

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2週間毒性試験(混水試験)報告書

試験番号：0315

CAS No. 818-61-1

2003年2月25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マウスを用いた  
経口投与による 2 週間毒性試験(混水試験)報告書

試験番号：0315

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	2
I-1-2 構造式、示性式、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	
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	
II-1 投与	
II-1-1 投与経路	5
II-1-2 被験物質の投与方法	5
II-1-3 投与期間	5
II-1-4 投与濃度	5
II-1-5 投与の方法、投与期間及び投与濃度の設定理由	5
II-1-6 被験物質混合飲水の調製方法	6
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	6
II-1-8 被験物質混合飲水中の被験物質の安定性	6
II-1-9 被験物質の摂取量	6
II-2 動物管理	
II-2-1 各群の使用動物数	7
II-2-2 群分け及び個体識別方法	7

Ⅱ-2-3 飼育条件 .....	7
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 .....	8
Ⅱ-3-2 体重測定 .....	8
Ⅱ-3-3 摂水量測定 .....	8
Ⅱ-3-4 摂餌量測定 .....	8
Ⅱ-3-5 血液学的検査 .....	9
Ⅱ-3-6 血液生化学的検査 .....	9
Ⅱ-3-7 病理学的検査 .....	9
Ⅱ-4 数値処理と統計方法	
Ⅱ-4-1 数値の取り扱いと表示 .....	10
Ⅱ-4-2 母数の取り扱い .....	10
Ⅱ-4-3 統計方法 .....	11
Ⅲ 試験成績	
Ⅲ-1 生死状況 .....	12
Ⅲ-2 一般状態 .....	12
Ⅲ-3 体重 .....	12
Ⅲ-4 摂水量 .....	12
Ⅲ-5 摂餌量 .....	13
Ⅲ-6 被験物質摂取量 .....	13
Ⅲ-7 血液学的検査 .....	13
Ⅲ-8 血液生化学的検査 .....	14
Ⅲ-9 病理学的検査	
Ⅲ-9-1 剖検 .....	14
Ⅲ-9-2 臓器重量 .....	14
Ⅲ-9-3 病理組織学的検査 .....	15
Ⅳ 考察及びまとめ .....	16
Ⅴ 文献 .....	18

## 要約

アクリル酸＝2－ヒドロキシエチル（被験物質）の Crj:BDF<sub>1</sub> マウスを用いた経口投与による 2 年間（104 週間）のがん原性試験の予備試験のための 13 週間試験を実施するに当たり、その投与濃度を決定するために 2 週間試験を実施した。投与は、被験物質を各設定濃度に溶解した飲料水を動物に自由摂取させることにより行った。1 群当たりの動物数は、雌雄各 10 匹とし、被験物質投与群 5 群、対照群 1 群の 6 群構成で行った。投与濃度は、雌雄とも 20000 ppm、8000 ppm、3200 ppm、1280 ppm、512 ppm（公比 2.5）に設定した。観察、検査として、一般状態の観察、体重・摂餌量・摂水量の測定、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、臓器重量の測定及び病理組織学的検査を実施した。

試験の結果、20000 ppm 群では、雌雄ともに摂水量、体重と摂餌量の低下が顕著であり、雄の 7 匹と雌の全匹が死亡した。被験物質の混入した飲水の忌避が原因と考えられる消耗性変化（胸腺と脾臓の萎縮、骨髓の鬱血）が雌雄とも認められた。8000 ppm 群では、雄の 1 匹が死亡した。摂水量が顕著に低下し、体重の減少と摂餌量の低下が顕著であった。消耗性変化（雄に胸腺の萎縮）、血液の濃縮を示す変化（雌雄ともに赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の増加）、血液系への影響（雌で分葉核好中球比の増加）、肝臓への影響（雄で GOT の上昇、雌に総蛋白及びグルコースの減少、並びに総コレステロールとリン脂質の増加）、腎臓への影響（雌雄ともに尿素窒素、及びクロールの増加）が認められた。3200 ppm 群では、雌雄とも全例生存し、雄では摂水量の低下と体重増加のわずかな抑制、雌では摂水量の明らかな低下がみられた。また、肝臓への影響（雌で肝臓重量の高値、リン脂質の増加及び総蛋白の減少）と腎臓への影響（雌で腎臓重量の高値）を示した。1280 ppm 群では、雌雄ともわずかな摂水量の低下認められた。また、雌の肝臓の臓器重量に高値がみられた。512 ppm では、摂水量のわずかな減少傾向が認められた。

