

アクリル酸=2-ヒドロキシエチルのラットを用いた
経口投与によるがん原性試験(混水試験)報告書

試験番号：0347

CAS No. 818-61-1

2003年9月24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

アクリル酸=2-ヒドロキシエチルのラットを用いた
経口投与によるがん原性試験(混水試験)報告書

試験番号：0347

本 文

本文目次

頁

要約	1
I 試験材料	
I-1 被験物質の性状等	
I-1-1 名称等	3
I-1-2 構造式、示性式、分子量	3
I-1-3 物理化学的性状等	3
I-2 被験物質の使用ロット等	3
I-3 被験物質の特性・同一性、安定性	
I-3-1 特性・同一性	4
I-3-2 安定性	4
I-4 試験動物	4
II 試験方法	
II-1 投与	
II-1-1 投与経路	6
II-1-2 被験物質の投与方法	6
II-1-3 投与期間	6
II-1-4 投与濃度	6
II-1-5 投与の方法、投与期間、投与濃度の設定理由	6
II-1-6 被験物質混合飲水の調製方法	7
II-1-7 調製時における被験物質混合飲水中の被験物質の濃度	7
II-1-8 被験物質混合飲水中の被験物質の安定性	7
II-1-9 被験物質の摂取量	7

Ⅱ-2 動物管理

Ⅱ-2-1 各群の使用動物数	8
Ⅱ-2-2 群分け及び個体識別方法	8
Ⅱ-2-3 飼育条件	8

Ⅱ-3 観察・検査項目及び方法

Ⅱ-3-1 動物の一般状態の観察	9
Ⅱ-3-2 体重測定	9
Ⅱ-3-3 摂水量測定	9
Ⅱ-3-4 摂餌量測定	10
Ⅱ-3-5 血液学的検査	10
Ⅱ-3-6 血液生化学的検査	10
Ⅱ-3-7 尿検査	10
Ⅱ-3-8 病理学的検査	10

Ⅱ-4 数値処理と統計学的方法

Ⅱ-4-1 数値の取り扱いと表示	11
Ⅱ-4-2 母数の取り扱い	12
Ⅱ-4-3 統計処理	12

Ⅲ 試験成績

Ⅲ-1 生死状況	14
Ⅲ-2 一般状態	14
Ⅲ-3 体重	14
Ⅲ-4 摂水量	14
Ⅲ-5 摂餌量	15
Ⅲ-6 被験物質摂取量	15
Ⅲ-7 血液学的検査	15
Ⅲ-8 血液生化学的検査	16
Ⅲ-9 尿検査	16
Ⅲ-10 病理学的検査	
Ⅲ-10-1 剖検	16
Ⅲ-10-2 臓器重量	16
Ⅲ-10-3 病理組織学的検査	17
Ⅲ-10-4 死因	19

IV まとめ及び考察

IV-1 まとめ 20

IV-2 考察 21

V 結論 24

VI 文献 25

要 約

アクリル酸＝2-ヒドロキシエチルのがん原性を検索する目的でラットを用いた経口投与（飲水）による2年間（104週間）の試験を実施した。

試験にはF344/DuCrj (Fischer) ラットを用いた。被験物質投与群3群と対照群1群の4群構成で、各群、雌雄各50匹とし、合計400匹を用いた。被験物質の投与は、アクリル酸＝2-ヒドロキシエチルを希釈混合した飲料水を動物に自由摂取させることにより行った。投与濃度は雌雄とも320 ppm、800 ppm、2000 ppm（公比2.5）とした。検査項目として、一般状態の観察、体重、摂水量、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、臓器重量の測定及び病理組織学的検査を実施した。

雌雄ともに、投与濃度に対応した体重増加の抑制、摂水量及び摂餌量の減少が認められたが、全ての投与群の生存率は対照群とほぼ同様の推移を示した。腫瘍性病変については、雄では肝細胞腺腫の発生が320 ppm群より増加し、2000 ppmでは有意な発生増加を示した。また、肝臓の前腫瘍性病変と考えられる好塩基性小増殖巣が800 ppm以上の群で増加した。雌では肝細胞腺腫の発生増加の傾向はみられたが、その発生率は低く、前腫瘍性病変の明らかな増加もなかった。非腫瘍性病変については、雌雄の腎臓で乳頭壊死や慢性腎症が320 ppm群から増加した。また、雌の前胃には扁平上皮過形成と基底細胞過形成の僅かな増加がみられ、投与による影響が示唆された。その他、血漿中の γ -GTP、総コレステロール、リン脂質及び尿素窒素が投与濃度に対応して増加した。

アクリル酸＝2-ヒドロキシエチルの2年間にわたる飲水投与による最小毒性量（LOAEL）は腎臓への影響をエンドポイントとして320 ppm（雄 0.013～0.032 g/kg/day、雌 0.016～0.038 g/kg/day）と考えられた。また、腎乳頭壊死の発生率と投与濃度との関係から算出した10%ベンチマーク用量（BMDL₁₀）は、雄では148 ppm、雌では112 ppmであると算定された。

以上のように、F344/DuCrj (Fischer) ラットを用いてアクリル酸＝2-ヒドロキシエチルの2年間（104週間）にわたる経口投与（飲水）によるがん原性試験を行った結果、雄ラットに肝細胞腺腫と前腫瘍性病変である好塩基性小増殖巣の増加が認められ、これらの結果は、アクリル酸＝2-ヒドロキシエチルのがん原性を示唆する証拠と考えられた。雌ラットにも肝細胞腺腫の僅かな発生増加が認められ、アクリル酸＝2-ヒドロキシエチルのがん原性を示す不確実な証拠と考えられた。また、非腫瘍性変化として、雌雄とも腎の乳頭壊死及び慢性腎症の増加が認められ、腎臓への影響が示された。

アクリル酸＝２－ヒドロキシエチルのがん原性試験における主な腫瘍発生（ラット：雄）

投 与 濃 度 (ppm)			0	3 2 0	8 0 0	2 0 0 0	Peto 検定	Cochran- Armitage 検定
検 査 動 物 数			5 0	5 0	4 9	5 0		
良 性 腫 瘍	皮膚	角化棘細胞腫	3	2	1	2	↑ ↑	↑ ↑ ↓
		扁平上皮乳頭腫	1	2	1	1		
	皮下組織	線維腫	7	2	4	3		
	肺	細気管支－肺胞上皮腺腫	1	3	2	1		
	前胃	扁平上皮乳頭腫	1	1	0	0		
	肝臓	肝細胞腺腫	1	4	4	1 0 **		
	下垂体	腺腫	2 1	2 2	1 4	1 3		
	甲状腺	C-細胞腺腫	7	1 0	6	1 1		
		濾胞状腺腫	0	0	1	2		
	精巣	間細胞腫	2 8	3 1	3 5	3 5		
悪 性 腫 瘍	脾臓	単核球性白血病	6	4	6	5		
	前胃	扁平上皮癌	0	0	0	1		
	甲状腺	濾胞状腺癌	0	1	0	1		
	甲状腺	濾胞状腺腫／腺癌	0	1	1	3		

