

アクリル酸のラットを用いた  
吸入による2週間毒性試験報告書

試験番号：0638

CAS No. 79-10-7

2007年3月30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

アクリル酸のラットを用いた吸入による 2 週間毒性試験

## 試験目的

アクリル酸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、アクリル酸をラットに 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  
山本 静護  
神奈川県秦野市平沢 2445

アクリル酸のラットを用いた  
吸入による2週間毒性試験報告書

試験番号：0638

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	血漿の保存	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) 病理標本の作製及び病理組織学的検査	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	12
III-4	摂餌量	12
III-5	血液学的検査	12
III-6	病理学的検査	13
	III-6-1 剖検	13
	III-6-2 臓器重量	13
	III-6-3 病理組織学的検査	14
IV	考察及びまとめ	16
IV-1	用量-反応関係	16
IV-2	13週間試験の濃度決定	17
V	文献	18

## 要約

アクリル酸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 60 匹を用いた。被験物質の投与は、アクリル酸を 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 38、75、150、300 及び 600 ppm（公比 2）とした。観察、検査として、生死確認、一般状態の観察、体重および摂餌量の測定、血液学的検査、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。

アクリル酸の暴露の結果、600 ppm 群の雌 1 匹が死亡した。他の群に死亡はみられなかった。一般状態の観察では、600 ppm 群で、死亡した雌 1 例を含む雌雄に異常呼吸音、不整呼吸、角膜混濁、立毛、及び雌に貧血様症状がみられた。他に自発運動量減少、尿による外陰部の汚染と糜爛、呼吸緩徐、深呼吸、腹部膨隆等の症状がみられた。300 ppm 群では雌雄に鼻漿液性分泌物、異常呼吸音、雌に汚染が暴露終了後に散見された。150 ppm 以下の群では、雌雄とも変化はみられなかった。体重に関しては、150 ppm 以上の群で増加の抑制（最終体重は対照群に対し、雄の 150 ppm 群：95%、300 ppm 群：87%、600 ppm 群：70%、雌の 150 ppm 群：96%、300 ppm 群：91%、600 ppm 群：72%）が認められたが、150 ppm 群の変化は雌雄とも軽度であった。摂餌量は雄の 150 ppm 以上、雌では 300 ppm 以上の群で減少した。血液学的検査では、雄において 300 ppm 以上の群で血小板数の減少と 600 ppm 群で網赤血球比の増加、雌においては 600 ppm 群で網赤血球比の増加と白血球数の減少がみられた。剖検では、600 ppm 群の雌雄に、ストレスによるものとみられる胸腺の萎縮とアクリル酸の刺激によるものとみられる眼球の混濁が全動物にみられた。また、一部の動物には胃、小腸及び大腸へのガス貯留および腺胃の赤色斑がみられた。臓器重量は、雄では胸腺と脾臓の重量低下及び副腎の重量増加が 300 ppm 以上の群、雌では胸腺の重量低下が 300 ppm 以上の群、脾臓の重量低下と副腎の重量増加が 600 ppm 群に認められた。病理組織学的検査では、鼻腔の呼吸上皮と嗅上皮への影響が雌雄とも暴露濃度に対応して認められ、呼吸上皮には、潰瘍が 600 ppm、炎症が 300 ppm 以上、壊死が 150 ppm 以上、扁平上皮化生が 75 ppm 以上の群でみられた。また、嗅上皮には、壊死が 300 ppm 以上、萎縮が 75 ppm 以上の群に認められた。

以上のことから、13 週間試験の投与濃度は雌雄とも、200 ppm を最高濃度とし、以下、150 ppm から公比 2.5 で（少数点以下第 1 位四捨五入）、60、24、10 ppm とした。

## I 試験材料

## I-1 被験物質の性状等

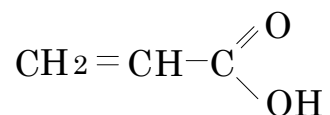
## I-1-1 名称等

名 称： アクリル酸(Acrylic acid)

CAS No.： 79-10-7

## I-1-2 構造式及び分子量 (文献 1)

構 造 式：



分 子 量： 72.06

## I-1-3 物理化学的性状等 (文献 1)

性 状： 無色の液体

沸 点： 141°C

蒸 気 圧： 3.97mmHg (25°C)

比 重： 1.0511 (20°C/4°C)

溶 解 性： 水、アルコールに可溶

保 管 条 件： 冷暗所に保管

## I-2 被験物質の使用ロット等

使用ロット番号： EWE0688

製 造 元： 和光純薬工業(株)

