アクリル酸のマウスを用いた吸入による2週間毒性試験報告書

試験番号：0639

CAS No. 79-10-7

2007年3月30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

アクリル酸のマウスを用いた吸入による2週間毒性試験

試験目的

アクリル酸の吸入によるがん原性試験の投与濃度を決定する 13 週間試験の予備試験として、アクリル酸をマウスに2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412（反復投与吸入毒性：28日又は14日試験 1981年5月12日採択）を参考にして実施した。

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
山本　静護
神奈川県秦野市平沢 2445

アクリル酸のマウスを用いた吸入による2週間毒性試験報告書

試験番号：0639

本文

本文目次

頁

要約 ・・・

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 ･･ 8
Ⅱ－3－4　血液学的検査 ･･･ 8
Ⅱ－3－5　血漿の保存 ･･ 8
Ⅱ－3－6　病理学的検査 ･･･ 8
（1）剖検 ･･ 8
（2）臓器重量 ･･ 8
（3）臓器の採取保存 ･･･ 8
（4）病理標本の作製及び病理組織学的検査 ･･････････････････････････ 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 ･･･ 12
Ⅲ－4　摂餌量 ･･･ 12
Ⅲ－5　血液学的検査 ･･･ 12
Ⅲ－6　病理学的検査 ･･･ 12
Ⅲ－6－1　剖検 ･･･ 12
Ⅲ－6－2　臓器重量 ･･･ 13
Ⅲ－6－3　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　13 週間試験の濃度決定 ･･･････････････････････････････････････ 16

Ⅴ　文献 ･･ 17

要約

アクリル酸のがん原性試験の投与濃度決定試験（13 週間試験）の予備試験として、その生体影響を検索する目的で B6D2F1/Crlj マウスを用いた吸入による 2 週間の試験を実施した。

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 5 匹とし、合計 60 匹を用いた。被験物質の投与は、アクリル酸を 1 日 6 時間、1 週 5 日間、2 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 15、38、96、240 及び 600 ppm（公比 2.5）とした。観察､検査として、生死確認、一般状態の観察、体重および摂餌量の測定、血液学的検査、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。

アクリル酸の暴露の結果、600 ppm 群で雌雄の全動物が死亡した。他の群に死亡はみられなかった。

死亡動物では、一般状態の観察で雌雄に不整呼吸、異常呼気音、自発運動量減少、腹部膨隆がみられた。剖検観察では、雌雄に胃、小腸及び大腸へのガス貯留、胃の赤色斑と穿孔、胸腺の萎縮がみられた。病理組織学的検査では、鼻腔の呼吸上皮と嗅上皮に変化がみられ、呼吸上皮には壊死（重度)、潰瘍（中等度～重度）及び炎症（軽度)、嗅上皮には壊死（中等度）が全動物に認められ、鼻腔の傷害に基づく呼吸不全により死亡したと考えられた。

生存動物では、一般状態の観察でアクリル酸の影響と思われる変化はみられなかった。体重は雌雄の 240 ppm 群で増加の抑制（最終体重は対照群に対し、雄：88%、雌：93%）が認められ､同群では摂餌量も減少した｡血液学的検査では 240 ppm 群の雄で網赤血球比が増加、雌でも増加傾向がみられた｡臓器重量では 240 ppm 群の雄に脾臓の実重量の低値､雌に胸腺の実重量と体重比の低値、及び脾臓の実重量の低値がみられた。病理組織学的検査では、鼻腔の呼吸上皮と嗅上皮への影響が雌雄とも暴露濃度に対応して認められた。呼吸上皮には、壊死、潰瘍、萎縮及び炎症が 240 ppm 群でみられた。また、嗅上皮には、壊死が 38 ppm 以上の群でみられ、萎縮と配列不整は最低濃度である 15 ppm 群でも認められた。

以上のことから、13 週間試験の投与濃度は雌雄とも、180 ppm を最高濃度とし、以下、96 ppm から公比 3 で（少数点以下第 2 位四捨五入）、32、10.7、3.6 ppm とした。

