

表 5 解剖時体重及び肝臓重量(22時間暴露)

1日目解剖

群	動物番号	解剖時体重(g)	肝臓重量(g)
対照群	1001	24.7	1.316
	1002	27.2	1.585
	1003	26.7	1.531
40ppb 群	1101	26.7	1.601
	1102	22.9	1.192
	1103	27.3	1.520
120ppb 群	1201	28.8	1.555
	1202	24.9	1.313
	1203	28.6	1.826
400ppb 群	1301	27.1	1.330
	1302	26.6	1.430
	1303	26.2	1.403

3日目解剖

群	動物番号	解剖時体重(g)	肝臓重量(g)
対照群	1004	28.5	1.969
	1005	29.3	1.167
	1006	26.0	1.539
40ppb 群	1104	27.6	1.462
	1105	27.9	1.552
	1106	27.0	1.470
120ppb 群	1204	27.5	1.513
	1205	26.5	1.535
	1206	26.6	1.502
400ppb 群	1304	23.8	1.214
	1305	29.6	1.188
	1306	28.4	1.773

7日目解剖

群	動物番号	解剖時体重(g)	肝臓重量(g)
対照群	1007	26.9	1.429
	1008	28.5	1.479
	1009	27.0	1.619
40ppb 群	1107	25.6	1.379
	1108	25.5	1.391
	1109	28.3	1.409
120ppb 群	1207	28.4	1.410
	1208	26.3	1.348
	1209	28.1	1.530
400ppb 群	1307	27.4	1.511
	1308	26.3	1.501
	1309	26.9	1.035

暴露終了翌日解剖

群	動物番号	解剖時体重(g)	肝臓重量(g)
対照群	1010	26.0	1.382
	1011	24.6	1.392
	1012	27.8	1.547
40ppb 群	1110	25.9	1.530
	1111	26.8	1.471
	1112	24.5	1.411
120ppb 群	1210	27.9	1.618
	1211	28.0	1.645
	1212	26.0	1.026
400ppb 群	1310	27.9	1.534
	1311	26.9	1.453
	1312	26.8	0.978

表 6 剖検所見(22時間暴露)

1日目解剖

群	動物番号	肺	肝臓
対照群	1001	著変なし	著変なし
	1002	著変なし	著変なし
	1003	著変なし	著変なし
40ppb 群	1101	著変なし	著変なし
	1102	著変なし	著変なし
	1103	著変なし	著変なし
120ppb 群	1201	著変なし	著変なし
	1202	著変なし	著変なし
	1203	著変なし	著変なし
400ppb 群	1301	著変なし	著変なし
	1302	著変なし	著変なし
	1303	著変なし	著変なし

3日目解剖

群	動物番号	肺	肝臓
対照群	1004	著変なし	著変なし
	1005	著変なし	著変なし
	1006	著変なし	著変なし
40ppb 群	1104	著変なし	著変なし
	1105	著変なし	著変なし
	1106	著変なし	著変なし
120ppb 群	1204	著変なし	著変なし
	1205	著変なし	著変なし
	1206	著変なし	著変なし
400ppb 群	1304	著変なし	著変なし
	1305	著変なし	著変なし
	1306	著変なし	著変なし

7日目解剖

群	動物番号	肺	肝臓
対照群	1007	著変なし	著変なし
	1008	著変なし	著変なし
	1009	著変なし	著変なし
40ppb 群	1107	著変なし	著変なし
	1108	著変なし	著変なし
	1109	著変なし	著変なし
120ppb 群	1207	著変なし	著変なし
	1208	著変なし	著変なし
	1209	著変なし	著変なし
400ppb 群	1307	著変なし	著変なし
	1308	著変なし	著変なし
	1309	著変なし	著変なし

