

アクロレイン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 : 0777

CAS No. 107-02-8

2011 年 12 月 13 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

アクロレインのマウスを用いた吸入による 2 週間毒性試験

試験目的

アクロレイン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、アクロレインをマウスに 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

アクロレイン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 : 0777

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 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	5
- 2 - 1 各群の使用動物数	5
- 2 - 2 群分け及び個体識別方法	5
- 2 - 3 飼育条件	6
(1) 飼育環境	6
(2) 飼料	6
(3) 飲水	7

- 3 観察・検査項目及び方法	7
- 3 - 1 動物の生死及び一般状態の観察	7
- 3 - 2 体重測定	7
- 3 - 3 摂餌量測定	7
- 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	8
(1) 剖検	8
(2) 臓器重量	8
(3) 臓器の採取保存	8
(4) 病理組織学的検査	9
- 4 数値処理と統計方法	9
- 4 - 1 数値の取り扱いと表示	9
- 4 - 2 統計処理	9
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 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	17
- 1 用量 - 反応関係	17
- 2 13 週間試験の濃度決定	19
文献	20

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21

要約

アクロレイン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/Crlj 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、アクロレインを 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）、0.1、0.3、1、3 及び 10 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。

アクロレインの暴露の結果、10 ppm 群で雌雄各 3 匹が死亡した。他の群に死亡はみられなかった。一般状態の観察では、10 ppm 群で死亡動物を含めて自発運動量減少、立毛、呼吸困難、不整呼吸、異常呼気音、異常鼻音、呼吸緩徐、腹部膨隆等がみられ、死亡動物はほぼこれらの症状のまま死亡した。また、3 ppm 群でも、雄に立毛、異常呼気音、異常鼻音がみられた。体重は、雄の 3 ppm 以上の群及び雌の 10 ppm 群で減少または増加抑制がみられた。雌の 3 ppm 群は 1 週目の体重が低値であったが、2 週目は回復した。摂餌量は雌雄の 3 ppm 以上の群で低値であった。

血液学的検査では、雄に MCV と網赤血球比の低値が 3 ppm 群で、血液生化学的検査では、雄に総ビリルビンの高値及びトリグリセライド、ALP の低値が 3 ppm 群でみられた。

剖検では、10 ppm 群で雌雄に胸腺の萎縮がみられ、死亡動物に胃、小腸や大腸のガス貯留がみられた。臓器重量の測定では、雄で胸腺の重量低下が 3 ppm 群に、雌で肺の重量増加（体重比）が 3 ppm 群にみられた。

病理組織学的検査ではアクロレインの影響は 1 ppm 群までみられた。10 ppm 群の死亡動物では雌雄に鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、雄に肺に変化がみられた。鼻腔では、呼吸上皮に糜爛、潰瘍、壊死、再生、扁平上皮化生、呼吸部の鼻腔内腔に化膿性滲出液の貯留、組織内に炎症性細胞浸潤、嗅上皮に糜爛と萎縮がみられた。また、鼻咽頭に鼻咽頭管の壊死、糜爛、再生、組織内に炎症性細胞浸潤、内腔に化膿性滲出液の貯留、喉頭に炎症、糜爛、上皮の変性と潰瘍、気管に炎症、糜爛、上皮の変性と壊死がみられた。雄の肺では、水腫、炎症性細胞浸潤、気管支上皮の壊死がみられた。10 ppm 群の生存動物でも雌雄とも、死亡動物と同様に呼吸器（鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺）に変化が認められた。3 ppm 群では雌雄とも鼻腔と鼻咽頭に変化がみられ、喉頭、気管、肺に変化を認めなかった。鼻腔の呼吸上皮の変化も 10 ppm 群より軽度であった。1 ppm 群では、鼻腔の呼吸上皮に変化がみられたが、雌雄とも軽度な変化であった。

以上の結果より、アクロレインの 13 週間試験の投与濃度は、3 ppm を最高濃度として、以下、2 ppm、1 ppm、0.3 ppm、0.1 ppm とした。

試験材料

- 1 被験物質の性状等

- 1 - 1 名称等

名 称 : アクロレイン (Acrolein)
別 名 : アクリルアルデヒド、2-プロペナル
C A S N o . : 107-02-8

- 1 - 2 構造式及び分子量 (文献 1)