Ⅰ　試験材料

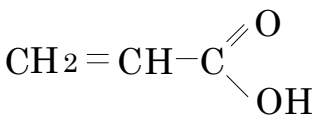
Ⅰ－1　被験物質の性状等

Ⅰ－1－1　名称等

名　　称：　アクリル酸(Acrylic acid)
CAS No.：　79-10-7

Ⅰ－1－2　構造式及び分子量（文献 1）

構 造 式：



分 子 量：　72.06

Ⅰ－1－3　物理化学的性状等（文献 1）

性　　状：　無色の液体
沸　　点：　141℃
蒸 気 圧：　3.97mmHg（25℃）
比　　重：　1.0511（20℃／4℃）
溶 解 性：　水、アルコールに可溶
保管条件：　冷暗所に保管

Ⅰ－2　被験物質の使用ロット等

使用ロット番号：　EWE0688
製　造　元：　和光純薬工業(株)
グ レ ー ド：　和光特級
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、その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）と同じ分子イオン及び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、被験物質はアクリル酸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、投与開始前及び投与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（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、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 A2 に示した。

Ⅰ－4　試験動物

動物は、アクリル酸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 37 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 30 匹（群構成時体重範囲、雄：22.4～25.2g、雌：19.0～21.2g）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、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、1 週 5 日の暴露で 2 週間とした。

Ⅱ－1－4　投与濃度

投与濃度は、15、38、96、240 及び 600 ppm の 5 段階（公比 2.5、小数点以下第 1 位四捨五入）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　投与方法、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決定試験（13 週間試験）に使用する投与濃度を決定するため 2 週間とした。

投与濃度は以下のように決定した。文献検索を行った結果、マウスのLC50値はみつからなかった。しかし、マウスの経口によるLD50値は830 mg/kg、ラットの吸入によるLD50値は1250 mg/kg（文献4）であることから、毒性の感受性にマウスとラットには大きな種差はないと考え、本試験の最高濃度はラットのLC50値：1224 ppm（文献5）の約1/2濃度である600 ppmとした。また、Millerら（文献6）は、雌雄の$B_6C_3F_1$マウスに25、75、225 ppmのアクリル酸を10日間（6時間/日、5日/週）吸入暴露した結果、動物の死亡はみられなかったが、225 ppm群の雌に体重増加の抑制、全ての投与群に鼻腔粘膜の変性と滲出物がみられたと報告している。この報告から、本試験の最低濃度は25 ppm未満が妥当と考えた。従って、本試験の投与濃度

は雌雄とも最高濃度を600 ppmとし、以下、240、96、38、15 ppm（公比2.5、小数点以下第1位四捨五入）と決定した。

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、その平均値と設定濃度の差（(平均値－設定濃度）／設定濃度×100）が 0.5 %以内、変動係数（標準偏差／平均値×100）が 4.0 %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 5 匹の動物を用いた。

群 名 称	動物数（動物番号）	
	雄	雌
対　照　群	5 匹　(1001～1005)	5 匹　(2001～2005)
15 ppm 群	5 匹　(1101～1105)	5 匹　(2101～2105)
38 ppm 群	5 匹　(1201～1205)	5 匹　(2201～2205)
96 ppm 群	5 匹　(1301～1305)	5 匹　(2301～2305)
240 ppm 群	5 匹　(1401～1405)	5 匹　(2401～2405)
600 ppm 群	5 匹　(1501～1505)	5 匹　(2501～2505)

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（601 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（601 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±2℃　＜605 室；22.4±0.1℃＞
　　吸入試験室；21±2℃　＜601 室；21.3±0.3℃＞
　　吸入チャンバー内；20～24℃

湿　　度　　：　検疫室；55±15%　＜605 室；55±0%＞
　　吸入試験室；55±15%　＜601 室；56±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、被験物質暴露中及び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。ただし、被験物質暴露中は給水しなかった

