

アクリル酸メチルのマウスを用いた吸入による 2 週間毒性試験報告書

試験番号 : 0797

CAS No. 96-33-3

2012 年 12 月 28 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

## 目次

標題	.....	i
試験目的	.....	i
試験法	.....	i
動物福祉	.....	i
試験委託者	.....	i
試験施設及び運営管理者	.....	i
試験日程	.....	ii
試験関係者一覧	.....	ii
試資料の保管	.....	iii
試験責任者（最終報告書作成者）の署名、捺印及び日付	.....	iii
陳述書	.....	iv
本文	.....	v
TABLES	A~K	6
FIGURES	1~2	
APPENDICES	1-1~3	

## 標題

アクリル酸メチルのマウスを用いた吸入による 2 週間毒性試験

## 試験目的

アクリル酸メチル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、アクリル酸メチルをマウスに 2 週間全身暴露（経気道投与）して、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（亜急性吸入毒性：28 日試験 2009 年 9 月 7 日採択）を参考にして実施した。

## 動物福祉

本試験は、平成 18 年 4 月 28 日付け、環境省告示第 88 号「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」、平成 18 年 6 月 1 日付け、厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知「厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本方針」及び平成 18 年 11 月 27 日付け、日本バイオアッセイ研究センター制定「動物実験に関する指針」を遵守した。また、本試験は日本バイオアッセイ研究センターの動物実験委員会で承認された。

## 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  
東京都千代田区霞が関 1-2-2

# アクリル酸メチルのマウスを用いた吸入による 2 週間毒性試験報告書

試験番号 : 0797

## 本文

## 本文目次

	頁
要約 .....	1
試験材料 .....	2
- 1 被験物質の性状等 .....	2
- 1 - 1 名称等 .....	2
- 1 - 2 示性式及び分子量 .....	2
- 1 - 3 物理化学的性状等 .....	2
- 2 被験物質の使用ロット等 .....	2
- 3 被験物質の特性 .....	3
- 3 - 1 同一性 .....	3
- 3 - 2 安定性 .....	3
- 4 試験動物 .....	3
試験方法 .....	4
- 1 投与 .....	4
- 1 - 1 投与経路 .....	4
- 1 - 2 被験物質の投与方法 .....	4
- 1 - 3 投与期間 .....	4
- 1 - 4 投与濃度 .....	4
- 1 - 5 投与経路、投与期間及び投与濃度の設定理由 .....	4
- 1 - 6 被験物質の発生方法と濃度調整 .....	5
- 1 - 7 被験物質濃度の測定 .....	5
- 2 動物管理 .....	6
- 2 - 1 各群の使用動物数 .....	6
- 2 - 2 群分け及び個体識別方法 .....	6
- 2 - 3 飼育条件 .....	6
(1) 飼育環境 .....	6
(2) 飼料 .....	7
(3) 飲水 .....	7

- 3 観察・検査項目及び方法	8
- 3 - 1 動物の生死及び一般状態の観察	8
- 3 - 2 体重測定	8
- 3 - 3 摂餌量測定	8
- 3 - 4 血液学的検査	8
- 3 - 5 血液生化学的検査	8
- 3 - 6 病理学的検査	9
(1) 剖検	9
(2) 臓器重量	9
(3) 臓器の採取保存	9
(4) 病理組織学的検査	9
- 4 数値処理と統計方法	10
- 4 - 1 数値の取り扱いと表示	10
- 4 - 2 統計処理	10
試験成績	11
- 1 生死状況	11
- 2 一般状態	11
- 3 体重	11
- 4 摂餌量	12
- 5 血液学的検査	12
- 6 血液生化学的検査	13
- 7 病理学的検査	13
- 7 - 1 剖検	13
- 7 - 2 臓器重量	13
- 7 - 3 病理組織学的検査	14
考察及びまとめ	18
- 1 用量 - 反応関係	18
- 2 13 週間試験の濃度決定	20
文献	21

予見することのできなかつ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つたこと ..... 22

## 要約

アクリル酸メチル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 B6D2F1/CrIj マウス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、アクリル酸メチルを1日6時間、1週5日間で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0(対照群)、50、100、200、400及び800 ppm (v/v)とした。観察、検査として、生死確認、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。

アクリル酸メチルの暴露の結果、800 ppm 群で雌雄とも全ての動物が死亡した。他の群に死亡はみられなかった。一般状態の観察では、800 ppm 群で自発運動量減少、不整呼吸、異常呼気音等がみられた。また、400 ppm 以下の群では、400 ppm の雄に1匹に立毛がみられたのみであった。体重は、雌雄の100 ppm 以上の群で増加抑制がみられた。摂餌量は雌雄の100 ppm 以上の群で低値がみられた。

血液学的検査では、400 ppm 群で血小板数と好中球比の高値、MCV、網赤血球比及びリンパ球比の低値がみられた。血液生化学的検査では、雌雄の400 ppm 群でAST、ALT、LDH及びCKの高値がみられた。

剖検では、雌雄の400ppm以上の群に胸腺の萎縮がみられ、死亡動物の胃や腸管にガス貯留がみられた。臓器重量は、脾臓の重量低下が雄の50 ppm 以上と雌の200 ppm 以上の群、胸腺の重量低下が雌雄の100 ppm 以上の群、肺の重量増加(体重比)が雌雄の400 ppm 群にみられた。

