

グリシドールのラットを用いた
吸入による2週間毒性試験報告書

試験番号：0307

CAS No. 556-52-5

2000年12月21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

グリシドールのラットを用いた
吸入による2週間毒性試験報告書

試験番号：0307

本 文

本文目次

頁

要旨	1
I 試験材料	
I-1 被験物質の性状等	
I-1-1 名称と別名	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	
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、投与方法及び投与期間	4
II-1-2 投与濃度	4
II-1-3 被験物質の発生方法と濃度調整	4
II-1-4 被験物質の濃度測定	4
II-2 動物管理	
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	5
II-2-3 飼育条件	5

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	6
II-3-2	体重測定	6
II-3-3	摂餌量測定	6
II-3-4	血液学的検査	6
II-3-5	血液生化学的検査	7
II-3-6	病理学的検査	7
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	7
II-4-2	母数の取り扱い	8
II-4-3	統計方法	8
II-5	試資料の保管	8
III	試験成績	
III-1	動物の状態観察	
III-1-1	生死状況	9
III-1-1	一般状態	9
III-1-2	体重	9
III-1-3	摂餌量	9
III-2	血液学的検査・血液生化学的検査	
III-2-1	血液学的検査	10
III-2-2	血液生化学的検査	10
III-3	病理学的検査	
III-3-1	剖検観察	10
III-3-2	臓器重量	11
III-3-3	病理組織学的検査	11
IV	考察及びまとめ	12
V	文献	14

TABLES

- TABLE 1 EXPERIMENTAL DESIGN AND MATERIALS AND METHODS IN THE
2-WEEK INHALATION STUDY OF GLYCIDOL
- TABLE 2 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES OF
MALE RATS IN THE 2-WEEK INHALATION STUDY OF GLYCIDOL
- TABLE 3 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES OF
FEMALE RATS IN THE 2-WEEK INHALATION STUDY OF GLYCIDOL
- TABLE 4 FOOD CONSUMPTION CHANGES OF MALE RATS IN THE 2-WEEK
INHALATION STUDY OF GLYCIDOL
- TABLE 5 FOOD CONSUMPTION CHANGES OF FEMALE RATS IN THE 2-WEEK
INHALATION STUDY OF GLYCIDOL

FIGURES

FIGURE 1 GLYCIDOL VAPOR GENERATION SYSTEM AND INHALATION SYSTEM

FIGURE 2 BODY WEIGHT CHANGES OF MALE RATS IN THE 2-WEEK INHALATION STUDY OF GLYCIDOL

FIGURE 3 BODY WEIGHT CHANGES OF FEMALE RATS IN THE 2-WEEK INHALATION STUDY OF GLYCIDOL

APPENDIXES

- APPENDIX A 1 CLINICAL OBSERVATION : SUMMARY, RAT : MALE
(2-WEEK STUDY)
- APPENDIX A 2 CLINICAL OBSERVATION : SUMMARY, RAT : FEMALE
(2-WEEK STUDY)
- APPENDIX B 1 BODY WEIGHT CHANGES : SUMMARY, RAT : MALE
(2-WEEK STUDY)
- APPENDIX B 2 BODY WEIGHT CHANGES : SUMMARY, RAT : FEMALE
(2-WEEK STUDY)
- APPENDIX C 1 FOOD CONSUMPTION CHANGES : SUMMARY, RAT : MALE
(2-WEEK STUDY)
- APPENDIX C 2 FOOD CONSUMPTION CHANGES : SUMMARY, RAT : FEMALE
(2-WEEK STUDY)
- APPENDIX D 1 HEMATOLOGY : SUMMARY, RAT : MALE (2-WEEK STUDY)
- APPENDIX D 2 HEMATOLOGY : SUMMARY, RAT : FEMALE (2-WEEK STUDY)
- APPENDIX E 1 BIOCHEMISTRY : SUMMARY, RAT : MALE (2-WEEK STUDY)
- APPENDIX E 2 BIOCHEMISTRY : SUMMARY, RAT : FEMALE (2-WEEK STUDY)
- APPENDIX F 1 GROSS FINDINGS : SUMMARY, RAT : MALE :
DEAD AND MORIBUND ANIMALS (2-WEEK STUDY)
- APPENDIX F 2 GROSS FINDINGS : SUMMARY, RAT : MALE :
SACRIFICED ANIMALS (2-WEEK STUDY)
- APPENDIX F 3 GROSS FINDINGS : SUMMARY, RAT : FEMALE :
DEAD AND MORIBUND ANIMALS (2-WEEK STUDY)
- APPENDIX F 4 GROSS FINDINGS : SUMMARY, RAT : FEMALE :
SACRIFICED ANIMALS (2-WEEK STUDY)

