

アクロレイン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：0782

CAS No. 107-02-8

2013年3月18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
GLP 対応	i
動物福祉	i
試験委託者	i
試験施設及び運営管理者	ii
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
信頼性保証証明書	v
本文	vi
TABLES	A~L	2
FIGURES	1~4	
APPENDICES	1-1~3	

標題

アクロレインのラットを用いた吸入による 13 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を決定する予備試験として、アクロレインをラットに 13 週間全身暴露し、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) を参考に実施した。

GLP 対応

本試験は、昭和 63 年 9 月 1 日付け、労働省告示第 76 号「試験施設等が具備すべき基準 (安衛法 GLP)」 (一部改正。平成 12 年 3 月 29 日付け、労働省告示第 13 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、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：0782

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	6
- 2 - 3 飼育条件	6
(1) 飼育環境	6
(2) 飼料	7
(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	7
- 3 - 5 血液生化学的検査	8
- 3 - 6 尿検査	8
- 3 - 7 病理学的検査	8
(1) 剖検	8
(2) 臓器重量	8
(3) 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	11
- 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 剖検	13
- 8 - 2 臓器重量	13
- 8 - 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 無毒性量 (NOAEL)	19
- 3 がん原性試験の濃度決定	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試験 (13 週間試験) 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 10 匹とし、合計 120 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 13 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、2 及び 3 ppm (v/v) とした。観察、検査として、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、尿検査、剖検、臓器重量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、動物の死亡はみられなかったが、一般状態の観察では雌雄とも 3 ppm 群で異常呼吸音がみられた。また、体重増加の抑制が投与期間を通して、雌雄の 2 ppm 以上の群に認められた。摂餌量も雌雄の 2 ppm 以上の群で低値であった。

血液学的検査では、雄で MCV、MCH の高値が 2 ppm 以上の群で、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、MCHC、好中球比の高値、リンパ球比の低値が 3 ppm 群でみられた。雌では赤血球数、ヘモグロビン濃度の高値、MCV、血小板数の低値が 3 ppm 群でみられた。血液生化学的検査では、雄で総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質の低値が 2 ppm 以上の群で、総蛋白、グルコース、カルシウムの低値及び A/G 比、ALP の高値が 3 ppm 群でみられた。雌では総蛋白の低値が 2 ppm 以上の群で、アルブミン、ナトリウムの低値及び ALP、カリウムの高値が 3 ppm 群でみられた。尿検査では雄でケトン体の陽性例の減少が 3 ppm 群でみられた。

病理学的検査のうち、剖検では雌雄ともアクロレインの影響と思われる変化はみられなかった。臓器重量では、雌雄で胸腺の重量低下が 2 ppm 以上の群で、雄で肝臓の重量低下が 3 ppm 群でみられた。

病理組織学的検査では、呼吸器系 (鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺) にアクロレインの影響がみられた。3 ppm 群では鼻腔から肺に、2 ppm 群では鼻腔から気管 (雄のみ) に、1 ppm 群では鼻腔のみにアクロレインの影響がみられた。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。また、その他の器官、組織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認められなかった。

以上の結果より、本試験におけるアクロレインのラットに対する 13 週間吸入暴露による無毒性量 (NOAEL) は、鼻腔への影響をエンドポイントとして 0.3 ppm であると考えられた。また、がん原性試験は雌雄とも最高濃度を 2 ppm とし、以下、0.5 ppm、0.1 ppm (公比 4、少数点以下第 2 位四捨五入) と決定した。

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-プロペナール

CAS No. : 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 : 冷蔵、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)

使用ロット番号 : 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、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 F344/DuCrI CrIj ラット（SPF）の雌雄を使用した。

雌雄各 72 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 60 匹（群構成時体重範囲、雄：110～124g、雌：91～102g）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 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、原則として1週5日の暴露で13週間とし、計60回の暴露を行った。

- 1 - 4 投与濃度

投与濃度は、0.1、0.3、1、2及び3 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を決定するため、週5日の暴露で13週間とした。