暴露終了翌日解剖

群	動物番号	肺	肝臓
対照群	1010	著変なし	著変なし
	1011	著変なし	著変なし
	1012	著変なし	著変なし
40ppb 群	1110	著変なし	著変なし
	1111	著変なし	著変なし
	1112	著変なし	著変なし
120ppb 群	1210	著変なし	著変なし
	1211	著変なし	著変なし
	1212	著変なし	著変なし
400ppb 群	1310	著変なし	著変なし
	1311	著変なし	著変なし
	1312	著変なし	著変なし

表 7 病理組織所見(22時間暴露)

1日目解剖

群	動物番号	肺	肝臓
対照群	1001	著変なし	著変なし
	1002	著変なし	著変なし
	1003	著変なし	著変なし
40ppb 群	1101	著変なし	著変なし
	1102	著変なし	著変なし
	1103	著変なし	著変なし
120ppb 群	1201	著変なし	著変なし
	1202	著変なし	著変なし
	1203	著変なし	著変なし
400ppb 群	1301	著変なし	著変なし
	1302	著変なし	著変なし
	1303	著変なし	著変なし

3日目解剖

群	動物番号	肺	肝臓
対照群	1004	著変なし	著変なし
	1005	著変なし	著変なし
	1006	著変なし	著変なし
40ppb 群	1104	著変なし	著変なし
	1105	著変なし	著変なし
	1106	著変なし	著変なし
120ppb 群	1204	著変なし	著変なし
	1205	著変なし	著変なし
	1206	著変なし	著変なし
400ppb 群	1304	著変なし	著変なし
	1305	著変なし	著変なし
	1306	著変なし	著変なし

7日目解剖

群	動物番号	肺	肝臓
対照群	1007	著変なし	著変なし
	1008	著変なし	著変なし
	1009	著変なし	著変なし
40ppb 群	1107	著変なし	著変なし
	1108	著変なし	著変なし
	1109	著変なし	著変なし
120ppb 群	1207	著変なし	著変なし
	1208	著変なし	著変なし
	1209	著変なし	著変なし
400ppb 群	1307	著変なし	著変なし
	1308	著変なし	著変なし
	1309	著変なし	著変なし

暴露終了翌日解剖

群	動物番号	肺	肝臓
対照群	1010	著変なし	著変なし
	1011	著変なし	著変なし
	1012	著変なし	著変なし
40ppb 群	1110	著変なし	著変なし
	1111	著変なし	著変なし
	1112	著変なし	著変なし
120ppb 群	1210	著変なし	著変なし
	1211	著変なし	著変なし
	1212	著変なし	著変なし
400ppb 群	1310	著変なし	著変なし
	1311	著変なし	著変なし
	1312	著変なし	著変なし

