

酢酸イソプロピルのラットを用いた
吸入による13週間毒性試験報告書

試験番号：0558

CAS No. 108-21-4

2006年3月2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 13 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予備試験として、酢酸イソプロピルをラットに 13 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 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。

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「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13週間毒性試験報告書

試験番号：0558

本文

本文目次

	頁
要約	1
I 試験材料	2
I-1 被験物質の性状等	2
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	3
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	4
II-1 投与	4
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 投与経路、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 被験物質濃度の測定	5
II-2 動物管理	5
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
(1) 飼育環境	6
(2) 飼料	7
(3) 飲水	7

II-3	観察・検査項目及び方法	7
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	8
II-3-5	血液生化学的検査	8
II-3-6	尿検査	8
II-3-7	病理学的検査	8
	(1) 剖検	8
	(2) 臓器重量	8
	(3) 病理組織学的検査	9
II-4	数値処理と統計方法	9
II-4-1	数値の取り扱いと表示	9
II-4-2	統計処理	9
III	試験成績	11
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	尿検査	13
III-8	病理学的検査	13
	III-8-1 剖検	13
	III-8-2 臓器重量	13
	III-8-3 病理組織学的検査	14
IV	考察及びまとめ	15
V	文献	17

要約

酢酸イソプロピルのがん原性を検索する目的で F344/DuCr1Cr1j(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たり、その投与濃度を決定するため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、被験物質投与群 5 群と対照群 1 群の計 6 群の構成で、各群雌雄とも 10 匹とし、合計 120 匹を用いた。被験物質の投与は、酢酸イソプロピルを 1 日 6 時間、1 週 5 日間、13 週間、動物に全身暴露することにより行った。投与濃度は、雌雄とも 500、1000、2000、4000 及び 8000 ppm (公比 2) とした。観察、検査として、一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、剖検、臓器重量測定及び病理組織学的検査を行った。

酢酸イソプロピルの暴露の結果、動物の死亡はみられなかった。一般状態の観察でも酢酸イソプロピルの影響と考えられる変化はみられなかったが、体重増加の抑制が 8000 ppm 群の雌雄でみられ、最終体重は対照群に対し、雄 78%、雌 89%であった。

血液への影響として、ヘモグロビン濃度の増加が 8000 ppm 群の雌雄に、赤血球数、ヘマトクリット値の増加が 8000 ppm 群の雌にみられ、網赤血球比の減少が 1000 ppm 以上の群の雄と 4000 ppm 以上の群の雌にみられた。また、分葉核好中球比の増加とリンパ球比の減少が 8000 ppm 群の雌雄でみられた。

臓器重量測定では、腎臓、肝臓の重量増加が 4000 ppm 以上の群の雌雄に、心臓の重量増加が 4000 ppm 以上の群の雌にみられた。また、副腎の重量増加、胸腺と脾臓の重量低下が 8000 ppm 群の雌雄に、卵巣の重量低下が 8000 ppm 群の雌にみられた。

病理組織変化は肝臓、胃、精巣及び精巣上体に認められた。肝臓には小葉中心性の肝細胞肥大が 8000 ppm 群の雌雄に、胃では前胃の扁平上皮の過形成が 8000 ppm 群の雌雄にみられた。また、精巣の精原細胞壊死及び精巣上体の精子数の減少が 8000 ppm 群の雄にみられた。

以上の結果から、本試験における酢酸イソプロピルのラットに対する 13 週間吸入暴露による無毒性量 (NOAEL) は、腎臓、肝臓、心臓の重量への影響をエンドポイントとして 2000 ppm であると考えられた。また、吸入による 2 年間のがん原性試験の投与濃度は、雌雄とも 4000 ppm を最高濃度とし、以下、2000、1000 ppm (公比 2) と決定した。

I 試験材料

I-1 被験物質の性状等

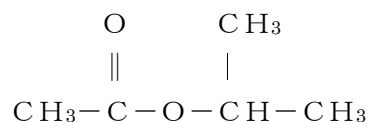
I-1-1 名称等

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： KLE3931

製 造 元： 和光純薬工業(株)

