

アクリル酸=2-ヒドロキシエチルのマウスを用いた
経口投与によるがん原性試験(混水試験)報告書

試験番号：0348

CAS No. 818-61-1

2003年9月24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マウスを用いた
経口投与によるがん原性試験(混水試験)報告書

試験番号：0348

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	3
I-1-2 構造式、示性式、分子量	3
I-1-3 物理化学的性状等	3
I-2 被験物質の使用ロット等	3
I-3 被験物質の特性・同一性、安定性	
I-3-1 特性・同一性	4
I-3-2 安定性	4
I-4 試験動物	4
II 試験方法	
II-1 投与	
II-1-1 投与経路	6
II-1-2 被験物質の投与方法	6
II-1-3 投与期間	6
II-1-4 投与濃度	6
II-1-5 投与の方法、投与期間、投与濃度の設定理由	6
II-1-6 被験物質混合飲水の調製方法	7
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	7
II-1-8 被験物質混合飲水中の被験物質の安定性	7
II-1-9 被験物質の摂取量	8

II-2	動物管理	
II-2-1	各群の使用動物数	8
II-2-2	群分け及び個体識別方法	8
II-2-3	飼育条件	9
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	9
II-3-2	体重測定	10
II-3-3	摂水量測定	10
II-3-4	摂餌量測定	10
II-3-5	血液学的検査	10
II-3-6	血液生化学的検査	10
II-3-7	尿検査	11
II-3-8	病理学的検査	11
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	11
II-4-2	母数の取り扱い	12
II-4-3	統計処理	12
III	試験成績	
III-1	生死状況	14
III-2	一般状態	14
III-3	体重	14
III-4	摂水量	14
III-5	摂餌量	15
III-6	被験物質摂取量	15
III-7	血液学的検査	15
III-8	血液生化学的検査	15
III-9	尿検査	16
III-10	病理学的検査	
III-10-1	剖検	16
III-10-2	臓器重量	16
III-10-3	病理組織学的検査	17
III-10-4	死因	19

IV まとめ及び考察

IV-1 まとめ 20

IV-2 考察 21

V 結論 24

VI 文献 25

要 約

アクリル酸=2-ヒドロキシエチルのがん原性を検索する目的でマウスを用いた経口投与（飲水）による2年間（104週間）の試験を実施した。

試験にはCrj:BDF₁マウスを用いた。被験物質投与群3群と対照群1群の4群構成で、各群、雌雄各50匹とし、合計400匹を用いた。被験物質の投与は、アクリル酸=2-ヒドロキシエチルを希釈混合した飲料水を動物に自由摂取させることにより行った。投与濃度は、雄は750 ppm、1500 ppm、3000 ppm（公比2）、雌は500 ppm、1500 ppm、4500 ppm（公比3）とした。検査項目として、一般状態の観察、体重、摂水量、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、臓器重量の測定及び病理組織学的検査を実施した。

雌雄ともに、投与濃度に対応した体重増加の抑制、摂水量及び摂餌量の減少が認められたが、全ての投与群の生存率は対照群とほぼ同様の推移を示した。腫瘍性病変については、雌雄ともに腫瘍の発生増加はなかった。これに対し、雄の肝細胞癌、ならびに雌の下垂体腫瘍（腺腫・腺癌）には発生減少がみられた。非腫瘍性病変については、前胃の扁平上皮過形成が雄の3000 ppm群と雌の全投与群で増加した。また、腎臓の腎盂上皮の剥離が雄の3000 ppm群と雌の1500 ppm以上の群に、鼻腺の呼吸上皮化生が雄の全投与群、雌の1500 ppm群より増加した。

アクリル酸=2-ヒドロキシエチルの2年間にわたる飲水投与による最小毒性量（LOAEL）は、雌の前胃への影響をエンドポイントとして500 ppm（0.048～0.093 g/kg/day）であると考えられた。また、10%ベンチマーク用量（BMDL₁₀）は、前胃扁平上皮過形成の発生率と投与濃度との関係から、489 ppmであると算定された。

以上のように、Crj:BDF₁マウスを用いてアクリル酸=2-ヒドロキシエチルの2年間（104週間）にわたる経口投与（飲水）によるがん原性試験を実施した結果、雌雄マウスともに腫瘍の発生増加は認められず、アクリル酸=2-ヒドロキシエチルのがん原性を示す証拠は認められなかった。なお、雄の肝細胞癌及び雌の下垂体腫瘍（腺腫、腺癌）には発生減少がみられた。非腫瘍性病変については、前胃（扁平上皮過形成）、腎臓（腎盂上皮の剥離）及び鼻腔（鼻腺の呼吸上皮化生）への影響がみられた。

アクリル酸=2-ヒドロキシエチルのがん原性試験における主な腫瘍発生 (マウス:雄)

		投与濃度 (ppm)	0	750	1500	3000	Peto 検定	Cochran- Armitage 検定
		検査動物数	50	50	50	50		
良性 腫瘍	肺	細気管支-肺胞上皮腺腫	5	6	4	3		
	脾臓	血管腫	3	1	1	0		
	肝臓	肝細胞腺腫	7	8	5	3		
	瘍	血管腫	1	0	0	0		
悪 性 腫 瘍	肺	細気管支-肺胞上皮癌	4	3	5	1		
	リンパ節	悪性リンパ腫	7	11	9	6		
	脾臓	悪性リンパ腫	2	3	2	1		
	肝臓	血管肉腫	2	1	1	0		
		肝細胞癌	6	7	4	0*		↓
		血管肉腫	7	3	3	0**		↓↓
	胃 多臓器	組織球肉腫	3	1	0	2		
		扁平上皮癌	0	0	1	0		
		組織球肉腫	5	2	0*	6		
	悪性リンパ腫	9	14	11	7			
脾臓 肝臓	血管腫/血管肉腫	5	2	2	0*		↓	
	肝細胞腺腫/肝細胞癌	11	15	9	3*		↓↓	
	血管腫/血管肉腫	8	3	3	0**		↓↓	

アクリル酸=2-ヒドロキシエチルのがん原性試験における主な腫瘍発生 (マウス:雌)

		投与濃度 (ppm)	0	500	1500	4500	Peto 検定	Cochran- Armitage 検定
		検査動物数	50	50	49	50		
良性 腫瘍	肺	細気管支-肺胞上皮腺腫	0	1	1	0		
	胃	扁平上皮乳頭腫	0	1	0	0		
	肝臓	肝細胞腺腫	0	6*	1	2		
	下垂体	腺腫	5	6	1	1		↓
	子宮	子宮内膜間質性ポリープ	1	0	3	2		
悪 性 腫 瘍	肺	細気管支-肺胞上皮癌	0	0	0	2		
	リンパ節	悪性リンパ腫	18	17	9*	9*		↓
	脾臓	悪性リンパ腫	4	2	1	3		
	肝臓	肝細胞癌	1	2	0	0		
	腎臓	腎細胞癌	0	2	0	0		
	下垂体	腺癌	0	1	1	0		
	子宮 多臓器	組織球肉腫	5	6	12*	9		
		組織球肉腫	6	8	13	10		
		悪性リンパ腫	22	19	10*	12*		↓
肝臓 下垂体	肝細胞腺腫/肝細胞癌	1	8*	1	2			
	腺腫/腺癌	5	7	2	1		↓	