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

動物の生死の確認は、検疫及び馴化期間中は毎日 1 回行い、投与期間中は暴露を行った日には暴露前と暴露後の 2 回、暴露を行わなかった土曜日と日曜日には午前中に 1 回行った。

一般状態の詳細観察は、検疫及び馴化期間中は検疫開始日（導入時）、検疫終了・馴化開始日及び馴化最終日（群構成時）に行い、投与期間中は 2、3、4、5、7、10、14 日目の暴露開始前及び 1、2、3、4 日目の暴露後に行った。

Ⅱ－3－2　体重測定

体重測定は、検疫及び馴化期間中は検疫開始日（導入時）、検疫終了・馴化開始日及び馴化最終日（群構成時）に行い、投与期間中は 2、4、7、10、14 日目の暴露開始前に行った。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 K 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

Ⅱ－3－5　血漿の保存

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、得られた血漿を冷凍保存した。

Ⅱ－3－6　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）臓器の採取保存

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した。

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

（4）病理標本の作製及び病理組織学的検査

全動物について、下記の器官、組織を切り出し、パラフィン包埋を行った。

器官・組織：鼻腔（3 箇所を横断）、鼻咽頭、喉頭、気管、肺、脾臓、心臓、肝臓、腎臓、副腎、肉眼的に変化のみられた器官及び組織

鼻腔、鼻咽頭は全動物について薄切、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。また、一部の動物については肉眼的に変化のみられた胃、小腸及び大腸について病理組織学的検査を行った。

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。

血液学的検査は APPENDIX K 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。

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 2, 3 に示した。

－雄－

600 ppm 群の全動物が投与期間 1 週の 3 日目（2 匹）から 4 日目（3 匹）に死亡した。

他の群に死亡はみられなかった。

－雌－

600 ppm 群の全動物が投与期間 1 週の 3 日目（1 匹）から 4 日目（4 匹）に死亡した。

他の群に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 APPENDIX C 1, 2 に示した。なお、暴露前の所見及び暴露のない日の午前の所見は「週－日の 1」、暴露後の所見は「週－日の 2」として示した。

－雄－

600 ppm 群（全動物死亡）では、不整呼吸（1 週の 1 日目暴露以降）が死亡するまでに全動物にみられ、異常呼気音（1 週の 1 日目暴露以降）、自発運動量減少、音反射消失、触反射消失、腹部膨隆、（それぞれ 1 週の 2 日目暴露以降）が多くの動物にみられた。また、立毛、鼻泡沫性分泌物、呼吸緩徐、深呼吸、体温低下が少数の動物にみられた。動物はほぼこれらの症状のまま、1 週の 4 日目までに死亡した。

240 ppm 以下の群では被験物質の影響と考えられる変化はみられなかった。

－雌－

600 ppm 群（全動物死亡）では、不整呼吸、異常呼気音（それぞれ 1 週の 1 日目暴露以降）が死亡するまでに全動物にみられ、自発運動量減少、腹部膨隆、眼瞼閉鎖（それぞれ 1 週の 2 日目暴露以降）が多くの動物にみられた。また、音反射消失、触反射消失、体温低下が少数の動物にみられた。動物はほぼこれらの症状のまま、1 週の 4 日目までに死亡した。

240 ppm 以下の群では被験物質の影響と考えられる変化はみられなかった。ただし、240 ppm 群の雌 1 匹に、腹部膨隆、不整呼吸、異常呼気音が 1 週の 4 日目の暴露後に観察されたが、当日のみの所見で翌日以降に変化はみられなかった。

Ⅲ－3　体重

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

－雄－

生存動物では 240 ppm 群で体重増加の抑制が認められた。

投与群の最終体重は対照群に対し、15 ppm 群：99%、38 ppm 群：95%、96 ppm 群：97%、240 ppm 群：88%であった。

－雌－

生存動物では 240 ppm 群で体重増加の抑制が認められた。

投与群の最終体重は対照群に対し、15 ppm 群：101%、38 ppm 群：100%、96 ppm 群：99%、240 ppm 群：93%であった。

Ⅲ－4　摂餌量

摂餌量を TABLE 4, 5 及び APPENDIX E 1, 2 に示した。（600 ppm 群は、雌雄とも投与期間 1 週の 4 日目までに全動物が死亡したためにデータなし。）