グ レ ー ド： 和光特級

純 度： 100.0% (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) を用いて測定し、また、赤外吸収スペクトルを赤外分光光度計 (Shimadzu FTIR-8200PC) を用いて測定し、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 0.032%であった。

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、使用開始前及び使用終了後にガスクロマトグラムをガスクロマトグラフ (Hewlett Packard 5890A) を用いて測定し、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、使用開始前と使用終了後の測定結果に差はみられず、使用期間中の被験物質は安定であることを確認した。

それらの結果は APPENDIX A 2 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/ DuCrlCrlj (Fischer) ラット (SPF) の雌雄を使用した。

雌雄各 75 匹を 4 週齢で導入し、検疫、馴化を各 1 週間実施した後、発育順調で一般状態に異常を認めなかった動物から、体重値の中央値に近い雌雄各 60 匹 (群構成時体重範囲、雄：118～135g、雌：94～104g) を選別し、試験に用いた。

なお、がん原性試験に F344/ DuCrlCrlj (Fischer) ラット (SPF) を選択した理由は、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による。

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被験物質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。

II-1-3 投与期間

投与期間は1日6時間、原則として1週5日の暴露で13週間とし、計63回の暴露を行った。

II-1-4 投与濃度

投与濃度は、500、1000、2000、4000及び8000 ppmの5段階（公比2）に設定した。なお、対照群は清浄空気による換気のみとした。

II-1-5 投与経路、投与期間及び投与濃度の設定理由

投与経路は被験物質を生産、使用する作業環境における労働者への主な暴露経路に合わせ、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、週5日の暴露で13週間とした。

投与濃度は2週間の予備試験（試験番号0551）の結果（文献4）をもとに決定した。2週間試験は8000～500 ppm（公比2）の濃度で行った。その結果、雌雄とも各投与群に動物の死亡はみられなかったが、8000 ppm群では、体重、摂餌量、一般状態、血液学的検査、剖検及び臓器重量で酢酸イソプロピルの影響がみられた。しかし、雌雄8000 ppm群の体重増加の抑制（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、剖検及び臓器重量にも重篤な変化は認められなかった。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8000 ppmを最高濃度とし、以下、4000、2000、1000及び500 ppm（公比2）

に設定した。

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）の発生容器内の被験物質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。この被験物質の蒸気を清浄空気（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被験物質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被験物質の吸入チャンバーへの供給量を調節した。

II-1-7 被験物質濃度の測定

吸入チャンバー内の被験物質濃度は、自動サンプリング装置付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 分ごとに測定した。

濃度測定結果を TABLE 1 に示した。各投与群の被験物質濃度は、その平均値と設定濃度の差（（平均値－設定濃度）／設定濃度×100）が 0.5%以内、変動係数（標準偏差／平均値×100）が 0.6%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 10 匹の動物を用いた。

群名称	動物数（動物番号）	
	雄	雌
対照群	10 匹（1001～1010）	10 匹（2001～2010）
500 ppm 群	10 匹（1101～1110）	10 匹（2101～2110）
1000 ppm 群	10 匹（1201～1210）	10 匹（2201～2210）
2000 ppm 群	10 匹（1301～1310）	10 匹（2301～2310）
4000 ppm 群	10 匹（1401～1410）	10 匹（2401～2410）
8000 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、一般状態及び体重の推移に異常を認めなかった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）。

動物の個体識別は、検疫期間及び馴化期間では尾に油性マーカーによる色素塗布、投与期間では耳パンチにより行った。また、ケージには個体識別番号を記したラベルを付した。

なお、動物はバリア区域内の独立した室（601 室）に収容し、室の扉に試験番号、動物種及び動物番号を表示し、他試験及び異種動物と区別した。

II-2-3 飼育条件

(1) 飼育環境

検疫期間中は検疫室（606 室）で、馴化期間及び投与期間中は、吸入試験室（601 室）の吸入チャンバー内で動物を飼育した。

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ケージを以下に示した。検疫室、吸入試験室の温度、湿度は実測値（平均値±標準偏差）を < > 内に、また、吸入チャンバー内環境の測定結果は APPENDIX B 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には、動物の健康状態に影響を与えるような大きな変化は認められなかった。

