

ブチルアルデヒドのラットを用いた
吸入による 13 週間毒性試験報告書

試験番号：0897

CAS No. 123-72-8

2019 年 3 月 5 日

独立行政法人 労働者健康安全機構
日本バイオアッセイ研究センター

目次

標題
試験目的
試験法
GLP 対応
動物福祉
厚生労働省担当課
試験施設及び運営管理者
試験日程
試験関係者一覧
試験資料の保管
試験責任者（最終報告書作成者）の署名、捺印及び日付
陳述書
信頼性保証証明書
本文
TABLES	A ~ L2
FIGURES	1 ~ 5
APPENDICES	1-1 ~ 3

標題

ブチルアルデヒドのラットを用いた吸入による 13 週間毒性試験

試験目的

ブチルアルデヒドの吸入による長期がん原性試験の投与濃度を決定するために、ブチルアルデヒドをラットに 13 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 413（亜慢性吸入毒性：90 日試験 2009 年 9 月 7 日採択）を参考にして実施した。

GLP 対応

本試験は、「労働安全衛生規則第 34 条の 3 第 2 項の規定に基づく試験施設等が具備すべき基準（安衛法 GLP）」（昭和 63 年 9 月 1 日労働省告示第 76 号、最終改正平成 28 年 4 月 18 日厚生労働省告示第 208 号）に準拠し、OECD GLP（1997 年 11 月 26 日採択）に準じて実施した。

動物福祉

本試験は、「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 4 月 28 日環境省告示第 88 号、最終改正平成 25 年 8 月 30 日環境省告示第 84 号）、「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指針」（平成 18 年 6 月 1 日厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知、最終改正平成 27 年 2 月 20 日厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知）及び「日本バイオアッセイ研究センターにおける動物実験等に関する規程」（平成 24 年 4 月 25 日制定、最終改正平成 28 年 4 月 1 日）を遵守して行った。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審査された（承認番号 0187）。

厚生労働省担当課

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

ブチルアルデヒドのラットを用いた
吸入による 13 週間毒性試験報告書

試験番号：0897

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 構造式及び分子量	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 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 群分け方法	6
-2-3 動物の個体識別方法	6
-2-4 使用飼育室、他試験及び異種動物との区別	6
-2-5 飼育条件	7
(1) 飼育環境	7
(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 尿検査	9
-3-7 病理学的検査	9
(1) 肉眼的観察	9
(2) 臓器重量	9
(3) 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	12
-7 尿検査	13
-8 病理学的検査	13
-8-1 肉眼的観察	13
-8-2 臓器重量	14
-8-3 病理組織学的検査	14
考察及びまとめ	16
-1 用量-反応関係	16
-2 最小毒性量 (LOAEL)	17
-3 がん原性試験 (104 週間試験) の濃度決定	17
文献	18

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 19

要約

ブチルアルデヒドのがん原性試験を検索する目的で、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13週間試験を実施した。

本試験は、投与群4群、対照群1群の計5群(各群雌雄とも10匹)を設け、ブチルアルデヒドの投与(暴露)濃度は、0(対照群)、100、300、1,000及び3,000 ppm(v/v)とした。投与期間は、1日6時間、1週5日間の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、体重及び摂餌量の測定、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、解剖時の肉眼的観察、臓器重量の測定及び病理組織学的検査を行った。

