

2. 実験動物等における影響

(6) 生殖・発生毒性試験

①生殖毒性試験 (マウス) (◎◎◎)

ddY マウス (雄、各群 9~14 匹) にアクリルアミド (0、0.3、0.6、0.9、1.2 mmol : 0、3.3、9.0、13.3、16.3 mg/kg 体重/日) を 4 週間飲水投与する試験が行われた。投与終了後に 8 日間アクリルアミド未投与の雌と交配を行~~う~~たい、妊娠 13 日目及び分娩時の影響を調べた (Sakamoto & Hashimoto 1986)。各投与群で認められた毒性所見を表 18 に示す。

表 18 マウス生殖毒性試験

投与群mmol (mg/kg体重/日)	雄
1.2 (16.3)	受胎率の低下及び胚吸収数の増加、新生児数の減少 (分娩時)、精子数の減少及び異常精子率の増加
0.9 (13.3) 以上	胎児数の減少
0.6 (9.0) 以下	(毒性所見なし)

EPA (2010) は、Sakamoto & Hashimoto (1986) の試験から、マウスの雄の生殖毒性の NOAEL を 0.6 mmol (9.0 mg/kg 体重/日)、LOAEL を 0.9 mmol (13.3 mg/kg 体重/日) としている (EPA 2010)。

本専門調査会としては、本試験の雄マウスの 13.3 mg/kg 体重/日以上 以上投与群 における胎児数の減少に基づき、NOAEL を 9.0 mg/kg 体重/日 と判断した。

田中専門委員、広瀬専門参考人コメント

・雄マウスの 9.0 及び 13.3 mg/kg 体重/日投与群における「精子数の増加」について、精子懸濁液の調製、血球計算盤によるカウント法を考慮し、数値から判断して毒性学的は意義はない。

②生殖毒性試験 (マウス) (○○○)

NMRI マウス (8~10 週齢の雄、各群 10 匹) における、アクリルアミド (0、5、10 mg/kg 体重/日) の 2 か月間飲水投与試験が行われた (Kermani-Alghoraishi et al. 2010)。各投与群で認められた毒性所見を表 19 に示す。

表 19 マウス生殖毒性試験

投与群 mg/kg 体重/日	雄
10	精子数の減少、精子生存率の低下 (精子頭部の細胞膜機能の停止)

5 以上	精子の前進性運動率（高速及び低速）の減少及び非前進性運動率の増加、精子生存率の低下（精子尾部の細胞膜機能の停止）
------	--

本専門調査会としては、本試験の雄の LOAEL を精子の直前進性運動率の減少及び無非前進性運動率の増加等に基づき、5.0 mg/kg 体重/日と判断した。

田中専門委員、広瀬専門参考人コメント

・雄マウスの 10 及び 5 mg/kg 体重/日投与群における、「精子の前進性運動率（高速及び低速）の減少及び非前進性運動率の増加、精子生存率の低下（精子尾部の細胞膜機能の停止）」については、Fig.1 に示された Eosin-Y staining 及び HOS-test での膜の透過性（精子が死ぬと膜の機能が停止し染色されるまたは尾部が膨張する）の結果から、精子への影響が分かるので、毒性所見として記載する。

### ③生殖毒性試験（ラット）（○○○）

SD ラット（雄、各群 12 匹）にアクリルアミド（0、5、15、30 mg/kg 体重/日）を離乳した生後 3 週間日齢から 4 週間（週 5 回）強制経口投与する試験が行われた（Ma et al. 2011）。各投与群で認められた毒性所見を表 20 に示す。なお、30 mg/kg 体重/日投与群におけるテストステロン濃度の増加については有意ではなかったが、黄体形成ホルモン及びライディッヒ細胞の減少から、テストステロンを産生できなかったことによると考えられる。

表 20 ラット生殖毒性試験

投与群 mg/kg 体重/日	雄
30 (週 5 日を週 7 日に換算すると 21.4)	飼料効率 (food availability) の減少、後肢開脚幅の増加、歩行障害、体重低値、精巣上皮の損傷、精細管での細胞変性、精子及びライディッヒ細胞の減少
15 以上 (10.7)	精囊の臓器指標の減少、卵胞刺激ホルモン濃度の増加
5 以上 (3.6)	精巣及び前立腺の臓器指標 (organ index) の減少、精子運動能及び精子生存率の減少、異常精子数の増加、テストステロン濃度の増加、黄体形成ホルモン濃度の減少

※テストステロン濃度の増加は 30 mg/kg 体重/日では有意ではなかった。

本専門調査会としては、本試験の雄の LOAEL を精巣及び前立腺の臓器指標重量の減少等に基づき、5.0 mg/kg 体重/日と判断した。

田中専門委員、広瀬専門参考人コメント

・雄ラットの 30 mg/kg 体重/日投与群における、「精巣上皮の損傷、精細管での細胞変性、精子及びライディッヒ細胞の減少」について、原著の Fig.4 から 30 mg/kg 体重/日で精上皮の形成が悪いように見え、また本文中には 30 mg/kg 体重/日の記載しかないため、30 mg/kg 体重/日のみ毒性所見とする。

・飼料効率の上昇は一過性ということもあり毒性所見としない。

・雄ラットの TS 濃度については、30 mg/kg 体重/日はオーバードースのため、影響がみられなかったと思われるが、15 及び 5 mg/kg 体重/日においては毒性所見とする。LH の減少、ライディッヒ細胞の減少から、TS を産生できなかった。30 mg/kg 体重/日は表には記載しないが、本文に影響として記載する。

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7

#### ④生殖毒性試験（ラット）（△○○）

SD ラット（雄、各群 10 匹）にアクリルアミド（0、5、10 mg/kg 体重/日）を離乳した 21 日目から 8 週間飲水投与する試験が行われた（Wang H et al. 2010）。各投与群で認められた毒性所見を表 21 に示す。

