# シクロヘキセンのラットを用いた
# 吸入による２週間毒性試験報告書

試験番号：０３５８

CAS　Ｎｏ．１１０－８３－８

２０００年12月28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

シクロヘキセンのラットを用いた
吸入による２週間毒性試験報告書

試験番号：０３５８

# 本　　文

本文目次

頁

要約 ・・・

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 ･････････････････････････････････････ 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　病理学的検査 ･･････････････････････････････････････････････ 8

II－4　数値処理と統計学的方法
II－4－1　数値の取り扱いと表示 ･････････････････････････････････････ 8
II－4－2　母数の取り扱い ･･････････････････････････････････････････ 9
II－4－3　統計方法･････････････････････････････････････････････････ 9

II－5　試資料の保管･･････････････････････････････････････････････････ 10

III　試験成績

III－1　動物の状態観察
III－1－1　生死状況 ･･････････････････････････････････････････････ 11
III－1－2　一般状態 ･･････････････････････････････････････････････ 11
III－1－3　体重 ･･････････････････････････････････････････････････ 11
III－1－4　摂餌量 ･･････････････････････････････････････････････････ 12

III－2　血液学的検査・血液生化学的検査
III－2－1　血液学的検査 ･･････････････････････････････････････････ 12
III－2－2　血液生化学的検査 ･･････････････････････････････････････ 12

III－3　病理学的検査
III－3－1　剖検 ･･････････････････････････････････････････････････ 13
III－3－2　臓器重量 ･･････････････････････････････････････････････ 13
III－3－3　病理組織学的検査 ･･････････････････････････････････････ 13

IV　考察及びまとめ ･･････････････････････････････････････････････････ 15

V　文献･･････････････････････････････････････････････････････････････ 18

要約

シクロヘキセンのラットを用いた吸入による2年間（104週）のがん原性試験を実施するのに先立って、13週間試験の投与濃度を設定する目的で2週間の予備試験を実施した。

本試験は、雌雄各群5匹のF344/DuCrj(Fischer)ラットを用いて、シクロヘキセン投与群5群、対照群1群の6群構成で行った。投与濃度は、9600ppm、4800ppm、2400ppm、1200ppm及び600ppmとした。投与は、ラットに所定の濃度のシクロヘキセンを含む空気を1日6時間、1週5日間、2週間（計10回）全身暴露することにより行った。観察及び検査項目は、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、剖検観察、臓器重量の測定及び病理組織学的検査とした。

9600ppm群は雌雄とも投与開始後1日目の暴露中から一般状態の観察で流涙、失調歩行、頻呼吸、横臥及び深呼吸がみられ、投与終了後に全例が死亡した。死亡動物の剖検観察では雌雄ともに肺の退縮不全がみられ、病理組織学的検査で雌雄ともに肺に血管周囲の浮腫が観察された。

4800ppm群は雌雄ともに投与開始後1日目の暴露中から流涙、失調歩行及び頻呼吸がみられ、雄の1例が投与開始後12日目に死亡した。雌は投与期間終了時まで全例が生存した。雄の摂餌量は投与期間中に減少を示し、体重も増加の抑制がみられ、投与最終日の体重が対照群と比べ83%であった。雌の摂餌量は投与開始後1週目に減少を示したが、2週目には対照群と同様の値となった。しかし、体重は低値を示すことが多く、投与最終日の体重は対照群と比べ89%であった。臓器重量は体重の低値やストレスによる変化、血液学的検査と血液生化学的検査は低栄養状態による変化を示した。病理組織学的検査では中枢神経に障害を与えることを示唆する顆粒細胞の変性が雄の脳に認められ、雌は鼻腔の嗅上皮の萎縮が1例観察された。

