

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。

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

動物の生死の確認及び一般状態の観察を毎日1回行った。

II-3-2 体重測定

解剖時に体重を測定した。

II-3-3 病理学的検査

(1) 解剖

1回目暴露終了時解剖動物は暴露終了直後、暴露開始後1日目、3日目及び7日目解剖動物は午前10時から午後0時の間に解剖した。

動物は、エーテル麻酔下で腋窩部の切断により放血屠殺した後、病理組織検査と遺伝子発現解析に供する臓器を肝臓、胸腔臓器の順に摘出した。開胸は肝臓の摘出後とし、胸腔臓器の摘出に先立ちRNA later® 2.0 mLを気管から肺に注入(18G針付き2.5 mLシリンジを使用)した。摘出した胸腔臓器から気管、食道、心臓、胸腺、肺副葉を外して肺(左肺と右肺)を採取した。解剖・臓器の摘出に際しては、遺伝子発現解析を妨げないよう、白衣、マスク及びヘアキャップを着用し、動物の被毛や器具の清拭により術者の唾液・汗や毛髪等による汚染及び動物の被毛や消化管内容等による汚染が起きないように配慮した。麻酔からサンプリングの終了までの所要時間は5分以内とした。

(2) 剖検

全ての解剖動物について肝臓と肺の肉眼的観察を行った。

(3) 臓器重量

全ての解剖動物について、肝臓の湿重量を測定した。

(4) 病理組織学的検査

全ての解剖動物の肺と肝臓について、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。

II-3-4 サンプルの採取

(1) 肝臓からのサンプルの採取

全ての解剖動物について、下記の方法により、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、病理組織検査用サンプルを採取した。

(1) -1 RNA 用サンプルの採取

生検用トレパン (5mm 径) にて肝臓の内側右葉 (胆嚢のついている葉) を 3 カ所打ち抜き、total RNA 精製用として別々のチューブ (あらかじめ風袋重量を測定済み) の RNA later® に浸漬し、氷上に移した。サンプル採取終了後、4℃に一晚放置後-80℃で凍結保存した。

(1) -2 病理組織検査用サンプルの採取

外側左葉を門脈部で他の葉から切り離し、横軸方向に割入れし、外側左葉以外の葉と共に 10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液で固定した。

(2) 肺からの採取

全ての解剖動物について、下記の方法により、肺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、病理組織検査用サンプルを採取した。

左肺と右肺をそれぞれ体軸方向に二分割 (肺門側と末梢側) した。左肺と右肺の肺門側を病理組織検査用サンプルとし、左肺と右肺の末梢側を RNA 用サンプルとした。RNA 用サンプルは、胸腔に付けたままで肺に RNA later® の注入を行い、1 mL の RNA later® を入れたサンプルチューブに採取した肺を漬け、解剖中は氷上に置いた。その後、4℃に一晚放置後-80℃で凍結保存した。病理組織検査用サンプルは、薄切面を下にしてろ紙に貼り付けてから、10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液で固定した。

II-3-5 遺伝子発現解析のためのサンプルの保存

肝臓と肺の RNA 用サンプルは 4℃で一晩保存後、超低温庫 (-80℃) で凍結して委託者に返送するまで保存した。

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 ppb を単位として測定し、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。

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。

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。

Ⅲ 試験成績

Ⅲ-1 吸入チャンバー内の被験物質濃度

吸入チャンバー内の被験物質濃度を表 4 に示した。

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。

Ⅲ-2 動物の生死及び一般状態

全ての動物が、定期解剖時まで生存した。また、いずれの動物も特記すべき一般状態の変化を認めなかった。

Ⅲ-3 体重

解剖時の体重を表 5 に示した。

Ⅲ-4 病理学的検査

Ⅲ-4-1 剖検観察

肺と肝臓の剖検所見を表 6 に示した。

いずれの動物も特記すべき変化を認めなかった。

Ⅲ-4-2 臓器重量

肝臓の実重量を表 5 に示した。

Ⅲ-4-3 病理組織学的検査

肺と肝臓の病理組織学的検査の結果を表 7 に示した。

いずれの動物も特記すべき変化を認めなかった。

Ⅳ 遺伝子発現解析のためのサンプルの送付

遺伝子発現解析のための肺及び肝臓の RNA 用サンプルは、2008 年 7 月 31 日に、ドライアイスを含めて冷凍便で下記宛先に送付した。

〒158-8501 東京都世田谷区上用賀 1-18-1

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 五十嵐 勝秀

参考文献

- 1) McLafferty FW ed. 1994. Wiley Registry of Mass Spectral Data, 6th ed. New York, NY: John Wiley and Sons.

