

2,4-ペンタンジオンのラットを用いた  
吸入による2週間毒性試験報告書

試験番号：0582

CAS No. 123-54-6

2006年3月31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

2,4-ペンタンジオンのラットを用いた吸入による2週間毒性試験

## 試験目的

2,4-ペンタンジオンの吸入によるがん原性試験の投与濃度決定試験（13週間試験）の予備試験として、2,4-ペンタンジオンをラットに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）を参考にして実施した。

## 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

2,4-ペンタンジオンのラットを用いた  
吸入による2週間毒性試験報告書

試験番号：0582

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、分子式及び分子量 .....          | 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          | 8  |
| 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 | 病理学的検査         | 8  |
|        | (1) 剖検         | 8  |
|        | (2) 臓器重量       | 8  |
|        | (3) 臓器の採取保存    | 8  |
|        | (4) 病理組織標本の作製  | 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           | 10 |
| III-1  | 生死状況           | 10 |
| III-2  | 一般状態           | 10 |
| III-3  | 体重             | 11 |
| 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         | 12 |
|        | III-7-1 剖検     | 12 |
|        | III-7-2 臓器重量   | 12 |
| IV     | 考察及びまとめ        | 13 |
| IV-1   | 用量-反応関係        | 13 |
| IV-2   | 13週間試験の濃度決定    | 14 |
| IV-3   | 他文献との比較        | 14 |
| V      | 文献             | 15 |

## 要約

2,4-ペンタンジオンのがん原性試験の投与濃度決定試験（13 週間試験）の予備試験として、その生体影響を検索する目的で F344/DuCr1Cr1j（旧 F344/DuCrj）ラットを用いた吸入による 2 週間の試験を実施した。

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 5 匹とし、合計 30 匹を用いた。被験物質の投与は、2,4-ペンタンジオンを 1 日 6 時間、1 週 5 日間、2 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 50、100、200、400 及び 800 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、剖検及び臓器重量測定を行った。

2,4-ペンタンジオンの暴露の結果、雌雄とも投与期間の 3 日目までに 800 ppm 群の全動物が死亡した。1 日目の暴露終了後の観察（暴露終了約 45 分後）で 800 ppm 群の雌雄の多くに腹臥または横臥、呼吸緩徐、不整呼吸、流涙、流涎がみられ、自発運動が消失した。時間経過とともに全動物に自発運動がみられるようになったが、完全に回復するまでには至らず、暴露終了約 1 時間 45 分後に、全動物に跳躍を数回繰り返す行動がみられ、中には跳躍後、後退りする動物も観察された。翌日（2 日目の暴露開始前）の観察では、動物に特記すべき所見はみられなかったが、同日の暴露終了後に雄は 4 匹、雌は全動物が死亡した。雄の 1 匹も 3 日目の暴露前には死亡した。死亡動物には、雌雄とも数匹に眼球の混濁あるいは白色化がみられた。

400 ppm 以下の群では、雌雄とも 400 ppm 群で体重及び摂餌量が投与期間を通じ対照群より低値であった。この他、雄では、200 ppm 以上の群で MCV の減少がみられ、400 ppm 群で MCHC 及びグルコースの増加が認められた。また、胸腺の体重比の低値が最低投与群の 50 ppm 群からみられ、実重量の低値が 200 ppm 以上の群でみられた。さらに、肝臓の体重比の高値が 200 ppm 以上の群でみられ、400 ppm 群で腎臓の体重比の高値がみられた。雌では、200 ppm 以上の群で MCV の減少とグルコースの増加が認められた。400 ppm 群では、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、総蛋白及び AST の減少がみられ、白血球数と総コレステロールの増加がみられた。さらに、肝臓、心臓及び腎臓の体重比の高値がみられた。

以上の結果から、13 週間試験の投与濃度は、雌雄とも 400 ppm を最高濃度とし、以下、200、100、50、25 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

