

部分翻訳

**European Union  
Risk Assessment Report  
Vinyl acetate  
CAS No: 108-05-4  
2008**

欧州連合  
リスク評価書（2008年最終承認版）  
酢酸ビニル

**European Union Risk Assessment Report**

**Vinyl acetate**

CAS-No.: 108-05-4  
EINECS-No.: 203-545-4

19.08.2008

***FINAL APPROVED VERSION***

国立医薬品食品衛生研究所 安全性予測評価部  
2018年2月

本部分翻訳文書は、Vinyl acetate (CAS No: 108-05-4)に関するEU Risk Assessment Report (2008)の第4章「ヒト健康」のうち、第4.1.2項「影響評価：有害性の特定および用量反応関係」を翻訳したものである。原文(評価書全文)は、

<https://echa.europa.eu/documents/10162/23433313-22b7-4e0a-a9d4-b469a451c1cf>を参照のこと。

#### 4.1.2 影響評価：有害性の特定および用量（濃度）-反応（影響）評価

##### 4.1.2.1 トキシコキネティクス、代謝、および分布

酢酸ビニルは、カルボキシルエステラーゼにより加水分解され酢酸とアセトアルデヒドになり、その後アセトアルデヒドがアルデヒドデヒドロゲナーゼにより酸化され酢酸になる。酢酸は、アセチル CoA として活性化した形でクエン酸回路に加わる。酢酸ビニルは肝臓だけでなく複数の組織でも代謝され、このことは酢酸ビニルにより生じる毒性作用と関連している可能性がある。

酢酸ビニルの主要代謝経路を Fig. 1 に示す。

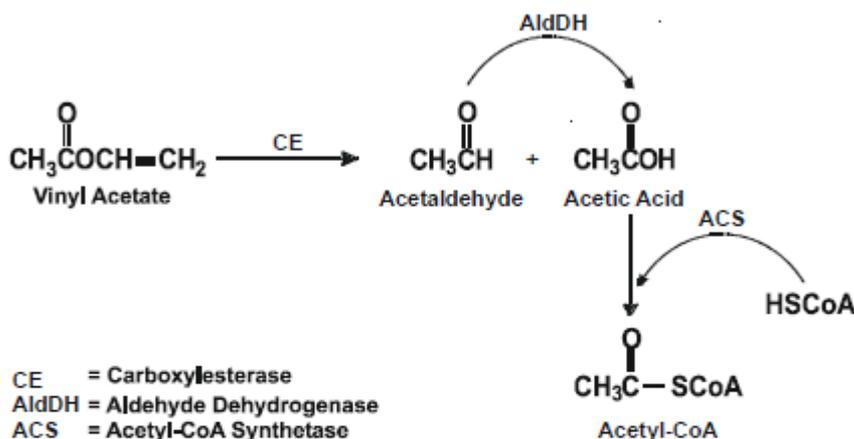


Fig. 1:

Biotransformation Pathways for Vinyl Acetate

(Modified from Bogdanffy et al., 1998)

## 動物におけるデータ—in vivo 試験

### 吸入暴露

CD (Sprague-Dawley 由来) ラット 4 匹 (雄 2 匹、雌 2 匹) を対象に、大気中の名目用量 750 ppm の  $^{14}\text{C}$ -酢酸ビニル (ビニル基に標識) に 6 時間、鼻のみ暴露させた ( $2.68 \text{ mg/L} \times 0.8 \text{ L/分/kg} \times 360 \text{ 分} \approx 772 \text{ mg/kg}$  体重)。著者は、実験動物への正確な ( $^{14}\text{C}$ -) 酢酸ビニル投与量が不明であったことから、その結果 (尿、糞便、呼気、ケージ洗浄液、および死体の放射能) を回収された総放射能に対する割合で示した。本評価書報告担当者は、その表および補遺を入手できなかったため、データは著者の説明どおり示す。96 時間の期間中、尿、糞便、および呼気に認められた放射能の平均回収率 (平均投与率ではない!) はそれぞれ 4.8、3.6、74.6%であった。放射能の大部分は最初の 24 時間に排泄された。96 時間後には、回収された総放射能の平均 16.4%が死体に認められた。750 ppm (772 mg/kg 体重) を鼻からのみ吸入させた場合、回収された放射能の約 83%が ( $\text{CO}_2$  としての) 呼気、尿、および糞便中に認められた。この結果に基づくと、提示された放射能の割合は回収された放射エネルギーに基づいたものであり、体循環前に鼻腔で代謝されることを考慮すれば、全身において得られる酢酸ビニルの量については本研究から結論を下せない。組織における分布の調査 (動物の数は入手できず) では、名目用量 750 ppm の  $^{14}\text{C}$ -酢酸ビニルに 6 時間暴露させ、暴露直後、1、6、72 時間後の放射能について検討した。暴露直後、ハーパー腺、回腸、顎下腺、消化管の内容物の平均放射能濃度が最高値を示した。放射能は比較的高濃度で広範に分布し、肝臓、腎臓、片肺、脳、胃、結腸、卵巣に認められた。暴露から 1、6、72 時間後の分布パターンは概ね同じであったが、濃度は低下した。暴露から 72 時間後、ハーパー腺、副腎、卵巣が含有する平均放射能濃度は最高値となった (Strong *et al.*, 1980; 本評価書報告担当者は、本試験の補遺および表を入手できなかった)。

雄 Wistar ラット 2 匹を対象に、200~2000 ppm の様々な濃度の酢酸ビニル (0.01%ヒドロキノンにより安定化) を、密室において暴露時間 1.4 時間以内として暴露させたところ、用量依存的な排泄動態が示された。著者は、酢酸ビニルの暴露濃度が 650 ppm ( $2320 \text{ mg/m}^3$ ) を超えた場合、その代謝経路は飽和すると結論付けた (Simon *et al.*, 1985a)。

成熟雄 CrLCD:BR ラットを対象に、一方向流の条件下 (流量 100 mL/分) において酢酸ビニルを暴露濃度 73~2190 ppm の範囲で 1 時間吸入させ、酢酸ビニルの沈着について麻酔下で分離された上気道において測定した (Plowchalk *et al.*, 1997)。ペントバルビタールナトリウム麻酔 ( $70 \text{ mg/kg}$  体重、腹腔内投与) ラット (250~350 g) の気管から鼻咽頭の高さまで、ポリエチレン管を挿入することにより上気道を分離した。別のカニューレを気管から肺方向に挿入し、気道の開存を維持した。バルブシステムにより 2 台のインピンジャー間で切り替えを選択可能にしたことで、呼気を継続的に採取できた。次に、各動物を仰臥位にして容器に入れ、Batelle 社式の鼻専用保定具を用い、鼻を暴露チャンバーに挿入した。チャンバー内の大気 ( $C_{in}$ : 窒素中の酢酸ビニル 73~2190 ppm、 $34^\circ\text{C}$ 、湿度 88%) は、一定速度 (名目速度 100 mL/分) かつ一方向流の条件下で上気道を通

じ吸入された。鼻腔から呼出する空気 ( $C_{exp}$ ) はインピンジャーで捕捉した。予備試験では、鼻組織の定常状態を確立するため、酢酸ビニルの暴露を約 8 分間要することが示された。8 分間の平衡状態確立後、約 4 分ごとに最大 40 分間インピンジャーに試料を採取し、ガスクロマトグラフィーにより酢酸ビニルおよびアセトアルデヒドの分析を行った。上気道における酢酸ビニルの画分沈着率（抽出率に相当）は、 $(C_{in} - C_{exp}) / C_{in}$  として算出した。鼻腔由来の酢酸ビニルの画分沈着率は暴露濃度と非線形の関係を示し、36～94%の範囲に及び、酢酸ビニルの最低濃度における取り込みが最も多かった。暴露濃度が 76 ppm から 550 ppm に上昇すると、取り込みは約 40%に漸減し、約 2000 ppm を限度にこの取り込みレベルを維持した。鼻粘膜におけるカルボキシエステラーゼ活性なしでシミュレーションを実施したところ、血流抽出による酢酸ビニルの沈着は最小となり、沈着全体の 15%未満を占めることが算出できた (Plowchalk *et al.*, 1997; Bogdanffy *et al.*, Bericht 1998)。アセトアルデヒドは、すべての酢酸ビニル暴露濃度の呼気に認められた。酢酸ビニルの暴露増加と共に、呼気中のアセトアルデヒド濃度が上昇した。酢酸ビニル約 1000 ppm 暴露時の呼気中アセトアルデヒド濃度は、277 ppm ( $499 \text{ mg/m}^3$ ) であった。カルボキシエステラーゼの阻害が酢酸ビニルの沈着に及ぼす影響を検討するため、ラット ( $n = 10$ ) を対象に、生理食塩液に溶解した 5% BNPP (ビス(*p*-ニトロフェニル)リン酸、カルボキシエステラーゼ阻害剤) 懸濁液を 1 日 1 回腹腔内投与 (0.2 mL/100g 体重) する前処置を 3 日間行った。BNPP によりラットを前処置すると、酢酸ビニルの画分沈着率が有意に低下した。暴露濃度 76～663 ppm の範囲では、BNPP 前処置による画分沈着率が無処置ラットに比べ 55%以上低下した。呼気中のアセトアルデヒド出現と、阻害剤 BNPP によるその形成の阻害から、酢酸ビニルはカルボキシエステラーゼを介して代謝されることが示される。

## 経口暴露

ラットを対象に、 $^{14}\text{C}$ -酢酸ビニル (ビニル基に標識、10000 ppm (v/v) 水溶液 1 mL、総投与量 297 mg/kg 体重) を胃挿管により経口投与した。用法は 1 時間間隔で 6 回とした。この用法とそれに続く 96 時間の採取期間中、投与された放射能の平均 64.4%が排泄された(糞便中 1.4%、尿中 1.8%、呼気中 61.2%)。さらに、96 時間後には死体に平均 5.4%認められた。尿中の放射能の大部分は最初の 24 時間以内に排泄された。呼気により排泄された放射能のほとんどは、この 6 時間の用法と投与後最初の 6 時間の間に回収された。この呼気中の放射能は、二酸化炭素収集用に設計された複数の捕集器から回収された。本試験の著者は、この投与で不明の 30.1%については、呼気中に失われた可能性がきわめて高く、投与のため動物を取り出した際に代謝ケージから漏れたと予測している。 $^{14}\text{C}$ -酢酸ビニルを経口経路により投与後、放射能は広範に組織に分布した。6 回目の投与から 1 時間後、ハーパー腺および顎下腺の平均放射能濃度が最高値を示した。肝臓、腎臓、胃、回腸、結腸、消化管の内容物にも高濃度で認められた。脂肪には低濃度の放射能が認められた。尿および糞便中の酢酸ビニル代謝物の測定が試みられた。尿または糞便中には、放射標識された炭酸塩も炭酸水素塩も認められなかった。尿の薄層クロマトグラフィーから、主要な放射性画分 1 つと、複数の微量画分の存在が示された (Strong *et al.*, 1980)。呼気中の放射能は、すべて  $^{14}\text{C}$  二酸化炭素として存在した。したがって、経口投与された  $^{14}\text{C}$ -酢酸ビニルの 63%は、代謝物として

排泄されると結論付けることができる。

CDI 系統のアルビノマウス（雄 3 匹、雌 3 匹）を対象に、名目用量 1.17 mg の  $^{14}\text{C}$ -酢酸ビニル（ビニル基に標識）を単回経口投与した。投与から 1、6、72 時間後に動物を分析した。全身のオートラジオグラムから、放射能の広範な分布が示された。ハーダー腺、唾液腺、胃腸粘膜、肝臓、褐色脂肪では高濃度で認められた（Strong *et al.*, 1980）。

様々な濃度の酢酸ビニルを含有する 0.9 %生理食塩液を、麻酔下の雄 F344 ラットの口に 10 分間入れ、その後 HPLC によりアセトアルデヒドについて分析された（Morris *et al.*, 2002）。これらの溶液ではアセトアルデヒドが検出され、酢酸ビニルの代謝が *in vivo* 口腔組織で生じるという証拠が得られた。

### 経皮暴露

経皮暴露後の酢酸ビニルの吸収、代謝、分布、排泄に関する研究は得られていない。急性皮膚毒性の測定については試験が 1 件実施されており（Mellon Institute, 1969）、「急性毒性」の項も参照されたい。手短かに述べると、ウサギの皮膚に酢酸ビニル 16 mL/kg 体重を閉塞適用したところ、すべての動物が死亡した。4 mL/kg の閉塞適用後には、肉眼所見として、両肺および肝臓のうっ血、斑状になった脾臓および片腎、顕著な肝腺房が認められた。こうした結果は、皮膚適用後の酢酸ビニルの全身的な生物学的利用能の可能性について示した。

### その他の経路

雌 Chester-Beatty ラットを対象に、酢酸ビニル 0.8 mL/kg 体重を注入（腹腔内投与）したところ、投与から 30 分後の肝グルタチオン濃度が正常値の 77%に低下した（Boyland and Chasseaud, 1970）。肝臓における非タンパク質性のスルフヒドリルについては、同様の低下が酢酸ビニル腹腔内注入後のマウス（300 mg/kg 体重）、Wistar ラット（300 または 450 mg/kg 体重）、モルモット（500 mg/kg 体重）において報告された（Holub and Tarkowski, 1982）。これらの知見はグルタチオン抱合を示し得ると想定される。しかし、データが限られていることから、この経路の妥当性は評価できない。

### ヒトにおけるデータ—*in vivo* 試験

#### 吸入暴露

ヒトに関しては Bogdanffy *et al.* (1999b; PBPK モデリングの項も参照) により開発された生理学的薬物動態 (PBPK) モデルの適用に向けた検証データを提示するため、酢酸ビニルのヒト吸入暴露が管理下で実施された（Hinderliter *et al.*, 2005）。ボランティア 5 名（女性 2 名、男性 3 名）の鼻咽頭腔にプローブを挿入し、空気を採取した。ボランティアには、鼻を介して吸入および呼出する

よう指示した。安静中および軽度の運動中に  $^{13}\text{C}1$ 、 $^{13}\text{C}2$  標識酢酸ビニルに 3 種類の暴露濃度（名目用量 1、5、10 ppm）で暴露させ、その間に試料採取を実施した。鼻咽頭領域から、標識された酢酸ビニルと主要な代謝物であるアセトアルデヒドの双方を、校正済み流量 12 L/時間で採取し、イオントラップ質量分析（MS/MS）を用いてリアルタイムで分析した。暴露時間の 2～5 分に 0.8 秒ごと測定した結果、すべての呼吸相のデータが得られた。試料採取速度は十分に迅速で、吸気と呼気を含むヒト鼻腔における酢酸ビニルの挙動の多くが捕捉された。しかし、この試料採取頻度は、呼吸ごとのピーク濃度を正確に捕捉するほど十分ではなかった。この方法は内因性化合物による干渉がなく、その検出限界は ppb 1 桁レベルにある。音響鼻腔計測法システムを用いて、鼻腔の断面積および断面容積を測定した。この一式のヒト暴露結果により、酢酸ビニルとアセトアルデヒドについて 22000 個を超えるデータ点を持つデータセットが得られた。

### 経口暴露

ヒトにおける酢酸ビニルの経口暴露に関する毒物動態データはない。

### 経皮暴露

ヒトにおける酢酸ビニルの経皮暴露に関する毒物動態データはない。

## In vitro データ（動物およびヒト）

### カルボキシルエステラーゼ活性

#### 鼻におけるカルボキシルエステラーゼ活性

*In vitro* における酢酸ビニルの加水分解が、F344 ラットおよび B6C3F1 マウスの鼻組織において検討された。鼻の呼吸粘膜および嗅粘膜のホモジネート（pH 7.4 に調整）に酢酸ビニルを添加し、37°C で 10 分間（呼吸粘膜）または 2 分間（嗅粘膜）インキュベートした。鼻粘膜のエステラーゼは、アセトアルデヒドおよび酢酸の形成を高効率で触媒することが示された。ラットおよびマウスの呼吸組織の  $V_{\max}$  値は、22～46  $\mu\text{mol}/\text{分}/\text{mg}$  タンパク質（ラット：22～24、マウス：30～46）の範囲であった。この値は、ラット肝ミクロソームで得られたデータ（23  $\mu\text{mol}/\text{分}/\text{mg}$  タンパク質）と同じ範囲にある（Simon *et al.*, 1985a）。ラットおよびマウスの嗅覚組織の  $V_{\max}$  は、89～165  $\mu\text{mol}/\text{分}/\text{mg}$  タンパク質（ラット：88～92、マウス：95～165）の範囲であった。ラットおよびマウスの鼻組織について得られた  $K_m$  値の範囲は 0.30～1.07 mM で、嗅上皮と呼吸上皮との間で同程度であった（Bogdanffy and Taylor, 1993）。カルボキシルエステラーゼを介した酢酸ビニルの加水分解の酵素反応速度データからは、酢酸ビニルの発がん作用に対する感受性の種差は明らかにされない。Table 1 に  $V_{\max}$  と  $K_m$  の値を記載する。

カルボキシエステラーゼ活性は、カルボキシエステラーゼの基質として、p-ニトロフェニル酪酸 (Bogdanffy *et al.*, 1987) またはメタクリル酸メチル (Mainwaring *et al.*, 2001) を用いて、様々な種に由来する鼻 (呼吸、嗅覚) 組織でも検討されている (Table 2 参照)。ラットおよびマウスの嗅覚組織のカルボキシエステラーゼ活性を測定した場合、呼吸組織に比べ高いと考えられる。しかし、ヒトおよびげっ歯類の鼻組織のカルボキシエステラーゼ活性について確たる結論を下すことは、ヒト試料の  $V_{max}$  値が 1 基質濃度のみ分析した場合に得られたものであるため困難である。ヒト嗅覚組織に関しては、ミクロソームではなく S9 のみが分析されており (Mainwaring *et al.*, 2001)、このことから種間の比較は困難である。

鼻腔上皮は不均一な細胞集団からなるため、ホモジネートを用いて異物代謝酵素を測定した場合、人為的な結果になることが考えられる。したがって、反応速度定数をより正確に測定可能にするため、*in vitro* ガス取り込み法が確立された (Bogdanffy *et al.*, 1998)。本方法を適用して、呼吸上皮か嗅上皮のいずれかで覆われた CrICD:BR ラット由来のラット鼻甲介全体、またはヒト鼻組織 (中鼻甲介または背側道) 切片を密封したシンチレーションバイアルに入れた。酢酸ビニル蒸気を対象組織の上部ヘッドスペースに注入し、バイアルのヘッドスペースからの酢酸ビニル喪失量とアセトアルデヒド出現量を測定し、組織に関する組織化学的情報を反映させた分布パラメータモデルを用いてモデル化した。本モデルにおいて個々のコンパートメントを表すのは、呼吸粘膜および嗅粘膜の上皮細胞、基底細胞、あるいは粘膜下組織とされる。ラット鼻甲介の表面積を、F344 ラット 1 匹由来の鼻道の解剖学的に「正確」な三次元コンピュータモデルを用いて予測した。ヒト鼻甲介の表面積をヒト組織試料から予測した。蒸気は、拡散により空気:組織界面に輸送される。対象組織における酢酸ビニルの蒸気拡散率は、水中におけるその拡散率により概算する。対象組織のサブコンパートメントすべての蒸気拡散率は、同等であるものと仮定する。また、代謝活性は、酵素の組織化学的研究および免疫組織化学的研究の知見に従って、対象の組織コンパートメントにあるものと仮定する。この代謝動態パラメータの推定値を、2 種類の正規の手順を用いたホモジネートの実験から得られた値と比較した。正規の手順により組織構造 (上皮細胞の体積と組織の湿重量との比較) を考慮に入れた場合、動物の組織において、均質化法とガス取り込み法との間に十分な一致を認めることができた。特定の調整法次第で、ラットおよびヒトの呼吸部および嗅部のカルボキシエステラーゼ活性について異なる結果が得られたため、これらの研究から種差に関する明確な結論は下せなかった。ラットおよびヒトの様々な組織におけるカルボキシエステラーゼ活性について、Table 1 に概要を示す。粘膜、血流、補因子の損失が *in vitro* ガス取り込み法では考慮されなかったこと、およびコンピュータモデルの作成にラットを 1 匹しか用いなかったことは、本方法の大きな欠点であった。

#### 口腔におけるカルボキシエステラーゼ活性

酢酸ビニルの加水分解は、雄 F344 ラットおよび雄 BDF マウスを対象に、口腔の様々な領域から得られた口腔粘膜由来ホモジネートにおいて検討された。ホモジネートを様々な濃度 (0.05~10

mM) の酢酸ビニルを用いて 30 分間インキュベートし、アセトアルデヒド産生量を HPLC により定量した。すべての組織領域に酢酸ビニルの加水分解活性があった。ラットとマウスの両種とも、加水分解活性は背内側領域が最も高かった。それ以外の口腔領域の活性は 2~15 倍低かった (Morris *et al.*, 2002)。Table 1 に  $V_{max}$  と  $K_m$  の値を示す。

#### 皮膚におけるカルボキシルエステラーゼ活性

カルボキシルエステラーゼ活性は、ラットおよびヒトの皮膚ミクロソームに留まらず、フロースルー型拡散セルを用いて生存している皮膚においても、各種エステル基質（ただし、酢酸ビニル自体は除く）を用いて測定されている。Clark *et al.* (1993) は、ヒトおよびラットの皮膚ミトコンドリア分画後、(カルボキシルエステラーゼ阻害剤 BNPP 添加時と非添加時とで) 酵素を介したフルアジホップブチルの加水分解について検討した。McCracken *et al.* (1993) は、ラット皮膚のミクロソームおよびサイトゾルにおいて、エステル基質 4 種類の加水分解を検討した。Lobmeier *et al.* (1996) は、ヒト皮膚の様々なコンパートメントに由来するホモジネートにおいて、各種 4-ヒドロキシ安息香酸エステルの加水分解について検討した。Frederick *et al.* (1992) は、ラット皮膚ホモジネートにおいて、酵素を介したアクリル酸エチルの加水分解について検討し、他の組織と比較した。ラットとヒトの皮膚は、いずれもカルボキシルエステラーゼ活性を持つことが立証できた。Table 2 に結果を示す。Frederick *et al.* (1992) による研究結果から、皮膚ホモジネートのカルボキシルエステラーゼ活性は、肺または肝臓より低い血液より高いことが立証され得る。

#### 血液、肝臓、肺におけるカルボキシルエステラーゼ活性

酢酸ビニルは、ヒト血漿および全血の存在下で迅速に分解された。酢酸ビニルの加水分解半減期は、初期濃度に 30~130 ppm (0.33~1.41 mM) を用いた場合、血漿については約 150 秒 (2.5 分)、全血については 210 秒 (3.5 分) であった (0.1 M リン酸緩衝液、pH 7.4、37°C)。反応は酵素を介した加水分解であることを示し、このことは、アセトアルデヒドの化学量論的な形成により明らかにされた (Strong *et al.*, 1980)。

酵素を介した酢酸ビニルの加水分解について、ラット肝臓および肺由来ミクロソーム、ラットおよびヒトの血漿、3 種類の精製エステラーゼ (アセチルコリンエステラーゼ、ブチリルコリンエステラーゼ、カルボキシルエステラーゼ) を用いた *in vitro* 試験が行われた。37°C、pH 8.0 でインキュベーションを実施した。 $K_m$  および  $V_{max}$  の測定用にデザインされた本実験では、酢酸ビニルを 1.2~30 mM の間の様々な濃度とした。反応速度データから、ミクロソーム (ラット肝臓:  $V_{max} = 23 \mu\text{mol}/\text{分}/\text{mg}$  タンパク質、ラット肺:  $V_{max} = 6 \mu\text{mol}/\text{分}/\text{mg}$  タンパク質) および精製カルボキシルエステラーゼ (ブタ肝臓由来) ( $V_{max} = 238 \mu\text{mol}/\text{分}/\text{mg}$  タンパク質) は酢酸ビニルから酢酸を形成でき、ラット血漿 ( $V_{max} = 0.6 \mu\text{mol}/\text{分}/\text{mg}$  タンパク質) およびヒト血漿 ( $V_{max} = 0.7 \mu\text{mol}/\text{分}/\text{mg}$  タンパク質) の酵素活性はこれより低いことが示される (Simon *et al.*, 1985a)。

ラットまたはボランティア由来の血液 1 mL、血漿 0.5 mL、または赤血球 0.5 mL を含有する *in vitro* 系（リン酸ナトリウム緩衝液 0.1 M [pH 7.4] により希釈）から、酢酸ビニル 200  $\mu$ M の分解について 37°C で測定した。酢酸ビニルはヒト血液では 4.1 分、ラット血液では 1 分未満の半減期で消失した。ラット血漿の酢酸ビニルは 1.2 分の半減期で加水分解された。ラット血漿に BNPP を添加してプレインキュベーションすると、消失速度が低下したことから、この反応はカルボキシルエステラーゼにより触媒されることが示唆された (Fedtke and Wiegand, 1990)。

Frederick *et al.* (1992) は、様々なラット組織由来の組織ホモジネートにおいて、アクリル酸エチルによる加水分解結果を比較した。結果を Table 2 : (酢酸ビニル以外の基質に基づく) カルボキシルエステラーゼ活性に示す。

Table 1: summary of vinyl acetate hydroxylase activities (carboxyl esterase activities) in human and animal tissues

Tissue	$K_m$	$V_{max}$	Literature
rat respiratory tissue (determined in homogenates from respiratory mucosa)	0.43 mM in males 0.30 (0.34)* mM in females	22.03 [ $\mu\text{mol}/\text{mg prot}/\text{min}$ ] in males 23.86 (25.14)* [ $\mu\text{mol}/\text{mg prot}/\text{min}$ ] in females	Bogdanffy and Taylor, 1993
mouse respiratory (determined in homogenates from respiratory mucosa)	0.42 mM in males 0.76 (0.93)* mM in females	29.6 [ $\mu\text{mol}/\text{mg prot}/\text{min}$ ] in males 46.3 (51.78)* [ $\mu\text{mol}/\text{mg prot}/\text{min}$ ] in females	Bogdanffy and Taylor, 1993
rat respiratory tissue (determined in homogenates from respiratory mucosa, scaled to whole tissue based on wet weight)	0.037 mg/ml	35.7 mg/h	Bogdanffy et al., 1998
rat respiratory tissue (determined in homogenates from respiratory mucosa, scaled to whole tissue based on epithelial volume)	0.037 mg/ml	64.9 mg/h	Bogdanffy et al., 1998
rat respiratory tissue (determined by the gas uptake technique, scaled to whole tissue based on wet weight)	0.04 mg/ml	10.8 mg/h	Bogdanffy et al., 1998
rat respiratory tissue (determined by the gas uptake technique, scaled to whole tissue based on epithelial volume)	0.04 mg/ml	63.0 mg/h	Bogdanffy et al., 1998
Human respiratory tissue (determined by the gas uptake technique, scaled to whole tissue based on epithelial volume)	0.05 mg/l	441 mg/h	Bogdanffy et al., 1998
Human respiratory tissue (determined by the gas uptake technique, activity per specimen (middle turbinate))	0.05	1.5 mg/h	Bogdanffy et al., 1998
Human respiratory tissue (determined by the gas uptake technique, based on epithelial cell volume)	0.05	0.57 mg/h/mm <sup>3</sup>	Bogdanffy et al., 1998

Tissue	$K_m$	$V_{max}$	Literature
rat olfactory (determined in homogenates from respiratory mucosa)	0.33 (0.55)* mM in males 0.2 (0.51)* mM in females	88.8 (113.5)* ( $\mu\text{mol}/\text{mg prot}/\text{min}$ ) in males 91.52 (135.52)* ( $\mu\text{mol}/\text{mg prot}/\text{min}$ ) in females	Bogdanffy and Taylor, 1993
mouse olfactory (determined in homogenates from respiratory mucosa)	0.52 (1.07)* mM in males 0.31 (0.41)* mM in females	164.6 (253.8)* ( $\mu\text{mol}/\text{mg prot}/\text{min}$ ) in males 95.5 (107.56)* ( $\mu\text{mol}/\text{mg prot}/\text{min}$ ) in females	Bogdanffy and Taylor, 1993
rat olfactory tissue (determined in homogenates from olfactory mucosa scaled to whole tissue based on wet weight)	0.028 mg/ml	133.1 mg/h	Bogdanffy et al., 1998
rat olfactory tissue (determined in homogenates from olfactory mucosa scaled to whole tissue based on epithelial volume)	0.028 mg/ml	39.9 mg/h	Bogdanffy et al., 1998
rat olfactory tissue (determined by the gas uptake technique, scaled to whole tissue based on wet weight)	0.05 mg/ml	5.8 mg/h	Bogdanffy et al., 1998
rat olfactory tissue (determined by the gas uptake technique, scaled to whole tissue based on epithelial volume)	0.05 mg/ml	45.4 mg/h	Bogdanffy et al., 1998
Human olfactory tissue (determined by the gas uptake technique, scaled to whole tissue based on epithelial volume)	0.05 mg/ml	45.0 mg/h	Bogdanffy et al., 1998
Human olfactory tissue (determined by the gas uptake technique, activity per specimen (dorsal meatus))	0.05 mg/ml	0.9 mg/h	Bogdanffy et al., 1998
Human olfactory tissue (determined by the gas uptake technique, scaled to epithelial cell volume)	0.05 mg/ml	1.94mg/h/mm <sup>3</sup>	Bogdanffy et al., 1998
Rat oral cavity mucosa	0.49 mM (dorsal interior mucosa) 0.41 mM (dorsal exterior mucosa)	90 nmol/min (dorsal interior mucosa) 50 nmol/min (dorsal exterior mucosa)	Morris et al., 2002

Tissue	$K_m$	$V_{max}$	Literature
Mouse oral cavity mucosa	0.97 mM (dorsal interior mucosa) 0.91 mM (dorsal exterior mucosa)	24 nmol/min (dorsal interior mucosa) 2.6 nmol/min (dorsal exterior mucosa)	Morris et al., 2002
rat liver microsomes	0.73 mM	23 $\mu$ mol/mg prot/min	Simon et al., 1985
rat lung microsomes	6.1 mM	6.2 $\mu$ mol/mg prot/min	Simon et al., 1985
rat plasma	4 mM	0.56 $\mu$ mol/mg prot/min	Simon et al., 1985
human plasma	7.1 mM	0.69 $\mu$ mol/mg prot/min	Simon et al., 1985
Rat liver homogenates	Not given in the report	133.3 $\mu$ mol/min/g liver (homogenate)	Strong et al., 1980
Mouse liver homogenates	Not given in the report	140.0 $\mu$ mol/min/g liver (homogenate)	Strong et al., 1980

\*values in brackets: different equations have been used for calculation; see Bogdanffy and Taylor, 1993.

Table 2: carboxylesterase activities (based on substrates other than vinylacetate)

Tissue	Substrate	$K_m$	$V_{max}$	Literature
rat respiratory mucosa	p-nitrophenylbutyrate	20.8 mM (males) 20.9 mM (females)	0.099 $\mu$ mol/mg prot/min (males) 0.106 $\mu$ mol/mg prot/min (females)	Bogdanffy et al., 1987
rat olfactory mucosa	p-nitrophenylbutyrate	34.1 mM (males) 31.2 mM (females)	0.605 $\mu$ mol/mg prot/min (males) 0.593 $\mu$ mol/mg protein/min (females)	Bogdanffy et al., 1987
mouse respiratory mucosa	p-nitrophenylbutyrate	40.4 mM (males) 25.6 mM (females)	0.174 $\mu$ mol/mg prot/min (males) 0.124 $\mu$ mol/mg protein/min (females)	Bogdanffy et al., 1987
mouse olfactory mucosa	p-nitrophenylbutyrate	23.1 mM (females) 21.8 mM (females)	0.467 $\mu$ mol/mg prot/min (males) 0.444 $\mu$ mol/mg pro/min (females)	Bogdanffy et al., 1987
Rat respiratory tissue	Methylmetacrylate	0.15 mM (microsomes)	14.3 nmol/mg protein/min (microsomes)	Mainwaring et al., 2001

Tissue	Substrate	$K_m$	$V_{max}$	Literature
			3.5 nmol/mg protein/min (S9)*	
Human respiratory tissue	Methylmethacrylate	Not determined	2.7 nmol/mg protein/min (microsomes)*  0.15 nmol/mg protein/min (S9)*	Mainwaring et al., 2001
Rat olfactory tissue	Methylmethacrylate	0.14 mM (microsomes)	38.6 nmol/mg protein/min (microsomes)  12 nmol/mg protein/min (S9)*	Mainwaring et al., 2001
Human olfactory tissue	Methylmethacrylate	Not determined	0.46 nmol/mg protein/min (S9)*	Mainwaring et al., 2001
Rat liver microsomes	Methylmethacrylate	0.1 mM	46.5 nmol/mg protein/min	Mainwaring et al., 2001
Human liver microsomes	Methylmethacrylate	Not determined	494 nmol/mg protein/min*	Mainwaring et al., 2001
Human skin post-mitochondrial fraction	Fluazifop butyl	420 $\mu$ M  (median from skin samples from different areas; n = 7)	61 nmol/min/g  (median from skin samples from different areas; n = 7)	Clark et al., 1993
Rat skin post-mitochondrial fraction	Fluazifop butyl	248 $\mu$ M $\pm$ 30.6  (mean, n=7)	740 nmol/min/g $\pm$ 90  (mean, n=7)	Clark et al., 1993
Rat skin microsomes	Fluazifop-butyl Carbaryl Paraoxon Phenylacetate	14 $\pm$ 2.8 $\mu$ M  32 $\pm$ 4.2 $\mu$ M   950 $\pm$ 100 $\mu$ M	0.02 $\mu$ mol/min/g  0.2 nmol/min/g  ND  1.13 $\mu$ mol/min/g	McCracken et al., 1993
Rat skin cytosol	Fluazifop-butyl Carbaryl Paraoxon Phenylacetate	42 $\pm$ 2.8 $\mu$ M  36 $\pm$ 3.8 $\mu$ M   340 $\pm$ 50 $\mu$ M	0.4 $\mu$ mol/min/g  0.5 nmol/min/g  ND  3.44 $\mu$ mol/min/g	McCracken et al., 1993
Rat liver homogenate	Ethyl acrylate	1.9 $\mu$ mol/ml tissue	31.7 $\mu$ mol/min/ml tissue	Frederick et al., 1992

Tissue	Substrate	$K_m$	$V_{max}$	Literature
Rat lung homogenate	Ethyl acrylate	1.88 $\mu\text{mol/ml tissue}$	5.3 $\mu\text{mol/min/ml tissue}$	Frederick et al., 1992
Rat skin homogenate	Ethyl acrylate	5.45 $\mu\text{mol/ml tissue}$	0.86 $\mu\text{mol/min/ml tissue}$	Frederick et al., 1992
Rat Arterial blood	Ethyl acrylate	4.6 $\mu\text{mol/ml tissue}$	0.18 $\mu\text{mol/min/ml tissue}$	Frederick et al., 1992

\* the values for rat S9 fractions and for all human tissues are for a single rate measured at a single substrate concentration of 1.0 mM.

## アルデヒドデヒドロゲナーゼ

### 鼻におけるアルデヒドデヒドロゲナーゼ

アルデヒドデヒドロゲナーゼ (ALDH) 活性は、雄 F344 ラット由来の鼻ホモジネート (呼吸粘膜および嗅粘膜から調製) において検討された (Casanova-Schmitz *et al.*, 1984)。アセトアルデヒド添加後最初の 1~5 分間、アセトアルデヒド依存的に形成される NADH を 340 nm で測定することにより、活性を定量した。呼吸粘膜と嗅粘膜の双方で、2 種類のアイソザイムの存在が立証できた。 $K_m$  が高い方の ALDH のアイソザイムは、呼吸組織において嗅覚組織の 5~8 倍であったが、 $K_m$  が低い方の ALDH は、呼吸組織と嗅覚組織の両ホモジネートにおいて同程度であった。アセトアルデヒド蒸気に暴露しても、鼻ホモジネートの酵素活性に有意な変化はない。結果を Table 3 に示す。

雄 B6C3F1 マウス、Sprague-Dawley ラット、Syrian golden ハムスター、Hartley モルモット由来の鼻組織全体のホモジネート (上皮の種類は明記されず) において、Casanova-Schmitz *et al.* (1984) による記載方法に従ってアルデヒドデヒドロゲナーゼ活性が測定された (Morris, 1997)。各動物種の推定  $V_{max}$  値は、当該動物種の予測毎分換気量に標準化された。マウス、ラット、ハムスターのデータは、見かけ上の高親和性と見かけ上の低親和性を持つ 2 種類のアイソザイムがあるという仮説と一致していた。一方、モルモットの鼻ホモジネートでは、1 種類のみ (高親和性) 検出された。(各動物種の予測毎分換気量を高親和性と低親和性の両アイソザイムの  $V_{max}$  合計値と定義し、本換気量に標準化された場合の) 代謝能全体の平均値は、マウス、ハムスター、ラット、モルモットの鼻組織について、それぞれ 0.04、0.16、0.56、0.14  $\mu\text{mol/分/鼻全体}$  となった。 $V_{max}/K_m$  の比は種間に有意差があり、最も低い活性がマウス (0.035  $\mu\text{mol/分/L/分}$ ) に認められた一方、ハムスター (0.13  $\mu\text{mol/分/L/分}$ ) およびラット (0.22  $\mu\text{mol/分/L/分}$ ) の結果は同じ範囲を示した (Morris, 1997)。比較用にこれらのデータも Table 3 に示す。これらのデータは、量的な種差の存在を示していると考えられる。

鼻腔上皮は不均一な細胞集団からなるため、ホモジネートを用いて異物代謝酵素を測定した場合、人為的な結果になることが考えられる。したがって、アセトアルデヒドデヒドロゲナーゼについては、カルボキシルエステラーゼの反応速度定数の比較評価に用いられたのと同様の方法である、ガス取り込み法（鼻におけるカルボキシルエステラーゼ活性の項参照）が適用された（Bogdanffy *et al.*, 1998）。ホモジネート由来の値については、Casanova-Schmitz *et al.* (1984) のデータを用いた。ガス取り込み法により得られたラットのアルデヒドデヒドロゲナーゼ活性の  $K_m$  値および  $V_{max}$  値は、組織ホモジネートを用いて得られた値とは異なっていた。しかし、ホモジネートから得られたデータを、上皮の体積に基づいて鼻全体に調整すると、この2種類の方法により同程度の  $K_m$  値および  $V_{max}$  値が得られた。その結果を Table 3 に示す。

Table 3: summary of acetaldehyde hydroxylase activities in human and animal tissues

Tissue	$K_m$	$V_{max}$	Literatur
rat respiratory tissue  (determined in homogenates from respiratory mucosa)	20 mM (high $K_m$ )  $3 \times 10^{-4}$ mM (low $K_m$ )	128 nmol/mg prot/min (high $K_m$ )  0.8 nmol/mg prot/min (low $K_m$ )	Casanova-Schmitz et al., 1984
rat olfactory tissue  (determined in homogenates from olfactory mucosa)	22 mM (high $K_m$ )  $1 \times 10^{-1}$ mM (low $K_m$ )	28 nmol/mg prot/min (high $K_m$ )  2.2 nmol/mg prot/min (low $K_m$ )	Casanova-Schmitz et al., 1984
rat whole nose homogenates	17 $\mu$ mol/ml (high $K_m$ )  0.03 $\mu$ mol/ml (low $K_m$ )	3.5 $\mu$ mol/min/l/min (high $K_m$ )  0.27 $\mu$ mol/min/l/min (low $K_m$ )	Morris, 1997
mouse respiratory tissue	41 $\mu$ mol/ml (high $K_m$ )  0.07 $\mu$ mol/ml (low $K_m$ )	1.35 $\mu$ mol/min/l/min (high $K_m$ )  0.27 $\mu$ mol/min/l/min (low $K_m$ )	Morris, 1997
hamster respiratory tissue	12 $\mu$ mol/ml (high $K_m$ )  0.02 $\mu$ mol/ml (low $K_m$ )	1.47 $\mu$ mol/min/l/min (high $K_m$ )  0.31 $\mu$ mol/min/l/min (low $K_m$ )	Morris, 1997
guinea pig respiratory tissue	ND (high $K_m$ )  0.1 $\mu$ mol/ml (low $K_m$ )	ND (high $K_m$ )  0.64 $\mu$ mol/min/l/min (low $K_m$ )	Morris, 1997
rat respiratory tissue  (homogenate data from Casanova-Schmitz et al., 1984)	0.8 mg/ml	3.38 mg/h	Bogdanffy et al., 1998
rat olfactory tissue  (homogenate data from Casanova-Schmitz et al., 1984)	0.8 mg/ml	0.94 mg/h	Bogdanffy et al., 1998
rat respiratory tissue  (determined by the gas uptake technique, normalized to tissue)	0.8 mg/ml	4.58 mg/h	Bogdanffy et al., 1998

volume)			
rat olfactory tissue  (determined by the gas uptake technique, normalized to tissue volume)	0.8 mg/l	1.48 mg/h	Bogdanffy et al., 1998
human respiratory tissue  (determined by the gas uptake technique, normalized to tissue volume)	1.1 mg/ml	88.2 mg/h	Bogdanffy et al., 1998
human olfactory tissue  (determined by the gas uptake technique, normalized to tissue volume)	1.1 mg/ml	2.31 mg/h	Bogdanffy et al., 1998
Human oral cavity tissue  (Acetaldehyde as substrate)	75 – 83 mM (high $K_m$ )  0.2 – 33 $\mu$ M (low $K_m$ )		Dong et al., 1996; Yin et al., 1997
Human oral cavity		170 nmol/min/ml tissue  53 $\mu$ mol/hr/ml tissue	Dong et al., 1996
Human esophagus and stomach	75 – 85 mM		Yin et al., 1997
Human saliva  (benzaldehyde as substrate)	85 mM	9 nmol/min/ml saliva  11.75 $\mu$ mol/hr/ml saliva	

#### 消化管におけるアルデヒドデヒドロゲナーゼ

ALDH 活性は、ヒト口腔組織において立証されている (Dong *et al.*, 1996; Yin *et al.*, 1997)。ヒト ALDH はアセトアルデヒド代謝に対する親和性に基づいて、低親和性群 (すなわち、高  $K_m$  [75 ~ 83 mM]) と高親和性群 (すなわち、低  $K_m$  [0.2 ~ 33  $\mu$ M]) の 2 群に分けることができる。Dong *et al.* (1996) は、ヒト口腔の低親和性の ALDH 比活性が、歯肉の基質濃度 20 mM のアセトアルデヒドにおいて 170 nmol/分/mL 組織であると報告しており、これはヒト口腔の ALDH 活性が 53  $\mu$ mol/時間/mL 組織であることにほぼ等しい。ヒト食道および胃にも低親和性 ( $K_m$ : 75 ~ 85 mM) の ALDH 活性が認められる (Yin, 1997)。また、ヒト唾液の ALDH 活性も立証されている。Sreerama らは、ヒト唾液の低親和性の ALDH ( $K_m$  = 85 mM) 比活性が、基質濃度 4 mM のベンズアルデヒドにおいて 9 nmol/分/mL 唾液であると同定したが、これはヒト唾液の ALDH 活性が 11.57  $\mu$ mol/時間/mL であることに等しい (Sreerama *et al.*, 1995)。