表 1 吸入チャンバー内環境の測定結果:温度(6時間暴露)

単位:℃

チャンバー	CH-1	CH-2	CH-3	CH-4
群	対照群	40ppb 群	120ppb 群	400ppb 群
全期間				
平均值	22.0	22.0	22.1	22.0
標準偏差	0.2	0.3	0.2	0.3
日別平均值				
7月22日	22.0	22.0	22.1	22.1
7月23日	22.0	22.0	22.0	22.0
7月24日	22.0	22.0	22.0	22.0
7月25日	22.0	22.0	22.1	22.0
7月26日	22.0	22.0	22.1	22.0
7月27日	22.0	22.0	22.0	22.0
7月28日	22.0	22.0	22.1	22.0
7月29日	22.0	22.0	22.0	22.0

表 2 吸入チャンバー内環境の測定結果:湿度(6時間暴露)

単位:%

チャンバー	CH-1	CH-2	CH-3	CH-4
群	対照群	40ppb 群	120ppb 群	400ppb 群
全期間				
平均值	54.7	54.4	55.0	53.3
標準偏差	1.8	2.4	2.4	3.2
日別平均值				
7月22日	54.5	53.8	54.8	53.9
7月23日	55.4	55.2	55.8	54.6
7月24日	54.6	54.2	54.8	52.7
7月25日	55.7	55.8	56.0	54.1
7月26日	54.6	54.5	54.9	53.7
7月27日	54.8	53.8	54.7	53.1
7月28日	53.8	53.5	54.1	51.9
7月29日	53.3	53.5	53.7	51.2

表 3 吸入チャンバー内環境の測定結果:換気量と換気回数(6時間暴露)

単位:換気量 L/min 換気回数 回/時

チャンパー 群	CH-1 対照群		CH-2 40ppb 群		CH-3 120ppb 群		CH-4 400ppb 群	
	換気量	換気回数	換気量	換気回数	換気量	換気回数	換気量	換気回数
全期間								
平均值	212.9	12.1	213.4	12.1	212.2	12.0	212.2	12.0
標準偏差	1.1	0.1	1.8	0.1	2.1	0.1	3.0	0.2
日別平均值								
7月22日	212.5	12.0	213.2	12.1	211.8	12.0	213.7	12.1
7月23日	213.3	12.1	214.1	12.1	211.8	12.0	211.9	12.0
7月24日	213.2	12.1	213.8	12.1	212.1	12.0	210.1	11.9
7月25日	212.9	12.1	213.2	12.1	213.0	12.1	213.7	12.1
7月26日	212.7	12.0	213.6	12.1	212.8	12.0	212.9	12.1
7月27日	212.9	12.1	213.0	12.1	211.6	12.0	210.9	11.9
7月28日	213.4	12.1	213.7	12.1	212.5	12.0	212.9	12.1
7月29日	211.8	12.0	211.8	12.0	211.3	12.0	212.2	12.0

表 4 吸入チャンバー内の被験物質濃度(6時間暴露)

単位:ppb

	対照群	40ppb群	120ppb群	400ppb群
7月22日午後0時から午後6時	0	39	144	497
7月23日午後0時から午後6時	0	41	119	387
7月24日午後0時から午後6時	0	37	114	393
7月25日午後0時から午後6時	0	36	107	479
7月26日午後0時から午後6時	0	37	127	406
7月27日午後0時から午後6時	0	44	137	386
7月28日午後0時から午後6時	0	39	116	407
平均濃度	0	39	123	422
標準偏差	0	3	13	46

