

急性・亜急性試験評価書(案)

2. 実験動物等における影響

(1) 急性毒性

ラットでは、経口半数致死量 (LD₅₀) は 150~203 mg/kg と報告されている (McCollister et al. 1964、Fullerton and Barnes 1966、Tilson and Cabe 1979)。

雄ラットにアクリルアミド 200 mg/kg を単回強制経口投与する試験を実施したところ、投与後 24 時間までに 3/10 例、168 時間までに 8/10 例が死亡した。生き残ったラットに急性症状として後肢 (協調) 運動機能障害がみられたが、7 日後には完全に回復したと報告されている (Tilson and Cabe 1979)。

マウスでの経口 LD₅₀ は 107 mg/kg であり、急性症状として神経障害 (後肢の脆弱及び運動失調) がみられたと報告されている (Hashimoto et al. 1981)。

ウサギでの経口 LD₅₀ は 150~180 mg/kg であったと報告されている (McCollister et al. 1964)。

(2) 亜急性毒性試験

①アクリルアミド

a. 13 週間亜急性毒性試験 (マウス、飲水投与) (◎◎◎)

B6C3F1 マウス (雌雄、各群 8 匹) におけるアクリルアミド (0、0.14、0.35、0.70、1.41、3.52 mmol/L (雄: 0、3.2、6.9、13.3、32.8、70.0 mg/kg 体重/日、雌: 0、3.5、7.8、16.4、31.4、83.1 mg/kg 体重/日)) の 13 週間飲水投与試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表 1 に示す。

雄の ~~6.9~~13.3 mg/kg 体重/日を除く全以上投与群及び雌の 83.1 mg/kg 体重/日投与群で体重増加抑制低値がみられた。雄の 70 mg/kg 体重/日及び雌の 83.1 mg/kg 体重/日投与群で脳の絶対重量の減少、~~雄の 32.8 mg/kg 体重/日投与群で~~ 肝臓の相対重量の増加がみられた。

雄の 70 mg/kg 体重/日投与群及び雌の 83.1 mg/kg 体重/日投与群に後肢麻痺、末梢神経軸索変性及び坐骨神経及び腰髄軸索変性 (側索) での神経根神経症がみられ、さらに雌に骨格筋萎縮がみられた。この神経根神経症は軸索の腫大、萎縮及びミエリン鞘の拡張及び空胞化を伴う神経線維の変性を特徴としており、重症度は最小から中度であった。雄の 70 mg/kg 体重/日及び雌の 83.1 mg/kg 体重/日投与群では膀胱の拡張を併発していた。雌の 83.1 mg/kg 体重/日投与群の 8 例中 6/8 例が発情休止期で、卵巣における種々の発達段階の黄体の欠如あるいは 又は 排卵後の黄体退縮がみられた。雄の雄の 70 mg/kg 体重/日投与群では、精巣における精上皮細胞の脱落がみられた (NTP 2012)。

表 1 マウス13週間亜急性毒性試験

投与群 mmol/L (mg/kg 体重/日)	雄	雌
3.52 (雄 70.0、雌 83.1)	脳絶対重量減少、後肢麻痺、膀胱	体重低値、脳絶対重量減少、膀胱の

	の拡張、末梢神経軸索変性、腰髄軸索変性、精巣精上皮細胞の脱落	拡張、後肢麻痺、末梢神経軸索変性、腰髄軸索変性、骨格筋萎縮、卵巣の発情休止期（卵巣の黄体欠如）
1.41 以下 (雄 32.8、雌 31.4)	—	(毒性所見なし)
0.70 以上 (雄 13.3、雌 16.4)	体重低値	
0.35 以下 (雄 6.9、雌 7.8)	(毒性所見なし)	

1 ※雌雄の 1.41 mmol/L 以下においては「膀胱の拡張」に関する検査は実施されていない。

2

3 本専門調査会としては、本試験の NOAEL を雄マウスの LNOAEL を 13.3
4 mg/kg 体重/日以上投与群における体重低値増加抑制に基づき、~~13.36.9 mg/kg 体~~
5 ~~重/日、雌の 83.1 mg/kg 体重/日における体重増加抑制及び神経毒性等に基づき、~~
6 NOAEL を 31.4 mg/kg 体重/日 と判断した。

7

渋谷専門委員、野原専門委員コメント

・雄マウスの 70.0 mg/kg 体重/日投与群及び雌マウスの 83.1 mg/kg 体重/日投与群における脳絶対重量減少については、脳の重量は通常変わらないので、相対重量について記載がなくても毒性所見とする。

・有意差検定が不明な所見は Fisher 検定を実施し、有意差のあった所見は表に記載する。有意差がなくても、重要と思われる所見は本文に記載する。

・3.52 mmol/L 投与群における「軸索腫大/萎縮を伴うミエリン鞘の拡張及び空胞化を伴う神経線維の変性を特徴とする坐骨神経及び腰髄での神経根神経症」の記載を、原著の Table に合わせて「末梢神経軸索変性、腰髄軸索変性、骨格筋萎縮」とする。雄の骨格筋萎縮は Fisher 検定で有意ではなかったため記載しない (3/8 例)。

・雌マウスの 83.1 mg/kg 体重/日投与群における「膀胱の拡張」については、本文 (5/8 例) と Table (4/8 例) で違いがあるが、Table の値で行った Fisher 検定で有意であったため記載する。また、雌雄の 1.41 mmol/L 群以下では検査されていないのでその旨を脚注に記載する。

・雄マウスの 32.8 mg/kg 体重/日投与群における「肝臓の絶対及び相対重量の増加」について、70.0 mg/kg 体重/日では有意ではなく用量反応性が見いだせないため記載しない。

8

9 b. 13 週間亜急性毒性試験 (マウス、混餌投与) (◎◎◎)

10 B6C3F1 マウス (雌雄、各群 8 匹) におけるアクリルアミド (0、18.5、37、
11 74、185、370 mg/kg 飼料 (雄 : 0、3.3、6.6、12.0、32.1、59.4 mg/kg 体重/日、

雌：0、3.7、7.5、13.9、35.1、64.0 mg/kg 体重/日)) の13週間混餌投与試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表2に示す。

雄では、185 mg/kg 飼料投与群で20日目に、370 mg/kg 飼料投与群で61日目にそれぞれ1匹ずつ死亡がみられた。雌雄ともに370 mg/kg 飼料投与群で体重増加抑制及び最終体重低値、脳及び肝臓の絶対重量の減少がみられた。

370 mg/kg 飼料投与群の全てのマウスに後肢麻痺がみられた。~~370 mg/kg 飼料投与群の雌雄及び180 mg/kg 飼料投与群の雌1例に末梢神経軸索変性及び骨格筋萎縮坐骨神経の神経根神経症がみられた。この神経根神経症は軸索の腫大、萎縮及びミエリン鞘の拡張及び空胞化を伴う神経線維の変性を特徴としており、重症度は軽微から中等度であった。370 mg/kg 飼料投与群では膀胱の拡張を併発していた。370 mg/kg 飼料投与群において、雌では全例の卵巣が発情休止期を呈し、種々の発達段階の黄体の欠如、排卵後の黄体退縮がみられた。雄では精巣の精上皮細胞の脱落が全例にみられ、及び精巣上体の精子減少 (Hypospermia) が7例中33/7例にみられた (NTP 2012)。~~

表2 マウス13週間亜急性毒性試験

投与群 mg/kg (mg/kg 体重/日)	雄	雌
370 (雄 59.4、雌 64.0)	体重増加抑制及び最終体重低値、脳及び肝臓絶対重量減少、後肢麻痺、膀胱の拡張、末梢神経軸索変性、骨格筋萎縮、精巣精上皮細胞の脱落	体重増加抑制及び最終体重低値、脳及び肝臓絶対重量減少、後肢麻痺、膀胱の拡張、末梢神経軸索変性、骨格筋萎縮、卵巣の発情休止期 (卵巣の黄体欠如)
185 以下 (雄 32.1、雌 35.1)	(毒性所見なし)	(毒性所見なし)

