

ブチル 2,3-エポキシプロピル エーテルのマウス
を用いた吸入による 2 週間毒性試験報告書

試験番号：0412

CAS No.2426-08-6

2003 年 7 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

ブチル 2,3-エポキシプロピル エーテルのマウス
を用いた吸入による 2 週間毒性試験報告書

試験番号：0412

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	
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	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 投与方法、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 被験物質の濃度測定	5
II-2 動物管理	
II-2-1 各群の使用動物数	5
II-2-2 群分け及び個体識別方法	6
II-2-3 飼育条件	6

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	7
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	9
II-4-2	母数の取り扱い	9
II-4-3	統計方法	9
III	試験成績	
III-1	生死状況	10
III-2	一般状態	10
III-3	体重	10
III-4	摂餌量	10
III-5	血液学的検査	11
III-6	血液生化学的検査	11
III-7	病理学的検査	
III-7-1	剖検	11
III-7-2	臓器重量	11
III-7-3	病理組織学的検査	12
IV	考察及びまとめ	14
V	文献	17

要約

ブチル 2,3 - エポキシプロピル エーテルのがん原性を検索する目的で、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あたり、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に本試験 (2 週間試験) を実施した。

本試験は、Crj:BDF₁ マウスを投与群 5 群、対照群 1 群の計 6 群 (各群雌雄各 5 匹) に分け、投与群のブチル 2,3 - エポキシプロピル エーテルの濃度は、600 ppm、300 ppm、150 ppm、75 ppm 及び 38 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、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。また、途中死亡動物についても剖検観察と病理組織学的検査を行った。

ブチル 2,3 - エポキシプロピル エーテルの投与の結果、600 ppm 群は投与期間の 4 日目までに雌雄の全動物が死亡した。300 ppm 以下の群では、雌雄とも死亡はみられなかった。

600 ppm 群の死亡動物は、一般状態の観察で雌雄に異常呼気音がみられ、体重はそれぞれ死亡発見時まで減少した。剖検観察では、雌雄とも胃、小腸、盲腸及び腹腔にガスの貯留がみられた。病理組織学的検査では、雌雄とも鼻腔、鼻咽頭、喉頭及び気管に変化がみられ、ブチル 2,3 - エポキシプロピル エーテルによる気道の傷害とこれに伴う呼吸障害により動物が死亡したと考えられた。

300 ppm 以下の群では死亡はみられなかったが、300 ppm 群と 150 ppm 群では、雌雄ともに投与濃度に対応した体重増加の抑制がみられ、それらの群では摂餌量が低値であった。

血液学的検査では、300 ppm 群と 150 ppm 群の雌で貧血の傾向が認められ、また、300 ppm 群の雌雄で分葉核好中球比の増加とリンパ球比の減少がみられた。血液生化学的検査では、300 ppm 群の雌雄でリン脂質の減少、300 ppm 群の雄で GOT と GPT の上昇がみられた。

300 ppm 以下の群の病理学的検査では、剖検観察で 300 ppm 群の胸腺に萎縮がみられ、臓器重量測定では、300 ppm 群から 75 ppm 群の雌雄の胸腺、300 ppm 群の雌雄と 150 ppm 群の雌の脾臓及び 300 ppm 群の雌の卵巣の重量低下がそれぞれ認められた。病理組織学的検査では、300 ppm 群は雌雄とも、主に鼻腔、鼻咽頭及び気管に影響がみられ、他に胸腺と膣に変化がみられた。鼻腔の変化は 150 ppm 群から 38 ppm 群までの多くの動物にみられた。

以上の結果から、ブチル 2,3 - エポキシプロピル エーテルのマウスに対する 2 週間吸入暴露による最小毒性量 (LOAEL) は、鼻腔への影響をエンドポイントとして 38 ppm であると考えられた。また、13 週間吸入試験の投与濃度は、200 ppm を最高濃度とし、以下 100 ppm、50 ppm、25 ppm、12.5 ppm (公比 2) と決定した。