グ レ ー ド： 和光特級

純 度： 99.7% (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、被験物質はアクリル酸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、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) 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 A2 に示した。

### I-4 試験動物

動物は、アクリル酸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/DuCrIj 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: 111~132g、雌: 92~107g) を選別し、試験に用いた。

なお、がん原性試験に F344/DuCrIj 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週間とした。

#### II-1-4 投与濃度

投与濃度は、38、75、150、300及び600 ppmの5段階（公比2、小数点以下第1位四捨五入）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 投与方法、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。Majkaらの行ったラットを用いた吸入による急性毒性試験（文献4）によると、LC50値は1224 ppmであり、本試験の最高濃度はLC50値の約1/2の濃度である600 ppmとした。また、Millerら（文献5）は、雌雄のFischer-344ラットに25、75、225 ppmのアクリル酸を10日間（6時間/日、5日/週）吸入暴露した結果、動物の死亡はみられなかったが、225 ppm群の雌雄に体重増加の抑制、鼻腔組織の扁平上皮化生、雌に脂肪組織の減少がみられたと報告している。75 ppm以下の群では暴露に関連した変化を認めなかった。この報告より、本試験の最低濃度は75 ppm未満が妥当と考えた。従って本試験の投与濃度は雌雄とも最高濃度を600 ppmとし、以下300、150、75、38 ppm

(公比 2、小数点以下第 1 位四捨五入) 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 ( $(\text{平均値} - \text{設定濃度}) / \text{設定濃度} \times 100$ ) が 0.3 %以内、変動係数 (標準偏差 / 平均値  $\times 100$ ) が 1.3 %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)
38 ppm 群	5 匹 (1101~1105)	5 匹 (2101~2105)
75 ppm 群	5 匹 (1201~1205)	5 匹 (2201~2205)
150 ppm 群	5 匹 (1301~1305)	5 匹 (2301~2305)
300 ppm 群	5 匹 (1401~1405)	5 匹 (2401~2405)
600 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6）。

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）に收容し、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； $23.0 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$ >  
吸入試験室； $21 \pm 2^{\circ}\text{C}$  <601室； $21.4 \pm 0.3^{\circ}\text{C}$ >  
吸入チャンバー内； $20 \sim 24^{\circ}\text{C}$

湿度： 検疫室； $55 \pm 15\%$  <606室； $52 \pm 1\%$ >  
吸入試験室； $55 \pm 15\%$  <601室； $56 \pm 1\%$ >  
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； $12 \pm 1$ 回／時

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

ケージへの動物の收容方法： 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 (30K Gy- $\gamma$ 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、被験物質暴露中及び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。ただし、被験物質暴露中は給水しなかった。

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) に行い、投与期間中は 2、4、5、6、7、8、10、14 日目の暴露開始前及び 4、5、6、7、8、11、12、13、14 日目の暴露後に行った。

### 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、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 血漿の保存

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、得られた血漿を冷凍保存した。

### 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。

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、精囊、前立腺、卵

巢、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

#### (4) 病理標本の作製及び病理組織学的検査

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。

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、肉眼的に変化のみられた器官及び組織

鼻腔と鼻咽頭は全動物について薄切、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。また、一部の動物について、肉眼的に変化のみられた皮膚、胃について病理組織学的検査を行った。

## 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。

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。

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—

動物の死亡はみられなかった。

—雌—

600 ppm 群で 1 匹が 2 週の 7 日目に死亡した。

#### 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、暴露前の所見及び暴露のない日の午前の所見は「週一日の 1」、暴露後の所見は「週一日の 2」として示した。

—雄—

600 ppm 群では、異常呼気音（1 週の 2 日目以降）、不整呼吸（1 週の 4 日目暴露以降）、汚染（1 週の 5 日目暴露以降）、角膜混濁（1 週の 6 日目暴露以降）、立毛（1 週の 7 日目以降）がみられ、投与期間の終了までにはこれらの所見が全動物にみられた。また、自発運動量減少、尿による外陰部周囲の汚染と糜爛、呼吸緩徐が数例の動物にみられた。

300 ppm 群では、暴露後に鼻漿液性分泌物、異常呼気音が数例の動物に散見された。

150 ppm 以下の群では一般状態の変化はみられなかった。

—雌—

600 ppm 群では、不整呼吸、異常呼気音（それぞれ 1 週の 4 日目暴露以降）、汚染（1 週の 5 日目暴露以降）、立毛、角膜混濁（それぞれ 1 週の 6 日目暴露以降）がみられ、投与期間の終了までには全動物にみられた。さらに、貧血様症状すなわち、皮膚や粘膜の蒼白化が 1 週の 6 日目暴露以降から認められ、投与期間終了までに全動物にみられた。また、自発運動量減少、腹部膨隆、尿による外陰部周囲の汚染と糜爛、深呼吸が数例の動物にみられた。ほぼこれらの症状のまま、2 週の 7 日目に 1 匹が死亡した。

