

2-3 観察・検査項目及び方法

2-3-1 動物の生死及び一般状態の観察

<検疫及び馴化期間>

生死及び瀕死の確認を毎日1回以上行った。一般状態の詳細な観察は、検疫開始日（導入時）、検疫終了・馴化開始日及び馴化最終日（群構成時）に行った。

<投与期間>

生死及び瀕死の確認、一般状態の観察を毎日1回以上行った。

2-3-2 体重測定

<検疫及び馴化期間>

測定時に生存する全動物について、検疫開始日（導入時）、検疫終了・馴化開始日及び馴化最終日（群構成時）に体重を測定した。

<投与期間>

解剖時に測定した。

2-3-3 試料の採取と検査

解剖時期: 暴露開始後1日目、暴露開始後3日目、暴露開始後7日目及び暴露終了翌日解剖動物は午前10時から午後0時の間に解剖した。

採取対象: 各解剖時期に、各群の（動物番号の小さい順に）3匹から採取した。

採取方法: 動物をエーテル麻酔下で、右腋窩動静脈の切断により放血致死させた。肝、肺及び脳よりマイクロアレイ用、病理組織学的検査用の試料を採取した。解剖時間は1匹あたり2分半から3分以内に脱血し、臓器採取を行った。また、肝、肺が摘出され、皮が頭部先端までむかれた状態のマウスを受けとってから各脳サンプルを得るまで、1匹あたり3分以内で試料を採取した。各群、定められた時刻に対して前後約15分（計30分）以内に完了した。解剖開始・終了時刻を記録した。詳しい手順は下記の通りとした。

(1) マイクロアレイ用サンプルチューブの作製・RNA用チューブの作製

1) ラベルシールの切り方

準備したもの

ラベルシール

ハサミ

仕切りのある箱（サンプルの種類別に、収納できるように仕切っておいた。）

ビニール袋

手袋

マスク

手順（作業は、手袋とマスクを着用して行った。）

- ① Sample No.ごとに各種サンプル用ラベルシール揃い（本体用・登録用）が、1枚の台紙上に連なった状態とし、これを一番小さいSample No.が、一番上になるように番号順に重

ねておいた。

- ② 番号を確認し、上から3枚をとり、ラベルシールの端と端が揃うように3枚を重ねた。
- ③ 3枚がずれないようにしっかり指ではさみ、各サンプルの種類ごとにラベルシールを切り分けた。
- ④ 切ったラベルシールは、一番小さいSample No.が一番上になるように番号順を重ねて、サンプルの種類別に箱に収めた。
- ⑤ 不要なラベルシールは、ビニール袋にまとめて収納し、実験終了後に処分した。

* 各項の動作は、セルフチェックを兼ねているので、確認してから次の動作に移った。

2) マイクロアレイ用サンプルチューブの作製

準備したもの

DNA LoBind Tube 2.0 mL : エッペンドルフ

RNAlater

分注用ピペット

分注用ピペットのチップ(25 mL)

100 mL チューブ

チューブラック

フリーズボックス

RNase 除去剤

ラベルシール

手袋

マスク

手順（作業は、手袋とマスクを着用し、クリーンベンチ内で行った。）

- ① 準備

クリーンベンチ内をRNase 除去剤でふき、準備したものを持ち込んだ。
- ② チューブを並べた

アルミホイル (25cm幅のものを30cmくらいに切って使用) を敷きRNase 除去剤でふいた。DNA LoBind Tubeを開封してアルミホイルの上にとり出し、必要本数のチューブを蓋のあいた状態でチューブラックに並べた。（一度、袋から出したチューブは袋には戻さないこととした。）
- ③ RNAlaterの分注

必要量+ α のRNAlaterを100 mL チューブに分注した。分注用ピペットで並べたチューブに(Liver : 500 μ L/tube、Lung : 1,000 μ L/tube、Brain : B- A : 小脳 (500) 、B- B : 脳幹 (1,000) 、B- C : 大脳 (1,000) 、P- A : 海馬 (500) μ L/tube)分注した。
- ④ チューブの箱詰め