検定結果については生物学的意義を考慮して記載した。

** : 有意水準 1% 以下で有意 (Fisher 検定)

* : 有意水準 5% 以下で有意 (Fisher 検定)

↑↑ : 有意水準 1% 以下で有意増加 (Peto, Cochran-Armitage 検定)

↑ : 有意水準 5% 以下で有意増加 (Peto, Cochran-Armitage 検定)

↓↓ : 有意水準 1% 以下で有意減少 (Cochran-Armitage 検定)

↓ : 有意水準 5% 以下で有意減少 (Cochran-Armitage 検定)

I 試験材料

I-1 被験物質の性状等

I-1-1 名称等

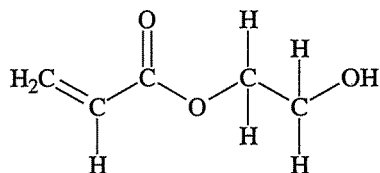
名 称 : アクリル酸=2-ヒドロキシエチル (2-Hydroxyethyl acrylate)

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)



$\text{CH}_2=\text{CHCOOCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$

分子量 : 116.1

I-1-3 物理化学的性状等 (文献 1)

外 観 : 透明な液体

比 重 : 1.1098 (20/4℃)

沸 点 : 82℃

凝 固 点 : -70℃以下

溶 解 性 : 水、通常の有機溶媒に可溶

保 存 条 件 : 室温で暗所に保存

I-2 被験物質の使用ロット等

使用ロット番号 : WTP4588 (1997.12. 2~1998. 3.17)

(使用期間) WTH5799 (1998. 3.17~1999. 9.14)

CKQ4839 (1999. 9.14~1999.12. 7)

製造元とグレード : 和光純薬工業株式会社、和光試薬 1 級

純 度 : WTP4588 96.5%、WTH5799 96.3%、CKQ4839 97.3%

(和光純薬工業 (株) 検査成績データ)

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-ヒドロキシエチルについて各ロット毎に、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。

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) と同じ波長にピークが認められ、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。

使用したアクリル酸=2-ヒドロキシエチルに含まれる不純物は、各ロット毎に、ガスクロマトグラフ (Hewlett Packard 5890A) によりガスクロマトグラムを測定して検出・同定した。その結果、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、アクリル酸 (0.965%)、p-メトキシフェノール (0.055%) 及び未同定物質 (2.514%) が検出された。

測定結果は APPENDIX Q 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、各ロット毎に、使用開始前及び使用終了後に、赤外分光光度計 (Shimadzu FTIR-8200PC) により赤外吸収スペクトルを、ガスクロマトグラフ (Hewlett Packard 5890A) によりガスクロマトグラムを測定し、それぞれ使用前及び使用終了後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。

測定結果は APPENDIX Q 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) の Crj:BDF₁ マウス(SPF)の雌雄を使用した。

雌雄各 227 匹を 4 週齢で導入し、1 週間の検疫及び 1 週間の馴化を経た後、発育順調で、異常を認めない動物から、体重値の中央値に近い雌雄各 200 匹 (投与開始時体重範囲、雄：21.5~24.7g、雌：17.8~20.6g) を選別し、6 週齢より試験に供した。

なお、Crj:BDF₁ 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

経口投与

II-1-2 被験物質の投与方法

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被験物質を添加し、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

投与期間は 104 週間とし、定期解剖日の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週 2 回とした。

II-1-4 投与濃度

最高投与濃度を雄は 3000 ppm、雌は 4500 ppm に設定し、以下、雄は 1500 ppm、750 ppm（公比 2）、雌は 1500 ppm、500 ppm（公比 3）とした。なお、対照群として脱イオン水のみを設けた。

II-1-5 投与の方法、投与期間、投与濃度の設定理由

被験物質は常温で液体であり、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、OECD がん原性試験ガイドライン（文献 4）に従い、2 年間（104 週間）とした。

がん原性試験の投与濃度は、13 週間投与試験（文献 5）の結果を考慮し、以下のように設定した。アクリル酸=2-ヒドロキシエチルの飲水投与により、雌雄とも最高用量の 6000 ppm 群に前胃の潰瘍が頻発した。また、体重増加の抑制が、雄では 3000 ppm 以上の群でみられたが、雌では最高用量の 6000 ppm 群において僅かにみられただけであった。以上の結果から、体重増加の抑制率は雄の 3000 ppm と雌の 6000 ppm でほぼ同じであったが、雌雄とも 6000 ppm では前胃の潰瘍により 104 週間の連続投与に動物は耐えられな

いと判断した。また、雄では 1500 ppm 以上で腎臓に組織変化がみられ、尿中のケトン体が増加、雌では 750 ppm 以上で腎臓の重量増加と尿中のケトン体が増加したため、最小用量は、雄では 1500 ppm 以下、雌では 750 ppm 以下が適当であると判断した。従って、がん原性試験の投与濃度は、雄は 3000 ppm、雌は 4500 ppm を最高濃度とし、以下、雄は 1500 ppm、750 ppm（公比 2）、雌は 1500 ppm、500 ppm（公比 3）に設定した。

II-1-6 被験物質混合飲水の調製方法

被験物質混合飲水は、脱イオン水をさらにフィルターろ過した飲水に被験物質を溶解し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、濃度の表示は ppm（重量対重量比）とした。また、被験物質混合飲水の調製頻度は、給水瓶の交換頻度に合わせて週 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

被験物質混合飲水中における被験物質の濃度は、概ね 3 ヶ月毎に、各投与濃度に調製された被験物質混合飲水をサンプリングし、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、500 ppm 群：101～109%、750 ppm 群：95.2～106%、1500 ppm 群：96.0～109%、3000 ppm 群：98.0～111%、4500 ppm 群：99.8～109%の範囲にあった。

その結果を APPENDIX Q 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（室温放置）での安定性は、マウス用給水瓶に充填した 500 ppm 及び 4500 ppm の被験物質混合飲水を、調製時及び調製後 4、8 及び 11 日目に、ガスクロマトグラフ（Hewlett Packard 5890A）を用いて分析し、その被験物質濃度を比較することにより確認した。その結果、調製時濃度を 100%とすると、調製後 4 日目には 500 ppm：103%、4500 ppm：100%、8 日目には 500 ppm：101%、4500 ppm：104%、11 日目には 500 ppm：103%、4500 ppm：98.5%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 Q 4 に示した。