300 ppm 群では、暴露後に汚染、鼻漿液性分泌物、異常呼気音が数例から全例の動物に散見された。

150 ppm 以下の群で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 2, 3、FIGURE 2, 3 及び APPENDIX D 1, 2 に示した。

—雄—

300 ppm 以上の群で体重増加の抑制が認められた。また、150 ppm 群も統計学的に有意ではないが、軽度な体重増加の抑制がみられた。

投与群の最終体重は対照群に対し、38 ppm 群：98%、75 ppm 群：99%、150 ppm 群：95%、300 ppm 群：87%、600 ppm 群：70%であった。

—雌—

300 ppm 以上の群で体重増加の抑制が認められた。また、150 ppm 群も統計学的に有意ではないが、軽度な体重増加の抑制がみられた。

投与群の最終体重は対照群に対し、38 ppm 群：98%、75 ppm 群：99%、150 ppm 群：96%、300 ppm 群：91%、600 ppm 群：72%であった。

### Ⅲ-4 摂餌量

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

—雄—

150 ppm 以上の群で摂餌量が減少した。

—雌—

300 ppm 以上の群で摂餌量が減少した。また、150 ppm 群は投与 1 週目に摂餌量が減少した。

### 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—

血小板数の減少が 300 ppm 以上の群でみられた。また、統計学的に有意ではなかったが網赤血球比の増加が 600 ppm 群でみられた。なお、網赤血球比の減少が 300 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—

網赤血球比の増加と白血球数の減少が 600 ppm 群でみられた。なお、網赤血球比の減少が 300 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-6 病理学的検査

#### Ⅲ-6-1 剖検

剖検所見を APPENDIX G 1~3 に示した。

—雄—

600 ppm 群は、胸腺の萎縮が 4 匹、眼球の混濁が全動物にみられた。

300 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。

—雌—

600 ppm 群は、死亡動物（1 匹）に胸腺の萎縮、眼球の混濁、胃、小腸及び大腸へのガス貯留、ならびに鼻の糜爛がみられた。定期解剖動物でも胸腺の萎縮と眼球の混濁が全動物にみられ、1 匹には小腸と大腸へのガス貯留、腺胃の赤色斑も認められた。

300 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-6-2 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 8, 9 と APPENDIX H 1, 2、APPENDIX I 1, 2 に示した。

—雄—

胸腺と脾臓の実重量の低値が 300 ppm 以上の群、体重比の低値が 600 ppm 群にみられた。また、副腎の実重量の高値が 600 ppm 群、体重比の高値が 300 ppm 以上の群にみられた。

その他、300 ppm 群は肝臓の実重量の低値、精巣、肺、腎臓及び脳の体重比の高値、600 ppm 群は精巣、腎臓及び肝臓の実重量の低値、精巣、心臓、肺、腎臓、肝臓及び脳の体重比の高値がみられたが、これらの変化は 300 ppm 群と 600 ppm 群の解剖時体重の低値によるものと考えた。

—雌—

胸腺の実重量と体重比の低値が 300 ppm 以上の群にみられた。また、脾臓の実重量と体重比の低値が 600 ppm 群にみられた。副腎には体重比の高値が 600 ppm 群にみられた。

その他、300 ppm 群は肺、腎臓及び脳の体重比の高値、600 ppm 群は卵巣、腎臓及び肝臓の実重量の低値、心臓、肺、腎臓及び脳の体重比の高値がみられたが、これらの変化は 300 ppm 群と 600 ppm 群の解剖時体重の低値によるものとする。なお、150 ppm 群の腎臓の体重比にも高値が示されたが、実重量の値は対照群との間に差が認められないこと、また、この群の体重は統計学的な有意差は認められないものの対照群より低値であることから、体重の差による変化と考えた。

## Ⅲ-6-3 病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果を TABLE 10~12 及び APPENDIX J 1~3 に示した。

—雄—

## [600 ppm 群]

鼻腔の呼吸上皮と嗅上皮に変化がみられた。呼吸上皮には壊死(中等度)、潰瘍(中等度)、炎症(中等度)及び扁平上皮化生(重度)、嗅上皮には壊死(軽度~中等度)と萎縮(中等度)が全動物に認められた。

## [300 ppm 群]

呼吸上皮に壊死(軽度)が4匹、炎症(軽度)が1匹、扁平上皮化生(中等度)が全動物に認められた。また、嗅上皮に壊死(軽度)が4匹、萎縮(中等度)が全動物に認められた。