2400ppm群は雌雄ともに投与開始後1日目の暴露中から一般状態の観察で流涙がみられたが、投与期間終了時まで全例が生存した。摂餌量は雌雄ともに対照群と差がみられなかったが、雄に体重増加の抑制がみられ、投与最終日の体重値が対照群と比べ90%となった。雌の体重は対照群に比べやや低値を示し、投与最終日に94%であった。臓器重量は体重の低値やストレスによる変化しかみられず、病理組織学的検査では投与による影響と考えられる変化を認めなかった。

1200ppm群は雌雄ともに全例が投与期間終了時まで生存し、一般状態の観察も著変がみられなかった。体重と摂餌量も対照群と比べ著変を示さなかった。血液学的検査、血液生化学的検査、剖検観察、臓器重量及び病理組織学的検査では投与による影響を示す変化を認めなかった。

600ppm群も雌雄ともに全例が投与期間終了時まで生存し、一般状態の観察も著変がみられなかった。体重と摂餌量も対照群と比べ著変を示さなかった。血液学的検査、血液生化学的検査、剖検観察、臓器重量及び病理組織学的検査も投与による影響を示す変化を認

めなかった。

以上のように、4800ppm 群の雄に死亡例がみられたが、2400ppm 群は死亡例がみられず、投与最終日の体重も対照群と比較して雄で 90%、雌で 94%であったことから、13 週間試験の最高投与量を雌雄ともに 2400ppm とし、以下 1200ppm、600ppm、300ppm 及び 150ppm（公比 2）とした。

以上のように、4800ppm 群の雄に死亡例がみられたが、2400ppm 群は死亡例がみられず、投与最終日の体重も対照群と比較して雄で 90%、雌で 94%であったことから、13 週間試験の最高投与量を雌雄ともに 2400ppm とし、以下 1200ppm、600ppm、300ppm 及び 150ppm（公比 2）とした。

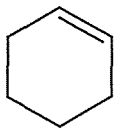
# Ⅰ　試験材料

## Ⅰ－1　被験物質の性状等

### Ⅰ－1－1　名称と別名

名　　称　：シクロヘキセン(Cyclohexene)
別　　名　：テトラヒドロベンゼン
IUPAC 名　：シクロヘキセン(Cyclohexene)
CAS No.　：110-83-8

### Ⅰ－1－2　構造式及び分子量



分 子 量　：82.14

### Ⅰ－1－3　物理化学的性状等

性　　状：無色透明の液体
沸　　点：83.2℃（101KPa）
融　　点：-103.7℃
比　　重：0.8（20℃）
蒸 気 圧：8.9KPa（20℃）
溶 解 性：水に不溶、エチルアルコールなど有機溶媒に可溶
保存条件：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：ACM4092
製　　造　　元：和光純薬工業株式会社
グ　レ　ー　ド：和光一級
純　　度：99.8%

## 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及び赤外吸収スペクトルを測定し、それぞれの文献値（文献 1）と比較することにより確認した。なお、それらの結果は、APPENDIX J1 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、その赤外吸収スペクトル及びガスクロマトグラムを測定し、それぞれのデータを比較することにより確認した。なお、それらの結果は、APPENDIX J2 に示した。

## Ⅰ－4　試験動物

動物は日本チャールス・リバー(株)（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。

雄 37 匹、雌 37 匹を生後 4 週齢で導入し、各 1 週間の検疫、馴化を経た後、発育順調で異常を認めなかった動物から、それぞれ体重値の中央値に近い雌雄各 30 匹（群構成時体重範囲は、雄:106～117g、雌:90～100g）を選別して試験に供した。

なお、F344/DuCrj(Fischer)ラットを選択した理由は、がん原性試験で使用する動物種及び系統に合わせたことによる。

## II　試験方法

試験計画、材料及び方法等の概要を TABLE 1 に示した。

### II－1　投与

#### II－1－1　投与経路、投与方法及び投与期間

投与経路は全身暴露による経気道投与とした。吸入チャンバー内に設定濃度に調整したシクロヘキセンを含む空気を送り込み、6 時間/日、5 日/週、2 週間（計 10 回)、試験動物に全身暴露することにより投与した。なお、対照群は換気のみとした。

