

酢酸イソプロピ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：0559

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マウス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マウスに 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：0559

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	12
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	12
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	13
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 B6D2F1/Crlj 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 250、500、1000、2000 及び 4000 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、被験物質の影響と考えられる動物の死亡はみられなかった。また、一般状態及び体重値でも酢酸イソプロピルの影響はみられなかった。

血液への影響として、ヘマトクリット値の増加が 4000 ppm 群の雌雄で、ヘモグロビン濃度の増加が 4000 ppm 群の雄でみられた。

病理組織変化は鼻腔に認められた。鼻腔では、嗅上皮の萎縮が 2000 ppm 以上の群の雌雄に、呼吸上皮化生が 4000 ppm 群の雄と 2000 ppm 以上の群の雌に、エオジン好性変化が 2000 ppm 以上の群の雌にみられた。また、鼻腔の呼吸上皮にはエオジン好性変化が 2000 ppm 以上の群の雌にみられた。

以上の結果から、本試験における酢酸イソプロピルのマウスに対する 13 週間吸入暴露による無毒性量 (NOAEL) は、鼻腔への影響をエンドポイントとして 1000 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

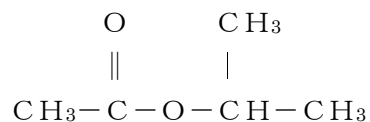
I-1-1 名称等

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℃

蒸 気 圧： 60.37mmHg (25℃)

比 重： 0.8718 (20℃/4℃)

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： KLL5209

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) 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 0.038%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 B6D2F1/Crlj マウス (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：21.8~24.8g、雌：17.8~20.4g) を選別し、試験に用いた。

なお、がん原性試験に B6D2F1/Crlj マウス (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60回の暴露を行った。

II-1-4 投与濃度

投与濃度は、250、500、1000、2000及び4000 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0552）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、8000 ppm群で動物の死亡がみられた。4000 ppm群では、雄で肝臓の重量増加、雌で胸腺の重量低下がみられたが、体重、摂餌量、一般状態、剖検、血液学的検査では、雌雄とも酢酸イソプロピ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4000 ppmを最高濃度とし、以下、2000、1000、500及び250 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（ $(\text{平均値} - \text{設定濃度}) / \text{設定濃度} \times 100$ ）が 0.2%以内、変動係数（標準偏差 / 平均値 $\times 100$ ）が 1.2%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)
250 ppm 群	10 匹 (1101~1110)	10 匹 (2101~2110)
500 ppm 群	10 匹 (1201~1210)	10 匹 (2201~2210)
1000 ppm 群	10 匹 (1301~1310)	10 匹 (2301~2310)
2000 ppm 群	10 匹 (1401~1410)	10 匹 (2401~2410)
4000 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（605 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 ; $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ < 605 室 ; $22.9 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$ >
吸入試験室 ; $21 \pm 2^{\circ}\text{C}$ < 601 室 ; $21.3 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$ >
吸入チャンバー内 ; $20 \sim 24^{\circ}\text{C}$

湿 度 : 検疫室 ; $55 \pm 15\%$ < 605 室 ; $54 \pm 1\%$ >
吸入試験室 ; $55 \pm 15\%$ < 601 室 ; $61 \pm 1\%$ >
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 ; 12 ± 1 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 (112(W)×212(D)×120(H) mm/匹)

馴化期間 ; ステンレス製 6 連網ケージ (95(W)×116(D)×120(H) mm/匹)

投与期間 ; ステンレス製 5 連網ケージ (100(W)×116(D)×120(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、動物の死亡発見時及び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 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、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、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（ウロラプスティックス、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、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

定期解剖時まで生存した動物について、下記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、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）、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、小数点以下第 1 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 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。

—雄—

被験物質の影響と考えられる動物の死亡はみられなかった。

なお、250 ppm 群で4週の2日目に1匹が死亡したが、病理検査の結果、死因は水腎症であった。

—雌—

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 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、内部腫瘍が500、1000、4000 ppm 群に各1匹、250 ppm 群と対照群に各3匹みられたが、いずれも病理検査の結果、水腎症であった。