APPENDIXES (CONTINUED)

- APPENDIX G 1 ORGAN WEIGHT, ABSOLUTE : SUMMARY, RAT : MALE
(2-WEEK STUDY)
- APPENDIX G 2 ORGAN WEIGHT, ABSOLUTE : SUMMARY, RAT : FEMALE
(2-WEEK STUDY)
- APPENDIX H 1 ORGAN WEIGHT, RELATIVE : SUMMARY, RAT : MALE
(2-WEEK STUDY)
- APPENDIX H 2 ORGAN WEIGHT, RELATIVE : SUMMARY, RAT : FEMALE
(2-WEEK STUDY)
- APPENDIX I 1 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS :
SUMMARY, RAT : MALE : DEAD AND MORIBUND ANIMALS
(2-WEEK STUDY)
- APPENDIX I 2 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS :
SUMMARY, RAT : MALE : SACRIFICED ANIMALS
(2-WEEK STUDY)
- APPENDIX I 3 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS :
SUMMARY, RAT : FEMALE : DEAD AND MORIBUND ANIMALS
(2-WEEK STUDY)
- APPENDIX I 4 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS :
SUMMARY, RAT : FEMALE : SACRIFICED ANIMALS
(2-WEEK STUDY)
- APPENDIX J 1 IDENTITY OF GLYCIDOL IN THE 2-WEEK INHALATION STUDY
- APPENDIX J 2 STABILITY OF GLYCIDOL IN THE 2-WEEK INHALATION
STUDY
- APPENDIX K 1 CONCENTRATION OF GLYCIDOL IN THE INHALATION
CHAMBER OF THE 2-WEEK INHALATION STUDY
- APPENDIX K 2 ENVIRONMENTAL CONDITIONS OF INHALATION CHAMBER
IN THE 2-WEEK INHALATION STUDY OF GLYCIDOL

APPENDIXES (CONTINUED)

- APPENDIX L 1 METHODS FOR HEMATOLOGY AND BIOCHEMISTRY IN THE
2-WEEK INHALATION STUDY OF GLYCIDOL
- APPENDIX L 2 UNITS AND DECIMAL PLACE FOR HEMATOLOGY AND
BIOCHEMISTRY IN THE 2-WEEK INHALATION STUDY OF
GLYCIDOL

要旨

グリシドールのがん原性を検索する目的で F344/DuCrj(Fischer)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(暴露)濃度を設定する予備試験である13週間試験の暴露濃度を決定するための前予備試験として本試験(2週間試験)を実施した。

本試験は、各群雌雄各10匹のラットを用いて被験物質投与群5群、対照群1群の6群構成で行った。暴露濃度は600ppm、300ppm、150ppm、75ppm及び37.5ppmとした。投与はグリシドールを含む空気を所定の濃度で1日6時間、1週5日間、2週間全身暴露することにより行った。観察及び検査項目は、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とした。

グリシドールの投与によって、雌雄の300ppm以上の群は全例死亡した。一般状態の詳細観察時、雌雄の300ppm群では著変を認めなかったが、600ppm群の雄には立毛、鼻血性、不整呼吸、異常呼吸音が観察され、剖検観察時、両群ともに消化器官にガスの貯留がみられた。病理組織学的検査の結果、両群とも鼻腔を中心に壊死、萎縮、扁平上皮化生、炎症性細胞浸潤(レベルI)、潰瘍がみられた。これらの変化は、グリシドールの吸入による刺激が原因の変化と考えられ、これらの変化により鼻呼吸が困難となり、開口呼吸となり消化器官へのガス貯留の原因となったと考えられた。また、鼻腔での炎症性細胞浸潤や潰瘍、呼吸上皮の壊死は鼻腔の前半部であるレベルIに発生し、嗅上皮の壊死は嗅部の全域に及んでいた。その障害の程度は強く、動物の死因になったと推察された。

