

ブチルアルデヒドのラットを用いた吸入による
2週間毒性試験（再試験）報告書

試験番号：0888

CAS No. 123-72-8

2018年 3月 20日

独立行政法人労働者健康安全機構
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		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
本文		v
TABLES	A～K	
FIGURES	1～5	
APPENDICES	1～3	

標題

ブチルアルデヒドのラットを用いた吸入による 2 週間毒性試験（再試験）

試験目的

本試験は、ブチルアルデヒドのラットを用いた吸入による 13 週間毒性試験（がん原性試験の濃度設定試験）の濃度設定を目的として実施した。

なお、当試験は、試験中止となった試験番号 0873 の再試験である。

試験法

本試験は OECD の化学物質の試験に関するガイドライン 412（亜急性吸入毒性試験：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「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 4 月 28 日環境省告示第 88 号、最終改正平成 25 年 8 月 30 日環境省告示第 84 号）、「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指針」（平成 18 年 6 月 1 日厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知、最終改正平成 27 年 2 月 20 日厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知）及び「日本バイオアッセイ研究センターにおける動物実験等に関する規定」（平成 24 年 4 月 25 日制定、最終改正平成 28 年 4 月 1 日）を遵守して行う。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審査された（承認番号 0170）。

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

ブチルアルデヒドのラットを用いた吸入による
2週間毒性試験（再試験）報告書

試験番号：0888

本文

本文目次

	頁
要約	1
I 試験材料	2
I-1 被験物質の性状等	2
I-1-1 名称等	2
I-1-2 構造式及び分子量	2
I-1-3 物理化学的性状	2
I-2 被験物質の使用ロット等	2
I-3 被験物質の特性	3
I-3-1 同一性	3
I-3-2 安定性	3
I-4 試験動物	3
II 試験方法	4
II-1 投与	4
II-1-1 投与経路	4
II-1-2 投与方法	4
II-1-3 投与期間	4
II-1-4 投与濃度	4
II-1-5 投与経路及び投与濃度の設定理由	4
II-1-6 被験物質の発生方法と濃度調整	5
II-1-7 被験物質濃度の測定	5
II-2 動物管理	6
II-2-1 各群の使用動物数	6
II-2-2 群分け方法	6
II-2-3 動物の個体識別方法	6
II-2-4 使用飼育室、他試験及び異種動物との区別	6
II-2-5 飼育条件	7
(1) 飼育環境	7
(2) 飼料	7
(3) 飲水	7

Ⅱ－3 観察・検査項目及び方法	8
Ⅱ－3－1 動物の生死及び一般状態の観察	8
Ⅱ－3－2 体重測定	8
Ⅱ－3－3 摂餌量測定	8
Ⅱ－3－4 血液学的検査	8
Ⅱ－3－5 血液生化学的検査	8
Ⅱ－3－6 病理学的検査	9
(1) 肉眼的観察	9
(2) 臓器重量	9
(3) 臓器の採取保存	9
(4) 病理組織学的検査	9
Ⅱ－4 数値処理と統計方法	9
Ⅱ－4－1 数値の取り扱いと表示	9
Ⅱ－4－2 統計処理	10
Ⅲ 試験成績	11
Ⅲ－1 生死状況	11
Ⅲ－2 一般状態	11
Ⅲ－3 体重	11
Ⅲ－4 摂餌量	12
Ⅲ－5 血液学的検査	12
Ⅲ－6 血液生化学的検査	12
Ⅲ－7 病理学的検査	13
Ⅲ－7－1 肉眼的観察	13
Ⅲ－7－2 臓器重量	13
Ⅲ－7－3 病理組織学的検査	13
Ⅳ 考察及びまとめ	15
Ⅳ－1 用量－反応関係	15
Ⅳ－2 13週間試験の濃度決定	16
Ⅴ 文献	17
Ⅵ 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	19

要約

ブチルアルデヒド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F344/DuCrIjラットを用いた吸入による2週間試験を実施した。

本試験は、被験物質投与群4群と対照群1群の計5群の構成で、各群雌雄とも5匹とし、合計50匹を用いた。被験物質の投与は、ブチルアルデヒドを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)、100、300、1,000及び3,000 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、解剖時の肉眼的観察、臓器重量測定及び病理組織学的検査を行った。

