

プロピオノニトリ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：0447

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：0447

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	12
Ⅳ	考察及びまとめ	14
Ⅴ	文献	16

## I 試験材料

## I-1 被験物質の性状等

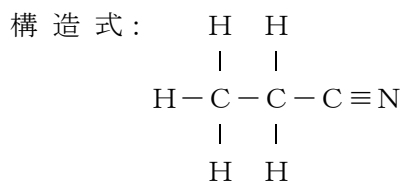
## I-1-1 名称等

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 Crj:BDF<sub>1</sub> 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からの理由から、Crj:BDF<sub>1</sub> 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:13.8~19.4g、雌:13.3~16.9g)、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:22.0~24.3g、雌:16.7~19.5g) 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

100、50、25、12.5及び6.3 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、Willhite（1981年）によると、CD-1マウスにプロピオノニトリルを1時間暴露した結果、LC<sub>50</sub>値（1時間）は163 ppmであり、最高濃度群の400 ppmの動物は全て死亡した。動物には呼吸困難、頻呼吸、痙攣、角膜混濁の症状が認められた（文献4）。この報告を参考に、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100 ppmとし、以下、公比2で50、25、12.5及び6.3 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 0.8%以内、変動係数（標準偏差／平均値×100%）は 1.6%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	6.3 ppm 群	5 匹（1101～1105）	5 匹（2101～2105）
2	12.5 ppm 群	5 匹（1201～1205）	5 匹（2201～2205）
3	25 ppm 群	5 匹（1301～1305）	5 匹（2301～2305）
4	50 ppm 群	5 匹（1401～1405）	5 匹（2401～2405）
5	100 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 (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℃ (22.8±0.1℃)	21±2℃ (20.7±0.2℃)	20~24℃	
湿度	55±15% (49±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)	W112 D212 H120	—	W 95 D116 H120	W100 D116 H120

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。

[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。

[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、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、脊髓、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、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、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。

## 要約

プロピオノニトリ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、Crj:BDF<sub>1</sub>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、プロピオノニトリルの投与濃度は、100、50、25、12.5及び6.3 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、100 ppm群で雄3匹と雌の全動物が死亡した。他の群には死亡はみられなかった。

死亡動物は、剖検で胃、小腸及び大腸のガス貯留が雌の1匹に観察されたが、雌雄とも他の動物には変化を認めなかった。病理組織学的検査では、鼻腔(鬱血)と肺(鬱血や出血)の変化が雌雄とも観察された。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。

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。体重は、100 ppm群の雄で投与期間の1週の2日目の値が低かったが、以降は順調に増加した。他の群の体重に変化はみられなかった。血液学的検査では、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。血液生化学的検査では、総蛋白とアルブミンの減少が100 ppm群の雄でみられた。臓器重量では、胸腺の重量低下及び肝臓の重量増加が100 ppm群の雄に認められたが、剖検及び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マウスの吸入暴露による急性中毒の致死濃度は100 ppmであると考察された。また、吸入による13週間試験の投与濃度は、雌雄とも50 ppmを最高濃度とし、以下、25、12、6、3 ppm(公比2)と決定した。

### 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>

100 ppm 群で投与期間の 1 週の 2 日目に 3 匹が死亡した。他の群には死亡はみられなかった。

<雌>

100 ppm 群で投与期間の 1 週の 2 日目までに全動物が死亡した。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 に示した。

<雄>

100 ppm 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 群の生存動物及び 50 ppm 以下の群には、被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

<雌>

100 ppm 群の死亡動物のうち、4 匹は 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。残りの 1 匹は、投与期間 1 週の 2 日目の暴露終了後に死亡が確認されたが、暴露前の詳細観察では変化はみられなかった。

50 ppm 以下の群には、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 群の生存動物の体重が投与期間の 1 週の 2 日目は低値であったが、以降は順調に増加した。50 ppm 以下の群に変化はみられなかった。

なお、100 ppm 群の死亡動物の体重は、群構成時より低下した。

<雌>

50 ppm 以下の群に変化はみられなかった。

なお、100 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。（雌の 100 ppm 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 群で投与期間の 1 週目の摂餌量が低値であった。