病理組織学的検査ではアクリル酸メチルの影響は雌雄とも50 ppm 群までみられた。雌雄の投与群には主に呼吸器(鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺)に変化がみられ、特に800 ppm 群では、鼻腔から肺に至る呼吸器に強い壊死性の傷害がみられ、雌雄とも肺水腫により死亡した。雌雄の400 ppm 群では、呼吸器に強い炎症性の変化がみられ、同時に再生性の変化もみられた。雌雄の200 ppm 群でも鼻腔から喉頭に炎症を伴う壊死性変化がみられたが、ほとんどの傷害部位に再生上皮による修復がみられた。雌雄の100 ppm 群にも鼻腔に傷害がみられたが、傷害の程度は200 ppm 群よりも軽く、再生所見が優勢であった。雌雄の50 ppm 群では、鼻腔に軽い傷害がみられたものの、傷害部位では再生組織によるほぼ完全な修復がみられた。

以上の結果より、アクリル酸メチルの13週間試験の投与濃度は、100 ppm を最高濃度として、以下、50 ppm、25 ppm、12.5 ppm、6.3 ppm とした。



試験材料

- 1 被験物質の性状等

- 1 - 1 名称等

名 称 : アクリル酸メチル  
(Methyl acrylate)  
別 名 : 2-プロペン酸メチル、アクリル酸メチルエステル  
C A S N o . : 96-33-3

- 1 - 2 示性式及び分子量 (文献 1)

示 性 式 :  
$$\text{CH}_2=\text{CHCOOCH}_3$$

分 子 量 : 86.09

- 1 - 3 物理化学的性状等 (文献 1)

性 状 : 無色の揮発性の液体  
比 重 : 0.9535 (20 )  
沸 点 : 80.7  
蒸 気 圧 : 86.6 mmHg (25 )  
溶 解 性 : エタノール、エチルエーテル、アセトン、クロロホルム、ベンゼン  
に可溶  
保 管 条 件 : 室温、暗所に保管

- 2 被験物質の使用ロット等

製 造 元 : 和光純薬工業(株)  
規 格 : 和光特級  
純 度 : 99.9%(和光純薬工業(株)検査成績データ)  
ロ ッ ト 番 号 : DCE1892

### - 3 被験物質の特性

#### - 3 - 1 同一性

被験物質の同一性は、被験物質のマスペクトルを質量分析計(株)日立製作所 M-80B)にて測定した。これらの測定値を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、被験物質のマスペクトルは文献値(文献2)と同じ擬分子イオン及びフラグメントピークを示し、被験物質はアクリル酸メチルであることを確認した。

それらの結果は APPENDIX 1- 1 に示した。

#### - 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(アジレントテクノロジー(株) 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 1-2 に示した。

### - 4 試験動物

動物は、アクリル酸メチ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 36 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：23.3~25.9g、雌：19.8~22.1g)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、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。

## 試験方法

### - 1 投与

#### - 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。

#### - 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。

#### - 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。

#### - 1 - 4 投与濃度

投与濃度は、50、100、200、400及び800 ppm（体積比 v/v）の5段階に設定した。なお、対照群は清浄空気による換気のみとした。

#### - 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。

投与濃度は文献を参考にして決定した。アクリル酸メチルのマウスを用いた反復投与試験の報告はなかったが、ドイツのBASF社が行ったラットとマウスの急性吸入試験において、絶食時のLC50値は同じであった（文献3、4）。このため、ラットとマウスにアクリル酸メチルに対する吸入暴露による感受性に大きな差はないと考え、以下のラットの反復投与の文献を参考に決定した。BASF社ではラットを用いて0、23、124、242及び626 ppmの濃度で12週間（6時間/日、5日/週）の反復吸入試験を行っている（文献5）。これによると、626 ppm群では体重増加抑制が認められ、全匹が死亡（2～27回目の暴露の間）した。一般症状としては血性分泌物（鼻、目）及び重度な呼吸困難、病理組織学的変化としては鼻粘膜

萎縮、呼吸上皮と嗅上皮との移行部の角化、鼻炎、気管炎、肺の充血及び気管支肺炎等がみられた。242 ppm 群では、雌雄の体重増加抑制、雌雄の肺と雌の肝臓の体重比の増加がみられたが、形態学的な変化は認められなかった。124 ppm 群では、雌で体重増加抑制、肺と肝臓の体重比の増加がみられた。23 ppm 群では著変がみられなかったことから、この濃度を NOEL としている。また、Reiningaus ら（文献 6）の行った全身暴露による吸入試験では、5、15 及び 45 ppm の濃度で 13 週間投与しても体重増加の抑制はなかったとしている。

これらの報告より、本試験の投与濃度は雌雄とも 800 ppm を最高濃度とし、以下 400、200、100、50 ppm（公比 2）と決定した。

#### - 1 - 6 被験物質の発生方法と濃度調整

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循環式恒温槽で一定温度に冷却した後、清浄空気（希釈空気）と混合しながら再加熱し、一定濃度にした後、流量計を用いて一定量を各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。

#### - 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（株）島津製作所 GC-14B）により、暴露開始前から暴露終了後まで 15 分毎に測定した。

濃度測定結果を TABLE A 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 0.7%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。

## - 2 動物管理

### - 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。

群番号	群名称	雄 使用動物数(動物番号)	雌 使用動物数(動物番号)
0	対照群	5 匹 (1001 ~ 1005)	5 匹 (2001 ~ 2005)
1	50 ppm群	5 匹 (1101 ~ 1105)	5 匹 (2101 ~ 2105)
2	100 ppm群	5 匹 (1201 ~ 1205)	5 匹 (2201 ~ 2205)
3	200 ppm群	5 匹 (1301 ~ 1305)	5 匹 (2301 ~ 2305)
4	400 ppm群	5 匹 (1401 ~ 1405)	5 匹 (2401 ~ 2405)
5	800 ppm群	5 匹 (1501 ~ 1505)	5 匹 (2501 ~ 2505)