※雌の 35.1 mg/kg 体重/日以下においては「膀胱の拡張」に関する検査は実施されていない。

本専門調査会としては、本試験の NOAEL はを、雄マウスの ~~32.1 mg/kg 体重/日~~ における死亡発現に基づき、~~12.0 mg/kg 体重/日~~、雌の ~~59.4~~ ~~64.0 mg/kg 体重/日~~ 投与群における体重増加抑制、神経及び卵巣毒性等に基づき、~~32.1~~ ~~35.1 mg/kg 体重/日~~ と判断した。

渋谷専門委員、野原専門委員コメント

・雄マウスの 59.4 及び 32.1 mg/kg 体重/日投与群における死亡発現については、それぞれ 1/8 例のみで Fisher 検定の結果、有意でないため表に記載しない。

・雄マウスの 59.4 mg/kg 体重/日投与群及び雌マウスにおける 64.0 mg/kg 体重/日投与群における体重増加抑制については、上述の飲水投与試験では体重低値に修正したが、混餌投与では、原著に「significant decreases in body weight gain in both sexes.」と記載されているため、

体重増加抑制のままとし、最終体重低値と併記した。

・雄マウスの 59.4 mg/kg 体重/日投与群及び雌マウスの 64.0 mg/kg 体重/日投与群における「脳及び肝臓絶対重量減少」については、原著では、脳の相対重量は記載がないが、絶対重量だけでも毒性所見とする。肝臓の相対重量は有意ではないが、肝重量の低値は絶対値だけでも有意であれば毒性所見とする。

・370 mg/kg 投与群における「軸索腫大/萎縮、ミエリン鞘の拡張及び空胞化を伴う神経線維の変性を特徴とする坐骨神経及び腰髄での神経根神経症」の記載を原著の Table に合わせて「末梢神経軸索変性、腰髄軸索変性、骨格筋萎縮」とする。雌雄の腰髄軸索変性は Fisher 検定で有意でなかったため記載しない (2/7 例) (0/8 例)。

・雄マウスの 59.4 mg/kg 体重/日投与群における「精巢上体での精子減少」については、Fisher 検定で有意ではなかったが、精巢は標的臓器なので本文に記載する (3/7 例)。

・雌マウスの 64.0 mg/kg 体重/日投与群における「膀胱の拡張」については、35.1mg/kg 体重/日以下では検査されていないので、その旨脚注に記載する。

c. 14 日間亜急性毒性試験 (ラット、飲水投与) (△○○)

F344 ラット (雄、各群 10 匹) におけるアクリルアミド (0、2.5、10、50 mg/kg 体重/日) の 14 日間飲水投与試験が行われた (Camacho et al. 2012)。各投与群で認められた毒性所見を表 3 に示す。

表3 ラット14日間亜急性毒性試験

投与群 mg/kg 体重/日	雄
50	卵胞刺激ホルモン、プロゲステロンの減少、精巣重量の減少、ライディッヒ細胞の小型化、精巣精上皮細胞の枯渇及び剥離、精子細胞でのアポトーシス、精巣上体における剥離生殖細胞の出現
10 以上	黄体形成ホルモンの増加、テストステロンの減少
2.5	(毒性所見なし)

本専門調査会としては、本試験の NOAEL を雄ラットの NOAEL を 10.0 mg/kg 体重/日 以上投与群 における血清ホルモンへの影響に基づき、NOAEL を 2.5 mg/kg 体重/日と判断した。

渋谷専門委員、野原専門委員コメント

・雄ラットの 50 mg/kg 体重/日投与群における「精巢精上皮細胞の枯渇及び剥離、精子遺残、精子細胞でのアポトーシス、精巢上体における剥離生殖細胞の出現」については、有意差検定不明であるが、Fisher 検定の結果、精巢精上皮細胞の枯渇及び剥離、精子細胞でのアポトーシス、精巢上体における剥離生殖細胞の出現は有意であったため毒性所見とする。精子遺残は用量反応性がみられなかったため記載しない。

Table.1

AA Dose (mg/kg bw/d)	0	2.5	10	50
Retention, spermatid	2/10	9/10	6/10	9/10

d. 4 週間亜急性毒性試験（幼若ラット、飲水投与）（〇〇〇）

SDラット（雄、各群10匹、3及び7週齢）におけるアクリルアミド（0、50、100、200 ppm（3週齢：0、8.27、15.73、26.37 mg/kg体重/日、7週齢：0、6.26、12.63、19.07 mg/kg体重/日））の4週間飲水投与試験が行われた（Takahashi et al. 2011）。各投与群で認められた毒性所見を表4に示す。

表4 ラット4週間亜急性毒性試験

投与群 ppm (mg/kg 体重/日)	雄	
	3 週齢	7 週齢
200 (3 週齢 26.37、 7 週齢 19.07)	摂餌量及び飲水量減少、 精巢及び精巢上体絶対重量減少、 小脳分子層での点状のシナプトフィジン免疫反応構造の増加、 精巢毒性（多核巨細胞増加、精子細胞変性、 <u>球状円形</u> 精細胞の欠損又は減少）、 肝臓 GST 活性増加	飲水量減少、 精巢上体絶対重量減少、 小脳分子層での点状のシナプトフィジン免疫反応構造の増加
100 以上 (15.73、12.63)	体重増加抑制、脳絶対重量減少、歩行異常、 三叉神経中心性染色質融解、坐骨神経軸索変性、 精巢毒性（精細管への影響）	歩行異常、 三叉神経中心性染色質融解、坐骨神経軸索変性、 精巢毒性（精細管への影響、精上皮細胞剥離）
50 以上 (8.27、6.26)	精巢毒性（伸長精細胞の欠損又は減少、 精細管萎縮）	（毒性所見なし）

神経毒性に対する感受性については幼若動物と成熟動物に明らかな差はみられなかったが、精巢毒性については幼若動物が高感受性であった。

本専門調査会としては、本試験の NLOEL を、3 週齢の雄ラットの 15.73 mg/kg 体重/日群における体重増加抑制及び神経毒性、精巢毒性等に基づき、8.27 mg/kg 体重/日、雌の 12.63 mg/kg 体重/日における歩行異常及び神経毒性に基づき、6.26 mg/kg 体重/日と判断した。

渋谷専門委員、野原専門委員コメント

・雄ラット、3週齢 26.37 mg/kg 体重/日投与群における「脳絶対重量減少及び脳相対重量増加」については、絶対重量と相対重量で逆の影響がみられているが、相対重量の変化は体重減少の結果と考えられるため、絶対重量のみ毒性所見として記載し、相対重量は記載しない。

・雄ラット、3週齢 15.73 mg/kg 体重/日投与群における「脳絶対重量減少」については、相対重量の有意差はないが、毒性所見として記載する。

・雄ラット、3週齢 26.37 mg/kg 体重/日投与群における「精巣及び精巣上体絶対重量減少」及び7週齢 19.07 mg/kg 体重/日投与群の「精巣上体絶対重量減少」については、原著の Table では相対重量は有意差はないが、体重が減少しているので問題は無く、毒性所見として記載する。また、3週齢 50 ppm 投与群でみられた「精巣上体絶対重量減少」は用量反応性がないため記載しない。

Table.2 Young (3週齢)

ppm	0	50	100	200
Body weight (g)	287.4 ± 24.6a	273.5 ± 15.7	263.7 ± 14.4*	210.4 ± 24.3**
Brain (g)	1.97 ± 0.05	1.94 ± 0.09	1.83 ± 0.09*	1.66 ± 0.04**
(g%)	0.69 ± 0.06	0.71 ± 0.05	0.69 ± 0.03	0.80 ± 0.08**
Testes (g)	2.57 ± 0.15	2.44 ± 0.22	2.39 ± 0.19	1.87 ± 0.36**
(g%)	0.90 ± 0.07	0.90 ± 0.09	0.91 ± 0.07	0.89 ± 0.12
Epididymides (g)	0.40 ± 0.04	0.35 ± 0.02**	0.37 ± 0.04	0.30 ± 0.02**
(g%)	0.14 ± 0.02	0.13 ± 0.01	0.14 ± 0.02	0.15 ± 0.02