表 21 ラット生殖毒性試験

投与群 mg/kg 体重/日	雄
10	精巣及び精巣上体の絶対重量の減少、ライディッヒ細胞数及び血清テストステロン濃度の増加、精巣上皮での生殖細胞の欠損、ライディッヒ細胞の過形成
5 以上	体重増加抑制、精巣上体尾部の精子濃度の減少

8  
9  
10  
11  
12

本専門調査会としては、本試験の雄の LOAEL を体重増加抑制及び精巣上体尾部の精子濃度の減少及び精巣上体の絶対重量の減少等に基づき、5.0 mg/kg 体重/日と判断した。

田中専門委員、広瀬専門参考人コメント

・雄ラットの 10 mg/kg 体重/日投与群における「精巣上皮での生殖細胞の欠損、精巣輸出管に隣接するライディッヒ細胞の過形成、生殖細胞の欠損による空胞形成」については、「精巣上皮での生殖細胞の欠損、ライディッヒ細胞の過形成」と記載する。

13  
14  
15  
16  
17

#### ⑤生殖毒性試験（ラット）（○○◎）

Long-Evans ラット（雌雄、各群 15 匹）にアクリルアミド（雄：0、50、100、200 ppm（0、4.6、7.9、11.9 mg/kg 体重/日）、雌：0、25、50、100 ppm（0、5.1、8.8、14.6 mg/kg 体重/日））を雄に 70 日齢から 10 週間、雌に 80～90 日齢から妊

1 娠期を経て授乳期まで飲水投与する試験が行われた。投与開始3週間後にそれぞれ  
 2 アクリルアミド未投与の雌雄と交配を行った (Zenick et al. 1986)。各投与群で認  
 3 められた毒性所見を表 22 に示す。

4  
 5 表 22 ラット生殖毒性試験

投与群 ppm (mg/kg 体重/日) ※	雄	雌
200 (雄 11.9)	体重増加抑制及び飲水量減少 (精子数検査及び受胎能検査は行われていない)	
100 (雄 7.9、雌 14.6)	精子数の減少、受胎率の低下及び着床後 胚損失率の増加	体重増加抑制及び飲水量減少、児 動物の出生時体重低値
50 (雄 4.6、雌 8.8)	(毒性所見なし：但し受胎能検査は行わ れていない)	体重増加抑制及び飲水量減少、 児動物の体重増加抑制
25 (雌 5.1)		児動物の体重増加抑制 (一過性)

6 ※原著には記載がなく、EPA(2010)の算出による。

7  
 8 EPA (2010) は、Zenick ら (1986) の試験から、ラットの雄の生殖毒性の LOAEL  
 9 を 100 ppm (7.9 mg/kg 体重/日) とし、50 ppm 投与群において雄の受精能 (fertility)  
 10 のの評価を行っていないことから NOAEL は設定しないとしている。また、ラット  
 11 の雌の生殖毒性の NOAEL を 25 ppm (5.1 mg/kg 体重/日)、LOAEL を 50 ppm (8.8  
 12 mg/kg 体重/日) としている (EPA 2010)。

13  
 14 本専門調査会としては、本試験の雄ラットの ~~7.9 mg/kg 体重/日 100 ppm~~ 群にお  
 15 ける精子数の減少、受胎率の低下及び着床後胚損失率の増加に基づき、NOAEL を  
 16 ~~4.6 mg/kg 体重/日 50 ppm~~、雌ラットの LOAEL を 8.8 mg/kg 体重/日 群における体  
 17 重増加抑制及び飲水量減少、児動物の体重増加抑制に基づき、NOAEL を 5.1 mg/kg  
 18 体重/日と判断した。

19 田中専門委員、広瀬専門参考人コメント

・雄ラットの 7.9 mg/kg 体重/日投与群でみられた「精子数の減少」については、11.9 mg/kg 体  
 重/日投与群では検査されていないため、その旨記載する。

・雄ラットの 7.9 mg/kg 体重/日投与群でみられた「受胎率の低下及び着床後胚損失率の増加」  
 については、4.6 及び 11.9 mg/kg 体重/日投与群では検査されていないため、その旨記載する。

20

⑥生殖毒性試験（ラット）（○○○）

Long-Evans ラット（雄、各群 10～11 匹）にアクリルアミド（0、15、30、60 ppm : 0、1.5、2.8、5.8 mg/kg 体重/日）を 80 日間飲水投与する試験が行われた（Smith et al. 1986）。各投与群で認められた毒性所見を表 23 に示す。

表 23 ラット生殖毒性試験

投与群 ppm (mg/kg 体重/日)	雄
60 (5.8)	交配を行った未投与の雌に着床前の胚損失率の増加
30 (2.8) 以上	交配を行った未投与の雌に着床後の胚損失率の増加
15 (1.5)	(毒性所見なし)

EPA (2010) は、Smith ら (1986) の試験から、ラットの雄の生殖毒性の NOAEL を 15 ppm (1.5 mg/kg 体重/日)、LOAEL を 30 ppm (2.8 mg/kg 体重/日) としている (EPA 2010)。

本専門調査会としては、本試験の雄の 2.8 mg/kg 体重/日投与群における交配した雌の着床前後の胚損失率の増加に基づき、NOAEL を 1.5 mg/kg 体重/日と判断した。

田中専門委員、広瀬専門参考人コメント

・特になし。

⑦2 世代生殖・発生毒性試験（マウス）（◎◎◎）

CD-1マウス（雌雄、各群20匹）にアクリルアミド（0、3、10、30 ppm : 0、0.81、3.19、7.22 mg/kg 体重/日）を7日間飲水投与する試験が行われた。その後、98日間交配のために雌雄（F0）を同居させ投与を継続し、その後雌マウスは分娩まで投与を継続した。得られたF1マウスを一腹の匹数を雌雄2匹ずつに選別し、親マウスと同量（0、3、10、30 ppm : 0、0.86、2.9、7.7 mg/kg 体重/日）の飲水投与を行った。生後74日目に雌のF1マウスを同腹でない雄マウスと交配させ、F2マウスへの影響が観察された。また、F0雄は投与98日目にアクリルアミド未投与の雌と交配させ、優性致死について調べられた。神経毒性を評価するために握力テストを行った。各投与群で認められた毒性所見を表24に示す。

