

プロピオノニトリルのラットを用いた  
吸入による2週間毒性試験報告書

試験番号：0446

CAS No. 107-12-0

2004年3月17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

プロピオノニトリルのラットを用いた  
吸入による2週間毒性試験報告書

試験番号：0446

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 示性式及び分子量	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	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	11
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	12
III-7-2	臓器重量	12
III-7-3	病理組織学的検査	13
IV	考察及びまとめ	14
V	文献	17

## 要約

プロピオノニトリルのがん原性を検索する目的で、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の予備試験として本試験 (2 週間試験) を実施した。

本試験は、F344/DuCrj(Fischer)ラットを投与群 5 群、対照群 1 群の計 6 群 (各群雌雄各 5 匹) に分け、プロピオノニトリルの投与濃度は、400、200、100、50 及び 25 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、投与期間中の死亡動物についても剖検観察及び病理組織学的検査を行った。

プロピオノニトリルの投与の結果、200 ppm 以上の群の雄の全動物と 400 ppm の雌 3 匹が死亡した。他の群には死亡はみられなかった。

死亡動物は、剖検で胃のガス貯留が雌雄とも多くの動物に観察され、少数の動物に胸水の貯留と胸腺の萎縮がみられた。病理組織学的検査では、鼻腔 (鬱血) と肺 (鬱血や出血) の変化が雌雄とも多くの動物に観察され、また、雌には胸腺 (萎縮) と副腎 (出血) の変化もみられた。しかし、これらの所見はいずれも軽度であり、直接的な死因となる変化ではないと考えられた。

生存動物では、一般状態の観察でプロピオノニトリルの影響と思われる変化はみられなかったが、体重増加の抑制が 100 ppm 群の雄と 400 ppm 群の雌に認められた。血液学的検査では、貧血が 400 ppm 群の雌で認められた。また、血小板数の増加、プロトロンビン時間と活性化部分トロンボプラスチン時間の延長、分葉核好中球比の増加とリンパ球比の減少が、それぞれ 400 ppm 群の雌でみられた。血液生化学的検査では、グルコースの増加が 400 ppm 群の雌でみられた。剖検では、プロピオノニトリルの影響と思われる所見は認められなかった。臓器重量では、胸腺の重量低下が 100 ppm 群の雄及び 400 ppm 群の雌で認められた。また、心臓の重量増加が 200 ppm 以上の群の雌で、副腎と肝臓の重量増加が 400 ppm 群の雌で認められた。病理組織学的検査では、プロピオノニトリルの影響と思われる所見は認められなかった。

以上の結果から、プロピオノニトリルのラットに対する 2 週間吸入暴露による無毒性量 (NOAEL) は、雄の体重と胸腺重量への影響をエンドポイントとして 50 ppm であると考えられた。また、吸入による 13 週間試験の投与濃度は、雌雄とも 100 ppm を最高濃度とし、以下、50、25、12、6 ppm (公比 2) と決定した。

## I 試験材料

## I-1 被験物質の性状等

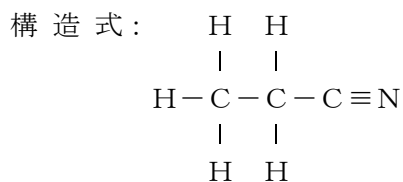
## I-1-1 名称等

名 称：プロピオノニトリル (Propionitrile)

別 名：プロピオニトリル

CAS No. : 107 - 12 - 0

## I-1-2 構造式、示性式及び分子量 (文献 1)



示性式： $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CN}$

分子量：55.08

## 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：97.2°C

蒸気圧：47.4mmHg (25°C)

比 重：0.7818 (20°C/4°C)

溶解性：アルコール、エーテルに溶解、水に 103g/L (25°C) 溶解

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：WAR4790

製 造 元：和光純薬工業株式会社

グ レ ー ド：和光特級

純 度：98%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) と同じ波数にピークが認められ、被験物質はプロピオニトリ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、被験物質は投与期間中、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、プロピオニトリ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 F344/DuCrj (Fischer)ラット(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からの理由から、F344/DuCrj(Fischer)ラットと決定している。