構 造 式 : $\text{CH}_2=\text{CHCHO}$
分 子 量 : 56.06

- 1 - 3 物理化学的性状等 (文献 1)

性 状 : 無色～淡黄色の透明液体
比 重 : 0.8389 (20)
沸 点 : 52.6
蒸 気 圧 : 274 mmHg (25)
溶 解 性 : エタノール、エーテル、アセトンに可溶、クロロホルムに微溶
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 : 東京化成工業(株)
規 格 : 1 級
純 度 : 99.2 % (東京化成工業(株)検査成績データ)
ロ ッ ト 番 号 : KOLRO

- 3 被験物質の特性

- 3 - 1 同一性

被験物質の同一性は、そのマススペクトルを質量分析計（(株)日立製作所 M-80B）を用いて測定し、そ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、被験物質のマススペクトルは文献値（文献 2）と同じ分子イオン及びフラグメントピークを示し、被験物質はアクロレイン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その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、アクロレイン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：22.3～24.9g、雌：17.8～20.6g）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、0.1、0.3、1、3及び10 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以下のように決定した。すなわち、Buckleyら（文献3）は、アクロレインを Swiss-Webster マウスに 0、4.0 mg/m³（約 1.7 ppm）の濃度で5日間（6時間/日）吸入（全身）暴露した。その結果、鼻甲介の呼吸上皮に繊毛脱落、剥離、壊死、糜爛、潰瘍及び過形成、嗅上皮に壊死、潰瘍及び過形成が観察されたと報告している。

上記の文献を参考に、本試験の最高濃度はアクロレインの毒性が確実にみられると予想される 10 ppm とし、最低濃度は本試験で使用する吸入試験システムで、現時点において技術的に濃度コントロールが可能な最低濃度 0.1 ppm とした。従って、本試験の投与濃度は 10 ppm を最高濃度として以下、3、1、0.3 及び 0.1 ppm とした。

- 1 - 6 被験物質の発生方法と濃度調整

被験物質を高千穂化学工業(株)に依頼し、窒素ベースでガスボンベに充填（濃度：529～542 ppm、容量：47L）した。このボンベより得た被験物質を清浄空気と混合し、一定濃度にした後、流量計を用いて一定量を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-14A）により、暴露開始前から暴露終了後まで 15 分ごとに測定した。

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 1.3%以内、変動係数（標準偏差 / 平均値 × 100）が 4.0%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 名 称	動物数（動物番号）	
	雄	雌
対 照 群	5 匹 (1001 ~ 1005)	5 匹 (2001 ~ 2005)
0.1 ppm 群	5 匹 (1101 ~ 1105)	5 匹 (2101 ~ 2105)
0.3 ppm 群	5 匹 (1201 ~ 1205)	5 匹 (2201 ~ 2205)
1 ppm 群	5 匹 (1301 ~ 1305)	5 匹 (2301 ~ 2305)
3 ppm 群	5 匹 (1401 ~ 1405)	5 匹 (2401 ~ 2405)
10 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 4）。

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(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 - 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(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 ; 22.3 ± 0.0 >
吸入試験室 ; 21 ± 2 < 604 室 ; 20.3 ± 0.2 >
吸入チャンバー内 ; 20 ~ 24

湿度 : 検疫室 ; $55 \pm 15\%$ < 605 室 ; $57 \pm 1\%$ >
吸入試験室 ; $55 \pm 15\%$ < 604 室 ; $59 \pm 1\%$ >
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 ~ -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)が

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、8、10、14 日目の暴露開始前(暴露を行わない日は午前中)及び 4、5、11、13 日目の暴露後に行った。

- 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、 γ -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、精囊、前立腺、卵巣、子宮、腔、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）、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 3 位を四捨五入して小数点以下第 2 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 に示した。

- 雄 -

10 ppm 群で 3 匹が死亡（1 匹は瀕死による切迫屠殺）した。投与 2 週の 1 日目に 2 匹が死亡（1 匹は切迫屠殺）し、3 日目に 1 匹が死亡した。

