

Table 6 Histopathological findings of male rats treated orally with 2-methyl-5-nitrobenzenesulfonic acid in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Organs	Dose (mg/kg/day)	0					175					350					700				
-findings	No. of animals Grading	0	1	2	3	NoL TE	0	1	2	3	NoL TE	0	1	2	3	NoL TE	0	1	2	3	NoL TE
Cerebrum		12				0 12					0					0	12			0 12	
Cerebellum		12				0 12					0					0	12			0 12	
Heart																					
-myocardial degeneration																					
/fibrosis		12				0 12					0					0	10	2		2 12	
Liver																					
-microgranuloma		7	5			5 12					0					0	9	2	1	3 12	
Adrenal		12				0 12					0					0	12			0 12	
Spleen																					
-hematopoiesis,																					
extramedullary			11	1		12 12					0					0		11	1	12 12	
-deposit, brown																					
pigment, red pulp			12			12 12					0					0		12		12 12	
Kidney																					
-fibrosis, cortical, focal		11			1	1 12					0					0	12			0 12	
-basophilic tubule		10	1	1		2 12					0					0	12			0 12	
-eosinophilic body,																					
tubular epithelium		11		1		1 12					0					0	12			0 12	
Testis		12				0 12					0					0	12			0 12	
Epididymis																					
-granuloma, spermatic		11		1		1 12					0					0	12			0 12	
Other gross lesion																					
Stomach																					
-hyperplasia, mucosa,																					
limiting ridge		12				0 12 12					0 12 3 8 1				9	12**	1	6	5	11 12**	
-atrophy, mucosa,																					
cardiac region		12				0 12 12					0 12 3 6 3				9	12**		3	9	12 12**	
-erosion																					
(including healed erosion),																					
glandular stomach		12				0 12 12					0 12 12				0	12	6	1	3	2 6 12*	
-hemorrhage, superficial,																					
glandular stomach		12				0 12 12					0 12 12				0	12	7	3	2	5 12	

0: No remarkable changes 1: Slight 2: Mild 3: Moderate NoL: Numbers with lesion

TE: Total Examined

Significantly different from the 0 mg/kg group: *P<0.05, **P<0.01

Table 7 Histopathological findings of female rats treated orally with 2-methyl-5-nitrobenzenesulfonic acid in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Organs	Dose (mg/kg/day)	0					175					350					700				
		12					12					12					10				
-findings	Grading	0	1	2	3	NoL TE	0	1	2	3	NoL TE	0	1	2	3	NoL TE	0	1	2	3	NoL TE
Cerebrum		12				0 12					0					0 10					0 10
Cerebellum		12				0 12					0					0 10					0 10
Heart																					
-myocardial degeneration																					
/fibrosis		11		1		1 12					0					0 9			1		1 10
Liver																					
-microgranuloma		11	1			1 12					0					0 9		1			1 10
-hematopoiesis,																					
extramedullary		10	2			2 12					0					0 8		2			2 10
Adrenal		12				0 12					0					0 10					0 10
Spleen																					
-hematopoiesis,																					
extramedullary			6	6		12 12					0					0		3	7		10 10
-deposit, brown pigment,																					
red pulp			9	3		12 12					0					0		9	1		10 10
Kidney		12				0 12					0					0 10					0 10
Ovary		12				0 12					0					0 10					0 10
Stomach																					
-hyperplasia, mucosa,																					
limiting ridge		12				0 12 12					0 12	8	2	1		3 11(1)	3	1	6		7 10**
-atrophy, mucosa,																					
cardiac region		12				0 12 12					0 12	8	3			3 11(1)		2	8		10 10**
-erosion																					
(including healed erosion),																					
glandular stomach		12				0 12 12					0 12	11				11(1)	5	2	3		5 10
-hemorrhage, superficial,																					
glandular stomach		12				0 12 12					0 12	11				11(1)	9		1		1 10
-hyperplasia, mucosa,																					
forestomach, focal		12				0 12 12					0 12	10	1			1 11(1)	10				0 10

0: No remarkable changes

1: Slight

2: Mild

3: Moderate

NoL: Numbers with lesion

TE: Total Examined

(): Number of lost specimens

Significantly different from the 0 mg/kg group; *: P<0.01

Table 8 Summary of reproductive performance of female rats treated orally with 2-methyl-5-nitrobenzenesulfonic acid in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg/day)	0	175	350	700
Estrus cycle (days, Mean±S.D.)	4.2 ± 0.5	4.8 ± 2.0	4.3 ± 0.4	4.3 ± 0.4
No. of pairs mated	12	12	12	11
No. of pairs copulated	12	12	12	11
No. of pregnant females	10	12	11	10
Copulation index (%) ^{a)}	100.0	100.0	100.0	100.0
Fertility index (%) ^{b)}	83.3	100.0	91.7	90.9

a) : (No. of pairs with successful copulation/No. of pairs mated)×100

b) : (No. of pregnant females/No. of pairs copulated)×100

Table 9 Delivery and litter data of female rats treated orally with 2-methyl-5-nitrobenzenesulfonic acid in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg/day)	0	175	350	700
No. of pregnant females	10	12	11	9
No. of females with live pups	10	12	11	9
Gestation index (%) ^{a)}	100.0	100.0	100.0	100.0
Gestation length (days, Mean±S.D.)	22.7 ± 0.5	22.7 ± 0.5	22.5 ± 0.5	22.3 ± 0.5
No. of corpora lutea (Mean±S.D.)	185(18.5 ± 2.4)	226(18.8 ± 1.6)	214(19.5 ± 2.0)	163(18.1 ± 2.7)
No. of implantations (Mean±S.D.)	180(18.0 ± 2.7)	212(17.7 ± 1.7)	206(18.7 ± 1.8)	161(17.9 ± 2.8)
Implantation index (%) ^{b)}	97.1	94.1	96.3	98.8
No. of stillborn (Mean±S.D.)	1(0.1 ± 0.3)	1(0.1 ± 0.3)	1(0.1 ± 0.3)	0(0.0 ± 0.0)
No. of live born (Mean±S.D.)	155(15.5 ± 4.7)	187(15.6 ± 2.0)	193(17.5 ± 1.6)	147(16.3 ± 2.6)
Live birth index (%) ^{c)}	99.6	99.5	99.5	100.0
Delivery index (%) ^{d)}	85.5	88.8	94.5	91.5
No. of male pups (Mean±S.D.)	78(7.8 ± 3.0)	91(7.6 ± 2.7)	94(8.5 ± 1.3)	69(7.7 ± 1.9)
No. of female pups (Mean±S.D.)	77(7.7 ± 4.0)	96(8.0 ± 2.7)	99(9.0 ± 1.5)	78(8.7 ± 2.6)
Sex ratio ^{e)}	1.01	0.95	0.95	0.88
No. of live pups (Mean±S.D.)				
Day 0 of lactation	155(15.5 ± 4.7)	187(15.6 ± 2.0)	193(17.5 ± 1.6)	147(16.3 ± 2.6)
Day 4 of lactation	153(15.3 ± 4.5)	184(15.3 ± 2.3)	187(17.0 ± 1.5)	128(14.2 ± 5.6)
Viability index (%) ^{f)}	99.0	98.2	97.0	85.9