#### II－1－2　投与濃度

シクロヘキセンを 600、300、150、75ppm でラットに 6 時間/日、5 日/週、6 ヶ月間吸入暴露した結果、600ppm で体重増加の抑制、600 及び 300ppm で ALP の低値がみられた（文献 2)。動物試験（ラット、マウス）の情報はこの 1 報だけであるため、雌雄ともに最高濃度を 9600ppm に設定し、以下 4800ppm、2400ppm、1200ppm 及び 600ppm（公比 2）とした。

#### II－1－3　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。発生容器内のシクロヘキセンを循環式恒温槽層で加熱しながら、清浄空気のバブリングにより蒸発させた。次にこのシクロヘキセン蒸気を循環式恒温槽で一定温度に冷却後、清浄空気で希釈し再加熱した後、流量計を用いて一定量を吸入チャンバーのラインミキサーに供給した。暴露中は、吸入チャンバー内のシクロヘキセン濃度をガスクロマトグラフにより監視しながら、設定濃度になるように吸入チャンバーへの供給流量を調節した。

#### II－1－4　被験物質の濃度測定

吸入チャンバー内のシクロヘキセンの濃度は、自動サンプリング装置付ガスクロマトグラフを用い、暴露開始前から暴露終了後まで 15 分毎に測定した。APPENDIX K1 に測定結果を示した。

## 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、各群雌雄 5 匹の動物を用いた。

| 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 | 0 ppm 群(対照群) | 5 匹 (1001～1005) | 5 匹 (2001～2005) |
| 1 | 600 ppm 群 | 5 匹 (1101～1105) | 5 匹 (2101～2105) |
| 2 | 1200 ppm 群 | 5 匹 (1201～1205) | 5 匹 (2201～2205) |
| 3 | 2400 ppm 群 | 5 匹 (1301～1305) | 5 匹 (2301～2305) |
| 4 | 4800 ppm 群 | 5 匹 (1401～1405) | 5 匹 (2401～2405) |
| 5 | 9600 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、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である適正層別方式により実施した（文献 3)。

試験期間中の動物の個体識別は、検疫期間及び馴化期間は色素塗布により、投与期間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、他の試験との区別は、バリア区域内の独立した室にそれぞれ収容し、各室に試験番号、動物種及び動物番号を表示することにより行った。

### II－2－3　飼育条件

動物は検疫室で 1 週間の検疫飼育を行った後、馴化期間及び投与期間中は吸入チャンバー内で飼育した。使用した検疫室、吸入チャンバー室及び吸入チャンバー内の環境条件を TABLE 1 に示し、吸入チャンバー内環境の計測結果を APPENDIX K2 に示した。

検疫室、吸入チャンバー室及び吸入チャンバー内の飼育環境は、すべて設定条件の範囲内であった。

検疫期間中は 1 ケージ当り 1 匹の単飼(ステンレス製 2 連型網ケージ：170W×294D×176H mm)、馴化期間中は 1 ケージ当り 1 匹の単飼（ステンレス製 6 連型網ケージ：125W×216D×176H mm)、投与期間中は 1 ケージ当り 1 匹の単飼（ステンレス製 5 連型網ケージ：150W×216D×176H mm)の条件下で飼育した。

飼料は、オリエンタル酵母工業(株)製(千葉工場:千葉県千葉市美浜区新港 8-2)の CRF-1 固型飼料(3Mrad-γ線照射滅菌飼料)を飼育全期間を通して固型飼料給餌器により自由摂取させた。ただし、定期解剖日前日の夕方からは給餌は行わなかった。飼料中の栄養成分については成分分析結果をオリエンタル酵母工業(株)から入手し、夾雑物については日本食品分析センターのデータを入手した。