II-1-9 被験物質の摂取量

各計測週における動物の体重、摂水量及び設定濃度より、体重 kg 当りの被験物質の 1 日摂取量 (g/kg body weight/day) を算出した。

その結果を APPENDIX E 1, 2 に示した。

II-2 動物管理

II-2-1 各群の使用動物数

被験物質投与群 3 群及び対照群 1 群の計 4 群を設け、各群、雌雄各 50 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	50 匹 (1001~1050)	対照群	50 匹 (2001~2050)
750 ppm 群	50 匹 (1101~1150)	500 ppm 群	50 匹 (2101~2150)
1500 ppm 群	50 匹 (1201~1250)	1500 ppm 群	50 匹 (2201~2250)
3000 ppm 群	50 匹 (1301~1350)	4500 ppm 群	50 匹 (2301~2350)

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 (層別体重平均法: 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開始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、検疫期間及び馴化期間においては色素塗布により、投与期間においては耳パンチにより識別した。また、全飼育期間を通してケージにも個体識別番号を付した。

動物は全飼育期間、バリア区域 (AC-2 空調エリア) 内の独立した室 (雄: 206 室、雌: 207 室) に収容し、各室に試験番号、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をした。

II-2-3 飼育条件

<飼育環境>

飼育室内の環境は、温度：23±2℃、湿度：55±10%、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/時に設定した。温度及び湿度の計測結果(平均値±標準偏差)は、温度：206室(23.1±0.3℃)207室(23.0±0.3℃)、湿度：206室(55±2%)207室(54±2%)であった。なお、動物の状態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。

<飼育ケージ>

動物は、全飼育期間を通して、単飼ケージ(ステンレス製マウス2連網ケージ、1匹当りW112×D212×H120mm)に収容し、ケージ交換は2週間毎に実施した。

<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)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以降は摂取させなかった。

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)の分析データを使用ロット毎に入手し、保管した。また、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毎に入手し、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。

<飲水>

検疫期間は、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、自動給水装置により自由摂取させた。馴化期間は、フィルターろ過及び紫外線照射した市水を脱イオン化し(脱イオン水)、さらにフィルターろ過した後に給水瓶により自由摂取させた。投与期間は、脱イオン水をさらにフィルターろ過した飲水に被験物質を希釈混合した被験物質混合飲水を給水瓶により自由摂取させた。

飲水は、(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)に委託して分析した結果を、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

毎日1回以上、生死及び瀕死の確認を行った。一般状態の詳細な観察は週1回行った。

II-3-2 体重測定

投与開始後 14 週間は週 1 回、それ以降は 4 週に 1 回、体重を測定した。また、動物の死亡発見時、切迫屠殺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

投与開始後 14 週間は週 1 回、それ以降は 4 週に 1 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

投与開始後 14 週間は週 1 回、それ以降は 4 週に 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-2 カ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。なお、検査対象動物は解剖日前日夕方より絶食(18 時間以上)させた。

検査方法を APPENDIX R 1 に示した。

検査項目は、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、白血球数及び白血球分類とした。

II-3-6 血液生化学的検査

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、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。なお、検査対象動物は解剖日前日夕方より絶食(18 時間以上)させた。

検査方法を APPENDIX R 1 に示した。

検査項目は、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、GOT、GPT、LDH、ALP、 γ -GTP、CPK、尿素窒素、ナトリウム、カリウム、クロール、カルシウム及び無機リンとした。

II-3-7 尿検査

投与最終週まで生存した動物の新鮮尿を採取し、尿検査試験紙を用いて検査した。

検査方法を APPENDIX R 1 に示した。

検査項目は、pH、蛋白、グルコース、ケトン体、潜血及びウロビリノーゲンとした。

II-3-8 病理学的検査

(1) 剖検

全動物について肉眼による剖検を行った。

(2) 臓器重量

定期解剖時まで生存した動物について、下記臓器の湿重量（臓器実重量）を測定した。また、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

全動物の下記の器官、組織を 10% 中性リン酸緩衝ホルマリン溶液にて固定後、パラフィン包埋、薄切、ヘマトキシリン・エオジン染色し、光学顕微鏡にて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、骨髓（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）、その他、肉眼的に変化のみられた器官、組織

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

各数値データは計測機器の精度にあわせて表示した。

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、表示した。

摂餌量と摂水量については g を単位とし、計測期間を通しての摂取量を小数点以下第 1 位まで計測し、この値を計測期間の日数で除し、1 日当た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、各群の平均体重で除した値を 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 位までを表示した。

臓器重量については 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、血液生化学的検査については APPENDIX R 2 に示した単位と精度により表示した。

なお、各数値データにおいて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

雌の 1500 ppm 群は、事故により 1 匹が死亡したため母数から除外し、49 匹を母数とした。

体重、摂水量及び摂餌量については、各計測時に生存していた全動物を対象に計測し、その中から欠測となったデータを除外して母数とした。

臓器重量、血液学的検査、血液生化学的検査は、定期解剖時まで生存した動物を対象とし、欠測となったデータを除外して母数とした。

尿検査は、投与最終週まで生存した全動物を対象に行い、検査ができた動物数を母数とした。

剖検データは、各群の有効動物数（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）を母数とした。病理組織学的データは、臓器別に、検査不能臓器のあった動物数を除いたものを母数とした。

II-4-3 統計処理

本試験で得られた測定値は対照群を基準群として、最初に 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については、対照群と各投与群間で χ^2 検定を行った。検定は、所見のみられなかった動物をグレード 0 として分類し、各グレード毎の動物の度数分布により行った。また、尿検査についても対照群と各投与群間で χ^2 検定を行った。

病理組織学的検査の腫瘍性病変については、各臓器の腫瘍ごとに、各群ごとの総担癌臓器数について Peto 検定（文献 7）、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定を行った。また Peto 検定は病理組織学的検査時に付与されたコンテックス（注）を用いて、死亡率法（コンテッ

クス 3, 4 を付与された腫瘍についての検定)、有病率法 (コンテックス 0, 1, 2 を付与された腫瘍についての検定)、死亡率法+有病率法 (コンテックス 0~4 の総計で検定) を行った。

注：Peto 検定に用いるコンテックス

0：定期解剖動物にみつかった腫瘍

1：死亡/瀕死動物にみつかった腫瘍で、直接死因に関係しない腫瘍

2：多分 1 だと思いが、確かでない腫瘍

3：多分 4 だと思いが、確かでない腫瘍

4：死亡/瀕死動物にみつかった腫瘍で、直接死因に関わっていた腫瘍

各検定は 5% の有意水準で両側検定 (Peto 検定、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定は片側検定) 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 1, 2 及び FIGURE 1, 2 に示した。