a) : (No. of females with live pups/No. of pregnant females)×100

b) : (No. of implantations/No. of corpora lutea)×100

c) : (No. of live pups on day 0/No. of pups born)×100

d) : (No. of pups born/No. of implantations)×100

e) : No. of male pups/No. of female pups

f) : (No. of live pups on day 4/No. of live pups on day 0)×100

Table 10 Body weight of pups from dams treated orally with 2-methyl-5-nitrobenzenesulfonic acid in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg/day)	0	175	350	-	700
Day 0 of lactation					
No. of dams	10	12	11		9
Male (g)	7.2 ± 0.8	7.2 ± 0.7	7.0 ± 0.5		6.7 ± 0.3
Female (g)	6.9 ± 0.7	6.8 ± 0.6	6.7 ± 0.5		6.3 ± 0.4
Day 4 of lactation					
No. of dams	10	12	11		9
Male (g)	11.3 ± 2.7	11.1 ± 1.2	10.7 ± 0.8		10.0 ± 2.3
Female (g)	10.8 ± 2.2	10.5 ± 0.8	10.1 ± 0.7		9.5 ± 2.2

2-メチル-5-ニトロベンゼンスルホン酸の 細菌を用いる復帰突然変異試験

Reverse Mutation Test of 2-Methyl-5-nitrobenzenesulfonic acid on Bacteria

要約

2-メチル-5-ニトロベンゼンスルホン酸について、細菌を用いる復帰突然変異試験を実施した。

検定菌として、*Salmonella typhimurium* (TA100, TA98, TA1535, TA1537) および *Escherichia coli* (WP2 *uvrA*) の5菌株を用い、用量設定試験の結果をもとに、本試験ではS9 mix無添加群および添加群の各試験菌株についてそれぞれ156~5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ の6用量で試験を実施した。

その結果、S9 mix無添加群のTA100, TA98およびTA1537ならびにS9 mix添加群のTA100で用量に依存した復帰突然変異コロニー数の増加傾向が認められた。

以上の結果より、本試験条件下では2-メチル-5-ニトロベンゼンスルホン酸は、変異原性を有する(陽性)と結論した。

方法

1. 試験菌株

細菌を用いる復帰突然変異試験に広く使用されていることから、試験菌株としてヒスチジン要求性の *Salmonella typhimurium* TA100, TA98, TA1535 および TA1537¹⁾ ならびにトリプトファン要求性の *Escherichia coli* WP2 *uvrA*²⁾ の5種類の菌株を選択した。

ネズミチフス菌は昭和58年9月9日にカリフォルニア大学のB.N. Ames教授から、また、大腸菌については昭和58年3月16日に国立医薬品食品衛生研究所から分与を受けた。平成8年11月13日に菌株の特性検査を実施し、本試験に用いた菌株が規定の特性を保持していることを確認した。

各菌株の菌懸濁液はジメチルスルホキシド(DMSO: MERCK社)を添加した後、凍結保存用チューブに0.2 mLずつ分注した。これを液体窒素を用いて凍結し、超低温フリーザーに-80℃で保存した。

2. 培地の調製

1) 最少グルコース寒天平板培地(プレート)

オリエンタル酵母工業(株)製のテスメディアAN培地を購入し、試験に用いた。本プレートは、Vogel-Bonnerの最少培地Eを含む水溶液(0.02%硫酸マグネシウム・7水塩, 0.2%クエン酸・1水塩, 1%リン酸二カリウム・無水塩, 0.192%リン酸一アンモニウム, 0.066%水酸化ナトリウム [いずれも最終濃度])に2%のグルコース

(和光純薬工業(株))と1.5%の寒天(OXOID社:No.1)を加え、30 mLをシャーレに分注したものである。

2) トップアガー(軟寒天)

Bacto-agar (DIFCO社)0.6%を含む0.5%塩化ナトリウム水溶液10容量に対し、ネズミチフス菌を用いる試験の場合、0.5 mM L-ヒスチジン(関東化学(株))-0.5 mM D-ビオチン(関東化学(株))水溶液を1容量加え、大腸菌を用いる試験の場合、0.5 mM L-トリプトファン(関東化学(株))水溶液を同じく1容量加え用いた。

3. 前培養条件

内容量200 mLのバッフル付三角フラスコに2.5%ニュートリエントブロス(OXOID社)溶液を25 mL分注し、これに融解した菌懸濁液を50 μL 接種した。ウォーターバスシェーカー(MM-10:タイテック(株))を用い、37℃で6時間振盪(往復振盪:120回/分)培養し、試験に使用した。

4. S9 mix

製造後6ヵ月以内のキッコマン(株)製S9 mixを試験に使用した。S9 mix中のS9は誘導剤としてフェノバルビタールおよび5,6-ベンゾフラボンを投与したSprague-Dawley系雄ラットの肝臓から調製されたものである。S9 mixの組成を以下に示す。

成 分	S9 mix 1 mL中の量
S9	0.1 mL
MgCl ₂	8 μmol
KCl	33 μmol
G-6-P	5 μmol
NADPH	4 μmol
NADH	4 μmol
リン酸緩衝Na-液(pH 7.4)	100 μmol
精製水	残 量

5. 被験物質

被験物質の2-メチル-5-ニトロベンゼンスルホン酸(ロット番号:96001)は分子式C₇H₇NO₃S, 分子量217.20, 純度79.60%(不純物として水分:15.90%, NaSO₄:1.75%, NaCl:0.01%, 硫酸分:2.74%を含む)の液体である。日本化薬(株)から提供された被験物質を使用した。被験物質は、使用時まで室温で保管した。試験終了後、被験物質提供元において残余被験物質を分析した結果、安定性に問題はなかった。