・3週齢 100ppm 投与群における「坐骨神経密度の増加」については、用量反応性がないので記載しない。

Table.3 Young (3週齢) Sciatic nerve (distal portion)

ppm	0	50	100	200
No. of animals examined	10	10	10	10
Density (/100 µm ²)	2.56 ± 0.32	2.73 ± 0.17	2.92 ± 0.25**	2.42 ± 0.25

・雄ラット、3週齢 26.37 mg/kg 体重/日及び7週齢 19.07 mg/kg 体重/日投与群における「神経毒性」の記載を、原著の Table に合わせて「三叉神経中心性色質融解、坐骨神経軸索変性、小脳皮質の点状のシナプトフィジン免疫反応構造の増加」にする。

・雄ラット、3週齢 200、100 及び 50 ppm 投与群について、原著の Table では「伸長精細胞

の欠損又は減少、精細管委縮」が 50 ppm から有意差があり、本文には 100 ppm 以上でみられたと記載があるが、50 ppm から毒性所見とする。7 週齢 200 及び 100ppm 投与群について、「精細管への影響、精上皮細胞剥離」が有意であり、本文には記載がないが 100 ppm 以上を毒性所見とする。また、3 週齢の 100ppm でみられた「exfoliation of germ sells」は用量反応性がないので記載しない。

Table.4

ppm	0	50	100	200
Young(3週齢)				
Affected tubules	3.51 ± 1.68c	9.03 ± 18.81	16.93 ± 12.23*	66.59 ± 26.96**
Exfoliation of germ cells	3.39 ± 1.61	3.93 ± 3.07	9.80 ± 6.22*	10.44 ± 9.87
Multinucleated giant cells	0.02 ± 0.06	0.07 ± 0.14	0.57 ± 0.71	1.67 ± 3.06**
Degeneration of spermatids	0.10 ± 0.18	0.84 ± 2.54	3.95 ± 6.47	20.90 ± 13.37**
Loss of or decrease in elongated spermatids	0 ± 0	4.99 ± 15.74*	5.62 ± 8.87**	20.43 ± 14.61**
Loss of or decrease in round spermatids	0.02 ± 0.06	0 ± 0	1.51 ± 3.19	12.68 ± 10.97**
Atrophic tubules	0 ± 0	0.17 ± 0.54**	0.12 ± 0.38**	24.03 ± 30.83**
Sertoli cell vacuolation	0.60 ± 0.57	1.07 ± 0.55	0.99 ± 0.62	1.06 ± 0.92
Adult(7週齢)				
Affected tubulesb	0.47 ± 0.30	0.58 ± 0.23	1.17 ± 0.60*	1.53 ± 0.67**
Exfoliation of germ cells	0.45 ± 0.30	0.56 ± 0.23	1.17 ± 0.60*	1.46 ± 0.71**
Multinucleated giant cells	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0.07 ± 0.17
Degeneration of spermatids	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Loss of or decrease in elongated spermatids	0.02 ± 0.06	0.02 ± 0.07	0 ± 0	0 ± 0
Loss of or decrease in round spermatids	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Atrophic tubulesd	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Sertoli cell vacuolation	0.62 ± 0.45	0.53 ± 0.50	0.72 ± 0.43	0.81 ± 0.53

1
2
3
4
5
6
7
8
9

e. 12 週間亜急性毒性試験（幼若ラット、飲水投与）（○○○）

F344 ラットにアクリルアミド（0、10、20、40 ppm（雄：0、1.0、2.1、4.4 mg/kg 体重/日、雌：0、1.2、2.5、4.9 mg/kg 体重/日））を分娩直後から哺育期間中（3 週間）母動物（各群 3 匹）に飲水投与し、離乳後の児動物（各群 24 匹：雄 7～13 匹、雌 11～17 匹）に同じ濃度で 9 週間飲水投与を行い、児動物への影響を観察した（Takami et al. 2012）。各投与群で認められた毒性所見を表 5 に示す。

表 5 ラット 12 週間亜急性毒性試験

投与群 ppm (mg/kg 体重/日)	雄	雌
40 (雄 4.4、雌 4.9)	精巣精上皮の変性及び壊死、精巣上皮の剥離精上皮細胞の出現、心筋炎	体重増加抑制、脳絶対重量減少、甲状腺及び脾臓相対重量増加、腎尿細管での石灰化 (calcification) 減少
雄 20 以下、雌 20 以上 (雄 2.1、雌 2.5)	(毒性所見なし)	心臓絶対重量減少
10 (雄 1.0、雌 1.2)		(毒性所見なし)

10

1 本実験条件下において幼若動物にみられた毒性について、他の成熟ラットを用
 2 いた毒性試験の結果と明らかな違いはみられなかった。

3
 4 本専門調査会としては、本試験の NOAEL はを、雄の 4.4 mg/kg 体重/日群にお
 5 ける精巣の精上皮の変性・壊死及び精巣上体の剥離精上皮細胞の出現に基づき、
 6 2.1 mg/kg 体重/日、雌ラットの 2.5 mg/kg 体重/日 投与群における 心臓絶対重量減
 7 少 体重増加抑制に基づき 1.2 mg/kg 体重/日と判断した。

渋谷専門委員、野原専門委員コメント

- ・雌ラット 40ppm 投与群における「脳及び心臓絶対重量」、20ppm 投与群における「心臓絶対重量減少」については、相対重量では有意差はないが、毒性所見とする。
- ・雌ラット 40ppm 投与群における「甲状腺及び脾臓相対重量増加」については、絶対重量は有意差はないが、毒性所見とする。
- ・雌ラット 20 ppm 投与群における「体重増加抑制」は一過性であり、毒性所見とはしない。
- ・雌ラット 10ppm 投与群における「甲状腺絶対及び相対重量減少」については、用量反応性がないので記載しない。

Table2

ppm	0 (control)	10	20	40
No. of animals	17	12	11	12
Final body weights (g)	170.7 ± 8.1	168.9 ± 6.2	164.7 ± 5.1	166.3 ± 6.6
Absolute organ weights (g)				
Brain	1.78 ± 0.04	1.76 ± 0.02	1.78 ± 0.02	1.73 ± 0.02**
Thyroids	0.012 ± 0.002	0.010 ± 0.001*	0.011 ± 0.001	0.014 ± 0.002
Thymus	0.23 ± 0.01	0.23 ± 0.02	0.22 ± 0.02	0.22 ± 0.01
Lungs	0.73 ± 0.04	0.71 ± 0.05	0.73 ± 0.04	0.72 ± 0.06
Heart	0.56 ± 0.03	0.54 ± 0.02	0.53 ± 0.02*	0.53 ± 0.03*
Spleen	0.42 ± 0.03	0.40 ± 0.02	0.41 ± 0.02	0.42 ± 0.01
Liver	5.04 ± 0.32	5.19 ± 0.40	5.11 ± 0.15	4.99 ± 0.36
Adrenals	0.040 ± 0.007	0.037 ± 0.007	0.042 ± 0.005	0.035 ± 0.005
Kidneys	1.16 ± 0.08	1.13 ± 0.06	1.11 ± 0.07	1.11 ± 0.05
Relative organ weights (g 100 g ⁻¹ body weight)				
Brain	1.05 ± 0.05	1.04 ± 0.04	1.08 ± 0.02	1.04 ± 0.04
Thyroids	0.007 ± 0.001	0.006 ± 0.000*	0.007 ± 0.001	0.009 ± 0.001*
Thymus	0.13 ± 0.01	0.13 ± 0.01	0.13 ± 0.01	0.13 ± 0.01
Lungs	0.43 ± 0.02	0.42 ± 0.03	0.44 ± 0.02	0.43 ± 0.03
Heart	0.33 ± 0.02	0.32 ± 0.01	0.32 ± 0.01	0.32 ± 0.01
Spleen	0.244 ± 0.012	0.238 ± 0.011	0.247 ± 0.011	0.254 ± 0.008*
Liver	2.96 ± 0.15	3.07 ± 0.19	3.10 ± 0.09	3.00 ± 0.14
Adrenals	0.024 ± 0.004	0.022 ± 0.004	0.025 ± 0.003	0.021 ± 0.003
Kidneys	0.68 ± 0.03	0.67 ± 0.04	0.67 ± 0.03	0.67 ± 0.03

