。

本試験は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 0224）。

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

ブチルアルデヒドのラットを用いた
吸入によるがん原性試験報告書

試験番号：0914

本文

本文目次

	頁
要約	1
試験材料	3
-1 被験物質の性状等	3
-1-1 名称等	3
-1-2 構造式及び分子量	3
-1-3 物理化学的性状等	3
-2 被験物質等	3
-2-1 使用被験物質	3
-2-2 被験物質の製造量等	4
-2-3 被験物質の主な用途	4
-2-4 許容濃度・発がん分類	4
-3 被験物質の特性	4
-3-1 同一性	4
-3-2 安定性	4
-4 試験動物	5
試験方法	6
-1 投与	6
-1-1 投与経路	6
-1-2 被験物質の投与方法	6
-1-3 投与期間	6
-1-4 投与濃度	6
-1-5 投与経路、期間、時間及び濃度の設定理由	6
-1-6 被験物質の発生方法及び濃度調整	7
-1-7 被験物質濃度の測定	7
-2 動物管理	8
-2-1 群の構成及び各群の使用動物数	8
-2-2 群分け方法	8

-2-3 動物の個体識別	8
-2-4 動物飼育室並びに他試験及び異種動物との区別	8
-2-5 飼育条件	9
(1) 飼育環境	9
(2) 飼料	9
(3) 飲水	10
-3 観察・検査項目及び方法	10
-3-1 動物の生死及び一般状態の観察	10
-3-2 体重測定	10
-3-3 摂餌量測定	10
-3-4 尿検査	10
-3-5 血液学的検査	11
-3-6 血液生化学的検査	11
-3-7 病理学的検査	11
(1) 肉眼的観察	11
(2) 臓器重量	11
(3) 病理組織学的検査	11
-3-8 病理ピアレビュー	12
-4 数値処理と統計方法	12
-4-1 数値の取扱いと表示	12
-4-2 統計処理	12
試験成績	14
-1 生存率	14
-2 一般状態	14
-3 体重	14
-4 摂餌量	15
-5 尿検査	16
-6 血液学的検査	16
-7 血液生化学的検査	17
-8 病理学的検査	18
-8-1 肉眼的観察	18
-8-2 臓器重量	18
-8-3 病理組織学的検査	19
(1) 腫瘍性病変	19

(2) 非腫瘍性病変	20
-8-4 死因	21
考察及びまとめ	23
-1 生存率、一般状態、体重等	23
-2 腫瘍性病変及び腫瘍関連病変	24
-3 非腫瘍性病変	24
-4 死因等その他の影響	25
-5 最大耐量 (Maximum Tolerated Dose (MTD))	25
-6 他文献との比較	26
結論	28
文献	29
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	31

要約

ブチルアルデヒドのがん原性を検索する目的で F344/DuCrI CrIj ラット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、対照群 1 群及び被験物質投与群 3 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、ブチルアルデヒドを 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 0 (対照群)、300、1,000 及び 3,000 ppm (体積比 v/v) とし、観察・検査として、一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、臓器重量測定及び病理組織学的検査を行った。

雄の生存率は、対照群と各投与群との間に差はなく推移した。一方、雌は 3,000 ppm 群で生存率が低下し、多くが餌の嚥下障害による窒息死であった。一般状態の観察では、雌雄とも 3,000 ppm 群で投与期間後半から異常呼吸音が観察された。体重では、体重増加の抑制が、雌雄とも 3,000 ppm 群で投与 1 週から 104 週まで継続してみられた。また、雌の 300 ppm 群を除く雌雄の 1,000 ppm 以下の群でも、多くの週で体重の低値がみられた。摂餌量では、雄の 3,000 ppm 群で 1 週から 104 週まで継続して有意な低値がみられ、雌でも 3,000 ppm 群で 12、13 週を除く 1 週から 14 週、さらに 86 週から 104 週までの期間、継続して有意な低値がみられた。また、1,000 ppm 以下の群では、雄で低値が散見され、雌では高値や低値がまれにみられた。血液学的検査では、雄の 3,000 ppm 群で赤血球数及びヘマトクリット値の高値がみられた。病理組織学的検査では、雌雄とも 3,000 ppm 群で鼻腔に扁平上皮癌の発生増加がみられ、Fisher 検定、Peto 検定及び Cochran-Armitage 検定で有意な増加が示された。また、鼻腔では扁平上皮癌に加え、雄の 3,000 ppm 群で腺扁平上皮癌、癌肉腫及び肉腫 NOS が各 1 匹、雌でも鼻腔の扁平上皮乳頭腫の発生が 1 匹にみられた。さらに、雌雄とも鼻腔に前腫瘍性病変と考えられる扁平上皮過形成が 3,000 ppm 群、呼吸上皮の扁平上皮化生が 1,000 ppm 以上の群で増加した。慢性毒性影響は、雌雄ともに鼻腔、喉頭、気管、眼 (角膜) 等にみられ、角膜の炎症及び変性が最低濃度の 300 ppm 群までみられた。

以上のように、F344/DuCrI CrIj ラットを用いて、ブチルアルデヒドの 2 年間 (104 週間) にわたる吸入によるがん原性試験を実施した結果、雌雄とも鼻腔で腫瘍の発生増加がみられたことから、雌雄ラットに対するがん原性を示す明らかな証拠 (Clear evidence of carcinogenic activity) が得られたと結論した。

ブチルアルデヒドのがん原性試験における主な腫瘍発生（ラット 雄）

投 与 濃 度 (ppm)		0	300	1,000	3,000	Peto 検定	Cochran- Armitage 検定
検査動物数		50	50	50	50		
皮膚 鼻腔	角化棘細胞腫	3	1	2	1		
	扁平上皮癌# (A)	0	0	0	19 **	↑ ↑	↑ ↑
	癌肉腫# (B)	0	0	0	1		
	腺扁平上皮癌# (C)	0	0	0	1		
	A + B + C	0	0	0	21 **	↑ ↑	↑ ↑
喉頭	扁平上皮癌#	0	0	0	1		
肝臓	肝細胞腺腫	4	5	1	3		
脾臓	島細胞腺腫	3	1	3	0		
下垂体	腺腫	5	4	8	2		
甲状腺	C-細胞腺腫	10	10	14	8		
	C-細胞癌#	4	0	1	0		
副腎	褐色細胞腫	2	2	5	1		
	悪性褐色細胞腫#	3	1	0	0		
精巣	間細胞腫	42	46	41	44		
包皮腺	腺腫	3	0	1	0		
皮下	線維腫	2	5	3	2		
鼻腔	肉腫 NOS#	0	0	0	1		
脾臓	単核球性白血病#	12	14	9	8		

ブチルアルデヒドのがん原性試験における主な腫瘍発生（ラット 雌）

投 与 濃 度 (ppm)		0	300	1,000	3,000	Peto 検定	Cochran- Armitage 検定
検査動物数		50 注	50	50	50 注		
鼻腔	扁平上皮乳頭腫 (A)	0	0	0	1		
	扁平上皮癌# (B)	0	0	0	8 **	↑ ↑	↑ ↑
	A + B	0	0	0	9 **	↑ ↑	↑ ↑
下垂体	腺腫	6	9	7	4		
	腺癌#	7	1 *	2	3		
甲状腺	C-細胞腺腫	5	10	3	5		
	C-細胞癌#	4	1	1	0		
乳腺	線維腺腫	7	6	5	1 *		↓
脾臓	単核球性白血病#	11	7	4 *	3 *		↓
子宮	子宮内膜間質ポリープ	6	9	13	7		

上段：上皮系腫瘍、下段：非上皮系腫瘍、#：悪性腫瘍、注：下垂体の検索動物数 49

*: p 0.05 で有意

**: p 0.01 で有意

(Fisher 検定)

↑ : p 0.05 で有意増加

↑↑ : p 0.01 で有意増加

(Peto, Cochran-Armitage 検定)

↓ : p 0.05 で有意減少

↓↓ : p 0.01 で有意減少

(Cochran-Armitage 検定)

