

アクリル酸=2-ヒドロキシエチルのラットを用いた
経口投与による2週間毒性試験(混水試験)報告書

試験番号：0314

CAS No. 818-61-1

2003年2月25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

アクリル酸=2-ヒドロキシエチルのラットを用いた
経口投与による2週間毒性試験(混水試験)報告書

試験番号：0314

本 文

本文目次

頁

要約	1
I 試験材料	
I-1 被験物質の性状等	
I-1-1 名称等	2
I-1-2 構造式、示性式、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	
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	
II-1 投与	
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 投与の方法、投与期間及び投与濃度の設定理由	5
II-1-6 被験物質混合飲水の調製方法	6
II-1-7 調製時における被験物質混合飲水中の被験物質の濃度	6
II-1-8 被験物質混合飲水中の被験物質の安定性	6
II-1-9 被験物質の摂取量	6
II-2 動物管理	
II-2-1 各群の使用動物数	7
II-2-2 群分け及び個体識別方法	7

Ⅱ-2-3	飼育条件	7
Ⅱ-3	観察・検査項目及び方法	
Ⅱ-3-1	動物の一般状態の観察	8
Ⅱ-3-2	体重測定	8
Ⅱ-3-3	摂水量測定	8
Ⅱ-3-4	摂餌量測定	8
Ⅱ-3-5	血液学的検査	9
Ⅱ-3-6	血液生化学的検査	9
Ⅱ-3-7	病理学的検査	9
Ⅱ-4	数値処理と統計方法	
Ⅱ-4-1	数値の取り扱いと表示	10
Ⅱ-4-2	母数の取り扱い	10
Ⅱ-4-3	統計方法	11
Ⅲ	試験成績	
Ⅲ-1	生死状況	12
Ⅲ-2	一般状態	12
Ⅲ-3	体重	12
Ⅲ-4	摂水量	12
Ⅲ-5	摂餌量	13
Ⅲ-6	被験物質摂取量	13
Ⅲ-7	血液学的検査	13
Ⅲ-8	血液生化学的検査	14
Ⅲ-9	病理学的検査	
Ⅲ-9-1	剖検	14
Ⅲ-9-2	臓器重量	14
Ⅲ-9-3	病理組織学的検査	15
Ⅳ	考察及びまとめ	16
Ⅴ	文献	18

要約

アクリル酸=2-ヒドロキシエチル（被験物質）の F344/DuCrj (Fischer) ラットを用いた経口投与による 2 年間（104 週間）のがん原性試験のための予備試験である 13 週間試験を実施するに当たり、その投与濃度を決定するために 2 週間試験を実施した。投与は、被験物質を各設定濃度に溶解した飲料水を動物に自由摂取させることにより行った。1 群当たりの動物数は、雌雄各 10 匹とし、被験物質投与群 5 群、対照群 1 群の 6 群構成で行った。投与濃度は、雌雄とも 20000 ppm、8000 ppm、3200 ppm、1280 ppm、512 ppm（公比 2.5）に設定した。観察、検査として、一般状態の観察、体重・摂餌量・摂水量の測定、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、臓器重量の測定及び病理組織学的検査を実施した。

試験の結果、20000 ppm 群では、雌雄とも顕著な摂水量の低下、並びに顕著な摂餌量の低下と体重の減少が認められ、全ての動物が死亡した。被験物質を混入した飲水の忌避行動に起因する消耗性変化（骨髄の鬱血と造血低下、胸腺の萎縮と核崩壊、胃の出血及び脾臓の萎縮）が認められた。また、雄に精巣の精原細胞壊死が認められた。

8000 ppm 群では、雌雄ともに摂水量、摂餌量及び体重の顕著な低下が認められ、雄に 1 例、雌に 6 例の死亡がみられた。摂水量の顕著な低下に起因する血液濃縮（雌雄ともに赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の増加、並びに雌のみに MCV の増加）や腎臓（雌雄ともに尿素窒素の増加と腎臓の重量低下）と肝臓への影響（雌雄ともに肝臓の重量低下、GOT、GPT、 γ -GTP 及び LDH の上昇、並びに総蛋白、アルブミン、総コレステロール、総ビリルビン、リン脂質及び A/G 比の増加）を示す変化も認められた。

3200 ppm 群では、雌雄ともに摂水量及び摂餌量の低下が認められ、体重増加の抑制がみられたものの、死亡はみられなかった。雄で血小板数の減少、腎臓（尿素窒素の増加）と肝臓（細胞分裂像の増加）への影響が認められた。

