

表 4 吸入チャンバー内の被験物質濃度(6時間暴露)

単位:

ppm

	対照群	0.2 ppm群	0.7 ppm群	2 ppm群
7月 3日午後0時から午後6時	0	0.203	0.736	2.13
7月 4日午後0時から午後6時	0	0.209	0.747	2.17
7月 5日午後0時から午後6時	0	0.199	0.682	1.99
7月 6日午後0時から午後6時	0	0.210	0.699	1.98
7月 7日午後0時から午後6時	0	0.202	0.686	2.03
7月 8日午後0時から午後6時	0	0.199	0.678	1.95
7月 9日午後0時から午後6時	0	0.204	0.692	1.99
平均濃度	0	0.204	0.703	2.03
標準偏差	0	0.004	0.027	0.08

表 5 吸入チャンバー内のエチルベンゼン濃度(6時間暴露)

単位:

ppm

	対照群	0.2 ppm群	0.7 ppm群	2 ppm群
7月 3日午後0時から午後6時	0	0.0442	0.159	0.458
7月 4日午後0時から午後6時	0	0.0451	0.161	0.465
7月 5日午後0時から午後6時	0	0.0429	0.147	0.430
7月 6日午後0時から午後6時	0	0.0455	0.150	0.424
7月 7日午後0時から午後6時	0	0.0434	0.147	0.434
7月 8日午後0時から午後6時	0	0.0424	0.145	0.416
7月 9日午後0時から午後6時	0	0.0438	0.148	0.425
平均濃度	0	0.0439	0.151	0.436
標準偏差	0	0.0011	0.006	0.018

表 6 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	27.3	1.251
	1002	25.3	1.083
	1003	25.4	1.147
0.2 ppm 群	1101	25.2	1.173
	1102	26.9	1.249
	1103	24.4	1.049
0.7 ppm 群	1201	25.9	1.146
	1202	26.9	1.200
	1203	25.4	1.142
2 ppm 群	1301	25.7	1.152
	1302	26.8	1.201
	1303	25.6	1.197

## 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	26.0	1.350
	1005	27.8	1.583
	1006	27.5	1.437
0.2 ppm 群	1104	26.6	1.401
	1105	27.7	1.459
	1106	28.4	1.573
0.7 ppm 群	1204	28.0	1.628
	1205	27.1	1.386
	1206	25.9	1.498
2 ppm 群	1304	26.0	1.371
	1305	27.1	1.462
	1306	27.1	1.358

## 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	25.5	1.332
	1008	27.7	1.387
	1009	26.4	1.022
0.2 ppm 群	1107	27.5	1.430
	1108	25.4	1.082
	1109	27.3	0.910
0.7 ppm 群	1207	27.4	1.502
	1208	23.9	1.198
	1209	26.4	1.420
2 ppm 群	1307	25.4	1.241
	1308	25.6	1.361
	1309	28.2	1.648

## 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	25.3	1.278
	1011	27.3	1.525
	1012	26.5	1.412
0.2 ppm 群	1110	26.5	1.423
	1111	26.3	1.316
	1112	27.6	1.501
0.7 ppm 群	1210	24.8	1.397
	1211	26.0	1.428
	1212	28.1	1.522
2 ppm 群	1310	26.1	1.344
	1311	27.3	1.482
	1312	23.9	1.279

表 7 剖検所見(6時間暴露)

## 1回目暴露終了時解剖

群	動物番号	肝臓	肺	脳
対照群	1001	著変なし	著変なし	著変なし
	1002	著変なし	著変なし	著変なし
	1003	著変なし	著変なし	著変なし
0.2 ppm 群	1101	著変なし	著変なし	著変なし
	1102	著変なし	著変なし	著変なし
	1103	著変なし	著変なし	著変なし
0.7 ppm 群	1201	著変なし	著変なし	著変なし
	1202	著変なし	著変なし	著変なし
	1203	著変なし	著変なし	著変なし
2 ppm 群	1301	著変なし	著変なし	著変なし
	1302	著変なし	著変なし	著変なし
	1303	著変なし	著変なし	著変なし

## 1日目解剖

群	動物番号	肝臓	肺	脳
対照群	1004	著変なし	著変なし	著変なし
	1005	著変なし	著変なし	著変なし
	1006	著変なし	著変なし	著変なし
0.2 ppm 群	1104	著変なし	著変なし	著変なし
	1105	著変なし	著変なし	著変なし
	1106	著変なし	著変なし	著変なし
0.7 ppm 群	1204	著変なし	著変なし	著変なし
	1205	著変なし	著変なし	著変なし
	1206	著変なし	著変なし	著変なし
2 ppm 群	1304	著変なし	著変なし	著変なし
	1305	著変なし	著変なし	著変なし
	1306	著変なし	著変なし	著変なし

