

2,4-ペンタンジオンのラットを用いた  
吸入による13週間毒性試験報告書

試験番号：0600

CAS No. 123-54-6

2006年12月\*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 13 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を決定する予備試験として、2,4-ペンタンジオンをラットに 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  
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 13 週間毒性試験報告書

試験番号：0600

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   | 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       | 予見することができなかった試験の信頼性に影響を及ぼす<br>疑いのある事態及び試験計画書に従わなかったこと | 18 |
| VI      | 文献  | 19 |

## 要約

2,4-ペンタンジオンのがん原性を検索する目的で F344/DuCr1Cr1j 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、2,4-ペンタンジオンを 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 25、50、100、200 及び 400 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。

2,4-ペンタンジオンの暴露の結果、動物の死亡はみられなかった。一般状態の観察でも 2,4-ペンタンジオンの影響と考えられる変化はみられなかったが、400 ppm 群の雄で軽度な体重増加の抑制がみられ、最終体重は対照群に対し、雄 94%、雌 97%であった。400 ppm 群のその他の検査では、雌雄に赤血球数の減少、血小板数の増加、網赤血球比の増加及び血漿中カルシウムの減少がみられ、さらに雄では ALT と ALP、雌では AST と CK も減少した。また、雌雄に脾臓及び腎臓、雄に精巣、雌に肝臓の重量増加が認められた。病理組織検査では、雌雄に脾臓でヘモジデリン沈着の程度の増強と脾洞の赤血球充満がみられ、雄の鼻腔には、呼吸上皮の扁平上皮化生と線毛呼吸上皮の移行上皮様変化がみられた。

200 ppm 群では、雄で ALP の減少、腎臓重量の増加、脾臓にヘモジデリン沈着の程度の増強がみられ、雌に血漿中カルシウムの減少がみられた。

100 ppm 以下の群では、2,4-ペンタンジオンの影響と考えられる変化はみられなかった。

以上の結果から、本試験における 2,4-ペンタンジオンのラットに対する 13 週間吸入暴露による無毒性量 (NOAEL) は、血液生化学、臓器重量及び脾臓の病理組織学的変化をエンドポイントとして雌雄とも 100 ppm であると判断した。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 400 ppm を最高濃度とし、以下、200、100 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

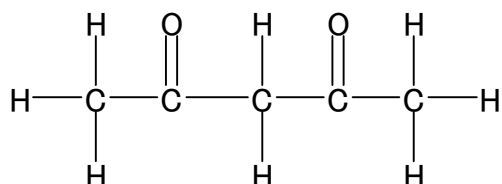
名 称： 2,4-ペンタンジオン (2,4-Pentanedione)

別 名： アセチルアセトン

CAS No.： 123-54-6

## I-1-2 構造式及び分子量 (文献 1)

構造式：



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°C (746mmHg)

蒸気圧： 2.96mmHg (20°C)

比 重： 0.9721 (25°C/4°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： SDJ5794

製 造 元： 和光純薬工業(株)

グ レ ー ド： 試薬特級

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 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、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/ DuCrlCrlj 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：114～129g、雌：90～99g) を選別し、試験に用いた。

なお、がん原性試験に F344/ DuCrlCrlj 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61回の暴露を行った。

#### II-1-4 投与濃度

投与濃度は、25、50、100、200及び400 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0582）の結果（文献4）をもとに決定した。

2週間試験の結果、800 ppm群で全動物が死亡した。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、肝臓及び腎臓重量の高値（いずれも体重比）、胸腺の低値（雄体重比）、貧血傾向を示唆するパラメータの変化、白血球数の増加（雌）、グルコースの高値及びASTの低値（雌）等が認められた。200 ppm群でも肝臓重量の高値（体重比）、平均赤血球容積の低値、胸腺の低値（雄体重比）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、雄に胸腺の低値（体重比）がみられたのみであった。13週間試験での最高濃度としては、2週間試験で死亡が認められ

ず、諸指標に変化の観察された最高濃度である 400 ppm が妥当と考え、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 を最高投与濃度とし、以下 200、100、50、25 ppm（公比 2）の合計 5 段階の濃度を設定した。