従って、2 週間の飲水投与によるアクリル酸＝2－ヒドロキシエチルのマウスに対する無毒性量(NOAE)は、肝臓重量の増加をエンドポイントとして、512 ppm(雌：0.083～0.102 g/kg body weight/day)であると考察される。

13 週間試験の投与濃度は、本試験の結果から、摂水量、摂餌量、体重への影響をもとに雌雄とも最高用量を 6000 ppm とし、以下 3000 ppm、1500 ppm、750 ppm、375 ppm（公比 2.0）に設定した。

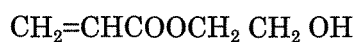
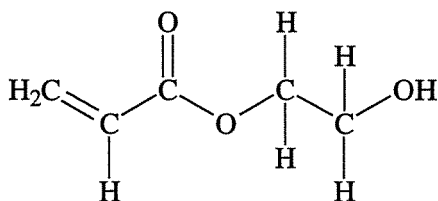
## I 試験材料

## I-1 被験物質の性状等

## I-1-1 名称等

名 称 : 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)



分子量 : 116.13

## I-1-3 物理化学的性状等 (文献 1,2)

外 観 : 無色透明な液体  
 沸 点 : 82℃ (0.6kPa)  
 凝 固 点 : -70℃以下  
 溶 解 性 : 水、有機溶媒に可溶  
 保存条件 : 室温保存

## I-2 被験物質の使用ロット等

使用ロット番号 : SKR 5565  
 製 造 元 : 和光純薬工業株式会社  
 グ レ ー ド : 和光試薬 1 級  
 純 度 : 97.5% (和光純薬工業㈱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

被験物質の同一性の確認は、使用したアクリル酸＝2-ヒドロキシエチルのマス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。なお、使用した被験物質のガスクロマトグラムをガスクロマトグラフ (Hewlett Packard 5890A) により測定し、不純物を同定した。

その結果、被験物質のマススペクトルは文献値 (文献 3) 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 4) と同じ波長にピークが認められ、本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。なお、ガスクロマトグラムを測定したところ、アクリル酸＝2-ヒドロキシエチルとは異なる 3 つの不純物のピークを認めた。それぞれの不純物はアクリル酸 (面積比 : 0.84%)、p-メトキシフェノール (面積比 : 0.05%)、未同定物質 (面積比 : 2.77%) であった。

なお、それらの結果は、APPENDIX L 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、使用開始前及び使用終了後に、赤外吸収スペクトルを赤外分光光度計 (Shimadzu FTIR-8200PC) により、また、ガスクロマトグラムをガスクロマトグラフ (Hewlett Packard 5890A) により測定し、使用開始前及び使用終了後のそれぞれ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。

なお、その結果は、APPENDIX L 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 番地) の Crj:BDF<sub>1</sub> マウス(SPF)の雌雄を使用した。雌雄各 75 匹を生後 5 週齢で導入し、1 週間の検疫・馴化を経た後、発育順調で、異常を認めない動物から、体重の中央値に近い雌雄各 60 匹 (投与開始時体重範囲、雄 : 21.2～23.9g、雌 : 16.5～18.3g) を選別し、試験に供した。

なお、がん原性試験で使用する動物は、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理由から Crj:BDF<sub>1</sub> マウスを使用することが決定している。当試験はがん原性試験の予備試験であるため Crj:BDF<sub>1</sub> マウスを使用した。