また、飲料水は飼育全期間を通して、市水(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、自動給水により自由摂取させた。飲料水は（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）に依頼して、水道法に準拠した項目について分析した。

飼料の夾雑物及び飲料水については、すべての項目で試験計画書に規定した許容基準の範囲内であった。

## 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

動物の生死確認は、検疫及び馴化期間には毎日 1 回、投与期間中は暴露を行った日は 2 回、暴露を行わなかった日（土曜日と日曜日）は 1 回とした。また、一般状態の詳細観察は、検疫及び馴化期間には導入時、馴化開始時及び群構成時に実施し、投与期間中は、投与期間の 2 日（1w-2d)、4 日（1w-4d)、7 日（1w-7d)、10 日（2w-3d)、14 日（2w-7d）の暴露開始前に行い、さらに、投与初日（1w-1d）の、暴露中（吸入チャンバーの窓越しに暴露開始約 0.5、1.5 及び 3.5 時間後）に行った。

### II－3－2　体重測定

検疫及び馴化期間には、導入時、馴化開始時及び群構成時に全動物について実施し、投与期間中は、投与期間の 2 日（1w-2d)、4 日（1w-4d)、7 日（1w-7d)、10 日（2w-3d)、14 日（2w-7d）の暴露開始前に生存していた全動物の体重を測定した。

なお、死亡動物及び定期解剖動物の搬出時にも体重を測定した。

### II－3－3　摂餌量測定

週 1 回、給餌量及び残餌量を測定し、その値から摂餌量を算出した。

II－3－4　血液学的検査

動物を解剖日前日より絶食(18 時間以上)させ、定期解剖時まで生存した動物について、剖検直前にエーテル麻酔下で腹大動脈より、EDTA-2K 入り採血管及びクエン酸ナトリウム入り採血管に採血した血液を用いて血液学的検査を行った。

検査項目は TABLE 1、検査方法は APPENDIX L1 に示した。

II－3－5　血液生化学的検査

動物を解剖日前日より絶食(18 時間以上)させ、定期解剖時まで生存した動物について、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血液生化学的検査を行った。

検査項目は TABLE 1、検査方法は APPENDIX L1 に示した。

II－3－6　病理学的検査

1　剖検

全動物を肉眼的に観察した。

2　臓器重量

定期解剖時まで生存した動物について TABLE 1 に示した臓器の湿重量（実重量）を測定した。また、定期解剖時の体重に対する百分率（体重比）を算出した。

3　病理組織学的検査

各群雌雄の動物について TABLE 1 に示した臓器を 10%中性リン酸緩衝ホルマリン液にて固定し、さらに鼻腔と大腿骨は 5%ギ酸で脱灰後パラフィン包埋し、ヘマトキシリン・エオジン染色組織標本を作製し、光学顕微鏡にて病理組織学的に検査した。なお、鼻腔は切歯の後端（レベルⅠ）、切歯乳頭（レベルII）、第一臼歯の前端（レベルⅢ）の 3 ヶ所で切り出し（横断)、検査した（文献 4)。

II－4　数値処理と統計学的方法

II－4－1　数値の取り扱いと表示

チャンバー内被験物質濃度については ppm を単位として、小数点以下第 4 位まで計測し、小数点以下第 2 位を四捨五入し、小数点以下第 1 位までを表示した。

体重についてはｇを単位とし、小数点以下第１位まで計測し、小数点以下第１位を四捨五入して整数値で表示した。

摂餌量についてはｇを単位とし、給餌量及び残餌量を小数点以下第１位まで計測し、給餌量値から残餌量値を減じて摂餌量とした。この値を計測期間の日数で除し、１日当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 L2 に示した精度により表示した。Ａ／Ｇ比はアルブミン/(総蛋白－アルブミン)による計算で求め、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。

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　母数の取り扱い

体重及び摂餌量については各計測時に生存している全動物を対象に計測した。

血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量の測定は、定期解剖時まで生存した全動物を対象とした。欠損となったデータについては母数から除いた。