#### 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温しながら、清浄空気のバブリングにより蒸発させ、この被験物質を含む空気を循環式恒温槽で一定温度に冷却後、清浄空気（希釈空気）と混合しながら循環式恒温槽で一定温度に再加温し、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）が 1.6%以内、変動係数（標準偏差／平均値×100）が 2.4%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） |
| 25 ppm 群  | 10 匹（1101～1110） | 10 匹（2101～2110） |
| 50 ppm 群  | 10 匹（1201～1210） | 10 匹（2201～2210） |
| 100 ppm 群 | 10 匹（1301～1310） | 10 匹（2301～2310） |
| 200 ppm 群 | 10 匹（1401～1410） | 10 匹（2401～2410） |
| 400 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（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（714 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 ;  $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$  < 714 室 ;  $22.9 \pm 0.0^{\circ}\text{C}$  >  
吸入試験室 ;  $21 \pm 2^{\circ}\text{C}$  < 604 室 ;  $19.9 \pm 0.3^{\circ}\text{C}$  >  
吸入チャンバー内 ;  $20 \sim 24^{\circ}\text{C}$

湿 度 : 検疫室 ;  $55 \pm 15\%$  < 714 室 ;  $55 \pm 1\%$  >  
吸入試験室 ;  $55 \pm 15\%$  < 604 室 ;  $59 \pm 2\%$  >  
吸入チャンバー内 ;  $30 \sim 70\%$

(但し、投与群の湿度は暴露中及び暴露終了後 1 時間まで測定しなかった。)

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 (30KG $\gamma$ -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、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、 $\gamma$ -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、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）、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、 $\chi^2$  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  $\chi^2$  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。

—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、眼球突出と角膜混濁（いずれも右眼）が 200 ppm 群で、また、眼球突出と白内障（いずれも右眼）が 25 ppm 群で各 1 匹にみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

#### 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—

400 ppm 群で軽度な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、25 ppm 群：99%、50 ppm 群：99%、100 ppm 群：101%、200 ppm 群：101%、400 ppm 群：94%であった。

—雌—

400 ppm 群は投与期間の初期から中期にかけて（5 週目まで）低値であったが、中期以降は対照群に近い値となった。

投与群の最終体重は対照群に対し、25 ppm 群：101%、50 ppm 群：98%、100 ppm 群：100%、200 ppm 群：99%、400 ppm 群：97%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—

400 ppm 群は投与期間の初期と終期に低値であった。

—雌—

400 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—

赤血球数の減少と MCH、MCHC、網赤血球比及び血小板数の増加が 400 ppm 群でみられた。

なお、血小板数の増加は 100 ppm 群までみられたが、200 ppm 群と 100 ppm 群の間で濃度に対応した増減がみられていないこと、また、他の検査項目に変化がみられていないことから、200 ppm 以下の群での血小板数の増加は被験物質による影響と考えなかった。

—雌—

赤血球数の減少と MCV、MCH、血小板数及び網赤血球比の増加が 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—

ALT 及びカルシウムの減少が 400 ppm 群でみられ、ALP の減少が 200 ppm 群までみられた。

なお、ALT の減少は 100 ppm 群と 25 ppm 群でもみられたが、これらの群での減少と投与濃度との対応はみられず被験物質による影響と考えなかった。

—雌—

AST 及び CK の減少が 400 ppm 群でみられ、カルシウムの減少が 200 ppm 群までみられた。

その他、ALP の増加が 25 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。

### Ⅲ-7 尿検査

尿検査の結果を APPENDIX H 1, 2 に示した。

—雌雄—

被験物質の影響と考えられる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 10, 11 と APPENDIX J 1, 2、APPENDIX K 1, 2 に示した。

—雄—

精巣、心臓、肺、腎臓、脾臓、肝臓、脳の体重比の高値が 400 ppm 群でみられた。400 ppm 群は解剖時体重がやや低値（対照群の 93%）であったが、精巣、腎臓、脾臓の実重量はそれぞれ対照群よりも高値であった。従って、400 ppm 群では暴露により、精巣、腎臓及び脾臓の重量が増加したと考えられ、心臓、肺、肝臓、脳の体重比の高値は 400 ppm 群の解剖時体重の低値によるものと思われた。さらに、腎臓の実重量と体重比の高値が 200 ppm 群でみられた。以上のように腎臓の重量が 200 ppm 群まで増加し、精巣、脾臓の重量が 400 ppm 群で増加した。