－雌雄－

240 ppm 群で摂餌量が減少した。

Ⅲ－5　血液学的検査

血液学的検査の結果を TABLE 6, 7 と APPENDIX F 1, 2 に示した。（600 ppm 群は、雌雄とも投与期間 1 週の 4 日目までに全動物が死亡したためにデータなし。）

－雄－

網赤血球比の増加が 240 ppm 群でみられた。

－雌－

統計学的には有意ではなかったが、240 ppm 群の網赤血球比は対照群より高値であった。

Ⅲ－6　病理学的検査

Ⅲ－6－1　剖検

剖検所見を APPENDIX G 1～4 に示した。

－雄－

600 ppm 群は、小腸と大腸へのガス貯留が全動物にみられた。また、胃のガス貯留が 3 匹、前胃の赤色斑と穿孔、腺胃の穿孔が各 1 匹にみられた。その他、胸腺の萎縮が 3 匹に

認められた。

240 ppm 以下の群には、被験物質の影響と考えられる所見は認められなかった。

－雌－

600 ppm 群は、小腸と大腸へのガス貯留が全動物にみられた。また、胃の穿孔が 2 匹、胃のガス貯留と赤色斑、及び前胃の穿孔が各 1 匹にみられた。その他、胸腺の萎縮が 4 匹に認められた。

240 ppm 以下の群には、被験物質の影響と考えられる所見は認められなかった。

Ⅲ－6－2　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 8, 9 と APPENDIX H 1, 2、APPENDIX I 1, 2 に示した。（600 ppm 群は、雌雄とも投与期間 1 週の 4 日目までに全動物が死亡したためにデータなし。）

－雄－

脾臓の実重量の低値が 240 ppm 群にみられた。

その他、240 ppm 群は、腎臓の実重量の低値と脳の体重比の高値が示された。しかし、腎臓の体重比、及び脳の実重量には対照群との間に差が認められず、また、この群の解剖時体重は、有意差は認められないものの対照群より低いことから、解剖時体重の差による変化と考えられる。

－雌－

胸腺の実重量と体重比の低値、及び脾臓の実重量の低値が 240 ppm 群にみられた。

その他、240 ppm 群は腎臓の体重比の高値がみられたが、この変化はこの群の解剖時体重の低値によるものと考えられる。

Ⅲ－6－3　病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果を TABLE 10～13 及び APPENDIX J 1～4 に示した。

－雄－

［600 ppm 群］

鼻腔の呼吸上皮と嗅上皮に変化がみられた。呼吸上皮には壊死（重度）、潰瘍（中等度～重度）及び炎症（軽度）、嗅上皮には壊死（中等度）が全動物に認められた。

［240 ppm 群］

呼吸上皮に壊死（軽度～中等度）が全動物、潰瘍（軽度）と炎症（軽度）が各 3 匹、萎縮（中等度）が全動物に認められた。また、嗅上皮に壊死（軽度）が 4 匹、萎縮（中等度）が全動物に認められた。

［96 ppm 群］

嗅上皮に壊死（軽度）が 3 匹、萎縮（軽度～中等度）が全動物に認められた。

［38 ppm 群］

嗅上皮に壊死（軽度）が 2 匹、萎縮（軽度～中等度）が 4 匹、配列不整（軽度）が 3 匹に認められた。

［15 ppm 群］

嗅上皮に萎縮（軽度）が 2 匹、配列不整（軽度）が 4 匹に認められた。

－雌－

［600 ppm 群］

鼻腔の呼吸上皮と嗅上皮に変化がみられた。呼吸上皮には壊死（重度）、潰瘍（重度）及び炎症（軽度）、嗅上皮には壊死（中等度）が全動物に認められた。なお、胃には出血や前胃の潰瘍が認められた。