試験材料

－1 被験物質の性状等

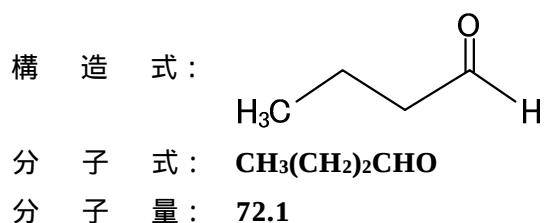
－1－1 名称等

名 称： ブチルアルデヒド (Butyraldehyde)

別 名： ブタナール (Butanal)

CAS No. : 123-72-8

－1－2 構造式及び分子量 (文献 1)



－1－3 物理化学的性状等 (文献 1)

性 状： 刺激臭のある無色の液体

相対蒸気密度： 2.5 (空気=1)

沸 点： 74.8

蒸 気 圧： 12.2 kPa (20)

溶 解 性： 7 g/100 mL (水)

保 管 条 件： 室温、暗所

－2 被験物質等

－2－1 使用被験物質 (文献 2)

製 造 元： 富士フイルム和光純薬(株)

規 格： 和光一級

純 度： 99.8%以上 (富士フイルム和光純薬(株)検査成績データ)

ロ ッ ト 番 号： APJ5267 (純度：99.8%)、KCP5953 (純度：99.9%)
KCM1296 (純度：99.9%)、KCK4238 (純度：99.8%)
ESP6381 (純度：99.9%)

－2－2 被験物質の製造量等（文献 3）

ブチルアルデヒドの輸出・輸入数量（2020）は、輸出量は 7,887,898 kg、輸入量は 5,103,858 kg である。

－2－3 被験物質の主な用途（文献 1、3）

合成樹脂原料、2－エチルヘキシルアルコール原料、ゴム加硫促進剤

－2－4 許容濃度・発がん分類

管理濃度：未設定

日本産業衛生学会：許容濃度 未評価

米国産業衛生専門家会議（ACGIH）：許容濃度 未評価

国際がん研究機関（IARC）：未評価

－3 被験物質の特性

－3－1 同一性

被験物質の同一性は、ロットごとに被験物質のマススペクトルを質量分析計（アジレントテクノロジー(株) 5973N）にて測定し、文献値と比較することにより確認した（文献 4）。

その結果、被験物質のマススペクトルは文献値と同じ分子イオンピーク及びフラグメントピークを示し、被験物質はブチルアルデヒドであることを確認した。

それらの結果は APPENDIX 1-1 に示す。

－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終了後に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(株) 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、データに差はみられず、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 に示す。

－4 試験動物

動物は、日本チャールス・リバー(株)(日野飼育センター)の F344/DuCrI CrIj ラット(SPF) の雌雄を使用した。

雌雄各 212 匹を 4 週齢で導入し、検疫を 8 日間、馴化を 7 日間実施した後、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(群分け時体重範囲、雄：102～136 g、雌：86～105 g)を試験に用いた。

なお、がん原性試験に F344/DuCrI CrIj 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。

試験方法

－1 投与

－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。

－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。

－1－3 投与期間

投与期間は 1 日 6 時間、1 週 5 日の投与（原則として土、日及び祝祭日の投与は行わない）で、2018 年 10 月 11 日～2020 年 10 月 7 日までの 104 週間とした。

－1－4 投与濃度

投与濃度は、300、1,000 及び 3,000 ppm（体積比 v/v）の 3 段階に設定した。なお、対照群は清浄空気による換気のみとした。

－1－5 投与経路、期間、時間及び濃度の設定理由

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 5）及び OECD 化学品テストガイドライン 451（発癌性試験）（文献 6）に従い、2 年間（104 週間）とした。

投与時間は、OECD 化学品テストガイドライン 451（発癌性試験）（文献 6）に従い、1 日 6 時間とした。

投与濃度は、13 週間試験（試験番号 0897）（文献 7）の結果を参考にして決定した。13 週間試験は 0（対照群）、100、300、1,000 及び 3,000 ppm（体積比 v/v）の濃度で行った。投与による死亡は各群にみられず、特記すべき一般状態の変化はなかった。しかし、雌雄の 3,000 ppm 群で体重増加の抑制及び摂餌量の低値がみられた。雄の最終体重及び摂餌量は、対照群に対して、それぞれ 91%であり、雌の最終体重及び摂餌量は対照群に対して、96%と

98%であった。血液学検査及び血液生化学的検査では、3,000 ppm 群の雌で ALP の上昇がみられた以外に特記すべき変化はみられなかった。病理組織学的検査では、鼻腔の呼吸上皮の扁平上皮化生が、雄では 100 ppm 以上の群にみられ、3,000 ppm 群では雌雄の全例に観察された。鼻腔では、さらに、嗅上皮の萎縮が 1,000 ppm 以上の群の雌雄の全例にみられた。また、喉頭で扁平上皮化生が 3,000 ppm 群の雌雄のほぼ半数にみられた。扁平上皮化生は、13 週間試験の予備試験として実施した 2 週間試験（試験番号 0888）では、3,000 ppm 群の呼吸上皮にのみみられ、喉頭には観察されなかったことから、ブチルアルデヒドの吸入暴露による呼吸器障害は、投与期間の延長によりその範囲が拡大することが示唆された。呼吸器に対する毒性の程度は、最高投与群の 3,000 ppm 群においても軽度であり、3,000 ppm の濃度で 104 週間試験を実施しても、動物の生死にかかわる重篤な変化は引き起こさないと判断した。

以上のことから、がん原性試験の投与濃度は雌雄とも最高濃度を 3,000 ppm とし、以下、1,000、300 ppm と決定した。

－1－6 被験物質の発生方法及び濃度調整

被験物質（ブチルアルデヒド）の発生方法を FIGURE 1 に示す。

被験物質供給装置（柴田科学(株)特注）の発生容器内のブチルアルデヒドを循環式恒温槽で加熱しながら、窒素バブリングにより蒸発させた。このブチルアルデヒド蒸気を循環式恒温槽で冷却、再加熱し、一定濃度にした後、各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ブチルアルデヒド濃度はガスクロマトグラフで監視し、設定濃度になるように吸入チャンバーへの供給量を調節した。

－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-14B：2018 年 9 月 18 日（試験開始日）から 2019 年 1 月 21 日まで、GC-2014A：2019 年 1 月 24 日から 2020 年 10 月 7 日（投与終了日）まで使用））により、投与開始前から投与終了後まで 15 分ごとに測定した。

濃度測定結果を TABLE A に示す。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 0.09% 以内、変動係数（標準偏差 / 平均値 × 100）が 1.3% 以内であり、チャンバー内濃度は良好に管理された。

－2 動物管理

－2－1 群の構成及び各群の使用動物数

対照群 1 群及び投与群 3 群の計 4 群を設け、1 群当たり雌雄各 50 匹の動物を用いた。

各群の使用動物数と動物番号

群 番 号	群 名 称	雄 使用動物数(動物番号)	雌 使用動物数(動物番号)
0	対 照 群	50 匹 (1001 ~ 1050)	50 匹 (2001 ~ 2050)
1	300 ppm 群	50 匹 (1101 ~ 1150)	50 匹 (2101 ~ 2150)
2	1,000 ppm 群	50 匹 (1201 ~ 1250)	50 匹 (2201 ~ 2250)
3	3,000 ppm 群	50 匹 (1301 ~ 1350)	50 匹 (2301 ~ 2350)

－2－2 群分け方法

検疫・馴化期間を通して一般状態及び体重の推移に異常を認めなかった動物から、被験物質投与開始日の前日(2018 年 10 月 10 日)に体重の中央値に近い雌雄各 200 匹を選定した。

群分けは、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で、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 8)。

群分けにより除外された動物は、投与開始まで飼育し、必要のなくなった時点で、試験系から除外し、他の検討試験に使用した。

－2－3 動物の個体識別

動物は、導入時に尾に油性マーカーによる色素塗布をして検疫・馴化期間中の個体を識別し、群分け時に耳パンチをして以降の個体を識別した。また、ケージには個体識別番号を記したラベルを付した。