ブチルアルデヒドをラットに暴露した結果、雌雄各群に死亡は認められなかった。特記すべき一般状態の変化はみられなかったが、3,000 ppm群の雄で体重増加の抑制及び摂餌量の低値がみられた。同群の最終体重及び摂餌量は、対照群に対して、それぞれ91%であった。3,000 ppm群の雌でも、投与期間の中盤までは体重増加の抑制が認められた。しかし、中盤以降は対照群との差は僅かとなった。雌の最終体重及び摂餌量は対照群に対して、96%と98%であった。血液学検査、血液生化学検査及び尿検査では、特記すべき変化はみられなかった。肉眼的観察(剖検)では、雌雄の少数に肺の白色斑が観察され、病理組織学的検査で肺胞内の泡沫状細胞の集簇巣と診断された。臓器重量では、3,000 ppm群の雄で肝臓及び胸腺の低値がみられたが、これらに対応した病理組織学的所見は認められなかった。病理組織学的検査では、鼻腔と喉頭に被検物質による影響が認められた。鼻腔では、呼吸上皮の扁平上皮化生が3,000 ppm群の雌雄の全例に認められた。この変化は、雄では最低濃度の100 ppm群まで認められたが、雌は最高濃度の3,000 ppm群のみの変化であり、所見に性差が認められた。さらに、鼻腔では、嗅上皮の萎縮が1,000 ppm群以上の雌雄全例にみられ、嗅上皮の扁平上皮化生が3,000 ppmの雌雄の少数に認められた。喉頭では、扁平上皮化生が3,000 ppm群の雌雄の半数に認められた。

これらの結果から、呼吸器に対する毒性の程度は、最高投与群の3,000 ppm群においても軽度であり、3,000 ppmの濃度で104週間試験を実施しても、動物の生死にかかわる重篤な変化は引き起こさないと判断し、がん原性試験(104週間)試験の投与濃度は、300、1,000、3,000ppmを設定した。

試験材料

-1 被験物質の性状等

-1-1 名称等

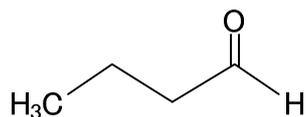
名 称 : ブチルアルデヒド (Butyraldehyde)

別 名 : ブタナール (Butanal)

C A S N o . : 123-72-8

-1-2 構造式及び分子量 (文献 1)

構造式 :

分子式 : CH₃(CH₂)₂CHO

分子量 : 72.1

-1-3 物理化学的性状等 (文献 1)

性 状 : 刺激臭のある、無色の液体

相対蒸気密度 : 2.5 (空気=1)

沸 点 : 74.8

蒸 気 圧 : 12.2 kPa (20)

溶 解 性 : 7 g/100 mL (水)

保 管 条 件 : 室温、暗所

-2 被験物質の使用ロット等

製造元 : 和光純薬工業(株)

規格 : 和光一級

純度 : 99.9 % (和光純薬工業(株)検査成績データ)

ロット番号 : DSN3084

－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、この測定値を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）と同じ分子イオンピーク及びフラグメントピークを示し、被験物質はブチルアルデヒド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ズ(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、ブチルアルデヒド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）の **F344/DuCrI CrIj** ラット（**SPF**）の雌雄を使用した。

雌雄各 55 匹を 4 週齢で導入し、検疫を 7 日間、馴化を 7 日間実施した後、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 50 匹（群構成時体重範囲、雄：102～117g、雌：89～98g）を選別し、試験に用いた。

なお、がん原性試験に **F344/DuCrI CrIj** ラット（**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 投与方法

投与は、試験動物を収容した吸入チャンバーに、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13週間とし、計62回の暴露を行った。

－1－4 投与濃度

投与濃度は雌雄ともに、100、300、1,000及び3,000 ppm（体積比 v/v）の4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

投与時間は OECD 化学品テストガイドライン 413 に従い1日6時間とした（文献3）。

投与濃度は、ブチルアルデヒドの2週間吸入暴露試験結果（試験番号 0888、暴露濃度：雌雄ともに、100、300、1,000 及び 3,000 ppm）を参考に設定した。その結果、最高投与群の 3,000 ppm 群の雄で軽度な体重増加の抑制傾向がみられ、関連して軽度な摂餌量の低値も認められた。暴露後の観察で、1週目には雌雄のほぼ全例にブチルアルデヒドの鼻腔への刺激によると思われる異常鼻音が観察されたが、2週目以降にはその数が減少した。2週目以降には多くの動物が刺激に適応したと推察した。病理組織学的検査でも、刺激性物質の反復吸入暴露による反応として知られる症性細胞浸潤、並びに好中球を主体とする滲出液が認められ、また、炎症、変性、壊死の修復性変化あるいは適応性変化である呼吸上皮の扁平