［240 ppm 群］

呼吸上皮に壊死（軽度）が全動物、潰瘍（軽度）と炎症（軽度）が各 1 匹、萎縮（中等度）が全動物に認められた。また、嗅上皮に壊死（軽度）と萎縮（中等度）が全動物に認められた。

［96 ppm 群］

嗅上皮に壊死（軽度）と萎縮（軽度～中等度）が全動物に認められた。

［38 ppm 群］

嗅上皮に壊死（軽度）が 1 匹、萎縮（軽度～中等度）が全動物、配列不整（軽度）が 3 匹に認められた。

［15 ppm 群］

嗅上皮に萎縮（軽度）と配列不整（軽度）が各 4 匹に認められた。

Ⅳ　考察及びまとめ

アクリル酸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、その予備試験である 13 週間試験の投与濃度を決定するための予備試験として本試験（2 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 5 匹）を設け、アクリル酸の投与濃度は、15、38、96、240 及び 600 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 2 週間とし、投与期間中、生死及び一般状態の観察、体重、摂餌量の測定を行い、投与期間終了後、動物を解剖し、血液学的検査、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。また、投与期間中の死亡動物についても剖検観察及び病理組織学的検査を行った。

Ⅳ－1　用量－反応関係

アクリル酸の暴露の結果、600 ppm 群の雌雄全動物が投与 1 週の 3 日目から 4 日目に死亡した。他の群に死亡はみられなかった。

一般状態の観察では、600 ppm 群の死亡動物は雌雄に不整呼吸、異常呼気音、自発運動量減少、腹部膨隆がみられた。他に、音反射消失、触反射消失、体温低下、立毛、鼻泡沫性分泌物、呼吸緩徐、深呼吸、眼瞼閉鎖等の症状も少数の動物にみられた。動物はほぼこれらの症状のまま、1 週の 4 日目までに死亡した。240 ppm 以下の群では雌雄ともアクリル酸の影響と考えられる一般状態の変化はみられなかった。

体重は、雌雄とも 240 ppm 群で体重増加の抑制（最終体重は対照群に対し、雄 : 88%、雌 : 93%）が認められた。

血液学的検査では、網赤血球比の増加が 240 ppm 群の雄にみられた。有意差はみられないものの、240 ppm 群の雌の値も対照群より高値であった。雌雄とも赤血球数等に変化はみられてはいないが、本試験と同時に実施したアクリル酸のラットを用いた 2 週間試験でも、最高濃度の 600 ppm 群の雌雄で網赤血球比の増加がみられている（文献 8）。

剖検では、全動物が死亡した 600 ppm 群に胃、小腸及び大腸へのガス貯留、胃の赤色斑と穿孔、胸腺の萎縮がみられた。胃の赤色斑または穿孔がみられた動物の胃には、出血や前胃の潰瘍が認められた。胃、小腸及び大腸へのガス貯留は、鼻腔の傷害により呼吸が困難になった結果、口呼吸を行っていたことを示す所見と推察される（文献、9）。また、胸腺の萎縮は動物がストレス状態にあったことを示唆する所見と考えられる（文献 10）。胃の赤色斑と穿孔の原因は、1）ガスの貯留による胃粘膜の圧迫、2）上部気道に沈着したアクリル酸の嚥下（文献 11）、3）ストレス状態に伴う変化（文献 12）の可能性が考えられる。

臓器重量は、240 ppm 群に雄の脾臓の重量低下、雌の胸腺と脾臓の重量低下が認められた。化学物質の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知

られており（文献 10、13）、剖検時に観察された胸腺の萎縮と同様に、240 ppm 群で認められた臓器重量の変化はアクリル酸の暴露により動物がストレス状態にあったことを示唆していると考える。