投与濃度は、アクロレインをラットに吸入暴露した2週間毒性試験（試験番号0776）の結果（文献3）をもとに決定した。2週間試験は、0（対照群）、0.1、0.3、1、3及び10 ppmの濃度で行った。その結果、雌雄とも10 ppm群で全動物が死亡したが、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、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、粘膜下腺）、鼻咽頭管、喉頭、気管、肺にアクロレインの刺激性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、一般状態の変化は少数例であった。また、3 ppm群の病理組織学的検査で鼻腔から肺にみ

られた気道の変化は、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、2 週間試験で 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、2 週間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。

- 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（容量：47L）に528～561 ppm の濃度で充填した。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）及び変動係数（標準偏差 / 平均値 × 100）がともに 1.0%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 10 匹の動物を用いた。

各群の使用動物数と動物番号

群名称	動物数（動物番号）	
	雄	雌
対照群	10 匹（1001～1010）	10 匹（2001～2010）
0.1 ppm 群	10 匹（1101～1110）	10 匹（2101～2110）
0.3 ppm 群	10 匹（1201～1210）	10 匹（2201～2210）
1 ppm 群	10 匹（1301～1310）	10 匹（2301～2310）
2 ppm 群	10 匹（1401～1410）	10 匹（2401～2410）
3 ppm 群	10 匹（1501～1510）	10 匹（2501～2510）

- 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（606 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 < 606 室 ; 23.0 ± 0.0 >
吸入試験室 ; 21 ± 2 < 604 室 ; 19.9 ± 0.2 >
吸入チャンバー内 ; 20 ~ 24

湿 度 : 検疫室 ; $55 \pm 15\%$ < 606 室 ; $55 \pm 1\%$ >
吸入試験室 ; $55 \pm 15\%$ < 604 室 ; $62 \pm 2\%$ >
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 : 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 (170(W) × 294(D) × 176(H) mm/匹)

馴化期間 ; ステンレス製 6 連網ケージ (125(W) × 216(D) × 176(H) mm/匹)

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、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、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) か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、保管した。

(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。

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

動物の生死及び瀕死の確認を毎日 1 回、また、一般状態の詳細な観察は週 1 回行った。

- 3 - 2 体重測定

体重測定は週 1 回行った。また、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：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(APTT)*、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、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 13 週の検査時まで生存した動物から、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) 剖検

全動物について肉眼的に観察を行った。

(2) 臓器重量

全動物について、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) 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。

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。

検査器官・組織：皮膚、鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺、骨髄(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、精嚢、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)、肉眼的に変化のみられた器官及び組織

- 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、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、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。

病理組織学的検査の非腫瘍性病変は、所見のみ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、 χ^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 χ^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 -

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 C 1, 2 に示した。

- 雄 -

3 ppm 群で投与期間を通して、異常呼吸音が 1~7 匹にみられた。また、立毛が 3 ppm 群に 1 匹みられた。

- 雌 -

3 ppm 群で投与期間を通して、異常呼吸音が 1~6 匹にみられた。

- 3 体重

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

- 雄 -

2 ppm 以上の群で投与期間を通して、体重増加の抑制がみられた。

投与群の最終体重は対照群に対し、0.1 ppm 群 : 97%、0.3 ppm 群 : 98%、1 ppm 群 : 98%、2 ppm 群 : 88%、3 ppm 群 : 68%であった。

- 雌 -

2 ppm 以上の群で投与期間を通して、体重増加の抑制がみられた。

投与群の最終体重は対照群に対し、0.1 ppm 群 : 101%、0.3 ppm 群 : 103%、1 ppm 群 : 100%、2 ppm 群 : 93%、3 ppm 群 : 87%であった。

- 4 摂餌量

摂餌量を TABLE E 1~4 及び FIGURE 3, 4 に示した。

- 雄 -

2 ppm 以上の群で投与期間を通して、摂餌量が低値であった。

13 週間の平均摂餌量は、対照群 : 15.9 g、0.1 ppm 群 : 15.5 g、0.3 ppm 群 : 15.6 g、1 ppm 群 : 15.7 g、2 ppm 群 : 14.4 g、3 ppm 群 : 11.9 g であった。

- 雌 -

3 ppm 群は投与期間を通して、2 ppm 群は投与期間の前半、摂餌量が低値であった。

13 週間の平均摂餌量は、対照群：10.8 g、0.1 ppm 群：10.7 g、0.3 ppm 群：10.6 g、1 ppm 群：10.9 g、2 ppm 群：10.3 g、3 ppm 群：9.6 g 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。