チューブの蓋をしめながらフリーズボックスに収納した。この時、チューブの破損がないか、分注ミスがないかを確認した。（破損しているもの、液量の少ないものは除外した。）

⑤ 後片付け

持ち込んだものを取り出し、クリーンベンチを70%EtOHでふき、元の状態に戻した。

⑥ シール貼り

マイクロアレイ用サンプルのラベルシールを貼った。(ラベルシールの切り方・貼り方を参照)

* 各項の動作は、セルフチェックを兼ねているので、確認してから次の動作に移ることとした。

3) ラベルシールの貼り方

準備したもの

ラベルシール (サンプル別に切り分けておいたもの)

サンプルチューブ (必要本数をフリーズボックスに詰めた状態にしておいた)

フリーズボックス (前項のフリーズボックスとは別に新しいものを準備した)

手袋

マスク

手順 (作業は、手袋とマスクを着用し行った。)

- ① サンプル1種類ずつ、一番小さいSample No. から貼る作業をはじめた。
- ② チューブ1本をとり、チューブに不具合がないかを確認した。
- ③ シールの番号を確認し、シール1枚をとり、右側 (バーコード側) が上になるように右手でシールを持った。
- ④ ③の状態のまま、シールの台紙を縦半分 (本体用と登録用の間) に二つ折りするような感じで軽く曲げ、曲げた方向から本体用シールを左手でめくり、1/3程度を台紙からはがした。
- ⑤ 左手でループが左側にくるようにチューブを持ち、その時正面となる位置にバーコードを上にし、本体用シールを貼った。④で台紙からはがした部分を先ずチューブに貼り、左手でチューブを半回転させシール全体をしっかりと貼り付けた。本体用シールをはがした後も登録用シールは、右手にもったままの状態とした。
- ⑥ 左手でチューブをもったまま、右手の登録用シールをバーコードが下になるように持ちかえた。そのまま、シールの右端 (台紙の切れ目より右側) をもち、左手で本体用シールが貼られていた台紙 (切れ目より左側) を取り去った。登録用シールは、一部台紙がついた状態とした。
- ⑦ 左手でループが右側にくるようにチューブを持ちかえ、その時、正面となる位置にバーコードを下にし、一部台紙のついた状態の登録用シールを貼った。シールがしっかりと貼られているかを確認し、チューブを新しいフリーズボックスに収納した。

4) サンプルチューブ風袋測定

風袋測定は、解剖実施日の2週間以上前に測定すると値が変わってしまう可能性があるため、解剖実施日の10日～1日前に行った。

準備したもの

ラベルシールを貼ったサンプルチューブ（マイクロアレイ用：RNAlaterを分注したもの）をフリーズボックスに詰めた状態とした。

フリーズボックス（前項のフリーズボックスとは別に新しいものを準備した）

手袋

マスク

手順（作業は、手袋とマスクを着用し行った。）

- ① サンプル1種類ずつ、一番小さいSample No.から測定をした。
- ② サンプルチューブ1本をとり、番号を確認し、チューブに不具合がないかを確認した。
- ③ サンプルチューブから登録用シールを剥がし、本体用シールだけが貼られた状態のサンプルチューブを天秤にのせ、この重量を測定した。
重量が、一割以上少ないものや2割以上多いものについては、RNAlaterを分注しなおし、再測定した。
- ④ 測定後、直ちに登録用シールを元の状態になるようサンプルチューブに貼り、本体用と登録用シールの番号が同一であることを確認した。
- ⑤ ④のサンプルチューブを新しいフリーズボックスに収納した。
- ⑥ 同様に次のサンプルチューブを測定した。