1280 ppm 群では、雌雄ともに摂水量の低下とわずかな摂餌量の低下が認められたが、体重は順調に推移した。また、雄に腎臓の実重量の増加が認められた。

512 ppm 群では、全ての観察・検査において異常は認められなかった。

従って、2 週間の飲水投与によるアクリル酸=2-ヒドロキシエチルのラットに対する無毒性量（NOAEL）は、腎臓への影響をエンドポイントとして 512 ppm（雄：0.041～0.057 g/kg body weight/day）であると考えられる。

13 週間試験の投与濃度は、本試験の結果から、摂水量、摂餌量、体重等への影響をもとに雌雄とも最高用量を 4000 ppm とし、以下 2000 ppm、1000 ppm、500 ppm、250 ppm（公比 2.0）に設定した。

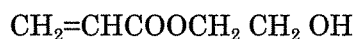
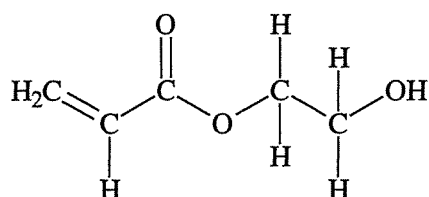
I 試験材料

I-1 被験物質の性状等

I-1-1 名称等

名 称 : アクリル酸=2-ヒドロキシエチル (2-Hydroxyethyl acrylate)
 別 名 : 2-ヒドロキシエチルアクリレート (2-Hydroxyethyl acrylate)
 IUPAC 名 : 2-Hydroxyethyl acrylate
 CAS.No. : 818-61-1

I-1-2 構造式、示性式、分子量 (文献 1)



分子量 : 116.13

I-1-3 物理化学的性状等 (文献 1,2)

外 観 : 無色透明な液体
 沸 点 : 82℃ (0.6kPa)
 凝 固 点 : -70℃以下
 溶 解 性 : 水、有機溶媒に可溶
 保存条件 : 室温保存

I-2 被験物質の使用ロット等

使用ロット番号 : SKR 5565
 製 造 元 : 和光純薬工業株式会社
 グ レ ー ド : 和光試薬 1 級
 純 度 : 97.5% (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

被験物質の同一性の確認は、使用したアクリル酸＝2-ヒドロキシエチルのマススペクトルを質量分析計 (Hewlett Packard 5989B)により測定し、また、赤外吸収スペクトルを赤外分光光度計 (Shimadzu FTIR-8200PC)により測定し、アクリル酸＝2-ヒドロキシエチルの文献値と比較することにより行った。なお、使用した被験物質のガスクロマトグラムをガスクロマトグラフ (Hewlett Packard 5890A) により測定し、不純物を同定した。

その結果、被験物質のマススペクトルは文献値 (文献 3) 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 4) と同じ波長にピークが認められ、本被験物質はアクリル酸＝2-ヒドロキシエチルであることを確認した。なお、ガスクロマトグラムを測定したところ、アクリル酸＝2-ヒドロキシエチルとは異なる 3 つの不純物のピークを認めた。それぞれの不純物はアクリル酸 (面積比: 0.84%)、p-メトキシフェノール (面積比: 0.05%)、未同定物質 (面積比: 2.77%) であった。

なお、それらの結果は、APPENDIX L 1 に示した。

I-3-2 安定性

被験物質の安定性の確認は、使用したアクリル酸＝2-ヒドロキシエチルについて、使用開始前及び使用終了後に、赤外吸収スペクトルを赤外分光光度計 (Shimadzu FTIR-8200PC) により、また、ガスクロマトグラムをガスクロマトグラフ (Hewlett Packard 5890A) により測定し、使用開始前及び使用終了後のそれぞれのデータを比較することにより行った。

その結果、使用開始前後の測定結果に差はみられず、投与期間中のアクリル酸＝2-ヒドロキシエチルは安定であることを確認した。

なお、その結果は、APPENDIX L 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 番地) の F344/DuCrj(Fischer)ラット(SPF) の雌雄を使用した。

雌雄各 75 匹を 5 週齢で導入し、1 週間の検疫・馴化を経た後、発育順調で、異常を認めない動物から、体重の中央値に近い雌雄各 60 匹 (投与開始時体重範囲、雄: 117~133g、雌: 94~107g) を選別し、試験に供した。

なお、がん原性試験で使用する動物は、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理由から F344/DuCrj(Fischer)ラットを使用することが決定している。当試験はがん原性試験の予備試験であるため F344/DuCrj(Fischer)ラットを使用した。