150ppm以下の群では、一般状態の詳細観察時に著変を認められた動物はいなかったが、雄の150ppm以下の群、雌の75ppm、150ppm群で体重増加の抑制がみられ、雄の150ppm以下の群、雌の150ppm群で摂餌量の低値が認められた週があった。病理組織学的検査の結果、雄の75ppm以上、雌の150ppm群に鼻腔の変化がみられた。雄の37.5ppm群及び雌の75ppm以下の群では著変を認めなかった。

以上の結果から、13週間試験の投与濃度は雌雄とも最高濃度を160ppmとし、以下80ppm、40ppm、20ppm、10ppm(公比2)とした。

I 試験材料

I-1 被験物質の性状等

I-1-1 名称と別名

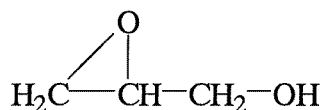
名 称 : グリシドール(Glycidol)

I U P C 名 : 2,3-Epoxy-1-propanol

別 名 : Epoxypropyl alcohol
Glycide

CAS No. : 556-52-5

I-1-2 構造式及び分子量



分 子 量 : 74.08

I-1-3 物理化学的性状等

性 状 : 無色透明の液体

沸 点 : 166~177°C

融 点 : -45°C

比 重 : 1.117(d_4^{20})

蒸 気 圧 : 0.9mmHg(25°C)

保存条件 : 2~10°C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 : SKG 5118 (1996 年 3 月 19 日 ~ 1996 年 4 月 1 日)

製 造 元 : 和光純薬工業株式会社

グ レ ー ド : 化学用

純 度 : 85%以上 (和光 規格合格品)

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及び赤外吸収スペクトルを測定し、それぞれの文献値(文献 1, 2)と比較することにより確認した。なお、それらの結果は、APPENDIX J1 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、その赤外吸収スペクトル及びガスクロマトグラムを測定し、それぞれのデータを比較することにより確認した。なお、それらの結果は APPENDIX J2 に示した。

I-4 試験動物

動物は日本チャールス・リバー(株)(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 75 匹を生後 4 週齢で導入し、各 1 週間の検疫、馴化を経た後、発育順調で異常を認めなかった動物から、それぞれ体重値の中央値に近い雌雄各 60 匹(群構成時体重範囲は、雄:109~121g、雌:87~91g)を選別して試験に供した。

なお、F344/DuCrj(Fischer)ラットを選択した理由は、がん原性試験で使用する動物種及び系統に合わせたことによる。

II 試験方法

試験計画、材料及び方法等の概要を TABLE 1 に示した。

II-1 投与

II-1-1 投与経路、投与方法及び投与期間

投与経路は全身暴露による経気道投与とした。吸入チャンバー内にグリシドールを含む空気を送り込み、所定の濃度で6時間/日、5日/週、2週間（計10回）、試験動物に全身暴露することにより投与した。なお、対照群は換気のみとした。

II-1-2 投与濃度

雌雄ともに最高濃度を600ppmに設定し、以下300ppm、150ppm、75ppm、37.5ppm（公比2）とした。

II-1-3 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。発生容器内のグリシドールを循環式恒温層で加熱しながら、清浄空気のパブリングにより蒸発させた。さらにこのグリシドール蒸気を循環式恒温槽で冷却後、清浄空気希釈し再加熱した後、流量計を用いて一定量を吸入チャンバーのラインミキサーに供給した。暴露中は吸入チャンバー内のグリシドール濃度をガスクロマトグラフにより測定、監視しながら、設定濃度になるように吸入チャンバーへの供給流量を調節して濃度調整を行った。