6. 被験物質液の調製

注射用蒸留水に被験物質を溶解して調製原液とした。調製原液を使用溶媒を用いて順次所定濃度に希釈した後、直ちに処理を行った(用時調製)。ただし、本被験物質の純度は95%未満であるため純度換算を行った。

7. 試験用量の設定

19.5, 78.1, 313および1250 $\mu\text{g}/\text{plate}$ の用量を用いて予備的な試験を実施した。その結果、S9 mix無添加群ならびに添加群のいずれの処理群においても試験菌株に対する生育阻害作用は観察されなかった。

従って、本試験においてはS9 mix無添加群ならびに添加群の各試験菌株について5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ を最高用量とし、それぞれ6用量(公比2)を設定した。

またTA1535を用いた確認試験では、5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ を最高用量とし、5用量(公差1000)を設定した。

8. 陽性対照物質

陽性対照物質として下記に示した物質を使用した。これらの陽性対照物質は、DMSOを用いて溶解し、少量ずつ分注した後凍結保存(-20℃)した。

2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド (AF-2:和光純薬工業(株))

アジ化ナトリウム(NaN_3 :和光純薬工業(株))

9-アミノアクリジン塩酸塩(ACR:ALDRICH社)

2-アミノアントラセン(2-AA:和光純薬工業(株))

9. 試験方法

Amesらの原法の改良法であるブレインキューベーション法¹⁾に準じて、S9 mix無添加群および添加群それぞれについて試験を実施した。試験管に、使用溶媒、被験物質液あるいは陽性対照物質溶液を100 μL 、次いでS9 mix無添加群の場合、0.1 M ナトリウム・リン酸緩衝液(pH 7.4)を500 μL 、S9 mix添加群の場合、S9 mixを500 μL 添加し、さらに試験菌株100 μL を加え、37℃で20分間振盪培養(ブレインキューベーション)した。培養終了後、トップアガーを2 mL添加し、混合液をプレート上に重層した。37℃の条件で48時間各プレートを培養した後、被験物質の試験菌株に対する生育阻害作用を確認するため、実体顕微鏡($\times 60$)を用いてプレート上の試験菌株の生育状態を観察した。次いで、復帰突然変異により生じたコロニーを計数した。計測に際してはコロニーアナライザー(CA-11:システムサイエンス(株))を用いた。独立して試験を2回実施した。

10. 結果の解析

復帰突然変異コロニー数が溶媒対照のほぼ2倍以上に増加し、かつ、再現性あるいは被験物質の用量に依存性が認められた場合に、陽性と判定した。

なお、統計学的手法を用いた検定は実施しなかった。

また陽性結果を示した菌株については、当該用量における誘発コロニー数(当該用量のコロニー数-溶媒対照でのコロニー数)を試験用量(mg/plate)で除すことにより

比変異活性(比活性)を算出した。

結果および考察

1回目の試験結果をTable 1~2に、2回目の試験結果をTable 3~4に示した。S9 mix無添加群ならびに添加群のいずれにおいても、2-メチル-5-ニトロベンゼンスルホン酸処理による生育阻害作用は観察されなかった。また、S9 mix無添加群のTA100, TA98およびTA1537ならびにS9 mix添加群のTA100で用量に依存した復帰突然変異コロニー数の増加傾向が認められた。2回繰り返して実施した試験においてTA1535での復帰突然変異コロニー数が溶媒対照の1.5~2倍程度を示したが、明確に陽性と判定できなかった。再現性を確認するためS9 mix無添加群ならびに添加群のTA1535株について確認試験を実施した結果、明確な復帰突然変異誘発作用は観察されなかった(Table 5~6)。変異原性の強さに関する相対的比較値である比変異活性は42.1を示した。一方、陽性対照物質はそれぞれの試験菌株において、溶媒対照群の2倍以上の復帰突然変異コロニーを誘発した。なお、試験中析出等の特筆すべき変化は観察されなかった。以上の試験結果から、本試験条件下において、2-メチル-5-ニトロベンゼンスルホン酸の微生物に対する遺伝子突然変異に関し、陽性と判定した。

文献

- 1) D. M. Maron and B. N. Ames, *Mutat. Res.*, 113, 173(1983).
- 2) M. H. L. Green and W. J. Muriel, *Mutat. Res.*, 38, 3(1976).

連絡先

試験責任者: 中嶋 圓

試験担当者: 益森勝志, 板倉真由実

財団法人 食品農医薬品安全性評価センター

〒437-1213 静岡県磐田郡福田町塩新田字荒浜 582-2

Tel 0538-58-1266 Fax 0538-58-1393

Correspondence

Authors: Madoka Nakajima (Study director)

Shoji Masumori, Mayumi Itakura

Biosafety Research Center, Foods, Drugs and Pesticides (An-pyo Center)

582-2 Shioshinden Aza Arahama, Fukude-cho, Iwata-gun, Shizuoka, 437-1213, Japan

Tel +81-538-58-1266 Fax +81-538-58-1393

Table 1. Results of the bacterial reversion test of 2-methyl-5-nitrobenzenesulfonic acid (1st trial)
[direct method: -S9]

Compound	Dose ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	Revertant colonies per plate [Mean $\pm$ S.D.]														
		TA100			TA1535			WP2 <i>uvrA</i>			TA98			TA1537		
Test sub.	0	110	112	114	19	19	17	30	28	28	21	27	26	7	7	6
		[112 $\pm$ 2]			[18 $\pm$ 1]			[29 $\pm$ 1]			[26 $\pm$ 1]			[7 $\pm$ 1]		
	156	108	108	114	18	13	21	36	26	30	30	30	39	4	6	6
		[110 $\pm$ 3]			[17 $\pm$ 4]			[31 $\pm$ 5]			[33 $\pm$ 5]			[5 $\pm$ 1]		
	313	107	101	106	15	17	14	28	27	30	40	46	46	5	5	5
		[105 $\pm$ 3]			[15 $\pm$ 2]			[28 $\pm$ 2]			[44 $\pm$ 3]			[5 $\pm$ 0]		
	625	107	115	111	15	16	15	35	30	30	55	53	49	6	6	5
		[111 $\pm$ 4]			[15 $\pm$ 1]			[32 $\pm$ 3]			[52 $\pm$ 3]			[6 $\pm$ 1]		
	1250	119	134	131	12	10	15	25	36	34	52	54	62	9	11	8
		[128 $\pm$ 8]			[12 $\pm$ 3]			[32 $\pm$ 6]			[56 $\pm$ 5]			[9 $\pm$ 2]		
	2500	140	146	164	24	22	18	28	29	30	84	109	104	15	13	16
		[150 $\pm$ 12]			[21 $\pm$ 3]			[29 $\pm$ 1]			[99 $\pm$ 13]			[15 $\pm$ 2]		
	5000	206	195	210	24	22	21	34	33	41	147	139	149	30	36	28
		[204 $\pm$ 8]			[22 $\pm$ 2]			[36 $\pm$ 4]			[145 $\pm$ 5]			[31 $\pm$ 4]		
Positive control		573	598	599 ^{a)}	403	413	363 ^{b)}	155	180	190 ^{a)}	456	451	457 ^{c)}	534	530	537 ^{d)}
		[590 $\pm$ 15]			[393 $\pm$ 26]			[175 $\pm$ 18]			[455 $\pm$ 3]			[534 $\pm$ 4]		