上皮化生が認められた。雌雄とも鼻腔への刺激及びこれに対応する変化が観察されたが、これらの鼻腔に対する毒性の程度は、最高投与群の **3,000 ppm** 群においても軽度と判断し、**3,000 ppm** の濃度で **13** 週間試験を実施した場合でも、動物の生死にかかわる重篤な変化は引き起こさないと考えた。従って、**13** 週間試験の投与濃度は、**2** 週間試験と同じく、**3,000 ppm** を最高濃度とし、以下、**1,000**、**300** 及び **100 ppm** を設定した。

－1－6 被験物質の発生方法と濃度調整

ブチルアルデヒドの発生方法を **FIGURE 1** に示した。

循環式恒温槽で一定温度にした被験物質を窒素バブリングにより蒸発させ、この被験物質の蒸気を被験物質供給装置（柴田科学(株)特注）に導入し、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。

濃度測定結果は **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（ $(\text{平均値} - \text{設定濃度}) / \text{設定濃度} \times 100$ ）が **0.6** %以内、変動係数（標準偏差 / 平均値 $\times 100$ ）が **2.1** %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 4 群及び対照群 1 群の計 5 群を設け、各群雌雄各 10 匹の動物を用いた。

各群の使用動物数と動物番号

群 番 号	群 名 称	雄	雌
		使用動物数(動物番号)	使用動物数(動物番号)
0	対 照 群	10 匹 (1001 ~ 1010)	10 匹 (2001 ~ 2010)
1	100 ppm群	10 匹 (1101 ~ 1110)	10 匹 (2101 ~ 2110)
2	300 ppm群	10 匹 (1201 ~ 1210)	10 匹 (2201 ~ 2210)
3	1,000 ppm群	10 匹 (1301 ~ 1310)	10 匹 (2301 ~ 2310)
4	3,000 ppm群	10 匹 (1401 ~ 1410)	10 匹 (2401 ~ 2410)

－2－2 群分け方法

群分けは、検疫・馴化の結果、一般状態及び体重の推移等に異常を認めない動物を用いて、体重の中央値に近い雌雄各 50 匹を選別し、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 4)

群分けにより除外された動物は、投与開始までの試験動物の事故等に対応するために待機飼育させ、投与開始を確認後、本試験系から除外した。

－2－3 動物の個体識別方法

動物の個体識別は、検疫・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なった。また、ケージには個体識別番号を記したラベルを付した。

－2－4 使用飼育室、他試験及び異種動物との区別

動物はバリア区域内の独立した室(検疫室：605室、吸入試験室：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。

－2－5 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（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の材質・形状・寸法等を以下に示した。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 ± 2 < 605室； 23.1 ± 0.1 >
 吸入試験室； 21 ± 2 < 604室； 20.8 ± 0.2 >
 吸入チャンバー内；20～24

湿度： 検疫室； $55 \pm 15\%$ < 605室； $56 \pm 1\%$ >
 吸入試験室； $55 \pm 15\%$ < 604室； $57 \pm 1\%$ >
 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 ± 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： 検疫期間；群飼育（5匹または2匹/ケージ）
 馴化・投与期間；個別飼育

ケージの材質・形状・寸法等：

検疫期間；ステンレス製群飼用網ケージ（340(W)×294(D)×176(H) mm）

馴化・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、オリエンタル酵母工業(株)製造の CR-LPF 固型（30kGy-線照射滅菌飼料）を自由摂取させた。ただし、定期解剖前日の夕方からは絶食させた。

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)の分析データ入手し、確認した。

(3) 飲水

飲水は、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、自動給水ノズルから自由摂取させた。

飲水の水質は、動物試験施設として定期的（年 2 回）に実施している水道水の検査において、水道法に定められている水質基準に適合していることを確認した。

－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

暴露日は吸入暴露前に、非暴露日は午前中に生死及び瀕死を確認し、週1回、全動物について、吸入暴露前の一般状態を詳細に観察した。

－3－2 体重測定

週 1 回、全動物について、吸入暴露前の体重を測定した。また、定期解剖日には絶食後の体重（搬出時体重）を測定した。

－3－3 摂餌量測定

週 1 回、全動物について、給餌量及び残餌量を測定し、その値から 1 匹に対して 1 日当たり（1 匹/日）の摂餌量を算出した。

－3－4 血液学的検査

全動物について、剖検直前にイソフルラン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、得られる血漿を用いて、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：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、白血球数、白血球分類