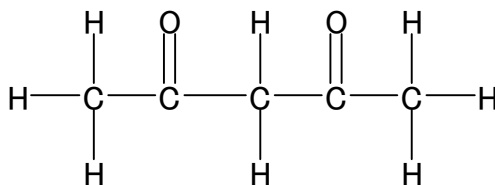
名 称： 2,4-ペンタンジオン (2,4-Pentanedione)

別 名： アセチルアセトン

CAS No.： 123-54-6

## I-1-2 構造式、分子式及び分子量 (文献 1)

構造式：



分子式：  $\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2$

分子量： 100.12

## 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：  $139^\circ\text{C}$  (746mmHg)

蒸気圧： 2.96mmHg ( $20^\circ\text{C}$ )

比 重： 0.9721 ( $25^\circ\text{C}/4^\circ\text{C}$ )

溶解性： 水、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： CEH5187

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、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) と同じ分子イオン及び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 2,4-ペンタンジオンであることを確認した。

それらの結果は APPENDIX A 1 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、2,4-ペンタンジオン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/DuCrjCrj (旧 F344/DuCrj) ラット (SPF) の雌雄を使用した。

雌雄各 37 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 30 匹 (群構成時体重範囲、雄: 119~132g、雌: 95~104g) を選別し、試験に用いた。

なお、がん原性試験に F344/DuCrjCrj 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、1週5日の暴露で2週間とし、計10回の暴露を行った。

#### II-1-4 投与濃度

投与濃度は、50、100、200、400及び800 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。雌雄のFischer-344ラットに197、418、805 ppmの2,4-ペンタンジオンを9日間（6時間/日、5日/週）暴露した試験と101、307、650 ppmで14週間（6時間/日、5日/週）暴露した試験（文献4）によれば、9日間暴露した試験では、動物に死亡はみられなかったが、418 ppm以上の群で体重の増加抑制が認められ、805 ppm群では脳の空胞化も認められた。14週間試験では、650 ppm群で死亡がみられ、死亡時期の最も早いものは暴露9日目で、多くが2週から6週の間死亡した。以上の報告を参考にし、雌雄とも800 ppmを最高濃度とし、以下、400、200、100及び50 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）の発生容器内の被験物質を循環式恒温槽で加熱しながら、清浄空気のパ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-14A）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）は 1.0 %以内、変動係数（標準偏差／平均値×100）は 3.0 %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。

| 群名称       | 動物数（動物番号）      |                |
|-----------|----------------|----------------|
|           | 雄              | 雌              |
| 対照群       | 5 匹（1001～1005） | 5 匹（2001～2005） |
| 50 ppm 群  | 5 匹（1101～1105） | 5 匹（2101～2105） |
| 100 ppm 群 | 5 匹（1201～1205） | 5 匹（2201～2205） |
| 200 ppm 群 | 5 匹（1301～1305） | 5 匹（2301～2305） |
| 400 ppm 群 | 5 匹（1401～1405） | 5 匹（2401～2405） |
| 800 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、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（604 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（604 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 ;  $21 \pm 2^{\circ}\text{C}$  < 604 室 ;  $21.1 \pm 0.3^{\circ}\text{C}$  >  
吸入チャンバー内 ;  $20 \sim 24^{\circ}\text{C}$

湿 度 : 検疫室 ;  $55 \pm 15\%$  < 606 室 ;  $54 \pm 1\%$  >  
吸入試験室 ;  $30 \sim 70\%$  < 604 室 ;  $61 \pm 2\%$  >  
吸入チャンバー内 ;  $30 \sim 70\%$

（暴露中の投与群の湿度は測定しなかった。）

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 ;  $12 \pm 1$  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 (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 (30KGγ-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前日の夕方からは摂取させなかった。

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。ただし、暴露中は摂取させなかった。

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。投与期間中は投与 1 日目 (暴露初日) の暴露後、2 日目の暴露前後、3、4、7、10、14 日目の暴露開始前に行った。なお、暴露後の観察は、吸入チャンバー内濃度が 0 ppm となるまで換気 (約 45 分間) した後、約 1 時間行った。