温 度 : 検疫室 ; $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ < 606 室 ; $23.5 \pm 0.0^{\circ}\text{C}$ >
吸入試験室 ; $21 \pm 2^{\circ}\text{C}$ < 601 室 ; $20.5 \pm 0.4^{\circ}\text{C}$ >
吸入チャンバー内 ; $20 \sim 24^{\circ}\text{C}$

湿 度 : 検疫室 ; $55 \pm 15\%$ < 606 室 ; $55 \pm 1\%$ >
吸入試験室 ; $55 \pm 15\%$ < 601 室 ; $60 \pm 2\%$ >
吸入チャンバー内 ; $30 \sim 70\%$

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 : 検疫室・吸入試験室 ; 15~17 回/時
吸入チャンバー内 ; 飼育中 12 ± 1 回/時、暴露中 6 ± 0.5 回/時

圧 力 : 吸入チャンバー内 ; $0 \sim -15 \times 10\text{Pa}$

ケージへの動物の収容方法 : 単飼

ケージの材質・形状・寸法等 :

検疫期間 ; ステンレス製 2 連網ケージ (170(W)×294(D)×176(H) mm/匹)

馴化期間 ; ステンレス製 6 連網ケージ (125(W)×216(D)×176(H) mm/匹)

投与期間 ; ステンレス製 5 連網ケージ (150(W)×216(D)×176(H) mm/匹)

(2) 飼料

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 (30KG 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、定期解剖前日の夕方からは飼料を摂取させなかった。

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使用ロットごとに入手し、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) の分析データを使用ロットごとに入手し、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、保管した。

(3) 飲水

飲水は、全飼育期間を通して、市水 (神奈川県秦野市水道局供給) 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、飲水は、試験施設として実施している定期サンプリングによる飲水を(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) に依頼して、水道法を参考にして規定した項目について分析し、結果を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、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

動物の生死及び瀕死の確認を毎日 1 回、また、一般状態の詳細な観察は週 1 回行った。

II-3-2 体重測定

体重測定は週 1 回行った。また、定期解剖動物の搬出時にも体重 (搬出時体重) を測定した。

II-3-3 摂餌量測定

摂餌量は週 1 回、給餌量及び残餌量を測定し、その値から 1 匹 1 日当たりの摂餌量を算出した。

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（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 M 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、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 M 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、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 尿検査

投与 13 週の検査時まで生存した動物から新鮮尿を採取し、尿試験紙（マルティスティックス、バイエル社製）を用いて、下記の項目について検査を行った。

検査項目：pH、蛋白、グルコース、ケトン体、ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲン

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、次頁に示した臓器の湿重量（臓器実重量）を測定した。また、各臓器の湿重量の搬出時体重に対する百分率（臓器重量体重比）を算出した。

測定臓器：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、組織を摘出し、10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液で固定後、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。

検査器官・組織：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）、肉眼的に変化のみられた器官及び組織

II-4 数値処理と統計方法

II-4-1 数値の取り扱いと表示

各数値データは測定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 位まで測定し、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 の位まで測定し、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 位まで測定し、給餌量値から残餌量値を減じて摂餌量とした。この値を測定期間の日数で除し、1 日当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。

臓器実重量は g を単位とし、小数点以下第 3 位まで測定し、表示した。臓器重量体重比は臓器実重量値を搬出時体重で除し、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 M 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 統計処理

各群の有効動物数は、供試動物より事故等の理由で外された動物数を減じた動物数とした。

病理組織学的検査は、臓器ごとに検査不能臓器を除いた臓器数、その他の検査及び測定は、実施できた動物数を検査（測定）数とした。

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 **Dunnnett** 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 **Dunnnett** 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は、所見のみられなかった動物をグレード 0、所見のみられた動物は、その所見の程度及び範囲などを基準にしてグレード 1~4 に分け、 χ^2 検定を行った。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。

