

グリシドールのマウスを用いた
吸入による2週間毒性試験報告書

試験番号：0308

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：0308

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-1-2	一般状態	9
III-1-3	体重	10
III-1-4	摂餌量	10
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	11
III-3	病理学的検査	
III-3-1	剖検観察	11
III-3-2	臓器重量	11
III-3-3	病理組織学的検査	12
IV	考察及びまとめ	13
V	文献	16

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 MICE IN THE 2-WEEK INHALATION STUDY OF GLYCIDOL
- TABLE 3 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES OF FEMALE MICE IN THE 2-WEEK INHALATION STUDY OF GLYCIDOL
- TABLE 4 FOOD CONSUMPTION CHANGES OF MALE MICE IN THE 2-WEEK INHALATION STUDY OF GLYCIDOL
- TABLE 5 FOOD CONSUMPTION CHANGES OF FEMALE MICE 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 MICE IN THE 2-WEEK
INHALATION STUDY OF GLYCIDOL

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

APPENDIXES

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

APPENDIXES (CONTINUED)

- APPENDIX G 1 ORGAN WEIGHT, ABSOLUTE : SUMMARY, MOUSE : MALE
(2-WEEK STUDY)
- APPENDIX G 2 ORGAN WEIGHT, ABSOLUTE : SUMMARY, MOUSE : FEMALE
(2-WEEK STUDY)
- APPENDIX H 1 ORGAN WEIGHT, RELATIVE : SUMMARY, MOUSE : MALE
(2-WEEK STUDY)
- APPENDIX H 2 ORGAN WEIGHT, RELATIVE : SUMMARY, MOUSE : FEMALE
(2-WEEK STUDY)
- APPENDIX I 1 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS :
SUMMARY, MOUSE : MALE : DEAD AND MORIBUND ANIMALS
(2-WEEK STUDY)
- APPENDIX I 2 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS :
SUMMARY, MOUSE : MALE : SACRIFICED ANIMALS
(2-WEEK STUDY)
- APPENDIX I 3 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS :
SUMMARY, MOUSE : FEMALE : DEAD AND MORIBUND
ANIMALS (2-WEEK STUDY)
- APPENDIX I 4 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS :
SUMMARY, MOUSE : 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 ALLYL CHLORIDE

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 Crj:BDF₁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 匹のマウス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。150ppm 群では投与期間終了までに雄で 8 例、雌で 9 例死亡した。これら死亡動物には、生存中の一般状態の詳細観察時、呼吸の異常が目立って観察された。また、投与期間の 2 日(1w-2d)までに死亡した 300ppm 以上の群の動物全例に腹部膨隆がみられた。これら死亡動物には剖検観察時、消化器官にガスの貯留がみられた。病理組織学的所見では、鼻腔の呼吸上皮、扁平上皮、嗅上皮に炎症性細胞浸潤、潰瘍、炎症性ポリープがみられ、また、気管の上皮の壊死や炎症性細胞浸潤、肺のうっ血がみられた。これら粘膜上皮の変化により鼻呼吸が困難となったため、一連の呼吸異常による開口呼吸となり、消化器官へのガス貯留の原因となったと考えられた。これら鼻腔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観察時、雌雄とも著変を認めた動物はいなかった。雌雄の 150ppm 以下の群では体重増加の抑制がみられた。摂餌量は、雄の 75ppm 以上、雌の 37.5ppm 以上の群で、対照群と比べて低値を示した週があった。病理組織学的検査では、雌雄の 37.5ppm 以上の群で、鼻腔に嗅上皮の障害、また雌の 37.5ppm 群と雌雄の 75ppm 群及び雄の 150ppm 群の鼻腔に炎症性ポリープ、炎症性細胞浸潤、雄の 75ppm 群に呼吸上皮の壊死が認められた。

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 80ppm とし、以下 40ppm、20ppm、10ppm、5ppm (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

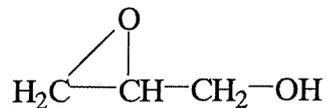
名 称 : グリシドール(Glycidol)

IUPAC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4月3日~1996年4月16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 Crj:BDF₁ マウス(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:22.0~24.9g、雌:18.1~20.6g)を選別して試験に供した。

