

酢酸イソプロピ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：0551

CAS No. 108-21-4

2005年12月28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

酢酸イソプロピルのラットを用いた吸入による 2 週間毒性試験

試験目的

酢酸イソプロピルの吸入によるがん原性試験の投与濃度を決定する 13 週間試験の予備試験として、酢酸イソプロピルをラットに 2 週間全身暴露し、その生体影響を検索した。

試験法

本試験は OECD 化学品テストガイドライン 412 (反復投与吸入毒性 : 28 日又は 14 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対策課
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
副所長 山本 静護
神奈川県秦野市平沢 2445

酢酸イソプロピ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：0551

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、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	11
Ⅲ-2	一般状態	11
Ⅲ-3	体重	11
Ⅲ-4	摂餌量	11
Ⅲ-5	血液学的検査	12
Ⅲ-6	血液生化学的検査	12
Ⅲ-7	病理学的検査	
Ⅲ-7-1	剖検	12
Ⅲ-7-2	臓器重量	13
Ⅳ	考察及びまとめ	14
Ⅴ	文献	16

要約

酢酸イソプロピ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当り、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、酢酸イソプロピルの投与濃度は、8000、4000、2000、1000 及び 500 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、剖検観察及び臓器重量の測定を行った。

酢酸イソプロピルの暴露の結果、雌雄各群とも動物の死亡はみられなかった。

一般状態の観察では、8000 ppm 群の雌雄で各投与日の暴露後に自発運動量の減少、触反射の消失、呼吸緩徐、横臥または腹臥、円背位、流涙、立毛、角膜混濁等がみられた。しかし、雌雄とも翌朝までにほとんどの症状は回復し、暴露前は主に立毛と角膜混濁がみられただけであった。暴露後の症状は、2 週目は 1 週目より回復傾向であった。4000 ppm 以下の群には、雌雄とも一般状態の変化はみられなかった。

体重では、8000 ppm 群の雌雄に増加の抑制がみられ、雌雄とも 1 週の 4 日目までは体重は群構成時より低値であった。7 日目以降は体重が増加したが、最終体重は雌雄とも対照群に比べ低値であった。摂餌量も 8000 ppm 群の雌雄で低値であったが、体重同様、投与 2 週目は 1 週目に比べ増加した。

剖検では、眼球の角膜混濁が 8000 ppm 群の雌雄にみられた。臓器重量では、肝臓と腎臓の重量増加が 4000 ppm 以上の群の雌雄に、副腎の重量増加が 8000 ppm 群の雌雄に、心臓の重量増加が 8000 ppm 群の雌にみられた。また、胸腺と脾臓の重量減少が 8000 ppm 群の雌雄にみられた。

血液学的検査では、血小板数の減少が 8000 ppm 群の雌雄にみられた。血液生化学的検査では、総蛋白、グルコース、ALP、ALT、クロール、ナトリウムの変化が、主に 8000 ppm 群にみられた。

これらの結果より、13 週間試験の投与濃度は、雌雄とも 8000 ppm を最高濃度とし、以下、4000、2000、1000 及び 500 ppm (公比 2) と決定した。

I 試験材料

I-1 被験物質の性状等

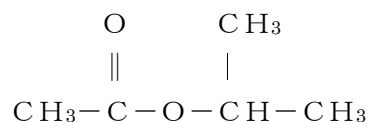
I-1-1 名称等

名 称：酢酸イソプロピル (Isopropyl acetate)

CAS No. : 108 - 21 - 4

I-1-2 構造式、示性式及び分子量 (文献 1)

構造式：



示性式： $\text{CH}_3\text{COOCH}(\text{CH}_3)_2$

分子量：102.13

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：88.6°C

蒸気圧：60.37mmHg (25°C)

比 重：0.8718 (20°C/4°C)

溶解性：アセトン、エタノールに可溶

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：KLR6631

製 造 元：和光純薬工業(株)

グ レ ー ド：和光特級

純 度：99.9% (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、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、被験物質は酢酸イソプロピルであることを確認した。

また、試験に使用した酢酸イソプロピル中には、不純物として 2-プロパノールが確認され、その含有量は 0.04%であった。

なお、それらの結果は、APPENDIX A1 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 A2 に示した。