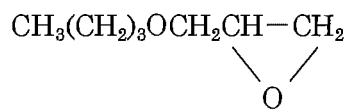
I 試験材料

I-1 被験物質の性状等

I-1-1 名称等

名 称 : ブチル 2,3 - エポキシプロピル エーテル (Butyl 2,3-epoxypropyl ether)
 別 名 : n - ブチルグリシジルエーテル、1 - n - ブトキシ - 2,3 - エポキシプロパン、
 2,3 - エポキシプロポキシブタン、BGE
 CAS No. : 2426-08-06

I-1-2 構造式及び分子量 (文献 1)



分 子 量 : 130.21

I-1-3 物理化学的性状等 (文献 1)

性 状 : 無色透明の液体
 沸 点 : 164℃
 蒸 気 圧 : 3.2mmHg (25℃)
 比 重 : 0.908 (25℃/4℃)
 溶 解 性 : 水に 2%溶解 (20℃)
 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 : CKH5928
 製 造 元 : 和光純薬工業株式会社
 グ レ ー ド : 和光 1 級
 純 度 : 97%以上 (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装置 (Hitachi M-80B) 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、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、被験物質はブチル 2,3 - エポキシプロピル エーテルであることを確認した。

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、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、測定結果に差はみられず、投与期間中の被験物質は安定であることを確認した。

なお、それらの結果は、APPENDIX J2 に示した。

I-4 試験動物

動物はブチル 2,3 - エポキシプロピル エーテル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 Crj:BDF₁ マウス (SPF) の雌雄を使用した。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の原因から、Crj:BDF₁ マウスと決定している。

マウス雌雄各 37 匹を生後 4 週齢で導入し (導入時体重範囲、雄:14.9~20.3g、雌:12.5~16.3g)、各 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、体重値の中央値に近い雌雄各 30 匹 (群構成時体重範囲、雄:21.8~24.3g、雌:17.9~20.0g) を選別し、試験に用いた。

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ブチル 2,3 - エポキシプロピル エーテル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。なお、対照群は新鮮空気による換気のみとした。

II-1-3 投与期間

投与期間は1日6時間、1週5回の暴露で2週間とした。

II-1-4 投与濃度

600ppm、300ppm、150ppm、75ppm 及び 38ppm の5段階（公比2）の投与濃度を設定した。

II-1-5 投与方法、投与期間及び投与濃度の設定理由

投与方法は労働環境における暴露経路に合わせ、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。文献によるとブチル 2,3 - エポキシプロピル エーテルのマウスの LC₅₀ 値（4時間）は 3500 ppm 以上（文献4）であったが、本試験システムの吸入チャンバーの容積と吸入チャンバーへの被験物質の供給量の関係から、制御可能な最高濃度である 600 ppm を本試験の最高濃度とし、以下、300ppm、150ppm、75ppm 及び 38ppm（公比2）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（柴田科学株式会社 特注）の発生容器内のブチル 2,3 - エポキシプロピル エーテル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。このブチル 2,3 - エポキシプロピル エーテルの蒸気を清浄空気（搬送空気）と混合して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ブチル 2,3 - エポキシプロピル エーテル濃度はガスクロマトグラフにより監視し、その濃度データを基に設定濃度になるようにブチル 2,3 - エポキシプロピル エーテルの吸入チャンバーへの供給量を調節した。

II-1-7 被験物質の濃度測定

吸入チャンバー内のブチル 2,3 - エポキシプロピル エーテルの濃度は、自動サンプリング装置付の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 分毎に測定した。

濃度測定結果を APPENDIX K1 に示した。各投与群のブチル 2,3 - エポキシプロピル エーテル濃度は、その平均値と設定濃度の差は 1.1%以内、変動係数（標準偏差／平均値×100%）は 1.3%以内であり、高い精度で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。

各群の使用動物数と動物番号

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	対 照 群	5 匹 (1001~1005)	5 匹 (2001~2005)
1	38ppm 群	5 匹 (1101~1105)	5 匹 (2101~2105)
2	75ppm 群	5 匹 (1201~1205)	5 匹 (2201~2205)
3	150ppm 群	5 匹 (1301~1305)	5 匹 (2301~2305)
4	300ppm 群	5 匹 (1401~1405)	5 匹 (2401~2405)
5	600ppm 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、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5）