－2－4 動物飼育室並びに他試験及び異種動物との区別

動物は、バリア区域内の独立した室(検疫：517・518 室、馴化及び投与：512 室)に収容し、室の扉に試験番号、試験動物、飼育期間及び動物飼育中を表示し、他試験及び異種動物と区別した。

－2－5 飼育条件

(1) 飼育環境

検疫期間中は検疫室（雄：517 室、雌：518 室）、馴化期間及び投与期間中は、吸入試験室（512 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す。検疫室、吸入試験室の温度及び湿度は実測値（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** に示す。検疫室及び吸入試験室の環境は安定して制御された。ただし、吸入チャンバー内の環境については、チャンバー洗浄時に設定条件の範囲を超えることがあったが、動物の健康状態に影響を与える程ではなかった。

温度：検疫室； 23 ± 2 < 517 室： 23.2 ± 0.2 >
< 518 室： 22.7 ± 0.1 >

吸入試験室； 21 ± 3 < 512 室： 22.2 ± 0.4 >

吸入チャンバー内； 23 ± 2

湿度：検疫室； $55 \pm 15\%$ < 517 室： $51 \pm 1\%$ >
< 518 室： $51 \pm 1\%$ >

吸入チャンバー内； $50 \pm 20\%$

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；15～17 回/時

吸入試験室；7～9 回/時

吸入チャンバー内；暴露中 6 ± 0.5 回/時、飼育中 12 ± 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：検疫期間；群飼育（5 匹以下/ケージ）

馴化・投与期間；個別飼育

ケージの材質・形状・寸法等：

検疫期間；ステンレス製群飼網ケージ（340(W)×294(D)×176(H) mm）

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)×270(D)×176(H) mm/匹）

飼育器材（ラック、ケージ、餌箱、給水ノズル、作業台車等）の滅菌

：オートクレープ滅菌（約 120、15 分以上）

(2) 飼料

飼料は、オリエンタル酵母工業(株)製造の CR-LPF 固型（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)から分析データ入手し、確認した。

(3) 飲水

飲水は、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。

－3 観察・検査項目及び方法

－3－1 動物の生死及び一般状態の観察

全動物について、週 1 回、投与前の一般状態を詳細に観察した。その他の日は、投与日は投与前に、非投与日は 1 日 1 回、生死及び瀕死を確認した。瀕死状態の動物は、速やかに安楽死させた。

－3－2 体重測定

全動物について、投与開始後 14 週間は週 1 回、それ以降は 4 週に 1 回（104 週も測定）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。

死亡及び瀕死の動物は、飼育室からの搬出時に体重を測定した。

－3－3 摂餌量測定

全動物について、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。

－3－4 尿検査

投与最終週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（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社）を用いて、下記の項目について検査（2020 年 10 月 5 日及び 6 日）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

－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、イソフルラン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

－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、イソフルラン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、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

－3－7 病理学的検査

(1) 肉眼的観察

全動物について、肉眼的に病変の観察を行った。なお、定期解剖動物はイソフルラン麻酔下で採血後、腹大動脈を切断、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ていた動物について、下記に示す臓器の湿重量（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、下記の器官、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、光学顕微鏡により検査した。

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9）で切り出し（横断）、検査した。

皮膚、鼻腔（3箇所を横断）、鼻咽頭、喉頭、気管、肺、骨髓（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、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

－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による病理ピアレビューを実施し、腫瘍性及び非腫瘍性病変について確認を行った。その結果、腫瘍性病変では、鼻腔の扁平上皮乳頭腫から扁平上皮癌への変更及び扁平上皮癌から肉腫 NOS への変更、非腫瘍性病変では、鼻腔の重度の扁平上皮過形成の所見が異形的であることの追加並びに鼻腔の鼻炎及び喉頭の扁平上皮過形成の追加があった。

－4 数値処理と統計方法

－4－1 数値の取扱いと表示

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。

血液学的検査及び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。

－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、群間に有意差がみられた場合は、**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、群間に有意差がみられた場合には、**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、尿検査についても対照群と各投与群間との 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、各群の総担腫瘍臓器数について、**Peto** 検定（文献 10）、**Cochran-Armitage** 検定及び **Fisher** 検定を行った。

各検定は 5% の有意水準で、**Peto** 検定、**Fisher** 検定は片側検定、その他の検定は両側検定を行い、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。

試験成績

－1 生存率

生存率を **TABLE B 1, 2** 及び **FIGURE 2, 3** に示す。

－雄－

各投与群と対照群との間に生存率の差はみられなかった。投与最終週（**104 週**）の生存動物数（生存率）は、対照群：**32 匹（64%）**、**300 ppm** 群：**36 匹（72%）**、**1,000 ppm** 群：**34 匹（68%）**、**3,000 ppm** 群：**31 匹（62%）**であった。

－雌－

3,000 ppm 群で生存率が減少した。投与最終週（**104 週**）の生存動物数（生存率）は、対照群：**33 匹（66%）**、**300 ppm** 群：**39 匹（78%）**、**1,000 ppm** 群：**38 匹（76%）**、**3,000 ppm** 群：**22 匹（44%）**であった。

－2 一般状態

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

－雄－

3,000 ppm 群で、異常呼吸音が投与後半（**65 週**）以降、数例に継続して観察され投与日数とともにその所見数は増加した。異常呼吸音は、投与終盤の **88 週**では約半数（**19/43 匹**）、**104 週**では多く（**21/31 匹**）にみられた。**1,000 ppm** 以下の群では、特記すべき変化はみられなかった。

－雌－

3,000 ppm 群で、異常呼吸音が投与後半（**70 週**）以降、数例に観察され、投与終盤の **99 週**から **101 週**までは半数以上（**99 週：15/25 匹**、**100 週：16/25 匹**、**101 週：14/24 匹**）、それ以降は減少し **104 週**では **4 匹**にみられたのみであった。**1,000 ppm** 以下の群では、特記すべき変化はみられなかった。

－3 体重

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

—雄—

3,000 ppm 群で 1 週から 104 週まで継続して有意な体重増加の抑制がみられ、18 週以降は対照群の 89%以下となった。また、1,000 ppm 群では、34 週及び 54 週、62 週から 90 週までは継続して有意な体重増加の抑制がみられ、300 ppm 群でも 18 週から 78 週まで継続して有意な体重の低値がみられた。

最終計測日の各投与群の体重は、対照群に対して 300 ppm 群：99%、1,000 ppm 群：99%、3,000 ppm 群：76%であった。

—雌—

3,000 ppm 群で 1 週から 104 週まで継続して有意な体重増加の抑制がみられ、58 週以降は対照群の 89%以下となった。また、1,000 ppm 群でも 78 週以降の多くの週で有意な体重の低値がみられた。

最終計測日の各投与群の体重は、対照群に対して 300 ppm 群：101%、1,000 ppm 群：95%、3,000 ppm 群：81%であった。

—4 摂餌量

摂餌量を TABLE E 1～4 及び FIGURE 6, 7 に示す。なお、個体表は APPENDIX 6-1, 6-2 に示す。

—雄—

3,000 ppm 群で 1 週から 104 週まで継続して有意な摂餌量の低値がみられ、多くの週で対照群の 90%程度であった。また、1,000 及び 300 ppm 群でも投与期間中、有意な低値が散見された。

投与期間を通した平均摂餌量は、対照群：18.0 g、300 ppm 群：17.8 g、1,000 ppm 群：17.7 g、3,000 ppm 群：16.2 g であった。

—雌—

3,000 ppm 群で 12、13 週を除く 1 週から 14 週にかけて、また、86 週から 104 週まで継続して有意な摂餌量の低値がみられた。特に、98 週以降は対照群の 90%以下であった。なお、1,000 ppm 群では、42 週で有意な高値（対照群の 106%）並びに 90 週及び 102 週で有意な低値（対照群の 96%）がみられ、300 ppm 群で、42、82 週及び 86 週で有意な高値がみられた。

投与期間を通した平均摂餌量は、対照群：12.5 g、300 ppm 群：12.8 g、1,000 ppm 群：12.4 g、3,000 ppm 群：11.9 g であった。