ラット雌雄各 37 匹を生後 4 週齢で導入し (導入時体重範囲、雄:55~62g、雌:49~57g)、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:115~126g、雌:90~99g) 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プロピオノニトリ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日の暴露で2週間とした。

#### II-1-4 投与濃度

400、200、100、50及び25 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。

投与濃度は文献を参考に決定した。すなわち、Smyth Jrら（1951年）によると、500 ppmのプロピオノニトリルをラット6匹に4時間暴露したところ、2匹のラットが暴露後14日以内に死亡した（文献4）。また、Saillenfaitら（1993年）は、妊娠動物に、200、150、100及び50 ppmの濃度で1日6時間、15回の暴露（妊娠期間6～20日目）を行った結果、200 ppm群の23匹のうち2匹が死亡したと報告した（文献5）。これらを参考に、2週間試験における致死濃度を確認することも考慮し、本試験の投与濃度は雌雄とも最高濃度を400 ppmとし、以下、公比2で200、100、50及び25 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（柴田科学株式会社 特注）の発生容器内のプロピオニトリ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。このプロピオニトリルの蒸気を循環式恒温槽で一定温度に冷却した。次に、清浄空気（希釈空気）と混合して、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プロピオニトリル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プロピオニトリ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プロピオニトリルの濃度は、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。各投与群のプロピオニトリル濃度は、その平均値と設定濃度の差は 0.3%以内、変動係数（標準偏差／平均値×100%）は 0.5%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 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	25 ppm 群	5 匹（1101～1105）	5 匹（2101～2105）
2	50 ppm 群	5 匹（1201～1205）	5 匹（2201～2205）
3	100 ppm 群	5 匹（1301～1305）	5 匹（2301～2305）
4	200 ppm 群	5 匹（1401～1405）	5 匹（2401～2405）
5	400 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、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（層別体重平均法：適正層別方式）により実施した（文献6）。

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、動物の健康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 (606 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℃ (22.7±0.0℃)	21±2℃ (20.7±0.2℃)	20~24℃	
湿度	55±15% (52±1%)	55±15% (57±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)	W170 D294 H176	—	W125 D216 H176	W150 D216 H176

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- $\gamma$ 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、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

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

一般状態の詳細観察は、検疫及び馴化期間中は検疫開始日（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、投与期間中は 2、4、7、10、14 日目の暴露開始前に行った。

### II-3-2 体重測定

体重測定は、検疫及び馴化期間中は検疫開始日（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、投与期間中は 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

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 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、遠心分離し得られる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。

[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、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\*、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。

[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、 $\gamma$ -GTP、CPK、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 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、光学顕微鏡で病理組織学的に検査した。

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、精囊、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。

チャンバー内被験物質濃度については ppm を単位として、小数点以下第 3 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、整数値の 1 の位まで計測し、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、測定した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、検査動物数または測定動物数を母数とした。

剖検は、全動物数を母数とした。

病理組織学的検査は、臓器別に検査不能臓器数を除いたものを母数とした。

### 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、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、最終検定については 5% 及び 1% の有意水準で両側検定を行った。

### 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。

<雄>

200 ppm 以上の群の全動物が、投与期間の 1 週の 2 日目までに死亡した。他の群には死亡はみられなかった。

<雌>

400 ppm 群で投与期間の 1 週の 2 日目に 2 匹、2 週の 3 日目に 1 匹、計 3 匹が死亡した。他の群には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。

<雄>

200 ppm 以上の群の死亡動物は、1 回の暴露で死亡したため、2 日目の暴露開始前の詳細観察時に一般状態の変化は確認できなかった。

100 ppm 以下の群では、被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

<雌>

400 ppm 群の死亡動物では、投与期間 2 週の 3 日目に死亡した動物に、瘦削と立毛が 1 週目の 4 日目と 7 日目にみられた。

400 ppm 群の生存動物及び 200 ppm 以下の群では、被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