・雌ラット 10ppm 投与群における「腎尿細管での石灰化減少」については、用量反応性がないので記載しない。

Table3 Female

ppm	0	10	20	40
No. of animals Kidney	17	12	11	12
Calcification, renal tubular epithelium	16 (94%)	7 (58%)*	7 (64%)	6 (50%)*

f. 13 週間亜急性毒性試験（ラット、飲水投与）（◎◎◎）

F344/N ラット（雌雄、各群 8 匹）におけるアクリルアミド（0、0.14、0.35、0.70、1.41、3.52 mmol/L（雄：0、0.8、2.1、4.5、8.6、22.3 mg/kg 体重/日、雌：0、1.1、2.7、6.0、12.3、26.3 mg/kg 体重/日））の 13 週間飲水投与試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表 6 に示す。

雄の 22.3 mg/kg 体重/日投与群及び雌の 12.3 mg/kg 体重/日以上投与群で体重増加抑制及び最終体重低値がみられた。雄の 22.3 mg/kg 体重/日投与群及び雌の 26.3 mg/kg 体重/日投与群で脳の絶対重量の減少が、雄の 22.3 mg/kg 体重/日投与群で肝臓の絶対及び相対重量の減少がみられたが、雌雄の同投与群では肝臓の相対重量の増加がみられた。雄の 22.3 mg/kg 体重/日投与群及び雌の 26.3 mg/kg 体重/日投与群において、対照群と比較して有意な飲水量及び摂餌量の減少がみられた。

雄の 22.3 mg/kg 体重/日投与群及び雌の 26.3 mg/kg 体重/日投与群で後肢麻痺がみられ、雌の 12.3 mg/kg 体重/日投与群にもみられた。雄の 22.3 mg/kg 体重/日投与群及び雌の 26.3 mg/kg 体重/日投与群で末梢神経軸索変性、シュワン細胞変性、腰髄軸索変性及び骨格筋萎縮及び坐骨神経及び腰髄での神経根神経症がみられた。この神経根神経症は軸索の腫大、萎縮、ミエリン鞘の拡張及び空胞化を伴う神経線維の変性を特徴としており、重症度は軽微から軽度であった。雄の 22.3 mg/kg 体重/日投与群及び雌の 26.3 mg/kg 体重/日投与群では膀胱の拡張を併発していた。

雄の 22.3 mg/kg 体重/日投与群及び雌の 26.3 mg/kg 体重/日投与群で、脾臓の ヘモジデリン色素が増加うつ血及び色素沈着がみられ、していた。骨組織及び骨髄では、雄の 22.3 mg/kg 体重/日投与群及び雌の 26.3 mg/kg 体重/日投与群において、赤芽球系造血の増加がみられた。

雄の 4.5 mg/kg 体重/日以上投与群で精巣における精上皮細胞の変性がみられ、及び 8.6 mg/kg 体重/日以上投与群で精巣上体における剥離・変性生殖細胞の出現、22.3 mg/kg 体重/日投与群で精子減少がみられた。

雌の 26.3 mg/kg 体重/日投与群において、全例の卵巣が発情休止期を呈し、種々の発達段階の黄体の欠如、排卵後の黄体退縮がみられ、子宮でにおいて性周期の停止を示唆する有糸分裂像の減少を伴う丈の低い立方上皮で覆われた子宮内膜

1 及び子宮内膜腺及び性周期の停止を示す有糸分裂像の減少がみられた (NTP
2 2012)。

3
4 表 6 ラット 13 週間亜急性毒性試験

投与群 mmol/L (mg/kg 体重/日)	雄	雌
3.52 (雄 22.3、雌 26.3)	体重増加抑制及び最終体重低値、 脳絶対重量減少、肝臓絶対重量減少、 肝臓相対重量増加、 摂餌量減少、飲水量減少、 後肢麻痺、膀胱拡張、 末梢神経軸索変性、シュワン細胞変性、 腰髄軸索変性及び骨格筋萎縮、 脾臓のうっ血及び色素沈着、骨髄での 赤芽球系造血の増加、 精子減少	脳絶対重量減少、肝臓相対重量増 加、 摂餌量減少、飲水量減少、 膀胱拡張、 末梢神経軸索変性、シュワン細胞変 性、腰髄軸索変性及び骨格筋萎縮、 脾臓のうっ血及び色素沈着、骨髄で の赤芽球系造血の増加、 卵巣と子宮内膜の発情休止期所見 (黄体の欠如、 <u>子宮内膜の有糸分裂 像の減少を伴う丈の低い立法上皮 化子宮内膜変性</u>)
1.41 以上 (雄 8.6、雌 12.3)	精巣上体剥離変性細胞出現	体重増加抑制及び最終体重低値、後 肢麻痺
0.70 以上 (雄 4.5、雌 6.0)	精巣精上皮変性	(毒性所見なし)
0.35 以下 (雄 2.1、雌 2.7)	(毒性所見なし)	

5 ※雌雄の 1.41 mmol/L 以下においては「膀胱の拡張」に関する検査は実施されていない。

6
7 本専門調査会としては、本試験の NOAEL はを、雄ラットの 4.5 mg/kg 体重/
8 日以上投与群における精巣精上皮変性及び精巣上体での変性細胞出現に基づき、
9 2.1 mg/kg 体重/日、雌の 12.3 mg/kg 体重/日群における体重増加抑制及び後肢麻
10 痺に基づき、6.0 mg/kg 体重/日と判断した。

渋谷専門委員、野原専門委員コメント

・雄ラット 22.3 mg/kg 体重/日投与群における「脳絶対重量減少」については、相対重量の記載はないが毒性所見とする。

・雄ラット 22.3 mg/kg 体重/日投与群における「肝臓絶対重量減少、肝臓相対重量増加」については逆の影響がみられているが、そのまま記載する。

TABLE E3、Male

mmol/L	0	0.14	0.35	0.7	1.41	3.52
Necropsy body wt.	319.7 ± 7.2	331.7 ± 4.8	320.9 ± 5.8	321.4 ± 6.2	306.1 ± 6.1	226.9 ± 4.2*
Brain Absolute	1.99 ± 0.03	1.97 ± 0.03	2.00 ± 0.02	1.96 ± 0.01	1.93 ± 0.02	1.81 ± 0.01*
Liver Absolute	9.69 ± 0.37	9.90 ± 0.32	9.54 ± 0.33	9.94 ± 0.23	10.15 ± 0.34	7.47 ± 0.22*
Liver Relative	3.03 ± 0.06	2.98 ± 0.07	2.97 ± 0.07	3.10 ± 0.05	3.33 ± 0.13	3.29 ± 0.06*

・雌ラット 26.3 mg/kg 体重/日投与群における「脳絶対重量減少」については、相対重量記載はないが毒性所見とする。

・雌ラット 22.3 mg/kg 体重/日投与群における「肝臓相対重量増加」については、絶対重量は有意ではないが毒性所見とする。

TABLE E3、Female

mmol/L	0	0.14	0.35	0.7	1.41	3.52
Necropsy body wt.	191.3 ± 2.5	195.1 ± 2.7	186.1 ± 3.4	185.7 ± 1.8	172.8 ± 7.1*	132.9 ± 3.7*
Brain Absolute	1.81 ± 0.02	1.87 ± 0.02	1.78 ± 0.04	1.83 ± 0.02	1.79 ± 0.02	1.63 ± 0.02*
Liver Absolute	5.13 ± 0.15	5.09 ± 0.15	5.07 ± 0.14	5.22 ± 0.16	4.90 ± 0.26	4.79 ± 0.17
Liver Relative	2.68 ± 0.06	2.61 ± 0.07	2.72 ± 0.06	2.81 ± 0.07	2.83 ± 0.08	3.61 ± 0.09*

・雄ラット 22.3 mg/kg 体重/日、雌ラット 26.3 mg/kg 体重/日投与群における「摂餌量減少及び飲水量減少」については、本文のみ有意と記載され、Table に有意差の記載はないが、毒性所見とする。