a): AF-2; 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, 0.01 $\mu\text{g}/\text{plate}$ b): NaN_3 ; Sodium azide, 0.5 $\mu\text{g}/\text{plate}$ c): AF-2, 0.1 $\mu\text{g}/\text{plate}$ d): ACR; 9-Aminoacridine hydrochloride, 80 $\mu\text{g}/\text{plate}$ Table 2. Results of the bacterial reversion test of 2-methyl-5-nitrobenzenesulfonic acid (1st trial)
[activation method: +S9]

Compound	Dose ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	Revertant colonies per plate [Mean $\pm$ S.D.]														
		TA100			TA1535			WP2 <i>uvrA</i>			TA98			TA1537		
Test sub.	0	109	120	113	16	14	12	35	35	27	32	30	34	14	10	13
		[114 $\pm$ 6]			[14 $\pm$ 2]			[32 $\pm$ 5]			[32 $\pm$ 2]			[12 $\pm$ 2]		
	156	113	119	111	21	18	22	27	26	27	27	28	25	7	8	8
		[114 $\pm$ 4]			[20 $\pm$ 2]			[27 $\pm$ 1]			[27 $\pm$ 2]			[8 $\pm$ 1]		
	313	109	130	109	16	20	20	30	27	28	26	30	33	15	13	11
		[116 $\pm$ 12]			[19 $\pm$ 2]			[28 $\pm$ 2]			[30 $\pm$ 4]			[13 $\pm$ 2]		
	625	115	119	117	18	14	12	35	28	33	33	31	31	14	9	10
		[117 $\pm$ 2]			[15 $\pm$ 3]			[32 $\pm$ 4]			[32 $\pm$ 1]			[11 $\pm$ 3]		
	1250	112	133	139	11	13	14	32	32	29	29	31	34	11	10	12
		[128 $\pm$ 14]			[13 $\pm$ 2]			[31 $\pm$ 2]			[31 $\pm$ 3]			[11 $\pm$ 1]		
	2500	158	162	162	19	22	17	30	35	31	36	33	38	17	18	16
		[161 $\pm$ 2]			[19 $\pm$ 3]			[32 $\pm$ 3]			[36 $\pm$ 3]			[17 $\pm$ 1]		
	5000	260	249	254	29	25	28	32	41	29	46	53	46	17	19	14
		[254 $\pm$ 6]			[27 $\pm$ 2]			[34 $\pm$ 6]			[48 $\pm$ 4]			[17 $\pm$ 3]		
Positive control		732	739	728 ^{a)}	387	396	375 ^{b)}	411	432	396 ^{c)}	382	365	351 ^{d)}	171	143	163 ^{b)}
		[733 $\pm$ 6]			[386 $\pm$ 11]			[413 $\pm$ 18]			[366 $\pm$ 16]			[159 $\pm$ 14]		

a): 2-AA; 2-Aminoanthracene, 1 $\mu\text{g}/\text{plate}$ b): 2-AA, 2 $\mu\text{g}/\text{plate}$ c): 2-AA, 10 $\mu\text{g}/\text{plate}$ d): 2-AA, 0.5 $\mu\text{g}/\text{plate}$

Table 3. Results of the bacterial reversion test of 2-methyl-5-nitrobenzenesulfonic acid (2nd trial)
[direct method:-S9]

Compound	Dose ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	Revertant colonies per plate [Mean $\pm$ S.D.]														
		TA100			TA1535			WP2 <i>uvrA</i>			TA98			TA1537		
Test sub.	0	123 130 133 [129 $\pm$ 5]			18 20 23 [20 $\pm$ 3]			22 30 28 [27 $\pm$ 4]			24 26 28 [26 $\pm$ 2]			8 8 7 [8 $\pm$ 1]		
	156	119 126 131 [125 $\pm$ 6]			23 23 18 [21 $\pm$ 3]			25 25 25 [25 $\pm$ 0]			30 35 32 [32 $\pm$ 3]			5 7 5 [6 $\pm$ 1]		
	313	117 122 123 [121 $\pm$ 3]			23 22 17 [21 $\pm$ 3]			29 28 24 [27 $\pm$ 3]			28 26 30 [28 $\pm$ 2]			5 5 5 [5 $\pm$ 0]		
	625	122 120 136 [126 $\pm$ 9]			26 23 21 [23 $\pm$ 3]			35 26 35 [32 $\pm$ 5]			44 41 47 [44 $\pm$ 3]			5 5 6 [5 $\pm$ 1]		
	1250	136 152 152 [147 $\pm$ 9]			25 27 32 [28 $\pm$ 4]			24 24 29 [26 $\pm$ 3]			45 51 53 [50 $\pm$ 4]			8 9 11 [9 $\pm$ 2]		
	2500	185 185 179 [183 $\pm$ 3]			25 25 22 [24 $\pm$ 2]			31 31 30 [31 $\pm$ 1]			82 90 98 [90 $\pm$ 8]			16 14 13 [14 $\pm$ 2]		
	5000	285 285 284 [285 $\pm$ 1]			36 40 48 [41 $\pm$ 6]			34 29 30 [31 $\pm$ 3]			130 134 130 [131 $\pm$ 2]			28 33 35 [32 $\pm$ 4]		
Positive control		537 536 555 ^a [543 $\pm$ 11]			471 487 407 ^b [455 $\pm$ 42]			198 176 190 ^a [188 $\pm$ 11]			454 496 460 ^c [470 $\pm$ 23]			533 577 559 ^d [556 $\pm$ 22]		

a) :AF-2; 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, 0.01 $\mu\text{g}/\text{plate}$ b) :NaN₃; Sodium azide, 0.5 $\mu\text{g}/\text{plate}$
 c) :AF-2, 0.1 $\mu\text{g}/\text{plate}$ d) :ACR; 9-Aminoacridine hydrochloride, 80 $\mu\text{g}/\text{plate}$