アクリル酸＝２－ヒドロキシエチルのがん原性試験における主な腫瘍発生（ラット：雌）

投 与 濃 度 (ppm)			0	3 2 0	8 0 0	2 0 0 0	Peto 検定	Cochran- Armitage 検定
検 査 動 物 数			5 0	5 0	5 0	5 0		
良 性 腫 瘍	前胃	扁平上皮乳頭腫	0	1	0	0	↑	↑
	肝臓	肝細胞腺腫	0	1	0	3		
	下垂体	腺腫	1 9	1 5	1 6	1 5		
	甲状腺	C-細胞腺腫	6	4	5	8		
		濾胞状腺腫	1	2	0	0		
	子宮	子宮内膜間質性ポリープ	7	8	1 1	7		
	乳腺	線維腺腫	3	3	6	7		
悪 性 腫 瘍	脾臓	単核球性白血病	7	6	6	8		↓
	子宮	子宮内膜間質性肉腫	4	1	0	0		

検定結果については生物学的意義を考慮して記載した。

** : 有意水準 1 % 以下で有意 (Fisher 検定)

↑ ↑ : 有意水準 1 % 以下で有意増加 (Peto、Cochran-Armitage 検定)

↑ : 有意水準 5 % 以下で有意増加 (Peto、Cochran-Armitage 検定)

↓ : 有意水準 5 % 以下で有意減少 (Cochran-Armitage 検定)

I 試験材料

I-1 被験物質の性状等

I-1-1 名称等

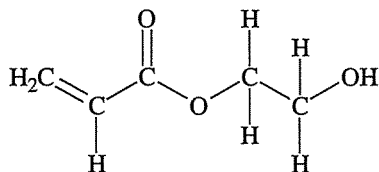
名 称 : アクリル酸=2-ヒドロキシエチル (2-Hydroxyethyl acrylate)

別 名 : 2-ヒドロキシエチルアクリレート (2-Hydroxyethyl acrylate)

IUPAC 名 : 2-Hydroxyethyl acrylate

CAS. No. : 818-61-1

I-1-2 構造式、示性式、分子量 (文献 1)



$\text{CH}_2=\text{CHCOOCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$

分子量 : 116.1

I-1-3 物理化学的性状等 (文献 1)

外 観 : 透明な液体

比 重 : 1.1098 (20/4℃)

沸 点 : 82℃

凝 固 点 : -70℃以下

溶 解 性 : 水、通常の有機溶媒に可溶

保 存 条 件 : 室温で暗所に保存

I-2 被験物質の使用ロット等

使用ロット番号 : WTP4588 (1997.11.11~1998. 3.17)

(使用期間) WTH5799 (1998. 3.17~1999. 9.14)

CKQ4839 (1999. 9.14~1999.11.16)

製造元とグレード : 和光純薬工業株式会社、和光試薬 1 級

純 度 : WTP4588 96.5%、WTH5799 96.3%、CKQ4839 97.3%

(和光純薬工業 (株) 検査成績データ)

I-3 被験物質の特性・同一性、安定性

I-3-1 特性・同一性

被験物質の同一性の確認は、使用したアクリル酸＝2-ヒドロキシエチルについて各ロット毎に、マスペクトルを質量分析計（Hewlett Packard 5989B）により測定し、また、赤外吸収スペクトルを赤外分光光度計（Shimadzu FTIR-8200PC）により測定し、アクリル酸＝2-ヒドロキシエチルの文献値と比較することにより行った。

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）と同じ波長にピークが認められ、被験物質はアクリル酸＝2-ヒドロキシエチルであることを確認した。

使用したアクリル酸＝2-ヒドロキシエチルに含まれる不純物は、各ロット毎に、ガスクロマトグラフ（Hewlett Packard 5890A）によりガスクロマトグラムを測定して検出・同定した。その結果、アクリル酸＝2-ヒドロキシエチルとは異なる3つの不純物、アクリル酸（0.965%）、p-メトキシフェノール（0.055%）及び未同定物質（2.514%）が検出された。

測定結果は APPENDIX Q 1 に示した。

I-3-2 安定性

被験物質の安定性の確認は、使用したアクリル酸＝2-ヒドロキシエチルについて、各ロット毎に、使用開始前及び使用終了後に、赤外分光光度計（Shimadzu FTIR-8200PC）により赤外吸収スペクトルを、ガスクロマトグラフ（Hewlett Packard 5890A）によりガスクロマトグラムを測定し、それぞれ使用前及び使用終了後のデータを比較することにより行った。

その結果、使用開始前後の測定結果に差はみられず、投与期間中のアクリル酸＝2-ヒドロキシエチルは安定であることを確認した。

測定結果は APPENDIX Q 2 に示した。

I-4 試験動物

動物は日本チャールス・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/DuCrj(Fischer) ラット(SPF)の雌雄を使用した。

雌雄各 227 匹を 4 週齢で導入し、1 週間の検疫及び 1 週間の馴化を経た後、発育順調で、異常を認めない動物から、体重値の中央値に近い雌雄各 200 匹（投与開始時体重範囲、雄：113～134g、雌：90～103g）を選別し、6 週齢より試験に供した。

なお、F344/DuCrj(Fischer) 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

経口投与

Ⅱ-1-2 被験物質の投与方法

脱イオン水（フィルターろ過し、紫外線照射した市水を脱イオンした水）をさらにフィルターろ過した飲水に被験物質を添加し、設定濃度に調製した被験物質混合飲水を褐色ガラス製給水瓶に充填し、動物に自由摂取させた。

Ⅱ-1-3 投与期間

投与期間は 104 週間とし、定期解剖日の解剖直前まで連続投与した。なお、被験物質混合飲水の交換頻度は週 2 回とした。

Ⅱ-1-4 投与濃度

最高投与濃度を 2000 ppm に設定し、以下、800 ppm 及び 320 ppm（公比 2.5）とした。なお、対照群として脱イオン水のための群を設けた。

Ⅱ-1-5 投与の方法、投与期間、投与濃度の設定理由

被験物質は常温で液体であり、水に可溶であるため、混水による経口投与とした。

投与期間は、OECD がん原性試験ガイドライン（文献 4）に従い、2 年間（104 週間）とした。

がん原性試験の投与濃度は、13 週間投与試験（文献 5）の結果を考慮し、以下のように設定した。アクリル酸=2-ヒドロキシエチルの飲水投与により、主に肝臓及び腎臓に影響がみられたが、それらの影響は最高用量である 4000 ppm の 2 年間にわたる投与によっても動物を死亡させるほどのものではないと考えられた。ただし、4000 ppm では飲水忌避が原因と思われる体重増加の抑制がやや大きかったことから 2 年間にわたる投与には耐えられないと判断した。また、腎臓の組織変化が雌の 500 ppm 以上でみられたことから、最小用量は 500 ppm 以下が適当であると考えた。従って、がん原性試験の投与濃度は、雌雄と

も最高用量を 2000 ppm とし、以下 800 ppm、320 ppm（公比 2.5）に設定した。

Ⅱ-1-6 被験物質混合飲水の調製方法

被験物質混合飲水は、脱イオン水をさらにフィルターろ過した飲水に被験物質を溶解して各設定濃度になるように希釈混合による調製をした。なお、濃度の表示は ppm（重量対重量比）とした。また、被験物質混合飲水の調製頻度は、給水瓶の交換頻度に合わせて週 2 回とした。