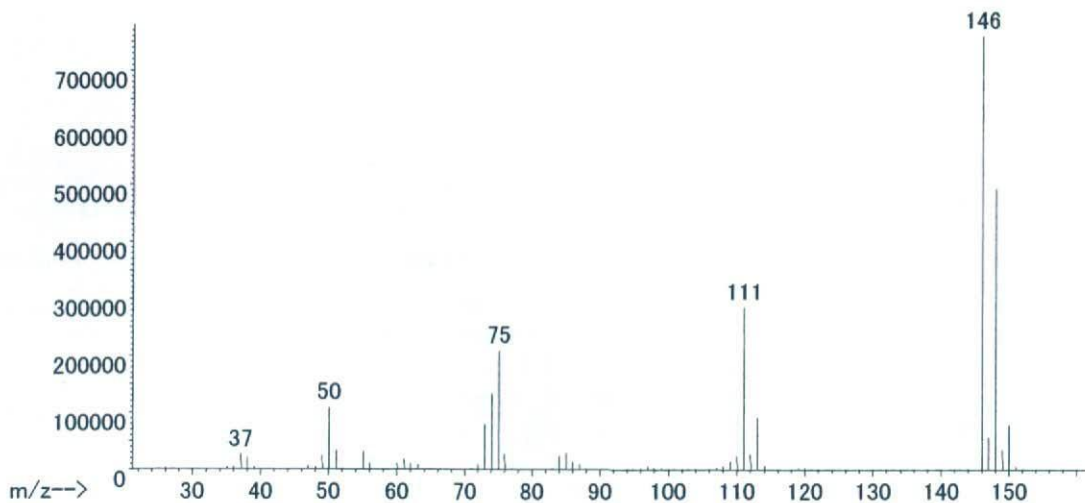


図 1-1 被験物質のマススペクトル

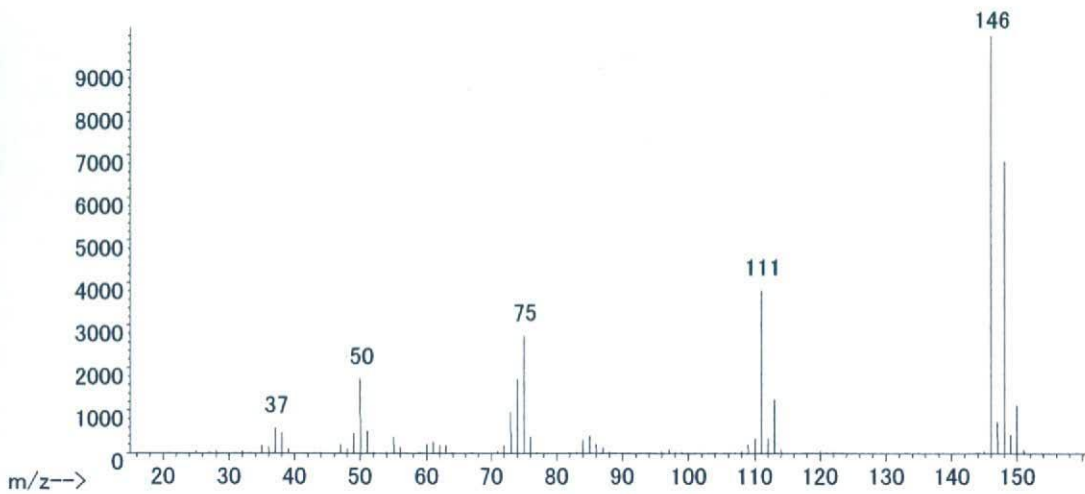


図 1-2 パラジクロロベンゼンのマススペクトル(文献1)