3 ppm 以下の群では動物の死亡はみられなかった。

- 雌 -

10 ppm 群で 3 匹が死亡した。投与 2 週の 2 日目、3 日目及び 7 日目に各 1 匹が死亡した。

3 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 に示した。なお、暴露前の所見及び暴露のない日の午前の所見は「週 - 日の 1」、暴露後の所見は「週 - 日の 2」として示した。

- 雄 -

10 ppm 群では、投与 1 週目より自発運動量減少、立毛、呼吸困難、不整呼吸、異常呼気音がみられ、さらに、衰弱、異常鼻音、呼吸緩徐、体温低下がみられた。死亡動物は、ほぼこれらの症状のまま、投与 2 週目に死亡した。

3 ppm 群では、投与 2 週目に少数例に立毛、異常呼気音、異常鼻音がみられた。

1 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 -

10 ppm 群では、投与 1 週目より自発運動量減少、呼吸困難、不整呼吸、異常呼気音がみられ、さらに、立毛、腹部膨隆、異常鼻音、呼吸緩徐がみられた。死亡動物は、ほぼこれらの症状のまま、投与 2 週目に死亡した。

3 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 に示した。

- 雄 -

3 ppm 以上の群で、投与濃度に対応した体重の減少または増加抑制がみられた。

投与群の最終体重は対照群に対し、0.1 ppm 群：97%、0.3 ppm 群：99%、1 ppm 群：96%、3 ppm 群：86%、10 ppm 群：58%であった。

- 雌 -

10 ppm 群で体重の減少または増加抑制がみられた。なお、3 ppm 群は1週の7日目の体重が低値であったが、その後、回復した。

投与群の最終体重は対照群に対し、0.1 ppm 群：104%、0.3 ppm 群：105%、1 ppm 群：103%、3 ppm 群：98%、10 ppm 群：60%であった。

- 4 摂餌量

摂餌量を TABLE E1 ~ E4 に示した。

- 雄 -

3 ppm 以上の群で投与期間を通じて摂餌量が低値であったが、3 ppm 群の投与2週目は回復傾向であった。

- 雌 -

10 ppm 群は投与期間を通じて、3 ppm 群は投与1週目に摂餌量が低値であった。

なお、1 ppm 以下の群では投与2週目に摂餌量が高値であったが、被験物質との関係は不明であった。

- 5 血液学的検査

血液学的検査の結果を TABLE F1, F2 に示した。(雌の10 ppm 群は1匹が解剖日に死亡したため、検査動物数は1匹)

- 雄 -

MCV と網赤血球比の低値が3 ppm 群でみられた。なお、10 ppm 群の生存動物では、MCV、網赤血球比及び白血球数が低値であった。

その他、網赤血球比の高値が0.3 ppm 群でみられたが、投与濃度との対応がみられず、被験物質の影響とは判断しなかった。

- 雌 -

3 ppm 以下の群には被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。なお、10 ppm 群の生存動物では、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、網赤血球比及び白血球数が低値であり、白血球百分率では好中球比が高値、リンパ球比が低値であった。

- 6 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を TABLE G1, G2 に示した。(雌の10 ppm 群は1匹が解剖日に死亡したため、検査動物数は1匹)

- 雄 -

総ビリルビンの高値及びトリグリセライド、ALP の低値が 3 ppm 群でみられた。なお、10 ppm 群の生存動物では、総コレステロール、AST、ALT、LDH、CK、尿素窒素が高値及びグルコース、トリグリセライド、リン脂質、ALP が低値であった。

その他、トリグリセライドの低値、カリウムの高値が 0.1 ppm 群でみられたが、投与濃度との対応がみられず、被験物質の影響とは判断しなかった。

- 雌 -

3 ppm 以下の群には被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。なお、10 ppm 群の生存動物では、総コレステロール、AST、ALT、LDH、CK、尿素窒素が高値及びグルコース、トリグリセライド、リン脂質、ALP が低値であった。

- 7 病理学的検査

- 7 - 1 剖検

剖検所見を TABLE H1, H2 に示した。

- 雄 -

10 ppm 群（死亡動物 3 匹、生存動物 2 匹）には、胸腺の萎縮が全動物にみられ、また、死亡動物（切迫屠殺動物を除く）に胃、小腸または大腸のガス貯留がみられた。