F0の30 ppm投与群で、一腹当たりの生存児数が減少し、雄の30 ppm投与群で前肢及び後肢握力、雌の10 ppm以上投与群で前肢握力の低下がみられた。優性致死試験において、30 ppm投与群で早期胚吸収数、胎児死亡数及び総胚損失数の増加がみられ、生存胎児数の減少がみられた。F1の30 ppm投与群で、一腹当たりの生存児数及び体重の減少がみられ、雄の10 ppm以上投与群で前肢握力の低下がみられた（Chapin et al. 1995）。

1  
2

表 24 マウス 2 世代生殖・発生毒性試験

投与群ppm (mg/kg体重/日)	雄		雌	
	F0	F1	F0	F1
30 (F0:7.22、F1:7.7)	前肢及び後肢握力の低下  <優性致死試験> 早期胚吸収数、総胚損失数の増加、生存胎児数の減少	前立腺の絶対重量減少 —	一腹当たりの生存児数の減少	一腹当たりの生存児数の減少
10以上 (F0:3.19、F1:2.9)	(毒性所見なし)	前肢握力の低下	前肢握力の低下	腎臓/副腎絶対重量の減少、肝臓相対重量の増加 (毒性所見なし)
3 (F0:0.81、F1:0.86)		(毒性所見なし)		

3

4 EPA (2010) は、Chapin ら (1995) の試験から、マウスの生殖毒性の NOAEL  
5 を 10 ppm (3.19 mg/kg 体重/日)、LOAEL を 30 ppm (7.22 mg/kg 体重/日) とし  
6 ている (EPA 2010)。

7

8 本専門調査会としては、本試験の生殖発生毒性の NOAEL を、F0 雌雄マウスの  
9 3.19 mg/kg 体重/日以上投与群における前肢握力の低下に基づき、NOAEL を 0.81  
10 mg/kg 体重/日、F1 雄マウスの 2.9 mg/kg 体重/日以上投与群における前肢握力の低  
11 下に基づき 0.86 mg/kg 体重/日と判断した。

12

田中専門委員、広瀬専門参考人コメント

・F1 雄マウスの 7.22 mg/kg 体重/日投与群における「前立腺の絶対重量減少」、F1 雌マウスの 2.9 mg/kg 体重/日投与群における「腎臓/副腎絶対重量の減少、肝臓相対重量の増加」については、著者は本文のみにしか書いておらず説明できないので、毒性所見としない。本文にも記載しない。(体重で adjust された重量の変化が有意でないため、かなり微弱な変化を毒性と捉えている。)

13

14 ⑧2 世代生殖・発生毒性試験 (ラット) (◎◎◎)

15 F344ラット (F0、雌雄、各群30匹) におけるアクリルアミド (0、0.5、2.0、5.0  
16 mg/kg体重/日) の飲水投与試験が行われた。10週間の投与後に交配を行い、雌ラッ  
17 トは分娩後、授乳1週間後まで投与が継続された。得られたF1ラット (雌雄、各群  
18 30匹) にも親ラットと同量の飲水投与を行い、11週間後に交配させ、F2ラットへ  
19 の影響が観察された。また、F0雄は交配を終えて雌と離れた後も投与を継続し、64

1 日後に2日間あけてからアクリルアミド未投与の雌と交配させ、優性致死について  
 2 調べられた。各投与群で認められた毒性所見を表25に示す。0.5 mg/kg体重/日以上  
 3 投与群のF0雄に体重増加抑制がみられ、雌では交配前のF0で0.5 mg/kg体重/日以上  
 4 投与群、妊娠期のF1で2.0 mg/kg体重/日以上投与群、交配前のF1、妊娠期のF0、  
 5 授乳期のF0及びF1で5.0 mg/kg体重/日投与群に体重増加抑制がみられた。頭位傾斜  
 6 がF0雄の0.5及び5.0 mg/kg体重/日投与群、F1雄の5.0 mg/kg体重/日投与群にみら  
 7 れ、後肢開脚幅の増加がF0雄の0.5及び5.0 mg/kg体重/日投与群、F0雌の2.0 mg/kg  
 8 体重/日以上投与群でみられたが、継続的に観察されておらず、標準的な観察方法で  
 9 なかったため、毒性所見としなかった。 F0及びF1において、着床数及び一腹当た  
 10 りの出生時生存児数の減少、着床後胚損失率の増加が5.0 mg/kg体重/日投与群でみ  
 11 られた。授乳期の影響として、F1及びF2の5.0 mg/kg体重/日投与群で生後4日目ま  
 12 での生存率が減少した。5.0 mg/kg体重/日投与群のF1雄において、神経毒性とし  
 13 て軽度から中度の末梢神経軸索の断片化及び腫大がみられたが、F1雌では脊髄に変  
 14 化はみられなかった。優性致死試験において、5.0 mg/kg体重/日投与群で一腹当た  
 15 りの総着床数及び生存着床胚数 (live implants/litter) の減少、着床前後胚損失数  
 16 の増加がみられた (Tyl et al. 2000a)。

表 25 ラット 2 世代生殖・発生毒性試験

投与群 mg/kg体重/日	雄		雌	
	F0	F1、F2	F0	F1、F2
5.0	— ＜優性致死試験＞ 一腹当たりの総着床数の減少、着床前後胚損失率の増加、一腹当たりの生存着床胚数の減少、一腹当たりの非生存 (nonlive) 着床胚数の増加	軽度から中度の末梢神経軸索の断片化及び腫大 (F1)、 児動物の体重増加抑制 (F1)、 児動物の体重増加抑制 (F2) (一過性)	体重増加抑制 (妊娠期及び授乳期)、 一匹当たりの着床数減少、 着床後胚損失率の増加、 一腹当たりの生存児数の減少	体重増加抑制 (交配前及び授乳期) (F1)、 一匹当たりの着床数減少、 一腹当たりの生存児数の減少 (F1)、 生後4日目までの生存率の減少 (F1)、 生後4日目までの生存率減少 (F2)、 児動物の体重増加抑制 (F2) (一過性)
2.0以上	摂餌量減少	摂餌量の減少 (F1)	摂餌量減少	体重増加抑制 (妊娠期) (F1)、 飲水量減少 (F1)
0.5以上	体重増加抑制 (交配前)	(毒性所見なし)	体重増加抑制 (交配前)	(毒性所見なし)