Ⅱ 試験方法

Ⅱ-1 投与

Ⅱ-1-1 投与経路

経口投与

Ⅱ-1-2 被験物質の投与方法

被験物質を脱イオン水（フィルターろ過し、紫外線照射した市水を脱イオンした水）をさらにフィルターろ過した飲水に溶解し、設定濃度に調製した被験物質混合飲水を褐色ガラス製給水瓶に充填し、動物に自由摂取させた。

Ⅱ-1-3 投与期間

1996 年 7 月 16 日から 1996 年 7 月 30 日までの 2 週間、解剖直前まで連続投与した。なお、被験物質混合飲水の交換頻度は、摂水量の測定頻度に合わせ、最長 4 日間に一回とした。

Ⅱ-1-4 投与濃度

雌雄ともに最高投与濃度を 20000 ppm に設定し、以下、8000 ppm、3200 ppm、1280 ppm、512 ppm（公比 2.5）とした。なお、対照群として飲料水だけの群を設けた。

Ⅱ-1-5 投与の方法、投与期間及び投与濃度の設定理由

当該被験物質は常温で液体であり、かつ、水に可溶であるため、混水による経口投与とした。

投与期間は、がん原性試験の投与濃度決定（13 週間試験）に使用する投与濃度を決定するために 2 週間とした。

各群の投与濃度は LD₅₀ 値（文献 5）を参考にして決定した。すなわち、LD₅₀ 値（650 μ l/kg body weight）に相当する被験物質が 1 日当たりの飲水摂取量に含まれる濃度を計算し、これを最高用量として設定した。以上のことから 2 週間試験の投与濃度は、雌雄ともに最高投与濃度を 20000 ppm に設定し、以下、8000 ppm、3200 ppm、1280 ppm、512 ppm（公比 2.5）とした。

Ⅱ-1-6 被験物質混合飲水の調製方法

脱イオン水に被験物質を加え、マグネチックスターラ（池田理化(株)製 1S 3GL 型）を用いて各設定濃度になるように希釈混合による調製をした。なお、試験における濃度の表示は、ppm（重量対重量比）とした。また、被験物質の混合飲水の調製頻度は、給水瓶の交換頻度に合わせて毎週 2 回とした。

Ⅱ-1-7 調製時における被験物質混合飲水中の被験物質の濃度

各投与濃度に調製された被験物質混合飲水中における被験物質の濃度は、初回調製時（初回投与開始直前）に各濃度毎に混合容器内の被験物質混合飲水を 3 点サンプリングし、ガスクロマトグラフ（Hewlett Packard 5890A）を用いて分析し、確認した。分析の結果、各群の平均調製濃度は設定濃度に対し、99.4～103%の範囲にあった。

その結果を APPENDIX L 3 に示した。

Ⅱ-1-8 被験物質混合飲水中の被験物質の安定性

調製された被験物質混合飲水中における被験物質の投与状態での安定性は、最低用量の 512 ppm と最高用量の 20000 ppm の被験物質混合飲水を調製し、給水瓶に充填した被験物質混合飲水を 7 日間動物飼育室内に放置し、調製時及び調製後 7 日目に給水瓶内の被験物質混合飲水をそれぞれ 3 点サンプリングし、ガスクロマトグラフ（Hewlett Packard 5890A）を用いて分析し、測定結果を比較することにより確認した。その結果、調製時を 100% とすると、7 日後には 512 ppm : 94.0%、20000 ppm : 94.0% であり、投与状態（室温放置）での被験物質混合飲水中の被験物質は安定であることを確認した。

その結果を APPENDIX L 4 に示した。

Ⅱ-1-9 被験物質の摂取量

体重、摂水量及び設定濃度より被験物質の体重 kg 当たりの一日摂取量 (g/kg body weight /day) を算出した。

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、雌雄各群 10 匹の動物を用いた。

雄		雌	
群名称	使用動物数（動物番号）	群名称	使用動物数（動物番号）
対照群	10 匹（1001～1010）	対照群	10 匹（2001～2010）
512 ppm 群	10 匹（1101～1110）	512 ppm 群	10 匹（2101～2110）
1280 ppm 群	10 匹（1201～1210）	1280 ppm 群	10 匹（2201～2210）
3200 ppm 群	10 匹（1301～1310）	3200 ppm 群	10 匹（2301～2310）
8000 ppm 群	10 匹（1401～1410）	8000 ppm 群	10 匹（2401～2410）
20000 ppm 群	10 匹（1501～1510）	20000 ppm 群	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、発育順調で、異常を認めない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 6)。なお、群分けは被験物質投与直前の体重を基に実施した。

試験期間中の動物の個体識別は、検疫・馴化期間では色素塗布により、投与期間では耳パンチにより識別し、またケージにも個体識別番号を付した。

なお、動物はバリア区域（AC-3 空調エリア）内の独立した室（雌雄とも 313 室）に収容し、飼育室に試験番号、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