3 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 -

10 ppm 群（死亡動物 3 匹、生存動物 2 匹）には、生存動物に胸腺の萎縮がみられ、また、死亡動物に胃、小腸または大腸のガス貯留がみられた。

3 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 に示した。（雌の 10 ppm 群は 1 匹が解剖日に死亡したため、検査動物数は 1 匹）

- 雄 -

胸腺の実重量と体重比の低値が 3 ppm 群でみられた。なお、10 ppm 群の生存動物では、胸腺と脾臓の実重量と体重比の低値がみられた。

その他、3 ppm 群では腎臓、脾臓、肝臓の実重量の低値、脳の体重比の高値がみられたが、これらの変化は 3 ppm 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 3 ppm 群でみられた。なお、10 ppm 群の生存動物では、肺の実重

量と体重比の高値、胸腺と脾臓の実重量と体重比の低値がみられた。

- 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 に示した。

- 雄 -

[10 ppm 群：死亡動物 3 匹、生存動物 2 匹]

死亡動物では、鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺に変化がみられた。

鼻腔には呼吸部と嗅部に変化がみられた。呼吸部では、呼吸上皮に潰瘍（中等度）が 1 匹、糜爛（軽度）が 3 匹、壊死（中等度～重度）が 2 匹、再生（中等度）が 3 匹、扁平上皮化生（軽度）が 1 匹にみられた。これらの呼吸部の変化は主として、移行上皮が分布する領域にみられた。嗅部では、嗅上皮に萎縮（軽度）が 1 匹と糜爛（軽度～重度）が 3 匹にみられた。また、鼻腔の内腔に多数の好中球の浸潤を伴う滲出液（化膿性、中等度～重度）が 3 匹、鼻腔周囲組織内への炎症性細胞浸潤（中等度）が 1 匹にみられた。これらの変化は主に呼吸部にみられた。

鼻咽頭では、鼻咽頭管に壊死（軽度から重度）が 2 匹、上皮の再生（軽度～重度）が 3 匹、組織内への炎症性細胞浸潤（軽度）が 2 匹にみられた。

喉頭では、炎症（軽度～重度）が 3 匹、糜爛（中等度～重度）が 2 匹、潰瘍（重度）が 1 匹、上皮の変性（中等度）が 2 匹にみられた。

気管では、炎症（軽度～中等度）が 3 匹、上皮の壊死（超重度）が 1 匹、上皮の変性（軽度～中等度）が 2 匹、糜爛（中等度～重度）が 2 匹にみられた。

肺では、水腫（中等度）、炎症性細胞浸潤（軽度）及び気管支上皮の壊死（重度）が各 1 匹にみられた。

生存動物でも鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺に変化がみられた。

鼻腔には呼吸部と嗅部に変化がみられた。呼吸部では、呼吸上皮に潰瘍（軽度）が 2 匹、糜爛（軽度）が 1 匹、上皮の再生（中等度）と扁平上皮化生（軽度）が各 2 匹にみられた。これらの呼吸部の変化は主として、移行上皮が分布する領域にみられた。嗅部では、嗅上皮に萎縮（重度）が 2 匹にみられた。また、鼻腔の内腔に多数の好中球の浸潤を伴う滲出液（化膿性、中等度）と鼻腔周囲組織内への炎症性細胞浸潤（軽度）が各 2 匹にみられた。

鼻咽頭では、鼻咽頭管に糜爛（中等度～超重度）、上皮の再生（軽度～重度）及び鼻咽頭管周囲組織内への炎症性細胞浸潤（軽度）が各 2 匹にみられた。

喉頭では、炎症（軽度）、糜爛（中等度）及び上皮の変性（軽度～中等度）が各 2 匹、扁平上皮化生（中等度）が 1 匹にみられた。

気管では、炎症（軽度）、上皮の変性（軽度～中等度）及び糜爛（軽度～中等度）が各 2 匹、扁平上皮化生（軽度）が 1 匹にみられた。

肺では、水腫（中等度）が 1 匹、炎症性細胞浸潤（軽度～中等度）と気管支上皮の壊死（中等度～重度）が各 2 匹にみられた。

[3 ppm 群：生存動物 5 匹]