### - 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 7）。

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（検疫 605 室、馴化・投与 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。

### - 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 2 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 ;  $23 \pm 2$  < 605 室 ;  $22.6 \pm 0.1$  >  
           吸入試験室 ;  $21 \pm 2$  < 601 室 ;  $21.2 \pm 0.3$  >  
           吸入チャンバー内 ; 20 ~ 24  
 湿 度 : 検疫室 ;  $55 \pm 15\%$  < 605 室 ;  $50 \pm 1\%$  >  
           吸入試験室 ;  $55 \pm 15\%$  < 601 室 ;  $52 \pm 3\%$  >  
           吸入チャンバー内 ; 30 ~ 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 ~ - 15 × 10Pa  
 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 (30kGy- 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中の栄養成分と夾雑物についてはオリエンタル酵母工業(株)から分析データを使用ロットごとに入手し保管した。また、飼料中の夾雑物は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。

### - 3 観察・検査項目及び方法

#### - 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、暴露をし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、7、10、14 日目の暴露開始前（暴露を行わない日は午前中）に行った。なお、暴露開始初日については、暴露終了後にも詳細観察を行った。

#### - 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（暴露を行わない日は午前中）に行った。また、死亡動物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。

#### - 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。

#### - 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 3 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

#### - 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 3 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、ナトリウム、カリウム、クロール、カルシウム、無機リン

### - 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

定期解剖時の生存動物について、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。

皮膚、鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺（左肺に固定液を注入する）、骨髓（大腿骨）、リンパ節（腋窩、鼠径等）、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、脊髓、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、薄切、ヘマトキシリン・エオジン染色を行い、光学顕微鏡により検査した。

なお、鼻腔については切歯の後端（レベル1）、切歯乳頭（レベル2）、第一臼歯の前端（レベル3）の3ヶ所（文献5）で切り出し（横断）、検査した。

鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺、肝臓、腎臓



#### - 4 数値処理と統計方法

##### - 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 3 に示した単位と桁数により表示した。

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。

##### - 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。

各群雌雄ごとに検査数が 2 以下の項目については検定より除外した。

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。

## 試験成績

### - 1 生死状況

生死状況を TABLE B1, B2 に示す。

#### - 雄 -

800 ppm 群で全動物 (5 匹) が投与 2 週の 1 日目に死亡した。

400 ppm 以下の群では動物の死亡はみられなかった。

#### - 雌 -

800 ppm 群で全動物 (5 匹) が 2 週の 1 日目にまでに死亡した。

400 ppm 以下の群では動物の死亡はみられなかった。

### - 2 一般状態

一般状態の観察結果を TABLE C1, C2 に示す。

#### - 雄 -

800 ppm 群では、暴露開始日の暴露後に自発運動量減少と異常呼吸音または不整呼吸が全動物にみられた。なお、異常呼吸音は暴露のなかった休日に一度消失したが、暴露再開とともにみられるようになり、2 週の 1 日目 (暴露終了後) までにすべて死亡した。

400 ppm 以下の群では、被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

#### - 雌 -

800 ppm 群では、暴露開始日の暴露後に不整呼吸が全動物にみられ、自発運動量減少と異常呼吸音が何匹かにみられた。なお、異常呼吸音は暴露のなかった休日に一度消失したが、暴露再開とともにみられるようになり、2 週の 1 日目 (暴露終了後) までにすべて死亡した。

400 ppm 群では、2 週の 3 日目より立毛と円背位が 1 匹の動物にみられた。

200 ppm 以下の群では被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

### - 3 体重

体重の推移を TABLE D1 ~ D4 及び FIGURE 1, 2 に示す。

#### - 雄 -

100 ppm 以上の群では投与期間を通して体重の増加の抑制がみられ、また、暴露開始以降は群構成時よりも体重は減少した。50 ppm 群では 1 週の 2 日目に低値がみられた。

投与群の最終体重は対照群に対し、50 ppm 群 : 95%、100 ppm 群 : 89%、200 ppm 群 : 83%、400 ppm 群 : 69%であった。

なお、800 ppm 群を除き、投与群の体重は、暴露のなかった 1 週の 4 日目に一時的な増

加を示した。

- 雌 -

100 ppm 以上の群では投与期間を通して体重の増加の抑制がみられ、また、暴露開始以降は群構成時よりも体重は減少した。50 ppm 群では1週の2日目に低値がみられた。

投与群の最終体重は対照群に対し、50 ppm 群：97%、100 ppm 群：89%、200 ppm 群：86%、400 ppm 群：69%であった。

なお、800 ppm 群を除き、投与群の体重は、暴露のなかった1週の4日目に一時的な増加を示した。

#### - 4 摂餌量

摂餌量を TABLE E1 ~ E4 に示す。

雌雄の 800 ppm 群は投与 2 週の 1 日目以降全動物が死亡したため、2 週目のデータはなし。また、雌の 800 ppm 群は投与 1 週目の測定数が 2 匹以下であったため、検定から除外した。