動物に死亡は認められなかった。一般状態の観察では、投与後の観察で3,000 ppm群の雌雄に異常鼻音が1週目にほぼ全例に、2週目には減少したが、投与期間最終日まで認められた。体重は、3,000 ppm群の雌雄とも投与2日の体重が投与1日より減少した。この後は雌雄とも増加に転じたものの、対照群より低値のまま推移した。雄の3,000 ppm群の最終体重は対照群の93%で、軽度な体重増加の抑制がみられた。雌は、投与期間の中盤から終盤にかけて1,000及び3,000 ppm群で統計学的に有意な低値が示されたが、最終体重は両群とも対照群の96%で、対照群に対して有意差はなかった。また、摂餌量は体重と関連して、3,000 ppm群の雌雄とも低値で、雄は統計学的に有意な低値が認められた。血液学的検査、血液生化学的検査、肉眼的観察、臓器重量では特記すべき変化はみられなかった。病理組織学的検査では、3,000 ppm群の雌雄で鼻腔の呼吸部の呼吸上皮に扁平上皮化生、杯細胞の過形成がみられ、嗅部の嗅上皮に萎縮がみられた。また、粘膜下(主に固有層)に炎症性細胞浸潤がみられた。雄ではこれらの所見のうち、呼吸上皮の杯細胞の過形成は1,000 ppm群まで、同じく扁平上皮化生は100 ppm群までみられた。

以上の結果より、本試験におけるブチルアルデヒドのラットに対する2週間吸入暴露による最小毒性量(LOAEL)は鼻腔への影響をエンドポイントとして100 ppmであると考えられた。また、13週間試験の投与濃度は、雌雄とも最高濃度を3,000 ppmとし、以下、1,000 ppm、300 ppm、100 ppmと決定した。

I 試験材料

I-1 被験物質の性状等

I-1-1 名称等

名 称 : ブチルアルデヒド (Butyraldehyde)
別 名 : ブタナール (Butanal)
C A S N o . : 123-72-8

I-1-2 構造式及び分子量 (文献 1)

構 造 式 : $\text{CH}_3\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CHO}$
分 子 式 : $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}$
分 子 量 : 72.1

I-1-3 物理化学的性状等 (文献 1)

性 状 : 刺激臭のある、無色の液体
相 対 蒸 気 密 度 : 2.5 (空気=1)
沸 点 : 74.8℃
蒸 気 圧 : 12.2 kPa (20℃)
溶 解 性 : 7 g/100 mL (水)
保 管 条 件 : 室温、暗所

I-2 被験物質の使用ロット等

製 造 元 : 和光純薬工業(株)
規 格 : 和光一級
純 度 : 99.9 % (和光純薬工業(株)検査成績データ)
ロ ッ ト 番 号 : DSN3084

I-3 被験物質の特性

I-3-1 同一性

被験物質の同一性は、被験物質のマススペクトルを質量分析計（(株)日立製作所 M-80B）にて測定し、こ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）と同じ分子イオンピークとフラグメントピークを示し被験物質はブチルアルデヒドであることを確認した。

それらの結果は APPENDIX 1-1 に示す。

I-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 に示す。

I-4 試験動物

動物は、ブチルアルデヒド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）の F344/DuCrIj ラット（SPF）の雌雄を使用した。

雌雄各 27 匹を 4 週齢で導入し、検疫を 8 日間、馴化を 7 日間実施した後、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 25 匹（群構成時体重範囲、雄：101～120 g、雌：85～94 g）を選別し、試験に用いた。

なお、がん原性試験に F344/DuCrIj 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。

II 試験方法

II-1 投与

II-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。

II-1-2 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。

II-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。

II-1-4 投与濃度

投与濃度は雌雄ともに、100、300、1,000 及び 3,000 ppm（体積比 v/v）の4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。