鼻および口腔以外の組織におけるアルデヒドデヒドロゲナーゼ

哺乳動物およびヒトには ALDH の型が複数存在する。記載上重要なのは、クラス 1 のサイトゾルアルデヒドデヒドロゲナーゼ (ALDH1)、およびクラス 2 のミトコンドリアアルデヒドデヒドロゲナーゼ (ALDH2) である。ALDH1 および ALDH2 が、ヒトおよび動物の様々な組織において測定された (Uotila and Koivusalo, 1997)。しかし、アセトアルデヒドは、希釈されたヒト (およびラット、マウスの場合も) 血漿または全血の存在下において分解されず、これらの試験系を NAD により強化しても、結果は変わらなかった (Strong *et al.*, 1980)。

ホルムアルデヒドデヒドロゲナーゼ (FAD) と ALDH の両活性を同時に検出するアッセイ法では、酵素活性マーカーとしてのギ酸塩の形成が、正常ヒト気管支上皮細胞および正常ヒト気管支移植片において測定されると考えられる (Ovrebø *et al.*, 2002)。それにも関わらず、ALDH 酵素のみの発現は、これまでヒト上気道組織において測定されてこなかった。ALDH1 と ALDH2 の両酵素が、遊離ホルムアルデヒドについて 0.5 mM の範囲内で  $K_m$  値を示している (Mukerjee *et al.*, 1992)。

シトクロム P450 2E1 (CYP2E1)

CYP2E1 が酢酸ビニルの代謝に関与しているか検討されている。ラットを CYP2E1 阻害剤である硫化ジアリルにより前処置した。鼻組織を切除し、CYP2E1 依存性の p-ニトロフェノールヒドロキシラーゼ活性について測定した。鼻の呼吸部および嗅部のミクロソームについて、CYP2E1 活性を阻害した。しかし、CYP2E1 を阻害しても、鼻における酢酸ビニル抽出には有意な影響を及ぼさなかった。したがって、CYP2E1 は酢酸ビニルの局所代謝に寄与しないと結論付けられた (Bogdanffy *et al.*, 1999a)。これらの研究結果は、それ以前に Simon *et al.* (1985) が、CYP2E1 阻害剤であるジエチルジチオカルバミン酸によりラットを前処置したところ、酢酸ビニルの薬物動態は影響を受けなかったと述べた結果を追認するものである。

グルタチオントランスフェラーゼ/グルタチオン抱合

雌 Chester-Beatty ラットに酢酸ビニルを腹腔内注入したところ、投与から 30 分後の肝グルタチオン濃度が正常値の 77% に低下し (Boyland and Chasseaud, 1970)、肝臓における非タンパク質性のスルフヒドリルについては、同様の低下が酢酸ビニル腹腔内注入後のマウス (300 mg/kg 体重)、Wistar ラット (300 または 450 mg/kg 体重)、モルモット (500 mg/kg 体重) において報告された (Holub and Tarkowski, 1982)。上記に基づく、これらの知見はグルタチオン抱合を示し得ると想定される。しかし、デュポン社ハスケル研究所 (DuPont Haskell Laboratories) の未発表の結果では、酢酸ビニルを補充した栄養培地において、分離した鼻甲介をインキュベートしたところ、グルタチオンの枯渇は認められず、この仮説を追認しなかった。また、グルタチオン含有溶液を添加した酢酸ビニルを直接インキュベートしたところ、ヘッドスペースからの酢酸ビニルの喪失が認められなかったことから、酢酸ビニルはグルタチオンと直ちに反応しないことが示された。ただし、グ

ルタチオン抱合が、きわめて高用量の酢酸ビニルで生じ得ることは排除できないと考えられる。

### 生理学的薬物動態モデリング—吸入

ラット鼻腔における酢酸ビニルの沈着を説明するため、生理学的薬物動態 (PBPK) モデルが構築された。本モデルでは、呼吸粘膜および嗅粘膜における酢酸ビニルの組織暴露、アセトアルデヒド、酢酸について、酢酸ビニル暴露に伴う細胞内 pH ( $pH_i$ ) の変化の可能性を予測したサブモデルを用いて予測する (Plowchalk *et al.*, 1997)。本モデルは、酢酸ビニルの代謝に関する既知データを考慮に入れている (Fig. 1 参照)。

本モデルにおいて、鼻腔は、鼻から流れる 2 つの気流と接する 3 つに分かれた組織コンパートメントにより説明される (Morris *et al.*, 1993; Kimbell *et al.*, 1993)。気流の割合は、背中中間位の気流 (嗅粘膜および呼吸粘膜) について 12%、側方/腹側の気流 (呼吸粘膜) について 88%とした。また、本モデルの気流は一方向流と仮定する。各組織コンパートメントは、粘液、上皮細胞、基底細胞、粘膜下組織を表す層に細分された。嗅粘膜と呼吸粘膜双方の粘液の厚さは、形態計測学的分析に基づき 10  $\mu\text{m}$  と仮定した。呼吸粘膜の厚さは約 40  $\mu\text{m}$  (上皮細胞層 30  $\mu\text{m}$ 、基底細胞層 10  $\mu\text{m}$ ) と予測した。嗅粘膜の上皮層は、支持細胞 (40  $\mu\text{m}$ )、感覚細胞体 (これらの細胞は酢酸ビニル代謝酵素を含まないため対象外)、基底細胞 (10  $\mu\text{m}$ ) からなっていた。

粘膜下層にある酵素活性は、すべて粘膜下細胞層の最初の 20  $\mu\text{m}$  にあるものとした。酢酸ビニルの代謝に関与する酵素は、鼻腔全体に均一には分布しないと仮定する。組織化学的研究 (Bogdanffy *et al.*, 1987) では、呼吸組織のカルボキシルエステラーゼ活性は、主に上皮細胞 (強度)、基底細胞 (中等度) の細胞質にあり、杯細胞とこれを覆う粘液は軽度～軽微であることが示されている。嗅覚組織におけるカルボキシルエステラーゼ活性は、主に上皮支持細胞およびボーマン腺に分布する。これを覆う粘液、基底細胞、神経 (感覚) 細胞は陰性であった。

アルデヒドデヒドロゲナーゼは、主に呼吸粘膜の上皮細胞および基底細胞の免疫組織化学染色により示されており、一方、嗅粘膜の基底細胞およびボーマン腺では軽度～軽微の反応、また、支持細胞および感覚細胞にはなかった (Bogdanffy *et al.*, 1986)。酢酸ビニルの加水分解を触媒するカルボキシルエステラーゼの反応速度定数は、Bogdanffy *et al.* (1993) による *in vitro* 測定結果から予測された (鼻組織のホモジネートを用いて、nmol/分/g タンパク質単位の基準から、鼻全体に関する mg/時間単位に変換)。呼吸粘膜および嗅粘膜のアルデヒドデヒドロゲナーゼの活性速度は、文献 (Casanova-Schmitz *et al.*, 1984) の報告値 (ホモジネート由来、nmol/分/mg タンパク質) について鼻全体を基準に調整することにより予測し、組織のタンパク質含量は 90 mg タンパク質/g、また、組織重量は呼吸粘膜 111 mg/鼻、嗅粘膜組織 141 mg/鼻と仮定した。

鼻組織内のアセチル CoA 合成酵素については、反応速度定数および分布のデータは得られていない。アセチル CoA 合成酵素の  $K_m$  および  $V_{max}$  は、Wistar ラットの筋組織の報告値 (Knowles *et al.*,

1974) から予測された。本酵素は、各組織コンパートメントに均等に分布するものと仮定した。

蒸気は、拡散により空気:組織界面に輸送される。酢酸ビニルの拡散率は、水中におけるエタノールの拡散率から外挿した (Morris *et al.*, 1993)。

鼻腔を介した血液灌流量をモデル化し、鼻全体の灌流速度を 13.2 mL/時間、呼吸組織および嗅覚組織の 2 つの粘膜下層コンパートメントを介した血流のみとした (Morris *et al.*, 1993)。灌流は左右対称であるものとした (6.6 mL/時間)。

薬力学的サブモデルにおいて、細胞内プロトン濃度の低下は細胞内の緩衝能に依存し、pH 依存性の  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  アンチポートにより細胞外コンパートメントに輸送されることが説明された。ラット鼻組織の  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  アンチポートの活性は得られておらず、ヒト白血球のプロトン流出速度対 pH のデータ (Goldsmith and Hilton, 1992) から予測された。

酢酸ビニルを暴露濃度 73~2190 ppm の範囲でラットに 1 時間吸入 (一方向流、100 mL/分) させ、麻酔下で分離されたラット上気道における酢酸ビニルの取り込みおよび代謝を測定するため、一連の *in vivo* 実験 (上記参照、Plowchalk *et al.*, 1997) がデザインされた。これらの実験から得られたデータに、薬量測定モデルが適用された。酢酸ビニルの抽出に関する実験データに適合する最適なモデルは、薬量測定モデルに 2 つ目のカルボキシルエステラーゼ「高親和性経路」を含めた場合に達成された。この高親和性のカルボキシルエステラーゼは、薬量測定モデルの粘液コンパートメントに設定された。組織化学的研究から、この割り付けが裏付けられる (Bogdanffy *et al.*, 1986)。高親和性経路について導かれる反応速度定数は、シトクロム P-450 2E1 に関する低分子量の基質の多くで予測され得る定数と同程度である。しかし、粘液にシトクロム P-450 が存在する見込みはないことから、著者は、提示した高親和性経路がカルボキシルエステラーゼのアイソザイムにより表されることを想定している (Bogdanffy *et al.* 1999a 参照)。

モデルによるシミュレーション (一方向流、188 mL/分、組織積層の最初の上皮コンパートメントに対する酢酸ビニル 6 時間暴露終了時のデータ) により、暴露濃度依存的な酢酸ビニル、アセトアルデヒド、酢酸の組織濃度上昇について、呼吸粘膜に加え嗅上皮粘膜においても予測した (薬量計の酢酸ビニル暴露濃度は 50、200、600、1000 ppm とする)。定常状態における嗅覚組織の酢酸ビニル濃度は、すべての暴露濃度で呼吸組織よりはるかに低いことが予測される。アセトアルデヒドおよび酢酸の濃度は、すべての組織コンパートメントにおいて、酢酸ビニル濃度より約 1~2 桁高いと予測される。

酢酸ビニルの暴露が 600 ppm 以下においては、鼻の嗅上皮および呼吸上皮のアセトアルデヒド濃度は 5 mM 未満であると予測された。細胞内  $\text{pH}_i$  が最も低いのは、呼吸粘膜であると予測された。

酢酸ビニルを 4 種類の濃度 (5、50、200、600 ppm) で 4 時間暴露させた際の感度分析を実施した。

気流および高親和性の代謝に関するパラメータは、ラット鼻による酢酸ビニル取り込みに関して、モデルの最も重要なパラメータである (Plowchalk *et al.*, 1997)。

Bogdanffy *et al.* (1999b) は Plowchalk *et al.* (1997) のモデルを次のとおり拡張した。

- (1) ラット鼻腔の 5 コンパートメントモデルを構築
- (2) ヒト鼻腔の 4 コンパートメントモデルを構築
- (3) 内腔から空気:粘液界面への物質移動に対する気相抵抗を構築

このモデルは、ヒトおよびラットの鼻腔の嗅上皮背側前領域について、具体的に説明するため修正されている。嗅部コンパートメント先端部への酢酸ビニルの流量をより正確に明らかにするため、ラットの 5 コンパートメントモデルでは嗅部を 2 つのコンパートメントに分け、小型の背側前コンパートメント (嗅部 1) とより大型の後側コンパートメント (嗅部 2) としている。腹側の呼吸粘膜も分けられている。本モデルは、物質移動に対する気相抵抗を取り入れている。Plowchalk *et al.* (1997) のモデルでは、気相と粘液相との平衡が想定された。ラットおよびヒトの嗅粘膜および呼吸粘膜からなる各種細胞層の厚さについて、詳細な定量的予測が Bogdanffy *et al.* (1998) により示されている。特定のコンパートメントに対する酵素の分布は、組織化学的局在性に基づいたものであり、Plowchalk *et al.* (1997) により詳細に説明されている。カルボキシルエステラーゼおよびアルデヒドデヒドロゲナーゼの酵素反応速度定数は、*in vitro* ガス取り込み法において全組織から得られた (Bogdanffy *et al.*, 1998)。ラットの場合、*in vivo* における酢酸ビニルの沈着データ (ラット鼻における気流: 100 mL/分、暴露濃度の範囲: 75~1500 ppm) から、高親和性のカルボキシルエステラーゼ経路が最適化された。これらの値をヒトに取り入れ、ラットとヒトとの組織量の差を説明するため調整を行った。アセチル CoA 合成酵素の  $K_m$  および  $V_{max}$  は、Wistar ラットの筋組織の報告値 (Knowles *et al.*, 1974) から予測され、表面積に基づいてヒトに調整された。物質移動係数は、ラットおよびヒトの鼻腔における混成の数値流体力学的シミュレーション由来の結果 (Frederick *et al.*, 1998) である。血液灌流量は、心拍出量および表面積に基づいた鼻部を基準に複数の種について調整された。鼻部の総灌流量は心拍出量の 0.3% と予測され、これは実測値 (Stott, 1983) との比較において遜色がない。細胞内酸性化予測用の薬力学的サブモデルは、Plowchalk *et al.* (1997) により説明された。PBPK モデルを用いて、酢酸ビニル暴露濃度 50、200、600 ppm において酢酸ビニル代謝中に産生される酢酸、アセトアルデヒド、プロトンの細胞内蓄積について検討した。酢酸ビニル暴露濃度 600 ppm 以下では、ラットの嗅部 1-コンパートメントおよびヒトの嗅部単一コンパートメントにおけるアセトアルデヒド濃度は、2 mM 未満であると予測された。ラットとヒトの双方で嗅部の酸性化が予測される。酢酸ビニル 1 ppm 吸入当たりの細胞内 pH の変化は、ヒト嗅上皮の方がラットよりわずかに大きいと予測される。呼吸部のコンパートメントの結果は示されていない。

ヒトモデルの適用に向けた検証データを提示するため (Bogdanffy *et al.*, 1999b)、酢酸ビニルのヒト吸入暴露が管理下で実施された (Hinderliter *et al.*, 2005)。ボランティア 5 名 (女性 2 名、男性 3 名) の鼻咽頭腔にプローブを挿入し、空気を採取した。ボランティアには、2%リドカインおよび 0.25%塩酸オキシメタゾリンからなる鼻エアロゾルスプレーを投与し、鼻を介して吸入および呼出するよう指示した。安静中および軽度の運動中に  $^{13}\text{C}1$ 、 $^{13}\text{C}2$  標識酢酸ビニルに 3 種類の暴露濃度 (名目用量 1、5、10 ppm) で暴露させ、その間に試料採取を実施した。鼻咽頭領域から、標識された酢酸ビニルと主要な代謝物であるアセトアルデヒドの双方を、校正済み流量 12 L/時間で採取し、イオントラップ質量分析 (MS/MS) を用いてリアルタイムで分析した。暴露時間の 2~5 分に 0.8 秒ごと測定した結果、すべての呼吸相のデータが得られた。試料採取速度は十分に迅速で、吸気と呼気を含むヒト鼻腔における酢酸ビニルの挙動の多くが捕捉されている。しかし、この試料採取頻度は、呼吸ごとのピーク濃度を正確に捕捉するほど十分に短い間隔ではない。この方法は内因性化合物による干渉がなく、その検出限界は ppb 1 桁レベルにある。音響鼻腔計測法システムを用いて、鼻腔の断面積および断面容積を測定した。この一式のヒト暴露結果により、酢酸ビニルとアセトアルデヒドについて 22000 個を超えるデータ点を持つデータセットが得られた。データ処理が必要とされたため、関連する実験データ (すなわち、二方向流の気流 [呼吸周期] 由来の実験データと、一方向流由来のモデルデータとの比較用のピーク濃度) を同定した。処理後、続いて実験により測定された酢酸ビニルとアセトアルデヒドの両濃度と、過去公表されたヒトモデルを適用して算出された予測濃度が比較された (Bogdanffy *et al.*, 1999b)。実際の暴露濃度においては、PBPK モデルが用いられた。それ以外は、ヒト鼻モデルで提示されたパラメータと同一とした。感度分析では、気相濃度は組織:空気分配係数、鼻における気流、および粘液層の代謝能に最も高感度であることを示している。個人別ボランティアの暴露ごと (すなわち、3 回の安静時間および 3 回の軽度の運動時間) のデータは、本モデルのシミュレーション結果と共に、平均値と標準偏差により明らかにした。気道における両化合物の濃度は、本モデルの予測どおり線形であると思われる。酢酸ビニルの沈着に関するデータセットでは、実験による測定濃度は、本モデルにより予測されたピーク濃度に近似している ( $r=0.9$ )。アセトアルデヒドのデータは、これより幾分精度が低いが適合している ( $r=0.6$ )。著者は、呼吸数の増加により、分析の設定上ピーク濃度測定結果の正確性がより低下するという問題を生じたと説明している。我々の見解では、その予測精度は妥当である。実験データのばらつきを考慮すると、個人間に有意なばらつきはなく、運動状態に基づいた鼻咽頭の酢酸ビニルおよびアセトアルデヒドの濃度にも有意差は認められない。これらの結果が示すとおり、ヒト鼻モデル (Bogdanffy *et al.*, 1999) では、ヒト鼻咽頭腔の気流中の酢酸ビニル濃度およびアセトアルデヒドの排出に関する実験観察結果が 1~10 ppm の濃度範囲で予測される。

### 生理学的薬物動態モデリングー上部消化管

マウス、ラット、ヒトを対象に飲料水を介して酢酸ビニル摂取後、上部消化管における酢酸ビニルの摂取および代謝を説明するため、生理学的薬物動態 (PBPK) モデルが構築された (Sarangapani, 2001)。本モデルでは、上部消化管について 3 つのコンパートメント (口腔、食道、前胃のそれぞれ

れ1つずつ)を用いて説明する。各コンパートメントは3層の下部構造に分けられる。最上部の内腔層は摂取した酢酸ビニルの通路となり、中間部の上皮層は酢酸ビニルの毒性に関する標的組織を形成し、その下部で血液灌流を伴う粘膜下層は酢酸ビニルおよびその代謝物を排除する。本モデルは、酢酸ビニルの代謝に関する既知経路を考慮に入れている (Fig. 1 参照)。酢酸ビニル暴露に伴う細胞内 pH<sub>i</sub> の変化を説明するため、薬力学的サブモデル (PD モデル) が構築された (「生理学的薬物動態モデリングー吸入」の項も参照)。定常状態における上皮細胞の pH は、細胞代謝により負荷する酸の割合、細胞緩衝液の強度、特別な機構に起因するプロトン輸送速度間のバランスにより決まる。本 PD モデルでは、細胞内緩衝液は、緩衝液として炭酸水素塩およびリン酸塩を含有する閉鎖系であるものと仮定する。

ラットおよびマウスでは、上部消化管の上皮組織および粘膜下組織の厚さを組織切片から測定した。ヒト組織の厚さは、ラットと同一であると仮定した。Morris *et al.* (2002) は、複数の組織試料のホモジネートにおいて、ラットおよびマウスの口腔組織のカルボキシルエステラーゼ活性を測定した (「*In vitro* データ」の項参照)。その複合活性値は、組織の体積について調整された。食道および前胃のカルボキシルエステラーゼ活性は測定されなかった。ヒトの活性は、マウスの値を相対成長測定学的にヒトに調整することにより得られた。ヒト口腔組織では、アルデヒドデヒドロゲナーゼ (ALDH) 活性が示されている (Dong *et al.*, 1996; Yin *et al.*, 1997)。ラットおよびマウスの口腔における ALDH 活性速度は、ヒトと同等であるものとした。アセチル CoA 合成酵素活性は、Wistar ラットの筋組織の報告値 (Knowles *et al.*, 1974) から採用された。モデルのそれ以外のパラメータは、入手可能な文献からの入手 (拡散率、心拍出量、表面積) か、実験研究からの予測 (摂水) のいずれかとした。PD-サブモデルに関するアンチポートのパラメータは、ラット血管筋培養細胞またはヒトリンパ球の値から予測された。

PBPK モデルを用い、飲料水中の濃度範囲 400~10000 ppm の酢酸ビニルを暴露した場合、3つの組織コンパートメントの上皮細胞層において酢酸、アセトアルデヒド、細胞内プロトンが示す濃度について、定常状態での濃度 (24 時間暴露時) を予測した。上部消化管に沿って前側の組織コンパートメント (口腔) は、食道および前胃と比較した場合、ラットとマウスの双方 (ラットのデータは提示されず) で酢酸ビニルの取り込みが最も多い組織である (前後勾配)。酢酸ビニル、アセトアルデヒド、酢酸の濃度は、本試験で用いられた3つの暴露濃度について、マウス口腔の組織層全体で低値を示している。マウス口腔上皮組織において中間的に形成されるアセトアルデヒドの量は、酢酸ビニル 400 ppm および 2000 ppm 暴露時にそれぞれ約 0.16、0.63 mM であると予測される。本 PBPK モデルは上部消化管に焦点を当て、全身の構成要素を対象とはしないが、粘膜下組織から体循環に排出される酢酸ビニルおよびその代謝物は軽微であろうと、本モデルから結論を下せると考えられる。細胞内プロトン濃度については、本モデルから得られた暴露-用量関係は S 字形になる。安静相のプロトン濃度から得られる pH では、酢酸ビニル 400 および 2000 ppm 暴露時、pH がそれぞれ約 0.4、0.7 単位低下する。Bogdanffy (2001) は、分離した新鮮ラット肝細胞を酢酸ビニルに暴露させ、細胞内 pH の一過性的変化を観察することによりこの細胞内酸性化の作用を立証し、その立証に、分離した肝細胞の細胞質内にある pH 感受性蛍光マーカーを用

いた。

感度分析では、本モデルから予測される体内における用量の測定値は、口腔のエステラーゼ活性、組織厚、およびアンチポート特性に対し感度が高いことを示している。口腔のエステラーゼ活性および口腔の組織厚の値は、ラットおよびマウスについては得られているが、ヒトについては得られていない。同様に、ラット血管筋培養細胞およびヒトリンパ球のアンチポート特性は得られているが、口腔上皮細胞特異的なアンチポートデータは得られていない。こうした入手できないデータがあることから、ヒトの体内における用量の測定値に関する正確なばらつきは、このマウス PBPK モデルから正確に予測できない。

### **結論：**

酢酸ビニルをラットに吸入暴露および経口暴露させると、カルボキシルエステラーゼにより迅速かつ効率的に加水分解され、酢酸およびアセトアルデヒドを形成し、アセトアルデヒドは、アルデヒドデヒドロゲナーゼ存在下でさらに酢酸に変換される。アセトアルデヒドおよび酢酸に関するさらなる情報は、別の報告書から入手できる（例えば、ドイツ MAK 委員会 [職業環境における有害化学物質に関するドイツ学術振興会委員会] により作成された報告書）。

分離されたラット上気道において、酢酸ビニルの *in vivo* 取り込みが測定された（麻酔下のラット、一方向流、1 時間暴露）。気流から消失する酢酸ビニルの最高値は、最低暴露濃度において得られた。酢酸ビニル暴露濃度 76 ppm 以下では、94%を超える抽出が認められた。暴露濃度が上昇（76 ppm から 550 ppm）すると、抽出は約 40%に漸減し、濃度約 2000 ppm を限度にこの抽出レベルを維持した。血流抽出については、酢酸ビニルの沈着に及ぼす影響が、カルボキシルエステラーゼ活性なしで酢酸ビニル暴露をシミュレーションすることにより算出された。血流抽出では、酢酸ビニルの沈着全体の 15%未満を占めることが立証できた。したがって、吸入による取り込みを 15%にするのは、全身に及ぼす影響に関するリスクを特徴付ける場合の最悪のシナリオと捉えることができる。一方、酢酸ビニルは、血中で 1 分未満～4.1 分の半減期で分解され得ることに留意すべきである。

<sup>14</sup>C-酢酸ビニル 297 mg/kg 体重を経口投与後、投与された放射能の 63%が呼気、尿、糞便中に代謝物として排泄された。酢酸ビニルが上部消化管上皮において代謝できることに基づくと、相当な範囲の代謝が体循環前に生じると仮定でき、このことは経口投与における PBPK モデルにより裏付けられる（下記参照）。本モデルでは、体循環に排出される酢酸ビニルおよびその代謝物は軽微であろうとの結論が導かれた。したがって、吸収を 63%とした場合、全身で利用可能な量の酢酸ビニルを過大評価していると考えられる。一方、酢酸ビニル経口暴露用に構築された本 PBPK モデルは、全身の構成要素を対象としておらず、さらに本モデルは、動物およびヒトの組織のカルボキシルエステラーゼに関する妥当なデータなしで構築された。上部消化管のカルボキシルエステラーゼが、鼻組織のカルボキシルエステラーゼ活性に比べ低いことに基づくと、経口摂取後に

全身で利用可能な酢酸ビニルの量は、最悪の場合として 50%の吸収であると想定できる。しかし、全身で利用可能な酢酸ビニル代謝物（アセトアルデヒド、酢酸）については、明確な仮説を立てられない。

経皮暴露後の酢酸ビニルおよびその代謝物の全身的な生物学的利用能については、妥当な定量データがない。ただし、ウサギを対象にした急性皮膚試験 1 件、および皮膚のカルボキシルエステラーゼ活性が鼻や口腔に比べ低いことに基づく、酢酸ビニルおよび/または酢酸ビニル由来の代謝物の全身的な生物学的利用能は、経皮暴露後の方が経口暴露時または吸入暴露時に比べ高いことが想定できる。したがって、皮膚における吸収を 90 %として、リスクの特徴付けに進むべきである。

ヒトおよびラットの鼻甲介全体を用いて、鼻の呼吸組織および嗅覚組織の *in vitro* 局所代謝試験が行われた。この試験では、ラットとヒトとの間に、鼻の呼吸組織におけるカルボキシルエステラーゼ活性の種差が示された。この種差は、データの提示方法（試料当たりの活性、上皮細胞体積当たりの活性、鼻全体に調整された活性）により変動した。したがって、鼻の呼吸組織におけるカルボキシルエステラーゼ活性に関する種差の大きさについては、これらの研究から明確な結論を下せない。呼吸上皮におけるラットのアルデヒドデヒドロゲナーゼ活性は、ヒトの約 2 倍であった。ラット嗅覚組織の酵素（カルボキシルエステラーゼおよびアルデヒドデヒドロゲナーゼ）活性は、ヒトとほぼ同等であった。両酵素の  $K_m$  値については、ヒトとラットとの種差はない。マウス、ラット、ハムスター、モルモット由来の鼻全体の組織ホモジネートにおいて、測定されたアルデヒドデヒドロゲナーゼ活性をみると、動物種別の  $V_{max}/K_m$  の比に有意差が示され、種差の存在が認められた。

酢酸ビニルの加水分解を検討する *in vitro* 試験が、ラットおよびマウスの口腔由来の口腔粘膜組織において行われた。口腔組織の加水分解活性は、鼻組織より 100 倍以上低い。

ラット鼻腔の酢酸ビニルの沈着について説明する、生理学的薬物動態モデルが構築された。本モデルでは、6 時間暴露継続後の代謝物である酢酸の定常状態における濃度が、もう 1 つの代謝物であるアセトアルデヒドより呼吸組織では約 13 倍、嗅覚組織では約 2 倍高いと予測される。酸の濃度はプロトン濃度の指標であることから、本モデルでは、呼吸粘膜の細胞内  $pH_i$  の低下が最大であると予測される。したがって、呼吸組織の pH による影響は、他の組織より顕著であるはずである。ラット用のこの生理学的毒物動態/毒力学モデルは、ヒトとラット双方の鼻腔の嗅上皮について説明するため修正されたものである。細胞内 pH の変化は、ヒト嗅上皮の方がラットよりわずかに大きいと予測される。本モデル用の検証データを提示するため、酢酸ビニル吸入暴露濃度 1、5、10 ppm のヒト暴露が管理下で実施された。ボランティア 5 名の鼻咽頭腔にプローブを挿入し、鼻を介した二方向流の呼吸時に空気を採取した。標識された酢酸ビニルとアセトアルデヒドについて、イオントラップ質量分析による測定結果から得られたデータは、ヒト鼻モデルのシミュレーションデータと比較された。酢酸ビニルのデータは、十分に適合することが立証された。

( $r = 0.9$ )。アセトアルデヒドのデータは、これより幾分精度が低いと適合している。これらの結果が示すとおり、ヒト鼻モデルでは、ヒト鼻咽頭腔の気流中の酢酸ビニル濃度およびアセトアルデヒドの排出に関する実験観察結果が 1~10 ppm の濃度範囲で予測される。ただし、本モデルには、モデルの確立に用いられた酵素反応速度データに不確定要素がある。したがって、本モデル由来の薬物動態 (PK) および薬力学 (PD) に関するアウトカムデータには、留意すべきである。

経口経路による酢酸ビニルの取り込み、代謝、細胞内 pH の低下を予測するため、マウス、ラット、ヒトの上部消化管について、薬力学的サブモデルを用いた同様の PBPK モデルが構築された。本モデルを用い、酢酸ビニルを飲料水中 400~10000 ppm の範囲で暴露させた場合、上皮細胞層において酢酸、アセトアルデヒド、細胞内プロトンが示す濃度について、定常状態での濃度 (24 時間暴露時) を予測した。モデルによる詳細なシミュレーションは、マウスについて示されている。安静相のプロトン濃度から得られる細胞内 pH では、酢酸ビニル 400 および 2000 ppm 暴露時、pH がそれぞれ約 0.4、0.7 単位低下する。ヒトでは入手できないデータ (カルボキシルエステラーゼ活性および組織厚) があることから、ヒトの体内における用量の測定値に関する正確なばらつきは、本 PBPK モデルから正確に予測できない。

#### 4.1.2.2 急性毒性

##### 動物におけるデータ：

酢酸ビニルは、経口暴露および経皮暴露経路による急性毒性は低いが、顕著な急性吸入毒性を示す。

##### 経口

酢酸ビニル（純度に関するデータなし）を用いたラット用量設定試験では、経口半数致死量（LD<sub>50</sub>値）が3.73 mL/kg (= 3470 mg/kg) と判定された。用量8、4、2 mL/kg 体重を1用量当たり5匹のラットに、胃挿管により投与した。8 mL/kg 投与後、24時間以内にすべてのラットが死亡したが、4 mL/kg 投与後24時間以内の死亡例は5匹中3匹であり、また2 mL/kg 投与後の死亡例は認められなかった。臨床徴候には不活発が挙げられ、肉眼所見では両肺および腹部内臓全体にうっ血が認められ、肝臓が斑状であった（さらなるデータ提示なし）（Mellon Institute, 1969）。

トラガント添加2%および20%酢酸ビニル乳濁液を用いた試験結果から、ラットに同様の経口LD<sub>50</sub>値である3.76 mL/kg（約3500 mg/kg）が得られ、呼吸困難、振戦、無関心、下痢が認められた。剖検では、肉眼的変化が認められなかった（さらなるデータ提示なし）（BASF AG, 1967）。

##### 皮膚

酢酸ビニル（純度に関するデータなし）のウサギ用量設定試験では、皮膚LD<sub>50</sub>値が8.0 mL/kg (= 7440 mg/kg) であることが示された。1用量当たり4匹のウサギ（用量：4、8、16 mL/kg 体重）の体幹を刈毛し、無傷の皮膚に不浸透性シート下で酢酸ビニルを保持し、24時間の接触時間中固定した。動物をフードに入れ、酢酸ビニル蒸気の吸入を防ぐため、頭部を実験室内に突き出した。16 mL/kg による閉塞適用後、すべての動物が死亡した（臨床徴候：15～30分以内に痙攣、25～70分以内に啼鳴、瞳孔が上向きになる、死亡）。8 mL/kg による閉塞適用後、4匹中2匹が2日以内に死亡した（皮膚の状態：紅斑、浮腫、壊死）。4 mL/kg による閉塞適用後、死亡も臨床徴候も認められなかった。しかし、肉眼所見として、両肺および肝臓のうっ血、斑状になった脾臓および片腎、顕著な肝腺房が認められた（Mellon Institute, 1969）。

##### 吸入

急性吸入に関するラット用量設定試験では、半数致死濃度（LC<sub>50</sub>値）が4490 ppm (= 15.8 mg/L/4時間) となった。計量した濃度における酢酸ビニル蒸気については、分析的な確認はされず、らせん状の波状面を持った管に最小限の加熱を行い、管内下方に一定割合で酢酸ビニルの液体を供給し、管に計量した空気を通すことにより発生させた。この蒸気を、1用量当たりラット雄6匹

および雌 6 匹を入れたガラス製暴露チャンバーに供給した（用量：8000、4000、2000 ppm）。8000 ppm 吸入中、すべての雄ラットおよびすべての雌ラットが暴露時間中に死亡した（臨床徴候：10 分で喘ぎ呼吸、25 分で虚脱、50 分～1.5 時間で痙攣および死亡）。4000 ppm 吸入中、雄 6 匹中 2 匹および雌 6 匹中 2 匹が暴露時間中に死亡した（臨床徴候：20 分で努力性呼吸、2.5 時間で痙攣、3 時間で死亡）。2000 ppm 吸入後の死亡例はなかった（臨床徴候：四肢における発赤および刺激性）。2000 ppm 吸入後の肉眼所見では、ラットの両肺および気管に出血を認めたが、顕著な影響はなかった（Mellon Institute 1969）。別の試験では、酢酸ビニル 4000 ppm (= 14.1 mg/L) により、暴露時間 4 時間以内にラット 6 匹中 2～4 匹が死亡した。さらなるデータは提示されていない（Carpenter *et al.*, 1949）。

酢酸ビニル飽和蒸気の吸入により生じる毒性試験（使用温度：20°C）では、暴露から 3 分以内にラット 12 匹中 10 匹が死亡した。飽和蒸気は、5 cm の層の酢酸ビニルを介した空気の吹き込みにより生成され、吸入による死亡例は、暴露から 1 分後 12 匹中 0 匹、3 分後 12 匹中 10 匹、10 分後 6 匹中 6 匹であった。死亡前の臨床徴候には、粘膜に対する重度の刺激性、努力性呼吸、昏睡が挙げられた。剖検では、肉眼的変化が認められなかった（BASF AG, 1967）。

#### ヒトにおけるデータ：

ヒトにおけるデータは得られていない。

#### 結論：

酢酸ビニルの急性毒性については、ヒトにおけるデータが得られていない。ラット試験では、2 件の試験における LD<sub>50</sub> 値はそれぞれ 3470 mg/kg、3500 mg/kg であった。ウサギ用量設定試験から、皮膚 LD<sub>50</sub> 値は 7440 mg/kg であると判定された。よって、酢酸ビニルは、急性経口毒性および急性皮膚毒性に関する EU 基準に従った表示を必要としない。しかし、ラット吸入毒性試験の LC<sub>50</sub> 値は、15.8 mg/L/4 時間および 14.1 mg/L/4 時間となったため、有害性と分類し「R20：吸入すると有害性がある」の表示が必要である。

#### 4.1.2.3 刺激性

#### 4.1.2.4 腐食性

##### 動物におけるデータ：

酢酸ビニルは、皮膚接触期間に応じて、ウサギの皮膚に刺激性または腐食性をもたらすことが証明されている。

酢酸ビニル（安定化、純度 99.9%）の皮膚一次刺激性の可能性について検討し、国際的な試験ガイドラインに従って、ニュージーランド白ウサギ雄 1 匹および雌 2 匹の無傷の皮膚に、本物質 0.5 mL を半閉塞適用した。浮腫は認められず、紅斑に関するスコアの平均値（適用後 24、48、72 時間後に観察）は 0.7/0.3/0 と算出され、すべての動物の紅斑が 3 日後に消失した。腐食作用は、いずれの測定間隔におけるいずれの動物に処置した皮膚にも認められず、本物質関連の影響については他の臨床徴候も観察されなかった（RCC 社 2003a）。

現 EU ガイドラインに類似したウサギによる Draize 皮膚試験において、酢酸ビニルから皮膚刺激性が生じた。ウサギ 6 匹に、それぞれ酢酸ビニルの無希釈液体 0.5 mL を閉塞適用により暴露させた。無傷の皮膚に関する影響には、紅斑（4、24、72 時間後のスコア：1/1/1.5）、および浮腫（4、24、72 時間後のスコア：2.7/2.2/0.3）が挙げられた。4 および 24 時間後の紅斑の観察は、適用部位の赤い染みのため困難であった。72 時間後、1 匹に皮下出血が認められた（Industrial BIO-Test Labs. Inc., 1972）。

さらなる皮膚刺激性試験において、暴露から 5～15 分後に軽度の刺激性、暴露から 20 時間後に壊死が示された。ウサギの数が不明、経皮暴露量が不明の条件下で、無希釈の酢酸ビニルに 1、5、15 分、および 20 時間暴露させた（暴露の種類に関する情報なし）。1 分間の暴露に続く 24 時間後の刺激性の徴候は認められず、5 および 15 分暴露後 24 時間に軽微な紅斑が生じた。20 時間暴露後 24 時間で、軽度の紅斑および軽度の浮腫が認められた。本化合物に 20 時間暴露後 8 日間で、壊死が認められた（BASF AG, 1967）。

8 mL/kg を長時間皮膚閉塞適用したところ、2 日以内にウサギ 4 匹中 2 匹が死亡し、これらの動物の適用部位には壊死が示された（Mellon Institute, 1969, 急性毒性の項参照）。

無希釈の酢酸ビニル（ヒドロキノン 3～5 ppm により安定化）1～2 滴をウサギの両眼に適用したところ、1 時間後に軽度（+）の紅斑および顕著（++）な浮腫、24 時間後に軽度（+）の紅斑および軽度（+）の混濁がみられた。8 日後にはいずれの徴候も認められなかった。被験動物数は示されず、スコアは軽度（+）、顕著（++）、きわめて強力（+++）とされた（BASF AG, 1967）。

ウサギの両眼に軽度の刺激性を生じた酢酸ビニルは、適用後 48 時間以内に可逆性を示した。本試験は、急性眼刺激性に関する現ガイドライン（OECD 405, B.5 92/69 EEC）に従って実施された。量 0.1 mL の無希釈の酢酸ビニル（純度 99.9%）をニュージーランド白ウサギ雄 1 匹および雌 2 匹の左結膜嚢に適用した。適用後 1 時間で、結膜に軽度の発赤および結膜浮腫が認められたが、これらはそれぞれ 48 時間後、24 時間後すべての動物において完全な可逆性を示した。角膜混濁および虹彩の変化は認められなかった。24、48、72 時間後に測定されたスコアの平均値を分類との関連で見ると、発赤については 1/0/0、結膜浮腫、角膜混濁、虹彩については 0/0/0 であった（RCC 社, 2003c）。

無希釈の酢酸ビニル（清澄液、純度の記載なし）0.1 mL をウサギ 5 匹に適用したところ、適用後 24～48 時間で軽度の発赤を示した。3 匹には、24～48 時間後に結膜浮腫が認められた（いずれのスコアもなし）。全体的には、軽度の眼刺激性があると結論付けられた（Hoechst, 1970）。

酢酸ビニルは、ラット気道に重度の刺激性を生じることが証明されている（4.1.2.2 急性毒性、および 4.1.2.6 反復投与毒性の項参照）。

#### ヒトにおけるデータ：

暴露された作業員が、主に皮膚、両眼、気道の局所刺激反応を示している（酢酸ビニル工業による情報、さらなる詳細なし）。それ以外に、ヒトにおける刺激性の影響に関するより具体的な情報は得られていない。

#### 結論：

職業上の使用から得られた一般的な通知を除くと、酢酸ビニルにより生じる刺激性/腐食性について、ヒトにおける具体的なデータは得られていない。

妥当な試験（RCC 社, 2003a および c）のみにより、ウサギの皮膚および両眼に軽度の刺激作用が認められたが、分類されるほどの作用ではない。信頼性が限定的なそれ以前の試験では、長時間の暴露後、顕著な皮膚刺激性または腐食性が示された。

ラット急性吸入試験では、ラット気道における重度の刺激性が立証された。よって、酢酸ビニルには、補遺 I の基準に従って「R37：呼吸器系に刺激性がある」と表示すべきである。2007 年 9 月、分類および表示に関する専門委員会（TC C&L）は R37 に合意した。

#### 4.1.2.5 感作性

##### 動物におけるデータ：

モルモットを対象に、無希釈の酢酸ビニル（市販グレード）により遅発性接触過敏症を生じる可能性について、ビューラー法（Ritz および Buehler の方法を採用）により評価した。本試験は、被験群 20 匹および対照群 10 匹により実施された。

動物を保定器に入れ、市販グレードの無希釈の酢酸ビニル（通常、安定剤としてヒドロキノン 1.5～20 ppm を含有）を用いて、閉塞パッチ（暴露 1 回当たり 6 時間）下で週 3 日惹起させた。2 週間の休止期間後、アセトンに溶解した 25%酢酸ビニルを動物に負荷した。被験群の皮膚反応の発生率および重症度（グレード 1 の反応：軽微であるが融合性、または中等度の斑状の紅斑；グレード±の反応：軽微な斑状の紅斑）は、無処置対照群により生じた結果より高かった。すなわち、本試験のパッチ除去から 24 時間後、被験群 20 匹中 6 匹がグレード 1 の作用、20 匹中 14 匹がグレード±の作用を示し、除去から 48 時間後、被験群 20 匹中 3 匹がグレード 1 の作用、20 匹中 17 匹がグレード±の作用を示した。一方、対照群ではグレード 1 はなく、10 匹中 7 匹にグレード±の作用が認められた。したがって、試験を行った研究機関では、酢酸ビニルはモルモットの皮膚感作物質であると結論付けた。

酢酸ビニルの安定剤であるヒドロキノン（市販グレードの酢酸ビニルは、通常ヒドロキノン 1.5～20 ppm を含有）は、濃縮形態では皮膚感作性を生じると報告されているため、アセトンに溶解したヒドロキノン 5 ppm についても検討した（ビューラー法）。一次負荷後、グレード 1 の反応は生じなかった。ヒドロキノン処置群におけるグレード±の反応（軽微な斑状の紅斑）の発生率（10 匹中 7 匹）が、無処置対照群（10 匹中 7 匹）と比較された。こうした反応の発生率および重症度が、これら 2 群間で本質的に同じであったことから、試験を行った研究機関では、ヒドロキノンによる感作性は惹起されなかったと結論付けた（Hill Top Biolabs Inc., 1995）。