- 雄 -

100 ppm 以上の群で投与 1 週目の摂餌量が低値であった。ただし、投与 2 週目の摂餌量に対照群と比較して差はみられなかった。なお、各群の 1 日当たりの平均摂餌量は、対照群：4.2 g、50 ppm 群：4.0 g、100 ppm 群：3.7 g、200 ppm 群：3.5 g、400 ppm 群：3.3 g であった。

- 雌 -

100 ppm 以上の群で投与期間を通して、摂餌量の低値がみられた。なお、各群の 1 日当たりの平均摂餌量は、対照群：3.5 g、50 ppm 群：3.4 g、100 ppm 群：3.0 g、200 ppm 群：2.9 g、400 ppm 群：2.4 g であった。

#### - 5 血液学的検査

血液学的検査の結果を TABLE F1, F2 に示す。(雌雄の 800 ppm 群は全動物死亡のためデータなし)

- 雄 -

400 ppm 群で血小板数と好中球比の高値、MCV、網赤血球比及びリンパ球比の低値がみられた。また、100 ppm 群では血小板数は低値を示した。

- 雌 -

400 ppm 群で血小板数と好中球比の高値、網赤血球比とリンパ球比の低値がみられた。

## - 6 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を TABLE G1, G2 に示す。(雌雄の 800 ppm 群は全動物死亡のためデータなし)

- 雄 -

100 ppm 以上の群で ALP、200 ppm 以上の群でトリグリセライドの低値がみられた。400 ppm 群で AST、ALT、LDH 及び CK の高値、グルコース及びリン脂質の低値がみられた。また、100 ppm と 200 ppm 群で A/G 比とカルシウムの高値、200 ppm 群で総ビリルビンの高値がみられ、50、100 及び 200 ppm 群で尿素窒素の低値がみられた。

- 雌 -

100 ppm 以上の群で ALP の低値がみられた。200 ppm と 400 ppm 群で総ビリルビン、400 ppm 群で AST、ALT、LDH 及び CK の高値、A/G 比、グルコース、トリグリセライド及びリン脂質の低値がみられた。また、アルブミンの低値が 200 ppm を除く 50 ppm 以上の群でみられ、50 及び 200 ppm 群で尿素窒素の低値がみられた。

## - 7 病理学的検査

### - 7 - 1 剖検

剖検所見を TABLE H1, H2 に示す。

- 雄 -

800 ppm 群 (死亡動物 5 匹) には、胸腺の萎縮が全動物、肺の赤色斑が 3 匹にみられ、また、胃、小腸または大腸のガス貯留が各 4 匹、肝臓の白色班が 1 匹にみられた。

400 ppm 群には、胸腺の萎縮が全動物にみられた。

200 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 -

800 ppm 群 (死亡動物 5 匹) には、胸腺の萎縮が全動物、肺の赤色が 2 匹、赤色斑が 1 匹、また、胃の破裂が 1 匹、ガス貯留が 3 匹、小腸または大腸のガス貯留が各 4 匹にみられた。

400 ppm 群には、胸腺の萎縮が全動物にみられた。

200 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。

### - 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 I1, I2 と J1, J2 に示す。(雌雄の 800 ppm 群は全動物死亡のためデータなし)

- 雄 -

肺の体重比の高値が 400 ppm 群でみられた。脾臓の実重量と体重比の低値が 50 ppm 以上の群、胸腺の実重量と体重比の低値が 100 ppm 以上の群、肝臓の実重量と体重比の低値がそれぞれ 100 ppm 以上の群と 200 ppm 以上の群でみられた。

なお、各投与群で副腎、精巣、心臓、腎臓及び脳の実重量や体重比の値に変化がみられたが、投与群の搬出時体重の低値によるものと思われる。

- 雌 -

肺の体重比の高値が 400 ppm 群でみられた。胸腺の実重量と体重比の低値が 100 ppm 以上の群、また、脾臓の実重量が 100 ppm 以上の群、体重比の低値が 200 ppm 以上の群でみられた。

なお、200 または 400 ppm 群で卵巣、心臓、腎臓、肝臓及び脳の実重量や体重比の値に変化がみられたが、これらは投与群の搬出時体重の低値によるものと思われる。

### - 7 - 3 病理組織学的検査

病理組織学的検査は鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺、肝臓及び腎臓について行い、その結果を TABLE K1 ~ K6 に示す。

- 雄 -

[800 ppm 群：死亡動物 5 匹]

鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺、肝臓及び腎臓に変化がみられた。

鼻腔では、炎症性ポリープ（軽度）が 1 匹、移行上皮の壊死（中等度～重度）が 5 匹、剥離（中等度～重度）が 4 匹、組織内への炎症性細胞浸潤（軽度～中等度）が 5 匹、再生（軽度～重度）が 5 匹、扁平上皮化生（軽度）が 3 匹、呼吸上皮の壊死（軽度～重度）が 5 匹、剥離（軽度～中等度）が 3 匹、組織内への炎症性細胞浸潤（軽度）が 3 匹、再生（中等度～重度）が 5 匹、嗅上皮の壊死（中等度）が 5 匹、剥離（中等度～重度）が 5 匹、萎縮（中等度）が 5 匹、組織内への炎症性細胞浸潤（軽度～中等度）が 5 匹、嗅腺の萎縮（超重度）が 5 匹にみられた。また、呼吸部と嗅部の内腔に多数の好中球の浸潤を伴った滲出液（軽度～重度）が 5 匹にみられた。

鼻咽頭では、上皮の壊死（軽度～中等度）が 5 匹、組織内への炎症性細胞浸潤（軽度）が 3 匹、再生（高度）が 5 匹にみられた。

喉頭では、上皮の壊死（軽度～重度）が 4 匹、剥離（軽度～重度）2 匹、組織内への炎症性細胞浸潤（軽度～重度）が 5 匹、再生（軽度～重度）が 5 匹にみられた。