Table 5 飲水量

Male						
Week	0 mM	0.14 mM	0.35 mM	0.70 mM	1.41 mM	3.52 mM
2	19.7 ± 0.7	22.7 ± 0.7	21.6 ± 0.7	22.8 ± 0.7	22.2 ± 0.7	21.1 ± 0.7
3	22.1 ± 0.7	22.6 ± 0.7	23.2 ± 0.7	24.2 ± 0.7	23.2 ± 0.7	24.2 ± 0.7
4	22.3 ± 0.7	22.3 ± 0.7	23.5 ± 0.7	23.7 ± 0.7	23.5 ± 0.7	24.1 ± 0.7
5	22.1 ± 0.7	21.4 ± 0.7	23.8 ± 0.7	25.3 ± 0.7	22.6 ± 0.7	23.0 ± 0.7
6	22.2 ± 0.7	22.0 ± 0.7	23.2 ± 0.7	24.5 ± 0.7	21.6 ± 0.7	21.1 ± 0.7
7	21.7 ± 0.7	23.0 ± 0.7	24.8 ± 0.7	23.4 ± 0.7	22.0 ± 0.7	18.1 ± 0.7
8	20.1 ± 0.7	21.5 ± 0.7	21.7 ± 0.7	22.8 ± 0.7	20.0 ± 0.7	16.2 ± 0.7
9	19.6 ± 0.7	21.5 ± 0.7	22.3 ± 0.7	23.4 ± 0.7	19.5 ± 0.7	14.6 ± 0.7
10	21.9 ± 0.7	21.8 ± 0.7	23.5 ± 0.7	24.2 ± 0.7	20.4 ± 0.7	16.5 ± 0.7
11	20.7 ± 0.7	21.6 ± 0.7	20.7 ± 0.7	23.1 ± 0.7	20.6 ± 0.7	15.9 ± 0.7
12	19.9 ± 0.7	21.1 ± 0.7	21.1 ± 0.7	22.2 ± 0.7	21.2 ± 0.7	15.2 ± 0.7
13	21.9 ± 0.7	21.4 ± 0.7	21.0 ± 0.7	22.2 ± 0.7	22.9 ± 0.7	17.4 ± 0.7
Female						
Week	0 mM	0.14 mM	0.35 mM	0.70 mM	1.41 mM	3.52 mM
2	18.9 ± 0.7	21.0 ± 0.7	20.7 ± 0.7	20.8 ± 0.7	19.8 ± 0.7	18.8 ± 0.7
3	19.4 ± 0.7	20.7 ± 0.7	19.5 ± 0.7	21.6 ± 0.7	20.3 ± 0.7	19.6 ± 0.7
4	20.5 ± 0.7	19.5 ± 0.7	18.6 ± 0.7	20.8 ± 0.7	20.1 ± 0.7	17.7 ± 0.7
5	19.8 ± 0.7	18.3 ± 0.7	20.1 ± 0.7	20.5 ± 0.9	23.3 ± 0.7	15.9 ± 0.7
6	19.1 ± 0.7	20.0 ± 0.7	17.2 ± 0.7	20.5 ± 0.7	19.3 ± 0.7	13.8 ± 0.7
7	19.2 ± 0.7	20.0 ± 0.7	18.2 ± 0.7	19.9 ± 0.7	19.6 ± 0.7	12.9 ± 0.7
8	17.2 ± 0.7	18.1 ± 0.7	16.8 ± 0.7	19.7 ± 0.7	18.1 ± 0.7	12.5 ± 0.7
9	16.5 ± 0.7	18.2 ± 0.7	16.4 ± 0.7	20.0 ± 0.7	17.1 ± 0.7	11.9 ± 0.7
10	18.3 ± 0.7	17.5 ± 0.7	17.4 ± 0.7	20.0 ± 0.7	19.2 ± 0.7	13.1 ± 0.7
11	18.9 ± 0.7	17.5 ± 0.7	17.1 ± 0.7	19.8 ± 0.7	18.6 ± 0.7	12.5 ± 0.7
12	17.0 ± 0.7	17.0 ± 0.7	17.2 ± 0.7	19.7 ± 0.7	17.2 ± 0.7	11.6 ± 0.7
13	18.1 ± 0.7	17.3 ± 0.7	18.1 ± 0.7	19.9 ± 0.7	18.5 ± 0.7	13.3 ± 0.9

Table 7 摂餌量

Male						
Week	0 mM	0.14 mM	0.35 mM	0.70 mM	1.41 mM	3.52 mM
5	16.8 ± 0.6	17.4 ± 0.6	17.3 ± 0.6	17.8 ± 0.6	17.3 ± 0.6	14.8 ± 0.6
6	16.2 ± 0.6	16.3 ± 0.6	16.1 ± 0.6	17.6 ± 0.6	15.1 ± 0.6	14.8 ± 0.6
7	17.4 ± 0.6	16.4 ± 0.6	16.3 ± 0.6	17.3 ± 0.6	16.8 ± 0.6	14.2 ± 0.6
8	17.2 ± 0.6	17.0 ± 0.6	15.9 ± 0.6	17.6 ± 0.7	15.5 ± 0.6	13.2 ± 0.6
9	15.2 ± 0.6	14.7 ± 0.6	16.7 ± 0.6	15.5 ± 0.6	14.8 ± 0.6	13.3 ± 0.6
10	17.1 ± 0.6	16.6 ± 0.6	18.0 ± 0.6	18.5 ± 0.6	16.3 ± 0.6	14.0 ± 0.6
11	16.4 ± 0.6	16.7 ± 0.6	16.3 ± 0.6	17.5 ± 0.6	15.9 ± 0.6	13.1 ± 0.6
12	17.6 ± 0.6	17.4 ± 0.6	16.5 ± 0.6	18.0 ± 0.6	16.4 ± 0.6	13.8 ± 0.6
13	17.9 ± 0.6	16.7 ± 0.6	16.7 ± 0.6	17.4 ± 0.6	16.9 ± 0.6	14.6 ± 0.6
Female						
Week	0 mM	0.14 mM	0.35 mM	0.70 mM	1.41 mM	3.52 mM
5	11.7 ± 0.4	12.8 ± 0.4	12.2 ± 0.4	13.6 ± 0.4	11.9 ± 0.4	10.8 ± 0.4
6	12.0 ± 0.4	12.3 ± 0.4	11.6 ± 0.4	12.6 ± 0.5	11.8 ± 0.4	9.3 ± 0.4
7	12.3 ± 0.4	12.7 ± 0.4	13.3 ± 0.4	12.3 ± 0.4	11.2 ± 0.4	9.3 ± 0.4
8	12.4 ± 0.4	13.6 ± 0.4	11.4 ± 0.4	12.1 ± 0.4	12.3 ± 0.4	11.0 ± 0.4
9	12.1 ± 0.4	11.6 ± 0.4	12.0 ± 0.4	13.0 ± 0.5	13.1 ± 0.4	9.9 ± 0.4
10	13.2 ± 0.4	12.2 ± 0.4	11.7 ± 0.4	12.2 ± 0.4	12.6 ± 0.4	10.5 ± 0.4
11	12.0 ± 0.4	13.3 ± 0.4	12.5 ± 0.4	12.4 ± 0.4	11.3 ± 0.4	9.9 ± 0.4
12	12.8 ± 0.4	12.6 ± 0.4	12.4 ± 0.4	13.1 ± 0.4	13.0 ± 0.4	9.9 ± 0.4
13	12.6 ± 0.4	12.6 ± 0.4	11.8 ± 0.4	13.2 ± 0.4	12.0 ± 0.4	9.8 ± 0.4

・雌雄ラット 3.52 mmol/L 投与群における「後肢麻痺」については、本文のみ記載があり、Table に記載はないが毒性所見とする。また、雌 1.41 mmol/L の「後肢麻痺」について本文中のみに 4/8 例がみられたと記載されているが、Fisher 検定の結果有意だったので毒性所見とする。

・雌雄ラット 3.52 mmol/L 投与群における「膀胱拡張」については、1.41 mmol/L 以下では検査されていないのでその旨脚注で記載する。

・雌雄 3.52mmol/L 投与群における「軸索腫大/萎縮、ミエリン鞘の拡張及び空胞化を伴う神経線維の変性を特徴とする坐骨神経及び、腰髄での神経根神経症」の記載を、原著の Table に合わせて「末梢神経軸索変性、シュワン細胞変性、腰髄軸索変性、骨格筋萎縮」にする。