Ⅱ-1-7 調製時における被験物質混合飲水中の被験物質の濃度

被験物質混合飲水中における被験物質の濃度は、概ね 3 ヶ月毎に、各投与濃度に調製された被験物質混合飲水をサンプリングし、ガスクロマトグラフ（Hewlett Packard 5890A）を用いて分析し、確認した。

分析の結果、各群の平均調製濃度は、設定濃度に対し、320 ppm 群：97.5～104%、800 ppm 群：94.1～104%、2000 ppm 群：97.0～106%の範囲にあった。

その結果を APPENDIX Q 3 に示した。

Ⅱ-1-8 被験物質混合飲水中の被験物質の安定性

調製された被験物質混合飲水中における被験物質の投与状態（室温放置）での安定性は、ラット用給水瓶に充填した 320 ppm 及び 2000 ppm の被験物質混合飲水を、調製時及び調製後 4、8 及び 11 日目に、ガスクロマトグラフ（Hewlett Packard 5890A）を用いて分析し、その被験物質濃度を比較することにより確認した。その結果、調製時濃度を 100%とすると、調製後 4 日目には 320 ppm：100%、2000 ppm：101%、8 日目には 320 ppm：102%、2000 ppm：100%、11 日目には 320 ppm：99.7%、2000 ppm：99.0%であり、投与状態（室温放置）での被験物質混合飲水中の被験物質は安定であることを確認した。

その結果を APPENDIX Q 4 に示した。

Ⅱ-1-9 被験物質の摂取量

各計測週における動物の体重、摂水量及び設定濃度より、体重 kg 当りの被験物質の 1 日摂取量（g/kg body weight/day）を算出した。

その結果を APPENDIX E 1, 2 に示した。

Ⅱ-2 動物管理

Ⅱ-2-1 各群の使用動物数

被験物質投与群 3 群及び対照群 1 群の計 4 群を設け、各群、雌雄各 50 匹の動物を用いた。

雄		雌	
群 名 称	使用動物数 (動物番号)	群 名 称	使用動物数 (動物番号)
対 照 群	50 匹 (1001~1050)	対 照 群	50 匹 (2001~2050)
320 ppm 群	50 匹 (1101~1150)	320 ppm 群	50 匹 (2101~2150)
800 ppm 群	50 匹 (1201~1250)	800 ppm 群	50 匹 (2201~2250)
2000 ppm 群	50 匹 (1301~1350)	2000 ppm 群	50 匹 (2301~2350)

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（層別体重平均法：適正層別方式）により実施した（文献 6）。なお、群分けは被験物質投与開始直前の体重を基に実施した。

試験期間中の動物の個体識別は、検疫期間及び馴化期間においては色素塗布により、投与期間においては耳パンチにより識別した。また、全飼育期間を通してケージにも個体識別番号を付した。

動物は全飼育期間、バリア区域（AC-2 空調エリア）内の独立した室（雄：208 室、雌：209 室）に収容し、各室に試験番号、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をした。

Ⅱ-2-3 飼育条件

<飼育環境>

飼育室内の環境は、温度： $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度： $55 \pm 10\%$ 、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：15～17 回/時に設定した。温度及び湿度の計測結果（平均値±標準偏差）は、温度：208 室（ $22.8 \pm 0.4^{\circ}\text{C}$ ） 209 室（ $23.0 \pm 0.3^{\circ}\text{C}$ ）、湿度：208 室（ $56 \pm 2\%$ ） 209 室（ $55 \pm 2\%$ ）であった。なお、動物の状態に影響を与えるような大きな環境変化は認められなかった。

<飼育ケージ>

動物は、全飼育期間を通して、単飼ケージ（ステンレス製ラット 2 連網ケージ、1 匹当り W170×D294×H176mm）に収容し、ケージ交換は 2 週間毎に実施した。

<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)の CRF-1 固型飼料（30KGy- 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、定期解剖前日の夕方以降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)の分析データを使用ロット毎に入手し、保管した。また、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毎に入手し、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た。

<飲水>

検疫期間は、市水（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。馴化期間は、フィルターろ過及び紫外線照射した市水を脱イオン化し（脱イオン水）、さらにフィルターろ過した後に給水瓶により自由摂取させた。投与期間は、脱イオン水をさらにフィルターろ過した飲水に被験物質を希釈混合した被験物質混合飲水を給水瓶により自由摂取させた。

飲水は、(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）に委託して分析した結果を、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た。

Ⅱ-3 観察・検査項目及び方法

Ⅱ-3-1 動物の一般状態の観察

毎日 1 回以上、生死及び瀕死の確認を行った。一般状態の詳細な観察は週 1 回行った。

Ⅱ-3-2 体重測定

投与開始後 14 週間は週 1 回、それ以降は 4 週に 1 回、体重を測定した。また、動物の死亡発見時、切迫屠殺時及び定期解剖の搬出時にも体重を測定した。

Ⅱ-3-3 摂水量測定

投与開始後 14 週間は週 1 回、それ以降は 4 週に 1 回、給水量と残水量を測定し、その差を給水日数で除した値を 1 日当りの摂水量とした。

Ⅱ-3-4 摂餌量測定

投与開始後 14 週間は週 1 回、それ以降は 4 週に 1 回、給餌量と残餌量を測定し、その差を給餌日数で除した値を 1 日当りの摂餌量とした。

Ⅱ-3-5 血液学的検査

定期解剖時まで生存した動物について、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血液学的検査を行った。なお、検査対象動物は解剖日前日夕方より絶食(18 時間以上)させた。

検査方法を APPENDIX R 1 に示した。

検査項目は、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、白血球数及び白血球分類とした。

Ⅱ-3-6 血液生化学的検査

定期解剖時まで生存した動物について、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、遠心分離して得られた血漿を用いて血液生化学的検査を行った。なお、検査対象動物は解剖日前日夕方より絶食(18 時間以上)させた。

検査方法を APPENDIX R 1 に示した。

検査項目は、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、GOT、GPT、LDH、ALP、 γ -GTP、CPK、尿素窒素、クレアチニン、ナトリウム、カリウム、クロール、カルシウム及び無機リンとした。

Ⅱ-3-7 尿検査

投与最終週まで生存した動物の新鮮尿を採取し、尿検査試験紙を用いて検査した。

検査方法を APPENDIX R 1 に示した。

検査項目は、pH、蛋白、グルコース、ケトン体、ビリルビン、潜血及びウロビリノーゲンとした。

Ⅱ-3-8 病理学的検査

(1) 剖検

全動物について肉眼による剖検を行った。

(2) 臓器重量

定期解剖時まで生存した動物について、下記臓器の湿重量（臓器実重量）を測定した。また、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：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

全動物の下記の器官、組織を 10% 中性リン酸緩衝ホルマリン溶液にて固定後、パラフィン包埋、薄切、ヘマトキシリン・エオジン染色し、光学顕微鏡にて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、精嚢、前立腺、卵巣、子宮、陰、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）、その他、肉眼的に変化のみられた器官、組織