—雌—

変化はみられなかった。

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。

—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、投与群の最終体重は対照群に対し、250 ppm 群：94%、500 ppm 群：99%、1000 ppm 群：97%、2000 ppm 群：96%、4000 ppm 群：95%となり、250 ppm 群と4000 ppm 群はやや低値であったが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

—雌—

変化はみられなかった。

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—

4000 ppm 群は投与期間を通してやや低値であった。

—雌—

2000 ppm 以上の群で投与期間を通してやや低値であった。また、他の投与群でもやや低値な週が散見された。

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、ヘマトクリット値、MCV、MCH の増加が 4000 ppm 群でみられた。

—雌—

ヘマトクリット値、MCV の増加が 4000 ppm 群で、MCH の増加が 2000 ppm 以上の群でみられた。

Ⅲ-6 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を TABLE 8 と APPENDIX G 1, 2 に示した。

—雄—

変化はみられなかった。

—雌—

総コレステロールの増加が 4000 ppm 群でみられた。

その他、総コレステロールとリン脂質の増加が 1000 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。また、ALP に変化がみられたが、低下性の変化であり、毒性的意義は不明であった。

Ⅲ-7 尿検査

尿検査の結果を APPENDIX H 1, 2 に示した。

—雌雄—

変化はみられなかった。

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。

—雌雄—

被験物質の影響と考えられる所見は認められなかった。

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 9, 10 と APPENDIX J 1, 2、APPENDIX K 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、肝臓の体重比の高値が 4000 ppm 群と 250 ppm 群でみられたが、投与濃度との対応がみられず、これらの変化は両群の解剖時体重がやや低値であることによると思われる。

—雌—

脳の実重量と体重比の低値が 4000 ppm 群にみられた。

その他、心臓の体重比の低値が 2000 ppm 以上の群で、肝臓の実重量の高値が 4000 ppm 群でみられた。しかし、心臓の 2000 ppm 以上の群の実重量及び肝臓の 4000 ppm 群の体重比は、それぞれ対照群と同等な値であり、心臓と肝臓の変化が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 11, 12 及び APPENDIX L 1, 2 に示した。

—雄—

[4000 ppm 群]

鼻腔に変化が認められた。

鼻腔の変化は嗅上皮にみられ、萎縮と呼吸上皮化生が全動物にみられた。萎縮は嗅細胞の数の減少による嗅上皮の厚さの低下、呼吸上皮化生は嗅上皮が呼吸上皮に置き換わった所見であり、両所見とも鼻腔中央部の背側壁にみられた。これらの所見の程度は全て軽度であった。

[2000 ppm 群]

鼻腔に変化が認められた。

鼻腔の変化は嗅上皮にみられ、萎縮が全動物にみられた。この所見の程度は全て軽度であ

った。

[1000 ppm 群、500 ppm 群、250 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—

[4000 ppm 群]

鼻腔に変化が認められた。

鼻腔の変化は嗅上皮と呼吸上皮にみられた。嗅上皮には萎縮と呼吸上皮化生が全動物に、エオジン好性変化が 1 匹にみられた。嗅上皮の萎縮と呼吸上皮化生は雄と同様、鼻腔中央部の背側壁にみられた。また、呼吸上皮にエオジン好性変化が 7 匹にみられた。エオジン好性変化は上皮細胞の細胞質内にエオジンで均一に染色される液胞が出現する所見であり、鼻腔中央部の鼻甲介や鼻中隔にみられた。

これらの所見の程度は、呼吸上皮のエオジン好性変化で 2 匹が中等度であったが、それ以外は軽度であった。

[2000 ppm 群]

鼻腔に変化が認められた。

鼻腔の変化は嗅上皮と呼吸上皮にみられた。嗅上皮には萎縮が 9 匹に、呼吸上皮化生とエオジン好性変化が各 1 匹にみられた。嗅上皮の萎縮と呼吸上皮化生は 4000 ppm 群と同様、鼻腔中央部の背側壁にみられた。また、呼吸上皮にエオジン好性変化が 8 匹にみられ、発生部位は 4000 ppm 群と同様、鼻腔中央部の鼻甲介や鼻中隔であった。