19  
 20 これらの結果から、著者らは出生前優性致死の NOEL を 2.0 mg/kg 体重/日、体  
 21 重増加抑制及び神経毒性から成体ラットの全身毒性の NOEL を 0.5 mg/kg 体重/日  
 22 以上としている (Tyl et al. 2000a)。

23 本専門調査会としては、本試験の F0 の LOAEL を雌雄ラットの頭位傾斜及び後  
 24 肢開脚幅の増加、雌の体重増加抑制に基づき、0.5 mg/kg 体重/日、F1 雄ラットの

1 2.0 mg/kg 体重/日以上投与群における摂餌量減少及び F21 雌ラットの 5.0 mg/kg 体  
 2 重/日群における雄の頭位傾斜等、雌の体重増加抑制及び一腹当たりの生存児数の減  
 3 少等に基づき、生殖発生毒性の NOAEL を 2.00.5 mg/kg 体重/日と判断した。  
 4

田中専門委員、広瀬専門参考人コメント

・F1 雄ラットの 5.0mg/kg 体重/日投与群でみられた「頭位傾斜」については、継時的に観察されておらず、スタンダードな方法ではないため（定性的なため）、毒性所見として記載せず、本文に記載する。

田中専門委員コメント

・F0 の雌雄ラットの 0.5 mg/kg 体重/日以上投与群でみられたの「体重増加抑制」は、著者らの結論は「成体ラットの全身毒性の NOEL を 0.5 mg/kg 体重/日以上としている」ではなくて、「以下（ $\leq 0.5$  mg/kg/day）としている」になります。NOEL が 0.5 mg/kg/day と同じかそれよりも小さいのであれば 本調査会の結論の LOAEL が 0.5 mg/kg/day でも良いと考えます。また、原著の Fig.2 では雌雄（特に雄）の交配前投与期間で 0.5 mg/kg/day から明らかな体重増加抑制が認められます。この「体重増加抑制」は毒性と判断すべきと考えます。

広瀬専門参考人コメント

・F0 の雌雄ラットの 0.5 mg/kg 体重/日以上投与群でみられたの「体重増加抑制」については、反応率は小さいので、ほぼ NOEL レベルだと思われませんが、用量依存的に変化していること、Fig 2 では、体重も 42-77 日目まで有意に低いこと、体重変化は毒性としては無視できるものではないことから、記載上は LOAEL とした方が良いと思います。

5  
 6 ⑨発生毒性試験（マウス）(◎◎◎)

7 CD-1マウス（雌、各群30匹）にアクリルアミド（0、3、15、45 mg/kg体重/日）  
 8 を妊娠6～17日まで強制経口投与する試験が行われた（Field et al. 1990）。各投与  
 9 群で認められた毒性所見を表26に示す。

10  
 11 表 26 マウス発生毒性試験

投与群 mg/kg体重/日	雄	雌	
	F1	F0	F1
45	体重低値	体重増加抑制、妊娠子宮重量の減少、後肢開脚幅の増加	一腹当たりの平均胎児体重低値、過剰肋骨の発現頻度の増加
15以下	(毒性所見なし)	(毒性所見なし)	(毒性所見なし)

12



1 EPA (2010) は、Field ら (1990) の試験から、マウスの母体毒性 (体重増加抑  
2 制) の NOAEL を 15 mg/kg 体重/日、LOAEL を 45 mg/kg 体重/日とし、胎児の発  
3 達毒性の NOAEL を最高用量の 45 mg/kg 体重/日としている (EPA 2010) 。

4  
5 本専門調査会としては、本試験の F0 雌マウスの F0 の 45 mg/kg 体重/日投与群 に  
6 おける体重増加抑制及び後肢開脚幅の増加等に基づき、NOAEL を 15 mg/kg 体重/  
7 日、F1 雌マウスの F1 の LNOAEL を過剰肋骨の発現頻度の増加一腹当たりの平均  
8 胎児体重低値等に基づき、315 mg/kg 体重/日と判断した。

9  
田中専門委員、広瀬専門参考人コメント

・ F0 雌マウスの 45 mg/kg 体重/日投与群における「後肢開脚幅の増加」については、要約と考  
察で記載されているので Table に記載がなくても毒性所見とする。

・ F1 雌マウスの 45 mg/kg 体重/日投与群における「過剰肋骨の発現頻度」については、有意差  
はないが、用量依存的な増加はあると思われる。最高用量では、3-4 倍に頻度が増えているので、  
最高用量 45 mg/kg 体重/日は毒性所見とする。

・ F0 雌マウスの 15 mg/kg 体重/日投与群における「妊娠子宮重量の減少」については、吸収胚  
の増加に起因しており、毒性所見としない。

・ 45 mg/kg 体重/日投与群の「妊娠子宮重量の減少」は、毒性所見として採用すべき。15 mg/kg  
体重/日投与群の「妊娠子宮重量の減少」を毒性所見としなかったのは、偶発 (アクリルアミド  
の影響ではない) 的な吸収胚数の増加に起因した変化のためで、45 mg/kg 体重/日投与群のそれ  
は、毒性所見として捉えている一腹当たりの平均胎児体重低値に起因していると考えられるか  
ら。

10  
11 ⑩発生毒性試験 (ラット) (◎◎◎)