II-1-4 被験物質の濃度測定

吸入チャンバー内のグリシドールの濃度は自動サンプリング装置付ガスクロマトグラフを用い、暴露開始前から暴露終了後まで15分毎に測定した。投与濃度の平均値は設定濃度を満足する結果を示した。測定結果を APPENDIX K 1 に示した。

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、各群雌雄各 10 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	10 匹 (1001～1010)	10 匹 (2001～2010)
1	37.5ppm 群	10 匹 (1101～1110)	10 匹 (2101～2110)
2	75ppm 群	10 匹 (1201～1210)	10 匹 (2201～2210)
3	150ppm 群	10 匹 (1301～1310)	10 匹 (2301～2310)
4	300ppm 群	10 匹 (1401～1410)	10 匹 (2401～2410)
5	600ppm 群	10 匹 (1501～1510)	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、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（層別体重平均方法）により実施した。（文献 3）

試験期間中の動物の個体識別は、検疫期間及び馴化期間は色素塗布により、投与期間は耳パンチにより識別し、ケージにも個体識別番号を付した。

なお、他の試験との区別は、バリア区域内の独立した室にそれぞれ収容し、各室に試験番号、動物種及び動物番号を表示することにより行った。

II-2-3 飼育条件

動物は、検疫室で 1 週間の検疫飼育を行った後、馴化期間及び投与期間中は吸入チャンバー内で飼育した。検疫室、吸入チャンバー室及び吸入チャンバー内の環境条件を TABLE 1 に示した。また、吸入チャンバー内環境の計測結果を APPENDIX K 2 に示した。吸入チャンバー内環境はすべて設定条件の範囲内であった。

検疫期間中は 1 ケージ当たり 1 匹の単飼(ステンレス製 2 連型網ケージ：170W×294D×176H mm)、馴化期間中は 1 ケージ当たり 1 匹の単飼(ステンレス製 6 連型網ケージ：125W×216D×176H mm)、投与期間中は 1 ケージ当たり 1 匹の単飼(ステンレス製 5 連型網ケージ：150W×216D×176H mm)の条件下で飼育した。

飼料は、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(3Mrad-γ線照射滅菌飼料)を飼育全期間を通して固型飼料給餌器により自由摂取さ

せた。ただし、定期解剖日前日の夕方からは給餌は行わなかった。飼料中の栄養成分については成分分析結果をオリエンタル酵母工業(株)から入手し、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 52 番 1 号)のデータを入手した。

また、飲料水は飼育全期間を通して、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、自動給水により自由摂取させた。飲料水は(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)に依頼して、水道法に準拠した項目について分析した。

飼料の夾雑物及び飲料水については、全ての項目で試験計画書に規定した許容基準の範囲内であった。なお、本試験では暴露中の給餌、給水はしなかった。

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

動物の生死確認は、検疫及び馴化期間は毎日 1 回、投与期間は暴露を行った日は 2 回、暴露を行わなかった日(土曜日と日曜日)は 1 回とした。また、一般状態の詳細観察は、検疫及び馴化期間には、導入時、馴化開始時及び群構成時に実施し、投与期間は投与期日の 2 日(1w-2d)、4 日(1w-4d)、7 日(1w-7d)、10 日(2w-3d)、14 日(2w-7d)の暴露開始前及び全投与期間の暴露終了後に行った。

II-3-2 体重測定

検疫及び馴化期間には、導入時、馴化開始時及び群構成時に実施し、投与期間中は、投与期間の 2 日、4 日、7 日、10 日、14 日の暴露前に生存していた全動物の体重を測定した。

なお、死亡動物及び定期解剖動物の搬出時にも体重を測定した。

II-3-3 摂餌量測定

週 1 回、給餌量及び残餌量を測定し、その値から摂餌量を算出した。

II-3-4 血液学的検査

動物を解剖日前日より絶食(18 時間以上)させ、定期解剖時まで生存した動物について、各群雌雄各 5 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-2K 入り採血管、及びクエン酸ナト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。