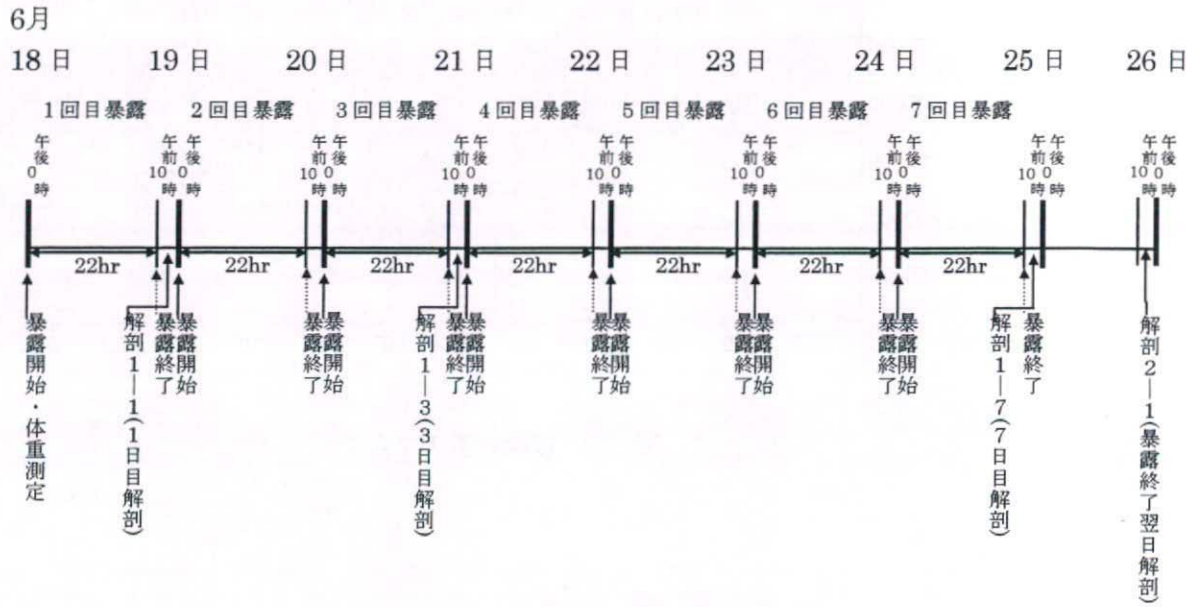


図 2 試験スケジュール(22 時間暴露)

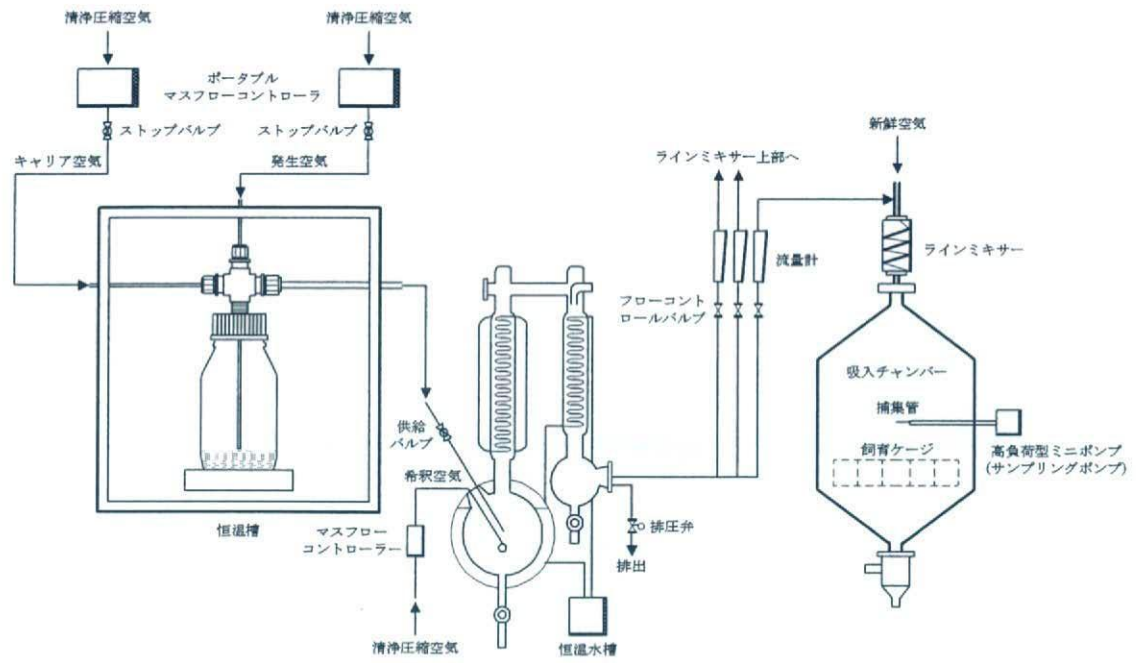


図 3 吸入装置のシステム

委託研究報告書

Ⅲ) テトラデカンのマウスを用いた極低濃度暴露試験

報告書

(6時間/日、7日間暴露)

試験番号：0715

CAS No. 629-59-4

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

標題

テトラデカンのマウスを用いた極低濃度暴露試験（6時間／日、7日間暴露）

試験目的

化学物質の極低濃度暴露による生体影響検出の技術開発を目的として、生活環境中の濃度に即した極低濃度のテトラデカン（被験物質番号 1226）をマウスに6時間／日、7日間全身暴露（経気道投与）し、遺伝子発現解析用の肺及び肝臓組織を採取する。採取した肺及び肝臓は試験委託者に送付する。