気管では、上皮の壊死（軽度～中等度）が 5 匹、剥離（中等度～重度）が 4 匹、組織内への炎症性細胞浸潤（軽度）が 2 匹、再生（軽度～中等度）が 5 匹にみられた。

肺では、気管支上皮の壊死（中等度～重度）が 5 匹、剥離（軽度）が 2 匹、水腫（中等度）が 5 匹、鬱血（重度）が 5 匹にみられた。

肝臓では肝細胞の壊死（中等度）が1匹にみられた。

腎臓では近位尿管の尿細管壊死（中等度）が2匹にみられた。

[400 ppm 群：生存動物 5 匹]

鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管及び肺に変化がみられた。

鼻腔では、炎症性ポリープ（中等度）が1匹、移行上皮の壊死（中等度～重度）が5匹、組織内への炎症性細胞浸潤（軽度～中等度）が5匹、再生（中等度）が5匹、過形成（軽度）が4匹、扁平上皮化生（軽度）が5匹、呼吸上皮の壊死（中等度～重度）が5匹、組織内への炎症性細胞浸潤（軽度）が5匹、再生（高度）が5匹、扁平上皮化生（軽度）が2匹、嗅上皮の壊死（軽度～中等度）が5匹、組織内への炎症性細胞浸潤（軽度～中等度）が5匹、呼吸上皮化生（軽度）が5匹、再生（高度）が5匹、嗅腺の萎縮（重度）が5匹にみられた。また、呼吸部と嗅部の内腔に多数の好中球の浸潤を伴った滲出液（軽度～重度）が5匹にみられた。

鼻咽頭では、上皮の壊死（軽度～中等度）が5匹、組織内への炎症性細胞の浸潤（軽度）が2匹、再生（高度）が5匹にみられた。

喉頭では、上皮の壊死（軽度）が5匹、剥離（軽度）が1匹、組織内への炎症性細胞浸潤（軽度）が2匹、再生（中等度～重度）が5匹にみられた。

気管では、上皮の壊死（軽度～中等度）が5匹、組織内への炎症性細胞浸潤（軽度）が1匹、再生（高度）が5匹、過形成（軽度）が2匹にみられた。

肺では、気管支の炎症（軽度～中等度）が5匹、気管支上皮の壊死（中等度～重度）が5匹、再生（軽度～中等度）が5匹にみられた。

[200 ppm 群：生存動物 5 匹]

鼻腔、鼻咽頭及び喉頭に変化がみられた。

鼻腔では、炎症性ポリープ（軽度）が1匹、移行上皮の壊死（軽度）が5匹、組織内への炎症性細胞浸潤（軽度）が1匹、再生（高度）が5匹、過形成（軽度～中等度）が3匹、呼吸上皮の壊死（軽度）が5匹、再生（高度）が5匹、嗅上皮の壊死（中等度）が5匹、再生（高度）が5匹、組織内への炎症性細胞浸潤（軽度～中等度）が5匹、嗅腺の萎縮（軽度）が5匹にみられた。また、嗅部の内腔に多数の好中球の浸潤を伴った滲出液（軽度～中等度）が5匹にみられた。

鼻咽頭では、上皮の壊死（軽度）が4匹、再生（高度）が5匹にみられた。

喉頭では、上皮の変性（軽度）が1匹にみられた。

[100 ppm 群：生存動物 5 匹]

鼻腔及び鼻咽頭に変化がみられた。

鼻腔では、移行上皮の再生（高度）が5匹、呼吸上皮の再生（高度）が5匹、エオジン好性変化（軽度）が3匹、嗅上皮の壊死（軽度～中等度）が5匹、組織内への炎症性細胞浸潤（軽度～中等度）が5匹、再生（高度）が5匹にみられた。また、嗅部の内腔に多数の好中球の浸潤を伴った滲出液（軽度）が4匹にみられた。

鼻咽頭では、剥離（軽度）が 1 匹、エオジン好性変化（軽度）が 3 匹、上皮の再生（高度）が 5 匹にみられた。

[50 ppm 群：生存動物 5 匹]

鼻腔及び鼻咽頭に変化がみられた。

鼻腔では、呼吸上皮のエオジン好性変化が 3 匹、嗅上皮の壊死（軽度）が 5 匹、組織内への炎症性細胞浸潤（軽度）が 4 匹、再生（高度）が 5 匹にみられた。

鼻咽頭では、エオジン好性変化（軽度）が 3 匹にみられた。

- 雌 -

[800 ppm 群：死亡動物 5 匹]

鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺及び腎臓に変化がみられた。

鼻腔では、炎症性ポリープ（軽度～中等度）が 4 匹、移行上皮の壊死（重度）が 5 匹、剥離（中等度）が 4 匹、組織内への炎症性細胞浸潤（軽度～中等度）が 5 匹、再生（中等度）が 5 匹、扁平上皮化生（軽度）が 5 匹、呼吸上皮の壊死（中等度～重度）が 5 匹、剥離（軽度）が 4 匹、組織内への炎症性細胞浸潤（軽度）が 5 匹、再生（中等度～重度）が 5 匹、嗅上皮の壊死（軽度～中等度）が 5 匹、剥離（軽度～中等度）が 5 匹、萎縮（中等度）が 5 匹、組織内への炎症性細胞浸潤（軽度）が 3 匹、嗅腺の萎縮（超重度）が 5 匹にみられた。また、呼吸部と嗅部の内腔に多数の好中球の浸潤を伴った滲出液（軽度～重度）が 5 匹にみられた。