これらの所見の程度は全て軽度であった。

[1000 ppm 群、500 ppm 群、250 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、B6D2F1/Crlj 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、250、500、1000、2000及び4000 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、被験物質の影響と考えられる動物の死亡はみられなかった。また、一般状態及び体重値でも酢酸イソプロピルの影響はみられなかった。

血液への影響として、ヘマトクリット値の増加が4000 ppm群の雌雄で、ヘモグロビン濃度の増加が4000 ppm群の雄でみられた。当センターで本試験と同時に実施した酢酸イソプロピルのラットを用いた13週間吸入試験（文献6）でも、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値の増加が8000 ppm群でみられており、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。しかし、ラットの試験同様、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。

病理組織変化は鼻腔に認められた。

鼻腔では、嗅上皮の変化が2000 ppm以上の群の雌雄に、呼吸上皮の変化が2000 ppm以上の群の雌に認められた。嗅上皮にみられた変化は主に萎縮と呼吸上皮化生であり、特に萎縮は2000 ppm以上の群の雌雄のほぼ全動物に認められた。嗅上皮の呼吸上皮化生は4000 ppm群の雌雄全動物に認められたが、2000 ppm群では雌1匹にみられただけであった。これらの変化が発生した部位は鼻腔中央部の背側壁であった。また、嗅上皮のエオジン好性変化が2000 ppm以上の群の雌に各1匹認められた。呼吸上皮にはエオジン好性変化が2000 ppm以上の群の雌だけに認められた。この変化は鼻腔中央部の鼻甲介や鼻中隔にみられた。

嗅上皮の萎縮と呼吸上皮化生は、酢酸イソプロピルの暴露により嗅上皮に傷害が発生することを示唆している（文献7）。また、雌に観察された嗅上皮と呼吸上皮のエオジン好性変化は老齢動物に自然発生することが報告されている所見であり（文献7）、酢酸イソプロピルの反復暴露は嗅上皮に加えて呼吸上皮にも影響を与え、鼻腔の加齢性変化を促進させる作用をもつことが示唆された。

なお、脳の重量低下が4000 ppm群の雌に認められたが、脳には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マウスへの 13 週間吸入暴露により、酢酸イソプロピルの影響と考えられる動物の死亡はみられなかったが、2000 ppm 以上の群の鼻腔に病理組織変化が認められた。2000 ppm 群では、鼻腔に嗅上皮の萎縮 (雌雄)、呼吸上皮化生 (雌)、エオジン好性変化 (雌) 及び呼吸上皮のエオジン好性変化 (雌) がみられた。1000 ppm 以下の群には、雌雄とも酢酸イソプロピルの暴露の明らかな影響は認められなかった。

従って、本試験における酢酸イソプロピルのマウスに対する 13 週間吸入暴露による無毒性量 (NOAEL) は、鼻腔への影響をエンドポイントとして 1000 ppm であると考えられた。

(3) がん原性試験の濃度決定

がん原性試験の投与濃度は、本試験の予備試験として行われた 2 週間吸入試験 (文献 4) 及び本試験の結果をもとに決定した。

2 週間試験は 8000~500 ppm (公比 2) の濃度で行った。その結果、8000 ppm 群で動物の死亡がみられたが、4000 ppm 以下の群では死亡はみられなかった。本試験は 4000~250 ppm (公比 2) の濃度で行った。その結果、酢酸イソプロピルの影響と考えられる動物の死亡及び体重の変化はみられなかったが、4000 ppm 群では病理組織検査で雌雄とも鼻腔に変化がみられた。また、臓器重量、血液学的検査及び血液生化学的検査にも変化がみられた。しかし、病理組織検査でみられた鼻腔の変化はいずれも軽度であり、その他の検査にも重篤な変化はみられなかった。また、1000 ppm 以下の群には、雌雄とも酢酸イソプロピルの暴露の明らかな影響は認められなかった。

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マウス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. 日本バイオアッセイ研究センター. 2006. 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. 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. 長野嘉介. 2000. 各論 1 章, 上部気道, 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, 99-116.