## 3日目解剖

群	動物番号	肝臓	肺	脳
対照群	1007	著変なし	著変なし	著変なし
	1008	著変なし	著変なし	著変なし
	1009	著変なし	著変なし	著変なし
0.2 ppm 群	1107	著変なし	著変なし	著変なし
	1108	著変なし	著変なし	著変なし
	1109	著変なし	著変なし	著変なし
0.7 ppm 群	1207	著変なし	著変なし	著変なし
	1208	著変なし	著変なし	著変なし
	1209	著変なし	著変なし	著変なし
2 ppm 群	1307	著変なし	著変なし	著変なし
	1308	著変なし	著変なし	著変なし
	1309	著変なし	著変なし	著変なし

## 7日目解剖

群	動物番号	肝臓	肺	脳
対照群	1010	著変なし	著変なし	著変なし
	1011	著変なし	著変なし	著変なし
	1012	著変なし	著変なし	著変なし
0.2 ppm 群	1110	著変なし	著変なし	著変なし
	1111	著変なし	著変なし	著変なし
	1112	著変なし	著変なし	著変なし
0.7 ppm 群	1210	著変なし	著変なし	著変なし
	1211	著変なし	著変なし	著変なし
	1212	著変なし	著変なし	著変なし
2 ppm 群	1310	著変なし	著変なし	著変なし
	1311	著変なし	著変なし	著変なし
	1312	著変なし	著変なし	著変なし

表 8 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	肝臓	肺	脳
対照群	1001	著変なし	著変なし	著変なし
	1002	著変なし	著変なし	著変なし
	1003	著変なし	著変なし	著変なし
0.2 ppm 群	1101	著変なし	著変なし	著変なし
	1102	著変なし	著変なし	著変なし
	1103	著変なし	著変なし	著変なし
0.7 ppm 群	1201	著変なし	著変なし	著変なし
	1202	著変なし	著変なし	著変なし
	1203	著変なし	著変なし	著変なし
2 ppm 群	1301	著変なし	著変なし	著変なし
	1302	著変なし	著変なし	著変なし
	1303	著変なし	著変なし	著変なし

## 1日目解剖

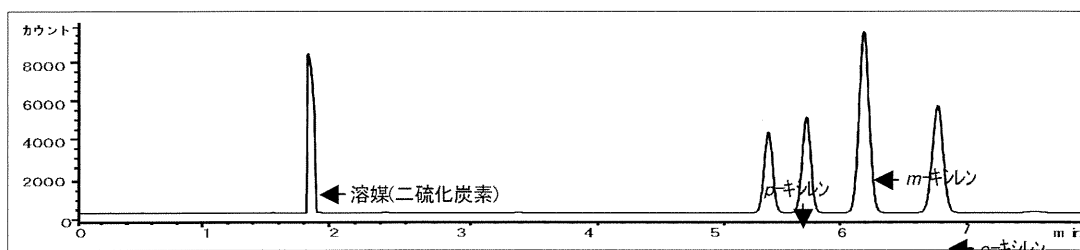
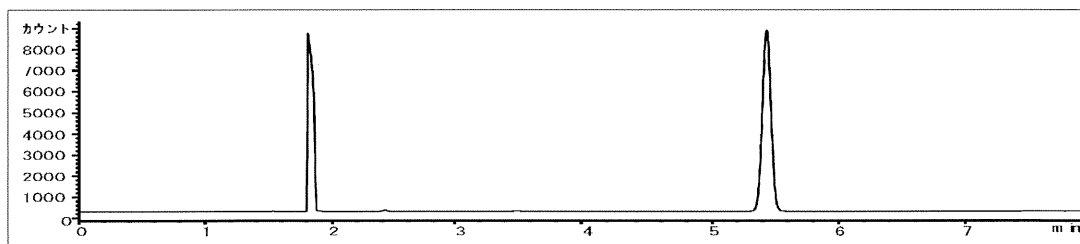
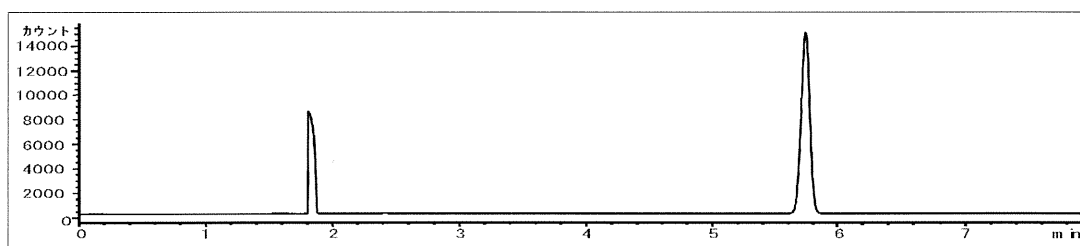
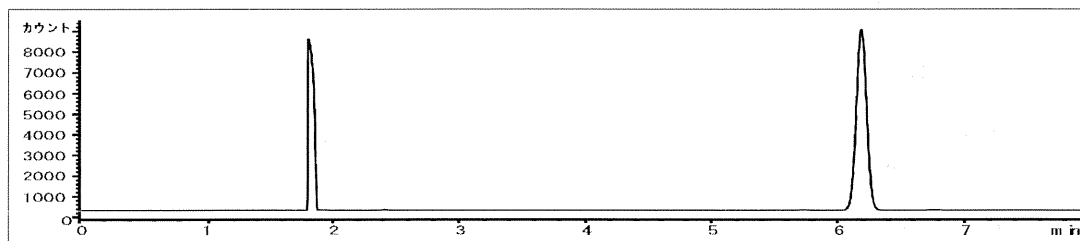
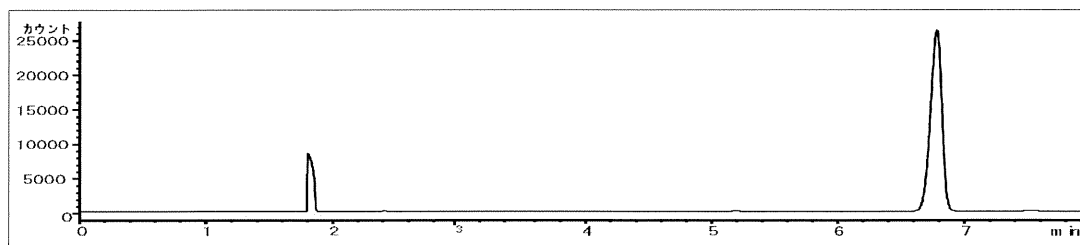
群	動物番号	肝臓	肺	脳
対照群	1004	著変なし	著変なし	著変なし
	1005	著変なし	著変なし	著変なし
	1006	著変なし	著変なし	著変なし
0.2 ppm 群	1104	著変なし	著変なし	著変なし
	1105	著変なし	著変なし	著変なし
	1106	著変なし	著変なし	著変なし
0.7 ppm 群	1204	著変なし	著変なし	著変なし
	1205	著変なし	著変なし	著変なし
	1206	著変なし	著変なし	著変なし
2 ppm 群	1304	著変なし	著変なし	著変なし
	1305	著変なし	著変なし	著変なし
	1306	著変なし	著変なし	著変なし