表 5 解剖時体重及び肝臓重量(6時間暴露)

1 回目暴露終了時解剖

群	動物番号	解剖時体重(g)	肝臓重量(g)
対照群	1001	26.2	0.925
	1002	26.2	0.968
	1003	26.6	1.264
40ppb 群	1101	27.2	1.274
	1102	25.3	1.146
	1103	26.8	1.271
120ppb 群	1201	27.2	1.248
	1202	26.5	1.195
	1203	25.2	1.234
400ppb 群	1301	26.5	1.223
	1302	25.3	0.931
	1303	27.6	1.254

1 日目解剖

群	動物番号	解剖時体重(g)	肝臓重量(g)
対照群	1004	25.8	1.545
	1005	26.6	1.425
	1006	26.9	1.546
40ppb 群	1104	25.8	1.585
	1105	26.0	1.329
	1106	27.1	1.552
120ppb 群	1204	26.1	1.389
	1205	27.6	1.575
	1206	27.4	1.020
400ppb 群	1304	26.3	1.418
	1305	25.9	1.413
	1306	25.9	1.570

3 日目解剖

群	動物番号	解剖時体重(g)	肝臓重量(g)
対照群	1007	26.3	1.335
	1008	26.9	1.548
	1009	27.0	1.472
40ppb 群	1107	29.7	1.667
	1108	26.4	1.041
	1109	26.8	1.508
120ppb 群	1207	26.3	1.437
	1208	25.6	1.392
	1209	29.1	1.832
400ppb 群	1307	24.9	1.165
	1308	25.6	0.990
	1309	26.6	1.542

7 日目解剖

群	動物番号	解剖時体重(g)	肝臓重量(g)
対照群	1010	26.2	1.000
	1011	25.8	1.028
	1012	25.8	1.548
40ppb 群	1110	24.9	0.924
	1111	25.5	1.481
	1112	25.0	0.947
120ppb 群	1210	26.1	1.569
	1211	25.9	1.353
	1212	25.5	1.416
140ppb 群	1310	26.7	1.151
	1311	23.7	1.231
	1312	27.1	1.711

表 6 剖検所見(6時間暴露)

1回目暴露終了時解剖

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

1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

3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

7日目解剖

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(6時間暴露)