－5 尿検査

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

一部新鮮尿の採取ができない動物がいたため、検査数は、雄で対照群：31/32 匹、300 ppm 群：34/36 匹、1,000 ppm 群：34/34 匹、3,000 ppm 群：31/31 匹、雌で対照群：32/33 匹、300 ppm 群：39/39 匹、1,000 ppm 群：38/38 匹、3,000 ppm 群：21/22 匹であった。

－雄－

300 及び 3,000 ppm 群で蛋白の陽性度に有意差が示された。この変化は、投与濃度との対応がみられないことから毒性影響とは考えなかった。

－雌－

3,000 ppm 群で蛋白の陽性度に有意差が示された。この変化と投与との関連は不明であった。

－6 血液学的検査

血液学的検査の結果を **TABLE G 1, 2** に示す。なお、個体表は **APPENDIX 8-1, 8-2** に示す。

－雄－

3,000 ppm 群で赤血球数及びヘマトクリット値の有意な高値並びに **MCV** の有意な低値がみられた。**MCV** は、ヘマトクリット値 ÷ 赤血球数 × 10 により求められる赤血球恒数であるが、算出にあたり、対照群と比較して分母にあたる赤血球数の増加がヘマトクリットの増加よりも大きかったため、3,000 ppm 群では有意な低値として示されたと考えた。

また、3,000 ppm 群の白血球分類で好酸球比の低値がみられたが、大きな変化でないことから毒性影響とは考えなかった。

－雌－

3,000 ppm 群で **MCHC** の有意な低値がみられた。**MCHC** の低値では貧血が懸念されるが、軽度な変化であること及び貧血の指標とされるパラメータのうち **MCHC** 以外に変化がみられないことから、毒性影響とは考えなかった。

また、1,000 ppm 以上の群の白血球分類で、単球比に有意差がみられたが、大きな変化でないことから毒性影響とは考えなかった。

－7 血液生化学的検査

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

－雄－

3,000 ppm 群で AST、ALT 及びカリウムの有意な高値並びに総蛋白、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、 γ -GTP、クロール及びカルシウムの有意な低値がみられた。これらのうち、AST、ALT の増加は軽度で、肝臓に病理組織学的検査で器質的变化がみられないことから、毒性影響とは考えなかった。また、カリウムの増加も軽度な変化であることから、毒性影響とは考えなかった。一方、減少性の変化であった総蛋白、グルコース、総コレステロール、トリグリセライド及びリン脂質は、摂餌量の低下に伴う栄養不良の影響と考えた。カルシウムの変化については、減少が僅かであること、腎臓及び甲状腺機能との関連性も示唆されるが、病理組織学的検査で腎臓と甲状腺に被験物質投与の影響がみられないこと、また、血清カルシウムの約 50%は血清蛋白質（大部分はアルブミン）に結合するとされているが、アルブミン値も有意ではないものの対照群より低値であったこと等を勘案し、カルシウムの低値も摂餌量の低下に関連した変化と推察した。クロールについては、その動向と関連性の高いナトリウムに変化がみられないことから、毒性影響とは判断しなかった。 γ -GTP は、低下性の変化であることから毒性学的に意味を持つものではないと判断した。

その他、300 ppm 群で総ビリルビン及び γ -GTP の有意な高値が示されたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

－雌－

1,000 ppm 以上の群で総コレステロール、トリグリセライド及びリン脂質の有意な低値、3,000 ppm 群でクロールの有意な高値並びに総蛋白、LDH 及びカルシウムの有意な低値がみられた。3,000 ppm 群での変化のうち、クロールについては、関連性の高いナトリウムに変化がみられないことから、毒性影響とは考えなかった。総蛋白、総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質及びカルシウムの低値は、雄同様、摂餌量の低下に伴う二次的な変化と考えた。なお、LDH は、低下性の変化であることから毒性学的に意味を持つものではないと考えた。

1,000 ppm 群での総コレステロール、トリグリセライド及びリン脂質の低値も 3,000 ppm 群同様、摂餌量の低下に伴う二次的な変化と考えた。この他、1,000 ppm 群で AST 及び CK の有意な低値がみられたが、これらも低下性の変化であることから、毒性学的に意味を持つものではないと判断した。

－8 病理学的検査

－8－1 肉眼的観察

解剖時の肉眼的観察結果を TABLE I 1, 2 に示す。なお、個体表は APPENDIX 10-1, 10-2 に示す。

－雄－

鼻腔の切り出し時に、鼻腔の白色斑が 3,000 ppm 群で 7 匹に認められた。また、死亡動物に口腔内の餌貯留が、300 及び 1,000 ppm 群で 1 匹、3,000 ppm 群で 4 匹みられた。

－雌－

鼻腔の切り出し時に、鼻腔の白色斑が 3,000 ppm 群で 4 匹に認められた。また、死亡動物に口腔内の餌貯留が、対照群で 2 匹、300 ppm 群で 1 匹、1,000 ppm 群で 4 匹、3,000 ppm 群で 18 匹みられた。

－8－2 臓器重量

定期解剖時に測定した臓器の実重量及び体重比を TABLE J 1, 2 及び TABLE K 1, 2 に示す。なお、個体表は臓器の実重量及び体重比を APPENDIX 11-1, 11-2 及び APPENDIX 12-1, 12-2 に示す。

－雄－

3,000 ppm 群で精巣の実重量及び体重比の有意な高値がみられた。精巣の重量増加は、F344/DuCrIj ラットに極めて高率に自然発生する精巣の間細胞腫によるものであるが、腫瘍の発生に対照群と 3,000 ppm 群で差が認められないことから、重量に差が生じた原因は不明である。3,000 ppm 群で心臓、腎臓、脾臓、肝臓及び脳の実重量の有意な低値がみられたが、体重比で心臓、腎臓及び脳は有意な高値で、脾臓及び肝臓では差はなかった。これら以外にも、肺及び副腎に体重比の有意な高値がみられた。その他、1,000 ppm 群で精巣に体重比の有意な高値がみられた。

－雌－

3,000 ppm 群で腎臓、肝臓及び脳の実重量の有意な低値がみられたが、体重比では、腎臓及び脳は有意な高値で、肝臓に差はなかった。また、体重比で副腎、卵巣、心臓及び肺に有意な高値がみられた。その他、1,000 ppm 群で心臓の体重比の有意な高値がみられた。

－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 L 1, 2、統計解析（Fisher 検定、Peto 検定及び Cochran-Armitage 検定）の結果を TABLE M 1, 2 に、本項で取り上げた腫瘍については、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（検査総匹数と腫瘍発生匹数、試験ごとの平均発生率(%)と発生率(最小%～最大%))を TABLE N に示す。また、転移性病変は TABLE O 1, 2、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 1～6 に示す。なお、個体表は APPENDIX 13-1, 13-2 に示す。

（１）腫瘍性病変

－雄－

< 鼻腔 >

扁平上皮癌の発生が対照群、300 及び 1,000 ppm 群で 0 匹、3,000 ppm 群で 19 匹（38%）にみられた。3,000 ppm 群の扁平上皮癌の発生は、Fisher 検定、Peto 検定（死亡率法、有病率法及び死亡率法+有病率法）及び Cochran-Armitage 検定で有意な増加が示された。

また、3,000 ppm 群で腺扁平上皮癌及び癌肉腫が各 1 匹（2%）にみられた。扁平上皮癌、腺扁平上皮癌及び癌肉腫を合わせた発生は、1,000 ppm 以下の群では 0 匹であったのに対し、3,000 ppm 群では 21 匹（42%）にみられた。3,000 ppm 群に Fisher 検定、Peto 検定及び Cochran-Armitage 検定で有意な増加が示された。その他、肉腫 NOS が 3,000 ppm 群で 1 匹（2%）にみられた。

< 喉頭 >

扁平上皮癌の発生が、3,000 ppm 群で 1 匹（2%）にみられた。

－雌－

< 鼻腔 >

扁平上皮癌の発生が、対照群、300 及び 1,000 ppm 群で 0 匹、3,000 ppm 群で 8 匹（16%）にみられた。3,000 ppm 群の扁平上皮癌の発生は、Fisher 検定、Peto 検定（死亡率法、有病率法及び死亡率法+有病率法）及び Cochran-Armitage 検定で有意な増加が示された。