生存率は、雌雄ともに投与濃度に対応した変化はみられなかった。ただし、すべての投与群と対照群において雄よりも雌の生存率が低く、特に雌の 500 ppm 群では投与終了時に半数以上の動物が死亡していた。

各群の投与終了時（投与 104 週）における動物の生存率は、雄では、対照群：74%、750 ppm 群：72%、1500 ppm 群：76%、3000 ppm 群：86%、雌では、対照群：62%、500 ppm 群：48%、1500 ppm 群：55%、4500 ppm 群：72%であった。

なお、雌の 1500 ppm 群の 1 匹は投与 22 週に飼育管理上のミスにより死亡したため、この群の有効動物数は 49 匹となった。

Ⅲ-2 一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX A 1, 2 に、また、一般状態の観察時に診られた外部腫瘍及び内部腫瘍の発生动物数を TABLE 7, 8 に示した。

一般状態については、雌雄ともに、特記すべき所見はみられなかった。

外部腫瘍の総発生动物数は、雌雄ともに変化はみられなかった。

雄の 3000 ppm 群でみられた内部腫瘍の総発生动物数は対照群に比べて減少した。

Ⅲ-3 体重

体重の推移を TABLE 1, 2、FIGURE 3, 4 及び APPENDIX B 1, 2 に示した。

雄の全投与群及び雌の 1500 ppm 以上の群に、投与濃度に対応した体重増加の抑制がみられた。

投与 104 週の最終計測日における各投与群の体重は、対照群を 100%とすると、雄では 750 ppm 群：90%、1500 ppm 群：79%、3000 ppm 群：73%、雌では 500 ppm 群：96%、1500 ppm 群：86%、4500 ppm 群：77%であった。

Ⅲ-4 摂水量

摂水量の推移を TABLE 3, 4、FIGURE 5, 6 及び APPENDIX C 1, 2 に示した。

雌雄ともに、全投与群で投与濃度に対応した摂水量の減少がみられた。

全投与期間における各群の平均摂水量（対照群に対する相対比）は、雄では、対照群：

4.1g (100%)、750 ppm 群 : 3.4g (83%)、1500 ppm 群 : 2.8g (68%)、3000 ppm 群 : 2.4g (58%)、雌では、対照群 : 4.2g (100%)、500 ppm 群 : 3.3g (80%)、1500 ppm 群 : 2.7g (65%)、4500 ppm 群 : 2.1g (50%) であった。

Ⅲ-5 摂餌量

摂餌量の推移を TABLE 5, 6、FIGURE 7, 8 及び APPENDIX D 1, 2 に示した。

雌雄ともに、1500 ppm 以上の群に投与濃度に対応した摂餌量の減少がみられた。

全投与期間における各群の平均摂餌量 (対照群に対する相対比) は、雄では、対照群 : 4.4g (100%)、750 ppm 群 : 4.3g (98%)、1500 ppm 群 : 4.1g (93%)、3000 ppm 群 : 3.9g (90%) であり、雌では、対照群 : 4.0g (100%)、500 ppm 群 : 3.9g (98%)、1500 ppm 群 : 3.8g (94%)、4500 ppm 群 : 3.6g (90%) であった。

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 1 日当りの被験物質摂取量 (g/kg body weight/day) の平均値 (範囲) は、雄では、750 ppm 群 : 0.071 (0.055~0.116)、1500 ppm 群 : 0.125 (0.100~0.197)、3000 ppm 群 : 0.225 (0.186~0.326) であり、雌では、500 ppm 群 : 0.062 (0.048~0.093)、1500 ppm 群 : 0.160 (0.128~0.236)、4500 ppm 群 : 0.388 (0.266~0.491) であり、全投与期間における各群の平均被験物質摂取量の、一段階低い投与濃度の被験物質摂取量に対する比率は、雄では 1.8、雌では 2.4 から 2.6 の範囲にあり、雌雄ともに設定用量比 (公比 : 雄 2、雌 3) よりも低値を示した。

Ⅲ-7 血液学的検査

血液学的検査の結果を TABLE 9, 10、APPENDIX F 1, 2 に示した。

雄では、白血球数の減少が 3000 ppm 群にみられた。

雌では、MCH と MCHC の減少、血小板数の増加が 4500 ppm 群にみられた。

Ⅲ-8 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を TABLE 11, 12、APPENDIX G 1, 2 に示した。

雄では、トリグリセライドとカリウムの減少が 1500 ppm 以上の群に、A/G 比の増加、総蛋白及び GPT の減少が 3000 ppm 群にみられた。その他、GOT の増加が 750 ppm 群にみられた。

雌では、A/G 比及び ALP の増加が 1500 ppm 以上の群に認められた。また、グルコース、総コレステロール及びリン脂質の増加、ならびに総蛋白、トリグリセライド、クロール、無機リン、GOT、GPT 及び LDH の減少が 4500 ppm 群にみられた。

Ⅲ-9 尿検査

尿検査の結果を TABLE 13, 14、APPENDIX H 1, 2 に示した。

雄では、蛋白とケトン体の陽性度の増強及び pH の低下が全投与群にみられた。

雌では、ケトン体の陽性度の増強と pH の低下が 1500 ppm 以上の群に、蛋白の陽性度の増強が 4500 ppm 群にみられた。

Ⅲ-10 病理学的検査

Ⅲ-10-1 剖検

解剖時に観察された剖検所見を APPENDIX I 1~6 に示した。

主な剖検所見として、雄では、前胃の結節が 1500 ppm 群 (1 匹) と 3000 ppm 群 (5 匹) にみられた。雌では、前胃の結節が 500 ppm 群 (3 匹) と 4500 ppm 群 (9 匹) にみられ、また、前胃の肥厚が 4500 ppm 群 (16 匹) にみられた。

Ⅲ-10-2 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 15, 16、APPENDIX J 1, 2 (実重量) 及び APPENDIX K 1, 2 (体重比) に示した。

—実重量—

雄では、心臓と肝臓の実重量の減少が 1500 ppm 以上の群に、肺と脾臓の実重量の減少が 3000 ppm 群にみられた。その他、精巣の実重量の増加が 750 ppm 群にみられた。

雌では、腎臓の実重量の増加が 500 ppm 群と 4500 ppm 群にみられた。なお、1500 ppm 群の腎臓の実重量も対照群より高い値であった。また、心臓と肝臓の実重量の減少が 1500 ppm 以上の群に、肺と脳の実重量の減少が 4500 ppm 群にみられた。

—体重比—

雄では、精巣、心臓、腎臓、肝臓及び脳の体重比の増加が全投与群に、副腎と肺の体重比の増加が 1500 ppm 以上の群にみられた。

雌では、腎臓の体重比の増加が全投与群に、脳の体重比の増加が 1500 ppm 以上の群に、副腎と心臓の体重比の増加が 4500 ppm 群にみられた。また、肝臓の体重比の減少が 4500 ppm 群にみられた。