試験委託者

国立医薬品食品衛生研究所、安全性生物試験研究センター
毒性部 小川 幸男
〒158-8501 東京都世田谷区上用賀 1-18-1

試験施設及び運営管理者

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
長野 嘉介
神奈川県秦野市平沢 2445

試験日程

試験開始日	2008年 7月 7日
動物導入日	2008年 7月 10日
動物馴化開始日	2008年 7月 15日
群構成日	2008年 7月 22日
被験物質投与開始日	2008年 7月 22日
被験物質投与終了日	2008年 7月 28日
定期解剖日	2008年 7月 22日 (1回目暴露終了時解剖)
	2008年 7月 23日 (1日目解剖)
	2008年 7月 25日 (3日目解剖)
	2008年 7月 29日 (7日目解剖)
試験終了日	2009年 1月 21日

試験関係者一覧

試験責任者	:	長野 嘉介	(試験管理部、(兼)病理検査部)
被験物質の分析・ 投与・管理	:	西沢 共司	(試験管理部 吸入試験室)
	:	笠井 辰也	(試験管理部 吸入試験室)
	:	齋藤 新	(試験管理部 吸入試験室)
	:	佐々木俊明	(試験管理部 吸入試験室)
	:	大西 誠	(試験管理部 分析室)
	:	武 信	(試験管理部 分析室)
動物管理	:	野口 忠	(試験管理部 動物管理室)
病理検査	:	相磯 成敏	(病理検査部 病理検査室)
	:	妹尾 英樹	(病理検査部 病理検査室)
	:	梅田 ゆみ	(病理検査部 病理検査室)
	:	齋藤美佐江	(病理検査部 病理検査室)
データ処理及び統計	:	伊川 直樹	(企画調整部 情報管理室)
	:	石川 寛明	(企画調整部 情報管理室)
	:	峯 多加志	(企画調整部 情報管理室)

試資料の保管

試験計画書、標本、生データ、記録文書、最終報告書、その他本試験に係る試資料は、試資料保管施設に保管する。

保管期間は、最終報告書提出後、原則として5年間とする。なお、この期間にあっても標本については品質が評価に耐え得る期間保管する。

試験責任者（最終報告書作成者）の署名及び日付

長野嘉介

2009年 1月 21日

陳 述 書

試験名：テトラデカンのマウスを用いた極低濃度暴露試験（6時間/日、7日間暴露）

本試験は、試験計画書（試験番号 0715）に基づき実施された。

本報告書はその試験結果に基づいてまとめられたものに相違ありません。

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

試験責任者 長野嘉介
2009年 1月 21日

運営管理者 長野嘉介
2009年 1月 21日

テトラデカンのマウスを用いた極低濃度暴露試験報告書

(6時間/日、7日間暴露)

試験番号 : 0715

要約

化学物質の極低濃度暴露による生体影響検出の技術開発を目的として、生活環境中の濃度に即した極低濃度のテトラデカンを C57BL/6 Cr Slc 雄マウスに 6 時間/日、7 日間全身暴露（経気道投与）し、遺伝子発現解析用の肺及び肝臓組織を採取した。

本試験は、被験物質投与群 3 群と対照群 1 群の計 4 群の構成で、各群 12 匹、合計 48 匹のマウスを用いた。暴露濃度は、40、120 及び 400 ppb とした。対照群は清浄空気による換気のみとした。吸入チャンバー内の被験物質濃度は、固相吸着-溶媒抽出法により測定した。1 回目暴露終了時、並びに暴露開始後 1 日目、3 日目及び 7 日目に各群 3 匹の動物を解剖し、肺と肝臓から遺伝子発現解析のための RNA 用サンプルを採取するとともに、病理組織学的検査用サンプルを採取した。