動物は、飼育期間を通して、温度 $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ （実測値 平均 \pm 標準偏差： $23.3 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ ）、湿度 $55 \pm 10\%$ （実測値 平均 \pm 標準偏差： $56 \pm 1\%$ ）、明暗サイクル：12 時間点灯(8:00～20:00)/12 時間消灯(20:00～8:00)、換気回数 15～17 回/時の環境下で飼育した。

飼育期間を通して動物の状体に影響を与えるような大きな環境変化は認められなかった。

動物は単飼ケージ(ステンレス製二連型網ケージ：170W×294D×176H mm)に収容した。

飼料は、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)を使用し、固型飼料給餌器により自由摂取させた。

飲水は、検疫期間中は市水（秦野市水道局供給）をフィルターろ過し、紫外線照射した飲料水を自動給水装置で自由摂取させた。馴化期間中は脱イオン水を給水瓶により自由摂

取させた。投与期間中は、所定の濃度に調製した被験物質混合飲水を給水瓶により自由摂取させた。また、対照群については馴化期間と同様に脱イオン水のみを与えた。

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)から分析データを入手し、保管した。飼料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 番 1 号）の分析データを入手し、また、飲料水については(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）に分析を委託し、それぞれ試験計画書に規定した許容基準と比較して異常のないことを確認した。

Ⅱ－3 観察・検査項目及び方法

Ⅱ－3－1 動物の一般状態の観察

全動物について、生死及び瀕死の確認を毎日 1 回行い、詳細な一般状態の観察を投与開始後 1 日目(1 週 1 日)、3 日目(1 週 3 日)、7 日目(1 週 7 日)、10 日目(2 週 3 日)及び 14 日目(2 週 7 日)に行った。

Ⅱ－3－2 体重測定

全動物について、0 日目(投与開始直前)、1 日目(1 週 1 日)、3 日目(1 週 3 日)、7 日目(1 週 7 日)、10 日目(2 週 3 日)及び 14 日目(2 週 7 日)に体重を測定した。また、動物の死亡発見時及び定期解剖の搬出時にも体重を測定した。

Ⅱ－3－3 摂水量測定

全動物について、週 2 回、給水量と残水量を測定し、その差を給水日数で除した値を 1 日当りの摂水量とした。

Ⅱ－3－4 摂餌量測定

全動物について、週 1 回、給餌量と残餌量を測定し、その差を給餌日数で除した値を 1 日当りの摂餌量とした。

Ⅱ－3－5 血液学的検査

定期解剖時まで生存し、採血可能な1群当たり雌雄各5匹（雌8000 ppm群のみ3匹）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、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、血液学的検査を行った。

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

検査方法はAPPENDIX M 1 に示した。

Ⅱ－3－6 血液生化学的検査

定期解剖時まで生存し、採血可能な1群当たり雌雄各5匹（雄8000 ppm群は8匹、雌8000 ppm群のみ2匹）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、遠心分離して得られた血漿を用いて血液生化学的検査を行った。

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、リン脂質、GOT、GPT、LDH、 γ -GTP、CPK、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

検査方法はAPPENDIX M 1 に示した。

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全ての動物について、以下に示した臓器の湿重量（臓器実重量）を測定した。また、湿重量の体重比（臓器重量体重比）、すなわち、定期解剖時の体重に対する百分率を算出した。

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

死亡例については8000 ppm群で雌1例、20000 ppm群で雌雄とも2例、定期解剖例では最高用量群を除く雌雄各群とも2例の動物の臓器を10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液にて固定後、以下に示した臓器を、パラフィン包埋、薄切、ヘマトキシリン・エオジン染

色し、光学顕微鏡にて病理組織学的に検査した。

皮膚、鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺、骨髄、リンパ節、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、精囊、前立腺、卵巣、子宮、陰、乳腺、脳、脊髄、末梢神経、眼球、ハート腺、筋肉、骨

II-4 数値処理と統計方法

II-4-1 数値の取り扱いと表示

数値データは計測機器の精度に合わせて表示した。

体重については g を単位とし、整数値で表示した。

摂餌量と摂水量については g を単位とし、給餌量（給水量）と残餌量（残水量）を小数点以下第 1 位まで計測し、給餌量（給水量）から残餌量（残水量）を減じて摂餌量（摂水量）とした。この値を計測期間の日数で除し、1 日当りの平均摂取量を算出し、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。