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行い、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-5 空調エリア）内の独立した室（601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、他の試験及び異種動物と区別した。

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、吸入チャンバー内に移動し馴化を開始した。馴化期間も1週間とし、投与開始日の前日に群構成を行った。投与期間中は吸入チャンバー内で飼育した。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動物ケージを下表に示した。検疫室、吸入試験室の温度、湿度については測定値（平均値±標準偏差）を（ ）内に記した。また、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、吸入試験室及び吸入チャンバー内の環境は、動物の状態に影響を与えるような変化は認められなかった。

	検疫室 (605室)	吸入試験室 (601室)	吸入チャンバー内	
			馴化期間	投与期間
温度	23±2℃ (22.9±0.2℃)	21±2℃ (21.0±0.6℃)	20~24℃	
湿度	55±15% (52±1%)	55±15% (57±2%)	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	15~17回／時		12±1回／時	
圧力	—	—	0~-15 ×10Pa	
ケージへの動物の収容方法	単飼	—	単飼	単飼
ケージの材質・形状	ステンレス製 2連網ケージ	—	ステンレス製 6連網ケージ	ステンレス製 5連網ケージ
ケージ寸法 1匹当り（mm）	W112 D212 H120	—	W95 D116 H120	W100 D116 H120

飼料は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）を全飼育期間を通して、固型飼料給餌器により自由摂取させた。ただし、暴露中及び定期解剖日前日の夕方からは給餌しなかった。

飲水は全飼育期間を通して、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、自動給水装置により自由摂取させた。ただし、暴露中は給水しなかった。

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）の分析データ入手し、また、飲水については(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

動物の生死確認は、検疫及び馴化期間は毎日 1 回行い、投与期間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と日曜には午前中に 1 回行った。

一般状態の詳細観察は、検疫及び馴化期間は導入時、馴化開始時及び群構成時に行い、投与期間は 2、4、7、10、14 日目の暴露開始前に行った。

II-3-2 体重測定

検疫及び馴化期間は導入時、馴化開始時及び群構成時に行い、投与期間は 2、4、7、10、14 日目の暴露開始前に行った。また、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、全動物について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

定期解剖時に生存している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 L1 に示した。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、平均赤血球ヘモグロビン量、平均赤血球ヘモグロビン濃度、血小板数、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る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 L1 に示した。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、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、無機リン

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各臓器の湿重量（実重量）を測定した。また、各臓器の湿重量の定期解剖時の体重に対する百分率（臓器重量体重比）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

全動物について下記に示した器官、組織を10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液にて固定し、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、陰、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）

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合わせて表示した。

チャンバー内の被験物質濃度については ppm を単位として、小数点以下第 2 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、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 日あ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、血液生化学的検査は APPENDIX L2 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 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動物を対象とし計測を行った。欠測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、全動物数を母数とした。

II-4-3 統計方法

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。

なお、各検定は 5% の有意水準で両側検定を行い、最終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

動物の生死状況を TABLE 1, 2 に示した。

600 ppm 群では、投与期間の 4 日目までに雌雄の全動物が死亡した。雄は 3 日目の暴露前に 1 匹、暴露後に 3 匹、4 日目の暴露前に 1 匹、雌は 3 日目の暴露後に 3 匹、4 日目の暴露前に 2 匹が死亡した。

300 ppm 以下の群では、雌雄とも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 A1, A2 に示した。

600 ppm 群は投与期間の 3, 4 日目に雌雄の全動物が死亡したが、2 日目の暴露前の詳細観察で異常呼吸音が雄 2 匹、雌 3 匹にみられた。

300 ppm 以下の群では、投与期間の 4 日目に 300 ppm 群で異常呼吸音が雄 3 匹に、150 ppm 群で腹部膨隆が雄 4 匹、雌 5 匹にみられた。また、7 日目に 300 ppm 群で不整呼吸が雌 1 匹にみられた。