剖検と病理組織学的検査は、各群の有効動物数または有効臓器数（供試臓器数から欠損臓器を除いた臓器数）を母数とした。

### II－4－3　統計方法

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。なお、予備検定については 5%の有意水準で両側検定を行い、最終検定では 5%及び 1%で両側検定を行った。

## II－5　試資料の保管

試験計画書、標本、生データ、記録文書、最終報告書、信頼性保証証明書、その他本試験に係る資料は日本バイオアッセイ研究センターの標準操作手順書に従って、試資料保管施設に保管する。保管期間は最終報告書提出後5年間とする。なお、標本については品質が評価に耐え得る期間保管する。

# III　試験成績

## III－1　動物の状態観察

### III－1－1　生死状況

生死状況を TABLE 2，3 及び APPENDIX A1，A2 に示した。

9600ppm 群の雌雄は投与期間初日（1w-1d）に各 5 例（全例）が死亡した。4800ppm 群は雄が投与開始後 12 日目（2w-5d）に 1 例死亡した。

4800ppm 群の雌及び 2400ppm 以下の群に死亡はみられなかった。

### III－1－2　一般状態

＜投与初日＞（暴露中）

暴露中（チャンバーの窓越し観察）の一般状態の観察結果を TABLE 4，5 に示した。

暴露開始後約 0.5 時間：9600ppm 及び 4800ppm 群の雌雄では流涙、失調歩行及び頻呼吸、2400ppm 群の雌雄では流涙がみられた。1200ppm 以下の群では著変がみられなかった。

暴露開始後約 1.5 時間：9600ppm 群の雌雄では流涙、横臥及び深呼吸、4800ppm 群の雌雄では流涙及び頻呼吸、2400ppm 群の雌雄では流涙がみられた。1200ppm 以下の群では著変がみられなかった。

暴露開始後約 3.5 時間：9600ppm 群の雌雄では死亡動物がみられた。4800ppm 群の雄は流涙、失調歩行及び頻呼吸、雌は流涙及び頻呼吸、2400ppm 群の雌雄では流涙がみられた。1200ppm 以下の群では著変がみられなかった。

＜投与期間中＞

観察日の暴露開始前に詳細観察した一般状態の結果を APPENDIX A1，A2 に示した。

全ての群の生存例において、特記すべき所見はみられなかった。

### III－1－3　体重

体重の推移を TABLE 2，3、FIGURE 2，3 及び APPENDIX B1，B2 に示した。

4800ppm 群：雄では投与開始後 4 日目（1w-4d）から有意な低値を示し、投与最終日（2w-7d）まで継続した。雌では投与開始後 2 日目（1w-2d）から投与最終日（2w-7d）まで有意な低値を示した。

2400ppm 群：雄では投与開始後 4 日目（1w-4d）から有意な低値を示し、投与最終日

（2w-7d）まで継続した。雌では投与開始後 10 日目（2w-3d）で有意な低値を示しただけであったが、他の計測時でも対照群の体重値よりも低い値であった。

1200ppm 及び 600ppm 群：雌雄共に対照群とほぼ同様の推移を示した。

Ⅲ－1－4　摂餌量

摂餌量(1 日 1 匹当り)を TABLE 6，7 及び APPENDIX C1，C2 に示した。

4800ppm 群の雄では、投与開始後 1 週目（1w-7d）と 2 週目（2w-7d）で有意な低値がみられた。雌では投与開始後 1 週目（1w-7d）で有意な低値がみられた。

2400ppm 以下の群では雌雄共に有意な差がみられず、対照群と同様の値であった。

Ⅲ－2　血液学的検査・血液生化学的検査

Ⅲ－2－1　血液学的検査

血液学的検査の結果を APPENDIX D1，D2 に示した。

4800ppm 群では雌雄に MCV、MCH の有意な減少、網赤血球比の有意な増加がみられ、雌にプロトロンビン時間の有意な延長がみられた。

2400ppm 群では雌雄に MCV の有意な減少がみられ、雌に MCH の有意な減少がみられた。その他、雄に赤血球数の有意な増加がみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