検査項目は TABLE 1、検査方法は APPENDIX L 1 に示した。

II-3-5 血液生化学的検査

動物を解剖日前日より絶食(18 時間以上)させ、定期解剖時まで生存した動物について、各群雌雄各 5 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た血液を遠心分離し、得られた血漿を用いて血液生化学的検査を行った。

検査項目は TABLE 1、検査方法は APPENDIX L 1 に示した。

II-3-6 病理学的検査

1 剖検観察

全動物を肉眼的に観察した。

2 臓器重量

定期解剖時まで生存した動物のうち、各群雌雄各 5 匹について TABLE 1 に示した臓器の湿重量(実重量)を測定した。また、定期解剖時の体重に対する百分率(体重比)を算出した。

3 病理組織学的検査

各群雌雄各 2 例の動物について TABLE 1 に示した臓器を 10%中性リン酸緩衝ホルマリン液にて固定し、さらに鼻腔と大腿骨は 5%ギ酸で脱灰後パラフィン包埋し、ヘマトキシリン・エオジン染色組織標本作製し、光学顕微鏡にて病理組織学的に検査した。なお鼻腔は切歯の後端(レベルⅠ)、切歯乳頭(レベルⅡ)、第一臼歯の前端(レベルⅢ)の 3 ヶ所で切り出し(横断)、検査した(文献 4)。

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

チャンバー内被験物質濃度については ppm を単位とし、小数点以下第 4 位まで計測し、小数点以下第 2 位を四捨五入し、小数点以下第 1 位まで表示した。

体重については g を単位とし、小数点以下第 1 位を四捨五入して整数値で表示した。

摂餌量については g を単位とし、給餌量及び残餌量を小数点以下第 1 位まで計測し、給餌量から残餌量を減じて摂餌量とした。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 L 2 に示した精度により表示した。A/G 比はアルブミン/(総蛋白-アルブミン)による計算で求め、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。

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 母数の取り扱い

体重及び摂餌量については、各計測時に生存している全動物を対象に計測した。

血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量の測定は、定期解剖時まで生存した動物を対象とし、検査測定した動物数を母数とした。

剖検と病理組織学的検査は各群の有効動物数（供試動物数から事故等の理由ではずされた動物を除いた動物数）または有効臓器数（供試臓器数から欠損臓器を除いた臓器数）を母数とした。

II-4-3 統計方法

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。なお、予備検定については 5% の有意水準で両側検定を行い、最終検定では 5% 及び 1% で両側検定を行った。なお、各群雌雄毎に検査数が 2 以下の項目については検定から除外した。

II-5 試資料の保管

試験計画書、標本、生データ、記録文書、報告書、信頼性保証証明書、その他本試験に係る資料は日本バイオアッセイ研究センターの試資料保管施設に保管する。保管期間は報告書提出後 5 年間とする。なお、標本については品質が評価に耐え得る期間保管する。

Ⅲ 試験成績

Ⅲ-1 動物の状態観察

Ⅲ-1-1 生死状況

雌雄ともに、300ppm 群で投与期間の 4 日(1w-4d)に全例死亡した。雌雄の 600ppm 群では 2 日 (1w-2d)に全例 (暴露開始前に雄の 2 例、雌の全例、暴露終了後に残りの雄全例) が死亡した。

Ⅲ-1-2 一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX A 1, A 2 に示した。

雄では、600ppm 群の全例に、立毛、鼻血性、不整呼吸、3 例に異常呼気音がみられた。

雌雄ともに 300ppm 以下の群では、被験物質の投与によると思われる特徴的な所見は認められなかった。

Ⅲ-1-3 体重

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

雄では、150ppm 以下の投与群に投与期間を通じて投与濃度に対応した体重増加の抑制が認められた。300ppm 以上の群では、試験動物の死亡のため体重値は投与期間の 2 日(1w-2d)の測定値のみであるが、対照群と比較して体重の低下が認められた。

雌では、37.5ppm 群は対照群と比較して差異を認めなかった。75ppm 群では投与期間の 2 日(1w-2d)の測定では差はみられなかったものの、その後投与終了まで、150ppm 群は投与期間を通じて体重増加の抑制が認められた。300ppm 群では、試験動物の死亡のため体重値は投与期間の 2 日(1w-2d)の測定値のみであるが、対照群と比較して体重の低下が認められた。600ppm 群では、投与期間の 2 日(1w-2d)の暴露開始前に全動物が死亡したため、体重測定を行なわなかった。