・雄 0.70 mmol/L 投与群における「精巣上体での剥離変性細胞出現」については、Fisher 検定の結果有意ではなかったので記載しない (2/8 例)。

Table 9、Males

mmol/L	0	0.14	0.35	0.7	1.41	3.52
Animals initially in study	8	8	8	8	8	8
Epididymis Exfoliated germ cell	0/8	-	0/8	2/8	8/8	8/8

g. 13 週間亜急性毒性試験（ラット、混餌投与）（◎◎◎）

F344/N ラット（雌雄、各群 8 匹）におけるアクリルアミド（0、7.4、18.5、37、74、185 mg/kg 飼料（雄：0、0.5、1.4、2.8、5.5、14.2 mg/kg 体重/日、雌：0.6、1.6、3.2、6.6、17.9 mg/kg 体重/日））の 13 週間混餌投与試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表 7 に示す。

雌雄の 185 mg/kg 飼料投与群で体重増加抑制及び最終体重低値がみられた。雄の 185 mg/kg 飼料投与群では肝臓の相対重量の増加がみられ、雌の同投与群では脳及び肝臓の絶対重量の減少がみられた。

185 mg/kg 飼料投与群の雌雄で後肢麻痺、末梢神経軸索変性、シュワン細胞変性及び骨格筋萎縮及び坐骨神経の神経根神経症がみられた。この神経根神経症は軸索の腫大、萎縮、ミエリン鞘の拡張及び空胞化を伴う神経線維の変性を特徴としており、重症度は軽微から軽度であった。185 mg/kg 飼料投与群の雌雄では膀胱の拡張を併発していた。

185 mg/kg 飼料投与群の雄で、脾臓での色素沈着がみられた。精巣の生殖精上皮細胞変性が 37 mg/kg 飼料投与群からみられ、及び精巣上体の剥離・変性生殖細胞の出現で 7.474 mg/kg 飼料投与群から、精子減少が 185 mg/kg 飼料投与群で用量反応関係がみられた（NTP 2012）。

表 7 ラット 13 週間亜急性毒性試験

投与群 mg/kg (mg/kg 体重/日)	雄	雌
185 (雄 14.2、雌 17.9)	体重増加抑制及び最終体重低値、 肝臓相対重量増加、 摂餌量減少、飲水量減少、 後肢麻痺、 末梢神経軸索変性、シュワン細胞変性、骨格筋萎縮、 精子減少	体重増加抑制及び最終体重低値、 脳及び肝臓絶対重量減少、 摂餌量減少、飲水量減少、 後肢麻痺、 末梢神経軸索変性、シュワン細胞変性、骨格筋萎縮、
74 以上 (雄 5.5、雌 6.6)	精巣上体の剥離変性細胞出現	(毒性所見なし)
37 以上 (雄 2.8、雌 3.2)	精巣精上皮変性	
18.5 以下 (雄 1.4、雌 1.6)	(毒性所見なし)	

本専門調査会としては、本試験の NOAEL を雄ラットの LOAEL を 2.8 mg/kg 体重/日以上投与群における精巣精上皮の生殖細胞変性及び精巣上体の剥離・変性生殖細胞の出現に基づき、0.51.4 mg/kg 体重/日、雌の 17.9 mg/kg 体重/日群における体重増加抑制及び神経毒性等に基づき、NOAEL を 6.6 mg/kg 体重/日と判断した。

渋谷専門委員、野原専門委員コメント

・雄 185 mg/kg 投与群における「肝臓相対重量増加」については、絶対重量は有意ではないが毒性所見とする。

・雌 185 mg/kg 投与群における「脳及び肝臓絶対重量減少」については、脳の相対重量は記載がなく、肝臓の相対重量は有意ではないが毒性所見とする。

・雌雄 3.52mmol/L 投与群における「摂餌量減少、飲水量減少」については、本文のみ有意と記載され、Table には有意差の記載はないが、毒性所見とする。

※飲水量は「Acrylamide in the diet caused significant dose effects on water consumption in rats; however, there were no significant differences when pairwise comparisons were conducted.」

Table6 飲水量

Male						
Week	0 mg/kg	7.4 mg/kg	18.5 mg/kg	37 mg/kg	74 mg/kg	185 mg/kg
4	22.4 ± 0.9	21.3 ± 0.9	22.8 ± 0.9	22.2 ± 0.9	22.6 ± 0.9	21.0 ± 0.9
5	21.1 ± 0.9	19.3 ± 0.9	16.4 ± 0.9	23.1 ± 0.9	20.3 ± 0.9	17.4 ± 0.9
6	21.4 ± 0.9	21.6 ± 0.9	19.6 ± 0.9	23.4 ± 0.9	22.3 ± 0.9	19.8 ± 0.9
7	22.1 ± 0.9	21.8 ± 0.9	22.7 ± 0.9	24.8 ± 0.9	22.2 ± 0.9	19.8 ± 0.9
8	21.6 ± 0.9	23.0 ± 0.9	23.0 ± 0.9	22.8 ± 0.9	22.1 ± 0.9	20.0 ± 0.9
9	20.4 ± 0.9	23.0 ± 0.9	21.9 ± 0.9	23.6 ± 0.9	23.1 ± 0.9	18.4 ± 0.9
11	21.6 ± 0.9	22.2 ± 0.9	21.8 ± 0.9	24.1 ± 0.9	24.4 ± 0.9	18.2 ± 0.9
12	21.9 ± 0.9	23.4 ± 0.9	22.2 ± 0.9	23.7 ± 0.9	24.4 ± 0.9	18.8 ± 0.9
13	19.7 ± 0.9	21.4 ± 0.9	23.0 ± 0.9	22.7 ± 0.9	14.4 ± 0.9	19.3 ± 0.9
Female						
Week	0 mg/kg	7.4 mg/kg	18.5 mg/kg	37 mg/kg	74 mg/kg	185 mg/kg
4	19.2 ± 0.8	18.6 ± 0.8	18.8 ± 0.8	18.5 ± 0.8	19.8 ± 0.8	18.2 ± 0.8
5	19.8 ± 0.8	17.5 ± 0.8	19.2 ± 0.8	17.5 ± 0.8	18.0 ± 0.8	15.8 ± 1.0
6	19.0 ± 0.8	18.4 ± 0.8	18.6 ± 0.8	20.4 ± 0.8	17.6 ± 0.8	16.5 ± 0.8
7	18.3 ± 0.8	19.5 ± 0.8	19.6 ± 0.8	18.4 ± 0.8	18.2 ± 0.8	16.3 ± 0.8
8	18.3 ± 0.8	18.0 ± 0.8	19.2 ± 0.8	18.4 ± 0.8	17.8 ± 0.8	15.8 ± 0.8
9	16.3 ± 0.8	18.8 ± 0.8	19.6 ± 0.8	18.9 ± 0.8	18.2 ± 0.8	15.9 ± 0.8
10	16.0 ± 0.8	21.2 ± 0.8	19.0 ± 0.8	17.8 ± 0.8	17.7 ± 0.8	15.5 ± 0.8
11	17.1 ± 0.8	17.6 ± 0.8	19.5 ± 0.8	18.6 ± 0.8	17.2 ± 0.8	16.5 ± 0.8
12	17.6 ± 0.8	19.1 ± 0.8	20.6 ± 0.8	18.5 ± 0.8	18.5 ± 0.8	16.4 ± 0.8
13	15.3 ± 1.0	18.8 ± 0.8	17.7 ± 0.8	16.3 ± 0.8	19.6 ± 0.8	18.2 ± 0.8