II-4 数値処理と統計学的方法

II-4-1 数値の取り扱いと表示

各数値データは計測機器の精度にあわせて表示した。

体重については g を単位とし、整数値の 1 の位まで計測し表示した。

摂餌量と摂水量については g を単位とし、計測期間を通しての摂取量を小数点以下第 1 位まで計測し、この値を計測期間の日数で除し、1 日当たりの平均摂取量を算出し、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。

アクリル酸=2-ヒドロキシエチルの体重 kg 当たりの摂取量は、摂水量にアクリル酸=2-ヒドロキシエチルの設定濃度を乗じ、各群の平均体重で除した値を g/kg body weight/day を単位として小数点以下第 4 位を四捨五入して小数点以下第 3 位までを表示した。

臓器重量については g を単位とし、小数点以下第 3 位まで計測し表示した。臓器重量体重比について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、血液生化学的検査については APPENDIX R 2 に示した単位と精度により表示した。

なお、各数値データにおいて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 母数の取り扱い

雄の 800 ppm 群は事故により 1 匹が死亡したため母数から除外し、49 匹を母数とした。
体重、摂水量及び摂餌量については、各計測時に生存していた全動物を対象に計測し、その中から欠測となったデータを除外して母数とした。

臓器重量、血液学的検査、血液生化学的検査は、定期解剖時まで生存した動物を対象とし、欠測となったデータを除外して母数とした。

尿検査は、投与最終週まで生存した全動物を対象に行い、検査ができた動物数を母数とした。

剖検データは、各群の有効動物数（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）を母数とした。病理組織学的データは、臓器別に、検査不能臓器のあった動物数を除いたものを母数とした。

II-4-3 統計処理

本試験で得られた測定値は対照群を基準群として、最初に 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。

病理組織学的検査の非腫瘍性病変については、対照群と各投与群間で χ^2 検定を行った。検定は、所見のみられなかった動物をグレード 0 として分類し、各グレード毎の動物の度数分布により行った。また、尿検査についても対照群と各投与群間で χ^2 検定を行った。

病理組織学的検査の腫瘍性病変については、各臓器の腫瘍ごとに、各群ごとの総担癌臓器数について Peto 検定（文献 7）、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定を行った。また Peto 検定は病理組織学的検査時に付与されたコンテックス（注）を用いて、死亡率法（コンテックス 3, 4 を付与された腫瘍についての検定）、有病率法（コンテックス 0, 1, 2 を付与された腫瘍についての検定）、死亡率法＋有病率法（コンテックス 0～4 の総計で検定）を行った。

注：Peto 検定に用いるコンテックス

- 0：定期解剖動物にみつかった腫瘍
 - 1：死亡／瀕死動物にみつかった腫瘍で、直接死因に関係しない腫瘍
 - 2：多分 1 だと思うが、確かでない腫瘍
 - 3：多分 4 だと思うが、確かでない腫瘍
 - 4：死亡／瀕死動物にみつかった腫瘍で、直接死因に関わっていた腫瘍
-

各検定は 5% の有意水準で両側検定 (Peto 検定、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定は片側検定) 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 1, 2 及び FIGURE 1, 2 に示した。

雌雄とも全投与群の生存率は、対照群とほぼ同様の推移を示した。

各群の投与終了時（投与 104 週）における動物の生存率は、雄では対照群：80%、320 ppm 群：88%、800 ppm 群：76%、2000 ppm 群：70%、雌では対照群：74%、320 ppm 群：80%、800 ppm 群：84%、2000 ppm 群：84%であった。

なお、雄の 800 ppm 群の 1 匹は、投与 93 週に飼育管理上のミスにより試験に使用することができなくなり、試験対象動物より外したため、この群の有効動物数は 49 匹となった。

Ⅲ-2 一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX A 1, 2 に、また、一般状態の観察時にみられた外部腫瘍及び内部腫瘍の発生動物数を TABLE 7, 8 に示した。

雌の 800 ppm 以上の群で赤色尿がみられた。赤色尿が観察された総動物数（()内は初めて観察された週を示す）は、800 ppm 群：2 匹（投与 80 週）、2000 ppm 群：32 匹（投与 76 週）であった。なお、雄では各群とも赤色尿は観察されなかった。

雄の 2000 ppm 群では外部腫瘍の総発生動物数が対照群と比較して減少した。なお、外部腫瘍の発生部位や形態に特異性はなかった。

また、内部腫瘍の総発生動物数は、雌雄ともに変化はみられなかった。

Ⅲ-3 体重

体重の推移を TABLE 1, 2、FIGURE 3, 4 及び APPENDIX B 1, 2 に示した。

雄の全投与群、雌の 800 ppm 以上の群で投与濃度に対応した体重増加の抑制がみられた。

投与 104 週の最終計測日における各投与群の体重は、対照群を 100%とすると、雄では 320 ppm 群：94%、800 ppm 群：87%、2000 ppm 群：77%、雌では 320 ppm 群：98%、800 ppm 群：90%、2000 ppm 群：78%であった。

Ⅲ-4 摂水量

摂水量の推移を TABLE 3, 4、FIGURE 5, 6 及び APPENDIX C 1, 2 に示した。

雌雄ともに、全投与群で投与濃度に対応した摂水量の減少がみられた。

全投与期間における各群の平均摂水量（対照群に対する相対比）は、雄では、対照群：17.9g（100％）、320 ppm 群：15.9g（89％）、800 ppm 群：14.8g（83％）、2000 ppm 群：12.8g（72％）、雌では、対照群：16.4g（100％）、320 ppm 群：14.6g（90％）、800 ppm 群：11.9g（73％）、2000 ppm 群：10.0g（61％）であった。

Ⅲ－5 摂餌量

摂餌量の推移を TABLE 5, 6、FIGURE 7, 8 及び APPENDIX D 1, 2 に示した。

雄では、全投与群で投与濃度に対応した摂餌量の減少がみられた。雌では、800 ppm 以上の群で投与濃度に対応した摂餌量の減少がみられた。

全投与期間における各群の平均摂餌量（対照群に対する相対比）は、雄では、対照群：15.4g（100％）、320 ppm 群：14.8g（96％）、800 ppm 群：14.8g（96％）、2000 ppm 群：14.3g（93％）であり、雌では、対照群：10.8g（100％）、320 ppm 群：10.9g（101％）、800 ppm 群：10.4g（96％）、2000 ppm 群：9.8g（91％）であった。

Ⅲ－6 被験物質摂取量

体重、摂水量及び設定濃度より算出した被験物質摂取量を APPENDIX E 1, 2 に示した。

全投与期間における 1 日当りの被験物質摂取量(g/kg body weight/day)の平均値（範囲）は、雄では、320 ppm 群：0.017（0.013～0.032）、800 ppm 群：0.039（0.030～0.075）、2000 ppm 群：0.090（0.075～0.165）であり、雌では、320 ppm 群：0.025（0.016～0.038）、800 ppm 群：0.052（0.038～0.059）、2000 ppm 群：0.118（0.097～0.185）であり、全投与期間における各群の平均被験物質摂取量の、一段階低い投与群の被験物質摂取量に対する比率は、雌雄ともに 2.1 から 2.3 の範囲にあり、設定用量比（公比 2.5）よりも低値を示した。また、全ての投与群の雌の平均被験物質摂取量は雄の摂取量と比較して、やや高値を示した。