## 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

被験物質を飲料水に溶解し、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、それを動物に自由摂取させた。

#### Ⅱ-1-3 投与期間

1996年7月23日から1996年8月6日までの2週間、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摂水量の測定頻度に合わせ最長4日間に一回とした。

#### Ⅱ-1-4 投与濃度

雌雄ともに最高投与濃度を20000 ppmに設定し、以下、8000 ppm、3200 ppm、1280 ppm、512 ppm（公比2.5）とした。なお、対照群として飲料水のための群を設けた。

#### Ⅱ-1-5 投与の方法、投与期間及び投与濃度の設定理由

当該被験物質は常温で液体であり、かつ、水に可溶であるため、混水による経口投与とした。

投与期間はがん原性試験の投与濃度決定（13週間試験）に使用する投与濃度を決定するために2週間とした。

各群の投与濃度はLD<sub>50</sub>値（文献5）を参考にして決定した。すなわち、LD<sub>50</sub>値(601mg/kg)に相当する被験物質が1日当たりの飲水摂取量に含まれる濃度を算出し、この濃度を最高用量として設定した。以上のことから2週間試験の投与濃度は、雌雄ともに最高投与濃度を20000 ppmに設定し、以下、8000 ppm、3200 ppm、1280 ppm、512 ppm（公比2.5）とした。

## Ⅱ-1-6 被験物質混合飲水の調製方法

脱イオン水に被験物質を加え、マグネチックスターラ（池田理化(株)製 1S 3GL 型）を用い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、試験における濃度の表示は、ppm（重量対重量比）とした。また、被験物質の混合飲水の調製頻度は、給水瓶の交換頻度に合わせて毎週 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

各投与濃度に調製された被験物質混合飲水中における被験物質の濃度は、初回調製時（初回投与開始直前）に各濃度毎に混合容器内の被験物質混合飲水を 3 点サンプリングし、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、97.7～102%の範囲にあった。

その結果を APPENDIX L 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での安定性は、512 ppm と 2000 ppm の被験物質混合飲水を調製し、給水瓶に充填した被験物質混合飲水を 7 日間動物飼育室内に放置し、調製時及び調製後 7 日目に給水瓶内の被験物質混合飲水をそれぞれ 3 点サンプリングし、ガスクロマトグラフ（Hewlett Packard 5890A）を用いて分析し、測定結果を比較することにより確認した。その結果、調製時を 100%とすると、7 日後には 512 ppm : 91.9%、20000 ppm : 93.5%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 L 4 に示した。

## Ⅱ-1-9 被験物質の摂取量

体重、摂水量及び設定濃度より被験物質の体重当たりの一日摂取量（g/kg body weight /day）を算出した。

## 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、雌雄各群 10 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	10 匹（1001～1010）	対照群	10 匹（2001～2010）
512 ppm 群	10 匹（1101～1110）	512 ppm 群	10 匹（2101～2110）
1280 ppm 群	10 匹（1201～1210）	1280 ppm 群	10 匹（2201～2210）
3200 ppm 群	10 匹（1301～1310）	3200 ppm 群	10 匹（2301～2310）
8000 ppm 群	10 匹（1401～1410）	8000 ppm 群	10 匹（2401～2410）
20000 ppm 群	10 匹（1501～1510）	20000 ppm 群	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、発育順調で、異常を認めない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)。

試験期間中の動物の個体識別は、検疫・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、またケージにも個体識別番号を付した。

なお、動物はバリア区域（AC-3 空調エリア）内の独立した室（雌雄とも 314 室）に収容し、飼育室に試験番号、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した。

### Ⅱ-2-3 飼育条件

動物は、飼育期間を通して、温度  $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ （実測値 平均 $\pm$ 標準偏差： $23.3 \pm 0.3^{\circ}\text{C}$ ）、湿度  $55 \pm 10\%$ （実測値 平均 $\pm$ 標準偏差： $55 \pm 1\%$ ）、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/時の環境下で飼育した。