酢酸ビニル（純度 99.9%超）が、局所リンパ節試験（LLNA）において検討された。雌マウス（CBA 系統）各 5 匹からなる計 7 群を用いた。5 群には、アセトン:オリーブ油 4:1 (v/v) に溶解した濃度 5%、10%、25%、50% (w/v) の酢酸ビニルおよび 100%の無希釈液を、各耳垂（左右）の背側に局所適用し、連続 3 日間処置した。陰性対照群は、溶媒のみにより処置した。陽性対照群は、濃度 25%の  $\alpha$ -ヘキシル桂皮アルデヒドにより処置した。各マウスの両耳の適用領域では、耳の厚さを初回適用前、毎日各適用から 24 時間後、および剖検前に測定した。初回局所適用から 5 日後、マウス尾静脈に  $^3\text{H}$ -メチルチミジン（19.8  $\mu\text{C}$ /マウスに相当）を静脈内注射した。静脈内注射から約 5 時間後マウスを屠殺し、耳介のリンパ節を切除後、動物ごとにプールした。単一細胞浮遊液を調製、洗浄後、トリクロロ酢酸を添加し一晩インキュベートした。 $^3\text{H}$ -メチルチミジンの取り込みを、シンチレーションカウンターにより測定した。すべての動物が生存し、全身性の臨床症状は認められなかった。局所炎症反応（耳の厚さの増加）が、溶媒対照群および 5%群を除くすべて

の群に認められた。刺激指数 (SI) は、陽性対照群を除くすべての群で 3 倍未満の上昇となった。SI の値の平均値は、被験群の 5%、10%、25%、50%、100% 溶液および陽性対照群 (25% HCA) について 2.0、2.4、1.9、1.7、1.3、16.6 であった (5%) (RCC 社, 2003b)。

呼吸器感作性に関するデータは得られていない。

#### ヒトにおけるデータ：

酢酸ビニルの生産に携わり平均勤続期間が 15 年を超える化学物質製造オペレータ 21 名には、アレルギー反応が認められなかった。健康全般について評価されたこれらのオペレータは、勤続期間中、空气中濃度約 5~10 ppm のレベルの酢酸ビニルに暴露したと考えられた。酢酸ビニルに接触した作業員 (15.2 年間の暴露の平均値は 17.6~65 mg/m<sup>3</sup>、間欠的には 180 mg/m<sup>3</sup> 近くに暴露) には、アレルギー反応が認められなかった。ただし、パッチテストは実施されなかった (Deese and Joyner, 1969)。

酢酸ビニルの頻回かつ集中的な経皮暴露を受けた作業員には、皮膚アレルギー反応を検出できなかった。ただし、パッチテストは実施されなかった (Wacker-Chemie, 1995a, Klaschka and Vossman, 1994)。

酢酸ビニルは標準的なパッチテストキットの対象とされておらず、このことが、本物質のパッチテストデータが得られていない理由であると考えられる。したがって、上記引用された不確定または陰性のデータは、酢酸ビニルが皮膚接触により感作性を生じないと考えられるという証拠として用いることはできない。

酢酸ビニルがヒトの呼吸器感作性をもたらす可能性については、情報が得られていない。

#### 結論：

職場における酢酸ビニルの取り扱いに起因する皮膚感作性の例は、ここ数年報告されていない。一方、職場でヒトについて得られたデータから、酢酸ビニルの皮膚感作性の可能性を評価する場合、その価値は限られている。本物質には、皮膚感作性の可能性がないという結論を実証する陰性のパッチテストデータがない。陽性の結果がなく適切なデータがないことから、酢酸ビニルには皮膚感作性の可能性がないという結論は下せない。

動物における皮膚感作性試験 (ビューラー法) の結果から、酢酸ビニル (市販グレード) には、中等度の皮膚感作性の可能性があることが示された。局所リンパ節試験 (LLNA) を用いた場合、濃度 5~100% において、陽性の刺激反応は認められなかった。濃度 5% を超える処置後に耳の厚さが増加したことから、長期間の経皮暴露後に皮膚刺激性を認めることが裏付けられる。ただし、

この LLNA により得られた結果は、10%を超える濃度については感作性の可能性を十分に反映していないと考えられる。何故なら、酢酸ビニルがより高濃度になると、アセトン/オリーブ油の割合が低下するため、揮発性の上昇を示すからである。結果として、耳の皮膚に適用された試料は、迅速に蒸発した可能性がある。SI の値をみると、濃度 10%超では一定の減少を得たことから、この仮説が裏付けられる。

全体的には、両試験の結果から、酢酸ビニルの皮膚感作性の可能性はないわけではないことが示され得る。LLNA の結果でも、ビューラー法において認められた弱い～中等度の作用が確認されている。ただし、LLNA では陽性の閾値を超えなかったことから、R43 の分類および表示は不要である。この LLNA では、試験に純粋な酢酸ビニルが用いられたことから、より高い信頼性が得られたが、ビューラー法では市販グレードの被験物質が適用された。さらに、このビューラー法では、試験プロトコルを一部逸脱したため、EU 試験ガイドラインの遵守が十分とはならなかった。

呼吸器感作性については、ヒトにおける試験から直接的な情報は得られていない。広範な使用を考慮すると、いずれの報告もないため、酢酸ビニルは呼吸器感作物質でないと考えられることが示唆される。

#### 4.1.2.6 反復投与毒性

動物におけるデータ：

##### 吸入暴露

- 十分な記載がない試験 (Gage, 1970、研究機関の調査に関するパラメータの詳細なし、摂餌量に関するデータなし、顕微鏡検査を行った臓器および結果の一覧なし) において、Alderly Park ラット雄 4 匹および雌 4 匹からなる複数の群に、酢酸ビニル 100、250、630、または 2000 ppm (360、890、2200、または 7100 mg/m<sup>3</sup>として算出) を 6 時間/日、約 3 週間に 15 日暴露させた (純度のデータおよび暴露チャンバーの詳細なし)。2000 ppm 暴露群では、眼刺激性、鼻刺激性、呼吸困難、体重増加の抑制の徴候が示された (定量データなし)。濃度 2000 ppm において、肺マクロファージ数の増加が認められた。630 ppm 群および 250 ppm 群の雌には、体重増加の抑制もみられた。剖検では正常な臓器が 630 ppm を限度に示され、250 ppm における血液検査および尿検査の結果は正常であることが報告された。それ以外の用量群については、こうした試験データが示されなかった。本短報に基づく、全身作用の無毒性濃度 (NOAEC) は、雌ラットで 100 ppm (360 mg/m<sup>3</sup>)、雄ラットで 630 ppm (2200 mg/m<sup>3</sup>) であった。気道における局所作用の NOAEC は、630 ppm (2200 mg/m<sup>3</sup>) であった。
- 4 週間用量設定試験 (Owen, 1979a,b) において、Sprague-Dawley ラットおよび CD-1 マウスの

雄 5 匹および雌 5 匹からなる複数の群に、酢酸ビニル蒸気 0、50、150、500、または 1000 ppm (0、180、540、1800、および 3600 mg/m<sup>3</sup> として算出) を 6 時間/日、5 日/週暴露させた (被験物質の純度に関するデータなし、暴露チャンバー中のアセトアルデヒド濃度 8 ppm)。1000 ppm において顕著な臨床的影響が認められなかったため、50 ppm 群の投与量を、暴露 8 日目 (マウス) および暴露 10 日目 (ラット) に 1500 ppm (5360 mg/m<sup>3</sup>) に上昇させた。両試験では、血液学的検査、臨床化学検査、および尿検査を取り入れなかった。組織/臓器由来の複数の試料が保存されたが、組織病理学的検査に向けた処理はされなかった。入手可能な報告には、図表が含まれていなかった。150 ppm 暴露マウスおよび 500 ppm 以上に暴露したラットは、用量依存的な頻度および重症度のグレードにより、円背位および呼吸促迫を間欠的に示した。用量依存的な (有意でない) 体重増加の抑制が、すべての投与群の雌ラット、および 50 ppm から変更した 1500 ppm (50/1500 ppm) 群および 1000 ppm 群の雄ラットに認められた。一方、マウスでは、体重増加の平均値がすべての投与群で抑制され、有意差は 1000 ppm 群の雄雌および 50/1500 ppm 群の雌でのみ得られた。剖検では、投与関連の肉眼的異常は認められず、絶対および相対脾臓重量が 1500 ppm 暴露雄マウス、1000 ppm 以上に暴露した雄ラットにおいて減少した。その後、すべての濃度群のマウス呼吸組織について組織病理学的検査を実施したところ、気道上皮の過形成性変化および化生性変化が示された (さらなる詳細なし、Owen, 1980a)。マウスでは濃度 150 ppm 以上、またラットでは 500 ppm 以上において、気道刺激性の臨床徴候がもたらされた。発育遅延が有意でなかったことから、ラットおよびマウスの全身作用の NOAEC は 1500 ppm (5360 mg/m<sup>3</sup>) とされた。ただし、試験パラメータが限定的なことに関してみると、全身毒性作用の記載の信頼性は低かった。気道における局所作用の NOAEC は、マウスでは 50 ppm (180 mg/m<sup>3</sup>)、ラットでは 150 ppm (540 mg/m<sup>3</sup>) であった。

- 酢酸ビニル暴露が鼻上皮細胞の増殖に及ぼす影響について、雄 Sprague-Dawley 由来ラット (5 匹/群) を対象に 0、50、200、600、または 1000 ppm に 1、5、または 20 日間 (6 時間/日、5 日/週) 暴露させ評価した (Bogdanffy et al., 1997)。被験物質の純度は 99.9% であった。不純物は、アセトアルデヒド (100 ppm)、酢酸 (50 ppm)、ヒドロキノン安定剤 (3~7 ppm)、酢酸エチル (300 ppm)、酢酸メチル (200 ppm) からなっていた。気道組織の肉眼的変化について検討した。細胞増殖について、鼻横断面 5 ヶ所の組織病理学的評価、および免疫細胞化学的評価 (最後の暴露から 16 時間後の BrdU 注入に続く BrdU 取り込みレベル) により検討した。摂餌量に関するデータは報告されなかった。1000 ppm 群の平均体重の減少が 3 日目から (最大の減少: 5 日目 [-14%]) 26 日目 (-11%) までみられたのを除き、体重に変化はなかった。1 回暴露後、600 および 1000 ppm 群ラットでは嗅上皮に濃度依存的な軽微~中等度の変性、壊死、剥離、また 1000 ppm 群のみ呼吸上皮に軽微な変性および壊死が示された。5 または 20 回暴露後、嗅粘膜の弱体化および/または組織崩壊による軽度~重度の再生性過形成、時に扁平上皮化生からなる付加的病変がみられ、20 回暴露後のみ嗅神経束に軽微~重度の変性および萎縮が認められた。呼吸上皮には軽微な再生性過形成、また 20 回暴露後のみ軽微な扁平上皮化生が示された。酢酸ビニル 600 および 1000 ppm を 1 回 6 時間暴露後、呼吸上皮および嗅上

皮の基底細胞に、濃度依存的な細胞標識の有意な増加が認められた。標識指数の有意差は、5日間暴露後の呼吸上皮および嗅上皮では認められなかった。20日間暴露後、呼吸上皮の反応は対照群のレベルに近かったが、嗅上皮の反応は600および1000 ppm群では対照群のレベルより有意に高かった。再び基底細胞を標識したが、細胞の付加的な標識は、再生上皮の内腔側領域に認められた。本試験では、鼻に及ぼす影響のNOAECは200 ppm (710 mg/m<sup>3</sup>)であった。

- 90日間吸入試験において、Sprague-Dawley ラットおよびCD-1 マウスの雄10匹および雌10匹からなる複数の群に、濃度0、50、200、または1000 ppm (0、180、710、または3600 mg/m<sup>3</sup>として算出)の酢酸ビニル蒸気(被験物質の純度99.9%)を6時間/日、5日/週暴露させた(Owen, 1980a,b)。高濃度群と対照群のすべての動物に由来する、複数の組織の組織病理学的検査用切片について検討し、鼻甲介(切片の数に関するいかなる情報もなし)を対象にした。マウスでは、低濃度群と中濃度群のすべての動物について、組織病理学的検査の範囲を2レベルの鼻甲介、両肺の3肺葉、3レベルの気管に拡大した。その報告には、組織病理学的検査結果を要約した表が含まれておらず、マウスの試験報告には表形式のデータが全くなかった。鼻粘膜に関する所見は、呼吸上皮と嗅上皮に分けて報告されなかった。摂餌量に関するデータは得られていない。酢酸ビニル1000 ppm暴露群ラットでは、有意な体重増加の抑制(最終的な体重:雄雌双方で-19%)、臨床的影響(呼吸促迫、円背位、被毛の乱れの間欠的発生)、肺体重比の上昇(肺うっ血に起因すると考えられる)、気道の組織形態学的変化(軽度の組織球形肺炎)が生じた。著者は、相対肺重量の増加がうっ血と関連しているとの仮説を立てた。この関連性は、肺うっ血の報告が対照群の偶発的な死亡1例であったことから、妥当ではないように思われる。本ラット試験の質は、対照群および高用量群のほとんどが、好酸球形胃炎および結腸の線虫症により示される寄生虫感染症に罹患しているため、限定的であるとみなされた。両群のラットの多くに、気管支周囲/血管周囲のリンパ過形成、肺胞組織球増殖症/組織球形肺炎、慢性気管炎および慢性喉頭炎、ならびにリンパ節炎が認められた。高用量群ラットの肺胞組織球増殖症の発生率がより高いこと(20匹中19匹に対し対照群20匹中12匹)を除き、検討された臓器に投与関連の毒性作用は認められなかった。—1000 ppmに暴露させたラット雄4匹および雌3匹の鼻切片の嗅部が検討された(Hardisty *et al.*, 1999)。最も重度の病変は前側鼻道の背側中間道(レベルII)に認められ、病変が背側中間道(レベルIIIおよびIV)および第3篩骨甲介の背鼻甲介まで後方に拡大した。病変は、嗅上皮の変性後の萎縮および病巣のびらんにより特徴付けられ、好中球および好酸球の浸潤を伴っていた。最も重度の影響を受けた領域には、粘膜固有層のポーマン腺および神経束の一部喪失が認められた。影響を受けた上皮の再生については、最小限の証拠しか得られなかった。
- マウスでは、酢酸ビニル200 ppmの暴露により、暴露から最初の9日間を通じ、呼吸促迫および円背位の一過性の徴候が生じた。高用量群の雄雌は、被毛の乱れ、円背位、呼吸促迫を示した。高用量群の雌6匹、高用量群の雄3匹、対照群の雄2匹が試験期間中に死亡し、1死亡例を除くすべてがルーチンの採血に関連していた。有意な体重増加の抑制が、高用量群

の雄 (-18%) および雌 (-17%) に認められた。高用量群の雄雌において顕微鏡的变化として認められたのは、鼻道における炎症性の滲出物および好酸性均質物質、鼻甲介における杯細胞過形成による過形成性変化および化生性変化、線毛上皮の損失および上皮萎縮による気管上皮の化生または過形成（であると疑われる）領域、多巣性細気管支炎、気管支拡張症、気管支上皮の化生および過形成、時にみられる細気管支および気管支における滲出液などであった。低用量群マウスの雌 1 匹および中用量群の雌 3 匹に鼻甲介の軽度～軽微な炎症、低用量群の雌 2 匹の鼻道にきわめて軽度の好酸性均質物質の蓄積が認められ、中用量群の雌 2 匹に軽度の細気管支炎が示された。著者は、こうした軽度の変化を対照群に認められた変化と同程度であるとみなしたが、対照群の所見は報告されなかった。類似の病変が時に歴史的対照群に認められることがあるが、その所見は高用量群マウスと一致していた。したがって、この解釈は確定的ではないとみなされる。本試験の限定的なデータに基づくと、全身作用の NOAEC は、ラットでは (1000 ppm において発育遅延がみられたことから) 200 ppm (710 mg/m<sup>3</sup>)、マウスでは (200 ppm 以上において円背位がみられたことから) 50 ppm (180 mg/m<sup>3</sup>) とされた。しかし、円背位が非特異的な毒性作用であると解釈され得るかは不明であり、それどころか、円背位は呼吸器症状と関連しているように思われる。気道における局所作用の NOAEC は、ラットでは、呼吸促迫がみられ肺胞組織球増殖症の発生率がより高いことから 200 ppm (710 mg/m<sup>3</sup>)、またマウスでは、中用量および低用量での気道の形態学的病変は偶発的であると想定されたため、200 ppm における呼吸促迫により 50 ppm (180 mg/m<sup>3</sup>) とされた。

- 慢性毒性/がん原性併合試験 (Owen, 1988; Bogdanffy *et al.*, 1994b) において、雄雌 Sprague-Dawley ラットおよび CD-1 マウスに、濃度 0、50、200、および 600 ppm (0、178.5、714、2142 mg/m<sup>3</sup> に相当) の酢酸ビニル蒸気を 2 年間 (6 時間/日、5 日/週) 吸入暴露させた。動物は 60 匹/性/用量とし、53 週目および 83 週目の中間評価ならびに回復試験 (70 週間暴露後、回復期間 15~16 週間) 用のサテライト群 10 匹/種/性を 3 群準備した。被験物質が含有する不純物は、アセトアルデヒド (65 ppm 以下)、酢酸 (10 ppm 以下)、水 (472 ppm 以下)、ヒドロキノン (1 ppm 以下) であった。サテライト群では、血液学的検査、臨床化学検査、尿検査、肉眼的および顕微鏡的異常に関する検査を 51 週目、81 週目、主試験終了時に実施した。本試験終了時、600 ppm 群のラットおよびマウスには、有意な体重増加の抑制 (入手可能な定量データなし) が認められた (最終的な体重: 雄-10%~雌-15%)。また、200 ppm 群マウス全体の体重増加も、対照群より有意に抑制された (定量データの報告なし)。体重増加の促進が、高用量群雄ラット、高用量群雄マウス、すべての用量群の雌マウスの回復試験群に認められた。両動物種の暴露群は、すべての濃度で被毛粗剛および円背位を示した。血糖パラメータ (高用量群雌ラットの低下) および尿パラメータ (高用量群ラットにおける尿量および pH 値の低下、比重の上昇) に影響がみられ、この影響は、摂餌量および摂水量の減少 (測定値なし) に起因していた。600 ppm 群雌ラットの生存率は対照群より高かった (64% 対 36%) が、全体では両動物種に投与関連の死亡率上昇は認められなかった。

両動物種の暴露関連の影響は、呼吸器系に限定された。高用量群のラット (相対重量) およ

びマウス（絶対および相対重量）では、平均肺重量が増加した。低用量群および中用量群のラットならびに中用量群マウスでも、肺重量に対する影響はあったが、複数の投与間隔の後に生じたその影響には一貫性が認められなかった。雄雌両動物種において、酢酸ビニル 200 および 600 ppm 群の鼻腔、ならびに 600 ppm 群の気管（マウスのみ）および肺には、形態学上の非新生物病変が生じた（Table 4.1.2.6 A および Table 4.1.2.6 B）。さらに、一部の高用量群雌マウスは、喉頭の過形成性病変（正確な罹患動物数のデータなし）を示し、異形成変化を伴う扁平上皮過形成の病巣が雌 1 匹に認められた。一ラットの鼻病変は嗅粘膜に限られ、萎縮および基底細胞過形成からなり、重症例の病変では、呼吸上皮置換、非角化扁平上皮化生、肥厚した浮腫性粘膜下層、神経束およびボーマン腺の喪失、または腺状構造物の過形成を伴っていた。200 ppm 群の病変は、通常嗅上皮により覆われている背側道前部に限られていたか、最も顕著に認められた。600 ppm 群の病変は、嗅上皮の後部に拡大した。この領域では、神経束に似た小型の泡沫状構造物を含む、一連の層別化された未分化上皮、およびボーマン腺腺房細胞に似た一群の上皮細胞が、200 ppm 群の多くのラットおよび 600 ppm 群の少数のラットにおいて明らかにされた。これらのラットは、多くの場合、角化扁平上皮および上皮巣様の陥入を伴っていた。著者は、この結果を完全な再生であるとみなした。—200 および 600 ppm 群のマウスは類似の病変を示したが、嗅上皮が呼吸上皮様細胞により置換され、支持細胞の肥大がより頻発し、感覚細胞の損失を示した点で異なっていた。高用量群マウスにのみ、呼吸上皮の非角化扁平上皮化生、鼻の炎症性浸潤物および滲出液が認められた。また、気管も影響を受け過形成上皮を示し、時に上皮の扁平化、剥離、化生、および線維上皮突起を伴っていた。600 ppm 暴露群の両動物種の肺には、気管支/細気管支上皮の扁平化または剥離がみられ、腔内の線維上皮突起、および肺胞（または間質）に泡沫状または好酸球の外観を持つ色素性マクロファージの蓄積が示された。

ラットおよびマウスの投与関連の鼻病変および肺病変については、中間評価群および回復試験群の結果と主試験で認められた結果とで類似しており、主試験とほぼ同じ発生率で、同一かそれ以下の度合いで生じた。中間評価群および回復試験群のラットには、いずれも両肺の気管支剥離は認められなかった。16 週間の投与休止期間には、ラットおよびマウスの嗅部萎縮の回復は認められなかったが、高用量群マウスでは、炎症性変化および上皮過形成からの回復傾向が示された。マウス回復試験群の気管上皮過形成は認められなかった。

要約すると、酢酸ビニル蒸気 200 ppm 以上の慢性吸入により、ラットおよびマウスの上下気道上皮に細胞毒性作用が生じ、マウスでは鼻炎を伴った。両動物種の気道における局所作用の NOAEC は 50 ppm (180 mg/m<sup>3</sup>) であった。体重増加の抑制に基づくと、全身毒性の NOAEC は、ラットでは 200 ppm (710 mg/m<sup>3</sup>)、マウスでは 50 ppm (180 mg/m<sup>3</sup>) であった。

TABLE 4.1.2.6 A

Summary of statistically significant non-neoplastic changes in lungs and nose in rats: main study

Concentration (ppm):	Incidence of Lesions Other than Tumors <sup>a</sup>							
	Males				Females			
	Control (58)	50 (59)	200 (60)	600 (60)	Control (60)	50 (60)	200 (60)	600 (59)
<b>Lungs:</b>								
Bronchial exfoliation								
very slight	0	0	0	8**	0	0	0	0
slight	0	0	0	26**	0	0	0	4
moderate	0	0	0	2	0	0	0	0
Intraluminal fibrous projections								
very slight	0	0	0	16***	0	0	0	3
slight	0	0	0	14***	0	0	0	28***
moderate	0	0	0	1	0	0	0	8**
severe	0	0	0	0	0	0	0	1
Pigment macrophage								
very slight	1	0	0	0	0	0	0	1
slight	1	3	3	33***	6	4	1	10
moderate	0	0	1	2	0	0	0	4
Peribronchiolar/perivascular lymphoid aggregates								
very slight	5	1	0*	0*	0	1	2	0
slight	15	18	21	14	11	14	14	23*
moderate	1	4	1	2	2	1	2	5
<b>Nose:</b>	(59)	(60)	(59)	(59)	(60)	(60)	(60)	(59)
Olfactory epithelial atrophy								
very slight	0	1	4	0	0	1	4	0
slight	0	2	47***	7*	0	0	23***	18***
moderate	0	0	2	33***	0	0	0	30***
severe	0	0	0	10**	0	0	0	3
Olfactory epithelial squamous metaplasia								
very slight	0	0	0	2	0	0	5	4
slight	0	0	0	12**	0	0	0	26***
moderate	0	0	0	9**	0	0	0	7**
severe	0	0	0	1	0	0	0	0

<sup>a</sup> Figures in parenthesis present the number of animals from which this tissue was examined microscopically. Significance of differences in a pairwise (Fisher's) test between each treatment and control incidence is indicated by \* p < 0.05, \*\* p < 0.01, \*\*\* p < 0.001.

Cited from Bogdanffy et al. (1994b)

TABLE 4.1.2.6 A

Summary of statistically significant non-neoplastic changes in lungs and nose in rats: main study

(Continued)

Concentration (ppm):	Incidence of Lesions Other than Tumors <sup>a</sup>							
	Males				Females			
	Control	50	200	600	Control	50	200	600
Nose:	(59)	(60)	(59)	(59)	(60)	(60)	(60)	(59)
Olfactory epithelial regeneration								
very slight	0	0	3	0	0	0	3	2
slight	0	0	30***	1	0	0	16***	7**
moderate	0	0	2	0	0	0	3	0
Olfactory epithelial inflammatory cell infiltrate								
very slight	0	0	0	1	0	0	0	0
slight	0	0	0	7 *	0	0	0	5*
moderate	0	0	0	1	0	0	0	1
Epithelial nest-like infolds								
very slight	0	0	1	0	0	0	0	0
slight	0	0	15***	5	0	0	5	5*
moderate	0	0	1	5	0	0	0	2
Olfactory epithelial leukocytic exudate								
very slight	0	0	0	0	0	0	1	0
slight	0	0	0	11***	0	0	0	5 *
moderate	0	0	0	2	0	0	1	3
severe	0	0	0	1	0	0	0	0
Basal cell hyperplasia								
very slight	2	5	3	1	0	0	7*	0
slight	0	0	40***	21***	0	0	24***	35***
moderate	0	0	11***	22***	0	0	3	16***
severe	0	0	0	2	0	0	0	0
Turbinate leukocytic exudate								
very slight	0	2	0	0	1	1	3	1
slight	4	8	5	5	4	3	3	7
moderate	3	6	3	8	0	1	1	7 **
severe	0	0	0	1	0	0	0	0
Submucosal inflammatory cell infiltrate								
slight	2	0	1	2	0	0	0	0
moderate	1	3	1	6	0	0	0	5 *
severe	0	0	0	1	0	0	0	0
very severe	0	0	1	0	0	0	0	0

<sup>a</sup> Figures in parenthesis present the number of animals from which this tissue was examined microscopically. Significance of differences in a pairwise (Fisher's) test between each treatment and control incidence is indicated by \* p < 0.05,

\*\* p < 0.01, \*\*\* p < 0.001, cited from Bogdanffy et al. (1994b)

TABLE 4.1.2.6 B

Summary of statistically significant non-neoplastic changes in lungs and nose of mice: main study

Concentration (ppm):	Incidence of Lesions Other than Tumors <sup>a</sup>							
	Males				Females			
	Control	50	200	600	Control	50	200	600
<b>Lungs:</b>	(51)	(51)	(56)	(53)	(56)	(55)	(55)	(51)
Accumulation of alveolar macrophages								
very slight	5	1	4	3	5	2	6	1
slight	10	2 *	4	7	3	8	4	10
moderate	0	4	8 **	4	2	1	1	12 **
severe	1	1	4	0	1	3	1	1
Intra-alveolar eosinophilic material								
very slight	0	0	3	1	0	0	2	1
slight	3	1	1	19 ***	0	0	0	7 **
moderate	0	0	0	10 **	0	0	1	15 ***
severe	0	0	0	2	0	0	0	1
Accumulation of brown pigmented macrophages								
very slight	2	2	1	11 *	3	5	1	2
slight	0	0	5	12 ***	1	1	4	21 ***
moderate	0	0	1	1	0	0	0	2
Intraluminal fibroepithelial projections								
very slight	0	1	2	3	1	0	0	6
slight	0	0	0	17 ***	0	2	1	19 ***
moderate	0	0	0	3	0	0	0	7 **
Bronchial gland dilatation	14	16	26	17	8	17	20 *	15
Bronchial/bronchiolar epithelial flattening and/or exfoliation								
very slight	0	0	0	4	0	0	0	4 *
slight	1	0	0	25 ***	0	0	0	28 ***
moderate	0	0	0	7 *	0	0	0	4 *
severe	0	0	0	0	0	0	0	1
Bronchial/bronchiolar epithelial disorganisation								
very slight	0	0	0	0	0	0	0	5 *
slight	0	0	0	11 **	0	1	0	18 ***
moderate	0	0	0	4	0	0	0	0

<sup>a</sup> Figures in parenthesis present the number of animals from which this tissue was examined microscopically. Significance of differences in a pairwise (Fisher's) test between each treatment and control incidence is indicated by \*  $p < 0.05$ ,

\*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$ , cited from Bogdanffy et al. (1994b)

TABLE 4.1.2.6 B

Summary of statistically significant non-neoplastic changes in lungs and nose of mice: main study  
(Continued)

Concentration (ppm):	Incidence of Lesions Other than Tumors <sup>a</sup>							
	Males				Females			
	Control	50	200	600	Control	50	200	600
Nose:	(52)	(48)	(53)	(50)	(56)	(57)	(55)	(51)
Inflammatory exudate	0	0	2	15***	0	0	1	5**
Mucosal inflammatory infiltrate	1	0	0	12**	1	2	0	5
Submucosal gland hyperplasia								
slight	3	3	28***	25***	2	5	42***	35***
moderate	0	0	8**	15***	0	0	7**	13***
Olfactory epithelial atrophy (mainly dorsal meatus)								
very slight	0	0	2	0	0	0	0	0
slight	0	0	5	0	2	4	8	0
moderate	0	0	28***	2	0	0	26***	0
severe	0	0	4	3	0	0	4	1
Olfactory epithelial atrophy (widespread)								
slight	0	0	1	0	0	0	0	0
moderate	1	0	8*	5	0	0	12***	5*
severe	0	0	4	39***	0	0	2	45***
Squamous metaplasia at the naso/maxilloturbinate region								
very slight	0	0	0	0	0	0	0	1
slight	1	1	2	13**	4	2	0	13*
moderate	0	1	0	11***	0	0	0	6**
severe	0	0	0	0	0	0	0	1
Replacement olfactory by respiratory epithelium								
slight	0	0	5	11***	0	0	15***	10***
moderate	0	0	1	0	0	1	5*	10***
severe	0	0	0	0	1	0	0	0
Trachea/bronchi:	(49)	(46)	(51)	(48)	(55)	(56)	(52)	(48)
Epithelial hyperplasia	0	0	2	19***	1	1	0	11***

<sup>a</sup> Figures in parenthesis present the number of animals from which this tissue was examined microscopically. Significance of differences in a pairwise (Fisher's) test between each treatment and control incidence is indicated by \* p < 0.05,

\*\* p < 0.01, \*\*\* p < 0.001, cited from Bogdanffy et al. (1994b)

## 経口投与

- 経口用量設定試験において、Sprague-Dawley ラットまたは CD-1 マウスの雄 5 匹および雌 5 匹からなる複数の群に、酢酸ビニルを 4 週間投与し、飲料水中の濃度はラットでは 0、50、200、1000、または 5000 ppm (5、20、100、または 500 mg/kg 体重に相当、体重の 10%の摂水量を想定して算出)、マウスでは 0、50、150、1000、または 5000 ppm (7.5、22.5、150、または 750 mg/kg 体重に相当、体重の 15%の摂水量を想定して算出) とした (Gale, 1979 ; 純度に関するデータなし、投与溶液の調製頻度および分析濃度の記述あり)。酢酸ビニルの分析は、酢酸 3 ppm およびアセトアルデヒド 21 ppm を含有する市販品により行われた。酢酸の濃度は配達後および試験終了後に確認された。24 時間以内の喪失による過剰な調合量を矯正するなど、酢酸ビニルを名目濃度にするため、被験溶液は 1 日 1 回調製された。投与期間の最初の数日間 (ラット、マウス) および 29 日目 (ラットのみ) の投与前に、酢酸ビニル濃度の調合について分析し、24 時間後、安定性について再度分析した。投与 4 週目の間、50 ppm の投与量が 10000 ppm に上昇された。試験期間中いずれの実験群にも死亡は生じなかった。5000 ppm 群雌マウスにおいて振戦および低体温を示した 1 匹を除き、すべての動物が試験全体を通じ健康を維持した。体重増加の抑制および摂水量の減少が、ラットの特に雌では 1000 ppm 以上、雄では 5000 ppm 以上、また雄マウスでは 5000 ppm において認められた。摂水量の減少は、1000 ppm 以上投与した雄マウスおよび 5000 ppm 群雌マウスでも明らかにされ、後者の摂餌量は対照群の雌よりも少なかった。ラットの摂餌量がより減少したのは、10000 ppm 投与群の雌に限定された。平均体重データは入手可能な要約文書には報告されておらず、提示された定量データは、本試験の最初の 3 週間に摂餌量が 11%低下したことのみであった。雄雌両ラットおよび雌マウスの絶対および相対肝重量は、すべての投与群で対照群に比べ少なかった。対照群および 5000 ppm 群のラット雄 4 匹および雌 4 匹の肝組織病理学データがあり、この年齢および系統のラットに通常認められる病変に類似した、軽度の多巣性の門脈性および小葉内肝炎が示されている。それ以外の臓器は顕微鏡検査用の処理をせず、臨床化学検査および血液学的検査のパラメータに関する臨床検査も実施されなかった。胸腺重量は、5000 ppm 暴露群雄マウスで減少した。臓器には、投与関連のいずれの肉眼的異常を示す証拠もなかった。この結果は、13 週間試験の適切な投与量選択の基準とされた。ラットの NOAEL は (1000 ppm における体重増加の抑制に基づき) 200 ppm (20 mg/kg 体重)、また、マウスの NOAEL は (5000 ppm における雌マウス 1 匹の振戦および低体温、ならびに胸腺重量の減少に基づき) 1000 ppm (150 mg/kg 体重) とされた。摂水量の減少および体重減少は、被験溶液に対する嗜好性が合わなかったことを反映している可能性があり、肝重量減少をもたらした毒物学的妥当性は、(対応する形態学的異常も検査結果の異常のいずれもない中では) 確定的ではない。
- 指令 793/93/EEC の要件に従って妥当であると承認された経口 13 週間試験において、Sprague-Dawley ラットおよび CD-1 マウスの雄 10 匹および雌 10 匹からなる複数の群に酢酸ビニルを投与し、飲料水中の濃度は 0、200、1000、および 5000 ppm (算出された平均投与量 : 雄ラット : 31、163、684 mg/kg 体重/日、雌ラット : 36、193、810 mg/kg 体重/日、雄マウス :

11、60、285 mg/kg 体重/日、雌マウス：10、72、281 mg/kg 体重/日）とした（Gale, 1980a, 1980b）。被験物質の純度は 99.9%で、アセトアルデヒド 0.01%、酢酸 0.005%、水 0.4%を含有していた。試験中の死亡例はなく、すべての動物が正常であると思われた。高用量群雄ラットでは、軽微で有意でないほどの発育遅延が多くみられ、これらの動物の平均体重は対照群より 8%低かった。5000 ppm 群雄雌ラットの 1 週間の摂水量は、対照群より有意に少なかった。摂水量全体では、対照群の雄雌より 23%、25%低かった。中用量群雄雌ラットでは、それほど顕著でない摂水量の減少が一過性に認められた。血液学的検査、血液化学検査、臓器重量、および組織病理学的検査については、投与関連の影響は認められなかった。結論として、酢酸ビニルを飲料水中最大濃度 5000 ppm で 13 週間投与しても、ラットおよびマウス両動物種の NOAEL を示す臓器毒性の証拠はもたらされなかった。

- ラットおよびマウスを対象に 90 日間飲水投与試験が実施され、酢酸ビニルの反復暴露と組織毒性との相関の有無について、主に上部消化管組織の細胞増殖および組織病理学的検査による測定を行い判定した（DuPont 社, 2000, Valentine *et al.*, 2002）。口腔がんに関する日本の試験（Umeda *et al.*, 2004a）では、雄は雌より腫瘍に対する感受性がわずかに高いと思われたため、雄のみを用いた。被験溶液を週 2 回調製し、低用量および高用量の溶液のサンプルを採り、濃度、安定性、pH 値について分析した。

雄 CDF (F-344)/CriBr ラット 20 匹からなる 5 群に、飲料水に溶解した酢酸ビニル（99.98%）を 92 日間投与し、酢酸ビニルの濃度は 0、1000、5000、10000、および 24000 ppm とした（DuPont 社, 2000）。週 1 回の頻度で動物の体重を測定し、個別に体重増加、摂水量、毒性の臨床徴候について観察した。試験 1、8、29、92 日目に各群ラット 5 匹を用意し、パルス標識による 5-ブロモデオキシウリジン（BrdU）取り込み法を用いて、口腔の細胞増殖および上部消化管組織（口腔、食道、前胃、十二指腸）の組織病理学的検査を行い評価した。細胞増殖および組織病理学的検査に関する口腔の評価は、高用量群および対照群のラット由来のレベル III（Umeda *et al.*, 2004a による口腔がんの試験のレベル III と同一）およびレベル VI に限定された。

飲料水に溶解した溶液は、1 日 1 回調製した。飲料水に溶解した溶液の瓶から採取した酢酸ビニルの濃度は、4 日間以上名目濃度の 10%以内で安定していた。被験溶液の pH は、酢酸ビニルの濃度上昇および時間の経過により減少した（例えば、2400 ppm において、0 日目の 5.21 から 4 日目までに 3.74）。本濃度では、被験化合物の自発的加水分解により酢酸の濃度上昇が導かれ、0 日目の 55 ppm から 4 日目までに 650 ppm となった。

酢酸ビニルの投与に起因する死亡および毒性の臨床徴候は認められなかった。5000、10000、および 24000 ppm 群のラットでは、本試験中対照群に比べ有意な平均体重の減少（-8.8、-7.4、-6.1%）、および体重増加の平均値の抑制（-13.4、-11、-9.2%）が認められた。10000 および 24000 ppm 群のラットは、対照群に比べ平均 1 日摂餌量が有意に少なかった（-6、-7.4%）。平

均 1 日摂水量は、酢酸ビニル 5000、10000、および 24000 ppm 含有水溶液投与群ラットでは試験中一貫して有意に少なかった (-28、-37、-40.3%)。摂水量データ全体の平均値に基づくと、1000、5000、10000、および 24000 ppm 群のラットの酢酸ビニル平均 1 日摂取量は、それぞれ 81、350、660、および 1400 mg/kg 体重であった。ラットの口腔粘膜、食道、および前胃には、いずれの暴露濃度においても、被験物質関連の肉眼的病変は認められなかった。対照群と比較したところ、24000 ppm 群ラットの口腔粘膜には、被験物質関連の顕微鏡的病変は認められなかった。24000 ppm 群ラットでは、細胞増殖の平均値の有意な上昇が、試験の 29 および 92 日目に上顎、また 1 および 29 日目に下顎に生じた。これらの群の標識指数の上昇は、適切な対照群の 2 倍未満であり、確定的な生物学的意義はないとみなされた。

類似の試験を B6D2F1/CrlBr マウス (BDF1) (雄 20 匹/群) を対象に実施し、同濃度の酢酸ビニルを投与した。細胞増殖および組織病理学的検査に関する上顎および下顎の評価は、当初高用量群および対照群のマウス由来のレベル III および V に限定された。その後、92 日目に屠殺された中用量群由来の下顎を評価に加え、細胞増殖の無影響量 (NOEL) を判定した。

すべてのマウスが予定された試験終了まで生存し、投与関連の毒性のいかなる臨床徴候も示さなかった。酢酸ビニルが体重にもたらす影響は認められなかった。本試験中の種々の間隔においては、被験群すべてのマウスの平均摂餌量が対照群に比べ有意に減少した。ただし、0～92 日間の期間については有意差が認められなかった。平均 1 日摂水量は、種々の間隔および 0～92 日間の期間において、被験群すべてのマウスで有意に減少した (-23、-30.5、-31.4、-35%)。1000、5000、10000、および 24000 ppm 群のマウスの酢酸ビニル平均 1 日摂取量は、250、1200、2300、および 5300 mg/kg 体重であった。マウスの口腔粘膜、食道、および前胃には、いずれの暴露濃度においても、被験物質関連の肉眼的病変は認められなかった。対照群と比較したところ、24000 ppm 群マウスの口腔粘膜には、被験物質関連の顕微鏡的病変は認められなかった。10000 および 24000 ppm 群のマウスでは、細胞増殖の平均値の有意かつ用量依存的な上昇が下顎に生じたが、92 日目にのみ認められた。10000 および 24000 ppm 群のこの上昇は、対照群の平均値のそれぞれ約 2.4 倍、3.4 倍であった。この増加の大きさおよび用量依存的な反応の性質に基づくと、こうした増加は化合物関連であるとみなされた。

著者は、マウス下顎の細胞増殖の亢進結果が、質・量とも口腔がんに関する日本の試験 (Umeda *et al.*, 2004a) の腫瘍転帰データに類似していると結論付けた。口腔の新生物病変の発生率は、ラットとマウスのいずれも下顎の方が上顎より高く (その詳細は、未だ本評価書報告担当者に提示されず)、こうした口腔病変の発生率はマウスがラットに比べ約 3 倍高かった。下顎の感受性の増大が、組織の反応性に対する先天的な差に起因するのか、それ以外の現象 (酢酸ビニル組織投与量の重量依存的な増強など) に起因するのかは不明であると報告された。細胞増殖の亢進結果は、ラット (体重に基づくと 3～4 倍低い) とマウスの酢酸ビニル投与量でも類似していた。

- 用量設定試験において、ラットおよびマウス（系統、動物数/性/群などさらなるデータなし）を対象に、酢酸ビニルを飲料水中濃度 0、600、1500、3800、10000、または 24000 ppm で 13 週間投与したところ、投与関連の組織病理学的所見は短報では報告されなかった。摂水量は 24000 ppm で影響を受けた（それぞれラットでは 10%、マウスでは 15%の摂水量との想定に基づき算出し、それぞれラットでは 2400 mg/kg 体重/日、マウスでは 3600 mg/kg に相当）（Umeda *et al.*, 2004a, 主試験は 4.1.2.8 で報告）。

### その他の経路

- その他の経路を介した酢酸ビニル長期暴露に関する情報は得られなかった。

### ヒトにおけるデータ：

- ヒトにおけるデータは得られていない。

### 反復投与毒性に関する要約

- 吸入暴露

酢酸ビニルの被験最高濃度をラットで 2000 ppm、マウスで 1000 ppm を限度に長期投与しても、早期の死亡が限定されることはなかった。蒸気濃度 50 ppm 以上に 2 年間暴露させたラットおよびマウスでは、被毛粗剛および円背位が認められた（Bogdanffy *et al.*, 1994b, Owen, 1988）。より高濃度の酢酸ビニル蒸気をげっ歯類に長期吸入暴露させると、発育遅延、眼および鼻刺激性、円背位、被毛粗剛、呼吸促迫、尿量減少の臨床徴候が誘発された。マウスでは 200 ppm 以上、またラットでは 600 ppm 以上に 2 年間暴露後認められた体重増加の抑制は、酢酸ビニルの非特異的な毒性と関連している可能性がある。このことは摂餌量および摂水量の減少に起因すると解釈されたが、この 2 年間試験には、摂水量/摂餌量および飼料効率に関するいかなるデータも含まれていなかった。この 2 年間試験（Bogdanffy *et al.*, 1994b）の 600 ppm 群ラットに認められた尿量減少では、それ以外の形態学的異常も機能的異常も伴っていなかった。明確な毒性作用は、気道外の実質では同定されないと考えられる。

酢酸ビニルの主な作用は、上下気道の局所毒性作用であった。反復暴露を受けたラットおよびマウスでは、鼻腔表面の上皮に再生/修復過程にあり、時に炎症、過形成、化生を部分的に伴った変性が示された。鼻腔の病変は嗅部および呼吸部の上皮に認められ、嗅上皮の方が顕著であった。濃度 200 ppm 以上に 2 年間暴露させたラット（Bogdanffy *et al.*, 1994b, Owen, 1988）には、嗅粘膜の変性病変が発生した。ラット鼻甲介の呼吸上皮では、酢酸ビニル 1000 ppm 吸入から 4 週間後に病変が明らかにされた（Bogdanffy *et al.*, 1997）。本試験終了時の細胞増殖率は、600 ppm 以上では嗅上皮において有意に高かったが、1000 ppm を限度に呼吸上皮では反