また、扁平上皮乳頭腫の発生が 3,000 ppm 群で 1 匹（2%）にみられた。扁平上皮癌と扁平上皮乳頭腫を合わせた発生は、1,000 ppm 以下の群では 0 匹であったが、3,000 ppm 群では、9 匹（18%）にみられ、Fisher 検定、Peto 検定及び Cochran-Armitage 検定で有意な増加が示された。

< その他 >

脾臓の単核球性白血病の発生が 1,000 ppm 以上の群で減少し、Fisher 検定及び Cochran-Armitage 検定で有意な減少が示された。また、乳腺の線維腺腫の発生が 3,000 ppm

群で減少し、Fisher 検定及び Cochran-Armitage 検定で有意な減少が示された。さらに、下垂体の腺癌の発生が 300 ppm 群で減少し、Fisher 検定で有意な減少が示された。

(2) 非腫瘍性病変

—雄—

< 鼻腔 >

呼吸上皮の扁平上皮化生の増加が 1,000 ppm 以上の群でみられ、その程度は軽度から中等度であった。また、扁平上皮過形成の増加が 3,000 ppm 群でみられ、その程度は軽度から重度であった。扁平上皮過形成は、呼吸上皮が扁平上皮に化生し増殖して過形成病変となったものであり、重度なものでは細胞が異形成的な様相を示し、極性の乱れもみられた。また、中には、増殖した基底細胞が固有層内に不規則に突出する像もみられた。

鼻炎の増加が 1,000 ppm 以上の群でみられ、その程度は 1,000 ppm 群で軽度から中等度、3,000 ppm 群で軽度から重度であった。病変の分布は、鼻腔前部（第 1 レベル）の鼻中隔または鼻腔内腔に突出する鼻甲介や上顎甲介の呼吸上皮領域にみられ、病変の程度が強いものでは嗅上皮領域まで広範囲に認められた。鼻炎は、主に固有層への炎症細胞浸潤、浮腫、腺の上皮の呼吸上皮化生及び軽度の増生、呼吸上皮の杯細胞化生及び増生、嗅上皮の呼吸上皮化生を特徴的な所見とし、また、鼻腔内には炎症細胞を伴った浸出液を認めた。

嗅上皮の萎縮の増加が 1,000 ppm 以上の群でみられ、その程度は軽度から中等度であった。また、嗅上皮に基底細胞の過形成の増加が 1,000 ppm 以上の群でみられ、その程度は軽度であった。甲介の癒着の増加が 3,000 ppm 群でみられ、その程度は軽度であった。

< 喉頭 >

扁平上皮過形成の増加が 3,000 ppm 群でみられ、その程度は軽度から中等度であった。

< 気管 >

扁平上皮過形成が 3,000 ppm 群の少数にみられ、その程度は中等度であった。

< 肺 >

異物性炎症の増加が 3,000 ppm 群でみられ、その程度は軽度から中等度であった。

< 眼 >

角膜炎の増加が 300 ppm 以上の群でみられ、その程度は 300 及び 1,000 ppm 群で軽度、3,000 ppm 群で軽度から中等度であった。また、角膜の変性の増加が 300 ppm 群でみられ、その程度は軽度であった。

< 脾臓 >

髄外造血の増加が 3,000 ppm 群でみられ、その程度は軽度から中等度であった。

< その他 >

自然発生病変である鼻腔の嗅上皮のエオジン好性変化及び異物性炎症、肝臓の好酸性小増殖巣及び胆管過形成、腎臓の慢性腎症、甲状腺の C-細胞過形成の発生に減少または減弱がみられた。

—雌—

< 鼻腔 >

呼吸上皮の扁平上皮化生の増加が **1,000 ppm** 以上の群でみられ、その程度は軽度であった。また、扁平上皮過形成の増加が **3,000 ppm** 群でみられ、その程度は軽度あるいは重度であった。

鼻炎の増加が **1,000 ppm** 以上の群でみられ、その程度は **1,000 ppm** 群で軽度、**3,000 ppm** 群で軽度から重度であった。

嗅上皮の萎縮の発生増加が **1,000 ppm** 以上の群でみられ、その程度は軽度から中等度であった。また、嗅上皮の基底細胞の過形成の増加が **3,000 ppm** 群でみられ、その程度は軽度であった。

甲介の癒着の増加が **3,000 ppm** 群でみられ、その程度は軽度であった。

鼻腔の所見は、いずれも雄でみられたものと同じ様相を呈し、また、病変の分布も同様であった。

< 喉頭 >

扁平上皮過形成の増加が **3,000 ppm** 群でみられ、その程度は軽度から重度であった。

< 気管 >

扁平上皮過形成が **3,000 ppm** 群の少数にみられ、その程度は中等度であった。また、扁平上皮化生が **3,000 ppm** 群の少数にみられ、その程度は軽度から中等度であった。

< 肺 >

水腫の増加が **3,000 ppm** 群でみられ、その程度は軽度であった。

< 眼 >

角膜炎の増加が **300** 及び **1,000 ppm** 群でみられ、その程度は軽度であった。また、角膜の変性の増加が **300 ppm** 群でみられ、その程度は軽度であった。

< その他 >

自然発生病変である鼻腔の嗅上皮のエオジン好性変化、腎臓の慢性腎症及び鼻涙管の炎症の発生に減少または減弱がみられた。

—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。

—雄—

3,000 ppm 群では鼻腔腫瘍を死因とした例が多く、動物数は、対照群、**300** 及び **1,000 ppm** 群で **0** 匹、**3,000 ppm** 群で **5** 匹みられた。腫瘍死以外では、口腔内に多量の餌が貯留した状態で発見される例が散見され、嚥下障害による窒息死と診断した。これらは、対照群で **0** 匹、

300 及び 1,000 ppm 群で 1 匹、3,000 ppm 群で 3 匹みられた。嚥下障害による死亡時期は、1,000 ppm 以下の群では、全例が 56 週以降であった。3,000 ppm 群の 2 匹は投与後半の死亡であったが、1 匹は 33 週で死亡した。以上のことから、3,000 ppm 群での投与と嚥下障害との関連が示唆された。

— 雌 —

鼻腔腫瘍を死因とした動物がみられ、動物数は、対照群、300 及び 1,000 ppm 群で 0 匹、3,000 ppm 群で 2 匹みられた。腫瘍死以外では、口腔内に多量の餌が貯留した状態で発見される例が多く認められ、嚥下障害による窒息死と診断した。これらは、対照群及び 300 ppm 群で 1 匹、1,000 ppm 群で 3 匹、3,000 ppm 群で 16 匹、3,000 ppm 群で多くみられた。嚥下障害による死亡時期は、1,000 ppm 以下の群では、いずれも投与終盤の 87 週以降であった。3,000 ppm 群でも、多くが 60 週以降の死亡(4 匹は 79 週以降に死亡)であったが、4 匹は 33 週から 46 週の間に死亡した。以上のことから、3,000 ppm 群での投与と嚥下障害との関連が示唆された。

考察及びまとめ

ブチルアルデヒドのがん原性を検索する目的で F344/DuCr1Cr1j ラット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、対照群 1 群及び被験物質投与群 3 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、ブチルアルデヒドを 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 0 (対照群)、300、1,000 及び 3,000 ppm (体積比 v/v) とし、観察・検査として、一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、臓器重量測定及び病理組織学的検査を行った。

－1 生存率、一般状態、体重等

雄の生存率は、対照群と各投与群との間に差はなく推移した。一方、雌は 3,000 ppm 群で生存率が低下し、多くが餌の嚥下障害による窒息死であった。投与最終週 (104 週) の生存動物数 (生存率) は、雄は対照群 : 32 匹 (64%)、300 ppm 群 : 36 匹 (72%)、1,000 ppm 群 : 34 匹 (68%)、3,000 ppm 群 : 31 匹 (62%)、雌は対照群 : 33 匹 (66%)、300 ppm 群 : 39 匹 (78%)、1,000 ppm 群 : 38 匹 (76%)、3,000 ppm 群 : 22 匹 (44%) であった。

