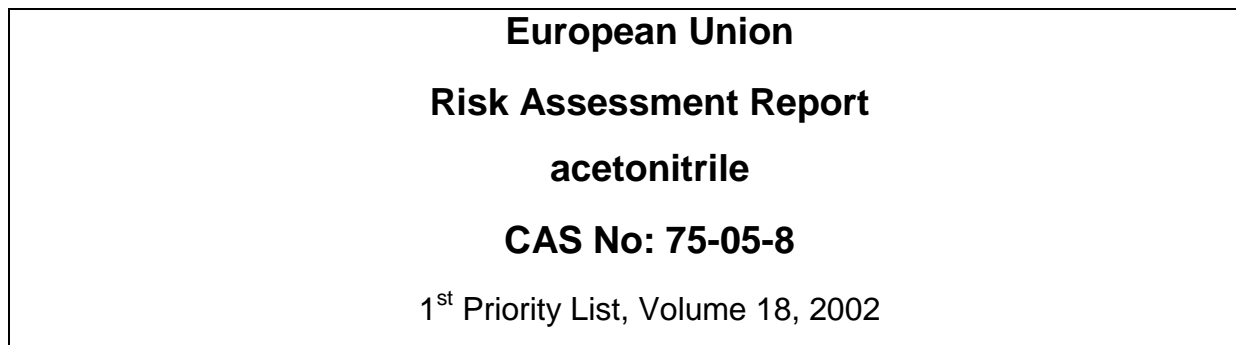


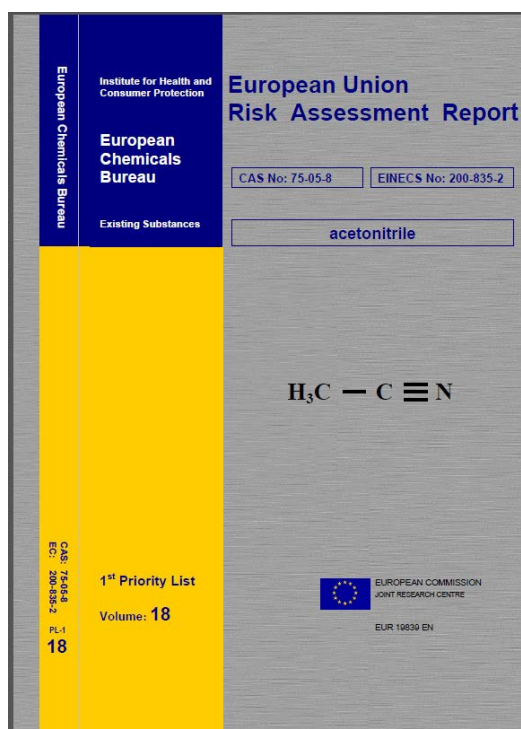
部分翻訳



欧州連合

リスク評価書 (Volume 18, 2002)

アセトニトリル



国立医薬品食品衛生研究所 安全性予測評価部

2018年11月

本部分翻訳文書は、acetonitrile (CAS No: 75-05-8)に関する EU Risk Assessment Report, (Vol. 18, 2002)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/10162/764c8da5-79e2-418d-bf1f-ab59592f8cc6>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

##### 4.1.2.1.1 動物における試験

###### In vivo 試験

定量的な分析データは得られていないが、複数の薬物動態試験および毒性試験から示されるとおり、アセトニトリルは肺、消化管、皮膚から直ちに吸収され全身毒性をもたらす。アセトニトリルその他のニトリル類の全身毒性作用は、そのほとんどが代謝を通じたシアン化物を介するものであり、シアン化物はその後チオ硫酸塩との抱合によりチオシアン酸塩を形成し、尿中に排泄される。アセトニトリルが代謝されシアン化物とチオシアン酸塩になることを、Pozzani *et al.* (1959) が初めて観察してから、多くの著者がヒトおよび実験動物の *in vitro*、*in vivo* 双方で同じ結果を報告した (Amdur, 1959; Ohkawa *et al.*, 1972; Willhite and Smith, 1981; Ahmed and Farooqui, 1982; Silver *et al.*, 1982; Willhite, 1983; Tani and Hashimoto, 1984a, 1984b, 1986; Freeman and Hayes, 1985a, 1985b; Ahmed *et al.*, 1992)。著者は皆、アセトニトリルがシトクロム P450 モノオキシゲナーゼ系により、最初に生体内変換される代謝経路の存在を示唆した。提唱されるその代謝経路には、アセトニトリル  $\alpha$  炭素原子のミクロソーム酸化、および、メチレンシアノヒドリンと考えられる反応性中間体の形成が挙げられる。このメチレンシアノヒドリンは、可能性として、さらに分解されてシアン化物イオンとホルムアルデヒドになるか、生体分子と共有結合性相互作用を受ける。

アセトニトリルからのシアン化物放出と、その結果生じるチオシアン酸塩への代謝は、様々な実験条件と複数の動物種において検討されてきた。

###### 経口経路

Silver *et al.* (1982) は、ラットに経口投与させた用量の 11.8% が、摂取後 24 時間以内にチオシアン酸塩の形で尿中排泄されることを報告した。

ラット 8 例からなる群にアセトニトリル 1,470 または 4,300 mg/kg を経口投与後、72 時間にわたり血中シアン化物濃度および血清アセトニトリル濃度を測定した。対照群には用量 20 mL/kg の水を

与えた。アセトニトリルがシアン化物に代謝される時間経過をさらに特徴付けるため、第2の薬物動態試験を実施した。その結果、血清アセトニトリル濃度は7.5時間後に最大値を示し、72時間後のアセトニトリルはほとんど検出できなかった。血中シアン化物濃度は7.5時間後に両用量とも同程度のピークに達したが、72時間後、1,470 mg/kg 投与群についてはほぼ基準値に低下した (Freeman and Hayes, 1985)。同じ試験において著者は、アセトン (シトクロム P450 誘導物質) とアセトニトリルの2つの化合物を同時投与した場合、アセトンによりアセトニトリルの代謝が刺激されることを発見した。著者により、アセトンはアセトニトリルの代謝に関する二相性の作用 (すなわち、初期の代謝阻害と、それに続くアセトン排泄と同時に生じるシアン化物生成の刺激) を介し、アセトニトリルの毒性を増強することが示唆された。この阻害のさらなる特徴付けに際し、アセトンは阻害の競合モデルに適合することが認められた (Freeman and Hayes, 1987)。

Willhite (1983) は、ゴールデンハムスターを対象に、アセトニトリルの *in vivo* 生体内変換について検討した。非妊娠雌ハムスターにアセトニトリル 100、200、300、または 400 mg/kg 体重を経口投与または腹腔内注射した。投与後 2.5 時間で動物を屠殺し、血液、脳、腎臓、肝臓のシアン化物およびチオシアン酸塩の濃度を測定した。ハムスターには、同一用量のアセトニトリル投与群内でも、これらの代謝物濃度に大幅なばらつきがみられた。肝臓および腎臓のシアン化物およびチオシアン酸塩の濃度は、脳より高かった。全血、肝臓、腎臓のチオシアン酸塩濃度は脳の最大 10 倍であり、血中チオシアン酸塩濃度は、脳より腎臓における濃度と近似していた。それでも、アセトニトリルの用量増加に伴い、これら 2 つの代謝物濃度は上昇した。生体内変換のパターンは、検討された投与経路または組織に関わりなく類似していた。アセトニトリル 400 mg/kg を経口投与か腹腔内投与後、検討された組織すべてのシアン化物およびチオシアン酸塩の濃度について、この濃度をそれ以外の検討用量から得られた代謝物濃度と比較したところ、400 mg/kg における濃度が一貫して高かった。認められたばらつきは、アセトニトリルからシアン化物への *in situ* における生体内変換速度の個体差か、シアン化物からチオシアン酸塩への生体内変換速度の個体差、またはその両要因の組み合わせのいずれかに起因すると考えられる。高濃度のシアン化物およびチオシアン酸塩は、経口投与および腹腔内投与後の双方において、検討されたすべての組織で検出された。

Ahmed and Farooqui (1982) は、雄 Sprague-Dawley ラットに、複数の飽和および不飽和ニトリル類の半数致死量 ( $LD_{50}$  値) に当たる用量を投与後 1 時間のシアン化物濃度を測定した。6 例からなる群の動物を一晩絶食させ、アセトニトリルの  $LD_{50}$  値である 2,460 mg/kg を経口投与した。対照群には同等量の 0.9% NaCl を投与した。投与後 1 時間動物を観察し、次に断頭により屠殺した。屠殺時、断頭した動物の血液は、ヘパリン処理した試験管に完全に排出することにより採取した。肝臓、腎臓、脳、胃内容物を採取後、液体窒素で速やかに凍結し、分析時まで  $-30^{\circ}\text{C}$  で保管した。アセトニトリルからシアン化物への変換速度は、他のニトリル類より緩慢に進行する。それどころか、アセトニトリル投与後 1 時間の血中シアン化物濃度は、他のニトリル類の急性用量投与後に認められた濃度よりはるかに低かった。血中シアン化物のピーク濃度はアセトニトリル投与後 7.5 時間で認められたが、他のニトリル類では同程度の濃度が投与後 1 時間で測定された。アセト

ニトリル投与後 1 時間の脳シアン化物濃度も、シアン化カリウム (KCN) その他のニトリル類暴露後測定された濃度より低かった。各種ニトリル類に暴露後のチオシアン酸塩の尿中排泄から示されたとおり、アセトニトリルの場合、その経口 LD<sub>50</sub> 値に基づいたアセトニトリルの絶対投与量のはるかに多くても、排泄される用量の割合は他のニトリル類の場合より低かった。これらのデータから、アセトニトリルの毒性はシアン化物および他のニトリル類より低いことが示され、アセトニトリルの経口 LD<sub>50</sub> 値 (2,460 mg/kg 体重) と他のニトリル類の経口 LD<sub>50</sub> 値 (すなわち、経口 LD<sub>50</sub> 値投与後 1 時間では、プロピオニトリル 40 mg/kg、アクリロニトリル 90 mg/kg、シアン化カリウム 10 mg/kg) とを比較した場合、認めうるとおりである (Ahmed & Farooqui, 1982)。このことは、アセトニトリルからシアン化物への変換がより緩慢であるため、チオシアン酸塩の排泄を介したより効果的な解毒に起因する可能性がきわめて高い。

### 吸入経路

Pozzani *et al.* (1959) は、アセトニトリル吸入暴露後の血中シアン化物、尿中チオシアン酸塩の存在について初めて報告した。試験は、ラット、サル、イヌを対象に様々な実験条件下で実施された。ラット雄 15 例および雌 15 例を、アセトニトリル蒸気 (166、330、655 ppm) に 7 時間/日、5 日/週、計 90 日間暴露させた。いくらかのチオシアン酸塩が、アセトニトリル蒸気 330 および 166 ppm 吸入ラットでは排泄されたが、排泄されたチオシアン酸塩量はアセトニトリル吸入濃度に比例しなかった。チオシアン酸塩は 1 日 1 回の暴露の間に完全に消失することはなかったが、週末 2.5 日間の休薬期間にほぼ完全に排泄された。サルおよびイヌを対象に、ラットと同じ方法で空気中のアセトニトリル 350 ppm を暴露させる反復吸入試験も実施された。尿中チオシアン酸塩濃度は、イヌ 3 例では 5 日間の吸入期間後 69 mg/L から 252 mg/L、サルでは 60 mg/L から 114 mg/L に上昇した。ラットとは異なり、イヌとサルは週末 2.5 日間の休薬期間を過ぎても、引き続きチオシアン酸塩を排泄した。チオシアン酸塩は、ウサギに 2,000 および 4,000 ppm の蒸気を 4 時間単回吸入させた場合にも、尿中に認められた。

アセトニトリル致死濃度吸入後、どの程度のシアン化物が哺乳類の体内に形成されるか識別するため、ビーグル犬 3 例を空気中の濃度 16,000 ppm (27,000 mg/m<sup>3</sup>) のアセトニトリル蒸気に 4 時間暴露させた。動物を、出血の間、約 1 時間間隔で 3 分間吸入チャンバーから取り出した。すべての動物が吸入終了後 14 時間以内に死亡した。吸入時間中、ビーグル犬に相当な量の血中シアン化物が認められた。1 時間後の血中シアン化物濃度は、33~53 µg/100 mL 血液であった。血中シアン化物濃度は 3 時間後にピーク (305~433 µg/100 mL 血液) に達し、4 時間後の暴露時間終了時にいくらか低下した (266~291 µg/100 mL 血液)。著者はこの吸収パターンについて考察しなかったが、本試験の排泄相の間、1 件の「分析上のアーチファクト」を認めた。本試験に用いられた動物が少数で、可能性として分析技法に問題があるとすれば、これらのデータを用いて吸収速度係数を導くことはできない。それでも、このデータから、アセトニトリルは吸入を介して早急に吸収されることが定性的に示され、ビーグル犬は暴露後 3~4 時間で定常状態の血中濃度に近似していた可能性があるとして示唆される。

1975年、Haguenoer *et al.*は、アセトニトリル 2,800 または 25,000 ppm 吸入後のラットについて、アセトニトリルの分布および代謝運命の観察結果を報告した。25,000 ppm では、ラット 3 例すべてが呼吸困難およびチアノーゼの後、暴露開始後 30 分で死亡した。各種臓器等（心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、胃、腸、皮膚、筋肉、脳、精巣）の化学分析を行った。アセトニトリルの平均濃度は、136 µg/100 g 筋肉～2,438 µg/100 g 腎臓の範囲で、遊離シアン化水素の平均濃度は、27 µg/100 g 肝臓～402 µg/100 g 脾臓の範囲であった。遊離シアン化水素はより均等に分布したが、脾臓（402 µg/100 g）および脳（129 µg/100 g）は例外的にいくらか高濃度であった。著者の記述から、腎臓に認められた高濃度アセトニトリル（2438 µg/100 g）は、アセトニトリルの排泄がきわめて多かったか、腎臓の遮断のいずれかに起因した可能性がある。吸入暴露（25,000 ppm）させたラットのすべての臓器等におけるアセトニトリル濃度は、同様の腹腔内投与試験で認められた濃度の最大 16 倍であった（Haguenoer *et al.*, 1975）。アセトニトリル投与と、投与から死亡までの潜伏期間 3～12 時間との関連を示した腹腔内投与試験とは対照的に、本試験ではラットは吸入直後に死亡した。第 2 の実験では、ラット 3 例にアセトニトリル 2,800 ppm を 2 時間/日、最大 5 日間吸入させた。いずれも努力性呼吸、一過性の無尿、および下痢を示した。3 回目の暴露後、1 例が肺出血および脳出血により死亡した。4 回目の暴露後、残りの 2 例は麻痺を生じ尿中排泄が減少した。1 例が 5 回目の暴露開始時に死亡し、もう 1 例は暴露終了後 2 時間で死亡した。両ラットとも 5 日間の暴露期間中に約 45% の体重減少を示した。ラットの剖検から、検討されたすべての臓器等は、アセトニトリルおよび遊離シアン化物を、それぞれ 96.0～286.9、53～990 µg/100 g 組織の濃度範囲で含有することが認められた。3 例の臓器等のアセトニトリル濃度は高かったが、ばらつきがあった（最大値は腎臓の 286.9 µg/100 g 組織）。これらの値は 25,000 ppm 暴露時に認められた値より低かった。このことについて著者は、暴露間でのアセトニトリルの経肺排出（呼気）がより多いためとした。比較すると、臓器等の遊離シアン化水素酸の平均濃度は、特に脾臓（990 µg/100 g 組織）において、25,000 ppm 群で認められた濃度よりわずかに高かった。一方、相対的な増大は心臓（4.9 倍）および胃（5.6 倍）が最大であったのに比べ、脾臓は 2.4 倍にすぎなかった。著者の記述では、アセトニトリル吸入による死亡動物の臓器等のシアン化水素濃度は、アセトニトリルの腹腔内投与による死亡動物に認められた濃度と同程度であった。さらに、これらの結果から、臓器等の遊離シアン化水素濃度とアセトニトリル暴露濃度との間に、定量的関係はないことが示唆された。いずれの濃度のアセトニトリルでも、長期的かつ持続的な無尿がその影響の 1 つとして常に認められた。こうした徴候は、アセトニトリル吸入量や動物の感受性によりばらつきを示した。

#### 腹腔内経路

Haguenoer *et al.* (1975) は、Wistar ラットにアセトニトリル 2,340、1,500、600 mg/kg 腹腔内投与後、組織におけるアセトニトリルおよびその代謝物の分布について検討した。ラット各 4 例からなる 2 群と 3 例からなる 1 群に、780 mg/ラット（平均体重：330 g）を単回腹腔内注射投与した。すべての動物が 3～12 時間以内に死亡した。各動物の肝臓、肺、脾臓、腎臓、心臓、脳、筋肉、

腸、胃、精巣、皮膚について、アセトニトリル、遊離シアン化水素、およびその代謝型含有物の分析を行った。シアン化水素代謝物の濃度が最も低かったのは、肝臓の 359  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  組織で、脾臓、胃、皮膚における濃度は、それぞれ 1,317、1,757、1,045  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  組織であった。これらの臓器等に認められた遊離シアン化水素は、肝臓の 17  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  組織から脾臓の 347  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  までばらつきがあった。アセトニトリルは、各種臓器等に均等に分布することが認められた。

アセトニトリル (500 mg/ラット) 単回腹腔内投与後、すべての動物が 18~28 時間以内に死亡した。各種臓器等の分析結果から、すべての臓器等でアセトニトリルが認められた。脾臓、心臓、肺は最大量のアセトニトリルを伴う臓器で、それぞれ 221.1、284.3、153.3 mg/100 g であった。これらの臓器等に認められた遊離シアン化水素およびその代謝物 (チオシアン酸塩、シアノヒドリン、シアノコバラミン) の濃度は、2,340 mg/kg での実験で認められた濃度より高かった。このことについて著者は、中毒の進展がより長時間に及んだため、加水分解されたと考えられるアセトニトリルの割合がより高かったためとした。同じ観察結果は、シアン化水素代謝物について得られる。中毒の間に、より多くのシアン化水素が形成された場合、生命体であるラットにはより多くの解毒時間を要したが、ラットの死亡回避に十分な時間ではなかったと考えられる。より低用量のアセトニトリルで、注射と死亡の間にきわめて長時間の潜伏期間が認められるのは、こうした理由によるものである。この潜伏期間については、肺、尿、およびより重要な解毒経路を介し毒性の顕著な除去を可能にし、最終的に動物の生存を可能とするには十分な長時間になりうる。著者が第 3 の実験で確認したかったのがこのことで、Wistar ラット 8 例を対象に、アセトニトリル 200 mg/ラットの単回投与を行った。ラットを 2 群に分けた。アセトニトリル、遊離シアン化水素、およびその代謝物の尿中排泄について 11 日間追跡し、参考群 4 例に認められた排泄結果と比較した。すべてのラットが見かけ上毒性の徴候を示さず生存し、11 日目に剖検のため屠殺された。各動物の心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、胃、腸、皮膚、筋肉、脳、精巣について、アセトニトリル、遊離シアン化水素、およびその代謝物の検討を行った。アセトニトリルは認められなかった。遊離シアン化水素は中毒動物の腎臓に微量にのみ存在し、シアン化水素代謝物は参考群において同程度の濃度で認められた。暴露後 11 日間毎日採尿し、遊離シアン化水素およびその代謝物、ならびにアセトニトリルを測定した。1 日目、尿中には、平均で遊離シアン化水素 92  $\mu\text{g}$ 、シアン化水素代謝物 5,391  $\mu\text{g}$ 、アセトニトリル 20.3 mg が含まれていた。アセトニトリルは 4 日目より後には測定されず、11 日目の遊離シアン化水素排泄量は平均で 5.3  $\mu\text{g}$ /動物であった。各対照群は、毎日遊離シアン化水素 1.5~5.2  $\mu\text{g}$ 、シアン化水素代謝物 9~40  $\mu\text{g}$  を排泄した。対照群の尿中には、いずれの時点でもアセトニトリルが認められなかった。剖検での組織の分析から、投与群と対照群との間に重大な差はないことが示された。4 日目より後には、両方の型のシアン化水素の排泄が劇的に減少し、アセトニトリルはもはや尿中に存在しなかった。アセトニトリルの毒性は低く、存在するシアン化物イオンの量は、その親分子由来のシアン化物放出率に依存すると著者は結論付けた。また、著者は、高用量 (2,340 および 1,500 mg/kg) で遊離した多量のシアン化水素が、ラットの死因であることも想定した。