応が認められなかった。200 ppm に 2 年間暴露させたマウスには、嗅粘膜の変性病変が示された。濃度 600 ppm では、呼吸粘膜に扁平上皮化生が認められ、顕著な炎症性浸潤を伴っていた (Bogdanffy *et al.*, 1994b)。濃度 600 ppm では、2 年以内に気管上皮の上皮剥離および線維化反応と共に、喉頭および気管の過形成性変化および化生性変化が専らマウスに認められた (Bogdanffy *et al.*, 1994b, Owen, 1988)。本濃度および本暴露期間には、ラットおよびマウスの気管支気道および細気管支気道に、類似の変化が認められた。さらに、片肺の肺胞および間質における組織球性細胞の蓄積が認められ、肺重量の増加と関連している可能性があった。

#### - 経口投与

ラットおよびマウスを対象に、飲料水に溶解した酢酸ビニルを反復経口投与したところ、特異的な臓器毒性は記録されなかった。13 週間亜慢性試験では、5000 ppm (684 mg/kg 体重/日に相当と算出) 投与群雄ラットに軽微な (有意でない) 摂餌量の減少および発育遅延が示され (Gale, 1980a, b)、このことから、摂水量の 23%低下との関連が想定された。すべての投与群のラットおよびマウスには、臓器毒性の証拠が認められなかった。したがって、両動物種の NOAEL は 5000 ppm と予測された。

口腔粘膜の細胞増殖率の上昇が、酢酸ビニル濃度 10000 ppm (5300 mg/kg 体重/日) 92 日間暴露マウス、および 24000 ppm (1400 mg/kg 体重/日) 暴露ラットにおいて認められた (DuPont 社, 2000; Valentine *et al.*, 2002)。マイトジェン反応の NOAEC は、マウス試験では 5000 ppm (1200 mg/kg 体重/日)、ラット試験では 10000 ppm (6600 mg/kg 体重/日) であった。

#### 無/最小影響濃度/量

#### - 吸入暴露

Sprague-Dawley ラットおよび CD-1 マウスを対象にした慢性毒性/がん原性併合試験 (Owen, 1988, Bogdanffy *et al.*, 1994b) を影響量の誘導に選択した。

気道における局所作用について：

2 年間試験/Sprague-Dawley ラットおよび CD-1 マウス/NOAEC <sub>局所</sub> 50 ppm (178.5 mg/m <sup>3</sup> に相当)
---

全身毒性作用について：

2 年間試験/CD-1 マウス/NOAEC <sub>全身</sub> 50 ppm (178.5 mg/m <sup>3</sup> に相当)
--

- 経口投与

Gale (1980a,b) の 90 日間飲水投与試験は、現試験ガイドラインに従って実施されたため、経口反復投与毒性に関する最も信頼性が高いデータを示しているとみなされた。

90 日間試験/Sprague-Dawley ラットおよび CD-1 マウス/NOAEL 5000 ppm (雄ラット 684 mg/kg 体重/日、雌ラット 810 mg/kg、 雄マウス 285 mg/kg 体重/日、雌マウス 281 mg/kg 体重/日に相当)
--

この値は、長期試験による NOAEL (4.1.2.8 項) と十分に一致しており、Sprague-Dawley ラットに 2 年間飲水投与した場合の NOAEL は 1000 ppm であった (Bogdanffy *et al.*, 1994a, Shaw, 1988)。2 年間投与したマウスに認められた NOAEL である 5000 ppm については、この試験が研究機関の調査を含んでいなかったことから、信頼性はより低いとみなされた (Maltoni *et al.*, 1997)。

酢酸ビニル飲料水中濃度 5000 ppm は、リスクの特徴付けの定量的算出では、全身作用の NOAEL (ラット : 684 mg/kg 体重/日、マウス : 281 mg/kg 体重/日) として提唱される。

## 分類

気道上皮の病変が、補遺 VI の基準に従った臨界濃度値を超える濃度において生じたことから、反復投与毒性に関する分類および表示は実際には不要である。

#### 4.1.2.7 変異原性

##### 4.1.2.7.1 In vitro 試験

###### In vitro 試験：細菌による遺伝子突然変異試験

酢酸ビニルは、ネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium*) TA 98 株、TA 100 株、TA1535 株、および TA1537 株を用いた細菌による遺伝子突然変異試験では、ラット肝 S-9 代謝活性化ありの場合となしの場合とで陰性であった (McCann *et al.*, 1975)。酢酸ビニルは、ネズミチフス菌 TA 98 株、TA 100 株、TA1535 株、大腸菌 (*E. coli*) WP2 uvr/pKM 101 株を用いた細菌による遺伝子突然変異試験でも、代謝活性化ありの場合となしの場合とで陰性であった (日本化学物質安全・情報センター [JETOC], 2004)。また、マウス肝 S-9 mix により酢酸ビニルを代謝させ、最大 2%の酢酸ビニルを TA 100 株および TA1530 株に気相暴露させた場合にも、両菌株では陰性の結果が得られた (Bartsch *et al.*, 1979)。

Jung *et al.* (1992) はネズミチフス菌 TA102 株を評価する、3つの研究機関との共同試験について記載した。酢酸ビニルはすべての研究機関において陰性であったが、実験の詳細については1機関しか得られていない (Hoechst, 1988)。その実験では、エタノールで希釈された酢酸ビニルを最大用量 5000 µg/plate で、S-9 mix 存在下および非存在下において行い、3回の試験結果は陰性であった。

酢酸ビニルは複数の研究においても陰性であったが、各種ネズミチフス菌株における細菌による遺伝子突然変異試験 (Florin *et al.*, 1980; Lijinski and Andrews, 1980; Brams *et al.*, 1987)、および大腸菌による SOS クロモテスト (Brams *et al.*, 1987) では、十分な記述が得られていない。

*In vitro tests: bacterial genotoxicity*

Test system	Concentration range		Result	Toxicity	Remarks	Reference
	With S-9 mix	Without S-9 mix				
Salm. typh. TA98, TA100, TA1535, TA1537	yes	yes	neg	no data	rat liver S-9 mix; tested doses not clearly specified	McCann et al., 1975
Salm. typh. TA100, TA1530	0.003%, gas phase		neg	total toxicity at 0.02% and higher doses	mouse liver S-9 mix with and without cofactors	Bartsch et al., 1979
Salm. typh. TA102	up to 5000 µg/plate	up to 5000 µg/plate	neg			Jung et al., 1992
Salm. typh. TA98, TA100, TA1535, TA1537	no data	no data	neg	no data	screening paper without details	Florin et al., 1980
Salm. typh. TA98, TA100, TA1535, TA1537, TAQ1538	up to 1000 ug/plate	up to 1000 ug/plate	neg	no data	screening paper without details; use of rat and hamster liver S-9 mix	Lijinski and Andrews, 1980
Salm. typh. TA97, TA87, TA100	100 to 500 ug/ml	100 to 500 ug/ml	neg	no data	screening paper without details	Brams et al., 1987
Salm. typh. TA98, TA100, TA1535, TA1537  E. coli WP2 uvr/pKM 101	1.22- 5000 µg/plate	1.22- 5000 µg/plate	neg	no data	only test result tables, original data in Japanese	JETOC, 2004
E. coli PQ37	130 to 8600 ug/ml	130 to 8600 ug/ml	neg	no data	screening paper without details	Brams et al., 1987

*In vitro* 試験：染色体変異、小核、マウスリンフォーマ試験

Norppa *et al.* (1985) は、ヒトリンパ球（全血培養物および分離リンパ球）を酢酸ビニルで 48 時間処理後の染色体異常誘発について、S-9 mix 非存在下で検討した。陽性の作用が、用量 0.2、0.5、1 mmol/L（分離リンパ球）、または 0.5、1 mmol/L（全血培養物）について得られた。きわめて急勾配の用量-影響関係が認められ、最大の影響では異常細胞が約 90%であった。毒性データは示されなかった。

Jantunen *et al.* (1986) による類似の研究では、ヒトリンパ球（分離リンパ球および全血培養物）を 24 時間処理したところ、用量依存的な陽性の作用が用量 0.25~2.0 mmol/L について認められた。用量 0.5 mmol/L 以上では、中等度~強力な細胞毒性作用（有糸分裂活性の障害）が認められた。

Mustonen *et al.* (1986) は、ヒトリンパ球による染色体異常試験において、酢酸ビニルを陽性対照として用い、0.5 mmol/L の異常頻度は 17.1%であった（ギャップを除く）。

ヒトリンパ球の *in vitro* 小核試験を S-9 mix 非存在下で行ったところ（Mäki-Paakanen and Norppa, 1987）、酢酸ビニル用量 0.25 および 1.0 mmol/L では小核出現頻度の増加が得られ、その作用による小核細胞の割合は 3.2%および 3.1%（陰性対照：0.9%）であった。毒性データは示されなかった。

マウスリンフォーマ試験では、S-9 mix 存在下および非存在下において陽性であることが報告された（Kirby, 1983）が、詳細なデータによる完全な報告には欠けている。酢酸ビニルを、S-9 mix 存在下では濃度 1.8~5  $\mu\text{L}/\text{mL}$ 、S-9 mix 非存在下では 1.9~4  $\mu\text{L}/\text{mL}$  の範囲で検討した（最高用量 5  $\mu\text{L}/\text{mL}$  は、4650  $\mu\text{g}/\text{mL}$  または 54 mmol/L に相当）。S-9 mix 存在下では、誘発された変異体の頻度は同時陰性対照の 2.4~7.4 倍で、相対総増殖率の範囲は 10~62%であった。S-9 mix 非存在下では、変異頻度は 5~10.3 倍高いことが認められ、相対総増殖率は 5~26%であった。本研究に関するさらなる詳細については得られていない。したがって、遺伝毒性と細胞毒性との関係は評価できない。さらに、こうした遺伝的影響が、遺伝子変異または染色体変異により選択的に生じたのかは推定できない。

*In vitro tests: chromosomal mutations, micronuclei, mouse lymphoma assay*

Test system	Concentration range		Result	Toxicity	Remarks	Reference
	With S-9 mix	Without S-9 mix				
chrom. ab. in human lymphocytes	not done	0.1 to 1 mmol/l	pos	no data	48-h treatment; pos at 0.2, 0.5 and 1 mmol/l (isol. lymph.), or 0.5 and 1 mmol/m (whole blood); extremely steep dose-effect-relationship; max. eff. ca. 90% aberrant cells	Norppa et al., 1985
chrom. ab. in human lymphocytes	not done	0.125 to 2.0 mmol/l	pos	clear inhibition of mitotic activity at 0.5 mmol/l and higher	24-h treatment; pos at 0.25 to 2.0 mmol/l (isol. lymph. and whole blood); max. eff. >40% aberrant cells	Jantunen et al., 1986
chrom. ab. in human lymphocytes	not done	0.5 mmol/l	pos	no data	vinyl acetate was used as positive control	Mustonen et al., 1986
micronuclei in human lymphocytes	not done	0.125 to 2.0 mmol/l	pos	no data	48-h treatment; pos for doses of 0.5 and 1.0 mmol/l; max. eff. 3.2% micronucleated cells (negative control, 0.9%)	Mäki-Paakanen and Norppa, 1987
mouse lymphoma assay	1.8 to 5 µl/ml	1.9 to 4 µl/ml	pos	with S-9 mix, total growth ranged from 10 to 62%; without S-9 mix, from 5 to 26 %	full report lacking; no data on mutation frequencies; no colony-sizing	Kirby, 1983

*In vitro* 試験：姉妹染色分体交換（SCE）

酢酸ビニルは、S-9 mix 非存在下でヒトリンパ球の姉妹染色分体交換（SCE）を明確に誘発した。Norppa *et al.*（1985）によれば、48 時間処理後、被験用量すべての範囲（0.1～1 mmol/L）が陽性で、最高用量による SCE 頻度は 120/cell であった。He and Lambert（1985）は、SCE 誘発は処理時間に依存することを立証した。1 時間の処理により、陽性の作用には mmol/L の範囲の用量が必要とされた。本研究には、陰性対照が通常でないほど高い（約 20 SCE/cell）という欠点がある。

酢酸ビニルによる SCE 誘発は、CHO 細胞においても立証された（Norppa *et al.*, 1985）。S-9 mix 非存在下で処理時間 24 時間の場合、作用はヒトリンパ球で認められた結果と同程度であった。4 時間処理後の作用は、S-9 mix 存在下の方が非存在下より強かった。

*In vitro tests: SCE*

Test system	Concentration range		Result	Toxicity	Remarks	Reference
	With S-9 mix	Without S-9 mix				
human lymphocytes	not done	0.1 to 1 mmol/l	pos	strong inhibition of cell proliferation at high doses, but SCE induction not limited to doses with strong toxicity	48-h treatment; pos at all tested doses; extremely steep dose-effect relationship; max. SCE frequency ca. 120 per cell	Norppa et al., 1985
CHO cells	0.2 to 2 mmol/l	0.1 to 5 mmol/l	pos	strong inhibition of cell proliferation at high doses, but SCE induction not limited to doses with strong toxicity	24-h treatment without S-9 mix: strong pos effect at all tested doses; 4 h treatment: stronger effect with S-9 mix than without	Norppa et al., 1985
human lymphocytes	not done	0.1 to 2.4 mmol/l	pos	no data	investigation of time- and dose-dependency: with 1-h treatment doses in the mmol/l-range needed for positive effects; extremely high negative controls of ca. 20 SCE per cell	He and Lambert, 1985

*In vitro* 試験：DNA 鎖切断

Lambert *et al.* (1985) は、酢酸ビニルによるヒトリンパ球の DNA 鎖切断の誘発について、アルカリ溶出法を用いて分析した。濃度 10 および 20 mmol/L による 4 時間の処理では、DNA 鎖切断の増加を生じなかった。

*In vitro tests: DNA strand breaks*

Test system	Concentration range		Result	Toxicity	Remarks	Reference
	With S-9 mix	Without S-9 mix				
alkaline elution, human lymphocytes	not done	10 and 20 mmol/l	neg	no data	4-h treatment	Lambert et al., 1985

*In vitro* 試験：DNA-タンパク質クロスリンク (DPX)

Kuykendall and Bogdanffy (1992) は、酢酸ビニルにより、精製プラスミド DNA と子ウシ胸腺ヒストンタンパク質とに DNA-タンパク質クロスリンク (DPX) が誘発される可能性があることを立証した。10~100 mmol/L の範囲の用量を用いた。DPX の誘発は、ラット肝ミクロソーム存在下で

なければならなかった。

DPX の誘発は、ラット鼻組織（呼吸組織および嗅覚組織；Kuykendall *et al.*, 1993）由来の分離細胞でも認められた。処理時間 1～2 時間では、バックグラウンドレベルを超える DPX 誘発率に、25～75 mmol/L の範囲のきわめて高用量が必要とされた。

アルカリ溶出法を用いた Lambert *et al.*の研究（1985；上記「DNA 鎖切断」の項参照）では、X 線により誘発される DNA 鎖切断率は酢酸ビニルにより低下し、このことは DPX の形成を示している。酢酸ビニルの用量は 10 および 20 mmol/L であった。

*In vitro tests: DNA-protein crosslinks*

Test system	Concentration range		Result	Toxicity	Remarks	Reference
	With S-9 mix	Without S-9 mix				
DPX, isolated DNA + histone proteins	10 - 100 mmol/l	10 - 100 mmol/l	pos		use of rat liver microsomes instead of S-9 mix; pos only in presence of microsomes	Kuykendall and Bogdanffy, 1992
DPX, cells from rat nasal tissues (respiratory and olfactory)		5 to 75 mmol/l	pos	totally toxic after 2-h exposure to 50 mmol/l	12- to 15-fold increase of DPX levels after 1-2 h exposure; LOEC 25 mmol/l	Kuykendall <i>et al.</i> , 1993
alkaline elution, human lymphocytes	not done	10 and 20 mmol/l	pos	no data	the induction of DNA strand breaks by X rays was decreased by treatment with vinyl acetate	Lambert <i>et al.</i> , 1985

#### 4.1.2.7.2 *In vivo* 試験

##### *In vivo* 試験：骨髄細胞における小核出現および染色体異常

用量 250～2000 mg/kg の範囲で単回腹腔内投与によるマウス骨髄小核試験を行い、投与から 30 時間後に試料を採取した（Mäki-Paakanen and Norppa, 1987）。用量 250 および 500 mg/kg では、陰性所見が得られた。酢酸ビニル 1000 および 2000 mg/kg を投与後、小核出現頻度の弱い増加が認められ、陰性対照の 0.6%に対し、小核を有する多染性赤血球は 1.33%および 1.57%であった。一方、これらの用量は強毒性の範囲にあり、投与動物 14 匹中 6 匹、または 14 匹中 8 匹が致死した。骨髄の局所細胞毒性を示す多染性赤血球/正染性赤血球比は、これらの用量では明らかに低下した。

これらの所見の妥当性は、きわめて疑わしい。

小核出現頻度は、ラットおよびマウスを用いた3ヵ月以内の毒性試験でも測定された。投与終了時の骨髓塗抹標本を分析したところ、酢酸ビニル投与動物の小核出現頻度は、対照動物と有意差がないことが認められた。ラットおよびマウスには、飲水投与（飲料水中濃度1000、5000、および10000 ppm ; Gale, 1980a,b）、または吸入投与（50、200、および1000 ppm ; Owen, 1980a; 1980b）が行われた。高用量では、すべての試験において毒性作用が認められた。これらの研究すべてが不十分な方法に従って行われ、例えば、分析された細胞型は明記されず、陽性対照を欠いていた。したがって、これらの所見の信頼性は低い。

方法の詳細な記載がない論文において、雄 Wistar ラットによる染色体異常試験の結果が報告された (Nersesyan *et al.*, 1990)。酢酸ビニルを腹腔内経路により投与し、LD<sub>50</sub> の20%に相当する160 mg/kg の単回投与のみを行い、投与後26時間で骨髓試料を採取した。分析された5匹の骨髓細胞の8.2%が染色体異常を保有（陰性対照：0.6%）していたが、これにはギャップが含まれ、誘発した異常の範囲が通常とはきわめて異なっていた。陽性対照が含まれておらず、スライドのコード化についての言及はなかった。全体的には、この所見の信頼性は低い。

*In vivo tests: micronuclei (MN) and chromosomal aberrations (CAb) in bone marrow*

Test system	Doses	Exposure regimen	Sample time	Result	Local cytotox	General toxicity	Remarks	Reference
MN in mouse bone marrow	250 to 2000 mg/kg	1 x i.p.	30h	pos	500 mg/kg and higher	ca. 50% lethality at 1000 and 2000 mg/kg		Mäki-Paakanen and Norppa, 1987
MN in rat bone marrow	1000 to 5000 ppm	over 3 months in drinking water		neg	no data	no	inappropri. methodology	Gale, 1980a
MN in mouse bone marrow	1000 to 5000 ppm	over 3 months in drinking water		neg	no data	no	inappropri. methodology	Gale, 1980b
MN in rat bone marrow	50 to 1000 ppm	inhalation over 3 months		neg	no data	no	inappropri. methodology	Owen, 1980a
MN in mouse bone marrow	50 to 1000 ppm	inhalation over 3 months		neg	no data	no	inappropri. methodology	Owen, 1980b
CAb in rat bone marrow	160 mg/kg	1 x i.p.	26 h	pos	no data	20% of LD-50	no detailed data	Nersesyan et al., 1990

In vivo 試験：骨髄細胞における SCE

雄 BDF ラット (3 匹/群) に酢酸ビニルを単回腹腔内投与後、骨髄細胞の姉妹染色分体交換 (SCE) が誘発された (Takeshita *et al.*, 1986)。肝非切除ラットでは用量 370 mg/kg 以上、肝切除ラットでは 470 mg/kg 以上で弱い作用が認められた。560 mg/kg において最大の作用がみられ、自発的な SCE 頻度の約 2 倍となった。これらの投与量では、細胞増殖の挙動に明確な影響はなかった。一般毒性データは示されなかったが、LD<sub>50</sub> の半分に相当する 370 および 470 mg/kg であると予測できる。

*In vivo tests: SCE bone marrow*

Test system	Doses	Expos. regimen	Sample times	Result	Local cytotox.	General toxicity	Reference
SCE, rat bone marrow	370 to 560 mg/kg	1 x i.p.	21 h	pos	no	no data	Takeshita <i>et al.</i> , 1986

In vivo 試験：ラット肝における DNA 結合

ラット 3 匹 (雄雌 F344 ラット、雄 Wistar ラット) からなる複数の群に [<sup>14</sup>C]-酢酸ビニル (ビニル基標識) 投与後、肝 DNA との結合が検討された (Simon *et al.*, 1985b)。被験物質を経口投与 (1 mCi = 0.1 mmol/匹) または吸入投与 (1200~1800 ppm) した。暴露開始から 4 時間後、肝臓を処置した。DNA および核タンパク質の放射能は測定されたが、類似物であるハロゲン化ビニルおよびカルバミン酸ビニル暴露後に生じる DNA 付加体は認められなかった。著者は、これらの所見について、酢酸ビニルが血中エステラーゼによりアセトアルデヒドおよび酢酸に迅速に分解されることと共に検討すべきであると考察した。こうした中間体が (アセチル CoA を介して) 代謝を行う C<sub>2</sub>-プールに入り、プリンヌクレオチドに標識の非特異的取り込みを生じると考えられる。

*In vivo tests: DNA binding*

Test system	Doses	Expos. regimen	Result	Remarks	Reference
DNA adducts, rat liver	1200 to 1800 ppm	4 h inhalation	neg		Simon <i>et al.</i> , 1985b
DNA adducts, rat liver	0.1 mmol / animal	1 x orally	neg		Simon <i>et al.</i> , 1985b

In vivo 試験：生殖細胞に関する影響

Lähdetie (1988) は、酢酸ビニル用量範囲 250~1000 mg/kg を単回腹腔内投与から 13 日後に、マウス初期精子細胞の小核出現頻度を分析した。用量 750 および 1000 mg/kg は致死的な範囲にあり、

9 匹中 8 匹または 4 匹中 1 匹が死亡したが、グループサイズがきわめて小さかった（動物数が 1～4 匹）。小核出現頻度の増加は認められなかった。

マウスに酢酸ビニル 125～1000 mg/kg を 1 日 1 回 5 日間腹腔内投与し、開始から 3 および 5 週間後に精子異常を検討した (Lähdetie, 1988)。1000 mg/kg 投与時の生存動物はいなかった。750 mg/kg では投与マウス 5 匹中 1 匹が生存し、唯一生存したマウスでは、投与から 5 週間後の異常精子の出現頻度が増加したが、投与から 3 週間後には増加しないことが示された。

500、250、および 125 mg/kg 腹腔内投与後の動物はすべて生存した。用量 500 および 250 mg/kg では、顕著な体重増加の抑制が報告された。

500 mg/kg では、精子異常の出現頻度の増加が 3 週間後の試料採取では 7 匹中 2 匹（ばらつき：約 2～14%）、5 週間後の試料採取では 8 匹中 4 匹（きわめて大きなばらつき：約 1～62%）に認められた。250 および 125 mg/kg では、精子異常に関する影響は認められなかった。

全体的には、精子異常に関する影響は、強毒性の範囲にある用量に限定された。さらに、精子異常に関する影響は変異原に特異的ではなく、精子毒性に起因する可能性がある。したがって、変異原性の評価については、これらの所見の妥当性は低い。

*In vivo tests: germ cell effects*

Test system	Doses	Expos. regimen	Result	General toxicity	Remarks	Reference
MN in early spermatids of mice	250 to 1000 mg/kg	1 x i.p., 13 days recovery	neg	lethality at 750 and 1000 mg/kg	only 1 to 4 mice per group	Lähdetie, 1988
sperm abnormality in mice	125 to 1000 mg/kg	daily i.p. for 5 days	pos	lethality at 750 (4/5) and 1000 mg/kg (5/5)	effects limited to doses with high toxicity and not specific to mutagenesis	Lähdetie, 1988

*In vivo* 試験：ヒトにおける試験—染色体異常

ポリ酢酸ビニルの生産に携わる作業員 27 名を対象に、末梢リンパ球の染色体異常頻度について分析された (Shirinian and Arutyunyan, 1980)。暴露データは示されなかった。異常頻度は、2.2% (1976) から 2.5% (1977) および 2.4% (1978) までばらつきを示した。化学工業以外の作業員 20 名からなる陰性対照群では、1978 年の異常頻度が 1.0%であった (1976 年および 1977 年に関する分析はなし)。陰性対照群は「一致」させておらず、交絡因子は考慮されなかった。著者は、「陽性」の

結果を主張しておらず、明確な結論は下せていない。

*Human studies: chromosomal aberrations*

Test system	Exposure	No. of subjects	Matched negative control	Authors concl.	Genetic effect	Reference
chromos. aberrations in peripheral lymphocytes	not specified	27	no	?	2.2 to 2.5 % (1.0% in negative control)	Shirinian and Arutyunyan (1980)

アセトアルデヒドの遺伝毒性：酢酸ビニルの遺伝毒性に寄与している可能性

アセトアルデヒドは酢酸ビニルの代謝物であり、エステラーゼを介した代謝により得られる。酢酸ビニルは、アセトアルデヒドを介してその遺伝毒性を示すことが考察されている。例えば、Kuykendall and Bogdanffy (1992) は、酢酸ビニルがアセトアルデヒドを介して DPX を誘発すると立証し、Norppa *et al.* (1985) によれば、哺乳類細胞培養物において酢酸ビニルにより誘発される染色体損傷は、アセトアルデヒドの形成を介するとしている。

アセトアルデヒドの遺伝毒性に関する包括的概要が、アセトアルデヒドの化粧品及び非食品に関する科学委員会 (SCCNFP) 意見書 (2004) により示されている。本概要によれば、アセトアルデヒドは、標準的な一連のネズミチフス菌株に対し、代謝活性化ありの場合となしの場合とで変異原性がない。哺乳類細胞による多数の *in vitro* 研究では、様々な遺伝的影響が誘発された。アセトアルデヒドの遺伝毒性は、外部代謝系の存在に左右されなかった。遺伝的影響が陽性となる最低濃度は、染色体異常および小核出現については 4.4 µg/mL、SCE については 1.3 µg/mL の範囲であった。マウスリンフォーマ試験、DNA 結合、DNA 鎖切断における変異など、それ以外に遺伝的影響が陽性となる場合に関しては、より高い最小影響濃度が報告された。用量 4.4 および 1.3 µg/mL は、0.1 および 0.03 mmol/L に相当する。

*In vivo* におけるアセトアルデヒドによる小核の誘発について、2 件の研究結果が得られている。マウスに高用量アセトアルデヒドを腹腔内投与したところ、骨髓細胞に小核を誘発した (Morita *et al.*, 1997)。最小影響量は、2 件の独立した研究では約 200 mg/kg であった。これは LD<sub>50</sub> の約 50% である。マウス精子細胞では、最大用量 500 mg/kg を単回腹腔内投与後、小核は誘発されなかった (Lähdetie, 1988)。

アセトアルデヒドはげっ歯類の骨髓細胞における弱い SCE 誘発物質であることが、チャイニーズハムスター (0.5 mg/kg 単回腹腔内投与 ; Korte *et al.*, 1981) およびマウス (0.4 µg/匹 [約 16 µg/kg] 単回腹腔内注入 ; Obe *et al.*, 1979) において示されている。

Fischer 344 ラットの鼻の呼吸粘膜細胞に 1000 または 3000 ppm 吸入暴露後、DNA-タンパク質クロスリンク (DPX) が誘発された (Lam *et al.* 1986)。6 時間単回暴露後および 1 日 1 回 6 時間での 5 日間の吸入期間後とも、同程度の範囲で DPX が生じた。より低濃度の 100 および 300 ppm では陰性であった。嗅上皮は、濃度 1000 および 3000 ppm で 6 時間の暴露時間終了時に反応を示さなかったが、5 日間の暴露では 1000 ppm において DPX 率の有意な上昇を生じた (それ以外の被験濃度に関する結果なし)。1000 ppm における *in vivo* 反応の大きさ (1 日または 5 日間の 6 時間吸入終了時の DPX 生成 : +12~13%) は、100 mM アセトアルデヒドを添加し、インキュベートされた呼吸粘膜ホモジネートと同一の範囲 (DPX : +14%) にあった。

アセトアルデヒドは、動物およびヒトの代謝経路 (エタノールおよび糖の代謝) において自然発生する物質であり、ヒトの血中に少量生じる。したがって、代謝過負荷の場合には、アセトアルデヒドは遺伝毒性を発現する可能性が十分に考えられる。

#### **酢酸の遺伝毒性：酢酸ビニルの遺伝毒性に寄与している可能性**

酢酸ビニルの代謝物である酢酸は、細菌遺伝毒性試験において陰性である (McCann *et al.*, 1975; Hude *et al.*, 1988; Zeiger *et al.*, 1992)。

CHL 細胞における酢酸の *in vitro* 染色体異常誘発能については、報告された知見に相違が認められた。Ishidate (1988; Ishidate *et al.*, 1984 も参照) によれば、酢酸は S-9 mix 非存在下において、最大用量 1000 µg/mL (= 16.7 mmol/L) では陰性であった。一方、Morita *et al.* (1990) は、S-9 mix 存在下および非存在下において、用量 12 および 14 mmol/L (721 および 842 µg/mL) では陽性の作用であることを見出し、用量 16 mmol/L (961 µg/mL) は完全に毒性があるとした。Morita *et al.* (1990) は、酢酸それ自体に染色体異常誘発能があるのではなく、その作用は非特異的な pH 低値に起因すると結論付けた。

*In vitro* SCE 試験では、酢酸は 5 および 10 mmol/L で限界反応を誘発した (Sipi *et al.*, 1992)。最大の作用では 1.5 倍に増加し、非特異的な細胞周期の遅延に起因すると考えられた。

トランスジェニックマウスによる遺伝子突然変異試験では、酢酸 30 µg/kg 単回皮膚投与後、変異頻度の 2 倍の増加が得られた (Myhr, 1991) が、低用量 (12 µg/kg) および高用量 (48 µg/kg) では影響がなかった。本試験系におけるこの初期の研究では、突然変異スペクトルの分析が行われなかった。したがって、この作用が酢酸により誘発された変異に起因するのか、変異 (プロモーターに関する既知作用) 保有細胞のクローン増殖に起因するのか、本試験データからは推定できない。

全体では、酢酸に関する遺伝毒性データから、酢酸ビニルの遺伝毒性の可能性が酢酸に起因し得

ることを関連付ける証拠はない。

### 結論：

酢酸ビニルは、細菌変異原性試験において陰性である。

哺乳類細胞培養物では様々な細胞遺伝学的作用が誘発され、S-9 mix 非存在下（染色体異常、小核出現、SCE）および S-9 mix 存在下（SCE；染色体異常および小核出現は S-9 mix 存在下では分析されず）において認められた。最低陽性濃度は 0.1～0.2 mmol/L の範囲であった。陽性を示したマウスリンフォーマ試験はこれらの結果と一致するが、陽性の作用が染色体変異か遺伝子変異のいずれに起因するのか推定できない（コロニーサイズなし）。哺乳類細胞培養物について、DNA 鎖切断 (DSB) および DNA-タンパク質クロスリンク (DPX) に基づき検討したところ、陰性 (DSB)、または陽性の作用にはきわめて高濃度が必要 (DPX) とされた。

酢酸ビニルの *in vivo* 変異原性に関する信頼性が高いデータは、ほとんど得られていない。マウス骨髄細胞では小核の弱い誘発がみられたが、これは LD<sub>50</sub> の範囲（1000 および 2000 mg/kg 体重）における腹腔内投与に明確に限定された。ラットでは、精子細胞における小核誘発は認められなかった（最大 1000 mg/kg 体重腹腔内投与によるスクリーニング法）。小核または染色体異常の誘発に基づくさらなる試験は、信頼性がきわめて低かった。

また、あるラット SCE 試験でも陽性の作用は弱く、高用量で強毒性の腹腔内投与と考えられる用量（370 および 470 mg/kg 体重）に限定された。SCE 頻度のこうした弱い増加は、非特異的な細胞周期の影響により誘発されることが十分に考えられる。

吸入後および経口投与後、ラット肝に特異的な DNA 結合は認められなかった。

マウスの精子異常の誘発もまた毒性範囲の用量に限定された。さらには、精子異常は変異原に特異的ではない。

ヒトにおける 1 試験からは、酢酸ビニルに暴露された作業員の染色体異常誘発の可能性について、明確な結論は下せない。

酢酸ビニル代謝物の遺伝毒性データは、酢酸ビニルの遺伝毒性がアセトアルデヒドにより仲介されるという仮説と一致する。アセトアルデヒドの遺伝毒性は、防御機構に過負荷を生じた場合に限定されると考えられる。

全体的には、酢酸ビニルには変異原性の可能性があり、染色体異常誘発として選択的に発現する。*In vivo* 遺伝毒性データの大多数は信頼性が低く、あるいはその作用が変異原性特異的ではないこ

とから、解釈するのは困難である。最も重大な作用であるマウス骨髄における小核の弱い誘発は、強毒性の腹腔内投与量に限定されている。したがって、酢酸ビニルの遺伝毒性がヒト生殖細胞に現れる可能性は低いと考えられる。ただし、直接暴露を受けた組織（初回接触部位）における局所的な遺伝毒性作用は排除できない。その作用の発生および強度は、直接暴露を受けた組織の代謝能に左右されると考えられる。

生殖細胞に関する変異原性の観点から酢酸ビニルを分類することは、提唱されない。

#### 4.1.2.8 発がん性

動物におけるデータ：

##### 吸入暴露

- 慢性毒性/がん原性併合試験（Owen, 1988; Bogdanffy *et al.*, 1994b）において、雄雌 Sprague-Dawley ラットおよび CD-1 マウスに、濃度 0、50、200、および 600 ppm の酢酸ビニル蒸気を 2 年間（6 時間/日、5 日/週）吸入暴露させた。動物は 60 匹/性/用量とし、53 週目および 83 週目の中間評価ならびに回復試験（70 週間暴露後、回復期間 15～16 週間）用のサテライト群 10 匹/種/性を 3 群準備した。ラットのみ鼻腔に暴露関連の腫瘍反応が認められた。同時に生じた気道の変性変化、過形成性変化、および化生性変化については 4.1.2.6 に記述されている（Table 4.1.2.6.A および Table 4.1.2.6.B）。ラットおよびマウスでは、酢酸ビニルの投与に関連する、それ以外の臓器の腫瘍反応は明白にならなかった。

TABLE 4.1.2.8.A

Summary of Statistically Significant Neoplastic Changes in Lungs and Nose of Rats by Vinyl acetate:  
Main Study

	Incidence of Tumors (Numeric) <sup>a</sup>							
	Males				Females			
	Control	50	200	600	Control	0	200	600
Concentration (ppm):								
<b>Lungs:</b>	(58)	(59)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(59)
Well differentiated adenoma [B]	0	0	0	0	1	0	0	0
<b>Nose:</b>	(59)	(60)	(59)	(59)	(60)	(60)	(60)	(59)
Inverted papilloma [B]	0	0	0	4	0	0	0	0
Squamous cell carcinoma [M]	0	0	0	2	0	0	0	4
Papilloma [B]	0	0	1 <sup>§</sup>	0	0	0	0	0
Carcinoma in situ [M]	0	0	0	1	0	0	0	0
Total benign tumors	0	0	1	4	0	0	0	0
Total malignant tumors	0	0	0	3	0	0	0	4
Total nasal tumors	0	0	1	7**	0	0	0	4
<b>Larynx:</b>	(59)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(59)
Squamous cell carcinoma [M]	0	0	0	0	0	0	0	1

<sup>a</sup> Figures in parenthesis represent the number of animals from which this tissue was examined microscopically.

[B] = benign, [M] = malignant. Significance of differences in a pairwise (Fisher's) test between each treatment and control incidence is represented by \*\* (p<0.01).

Cited from Bogdanffy et al. (1994b), <sup>§</sup> exophytic papilloma in the olfactory mucosa zone, confirmed by personal communication

高用量群ラットでは、鼻腔腫瘍計 11 例 (Table 4.1.2.8.A) が嗅部の乳頭腫、扁平上皮がん、上皮内がん、および呼吸部または前側の嗅部以外の乳頭腫、扁平上皮がん (分布については Table 4.1.2.8.B 参照) と分類され、雄 7 匹 (11.9%)、雌 4 匹 (6.7%) で明らかにされた。中用量群では、雄ラット 1 匹に単一の腫瘍 (嗅部の良性乳頭腫) が認められた。高用量群の雌 1 匹の喉頭に扁平上皮がんが認められた。気管および投与関連の肺腫瘍は認められなかった。気道腫瘍は、対照群の雌 1 匹における単一の肺腺腫を除き、対照群および低用量群にはみられなかった。

Table 4.1.2.8.B Regional distribution of vinyl acetate-induced nasal tumors in rats

Site of origin	Tumor type
Olfactory region	2 inverted papillomas
	1 exophytic papilloma <sup>§</sup>
	1 squamous cell carcinoma
	1 carcinoma in situ
Respiratory region	2 inverted papillomas
Cuboidal epithelium of zone B <sup>a</sup>	2 squamous cell carcinoma
unknown	3 squamous cell carcinoma

#Cited from Bogdanffy et al., 1994b, <sup>§</sup> in a male of the 200 ppm group

<sup>a</sup> Zone B is located within a cross section of the nose at the level of the nasolacrimal duct medial/ventral to the incisor tooth root

マウスの主試験およびサテライト群では、投与関連の腫瘍の発生率上昇は、鼻、喉頭、気管、肺、およびそれ以外のマウスの組織では認められなかった。高用量群の雄 1 匹の一主気管支における単一の扁平上皮がん、対照群の雄 1 匹における単一の肺腺腫が認められた。

## 経口投与

- 慢性毒性/がん原性併合試験において、酢酸ビニル目標濃度 0、200、1000、および 5000 ppm を妊娠時から飲水投与した F<sub>0</sub> 動物の出生児について検討した (Bogdanffy *et al.*, 1994a; Shaw, 1988)。酢酸ビニルを雄雌 Sprague Dawley ラットに 2 年間飲水投与し (主試験は出生児 60 匹/性/用量、52 週目および 78 週目の中間評価時の屠殺数は 10 匹/性/用量)、濃度は 0、200、1000、および 5000 ppm (酢酸ビニル平均摂取量: 雄 0、10、47、202 mg/kg/日、雌 0、16、76、302 mg/kg/日) とした。被験物質が含有する混入物の濃度は、酢酸 11.5 ppm 以下、アセトアルデヒド 71 ppm 以下、水 389 ppm 以下で、被験溶液は 1 日 1 回調製された。臨床症状、体重、摂餌量および摂水量、各種パラメータ (血液学的検査、臨床化学検査、尿検査)、肉眼的および顕微鏡的異常について検討された。多数の臓器の組織病理学的検査が行われたが、口腔由来の組織は (舌を除き) プロトコールの対象臓器として収載されなかった。1000 および 5000 ppm 群は摂水量が減少し、5000 ppm 群は摂餌量が減少した。5000 ppm 群の雄では、対照群に比べ体重増加の平均値の有意な抑制が、1 年間 (-11%) および 2 年間 (-17%) に認められた。5000 ppm 群の雌では、体重増加の平均値の抑制は 2 年間 (-11%) にのみ認められた。死亡率および試験パラメータ (血液学的検査、臨床化学検査、尿検査) については、投与関連の影響は認められなかった。標的臓器全身毒性の証拠はなかった。1000 ppm 以上では、一部の臓器重量 (脳、腎臓、心臓、肝臓、脾臓、副腎、下垂体) が変化した。組織病理学的変化とは関連していなかったため、体重減少と関連しているとみなされた。摂餌量および摂水量が体重増加の抑制に起因し得ることから、高濃度でも最大耐量 (MTD) を超えなかった。著者は、投与関連

の発がん作用はないと結論付けた。扁平上皮がんが高用量群の雄 2 匹の口腔に認められ、それ以外に単一の付加的な口腔腫瘍が投与動物に認められた（低用量群および中用量群の雄それぞれ 1 匹に線維肉腫、中用量群の雌 1 匹に歯牙腫、高用量群の雌 1 匹に悪性神経鞘腫）。さらに、高用量群の雄 1 匹に単一の胃肉腫が認められた。報告されたすべての腫瘍（対照群および投与群、本評価書に報告されなかった腫瘍を含む）は、正常な発生率の範囲内で、本系統かつ本年齢のラットの生物学的変動の範囲内であるとみなされた。5000 ppm における体重増加の抑制により、非新生物性の作用の NOAEL は 1000 ppm（雄ラット：47 mg/kg 体重/日、雌ラット：76 mg/kg 体重/日）とされた。

標的と考えられる臓器のルーチン検査が行われなかったため、本試験では、腫瘍発生率の用量依存性かつ有意な上昇がなかったことにより、酢酸ビニルの発がんの可能性が陰性であるという証拠にするには不十分であった。口腔がプロトコルの対象臓器として検査されなかった場合でも、高用量群の雄には 2 例の扁平上皮がんが認められた。扁平上皮がんは対照群には認められなかったことに加え、本ラット系統の歴史的対照群における発生が稀であるため、本評価書報告担当者の私見から、本知見は酢酸ビニルの投与と関連し得るという疑問が生じる。この仮説は、ラットおよびマウスの口腔扁平上皮がんについて報告した、別の口腔がんに関する試験（Umeda *et al.*, 2004a）データとの一致により裏付けられる。

- Lijinsky and Reuber（1983）の慢性毒性試験では、酢酸ビニル経口投与後の動物がより高い腫瘍発生率になることについて、確定的ではない結果が示された。雄雌 F344 ラット各 20 匹からなる複数の群に、飲料水に溶解した酢酸ビニル 1000 または 2500 ppm を 100 週間投与し、最大 130 週間観察した。投与群では、3 種類の腫瘍がより高い発生率で出現した。その内訳は、肝新生物結節（雄：20 匹中 0 匹、20 匹中 3 匹、20 匹中 2 匹、雌：20 匹中 0 匹、20 匹中 0 匹、20 匹中 6 匹、歴史的対照群：3～9.1%）、子宮腺がん（20 匹中 0 匹、20 匹中 1 匹、20 匹中 5 匹、歴史的対照群：0.8～10.8%）、C 細胞腺腫および甲状腺がん（雄：20 匹中 2 匹、20 匹中 2 匹、20 匹中 1 匹、雌：20 匹中 1 匹、20 匹中 2 匹、20 匹中 6 匹、歴史的対照群：5～7.6%）であった。歴史的対照群のデータは、内部対照群および文献から報告された。酢酸ビニル溶液を週 1 回のみ調製したことによる加水分解が生じたため、本試験の性能は不十分であった。Bogdanffy *et al.*（1994a）は、水道水中の酢酸ビニルが 1 日後に 6～14%、7 日間に 40～60% 分解されることを報告した。グループサイズが発がん性試験の試験基準に比べ小さく、肉眼的病変のみ組織病理学的検査用に処理された。
- これに対し、日本バイオアッセイ研究センターが近年実施した発がん性試験（Umeda *et al.*, 2004a, Celanese 社, 1998）は、OECD ガイドライン 453 に適合することが報告され、酢酸ビニルの経口投与により腫瘍発生率はより高くなることが示された。雄雌 F344/DuCrj ラット各 50 匹からなる複数の群に、酢酸ビニル（98%、主な不純物：水、酢酸 [ppm に関するデータなし]）、ヒドロキノン 5 ppm、被験溶液は週 2 回調製）0、400、2000、および 10000 ppm を 104 週間飲水投与した（分析用量：400 ppm：雄 21、雌 31 mg/kg 体重/日、2000 ppm：雄 98、雌