Ⅲ-1-4 摂餌量

摂餌量(1 日 1 匹当たり)を TABLE 4, 5, FIGURE 4, 5 及び APPENDIX C 1, C 2 に示した。

雄では、1 週目は 37.5ppm、75ppm 及び 150ppm 群で、2 週目は 150ppm 群で摂餌量の低値が認められた。

雌では、150ppm 群で投与期間を通じて摂餌量の低値が認められた。

雌雄の 300ppm 以上の群では、試験動物が既に全例死亡していたため、摂餌量の測定は行なわなかった。

Ⅲ-2 血液学的検査・血液生化学的検査

Ⅲ-2-1 血液学的検査

血液学的検査の結果を APPENDIX D 1, D 2 に示した。

雄では、150ppm 群で血小板数および網赤血球比の減少が認められた。

雌では、75ppm 群で血小板数の減少がみられたが、投与量に対応した変化ではなかった。

雌雄の 300ppm 以上の群では、定期解剖以前に試験動物が全例死亡していたため、血液学的検査を行なわなかった。

Ⅲ-2-2 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を APPENDIX E 1, E 2 に示した。

雄では、75ppm、150ppm 群でグルコース、トリグリセライドの減少、150ppm 群で GOT、CPK 活性の低下および尿素窒素の減少が認められた。

雌では、150ppm 群でリン脂質の増加、ALP 活性の上昇、ナトリウム、クロールの減少がそれぞれ認められた。

雌雄の 300ppm 以上の群では、定期解剖以前に試験動物が全例死亡していたため、血液生化学的検査を行なわなかった。

Ⅲ-3 病理学的検査

Ⅲ-3-1 剖検観察

解剖時に観察された剖検所見を APPENDIX F 1, F 3 (投与期間中死亡例)、F 2, F 4 (定期解剖例) に示した。

<投与期間中死亡例>

雌雄とも、300ppm、600ppm 群で胃や小腸、大腸にガスの貯留がみられた。また、600ppm 群の少数例には胸水の貯留も認められた。

<定期解剖例>

雌雄とも投与群に特徴的な所見あるいは対照群と比較して顕著に高い発生率を示した所見はみられなかった。

Ⅲ-3-2 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 G 1, G 2 (実重量)、APPENDIX H 1, H 2 (体重比) に示した。

雄では、37.5ppm 群に肝臓の実重量の低値ならびに肺、腎臓及び脳の体重比の高値、75ppm 群に肺と腎臓の体重比の高値、150ppm 群に胸腺、精巣、心臓、脾臓、肝臓及び脳の実重量の低値ならびに精巣、心臓、肺、腎臓、肝臓及び脳の体重比の高値がみられた。

なお、300ppm 群と 600ppm 群は全例が死亡したため臓器重量の評価を行わなかった。

雌では、75ppm 群に腎臓の体重比の高値、150ppm 群に胸腺と脾臓の実重量の低値ならびに心臓、肺、腎臓、肝臓及び脳の体重比の高値がみられた。なお、300ppm 群と 600ppm 群は全例が死亡したため臓器重量の評価を行わなかった。

これら雌雄の臓器重量の変化の中で、胸腺、精巣、心臓、脾臓、肝臓及び脳の重量変化は動物の体重増加の抑制や消耗に伴った変化と考えた。

Ⅲ-3-3 病理組織学的検査

各群の雌雄各 2 匹の病理組織学的検査の結果を APPENDIX I 1, I 3 (投与期間中死亡例)、I 2, I 4 (定期解剖例) に示した。

<投与期間中死亡例>

雌雄の 300ppm、600ppm 群で、鼻腔に呼吸上皮と嗅上皮の壊死、炎症性細胞浸潤(レベル 1)及び呼吸部の潰瘍、鼻咽頭と気管に上皮の壊死、肺にうっ血と浮腫、また、胸腺に核崩壊が認められた。これに加えて咽頭の上皮壊死が雌の 300ppm 群と雌雄の 600ppm 群に、炎症性細胞浸潤が雌の 300ppm 群と雄の 600ppm 群にみられ、肝臓のうっ血と副腎の壊死が雌雄の 600ppm 群に、また、角膜炎が雄の 600ppm 群にみられた。