Ⅲ-10-3 病理組織学的検査

1. 腫瘍性病変

腫瘍性病変の結果は、TABLE 17, 18 (主な腫瘍性病変)、APPENDIX M 1, 2 (担腫瘍動物数と腫瘍数)、APPENDIX N 1, 2 (腫瘍の種類別の発生数)、APPENDIX O 1, 2 (統計解析：Peto 検定、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定)、APPENDIX P 1~6 (転移性病変) に示した。

なお、本試験でみられた腫瘍の発生率について、過去に日本バイオアッセイ研究センターで実施した Crj:BDF₁ マウスを用いたがん原性試験における腫瘍のヒストリカルコントロールデータ (以下、HCD と略す) との比較も行った (TABLE 21, 22)。

— 発生が増加または増加傾向がみられた腫瘍 —

<肝臓>

雌の肝細胞腺腫の発生が Fisher 検定で 500 ppm 群に増加が認められた。また、雌の肝細胞腺腫と肝細胞癌の発生をあわせた発生も Fisher 検定で 500 ppm 群に増加が認められた。しかし、これらの腫瘍はより高濃度の群では発生増加を示さなかった。

なお、500 ppm 群の肝細胞腺腫の発生率は、HCD の上限を僅かに越えていた。なお、各投与群とも肝細胞癌の発生率は HCD の範囲内にあった。

<子宮>

雌の子宮を原発巣とした組織球肉腫の発生は Fisher 検定で 1500 ppm 群に増加が認められた。しかし、この腫瘍はより高濃度の群では発生増加を示さなかった。

なお、1500 ppm 群の組織球肉腫の発生率は HCD の範囲内にあった。

— 発生が減少または減少傾向がみられた腫瘍 —

<肝臓>

雄の肝細胞癌の発生は、Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示し、Fisher 検定で 3000 ppm 群に減少が認められた。また、雄の肝細胞腺腫と肝細胞癌の発生をあわせた発生も同様の結果を示した。

なお、3000 ppm 群の肝細胞癌の発生率は HCD の範囲より低い値であった。

雄の血管肉腫の発生は、Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示し、Fisher 検定で 3000 ppm 群に減少が認められた。また、雄の血管腫と血管肉腫の発生をあわせた発生も同様の結果を示した。

なお、3000 ppm 群の血管肉腫の発生率は HCD の下限に相当する値であった。

<脾臓>

雄の血管腫と血管肉腫の発生をあわせた発生は Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示し、Fisher 検定で 3000 ppm 群に減少が認められた。

なお、3000 ppm 群の血管腫と血管肉腫の発生率は HCD の下限に相当する値であった。

<下垂体>

雌の下垂体腺腫の発生が Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示した。また、雌の下垂体腺腫と下垂体腺癌の発生をあわせた発生も同様の結果を示した。

なお、4500 ppm 群と 1500 ppm 群の腺腫の発生率は HCD の下限に相当する値であった。

<リンパ節>

雌のリンパ節を原発巣とした悪性リンパ腫の発生は Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示し、Fisher 検定で 1500 ppm 群と 4500 ppm 群に減少が認められた。また、雌の悪性リンパ腫は全ての原発臓器をあわせると、その発生率が Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示し、Fisher 検定で 1500 ppm 群と 4500 ppm 群に減少が認められた。

なお、各投与群の悪性リンパ腫の発生率は HCD の範囲内にあった。

<その他>

雄の組織球肉腫は全ての原発臓器をあわせると、その発生率が Fisher 検定で 1500 ppm 群に減少を示した。しかし、より高濃度の群では発生減少は認められなかった。

—その他の特記すべき腫瘍—

雄では、前胃の扁平上皮癌の発生が 1500 ppm 群の 1 匹に認められた。

雌では前胃の扁平上皮乳頭腫の発生が 500 ppm 群の 1 匹に認められ、腎臓の腎細胞癌の発生が 500 ppm 群の 2 匹に認められた。

なお、雄の前胃の扁平上皮癌と雌の前胃の扁平上皮乳頭腫の発生率は HCD の範囲内にあった。しかし、雌の腎細胞癌の HCD の発生率は 0 である。

2. 非腫瘍性病変

非腫瘍性病変の結果は、TABLE 19 (主な非腫瘍性病変)、APPENDIX L 1~6 に示した。

被験物質投与による影響が示唆される非腫瘍性病変は、主に雌雄の胃、腎臓及び鼻腔にみられた。

<胃> (PHOTOGRAPH 1)

前胃の扁平上皮過形成の増加が雌雄ともにみられた。雄では 3000 ppm 群に多くみられ、雌では全投与群で投与量に応じて増加した。

その他、腺胃の上皮過形成と鉍質沈着が、雄の 3000 ppm 群で減少した。また、雄では前胃の潰瘍が 3000 ppm 群に、雌では前胃の糜爛が 4500 ppm 群に多くみられた。

なお、雌の腺胃の上皮過形成が 500 ppm 群で増加を示したが、より高濃度の群では増加しなかったため、これは投与に関連した変化ではないと判断した。

<腎臓> (PHOTOGRAPH 2)

腎盂の剥離が、雌の 1500 ppm で増加、また、4500 ppm 群でも多くみられた。雄では、3000 ppm 群に多くみられた。

なお、腎皮質の鉍質沈着が、雄の 750 ppm 以上の群で減少した。

<鼻腔> (PHOTOGRAPH 3)

鼻腺の呼吸上皮化生の増加が、雄では全投与群、雌では、1500 ppm 以上の群に認められた。この病変は、鼻孔に近いレベル I (切歯後端横断部位) の背側壁に主にみられた。

その他、脳、脳脊髄の鉍質沈着と精巣の主に血管周囲に観察される鉍質沈着が雄の 1500 ppm 以上の群で減少した。

III-10-4 死因

病理学的にみた死亡/瀕死の原因を TABLE 20 に示した。

雌雄ともに、被験物質の投与により増加した死因はみられなかった。

IV まとめ及び考察

アクリル酸=2-ヒドロキシエチルは、熱硬化性塗料、接着剤、繊維処理剤、潤滑油添加剤、コポリマーの改質剤などに用いられる（文献 1）ことから、この化学物質のヒトへの職業暴露は、それが生産されている場所及び使用されている場所において、主に皮膚への接触や吸入により労働者の体内に侵入すると考えられる。本試験では、アクリル酸=2-ヒドロキシエチルが水に溶解することから、投与経路を飲水投与とし、雌雄マウスの 2 年間混水経口投与によるがん原性試験を実施した。その結果、がん原性を示す明らかな証拠はみられなかったものの、雌雄の前胃に前腫瘍病変の可能性のある扁平上皮過形成がみられた。