雄 CD-1 マウスを対象に、アセトニトリルを含む各種ニトリル類を投与した Willhite and Smith (1981)

の試験では、特定のニトリル類を LD<sub>50</sub> 値に当たる用量で腹腔内注射後 2.5 時間の死亡時または屠殺時、採取した組織のシアン化物濃度がすべての例で上昇していたが、ニトリルごとに相当なばらつきが認められることを示した。肝臓のシアン化物濃度は、脳より一貫して高かった。同じニトリルの投与群内でも、シアン化物濃度に相当なばらつきがみられた。より高濃度では、より重度の中毒の徴候と相関する。こうした大きなばらつきは、*in vivo* におけるシアン化物遊離速度の個体差、シアン化物のチオシアン酸塩への生体内変換速度の差、またはその両方に起因すると考えられる。アセトニトリル 175 mg/kg を腹腔内投与後、シアン化物は肝臓で  $47.8 \pm 36.1 \mu\text{mol/kg}$ 、脳で  $13.4 \pm 4.8 \mu\text{mol/kg}$  認められた。投与された雄 CD-1 マウスは、腹腔内投与後 2.5 時間で死亡した。

Silver *et al.* (1982) の報告では、SD ラットにアセトニトリル 30.8 mg/kg を腹腔内投与後 24 時間で尿中排泄されたチオシアン酸塩は、 $2.2 \pm 0.2 \text{ mg/kg}$  で、本用量の  $4.4 \pm 0.5\%$  に相当した。

### 静脈内経路

形成されたチオシアン酸塩がどれほど排泄されるか識別するため、サル 3 例にアセトニトリルを静注 (0.1 mL/kg) した。この静注の 4~8 週間後、チオシアン酸ナトリウム (生理食塩水に 1.55 mL/kg を溶解した 10% 溶液) を静注した。チオシアン酸塩として排泄された用量の割合は、アセトニトリル静注後 12%、チオシアン酸ナトリウム静注後 55% であった。静注されたアセトニトリルの 12% 超がチオシアン酸塩に変換されたと思われる (Pozzani *et al.*, 1959)。

Ahmed *et al.* (1992) は、アセトニトリルの投与およびその代謝物について、<sup>14</sup>CH<sub>3</sub>CN 分子を用いて検討した。概して、アセトニトリルの代謝について入手可能な情報では、シアン化物の形成のみ扱われており、**Figure 1** に示した代謝経路が示唆される。揮発性化合物であるアセトニトリルは、不揮発性の代謝物、すなわちホルムアルデヒドシアノヒドリンに変換される。後者は、さらに代謝を受けてシアン化物とホルムアルデヒドを放出するか、代謝物であるホルムアルデヒドシアノヒドリンの求電子的なメチレン炭素原子に対する求核置換反応を介し、組織高分子と共有結合することが考えられる。また、ホルムアルデヒドも、ヒドロキシメチレンの形成を介し組織高分子の求核部位と共有結合し (Feeney *et al.*, 1975)、複数の内因性化合物の *de novo* 合成に組み込まれる (Ntundulu *et al.*, 1976) か、さらに代謝を受けギ酸になると考えられる。Ahmed *et al.* (1992) は、シアノ基の分布の調査を行わなかったが、**Figure 1** に示したとおり、アセトニトリル分子またはその代謝物全体について、シアノ基ありかなしがいずれかの分布は検討した。本試験から、肝臓に加え複数の組織は、アセトニトリルの代謝能と蓄積能を有することが示された。アセトニトリルの代謝の顕著な活性化が肝臓と腎臓でみられ、このことは、雄 ICR マウス (Sprague Dawley) に用量 2.46 mg/kg を単回静脈内投与後 5 分での、両臓器における不揮発性のアセトニトリル代謝物の急速な蓄積により示されるとおりである。ただし、腎臓におけるアセトニトリル代謝物の蓄積後も、急速に尿中代謝物は排泄されると考えられる。腎臓と膀胱の双方で高レベルの放射能が含まれていたからである。腎臓の放射能が経時的に低下したのに対し、膀胱内容物における放射

能の増加が認められた。この移行が示すとおり、 $2\text{-}^{14}\text{C}$ -アセトニトリルおよびその代謝物は、血液から腎臓、膀胱、尿に急速に排泄された。肝臓、脾臓、精巣、皮膚に認められた高レベルの放射能により、血液から組織への移行速度は迅速であることが示された。24 および 48 時間後、肝臓および消化管の放射能はなお保持され、雄生殖器および脳では、 $2\text{-}^{14}\text{C}$ -アセトニトリル代謝物の蓄積および保持の遅延が認められた。脳では、 $2\text{-}^{14}\text{C}$ -アセトニトリル投与後 5 分において、最小量の揮発性代謝物の放射能を含んでいたが、脳のアセトニトリルレベルは投与後 5 分での血中レベルとほぼ同等かわずかに高かった。投与から 24 時間後の脳組織では、 $2\text{-}^{14}\text{C}$ -アセトニトリルは検出できなかった。本試験の結果から、アセトニトリルの神経毒性は親分子であるアセトニトリルに起因し、血液脳関門を通過できない何らかのその代謝物には起因しないと考えられることが示唆される。 $2\text{-}^{14}\text{C}$ -アセトニトリル全体の消失速度定数は、組織間でばらつきがみられた。組織におけるアセトニトリルの薬物動態解析から、様々な組織における親分子であるアセトニトリルの分布動態および排泄動態は、1-コンパートメント（一次速度論）に従うことが示された。一方、組織におけるアセトニトリル代謝物の分布は、アセトニトリルよりはるかに長時間の消失半減期を有する 2-コンパートメントモデルに従う。見かけ上の迅速な消失速度 ( $t_{1/2\alpha}$ ) は、皮膚の 0.08 時間から眼の 1.77 時間の範囲にあった。見かけ上の緩慢な消失速度 ( $t_{1/2\beta}$ ) は、膀胱の 8.60 時間と小腸組織の 536.26 時間との間になった。 $2\text{-}^{14}\text{C}$ -アセトニトリルの血液およびほとんどの組織からの消失半減期は、肝臓の 5.52 時間から血液の 8.45 時間の範囲であった。アセトニトリル代謝の主要部位である肝臓では、 $2\text{-}^{14}\text{C}$ -アセトニトリルの未変化分子の消失半減期が最も短い。組織の放射能は全体では経時的に低下したが、脂質、タンパク質、核酸と共有結合した放射能の相対的割合は上昇した。 $2\text{-}^{14}\text{C}$ -アセトニトリル投与後 48 時間までに、組織に存在する放射能の約 25~45% が高分子と共有結合し、30~50% が脂質と結合した。肝臓と脾臓の両組織では、投与後 24 および 48 時間で放射能の高分子結合が最大となった。著者が、本試験記載のアセトニトリルのオートラジオグラフィーによる全身分布について、Johansson and Tjälve (1979) 記述の提唱された代謝物であるホルムアルデヒドの分布と比較したところ、肝臓における 2 つの化合物由来放射能の取り込みおよび保持は、顕著に異なることが認められた。 $2\text{-}^{14}\text{C}$ -アセトニトリル投与動物の肝臓で検出された放射能は、 $^{14}\text{CH}_2\text{O}$  投与の場合に比べはるかに多かった。したがって、ホルムアルデヒドとは反対に、アセトニトリル投与動物の肝臓において、高レベルの放射能の長期的な取り込みと保持が認められることは、アセトニトリルが肝臓で代謝的酸化反応や他の代謝反応（抱合など）を受けうることを示すと考えられる。

肝臓における放射能の保持から示唆されるのは、a) 肝細胞の高分子と共有結合する求電子的な反応性中間体の形成、b) 肝組織の 1-炭素プールを介した生体分子の *de novo* 合成時におけるアセトニトリル由来の放射能取り込みである。共有結合に関する諸試験から、放射能とほとんどの組織（特に肝臓および消化管）の高分子との不可逆的な相互作用が示された。一方、造血臓器やリンパ系など細胞の急速な代謝回転を伴う組織と、腺外分泌部や唾液腺などタンパク質合成速度が高い組織における  $2\text{-}^{14}\text{C}$ -アセトニトリル由来の放射能の分布は、 $^{14}\text{CH}_2\text{O}$  由来の放射能の分布と類似していた (Johansson and Tjälve, 1979)。したがって、このパターンについては、放射能が  $\text{CH}_2\text{O}$  中間体を介し当該細胞の 1-炭素プール中に取り込まれることに基づいて説明できる。



著者の結論によると、アセトニトリルは、ほとんどが肝臓で生体内活性化を受け反応性代謝物となり、その代謝物が特に肝臓および消化管の組織で組織高分子と不可逆的な相互作用を受けると、この反応性中間体はホルムアルデヒドに変換されうる。したがって、細胞の代謝回転が高い組織では、 $2\text{-}^{14}\text{C}$ -アセトニトリル由来の放射能の体内摂取、分布、取り込みが  $^{14}\text{CH}_2\text{O}$  由来の放射能の場合と類似していた。

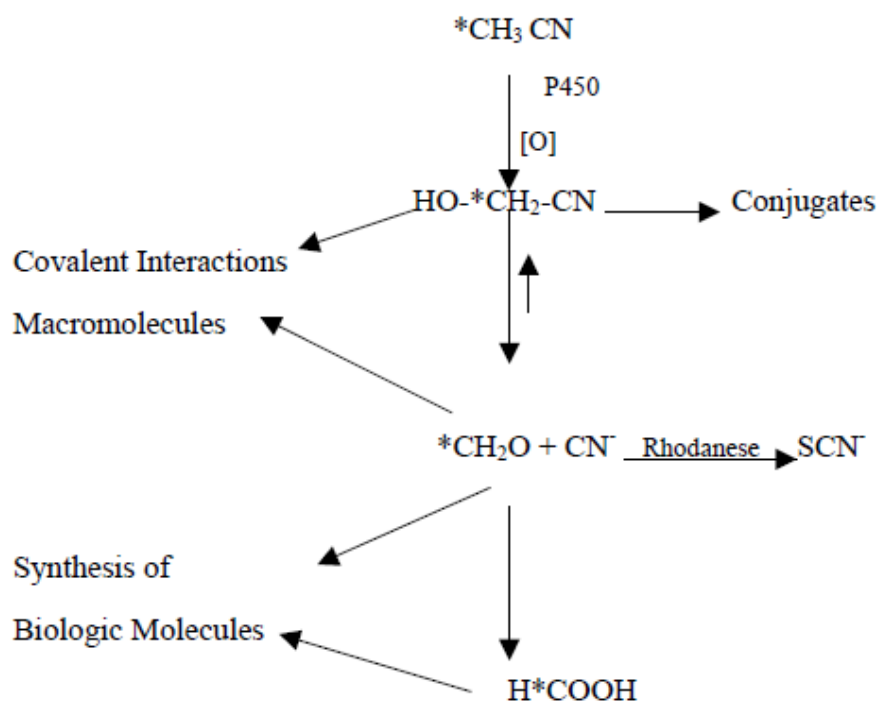


Figure. 1 Proposed metabolic pathway for acetonitrile

### In vitro 試験

アセトニトリル由来のシアン化物およびチオシアン酸塩の産生は、様々な"*in vitro*"試験 (Ohkawa *et al.*, 1972; Willhite, 1983; Tani and Hashimoto, 1984; Freeman and Hayes, 1987) でも立証され、アセトニトリル代謝における P450 酵素の関与が示されている。

Ohkawa *et al.* (1972) は、マウス肝ミクロソーム調製物において放出されるシアン化水素量が、NADPH 添加によりきわめて増加することを発見した。シアン化物の遊離は、ニトリル類が  $\text{CCl}_4$ -前処理マウス肝の切片またはミクロソームとインキュベートされた場合に消失した (Willhite, 1979)。この結果を得た後、Willhite (1981) は *in vivo* 試験を行い、その結果を過去の諸試験と比較した。肝毒性の用量に当たる  $\text{CCl}_4$  での前処理により、アセトニトリルその他のニトリル類の致死濃度吸入による死亡からマウスを保護できる。 $\text{CCl}_4$  により肝機能障害が誘導されたことから、ニトリル暴露の結果として死亡をもたらすには、正常な肝機能を要することが示される。 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  または  $\text{NaNO}_2$  による前処理も、致死濃度のアセトニトリル暴露に伴う死亡から有意に保護する。

アセトニトリルとハムスター肝切片とをインキュベーションしたところ、シアン化物およびチオシアン酸塩の濃度依存的な生成増加と関連していた。ロダネーゼ活性はミトコンドリアと関連しているため、チオシアン酸塩の測定は、ハムスター肝ミクロソームでの実験では試みなかった。アセトニトリルと NADPH 添加ハムスター肝ミクロソームをインキュベーションした場合も、遊離シアン化物の濃度依存的な遊離の増加をもたらした (Willhite, 1983)。

Freeman and Hayes (1987) は、アセトニトリルからシアン化物へのミクロソーム代謝が酸素および NADPH 依存的であると認められ、熱失活した組織ではこの反応を触媒できないことを発見した。NADH は、アセトニトリルの NADPH 依存的な代謝に拮抗した。アセトニトリルからシアン化物への代謝は、タンパク質濃度 0~8 mg/インキュベーションで線形を示した。10 分間の特徴的な遅延時間に続き、代謝反応は 15~30 分間線形となった。この代謝は、一酸化炭素、メチラポン、SKF 525-A により阻害された。In vivo におけるアセトンによる前処理 (24 時間) により、アセトニトリル代謝の見かけ上の最大反応速度 ( $V_{max}$ ) は、見かけ上のミカエリス定数 ( $K_m$ ) に影響を及ぼさず上昇した。In vitro においてアセトンを添加した場合、アセトンは競合的にアセトニトリルの代謝を阻害し、 $K_i$  は 0.41 mM であった。ジメチルスルホキシド ( $K_i = 0.51$  mM) およびエタノール ( $K_i = 0.11$  mM) もアセトニトリル代謝の競合的阻害剤であり、塩酸アニリン ( $K_i = 4.77$   $\mu$ M) は混合型阻害剤と思われた。アセトニトリルからシアン化物への代謝が、アセトン誘導性の特異的なアイソザイムであるシトクロム P450 により仲介され、また、アセトニトリルの急性毒性と代謝に及ぼすアセトンの作用が、シトクロム P450 の阻害および誘導に関連していると思われるという仮説は、これらのデータと一致している。

雄 ddY マウスミクロソームから得られた  $K_m$  および  $V_{max}$  の値は、それぞれ 4.19 mM および 14.3 ng 形成シアン化物/15 分/mg タンパク質であった (Tanii and Hashimoto, 1984)。

コバルトプロトポルフィリン IX クロリドは、肝シトクロム P450 内容物を枯渇させることが立証されており (Drummond and Kappas, 1982)、本物質では、屠殺の 48 時間前のコバルトヘム (90  $\mu$ mol/kg) 皮下投与による前処理ラットから調製された単離肝細胞において、アセトニトリルの代謝が顕著に低下する (Freeman and Hayes, 1987)。

アセトンおよびエタノールは、ウサギ肝シトクロム P450 LM3a (LMeb) を誘導することが知られている。本アイソザイムは、イソニアジド処理ラット肝ミクロソームから分離されたシトクロム P450j と見かけ上類似していることが、Ryan *et al.* (1985) により示されている。アセトニトリルの代謝はアセトンで前処理された動物において増加することから、Freeman & Hayes (1987) は、アセトニトリルがこのシトクロム P450 のアイソザイムであるシトクロム P450j (LM3a, LMeb) により代謝されうることを示唆した。本アイソザイムの基質または阻害剤である薬剤 (アセトン、エタノール、ジメチルスルホキシド、アニリン) は、アセトニトリルの代謝を阻害した。したがって、アセトンおよびアセトニトリルは、シトクロム P450j の基質であるようにみえる。

Dahl and Waruszewski (1989) は、雄 Fischer-344 ラットの鼻組織および肝組織を対象に、アセトニトリルからシアン化物への代謝について検討した。脂肪族ニトリルが篩骨甲介と肝臓のマイクロソームによりシアン化物に代謝されるが、アセトニトリルのシアン化物形成速度の方が他の一部の脂肪族ニトリル類より低いことを著者は発見した。アセトニトリルについては、最初の基質濃度 1 ミリモル濃度当たりの鼻の上顎甲介、篩骨甲介、肝臓のマイクロソームによるシアン化物最大産生速度は、ナノモルシアン化物/mg タンパク質/分単位でそれぞれ 0、0.9、0.098 であることを著者は発見した。ラット鼻の呼吸粘膜および嗅粘膜には、高濃度のロダネーゼが存在する (Dahl, 1989)。著者は、吸入アセトニトリルの解毒は、かなりの程度まで鼻腔で生じうると結論付けている。

#### 4.1.2.1.2 ヒトにおける試験

アセトニトリルは、すべての経路により十分に吸収される。

ヒト吸入暴露後のアセトニトリル吸収に関する定量データは、入手可能である (Dalhamn *et al.*, 1968a, 1968b)。紙巻きタバコの喫煙者である被験者 16 名からなる 1 群において、タバコの煙を 2 秒間口内に留め吸入しない場合、アセトニトリル吸収の平均値が 74% と測定された。被験者を紙巻きタバコの喫煙本数/日により分類したところ、喫煙率とアセトニトリル吸収の程度との間で、わずかながら統計的に有意な ( $p < 0.05$ ) 逆相関が認められた (Dalhamn *et al.*, 1968a)。紙巻きタバコの煙を肺に吸入した場合、アセトニトリルの吸収は 91% に上昇した (Dalhamn *et al.*, 1968b)。

ヒトにおける経口吸収および経皮吸収に関する試験はないが、ヒトの中毒例では、アセトニトリルが両経路を介して十分に吸収されることを示している。Amdur (1959) の報告では、偶発的にアセトニトリル蒸気に暴露した作業員の血中、尿、組織にシアン化物、血清にチオシアン酸塩の存在を認めた。ボランティア 3 名にアセトニトリル蒸気 40、80、160 ppm を 4 時間吸入させたところ、血中シアン化物は認められなかった (Pozzani *et al.*, 1959)。

ヒトにおいて、アセトニトリルの生体内変換および排泄について記載した具体的な試験はない。ただし、偶発的な中毒例では、アセトニトリルはシアン化物およびチオシアン酸塩に生体内変換され、これらはその後尿から排泄されることが示されている (国際化学物質安全性計画 [IPCS], 1993)。

自殺を目的にアセトニトリルを経口摂取した場合、消失半減期はアセトニトリルで 32 時間、シアン化物で 15 時間であることが、死亡前の患者の入院期間中に算出された (Michaelis *et al.*, 1991)。