## [150 ppm 群]

呼吸上皮に壊死(軽度)が1匹、扁平上皮化生(軽度~中等度)が全動物に認められた。また、嗅上皮に萎縮(軽度)が全動物に認められた。

## [75 ppm 群]

呼吸上皮に扁平上皮化生(軽度)が2匹に認められた。また、嗅上皮に萎縮(軽度)が3匹に認められた。

## [38 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—

## [600 ppm 群]

死亡動物は、鼻腔に呼吸上皮の壊死(中等度)、潰瘍(重度)、炎症(中等度)及び扁平上皮化生(中等度)、嗅上皮の壊死(重度)と萎縮(重度)がみられた。なお、剖検時に観察された鼻の糜爛は、皮膚の潰瘍であった。

定期解剖動物でも鼻腔の呼吸上皮と嗅上皮に変化がみられた。呼吸上皮には壊死(中等度)、潰瘍(軽度~中等度)、炎症(軽度~中等度)及び扁平上皮化生(中等度~重度)、嗅上皮には壊死(軽度~中等度)と萎縮(中等度)が全動物に認められた。腺胃には、糜爛が認められた。

## [300 ppm 群]

呼吸上皮に壊死(軽度)が4匹、炎症(軽度)が3匹、扁平上皮化生(中等度)が全動物に認められた。また、嗅上皮に壊死(軽度~中等度)と萎縮(中等度)が全動物、扁平上皮化生(軽度)が1匹に認められた。

## [150 ppm 群]

呼吸上皮に扁平上皮化生(軽度~中等度)、嗅上皮に萎縮(軽度)が全動物に認められた。

[75 ppm 群]

呼吸上皮に扁平上皮化生（軽度）が 2 匹に認められた。また、嗅上皮に萎縮（軽度）が全動物に認められた。

[38 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

アクリル酸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、アクリル酸の投与濃度は、38、75、150、300 及び 600 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、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。また、投与期間中の死亡動物についても剖検観察及び病理組織学的検査を行った。

##### IV-1 用量-反応関係

アクリル酸の暴露の結果、600 ppm 群で雌 1 匹が投与 2 週の 7 日目に死亡した。他の群に死亡はみられなかった。

一般状態の観察では、600 ppm 群で雌雄に異常呼気音、不整呼吸、汚染、角膜混濁、立毛及び雌に貧血様症状が投与 1 週目よりみられた。他に、自発運動量減少、尿による外陰部周囲の汚染、糜爛、呼吸緩徐、腹部膨隆、深呼吸等の症状も少数の動物にみられた。雌 1 匹はほぼこれらの症状のまま、2 週の 7 日目に死亡した。300 ppm 群では、雌雄に鼻漿液性分泌物、異常呼気音、雌に外陰部周囲の汚染がアクリル酸の暴露後に散見されたが、翌日の暴露前には変化はみられなかった。150 ppm 以下の群では、雌雄とも一般状態の変化はみられなかった。

体重では、雌雄とも 150 ppm 以上の群で投与濃度に対応した増加の抑制（最終体重は対照群に対し、雄の 150 ppm 群：95%、300 ppm 群：87%、600 ppm 群：70%、雌の 150 ppm 群：96%、300 ppm 群：91%、600 ppm 群：72%）が認められた。

血液学的検査では、高濃度群で雄に血小板数の減少（300 ppm 以上の群）と網赤血球比の増加（600 ppm 群）、雌に網赤血球比の増加と白血球数の減少（600 ppm 群）がみられた。雌雄とも赤血球数等に変化はみられてはいないが、雌の 600 ppm 群の全てに貧血様症状も観察されていることから、アクリル酸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。

剖検では、600 ppm 群の死亡動物と定期解剖動物に胸腺の萎縮と眼球の混濁が全動物でみられた。胸腺の萎縮は動物がストレス状態にあったことを示唆する所見と考えられる（文献 7）。また、眼球の混濁はアクリル酸の眼への刺激性を示す所見と考えられる。その他、600 ppm 群の少数例に胃、小腸及び大腸へのガス貯留および腺胃の赤色斑が認められた。胃、小腸及び大腸へのガス貯留は、鼻腔の障害により呼吸が困難になった結果、口呼吸を行っていたことを示す所見と推察される（文献 8）。