146 mg/kg 体重/日、10000 ppm：雄 442、雌 575 mg/kg 体重/日に相当)。雄雌 Crj:BDF1 マウス各 50 匹からなる複数の群にも、酢酸ビニル 0、400、2000、10000 ppm を 104 週間飲水投与した（体重および摂水量から算出された平均用量：400 ppm：雄 42、雌 63 mg/kg 体重/日、2000 ppm：雄 202、雌 301 mg/kg 体重/日、10000 ppm：雄 989、雌 1418 mg/kg 体重/日に相当）。

- 各群の調製濃度のばらつきを設定濃度と比較すると、ラット試験では 400 ppm 群で 81～120.8%、2000 ppm 群で 89～102.7%、10000 ppm 群で 71.4～112%の範囲内であり、また、マウス試験の値については 400 ppm 群で 81～113.3%、2000 ppm 群で 88.4～118.4%、10000 ppm 群で 74.1～120%の範囲であった。酢酸ビニルの飲料水中濃度はガスクロマトグラフにより測定し、飲料水中の酢酸ビニルの安定性も、動物への投与から 4 日間前後の調製液で測定した。測定結果の比較により、安定性の確認について報告された（入手可能な定量データなし）。試験中、動物の全身状態を 1 日 1 回観察し、体重および摂餌量を最初の 14 週間に週 1 回評価し、その後体重を 2 週間に 1 回、摂餌量を月 1 回検査した。摂水量を最初の 14 週間に週 2 回、その後は 2 週間に 1 回評価した。生存動物の血液学的検査および臨床化学検査を、104 週目の間の予定剖検時まで 18 時間以上の絶食時間後に実施した。生存動物から採取された新鮮尿の尿検査を、投与最終週まで行った。現時点では、臨床検査について要約した表および個別データは得られていない。本試験終了時にすべての動物の剖検を実施し（ラット：97 週目、マウス：94 週目）、予定された屠殺動物の脳、肺、肝臓、脾臓、心臓、腎臓、副腎、精巣、卵巣の臓器重量を測定した。試験中、体重および摂餌量を最初の 2 週間に週 1 回評価し、その後体重を 2 週間に 1 回、摂餌量を月 1 回検査した。摂水量を最初の 2 週間に週 2 回、その後は 2 週間に 1 回評価した。血液学的検査、臨床化学検査、尿検査を実施した（時期に関するデータなし）。すべての動物の剖検を実施し、予定された屠殺動物の脳、肺、肝臓、脾臓、心臓、腎臓、副腎、精巣、卵巣の臓器重量を測定した。すべての動物の組織病理学的検査を行い、37 ヲ所の臓器/組織（鼻腔ならびに上顎および下顎各 3 レベルの切片からなる口腔を含む）を対象とした。
- 飲料水中の酢酸ビニルの濃度を調製から 4 日後に測定したところ、ラットでは最初の濃度の 72～80%、マウスでは 86～96%に低下することが認められた。調製から 4 日後測定された酢酸の濃度および pH は、4 日間の投与期間終了時の酢酸ビニル 400 ppm 調剤飲料水では 9.2 ppm および pH 4.0、2000 ppm 調剤飲料水では 47 ppm および pH 4.2、10000 ppm 調剤飲料水では 263 ppm および pH 3.6 であった。
- ラットでは、投与群間の生存率に有意差はなく、対照群の雄と雌にも認められなかった。高用量群では、対照群に比べ最終的な平均体重の軽微な減少が認められた（雄：-8%、雌：-10%）。体重増加の図に概要を示したとおり、1 週目から 16 週目までの増加曲線はすべての投与群および対照群で類似していた。高用量群の摂水量は、雄ラットでは対照群の平均 82%、雌ラットでは 75%であった。雄および雌の摂餌量については、酢酸ビニル投与群と対照群との値を比較しても、有意な群間差は認められなかった。血液学的検査では、高用量群雌ラットのへ

モグロビン濃度および平均赤血球ヘモグロビン (MCH) 濃度の上昇が示されている。高用量群雄ラットでは、アルブミン/グロブリン比の上昇、および総コレステロール値、リン脂質値、カルシウム値の低下が示された。尿検査では、400 および 10000 ppm 群雄ラットの尿 pH 低値を示した。剖検では、下顎結節が高用量群の雄 3 匹、および 400 ppm 群の雌 1 匹の下顎部に、また、上顎結節が 10000 ppm 群の雌 1 匹の上顎部に認められた。10000 ppm 投与群雄ラットでは、腎臓および肝臓の実重量が減少した。口腔、食道、および胃の腫瘍発生率がより高く、投与関連であるとみなされた (Table 4.1.2.8.C)。口腔では扁平上皮がん数の増加が雌暴露群に認められ (対照群 : 50 匹中 0 匹、400 ppm 群 : 50 匹中 1 匹、2000 ppm 群 : 50 匹中 1 匹、10000 ppm 群 : 50 匹中 3 匹、Peto 検定における有意差  $p < 0.05$ 、Fischer の正確確率検定および Cochran-Armitage 検定では有意差なし)、また、雄において有意な発生率の上昇が生じた (対照群、400 ppm 群、2000 ppm 群 : 50 匹中 0 匹、10000 ppm 群 : 50 匹中 5 匹、Peto 検定における有意差  $p < 0.01$ 、Fischer の正確確率検定および Cochran-Armitage 検定では  $p < 0.05$ )。扁平上皮がんの舌への転移を 10000 ppm 群の雄 1 匹に認めた。扁平上皮乳頭腫が 10000 ppm 群の雄 50 匹中 2 匹に認められた (高用量群の雄の総腫瘍発生率 : 14%)。高用量群では、基底細胞の活性化も雄 50 匹中 2 匹、雌 50 匹中 1 匹に認められた。上皮異形成が 10000 ppm 群の雌 50 匹中 2 匹にみられた。高用量群ラット口腔の新生物病変および新生物発生前病変の位置から、病変は口腔全体に分布するが、がん 8 例中 4 例はレベル VI (下顎部の下臼歯前縁) に発生することが示された。食道および胃の新生物発生前病変であると推定される腫瘍または病変は、10000 ppm 群においてのみ明らかにされた。雌 50 匹中 1 匹に、食道扁平上皮がんが生じた。雄 50 匹中 1 匹および雌 50 匹中 1 匹に、食道扁平上皮過形成が認められた。さらに、雌 50 匹中 4 匹に、基底細胞の活性化が認められた。10000 ppm 群では、胃腫瘍は発見されなかったが、基底細胞の活性化が雄 50 匹中 2 匹および雌 50 匹中 5 匹に生じた。

Peto 検定では、雄の精巣間質細胞腫発生の増加傾向 (対照群 : 50 匹中 42 匹、400 ppm 群 : 50 匹中 40 匹、2000 ppm 群 : 50 匹中 44 匹、10000 ppm 群 : 50 匹中 47 匹)、および雌の乳腺がん発生の増加傾向 (対照群 : 50 匹中 0 匹、400 ppm 群 : 50 匹中 0 匹、2000 ppm 群 : 50 匹中 0 匹、10000 ppm 群 : 50 匹中 3 匹) が示された。両腫瘍の発生率は、試験施設における歴史的対照群のデータの範囲内であった (間質細胞腫 : 82~98% [平均 : 89.6%]、乳腺がん : 範囲 0~6% [平均 : 2%])。

コメント : 本ラット試験の選択用量は、最高用量がきわめて高いものの、非特異的および特異的な臓器全身毒性の徴候が同定できなかったことから、MTD を超えているとはみなされなかった。雌ラットの最終体重の軽微な減少およびヘモグロビン値の上昇は、摂水量の有意な減少に起因する可能性がきわめて高かった。高用量群の雄における腎臓および肝臓の重量減少は、体重増加の抑制を反映している可能性があり、臓器毒性を示す病変は報告されなかった。臨床的に認められた悪液質の徴候の報告はなく、また、50 匹/投与群中 1 匹または 2 匹の口腔に生じた腫瘍塊が摂食の妨げになることは、影響を受けた動物が少数であるため想定されず、予測どおり、投与群の群別平均摂餌量は対照群の値と同程度であった。

高用量群雄雌ラットの口腔扁平上皮腫瘍（悪性および良性）の発生数増加は、投与関連であるとみなされた。高用量群の雄雌では口腔扁平上皮がんの発生率が上昇すると共に、高用量群で扁平上皮の良性腫瘍や新生物発生前病変が一部発生することに照らし、また、扁平上皮の自然発生腫瘍が口腔に生じるのは稀であることを考慮した結果、著者は、400 および 2000 ppm 群の単一の扁平上皮がん酢酸ビニルの投与に関連の可能性があるとみなし、本評価書報告担当者の見解もこれと一致した。同じことが、食道および胃にもたらすすべての作用について想定できる。

- マウスでは、投与群と対照群の生存率に雄および雌とも有意差を認めなかった。高用量群の最終的な体重減少を対照群と比較したところ、雄では 60 週目の後の最終的な体重減少が 30%、雌では 18%（開始 80 週目の後）であることが認められた。体重増加の図に概要を示したとおり、1 週目から 12 週目までの増加曲線はすべての投与群および対照群で類似していた。平均摂水量の減少が 10000 ppm 群の雄 (-15%)、および雌投与群すべてにおいて用量依存的に認められた（対照群の値に比べ、400 ppm 群では-24%、2000 ppm 群では-8%、10000 ppm 群では-17%）。投与群と対照群の摂餌量に有意差はなかった。血液学的検査では、高用量群の雄に血小板数、好中球数の増加、およびリンパ球数減少、また、高用量群の雌に平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC) 低下が示された。400 ppm 群の雄および 10000 ppm 群の雄雌では、血清グルコースが減少した。10000 ppm 群の雄では、アルブミン/グロブリン比の上昇、アルカリホスファターゼ (ALP) 活性の上昇、および総コレステロール値、トリグリセリド値、カルシウム値の低下が認められた。10000 ppm 群の尿検査では、尿 pH 低値および尿タンパクの増加を示し、本投与量群の雌では、尿タンパクおよびケトン体の増加を認めた。臨床所見では、10000 ppm 群の雄 6 匹および雌 6 匹の口腔に腫瘍塊が示され、最初の出現が雄では 65 ~ 78 週目の間、雌では 92 ~ 104 週目の間に認められた。剖検では、10000 ppm 群において下顎結節が雄 3 匹、雌 5 匹にみられ、上顎結節が雄 3 匹、雌 1 匹に生じた。高用量群雄雌マウスでは、複数の臓器における絶対重量の減少および相対重量の増加がみられ、著者はこれを体重減少に起因すると考えた。酢酸ビニルの投与に関連する腫瘍を口腔、食道、前胃、および喉頭に認めた。10000 ppm 群では、口腔扁平上皮がんが雄 50 匹中 13 匹、雌 49 匹中 15 匹に生じ（双方とも有意差あり）、扁平上皮乳頭腫が雄 50 匹中 4 匹、雌 49 匹中 34 匹に発生した（扁平上皮腫瘍の総発生率：雄 32%、雌 37%）が、対照群および低用量群には扁平上皮腫瘍がみられなかった。10000 ppm 群にのみ上皮異形成が雄 50 匹中 24 匹、雌 49 匹中 17 匹に認められた。2000 ppm 以上の用量からは、扁平上皮過形成も 2000 ppm 群の雄 50 匹中 2 匹、雌 50 匹中 1 匹、および 10000 ppm 群の雄 50 匹中 13 匹、雌 49 匹中 6 匹に認めた。基底細胞の活性化が 2000 ppm 群の雄雌それぞれ 50 匹中 1 匹、10000 ppm 群の雄 50 匹中 18 匹、雌 49 匹中 17 匹で明らかにされた。雄マウスの 60%超および雌マウスの 35%が口腔の様々な部位に 2 個以上の新生物発生前病変を生じ、その発生率が最も高かったのは下顎部のレベル V（下門歯と下臼歯との中間点）であった。食道には扁平上皮腫瘍がみられ、10000 ppm 群の雄 50 匹中 7 匹、雌 49 匹中 1 匹のがん、および 2000 ppm 群の雌 1 匹における単一の乳頭腫からな

っていた。10000 ppm 群で新生物発生前の性質を持つ病変は、上皮異形成（雄 50 匹中 2 匹、雌 49 匹中 7 匹）、扁平上皮過形成（雄 50 匹中 2 匹、雌 49 匹中 2 匹）、基底細胞の活性化（雄 50 匹中 9 匹、雌 49 匹中 15 匹）であった。前胃では、扁平上皮がんが高用量群の雄 50 匹中 7 匹、雌 49 匹中 3 匹に生じたのに対し、対照群およびそれ以外の投与群にはみられなかった。良性の扁平上皮乳頭腫が高用量群の雄 50 匹中 2 匹、雌 49 匹中 1 匹で明らかにされた。10000 ppm 群の雄は、上皮異形成（50 匹中 1 匹）、扁平上皮過形成（50 匹中 3 匹）、基底細胞の活性化（50 匹中 1 匹）を生じた。扁平上皮過形成は 400 ppm 群の雌 50 匹中 2 匹、10000 ppm 群の雌 49 匹中 4 匹に生じ、基底細胞の活性化は 10000 ppm 群の雌 49 匹中 1 匹に認められた。さらに、喉頭扁平上皮がんが 10000 ppm 群の雄 50 匹中 2 匹、2000 ppm 群の雌 50 匹中 1 匹、10000 ppm 群の雌 49 匹中 1 匹にみられた。10000 ppm 群では、上皮異形成（雄 50 匹中 2 匹、雌 49 匹中 3 匹）、扁平上皮過形成（雄 50 匹中 1 匹）、基底細胞の活性化（雄 50 匹中 3 匹、雌 49 匹中 6 匹）も生じた。投与マウスの胃腫瘍は前胃から生じることが報告されたが、ラット胃基底細胞の活性化については特定の局在性が認められなかった。それ以外の臓器/組織部位では、別の腫瘍型は雄雌両試験とも増加しなかった。口腔扁平上皮がんの転移が、10000 ppm 群の雄 2 匹、雌 2 匹の両肺およびリンパ節、また本投与群の別の雌 1 匹の唾液腺に認められた。食道または胃を起源とする扁平上皮がん両肺転移が別の雄 2 匹、また、腎臓、膵臓、リンパ節に転移した扁平上皮がんが別の雌 1 匹にもみられた。10000 ppm 群では、上記標的臓器の腫瘍による死亡が、口腔（雄 6 匹、雌 4 匹）、胃（雄 1 匹、雌 2 匹）、喉頭（雄 1 匹、雌 1 匹）、食道（雄 1 匹）で計雄 9 匹、雌 7 匹となった。著者は、雄雌マウスの口腔、喉頭、食道、胃に生じた扁平上皮腫瘍（悪性および良性）の原因が、酢酸ビニルの投与にあると結論付けた。唾液腺の萎縮が、下顎腫瘍を発生した 10000 ppm 群の雄 6 匹、雌 4 匹に認められ、これは、腫瘍増殖の二次的な変化と考えられた。

- コメント：最高用量群の動物に投与された高濃度（10000 ppm）により、最終的な平均体重の減少が生じたという観察結果から、MTD を超えていたことが示され得る。しかし、以下の理由により、MTD に到達していなかったという見解が裏付けられる。比較的多数の動物が扁平上皮腫瘍のため死亡したが、投与群と対照群との生存率に有意差はなかった。最終的な体重減少は、摂水量の減少に起因している可能性がある。増加曲線が、摂水量の曲線に数週間遅れて従っているようにみえるからである。雄雌双方に対する影響は本試験の後期相の間に生じ、摂水量の減少は 60 週目（雄）または 80 週目（雌）の後に始まった。摂水量の減少という抑制作用が、多くの死亡をもたらした扁平上皮腫瘍の発生に付加されていると考えられる。酢酸ビニルに関連した全身毒性の徴候は、非特異的および臓器特異的な有害作用のいずれとしても同定できなかった。他方の見解に立って MTD を超えていたとした場合、毒性の徴候は、mg/kg/日単位の摂取用量が高齢動物よりはるかに高かった試験初期相でも予測されたと考えられる。本評価書報告担当者のこのコメントは、MTD を超えていないという本研究者の結論（Umeda *et al.*, 2004b）と一致する。
- 著者は、ラットおよびマウスを対象にしたこの 2 年間発がん性試験から、酢酸ビニルを飲水

投与すると、直接的な接触による上部消化管領域の扁平上皮腫瘍（主に高暴露させた下顎の尾側および外側の領域）、ならびに扁平上皮腫瘍の初期に示される扁平上皮過形成、基底細胞の活性化および上皮異形成を生じると結論付けた。扁平上皮腫瘍に関連する最低濃度は、雌ラットでは 400 ppm、雌マウスでは 2000 ppm であった。これは、用量/体重として算出した場合、それぞれ 31 mg/kg/日および 61 mg/kg/日における腫瘍発生率の用量依存的な上昇に一致する。ラットおよびマウス（両動物種の雄雌双方を算出に結合）の口腔扁平上皮がんおよび口腔扁平上皮乳頭腫を併せた発生率について、10%の影響に対するベンチマーク用量の 95%信頼下限値（BMDL<sub>10</sub>）は 477 mg/kg/日であると予測された（ベンチマーク用量ソフトウェア [BMDS] version 1.3.1, 米国環境保護庁 [US EPA] 国立環境評価センター [NCEA] 多段階モデル）。

Table 4.1.2.8.C: Percentages of tumors and presumed preneoplastic lesions in a two-year carcinogenesis study on F344 rats and BDF1 mice with drinking water administration of vinyl acetate ( Umeda et al., 2004a)

RAT		10000 ppm		2000 ppm		400 ppm		control	
organ	Tumor type/preneoplasia	m#	f	m	f	M	f	m	f
oral cavity	squamous cell carcinoma	10.0*↑	6.0↑	-	2.0↑	-	2.0↑	-	-
	squamous cell papilloma	4.0	-	-	-	-	-	-	-
	basal cell activation	4.0	2.0	-	-	-	-	-	-
	epithelia dysplasia	-	4.0	-	-	-	-	-	-
esophagus	squamous cell carcinoma	-	2.0	-	-	-	-	-	-
	squamous cell hyperplasia	2.0	2.0	-	-	-	-	-	-
	basal cell activation	-	8.0	-	-	-	-	-	-
stomach	basal cell activation	4.0	10.0	-	-	-	-	-	-
MOUSE		10000 ppm		2000 ppm		400 ppm		control	
organ	Tumor type/preneoplasia	m	f	m	f	M	f	m	f
oral cavity	squamous cell carcinoma	26.0**↑↑	30.6**↑↑	-	-	-	-	-	-
	squamous cell papilloma	8.0↑↑	6.0↑↑	-	-	-	-	-	-
	squamous cell hyperplasia	26.0	12.2	4.0	2.0	-	-	-	-
	basal cell activation	36.0	34.6	2.0	2.0	-	-	-	-
	epithelial dysplasia	48.0	34.6	-	-	-	-	-	-
esophagus	squamous cell carcinoma	14.0*↑↑	2.0	-	-	-	-	-	-
	squamous cell papilloma	-	-	-	2.0	-	-	-	-
	squamous cell hyperplasia	4.0	4.0	-	-	-	-	-	-
	basal cell activation	18.0	30.6	-	-	-	-	-	-
	epithelial dysplasia	4.0	14.2	-	-	-	-	-	-
forestomach	squamous cell carcinoma	14.0*↑↑	6.1↑↑	-	-	-	-	2.0	-
	squamous cell papilloma	4.0	2.0	-	-	-	-	-	-
	squamous cell hyperplasia	6.0	8.1	-	-	-	4.0	-	-
	basal cell activation	2.0	2.0	-	-	-	-	-	-
	epithelial dysplasia	2.0	-	-	-	-	-	-	-
larynx	squamous cell carcinoma	4.0	2.0	-	2.0	-	-	-	-
	squamous cell hyperplasia	2.0	-	-	-	-	-	-	-
	basal cell activation	6.0	12.2	-	-	-	-	-	-
	epithelial dysplasia	4.0	6.0	-	-	-	-	-	-

m males, f females, - no tumor observed, #no of animals: 50 (except high-dose female mice: 49)  
 statistical results only on tumors: sign. difference to controls \* p<0.05, \*\* p<0.01 in Fisher's exact test positive trend in Peto test or in Peto test and Cochran-Armitage test ↑ sign. increase p<0.05 ↑↑ sign. increase p<0.01

- 近年 Maltoni *et al.* (1997) が行った酢酸ビニルの発がん性に関する別の生涯試験では、酢酸ビニルを経口投与された Swiss マウスの腫瘍発生率の上昇が報告された。本試験は 80 年代に開始され、その試験デザインはがん試験の現ガイドラインとの適合を示さなかった。新鮮な酢酸ビニル溶液を 1 日 1 回調製し、0、1000、および 5000 ppm (摂水量が体重の 15% であることに基づくと、算出により 0、150、または 750 mg/kg 体重/日に相当) で送水された飲料水を 78 週間自由に摂取させた。酢酸ビニルの純度および飲料水中の分析濃度、ならびに摂水量に関するデータは示されなかったが、被験物質が含有する不純物はベンゼン (30~45 ppm)、酢酸メチルおよび酢酸エチル (50 ppm)、クロトンアルデヒド (6~16 ppm)、アセトアルデヒド (2~11 ppm)、アセトン (330~500 ppm) であることが報告された。雄雌種畜 (雄 13~14 匹/群、雌 37 匹/群)、およびその雄雌出生児 (雄 37~39 匹/群、雌 44~48 匹/群) への投与を妊娠 12 日目に開始した。動物の臨床所見を 1 日 1 回提出し、体重を最初の 13 週間以内は週 1 回、それ以降 78 週目の投与終了までは 2 週間ごと、その後試験終了までは 8 週間ごとに記録した。肉眼的病変の証拠について、最初の 13 週間は週 1 回、それ以降は隔週で検査した。すべての動物を剖検し、28 ヶ所の臓器/組織およびそれ以外に肉眼的病変がある臓器について、組織病理学的検査を実施した。推定される標的臓器に関しては、頭部 5 切片は、投与期間 100 週間を超える動物のみを対象とした。舌、食道、胃、腸などそれ以外の標的臓器の顕微鏡検査も行ったが、喉頭は検査しなかった。雄雌種畜の体重には投与関連の作用はみられなかったが、雄雌出生児では平均体重の軽微な減少が認められた。生存率に及ぼす投与関連の作用は本試験終了時には生じず、雄雌出生児の生存率は対照群よりわずかに高かった。行動変化および非新生物病変は、肉眼的検査および組織学的検査により認められないことが報告された。腫瘍および推定される新生物病変は、投与動物の臓器 (Zymbal 腺、口腔、舌、食道、前胃、腺胃、肺、肝臓、子宮) において、より高い発生率で生じた (Table 4.1.2.8.D 参照)。胃腫瘍の増加は境界線上の増加であるとみなされ、肝細胞がんのより高い発生率は雄出生児にのみ認められた。肺、肝臓、子宮、Zymbal 腺の腫瘍は、日本の試験 (Umeda *et al.*, 2004a) の所見とは一致しなかった。こうした部位における腫瘍の自然発生率が本試験の対照群において比較的高いことに関しては、この結果の解釈は困難である。被験物質の不純物には既知発がん物質 (例えば、ベンゼン、ヒドロキノン) が含まれていたため、著者はこれらの不純物が腫瘍反応に関連しているとの仮説を立てた。本評価書報告担当者は、被験物質が不純物を含有し、ガイドラインによる試験手順と一致しないことから、本試験の信頼性が低いことを認識している。しかし、本試験は、他の試験と一部一致していることが示された。(一部の舌腫瘍を除き) 正常な組織を示した対照群に比べ、暴露経路 (口腔、舌、食道、前胃) に従って、扁平上皮腫瘍および扁平上皮異形成の発生率が顕著に上昇した。上部消化管の上皮表面に及ぼす作用のほとんどは、出生児の感受性の方が親動物より高かった。こうした部位の扁平上皮腫瘍は、Umeda *et al.* (2004a) の試験における BDF1 マウスのデータと一致した。不純物がきわめて低濃度であったことから、著者の仮説どおりである可能性は低いとみなされる。本試験において研究機関の調査を欠くことに基づくと、マウスの非新生物病変の NOAEL は 5000 ppm (750 mg/kg 体重/日) であった。

**Table 4.1.2.8.D: Percentages of tumors and presumed preneoplastic lesions in a lifetime carcinogenesis study in Swiss mice with drinking water administration of vinyl acetate for 78 weeks (Maltoni et al., 1997)**

group	concentrations	5000 ppm				1000 ppm				control			
		breeders		offspring		breeders		Offspring		breeders		offspring	
organ	tumor/preneoplastic lesion	13 m	37 f	49 m	48 f	13 m	37 f	37 m	44 f	14 m	37 f	38 m	48 f
Zymbal glands	carcinoma	-	2.7§	4.1	8.3	-	-	-	4.5	-	-	-	-
	squamous cell dysplasia	7.7	16.2	8.2	22.9	-	8.1	-	4.5	-	2.7	5.3	6.3
oral cavity	squamous cell carcinoma	7.7	2.7	20.4	18.8	-	-	-	-	-	-	-	-
tongue	squamous cell carcinoma	7.7	8.1	14.3	25.0	-	2.7	-	-	-	-	2.6	-
	squamous cell dysplasia	-	8.1	8.2	14.6	-	-	-	2.3	-	-	-	-
esophagus	squamous cell carcinoma	-	16.2	24.5	37.5	-	-	-	-	-	-	-	-
	acanthoma	-	2.7	-	6.3	-	-	-	-	-	-	-	-
	squamous cell dysplasia	30.8	16.2	8.2	14.6	-	-	-	-	-	-	-	-
forestomach	squamous cell carcinoma	-	8.1	4.1	14.6	-	-	-	-	-	-	-	-
	acanthoma	7.7	13.5	16.3	22.9	-	-	2.7	-	-	-	-	-
	squamous cell dysplasia	-	-	2.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
glandular stomach	adenocarcinoma	7.7	2.7	-	2.1	-	-	-	-	-	-	2.6	-
	adenomatous polyp	-	-	-	-	-	-	2.7	-	-	-	-	-
	glandular dysplasia	-	-	6.1	-	-	-	-	2.3	-	-	-	-
lung	adenocarcinoma	15.4	2.7	4.1	6.3	15.4	2.7	-	2.3	14.3	-	2.6	-
	adenoma	23.1	16.2	22.4	22.9	15.4	16.2	16.2	6.8	14.3	8.1	15.8	12.5
	animals bearing lung tumors	30.8	18.9	26.5	22.9	30.8	16.2	16.2	9.1	28.6	8.1	18.4	12.5
liver	animals bearing hepatocarcinoma/s	15.4	-	34.7	4.2	30.7	-	21.6	-	21.4	-	26.3	2.1
uterus	adenocarcinoma		16.2		16.7		5.4		13.6		2.7		10.4
	leiomyosarcoma		5.4		8.3		-		4.5		2.7		-
	leiomyoma		5.4		12.5		-		6.8		2.7		4.2
	total malignant uterus tumors		21.6		25.0		5.4		18.2		2.7		10.4

m males f females, - no tumor observed, § percentages, no statistical evaluation available

- 酢酸ビニルを、17 週齢の Sprague-Dawley ラット（種畜：雄 13 または 14 匹/群、雌 37 匹/群）および 12 日齢の胎児（出生児：雄 53～107 匹/群、雌 57～99 匹/群）に用量 0、1000、および 5000 ppm で飲水投与した（Minardi *et al.*, 2002）。投与を引き続き 104 週間行い、その後動物が自然死するまで水道水の摂取を維持した。酢酸ビニルの純度は 99%超で、不純物はベンゼン 30～45 ppm、酢酸メチルおよび酢酸エチル 50 ppm、クロトンアルデヒド 6～16 ppm、アセトアルデヒド 2～11 ppm、アセトン 330～5000 ppm であった。投与群では、悪性腫瘍およびがん、および/または前駆病変の総発生率が、口腔、唇、舌、食道、前胃において上昇した。
- 平均体重、生存率、挙動、および投与関連の非腫瘍性の病理変化については、投与群と対照群との間に差がないことが報告された（本論文に要約データの記載なし）。
- 口腔腫瘍および口唇腫瘍が、酢酸ビニル濃度 5000 ppm に暴露された出生児の雄雌では有意に頻発した（それぞれ 24.5%、15.5%に対し対照群 0%、Table 4.1.2.8.E）。17 週目以降投与されたラット群（種畜）の死亡時には、有意な作用が認められなかった。口腔扁平上皮がんが、（種畜）5000 ppm 群の雌 2 匹（5.4%）および 1000 ppm 群の雌 1 匹に認められた。舌および食道に有意な腫瘍反応はみられなかった。1000 および 5000 ppm 種畜群の雌 1 匹および出生児群の雌 2 匹に、舌扁平上皮がんが生じた。一方、扁平上皮異形成はすべての投与群の雌に共通して認められ、5000 ppm 群（種畜および出生児）の発生率は対照群に比べ有意に高かった。食道では、濃度 5000 ppm に暴露させた雄出生児 1 匹に、扁平上皮がん 1 例のみが認められた。これに対し、5000 ppm の種畜群および出生児群の扁平上皮異形成発生率は、対照群に比べ有意に高かった。前胃の自然発生異形成を、対照群の多くの種畜および出生児に認めた（3.7～8.1%）。その発生率は、1000 および 5000 ppm 出生児群の雄雌では有意に上昇した（16.1%から最大 24.6%）。前胃扁平上皮腫瘍の有意な頻発が、1000 および 5000 ppm 出生児群の雄、5000 ppm 出生児群の雌にみられた。
- 以上より、投与関連の腫瘍発生率の有意な上昇が、5000 ppm 出生児群雄雌双方の口腔および唇に、また、出生児群 1000 ppm 以上の雄ラットおよび 5000 ppm 雌ラットのの前胃に認められた。これらの群では前駆病変とみなされる扁平上皮異形成が増加し、5000 ppm 種畜群でも認められた。種畜群の動物数が限られているものの、妊娠 12 日目に投与を開始した出生児群の動物の方が、腫瘍および前駆病変の発生に対する感受性が高いと思われた。
- 本試験は、発がん性試験の現基準を遵守していなかった。種畜群における少数の被験動物、被験群間の動物数のばらつき、投与期間終了後自然死までの延長は、本試験の主要な限界であった。試験終了ではなく動物を自然死まで生存可能にし、腫瘍発生率について生存期間による補正を行わなかった。摂餌量および摂水量のデータは得られなかった。

Table 4.1.2.8.E: Percentages of tumors and presumed preneoplastic lesions in a life-time carcinogenesis study in Sprague-Dawley rats with drinking water administration of vinyl acetate for 104 weeks (Minardi et al., 2002)

group	concentrations	5000 ppm				1000 ppm				control			
		breeders		offspring		breeders		Offspring		breeders		offspring	
organ	tumor/preneoplastic lesion	13 m	37 f	53 m	57 f	13 m	37 f	83 m	87 f	14 m	37 f	107 m	99 f
oral cavity	squamous cell carcinoma		5.4	24.5**	15.8**	-	2.7	-	-	-	-	-	-
	squamous cell dysplasia			5.7					2.3			0.9	
tongue	squamous cell carcinoma	-	2.7	1.9	3.5	-	2.7	-	-	-	-	-	-
	squamous cell dysplasia	-	18.9*	5.7	15.8** §	-	8.1	-	2.3 §	-	-	-	-
esophagus	squamous cell carcinoma	-	-	1.9	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	squamous cell dysplasia	15.4	21.6* §	35.8**	40.4** §	7.7	5.4§	-	4.6§	-	2.7	-	-
forestomach	squamous cell carcinoma	7.7	8.1	13.2**	7.0*	7.7	-	7.2*	3.4	-	-	-	-
	squamous cell dysplasia	30.8	29.7*	24.5** §	24.6** §	23.1	5.4	19.3** §	16.1* §	7.1	8.1	3.7	4.0

\*p<0.05, \*\* p<0.01 using  $\chi^2$ test, § p<0.001 using Cochran-Armitage test for dose-response relationship

#### 経口投与後に関するその他の情報

- 新生児 Wistar ラット (4~5 匹/性/群) を、練乳に溶解した酢酸ビニル 100 または 200 mg/kg 体重/日 (純度 99%、不純物: ヒドロキノン 100 ppm) に 1 日 2 回 3 週間経口暴露させた。サブグループの動物には、新生物発生前の肝増殖巣発生の可能性増大を促すため、加えてフェノバルビタールを 8 週間飲水投与した。試験開始から 14 週間後、肝臓を解剖した。肝結節発生の徴候として肝臓に ATP アーゼ不含、 $\gamma$ -GT 陽性の領域は発見できなかった (Laib and Bolt, 1986)。

#### 実験動物における酢酸ビニルの発がん性に関する要約

酢酸ビニルの長期吸入後、ラット鼻粘膜の様々な領域に多数の鼻腫瘍 (主に乳頭腫および扁平上皮がん) が誘発された。総発生率は濃度 600 ppm で有意に上昇したが、単一の乳頭腫が既に 200 ppm で発生した。マウスでは、酢酸ビニル蒸気の長期吸入後、有意な腫瘍反応がみられなかった。時に、ラットおよびマウスでは、単一の扁平上皮腫瘍が気道の別の部位に生じた。

完全な報告は得られなかったが、F344 ラットおよび BDF1 マウスを対象にした、近年の口腔がんに関する試験 (Umeda *et al.* 2004a) から公表された情報では、酢酸ビニル 10000 ppm を 2 年間飲水投与後、扁平上皮腫瘍発生率の有意な上昇が口腔 (ラットおよびマウス)、食道および前胃 (マウス) において示された (平均用量: ラット雄 442 mg/kg 体重/日、雌 575 mg/kg 体重/日、マウス雄 989 mg/kg 体重/日、雌 1418 mg/kg 体重/日に相当)。腫瘍発生率の最大値は、両動物種の口腔で認められた。扁平上皮がんは、既に用量 400 ppm の雌ラット (31 mg/kg 体重/日) に認めた。マウスの種畜世代および出生児世代を対象にした別の生涯試験 (Maltoni *et al.*, 1997) では、がんバイ

オアッセイの実際の基準とは一致していなかったが、本試験でも一貫して、飲料水中の濃度 5000 ppm (算出用量 : 780 mg/kg 体重/日) において、扁平上皮腫瘍の発生率上昇が消化管の複数の部位 (口腔、舌、食道、前胃) で認められた。さらに、腺胃領域の腺がん発生率が、高用量の雄種畜ではより高いことを見出した。また、一部のそれ以外の臓器 (肺、肝臓、子宮) についても、良性腫瘍および悪性腫瘍の発生率が対照群に比べ高いことが示された。肝臓および子宮の腫瘍は、Lijinsky の試験でも認められた (Lijinsky and Reuber, 1983)。ただし、両試験とも方法が不十分であることが妨げとなった。さらに、これらのデータは、実質腫瘍がなかった他のより妥当性が高い試験結果とは一致しなかった。したがって、これらの腫瘍の解釈は依然として不明である。酢酸ビニルの発がんの可能性については、Lijinsky and Reuber (1983) の結果に方法に関する複数の不備があるため、信頼性はないとみなされた。別の試験 (Laib and Bolt, 1986) では、酵素異変肝増殖巣の発生率上昇の徴候が認められなかった。

ラットに酢酸ビニル最大濃度 5000 ppm を経口投与した別のがん試験では、明確な陽性となる腫瘍反応が認められなかった (Shaw, 1988, Bogdanffy *et al.*, 1994a)。舌を除く口腔組織は、基準となるプロトコールの組織病理学的検査の対象組織として挙げられなかった。それでも、本試験では、5000 ppm 群の雄の口腔扁平上皮がん 2 例の発生が示された。

酢酸ビニル 1000 または 5000 ppm 飲水暴露ラットに関する近年の公表データでは、口腔および前胃の扁平上皮がんの有意な増加が確認された (Minardi *et al.*, 2002)。出生児への投与による腫瘍発生率は、生後 17 週目に投与を開始したラットより高かった。ただし、本試験には試験デザインに多くの限界がある。したがって、胃腸に沿った腫瘍反応を裏付ける解釈は、Umeda の試験結果であると考えられる。

#### ヒトにおけるデータ :

酢酸ビニルに対するヒト反復暴露の情報は少ない。暴露および作用の定量データについて、十分な研究結果および文書は得られなかった。作業員は他の化合物にも暴露したため、作用が酢酸ビニルに明確に起因するとは断定できない。交絡因子 (すなわち喫煙習慣) は排除されなかった。したがって、観察された作用がヒト健康リスクの評価に妥当であるかは疑問である。こうした限界はあるが、一部の文献データについて以下引用する。

- ある後ろ向き研究では、生産工場の化学物質製造オペレータ 21 名 (平均年齢 : 45.3 歳) が、酢酸ビニル蒸気最大濃度 49.3 ppm (時間加重平均 [TWA] : 5.2~8.2 ppm) に平均期間 15.2 年暴露したが、酢酸ビニル関連の損傷も差異も医学的および生化学的パラメータには示されなかった。時に、高濃度の急性暴露に起因する局所刺激反応がみられた (Deese and Joyner, 1969)。
- あるコホート研究では、男性作業員 4806 名が酢酸ビニルを含む 19 種類の化学物質 (塩化ビニル、ポリ塩化ビニル粉末、塩素系溶剤、アクリル酸、アクリロニトリルなど) に 1942~1973

年間の暴露され、呼吸器系および中枢神経系（CNS）の過剰ながんリスクが認められた。肺未分化大細胞がんの（肺がん例からなる）サブグループは、酢酸ビニルのわずかに高い累積暴露と関連していた（Waxweiler *et al.*, 1981）。

- あるネステッドケースコントロール研究（Ott *et al.*, 1989）は、化学製品製造施設 2 社および研究開発施設 1 社の男性従業員コホート 29139 名を対象に実施された。対象者は、非ホジキンリンパ腫、多発性骨髄腫、リンパ性または非リンパ性白血病による 1940～1978 年の死亡者とした。暴露のオッズ比（OR）は作業区域 111 ヶ所、特定の化学物質 21 種類（あり/なしの基準に基づく OR）、化学活性基 52 種類について検討された。酢酸ビニル暴露との関連は、非ホジキンリンパ腫について 52 名中 7 名（OR 1.2）、多発性骨髄腫について 20 名中 3 名（OR 1.6）、非リンパ性白血病について 39 名中 2 名（OR 0.5）、リンパ性白血病について 18 名中 2 名（OR 1.8）で認められた。暴露期間関連の OR の検討は、OR が 1.3 未満または症例数が 4 例未満であることから行われなかった。

### ヒトにおけるデータに関する要約

ヒトにおける経験データは、酢酸ビニルの暴露と特に関連していなかった。要約すると、上記疫学データはヒトにおける酢酸ビニルの発がんの可能性を評価するには不十分である。

### 代謝物のその他情報

アセトアルデヒドおよび酢酸の両代謝物の毒性/発がん性データから、酢酸ビニルの毒性に果たすと考えられる役割について検討した。

### アセトアルデヒド

アセトアルデヒドの外部暴露による影響については、内因性アセトアルデヒドの濃度を考慮しなければならない。

#### 内因性アセトアルデヒド：

アセトアルデヒドは、動物およびヒトの代謝経路（エタノールおよび糖の代謝）において自然発生する物質であり、ヒトの血中に低濃度で生じる。

正常な対照被験者では、アセトアルデヒドの肺血中濃度が 0.1～2.1  $\mu\text{M}$  の範囲で算出されている（Eriksson, 1987）。血中内因性アセトアルデヒド濃度の正確な測定は、分析手順の間の人為的なアセトアルデヒド形成の排除が困難なことが障害となる。禁酒家の全血に関連するアセトアルデヒド（WBAA）濃度は、 $7.9 \pm 0.7 \mu\text{M}$ （男性 102 名）および  $7.7 \pm 0.6 \mu\text{M}$ （女性 123 名）であること

が、Halvorson *et al.* (1993) により測定された。また、男性ヒトボランティア (n=4) のアセトアルデヒド濃度は  $0.7 \pm 0.5 \mu\text{M}$  であることが、ヘッドスペースクロマトグラフィー実施後の全血に由来する沈殿物のない上清において得られた (Fukunaga *et al.*, 1993)。

アルデヒドデヒドロゲナーゼ阻害剤シアナミドおよびジスルフィラム投与雄 Long-Evans ラットでは、血中内因性濃度が最大 2~5  $\mu\text{M}$  と測定されたが、対照動物では血中内因性アセトアルデヒドを検出できなかった (Eriksson, 1985)。これらの結果から、タンパク質結合型の内因性アセトアルデヒドの存在が示され得る。

アセトアルデヒド外部暴露後の反復投与による影響：

吸入暴露/動物におけるデータ

- 嗅上皮または呼吸上皮からなるラット鼻甲介外植片を用いた実験では、嗅上皮および呼吸上皮において濃度 50 mmol でアセトアルデヒドの細胞毒性の可能性を立証できなかった (Kuykendall *et al.*, 1993) が、反復投与試験ではラット鼻上皮におけるアセトアルデヒドの細胞毒性が立証された。
- ラットの鼻のみアセトアルデヒド 750 ppm または 1500 ppm に連続 3 日間 (6 時間/日) 暴露させたところ、ラット (雄 5 匹/群) の呼吸上皮に組織病理学的異常は認められなかった (Casseo *et al.*, 1996)。嗅部では、750 ppm 群の 5 匹中 3 匹に少数の壊死細胞がみられ、また、1500 ppm 暴露群の 5 匹中 4 匹に細胞壊死 (範囲：きわめて少数~多数の壊死細胞) が示された。
- ラットをアセトアルデヒド 0、400、1000、2200、または 5000 ppm (790~9000  $\text{mg}/\text{m}^3$ ) に 4 週間 (6 時間/日、5 日/週) 暴露させたところ、5000 ppm における投与関連の変化には、呼吸困難、各個体暴露の最初の 30 分間における興奮、黄褐色の被毛、重度の発育遅延、血中の好中球増加およびリンパ球減少、高濃度尿を伴う尿産生低下、肺重量の増加、鼻・喉頭・気管上皮の重度の変性性・過形成性・化生性変化が挙げられた。最も重度の鼻病変は嗅上皮で見出されたが、限局性病変が、特に呼吸上皮に覆われた鼻腔後部にも認められた。5000 ppm 群では、肺胞の一部に色素沈着マクロファージの蓄積や、肺胞中隔の限局的な細胞充実性の増大/肥厚など小さな変化が時に認められた。1000 および 2200 ppm (1800~3960  $\text{mg}/\text{m}^3$ ) 群にみられた主病変は、発育遅延および雄の尿産生増加、嗅上皮における軽微~中等度の変性 (過形成および化生の場合とそうでない場合とあり)、また、2200 ppm 群のみ喉頭および気管の上皮のきわめて軽微な変化からなっていた。アセトアルデヒド 1000 および 2200 ppm 群では、過形成でない限局的な変性病変も雄 1 匹および雌の半数に認められた。濃度 400 ppm で認められた、アセトアルデヒドに起因し得る唯一の変化は、微絨毛の喪失、ならびに上皮細胞層の菲薄化および攪乱とみられる鼻嗅上皮の軽微な変性であった (Appelman *et al.*, 1982)。

- 気道に組織病理学的変化がない濃度は、雄 Wistar ラットにおける 4 週間吸入試験 (6 時間/日、5 日/週) では、150 ppm であると予測された (Appelman *et al.*, 1986)。500 ppm 群で認められた鼻病変は、平均して軽微～中等度の重症度を持つ嗅上皮の変性からなる 400 ppm 群の記述と類似していた。
- ラットをアセトアルデヒド蒸気 0、750、1500、3000 (1000 ppm に漸減) ppm に最大 28 ヶ月間 (6 時間/日、5 日/週) 暴露させた発がん性試験において、投与関連の作用には、死亡率の上昇、発育遅延、鼻腫瘍 (Table 4.1.2.8.F)、各被験群の鼻における非新生物病変への変化が挙げられた。468 日目の高用量群の死亡率は、雄 50% (55 匹中 28 匹)、雌 42% (55 匹中 23 匹) であった。715 日までに、高用量群のすべてのラットが死亡し、844 日目の試験終了時には、中用量群の少数の動物のみなお生存していた。試験終了時、すべての暴露濃度において用量依存的な鼻の変化がみられ、嗅上皮の変性、化生、および腺がんからなっていた。上位 2 高暴露濃度群の呼吸上皮では扁平上皮化生および扁平上皮がん、また、最高濃度群には軽微～重度の鼻炎および副鼻腔炎が示された (Table 4.1.2.8.G)。喉頭では、声帯領域の上皮過形成および角化扁平上皮化生が、中濃度群および最高濃度群の多くのラットに認められた。1500 ppm 群の雌 1 匹に喉頭上皮内がんが発生した (Woutersen *et al.*, 1986)。

TABLE 4.1.2.8.F

Tumor incidence in the nasal cavity of rats exposed to acetaldehyde vapour for at most 28 months

Site/type of tumor	Tumor incidences <sup>a</sup>							
	Males				Females			
	control	750	1500	3000/ 1000	control	750	1500	3000/ 1000
<b>Nose</b>	(49)#	(52)	(53)	(49)	(50)	(48)	(53)	(53)
Papilloma	0	0	0	0	0	1	0	0
Squamous cell carcinoma	1	1	10*	15***	0	0	5	17***
Carcinoma in situ	0	0	0	1	0	0	3	5
Adenocarcinoma	0	16***	31***	21***	0	6*	26***	21***
<b>Larynx</b>	(50)	(50)	(55)	(52)	(53)	(52)	(54)	(54)
Carcinoma in situ	0	0	0	0	0	1	0	0

<sup>a</sup> The number of animals examined is given in brackets.