#### 4.1.2.1.3 トキシコキネティクス、代謝、および分布の要約

アセトニトリルは、肺、消化管、皮膚から十分に吸収されるが、入手可能な定量データはない。

アセトニトリルは広範に分布する。アセトニトリルは、心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、胃、腸、皮膚、筋肉、脳、精巣に認められている。検討されたすべての臓器等では、遊離および抱合したシアン化水素も検出された (Haguenoer *et al.*, 1975)。2-<sup>14</sup>C-アセトニトリルをマウスに単回静脈内投与後、5 分後の肝臓および腎臓の放射能が最大レベルになり、レベルは経時的に低下した。24 および 48 時間で、アセトニトリル由来の放射能が消化管、胸腺、肝臓、雄生殖器で検出された。投与後 24 および 48 時間での共有結合に関する試験では、肝臓に存在する放射能全体の 40~50% が、組織の高分子画分と結合することを示した。それ以外の臓器等の放射能含有物は、大部分 (全体の 40~50%) が当該組織の脂肪画分に存在していた (Ahmed *et al.*, 1992)。

動物の組織では、アセトニトリルの反復投与により、アセトニトリルが蓄積する徴候は認められない。

アセトニトリルは、シトクロム P450 を介しシアン化物に代謝される。まず、シアノヒドリン中間体を形成し、遊離シアン化物と可能性としてのホルムアルデヒドを遊離する際に自然に分解する。複数の試験から、*in vivo* において形成されたシアン化物は、その後チオ硫酸塩との抱合によりチオシアン酸塩を形成し、このチオシアン酸塩は尿中に排泄されることが示されている (Willhite, 1981; Willhite and Smith, 1981; Pozzani, 1959; Haguenoer *et al.*, 1975; Silver *et al.*, 1982; Ohkawa *et al.*, 1972)。

シアン化物は、アセトニトリルの毒性の原因である。アセトニトリルからシアン化物への変換は、他のニトリル類より緩慢な速度で進行する (Ahmed & Farooqui, 1982)。このことから、アセトニトリルの毒性は他のニトリル類に比べ低いことが説明される。さらに、マウスのシアン化物産生速度がより急速であることから、アセトニトリルの毒性作用に対するマウスの感受性ははるかに高いと思われる。

アセトニトリルからシアン化物へのミクロソーム代謝は酸素および NADPH 依存的で、熱による失活および NADH による拮抗が認められた。アセトニトリルの代謝は、アセトンにより前処理した動物において増加することから、Freeman and Hayes (1987) は、アセトニトリルがシトクロム P450j (LM3a, LMeb) により代謝されうることを示唆した。

アセトニトリルの排泄は、主に未変化体のアセトニトリル、遊離シアン化水素、シアン化水素との結合体の尿中排泄を通じ行われる。

未変化体のアセトニトリルの呼気を介した肺クリアランスも、特に高濃度暴露時の重要な排泄経路である (Haguenoer *et al.*, 1975)。

#### 4.1.2.2 急性毒性

#### 4.1.2.2.1 動物における試験

##### In vivo 試験

様々な動物種、様々な経路による複数の試験が実施されている。その概要を **Table 4.11** に要約する。

##### 経口

雌雄 Carworth Farms-Wistar または Nelson アルビノラットを対象に、5年間にわたり様々な試験法を行ったところ、胃挿管による多くの LD<sub>50</sub> 値が 1.7~8.5 mL/kg (密度の値 0.79 g/mL を用いた場合、1,327~6,762 mg/kg) の範囲にあった。無希釈アセトニトリルに対し、本経路による雄の感受性は雌より 2~4 倍高いと思われたが、動物を強制経口投与前に一晩絶食させた場合には重大な差はみられなかった。多くの例において、LD<sub>50</sub> 値投与量以上での死亡は遅延した。ただし、最大投与量では急速な死亡をもたらした。

コーン油、水、または 1%水性 Tergitol 7 で希釈されたアセトニトリルは、雌雄両ラットについて、原液より見かけ上腸からの吸収に優れ、ほとんどの試験法において毒性がいくらか高い (Pozzani *et al.*, 1959)。同じ試験において、Pozzani は、雄モルモットの場合、アセトニトリル無希釈時の胃挿管経路 (空腹時) による LD<sub>50</sub> 値が 140 mg/kg であることを得た。

LD<sub>50</sub> 値の有意差が 14 日齢ラットと成熟ラットとの間に認められたが、若齢成熟ラット (80~160 g 体重) と高齢成熟ラット (300~470 g 体重) との間では認められなかった (Kimura *et al.*, 1971)。若齢成熟ラットと高齢成熟ラットの試験には、雄 Sprague-Dawley ラット 6 例からなる群を用い、新生児ラットと 14 日齢ラットの毒性試験には、雌雄ラット 6~12 例からなる群を用いた。アセトニトリルを、非絶食ラットに無希釈の形式で直針を介し経口投与し、投与後 1 週間動物を観察した。離乳 (14 日齢) ラットを用いて LD<sub>50</sub> 値 158 mg/kg が得られ、若齢成熟ラットと高齢成熟ラットを用いて、それぞれ LD<sub>50</sub> 値 3,081 および 3,476 mg/kg が得られた。

Tanii and Hashimoto (1984) は、マウスを対象にニトリル類の急性毒性機構を検討し、1 投与量当たり 4 例、4 種類の投与量を用いた。雄 ddY 系統マウスを用いた経口経路による LD<sub>50</sub> 値は 269 mg/kg で、観察期間は 7 日であった。

近年、MPI Research 社 (1998) が、アセトニトリルのマウス急性経口毒性試験を、米国環境保護庁 (EPA) /OECD ガイドラインに従って実施した。CrI:CD-1 (ICR) BR マウス雄 5 例および雌 5 例からなる 6 群に、アセトニトリル (高速液体クロマトグラフィー [HPLC] グレード) の単回強制経口投与を行った。投与量は 300、500、650、900、1,200、2,000 mg/kg であった。被験物質は、蒸留水に溶解した重量/体積比の溶液として投与され、絶食時体重に基づいて一定の投与量である

10 mL/kg で投与された。被験物質関連の雌雄併せた死亡率は、アセトニトリル投与量 300、500、650、900、1,200、2,000 mg/kg について、それぞれ 10、30、60、80、90、90%であった。650 mg/kg 群を除き、他の群における雌雄双方の死亡率はほぼ同等であった。いずれの群でも、試験 2 日目より後の死亡は生じなかった。本試験期間中認められた顕著な臨床徴候には、死亡、振戦、虚脱、自発運動の低下、正向反射の消失、努力性呼吸、痙攣、喘ぎ呼吸、流涎増加が挙げられた。生存動物はすべて試験 4 日目までに正常と判断されたが、例外として、試験 8 日目に 300 mg/kg 群の 1 例が流涎増加を示した。生存動物の体重増加は、すべての群の雌雄双方で同程度であった。雌雄双方の生存動物を有する群は、300 および 500 mg/kg 群のみであった。体重増加は、雌雄それぞれ 2~3 グラムであった。剖検では、被験物質関連の所見はいずれの動物にもみられなかった。本試験結果に基づくと、雌雄マウスを併せたアセトニトリルの経口 LD<sub>50</sub> 値は、617 mg/kg (95%信頼限界：450~787 mg/kg) と算出された。

### 吸入

Pozzani *et al.* (1959) は、哺乳類におけるアセトニトリルの毒性について検討した。雄イヌ 1~3 例からなる群に、アセトニトリル 2,000、8,000、16,000、32,000 ppm を 4 時間暴露させた。低濃度の 2 群 (1 例および 2 例に暴露) は、いずれも死亡しなかった。高濃度の 2 群 (1 例および 3 例に暴露) の暴露動物はすべて死亡した。

(Nelson ラット雄 12 例および雌 12 例に、32,000、16,000、8,000、4,000、2,000、1,000 ppm の 6 濃度で) 8 時間暴露させたところ、半数致死濃度 (LC<sub>50</sub> 値) は、雄 7,551 ppm (12,685 mg/m<sup>3</sup>)、雌 12,435 ppm (20,890 mg/m<sup>3</sup>) となった。雌雄間のこの明らかな感受性の差は、4 時間の試験結果では明白でない (LC<sub>50</sub> 値は 16,000 ppm [26,880 mg/m<sup>3</sup>])。死亡に先立ち、虚脱および痙攣発作がしばしば生じた。顕著~中等度の肺出血およびうっ血が、生存動物と死亡動物の双方で明白に認められた。ウサギでは、3 濃度のアセトニトリルに 4 時間暴露させた場合、LC<sub>50</sub> 値 2,828 ppm (4,751 mg/m<sup>3</sup>) が確立され、モルモットでは、(雌雄) 6 例からなる群を 3 濃度のアセトニトリルに 4 時間暴露させた場合、LC<sub>50</sub> 値 5,655 ppm (9,500 mg/m<sup>3</sup>) が確立された。

イヌは、蒸気に最も抵抗性があると思われた。ウサギとモルモットの感受性の方がいくらか高い。蒸気に対するラットの感受性の個体差は、他の 3 種の被験動物より大であった。

雄 CD-1 マウスを、アセトニトリル濃度 500~5,000 ppm の範囲に 60 分間暴露させ (Willhite, 1981)、14 日間追跡した。アセトニトリルの LC<sub>50</sub> 値は 2,693 ppm (4,524 mg/m<sup>3</sup>) であった。5,000 ppm 暴露時には、2 時間以内にすべてのマウスが死亡した。30~300 分後の毒性作用には、激しい呼吸困難、喘ぎ呼吸、振戦、痙攣、角膜混濁が挙げられた。死亡マウスの肉眼的剖検では、特に肝臓の発赤のみ一部の例において示された。

妊娠シリアンゴールデンハムスター 6 例または 12 例からなる群に、アセトニトリル 1,800、3,800、

5,000、8,000 ppm を妊娠 8 日目に 1 時間暴露させた (Willhite, 1983)。14 日目に屠殺した。1,800 ppm 暴露群に毒性の明白な徴候はみられなかった。3,800 および 5,000 ppm 群では 6 例中 1 例が死亡し、8,000 ppm 群では 12 例中 3 例が死亡した。明白な作用には、眼刺激性、呼吸困難、振戦、流涎過多、運動失調、低体温、呼吸困難、昏睡が挙げられた。影響を受けた動物の肝臓、腎臓、肺の組織病理学的検査では、何らの異常も認められなかった。

雌ザル 1 例をアセトニトリル蒸気 2,510 ppm に暴露させたところ、吸入 1 日目 (7 時間) 後には正常と思われたが、吸入 2 日目の間、協調運動低下に続き虚脱および努力性呼吸を示し、数時間後に死亡した。硬膜の毛細血管怒張および胸水が認められた。剖検前に一部自己融解が生じたため、組織の顕微鏡検査は行わなかった (Pozzani *et al.*, 1959)。

MPI Research 社 (1998) が、EPA/OECD ガイドラインに従って急性吸入毒性試験を実施した。Cri:CD-1 (ICR) BR マウス雄 5 例および雌 5 例からなる 4 群において、(それぞれ第 1 群から第 4 群に) アセトニトリル蒸気名目濃度 3,203、5,499、4,653、3,747 ppm を、全身暴露法を介し 4 時間暴露させた。赤外分光計分析から得られたそれぞれの分析濃度の平均値は、第 1 群から第 4 群について、3,039、5,000、4,218、3,568 ppm であった。第 1 群から第 4 群の雌雄併せた死亡率は、それぞれ 20、80、90、50% であった。各暴露群における雄の死亡率はわずかであった。死亡はすべて暴露日に生じたが、例外として、第 1 群の雄 1 例は暴露 1 日目より後 (試験 2 日目) に死亡した。暴露の間および暴露後 4 時間を限度に認められた臨床徴候には、死亡、自発運動の低下、歩行異常、正向反射の消失、呼吸数減少、努力性呼吸、頻呼吸、喘ぎ呼吸、広げた四肢触診による低体温、右傾、体表の黄色化が挙げられた。第 2 群から第 4 群 (5,000、4,218、3,568 ppm) の生存動物は、試験 2 日目までに正常と判断されたため、投与後 14 日間の観察期間中これらの群では毒性の徴候に関する記録はなかった。第 1 群 (3,039 ppm) で 14 日間の観察期間中に認められた臨床徴候には、死亡、自発運動の低下、排便減少が挙げられた。第 1 群の生存動物は、試験 5 日目までに正常と判断された。第 1 群および第 3 群の生存動物、ならびに第 4 群の雄生存動物の体重は、暴露前の観察期間の体重を維持した。第 2 群の雌生存動物 2 例中 1 例は暴露後 1 週目の間に体重増加を示し、もう 1 例は暴露前のレベルを維持したが、暴露後 2 週目の間に双方の体重減少 (1~2 グラム) が認められた。第 4 群の雌生存動物 4 例中 3 例は暴露 1 週目の間に体重増加 (1 g) を示し、暴露後 2 週目終了までに暴露前の体重に回復した。剖検では、被験物質関連の肉眼的所見は、雌雄マウスとも認められなかった。すべての組織が正常限度内とみなされた。本試験結果に基づくと、マウスにおけるアセトニトリル 4 時間の (全身暴露を介した)  $LC_{50}$  値は、3,587 ppm ( $6,026 \text{ mg/m}^3$ )、95% 信頼限界 2,938~4,039 ppm と算出された。

## 経皮

ウサギを対象にしたアセトニトリルの皮膚浸透による  $LD_{50}$  値は、ポリエチレンシート下に原液を適用した場合、987.5 (663.6~1,451.5) mg/kg となる。皮膚浸透によるアセトニトリルの毒性が、75% (v/v) 水溶液として適用された場合上昇することに注目すると興味深い。75% 水溶液の  $LD_{50}$

値は、395 (292.3~529.3) mg/kg である (Pozzani *et al.*, 1959)。

刈毛したウサギ 6 例の皮膚に、無希釈アセトニトリルの閉鎖式の接触を適用した (Smyth and Carpenter, 1948)。接触を 4 日間維持後、10 日間または死亡まで観察した (Smyth and Carpenter, 1944)。LD<sub>50</sub> 値は 3,950 mg/kg となった。なお、密度は 0.79 g/mL を用いている。

MPI Research 社は、1997 年、EPA/OECD ガイドラインに従って新たな急性皮膚毒性試験を実施した。ニュージーランド白ウサギ雄 5 例および雌 5 例からなる 1 群に、アセトニトリルを単回経皮投与した。投与量は 2,000 mg/kg とした。アセトニトリルを、各ウサギの刈毛した背部の無傷皮膚に適用した。暴露期間は約 24 時間とした。被験物質の密度 0.777 g/mL に基づき、投与量は 2.6 mL/kg とした。すべての動物が試験終了まで生存した。試験実施期間中、雄には毒性および健康不良の徴候は認められなかった。14 日間の観察期間中雌 3 例に 1 日 (被験物質関連の変化と考えられる) 排便減少が認められたことを除けば、本試験期間中雌にそれ以外の健康不良および毒性の徴候は認められなかった。群の雌雄ごとの平均体重は各観察間隔で増加した。すべての動物が各観察間隔で体重増加を示したが、例外として、雄 1 例が試験 8 日目に 23 グラム減少し、別の 1 例は試験終了時に 2 グラム減少した。剖検では、適用部位およびそれ以外の組織に目視可能な異常は認められなかった。本試験結果に基づくと、アセトニトリル (HPLC グレード) の LD<sub>50</sub> 値は、雌雄ウサギを併せた場合 2000 mg/kg 超である。

#### それ以外の経路

無希釈アセトニトリルを、雌ラット (Wistar または Nelson アルビノ) に腹腔内経路を介し投与したところ、7.96 および 0.85 mL/kg という 2 つの極端な LD<sub>50</sub> 値が認められた。密度の値 0.79 g/mL を用いると、これらの値はそれぞれ 6,288 および 672 mg/kg に変換される。生理食塩水希釈時の LD<sub>50</sub> 値の範囲は、3,073~4,440 mg/kg であった。無希釈アセトニトリルの LD<sub>50</sub> 値の範囲がこれほど広範になるべき理由については不明である (Pozzani *et al.*, 1959)。

マウス (NMRI-SPF または CD-1 系統) の腹腔内経路を介した LD<sub>50</sub> 値については、水または生理食塩水に溶解したアセトニトリルを用いた複数の著者により、175 mg/kg (Willhite and Smith, 1981)、198 mg/kg (Pozzani *et al.*, 1959)、400 mg/kg (Zeller *et al.*, 1969)、521 mg/kg (Yoshikawa, 1968) という様々な値が得られている。

上記 Willhite and Smith の試験では、雄 CD-1 マウス 9~10 例からなる群に、水に溶解したアセトニトリル 50~862 mg/kg を 5~6 回腹腔内投与した。動物を投与後 7 日間観察したところ、死亡時間の平均値は 423 ± 503 分であった。中毒症候群を 1~5 時間以内に生じ、激しい呼吸困難、喘ぎ呼吸、運動失調、角膜混濁、低体温、痙攣がみられた。

Cuny *et al.* (1932) の報告では、アセトニトリルをラットに皮下注射した場合、LD<sub>50</sub> 値は 3,950 mg/kg



であった (Pozzani *et al.*, 1959 において引用)。

国際統一化学情報データベース (IUCLID) での静脈内投与経路に関しては、参考文献が 1 件のみ存在する (Pozzani *et al.*, 1959)。頭数不明の雄または雌 Wistar またはアルビノラットを対象に、無希釈アセトニトリルを投与したところ、双方の例で LD<sub>50</sub> 値は 1.68 mL/kg (変換のため密度の値 0.79 g/mL を用いると 1,327 mg/kg) となった。

Table 4.11 Summary of acute toxicity data

Route	Species	LD <sub>50</sub> / LC <sub>50</sub>	Reference
p.o.	Rat (Wistar-Nelson)	1,327-6,762 mg/Kg	Pozzani et al. (1959)
p.o.	Guinea pig	140 mg/Kg	Pozzani et al. (1959)
p.o.	Rat (SD) (14-day-old)	158 mg/Kg	Kimmura et al. (1971)
p.o.	Rat (SD) (Young adult)	3,081 mg/Kg	Kimmura et al. (1971)
p.o.	Rat (SD) (Older adult)	3,476 mg/Kg	Kimmura et al. (1971)
p.o.	Mouse ddY	269 mg/Kg	Tanii and Hashimoto (1984)
p.o.	Mouse (CD-1)	617 mg/Kg	MPI Research (1998)
Inhalation	Dog	13,440-26,880 mg/m <sup>3</sup> (4h)	Pozzani (1959)
Inhalation	Rat Nelson	26,880 mg/m <sup>3</sup> (4h)	Pozzani (1959)
Inhalation	Rat Nelson	12,685– 20,890 mg/m <sup>3</sup> (8h)	Pozzani (1959)
Inhalation	Rabbit	4,751 mg/m <sup>3</sup> (4h)	Pozzani (1959)
Inhalation	Guinea pig	9,500 mg/m <sup>3</sup> (4h)	Pozzani (1959)
Inhalation	Mouse CD-1	4,524 mg/m <sup>3</sup> (1h)	Willhite (1981)
Inhalation	Mouse CD-1	6,026 mg/m <sup>3</sup> (4h)	MPI Research (1998)
Dermal	Rabbit	987.5 mg/Kg undiluted	Pozzani et al. (1959)
Dermal	Rabbit	395 aqueous solution	Pozzani et al. (1959)
Dermal	Rabbit	3,950 mg/Kg	Smyth and Carpenter (1948)
Dermal	Rabbit	>2,000 mg/Kg	MPI Research (1997)
i.p.	Rat (Wistar or Nelson)	672-6,288 mg/Kg undiluted	Pozzani et al. (1959)
i.p.	Rat (Wistar or Nelson)	3,073-4,440 mg/Kg saline	Pozzani et al. (1959)
i.p.	Mouse (CD-1)	175 mg/Kg	Willhite and Smith (1981)
i.p.	Mouse	198 mg/Kg	Pozzani et al. (1959)
i.p.	Mouse (NMRI)	400 mg/Kg	Zeller et al. (1969)
i.p.	Mouse	521 mg/Kg	Yoshikawa (1968)
i.v.	Rat-Wistar or Nelson	1,327 mg/Kg	Pozzani et al. (1959)

