アクリル酸のラットを用いた
吸入による 13 週間毒性試験報告書

試験番号：0677

CAS No. 79-10-7

2008 年 3 月 31 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

アクリル酸のラットを用いた吸入による 13 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予備試験として、アクリル酸をラットに 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
長野　嘉介
神奈川県秦野市平沢 2445

アクリル酸のラットを用いた
吸入による 13 週間毒性試験報告書

試験番号：0677

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 …… 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

Ⅴ　文献 …… 18

Ⅵ　予見することが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 …… 19

要約

アクリル酸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（6 週齢）とし、合計 120 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、13 週間、動物に全身暴露による経気道投与することにより行った。投与濃度は、雌雄とも 10、24、60、150 及び 200 ppm 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。

アクリル酸の暴露の結果、動物の死亡はみられなかった。一般状態の観察でもアクリル酸の影響と考えられる変化はみられなかったが、150 ppm 以上の群の雄で体重増加の抑制がみられ、それに対応した摂餌量の低値もみられた。最終体重は対照群に対し、雄の 150 ppm 群で 94%、200 ppm 群で 90%であった。雌では体重、摂餌量ともアクリル酸の暴露による影響はみられなかった。血液学的検査では、雄には被験物質の影響と考えられる変化はみられなかったが、雌の 60 ppm 以上の群で白血球百分率のリンパ球比の高値、150 ppm 以上の群で分葉核好中球比の低値がみられた。血液生化学的検査では、雄の 150 ppm 以上の群に尿素窒素の高値、200 ppm 群に総蛋白、トリグリセリド、リン脂質及び ALT の低値がみられた。また、雄においてのみ 150 ppm 以上の群に胸腺重量の低値が認められた。

病理組織検査では、雌雄の鼻腔の嗅上皮、嗅神経、呼吸上皮への影響が暴露濃度に対応してみられ、嗅上皮の萎縮が 24 ppm 以上の群、扁平上皮化生が 150 ppm 以上の群、嗅神経線維束の萎縮が 150 ppm 以上の群、呼吸上皮の扁平上皮化生が 60 ppm 以上の群にみられた。10 ppm 群にはアクリル酸の影響と考えられる変化はみられなかった。

以上の結果から、本試験におけるアクリル酸のラットに対する 13 週間吸入暴露による無毒性量（NOAEL）は、鼻腔の嗅上皮の萎縮をエンドポイントとして雌雄とも 10 ppm であると判断した。また、吸入による 2 年間のがん原性試験の投与濃度は、雌雄とも 160 ppm を最高濃度とし、以下、40、10 ppm（公比 4）と決定した。

Ⅰ　試験材料

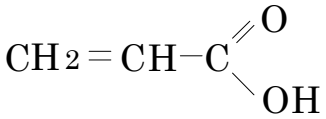
Ⅰ－1　被験物質の性状等

Ⅰ－1－1　名称等

名　　称：　アクリル酸（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：　室温で暗所に保管

Ⅰ－2　被験物質の使用ロット等

使用ロット番号：　DPG1425
製　　造　　元：　和光純薬工業(株)
グ　レ　ー　ド：　和光特級
純　　度：　99.6%（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（㈱日立製作所　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（㈱島津製作所　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 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、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 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：119～137g、雌：94～105g）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、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、原則として 1 週 5 日の暴露で 13 週間とし、計 63 回の暴露を行った。

Ⅱ－1－4　投与濃度

投与濃度は、10、24、60、150 及び 200 ppm の 5 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。

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 週間の予備試験（試験番号 0638）の結果（文献 4）をもとに決定した。

2 週間試験では、600 ppm 群で雌 1 匹が死亡したが、300 ppm 以下の群では死亡がみられなかった。300 ppm 群は、雌雄ともに体重増加の抑制（雄 87%、雌 91%）がみられ、一般状態の変化として鼻漿液性分泌物や異常呼気音が観察された。また、病理組織学的検査で雌雄とも鼻腔の呼吸上皮（炎症、扁平上皮化生、壊死）と嗅上皮（萎縮、壊死、扁平上皮化生（雌））に変化がみられたことから、300 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。150 ppm 群は、雌雄とも鼻腔の呼吸上皮（扁平上皮化生、壊死（雄））と嗅上皮（萎縮）に変化がみられ、また、体重増加の抑制（雄 95%、雌 96%）もみられた