1200ppm 以下の群では雌雄共に有意な差はみられなかった。

Ⅲ－2－2　血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を APPENDIX E1，E2 に示した。

4800ppm 群では雄に総蛋白、総ビリルビン及びカリウムの有意な増加、トリグリセライドの有意な減少と GPT 活性の有意な低下、雌に尿素窒素の有意な減少、γ-GTP 活性の有意な上昇がみられた。

2400ppm 群では雌に尿素窒素の有意な減少、γ-GTP 活性の有意な上昇がみられた。また、雌にトリグリセライド、リン脂質の増加がみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

1200ppm 以下の群では雌雄共に有意な差はみられなかった。

## Ⅲ－3　病理学的検査

### Ⅲ－3－1　剖検

解剖時に観察された剖検所見を APPENDIX F1，F3（投与期間途中死亡）、F2，F4（定期解剖）に示した。

＜投与期間途中死亡例（9600ppm、4800ppm）＞

雄：9600ppm 群の途中死亡例には肺の退縮不全（4/5 例）が認められた。4800ppm 群の途中死亡例（1 例）には著変を認めなかった。

雌：9600ppm 群の途中死亡例にも肺の退縮不全（4/5 例）が認められた。

＜定期解剖例＞

雌雄とも、対照群と比較して投与群に特徴的あるいは高い発生率を示した所見はなかった。

### Ⅲ－3－2　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 G1，G2（実重量）、H1，H2（体重比）に示した。

雄：4800ppm 群は胸腺に実重量と体重比の低値、脾臓に実重量の低値、脳に実重量の低値と体重比の高値、精巣、心臓、肺、腎臓及び肝臓に体重比の高値がみられた。2400ppm 群では胸腺に実重量と体重比の低値、脾臓に実重量の低値、心臓、肺、腎臓、肝臓及び脳に体重比の高値が認められた。1200ppm 群では腎臓に実重量の高値が認められた。その他、1200ppm 群の副腎に対照群との差が統計学的に示されたが、投与濃度に対応した変化でなかった。

雌：4800ppm 群は胸腺と脾臓に実重量と体重比の低値、脳に実重量の低値、副腎、心臓、肺、腎臓及び肝臓に体重比の高値がみられた。2400ppm 群では胸腺に実重量と体重比の低値、脾臓に実重量の低値、肺と腎臓に体重比の高値が認められた。1200ppm 群と600ppm 群でも胸腺に体重比の低値が認められた。

### Ⅲ－3－3　病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果を APPENDIX I1，I3（投与期間途中死亡）、I2，I4（定期解剖）に示した。

＜投与期間途中死亡例（9600ppm、4800ppm）＞

雄：9600ppm 群の途中死亡例は、全例（5/5 例）とも肺の血管周囲の浮腫と脾臓の髄外造血がみられた。4800ppm 群の途中死亡例には肺に血管周囲の浮腫（1/1 例）と鬱血（1/1

例)、胸腺に萎縮（1/1 例）がみられた。

雌：9600ppm 群の途中死亡例にも、全例（5/5 例）の肺に血管周囲の浮腫がみられた。

＜定期解剖例＞

雄：4800ppm 群の定期解剖例の全例（4/4 例）に小脳の顆粒細胞の変性がみられた。2400ppm 以下の群には対照群と比較して特徴的あるいは高い発生率を示した所見はなかった。