Ⅲ－7 血液学的検査

血液学的検査の結果を TABLE 9, 10、APPENDIX F 1, 2 に示した。

雄では、MCV の減少が全投与群に、MCH の減少が 800 ppm 以上の群に、MCHC の減少が 2000 ppm 群にみられた。

雌では、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値及び MCHC の減少が 800 ppm 以上の群にみられた。また、血小板数の増加が 800 ppm 以上の群に、MCV の増加が 2000 ppm 群にみられた。

Ⅲ-8 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を TABLE 11, 12, APPENDIX G 1, 2 に示した。

雄では、総ビリルビン、総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質、ALP、 γ -GTP の増加が全投与群に、GOT、尿素窒素及びカルシウムの増加が 800 ppm 以上の群に、GPT 及びカリウムの増加が 2000 ppm 群にみられた。また、クロールの減少が全投与群に、LDH の低下及びナトリウムの減少が 800 ppm 以上の群にみられた。その他、総蛋白の増加が 320 ppm 群に、グルコースの減少が 800 ppm 群にみられた。

雌では、総コレステロール、リン脂質及び γ -GTP の増加が 800 ppm 以上の群に、A/G 比、尿素窒素、カリウム、無機リン及び ALP の増加が 2000 ppm 群にみられた。また、GPT の減少が全投与群に、総蛋白、アルブミン及び GOT の減少が 2000 ppm 群にみられた。

Ⅲ-9 尿検査

尿検査の結果を TABLE 13, 14, APPENDIX H 1, 2 に示した。

雄では、潜血陽性の動物数及び陽性度の増加が 2000 ppm 群に、蛋白の陽性度の増加が 800 ppm 群に、pH の上昇が 320 ppm 群にみられた。

雌では、蛋白の陽性度の増加が全投与群に、潜血陽性の動物数及び陽性度の増加が 800 ppm 以上の群にみられた。

Ⅲ-10 病理学的検査

Ⅲ-10-1 剖検

解剖時に観察された剖検所見を APPENDIX I 1~6 に示した。

主な剖検所見として、雄では、肝臓の結節と腎臓の顆粒状変化が 800 ppm 以上の群に多くみられた。また、雌では、肝臓の結節が 2000 ppm 群に多くみられた。

Ⅲ-10-2 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 15, 16, APPENDIX J 1, 2 (実重量) 及び APPENDIX K 1, 2 (体重比) に示した。

—実重量—

雄では、腎臓の実重量の増加が全投与群に、肝臓の実重量の増加が 800 ppm 以上の群に、副腎の実重量の増加が 2000 ppm 群にみられた。また、心臓の実重量の減少が 800 ppm 以上の群に、肺の実重量の減少が 2000 ppm 群にみられた。

雌では、腎臓の実重量の増加が全投与群でみられた。また、脳の実重量の減少が 800 ppm 以上の群に、副腎、心臓及び肺の実重量の減少が 2000 ppm 群にみられた。

－体重比－

雄では、腎臓、肝臓及び脳の体重比の増加が全投与群に、心臓と肺の体重比の増加が 800 ppm 以上の群に、副腎と精巣の体重比の増加が 2000 ppm 群にみられた。また、脾臓の体重比は 800 ppm 群で減少、2000 ppm 群で増加した。

雌では、腎臓の体重比の増加が全投与群に、肝臓、心臓及び脳の体重比の増加が 800 ppm 以上の群に、卵巣と肺の体重比の増加が 2000 ppm 群にみられた。また、脾臓の体重比の減少が 2000 ppm 群にみられた。

Ⅲ－10－3 病理組織学的検査

1. 腫瘍性病変

腫瘍性病変の結果は、TABLE 17, 18（主な腫瘍性病変）、APPENDIX M 1, 2（担腫瘍動物数と腫瘍数）、APPENDIX N 1, 2（腫瘍の種類別の発生数）、APPENDIX O 1, 2（統計解析：Peto 検定、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定）、APPENDIX P 1～6（転移性病変）に示した。

なお、本試験でみられた腫瘍について、過去に日本バイオアッセイ研究センターで実施した F344/DuCrj(Fischer)ラットを用いたがん原性試験における腫瘍のヒストリカルコントロールデータ（以下、HCD と略す）との比較も行った（TABLE 21, 22）。

－発生の増加または増加傾向がみられた腫瘍－

<肝臓> (PHOTOGRAPH 1)

雄では、肝細胞腺腫の発生が Peto 検定（有病率法）、Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 2000 ppm 群に増加が認められた。

なお、全投与群の肝細胞腺腫の発生率は HCD の範囲を越えていた。

雌では、肝細胞腺腫の発生が Peto 検定（有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。

なお、2000 ppm 群の肝細胞腺腫の発生率は HCD の上限に相当する値であった。

<甲状腺>

雄では、濾胞状腺腫の発生と濾胞状腺癌の発生をあわせた発生が Peto 検定（有病率法）で増加傾向を示した。

なお、各投与群とも濾胞状腺腫の発生と濾胞状腺癌の発生をあわせた発生率は、HCD の

範囲内にあった。

<精巣>

間細胞腫の発生が Peto 検定（有病率法）で増加傾向を示した。

なお、各投与群とも間細胞腫の発生率は HCD の上限を越えていなかった。

<胃>

雄の 2000 ppm 群の 1 匹で扁平上皮癌の発生がみられた。

なお、HCD では扁平上皮癌の発生はない。

－発生は減少または減少傾向がみられた腫瘍－

<下垂体>

雄では下垂体腺腫の発生が Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示した。

なお、各投与群とも下垂体腺腫の発生率は、HCD の範囲内にあった。

<子宮>

子宮内膜間質性肉腫の発生が Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示した。

なお、各投与群とも子宮内膜間質性肉腫の発生率は、HCD の範囲内にあった。

2. 非腫瘍性病変

非腫瘍性病変の結果は、TABLE 19（主な非腫瘍性病変）、APPENDIX L 1～6 に示した。

被験物質投与による影響が明らかな非腫瘍性病変は、雄の肝臓と雌雄の腎臓にみられた。
また、被験物質投与により影響が疑われる非腫瘍性病変が、雌の胃にみられた。

<肝臓> (PHOTOGRAPH 2)

雄では 800 ppm 以上の群で、好塩基性小増殖巣が増加した。

雌では、好塩基性小増殖巣は、800 ppm 以上の群で多くみられた。

<腎臓> (PHOTOGRAPH 3, 4)

雄では、乳頭壊死が全投与群で投与濃度に対応して増加、乳頭部の鉍質沈着が 800 ppm 以上の群で投与濃度に対応して増加した。また、慢性腎症の病変の程度が全投与群で投与濃度に対応して増強した。