アクリル酸=2-ヒドロキシエチルの体重 kg 当たりの一日摂取量は、摂水量にアクリル酸=2-ヒドロキシエチルの設定濃度を乗じ、体重で除した値を g/kg body weight/day を単位として小数点以下第 4 位を四捨五入して小数点以下第 3 位まで表示した。

臓器実重量については g を単位とし、小数点以下第 3 位まで計測し、表示した。臓器重量/体重比については臓器実重量値を解剖時体重で除し、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、血液生化学的検査については APPENDIX M 2 に示した精度により表示した。

なお、各数値データにおける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 母数の取り扱い

体重、摂餌量及び摂水量については、計測時に生存する全ての動物を対象に計測した。

臓器重量については雌雄各群とも 5 匹（雌 8000 ppm 群のみ 4 匹）、血液学的検査では 1 群当たり雌雄各 5 匹（雌 8000 ppm 群のみ 3 匹）、血液生化学的検査では 1 群当たり雌雄各 5 匹（雄 8000 ppm 群は 8 匹、雌 8000 ppm 群は 2 匹）、定期解剖時まで生存した動物を対象とした。

剖検は、全動物を母数とした。病理組織学的検査では、死亡例については 8000 ppm 群で雌 1 例、20000 ppm 群で雌雄とも 2 例、定期解剖例では最高用量群を除く雌雄各群とも

2 例を母数とした。ただし、非腫瘍性病変については有効臓器数（供試臓器数から欠損臓器数を除いた臓器数）を母数とした。

Ⅱ－4－3 統計方法

本試験で得られた測定値は、対照群を基準として、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 の多重比較により対照群と各投与群の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、対照群と各投与群の Dunnett(型)の多重比較を行った。

なお、予備検定は 5% の有意水準で両側検定を行い、最終検定では、5% 及び 1% の有意水準の表示を行った。

各群雌雄毎に検査数が 2 以下の項目については検定より除外した。

Ⅲ 試験成績

Ⅲ-1 生死状況

生死状況を TABLE 1, 2、APPENDIX A 1, 2 に示した。

20000 ppm 群では、雄で投与開始後 6 日目（1 週 6 日）に、雌で投与開始後 5 日目（1 週 5 日）に最初の死亡がみられ、投与終了時には雌雄とも全ての動物が死亡した。また、8000 ppm 群では、雄で投与開始後 14 日目（2 週 7 日）に 1 匹のみ、雌で投与開始後 11 日目（2 週 4 日）～13 日目（2 週 6 日）の間に 6 匹の死亡が認められた。

Ⅲ-2 一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX A 1, 2 に示した。

雌雄とも 8000 ppm 群と 20000 ppm 群で投与開始後 3 日目（1 週 3 日）より、糞小粒、糞少量が観察された。また、8000 ppm 群の雄では最終観察日（2 週 7 日）に、雌では 10 日目（2 週 3 日）に、円背位が認められた。

Ⅲ-3 体重

体重の推移を TABLE 1, 2、FIGURE 1, 2 及び APPENDIX B 1, 2 に示した。

雌雄とも 8000 ppm 群と 20000 ppm 群で体重低下が認められた。また、3200 ppm 群では雌雄とも体重増加の抑制が認められた。雌雄とも 512 ppm 群と 1280 ppm 群では対照群と同様な体重推移を示した。

なお、最終計測日（2 週 7 日）における各投与群の体重は、対照群と比較して、雄では 8000 ppm 群：39%、3200 ppm 群：80%、1280 ppm 群：95%、512 ppm 群：98%、雌では 8000 ppm 群：46%、3200 ppm 群：88%、1280 ppm 群：98%、512 ppm 群：99%であった。

Ⅲ-4 摂水量

摂水量を TABLE 3, 4、FIGURE 3, 4 及び APPENDIX C 1, 2 に示した。

雌雄とも 20000 ppm 群と 8000 ppm 群に著しい摂水量の低値が認められた。3200 ppm 群では雌雄とも投与期間を通した低値が、1280 ppm 群では雌雄ともに僅かな低値が散見された。雌雄とも 512 ppm 群では対照群と同様な摂水量を示した。

投与期間中の投与群の摂水量は対照群に対して雄では 20000 ppm 群：4～7%、8000 ppm 群：9～11%、3200 ppm 群：37～53%、1280 ppm 群：70～76%、512 ppm 群：80～89%、雌では 20000 ppm 群：6～8%、8000 ppm 群：11～15%、3200 ppm 群：40～53%、1280 ppm 群：63～73%、512 ppm 群：85～94%の範囲にあった。