* 各項の動作は、セルフチェックを兼ねているので、確認してから次の動作に移ることとした。

(2) 採取手順

1) 肝の摘出

トレイと生食をいれたカップは、匹数分を準備し、1匹/枚（個）で使用した。

- ① 動物を麻酔し、右腋窩動静脈を切断し放血致死させた。
- ② 動物を仰臥位にし、70%エタノールをスプレーし、ハサミを用いて、腹部（中央より数mm尾側）の皮膚をリングピンセットでつまみ、正中線に対して垂直方向にハサミで切れ目を入れた。
- ③ 切れ目の両端を引っ張って皮を剥いだ。この際、指についた動物の毛を生理食塩水（以下、生食）で洗浄、除去した。
- ④ 筋層にVの字に切れ込みを入れ、肝を露出させた。
- ⑤ 横隔膜の方から肝を徐々に切り離し、肝は生食につけた状態でおいておいた。
- ⑥ 肝を生食から引き上げ、氷上のバランスディッシュへのせた。
- ⑦ ハサミ、ピンセットを生食で洗浄し、新しいトレイを準備し、次の動物を待った。

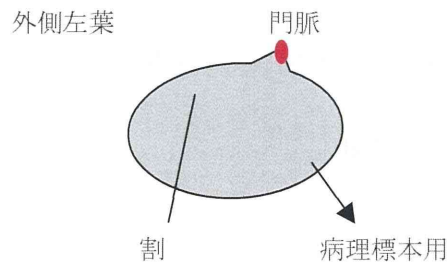
2) 天秤・麻酔

各解剖の開始・終了時間を記録した。

- ① 天秤で肝の重量を測定、記録した。
- ② ピンセットは生食を入れたチューブで洗浄した。（生食は群ごとに交換した）。
- ③ 臓器を担当者に渡し、次の動物を準備し、約2分30秒間隔で動物を麻酔瓶に入れた。

3) 肝サンプリング

- ① 肝を、シルキーテックスを貼ったシャーレ（氷上）にのせた。
- ② 肝を背側が上になるようにおき、外側左葉をめくって内側右葉を露出させた（胆嚢のついている葉）。
- ③ ②の状態、胆嚢の左側の葉を1ヵ所（A）、右側の葉を2ヵ所（門脈近位：B、門脈遠位：C）トレパンで抜き取った。
- ④ 3 mm径リングピンセットでAサンプルをマイクロレイ用チューブに収め、サンプルがRNAlaterに浸かっていることを確認した。サンプルチューブから登録用シールをはがし、サンプルチューブは、氷上へ移し、登録用シールは、登録台紙に貼った。B,Cサンプルについても同様に行った。各サンプルの厚さになるべく揃うように（重量としては30～40 mg）採取した。
- ⑤ 肝の外側左葉を門脈部で他の葉から切り離し、下図の実線の位置で割をいれた。



- ⑥ 門脈を含む方を病理標本用サンプルとし、⑤で切り離した他の葉と共に10%ホルマリン液に移した。
- ⑦ 使用した器具を生食で洗浄し、水気をふき取り、次のサンプリングに用いた。（生食は群ごとに交換した。）洗浄する時間がない場合は、もう1セットのハサミおよびピンセットを使用した。
- ⑧ 解剖終了後、氷上のマイクロレイ用サンプルを氷上の一時保管用箱にラベルシールを確認しながら移した。同時にサンプルがRNAlaterに浸かっていることを確認した。サンプルを収納した一時保管用箱は、4℃に移動し保管した。

<腫瘍や白点など限局した病変（変化）部のある個体のサンプル採取について>

病変(変化)部を含まないようにマイクロレイ用サンプル採取した。その部分を避けて 3ヵ所から採取することが難しい場合、外側左葉の門脈遠位部（病理標本用サンプルの割を入れる付近）から採取した。

いずれの場合も所見と採取部位を登録台紙に記録した。いずれの場合も病変（変化）の性状を登録台紙に記録した。（動物の番号を丸でかこみ、その番号付近に病変（変化）の性状を記録した。また、指定外の部位から採取したものは、チューブ番号を丸でかこみ、その番号付近に部位を記録した。）