II-1-5 投与経路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。

投与濃度は文献情報を参考に設定した。ラットの吸入 LC₅₀ 値は、1,224 ppm(4時間、系統・性不明) (文献 3)、6,400 ppm(4時間、系統・性不明) (文献 4) または 16,400 ppm(4時間、Wistar・性不明) (文献 5) が報告され、結果に大きなばらつきがみられる。吸入による反復投与毒性試験として、ラット (Alderley Park・雌雄) に 1,000 ppm のブチルアルデヒドを 6 時間/日、5 日/週、計 12 回吸入暴露させた結果、影響はみられなかった (鼻腔検査は実施していない) (文献 6)。別の試験では、ラット (SD, F344・雌雄) に 0、2,000、3,000、6,400 ppm のブチルアルデヒドを 2 週間 (6 時間/日、5 日/週、計 9 回暴露) 吸入させた結果、6,400 ppm では死亡がみられ、3,000 及び 2,000 ppm では体重減少を認めている。この結果をもとにラット (SD・雌雄) に 0、125、500 及び 2,000 ppm の濃度で 13 週間 (6 時間/日、5 日/週) 吸入させたところ、2,000 ppm で 1 匹死亡、125 ppm 以上で鼻腔

病変（扁平上皮化生）が観察された（文献 7）。そこで、ラット（F344・雌雄）に 0、1、10 及び 50 ppm のブチルアルデヒドを 12 週間（6 時間/日、5 日/週）吸入させたが、この濃度では鼻腔病変は認められなかったと報告されている（文献 8）。

以上の情報をもとに、本試験の投与濃度は 3,000 ppm を最高濃度とし、以下 1,000、300、100 ppm に設定した。

II-1-6 被験物質の発生方法と濃度調整

ブチルアルデヒドの発生方法を FIGURE 1 に示した。

循環式恒温槽で一定温度にした被験物質を窒素バブリングにより蒸発させ、この被験物質の蒸気を被験物質供給装置（柴田科学(株)特注）に導入し、流量計を用いて一定量を各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。

II-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-14B）により、暴露開始前から暴露終了後まで 15 分毎に測定した。

濃度測定結果を TABLE A に示す。各投与群の被験物質濃度は、その平均値と設定濃度の差（ $(\text{平均値} - \text{設定濃度}) / \text{設定濃度} \times 100$ ）が 0.9 % 以内、変動係数（標準偏差 / 平均値 $\times 100$ ）が 1.7 % 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。

Ⅱ－２ 動物管理

Ⅱ－２－１ 各群の使用動物数

雌雄ともに投与群 4 群及び対照群 1 群の計 5 群を設け、各群 5 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	5 匹 (1001～1005)	5 匹 (2001～2005)
1	100 ppm群	5 匹 (1101～1105)	5 匹 (2101～2105)
2	300 ppm群	5 匹 (1201～1205)	5 匹 (2201～2205)
3	1,000 ppm群	5 匹 (1301～1305)	5 匹 (2301～2305)
4	3,000 ppm群	5 匹 (1401～1405)	5 匹 (2401～2405)

Ⅱ－２－２ 群分け方法

群分けは、検疫・馴化の結果、一般状態及び体重の推移等に異常を認めない動物を用いて、体重の中央値に近い雌雄各 25 匹を選別し、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。群分けにより除外された動物は、投与開始までの試験動物の事故等に対応するために待機飼育させ、投与開始を確認後、本試験系から除外した。

なお、群分けにより除外された動物は、実験技術訓練と病理検査検討に使用した。

Ⅱ－２－３ 動物の個体識別方法

動物の個体識別は、油性マーカーにより尾に色素塗布をすることで行った。また、ケージには個体識別番号を記したラベルを付した。

Ⅱ－２－４ 使用飼育室、他試験及び異種動物との区別

動物はバリア区域内の独立した室（検疫室：605室、吸入試験室：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。

Ⅱ-2-5 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 に示す。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； $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ＜605 室； $22.3 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ ＞
吸入試験室； $21 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ＜604 室； $21.4 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ ＞
吸入チャンバー内； $20 \sim 24^{\circ}\text{C}$

湿 度 : 検疫室； $55 \pm 15\%$ ＜605 室； $55 \pm 1\%$ ＞
吸入試験室； $55 \pm 15\%$ ＜604 室； $55 \pm 1\%$ ＞
吸入チャンバー内； $30 \sim 70\%$

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：検 疫 期 間；群飼育（5 または 2 匹/ケージ）

馴化・投与期間；個別飼育

ケージの材質・形状・寸法等 :