鼻腔と鼻咽頭に変化がみられた。

鼻腔には呼吸部と嗅部に変化がみられた。呼吸部では、呼吸上皮に壊死（軽度～中等度）と再生（重度）が各 5 匹、扁平上皮化生（軽度）が 3 匹にみられた。嗅部では、嗅上皮に萎縮（軽度）が 5 匹、壊死（軽度）が 1 匹にみられた。また、呼吸部では、鼻腔の内腔に好中球の浸潤を伴う滲出液（軽度～中等度）と鼻腔周囲組織内への炎症性細胞浸潤（軽度）が各 4 匹にみられた。

鼻咽頭では、鼻咽頭管上皮の糜爛（軽度）が 1 匹、再生（重度）が 5 匹にみられた。また、鼻咽頭管の内腔に好中球の浸潤を伴う滲出液（重度）が 1 匹、好中球の浸潤を伴わない滲出液（軽度）が 2 匹にみられた。

[1 ppm 群：生存動物 5 匹]

鼻腔の呼吸部に変化がみられ、呼吸上皮の再生（軽度）が 5 匹にみられた。

[0.3 ppm 群、0.1 ppm 群：各群生存動物 5 匹]

被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

- 雌 -

[10 ppm 群：死亡動物 3 匹、生存動物 2 匹]

死亡動物では、鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管に変化がみられた。

鼻腔には呼吸部と嗅部に変化がみられた。呼吸部では、呼吸上皮に壊死（軽度）と糜爛（軽度～中等度）が各 3 匹、潰瘍（軽度）が 1 匹、上皮の再生（中等度）が 3 匹にみられた。これらの呼吸部の変化は主として、移行上皮が分布する領域にみられた。嗅部では、嗅上皮に萎縮（重度）が 2 匹、糜爛（軽度～重度）が 3 匹にみられた。また、主に呼吸部の内腔に多数の好中球の浸潤を伴う滲出液（化膿性、中等度～重度）と鼻腔周囲組織内への炎症性細胞浸潤（軽度）が各 3 匹にみられた。

鼻咽頭では、鼻咽頭管に糜爛（超重度）が 1 匹、上皮の壊死（重度から超重度）と上皮の再生（軽度）が各 2 匹にみられた。また、多数の好中球の浸潤を伴う滲出液（化膿性、中等度）が 1 匹、鼻咽頭管周囲組織内への炎症性細胞浸潤（軽度）が 2 匹にみられた。

喉頭では、炎症（軽度～中等度）と糜爛（中等度～超重度）が各 3 匹、上皮の変性（軽度～中等度）が 2 匹にみられた。

気管では、炎症（軽度）と糜爛（中等度～超重度）が各 3 匹、上皮の変性（軽度～重度）が 2 匹にみられた。

生存動物でも鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺に変化がみられた。

鼻腔には呼吸部と嗅部に変化がみられた。呼吸部では、呼吸上皮に壊死（軽度～中等度）が 2 匹、糜爛（中等度）が 1 匹、上皮の再生（中等度）が 2 匹にみられた。これらの呼吸部の変化は主として、移行上皮が分布する領域にみられた。嗅部では、嗅上皮に萎縮（重度）

壊死（軽度）、糜爛（軽度）が各 1 匹にみられた。また、主に呼吸部の内腔に多数の好中球の浸潤を伴う滲出液（化膿性、軽度～中等度）と鼻腔周囲組織内への炎症性細胞浸潤（軽度～中等度）が各 2 匹にみられた。

鼻咽頭では、鼻咽頭管に上皮の壊死（重度から超重度）が 2 匹、上皮の再生（軽度）と組織内への炎症性細胞浸潤（軽度）が各 1 匹にみられた。

喉頭では、炎症（軽度）、糜爛（中等度～重度）及び上皮の変性（中等度）が各 2 匹にみられた。

気管では、炎症（軽度）、糜爛（中等度～重度）及び上皮の変性（軽度～重度）が各 2 匹にみられた。

肺では、炎症性細胞浸潤（軽度）と気管支上皮の壊死（軽度～中等度）が各 2 匹にみられた。

[3 ppm 群：生存動物 5 匹]