#### 4.1.2.2.2 ヒトにおける試験

##### In vivo 試験

##### 吸入

ヒトボランティア試験において、Pozzani *et al.* (1959) は、アセトニトリル 40 ppm を 4 時間吸入させた 31~47 歳の男性 3 名の急性吸入毒性について検討した。年長の被験者 2 名の報告では、4 時間の吸入時間中およびその後の主観的な有害反応はなかった。評価可能な血中シアン化物はみられなかった。最年少の被験者の報告では、吸入時間中主観的な有害反応はなかったが、吸入日の晩軽度の胸部圧迫感を経験した。翌朝この被験者は、メントール吸入時に経験するのに似た肺の冷感 (cooling sensation) も報告した。この感覚は、約 24 時間持続した。本被験者には検出可能な血中シアン化物は認められなかったが、尿中チオシアン酸塩濃度はわずかに上昇した。被験者 3 名すべてが最初の 2~3 時間アセトニトリルの臭気を検知したが、その後いくらかの嗅覚疲労を経験した。年長の被験者 2 名は、アセトニトリル蒸気 40 ppm での試験の 1 週間後、80 ppm での 4 時間吸入を行ったが、症状を示さなかった。血中シアン化物は、吸入時間後採取されたいずれの試料でも検出されなかった。その 9 日後、この被験者 2 名に 160 ppm を 4 時間吸入させた。1 名は、吸入後 2 時間で一過性の軽度の顔面紅潮、約 5 時間後に軽度の気管支圧迫感を報告した。両被験者の血中シアン化物および尿中チオシアン酸塩の濃度に、有意な変化はなかった。本試験結果から、低濃度アセトニトリルを暴露した場合、血中シアン化物濃度や尿中チオシアン酸塩濃度の測定値は、初期の諸症状とは相関しえないことが示される。

高濃度アセトニトリル蒸気暴露に起因する重度の中毒については、いくつかの例が次のとおり報告されている。

Grabois (1955) の報告では、化学プラントの作業員 16 名が、貯蔵タンク内壁の塗装中、アセトニトリル蒸気により偶発的に中毒をきたした。この出来事に関する包括的な考察が、Amdur (1959) により行われている。塗料は 30~40% のアセトニトリルを含有し、シンナーは 90~95% のアセトニトリルを含有していた。塗料に粘性があるため、2 日目には、タンクを 25°C に加温し希釈後に塗布した。タンクの換気は停止した。

2 日間の暴露後、作業員 1 名が死亡、2 名が重症、また、残りの 13 名も影響を受けた。症状には脱力、悪心、嘔吐が挙げられた。死亡前の痙攣発作および昏睡が報告された。検死では、脳、甲状腺、肝臓、脾臓、腎臓のうっ血と、すべての組織で「モモの種」の臭気が認められた。血中および尿中のシアン化物濃度は、それぞれ 7,960 および 2,150  $\mu\text{g/L}$  であった。胃液にはシアン化物の痕跡が認められた。脾臓、腎臓、肺のシアン化物濃度は、それぞれ 3,180、2,050、1,280  $\mu\text{g/kg}$  組織であった。肝臓ではシアン化物が検出されなかった。

死亡した作業員は、約 12 時間タンク内で作業をしていた。それ以外の重症の作業員 2 名中 1 名はタンク内で 3 時間近く作業し、もう 1 名は 12 時間の作業中、タンク外の吸排気口周辺で塗装していたが、最後の 1 時間はタンク内の塗装を行った。これほどの重症でなかった別の男性 2 名は、2 日目にタンク内でそれぞれ 2.5 時間以内の塗装を行った。

この出来事以降、塗装材料をそれ以上加温せず、十分な換気を行い、有機シアン化物濃度を 17 ppm 未満に維持した。さらなる出来事は生じなかった。

Dequidt *et al.* (1974) は、19 歳の男性写真現像室作業員が急性アセトニトリル中毒を生じ、心不全により死亡した例について報告した。2 日間アセトニトリルを扱った後、量不明のアセトニトリルおよび熱湯を床に流し清掃した。作業後 4 時間で男性は心窩部痛および悪心を訴え、嘔吐を繰り返した。翌日、昏睡となり痙攣を生じた。血中および尿中から多量のシアン化物、チオシアン酸塩、アセトニトリルが認められた。男性は、中毒から 6 日後に死亡した。

#### 経皮

Caravati and Litovitz (1988) は、アセトニトリルを含有する化粧品に対する小児の偶発的暴露例について報告した。

暴露は、皮膚と吸入の両経路により生じた。これまで健康であった 2 歳男児 (12 kg) が、98~100% のアセトニトリルを含有する除光液約 30 mL を、本人とベッドにこぼした (皮膚接触量の明記なし)。

暴露直後の症状は認められなかった。8 時間後、男児に呻吟、反応性の低下、嘔吐を認めた。嗜眠、顔面蒼白がみられた。全血のシアン化物濃度は、暴露後 12 時間で 6 mg/L、24~48 時間で 60~70  $\mu\text{mol/L}$ 、60 時間後に 15  $\mu\text{mol/L}$  となった。患児は 3 日後良好な健康状態で退院した。

#### 経口

Caravati and Litovitz (1988) は、除光液 (アセトニトリル 1~2 g/kg 体重) 15~30 mL を摂取した生後 16 ヶ月男児 (11.8 kg) について報告した。男児は、摂取後約 20 分で自発的に嘔吐した。摂取後約 12 時間で、死亡しているのが発見された。検死により、中等重度の肺水腫、血中シアン化物濃度 119 mg/kg、脳シアン化物濃度 0.2 mg/kg であることが示された。

Jaeger *et al.* (1977) は、26 歳男性の急性アセトニトリル中毒例について報告している。男性は、自殺企図によりアセトニトリル 40 g を摂取した。3 時間の潜伏期間後、男性は嘔吐、痙攣、昏睡、急性呼吸不全、重度の代謝性アシドーシス、2 回の心停止を経験した。治療後 3 ヶ月を経て回復した。この中毒例から、用量 570 mg/kg が、ヒトの健康に重度の影響をもたらすが死亡に至らなかった用量であると予測される。

22 歳女性が量不明のアセトニトリルおよびアセトン摂取した。女性は約 30 時間後に死亡した。検死により、肺水腫および出血性胃炎が認められた (Boggild *et al.*, 1990)。

Turchen *et al.* (1991) は、99%アセトニトリル含有除光液 59 mL 摂取後、7 時間で嘔吐および錯乱を認めた 39 歳女性の例について報告した。摂取から 12 時間後、女性は重度の代謝性アシドーシス、発作、浅呼吸を生じた。摂取後 8 時間の全血シアン化物濃度は 3,130  $\mu\text{g/L}$  であった。65 時間後の血清シアン化物濃度は 10 mg/L、チオシアン酸塩濃度は 120 mg/L であった一方、77 時間後には、それぞれ 12 mg/L および 30 mg/L となった。女性には、ニトリルナトリウムおよびチオ硫酸ナトリウムによる治療が奏効した。入院 5 日目のシアン化物濃度は 360  $\mu\text{g/L}$ 、チオシアン酸塩濃度は 30 mg/L であった。患者は 6 日目に退院した。

Geller *et al.* (1991) は、急性アセトニトリル中毒を生じた 3 歳児 (17.2 kg) の例について報告した。小児は、アセトニトリル含有付け爪用接着剤リムーバー 15~30 mL を摂取した。アセトニトリル摂取量は 0.8~1.7 g/kg と予測された。胃洗浄が実施された。摂取後 3 時間 45 分の血中シアン化物濃度は 1.24 mg/L、チオシアン酸塩濃度は 11 mg/L であった。摂取後 13 時間で、小児は嘔吐、錯乱、発作を生じた。小児は治療を受け、摂取後 42 時間で退院した。

Kurt *et al.* (1991) は、84%アセトニトリル含有付け爪用接着剤 5~10 mL (0.25~0.5 g/kg) を摂取した 2 歳女児 (15.8 kg) の例について報告した。摂取の翌朝、女児に呻吟、不穏、嘔吐を認めた。中毒による間代性発作も摂取後約 14 時間で発現し、過呼吸と頻脈、顕著な低酸素症とアシドーシスによる昏睡になった。女児は治療を受け、2 日後に退院した。

生後 23 ヶ月児が 98%以上のアセトニトリル含有製品を 60 mL 摂取し、6 時間以内に嘔吐した。男児は摂取後 24 時間で無反応になった。男児は治療を受け、3 日目に退院した (Losek *et al.*, 1991)。

Michaelis *et al.* (1991) は、これまで健康であった 30 歳男性の自殺を目的としたアセトニトリルの経口摂取例について報告した。男性はアセトニトリル (98%) 約 5 mL (64 mg/kg)、30 分後にアンモニウム約 1 mL を摂取し、1 回嘔吐した。摂取から 5.5 時間後、胃洗浄を実施した。ピーク時の血清アセトニトリル濃度は 99.2 mg/L、血中シアン化物濃度は 15.0 mg/L であった。アセトニトリルおよびシアン化物の半減期を算出したところ、それぞれ 32 および 15 時間であることが認められた。

Jones *et al.* (1992) は、アセトニトリル誤飲による男女一組 2 名の致死例について報告した。この男女は死亡した状態で発見され、嘔吐の痕跡が認められた。アセトニトリル濃度は、血中で 0.8 g/L、尿中で 1.0 g/L、胃内容物で 1.3 g/L であった。血中無機シアン化物濃度は、4.5 mg/L (男性)、および 2.4 mg/L (女性) であった。

#### 4.1.2.2.3 *In vitro* 試験

Knox *et al.* (1986) は、BCL-DL 細胞を対象にアセトニトリルの細胞毒性を検討した。色素結合法を用い採取時間を 72 時間後としたところ、結果は 20% 阻害濃度 (IC<sub>20</sub>) が 24 mM 超、IC<sub>50</sub> が 24 mM

超、IC<sub>80</sub>が24 mM超であった。

Clothier and Hulme (1987) は、マウス 3T3-4 細胞を対象に、医学実験用動物代替基金 (FRAME) におけるケナシッドブルー (Kenacid blue) 法を用い、採取時間を72時間後としたところ、IC<sub>50</sub> 562 mMを得た。Dierichx (1989) は、ヒト肝がん Hep G2 細胞を対象に採取時間を24時間後とし、方法として細胞保護の内容を用いたところ、IC<sub>50</sub> 494 mMを得た。マウス神経芽腫細胞およびラットグリオーマ細胞のIC<sub>50</sub>値は、それぞれ17.8および20 mM超であった。

#### 4.1.2.2.4 急性毒性の要約

各種投与経路による単回投与毒性試験では、アセトニトリルに対する感受性は、様々な動物種と同一種の個体とも大幅なばらつきを示した。

哺乳類におけるアセトニトリルの経口LD<sub>50</sub>値は、140~6,762 mg/kg体重の範囲である。マウスおよびモルモットは、感受性が最も高い動物種であるように思われる。これらの試験は、「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準 (GLP)」に関する情報なしに実施された。

1試験から、アセトニトリル用量160~3,500 mg/kgを経口投与した場合、未成熟ラット(14日齢)に対する毒性は、高齢ラットより高いことが示された。別の1試験では、雌雄WistarまたはNelsonアルビノラットを用いた場合、雄は雌より感受性が高く、強制経口投与による経路のLD<sub>50</sub>値は雌6,762 mg/kg、雄1,327 mg/kgであることが報告された。マウスを対象に適切に実施された試験では、アセトニトリルの経口LD<sub>50</sub>値は617 mg/kgと算出された。

動物の主要症状は、虚脱後の発作および痙攣であると思われる。アセトニトリル暴露動物は、投与経路が異なっても常に呼吸器症状(頻呼吸および不規則呼吸、努力性呼吸または呼吸困難、ならびに激しい呼吸困難)を示した。

ヒトの場合、アセトニトリル1~2 g/kg摂取により(乳幼児の場合)時に死亡する。26歳男性の中毒例から、用量570 mg/kgが、ヒトの健康に重度の影響をもたらすが死亡に至らなかった用量であると予測された。

これらのデータから既存の分類であるR25は支持されず、R22に分類することが提唱される。

ウサギを対象に適切に実施された急性皮膚毒性試験では、LD<sub>50</sub>値2000 mg/kg超が得られた。このデータから、既存の分類であるR24は支持されず、アセトニトリルを含有する化粧品に対する小児の偶発的暴露結果として、諸症状および血中シアン化物濃度を報告したヒトにおけるデータに基づき、R21に分類することが提唱される。

雄ラット 8 時間吸入による LC<sub>50</sub> 値は、7,551 ppm (12,685 mg/m<sup>3</sup>) である。ウサギおよびマウスの感受性はラットより高く、ウサギの場合、暴露時間 4 時間の LC<sub>50</sub> 値は 2,828 ppm (4,751 mg/m<sup>3</sup>)、マウスの場合、60 分の LC<sub>50</sub> 値は 2,693 ppm (4,524 mg/m<sup>3</sup>) であった。イヌに 4 時間暴露させても、最大濃度 8,000 ppm (13,440 mg/m<sup>3</sup>) (8,000 ppm を含む) での死亡例はなかったが、濃度 16,000 および 32,000 ppm (26,880 および 53,760 mg/m<sup>3</sup>) では死亡例が生じた。肉眼的所見では、肺出血および血管のうっ血が示された。マウスを対象に適切に実施された吸入試験では、LC<sub>50</sub> 値 3,587 ppm (6,026 mg/m<sup>3</sup>) が得られた。

血中シアン化物および尿中チオシアン酸塩の測定は、低濃度アセトニトリル蒸気の短期吸入を根拠として依拠すべきではない。40、80、160 ppm 蒸気を吸入したヒト被験者には血中シアン化物が認められず、チオシアン酸塩排泄とアセトニトリル濃度との相関はみられなかったからである。アセトニトリル 40、80、160 ppm 蒸気に対するヒトの主観的反応にはばらつきがあることから、大多数の作業員の健康を危険に曝さないと考えられる濃度の溶媒蒸気を選択したとしても、一部の作業員に不快感を生じることが示唆される。

急性アセトニトリル中毒の症状および徴候には、胸痛、胸部圧迫感、悪心、嘔吐、頻脈、血圧低下、短呼吸および浅呼吸、頭痛、発作が挙げられる。全身への影響は、主にアセトニトリルからシアン化物への変換に起因すると思われる。急性中毒の間、血中シアン化物およびチオシアン酸塩の濃度は上昇する。職場でのアセトニトリル蒸気暴露後の死亡が 2 例報告されている。これらの例では、検死において組織に高濃度のシアン化物が認められた。

動物におけるデータから、既存の分類の T (毒性が強い) : R23 とすることは支持されない。ヒトに毒性を生じる濃度は不明であるが、検死において高濃度シアン化物 (7,960 µg/L 血液) が検出されたことからきわめて高いと考えられる一方、アセトニトリル 0.27 mg/L (160 ppm) に 4 時間暴露させたボランティアの血中および尿中に有意な変化は認められなかった。入手可能なすべてのデータを考慮すれば、吸入すると有害 (R20) との分類が適切である。指令 65/548/EEC の附属書 1 に従った分類については、第 1 章を参照されたい。

#### 4.1.2.3 刺激性

##### 4.1.2.3.1 動物における試験

###### 皮膚

IUCLID のデータシートに、皮膚刺激性に関する 2 件の試験が挙げられている。一方の試験では、シロウサギの皮膚に、アセトニトリルに浸したコットンパッド (2.5 cm × 2.5 cm) を 15 分または 20 時間貼り付けている。15 分適用例では、15 分後、適用部位をまず無希釈ポリエチレングリコール 400 で洗浄し、最終的に 50%ポリエチレングリコール 400 水溶液で洗浄したが、20 時間適用

例ではその後の皮膚洗浄を行わなかった。パッド除去後と 1、3、8 日後の反応を観察した。両暴露時間後のいずれの時点でも反応は認められなかった (Zeller *et al.*, 1969)。

Smyth and Carpenter (1948) は、アセトニトリルの皮膚刺激性がアセトンと同程度であることを記述している。判定に用いられた方法は、見かけ上 Smyth and Carpenter (1944) が用いた方法であり、アルビノウサギ 1 例の刈毛した腹部に無希釈アセトニトリル 0.01 mL を適用した。24 時間後に観察した。標準的な 1 試験 (Clayton and Clayton, 1982) では、アセトンは皮膚に軽度の刺激性ありと記述されている。

MPI Research 社は、1997 年、ウサギを対象にアセトニトリルの皮膚刺激性試験を実施した。本試験は、EPA/OECD ガイドラインに従って行われている。雄ニュージーランド白ウサギ 6 例の皮膚に、アセトニトリルを適用した。アセトニトリル用量 0.5 mL を各ウサギの背部の無傷皮膚 1 ヶ所に適用した。被験物質との皮膚接触を 4 時間維持した。パッチ除去後約 0.5～1、24、48、72 時間の試験部位の皮膚刺激性について評価し、ドレイズ法に基づいてスコアを付けた。各観察間隔におけるすべてのスコアが、各動物とも 0 であった。本試験期間中、健康不良および被験物質関連の影響の徴候は認められなかった。

## 眼

ウサギ 5 例における諸試験では、ウサギの眼に無希釈アセトニトリルを 1 滴滴下した。24 時間後の影響をグレード付けしたところ、1～10 のスケールで 5 となった (Smyth and Carpenter, 1948)。Smyth and Carpenter (1944, 1946) は、本試験とデータの解釈について詳細に記述した。その 1946 年の論文では、スコア 5 以上の重度の傷害に当たると述べている。Zeller *et al.* (1969) によるアセトニトリルの試験では、ウサギの眼の結膜嚢に無希釈アセトニトリルを 1 滴滴下した。反応を 10 分後、1 時間後、24 時間後、3 日後、8 日後に記録した。刺激性のスコアは、可能性としての最大値 6 のうち 3 で、浮腫または軽度の壊死による血管の強度の反応が記録された。

妊娠ハムスターをアセトニトリル 1,800、3,800、5,000、8,000 ppm に 60 分間吸入暴露させたところ、8,000 ppm 暴露群 12 例中 4 例の眼および鼻の刺激性、5,000 ppm 暴露群すべての刺激性 (明記なし) を生じた (Willhite, 1983)。雄マウスのアセトニトリル吸入後、角膜混濁が認められた (Willhite, 1981; Willhite and Smith, 1981)。

MPI Research 社は、1997 年、ウサギを対象にしたアセトニトリルの眼刺激性試験を実施した。本試験は、EPA/OECD ガイドラインに従って行われている。雄ニュージーランド白色ウサギ 6 例の結膜嚢に、アセトニトリル (HPLC グレード、0.1 mL) を滴下し、洗浄はしなかった。眼を 1 秒間閉じさせてから解除し、反対側の眼に同様に投与した。投与後 1、24、48、72 時間、4、7、14、21 日に両眼を観察し、ドレイズ法によりスコアを付けた。24～72 時間の期間におけるすべての動物の平均スコアは、角膜混濁 1.45、虹彩の病変 0.83、結膜発赤 3、結膜浮腫 1.89 であった。これ

らの影響は、21 日間で概ね消失した。

#### 4.1.2.3.2 ヒトにおける試験

500 ppm を短期間偶発的に吸入したヒトの例では、いくらかの鼻刺激性および咽喉刺激性が報告された。本用量は、ヒト中毒例から予測されている (Admur,1959)。