1回目暴露終了時解剖

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

1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

3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

7日目解剖

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

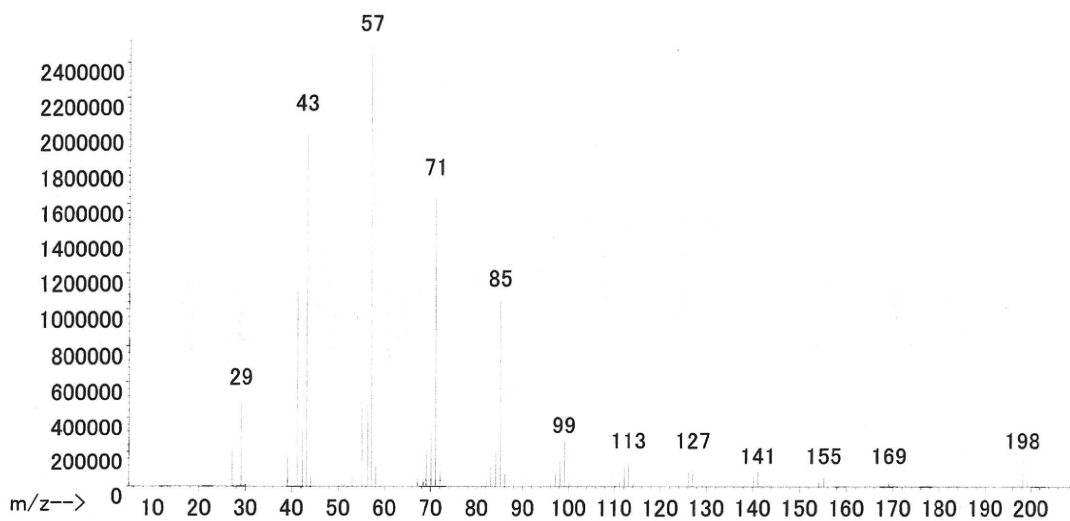


図 1-1 被験物質のマススペクトル

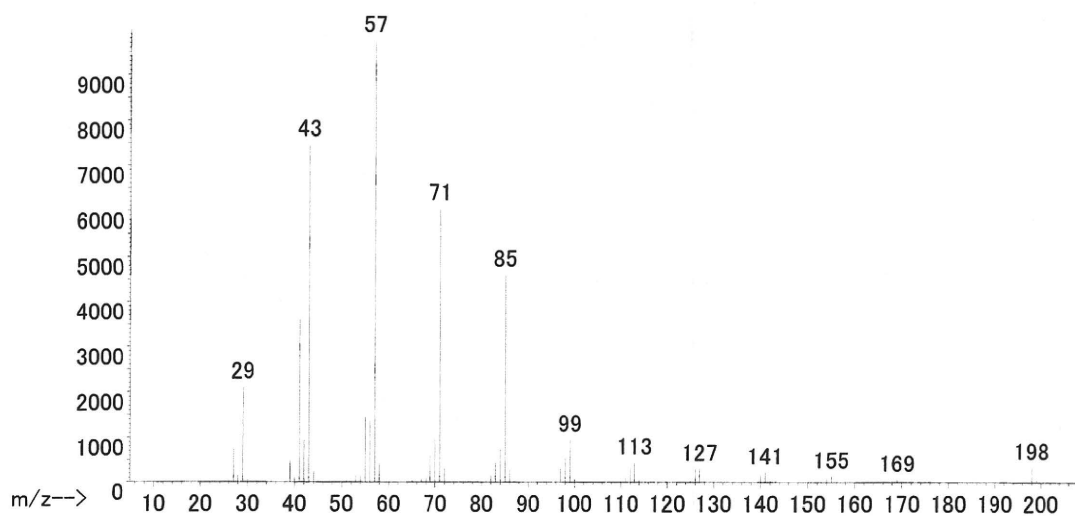


図 1-2 テトラデカンのマスペクトル(文献1)

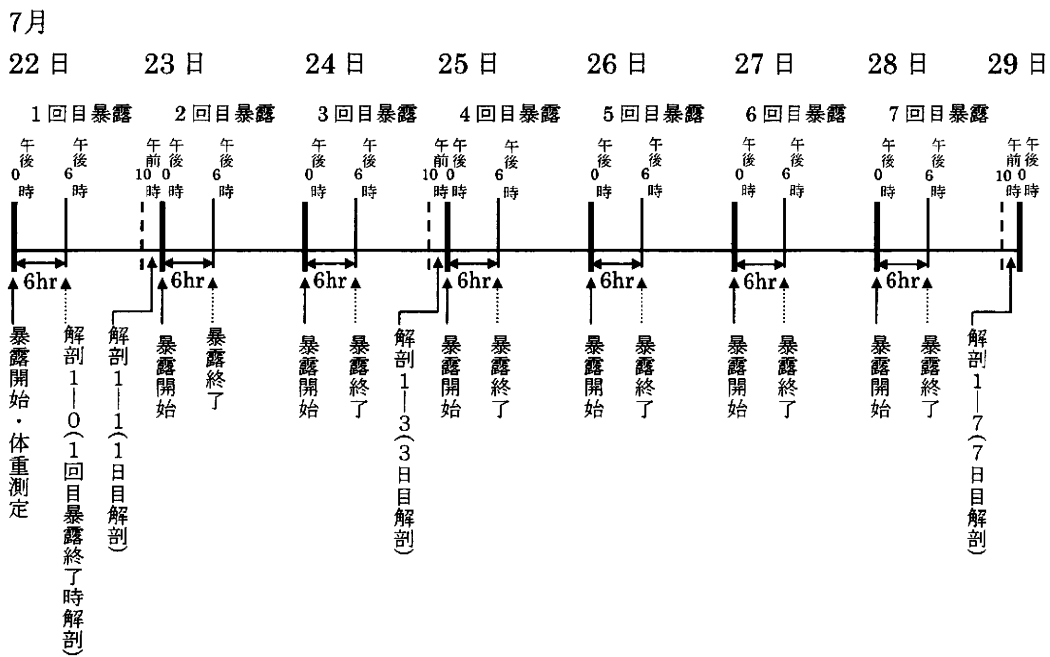


図 2 試験スケジュール(6時間暴露)