Ⅲ-3 体重

体重の推移を TABLE 1, 2, FIGURE 2, 3 及び APPENDIX B1, B2 に示した。

600 ppm 群の死亡動物の体重は、雌雄とも死亡発見時まで減少した。

300 ppm 群と 150 ppm 群では、雌雄とも投与期間の 4 日目までは多くの動物で体重は減少した。10 日目以降、体重増加がみられたが、最終体重（平均値）はそれぞれ試験開始時体重（平均値）以下となり、投与濃度に対応した体重増加の抑制がみられた。

75 ppm 群は、雌雄とも対照群よりやや低い値で推移したが、対照群と大きな差はみられなかった。

Ⅲ-4 摂餌量

摂餌量（1 日 1 匹あたり）を TABLE 3, 4 及び APPENDIX C1, C2 に示した。（600 ppm 群は、投与期間 4 日目までに全動物が死亡したためデータなし。）

300 ppm 群と 150 ppm 群の雌雄で、摂餌量は対照群に比べ低値であった。

Ⅲ-5 血液学的検査

血液学的検査の結果を APPENDIX D1, D2 に示した。(600 ppm 群は、投与期間 4 日目までに全動物が死亡したためデータなし。)

対照群に比べ、300 ppm 群の雌雄で分葉核好中球比の増加とリンパ球比の減少がみられた。また、300 ppm 群と 150 ppm 群の雌では、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値の軽度な減少がみられ、貧血の傾向が認められた。

Ⅲ-6 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。(600 ppm 群は、投与期間 4 日目までに全動物が死亡したためデータなし。)

対照群に比べ、300 ppm 群の雌雄でリン脂質の減少がみられた。また、300 ppm 群の雄では、GOT と GPT の上昇がみられた。

その他、150 ppm 群の雌で ALP の上昇がみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

Ⅲ-7 病理学的検査

Ⅲ-7-1 剖検

解剖時に観察された剖検所見を APPENDIX F1～F4 に示した。

600 ppm 群の死亡動物では、ガスの貯留が胃 (雄 4 匹、雌 5 匹)、小腸 (雌雄各 4 匹)、盲腸 (雄 2 匹、雌 3 匹) 及び腹腔 (雄 2 匹、雌 1 匹) にみられた。

定期解剖動物では、300 ppm 群で胸腺の萎縮 (雄 1 匹、雌 5 匹) がみられた。

その他、被験物質の影響と思われる所見はみられなかった。

Ⅲ-7-2 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)、APPENDIX H1, H2 (体重比) に示した。(600 ppm 群は、投与期間 4 日目までに全動物が死亡したためデータなし。)

対照群に比べ、胸腺の実重量と体重比の低値が 300 ppm 群から 75 ppm 群の雌雄に、脾臓の実重量と体重比の低値が 300 ppm 群の雌雄と 150 ppm 群の雌にみられ、300 ppm 群から 75 ppm 群の雌雄の胸腺及び 300 ppm 群の雌雄と 150 ppm 群の雌の脾臓の重量低下が認められた。また、卵巣の実重量と体重比の低値が 300 ppm 群の雌にみられ、300 ppm 群の雌

で卵巣の重量低下が認められた。

その他、300 ppm 群の雌雄の腎臓、雌の肺と肝臓及び 300 ppm 群と 150 ppm 群の雌の脳に実重量の低値及び体重比の高値がみられたが、これらは 300 ppm 群及び 150 ppm 群の解剖時体重の低値によるものと思われた。また、300 ppm 群の雌雄の心臓、雄の肝臓に実重量の低値がみられたが、その体重比は対照群と同程度であり、さらに、300 ppm 群の雄の肺、脳に体重比の高値もみられたが、それらの実重量はそれぞれ対照群と同程度あるいはやや低値であり、これらの変化が解剖時体重の低値によるものか、被験物質の直接的な影響かは不明であった。

150 ppm 群の雌雄の肝臓に実重量と体重比の低値がみられたが、この変化は投与濃度に対応したものではなかった。

III-7-3 病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果を APPENDIX I1~I4 に示した。

鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺、胸腺、精巣上体及び膣に投与の影響と考えられる所見が観察された。

[600 ppm 群 (全動物死亡)]

雌雄の全動物の鼻腔に呼吸上皮と嗅上皮の壊死がみられた。呼吸上皮の壊死の程度は極めて重度であり、鼻腔の前方部から中央部までの広汎な呼吸上皮にみられ、前方ほど強い変化がおきていた。嗅上皮の壊死の程度も多く多くの動物が重度であり、壊死の領域は鼻腔の中央部から後方部まで広汎にみられ、特に背側に強い変化がおきていた。また、鼻腔には呼吸上皮の炎症 (雌雄各 3 匹) や鼻腔の内腔への滲出液の貯留 (雄 2 匹、雌 1 匹) も観察された。さらに、鼻咽頭 (雄 3 匹、雌 2 匹)、喉頭 (全動物)、気管 (雄 5 匹、雌 4 匹) 及び気管支 (雄 2 匹) にも上皮の壊死がみられた。

胸腺には核崩壊像の出現 (雄 5 匹、雌 3 匹) や萎縮 (雌雄各 4 匹) が観察された。また、雄では精巣上体に精子の減少と精上皮系細胞の残屑の出現が 1 匹にみられた。

[300 ppm 群]

雌雄の全動物の鼻腔に呼吸上皮の変性、壊死及び扁平上皮化生、嗅上皮の壊死、萎縮及び呼吸上皮化生、ならびに炎症性ポリープがみられた。呼吸上皮の変化は鼻腔の前方部から中央部まで、また、嗅上皮の変化も鼻腔の中央部から後方部まで、ともに広い領域に認められた。また、鼻腔の内腔への滲出液の貯留 (雄 4 匹、雌 5 匹) や粘膜固有層の硬化 (雄 3 匹、雌 5 匹)、呼吸上皮の炎症 (雄 1 匹、雌 2 匹) も認められた。さらに、鼻咽頭の上皮には変性 (全動物) と壊死 (雄 3 匹、雌 5 匹) が観察され、気管の上皮にも変性 (全動物) がみられた。鼻腔の呼吸上皮ならびに鼻咽頭と気管の上皮の変性は、正常の上皮に比較して上皮の丈の低下や好塩基性の増加がみられ、線毛が消失する所見であった。また、喉頭の上皮にも変性と壊死が雌の各 1 匹にみられた。

その他、胸腺の萎縮（雄 1 匹、雌 5 匹）が観察され、雌では膈の上皮の粘液細胞化が 4 匹で観察された。

[150 ppm 群]

雌雄の全動物の鼻腔に呼吸上皮の変性と壊死、嗅上皮の萎縮と呼吸上皮化生がみられた。また、鼻腔には嗅上皮の壊死（雄 4 匹、雌 5 匹）、炎症性ポリープ（雄 5 匹、雌 4 匹）や鼻腔の内腔への滲出液の貯留（雄 1 匹）、粘膜固有層の硬化（雄 1 匹、雌 2 匹）も認められた。

[75 ppm 群]

鼻腔に呼吸上皮の変性（全動物）と壊死（雄 3 匹、雌 5 匹）、嗅上皮の壊死（雌雄各 2 匹）、萎縮（雄 4 匹、雌 5 匹）と呼吸上皮化生（雄 4 匹、雌 5 匹）、ならびに炎症性ポリープ（雄 3 匹、雌 4 匹）がみられた。なお、呼吸上皮の病変は鼻腔の前端、嗅上皮の病変は背側だけにみられた。

[38 ppm 群]

鼻腔に呼吸上皮の変性（雄 4 匹、雌 5 匹）がみられた。変性は鼻腔の前端にみられた。

その他の臓器には、雌雄とも投与による影響を示唆する所見は認められなかった。

IV 考察及びまとめ

ブチル 2,3 - エポキシプロピル エーテルのがん原性を検索する目的で Crj:BDF₁ 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あたり、その予備試験である 13 週間試験の前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、ブチル 2,3 - エポキシプロピル エーテルの投与濃度は、600 ppm、300 ppm、150 ppm、75 ppm 及び 38 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) 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、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。また、途中死亡動物についても剖検観察と病理組織学的検査を行った。