- 雄 -

MCV、MCH の高値が 2 ppm 以上の群で、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、MCHC の高値が 3 ppm 群でみられた。また、白血球数百分率では好中球比の高値とリンパ球比の低値が 3 ppm 群でみられた。

その他、プロトロンビン時間の延長が 0.1 ppm 群で、トロンボプラスチン時間の短縮が 2 ppm 群でみられたが、投与濃度に対応した変化ではなく、被験物質の影響とは考えなかった。

- 雌 -

赤血球数、ヘモグロビン濃度の高値、MCV、血小板数の低値が 3 ppm 群でみられた。

- 6 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を TABLE G 1, 2 に示した。

- 雄 -

総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質の低値が 2 ppm 以上の群で、総蛋白、グルコース、カルシウムの低値及び A/G 比、ALP の高値が 3 ppm 群でみられた。

その他、リン脂質の低値が 0.1、0.3、1 ppm 群にもみられたが、これらの群の値は同様な値で投与濃度との対応がみられないことから、被験物質との関連は不明であった。また、総コレステロールが 0.1 ppm 群で、AST と ALT が 2 ppm 群で低値であったが、これらの変化も投与濃度に対応したのではなく、被験物質の影響とは考えなかった。

- 雌 -

総蛋白の低値が 2 ppm 以上の群で、アルブミン、ナトリウムの低値及び ALP、カリウムの高値が 3 ppm 群でみられた。

その他、総コレステロールとリン脂質の低値が 1 ppm 以上の群でみられたが、両項目とも 1 ppm 以上の群の値は同様な値で投与濃度との対応がみられないことから、被験物質との関連は不明であった。また、AST と ALT が 2 ppm 群で低値であったが、これらの変化も投与濃度に対応したのではなく、被験物質の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。

- 雄 -

ケトン体の陽性例の減少が 3 ppm 群でみられた。

その他、蛋白が 2 ppm 群で、ケトン体が 0.3 ppm 群で変化がみられたが、それぞれ投与濃度に対応した変化ではなく、被験物質の影響とは考えなかった。

- 雌 -

被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

- 8 病理学的検査

- 8 - 1 剖検

剖検所見を TABLE I 1, 2 に示した。

- 雌雄 -

被験物質の影響と思われる所見はみられなかった。

- 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を TABLE J 1, 2 と TABLE K 1, 2 に示した。

- 雄 -

胸腺の実重量の低値が 2 ppm 以上の群で、体重比の低値が 3 ppm 群でみられ、有意差はないものの、2 ppm 群の胸腺の体重比も対照群に比べ低値（対照群の 88%）であった。また、肝臓の実重量と体重比の低値が 3 ppm 群でみられた。

その他、2 ppm 以上の群では多くの臓器で実重量の低値や体重比の高値がみられたが、これらの変化は 2 ppm 以上の群の搬出時体重の低値によるものと思われる。また、心臓の体重比の高値が 1 ppm 群でもみられたが、実重量の変化がなく、被験物質の影響とは考えなかった。

- 雌 -

胸腺の実重量の低値が 2 ppm 以上の群でみられ、有意差はないものの、2 ppm 群と 3 ppm 群の胸腺の体重比は対照群に比べ低値（それぞれ対照群の 91%）であった。

その他、2 ppm 以上の群では多くの臓器で実重量の低値や体重比の高値がみられたが、これらの変化は 2 ppm 以上の群の搬出時体重の低値によるものと思われる。

- 8 - 3 病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果を TABLE L 1, 2 に示した。

雄

呼吸器系（鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺）に被験物質の影響がみられた。

[3 ppm 群]

鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺に変化がみられた。

鼻腔では呼吸部と嗅部に被験物質の影響がみられた。呼吸部では、鼻腔の内腔に滲出液の貯留がみられ、好中球の浸潤が目立つ滲出液（以下、化膿性滲出液）の貯留（軽度～中等度）が 2 匹、好中球の浸潤がほとんどない滲出液（以下、非化膿性滲出液）の貯留（軽度）が 2 匹であった。また、甲介の萎縮（中等度）が 10 匹、癒着（軽度～中等度）が 4 匹、鼻腺の過形成（軽度）が 9 匹に認められた。呼吸部を構成する移行上皮と呼吸上皮では、移行上皮に再生（軽度）と扁平上皮化生（中等度～重度）が各 10 匹、過形成（中等度）が 2 匹、呼吸上皮に炎症性細胞浸潤（軽度～中等度）、再生（軽度）、過形成（重度）及び扁平上皮化生（軽度）が各 10 匹に認められた。嗅部では鼻腔の内腔に滲出液の貯留がみられ、化膿性滲出液の貯留（中等度）が 2 匹、非化膿性滲出液の貯留（軽度～重度）が 8 匹であった。嗅部を構成する嗅上皮では、炎症性細胞浸潤（軽度～中等度）、萎縮（重度）、再生（軽度）と浮腫性の肉芽形成（軽度～中等度）が各 10 匹、呼吸上皮化生（軽度）が 1 匹に認められた。また、嗅上皮の下に存在する嗅神経の萎縮（重度）と嗅腺の萎縮（重度）が各 10 匹に認められた。

鼻咽頭では、上皮の再生（中等度）が 10 匹、過形成（軽度）が 9 匹に認められた。

喉頭では、炎症性細胞浸潤（軽度）が 2 匹、上皮の再生（軽度～中等度）が 2 匹、扁平上皮化生（中等度）が 9 匹に認められた。この他、腺の拡張（軽度）が 1 匹に認められた。

気管では、炎症性細胞浸潤（軽度）が 5 匹、上皮の壊死（軽度）が 4 匹、再生（中等度）が 10 匹、扁平上皮化生（軽度～中等度）が 7 匹、杯細胞の過形成（軽度）が 1 匹に認められた。

肺では、主として気管支上皮（細気管支及び終末細気管支を含めた気管支上皮）に変化が認められた。気管支上皮には再生（軽度～中等度）が 10 匹、過形成（軽度）が 1 匹に認められ、肺胞には線毛を有する呼吸上皮が増生した細気管支型の細気管支 肺胞上皮増生（軽度）が 1 匹、杯細胞化生（軽度）が 3 匹、炎症性細胞浸潤（軽度）が 2 匹、泡沫細胞の出現（軽度）が 3 匹に認められた。さらに、気管支関連リンパ組織（BALT）の過形成（軽度）が 7 匹に認められた。

[2 ppm 群]

鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管に変化がみられた。

鼻腔では呼吸部と嗅部に被験物質の影響がみられた。呼吸部では、甲介の萎縮（軽度）が 10 匹、骨化と癒着（軽度）が各 3 匹、鼻腺の過形成（軽度～中等度）が 9 匹に認められた。

呼吸部の移行上皮と呼吸上皮では、移行上皮に再生（軽度）、扁平上皮化生（軽度）及び過形成（中等度）が各 10 匹に認められ、呼吸上皮に炎症性細胞浸潤（軽度）が 7 匹、再生（中等度）と過形成（中等度）が各 10 匹、扁平上皮化生（軽度）が 2 匹に認められた。嗅部では鼻腔の内腔に非化膿性滲出液の貯留（軽度）が 3 匹であった。嗅部の嗅上皮では、炎症性細胞浸潤（軽度）、萎縮（中等度）、再生（中等度）、浮腫性の肉芽形成（軽度）が各 10 匹、呼吸上皮化生（軽度）が 2 匹に認められた。また、嗅上皮の下に存在する嗅神経の萎縮（中等度）と嗅腺の萎縮（中等度）が各 10 匹に認められた。

鼻咽頭では、上皮に杯細胞の過形成（軽度）が 1 匹に認められた。

喉頭では、炎症性細胞浸潤（軽度）と上皮の再生（軽度）が各 1 匹に認められた。

気管では、炎症性細胞浸潤（軽度）と上皮の再生（軽度）が各 1 匹に認められた。

[1 ppm 群]

鼻腔の呼吸部に変化がみられた。呼吸部の移行上皮に再生（重度）と過形成（軽度）が各 10 匹に認められ、呼吸上皮に再生（中等度）が 10 匹、扁平上皮化生（軽度）が 2 匹に認められた。

[0.3 ppm 群]