一般状態観察で、雌雄とも 3,000 ppm 群で投与後半から異常呼吸音が数例に観察され、雌雄とも投与経過に伴いその例数は増加し、雄は投与最終週まで多くの動物に観察された。雌では投与終盤の 99 週から 101 週までは生存動物の半数以上にみられたが、それ以降は減少し、104 週では 4 例にみられたのみであった。

体重で、体重増加の抑制が雌雄とも 3,000 ppm 群で 1 週から 104 週まで継続してみられた。最終計測日の各投与群の体重は、雄では、対照群に対して 300 ppm 群 : 99%、1,000 ppm 群 : 99%、3,000 ppm 群 : 76% であった。雌も同様に、対照群に対して 300 ppm 群 : 101%、1,000 ppm 群 : 95%、3,000 ppm 群 : 81% であった。また、雌の 300 ppm 群を除く雌雄の 1,000 ppm 以下の群でも、多くの週で体重の低値がみられた。

摂餌量で、雄は 3,000 ppm 群で 1 週から 104 週まで継続して有意な低値がみられ、1,000 ppm 以下の群でも投与期間中、有意な低値が散見された。雌では、3,000 ppm 群で 12、13 週を除く 1 週から 14 週、さらに 86 週から 104 週までの期間、継続して有意な低値がみられた。また、1,000 ppm 以下の群では、1,000 ppm 群で高値や低値、300 ppm 群では高値がみられた。

血液学的検査で、雄の 3,000 ppm 群で赤血球数及びヘマトクリット値の高値がみられた。赤血球数の高値については、ヘマトクリット値の高値によって示唆された血液濃縮、異常呼吸音が投与最終週までの多くの週でみられたこと、鼻腔に扁平上皮癌等の腫瘍性病変や非腫瘍性病変がみられていることから、鼻腔の傷害によって惹起されたと推察される低酸素

状態に対する生理的な反応として、赤血球の産生が亢進した可能性が考えられた。

－2 腫瘍性病変及び腫瘍関連病変

雄では、**3,000 ppm** 群で鼻腔の扁平上皮癌が増加し、**Fisher** 検定、**Peto** 検定及び **Cochran-Armitage** 検定で有意な増加が示された。また、**3,000 ppm** 群で鼻腔に腺扁平上皮癌及び癌肉腫が各 1 匹にみられ、扁平上皮癌、腺扁平上皮癌及び癌肉腫を合わせた発生は、**Fisher** 検定、**Peto** 検定及び **Cochran-Armitage** 検定で有意な増加が示された。さらに、肉腫 **NOS** が **3,000 ppm** 群で鼻腔に 1 匹にみられた。雄ラットでの鼻腔腫瘍の自然発生は極めてまれで、鼻腔の扁平上皮癌、腺扁平上皮癌及び癌肉腫は、当センターで直近に行った 10 試験のヒストリカルコントロールデータで発生のない腫瘍であった。

雌でも、**3,000 ppm** 群で鼻腔の扁平上皮癌が増加し、**Fisher** 検定、**Peto** 検定及び **Cochran-Armitage** 検定で有意な増加が示された。また、鼻腔の扁平上皮乳頭腫の発生が **3,000 ppm** 群で 1 匹にみられ、扁平上皮癌と扁平上皮乳頭腫を合わせた発生は、**Fisher** 検定、**Peto** 検定及び **Cochran-Armitage** 検定で有意な増加が示された。雄と同様に、雌ラットでも鼻腔腫瘍の自然発生は極めてまれで、鼻腔の扁平上皮乳頭腫と扁平上皮癌は、当センターで直近に行った 10 試験のヒストリカルコントロールデータで発生のない腫瘍であった。

本試験では、雌雄とも呼吸上皮の扁平上皮化生及び扁平上皮過形成が増加した。呼吸上皮の扁平上皮化生は、雌雄とも **1,000 ppm** 以上の群で増加し、扁平上皮過形成は、雌雄とも **3,000 ppm** 群で増加した。扁平上皮過形成は、呼吸上皮が扁平上皮に化生して増殖した増殖性病変で、重度なものでは異形性的な様相を示し、極性の乱れも認められたことから、鼻腔の扁平上皮乳頭腫や扁平上皮癌の前腫瘍性病変と考えた。

以上のことから、雌雄ともブチルアルデヒドのがん原性を示す明らかな証拠 (**Clear evidence of carcinogenic activity**) であると判断した。

－3 非腫瘍性病変

雌雄とも鼻腔、喉頭、気管、肺及び眼で病変が増加した。

鼻腔では、前述の呼吸上皮の扁平上皮化生及び扁平上皮過形成に加え、鼻炎、嗅上皮の萎縮、基底細胞過形成及び甲介の癒着の増加がみられた。鼻炎は、鼻腔前部 (第 1 レベル) の鼻中隔や鼻甲介、上顎甲介の呼吸上皮領域にみられ、程度の強いものは、嗅上皮領域までの広範囲にみられた。鼻炎を構成する所見として、主に固有層の炎症細胞浸潤、浮腫、腺の呼吸上皮化生及び化生した上皮の軽度な増生、呼吸上皮の杯細胞化生や増生、嗅上皮の呼吸上皮化生がみられ、鼻腔内に炎症細胞を伴った浸出液が認められる例もあった。

鼻腔の非腫瘍性病変は、鼻腔の扁平上皮や呼吸上皮のみならず嗅上皮にもみられ、嗅上皮の萎縮、嗅上皮の基底細胞の過形成も多くみられた。また、これらの変化に加えて甲介の癒

着もみられ、ブチルアルデヒドの刺激による慢性毒性影響と判断した。

鼻腔と同様、喉頭や気管では、扁平上皮過形成が雌雄に、扁平上皮化生が雌にみられ、呼吸器への影響は下気道までみられた。なお、肺では雄で異物性炎症、雌で水腫がみられたが、鼻腔病変や嚥下障害に伴う二次的な変化と判断した。

眼に対する影響として、雌雄に角膜の炎症及び変性が **300 ppm** 群までみられた。角膜の変化は、**13** 週間の予備試験ではみられなかったが長期の投与により認められ、ブチルアルデヒドの刺激による慢性毒性影響と判断した。

－4 死因等その他の影響

死因は、雌雄ともに **3,000 ppm** 群で鼻腔腫瘍または嚥下障害による窒息死が多く、その内訳は鼻腔腫瘍が雄 5 匹、雌 2 匹、また、嚥下障害による窒息死が雄 3 匹、雌 16 匹であり、雌の **3,000 ppm** 群で生存率が低下した。雌の **1,000 ppm** 以下の群では、嚥下障害による死亡（窒息死）時期はいずれも投与終盤の 87 週以降であり、加齢による影響が示唆されたのに対し、**3,000 ppm** 群では 4 例が 33 週から 46 週の間に死亡したことから、ブチルアルデヒド **3,000 ppm** の投与によって、嚥下障害動物の増加及び死亡（窒息死）時期の早期化が示された。嚥下障害による窒息死を死因とした動物では、肉眼的観察で口腔内に餌の貯留がみられており、その原因として鼻腔や喉頭に生じた腫瘍性病変や非腫瘍性病変に起因する喉頭の機能低下の可能性が考えられた。

また、Wistar 系雄ラットを用いて、ブチルアルデヒドと同じアルデヒド類であるアセトアルデヒドを腹腔内投与した実験では、口腔乾燥症を惹起することが報告されている（文献 11、12）。さらに、アルデヒド類の代謝については、アルデヒド脱水素酵素、アルデヒド酸化酵素、**P450** 等によって酸化反応が行われるとされ、アルデヒド酸化酵素による反応では、基質に導入される酸素原子は酸素分子ではなく水に由来すると報告されている（文献 13）。

以上のことから、口腔の乾燥、老齢、腫瘍性病変、非腫瘍性病変が喉頭の機能に影響を与えた結果、嚥下障害による窒息死が生じたものと考えた。したがって、雌の **3,000 ppm** 群での生存率の低下は、ブチルアルデヒド投与の直接の影響とは考えなかった。