(1) 用量－反応関係

ブチル 2,3 - エポキシプロピル エーテルの投与の結果、600 ppm 群は投与期間の 4 日目までに雌雄の全動物が死亡した。300 ppm 以下の群では、雌雄とも死亡はみられなかった。

600 ppm 群の死亡動物は、投与期間 2 日目の一般状態の観察で雌雄に異常呼吸音がみられ、体重はそれぞれ死亡発見時まで減少した。剖検観察では、雌雄とも胃、小腸、盲腸及び腹腔にガスの貯留がみられた。

600 ppm 群の病理組織学的検査では、雌雄とも多くの動物に鼻腔、鼻咽頭、喉頭及び気管への影響がみられた。鼻腔には呼吸上皮と嗅上皮に壊死がみられた。壊死の程度は呼吸上皮と嗅上皮とも強く、広汎な領域の上皮に壊死が発生していた。特に呼吸上皮の壊死は極めて重度であった。壊死の発生は化学物質の刺激による上皮の傷害を示す所見であり (文献 6)、ブチル 2,3 - エポキシプロピル エーテルの吸入暴露が呼吸上皮と嗅上皮に強度の傷害を発生させることを示している。さらに、鼻咽頭、喉頭及び気管の上皮にも壊死がみられ、気道の上皮に対する傷害が深部にまで及んでいることが示された。また、剖検観察ではガスの貯留が胃や小腸、盲腸などにみられ、上部気道の傷害のため鼻呼吸が困難になっていたことが推察された (文献 6)。従って、600 ppm 群ではブチル 2,3 - エポキシプロピル エーテルによる気道の傷害とこれに伴う呼吸障害により動物が死亡したと考えられた。また、雌雄とも胸腺に核崩壊像の出現や萎縮が観察された。なお、雄には 1 匹ではあるが精巣上体に精子の減少と精上皮系細胞の残屑の出現がみられ、精巣に対しても影響がある可能性が示唆された。

300 ppm 以下の群では死亡はみられなかったが、300 ppm 群と 150 ppm 群では、雌雄ともに投与濃度に対応した体重増加の抑制がみられ、それらの群では摂餌量が低値であった。

一般状態の観察では、300 ppm 群で異常呼吸音と不整呼吸が散発的にみられただけであった。なお、150 ppm 群では投与期間 4 日目に腹部膨隆が多くの動物にみられたが、この日だけに観察されたこと、300 ppm 群には腹部膨隆がみられないことから、150 ppm 群でみられた腹部膨隆は、ブチル 2,3 - エポキシプロピル エーテルの暴露による影響かは不明であった。

血液学的検査では、300 ppm 群と 150 ppm 群の雌で赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値の軽度な減少がみられ、貧血の傾向が認められた。また、300 ppm 群の雌雄で分葉核好中球比の増加とリンパ球比の減少がみられた。300 ppm 群では雌雄とも胸腺の重量が大きく減少しており、それに関連する変化と思われた。

血液生化学的検査では、300 ppm 群の雌雄でリン脂質の減少がみられた。また、300 ppm 群の雄では、GOT と GPT の上昇がみられた。変化の程度はわずかであり、病理組織学的検査では肝臓に所見は認められないが、GOT と GPT の変化は肝臓への影響を示唆するものと考えられた。

300 ppm 以下の群の病理学的検査では、剖検観察で 300 ppm 群の胸腺に萎縮がみられ、臓器重量測定では、300 ppm 群から 75 ppm 群の雌雄の胸腺、300 ppm 群の雌雄と 150 ppm 群の雌の脾臓及び 300 ppm 群の雌の卵巣の重量低下がそれぞれ認められた。