検 疫 期 間；ステンレス製群飼用網ケージ（340(W)×294(D)×176(H) mm）

馴化・投与期間；ステンレス製 5 連網ケージ（150(W)×216(D)×176(H) mm/匹）

飼育器材（ラック、ケージ、餌箱、給水ノズル、作業台車等）の滅菌：

オートクレーブ滅菌（約 120°C 、15 分以上）

(2) 飼料

飼料は、オリエンタル酵母工業(株)製造の CR-LPF 固型（30kGy- γ 線照射滅菌飼料）を自由摂取させた。ただし、暴露中及び定期解剖前日の夕方からは絶食させた。

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)の分析データ入手し、確認した。

(3) 飲水

飲水は、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

動給水ノズルから自由摂取させた。

飲水の水質は、動物試験施設として定期的（年 2 回）に実施している水道水の検査において、水道法に定められている水質基準に適合していることを確認した。

Ⅱ－3 観察・検査項目及び方法

Ⅱ－3－1 動物の生死及び一般状態の観察

投与期間中、投与日は投与前及び投与後に生死及び一般状態を観察し、投与の無い日は午前中に生死及び一般状態を観察した。定期解剖日（投与期間終了翌日）は飼育室からの搬出前に一般状態を観察した。

Ⅱ－3－2 体重測定

全動物について、投与期間の 1、2、5、7、10、12 及び 14 日目の投与前（投与の無い日は午前中）に体重を測定した。また、定期解剖日には絶食後の体重（搬出時体重）を測定した。

Ⅱ－3－3 摂餌量測定

週 1 回、全動物について、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。

Ⅱ－3－4 血液学的検査

全動物について、定期解剖時にイソフルラン麻酔下で腹大動脈から EDTA-2カリウム入り採血管に採血し、下記の項目について検査を行った。検査方法は APPENDIX 3 に示す。

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

Ⅱ－3－5 血液生化学的検査

全動物について、定期解剖時にイソフルラン麻酔下で腹大動脈からヘパリンリチウム入り採血管に採血し、下記の項目について検査を行った。検査方法は APPENDIX 3 に示す。

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

Ⅱ－3－6 病理学的検査

(1) 肉眼的観察

全動物について、定期解剖時に全身の肉眼的観察を行った。

(2) 臓器重量

下記に示す臓器の湿重量（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、下記の器官、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、脊髓、末梢神経（坐骨神経）、眼球、ハーダー腺、筋肉、骨（大腿骨）

(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。

鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺、肝臓、腎臓

Ⅱ－4 数値処理と統計方法

Ⅱ－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 2 位を四捨五入して小数点以下第 1 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。

血液学的検査及び血液生化学的検査は、APPENDIX 3に示す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、上記に示す桁数と同様になるよう四捨五入を行い表示した。

II-4-2 統計処理

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。

Ⅲ 試験成績

Ⅲ-1 生死状況

生死状況を TABLE B1, 2 に示す。

—雌雄—

各群の動物に死亡はみられなかった。

Ⅲ-2 一般状態

一般状態の観察結果を TABLE C1, 2 に示す。

—雌雄—

投与後の観察で 3,000 ppm 群の雌雄に異常鼻音が 1 週目にほぼ全例にみられた。2 週目には減少したが、投与期間最終日まで認められた。

Ⅲ-3 体重

体重の推移を TABLE D1~4 及び FIGURE 2, 3 に示す。

—雄—

3,000 ppm 群の投与 2 日の体重が投与 1 日より減少した。これ以降、体重は増加したが対照群より低値（統計学的な差は認められない）のまま推移した。同群の最終体重は対照群の 93 %で、軽度な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、100 ppm 群：98 %、300 ppm 群：99 %、1,000 ppm 群：101 %、3,000 ppm 群：93 %であった。

—雌—

3,000 ppm 群の投与 2 日の体重が投与 1 日より減少した。これ以降、体重は増加したが対照群より低値のまま推移し、投与期間の中盤から終盤にかけて統計学的に有意な低値が示された。また、1,000 ppm 群では投与期間の中盤から終盤にかけて統計学的に有意な低値が示された。しかし、これらの群の最終体重では、対照群との間に統計学的に有意な差はなかった。

投与群の最終体重は対照群に対し、100 ppm 群：97 %、300 ppm 群：97 %、1,000 ppm 群：96 %、3,000 ppm 群：96 %であった。