4) 肺サンプリング

① マウスの受け取り

解剖担当者から肝摘出後のマウスをトレイごと受け取った。

② 横隔膜の切離

横隔膜を肋骨弓から切り離した。(食道は切断しても、しなくてもよいこととした。)

③ 肋骨の切断

肺を傷つけないように胸腔内臓器を片側によせ、左右の最後位肋骨から第1肋骨までを切断した。胸骨の延長線は、頸部とつながった状態にし、完全に切り離さないこととした。

④ 気管の露出

片手で尾を固定し、胸骨を頭側方向に手で引き上げ、気管を露出させた。

⑤ 気管の切断

気管を甲状腺の下で切断し、断端を持ち上げ気管を胸腔前口まで遊離させた。

⑥ RNAlaterの注入

気管断端に注射針(18G x 1 1/2 注射針+2.5 mL シリンジ)を針穴が隠れる程度挿入した。液漏れしないよう気管の上からピンセットで針を固定し、一気にRNAlater(2 mL)を注入した。

⑦ 肺の摘出1

気管をピンセットではさんだまま、注射針を抜き、心臓をつけた状態で肺を摘出した。

⑧ 肺の摘出2

摘出した肺をディッシュに移した。気管支を切断し左肺と、副葉を切除した右肺を取り出した。

⑨ RNA用サンプル採取 : 肺の切断

左肺を長軸方向で葉の幅1/2のところで切断し、肺門の遠位側をRNA用サンプルとし速やかにA tubeに収め、サンプルがRNAlaterに浸かっていることを確認した。サンプルチューブから登録用シールをはがし、サンプルチューブは、氷上へ移し、登録用シールは、登録台紙に貼った。

右肺を長軸方向で葉の幅1/2のところで切断し、肺門の遠位側をRNA用サンプルとし、速やかにB tubeに収め、サンプルがRNAlaterに浸かっていることを確認した。サンプルチューブから登録用シールをはがし、サンプルチューブは、氷上へ移し、登録用シールは、登録台紙に貼った。

⑩ 病理標本用サンプル採取

肺門の近位側を病理標本用サンプルとし、左・右肺ともに断面をろ紙に(右肺は3葉の各断面がろ紙に接するように)貼り付け、ホルマリン固定した。

(肺は浮きやすいので、サンプルがホルマリンに浸かっていることを確認する。)

⑪ 器具の洗浄

使用した器具を、生食で洗浄し水気をふき取り、次のサンプリングに用いた。

特に肺の切断用は、よく水気をふき取ることとした。

⑫ 解剖終了後のサンプル管理・マイクロアレイ用サンプル

氷上のRNA用サンプルを氷上の一時保管用箱にラベルシールを確認しながら移した。同時にサンプルがRNAlaterに浸かっていることを確認した。サンプルを収納した一時保管用箱は、4℃に移動し保管した。

