

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 13 週間毒性試験報告書

試験番号：0416

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

標題

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 13 週間毒性試験

試験目的

ブチル 2,3 - エポキシプロピル エーテル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、ブチル 2,3 - エポキシプロピル エーテルをマウスに 13 週間全身暴露し、その生体影響を検索した。

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「労働安全衛生法に基づく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。

試験委託者

厚生労働省労働基準局安全衛生部化学物質調査課
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
所長 松島 泰次郎
神奈川県秦野市平沢 2445

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 13 週間毒性試験報告書

試験番号：0416

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	7
II-3-4	尿検査	7
II-3-5	血液学的検査	8
II-3-6	血液生化学的検査	8
II-3-7	病理学的検査	8
II-4	数値処理と統計方法	
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	11
III-2	一般状態	11
III-3	体重	11
III-4	摂餌量	11
III-5	尿検査	11
III-6	血液学的検査	11
III-7	血液生化学的検査	12
III-8	病理学的検査	
III-8-1	剖検	12
III-8-2	臓器重量	12
III-8-3	病理組織学的検査	13
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、その予備試験として本試験 (13 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 10 匹) に分け、投与群のブチル 2,3 - エポキシプロピル エーテルの投与濃度は、200 ppm、100 ppm、50 ppm、25 ppm 及び 12.5 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。

ブチル 2,3 - エポキシプロピル エーテルの暴露の結果、投与期間を通じて動物の死亡はみられず、一般状態の観察でも特記すべき所見はみられなかったが、50 ppm 以上の群の雄及び 100 ppm 以上の群の雌で、投与濃度に対応した体重増加の抑制が認められた。摂餌量もこれらの群では低値であった。

血液生化学的検査では、50 ppm 以上の群の雄と 200 ppm 群の雌で総ビリルビンの増加、100 ppm 以上の群の雌雄で ALP の増加がみられた。また、200 ppm 群の雄で総蛋白とアルブミンの増加、50 ppm 以上の群の雄で A/G 比の増加、トリグリセライドとリン脂質の減少がみられた。

剖検観察では変化がみられなかったが、臓器重量では 50 ppm 以上の群の雄と 100 ppm 以上の群の雌の胸腺及び 100 ppm 以上の群の雌雄の脾臓に重量低下が認められた。

病理組織学的検査では、100 ppm 以上の群で鼻腔と前胃にブチル 2,3 - エポキシプロピル エーテルの暴露の影響がみられた。鼻腔の変化は、呼吸上皮の壊死、嗅上皮の萎縮、呼吸上皮化生及び壊死であり、25 ppm 群まで認められた。前胃の変化は主に過形成であった。12.5 ppm 群では、病理組織学的検査で変化はみられなかった。

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 13 週間吸入投与による無毒性量 (NOAEL) は、鼻腔への影響をエンドポイントとして 12.5 ppm であると考えられた。また、吸入によるがん原性試験の投与濃度は、45 ppm を最高濃度とし、以下 15 ppm、5 ppm (公比 3) と決定した。

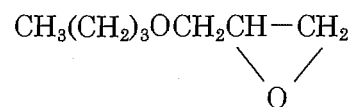
I 試験材料

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. : 2426-08-6

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：SEK5971
 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計 (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 75 匹を生後 4 週齢で導入し (導入時体重範囲、雄:14.9~19.6g、雌:13.7~16.7g)、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 60 匹 (群構成時体重範囲、雄:21.6~24.6g、雌:17.7~19.9g) 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日の暴露（祝祭日は暴露なし）で13週間とし、計62回の暴露を行った。

II-1-4 投与濃度

200 ppm、100 ppm、50 ppm、25 ppm 及び 12.5 ppm 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を決定するため13週間とした。

投与濃度は2週間の予備試験（試験番号0412）の結果（文献4）をもとに決定した。2週間試験は38~600 ppm（公比2）の濃度で試験を行ったが、600 ppm 群では全動物が死亡した。300 ppm 群では死亡はみられなかったが、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、胸腺や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週間試験の最高濃度とし、最低濃度を12.5 ppm（公比2）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、清浄空気のパ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、その濃度データをもと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及び変動係数（標準偏差／平均値×100%）とも、0.8%以内であり、高い精度でチャンバー内の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。