Statistics: Fisher Exact Test \*P<0.05 \*\*P<0.012 \*\*\*P<0.001

# Number of tissues examined (Data from Woutersen et al. 1986)

TABLE 4.1.2.8.G: Treatment-related non-neoplastic lesions in the nasal cavity of rats exposed to acetaldehyde vapour for at most 28 months

Site/type of lesions	Males				Females			
	control	750	1500	3000/1000	control	750	1500	3000/1000
Nose	(49)	(52)	(53)	(49)	(50)	(48)	(53)	(53)
<b>Respiratory epithelium</b>								
Squamous metaplasia without keratinisation	0	1	11**	1	0	3	14***	0
Squamous metaplasia with keratinisation	0	0	5	19***	0	1	16***	18***
Papillomatous hyperplasia	0	0	0	2	0	0	0	6*
Simple/pseudoepitheliomatous hyperplasia	0	5	16***	8**	0	3	31***	9**
<b>Olfactory epithelium</b>								
Squamous metaplasia without keratinisation	0	0	0	0	0	0	1	1
Squamous metaplasia with keratinisation	0	0	0	3	0	0	0	0
Basal cell hyperplasia without atypia	0	37***	9**	0	0	42***	19***	0
Basal cell hyperplasia with atypia	0	1	17***	0	0	0	5	0
Submucosal atypical basal cells	0	0	23***	0	0	0	31***	2
Proliferation of glands in the thickened submucosa	0	0	14***	5	0	4	18***	5
<b>Larynx</b>	(50)	(50)	(51)	(47)	(51)	(46)	(47)	(49)
Squamous metaplasia without keratinisation	2	2	10*	9*	1	0	6	9*
Squamous metaplasia with keratinisation	1	4	13***	32***	0	3	17***	23***
<b>Proliferation of dysplastic epithelium</b>	0	0	1	0	0	1	4	2
<b>Lungs</b>	(55)	(54)	(55)	(52)	(53)	(52)	(54)	(54)
Keratinised stratified squamous metaplasia of bronchial epithelium	0	0	0	1	0	0	0	0

The number of animal examined is given in brackets.  
 Statistics: Fisher exact Test \*P<0.05 , \*\*P<0.01 , \*\*\*P<0.001, Data from Woutersen et al. 1986

28 ヶ月後にみられたものと同程度の病変が、上記報告 (Woutersen *et al.*, 1986) と同じ投与レジメン実施後、13、26 週目 (各 5 匹/性/群からなるサブグループ) および 52 週目 (10 匹/性/群) に屠殺された追加の中間屠殺群のアセトアルデヒド暴露ラットに認められ、鼻および喉頭の重度の異常、気管の小さな変化、および鼻腫瘍が明確に示された (Woutersen *et al.* 1984)。この間隔で屠殺された動物のうち、気道の腫瘍が得られたのは 53 週目に屠殺した高用量群の雌 1 匹のみで、鼻扁平上皮がんを有していた。

- 鼻腫瘍数の増加は、アセトアルデヒド蒸気 750、1500、または 3000/1000 ppm を 78 週間吸入したラットに加え、アセトアルデヒドに 52 週間暴露後最大で 26 週間の回復期間を設けたラットでも明白であった (Woutersen and Feron, 1987)。
- ハムスターに 2500 ppm (4500 mg/m<sup>3</sup>) 吸入暴露させ、52 週間 (7 時間/日、5 日/週) で 1650 ppm (2970 mg/m<sup>3</sup>) に漸減したところ、鼻上皮の過形成性変化および化生性変化を生じ、ハムスターに鼻腫瘍 (52 匹中 3 匹) および喉頭腫瘍 (47 匹中 11 匹) が発生した (Feron *et al.*, 1982)。

## 経口投与/動物におけるデータ

- Wistar 由来ラット (Cpb:WU) を対象に、アセトアルデヒドの亜急性経口毒性試験が実施された (Til *et al.*, 1988)。雄雌各 10 匹からなる複数の群に、アセトアルデヒド 0、25、125、および 675 mg/kg 体重/日を 4 週間飲水投与した。摂餌量および摂水量が最高用量群において減少した。血液学的検査、臨床化学検査、尿検査のパラメータには有意な影響がなかった。唯一の有害作用は、高用量群の雄雌の胃における軽微～中等度の過角化であった。
- Soffritti ら (Soffritti *et al.*, 2002) が公表した経口発がん性試験の結果は、発がん性バイオアッセイにおいて陽性であることを発表した Maltoni *et al.* (1997) の結果と一致すると考えられる。Sprague-Dawley ラット雄 50 匹および雌 50 匹に、アセトアルデヒド濃度 0、50、250、500、1500、または 2500 mg/L を 104 週間飲水投与した。投与群の複数の臓器では、腫瘍の発生率上昇が認められた。しかし、その作用は用量依存的でなく、本試験から明確な結論は下せなかった。
- 細胞増殖活性に関する試験では、Wistar ラット 20 匹にアセトアルデヒド濃度 120 mM (324 mg/kg/日) の飲水投与か水道水の投与のいずれかが 8 ヶ月間実施された (Homann *et al.*, 1997)。組織試料を各動物の舌、喉頭蓋、前胃から採取し、細胞増殖マーカー (Ki67 核抗原) または細胞分化マーカー (サイトケラチン 1、4、10、11、14、19) の免疫組織化学染色を行った。各試料の上皮厚の平均値を光学顕微鏡法により測定し、対照群と投与群との差を Student の独立 *t* 検定を用いて分析した。腫瘍は認められなかったが、サイトケラチン 4 および 14 の染色から、アセトアルデヒド投与ラットの扁平上皮基底層の肥大が示された。これらの動物の細胞増殖は、舌 ( $p<0.0001$ )、喉頭蓋 ( $p<0.001$ )、前胃 ( $p<0.0001$ ) の試料について、対照群に認められた増殖より有意に亢進した。さらに、アセトアルデヒド投与群の上皮は、対照群の上皮より有意に肥厚していた (3 つの部位すべてで  $p<0.05$ )。

## 経口摂取/ヒトにおけるデータ

- アルコールの摂取は中咽頭、喉頭、食道の扁平上皮がんの危険因子であることが周知されている。食道腫瘍のヒトリンパ球においてアセトアルデヒドにより誘発される変異スペクトルは、*p53* 腫瘍抑制遺伝子の場合と一致するという知見から、上部消化管腫瘍が、エタノールの一次酸化物であるアセトアルデヒドに起因するとの仮説は支持されると解釈された (Noori and Hou, 2001)。

アセトアルデヒドの発がん性に関連するその他のデータ

- 化粧品及び非食品に関する科学委員会（SCCNFP, 2004）により示された、近年のアセトアルデヒドに関する評価では、追加的なヒト症例データを含むデータが報告された。

アセトアルデヒドは自然発生する物質であり、ヒトの代謝経路においても例外ではない。アセトアルデヒドは酢酸に代謝される。アセトアルデヒドそれ自体がエタノールの主要代謝物であり、その反応はアルコールデヒドロゲナーゼ（ADH）により触媒される。ヒトの ADH は 5 種類明らかにされ、そのうち 2 種類（ADH2 および ADH3）の遺伝子多型が知られている。特に、ADH3 の遺伝子多型は、エタノールからアセトアルデヒドへの代謝に強い影響を及ぼすように見え、ADH3 1 対立遺伝子保有者は ADH3 2 保有者より迅速に代謝する。アセトアルデヒドは、アルデヒドデヒドロゲナーゼ（ALDH）およびグルタチオン S-トランスフェラーゼ（GST）など、第 II 相酵素により代謝される。ALDH2 には遺伝子多型があり、その変異対立遺伝子である ALDH2 2 は酵素を失活に導き、アジア系集団に多い。GSTM1 にも遺伝子多型があり、ヌル遺伝子型である GSTM1 0 は主にヨーロッパ系集団に存在する（Coutelle *et al.*, 1997）。したがって、同程度の量のアルコールを摂取しても、ADH3 2、ALDH2 2、および GSTM1 0 対立遺伝子保有者は、それ以外の保有者よりアセトアルデヒド暴露濃度が高いと考えられる。このことを裏付けるデータが、ALDH2-/-ノックアウトマウスの血中アセトアルデヒド濃度を 2 倍にしたところ、野生型（ALDH2+/+）マウスに比べ、より重度の毒性を認めた試験（Isse *et al.*, 2005）から得られた。

各種アルデヒドに暴露された化学工業の作業員に関する 1 件の研究では、気管支腫瘍および口腔腫瘍の相対発生頻度の上昇が、がんの症例 9 例において認められた。3 件の症例対照研究では、多量のアルコール摂取後の口腔、咽頭、喉頭、食道のがんリスクについて、エタノールからアセトアルデヒドの代謝に関与する酵素（アルコールデヒドロゲナーゼ 3）、およびアセトアルデヒドをさらに代謝する酵素（アルデヒドデヒドロゲナーゼ 2 およびグルタチオン S-トランスフェラーゼ M1）の遺伝子多型に従って評価された。ほとんどの研究の研究デザインおよび症例数の少なさに限界はあったものの、これらの研究から、多量のアルコール摂取後、体内のアセトアルデヒドをより高用量に導く遺伝子多型を持つ被験者のアルコール関連のがんリスクは、そうでない遺伝子多型を持つ被験者に比べ高いことが一貫して示された。

食道腫瘍は、飲酒後代謝対象になるアセトアルデヒドが遺伝的決定により高濃度になる場合と関連している。日本の症例対照研究（Yokoyama *et al.*, 1996）において、アルコール依存患者（症例 40 名、対照 55 名）と非アルコール依存性の飲酒者（症例 29 名、対照 28 名）の食道扁平上皮がんの ALDH2 関連リスクについて 1991～95 年の間検討したところ、アルコール依存患者（粗オッズ比：7.6、95%信頼区間 [CI]：2.8～20.7）と非アルコール依存性の飲酒者（オッズ比：12.1、95% CI：3.4～42.8）の双方で、ALDH2 2 対立遺伝子が 1 つある者について

て食道がんリスクはより高くなることが示された。Mantel-Haenszel 検定により年齢およびアルコールの1日摂取量を調整しても、リスク予測に実質的な影響はなかった（調整オッズ比は示されず）。変異対立遺伝子である ALDH2 2 保有者は、飲酒後の血中アセトアルデヒド濃度が高いため、本研究結果から、アセトアルデヒドはヒトの発がんに関与を果たすことが強く示唆されると解釈された。

国際がん研究機関 (IARC) では、アセトアルデヒドのヒト発がん性の証拠は不十分であるが、実験動物におけるアセトアルデヒドの発がん性の証拠は十分にあると結論付けている。

全体的な結論では、アセトアルデヒドはヒトに発がん性の可能性がある（グループ 2B）とされた。

EU では、アセトアルデヒドは EU 分類における発がん物質であり、カテゴリ 3 の発がん物質およびカテゴリ 3 の変異原とされている。

## 酢酸

吸入暴露/ガイドラインと同等の反復投与動物試験は得られていない。

マウス鼻粘膜に酢酸を 4、9、または 14 日間（6 時間/日）暴露させた場合、組織病理学的病変を誘発する最低濃度は、55.4 ppm であった（Zissu, 1995）。嗅粘膜のみ影響を受けた。

ラットの鼻のみに酢酸目標濃度 600 µL/L または 1300 µL/L（0.6 または 1.3 ppm）を 4 時間吸入させた後、20 時間の観察期間に暴露ラット 5 匹中 3 匹の鼻腔では、レベル 1 の背側道の呼吸上皮にきわめて限局的な病変が生じた（Kilgour *et al.*, 2000）。*In vitro* において、嗅部および呼吸部からなる鼻甲介に酢酸 53.3 mM（*in vivo* における大気中濃度相当と算出された濃度）を 4 または 24 時間暴露させると、ATP およびカリウムの濃度が有意に低下した。

## 酢酸ビニルの発がんに関する考察

製造業界では、気道および消化管で類似している酢酸ビニル誘発性の発がん作用について、遺伝毒性でない作用機序を想定した。この仮説の受け入れについては、本評価報告書の以下パートにおいて臓器系別に考察する。考察は、がんのリスク評価に関する国際化学物質安全性計画 (IPCS) の枠組みにより提案されたとおりとし、細分化された項目 ([1999 年のがんのリスク評価に関する IPCS の枠組みによれば] 想定される作用機序、仮説に伴う重要事象、用量反応関係、経時的関係、関連の強さ・一貫性・特異性、生物学的妥当性および一貫性、矛盾・不確定要素・データのギャップ、腫瘍の作用機序の評価) について検討する。

### **I. 気道腫瘍：**

#### Ia. 想定される作用機序

Bogdanffy らは、鼻粘膜の呼吸上皮および嗅上皮における酢酸ビニルの代謝により、細胞内  $H^+$  の局所濃度が上昇するため、組織の酸性化が生じることを想定した。この pH 低下により、毒性、萎縮、変性、その後の修復性過形成をもたらす。動物の寿命の大幅な期間に過形成の活性化刺激を受けることにより、変異および腫瘍形成の確率が上昇する。この仮説では、変異原性の 1 つである DNA-タンパク質クロスリンクをもたらす物質として、アセトアルデヒドが細胞毒性の役割にわずかに寄与することを強調している。「自然突然変異およびアセトアルデヒド誘発性の DNA-タンパク質クロスリンク (DPX) が誘発する十分な遺伝子損傷により、嗅部が変性し増殖亢進状態となり、最終的には酢酸ビニル高濃度下で新生物への形質転換に進行する」と記述された (Bogdanffy and Plowchalk, 2001)。その後、その作用機序に関する考察はわずかに変更された (Bogdanffy, 2002, Hinderliter *et al.*, 2005)。細胞内酸性化は、酸性化により誘発される鼻の呼吸上皮の分裂促進的な細胞増殖、および酸性化により誘発される嗅上皮における細胞毒性を有する細胞増殖など、なお一連の反応のきわめて重要なステップと考えられた。

#### Ib. 仮説に伴う重要事象

ステップ 1：吸入から細胞毒性まで：

- 代謝酵素活性 (Table 4.1.2.8.H および Table 4.1.2.8.I)：

酢酸ビニルを酢酸およびアセトアルデヒドに加水分解し、アセトアルデヒドをさらに酸化して酢酸にする原因酵素は、カルボキシルエステラーゼおよびアルデヒドデヒドロゲナーゼである (4.1.2.1 参照)。原則として、双方ともラット鼻腔の呼吸上皮および嗅上皮に認められた (Bogdanffy *et al.*, 1986, 1987, 1998, 1999a)。

## カルボキシエステラーゼ

組織ホモジネート、および p-ニトロフェニル酪酸を用いて測定したカルボキシエステラーゼ活性に関する初期データから、酢酸ビニルの毒性作用に対し嗅上皮の感受性の方が高いのは、嗅上皮の加水分解酵素活性が 6 倍高いことに起因し得ると指摘された (Bogdanffy *et al.*, 1987)。この結果は組織ホモジネートにおいて確認され、嗅上皮におけるカルボキシエステラーゼを介した酢酸ビニルの加水分解作用が、呼吸上皮より高いことが確認された (タンパク質含量に関しては 4 ~7 倍) (Bogdanffy and Taylor, 1993)。 $K_m$  は、嗅上皮と呼吸上皮とで同じ低濃度の範囲にあった。

ラット鼻甲介由来の組織外植片またはヒト由来無処置鼻組織切片について、*in vitro* ガス取り込み法を用いたデータによるエステラーゼ活性は、組織ホモジネートにみられた活性よりはるかに低いことが示された。上皮の体積を算出に考慮すると、ラットでは (嗅部と呼吸部の) 双方で同程度のエステラーゼ活性が認められ、ヒトでは呼吸上皮の方がはるかに高い活性であることが明らかにされた (Bogdanffy *et al.*, 1998)。

ヒト鼻組織のカルボキシエステラーゼ活性データは少ない。Mainwaring *et al.* (2001) は、嗅部と呼吸部のマイクロソーム間のカルボキシエステラーゼ活性 (基質としてメタクリル酸メチルを使用) の比がラットとヒトとで類似していることを発見した。ラットとヒト双方のエステラーゼ活性は、嗅部のマイクロソームで約 3 倍高かったが、これは、嗅部のマイクロソームの活性が 2 倍高いとした Bogdanffy *et al.* (1999a) の報告と一致する。呼吸部のマイクロソームについて Mainwaring *et al.* (2001) は、ラットの活性がヒト試料より 4 倍高いと評価した。ラット嗅部の S9-mix の活性は、ヒト起源の嗅部の S9-mix よりはるかに高かった (24 倍)。肝細胞において、カルボキシエステラーゼ活性がサイトゾルでも同定されている (Tabata *et al.*, 2004) ことが示すとおり、いくつかのカルボキシエステラーゼ活性がマイクロソーム外に存在し得るが、嗅部および呼吸部のマイクロソームまたは S9-mix の V が低値であることから、ヒト鼻組織の加水分解活性はラットに比べ低いことが示され得る。

Table 4.1.2.8.H: Metabolic rate (V) for carboxylesterase activity (towards methyl methacrylate) in nasal tissues (adopted from Mainwaring et al., 2001)

Tissue	V (nmol/min/mg protein)	
	Human	Rat
Respiratory microsomes	2.7 <sup>a</sup>	14.3
Respiratory S9	0.15 <sup>a</sup>	3.5 <sup>a</sup>
Olfactory microsomes	No data	38.6
Olfactory S9	0.48 <sup>a</sup>	12 <sup>a</sup>
Liver microsomes	494.0 <sup>a</sup>	46.6

<sup>a</sup>The values for rat S9 fractions and for all human tissues are for single rate measured at substrate concentration of 1.0 mM methyl methacrylate.

基質として  $\alpha$ -ナフチル酪酸を用いた場合、同程度の酵素親和性において、ラット鼻組織ホモジネート（すべての領域からプール、領域は同定されず）のカルボキシルエステラーゼ活性が、ポリープ組織（正常組織の酵素活性を代表しないと考えられ、過形成上皮では発現低下、Lewis *et al.*, 1994 も参照）由来のヒト呼吸上皮に比べ 35 倍超高いことも報告された (Mattes and Mattes, 1992)。p-ニトロフェニル酪酸は、ラット鼻の  $\alpha$ -ナフチル酪酸エステラーゼの競合的基質であることが示されたが、ヒトの  $\alpha$ -ナフチル酪酸エステラーゼには影響を与えず、ラットとヒトのカルボキシルエステラーゼの基質特異性に差があることが示された。組織の選択による限界があるため、本予備的研究は、ラットの有意に高い酵素活性の裏付けと解釈されるにすぎないと考えられる。

肝ミクロソームのカルボキシルエステラーゼは、外因性化合物により誘導可能である (Satoh and Hosokawa, 1995)。このことを鼻上皮細胞について考慮できたかは不明である。

#### アルデヒドデヒドロゲナーゼ

特異的なアルデヒドデヒドロゲナーゼ活性は、呼吸粘膜由来の組織ホモジネートの方が嗅粘膜由来のホモジネートより 2 倍超高い (Stanek and Morris, 1999)。細胞体積について調整後、ラット呼吸上皮細胞のアルデヒドデヒドロゲナーゼ活性は、ヒトの 3 倍高かった (Bogdanffy *et al.*, 1998)。

ラット鼻組織では 2 種類のアルデヒドデヒドロゲナーゼが同定された。K<sub>m</sub> が高い方のアイソザイムの作用は、呼吸粘膜において嗅粘膜の 5~8 倍高かった（細胞体積に対する標準化はされず）が、K<sub>m</sub> が低い方のアルデヒドデヒドロゲナーゼのアイソザイムは、両部位において同程度の低い活性であった (Casanova-Schmitz *et al.*, 1984)。

- 上部消化管の各種細胞型における酵素活性の局在性：

カルボキシシルエステラーゼ

ラット嗅上皮のカルボキシシルエステラーゼは、組織化学的 (Bogdanffy *et al.*, 1987) および免疫組織化学的 (Lewis *et al.*, 1994) に嗅上皮のポーマン腺、ポーマン腺管、支持細胞に最も顕著に局在し、基底細胞、神経感覚細胞、およびそれを覆う粘液にはなかった。支持細胞の細胞質の先端部 (核上) および基底部は、カルボキシシルエステラーゼに対する免疫反応が強かった (Olson *et al.*, 1993)。細胞内のカルボキシシルエステラーゼの正確な位置は、鼻粘膜細胞では未だ同定されていない。それ以外の多くの組織では、哺乳類多重遺伝子由来のカルボキシシルエステラーゼは、主に小胞体に局在していた (Potter *et al.*, 1998, Satoh and Hosokawa, 1995)。ラット支持細胞の核上部に著しく多い小胞体には P450 酵素が局在し (Farbman, 1992)、カルボキシシルエステラーゼが (他の組織と同様に) 本細胞種の小胞体にも関連し得ることが示唆される (Satoh and Hosokawa, 1995)。神経細胞のカルボキシシルエステラーゼ酵素活性がないことと併せると、このことから、支持細胞は酢酸ビニルの代謝に関与していることが示される。

呼吸上皮では、各種上皮細胞型 (線毛上皮細胞および立方細胞>非線毛細胞) が、免疫組織化学染色により強度～中等度のカルボキシシルエステラーゼ活性を示した。杯細胞および粘膜下の漿粘液腺は、陰性または軽度の染色を示した。その上を覆う粘液は陰性で、低い免疫反応性と一致した。呼吸上皮基底細胞のカルボキシシルエステラーゼ活性は、Bogdanffy *et al.* (1987) により軽度～中等度であることが報告され、Lewis *et al.* (1994) および Olson *et al.* (1993) により活性なしまたは軽度の免疫反応性であることが明らかにされた。*In situ* 免疫染色および鼻洗浄液の活性測定により、粘液に起因するカルボキシシルエステラーゼの存在は確認できなかった。鼻洗浄液のカルボキシシルエステラーゼ活性の  $V_{max}$  値は  $0.134 \mu\text{mol}/\text{分}/\text{mg}$  で、鼻の呼吸粘膜ホモジネートに認められた活性より 160 倍低く、嗅部よりはるかに低かった (Bogdanffy *et al.*, 1999a)。

ラットと同様に、ヒトのカルボキシシルエステラーゼの免疫反応性は、正常な呼吸粘膜の線毛細胞および分泌細胞に広く及び、一部の上皮腺は陽性でもあった (Lewis *et al.*, 1994)。切片は患者 8 名 (女性 7 名、非喫煙者 7 名) に由来し、試料全体では、正常な呼吸上皮から過形成性の局所炎症、およびカルボキシシルエステラーゼの免疫染色が全くない扁平上皮過形成まで大きなばらつきを示した。嗅部試料のカルボキシシルエステラーゼ (免疫染色) の局在性に関するヒトデータは得られなかった。

鼻粘膜細胞における酵素の活性、分布、および細胞質局在性に関する観察結果をみると、カルボキシシルエステラーゼは鼻上皮の細胞膜に結合または包埋され、細胞質に入る前に毒物除去の防御機構として機能し得るといふ Bogdanffy の仮説は支持されない。嗅上皮におけるカルボキシシルエステラーゼの主要部位である支持細胞については、哺乳類種の分泌機能の証拠がない (Farbman, 1992)。カルボキシシルエステラーゼは粘液中になくことが示すとおり、酢酸ビニル摂取に対し予備的な加水分解は生じない。

## アルデヒドデヒドロゲナーゼ

免疫組織化学染色では、アルデヒドデヒドロゲナーゼは呼吸上皮（線毛上皮細胞>非線毛上皮細胞>杯細胞>立方細胞）において検出されたが、嗅上皮が示した免疫反応性はごくわずかであった（基底細胞層では軽度、ボーマン腺では軽度～ごくわずかな反応、支持細胞および感覚細胞では免疫反応性なし）（Bogdanffy *et al.*, 1986）。さらに、気管上皮細胞および下部細気管支線毛細胞は、活性が遠位で上昇したもののほとんど活性を示さなかった一方、下部細気管支クララ細胞はアルデヒドデヒドロゲナーゼに高活性を示した。

細胞内レベルでは、アルデヒドデヒドロゲナーゼのアイソザイムがサイトゾルおよびミトコンドリアに局在した。ヒト鼻組織のアルデヒドデヒドロゲナーゼの細胞内分布については知られていない。アルデヒドデヒドロゲナーゼには2つ以上のアイソザイムがあり、親和性が高いミトコンドリアのアルデヒドデヒドロゲナーゼ-2、およびサイトゾルのアルデヒドデヒドロゲナーゼ-1が挙げられる。酵素活性およびアセトアルデヒドの代謝を損なうアイソザイム多型がアジア系起源の部分集団では周知されており、アルコール摂取後の組織中のアセトアルデヒド濃度がより高くなる可能性がある（Ginsberg *et al.* 2002）。

以下の Table 4.1.2.8.I に、ラットおよびヒトの呼吸上皮および嗅上皮別に、入手可能な *in situ* 免疫組織化学データ、組織ホモジネートの *in vitro* データ、酵素活性データについて要約する。

全体では、（免疫）組織化学法および半定量的な染色強度の測定を用いた *in situ* 研究データと、カルボキシルエステラーゼおよびアルデヒドデヒドロゲナーゼの酵素活性に関する研究結果とは一致した。上皮厚の差および細胞ホモジネートの非上皮細胞の寄与による希釈作用は、特にヒト組織の場合、酵素活性の予測絶対値の不確定要素を占めると考えられる。カルボキシルエステラーゼおよびアルデヒドデヒドロゲナーゼのアイソザイムについて、ラット鼻組織とヒトとを比較した入手可能なデータはない（またはほとんどない）。

Table 4.1.2.8.I Data on enzyme localisation and activity in the nasal mucosa of rat and man

	Respiratory epithelium (RE)		Olfactory epithelium (OE)		Remark	Reference
	Rat	Man	Rat	Man		
<b>Carboxylesterase</b>						
Enzyme activity in cell homogenates	$V_{max}$ 35.7 mg/h  if normalised to epithelial volume: $V_{max}$ 64 mg/h  Prediction from gas uptake model: $V_{max}$ 63 mg/h	undetectable	$V_{max}$ 133.1 mg/h  or normalised to epithelial volume: $V_{max}$ 39mg/h  Prediction from gas uptake model: $V_{max}$ 45.4 mg/h	Undetectable, except for 1 sample:  478 nmol/min/mg protein	Rat: Esterase activity in RE less than 2fold higher than in OE (Consider: related to tissue wet weight, no correction to protein content!)  Uncertainty in estimation of enzyme activity in human OE sample by 5time thickness of human mucosa, dilution effect of submucosal tissue and only one sample analysed.  Activity in human sample was 200times less than in rat OE (see also Bogdanffy andTaylor, 1993)	Bogdanffy et al. 1998
Enzyme activity in microsomes or S9 mix	$V_{max}$ 14.3 nmol/min/mg protein  3.5 nmol/min/mg protein	$V_{max}$ 2.7 nmol/min/mg protein 0.15 nmol/min/mg protein	$V_{max}$ 38.6 nmol/min/mg protein  12 nmol/min/mg protein	$V_{max}$ No data*  0.48 nmol/min/mg protein (only one individual)	Methyl methacrylate as substrate, at concentration of 1.0 mM Carboxylesterase activity 3fold higher in OE than in RE  *OE tissue gained not sufficient to prepare microsomal fractions	Mainwaring et al., 2001

Enzyme activity in microsomes	23.8 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}/\text{protein}$		41.4 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}/\text{protein}$		Activity higher in OE than in RE	Bogdanffy et al., 1999a
Enzyme activity in cell homogenates	+ $V_{\text{max}}$ 22-46 $\mu\text{mol}$ acetaldehyde/min/mg protein $K_m$ 0.3-0.43 mM		+++ $V_{\text{max}}$ 89-165 $\mu\text{mol}$ acetaldehyde/min/mg protein $K_m$ 0.2-0.55 mM		Vinyl acetate as substrate  Enzyme activity in OE was 4-7fold higher than in the RE	Bogdanffy and Taylor, 1993
Enzyme activity in cell homogenates	$V_{\text{max}}$ 0.1 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protein $K_m$ 20.8 $\pm$ 1.7 mM $\pm$ SE		$V_{\text{max}}$ 0.6 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protein 34.4 $K_m \pm$ 3.9 mM $\pm$ SE		p-Nitrophenyl butyrate as substrate  Enzyme activity in OE was 6fold higher than in RE	Bogdanffy et al., 1987
Immunohistochemistry	Ciliated cells: +, Goblet cells: $\pm$ Basal cells: - submucosal glands: $\pm$	All ciliated and secretory cells: + submucosal glandular epithelium: some +	Bowman's glands/-ducts: + Sustentacular cells: + Basal cells: - Neuronal cells: -	No data		Lewis et al., 1984
Immunohistochemistry	Overall: +  At cellular level: Mucous: - Ciliated cells, cuboidal cells: ++, nonciliated cells, basal cells + Goblet cells, submucosal seromucous glands: $\pm$		Overall: +++  At cellular level: Mucous: - Bowman's glands/-ducts: +++ Sustentacular cells: ++ Basal cells: $\pm$ Neuronal cells: -			Bogdanffy et al., 1987;

Aldehyde dehydrogenase						
Enzyme activity in tissue homogenates	64 nmol/min/mg protein		28 nmol/min/mg protein		60 mM acetaldehyde as a substrate  Enzyme activity 2fold higher in RE than in OE	Stanek and Morris, 1999
Enzyme activity in cell homogenates	V <sub>max</sub> 3.38 mg/h	No data	V <sub>max</sub> 0.94 mg/h	No data	Rat: Enzyme activity 3fold lower in OE than in RE	Bogdanffy et al., 1998
Enzyme activity	High K <sub>m</sub> isoenzyme: 128 nmol/min/mg protein low K <sub>m</sub> isoenzyme: 0.8 nmol/min/mg protein		High K <sub>m</sub> isoenzyme: 28 nmol/min/mg protein low K <sub>m</sub> isoenzyme: 2.2 nmol/min/mg protein		High K <sub>m</sub> isoenzyme 5-8times higher activity in RE than in OE, low K <sub>m</sub> isoenzyme activity comparably low in both epithelia	Casanova-Schmitz et al., 1984)
Immunohistochemistry	Ciliated cells +++ nonciliated cells ++ goblet cells + cuboidal cells: ±		Sustentacular cells: – Sensory cells: – Bowman's glands: ± Basal cells: +		Overall negligible enzyme activity in the olfactory mucosa	Bogdanffy et al., 1986

- 酵素の役割に関する考察:

(新生物発生前病変を 200 ppm という低濃度で生じたことが示しているとおりに [Table 4.1.2.6.A 参照])、嗅部の細胞毒性作用および腫瘍反応に対する感受性がより高いこと、また、嗅部において関与する酵素の特性についてみると、アセトアルデヒドの局所濃度は、嗅部における腫瘍原性の感受性にきわめて重要な値であると考えられる。

Bogdanffy *et al.* (1998) は、代謝物である酢酸が細胞変性の発動因子であるとみなした。実際に、*in vitro* 試験では酢酸の細胞毒性の可能性が立証された。呼吸粘膜および嗅粘膜からなるラット鼻甲介外植片に酢酸を 1 時間暴露させたところ、50 mM で細胞毒性作用を誘発した (嗅粘膜と呼吸粘膜との間に感受性に関する明確な差はなし) (Kuykendall *et al.*, 1993)。被験物質濃度 50 mM に 1 時間暴露後、培地中の酸性ホスファターゼの酵素漏出により細胞毒性が検討された。アセトアルデヒドによる細胞毒性作用は、嗅粘膜および呼吸粘膜において認められなかったが、酢酸ビニルによる酵素放出は対照レベルの 3 倍 (嗅上皮と呼吸上皮との差はなし)、また、酢酸による放出は 4 倍であることが認められた。等モル濃度では、アセトアルデヒドに細胞毒性の可能性はないことが示され、酢酸ビニルの細胞毒性は酢酸より弱かった。嗅上皮と呼吸上皮との間に細胞毒性の有意差は認められなかった。このアセトアルデヒドの試験において細胞毒性がないことは、(少なくともアルデヒドデヒドロゲナーゼ活性が高い呼吸上皮では) アルデヒドデヒドロゲナーゼ活性により酢酸が迅速に産生されることが想定され、妥当ではないと思われる。無反応であれば、アセトアルデヒドがサイトゾルに到達しなかった、(例えば、*in vitro* モデルの酵素失活により) 酢酸が産生されなかった、または、産生された酢酸が (酢酸アニオンとプロトンに解離し) 緩衝化された、のいずれかであることが示され得る。酢酸ビニル 25 mM でインキュベーション時間を最大 2 時間にした場合、細胞毒性作用は認められなかった (酢酸のデータなし)。Bogdanffy (2002) により提唱された吸入濃度の変換法を用いると、酢酸ビニル 25 mM は約 100 ppm に相当する (50 mM  $\approx$  200 ppm)。*In vitro* 試験の結果から、嗅部領域の細胞毒性の最小影響量 200 ppm は十分に適合すると解釈され得る。一方、*in vivo* における呼吸上皮の観察による細胞毒性は、1000 ppm であることが示された。

酢酸が主要な細胞毒性物質であるものと想定すると、呼吸上皮において 600 ppm を限度に細胞毒性を欠くため、本領域において本局所濃度の酢酸では細胞損傷を生じないことが示され得る。したがって、本領域に (600 ppm で) 腫瘍が発生した場合、酢酸関連の細胞毒性に起因したものではないと考えられる。

機構の考察に関しては、*in situ* 分布および関与する酵素 (カルボキシルエステラーゼおよびアルデヒドデヒドロゲナーゼ) の活性が特に興味深い。呼吸上皮および嗅上皮の両鼻領域には、この両酵素の存在が免疫染色および活性測定により立証されていることから、酢酸ビニルの代謝は可能である。

様々な粘膜領域に関しては、嗅部のカルボキシルエステラーゼの酵素活性の方が呼吸部に比べ高

い（タンパク質含量に関しては4～7倍）（Bogdanffy *et al.*, 1999a, Bogdanffy and Taylor, 1993）。この差は、嗅部と呼吸部の免疫染色強度と一致する（Olson *et al.*, 1993）。

酵素間の絶対的な酵素能の比較データでは、ラット鼻組織におけるアルデヒドデヒドロゲナーゼに対するアルデヒドデヒドロゲナーゼの酵素能は、酢酸ビニルに対するカルボキシルエステラーゼの酵素能よりはるかに低いことが示された。嗅上皮では、アルデヒドデヒドロゲナーゼの  $V_{max}$  は、カルボキシルエステラーゼ活性より低かった（それぞれの物質に対し30～40倍低い）。呼吸上皮における差はそれほど顕著ではなく、アルデヒドデヒドロゲナーゼ活性は、カルボキシルエステラーゼ活性より13～19倍低い（Bogdanffy *et al.*, 1998）。

結論として、酢酸ビニルの局所濃度が同一で、カルボキシルエステラーゼの  $K_m$  を超える場合、嗅上皮におけるアセトアルデヒドの上皮内濃度は、呼吸上皮細胞の濃度を超えると予測される。 $K_m$  を超える濃度のカルボキシルエステラーゼとの比較では、アルデヒドデヒドロゲナーゼの  $V_{max}$  に差が生じるため、アセトアルデヒドから酢酸への酸化（したがって解毒）は制限され、アセトアルデヒドが細胞内に蓄積する可能性がある。支持細胞および感覚細胞にアルデヒドデヒドロゲナーゼ活性はないことから、外部の酢酸ビニル濃度が同じでも、アセトアルデヒド濃度がより高くなるものと想定され得る。

嗅上皮に比べ、呼吸上皮のカルボキシルエステラーゼ活性の方が低いため、酢酸およびアセトアルデヒドの *in situ* 産生はより少なかった。呼吸上皮の細胞毒性作用（1000 ppm）および過形成性病変（1000 ppm）の最小毒性濃度（LOAEC）が、嗅上皮（両作用のLOAECは200 ppm、Table 4.2.1.8.E参照）より高いことは、このことを反映していると考えられる。

F344 ラットを対象にした、前側（呼吸粘膜）および後側（嗅粘膜）の鼻組織のアルデヒドデヒドロゲナーゼ活性に関する定量情報が、Stanek and Morris（1999）の論文に示されている。活性の平均値はそれぞれ210および160 nmol/分であり、64および28 nmol/分/mg タンパク質に相当した。鼻におけるアセトアルデヒドの取り込みを、吸気濃度10、300、および1500 ppmの3つで測定したところ、取り込み効率は54、37、34%になり、濃度依存的な取り込みを示した。Stanek and Morris（1999）は、根底にある飽和過程はアルデヒドデヒドロゲナーゼによるアセトアルデヒドの代謝であるという説得力のある証拠を導いた。鼻におけるALDHの能力は、吸気濃度300 ppm以上で限界を生じると示唆される。

カルボキシルエステラーゼの局在性により、上記引用された細胞型において酢酸ビニルは細胞内代謝されることが示されるが、カルボキシルエステラーゼ陰性の嗅部神経細胞において、選択毒性が明白である理由については説明されなかった。Bogdanffy *et al.*（1998）は、この毒性作用について、細胞毒性に対する細胞特異的な感受性、また、それほどではないにせよ代謝能の機能に起因する結果である可能性が高いと結論付けた。代謝能がある細胞と影響を受けた神経細胞との間に矛盾があることから、追加的な機構の関与（例えば、細胞の選択的感受性、代謝物の局所的分布）が示唆されると考えられる。後者についてBogdanffyはその考察の中で、密接な連絡を介し

た細胞間情報伝達が、酸代謝物を支持細胞から感覚細胞（最も感受性が高い嗅粘膜標的細胞）に輸送する一因になるとの仮説を立てた (Bogdanffy, 1990)。アセトアルデヒドが密接な連絡を攪乱し得ることを示す徴候は、ヒト結腸粘膜モデルから得られている (Basuroy *et al.*, 2005)。支持細胞損傷後に生じる間接的な作用から、神経（感覚）細胞は、(多くのエステルの場合と同様に) 酢酸ビニルに対する脆弱性が高いと説明され得る。支持細胞は感覚細胞に隣接し支持する機能がある。毒性の傷害により（ここでは、アセトアルデヒドおよび/またはそれ以外の代謝物の組織濃度上昇により）、最初に支持細胞を損傷し、その機能障害から神経細胞死を惹起するおそれがある。アルデヒドデヒドロゲナーゼ活性が支持細胞に局在しなかったことから、アセトアルデヒドの酸化を通じた解毒能は欠如している。この知見は別の物質（例えば、臭化メチル、Schwob *et al.*, 1995）の経験と一致し、その経験では、解毒に向け代謝的変換を要する気体の吸入により、支持細胞および嗅覚神経細胞の選択的脆弱性が生じる一方、基底細胞は毒性の傷害を受けない。また、それ以外からも、初期の試験では毒性代謝物がボーマン腺細胞から拡散し得ると疑われた (Olson *et al.*, 1993)。

種間比較では、ラットおよびヒトの絶対的な酵素能データから、ラットおよびヒトの鼻組織におけるアルデヒドデヒドロゲナーゼの酵素能が、カルボキシエステラーゼよりはるかに低いことが示された。嗅上皮では、アルデヒドデヒドロゲナーゼの  $V_{max}$  は、カルボキシエステラーゼ活性よりラットでは 30~40 倍、ヒトでは 20 倍低かった。呼吸上皮における差はそれほど顕著ではなく、アルデヒドデヒドロゲナーゼ活性は、カルボキシエステラーゼ活性よりラットでは 13~19 倍低く、ヒトでは 5 倍低かった (Bogdanffy *et al.*, 1998)。こうしたデータを考慮すると、酢酸ビニルに暴露されたヒトの感受性が、ラットに認められた感受性に比べ高いという徴候はない。