## 3日目解剖

群	動物番号	肝臓	肺	脳
対照群	1007	著変なし	著変なし	著変なし
	1008	著変なし	著変なし	著変なし
	1009	著変なし	著変なし	著変なし
0.2 ppm 群	1107	著変なし	著変なし	著変なし
	1108	著変なし	著変なし	著変なし
	1109	著変なし	著変なし	著変なし
0.7 ppm 群	1207	著変なし	著変なし	著変なし
	1208	著変なし	著変なし	著変なし
	1209	著変なし	著変なし	著変なし
2 ppm 群	1307	著変なし	著変なし	著変なし
	1308	著変なし	著変なし	著変なし
	1309	著変なし	著変なし	著変なし

## 7日目解剖

群	動物番号	肝臓	肺	脳
対照群	1010	著変なし	著変なし	著変なし
	1011	著変なし	著変なし	著変なし
	1012	著変なし	著変なし	著変なし
0.2 ppm 群	1110	著変なし	著変なし	著変なし
	1111	著変なし	著変なし	著変なし
	1112	著変なし	著変なし	著変なし
0.7 ppm 群	1210	著変なし	著変なし	著変なし
	1211	著変なし	著変なし	著変なし
	1212	著変なし	著変なし	著変なし
2 ppm 群	1310	著変なし	著変なし	著変なし
	1311	著変なし	著変なし	著変なし
	1312	著変なし	著変なし	著変なし



エチルベンゼン →

図 1-5 被験物質(キシレン ロット番号:TGP8162)