鼻腔、鼻咽頭に変化がみられた。

鼻腔には呼吸部と嗅部に変化がみられた。呼吸部では、呼吸上皮に壊死（軽度～中等度）と再生（重度）が各 5 匹、扁平上皮化生（軽度）が 1 匹にみられた。嗅部では、嗅上皮に萎縮（軽度）が 5 匹、上皮の再生（軽度）が 1 匹にみられた。また、呼吸部では、鼻腔の内腔に滲出液（中等度）が 5 匹と鼻腔周囲組織内への炎症性細胞浸潤（軽度）が 3 匹にみられた。

鼻咽頭では、鼻咽頭管上皮の壊死（軽度）が 1 匹、再生（重度）が 5 匹にみられた。また、鼻咽頭管の内腔に滲出液（軽度）が 1 匹にみられた。

[1 ppm 群：生存動物 5 匹]

鼻腔の呼吸部に変化がみられ、呼吸上皮の再生（軽度）が 5 匹にみられた。

[0.3 ppm 群、0.1 ppm 群：各群生存動物 5 匹]

被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

考察及びまとめ

アクロレイン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、アクロレインの投与濃度は、0 (対照群) 0.1、0.3、1、3 及び 10 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

アクロレインの暴露の結果、10 ppm 群の雌雄各 3 匹が死亡 (雄 1 匹は瀕死による切迫屠殺) した。死亡は雌雄とも投与期間 2 週目であった。他の群に死亡はみられなかった。

一般状態の観察では、10 ppm 群で死亡動物を含めて自発運動量減少、立毛、呼吸困難、不整呼吸、異常呼気音、異常鼻音、呼吸緩徐、衰弱、体温低下、腹部膨隆がみられ、死亡動物は、ほぼこれらの症状のまま、投与 2 週目に死亡した。3 ppm 群では、雄で投与 2 週目に少数例に立毛、異常呼気音、異常鼻音がみられた。1 ppm 以下の群では雌雄とも一般状態の変化はみられなかった。

体重は、雄の 3 ppm 以上の群及び雌の 10 ppm 群で、減少または増加抑制がみられた。雌の 3 ppm 群は 1 週目の体重が低値であったが、2 週目は回復した。最終体重は対照群に対し、雄の 0.1 ppm 群 : 97%、0.3 ppm 群 : 99%、1 ppm 群 : 96%、3 ppm 群 : 86%、10 ppm 群 : 58%、雌の 0.1 ppm 群 : 104%、0.3 ppm 群 : 105%、1 ppm 群 : 103%、3 ppm 群 : 98%、10 ppm 群 : 60%であった。また、摂餌量は雌雄の 3 ppm 以上の群で低値であったが、3 ppm 群の投与 2 週目は回復傾向であった。

血液学的検査では、MCV と網赤血球比の低値が雄の 3 ppm 群でみられた。また、10 ppm 群の生存動物では、雄で網赤血球比及び白血球数が低値であり、雌では赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、網赤血球比及び白血球数が低値で貧血傾向であった。

血液生化学的検査では、総ビリルビンの高値及びトリグリセライド、ALP の低値が雄の 3 ppm 群でみられた。また、10 ppm 群の生存動物では、雌雄とも総コレステロール、AST、ALT、LDH、CK、尿素窒素が高値及びグルコース、トリグリセライド、リン脂質、ALP が低値であった。病理組織学的検査では雌雄とも投与群に肝臓や腎臓の変化はみられなかった。

剖検では、10 ppm 群で雌雄に胸腺の萎縮がみられ、死亡動物 (切迫屠殺動物を除く) に胃、小腸や大腸のガス貯留がみられた。胸腺の萎縮は動物がストレス状態にあったことを示

唆する所見と考えられる（文献 6）。また、胃、小腸及び大腸のガス貯留は、鼻腔の傷害により呼吸が困難になった結果、口呼吸を行っていたことを示す所見と推察され（文献 7）、一般状態の観察でみられた腹部膨隆は、この胃腸管のガス貯留が原因と思われる。