鼻咽頭では、上皮の壊死（軽度～中等度）が 5 匹、組織内への炎症性細胞浸潤（軽度）が 4 匹、再生（中等度～重度）が 5 匹にみられた。

喉頭では、上皮の壊死（軽度～重度）が 4 匹、剥離（重度）1 匹、組織内への炎症性細胞浸潤（軽度～重度）が 5 匹、再生（中等度～重度）が 5 匹、過形成（軽度～中等度）が 4 匹にみられた。

気管では、上皮の壊死（中等度～重度）が 5 匹、剥離（中等度～重度）が 5 匹、組織内への炎症性細胞浸潤（軽度）が 2 匹、再生（軽度～中等度）が 5 匹にみられた。

肺では、気管支上皮の壊死（重度）が 5 匹、水腫（中等度）が 5 匹、鬱血（重度）が 5 匹にみられた。

腎臓では近位尿管の尿管壊死（軽度～中等度）が 2 匹にみられた。

[400 ppm 群：生存動物 5 匹]

鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管及び肺に変化がみられた。

鼻腔では、炎症性ポリープ（軽度～中等度）が 3 匹、移行上皮の壊死（軽度～重度）が 5 匹、再生（中等度）が 5 匹、過形成（軽度）が 2 匹、扁平上皮化生（軽度）が 5 匹、組織内への炎症性細胞浸潤（軽度～中等度）が 5 匹、呼吸上皮の壊死（軽度～重度）が 5 匹、再生（高度）が 5 匹、組織内への炎症性細胞浸潤（軽度）が 5 匹、嗅上皮の壊死（軽度～重度）が 5 匹、呼吸上皮化生（軽度）が 4 匹、再生（高度）が 5 匹、組織内への炎症性細胞

胞浸潤（軽度～中等度）が5匹、嗅腺の萎縮（重度）が5匹にみられた。また、呼吸部と嗅部の内腔に多数の好中球の浸潤を伴った滲出液（軽度～重度）が5匹にみられた。

鼻咽頭では、上皮の壊死（軽度～中等度）が5匹、組織内への炎症性細胞の浸潤（軽度）が2匹、再生（高度）が5匹にみられた。

喉頭では、上皮の壊死（軽度～重度）が5匹、剥離（軽度）が3匹、組織内への炎症性細胞浸潤（軽度～重度）が4匹、過形成（軽度）が1匹、再生（中等度）が5匹にみられた。

気管では、上皮の壊死（軽度～中等度）が5匹、剥離（軽度）が3匹、組織内への炎症性細胞浸潤（軽度）が3匹、再生（中等度）が5匹、扁平上皮化生（軽度）が1匹にみられた。

肺では、気管支の炎症（軽度～重度）が5匹、気管支上皮の壊死（中等度～重度）が5匹、再生（軽度～中等度）が5匹にみられた。

[200 ppm 群：生存動物5匹]

鼻腔、鼻咽頭、喉頭及び気管に変化がみられた。

鼻腔では、移行上皮の壊死（軽度）が5匹、再生（高度）が5匹、過形成（軽度）が5匹、呼吸上皮の壊死（軽度）が5匹、再生（高度）が5匹、嗅上皮の壊死（中等度）が5匹、組織内への炎症性細胞浸潤（軽度～中等度）が5匹、再生（高度）が5匹、嗅腺の萎縮（軽度）が4匹にみられた。また、嗅部の内腔に多数の好中球の浸潤を伴った滲出液（中等度）が5匹にみられた。

鼻咽頭では、上皮の壊死（軽度）が5匹、再生（高度）が5匹にみられた。

喉頭では、上皮の変性（軽度）が2匹にみられた。

気管では、上皮の変性（軽度）が1匹にみられた。

[100 ppm 群：生存動物5匹]

鼻腔及び鼻咽頭に変化がみられた。

鼻腔では、移行上皮の再生（高度）が5匹、呼吸上皮のエオジン好性変化（軽度）が4匹、再生（高度）が5匹、嗅上皮の壊死（中等度）が5匹、組織内への炎症性細胞浸潤（中等度）が5匹、再生（高度）が5匹にみられた。また、嗅部の内腔に多数の好中球の浸潤を伴った滲出液（軽度～中等度）が4匹にみられた。

鼻咽頭では、エオジン好性変化（軽度）が1匹、上皮の再生（高度）が5匹にみられた。

[50 ppm 群：生存動物5匹]

鼻腔及び鼻咽頭に変化がみられた。

鼻腔では、呼吸上皮のエオジン好性変化（軽度）が4匹、嗅上皮の壊死（軽度～中等度）が5匹、組織内への炎症性細胞浸潤（軽度）が5匹、再生（中等度～重度）が5匹にみられた。また、嗅部に滲出液（軽度）が1匹にみられた。

鼻咽頭では、エオジン好性変化（軽度～中等度）が4匹にみられた。



## 考察及びまとめ

アクリル酸メチ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、アクリル酸メチルの投与濃度は、0(対照群)、50、100、200、400及び800 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、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。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。

### - 1 用量 - 反応関係

アクリル酸メチルの投与は、ウサギの皮膚及び眼球に強い刺激性を示し、また、多くの哺乳動物の気道系組織に刺激性を示すことから、ECETOC(欧州化学物質生態毒性および毒性センター)はアクリル酸メチルの主な毒性は接触部位における刺激性または腐食性と結論している(文献8)。本試験においても、アクリル酸メチルの刺激によると思われる暴露濃度に依存した変化が呼吸器を中心に多くみられた。