被験物質の影響を認めなかった。

[0.1 ppm 群]

被験物質の影響を認めなかった。

雌

呼吸器系（鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺）に被験物質の影響がみられた。

[3 ppm 群]

鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺に変化がみられた。

鼻腔では呼吸部と嗅部に被験物質の影響がみられた。呼吸部では甲介の萎縮（中等度）が 10 匹、癒着（軽度）が 4 匹、鼻腺の過形成（軽度）が 10 匹に認められた。呼吸部の移行上皮と呼吸上皮では、移行上皮に再生（軽度）と扁平上皮化生（中等度～重度）が各 10 匹、過形成（中等度）が 2 匹に認められ、呼吸上皮に炎症性細胞浸潤（軽度～中等度）が 9 匹、再生（軽度）、過形成（重度）及び扁平上皮化生（軽度）が各 10 匹に認められた。嗅部では鼻腔の内腔に非化膿性滲出液の貯留（軽度～重度）が 10 匹に認められた。嗅部の嗅上皮では、炎症性細胞浸潤（軽度～中等度）が 9 匹、萎縮（重度）、再生（軽度）と浮腫性の肉芽形成（軽度～中等度）が各 10 匹、呼吸上皮化生（軽度）が 2 匹に認められた。また、嗅上皮の下に存在する嗅神経の萎縮（重度）と嗅腺の萎縮（重度）が各 10 匹に認められた。

鼻咽頭では、鼻咽頭管上皮の再生（中等度）が 10 匹、過形成（軽度）が 8 匹に認められた。

喉頭では、炎症性細胞浸潤（軽度）が 5 匹、上皮の再生（中等度）が 2 匹、扁平上皮化生（中等度）が 8 匹に認められた。この他、腺の拡張（軽度）が 2 匹に認められた。

気管では、炎症性細胞浸潤（軽度）が 3 匹、上皮の壊死（中等度）が 1 匹、再生（中等

度)が10匹、扁平上皮化生(軽度)が9匹に認められた。

肺では、主として気管支上皮に変化が認められた。気管支上皮の再生(軽度)が9匹に認められた。さらに、気管支関連リンパ組織(BALT)の過形成(軽度)が8匹に認められた。

[2 ppm 群]

鼻腔、鼻咽頭、喉頭に変化がみられた。

鼻腔では呼吸部と嗅部に被験物質の影響がみられた。呼吸部では、甲介の萎縮(軽度)が10匹、骨化(軽度)が1匹、鼻腺の過形成(軽度)が6匹に認められた。呼吸部の移行上皮と呼吸上皮では、移行上皮に再生(軽度)、扁平上皮化生(軽度~中等度)及び過形成(中等度)が各10匹に認められ、呼吸上皮に炎症性細胞浸潤(軽度~中等度)が9匹、再生(中等度)、過形成(軽度~中等度)が各10匹、扁平上皮化生(軽度)が6匹に認められた。嗅部では鼻腔の内腔に非化膿性滲出液の貯留(軽度)が1匹に認められた。嗅部の嗅上皮では、炎症性細胞浸潤(軽度)が9匹、萎縮(中等度)、再生(中等度)が各10匹、浮腫性の肉芽形成(軽度)が5匹、呼吸上皮化生(軽度)が4匹に認められた。また、嗅上皮の下に存在する嗅神経の萎縮(中等度)と嗅腺の萎縮(軽度~中等度)が各10匹に認められた。

鼻咽頭では、鼻咽頭管上皮に杯細胞の過形成(軽度)が2匹に認められた。

喉頭では、炎症性細胞浸潤(軽度)が5匹、炎症性ポリープ(軽度)が1匹に認められた。

[1 ppm 群]

鼻腔の呼吸部に変化がみられた。呼吸部の甲介に萎縮(軽度)が1匹、移行上皮に再生(重度)と過形成(軽度)が各10匹に認められ、呼吸上皮に炎症性細胞浸潤(軽度~中等度)が4匹、再生(中等度)が10匹、扁平上皮化生(軽度)が1匹に認められた。

[0.3 ppm 群]

被験物質の影響は認めなかった。

[0.1 ppm 群]

被験物質の影響を認めなかった。

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、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試験 (13 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 10 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、2 及び 3 ppm (v/v) 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 13 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、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、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。