Table 8 摂餌量

Male						
Week	0 mg/kg	7.4 mg/kg	18.5 mg/kg	37 mg/kg	74 mg/kg	185 mg/kg
1	14.4 ± 0.6	15.1 ± 0.6	15.1 ± 0.6	15.9 ± 0.6	14.9 ± 0.6	14.7 ± 0.6
2	15.0 ± 0.6	15.7 ± 0.6	15.9 ± 0.6	16.8 ± 0.6	16.8 ± 0.6	14.4 ± 0.6
3	18.7 ± 0.6	18.7 ± 0.6	18.6 ± 0.7	19.4 ± 0.6	19.7 ± 0.6	19.4 ± 0.6
4	17.8 ± 0.6	17.7 ± 0.6	17.1 ± 0.6	19.7 ± 0.6	18.7 ± 0.6	17.5 ± 0.6
5	18.9 ± 0.6	17.1 ± 0.6	16.5 ± 0.6	19.1 ± 0.6	18.1 ± 0.6	16.1 ± 0.6
6	19.0 ± 0.6	18.4 ± 0.6	17.8 ± 0.6	19.5 ± 0.6	17.4 ± 0.6	17.2 ± 0.6
7	18.7 ± 0.6	17.9 ± 0.6	16.8 ± 0.6	18.2 ± 0.6	17.4 ± 0.6	16.4 ± 0.6
8	19.2 ± 0.6	18.9 ± 0.6	18.3 ± 0.6	19.4 ± 0.6	18.6 ± 0.6	17.5 ± 0.6
9	19.7 ± 0.6	19.8 ± 0.6	19.1 ± 0.6	20.2 ± 0.6	19.3 ± 0.6	18.2 ± 0.6
10	19.4 ± 0.6	18.8 ± 0.6	19.2 ± 0.6	19.7 ± 0.6	17.3 ± 0.6	17.3 ± 0.6
11	22.0 ± 0.6	20.2 ± 0.6	21.0 ± 0.6	22.4 ± 0.6	22.2 ± 0.6	18.0 ± 0.6
12	20.6 ± 0.6	21.2 ± 0.6	20.3 ± 0.6	21.5 ± 0.6	22.8 ± 0.6	17.0 ± 0.6
13	19.7 ± 0.6	21.3 ± 0.6	19.6 ± 0.6	21.4 ± 0.7	22.1 ± 0.6	18.6 ± 0.6
Female						
Week	0 mg/kg	7.4 mg/kg	18.5 mg/kg	37 mg/kg	74 mg/kg	185 mg/kg
1	12.5 ± 0.5	12.3 ± 0.5	12.5 ± 0.5	13.0 ± 0.5	12.2 ± 0.5	12.9 ± 0.6
2	12.4 ± 0.6	12.9 ± 0.5	13.8 ± 0.5	13.5 ± 0.5	13.6 ± 0.5	13.5 ± 0.5
3	13.5 ± 0.5	14.8 ± 0.5	16.0 ± 0.5	15.1 ± 0.5	15.9 ± 0.5	16.9 ± 0.5
4	14.1 ± 0.5	14.1 ± 0.5	13.7 ± 0.5	13.5 ± 0.5	13.7 ± 0.5	13.6 ± 0.5
5	13.2 ± 0.5	13.7 ± 0.5	13.3 ± 0.5	13.5 ± 0.5	15.3 ± 0.5	15.0 ± 0.5
6	14.7 ± 0.5	15.1 ± 0.5	15.1 ± 0.5	14.6 ± 0.5	13.9 ± 0.5	14.7 ± 0.5
7	13.5 ± 0.5	13.8 ± 0.5	12.8 ± 0.5	13.9 ± 0.5	13.3 ± 0.5	13.8 ± 0.5
8	14.5 ± 0.5	13.5 ± 0.5	13.7 ± 0.5	13.7 ± 0.5	13.5 ± 0.5	14.0 ± 0.5
9	14.6 ± 0.5	14.0 ± 0.5	15.3 ± 0.5	14.2 ± 0.5	14.9 ± 0.5	15.0 ± 0.5
10	14.7 ± 0.5	15.0 ± 0.6	14.1 ± 0.5	13.5 ± 0.5	15.6 ± 0.5	13.9 ± 0.5
11	17.9 ± 0.5	15.6 ± 0.5	16.2 ± 0.5	15.0 ± 0.5	16.7 ± 0.5	15.7 ± 0.5
12	16.5 ± 0.5	15.1 ± 0.5	16.0 ± 0.5	15.9 ± 0.5	14.2 ± 0.5	13.8 ± 0.5
13	14.9 ± 0.5	15.5 ± 0.5	14.4 ± 0.5	14.6 ± 0.6	15.7 ± 0.5	13.8 ± 0.5

・雌雄 185 mg/kg 投与群における「後肢麻痺」については、本文のみ記載があり、Table には記載がないが毒性所見とする。

・雌雄 185 mg/kg 投与群における「膀胱拡張」については、74 mg/kg では検査されていないが、Fisher 検定の結果、185 mg/kg 投与群は有意ではなかったので記載しない (3/8 例) (3/7 例)。

・雌雄 185 mg/kg 投与群における「軸索腫大/萎縮、ミエリン鞘の拡張及び空胞化を伴う神経線維の変性を特徴とする坐骨神経、腰髄での神経根神経症」の記載を、原著の Table に合わせ

て「末梢神経軸索変性、シュワン細胞変性、骨格筋萎縮」にする。また、雌の 74 mg/kg 投与群でみられた「末梢神経軸索変性、シュワン細胞変性」の 2/8 例、185mg/kg 投与群でみられた「腰髄軸索変性」の 1/8 例については、Fisher 検定で有意ではなかったので記載しない。

・雄 185 mg /kg 投与群における「脾臓での色素沈着」については、Fisher 検定で有意ではなかったので記載しない (2/8 例)。

・雄の「精巣精上皮変性」については、Fisher 検定の結果、37 mg /kg 投与群の 4/8 例は有意であり、18.5 及び 7.4 mg /kg 投与群の 2/8 例は有意ではなかったため、37 mg /kg 投与群から毒性所見とする。

・雄 37 及び 7.4 mg/kg 投与群における「精巣上体の剥離・変性生殖細胞の出現」については、Fisher 検定で有意ではなかったため記載しない (3/8 例) (1/8 例)。

・雄 185 mg /kg 投与群における「精子減少」については、Fisher 検定で有意だったので記載する (4/8 例)。

1
2
3
4
5
6
7
8

h. 90 日間亜急性毒性試験 (ラット、飲水投与) (〇〇〇)

F344 ラット (雄：対照群 26 匹、各投与群 23~29 匹、雌：各群 10 匹) におけるアクリルアミド (0、0.05、0.2、1、5、20 mg/kg 体重/日) の 90 日間飲水投与試験が行われた。その後、144 日間の回復期で観察を継続した (Burek et al. 1980)。各投与群で認められた毒性所見を表 8 に示す。

表 8 ラット 90 日間亜急性毒性試験

投与群 mg/kg 体重/日	雄	雌
20	体重増加抑制及び体重低値、赤血球/血中血球容積/ヘモグロビン減少、臓器絶対重量減少 (脳、肝臓、腎臓、胸腺、精巣)、臓器相対重量増加 (脳、心臓、腎臓、)、臓器相対重量減少 (精巣)、後肢開脚幅の増加、つま先変形、後肢脆弱、協調運動障害、骨格筋萎縮、膀胱拡張、精巣萎縮	体重増加抑制及び体重低値、飲水量減少、コリンエステラーゼ活性低下、アルカリフォスファターゼ活性増加、臓器絶対重量減少 (脳、心臓、肝臓、腎臓、胸腺)、臓器相対重量増加 (脳、心臓、肝臓、腎臓)、臓器相対重量減少 (胸腺)、後肢開脚幅の増加、つま先変形、後肢脆弱、協調運動障害、骨格筋萎縮、膀胱拡張
5 以上	肝臓相対重量増加、 <u>坐骨神経の軸索・ミエリン変性、軸索脱落末梢神経の軸索変性及び髓鞘崩壊(光学顕微鏡検査)</u> 、 <u>坐骨神経の軸索の変性・消失、シュワン細胞の細胞質内での軸索ないし髓鞘崩壊性変化、マクロファージの出現、神経内膜</u>	赤血球/血中血球容積/ヘモグロビン減少、 <u>末梢神経の軸索変性及び髓鞘崩壊(光学顕微鏡検査)</u>