Ⅲ－4 摂餌量

摂餌量を TABLE E1～4 及び FIGURE 4, 5 に示す。

－雄－

投与期間を通して 3,000 ppm 群で統計学的に有意な低値がみられた。

2 週間の平均摂餌量は、対照群：16.1 g、100 ppm 群：17.1 g、300 ppm 群：16.6 g、1,000 ppm 群：16.9 g、3,000 ppm 群：13.5 g であった。

－雌－

統計学的な有意差は認められなかったが、投与期間を通して 3,000 ppm 群で軽微な低値がみられた。

2 週間の平均摂餌量は、対照群：12.4 g、100 ppm 群：12.6 g、300 ppm 群：12.6 g、1,000 ppm 群：11.8 g、3,000 ppm 群：11.2 g であった。

Ⅲ－5 血液学的検査

血液学的検査の結果を TABLE F1, 2 に示す。

－雄－

3,000 ppm 群で MCV 及び血小板に統計学的に有意な低値がみられた。しかし、MCV の低値は、赤血球数及びヘマトクリット値に有意な変化が認められなかったことから、被験物質の影響とは考えなかった。また、血小板の低値と毒性の関連は現時点では不明であった。

－雌－

3,000 ppm 群で MCV に統計学的に有意な低値がみられたが、赤血球数及びヘマトクリット値に有意な変化が認められなかったことから、被験物質の影響とは考えなかった。

Ⅲ－6 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を TABLE G1, 2 に示す。

－雄－

リン脂質の統計学的に有意な高値が 1,000 ppm 群でみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

－雌－

ALT の統計学的に有意な低値が 3,000 ppm 群でみられた。

Ⅲ－７ 病理学的検査

Ⅲ－７－１ 肉眼的観察

肉眼的観察（剖検）結果を TABLE H に示す。

－雄－

いずれの投与群でも変化はみられなかった。

－雌－

1,000 ppm 群、100 ppm 群及び対照群で肝臓のヘルニアがそれぞれ 1 匹にみられた。しかし、これらの変化を被験物質の影響とは考えなかった。

Ⅲ－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について、TABLE I1, 2 及び TABLE J1, 2 に示す。

－雄－

特記すべき変化はみられなかった。

－雌－

3,000 ppm 群で脾臓の実重量の統計学的に有意な低値及び腎臓の体重比の有意な高値がみられた。これらの変化は、実重量あるいは体重比のみの変化であり、かつ変化量が軽微なこと、さらに関連する病理組織学的変化がみられないことから、毒性影響とは考えなかった。

Ⅲ－７－３ 病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果を TABLE K1, 2 に示す。

－雄－

全ての投与群で鼻腔に暴露による影響が観察された。

[3,000 ppm 群]

鼻腔の呼吸部の呼吸上皮に扁平上皮化生（中程度）が 5 匹、杯細胞の過形成（軽度）が 2 匹、粘膜下（主に固有層）に炎症性細胞浸潤（軽度）が 5 匹にみられた。嗅部では嗅上皮に萎縮（軽度）が 5 匹にみられた。また、呼吸部の鼻腔内腔に好中球を主体とする炎症細胞の滲出液（軽度）が 5 匹にみられた。その他、1 匹の肺に泡沫状マクロファージの集簇がみられたが、本所見は、異物を貪食した肺泡マクロファージの反応として散見されるもので

あることから被験物質の影響とは考えなかった。

[1,000 ppm 群]

鼻腔の呼吸上皮に扁平上皮化生（軽度）、杯細胞の過形成（軽度）がそれぞれ 1 匹にみられた。

[300 ppm 群]

鼻腔の呼吸上皮に扁平上皮化生（軽度）が 1 匹にみられた。

[100 ppm 群]

鼻腔の呼吸上皮に扁平上皮化生（軽度）が 1 匹にみられた。

[対照群]

変化はみられなかった。

その他、全群の全動物で腎臓の近位尿細管に好酸滴（軽度）がみられた。

—雌—

3,000 ppm 群の鼻腔に暴露による影響が観察された。

[3,000 ppm 群]