- 1 用量 - 反応関係

アクロレインの暴露の結果、動物の死亡はみられなかったが、一般状態の観察では雌雄とも 3 ppm 群で投与期間を通して、異常呼吸音がみられた。また、体重増加の抑制が投与期間を通して、雌雄の 2 ppm 以上の群に認められた。2 ppm 群、3 ppm 群の最終体重は対照群に対し、それぞれ、雄は 88%、68%、雌は 93%、87% となり、2 ppm 以上の群の体重増加の抑制は雌より雄の方が大きかった。摂餌量も雌雄の 2 ppm 以上の群で低値であった。

血液学的検査では、雄で MCV、MCH の高値が 2 ppm 以上の群で、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、MCHC、好中球比の高値、リンパ球比の低値が 3 ppm 群でみられた。雌では赤血球数、ヘモグロビン濃度の高値、MCV、血小板数の低値が 3 ppm 群でみられた。雌雄の 3 ppm 群では赤血球数やヘモグロビン濃度等の高値がみられ、MCV、MCH にも変化がみられた。直接的な影響か二次的な影響かは不明であるが、アクロレインのラットへの暴露は赤血球系へなんらかの影響を及ぼすと考えられる。病理組織学的検査では血液系への影響を示唆する変化は認められなかった。

血液生化学的検査では、雄で総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質の低値が 2 ppm 以上の群で、総蛋白、グルコース、カルシウムの低値及び A/G 比、ALP の高値が 3 ppm 群でみられた。雌では総蛋白の低値が 2 ppm 以上の群で、アルブミン、ナトリウムの低値及び ALP、カリウムの高値が 3 ppm 群でみられた。2 ppm 以上の群でみられた蛋白や脂質の変化は主に摂餌量の低値に関連するものと思われる。尿検査では雄でケトン体の陽性例の減少が 3 ppm 群でみられた。しかし、血液生化学的検査及び尿検査でみられた変化に関連すると思われる病理組織学的所見は認められなかった。

病理学的検査のうち、剖検では雌雄ともアクロレインの影響と思われる変化はみられなかった。臓器重量では、雌雄で胸腺の重量低下が 2 ppm 以上の群で、雄で肝臓の重量低下が 3 ppm 群でみられた。化学物質の投与によるストレス反応によって、胸腺の萎縮や重量低下が

起きることが知られている（文献 6、7）。2 ppm 以上の群で認められた胸腺の重量低下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。病理組織学的検査では胸腺や肝臓に変化は認められなかった。

病理組織学的検査では、呼吸器系（鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺）にアクロレインの影響がみられた。3 ppm 群では鼻腔から肺に、2 ppm 群では鼻腔から気管（雄のみ）に、1 ppm 群では鼻腔のみにアクロレインの影響がみられた。

3 ppm 群では雌雄とも鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺に変化がみられた。鼻腔では、内腔に滲出液（化膿性滲出液を含む）の貯留、甲介の萎縮と癒着、鼻腺の過形成が認められ、移行上皮や呼吸上皮には、再生、扁平上皮化生、過形成、炎症性細胞浸潤が認められた。嗅上皮には、炎症性細胞浸潤、萎縮、再生、浮腫性の肉芽形成、呼吸上皮化生が認められ、嗅上皮の下に存在する嗅神経の萎縮と嗅腺の萎縮が認められた。これらの変化の程度は軽度から重度であった。鼻腔では呼吸部と嗅部にアクロレインの影響がみられ、アクロレインによる傷害性変化と上皮の再生や扁平上皮化生、過形成等の修復性的変化がみられた。鼻咽頭では上皮の再生と過形成、喉頭では炎症性細胞浸潤、上皮の再生、扁平上皮化生、腺の拡張が認められた。気管では炎症性細胞浸潤、上皮の壊死、再生、扁平上皮化生、杯細胞の過形成が認められた。肺では主として細気管支及び終末細気管支を含めた気管支上皮に変化がみられ、気管支上皮の再生、過形成、肺泡に細気管支型の細気管支 肺泡上皮増生、杯細胞化生、炎症性細胞浸潤、泡沫細胞の出現が認められ、さらに、気管支関連リンパ組織（BALT）の過形成が認められた。鼻咽頭から肺までの変化の程度は軽度から中等度であった。