—雌—

脾臓の実重量と体重比の高値が 400 ppm 群でみられた。また、腎臓、肝臓の体重比の高値が 400 ppm 群でみられた。400 ppm 群は解剖時体重がやや低値（対照群の 96%）であったが、腎臓、肝臓の実重量はそれぞれ対照群よりも高値であった。従って、400 ppm 群では暴露により、腎臓、脾臓、肝臓の重量が増加したと考えられた。

## Ⅲ-8-3 病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果を TABLE 12, 13 及び APPENDIX L 1, 2 に示した。

—雄—

[400 ppm 群]

鼻腔と脾臓に変化が認められた。

鼻腔に呼吸上皮の扁平上皮化生が 5 匹（軽度 3 匹、中等度 2 匹）、線毛呼吸上皮の移行上皮様変化が 9 匹（軽度 7 匹、中等度 2 匹）にみられた。脾臓では、軽度なヘモジデリン沈着が対照群の全匹にみられたが、その程度の増強（中等度）が 9 匹に認められた。また、脾洞の赤血球充満（軽度）が 8 匹にみられた。

[200 ppm 群]

脾臓にヘモジデリン沈着の程度の増強（中等度）が 3 匹にみられた。この変化は、匹数は少ないものの、400 ppm 群でみられている所見であることから投与による影響と考えた。

[100 ppm 群、50 ppm 群、25 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—

[400 ppm 群]

脾臓で軽度なヘモジデリン沈着が対照群の全匹にみられたが、その程度の増強（中等度）が 7 匹に認められた。また、脾洞の赤血球充満（軽度）が 10 匹にみられた。

[200 ppm 群、100 ppm 群、50 ppm 群、25 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

2,4-ペンタンジオンのがん原性を検索する目的で、F344/DuCrIj 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、2,4-ペンタンジオンの投与濃度は、25、50、100、200及び400 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

2,4-ペンタンジオンの暴露の結果、動物の死亡はみられなかった。一般状態の観察でも2,4-ペンタンジオンの影響と考えられる変化はみられなかったが、400 ppm群の最終体重は、対照群に対し雄94%、雌97%であり、雄に軽度な体重増加の抑制がみられた。400 ppm群では、血液への影響として、赤血球数の減少とMCH、網赤血球比及び血小板数の増加が雌雄にみられ、さらに雄ではMCHC、雌ではMCVも増加した。2,4-ペンタンジオンの暴露により動物は貧血傾向となり、代償的に造血系の機能亢進が引き起こされた結果、網赤血球比と血小板数が増加したことが示唆された（文献6）。なお、脾臓の重量が増加し、病理組織所見として、脾臓にヘモジデリン沈着の程度の増強と脾洞の赤血球充満がみられた。また、血液生化学的影響として、血漿中カルシウムの減少が雌雄にみられ、さらに雄ではALTとALP、雌ではASTとCKが低値であった。当センターで実施した2,4-ペンタンジオンの2週間吸入試験（投与濃度：50、100、200、400、800 ppm）（文献4）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ず、400 ppm群で体重増加の抑制、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）、ASTの低値（雌）等が認められている。また、Doddら（文献7）のラットを用いた14週間吸入試験（投与濃度：100、300、600 ppm）によると、600 ppm群で生存した雄（生存率：雄67%、雌0%）でAST、赤血球数、血漿中カルシウム（300 ppm群でも減少）が減少し、雌は300 ppm群で赤血球数、血漿中カルシウムが減少したと報告している。中でもASTの減少については、2,4-ペンタンジオンがブタのASTのリジン残基を修飾するとのGilbert（文献8）らの*in vitro*の試験報告を引用し、*in vivo*でもASTの修飾が起こる可能性を論じている。ASTの低値は当センターの2週間及び13週間試験でも400 ppm群の雌にみられ、測定値は2週間試験では対照群の88%、13週間試験では86%であった。この結果から、ASTの変化は暴露期間の初期から起こること、また、暴露期間の延長によっても減少の程度は変わらないことが推察された。