雌では、乳頭壊死、乳頭部の鉍質沈着、腎盂の尿路上皮の過形成及び慢性腎症が投与濃度

に対応して増加した。乳頭壊死と慢性腎症は 320 ppm 群から、乳頭部の鉍質沈着と腎盂の尿路上皮の過形成は 2000 ppm 群で増加が認められた。

<胃>

雌では、前胃の扁平上皮細胞過形成が、対照群に比較して全投与群で多くみられた。また、前胃の基底細胞過形成も、2000 ppm 群で多くみられた。

Ⅲ-10-4 死因

病理学的にみた死亡／瀕死の原因を TABLE 20 に示した。

雌雄ともに、被験物質の投与により著しく増加した死因はみられなかった。

IV まとめ及び考察

アクリル酸=2-ヒドロキシエチルは、熱硬化性塗料、接着剤、繊維処理剤、潤滑油添加剤、コポリマーの改質剤などに用いられる（文献 1）ことから、この化学物質の職業性暴露は、それが生産されている場所及び使用されている場所においてみられ、主に、皮膚への接触や吸入により労働者の体内に侵入すると考えられる。本試験では、アクリル酸=2-ヒドロキシエチルが水に溶解することから、投与経路を飲水投与とし、雌雄ラットの2年間混水経口投与によるがん原性試験を実施した。その結果、ラットの雄に肝細胞腺腫の明らかな発生増加が認められ、アクリル酸=2-ヒドロキシエチルのがん原性を示す証拠を得た。

IV-1 まとめ

（1）生存率、一般状態、体重、摂餌量、摂水量

雌雄ともに、すべての投与群の生存率は対照群とほぼ同様の推移を示した。体重増加の抑制が、雄では全投与群で、雌では800 ppm以上の群で投与濃度に対応してみられ、また、体重増加の抑制と対応した雌雄の摂餌量の低下もみられた。摂水量は、雌雄ともに、全投与群で低下していた。平均被験物質摂取量は、雄に比較して雌はやや高い値であった。一般状態の観察時には、雌の800 ppm以上の群に赤色尿が観察された。

（2）尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査

尿検査により、潜血陽性度の増加が雄の2000 ppm群、雌の800 ppm以上の群にみられた。また、尿中の蛋白陽性度の増加が雄の800 ppm群と雌の全投与群にみられた。

血液学的検査結果では、雌雄ともに主に赤血球系パラメーターに変化がみられた。雄では、320 ppm群からMCVの減少、800 ppm以上の群にMCHの減少、2000 ppm群にMCHCの減少が認められた。雌では、800 ppm以上の群に赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値及びMCHCの減少、2000 ppm群にMCVの増加が認められた。その他、血小板数の増加が雌の800 ppm以上の群にみられた。

血液生化学的検査では、雌雄ともに主に肝機能及び腎機能異常を示す多くのパラメーターで投与濃度に対応した変化がみられた。雄では、320 ppm群から総ビリルビン、総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質、ALP及び γ -GTPが増加、800 ppm以上の群でGOT、尿素窒素及びカリウムが増加、2000 ppm群でGPT及びカリウムが増加した。また、320 ppm群からクロールが減少、800 ppm以上の群でLDH及びナトリウムが減少した。雌では、800 ppm以上の群で総コレステロール、リン脂質及び γ -GTPが増加、2000 ppm群でA/G比、尿素窒素、カリウム、無機リン及びALPが増加した。また、320 ppm群からGPTの減少、2000 ppm群に総蛋白、アルブミン、GOTの減少がみられた。その他にみられた変化は投与濃度と対応しておらず、被験物質投与との関連性はないものと判断した。

(3) 剖検、臓器重量

解剖時に観察された主な剖検所見として、雄では肝臓の結節及び腎臓の顆粒状変化が 800 ppm 以上の群に、雌では肝臓の結節が 2000 ppm 群に多くみられた。

投与濃度に対応した臓器重量の増加は、雌雄ともに肝臓と腎臓にみられた。

(4) 病理組織学的検査

雄では肝細胞腺腫の発生に増加傾向 (Peto 検定、Cochran-Armitage 検定: $p \leq 0.01$) がみられ、雄の 2000 ppm 群では増加 (Fisher 検定: $p \leq 0.01$) を示した。さらに、全投与群の発生率は HCD の範囲を超えていた。雌では肝細胞腺腫の発生に増加傾向 (Peto 検定、Cochran-Armitage 検定: $p \leq 0.05$) がみられたが、Fisher 検定で増加を示した群はなく、その発生率は HCD の範囲内であった。

雄の精巣の間細胞腫の発生及び甲状腺の濾胞状腺腫と濾胞状腺癌の発生をあわせた発生率に増加傾向 (Peto 検定: $p \leq 0.05$) がみられ、また、雄の下垂体腺腫及び雌の子宮内膜間質性肉腫の発生に減少傾向 (Cochran-Armitage 検定: $p \leq 0.05$) がみられたが、Fisher 検定で増加または減少を示した群はなく、それらの発生率は HCD の範囲内であった。その他に、雄の 2000 ppm 群の 1 匹に HCD ではみられていない胃の扁平上皮癌の発生がみられた。

被験物質投与による影響を示す主な非腫瘍性病変は雌雄の肝臓と腎臓にみられた。肝臓では、好塩基性小増殖巣が雄の 800 ppm 以上の群で増加し、雌の 800 ppm 以上の群でも多くみられた。腎臓は、雌雄ともに、腎乳頭の壊死と慢性腎症が全投与群で増加した。さらに、腎乳頭部の鉍質沈着が雄の 800 ppm 以上の群、雌の 2000 ppm 群で増加した。雌の 2000 ppm 群には腎盂尿路上皮の過形成の増加もみられた。その他、被験物質投与による影響を示唆する非腫瘍性病変が雌の胃にみられ、前胃の扁平上皮過形成が全投与群で、前胃の基底細胞過形成が 2000 ppm 群で多くみられた。

IV-2 考察

(1) 腫瘍及び腫瘍関連病変

<肝臓腫瘍>

アクリル酸=2-ヒドロキシエチルのラットを用いた 2 年間にわたる飲水投与により、雄ラットに肝細胞腺腫の発生増加が認められた。雄の肝細胞腺腫は、用量に対応して増加傾向を示し、さらに最高用量群である 2000 ppm 群に増加が認められた。当センターの雄ラットの HCD と比較すると、本試験における肝細胞腺腫の発生率は、最低用量群である 320 ppm 群からその範囲を超えており、特に、2000 ppm 群での発生率は明らかに高い値であった。また、雄の 800 ppm 以上の群の肝臓には、前腫瘍性病変とみなされている好塩基性肝細胞小増殖巣 (文献 8-10) が明らかに増加した。従って、雄ラットにみられた肝細胞

胞腺腫の発生増加は、アクリル酸＝2-ヒドロキシエチルの投与によるものと考察される。しかし、この腫瘍増加は良性腫瘍である肝細胞腺腫のみの発生増加であり、悪性腫瘍の発生増加は認められない。この結果は、アクリル酸＝2-ヒドロキシエチルの雄ラットに対するがん原性を示唆するものの、がん原性を示す明らかな証拠とはいえないと考える。また、この腫瘍発生増加が観察される用量は、2000 ppm であった。

雌の肝細胞腺腫の発生も用量に関連して増加傾向を示した。しかし、当センターの雌ラットの HCD と比較すると、本試験における肝細胞腺腫の発生率は、最高用量群である 2000 ppm 群でもその範囲内であり、雄に比較して発生率の増加は僅かであった。また、雌の肝臓には前腫瘍性病変とみなされている肝細胞小増殖巣の増加も認められなかった。従って、雌ラットにみられた肝細胞腺腫の発生増加は、アクリル酸＝2-ヒドロキシエチルの投与との関連を否定できないものの、不確実な証拠と考察される。