Ⅲ-5 摂餌量

摂餌量を TABLE 5, 6, FIGURE 5, 6 及び APPENDIX D 1, 2 に示した。

雌雄とも 20000 ppm 群と 8000 ppm 群に著しい摂餌量の低値が認められた。3200 ppm 群では雌雄とも投与期間を通した低値が、1280 ppm 群では雌雄ともに僅かな低値がみられた。512 ppm 群では対照群と同様な摂餌量を示した。

投与期間中の投与群の摂餌量は、対照群に対して、雄では 20000 ppm 群：17～39%、8000 ppm 群：27～46%、3200 ppm 群：66～77%、1280 ppm 群：90～95%、512 ppm 群：94～96%、雌では 20000 ppm 群：21～32%、8000 ppm 群：29～37%、3200 ppm 群：65～88%、1280 ppm 群：87～95%、512 ppm 群：96～98%の範囲にあった。

Ⅲ-6 被験物質摂取量

体重、摂水量及び設定濃度より算出した被験物質摂取量を APPENDIX E 1, 2 に示した。

全投与期間における各群の 1 日当たりの被験物質摂取量 (g/kg body weight/day)は、雄で 20000 ppm 群：0.188～0.229、8000 ppm 群：0.148～0.194、3200 ppm 群：0.172～0.216、1280 ppm 群：0.091～0.124、512 ppm 群：0.041～0.057、雌では 20000 ppm 群：0.252～0.373、8000 ppm 群：0.161～0.258、3200 ppm 群：0.205～0.248、1280 ppm 群：0.102～0.134、512 ppm 群：0.053～0.064 の範囲にあった。

Ⅲ-7 血液学的検査

血液学的検査の結果を APPENDIX F 1, 2 に示した。

20000 ppm 群は雌雄とも全例死亡のため、検査数は 0 であった。

雄では、3200 ppm 以上の群で血小板数の減少、8000 ppm 群で赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の増加、並びに網赤血球比の減少、プロトロンビン時間の延長と APTT の延長傾向が認められた。その他、8000 ppm 群では白血球数の減少、分葉核好中球比の増加及びリンパ球比の減少が認められた。

雌では、8000 ppm 群で赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値及び MCV の増加、並びに血小板数と網赤血球比の減少、プロトロンビン時間と APTT の延長傾向が認められた。その他、8000 ppm 群では分葉核好中球比の増加とリンパ球比の増加が認められた。

Ⅲ－８ 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を APPENDIX G 1, 2 に示した。

20000 ppm 群は雌雄とも全例死亡のため、検査数は 0 であった。

雄では、3200 ppm 群と 8000 ppm 群で尿素窒素の増加、8000 ppm 群で総蛋白、カルシウム及びグルコースの減少、A/G 比、総ビリルビン、総コレステロール及びクロールの増加、並びに GOT と GPT の上昇傾向、 γ -GTP 及び LDH の上昇が認められた。その他、3200 ppm 群で無機リンの減少が認められたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

雌では、3200 ppm 群と 8000 ppm 群で尿素窒素の増加、8000 ppm 群でナトリウム、クロール及び無機リンの増加傾向、並びに GOT、GPT、LDH、 γ -GTP 及び CPK の上昇傾向が認められた。

Ⅲ－９ 病理学的検査

Ⅲ－９－１ 剖検

観察された剖検所見を、全動物については APPENDIX H 1, 2 に、途中死亡動物については APPENDIX H 3, 4 に、定期解剖動物については APPENDIX H 5, 6 に示した。

雄では、胸腺の萎縮が 8000 ppm 群に全匹（死亡動物 1 匹、定期解剖動物 9 匹）、20000 ppm 群の死亡動物に 9 匹認められた。腺胃の赤色化が 8000 ppm 群のみに 6 匹（死亡動物 1 匹、定期解剖動物 5 匹）、胃の褐色液貯留と透明液貯留が 20000 ppm 群の死亡動物に各 1 匹認められた。その他、肝臓のヘルニアが対照群、1280 ppm 群、3200 ppm 群、8000 ppm 群に各 1 匹認められた。

雌では、胸腺の萎縮が 8000 ppm 群に全匹（死亡動物 6 匹、定期解剖動物 4 匹）、20000 ppm 群の死亡動物 8 匹に認められた。腺胃の赤色化が 8000 ppm の定期解剖動物に 2 匹、胃の褐色液貯留と透明液貯留が 20000 ppm 群の死亡動物に各 1 匹認められた。その他、肝臓のヘルニアが 3200 ppm 群に 2 匹認められた。

Ⅲ－９－２ 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 APPENDIX I 1, 2（実重量）、I 1, 2（体重比）に示した。