なお、Crj:BDF₁ マウスを選択した理由は、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、また、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 ケージ当り 1 匹の単飼(ステンレス製 2 連型網ケージ：112W×212D×120H mm)、馴化期間中は 1 ケージ当り 1 匹の単飼(ステンレス製 6 連型網ケージ：95W×116D×120H mm)、投与期間中は 1 ケージ当り 1 匹の単飼(ステンレス製 5 連型網ケージ：100W×116D×120H 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、給餌量と残餌量を測定し、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、150ppm 群は生存した雄2匹、雌1匹、75ppm 以下の群については各群雌雄各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、150ppm 群は生存した雄 2 匹、雌 1 匹、75ppm 以下の群については各群雌雄各 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

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、150ppm 群は生存した雄 2 匹、雌 1 匹、75ppm 以下の群については各群雌雄各 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 例以上の動物について 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を作製し、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 2 位を四捨五入して小数点以下第 1 位までを表示した。

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母数とした。

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

雄では 150ppm 群で、投与期間の 3 日(1w-3d)に 1 例、4 日(1w-4d)に 2 例、6 日(1w-6d)に 1 例、9 日(2w-2d)に 1 例、10 日(2w-3d)に 2 例、13 日(2w-6d)に 1 例、合計 8 例が死亡した。300ppm 以上の群では、投与期間の 2 日(1w-2d)に全例 (300ppm 群は暴露開始前に 3 例、暴露終了後に 7 例、600ppm 群は暴露開始前に全例) が死亡した。

雌では、150ppm 群が投与期間の 3 日(1w-3d)に 1 例、4 日(1w-4d)に 2 例、9 日(2w-2d)に 4 例、10 日(2w-3d)に 1 例、11 日(2w-4d)に 1 例、合計 9 例が死亡した。300ppm 群では、投与期間の 2 日(1w-2d)に 9 例 (暴露開始前に 6 例、暴露終了後に 3 例)、3 日(1w-3d)に 1 例が死亡し、結果として全例死亡し、600ppm 群では投与期間の 2 日(1w-2d)に全例が死亡した。

雌雄とも 75ppm 以下の群では、死亡はみられなかった。

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、75ppm 以下の群で被験物質の投与によると思われる特徴的な所見はみられなかった。150ppm 群では自発運動量減少、腹部膨隆、異常呼吸、深呼吸、体温低下が 1 例に、異常呼吸音が 5 例、自発運動量減少、立毛が 1 例にみられ、これらの動物はその後死亡した。300ppm 群で投与期間の 2 日(1w-2d)の観察時に、生存例のすべてに自発運動量減少、あえぎ、異常呼吸、異常呼吸音、体温低下、1 例を除いて腹部膨隆がみられ、呼吸緩徐、深呼吸がみられた動物もいた。

雌では、75ppm 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みられなかった。150ppm 群で異常呼吸音が 1 例にみられ、この動物はその後死亡した。300ppm 群で投与期間の 2 日(1w-2d)の観察時に、生存例のすべてに異常呼吸、1 例を除いて自発運動量減少、腹部膨隆、呼吸緩徐、異常呼吸音、体温低下がみられ、あえぎが 3 例、不整呼吸が 1 例にみられた。

死亡例では、雌雄の 300ppm 群で投与期間の 2 日(1w-2d)に死亡した全例と 600ppm 群の全例に腹部膨隆がみられた。

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 以下の投与群で、投与期間を通じて濃度に対応した体重増加の抑制がみられた。なお、150ppm 群については、最終測定日(2w-7d)の生存数が 2 例のため検定からは除外した。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、体重の低下がみられた。

雌では、37.5ppm 群で投与最終日(2w-7d)に対照群に比べ有意な低値を示し、75ppm 群では投与期間の 7 日(1w-7d)に一時回復したものの他の期間では対照群に比べ低値を示し、それぞれ体重増加の抑制がみられた。150ppm 群は投与期間の 10 日(2w-3d)から生存数例が足りないため検定からは除外したが、投与期間を通じて低値を示し体重増加の抑制がみられた。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、体重の低下がみられた。

Ⅲ-1-4 摂餌量

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

雄は、75ppm 以上の群で投与第 1 週に摂餌量が低値を示した。

雌では、150ppm 群が第 1 週に、37.5ppm 以上の群で第 2 週に低値を示した。

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為、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、37.5ppm、75ppm 群でリンパ球比の増加および分葉核好中球比の減少が認められたが、その変化はごく僅かなものであり、用量相関性も明確ではなかった。

雌では、特に変化はみられなかった。

なお、雌雄ともに 150ppm 群は群内データ数が少なく、評価を行わなかった。

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、37.5ppm 群で総蛋白、総コレステロール、リン脂質の減少が認められたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