#### - 細胞内酸性化の寄与：

嗅部のアルデヒドデヒドロゲナーゼ活性が低いことから、アセトアルデヒドの代謝的酸化とそれによる酢酸の付加的な産生は、嗅部では重要性が低いとみなされる。嗅粘膜に比べ、呼吸部では、カルボキシエステラーゼ活性は低くアルデヒドデヒドロゲナーゼ活性が相対的に高いため、酢酸を産生する酸化的経路により、本領域のアセトアルデヒドの蓄積を防ぐと考えられる。しかし、酢酸ビニルがより高濃度になると、アルデヒドデヒドロゲナーゼの酵素能を超過する可能性があり、アセトアルデヒドの細胞内蓄積が生じることになる。

酢酸の細胞内産生が細胞の緩衝能を超過すると、細胞毒性との関連性が考えられる  $H^+$ 濃度の上昇をもたらすことが想定される (Plowchalk *et al.*, 1996, 1997)。細胞内酸性化の存在は、各種濃度の酢酸ビニル-PBS 溶液 (10~1000  $\mu M$ ) に暴露させた、カルボキシエステラーゼ含有培養肝細胞の知見により裏付けられた。用量依存的な細胞内 pH 値の低下が濃度 10~200  $\mu M$  (酢酸ビニル 50~670 ppm 吸入暴露に起因する粘膜における予測濃度) において認められ、500  $\mu M$  では細胞内 pH の顕著な低下がみられたが、800 および 1000  $\mu M$  ではさらなる低下は生じなかった。最大で pH は

0.5～0.6 単位低下した。酢酸ビニル中止後、低下した細胞内 pH が肝細胞内で迅速な可逆性を示した (Bogdanffy, 2002)。

肝細胞のカルボキシルエステラーゼ活性については不確定要素が存在した。活性は呼吸粘膜細胞および嗅粘膜細胞と有意差を示す可能性がある。初期の試験では、加水分解速度は、ラット肝の方が肺よりほぼ 1 桁高いことが示された (鼻組織の検討結果なし) (Simon *et al.*, 1985a)。ラットモデルでは、カルボキシルエステラーゼ活性が肝臓と嗅部のミクロソームにおいて同程度であると思われ、呼吸上皮ミクロソームのほぼ 3 倍高かった (Mainwaring *et al.*, 2001)。対照的に、メタクリル酸メチルに対するヒト肝ミクロソームの活性は、嗅上皮および呼吸上皮よりはるかに高い (100 倍超)。

興味深いことに、本モデルでは、500  $\mu\text{M}$  以上 (吸入濃度 1000 ppm 超に相当) における最大 0.55 単位の低下を限度に、(急性) 細胞毒性作用と pH 低値との関連はないことが示された。酢酸ビニル 200  $\mu\text{M}$  投与後、50 秒以内に投与前の pH 値に細胞が回復したため、高速のプロトン排出により、細胞内のプロトン蓄積を防ぐことが考えられた。プロトン排出がプロトンの細胞内産生と同程度であるとの著者の仮説は、酢酸を介した酸性化が、細胞毒性による、腫瘍発生の第 1 ステップであるという提唱とは矛盾すると思われる。細胞毒性を欠くとの説は、Farkas and Tannenbaum (2005) により報告された肝細胞の耐性と一致する。1000  $\mu\text{M}$  の高濃度酢酸ビニルを投与したところ、投与後 24 時間で肝細胞のタンパク質および尿素の分泌、ならびにいくつかの乳酸脱水素酵素の放出も誘発されず、20%の肝細胞死の発生が示された。

酢酸ビニルが鼻粘膜細胞の細胞内 pH に及ぼす作用に対応する *in vivo* データは得られなかった。*In vitro* において、分離された呼吸上皮細胞および嗅上皮細胞を酢酸ビニル濃度 100～1000  $\mu\text{M}$  に暴露させたところ、呼吸上皮細胞において細胞内 pH の濃度関連の低下が生じた (Lantz *et al.*, 2003)。100  $\mu\text{M}$  で細胞内 pH の軽微な低下が認められ、500  $\mu\text{M}$  で安定水準に達し、1000  $\mu\text{M}$  では酸性化のさらなる亢進はなかった。最大で 0.3 pH 単位低下した (pH<sub>i</sub> 7.16 対安静時 pH<sub>i</sub> 7.49)。嗅上皮では、pH 値の二峰性の分布が認められた。呼吸上皮細胞とは対照的に、嗅上皮細胞は挙動が異なる 2 集団からなっていた。細胞内 pH の低下により、1 集団のみ酢酸ビニル 100、250、500、および 1000  $\mu\text{M}$  の投与に対し用量依存的に反応した。レスポンスでは最大 0.3 pH 単位低下した (ピーク pH<sub>i</sub> が対照細胞の 7.32 から最高濃度では 7.0 に変化)。pH 値の変化は洗浄後すべての細胞で可逆性を示した。酢酸ビニル 100  $\mu\text{M}$  を投与しても、カルボキシルエステラーゼ阻害剤 (BNPP) によりカルボキシルエステラーゼが阻害されている場合、pH は低下しなかった。興味深いことに、Bogdanffy (2002) の肝細胞モデルと同様に、呼吸部の細胞も 500  $\mu\text{M}$  で酸性化の最大値が安定水準に到達した。最低被験濃度 (100  $\mu\text{M}$ ) でも既に細胞内プロトンの恒常性が阻害されたが、酸性化の全体的な程度はかなり小さかった (呼吸上皮: -0.06、嗅上皮: -0.03)。酢酸ビニルに対する pH 感受性蛍光イメージングの反応を用いて、篩骨甲介 (嗅部) および上顎甲介 (呼吸部) の外植片を検討した Lantz *et al.* (2003) の追加試験では、呼吸上皮細胞において酢酸ビニル 1000  $\mu\text{M}$  存在下で最小限の酸性化 (-0.05 pH 単位) のみ認められた (対照外植片細胞のピーク pH<sub>i</sub>: 7.4)。分離されたこれらの細胞に応じて、嗅上皮外植片細胞 (対照外植片細胞のピーク pH<sub>i</sub>: 7.4) は、0.2 および 0.8

pH 単位低下した二峰性の細胞分布による反応となり、2種類の細胞集団の存在が示された。以上より、全体的に呼吸上皮の酸性化がより弱いことは、嗅上皮に比べ低いカルボキシエステラーゼ活性に対応していると思われる。ただし、反応の差には、データの信頼性に関わる不確定要素が生じている（例えば、分離された呼吸部の細胞における-0.3 pH 単位、および外植片モデルの呼吸上皮細胞における-0.05 pH 単位）。反応を示す細胞集団と示さない集団は、嗅上皮細胞型間のカルボキシエステラーゼ活性の差（神経細胞における酵素欠乏、基底細胞におけるごくわずかな活性、支持細胞およびボーマン腺における顕著な活性）を反映している可能性がある。

酢酸は細胞内酸性化の原因となるため、上述の *in vitro* モデルにおいて、500  $\mu\text{M}$  を超えても pH 値がさらなる低下を欠くことは、酢酸の産生が制限されていることを示す。細胞増殖活性または腫瘍増殖に関する腫瘍発生用量相当濃度である 200  $\mu\text{M}$  において、pH の低下が最小限（肝細胞において-0.2 pH 単位、呼吸上皮細胞において-0.2 pH 単位、嗅上皮において-0.14 pH 単位 [Bogdanffy, 2002, Lantz *et al.*, 2003]）である妥当性には疑問が残る。わずかな pH 低下で肝細胞が反応性を欠くことは、酸性度に対し気管粘膜上皮に認められる耐性と合致する。気管組織外植片では、線毛運動の低下、細胞膜の破壊、細胞内および細胞間の浮腫が pH 6.70 の酸性環境で開始し、完全な線毛運動障害が pH 4.9 未満で生じた (Holma *et al.*, 1977)。

肝細胞、鼻粘膜細胞、外植片のモデリングに由来するカルボキシエステラーゼ活性および細胞内酸性化の予測について、*in vivo* における状況のヒトの鼻標的組織に定量的な方法で割り当て可能かは、依然として不明である。酢酸ビニル最大 1000  $\mu\text{M}$  に暴露させた肝細胞では、細胞毒性に対する耐性および細胞内 pH のわずかな低下を示し、これは、呼吸上皮および嗅上皮の *in vitro* における単一細胞または鼻甲介外植片で酸性化の程度が弱くその可逆性が認められたことと一致していた。このことを考慮すると、ラットおよびヒトの嗅粘膜のアルデヒドデヒドロゲナーゼ活性が全体では低いこと(酢酸の付加的産生を制限)、また、呼吸粘膜で既に腫瘍がみられても 1000 ppm を限度に細胞毒性を欠くことから、細胞内酸性化が腫瘍発生の推定方法として寄与することは、あったとしても、わずかにすぎないと結論付けられる。

酢酸ビニルを管理下でヒト吸入暴露させた場合のヒト PBPK モデルの適用について行われた確認試験では、このヒト鼻モデルから、濃度範囲 1~10 ppm におけるヒト鼻咽頭腔の気流中の酢酸ビニルおよびアセトアルデヒドについて、実験観察結果を予測することが示された (Hinderliter *et al.*, 2005)。

ステップ 2：細胞毒性からがんまで：

反復/長期吸入暴露後の毒性および発がん性試験で認められた嗅上皮の変性および炎症から、本鼻領域の標的細胞の細胞毒性が腫瘍発生に寄与しているという徴候が示された。損傷した嗅上皮の修復/再生の試みを示した同時病変が認められた (Bogdanffy *et al.*, 1994b)。最終的に腫瘍が嗅上皮に生じたことを考慮すると、化生性変化および過形成性変化は、一連の発がんステップに当たると解釈され得る。嗅上皮は、呼吸上皮より変性病変を発症する感受性が高かった (Bogdanffy *et al.*,

1997)。

初期の変性変化が支持細胞において明らかにされたが、酢酸ビニルの細胞毒性作用の主要な標的にされる支持細胞は、腫瘍の起源である細胞型とは一致しなかった。酢酸ビニルの発がん性試験では、(感覚)神経芽腫型の腫瘍が認められなかったことから、腫瘍の起源細胞は、基底細胞を起源とするそれほど分化していない細胞、扁平上皮型または嗅覚細胞型ではなく呼吸部の細胞に似た型の中間的な細胞である可能性が高い。鼻にみられる腫瘍の大多数が扁平上皮細胞型からなり、扁平上皮化生細胞または扁平上皮細胞に分化する生存基底細胞が腫瘍細胞の起源であることを示した。再生性の細胞増殖活性が亢進した場合、DNAの自然損傷を伴う細胞が蓄積する誘因となるため、がんの増加を生じると考えられる。さらに、嗅上皮から置き換わった細胞は、毒性の傷害に対する感受性に変化をきたす可能性がある。

カルボキシエステラーゼ活性およびアルデヒドデヒドロゲナーゼ活性に関するデータは、嗅上皮の過形成細胞および呼吸上皮化生細胞については得られていない。ヒト呼吸粘膜の過形成組織試料では、酵素免疫染色において劇的な低下が認められ、扁平上皮化生では酵素を欠いていた。活性がないことは、鼻頭側部の扁平上皮のカルボキシエステラーゼ活性を欠くことと十分に適合する (Olson *et al.*, 1993)。過形成/化生を生じた呼吸組織では、カルボキシエステラーゼを欠くことにより、この組織における酢酸ビニルの毒性から保護されるとの仮説が考えられる。一方、嗅上皮の慢性的な損傷では、その特徴として様々な上皮/細胞型 (呼吸上皮様の過形成領域、扁平上皮化生および扁平上皮異形成、萎縮/肥大を生じた嗅部) が混在する。

嗅上皮の細胞死に関する、また、再生性の細胞増殖の制御を攪乱し発がんに導く、正確な機構には依然として不確定要素がある。

#### Ic. 用量反応関係

濃度 200 ppm 以上に 2 年間暴露させた場合、ラットでは嗅粘膜の変性 (萎縮) 病変が認められた (Bogdanffy *et al.*, 1994b, Owen, 1988)。ラットの呼吸上皮は損傷に対する感受性がそれほどなく、600 ppm を限度に病変を示さず (Bogdanffy *et al.*, 1994b)、酢酸ビニルの吸入から 4 週間後に呼吸上皮損傷を認めた最低濃度は 1000 ppm であった (Bogdanffy *et al.*, 1997)。ラット気道下部 (喉頭、気管、気管支、細気管支) の病変は、酢酸ビニル 600 ppm においてみられた。

ラットの嗅部、呼吸部、その他/未知の領域に局在する鼻腫瘍は、濃度 600 ppm において明確な増加を生じた。鼻腫瘍 (すべて) の総発生率は、雄ラット群で 11.9%、雌ラット群で 6.8% であった (Table 4.1.2. 8.A 参照)。

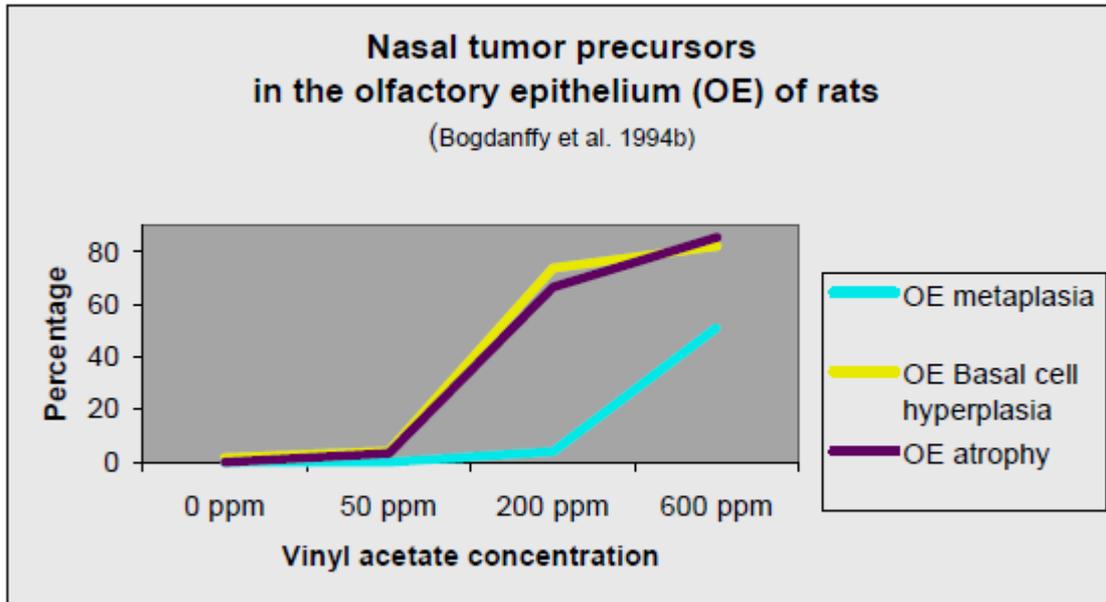


Figure 4.1.2.8.A

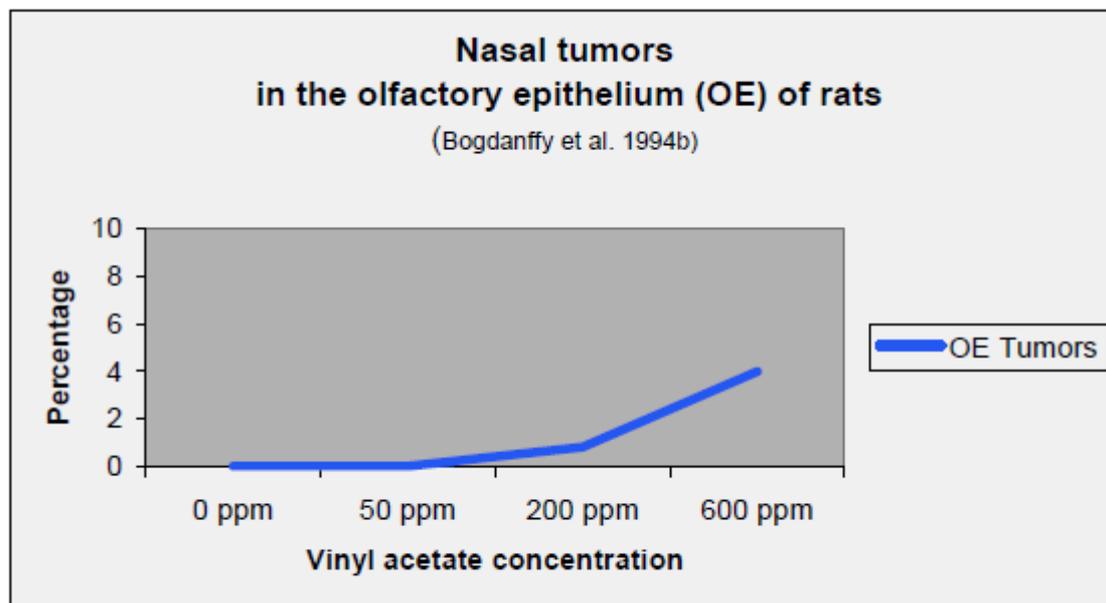


Figure 4.1.2.8.B

各用量群の雄雌を併せた場合については（上図 Figure 4.1.2.8.B 参照）、嗅部を起源部位とする腫瘍の発生率が、600 ppm において（雄雌 118 匹中）4%であった。嗅上皮については、毒性病変の発生濃度（200 ppm）（上図 Figure 4.1.2.8.A 参照）が、腫瘍発生率の上昇を誘発した濃度（600 ppm）より低かった。用量依存的に、回復性の基底細胞増殖が嗅上皮の変性（萎縮）に並行して亢進した。腫瘍発生の前駆作用であると想定されるすべての作用の用量反応曲線は非線形であり、NOAEC は 50 ppm であった。時に 200 ppm において嗅上皮化生が認められた（雌ラット 60 匹中 5 匹、雄 0 匹）。200 ppm では、雄ラット 1 匹の嗅上皮領域に単一の良性腫瘍が認められた。嗅上皮

の自然発生腫瘍はきわめて稀であるため、酢酸ビニル暴露との関連性は排除できなかった。化生性病変の有意な増加が、明確な腫瘍発生濃度である 600 ppm において明らかにされた。

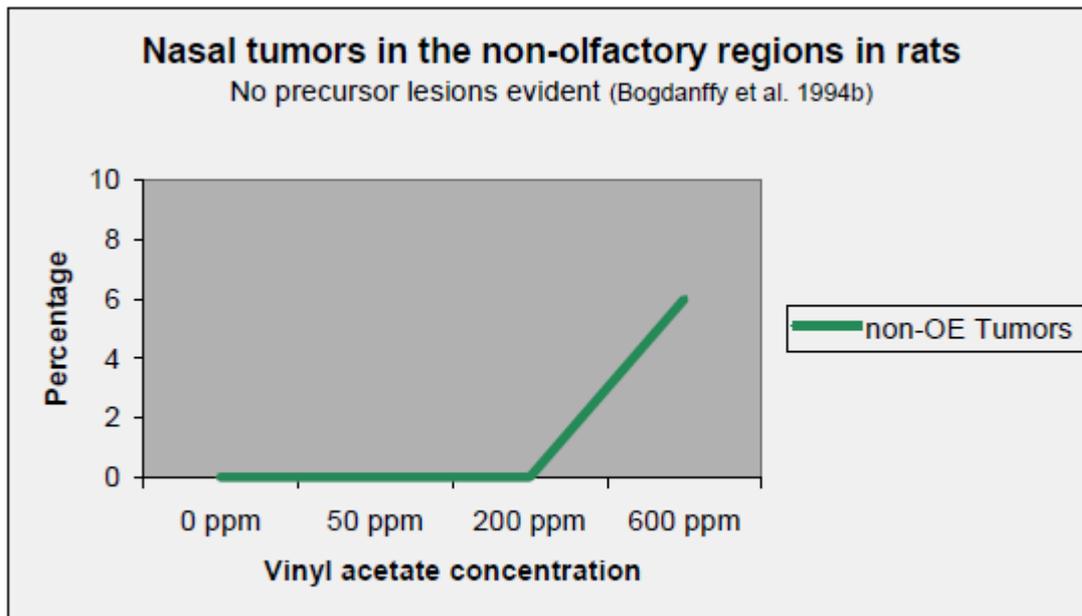


Figure 4.1.2.8.C

その他嗅部以外の領域の腫瘍（起源不明の腫瘍はここに組み入れ）が、雄雌ラットの 6%（計 118 匹中 7 匹）に生じた（Figure 4.1.2.8.C）。ラット鼻の呼吸上皮では、2 年間吸入後の本部位に腫瘍を誘発した濃度である 600 ppm において、細胞毒性およびそれ以外の前駆病変とも報告されなかった（Bogdanffy *et al.*, 1994b）。呼吸上皮の毒性作用は、腫瘍を誘発した量を超える投与量においてのみ発生した。

嗅部では、変性（萎縮）その他の前駆作用（基底細胞過形成および基底細胞化生）と腫瘍発生との用量反応関係が同定された。呼吸部では、細胞毒性についての用量反応関係は明らかにされず、それ以外の化生性変化も同定できなかった。

#### Id. 経時的関係

細胞毒性関連の腫瘍増殖との経時的関係は、4 週間の期間による試験において初期変性所見が認められたことから、ラット嗅上皮の腫瘍では想定され得る（Bogdanffy *et al.*, 1997）。ラット鼻の呼吸上皮では、腫瘍誘発用量以下において根底にある毒性事象が同定できなかったことから、時間の経過に関する記載はできない。

ラットおよびマウスを対象にした慢性毒性/がん原性併合試験の回復試験群では、嗅部萎縮の完全な回復は認められなかった（Owen, 1988; Bogdanffy *et al.*, 1994b）。この結果は、アセトアルデヒドによる研究から知られている回復状況と同程度である。損傷した嗅上皮は、（感覚細胞がない）呼吸部様の上皮により置換され、それほど分化していない嗅部様の上皮により再生することが報告

された (Woutersen and Feron, 1987)。

#### Ie. 生物学的妥当性および一貫性

歴史的データから、高齢ラットの鼻腫瘍の自然発生率はきわめて低いことが知られている (St. Clair and Morgan, 1992, Brown *et al.*, 1991)。ヒト鼻の悪性新生物も稀であった (総発生率: 1/100 000 未満; Lund, 1994)。

嗅上皮に認められる一連の事象 (細胞毒性、過形成、良性腫瘍および悪性腫瘍) では、様々な物質の腫瘍の病因について、遺伝毒性が作用機序として排除され得るとの一般的な知識と一貫性がとれている。酢酸ビニルの場合、アセトアルデヒドの遺伝毒性が一連の事象に寄与しているか検討しなければならない。

扁平上皮起源の腫瘍である証拠によって、DNA 損傷が扁平上皮化生細胞、または扁平上皮化生もしくは扁平上皮腫瘍の前駆細胞である生存基底細胞に生じることが示された。

酢酸ビニルの作用とアセトアルデヒドの作用とは、一致するように思われる。酢酸ビニルまたはアセトアルデヒドの長期吸入後には、鼻腫瘍が認められた。上記酢酸ビニルのデータと比較すると、アセトアルデヒド慢性暴露後のラット原発腫瘍部位には鼻もあり、各被験物質慢性吸入後のラットには時に喉頭腫瘍が認められた。こうした鼻腺がんが酢酸ビニルのがん試験では認められなかったことを除くと、両物質に起因する腫瘍反応は、少なくともラットでは同程度であった。ハムスターでは酢酸ビニルの検討はされなかったが、腫瘍の好発部位は喉頭で、アセトアルデヒド暴露ハムスターの鼻に認められた腫瘍はごく少数にすぎなかった (Feron *et al.*, 1982)。このことが示すとおり、こうした局在性には酵素能が存在する。分布の差は、アセトアルデヒドに対する上皮の感受性の種特異的な差、アセトアルデヒドが上皮に及ぼす影響の差、呼吸パターンの差、および/またはすべてを併せた要因に起因すると疑われた (Wouterson *et al.*, 1984)。

鼻組織において、アセトアルデヒドの吸入により惹起される作用 (細胞毒性) の性質は、酢酸ビニルと類似しているように思われる。ラット呼吸上皮は、嗅上皮ほど毒性病変に対する感受性がないことが示された (Wouterson *et al.*, 1984, 1986, Appelman *et al.*, 1982)。

#### If. 矛盾、不確定要素、データのギャップ

嗅上皮における変性病変の存在は、細胞毒性に対し嗅上皮特異的な感受性があることを示している。用量反応関係と経時的関係の証拠、および一連の変化 (細胞毒性、過形成および化生、良性腫瘍および悪性腫瘍) の証拠から、細胞毒性と腫瘍発生との関連性が裏付けられる。このことはラット長期試験では認められたが、マウスがん試験の結果は陰性となり一致しなかった。

#### ● マウスとの種間比較:

濃度 200 ppm 以上に 2 年間暴露させた場合、マウスでは嗅粘膜の変性病変が認められた。投与マ

ウスは、酢酸ビニル 200 ppm を 2 年間吸入後、呼吸上皮に病変を示した (Bogdanffy *et al.*, 1994b, Owen, 1988)。マウス気道下部 (喉頭、気管、気管支、細気管支) の病変は、酢酸ビニル 200 ppm 以上においてみられた。

マウスの場合、200 ppm を起点に鼻の両上皮に局在する毒性病変を認めたが、最大 600 ppm の被験濃度でも鼻腫瘍を生じなかったことは注目に値する。嗅上皮の呼吸部様の上皮による修復性の置換、ならびに粘膜下腺の扁平上皮化生および扁平上皮過形成は、ラットにみられた作用と類似していたが、本標的領域では腫瘍への進行は生じなかった。肺気管支に単一の扁平上皮がんがみられたが、酢酸ビニルにより、気管支/細気管支上皮の剥離/組織崩壊および線維過形成性 (fibrohyperplastic) の突起を高い発生率で誘発したことから、その場合と同濃度の酢酸ビニルの投与とこのがん発生とが関連していたことも排除できない (Bogdanffy *et al.*, 1994b, Owen, 1988)。

マウスの場合、鼻粘膜において酢酸ビニルが効率的に加水分解されることも認められる。呼吸部および嗅部のカルボキシルエステラーゼ活性の値が、ラットと同じ範囲 (嗅部: マウス: 0.4~0.5  $\mu\text{mol}/\text{分}/\text{mg}$  タンパク質、ラット: 0.6  $\mu\text{mol}/\text{分}/\text{mg}$  タンパク質、呼吸部: マウス: 0.1~0.2  $\mu\text{mol}/\text{分}/\text{mg}$  タンパク質、ラット: 0.1  $\mu\text{mol}/\text{分}/\text{mg}$  タンパク質、Bogdanffy *et al.* 1987)、またはより高い範囲でも認められた (Bogdanffy and Taylor, 1993) ことから、マウス鼻粘膜では有意な腫瘍反応が予測されるはずである。このことから、鼻粘膜の感受性の種特異的な差について次の疑問が提起される。(マウス消化管の腫瘍を考慮すると) マウスの鼻の方が腫瘍発生に対する感受性が低いのか? それとも、マウスのアルデヒドデヒドロゲナーゼ活性が (ラット嗅粘膜の ALDH 活性が低いのは対照的に) 高く、アセトアルデヒドの排泄に効率的に寄与するため、アセトアルデヒドの *in situ* 蓄積を防ぐのか? アルデヒドデヒドロゲナーゼ活性の測定では、マウスおよびハムスターの鼻組織全体のホモジネートにおける  $V_{\text{max}}$  は、ラットに比べ低いことが示された (Morris, 1997)。ただし、上皮材料の起源が明記されなかったため、組織全体のホモジネートによる予測性はそれほど高くないと考えられる。

ラット鼻では DNA 付加体の形成が認められたが、マウス鼻粘膜データは得られなかった。マウスの鼻腫瘍が乏しいことを説明するには、さらなるデータが必要である。

マウスは吸入経路では陰性であったが、経口経路では腫瘍発生に対する感受性が認められた (4.1.2.8 参照)。

- 細胞内酸性化の役割に関わる不確定要素:

pH の変化の役割については、いくつかのきわめて重要な点が解決されていなかった。嗅上皮では、細胞死した標的細胞 (主に支持細胞) が、再生増殖に関与した細胞と同一ではなかった。また、基底細胞には、水平基底細胞と球形基底細胞の 2 種類がある。健康な組織では、後者が基底細胞の大多数に当たり、主に嗅細胞の正常な再生に関与する (Ohta and Ichimura, 2001)。細胞損傷過程にきわめて重要な役割を果たす細胞内 pH 値が有意に低下しない場合でも、基底細胞の増殖刺激に関する何らかの pH 依存的な作用は存在するのであろうか? 支持/感覚細胞の選択的細胞死も誘

発する別の毒物との比較から、修復性の細胞複製が、細胞変性の際の細胞内酸性化とは必ずしも関連しない独自の機構であると思われる。嗅部以外の腫瘍では、増殖活性は必ずしも細胞死とは関連していないため、細胞内酸性化とは関連しないと考えられるとの証拠が示された。

Bogdanffy (2002) は、肝細胞モデルにおいて立証された細胞内酸性化が、細胞毒性の形態学的徴候に先行すると主張した。一方、酢酸ビニル 1000  $\mu\text{M}$  を添加した肝細胞の培養から 6 日が終了しても、タンパク質および乳酸脱水素酵素 (LDH) の漏出結果により証明されたとおり、細胞毒性はみられなかった (Farkas and Tannenbaum, 2005)。細胞内酸性化は細胞毒性の初期病変であるというさらなる証拠が、少なくとも嗅部では必要とされる。

ラット肝細胞において立証された細胞内 pH の低下 (Bogdanffy, 2002) は、より低濃度でも、嗅粘膜細胞および呼吸粘膜細胞に割り当て可能であった。ラットの場合、カルボキシエステラーゼ活性は、試験の基質としてメタクリル酸メチルを用いたマイクロソームにおいて示されているとおり、ラット肝とラット嗅粘膜は同じ範囲にあると思われる (Mainwaring *et al.*, 2001) (Table 4.1.2.8.H)。対照的に、ヒト肝のカルボキシエステラーゼ活性は、ヒト嗅粘膜よりはるかに高い。

上記試験系の細胞内 pH の変化は比較的小さかった。しかし、長期暴露後の pH の恒常性については予測できなかった。入手可能な実験研究が検討したのは、急性 (数秒～数分) 暴露後の酢酸ビニルまたはアセトアルデヒドの作用であった。長期的な酸性化の結果に関するデータは存在しない。

細胞内 pH のわずかな低下は、嗅粘膜のアルデヒドデヒドロゲナーゼ活性の低下に加え、ALDH がほとんどなく、酢酸の産生が制限されることにより説明できる。したがって、細胞内酸性化は嗅粘膜の (細胞) 毒性および腫瘍誘発との関連性が弱い過程であると考えられる。pH のわずかな変化と細胞毒性との不明確な関係に加え、細胞形質転換に関する別の pH 関連の作用について検討することが考えられる。照射により DNA 二本鎖切断を受けた細胞では、細胞外 pH が 6.8 から 6.0 に低下することにより、DNA の修復阻害をもたらすことが示された (Jayanth *et al.*, 1994)。このことが酢酸ビニルの発がん性と関連があるかは不明である。

- 呼吸粘膜の作用機序に関わる不確定要素：

嗅上皮を起源とする鼻腫瘍に加え、鼻腔領域にある一部の鼻腫瘍が、嗅上皮型以外からなることも認められた (Table 4.1.2.8.B)。こうした腫瘍発生のきわめて重要なステップとして、例えば鼻の呼吸上皮において、毒性事象は同定されなかった。マウス鼻の呼吸上皮では鼻炎および化生が生じたが、ラット試験では、酢酸ビニル暴露に対する細胞毒性反応および/または炎症反応は、腫瘍誘発濃度においても報告されなかった (Owen, 1988, Bogdanffy *et al.*, 1994b)。したがって、呼吸上皮の毒性病変と、調節不全の細胞再生により生じる腫瘍形成との関連性を示す明確なデータは得られていない。呼吸上皮では、腫瘍誘発濃度においても細胞毒性事象がなく、このことから細胞毒性は、酢酸ビニルの発がん性に必要な前提条件ではないように思われることが示された。

6 時間の単回暴露後、細胞回転率の上昇が呼吸粘膜と嗅粘膜の双方で認められた。一方、酢酸ビニル蒸気を 20 日間（5 日/週、6 時間/日）吸入した場合（Bogdanffy *et al.*, 1997）、細胞増殖の亢進は嗅粘膜においてのみ明らかにされた。これらの知見は、腫瘍が両領域で認められたことと矛盾していた。

また、酸性化により、呼吸粘膜の腫瘍増殖のきわめて重要なステップとして、マイトジェン反応を生じること示唆された。*In vitro* において、バレット腺がん細胞株の細胞を酸性培地に暴露させると、マイトジェン活性化プロテインキナーゼ（MAPK）経路の活性化を介して、細胞増殖の亢進およびアポトーシスの抑制が生じる（Souza *et al.*, 2002）。ただし、この食道扁平上皮粘膜のバレット腺がん発生方法では、本 *in vitro* モデルの細胞を、酢酸ビニル暴露後の鼻粘膜に認められる pH 値より著しい低値（pH 4.0）に暴露させたことから、予測値は限定的であると思われる。これまで、酢酸ビニル関連の酸性化について、アポトーシス抑制の実質的な証拠は示されておらず、また、吸入経路に関するマイトジェン作用を検討した研究は得られなかった。一方、アセトアルデヒドおよび酢酸ビニルの経口投与データについては、いくつか情報を提供できる。例えば、長期の細胞増殖実験により、肥大した基底細胞層の汎発および細胞増殖率の亢進を誘発する、アセトアルデヒドのマイトジェン作用が示された（Homann *et al.*, 1997）。酢酸ビニルが酢酸に代謝されると、酢酸ビニル 1 分子当たり 3 個のプロトンが受け渡されたのに対し、アセトアルデヒドの酸化で受け渡すのは、1 分子当たりプロトン 1 個のみである。このことから、マイトジェン反応は、酸性化の作用よりもアセトアルデヒドの作用である可能性の方が高いことが示される。アセトアルデヒドがそのマイトジェン作用を及ぼす機構については、なお不明である。Homann の試験では、1 濃度のみのアセトアルデヒド（120 mM = 324 mg/kg 体重/日）による飲水投与が行われたが、Valentine *et al.*（2002）の試験では、酢酸ビニル 10000 ppm 以上の飲水投与により、ラット口腔粘膜の細胞増殖率の濃度依存的な上昇が認められた。1000 および 5000 ppm では作用が認められず、すべての被験濃度において細胞毒性がなかった。以上より、アセトアルデヒドおよび酢酸ビニルにはマイトジェン特性があり、酢酸ビニルのマイトジェン特性はアセトアルデヒドを介している可能性があり、明確な無作用量がある。

- 遺伝毒性作用に関わる不確定要素：

嗅部の細胞毒性作用の LOAEC 未満では腫瘍が生じなかったことから、遺伝毒性作用が細胞毒性の閾値濃度未満で活性化した可能性は低い。

対照的に、嗅部以外の領域では、先行する事象の用量反応関係が同定できなかった。用量依存的なマイトジェン作用は、経口経路については立証された。経口経路の場合、増殖細胞において、酢酸ビニルがそのアセトアルデヒドにより生じる染色体異常誘発作用を、最も効率的に発揮することが想定される。このことは、吸入後の接触部位でも想定されると考えられる。ただし、この仮説を確認し、気道においてこの作用の LOAEC を同定した研究は現在のところない。

Ig. 気道腫瘍の作用機序を評価する際の実際の考慮事項 (Table 4.2.1.8.K 参照)

アセトアルデヒドは、発がん性の可能性があるきわめて重要な代謝物である。

酢酸ビニルの毒化および解毒の原因となる酵素の分布および酵素能は、発がんの作用機序を予備的に理解するのにきわめて重要である。現在、アセトアルデヒドは、酢酸ビニルの腫瘍原性にきわめて重要な役割を果たしていると理解されている。

酢酸ビニルとアセトアルデヒドとの毒性作用および発がん作用の主な類似点から、加水分解物であるアセトアルデヒドは、発がん活性のある酢酸ビニル代謝物であることが示唆される。

アセトアルデヒドは多くの細胞の生物学的成分であり、人工的な発生源から放出されるのに加え、多くの食品および自然源の至る所に存在する。酢酸ビニルの暴露により、その加水分解物であるアセトアルデヒドおよび酢酸の細胞内濃度について、濃度関連の上昇がもたらされる。その吸収効率は最低濃度において最適であり、濃度の上昇と共に低下する (4.1.2.1 参照)。酢酸ビニルの濃度上昇により、アルデヒドデヒドロゲナーゼの細胞解毒能が圧倒されると、アセトアルデヒドの蓄積を生じる可能性がある。毒性および/または発がん性には、標的上皮の代謝能の機能が反映される。細胞毒性に対する領域および細胞の感受性は、関与する酵素の分布および活性に対応している。

アセトアルデヒドは、酢酸ビニルを添加した哺乳類細胞培養物にみられる、遺伝毒性作用の原因となる代謝物であると考えられる。

細胞毒性に関連する発がんという仮説では、嗅部に腫瘍を誘発することが考えられる。

- ラット嗅覚組織では、効率的な触媒作用により、アセトアルデヒドおよび酢酸を形成する。
- カルボキシルエステラーゼによる酢酸ビニルの吸収および代謝的変換は、濃度依存的な過程である。アルデヒドデヒドロゲナーゼ活性が (カルボキシルエステラーゼ活性に比べ) ないか低いことから、酸化できるアセトアルデヒドは低濃度にすぎない。未だ同定されていないが、ある暴露濃度を超えると、アセトアルデヒドの産生がさらなる酸化能を上回り、アセトアルデヒドの細胞内蓄積を生じる。
- 酢酸ビニル加水分解後の酢酸関連の細胞毒性は、嗅上皮起源の腫瘍の場合、腫瘍原性の初期事象であると思われる。
- 代謝物であるアセトアルデヒドが上皮の回復に及ぼす直接的な遺伝毒性作用は、腫瘍の惹起に寄与することが考えられる。

- 細胞死により、生存細胞または基底細胞の細胞回転の増加が生じる。DNA 合成が増加し、遺伝毒性作用の発生率上昇が予測される。

以上より、嗅上皮に関する細胞毒性から発がんに至る一連のステップの説明は、妥当であると思われる。上皮損傷部位と、基底細胞過形成および扁平上皮化生への転換により証明される細胞増殖の亢進とは相関していた。後者は、良性および悪性腫瘍（扁平上皮乳頭腫および扁平上皮がん）の前駆病変であるとみなされた。

細胞内酸性化が、細胞毒性とそれにより発がん性に導く最初のステップとして寄与するかは、依然として不明である。短期試験では、細胞内酸性化の程度はわずかにすぎず、可逆性があることが示された。また、細胞内酸性化について PBPK モデルで予測された部位特異的な変化 (Plowchalk *et al.*, 1997) と、*in vivo* における細胞毒性の選択との一致もみられなかった。遺伝毒性データから、酢酸ビニルの可能性としての遺伝毒性作用は、その代謝物であるアセトアルデヒド（細胞毒性を示す濃度において、腫瘍発生に寄与する可能性がある）により仲介されたことが示される。

現在の腫瘍発生の閾値濃度に関する説は、嗅部については、その細胞毒性により同定されると考えられる。

閾値のある閾値のある作用機序では、では、嗅部以外の鼻領域起源の腫瘍は活性を示すと考えられる。

上気道（主に鼻の呼吸上皮）のその他（嗅部以外）の腫瘍部位については、細胞毒性をきたす暴露濃度より低くても腫瘍が発生したことから、細胞毒性が腫瘍形成のきわめて重要な事象でないことは明らかであった。酸性化の程度とそれによる細胞毒性反応の程度に関しては、PBPK モデルの予測は、観察された試験データを反映しなかった。ここ数年間、複数の科学研究グループでは、酸性化を妥当な作用機序とした初期の提案について証拠が不十分であることを認め、細胞内酸性化が細胞増殖と細胞形質転換の刺激に果たす役割について様々な考察を紹介した (Lantz *et al.*, 2003)。こうした 2 次反応はより高用量においてのみ生じる。

閾値のある作用機序という仮説は、次の側面から裏付けられる。

- 酢酸ビニルの吸収および代謝的変換は、濃度依存的な過程である。
- ヒトおよびラットの呼吸上皮のカルボキシルエステラーゼ活性は、嗅上皮の少なくとも半分である。酢酸ビニルの加水分解速度と、それによる酢酸およびアセトアルデヒドの細胞内濃度は、嗅上皮より顕著に低いことが予測される。
- アルデヒドデヒドロゲナーゼ (ALDH) は、アセトアルデヒドの排泄に関する重要な酵素である。その活性は呼吸上皮の方が嗅上皮の 2 倍超高い。低濃度の酢酸ビニルとその産生代謝物

であるアセトアルデヒドの処理には、この ALDH 活性で十分である。細胞内のアセトアルデヒド濃度が高い場合、すべてのアセトアルデヒドを酸化して酢酸にするには、ALDH 活性が不十分となり、アセトアルデヒドは蓄積する可能性がある。ALDH がその酵素能の限界を示すことにより起こるアセトアルデヒドの代謝の飽和は、アセトアルデヒド濃度 300 ppm において生じることが示唆される (Stanek and Morris, 1999)。

- 2年間試験では、600 ppm を限度に呼吸上皮における毒性は認められなかった。細胞毒性がある代謝物としての酢酸に関しては、600 ppm における酢酸の産生は細胞毒性の閾値より低い。
- 増殖活性の亢進は、酢酸ビニル 600 ppm を限度に、増殖の指標として測定した場合と、過形成性/化生性変化として測定した場合のいずれも認められなかった (LOAEC 1000 ppm)。細胞増殖活性の亢進は、アセトアルデヒドと関連していることが想定される。600 ppm を限度に細胞毒性およびそれ以外の関連する作用が認められなかったことから、有意な細胞内濃度のアセトアルデヒドが生じることが予測されない。
- 酢酸ビニルのマイトジェン作用に関する経口投与試験データに従えば、マイトジェン作用は、閾値濃度超において想定されると考えられる。気道に関する適切な試験を欠くため、消化管に関する試験由来の証拠が検討された。その場合、先行する細胞毒性がない消化管では、基底細胞過形成および上皮過形成が 10000 ppm 以上で明らかにされた (NOAEL: 5000 ppm  $\approx$  1200 mg/kg/日、マウス 92 日間試験、Valentine *et al.*, 2002)。
- 腫瘍反応は酢酸ビニル 600 ppm 以上においてみられたが、600 ppm 未満では腫瘍を認めなかった。
- アセトアルデヒドにより生じる遺伝毒性は、アセトアルデヒドの蓄積をもたらす酢酸ビニル濃度において活性を示すことが想定される。
- pH の最小限の低下と毒物との関連性には、依然として疑問が残る。
- 実際には、嗅部以外の領域では、アセトアルデヒドの蓄積の正確な閾値濃度を評価できなかった。
- 酢酸ビニル最大 200 ppm を暴露させた長期吸入試験では、呼吸粘膜の生物学的反応が認められなかったことから、呼吸粘膜の細胞の完全性は攪乱されないと結論付けられる。