雄では、胸腺、脾臓及び肝臓は 3200 ppm 群で実重量の低値、8000 ppm 群で実重量と体重比の低値が認められた。腎臓は、1280 ppm で実重量の高値、3200 ppm 群では体重比の高値、8000 ppm 群では実重量の低値と体重比の高値が示された。

雌では、脾臓は 3200 ppm 群で実重量の低値、がみられ、8000 ppm 群で実重量と体重比

の低値が認められた。胸腺は 8000 ppm 群に実重量と体重比の低値、肝臓は 8000 ppm 群に実重量の低値が認められた。腎臓は、1280 ppm 群と 3200 ppm 群で体重比の高値、8000 ppm 群で実重量の低値と体重比の高値を示した。脳では、雄の 8000 ppm に実重量の低値、雌雄とも体重比の高値が 3200 ppm 以上の群でみられた。

その他の臓器（副腎、精巣、卵巣、心臓、肺）では、8000 ppm 群の雌雄と 3200 ppm の雄で実重量の低下（ただし、精巣を除く）及び体重比の増加または増加傾向がみられた。これらの臓器の実重量の低下と体重比の増加には、忌避行動や中毒に伴って（摂餌・摂水量の低下の結果として）、低栄養状態による臓器重量の低下の要因並びに体重の著しい減少に伴って、実重量はほとんど変化しなくとも体重比が増加するという要因が存在すると思われる。

Ⅲ－9－3 病理組織学的検査

定期解剖動物の病理組織学的所見（雌雄各群とも 2 匹、但し 20000 ppm 群は全匹途中死亡のため検査数は 0）を APPENDIX K 1, 2 に、死亡・瀕死動物の病理組織学的所見（雌雄の 20000 ppm 群は 2 匹、雌の 8000 ppm 群は 1 匹）を APPENDIX K 3, 4 に示した。

定期解剖例の雄では、8000 ppm 群で骨髓の鬱血（2 匹）と造血低下（2 匹）、胸腺の萎縮（2 匹）、胃の出血（1 匹）、精巣の精原細胞壊死（2 匹）が認められた。また、3200 ppm 群のみに肝臓の細胞分裂像増加（2 匹）が認められた。雌では 8000 ppm 群で骨髓の鬱血（2 匹）と造血低下（2 匹）、胸腺の萎縮（2 匹）、脾臓の萎縮（1 匹）、腺胃の出血（1 匹）と変性（1 匹）が認められた。また、3200 ppm 群のみに肝臓の細胞分裂像増加（1 匹）が認められた。

死亡・瀕死動物の雄では、20000 ppm 群に骨髓の鬱血（2 匹）と造血低下（2 匹）、胸腺の萎縮（1 匹）と核崩壊（1 匹）、脾臓の萎縮（1 匹）、腺胃の出血（1 匹）、精巣の精原細胞壊死（1 匹）が認められた。雌では、8000 ppm 群と 20000 ppm 群に骨髓の鬱血（8000 ppm 群：1 匹、20000 ppm 群：2 匹）と造血低下（8000 ppm 群：1 匹、20000 ppm 群：2 匹）、胸腺の萎縮（8000 ppm 群：1 匹、20000 ppm 群：1 匹）、脾臓の萎縮（8000 ppm 群：1 匹、20000 ppm 群：2 匹）が認められた。20000 ppm 群のみに胸腺の核崩壊（1 匹）が認められ、8000 ppm 群のみに腺胃の出血（1 匹）と肝臓の細胞分裂像増加（1 匹）が認められた。

IV 考察及びまとめ

アクリル酸＝2－ヒドロキシエチル（被験物質）の F344/DuCrj（Fischer）ラットを用いた経口投与による2年間（104週間）のがん原性試験のための予備試験である13週間試験を実施するに当たり、その投与濃度を決定するために2週間試験を実施した。投与はアクリル酸＝2－ヒドロキシエチルを各投与濃度に溶解した飲料水の自由摂取で行った。1群当たりの動物数は雌雄各10匹とし、被験物質投与群5群、対照群1群の6群構成で行った。投与濃度は、雌雄とも512、1280、3200、8000、20000 ppm（公比2.5）とした。

(1) 用量－反応関係

20000 ppm 群では、雌雄とも大幅な摂水量の低下がみられ、顕著な摂餌量の低下と体重の減少が認められ、全ての動物が死亡した。消耗性変化として、骨髓の鬱血と造血低下、胸腺の萎縮と核崩壊及び脾臓の萎縮が雌雄に、胃の出血が雄に認められた。これら消耗性変化は、摂水量が極めて少ないことから、動物の死因に忌避も寄与していると考えられた。その他、精巣の精原細胞壊死が認められ、精巣への影響が示唆された。