－3－5 血液生化学的検査

全動物について、剖検直前にイソフルラン麻酔下で腹大動脈からヘパリンリチウム入り採血管に採血し、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

ル、トリグリセライド、リン脂質、AST、ALT、LDH、ALP、 γ -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

－3－6 尿検査

投与期間終期に全動物の新鮮尿を採取し、尿試験紙（マルティスティックス、シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス社）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

－3－7 病理学的検査

（1）肉眼的観察

全動物についてイソフルラン麻酔下で放血することにより安楽死させ、全身の肉眼的観察を行った。

（2）臓器重量

下記に示す臓器の湿重量（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。

皮膚、鼻腔（3箇所を横断）、鼻咽頭、喉頭、気管、肺、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、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、胸骨）

－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、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。

血液学的検査及び血液生化学的検査は、APPENDIX 3 に示す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、上記に示す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。

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各投与群との間でまず F 検定を行い、分散が等しい場合は Student の t 検定を、分散が等しくない場合には Aspin-Welch の t 検定を行った。

病理組織学的検査の非腫瘍性病変については、所見の見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、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 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。

試験成績

－1 生死状況

生死状況を TABLE B 1, 2 に示した。

－雌雄－

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 C 1, 2 に示した。

－雌雄－

特記すべき変化は認められなかった。

－3 体重

体重の推移を TABLE D 1～4 及び FIGURE 2, 3 に示した。

－雄－

3,000 ppm 群で 2 週から 13 週にかけて統計学的に有意な低値がみられ、軽度な体重増加の抑制がみられた。この他の投与群の体重は、投与期間を通して順調に増加し、対照群との間に差はみられなかった。

投与群の最終体重は対照群に対し、**100 ppm** 群：97 %、**300 ppm** 群：99 %、**1,000 ppm** 群：99 %、**3,000 ppm** 群：91 %であった。

－雌－

3,000 ppm 群で投与期間の 4 週を除く 7 週までの全週及び 12 週で統計学的に有意な低値がみられ、対照群より低値で推移した。この他の投与群の体重は、順調に増加し投与期間を通して対照群と同等あるいは高値で推移した。

投与群の最終体重は対照群に対し、**100 ppm** 群：101 %、**300 ppm** 群：102 %、**1,000 ppm** 群：102 %、**3,000 ppm** 群：96%であった。

－4 摂餌量

摂餌量を TABLE E 1～4 及び FIGURE 4, 5 に示した。

－雄－

3,000 ppm 群で投与期間を通して統計学的に有意な低値がみられた。この他、100 ppm 群で投与期間終盤に有意な低値を示した週が散見された。

13 週間の平均摂餌量 (対照群に対する百分率) は、対照群 : 17.8g、100 ppm 群 : 17.1g、(96%)、300 ppm 群 : 17.3g (97%)、1,000 ppm 群 : 17.2g (97%)、3,000 ppm 群 : 15.9g (89%) であった。

－雌－

3,000 ppm 群で投与期間の 6 週まで統計学的に有意な低値がみられたが、7 週以降は、統計学的な有意差は認められず、対照群より高値を示す週も観察された。1,000 ppm 以下の群では、対照群と比較して有意な高値を示した週が散見された。

13 週間の平均摂餌量 (対照群に対する百分率) は、対照群 : 11.7g、100 ppm 群 : 12.0g (103%)、300 ppm 群 : 11.7g (100%)、1,000 ppm 群 : 12.2g (104%)、3,000 ppm 群 : 11.1g (95%) であった。

－5 血液学的検査

血液学的検査の結果を TABLE F 1, 2 に示した。プロトロンビン時間及び活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) については、検査機器の不具合により各群とも動物番号後半の 5 匹の測定を行えなかったため、前半 5 匹の検査データで評価を行った。また、雌の 100 ppm 群の 1 匹 (動物番号 2109) については、血液凝固により検査が行えなかった。