Table 4. Results of the bacterial reversion test of 2-methyl-5-nitrobenzenesulfonic acid (2nd trial)
[activation method:+S9]

Compound	Dose ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	Revertant colonies per plate [Mean $\pm$ S.D.]														
		TA100			TA1535			WP2 <i>uvrA</i>			TA98			TA1537		
Test sub.	0	125 125 131 [127 $\pm$ 3]			16 14 17 [16 $\pm$ 2]			27 34 34 [32 $\pm$ 4]			35 26 27 [29 $\pm$ 5]			11 12 8 [10 $\pm$ 2]		
	156	134 134 130 [133 $\pm$ 2]			19 17 16 [17 $\pm$ 2]			33 30 31 [31 $\pm$ 2]			26 24 30 [27 $\pm$ 3]			15 11 8 [11 $\pm$ 4]		
	313	136 114 128 [126 $\pm$ 11]			18 23 14 [18 $\pm$ 5]			29 36 35 [33 $\pm$ 4]			28 28 30 [29 $\pm$ 1]			10 11 12 [11 $\pm$ 1]		
	625	146 123 134 [134 $\pm$ 12]			17 22 15 [18 $\pm$ 4]			29 30 39 [33 $\pm$ 6]			29 24 27 [27 $\pm$ 3]			9 12 8 [10 $\pm$ 2]		
	1250	159 146 137 [147 $\pm$ 11]			21 22 18 [20 $\pm$ 2]			30 28 34 [31 $\pm$ 3]			25 26 36 [29 $\pm$ 6]			8 9 8 [8 $\pm$ 1]		
	2500	164 172 185 [174 $\pm$ 11]			19 21 19 [20 $\pm$ 1]			28 28 33 [30 $\pm$ 3]			30 31 31 [31 $\pm$ 1]			15 16 17 [16 $\pm$ 1]		
	5000	295 311 283 [296 $\pm$ 14]			26 26 26 [26 $\pm$ 0]			36 26 31 [31 $\pm$ 5]			34 39 41 [38 $\pm$ 4]			13 16 17 [15 $\pm$ 2]		
Positive control		711 692 693 ^a [699 $\pm$ 11]			383 352 393 ^b [376 $\pm$ 21]			469 468 459 ^c [465 $\pm$ 6]			366 358 392 ^d [372 $\pm$ 18]			163 171 149 ^b [161 $\pm$ 11]		

a) :2-AA; 2-Aminoanthracene, 1 $\mu\text{g}/\text{plate}$ b) :2-AA, 2 $\mu\text{g}/\text{plate}$ c) :2-AA, 10 $\mu\text{g}/\text{plate}$ d) :2-AA, 0.5 $\mu\text{g}/\text{plate}$

Table 5. Results of the confirmative examination of 2-methyl-5-nitrobenzenesulfonic acid
[direct method:-S9]

Compound	Dose ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	Revertant colonies per plate [Mean $\pm$ S.D.]				
		TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
Test sub.	0		17 20 21 [19 $\pm$ 2]			
	1000		20 22 29 [24 $\pm$ 5]			
	2000		16 18 20 [18 $\pm$ 2]			
	3000		18 19 20 [19 $\pm$ 1]			
	4000		17 16 20 [18 $\pm$ 2]			
	5000		19 22 19 [20 $\pm$ 2]			
Positive control			480 442 435 ^{b)} [452 $\pm$ 24]			

b) :NaN₃; Sodium azide, 0.5 $\mu\text{g}/\text{plate}$ Table 6. Results of the confirmative examination of 2-methyl-5-nitrobenzenesulfonic acid
[activation method:+S9]

Compound	Dose ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	Revertant colonies per plate [Mean $\pm$ S.D.]				
		TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
Test sub.	0		15 19 20 [18 $\pm$ 3]			
	1000		17 17 16 [17 $\pm$ 1]			
	2000		13 12 13 [13 $\pm$ 1]			
	3000		15 17 16 [16 $\pm$ 1]			
	4000		25 20 21 [22 $\pm$ 3]			
	5000		19 22 18 [20 $\pm$ 2]			
Positive control			361 298 354 ^{b)} [338 $\pm$ 35]			

b) :2-AA, 2 $\mu\text{g}/\text{plate}$

2-メチル-5-ニトロベンゼンスルホン酸の チャイニーズハムスター培養細胞を用いる染色体異常試験

In Vitro Chromosomal Aberration Test of 2-Methyl-5-nitrobenzenesulfonic acid on Cultured Chinese Hamster Cells

要約

2-メチル-5-ニトロベンゼンスルホン酸が培養細胞に及ぼす細胞遺伝学的影響について、チャイニーズ・ハムスター培養細胞(CHL)を用いて染色体異常試験を実施した。

細胞増殖抑制試験結果をもとに、連続処理法ならびに短時間処理法で2200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (10 mM相当)を最高処理濃度とした。最高処理濃度の1/2および1/4をそれぞれ中濃度および低濃度として設定した。連続処理では、S9 mix非存在下における24時間および48時間連続処理後、短時間処理ではS9 mix存在下および非存在下で6時間処理(18時間の回復時間)後、標本作製し、検鏡することにより染色体異常誘発性を検討した。

その結果、連続処理ならびに短時間処理のいずれの処理群においても、染色体の構造異常や倍数性細胞の誘発作用は認められなかった。

以上の結果より、本試験条件下では2-メチル-5-ニトロベンゼンスルホン酸は、染色体異常を誘発しない(陰性)と結論した。

方法

1. 試験細胞株

哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験に広く使用されていることから、試験細胞株としてチャイニーズ・ハムスターの肺由来の線維芽細胞株(CHL)を選択した。昭和59年11月15日に国立医薬品食品衛生研究所から分与を受け、一部はジメチルスルホキシド(DMSO: MERCK社)を10%添加した後、液体窒素中に保存し、残りは3~5日ごとに継代した。なお、本染色体異常試験では解凍後継代数5の細胞を用いた。

2. 培養液の調製

Eagle-MEM液体培地(LIFE TECHNOLOGIES社)に、メンブランフィルター(0.45 μm : CORNING社)を用いて加圧濾過除菌した非働化(56°C, 30分)済み仔牛血清(LIFE TECHNOLOGIES社)を最終濃度で10%になるよう加えた後、試験に使用した。調製後の培養液を冷暗所(4°C)に保存した。