飼育期間を通して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。

動物は単飼ケージ(ステンレス製二連型網ケージ：112W×212D×120H mm)に収容した。

飼料は、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- $\gamma$ 線照射滅菌飼料)を使用し、固型飼料給餌器により自由摂取させた。

飲水は、検疫期間中は市水（秦野市水道局供給）をフィルターろ過し、紫外線照射した飲料水を自動給水装置で自由摂取させた。馴化期間中は脱イオン水を給水瓶により自由摂

取させた。投与期間中は、所定の濃度に調製した被験物質混合飲水を給水瓶により自由摂取させた。また、対照群については馴化期間と同様に脱イオン水のみを与えた。

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㈱から分析データを入手し、保管した。飼料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 番 1 号）の分析データを入手し、また、飲料水については、(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）に分析を委託し、それぞれ試験計画書に規定した許容基準と比較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

全動物について、生死及び瀕死の確認を毎日 1 回行い、詳細な一般状態の観察を投与開始後 1 日目(1 週 1 日)、3 日目(1 週 3 日)、7 日目(1 週 7 日)、10 日目(2 週 3 日)及び 14 日目(2 週 7 日)に行った。

### Ⅱ－3－2 体重測定

全動物について、0 日目(投与開始直前)、1 日目(1 週 1 日)、3 日目(1 週 3 日)、7 日目(1 週 7 日)、10 日目(2 週 3 日)及び 14 日目(2 週 7 日)に体重を測定した。また、動物の瀕死・死亡発見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

全動物について、週 2 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

全動物について、週 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、採血可能な1群当たり雌雄各5匹（雌20000 ppm群は全例死亡のため検査動物なし、雄の20000 ppm群は3匹）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、血液学的検査を行った。

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、白血球数、白血球分類

検査方法はAPPENDIX M 1に示した。

### Ⅱ-3-6 血液生化学的検査

定期解剖時まで生存し、採血可能な1群当たり雌雄各5匹（雌20000 ppm群は全例死亡のため検査動物なし、雄の20000 ppm群は3匹）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。

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、リン脂質、GOT、GPT、LDH、 $\gamma$ -GTP、CPK、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

検査方法はAPPENDIX M 1に示した。

### 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

定期解剖時に雌雄各群とも5匹（雌20000 ppm群は全例死亡のため検査動物なし、雄の20000 ppm群は3匹）の動物について、以下に示した臓器の湿重量（臓器実重量）を測定した。また、湿重量の体重比（臓器重量体重比）、すなわち、定期解剖時の体重に対する百分率を算出した。

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

死亡例については対照群で1匹、20000 ppm群で雄1匹、雌2匹、定期解剖例では雄の20000 ppm群を除く雌雄各群とも2匹の動物の臓器を10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液

にて固定後、以下に示した臓器を、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。

皮膚、鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺、骨髄、リンパ節、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、陰、乳腺、脳、脊髄、末梢神経、眼球、ハーダー腺、筋肉、骨

## Ⅱ-4 数値処理と統計方法

### Ⅱ-4-1 数値の取り扱いと表示

数値データは計測機器の精度に合わせて表示した。

体重については g を単位とし、小数点以下第 1 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、給餌量（給水量）と残餌量（残水量）を小数点以下第 1 位まで計測し、給餌量（給水量）から残餌量（残水量）を減じて摂餌量（摂水量）とした。この値を計測期間の日数で除し、1 日当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 当たり一日摂取量は、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、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 位まで表示した。

臓器実重量については 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解剖時体重で除し、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 M 2 に示した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

体重、摂餌量及び摂水量については、全動物を対象に計測した。

臓器重量については雌雄各群とも 5 匹（雄 20000 ppm 群は全例死亡のため検査動物なし、雌の 20000 ppm 群は 3 匹）、血液学的検査では 1 群当たり雌雄各 5 匹（雄 20000 ppm 群は全例死亡のため検査動物なし、雌の 20000 ppm 群は 3 匹）、血液生化学的検査では 1 群当たり雌雄各 5 匹（雄 20000 ppm 群は全例死亡のため検査動物なし、雌の 20000 ppm 群は 3 匹）、定期解剖時まで生存した動物を対象とした。