病理組織学的検査は主に鼻腔と鼻咽頭について実施した。600 ppm 群の死亡動物は、鼻腔の呼吸上皮に壊死、潰瘍及び炎症、嗅上皮に壊死がみられ、特に呼吸上皮の壊死と潰瘍の程度は中等度から重度であり、これらの動物は鼻腔の傷害に基づく呼吸不全により死亡したと考えられた。投与終了時まで生存した 240 ppm 群以下の動物でも、鼻腔の呼吸上皮と嗅上皮への影響が雌雄とも暴露濃度に対応して認められた。すなわち、呼吸上皮には、壊死、潰瘍、萎縮及び炎症が 240 ppm 群でみられた。また、嗅上皮には、壊死が 38 ppm 以上の群でみられ、萎縮と配列不整は最低濃度である 15 ppm 群でも認められた。アクリル酸は強い局所刺激を有することが報告されている（文献 5）。また、呼吸上皮と嗅上皮に認められたこれらの所見は刺激性を有する化学物質の吸入によって生じることが知られている（文献 14）。従って、本試験で観察された上記の鼻腔の所見は、アクリル酸の刺激性に起因した変化と考えられる。鼻咽頭には各投与群とも病理組織学的に変化はみられなかった。

Ⅳ－2　13 週間試験の濃度決定

本試験の結果より、13 週間試験の投与濃度を以下のように決定した。

本試験では、600 ppm 群は雌雄全動物が死亡したが、240 ppm 以下の群では死亡がみられなかった。240 ppm 群は、雌雄ともに体重増加の抑制がみられ、病理組織学的検査で鼻腔の呼吸上皮（炎症、潰瘍、萎縮、壊死）と嗅上皮（萎縮、壊死）に変化がみられたことから、240 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。96 ppm 群は雌雄とも鼻腔の嗅上皮（萎縮、壊死）に変化がみられたものの、体重値の推移は対照群との間に差がなく、96 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、240 ppm と 96 ppm の中間の濃度、180 ppm が妥当と考えた。また、本試験では雌雄とも最低濃度の 15 ppm 群まで、鼻腔の嗅上皮（配列不整、萎縮）に変化がみられたことから、13 週間試験の低濃度群については、15 ppm 未満に 2 段階の濃度を設定することが望ましいと考えた。これらの結果より、13 週間試験の投与濃度は雌雄とも、180 ppm を最高濃度とし、以下、96 ppm から公比 3 で（少数点以下第 2 位四捨五入）、32、10.7、3.6 ppm とした。

V　文献

1. U.S. National Library of Medicine. 2006. Acrylic acid Chemical/Physical Properties. Hazardous Substances DataBank(HSDB).
   Available: http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB [accessed 7 February 2006].

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). 2006. アクリル酸, 赤外吸収スペクトル

4. ACGIH. 2001. Documentation of the Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices. 7th ed. Cincinnati, OH: American Conference of Govermental Industrial Hygienists.

5. Majka J, Knobloch K, Stetkiewicz J. 1974. Evaluation of Acute and Subacute Toxicity of Acrylic Acid. Med Pracy 25: 427-435.

6. Miller RR, Ayres JA, Jersey GC, Mckenna MJ. 1981.Inhalation Toxicity of Acrylic Acid. Fundam Appl Toxicol 1: 271-277.

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. 日本バイオアッセイ研究センター．2007．アクリル酸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：中央労働災害防止教会，日本バイオアッセイ研究センター.

9. 伊東信行編著．1994．標的器官の毒性病理（1），呼吸器系　A．鼻腔.最新毒性病理学. 東京:中山書店，85-95.

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

11. Haschek WM, Witschi HR. 1991. Respiratory system. In: Handbook of Toxicologic Pathology (Haschek WM, Rousseaux CG. eds). San Diego, CA :Academic Press, 761-827.

12. 真鍋淳，松沼尚史，高橋道人，立松正衛，西川秋佳.2000.各論 4 章，消化管，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,153-178.

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

14. 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.