#### 4.1.2.3.3 刺激性の要約

適切に実施されたアセトニトリルに関する皮膚および眼刺激性試験 2 件から、アセトニトリルは眼刺激物質であるが、皮膚刺激物質ではないことが示された。

アセトニトリルの呼吸器刺激性に関しては、不十分なデータに基づいており、結論を導けない。

R36 による分類が提唱される。指令 67/548/EEC の附属書 1 に従った分類については、第 1 章を参照されたい。

#### 4.1.2.4 腐食性

4.1.2.3 項の動物およびヒトにおける試験が示すとおり、アセトニトリルは皮膚および眼に対する腐食性がない。

#### 4.1.2.5 感作性

##### 4.1.2.5.1 動物における試験

##### 皮膚

OECD GLP に従って、Hill Top Research Inc. (1997) が、モルモットを対象にアセトニトリル (HPLC グレード) による遅延型接触過敏性試験 (ビューラー法) を実施した。本試験において、雌雄 Hartley モルモットを無希釈アセトニトリル (99.9%超) に経皮経路を介し暴露させた。無希釈アセトニトリルによる感作および惹起を受けた動物 (雄 10 例、雌 10 例) のうち、24 時間後に 3 例が軽度の斑状紅斑を示し、48 時間後 1 例のみ引き続きこの反応を示した。本試験に用いたグレードのスケールでは、この反応が感作を示すとはみなされない。すべての動物全体のスコアは、24 時間後 0.1、48 時間後 0.03 であった。陰性対照動物 (雄 5 例、雌 5 例) は蒸留水に暴露させた。24 時間後に 1 例が軽度の斑状紅斑を示し、48 時間後 2 例がこの反応を示した。24 および 48 時間双方の惹起後における全体のスコアは 0.1 であった。陽性対照物質である  $\alpha$ -ヘキシルシンナムアルデヒド (85%) では、エタノールに溶解した 2.5% 溶液による感作後、続いてアセトンに溶解した 1~5% 希釈液に



よる惹起から感作反応を引き起こした。陽性対照群 10 例全体のスコアは、0.8～1.6 であった。

#### 4.1.2.5.2 感作性の要約

適切に実施されたビューラー法では、陰性の結果が得られた。感作性についての分類を行わないことが提唱される。

#### 4.1.2.6 反復投与毒性

##### 4.1.2.6.1 動物における試験

### 吸入

#### ラットにおける試験

米国国家毒性プログラム (NTP) (1994) は、OECD ガイドライン No 413 に従って、ラットにアセトニトリルを 13 週間暴露させる亜慢性吸入試験を実施した。

F344/N ラット雄 10 例および雌 10 例からなる群に、アセトニトリル 0、100、200、400、800、または 1,600 ppm (0、168、335、670、1,340、または 2,681 mg/m<sup>3</sup>に相当) を 6 時間/日、5 日/週で 13 週間吸入暴露させた。動物は暴露 1 日目に約 6 週齢であった。

濃度 1,600 ppm 暴露群の雄 6 例および雌 3 例、ならびに 800 ppm 暴露群の雄 1 例が本試験期間中に死亡し、これらの死亡例のうち、1 例を除くすべてが本試験の最初の 2 週間に死亡した。最大暴露濃度 800 ppm (800 ppm を含む) では、最終的な平均体重および体重増加が概して対照と同程度であった。濃度 1,600 ppm では、体重増加が対照を下回り、最終的な平均体重は雄で対照値の 81%、雌で対照値の 91%であった。本試験の 1 週目の間に、自発運動の低下および被毛粗剛が、800 ppm 群の雄、1,600 ppm 群の雌雄に認められた。1 週目の間に死亡した 1,600 ppm 群の雄のさらなる臨床所見には、運動失調、異常姿勢、間代性痙攣が挙げられた。それ以外の投与関連の臨床所見は認められなかった。800 および 1,600 ppm 群雌雄の絶対および相対胸腺重量は、対照群より低かった。1,600 ppm 暴露群の雌の心臓、腎臓、肝臓の絶対および相対重量は対照群より有意に高かった。それ以外の臓器重量の差は、生物学的に有意とはみなされなかった。

1,600 ppm 群の雌雄および 800 ppm 群の雌において、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値の減少を根拠とする貧血が生じた。両群の網状赤血球数、平均赤血球容積、平均赤血球ヘモグロビン濃度は対照値と同程度であったことから、貧血は、非反応性、正球性、正色素性と特徴付けられた。1,600 ppm 群の雌では、トリヨードチロニン (T<sub>3</sub>) 濃度の低下が生じたが、チロキシン (T<sub>4</sub>) および甲状腺刺激ホルモン (TSH) の濃度に変化はなかった。

それ以外のパラメータにみられた軽度の散発的な変化は、投与とは無関係とみなされた。

肉眼的および組織病理学的変化は、本試験期間中に死亡した 800 ppm 群の雄および 1,600 ppm 群の雌雄に限定され、変化にはうっ血、水腫、肺胞出血からなる肺病変が挙げられた。

早期に瀕死状態となった動物では、主に脳出血、骨髄細胞枯渇、胸腺萎縮、脾臓のリンパ球枯渇（雌）、卵巣の黄体枯渇など広範な病変が典型的に認められた。

本試験において、無毒性量（NOAEL）の値 400 ppm、最小毒性量（LOAEL）の値 800 ppm が確立された。

NTP が行った F344/N ラットを対象に適切に実施された 2 年間吸入試験において、15 ヶ月間または 2 年間アセトニトリル 0、100、200、400 ppm に暴露させたところ、体重増加および最終的な平均体重への影響は認められなかった。暴露させた雌雄ラットの行動、全体的健康感、外観は、本試験全体を通じ対照と類似していた。絶対および相対臓器重量に有意な投与関連の影響はみられなかった。15 ヶ月間の中間評価では、400 ppm 群の雌のヘマトクリット値、ヘモグロビン濃度、赤血球数、平均赤血球容積、平均赤血球ヘモグロビンが対照群よりわずかに低かった。400 ppm 群の雄の平均赤血球容積および平均赤血球ヘモグロビンも、対照群よりわずかに低かったが、赤血球数は対照群よりわずかに多かった。NOAEL 200 ppm を確立できる。

IUCLID に要約が記載された未発表の 92 日間試験（Coate, 1983）、および EPA 報告書（アセトニトリルに関する健康影響評価 [Health Effects Assessment for Acetonitrile] , 1987）では、Fischer-344 ラットに、アセトニトリル濃度 0、25、50、100、200、400 ppm を 6 時間/日、5 日/週吸入投与した。すべて雌雄各 10 例からなる群とした。本試験期間中 400 ppm 群で雄 1 例が死亡した。評価されたパラメータには、対照群および 400 ppm 暴露群の体重、臓器重量、臨床化学検査値、血液学的検査値、精子の数・運動性・形態、腔細胞診、血清 T<sub>3</sub> または TSH またはその両方の濃度、尿中シアン化物濃度、主要臓器の組織学的検査結果、100 および 200 ppm 暴露群の肝臓、ならびにすべての暴露群の鼻甲介が挙げられた。ラットに統計的有意差が認められた影響は、アセトニトリル 100 ppm 以上暴露群の雄およびアセトニトリル 400 ppm 暴露群の雌における平均白血球数のわずかな減少のみであった。本試験期間中、体重は、100 ppm 以上暴露群の雌および 400 ppm 暴露群の雄においてわずかに増加したが、被験群と対照群との最終的な体重に統計的有意差はみられなかった。白血球数減少の生物学的意義は不明である。白血球数減少はマウスにも認められたが、特異的な T リンパ球および B リンパ球の機能不全は示さないとされた。アセトニトリル 400 ppm 暴露群の雄では心重量/体重比がわずかに上昇したが、心臓の組織病理学的な変化は認められなかった。肝細胞の空胞形成が対照群を含め評価されたすべての群に認められたが、空胞形成の重度はアセトニトリル 400 ppm 暴露群の雌の方がわずかに高かった。それ以外の組織病理学的変化は報告されなかった。本試験に基づき、EPA では NOAEL が 200 ppm であると報告した。

Wang *et al.* (1964) は、Wistar ラットをアセトニトリル 80 または 400 mg/m<sup>3</sup> に 10 週間 (4 時間/日、6 日/週) 暴露させたところ、甲状腺ヨウ素濃度に変化がないことを報告した (IPCS において引用)。

Pozzani *et al.* (1959a) が発表した試験では、Wistar ラットをアセトニトリル蒸気 0、166、330、655 ppm に 7 時間/日、5 日/週で 90 日間暴露させた。すべて雌雄各 15 例からなる群とした一方、対照群を 2 組設けた (全体で 60 例)。体重増加および臓器重量に、対照群との有意差はみられなかった。さらに、発生した少数の死亡は外来の感染症に起因し、また、その発生率は濃度と無関係であった。

アセトニトリル 90 日間吸入試験の生存ラットの組織を顕微鏡検査した。蒸気 166 ppm 吸入群の 28 例中、1 例の肺胞に複数の組織球凝集、もう 1 例に無気肺を認めた。組織の異常は、蒸気 330 ppm 吸入群の 26 例中 3 例にのみ認められた。3 例には、気管支炎、肺炎、無気肺、肺胞における複数の組織球凝集など、肺の変化が認められた。これら 2 群の吸入濃度に対する対照として供された 29 例中 1 例に、小型の肺肉芽腫 1 つを認めた。アセトニトリル蒸気 655 ppm 吸入後の 27 例中、10 例が肺胞毛細血管のうっ血および/または限局性肺水腫を示し、しばしば気管支の炎症、剥離、分泌亢進を伴っていた。8 例に腎尿細管の混濁腫脹、7 例に肝臓の腫脹が認められた。

統計解析では、肺、腎臓、肝臓におけるこうした影響が、対照群より有意な高度で生じ、P 値はそれぞれ 0.001、0.005、0.04 であることが示された。検討された副腎、膵臓、脾臓、精巣、気管に病変は認められなかった。検討された脳 5 例中 1 例に限局性脳出血が認められた。655 ppm 未満の群における影響の有意差は不明である。

アセトニトリル蒸気 330 および 166 ppm 吸入群では、いくらかのチオシアン酸塩が排泄されたが、排泄されたチオシアン酸塩の量は、アセトニトリル吸入濃度に比例しなかった。尿中チオシアン酸塩は、吸入期間中 17 時間の休薬期間に見かけ上完全には排泄されなかったが、週末 2.5 日間の休薬期間に実質的にすべて排泄された。アセトニトリル 655 ppm 吸入群の雌 5 例のヘマトクリット値およびヘモグロビン値は、対照群と有意差を示さなかった。

よって、NOAEL 166 ppm 未満、LOAEL 166 ppm が確立された。

Roloff *et al.* (1985, 抄録) は、雌雄ラット (系統の明記なし) からなる群を、アセトニトリル蒸気 0、618、1,847、6,239 ppm (0、1,038、3,104、10,485 mg/m<sup>3</sup>) に 1 ヶ月間 (6 時間/日、5 日/週) 暴露させた。本要約引用による記載では、1 例当たり 40 を超える組織が検討された (Johannsen and Levinskas, 1986)。本試験の詳細は、未だ発表されていないようである。死亡および体重増加の抑制が 6,239 ppm 暴露群に認められた。1,847 および 6,239 ppm 暴露群に、呼吸器刺激性および/または眼刺激性が認められた。アセトニトリル暴露動物に軽微な貧血が認められたが、その濃度は不明である。NOAEL 618 ppm が確立された。

## マウスにおける試験

米国国家毒性プログラム（1994）は、マウスにアセトニトリルを 13 週間暴露させる亜慢性吸入試験を実施した。雌雄各 10 例の（B6C3F1）マウスを、アセトニトリル蒸気 0、100、200、400、800、1,600 ppm に 6 時間/日、5 日/週暴露させた。すべて雌雄各 10 例からなる群とした。

1,600 ppm 群すべての雌雄マウスが本試験の 3 週目までに死亡した。さらに、6 例（400 ppm 投与群の雌 1 例、800 ppm 投与群の雄 1 例および雌 4 例）も本試験終了前に死亡した。生存した暴露群の雌すべての最終的な平均体重および体重増加は、対照群と同程度であった。暴露群の雄すべての最終的な平均体重は対照群よりわずかに低かったが、統計的有意差を示したのは 800 ppm 群のみであった。本試験 1 週目の間に、800 および 1,600 ppm 群に自発運動の低下、円背位、硬直姿勢が認められた。

本試験では、化学物質に関する生化学的検査も血液学的検査も実施されなかった。

絶対肝臓重量は、濃度 200 ppm 以上暴露群の雄、および 800 ppm 群の雌において対照群より有意に高く、相対肝臓重量は、すべての暴露群の雄および 400 ppm 以上暴露群の雌において有意に高かった。

前胃、肝臓、副腎に顕微鏡的病変が認められた。肉眼的には限局性または多病巣性の蒼白色、暗褐色、または黒色の病変が、雌雄暴露群の前側前胃粘膜に一貫して認められ、雌では濃度 200 ppm 群 7 例、400 ppm 群 8 例、800 ppm 群 8 例、1,600 ppm 群 5 例、雄の発生例は 400 ppm 群 5 例、800 ppm 群 6 例、1,600 ppm 群 1 例であった。

顕微鏡的には、これらの病変は限局性または多病巣性の扁平上皮過形成に相当した。これらの病変の平均重症度は暴露群間で同程度であったが、例外として、200 ppm 暴露群の雌の病変はそれほど顕著ではなかった。

上皮過形成領域に関連した限局性潰瘍が、200 ppm 暴露群の雌 1 例、1,600 ppm 暴露群の雄 1 例および雌 5 例に生じた。肝細胞の細胞質空胞形成発生率が、400 ppm および 800 ppm 暴露群の雌雄において高かった。空胞形成は、既存の細胞質の透明帯（clear space）に対しわずかに膨張していると思われた。この空胞形成は、グリコーゲン貯蔵の増加を示すとみなされる。1,600 ppm 群死亡例の肝細胞にこうした変化はないことから、肝細胞における貯蔵グリコーゲンの使用増加が示されうる。

脂肪変性が、対照群の雌および 200 ppm 暴露群の雌、また、より程度は低いものの 400 ppm 暴露群の雌の副腎皮質 X 帯に認められた。この変化（副腎皮質 X 帯に関する年齢関連の正常な退縮ま

たは退化を示す) は、800 または 1,600 ppm 暴露群の雌にはなかった。800 または 1,600 ppm 暴露群の雌にそうした変化がなかったことは、この正常な過程に対するストレスまたは暴露関連の加速が生じた徴候と考えられる。

本試験期間中の死亡マウスにのみ生じたさらなる変化には、胸腺、脾臓、骨髄におけるリンパ球枯渇およびリンパ球溶解が挙げられ、肺うっ血は、瀕死動物に通常認められる非特異的な変化とみなされた。

本試験における NOAEL は雌 100 ppm、雄 200 ppm であることが確立された。

NTP により実施された 2 年間試験では、B6C3F1 マウスをアセトニトリル 50、100、200 ppm に 6 時間/日、5 日/週暴露させた。暴露群の雌、および 50 または 100 ppm 暴露群の雄の生存率は対照群と同程度であった。200 ppm 群の雄の生存率は、対照群より有意に高かった。最大 2 年間のアセトニトリル吸入暴露では、雌雄マウスの体重増加および最終的な平均体重に対する影響はなかった。臨床所見は投与関連とはみなされなかった。臓器の絶対および相対重量について、有意な投与関連の影響は認められなかった。本試験では、化学物質に関する生化学的検査も血液学的検査も実施されなかった。一方、13 週間試験で出現した前胃に関する影響については、このことがアセトニトリルに起因すると自信をもって判断するには不十分であると示された。

IUCLID に要約が記載された未発表の試験 (Coat, 1983)、および EPA 報告書 (アセトニトリルに関する健康影響評価 [Health Effects Assessment for Acetonitrile], 1987) では、B6C3F1 マウス雄 10 例および雌 10 例からなる群に、アセトニトリル蒸気 0、25、50、100、200、または 400 ppm を 6 時間/日で 92 日間暴露させた (Coate, 1983)。50、200、400 ppm 群のそれぞれ雄 1 例が死亡した。50、100、200、400 ppm 暴露群すべての雄と、200 および 400 ppm 群の雌に体重増加の亢進がみられた一方、25、50、100 ppm 群の雌では、対照群に比べ体重増加の抑制が認められた。

マウスにおける統計的に有意な影響には、アセトニトリル 200 または 400 ppm 暴露群の雌における血中尿素窒素値、赤血球コリンエステラーゼ値、ヘマトクリット値の低下が挙げられた。肝臓の空胞形成および肝肥大が対照群を含む評価された投与量すべてで認められたが、肝病変の重度は、アセトニトリル 200 または 400 ppm 暴露群の雌雄の方が高いと思われた。肝重量/体重比は、400 ppm 群の雄および 100、200、400 ppm 群の雌において上昇した。肝重量/脳重量比は、400 ppm 群の雄および 100、400 ppm 群の雌において上昇した。白血球数および血清 IgG 値の用量依存的な低下が生じたが、T リンパ球および B リンパ球特異的な機能不全は示さないとされた。これらの結果の生物学的意義は不明である。

200 ppm が雌における血中尿素窒素値、赤血球数、ヘマトクリット値の低下、また、肝臓の空胞形成および肝肥大の重度増大と関連していることを考慮し、本試験から EPA により NOAEL の値 100 ppm が得られた。マウスでは、100 ppm における有害作用は認められなかった。

EPA(1987)およびIUCLIDにおいて引用されている未発表の試験では、Immuquest Labs-Inc.(1984)が、雌 B6C3F1 マウス群（数の明記なし）をアセトニトリル 0、100、200、または 400 ppm に 6 時間/日、5 日/週で 90 日間暴露させた。剖検時の身体的外見、体重、および肉眼的所見では、影響を認めなかった。200 および 400 ppm 群のマウスに胸腺萎縮が、組織病理学的検査において認められた。400 ppm 群では、水腫性変性を伴う肝細胞の軽度の空胞形成も認められた。選択された臨床化学検査では投与関連の影響は認められなかったが、200 および 400 ppm 群では、ヘマトクリット値、血中ヘモグロビン濃度、赤血球数、白血球数の用量依存的な低下が得られた。100 ppm 群における血液学的パラメータの変化は、有意でなかった。

臓器重量に関する有意な影響は認められなかったが、研究結果から、200 および 400 ppm 群における胸腺重量の減少傾向が認められた。

14 日後、Immuquest Labs 社は、同じプロトコールにより暴露させたマウスの免疫機能について評価した。血清 IgG 濃度の有意に用量依存的な低下がすべての暴露マウスに認められたが、ヒツジ赤血球に対するカニンガム法によるプラーク形成反応、リンパ球芽球化試験、遅延型過敏性反応、あるいは PyB6 腫瘍細胞による惹起に対する感受性については影響が認められなかった。200 ppm が赤血球コリンエステラーゼ値、ヘマトクリット値、ヘモグロビン濃度、白血球数の低下と関連していることを考慮し、NOAEL 100 ppm が確立された。

#### ウサギ、イヌ、サルにおける試験

ウサギに  $400 \text{ mg/m}^3$  を 16 週間（4 時間/日、6 日/週）暴露させたところ、甲状腺濾胞上皮細胞の逆行性変化が認められた（Wang *et al.*, 1964, IPCS において引用）。