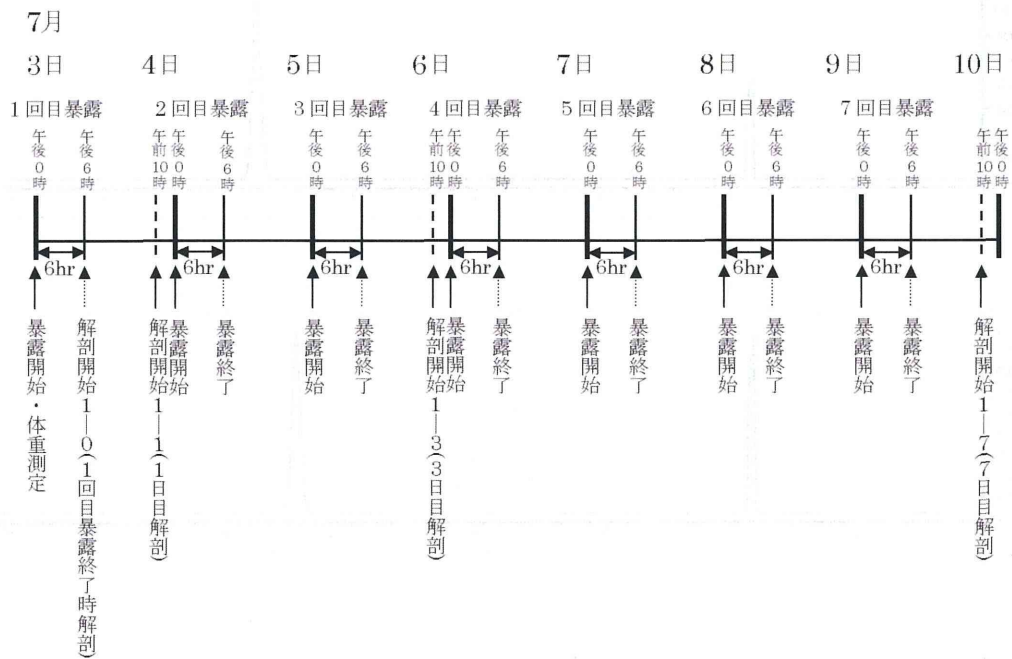
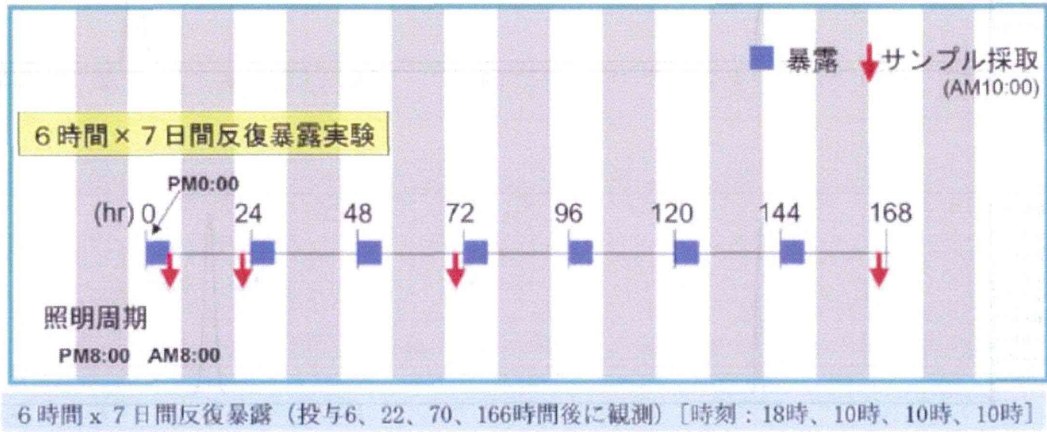


図 2 試験スケジュール(6時間暴露)