IV-1 まとめ

(1) 生存率、一般状態、体重、摂餌量、摂水量

雌雄の生存率に投与濃度に対応した変化はなかった。ただし、体重増加の抑制が雌雄の全投与群で投与濃度に対応してみられ、また、摂水量の低下が雌雄の全投与群に、摂餌量の低下が雌雄の 1500 ppm 以上の群にみられた。一般状態には、特記すべき変化はみられなかった。

(2) 尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査

尿検査では、雄の全投与群で蛋白とケトン体の陽性度の増加及び pH の低下がみられた。雌では、1500 ppm 以上の群でケトン体陽性度の増加と pH の低下、4500 ppm 群で蛋白の増加がみられた。

血液学的検査では、投与濃度とほぼ対応した変化として、雄では 3000 ppm 群で白血球数の減少がみられ、雌では 4500 ppm 群で MCH 及び MCHC の減少及び血小板数の増加がみられた。

血液生化学的検査では、投与濃度とほぼ対応した変化として、雄では、1500 ppm 以上の群でトリグリセライドとカリウムの減少、3000 ppm 群で A/G 比の増加、総蛋白と GPT の減少がみられた。雌では、1500 ppm 以上の群で A/G 比と ALP の増加、4500 ppm 群でグルコース、総コレステロール、リン脂質の増加、また、総蛋白、トリグリセライド、クロール、無機リン、GOT、GPT 及び LDH の減少がみられた。

(3) 剖検、臓器重量

剖検観察による変化は主に前胃にみられた。前胃の結節が、雄では 1500 ppm 群と 3000 ppm 群で、雌では 500 ppm 群と 4500 ppm 群で観察された。また、前胃の肥厚が雌の 4500 ppm 群で観察された。

体重増加の抑制があるにもかかわらず、雌の全投与群で腎臓重量（湿重量）は投与濃度に

対応して増加した。また、腎臓の体重比は雌雄ともに投与濃度に対応して増加した。

(4) 病理組織学的検査

投与用量に対応した発生増加を示す腫瘍は認められなかった。ただし、雌の 500 ppm 群で肝細胞腺腫の増加がみられ、肝細胞腺腫と肝細胞癌の発生匹数を合計しても増加を示した。また、雌の 1500 ppm 群で子宮の組織球肉腫の増加がみられた。

これに対し、雄の肝臓の肝細胞癌及び血管肉腫、脾臓の血管腫瘍（血管腫、血管肉腫）、ならびに組織球肉腫、雌の下垂体腫瘍（腺腫、腺癌）及び悪性リンパ腫には発生減少がみられた。

その他、自然発生の稀な腫瘍として、雄の前胃の扁平上皮癌（1500 ppm 群：1 匹）、雌の前胃の扁平上皮乳頭腫（500 ppm 群：1 匹）及び雌の腎細胞癌（500 ppm 群：2 匹）がみられた。

非腫瘍性病変については、雌雄ともに主に胃、腎臓及び鼻腔にみられた。胃では、前胃の扁平上皮過形成の増加が、雌の全投与群、雄の 3000 ppm 群に認められた。また、腺胃の過形成が雌の 500 ppm 群に、前胃の潰瘍が雄の 3000 ppm 群に、前胃の糜爛が雌の 4500 ppm 群で僅かに増加した。腎臓では、腎盂の剥離が雌では 1500 ppm 以上の群で増加したが、雄では 3000 ppm 群のみに僅かな増加がみられたにすぎなかった。鼻腔では、鼻腺の呼吸上皮化生が雄では全投与群に、雌では 1500 ppm 以上の群に増加した。なお、減少がみられた非腫瘍性病変は、腎皮質の鉍質沈着（雄の全投与群）、精巣と脳の鉍質沈着（雄の 1500 ppm 以上の群）及び腺胃の上皮過形成と鉍質沈着（雄の 3000 ppm 群）であった。

IV-2 考察

(1) 腫瘍及び腫瘍関連病変

アクリル酸=2-ヒドロキシエチルの雌雄マウスを用いた 2 年間にわたる飲水投与により、投与用量に対応した発生増加を示す腫瘍は認められなかった。ただし、雌の低用量群である 500 ppm 群で肝細胞腺腫の発生増加が示され、また、雌の中用量群である 1500 ppm 群で子宮の組織球肉腫の発生増加が示された。500 ppm 群の肝細胞腺腫の発生率は、当センターの雌マウスの HCD と比較して、その範囲を僅かに越えていたが、より高濃度の 1500 ppm 群及び 3000 ppm 群における肝細胞腺腫の発生率は非常に低かったことから、アクリル酸=2-ヒドロキシエチル投与によるものではないと考えられた。また、1500 ppm 群の子宮の組織球肉腫の発生率は、当センターの雌マウスの HCD の範囲内にあった。また、投与濃度と対応していなかったことから、アクリル酸=2-ヒドロキシエチル投与によるものではないと考えた。

これに対し、雄の肝臓の肝細胞癌及び血管肉腫、脾臓の血管腫瘍（血管腫、血管肉腫）、ならびに組織球肉腫、雌の下垂体腫瘍（腺腫、腺癌）及び悪性リンパ腫には発生減少がみら

れた。B6C3F₁ マウスで発生する肝臓腫瘍（肝細胞腺腫、肝細胞癌）や下垂体腫瘍は、カロリー摂取不足などによる体重増加抑制と関連してその発生率が低下することが知られている（文献 8）。BDF₁ マウスを使用した本試験の結果、雌雄ともに投与濃度に対応した体重増加の抑制と摂餌量の減少がみられた。よって、雄の肝細胞癌と雌の下垂体腫瘍の発生減少は、体重増加抑制と関連した結果と考えられた。さらに、これらの腫瘍の発生率は当センターの HCD の下限以下であった。従って、これらの腫瘍の発生減少はアクリル酸=2-ヒドロキシエチルの投与に関連した変化であると考察した。