雌では、75ppm 群で総コレステロールの増加が認められた。その他、37.5ppm 群でALP活性の上昇がみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

なお、雌雄ともに150ppm 群は群内データ数が少なく、評価を行わなかった。

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 F 1, F 3 (投与期間中死亡例)、APPENDIX F 2, F 4 (定期解剖例、定期解剖時死亡例も含む) に示した。

<投与期間中死亡例>

雌雄とも、150ppm、300ppm 及び 600ppm 群で胃や小腸、大腸にガスの貯留がみられた。また、150ppm 群には胸腺の萎縮も認められた。

<定期解剖例>

雌の150ppm 群の生存例に胸腺の萎縮がみられた。しかし、雄の150ppm 以下の群及び雌の75ppm 以下の群には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を認めなかった。

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が認められたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。75ppm 群では各臓器とも対照群との間に差を認めなかった。150ppm 群は定期解剖までの生存例が少なく、また、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、37.5ppm 群と 75ppm 群は各臓器とも対照群との間に差を認めなかった。150ppm 群は定期解剖までの生存例が少なく、また、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。

III-3-3 病理組織学的検査

各群の雌雄各 2 匹（ただし 150ppm 群は雌雄各 3 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）、APPENDIX I 2, I 4（定期解剖例、定期解剖時死亡例も含む）に示した。

<投与期間中死亡例>

雌雄とも 150ppm、300ppm 及び 600ppm 群で鼻腔に呼吸上皮と嗅上皮の壊死、肺にうっ血が認められた。これに加えて鼻腔には炎症性細胞浸潤が雌雄の 150ppm 群及び雌の 300ppm 群と 600ppm 群に、潰瘍が雌雄の 150ppm 群に、炎症性ポリープ及び嗅上皮の萎縮と呼吸上皮化生が雌の 150ppm 群に、扁平上皮の壊死が雄の 300ppm 群にみられた。また、気管の上皮壊死と炎症性細胞浸潤が雄の 150ppm 群に、胸腺の核崩壊や萎縮が雌雄の 150ppm と 300ppm 群に、角膜炎が雄の 150ppm 群に、腎臓の尿細管壊死が雄の 300ppm 群に、肝臓の脂肪変性が雌の 300ppm 群にみられた。

<定期解剖例>

雌雄の 37.5ppm 群は鼻腔に嗅上皮の壊死、萎縮及び呼吸上皮化生がみられ、さらに雌では炎症性ポリープと炎症性細胞浸潤も認められた。雌雄の 75ppm 群では鼻腔に炎症性ポリープ、炎症性細胞浸潤、嗅上皮の壊死や萎縮、呼吸上皮化生、雄に呼吸上皮の壊死がみられた。雌雄とも 150ppm 群では鼻腔の嗅上皮に壊死や萎縮、呼吸上皮化生がみられ、また、雄には炎症性ポリープと扁平上皮の壊死、雌に胸腺の萎縮も認められた。

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 Crj:BDF₁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あたり、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匹のマウス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、300ppm以上の群では雄は投与期間の2日(1w-2d)の暴露終了時に、雌は投与期間の3日(1w-3d)までに全例死亡した。150ppm群では投与期間終了までに雄8例、雌9例が死亡した。一般状態の詳細観察時、150ppm群の雄では半数に異常呼吸音がみられ、自発運動量減少、腹部膨隆、異常呼吸、深呼吸、体温低下、立毛が見られた動物もいた。雌では異常呼吸が1例にみられたのみだった。これらの動物はその後死亡した。300ppm群では、投与期間の2日(1w-2d)の観察時に生存していた雄に、自発運動量減少、あえぎ、異常呼吸、異常呼吸音、体温低下、腹部膨隆、呼吸緩徐、深呼吸がみられ、雌でもほぼ同様の症状が観察された。投与期間の2日(1w-2d)までに死亡した300ppm以上の群の動物全例に腹部膨隆がみられた。雌雄の300ppm群では動物の死亡のため体重の測定が投与期間の2日(1w-2d)のみであるが、体重の低下が認められた。これら投与期間中死亡動物には剖検観察時、胃や小腸、大腸にガスの貯留がみられた。150ppm群には胸腺の萎縮がみられた。また、病理組織学的所見では、鼻腔の呼吸上皮、扁平上皮の壊死、嗅上皮の壊死、萎縮、呼吸上皮化生、炎症性細胞浸潤、潰瘍、炎症性ポリープ、気管の上皮の壊死や炎症性細胞浸潤、肺のうっ血、胸腺の核崩壊がみられた(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ったため、一連の呼吸異常による開口呼吸となり、消化器官へのガス貯留の原因となったと考えられた。鼻腔の呼吸上皮の壊死と炎症性細胞浸潤はレベルIとレベルIIにみられたが前方であるレベルIがより顕著であり、潰瘍は鼻腔の前半部であるレベルIに、炎症性ポリープはレベルIIの背側壁に局在した。また、嗅上皮の壊死は嗅部の全域に及んでいた。これら鼻腔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、胸腺の核崩壊や萎縮、角膜炎、腎臓の尿細管壊死、肝臓の脂肪変性がみられたが、このうち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変化と考えられた。