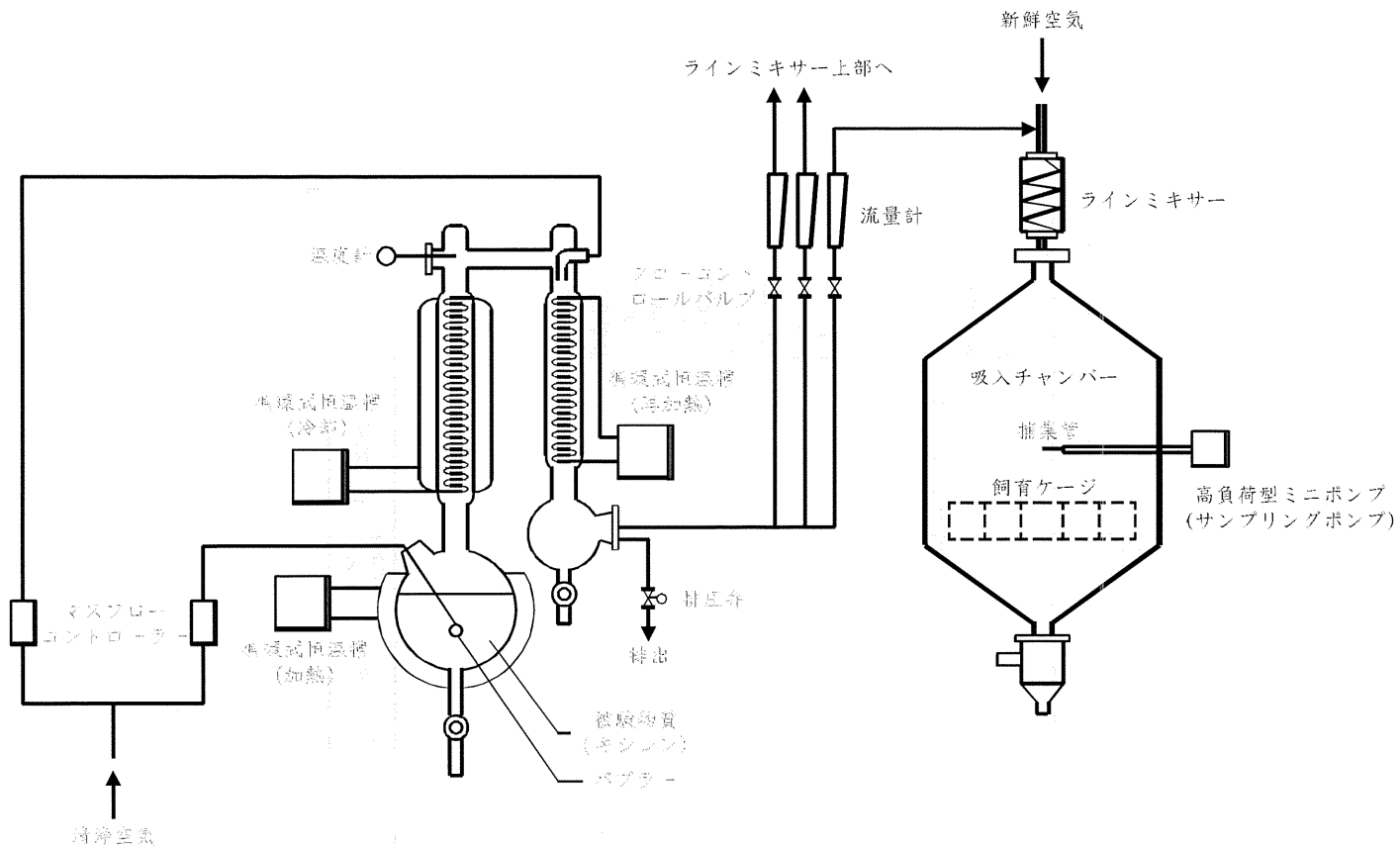


図 3 吸入装置のシステム

別紙-1-1

## 検査成績書

2012年5月30日  
和光純薬工業株式会社Code No. 244-00081  
キシレン

規格/等級	和光特級	
Lot No.	TGP8162	
数量	3L	
検査項目	検査成績	規格値
外観	無色透明の液体	無色透明の液体
含量(o-,m-,p-キシレンの含量)(キャピラリーカラムGC)	85.40%	80%以上
吸光度 300nm	1.0以下	1.0以下
吸光度 320nm	0.2以下	0.2以下
吸光度 340nm	0.05以下	0.05以下
吸光度 360nm~400nm	0.01以下	0.01以下
水分	0.012%	0.02%以下
酸(HClとして)	0.001%以下	0.001%以下
塩基(NaOHとして)	0.001%以下	0.001%以下
硫黄化合物	試験適合(Sとして約6ppm以下)	試験適合(Sとして約6ppm以下)
チオフェン類	試験適合(C4H4Sとして約1ppm以下)	試験適合(C4H4Sとして約1ppm以下)
硫酸着色物質	試験適合	試験適合
検査年月日	2012/04/03	

判定	合格	検査責任者	木村 誠
----	----	-------	------

成績書発行番号 S236120

別紙-1-2

被験物質であるキシレンの純度(%)

<i>o</i> -キシレン	<i>m</i> -キシレン	<i>p</i> -キシレン (%)	エチルベンゼン	計
23.1	38.0	16.8	13.2	91.0

製造元：和光純薬工業株式会社

カタログ番号：244-00081

ロット番号：TGP8162

測定方法：ガスクロマトグラフ法

測定条件

機器：HP5890A (アジレントテクノロジーズ)

カラム：Xylene Master (0.32 φ × 50m 信和化工株式会社)

温度：65℃

流量：5mL/min

注入量：1 μL

注入方法：スプリット法(1:10)

溶液処理：キシレンを二硫化炭素に溶解し、標準物質である *o*-、*m*-、*p*-キシレン及びエチルベンゼンと面積値を比較することにより、純度を測定した。

## 委託研究報告書

### IV. キシレ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：0802

CAS No. 1330-20-7

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

## 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キシレンをC57BL/6J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肝、肺及び脳の組織を採取した。