が、その程度は軽度であり、一般状態には変化がみられなかった。従って、150 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、300 ppm と 150 ppm の中間の濃度、200 ppm が妥当と考えた。また、2 週間試験では雌雄とも 75 ppm 群まで、鼻腔の呼吸上皮（扁平上皮化生）と嗅上皮（萎縮）に変化がみられたことから、13 週間試験の最低濃度は、無毒性量（NOAEL）を確認できる濃度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、200 ppm を最高濃度とし、以下、150 ppm から公比約 2.5 で、60、24、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（㈱島津製作所 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 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 1.0%以内、変動係数（標準偏差／平均値×100）が 2.0%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）
24 ppm 群	10 匹（1201～1210）	10 匹（2201～2210）
60 ppm 群	10 匹（1301～1310）	10 匹（2301～2310）
150 ppm 群	10 匹（1401～1410）	10 匹（2401～2410）
200 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 5）。

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（606 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 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；23.3±0.2℃＞
　　吸入試験室；21±2℃　＜601 室；21.3±0.2℃＞
　　吸入チャンバー内；20～24℃

湿　　度　　：　検疫室；55±15%　＜606 室；54±2%＞
　　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（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、シーメンスメディカルソリューションズ・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。

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－

被験物質の影響と考えられる変化はみられなかった。

Ⅲ－3　体重

体重の推移を TABLE D 1～4、FIGURE 2, 3 に示した。

－雄－

150 ppm 以上の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、10 ppm 群：96%、24 ppm 群：98%、60 ppm 群：96%、150 ppm 群：94%、200 ppm 群：90%であった。

－雌－

被験物質の影響と考えられる変化はみられなかった。

投与群の最終体重は対照群に対し、10 ppm 群：105%、24 ppm 群：105%、60 ppm 群：103%、150 ppm 群：102%、200 ppm 群：100%であった。

Ⅲ－4　摂餌量

摂餌量を TABLE E 1～4、FIGURE 4, 5 に示した。

－雄－

150 ppm 以上の群で低値が認められた。他の投与群でも低めに推移した。

－雌－

被験物質の影響と考えられる変化はみられなかった。

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－

被験物質の影響と考えられる変化はみられなかった。

なお、プロトロンビン時間の短縮が 24 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－

白血球百分率で、リンパ球比が 60 ppm 以上の群で高値、分葉核好中球比が 150 ppm 以上の群で低値を示した。

なお、白血球百分率で 10 ppm 群にもリンパ球比の高値と分葉核好中球比の低値がみられたが投与濃度に対応した変化ではなかった。

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－

尿素窒素の高値が 150 ppm 以上の群で、総蛋白、トリグリセリド、リン脂質、ALT の低値が 200 ppm 群でみられた。

なお、A/G 比の高値が 150 ppm 以上の群でみられたが、対照群との差は僅少であり被験物質の暴露とは関連しないものと考える。また、尿素窒素の高値が 24 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－

被験物質の影響と考えられる変化はみられなかった。

なお、総コレステロールの高値が 24 ppm 群で、リン脂質の高値が 24 ppm 群と 60 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－

被験物質の影響と考えら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－

被験物質の影響と考えら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－

胸腺の実重量と体重比の低値が 150 ppm 以上の群でみられた。

その他、肝臓の実重量の低値、精巣と脳の体重比の高値が 150 ppm 以上の群で、腎臓の体重比の高値が 200 ppm 群でみられたが、150 ppm 以上の群の搬出時体重が対照群と比較して低値であり、これらの変化は搬出時体重の低値によるものと思われた。

なお、胸腺の実重量と体重比の低値が 24 ppm 群にみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

－雌－

被験物質の影響と考えられる変化はみられなかった。

なお、10 ppm 群で脾臓の体重比の低値がみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

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－

鼻腔に変化が認められた。

［200 ppm 群］

鼻腔の嗅上皮に扁平上皮化生が 10 匹（軽度 9 匹、中等度 1 匹）、萎縮が 10 匹（中等度）、壊死 2 匹（軽度 2 匹）及び嗅神経線維束の萎縮が 10 匹（軽度 9 匹、中等度 1 匹）にみられた。嗅上皮の萎縮は、嗅上皮を構成する嗅細胞の数の減少であった。また、呼吸上皮に扁平上皮化生が 9 匹（中等度）、壊死が 1 匹（軽度）にみられた。

［150 ppm 群］

鼻腔の嗅上皮に扁平上皮化生が 10 匹（軽度）、萎縮が 10 匹（軽度 1 匹、中等度 9 匹）、

壊死 1 匹（軽度）及び嗅神経線維束の萎縮が 10 匹（軽度）にみられた。また、呼吸上皮の扁平上皮化生が 8 匹（軽度 2 匹、中等度 6 匹）にみられた。

［60 ppm 群］

鼻腔の嗅上皮に萎縮が 9 匹（軽度 7 匹、中等度 2 匹）、呼吸上皮化生が 1 匹（軽度）にみられた。また、呼吸上皮の扁平上皮化生が 5 匹（軽度）にみられた。