アクリル酸＝2-ヒドロキシエチルの飲水投与による肝臓への影響は、腫瘍発生のみならず血液生化学的検査結果においても示された。γ-GTP の増加が雄では 320 ppm 群より、雌では 800 ppm 群より投与濃度に対応してみられ、特に雄の 2000 ppm 群の値は対照群の約 10 倍にまで上昇していた。また、総コレステロールとリン脂質の増加が、雄では 320 ppm 群より、雌では 800 ppm 群より投与濃度に対応してみられ、雌よりも雄で著しい増加を示した。γ-GTP の増加は薬物代謝酵素活性の上昇と併行すること、及び薬物代謝酵素の誘導は、肝重量の増加を随伴することから（文献 11, 12）、総コレステロールとリン脂質の増加を含めて、アクリル酸＝2-ヒドロキシエチルの飲水投与によって肝臓の代謝機能が亢進していることが示唆される。

<その他の臓器の腫瘍>

雄の精巣の間細胞腫の発生及び甲状腺の濾胞状腺腫と濾胞状腺癌とを合わせた発生には増加傾向が示された。また、雄の下垂体腺腫と雌の子宮内膜間質性肉腫の発生には減少傾向がみられた。

しかし、雄の甲状腺の濾胞状腺腫と濾胞状腺癌、雄の下垂体腺腫、及び雌の子宮内膜間質性肉腫の発生率は、各投与群とも当センターの HCD の範囲内にあることから、アクリル酸＝2-ヒドロキシエチルの投与とこれらの腫瘍の発生との関係は明らかでないと判断した。また、精巣の間細胞腫についても、各投与群の発生率は当センターの HCD の上限を越えていないことからアクリル酸＝2-ヒドロキシエチルの投与と間細胞腫の発生との関係は明らかでないと判断した。

その他、雄の 2000 ppm 群の 1 匹に胃の扁平上皮癌の発生がみられた。胃の扁平上皮癌は当センターの雄ラットの HCD では発生が観察されていない希な腫瘍である。また、雌では、前胃の扁平上皮過形成が全投与群で、前胃の基底細胞過形成が 2000 ppm 群で僅かに増加した。ただし、雄ではこれらの上皮の過形成の増加は認められていない。がん原性予備試験として実施した 13 週間の飲水投与試験（文献 5）においても最高用量群である 4000 ppm 群の雄の 1 匹に前胃の上皮の過形成がみられ、また、マウスを用いて行なったア

クリル酸=2-ヒドロキシエチルのがん原性試験（文献 13）でも前胃の扁平上皮過形成が増加している。さらに、アクリル酸=2-ヒドロキシエチルに化学構造の類似したアクリル酸エチルの 2 年間の経口投与（強制経口投与）では、ラットの胃に腫瘍や上皮の過形成を発生させることが報告されている（文献 14）。これらのことから、雄の 2000 ppm 群の 1 匹に発生した前胃の扁平上皮癌とアクリル酸=2-ヒドロキシエチルの飲水投与は関連性があるとし唆されたが、明らかにすることはできなかった。

（2）非腫瘍性病変等

アクリル酸=2-ヒドロキシエチルの飲水投与は腎障害も誘発した。ただし、腎臓に腫瘍の発生はみられなかった。腎乳頭の壊死が雌雄の 320 ppm 群より増加した。さらに、腎乳頭の壊死との関連性が示唆される変化として、雄の 800 ppm 以上の群、雌の 2000 ppm 群に腎乳頭部の鉍質沈着が増加、さらに雌の 2000 ppm 群には腎盂尿路上皮の過形成が増加した。腎乳頭部の壊死は、多くの薬物により誘発される病変である（文献 15）。その発生メカニズムについては、薬物の直接的な細胞傷害や腎乳頭部の虚血性変化によることが推測されているが、本試験における傷害発生のメカニズムは明らかではない。投与期間中の状態観察時に雌の 800 ppm 以上の群で赤色尿が観察され、さらに、投与最終週に実施した尿検査により、雄の 2000 ppm 群と雌の 800 ppm 以上の群に潜血反応を示す動物が増加したが、これらは腎乳頭の壊死により出血が生じたことを示唆していた。

慢性腎症は、ラットでは加齢とともに増強してくる自然発生性の病変で、雄の方が雌より発生の時期が早く、また頻度も高い病変である（文献 16, 17）。アクリル酸=2-ヒドロキシエチルの飲水投与により、雄の全投与群でその程度がさらに増強、雌では発生匹数の増加がみられた。その発生メカニズムについては明らかではないが、慢性腎症の発生により糸球体のろ過機能が障害されると言われている（文献 15, 17）。慢性腎症の発生とほぼ相関して、糸球体のろ過機能の障害を示唆する尿中の蛋白陽性度の増加が、雄の 800 ppm 群と雌の全投与群にみられた。特に、雌における蛋白尿は投与濃度に対応して顕著となった。ラットの蛋白尿は加齢により著しく増加するが、慢性腎症と同様に、雌よりも雄でその程度が強いことが報告されている（文献 17）。

（3）無毒性量（NOAEL）／最小毒性量（LOAEL）及びベンチマーク用量

本試験の最低用量である 320 ppm で雌雄ともに腎障害が誘発されたことから、本試験条件下における最小毒性量は、雌雄ともに、腎臓への影響をエンドポイントとして 320 ppm であると考えられた。ベンチマーク用量法は、NOAEL/LOAEL 法における若干の問題点を克服する方法として、最近、適用が広がりつつある（文献 18）。腎乳頭壊死の発生率と投与濃度との用量-反応関係に US-EPA NCEA の BMDL ソフトウェア Version 1.3.1（文献 19）を適用して 10%ベンチマーク用量（Confidence limit of Benchmark dose yielding the response with 10 % extra risk (BMDL₁₀)）を算出した結果（Polynomial Model, P=0.476,

AIC=567.8)、腎乳頭壊死の発生率に対する BMDL₁₀ 値は、雄では 148.2 ppm(Log Logistic Model, P=0.30, AIC=201)、雌では 112 ppm(Log Logistic Model, P=0.25, AIC=149)となった。

(4) 他文献との比較等

- ① アクリル酸=2-ヒドロキシエチルの変異原性については、微生物(大腸菌)を用いた試験で陽性の結果が得られている(文献 20, 21)。さらに、培養細胞を用いた染色体異常試験、遺伝子突然変異試験及び小核試験においても陽性であった(文献 22, 23)。
- ② アクリル酸=2-ヒドロキシエチルを含むアクリル酸エステルの代謝は、動物体内で、カルボキシルエステラーゼによるアクリル酸とアルコールへの加水分解及び GSH 抱合により行われることが知られている(文献 24, 25)。肝臓は GSH 関連の代謝酵素が豊富であり、かつ、GSH の主な生産組織である(文献 26)。そこで、アクリル酸=2-ヒドロキシエチル、及び化学構造が類似したアクリル酸エチル及びアクリル酸イソブチルについて、初代培養肝細胞を用いて GSH の消耗を比較した報告(文献 27)をみると、アクリル酸=2-ヒドロキシエチルの EC50 値が最も低い結果となり、他の物質に比較して GSH の消耗に、より強い影響を与えることが示唆された。