（2）非腫瘍性病変等

前胃、腎臓及び鼻腔に非腫瘍性病変の増加がみられた。

前胃では、雌に扁平上皮過形成の顕著な増加がみられた。この病変は、低濃度群である 500 ppm 群より増加しており、高濃度群である 4500 ppm 群ではほとんどの動物で認められた。ただし、雄では、高濃度群である 3000 ppm 群で僅かに増加したにすぎなかった。また、雌雄の高濃度群においては、前胃の糜爛や潰瘍も僅かに増加していた。本試験の予備試験として行ったアクリル酸=2-ヒドロキシエチルの飲水投与による 13 週間試験（雌雄とも 375 ppm、750 ppm、1500 ppm、3000 ppm、6000 ppm に設定）（文献 5）においても、雌雄の 3000 ppm 以上の群に前胃の扁平上皮過形成が認められ、雄の 3000 ppm 以上の群と雌の 6000 ppm 群に前胃の潰瘍の増加もみられた。従って、これらの前胃の変化はアクリル酸=2-ヒドロキシエチルの投与による影響であると考察される。このように、前胃の増殖性病変である扁平上皮過形成が増加したが、雌雄の高用量群では腫瘍への移行はみられなかった。ただし、雌の低用量群である 500 ppm 群の 1 匹で扁平上皮乳頭腫が発生、また、雄の中用量群である 1500 ppm 群の 1 匹で扁平上皮癌が発生した。両腫瘍とも、当センターの HCD によると非常に発生率の低い腫瘍であり、その発生率も HCD の上限と一致していた。扁平上皮過形成の腫瘍への移行の可能性についての知見は明らかでない。すなわち、ある物質では腫瘍に移行するが、ある物質では腫瘍に移行せず、扁平上皮過形成から腫瘍への進展は予測できないとされている（文献 9）。これらのことから、両腫瘍の発生はアクリル酸=2-ヒドロキシエチル投与に関連した可能性は高いものの明確ではないと判断した。

腎臓には、アクリル酸=2-ヒドロキシエチルの飲水投与は、僅かな変化を誘発した。病理組織学的には、腎盂上皮の剥離が、雌の中・高用量群である 1500 ppm 群と 4500 ppm 群、雄の高用量群である 3000 ppm 群で増加した。雌雄ともに腎臓重量の増加もみられたが、それを示唆するような組織変化はみられなかった。本試験の予備試験として行った 13 週間試験（文献 5）でも、投与濃度に対応した雌雄の腎臓重量の増加がみられたが、組織学的には雄で近位尿細管上皮細胞の空胞化の減少がみられたにすぎなかった。その他、雌雄ともにこれらの群では尿中の蛋白やケトン体の陽性度の増加、及び尿の pH が低下しているが、腎臓の病理組織学的変化との関連は明らかでない。

鼻腔では、鼻腺の呼吸上皮化生が増加した。鼻腺の呼吸上皮化生は加齢に伴って発生することが知られており（文献 10, 11）、アクリル酸=2-ヒドロキシエチルの投与がこの加齢性病変を促進させた可能性がある。一方、アクリル酸エステルの吸入投与は、鼻腔の嗅上皮の障害、すなわち呼吸上皮化生や過形成といった非腫瘍性病変を発生することが知られており（文献 12, 13）、これは、アクリル酸エステルをアクリル酸とアルコールへ加水分解するカルボキシエステラーゼが、鼻腔の嗅上皮で非常に高い活性をもっていることに起因しているといわれている（文献 14）。

アクリル酸=2-ヒドロキシエチルの飲水投与による病変の減少は、腫瘍のみならず、非腫瘍性病変にもみられた。げっ歯類の胃は前胃と腺胃の 2 部位からなる。前胃では先に述べたようにアクリル酸=2-ヒドロキシエチルの飲水投与により前腫瘍病変が疑われる扁平上皮過形成が増加した。一方、腺胃の上皮過形成は、雄の高用量群である 3000 ppm 群で減少した。ただし、雌では低用量群の 500 ppm 群で増加したものの、中・高用量群では低用量群に比べて減少した。腺胃の上皮過形成はマウスでは通常よくみられる加齢性病変であり、この加齢性変化が抑制された可能性がある（文献 15）。

鉍質沈着は正常ではカルシウム塩の存在しない組織にカルシウムが沈着する病変であるが、アクリル酸=2-ヒドロキシエチルの飲水投与により雄の腎臓、腺胃、精巣及び脳において鉍質沈着の減少がみられた。腎臓の皮質にみられる鉍質沈着は、B6C3F₁ マウスの雄では通常にみられ、雌よりも雄に多い病変であることが報告されている（文献 16）。本試験で使用した BDF₁ マウスの対照群においても、雌ではみられなかったが雄で多く認められ、アクリル酸=2-ヒドロキシエチルの投与により、その発生は低用量群である 750 ppm 群より減少した。また、腺胃の鉍質沈着もラットやマウスの加齢性病変としてしばしばみられる病変である（文献 17）が、雄の高用量群である 3000 ppm 群でその発生が減少した。精巣や脳における鉍質沈着も加齢により増加し、精巣では主に精細管の基底膜や血管壁、脳では主に血管の基底膜にカルシウムが沈着する病変である（文献 18, 19）。精巣や脳における鉍質沈着も雄の高用量群である 3000 ppm 群でその発生が減少した。血中のカルシウム量、また上皮小体の過形成等の変化は認められなかったが、先に述べたように、投与群で腫瘍発生が減少した原因として摂餌量低下を伴った体重増加の抑制が示唆されるように、これらの加齢性病変の発生減少も摂餌量の低下、言い換えれば、餌の過剰摂取が抑えられたことが原因となっているのかも知れない。

(3) 無毒性量 (NOAEL) / 最小毒性量 (LOAEL) 及びベンチマーク用量

前胃の扁平上皮過形成は雌マウスでは本試験の最低濃度である 500 ppm から増加した。よって、本試験条件下のマウスにおける最小毒性量 (LOAEL) は、前胃の病変をエンドポイントとして 500 ppm であると考えられた。雌の前胃の扁平上皮過形成の発生率と投与濃度との用量-反応関係に US.EPA NCEA の BMDL ソフトウェア Version 1.3.1 (文献 20) を適用して 10%ベンチマーク用量 (Confidence limit of Benchmark dose yielding the

response with 10 % extra risk (BMDL₁₀) を算出した結果 (Weibul Model, P=0.413, AIC=179.2) 、扁平上皮過形成に対する BMDL₁₀ 値は 489 ppm となった。

(4) 他文献との比較等

- ① アクリル酸=2-ヒドロキシエチルの変異原性については、微生物 (大腸菌) を用いた変異原性試験においては陽性であった (文献 21, 22) 。さらに、培養細胞を用いた染色体異常試験、遺伝子突然変異試験及び小核試験においても陽性であった (文献 23, 24) 。
- ② アクリル酸=2-ヒドロキシエチルと化学構造が類似するアクリル酸エチルのラット及びマウスを用いた強制経口投与試験 (100 mg/kg b.w, 200 mg/kg bw) が NTP (文献 25) により実施され、100 mg/kg b.w の投与量からラットやマウスの前胃に腫瘍を発生させることが報告されている。
- ③ アクリル酸エチルの飲水による自由摂取方法でラットを用いた長期投与実験をした結果 (最高濃度 2000 ppm) には、前胃の腫瘍や過形成は発生していない (文献 26) 。すなわち、アクリル酸エチルの経口投与による前胃の腫瘍発生は、投与方法により異なり、強制経口投与により強い刺激性のあるアクリル酸エチルが一度に胃内に反復投与された結果である可能性が考えられる。