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

生死状況を TABLE 2, 3 に示した。

—雌雄—

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 C 1, 2 に示した。

—雄—

被験物質の影響と考えられる変化はみられなかった。

なお、精巣異常（精巣が小さい）が 8000 ppm 群で、外陰部周囲の発赤が 4000 ppm 群で各 1 匹みられたが、それぞれ 1 匹のみの所見であった。

—雌—

被験物質の影響と考えられる変化はみられなかった。

なお、眼球突出（右眼）が 4000 ppm 群で 1 匹みられたが、その 1 匹のみの所見であった。

Ⅲ-3 体重

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

—雌雄—

8000 ppm 群で体重増加の抑制が認められた。

投与群の最終体重は対照群に対し、雄では 500 ppm 群：99%、1000 ppm 群：100%、2000 ppm 群：102%、4000 ppm 群：101%、8000 ppm 群：78%、雌では 500 ppm 群：99%、1000 ppm 群：99%、2000 ppm 群：98%、4000 ppm 群：97%、8000 ppm 群：89%であった。

Ⅲ-4 摂餌量

摂餌量を TABLE 4, 5、FIGURE 4, 5 及び APPENDIX E 1, 2 に示した。

—雄—

8000 ppm 群は投与期間の初期から中盤にかけて低値であったが、徐々に回復し、終盤は対照群と同様な値となった。また、4000 ppm 群は投与期間の初期にやや低値であった。

—雌—

8000 ppm 群は投与期間の初期に低値であった。

III-5 血液学的検査

血液学的検査の結果を TABLE 6, 7 と APPENDIX F 1, 2 に示した。

—雄—

ヘモグロビン濃度の増加が 8000 ppm 群で、MCV の増加が 4000 ppm 以上の群で、MCH の増加が 8000 ppm 群でみられた。また、網赤血球比の減少が 1000 ppm 以上の群で、分葉核好中球比の増加とリンパ球比の減少が 8000 ppm 群でみられた。

その他、活性化部分トロンボプラスチン時間に変化がみられたが、時間の短縮であり、毒性学的意義は不明であった。

—雌—

赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値の増加及び MCV、MCH、MCHC の減少が 8000 ppm 群でみられた。また、網赤血球比の減少が 4000 ppm 以上の群で、分葉核好中球比の増加とリンパ球比の減少が 8000 ppm 群でみられた。

その他、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値の増加が 2000 ppm 群にもみられたが、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 8, 9 と APPENDIX G 1, 2 に示した。

—雄—

総コレステロールの増加が 4000 ppm 以上の群で、グルコース、トリグリセライドの減少、リン脂質、カリウム、無機リンの増加が 8000 ppm 群でみられた。

その他、尿素窒素の増加が 4000 ppm 群と 2000 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—

A/G 比の減少が 4000 ppm 以上の群で、総コレステロール、ALT、ALP、カリウムの増加が 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 尿検査

尿検査の結果を TABLE 10, 11 と APPENDIX H 1, 2 に示した。

—雄—

被験物質の影響と考えられる変化は認められなかった。

なお、蛋白陽性度の有意な増加が 8000 ppm 群でみられたが、判定 2+ の動物数は減少しており、8000 ppm 群で実質的に蛋白陽性度が増加したかどうかは不明であった。

—雌—

ケトン体陽性例の増加が 8000 ppm 群でみられた。

Ⅲ-8 病理学的検査

Ⅲ-8-1 剖検

剖検所見を APPENDIX I 1, 2 に示した。

—雄—

被験物質の影響と考えられる所見は認められなかった。

—雌—

8000 ppm 群は、全動物で子宮が小さかった。

4000 ppm 以下の群には、被験物質の影響と考えられる所見は認められなかった。

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 TABLE 12, 13 と APPENDIX J 1, 2, APPENDIX K 1, 2 に示した。