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、0.2、0.7及び2 ppm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、肝、肺及び脳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0.2、0.7及び2 ppmに対し、測定値の平均±標準偏差（最低～最高値）は、それぞれ $0.203 \pm 0.005$  ppm (0.195 ppm～0.208 ppm)、 $0.701 \pm 0.011$  ppm (0.686 ppm～0.715 ppm) 及び  $2.03 \pm 0.06$  ppm (1.96 ppm～2.11 ppm)であった。また、キシレンの不純物である吸入チャンバー内のエチルベンゼン濃度は、キシレンの目標暴露濃度0.2、0.7及び2 ppmに対し、測定値の平均±標準偏差（最低～最高値）は、それぞれ $0.0441 \pm 0.0006$  ppm (0.0429 ppm～0.0447 ppm)、 $0.151 \pm 0.003$  ppm (0.147 ppm～0.155 ppm) 及び  $0.435 \pm 0.015$  ppm (0.417 ppm～0.454 ppm)であった。

剖検と病理組織学的検査では、全動物とも肝、肺及び脳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。

## 1. 試験材料

## 1-1 被験物質の性状等

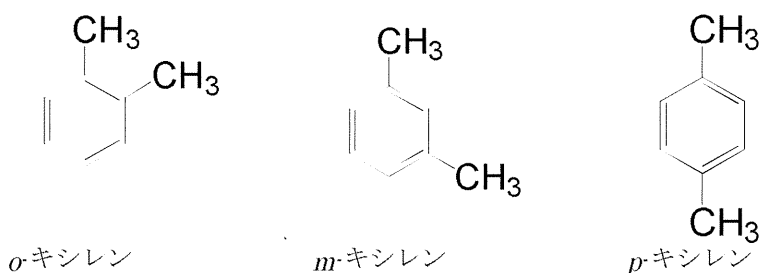
## 1-1-1 名称等

名称：キシレン(Xylene)(*o*-体、*m*-及び*p*-体の混合キシレン)

CAS No.： 1330-20-7

## 1-1-2 構造式及び分子量

構造式：



分子量： 106.17

## 1-1-3 物理化学的性状等

性状： 無色の液体

沸点： 144°C(*o*-体)、139.3°C(*m*-体)、137~138°C(*p*-体)

蒸気圧： 0.7kPa(*o*-体、20°C)、0.8kPa(*m*-体、20°C)、0.9kPa(*p*-体、20°C)

比重： 0.8801(*o*-体、20°C/4°C)、0.8684(*m*-体、15°C/4°C)、0.86104(*p*-体、20°C/4°C)

## 1-2 被験物質のロット等

製造元： 和光純薬工業株式会社

カタログ番号： 244-00081(3Lガロンびん)

ロット番号： TGP8162

純度： 本試薬中の、被験物質キシレンの*o*-、*m*-、*p*-体及びエチルベンゼンの含有量(絶対純度%)はそれぞれ23.1%、38.0%、16.8%及び13.2%(これら4物質の合計を100%とした相対純度では、25.4%、41.7%、18.4%及び14.5%)である。なお、先行研究で用いたキシレン中の*o*-、*m*-、*p*-体及びエチルベンゼンの3異性体及び不純物を100%とした相対純度は、25.6%、40.9%、18.1%及び15.4%であることが報告されており、本試験で使用したキシレンとほぼ同様な組成であった。

詳細は別紙-1-1及び1-2を参照

## 1-3 被験物質の特性

使用した被験物質の特性を確認した。特性は試験番号0802と0801で共通して実施した。

## 1-4 試験動物

### 1-4-1 種、系統及び清浄度

種 : マウス  
系 統 : C57BL/6J  
清浄度 : SPF

### 1-4-2 性及び導入匹数

雄 : 1日目及び3日目解剖動物 : 29匹  
7日目解剖動物及び暴露終了翌日解剖動物 : 29匹

### 1-4-3 週齢

導 入 時 週 齢 : 生後10週齢2012年5月1日生まれ (1日目及び3日目解剖動物)  
生後9週齢2012年5月8日生まれ (7日目及び暴露終了翌日解剖動物)  
投与開始時週齢 : 生後12週齢 (1日目及び3日目解剖動物)  
生後11週齢 (7日目及び暴露終了翌日解剖動物)  
解剖サンプリング時週齢 : 生後12週齢

### 1-4-4 供給業者

日本チャールス・リバー (株) 筑波飼育センター  
茨城県石岡市上林955

### 1-4-5 検疫及び馴化

動物導入後、1週間の検疫を行った。検疫期間後、動物を吸入チャンバーに移動し、1週間の馴化を行った。

検疫期間 : 7日間 (2012年7月10日～2012年7月17日)

馴化期間 : 7日間 (2012年7月17日～2012年7月24日)