病理組織所見として、脾臓以外では、雄で鼻腔の呼吸上皮の扁平上皮化生と線毛呼吸上皮

の移行上皮様変化がみられた。これらの変化は、2,4-ペンタンジオンの上部気道への刺激に対する修復性・適応性変化であると考えられた（文献 9）。臓器重量では脾臓以外にも雌雄とも腎臓の重量が増加し、雄は精巣、雌では肝臓の重量も増加した。しかし、これらの臓器には暴露と関連した病理組織変化は認められなかった。

200 ppm 群では、雄に ALP の減少、腎臓の重量増加、発生数は少ないものの、ヘモジデリン沈着の程度の増強がみられた。雌には、血漿中カルシウムの減少がみられた。

100 ppm 以下の群では、雌雄とも暴露による影響はみられなかった。

## (2) 無毒性量 (NOAEL)

以上のように、2,4-ペンタンジオンのラットへの 13 週間吸入暴露により、体重増加の抑制、赤血球数の減少、網赤血球比及び血小板数の増加及び血漿中カルシウムの減少が雌雄にみられ、さらに雄では ALT と ALP、雌では AST と CK も減少した。また、雌雄に脾臓と腎臓、雄に精巣、雌に肝臓の重量増加が認められた。病理組織検査では、雌雄に脾臓でヘモジデリン沈着の程度の増強と脾洞の赤血球充満がみられ、雄の鼻腔には、呼吸上皮の扁平上皮化生と線毛呼吸上皮の移行上皮様変化がみられた。これらの影響の中で雄には ALP の減少、腎臓重量の増加、脾臓にヘモジデリン沈着の程度の増強、雌には、血漿中カルシウムの減少が 200 ppm 群でもみられた。100 ppm 以下の群では、被験物質の暴露による影響はみられなかった。

従って、本試験における 2,4-ペンタンジオンのラットに対する 13 週間吸入暴露による無毒性量 (NOAEL) は、200 ppm 群での雄の腎臓重量の増加と脾臓のヘモジデリン沈着の程度の増強、雌の血漿中カルシウムの減少をエンドポイントとして雌雄とも 100 ppm であると判断した。

## (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 週間吸入試験及び本試験の結果をもとに決定した。

2 週間試験は 50～800 ppm（公比 2）の濃度で行った。その結果、800 ppm 群で全匹死亡したが、400 ppm 以下の群では死亡はみられなかった。13 週間試験は 25～400 ppm（公比 2）の濃度で行った。その結果、各群とも動物の死亡はみられなかったが、400 ppm 群では、病理組織学的検査で雌雄の脾臓と雄の鼻腔、雌雄に臓器重量、血液学的検査、血液生化学的検査で変化がみられ、また、雄に体重増加の抑制が認められたが、いずれも軽度な変化であった。200 ppm 群では、雌雄に血液生化学的検査、雄に脾臓の病理組織学的検査及び臓器重量でいずれも軽度な変化がみられたが、雌雄とも体重に変化はみられなかった。100 ppm 以下の群では、2,4-ペンタンジオンの暴露による影響はみられなかった。

これらの結果より、400 ppm 群で病理組織学的検査を含め諸検査で変化はみられたものの、いずれも軽度であり、最終体重も対照群に対し雄で 94%、雌で 97%であることから、400 ppm

は、がん原性試験における最大耐量を満足するものと考え、がん原性試験の投与濃度は、雌雄とも 400 ppm を最高濃度とし、以下、200、100 ppm（公比 2）と決定した。

V 予見することができなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態及び試験計画書に従わなかったこと

試験計画書では「11-2 使用被験物質」において、被験物質のグレードを和光特級と記載したが、これは試薬特級の誤記載であり、試験には試薬特級の被験物質を使用した。

## VI 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. 日本バイオアッセイ研究センター. 2006. 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. 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. 宮地勇人. 2002. 血液細胞アトラス-2, 写真と検査データでみる血液細胞の実践的読み方 (東海大学医学部附属病院臨床検査科血液検査室編). 東京 : 東海大学出版会, 13-14
7. 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. Fundam Appl Toxicol 7 : 329-339.
8. Gilbert HF, O'leary MH. 1977. Reversible modification amino groups in aspartate aminotransferase. Biochim Biophys Acta 483 : 79-89.
9. 伊東信行編著. 1994. 標的器官の毒性病理 (1) , 呼吸器系 A. 鼻腔, 最新毒性病理学. 東京 : 中山書店, 85-95.