－雌雄－

特記すべき変化は認められなかった。

－6 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を TABLE G1, 2 に示した。

－雄－

3,000 ppm 群で総蛋白、アルブミン、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、ALP、LDH の低値がみられた。これらは、体重の低値に由来するものと考え、ブチルアルデヒドの投与による影響とは考えなかった。この他、投与群で濃度と対応してカルシウムの低値がみられ、3,000 ppm 群で A/G 比の高値がみられた。これらの検査結果は、いずれも軽微なものであり、ブチルアルデヒドの毒性影響とは考えなかった。

—雌—

3,000 ppm 群で ALP の高値がみられた。しかし、関連する検査項目に変化がみられなかったことから、ブチルアルデヒドの毒性影響とは考えなかった。また、3,000 ppm 群で総蛋白、総コレステロール、リン脂質の低値がみられたが、これらの検査結果は、体重の低値に由来するものと考え、ブチルアルデヒドの毒性影響とは考えなかった。この他、3,000 ppm 群でナトリウムの低値がみられたが、軽微な変化であり、ブチルアルデヒドの毒性影響とは考えなかった。

—7 尿検査

尿検査の結果を TABLE H 1, 2 に示した。

—雌雄—

特記すべき変化は認められなかった。

—8 病理学的検査

—8-1 肉眼的観察

肉眼的観察（剖検）結果を TABLE I1, 2 に示した。

—雄—

肺の白色斑が 3,000 ppm 群で 3 匹、1,000 ppm 群で 2 匹、300 ppm 群、100 ppm 群及び対照群でそれぞれ 1 匹認められた。

その他、肝臓のヘルニアが散見されたが、投与による影響とは考えなかった。なお、肺の白色斑は、病理組織学的検査により肺胞内の泡沫状細胞の集簇巣として認められ、泡沫状細胞の出現と診断された。

—雌—

肺の白色斑が 1,000 ppm 群で 2 匹、300 ppm 群で 1 匹認められた。

その他、眼球の白色が 3,000 ppm で 1 匹認められ、肝臓のヘルニアが散見されたが、これらは、投与による影響とは考えなかった。なお、眼球の白色は、病理組織学的検査により白内障と診断された。

－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について、TABLE J 1, 2 及び TABLE K1, 2 に示した。

－雄－

3,000 ppm 群で肝臓及び胸腺の低値（実重量及び体重比）がみられた。

－雌－

実重量及び体重比で同様な統計学的な有意差を示した臓器は、みられなかった。

－8－3 病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果を TABLE L1, 2 に示した。

－雄－

[3,000 ppm 群]

鼻腔で呼吸上皮の扁平上皮化生（軽度から中程度 10 匹）及び嗅上皮の萎縮（中程度から重度 10 匹）の発生増加が認められ、嗅上皮の扁平上皮化生（軽度 1 匹）が認められた。また、喉頭で上皮の扁平上皮化生（軽度 4 匹）、肺で泡沫状細胞の出現（軽度 4 匹）が認められた。

[1,000 ppm 群]

鼻腔で嗅上皮の萎縮（軽度から中程度 10 匹）の発生増加が認められ、呼吸上皮の扁平上皮化生（軽度 2 匹）が認められた。また、肺で泡沫状細胞の出現（軽度 1 匹）が認められた。

[300 ppm 群]

鼻腔で呼吸上皮の扁平上皮化生（軽度 1 匹）が認められた。また、肺で泡沫状細胞の出現（軽度 1 匹）が認められた。

[100 ppm 群]

鼻腔で呼吸上皮の扁平上皮化生（軽度 1 匹）が認められた。また、肺で泡沫状細胞の出現（軽度 1 匹）が認められた。

[対照群]

特記すべき変化はみられなかった。

その他、鼻腔で呼吸上皮の炎症、嗅上皮の呼吸上皮化生、腺の呼吸上皮化生、喉頭及び気管で炎症性細胞の浸潤が認められた。また、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、下垂体、甲状腺、副腎、精巣、精巣上体及びハーダー腺に病変がみられたが、これらは、いずれも対照群と投与