### 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、投与期間中の 2、4、7、10、14 日目の暴露開始前に行った。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 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、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。

検査項目：総蛋白、アルブミン、グルコース、総コレステロール、AST、ALT

### 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) 臓器の採取保存

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した。

採取保存器官・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）

#### (4) 病理組織標本の作製

全動物について、下記に示した器官、組織を切り出し、パラフィン包埋を行った。

標本作製器官・組織：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、脳、脊髄

## 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 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。

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。

### Ⅲ 試験成績

#### Ⅲ-1 生死状況

生死状況を TABLE 2, 3 に示した。

—雄—

800 ppm 群の全動物が投与期間の 2 日目から 3 日目までに死亡した。

—雌—

800 ppm 群の全動物が投与期間の 2 日目までに死亡した。

#### Ⅲ-2 一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX C 1, 2 に示した。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。

—雄—

1 日目の暴露終了後の観察で 800 ppm 群に症状がみられた。観察開始当初（暴露終了約 45 分後）は、800 ppm 群の全動物に呼吸緩徐あるいは不整呼吸、流涙、4 匹に流涎及び腹臥が観察され、自発運動が消失した状態であった。これらに加え、鼻血性分泌物、異常呼吸音の観察された動物も 1~2 匹みられた。時間経過とともに全動物に自発運動がみられるようになったが、自発運動は完全に回復するまでには至らなかった。また、観察終了時（暴露終了約 1 時間 45 分後）に、全動物に跳躍を数回繰り返す行動がみられ、中には跳躍後、後退りする動物も観察された。翌日（2 日目の暴露直前）の観察ではこれらの症状はすべて回復し、動物に特記すべき所見はみられなかったが、同日の暴露後には 4 匹が死亡した。残る 1 匹には横臥、流涙、呼吸緩徐、体温低下、触反射消失が観察され、観察時間内（暴露終了約 45 分後から暴露終了約 1 時間 45 分後）での症状の改善はみられなかった。この動物も 3 日目の暴露前には死亡した。

—雌—

800 ppm 群で同群の雄と同様の症状が 1 日目の暴露終了後の観察でみられた。観察開始当初（暴露終了約 45 分後）は、ほぼ全動物が流涙を呈し、腹臥あるいは横臥姿勢（4 匹：腹臥、1 匹：横臥）をとり自発運動はみられない状態であった。2~3 匹には不整呼吸、呼吸緩徐、流涎もみられた。時間経過とともに 2 匹は腹臥から円背位に姿勢を変え、やがて全動物に自発運動がみられるようになった。しかし、自発運動は完全に回復するまでには至らなかった。観察終了時（暴露終了約 1 時間 45 分後）に雄と同様、跳躍や後退りが観察された。翌日（2 日目の暴露直前）の観察では症状は回復し、特記すべき所見はみられなかったが、同日の暴露後に全動物が死亡した。

### 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—

400 ppm 群は、投与期間を通じ対照群に比べ低値であった。最終計測日の体重は、対照群の 91% で有意な低値が認められた。

—雌—

400 ppm 群は、投与期間を通じ対照群に比べ低値であった。最終計測日の体重は、対照群の 93% で有意な低値が認められた。

### 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—

400 ppm 群は、投与期間を通じ対照群に比べ低値であった。7 日目と 14 日目の測定値は、それぞれ対照群の 90% と 89% で有意な低値が認められた。

—雌—

400 ppm 群は、投与期間を通じ対照群に比べ低値であった。7 日目と 14 日目の測定値は、それぞれ対照群の 92% と 85% で有意な低値が認められた。

### 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—

MCV の減少が 200 ppm 以上の群でみられ、MCHC の増加が 400 ppm 群でみられた。

—雌—

MCV の減少が 200 ppm 以上の群でみられ、白血球数の増加、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の減少が 400 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 8, 9 と APPENDIX G 1, 2 に示した。