また、雌の **3,000 ppm** 群では、肺の水腫が多くの動物に認められたが、この原因についても嚥下障害による誤嚥に起因するものと考えた。

－5 最大耐量（Maximum Tolerated Dose (MTD)）

IARC（文献 14）は、がん原性試験の最高投与濃度を、亜慢性試験の結果からある程度の毒性影響が起きることが推定される濃度であり、腫瘍発生以外で動物の寿命の長さを短縮することがなく、対照群と比較して 10%以上の体重増加の抑制を引き起こす毒性兆候を惹起させないことが推定される濃度と定義した。米国国立がん研究所（NCI）の小動物がん原性試

験ガイドライン（文献 15）では、小動物を用いるがん原性試験の最高投与濃度として、対照群と比較して 10%以下の体重抑制を引き起こす濃度で、かつ発がん性に関係する反応以外に、毒性的兆候、病理学的障害による死亡率の上昇を引き起こさないと推定される最高濃度、即ち、最大耐量（Maximum Tolerated Dose (MTD)）を用いることと定義している。

本試験において、3,000 ppm を最高濃度に選択した理由は、0（対照群）、100、300、1,000 及び 3,000 ppm（体積比 v/v）の濃度で 13 週間のがん原性予備試験を行った結果（文献 7）、最高濃度の 3,000 ppm 群の雌雄ともに一般状態に変化がなかったこと、体重増加の抑制は対照群に対して、雄は 91%、雌は 96%であったこと、さらに、病理組織学的検査で 3,000 ppm 群の雌雄で鼻腔の呼吸上皮の扁平上皮化生、喉頭の扁平上皮化生がみられたが、これらの程度は軽度であったことから、MTD 基準に鑑み 10%以上の体重増加の抑制を引き起こす毒性兆候を惹起させないと推定されるがん原性試験の最高濃度として、3,000 ppm は適切であると判断したことによる。

2 年間にわたるがん原性試験を実施した結果、上記の NCI の MTD に関する基準のうち体重抑制については 10%以下とされる範囲を超えた。3,000 ppm 群の生存率に関しては、雄では投与による低下はみられなかったが、雌では生存率が 44%と低かった。3,000 ppm 群の雌の死因の多くが餌の嚥下障害による窒息死（死亡数：16 匹、32%）であり、前述したように、嚥下障害はブチルアルデヒドの投与による直接影響とは考えなかった。Haseman（文献 16）は、腫瘍及び腫瘍関連病変によって、体重抑制が NCI の MTD を超えたとしても、また、死亡率が増加した場合であっても、MTD 基準にとらわれすぎる必要はないと述べている。

－6 他文献との比較

ブチルアルデヒドの投与により、雌雄とも 3,000 ppm 群で鼻腔腫瘍がみられたが、これまで当センターでは、ブチルアルデヒド以外のアルデヒド類のがん原性試験を吸入試験で 2 物質（クロトンアルデヒド（文献 17）、アクロレイン（文献 18））、経口試験（飲水投与）で 1 物質（グリオキサール（文献 19））実施している。吸入試験の 2 物質はともに鼻腔に腫瘍が発生したと報告し、グリオキサールの経口投与では、雌で子宮内膜間質性ポリープのわずかな発生増加がみられたが、鼻腔に腫瘍発生が増加は認めなかったと報告した。吸入試験の、クロトンアルデヒド（2-ブテナール）の投与濃度は、0、3、6 及び 12 ppm、アクロレイン（2-プロペナール）は、0、0.1、0.5 及び 2 ppm であった。吸入投与した物質間の最高濃度の比を求めると、ブチルアルデヒド/クロトンアルデヒドで 250 倍、ブチルアルデヒド/アクロレインで 1500 倍であった。クロトンアルデヒドとブチルアルデヒドは化学構造が類似しており、クロトンアルデヒドが二重結合をもつ不飽和アルデヒドであるのに対し、ブチルアルデヒドは二重結合のない飽和アルデヒドに分類される。クロトンアルデヒドの化学式は C_4H_6O でブチルアルデヒドは C_4H_8O と表され、分子量では水素 2 原子分の差である。両者間の化学構造式上の二重結合の有無によって、発がん性を示す濃度（クロトンアルデヒド <

ブチルアルデヒド)は250倍となった。また、発生した腫瘍の質的な差として、本試験のブチルアルデヒドの投与では、ほとんどが扁平上皮癌であったのに対し、クロトンアルデヒドでは腺腫及び横紋筋肉腫、アクロレインでは扁平上皮癌及び横紋筋腫が特徴的であった。また、腺腫及び扁平上皮癌もクロトンアルデヒド及びアクロレインの最高濃度群で1から2例みられている。最終的には、極めてまれな横紋筋肉腫(試験終了当時のヒストリカルコントロールデータで、雄 1/1199、雌 0/1097 の発生)が、クロトンアルデヒドの12 ppm 群の雄で1例、また、ヒストリカルコントロールデータで発生のない横紋筋腫がアクロレインの2 ppm 群の雌で4例にみられたことから、両物質ともがん原性を示す証拠と評価された。

当センターで実施したアルデヒド類のがん原性試験では、飲水投与のグリオキサールで鼻腔腫瘍の発生はなかったが、吸入投与ではブチルアルデヒドを含む全てで鼻腔腫瘍が増加した。刺激性が強く、易水溶性というアルデヒド類の物理化学的特徴及び被験物質の最初の接触部位が鼻腔であるという吸入投与の特異性により、アルデヒド類の吸入投与は鼻腔を標的とすると考えられる。ブチルアルデヒドの発がんメカニズムについては、未だ明らかにされていないが、刺激による細胞毒性に端を発する遺伝子傷害の修復エラー、高濃度で長期間にわたる投与による代謝系の枯渇、さらに、アルデヒド類の代表的な物質でもあるホルマリンのようにDNAとタンパク質の架橋修飾及び変性タンパクの蓄積等の関与が推察された。

結論

雄では、ブチルアルデヒド投与により、**3,000 ppm** 群で鼻腔の扁平上皮癌の発生が **Fisher** 検定、**Peto** 検定及び **Cochran-Armitage** 検定で有意な増加を示した。また、**3,000 ppm** 群では、鼻腔に腺扁平上皮癌、癌肉腫及び肉腫 **NOS** の発生がみられた。以上のことから、がん原性を示す明らかな証拠 (**Clear evidence of carcinogenic activity**) であると判断した。

雌では、**3,000 ppm** 群で鼻腔の扁平上皮癌の発生が **Fisher** 検定、**Peto** 検定及び **Cochran-Armitage** 検定で有意な増加を示した。また、**3,000 ppm** 群で鼻腔に扁平上皮乳頭腫の発生がみられた。以上のことからがん原性を示す明らかな証拠 (**Clear evidence of carcinogenic activity**) であると判断した。

以上のように、**F344/DuCrI** ラットを用いて、ブチルアルデヒドの2年間 (**104 週間**) にわたる吸入によるがん原性試験を実施した結果、雌雄とも鼻腔で腫瘍の発生増加がみられたことから、雌雄ラットに対するがん原性を示す明らかな証拠 (**Clear evidence of carcinogenic activity**) が得られたと結論した。

文献

- 1) **International Program on Chemical Safety (IPCS) 2006. ICSC: 0403. BUTYRAL DEHYDE. IPCS. Accsed on 21 August. 2017: <http://www.inchem.org/documents/icsc/icsc/eics0403.htm>.**
- 2) 富士フイルム和光純薬 (株)検査成績データ.
- 3) 化学工業日報社. 2022. 17322 の化学商品. プチルアルデヒド. 東京: 化学工業日報社, 603-604.
- 4) **McLafferty FW, ed. 1994. Wiley Registry of Mass Spectral Data. 6th ed. New York, NY: John Wiley and Sons.**
- 5) 労働省労働基準局長. 1997. がん原性試験による調査の基準. 基発第144号, 平成9年3月11日 .
- 6) **Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). 2009. OECD Guideline for Testing of Chemicals 451: “Carcinogenicity Studies” Paris: OECD.**
- 7) 日本バイオアッセイ研究センター. 2019. プチルアルデヒド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 0897) . 神奈川: 労働者健康安全機構 日本バイオアッセイ研究センター.
- 8) 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.
- 9) 長野嘉介 , 今井田克己 , 相磯成敏 . 2017 . 各論 , 第 1 章 呼吸器系, 1 鼻腔・咽頭・喉頭・気管 . 新毒性病理組織学 (日本毒性病理学会編) . 東京: 西村書店 , 99-116.
- 10) **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: International Agency for Research on Cancer (IARC). IARC Monographs Suppl 2: 311-426.**