—雄—

腎臓と肝臓の体重比の高値が 4000 ppm 以上の群でみられた。4000 ppm 群の腎臓と肝臓の実重量は対照群よりやや高値、8000 ppm 群は解剖時体重がかなり低値（対照群の 76%）であったが、腎臓と肝臓の実重量はそれぞれ対照群と同等な値であった。従って、4000 ppm 以上の群で、暴露により腎臓と肝臓の重量が増加したと考えられた。また、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 群にみられた。

その他、8000 ppm 群では精巣、心臓、肺、脳の実重量の低値、心臓、肺、脳の体重比の高値がみられたが、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。

—雌—

腎臓、肝臓及び心臓の体重比の高値が 4000 ppm 以上の群でみられ、腎臓と肝臓の実重量の高値が 8000 ppm 群でみられた。8000 ppm 群は解剖時体重が低値（対照群の 88%）であったが、心臓の実重量は対照群と同等な値であった。従って、4000 ppm 以上の群で、暴露により腎臓、肝臓、心臓の重量が増加したと考えられた。また、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 群にみられた。さらに、卵巣の実重量の低値が 8000 ppm 群にみられ、その体重比は有意差はみられないが、対照群より低値であった。

その他、8000 ppm 群では肺の体重比の高値、脳の実重量の低値がみられた。肺の変化は 8000 ppm 群の解剖時体重の低値によるものと思われる。脳の変化はその体重比が対照群と同等な値であり、被験物質の影響かどうかは不明であった。

Ⅲ-8-3 病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果を TABLE 14, 15 及び APPENDIX L 1, 2 に示した。

—雄—

[8000 ppm 群]

肝臓、胃、精巣及び精巣上体に変化が認められた。

肝臓には小葉中心性の肝細胞肥大が全動物でみられた。

胃の変化は前胃にみられ、前胃の過形成、すなわち扁平上皮の細胞層が厚くなる所見が 5 匹にみられ、この内の 1 匹には糜爛もみられた。

精巣には精原細胞壊死が全動物でみられた。この所見と関連して、精巣上体で精子数の減少が 2 匹にみられた。

これらの所見の程度は、精巣の精原細胞壊死で中等度が 2 匹、精巣上体の精子数の減少で中等度と重度が各 1 匹みられたが、それら以外は軽度であった。

[4000 ppm 群、2000 ppm 群、1000 ppm 群、500 ppm 群]

被験物質の影響と考えられる所見は認められなかった。

—雌—

[8000 ppm 群]

肝臓と胃に変化が認められた。

肝臓に小葉中心性の肝細胞肥大が 6 匹にみられた。

胃には前胃の過形成が 4 匹にみられた。

これらの所見の程度は全て軽度であった。

[4000 ppm 群、2000 ppm 群、1000 ppm 群、500 ppm 群]

被験物質の影響と考えられる所見は認められなかった。

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/DuCr1Cr1j(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たり、その投与濃度を決定するため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、酢酸イソプロピルの投与濃度は、500、1000、2000、4000及び8000 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

酢酸イソプロピルの暴露の結果、動物の死亡はみられなかった。一般状態の観察でも酢酸イソプロピルの影響と考えられる変化はみられなかったが、体重増加の抑制が8000 ppm群の雌雄でみられ、最終体重は対照群に対し、雄78%、雌89%であった。

血液への影響として、ヘモグロビン濃度の増加が8000 ppm群の雌雄に、赤血球数、ヘマトクリット値の増加が8000 ppm群の雌にみられ、また、網赤血球比の減少が1000 ppm以上の群の雄と4000 ppm以上の群の雌にみられた。直接的な影響か二次的な影響かは不明であるが、酢酸イソプロピルの暴露は血液系へなんらかの影響を及ぼすと考えられる。また、分葉核好中球比の増加とリンパ球比の減少が8000 ppm群の雌雄でみられた。8000 ppm群の雌雄では、胸腺の重量低下がみられており、リンパ球比の減少はそれらに対応する変化と思われる。なお、血液系への影響を示唆する病理組織所見は認められなかった。