#### Ⅲ-3 体重

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

<雄>

100 ppm 群で体重増加の抑制が認められた。

なお、200 ppm 以上の群の死亡動物の体重は、群構成時より低下した。

<雌>

400 ppm 群の生存動物に体重増加の抑制が認められた。

なお、400 ppm 群の死亡動物の体重は、群構成時より低下した。

### 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。（雄の 200 ppm 以上の群は、投与期間の1週の2日目までに全動物が死亡したためにデータなし。）

<雄>

100 ppm 群の摂餌量が低値であった。

<雌>

400 ppm 群の摂餌量が低値であった。また、200 ppm 群と 100 ppm 群でも投与期間の1週目の摂餌量が低値であった。

### Ⅲ-5 血液学的検査

血液学的検査の結果を TABLE 5, 6 及び APPENDIX D1, D2 に示した。（雄の 200 ppm 以上の群は、全動物が途中死亡したためにデータなし。）

<雄>

被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

なお、MCH に変化がみられたが、赤血球数等には変化はみられず、投与濃度との対応も明確ではなかった。

<雌>

赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値の減少が 400 ppm 群でみられた。また、血小板数の増加が 200 ppm 以上の群で、網赤血球比の増加が 100 ppm 以上の群でみられた。さらに、プロトロンビン時間と活性化部分トロンボプラスチン時間の延長及び分葉核好中球比の増加とリンパ球比の減少が、それぞれ 400 ppm 群でみられた。

その他、MCH の減少がみられたが、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 7 及び APPENDIX E1, E2 に示した。（雄の 200 ppm 以上の群は、全動物が途中死亡したためにデータなし。）

<雄>

被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

<雌>

グルコースの増加が 400 ppm 群でみられた。

なお、ALP 及び尿素窒素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 病理学的検査

#### Ⅲ-7-1 剖検

剖検所見を APPENDIX F1～F3 に示した。

##### <雄>

400 ppm 群の死亡動物 (5 匹) では、胃のガス貯留 (5 匹) と胸水 (1 匹) が観察された。

200 ppm 群の死亡動物 (5 匹) でも、胃のガス貯留 (4 匹) と胸水 (1 匹) がみられた。

100 ppm 以下の群には、被験物質の影響と思われる所見は認められなかった。

##### <雌>

400 ppm 群の死亡動物 (3 匹) には、胃のガス貯留 (2 匹) と胸腺の萎縮 (1 匹) が観察された。400 ppm 群の生存動物 (2 匹) では、被験物質の影響と思われる所見は認められなかった。なお、肝臓の癒着が 1 匹にみられたが、病理組織学的検査ではこの動物の肝臓に変化が認められず、被験物質との関連は不明であった。

200 ppm 以下の群には、被験物質の影響と思われる所見は認められなかった。

#### 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 TABLE 8, 9 及び APPENDIX G1, G2 (実重量)、APPENDIX H1, H2 (体重比) に示した。(雄の 200 ppm 以上の群は、全動物が途中死亡したためにデータなし。)

##### <雄>

胸腺の重量低下 (実重量と体重比の低値) が 100 ppm 群に認められた。

その他、脾臓の実重量の低値が 100 ppm 群にみられたが、その体重比は対照群と同程度であり、こ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。また、脾臓の体重比の低値が 25 ppm 群でみられ、実重量もやや低値あったが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

##### <雌>

心臓の重量増加 (実重量と体重比の高値) が 200 ppm 以上の群に認められた。また、胸腺の重量低下 (実重量と体重比の低値) 及び副腎と肝臓の重量増加 (実重量と体重比の高値) が 400 ppm 群に認められた。

その他、卵巣と脾臓の実重量の低値が 400 ppm 群でみられたが、それらの体重比は対照群と同程度であり、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。また、肝臓の実重量と体重比の低値が 25 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。さらに、脳の実重量の低値が 50 ppm 群等でみられたが、それらの体重比は対照群と同程度であり、投与濃度との対応もみられなかった。