- 11) Ujihara I, Hitomi S, Ono K, Kakinoki Y, Hashimoto H, Ueta Y, et al. 2015. The ethanol metabolite acetaldehyde induces water and salt intake via two distinct pathways in the central nervous system of rats. *Neuropharmacology*. 99, 589-599.
- 12) Inenaga K, Ono K, Hitomi S, Kuroki A, Ujihara I. 2017. Thirst sensation and oral dryness following alcohol intake. *Jpn Dent Sci Rev*.53: 78:85.
- 13) 吉成浩一・小澤正吾．2018．3 動態・代謝．トキシコロジー第3版（日本毒性学会教育委員会編）．東京：朝倉書店， 34-35.
- 14) Bannasch P, Griesemer RA, Anders F, Becker R, Cabral JR, Della Porta G, et al. 1986. Long-term assays for carcinogenicity in animals. In: Long-Term and Short-Term Assays for Carcinogens: A Critical Appraisal. (Montesano R, Bartsch H, Vainio H, Wilbourn J, Yamasaki H. eds.). Lyon: International Agency for Research on Cancer (IARC). IARC Scientific Publications No. 83: 13-83.
- 15) Sontag JM, Page NP, Saffiotti U. 1976. Guidelines for carcinogen bioassay in small rodents. NCI-CG-TR-1. DHEW Publication No. (NIH)76-801. Bethesda,MD: National Cancer Institute. 13-15.
- 16) Haseman JK. 1985 Issue in carcinogenicity testing: Dose selection. *Fundum Appl Toxicol* 5: 66-78.
- 17) 日本バイオアッセイ研究センター．2001．クロトンアルデヒドのラットを用いた吸入によるがん原性試験報告書（試験番号 0318）．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．
- 18) 日本バイオアッセイ研究センター．2016．アクロレインのラットを用いた吸入によるがん原性試験報告書（試験番号 0816）．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．
- 19) 日本バイオアッセイ研究センター．2000．グリオキサルのラットを用いた経口投与によるがん原性試験（混水試験）報告書（試験番号 0267）．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．

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) 計画書の誤記載

計画書 6 頁 13-2-2 群分け方法

計画書では、検疫・馴化期間を通して一般状態及び体重の推移に異常を認めなかつた動物から、被験物質投与開始日の前日（2018 年 10 月 10 日）に体重の中央値に近い雌雄各 50 匹を選定する。と記載した。正確には雌雄各 200 匹を選定するである。

計画書 7 頁 13-2-5 飼育条件

計画書では、飼育環境について以下のように記載した。

温	度	:	検	疫	室	;	23±2
			吸	入	試	験	室
						;	21±3
			吸	入	チャン	バー	内
						;	23±2
湿	度	:	検	疫	室	;	55±15%
			吸	入	試	験	室
						;	55±15%
			吸	入	チャン	バー	内
						;	50±20%

しかし、計測器が配備されていないため、吸入試験室の湿度の測定は不可能であった。計画書の修正がなされないまま、試験を遂行した。

(2) 吸入チャンバー内濃度の削除及び欠落

投与時間中に濃度測定が正確に行えず、計画書から逸脱（削除または欠落）した。削除、欠落データは、以下のとおりである。

クロマトパック C-R7A のフロッピーディスク記録エラーにより生じた不正確な濃度データ（1 群のチャンバー濃度を 0 ppm と表示）の削除を行ったため、当該時刻の濃度データが欠落した。

ガスクロマトグラフ FID 検出器（2 及び 3 群の測定用）の水素炎が消え、濃度測定値が 0 ppm となった。濃度データの削除を行ったため、当該時刻の濃度データが欠落した。

クロマトパック C-R7A 用プリンターの紙詰まり及びフロッピーディスクの不具合により、データの再印字が不能となったため、当該時刻の濃度データが欠落した。

サンプルラインとガスクロマトグラフ間の接続の緩みより生じた不正確な 1 群のチャンバー濃度を削除したため、当該時刻の濃度データが欠落した。

フロッピーディスクの不具合により、クロマトパック C-R7A が停止したため、当該時刻の濃度データが欠落した。

逸脱日	時刻	内容
2019年 5月 16日	10 時 07 分	上記 による濃度データの削除及び欠落
2019年 7月 1日	11 時 37 分から 12 時 07 分	上記 による濃度データの削除及び欠落
2019年 12 月 23日	13 時 22 分から 15 時 22 分	上記 による濃度データの欠落
2019年 12 月 25日	11 時 37 分から 12 時 22 分	上記 による濃度データの削除及び欠落
2020年 02 月 21日	14 時 15 分 及び 14 時 22 分	上記 による濃度データの欠落
2020年 05 月 11日	13 時 00 分 及び 13 時 07 分	上記 による濃度データの欠落

上記データの欠落については、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。

(3) 定期点検等に伴う吸入チャンバー内の動物飼育環境条件からの逸脱

電気設備保守点検に伴う逸脱

電気設備保守点検のための計画停電により、空調機（飼育室及び吸入チャンバー）の給排気ファンが停止したため、試験計画書で規定された飼育環境の設定範囲からの逸脱が下表の通りみられた。

逸脱日	内容
2018 年 10 月 20 日	12 時からの計画停電（全停電）に伴い、30 分間隔でデータを集積し記録される環境データのうち、11 時 40 分から 16 時 10 分までの吸入チャンバーの換気量及び圧力が欠落した。
2019 年 10 月 19 日	12 時からの計画停電（全停電）に伴い、上記同様 11 時 40 分から 16 時 40 分までの吸入チャンバーの換気量及び圧力が欠落した。

電気設備点検終了後、空調機の運転を再開した後、動物の状態に異常のないことを確認した。吸入チャンバー内の動物飼育環境条件からの逸脱は、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。

吸入実験用総合管理装置定期点検に伴う逸脱

吸入実験用総合管理装置の定期点検のため、同装置を停止した。下記日時の吸入チャンバー内環境データ（温度、湿度、換気量、圧力）の収集が行えず、データが欠落した。

逸脱日	内容
2019年 2月 13日	10 時 40 分から 14 時 10 分までの間、吸入チャンバー内環境データ（温度、湿度、換気量、圧力）が欠落した。

投与中の吸入チャンバー内環境に異常のなかったことは、目視及びデータロガーの記録により確認した。

(4) 計画停電以外の停電による動物飼育環境条件の逸脱

計画停電以外の停電により空調機（飼育室及び吸入チャンバー）の給排気ファンが停止したため、吸入チャンバー環境の逸脱が以下の通りみられた。

逸脱日	内容
2020 年 7 月 11 日	22 時 43 分から 22 時 55 分まで停電した。当該時刻で吸入チャンバー給排気ファンが停止し、この間換気は行えなかった。データは 30 分ごとに集積されるため、22 時 40 分及び 23 時 10 分に記録される吸入チャンバー換気量及び圧力が計画書規定値から逸脱した。

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。

(5) 尿検査データの欠落

投与最終週に生存している動物の自然排尿による新鮮尿を用いて尿検査を実施したが、下記の動物については新鮮尿の採取ができず、データ欠落となった。

検査日	データ欠落動物番号
2020 年 10 月 5 日	1003, 1128, 1135
2020 年 10 月 6 日	2036, 2335

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。

(6) 下垂体の欠落

動物番号 2016、2325 の 2 匹について、切り出し時に下垂体を確認できなかったため、病理組織標本作製ができず、病理組織所見が欠落となった。下垂体の病理組織所見の欠落については、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。