鼻腔の変化は雌雄とも 1 ppm 群までみられた。2 ppm 群の鼻腔の変化は 3 ppm 群と同様であったが、その所見の程度は多くの所見で 3 ppm 群より軽度であった。しかし、2 ppm 群の移行上皮の過形成や呼吸上皮及び嗅上皮の再生の程度は 3 ppm 群より強かった。また、1 ppm 群の鼻腔では、アクロレインの影響は呼吸部のみとなり、所見の数も減少し、ほとんどが修復性的変化であったが、移行上皮と呼吸上皮の再生は雌雄とも全例が中等度や重度であり、2 ppm 群と 1 ppm 群の鼻腔ではアクロレインによる傷害に対し、活発な修復が行われていたことが示された。

鼻咽頭と喉頭の変化は雌雄とも 2 ppm 群まで、気管の変化は雄のみ 2 ppm 群までみられた。2 ppm 群の鼻咽頭、喉頭、気管では、雌の喉頭の炎症性細胞浸潤が 3 ppm 群と同等の変化であったが、他は鼻咽頭、喉頭、気管とも少数例に軽度の変化がみられたのみであった。

0.3 ppm 以下の群には、雌雄ともアクロレインの影響と思われる所見は認められなかった。

以上のように、ラットへのアクロレインの 13 週間の暴露により、呼吸器系（鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺）にアクロレインの影響がみられ、鼻腔の傷害は雌雄とも 1 ppm の濃度まで起きることが示された。

その他の器官、組織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認められなかった。

- 2 無毒性量 (NOAEL)

アクロレインのラットへの 13 週間吸入暴露により、投与群において一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、臓器重量及び病理組織学的検査に変化がみられた。その中で、病理組織学的検査においては、1 ppm 群まで鼻腔に変化がみられた。0.3 ppm 以下の群では、暴露に関連した明らかな毒性影響は認められなかった。従って、本試験におけるアクロレインのラットに対する 13 週間吸入暴露による無毒性量 (NOAEL) は、鼻腔への影響をエンドポイントとして 0.3 ppm であると考えられた。

- 3 がん原性試験の濃度決定

本試験の結果より、がん原性試験の投与濃度を以下のように設定した。

本試験では各群とも動物の死亡はみられなかったが、3 ppm 群では雌雄に体重増加の抑制がみられ、一般状態で雌雄に異常呼吸音がみられた。また、臓器重量では雌雄の胸腺の重量低下、病理組織学的検査では雌雄の鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺に炎症及び上皮の再生、過形成と化生等がみられた。特に、最終体重は対照群に対し、雄で 68%、雌で 87%であることから、雌雄とも 3 ppm はがん原性試験における最大耐量を越えると思われた。2 ppm 群は、体重増加の抑制がみられたが、最終体重は対照群に対し、雄で 88%、雌で 93%であり、一般状態に変化はみられなかった。また、病理組織学的検査では雌雄の鼻腔、鼻咽頭、喉頭に 3 ppm 群と同様の変化がみられ、胸腺重量に低下がみられた。しかし、鼻腔等の病理組織変化は動物の生存に影響を及ぼすものではなく、胸腺の重量変化も軽度なものであった。これらの結果より、がん原性試験の最高濃度は 2 ppm が妥当と考えられた。また、がん原性試験の最低濃度は、米国 ACGIH から勧告されている TLV-天井値 (文献 8) 0.1 ppm を考慮した。以上のことから、がん原性試験は雌雄とも最高濃度を 2 ppm とし、以下、0.5 ppm、0.1 ppm (公比 4、少数点以下第 2 位四捨五入) と決定した。

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. 日本バイオアッセイ研究センター. 2011. アクロレインのラットを用いた吸入による 2 週間毒性試験報告書. 神奈川: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
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. Boyd EM. 1972. Uniposal toxicity syndromes. In: *Predictive Toxicometrics*. Bristol: Sciencetechnica LTD, 271-296.
8. ACGIH. 2001. Acrolein. Documentation of the Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices. Cincinnati, OH: American Conference of Governmental Industrial Hygienists. ACGIH

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及び試験計画書に従わなかつたことはなかつた。