臓器重量に関しては、雄では胸腺と脾臓の重量低下及び副腎の重量増加が 300 ppm 以上の群、雌では胸腺の重量低下が 300 ppm 以上の群、脾臓の重量低下と副腎の重量増加が 600 ppm 群に認められた。化学物質の投与によるストレス反応によって、胸腺と脾臓の萎縮や重量低下、副腎の過形成や重量増加が起きることが知られている（文献 7、9）。剖検時に観察された胸腺の萎縮と同様に、300 ppm 以上の群で認められたこれらの臓器の重量変化もアクリル酸の吸入暴露により動物がストレス状態にあったことを示唆している。

病理組織学的検査は主に鼻腔と鼻咽頭について実施した。600 ppm 群の雌の死亡動物は、鼻腔の呼吸上皮に壊死、潰瘍、炎症及び扁平上皮化生、嗅上皮に壊死と萎縮がみられ、その程度は中等度から重度であり、この動物は鼻腔の傷害により死亡したと推察した。投与終了時まで生存した動物でも鼻腔の呼吸上皮と嗅上皮への影響が雌雄とも暴露濃度に対応して認められた。すなわち、呼吸上皮には、潰瘍が 600 ppm、炎症が 300 ppm 以上、壊死が 150 ppm 以上、扁平上皮化生が 75 ppm 以上の群でみられた。また、嗅上皮には、壊死が 300 ppm 以上、萎縮が 75 ppm 以上の群に認められた。アクリル酸は強い局所刺激を有することが報告されている（文献 4）。また、呼吸上皮と嗅上皮に認められたこれらの所見は刺激性を有する化学物質の吸入によって生じることが知られている（文献 10）。従って、本試験で観察された上記の鼻腔の所見は、アクリル酸の刺激性に起因した変化と考えられる。なお、38 ppm 群ではアクリル酸の影響と考えられる鼻腔の変化は認められなかった。また、鼻咽頭には各投与群とも病理組織学的に変化はみられなかった。

#### 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決定した。

本試験では、600 ppm 群で雌 1 匹が死亡したが、300 ppm 以下の群では死亡がみられなかった。300 ppm 群は、雌雄ともに体重増加の抑制がみられ、一般状態の変化として鼻漿液性分泌物や異常呼吸音が観察された。また、病理組織学的検査で雌雄とも鼻腔の呼吸上皮（炎症、扁平上皮化生、壊死）と嗅上皮（萎縮、壊死、扁平上皮化生（雌））に変化がみられたことから、300 ppm は 13 週間試験の最高濃度としては高すぎると考えられた。150 ppm 群は、雌雄とも鼻腔の呼吸上皮（扁平上皮化生、壊死（雄））と嗅上皮（萎縮）に変化がみられ、また、体重増加の抑制傾向もみられたが、一般状態には変化がみられなかった。従って、150 ppm は 13 週間試験の最高濃度としてはやや低いと考えられた。これらのことから、13 週間試験の最高濃度は、300 ppm と 150 ppm の中間の濃度、200 ppm が妥当と考えた。また、本試験では雌雄とも 75 ppm 群まで、鼻腔の呼吸上皮（扁平上皮化生）と嗅上皮（萎縮）に変化がみられたことから、13 週間試験の最低濃度は、無毒性量（NOAEL）を決定できる濃度が望ましいと考えた。これらの結果より、13 週間試験の投与濃度は雌雄とも、200 ppm を最高濃度とし、以下、150 ppm から公比 2.5 で（少数点以下第 1 位四捨五入）、60、24、10 ppm とした。

## V 文献

1. U.S. National Library of Medicine. 2006. Acrylic acid Chemical/Physical Properties. Hazardous Substances DataBank(HSDB).  
Available: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB> [accessed 7 February 2006].
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). 2006. アクリル酸, 赤外吸収スペクトル
4. Majka J, Knobloch K, Stetkiewicz J. 1974. Evaluation of Acute and Subacute Toxicity of Acrylic Acid. *Med Pracy* 25: 427-435.
5. Miller RR, Ayres JA, Jersey GC, Mckenna MJ. 1981. Inhalation Toxicity of Acrylic Acid. *Fundam Appl Toxicol* 1: 271-277.
6. 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.
7. Boyd EM. 1972. Multiposal toxicity syndromes. In: *Predictive Toxicometrics*. Bristol: Scientehnica LTD, 367-378.
8. 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.
9. Boyd EM. 1972. Uniposal toxicity syndromes. In: *Predictive Toxicometrics*. Bristol: Scientehnica LTD, 271-296.
10. Jiang XZ, Morgan KT, Beauchamp RO Jr. 1984. Histopathology of acute and subacute nasal toxicity. In: *Toxicology of the Nasal Passages* (Barrow CS. ed). Washington: Hemisphere Publishing Corporation, 51-66.