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	10 匹（1001～1010）	10 匹（2001～2010）
1	12.5 ppm 群	10 匹（1101～1110）	10 匹（2101～2110）
2	25 ppm 群	10 匹（1201～1210）	10 匹（2201～2210）
3	50 ppm 群	10 匹（1301～1310）	10 匹（2301～2310）
4	100 ppm 群	10 匹（1401～1410）	10 匹（2401～2410）
5	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、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）に收容し、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℃ (23.1±0.1℃)	21±2℃ (20.5±0.2℃)	20~24℃	
湿度	55±15% (52±1%)	55±15% (58±1%)	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 の收容方法	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、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。

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入力し、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）の分析データを入力し、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後、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

全動物について、生死の確認を毎日 1 回行った。また、一般状態の詳細観察は、検疫及び馴化期間は検疫開始日（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、投与期間は週 1 回、暴露開始前に行った。

II-3-2 体重測定

全動物について、検疫及び馴化期間は検疫開始日（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、投与期間は週 1 回、暴露開始前に行った。また、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

全動物について、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 尿検査

投与期間の最終週に採尿可能な動物について、新鮮尿を採取し、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。

[検査項目] pH、蛋白、グルコース、ケトン体、潜血、ウロビリノーゲン

II-3-5 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-3-6 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-3-7 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、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）

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。

尿検査は投与最終週に行い、全動物数を母数とした。

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。

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との χ^2 検定を行った。

なお、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

動物の生死状況を TABLE 1, 2 に示した。

投与期間を通じて、被験物質の影響と思われる動物の死亡はみられなかった。

なお、25 ppm 群の雌では、投与期間 1 週目に 1 匹（動物番号 2206）が事故死亡したため、同群の有効動物数は 9 匹となった。

Ⅲ-2 一般状態

投与期間を通じて各群とも特記すべき所見はみられなかった。

Ⅲ-3 体重

体重の推移を TABLE 1, 2、FIGURE 2, 3 及び APPENDIX A1, A2 に示した。

対照群に比べ、50 ppm 以上の群の雄及び 100 ppm 以上の群の雌で、投与濃度に対応した体重増加の抑制が認められた。

なお、12.5 ppm 群の雄の体重も対照群に比べやや低値であったが、同群の値は、ほぼ投与期間を通じて 25 ppm 群の雄より低値で推移し、投与濃度に対応した変化ではなかった。

Ⅲ-4 摂餌量

摂餌量（1 日 1 匹あたり）を TABLE 3, 4 及び APPENDIX B1, B2 に示した。

対照群に比べ、50 ppm 以上の群の雌雄で、摂餌量が低値であった。

Ⅲ-5 尿検査

検査の結果を APPENDIX C1, C2 に示した。

対照群に比べ、ケトン体や pH で変化がみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

Ⅲ-6 血液学的検査

血液学的検査の結果を APPENDIX D1, D2 に示した。

対照群に比べ、100 ppm 以上の群の雌で MCV と MCH の増加、200 ppm 群の雄で MCH

の増加がみられた。

その他、100 ppm 群の雌で分葉核好中球比とリンパ球比に変化がみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

Ⅲ-7 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。

対照群に比べ、50 ppm 以上の群の雄と 200 ppm 群の雌で総ビリルビンの増加、100 ppm 以上の群の雌雄で ALP の増加がみられた。また、200 ppm 群の雄で総蛋白とアルブミンの増加、50 ppm 以上の群の雄で A/G 比の増加、トリグリセライドとリン脂質の減少がみられた。

その他、200 ppm 群の雄で尿素窒素に変化がみられたが、低下性の変化であり毒性学的意義は不明であった。また、総コレステロールで変化がみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

Ⅲ-8 病理学的検査

Ⅲ-8-1 剖検

解剖時に観察された剖検所見を APPENDIX F1, F2 に示した。

被験物質の暴露の影響と思われる所見はみられなかった。

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 APPENDIX G1, G2 (実重量)、APPENDIX H1, H2 (体重比) に示した。

対照群に比べ、胸腺の実重量と体重比の低値が 50 ppm 以上の群の雄と 100 ppm 以上の群の雌に、脾臓の実重量と体重比の低値が 100 ppm 以上の群の雌雄にみられ、50 ppm 以上の群の雄と 100 ppm 以上の群の雌の胸腺及び 100 ppm 以上の群の雌雄の脾臓に重量低下が認められた。