剖検は、全動物を母数とした。病理組織学的検査では、死亡例については対照群で雄 1 匹、8000 ppm 群で雌 1 匹、20000 ppm 群で雌雄とも 2 匹、定期解剖例では雄の 20000 ppm 群を除く雌雄各群とも 2 匹を母数とした。ただし、非腫瘍性病変については有効臓器数（供試臓器数から欠損臓器数を除いた臓器数）を母数とした。

#### Ⅱ-4-3 統計方法

本試験で得られた測定値は、対照群を基準として、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 の多重比較により対照群と各投与群の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、対照群と各投与群の Dunnett(型)の多重比較を行った。

なお、予備検定は 5% の有意水準で両側検定を行い、最終検定では、5% 及び 1% の有意水準の表示を行った。

各群雌雄毎に検査数が 2 以下の項目については検定より除外した。

### Ⅲ 試験成績

#### Ⅲ-1 生死状況

生死状況を TABLE 1, 2、APPENDIX A 1, 2 に示した。

雄の 20000 ppm 群で 7 匹 [投与開始後 10 日目 (2 週 3 日) に 2 匹、12 日目 (2 週 5 日) に 2 匹、13 日目 (2 週 6 日) に 3 匹]、8000 ppm 群では 1 匹 [投与開始後 12 日目 (2 週 5 日)] が死亡した。

雌では 20000 ppm 群で全例 [投与開始後 7 日目 (1 週 7 日) に 1 匹、8 日目 (2 週 1 日) に 1 匹、9 日目 (2 週 2 日) に 6 匹、10 日目 (2 週 3 日) に 2 匹] が死亡した。

なお、雄の対照群で投与開始後 14 日目 (2 週 7 日) に 1 匹の死亡が認められ、この動物は病理組織学的検査で水腎症と心臓の壊死が認められ、これらの変化により死亡したと考えた。

#### Ⅲ-2 一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX A 1, 2 に示した。

20000 ppm 群では、雌雄とも多くの動物に立毛、糞小粒または糞少量が観察された。8000 ppm 群では、少数の動物に立毛、糞小粒または糞少量が観察された。

#### Ⅲ-3 体重

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

雌雄とも 8000 ppm 以上の群で投与前よりも体重が低下した。また、3200 ppm 群の雄では体重増加のわずかな抑制が認められた。

なお、14 日目の最終計測日 (2 週 7 日) における各投与群の体重は、対照群と比較して、雄では 20000 ppm 群 : 52%、8000 ppm 群 : 80%、3200 ppm 群 : 93%、1280 ppm 群 : 99%、512 ppm 群 : 101%、雌では 8000 ppm 群 : 81%、3200 ppm 群 : 100%、1280 ppm 群 : 102%、512 ppm 群 : 103%であった。

#### Ⅲ-4 摂水量

摂水量を TABLE 3, 4、FIGURE 3, 4 及び APPENDIX C 1, 2 に示した。

雌雄とも全投与群で投与濃度に対応した摂水量の低下がみられ、雌雄とも 3200 ppm 以上の群は全投与期間で有意な低値、1280 ppm 群では雄は 14 日目、雌では 10 日目以降に有意な低値が示された。

投与期間中の投与群の摂水量は、対照群に対して、雄では 20000 ppm 群：8～18%、8000 ppm 群：21～30%、3200 ppm 群：40～52%、1280 ppm 群：60～74%、512 ppm 群：71～90%、雌では 20000 ppm 群：7～8%、8000 ppm 群：22～38%、3200 ppm 群：51～65%、1280 ppm 群：66～84%、512 ppm 群：71～97%の範囲にあった。