吸入チャンバー内の被験物質濃度は、目標暴露濃度 0、40、120 及び 400 ppb に対し、測定値の平均±標準偏差（最低～最高値）は、それぞれ 0 ± 0 ppb（全期間とも 0 ppb）、 39 ± 3 ppb（36 ppb～44 ppb）、 123 ± 13 ppb（107 ppb～144 ppb）及び 422 ± 46 ppb（386 ppb～497 ppb）であった。

剖検と病理組織学的検査では、全動物とも肺及び肝臓に特記すべき所見を認めなかった。遺伝子発現解析のための RNA 用サンプルは試験委託者に送付した。

I 試験材料

I-1 被験物質の性状等

I-1-1 名称等

名 称： テトラデカン(Tetradecane、 n-Tetradecane)

CAS No. : 629-59-4

I-1-2 示性式及び分子量

示 性 式 : $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{CH}_3$

分 子 量 : 198.39

I-1-3 物理化学的性状等

性 状 : 無色透明の液体

融 点 : 5.9℃

沸 点 : 253.7℃

蒸 気 圧 : 1.33hPa (76.4℃)

I-2 被験物質の使用ロット等

製 造 元 : 和光純薬工業(株)

グ レード : 試薬 (和光特級)

ロット番号 : TSF0821

純 度 : 99.0%以上 (和光純薬工業(株)測定値)

保 管 条 件 : 室温で保管

I-3 被験物質の特性

使用した被験物質の特性は、GC/MS (Agilent Technologies 社製 Agilent Technologies 5973N) を用いて定性した。その結果、テトラデカンに相当する分子イオンピーク及びフラグメントピーク (文献 1) を確認した (図 1)。

I-4 試験動物

動物は、日本エスエルシー (株) (静岡県浜松市湖東町 3371 番地の 8) 春野支所の C57BL/6 Cr Slc マウス (SPF) の雄を使用した。

1 回目暴露終了時、1 日目及び 3 日目解剖動物は、48 匹を 10 週齢 (2008 年 5 月 1~2 日生まれ) で導入し、検疫 (5 日間)、馴化 (1 週間) を実施した後、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 36 匹 (群構成時体重範囲、25.0~28.6g) を選別し、試験に用いた。7 日目解剖動物は、21 匹を 9 週齢 (2008 年 5 月 8~9 日生まれ) で導入し、検疫 (5 日間)、馴化 (1 週間) を実施した後、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 12 匹 (群構成時体重範囲、23.6~25.3g) を選別し、試験に用いた。

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 被験物質の投与方法

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、動物に全身暴露した。

II-1-3 投与期間

投与期間は1日6時間暴露（40 ppb 群；午後0時30分から午後6時30分、120 ppb 群；午後0時15分から午後6時15分、400 ppb 群；午後0時から午後6時）で最長7日間とし、1回目暴露終了時、暴露開始後1日目、3日目及び7日目の解剖群を設けた。試験スケジュールを図2に示した。

II-1-4 投与濃度

投与濃度は、40、120及び400 ppbの3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、投与期間及び投与濃度の設定理由

投与経路は室内環境での暴露経路に合わせ、全身暴露による経気道投与とした。

投与期間は、継続暴露による影響を検索するため、最長7日間とし、1回目暴露終了時、暴露開始後1日目、3日目及び7日目の解剖群を設けた。投与時間は、通常の吸入試験で採用されている1日6時間とした。また、投与時刻は、「テトラデカンのマウスを用いた極低濃度暴露試験（22時間/日、7日間暴露）、試験番号0716」に合わせ、40 ppb 群は午後0時30分から午後6時30分、120 ppb 群は午後0時15分から午後6時15分、400 ppb 群は午後0時から午後6時とした。

投与濃度はテトラデカンの室内濃度指針値である40 ppbを考慮して、40、120及び400 ppbの3段階（公比約3）に設定した。

II-1-6 被験物質の発生方法と濃度調整

吸入装置のシステムを図3に示した。被験物質供給装置（柴田科学(株)特注）の発生容器内のテトラデカンを循環式恒温槽で加熱（24℃）しながら、清浄空気のバブリングにより蒸発させた。この蒸気を清浄空気（キャリア空気）と混合しながら、循環式恒温槽で一定温度に冷却（18℃）、再加熱し（25℃）、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。ラインミキサー上で新鮮空気と混合し、設定濃度としたテトラデカンを吸入チャンバーに送り込んだ。