雄イヌ 3 例にアセトニトリル 350 ppm を 91 日間（7 時間/日、5 日/週）吸入させた（Pozzani *et al.*, 1959）。統計的に有意な平均体重の減少が、吸入 3 日目および 5 日目に認められた。これらのイヌ 3 例のヘマトクリット値およびヘモグロビン値は、1 例を除き吸入 5 週目に低下した。91 日間の吸入期間終了に向かい、吸入前の値に回復した。これらの値が低下しても、赤血球数の有意な偏りは伴わなかった。これらのイヌに顕著な肉眼的病変は認められなかった。組織に関する組織学的検査から、一部に限局性肺気腫および肺胞中隔増生が認められた。LOAEL 350 ppm が得られた。

アカゲザルによる試験が 2 件実施されている。アカゲザル 4 例による 99 日間吸入試験（7 時間/日、5 日/週）を実施し、雌 1 例を 2,510 ppm、雌 2 例を 660 ppm、雄 1 例を 330 ppm に暴露させた（Pozzani *et al.*, 1959）。それぞれの吸入期間中、4 例はいずれも評価可能な体重減少を経験しなかった。最大濃度 2,510 ppm に暴露させたサルは、吸入 1 日目後には正常と思われたが、吸入 2 日目の間、協調運動低下に続き虚脱および努力性呼吸を示し、数時間後に死亡した。

600 ppm に暴露させた 2 例も、2 週目から協調運動障害が認められた。1 例は 23 日目、もう 1 例は 51 日目に死亡した。330 ppm を吸入したサルは、99 日間の吸入期間終了に向かい過剰な伸展反射および相当な興奮性を示し、その後屠殺した。肉眼的検査では、これら 3 例は、上矢状静脈洞のすぐ近傍の頭頂部や後頭部組織の硬膜または硬膜下の限局性出血を示した。濃度 2,510 ppm で死亡した雌では、硬膜の毛細血管怒張および胸水が認められた。2,510 ppm を吸入したサルの組織では剖検前に一部自己融解が生じたため、顕微鏡検査は行わなかった。660 ppm を吸入したサルの組織検査から、限局性領域の肺気腫、時に肺胞中隔増生に伴う無気肺が認められた。腎近位および曲尿細管の限局性混濁腫脹が認められた。顕微鏡検査で組織に認められた病変は、死因の説明とはならなかった。蒸気 330 ppm を吸入したサルは、肺胞中隔のびまん性増生、単球浸潤、胸膜癒着を根拠とする慢性肺炎を有していた。顕微鏡検査で組織に認められた病変は、別の 2 例の死因の説明とはならなかった。

別の吸入試験 (Pozzani *et al.*, 1959) では、雄アカゲザル 3 例をアセトニトリル 350 ppm に 91 日間 (7 時間/日、5 日/週) 暴露させた。本試験終了時、動物を屠殺した。剖検では、3 例の脳に上下矢状静脈洞の軽度～中等度の出血が認められた。2 例の肺に小型の離散性の乾酪性結節、およびこの 2 例のうち 1 例に肝臓蒼白が認められた。組織の顕微鏡検査では、限局性肺水腫、肺胞中隔のびまん性増生が示された。1 例に急性気管支炎が認められ、3 例すべての肺組織は、常に色素含有マクロファージの限局性蓄積物を包含していた。

3 例中 2 例に腎曲尿細管 (主に近位) の混濁腫脹が認められた。

NOAEL 330 ppm 未満、LOAEL 330 ppm が得られた。

#### 経口および経皮経路

アセトニトリルの反復投与毒性に関するデータは、入手可能な文献では発見できなかった。

#### その他の経路

Marine *et al.* (1932a) は、成熟前のウサギに最大 63 日間アセトニトリル皮下投与後、甲状腺腫および眼球突出の発生について検討した。オランダ種およびベルギー種の雌雄ウサギ (3～5 ヶ月齢、体重 1,184～1,911 g) に、アセトニトリル 79～118 mg/cc を 1 日 1 回注射投与した。アセトニトリル 79 mg を 1 日 1 回注射投与した 3 ヶ月齢の複数のウサギにおいて、20 日目頃の早期に眼球突出が生じた。著者によれば、この作用はオランダ種の若齢ウサギにのみ認められ、成熟ウサギ (6 ヶ月齢以上) ではいずれの系統とも全く生じなかった。著者は、眼球突出と甲状腺過形成との密接な関係を認めた。甲状腺過形成をほとんどまたは全く示さなかったウサギには、眼球突出はなかった。過形成がより重度であれば、眼球突出は過形成の程度に比例すると考えられ、そう述べられた。眼球突出は、通常、甲状腺機能亢進症の症状であるが、その発生が直接的な作用か甲状

腺を介した作用かについての著者の推測はなかった。

Marine *et al.* (1932b) は、ラットに少量のアセトニトリル投与時の甲状腺過形成の発生について検討した。雌アルビノラット 12 例 (3 ヶ月齢の同腹児 6 例および 5 ヶ月齢の同腹児 6 例) を 3 群に分け、各同腹児を 2 例とした。動物は、甲状腺腫非誘発性食を給餌され、水に溶解したアセトニトリル用量 0.08 cc (62.4 mg)、0.04 cc (31.2 mg)、0.02 cc (15.6 mg) を 1 日 1 回皮下投与された。21 日目終了時、各群 1 例を屠殺した。剖検では、すべての動物が軽度の甲状腺充血のみ示した。投与の 28 日後、ラットは明確な甲状腺肥大を示した。次の 8 日間、残った 9 例の 1 日量について、当初の最小用量群は 1 日のアセトニトリルが 0.05 cc (39 mg) になるまで、また、当初の最大用量群は 0.15 cc (117 mg) と同量になるまで漸増したが、シアン化物中毒の徴候はなかった。投与の 36 日後、甲状腺はより肥大し充血の増大を伴った。概して、こうした変化は用量と比例していた。

Marine *et al.* (1932b) は、マウスを対象に同様の試験を実施した。マウス 12 例 (3.5 週齢、平均体重 13 g、ラットと同じ食餌) を 3 群に分け、アセトニトリル用量 0.005 cc (3.9 mg)、0.0025 cc (1.95 mg)、0.00125 cc (0.975 mg) を 1 日 1 回皮下注射投与した。11~34 日後、甲状腺の軽度の反応のみ生じた。これらの結果から、アセトニトリル暴露ラットおよびマウスについて得られた甲状腺の反応は、これよりはるかに少量を投与したウサギにおいて報告された反応よりきわめて軽微であったため、ラットおよびマウスは甲状腺腫誘発性の物質に対し相当な抵抗性を有すると、著者は結論付けた。

#### 4.1.2.6.2 ヒトにおける試験

ヒトにおけるデータは得られていない。

#### 4.1.2.6.3 反復暴露試験の要約

ヒトにおけるアセトニトリルの反復暴露の影響については、入手可能な情報はない。

アセトニトリルの毒性に対するマウスの感受性は、ラットよりいくらか高いと思われた。マウス 13 週間試験では 1,600 ppm 群のすべてが死亡し、また、死亡は 400 ppm 群の雌に及んだ。

NTP により実施されたラット 13 週間試験では、高用量群の血液学的影響を認めたことを考慮し、NOAEL 400 ppm が得られる。後に NTP が実施した 2 年間吸入試験では、濃度 400 ppm において軽度の貧血が認められたことから、NOAEL 200 ppm が確立された。報告不十分な試験の予備データ (Coate, 1983 [EPA, 1987 および IUCLID において要約]) では、200 ppm で認められる有害作用は示されなかった。

NTP により実施されたマウス 13 週間試験では、前胃病変のため NOAEL 100 ppm が得られた。一



方、後に NTP が実施した 2 年間試験の結論では、これらの結果から、長期的なアセトニトリル暴露がマウス前胃に及ぼす影響について確立されたが、腫瘍に関する結果の重要性については、このことがアセトニトリルに起因すると自信をもって判断するには不十分とされた。さらに、肝重量/体重比の上昇や肝絶対重量の増加など、この 13 週間試験で認められた他の影響は、生涯試験の 15 ヶ月目と 24 ヶ月目のいずれで評価しても認められなかった。この 13 週間試験では、それ以外の結果は得られなかった。ただし、この 13 週間試験および 2 年間試験は、化学物質に関する生化学的検査および血液学的検査を欠いていた。互いに無関係の報告不十分な 2 試験の予備データ (Coate, 1983; Immuquest Labs-Inc., 1984[いずれも EPA, 1987 および IUCLID において要約]) では、B6C3F1 マウスの血液学的データに基づいて、NOAEL は 100 ppm であることが示された。

平均アセトニトリル蒸気濃度 350 ppm で 7 時間/日、3 日/週で 91 日間暴露させたイヌおよびサルは、体重、ヘマトクリット値、ヘモグロビン濃度にわずかなばらつきを示した。サルとイヌの双方に肺の異常を認めた。

サルの剖検から、脳出血および腎尿細管の混濁腫脹が、暴露させたサル 3 例中 2 例に認められた。同一量の吸入アセトニトリル (350 ppm) に対しては、サルの感受性の方がイヌより高かった。

ウサギを対象にしたアセトニトリル 0.05~0.1 mL の筋肉内注射により、眼球突出および甲状腺過形成を生じることが認められている。眼球突出の程度と甲状腺過形成とは、関連していると考えられる。ラットおよびマウスでも、アセトニトリルにより甲状腺過形成は誘発可能であったが、眼球突出は生じなかった。ラットおよびマウスは、甲状腺腫誘発性の物質に対し相当な抵抗性を有すると示された。

#### 4.1.2.7 変異原性

##### 4.1.2.7.1 動物における試験

###### In vitro 試験

アセトニトリルの変異原性および遺伝毒性を検討する、複数の *in vitro* 試験法が入手可能である。

###### 細菌による試験

Florin *et al.* (1980) が実施した、タバコの煙の成分に関する Ames 試験による変異原性スクリーニングでは、アセトニトリルについて TA98、TA100、TA1535、TA1537 株を用い、アロクロール誘導ラット由来 S-9 ありとなしの場合とで、3  $\mu\text{mol}/\text{plate}$  において定性試験を行ったところ、結果は陰性であった。

Schlegelmilch *et al.* (1988) は、Ames 試験（ネズミチフス菌/マイクロソーム試験）によりアセトニトリルを検討し、TA98 株および TA100 株により実施した。アセトニトリルについて、フェノバルビトン前処理自己誘導ラット由来の S9 調製液を用いた代謝活性化ありとなしの場合とで検討した。アセトニトリルの 5%経口 LD<sub>50</sub> 値相当量の慢性（7 日間）投与により、自己誘導を実施した。3 プレートにおいて、両菌株の使用濃度は 0.27、1.35、2.71、13.6、27.1、136、271、1350 mM とした。Ames 試験（ネズミチフス菌試験）では、代謝活性化の有無に関わりなく、アセトニトリルの変異原性は認められなかった。濃度 1350 mM では、S9-mix 存在下（フェノバルビトン処理）において TA98 株に毒性をもたらす。

Mortelmans *et al.* (1986) は、ネズミチフス菌によるプレインキュベーション法においてアセトニトリルを検討し、TA1535、TA1537、TA97、TA98、TA100 株を用い、最大 10 mg/plate の用量範囲内とし、代謝活性化系（アロクロール 1254 により前処理した Sprague-Dawley ラットまたはシリアンハムスターの肝臓から調製）ありとなしの場合とで行った。本試験は、37°C でプレインキュベーション時間を 20 分とした。すべての試験は、同一か異なる S9 濃度（10%および 30%）のいずれかを用いて反復した。1 試験当たり 3 プレートからなり、同時陽性対照、同時陰性対照、5 種類の用量のアセトニトリル（100、333、1,000、3,333、10,000 µg/plate）で実施した。毒性がない場合、10,000 µg/plate を高用量として選択した。すべての試験について反復した。試験は 2 カ所の実験施設で実施した。本試験条件下においてアセトニトリルは、いずれの試験株でも代謝活性化の有無に関わらず、陽性反応を生じなかった。

#### 酵母による試験

アセトニトリルの遺伝毒性について、出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) (D7 株) を代謝活性化（フェノバルビトン前処理自己誘導ラット由来の S9 調製液）ありとなしの場合による試験法で検討した。10 種類の濃度（360、405、450、495、540、585、630、675、720、768 mM）を用い、3 プレートにおいて実施した。アセトニトリル各種用量添加後の D7 株では、自然発生率を超えるイソロイシン栄養要求性から原栄養性への復帰は検出できなかった。代謝活性化系の存在による変異率への影響はなかった。インキュベーション混合物にフェノバルビトン誘導 S9 を添加した場合、弱い遺伝子組み換え作用が認められ、選択されたプレートにおける Trp<sup>+</sup>形質転換体数が自然発生数の最大 2 倍に増加したが、これに対応する用量はきわめて高かった（675 および 720 mM）。インキュベーション混合物に自己誘導 S9 を添加した場合も、代謝活性化系を添加しなかった場合も、形質転換作用を立証できなかった (Schlegelmilch *et al.*, 1988)。

アセトニトリルにより、出芽酵母 D61 M 株では、冷却干渉 (cold interruption) 相の有無に関わりなく代謝活性化なしの場合、染色体消失を生じた (Whittaker *et al.*, 1989)。本試験は、2 カ所の実験施設で実施され、類似の結果が得られた。D61 M 培養液 2 mL にアセトニトリル 1、3、5、10、20、30、50、75、100 µL を添加し、それぞれの最終濃度を 0.05~4.76% (v/v) とする。陽性対照および陰性対照も含む。培養液は次の 2 つのプロトコールに従ってインキュベートされている。

- 30°C での 16 時間の標準的なインキュベーション（試験管を角度 45°、300 rpm で振盪）。
- 冷却干渉（試験管を 30°C で 4 時間インキュベート後、アイス/ウォーターバスに移して 16 時間ボルテックスで混合し、30°C のウォーターバスで 2 分加温後さらに 30°C で 4 時間インキュベート）。

Zimmerman *et al.* (1985) は、2.91%および 4.76%アセトニトリルを用いて類似の結果を得た。処理はすべて、1 滴 300 万~1,000 万 cell/mL の増殖細胞培養液にアセトニトリルをピペットで移すことにより開始し、28°C で 4 時間インキュベーション後、水中で約 17 時間保存した。28°C でさらに 4~5 時間インキュベーション後、細胞を蒔いた。アセトニトリルにより異数性が強く誘発されたが、遺伝子組み換えおよび点突然変異は生じなかった。

Groschel-Stewart *et al.* (1985) は、酵母において、非プロトン性極性化合物の異数性誘発活性が、ブタ脳チューブリンの *in vitro* 会合遮断能に関連していることを立証した。アセトニトリルの場合、この遮断は、酵母の異数性誘発に必要な濃度よりはるかに低濃度で達成できた。

#### 哺乳類細胞による試験

Bioassay Systems Corporation (1984) は、培養されたチャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞において、遺伝子突然変異試験 (HGPR 座) を適切に実施した。本試験法は、アロクロール 1254 誘導ラット肝による代謝活性化なしとありの場合の両方で実施された。本突然変異試験に最適な処理濃度は、コロニー形成効率に基づいた予備的な毒性試験実施後に選択された。15.4 mg/mL では約 40%の細胞が生存したが、77.1 mg/mL での生存細胞は 0.03%未満であった。

これらの結果に基づき、代謝活性化なしでの 1 回目の変異原性試験では、0.1~30 mg/mL の濃度範囲が選択され、代謝活性化なしでの 2 回目の変異原性試験では、1~25 mg/mL の範囲の 8 濃度が検討された。暴露時間は 16 時間であった。S9 0.424 mg/mL 存在下で本試験法を実施した場合、1 回目の実験では 4~16 mg/mL の範囲の溶媒、2 回目の実験では 8~20 mg/mL の範囲の 8 濃度に CHO 細胞を 37°C で 4 時間暴露させた。

アセトニトリルと陰性対照との間の突然変異頻度には、S9 なしとありの場合のいずれも有意差は認められなかった ( $\alpha = 0.05$ )。

それ以外の遺伝子突然変異試験では、マウスリンフォーマ L5178Y 細胞の例があり、代謝活性化系ありとなしの場合とで実施された。アセトニトリルは、最大試験用量 (5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) において変異原性も毒性も示さなかった (Rudd *et al.*, 1983 の簡素な抄録)。

染色体異常試験および姉妹染色分体交換 (SCE) 試験において、チャイニーズハムスター卵巣細

胞を用いて、アセトニトリルの検討が行われた (Galloway *et al.*, 1987)。アロクロール 1254 誘導雄 Sprague-Dawley ラット肝 S9 に補酵素を加えた S9-mix ありとなしの場合の両方で、アセトニトリルについて検討した。

各試験は溶媒と陽性対照とで同時に実施し、3 種類以上の用量のアセトニトリルからなっていた。毒性がない場合、高用量として 5,000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  が選択された。1 用量当たり 1 個のフラスコを用い、曖昧な結果または陽性の結果を生じた試験は再度実施した。

染色体異常試験において、S9 なしの場合、細胞をアセトニトリルと 12 時間インキュベートし、S9 ありの場合、細胞をアセトニトリルと 2 時間処理し、その後処理培地を除去し、細胞を新鮮培地で 12 時間インキュベートした。S9 ありとなしの双方とも、試験濃度は 500、1,600、5,000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  とした。第一分裂中期細胞 100 個について投与量ごとにスコアを付けた。得られた結果から、S9 存在下では、5,000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  において染色体異常のわずかな発生率上昇が示された ( $P < 0.05$ )。S9 非存在下では、染色体異常の誘発は生じなかった。

S9 なしの SCE 試験において、CHO 細胞をアセトニトリル用量 160、500、1,600、5,000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  により 26 時間インキュベートした。プロモデオキシウリジン (BrdU) を培養開始から 2 時間後に添加した。S9 ありの SCE 試験において、細胞をアセトニトリル (500、1,600、5,000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) および S9 と 2 時間インキュベートした。次に培地を除去し BrdU 含有培地に交換し、さらに 26 時間インキュベーションを継続した。第二分裂中期細胞 50 個について、投与量ごとの SCE/cell 出現頻度のスコアを付けた。アセトニトリルは、S9 なしの場合、5,000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  で陽性反応を生じた ( $P < 0.01$ ) が、S9 ありの場合、SCE の増加は認められなかった。この結果から、弱陽性 (任意の単回用量において増加) とみなされた。

### In vivo 試験

Osgood *et al.* (1991a, 1991b) は、雌キイロショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*) を用いて Fix および Zeste 遺伝子試験系について実施した。アセトニトリルは、両試験法において、染色体消失および染色体増加をもたらすことが認められた。

アセトニトリルを初期 3 齢幼虫 (LF3)、後期 3 齢幼虫 (LF4、一方の実験)、若齢の雌成虫 (AF) のいずれかに給餌投与した。検討濃度は 2,000、5,000、20,000、50,000 ppm、用いた溶媒系は水とした。

Fix 試験系では、アセトニトリルは 3 齢幼虫 (LF3) 給餌後のみ強陽性となった。

Zeste 試験系では、アセトニトリルを成虫に給餌 (AF) 後異数性を誘発したが、LF3 より後の識別可能な影響はなかった。Zeste 試験系の幼虫のアセトニトリル感受性は Fix 試験系の幼虫より実質

的に高く、前者の 20,000 ppm における死亡率が 78%であったのに対し、後者では 30%であった。影響の規模である同時対照に対する増分は、Fix 試験系については約 2 倍、Zeste 試験系については 5 倍であった (Osgood *et al.*, 1991a)。