臓器重量の測定では、雄で胸腺の重量低下が 3 ppm 群にみられ、10 ppm 群の生存動物では、胸腺と脾臓の重量が低値であった。雌では、肺の重量増加（体重比）が 3 ppm 群にみられ、10 ppm 群の生存動物では、肺重量が高値及び胸腺と脾臓の重量が低値であった。化学物質の投与によるストレス反応によって、胸腺と脾臓の萎縮や重量低下が起きることが知られている（文献 6、8）。剖検でも胸腺の萎縮が 10 ppm 群の雌雄に観察されており、胸腺と脾臓の重量変化はアクロレインの暴露により動物がストレス状態にあったことを示唆している。

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った。

10 ppm 群では雌雄各 3 匹が死亡したが、雄の死亡動物では呼吸器（鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺）に変化が認められた。鼻腔の呼吸上皮には糜爛、潰瘍、壊死の強い傷害性変化がみられ、さらに、傷害を受けた呼吸上皮に再生や化生性の変化が認められた。また、呼吸部の鼻腔内腔には、化膿性滲出液が貯留し、鼻腔を囲む組織内にも炎症性細胞浸潤が認められ、呼吸部での急性組織傷害が示された。呼吸部の後方に位置する嗅上皮にも糜爛と萎縮が認められた。鼻腔から続く鼻咽頭にも鼻腔の呼吸部と同様の急性組織傷害として、鼻咽頭管の壊死と鼻咽頭管を囲む組織内に炎症性細胞浸潤がみられ、また、鼻咽頭管上皮の再生も認められた。喉頭では炎症、糜爛、上皮の変性と潰瘍が、気管では炎症、糜爛、上皮の変性と壊死がみられた。肺では、水腫、炎症性細胞浸潤及び肺内の気管支（肺内気管支から細気管支）上皮の壊死がみられた。

10 ppm 群の雌の死亡動物には、鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管に雄の死亡動物と同様の変化がみられたが、肺に変化を認めなかった。鼻腔では、呼吸上皮の壊死、糜爛、潰瘍、鼻腔の内腔に化膿性滲出液の貯留、鼻腔周囲の組織内に炎症性細胞浸潤がみられた。これらの急性炎症は主として呼吸部にみられた。また、呼吸上皮の再生も認められた。嗅上皮には萎縮と糜爛がみられた。鼻咽頭では、鼻咽頭管に糜爛、上皮の壊死、鼻咽頭管内腔に化膿性滲出液の貯留と鼻咽頭管周囲の組織内に炎症性細胞浸潤がみられた。また、上皮の再生も認められた。喉頭と気管では、炎症、糜爛、上皮の変性がみられた。

10 ppm 群の生存動物でも雌雄とも、死亡動物と同様に呼吸器（鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺）に変化が認められた。鼻腔の呼吸上皮には雌雄に糜爛、上皮の再生、雄に潰瘍、扁平上皮化生、雌に壊死がみられた。これらの呼吸部の変化は主として移行上皮にみられた。嗅上皮には雌雄に萎縮、雌に壊死、糜爛がみられた。また、雌雄とも鼻腔の内腔に多数の好中球の浸潤を伴う滲出液と鼻腔周囲組織内への炎症性細胞浸潤がみられた。鼻咽頭では、雄に鼻咽頭管の糜爛、雌に上皮の壊死、雌雄に鼻咽頭管上皮の再生と鼻咽頭管周囲組織内への炎症性細胞浸潤がみられた。喉頭と気管では、雌雄に炎症、糜爛、上皮の変性、雄に扁平上皮化生がみられた。肺では、雄に水腫、雌雄に炎症性細胞浸潤及び気管支上皮の壊死がみられた。