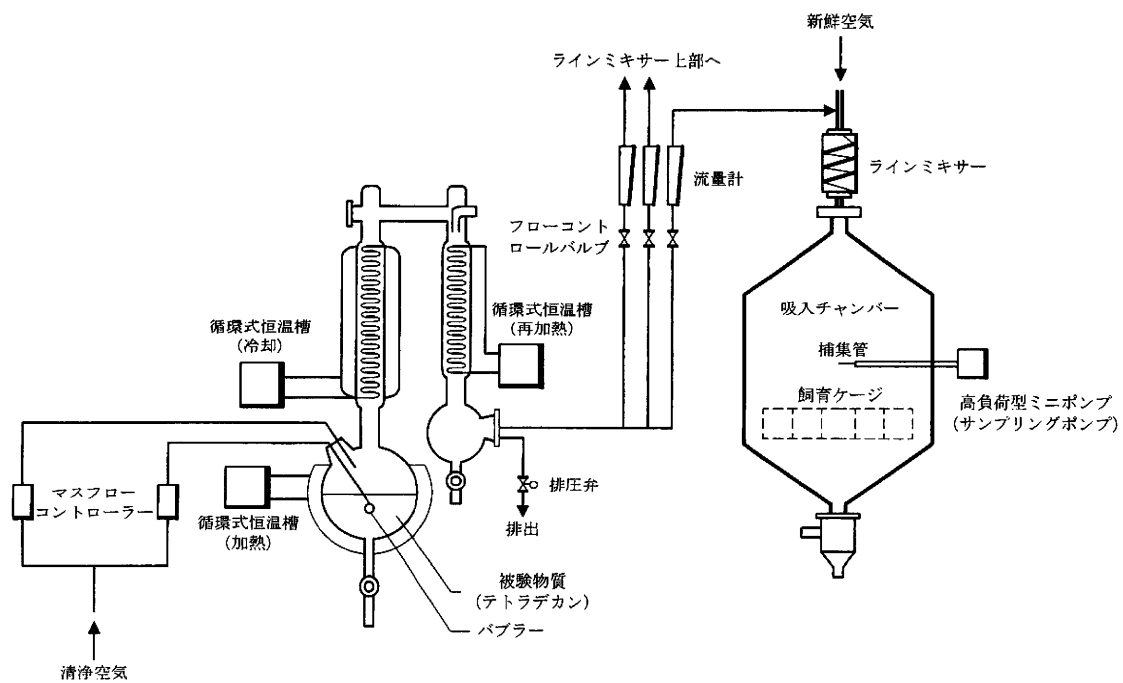


図 3 吸入装置のシステム

委託研究報告書

IV) 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

(22 時間/日、7 日間暴露)

試験番号 : 0716

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（22 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 22 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 17日
動物馴化開始日	2008年 7月 22日
群構成日	2008年 7月 29日
被験物質投与開始日	2008年 7月 29日
被験物質投与終了日	2008年 8月 5日
定期解剖日	2008年 7月 30日 (1日目解剖)
	2008年 8月 1日 (3日目解剖)
	2008年 8月 5日 (7日目解剖)
	2008年 8月 6日 (暴露終了翌日解剖)
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)

試験資料の保管

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験資料は、試験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（22時間／日、7日間暴露）

本試験は、試験計画書（試験番号 0716）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

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 22 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。暴露開始後 1 日目、3 日目、7 日目及び暴露終了翌日に各群 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)、 46 ± 8 ppb (35 ppb~53 ppb)、 128 ± 15 ppb (107 ppb~152 ppb) 及び 383 ± 38 ppb (332 ppb~427 ppb) であった。

剖検と病理組織学的検査では、全動物とも肺と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。