### Ⅲ－5 摂餌量

摂餌量を TABLE 5, 6、FIGURE 5, 6 及び APPENDIX D 1, 2 に示した。

20000 ppm 群の雌雄に摂餌量の著しい低値が認められ、8000 ppm 群では雌雄とも著しい低値の後に回復する傾向にあった。

投与期間中の投与群の摂餌量は、対照群に対して、雄では 20000 ppm 群：42～57%、8000 ppm 群：58～94%、3200 ppm 群：89～109%、1280 ppm 群：95～109%、512 ppm 群：97～117%、雌では 20000 ppm 群：44～48%、8000 ppm 群：59～88%、3200 ppm 群：91～100%、1280 ppm 群：94～104%、512 ppm 群：97～115%の範囲にあった。

### 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体重当りの被験物質摂取量を APPENDIX E 1, 2 に示した。

全投与期間における各群の一日当たりの被験物質摂取量 (g/kg body weight/day) は、雄で 20000 ppm 群：0.405～1.191、8000 ppm 群：0.367～0.503、3200 ppm 群：0.254～0.320、1280 ppm 群：0.144～0.176、512 ppm 群：0.070～0.078、雌では 20000 ppm 群：0.509～0.602、8000 ppm 群：0.436～0.807、3200 ppm 群：0.367～0.451、1280 ppm 群：0.181～0.224、512 ppm 群：0.083～0.102 の範囲にあった。

### Ⅲ－7 血液学的検査

血液学的検査の結果を APPENDIX F 1, 2 に示した。

20000 ppm 群の雌は全匹死亡のため、検査を行なわなかった。

雄では、8000 ppm 以上の群で赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の増加が認められ、20000 ppm 群では、分葉核好中球比の増加、リンパ球比の減少が認められた。また、白血球数の減少傾向が認められた。

雌では、8000 ppm 群で赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値及び分葉核好中球比の増加が認められた。また、白血球数とリンパ球比の減少傾向が認められた。

### Ⅲ-8 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を APPENDIX G 1, 2 に示した。

20000 ppm 群の雌は全匹死亡のため、検査を行なわなかった。

雄では、8000 ppm 以上の群で GOT の上昇とクロールの増加、並びに尿素窒素の増加傾向が認められ、8000 ppm 群でナトリウムの増加傾向、20000 ppm 群で LDH の上昇、ナトリウムの増加、総ビリルビン及び無機リンの増加傾向、GPT、 $\gamma$ -GTP 及び CPK の上昇傾向、グルコースの減少が認められた。

雌では、3200 ppm 群と 8000 ppm 群で総蛋白の減少とリン脂質の増加、8000 ppm 群で総コレステロール、尿素窒素及びクロールの増加、ナトリウムの増加傾向、グルコースと A/G 比の減少が認められた。

### Ⅲ-9 病理学的検査

#### Ⅲ-9-1 剖検

観察された剖検所見を、全動物については APPENDIX H 1, 2 に、途中死亡動物については APPENDIX H 3, 4 に、定期解剖動物については APPENDIX H 5, 6 に示した。

雄では、胸腺の萎縮が 8000 ppm 群の 2 匹（死亡の 1 匹、定期解剖の 1 匹）と 20000 ppm 群の全匹（死亡の 7 匹、定期解剖の 3 匹）に認められた。その他、脾臓の黒色斑及び腎臓の白色斑と水腎症が散見された。

雌では、20000 ppm 群（全匹が死亡）の全例に胸腺の萎縮が認められた。その他、脾臓の黒色斑と腎臓の水腎症が散見された。

#### Ⅲ-9-2 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 APPENDIX I 1, 2（実重量）、APPENDIX J 1, 2（体重比）に示した。

雄では、胸腺が 8000 ppm 以上の群で実重量と体重比の有意な低値、脾臓と肝臓が 20000 ppm 群で実重量と体重比の有意な低値及び 8000 ppm 群で実重量の有意な低値を示した。