—雄—

グルコースの増加が 400 ppm 群でみられた。

—雌—

グルコースの増加が 200 ppm 以上の群でみられ、総コレステロールの増加、総蛋白及び



AST の減少が 400 ppm 群でみられた。

### Ⅲ-7 病理学的検査

#### Ⅲ-7-1 剖検

剖検所見を APPENDIX H 1~H 4 に示した。

—雄—

眼球の混濁が 800 ppm 群で 3 匹にみられた。

—雌—

眼球の混濁が 800 ppm 群で 1 匹にみられ、眼球の白色化が同群の 3 匹にみられた。

#### 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 10, 11 と APPENDIX I 1, 2、APPENDIX J 1, 2 に示した。

—雄—

胸腺の体重比の低値が全投与群でみられ、実重量の低値が 200 ppm 以上の群でみられた。また、肝臓の体重比の高値が 200 ppm 以上の群でみられた。有意差は認められなかったが、肝臓の実重量は 200 ppm 以上の群で対照群より高値であり、この体重比の高値は被験物質の影響と考えられた。腎臓の体重比の高値が 400 ppm 群でみられた。400 ppm 群の搬出時体重は対照群よりやや低値であったが、腎臓の実重量は対照群と同等であったことから、同群の腎臓の体重比の高値は被験物質の影響と思われた。

—雌—

心臓と腎臓の体重比の高値が 400 ppm 群でみられた。400 ppm 群の心臓と腎臓の実重量に有意差はみられなかったが、これらの値は対照群よりやや高値であり、心臓と腎臓の体重比の高値は被験物質の影響と考えられた。また、肝臓の体重比の高値が 100 ppm 群を除く投与群でみられた。100 ppm 群は、体重比が対照群とほぼ同等、実重量は対照群より低値であり、肝重量の増加は認められなかった。従って、50 ppm 群の体重比の高値は投与濃度に相当した変化ではないことから、被験物質の影響とは考えられなかった。また、200 ppm 群の体重比は 50 ppm 群より低く、200 ppm 群の体重比の増加は被験物質の影響とは考えられなかった。400 ppm 群は、有意差は認められないものの実重量が対照群より高く、体重比はいずれの群よりも高いことから、この体重比の増加は被験物質の影響によるものと考えられた。

## V 文献

1. U.S. National Library of Medicine, Specialized Information Services 2003. Acetyl acetone Chemical/Physical Properties. Hazardous Substances Data Bank(HSDB). Available: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search> [accessed 18 August 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). 2005. 2,4-ペンタンジオン, 赤外吸収スペクトル.
4. Dodd DE, Garman RH, Pritts IM, Troup CM, Snellings WM. 1986. 2,4-Pentanedione: 9-day and 14-week vapor inhalation studies in Fischer-344 rats. *Fund Appl Toxicol* 7, 329-339.
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. Gilbert HFIII, O'leary MH. 1977. Reversible modification amino groups in aspartate aminotransferase. *Biochim Biophys Acta* 483, 79-89.

#### IV 考察及びまとめ

2,4-ペンタンジオンのがん原性試験の投与濃度決定試験(13週間試験)の予備試験として、その生体影響を検索する目的でF344/DuCr1Cr1jラットを用いた吸入による2週間の試験を実施した。

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5匹とし、合計30匹を用いた。被験物質の投与は、2,4-ペンタンジオンを1日6時間、1週5日間、2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50、100、200、400及び800 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、剖検及び臓器重量測定を行った。