12 SDラット (雌、各群29~30匹) にアクリルアミド (0、2.5、7.5、15 mg/kg体重  
13 /日) を妊娠6~20日まで強制経口投与する試験が行われた。各投与群で認められた  
14 毒性所見を表27に示す。15 mg/kg体重/日投与群で母動物の体重増加抑制がみられ、  
15 雌の胎児の2.5 mg/kg体重/日以上で過剰肋骨の発現頻度の増加がみられたが有意差  
16 は認められず、奇形も認められなかったはみられなかった (Field et al. 1990) 。

17  
18 表 27 ラット発生毒性試験

投与群 mg/kg体重/日	雄	雌	
	F1	F0	F1

15	(毒性所見なし)	体重増加抑制	(毒性所見なし)
7.5以下		(毒性所見なし)	

EPA (2010) は、Field ら (1990) の試験から、ラットの母体毒性 (体重増加抑制) の NOAEL を 7.5 mg/kg 体重/日、LOAEL を 15 mg/kg 体重/日とし、胎児の発生毒性の NOAEL を最高用量の 15 mg/kg 体重/日としている (EPA 2010)。

本専門調査会としては、本試験の F0 雌ラットの F0 の 15 mg/kg 体重/日投与群 における体重の増加抑制に基づき、NOAEL を 7.5 mg/kg 体重/日、F1 雌雄の F1 の LNOAEL を過剰肋骨の発現頻度の増加に基づき、最高用量の 2.515 mg/kg 体重/日 と判断した。

田中専門委員、広瀬専門参考人コメント

・F1 雌ラットの 2.5 mg/kg 体重/日以上投与群でみられた「過剰肋骨の発現頻度の増加」については、Variant 全体としては用量相関性がありそうにもみえるが、個別にみると用量相関性ははっきりしないので毒性所見としない。

#### ⑪ ~~発生毒性試験 (ラット) (○○○) (△△△)~~

~~SD ラット (雌、各群 4 匹) にアクリルアミド (0、25、50、100 ppm : 0、3.72、7.89、14.56 mg/kg 体重/日) を妊娠 6 日目から分娩後 21 日目まで飲水投与する試験が行われた。アクリルアミドを投与した母動物から得られた児動物は生後 4 日目に大部分が雌雄各 4 匹になるよう一腹 8 匹に選別した。(Takahashi et al. 2009)。各投与群で認められた毒性所見を表 28 に示す。~~

表 28 ~~ラット発生毒性試験~~

投与群 ppm (mg/kg 体重/日)	雄		雌	
	F0	F1	F0	F1
<del>100 (14.56)</del>	<del>(毒性所見なし)</del>	精子形成遅延	歩行異常、体重減少、摂餌量及び飲水量の減少	<del>(毒性所見なし)</del>
<del>50 (7.89)</del>		(毒性所見なし)	<del>(毒性所見なし)</del>	
<del>25 (3.72)</del>				

本専門調査会としては、本試験の 14.56 mg/kg 体重/日群 における F0 雌の歩行異常等、F1 雄の精子形成遅延 に基づき、NOAEL を 7.89 mg/kg 体重/日 と判断した。

表 28 その他の生殖・発生毒性試験

試験系	投与方法	投与期間	投与量及び主な所見 (mg/kg 体重/日)	文献
-----	------	------	---------------------------	----

試験系	投与方法	投与期間	投与量及び主な所見 (mg/kg 体重/日)	文献
マウス C57Bl/6J 雄 16-22 匹/ 群	強制 経口	5 日間	25(雄)：肥満及び痩せマウスと交配させた受胎率、 着床数及び生存児率の低下、胚吸収率の増加 (いずれも肥満マウスで顕著)	Ghanayem ら 2010  △△△
マウス 雌 F0:20-40 匹/群	強制 経口 又は 混餌	妊娠 6 日～分 娩	○F0 25(雌)：肝臓、腎臓、心筋、骨端軟骨に異常、流産 率の増加 (強制経口) ○F1 25(雌)：新生児死亡率の増加、胎児及び新生児総数 の減少、頭殿長及び体重の低値、脊柱後弯症、 片側及び両側の前肢及び後肢の奇形、頸部短 縮、尾のねじれ、頭部、体幹及び頸部の皮膚出 血による表面上の斑点、軸性及び四肢の骨化の 遅延 (14 日目の胎児)、骨化中心の欠落 (混 餌)	El-Sayyad ら 2011a  △△×
ラット SD 雌雄 4-5 匹/群	腹腔 内	生後 2～ 21 日 (3 回/週)	50：歩行異常、体重低値、坐骨神経の軸索変性及 び直径 3µm 未満の有髄神経 (myelinated nerves) の増加	Takahashi ら 2009  △△△

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17

## (7) 発達神経毒性試験

### ①発達神経毒性試験 (ラット) (○○○) (○○○)

F344 ラットの雌にアクリルアミド (0, 0.1, 0.3, 1.0, 5.0 mg/kg 体重/日) を妊娠 6 日目から分娩まで強制経口投与する試験が行われた。生後 1 日目に、一腹当たりの雌雄を 4 匹ずつに分け、生後 1～21 日目に母動物と同じ用量を児動物に強制経口投与した。生後 22 日目に離乳させ、同腹同性の児動物をまとめて飼育し、強制経口投与と同じ用量で飲水投与する試験に変更し、85 日まで継続した。レバー押しの試験期間中は食物強化刺激<sup>1</sup> (固形飼料) を得る動機付けのために給餌の量を制限し、一腹当たり雌雄各 1 匹の児動物を用いて、約 6～12 週齢の児動物に強化刺激を得るレバー押しの累進比率スケジュールによる試験を行った。累進比率スケジュールを 14 セッション設け、約 6 週間で完了した (Garey and Paule 2007)。また、上述の試験と同様のプロトコールでレバー押しの増分反復獲得 (IRA: incremental repeated acquisition) 課題を 52 セッション設け、生後 36～240 日目まで行った (Garey and Paule 2010)。各投与群で認められた毒性所見を表 3029、304に示す。