## 2. 試験方法

### 2-1 投与

#### 2-1-1 投与経路

投与経路は全身暴露による経気道投与とした。

#### 2-1-2 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。



### 2-1-3 投与期間 (図2参照)

投与期間は1日22時間暴露(午後0時から午前10時)で最長7日間とした。

### 2-1-4 投与濃度

投与濃度は、0.2、0.7及び2 ppmの3段階(公比約3)に設定した。なお、対照群はHEPAフィルターと活性炭フィルターにより濾過した新鮮空気による換気のみとした。

### 2-1-5 投与経路、投与期間及び投与濃度の設定理由

投与経路は、室内環境におけるヒト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、継続暴露による影響を検索するため、最長7日間とし、1日目、3日目、7日目、暴露終了翌日解剖群を設けた。

投与時間は、室内環境での暴露形態(24時間)から、動物の飼育作業に要する時間(2時間)を差し引いて、1日22時間とした。また、投与時刻は、解剖時間を午前10時から午後0時とするため、午後0時から午前10時とした。

投与濃度はキシレンの室内濃度指針値である0.2 ppmを考慮して、最高投与濃度を2 ppmとし、以下0.7、0.2 ppmの3段階の濃度(公比約3)を設定した。

### 2-1-6 先行研究におけるキシレン暴露に関する当センターでの暴露結果

当センターでは、平成19年度に化学物質を極低濃度で実験動物に経気道で暴露することを目的として、キシレン(混合キシレン)を対象として室内濃度指針値(0.2 ppm)を考慮した濃度でマウスに全身暴露する実験を実施した。被験物質の発生は、被験物質供給装置(柴田科学株式会社特注)の発生容器内の被験物質を循環式恒温槽で加熱(22℃)しながら、清浄空気のバブリングにより蒸発させた。この被験物質を含む空気を循環式恒温槽で一定温度(17℃)に冷却後、清浄空気(希釈空気)と混合しながら循環式恒温槽で一定温度に再加熱(23℃)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、固相吸着-溶媒抽出法により毎日測定した。すなわち、サンプリング用ポンプとして高負荷型ミニポンプ(MP-Σ100H、柴田科学株式会社製)を用いて、動物を収容したケージの上部に設置した捕集管(ORBOTM-91 Tube, Extra-Large, SUPELCO社製)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、暴露群は各濃度とも3本とした。捕集管の前処理及び分析条件は、捕集管の活性炭(1層及び2層)を取り出し、各々、バイアルびん(柴田科学株式会社製)に入れ、二硫化炭素(和光純薬工業株式会社製、作業環境測定用)を加え、蓋をしてダイレクトミキサー(サーマル化学産業株式会社製)を用いて振とうした。各濃度の活性炭1層の抽出液は、検量線の所定の濃度範囲に入るように希釈した。その後、バイアルびん(Agilent Technologies社製)に入れ、蓋をしてガスクロマトグラフ(Agilent Technologies社製 HP5890A)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-WAX(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℃→(5℃/min)→150℃、注入口温度は200℃、検出器温度は200℃、試料注入量は1μLとした。

キシレン濃度は、*o*、*m*及び*p*-キシレンの各濃度を合計した濃度とした。先行研究(22時間/日

×7日間暴露)において、0.2、0.7及び2 ppmの目標暴露濃度で実験を行った結果、吸入チャンバー内の被験物質濃度は、目標暴露濃度0、0.2、0.7及び2 ppmに対し、測定値の平均±偏差(最低～最高値)は、それぞれ $0 \pm 0$  ppm(全期間とも0 ppm)、 $0.210 \pm 0.023$  ppm(0.176 ppm～0.236 ppm)、 $0.729 \pm 0.052$  ppm(0.620 ppm～0.784 ppm)及び $2.180 \pm 0.206$  ppm(1.851 ppm～2.442 ppm)であった。

また、各濃度におけるキシレンの $\sigma$ -体及び $m+p$ -体の比率(%)は、これら3種の異性体の合計を100%とした場合、0.2 ppm、0.7 ppm、では19.5%、80.5%であり、2 ppmでは、19.6%、80.4%であり、各濃度群においてほぼ同じ比率であった。なお先行研究では、暴露空気中の不純物であるキシレン濃度に対するエチルベンゼンの濃度は、0.7 ppmにおいて16%、2 ppmにおいて19%の割合で存在することが確認されている。

#### 2-1-7 被験物質の暴露方法 (図3参照)

先行研究の設定条件と同様に、被験物質供給装置(柴田科学株式会社特注)の発生容器内の被験物質を循環式恒温槽で加熱(22℃)しながら、清浄空気のパブリングにより蒸発させた。この被験物質を含む空気を循環式恒温槽で一定温度(17℃)に冷却後、清浄空気(希釈空気)と混合しながら循環式恒温槽で一定温度に再加熱(23℃)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。対照群は新鮮空気の換気のみとし、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。