キイロショウジョウバエの Zeste 試験系を用いて、雌成虫をアセトニトリルに吸入暴露後、性染色体の異数性誘発についてモニターした。

アセトニトリルは強い影響を及ぼす異数性誘発物質 (aneuploidogen) であり、濃度 131 ppm の短時間暴露後に染色体消失と染色体増加の両方を誘発した (Osgood *et al.*, 1991b)。雌成虫 (2~3 日齢) を用いて 0、10、30、50、70 分暴露を行った。10 分程度の短時間暴露後、異数性の幼虫の出現頻度について統計的に有意な上昇が認められた。30 および 50 分の暴露後、異数性の幼虫を併せた出現頻度が約 0.18%であったのに対し、対照の出現頻度は 0.024%となり、7 倍の増分であった。

ラット肝細胞において、アセトニトリルの *in vivo* および *in vitro* 暴露による不定期 DNA 合成誘発は認められなかった (Mirsalis *et al.*, 1983,抄録)。

NMRI マウス (13 週齢) の小核 (MN) 試験において、アセトニトリルが検討された (Schlegelmilch *et al.*, 1988)。LD<sub>50</sub> 値の 40%および 60% (340 および 510 mg/kg) に達する 2 つの投与量の腹腔内投与について検討した。LD<sub>50</sub> 値のデータは化学物質毒性データ総覧 (RTECS) から入手した。RTECS において提示されたラット腹腔内投与時の LD<sub>50</sub> 値は、850 mg/kg である。各投与量および各投与日において、NMRI マウス雄 4 例および雌 4 例とした。動物を単回用量注射の 24、48、72 時間後に屠殺した。骨髄を入手し、コード化したスライドから、1 例当たり 1,000~1,200 個の細胞を観察することにより、小核を有する多染性赤血球 (MPE) 数を計数した。本試験では、骨髄細胞毒性の評価も、48 および 72 時間の時点の対照データも報告されなかった。

本試験法を自己代謝誘導ありで実施した場合には、マウスに経口 LD<sub>50</sub> 値の 5%相当量のアセトニトリルを 1 日 1 回 7 日間投与し、8 日目に高用量の単回腹腔内注射を行った。

自己代謝誘導なしでアセトニトリルにより誘発される小核数は、LD<sub>50</sub> 値の 60%相当量を投与し、アセトニトリル投与の 24 時間後に動物を屠殺した場合、他のいずれの条件下より多くなる。こうした条件下において、小核を有する多染性赤血球の出現頻度が 1,000 個当たり 4.26 個に達したのに対し、陰性対照では 1,000 個当たり 1.68 個であった。ただし、自己代謝誘導ありのマウスは、アセトニトリル投与の 72 時間後、なしの場合とほぼ同程度の高いピークを示したが、投与後 24 時間では影響がみられなかった。本試験には、「誘発」レベルとの比較を行う対照の小核出現頻度は含まれていなかった。

雌雄 B6C3F1 マウス 1 投与群当たり各 10 例に、アセトニトリル (100、200、400、800 ppm) を 13

週間吸入投与後に末梢血試料を入手し、正染性赤血球 10,000 個中の小核の出現頻度を測定した。

雌マウスの結果は陰性であったが、雄 400 ppm 群では小核を有する正染性赤血球について、わずかではあるが有意な増加が認められた ( $P < 0.006$ )。その発生率は、最大濃度暴露群 (800 ppm) の方が低かった。生存率は最大濃度暴露群の方が低い一方、最大濃度暴露群の MN 発生率はより低いと考えられうるとなっても、暴露と小核との関連は、強力な用量反応関係がない中では弱かった。加えて、陽性対照群および骨髄細胞毒性に関する報告はなかった (NTP, 1994)。

近年、OECD ガイドラインに従って、新たな遺伝毒性試験 (*in vivo* 小核試験) が実施されている。「アセトニトリル：マウス骨髄および末梢血の小核試験」という名称の試験が、Zeneca Central Toxicology 社 (1998) により実施された。本試験では、雌雄 NMRI マウスを、無希釈アセトニトリル (99.9%超) に腹腔内経路を通じ暴露させた。雄 5 例からなる投与量 100 mg/kg 群と雌 5 例からなる投与量 125 mg/kg 群に、単回腹腔内投与を行った。いずれの場合も、用いた投与量は最大耐量 (MTD) に当たる。骨髄試料は投与の 18、24、36 時間後に採取した。末梢血試料は、投与前 (0 時間) に加え投与の 24、48、72、96 時間後に採取した。骨髄に関する影響は同一時点の対照群との比較により評価する一方、末梢血に関する影響は、同一時点の対照群と 0 時間の時点の投与群双方との比較により評価した。

雄の骨髄では、溶媒対照値を上回る小核を有する多染性赤血球の発生率について、統計的に有意かつ生物学的意義のある上昇となることは、いずれの試料検討時点でも認められなかった。

雌の骨髄では、36 時間後の採取時点で、溶媒対照値を上回る小核を有する多染性赤血球の発生率について、わずかではあるが統計的に有意な上昇が認められた。認められた値 (0.7 MPE/1000 PE) は、24 時間後の採取時点で認められた対照値 (0.6 MPE/1000 PE) にきわめて近似していた。よって、この結果は、生物学的意義があるとはみなされない。雌雄の末梢血では、溶媒対照値および 0 時間の時点の対照値を上回る小核を有する多染性赤血球の発生率について、統計的に有意かつ生物学的意義のある上昇となることは、いずれの試料検討時点でも認められなかった。

多染性赤血球の割合を比較したところ、アセトニトリル投与群の雄の骨髄では、18 時間後の採取時点において統計的に有意に上昇することが示された。0 時間の対照値を上回る多染性赤血球の割合の上昇がわずかであることも、投与後 48 および 72 時間の雄、ならびに投与後 72 時間の雌の末梢血において認められた。こうした上昇から、骨髄はアセトニトリルの最大耐量において、負荷を受けていたと示唆される。

#### 4.1.2.7.2 ヒトにおける試験

入手可能な情報はない。

#### 4.1.2.7.3 変異原性の要約

アセトニトリルの *in vitro* 試験での遺伝毒性については、複数のデータが得られている。

細菌での情報が示すとおり、アセトニトリルはネズミチフス菌による試験法の場合、および本試験法において 37°C でプレインキュベーション時間を 20 分として実施した場合にも変異原性は認められない。チャイニーズハムスター卵巣細胞およびマウスリンフォーマ L5178Y 細胞とも、アセトニトリルによる変異は誘導されない。これらの試験は、S9 代謝活性化酵素ありとなしの場合とで実施された。

チャイニーズハムスター卵巣細胞によるアセトニトリルの細胞遺伝学的試験では、S9 なしの場合の姉妹染色分体交換、S9 ありの場合の染色体異常について、両エンドポイントともわずかな増加を生じ、この増加は、検討された最大用量において認められた。SCE 試験でのこうした増加は、活性の根拠としては弱い（任意の単回用量において増加）とみなされた。染色体異常試験の結果は曖昧（いずれの用量でも統計的に有意な増加なし）とみなされた。

異数性に関する事象の誘発について測定する複数の試験法において、陽性の結果が報告されている。

アセトニトリルは、強力な異数性誘発物質であることが認められた。ただし、2 倍体系統の出芽酵母の点突然変異および遺伝子組み換えは、比較的高濃度でも認められなかった。

アセトニトリル水溶液を給餌した雌キイロシヨウジョウバエ卵母細胞では、幼虫と成虫のいずれとも、アセトニトリルにより性染色体の異数性（染色体消失と染色体増加の両方）が誘発された。

ラット肝細胞において、アセトニトリルの *in vivo* および *in vitro* 暴露による不定期 DNA 合成誘発は認められなかった。

さらに、雌雄 NMRI マウスに腹腔内注射投与されたアセトニトリルによる骨髓小核試験では、弱陽性の結果が報告され、アセトニトリルを 13 週間投与された雄マウス由来の末梢血試料において、小核を有する正染性赤血球の有意な増加が認められたが、雌マウスにおける小核を有する赤血球の出現頻度は、アセトニトリル暴露による影響を受けなかった。ただし、これらの結果の解釈は困難である。というのは、この腹腔内投与試験のプロトコールは非標準的であり、また、吸入試験での暴露と小核との関連は、強力な用量反応関係がない中では弱かった上、陽性対照群および骨髓細胞毒性に関する報告はなかったからである。

NMRI マウスの腹腔内経路を介し、適切に実施された *in vivo* 小核試験において、実施結果は陰性であったことが報告されている。

結論として、アセトニトリルは細菌の遺伝子突然変異を誘発せず、培養哺乳類細胞における弱い染色体異常誘発活性を示し、適切に実施された *in vivo* 小核試験では染色体異常誘発性を認めなかった。変異原性に関する分類は提唱されない。

#### 4.1.2.8 発がん性

##### 4.1.2.8.1 動物における試験

アセトニトリルの発がん性は、吸入経路を用いてラットおよびマウスにおいて検討されている。これらの試験は「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準 (GLP)」に従って実施された (NTP, 1994)。

#### ラット

NTP によるラット亜慢性吸入試験から、この2年間吸入試験では、生存率の低下と肉眼的および組織病理学的病変とに基づいて、アセトニトリル暴露濃度 100、200、400 ppm が選択された。

Fischer 344 ラット雄 56 例および雌 56 例からなる群を、アセトニトリル濃度 0、100、200、または 400 ppm (0、168、335、または 670 mg/m<sup>3</sup>に相当) に6時間/日、5日/週で103週間吸入暴露させた。各暴露群の雄8例および雌8例を15ヵ月後に評価した。

動物の死亡および毒性もしくは瀕死の徴候について、1日2回観察した。個体別の臨床観察結果を4週間ごとに記録した。動物の秤量を試験開始時、最初の13週間に週1回、その後4週間間隔で行った。本試験最後の13週間には、体重および臨床所見を2週間ごとに記録した。

15ヵ月間の中間評価では、血液学的検査値測定用の血液をラット後眼窩洞から採取した。

すべての動物の剖検を実施した。臓器に関する15ヵ月間の中間評価では、肝臓、肺、右腎の秤量を行った。

すべての動物の完全な組織病理学的検査を実施した。局所リンパ節の肉眼的病変および組織腫瘍に加え、組織の検査対象は副腎、脳、骨および骨髄、陰核腺、食道、心臓、腎臓、大腸、喉頭、肝臓、肺、リンパ節、乳腺、鼻、卵巣、副甲状腺、下垂体、包皮腺、前立腺、唾液腺、精嚢、皮膚、小腸、脾臓、胃、精巣、胸腺、甲状腺、気管、膀胱、子宮とした。

暴露ラットの生存率は対照と同程度であった。15ヵ月間および2年間のアセトニトリル吸入暴露は、体重増加および最終的な平均体重に影響を及ぼさず、暴露させた雌雄ラットの行動、全体的



健康感、外観は、本試験全体を通じ対照と類似していた。絶対および相対臓器重量に有意な投与関連の影響はみられなかった。

15 ヶ月後の中間評価では、400 ppm 群の雌のヘマトクリット値、ヘモグロビン濃度、赤血球数、平均赤血球容積、平均赤血球ヘモグロビンが対照群よりわずかに低かった。400 ppm 群の雄の平均赤血球容積および平均赤血球ヘモグロビンも、対照群よりわずかに低かったが、赤血球数は対照群よりわずかに多かった。

15 ヶ月および2年後の時点で、雌雄ラットにおける有意な暴露関連の非腫瘍性病変の証拠は認められなかった。疑問の余地がある所見は、肝細胞腺腫（6%）、肝細胞がん（6%）、肝細胞腺腫または肝細胞がん（併せて10%）の発生率のみで、雄に統計的に有意な陽性傾向がみられた。

肝細胞腺腫の発生率は0 ppmで0%、100 ppmで2%、200 ppmで2%、400 ppmで6%であった。肝細胞がんの発生率は0 ppmで2%、100 ppmで0%、200 ppmで0%、400 ppmで6%であった。また、肝細胞腺腫または肝細胞がんの（併せた）発生率は0 ppmで2%、200 ppmで2%、400 ppmで10%であった。

未投与雄 F344/N ラットにおける肝腫瘍の自然発生率（historical incidence）は、肝細胞腺腫で0～8%の範囲、肝細胞がんが0～4%の範囲、肝細胞腺腫または肝細胞がんが2～8%の範囲であった。暴露群と対照群との比較から、有意差は得られなかった。400 ppm 群の雄の肝細胞がんの発生率と、肝細胞腺腫および肝細胞がんの（併せた）発生率のみ、本吸入試験における対照群の自然発生率の範囲（それぞれ、0～4%および2～8%の範囲）よりわずかに高かった。

200 ppm 群（ $P \leq 0.05$ ）および400 ppm 群（ $P \leq 0.01$ ）の雄における好塩基球増殖巣の発生率は対照群より高く、400 ppm 群の雄における好酸球および混合細胞の増殖巣発生率は、対照群よりわずかに高かった。

雌暴露群の肝病変の発生率は、対照群と同程度であった。

#### マウス

NTP によるマウス亜慢性吸入試験から、この2年間吸入試験では、生存率の低下と肉眼的および組織病理学的病変とに基づいて、アセトニトリル暴露濃度 50、100、200 ppm が選択された。

B6C3F1 マウス雄 60 例および雌 60 例からなる群を、アセトニトリル濃度 0、50、100、または 200 ppm（0、84、168、または 335 mg/m<sup>3</sup>に相当）に6時間/日、5日/週で103週間吸入暴露させた。各暴露群の雄10例および雌10例を15ヶ月後に評価した。

すべてのマウスの臨床検査、完全な剖検、顕微鏡検査を実施した。

雌暴露群、および 50 または 100 ppm 暴露群の雄の生存率は、対照群と同程度であった。200 ppm 群の雄マウスの生存率は、対照群より有意に高かった。

最大 2 年間のアセトニトリル吸入暴露は、雌雄マウスの体重増加および最終的な平均体重に影響を及ぼさなかった。絶対および相対臓器重量に有意な投与関連の影響はみられなかった。

雄暴露群では、肺胞/細気管支腺腫の発生率が高かった。発生率は 200 ppm 群の雄では有意に上昇し（50 例中 18 例、36%）、歴史的対照群の範囲の上限にあった（範囲：6～36%、673 例中 113 例、16.8%）。

肺胞/細気管支腺腫またはがんの（併せた）発生率は、雄暴露群で 50 例中 21 例（42%）と同様に上昇し、歴史的対照群の範囲は 10～42%であった（673 例中 150 例、22.3%）。対照的に、雌暴露群の肺胞/細気管支腺腫、および肺胞/細気管支腺腫またはがんの（併せた）発生率は、用量との逆相関を示した。雌対照群の発生率は、歴史的対照群の範囲の上限にあった。

病変の大きさおよび形態的特徴に基づいた過形成、腺腫、がんの識別を用いると、肺胞細気管支領域の増殖病変は 1 つの連続体として存在した。よって、本腫瘍型の経時的な化学物質関連の高発生率は、本試験で明白にならなかった 3 段階すべての増殖病変の増加としての証明になると予測される。200 ppm 群の雄における肺胞細気管支腺腫の発生率（50 例中 18 例、36%）は、これまでの吸入試験の対照群において認められた最大発生率に相当するが、本群の 2 年後の生存率 86%はきわめて高く、見かけ上の影響の一因になったと考えられる。こうした理由により、200 ppm 群の雄における肺胞細気管支腺腫の高発生率は、アセトニトリル暴露に起因するものではなかった。

100 ppm 暴露群の雄における肝細胞がんの発生率（49 例中 13 例、27%）は、対照群より高かった。肝細胞腺腫または肝細胞がんの（併せた）発生率は、100 ppm 群の雄で同様に上昇し（49 例中 30 例、61%）、この上昇は、背景対照の肝細胞腺腫または肝細胞がんの（併せた）範囲（範囲：11～56%、673 例中 241 例、35.8%）を有意に上回った。一方、200 ppm 群の肝細胞腫瘍の発生率は対照群より低く、アセトニトリル暴露が雌の肝細胞腫瘍に及ぼした影響の徴候はなかった。雄の肝細胞腫瘍に関する用量反応の根拠を欠くことに加え、腫瘍反応の低下と予測される交絡因子（200 ppm 群の雄の顕著な低体重など）はなく、このことは、アセトニトリル暴露と無関係の散発的な結果であると示唆される。

前胃への影響が、アセトニトリル暴露マウスに認められた。15 ヶ月後、50 または 200 ppm 暴露群における雌雄の前胃扁平上皮過形成の発生率が対照群より高かったが、その上昇幅は 200 ppm 群の雌のみ有意差を示した（ $P \leq 0.01$ ）。2 年後の暴露群の上昇幅は用量依存的で、上昇幅は 200 ppm

暴露群の雄 ( $P \leq 0.05$ )、および 100 または 200 ppm 暴露群の雌 ( $P \leq 0.01$ ) で有意差を示した。過形成は概して限局性で、重症度は軽微から顕著に及んだ。軽微な病変は有棘層の軽度肥厚と、それを覆うケラチン層の軽度肥厚および基底細胞数の増加を頻回に伴うことにより特徴付けられた。重症度が増大すると、進行性の上皮肥厚と上皮折り畳みを伴った。顕著な重度の病変では、折り畳まれた肥厚上皮が粘膜表面の上に突出した。限局性潰瘍および化膿性炎症が一部の重度病変に生じた。

少数の扁平上皮乳頭腫が 100 または 200 ppm 暴露群で認められ、対照群では雌 1 例に生じた。乳頭腫は外方性、有茎性、葉状体様の腫瘤であり、過形成性、時に過角化性の扁平上皮からなり、線維性結合組織間質の分岐の中心部により支持されていた。この良性腫瘍の発生率は雌雄において統計的に有意ではなく、背景対照の範囲内であった。

著者の結論では、これらの結果から、長期的なアセトニトリル暴露がマウス前胃に及ぼす影響について確立されたが、腫瘍に関する結果の重要性については、このことがアセトニトリルに起因すると自信をもって判断するには不十分とされた。

#### 4.1.2.8.2 ヒトにおける試験

Ott *et al.* (1989) は、化学薬品製造環境におけるリンパ組織および造血組織のがんについて研究した。21 種類の特定の化学物質について、1940~1978 年、米国の化学薬品製造施設 2 ヶ所および研究開発センター 1 ヶ所において、作業員コホート内の非ホジキンリンパ腫 (52 例)、多発性骨髄腫 (20 例)、非リンパ性白血病 (39 例)、リンパ性白血病 (18 例) に関する暴露のオッズ比 (OR) を検討した。アセトニトリルについては、非ホジキンリンパ腫の OR は (2 例に基づき) 5.2、非リンパ性白血病の OR は (1 例に基づき) 2.5 と予測された。

本研究では、複数の化学物質に対する複合的な同時暴露の可能性が高いとされた。

「ニトリル類」暴露者と「抗酸化剤」暴露者との間にも高い相関が認められた。多様な混合暴露のため、腫瘍の発生率上昇をアセトニトリルの暴露のみに帰すことはできない。

#### 4.1.2.8.3 発がん性の要約

雄ラットでは、最大試験濃度 (400 ppm) において、肝臓に関する腺腫およびがんの増加が単独の場合および結合した場合とも認められた。この結果は NTP により曖昧と判断された。一方、この結果について、現対照群または背景対照の範囲と比較したところ、有意差は示されなかった。

雌ラットでは、暴露関連の肝病変は認められなかった。

マウス暴露群では、アセトニトリル暴露関連とみなされる肺および肝臓に関する腫瘍の発生率上昇はみられなかった。ただし、15ヵ月後の200 ppm群の雌では、前胃扁平上皮過形成の発生率が有意に上昇した。2年後の高発生率は、雌雄暴露群すべてで用量依存的であった。これらの結果から、長期的なアセトニトリル暴露がマウス前胃に及ぼす影響について確立されるが、腫瘍に関する結果の重要性については、このことがアセトニトリルに起因すると自信をもって判断するには不十分である。