3. 培養条件

CO₂インキュベーター(FORMA社あるいは三洋電機特機(株))を用い、CO₂濃度5%, 37°Cの条件で細胞を培

養した。

4. S9 mix

製造後6ヵ月以内のキッコマン(株)製S9 mixを試験に使用した。S9 mix中のS9は誘導剤としてフェノバルビタールおよび5,6-ベンゾフラボンを投与したSprague-Dawley系雄ラットの肝臓から調製されたものである。S9 mixの組成は松岡らの方法に従った¹⁾。

5. 被験物質

被験物質の2-メチル-5-ニトロベンゼンスルホン酸(ロット番号: 96001)は分子式C₇H₇NO₃S, 分子量217.20, 純度79.60%(不純物として水分; 15.90%, NaSO₄; 1.75%, NaCl; 0.01%, 硫酸分; 2.74%を含む)の液体である。日本化薬(株)から提供された被験物質を使用した。被験物質は、使用時まで室温で保管した。試験終了後、被験物質提供元において残余被験物質を分析した結果、安定性に問題はなかった。

6. 被験物質液の調製

生理食塩液(株)大塚製薬工場)に被験物質を溶解して調製原液とした。調製原液を使用溶媒を用いて順次所定濃度に希釈した後、直ちに処理を行った(用時調製)。ただし、本被験物質の純度は95%未満であるため純度換算を行った。

7. 予備試験(細胞増殖抑制試験)

細胞培養用マルチプレートに細胞を播種し、培養3日後に被験物質液を処理した。連続処理の場合、24あるいは48時間連続して処理を実施し、短時間処理ではS9 mix非存在下(-S9 mix)あるいは存在下(+S9 mix)で6時間処理した後、新鮮な培養液に交換してさらに18時間培養を続けた。

細胞を10%中性緩衝ホルマリン液(和光純薬工業(株))で固定した後、0.1%クリスタル・バイオレット(関東化学(株))水溶液で10分間染色した。色素溶出液(30%エタノール, 1%酢酸水溶液)を適量加え、5分間程度放置して色素を溶出した後、580 nmでの吸光度を測定した。各用量群について溶媒対照群での吸光度に対する比、すなわち細胞生存率を算出した。

その結果、いずれの処理法においても明確な細胞増殖抑制は観察されなかった(Fig. 1)。

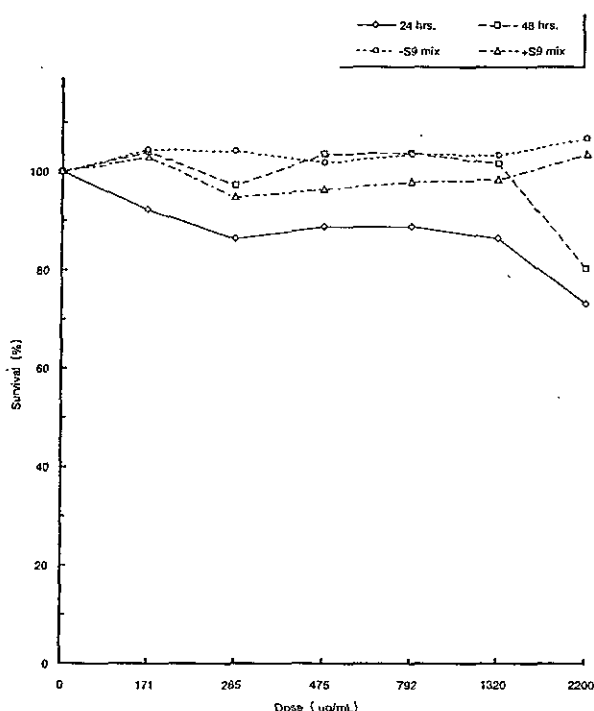


Fig. 1 Dose-survival curves of 2-methyl-5-nitrobenzenesulfonic acid

8. 試験用量および試験群の設定

細胞増殖抑制試験結果をもとに、染色体異常試験では連続処理法ならびに短時間処理法のいずれにおいても2200 $\mu\text{g/mL}$ (10 mM相当)を最高処理濃度とし、以下公比2で減じた計3用量ならびに溶媒対照群を設定した。

陽性対照として、連続処理の場合、マイトマイシンC (MMC:協和醗酵工業(株))を、24時間処理で0.05 $\mu\text{g/mL}$ 、48時間処理で0.025 $\mu\text{g/mL}$ の用量で、短時間処理の場合、シクロホスファミド (CP:塩野義製薬(株))を、12.5 $\mu\text{g/mL}$ の用量で試験した。

9. 染色体標本の作製

直径60 mmのプレートを用い、予備試験と同様に被験物質等の処理を行った。培養終了2時間前に、最終濃度で0.2 $\mu\text{g/mL}$ となるようコルセミド (LIFE TECHNOLOGIES社)を添加した。トリプシン処理で細胞を剥離させ、遠心分離により細胞を回収した。75 mM塩化カリウム水溶液で低張処理を行った後、固定液(メタノール3容:酢酸1容)で細胞を固定した。空気乾燥法で染色体標本を作製した後、1.2 %ギムザ染色液で12分間染色した。

10. 染色体の観察

各プレートあたり100個、すなわち用量当たり200個の分裂中期像を顕微鏡下で観察し、染色体の形態的变化としてギャップ(gap)、染色分体切断(ctb)、染色体切断(csb)、染色分体交換(cte)、染色体交換(cse)およびその他(oth)の構造異常に分類した。同時に、倍数性細胞の出現率を記録した。染色体の分析は日本環境変異原学

会・哺乳動物試験分科会²⁾による分類法に従って実施した。

すべての標本をコード化した後、観察した。

11. 結果の解析

ギャップのみ保有する細胞を含めた場合(+gap)と、含めない場合(-gap)とに区別して染色体構造異常の出現頻度を表示した。

各試験群の構造異常を有する細胞あるいは倍数性細胞の出現頻度を、石館ら³⁾の基準に従って判定した。染色体異常を有する細胞の出現頻度が5 %未満を陰性(-)、5 %以上10 %未満を疑陽性(±)、10 %以上を陽性(+)とした。最終的には再現性あるいは用量に依存性が認められた場合に陽性と判定した。