<sup>1</sup> 強化刺激 (Reinforcer) : ある反応の自発に後続して起こる環境事象。たとえば、反応の直後に提示される餌や水 (提示に伴う環境事象の変化を含む)。

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28

表 29 ラット発達神経毒性試験

投与群 ppm (mg/kg 体重/日)	雄 F1	雌 F1
5.0	食物強化刺激の獲得数の減少及び反応率の低下	食物強化刺激の獲得数の減少及び反応率の低下
1.0 以下	(毒性所見なし)	(毒性所見なし)

(Garey and Paule 2007)

本専門調査会としては、本試験(Garey and Paule 2007)の F1 ラットの 5.0 mg/kg 体重/日投与群における食物強化刺激の獲得数の減少及び反応率の低下に基づき、NOAEL を 1.0 mg/kg 体重/日と判断した。

表 30 ラット発達神経毒性試験

投与群 ppm (mg/kg 体重/日)	雄 F1	雌 F1
5.0	課題完了率及び反応率の低下	課題完了率及び反応率の低下
1.0 以下	(毒性所見なし)	(毒性所見なし)

(Garey and Paule 2010)

本専門調査会としては、本試験(Garey and Paule 2010)の F1 ラットの 5.0 mg/kg 体重/日投与群における課題完了率及び反応率の低下に基づき、NOAEL を 1.0 mg/kg 体重/日と判断した。

田中専門委員、広瀬専門参考人コメント

・特になし。

②発達神経毒性試験 (ラット) (○○○) (○○○)

F344 ラットの雌 (88 匹) にアクリルアミド (0、0.5、1.0、2.5、5、10 mg/kg 体重/日) を妊娠 7 日目から分娩まで強制経口投与する試験が行われた。生後 1 日目に、一腹当たりの児動物を性比が同じになるよう最低 7 匹ずつに選別し、生後 1～22 日目まで児動物 (各群 5～10 匹) に母動物と同じ用量を強制経口投与し、児動物の行動に及ぼす影響について調べた (Garey et al. 2005)。

また、上述の試験結果を踏まえ、F344 ラット (雌、各群 48～58 匹) にアクリルアミド (0、0.1、0.3、1.0、5.0 mg/kg 体重/日) を妊娠 6 日目から分娩まで強制経口投与する試験が行われた。生後 1 日目に、一腹当たりの児動物を性比が同じになるよう最低 7 匹ずつに選別し、生後 1～21 日まで児動物に母動物と同じ用量を強制経口投与した (Ferguson et al. 2010)。各投与群で認められた毒性所見を表 312、323 に示す。

1

表 31 ラット発達神経毒性試験

投与群 mg/kg体重/日	雄		雌	
	F1	F0	F1	
10.0	耳介の開展遅延、背地走性 <sup>2</sup> の低下	(毒性所見なし)	耳介の開展遅延、背地走性の低下	
1.0以上	体重低値		体重低値	
0.5	(毒性所見なし)		(毒性所見なし)	

2

(Garey et al. 2005)

3

4

5

6

7

8

9

10

11

表 32 ラット発達神経毒性試験

投与群 mg/kg体重/日	雄		雌	
	F1	F0	F1	
5.0	体重低値、オープンフィールドでの活動性低下	(毒性所見なし)	体重低値、オープンフィールドでの活動性低下	
1.0以下	(毒性所見なし)		(毒性所見なし)	

12

(Ferguson et al. 2010)

13

14

15

16

17

18

田中専門委員、広瀬専門参考人コメント

・特になし。

19

20

## ③発達神経毒性（ラット）（○○◎）

21

22

23

SD ラット（雌、各群 12 匹）にアクリルアミド（0、5、10、15、20 mg/kg 体重/日）を妊娠 6 日目から分娩後 10 日目まで強制経口投与する試験が行われた。生後 0 日目に一腹の匹数を雌雄 6 匹ずつとした。また、一腹当たり雌雄各 1 匹を用いて

<sup>2</sup>背地走性（Negative Geotaxis）：動物を傾斜板上に頭を下に向けて置いたときに発現する上方に向き直る運動または上方に登る運動を評価する。

1 生後 13、17、21 及び 59 日目に神経行動学テストを行った (Wise et al. 1995)。  
 2 各投与群で認められた毒性所見を表 334 に示す。

3  
 4 表 33 ラット発達神経毒性試験

投与群 mg/kg 体重/日	雄	雌	
	F1	F0	F1
20	(聴覚試験及びオープンフィールド試験は行われていない)	後肢開脚幅の増加、一腹当たりの出生時生存児数減少、一腹当たりの児動物の生後 1~3 日間の死亡率増加	(聴覚試験及びオープンフィールド試験は行われていない)
15 以上	体重増加抑制 (離乳後)、聴覚驚愕反応の低下 (離乳後)	後肢開脚幅の増加、一腹当たりの児動物の生後 4~21 日間の死亡率増加	体重増加抑制 (離乳後)、オープンフィールドでの活性低下 (生後 21 日目) 及び聴覚驚愕反応の低下 (離乳後)
10 以上	体重増加抑制 (離乳前)	体重増加抑制	—
5 以上	(毒性所見なし)	(毒性所見なし)	体重増加抑制 (離乳前)

5 ※雌雄の体重増加抑制 (離乳後) は、20 mg/kg 体重/日では有意ではなかった。

6  
 7 これらの結果から、著者らは発達毒性の NOAEL を 5 mg/kg 体重/日、母体毒性  
 8 の NOAEL を 5 mg/kg 体重/日、発達神経毒性の NOAEL を 10 mg/kg 体重/日とし  
 9 ている (Wise et al. 1995)。

10 本専門調査会としては、本試験の F0 雌ラットの 10 mg/kg 体重/日以上投与群に  
 11 おける体重増加抑制に基づき、NOAEL を 5 mg/kg 体重/日、F1 雌ラットの LOAEL  
 12 を体重増加抑制 (離乳前) に基づき、LOAEL を 5 mg/kg 体重/日と判断した。