I-4 試験動物

動物は、酢酸イソプロピ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:46~59g、雌:40~55g)、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:107~123g、雌:86~98g) 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酢酸イソプロピ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

8000、4000、2000、1000及び500 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。

投与濃度は以下のように決定した。酢酸イソプロピルのラットを用いた吸入による試験について文献検索を行った結果、ラット（雌）のLC₅₀値（8時間）は50.6 mg/L（約12100 ppm）であった（文献4）。しかし、本試験で使用する吸入試験システムで、飼育環境条件（湿度30～70%等）を満たしながら濃度制御できる最高濃度は8000 ppmであることから、雌雄とも8000 ppmを最高濃度とし、以下、4000、2000、1000及び500 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) 特注）の発生容器内の酢酸イソプロピ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。この酢酸イソプロピルの蒸気を清浄空気（搬送空気）と混合し、さらに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酢酸イソプロピ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酢酸イソプロピ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酢酸イソプロピルの濃度は、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 B1 に示した。各投与群の酢酸イソプロピル濃度は、その平均値と設定濃度の差が 0.3%以内、変動係数（標準偏差／平均値×100%）が 0.7%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。

なお、被験物質の不純物である 2-プロパノールは、吸入チャンバー内からは検出されなかった。

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	500 ppm 群	5 匹（1101～1105）	5 匹（2101～2105）
2	1000 ppm 群	5 匹（1201～1205）	5 匹（2201～2205）
3	2000 ppm 群	5 匹（1301～1305）	5 匹（2301～2305）
4	4000 ppm 群	5 匹（1401～1405）	5 匹（2401～2405）
5	8000 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（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、全期間を通して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、6空調エリア）内の独立した室（601、606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 B2 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℃ (23.5±0.1℃)	21±2℃ (21.3±0.1℃)	20~24℃	
湿度	55±15% (54±5%)	55±15% (60±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)	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- 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、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、その記録を保管した。

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

動物の生死の確認は、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）に行った。投与期間中は暴露後及び 2、4、7、11、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、11、14 日目の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 血液学的検査

定期解剖時に生存していた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（次頁*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 K 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 (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、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* (APTT)、白血球数

II-3-5 血液生化学的検査

定期解剖時に生存していた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 K に示した。

なお、残余の血漿は冷凍保存した。

【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、AST、ALT、LDH、ALP、 γ -GTP、CK、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

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 臓器の採取保存

全動物について下記の器官、組織を摘出し、10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液で固定した。

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）

4 病理組織標本の作製

全動物について下記の器官、組織を切り出し、パラフィン包埋を行った。

鼻腔 (3 箇所を横断)、鼻咽頭、喉頭、気管、肺、脾臓、心臓、肝臓、腎臓、副腎

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。

吸入チャンバー内の被験物質濃度は 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 位を四捨五入して小数点以下第 1 位までを表示した。

体重は 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 日当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 位を四捨五入して小数点以下第 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 K 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して表示した。

II-4-2 母数の取り扱い

体重及び摂餌量は、各計測時に生存していた全動物を対象に計測し、計測した動物数を母数とした。

血液学的検査、血液生化学的検査及び臓器重量の計測は、定期解剖時まで生存した全動物を対象とし、検査動物数または計測動物数を母数とした。

剖検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、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、予備検定は 5%の有意水準で、最終検定は 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。
雌雄各群とも動物の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 C1, C2 に示した。なお、暴露前の所見は「週一日の 1」、暴露後の所見は「週一日の 2」として示した。

雌雄とも 8000 ppm 群で、主に暴露後に一般状態の変化がみられた。8000 ppm 群では投与期間を通じて、暴露後に自発運動量の減少、触反射の消失、呼吸緩徐が雌雄とも全動物にみられた。また、暴露後の所見として、横臥または腹臥が雌雄とも主に初日から 1 週の 3 日目まで、円背位が雄は 3 日目から、雌は 2 日目から投与最終日までみられた。さらに、雌雄とも流涙が主に 1 週目にみられ、投与期間の途中から、雌雄に立毛と角膜混濁、雄に外陰部周囲の発赤がそれぞれ投与最終日までみられた。暴露前には所見は少なく、眼脂が雄で 1 週の 2 日目に、角膜混濁が雄は 2 週の 4 日目から、雌は 1 週の 7 日目から、立毛が雌雄とも 2 週の 4 日目からそれぞれ投与最終日までみられただけであった。