V 結論

Crj:BDF₁ マウスを用いてアクリル酸=2-ヒドロキシエチルの 2 年間 (104 週間) にわたる経口投与 (飲水) によるがん原性試験を実施した結果、以下の結論を得た。

雌雄マウスともに、腫瘍の発生増加を示す明らかな証拠は認められなかった。

なお、雄の肝細胞癌及び雌の下垂体腫瘍 (腺腫、腺癌) には発生減少がみられた。

非腫瘍性病変については、前胃 (扁平上皮過形成) 、腎臓 (腎盂上皮の剥離) 及び鼻腔 (鼻腺の呼吸上皮化生) への影響がみられた。

VI 文献

1. 化学工業日報社 (2003)
14303 の化学商品
pp.357-358, 化学工業日報社, 東京
2. McLafferty, F. W. (1994)
Wiley Registry of Mass Spectral Data, 6th edition, Entry No. 12762
John Wiley and Sons, Inc. New York, NY
3. 和光純薬工業 (株) 提供資料 (1997)
4. OECD (1993)
OECD guideline for the testing of chemicals, 451, Carcinogenicity studies
OECD, Paris
5. 日本バイオアッセイ研究センター (2003)
アクリル酸=2-ヒドロキシエチルのマウスを用いた経口投与による 13 週間試験
(混水試験) 報告書
日本バイオアッセイ研究センター, 神奈川
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
7. Peto, R., Pike, M.C., Day, N.E., Gray, R.G., Lee, P.N., Parish, S., Peto, J., Richards,
S. and Wahrendorf, J. (1980)
Guideline for simple, sensitive significance test for carcinogenic effect in long-term
animal experiments
In: Long-Term and Short-Term Screening Assay for Carcinogenes: A Critical
Proposal
IARC Monographs, Suppl. 2, pp.311-426, IARC, Lyon

8. Seilkop, S. K. (1995)
The effect of body weight on tumor incidence and carcinogenicity testing in B6C3F₁ mice and F344 rats
Fundamental and Applied Toxicology, 24, 247-259
9. Leininger, J. R., Jokinen, M. P. (1994)
Tumours of the oral cavity, pharynx, esophagus and stomach
In: Pathology of Tumours in Laboratory Animals, Vol. II -Tumours of the Mouse,
IARC Scientific Publication No.111. (Eds: Turusov, V.S. and Mohr, U.)
pp. 167-193, International Agency Research on Cancer, Lyon
10. Takeuchi, T., Nagano, K., Katagiri, T., Aiso, S., Okudaira, M. and Fujiwara, K. (1998)
Incidence of respiratory metaplasia of the nasal gland epithelium in untreated F344 rats and BDF₁ mice subjected to two-year carcinogenicity studies
Journal of Toxicologic Pathology, 11, 209-212
11. Nagano, K., Katagiri, T., Aiso, S., Senoh, H., Sakura, Y. and Takeuchi, T. (1997)
Spontaneous lesions of nasal cavity in aging F344 rats and BDF1 mice
Experimental and Toxicologic Pathology, 49, 97-104
12. Reininghaus, W, Koestner, A. and Klimisch, H. J. (1991)
Chronic toxicity and oncogenicity of inhaled methyl acrylate and n-butyl acrylate in Sprague-Dawley rats
Food and Chemical Toxicology, 29, 329-339
13. Miller, R. R., Young, J. T. Kociba, R. J., Keyes, D. G., Bonder, K. M., Calhoun, L. L. and Ayers, J. A. (1985)
Chronic toxicity and oncogenicity bioassays of inhaled ethyl acrylate in Fischer 344 rats and B6C3F1 mice
Drug and Chemical Toxicology, 8, 1-42
14. Olson, M. J., Martin, J. L., LaRosa, A. C., Brady, A. N. and Pohl, L. R. (1993)
Immunohistochemical localization of carboxylesterase in the basal mucosa of rats
The Journal of Histochemistry and Cytochemistry, 41, 307-311

15. Leininger, J. R., Jokinen, M. P., Dangler, C. A. and Whiteley, L. O. (1999)
Oral cavity, esophagus, and stomach
In: Pathology of the Mouse, Reference and Atlas (Ed: Maronpot R. R.)
pp. 29-48, Cache River Press, Vienna, IL
16. 渡辺満利, 西川秋佳 (2000)
腎臓
In : 毒性病理組織学 (Ed. 伊東信行)
pp. 247-266, 日本毒性病理学会, 名古屋
17. 真鍋淳, 松沼尚史, 高橋道人, 立松正衛, 西川秋佳 (2000)
消化管
In : 毒性病理組織学 (Ed. 伊東信行)
pp. 153-178, 日本毒性病理学会, 名古屋
18. Morgan, K. T., Johnson, B. P., Frith, C. H. and Townsend, J. (1982)
An ultrastructural study of spontaneous mineralization in the brains of aging mice
Acta Neuropathologica, 58, 120-124
19. 神島仁志, 茶谷文雄, 宮島宏彰 (2000)
雄性生殖器
In : 毒性病理組織学 (Ed. 伊東信行)
pp. 283-314, 日本毒性病理学会, 名古屋
20. Risk Assessment Forum. U.S. Environmental Protection Agency (2000)
US.EPA Benchmark Dose Technical Guidance Document. EPA/630/R-00/001
Washington, D.C.
21. Watanabe, K., Sakamoto, K. and Sasaki, T. (1996)
Comparisons on chemically-induced mutagenicity among four bacterial strains,
Salmonella typhimurium TA102 and TA2638, and *Escherichia coli* WP2/pKM101
and WP2 *uvrA*/pKM101: Collaborative study I
Mutation Research 361, 143-155

22. 中央労働災害防止協会 (2001)
既存化学物質に係る変異原性の評価に関する調査研究 平成 13 年度
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, 神奈川

23. Kerry, L. D., Millis, C. S., Harrington-Brock, K., Doerr, C. L. and Moore, M. M. (1989)
Analysis of the genotoxicity of nine acrylate/methacrylate compounds in L5178Y mouse lymphoma cells
Mutagenesis, 4, 381-393

24. 中央労働災害防止協会 (1999)
既存化学物質に係る変異原性の評価に関する調査研究 平成 11 年度
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, 神奈川

25. National Toxicology Program (1987)
Carcinogenesis Studies of Ethyl Acrylate (CAS No. 140-88-5) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (Gavage Studies)
National Toxicology Program Technical Report Series No. 259, NTP, Washington D.C.

26. Borzelleca, J., Larson, P., Hennigar, G., Huf, E., Crawford, E., Smith, R. (1964)
Studies on the chronic oral toxicity of monomeric ethyl acrylate and methyl methacrylate
Toxicology and Applied Pharmacology, 6, 29-36