<雌>

摂餌量に変化はみられなかった。

### 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。（雌の 100 ppm 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、血小板数の減少が 50 ppm 群と 25 ppm 群にみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

<雌>

被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

なお、ヘマトクリット値の減少が 50 ppm 群でみられたが、赤血球数、ヘモグロビン濃度には変化がみられず、被験物質との関連は不明であった。

### 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。（雌の 100 ppm 群は、全動物が途中死亡したためにデータなし。）

<雄>

総蛋白とアルブミンの減少が 100 ppm 群でみられた。

その他、トリグリセライドの減少が 50 ppm 群と 12.5 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。

<雌>

被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

### 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>

100 ppm 群の死亡動物 (3 匹) に変化は認められなかった。100 ppm 群の生存動物 (2 匹) 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。なお、胃の癒着が 1 匹にみられたが、病理組織学的検査ではこの動物の胃に変化が認められず、被験物質との関連は明らかでなかった。

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

<雌>

100 ppm 群の死亡動物 (5 匹) には、1 匹に胃、小腸及び大腸のガス貯留がみられた。

50 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。(雌の 100 ppm 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) 及び肝臓の重量増加 (実重量と体重比の高値) が 100 ppm 群に認められた。

<雌>

被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

なお、肝臓の実重量の高値が 50 ppm 群と 25 ppm 群にみられたが、それらの体重比は対照群と同程度であり、被験物質の直接的な影響かは不明であった。

#### 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>

100 ppm 群の死亡動物には、鼻腔と肺に鬱血がみられたが、その程度は軽度であった。

100 ppm 群の生存動物及び 50 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>

100 ppm 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。

50 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。

#### 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、Crj:BDF<sub>1</sub>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、100、50、25、12.5及び6.3 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。

##### (1) 用量-反応関係

プロピオノニトリルの投与の結果、100 ppm群で雄3匹と雌の全動物が死亡した。他の群には死亡はみられなかった。

死亡動物では、雌の1匹を除いて1回の暴露で死亡したため、詳細観察による一般状態の変化を確認できなかった。上記の雌の1匹は、投与期間1週の2日目の暴露終了後に死亡が確認されたが、暴露前の詳細観察では変化はみられなかった。また、死亡動物の体重は、いずれも群構成時より低下した。

死亡動物の病理学的検査では、剖検時に胃、小腸及び大腸のガス貯留が雌の1匹に観察されたが、雌雄とも他の死亡動物には変化を認めなかった。病理組織学的検査では、鼻腔と肺の鬱血が雌雄とも観察された。また、雌には肺の出血もみられた。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。

生存動物の一般状態の観察では、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。体重は、100 ppm群の雄で投与期間の1週の2日目の値が低かったが、以降は順調に増加した。他の群に変化はみられなかった。

生存動物の血液学的検査では、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。生存動物の血液生化学的検査では、総蛋白とアルブミンの減少が100 ppm群の雄でみられた。

生存動物の剖検では、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、胸腺の重量低下及び肝臓の重量増加が100 ppm群の雄に認められた。

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、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) 致死濃度

100 ppm、6時間の2回の吸入暴露により、雄3匹と雌5匹が死亡した本試験結果より、吸入暴露による急性中毒の致死濃度は100 ppmであると考察された。この結果は、Willhiteによる1時間吸入暴露によるCD-1マウスの致死濃度、LC<sub>50</sub>値163 ppm（文献4）及び当センターで実施したプロピオノニトリルのラットを用いた2週間吸入試験で得られた致死濃度、200 ppm（文献6）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7）。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8、9）。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、100 ppm群の雌雄で動物の死亡がみられたが、50 ppm以下の群では、死亡がみられず、プロピオノ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50 ppmを最高濃度とし、以下、25、12、6、3 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. Willhite CC. 1981. Inhalation toxicology of acute exposure to aliphatic nitriles. Clin Toxicol 18:991-1003.
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. 日本バイオアッセイ研究センター. 2004. 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. 神奈川 : 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.
7. 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.
8. 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
9. 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