⑬ 解剖終了後のサンプル管理・病理標本用サンプル

サンプルの入った標本びんを、しんとう機に移し60分間しんとうした。

<腫瘍や白点など限局した病変（変化）がある個体のサンプル採取について>

病変（変化）部を含まないようにマイクロアレイ用サンプルを採取した。

いずれの場合も病変（変化）の性状を登録台紙に記録した。（動物の番号を丸でかこみ、その番号付近に病変（変化）の性状を記録した。）

5) 脳摘出

① マウスの受け取り

「解剖担当者は剥皮する際に、できるだけ頭部先端までむくこととした」

解剖担当者から肝、肺摘出後のマウスをトレイごと受け取った。

② 頭部の剥皮

術野を広くとれるようにハサミにて頭部全体の皮をむき、左手にて左右の皮にテンションがかかるようにしつつ、頭部をもった。

③ 延髄部の切断

ハサミにて延髄部を切断した。この際、体部の筋・皮膚は頭部に付着した状態であり、完全に切り離さないようにした。

④ 頭蓋骨の切断

脳を傷つけないように、ハサミを延髄側から頭蓋骨の正中に入れ、目の部位まで切断した。

⑤ 脳の露出

脳が傷つかないように爪をひっかけるように指を使って、頭蓋骨を正中から左右に開き（観音開き）、脳を露出させた。

⑥ 脳の摘出

先曲ピンセットを、横から頭蓋と脳の間に入れ（右側の方が容易）（脳をできるだけ触らないように頭蓋にあてる感じで）、硬膜の付着の有無を確認しつつ、硬膜の付着がある場合は除去し、徐々に頭蓋と脳の間を広げていき、視交差を切断し、最終的に先曲部分全体で脳底部を反転するようにして脳を摘出し、これを氷冷した硝子シャーレ上にある、生理食塩水で十分に湿らせたろ紙(ADVANTEC Filter paper 2)上においた。※嗅球は切除し、脳としては採取しなかった。

6) 脳サンプリング

① 脳の左右の分離

切断しやすい様に、脳を適当な位置にシャーレの回転やピンセットを利用し置き、カミソリ刃にて正中で左右に切断し、右半分をピンセットにてろ紙に貼り付け、ホルマリンに入れ、左半分をろ紙上に、切断面を下側にして置いた。

⇒作業員Bに渡した。

② 小脳の分離「作業員B分担分」

あらかじめ氷冷したピンセット2本を使用した。

延髄部分にピンセットを添えながら、先曲ピンセットを、小脳とその他の境界部に入れ、底面までおろし、ろ紙上を滑らせるようにして小脳を分離し、ろ紙上に置いた（最後にはRNA用サンプルチューブに入れた）。

③ 脳幹の分離

延髄部分にピンセットを添えながら、大脳皮質と脳幹部の境界に、優しく先曲ピンセットの先曲部分を添え、両部位を少し剥離する様、境界を少しあけるようにし、海馬を見据え

た後、脳幹部の底部のみを先曲ピンセットで挟み込む様子をつまみ、脳幹部を分離し、ろ紙上に置いた（最後にはRNA用サンプルチューブに入れた）。

④ 海馬と大脳皮質の分離

残った脳部分の（小脳側に）海馬がみえる。海馬の境界をしっかりと認識した後に、大脳皮質と海馬の境界部分に優しく先曲ピンセットの先曲部分を添え、海馬部位を軽くめくるように反転することにより海馬を分離し、ろ紙上に置いた（最後にはRNA用サンプルチューブに入れる）。白い部分は線条体であり、先曲ピンセットにてつまむように剥離し、大脳皮質の方に付着させた。

・残りが大脳皮質。

⑤ RNAサンプル

各サンプルをRNA用サンプルチューブに入れ、RNAlaterに浸かっていることを確認しサンプルチューブから登録用シールをはがし、サンプルチューブは、氷上へ移した。登録用シールは、登録台紙に貼った。

⑥ 器具の洗浄

使用した器具を、生理食塩水で洗浄し水気を取り、次のサンプリングに用いた。

⑦ 解剖終了後のサンプル管理・RNA用サンプル

氷上のRNA用サンプルを氷上の一時保管用箱にラベルシールを確認しながら移した。同時に、サンプルがRNAlaterに浸かっていることを確認した。全てを移し終えたら箱の中のサンプル数を数え、tube check sheetにチェックを入れた。サンプリング担当者以外の人に同様にサンプル数をチェックしてもらい、問題がなければサンプルの入った一時保管用箱を4℃に移動し保管した。

⑧ 解剖終了後のサンプル管理・病理標本用サンプル

サンプルの入った標本びんをしんとう機に移し60分しんとうした。

7) 注意事項

全ての作業は作業着、手袋及びマスクを着用して行うこととした。作業台をRNase AWAYで清拭し、RI実験用の紙（ポリエチレンろ紙）を敷いて作業した。臓器摘出、秤量以外の操作は氷上でおこなうこととした。