アクリル酸メチルの暴露の結果、800 ppm群で雌雄とも投与2週の1日目までに全動物が死亡した。一般状態の観察では、雌雄とも主に呼吸に異常がみられた。初回の暴露直後から異常呼気音や不整呼吸がみられ、自発運動量の減少もみられた。剖検では、雌雄に胸腺の萎縮、肺の赤色斑または赤色化が数匹にみられ、呼吸障害により食道を経由して呼気が消化器に流入したガス貯留が胃、小腸または大腸にみられた。病理組織学的検査では、アクリル酸メチルの刺激により、鼻腔から肺にかけての呼吸器に非常に強い急性・壊死性変化が雌雄ともにみられた。鼻腔においては、移行上皮、呼吸上皮及び嗅上皮に壊死や剥離等の顕著な傷害性変化がみられ、それぞれの組織内には炎症性細胞の浸潤がみられた。また、嗅腺には萎縮がみられ、呼吸部と嗅部の内腔に多数の好中球の浸潤を伴った滲出液もみられた。一方、移行上皮と呼吸上皮には再生や扁平上皮化生などの傷害部位の修復に関連する所見もみられ、これら修復に係わる所見の程度は軽度のものから高度のものまでであった。鼻腔に続く、鼻咽頭でも上皮の壊死と再生が同時にみられ、組織内への炎症性細胞浸潤もみられた。喉頭以下の下気道においても、喉頭と気管で上皮の炎症を伴う剥離や壊死と同時に再生がみられ、喉頭では上皮の過形成もみられた。肺では鬱血、水腫、気管支上皮の壊死等がみられた。800 ppm群におけるこれらの呼吸器(鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺)にみられた炎症を伴う強い傷害性変化、特に肺水腫が主な死因と考えられた。また、泌尿器系への影響としては病理組織学的検査で腎臓に近位尿細管の壊死がみられた。

400 ppm 以下の群に死亡はみられなかった。400 ppm 群では、一般状態の観察において呼吸器の傷害に直接関連する所見はみられなかったが、雌で立毛と円背位が 1 匹にみられた。体重は雌雄とも投与開始後、群構成時よりも減少し、最終体重は対照群に対し、雌雄とも 69% であった。摂餌量は、雄は投与 1 週目、雌は投与期間を通して低値であり、投与期間中の平均摂餌量は対照群に対し、雄 79%、雌 69% であった。剖検では、胸腺の萎縮が雌雄の全動物にみられた。臓器重量は雌雄の肺の体重比の高値がみられ、胸腺及び脾臓の実重量と体重比に低値がみられた。病理組織学検査では、鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管及び肺に強い傷害性の変化がみられた。鼻腔では、雌雄とも移行上皮と呼吸上皮及び嗅上皮に炎症性細胞浸潤を伴った重度の壊死、呼吸部と嗅部の鼻腔の内腔には化膿性滲出液がみられた。鼻咽頭、喉頭及び気管の上皮にも炎症性細胞浸潤を伴った重度の壊死がみられた。肺では気管支の炎症と気管支上皮の壊死がみられた。一方、傷害を受けた組織では修復所見も同時にみられ、多くの傷害部位は再生組織による修復がみられた。また、移行上皮には過形成と扁平上皮化生、呼吸上皮には扁平上皮化生、嗅腺に呼吸上皮化生、気管上皮には過形成もみられた。血液学的検査では、雌雄に血小板数と好中球比の高値、網赤血球比及びリンパ球比等の低値がみられた。また、血液生化学的検査では、雌雄に ALP、トリグリセライド、グルコース及びリン脂質の低値と AST、ALT、LDH 及び CK の高値がみられ、さらに雌には総ビリルビンの高値もみられたが、肝臓や腎臓の病理組織学的検査結果にこれらのパラメーターに関連した変化はなかった。

200 ppm 群では、雌雄とも体重に増加の抑制がみられ、最終体重は対照群に対し、雄 83%、雌 86% であった。摂餌量は、雄は投与 1 週目、雌は投与期間を通して低値であり、投与期間中の平均摂餌量は対照群に対し、雌雄とも 83% であった。臓器重量は雌雄の胸腺及び脾臓の実重量と体重比がいずれも低値であり、雄では肝臓の実重量と体重比も低値であった。病理組織学検査では、雌雄に鼻腔、鼻咽頭及び喉頭に変化がみられ、雌には気管にも変化がみられた。雌雄とも鼻腔の移行上皮、呼吸上皮、嗅上皮及び鼻咽頭の上皮に炎症性細胞の浸潤を伴った壊死がみられ、その程度は多くは軽度または中等度であった。また、鼻腔の嗅腺には萎縮がみられ、嗅部の鼻腔内腔には化膿性滲出液がみられた。これらの組織では、傷害と同時に再生組織による修復もみられ、移行上皮には過形成もみられた。また、喉頭上皮の変性が雌雄に、気管上皮の変性が雄にみられた。血液生化学的検査では、雌雄に ALP、尿素窒素の低値と総ビリルビンの高値、雄に A/G 比とカルシウムの高値がみられたが、肝臓や腎臓の病理組織学的検査結果にこれらのパラメーターに関連した変化はなかった。