<定期解剖例>

雄の 75ppm 群で、鼻腔に呼吸上皮の扁平上皮化生と呼吸部の潰瘍がみられた。雌雄の 150ppm 群では、鼻腔に嗅上皮の壊死と萎縮、扁平上皮の壊死及び呼吸部の潰瘍がみられ、また、雄には呼吸上皮の扁平上皮化生、炎症性細胞浸潤、雌には呼吸上皮の壊死も認められた。雄の 37.5ppm 群及び雌の 75ppm 以下の群には著変を認めなかった。

IV 考察及びまとめ

グリシドールのがん原性を検索する目的で F344/DuCrj(Fischer)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(暴露)濃度を設定する予備試験である13週間試験の暴露濃度を決定するための前予備試験として本試験(2週間試験)を実施した。

本試験は、各群雌雄各10匹のラットを用いて被験物質投与群5群、対照群1群の6群構成で行った。暴露濃度は600ppm、300ppm、150ppm、75ppm及び37.5ppmとした。投与はグリシドールを含む空気を所定の濃度で1日6時間、1週5日間、2週間全身暴露することにより行った。観察及び検査項目は、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とした。

グリシドールの投与によって、雌雄の300ppm以上の群は全例死亡した。一般状態の詳細観察時、雌雄の300ppm群では著変を認めなかったが、600ppm群の雄には立毛、鼻血性、不整呼吸、異常呼吸音が観察された。同群の雌については既に死亡していたため、観察を行なうことができなかった。これら死亡動物には剖検観察時、胃、小腸、大腸にガスの貯留が多く例でみられた。病理組織学的検査の結果、鼻腔に壊死、萎縮、扁平上皮化生、炎症性細胞浸潤(レベルⅠ)、潰瘍、鼻咽頭に壊死、喉頭に壊死、炎症性細胞浸潤、気管に壊死、さらに肺にうっ血と水腫がみられた(次頁の表参照)。これら粘膜上皮の変化は、グリシドールの吸入による刺激が原因の変化と考えられ、げっ歯類は呼吸の多くを鼻呼吸に依存していることが知られていることから(文献5)、これらの変化により鼻呼吸が困難となり、開口呼吸となり消化器官へのガス貯留の原因となったと考えられた。とくに、鼻腔での炎症性細胞浸潤や潰瘍、呼吸上皮の壊死は鼻腔の前半部であるレベルⅠに発生し、嗅上皮の壊死は嗅部の全域に及んでいた。その障害の程度は強く、動物の死因になったと推察された。その他、胸腺の核崩壊、肝臓のうっ血、副腎の壊死、眼球の角膜炎がみられた。胸腺の変化は、呼吸器の障害によるストレスが原因の二次的变化と考えられた。

生存動物では、一般状態の詳細観察時に著変を認められた動物はいなかったが、雄の150ppm以下の群、雌の75ppm、150ppm群で体重増加の抑制がみられ、雄の150ppm以下の群、雌の150ppm群で摂餌量の低値が認められた週があった。血液学的検査、血液生化学的検査では、雌雄ともに変化のあったパラメーターがあったが、雄におけるグルコース、トリグリセライドの減少、GOT、CPK活性の低下および尿素窒素の減少が、体重増加の抑制や摂餌量の低値によるものと考えられた他は、その変化の原因は不明だった。腎臓と肺の重量変化は、被験物質の影響によるものと考えられたが、病理組織学的に変化がなく直接的な影響かは不明であった。その他の臓器重量の変化は、体重増加の抑制や消耗に伴った変化と考えた。病理組織学的検査の結果、雌雄の150ppm群、雄の75ppm群に

呼吸器系臓器の病理組織学的所見 (雄)