雌：4800ppm 群の 1 例の鼻腔に嗅上皮の萎縮がみられた。2400ppm 以下の群には、対照群と比較して特徴的あるいは高い発生率を示した所見はなかった。

## Ⅳ　考察及びまとめ

＜9600ppm 群＞

雄：投与開始後 1 日目に全例が死亡した。暴露中の一般状態は暴露開始後 30 分から流涙、失調歩行及び頻呼吸がみられ、その後、横臥、深呼吸を呈し死に至った。死亡動物の剖検観察では肺の退縮不全がみられ、病理組織学的検査では肺に血管周囲の浮腫、脾臓に髄外造血が観察された。

雌：投与開始後 1 日目に雄と同様に全例が死亡した。暴露中の一般状態も雄と同様に暴露開始後 30 分から流涙、失調歩行及び頻呼吸がみられ、その後、横臥、深呼吸を呈し死に至った。死亡動物の剖検観察も雄と同様に肺の退縮不全がみられ、病理組織学的検査でも肺に血管周囲の浮腫が観察された。

これらの死亡は循環障害などによって起きたと考えられた。

＜4800ppm 群＞

雄：暴露中の一般状態は 9600ppm 群と同様に暴露開始後 30 分から流涙、失調歩行及び頻呼吸がみられたが、死亡例は投与開始後 12 日目に 1 例みられただけであった。体重は投与開始後 4 日目から低値を示し、投与最終日まで継続し、体重増加の抑制がみられた。投与最終日の体重は対照群と比べ 83%であった。投与期間中の摂餌量は全期間で低値を示し、摂餌量の減少がみられた。血液学的検査では網赤血球比の増加、MCV と MCH の減少がみられた。血液生化学的検査ではトリグリセライドの減少、GPT 活性の低下、総蛋白、総ビリルビン及びカリウムの増加がみられた。死亡例は病理組織学的検査で肺の血管周囲の浮腫と鬱血及び胸腺の萎縮がみられ、循環障害などの原因により死亡したと考えられた。投与期間終了時まで生存した動物の臓器重量は胸腺と脳に実重量と体重比の高値や低値がみられ、病理組織学的検査では小脳に顆粒細胞の変性が認められた。この小脳顆粒細胞の変化は、この濃度のシクロヘキセンの吸入が中枢神経に障害を与えることを示唆する所見と考えられる。

雌：暴露中の一般状態は、雄と同様に暴露開始後 30 分から流涙、失調歩行及び頻呼吸がみられたが、投与期間終了時まで全例が生存した。体重は投与開始後 2 日目から投与最終日まで低値を示し、投与最終日の体重が対照群と比べ 89%となり、体重増加の抑制がみられた。摂餌量は投与開始後 1 週目に低値がみられたが、2 週目には対照群と同様の値となった。血液学的検査では網赤血球比の増加、MCV と MCH の減少、プロトロンビン時間の延長がみられた。血液生化学的検査では尿素窒素の減少、γ-GTP 活性の上昇がみられた。臓器重量は胸腺と脾臓に実重量と体重比の低値が示されたが、病理組織学的検査では 1 例の鼻腔に嗅上皮の萎縮がみられただけであった。

＜2400ppm 群＞

雄：暴露中の一般状態は暴露開始後 30 分から流涙がみられたが、投与期間終了時まで死亡例はみられなかった。摂餌量は対照群と比べ差がみられなかったが、体重は投与開始後 4 日目から低値を示し、投与最終日の体重値が対照群に比べ 90%となり体重増加の抑制がみられた。血液学的検査では MCV の減少がみられたがわずかな変化であった。臓器重量は胸腺に実重量と体重比の低値がみられたが、病理組織学的検査では投与の影響を示唆する変化を認めなかった。

雌：雄と同様に暴露中の一般状態は暴露開始後 30 分から流涙がみられたが、投与期間終了時まで死亡例はみられなかった。摂餌量も雄と同様に差がみられず、体重は有意な差でなかったが低値を示し、投与最終日に対照群と比べ 94%であった。血液学的検査では MCV と MCH の減少、血液生化学的検査では尿素窒素の減少がみられたが、いずれもわずかな変化であった。臓器重量は胸腺に実重量と体重比の低値がみられたが、病理組織学的検査では投与による影響を示唆する変化を認めなかった。