100 ppm 群では、雌雄とも体重の増加の抑制がみられ、最終体重は対照群に対し、雌雄とも 89% であった。摂餌量は、雄は投与 1 週目、雌は投与期間を通して低値であり、投与期間中の平均摂餌量は対照群に対し、雄 88%、雌 86% であった。臓器重量は雌雄の胸腺の実重量と体重比がいずれも低値であり、雄で脾臓の実重量と体重比、肝臓の実重量、雌で脾臓の実重量が低値であった。病理組織学検査では、雌雄の鼻腔及び鼻咽頭に変化がみられた。鼻腔組織の傷害性の変化は嗅上皮にのみに炎症を伴う軽度から中等度の壊死がみられ、嗅部の鼻腔内腔

には化膿性滲出液がみられた。このほか鼻腔では、移行上皮と呼吸上皮域においては再生上皮による修復がみられ、呼吸上皮にはエオジン好性変化もみられた。鼻咽頭では、再生上皮による修復とエオジン好性変化がみられた。血液生化学的検査では、雌雄に ALP の低値がみられ、雄に尿素窒素の低値並びに A/G 比とカルシウムの高値がみられたが、肝臓や腎臓の病理組織学的検査結果にこれらのパラメーターに関連した変化はなかった。

50 ppm 群では、体重は雌雄とも 1 週の 2 日目のみ低値がみられ、最終体重は対照群に対し、雄 95%、雌 97%であった。摂餌量は、対照群と比較して雌雄ともに差はみられず、投与期間中の平均摂餌量は対照群に対し、雄 95%、雌 97%であった。病理組織学検査において、雌雄の鼻腔及び鼻咽頭に変化がみられた。嗅上皮では、雌雄とも炎症を伴う壊死がみられたが、多くは軽度であり、再生組織によるほぼ完全な修復がみられた。このほか、鼻咽頭では、雌雄の上皮にエオジン好性変化がみられた。血液生化学的検査では、雌雄に尿素窒素の低値がみられたが、肝臓や腎臓の病理組織学的検査結果に関連した変化はなかった。臓器重量は、雄の脾臓の実重量と体重比が低値であった。

## - 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、800 ppm 群では主に肺水腫が原因で、雌雄とも全ての動物が死亡した。400 ppm 以下の群では死亡はみられなかった。400 ppm 群では雌雄とも顕著な体重増加の抑制（最終体重は対照群に対して雌雄とも 69%）、摂餌量の低値、解剖時の肉眼的観察における胸腺の萎縮に加え、病理組織学的検査では、雌雄とも、鼻腔、鼻咽頭管、喉頭、気管及び肺にアクリル酸メチルの刺激による上皮傷害性または炎症性の変化が多くみられ、400 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。200 ppm 群では、剖検観察で特記所見がみられず、病理組織学的検査結果においても 400 ppm 群よりも毒性影響が減弱されていることが示された。しかし、雌雄とも体重増加の抑制（最終体重は対照群に対して雄：83%、雌：86%）が顕著であり、200 ppm も 13 週間試験の最高濃度としては高すぎると考えられた。100 ppm 群でも雌雄とも体重増加の抑制がみられたが、最終体重は対照群に対して雌雄とも 89%であった。また、病理組織学的検査では、雌雄とも鼻腔から鼻咽頭管にかけて被験物質の刺激性による変化がみられたが、その多くは軽度であり、組織の傷害所見よりも再生所見の方が優勢となり、動物の生死に関わるものではないと判断した。これらのことから、13 週間試験の最高濃度は 100 ppm が適切と考えた。

従って、13 週間試験の投与濃度は 100 ppm を最高濃度として、以下、50、25、12.5 及び 6.3 ppm（公比 2）とした。

## 文献

1. U.S. National Library of Medicine. Hazardous Substances Data Bank (HSDB). Available: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB> [accessed 2012/1/4].
2. McLafferty FW, ed. 1994. Wiley Registry of Mass Spectral Data. 6th ed. New York, NY: John Wiley and Sons.
3. BASF, 1979. Bericht über die Bestimmung der akuten Inhalationstoxizität LC50 von Methylacrylat bei 4 stündiger Exposition an Sprague-Dawley-Ratten (nüchtern). Hofman HT, Klimisch HJ and Freisberg KO. BASF, Ludwigshafen. (ECETOC. 1998. Joint Assessment of Commodity Chemicals No. 37 から引用)
4. BASF, 1979. Bericht über die Bestimmung der akuten Inhalationstoxizität LC50 von Methylacrylat bei 4 stündiger Exposition an NMRI-Mäusen (nüchtern). Hofman HT, Klimisch HJ and Freisberg KO. BASF, Ludwigshafen. (ECETOC. 1998. Joint Assessment of Commodity Chemicals No. 37 から引用)
5. BASF, 1978. Bericht über die Prüfung der subakuten Toxizität von Methylacrylat im Inhalations-versuch an Sprague-Dawley-Ratten (12 Wochen). Klimisch HJ, Deckardt K, Freisberg KO and Mirea D. BASF, Ludwigshafen. (ECETOC. 1998. Joint Assessment of Commodity Chemicals No. 37 から引用)
6. Reininghaus W, Koestner A and Klimisch H-J, 1991. Chronic toxicity and oncogenicity of inhaled methyl acrylate and n-butyl acrylate in Sprague-Dawley rats. *Fd Chem Toxic* 29, 329-339.
7. 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.
8. ECETOC. 1998. Joint Assessment of Commodity Chemicals No. 37

予見することのできなかつ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つたこと

予見することのできなかつた試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態はなかつた。