	<u>の線維化(電子顕微鏡検査)</u>	
1 以上	<u>坐骨神経軸索膜の陥入(電子顕微鏡検査)</u>	(毒性所見なし)
0.2 以下	(毒性所見なし)	

JECFA (2006、2011b) は、Burek ら (1980) の電子顕微鏡検査でみられた末梢神経障害 (坐骨神経の軸索膜陥入) に基づき、非発がん影響の NOAEL を 0.2 mg/kg 体重/日としている (JECFA 2011b)。

本専門調査会としては、本試験の NOAEL はを、雄ラットのみで実施した電子顕微鏡検査の結果見出された 1.0 mg/kg 体重/日以上投与群における坐骨神経の軸索・ミエリン変性及び軸索脱落等軸索膜陥入に基づき、~~0.2 mg/kg 体重/日、雌の 20 mg/kg 体重/日における体重増加抑制及び飲水量減少等に基づき、5.0 mg/kg 体重/日と判断した。~~

渋谷専門委員、野原専門委員コメント

・雌 20 mg/kg 体重/日投与群におけるコリンエステラーゼ活性の低下については、本文には統計学的に有意かどうか記載されていないが、有意と判断し毒性所見とする。

・電顕検査の所見は有意差検定が不明であるが、毒性所見とする。

i. 13 週間亜急性毒性試験 (ハムスター、飲水投与) (△○◎)

シリアンハム~~シ~~スター (雌雄、各群 9 匹) におけるアクリルアミド (0、20、30、50 mg/kg 体重/日) の 13 週間飲水投与試験が行われた (Imai and Kitahashi 2012)。各投与群で認められた毒性所見を表 9 に示す。

表 9 ハムスター-13 週間亜急性毒性試験

投与群 mg/kg 体重/日	雄	雌
50	歩行異常、後肢麻痺、精細管萎縮	歩行異常、後肢麻痺、坐骨神経の神経線維欠損
30 以上	体重増加抑制、平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC) 減少、アルカリフォスファターゼ (ALP) 上昇	赤血球数及びヘモグロビンの減少、平均赤血球容積 (MCV) 増加、腰髄軸索変性、大腿筋の筋線維の萎縮
20 以上	坐骨神経の軸索/ミエリンの変性	γ-GTP 増加、坐骨神経の軸索/ミエリンの変性

※血液生化学検査 (Hematology/Serum Biochemistry) は 50 mg/kg 体重/日では実施されていない。

1 他のラットを用いた毒性試験の結果と比較し、ハムスターでは神経毒性、精巢
2 毒性、血液毒性がラットと同等又はより高い投与量群でみられた。

3 渋谷専門委員、野原専門委員コメント

・雄雌 50 mg/kg 体重/日投与群における「Hematology/Serum Biochemistry」については、検査が行われていないので、その旨脚注を記載する。

・雄 30 mg/kg 体重/日投与群における「胸腺、肺及び腎臓相対重量増加」については、本文にはこれらは体重の変化に関係しているもので、病理学的変化はないと記載されており、あまり重要な所見とは考えられないので、記載しない。

4 ②グリシドアミド

5 JECFA (2011b) によると、NTP において、アクリルアミド飲水投与試験と平
6 行してグリシドアミドについても同一プロトコールで飲水投与による以下の二つ
7 の 13 週間亜急性毒性試験が実施されている。

8 a. 13 週間亜急性毒性試験（マウス、飲水投与）（◎一採用）

9 JECFA (2011b) における引用によれば、Beland (2010) らは、B6C3F1 マ
10 ウス（雌雄、各群 8 匹）におけるグリシドアミド（0、0.14、0.35、0.70、1.41、
11 3.52 mmol/L）の 13 週間飲水投与試験を実施している。各投与群で認められた
12 毒性所見を表 10 に示す。

13 表 10 マウス 13 週間亜急性毒性試験（グリシドアミド）

投与群 mmol/L (mg/kg 体重/日)	雄	雌
3.52 (雄 81.5、雌 96.5)	体重低値	体重低値
1.41 以下 (雄 36.0、雌 45.3)	(毒性所見なし)	(毒性所見なし)

14 (JECFA 2011b)

15 渋谷専門委員、野原専門委員コメント

16 ・雄 3.52mmol/L 投与群における「後肢麻痺」の 2/8 例、「脊髄変性」の 1/8 例及び「膀胱拡張」の 1/8 例については、Fisher 検定で有意ではなかったため記載しない。

17 <参考>NTP DRAFT Technical Report (2013) における所見
18 (マウス 13 週間亜急性毒性試験：グリシドアミド)

投与群 mmol/L (mg/kg 体重/日)	雄	雌
3.52 (雄 81.5、雌 96.5)	体重増加抑制及び最終体重低値、脳絶対重量減少、精巣精上皮細胞の脱落	(毒性所見なし)
1.41 以下 (雄 36.0、雌 45.3)	(毒性所見なし)	

本専門調査会としては、本試験の NOAEL は、雄の 81.5 mg/kg 体重/日群における体重増加抑制及び後肢麻痺等に基づき、36.0 mg/kg 体重/日、雌の 96.5 mg/kg 体重/日群でみられた体重増加抑制に基づき、45.3 mg/kg 体重/日と判断した。

b. 13 週間亜急性毒性試験（ラット、飲水投与）（◎ーー採用）

JECFA (2011b) における引用によれば、Beland (2010) らは、F334 ラット（雌雄、各群 8 匹）におけるグリシドアミド（0、0.14、0.35、0.70、1.41、3.52 mmol/L）の 13 週間飲水投与する試験を実施している。各投与群で認められた毒性所見を表 11 に示す。

表 11 ラット 13 週間亜急性毒性試験（グリシドアミド）

投与群mmol/L (mg/kg体重/日)	雄	雌
3.52 (雄26.9、雌33.8)	後肢麻痺	後肢麻痺
1.41以上 (雄10.1、雌13.5)	体重低値	体重低値
0.7以下 (雄5.0、雌6.6)	(毒性所見なし)	(毒性所見なし)

(JECFA 2011b)

渋谷専門委員、野原専門委員コメント

・雄 3.52 mmol/L 投与群の「脊髄変性」の 2/8 例、「膀胱拡張」の 2/8 例については、Fisher 検定で有意ではなかったので記載しない。

<参考>NTP DRAFT Technical Report (2013) における所見 (ラット 13 週間亜急性毒性試験：グリシドアミド)

投与群 mmol/L (mg/kg 体重/日)	雄	雌
3.52 (雄26.9、雌33.8)	脳絶対重量減少、摂餌量減少、後肢麻痺	摂餌量減少、後肢麻痺
1.41以上 (雄10.1、雌13.5)	体重増加抑制及び最終体重低値、肝臓絶対重量減少、飲水量減少	体重増加抑制及び最終体重低値、飲水量減少

0.70以上 (雄5.0、雌6.6)	精巢精上皮細胞の脱落、精巢上体精 上皮細胞剥離、精子減少	脳絶対重量減少
0.35以上 (雄2.4、雌3.4)	(毒性所見なし)	—
0.14以上 (雄1.0、雌1.3)		肝臓絶対重量減少

1
2
3
4
5

本専門調査会としては、本試験のNOAELは、雄の26.9 mg/kg 体重/日群における体重増加抑制及び後肢麻痺等に基づき、10.1 mg/kg 体重/日、雌の33.8 mg/kg 体重/日における体重増加抑制に基づき、13.5 mg/kg 体重/日と判断した。

渋谷専門委員、野原専門委員コメント

- ・雌雄 3.52mmol/L 投与群の「摂餌量減少」については、本文では有意と記載され、Table には有意差検定がないが毒性所見とする。
- ・雌 3.52mmol/L 投与群の「末梢神経軸索変性及びシュワン細胞変性」の 1/8 例及び「腰髄軸索変性」の 3/8 例については、Fisher 検定で有意ではなかったので記載しない。
- ・雄 0.35 及び 0.14 mmol/L 投与群の「精巢の精上皮細胞の脱落」の 3/8 例及び 2/8 例、雄 0.35 mmol/L 投与群の「精巢上体の精上皮細胞剥離」の 3/8 例については、Fisher 検定で有意ではなかったので記載しない。

6