なお、統計学的手法を用いた検定は実施しなかった。

結果および考察

連続処理群での試験結果をTable 1に示した。2-メチル-5-ニトロベンゼンスルホン酸処理群の場合、いずれの用量においても染色体の構造異常および倍数性細胞の誘発傾向は観察されなかった。一方、陽性対照物質のMMCで処理した細胞では染色体の構造異常の顕著な誘発が認められた。短時間処理群での試験結果をTable 2に示した。被験物質処理群の場合、S9 mix非存在下および存在下のいずれの用量においても染色体の構造異常および倍数性細胞の誘発傾向は観察されなかった。一方、陽性対照物質のCPで処理した細胞ではS9 mix存在下でのみ染色体構造異常の顕著な誘発が認められた。なお、連続処理および短時間処理の各試験系において、全ての試験用量で培養液のpHの低下が認められたが、培養液交換時あるいは培養終了時には中性域に戻っていた。以上の試験結果から、本試験条件下において2-メチル-5-ニトロベンゼンスルホン酸のチャイニーズハムスター培養細胞に対する染色体異常誘発性に関し、陰性と判定した。

文献

- 1) A. Matsuoka, M. Hayashi and M. Ishidate Jr., *Mutat. Res.*, 66, 277(1979).
- 2) 日本環境変異原学会・哺乳動物試験分科会編, “化学物質による染色体異常アトラス,” 朝倉書店, 東京, 1988, pp. 31-35.
- 3) 石館基 監修, “<改訂>染色体異常試験データ集,” エル・アイ・シー社, 東京, 1987, pp. 19-24.

Table 1 Chromosomal aberration test on CHL cells treated with 2-methyl-5-nitrobenzenesulfonic acid [continuous exposure]

Compound	Dose ($\mu\text{g/mL}$)	Time of exposure (hr)	Number of cells analyzed	Number of cells with structural aberrations						Total [+gap] (%)	Total [-gap] (%)	Polyploid cells (%)	Final judgement	
				gap	ctb	csb	cte	cse	oth				SA	Pol
Test sub.	0	24	200	0	1	0	0	0	0	0.5	0.5	1.0	-	-
	550	24	200	0	0	0	1	0	0	0.5	0.5	0.5	-	-
	1100	24	200	3	0	0	1	0	0	2.0	0.5	1.5	-	-
	2200	24	200	3	0	1	2	0	0	3.0	1.5	1.0	-	-
MMC*	0.05	24	200	23	39	2	74	1	0	50.5	47.5	0.5	+	-
Test sub.	0	48	200	1	0	0	0	1	0	1.0	0.5	0.0	-	-
	550	48	200	1	0	0	0	0	0	0.5	0.0	1.0	-	-
	1100	48	200	1	0	0	0	0	0	0.5	0.0	0.0	-	-
	2200	48	200	1	2	0	1	0	0	2.0	1.5	1.0	-	-
MMC*	0.025	48	200	13	34	0	68	1	0	46.0	43.0	0.5	+	-

*: Positive control (mitomycin C)

ctb: chromatid break csb: chromosome break cte: chromatid exchange cse: chromosome exchange oth: others

SA: Structural aberration Pol: polyploid cell

Table 2 Chromosomal aberration test on CHL cells treated with 2-methyl-5-nitrobenzenesulfonic acid [short-term exposure]

Compound	Dose ($\mu\text{g/mL}$)	S 9 mix	Time of exposure (hr)	Number of cells analyzed	Number of cells with structural aberrations						Total [+gap] (%)	Total [-gap] (%)	Polyploid cells (%)	Final judgement	
					gap	ctb	csb	cte	cse	oth				SA	Pol
Test sub.	0	-	6	200	1	1	0	1	0	0	1.0	1.0	0.5	-	-
	550	-	6	200	1	0	1	1	0	0	1.5	1.0	0.0	-	-
	1100	-	6	200	1	2	0	0	0	0	1.5	1.0	0.5	-	-
	2200	-	6	200	1	0	0	0	0	0	0.5	0.0	1.0	-	-
CP*	12.5	-	6	200	1	1	0	0	0	0	1.0	0.5	0.0	-	-
Test sub.	0	+	6	200	1	0	0	1	0	0	0.5	0.5	0.0	-	-
	550	+	6	200	0	2	0	3	0	0	2.0	2.0	1.5	-	-
	1100	+	6	200	1	0	1	2	0	0	2.0	1.5	0.0	-	-
	2200	+	6	200	2	0	0	2	0	0	2.0	1.0	0.0	-	-
CP*	12.5	+	6	200	18	43	2	145	1	0	79.0	78.0	0.0	+	-

*: Positive control (cyclophosphamide)

ctb: chromatid break csb: chromosome break cte: chromatid exchange cse: chromosome exchange oth: others

SA: Structural aberration Pol: polyploid cell

連絡先

試験責任者：中嶋 圓
試験担当者：益森勝志，板倉真由実
財団法人 食品農医薬品安全性評価センター
〒437-1213 静岡県磐田郡福田町塩新田字荒浜
582-2
Tel 0538-58-1266 Fax 0538-58-1393

Correspondence

Authors: Madoka Nakajima (Study director)
Shoji Masumori, Mayumi Itakura
Biosafety Research Center/Foods, Drugs and
Pesticides (An-pyo Center)
582-2 Shioshinden Aza Arahama, Fukude-cho,
Iwata-gun, Shizuoka, 437-1213, Japan
Tel +81-538-58-1266 Fax +81-538-58-1393

o-アセトアセトトルイジドのラットを用いる単回経口投与毒性試験

Single Dose Oral Toxicity Test of o-Acetoacetotoluidide in Rats

要約

o-アセトアセトトルイジドの単回投与毒性試験を、5週齢のSD系 [Crj:CD(SD)] ラットを1群雌雄各5匹用い、0(溶媒)、819、1024、1280、1600、2000および2500 mg/kg用量を単回経口投与して実施した。その結果、死亡は、雄で1280 mg/kg以上、雌で1600 mg/kg以上の群において投与後3時間から2日の間に認められた。主な中毒症状として自発運動の低下、腹臥位、筋弛緩、眼瞼下垂、呼吸深大化、立毛、体温降下、流涙および全身蒼白が認められた。死亡動物は、これらの症状が重度化し、呼吸が微弱となって死亡した。生存動物の症状は、投与後1日から5日までに概ね回復し、13日には全て回復した。体重は、投与後1日に用量依存的に減少が認められたが、3日には回復傾向が認められた。剖検では、投与翌日以降の死亡動物で、腺胃の点状出血、胃および腸の血様内容物ならびに膀胱の膨満が認められた。腺胃の病理組織学検査では、粘膜のびらんが観察された。LD₅₀値(95%信頼限界)は、雄で1854(1549-2298)mg/kg、雌で1945(1654-2318)mg/kgであった。