V 結論

F344/DuCrj(Fischer) ラットを用いてアクリル酸=2-ヒドロキシエチルの 2 年間(104 週間)にわたる経口投与によるがん原性試験を行った。

その結果、雄ラットには、肝臓の肝細胞腺腫の明らかな発生増加が認められ、また前腫瘍性病変である好塩基性小増殖巣も増加した。これらの結果は、アクリル酸=2-ヒドロキシエチルのがん原性を示唆する証拠と考えられた。

雌ラットでも、肝臓の肝細胞腺腫の発生増加の傾向が認められたが、その発生率の増加は僅かであり、前腫瘍性病変の明らかな増加もなかった。これらの結果は、アクリル酸=2-ヒドロキシエチルのがん原性を示す不確実な証拠と考えられた。

その他の非腫瘍性病変としては、腎臓の乳頭壊死と慢性腎症の発生増加が雌雄ともに認められ、腎臓への影響が示された。

VI 文献

1. 化学工業日報社 (2003)
14303 の化学商品
pp.357-358, 化学工業日報社, 東京
2. McLafferty, F. W. (1994)
Wiley Registry of Mass Spectral Data, 6th edition, Entry No. 12762
John Wiley and Sons, Inc. New York, NY
3. 和光純薬工業 (株) からの提供資料
4. OECD (1993)
OECD guideline for the testing of chemicals, 451, Carcinogenicity studies
OECD, Paris
5. 日本バイオアッセイ研究センター (2003)
アクリル酸=2-ヒドロキシエチルのラットを用いた経口投与による 13 週間試験
(混水試験) 報告書
日本バイオアッセイ研究センター, 神奈川
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. Peto, R., Pike, M.C., Day, N.E., Gray, R.G., Lee, P.N., Parish, S., Peto, J., Richards,
S. and Wahrendorf, J. (1980)
Guideline for simple, sensitive significance test for carcinogenic effect in long-term
animal experiments
In: Long-Term and Short-Term Screening Assay for Carcinogenes: A Critical
Proposal
IARC Monographs, Suppl. 2, pp.311-426, IARC, Lyon

8. Weber, E., Moore, M. A. and Bannasch, P. (1988)
Enzyme histochemical and morphological phenotype of amphophilic foci and amphophilic/tigroid cell adenomas in rat liver after combined treatment with dehydroepiandrosterone and *N*-nitrosomorpholine
Carcinogenesis, 9, 1049-1054
9. Harada, T., Maronpot, R. R., Morris, R. W. and Boorman, G. A. (1989)
Observations on altered hepatocellular foci in National Toxicology Program two-year carcinogenicity studies in rats
Toxicological Pathology, 17, 690-708
10. 原田孝則, 真板敬三 (2000)
肝／胆嚢
In : 毒性病理組織学 (Ed. 伊東信行)
pp.179-213, 日本毒性病理学会, 名古屋
11. 北川晴雄, 佐藤哲男 (1975)
肝における薬物代謝機構と pharmacogenetics
In : 薬物と肝臓 (Eds. 織田敏次, 市田文弘, 山中正巳)
pp.17-40, 中外医薬社, 東京
12. Popp, J. A. and Cattley, R. C. (1991)
Hepatobiliary System
In : Handbook of Toxicologic Pathology (Eds. Haschek, W. M. and Rousseaux, C. G.)
pp.279-315, Academic Press, Inc., San Diego
13. 日本バイオアッセイ研究センター (2003)
アクリル酸=2-ヒドロキシエチルのマウスを用いた経口投与によるがん原性試験 (混水試験) 報告書
日本バイオアッセイ研究センター, 神奈川
14. National Toxicology Program (1987)
Carcinogenesis Studies of Ethyl Acrylate (CAS No. 140-88-5) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (Gavage Studies)
National Toxicology Program Technical Report Series No. 259, NTP, Washington D.C.

15. Montgomery, C. A. Jr. and Seely, J. C. (1990)
Kidney
In: Pathology of the Fischer Rat, Reference and Atlas (Eds: Boorman, G. A., Eustis, S. L., Elwell, M. R., Montgomery, C. A. Jr. and MacKenzie, W. F.)
pp. 127-153, Academic Press, Inc., San Diego
16. Brian, G. S. and Goldstein, R. S. (1992)
Nonneoplastic Lesions in the Kidney
In : Pathobiology of the Aging Rat. Volume 1, Blood and Lymphoid, Respiratory Urinary, Cardiovascular, and Reproductive Systems (Eds: Mohr, U., Dungworth, D. L. and Capen, C. C.)
pp. 211-225, International Life Sciences Institute, Washington, D.C.
17. 渡辺満利, 西川秋佳 (2000)
腎臓
In : 毒性病理組織学 (Ed. 伊東信行)
pp. 247-266, 日本毒性病理学会, 名古屋
18. U.S. Environmental Protection Agency (1995)
The Use of the Benchmark Dose Approach in Health Risk Assessment
EPA/630/R-94/007. Washington D.C.
19. Risk Assessment Forum, U.S. Environmental Protection Agency (2000)
US.EPA Benchmark dose technical guidance document. EPA/630/R-00/001
Washington, D.C.
20. Watanabe, K., Sakamoto, K. and Sasaki, T. (1996)
Comparisons on chemically-induced mutagenicity among four bacterial strains, *Salmonella typhimurium* TA102 and TA2638, and *Escherichia coli* WP2/pKM101 and WP2 *uvrA*/pKM101: collaborative study I
Mutation Research 361, 143-155
21. 中央労働災害防止協会 (2001)
既存化学物質に係る変異原性の評価に関する調査研究 平成 13 年度
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, 神奈川

22. Kerry, L. D., Millis, C. S., Harrington-Brock, K., Doerr, C. L. and Moore, M. M. (1989)
Analysis of the genotoxicity of nine acrylate/methacrylate compounds in L5178Y mouse lymphoma cells
Mutagenesis, 4, 381-393

23. 中央労働災害防止協会 (1999)
既存化学物質に係る変異原性の評価に関する調査研究 平成 11 年度
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, 神奈川

24. Frederick, C. B., Potter, D. W., Chang-Mateu, M. I. and Andersen, M. E. (1992)
A physiologically based pharmacokinetic and pharmacodynamic model to describe the oral dosing of rats with ethyl acrylate and its implications for risk assessment
Toxicology and Applied Pharmacology, 114, 246-260

25. McCarthy, T. J. and Witz, G. (1997)
Structure-activity relationships in the hydrolysis of acrylate and methacrylate esters by carboxylesterase in vitro
Toxicology, 116, 153-158

26. Kretzschmar, M. (1996)
Regulation of hepatic glutathione metabolism and its role in hepatotoxicity
Experimental and Toxicologic Pathology, 48, 439-446

27. Freidig, A., Hofhuis, M., Holsteijn, I. and Hermens, J. (2000)
Chapter 5, GSH depletion in rat hepatocytes: a mixture study with α , β -unsaturated esters
In : Models for Risk Assessment of Reactive Chemicals in Aquatic Toxicology, (Ed: Freidig, A. P.)
pp. 72-86. Utrecht University, The Netherlands