鼻腔の呼吸部の呼吸上皮に扁平上皮化生（中程度）が 5 匹、杯細胞の過形成（軽度）が 1 匹、粘膜下（主に固有層）に炎症性細胞浸潤（軽度）が 5 匹にみられた。嗅部では嗅上皮の萎縮（軽度）が 5 匹にみられた。その他、呼吸部の鼻腔内腔に好中球を主体とする炎症細胞の滲出液（軽度）が 4 匹にみられた。

[1,000 ppm 群]

変化はみられなかった。

[300 ppm 群]

変化はみられなかった。

[100 ppm 群]

変化はみられなかった。

[対照群]

変化はみられなかった。

IV 考察及びまとめ

IV-1 用量-反応関係

ブチルアルデヒドを 0 (対照群)、100、300、1,000 及び 3,000 ppm の濃度で 2 週間 (10 回)、雌雄の F344/DuCrIj ラットに暴露した結果、動物に死亡は認められなかった。一般状態の観察では、投与後の観察で 3,000 ppm 群の雌雄に異常鼻音が 1 週目にほぼ全例に、2 週目には減少したが、投与期間最終日まで認められた。体重においては、3,000 ppm 群の雌雄とも投与 2 日の体重が投与 1 日より減少した。これ以降、雌雄とも増加したが、対照群より低値のまま推移した。雄の最終体重は対照群の 93 %で、軽度な体重増加の抑制がみられた。雌は、投与期間の中盤から終盤にかけて 1,000 及び 3,000 ppm 群で統計学的に有意な低値が示されたが、最終体重は両群とも対照群の 96 %で、対照群との差は僅かであった。摂餌量は体重と関連して、3,000 ppm 群の雌雄とも低値で、雄は統計学的に有意な低値が認められた。血液学的検査、血液生化学的検査、解剖時の肉眼的観察、臓器重量では特記すべき変化はみられなかった。病理組織学的検査では、3,000 ppm 群の雌雄で鼻腔の呼吸部の呼吸上皮に扁平上皮化生、杯細胞の過形成がみられ、嗅部の嗅上皮に萎縮がみられた。また、粘膜下 (主に固有層) に炎症性細胞浸潤がみられた。雄ではこれらの所見のうち、呼吸上皮の杯細胞の過形成は 1,000 ppm 群まで、同じく扁平上皮化生は 100 ppm 群にまでみられた。

低濃度のホルムアルデヒドやアセトアルデヒドの吸入暴露により呼吸上皮に障害が発生することが知られ、高濃度では呼吸上皮の後方に分布する嗅上皮にまでその障害が広がるとされている (文献 9)。炭素数はこれらのアルデヒドより多いが脂肪族アルデヒドに分類される本試験のブチルアルデヒドの吸入暴露でも、呼吸上皮から嗅上皮にかけての障害が観察されたことから、炭素数 4 までの脂肪族アルデヒド類は、吸入暴露によって鼻腔障害性を示すことが明らかとなった。3,000 ppm 群の雌雄では、呼吸上皮のみならず呼吸部の粘膜下 (主に固有層) に炎症性細胞浸潤、さらに、鼻腔内に好中球を主体とする滲出液も認められた。これらの病変は、刺激性的化学物質の吸入暴露によって、粘膜の変性や壊死と共に多く観察されることが報告されている (文献 10)。また、呼吸上皮の扁平上皮化生が 3,000 ppm 群の雌雄 (雄は 100 ppm 群にまで) 認められているが、呼吸上皮の扁平上皮化生は、炎症、変性、壊死の修復性変化あるいは適応性変化として観察されることが知られている (文献 9、10)。また、これらの変化は、上記に述べたホルムアルデヒドやアセトアルデヒドの吸入暴露でも報告されている (文献 10)。

以上、ブチルアルデヒドの吸入暴露による 2 週間試験の結果、鼻腔への刺激によって 3,000 ppm 群の雌雄に異常呼吸音が観察された。体重では、3,000 ppm 群の雌雄とも投与 2 日の体重が投与 1 日より減少した。この後は増加に転じたものの、対照群より低値のまま推移し、雄は軽度な体重増加の抑制が認められた。摂餌量は体重と関連して、3,000 ppm 群の