雌雄とも 4000 ppm 以下の群には、一般状態の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 D1, D2 に示した。

雌雄とも 8000 ppm 群に体重増加の抑制がみられた。雌雄とも 1 週の 2 日目と 4 日目の体重は群構成時より低値であった。7 日目以降は体重が増加したが、最終体重は対照群に比べ雄は 90%、雌は 95%であった。

雌雄とも 4000 ppm 以下の群には変化はみられなかった。

Ⅲ-4 摂餌量

摂餌量（1 日 1 匹当り）を TABLE 3, 4 及び APPENDIX E1, E2 に示した。

雌雄とも 8000 ppm 群の摂餌量が低値であったが、投与 2 週目は 1 週目に比べ増加した。

Ⅲ-5 血液学的検査

血液学的検査の結果を TABLE 5, 6 及び APPENDIX F1, F2 に示した。

<雄>

血小板数の減少が 8000 ppm 群でみられた。

その他、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値の減少及び活性化部分トロンボプラスチン時間の変化が 4000 ppm 群に、網赤血球比の増加が 4000 ppm 群と 2000 ppm 群にみられたが、それぞれ投与濃度に対応した変化ではなかった。

<雌>

血小板数の減少が 8000 ppm 群でみられた。

Ⅲ-6 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を TABLE 7, 8 及び APPENDIX G1, G2 に示した。

<雄>

グルコースと ALP の増加が 8000 ppm 群でみられた。また、クロールの減少が 4000 ppm 以上の群で、ナトリウムの減少が 8000 ppm 群でみられた。

その他、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。

<雌>

総蛋白、グルコース、ALT、ALP の増加及びクロールの減少が 8000 ppm 群でみられた。

その他、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。

Ⅲ-7 病理学的検査

Ⅲ-7-1 剖検

剖検所見を APPENDIX H1, H2 に示した。

<雄>

眼球の混濁が 8000 ppm 群の 3 匹にみられた。

4000 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。

<雌>

眼球の混濁が 8000 ppm 群の 4 匹にみられた。

4000 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。

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 9, 10 及び APPENDIX I1, I2 (実重量)、APPENDIX J1, J2 (体重比) に示した。

<雄>

肝臓の実重量と体重比の高値及び腎臓の体重比の高値が 4000 ppm 以上の群に、腎臓の実重量の高値が 4000 ppm 群に認められた。また、腎臓の 8000 ppm 群の実重量も統計的有意差はみられないものの、対照群より高値であった。さらに、副腎の実重量と体重比の高値、胸腺と脾臓の実重量と体重比の低値が 8000 ppm 群に認められた。

その他、脳の実重量の低値、精巣、心臓、肺の体重比の高値が 8000 ppm 群にみられたが、これらの変化は 8000 ppm 群の解剖時体重の低値によるものと思われる。また、心臓の実重量の高値が 4000 ppm にみられたが、体重比は対照群と同様であった。

<雌>

肝臓と腎臓の実重量と体重比の高値が 4000 ppm 以上の群に、副腎の実重量と体重比の高値が 8000 ppm 群に認められた。また、心臓の体重比の高値が 8000 ppm 群に認められ、その実重量は統計的有意差はみられないものの、対照群より高値であった。さらに、脾臓の実重量と体重比の低値及び胸腺の体重比の低値が 8000 ppm 群に認められ、胸腺の 8000 ppm 群の実重量も統計的有意差はみられないものの、対照群より低値であった。

IV 考察及びまとめ

酢酸イソプロピ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当り、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、酢酸イソプロピルの投与濃度は、8000、4000、2000、1000及び500 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、剖検観察及び臓器重量の測定を行った。