#### 2-1-8 被験物質濃度の測定

キシレン濃度は、 $\sigma$ -、 $m$ -及び $p$ -キシレンの各濃度を合計した濃度とした。吸入チャンバー内の被験物質( $\sigma$ -、 $m$ -及び $p$ -キシレンの混合物)の濃度は、これら3種の異性体のそれぞれの濃度につき、固相吸着-溶媒抽出法により毎日測定することにより算出した。これと同時にエチルベンゼンの濃度も測定した。先行研究では $m$ -と $p$ -体及び不純物であるエチルベンゼンのそれぞれの単独の濃度は測定できなかったが、本実験ではガスクロマトグラフ用のカラムにXylene Master(信和化工株式会社)を採用した事により、これら3種の異性体に加えて不純物であるエチルベンゼンの各濃度が測定できるようになった。測定に際しては、サンプリング用ポンプとして高負荷型ミニポンプ(MP- $\Sigma$ 100H、柴田科学株式会社製)を用いて、動物を収容したケージの上部に設置した捕集管(ORBOTM-91 Tube, Extra-Large、SUPELCO社製)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22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、暴露群は各濃度とも3本とした。捕集管の前処理及び分析条件は、捕集管の活性炭(1層及び2層)を取り出し、各々、バイアルびん(柴田科学株式会社製)に入れ、二硫化炭素(和光純薬工業株式会社製、作業環境測定用)を加え、蓋をしてダイレクトミキサー(サーマル化学産業株式会社製)を用いて振とうした。各濃度の活性炭1層の抽出液は、検量線の所定の範囲に入るように希釈した。その後、バイアルびん(Agilent Technologies社製)に入れ、蓋をしてガスクロマトグラフ(Agilent Technologies社製 HP5890A)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Xylene Master(0.32mm $\phi$ ×50m)、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65℃、注入口温度は200℃、検出器温度は200℃、試料注入量は1 $\mu$ Lとした。

## 2-2 動物管理

## 2-2-1 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 匹の動物を用いる。1 日目、3 日目、7 日目、暴露終了翌日の解剖期を設けた。

各群の使用動物数と動物番号

群番号	群名称	解剖期	雄 使用動物数(動物番号)
0	対照群	1日目解剖	3匹 (1001~1003)
		3日目解剖	3匹 (1004~1006)
		7日目解剖	3匹 (1007~1009)
		暴露終了翌日解剖	3匹 (1010~1012)
1	0.2 ppm群	1日目解剖	3匹 (1101~1103)
		3日目解剖	3匹 (1104~1106)
		7日目解剖	3匹 (1107~1109)
		暴露終了翌日解剖	3匹 (1110~1112)
2	0.7 ppm群	1日目解剖	3匹 (1201~1203)
		3日目解剖	3匹 (1204~1206)
		7日目解剖	3匹 (1207~1209)
		暴露終了翌日解剖	3匹 (1210~1212)
3	2 ppm群	1日目解剖	3匹 (1301~1303)
		3日目解剖	3匹 (1304~1306)
		7日目解剖	3匹 (1307~1309)
		暴露終了翌日解剖	3匹 (1310~1312)

## 2-2-2 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 日目解剖動物は解剖時週齢が他の解剖期の動物と異なるため、試験番号 4526 として別途群分けを行った。

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、動物はバリア区域内の独立した室（516 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、他の試験及び異種動物と区別した。

## 2-2-3 飼育条件

## (1) 飼育環境

検疫期間中は検疫室（517 室）で、馴化期間及び投与期間中は吸入試験室（516 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。また、吸入チャンバー内温度・湿度の実測値の範囲〈最低値～最高値〉を下に、温度・湿度、換気量と換気回数の日別平均値を表 1～3 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°C 吸入試験室 ; 21±2°C 吸入チャンバー内 ; 20～24°C <22.9～23.1°C>
湿 度	: 検疫室 ; 55±15% 吸入チャンバー内 ; 30～70% <51.2～54.3%>
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 ; 15～17 回 / 時 吸入試験室 ; 5～7 回 / 時 吸入チャンバー内 ; 12±1 回 / 時 <12.0～12.1 回>
圧 力	: 吸入チャンバー内 ; 0～-15×10Pa
吸入チャンバー容積	: 1060L
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 (112(W)×212(D)×120(H) mm/匹) 馴化期間 ; ステンレス製 6 連網ケージ (95(W)×116(D)×120(H) mm/匹) 投与期間 ; ステンレス製 5 連網ケージ (100(W)×116(D)×120(H) mm/匹)

## (2) 飼料

飼料は、被験物質ばく露中を含む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- $\gamma$ 線照射滅菌飼料）を飼料給餌器により自由摂取させた。

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)から自社分析データを入手し、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た。

## (3) 飲水

飲水は、被験物質ばく露中を含む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、自動給水ノズルから自由摂取させた。

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。