群との間で発生例数に差が認められないこと及び暴露濃度との対応が認められないことから投与による影響とは考えなかった。

—雌—

[3,000 ppm 群]

鼻腔で呼吸上皮の扁平上皮化生（軽度から中程度 10 匹）及び嗅上皮の萎縮（中程度から重度 10 匹）の発生増加が認められ、嗅上皮の扁平上皮化生（軽度 1 匹）が認められた。また、喉頭で上皮の扁平上皮化生（軽度 5 匹）の発生増加が認められた。肺で泡沫状細胞の出現（軽度 3 匹）が認められた。

[1,000 ppm 群]

鼻腔で嗅上皮の萎縮（軽度から中程度 10 匹）の発生増加が認められた。肺で泡沫状細胞の出現（軽度 2 匹）が認められた。

[300 ppm 群]

特記すべき変化はみられなかった。

[100 ppm 群]

肺で泡沫状細胞の出現（軽度 1 匹）がみられた。

[対照群]

肺で泡沫状細胞の出現（軽度 1 匹）がみられた。

その他、鼻腔で呼吸上皮の炎症、鼻腔の腺の呼吸上皮化生認められた。また、骨髄、リンパ節、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、下垂体、甲状腺、副腎、子宮、眼及びハーダー腺に病変が認められたが、いずれも対照群と投与群との間で発生例数に差が認められないこと及び暴露濃度との対応が認められないことから投与による影響とは考えなかった。

考察及びまとめ

ブチルアルデヒドのがん原性試験を検索する目的で、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13週間試験を実施した。

本試験は、投与群4群、対照群1群の計5群(各群雌雄とも10匹)を設け、ブチルアルデヒドの投与(暴露)濃度は、0(対照群)、100、300、1,000及び3,000 ppm(v/v)とした。投与期間は、1日6時間、1週5日間の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、体重及び摂餌量の測定、尿検査を行い、投与期終了後、動物を解剖し、血液学的検査、血液生化学的検査、解剖時の肉眼的観察、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

ブチルアルデヒドを0(対照群)、100、300、1,000及び3,000 ppmの濃度で13週間(62回)、雌雄のF344/DuCr1Cr1j ラットに暴露した結果、各群に死亡は認められず、特記すべき一般状態の変化はみられなかったが、3,000 ppm群の雄で体重増加の抑制及び摂餌量の低値がみられた。同群の最終体重及び摂餌量は、対照群に対して、それぞれ91%であった。3,000 ppm群の雌でも、投与期間の中盤までは体重増加の抑制が認められた。しかし、中盤以降は対照群との差は僅かとなった。雌の最終体重及び摂餌量は対照群に対して、96%と98%であった。血液学検査、血液生化学検査及び尿検査では特記すべき変化はみられなかった。肉眼的観察(剖検)では、雌雄の少数に肺の白色斑が観察された。これらは病理組織学的検査で肺胞内の泡沫状細胞の集簇巣と診断された。臓器重量では、3,000 ppm群の雄で肝臓及び胸腺の低値がみられたが、これらに対応した病理組織学的所見は認められなかった。病理組織学的検査では、鼻腔と喉頭に被検物質による影響が認められた。鼻腔では、呼吸上皮の扁平上皮化生が3,000 ppm群の雌雄の全例に認められた。この変化は、雄では最低濃度の100 ppm群まで認められ、雌は最高濃度の3,000 ppm群のみの変化であり、所見に性差が認められた。さらに、鼻腔では、嗅上皮の萎縮が1,000 ppm群以上の雌雄全例にみられ、嗅上皮の扁平上皮化生が3,000 ppm群の雌雄の少数に認められた。また、喉頭でも扁平上皮化生が3,000 ppm群の雌雄の半数に認められた。これらの病変は鼻腔や喉頭に対する傷害性変化あるいはその修復を示す変化である。上気道上皮の扁平上皮化生は、アルデヒド類のアセトアルデヒドやホルムアルデヒドの吸入試験でも発生することが知られている(文献5)。なお、肺の泡沫細胞の出現は、この週齢の動物に偶発的に認められる病変(文献6)であるが、3,000 ppm群の雄で多い傾向にあった。発現の機序については不明であり、上気道にみられた扁平上皮化生の二次的変化の可能性が考えられた。