サンプルに動物の毛、血液、他の臓器が混入しないようにした。日内変動で遺伝子発現量が変わるため、各採取時期のサンプル採取は約30分以内（2分半/匹）に終わらせることとした。

8) 試料の処理

すべてのマイクロアレイ用サンプルは、RNAlater入りのサンプルチューブ内で一晩冷蔵（4℃）後、サンプル重量測定し、-80℃で保存した。

(3) マイクロアレイ用サンプル（RNAlaterに浸かっているもの）重量測定

マイクロアレイ用サンプルは、RNAlaterに4℃で一晩静置した後（全ての解剖が終了した翌日）、重量測定を行った。

（サンプルチューブに入った状態で重量測定し、その値から風袋を差し引いたものをサンプル重量とした。）

準備するもの

マイクロアレイ用サンプル（RNAlaterに浸かったもの）

マイクロアレイ用サンプルは、RNAlaterに4℃で一晩静置した後（全ての解剖が終了した翌日以降）、重量測定を行った。

フリーズボックス（フリーズボックスは新しいものを準備し、ラベルしておいた）

手袋

マスク

氷

Ice box（マイクロアレイ用サンプルを収納している箱と新しいフリーズボックスが入れられる大きさのもの）

手順（作業は、手袋とマスクを着用し行うこととした。）

- ① Ice boxに氷をいれ、この上に、マイクロアレイ用サンプルを収納している箱と新しいフリーズボックスをおいた。
- ② サンプルは、1種類ずつ、一番小さいSample No.から測定しはじめた。
- ③ サンプル1本をとり、番号を確認し、重量を測定した。
この時、RNAlaterに浸かっていなかったサンプルは、番号を記録した。
- ④ 測定後、サンプルがRNAlaterに浸かっていることを確認し、サンプルを新しいフリーズボックスに収納した。
同様に次のサンプルを測定した。
- ⑤ 測定後のサンプルは、-80℃で保管した。
- ⑥ この測定値から、風袋を差し引いたものをサンプル重量とした。

(4) マイクロアレイ用サンプルの保存及び送付

肝、肺及び脳のmRNA測定用サンプルは4℃で一晩保存後サンプル重量測定し、超低温庫（-80℃）で凍結して保存した。

これらの保存サンプルは、解剖から1週間以内にドライアイスを含めて、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

2-3-4 病理学的検査

(1) 剖検

全ての解剖動物について、肝、肺及び脳の肉眼的観察を行った。

(2) 臓器重量

全ての解剖動物について、肝、肺及び脳の湿重量を測定した。

(3) 病理組織学的検査

2-3-3に記載した病理組織学検査用に採取した肝、肺及び脳について、切り出し、パラフィン包埋した。その後、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、病理組織診断結果のみを報告した。なお、病理標本（パラフィンブロックとプレパラート）は日本バイオアッセイ研究センターで保管する。

2-4 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。

臓器湿重量は、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。

3 試験成績

3-1 被験物質の特性

使用した被験物質の特性をガスクロマトグラフ法により確認し、その結果を図 1-1～図 1-5 に示した。図 1-1 に *o*-キシレン標準品、図 1-2 に *m*-キシレン標準品、図 1-3 に *p*-キシレン標準品、図 1-4 にエチルベンゼン標準品及び図 1-5 に被験物質のキシレンのクロマトグラムをそれぞれ示した。この結果、被験物質中の分離した 4 つのピークは、先頭から、エチルベンゼン、*p*-キシレン、*m*-キシレン及び *o*-キシレンの順で溶出し、被験物質のそれぞれのピークは各標準品のピークと保持時間が一致し、被験物質として用いたキシレンは、エチルベンゼン、*p*-キシレン、*m*-キシレン及び *o*-キシレンを含有することが確認された。