病理組織変化は肝臓、胃、精巣及び精巣上体に認められた。

肝臓には、小葉中心性の肝細胞肥大が8000 ppm群の雄の全動物と雌の6匹にみられた。病理組織変化は8000 ppm群だけにみられ、程度はいずれも軽度であったが、肝重量の増加は雌雄とも4000 ppm群までみられた。

胃では、前胃の扁平上皮の過形成が8000 ppm群の雌雄に認められた。前胃の過形成は刺激に対する反応性の変化として現れる増殖性病変であり(文献6)、気道に吸着した酢酸イソプロピルが粘液線毛運動によって口腔を經由して胃に運ばれたことにより引き起こされたものと考えられた(文献7)。

精巣には精原細胞壊死が8000 ppm群の雄の全動物でみられ、その所見の程度は8匹が軽度、2匹が中等度であった。精巣で造られた未成熟精子が一時滞留して成熟する精巣上体にも精子数の減少が認められた。精原細胞壊死は、酢酸イソプロピルによる精子形成細胞への直接的影響なのか、精巣での精子形成環境の異変(組織液中の酸素分圧の低下や栄養障害等)による二次的な影響として現れたものかは判断できなかった。

剖検観察では8000 ppm群の雌で子宮が小さかったが、病理組織学的には子宮に変化が認

められなかった。また、雌雄で腎臓、肝臓、副腎、胸腺、脾臓、雌で心臓、卵巣に重量の変化がみられたが、肝臓を除いてこれらの臓器にも暴露に関連した病理組織変化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、酢酸イソプロピルのラットへの 13 週間吸入暴露により、動物の死亡はみられなかったが、8000 ppm 群では、体重増加の抑制が雌雄にみられ、病理組織検査では雌雄に小葉中心性の肝細胞肥大及び前胃の過形成、雄に精巣の精原細胞壊死及び精巣上体の精子数減少が認められた。また、雌雄で腎臓、肝臓、副腎、胸腺、脾臓及び雌で心臓、卵巣に重量変化が認められた。4000 ppm 群では、体重、病理組織検査に変化は認められなかったが、雌雄で腎臓、肝臓及び雌で心臓に重量変化がみられた。2000 ppm 以下の群では、網赤血球比の減少 (雄) が 1000 ppm 群までみられただけであった。

従って、本試験における酢酸イソプロピルのラットに対する 13 週間吸入暴露による無毒性量 (NOAEL) は、腎臓、肝臓、心臓の重量への影響をエンドポイントとして 2000 ppm であると考えられた。

(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。

本試験では動物の死亡はみられなかったが、8000 ppm 群では雌雄で体重増加の抑制が認められ、病理組織学的検査では雌雄で肝臓、胃、雄で精巣、精巣上体に変化がみられた。また、臓器重量、血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査にも変化がみられた。特に、最終体重は対照群に対し、雄で 78%、雌で 89%であることから、8000 ppm はがん原性試験における最大耐量を超えられたと思われた。4000 ppm 群は、雌雄とも体重に変化はみられず、病理組織学的検査にも変化はみられなかった。また、臓器重量、血液学的検査及び血液生化学的検査に変化がみられたが、いずれも軽度であった。2000 ppm 以下の群でも血液学的検査に変化がみられたが、やはり軽度なものであった。

これらの結果より、がん原性試験の投与濃度は、雌雄とも 4000 ppm を最高濃度とし、以下、2000、1000 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 13 December 2005].
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. 日本バイオアッセイ研究センター. 2005. 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. 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.
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. 真鍋淳, 松沼尚史, 高橋道人, 立松正衛, 西川秋佳. 2000. 各論4章, 消化管, 毒性病理組織学 (日本毒性病理学会編). 名古屋:日本毒性病理学会, 153-178.
7. Haschek WM, Witschi HR. 1991. Respiratory system. In: Handbook of Toxicologic Pathology (Haschek WM, Rousseaux CG, eds). San Diego, CA : Academic Press, 761-827.