(1) 用量-反応関係

酢酸イソプロピルの暴露の結果、雌雄各群とも動物の死亡はみられなかった。

一般状態の観察では、8000 ppm群の雌雄に変化がみられた。8000 ppm群では雌雄とも投与期間を通して、暴露後に自発運動量の減少、触反射の消失、呼吸緩徐がみられ、他にも横臥または腹臥、円背位、流涙、立毛、角膜混濁等がみられた。しかし、雌雄とも翌朝までにほとんどの症状は回復し、暴露前は主に投与期間の途中から立毛と角膜混濁がみられただけであった。暴露後の症状は、投与1週目の2日目までは雌雄ともほとんどの動物が横臥または腹臥で重篤な状態であったが、3日目は半数が円背位、4日目以降は全動物が円背位と姿勢を保った状態となった。また、雌雄とも投与2週目にも自発運動量の減少、触反射の消失、呼吸緩徐がみられたが、1日目よりは症状はやや軽度になっており、投与期間の途中より立毛と角膜混濁等がみられたものの、暴露後の症状は2週目は回復傾向にあった。4000 ppm以下の群には、雌雄とも一般状態の変化はみられなかった。

体重では、8000 ppm群の雌雄に増加の抑制がみられた。8000 ppm群では雌雄とも1週の4日目まで、体重は群構成時より低値であった。7日目以降は体重が増加したが、最終体重は雌雄とも対照群に比べ低値であった。摂餌量も8000 ppm群の雌雄で低値であったが、体重同様、投与2週目は1週目に比べ増加した。

剖検では、眼球の角膜混濁が8000 ppm群の雌雄にみられた。角膜の混濁は一般状態の観察時にも、1週の7日目の暴露後から8000 ppm群の雌雄にみられている。酢酸イソプロピルにはウサギに弱い皮膚刺激性と眼球傷害性が報告されており(文献6)、本試験においては高濃度の暴露が繰り返されたことにより、角膜に傷害が生じたと思われる。

臓器重量では、肝臓と腎臓の重量増加が4000 ppm以上の群の雌雄に、副腎の重量増加が8000 ppm群の雌雄にみられた。また、心臓の重量増加が8000 ppm群の雌にみられた。さらに、胸腺と脾臓の重量減少が8000 ppm群の雌雄にみられた。

血液学的検査では、血小板数の減少が8000 ppm群の雌雄にみられた。血液生化学的検査では、グルコースとALPの増加が8000 ppm群の雌雄に、総蛋白、ALTの増加が8000 ppm

群の雌にみられ、電解質ではクロールの減少が 4000 ppm 以上の群の雄と 8000 ppm 群の雌に、ナトリウムの減少が 8000 ppm 群の雄にみられた。

(2) 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。

本試験では各投与群に動物の死亡はみられなかったが、8000 ppm 群では雌雄とも体重、摂餌量、一般状態、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検及び臓器重量に酢酸イソプロピルの影響がみられた。しかし、8000 ppm 群の雌雄でみられた体重増加の抑制（最終体重、雄：対照群の 90%、雌：対照群の 95%）、摂餌量の減少、一般状態の変化は、投与 1 週目に比べ 2 週目は回復傾向を示し、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検及び臓器重量にも重篤な変化は認められなかった。また、4000 ppm 群では、雌雄に肝臓と腎臓の重量増加及び血液生化学的検査でクロールの減少が雄にみられたが、その他には雌雄とも酢酸イソプロピルの影響は認められなかった。

これらの結果より、13 週間試験の投与濃度は、雌雄とも 8000 ppm を最高濃度とし、以下、4000、2000、1000 及び 500 ppm（公比 2）と決定した。

V 文献

1. U.S. National Library of Medicine, Specialized Information Services 2002. Isopropyl acetate, Chemical/Physical Properties. Hazardous Substances Data Bank(HSDB). Available: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search> [accessed 20 February 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). 2004. 酢酸イソプロピル, 赤外吸収スペクトル.
4. Pozzani UC, Weil CS, Carpenter CP. 1959. The toxicological basis of threshold limit values: 5. The experimental inhalation of vapor mixtures by rats, with notes upon the relationship between single dose inhalation and single dose oral data. *Am Ind Hyg Assoc J* 20: 364-369.
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. Smyth HF, Carpenter CP, Weil CS, Pozzani UC. 1954. Range-finding toxicity data. List V. *Ind Hyg Occup Med* 10: 61-68.