方法

1. 被験物質

o-アセトアセトトルイジドは、融点103.5℃、植物油および水に難溶な白色針状結晶である。試験には、三星化学工業(株)(東京)製造のもの(ロット番号7434、純度99.93%)を用い、これを1%メチルセルロース水溶液に懸濁して、投与液とした。被験物質の安定性ならびに投与液中での被験物質の安定性および均一性については、分析して確認した。

2. 使用動物および飼育条件

日本チャールス・リバー(株)より搬入した5週齢のSD系 [Crj:CD(SD)] ラット(雄120~137 g、雌106~118 g)を1群雌雄各5匹用いた。ラットは、室温21~23℃、湿度56~60%、換気回数10回以上/時(オールフレッシュエアー方式)、照明12時間/日(午前6時点灯、午後6時消灯)に制御した飼育室で、ステンレス製金網ケージに2~3匹ずつ雌雄別に収容し、固型飼料〔ラボMRストック、日本農産工業(株)〕と水は自由に摂取させた。

3. 投与量および投与方法

1群雌雄各3匹のラットを用い、雌雄とも593、889、

1333、2000および3000 mg/kgを単回経口投与した投与量設定試験の結果、雌雄とも死亡は2000 mg/kg以上の群で認められた。したがって、本試験の用量は、雌雄とも819、1024、1280、1600、2000および2500 mg/kg(公比1.25)の6群を設定した。他に、溶媒のみ投与の対照群を設けた。投与方法は、投与量を体重100 g当り1.0 mLとし、テフロン製胃ゾンデおよび注射筒を用いてラットの胃内に単回経口投与した。投与は午前中に行った。ラットは前日の午後5時より投与後3時間まで除餌し、水のみを自由に摂取させた。

4. 観察事項

観察期間は投与後14日間とし、その間の一般状態の観察と生死を確認した。体重は、投与直前、投与後1、3、7および14日に測定した。剖検は、死亡例は発見後直ちに、生存例は観察期間終了後にエーテル麻酔死させて行った。病理組織学検査は、剖検で投与翌日以降の死亡動物に胃の変化が認められたので、それらの内投与後24時間以降の死亡例で死後変化の認められなかった2匹(雌の1600 mg/kg群および2500 mg/kg群)について胃を採取し、10%中性リン酸緩衝ホルマリン液で固定後、常法に従ってパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施して鏡検した。LD₅₀値は、投与後14日間の観察期間終了時における死亡率を基に、プロビット法を用いて算出した。

結果および考察

1. LD₅₀値(Table 1)

死亡は、雄で1280 mg/kg以上、雌で1600 mg/kg以上の群に認められ、死亡率より算出されたLD₅₀値(95%信頼限界)は、雄1854(1549-2298)mg/kg、雌1945(1654-2318)mg/kgであった。o-アセトアセトトルイジドのラットにおける経口LD₅₀値については、1600 mg/kgとの報告¹⁾があり、概ね一致した結果であった。

2. 一般状態

被験物質投与の全群の雌雄に共通して、投与後約10分から自発運動の低下および腹臥位が認められた。また、多くの例で筋弛緩、眼瞼下垂および呼吸深大化が認められた。さらに、投与後1~3時間から立毛、体温降下および流涙、投与翌日(投与後1日)から全身蒼白が、用量に依存して認められた。その他に、よろめき歩行、削瘦および下腹部の汚れが散見された。死亡動物は、これら

Table 1 Mortality and LD₅₀ value of rats treated orally with *o*-acetoacetotoluidide in the single dose oral toxicity test

Sex	Dose (mg/kg)	No. of animals examined	Number of animals that died													Mortality	LD ₅₀ value [95 % Confidence limits] (mg/kg)	
			Day	0			1	2	3	4	5	6	7	8	9~14			
			Hr.	1	3	6												
Male	0	5		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5 ^a	1854 [1549 - 2298]
	819	5		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	
	1024	5		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	
	1280	5		0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1/5	
	1600	5		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	
	2000	5		0	1	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	3/5	
	2500	5		0	2	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	5/5	
Female	0	5		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	1945 [1654 - 2318]
	819	5		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	
	1024	5		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	
	1280	5		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	
	1600	5		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1/5	
	2000	5		0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2/5	
	2500	5		0	1	1	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	5/5	

a: Number of animals that died; b: Number of animals examined

の症状が重度化し、次第に呼吸微弱化し、投与後3時間～2日の間に死亡した。生存動物の症状は、投与後3～6時間から回復傾向が認められ、多くの症状は投与翌日から5日までに回復したが、全身蒼白のみ12日まで持続的に認められた。この変化は、ラットへの反復投与により溶血性貧血が認められている²⁾ことと関連性があるものと考えられた。

3. 体重推移

雌雄とも投与後1日に、対照群に比べて体重減少が用量に依存して認められた。しかし、3日には回復傾向を示し、多くの症状が回復した7日以降は順調な増加が認められた。

4. 病理学検査

死亡動物の剖検において、投与翌日以降に死亡した雌雄の多くの例で、腺胃の点状出血およびそれとの関連性が考えられる胃および腸の血様内容物、ならびに膀胱の膨満がみられた。また、雌1例には腹水の貯溜が認められた。腺胃の病理組織学検査では、点状出血は粘膜のびらんであることが確認された。投与日の死亡動物および14日間生存動物の剖検では、肉眼的変化は認められなかった。

文献

- 1) REGISTRY OF EFFECTS CHEMICAL SUBSTANCES, AK6550000
- 2) 厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室監修, “化学物質毒性試験報告,” Vol. 7, 化学物質点検推進連絡協議会, 東京, 1999, p. 275.

連絡先

試験責任者: 山本 譲
 試験担当者: 伊藤義彦, 伊藤雅也
 (財)畜産生物科学安全研究所
 〒229-1132 神奈川県相模原市橋本台3-7-11
 Tel 042-762-2775 Fax 042-762-7979

Correspondence

Authors: Yuzuru Yamamoto (Study director)
 Yoshihiko Ito, Masaya Ito
 3-7-11 Hashimotodai, Sagami-hara-shi, Kanagawa,
 229-1132, Japan
 Tel +81-42-762-2775 Fax +81-42-762-7979