		雄											
		対照群		37.5ppm		75ppm		150ppm		300ppm		600ppm	
		動物番号	1001	1002	1101	1102	1201	1202	1301	1302	1401	1409	1505
臓器	病理組織学的所見									(死亡)	(死亡)	(死亡)	(死亡)
鼻腔	壊死：呼吸上皮									(3+)	(3+)	(3+)	(3+)
	扁平上皮化生：呼吸上皮					2+		3+	3+				
	壊死：嗅上皮							2+		(3+)	(3+)	(3+)	(3+)
	萎縮：嗅上皮							+	+				
	壊死：扁平上皮								+				
	炎症性細胞浸潤							2+	2+	(3+)	(3+)	(3+)	(3+)
	潰瘍					+	+	2+		(3+)	(3+)		(3+)
鼻咽頭	壊死：上皮									(2+)	(2+)	(2+)	
喉頭	壊死：上皮											(2+)	(+)
	炎症性細胞浸潤												(2+)
気管	壊死：上皮									(+)	(2+)	(3+)	(3+)
肺	うっ血									(+)	(2+)	(2+)	(+)
	水腫									(+)		(+)	

呼吸器系臓器の病理組織学的所見 (雌)

		雌											
		対照群		37.5ppm		75ppm		150ppm		300ppm		600ppm	
動物番号		2001	2002	2101	2102	2201	2202	2301	2302	2402	2410	2506	2509
臓器	病理組織学的所見									(死亡)	(死亡)	(死亡)	(死亡)
鼻腔	壊死：呼吸上皮								+	(3+)	(3+)	(3+)	(3+)
	壊死：嗅上皮							2+	+	(3+)	(3+)	(3+)	(3+)
	萎縮：嗅上皮							2+	+				
	壊死：扁平上皮							2+					
	炎症性細胞浸潤									(2+)	(3+)	(3+)	(2+)
	潰瘍								+	(2+)	(3+)		(2+)
鼻咽頭	壊死：上皮									(+)	(2+)	(2+)	
喉頭	壊死：上皮										(2+)	(3+)	(2+)
	炎症性細胞浸潤									(+)			
気管	壊死：上皮									(2+)	(3+)	(3+)	(3+)
肺	うっ血									(+)	(2+)	(2+)	(+)
	水腫										(+)	(+)	(+)

+：軽度 2+：中等度 3+：重度

鼻腔の変化がみられた。雄の 37.5ppm 群および雌の 75ppm 以下の群では著変を認めなかった（上記の表参照）。

以上の結果から 13 週間試験の投与濃度を考えると、150ppm 群での鼻腔の変化が、雄の呼吸上皮の扁平上皮化生以外は中程度かそれ以下の障害であり、動物の呼吸の妨げになるほど進行していない。投与期間が 13 週間になった場合のこれらの障害の進行状態を観察したい。また、同群の雄の最終体重は、対照群を 100%とすると 77.7%であり体重増加の抑制がみられたが、一般状態の観察時に著変を認めなかったことから、13 週間試験の最高投与濃度は 150ppm 程度が望ましいと考えられた。最低投与濃度は、動物に何の変化もみられない濃度が必要と考え、37.5ppm 群の雄に臓器重量の変化がみられたことから、同投与濃度の半分かそれ以下が望ましいと判断した。よって、13 週間試験の投与濃度は数値を整え、雌雄とも最高濃度を 160ppm とし、以下 80ppm、40ppm、20ppm、10ppm（公比 2）とした。

V 文献

1. Fred W. McLafferty (1994) Wiley Registry of Mass Spectral Data, 6th edition.
John Wiley and Sons, Inc. (U.S.), Entry Number 1733
2. William W. Simons (1978) The Sadtler Handbook of Infrared Spectra.
Sadtler Research Laboratories, Inc. (U.K.), pp.480
3. 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
4. Nagano K, et al. (1988)
Toxicologic Pathology of Upper Respiratory Tract
Journal of Toxicologic Pathology. 1, 115-127
5. 伊藤信行 著 (1994)
最新毒性病理学 Toxicologic Pathology, 85-94