要約すると、アセトニトリルに関するNTPのバイオアッセイ結果から、アセトニトリルには実験用のラットおよびマウスにおける発がん性はなかったことが示される。発がん性に関する分類は提唱されない。

#### 4.1.2.9 生殖毒性

##### 4.1.2.9.1 動物における試験

###### 受胎能力に及ぼす影響

受胎能力に及ぼす影響を具体的に検討した試験は得られていない。ただし、Morrissey *et al.* (1988)の試験では、げっ歯類の精子、膣細胞診、生殖器重量に関する米国国家毒性プログラムの13週間試験由来データの評価が示されている。

3年間の13週間試験終了時に50例（ラット25例、マウス25例）を対象に実施された、精子の形態および膣細胞診検査に関する試験の分析が行われた。生殖器重量（精巣、精巣上体、精巣上体尾部）および精子の運動性を、統計的に最も強力な評価対象のエンドポイントとした。加えて、精子頭部の形態も、生殖毒性物質検出感度の高いエンドポイントと考えられる。

3つの投与群および対照群において、雌雄10例のFischer 344ラットまたはB6C3F1マウスを使用した。3つの投与群の選択は、前慢性試験（prechronic study）の70日後に行った。本試験は、明白な毒性作用（死亡、ならびに重度の体重減少および体重増加の抑制）を生じなかった用量の選択を目的とした。用いる用量は100、200、400 ppmとし、吸入経路による投与とした。雄ラットおよび雄マウスでは、右精巣上体尾部および右精巣の（絶対および相対）重量の変化は示されず、精子の運動性に影響を及ぼさなかった。アセトニトリルが雌ラットおよび雌マウスの生殖器系に及ぼす影響については、データが示されていない。

Coate (1983) は、未発表の試験において、ラットまたはマウスをアセトニトリル0、25、50、100、200、400 ppmに92日間吸入暴露させたところ、精子の運動性および形態、ならびに膣細胞診に関する有害作用が認められなかったことを示している。

## 発生毒性

様々な発生試験が、アセトニトリルに各種経路を介し暴露させたラット、ウサギ、ハムスターにより実施された。

### ラット

アセトニトリルの発生毒性について、Sprague-Dawley ラットに投与量 0、900、1,200、1,500、1,800 ppm で妊娠 6~20 日の間に 6 時間/日吸入暴露後検討した。暴露させる動物数は 1 用量当たり 20 例とした。

母動物の致死がアセトニトリル最大濃度（1,800 ppm）において生じ、母動物 20 例中 8 例（40%）が死亡した。1,800 ppm 群では、妊娠 6~21 日の間、母動物の体重増加が有意に抑制された ( $p < 0.01$ )。母動物の絶対体重増加は 1,500 ppm 群で有意に抑制され ( $p < 0.05$ )、1,500 および 1,800 ppm 群では対照群の約 60%であった。アセトニトリル暴露による妊娠率の有意な変化はみられなかった。1,800 ppm 群では、着床致死数および早期胚吸収数の平均割合の有意な上昇が認められ ( $p < 0.01$ )、同時に、同腹児当たりの平均生存胎児数の減少が有意ではないが認められた。1,800 ppm 群では、同腹児 1 例が完全に吸収された。アセトニトリル最大 1,800 ppm 暴露による平均着床数、胎児の性比、および雌雄胎児の体重には、有意な影響がみられなかった。対照群の胎児 1 例に外脳、片側性眼球突出、眼瞼開裂が認められた。暴露群全体では、母動物の中毒量においても、内臓の変異（主に尿管拡張）および骨格の変異（主に、過剰頸肋や過剰腰肋、および胸骨分節の骨化低下）の発生率とも有意な変化を示さなかった。

本試験における母体毒性の NOAEL は 1,200 ppm であった。発生毒性の NOAEL は 1500 ppm であった (Saillenfait *et al.*, 1993)。

Mast *et al.* (1994) により、アセトニトリルの適切な吸入発生毒性試験が実施された。Sprague-Dawley ラットをアセトニトリル 0、100、400、または 1,200 ppm に 6 時間/日、7 日/週暴露させた。4 投与群は、それぞれ非妊娠雌ラット 10 例、アセトニトリルおよびシアン化物について母動物の血液を評価する分布試験用として明確に交配した雌 10 例、および、発生毒性の評価用として明確に交配した雌 33 例からなった。ラットを連続 14 日間（妊娠動物の妊娠 6~19 日）暴露させた。体重は試験期間全体を通じ入手し、子宮重量および胎児体重を妊娠 20 日目入手した。生存胎児の性別を判定し、肉眼的、内臓、骨格、および頭蓋顔面の軟組織の異常について検討した。アセトニトリルおよびシアン化物濃度を、妊娠 8 および 18 日目のラット母動物の血液（6 例/群）において測定した。これらの濃度のアセトニトリルにラットを暴露させた結果、1,200 ppm 群（雌妊娠ラット 33 例中 2 例、雌非妊娠ラット 10 例中 1 例）および 400 ppm 群（雌妊娠ラット 33 例中 1 例）で死亡が生じた。一方、いずれの暴露濃度でも体重および生殖の諸指標には投与関連の影響はなく、胎児の奇形や変異の有意な発生率上昇もなかった。胎児に認められた影響は、アセトニトリル 100

ppm 群出生児の統計的に有意な過剰肋骨の発生率上昇のみであり、用量反応関係はなく、400 および 1,200 ppm 群双方のこの変異の発生率は対照群と差がなかった。

母動物ラットの血中アセトニトリルおよびシアン化物濃度の測定から、血中アセトニトリル濃度は、暴露させた母動物ラットすべての暴露濃度で上昇することが示された。血中シアン化物は、検出可能な量がアセトニトリル 1,200 ppm 暴露群のみ妊娠 8 日目に認められた（シアン化物 2 mg/mL 血液）が、その濃度は妊娠 18 日目までに 0.8 mg/mL に低下した一方、アセトニトリル濃度は基本的に暴露期間中一定であった。母動物の血中シアン化物濃度のこうした低下は、ロダネーゼ（シアン化物解毒の原因と考えられる酵素）の誘導に起因したと考えられる（Klaasen *et al.*, 1986）。

要約すると、暴露濃度 400 および 1,200 ppm では、一部の母動物ラットに致死性であったが、生存した妊娠ラットおよび非妊娠ラットに体重減少、体重増加、毒性の臨床徴候はみられなかった。こうした理由から、母動物の NOAEL 1,200 ppm を確立でき、発生毒性に関しても同じ値とみなされる。

アセトニトリルの発生毒性について、Long-Evans ラットの使用に適応した *in vivo* 催奇形性スクリーニングにより検討した（Smith *et al.*, 1987）。スクリーニングは、出生後 41~42 日目までの成長の評価、および屠殺時の複数の臓器重量に及んだ。アセトニトリルを、0.1 mL/100 g 体重の量で投与するためトリカプリリン油に溶解し、妊娠 7~21 日目に強制経口投与した。本試験に用いた用量およびラットの数は、0（155 例）、50（20 例）、150（20 例）、300（22 例）、500（20 例）mg/kg 体重/日とした。

上位 2 つの高用量群（300、500 mg/kg）に母体毒性が認められた。300 mg/kg 群では、雌 11 例が明確な瀕死状態であったため妊娠中期に屠殺した一方、500 mg/kg 群では、雌 16 例が投与期間早期に死亡した。また、最小用量群（50 mg/kg）でも 2 例が死亡したのに対し、対照群 155 例の死亡例はなかった。母動物の体重増加は、50 および 150 mg/kg 体重/日群ならびに 300 mg/kg 体重/日群の生存動物に影響を及ぼさなかった。500 mg/kg 体重/日群では、生存可能な同腹児数および吸収同腹児数に（有意ではないが）影響を及ぼした。胎児の異常は報告されなかった。児において統計的有意差を達成した観察結果は、4 日目の児の体重増加（500 mg/kg 群の雌）、41~42 日目の臓器重量の増加（肝臓：300 mg/kg 群の雌、肺：300 mg/kg 群の雄、脾臓：群不明の雄）のみであった。

CD-1 ラットに、アセトニトリル水溶液を妊娠 6~19 日目に 1 日 1 回強制経口投与（125、190、275 mg/kg）した。母動物に対する影響として、275 mg/kg 体重/日群での死亡（25 例中 2 例）、体重増加の抑制（25 例中 2 例）が生じたが、それ以外の母動物に対する影響は、いずれの投与群でも認められなかった。早期吸収および着床後胚損失率の増大により示される胚・胎児毒性に関する影響も、275 mg/kg 群で認められ、歴史的対照群との比較時には統計的有意差を示したが、同時対照群との有意差は示さなかった。

すべての投与群において、見かけ上、胎児の異常の発生率上昇は認められなかった（データの提示なし）が、未骨化の胸骨分節のわずかな増加が同時対照群との比較で得られた一方、背景対照との比較では得られなかった（国際研究開発会社 [IRDC] , 1981）。

#### ウサギ

米国食品医薬品局（FDA）GLP に従って行われた試験が、Argus Research Laboratories 社（1984）により実施された。本試験は、ニュージーランド白色ウサギを対象に、アセトニトリルの胚・胎児毒性および催奇形性について判定することを目的とした。人工授精させたウサギを対象に、逆浸透処理された脱イオン水に溶解したアセトニトリル溶液を、推定される妊娠 6～18 日目に強制経口投与した。ウサギ（25 例/群）にアセトニトリル用量 0（溶媒）、2、15、30 mg/kg/日を投与した。

最大用量（30 mg/kg/日）投与群は、食欲不振および体重増加の抑制を示し、本投与量では 25 例中 5 例が死亡し 2 例に流産が生じた。

母動物の平均体重の変化には、アセトニトリル用量 15 および 30 mg/kg/日投与群の方が、溶媒投与群に比べ影響を及ぼした。母動物の体重増加の平均値は、妊娠 6～19 日目の 30 mg/kg/日投与群のウサギでは抑制され、本投与群の 15～19 日目における抑制幅は、対照群について得られた値との比較では有意差を示した（ $P \leq 0.01$ ）。アセトニトリル投与期間終了後、対照値との比較において、母動物の平均体重の有意な増加が、15 mg/kg/日投与群（ $P \leq 0.05$ ）および 30 mg/kg/日投与群（ $P \leq 0.01$ ）のウサギの 19～24 日目に認められた。30 mg/kg/日投与群のウサギの場合、母動物の体重増加の平均値は、妊娠 24～29 日目には対照群に認められた値より高かったが、この期間における有意差はなかった（ $P > 0.05$ ）。対照値に比べ、アセトニトリル投与終了後の 15 および 30 mg/kg/日投与群のウサギに認められた、母動物の平均体重の増加は、リバウンド効果であることを示した。2 mg/kg/日投与群のウサギに対する影響は認められなかった。

投与動物の胎児に関しては、30 mg/kg 群において、生存胎児/同腹児数の平均値の有意な減少（ $P = 0.011$ ）、および吸収のわずかな増加（有意差なし： $P > 0.05$ ）が認められた。

アセトニトリルは、妊娠率および平均黄体数、着床数、胎児の平均体重、性比に悪影響を及ぼさなかった。

胎児に認められる肉眼的な外側、軟組織、および骨格の奇形および発生変異は、アセトニトリル投与に起因するものではなかった。

対照群との比較では、頭頂骨における過剰な骨化領域の有意な高発生率（ $P = 0.015$ ）が、15 およ

び 30 mg/kg/日投与群同腹児の胎児 4 例に認められた。同腹児に関するより妥当性の高いパラメータの発生率は、統計的有意性を示さなかった ( $P > 0.05$ )。このわずかな変異は本系統のウサギに頻回に認められるもので、自然発生とみなされた。

本試験の母動物に関する NOAEL は 15 mg/kg 体重/日、発生毒性に関する NOAEL は 30 mg/kg 体重/日とされた。

#### ハムスター

Willhite (1983) の試験では、妊娠ゴールデンハムスターを、胚形成の初期原始線条段階の間アセトニトリルに吸入、経口摂取、または腹腔内注射を介して暴露させた。

吸入試験では、ハムスターをアセトニトリル 0、1,800、3,800、5,000、または 8,000 ppm に妊娠 8 日目に 1 時間暴露させた。暴露させた動物数は、それぞれ 10 例、6 例、6 例、6 例、12 例とした。

アセトニトリル暴露に起因するシアン化物の解毒により、発生毒性が回避されうるか判定するため、同時に、1 群に吸入暴露の 20 分前にチオ硫酸塩 300 mg/kg を腹腔内注射により投与した。チオ硫酸塩をその後の 10 時間、2 時間間隔で反復注射した。吸入、腹腔内、経口投与経路の比較のため、2 つ目の群に妊娠 8 日目の朝、蒸留水、アセトニトリル 100、200、300、または 400 mg/kg の単回腹腔内注射を行い、3 つ目の群に同じ用量を経口投与した。

3,800、5,000、8,000 ppm 群で母動物が死亡した（それぞれ、6 例中 1 例、6 例中 1 例、12 例中 3 例）。5,000 ppm 群では吸収が有意に増加した ( $P < 0.05$ )。胎児の異常が 5,000 ppm 群（6 例、胎児の 11%）および 8,000 ppm 群（29 例、25%）に認められた。それ以外の投与群および対照群のいずれにも異常は認められなかった。最も多くみられた異常は外脳、脳瘤、肋骨癒合であった。8,000 ppm 群の胎児 1 例に異所性心臓転位がみられた。8,000 ppm 群の胎児の平均体重は有意に減少した。

本試験の母動物に関する NOAEL は 1,800 ppm、発生毒性に関する NOAEL は 3,800 ppm である。

チオ硫酸塩の同時投与により、母体毒性とそれに続く発生毒性の双方を予防できた。チオ硫酸塩の投与により、ハムスターのアセトニトリル中毒の明白な徴候は消失し、死亡率はゼロに低下したが、結膜炎や粘膜の発赤から明らかなおり、動物はアセトニトリル蒸気による刺激を受けた。チオ硫酸塩を複数回腹腔内注射した場合、アセトニトリル 8,000 ppm 吸入後の奇形出生児数が有意に減少した。さらに、チオ硫酸塩予防投与後に異常ありとみなされた胎児は、アセトニトリルにのみ暴露させた母動物から回収した胎児ほど重度の奇形ではなく、異常は肋骨癒合に限定された。

妊娠ゴールデンハムスターに 0、100、200、300、または 400 mg/kg の単回強制経口投与または単



回腹腔内注射を妊娠 8 日目に行ったところ、母体毒性（死亡）が単回強制経口投与による用量 300 mg/kg 群（6 例中 1 例）および 400 mg/kg 群（12 例中 4 例）に生じた。吸収が 200 および 400 mg/kg 群で有意に増加した。本論文では、アセトニトリル 100～300 mg/kg 強制経口投与に伴う有意な体重増加の抑制について記述している（データの提示なし）が、アセトニトリル 400 mg/kg 強制経口投与に伴う母動物の体重増加を、等量の水の強制経口投与と比較しても有意差を示さなかった。

奇形の発生率は 300 および 400 mg/kg 群で有意に上昇し、100 mg/kg 群の同腹児 2 例も異常胎児を含んでいたのに対し、対照群での例はみられなかった。奇形胎児は 300 および 400 mg/kg 群の母動物から回収された。アセトニトリル 400 mg/kg 投与群の母動物から得られた同腹児 5 組中 2 組は、1 例もしくは複数の奇形の出生児を含んでいるか、同腹児全体が吸収されるかのいずれかであった。認められた骨格奇形には、肋骨癒合および中軸骨格における重度の癒合不全が挙げられた。

吸入投与群と同様に、チオ硫酸塩の投与により毒性作用が改善した。

妊娠ハムスターにアセトニトリル 100～400 mg/kg を腹腔内注射により投与しても、奇形胎児数と吸収された受胎部位数のいずれも、対照群に比べ有意に増加しなかった。

アセトニトリル 200～400 mg/kg の腹腔内注射に伴い、胎児の平均体重が対照群と比較した場合に有意に増加したが、この観察結果の妥当性は不明であった。妊娠 8～14 日全体を通じた母動物の体重増加の平均値には、有意な変化が認められなかった。

100 mg/kg 群（2 例、胎児の 3%）、200 mg/kg 群（1 例、2%）、400 mg/kg 群（4 例、3%）では、異常の発生率は低いことが認められた。300 ppm 群および対照群ハムスター 6 例の同腹児の異常はなかった。

異常は頭蓋（頭蓋脊椎披裂）、腹壁（腹壁破裂）に生じた。これらの結果の統計的有意性および生物学的意義については不明である。

さらに、アセトニトリル 400 mg/kg 投与群の母動物にチオ硫酸塩を予防投与後、母動物の体重の変化をアセトニトリルのみの投与群と比較しても、有意差は認められなかった。

#### 4.1.2.9.2 ヒトにおける試験

フィンランドの実験施設作業員における妊娠の転帰に関する症例対照研究から、アセトニトリル暴露と、母親の自然流産や、小児の奇形および出生時体重のリスク増大との間に関連はないことが認められた。

アセトニトリル暴露による自然流産について、症例 206 例を対照 329 例と比較したところ、そのオッズ比は 1.4 (95%信頼区間 : 0.4~4.7) と予測された。症例 36 例と対照 105 例との解析において、溶媒暴露と奇形リスクとの間に関連はないことが認められ、女性 500 名の解析において、溶媒暴露と出生時体重との関連もないことが示された (Taskinen *et al.*, 1994)。

#### 4.1.2.9.3 生殖毒性の要約

受胎能力に関しては、ヒトにおける入手可能な情報はなく、受胎能力を具体的に検討した動物における試験もない。ただし、アセトニトリル 100、200、400 ppm によるラットおよびマウスの 13 週間暴露試験では、右精巣上体尾部および右精巣の（絶対および相対）重量に変化は認められず、また、精子の運動性にも影響はなかった。

一方、動物における複数の発生試験は入手可能である。適切に実施された試験において、アセトニトリル吸入暴露ラットは、母動物に明白な毒性がある濃度でも、胎児に有意な影響をもたらさなかった。本試験では、母動物に関する NOAEL 1,200 ppm、および発生毒性に関する NOAEL 1,200 ppm が確立された。

もう 1 つの Sprague-Dawley ラットを対象にした吸入発生毒性試験では、母体毒性に関する NOAEL 1,200 ppm、発生毒性に関する NOAEL 1,500 ppm が得られた。

アセトニトリルの強制経口投与を受けた妊娠ラットに関する 2 件の試験では、胎児の異常は報告されなかった。

FDA GLP に従って実施された別の試験では、妊娠ウサギにアセトニトリル 2、15、または 30 mg/kg を経口投与したところ、15 および 30 mg/kg 群で母体毒性を示した。15 mg/kg における母体毒性は、アセトニトリル投与期間終了後の体重増加をもたらすリバウンド効果として発現した。胚・胎児毒性は、30 mg/kg 投与群にのみ認められた。投与関連の肉眼的な外側、軟組織、および骨格の奇形および発生変異は認められなかった。

アセトニトリル 5,000 または 8,000 ppm に妊娠 8 日目のハムスターを暴露させたところ、吸収、ならびに外脳、脳瘤、および肋骨癒合などの奇形の発生率上昇を示した。吸入暴露後に認められた例と同一の奇形が、アセトニトリル 100～400 mg/kg を経口投与または腹腔内投与後、限られた数の出生児に散発的に生じた。

入手可能な試験法のほとんどにおいて、催奇形性は母体毒性と関連していた。ただし、妊娠ハムスターのアセトニトリル暴露例に関する試験は、非標準的なプロトコールであり、その結果の解釈は困難である。

ヒトについては、溶媒暴露と奇形、出生時体重、および自然流産に関するリスクとの関連は認められなかった。分類は提唱されない。