3-2 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、不純物であるエチルベンゼン濃度を表 5 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 0.2、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 ± 0.005 ppm (0.195 ppm～0.208 ppm)、 0.701 ± 0.011 ppm (0.686 ppm～0.715 ppm) 及び 2.03 ± 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 ± 0.0006 ppm (0.0429 ppm～0.0447 ppm)、 0.151 ± 0.003 ppm (0.147 ppm～0.155 ppm) 及び 0.435 ± 0.015 ppm (0.417 ppm～0.454 ppm) であった。

3-3 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。

3-4 体重

解剖時の体重を表 6 に示した。

3-5 病理学的検査

3-5-1 剖検観察

肝、肺及び脳の剖検所見を表 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。

3-5-2 臓器重量

肝臓重量(g)を表 6 に示した。

3-5-3 病理組織学的検査

肝、肺及び脳の病理組織学的検査の結果を表 8 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。なお、動物番号 1202 の肝臓に、軽度の単状壊死が認められたが、発生例数が 1 匹であり、かつ中間用量の 0.7ppm 群での変化であることから、被験物質であるキシレンの投与との関係は無いものと考えられた。

表 1 吸入チャンバー内環境の測定結果:温度(22時間暴露)

単位:°C

チャンバー 群	CH-1 対照群	CH-2 0.2 ppm 群	CH-3 0.7 ppm 群	CH-4 2 ppm 群
全期間				
平均値	23.0	23.1	23.0	22.9
標準偏差	0.1	0.2	0.1	0.2
日別平均値				
7月24日	23.0	23.1	23.1	23.0
7月25日	23.0	23.1	23.0	22.9
7月26日	23.0	23.1	23.0	23.0
7月27日	23.0	23.1	23.0	22.9
7月28日	23.0	23.1	23.0	22.9
7月29日	23.0	23.1	23.0	23.0
7月30日	23.0	23.1	23.0	22.9
7月31日	23.0	23.1	23.0	23.0
8月1日	23.0	23.1	23.0	22.9

表 2 吸入チャンバー内環境の測定結果:湿度(22時間暴露)

単位:%

チャンバー 群	CH-1 対照群	CH-2 0.2 ppm 群	CH-3 0.7 ppm 群	CH-4 2 ppm 群
全期間				
平均値	54.3	51.8	51.2	51.8
標準偏差	2.7	2.8	2.8	3.0
日別平均値				
7月24日	55.0	53.4	53.0	53.6
7月25日	54.6	52.5	52.1	52.6
7月26日	54.4	52.2	51.5	52.1
7月27日	54.5	51.9	51.3	51.8
7月28日	54.4	51.7	51.1	51.6
7月29日	54.3	51.4	50.9	51.4
7月30日	54.1	51.2	50.7	51.2
7月31日	54.2	51.2	50.6	51.2
8月1日	53.2	50.3	49.7	50.3

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(22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		CH-2		CH-3		CH-4	
	対照群		0.2 ppm 群		0.7 ppm 群		2 ppm 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								
平均値	213.7	12.1	213.8	12.1	212.7	12.0	213.5	12.1
標準偏差	0.4	0.0	0.7	0.0	0.6	0.0	0.5	0.0
日別平均値								
7月24日	214.0	12.1	213.0	12.1	213.3	12.1	213.2	12.1
7月25日	214.2	12.1	213.2	12.1	213.3	12.1	213.6	12.1
7月26日	213.9	12.1	213.2	12.1	212.7	12.0	213.7	12.1
7月27日	213.5	12.1	213.9	12.1	212.4	12.0	213.2	12.1
7月28日	213.6	12.1	214.0	12.1	212.6	12.0	213.4	12.1
7月29日	213.6	12.1	214.0	12.1	212.5	12.0	213.5	12.1
7月30日	213.7	12.1	214.1	12.1	212.5	12.0	213.7	12.1
7月31日	213.5	12.1	214.2	12.1	212.7	12.0	213.5	12.1
8月1日	213.3	12.1	214.1	12.1	212.9	12.1	213.0	12.1

表 4 吸入チャンバー内の被験物質濃度(22時間暴露)