その他、心臓、肺、腎臓、脳、精巣で実重量の低値及び体重比の高値がみられたが、これらは各投与群の解剖時体重の低値によるものと思われた。また、50 ppm 以上の群の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った。さらに、50 ppm 以上の群の雌の肝臓と 100 ppm 以上の群の雌の卵巣に実重量の低値がみられたが、200 ppm 群の解剖時体重は 100 ppm 群より低値であったが、200 ppm 群の両臓器の実重量と体重比は 100 ppm 群より高値であった。従って、これらの変化(雌雄の肝臓、雌の卵巣)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。

III-8-3 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。

鼻腔と胃に暴露の影響と思われる所見が観察された。

[200 ppm 群]

鼻腔には、雌雄の全動物に呼吸上皮の壊死、嗅上皮の壊死と萎縮がみられ、さらに、呼吸上皮の扁平上皮化生（雄 3 匹、雌 9 匹）、嗅上皮の呼吸上皮化生（雄 9 匹、雌 6 匹）がみられた。その程度は、嗅上皮の萎縮が中等度、他は多くが軽度であった。その他、鼻腔にポリープ（雄 10 匹、雌 7 匹）が観察された。ポリープは上皮下の間質が増生し内腔に突出した所見であり、中央部の背側壁の嗅上皮が呼吸上皮化生した部位に観察された。

また、前胃には軽度から中等度の過形成（雌雄各 8 匹）及び軽度な糜爛（雄 1 匹、雌 3 匹）と潰瘍（雄 1 匹）がみられた。

[100 ppm 群]

鼻腔には、雌雄の全動物に呼吸上皮の壊死、嗅上皮の萎縮がみられた。さらに、嗅上皮には壊死（雄 4 匹、雌 2 匹）と呼吸上皮化生（雄 7 匹、雌 9 匹）がみられた。その程度は雄の嗅上皮の萎縮が軽度から中等度、他は軽度であった。その他、鼻腔にポリープ（雄 10 匹、雌 9 匹）が観察された。

前胃には過形成（雄 1 匹、雌 8 匹）がみられ、その程度は雄は軽度、雌は軽度から中等度であった。

[50 ppm 群]

鼻腔には、呼吸上皮に壊死（雄 5 匹、雌 7 匹）、嗅上皮に萎縮（雄 8 匹、雌 10 匹）、呼吸上皮化生（雌雄各 8 匹）及び壊死（雄 1 匹）がみられ、その程度はいずれも軽度であった。その他、鼻腔にポリープが雄 1 匹に観察された。

[25 ppm 群]

鼻腔の嗅上皮に軽度な呼吸上皮化生（雄 5 匹、雌 6 匹）がみられた。

[12.5 ppm 群]

特記すべき所見は認められなかった。

その他の器官、組織については、重量に変化のみられた胸腺、脾臓を含め、被験物質の影響と考えられる変化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) 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、200 ppm、100 ppm、50 ppm、25 ppm 及び 12.5 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

ブチル 2,3 - エポキシプロピル エーテルの投与の結果、投与期間を通じて動物の死亡はみられず、一般状態の観察でも特記すべき所見はみられなかったが、50 ppm 以上の群の雄及び 100 ppm 以上の群の雌で、投与濃度に対応した体重増加の抑制が認められた。摂餌量もこれらの群では低値であった。

尿検査では、ブチル 2,3 - エポキシプロピル エーテルの暴露の影響と思われる変化はみられなかった。

血液学的検査では、100 ppm 以上の群の雌で MCV と MCH の増加、200 ppm 群の雄で MCH の増加がみられた。本試験に先立って実施したマウスを用いた 2 週間吸入試験では、300 ppm 群と 150 ppm 群の雌で貧血の傾向が認められた (文献 4)。しかし、本試験では雌雄ともに赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値には変化がみられず、MCV と MCH の変化とブチル 2,3 - エポキシプロピル エーテルとの関連は不明であった。

血液生化学的検査では、50 ppm 以上の群の雄と 200 ppm 群の雌で総ビリルビンの増加、100 ppm 以上の群の雌雄で ALP の増加がみられた。また、200 ppm 群の雄で総蛋白とアルブミンの増加、50 ppm 以上の群の雄で A/G 比の増加、トリグリセライドとリン脂質の減少がみられた。