8000 ppm 群でも、雌雄とも大幅な摂水量の低下、顕著な摂餌量の低下と体重減少が認められ、雄に1匹、雌に6匹の死亡がみられた。消耗性変化として、骨髓の鬱血と造血低下、胸腺の萎縮、胃の出血および胸腺と脾臓の重量低下が雌雄に、また、胃の変性及び脾臓の萎縮が雌に認められた。これらの消耗性変化は被験物質混合飲水の忌避が寄与しているものと考えられた。血液系への影響として、雌雄とも赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、MCV（雌のみ）の増加が認められ、摂水量の顕著な減少に伴う血液濃縮が示唆された。その他、雌雄ともに血小板数の減少及びプロトロンビン時間とAPTTの延長傾向が認められた。また、雄で白血球数の減少と各種の白血球の構成比の変化が認められた。雌でも各種の白血球の構成比の変化が認められた。腎臓への影響として、尿素窒素の増加が雌雄に認められた。肝臓への影響として、雌雄ともに、GOT、GPT、 γ -GTP及びLDHの上昇、総蛋白、アルブミン、A/G比の増加、総ビリルビン、総コレステロール及びリン脂質の増加、並びに肝臓の重量低下が認められた。精巣への影響として精原細胞の壊死が認められた。

3200 ppm 群では、雌雄とも死亡はみられなかったが、摂水量と摂餌量の低下及び体重増加の抑制が認められた。消耗性変化として胸腺の実重量の低下が雄に、脾臓の実重量低下が雌雄に認められた。血液系への影響として雄で血小板数の減少、腎臓への影響として尿素窒素の増加が雌雄に、肝臓への影響として肝臓の細胞分裂像の増加が雌雄に認められた。

1280 ppm 群では、雌雄とも摂水量の低下が認められ、摂餌量がわずかに低下したが、体重は順調に推移した。腎臓の実重量の高値が雄の1280 ppm 群でみられた。その他の検査では異常は認められなかった。

512 ppm 群では、全ての観察・検査において異常は認められなかった。なお、肝臓のヘルニアが、対照群では雄1匹、投与群では雄3匹、雌2匹にみられたが、先天奇形であり、本被験物質投与による影響とは考えなかった。

(2) 無毒性量 (NOAEL)

上記のように、腎臓への影響が雌雄 3200 ppm 群で尿素窒素の増加、雄 1280 ppm 群で腎臓実重量の増加として現れた。しかし、512 ppm 群で全ての検査・観察において異常が認められなかった。従って、2 週間の飲水投与によるアクリル酸=2-ヒドロキシエチルのラットに対する無毒性量は、腎臓での所見をエンドポイントとして 512 ppm (雄：0.041～0.057 g/kg body weight/day) であると考えられる。

(3) 13 週間試験の投与濃度

13 週間試験の投与濃度は、今回の 2 週間投与試験の結果を考慮し、下記のように設定した。20000 ppm 群と 8000 ppm 群では被験物質混合飲水に対する忌避がみられ、雌雄ともに死亡が認められたため、この濃度で 13 週間の試験を実施するのは適切でないと考えた。一方、3200 ppm 群では摂水量及び摂餌量の低下が認められ、体重増加の抑制が認められたが動物に死亡はなく、血液学的検査、血液生化学的検査、病理学的検査では重篤な影響を示す所見は認められなかった。13 週間試験の最高用量は、できるだけ消耗性の変化が少なく、また、被験物質の毒性が現れる濃度、すなわち、3200 ppm 以上で 8000 ppm 以下、かつ 3200 ppm 群の動物の状態から推察して 3200 ppm に近い濃度に設定すべきであると考えた。従って、13 週間試験の投与濃度は、雌雄とも最高用量を 4000 ppm とし、以下 2000 ppm、1000 ppm、500 ppm、250 ppm (公比 2.0) に設定した。

V 文献

1. 化学工業日報社 (2000)
13700 の化学商品
pp.342-343, 化学工業日報社, 東京
2. Buckingham J. and MacDonald F. M. (eds.) (1982)
Dictionary of Organic Compounds.
10th Suppl. p.312, Chapman and Hall, London.
3. McLafferty F. W. (1994)
Wiley Registry of Mass Spectral Data, 6th edition,
Entry Number 12762. John Wiley and Sons, Inc. (U.S.)
4. 和光純薬工業(株)提供資料 (1996)
赤外吸収スペクトル
5. Registry of Toxic Effects of Chemical Substances (RTECS) (1997)
The National Institute for Occupational Safety and Health.
Cincinnati, OH.
6. 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.