雌では、胸腺と脾臓が 8000 ppm 群で実重量と体重比の有意な低値した。肝臓は 8000 ppm 群で実重量の低値がみられたが、3200 ppm と 1280 ppm 群では実重量と体重比の高値がみられた。腎臓は 3200 ppm 群で実重量と体重比の高値、8000 ppm 群で体重比の高値が認められた。

その他、雄では、20000 ppm 群で精巣、心臓、肺、腎臓及び脳の実重量の低値と肺及び脳の体重比の高値、8000 ppm 群で心臓と肺の実重量の低値と脳の体重比の高値、3200 ppm 群で肺の実重量の低値が認められ、雌では、8000 ppm 群で卵巣、心臓、肺及び脳の実重量の低値と脳の体重比の高値が認められた。

### Ⅲ-9-3 病理組織学的検査

定期解剖動物の病理組織学的所見（対照群～8000ppm 群は雌雄各 2 匹/群、20000 ppm 群の雄は 2 匹）を APPENDIX K 1, 2 に、死亡動物の病理組織学的所見（20000 ppm 群の雄 1 匹と雌 2 匹、対照群の雄 1 匹）を APPENDIX K 3, 4 に示した。

途中死亡動物は、雄では、20000 ppm 群（1 匹）に胸腺の萎縮、脾臓の萎縮とメラニンの沈着及び骨髓の鬱血が認められた。対照群で死亡した 1 匹には水腎症、心臓の壊死及び胸腺の萎縮が認められた。雌では、20000 ppm 群に胸腺の萎縮が 1 匹（他の 1 匹も剖検では萎縮を示したが、標本欠損につき、病理組織学的検査を実施せず）、脾臓の萎縮（2 匹）及び骨髓の鬱血（2 匹）が認められた。

定期解剖例には、雄では、20000 ppm 群で胸腺の萎縮（2 匹）、脾臓の萎縮（1 匹）、骨髓の鬱血（2 匹）及び肝臓の単細胞壊死（1 匹）が認められた。

雌では 8000 ppm 群で前胃の潰瘍（2 匹）が認められた。この他、3200 ppm 群で水腎症（1 匹）、512 ppm 群の脾臓のメラニン沈着（1 匹）が認められた。

#### IV 考察及びまとめ

アクリル酸=2-ヒドロキシエチルの Crj:BDF<sub>1</sub> マウスを用いた経口投与による 2 年間 (104 週間) のがん原性試験の予備試験のための 13 週間試験を実施するに当たり、その投与濃度を決定するために 2 週間試験を実施した。投与は、アクリル酸=2-ヒドロキシエチルを各投与濃度に溶解させた飲料水の自由摂取で行った。1 群当たりの動物数は、雌雄各 10 匹とし、被験物質投与群 5 群、対照群 1 群の 6 群構成で行った。投与濃度は、雌雄とも 512、1280、3200、8000、20000 ppm (公比 2.5) とした。

##### (1) 用量-反応関係

20000 ppm 群では、雄の 7 匹と雌の全匹が死亡した。雌雄ともに摂水量が顕著に減少し、体重と摂餌量の低下も顕著であった。消耗性変化と考えられる胸腺と脾臓の萎縮、骨髄の鬱血が雌雄とも認められた。途中死亡動物では、飲水が顕著に減少 (対照群に比較し、雄で 9-18%、雌で 7-8%) したことから、死因は被験物質の混入した飲水の忌避も寄与していると考えられた。20000 ppm 群で生存した雄の 3 匹では、飲水量の顕著な減少に伴う血液濃縮を示す赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の増加がみられた。また血液系への影響として、白血球数の減少と分葉核好中球比の増加及びリンパ球比の減少もみられた。肝臓への影響として、GOT、GPT、 $\gamma$ -GPT 及び LDH の上昇、肝臓の単細胞壊死及び栄養状態の悪化を示すグルコースの減少が認められた。腎臓への影響として、尿素窒素、ナトリウム、クロール及び無機リンの増加がみられた。