13 田中専門委員、広瀬専門参考人コメント

・特になし。

14  
 15 ④発達神経毒性試験 (ラット) (○○△) (○○◎)-(△△△)-

16 SD ラット (雌、各群 3 匹) にアクリルアミド (0、50、100、200 ppm : 0、9.9、  
 17 16.7、22.2 mg/kg 体重/日) を妊娠 10 日目から分娩後 21 日目まで飲水投与する試  
 18 験が行われた。生後 3 日目に一腹当たりの児動物を 8 匹 (雌雄各 4 匹) に選別した  
 19 (Takahashi et al. 2008)。

20 また、上述の試験を踏まえ、SD ラット (雌、各群 4 匹) にアクリルアミド (0、  
 21 25、50、100 mg/L : 0、3.72、7.89、14.56 mg/kg 体重/日) を妊娠 6 日目から分娩  
 22 後 21 日目まで飲水投与する試験が行われた。生後 4 日目に大部分が雌雄各 4 匹に  
 23 なるよう一腹当たりの女児動物を 8 匹に選別した (Takahashi et al. 2009)。各投  
 24 与群で認められた毒性所見を表 345、356 に示す。

1  
2

表 34 ラット発達神経毒性試験

投与群 ppm (mg/kg 体重/日)	雄	雌	
	F1	F0	F1
200 (22.2)	小脳での外顆粒細胞層残存例の増加、坐骨神経の密度及び直径 3µm 未満の有髓神経の増加	飲水量の減少	肝臓及び脾臓の髄外造血の減少、小脳での外顆粒細胞層残存例の増加
100 (16.7) 以上	肝臓及び脾臓の髄外造血の減少、精子形成遅延	体重増加抑制、坐骨神経の軸索変性及び直径 3µm 未満の有髓神経の増加、小脳分子層に点状のシナプトフィジン免疫反応構造の増加	体重低値
50 (9.9) 以上	体重低値	三叉神経での神経節細胞の中心性染色質融解	(毒性所見なし)

(Takahashi et al. 2008)

3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10

本専門調査会としては、本試験 (Takahashi et al. 2008) の F0 雌ラットの三叉神経での神経節細胞の中心性染色質融解に基づき、NLOAEL を 9.9 mg/kg 体重/日、F1 雄ラットの LOAEL を雄ラットの体重減少低値に基づき、9.9 mg/kg 体重/日、F1 雌ラットの NOAEL を 16.7 mg/kg 体重/日群における体重減少低値に基づき、NOAEL を 9.9 mg/kg 体重/日と判断した。

田中専門委員、広瀬専門参考人コメント

・ F0 雌ラットの 22.2 mg/kg 体重/日投与群における「体重増加抑制」については、有意差はないものの、明確な傾向が認められるので記載する。

・ F0 雌ラットの 22.2 mg/kg 体重/日投与群における「坐骨神経の軸索変性及び直径 3µm 未満の有髓神経の増加、小脳分子層に点状のシナプトフィジン免疫反応構造の増加」については、有意差はないものの、原著の Fig は 200 ppm の病理写真を示し、本文に「100 ppm からみられた」と記載があるので、同じ所見を 200 ppm に記載する。

11  
12

表 35 ラット発達神経毒性試験

投与群 ppm (mg/kg 体重/日)	雄	雌	
	F1	F0	F1

100 (14.56)	体重低値	歩行異常、坐骨神経の軸索変性及び直径 3μm 未満の有髄神経の増加、小脳分子層に点状のシナプトフィジン免疫反応構造の増加	体重低値
50(7.89)以上	(毒性所見なし)	三叉神経での神経節細胞の中心性染色質溶解	(毒性所見なし)
20 (3.72)		(毒性所見なし)	

※7.89 mg/kg 体重/日以下では坐骨神経及び小脳分子層での形態学的検査は行われていない。

(Takahashi et al. 2009)

本専門調査会としては、本試験 (Takahashi et al. 2009) の F0 の NOAEL はを、F0 雌ラットの 7.89 mg/kg 体重/日以上投与群における坐骨神経の軸索変性等三叉神経での神経節細胞の中心性染色質融解に基づき、3.72 mg/kg 体重/日、F1 雌雄ラットの 14.56 mg/kg 体重/日投与群における体重減少低値に基づき、NOAEL を 7.89 mg/kg 体重/日と判断した。

田中専門委員、広瀬専門参考人コメント

・ F0 雌ラットの 14.56 mg/kg 体重/日投与群でみられた「坐骨神経の軸索変性及び直径 3μm 未満の有髄神経の増加、小脳分子層に点状のシナプトフィジン免疫反応構造の増加」については、7.89 mg/kg 体重/日以下では検査されていないことを表中に注釈を入れる。

⑤発達神経毒性試験 (ラット) (Δ○◎) P、~~(△△△)~~

SD ラット (雌、各群 6 匹) に、アクリルアミド (0、4、20、100 ppm) を妊娠 10 日目から分娩後 21 日目に児動物が離乳するまで飲水投与する試験が行われた。生後 4 日目に一腹当たりの児動物を雄 8 匹 (足りない場合には雌も) に選別した。生後 21 日目及び 77 日目に雄の児動物 (各群 10~12 匹) を用いて免疫組織化学的検査を行った。(Ogawa B et al. 2012)。各投与群で認められた毒性所見を表 367 に示す。

表 36 ラット発達神経毒性試験

飲水投与群 ppm	雌	雄
	F0	F1
100	(毒性所見なし)	体重及び脳の絶対重量の減少、海馬の歯状回門で reelin 陽性細胞と NeuN 陽性細胞の密度が増加 (生後 21 日)、顆粒細胞層下帯で doublecortin 及び Dpysl3 陽性細胞が減少 (生後 21 日)
20 以上		NeuN 陽性細胞の密度が増加 (生後 77 日目)、顆粒細胞層下帯で