－2 最小毒性量 (LOAEL)

ブチルアルデヒドの吸入暴露による 13 週間試験の結果、3,000 ppm 群の雄で体重増加の抑制及び摂餌量の低値がみられた。同群の雌でも、投与期間の中盤までは体重増加の抑制が認められた。剖検観察では、病理組織学的検査により肺の泡沫細胞と診断され、この週齢の動物に偶発的に発生する所見と考えられる肺の白色斑が、3,000 ppm 群の雄で多い傾向にあった。病理組織学的検査では、鼻腔と喉頭に影響が認められた。鼻腔では、嗅上皮の萎縮が雌雄とも 1,000 ppm 以上の群で認められ、また、呼吸上皮の扁平上皮化生が、雄は最低投与濃度の 100 ppm 群まで認められたのに対し、雌では最高濃度の 3,000 ppm 群のみの変化であった。喉頭では、扁平上皮化生が 3,000 ppm 群の雌雄の半数に認められた。

これらの結果から、雄の鼻腔への影響をエンドポイントとして、最大無毒性量 (NOAEL) は求められず最小毒性量 (LOAEL) を 100 ppm と考えた。

－3 がん原性試験 (104 週間試験) の濃度決定

本試験の結果より、F344 ラットを用いたがん原性試験 (104 週間試験) の投与濃度を以下のように決定した。ブチルアルデヒドの 13 週間吸入暴露の結果、暴露による死亡は各群に認められず、特記すべき一般状態の変化はなかった。雄では、3,000 ppm 群で軽度な体重増加の抑制がみられ、これと関連して軽度な摂餌量の低値も認められた。3,000 ppm 群の雌でも、投与期間の中盤までは体重増加の抑制が認められた。病理組織学的検査では、鼻腔と喉頭に影響がみられた。嗅上皮の萎縮が雌雄とも 1,000 ppm 以上の群で認められ、呼吸上皮の扁平上皮化生が、雄は最低投与濃度の 100 ppm 群まで、雌では 3,000 ppm 群に認められた。また、喉頭では、扁平上皮化生が 3,000 ppm 群の雌雄の半数に認められた。扁平上皮化生は、13 週間試験の予備試験として実施した 2 週間試験 (試験番号 0888) では、3,000 ppm 群の呼吸上皮にのみ認められ、喉頭には観察されなかったことから、ブチルアルデヒドの吸入暴露による呼吸器障害は、暴露期間の延長によりその範囲が拡大することが示唆された。呼吸器に対する毒性の程度は、最高投与群の 3,000 ppm 群においても軽度であり、3,000 ppm の濃度で 104 週間試験を実施しても、動物の生死にかかわる重篤な変化は引き起こさないと判断し、がん原性試験 (104 週間) の投与濃度は、300、1,000、3,000 ppm を設定した。

文献

- 1) IPCS. 2006. ICSC: 0403. BUTYRALDEHYDE. International Programme Chemical Safety. Available: <http://www.inchem.org/documents/icsc/icsc/eics0403.htm> [accessed 2018/11/21]
- 2) McLafferty FW, ed. 1994. Wiley Registry of Mass Spectral Data. 6th ed. New York, NY: John Wiley and Sons.
- 3) OECD. 2009. OECD Guideline for The Testing of Chemicals 413: Subchronic Inhalation Toxicity: 90-Day Study. Paris: Organisation for Economic Co-operation and Development.
- 4) 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.
- 5) 長野嘉介 , 今井田克己 , 相磯成敏 . 2017 . 各論 , 第 1 章 呼吸器系, 1 鼻腔・咽頭・喉頭・気管 . 新毒性病理組織学 (日本毒性病理学会編) . 東京 : 西村書店 , 99-116 .
- 6) 今井田克己 , 相磯成敏 . 2017 . 各論 , 第 1 章 呼吸器系, 2 肺 . 新毒性病理組織学 (日本毒性病理学会編) . 東京 : 西村書店 , 117-140 .

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

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はなかつた。