雌雄とも低値で、雄は統計学的に有意な低値が認められた。病理組織学的検査では、3,000 ppm 群の雌雄で鼻腔の呼吸上皮に扁平上皮化生及び杯細胞の過形成がみられ、嗅部の嗅上皮に萎縮がみられた。また、呼吸上皮の粘膜下（主に固有層）に炎症性細胞浸潤がみられた。雄ではこれらの所見のうち、杯細胞の過形成は 1,000 ppm 群でもみられ、扁平上皮化生は 100 ppm 群にまでみられた。これらの結果から鼻腔への影響をエンドポイントとして、最大無毒性量（NOAEL）は求められず、最小毒性量（LOAEL）を 100 ppm と考えた。

IV-2 13 週間試験の濃度決定

本試験の結果より、F-344 ラットを用いる 13 週間試験の投与濃度を以下のように決定した。ブチルアルデヒドの 2 週間吸入暴露の結果、最高投与群の 3,000 ppm 群の雄で軽度な体重増加の抑制がみられた。また、摂餌量は体重と関連して、3,000 ppm 群の雌雄とも低値で、雄は統計学的に有意な低値が認められた。暴露後の観察で、1 週目には雌雄のほぼ全例にブチルアルデヒドの鼻腔への刺激によると思われる異常鼻音が観察されたが、2 週目以降にはその数が減少した。2 週目には多くの動物が刺激に適応したと推察した。病理組織学的検査でも、刺激性化学物質の反復吸入暴露による反応としてよく観察される細胞浸潤や好中球を主体とする滲出液が認められた。また、炎症、変性、壊死の修復性変化あるいは適応性変化として知られる呼吸上皮の扁平上皮化生が認められた。雌雄とも鼻腔への刺激及びこれに対応する変化が観察されたが、鼻腔に対する毒性の程度は、最高投与群の 3,000 ppm 群においても軽度と考え、3,000 ppm の濃度で 13 週間試験を実施した場合でも、動物の生死にかかわる重篤な変化は引き起こさないと判断した。従って、13 週間試験の投与濃度は、2 週間試験と同じく、3,000 ppm を最高濃度とし、以下、1,000、300 及び 100 ppm を設定した。

V 文献

- 1) IPCS. 2006. ICSC: 0403. BUTYRALDEHYDE. International Programme Chemical Safety. Available: <http://www.inchem.org/documents/icsc/icsc/eics0403.htm> [accessed 2016/04/17]
- 2) McLafferty FW, ed. 1994. Wiley Registry of Mass Spectral Data. 6th ed. New York, NY: John Wiley and Sons.
- 3) 和光純薬工業(株). 2017. 安全データシート ブチルアルデヒド. 和光純薬工業(株).
- 4) US National Institute for Occupational Safety and Health Registry of Toxic Effects of Chemical Substances (RTECS) Database. RTECS Number ES 2275000.2016.
- 5) Union Carbide Corporation. 1977. Unpublished report. Chemical Hygiene Fellowship. Carnegie-Mellon Institute of Research. Butyraldehyde range finding toxicity studies. Project Report 40: 73. In: SIDS Initial Assessment Report for SIAM 5. 1996.
- 6) Gage JC. 1970. The subacute inhalation toxicity of 109 industrial chemicals. Br J Ind Med 27: 1-18.
- 7) Union Carbide Corporation. 1979. Unpublished report. Chemical Hygiene Fellowship. Carnegie-Mellon Institute of Research. Butyraldehyde vapor inhalation by dogs and rats for 14 and 13 weeks, respectively. Project Report 42: 50. In: SIDS Initial Assessment Report for SIAM 5. 1996.
- 8) Union Carbide Corporation. 1980. Unpublished report. Chemical Hygiene Fellowship. Carnegie-Mellon Institute of Research. Butyraldehyde twelve-week vapor inhalation study in rats. Bushy Run Research Center Report 43: 61. In: SIDS Initial Assessment Report for SIAM 5. 1996.
- 9) 長野嘉介. 2014. 6.1 鼻腔, 呼吸器系, 6 標的器官の毒性病理. 伊東毒性病理学 (高橋道人, 福島昭治編). 東京: 丸善出版, 165-74.

- 10) 長野嘉介，今井田克己，相磯成敏．2017．各論 I，第 1 章 呼吸器系, 1 鼻腔・咽頭・喉頭・気管．新毒性病理組織学（日本毒性病理学会編）．東京：西村書店， 99-116.

VI 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

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。