［24 ppm 群］

鼻腔の嗅上皮の萎縮が 2 匹（軽度）にみられた。

［10 ppm 群］

被験物質の影響と考えられる所見は認められなかった。

なお、200 ppm 群の 1 匹に胸腺の萎縮が認められた

－雌－

鼻腔に変化が認められた。

［200 ppm 群］

鼻腔の嗅上皮に扁平上皮化生が 10 匹（軽度）、萎縮が 10 匹（中等度）及び嗅神経線維束の萎縮が 10 匹（軽度）にみられた。また、呼吸上皮に扁平上皮化生が 7 匹（軽度 6 匹、中等度 1 匹）にみられた。

［150 ppm 群］

鼻腔の嗅上皮に扁平上皮化生が 5 匹（軽度）、萎縮が 10 匹（軽度 3 匹、中等度 7 匹）及び嗅神経線維束の萎縮が 9 匹（軽度）にみられた。また、呼吸上皮の扁平上皮化生が 7 匹（軽度）にみられた。

［60 ppm 群］

鼻腔の嗅上皮の萎縮が 9 匹（軽度 8 匹、中等度 1 匹）に、呼吸上皮の扁平上皮化生が 1 匹（軽度）にみられた。

［24 ppm 群］

鼻腔の嗅上皮の萎縮が 6 匹（軽度）にみられた。

［10 ppm 群］

被験物質の影響と考えられる所見は認められなかった。

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、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、6 週齢）を設け、アクリル酸の投与濃度は、10、24、60、150 及び 200 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。

(1) 用量－反応関係

アクリル酸の暴露の結果、動物の死亡はみられず、一般状態の観察でもアクリル酸の影響と考えられる変化はみられなかった。

体重では、雄の 150 ppm 以上の群で体重増加の抑制がみられ、最終体重は対照群に対して 150 ppm 群が 94%、200 ppm 群が 90%であった。また、摂餌量でも 150 ppm 以上の群で有意な低値を示し体重増加の抑制と対応した変化がみられた。雌では体重、摂餌量ともアクリル酸の暴露による影響はみられなかった。

血液学的検査では、雄の投与群には被験物質投与の影響と考えられる変化はみられなかったが、雌の白血球百分率で 60 ppm 以上の群にリンパ球比の高値、150 ppm 以上の群に分葉核好中球比の低値が見られた。しかし、その毒性学的意味は不明であった。本試験に先だって実施したアクリル酸の 2 週間吸入試験（以下、2 週間試験）（文献 4）では高濃度群（600 ppm～300 ppm 群）に血液系への影響（雌雄に網赤血球比の増加、雄に血小板数の減少、雌に白血球数の減少）が雌雄にみられ、また、雌の 600 ppm 群に貧血様症状が認められたが、これらの変化は本試験では認められなかった。

血液生化学的検査では、雄の 150 ppm 以上の群に尿素窒素の高値、200 ppm 群に総蛋白、トリグリセリド、リン脂質及び ALT の低値がみられたがいずれもわずかな変動であった。これらのうち総蛋白、トリグリセリド、リン脂質の変動は摂餌量が減ったことによる 2 次的変化と考えた。また、尿素窒素の高値は腎臓の障害を示唆したが、臓器重量、病理組織学的検査では腎臓に変化がみられなかった。雌には被験物質の影響と考えられる変化はみられなかった。

臓器重量は、雄の 150 ppm 以上の群に胸腺重量の低値がみられたが、雌の投与群には臓器重量の変化はみられなかった。また、病理組織学的検査では、200 ppm 群の雄の 1 匹に萎縮（軽度）が認められた。アクリル酸は強い刺激性を有することが報告されており（文献 6）、胸腺重量の低値と胸腺の萎縮はアクリル酸の刺激性がストレスとして作用していることを示唆している（文献 7）。

病理組織学的検査では、鼻腔の嗅上皮、嗅神経、呼吸上皮への影響が暴露濃度に対応してみられ、雌雄の嗅上皮に萎縮が 24 ppm 以上の群、扁平上皮化生が 150 ppm 以上の群、嗅神経線維束の萎縮が 150 ppm 以上の群、呼吸上皮に扁平上皮化生が 60 ppm 以上の群に認められた。また、少数例ではあるが、雄で嗅上皮の壊死が 150 ppm 以上の群に、呼吸上皮化生が 60 ppm 群でみられた。本試験で鼻腔の嗅上皮と呼吸上皮に認められた病理組織学的所見は、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おり（文献 8）、アクリル酸の刺激性に起因した変化と考えられる。これらの所見は暴露濃度が高くなるほど発生数が増え、傷害の程度は強くなる傾向はあった。雌雄の 10 ppm 群では被験物質の暴露によるこれらの変化はみられなかった。