3 ppm 以下の群では雌雄とも全動物が生存したが、アクロレインの影響は1 ppm 群までみられた。3 ppm 群では雌雄とも鼻腔と鼻咽頭に変化がみられ、喉頭、気管及び肺に変化を認めなかった。鼻腔では、雌雄とも傷害性の変化は呼吸上皮に壊死がみられる程度となった一方、傷害を受けた呼吸上皮（移行上皮）に再生と扁平上皮化生が認められた。また、雌雄とも呼吸部の鼻腔内腔に滲出液の貯留と鼻腔周囲の組織内に炎症性細胞浸潤が認められた。嗅上皮には雌雄に萎縮、雄に壊死、雌に再生が認められた。鼻咽頭では、雌雄に鼻咽頭管上皮の再生、雄に糜爛、雌に壊死がみられた。また、雌雄とも鼻咽頭管の内腔に滲出液の貯留が少数の動物にみられた。

1 ppm 群では雌雄とも鼻腔のみに変化が認められ、呼吸上皮の再生が全動物にみられた。

0.3 ppm 以下の群には、雌雄ともアクロレインの影響は認められなかった。

以上のように、マウスへのアクロレインの2週間の暴露により、鼻腔の障害が雌雄とも1 ppm の濃度まで起きることが示された。

なお、肝臓と腎臓にはアクロレインの影響と思われる病理組織学的変化はみられなかった。

- 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、雌雄とも10 ppm 群で動物の死亡がみられたが、3 ppm 以下の群では死亡はみられなかった。3 ppm 群では、雌雄とも体重増加の抑制、摂餌量の低下、雄に一般状態の変化（異常呼吸音等）がみられた。また、病理組織学的検査では、雌雄とも鼻腔（嗅上皮、呼吸上皮）、鼻咽頭にアクロレインによると思われる変化がみられた。しかし、3 ppm 群の摂餌量の低下は2 週目には回復傾向にあり、一般状態の変化は雄の少数例であった。また、3 ppm 群の病理組織学的検査でみられた変化は、10 ppm 群より軽度であり、直ちに動物の生死に関わるものではなかった。これらのことから、13 週間試験の最高濃度は3 ppm が適切と考えた。13 週間試験の最低濃度については、本試験で0.3 ppm 以下でアクロレインの影響がみられなかったことから、投与期間が延長しても、本試験の最低濃度と同じ0.1 ppm が適切と考えた。

従って、13 週間試験の投与濃度は3 ppm を最高濃度として、以下、公比3で1 ppm、0.3 ppm、0.1 ppm を設定し、さらに高濃度群におけるアクロレインの影響を検索するため、3 ppm と1 ppm の間に2 ppm を設定した。

文献

1. U.S. National Library of Medicine, Specialized Information Services 2007. Acrolein. Chemical/Physical Properties. Hazardous Substances Data Bank (HSDB). Available: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search> [accessed 2011/01/06].
2. McLafferty FW, ed. 1994. Wiley Registry of Mass Spectral Data. 6th ed. New York, NY: John Wiley and Sons.
3. Leach CL, Hatoum NS, Ratajczak HV and Gerhart JM. 1987. The pathologic and immunologic effects of inhaled acrolein in rats. *Toxicol Lett.* 39:189-198.
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. Nagano K, Katagiri T, Aiso S, Senoh H, Sakura Y, Takeuchi T. 1997. Spontaneous lesions of nasal cavity in aging F344 rats and BDF1 mice. *Exp Toxic Pathol.* 49:97-104.
6. Boyd EM. 1972. Multiposal toxicity syndromes. In: *Predictive Toxicometrics*. Bristol: Sciencetechnica LTD, 367-378.
7. 伊東信行編著. 1994. 標的器官の毒性病理 (1), 呼吸器系 A . 鼻腔.最新毒性病理学. 東京:中山書店、85-95.
8. Boyd EM. 1972. Uniposal toxicity syndromes. In: *Predictive Toxicometrics*. Bristol: Sciencetechnica LTD, 271-296.

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。

試験計画書に従わなかつたことについては、計画書では、吸入チャンバー内の被験物質濃度の測定は、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）を用いるとしたが、試験ではガスクロマトグラフは（株）島津製作所 GC-14A を用いた。また、計画書では「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 位までを表示する。」とした。しかし、測定濃度が低濃度であったため、吸入チャンバー内の被験物質濃度は小数点以下第 3 位まで測定し、小数点以下第 3 位を四捨五入して小数点以下第 2 位までを表示した。