		PCNA 陽性増殖細胞が減少（生後 21 日）
4		（毒性所見なし）

本専門調査会としては、本試験の F1 雄の 20 ppm/mg/kg 体重/日以上投与群における NeuN 陽性細胞の密度の増加等に基づき、NOAEL を 4 mg/kg 体重/日 ppm と判断した。

田中専門委員、広瀬専門参考人コメント

・特になし。

### ⑥発達神経毒性試験（ラット）（○○○）、—(△△△)—

SD ラット（雌、各群 4 匹）にアクリルアミド（0、25、50、100 ppm : 0、3.72、7.89、14.56 mg/kg 体重/日）を妊娠 6 日から分娩後 21 日に児動物が離乳するまで飲水投与する試験が行われた。生後 3 日目に一腹の匹数を 8 匹とし、大部分が雌雄各 4 匹になるように選別した（Ogawa B et al. 2011）。各投与群で認められた毒性所見を表 378 に示す。

表 37 ラット発達神経毒性試験

投与群 ppm (mg/kg 体重/日)	雄	雌	
	F1	F0	F1
100 (14.56)	体重低値	歩行障害	体重低値、海馬の歯状回門で reelin 陽性細胞の密度の増加、顆粒細胞層下帯でアポトーシス小体の減少
50(7.89)以上	海馬の歯状回門で reelin 陽性細胞の密度の増加、glutamic acid decarboxylase 67 陽性細胞の密度の増加	（毒性所見なし）	（毒性所見なし）
25 (3.72) 以上	PCNA 陽性増殖細胞の減少		

本専門調査会としては、本試験の F0 雌ラットの 14.56 mg/kg 体重/日投与群における体重増加抑制及び歩行障害等に基づき、NOAEL を 7.89 mg/kg 体重/日、F1 雄ラットの LOAEL を calbindin-D-28 陽性細胞の増加及び PCNA 陽性増殖細胞の減少に基づき、LOAEL を 3.72 mg/kg 体重/日、F1 雌ラットの 14.56 mg/kg 体重/日群における体重低値及び reelin 陽性細胞密度の増加等及び体重減少に基づき、NOAEL を 7.89 mg/kg 体重/日と判断した。

1

田中専門委員、広瀬専門参考人コメント

・特になし。

2

3

表 38 その他の発達神経毒性試験

試験系	投与方法	投与期間	投与量及び主な所見 (mg/kg 体重/日)	文献
ラット Albino F0 : 雌 F1 : 雌雄 F1 : 6 匹/ 群	強制 経口	妊娠 7 日～分 娩(出生 前) 妊娠 7 日～分 娩後 28 日(周産 期)	○F0 10(雌) : 運動失調、後肢開脚幅の増加、後肢脆弱、 後肢麻痺 ○F1 10(雌雄) : 栄養失調(周産期)、体重増加抑制、毛 生、耳介の開展及び開眼の遅延、小脳でのチオ バルビツール酸-反応性物質の増加及び酸化ス トレスの増加に伴う還元型グルタチオン (GSH)、総チオール、SOD 及びペルオキシ ダーゼ活性の減少、顆粒細胞層増殖の遅延、細 胞移動及び細胞分化の遅延及びプルキンエ細 胞消失(出生前、周産期)、プルキンエ細胞の 微小空胞化及び細胞消失(周産期)	Allam ら 2011  △△△
ラット Albino F0 : 雌 F1 : 雌雄 F0 : 20-40 匹/群	強制 経口 又は 混餌	妊娠 6 日～分 娩後 4 週間	○F1 30(雌) : 体重増加抑制、脳重量減少、小脳皮質表面 の未熟な襞の減少、小脳の内及び外顆粒細胞層 の崩壊による組織構造の変化、核融解又は核濃 縮を伴うプルキンエ細胞数の減少、内顆粒細胞 層崩壊(混餌で顕著)、プルキンエ細胞でのヘ テロクロマチンの凝集を伴う核の萎縮、細胞小 器官での構造及び分布の異常、粗面小胞体の崩 壊、ポリリボゾームの正常配列の欠如、ミトコ ンドリアの膨張及び内部構造の消失、ゴルジ装 置の伸張及び拡大、腓腹筋での筋原線維の変性 (混餌で顕著)	El-Sayyad ら 2011b  △△△
ラット SD 雌雄 4-5 匹/群	腹腔 内	生後 2～ 21 日(3 回/週)	50(雌雄) : 歩行異常、体重低値、坐骨神経の軸索変 性及び直径 3 μm 未満の有髓神経( <u>myelinated nerves</u> )の増加	Takahashi ら 2009  △△△
ラット SD 雌雄 12 匹/群	腹腔 内	生後 4～ 21 日(3 回/週)	50(雌雄) : 体重及び脳の絶対重量の減少、海馬 の歯状回門で reelin 陽性細胞と NeuN 陽性細 胞の密度が増加(生後 21 日)、NeuN 陽性細 胞の密度が増加(生後 77 日)、顆粒細胞層下 帯で PCNA 陽性増殖細胞が減少(生後 21 日)	Ogawa ら 2012  △△△

試験系	投与方法	投与期間	投与量及び主な所見 (mg/kg 体重/日)	文献
ラット SD 雄4匹、雌 5匹	腹腔 内	生後2～ 21日(3 回/週)	50 (7.89) : 雌雄：歩行異常、体重低値 雄：glutamic acid decarboxylase 67 陽性細胞の密度の増加 雌：海馬の歯状回門で reelin 陽性細胞の密度の増加、顆粒細胞層下帯でアポトーシス小体の減少	Ogawa ら 2011  △△△
ラット Wistar outbred 雄 18匹/群	強制 経口	生後21 ～46日	30(雄)：体重増加抑制、後肢開脚幅の増加、後肢握力の低下、自発運動の低下、Mylpf 遺伝子、オピオイド受容体遺伝子 Oprk 1、核受容体遺伝子 Nr4a2 発現抑制	Seale ら 2012  △△△

1