	単位: ppm			
	対照群	0.2 ppm群	0.7 ppm群	2 ppm群
7月 24 日午後 0 時から	0	0.201	0.694	2.03
7月 25 日午前 10 時				
7月 25 日午後 0 時から	0	0.203	0.715	2.09
7月 26 日午前 10 時				
7月 26 日午後 0 時から	0	0.195	0.698	2.11
7月 27 日午前 10 時				
7月 27 日午後 0 時から	0	0.199	0.686	1.96
7月 28 日午前 10 時				
7月 28 日午後 0 時から	0	0.208	0.707	2.02
7月 29 日午前 10 時				
7月 29 日午後 0 時から	0	0.208	0.715	2.02
7月 30 日午前 10 時				
7月 30 日午後 0 時から	0	0.207	0.692	1.97
7月 31 日午前 10 時				
平均濃度	0	0.203	0.701	2.03
標準偏差	0	0.005	0.011	0.06

表 5 吸入チャンバー内のエチルベンゼン濃度(22時間暴露)

	単位: ppm			
	対照群	0.2 ppm群	0.7 ppm群	2 ppm群
7月 24 日午後 0 時から	0	0.0444	0.151	0.441
7月 25 日午前 10 時				
7月 25 日午後 0 時から	0	0.0447	0.155	0.452
7月 26 日午前 10 時				
7月 26 日午後 0 時から	0	0.0429	0.152	0.454
7月 27 日午前 10 時				
7月 27 日午後 0 時から	0	0.0437	0.147	0.417
7月 28 日午前 10 時				
7月 28 日午後 0 時から	0	0.0447	0.151	0.431
7月 29 日午前 10 時				
7月 29 日午後 0 時から	0	0.0442	0.152	0.429
7月 30 日午前 10 時				
7月 30 日午後 0 時から	0	0.0441	0.147	0.418
7月 31 日午前 10 時				
平均濃度	0	0.0441	0.151	0.435
標準偏差	0	0.0006	0.003	0.015

表 6 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	26.5	1.583
	1002	25.3	1.324
	1003	26.6	1.304
0.2 ppm 群	1101	25.7	1.415
	1102	25.5	1.376
	1103	28.1	1.073
0.7 ppm 群	1201	27.0	1.549
	1202	26.0	1.560
	1203	25.9	1.444
2 ppm 群	1301	25.5	1.384
	1302	27.3	1.452
	1303	27.2	1.441

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	25.7	1.242
	1005	28.6	1.590
	1006	25.2	1.234
0.2 ppm 群	1104	26.3	1.415
	1105	27.3	1.412
	1106	26.4	1.331
0.7 ppm 群	1204	28.0	1.591
	1205	25.8	1.190
	1206	24.9	1.300
2 ppm 群	1304	25.2	1.363
	1305	27.4	1.471
	1306	27.3	1.371

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	25.4	1.226
	1008	27.9	1.602
	1009	27.2	1.446
0.2 ppm 群	1107	28.2	1.561
	1108	24.5	1.308
	1109	27.2	1.581
0.7 ppm 群	1207	25.7	1.283
	1208	27.9	1.598
	1209	26.6	1.507
2 ppm 群	1307	27.7	1.611
	1308	26.3	1.478
	1309	25.3	1.399

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	26.8	1.362
	1011	27.2	1.349
	1012	25.7	1.283
0.2 ppm 群	1110	28.8	1.574
	1111	27.1	1.211
	1112	26.7	1.396
0.7 ppm 群	1210	27.3	1.487
	1211	26.3	1.400
	1212	28.1	1.529
2 ppm 群	1310	27.6	1.486
	1311	27.9	1.455
	1312	26.1	1.402

表 7 剖検所見(22時間暴露)

1日目解剖

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

3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

7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

暴露終了翌日解剖

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(22時間暴露)

1日目解剖

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	軽度の巣状壊死	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

3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

7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

暴露終了翌日解剖

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