＜1200ppm 群、600ppm 群＞

雄：両投与群共に一般状態に著変がみられず、投与期間終了時まで全例が生存した。体重と摂餌量も著変がみられなかった。血液学的検査、血液生化学的検査、剖検観察、臓器重量及び病理組織学的検査でも両群共に投与による影響を示唆する変化を認めなかった。

雌：雄と同様に一般状態に著変がみられず投与期間終了時まで全例が生存した。体重と摂餌量も著変がみられなかった。血液学的検査、血液生化学的検査、剖検観察、臓器重量及び病理組織学的検査でも投与による影響を示唆する変化を認めなかった。

シクロヘキセンは麻酔作用及び中枢神経抑制作用があることが知られている（文献 5）。9600ppm と 4800ppm 群の暴露中の一般状態の観察でみられた変化は、この麻酔作用及び中枢神経抑制作用によるものと考えられた。また、シクロヘキセンに刺激性があるため（文献 6）、9600ppm 群の雌雄と 4800ppm 群の雄でみられた動物の死亡は、肺へのシクロヘキセンの直接的な傷害が考えられたが、病理組織学的検査で肺に観察された所見は炎症性の変化を伴わないことから直接的な傷害とするよりも麻酔作用及び中枢神経抑制作用による循環障害などにより起きたと考えられた。なお、9600ppm 群の雄に脾臓の髄外造血が観察されたが、これらの動物は投与 1 日目の死亡例であり髄外造血の発生が短時間に起きたとは考えられないこと及び若齢の動物では脾臓での造血が行われていることからシクロヘキセンの投与によってこの変化が発生したとは考えられなかった。

4800ppm 群と 2400ppm 群の雌雄では投与量に対応して体重増加の抑制がみられ、両群とも雌よりも雄でその程度が顕著であった。また、この体重増加の抑制に伴い、解剖時の体重の低値による臓器重量の変化もみられた。しかし、胸腺は 4800ppm 群と 2400ppm 群の雌雄で実重量と体重比ともに低値が認められた。これは、体重の低値だけではなくスト

レスや摂食量の減少による低栄養状態を反映したものと考えられた。また、4800ppm 群の雄の定期解剖例には小脳に顆粒細胞の変性がみられ、この濃度の吸入による中枢神経への障害が示唆された。

4800ppm 群でみられた血液学的検査と血液生化学的検査の変化は、造血機能、肝臓及び腎臓への影響を示唆するものであるが、これに対応する臓器重量の顕著な変化や病理組織学的変化がこの濃度ではみられないことから低栄養状態による影響と思われた。

以上のように、4800ppm 群の雄に死亡例がみられたが、2400ppm 群では死亡例がみられず、投与最終日の体重も対照群と比較して雄で 90%、雌で 94%であったことから、13 週間試験の最高濃度を雌雄ともに 2400ppm とし、以下 1200ppm、600ppm、300ppm 及び 150ppm（公比 2）とした。

## V 文献

1.Fred W.Mclafferty. (1994)
Wiley registry of mass spectral data, 6th edition.
John Wiley and Sons Inc. (U.S.), Entry Number 2466

2.S.Laham. (1976)
Inhalation Toxicity of Cyclohexene.
Toxicology Applied Pharmacology, 1, 155

3.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

4.K.Nagano, et al. (1988)
Toxicologic Pathology of Upper Respiratory Tract
Journal of Toxicologic Pathology, 1, 115-127

5.H.W.Gerarde. (1963)
Toxicological Studies on Hydrocarbons.
Archives of Environmental Health,6,329-341

6.W.J.Canady. et al. (1974)
A Partition Model for Hepatic Cytochrome P-450-Hydrocarbon.
Biochemical Pharmacology,23(21),3075-3078