##### IV-1 用量-反応関係

2,4-ペンタンジオンの暴露の結果、雌雄とも投与3日までに800 ppm群の全動物が死亡した。1日目の暴露終了後の観察で800 ppm群の雌雄の多くに、腹臥または横臥、呼吸緩徐、不整呼吸、流涙、流涎がみられ、自発運動が消失した。時間経過とともに全動物に自発運動がみられるようになったが、完全に回復するまでには至らなかった。また、観察終了時(暴露終了約1時間45分後)に、全動物に跳躍を数回繰り返す行動がみられ、中には跳躍後、後退りする動物も観察された。これらの行動は、2,4-ペンタンジオンの中枢神経系への作用を示唆するものと考えられた。翌日(2日目の暴露開始前)の観察では、動物に特記すべき所見はみられなかったが、同日の暴露後に雄は4匹、雌は全動物が死亡した。雄の1匹も3日目の暴露前には死亡した。剖検観察では、800 ppm群の雌雄の数匹に眼球の混濁あるいは白色化がみられた。体重及び摂餌量の測定では、雌雄とも400 ppm群が投与期間を通じ対照群より低値であった。血液学的検査では、雌雄とも200 ppm以上の群でMCVの減少がみられた。さらに、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の減少が雌の400 ppm群でみられ、雌雄の200 ppm以上の群で貧血傾向が示唆された。また、雌では、白血球数の増加も400 ppm群で認められた。血液生化学的検査では、グルコースの増加が雄の400 ppm群と雌の200 ppm以上の群でみられた。また、総コレステロールの増加、総蛋白及びASTの減少が雌の400 ppm群でみられた。臓器重量では、雄は、胸腺の体重比の低値が最低投与群の50 ppm群からみられ、実重量の低値が200 ppm以上の群でみられた。また、肝臓の体重比の高値が200 ppm以上の群でみられ、腎臓の体重比の高値が400 ppm群でみられた。雌は、肝臓、心臓及び腎臓の体重比の高値が400 ppm群でみられた。

#### IV-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、800 ppm 群で全動物が死亡したが、400 ppm 以下の群では死亡はみられなかった。400 ppm 群では、体重増加の抑制、摂餌量の低値、肝重量の高値（体重比）、腎重量の高値（体重比）、胸腺重量の低値（雄）、MCV の低値、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の減少（雌）、白血球数の増加（雌）、グルコースの高値及び AST の低値（雌）が認められた。200 ppm 群では、肝重量の高値（雄体重比）、MCV の低値、胸腺重量の低値（雄）及びグルコースの高値（雌）が認められた。100 ppm 以下の群では、雄で胸腺重量の低値（体重比）が 50 及び 100 ppm 群で認められた。

以上の結果から、400 ppm は、2週間試験で死亡が認められず、諸指標に変化が観察されたものの変化の程度は軽度であり、13週間の暴露濃度として 400 ppm を設定した場合でも動物が死亡する濃度ではないと考えられることから、2,4-ペンタンジオンの 13週間試験の投与濃度は、雌雄とも 400 ppm を最高濃度とし、以下、200、100、50、25 ppm（公比 2）と決定した。

#### IV-3 他文献との比較

Dodd ら（文献 4）は、2週間（投与回数：9回）の 2,4-ペンタンジオンの Fischer-344 ラットへの吸入（投与濃度：200、400、800 ppm）試験の結果、投与群に死亡はみられず、雌雄の 800 ppm 群で著しい体重増加の抑制、白血球数の増加、鼻腔の炎症、胸腺の体重比の減少が認められたと報告した。今回、当センターで行った 2週間試験では、Dodd らと同様な結果が得られ、800 ppm の濃度で雌雄の全動物が死亡した。また、跳躍や後退り等の中枢神経系への影響を示唆する症状を含む新たな毒性症状もみられた。

また、Dodd らは、Fischer-344 ラットを用いて 14週間吸入試験（投与濃度：100、300、600 ppm）を実施し、600 ppm 群で活動性の亢進、運動失調、麻痺、低体温、衰弱、死亡（死亡率：雄 33%、雌 100%）がみられた。また、病理組織学的検査で脳に変化が認められ、生存した雄で AST が減少したと報告している。

通常 AST はその値が増加することで毒性学的評価に用いられるが、Dodd らの試験でも AST が減少し、彼らは、*in vitro* の試験で 2,4-ペンタンジオンがブタの AST のリジン残基と特異的に結合するとの Gilbert（文献 6）らの報告結果にもとづき、*in vivo* でも AST の変性がおこるのかもしれないと考察している。今回の 2週間試験での AST の減少も 2,4-ペンタンジオンの暴露による影響の可能性が示唆された。