病理組織学的検査では、300 ppm 群は雌雄とも、主に鼻腔、鼻咽頭及び気管に影響がみられた。鼻腔には、呼吸上皮に変性や壊死、炎症、嗅上皮に壊死や萎縮がみられ、また、炎症性ポリープや鼻腔の内腔への滲出液の貯留、粘膜固有層の硬化も認められた。呼吸上皮と嗅上皮の変化は、雌雄とも鼻腔の広い領域に認められた。これらの変化は化学物質の刺激による上皮の傷害やこれに伴う炎症の発生を示す所見であり（文献 6）、この濃度でもブチル 2,3 - エポキシプロピル エーテルの吸入暴露が呼吸上皮と嗅上皮の広い領域に傷害を与え、炎症を発生させることを示している。また、呼吸上皮に扁平上皮化生、嗅上皮には呼吸上皮化生の発生がみられ、上皮の傷害に対する修復・適応性の変化や増殖性の変化（文献 6）も同時に起きていたと推察される。さらに、鼻咽頭の上皮に変性や壊死、気管の上皮に変性が観察され、気道の上皮に対する傷害が深部にまで及んでいることが示された。なお、胸腺には萎縮がみられ、動物が消耗した状態にあったことが推察される。その他、膣に上皮の粘液細胞化が観察され、雌の生殖器への影響も示唆されている。

150 ppm 群と 75 ppm 群にも鼻腔への影響がみられた。すなわち、これらの群の多くの動物に呼吸上皮に変性や壊死、嗅上皮に壊死や萎縮、呼吸上皮化生、また、炎症性ポリープがみられた。しかし、150 ppm 以下の群では、鼻咽頭以下の気道への影響は認められなくなった。

38 ppm 群でも多くの動物に鼻腔の呼吸上皮の変性が認められ、この濃度でもブチル 2,3 - エポキシプロピル エーテルの吸入暴露による鼻腔の呼吸上皮への傷害が起きることが示された。

(2) 無毒性量 (NOAEL) / 最小毒性量 (LOAEL)

以上のように、ブチル 2,3 - エポキシプロピル エーテルの Maus への 2 週間吸入暴露により、鼻腔等の呼吸器への傷害性変化及び生殖器への影響を示唆する変化がみられた。鼻腔への影響は雌雄とも本試験の最低濃度である 38 ppm 群まで認められた。生殖器への影響を示唆する変化は、雄では 600 ppm 群、雌では 300 ppm 群にのみ示された。従って、本試験に

おけるブチル 2,3 - エポキシプロピル エーテルのマウスに対する2週間吸入暴露による最小毒性量は、鼻腔への影響をエンドポイントとして38 ppm であると考えられた。しかし、この最小毒性量は、鼻腔への傷害が明確に認められる濃度であった。

(3) 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設定した。

本試験では600 ppm 群で全動物が死亡したが、300 ppm 以下の投与群では動物の死亡はみられなかった。300 ppm 群では体重増加の抑制及び血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量に変化がみられ、病理組織学的検査では鼻腔から気管までの呼吸器、胸腺及び膣に変化がみられた。150 ppm 群では体重増加の抑制及び血液学的検査、臓器重量に変化がみられ、病理組織学的検査でも呼吸器に変化がみられたが、呼吸器の障害は鼻腔までにとどまり、胸腺及び膣には変化がみられなかった。これらの結果より、300 ppm と150 ppm の間の200 ppm を13 週間吸入試験の投与濃度の最高濃度とし、以下100 ppm、50 ppm、25 ppm、12.5 ppm (公比2) と決定した。

V 文献

1. National Library of Medicine (2003)
Hazardous Substances Databank (HSDB) , (インターネット検索)
NLM,Maryland
2. McLafferty, F. W. (1994)
Wiley Registry of Mass Spectral Data (6th edition) , Entry Number 20313.
John Wiley and Sons, Inc.,New York
3. 和光純薬工業からの提供資料 (2000)
赤外線吸収スペクトル
4. Hine,C.H.,Kodama,J.K.,Wellington,J.S.,Dunlap,M.K. and Anderson,H.H. (1956)
The toxicology of glycidol and some glycidyl ethers.
A. M. A. Arch. Ind. Health 14:250-264
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. 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, pp.85-95, 中山書店, 東京