Table 4.1.2.8.K: Critical steps in vinyl acetate tumor formation in the respiratory tract:

<p>VA Absorption</p> <p>↓</p>		
<p>Metabolism of vinyl acetate to acetaldehyde and acetic acid in:</p>		
<p>Olfactory epithelium</p> <p>Sustentacular cells + neuronal (sensory) cells:</p> <p>Carboxylesterase activity +++</p> <p>ALDH activity -</p> <p>↓</p>	<p>Olfactory epithelium</p> <p>Basal cells + Bowman's glands:</p> <p>Carboxylesterase activity +++</p> <p>ALDH activity (+)</p> <p>↓</p>	<p>Respiratory epithelium</p> <p>Respiratory epithelium cells:</p> <p>Carboxylesterase activity +</p> <p>ALDH activity +++</p> <p>↓</p>
<p>High acetaldehyde production</p> <p>No detoxification of acetaldehyde</p> <p>Intracellular accumulation of acetaldehyde</p> <p>Cytotoxicity at 200 ppm</p> <p>↓</p>	<p>High acetaldehyde production</p> <p>Very limited detoxification of acetaldehyde</p> <p>Intracellular accumulation of acetaldehyde</p> <p>↓</p>	<p>Limited acetaldehyde production</p> <p>A. Up to a threshold concentration: Efficient detoxification though high ALDH capacity</p> <p>No toxic effect up to 200 ppm</p> <p>B. Above threshold concentration: Imbalance of acetaldehyde production and detoxification</p> <p>Intracellular accumulation of acetaldehyde</p> <p>↓</p>
<p>Secondarily to cytotoxicity of the primary target cells:</p> <p>Restorative cell proliferation of surviving basal cells</p> <p>Replacement by respiratory-like epithelium and squamous cell metaplasia</p> <p>↓</p>		<p>Cell proliferation due to direct mitogenic effect</p> <p>↓</p>
<p>Genotoxic effects of acetaldehyde on proliferating cells (inclusive tumor relevant genes)</p> <p>Tumor initiation and development</p> <p>Tumor response: LOAEC 600 ppm</p> <p>Cytotoxicity: LOAEC 200 ppm/NOAEC 50 ppm</p>		<p>Genotoxic effect of acetaldehyde on proliferating cells (inclusive tumor relevant genes)</p> <p>Tumor initiation and development</p> <p>Tumor response: LOAEC 600 ppm/NOAEC 200 ppm</p>

## II. 消化管腫瘍

### IIa. 想定される作用機序

近年報告されたラットおよびマウスの発がん性試験 (Umeda *et al.*, 2004a, Maltoni *et al.*, 1997, Minardi *et al.*, 2002) では、経口投与後の酢酸ビニルには発がん性もあることが当初指摘された。このことから、酢酸ビニルの発がん性は、暴露させた口腔、喉頭、食道、前胃の表面上皮に対する直接的な作用であると想定される。一時的には、これらの組織における酢酸ビニルの代謝から、修復性過形成を伴う細胞毒性に至ることが想定された。高濃度の酢酸およびアセトアルデヒド存在下で、継続的な修復性の刺激を受けると、その後、変異、細胞形質転換、腫瘍発生に導かれる。

一方、酢酸ビニルの長期取り込みに対するミトジェン反応により細胞増殖が亢進すると、細胞毒性関連の作用機序が明らかでない代わりに、腫瘍形成に至ると考察された (Valentine *et al.*, 2002)。鼻領域と同様に、過剰で非生理的な濃度のアセトアルデヒドおよび pH の低下により、遺伝子材料の変異が誘発される状況下では、腫瘍形成をもたらすことになると考えられた。

### IIb. 仮説に伴う重要事象

加水分解を生じるエステラーゼ (主にカルボキシルエステラーゼ) 活性は、口腔粘膜上皮でも認められた (Yamahara and Lee, 1993)。口腔粘膜の様々な領域では、酢酸ビニル 0.05~10 mM の濃度範囲で酢酸ビニルの加水分解活性がある。酵素活性を示す  $V_{max}$  は、ラットおよびマウスの口腔粘膜組織においてそれぞれ 90、6 nmol/分であった。酢酸ビニルの加水分解の  $K_m$  はそれぞれ 0.5、0.9 mM で、経口投与された酢酸ビニル濃度より約 100 倍低かったことから、飽和状態の存在が示唆された。総活性は、F344 ラットおよび BDF マウス由来のプールしたホモジネートと同程度であった。口腔洗浄液には約 2%の総活性が認められたことから、唾液および/または口腔細菌がエステラーゼ活性源である可能性がある。両動物種の背内側領域に含まれた活性は、それ以外の領域より高かった (Morris *et al.*, 2002)。本口腔洗浄液について、酸性ホスファターゼと静脈内投与後のエバンスブルー色素の漏出について評価したところ、細胞毒性の徴候は認められなかった。酸性ホスファターゼ濃度の有意な変化はなかった。エバンスブルー色素は、10 mM において有意に色素量が増加した (90 日間試験において、用量 24000 ppm 相当となるよう意図、DuPont 社, 2000)。しかし、感覚神経の活性化および/または唾液分泌の増加でも血漿漏出を妨げ得ることから、エバンスブルーの血管外漏出は特異的な作用ではない。

口腔粘膜のカルボキシルエステラーゼの分布および免疫反応性は、Robinson *et al.* (2002) により明らかにされている。概して、免疫染色は角質層において最も強く、有棘層ではそれほど顕著でなく、基底細胞層には (ほとんど) なかった。免疫染色は、口腔内の様々な部位間で著しいばらつきを示した (範囲：軽微~強)。高い染色強度が頬粘膜および上口蓋に認められたことは、背

内側（硬口蓋）領域の活性が高いことを報告した Morris *et al.* (2002) の結果と一致する。全体では、口腔粘膜のカルボキシエステラーゼ活性は、嗅上皮より有意に低い（約 100 倍）。

さらに、上部消化管にはアルデヒドデヒドロゲナーゼ活性がある。ヒトでは、酵素活性が歯肉、舌、口腔、胃の粘膜に認められた (Dong *et al.*, 1996, Hedberg *et al.*, 2000, Yin *et al.*, 1997)。アセトアルデヒド 20 mM におけるアルデヒドデヒドロゲナーゼ活性は、歯肉および舌についてそれぞれ  $169 \pm 19$ 、 $50.3 \pm 8.1$  nmol/分/g 組織であると測定された (Dong *et al.*, 1996)。ラットおよびマウスが、口腔にアルデヒドデヒドロゲナーゼ活性を有することも想定される。ラットの酵素活性は胃、肝臓、小腸、大腸、直腸について示された (Koivisto and Salaspuro, 2003, Pronko *et al.*, 2002, Green *et al.*, 2002) が、これまでのところ、アルデヒドデヒドロゲナーゼに関するマウスのデータで得られているのは、前胃および胃のみであった (Green *et al.*, 2002)。アセトアルデヒド 5 mM を用いた酵素活性の測定から、少なくともラットの場合、気道より活性は低いことが示された (Pronko *et al.*, 2002)。

様々な領域と細胞層間の *in situ* 分布データ、および上部消化管のアルデヒドデヒドロゲナーゼの細胞内局在性に関するデータは、未だに得られていない。口腔および食道の酵素活性に関する情報は得られていない。

酢酸ビニルによる細胞内 pH の低下の可能性が、マウス頬粘膜細胞のスライス標本において確認された (Nakamoto *et al.*, 2005)。酢酸ビニル濃度 1 mM に対し、pH は暴露時間 2.5 分間に 0.35 pH 単位低下した。酢酸ビニル 0.1 mM では反応が認められなかったが、濃度 0.3~1 mM では細胞内 pH の用量依存的な低下が生じた (0.3 mM において  $\Delta$ pH は約 0.1)。興味深いことに、酸性化の程度は、頬粘膜から分離された単一細胞の方が無傷上皮より大きかった。

口腔がんに関するいずれの試験にも、酢酸ビニルを飲水投与したラットおよびマウスにおいて、消化管の表面上皮の細胞毒性およびその他臓器病変を生じた報告はなく、上述の諸試験と一致した。92 日間飲水投与試験において細胞増殖の測定を行ったところ、ラットおよびマウスの口腔粘膜細胞の増殖率が有意に上昇する一方、表面上皮の組織病理学的病変はないことが示された (DuPont 社, 2000, Valentine *et al.*, 2002)。

### IIc. 用量反応関係

経口投与後の作用の用量反応データでは、腫瘍発生において細胞毒性がきわめて重要なステップであることは示唆されない。

酢酸ビニル 2 年間飲水投与マウスにみられた酢酸ビニル誘発性腫瘍に伴う病変には、消化管上皮の基底細胞の活性化、上皮異形成、および扁平上皮過形成が挙げられた (Umeda *et al.*, 2004a)。その性質から、病変は一連の発生過程において新生物発生前病変に変化し、扁平上皮乳頭腫およ

び扁平上皮がんになると想定できる。一部標的の局在では、これらの病変が腫瘍誘発濃度である 10000 ppm 未満の濃度でも明らかにされた (Table 4.1.2.8.C 参照)。胃扁平上皮過形成発生の最低用量は、Umeda *et al.* (2004a) のマウス試験では 400 ppm であった。口腔の最も初期の変化は、2000 ppm における基底細胞の活性化および扁平上皮過形成であった。酢酸ビニル 78 週間飲水投与マウス (Maltoni *et al.*, 1997) では、5000 ppm で消化管の腫瘍および異形成病変を示した (Table 4.1.2.8.D)。一部の被験群では、1000 ppm における腫瘍または異形成の発生率は比較的低いものの対照群に比べ高いことが認められたが、データは種畜群と出生児群との間で一致しなかった。これらの群については、78 週間の投与期間はきわめて短期であり、また、試験終了まで無投与期間を設けたことで、少なくとも一部は異形成および過形成から回復を可能にしたと主張できる。酢酸ビニル 1000 ppm 以上を 104 週間飲水投与したラットでは、死亡時に異形成変化の明確な増加が認められた (Minardi *et al.*, 2002)。

いくつかの証拠から、マウス口腔がんバイオアッセイでは、腫瘍増殖を伴う過形成性病変および異形成病変の用量反応関係が 2000 ppm から生じたように思われる。ラットでは、新生物発生前病変が口腔腫瘍の顕著な増加を誘発したのと同じ用量 (10000 ppm, Umeda *et al.*, 2004a; Table 4.1.2.8.A) でみられたが、それより低用量では新生物発生前病変は認められなかった。より低用量の 400 ppm および 2000 ppm では、雌ラットの口腔に単一の扁平上皮がんが生じ、それ以外の変化を伴わなかった。この単一の腫瘍の発生率に対照群との有意差はないが、腫瘍は 10000 ppm でみられたものと同じ性質であったため、投与関連であることは排除できなかつた。控えめな見方では、マウスの腫瘍反応の無作用量は 2000 ppm であったが、ラットの無作用量は得られず、ラットの場合、最低被験濃度が最小影響量である 400 ppm であった。

細胞増殖機能の亢進は明確な用量依存性の作用であり、高濃度においてのみ生じた。マウスでは、酢酸ビニル 10000 または 24000 ppm 暴露の 92 日後に、対照マウスに比べ、細胞増殖率の 2~3 倍の上昇が認められた (Valentine *et al.*, 2002)。ラットの細胞増殖も、24000 ppm において有意に亢進した。本濃度における亢進の大きさはマウスより小さく (対照ラットとの比較では 2 倍未満高い)、このことは、ラットの体重 1 g 当たりの用量 (1400 mg/kg 体重/日) がマウス (2300 または 5300 mg/kg 体重/日) より少ないことに起因すると考えられる。

増殖率の上昇幅は下顎部の方が上顎部より大きく、腫瘍転帰に対応していると解釈された (Umeda *et al.*, 2004a)。また、分布パターンは正常な増殖活性を反映しているとも考えられ、口腔底および舌腹側部において最も高いことを示した健常者由来試料と一致した (Thomson *et al.*, 1999)。口腔の新生物病変の発生率は、ラットとマウスのいずれも下顎の方が上顎より高いことが報告され、これらの口腔病変の発生率はマウスがラットの約 3 倍であった。背内側領域由来の粘膜ホモジネートの加水分解活性は、それ以外の領域より 2~15 倍高かった (Morris *et al.*, 2002) が、下顎腫瘍が多いのは、摂餌の間の重力に関連した下顎部の暴露により説明できる。さらに、組織ホモジネートの代謝活性は、*in situ* 活性を正しく反映していないと考えられる。

経口経路において有効な腫瘍を生じる酢酸ビニルの用量は、吸入経路で有効な腫瘍をもたらす濃度に比べ高いと思われた。このことについては、口腔における酢酸ビニルの加水分解活性が比較的低いことに関連していると考察でき、口腔の活性は鼻組織ホモジネートより 100 倍低かった。

入手可能な試験において選択された最高濃度/用量は、最大耐量 (MTD) を超えないとみなされた (補遺 Vinyl Acetate\_MTD\_0209 参照)。体重増加の抑制などの非特異的な毒性徴候については、標的臓器の毒性徴候もそれ以外の全身の毒性徴候も同定されなかったことから、(測定された) 摂水量および/または (摂水量の減少に派生する?) 摂餌量の減少に起因することが考えられた。

#### IId. 経時的関係

経口投与試験では根底にある毒性事象が明らかにされず、そのがん試験では中間屠殺群を含まなかったことから、細胞毒性に基づいた腫瘍発生の経時的な一連のステップについて、その最初のステップとしての情報となるデータは得られていない。92 日間飲水投与後に出現したマイトジェン作用は、腫瘍発生の前駆事象であると想定される (DuPont 社, 2000)。増殖の指標の亢進は比較的小さく、腫瘍発生の長期的な潜伏期間と十分に一致すると解釈された。

#### Ile. 関連の強さ、一貫性、特異性

想定される作用機序とは対照的に、消化管の複数の部位に認められる基底細胞の活性化、および口腔粘膜における細胞増殖の亢進という証拠から、腫瘍発生の前に、細胞死の先行なしに基底上皮細胞の増殖活性が亢進するとの異論が出された。細胞の正常な分化および成熟が、腫瘍発生の中間段階を示す異形成変化および化生性変化により置換された。こうした観察結果および先行する細胞毒性がないことから、細胞毒性と関連した作用機序の想定は支持されない。

#### IIf. 生物学的妥当性および一貫性

ヒトの自然疾患または生体異物に暴露したげっ歯類では、過剰増殖と、表面上皮細胞の炎症および細胞死とが関連している可能性がある。酢酸ビニルによる発がんがそうした毒性の前駆段階を要すると証明するには、この一般的な仮説では不十分である。

酢酸ビニル 10000 ppm において、マウス口腔腫瘍の発生率がラットより高いことは、マウスの細胞増殖活性の方が高いことに等しい (Valentine *et al.*, 2002)。

#### Ilg. 矛盾、不確定要素、データのギャップ

全体的には、経口経路のデータベースは吸入経路より少ない。

経口発がん性試験では、細胞毒性が腫瘍発生の第 1 ステップであることを示す手がかりはなかった。さらに、短期および中期のラット経口投与試験、ならびにラットおよびマウスの 90 日間飲水投与試験とも、消化管上皮における刺激/毒性作用が示されなかった。

口腔がん陽性の試験では、投与された被験物質に不純物を含有し、その不純物が発がんに寄与すると疑われた。口腔がんに関する日本の試験では、被験物質にベンゼンの代謝物であるヒドロキノン 5 ppm を含有しており、ヒドロキノンにより雄 F344 ラットの腎腫瘍の発生率、雌 F344 ラットの単核細胞白血病の発生率、および雌 B6C3F1 マウスの肝細胞腫瘍の発生率が上昇することが示された (Kari *et al.*, 1992)。Maltoni の試験 (Maltoni *et al.*, 1997) の被験物質は、ベンゼン (30~45 ppm)、酢酸メチルおよび酢酸エチル (50 ppm)、クロトンアルデヒド (6~16 ppm)、アセトアルデヒド (2~11 ppm)、アセトン (330~500 ppm) を含有していた。少なくとも Maltoni の試験に認められた Zymbal 腺の腫瘍は、ヒドロキノンに関連していると考察できる (Maltoni *et al.*, 1989, 米国国家毒性プログラム [NTP], 1986, Huff *et al.*, 1989)。ただし、本仮説を裏付けるには、不純物の濃度がきわめて低かった。

濃度 10000 ppm に暴露させたマウスとラットの双方については、マウスの腫瘍発生率がラットより高くても、体重 1 kg 当たりの酢酸ビニルの取り込みが算出された場合には無視された (Valentine *et al.*, 2002)。腫瘍発生率は、酢酸ビニルの濃度を反映すると予測されるはずであるが、種間差の説明はなお示せなかった (例えば、アルデヒドデヒドロゲナーゼ活性のデータを欠くため)。

Nakamoto *et al.* (2005) は、胃食道逆流症 (バレット食道) が認められる箇所に、酢酸ビニル関連の細胞増殖をもたらすマイトジェン反応が誘発されるには、細胞内酸性化が重要であることを強調した。バレット食道にみられる pH の過度の低下が、酢酸ビニルの暴露に転嫁され得るかは、細胞内 pH の低下がわずかであることから、依然として推論の域を出ない。

### IIIh. 消化管腫瘍の作用機序を評価する際の実際の考慮事項

実際の情報に基づくと、細胞毒性を介した酢酸ビニルの発がん性という仮説は、消化管については妥当でないとみなされた。これまで、動物試験の消化管に認められた細胞毒性と腫瘍との関係から、想定される作用機序を裏付けた試験は得られていない。したがって、それ以外の作用機序の寄与を検討しなければならない。データベース全体では吸入経路よりはるかに少ないが、腫瘍部位間には類似性がある。

アセトアルデヒドは、発がん性の可能性があるきわめて重要な代謝物である。

消化管の上皮内壁のカルボキシルエステラーゼ活性は低いが、アセトアルデヒドは腫瘍発生に重要であると考えられる。腫瘍反応の誘発に必要とされる被験濃度が高いことは、加水分解活性が低いことを反映していると考えられる。

閾値のある作用機序では、消化管の腫瘍発生に活性を示すことが想定される。

- 酢酸ビニルは消化管粘膜のカルボキシエステラーゼにより加水分解され、酢酸とアセトアルデヒドになる。
- 細胞毒性が先行病変として排除できたことから、また、原則として代謝は鼻領域と同程度であることを考慮すると、上部消化管の腫瘍発生経路は、嗅部以外の領域（呼吸部）に類似していると予測される。
- アセトアルデヒドはアルデヒドデヒドロゲナーゼにより酸化される。本酵素活性は、生理的な濃度のアセトアルデヒドの酸化には十分な高さであると考えられる。腫瘍反応の有意な上昇は、かなり高濃度の酢酸ビニルにおいて認められた（ラットおよびマウス：10000 ppm [Umeda *et al.*, 2004a]、マウス：5000 ppm 以上 [Maltoni *et al.*, 1997]、ラット：1000 ppm [Minardi *et al.*, 2002]）ことから、産生されたアセトアルデヒドが低濃度の場合には酵素活性により対処され、細胞の生存率および完全性に対する悪影響はないと考えられる。しかし、酢酸ビニルがより高濃度になると、有効なアセトアルデヒドの酸化に十分な活性にならない可能性があり、その場合にはアセトアルデヒドの蓄積が考えられる。
- 蓄積されたアセトアルデヒドは遺伝毒性作用をもたらす。
- 高濃度の酢酸ビニルには分裂促進性がある。マウスでは、細胞増殖活性の用量依存的な亢進が 10000 ppm 超（2300 mg/kg 体重/日以上）において認められたが、5000 ppm での作用はみられなかった。ラットでは、増殖活性の 2 倍未満の亢進が 24000 ppm（1400 mg/kg 体重/日）において認められた。
- 細胞毒性は腫瘍誘発濃度を限度に認められなかったため、腫瘍発生の先行的な変化として排除できた。酢酸ビニルの切断産物である酢酸は、細胞内酸性化を誘発することも考察されている。細胞内 pH の低下は頬粘膜でも認められた。鼻粘膜については pH 低下の程度が小さいことから、細胞内 pH の低下へのシフト範囲がこのように小幅であることの意義について、疑問が提起される。
- 酢酸ビニルについて、アセトアルデヒドの産生とその排泄とが不均衡になり始める正確な濃度は、入手可能なデータにより予測できなかった。したがって、閾値予測の出発点として、毒物学的な関連性が推定される最も感受性が高い生物学的作用を選択することが提唱される。発がん性試験から明確な NOAEL を判定できなかったため、単一のラット口腔腫瘍を誘発した酢酸ビニル濃度（400 ppm）が LOAEL として選択された。

**結論：**

動物の場合、長期の酢酸ビニル吸入および経口投与により、暴露の原発部位である気道および上部消化管の表面上皮に腫瘍を生じる。投与経路を除く他のいずれの臓器および組織にも全身毒性の徴候はなかった。経口摂取後に別の臓器に認められた腫瘍は、酢酸ビニルの投与に起因することを明確にできなかった。

ヒト暴露から得られた経験では、酢酸ビニルの暴露と腫瘍発生率の上昇が関連しているという徴候は示されなかった。

動物におけるデータに基づくと、酢酸ビニル暴露に対する明確な腫瘍反応が、吸入経路では 600 ppm (ラット, Bogdanffy *et al.*, 1994b) においてみられ、また、経口経路では 1000 ppm (ラット [出生児] ; 70 mg/kg 体重/日, Minardi *et al.*, 2002)、5000 ppm (マウス ; 750 mg/kg/日, Maltoni *et al.*, 1997)、および 10000 ppm (雄ラット 442 mg/kg 体重/日、雌ラット 575 mg/kg 体重/日, Umeda *et al.*, 2004a) において顕著な腫瘍発生率の上昇を認めた。Maltoni *et al.* および Minardi *et al.* の試験では試験デザインに限界があるため、Umeda の試験の予測性の方が高いとみなされる。より低用量の場合、高用量で認められたものと同種の腫瘍で、酢酸ビニル暴露に関連している可能性もある腫瘍を時に認めることが懸念される。したがって、発がん性であると疑われる最低濃度は、吸入経路では 200 ppm (LOAEC)、経口経路では 400 ppm (LOAEL、雄ラット 21 mg/kg 体重/日、雌ラット 31 mg/kg 体重/日, Umeda *et al.*, 2004a) とされた。経口経路の発がん性試験では、400 ppm が最低被験濃度であったことから、明確に腫瘍を発生しない用量は確立されなかった。濃度 50 ppm における増殖反応の徴候が複数の亜慢性吸入試験では示されず、本濃度が複数の発がん性試験では検証された。したがって、吸入を介した発がん性リスクの特徴付けでは、濃度 50 ppm が NOAEC とみなされる。経口経路の NOAEL は予測されなかったことから、リスクの特徴付けでは 400 ppm (雄ラット 21 mg/kg 体重/日、雌ラット 31 mg/kg 体重/日) が LOAEL として提唱される。

Table 4.1.2.8.L: Effective concentrations for toxic and proliferative responses to vinyl acetate at tumor sites

Target tissues	Upper respiratory tract		Upper digestive tract
Effect	Olfactory region	Other non-olfactory regions	
<b>Cytotoxicity</b>			
Epithelial degeneration/necrosis /atrophy	Rat ≥200 ppm* Mouse ≥200 ppm*	Rat 1000 ppm **	No indication of cytotoxicity up to 24000 ppm***
No-adverse-effect concentration for toxic effects	Rat ≥50 ppm* Mouse ≥50 ppm*	Rat 600 ppm* Mouse 600 ppm*	Rat 24000 ppm <sup>#</sup> Mouse 24000 ppm <sup>#</sup>
<b>Preneoplasias and Neoplasias</b>			
Hyperplasias Metaplasias	Rat ≥200 ppm* Mouse ≥200 ppm*	Rat ≥1000 ppm** Mouse ≥600 ppm*	Mouse ≥2000 ppm <sup>##</sup>
Weak or questionable tumor response	Rat ≥200 ppm*		Rat ≥400 ppm <sup>###</sup> Mouse 2000 ppm <sup>##</sup>
Clear tumor response	Rat ≥600 ppm*	Rat ≥600 ppm*	Rat 10000 ppm <sup>##</sup> Mouse ≥5000 ppm <sup>###</sup>
Concentration without tumor response	Rat 50 ppm* Mouse 600 ppm*	Rat 200 ppm* Mouse 600 ppm*	Rat LOAEC 400 ppm <sup>###</sup> Mouse 2000 ppm <sup>###</sup>

\*Bogdanffy et al., 1994b \*\*Bogdanffy et al., 1997 \*DuPont, 2000 <sup>##</sup> Umeda et al., 2004a <sup>###</sup>Maltoni et al., 1997

以上より、酢酸ビニルに暴露すると、暴露経路に沿った初回接触部位に腫瘍が生じた。閾値のある発がんの作用機序では、活性が示されると考えられる。認められる腫瘍反応は、標的部位特異的な酵素活性を反映している。

吸入暴露および経口暴露後、酢酸ビニルはカルボキシエステラーゼにより迅速に加水分解され、酢酸およびアセトアルデヒドを形成し、アセトアルデヒドは、アルデヒドデヒドロゲナーゼ存在下でさらに酢酸に変換される。細胞内のアルデヒドデヒドロゲナーゼ活性は限定され、酢酸ビニル濃度がより高いと、産生されるアセトアルデヒドの酸化には不十分になると考えられる。したがって、酢酸ビニルが高濃度になると、非生理的な高濃度のアセトアルデヒドが産生される。アセトアルデヒドは、バックグラウンド濃度が低い生理的中間体である。その有害作用（遺伝毒性および変異原性）は、非生理的な高濃度に限定される。よって、酢酸ビニルには閾値のある作用機序が想定される。

閾値濃度を超えると、細胞毒性（嗅粘膜のみ）、ミトジェン作用、および遺伝毒性作用が生じた。

酢酸が主に寄与する細胞毒性は、嗅粘膜の最も初期の病変である。腫瘍発生へと連続的に進む次の段階では、反応性かつ回復性の細胞増殖、およびアセトアルデヒドの遺伝毒性作用の同時発生が認められる。

細胞増殖活性の亢進は、アセトアルデヒドまたは酢酸ビニルが高濃度の場合に認められた。その発生は、前提条件としての細胞毒性とは関連していなかった。

酢酸ビニルのデータは、酢酸ビニルの遺伝毒性がアセトアルデヒドの介在によるものであるとする説と一致する。アセトアルデヒドの濃度上昇により、接触部位において遺伝毒性作用が生じる。アセトアルデヒドは哺乳類細胞に自然発生し、生理的細胞代謝の一部であることを考慮しなければならない。

酢酸ビニルまたはその代謝物の全身的な生物学的利用能は低い（4.1.2.1 参照）。*In vivo* 遺伝毒性試験が示した結果から、全身的な遺伝毒性は中毒量に限定されると思われる。この知見は、全身的な発がん作用がないことと一致する。

アセトアルデヒドの蓄積に導く閾値濃度はなお予測できなかった。接触部位モデルの代替として *in vitro* 試験系を用いたところ、複数の遺伝毒性エンドポイントに関する *in vitro* データから、閾値濃度が示唆され、その値を超えると、アセトアルデヒドがその遺伝毒性作用を発揮する。染色体異常の NOAEC は 0.1 mmol/L、SCE については 0.03 mmol/L であると判定された。*In vivo* における状況では、アセトアルデヒドの酸化を限定するバイオマーカーが得られていないため、リスクの特徴付けを目的とした閾値濃度導出の代替として、最も感受性が高い生物学的作用から同定された NOAEC、LOAEL をそれぞれ用いることが提唱される。

全体では、酢酸ビニルの発がんに関するきわめて重要な事象は、遺伝毒性作用に閾値があると考えられる例外的事例の基準に当てはまるとみなされる<sup>12</sup>。

<sup>12</sup> リスク評価の技術ガイダンス文書、ヒト健康リスクの特徴付け、4.13.3（章改訂）（Technical Guidance Document on Risk Assessment, Human Health Risk Characterisation, revised chapter, 4.13.3）

変異原性に閾値があると示し得る一般的な例は2つ挙げられる。(1) ...本評価書においては当てはまらない。

(2) 毒物動態学的検討から、*in vivo* におけるきわめて多量の親物質暴露時のみ、変異原性を持つ代謝物が産生されると明確に示される場合であるが、そうした暴露が現実のヒト暴露シナリオにおいてもたらされる可能性は低い。例えば、特定の活性代謝物がある代謝経路により産生されるのは、その経路とは別の優先的な経路が飽和している場合か、本活性代謝物が抱合または解毒によりきわめて迅速に排泄される場合のみとなるため、これらの経路が圧倒される場合を除けば、*in vivo* において生物学的に意味のある量がヒト DNA に到達することはない。

動物におけるデータから、酢酸ビニルは吸入経路または経口経路を介して本物質に暴露されたヒトに、がんリスクをもたらす可能性があるとの結論付けられる。発がん性は二次的な機構を介した作用と考えられ、閾値濃度を超えると懸念されることが妥当となり得る。

こうして認められた作用は、ヒトに対し妥当であると考えられる。ヒト鼻粘膜のカルボキシルエステラーゼ活性がラットより低いことから、ヒト気道の感受性はより低いと考えられる。

## 分類

EU 分類基準によれば、酢酸ビニルは発がん物質（カテゴリー3）と分類し、毒性がある（Xn）、かつ発がん性の影響に関する限定的な証拠がある（R 40）と表示することが提唱される。

### 正当化の根拠：

- ヒトに関する適切なデータベースはない。
- この分類の提唱に関わったがん試験には、Owen (1988)、Bogdanffy *et al.* (1994b)、Umeda *et al.* (2004a)、Minardi *et al.* (2002)、Maltoni *et al.* (1997) が挙げられた。これらの試験の被験濃度は MTD を超えていなかった（補遺 Vinyl Acetate\_MTD\_0209 参照）。
- 酢酸ビニルでは、2つの動物種それぞれの雄雌双方について発がん性が認められた。
- 発がん性の可能性が、2つの投与経路（吸入および経口）について示された。
- 酢酸ビニルでは、初回接触部位（暴露経路に沿った表面上皮）において発がん性が認められた。
- 試験に用いられた種では、上下気道および上部消化管に由来する鼻腫瘍および上皮腫瘍の自然発生率は、きわめて低いことが知られている。
- 腫瘍発生の標的臓器すべてが、ヒトに関連しているとみなされた。
- 酢酸ビニルによる発がんの種特異的な作用機序は同定されなかった。
- 酢酸ビニルの発がん作用は、その代謝物であるアセトアルデヒドの遺伝毒性活性に関連していると考えられる。腫瘍の所見とアセトアルデヒドの遺伝毒性データとが類似していることから、この仮説は裏付けられる。

- 閾値のある作用機序は、活性を示すと考えられる。腫瘍の発生は、酢酸ビニルおよびその代謝物であるアセトアルデヒドの加水分解に関与する、標的部特異的な酵素活性を反映している。より高濃度になると、この酵素活性の高さでは産生されたアセトアルデヒドの酸化に不十分になると考えられる。その後アセトアルデヒドが細胞内に蓄積し、細胞増殖活性の亢進、DNA 付加体の形成および DNA 損傷（染色体異常誘発能）の増加が生じる。アセトアルデヒドの細胞増殖活性および DNA 付加体の形成は、特定の（閾値）濃度を超えた場合のみ活性を示す。
- アセトアルデヒドについては、酢酸ビニルの局所濃度が高い場合にマイトジェン作用が認められた。マウスでは、酢酸ビニル濃度 10000 ppm 以上で増殖機能の亢進をもたらしたが、そうした作用は濃度 5000 ppm を限度に認められなかった。マイトジェン反応がどのように開始するのか、その正確な機序は不明である。
- 嗅粘膜部特異的にカルボキシルエステラーゼ活性が高く、アルデヒドデヒドロゲナーゼ活性が低いため嗅粘膜の耐性が低下する場合、細胞毒性は嗅粘膜の発がんに寄与する 1 作用と想定された。この仮説は、細胞毒性作用と腫瘍増殖との間の一貫した用量反応関係および時間反応関係により裏付けられると考えられた。
- 嗅上皮の発がんの多段階仮説は、初期の細胞毒性である反応性の細胞増殖に基づいており、酢酸ビニルの代謝物であるアセトアルデヒドの遺伝毒性作用と関連している可能性がある。
- それ以外の腫瘍部位である嗅上皮以外の（呼吸）上皮および上部消化管粘膜については、高濃度のアセトアルデヒドでは、アセトアルデヒドの遺伝毒性作用に加え、濃度依存的な細胞増殖の亢進が腫瘍発生をもたらすと想定された。
- 吸入経路では、嗅粘膜の細胞毒性が、腫瘍反応に関連する最も感受性が高い作用であると考えられるため、定量的なリスク評価に採用される。細胞毒性および関連する修復性の細胞増殖は、嗅粘膜における腫瘍発生の初期の事象であると想定される。嗅粘膜の細胞毒性作用について確立された NOAEC（50 ppm）は、閾値濃度として用いることが提唱される。経口経路では、腫瘍発生の最低用量（400 ppm : 21 mg/kg 体重/日に相当）が、閾値濃度算出の基準として提唱される。

2007 年 9 月、TC C&L は発がん物質（カテゴリー 3）、R40 に合意した。

#### 4.1.2.9 生殖毒性

動物におけるデータ：

##### 生殖能力の障害

雄雌 Crl:CD(SD)ラットからなる複数の群に、酢酸ビニル名目濃度 0 (対照)、200、1000、または 5000 ppm (v/v) (約 20、100、または 500 mg/kg 体重/日に相当、体重の 10%の摂水量を想定して算出) を 2 世代にわたり飲水投与した。被験溶液は 1 日 1 回新たに調製され、24 時間の酢酸ビニル喪失を補正するため 5%過剰に調剤した。F<sub>0</sub>ラット (用量群ごとに雄 18 匹、雌 36 匹) は酢酸ビニルを 70 日間投与後に交配させ、妊娠および哺育期間全体を通じ投与を継続した。最初の同腹児から雄児 25 匹、雌児 25 匹 (F<sub>1</sub>) からなる群を選択した。これらの同腹児の離乳後引き続き酢酸ビニルを 70 日間投与し、その後同腹児群内の交配を可能にし、第 2 世代 (F<sub>2</sub>) を得た。F<sub>2</sub> 同腹児の離乳後、試験を終了した。

F<sub>0</sub>および F<sub>1</sub> 動物の生殖能力は、同腹児数、生存能、大きさなどの指標から評価した。F<sub>1</sub> 児および F<sub>2</sub> 児の体重は出生から離乳まで (哺育 1、7、21 日目に) 記録し、同様に発育および機能のパラメータを (哺育 21 日目に) 記録した。F<sub>0</sub>および F<sub>1</sub> 親動物、ならびに F<sub>1</sub> および F<sub>2</sub> の各同腹児群の雄児、雌児それぞれ 10 匹ずつを対象に剖検を実施した。いずれの群にも、臨床的異常および投与関連の死亡は認められなかった。摂水量は F<sub>0</sub> および F<sub>1</sub> 世代の 5000 ppm 群、ならびに 1000 ppm 群の雌において有意に減少した。このことと、5000 ppm 群の F<sub>0</sub> 雌、ならびに 5000 および 1000 ppm 群の F<sub>1</sub> 雌において、哺育中にみられた有意な体重増加の抑制とは関連していた。哺育 21 日目の評価の際、5000 ppm 群では、F<sub>1</sub> 世代の児の体重が対照群より統計的に有意に減少したが、F<sub>2</sub> 世代では認められなかった。F<sub>0</sub> 動物の生殖能力に関する影響は認められなかったが、F<sub>1</sub> 動物の交配では 5000 ppm 群の妊娠数 (24 匹中 19 匹) が対照群 (25 匹中 24 匹) に比べ減少した結果、同腹児数の減少となった。その差は軽微で統計的有意差はなかったが、この影響は受胎能力の低下に起因していた。そのため、さらに F<sub>1</sub> 世代の対照群および 5000 ppm 群の雄雌ラットの交差交配試験が実施された。対照群の雌と 5000 ppm 群の雄との交配の結果、交配率は 76%、受胎率は 100%となり、このとき生じた妊娠数の減少についてみると、妊娠数の減少は生殖能力の障害ではなく交配不良に起因することが示された。5000 ppm 群の雌と対照群の雄とを交配させた場合には、明白な減少が認められなかった。それ以外のすべての所見では、剖検およびその後の組織病理学的検査で得られた所見を含め、酢酸ビニルに起因する有害作用は示されなかった。酢酸ビニルに関連する精巣の変化については、本試験において明らかにならなかった。

要約すると、飲水投与により酢酸ビニル 200 または 1000 ppm に暴露させた雄雌ラットでは、生殖能力および得られた同腹児に影響は認められなかった。5000 ppm では雌の妊娠数がより減少したが、交差交配試験から、その影響は雄の生殖能力と関連していることが示唆された。ただし、その影響は小さく統計的有意差はなかった。酢酸ビニル暴露動物の同腹児に対する影響は、F<sub>1</sub> 児の

5000 ppm 群のみに限定され、有意な体重増加の抑制が哺育 21 日目に認められた。F<sub>2</sub> 児にはそうした影響が認められなかった。F<sub>1</sub> 児離乳時の体重増加の抑制は、哺育期間中の母動物に関する有意な摂水量の減少および体重増加の抑制と関連していた。本試験条件下において、NOAEL は 1000 ppm であるとみなされた (Mebus *et al.*, 1995)。

交雑種 (C57Bl/6J×C3H/He) F<sub>1</sub> 雄マウスを対象に、125、250、500、750、または 1000 mg/kg 体重 (酢酸ビニルをオリーブ油に溶解) を連続 5 日間腹腔内注入したところ、投与量 750 および 1000 mg/kg における死亡率がそれぞれ 80、100% となり、それより低い投与量では、注入期間中に用量依存的な体重減少、および用量依存的な体重回復の抑制を生じた。毒性を通常示すこうした投与量から、相対精巣重量減少の平均値が投与量 125 および 500 mg/kg において認められたが、投与量 250 mg/kg では認められず、加えて投与量 500 mg/kg 体重において精子異常がみられた。投与後 5 週間の時点の精巣上体精子数は、対照群、125、250、および 500 mg/kg 用量群について  $5.60 \pm 0.51$ 、 $5.58 \pm 1.38$ 、 $6.17 \pm 1.03$ 、 $4.10 \pm 1.80$  百万個/mL となった (Lähdetie, 1988)。

### 発生・発達毒性

交配した雌 Crl:CD(SD)BR ラット 23 匹からなる複数の群に、酢酸ビニル名目濃度 0 (対照)、200、1000、または 5000 ppm (約 0、25、100、または 500 mg/kg 体重/日) を妊娠 6 日目から 15 日目まで飲水投与した (Hurtt *et al.*, 1995, Irvine, 1980)。被験溶液は 1 日 1 回新たに調製され、24 時間の酢酸ビニル喪失を補正するため 7~10% 過剰に調剤した。妊娠 20 日目に母動物およびその子宮内容物の最終検査を実施した。

投与群と対照群の動物間には、外観、挙動、および妊娠率の統計的有意差がなかった。初期に 5000 ppm 群では、体重増加の軽微な遅延に伴う摂餌量および摂水量の軽微な減少がみられ、また、統計的に有意な摂水量の減少は、酢酸ビニル水溶液に対する嗜好性が合わなかったことを反映していると想定された。投与に起因する変化は、母動物の剖検、および総異常発生率を含む胎児のパラメータの検査とも認められなかった。酢酸ビニルは、ラットに軽微な母体毒性をもたらす用量 5000 ppm (v/v) を限度に飲水投与しても、胎児毒性および催奇形性はないと結論付けられた。

交配した雌 Crl:CD(SD)BR ラット 24 匹からなる複数の群に、酢酸ビニル蒸気濃度 0 (対照)、50、200、または 1000 ppm (約 100、205、および 1025 mg/kg 体重/日に相当、ラットの呼吸数 0.8 L/分/kg に基づく) に妊娠 6 日目から 15 日目まで 6 時間/日暴露させた (Hurtt *et al.*, 1995)。1000 ppm 群では、重度の母体毒性 (顕著な体重増加の抑制、肺うっ血) および胎児毒性の徴候がいくつか生じた。また、1000 ppm 群の胎児では、統計的に有意な胎児の平均体重の減少および平均頭腎長の短縮により、胎児毒性が明らかにされた。さらに、1000 ppm 暴露群の母動物の胎児では、骨格の軽微な変化 (主に骨化遅延) の発生率が統計的に有意に上昇した。要約すると、酢酸ビニル吸入濃度 1000 ppm では、母動物およびその受胎産物の双方に悪影響を及ぼしたが、それより低暴露濃度での影響はなかった。本吸入試験の NOAEC は 200 ppm とみなされた。

ヒトにおけるデータ：

データは得られていない。

**生殖毒性に関する要約**

酢酸ビニルは、ラットでは経口（飲水）暴露経路を介した生殖能力および受胎能力の有害作用、また、マウスでは腹腔内暴露経路を介した雄生殖器の有害作用を対象に検討されている。酢酸ビニルは、マウスの精巣重量の減少および精子異常の誘発を示したが、毒性を示す投与量では死亡および体重減少を誘発した。さらに、酢酸ビニルは様々な経口暴露濃度で有意な体重増加の抑制に伴う摂水量の有意な減少（嗜好性によると考えられる）を生じているが、そうした濃度でも、生殖に対する影響は小さいことが示された。児の体重減少および妊娠数の軽微な減少からなる影響が認められた。酢酸ビニルによる生殖関連の明確な有害作用は、最大濃度 1000 ppm（1000 ppm を含む）を飲水投与したラット 2 世代試験からは証明されなかった。

酢酸ビニルの発生・発達毒性については、ラットを対象にした器官形成中の経口（飲水）および吸入暴露経路を介した研究が行われている。経口経路では、胚/胎児毒性および催奇形作用が最大濃度 5000 ppm（5000 ppm を含む）の飲水投与において認められなかった。吸入暴露中に示された胎児毒性作用は高投与量のみ限定され、高投与量では重度の母体毒性が認められた。ただし、酢酸ビニルは、最大吸入濃度 200 ppm（200 ppm を含む）では、母動物とその受胎産物の双方に悪影響を及ぼさなかった。

受胎能力の NOAEL は 1000 ppm（用量約 100 mg/kg 体重/日に相当）であることが 1 経口暴露試験から得られ、発生・発達毒性の NOAEC は 200 ppm（用量約 205 mg/kg 体重/日に相当）であることが 1 吸入暴露試験から得られた。

**コメント：**

ドイツの場合、酢酸ビニルはドイツ学術振興会（MAK）の妊娠に関するカテゴリー「D」に割り当てられ、現行のデータベースでは発生・発達毒性の最終評価に不十分であることを示している。ただし、1 動物種（ラット）を対象にした生殖毒性の評価では、既に酢酸ビニルの結果が陰性であったことが概説されている。この後者の結果が追加の種において検証できた場合、酢酸ビニルはカテゴリー「C」に割り当てられ、MAK の定める値である 10 ppm に各自従った女性作業員については、発生に関する有害作用のリスクが予測されないことを示すと考えられる。