8000 ppm 群では、雄の 1 匹が死亡し、胸腺の萎縮がみられ、飲水が顕著に減少したことから、20000 ppm 群と同様に動物の死因に忌避も寄与していると考えられた。生存例では、雌雄ともに摂水量が顕著に低下し、体重の減少と摂餌量の低下が顕著であった。飲水量減少に伴う血液の濃縮を示す赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の増加が雌雄ともにみられた。また、血液系への影響として、分葉核好中球比の増加が雌にみられた。肝臓への影響として、GOT の上昇が雄に、栄養状態の悪化を示す総蛋白とグルコースの減少及び脂質代謝の異常を示す総コレステロールとリン脂質の増加が雌に認められた。腎臓への影響として、尿素窒素、ナトリウム及びクロールの増加が雌雄に認められた。なお、前胃の潰瘍が雌にみられ、消耗性変化と考えられた。

3200 ppm 群では、雌雄とも全匹生存し、雄では、摂水量の低下と体重増加のわずかな抑制がみられたが、それ以外の検査項目に変化がみられなかった。雌では、摂水量の明らかな低下がみられたが、体重と摂餌量の変化は認められなかった。しかし、肝臓と腎臓の臓器重量が高値を示し、血液生化学的検査でリン脂質の増加と総蛋白の減少がみられた。

1280 ppm 群では、雌雄ともわずかな摂水量の低下がみられたが、体重と摂餌量の変化は認められなかった。雌の肝臓の臓器重量に高値がみられたが、それ以外の項目で変化は認められなかった。

512 ppm では、摂水量のわずかな減少傾向があるものの、全ての検査項目で有意な変化

は認められなかった。

なお、雌の対照群にみられた 1 匹の死亡の原因は、水腎症あるいは心臓の壊死によるものであった。また、投与群にみられた脾臓のメラニン沈着に由来する黒色斑や腎臓の水腎症は自然発生病変であり、これらの病変は投与濃度に対応して増加していないことから本被験物質投与による影響とは考えなかった。

## (2) 無毒性量 (NOAEL)

2 週間の飲水投与によるアクリル酸=2-ヒドロキシエチルの無毒性量は、肝臓重量の増加をエンドポイントとして、512 ppm (雌 : 0.083~0.102 g/kg body weight/day) であると考察される。

## (3) 13 週間試験の投与濃度の設定

13 週間試験の投与濃度は、本被験物質の 2 週間経口投与試験の結果を考慮し、下記のよう設定した。雌雄の 20000 ppm 群と雄の 8000 ppm 群では被験物質混合飲水に対する忌避等による死亡動物が認められたため、この濃度で 13 週間の投与を実施するのは適切でないと考えた。3200 ppm 群では摂水量の低下が認められたが、体重増加の抑制はわずかであり、また、血液学的検査、血液生化学的検査、病理学的検査では重篤な影響を示す所見は認められなかった。これらの結果から、3200 ppm 以上、8000 ppm 以下の範囲で、かつ、両投与群の動物の状態から推察して 8000 ppm により近い濃度が適切であると考えた。従って、13 週間試験の投与濃度は、雌雄とも最高用量を 6000 ppm とし、以下 3000 ppm、1500 ppm、750 ppm、375 ppm (公比 2.0) に設定した。

## V 文献

1. 化学工業日報社 (2000)  
13700 の化学商品  
pp.342-343, 化学工業日報社, 東京
2. Buckingham J. and MacDonald F. M. (eds.) (1982)  
Dictionary of Organic Compounds.  
10th Suppl. p.312, Chapman and Hall, London.
3. McLafferty F. W. (1994)  
Wiley Registry of Mass Spectral Data, 6th edition,  
Entry Number 12762. John Wiley and Sons, Inc. (U.S.)
4. 和光純薬工業(株)提供資料 (1996)  
赤外吸収スペクトル
5. Registry of Toxic Effects of Chemical Substances (RTECS) (1997)  
The National Institute for Occupational Safety and Health.  
Cincinnati, OH.
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.