本試験の予備試験として実施した 2 週間試験でも鼻腔に病理組織学的変化がみられている（文献 4）。2 週間試験では本試験と同じ 150 ppm 群を設けており、嗅上皮の萎縮と呼吸上皮の扁平上皮化生がみられている。本試験と 2 週間試験の 150 ppm 群の嗅上皮の萎縮と呼吸上皮の扁平上皮化生の発生を比較すると、13 週間試験では 2 週間試験に比べ病変の程度の増強や発生動物数の増加があった。また、嗅上皮には 2 週間試験でみられなかった扁平上皮化生と嗅神経線維束の萎縮もみられた。鼻腔に変化のみられた暴露濃度は、2 週間試験が 75 ppm 以上であったのに対し、本試験では 24 ppm 以上であった。13 週間まで投与期間を延長した本試験では 2 週間試験よりも鼻腔の変化の程度が強くなるとともに、より低濃度域まで変化が及ぶことが示された。

以上、アクリル酸の 13 週間吸入暴露で雄の 150 ppm 以上の群で体重増加の抑制、摂餌量の低値がみられたが、雄の 60 ppm 以下の群と雌の投与群には体重、摂餌量に暴露による影響はみられなかった。血液生化学的検査では、雄の 150 ppm 以上の群に尿素窒素の高値、200 ppm 群に総蛋白、トリグリセリド、リン脂質及び ALT の低値がみられたが、いずれもわずかな変化であった。また、雄の 150 ppm 以上の群は胸腺重量の低値を示した。病理組織学的検査では、雌雄とも鼻腔の嗅上皮と呼吸上皮に変化がみられ、嗅上皮の変化は雌雄とも 24 ppm 群まで認められた。10 ppm 群にはアクリル酸の暴露による影響は雌雄ともにみられなかった。

（2）無毒性量（NOAEL）

以上のように、アクリル酸のラットへの 13 週間吸入暴露により、病理組織学的に鼻腔の嗅上皮への影響が雌雄とも 24 ppm 以上の群で認められた。しかし、10 ppm 群では被験物質の暴露による影響はみられなかった。従って、本試験におけるアクリル酸のラットに対する 13 週間吸入暴露による無毒性量（NOAEL）は、24 ppm 群の雌雄にみられた鼻腔の嗅上皮の萎縮をエンドポイントとして雌雄とも 10 ppm であると判断した。

（3）がん原性試験の濃度決定

がん原性試験の投与濃度は、本試験の予備試験として行われた 2 週間吸入試験（試験番号 0638）及び本試験の結果をもとに決定した。

2 週間試験は 38～600 ppm（公比 2）の濃度で行った。その結果、600 ppm 群で雌 1 匹が死亡した。300 ppm 以下の群では動物の死亡はみられなかったが、300 ppm 群の雄の最終体重は対照群の 90%未満であった。13 週間試験は 10、24、60、150、200 ppm の濃度で行った。その結果、各群とも死亡はみられなかった。雄の最終体重は 200 ppm 群で対照群の 90%、150 ppm 群で同 94%であったが、雌には体重への影響はみられなかった。また、両群とも雌雄に鼻腔の病理組織学的変化がみられた。しかし、両群の鼻腔の変化はその種類、程度に大きな差はみられなかった。これらのことから、がん原性試験の最高濃度は、200 ppm 群と 150 ppm 群の間で 150 ppm に近い 160 ppm が妥当と考えた。また、低濃度群では 24 ppm 群まで雌雄に鼻腔の嗅上皮の病理組織学的変化がみられたが、10 ppm 群では鼻腔の変化がみられなかったことから、がん原性試験の最低濃度は 10 ppm が妥当と考えた。従って、がん原性試験の投与濃度は、雌雄とも 160 ppm を最高濃度とし、以下、40、10 ppm（公比 4）と決定した。

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. 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:中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター.

5. 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.

6. Majka J, Knobloch K, Stetkiewicz J. 1974. Evaluation of acute and subacute toxicity of acrylic acid. Med Pracy 25: 427-435.

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

8. 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, DC: Hemisphere Publishing Corporation, 51-66.

Ⅵ　予見することが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

予見することが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。

また、被験物質の安定性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、本報告書ではそれぞれ、新社名を記載した。