### Ⅲ-7-3 病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果を TABLE 10, 11 及び APPENDIX I1~I4 に示した。

<雄>

200 ppm 以上の群の死亡動物には、鼻腔に鬱血、肺に鬱血と出血がみられたが、その程度は軽度であった。

100 ppm 以下の群には、被験物質の影響と思われる所見は認められなかった。

<雌>

400 ppm 群の死亡動物には、鼻腔と肺に鬱血、胸腺に萎縮、副腎に出血がみられたが、その程度は軽度であった。

400 ppm 群の生存動物及び 200 ppm 以下の群では、被験物質の影響と思われる所見は認められなかった。

#### IV 考察及びまとめ

プロピオノニトリルのがん原性を検索する目的で、F344/DuCrj(Fischer)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の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、プロピオノニトリルの投与濃度は、400、200、100、50及び25ppm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、投与期間中の死亡動物についても剖検観察及び病理組織学的検査を行った。

##### (1) 用量-反応関係

プロピオノニトリルの投与の結果、200ppm以上の群の雄の全動物、400ppmの雌3匹が死亡した。他の群には死亡はみられなかった。

死亡動物では、ほとんどの動物で詳細観察による一般状態の変化は確認できなかったが、瘦削と立毛が投与期間の2週目に死亡した400ppm群の雌にみられた。また、死亡動物の体重は、群構成時より低下した。

死亡動物の病理学的検査では、400ppm群の死亡動物には、剖検で胃のガス貯留が雌雄とも多くの動物に観察され、呼吸困難時にみられる口呼吸に伴う変化と考えられた。また、少数の動物ではあるが、雄で胸水の貯留、雌で胸腺の萎縮がみられた。病理組織学的検査では、鼻腔と肺の鬱血が雌雄とも多くの動物に観察された。また、雄には肺の出血、雌には胸腺の萎縮、副腎の出血もみられた。しかし、これらの病理組織所見はいずれも軽度であり、直接的な死因となる変化ではないと考えられた。

200ppm群の死亡動物(雄)には、400ppm群と同様に、剖検時に胃のガス貯留が多くの動物に観察され、また、少数の動物に胸水の貯留がみられた。病理組織学的検査では、鼻腔と肺の鬱血が多くの動物に観察され、少数の動物に肺の出血もみられたが、これらの所見はいずれも軽度であった。

生存動物では、一般状態の観察でプロピオノニトリルの影響と思われる変化はみられなかったが、体重増加の抑制が100ppm群の雄と400ppm群の雌に認められた。また、これらの群では摂餌量が低値であった。

生存動物の血液学的検査では、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値の減少及び網赤血球比の増加が400ppm群の雌でみられ、貧血が認められた。また、血小板数の増加が400ppm群の雌でみられ、この変化及び網赤血球比の増加は貧血に対する反応性変化と考えられた(文献7)。網赤血球比の増加は、200ppm群と100ppm群の雌、血小板数の増加は200ppm群の雌にもみられ、これらの変化は、200ppm群と100ppm群の雌におけるプ

ロピオノニトリルの血液系への影響を示唆するものと考えられるが、200 ppm 群と 100 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減少はみられなかった。さらに、プロトロンビン時間と活性化部分トロンボプラスチン時間の延長が 400 ppm 群の雌にみられ、血液の凝固系へ影響を示唆する変化と思われる。白血球分類では、分葉核好中球比の増加とリンパ球比の減少が 400 ppm 群の雌でみられた。

生存動物の血液生化学的検査では、グルコースの増加が 400 ppm 群の雌でみられたが、その変化の程度は少なかった。

生存動物の剖検観察では、雌雄ともにプロピオノニトリルの影響と思われる所見は認められなかった。臓器重量では、胸腺の重量低下が 100 ppm 群の雄及び 400 ppm 群の雌で認められた。また、心臓の重量増加が 200 ppm 以上の群の雌で、副腎と肝臓の重量増加が 400 ppm 群の雌で認められた。

生存動物の病理組織学的検査では、臓器重量に変化のみられた胸腺、心臓、副腎、肝臓を含め、プロピオノニトリルの影響と思われる所見は認められなかった。

## (2) 無毒性量 (NOAEL) / 最小毒性量 (LOAEL)

以上のように、プロピオノニトリルのラットへの 2 週間吸入暴露により、200 ppm 以上の群で動物の死亡がみられた。100 ppm 群では、雄で体重増加の抑制と胸腺の重量低下がみられた。50 ppm 以下の群では雌雄ともに、プロピオノニトリルの影響と思われる変化は認められなかった。従って、本試験におけるプロピオノニトリルのラットに対する 2 週間吸入暴露による無毒性量 (NOAEL) は、雄の体重と胸腺重量への影響をエンドポイントとして 50 ppm であると考えられた。