なお、新鮮空気はHEPAフィルターと活性炭フィルターにより濾過して使用した。

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、固相吸着-溶媒抽出法により毎日測定した。

(1) 被験物質の捕集方法

サンプリング用ポンプとして高負荷型ミニポンプ(MP-Σ100H、柴田科学製)を用い、動物を収容したケージの上部に設置した捕集管 (ORBO™-91 Tube, Large, SUPELCO 製) に吸入チャンバー内の空気を吸引した。サンプリング用ポンプの吸引流量は 0.5 L/分とした。捕集時間は暴露時間 (暴露開始から暴露停止まで) に合わせ 6 時間とした。捕集管の暴露 1 回当たりの使用本数は、対照群は 1 本、投与群は各濃度とも 3 本とした。

(2) 捕集管の前処理及び分析条件

捕集管の活性炭 (1 層及び 2 層) を取り出し、各々、かつ色バイアルビン (日電理化学硝子製) に入れ、二硫化炭素 (和光純薬工業製、作業環境測定用) 2 mL を加え、蓋をしてダイレクトミキサー (サーマル化学産業製) を用いて 1 時間振とうした。120 ppb 群及び 400 ppb 群の活性炭 1 層は、検量線の所定の範囲に入るように段階希釈した。その後、バイアルビン (Agilent Technologies 社製 2 mL 用バイアルビン) に入れ、蓋をしてガスクロマトグラフ (Agilent Technologies 社製 5890A) により測定した。

ガスクロマトグラフの分析条件は、カラムは DB-1 (0.25 mmφ × 60m)、キャリアーガスはヘリウム、検出器は FID を用い、カラム温度は 100°C → (20°C/min) → 220°C (5min)、注入口温度は 200°C、検出器温度は 200°C、試料注入量は 1 μL とした。

II-2 動物管理

II-2-1 各群の使用動物数

投与群 3 群及び対照群 1 群の計 4 群を設け、各群 12 匹の動物を用いた。また、1 回目暴露終了時、暴露開始後 1 日目、3 日目及び 7 日目の解剖期を設けた。

群番号	群名称	解剖期	雄 使用動物数(動物番号)
0	対照群	1 回目暴露終了時解剖	3 匹 (1001~1003)
		1 日目解剖	3 匹 (1004~1006)
		3 日目解剖	3 匹 (1007~1009)
		7 日目解剖	3 匹 (1010~1012)
1	40 ppb 群	1 回目暴露終了時解剖	3 匹 (1101~1103)
		1 日目解剖	3 匹 (1104~1106)
		3 日目解剖	3 匹 (1107~1109)
		7 日目解剖	3 匹 (1110~1112)
2	120 ppb 群	1 回目暴露終了時解剖	3 匹 (1201~1203)
		1 日目解剖	3 匹 (1204~1206)
		3 日目解剖	3 匹 (1207~1209)
		7 日目解剖	3 匹 (1210~1212)
3	400 ppb 群	1 回目暴露終了時解剖	3 匹 (1301~1303)
		1 日目解剖	3 匹 (1304~1306)
		3 日目解剖	3 匹 (1307~1309)
		7 日目解剖	3 匹 (1310~1312)

II-2-2 群分け及び個体識別方法

群分けは、投与開始日に行った。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い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。ただし、7 日目解剖動物は週齢が他の解剖期の動物と異なるため、試験番号 4455 として別途群構成を行った。

動物の個体識別は、検疫期間、馴化期間及び投与期間ともケージに個体識別番号を記したラベルを付すことにより行った。なお、室の扉に試験番号、動物種及び動物番号を表示した。