剖検観察では、ブチル 2,3 - エポキシプロピル エーテルの影響はみられなかったが、臓器重量では、50 ppm 以上の群の雄と 100 ppm 以上の群の雌の胸腺及び 100 ppm 以上の群の雌雄の脾臓に重量低下が認められた。

病理組織学的検査では、鼻腔と前胃にブチル 2,3 - エポキシプロピル エーテルの暴露の影響がみられた。

200 ppm 群では雌雄の全動物で、鼻腔の呼吸上皮に壊死、嗅上皮に壊死や萎縮がみられた。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傷害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・適応性の変化も同時に起きていると推察される（文献6）。また、嗅上皮が呼吸上皮化生した部位にポリープが発生していた。気道のポリープは慢性の炎症によって発生する病変であり（文献7）、ブチル 2,3 - エポキシプロピル エーテルの吸入が鼻腔に対し刺激を与え続けた結果であると推察される。また、前胃には過形成や糜爛、潰瘍がみられた。これらの変化も刺激により発生する病変であり（文献8）、鼻腔に沈着したブチル 2,3 - エポキシプロピル エーテルを嚥下した結果、あるいは毛に付着したブチル 2,3 - エポキシプロピル エーテルを動物がなめたため、その刺激性により前胃に過形成や糜爛、潰瘍が発生したと考えられる。

100 ppm 群では雌雄とも、鼻腔に呼吸上皮の壊死、嗅上皮の壊死、萎縮及び呼吸上皮化生、ポリープの発生がみられ、この濃度でも、鼻腔の呼吸上皮と嗅上皮に傷害が起きていることが示された。また、前胃には過形成が発生していた。

50 ppm 群では雌雄とも、鼻腔に呼吸上皮の壊死、嗅上皮の萎縮と呼吸上皮化生がみられたが、その程度は軽度であった。前胃には変化がみられなかった。

25 ppm 群でも鼻腔の嗅上皮に軽度な呼吸上皮化生がみられ、この濃度でも鼻腔の嗅上皮への影響があることが示された。

12.5 ppm 群では病理組織学的検査で、ブチル 2,3 - エポキシプロピル エーテルの影響を示唆する変化はみられなかった。

(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 エーテルのマウスへの 13 週間吸入投与により、鼻腔と前胃への影響がみられた。鼻腔への影響は雌雄とも 25 ppm 群まで認められた。前胃への影響は 100 ppm 群までみられた。12.5 ppm 群では、ブチル 2,3 - エポキシプロピル エーテルの影響と判断される変化は認められなかった。従って、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 13 週間吸入投与による無毒性量 (NOAEL) は、鼻腔への影響をエンドポイントとして 12.5 ppm であると考察した。

(3) がん原性試験の濃度決定

本試験の結果より、がん原性試験の投与濃度を以下のように設定した。

本試験では投与群に動物の死亡はみられなかったが、50 ppm 以上の群の雄と 100 ppm 以上の群の雌で体重増加の抑制がみられた。病理組織学的検査では、100 ppm 以上の群で鼻腔と胃に変化がみられ、そのうち鼻腔の変化は 25 ppm 群までみられた。鼻腔の変化は、その内容、程度からがん原性試験においても、動物の生存率に大きな影響を及ぼすものではないと考えられたが、50 ppm 以上の群の雄の体重抑制が大きいことから、がん原性試験の最高濃度は 50 ppm 未満が妥当と考えられた。また、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とは断定はできないものの、12.5 ppm 群の雄の体重が対照群よりやや低値

であることを考慮し、がん原性試験の最低濃度は 12.5 ppm 未満が妥当と考えられた。

以上のことから、がん原性試験の最高濃度を 45 ppm とし、以下 15 ppm、5 ppm (公比 3) 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, Bethesda, MD
2. McLafferty, F. W. (1994)
Wiley Registry of Mass Spectral Data (6th edition) , Entry Number 20313.
John Wiley and Sons, Inc., New York, NY
3. 和光純薬工業からの提供資料 (2000)
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 (2003)
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
日本バイオアッセイ研究センター, 神奈川
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
7. 長野嘉介 (2000)
毒性病理組織学、各論 1 章、上部気道、
日本毒性病理学会編, pp. 99-116, 日本毒性病理学会, 名古屋
8. 真鍋淳、松沼尚史、高橋道人、立松正衛、西川秋佳 (2000)
毒性病理組織学、各論 4 章、消化管、
日本毒性病理学会編, pp. 153-178, 日本毒性病理学会, 名古屋