200 ppm、6 時間の吸入曝露で雄ラットに死亡がみられた本試験結果から、プロピオノニトリルの致死濃度は 200 ppm と考えられる。この値はプロピオノニトリルの 4 時間吸入曝露によるラットの最小致死濃度 (群の中で 1 匹の動物が死亡する推定致死濃度) 493 ppm (1,134 mg/m<sup>3</sup>) (文献 8) とほぼ一致する。

## (3) 他文献との比較

Mumtaz らは、プロピオノニトリルはラット体内でシアン化物に代謝され、なかでも肝臓のミクロゾーム分画での代謝速度が速いと述べている (文献 9)。また、シアン化合物は体内でシアンイオン (CN<sup>-</sup>) を遊離することにより毒性を発現する。シアンイオンはヘム鉄 (Fe<sup>3+</sup>) との強い親和性から、細胞呼吸にかかわる細胞内電子伝達系のチトクロム C 酸化酵素のヘム鉄 (Fe<sup>3+</sup>) と結合し、この酵素活性を阻害する。その結果、細胞呼吸が停止し、細胞死に至ると考えられている (文献 10、11)。これらのことから、本試験においてもプロピオノニトリルは、動物の体内でシアン化物に代謝され、動物はシアン中毒の様相を呈し、死に至ったと考えられた。

#### (4) 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、200 ppm 以上の群で動物の死亡がみられたが、100 ppm 以下の群では死亡がみられなかった。100 ppm 群では、雄で体重増加の抑制と胸腺の重量低下がみられが、体重の増加抑制は軽度（最終体重：対照群の 92%）であり、病理組織学的検査では胸腺を含めプロピオニトリルの影響と思われる変化がみられなかった。これらの結果より、13 週間吸入試験の投与濃度は雌雄とも 100 ppm を最高濃度とし、以下、50、25、12、6 ppm（公比 2）と決定した。

## V 文献

1. U.S. National Library of Medicine, Specialized Information Services 2002. Propionitrile, Chemical/Physical Properties. Hazardous Substances Data Bank(HSDB). Available: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/f?./temp/~U9SHTC:1:cpp>[accessed 16 January 2004].
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). 2002. プロピオノニトリル, 赤外吸収スペクトル.
4. Smyth Jr HF, Carpenter CP, Weil CS. 1951. Range-finding toxicity data: List IV. *Ind Hyg Occup Med* 4:119-122.
5. Saillenfait AM, Bonnet P, Guenier JP, De Ceaurriz J. 1993. Relative developmental toxicities of inhaled aliphatic mononitriles in rats. *Fundam Appl Toxicol* 20:365-375.
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. 宮地勇人. 2002. 血液細胞アトラス-2, 写真と検査データでみる血液細胞の実践的読み方 (東海大学医学部附属病院臨床検査科血液検査室 編). 東京: 東海大学出版会, 13-14.
8. NIOSH. 1978. Criteria for a recommended standard. Occupational exposure to nitriles. U.S. Department of Health, Education, and Welfare, Center for Disease Control, National Institute for Occupational Safety and Health.: <http://www.cdc.gov/niosh/78-212.html> [accessed 26 January 2004].
9. Mumtaz MM, Farooqui MYH, Cannon-Cooke EP, Ahmed AE. 1997. Propionitrile:Whole body autoradiography, conventional toxicokinetic and metabolism studies in rats. *Toxicol Ind Health* 13:27-41.

10. Smith RP. 1996. Toxic responses of the blood. In: Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons, 5th ed. (Klaassen CD, ed). New York, NY : McGraw - Hill,350-351
11. 松本清司. 2002. 血液・造血毒性. In:トキシコロジー (日本トキシコロジー学会教育委員会 編) . 東京 : 朝倉書店, 226