呼吸器系臓器の病理組織学的所見 (雄)

臓器	病理組織学的所見	雄												
		対照群		37.5ppm		75ppm		150ppm		300ppm		600ppm		
		動物番号	1001	1002	1101	1102	1201	1202	1302	1309	1301	1404	1405	1501
鼻腔	壊死：呼吸上皮					+				(死亡)	(死亡)	(死亡)	(死亡)	(死亡)
	壊死：嗅上皮			+	+	+	+	+	+	(3+)	(3+)	(3+)	(3+)	(3+)
	萎縮：嗅上皮			+										
	呼吸上皮化生：嗅上皮			+		2+	2+	2+	+					
	壊死：扁平上皮							+	+		(+)			
	炎症性細胞浸潤					+				(2+)				
	潰瘍									(3+)				
	炎症性ポリープ					+		2+	+					
気管	壊死：上皮									(2+)				
	炎症性細胞浸潤									(+)				
肺	うっ血									(+)	(+)	(+)	(+)	(+)

呼吸器系臓器の病理組織学的所見 (雌)

臓器	病理組織学的所見	雌													
		対照群		37.5ppm		75ppm		150ppm		300ppm		600ppm			
		動物番号	2001	2002	2101	2102	2201	2202	2304	2306	2307	2402	2404	2501	2502
鼻腔	壊死：呼吸上皮									(+)	(3+)	(3+)	(3+)	(3+)	(3+)
	壊死：嗅上皮			+	+			+	+	(2+)	(3+)	(3+)	(3+)	(3+)	(3+)
	萎縮：嗅上皮				+	+	+	+	+	(2+)					
	呼吸上皮化生：嗅上皮				2+	+	+	+	+	(+)					
	炎症性細胞浸潤				+	+	+			(+)	(2+)	(2+)	(2+)	(+)	
	潰瘍									(+)	(3+)				
	炎症性ポリープ			+	+	+				(+)					
肺	うっ血									(2+)	(2+)	(+)	(+)	(2+)	(2+)

+: 軽度 2+: 中等度 3+: 重度

生存動物では一般状態の観察時、著変を認めた動物はいなかった。しかし、雌雄の各投与群で体重増加の抑制がみられた。摂餌量は、雄の 75ppm 以上、雌の 37.5ppm 以上の群で、対照群と比べて低値を示した週があった。剖検観察時に雌の 150ppm 群に胸腺の萎縮がみられ、その他の投与群では雌雄ともに特徴的な所見を認めなかった。病理組織学的検査では、雌雄の 37.5ppm 以上の群で、鼻腔に嗅上皮の壊死、萎縮及び呼吸上皮化生、また雌の 37.5ppm 群と雌雄の 75ppm 群及び雄の 150ppm 群の鼻腔に炎症性ポリープ、炎症性細胞浸潤、雄の 75ppm 群に呼吸上皮の壊死、雌の 150ppm 群に胸腺の萎縮が認められた(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、75ppm 群では、雄での鼻腔の嗅上皮の呼吸上皮化生が中程度の障害だった他は、雌雄ともに鼻腔にみられた障害が軽度であった。また、体重増加の抑制も対照群と比較してそれほど強いものではなかった。さらに他の観察、検査は被験物質の影響を示唆する特徴的な所見がみられなかったことから、13 週間試験の最高投与濃度は 75ppm 程度が適当であると考えた。また、本試験の最低投与濃度である 37.5ppm 群でも鼻腔の変化が観察されていることから、13 週間試験の最低投与濃度は 10ppm 未満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字を整え、雌

雄とも最高濃度を 80ppm とし、以下 40ppm、20ppm、10ppm、5ppm (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